

초음파 처리 미선나무 에탄올 추출물의 항산화 및 미백효과

김남영* · 이현용**†

*강원대학교 생물의소재공학과, **서원대학교 식품공학과

Effect of Antioxidant and Skin Whitening of Ethanol extracts from Ultrasonic Pretreated *Abeliophyllum distichum* Nakai

Nam Young Kim* and Hyeon Yong Lee**†

*Department of Medical Biomaterials Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

**Department of Food Science and Engineering, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea.

ABSTRACT : This research evaluate antioxidant and skin-whitening effect of *Abeliophyllum distichum* Nakai by extraction processes. First, antioxidant effects were follows: EE (70% ethanol extract) showed higher DPPH scavenging activity of 69.66% than WE (hot water extract) 59.13% at 0.3 mg/ml, also UE's (70% ethanol extract by sonication process) higher than EE. Reducing power was that also EE showed higher than WE, and it was the highest value with UE's because of ultrasonic pretreatment. Next, the whitening effect tyrosinase inhibition activity was measured that EE was 23.88%, WE's was 16.69%, and UE was 23.34%. Ultrasonic pretreatment did not influence to tyrosinase inhibition activity. Cell viability showed low cell toxicity in all groups. UE's inhibited melanin synthesis, 55.1%, that is higher than EE and WE, 52.7% and 39.5%, respectively. As a result, we confirmed that antioxidant activities and skin-whitening effect by extraction process. Also, this results confirmed that the *Abeliophyllum distichum* Nakai extracts worth as cosmetic materials.

Key Words : Antioxidant, Skin-Whitening, *Abeliophyllum distichum*, Melanin

서 언

물푸레나무과에 속하는 미선나무는 전 세계에서 1속 1종으로 우리나라에서만 서식하고 있다고 하였다 (Lee, 1976). 현재 충청북도 진천군과 괴산군에 분포하고 있으며, 그 분포지역이 국한 되어있다. 기존 선행연구에서 Lee 등 (2014a)은 희귀 수종인 미선나무는 환경부 및 산림청에서 멸종위기 희귀식물로 지정하여 관리하며, 천연기념물로 지정되어 보호되고 있다고 하였다 (Lee, 1983). Kwon 등 (2014a)의 연구에서 미선나무는 분포 지역 근처에서 예전부터 해충구제 및 배탈, 염증 치료에 쓰여진다고 보고되어있다. 희귀 보호 종인 미선나무는 근래 대량생산에 성공하여 그 활성 및 유효성분에 관한 연구가 이루어지게 되었다. 미선나무의 활성에 대한 연구는 대부분 항산화 연구가 주를 이루고 항암에 대한 소재로서 연구 된 바 있다 (Park, 2011). 또한 Kwon 등 (2014a)에서 미선나무에 대한

특히로 화장품 조성물에 관한 특허 및 항염증에 관련 된 특허가 있다고 하였으나, 매우 높은 농도와 효능별 한정 된 결과로 상세하지 않다. 본 연구는 연구논문으로 미선나무 향장 관련 최초이며, 일부 기존의 추출방법 및 초음파 공정을 통해 미선나무의 항산화 및 미백활성효능에 대하여 비교분석하였다.

인체의 피부는 외부환경에 노출되기 가장 쉬운 기관으로, 특히 자외선에 취약하여 손상되기 쉽다. 피부가 자외선에 장시간 노출 되면 피부에 melanin 색소를 분비하게 된다. Melanin 색소는 일반적으로 검정, 갈색 계열의 색소로 자외선을 일정량 흡수 및 차단하고 체온을 유지하는 등 피부를 보호하는 주요한 기능을 가지고 있다. 그러나 과량의 Melanin 색소는 주근깨 혹은 기미를 형성하고, 피부노화촉진에 영향을 미치는 것으로 연구된 바 있다 (Urabe *et al.*, 1994). Melanin 색소의 합성은 다양한 효소가 관여하는데 그 중에서도

†Corresponding author: (Phone) +82-43-299-8471 (E-mail) hyeonl@seowon.ac.kr

Received 2015 February 9 / 1st Revised 2015 February 16 / 2nd Revised 2015 March 3 / 3rd Revised 2015 March 10 / Accepted 2015 March 10

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

tyrosinase 효소가 중요한 역할을 담당한다. Tyrosine이 효소 Tyrosinase에 의해 활성화 되어 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)로 전환 되고, 활성산소로 인해 산화, 효소반응으로 dopa-quinone을 거쳐 melanin 색소가 형성 된다 (Alaluf *et al.*, 2001).

기존 연구 된 Park 등 (2000)은 초음파의 진동으로 인한 공동현상에 의하여 높은 운동에너지가 반응에 충분한 에너지를 공급하여 초음파 에너지가 혼합효과를 증가시킨다고 하였으며, Kim 등 (2014)에 의해 초음파 공정으로 인한 천연물의 활성증진에 대한 연구 또한 보고된 바가 있어, 본 연구에서는 종래 추출법 및 초음파 전처리를 이용, 미선나무 추출물의 항산화 활성과 미백효과에 대해 연구하였다. 이를 통해 최근 대량생산이 이루어지고 있는 미선나무의 활용도를 넓혀 화장품 산업에 있어 고부가가치 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료 제조

실험에 쓰인 미선나무는 충북 괴산에서 잎과 줄기를 구입하여 사용하였으며, 잎과 줄기를 물, 에탄올, 초음파 전처리 에탄올 추출물 3가지 추출방법으로 각각 수직 환류냉각기가 설치되어있는 둥근바닥 플라스크를 사용하여 실험을 진행하였다. 열수 추출물은 미선나무 잎과 줄기 100 g을 사용하여 100°C의 조건에서 24시간 추출하였고, 에탄올 추출물은 70% 에탄올 용매에 80°C에서 추출 하였다. 초음파 에탄올 추출물은 일반 에탄올 추출물과 다르게 추출 전 140 kHz 조건에서 1시간 전처리 후 60°C에서 12시간 동안 추출을 진행하였다. 추출 후 각 미선나무 추출액을 감압여과기를 사용하여 여과하고, 여과 후에 회전감압농축기 (EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하였다. 농축이 끝난 샘플은 하루 정도 얼린 뒤 동결건조기 (PVTF 10AT, ILSHINBioBase, Dongducheon, Korea)에 3일 동안 동결건조하여 파우더 상태로 만들어 실험에 사용하였다.

2. 세포 및 시약

Melanocell인 B16F10은 한국세포주은행 (KCLB, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 구입한 B16F10은 10% fetal bovine serum (Gibco, Carlsbad, CA, USA)이 첨가 된 DMEM 배지에 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 그 외 사용된 모든 시약들은 Sigma-aldrich (St. Louis, MO, USA)을 통하여 구입, 사용하였다.

3. 추출 수율

미선나무 추출물의 수율은 각 추출물 별 추출 시 들어간 미

선나무 생약 질량에 대한 동결건조 후 얻어 진 파우더 상태의 추출물의 질량 분율로 계산하여 측정하였다.

4. 환원력 측정

미선나무 추출물의 항산화능의 확인을 위하여 환원력 측정법을 진행하였다. 환원력 측정은 Oyaizu의 방법을 참고하여 실험하였다 (Oyaizu, 1986). 미선나무 추출물 250 μ l 와 0.2M sodium phosphate buffer, 1%의 potassium ferricyanide 250 μ l 세 가지를 혼합하여, 50°C에서 20분 동안 반응하였다. 반응 한 뒤, 10%의 trichloroacetic acid 250 μ l 를 첨가하고 4,000 rpm 속도로 10분 간 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액 500 μ l 와 증류수 500 μ l 를 섞고, 0.1% ferric chloride를 100 μ l 를 넣어 25°C에서 10분간 반응 하여 700 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

5. 세포생존율 평가

미선나무 추출물의 세포생존율을 확인하고자 MTT assay를 사용하였다. 세포 독성평가에 melanoma cell B16F10을 사용하였고, 1.8×10^5 cells/ml 농도로 96-well plate에 주입한 뒤 부착할 때 까지 incubator에서 배양하였다. 부착 후 배지를 제거하고 미선나무 추출물을 농도별로 200 μ l씩 주입하여, 24시간 동안 배양하였다. 24시간 배양한 뒤 추출물을 제거하고, 200 μ g/ml 농도의 MTT 용액을 150 μ l만큼 주입하여 37°C에서 빛을 차단한 채 다시 3시간 동안 배양하였다. 그 후 MTT 용액을 제거하고, PBS로 세척 후 DMSO를 200 μ l주입하여 30분 동안반응하여 microplate reader (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)로 570 nm 에서 흡광도를 확인하여 세포 생존율을 확인하였다.

6. DPPH 자유 라디칼 소거능

DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 자유 라디칼 소거 활성 실험은 각 시료 150 μ l 을 첨가 후 0.1 mM 농도의 DPPH용액 150 μ l 을 혼합하여 25°C에서 30분 간 암실에서 반응하였다. 30분 후 517 nm의 파장에서 흡광도 측정하였다. 측정 값은 아래의 식과 같이 하여 DPPH radical scavenging activity (%)로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} = \frac{\text{control O.D} - \text{sample O.D}}{\text{control O.D}} \times 100$$

7. Tyrosinase 억제 활성

Melanin 생성에 중요한 역할을 하는 효소 tyrosinase 저해 활성 정도는 Kim 등 (2011)의 방법을 참고하였다. pH를 6.8 로 맞춘 potassium phosphate buffer 0.1 M 에 L-tyrosine을

0.3 mg/ml의 농도로 용해시킨 용액 950 μ l와 추출물 50 μ l, 그리고 tyrosinase (2000 units/ml) 50 μ l 를 혼합하여 37°C의 온도에서 20분 동안 방치하였다. 20분 후 차갑게하여 반응을 끝내고, 475 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

8. Melanoma cell을 이용한 melanin 생성 저해

Melanoma cell인 B16F10을 이용하여 melanin 생성 저해 정도를 평가하였다. 실험방법은 B16F10 세포를 96-well plate에 3.2×10^5 cell/ml의 농도로 각 well에 주입하여 5% CO₂, 37°C에서 세포가 부착할 때까지 충분히 배양하였다. 세포를 부착한 뒤 농도 별로 샘플을 처리하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 다시 3일 간 배양하였다. 3일 후에 샘플을 제거 한 뒤, PBS (Phosphate buffer saline)를 사용해 세척하고, 각 well에 1 N 농도의 NaOH를 200 μ l 첨가해 1시간 동안 반응 시켜 490 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

9. 통계처리

데이터의 통계처리는 3회 반복하여 실시하였으며, 통계는 SAS (Statistical Analysis System 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 통하여 two-way ANOVA 방법으로 실시하였다. 처리구간의 최소 유의 수준의 차는 $p < 0.05$ 로 처리 하였다.

결과 및 고찰

1. 추출 수율 확인

열수 및 70% 에탄올 추출물, 초음파 전처리 70% 에탄올 추출물의 수율을 확인하였다. 수율 확인은 Table 1에 나타났다. 열수 추출물의 수율은 6.5%로 세 가지 추출물 중에 가장 낮은 수율을 보였으며, 70% 에탄올 추출이 9.6%로 다른 추출물보다 높은 수율을 확인할 수 있었다. 초음파 전처리한 70% 에탄올 추출은 11.0%로 70% 에탄올 추출물보다 높은 수율을 보여, 미선나무 추출 수율에 초음파 전처리시 수율 증가에 도움이 될 수 있음을 확인하였다. 상기와 같은 결과는

Table 1. Yield of *Abeliophyllum distichum* Nakai by different extraction processes.

	WE	EE	UE
Extraction yield (% , w/w)	6.5 ± 0.5 ^A	9.6 ± 1.1 ^B	11.0 ± 1.2 ^C

Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (A-C) within yield are significantly different at $p < 0.05$.

¹WE: Water Extract.

²EE: 70% Ethanol Extract.

³UE: 70% Ethanol Extract with ultrasonic extraction.

Park 등 (2000)의 연구에서 밝힌 초음파로 인한 높은 운동에너지 효과로 인하여 미선나무가 영향을 받아 각 성분 물질에 대한 추출이 용이해져 기존의 추출법보다 높은 수율이 나온 것으로 사료 된다.

2. 환원력 측정

환원력 측정을 실시하여 추가적으로 미선나무의 항산화 효과를 확인하고자 하였다. 결과는 Table 2에 표시하였다. 증류수를 첨가한 시료군을 control로 하였을 때, 미선나무 추출물 모든 샘플이 control보다 높은 흡광도를 보여 항산화 효과를 확인할 수 있다. 대표적인 항산화관련 양성대조군인 ascorbic acid는 최저 0.854에 달하는 높은 활성을 보였다. 미선나무 추출물의 경우 일부 농도에서는 열수 추출물이 에탄올 추출물보다 높은 흡광도를 나타내나, 고농도에서 열수 추출물보다 에탄올 추출물의 흡광도가 더 높게 확인 되었다. 초음파 전처리

Table 2. Reducing power of the *Abeliophyllum distichum* extracts by different extraction process.

Reducing power (O.D.)	0.1 mg/ml	0.2 mg/ml	0.3 mg/ml
Control (D.W.)	0.227 ± 0.010		
WE	0.293 ± 0.007 ^{Aa}	0.421 ± 0.012 ^{Ba}	0.485 ± 0.013 ^{Ca}
EE	0.306 ± 0.006 ^{Aa}	0.394 ± 0.015 ^{Bb}	0.515 ± 0.009 ^{Ca}
UE	0.313 ± 0.009 ^{Aa}	0.437 ± 0.012 ^{Bc}	0.532 ± 0.017 ^{Cb}
Ascorbic acid	0.854 ± 0.015 ^{Ab}	0.947 ± 0.013 ^{Bd}	1.051 ± 0.034 ^{Cc}

Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (A-C) within same sample are significantly different at $p < 0.05$ and mean with difference letter (a-c) within same concentration are significantly different at $p < 0.05$.

¹WE: Water Extract.

²EE: 70% Ethanol Extract.

³UE: 70% Ethanol Extract with ultrasonic extraction.

Table 3. Cell viability of the *Abeliophyllum distichum* extracts using melanoma cell B16F10.

Cell viability (%)	0.1 mg/ml	0.2 mg/ml	0.3 mg/ml
Control	100		
WE	101.8 ± 3.4 ^{Aa}	93.2 ± 4.3 ^{Ba}	93.4 ± 2.2 ^{Ba}
EE	95.8 ± 6.4 ^{Aa}	81.4 ± 3.1 ^{Bb}	87.6 ± 3.2 ^{Cb}
UE	100.2 ± 5.9 ^{Aa}	87.2 ± 5.4 ^{Bc}	83.3 ± 1.1 ^{Bc}

Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (A-C) within same sample are significantly different at $p < 0.05$ and mean with difference letter (a-c) within same concentration are significantly different at $p < 0.05$.

¹WE: Water Extract.

²EE: 70% Ethanol Extract.

³UE: 70% Ethanol Extract with ultrasonic extraction.

시 활성의 증가를 확인할 수 있으나, 일반 에탄올 추출물에 비해 그 차이는 크지 않았다. 항산화에 관련하여 보고 된 Kwon 등 (2014b)의 연구에서 느타리버섯의 환원력은 0.5 mg/ml 농도에서 0.5 전후로 확인 되었으나, 미선나무는 보다 낮은 농도인 0.3 mg/ml에서 70% 에탄올 추출물은 0.515, 초음파 70% 에탄올 추출물은 0.532의 환원력을 보여 일반적으로 항산화 효과에 대해 연구 된 천연물 이상으로 항산화에 대한 효과가 좋을 것으로 사료 된다.

3. 세포 생존율 확인

세포 실험에 앞서, 미선나무 추출물에 대한 melanin 생성 세포 B16F10의 생존율을 확인함으로써 미선나무 각 추출물의 독성을 확인하고자 하였다. 세포 생존율은 배지만 첨가한 무처리군의 생존율을 100%로 하였을 때 각 추출물에 대한 세포 수 비율을 산정하였다 (Table 3). 열수 추출물은 0.2 mg/ml 에서 최저 93.2%의 생존율을 보였으며, 에탄올 추출물 역시 0.2 mg/ml 농도에서 81.4%, 초음파 에탄올 추출물은 0.3 mg/ml 에서 83.3%로 미선나무 추출물의 세포 생존율은 일정 농도범위 내에서 80% 이상으로, 일반적으로 항장관련하여 보고 된 Kim 등 (2013)의 연구에서 천연물 더덕의 세포독성이 20% 미만이기 때문에 미선나무 추출물에 대한 세포생존율은 실험에 있어 충분한 생존율을 보이는 것으로 사료 된다.

4. DPPH 자유 라디칼 소거능

추출물 별 미선나무 샘플의 항산화 측정은 자유라디칼 소거능 활성을 봄으로서 효과를 확인하였다. 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 농도에 따라 각 추출방법 별 미선나무 추출물의 소거 활성이 증가하는 경향을 확인할 수 있다. 용매 중 0.3 mg/ml에서 59.13%의 활성을 보인 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물이 69.66%로 더 높은 활성을 보였으며, 초음파 전처리 시 72.76%로 그 값이 증가하였음을 알 수 있다. 양성대조군으로 쓰인 ascorbic acid는 모든 농도구간에서 미선나무 추출물과 유의적인 차이를 보였으며, 추출물이 양성대조군의 효과에는 미치지 못함을 알 수 있다. 미선나무의 DPPH 소거활성은 항산화효능에 대해 연구된 바 있는 Park 등 (2014a)의 논문에서 초고압 전처리 감귤의 특성에 관한 논문과 비교하였을 때, 초고압 처리한 감귤이 최대 35%를 나타낸 것에 반해 매우 높은 수치임을 확인할 수 있다. 또한, 양성대조군 ascorbic acid의 활성 값과 크게 차이가 없어, 미선나무 추출물의 항산화 효과를 확인할 수 있다.

5. Tyrosinase 억제 활성 평가

Melanin 색소 생성에 기여하는 효소 tyrosinase에 대한 미선나무 추출물의 저해정도를 확인하여 미백활성을 확인하였다. 증류수를 넣은 control군을 0%로 하였을 때, 저해율 (%)로 항

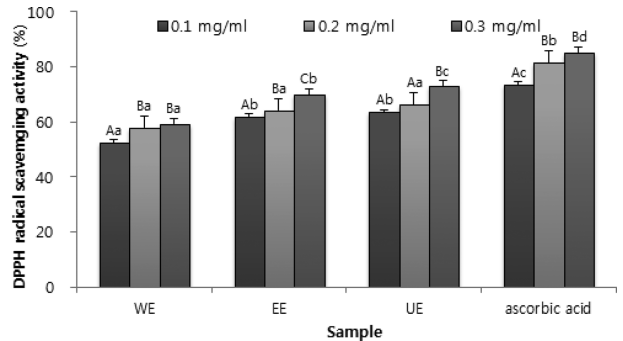


Fig. 1. DPPH Free radical scavenging activity of the *Abeliophyllum distichum* extracts by different extraction process. Mean values ±SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (A-C) within same sample are significantly different at $p < 0.05$ and mean with difference letter (a-d) within same concentration are significantly different at $p < 0.05$.
¹WE: Water Extract.
²EE: 70% Ethanol Extract.
³UE: 70% Ethanol Extract with ultrasonic extraction.

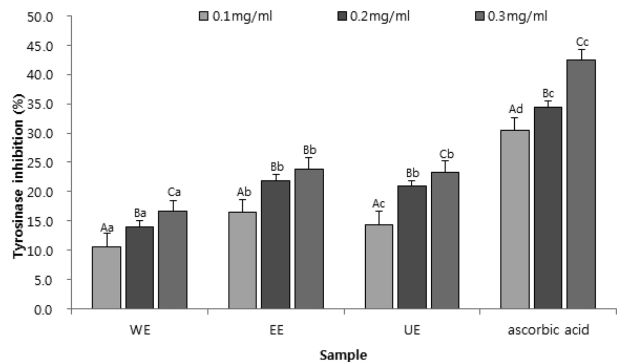


Fig. 2. Tyrosinase inhibition of the *Abeliophyllum distichum* extracts by different extraction process. Mean values ±SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (A-C) within same sample are significantly different at $p < 0.05$ and mean with difference letter (a-d) within same concentration are significantly different at $p < 0.05$.
¹WE: Water Extract.
²EE: 70% Ethanol Extract.
³UE: 70% Ethanol Extract with ultrasonic extraction.

산화 활성과 마찬가지로 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물에서 높은 저해율을 나타내었다 (Fig. 2). 70% 에탄올 추출물이 높은 농도에서 23.88%에 반해, 초음파 전처리 추출물은 23.34% 활성을 보여 차이는 없으나 항산화 활성에 대한 실험 결과에 비해 초음파 전처리군이 낮은 활성을 보여 상반되는 결과를 확인하였다. 양성대조군인 ascorbic acid와는 유의적인 차이를 보였으며, 양성대조군에 비해 그 효과가 높지 않았다. 그러나 미선나무 추출물의 tyrosinase 저해율은 기존의 Park 등 (2014b)에 의해 연구 보고 된 대추 및 포도 발효물의 미백논문과 비교하였을 때, 발효 에탄올 대추와 포도추출물은 해

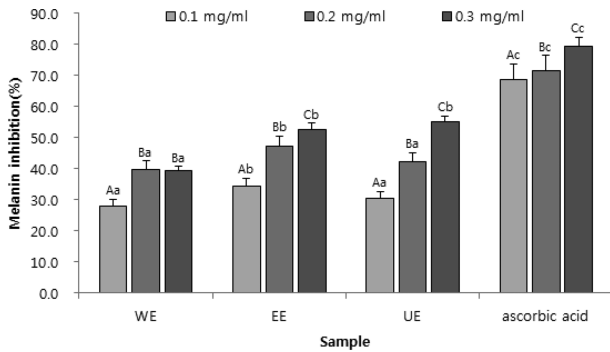


Fig. 3. Measured melanin inhibition of the *Abeliophyllum distichum* extracts by different extraction process. Mean values \pm SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (A-C) within same sample are significantly different at $p < 0.05$ and mean with difference letter (a-c) within same concentration are significantly different at $p < 0.05$.
¹WE: Water Extract.
²EE: 70% Ethanol Extract.
³UE: 70% Ethanol Extract with ultrasonic extraction.

당농도에서 5~22%의 저해율을 보여, 미선나무의 저해율이 더 높아 미백활성에 대해 다른 천연물 이상으로 효과가 있음을 시사한다. 이러한 미선나무의 미백효과를 바탕으로 melanoma cell B16F10 세포를 이용한 melanin 생성 저해량을 추가로 진행하였다.

6. Melanin 생성량 억제 활성 평가

Melanin 색소를 형성하는 melanoma cell을 이용하여 melanin 생성 억제 활성을 측정하여 미선나무 추출물의 미백 활성을 평가하였다 (Fig. 3). 다른 실험과 마찬가지로 용매는 열수에 비해 70% 에탄올 추출에서 더 높은 활성을 확인할 수 있다. 0.3 mg/ml에서 열수 추출물은 39.5%, 70% 에탄올 추출물은 52.7%로 에탄올 추출물이 미백활성에 더 좋은 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있다. 초음파 전처리 70% 에탄올 추출물은 55.1%의 melanin 저해율을 보여 tyrosinase 저해활성과는 다르게 초음파 처리가 melanin 색소 생성 저해에 영향이 있음을 확인하였다. 양성대조군에 비하여 유의적인 차이를 보여 다소 낮은 효과를 보였으나, 미선나무 추출물의 melanin 생성 억제율은 미백효과에 대해 보고한 Lee 등 (2014b)의 연구에서 발효주박추출물과 비교하였을 때 발효 주박추출물의 경우 melanin 합성 저해율이 13~25%로 미선나무 추출물의 melanin 생성 저해율이 높아 미백활성에 효능이 있음을 확인할 수 있다. 가장 높은 농도에서 미선나무 에탄올 추출물에 비해 초음파 전처리 에탄올 추출물의 melanin 생성 억제율이 상승하여 초음파 전처리가 melanin 생성 억제에 도움이 될 수 있으나, 상승폭이 매우 낮으며 저농도에서는 결과가 일반 에탄올 추출물이 오히려 높게 나와 초음파 전처리가 미선나무

추출물의 활성에 영향을 주는 것에 대해 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

국내에서만 자생하는 1속 1종의 미선나무의 미백활성 소재로서의 가치를 확인하고자, 항산화 효능 및 미백활성에 대한 실험을 진행하였다 (Lee, 1976). 미선나무의 항산화에 대해서 지금까지 보고된 연구가 있으나 (Park, 2011), 항장소재 중 미백활성 효능에 대한 연구논문은 지금까지 보고된 바가 없었다. 그리하여 본 연구진은 최근 대량생산에 성공하여, 앞으로 새로운 천연물 소재가 될 미선나무를 활용하기 위하여 연구를 진행하였다. 항산화에 대한 효과를 확인하기 위해 DPPH 자유라디칼 소거활성 및 환원력에 대한 측정을 하였을 때, 일반적으로 항산화에 대한 효과가 검증된 다른 천연물에 뒤지지 않는 효과를 보였으며, 종래 추출법 중 일반 열수 추출물보다는 70% 에탄올 추출물의 활성이 우수하였고, 초음파 전처리 활성 값이 소폭 상승하였다. 항산화에 이어 미선나무 추출물에 대한 미백효과를 확인하였다. Melanin 생성에 핵심적인 작용을 하는 tyrosinase의 저해활성에서 미선나무 추출물의 미백효능을 검증하였다. 항산화와 마찬가지로 열수 추출물보다는 70% 에탄올 추출물에서 더 좋은 활성을 보였다. 초음파 전처리의 경우 오히려 소폭 감소하여 tyrosinase의 저해활성에서 초음파 전처리 효과가 없음을 시사하였다. Melanin 저해율을 평가하였을 때에, 마찬가지로 열수 보다 70% 에탄올 용매 추출이 더욱 우수한 저해를 보였으며, 이 경우 초음파 전처리가 저해율을 소폭상승 시킴을 알 수 있었다.

상기와 같은 실험 결과를 통하여 미선나무 추출물의 항산화와 미백효능을 검증하였다. 추출용매는 물보다는 70% 에탄올이 더 좋을 것으로 판단되며, 일부 실험에서 초음파 전처리군의 활성이 증가하여 초음파공정이 도움이 될 수 있으나 관련 연구가 더 필요할 것으로 사료된다. 본 연구는 국내 희귀수종인 미선나무의 미백효과를 확인하고 종래 추출 공정법 중 활성에 유용한 추출방법을 확인하여, 점차 증가하는 미선나무의 생산을 통해 향후 천연물 항장소재의 가치를 검증하였다. 생산성이 증가하여 어떤 환경에서도 생산이 가능하다면 미선나무의 화장품 시장에서의 가치는 나날이 높아질 것으로 사료된다.

REFERENCES

Alaluf S, Heath A, Carter N, Atkins D, Mahalingam H, Barrett K, Kolb R and Smit N. (2001). Variation in melanin content and composition in type V and VI photoexposed and photoprotected human skin: The dominant role of DHI. *Pigment Cell Research*. 14:337-347.

Kim JE, Kim AR, Kim MJ and Park SN. (2011). Antibacterial, antioxidative and antiaging effects of *Allim cepa* peel extracts. *Applied Chemistry for Engineering*. 22:178-184.

Kim JS, Choi WS, Chung JY, Chung HC and Lee HY. (2013). Enhancement of cosmeceutical activity from *Codonopsis*

- lanceolata* extracts by stepwise steaming process. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 21:204-212.
- Kim NY, Kim JH, Choi GP and Lee HY.** (2014). Comparison of anti-skin wrinkle activities of *Aronia melanocarpa* extracts by extraction methods. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 22:217-222.
- Kwon SB, Kang HJ, Kim MJ, Kim JH, Shin HS and Kim KS.** (2014). Analysis on the components and safety evaluation of *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems. Korean Journal of Environmental Health. 40:234-244.
- Kwon YJ, Kim MH, Choi JS and Lee TS.** (2014). Free radical scavenging, anti-inflammatory and melanin synthesis inhibitory activities of *Gloeostereum incarnatum*. Journal of Mushrooms. 12:107-116.
- Lee TB.** (1976). Studies on conservation of endemic species *Abeliophyllum distichum* N. Journal for Nature Conservation. 12:6-10.
- Lee TB.** (1983). Endemic plants and their distribution in Korea. Bulletin of the Arboretum Seoul National University. 4:71-113.
- Lee HY, Kim TG and Oh CH.** (2014). Recently augmented national habitat of *Abeliophyllum distichum* Nakai in Yeosu-si, Gyunggi-do, Korea. Korean Journal of Environment and Ecology. 28:62-70.
- Lee SM, Lee SJ, Kwon YY, Baek SH, Kim JS, Sohn HY and Shin WC.** (2014). Skin whitening and anti-wrinkle effects of extract from Jubak of oriental herbal liquor. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 43:1695-1700.
- Oyaizu M.** (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. Japanese Journal of Nutrition. 44:307-314.
- Park JH.** (2011). Antioxidant activities and inhibitory effect on oxidative DNA damage of extracts from *Abeliophylli distichi* Folium. The Korea Journal of Herbology. 26:95-99.
- Park KA, Hong IK, Kim WI and Jeong KW.** (2000). Ultrasonic energy effects on squalene extraction from amaranth seed. Applied Chemistry. 4:149-152.
- Park SJ, Choi YB, Ko JR, Rha YA and Lee HY.** (2014). Quality characteristics of *Citrus* fruit by cyclic low pressure drying and high hydrostatic pressure extraction. Korean Journal of Culinary Research. 20:13-21.
- Park TS, Kim DH, Kwon OJ and Son JH.** (2014). A study on biological activities of fermented Jujube and grape. Korean Journal of Microbiology and Biotechnology. 42:106-113.
- Urabe K, Aroca P, Tsukamoto K, Mascagna D, Paulumbo A, Protta G and Hering VJ.** (1994). The inherent cytotoxicity of melanin precursors. Biochemica et Biophysica Acta. 1221:272-278.