



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)



향장학 박사학위논문

제주조릿대 잎과 감귤계 과피의 생리활성 비교연구

전남대학교 대학원

향장품학협동과정

이 송 희

2017년 8월



제주조릿대 잎과 감귤계 과피의 생리활성 비교연구

이 논문을 향장학 박사학위 논문으로 제출함

전남대학교 대학원

향장품학협동과정

이 송 회

지도교수 이 무 성

이송회의 향장학 박사 학위논문을 인준함

심사위원장

옥 승 호 (인)

심 사 위 원

김 진 (인)

심 사 위 원

이 창 문 (인)

심 사 위 원

이 기 영 (인)

심 사 위 원

이 무 성 (인)

2017년 8월



< 목 차 >

목 차	i
List of Scheme	iii
List of Figures	iv
List of Tables	vii
List of Abbreviation	ix
국문초록	xi
1. 서론	1
2. 이론적 배경	4
3. 실험	7
가. 재료	7
나. 시약 및 기기	8
다. 추출물 제조	9
라. 항산화 활성 분석	11
1) 수율	13
2) Polyphenol 함량 측정	13
3) Tannin 함량 측정	13
4) Flavonoid 함량 측정	14
5) Vitamin C 함량 측정	17
6) 당도와 pH 측정	17
7) DPPH free radical 소거능 측정	18
8) ABTS cation radical 소거능 측정	20
마. 세포생존율 분석	21
바. LPS에 의해 유도된 nitrite oxide 생성 억제 효과 분석	22
사. 항균활성 분석	25
1) 사용균주 및 균주배양	25
2) Paper disc법을 이용한 항균활성 측정	26



3) 최소 저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정	27
아. 성분분석	27
1) GC/MS에 의한 성분분석	27
2) 유기산 분석	29
2) 아미노산 분석	32
자. 통계분석	34
4. 결과 및 고찰	35
가. 항산화 활성 평가	35
1) 수율	35
2) Polyphenol 함량	36
3) Tannin 함량	37
4) Flavonoid 함량	38
5) Sugar 함량과 Vitamin C 및 pH	40
6) DPPH free radical 소거능	45
7) ABTS cation radical 소거능	49
나. 세포생존율 평가	53
다. LPS에 의해 유도된 nitrite oxide 생성 억제 효과 평가	57
라. 항균활성 평가	61
1) 한천배지확산법을 이용한 항균·항진균 활성 평가	62
마. 성분분석	73
1) GC/MS에 의한 성분분석	73
2) 유기산 분석	88
3) 아미노산 분석	91
5. 결론	97
참고문헌	102
Abstract	113
감사의 글	117



List of Scheme

1. Scheme 1	10
-------------------	----



List of Figures

Figure 1. Photographs of <i>Sasa quelpaertensis</i> Nakai leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i>	7
Figure 2. Standard curves for determination of total phenolic compound, tannin compound and flavonoid compound in <i>Sasa quelpaertensis</i> Nakai leaves extract	15
Figure 3. Standard curves for determination of total phenolic compound, tannin compound and flavonoid compound in <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extract	16
Figure 4. Absorbance change at 517 nm caused by the reaction of anti-oxidants with the free radical of DPPH	19
Figure 5. Standard curves for determination of Sodium nitrite compound	24
Figure 6. HPLC chromatograms of citric acid, tartaric acid, succinic acid, formic acid and acetic acid	30
Figure 7. Standard calibration curve of citric acid (A), tartaric acid (B), succinic acid (C), formic acid(D) and acetic acid (E)	31
Figure 8. Total phenolic contents, total tannin acid, flavonoid and vitamin C contents of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus junos</i> peels, <i>Poncirus trifoliata</i> peels and <i>Jeju citrus</i> peels	44
Figure 9. DPPH free radical scavenging effect of extracts from <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts	47
Figure 10. ABTS cation radical scavenging effect of extracts from <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts	51
Figure 11. Cell viability of dependent on concentration from of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and	



<i>Jeju citrus</i> peels extracts	55
Figure 12. Effect of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts on LPS-induced nitric oxide (NO) production in RAW264.7 cells	59
Figure 13. Antibactenal activity of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Citrus junos</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts against <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Figure 14. Antibactenal activity of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Citrus junos</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts against <i>Staphylococcus epidermidis</i>	68
Figure 15. Antibactenal activity of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Citrus junos</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts against <i>Escherichia coli</i>	71
Figure 16. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves warer extracts	75
Figure 17. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves ethanol extracts	75
Figure 18. Chemical structures of the identified compounds from <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves extracts	77
Figure 19. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in <i>Jeju citrus</i> peel warer extracts	79
Figure 20. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in <i>Jeju citrus</i> peel ethanol extracts	79
Figure 21. Chemical structures of the identified compounds from <i>Jeju citrus</i> peel extracts	81
Figure 22. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in <i>Poncirus trifoliata</i> peel water extracts	83
Figure 23. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in <i>Poncirus trifoliata</i> peel ethanol extracts	83



Figure 24. Chemical structures of the identified compounds from *Poncirus trifoliata* peel extracts 85



List of Tables

Table 1. Microorganism and media used for antimicrobial experiments	26
Table 2. The analytical condition of HPLC for GC/MS operating	28
Table 3. The analytical condition of HPLC for organic acid	29
Table 4. The analytical condition of total amino acid auto-analyzer	32
Table 5. The analytical condition of free amino acid auto-analyzer	33
Table 6. Total polyphenol contents, total tannin acid and flavonoid contents of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus junos</i> peels, <i>Poncirus trifoliata</i> peels and <i>Jeju citrus</i> peels presented as mean±S.D.	39
Table 7. Total sugar contents, vitamin C contents and pH of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts presented as mean±S.D.	43
Table 8. DPPH radical scavenging activity of extracts from <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves	48
Table 9. ABTS radical scavenging activity of extracts from <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts presented as mean±S.D.	52
Table 10. Cell viability of dependent on concentration from of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus Junos</i> , <i>Poncirus Trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts presented as mean±S.D.	56
Table 11. NO synthesis inhibitory effect of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves and <i>Citrus junos</i> peels, <i>Poncirus trifoliata</i> peels and <i>Jeju citrus</i> peels extract on activity in LPS stimulated RAW 264.7 cell	60
Table 12. Clear zone of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Citrus junos</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts against <i>Staphylococcus aureus</i>	64



Table 13. Clear zone of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Citrus junos</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts against <i>Staphylococcus epidermidis</i>	67
Table 14. Clear zone of <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Citrus junos</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> and <i>Jeju citrus</i> peels extracts against <i>Escherichia coli</i>	70
Table 15. Compounds identified from <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves extracts through Gas chromatography-mas spectrometry(GC/MS)	76
Table 16. Compounds identified from <i>Jeju citrus</i> peel extracts through Gas chromatography-mas spectrometry(GC/MS)	80
Table 17. Compounds identified from <i>Poncirus trifoliata</i> peel extracts through Gas chromatography-mas spectrometry(GC/MS)	84
Table 18. The organic acid contents <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Jeju citrus</i> and <i>Poncirus trifoliata</i> peels extracts	90
Table 19. composition of total amino acid in <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Jeju citrus</i> and <i>Poncirus trifoliata</i> peels extracts	93
Table 20. composition of free amino acid in <i>Sasa quelpaertensis</i> leaves, <i>Jeju citrus</i> and <i>Poncirus trifoliata</i> peels extracts	95



List of Abbreviations

AA: ascorbic acid
BHI: brain heart infusion
BHT: butylated hydroxytoluene
C. albicans: *Candida albicans*
CJP: *Citrus junos* peel
CVC₈₀: concentration producing 80% cell viability
D.W: distilled water
DMEM: dulbecco's medium eagel's medium
DMSO: dimethyl sulfoxide
E. coli: *Escherichia coli*
EDTA: ethylenediamine tetraacetic acid
E: ethanol extracts
GAE: gallic acid equivalent
GC/MS: Gas chromatography-mas spectrometry
IC₅₀: 50% scavenging concentration
JCP: *Jeju citrus* peel
L-AA: L-ascorbic acid
LB: luria bertani
LBA: luria bertani agar
LPS: lipopolysaccharide
MIC: minimum Inhibition concentration
NO: nitric oxide
PBS: phosphate buffered saline
PTP: *Poncirus trifoliata* peel
QE: quercetin equivalent
ROS: reactive oxygen species,



S. aureus: *Staphylococcus aureus*

S. epidermidis: *Staphylococcus epidermidis*

SQL: *Sasa quelpaertensis* leaves

TAE: tannin acid equivalent

W: water extracts

YM: yeast malt

YMA: yeast malt agar



제주조릿대 잎과 감귤계 과피의 생리활성 비교연구

이 송 희

전남대학교대학원 향장품학협동과정

(지도교수 : 이무성)

(국문초록)

생리활성이 보고된바 있는 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 제주감귤 등의 감귤계 과피를 이용하여 항산화 활성 및 항균활성 등의 생리활성을 비교연구하고 천연의 피부미용제품 및 향장소재 등의 연구를 위한 기초자료를 확보하기 위한 연구를 수행하였다.

제주 조릿대 잎과 감귤계 과피 추출물의 항산화 활성을 분석하기 위해 DPPH free radical, ABTS cation radical의 소거능, nitric oxide radical등의 소거활성과 세포생존율을 측정 하였으며 agar plate culture를 이용하여 항균 활성을 비교분석 하였다. 추출물 중에서 항산화 활성과 항균활성이 가장 뛰어난 제주조릿대 잎과 제주감귤 및 탕자 과피의 성분, 유기산, 구성아미노산 및 유리 아미노산의 이화화학적 유효성분들을 분석하였다. 추출물들을 분석한 결과 총 polyphenol함량의 경우 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 제주감귤의 에탄올 추출물에서 가장 많은 26 mgGAE/g정도의 함량을 나타내었다. 총 tannin의 경우 제주조릿대 잎의 열수 추출물이 72.2 mgTAE/g으로 가장 높았다. 총 flavonoid함량의 경우 제주 조릿대 잎의 에탄올 추출물에서 25.4 mgQE/g, 제주감귤 과피의 열수 추출물에서 11.7 mgQE/g으로 가장 많은 함량을 나타내었다. vitamin C의 경우는 제주감귤 및 탕자 과피에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 총 당량은 탕자 과피가 다소 높았다. pH 측정한 결과 제주조릿대 잎은 pH 6.2, 감귤계 과피는 pH 3.1~pH 4.6 범위의 약산성이며 산성도는 탕자 과피 > 유자 과피 > 제주감귤 과피 순서이었다.



항산화 활성을 평가하기 위한 DPPH free radical 소거활성은 tannin 함량이 가장 높았던 제주조릿대 잎과 제주감귤의 과피에서 가장 높았으며 유자 및 탱자 과피의 경우 소거활성은 다소 낮았으나 농도가 증가함에 따라 소거활성이 증가하는 경향을 보였다. ABTS cation radical 소거활성 또한 제주조릿대 잎과 제주감귤 과피에서 가장 높은 소거활성을 보였고, 유자와 탱자 과피의 경우 DPPH free radical 소거활성과 비슷한 경향을 보였다. 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물과 유자 과피 및 제주감귤의 과피의 열수와 에탄올 추출물의 경우 87% ~ 105%의 높은 세포 생존율을 보였으며, 제주조릿대 잎 추출물에서 가장 높은 NO 생성 억제 효과를 나타내었다. 나머지 추출물의 경우에도 염증이 유도되었을 경우에 염증을 유발하는 물질들의 생성을 억제하는 효과가 충분히 있을 것으로 판단된다.

항균활성을 실험한 결과 *S. aureus*에서는 제주조릿대 잎과 탱자 과피에서 항균활성을 보였다. *S. epidermidis*에서는 제주조릿대 잎과, 유자 과피 및 탱자 과피에서 항균활성을 보였으며 그중 탱자 과피에서 가장 높은 항균 활성을 나타내었다. 그리고 *E. coli*에서는 탱자 과피에서만 항균활성이 높게 나왔으며 모든 추출물에서 *C. albicans*에 대한 항진균 효과는 전혀 나타나지 않았다. 특히 감귤계 과피 중에서 제주감귤 과피는 항산화활성은 가장 뛰어났으나 항균활성은 전혀 없었다. 탱자 과피와 같은 경우는 항산화 활성은 많이 낮았으나 항균활성은 가장 높게 나타났다. 이러한 결과로 보았을 때 항산화 활성과 항균활성의 연관성은 전혀 없었음을 알 수 있었다.

GC/MS를 이용하여 활성물질을 분석한 결과 5-hydroxymethylfurfural (HMF) 비율이 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물을 제외한 모든 추출물에서 53.75%~82.73% 정도로 가장 높았다. 반면에 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물에는 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate가 38.3%, 9,12,15-octadecatrienoic acid를 21.8%정도의 비율을 차지하고 있었다. 유기산 함량의 경우 탱자 과피의 열수 추출물에서 citric acid 및 tartaric acid의 함량이 가장 높았고, tartaric acid의 함량이 특히 높았다. 구성 아미노산의 경우 탱자 과피의 열수 추출물이 68.73 mg/g으로 함량이 가장 높았고, proline의 함량이 32.0~32.6 mg/g 정도로 특히 높았다. 이런 결과로부터 탱자 과피의 당도가 가



장 높았던 이유가 쓴맛 외에도 단맛이 역시 강한 proline의 함량이 다른 추출물보다 월등하게 높았기 때문이라고 판단된다. 유리아미노산의 함량은 구성아미노산보다 낮으나, 제주조릿대 잎의 열수 추출물의 경우 44.45 mg/g의 총 함량을 나타내었다. 그 중 신경계통의 균형을 유지하는 asparagine이 16.8 mg/g으로 가장 높았고, 뇌 기능을 향상에 기여하는 γ -amino-n-butyric acid(GABA)의 함량도 4.30 mg/g 정도 이었다. 제주감귤 과피의 경우 asparagine은 에탄올 추출물에서 이 0.59 mg/g정도로 가장 많았으며, 탱자 과피 추출물의 경우에는 피부의 콜라겐을 합성하는데 도움을 주는 proline의 함량이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 6.38 mg/g, 8.20 mg/g정도로 가장 많았다.

본 연구에서 수행한 실험결과를 살펴보면 제주조릿대 잎과 유자, 탱자 및 제주감귤 과피 추출물 모두 항산화 성분 함량 및 항산화 활성이 높아 결국 천연 항산화제로서 충분히 효과적임을 확인 하였으며, 또한 *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *E. coli*에서 부분적인 항균활성이 나타나는 것을 확인하였다. 천연 항산화제 또는 향장소재로 사용할 경우에는 단일 추출물만을 사용하는 것 보다는 각각의 추출물에 대한 세포생존율이 80% 이상이 되도록 혼합비를 조절하여 여러 종류의 추출물을 혼합하여 사용하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 본 연구 결과는 제주조릿대 잎과 감귤계 과피 등의 추출물 특성을 상호 보완하여 식품이나 의약품등의 소재와 천연피부미용제품 및 기능성향장소재로 사용하기 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Key word: Physiological activities, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS), Amino acid, Organic acid, *Sasa quelpaertensis* leaves, *Citrus* peels



1. 서론

현대 사회의 경제 성장과 함께 급속도의 산업화로 인해 편의성은 높아졌으나 그만큼 화학물질의 노출빈도 또한 증가하였고, 황사와 미세먼지의 유입이 많아지고, 식습관 역시 바쁜 일상속도에 맞춰 서구화될 뿐 아니라 과도한 다이어트로 인한 불균형한 식단, 운동부족 등으로 인해 당뇨, 고혈압과 같은 성인병, 피부질환, 호흡기 질환 등의 발병률이 높아지고 있다. 뿐만 아니라 스트레스나 신체의 과도한 활성산소의 발생 역시 암이나 혈관질환 등 질병의 원인으로 꼽히고 있다 [1]. 그리고 미용 분야에서도 펴마와 염색 및 탈색 등 많은 화학적인 시술 때문에 두피가 붉게 변하거나 피지분비가 불균형을 이루는 등 여러 종류의 미생물과 모낭충으로 인하여 비듬이나 염증이 발생하는 원인이 되기도 한다[2]. 특히 접촉성 피부의 염증을 유발하는 산화성염모제에 함유되어 있는 *p*-phenylenediamine에서 발생하는 독성물질과 hydrogen peroxide에 의해서 산화작용이 과하게 일어나 많은 양의 활성산소를 생성하여 두피내의 세포에 손상을 일으키게 된다[3]. 또한 신체의 대사 과정에서 발생하는 활성산소는 자연적인 것이나 잘못된 식습관으로 인한 과도한 생성, 유해한 화학물질, 대기 오염 등에 더 자주 노출되면서 본래 신체가 갖는 활성산소에 대한 방어능력이 떨어지고 이로 인해 다양한 질병이 발생할 가능성도 높아지는 것이다[4]. 최근 이에 대한 연구도 활발해져 천연 식물류에서 발견되는 항산화 물질들이 신체의 활성산소를 제거하거나 억제하는데 효능이 있음이 밝혀지고 있다. 특히 항산화 물질 중 폴리페놀 화합물이 가장 주목받고 있는데[5] 페놀 화합물은 flavonoid, arbutin, chlorogenic acid, lignan, tannin, lignin등이 있으며 많은 질병을 예방할 수 있으며 우리의 몸에 유익한 역할을 한다. 특히 플라보노이드는 황색 색소를 나타내는 성분으로 다양한 식물이나 채소 특히 과일 껍질 등에 많이 함유되어 있으며 페닐기 2개로부터 C₃ 사슬을 매개하는 탄소 골격 구조를 가지고 있는 화합물이다. 이 플라보노이드계 화합물은 우리 인체 내에서 많은 질병의 주원인이 되고 있는 산화작용 등을 억제하여 효과를 나타냄으로 인해 항암, 항균, 항염증, 항알레르기등 생리활성기능이 있는 것으로 많이 알려져 있다. 가장 많이 사용되어지



고 있는 항산화 물질로는 tocopherol, trolox, carotenoid, ascorbic acid 등이 산화를 감소시켜 우리 인체의 기능을 활성화시키는 중요한 기능을 한다[6]. 특히 과일에는 비타민 C와 E뿐만 아니라 폴리페놀이나 플라보노이드를 다량 함유하고 있어서 과일 자체의 섭취만이 아니라 이러한 성분들을 충분히 이용할 수 있는 건강 보조제나 기능성 원료의 가능성도 인정받고 있으며[5], 이러한 항산화 성분들은 노화를 비롯하여 발암과 각종 성인병들을 예방한다고 알려져 있어 천연 항산화제의 연구 개발 등이 이루어지고 있으나[7] 이러한 식물계에 널리 분포되어 있는 천연 항산화제의 대안으로 사용하고 있는 BHT(butylated hydroxytoluene)와 BHA(butylated hydroxyanisol) 등의 합성 항산화제는 페놀계의 항산화제로서 많은 상업용 식품, 각종 생활필수품, 향장소재 등에 주로 사용되어지고 있는데 이들을 사용할 경우 안전성과 관련하여 법적으로 사용량이 규제되어 있음을 알 수 있다[8]. 이러한 합성 항산화제를 계속 사용하게 될 때 이에 따른 부작용과 제한적인 사용면에서 볼 때 천연 물질에 의한 천연 항산화제로서 안정성이 높으며 인체에 해가 없는 천연 추출물에 대한 연구들이 수행되어지고 있다[9]. 최근에 연구하고 있는 자료들을 살펴보면, 삼채 잎 추출물에 따른 생리활성과 기능성 화장품의 소재 등의 기능성 연구[10]와 모시대 잎에 대한 항산화와 피부개선의 효과 측정[11], 운지버섯 자실체의 추출물 항산화 생리활성 연구[12], 꾸지뽕나무추출물의 생리 활성[13], 갯기름 나물추출물의 피부미용 기능성화장품에 대한 첨가제 항산화 활성 및 세포활성 연구[14], 감나무 잎 추출물에 대한 화장품약리활성 검증[15], 자소엽과 어성초추출물의 두피 개선에 미치는 영향[16] 등 천연추출물을 이용한 항산화제를 찾아내기 위한 연구들이 이루어지고 있다. 그리고 현재 향장소재 중에서 헤어와 관련하여 보면 우리가 날마다 사용하는 샴푸도 이제는 단지 먼지와 오염물질을 제거하는 것만이 아니라 샴푸하는 동안 모발손상 방지와 두피를 개선해주는 역할까지도 할 수 있는 가능성을 원하고 있다[17].

따라서 본 연구의 목적은 천연항산화제로 가능성이 있는 제주조릿대 잎 추출물과 감귤계의 유자, 탕자 및 제주감귤 과피 등의 열수 추출물과 에탄올 추출물을 이용하여 항산화 성분과 항산화 활성에 관한 실험과 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*의 세균과 *Candida*.



*albians*의 항진균등의 생리활성을 비교분석하여 각각의 추출물들에 대한 활성성분들이 상호 보완될 수 있도록 하여 천연항산화제의 소재 또는 기능성 향장소재로서 사용하기 위한 기초자료를 제공하고자 연구 하였다.



2. 이론적 배경

대나무는 전 세계에서 12속의 5000여종이 있으며, 우리나라에서는 왕대 속, 해장속속, 조릿대 속, 이대속의 4속 14종류가 있다. 동의보감에서는 대나무 자체로는 독성이 없으며 식용 또는 약용으로 활용할 수 있으며 효능으로는 당뇨 또는 위염, 고혈압, 중풍 그리고 만성 간염 등을 다스리고 암과 해열을 치료하는 효능이 있는 것으로 되어 있으며, 민간에서도 수액이나 잎을 이용하여 여러 가지의 약재로 이용되어 온 것으로 알려져 있다[18, 19]

제주조릿대는 우리나라의 특산종으로서 정식학명은 *Sasa quelpaertensis*로 제주도에서 넓게 분포하며, 조릿대와 모양은 비슷하지만 가지가 갈라져 있지 않으며 마디가 둥글고 높이 10~80 cm와 지름이 3~4 mm로, 외형적인 특징은 털이 없으며, 마디 주위의 색상은 자주색을 띤다. 잎은 긴 타원형으로 표면은 털이 없는 연한 녹색을 띄고 있으며, 뒷면은 약간의 털이 있다[20]. 제주조릿대(*Sasa quelpaertensis* Nakai)는 한라산 일대에서 군락을 이루며 자생하는 지역 고유종으로 특성상 번식능력이 뛰어나며, 개화기는 60년을 주기로 일어나게 된다. 이렇게 개화와 결실을 거치고 난 다음에는 그 수명을 마치게 된다[4]. 그러나 왕성한 번식력으로 인해 한라산에 자생하는 다른 식물군의 다양성을 저해하는 존재로, 인위적 제거보다 이를 효과적으로 활용하여 자원화 함으로써 부가가치를 높이는 연구가 이루어져야 한다[21].

감귤류는 운향과(Rutaceae)의 감귤속과 금감속, 탕자나무속등에 해당하며 열매를 주목적으로 재배되며, 일본과 우리나라에서 많이 생산되고 있다. 감귤이 재배되고 있는 면적으로는 우리나라가 세계에서 두 번째에 해당할 정도로 많으며, 아열대 기후의 100여개 나라에서 약 1,000여 종류가 재배될 정도로 품종이 다양하다. 이렇게 감귤류는 동양의 의학에서도 과육뿐만 아니라 과피 역시 약재로 오랫동안 이용되어왔으며, 동의보감에서도 씨와 껍피는 약해져 있는 비위(脾胃)를 건강하게 만들고 천식과 위장장애를 치료하는데 사용하였다고 기록되어 있다. 현재에는 유럽에서도 소화불량에 효능이 7있다하여 허브로 이용되고 있다. 감귤류 중에서도 유자(*Citrus Junos siebold ex Tanaka*)는 일본에서는 yuzu와



sumikan 으로 불리고 있으며, 과육과 과피를 이용하여 다양한 식품 등으로 조리하여 사용하고 있으며 이· 미용 용품에도 사용되고 있다. 그리고 유자는 polyphenol류와 limonoid류 등의 산화적 스트레스로 인한 사람피부 등을 보호할 수 있는 다량의 물질들을 함유하고 있다. 유자에는 vitamin C가 레몬의 3배나 많이 함유하고 있어 감기, 피부미용에 좋으며, 유기산을 많이 함유하고 있어 노화와 피로예방에도 효과적이며, 또한 비타민 B와 무기질 등 함량이 높아서 다(茶)류 로서도 폭넓게 이용되어지고 있다[22, 23, 24, 25].

탱자(*Poncirus Trifoliata* Raf.)는 유자와 마찬가지로 운향과에 속하는 감귤류로 다른 종류에 비해 내한성이 강하며 넓은 생육 분포도를 가지고 있어 남해에서부터 경기까지의 여러 지역으로부터 재배가 가능하여 예로부터 담장의 울타리용으로 많이 심어졌던 식물이다. 탱자는 보통 5월경에 꽃이 피어서 9월경에는 열매를 수확하여 식용 또는 관상용으로도 사용되어지며, 과실은 보통 황색으로 나타나며 성숙하게 되면 강한 향과 함께 특유한 신맛을 가지고 있으며 생식보다는 말린 후 민간요법으로 사용하거나 한방에서 약용으로 많이 사용되고 있다. 탱자에 함유되어 있는 플라보노이드 화합물의 헤스페리딘(hesperidin)이나 나린진(naringin)과 같은 성분은 유자나 탱자와 같은 감귤류 등에 많이 존재함에 따라서 항산화효과가 높아서 면역력을 강화시키고 또한 혈관을 보호하며 항균 작용 등의 생리활성의 효과가 있는 것으로 밝혀지고 있다[22, 26].

밀감(*Jeju citrus*)은 동의보감에서 탕액편에 의하면 우리인체의 신진대사를 도우며 피부와 점막 등을 보호해 감기에방에 효과가 있다고 되어 있다. 밀감 즉 감귤 과피에 함유된 bioflavonoid와 naringin등의 성분은 항균작용과 암세포의 증식을 억제하는 등의 작용을 하는 것으로 알려지고 있으며, 비타민 P의 하나로 알려진 hesperidin성분은 모세혈관 등을 튼튼하게 하여 동맥경화와 고혈압을 예방하는데 효과가 있음이 알려져 있다. 그리고 리모넨(d-limonene)의 성분은 감귤류의 특유한 향으로 사람의 중추 신경을 자극하여 진정 효과와 항암작용 등이 있는 것으로 알려져 있어 이를 활용한 방향제, 향수, 비누 등 미용용품과 함께 식품에도 많이 이용되어지고 있다[24]. 특히, 감귤류 등에 함유되어 있는 비타민 P의 활성물질로 알려진 hesperidine성분은 과육보다는 과피에서 70%이상이 분포되어 있기 때문에 과피와 과육 모두를 활용하는 방안들이 모색되고 있다[23,



27]. 따라서 제주조릿대의 다양한 생리활성 등은 의약품, 기능성식품등에 활용 가능성으로 인해 제주조릿대 잎의 부작용을 최소화하고 천연 항암제등과[28]함께 유자, 탕자, 굴 등의 감귤계 과피를 이용한 천연 항산화제 및 향장 소재로서 활용할 수 있는 연구가 필요하다.

3. 실험

가. 재료

본 연구에서 사용한 실험 재료는 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 제주감귤을 이용 하였다. 제주조릿대 잎은 제주도 제주자원식물원에서 건조된 상태로 구입하여 1 cm로 분쇄하여 냉장과 냉동보관하면서 사용하였다. 유자는 2016년 12월 전남 고흥에서 재배한 것을 구입하여 사용 하였으며 탕자는 광주광역시 서구에서 재배한 것을 구입하였다, 그리고 제주감귤은 제주도에에서 재배한 제주감귤을 구입하여 과육은 제거하고 과피만을 깨끗이 씻어서 1 cm길이로 슬라이스 한 후 건조하여 사용 하였다.



Figure 1. Photographs of *Sasa quepaertensis* Nakai leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus*[29, 30, 31]



나. 시약 및 기기

본 연구의 실험에서 항산화활성을 측정하기 위해 사용한 시약은 gallic acid, folin-ciocalteu's phenol reagent, quercetin, aluminum nitrate, L-ascorbic acid, DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS(2,2-azino-bis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)diammonium salt, 2,6-dichlorophenol-indophenol는 Sigma-Aldrich(St. Louis, Mo, USA) 에서 구입하여 사용하였다. metaphosphoric acid는 대정화금(Ansan, Korea)것을 구입하여 사용하였으며 butylated hydroxytoluene, tannin, potassium acetate, sodium carbonate, potassium persulfate등의 시약은 Duksan Pure chemicals Co. (Ansan, Korea)의 것을 사용하였다. 항산화 활성 측정을 위해 사용한 기기는 항온수조 (BW -10H, Lab Companion, Co., Daejeon, Korea), 교반기(DS-201HS, vision scientific Co., LTD, Korea), 회전감압농축기(JP/N-1000SW, EYEL, JAPAN), 동결건조기(FD8508S, Ilshin Lab Co., Ltd., Korea), 흡광도 측정에는 분광광도계(UV-160A, Shimadzu, Japan), ELISA reader(ELx808, BioTek, USA)를 사용하였다.

세포생존율을 측정하는 Human skin fibroblast 세포주는 한국세포주은행에서 분양받은 것을 사용하였으며, RAW264.7과 MTT[3-(4,5-methylthiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide], 트립신-이디티에이 (Trypsin-EDTA), 혈청 [fetal bovin serum(FBS)], 배지[Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)], 항생제용액(penicillin/streptomycin), PBS (phosphate-buffered saline) 등은 Gibco BRL(Grand Island, NY)사 제품, dimethylsulfoxide(DMSO)등의 세포에 관련된 제품은 전남대학교 치의학전문대학원 구강미생물학교실에서 보관중인 것을 사용 하였으며, 항염증실험을 위해서는 sodium nitrite, N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride와 lipopolysaccharide (LPS, Escherichia coli O111:B4)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, U.S.A)에서 구입하여 사용하였으며 phosphoric acid, sulfanilamid는 대정화금(Ansan, Korea)것을 구입하여 사용하였다.

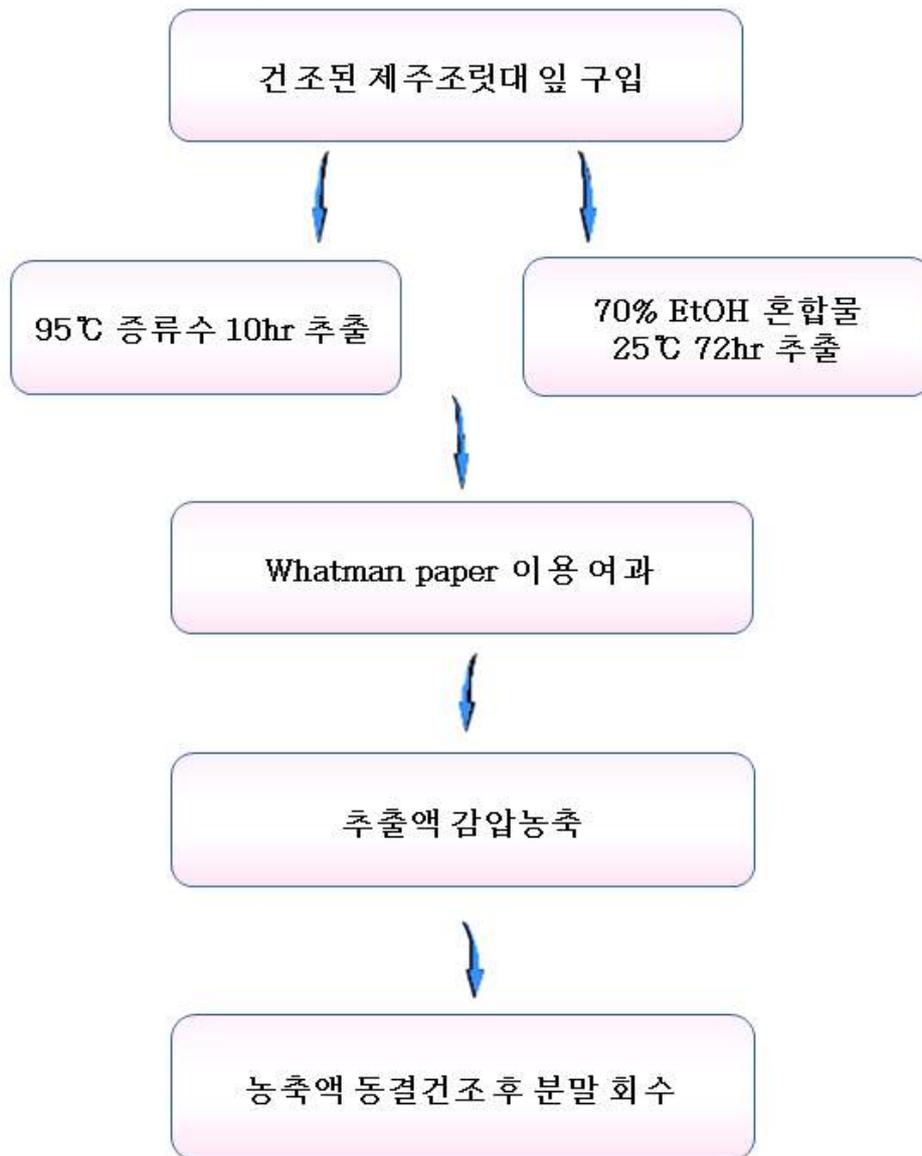
항균실험을 위해 사용한 기구 및 기기로는 무균작업대(HB-402, Hanbaek,



Korea), 배양기(Forma Scientific Co. USA), 고압멸균기(AC-01, Lap Companion, Korea), 시험관 혼합기(VM-96B, Jeio Tech, Co., Ltd), 가열교반기(MS300HS, Misung, Korea), 현미경(JP/BX51, Olympus, Japan)을 사용하였으며, petri-dish(직경 9 mm, 높이 1.5 cm), paper disc(Φ 8 mm, Advantec, Japan)를 사용하였고, digital counter (KT0074A, Kartech, Korea)를 이용하여 균수를 측정하는데 사용 하였다.

다. 추출물 제조

제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 귤 과피 추출물은 다음과 같은 과정으로 제조하였다. 제주조릿대 잎은 95℃ 열수 추출물과 70%에탄올 추출물을 만들어 사용하였다. 열수 추출물은 제주조릿대 잎 50 g에 원료무게의 20배가되는 증류수 1 L를 가하여 95℃ water bath에서 10시간 추출하였으며, 70%에탄올 추출물은 제주조릿대 잎 50g에 원료무게의 20배가되는 70%에탄올 1 L를 가하여 실온(25℃)에서 72시간동안 추출 하였다, 각 추출한 용액을 filter paper No 2(Qualitative filter paper, Advantec, Tokyo, Japan)를 이용하여 여과 후 감압 진공농축기 Rotary evaporator를 이용하여 감압 농축하였다. 각 열수 추출물과 에탄올 추출물의 농축액을 동결건조기를 이용하여 분말화 하였으며 이를 냉동보관 하면서 각각의 실험에 맞는 농도로 희석하여 실험에 사용하였다[32, 33]. 그리고 제조과정을 Scheme 1에 간단하게 정리 하였다. 유자, 탕자 및 귤은 깨끗하게 씻어서 건조시킨 후 반으로 잘라 씨와 내용물을 빼고 과피를 얇게 슬라이스 하여 식품건조기[LD-9188H, 리큵(주), Korea]을 이용하여 50℃에서 10~14시간 건조하여 사용하였다. 유자, 탕자 및 귤 과피는 과일이기 때문에 제주조릿대 잎과는 달리 용매의 비율과 온도 및 시간을 달리하여 열수 추출물과 에탄올 추출물을 추출 하였다. 각각의 건조된 과피 100g에 증류수와 70% 에탄올을 각각 10배씩을 가한 다음 50℃에서 열수 추출물은 항온기에서 5시간, 에탄올 추출물은 교반기에 교반하면서 20시간 동안 추출하였으며 감압여과한 후 감압 농축한 다음 동결건조 하여 분말로 만들어 냉동에 보관하면서 사용하였다[22].



Scheme 1. The complete scheme for the extracts from *Sasa quelpaertensis* leaves in distilled water (DW) and in 70% of ethanol solution.



라. 항산화 활성 분석

우리가 살아가는데 있어서 꼭 필요한 산소는 식품이나 동물들의 세포 등 여러 가지 유기물질에 대한 산화반응 등을 유발시킴에 따라 많은 부작용들을 일으키게 된다[34]. 이러한 활성산소(ROS)가 세포의 기능을 조절하는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 그리고 free radical을 조절할 수 있는 산화방지제로 필수 영양소인 α -tocopherol(vitamin E)과 polyphenols, carotenoids, α -lipoic acid, flavonoids, glutathione 그리고 수용성 free radical을 제거할 수 있는 ascorbic acid (vitamin C)의 항산화 성분 등이 활성산소의 생성을 방지할 수 있으며, 특히 인도 등 많은 연구자들이 항산화 활성을 가지고 있는 천연 물질로 carotenoids, turmeric, curcumin, flavonoids, caffeine present in coffee, tea, orientin, glabridin, vicenin, glycyrrhizin, punigluconin, emblicanin, pedunculagin, dehydrozingerone, 2-hydroxy-4-methoxy benzoic acid, picroliv, with aferin, yakuchinone, gingerol, chlorogenic acid, vanillin (food flavouring agent) and chlorophyllin (a water-soluble analogue of chlorophyll)등을 연구하였으며, flavonoids는 식물의 색소에 많이 존재하며 강력한 산화방지제로서의 역할을 하는 것으로 알려져 있다[35]. 제주조릿대의 성분들 중에서 가장 특징적으로 나타내는 활성성분으로는 Kang 등[36]의 연구에서 제주조릿대 잎 추출물에는 *p*-coumaric acid 함량이 23.71 ± 1.78 mg/g, tricic acid 함량 0.03 ± 0.02 mg/g으로 *p*-coumaric acid의 함량을 더 많이 보유하고 있음을 알 수 있으며, An등[37]의 연구에 의하면 제주조릿대에 함유되어 있는 *p*-coumaric acid가 tyrosinase 활성저해로 인해 멜라닌 생성을 억제하는 주요 성분임을 이야기 하고 있으며, Kim[38]의 연구에서는 natural medicine comprehensive database를 근거로 한 제주조릿대의 지표성분으로는 tricic acid [$C_{17}H_{14}O_7$, 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-4H-chromen-4-one]로 알려져 있음을 알 수 있다.

감귤류의 과피에 함유된 주성분은 비타민 B1, C외에 정유의 성분, 플라보노이드, 카로티노이드 등이 있다. 이러한 성분들의 주요 기능을 살펴보면 먼저 정유의 주된 성분은 (R)-리모넨인데 이는 독특한 향기물질이며, 중추신경계에 작용해



진정효과를 준다. 쥐에 인공적으로 발암물질을 투여할 때 미리 레몬유(油)나 오렌지유(油)를 투여한 대조군에서 암의 발생이 억제되었다는 보고가 있다. 둘째, 감귤류의 플라보노이드류는 헤스페레딘, 나린진, 나린제닌이 많이 알려져 있다. 임상 실험에서 간이식을 한 쥐의 경우 나린진을 투여했을 때 생존율이 높았고, 백혈병에 노출된 쥐의 경우 플라보노이드를 투여한 대조군에서 일부 백혈병 세포가 정상세포로 돌아왔다는 보고도 있다. 셋째, 녹황색 채소나 과일에 함유된 카로티노이드는 성인병의 발생 빈도를 낮추고, 염증 발생억제와 항암효과도 있는 것으로 보고되고 있다[39, 40].

산화적 스트레스로 인해 많은 질병과 생체기능에 이상을 보이거나 노화의 주원인이 되고 있으며[26], 우리인체는 활성산소로부터의 손상을 방지하기 위하여 항산화 효소 등을 분비하게 된다. 천연물질로부터 독성을 최소화 하며 높은 항산화 성분을 가지는 천연 항산화성분을 함유하고 있는 천연 항산화제에 대한 관심이 높아지고 있다[41]. 이러한 천연추출물을 구성하고 있는 항산화활성물질 등의 함량을 측정하여 항산화 활성정도를 알 수 있으며, 항산화활성물질의 함량을 측정하는 방법으로는 여러 가지 방법이 있겠지만 가장 대표적인 방법으로는 polyphenol함량, tannin함량, flavonoid함량, ascorbic함량 등으로 측정할 수 있으며, 항산화 활성을 평가하는 방법으로는 DPPH free radical 소거능을 측정하는 방법과, ABTS cation radical 소거능, nitric oxide(NO) 소거능 등 많은 방법들을 통해 항산화 활성 물질에 의한 소거정도를 가지고 천연추출물로서의 가치를 평가 할 수 있다.



1) 수율

제주조릿대의 잎과 유자, 탕자 및 귤 과피 100g과 원료무게 20배(감귤계 과피는 10배)의 증류수와 70% 에탄올 가하여 추출한 각 추출물을 Whatman paper를 이용하여 여과한 후 나머지는 감압 여과한 후 감압 농축하여 동결건조 시켜서 마지막으로 얻어진 분말을 계산하여 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물의 수율을 계산하였다.

$$\text{yield}(\%) = [\text{동결건조로 얻은 분말의 양}(\text{g})/\text{시료의 양}(\text{g})] \times 100$$

2) Polyphenol 함량 측정

Polyphenol함량은 Folin-Denis방법[42]을 변형하여 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 추출물에 함유된 폴리페놀성분으로 인해 몰리브덴청색으로 나타나는 원리를 이용하여 측정 하였다. 각각의 추출물 1 mg을 1 mL 증류수에 용해한 추출물 에 Folin-Ciocalteu's phenol reagent시약을 1 mL를 넣은 다음 5~8분간 방치 후 10% sodium carbonate용액 1 mL를 혼합하여 발색시킨 다음 실온에서 60분 동안 방치한 다음 ELISA reader(Biotek, ELx808)를 이용하여 700 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 사용하였으며 여기에서 얻은 검량선(Fig. 2, Fig. 3)을 이용하여 총 polyphenol함량을 계산하고 mgGAE/g (GAE: Gallic acid equivalent)로 표시하였으며 각 시료에 대해 3회 반복하여 측정 후 평균값으로 나타내었다 [32,33].

3) Tannin 함량 측정

Tannin함량 역시 Folin-Denis법[42]을 변형하여 동결 건조된 각각의 추출물 1 mg을 1 mL 증류수에 용해한 추출물 0.5 mL 에 folin-ciocalteu's phenol reagent시약을 0.5 mL 넣은 후 5 ~ 8분 방치한 후 10% sodium carbonate용액 0.5 mL를 혼합하여 실온에서 1시간 방치 후 ELISA reader(Biotek, ELx808)의 700 nm에서 흡광도를 측

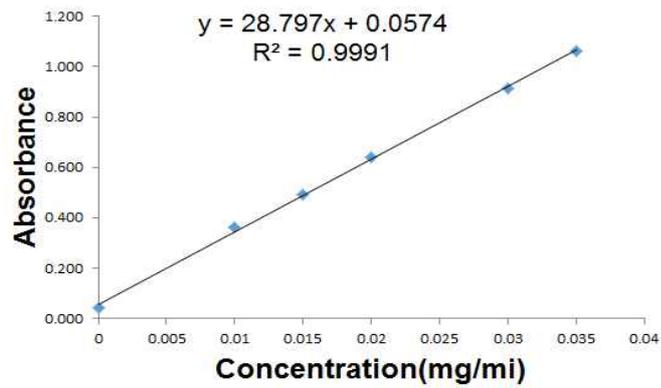


정하였다. tannin acid를 표준물질로 사용하였으며 polyphenol의 함량측정과 같은 방법으로 측정하여 얻은 표준곡선(Fig. 2, Fig. 3)을 이용하여 tannin acid의 함량을 계산하고 mgTAE/g(TAE: tannin acid equivalent)로 나타내었다[32, 33].

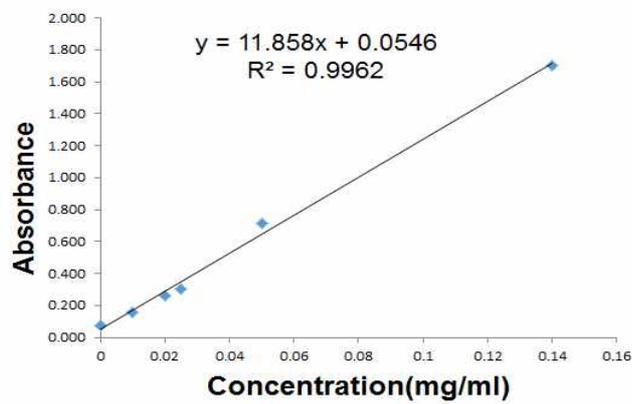
4) Flavonoid 함량 측정

Flavonoid는 관속식물 등에 존재하며, 황색을 나타내는 항산화물질로 이루어진 화합물로 식물계에 넓게 퍼져있는 화합물이다[43]. 강력한 산화제를 투입했을 때 플라보노이드를 많이 함유하고 있는 추출물이 황색으로 변하게 되는 원리를 이용한 Moreno방법[44]등에 따라 각각의 추출물 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL와 1M potassium acetate 0.1 mL를 넣은 후 ethanol 4.3 mL를 첨가하여 실온(25℃)에서 40분 동안 자연방치 후 ELISA reader(Biotek. ELx808)의 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 quercetin을 사용하였으며 여기에서 얻은 표준곡선(Fig. 2, Fig. 3)을 이용하여 총 flavonoid함량을 계산하고 mgQE/g(QE: Quercetin equivalent)로 나타내었으며, 각 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다[32, 33].

Gallic acid standard curve



Tannin acid standard curve



Quercetin standard curve

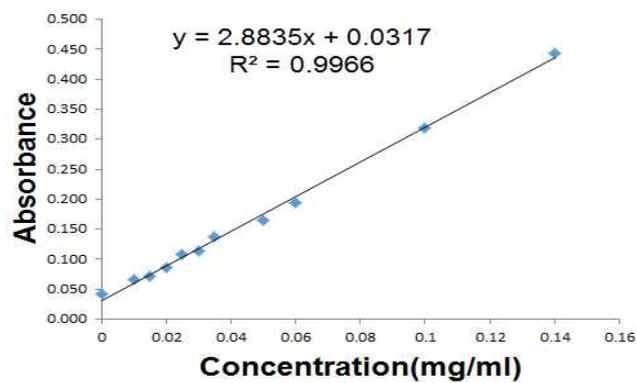
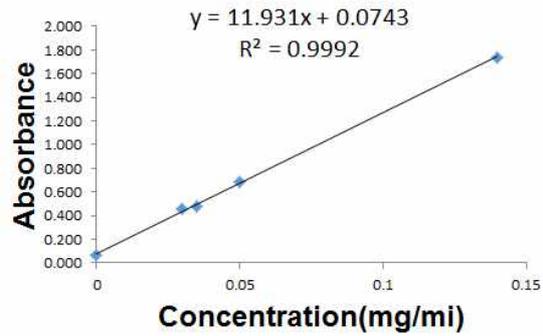
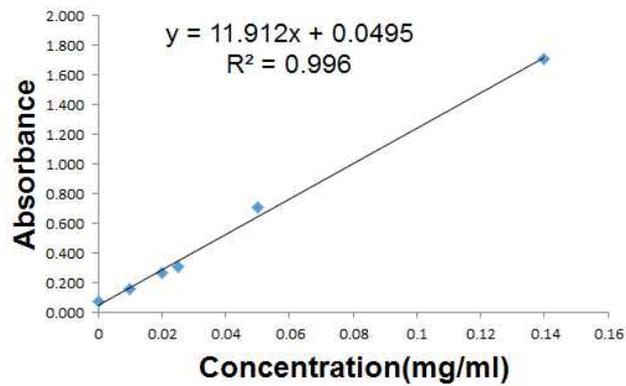


Figure 2. Standard curves for determination of total phenolic compound, tannin compound and flavonoid compound in *Sasa quepaertensis* Nakai leaves extract

Gallic acid standard curve



Tannin acid standard curve



Quercetin standard curve

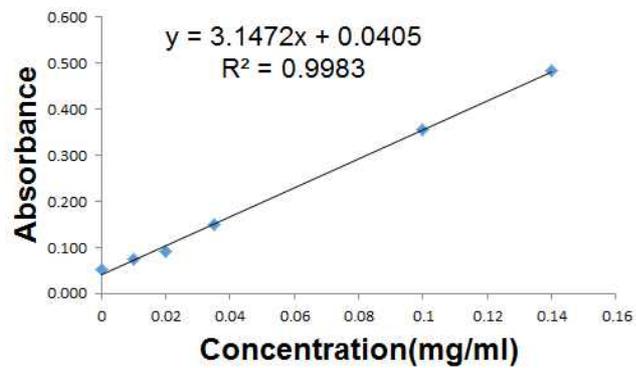


Figure 3. Standard curves for determination of total phenolic compound, tannin compound and flavonoid compound in *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extract



5) Vitamin C 함량 측정

2,6-Dichlorophenol indophenol은 청색을 나타내며 vitamin C를 추출해내는 metaphosphoric acid와 결합하면 짙은 와인색의 홍색을 나타낸다. 여기에 시료를 첨가하게 되면 시료의 vitamin C의 함유량에 따라서 점점 환원되어 색상이 옅은 분홍색을 나타내다가 무색이 된다. 따라서 표준물질의 ascorbic acid를 이용하여 색상이 옅어지는 농도를 가지고 vitamin C의 함유량을 측정할 수 있다 [45]

각 시료의 g당 vitamin C 함량은 2,6-dichlorophenolindophenol(DCPIP) 비색법으로 환원형 vitamin C의 정량법을 이용하여 실험하였다. 각각의 시료 0.05g에 1% metaphosphoric acid 용액을 10 mL를 첨가하여 60분간 교반한 다음 여과 하였다. 이 여과액 1 mL에 0.15% 2,6-dichlorophenolindophenol을 9 mL를 혼합하여 30분 후 490 nm에서 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 측정하였다. 표준물질로는 ascorbic acid(AA, Sigma-Aldrich Co.)를 이용하여 검량선을 작성한 후 vitamin C 함량을 ascorbic acid를 기준으로 환산하여 계산하였으며 단위는 mgAA/g으로 표시하였다. 각각의 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다[46, 47].

6) 당도와 pH 측정

당 함량의 측정은 각각의 시료를 100 mg/mL 농도로 만들어 실온에서 디지털 당도계(SCM-1000BT, Pocker refractometer, Korea)를 이용하여 측정하였으며 단위는 Brix로 나타내었다. 각 추출물의 pH측정은 pH meter(ph/mv/TEMP Meter P25, Korea)를 이용하여 150 mg/mL 농도의 실온에서 pH를 측정하였다. 각 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.



7) DPPH free radical 소거능 측정

DPPH radical 소거활성을 측정하는 방법은 DPPH가 측정하고자 하는 물질의 환원의 정도를 나타내는 환원력을 기준으로 항산화정도를 가늠하게 되는 방법이다. 다시 말하면 Fig. 4와 같이 적자색의 DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)는 안정한 수용성의 용액의 free radical로 질소를 중심으로 하여 radical의 구조를 하고 있으며, 515 ~ 517 nm에서 특정한 빛에 대한 최대의 흡수를 나타냈다가 추출물의 항산화성분에 의해 환원되어 radical이 소실되면 파장대의 흡수가 없어지게 되는 원리를 적용하는 원리를 적용한 Blois방법[48]을 응용하여 측정하였다[4, 20].

각각의 추출물을 증류수에 녹여 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm의 농도로 준비하였으며, 0.2 mM DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)를 ethanol에 용해시킨 용액을 준비 하였다. 각 농도에 따른 시료 20 μ L와 DPPH용액을 흡광도 517 nm에서 0.98~1이 될 수 있도록 희석한 DPPH용액 180 μ L를 잘 혼합하여 실온에서 빛을 차단하여 30분 동안 반응시킨 다음 ELISA reader(Biotek, ELx808)를 이용하여 490 nm에서 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 대조군으로 L-ascorbic acid와 butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하였으며, 시료 무첨가군과 비교 계산하여 얻은 값을 백분율(%)로 표시하였다. 그리고 DPPH radical의 소거율이 50% 감소할 때 나타내는 농도를 IC₅₀으로 표시 하였으며 각 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다[32].

$$\text{Inhibition(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{시료무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

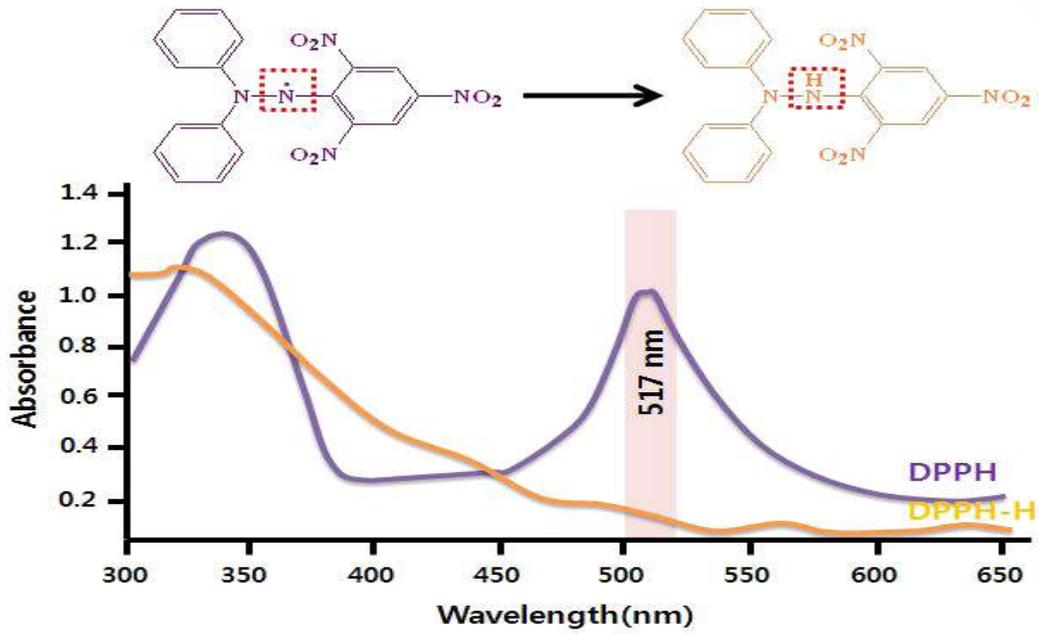


Figure 4. Absorbance change at 517 nm caused by the reaction of anti-oxidants with the free radical of DPPH[4]



8) ABTS cation radical 소거능 측정

ABTS radical 소거능은 ABTS(2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)에 potassium persulfate와 반응하여 생성되는 청록색의 ABTS cation radical이 추출물에 함유하고 있는 항산화 물질과 반응하여 ABTS cation radical의 청록색이 연한녹색으로 변하게 되는 원리를 적용한 Vanden Berg등 [49]의 방법의 일부를 변형하여 측정하였다. 7.4 mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt와 2.45mM potassium persulfate를 증류수에 용해하여 실온의 암소에서 24시간 후 ABTS cation radical을 형성시켜서 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 1.45 ± 1.5 가 되도록 증류수로 희석하여 사용하였다. 각각의 추출물을 증류수에 용해하여 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm의 농도로 준비하여 각 농도별 시료 10 μ L와 ABTS용액 190 μ L를 혼합한 다음 실온에서 빛을 차단하여 30분간 반응시켜 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 흡광도를 700 nm에서 측정하여 ABTS radical 소거활성을 측정 하였다. 대조군으로 L-ascorbic acid와 butylated hydroxytoluene(BHT)을 사용하였고, 시료 무첨가군과 비교하여 계산 후 얻은 값을 백분율(%)로 나타내었다. 그리고 DPPH radical 소거활성과 마찬가지로 소거율이 50% 감소할 때 나타내는 농도를 IC_{50} 값으로 표기 하였으며 각 시료에 대해 3회 반복하여 측정 후의 값을 평균값으로 나타내었다[20, 32].

$$\text{Inhibition(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{시료무첨가군의 흡광도}) \times 100$$



마. 세포생존율 분석

1) 세포배양

제주조릿대 잎 추출물은 인간 섬유아세포주인 3T3(human skin fibroblast)는 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였으며, 유자, 탕자 및 귤 과피 추출물은 마우스의 대식세포로 알려진 macrophage(RAW264.7)을 이용하였다. Dulbecco's medium Egel's medium(DMEM)에 Fetal bovine serum(FBS) 및 항생제(Penicillin/Streptomycin)는 Gibco사 (GIsland, CA, USA)제품을 사용하였다. fibroblast 3T3과 RAW264.7 cell을 사용하였으며 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 24시간 배양하여 사용 하였다. 배양된 배지는 PBS 2 mL를 넣어 세척한 후 trypsin-EDTA 2 mL를 넣고 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 5분 동안 넣어서 cell이 떨어지도록 한다. 그리고 15mL 튜브에 넣어서 DMEM배지를 4 mL를 넣은 후 5분간 원심분리 하여 상층에 있는 배지는 제거하고 DMEM 배지 3 mL를 넣어 cell이 잘 섞이도록 하였으며, petri dish 3개에 각각 DMEM배지 4 mL를 넣어 놓은 다음 각각 준비해놓은 petri dish에 cell 1 mL씩을 고르게 분주하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 배양하였으며 2~3일에 한 번씩 계대배양 하면서 잘 성장한 cell을 사용하였다.

2) MTT assay를 이용한 세포독성 측정

세포생존율을 측정하기 위해서 면역을 가지고 있는 fibroblast와 RAW 264.7 cell(대식세포)을 이용하여 MTT assay법을 이용하여 측정한다. 노란색 수용성 기질의 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-di-phenyltetrazolium bromide] 시약을 세포내에 흡수시킨 후 미토콘드리아에서 succinate-dehydrogenase(탈수소효소)에 의해 비수용성 기질의 청 보라색을 나타내는 formazan을 형성하여 이 물질이 세포 안에 축적되어 미토콘드리아의 활성으로 인해서 색상이 진해지면 세포의 활성을 나타내는 것으로서 세포의 생존율을 측



정하는 가장 대표적인 방법을 사용하여 측정하였다[50]. 10% FBS와 1% P/S이 첨가된 DMEM배지에 3T3(human skin fibroblast)과 RAW 264.7 cell을 24시간 배양하여 PBS로 세척한 후 trypsin-EDTA를 이용하여 cell을 떼어낸 후 hemacytometer로 counting하여 96well plate에 1×10^4 cell/well씩 분주하였다. 그리고 다시 24시간 동안 배양하여 세포를 안정화 시킨 후 125~1000 ppm의 농도로 희석한 열수 추출물과 에탄올 추출물을 각각 100 μ L를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 다시 24시간동안 배양하였다. 그리고 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide, sigma]를 각 well당 20 μ L씩 첨가하여 다시 같은 조건으로 4시간동안 배양한 후 솔루션을 깨끗이 제거하고 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 200 μ L를 첨가하여 MTT 환원에 의하여 생성된 formazan 침전물들을 용해시켜 ELISA reader(Biotek. ELx808)와 microplate reader(biochrom. Ez Read 400)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 농도에 대한 흡광도 값을 구하고 시료를 처리하지 않은 well의 흡광도 값을 구하여 세포생존율을 구하였다. 세포생존율은 다음과 같은 식에 의해 산출하였으며 cell viability concentration은 세포생존율이 80%가 되는 농도(CVC₈₀)로 표시 하였다 세포생존율(Cell viability)은 아래의 방식으로 계산하였다[50, 51].

$$\text{Cell viability(\%)} = (\text{Exp}/\text{Control}) \times 100$$

Exp: 세포를 포함한 추출물의 흡광도

Control: 세포를 포함한 증류수의 흡광도

바. LPS에 의해 유도된 nitrite oxide 생성 억제 효과 분석

내독소로 잘 알려져 있는 LPS(lipopolysaccharide)는 gram-negative bacteria의 세포의 외막에 주로 존재하고 있으며, RAW 264.7세포와 같은 대식세포나 백혈구의 일종인 단핵구(monocyte)에서 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-6(IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β)와 (proinflammatory cytokine(염증성 사이토카인)을 증가시키는 자극물질로 알려져 있으며 이 LPS를 이용하여



세포에 자극을 주면 세포가 방어반응으로 인하여 nitric oxide(NO)를 생성시켜 target cell에 독성을 상승시키거나 세포사멸 또는 염증반응을 유발시킬 수 있으며 염증질환의 원인을 제공할 수도 있다. 이러한 LPS를 이용하여 세포에 염증을 유발하여 nitric oxide를 생성시킨다. 이 NO의 양을 5% phosphoric acid에 1% sulfanilamide를 용해시키고 0.1%(w/v) N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride를 혼합하여 제조한 Griess reagent를 이용하면 붉은 홍색을 띄는 분홍색을 띄게 되는데 이 양을 측정하여 LPS에 의해 생성된 NO의 양을 시료에 들어있는 항산화성분등에 의해 어느 정도 억제를 하는지 측정 하는 방법으로 가장 많이 사용되고 있다[52, 4, 53].

LPS에 의해 유도된 NO 생성은 Griess reagent를 이용하여 측정하였으며, Griess reagent는 5% phosphoric acid(in 1% sulfanilamide)와 0.1%(w/v) N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride를 1:1로 혼합하여 조제하였다. RAW264.7(대식세포)를 96 well plate에 각 well당 2×10^4 cells을 분주하여 24 시간 배양하였다. LPS를 400 ng/ml 농도로 모든 well에 처리한 다음 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 제주감귤 과피 추출물을 0.125 mg/ml, 0.250 mg/ml, 0.500 mg/ml, 1.000 mg/ml의 농도로 처리한 후 24시간 배양하여 NO 생성량을 측정하였다. 이 세포의 상등액 100 μ L와 Griess reagent를 100 μ L를 첨가한 후 10분간 상온에서 반응시킨 다음 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다[39,47]. NO 생성량은 sodium nitrite를 표준물질로 얻은 표준곡선(Fig. 5)을 이용하여 NO의 함유량을 계산하였다.

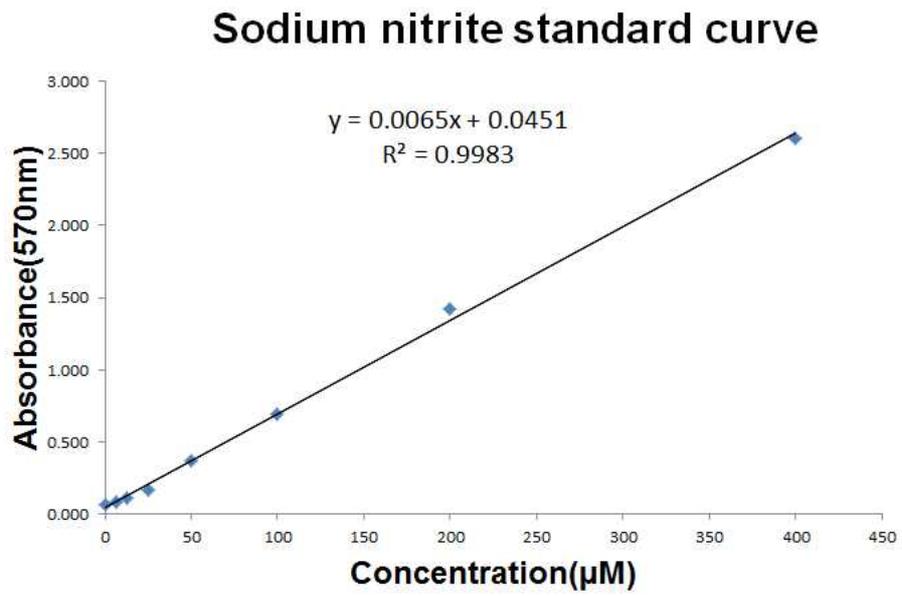


Figure 5. Standard curves for determination of Sodium nitrite compound



사. 항균활성 분석

1) 사용균주 및 균주배양

가) 균주

항균실험에 사용된 균주는 피부와 밀접한 관련이 있는 균주들로 황색포도상구균인 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*) ATCC 29213, 표피 포도상구균인 *Staphylococcus epidermidis*(*S. epidermidis*) KCCM 35494과 대장균으로 *Escherichia coli*(*E. coli*) 및 항진균인 *Candida albicans*(*C. albicans*)는 전남대학교 치의학전문대학원 구강미생물학교실에서 보관중인 균을 사용 하였다.

나) 배지 및 균주의 배양조건

항균실험에 사용된 균의 배지로는 DIFCO사의 제품을 사용하였으며, *Staphylococcus aureus*는 brain heart infusion (BHI, Difco, USA), *Staphylococcus epidermidis*와 *Escherichia coli*는 luria bertani(LB, Difco, USA) 액체배지를 사용하였으며 *Candida albians*는 yeast malt(YM, Difco, USA) 액체배지를 사용하였다. 그리고 균주를 보존하고 항균력 실험을 위한 고체 배지로는 *Staphylococcus aureus*는 brain heart infusion agar(BHIA, Difco, USA), *Staphylococcus epidermidis*와 *Escherichia coli*는 Luria Bertani agar (LBA, Difco, USA)를 사용하였다. 그리고 *Candida albians*는 yeast malt agar (YMA, Difco, USA)를 사용하였으며 Table 1[54]에 나타내었다. 각각의 배지는 제조사에서 지시하는 데로 잘 희석한 후 고압증기 멸균기에서 고압 멸균하여 사용하였으며, 동결 건조된 균의 사용은 진탕배양기에 (Forma scientific Co. USA)서 24시간 배양 후 사용하였다.



Table 1. Microorganism and media used for antimicrobial experiments

Microorganism	Media	Remarks
<i>Staphylococcus aureus</i>	BHI ^{a)} , BHIA ^{b)}	Gram positive
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	LB ^{c)} , LBA ^{d)}	Gram positive
<i>Escherichia coli</i>		Gram negative
<i>Candida albians</i>	YM ^{e)} , YMA ^{f)}	Yeast

^{a)}BHI; brain heart infusion, ^{b)}BHIA; brain heart infusion agar, ^{c)}LB; luria bertani, ^{d)}LBA; luria bertani agar, ^{e)}YM; yeast malt, ^{f)}YMA; yeast malt agar

2) Paper disc법을 이용한 항균활성 측정

각각의 추출물에 대한 항균활성을 위한 균주들은 각각 37℃ 배양기에 배양하면서 실험에 사용하였다. 항균력을 위하여 배양된 균주는 액체배지에서 1×10^7 CFU/mL가 될 수 있도록 농도를 조절하여서 사용하였다. 이를 agar plate위에 50 µL를 분주하여 도달한 다음 7.5 mg/disc ~ 25 mg/disc의 농도에 따른 추출물을 paper disc에 50 µL의 시료를 흡수시켜 건조한 paper disc를 배지표면위에 잘 밀착시켜 올려놓은 후 배양기(Forma Scientific Co. USA)에서 24시간 배양 후 paper disc주위에 형성된 clear zone의 지름을 측정하였다. 대조군으로 추출물을 용해한 용매 때문에 나타나는 항균력이 아니라는 것을 증명하기 위하여 추출물의 용매인 증류수를 사용하여 동일한 방법으로 실험하여 비교하였으며, 항산화활성 실험을 위하여 대조군으로 사용하였던 L-ascorbic acid, 그리고 positive control로는 박테리아 감염치료에



사용되는 항생제로 알려진 gentamycin을 사용 하였다. 항균효과는 paper disc(8mm)를 포함하여 clear zone(생육저해환)의 지름을 측정하여 평가 하였으며 각 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다[54,55].

3) 최소 저해농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 측정

각각의 추출물에 대한 MIC 측정은 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* 그리고 *C. albicans*에 대하여 항균 · 항진균 활성을 나타내는데 있어서 각각의 추출물의 가장 낮은 농도 즉, 추출물의 최소 농도를 찾기 위하여 2.5 mg/disc~25 mg/disc의 각 단계별로 세분화 하여 paper disc법을 이용하여 측정 하였다. 각각의 균주들을 계대배양한 후 1×10^7 CFU/mL가 되도록 희석하여 이를 agar plate위에 50 μ L를 분주하여 도달한 다음 각각의 농도에 따른 추출물을 paper disc에 50 μ L의 시료를 흡수시켜 건조한 paper disc를 배지표면 위에 잘 밀착시켜 올려놓은 다음 배양기에서 24시간 배양 하여 paper disc 주위에 형성된 clear zone(생육저해환)이 더 이상 생성되지 않는 농도를 항균활성이 나타나는 최소의 농도를 찾기 위해서 MIC를 평가 하였다.

아. 성분분석

1) GC/MS에 의한 성분분석

성분 분석을 위해 각각의 추출물을 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여 2000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 회수하여 GC/MS-QP-2010 Ultra(Shimadzu Co., Japan)를 이용하여 분석하였다. 분석 방법은 DB-5MS(5% 페닐 메틸 실록산) 모세관 컬럼 30.0 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m가 장착된 Shimadzu GC-2010(GC)에 주입하였다. 분석조건은 컬럼 오븐온도는 초기에 40 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 프로그래밍하고 이어서 10 $^{\circ}$ C/min으로 150 $^{\circ}$ C로 증가시킨 다음 5 $^{\circ}$ C/min으로 280 $^{\circ}$ C까지 승온을 시킨 후 47분 동안 등온으로 유지 시켰다. MS



는 70eV에서 작동 하였으며, 분석조건은 Table 2.에 나타내었다.

Table 2. The analytical condition of HPLC for GC/MS operating

Iteme	Condition
Column	: Rxi-5ms (30 m×0.25 mm I.D, 0.25 μ m film thickness)
Carrier gas	: He 1.0 mL/min
Injection mode	: Split ratio (3:1)
Temperature information	
GC Column temp.	: 40°C
Oven temp. program	: 40°C (5min) to 150°C (1min) at 10°C/min to 280°C (47min) at 5°C/min
MS Ion source temp.	: 260°C
Interface temp.	: 260°C
Oven temp.	: 60°C (30min)
Solvent cut time	: 12min
Injection Injection temp.	: 250°C
Ionization method	: EI
Ionization voltage	: 70 eV
Injection volume	: 1.0 mL



2) 유기산 분석

각각의 시료 2.0 g을 cap이 있는 유리 시험관에 넣어 증류수 20 mL를 넣어 80°C 이상의 온도로 맞춘 항온수조에서 4시간 동안 교반하여 추출한 후 micro membrane filter(0.45 μ m)를 이용하여 여과하여 분석에 사용하였다. 유기산 분석은 Prominence HPLC(Shimadzu Co., Japan)을 사용하여 분석하였으며 분석 조건은 Table 3.에 나타내었다. 그리고 유기산 함량을 정량하기 위한 표준물질로는 citric, tartaric, succinic, lactic, formic, acetic acid(Sigma, Supelco, USA)를 사용하여 검량선을 작성하여 계산 하였으며 Figure 6, Figure 7에 나타내었다.

Table 3. The analytical condition of HPLC for organic acid

Iteme	Condition
Column	Two Shim-pack SCR-102H (300×8.0 mm)
Guard column	Shim-pack Guard Column SCR-102H (50×6.0 mm)
Mobile phase	4 mM <i>p</i> -toluenesulfonic acid
Oven temp.	40°C
Flow rate	0.7 mL/min
Reaction reagent	16 mM Bis-Tris aqueous solution containing 4 mM <i>p</i> -toluenesulfonic acid and 100 μ M EDTA
Detection	Electroconductivity
Injection Volume	20 μ L

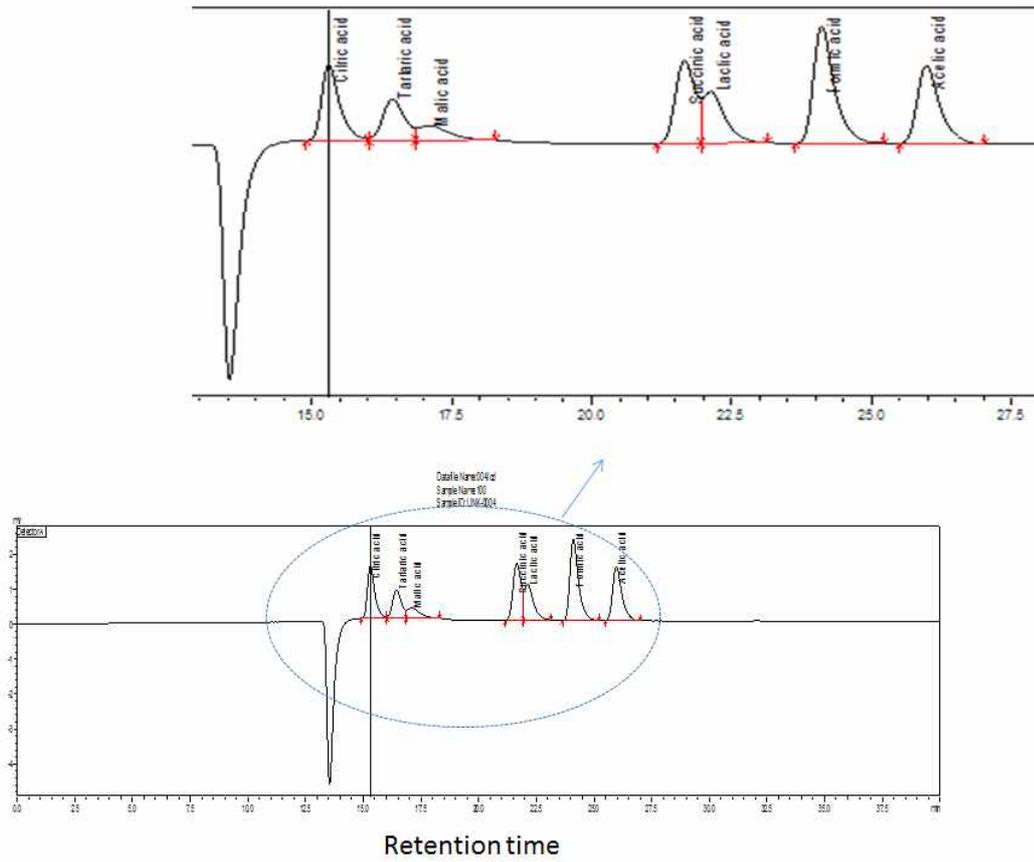
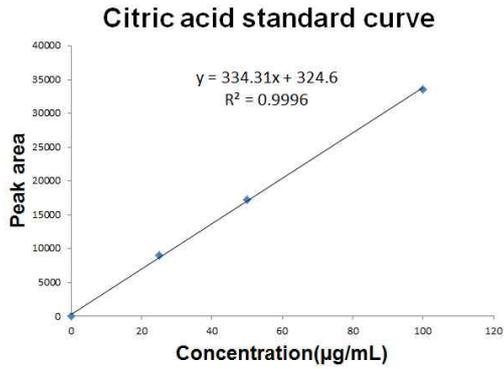
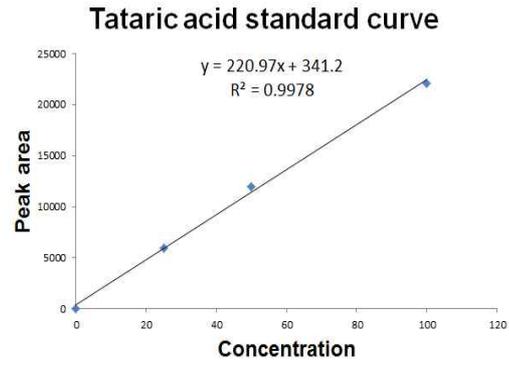


Figure 6. HPLC chromatograms of citric acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid, lactic acid, formic acid and acetic acid

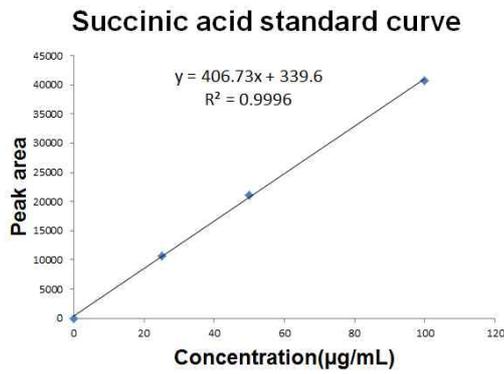
A



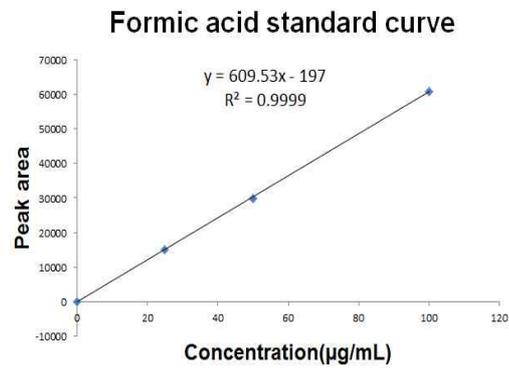
B



C



D



E

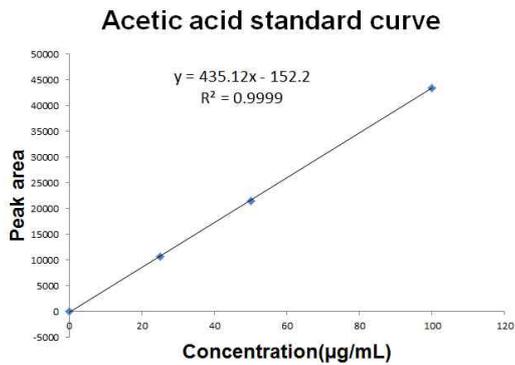


Figure 7. Standard calibration curves of citric acid (A), tartaric acid (B), succinic acid (C), formic acid (D) and acetic acid (E)



2) 아미노산 분석

가) 구성아미노산 분석조건

각각의 시료 0.1 g을 18 mL test tube에 칭량하여 6 N HCl 5 ml를 가하여 감압 밀봉(질소가스 충전)한 후 110°C로 setting된 heating block에 24시간 이상 동안 가수분해 시켰다. 가수분해가 끝난 시료는 50°C에서 rotary evaporater를 이용하여 산을 제거한 후 sodium dilution buffer로 10 ml 정용한 다음, 이중 1 ml를 취하여 micro membrane filter(0.2 μ m)로 여과하여 분석에 사용하였다. 구성 아미노산 분석을 위하여 아미노산 자동분석기(S433-H, Sykam GmbH, Germany, Munich)를 이용하여 정량분석 하였으며 분석 조건은 Table 4.에 나타내었다.

Table 4. The analytical condition of total amino acid auto-analyzer

Item	Condition
Column	Cation separation column (LCA K06/Na)
Column size	4.6 \times 150 mm
Column temperature	57 ~ 74°C
Flow rate	Buffer 0.45 ml/min, reagent 0.25 ml/min
Buffer pH range	3.45 ~ 10.85
Wavelength	fluorescence spectrophotometer (440 nm and 570 nm)



나) 유리 아미노산 분석조건

유리 아미노산에 대한 측정은 Ohara,와 Ariyoshi[56]의 방법을 응용하여 분석하였다. 각각의 시료 2g을 칭량하고 증류수 20 ml을 가하여 30℃에서 130 rpm으로 1시간동안 추출하였다. 추출이 끝난 시료는 rotary evaporater로 감압농축하여 증류수를 제거 한 후 lithium citrate buffer(0.12 N, pH 2.2) 10 ml로 정용하였다. 정용 후 sulfosalicylic acid 0.2 g을 첨가 하여 4℃에서 1시간 방치하였다. 방치가 끝난 시료는 0.2 μ m membrane filter로 여과하고 이중 1 ml을 lithium citrate buffer(0.12 N, pH 2.2)와 혼합하여 적절한 농도로 희석한 후 그중 1ml을 취하여 분석에 사용 하였다. 유리 아미노산 분석을 위하여 아미노산 자동분석기 automated amino acid analyzer(S433-H, Sykam GmbH, Germany, Munich)를 이용하여 정량분석 하였으며 분석 조건은 Table 5.에 나타내었다.

Table 5. The analytical condition of free amino acid auto-analyzer

Iteme	Condition
Column	Cation separation column (LCA K07/Li)
Column size	4.6 \times 150 mm
Column temperature	37 ~ 74℃
Flow rate	Buffer 0.45 ml/min, reagent 0.25 ml/min
Buffer pH range	2.90 ~ 7.95
Wavelength	440 nm and 570 nm



자. 통계분석

본 연구의 실험 결과는 Microsoft office excel 2010과 SigmaPlot 10.0 프로그램을 이용하여 분석하였으며 평균값(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었다. 그리고 표준물질을 이용한 검량선식은 선형회귀분석(linear regression analysis)을 이용하여 분석하였다.

4. 결과 및 고찰

가. 항산화 활성 평가

1) 수율

제주조릿대 잎은 증류수와 70%(v/v) 에탄올 용액에서 95℃와 25℃의 실온에서 추출하였다. 각각 50 g씩 향온기와 교반기를 이용하여 추출하고 감압농축 후 감압여과 후 동결 건조한 분말을 계산하여 Table 6과 Figure 8에 표시하였다. 열수 추출물과 에탄올 추출물의 수율은 각각 $6.31 \pm 1.42\%$ 와 $4.46 \pm 0.84\%$ 가 된 것을 알 수 있었다. 에탄올 추출물에서 보다 열수 추출물에서 더 많은 수율을 보였으며 이는 에탄올 추출물에서 온도를 가하지 않고 실온에서 추출하였기 때문이라고 생각되어지며 추출 수율을 높이기 위해서는 온도를 높여 추출 할 필요가 있었으나 본 실험에서는 열수 추출과 실온에서 에탄올 추출물에 대한 연구를 하고자 하여 수율은 낮지만 실온에서 추출하여 사용 하였다. Park[18]의 조릿대 잎의 연구에서 보면 열수추출과 에탄올 추출물 모두 100℃의 열을 가하여 추출하였을 때 각각 8.5%, 11.4%의 수율을 나타낸 것을 알 수 있다. 에탄올 추출물과 같은 경우는 열을 가했을 때의 열수 추출물의 수율보다 에탄올 추출물의 수율이 월등하게 많이 나올 것을 예측 알 수 있으며 제주조릿대 잎의 수율이 전반적으로 조금 낮게 나타난 것을 알 수 있다

유자, 탕자 및 귤 과피는 건조시킨 후의 건조 과피 100 g과 원료무게 10배의 증류수와 70% 에탄올을 가하여 열수 추출물은 50℃ 향온기에서 추출하였으며 에탄올 추출물은 50℃의 교반기에서 20h 추출하여 감압 농축하여 감압여과 후 동결건조 분말로 만들어서 사용하였다. 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 유자 과피는 각각 25.82%, 26.3%, 탕자 과피는 각각 37.3%, 20.21%, 귤 과피는 각각 27.14%, 21.4%로 나왔다. 유자 과피에서는 에탄올 추출물에서 더 높게 나왔으며, 탕자 과피와 귤 과피는 열수 추출물에서 더 높은 수율을 나타냈으며 전체적으로 보았을 때는 탕자 과피의 열수 추출물에서 가장 높게 나왔음



을 알 수 있다. Shin 등[57]의 연구에서 고흥유자 과피의 열수 추출물의 수율이 12.6%로 나온 것과 비교하였을 때 본 연구에서 훨씬 높은 수율을 나타낸 것을 알 수 있다. 그리고 Hyon[58]의 제주산 온주밀감과 당유자과피의 열수 추출물의 추출수율이 $30.7 \pm 1.2\%$, $47.7 \pm 1.5\%$ 로 나왔으며, Kim[59]의 연구에서 제주 감귤 과피의 추출물수율이 열수 추출물이 30.78%, 70%에탄올 추출물이 44.0%로 본 연구에서보다 높게 나왔으며 에탄올 추출물에서 더 높게 나온 것을 알 수 있었으나 Hyon[58]과 Kim[59]의 연구에서의 추출방법은 감귤 과피를 채취 후 바로 동결건조 하여 그 동결 건조한 것을 분쇄해서 추출하는 등의 추출과정과 방법이 다르기 때문인 것으로 사료된다.

2) Polyphenol 함량

추출물속에 함유되어 있는 Folin-reagent가 polyphenol 성분에 의해 몰리브덴청색으로 환원이 되는 원리에 의한 실험결과는 Table 6과 Figure 8에 나타났다. 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 에탄올 추출물은 각각 26.6 mgGAE/g, 22.3 mgGAE/g으로 열수 추출물이 조금 더 높게 나타난 것을 알 수 있었다. 유자 과피에서는 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 10.8 ± 0.00 mgGAE/g과 6.1 ± 0.01 mgGAE/g로 열수 추출물에서 더 높게 나왔으며 탕자 과피에서는 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 9.1 ± 0.01 mgGAE/g, 14.2 ± 0.01 mgGAE/g로 에탄올 추출물에서 더 높게 나타났다. 귤 과피 역시 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 10.1 ± 0.00 mgGAE/g과 26.3 ± 0.01 mgGAE/g로 에탄올 추출물이 더 높게 나타났다. 감귤계 과피는 전체적으로 보았을 때 귤 과피가 26.3 ± 0.01 mgGAE/g로 가장 높게 나타난 것을 알 수가 있다[22, 32].

Park[19]의 연구에서 제주조릿대 잎의 polyphenol함량 12.81~15.98 mg/g보다는 많은 양이었으며, Song 등[33]의 제주조릿대 잎의 41.27~41.46 mg/g보다는 적은 양이었으나 이는 추출부위나 추출 방법 등에 따라서 약간의 차이가 있을 수도 있으며 또한 추출물을 녹이는 용매, 온도 등 여러 가지 요인에 따른 차이 등이 있을 것으로 사료된다 [32]. 유자 과피와 같은 경우는 서울대 농림부 연구 보고서[60]에서 완도 유자 과피 294.3 ± 0.1 mgGAE/100g 으로 본 연구에서 더 많은 함량으로 나타났으며, 탕자



과피와 같은 경우는 Park[26]의 탱자 과피에서의 33.75 ± 1.15 mg/100g보다 많은 함량이 나온 것을 알 수 있다. 그러나 Jeon 등[61]의 탱자 에탄올 추출물에서는 청 탱자에서 53.38 ± 1.94 mg/g로 가장 높게 나온 것과 비교하여 볼 때에는 낮게 나왔음을 알 수 있었다. 귤 과피와 같은 경우는 Park 등[5]의 연구결과에서 에탄올 추출물에서 한라봉이 $23.497 \sim 42.341$ mg/g, 진지향이 42.341 mg/g을 나타낸 것과 비교 하였을 때 한라봉과 비슷한 함량으로 나왔다고 볼 수 있다[22]. 전체적으로 보았을 때는 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 제주감귤 과피의 에탄올 추출물에서 가장 많은 함량이 나온 것을 알 수 있었다.

3) Tannin 함량

Tannin 함량 역시 polyphenol 함량 측정과 동일한 방법으로 측정한 결과 Table 6에서 보면 제주조릿대 잎은 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 72.2 mgTAE/g, 61.5 mgTAE/g으로 열수 추출물에서 더 많은 함량으로 나왔으며, 유자 과피에서는 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 12.9 ± 0.02 mgTAE/g, 8.2 ± 0.02 mgTAE/g로 역시 열수 추출물에서 높게 나타났으며, 탱자 과피에서는 에탄올 추출물이 16.3 ± 0.01 mgTAE/g으로 열수 추출물의 11.1 ± 0.02 mgTAE/g보다 더 높게 나타났다. 그리고 귤 과피 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 12.2 ± 0.01 mgTAE/g, $28.4 \pm$ mgTAE/g으로 에탄올 추출물에서 훨씬 더 높게 나타났음을 알 수 있다. 보통의 감귤계 연구들에서 tannin 함량 보다는 flavonoid 함량을 강조한 것을 보았을 때 유자, 탱자 및 귤 과피 추출물 모두 tannin 함량이 더 높게 나온 것을 알 수 있다[22, 32].

Park 등[18]의 조릿대 에탄올 추출물에서 18.36 mg/g보다는 제주조릿대 잎의 tannin 함량이 훨씬 많은 양을 함유하는 것으로 나타났다. 그리고 Lee 등[62]의 연구에서 녹차의 tannin 함량이 상급차가 12.70%, 중급차가 10.36%를 보였으며, Park 등[63]의 산머루 tannin 함량은 40°C 증류수에서 24시간 추출하였을 경우 5.60 ± 0.09 mg/mL의 함량을 보였으며, Yoo 등[64]의 연구에서 산수유 꽃 추출물의 tannin 함량을 보면 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 56.58 ± 0.43 mgTAE/g, 에서 67.20 ± 0.47 mgTAE/g의 함량을 보였다. 이와 같이 선행 연구들



에서 추출물과 추출방법들은 다르지만 이들과 비교하였을 때도 제주조릿대 잎 추출물과 같은 경우는 절대 뒤지지 않는 함량을 나타낸 것을 알 수 있다.

4) Flavonoid 함량

Flavonoid는 식물에 합성어 존재하는 폴리페놀 성분의 가장 큰 부분을 나타내며, 생체 내에서 산화하는 기능을 억제시키는 작용을 하는 성분으로 항산화력을 나타내는 지표라고 할 수 있다[14]. 그리고 flavonoid는 관속식물 등의 식물에 함유되어 있으며, 황색의 항산화물질로 이루어져있는 화합물로서[65] 강한 산화제와 접촉했을 때 flavonoid를 함유한 추출물이 황색으로 변하는 원리를 이용하여 실험하여 측정한 결과 Table 6, Figure 8에 나타내었다. 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 17.8 mgQE/g, 70%이 25.4 mgQE/g으로 에탄올 추출물에서 조금 더 높게 나온 것을 알 수 있었다. 이는 Song등[33]의 조릿대 잎 추출물에서 21.45~29.49 mg/g 보다는 약간 낮은 함유량 이기는 하지만 비슷하게 나타났다고 할 수 있다. 그리고 유자 과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 각각 2.9 ± 0.00 mgQE/g, 8.0 ± 0.00 mgQE/g으로 열수 추출물에서 더 많은 함량이 나왔으며, 탕자 과피에서는 에탄올 추출물과 열수 추출물에서 동일하게 9.2 ± 0.00 mgQE/g으로 나왔다. 반면에 귤 과피는 에탄올 추출물에서 8.4 ± 0.00 mgQE/g보다 열수 추출물에서 11.7 ± 0.00 mgQE/g으로 더 높게 나타났다. Jeon 등[61]의 연구에서 탕자 에탄올 추출물에서는 청 탕자 에서 27.82 ± 1.54 mg/g과 비교 하였을 때는 본 연구에서의 함량이 많이 낮게 나왔음을 알 수 있었으나 Park[26]의 연구에서 보면 유자 과피 75 ± 1.13 mg/100g과 탕자 과피 60.75 ± 1.15 mg/g과 비교 하였을 때는 비교적 높은 함량이 나왔음을 알 수 있었다. 그리고 귤과 같은 경우는 Kim[66]의 연구에서 제주산 감귤의 flavonoid함량이 11월 하순의 사두감에서 14.68 mg/g의 함량으로 나타났으며 본 연구에서와 비슷한 시기의 제주 감귤로 본 연구보다는 높게 나왔으나 열수 추출물과 비교하였을 때는 유사한 수준의 함량이 나왔음을 알 수 있었다.



Table 6. Total polyphenol contents, total tannin acid and flavonoid contents of *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus junos* peels, *Poncirus trifoliata* peels and *Jeju citrus* peels presented as mean±S.D.

Groups	Yield (%) ^{a)}	Polyphenol (mgGAE/g) ^{b)}	Tannin acid (mgTAE/g) ^{c)}	Flavonoid (mgQE/g) ^{d)}	
SQL ^{e)}	W ⁱ⁾	6.31	26.6±0.06	72.1±0.09	17.8±0.00
	E ^{j)}	4.46	22.3±0.04	61.2±0.03	25.4±0.01
CJP ^{f)}	W ⁱ⁾	25.82	10.8±0.00	12.9±0.02	2.9±0.00
	E ^{j)}	26.3	6.1±0.00	8.2±0.01	8.0±0.00
PTP ^{g)}	W ⁱ⁾	37.3	9.0±0.00	11.1±0.02	9.2±0.00
	E ^{j)}	20.21	14.2±0.00	16.3±0.01	9.2±0.00
JCP ^{h)}	W ⁱ⁾	27.14	10.1±0.00	12.2±0.01	11.7±0.00
	E ^{j)}	21.4	26.3±0.00	28.4±0.01	8.4±0.00

^{a)}%; w/w of 50g dry sample, ^{b)}GAE; gallic acid equivalent, ^{c)}TAE; tannin acid equivalent, ^{d)}QE; quercetin equivalent, ^{e)}SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves, ^{f)}CJP; *Citrus junos* peels, ^{g)}PTP; *Poncirus trifoliata* peels, ^{h)}JCP; *Jeju citrus* peels, ⁱ⁾W; water extracts ^{j)}E; ethanol extracts



5) Sugar 함량과 vitamin C 및 pH

가) Sugar 함량

총 당의 함량측정 결과를 Table 7에 나타내었다. 제주조릿대 잎 추출물에서는 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 8.8 ± 0.06 Brix, 7.8 ± 0.00 Brix로 열수 추출물에서 약간 더 높게 나왔으며, 유자 과피는 각각 9.8 ± 0.25 Brix, 8.5 ± 0.06 Brix로 열수 추출물이 당도가 더 높게 나왔음을 알 수 있었다. 그리고 탕자 과피 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 10.5 ± 0.06 Brix, 10.2 ± 0.15 Brix로 많은 차이는 없으나 열수 추출물이 더 당도가 높은 것을 알 수 있으며. 제주감귤 과피 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 9.7 ± 0.00 Brix로 동일한 당도를 나타냈음을 확인할 수 있었다. 당도는 탕자>귤>유자>제주조릿대 잎으로 탕자의 당도가 가장 높았음을 알 수 있었다. Kim[66]의 제주산 감귤 중 9월 하순부터 1월 하순까지의 병귤, 진귤 및 안창귤의 당도는 각각 7.34 Brix, 9.84 Brix, 9.37 Brix를 보이다가 점점 증가하다가 2월 하순에는 약간 떨어지는 것으로 나왔는데 수확시기에 따라서 당도가 달라질 수 있다는 것을 알 수 있다. 그리고 Ryn 등[67]의 과일의 당의 함량에 관한 연구에서 과일의 당도를 높은 순서대로 살펴보면 사과 14.4 ± 1.06 Brix, 귤 10.75 ± 1.08 Brix, 포도 13.46 ± 0.84 Brix, 복숭아 10.41 ± 0.40 Brix, 수박 10.34 ± 0.40 Brix, 배 10.31 ± 1.42 Brix, 감 12.93 ± 1.88 Brix, 참외 12.33 ± 0.67 Brix로 나타났으며, 여기에서 귤과 비교하였을 때 본 연구에서 약간 낮게 나왔으나 이는 추출물의 농도에 따른 차이와 측정 시 추출물의 농도에 따른 차이가 있을 것으로 판단된다.

나) Vitamin C 함량

vitamin C는 collagen을 합성하는데 있어서 필수적인 요소로 혈액 응고에 관여 하며 부족하였을 경우 collagen의 합성이 차단되어 출혈과 감염 그리고 뼈가 약해지는 등의 괴혈병 증상이 나타난다. 이러한 collagen을 합성하는 효소로는 Fe^{2+} 이온과 느슨하게 결합한 상태로 있어야만 활성형의 효소로 작용하는데 산화되어 Fe^{3+} 이온으로 변하게 되면 활성이 없어지게 된다. ascorbic acid(Vc)는



Fe^{3+} 이온들을 Fe^{2+} 이온들로 환원시켜서 효소 성분의 -SH기를 환원의 상태로 유지시켜주는 기능이 있어서 collagen의 합성에 조효소(coenzyme)로서 도와주는 역할을 한다. 이와 같이 vitamin C는 강력한 환원력을 가지는 물질로서 collagen 합성을 도와주며, 산화와 환원의 반응이 개입되는 생명 현상에 vitamin C가 필요함을 알 수가 있다[68].

유자, 탕자 및 제주감귤 과피 추출물의 총 vitamin C의 함량은 Table 7과 Figure 8에 나타내었다. 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 각각 14.1 ± 0.01 mgAA/g, 12.0 ± 0.03 mgAA/g으로 열수 추출물에서 더 많은 함량으로 나왔으며, 유자 과피는 각각 15.1 ± 0.03 mgAA/g, 15.3 ± 0.04 mgAA/g로 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 비슷한 함량으로 나왔음을 알 수 있었다. 그리고 탕자 과피는 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 16.2 ± 0.01 mgAA/g, 17.8 ± 0.02 mgAA/g으로 많은 차이는 없으나 에탄올 추출물에서 약간 더 많은 함량이 나왔음을 알 수 있다. 또한 제주감귤 과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 각각 20.7 ± 0.04 mgAA/g, 15.7 ± 0.08 mgAA/g로 열수 추출물에서 훨씬 많은 함유량을 나타내는 것을 알 수 있었으며 함량의 순서는 귤 과피 열수 > 탕자 과피 에탄올 > 탕자 과피 열수 > 귤 과피 에탄올 > 유자 과피 에탄올 > 유자 과피 열수 > 제주조릿대 잎 열수 > 제주조릿대 잎 에탄올 순서로 귤과피의 열수 추출물에서 가장 높은 함유량을 나타냈다.

같은 방법으로 실험한 Ji등[47]의 연구에서 들깨잎의 vitamin C의 함량은 17.0 ± 0.5 mgAA/g 이었으며, 같은 방법은 아니지만 Park등[69]의 대추의 품종별 성숙시기별로 vitamin C의 함량으로는 930.67 mg/100g~2540.0 mg/100g의 범위로 나왔으며, Lee[70]의 건여주의 vitamin C 함량은 908.84 mg/100g으로 본 연구와 유사한 양의 함량으로 유자 및 탕자, 귤 과피의 vitamin C 함량은 비교적 높은 것을 알 수 있었다. 또한 Lee[71]의 제주산감귤에서 과육의 vitamin C 함량은 금귤에서 47.5~56.1 mg%로 나온 것을 알 수 있었다. 그리고 Lee등[72]의 HPLC를 이용한 과일 껍질의 vitamin C 함량을 보면 포도껍질이 0.12 mg/g, 귤 4.60 mg/g, 오렌지 2.27 mg/g, 참외 2.16 mg/g등으로 나왔으며 11종의 과피에서 vitamin C의 함량 순위를 보면 귤 > 그린키위 > 오렌지 > 참외 > 골드키위 > 사과 > 자두 > 배 > 복숭아 > 바나나 > 포도 순으로 나왔으며 추출



에서부터 실험방법 등이 다르기는 하지만 많은 과일과 비교하였을 때 귤과피의 vitamin C의 함량이 가장 높은 것을 보았을 때 본 연구에서 귤과피의 열수 추출물에서 가장 높은 함유량을 보인 것과 유사함을 알 수 있었다.

다) pH 분석

pH 측정 결과를 Table 7에서 보면 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 에탄올 추출물은 6.1 ± 0.01 와 6.31 ± 0.01 로 약산성을 나타내었으며, 유자 과피는 각각 3.51 ± 0.01 , 3.44 ± 0.01 , 탕자 과피 추출물에서는 각각 3.14 ± 0.01 , 3.07 ± 0.06 , 귤 과피 추출물에서는 각각 4.47 ± 0.02 , 4.61 ± 0.01 임을 알 수 있었다. 모두 약산성을 나타내고 있으며 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 귤 과피 중에서 제주조릿대 잎의 pH가 중성인 pH7에 가까운 것을 알 수 있었다. Kim[66]의 제주산 감귤의 수확시기별 pH는 전체적으로 pH 2.55 ~ 4.10의 범위로 성숙 될수록 변화의 폭은 크지 않으나 약간 증가하는 것으로 보았을 때 수확시기에 따라 약간의 차이가 있을 수 있음을 알 수 있다. Ryn 등[67]의 과일의 혈당지수에 관한 연구에서 pH가 높은 순서대로 살펴보면 감 pH 6.61 ± 0.12 , 수박 pH 5.85 ± 0.09 , 참외 pH 6.01 ± 0.27 , 배 pH 4.63 ± 0.14 , 사과 pH 4.40 ± 0.07 , 복숭아 pH 4.3 ± 0.14 , 귤 pH 3.81 ± 0.07 , 포도 pH 3.71 ± 0.03 로 나타났으며, 이중에 서 귤 과피 같은 경우에는 본 연구에서 귤과피의 pH와 비교하여보았을 때 본 연구에서 약간 높게 나왔는데 이는 추출부위가 과피와 과즙의 차이 및 수확시기에 따른 차이가 있을 것으로 사료된다.

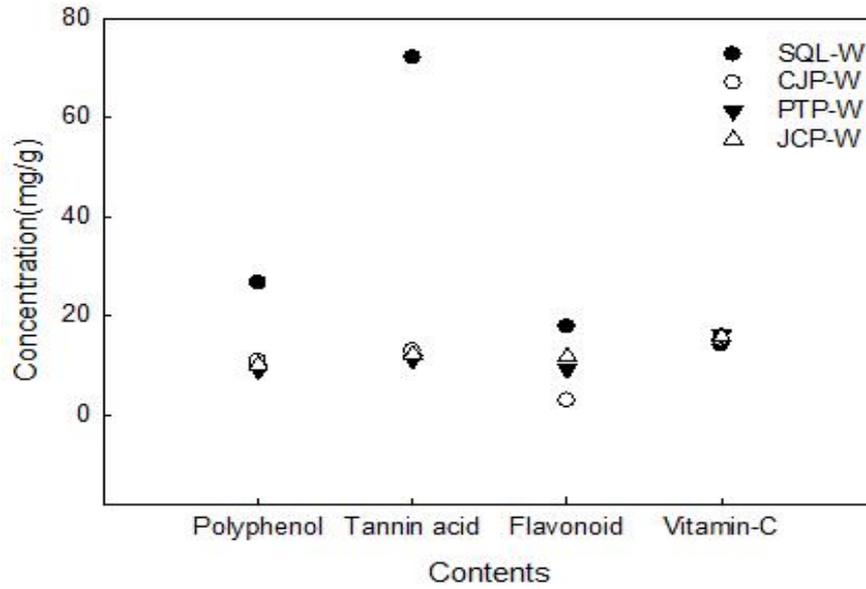


Table 7. Total sugar contents, vitamin C contents and pH of *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts presented as mean±S.D.

Groups		Sugar Brix(%) ^{a)}	Vitamin C (mgAA/g) ^{b)}	pH ^{c)}
SQL ^{d)}	W ^{h)}	8.8±0.06	14.1±0.01	6.1±0.01
	E ⁱ⁾	7.8±0.00	12.0±0.03	6.3±0.01
CJP ^{e)}	W ^{h)}	9.8±0.25	15.1±0.03	3.5±0.01
	E ⁱ⁾	8.5±0.06	15.3±0.04	3.4±0.01
PTP ^{f)}	W ^{h)}	10.5±0.06	16.2±0.01	3.1±0.01
	E ⁱ⁾	10.2±0.15	17.7±0.02	3.1±0.06
JCP ^{g)}	W ^{h)}	9.7±0.00	20.7±0.04	4.5±0.02
	E ⁱ⁾	9.7±0.00	15.7±0.08	4.6±0.01

^{a)}Brix(%); 1Brix=1g/100g, ^{b)}AA; ascorbic acid, ^{c)}pH; hydrogen exponent, ^{d)}SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves, ^{e)}CJP; *Citrus junos* peels, ^{f)}PTP; *Poncirus trifoliata* peels, ^{g)}JCP; *Jeju citrus* peels, ^{h)}W; water extracts ⁱ⁾E; ethanol extracts

A



B

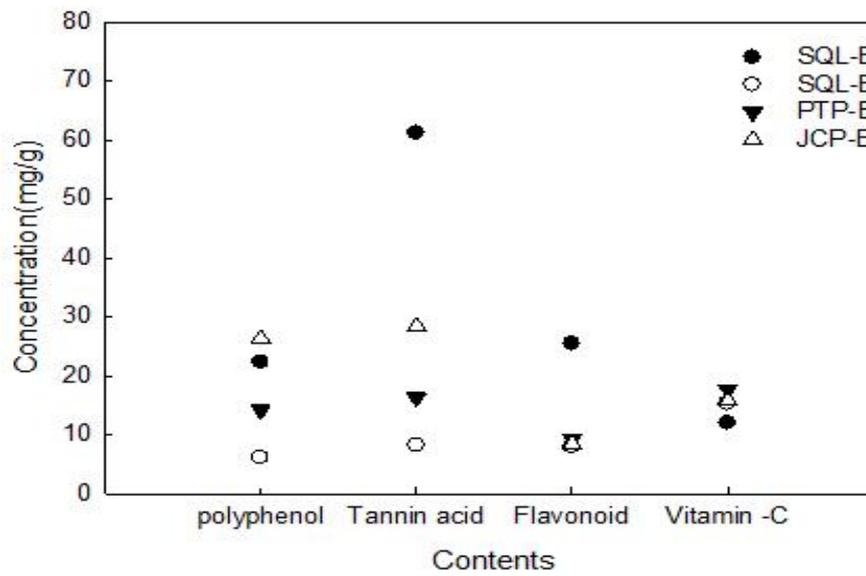


Figure 8. Total phenolic contents, total tannin acid, flavonoid and vitamin C contents of *Sasa quepaertensis* leaves and *Citrus junos* peels, *Poncirus trifoliata* peels and *Jeju citrus* peels. A; water extracts B; ethanol extracts



항산화 성분의 함량을 전체적으로 보았을 때 Figure 8의 A에서 열수 추출물에서는 제주조릿대 잎에서 polyphenol, tannin acid, flavonoid가 가장 높게 나왔음을 알 수 있으며, vitamin C 함량과 같은 경우는 귤 과피 에서 가장 많은 함량이 나왔음을 알 수 있었다. B에서와 같이 에탄올 추출물에서는 tannin acid와 flavonoid는 제주조릿대 잎에서 가장 많은 함량이 나온 것을 알 수 있으며 polyphenol은 제주감귤 과피에서 가장 높게 나왔음을 알 수 있다. 그리고 vitamin C 함량과 같은 경우는 모두 비슷하였으며 제주조릿대 잎이 가장 낮게 나왔음을 알 수가 있다.

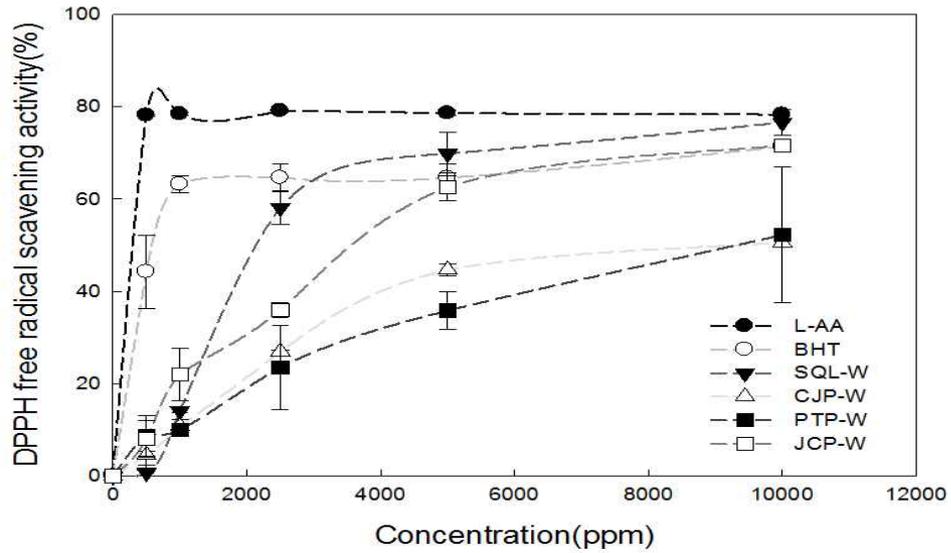
6) DPPH free radical 소거능

DPPH radical 소거능은 반응성이 높은 상태의 활성이 있는 radical에 전자를 주어 radical을 환원시켜서 안정한 형태가 되도록 하는 것이다. 따라서 산화되기 쉬운 지방질등의 산화를 예방하거나 radical에 의해서 노화되는 것을 억제할 수 있도록 하는 것이다[73]. 각각의 추출물을 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm의 농도별로 증류수에 녹여 DPPH radical의 소거능을 측정한 결과를 Fig. 7과 Table 8에 나타내었다. L-ascorbic acid의 IC₅₀값이 77 ppm이었으며, 500 ppm에서 78% 소거율을 보인 후에 농도에 따른 변화는 거의 나타나지 않았다. butylated hydroxytoluene 역시 IC₅₀값이 650 ppm이었으며 농도가 1000 ppm일 때 63.2%의 소거율을 보인 후에 큰 변화는 나타나지 않았다. 제주조릿대 잎의 열수 추출물에서는 IC₅₀값의 2230 ppm이었으며, 에탄올 추출물에서는 IC₅₀값이 2200 ppm에서 50%의 소거율을 보였으며, 2000 ppm이하에서는 큰 변화를 나타내지 않다가 농도가 점차적으로 증가함에 따라서 높은 소거활성을 나타내고 있음을 알 수 있었으며 2000 ppm 이하에서는 70%에탄올 추출물의 소거율이 높게 나타났으며 2000 ppm 이상에서는 95℃열수 추출물에서 소거율이 더욱 높게 나타난 것을 알 수 있었다 [32]. 유자 열수 추출물은 IC₅₀값이 9590 ppm 이었으며, 에탄올 추출물은 실험의 최대농도인 10000 ppm 내에서는 IC₅₀값이 나타나지 않았으며, 탕자의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 IC₅₀값이 각각 9320 ppm , 9560 ppm의 농도에서



나타났으며 유자와 탕자 과피 추출물에서는 소거활성이 조금 낮게 나오기는 하였지만 역시 농도가 점차 증가함에 따라 소거율도 같이 증가 하는 것을 알 수 있었다. 그리고 귤 과피 추출물에서는 IC₅₀값이 열수 추출물에서는 3820 ppm, 에탄올 추출물에서는 6000 ppm에서 나왔다. 제주조릿대 잎과 유자, 탕자, 귤 과피 중에서 제주조릿대 잎이 가장 낮은 농도에서 IC₅₀값이 나왔으며 소거율 또한 1000, 5000, 10000 ppm에서 열수 추출물은 14.1±0.45, 58.1±3.60, 69.8±4.75%, 에탄올 추출물은 21.7±0.84%, 57.2±1.99%, 70.3±3.32%로 농도가 증가함에 따라 가장 높게 나타났으며 특히 열수 추출물에서 더 높게 나타났음을 알 수 있었다. 그리고 감귤계 과피 중에서는 귤 과피의 열수 추출물이 22.1±5.70, 62.6±3.02, 71.5±1.11%, 에탄올 추출물은 14.8±4.08%, 45.2±0.71%, 69.3±0.53%로 농도가 증가함에 따라 가장 높게 나타났으며 특히 열수 추출물에서 더 높게 나타났다. 그리고 유자, 탕자 및 귤 과피 모두 농도가 증가함에 따라 DPPH free radical의 소거율이 증가함을 알 수 있었다. 그러나 결과적으로 보았을 때 Fig. 8에서 보면 항산화 성분 중에서 tannin 함량이 가장 높았던 제주조릿대 잎에서 가장 DPPH radical 소거활성이 높은 경향을 보였으며 그다음은 감귤계 과피 중에서 항산화 성분이 가장 우수했던 제주감귤의 과피에서 DPPH radical 소거활성이 가장 높게 나타난 것을 알 수가 있었다. 그리고 Park의[20] 제주조릿대관련 연구에서 에탄올 추출물에 대하여 최대 1000 ppm에서 농도 의존적인 증가를 이번 연구에서 10000 ppm까지 실험한 결과로 확실하게 알 수 있었다. 또한 본 연구에서 대조군인 L-ascorbic acid의 소거율이 최고농도에서 78~79%가 나온 것을 비교하여 보았을 때, 대부분의 연구에서 DPPH가 흡광도의 최대 흡수를 나타내는 517 nm에서 측정 하였을 경우 90~98%의 소거율이 나왔으며, Park의[74] 연구에서 520 nm에서 측정하여 84.22% 소거율이 나온 것과 비교하였을 때 본 연구에서 조금 낮은 소거율이 나온 것으로 이는 측정방법과 흡광도 파장 등의 영향이 있을 것으로 생각된다.

A



B

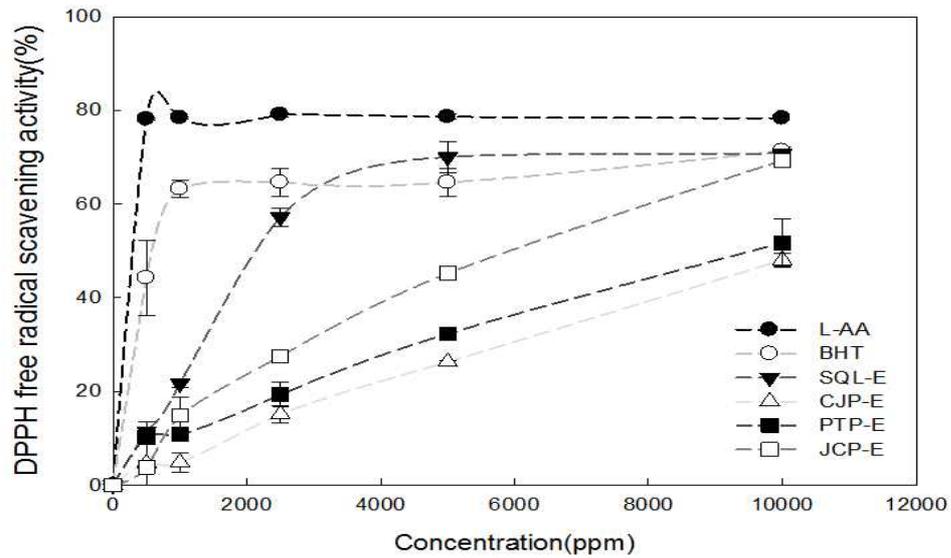


Figure 9. DPPH free radical scavenging effect of extracts from *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts. L-AA; L-ascorbic acid, BHT; butylated hydroxytoluene, SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves, CJP; *Citrus junos* peels PTP; *Poncirus trifoliata* peels JCP; *Jeju citrus* peels, W; water extracts, E; ethanol extracts



Table 8. DPPH radical scavenging activity of extracts from *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts presented as mean±S.D.

Concentration (ppm)	500	1000	2500	5000	10000	IC ₅₀ ^{a)} (ppm)	
L-ascorbic acid	78.1 ±0.29	78.4 ±0.29	79.1 ±0.44	78.6 ±0.60	78.3 ±0.00	77	
BHT ^{b)}	44.2 ±8.03	63.2 ±1.86	64.6 ±3.06	64.6 ±3.06	71.3 ±0.76	650	
SQL ^{c)}	W ^{g)}	0.7 ±4.64	14.1 ±0.45	58.1 ±3.60	69.8 ±4.75	76.9 ±2.87	2220
	E ^{h)}	11.5 ±1.94	21.7 ±0.84	57.2 ±1.99	70.3 ±3.32	70.8 ±0.29	2200
CJP ^{d)}	W ^{g)}	4.5 ±2.16	10.7 ±1.53	26.9 ±0.35	44.6 ±1.28	50.5 ±0.89	9590
	E ^{h)}	4.7 ±4.89	4.8 ±2.04	15.1 ±1.80	26.3 ±0.31	48.5 ±1.57	.
PTP ^{e)}	W ^{g)}	8.7 ±4.30	10.0 ±0.47	23.5 ±9.16	35.8 ±4.14	52.2 ±14.71	9320
	E ^{h)}	10.3 ±1.51	10.9 ±0.64	19.3 ±2.68	32.3 ±0.94	51.7 ±5.06	9560
JCP ^{f)}	W ^{g)}	8.1 ±4.01	22.1 ±5.70	35.9 ±1.62	62.6 ±3.02	71.5 ±1.11	3820
	EE ^{h)}	3.8 ±1.42	14.8 ±4.08	27.5 ±0.71	45.2 ±0.71	69.3 ±0.53	6000

^{a)}IC₅₀; The values indicate 50% decrease of DPPH radical, ^{b)}BHT; butylated hydroxytoluene, ^{c)}SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves, ^{d)}CJP; *Citrus junos* peels, ^{e)}PTP; *Poncirus trifoliata* peels, ^{f)}JCP; *Jeju citrus* peels, ^{g)}W; water extracts, ^{h)}E; ethanol extracts



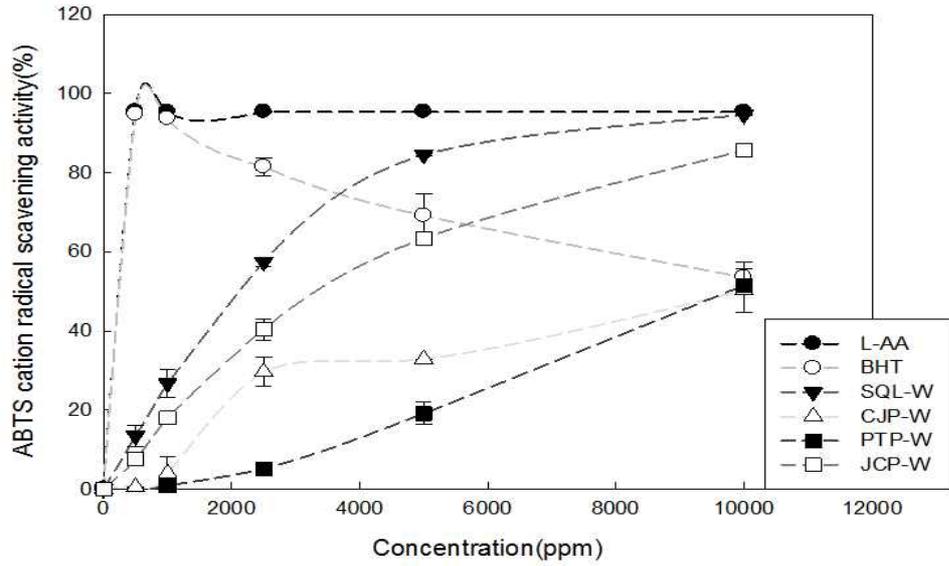
7) ABTS cation radical 소거능

ABTS radical의 소거활성은 DPPH radical의 소거활성과 같은 일종으로 DPPH radical 소거활성은 free radical인데 반해 ABTS radical 소거활성은 cation radical 이라는 점이 다르다고 할 수 있다[33]. 각각의 열수 추출물과 에탄올 추출물을 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm의 농도로 증류수에 용해시켜 ABTS radical의 소거활성 측정 결과를 Figure. 8와 Table 9에 나타냈다. 대조군인 L-ascorbic acid의 IC₅₀값은 200 ppm에서 소거율을 보였으며 500 ppm에서 95% 이상 소거율을 보인 다음 더 이상 증가하지 않고 그대로 유지 하고 있었음을 알 수 있었으며, butylated hydroxytoluene과 같은 경우는 IC₅₀값이 170 ppm에서 50% 이상의 소거율이 나타나는 것을 알 수 있었다. 그러나 DPPH radical 소거활성과는 달리 butylated hydroxytoluene은 L-ascorbic acid와 같이 농도 500 ppm에서 94.8%의 최대 소거를 보인 다음 농도가 증가함에 따라 활성도가 점점 떨어져서 10000 ppm에서는 53.5%까지 낮아지는 것을 알 수 있었다. 그리고 제주조릿대 잎 추출물에서는 낮은 농도에서는 활성도에 많은 영향을 미치지 않았으나 열수 추출은 IC₅₀값이 2140 ppm을 나타내었으며, 70%에탄올 추출물은 IC₅₀값이 2010 ppm으로 열수추출보다는 약간 낮은 농도에서 나타남을 알 수 있었으며 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었다. 그리고 유자, 탕자 및 귤 과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 모두 낮은 농도에서는 ABTS radical의 소거활성에 큰 영향을 미치지 않았으나 농도가 증가함에 따라 소거활성이 증가하는 것을 알 수 있었다. 유자의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 IC₅₀값은 각각 9930 ppm과 8380 ppm에서 50%의 소거율이 나왔으며, 탕자의 열수 추출물에서는 IC₅₀값 9770 ppm에서 나왔으며 탕자 에탄올 추출물에서는 본 실험의 최대농도 내에서 IC₅₀값은 나오지 않았다. 귤 과피 열수 추출물과 에탄올 추출물의 IC₅₀값은 각각 3540 ppm, 3120 ppm에서 나왔으며 DPPH free radical 소거활성에서와 같이 유자, 탕자 및 귤 과피 중에서 귤 과피가 가장 낮은 농도에서 50% 소거율이 나왔으며 전체 소거율 또한 가장 높게 나타남을 알 수 있었다. 결과적으로 보았을 때 Figure 9에서와 같이 가장 ABTS radical의 소거활성이 가장 좋았던 것은 tannin 함량이 가장 많았던 제주조릿대 잎 추출물이었고, 두 번째로는 에



탄을 추출물에서 polyphenol 함량이 가장 높았으며, 열수 추출물에서 비타민 함량이 가장 높았던 제주감귤 과피에서 소거활성이 높게 나온 것을 알 수 있었다. 나머지 유자와 탱자 과피도 농도 의존적인 증가는 알 수 있었지만 특히 탱자 과피의 에탄올 추출물에서는 소거활성이 가장 낮게 나왔음을 알 수 있었다. 그리고 Park[20]의 제주조릿대관련 연구에서 에탄올 추출물에 대하여 최대 1000 ppm에서 농도 의존적인 증가를 이번 연구에서 10000 ppm까지 실험한 결과로 확실한 증가를 확인할 수 있었다.

A



B

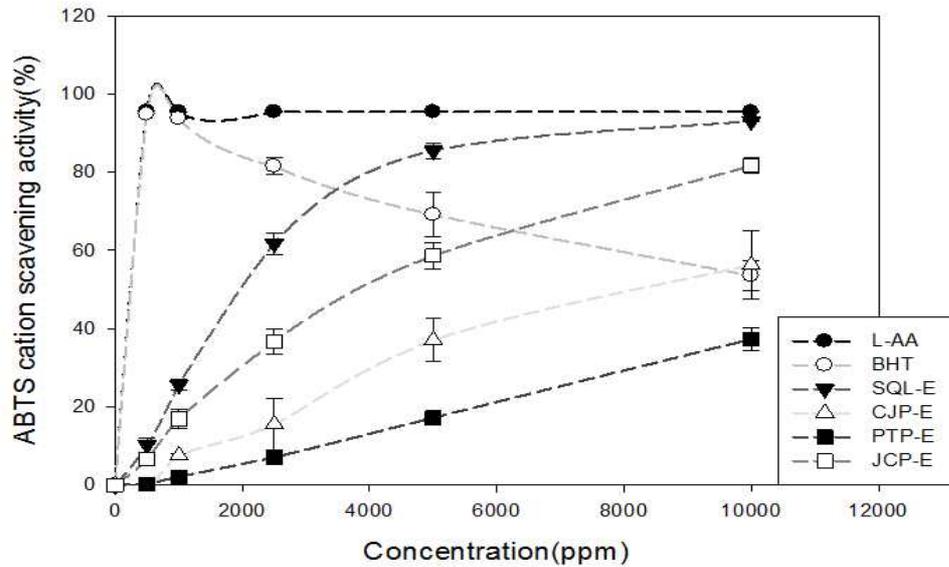


Figure 10. ABTS cation radical scavenging effect of extracts from *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts, L-AA; L-ascorbic acid, BHT; butylated hydroxytoluene, SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves, CJP; *Citrus junos* peels PTP; *Poncirus trifoliata* peels JCP; *Jeju citrus* peels, W; water extracts, E; ethanol extracts



Table 9. ABTS radical scavenging activity of extracts from *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts presented as mean±S.D.

Concentration (ppm)	500	1000	2500	5000	10000	IC ₅₀ ^{a)} (ppm)	
L-ascorbic acid	95.5 ±0.00	95.4 ±0.14	95.4 ±0.14	95.4 ±0.07	95.4 ±0.07	200	
BHT ^{b)}	94.8 ±0.00	93.7 ±0.12	81.5 ±2.22	69.1 ±5.65	53.5 ±3.78	170	
SQL ^{c)}	W ^{g)}	13.4 ±2.61	26.7 ±3.50	57.4 ±1.23	84.5 ±0.30	94.6 ±0.14	2140
	E ^{h)}	10.2 ±1.85	25.6 ±1.40	61.7 ±2.70	85.5 ±1.96	93.0 ±0.12	2010
CJP ^{d)}	W ^{g)}	0.5 ±0.14	4.0 ±4.20	29.6 ±3.70	32.8 ±0.08	50.2 ±5.57	9930
	E ^{h)}	-1.9 ±3.88	7.5 ±0.37	15.5 ±6.72	37.0 ±5.53	56.2 ±8.74	8380
PTP ^{e)}	W ^{g)}	-0.8 ±0.57	0.8 ±1.39	5.1 ±1.34	19.1 ±2.80	51.5 ±1.42	9770
	E ^{h)}	0.3 ±0.73	2.1 ±0.94	7.1 ±1.52	17.2 ±0.98	37.3 ±2.69	.
JCP ^{f)}	W ^{g)}	7.5 ±0.80	18.0 ±0.16	40.4 ±2.67	63.4 ±0.29	85.7 ±1.22	3540
	E ^{h)}	6.6 ±0.28	16.9 ±2.41	36.7 ±3.17	58.6 ±3.36	81.6 ±1.98	3120

^{a)}IC₅₀; The values indicate 50% decrease of DPPH radical, ^{b)}BHT; butylated hydroxytoluene, ^{c)}SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves, ^{d)}CJP; *Citrus junos* peels, ^{e)}PTP; *Poncirus trifoliata* peels, ^{f)}JCP; *Jeju citrus* peels, ^{g)}W; water extracts, ^{h)}E; ethanol extracts



나. 세포생존율 평가

1) MTT assay를 이용한 세포 생존율

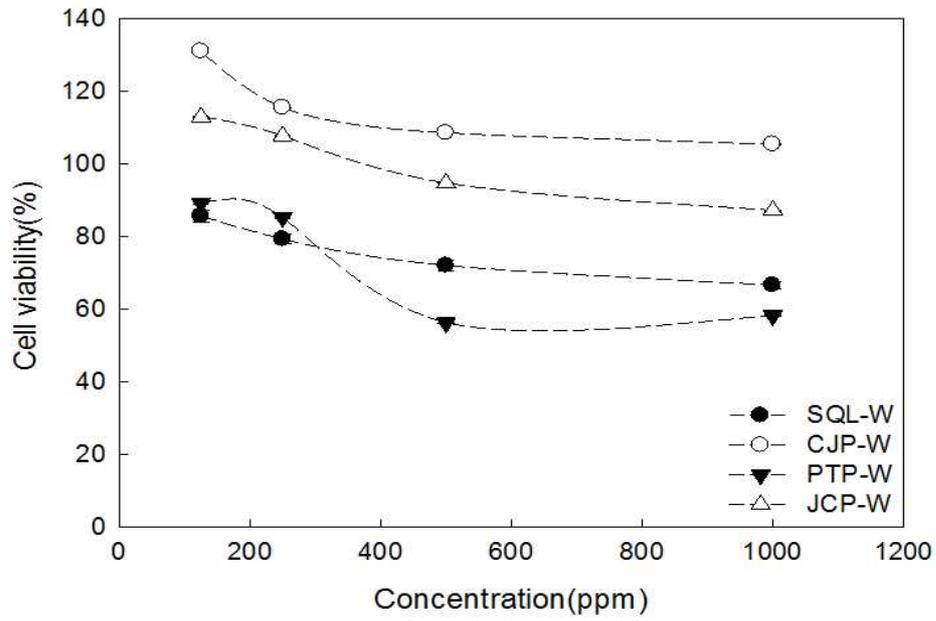
MTT[3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]분석은 탈수소효소(succinate-dehydrogenase)작용에 의하여 노란색 수용성 기질의 MTT tetrazolium을 청 보라색의 formazan을 형성하여 환원시키는 mitochondria의 활성을 이용하는 방법으로서 세포의 성장과 증식을 알아볼 수 있는 대표적인 방법이다. 이 방법을 이용하여 생존해있는 세포의 수에 비례하여 색상이 진해지는 원리를 흡광도를 이용하여 세포의 활성을 알 수 있다[75]. 사람의 섬유아세포주 3T3 (human skin fibroblast)를 이용하여 제주조릿대 잎의 세포생존율을 확인하였다. 24시간동안 배양한 cell에 각 추출물을 125~1000 ppm농도로 처리하여 24시간 후 MTT를 처리한 결과를 Figure 11과 Table 10에 나타내었다. 최고농도 1000 ppm까지 세포생존율을 보았을 때 열수 추출물은 세포생존율이 85.6~66.6%로 낮아지는 반면 에탄올 추출물은 95.4~92.1%로 90%이상의 높은 생존율을 보였다. 그리고 RAW 264.7 cell을 이용하여 유자, 탕자 및 제주감귤 과피의 세포생존율을 확인한 결과 유자 과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 90%이상의 생존율을 보였으며 탕자 과피의 열수 추출물에서는 125~250 ppm까지는 80% 이상의 생존율을 보인 이후 50%대로 떨어지다가 최고농도인 1000 ppm에서는 58%로 떨어지는 것을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물에서 역시 125~250 ppm까지는 90% 이상의 생존율을 보인 이후 점점 생존율이 떨어지다가 열수 추출물과 마찬가지로 최고농도에서는 69%의 생존율을 보이는 것을 알 수 있었다. 귤 과피는 최고농도 1000 ppm까지 80~90%이상의 생존율을 보였다. 결과 적으로 보았을 때 감귤계 과피 중에서는 유자 과피와 제주감귤의 과피에서는 세포 생존율이 80%~100%로 굉장히 높은 생존율을 볼 수 있었으며, 전체적으로 보았을 때 Figure 10에서 보면 유자, 제주감귤의 열수와 에탄올 추출물과 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물이 80% 이상의 생존율로 독



성에서 안정함을 알 수 있었으며 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 탱자 과피의 열수 및 에탄올 추출물에서는 농도가 증가함에 따라서 세포 생존율이 58%~69%까지 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. Park[24]의 조릿대 잎 추출물의 연구에서는 HepG2세포(간암세포)에 대한 세포독성에 대한 실험에서는 500 $\mu\text{l/ml}$ 이하에서는 99~115% 생존율을 보였으며 1000 $\mu\text{l/ml}$ 에서는 70% 생존율을 보였다. 그리고 에탄올 추출물에서는 150 $\mu\text{l/ml}$ 이하에서는 107~123% 생존율을 보였으며 250 $\mu\text{l/ml}$ 에서는 100~112% 생존율을 500 $\mu\text{l/ml}$ 에서는 99~126%의 생존율로 조릿대 잎 추출물에서 세포사멸은 일어나지 않았음을 알 수 있다. 또한 Kim[76]의 조릿대 잎 추출물의 연구에서 3T3-L1 전지방세포를 이용한 세포독성 실험에서는 70%에탄올 추출물에서 500 $\mu\text{l/ml}$ 까지는 세포독성이 나타나지 않았으나 1000 $\mu\text{l/ml}$ 에서 세포생존율이 급격하게 낮아졌으며 열수 추출물에서는 200 $\mu\text{l/ml}$ 에서는 세포생존율에 영향을 미치지 않다가 500 $\mu\text{l/ml}$ 에서 약간 낮아졌으나(80%이상) 1000 $\mu\text{l/ml}$ 에서 더 이상 낮아지지 않은 결과로 보았을 때 본 연구의 제주조릿대 잎 추출물에서 에탄올 추출물이 더 생존율이 높게 나온 것과는 달리 조릿대 잎 추출물에서는 열수 추출물에서 더 생존율이 높은 것을 알 수 있다. 이와 같은 결과로 보았을 때 조릿대 잎 추출물에서 Cell의 종류에 따라서 세포 생존율이 약간 다르게 나타날 수 있음을 알 수 있다.

우리가 세포생존율에 대한 연구를 하고자 하는 의미는 항산화 성분과 항산화 활성이 좋기는 하지만 세포생존율이 낮은 농도에서는 적용하기가 쉽지 않기 때문이다. 따라서 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물과 같은 경우는 농도 내에서 세포독성이 거의 없는 것을 알 수 있는 결과로 보았을 때 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물의 적절한 농도는 1000 ppm을 적용하는 것이 적절한 것으로 사료되어 지며[32], 유자 과피와 제주감귤의 과피는 80~90%의 생존력이 있는 1000 ppm까지는 사용하는데 무리가 없다고 판단된다. 그리고 세포생존율이 낮았던 추출물과 같은 경우는 80% 생존율의 농도를[77] 계산하였을 때 제주조릿대 잎의 열수 추출물은 240 ppm, 탱자 과피의 열수 추출물은 300 ppm, 에탄올 추출물은 470 ppm의 농도에서 사용하는 것이 적절하다고 판단된다.

A



B

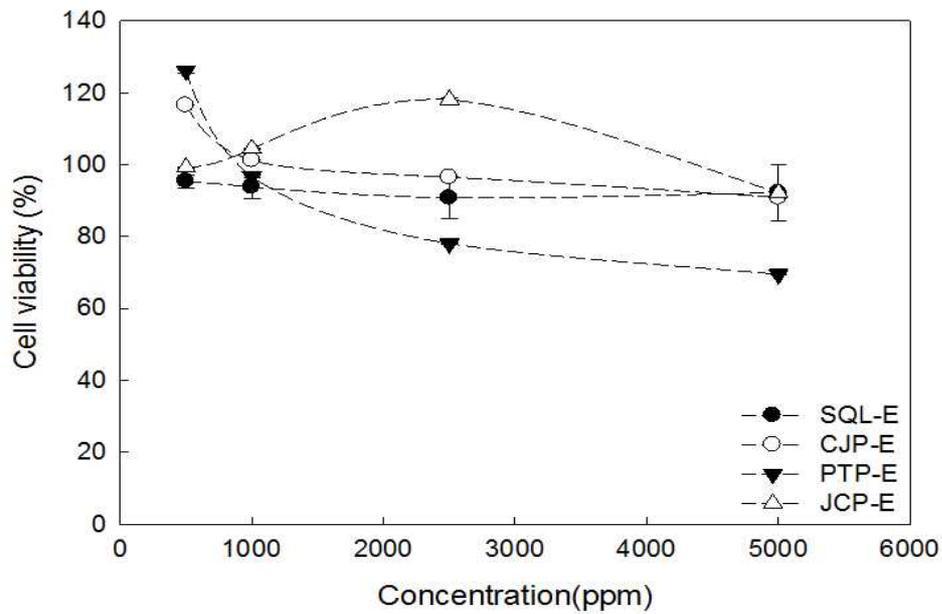


Figure 11. Cell viability of dependent on concentration from of *Sasa` quelpaertensis* leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts, SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves, CJP; *Citrus junos* peels PTP; *Poncirus trifoliata* peels JCP; *Jeju citrus* peels, W; water extracts, E; ethanol extracts



Table 10. Cell viability of dependent on concentration from of *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus junos* peels, *Poncirus trifoliata* peels and *Jeju citrus* peels presented as mean±S.D.

Concentration (ppm)	125	250	500	1000	CVC ₈₀ ^{a)} (ppm)	
SQL ^{b)}	W ^{f)}	86±1.59	79±1.33	72±1.38	67±0.89	240
	E ^{g)}	95±1.80	94±3.27	91±5.88	92±7.69	
CJP ^{c)}	W ^{f)}	131±0.03	120±0.10	109±0.09	105±0.08	
	E ^{g)}	117±0.05	100±0.09	97±0.07	91±0.28	
PTP ^{d)}	W ^{f)}	90±0.20	85±0.20	56±0.09	58±0.10	300
	E ^{g)}	126±0.49	97±0.24	78±0.14	70±0.04	470
JCP ^{e)}	W ^{f)}	113±0.09	108±0.05	95±0.03	87±0.16	
	E ^{g)}	99±0.10	104±0.18	118±0.35	92±0.08	

^{a)}CVC₈₀; concentration producing 80% cell viability, ^{b)}SQL; *Sasa quelpaertensis* leaves and *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts, ^{c)}CJP; *Citrus junos* peels, ^{d)}PTP; *Poncirus trifoliata* peels, ^{e)}JCP; *Jeju citrus* peels, ^{f)}W; water extracts, ^{g)}E; ethanol extracts



다. LPS에 의해 유도된 nitrite oxide 생성 억제 효과 평가

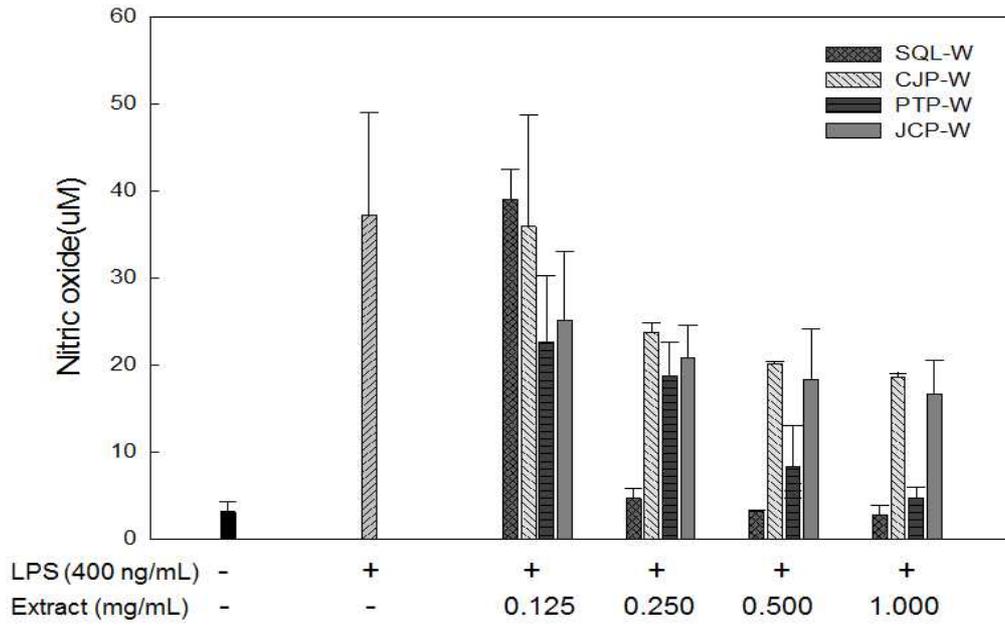
염증은 바이러스, 박테리아, 화학적 물질 및 물리적 작용으로 인해 면역력이 약해지면 생기는 것으로 감염과 만성질환 등을 일으키게 되며, 대식세포의 면역과 관련해서 염증반응을 유도하는 lipopolysaccharide(LPS)와 같은 자극이 강한 물질이 가해지면 nitric oxide(NO)의 양이 과도하게 많이 생성하게 된다. 이러한 염증반응은 체내에 발생하게 되는 산화적 스트레스로 인해 생겨난 독소에서 pro-inflammatory cytokine(염증유발 사이토카인)을 증가 시키며 염증을 매개하는 물질 등을 분비하게 된다[78]. 이 물질이 많이 존재하게 되면 인체에 많은 영향을 끼치게 됨에 따라서 세포의 손상과 염증반응으로 인해 뇌막염과 알츠하이머와 파킨슨병 등의 퇴행성 질환 등에 중요한 원인으로 작용하게 된다[79]. 제주조릿대 잎 과 유자, 탕자 및 제주감귤 추출물이 LPS로 유도된 NO생성의 억제에 미치는 영향을 griess reagent를 이용하여 측정한 결과를 Figure 12 과 Table 11에 나타내었다. RAW 264.7 cell에 LPS를 처리하지 않은 대조군에서 NO생성량이 $3.1 \pm 1.11 \mu\text{M}$ 로 활성이 낮게 나타났으나 LPS를 처리한 후 NO생성량이 $37.2 \pm 11.86 \mu\text{M}$ 로 많은 양이 증가 하였다. 여기에 제주조릿대 잎의 열수 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $39.1 \pm 3.48 \mu\text{M}$ ~ $2.7 \pm 1.18 \mu\text{M}$ 로 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $16.8 \pm 6.85 \mu\text{M}$ ~ $2.5 \pm 1.13 \mu\text{M}$,로 역시 처리 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수 있었다. 그리고 유자 과피의 열수 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $35.9 \pm 12.88 \mu\text{M}$ ~ $18.6 \pm 0.46 \mu\text{M}$ 로 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $54.7 \pm 7.82 \mu\text{M}$ ~ $8.8 \pm 1.20 \mu\text{M}$,로 역시 처리 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수 있었으나 추출물 중에서 LPS처리 후 0,125 mg/ml에서 NO의 함량이 가장 높은 것을 알 수 있었다. 탕자 과피 열수 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $22.6 \pm 7.62 \mu\text{M}$ ~ $4.7 \pm 1.31 \mu\text{M}$ 로 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $18.7 \pm 0.71 \mu\text{M}$ ~ $3.7 \pm 3.02 \mu\text{M}$,로 역시 처리 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수



있었다. 또한 제주감귤 과피 열수 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $25.1 \pm 8.00 \mu\text{M}$ ~ $16.6 \pm 3.90 \mu\text{M}$ 로 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물을 처리한 결과는 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 $25.2 \pm 1.78 \mu\text{M}$ ~ $7.0 \pm 1.33 \mu\text{M}$,로 역시 처리 농도에 따라서 억제되는 것을 알 수 있었다. 결과적으로 보았을 때 유자 과피와 제주감귤 과피의 열수 추출물에서는 NO생성 억제 효과가 낮았으며 나머지 추출물들은 모두 염증을 일부러 유도하지 않았던 대조군과 NO생성량이 유사 하게 억제된 것을 확인 할 수 있었다. 그리고 Song[33]의 연구에서 조릿대 잎의 NO 생성량이 에탄올 추출물보다 열수 추출물에서 더 높은 것은 본 연구의 제주조릿대 잎에서 0,125 mg/ml 농도에서 열수 추출물이 $48.8 \pm 4.35 \mu\text{M}$, 에탄올 추출물이 $20.9 \pm 8.56 \mu\text{M}$ 로 비율이 비슷하였으나 염증이 유도 되었을 때 NO생성 효과는 제주조릿대 잎이 훨씬 뛰어난 것을 알 수 있었다. 그리고 Hyun[75]의 홍귤 과피에서 25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 59.6%의 감소와 편귤 과피에서 50 $\mu\text{g/ml}$ 에서 67.3%의 감소로 농도가 증가함에 따라서 NO 생성량이 감소한 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과와 함께 보았을 때 유자 과피와 제주감귤 과피의 열수 추출물에서 다소 낮게는 나왔지만 농도 증가에 따라 NO생성량이 줄어든 것으로 보아서 이들의 세포생존율이 높았기 때문에 농도를 증가하여 사용하였을 경우에는 대조군에 가까운 억제효과를 나타낼 것으로 본다.

결과적으로 보았을 때는 제주조릿대 잎 추출물이 농도 0,250 mg/ml 농도에서 부터 NO생성 억제 효과를 확실하게 보인 것으로 보아 가장 뛰어난 것을 알 수 있었고 나머지 유자, 탕자 및 제주감귤 과피 추출물 에서도 역시 염증이 유도 되었을 경우에 염증을 유발하는 물질들의 생성을 억제하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

A



B

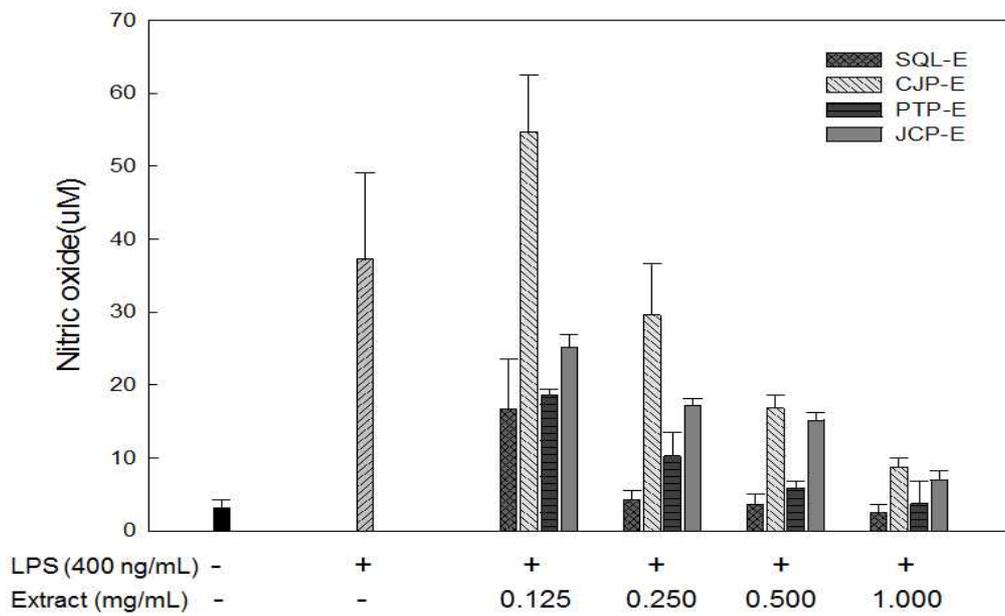


Figure 12. Effect of *Sasa quepaertensis* leaves and *Citrus junos* peels, *Poncirus trifoliata* peels and *Jeju citrus* peels on LPS-induced nitric oxide (NO) production in RAW264.7 cells, SQL; *Sasa quepaertensis* leaves, CJP; *Citrus junos* peels PTP; *Poncirus trifoliata* peels JCP; *Jeju citrus* peels, W; water extracts, E; ethanol extracts



Table 11. NO synthesis inhibitory effect of *Sasa quepaertensis* leaves and *Citrus junos* peels, *Poncirus trifoliata* peels and *Jeju citrus* peels extract on activity in LPS stimulated RAW 264.7 cell [79]

Concentration (mg/mL)	Nitric Oxide(μ M)				
	0.125	0.250	0.500	1.000	
Control	3.1 \pm 1.11				
LPS(400ng/mL)	37.2 \pm 11.86				
SQL ^{b)}	W ^{f)}	39.1 \pm 3.48	4.7 \pm 1.08	3.2 \pm 0.15	2.7 \pm 1.18
	E ^{g)}	16.8 \pm 6.85	4.3 \pm 1.20	3.6 \pm 1.38	2.5 \pm 1.13
CJP ^{c)}	W ^{f)}	35.9 \pm 12.88	23.8 \pm 1.02	20.1 \pm 0.27	18.6 \pm 0.46
	E ^{g)}	54.7 \pm 7.82	29.6 \pm 7.11	16.8 \pm 1.85	8.8 \pm 1.20
PTP ^{d)}	W ^{f)}	22.6 \pm 7.62	18.7 \pm 3.91	8.3 \pm 4.71	4.7 \pm 1.31
	E ^{g)}	18.7 \pm 0.71	10.2 \pm 3.29	5.9 \pm 0.89	3.7 \pm 3.02
JCP ^{e)}	W ^{f)}	25.1 \pm 8.00	20.8 \pm 3.78	18.3 \pm 5.88	16.6 \pm 3.90
	E ^{g)}	25.2 \pm 1.78	17.1 \pm 1.00	15.2 \pm 1.08	7.0 \pm 1.33

^{a)}IC₅₀; The values indicate 50% decrease of nitric oxide radical, ^{b)}LPS; lipopolysaccharide ^{c)}SQL; *Sasa quepaertensis* leaves, ^{d)}CJP; *Citrus junos* peels, ^{e)}PTP; *Poncirus trifoliata* peels, ^{f)}JCP; *Jeju citrus* peels, ^{g)}W; water extracts, ^{h)}E; ethanol extracts



라. 항균활성 평가

미생물에 대한 항균효과를 나타내는 성분은 terpenoid와 alkaloid, phenol과 정유성분 같은 이차 대사물이나 그 유도체들로 알려져 있으며, 천연 추출물은 그 특성에 따라 항산화, 항균, 해독작용과 면역기능이 강화되는 등의 작용을 한다 [80]. 세균(bacteria)류에 속하는 균으로 *Staphylococcus aureus*는 아토피피부염을 가지고 있는 사람의 95%에서 많이 형성되고 있으며 이들의 약해진 피부의 장벽을 통해 감염되며 독소를 분비하여 superantigen(초항원)으로 작용하여 T림프구에 의해 면역반응을 유도해서 Th-2세포에 의해 면역반응을 유발하여 피부에 염증을 악화시키기도 한다[81]. *Staphylococcus epidermidis*는 표피의 포도상구균의 일종으로서 외모낭초나 모낭의 중간부분으로 두피안쪽에서 성장하며, 비병원성 균주로 수술 후 수술한 부위가 감염 되었을 때 병원균으로서 작용하기도 한다. 그리고 점액(slime)을 생성하는 능력이 있어 생물막(biofilm)을 형성하여 균체 스스로를 보호하기도 하며 건강한 피부의 pH를 유지시켜 외부로부터 세균을 방어하여 피부를 보호하기도 한다[82]. 그리고 *Escherichia coli*의 대장균은 동물이나 사람의 장내에 살고 있는 세균으로 병원성의 대장균을 포함하여 세균에 의해서 감염되는 질환에 대해 질병치료의 대부분을 항균제로 많이 치료하고 있다. 따라서 항균제와 다양한 경로를 통하여 많이 접하게 되어 항균제에 대한 내성을 보이는 세균이 많아지고 있다[83, 84].

진균류에 속하는 *Candida albicans*는 단세포인 효모형태와 다세포인 곰팡이(균사)형태로 두 가지의 형태가 있다. 이들은 생식주기가 일정하게 존재하지 않고 다양한 multilateral budding에 의하여 번식한다[85]. 그리고 구강질환에는 치아우식증, 타액선감염, 치주질환, 구강진균감염 등 여러 가지 질환이 있는데 그 중에서 구강과 구강주변의 진균에 의한 감염은 국소적인 병변이나 진균증에 의한 유발로 진단하여 치과에서 주로 치료하는 이러한 진균에 의한 감염은 주로 *Candida*종과 연관되어 있다. *Candida albicans*는 정상시에는 비병원성의 상태로 있지만 면역력이 약해진 환자에게는 질병을 유발할 수 있으며 질 또는 외음부 그리고 피부나 손톱, 발톱 등에도 감염의 원인이 될 수 있다. 따라서 *Candida albicans*를 치료하기 위하여 항진균제가 개발되어 사용하고 있는데 항진균제를



사용하는 환자는 약제의 내성이 생긴 병원성 *Candida* 균주가 생겨 대부분의 시판되고 있는 항진균제에 대하여 내성을 나타내는 종이 생겨났다. *Candida albicans*의 치료에 따른 내성과 작용으로 인한 항진균제에 대한 사용이 제한적일 수 있기 때문에 이러한 진균감염에 대한 치료에 효과적이며 부작용이 적은 천연 식물의 추출물에 대한 연구들이 이루어지고 있다[86].

항균과 항진균의 효과를 위한 항미생물 활성을 측정하는 방법의 대표적인 방법으로는 한천 배지 확산법(agar diffusion)이 있으며, 디스크 확산법 또는 paper disc법이라고도 한다. 한천배지에 시험할 균주를 고르게 접종을 한 후 항균제를 원형 여과지에 처리를 하여 검사평판에 올려놓은 다음 배양하는 동안에 여과지 주변의 clear zone(생육저해구역)이 한천배지에 형성된다. 이렇게 생긴 clear zone의 지름을 측정하여 항균활성을 측정하는 방법이다. 이때 항균활성이 나타나는 최소의 농도에서 항균효과를 나타내는 농도를 최소저해농도(MIC: minimum Inhibition concentration) 라고 하며[20], 이러한 agar diffusion법은 육안으로 쉽게 판별하기가 쉬워서 가장 일반적으로 사용하는 방법이다.

1) 한천배지확산법을 이용한 항균·항진균 평가

가) *Staphylococcus aureus* 에 대한 항균효과

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)는 주로 피부에 질환을 발생시키는 균의 일종으로 모낭과 모낭주위의 피지 샘에 염증을 일으켜 여드름을 발생시키는 균으로 잘 알려져 있는 호기성 그람 양성균이다[79].

제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 감귤의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 *S. aureus*를 포함한 *S. epidermidis*, *E. coli*, *C. albicans*에 대한 항균 활성을 측정한 결과를 Figure 13 와 Table 12에 나타내었다. *S. aureus*에 대한 결과 제주조릿대 잎의 추출물의 농도 6 mg/disc~25 mg/disc에서 항균효과를 확인 하였다. 열수 추출물에서는 $11 \pm 3.54 \sim 13 \pm 3.54$ mm의 항균효과와 에탄올 추출물에서 $9 \pm 0.00 \sim 10 \pm 0.00$ mm로 열수 추출물에서 더 높은 항균효과를 확인하였다. 그리고 대조군인 L-ascorbic acid와 유자 과피 및 제주감귤 과피에서는 열수 추



출물과 에탄올 추출물에서 모두 항균효과가 전혀 나타나지 않았으며 탱자 과피 열수 추출물에서 9.3 ± 0.58 , 10.3 ± 0.58 mm의 항균효과와 에탄올 추출물에서 8.7 ± 0.35 , 9.5 ± 0.71 , 10.7 ± 0.58 mm의 항균효과를 확인 하였다. 그리고 positive control인 gentamycin은 0.0005 mg/disc 농도에서 10.3 ± 0.58 mm의 저해환을 형성한 것과 비교하였을 때는 제주조릿대 잎과 탱자 과피에서 낮은 항균효과를 보였으나 농도가 증가함에 따라 항균효과도 점점 증가하는 것을 알 수 있었다.

Park[20]의 제주조릿대 메탄올추출물에서 *S. aureus*에 대한 항균효과는 70.5%, 에탄올 추출물에서는 55.7%의 항균효과로 메탄올추출물에서 더 높은 항균효과를 보였으며, Ko[77]의 조릿대 잎의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 *S. aureus*에 대한 항균효과 5.0 mg/disc농도에서 각각 $11.4 \pm 0.3 \sim 12.6 \pm 0.1$ mm의 항균효과를 나타낸 것으로 본 연구에서보다 낮은 농도에서 항균효과가 나타난 것을 알 수 있다. 이와 같은 결과들을 보았을 때 제주조릿대 잎 추출물에서는 *S. aureus*에 대한 항균활성이 좋은 것으로 판단할 수 있다. 그리고 탱자 과피와 같은 경우는 Jeon 등[61]의 연구에 의하면 청 탱자 에탄올 추출물에서 paper disc를 제외한 clear zone(생육저해환)이 2.84 mm의 항균효과가 나타난 결과와 유사하게 나타남을 알 수 있다.



Table 12. Clear zone of *Sasa quepaertensis* leaves, *Citrus junos*, *Poncirus trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts against *Staphylococcus aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibition zone (mm) ^{a)}				MIC ^{c)} mg/disc ^{b)}	
	7.5mg/disc ^{b)}	15mg/disc ^{b)}	20mg/disc ^{b)}	25mg/disc ^{b)}		
D.W.	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	
L-ascorbic acid	-	-	-	-	-	
Gentamycin	0.0005 mg/disc ^{b)} : 10.3±0.58				0.0005	
	0.005 mg/disc ^{b)} : 18.7±0.56					
	0.05 mg/disc ^{b)} : 24.7±0.58					
SQL ^{e)}	W ⁱ⁾	11±3.54	12±3.04	12±2.65	13±3.54	6
	E ^{j)}	9±0.00	10±0.00	9±0.58	10±0.00	7.5
CJP ^{f)}	W ⁱ⁾	-	-	-	-	-
	E ^{j)}	-	-	-	-	-
PTP ^{g)}	W ⁱ⁾	-	-	9.3±0.58	10.3±0.58	20
	E ^{j)}	-	8.7±0.35	9.5±0.71	10.7±0.58	15
JCP ^{h)}	W ⁱ⁾	-	-	-	-	-
	E ^{j)}	-	-	-	-	-

^{a)}mm; diameter, ^{b)}paper disc; 8 mm, ^{c)}MIC; minimum Inhibition concentration, ^{d)}-; no inhibition, ^{e)}*Sasa quepaertensis* leaves, ^{f)}CJP; *Citrus junos* peel, ^{g)}PTP; *Poncirus trifoliata* peel, ^{h)}JCP; *Jeju citrus* peel ⁱ⁾W; water extracts, ^{j)}E; ethanol extracts

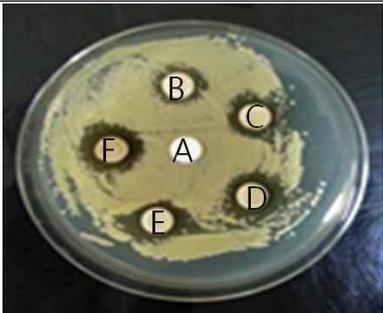
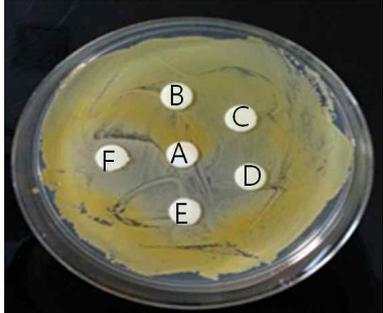
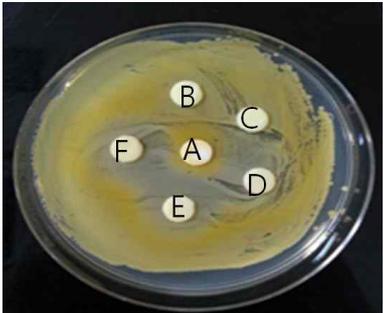
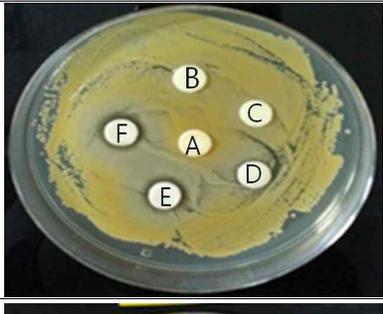
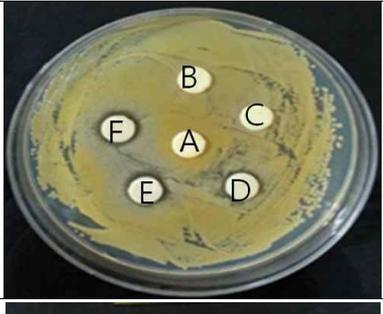
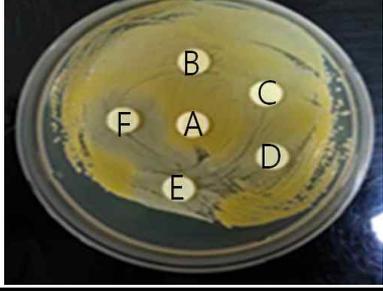
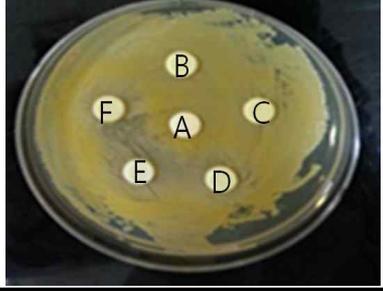
<i>S. aureus</i>	Water extracts	Ethanol extracts(70%)
<i>Sasa quepaertensis</i> leaves		
<i>Citrus junos</i> peel		
<i>Poncirus trifoliata</i> peel		
<i>Jeju citrus</i> peel		

Figure 13. Antibacterial activity of *Sasa quepaertensis* leaves, *Citrus junos*, *Poncirus trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts against *Staphylococcus aureus*. A; D.W., B; 6 mg/disc, C; 7.5 mg/disc, D; 15 mg/disc, E; 20 mg/disc, F; 25 mg/disc



나) *Staphylococcus epidermidis* 에 대한 항균효과

*S. epidermidis*는 피부질환의 원인이 되는 표피의 포도상 구균의 일종으로 원발성의 피부질환과 여드름의 속발성을 유발하여 악화시키는 피부질환의 원인이 된다[78]. 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 제주감귤의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 *S. epidermidis* 에 대한 항균활성을 측정한 결과를 Figure 14와 Table 13에 나타내었다. 제주조릿대 잎 추출물의 농도 7.5 mg/disc~25 mg/disc에서 항균효과를 확인한 결과 열수 추출물에서는 $9\pm 0.58\sim 11\pm 0.58$ mm의 항균효과와 에탄올 추출물에서 10 ± 0.00 mm로 비슷한 항균효과 확인 하였다. 유자 과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 모두 25 mg/disc농도에서만 10 ± 0.00 mm 항균활성이 나타났으며, 탕자 과피 열수 추출물에서는 15 mg/disc, 20 mg/disc, 25 mg/disc농도에서 11 ± 0.71 mm, 14 ± 2.52 mm, 15 ± 2.65 mm의 항균효과와 에탄올 추출물에서 14 ± 2.89 mm, 15 ± 2.65 mm, 17.7 ± 2.89 mm의 항균효과로 에탄올 추출물에서 더 높은 항균활성을 확인 하였으며 대조군의 ascorbic acid와 제주감귤 과피에서는 전혀 항균활성을 나타내지 않았다. 그리고 positive control인 gentamycin은 0.0005 mg/disc 농도에서 11.3 ± 0.58 mm의 저해환을 형성한 것과 비교하였을 때 제주조릿대 잎 추출물은 낮은 항균력을 보였으며 열수 추출물은 농도가 증가함에 따라 항균효과가 증가하였으나 에탄올 추출물은 농도증가에 따른 항균활성의 증가는 많은 차이가 없었다. Park[20]의 조릿대 잎 추출물의 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 100 μ L/disc의 낮은 농도에서 9~12mm 의 항균활성이 나타난 것을 보았을 때 일반적으로 조릿대의 종류에는 *S. epidermidis*에 대한 항균활성이 있는 것을 알 수 있다. 탕자 과피 열수 추출물의 경우 gentamycin의 7.5 mg/disc농도와 유사한 저해환을 형성하였음을 알 수 있었으며 탕자 과피 추출물과 같은 경우는 positive control 보다는 낮지만 농도가 증가함에 따라 항균효과도 크게 증가함을 알 수 있었다.



Table 13. Clear zone of *Sasa quelpaertensis* leaves, *Citrus junos*, *Poncirus trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts against *Staphylococcus epidermidis*

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Inhibition zone (mm) ^{a)}				MIC ^{c)}
	7.5mg/disc ^{b)}	15mg/disc ^{b)}	20mg/disc ^{b)}	25mg/disc ^{b)}	mg/disc ^{b)}
D.W.	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}
L-ascorbic acid	-	-	-	-	-
Gentamycin	0.0005 mg/disce ^{b)} : 11.3±0.58, 0.005 mg/disce ^{b)} : 19.7±0.58 0.05 mg/disce ^{b)} : 27.7±2.08				0.0005
SQL ^{e)}	W ⁱ⁾		9±0.58	11±0.58	20
	E ^{j)}	10±0.00	10±0.00	10±0.71	15
CJP ^{f)}	W ⁱ⁾	-	-	10±0.00	-
	E ^{j)}	-	-	10±0.00	-
PTP ^{g)}	W ⁱ⁾	-	11±0.71	14±2.52	15
	E ^{j)}	-	14±2.89	15±2.65	17±2.89
JCP ^{h)}	W ⁱ⁾	-	-	-	-
	E ^{j)}	-	-	-	-

^{a)}mm; diameter, ^{b)}paper disc; 8 mm, ^{c)}MIC; minimum Inhibition concentration, ^{d)}-; no inhibition, ^{e)}*Sasa quelpaertensis* leaves, ^{f)}CJP; *Citrus junos* peel, ^{g)}PTP; *Poncirus trifoliata* peel, ^{h)}JCP; *Jeju citrus* peel ⁱ⁾W; water extracts, ^{j)}E; ethanol extracts

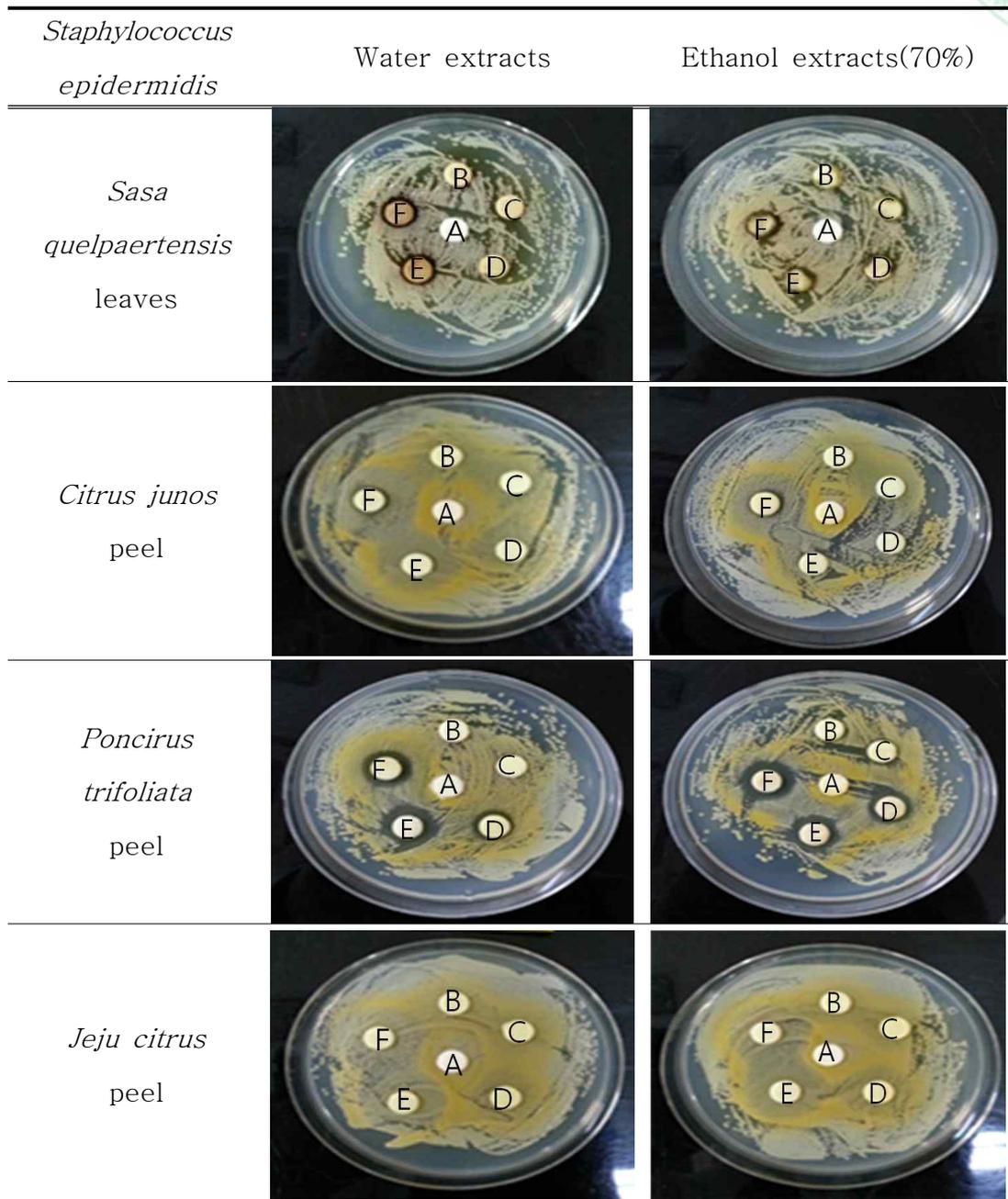


Figure 14. Antibacterial activity of *Sasa quepaertensis* leaves, *Citrus junos*, *Poncirus trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts against *Staphylococcus epidermidis*. A; D.W., B; 6 mg/disc, C; 7.5 mg/disc, D; 15 mg/disc, E; 20 mg/disc, F; 25 mg/disc



다) *Escherichia coli* 에 대한 항균효과

Gram negative 균주인 *Escherichia coli* 의 식중독균에 대한 항균활성을 측정한 결과를 Figure 15 과 Table 14에 나타내었다. 제주조릿대 잎과 유자 및 제주감귤 과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 *Escherichia coli*에 대한 항균효과는 전혀 나타나지 않았다. 탱자 과피의 열수 추출물에서는 11.3 ± 2.31 mm, 13.0 ± 1.73 mm, 113.8 ± 0.76 mm의 항균효과와 에탄올 추출물에서 11 ± 2.65 mm, 12.7 ± 2.52 mm, 15 ± 1.73 mm의 항균효과로 에탄올 추출물에서 더 높은 항균효과를 확인 하였다. 그리고 positive control인 gentamycin은 0.005 mg/disc 농도에서는 15.5 ± 0.71 mm로 탱자 과피 에탄올 추출물의 25 mg/disc 농도와 유사한 저해환을 형성하였으며 탱자 과피 추출물과 같은 경우는 positive control인 gentamycin 보다는 낮지만 농도가 증가함에 따라 항균력이 증가함을 알 수 있다. Park[20]의 연구에서는 제주조릿대추출물의 경우 농도 3000 ppm/L 농도로 용해시킨 에탄올 추출물의 0.25 mL에서는 7.1%, 0.3~0.35 mL 사이에서는 24.3%, 0.45 mL에서는 56.4%의 항균효과를 나타난 것을 알 수 있는데 이는 제주조릿대 잎이라는 언급이 없는 것으로 보았을 때 줄기와 잎 모두를 사용했을 경우로 판단되어 진다. 그리고 Choi 등[87]의 연구에서는 *E. coli* 에 대한 3종의 대나무(맹종죽, 숨대, 왕대)의 열수와 초임계 추출물에서 강한 항균효과(clear zone 12~14 mm)를 보인 것을 알 수 있었으며, Ko[77]의 연구에서 조릿대 줄기와 잎의 *E. coli*에 대한 항균효과를 보면 100 mg/mL(5 mg/paper disc) 농도 줄기와 잎의 열수 추출물에서는 $13.0 \text{ mm} \pm 0.2 \text{ mm}$, $12.6 \text{ mm} \pm 0.1 \text{ mm}$, 에탄올 추출물에서는 10.0 ± 0.1 , 14.1 ± 0.1 로 에탄올 추출물에서 약간 더 높은 항균력을 보인 것을 알 수 있다. 그리고 Kim[88]의 대나무 잎의 *E. coli*에 대한 항균력은 전혀 나타나지 않았으며, Park[20]의 제주조릿대의 에탄올 추출물의 *E. coli*에 대한 항균력은 46.6%의 항균효과를 나타낸 연구를 보았을 때 향후 제주조릿대 줄기와 잎과 줄기를 포함한 것으로 나누어서 한번 더 연구를 할 필요가 있다고 생각한다.



Table 14. Clear zone of *Sasa quepaertensis* leaves, *Citrus junos*, *Poncirus trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts against *Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i>	Inhibition zone (mm) ^{a)}				MIC ^{c)} mg/disc ^{b)}	
	7.5mg/disc ^{b)}	15mg/disc ^{b)}	20mg/disc ^{b)}	25mg/disc ^{b)}		
D.W.	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	- ^{d)}	
L-ascorbic acid	-	-	-	-	-	
Gentamycin		0.0005 mg/disce ^{b)} : 9±0.0, 0.005 mg/disce ^{b)} : 15.5±0.71 0.05 mg/disce ^{b)} : 21.0±0.71			0.0005	
SQL ^{e)}	W ⁱ⁾	-	-	-	-	
	E ^{j)}	-	-	-	-	
CJP ^{f)}	W ⁱ⁾	-	-	-	-	
	E ^{j)}	-	-	-	-	
PTP ^{g)}	W ⁱ⁾	-	11.3±2.31	13.0±1.73	13.8±0.76	15
	E ^{j)}	11±0.0	11.3±2.31	12.7±2.52	15±1.73	7.5
JCP ^{h)}	W ⁱ⁾	-	-	-	-	-
	E ^{j)}	-	-	-	-	-

^{a)}mm; diameter, ^{b)}paper disc; 8 mm, ^{c)}MIC; minimum Inhibition concentration, ^{d)}-; no inhibition, ^{e)}*Sasa quepaertensis* leaves, ^{f)}CJP; *Citrus junos* peel, ^{g)}PTP; *Poncirus trifoliata* peel, ^{h)}JCP; *Jeju citrus* peel ⁱ⁾W; water extracts, ^{j)}E; ethanol extracts

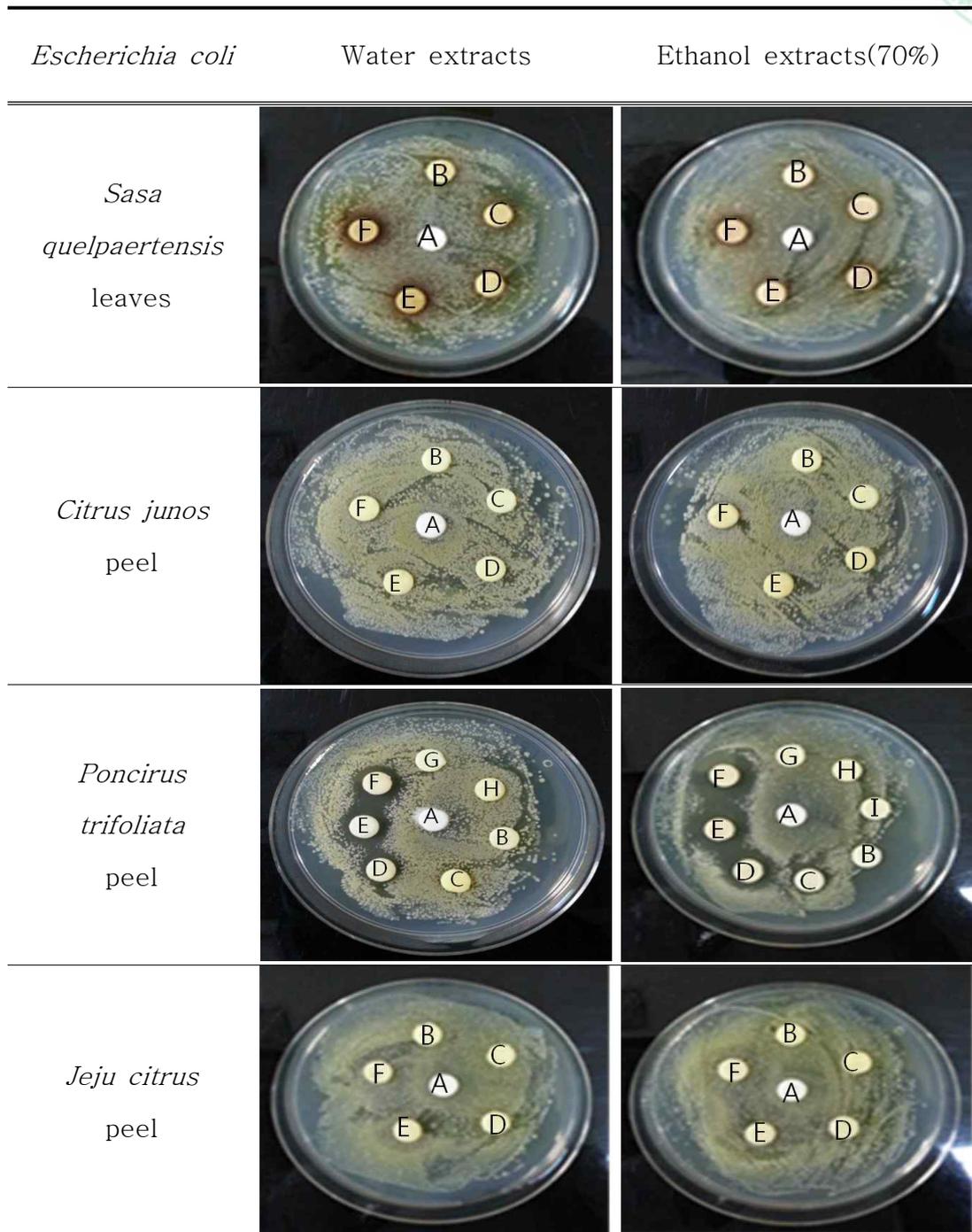


Figure 15. Antibacterial activity of *Sasa quepaertensis* leaves, *Citrus junos*, *Poncirus trifoliata* and *Jeju citrus* peels extracts against *Escherichia coli*. A; D.W., B; 6mg/disc, C; 7.5 mg/disc, D; 15 mg/disc, E; 20 mg/disc, F; 25 mg/disc, G: 5 mg/disc, H; 4 mg/disc, I; 2.5 mg/disc.



라) *Candida albicans* 에 대한 항진균효과

Candida albicans(*C. albicans*)는 비 병원성의 상태로 있지만 면역력이 약한 사람들에게 질병을 발생시키고 구강의 상피세포와 의치에 부착하여 감염을 일으키기도 한다[89]. 제주조릿대 잎과 유자, 탕자, 굴과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두에서 *candida albicans*에 대한 항진균에 대한 효과는 전혀 나타나지 않았으며, positive control인 ascorbic acid와 gentamycin에서도 전혀 항균효과가 없었음을 알 수 있었다. *candida albicans*는 항생제에도 내성이 강한 진균으로 알려져 있지만 특히 gentamycin은 aminoglycoside의 일종으로 세균의 감염 치료에 주로 사용되어지는 항생제이기 때문에 항진균 활성에는 반응이 없었던 결과로 판단된다.



마. 성분 분석

항산화성분과 항산화활성 그리고 항균활성에 대하여 비교 연구한 결과 제주조릿대 잎과 감귤계 과피 중에서 제주감귤 과피에서 항산화 활성이 가장 좋은 것으로 확인하였으며 탱자 과피에서 가장 높은 항균활성을 보였다. 그래서 제주조릿대 잎과 제주감귤 및 탱자 과피를 선정하여 휘발성 화합물의 분석을 위해 가스크로마토그래피질량분석기(GC/MS)를 통한 활성물질을 통한 성분 분석과 고성능액체크로마토그래피(HPLC)를 이용한 일반성분 중에서 유기산분석을 통한 유기산 함량 및 아미노산 자동분석기를 통한 아미노산 함량에 관하여 추가적으로 연구하고자 하였다.

1) GC/MS에 의한 성분 평가

제주조릿대 잎과 제주감귤 과피 및 탱자 과피에 함유된 활성물질을 gas chromatography/mass spectrometry(GC/MS)를 이용하여 각각의 추출물에 대한 분석 결과 GC chromatogram에서 수종의 peak가 나타났다. 그중에서 반복적으로 나타난 80%이상의 피크들을 중심으로 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 5개씩 선정하여 각각의 추출물중 가장 많은 비율을 나타낸 물질부터 순서대로 library search 하였다.

제주조릿대 잎 추출물에서 활성물질을 동정한 결과를 GC/MS에 의해 얻은 chromatogram은 Figure 16,과 Figure 17에 나타내었으며, 활성물질들은 Table 15와 Figure 18에 나타내었다. 열수 추출물에서 5-hydroxymethylfurfural (R. time. 13.83min)이 53.75%를 차지하였으며, benzofuran, 2,3-dihydro (R. time. 13.63min)이 23.92%, 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl (R. time. 12.44min)이 14.00%, 2-methoxy-4-vinylphenol (R. time. 15.12min)이 4.32% 그리고 benzaldehyde, 3-hydroxy- (R. time. 15.76min)가 4.1%로 가장 작은 비율을 차지한 것으로 나타났다. 그리고 에탄올 추출물에서는 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate (R. time. 27.02min)이 38.75%, 9,12,15-octadecatrienoic acid (R. time. 30.35min)가 21.78%, benzofuran, 2,3-dihydroxy-(R. time. 13.65min)가 15.10%, phytol (R. time. 29.85min)이



13.44%를 차지하였으며 5-hydroxymethylfurfural (R. time. 13.81min)이 11.43%로 가장 작은 비율을 차지하였다. 결과적으로 보았을 때 열수 추출물에서 가장 많은 비율을 차지하고 있는 물질은 5- hydroxymethylfurfural이었음을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물에서는 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate, 9,12,15-octadecatrienoic acid등이 50%이상의 비율을 차지하고 있었다. 그리고 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 동일하게 나타난 물질은 benzofuran, 2,3-dihydro와 5-hydroxymethylfurfural임을 알 수 있었다.

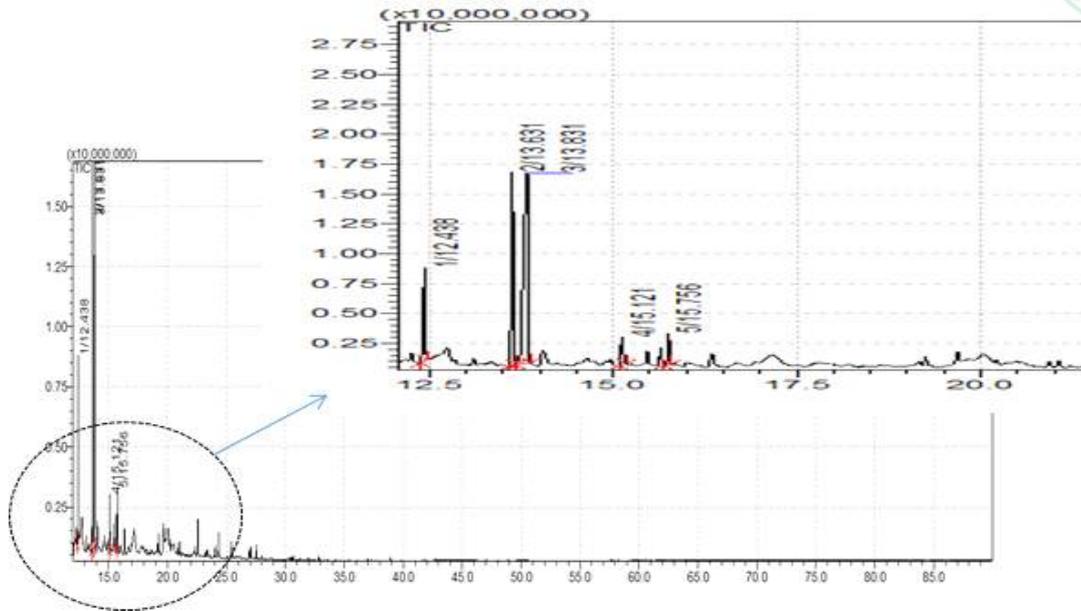


Figure 16. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in *Sasa quelpaertensis* leaves water extracts

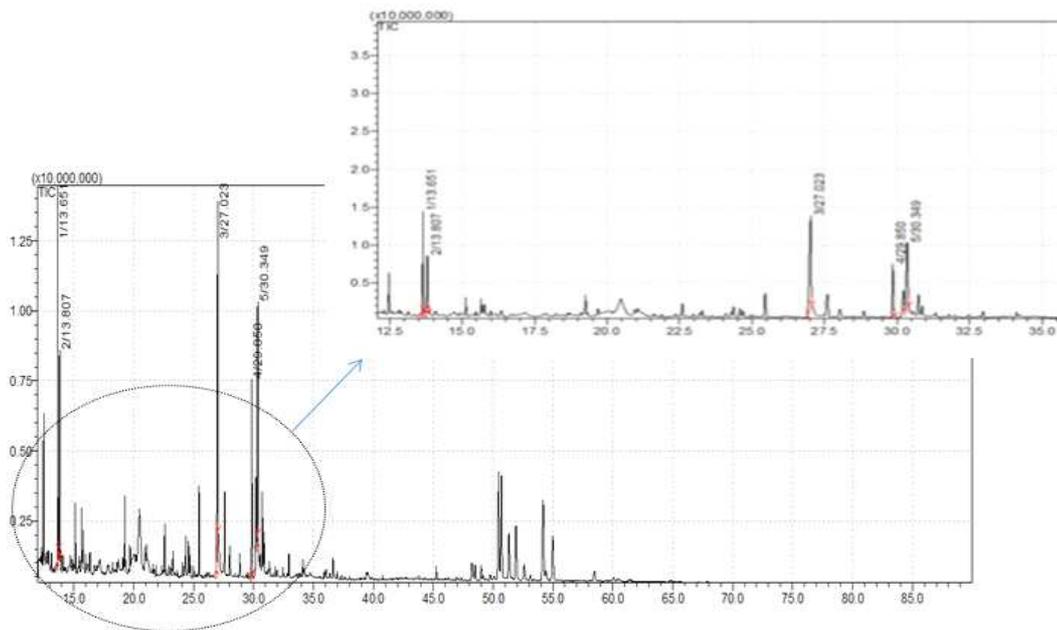


Figure 17. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in *Sasa quelpaertensis* leaves ethanol extracts



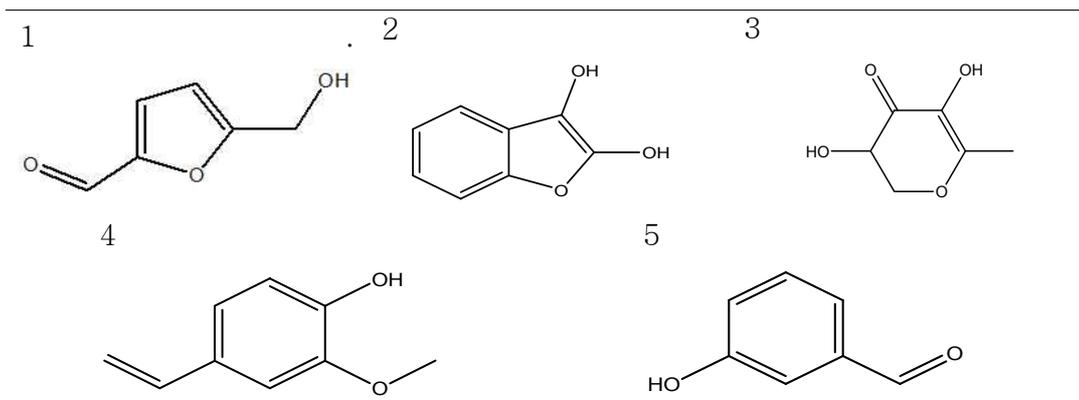
Table 15. Compounds identified from *Sasa quelpaertensis* leaves extracts through Gas chromatography-mas spectrometry(GC/MS)[90]

구분	No	Retention time(min)	Compound	Formula	Molecular (g/M)	Area (%)
SQL-W ^{a)}	1	13.83	5-hydroxy-methyl-furfural	C ₆ H ₆ O ₃	126	53.75
	2	13.63	benzofuran, 2,3-dihydro	C ₈ H ₆ O	118	23.92
	3	12.44	4H-pyran-4-one	C ₅ H ₄ O ₂	96	14.00
	4	15.12	2-methoxy-4-vinyl-phenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	4.32
	5	15.76	benzaldehyde, 3-hydroxy-	C ₇ H ₆ O	106	4.01
SQL-E ^{b)}	6	27.02	1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	653	38.25
	7	30.35	9,12,15-octadecatrienoic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	21.78
	8	13.65	benzofuran, 2,3-dihydroxy-	C ₈ H ₆ O	118	15.10
	9	13.44	phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	297	13.44
	10	13.81	5-hydroxymethyl-furfural	C ₆ H ₆ O ₃	126	11.43

SQL-W^{a)}; *Sasa quelpaertensis* leaves water extracts

SQL-E^{b)}; *Sasa quelpaertensis* leaves ethenol extracts

Sasa quelpaertensis leaves water extracts



Sasa quelpaertensis leaves ethanol extracts

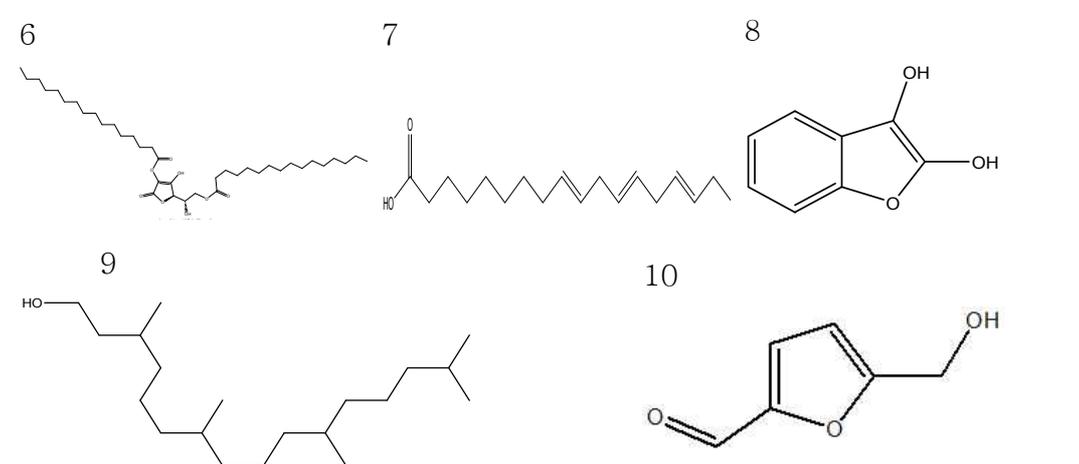


Figure 18. Chemical structures of the identified compounds from *Sasa quelpaertensis* leaves extracts[90]

1. 5-hydroxymethylfurfural,
2. benzofuran, 2,3-dihydro-
3. 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-
4. 2-methoxy-4-vinylphenol
5. benzaldehyde, 3-hydroxy-
6. 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate
7. 9,12,15-octadecatrienoic acid
8. benzofuran, 2,3-dihydroxy-
9. phytol
10. 5-hydroxymethylfurfural



제주감귤 과피 추출물에서 활성물질을 동정한 결과를 GC/MS에 의해 얻은 chromatogram은 Figure 19과 Figure 20에 나타내었으며, 활성물질들은 Table 16과 Figure 21에 나타내었다. 열수 추출물에서 5-hydroxymethylfurfural (R. time. 13.89min)이 54.88%로 가장 많은 비율로 차지하였으며, 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl (R. time. 12.61min)이 19.94%, 2-methoxy-4-vinylphenol (R. time. 15.13min)이 14.24%를 차지하였다. 그리고 1,2,3-propanetriol,1-acetate (R. time. 14.11min)가 7.94%, benzaldehyde, 3-hydroxy- (R. time. 15.77min)가 3%를 차지하였다. 에탄올 추출물에서도 역시 열수 추출물과 동일한 물질을 동정하였으며 5-hydroxymethylfurfural (R. time. 13.92min)이 55.33%로 가장 많은 비율을 차지하였으며, 4H-pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl (R. time. 12.56min)이 20.68%를 차지하였고, 2-methoxy-4-vinylphenol (R. time. 15.15min)이 13.78%를 차지하였다. 그리고 1,2,3-propanetriol, 1-acetate (R. time. 14.13min)가 7.77%를 차지하였으며, benzaldehyde, 3-hydroxy- (R. time. 15.78min)가 2.44%를 차지하였다. 결과적으로 보았을 때 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 5-hydroxymethylfurfural이 가장 많은 비율을 차지하였으며, 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 retention time만 약간씩 달랐을 뿐 동일한 화합물임을 알 수 있었다.

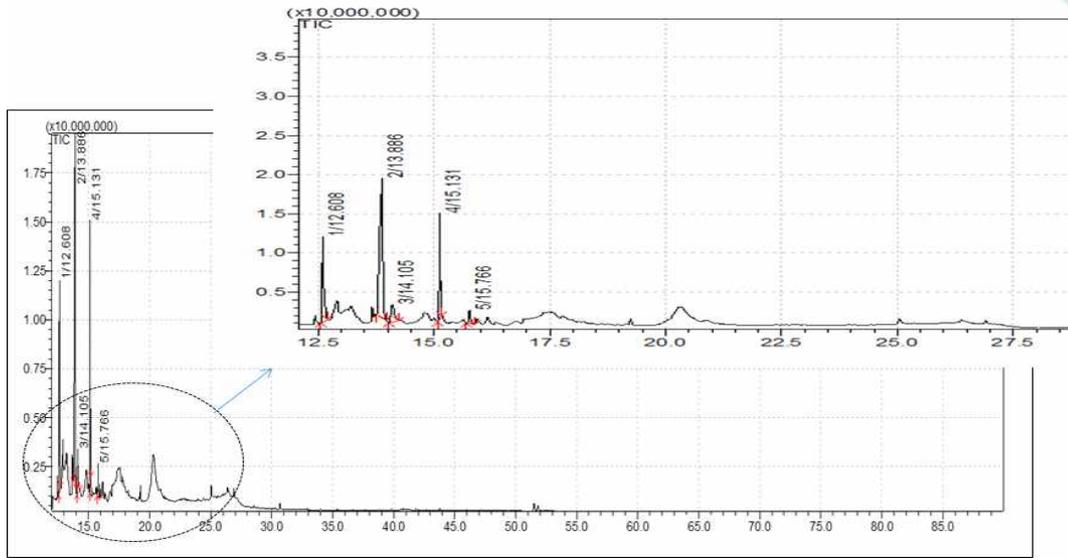


Figure 19. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in *Jeju citrus* peel waver extracts

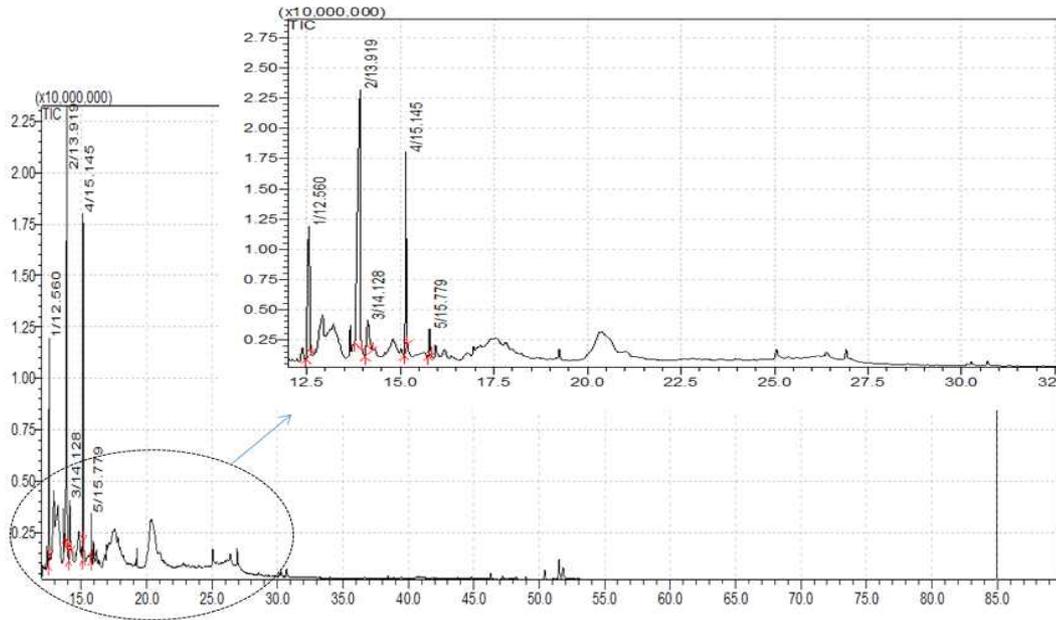


Figure 20. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in *Jeju citrus* peel ethanol extracts



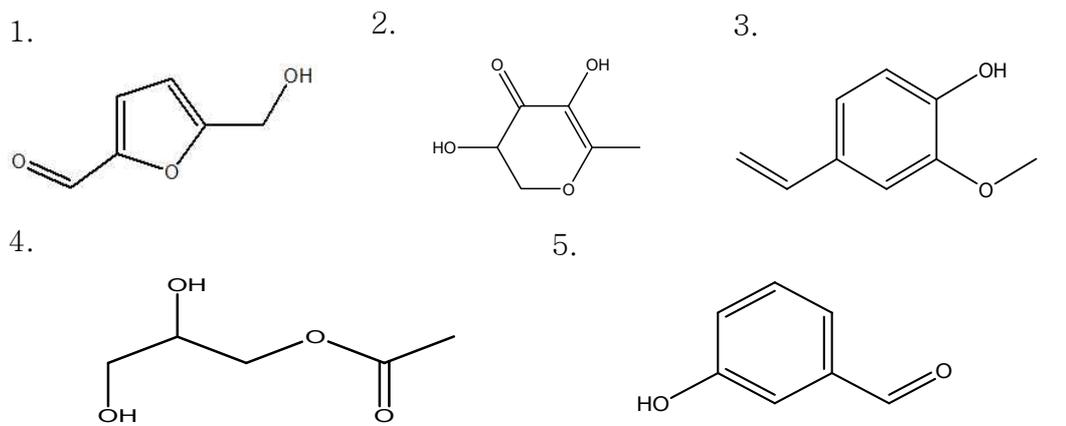
Table 16. Compounds identified from *Jeju citrus* peel extracts through Gas chromatography-mas spectrometry(GC/MS)[90]

구분	No	Retention time(min)	Compound	Formula	Molecular(g/M)	Area (%)
JCP-W ^{a)}	1	13.89	5-hydroxymethylfurfural	C ₆ H ₆ O ₃	126	54.88
	2	12.61	4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	C ₆ H ₈ O ₄	144	19.94
	3	15.13	2-methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	14.24
	4	14.11	1,2,3-propanetriol, 1-acetate	C ₅ H ₁₀ O ₄	134	7.94
	5	15.77	benzaldehyde, 3-hydroxy-	C ₇ H ₆ O	106	3.00
JCP-E ^{b)}	6	13.92	5-hydroxymethylfurfural	C ₆ H ₆ O ₃	126	55.33
	7	12.56	4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	C ₆ H ₈ O ₄	144	20.68
	8	15.15	2-methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	13.78
	9	14.13	1,2,3-propanetriol, 1-acetate	C ₅ H ₁₀ O ₄	134	7.77
	10	15.78	benzaldehyde, 3-hydroxy-	C ₇ H ₆ O	106	2.44

JCP-W^{a)}; *Jeju citrus* peel water extracts

JCP-E^{b)}; *Jeju citrus* peel ethenol extracts

Jeju citrus peel water extracts



Jeju citrus peel ethanol extracts

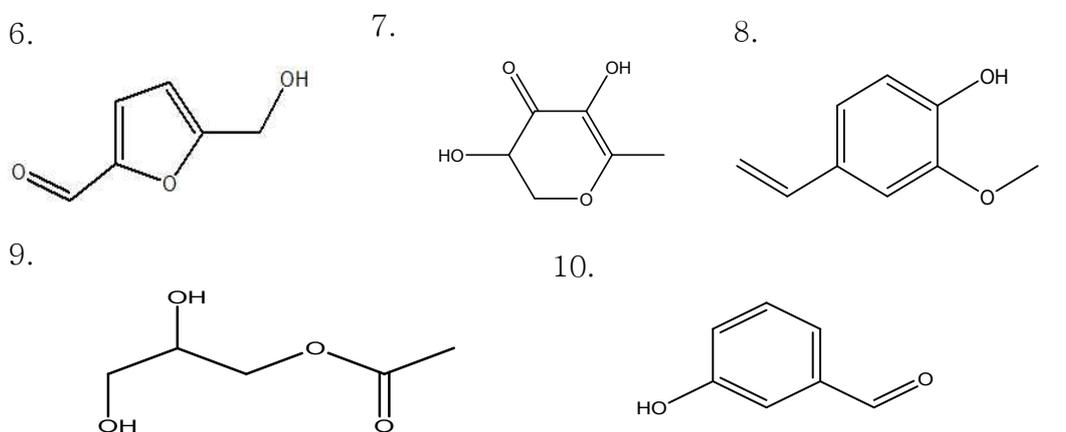


Figure 21. Chemical structures of the identified compounds from *Jeju citrus* peel extracts[90]

1. 5-hydroxymethylfurfural,
2. 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-
3. 2-methoxy-4-vinylphenol
4. 1,2,3-propanetriol, 1-acetate
5. benzaldehyde, 3- hydroxy-
6. 5-hydroxymethylfurfural
7. 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-
8. 2-methoxy-4-vinylphenol
9. 1,2,3-propanetriol, 1-acetate
10. benzaldehyde, 3- hydroxy-



탱자 과피 추출물에서 활성물질을 동정한 결과를 GC/MS에 의해 얻은 chromatogram은 Figure 22과 Figure 23에 나타내었으며, 활성물질들은 Table 17, 과 Figure 24에 나타내었다. 열수 추출물에서는 5-hydroxymethylfurfural (R. time. 13.85min)이 82.73%로 가장 많은 비율을 차지하였으며, 4H-pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl (R. time. 12.44min)이 12.04%를 차지하였다. 그리고 ethyl,α,-d-glucopyranoside (R. time. 20.23min)가 6.21%, benzofuran, 2,3-dihydro- (R. time. 1.63min)가 1.86%, trehalose(R. time. 23.09min)가 1.71%로 작은 비율을 차지하였다. 에탄올 추출물 역시 5-hydroxymethylfurfural (R. time. 13.90min)이 55.33%를 차지하였으며, 2H-1-benzopyran-2-one, 7-[(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)oxy]- (R. time. 13.47min)이 13.87%를 차지하였다. 그리고 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- (R. time. 12.56min)이 9.69%를 차지하였으며, (S)-7-hydroxy-8,8-dimethyl-7,8-dihydropyrano(3,2-g) chromen-2(6H)-one (R. time. 41.14min)이 3.47%, benzhydrazide, 3-methoxy-N2-(allylaminothiocarbonyl) (R. time. 15.14min)가 2.83%로 작은 비율을 차지하였다. 결과적으로 보았을 때 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 5-hydroxymethylfurfural이 가장 많은 비중을 차지하였으며 특히 열수추출물에서 가장 많은 비중을 차지하고 있었음을 알 수 있었으며 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 동일하게 나타난 물질은 5-hydroxymethylfurfural과 4H-pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-임을 알 수 있었다.

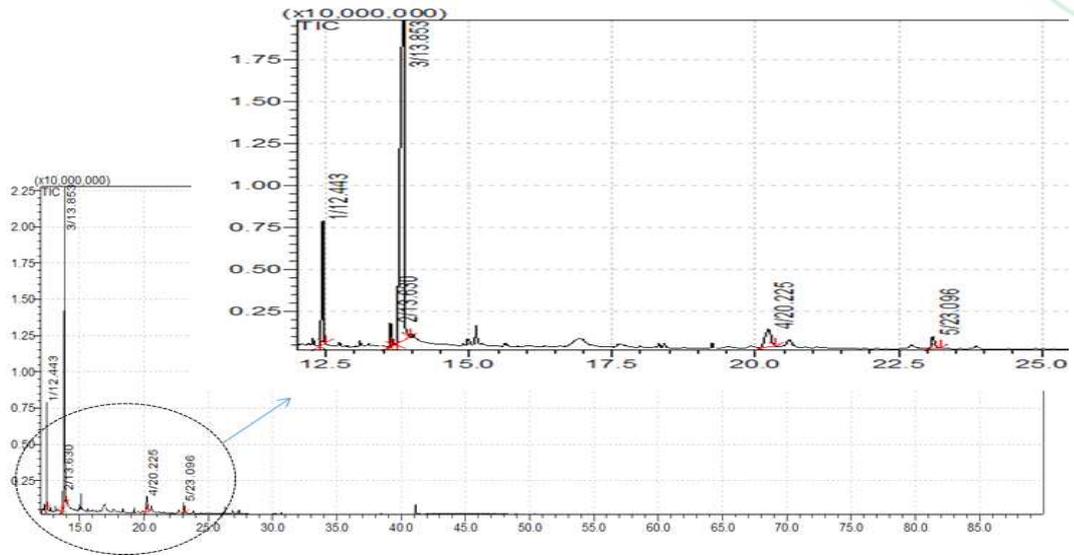


Figure 22. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in *Poncirus trifoliata* peel water extracts

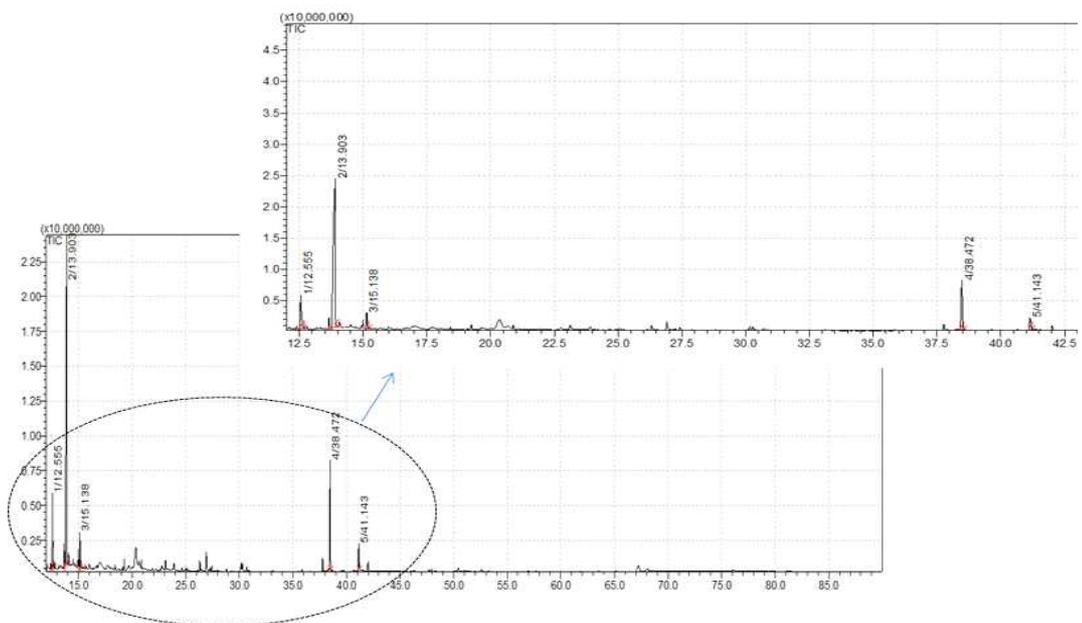


Figure 23. The GC/Mass chromatogram of volatile compounds in *Poncirus trifoliata* peel ethanol extracts



Table 17. Compounds identified from *Poncirus trifoliata* peel extracts through Gas chromatography-mas spectrometry(GC/MS)[90]

구분	No	Retention time(min)	Compound	Formula	Molecular(g/M)	Area (%)
PTP-W ^{a)}	1	13.85	5-hydroxymethylfurfural	C ₆ H ₆ O ₃	126	82.73
	2	12.44	4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	C ₆ H ₈ O ₄	144	12.04
	3	20.23	ethyl, alpha, -D-glucopyranoside	C ₈ H ₁₆ O ₆	208	6.21
	4	13.63	benzofuran, 2,3-dihydro-	C ₈ H ₈ O ₂	120	1.86
	5	23.09	trehalose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342	1.71
PTP-E ^{b)}	6	13.92	5-hydroxymethylfurfural	C ₆ H ₆ O ₃	126	55.33
	7	38.47	2H-1-benzopyran-2-one, 7-[(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)oxy]-	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	298	13.87
	8	12.56	4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	C ₆ H ₈ O ₄	144	9.69
	9	41.14	(S)-7-hydroxy-8,8-dimethyl-7,8-dihydroprano(3,2-g)chromen-2(6H)-one	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246	3.47
	10	15.14	benzhydrazide, 3-methoxy-N2-(allylaminothiocarbonyl)	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S	265	2.83

PTP-W^{a)}; *Poncirus trifoliata* peel water extracts

PTP-E^{b)}; *Poncirus trifoliata* peel ethenol extracts

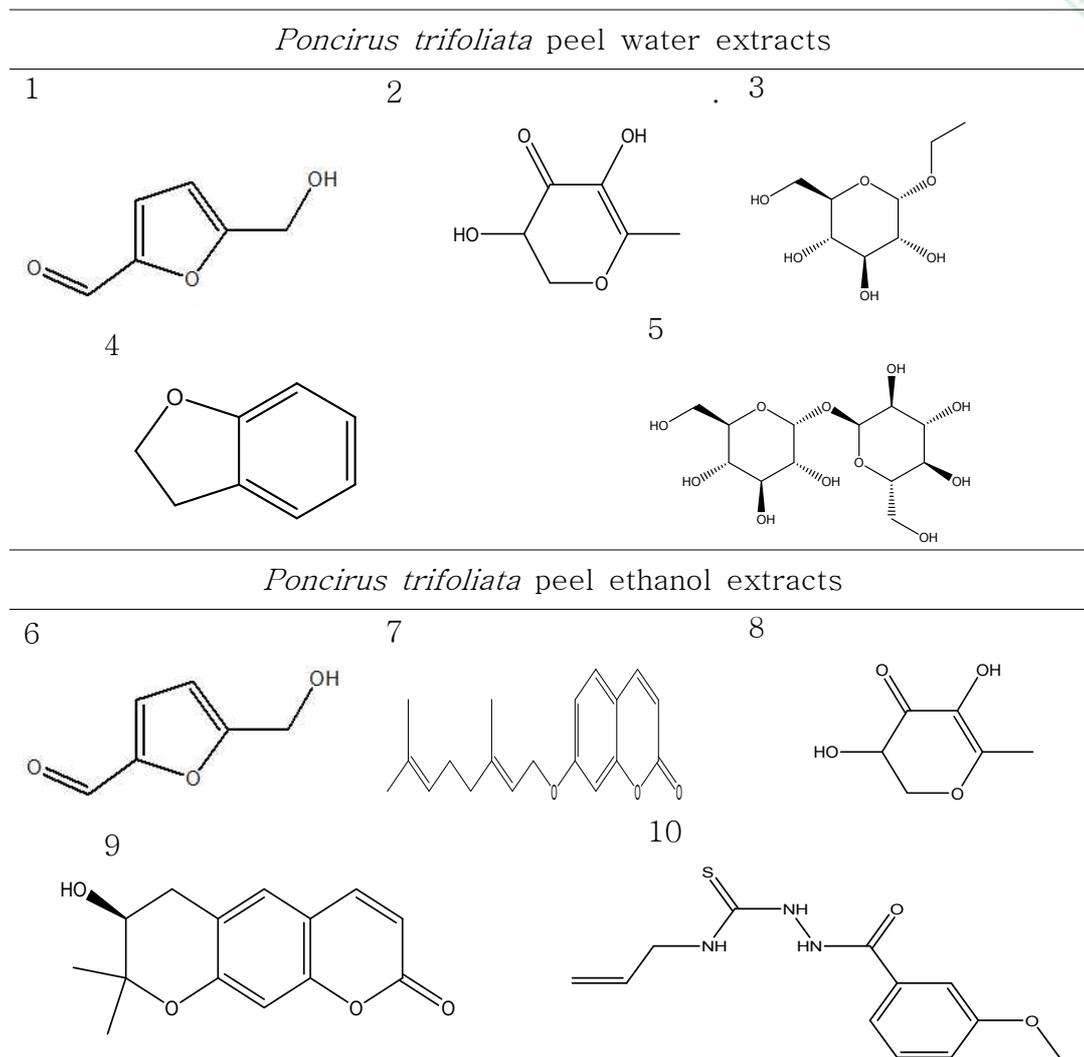


Figure 24. Chemical structures of the identified compounds from *Poncirus trifoliata* peel extracts[90]

1. 5-hydroxymethylfurfural,
2. 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-
3. ethyl, alpha, -d-glucopyranoside
4. benzofuran, 2,3-dihydro-
5. trehalose
6. 5-hydroxymethylfurfural
7. 2H-1-benzopyran-2-one, 7-[(3,7-dimethyl -2,6-octadienyl)oxy]-
8. 4H-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-
9. (S)-7-hydroxy-8,8-dimethyl-7,8-dihydropyrano(3,2-g)chromen-2(6H)-one
10. benzhydrazide, 3-methoxy-N²-(allylaminothiocarbonyl)



이상과 같은 실험 결과로 보았을 때 제주조릿대 잎과 제주감귤 과피 및 탕자 과피 추출물에서 공통적으로 5-hydroxymethylfurfural(HMF)이 53.75%~82.73%로 가장 많은 비율을 차지하는 활성물질이었으며 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물에서만 5-hydroxymethylfurfural이 11.43%로 소량이었으며 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate가 38.25% 그리고 9,12,15-octadecatrienoic acid가 21.78%의 비율을 차지하고 있는 물질임을 알 수 있었다.

제주조릿대가 강한 번식력으로 인해 다른 식물군의 번식지를 침범하여 생태계 파괴를 유발한다는 단점에도 불구하고 제주조릿대가 함유하고 있는 p-coumaric acid, alkene glycoside, polysaccharide, tricin, flavonoid, polyphenol 등은 성인병 치유와 항암 효과가 있음이 보고되고 있다[28]. Park[18]의 연구에서 조릿대 잎의 페놀성분을 HPLC를 이용한 분석 결과를 보면 ascorbic acid(water:11.5, 70%EtOH:12.0 mg/g), protocatechuic acid(water:1.9, 70%EtOH:0.5 mg/g), p-hydroxybenzoic acid(water:0.9, 70%EtOH:0.9 mg/g), caffeic acid(water:1.7, 70%EtOH:2.7 mg/g), syringic acid(water:8.5, 70%EtOH:7.7 mg/g), p-Coumaric acid(70%EtOH:34.2 mg/g), luteolin-6-glucoside(water:34.1, 70%EtOH:84.0 mg/g), tricin-7-glucoside (water:13.3, 70%EtOH:39.5 mg/g)의 화합물과 함량을 알 수 있다. 그리고 Yoon 등[91]의 연구에 의하면 조릿대 잎 추출물에서 tricin, tricin 7-O- β -D-glucopyranoside, luteolin 6-C- α -L-arabinopyranoside 등의 화합물을 동정하였으며, Sultana 등[27]에 의하면 제주조릿대 잎에서 새로운 2개의 화합물 3-p-coumaroyl-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxy-phenyl)-1-propanone, 3-O-p-coumaroyl-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-O- β -D-galcopyranosylpropanol과 기존에 이미 알려진 3개의 화합물인 N-p-coumaroylserotonin, N-feruloylserotonin, p-coumaric acid를 IR 스펙트럼, FT-IR 분광기를 이용하여 분석 하였다. 또한 alkene glycoside 형태의 새로운 화합물에 대한 NMR 분광법을 통하여 분석하고 다른 문헌 등을 근거로 4-hydroxybenzoic acid, 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone, saikochromone A, tricin, tricin-7-O-glycoside, tricetin-3,4,5-tri-O-methyl-7-O- β -glucopyranoside, isoorientin, daucosterol, lutein 등을



분석하였다[92]. 그리고 Ko[4]의 제주조릿대의 유효성분의 분리 연구에서는 NMR분광기를 이용하여 크로마토그래피법으로 화합물의 구조를 동정하고 문헌들을 통한 판독결과 12종의 단일물질 중 flavonoids 2종과 불포화 지방산 1종, lacton 계열 화합물 2종, 프로파놀, 페닐, 페놀산이 결합된 형태의 화합물로 분류하였다. 여기에서 신규 화합물을 발견하지는 못하였으나 methyl cis-p-hydroxycinnamate, methyl trans-p-hydroxycinnamate, 2,3-dihydroxypropyl 9Z, 12Z-octadecadienoate, (+)-(6S, 7aS)-epilolide, (-)-(6R, 7aS)-loliolide, naringenin 등의 화합물은 제주조릿대 잎 추출물에서 처음 보고된 화합물임을 확인 하였으며, 제주조릿대 잎에서 함량을 가장 많이 보인 화합물은 3-O-p-coumaroyl-1-(4-hydroxy-3, 5-dimethoxyphenyl)-1-O- β -glucopyranosylpropanol 밝히고 있다. Jeong[93]의 연구에 의하면 조릿대의 잎차에서 조단백질은 16.38% 아미노산 93.3 mg/g을 함유하고 있음을 알 수 있으며, Kim[94]의 연구에 의하면 제주조릿대의 성숙한 잎에서의 조단백질 함량은 12.2~16.6%로 나타났으며 다량원소에서는 인산(P) 0.11~0.13%, 칼슘(Ca) 0.30~0.42%, 칼륨(K) 0.87~1.40%, 마그네슘(MG) 0.09~0.14%, 나트륨(N) 0.02~0.03%를 그리고 미량원소들은 철(Fe) 172.2~243.5 ppm, 망간(Mn) 403.6~571.5 ppm, 아연(Zn) 39.4~50.1 ppm, 구리(Cu) 5.6~5.9 ppm의 함량을 나타내었다.

유자, 탕자 및 귤은 감귤류에 속한다. 감귤류에는 많이 함유되어 있는 flavonoid의 성분들에는 hesperidin, naringin, neohesperidin, naringenin, rutin, hesperetin, nobiletin, narirutin, tangeretin, natsudaidin, sinensetin, didymin, 5,7,4'-methoxyflavone, eriocitrin, 4'-methoxyflavone, poncirin, 등이 보고 되어있으며, 최근에는 이러한 화합물들의 생리활성에 대한 연구가 활발하게 연구되고 있다[58]. flavonoid에 대한 생리활성 강도로는 치환기의 종류나 수 그리고 결합위치 등에 따라서 차이를 보이게 되는데, methoxy기가 많아질수록, -OH의 수산기보다 -OCH₃의 methoxy기를 가지고 있는 화합물에서 강한 활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다[58]. 특히 감귤류의 비타민 C와 식이섬유, 엽산과 carotenoid와 flavonoid등이 함유되어 있으며 이러한 flavonoid가 가지고 있는 기능으로는 항산화와 항균, 항암등과 항염증 효과 등이 있다. 특히 감귤계



통의 과일의 껍질에는 많은 플라바논을 함유하고 있으며 이는 glycone과 aglycone의 형태로 존재하며 glycone은 rutinose와 neohesperidin으로 구분할 수 있으며, aglycone의 가장 중요한 플라바논은 hesperetin과 naringenin으로 구분할 수 있다. 그리고 이 aglycone의 플라바논중에서 hesperetin은 각종 라디칼의 소거능이 있으며 naringenin과 함께 강력한 항산화 효과를 나타내는 환원력을 가지고 있는 것으로 알려져 있다[80].

2) 유기산 분석

유기산은 신맛을 나타내는 요인의 하나로 당이나 향기를 나타내는 물질과 함께 과일의 특유한 맛을 형성하고 과즙에 대한 산도를 결정하게 하는 중요한 물질에 해당되며[95], 식품이나 향장소재로 사용 하였을 경우 pH를 낮추는 역할로 인해 제품의 부패를 방지할 수도 있을 것이다. 제주조릿대 잎과 제주감귤 과피 및 탕자 과피의 유기산을 분석한 결과를 Table 18에 정리하였다. 유기산 함량을 분석한 결과 citric acid, malic acid, tartaric acid, succinic acid, lactic acid, formic acid, acetic acid등 7가지의 유기산을 동정하였으며, malic acid, lactic acid은 미량으로서 모든 추출물에서 함량으로 측정이 되지 않는 않았다. 분석 결과 모든 추출물에서 tartaric acid(주석산)의 함유량이 가장 높게 나왔다. 그 중에서도 탕자 과피의 열수 추출물에서 284.98 mg/g 으로 가장 많은 함유량이 나왔으며, 탕자 과피의 에탄올 추출물이 5.52 mg/g, 제주조릿대 잎 열수 추출물과 에탄올 추출물이 각각 6.27 mg/g, 1.88 mg/g 으로 나왔으며, 제주감귤 과피가 각각 6.11 mg/g, 5.00 mg/g의 함유량을 알 수 있었다. tartaric acid(주석산)은 주로 포도에 많이 존재하며 특히 와인을 제조할 때 주석산의 함량에 따라 와인의 pH가 달라지는데 주석산이 강산으로 작용하기 때문이다. 그리고 와인에 함유되어 있는 산 중에서 1/4에서 1/3의 비율을 차지하며, 박테리아의 분해 작용에 대한 저항성이 가장 강하다[96]. 그리고 citric acid(구연산)은 제주조릿대 잎의 열수 추출물에서 1.19 mg/g 의 함유량과 탕자의 열수 추출물에서 4.81 mg/g으로 나타났다. 또한 향균 물질로 알려진 formic acid와 초산의 원료가 되는 acetic acid는 제주조릿대 잎의 열수 추출물에서 각각 0.43 mg/g, 0.48 mg/g의 함량이



이였으며, 제주감귤의 열수 추출물에서는 각각 0.35 mg/g, 0.23 mg/g의 함유량으로 나타난 것을 알 수 있다. 이와 같은 결과로 보았을 때 탕자 과피 추출물에서 항균효과가 높았던 이유는 주석산 함량이 다른 추출물에 비해 월등하게 많이 나온 것과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각 되며, 제주감귤 과피와 같은 경우는 citric acid(구연산)의 함량이 많을 것으로 생각하였는데 의외로 미량이어서 함량으로 측정이 되지 않았다. Song의[97] 제주감귤의 과즙에서 citric acid의 함량이 다른 유기산들 보다 가장 높았으며 성숙정도에 따라 함량의 차이는 있었지만 2.80%~5.11%정도 함유한 것으로 봐서는 과피 보다는 과육에서 citric acid의 함량이 더 많이 나온 것을 알 수 있다. 그리고 Kim의[98] 유자에 대한 성분분석에서 유자 과피의 유기산 함량 중 citric acid의 함량이 56.4%로 가장 많은 함유량이 나왔음을 알 수 있었으며 본 연구에서 제주감귤 과피에서는 거의 나오지 않았던 malic acid의 함량이 18.5%로 두 번째로 많이 나왔다.

결과적으로 보았을 때 모든 유기산 중에서 탕자 과피의 열수 추출물에서 tartaric acid의 함량이 월등하게 높았으며, citric acid 또한 탕자 과피 열수 추출물에서 가장 높은 함유량으로 나왔음을 알 수 있었다 그리고 succinic acid와 formic acid 및 acetic acid 모두 제주 조릿대 잎 열수 추출물에서 가장 높게 나왔음을 알 수 있었다.



Table 18. The organic acid contents *Sasa quepaertensis* leaves, *Jeju citrus* and *Poncirus trifoliata* peels extracts

(Unit : mg/g)

Composition Sample	Organic acid							
	Citric acid	Tartaric acid	Malic acid	Succinic acid	Lactic acid	Formic acid	Acetic acid	
SQL ^{a)}	W ^{d)}	1.19	6.27	N.D. ^{f)}	0.34	N.D. ^{f)}	0.43	0.48
	E ^{e)}	0.10	1.88	N.D.	0.02	N.D.	0.03	0.08
JCP ^{b)}	W ^{d)}	N.D.	6.11	N.D.	0.29	N.D.	0.35	0.23
	E ^{e)}	N.D.	5.00	N.D.	0.27	N.D.	0.25	N.D.
PTP ^{c)}	W ^{d)}	4.81	284.98	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	E ^{e)}	N.D.	5.52	N.D.	0.26	N.D.	0.32	0.21

^{a)}SQL; *Sasa quepaertensis* leaves, ^{b)}JCP; *Jeju citrus* peel, ^{c)}PTP; *Poncirus trifoliata* peel, ^{d)}W; water extracts, ^{e)}E; ethanol extracts ^{f)} N.D.; not detected



2) 아미노산 분석

많은 아미노산들이 모여서 단백질을 구성하며 우리 피부를 비롯하여 모발이나 손톱과 발톱 그리고 내장기관과 근육등 우리 신체를 구성하고 있는 구성성분들을 이루고 있다. 특히 18종의 단백질로 구성되어 있는 모발세포 등이 증식하고 또한 모발건강을 유지하기 위하여 모발을 구성하는 단백질 등의 역할이 크다고 할 수 있다. 단백질은 산소(O), 수소(H), 질소(N) 및 탄소(C)등의 원소로서 이루어진 유기화합물로 모든 동물과 식물의 생명을 유지하는데 있어서 필수적인 영양소중의 하나이다. 이러한 단백질을 구성하는 요소가 되는 아미노산은 체내에서 합성이 되는 비 필수 아미노산과 체내에서 합성이 되지 않기 때문에 반드시 외부에서 식품 등으로 섭취를 필요로 하는 필수 아미노산이 있다[99].

가) 구성아미노산 분석

제주조릿대 잎과 제주감귤 과피 및 탱 자과피의 구성 아미노산 함량을 분석한 결과를 Table 19에 나타내었다. 아미노산중 구성 아미노산은 천역 식물과 식품 등에 존재하는 단백질을 산으로 분해하여서 단백질을 분석하는 방법으로 17종을 분석 하였다. 구성 아미노산의 총 함량은 탱자 과피의 열수 추출물이 68.73 mg/g으로 가장 많았으며, 쓴맛과 단맛을 강하게 나타내는 proline이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 32.58 mg/g, 32.01 mg/g으로 월등하게 많은 함유량을 가지고 있었으며 단맛이 강한 alanine도 6.36 mg/g, 6.29 mg/g으로 많은 함유량 가지고 있었다. 그리고 제주조릿대 잎 추출물의 총 함량은 열수 추출물과 에탄올 추출물이 각각 58.75 mg/g, 63.30 mg/g으로 aspartic acid가 각각 19.39 mg/g, 14.77 mg/g으로 가장 많은 함유량을 가지고 있었으며, 신맛과 감칠맛을 가지고 있는 glutamic acid도 11.75 mg/g, 12.57 mg/g으로 많은 함유량을 가지고 있었다. 또한 제주 감귤의 과피 역시 aspartic acid가 각각 9.10 mg/g, 6.67 mg/g으로 가장 많았으며, proline이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 7.18 mg/g, 6.95 mg/g의 많은 함유량을 가지고 있었다. 탱자 과피에 가장 많은 함유량을 나타내는 proline은 콜라겐의 연골조직과 gelatin, 곡류 등에 많이



함유되어 있는 prolamin과 우유 등에 함유되어있는 인단백질의 casein인에 함유되어 있어서 콜라겐을 합성하거나 조직을 회복하는 역할을 한다[100]. 그리고 제주조릿대 잎에 가장 많이 함유되어 있는 aspartic acid는 백합과의 식물로 asparagus officinalis(아스파라거스)의 액즙에서 분리되었으며, 사탕수수, 당밀, 사탕무와 싹이 튼 콩 등의 식물계에 많이 존재하고 있는 물질로 면역을 강화시키는 기능이 있다[101]. 또한 glutamic acid는 신경전달 물질의 전구체로 엽산이 주 구성성분으로 신경계에 신경전달 기능을 증가시키며, glutamine 또는 GABA로 전환되며 당과 지방대사 등에 필수적으로 작용하기도 하고 칼륨이온 등을 척수로 옮기는 등 혈액의 뇌관문을 통과시키기도 한다. 그리고 질소이온을 잡아 암모니아를 해독하기도 하기 때문에 의학적으로는 어린아이의 이상 행동, 간질, 근육이완, 저혈당으로 인한 혼수상태 및 정신지체장애등에 처방되기도 한다[102].

총 9종의 필수 아미노산 중에서는 제조조릿대 잎에서 쓴맛이 강한 valine이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 2.58 mg/g, 3.59 mg/g으로 가장 많았으며, 신맛이 강한 threonine도 에탄올 추출물에서 2.76 mg/g으로 많았음을 알 수 있었다. 제주감귤 과피에서는 열수 추출물에서는 쓴맛이 강한 arginine이 2.53 mg/g으로 가장 많았다. 또한 탱자 과피에서는 열수 추출물에서 쓴맛이 강한 leucine이 에탄올 추출물에서 역시 쓴맛이 강한 valine이 같은 1.42 mg/g의 함량으로 가장 많았음을 알 수 있었다. 그리고 Kim의[98] 유자에 대한 성분분석에서 유자 과피의 총 구성 아미노산 함량은 671.88 mg%이었고 그중에서 aspartic acid가 106.58 mg%, proline이 87.21 mg%, glutamic acid가 75.41 mg% 순으로 많은 함량을 나타내었으며 필수아미노산 중에서는 약간의 쓴맛을 가지고 있으며 어린아이들에게만 필수아미노산으로 작용하는 histidine이 50.85 m%로 가장 많은 함유량을 나타냈다. 결과적으로 보았을 때 탱자 과피의 당도가 가장 높았던 이유는 쓴맛도 강하지만 단맛 역시 강한 proline이 다른 추출물보다 월등하게 많은 함량을 나타내었기 때문으로 사료 된다. 그리고 Kim의[98] 유자 과피와 비교하여 보았을 때에도 항산화 활성이 가장 좋았던 제주조릿대 잎과 제주감귤 과피와 항균활성이 가장 뛰어났던 탱자 과피가 훨씬 높은 구성 아미노산의 함량을 가지고 있는 것을 확인하였다.



Table 19. Composition of total amino acid in *Sasa quelpaertensis* leaves, *Jeju citrus* and *Poncirus trifoliata* peels extracts

(Unit : mg/g)

Component	Sample					
	SQL-W ^{a)}	SQL-E ^{b)}	JCP-W ^{c)}	JCP-E ^{d)}	PTP-W ^{e)}	PTP-E ^{f)}
Aspartic acid	19.39	14.77	9.10	6.67	11.25	11.06
Threonine*	2.17	2.76	1.36	0.36	1.10	1.06
Serine	4.21	4.47	2.10	1.00	3.23	3.14
Glutamic acid	11.75	12.57	3.31	1.63	4.81	4.59
Proline	3.28	2.96	7.18	6.95	32.58	32.01
Glycine	1.77	2.82	1.57	0.53	1.16	1.15
Alanine	4.88	5.17	2.30	1.08	6.36	6.29
Cystine	0.25	0.49	0.08	0.04	0.10	0.12
Valine*	2.58	3.59	1.72	0.30	1.38	1.42
Methionine*	0.12	0.44	0.28	0.08	0.16	0.15
Isoleucine*	1.29	1.82	1.39	0.24	0.88	0.84
Leucine*	1.51	2.48	2.44	0.52	1.42	1.37
Tyrosine	0.68	1.03	0.70	0.23	0.52	0.47
Phenylalanine*	1.44	1.69	1.43	0.33	0.86	0.81
Histidine*	1.44	2.35	1.07	0.52	1.10	1.03
Lysine*	0.81	2.16	1.85	0.41	1.14	1.08
Arginine*	1.17	1.73	2.53	1.52	0.72	0.85
Total	58.75	63.30	40.42	22.39	68.73	67.44

^{a)}SQL-W; *Sasa quelpaertensis* leaves water, ^{b)}SQL-E; *Sasa quelpaertensis* leaves ethanol, ^{c)}JCP-W; *Jeju citrus* peel water, ^{d)}JCP-E; *Jeju citrus* peel ethanol, ^{e)}PTP-W; *Poncirus trifoliata* peel water, ^{f)}PTP-E; *Poncirus trifoliata* peel ethanol, *Essential amino acid



나) 유리아미노산 분석

제주조릿대 잎과 제주감귤 과피 및 탱 자과피의 유리 아미노산 함량을 분석한 결과를 Table 20에 나타내었다. 아미노산중 유리 아미노산은 아미노산 자체로 존재하는 것들로 총 39종을 동정하였으며, 그중 전체추출물에서 극소량으로 함량이 나타나지 않은 10종을 제외한 29종을 분석 하였다. 유리 아미노산에서는 대부분 구성 아미노산 보다는 작은 함량이었지만 제주조릿대 잎의 열수 추출물에서 총 함량이 44.45 mg/g으로 가장 높게나왔다. 그 중에서도 신경계통에 균형을 유지해주는 asparagine이 16.77 mg/g으로 가장 많았으며 뇌의 기능을 향상시키는 γ -amino-n-butyric acid(GABA)도 4.30 mg/g의 함량을 가지고 있었다. 제주감귤 과피에서는 에탄올 추출물에서 asparagine이 0.59 mg/g으로 가장 많았으며, 탱자 과피 추출물에서는 구성 아미노산에서와 마찬가지로 우리 피부의 콜라겐을 합성하는데 도움을 주는 proline이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 6.38 mg/g, 8.20 mg/g으로 가장 많았음을 알 수 있었다. 각 추출물에서 총 9종의 필수 아미노산중에서는 제주조릿대 잎은 열수 추출물에서는 쓴맛을 나타내는 valine이 2.06 mg/g으로 가장 많았으며, 제주감귤 과피에서는 열수 추출물에서 쓴맛을 나타내는 leucine이 0.24 mg/g으로 가장 많았다. 그리고 탱자 과피 에탄올 추출물에서 단맛이 강한 threonin이 가장 많았음을 알 수 있었다. 유리 아미노산중에서 가장 많은 함유량을 보였던 asparagine은 단맛을 구성하고 있으며 아스파라거스와 감자, 사탕무, 두류등 발아 시 가장 많고 중추 신경계통의 균형을 유지 하는데 관여 한다[100]. 그리고 γ -amino-n-butyric acid(GABA)는 중추신경계에 있는 신경전달물질로서 뇌의 혈행을 원활하도록 하여 산소의 공급을 증가시켜서 뇌의 세포가 대사기능을 촉진시킬 수 있도록 하고 혈압을 강화시키기도 하며 알코올의 대사를 향상 시키는 역할을 한다[103]. Kim의[98] 유자에 대한 성분분석에서 유자 과피의 총 유리 아미노산 함량은 324.29 mg%이었고 그중에서 proline이 134.48 mg%, serine이 54.84 mg%, aspartic acid가 34.48 mg% 순으로 많은 함량을 나타내었으며 필수아미노산 중에서는 유자 과피의 구성 아미노산과 마찬가지로 histidine이 17.35 m%로 가장 많은 함유량을 나타냈다



Table 20. Composition of free amino acid in *Sasa quelpaertensis* leaves, *Jeju citrus* and *Poncirus trifoliata* peels extracts

(Unit : mg/g)

Component	Sample					
	SQL-W ^{a)}	SQL-E ^{b)}	JCP-W ^{c)}	JCP-E ^{d)}	PTP-W ^{e)}	PTP-E ^{f)}
Phosphoserine	0.28	N. D. ^{g)}				
Taurine	0.03	N. D.				
Phosphoethanolamine	0.43	N. D.				
Aspartic acid	1.13	N. D.	N. D.	N. D.	0.08	0.13
Threonine*	1.38	0.27	0.05	N. D.	0.05	0.43
Serine	2.84	0.30	0.06	0.05	0.20	0.75
Asparagine	16.77	1.22	0.25	0.59	0.61	0.15
Glutamic acid	1.86	0.03	N. D.	N. D.	0.12	N. D.
Sarcosine	0.30	0.00	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Proline	1.62	0.70	N. D.	N. D.	6.38	8.20
Glycine	0.59	0.07	0.02	N. D.	0.01	0.02
Alanine	3.38	1.08	0.16	0.18	1.08	1.68
α -aminobutyric acid	N. D. ^{g)}	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	0.01
Valine*	2.06	0.77	0.10	0.03	0.15	0.17
Methionine*	0.36	0.00	0.05	N. D.	0.03	0.03
Isoleucine*	0.97	0.35	0.08	0.01	0.05	0.06

(계속)



(Unit : mg/g)

Component	Sample					
	SQL-W ^{a)}	SQL-E ^{b)}	JCP-W ^{c)}	JCP-E ^{d)}	PTP-W ^{e)}	PTP-E ^{f)}
Leucine*	1.31	0.39	0.24	0.02	0.10	0.07
Tyrosine	0.75	0.17	0.09	0.02	0.03	0.03
Phenylalanine*	0.90	0.30	0.12	N. D. ^{g)}	0.04	0.02
β -alanine	0.02	0.01	N. D. ^{g)}	N. D.	N. D. ^{g)}	0.00
γ -amino-n -butyric acid	4.30	1.99	0.13	0.14	0.55	0.69
Histidine*	0.37	0.03	0.01	N. D.	N. D.	0.01
Anserine	0.33	0.16	0.08	0.00	0.15	0.12
Tryptopan	0.05	N. D. ^{g)}	N. D.	N. D.	N. D.	N. D. ^{g)}
Hydroxylysine	0.01	N. D.				
Ornithine	0.05	0.03	N. D.	N. D.	N. D.	0.01
Lysine*	0.97	N. D.	0.00	N. D.	N. D.	N. D.
Ethanolamine	0.29	0.18	0.05	0.10	0.05	0.06
Arginine*	1.08	0.06	0.10	N. D.	N. D.	0.01
Total	44.45	8.12	1.58	1.14	9.66	12.64

^{a)}SQL-W; *Sasa quelpaertensis* leaves water, ^{b)}SQL-E; *Sasa quelpaertensis* leaves ethanol, ^{c)}JCP-W; *Jeju citrus* peel water, ^{d)}JCP-E; *Jeju citrus* peel ethanol, ^{e)}PTP-W; *Poncirus trifoliata* peel water, ^{f)}PTP-E; *Poncirus trifoliata* peel ethanol, ^{g)}N. D.; not detected, * essential amino acid



5. 결 론

본 연구에서 제주도의 한라산에서 자생하고 있는 제주조릿대(*Sasa quelpaertensis* Nakai)와 우리나라에서 많이 재배되고 있는 감귤계 과일 중 유자(*Citrus Junos siebold ex Tanaka*), 탕자(*Poncirus Trifoliata Raf.*) 및 제주감귤(*Jeju citrus*)의 3종을 선택하여 제주조릿대 잎은 95°C 증류수와 실온의 70% 에탄올용액으로 각각 추출하였으며, 유자, 탕자, 귤과피를 50°C에서 각각 열수추출과 70% 에탄올용액으로 추출하였다. 항산화 활성에 대한 평가를 위하여 총 polyphenol, tannin, flavonoid 및 vitamin C 함량 등을 측정하고 항산화 활성을 평가하기 위하여 DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거활성을 측정하였다. 그리고 세포독성에 의한 세포의 생존율과 LPS에 의해 유도된 nitrite oxide 생성 억제 효과를 평가하기 위하여 human skin fibroblast와 RAW 264.7 세포를 배양하여 세포생존율과 NO생성 억제 효과를 측정하였다. 항균, 항진균 활성 평가를 위하여 세균류에 속하는 황색포도상구균인 *Staphylococcus aureus*, 표피포도상구균인 *Staphylococcus epidermidis*, 그리고 대장균으로 *Escherichia coli*에 대한 항균효과와 진균류에 속하는 *Candida albicans*의 항진균 효과를 paper disc diffusion assay실험을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 총 polyphenol함량으로는 제주조릿대 잎과 유자 과피는 열수 추출물에서 각각 26.6 mgGAE/g, 10.8 ± 0.00 mgGAE/g으로 더 높게 나타났다. 그리고 탕자 과피와 제주감귤 과피는 에탄올 추출물에서 각각 14.2 ± 0.00 mgGAE/g, 26.3 ± 0.00 mgGAE/g으로 더 높은 함유량을 나타내었다. 총tannin의 함량 역시 제주조릿대 잎과 유자 과피는 열수 추출물에서 각각 72.2 mgTAE/g, 12.9 ± 0.02 mgTAE/g으로 더 높은 함유량을 보였으며, 탕자 과피와 제주감귤 과피는 각각 16.3 ± 0.02 mgTAE/g, 28.4 ± 0.01 mgTAE/g으로 에탄올 추출물에서 더 높은 함유량이 나왔다. 그리고 총 flavonoid함량은 제주 조릿대 잎과 유자 과피는 에탄올 추출물에서 각각 25.4 ± 0.01 mgQE/g, 8.0 ± 0.00 mgQE/g으로 더 많은 함유량을 나타냈다. 탕자는 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 9.2 ± 0.00



mgQE/g으로 동일하게 나왔으며, 제주감귤은 열수 추출물에서 11.7 ± 0.00 mgQE/g으로 에탄올 추출물보다 더 높게 나왔다. vitamin C 함량은 제주조릿대 잎에서는 $12.0 \sim 14.1$ mgAAE/g, 유자 과피에서는 $15.1 \sim 15.3$ mgAAE/g, 탕자 과피에서는 $16.2 \sim 17.7$ mgAAE/g, 귤 과피에서는 $15.7 \sim 20.7$ mgAAE/g으로 나왔으며, 귤 과피의 열수 추출물에서 가장 많은 함유량이 나왔음을 알 수 있었다. 전체적으로 보았을 때는 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 귤 과피 모두 tannin의 함량이 가장 높게 나타났으며, 그다음이 polyphenol의 함량이 높게 나왔으며, vitamin C 함량, flavonoid 함량 순으로 높게 나왔다. 또한 유자, 탕자 및 귤과피의 총당의 함량을 측정한 결과는 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 과피에서는 열수 추출물에서 8.8 ± 0.06 Brix, 9.8 ± 0.25 Brix, 10.5 ± 0.06 Brix로 높게 나왔다. 그리고 귤 과피는 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 9.7 ± 0.00 Brix로 나왔음을 알 수 있었으며 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 탕자 과피가 가장 높게 나왔음을 알 수 있었다. 그리고 pH를 측정한 결과 $3.07 \pm 0.06 \sim 6.31 \pm 0.01$ 범위의 약산성으로 탕자과피 > 유자과피 > 귤과피 > 제주조릿대 잎 순서로 탕자가 가장 산성에 가깝게 나왔음을 알 수 있었다.

둘째, 항산화 활성으로 DPPH free radical의 소거능과 ABTS cation radical 소거활성을 실험한 결과 DPPH free radical의 소거활성에서는 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 제주감귤 모두 1000 ppm이하에서는 큰 변화를 나타내지 않다가 점차적으로 농도가 증가함에 따라 높은 소거활성이 높게 나타난 것을 알 수 있었으며 IC_{50} 값이 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 2200~2230 ppm의 가장 낮은 농도에서 소거율이 나왔으며, 그 다음이 제주감귤 과피의 열수추출물과 에탄올 추출물에서 3820 ppm, 6000 ppm으로 나왔으며, 유자 과피와 탕자 과피는 모두 9000 ppm대에서 나온 것을 알 수 있었으며 제주조릿대 잎과 제주 감귤 과피 보다는 소거활성이 조금 떨어지는 것으로 나왔음을 알 수 있었다. ABTS cation radical 소거활성 역시 DPPH radical 소거활성과 비슷한 순서로 소거활성을 나타낸 것을 알 수 있었으며, tannin의 함량이 가장 높게 나타난 제주조릿대 잎과 vitamin C 함량이 가장 높았던 제주감귤 과피에서 radical 소거 활성이 가장 높게 나타난 것을 알 수가 있었다.

셋째, 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 귤 과피의 세포생존율을 확인한 결과



125~1000 ppm 농도별로 처리했을 때 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 유자 과피와 귤과피의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 세포생존율이 1000 ppm에서 87%~105%의 생존율을 보였으며 제주조릿대 잎의 열수 추출물과 탱자의 열수와 에탄올 추출물에서는 생존율이 조금 떨어지는 것을 알 수 있었으며, 이들의 CVC_{80} 농도는 제주조릿대 잎이 240 ppm, 탱자 과피 열수 추출물이 300 ppm 그리고 탱자과피 에탄올 추출물이 470 ppm으로 나왔으며, 향후 사용목적에 맞게 농도를 조절하여 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

넷째, LPS에 의해 유도된 nitrite oxide 생성 억제 효과에서는 RAW 264.7 cell에 LPS를 처리하지 않은 대조군에서 NO생성량이 $3.1 \pm 1.11 \mu\text{M}$ 로 활성이 낮게 나타났으나 LPS를 처리한 후 NO생성량이 $37.2 \pm 11.86 \mu\text{M}$ 로 많은 양이 증가 하였다. 각각의 추출물 농도 0,125 mg/ml~1.000 mg/ml에서 제주조릿대 잎은 $39.1 \pm 3.48 \mu\text{M}$ ~ $2.5 \pm 1.13 \mu\text{M}$ 로 농도에 따라 가장 높은 억제 효과를 보였다. 유자 및 제주감귤의 열수 추출물에서 제주조릿대 잎에 비해 다소 낮게는 나왔지만 농도 증가에 따라 NO생성량이 줄어든 것으로 보아서 이들의 세포생존율이 높았기 때문에 농도를 증가하여 사용하였을 경우에는 대조군에 가까운 억제 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

다섯째, 제주조릿대 잎과 유자, 탱자 및 귤 과피의 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*에 대한 항균효과와 *C. albicans*의 항 진균 효과를 확인한 결과 농도 7.5 mg/disc~25 mg/disc에서 *S. aureus*균주에서는 제주조릿대 잎의 열수 추출물에서 11 ± 3.54 ~ 13 ± 3.54 mm의 항균활성과 에탄올 추출물에서 9 ± 0.00 ~ 10 ± 0.00 mm로 열수 추출물에서 더 높은 항균활성을 확인 하였다. 그리고 감귤계 과피 중에서는 탱자 과피에서만 8.7 ± 0.35 ~ 10.7 ± 0.58 mm로 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 항균활성이 나타났음을 알 수 있었다. *S. epidermidis*균주에서 7.5 mg/disc~25 mg/disc 농도에서 제주조릿대 잎의 열수 추출물이 9 ± 0.58 ~ 11 ± 0.58 mm의 항균효과와 에탄올 추출물이 10 ± 0.00 mm로 비슷한 항균효과를 확인하였으며 에탄올 추출물과 같은 경우는 농도증가에 따른 항균활성의 차이는 크게 나타나지 않았다. 그리고 유자 과피에서는 최고 농도인 25 mg/disc 농도에서만 10 ± 0.00 mm로 나왔으며 탱자 과피에서는 11 ± 0.70



mm~17±2.89 mm로 비교적 높은 항균활성이 나타났음을 알 수 있었다. *E. coli* 균주에서는 탱자 과피에서 항균 활성이 뛰어났으며 *C. albicans* 균주에서 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두에서 항진균 효과는 나타나지 않았다. 특히 귤 과피 추출물에서는 항산화 활성은 높게 나왔으나 항균효과는 전혀 나타나지 않았음을 알 수 있는 것을 보았을 때 항산화활성과 항균활성과는 연관성이 없음을 확인할 수 있었다.

여섯째, 항산화 활성이 좋았던 제주조릿대 잎과 제주감귤 과피 및 탱자 과피 추출물을 선정하여 성분에 대한 연구 결과 제주조릿대 잎과 제주감귤 과피 및 탱자 과피 추출물에서 공통적으로 5-hydroxymethylfurfural(HMF)이 53.75%~82.73%로 가장 많은 비율을 차지하는 활성물질 이었으며 제주조릿대 잎의 에탄올 추출물에서만 5-hydroxymethylfurfural이 11.43%로 소량이었으며 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate가 38.25% 그리고 9,12,15-octadecatrienoic acid가 21.78%로 가장 많은 비율을 차지하고 있는 물질임을 알 수 있었다. 유기산 함량에서는 탱자 과피의 열수 추출물에서 citric acid와 tartaric acid의 함량이 가장 높게 나왔으며 특히 tartaric acid의 함량이 월등하게 높게 나왔다. 그리고 나머지 succinic acid, formic acid, acetic acid는 모두 제주조릿대 잎의 열수 추출물에서 가장 높게 나왔음을 알 수 있었다. 구성 아미노산의 총 함량은 탱자 과피의 열수 추출물이 68.73 mg/g으로 가장 많았으며, 쓴맛과 단맛을 강하게 나타내는 proline이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 32.58 mg/g, 32.01 mg/g으로 월등하게 많은 함유량을 가지고 있었다. 그리고 제주조릿대 잎 추출물의 구성 아미노산 총 함량은 열수 추출물과 에탄올 추출물이 각각 58.75 mg/g, 63.30 mg/g으로 신맛을 강하게 가지고 있는 aspartic acid가 각각 19.39 mg/g, 14.77 mg/g으로 가장 많은 함유량을 가지고 있었다. 또한 제주 감귤의 과피 역시 aspartic acid가 각각 9.10 mg/g, 6.67 mg/g으로 가장 많았으며, proline이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 7.18 mg/g, 6.95 mg/g의 함유량을 가지고 있었다. 유리 아미노산에서는 대부분 구성 아미노산 보다는 작은 함량이었지만 제주조릿대 잎의 열수 추출물의 총 함량이 44.45 mg/g으로 가장 많았으며, 그 중에서도 신경계통에 균형을 유지해주는 asparagine이 16.77 mg/g으로 가장 많았으며 뇌의 기능을 향상시키는 γ -amino-n-butyric



acid(GABA)도 4.30 mg/g의 함량을 가지고 있었다. 제주감귤 과피에서는 에탄올 추출물에서 asparagine이 0.59 mg/g으로 가장 많았으며, 탕자 과피 추출물에서는 구성 아미노산에서와 마찬가지로 우리 피부의 콜라겐을 합성하는데 도움을 주는 proline이 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 각각 6.38 mg/g, 8.20 mg/g으로 가장 많았음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과로 보았을 때 탕자 과피의 당도가 가장 높았던 이유는 쓴맛도 강하지만 단맛 역시 강한 proline이 구성 아미노산과 유리 아미노산에서 모두 다른 추출물보다 월등하게 많은 함량을 나타내었기 때문으로 사료 된다.

이상과 같은 연구결과로 보았을 때 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 제주감귤 과피 추출물은 천연 향산화제로서 부족함이 없는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 향산화 활성은 제주조릿대 잎과 귤 과피 추출물에서 가장 뛰어났으며, 향균활성은 탕자 과피 추출물에서 가장 뛰어났음을 알 수 있었다. 향장소재로 사용할 경우 한가지의 추출물만 사용하는 것 보다는 각각의 추출물에 대한 세포생존율이 80%이상이 되는 농도를 잘 조절하여 여러 가지 추출물을 같이 사용하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 향 후 제주조릿대 잎과 유자, 탕자 및 귤 과피를 원료로 하여 피부미용제품 및 향장소재로서의 활용가능성과 천연 향산화제로서 활용할 수 있는 기초자료가 될 수 있을 것으로 기대된다. 그리고 제주조릿대 줄기, 그리고 잎과 줄기를 포함한 추출물 등 세분화 하여 연구할 필요성이 있으며 제주조릿대 잎과 감귤계 과피 등을 이용한 지속적인 연구와 이를 이용하여 각각의 목적에 맞는 제품을 제조하여 임상을 통한 연구가 필요할 것으로 생각된다.



참고문헌

- [1] Lee, J.Y., Lee, S.J., and You, S.H, *Rooibos* extract effect on the seborrheic scalp Improvement of middle-aged men. *J. Kor. Acad-Ind Coop Soc.* 17(7), 311-318, 2016.
- [2] 고경숙, 윤복연, 최신 두피·모발관리학(Scalp care & Trichology), 청구문화사, 2014.
- [3] Seo, Y.O., Study on functional component of *Camellia japonica* extract and promotive effect for the scalp, Doctoral dissertation, Graduate School of Nambu University, 2014.
- [4] Ko, H.C., Identification and Biological activities of phytochemicals Isolated from *Citrus sunki*, *Sasa quepaertensis*, and *petalonia binghamiae*, Doctoral dissertation, Graduate School of Jeju National University, 2010.
- [5] Park, G.H., Lee, S.H., Kim, H.Y., Jeong, H.S., Kim, E.Y., Yun, Y.W., Nam, S.Y and Lee, B.J, Comparison in antioxidant effects of four *Citrus* fruits. *J. Fd. Hyg. Safety.* 26(4), 355-360, 2011.
- [6] Park, J.S., Han, I.H., Effect of extraction solvent on the physiological properties of Korean Pear peel (*Pyrus pyrifolia* cv. Niitaka), *Korean J. Food Sci. Technol.* 47(2), 254-260, 2015.
- [7] Park, Y., Boo H.O., Park Y.L., Cho, D.H., and Lee H.H., Antioxidant activity of *Momordica charantia* L. extracts, *Korean J. Medicinal Crop Science*, 15(1), 56-61, 2007.
- [8] Lim, D.K., Choi, U. and Shin, D.H., Antioxidative activity of ethanol extract from Korean Medicinal Plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28(1), 83-89, 1996.
- [9] Kim, P.S., Lee, T.J., Kim, Y.H. and Kim, J.S., Anti-oxidative activities of *Angelica dahurica* Radix ethanol extract, *J. Kor. Acad-Ind. Coop.*



- Soc.* 12(10), 4378-4384, 2011.
- [10] Jung, J.Y., Ko, K.S., A Study on the potential of functional cosmetic material according to the biological activity and cytotoxicity of *Allium Hookeri* leaf extract, *J. Kor. Soc. Cosmetol.* 22(6), 1386-1393, 2016.
- [11] Lee, M.J., Lee, Y.H., and Kim, A.G., Measuring of anti-oxidant activity and skin improvent effect using *Adenopora remotiflora* leaf, *J. Kor. Acad-Ind. Coop. Soc.* 14(1), 239-246, 2013.
- [12] Choi, B.Y., Lee, H.H., Antioxidant and physiological activities of *Coriolus versicolor* fruit body crude extracts, *J. Kor. Acad-Ind. Coop. Soc.* 17(8), 415-422, 2016.
- [13] Choi, H.J., Kim, C.T., Do, M.Y., and Rang, M.J., Physiological activities of *Cudrania tricuspidata* extracts, *J. Kor. Acad-Ind. Coop. Soc.* 14(8), 3907-3915, 2013.
- [14] Kim, M.J., Lee, J.N., A study on *Peucedanum Japonicum Thunberg* extract on anti-oxidation and cell activities as cosmetic additive, *J. Kor. Soc. Cosmetol.* 22(6), 1135-1143, 2016.
- [15] Lee, J.M., Kim, I.C., and Hur, S.S., Studies on cosmeceutical activity of extracts of *Persimmon* Leaves, *J. Invest. Cosmetol.* 9(4), 371-378, 2013.
- [16] Oh, J.H., Effect of *Perilla frutescen* and *Houttuyniae Herba* extracts on scalp improvement, Master's thesis, Graduate School of Konkuk University, 2015.
- [17] 김주덕, 김상진, 김한식, 박경환, 이화순, 진종언. 신화장품학 제2판, (도서출판)동화기술(남산당), p521, 2008.
- [18] Park, Y.O., Effects of the extract of *Sasa borealis* leaves on the physical and sensory characteristics of cooked rice, Doctoral dissertation, Graduate School of Chonnam National University, 2008.
- [19] 동의보감. 3차 개정판. 여강출판사, 서울. p 3059-3061.
- [20] Park, H.S., Antioxidant and antimicrobial activities of *SaSa*



- quelpaertensis* extracts, Master's thesis, Graduate School of Seoul National University, 2013.
- [21] Kim, J.H., Kim, M.Y., Antiproliferative and apoptotic effects of *Sasa quelpaertensis* Nakai in human cancer cells, *J. Life Sci.* 24(8), 903-909, 2014.
- [22] Lee, S.H., Lee, M.S., The study of antioxidant and antimicrobial effects on the skin extracts of *Citrus junos*, *Poncirus trifoliata*, *Jeju citrus*, *J. Kor. Soc. B&A.* 18(2), 127-140, 2017.
- [23] Yoo, K.M. Hwang, I.K. In Vitro effect of Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cells and antioxidant activity, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 36(2), 339-344. 2004.
- [24] Hwang, Y.Y., Effects of Yuza fruit juice extract and *citrus* polyphenolic compounds on UV mediated damage responses of human keratinocyte HaCaT cells, Master's thesis, Graduate School of Dongguk University, 2012.
- [25] Jeon, J.Y., Choi, S.H., Aroma characteristics of dried *Citrus* fruits-blended green tea, *J Life Sci.* 21(5), 739-745, 2011.
- [26] Park. J.H., Anti-diabetic and anticancer effects of peel of *Citrus junos* and *Poncirus trifoliata*, Master's thesis, Graduate School of Dong-Eui University, 2008.
- [27] Sultana, N., Lee, N.H., New phenylpropanoids from *Sasa quelpaertensis* Nakai with tyrosinase inhibition activities, *Bull. Korean Chem. Soc.* 30(8), 1729-1732, 2009.
- [28] Byun, J.H., Kim, M.Y., Apoptotic effect of *Sasa quelpaertensis* Nakai in human colon cancer HT-29 cells, *J. Life Sci.* 24(9), 1012-1018, 2014.
- [29] <http://blog.naver.com/tjdahsis11/220415985656> 2017. 3. 16
- [30] <http://terms.naver.com/entry.nhn?docId=2398216&categoryId> 2017. 6.



23.

- [31] <http://focis.blog.me/220868705179>, 2017. 3. 16.
- [32] Lee, S.H., Lee, M.S., The research on antioxidative effect of *Sasa quelpaertensis* extractum and assessment of cytotoxicity, *J. Kor. Acad-Lnd. Coop. Soc.* 18(3), 254-260, 2017.
- [33] Song, W.Y., Byeon, S.J. and Choi J.H., Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of *Sssa borealis* extracts, *J. Agriculture & Life Sci.* 49(3), 145-154, 2015
- [34] Lee, B.H., Choi, B.W., Chun, J.H. and Yu, B.S., Extraction of water soluble antioxidants from seaweeds, *J. Korean Ind. & Eng. Chemistry.* 7(6), 1069-1077, 1996.
- [35] Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bolor, K.K., Sane, Ketaki S., Ghaskadbi, Saroj S. and Lele, R.D., Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects, *Japi.* 52, 794-804, 2004.
- [36] Kang, S.I., Shin, H.S., H.M., Hing, Y.S., Yoon, S.A., Kang S.W., Kim J.H., Ko, H.C. and Kim, S.J., Anti obesity properties of a *Sasa quelpaertensis* extract in high fat diet induced obese mice, *Biosci Biotechnol Biochem.* 76(4), 755-761, 2012.
- [37] An, S.M., Lee, S.I., Choi, S.W., Moon, S.W. and Boo, Y.C., *P*-coumaric acid, a constituent of *Sasa quelpaertensis* Nakai, inhibits cellular melanogenesis stimulated by α -melanocyte stimulating hormone. *Br. J. Denatol.* 159(2), 292-299, 2008.
- [38] Kim, S.A., *Sasa quelpaertensis* Nakai extract's anti-obesity properties in Korean obese adults, Doctoral dissertation, Graduate School of Ewha Womans University, 2015.
- [39] Chung, S.K, Kim, S.H., Choi, Y.H., Song. E.Y. and Kim. S.H., Status of *citrus* fruit production and view of utilization in Cheju. *Food Ind. Nutr.* 5, 42-52, 2000.



- [40] Lam, L.K.T., Zang, J. and Hasegawa, S., *Citrus* limonoid reduction of chemically induced tumorigenesis. *J. Food Technol.* 29, 104-108, 1994.
- [41] Hwang, J.H., Park, K.Y., Oh, Y.S. and Lim, S.B., Phenolic compound content and antioxidant activity of *Citrus* peels, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42(2), 153-160, 2013.
- [42] Folin, O., Denis, W., On phosphotungstic-phospho molybdic compounds as color reagent, *J. Biol. chem.* 12, 239-243, 1912.
- [43] Park, H.J., The development of cosmetics using extracts in cotton balls and *Lithospermum erythrorhizon* S. et Z. and their effects on the skin, Doctoral dissertation, Graduate School of Chonnam National University, 2014.
- [44] Moreno, M. L., M. I. Isla, A. R. Sampietro, and M. A. Vattuone. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of argentina, *J. Ethnopharmacol.* 71, 109-114, 2000.
- [45] 김창환, 문영덕, 양중범, 윤원호, 이치호, 고명수, 김대곤, 현재석, 식품분석, 고문사, 134~144, 1996.
- [46] Klein B.P., Perry A.K., Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States, *J. Food Sci.* 47, 941-945, 1982.
- [47] Ji Na, Song, J.L., Kil, J.H. and Park, K.Y., Protective effects of perilla frutescens britt var. japonica extracts from oxidative stress in human HaCaT keratinocytes, *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.*, 42(2), 161-167, 2013.
- [48] Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 26, 1199-1200, 1958.
- [49] Venden Berg R., haenen GR. and Van de Berg H, Bast A., Applicability of an improved trolox equivalent anti-oxidant capacity(TEAC) assay for evaluation of anti-capacity measurements



- of mixture, *Food Chem.* 66, 511-517, 1999.
- [50] Ko, J.Y., Kim, Y.C., Effectiveness of *Scirpi rhizoma* ethanol extract on skin whitening using in vitro test, *J. Environ. Toxicol.* 25(1), 69-77, 2010.
- [51] Noh, D.Y., Joe, S.H., Yang, H.G., Han, D.G., Kim, J.H. and Kim, D.G., Antimicrobial activity and safety test of natural extract including phellodendro namurensis, eucommia ulmides Oliv extracts, *Korean Chem. Eng. Res.*, 54(6) 762-766, 2016.
- [52] Cheon, Y.P., Mollah, Mh.L., Park, C.H., Hong, J.H., Lee, G.D., Song, J.C. and Kim, K.S., *Bulnesia sarmienti* aqueous extract inhibits inflammation in LPS-stimulated RAW 264.7 cells, *Journal of Life Science*, 19(4), 479-485, 2009.
- [53] Kim, N.R., Study of the anti-inflammatory activity of a water-soluble fraction from *Eclipta prostrata*, Master's thesis, Graduate School of Inje University, 2007.
- [54] Choi, J.H., Preservative effect of 4-hydroxy benzoic acid in cosmetics, Master's thesis, Graduate School of Chonnam National University, 2013.
- [55] 유주현, 변유량, 응용 미생물학 실험. 도서출판(효일), 서울, p 296, 2007.
- [56] Ohara, I., Ariyoshi, S., Comparison of protein precipitants for the determination of free amino acid in plasma, *Agric. Biol. Chem.* 43(7), 1473, 1979.
- [57] Shin, J.H., Lee, S.J., Seo, J.K., Cheon, E.W. and Sung, N.J., Antioxidant activity of hot-water extract from Yuza(*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) peel, *J. Life Sci.* 18(12), 1745-1751, 2008.
- [58] Hyon, J.S., Physiological activities of extracts from *Citrus grandis* osbeck peels in Jeju, Doctoral dissertation, Graduate School of Jeju National University, 2010.
- [59] Kim, M.N., A study on the antioxidative effect of various wextracts



- from citrus peels and cooking property of citrus peels pound cake, Master's thesis, Graduate School of Sungshin Women's University, 2007.
- [60] 서울대 농림부 연구보고서, Antioxidant activities and anticancer effects on prostate cancer of Yuza(*Citrus junos*), 연구기관 서울대학교, 최종보고서, 2004.
- [61] Jeon, R.H., Choi, H.J., Moon, S.J. and Na, M.S., The effects of antioxidant and antimicrobial activity with *Poncirus trifoliata* ethanol extracts during growth, *J. Kor. Soc. Cosmetol.* 16(4), 1225-1230, 2010.
- [62] Lee, M.G., Lee, S.W., Kim, S.S., Lee, S.H., and Oh, S.L., Changes in tasting constituents (tannin, free sugar, total nitrogen) of green tea by leaching condition, *Korean J. Dietary culture.* 4(4), 1989.
- [63] Park, M.H., Lee, J.O., Kim, E.J., Kim, J.W., Lee, H.H., Kim, H.H., Lee, S.I., Kim, Y.H., and Ryu, C.H., Establishment of tannin enhancement conditions for development of high quality wild grape wine, *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* 37(7), 921-926, 2008.
- [64] Yoo, B.R., Kim, J.M., Choi, J.S., Jung, B.O. and Chung, S.J., Effect of antioxidant activity of cornus officinalis flower with chitosan, *J. Chitin Chitosan* 19(2), 143-149, 2014.
- [65] Park, H.J. Lee, K.Y. Evaluations on antioxidant effect of methanol extract from Immature *Cotton Boll*, *Korean J. Plant Res.* 26(4), 426-432, 2013.
- [66] Kim, Y.D., Study on the composition of flavonoids and biological activities from Jeju *Citrus* fruits, Doctoral dissertation, Graduate School of Jeju national university, 2009.
- [67] Ryn, J.H., Yim, J.E., Suk, W.E., Lee, H.S.i, Ahn, H.J., Kim, Y.S., Park, C.S. and Choue, R.W., Suger composition and glyceimic indices of frequently consumed fruits in Korea, *Korean J. Nutr. Health* 45(2),



- 192-200, 2012.
- [68] Kotz, J.C., Treichel, P. M. and Weaver, G.C., Chemistry & Chemical reactivity enhanced review edition (with general chemistry now), 993-1004, 2006.
- [69] Park, Y.K., Kim, J.H., Antioxidant activity, total phenolics, vitamin C and sugar content during fruit ripening of five different jujube cultivars. *Kor. J. Plant Resources*, 29(5), 539-546, 2016.
- [70] Lee, Y.R., Nutritional components and antioxidant activity of dry bitter Melon (*Momordica charantia* L.), *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* 45(4), 518-523, 2016.
- [71] Lee, S.H., Park, H.J., Back, O.H., Chun, H.K., Rhie, S.G. and Lee, G.S., Comparison of the nutritional composition of 3 kinds of *Citrus* produced on Jeju Island, Korea, *J. Kor. Community Living Science*, 16(1), 15-20, 2005.
- [72] Lee, M.Y., Yoo, M.S., Whang, Y.J., Jin, Y.J., Hong, M.H. and Pyo, Y.H., Vitamin C, total polyphenol, flavonoid contents and antioxidant capacity of several fruit peels, *Korean J. Food Sci. Technol*, 44(5), 540-544, 2012.
- [73] Seo, J.E., Effects of jeju *citrus unshiu* and *citrus sphaerocarpa* peel extracts after bioconversion with cytolase on antioxidant and anti-inflammatory activity in RAW264.7 cell, Master's thesis, Graduate School of Myongji University, 2014.
- [74] Park, M.N., A Study on the effect of clove extract on hair after the consecutive treatment of permanent perm and dyeing, Doctoral dissertation, Graduate School of Wonkwang University, 2015.
- [75] Hyun, J.M., Park, K.Ji., Kim, S.S., Park, S.M., Lee, Y.J. and An, H.J., Antioxidant and anti-inflammatory effects of solvent fractions from the peel of the native *Jeju Citrus* 'Hongkyool' and 'Pyunkyool', *J. Life Sci.* 25(10), 1132-1138, 2015.



- [76] Kim, Y.R., Effects of SaSa borealis leaves extract on the differentiation of adipocytes and lipid metabolism, Master's thesis, Granuate School of Chonnam National University, 2008.
- [77] Ko, M.S., Chemical components in stalks and leaves of Sasa borealis Makino and antioxidative and antimicrobial activities of extracts, *Korean J. Food Preserv.* 15(1), 125-132, 2008.
- [78] Kim, D.Y., Kim, M.K., Study on the bioactive characteristics of Barley sprout extracts as a raw material for beauty products, *J. Kor. Soc. B&A.* 17(4), 2016.
- [79] Kim, M.Y, Ko, K.S., Study on cosmeceutical activities of *Moutan cortex radiceis* extracts, *J. Kor. Soc. Cosmetol.* 19(6), 1119-1126, 2013.
- [80] Choi, M.H. Min, M.J. Oh, D.S. and Shin, H.J. Antimicrobial and antioxidant activity of Camellia japonica extracts for cosmetic applications, *Korean J. Soc. Biotechnol. Bioengineering,* 28(2), 99-105, 2013.
- [81] Lee, J.Y., Lee, K.K., Antimicrobial and antioxidant activity of allium hookeri root extract and its fractions, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.,* 12(4), 533-538, 2014.
- [82] Kim, Y.S., Yoon, Y.H., Lee, H.S. and Kim K.Y., Investigation of antibacterial activities of Smilax china Folium extracts and fractions against cutaneous microorganims as a nature cosmeties material, *J. Kor. Soc. Cosmetol.* 9(3), 557-564, 2013.
- [83] Chung, H.T., Pae, H.O., Choi, B.M., Billiar, T.R. and Kim, Y. M., Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 282, 1075-1079, 2001.
- [84] Han, J.I., Sung, H.H. and Park, C.E., Study on convergence technique using the antimicrobial resistance and virulence genes analysis in *Escherichia coli*, *Korea Convergence Society,* 6(5), 77-84, 2015.
- [85] Kang, J.W., Chemotherapy, radiotherapy and oral candidiasis in head



- and neck cancer patient, Master's thesis, Graduate School of Chonnam National University, 2009.
- [86] Shin, A.R., Growth inhibition effect of rubus coreanus miquel on *Candida albicans*, Master's thesis, Graduate School of Chonnam National University, 2013.
- [87] Choi, H.S., Kim, G.C., and Shin, H.J., Comparison of antimicrobial and antioxidant activities by different extraction methods in Korean Bamboos, *Korean J. Soc. Biotechnol. Bioengineering*, 27, 131-135 2012.
- [88] Kim, M.J., Byun, M.W. and Jang, M.S., Physiological and antibacterial activity of Bamboo(*sasa coreana* Naki) leaves, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 25(1), 135-142, 1996.
- [89] Shin, A.R., Ohk, S.H., Choi, C.H., and Hong, S.J., Growth inhibition effect of rubus coreanus miquel on *Candida albicans*, *J. Korean Academy of Oral Health*. 39(3), 168-173, 2015.
- [90] Ser, H.L., Palanisamy, U.D., Yin, W.F. and Malek, S.N.A., Presence of antioxidative agent, pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro- in newly isolated streptomyces mangrovisoli sp. nov., *Original Research*, 6, 854, 2015.
- [91] Yoon, K.D., Kim, C.Y. and Huh H., The flavon glycosides of *Sasa borealis*, *Kor. J. Pharmacogn.* 31(2), 224-227, 2000.
- [92] Sultana, N., Lee, N.H., A new alkene glycoside from the leaves of *Sasa quelpaertensis* Nakai, *Bull. Korean Chem. Soc.* 31(4), 1088-1090, 2010.
- [93] Jeong, C.H, Choi, S.G. and Heo, H.J., Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sasa borealis* leaf tea, *Korean J. Food SCI. Technol.* 40(5), 586~592, 2008.
- [94] Kim, H.C., Ecological characteristics and management methods of *Sasa quelpaertensis* Nakai, Doctoral dissertation, Graduate School of



- Jeju National University, 2009.
- [95] Do, Y.S., Whang, H.J., Ku, J.E. and Yoon, K.R., Organic acid content of the selected Korean Apple Cultivars, *Korean J. Food Sci. Technol.* 37(6), 922-927, 2005.
- [96] Kim, I.H., A Study of the influence of organic acids and free Sugar's composition on tasting in red wine, Master's thesis, Graduate School of Konkuk University. 2009.
- [97] Song, E.Y., Quality characteristics of *Citrus* fruits according to harvest date and variety, Master's thesis, Graduate School of Cheju National University. 1997.
- [98] Kim, K.J., Studies on constituents and removing bitter substance of Yuzu(*Citrus junos*. Sieb), Master's thesis, Graduate School of SunChon National University. 2003.
- [99] 대한미용교수협의회, New Trichology, 청구문화사, p52, 2012.
- [100] 김소영, 조영숙, 김정봉, 김세나, 박홍주, 김재현, 공동기획(편집) 2011 Table of food functional composition amino acid, 농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과, (주)광문당, 2011.
- [101] Kim, S.I., Synthesis and characterization of biodegradable poly(aspartic acid) derivatives conjugated with bioactive amino acids, Master's thesis, Graduate School of Sungkyunkwan University. 2008.
- [102] Kang, S.J., Study on adsorption removal of uranium in water by beads of chitosan the graft-copolymerized with glutamic acid and itaconic acid, Doctoral dissertation, Graduate School of Sungkyunkwan University. 2004.
- [103] Nam, Y.H., Preparation and quality characteristics of fermented rice bran using lactic acid bacteria, Master's thesis, Graduate School of Daegu Catholic University. 2011.



Comparative Study Physiological Activities of the Extracts from *Sasa* *quelpaertensis* Leaves and *Citrus* Peel

Lee Song-Hee

Interdisciplinary Program of Perfume and Cosmetics
Graduate School of Chonnam National University
(Supervised by Professor Lee, Moo-Soung)

(Abstract)

The purpose of this study is to compare the physiological activities of extracts from *Sasa quelpaertensis* Leaf and peels of *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju Citrus*, and provide basic data for natural skin care products and natural cosmetic ingredients. Hot water and ethanolic extracts were obtained.

In order to investigate the antioxidant activity of the extracts,



scavenging activity and cell survival rate of DPPH free radicals, ABTS cation radicals and nitric oxide radicals were measured and antimicrobial activity was determined using an agar plate culture method. The extracts from *Sasa quepaertensis* leaf and peels of *Jeju citrus* and *Poncirus Trifoliata*, which showed the best antioxidant and antimicrobial activities among the extracts, were analyzed in terms of the chemical components, content of organic acids, and physicochemical efficacy of free amino acids. The hot water extracts of *Sasa quepaertensis* leaf and the ethanolic extracts of *Jeju citrus* fruits exhibited the highest total polyphenol content about 26 mg GAE/g. The content of total tannin was highest at 72.2 mg TAE/g in the hot water extract of *Sasa quepaertensis* Leaf. The total flavonoid content was 25.4 mg QE/g in the ethanol extract of *Sasa quepaertensis* Leaf and 11.7 Mg QE/g, respectively. The content of vitamin C was highest in *Jeju citrus* peel and *Poncirus Trifoliata* peel. The pH of *Sasa quepaertensis* leaf extracts was about pH 6.2 and extracts from citrus peel was weak acidity in pH range of pH 3.1 to pH 4.6. The acidity of the extracts from citrus peels was in the order of *Poncirus Trifoliata* peel > *Citrus Junos* peel > *Jeju citrus* peel.

The DPPH free radical scavenging activity, which is related to the antioxidant activity of extracts, was highest in the *Sasa quepaertensis* Leaf and *Jeju Citrus* peel extracts, which had highest tannin content. *Citrus Junos* and *Poncirus Trifoliata* peel extracts exhibited low scavenging activity. The scavenging activity of the extracts for ABTS cation radical was similar to that of the DPPH free radical and slightly increased with concentration for *Citrus Junos* and *Poncirus Trifoliata* peel extracts. Cell survival rate was 87% ~ 105% in the ethanolic extract of *Sasa quepaertensis* leaf and peels of *citrus Junos* and *Jeju citrus*. The NO production inhibition effect was the most effective in the extract of *Sasa quepaertensis* leaf. It is believed that the other extracts may be



also effective in inhibiting the production of inflammatory substances.

The extracts from *Sasa quelpaertensis* leaves exhibited an antibacterial activities against *S. aureus* and *S. epidermidis*, but not for *E. coli*. The extracts from *Poncirus Trifoliata* peel exhibited an antibacterial activities against all bacteria and *Citrus Junos* peel extract exhibited an antimicrobial activity only in *S. epidermidis*. No extracts exhibited antifungal effect against *C. albicans*. Considering that *Poncirus Trifoliata* peel extracts having much low antioxidant activity exhibited the highest antimicrobial activity, it is believed that there is no correlation between antioxidant activity and antimicrobial activity of the extracts.

From the GC/MS measurements, the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in the extracts was in the range of 53.8% ~ 82.7%, except for the ethanolic extract from *Sasa quelpaertensis* leaves, about 11.4%. It was also found that ethanolic extract of *Sasa quelpaertensis* leaves had 38.3% of 1-(+)-ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate and 21.8% of 9,12,15-octadecatrienoic acid. Citric and tartaric acid contents were the highest in the hot water extract of *Poncirus Trifoliata*, especially for tartaric acid content. The total amount of constituent amino acids was 68.7 mg/g in hot water extract of Tannaceae hull, especially proline of 32.01 ~ 32.58 mg/g. These results suggest that the highest sugar content of *Poncirus Trifoliata* peel is due to the very high proline content having both strong bitter and sweet taste. In the case of free amino acid, hot water extract of *Sasa quelpaertensis* leaf had the highest the content, about 44.5 mg/g, which was smaller for the constituent amino acid. Among the acids, asparagine, which maintains balance in the nervous system, was the most abundant with 16.77 mg/g, and γ -amino-n-butyric acid (GABA) which enhances brain function also had the content of 4.30 mg/g. Asparagine was the most abundant in ethanolic extracts of *Jeju citrus* peel (0.59 mg/g), and proline, which was used to synthesize



collagen in skin, was found to be 6.4 and 8.2 mg/g in hot water extract and ethanolic extracts, respectively.

From the experimental results on the extracts of *Sasa quelpaertensis* leaves and peels of *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus* it is revealed that all the extracts used in this study exhibited high antioxidant and antibacterial activities and can be used as natural antioxidants. Some extracts also exhibited antibacterial activities against *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *E. coli*. However, any extracts did not exhibit antifungal effect against *C. albicans*. When they are used as a natural antioxidant or as a cosmetic ingredients, it is recommended to mix or blend various extracts with appropriate mixing ratio in order to impart cell survival rate above 80%, rather than to use only one extract. It is believed that the results of this study may be used as a basic research data for food, medicine, and natural/functional cosmetic products about the extracts from *Sasa quelpaertensis* leaves, and peels of *Citrus Junos*, *Poncirus Trifoliata* and *Jeju citrus*.

Key word: Physiological activities, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS), Amino acid, Organic acid, *Sasa quelpaertensis* leaves, *Citrus* peels



감사의 글

감사의 글을 쓰기 전에 먼저 하나님께 감사를 드리고 싶습니다. 처음 시작부터 마지막 마무리하기까지 모든 것을 하나님께 맡기고 많은 난관들을 마주할 때마다 하나님께서 저와 함께 하여 주셨기에 이를 수 있었습니다. 학문의 길은 정말 멀고도 힘든 것 같습니다. 지난 시간들을 되돌아보니 감회가 새롭습니다. 아무것도 모르고 들어와서 수많은 장벽들을 하나씩 하나씩 넘어갈 때마다 힘든 만큼 보람도 컸던 것 같습니다. 그러나 너무나도 부족함이 많은 제가 오늘날 이렇게 박사학위 논문을 쓸 수 있기까지는 많은 분들의 도움이 있었기 때문입니다. 이 자리를 빌어서 정말 진심을 다해 감사의 마음을 전하고 싶습니다.

먼저 논문을 쓰면서 점점 작아지는 저에게 항상 따뜻한 격려의 말씀과 조언, 논문지도에도 최선을 다해주신 이무성 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 우리 연구실에 박은주 박사님, 유준형, 강인지, 김민주, 마혜수씨 귀찮을 정도로 물어보고 또 물어봐도 마다하지 않고 친절히 안내해줘서 진심으로 감사를 드립니다. 그리고 항산화 실험을 위하여 매번 찾아다니면서 귀찮게 했음에도 불구하고 많은 도움을 주신 이기영 교수님, 김진 박사님, 박지선, 천서영 선생님 등 실험실 방식구들께도 너무나도 깊은 감사를 드립니다. 또한 항균실험과 세포실험을 하는데 있어서 흔쾌히 허락하여 주시고 제가 그동안 고민했던 부분의 핵심을 잘 안내해주신 전남대학교 치의학전문대학원의 옥승호 교수님 진심으로 감사를 드립니다. 그리고 매번 찾아가서 반복된 질문도 마다하지 않고 실험하는데 있어서 친절하게 안내를 해주신 박석균 선생님께도 너무나도 깊은 감사를 드립니다. 선생님 덕분에 많은 시간을 단축시켜서 마무리할 수 있었습니다. 그리고 마지막 논문 마무리 하면서 철자부터 시작해서 띄어쓰기, 용어등 제가 놓친 많은 부분들을 꼼꼼하게 살펴보고 지도 해주신 이창문 교수님께도 진심으로 감사를 드리고 싶습니다.

늦은 나이에 사서 고생한다고 하면서도 항상 밀반찬도 챙겨주시고 응원해주신 친정어머님과 힘들 때 SOS하면 언제나 달려와 준 우리 막둥이 여동생 너무너무 감사를 드립니다. 그리고 논문의 영문 초록을 지도해주신 조상원 목사님과 영어



전문가인 우리 조카들 학회논문 세편 내면서 항상 마지막에 급하게 영문초록을 부탁하고 내용이 바뀌었다고 수정하고, 길다고 짧게 수정하고 또 짧다고 길게 수정하고 본인들 하고 있는 일도 있는데 귀찮아하지 않고 바로바로 올려준 덕분에 기일에 맞추어서 제출할 수 있었습니다. 정말 사랑과 고마운 마음 진심을 다해 전하고 싶습니다.

마지막으로 사랑하는 우리 아들들 논문 쓰느라 아무런 신경을 못써줘서 미안한데 빛나가지 않고 각자 자기자리에서 최선을 다하고 항상 신뢰와 용기를 줘서 너무나 고마운 마음 전하고 싶고, 논문에만 전념할 수 있도록 가정의 모든 일을 마다하지 않고 책임져 주시고, 항상 새벽 3~4시에 들어가면 차를 주차할 곳이 없어서 이중주차 해놓으면 새벽기도 갔다 오면서 빈자리에 주차까지 책임져주신 이 세상에서 가장 사랑하는 우리 신랑, 고마운 마음과 함께 이 모든 영광을 사랑하는 당신과 함께하고 싶습니다.

2017년 6월

오늘도 역시 새벽 2시
연구실에서....