

감국꽃 열수 추출물의 생리활성에 관한 연구

하지성*, 강유리**, 김운중***

한남대학교 코스메틱사이언스학과 박사과정*, 한남대학교 화학과 박사과정**, 한남대학교 화학과 교수***

Study on the Physiological Activity of Chrysanthemum indicum Flower Extracts Using the Hydrothermal Water Extraction Method

Jisung Ha*, Yuri Kang**, Woonjung Kim***

Ph. D. Candidate, Department of Cosmetic Science, Hannam University*

Ph. D. Candidate, Department of Chemistry, Hannam University**

Professor, Department of Chemistry, Hannam University***

요약 본 연구에서는 감국꽃 열수 추출물의 분석을 통하여 기능성 소재 가치를 확인하고자 하였다. GC-MS를 통한 성분분석 결과 다양한 방향족 화합물이 검출되었으며, 항산화 분석을 통하여 추출물의 높은 항산화 효능을 확인하였다. 가장 높은 활성이 나타난 에탄올 함량 70% 추출물을 대상으로 TIME KILL TEST를 이용한 시험에서 높은 항균력을 확인하였고, 세포 내 멜라닌 생성 저해 시험 결과 추출물을 1%, 1.2%, 1.5%의 농도로 처리하였을 때 각각의 농도에서 α -MSH 처리군 대비 115.77 \pm 6.67%, 112.42 \pm 1.64%, 67.12 \pm 3.89%로 확인되었다. Collagenase 활성 저해 분석 결과 1.5%, 3%, 5%의 농도로 처리하였을 때 56.57 \pm 2.28%, 58.64 \pm 2.99, 29.53 \pm 1.03%의 Collagenase 억제율을 확인하였다. 추출물에 대한 세포독성 시험 결과 추출물의 농도가 1.5%, 3%, 5%일 때 세포 독성이 나타나지 않는 것으로 확인하였다. 따라서 본 연구를 통하여 감국꽃의 열수 추출물이 기능성 화장품 소재 가치로 유용할 것으로 예측한다.

주제어 : 감국꽃, 항산화, 미백, 주름개선, 티로시나아제, 콜라게나아제, 열수추출, 플라보노이드, 폴리페놀

Abstract In this study, the hydrothermal extract of Chrysanthemum indicum Flowers are analyzed for the identification of its functional material value. Various aromatic compounds were detected as a result of GC-MS analysis, and antioxidant analysis confirmed the high antioxidant activity of the extract. High antibacterial activity was confirmed in the TIME KILL TEST using the 70% ethanol extract, which showed the highest activity, and the inhibition of intracellular melanogenesis was confirmed to be 115.77 \pm 6.67%, 112.42 \pm 1.64%, and 67.12 \pm 3.89% compared to the α -MSH treatment group at concentrations of 1%, 1.2%, and 1.5%, respectively, when the extract was treated with 1%, 1.2%, and 1.5%. Collagenase activity inhibition assay showed collagenase inhibition of 56.57 \pm 2.28%, 58.64 \pm 2.99 and 29.53 \pm 1.03% when treated at concentrations of 1.5%, 3% and 5%. The cytotoxicity test of the extract showed no cytotoxicity at concentrations of 1.5%, 3% and 5%. Therefore, this study predicts that the hydrothermal extract of Chrysanthemum indicum Flowers will be useful as a functional cosmetic material.

Key Words : Chrysanthemum indicum Flower, Anti-oxidant, Skin whitening, Anti-wrinkle, Tyrosinase, Collagenase, Hydrothermal Extraction, Flavonoid, Polyphenol

This work was supported by the "Leaders in Industry-university Cooperation 3.0" Project and 2024 Local University Revitalization Project funded by the National Research Foundation of Korea.

Received 23 Jun 2024, Revised 08 Jul 2024

Accepted 11 Jul 2024

Corresponding Author: Woonjung Kim (Hannam University)

Email: wjkim@hnu.kr

ISSN: 2466-1139(Print)

ISSN: 2714-013X(Online)

Industrial Promotion Institute. All rights reserved. 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.

1. 서론

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 노화와 질병을 유발하는 원인으로[1], 생체 내 항산화제를 파괴해 항산화 방어체계를 붕괴시켜 피부 노화를 촉진한다[2]. 피부는 인체의 내적 상태를 밖으로 드러내는 지표로 작용하기 때문에 노화의 기준을 피부 상태를 통해 판단할 수 있다[3]. 피부의 노화는 세월이 흘러감에 따라 피할 수 없는 노화 현상인 내인성 노화(intrinsic aging)와 오랫동안 자외선에 노출된 피부에서 관찰되는 노화 현상인 광노화(photo aging)로 구분할 수 있다[4]. 자외선으로부터 피부를 보호하기 위해 생성되는 멜라닌(melanin)은 과잉 생성될 경우 기미, 주근깨, 검버섯과 같은 피부 트러블을 야기하며 색소침착을 유발한다[5]. 멜라닌 색소의 생합성에 관여하는 핵심 효소는 티로시나아제(tyrosinase)로 생물체 내에서 L-tyrosine을 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)로 전환하고 L-DOPA를 Dopaquinone으로 변환시키는 작용을 한다[6]. 따라서 티로시나아제의 억제제는 멜라닌의 합성을 저해하는 미백의 원리를 가진다. 콜라겐(Collagen)은 생체 조직의 전반에 걸쳐 분포되어 있는 구조단백질로 3중 나선구조를 형성하고 있다[7]. 생체 내에서 콜라겐의 합성과 분해는 콜라겐 분해에 관련된 기질 단백질 분해효소(matrix metalloproteinase, MMP) 및 MMPs 작용을 저해하는 Tissue inhibitors of metalloproteinases(TIMPs)에 의해 조절된다[8]. 결과적으로 활성산소는 피부의 항산화제 파괴, 지질 과산화 반응의 개시, 단백질의 산화, DNA 산화, 멜라닌 생성, 콜라겐 사슬의 절단 및 비정상적 교차결합에 의한 주름 생성 등에 관여하여 피부의 노화를 가속화 시키므로 이를 제거하는 것이 노화의 속도를 늦추는 요소라 할 수 있다[2]. 최근에는 이러한 기능성을 나타내는 소재를 피부 친화적이고 안전한 식물 추출물에서 찾는 연구가 가속화되고 있다[9].

감국(*Chrysanthemum indicum* Linne.)은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 국내는 중부 이남 산간지역을 중심으로 분포되어 있는 야생 국화로 한방 또는 민간 처방으로 빈혈, 현기증, 두통 완화, 혈압 강하, 중추신경 억제 등에 적용하고 있다[10]. 감국의 주요 성분으로는 플라보노이드 화합물인 인 luteolin,

apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucoside 및 luteolin 7-O- β -D-glucoside, sesquiterpene lactone 화합물인 cumambrin A, cumambrin B, arteglinin A 및 angeloyljinin 등으로 알려져 있다[11]. 따라서 본 연구는 감국꽃 추출물의 활성 성분 분석을 통하여 화장품의 기능성 소재로서의 활용 가치를 확인하고자 한다.

2. 실험

2.1 재료

본 연구에서 사용한 감국꽃은 (주)허브마을(cheongju, korea)에서 2023년 10월에 건조된 꽃으로 구매했으며, 실험에 사용 전 분쇄하여 4°C에서 냉장 보관 후 실험에 사용하였다.

2.2 추출조건

추출을 위한 용매로는 증류수와 에탄올을 사용하였으며 에탄올의 함량을 30%, 50%, 70%로 설정하여 추출을 진행하였다. 추출조건으로 용매는 300ml, 시료는 30g으로 설정하였다. 추출 조건은 열수 추출기(KSP-240L, KYUNGSEO E&P, Incheon, korea)를 이용하여 온도 80°C, 압력 0.06MPa 로 3시간 동안 추출을 진행하였다. 추출한 용액은 감압 여과 후 회전 진공 농축기(EYELA, N-1300, Shanghai Eyela Co, Chaina)로 감압 농축하여 4°C에서 냉장 보관을 하여 실험에 농축액의 상태로 사용하였다.

2.3 GC-MS 분석

GC-MS(Gas chromatography-mass spectrometry)를 이용하여 감국꽃 추출물의 유효성분을 분석하였다. column(Agilent 19091S-433UI:146957H, Agilent, U.S.A)은 HP-5ms(30m \times 250 μ m \times 0.25 μ m)를 사용하였다. Carrier gas는 He, 압력과 유속은 각각 12.051psi, 1ml/min으로 설정하였다. column의 온도 범위는 -6 0°C ~ 325°C, oven의 온도 범위는 50°C ~ 320°C로 설정하였다.

2.4 항산화 효능 분석

감국꽃 추출물에 대한 항산화 효능 분석은 Blois의

방법을 수정하여 측정하였다[12]. DPPH 표준시료(Alfa Aesar, Massachusetts, USA), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(free radical)를 1.5mM의 농도로 메탄올에 희석하여 제조하였다. 양성 대조군인 ascorbic acid는 증류수 100ml에 0.01g 희석한 용액을 준비한 후 2배, 4배, 8배, 16배, 32배의 농도로 계열 희석하여 준비하였다. 감국꽃 추출물은 각각 계열 희석으로 40배, 80배, 160배, 320배, 640배로 희석하였다. 희석된 용액에 시료, 양성 대조군, 증류수 0.25ml에 DPPH 표준용액 1.25ml 주입하여 암실에서 20분간 정치 반응시켰다. 반응 후 UV/Vis spectrophotometer(KLAB, Deajeon, Korea), 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도 값은 아래의 식으로 DPPH radical 소거능 저해율을 계산하고, 계산된 값으로 IC50값을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 } O.D.}{\text{대조군 } O.D.}\right) \times 100$$

2.5 항균 활성 분석

항균 액체 현탁액에서 미생물 개체군의 변화를 평가하기 위한 방법인 ASTM-E2315 시험법으로 항균 활성을 측정하였다. 측정 시료는 에탄올 함량 70% 추출물 시료로 선택하였고, 균주는 Escherichia coli(ATCC 8739), Staphylococcus aureus(ATCC 6538), Pseudomonas aeruginosa(ATCC 27853)을 사용하였다. 각 균주는 인산완충용액(Phosphate buffer, pH 7.2, SIGMA, Taufkirchen, Germany) 50ml에 시료 1.0ml로 희석하였으며 초기 균주 수를 측정하였고, 액체배지(Dey-Engley Neutralizing Broth)에 중화하여 표준화한 후 사용하였다. 중화된 테스트 용액의 희석액을 TSA 배지를 사용하여 60분 후 생존 미생물을 확인하였고 미생물의 감소량은 초기 미생물 농도와 최종 미생물의 농도를 비교하여 계산하였다.

2.6 세포 내 멜라닌 생성 저해 시험

실험에 사용한 세포주는 B16F1(Mouse skin melanoma, ATCC CRL-6323)을 사용하였으며 측정 시료는 에탄올 함량 70% 추출물 시료로 선택하여 진행하였다. 세포주의 배양 조건은 37°C, 5%, CO2 배양기에서 진행하였다. 양성 대조군인 Arbutin 은 5mM 의 농도 처

리를 하였으며, 감국꽃 추출물은 1%, 1.2%, 1.5%의 농도로 처리하여 준비하였다.

96 well plate에 세포를 1×105(2ml/well)개로 분주하고 37°C, 5% CO2 배양기에서 24시간 배양한 후 시험 물질 양성 대조물질 및 α-MSH가 첨가된 배지로 교체하여 동일 조건에서 3일 동안 배양하였다. 세포를 M-PER buffer로 녹인 후 원심분리 하여 상층액을 BCA protein assay reagent kit(Thermo scientific POERCE, USA)에 따라 수행한 후 BSA 표준곡선에 따라 단백질을 정량하였다. 회수된 세포는 10% DMSO가 함유된 1N NaOH를 첨가한 후 490nm에서 흡광도를 측정하여 합성 멜라닌 표준곡선에 따라 멜라닌을 정량하였다. 단백질 양에 대한 멜라닌 양으로 환산하여 세포 내 멜라닌 생성 저해율은 다음의 식에 따라 산출하였다.

$$\begin{aligned} \text{세포 내 멜라닌 생성 저해율(\%)} \\ = \frac{\text{시료첨가군(멜라닌/단백질)}}{\text{시료무첨가군(멜라닌/단백질, G2)}} \times 100 \end{aligned}$$

2.7 세포 내 Collagenase 저해 시험

실험에 사용한 양성 대조군인 Adenosine은 10μg/ml의 농도 처리를 하였으며, 측정 시료는 에탄올 함량 70% 추출물 시료로 선택하여 1.5%, 3%, 5%의 농도로 처리하여 준비하였다. 60 mm plate에 세포를 4 × 105(5 ml/plate)개로 분주하고, 37°C, 5% CO2 배양기에서 24시간 배양하였다. 배지를 버리고 PBS(인산완충생리식염수)로 세척한 다음 PBS 2ml를 넣고 자외선(UVB, 312 nm) 10mJ을 조사하여 광노화를 인위적으로 유발했다.

시험 물질 및 양성 대조물질이 포함된 무형질 배지로 교체하여 37°C, 5% CO2 배양기에서 24시간 배양하였다. 세포배양액을 회수하여 BCA protein assay reagent kit(Thermo scientific PIERCE, USA)에 따라 수행한 후 BSA 표준곡선에 따라 단백질 함량을 측정하였다. 세포 배양액을 회수하여 Human MMP-1 ELISA Kit(Thermo Fisher Scientific, USA)에 따라 수행한 후 콜라게나아제 표준곡선에 따라 콜라게나아제 함량을 측정하였다. 세포 내 콜라게나아제 함량은 단백질 함량에 대한 콜라게나아제 함량으로 환산하였으며, 다음의 식에 따라 산출하였다.

$$\text{세포 내 콜라게나아제 함량(\%)} = \frac{\text{시료첨가군(콜라게나아제/단백질)}}{\text{음성대조군(콜라게나아제/단백질, G1)}} \times 100$$

2.8 세포독성 시험

실험에 사용한 세포주는 CCD-986SK(ATCC CRL-1947)를 사용하였다. 세포주의 배양 조건은 37°C, 5% CO2 배양기에서 진행하였다. 음성 대조군으로 무혈청배지를 사용하고, 부형제 대조군은 7% 에탄올을 사용하였다.

측정 시료는 에탄올 함량 70% 추출물 시료로 선택하여 1.5%, 3%, 5%, 8%, 10%의 농도로 처리(Final concentration, v/v)하여 준비하였다. 96 well plate에 세포를 1×10⁴(100μl/well)개로 분주하고 37°C, 5% CO2 배양기에서 24시간 배양한 후 무혈청배지로 교체하여 동일 조건에서 24시간 배양하였다. MTT 용액을 200μl/well 분주하고 37°C, 5% CO2 배양기에서 2시간 배양 후 배지를 제거하고 DSMO 용액을 200μl/well 넣고 plate shaker에서 20분간 추출하였다. 추출 후 570nm에서 Microplate reader 로 측정하였다. 세포 생존율을 다음의 식에 따라 산출하였다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \frac{\text{시험물질군의 } O.D. \text{ at } 570\text{nm}}{\text{부형제대조군의 } O.D. \text{ at } 570\text{nm}} \times 100$$

3. 결과 및 고찰

본 연구의 감국꽃 활성 성분에 대한 결과는 다음과 같다. 결과값의 표기는 추출 시 에탄올 함량에 따라 30%는 A, 50%는 B, 70%는 C로 각각 표기하였다. 또한, 3-3 ~ 3-6 의 시험결과는 GC-MS 분석, 항산화 효능시험의 결과를 통하여 생리 활성이 높은 에탄올 함량 70% C 시료를 채택하여 분석한 결과이다.

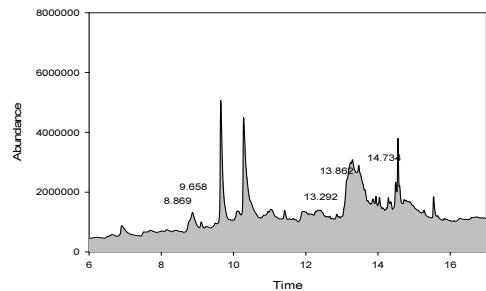
3.1 GC-MS 분석 결과

GC-MS 분석 결과, 감국꽃 추출물에서 다양한 방향족 유효 성분들이 확인되었다. 추출물 A에서는 주요 활성 성분으로 Carboxylic acid, 4H-Pyran-4-one, Octanoic acid, N-Acetyl-d-serine, 1,3-Dioxolane등이 검출되었으며, 추출물 B에서는 Adenosine,

2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, 2-Furaldehyde, Hydroquinone, Polygalitol, Ledol, 1H-Imidazole 등이 검출 되었으며, 추출물 C에서는 1,4-Benzenediol, Oxacyclohexadecane-2,13-dione, 2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, Diaziridinone, Polygalitol, 13-Octadecenal, Pyridine 등이 검출되었다. 에탄올 함량에 따른 GC-MS 결과는 <표 1> ~ <표 3>, [그림 1] ~ [그림 3]과 같다

<표 1> GC-MS를 이용한 감국꽃 30% 에탄올 추출물의 활성 성분 분석

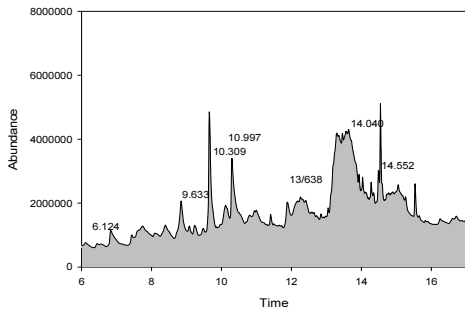
Retention time (RT)	Name of the compound	Quality	Area peak (%)
8.689	Carboxylic acid	35	1.01
9.658	4H-Pyran-4-one	93	2.96
13.292	Octanoic acid	47	3.61
13.862	N-Acetyl-d-serine	38	0.46
14.734	1,3-Dioxolane	43	1.75



[그림 1] 감국꽃 30% 에탄올 추출물의 GC-MS 정성분석.

〈표 2〉 GC-MS를 이용한 감국꽃 50% 에탄올 추출물의 활성 성분 분석

Retention time (RT)	Name of the compound	Quality	Area peak (%)
6.124	Adenosine	40	0.60
9.633	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	87	1.99
10.309	2-Furaldehyde	93	2.25
10.997	Hydroquinone	30	1.34
13.638	Polygalitol	46	5.66
14.040	Ledol	74	2.25
14.552	1H-Imidazole	64	1.74

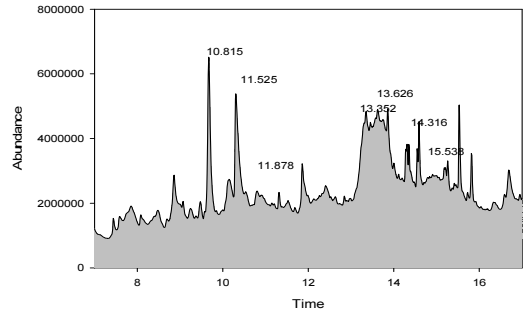


〔그림 2〕 감국꽃 50% 에탄올 추출물의 GC-MS 정성분석.

〈표 3〉 GC-MS를 이용한 감국꽃 70% 에탄올 추출물의 활성 성분 분석

Retention time (RT)	Name of the compound	Quality	Area peak (%)
10.815	1,4-Benenediol	64	2.87
11.525	Oxacyclohexadiene-1,4-dione	45	1.00
11.878	2,5-Cyclohexadecane-1,4-dione	43	1.37

13.352	Diaziridinone	53	4.8
13.626	Polygalitol	45	7.15
14.316	13-Octadecenal	64	1.71
15.538	Pyridine	43	1.55



〔그림 3〕 감국꽃 70% 에탄올 추출물의 GC-MS 정성분석.

3.2 항산화 효능 분석 결과

대조군의 IC₅₀을 기준으로 추출물의 IC₅₀을 산출하였고 산출된 값은 <표 4>와 같다. 대조군인 Ascorbic acid는 0.01 ± 0.00mg/ml, 추출물 D는 1.23 ± 0.06mg/ml, 추출물 E는 0.33 ± 0.01mg/ml, 추출물 F는 0.15 ± 0.10 mg/ml로 나타났다. 에탄올 함량별 추출물에서 대조군 ascorbic acid보다는 낮은 IC₅₀값을 보였으나 추출물 자체가 가지는 높은 항산화 효과가 있음을 확인하였고, 농도 의존적으로 항산화능이 증가하는 것으로 확인되었다. 이는 GC-MS 성분분석 결과 검출된 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, Diaziridinone 등의 항산화 활성 성분에 기인한 것으로 예측한다.

〈표 4〉 IC₅₀으로 환산한 항산화 활성

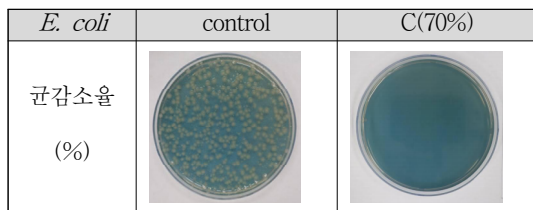
	DPPH radical scavenging activity IC ₅₀ (mg/ml)
ascorbic acid	0.01 ± 0.00
A(30%)	1.23 ± 0.06
B(50%)	0.33 ± 0.01
C(70%)	0.15 ± 0.10

3.3 항균 활성 분석 결과

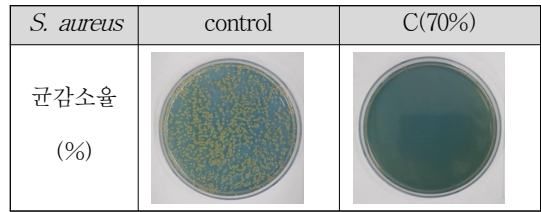
TIME KILL TEST를 이용한 추출물 C(70%)의 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* 균주에 대한 항균 활성을 분석한 결과는 <표 5>, [그림 4]~[그림 6]과 같다. TIME KILL TEST의 살균 활성은 colony 형성 단위에서 3log10배 이상 감소하는 것으로 정의한다. 시험 결과 *E. coli* 균주에 60분 접촉 후 균 감소를 99.9%로 확인되었으며, *S. aureus* 균주에 60분 접촉 후 균 감소를 99.9%로 확인되었으며, *P. aeruginosa* 균주에 60분 접촉 후 균 감소를 99.9%로 확인하였다. 이는 GC-MS 성분분석 결과 검출된 2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, Polygalitol, 13-Octadecenal 등의 항균 활성 성분에 기인한 것으로 예측한다.

<표 5> TIME KILL TEST를 이용한 항균 활성 분석

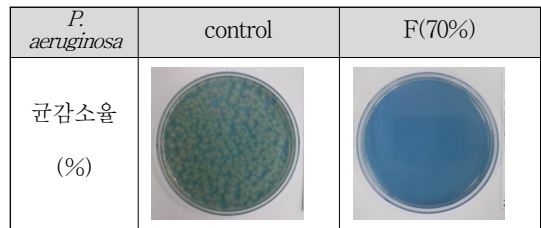
microorganism	C(70%)	
<i>E. coli</i>	초기균수(세균수/ml)	1.3×10^9
	60 분 접촉 후	
	균수(세균수/ml)	< 10
	상용대수(log)감소치	5.11
	균감소율(%)	99.999
<i>S. aureus</i>	초기균수(세균수/ml)	1.9×10^9
	60 분 접촉 후	
	균수(세균수/ml)	1.0×10^4
	상용대수(log)감소치	5.28
	균감소율(%)	99.999
<i>P. aeruginosa</i>	초기균수(세균수/ml)	1.3×10^9
	60 분 접촉 후	
	균수(세균수/ml)	< 10
	상용대수(log)감소치	5.11
	균감소율(%)	99.999



[그림 4] *E. coli* 균주에 대한 TIME KILL TEST 항균 활성 분석 사진.



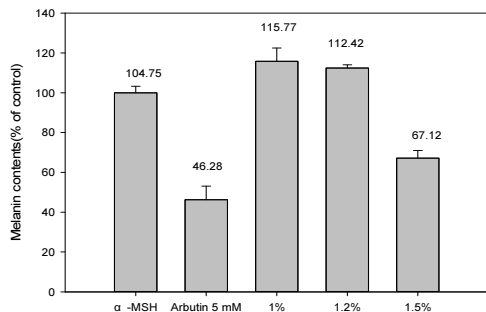
[그림 5] *S. aureus* 균주에 대한 TIME KILL TEST 항균 활성 분석 사진.



[그림 6] *P. aeruginosa* 균주에 대한 TIME KILL TEST 항균 활성 분석 사진.

3.4 세포 내 멜라닌 생성 저해 시험 결과

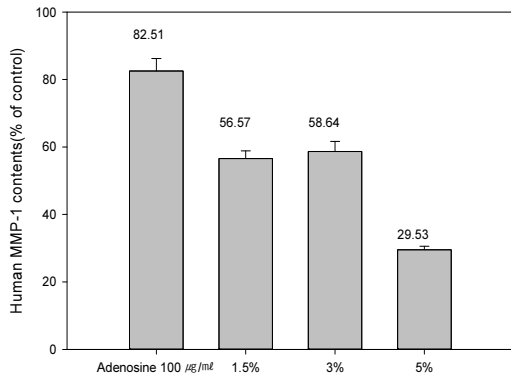
감국꽃 추출물 C(70%)를 1%, 1.2%, 1.5%의 농도로 처리한 티로시나아제(Tyrosinase) 저해 활성 분석 결과는 [그림 7]과 같다. 각각의 농도에서 α -MSH 처리군 대비 115.77 ± 6.67%, 112.42 ± 1.64%, 67.12 ± 3.89%로 측정되었다. 한편, 양성 대조물질인 알부틴(Arbutin)을 5mM 처리한 결과 α -MSH 처리군 대비 46.28 ± 6.76%로 세포 내 멜라닌 생성 저해를 확인하였다. 이는 GC-MS 성분분석 결과 검출된 1,4-Benzenediol, Oxacyclohexadecane-2,13-dione 등의 미백 활성 성분에 기인한 것으로 예측한다.



[그림 7] 감국꽃 추출물(C)의 멜라닌 생성 저해 시험 결과.

3.5 세포 내 콜라게나아제(Collagenase) 저해 시험 결과

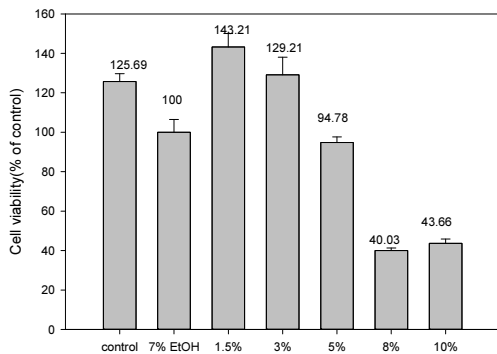
감국꽃 추출물 C(70%)를 1.5%, 3%, 5%의 농도로 처리한 결과는 [그림 8]과 같다. 각각의 농도에서 $56.57 \pm 2.28\%$, $58.64 \pm 2.99\%$, $29.53 \pm 1.03\%$ 의 콜라게나아제 억제율을 확인하였다. 양성 대조물질인 Adenosine을 $100\mu\text{g/ml}$ 처리한 결과 $82.51 \pm 3.70\%$ 로 세포 내 콜라게나아제 활성이 억제되는 것을 확인하였다.



[그림 8] 감국꽃 추출물(C)의 콜라게나아제 저해 시험 결과.

3.6 세포독성 시험 결과

감국꽃 추출물 C(70%)에 대한 세포독성 시험 결과는 [그림 9]와 같다. 추출물이 1.5%, 3%, 5%, 8%, 10%의 농도에서 각각 $143.21 \pm 8.60\%$, $129.12 \pm 11.20\%$, $94.78 \pm 3.56\%$, $40.03 \pm 1.61\%$, $43.66 \pm 2.83\%$ 의 세포 생존율이 확인되었다. 부형 대조군은 음성대조군 대비 79.56



[그림 9] 감국꽃 추출물(C)의 세포 독성 시험 결과.

$\pm 6.52\%$ 의 세포 생존율이 확인되었다. 세포 생존율이 부형제 대조군의 70% 미만으로 감소하는 경우에 잠재적으로 세포독성이 없는 것으로 판정하여 1.5%, 3%, 5% 농도에서 세포독성이 없는 것으로 확인하였다.

4. 결론

본 연구의 에탄올 함량에 따른 감국꽃의 열수 추출물에 대한 분석 결과는 다음과 같다. GC-MS 분석 결과, 감국꽃 추출물에서 다양한 방향족 유효 성분들이 확인되었으며, 추출 시 에탄올의 함량이 증가할수록 유효 활성 성분이 높게 검출되었다.

항산화 효능 분석 결과 대조군 ascorbic acid보다는 낮은 IC50값을 보였으나 추출물 자체가 가지는 높은 항산화 효과가 있음을 확인하였고, 농도 의존적으로 항산화능이 증가하는 것으로 확인되었다. 이는 GC-MS 성분분석 결과 검출된 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, Diaziridinone 등의 항산화 활성 성분에 기인한 것으로 예측한다.

TIME KILL TEST를 이용한 추출물 C(70%)의 Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa 균주에 대한 항균 활성을 분석한 결과, 각각의 균주에 대해 60분 접촉 후 99.99%의 균 감소율이 확인되었다. 이는 GC-MS 성분분석 결과 검출된 2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, Polygalitol, 13-Octadecenal 등의 항균 활성 성분에 기인한 것으로 예측한다.

미백 유효성을 평가하기 위한 세포 내 멜라닌 생성 저해 시험 결과, 추출물 C(70%)를 1%, 1.2%, 1.5%의 농도로 처리하였을 때 각각의 농도에서 α -MSH 처리군 대비 $115.77 \pm 6.67\%$, $112.42 \pm 1.64\%$, $67.12 \pm 3.89\%$ 로 확인되었다. 이는 GC-MS 성분분석 결과 검출된 1,4-Benzenediol, Oxacyclohexadecane-2,13-dione 등의 미백 활성 성분에 기인한 것으로 예측한다.

세포 내 콜라게나아제(Collagenase) 활성 저해 분석 결과, 추출물 C(70%)를 1.5%, 3%, 5%의 농도로 처리하였을 때 $56.57 \pm 2.28\%$, $58.64 \pm 2.99\%$, $29.53 \pm 1.03\%$ 의 콜라게나아제 억제율을 확인하였다.

추출물 F에 대한 세포독성 시험 결과, 추출물이 1.5%, 3%, 5%, 8%, 10%의 농도에서 각각 $143.21 \pm$

8.60%, 129.12 ± 11.20%, 94.78 ± 3.56%, 40.03 ± 1.61%, 43.66 ± 2.83%의 세포 생존율이 확인되었다. 결과적으로 추출물의 농도가 1.5%, 3%, 5%일 때 세포독성이 없는 것으로 확인하였다. 선행연구에서 감국꽃 추출물의 침지 추출물에 대한 세포독성 평가결과 200µg/ml 농도에서 세포독성이 나타나지 않았다[1]. 추출 방법에 따라 유효 성분의 활성에 영향이 있을 것으로 예측한다.

본 연구를 통하여 감국꽃의 열수 추출물이 기능성 화장품 소재 가치로 유용할 것으로 예측하며, 유효 활성 성분을 효과적으로 검출하기 위한 다양한 추출법의 적용이 수반되는 연구가 지속되길 바란다.

참고문헌

- [1] J. M. Hyun, Y. J. Jo, Y. B. Kim, S. M. Park, K. S. Yoon, N. H. Lee, “Anti-inflammatory and Anti-oxidative Activities of Flavonoids Extracted from *Dendranthema indicum* Flowers in Jeju Island”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*. 36(4), pp. 1259-1267, (2019)
- [2] J. Y. Kim, H. J. Yang, K. H. Lee, S. M. Jeon, Y. J. Ahn, B. R. Won, S. N. Park, “Antioxidative and Antiaging Effects of Jeju Native Plant Extracts (II)”, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*. 33(3), pp. 165-173, (2007)
- [3] H. J. Nam, Y. B. Kim, “Aging and Skin Aging”, *The journal of Korean oriental medical ophthalmology & otolaryngology & dermatology*. 17(1), pp. 16-33, (2004)
- [4] J. H. Chung, “Generation Mechanism and Cause of Wrinkle”, *Journal of the society of cosmetic scientists of Korea*. 29(2), pp. 1-35, (2003)
- [5] J. Y. Kim, M. K. Lee, B. S. Hwang, G. C. Kim, I. G. Hwang, “Antioxidant Activity and Tyrosinase Inhibitory Activities of *Codonopsis lanceolata* Extract and Solvent Fraction”, *Korean J. Food Nutr.* 32(6), pp. 611-619, (2019)
- [6] Y. R. Choi, H. S. Do, D. W. Jeong, J. T. Park, Y. S. Choi, “Reaction Stability of the Recombinant Tyrosinase-CNK Originating from the Psychrophilic Marine Microorganism *Candidatus Nitrosopumilus Koreensis*”, *Clean Technol.* 22(3), pp. 175-180, (2016)
- [7] Y. H. Kim, E. J. Park, R. Yang, “The Flow Behavior of Skin Collagen”, *KOREA J. FOOD SCI. TECHNOL.* 27(4), pp. 576-581, (1995)
- [8] J. E. Kim, J. A. Lee, H. A. Kim, J. M. Kim, Y. H. Cho, “Effect of Vitamin C, Silicon and Iron on Collagen Synthesis and Break-Down Enzyme Expression in the Human Dermal Fibroblast Cell (HS27)”, *Korean J Nutr.* 42(6), pp. 505-515, (2009)
- [9] J. M. Hyun, Y. J. Jo, Y. B. Kim, S. M. Park, K. S. Yoon, N. H. Lee, “Anti-inflammatory and Anti-oxidative Activities of Flavonoids Extracted from *Dendranthema indicum* Flowers in Jeju Island”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*. 36(4), pp. 1259-1267, (2019)
- [10] S. H. Lee, I. G. Hwang, J. W. Nho, Y. D. Chang, C. H. Lee, K. S. Woo, H. S. Jeong, “Quality Characteristics and Antioxidant Activity of *Chrysanthemum indicum* L., *Chrysanthemum boreale* M. and *Chrysanthemum zawadskii* K. Powdered Teas”, *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38(7), pp. 824-831, (2009)
- [11] K. S. Woo, J. S. Yu, I. G. Hwang, Y. R. Lee, C. H. Lee, H. S. Yoon, J. S. Lee, H. S. Jeong, “Antioxidative Activity of Volatile Compounds in Flower of *Chrysanthemum indicum*, *C. morifolium*, and *C. zawadskii*”, *J Korean Soc Food*

Sci Nutr. 37(6), pp. 805-809, (2008)

- [12] Marsden S. Blois, “Antioxidant determinations by the use of a stable free radical” , *Nature.* 181(4617), pp. 1199-1200, (1958)

하 지 성 (Jisung, Ha)



.2018년 8월: 광운대학교 (예술학 석사)
.2020년 9월~현재: 한남대학교 코스메
틱사이언스학과 박사과정
.관심분야: 천연물 성분 분석, 화장품
성능 평가
.E-Mail: hajisung@nate.com

강 유 리 (Yuri, Kang)



.2020년 2월: 한남대학교 (미용학 석사)
.2022년 8월: 한남대학교 (이학 박사)
.2024년 3월~현재: 한남대학교 화학과
박사과정
.2023년 3월~현재: 한남대학교 창의융
합학부 겸임교수
.관심분야: 화장품 소재개발
.E-Mail: yuri_1005@nate.com

김 운 중 (Woonjung, Kim)



.2001년 2월: 한남대학교 (이학 석사)
.2014년 2월: 한남대학교 (이학 박사)
.2015년 4월~현재: 한남대학교 화학과
교수
.관심분야: 천연 식품 및 화장품 소재,
기능성 탄소복합소재, 환경분석
.E-Mail: wjkim@hnu.kr