

제주조릿대 잎 추출물의 항산화효능 및 세포독성 평가에 관한 연구

이송희¹, 이무성^{2*}

¹전남대학교 대학원 향장품학협동과정, ²전남대학교 응용화학공학부

The research on antioxidative effect of *Sasa quelpaertensis* extractum and assessment of cytotoxicity

Song Hee Lee¹, Moo Sung Lee^{2*}

¹Interdisciplinary Program of Perfume and Cosmetics, Graduate School of Chonnam National University

²Faculty of Applied Chemical Engineering, Chonnam National University

요약 본 연구는 제주조릿대 잎의 열수추출물과 에탄올추출물을 이용하여 항산화 효능과 세포독성에 의한 세포 생존율을 분석하였다. 제주조릿대 잎은 95℃ 물과 70% 에탄올 용액으로 각각 추출하여 사용하였으며, 총 polyphenol 함량, 총 tannin 함량, 총 flavonoid 함량을 확인한 결과 총 polyphenol 함량은 95℃ 열수 추출물에서 26.6mg/g, 70% 에탄올추출물에서는 22.3mg/g로 95℃ 열수 추출물에서 더 높게 나왔으며, tannin 함량 역시 95℃ 열수 추출물 72.1mg/g, 70% 에탄올추출물에서 61.2mg/g로 95℃ 열수 추출물이 더 높게 나왔다. 총 flavonoid 함량은 95℃ 열수 추출물(17.8mg/g)보다 70% 에탄올추출물(25.4mg/g)에서 더 높게 나타났다. 또한 DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능을 측정한 결과 모두 각 추출물의 농도가 증가할수록 증가하였으며, DPPH radical 소거능에서 L-ascorbic acid는 500ppm에서 최대 소거율을 보인 후 농도가 증가함에 더 이상의 변화는 나타나지 않았으나 제주조릿대 잎 추출물에서는 농도에 따른 증가를 볼 수가 있었다. ABTS radical 소거능에서 역시 유사한 현상을 나타냈으나 BHT와 같은 경우는 500ppm에서 최대 소거율을 보인 후 농도가 증가함에 따라 점점 떨어지는 것을 알 수 있었다. 그러나 제주조릿대 잎 추출물에서는 농도 의존적으로 증가하여 10000ppm의 농도에서는 90%이상의 소거율을 보였으며, 95℃ 열수 추출물에서 약간 더 증가함을 알 수 있었다. 그리고, 인간 섬유아세포주인 3T3 (human skin fibroblast)를 이용하여 제주 조릿대 잎의 세포생존을 확인한 결과 95℃ 열수 추출물은 세포생존율이 85.6~66.6%로 다소 낮아지는 반면 70% 에탄올추출물에서는 95.4~92.1%로 생존율이 더 높게 나타났다. 따라서 제주조릿대 잎 추출물은 향장소재 뿐만 아니라 천연 항산화제로서의 가능성이 있다고 판단된다.

Abstract This research analyzed cell survival rate according to antioxidative effect and cytotoxicity using *Sasa quelpaertensis* and Ethanol extracts. *Sasa quelpaertensis* used extracts of 95℃boiled-water extract and 70% ethanol liquid each. For total polyphenol content, tannin content, and flavonoid content, polyphenol content of 95℃ boiled-water extract was 26.6 mg/g while that of 70% ethanol extract liquid was 22.3 mg/g, which means polyphenol content was higher in 95℃ boiled-water extract. Tannin content was 72.1 mg/g in 95℃ boiled-water extract which was higher than 61.2 mg/g in 70% ethanol extract liquid. Total flavonoid content was higher in 70% ethanol extract liquid (25.4 mg/g) than in 95℃ boiled-water extract (17.8 mg/g). Further, the researcher measured DPPH radical elimination and ABTS radical elimination. As a result, as the concentration of each extract increased, DPPH radical elimination and ABTS radical elimination increased. In the DPPH radical elimination, L-ascorbic acid was eliminated at 500 ppm and showed no change even though the concentration increased, whereas it increased in BHT and *Sasa quelpaertensis* leaf extracts according to concentration. ABTS radical elimination indicated the similar phenomenon, whereas BHT showed maximum elimination at 500 ppm and decreased gradually as the concentration increased. On the other hand, it gradually increased in *Sasa quelpaertensis* leaf extract and showed 90% elimination at 10,000 pm, and it increased in 95℃ boiled-water extract. Using human skin fibroblasts (3T3) to check the cell survival rate of *Sasa quelpaertensis* leaves showed that cell survival rate decreased between 85.6 and 66.6% in 95℃ boiled-water extract. The cell survival rate was between 95.4 and 92.1% when using 70% ethanol extracts. *Sasa quelpaertensis* has efficacy as a natural antioxidant as well as a material hyangjang.

Keywords : ABTS assay, Antioxidant, Cell Viability, DPPH assay, Phenolics, *Sasa quelpaertensis*

*Corresponding Author : Moo-Sung Lee(Chonnam Univ.)

Tel: +82-62-530-1776 email: moosung@jnu.ac.kr

Received November 16, 2016

Revised (1st December 21, 2016, 2nd January 2, 2017)

Accepted March 10, 2017

Published March 31, 2017

1. 서론

최근 소득증가와 의학발전으로 인해 생활의 질이 향상되면서 좀 더 건강증진적인 측면 즉, 식품영양 요소, 질병 예방, anti-에이징(anti-aging) 등에 대한 관심이 한층 더 증가되고 있다. 삶의 질을 떨어뜨리는 다양한 질병 중에는 잘못된 생활습관뿐 아니라 바쁜 현대사회에서 오는 스트레스가 큰 요인이 되기도 한다. 이러한 스트레스로 인해 생체 내부에서 만들어지는 활성산소의 반응이 주된 원인으로 지적되고 있다. 그만큼 활성산소 발생 방지와 세포변이를 막고 암 발생 억제에 대해 항산화 물질에 대한 관심도 높아지고 있다. 주로 얻을 수 있는 항산화 물질로는 비타민E와 비타민C, 베타카로틴, 플라보노이드, 폴리페놀 등의 천연 항산화제와 합성 항산화제인 butylated hydroxytoluene(BHT), butylated hydroxyanisole(BHA) 등이 있다. 그러나 최근 합성 항산화제들은 독성으로 인해 간을 손상시키거나 암까지 유발하는 등 안전성 문제들이 대두되면서 천연 항산화제에 대한 관심이 높아지고 있다. 천연 항산화제들은 항산화 능력이 다소의 차이는 있으나 사용하기 안전하다는 장점이 있다[1]. 천연 항산화제는 섭취할 수 있는 자연 식품이나 식물로부터 얻을 수 있고, 이러한 천연물에서 기능성 식품이나 의약품으로 개발하고자 하는 연구들이 이뤄지고 있다[2].

본 연구에서 살펴보고자 하는 “조릿대는 식물 분류학적으로 분류해보면 벼과(Gramineae)와 대나무아과(Bambusoideae)의 조릿대속(Sasa)에 속하며[3], 동의보감에 의하면 대나무 종류로는 자체에 독성이 없어 식용뿐 아니라 약용으로도 사용할 수 있어 고혈압, 당뇨 같은 성인병을 다스리고 중풍, 위나 간의 염증등과 같은 질병을 치료하는데 효능이 있다고 되어 있고, 이미 민간에서도 대나무에서 추출한 수액이나, 그 잎을 가지고 여러 가지 약재로 사용되어 왔음을 알 수 있다[4]. 최근 들어 조릿대에 대한 다양한 생리활성 연구와 더불어 새로운 화합물을 분리하고 그에 대한 생리활성을 확인하기 위한 많은 연구들이 수행되고 있다[5].

특히 본 연구에서는 제주조릿대(*Sasa quelpaertensis*)를 주 원료로 사용하고 있는데, 제주조릿대는 한라산에 넓게 퍼져 군락을 이루어 분포하며 높이는 10~80cm 정도이며 지름은 3~4mm 지름을 가지고 있는 식물이다. 최근 조릿대의 번식력이 강해 제주에서는 조릿대의 개체수가 급격하게 증가함으로 인해 다른 식물들의 성장을

방해하고 한라산 생태 종의 다양성을 저해하고 있음으로 인해 문제가 심각할 수 있는데, 이로 인해 제주조릿대의 번식을 적절하게 막고 제거된 제주조릿대를 이용해 음료나 화장품 등을 개발하는 연구가 활발하게 이뤄지고 있다[6].

그리고 제주조릿대의 성분으로 분석된 자료 중에는 tricin 형태의 6가지의 새로운 flaonolignans의 분리를 보고하였으며[7], 제주조릿대에서 3-O-p-coumaroyl-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphynyl)-1-prppanone과 3-O-p-coumaroyl-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphynyl)-1-O-β-D-glucopyranosylpropanol의 두 개의 새로운 화합물과 N-p-coumaroylserotonin, N-feruloylserotonin, p-coumaric acid의 새로운 화합물을 분리하였다[8].

따라서 본 연구는 제주조릿대에 polyphenol, tannin, flavonoid 등의 항산화 물질이 다량 함유되어 있다는 자료들을 바탕으로 항산화 효능 실험을 통해 이 성분을 이용하여 천연제품 등 향장품소재로서의 활용가능성을 평가하는데 목적을 두고 있다.

2. 재료 및 실험방법

2.1 기기 및 시약

열수 추출물을 추출하기 위한 온도를 유지하기 위하여 Water Bath[Lab Companion(BW -10H)]를 사용하여 추출하는데 사용하였으며, 에탄올 추출물을 추출하기 위하여 상온에서 교반기(Lab Companion(BW-10H))를 이용해 교반하면서 추출하는데 사용하였으며 Rotary evaporator(EYELA- JAPAN)를 이용하여 추출물을 감압 농축한 다음 동결건조기(Ilshin Lab, Freeze dryer with shell Freezer)를 이용하여 분말로 만들어 사용하였다. 그리고, 흡광도를 측정하기 위하여 ELISA reader (BioTek, ELx808, USA)를 사용하였다.

항산화력을 측정하는데 사용한 시약은 gallic acid, Foline-ciocalteu's phenol reagent, Quercetin, aluminum nitrate, L-ascorbic acid, DPPH (2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS(2,2- azino-bis(3- ethylbenzothiazoline -6-sulfonic acid) diammonium salt)는 Sigma-Aldric 에서 구입하여 사용하였으며, butylated hydroxytoluene, tannin, potassium acetate, sodium carbonate, potassium persulfate 등의 시약은 cyclon에서 구입하여 사용하였다.

2.2 제주조릿대 잎 추출물의 제조

제주조릿대 잎은 제주자연식물원에서 구입하여 사용하였으며 열수추출물과 70% 에탄올 추출물을 만들어 사용하였다. 열수추출물은 제주조릿대 잎 50g과 원료무게의 20배의 증류수 1L를 가한 다음 95℃에서 10시간동안 water bath(Lab Companion)에서 추출하였으며, 제주조릿대 잎의 70% 에탄올 추출물은 조릿대의 잎 50g과 원료무게 20배의 70% 에탄올을 1L를 가하여 상온(25℃)에서 72시간 추출하였다. 각각 추출한 추출액을 filter paper No2를 이용하여 여과한 후 교반기를 이용하여 교반한 다음 감압 여과한 후 진공농축기(Eyela-Japan)를 이용하여 감압 농축하였다. 각각의 농축액을 동결 건조하여 얻은 분말을 냉동보관 하면서 각각의 실험할 농도로 희석하여 사용하였다.

2.3 총 polyphenol 함량

총 polyphenol 함량은 Folin-Denis방법[9]을 변형하여 각 추출물 100ul에 Folin-Ciocalteu's phenol reagent시약을 100ul를 넣은 후 5~7분간 방치 후 10% Sodium carbonate용액 1mL를 혼합하고 실온에서 1시간동안 방치한 후 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 700nm 에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 사용하였으며 여기에서 얻은 검량선을 이용하여 총 polyphenol 함량을 계산하였다.

2.4 총 flavonoid 함량

총 flavonoid 함량은 Moreno방법[10]등에 따라서 각 추출물 0.5ml에 10%aluminum nitrate 0.1mL와 1M potassium acetate 0.1mL를 넣은 다음 ethanol 4.3mL를 혼합하여 실온(25℃)에서 40분간 자연방치 시킨 다음 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 Quercetin을 사용하여 얻은 검량선을 이용하여 총 flavonoid 함량을 계산 하였다.

2.5 총 Tannin 함량

총 Tannin 함량 역시 Folin-Denis법[9]을 변형하여 각 추출물 50ul에 Folin-Ciocalteu's phenol Reagent시약 50ul를 넣은 후 5 ~ 7분간 방치 후 10% Sodium carbonate용액을 50ul를 혼합한 후 실온에서 1시간동안 방치한 후 후 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하

여 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 Tannin acid를 사용하였으며 polyphenol 함량측정과 동일한 방법으로 측정하여 얻은 검량선을 이용하여 Tannin acid 함량을 계산하였다.

2.6 DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능은 Blois방법[11]의 일부를 변형하여 적자색의 DPPH radical이 시료의 항산화성분에 의해 색이 변하는 원리를 적용하여 측정 하였다[12]. 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올 추출물을 증류수에 녹인 제주조릿대 잎 추출물을 각각 500, 1000, 2500, 5000, 10000ppm의 농도로 준비하였으며, 0.2mM DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)를 ethanol에 녹인 용액을 준비 하였다. 각각의 농도별 시료 20ul에 DPPH용액 180ul를 혼합하여 상온에서 빛을 차단한 후 30분간 반응시킨 후 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 사용하여 490nm에서 흡광도를 측정 하여 DPPH radical 소거능을 측정 하였다. 대조군으로는 L-ascorbic acid와 Butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하였으며, 시료 무첨가군과 비교하여 계산해서 얻은 값을 백분율(%)로 표시하였다. 그리고 DPPH radical의 흡광도가 50% 감소할 때 나타내는 농도를 IC₅₀으로 표시 하였으며 각 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 표기하였다.

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

2.7 ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical 소거능은 potassium persulfate 와 반응을 하여 생성되는 청색을 띄는 청록색의 ABTS radical이 항산화 물질을 함유하고 있는 추출물과 반응하여 청록색이 연한녹색으로 변하게 되는 원리를 적용한 Vanden Berg[13]등의 방법을 적용하여 일부 변형한 후 측정하였다. 7.4mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)diammonium salt와 2.45mM potassium persulfate를 증류수에 용해하여 실온인 암소에서 24시간동안 방치하여 ABTS cation radical을 형성시켜서 이 용액을 734nm에서 흡광도 값이 1.45±1.5가 될 수 있도록 증류수로 희석하여 사용 하였다. 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올 추출물을 증류수에 녹인 제주조릿대 잎 추출물을 각각 500, 1000, 2500, 5000, 10000ppm의 농도로 준비하였

으며, 각각의 농도별 시료 10ul에 ABTS용액 190ul를 혼합하여 실온에서 빛을 차단하고 30분간 반응시킨 후, ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 700nm에서 흡광도를 측정하여 ABTS의 cation radical 소거능을 측정 하였다. 대조군으로는 L-ascorbic acid와 Butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하였으며, 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 계산한 후 얻은 값을 백분율(%)로 표시하였다. 그리고 DPPH radical 소거능과 같이 흡광도가 50% 감소할 때 나타내는 농도를 IC₅₀으로 표시 하였으며 각 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균 값으로 표기하였다.

$$\text{Inhibition}(\%) = (1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{시료 무첨가군의 흡광도}}) \times 100$$

2.8 세포배양

인간 섬유아세포주(human skin fibroblast)는 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였으며, Dulbecco's medium Eage'l's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS) 및 항생제(penicillin/ streptomycin)는 Gibco사 (GIsland, CA, USA)제품을 사용하였다, Fibroblast 3T3을 1×10⁴ cell/ml씩 분주하여 37℃, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 24시간 배양하였다.

2.9 세포독성평가

배양 후 배지를 제거하고 125~1000ppm의 농도로 희석한 추출물의 시료 100ul가 첨가된 새로운 배지로 교체하고 다시 24시간동안 배양 후MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, sigma]를 각 well당 20ul의 DMSO(Dimethyl Sulfoxide)에 녹이고 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포생존율(Cell viability)은 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{Cell viability}(\%) = \frac{(\text{Exp}-\text{Blank})}{\text{Control}} \times 100$$

Exp: 세포를 포함한 추출물의 흡광도

Blank: 세포를 포함하지 않는 추출물의 흡광도

Control: 세포를 포함한 증류수의 흡광도

2.10 통계처리

본 연구의 실험 결과들은 모두 3회 반복 측정하여 평균값(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)로 표시 하였다.

3. 연구 결과 및 고찰

3.1 항산화 활성

3.1.1 총 polyphenol 및 tannin acid 함량

Folin-reagent가 추출물에 함유되어 있는 polyphenol 성분으로 인해 몰리브덴 청색으로 환원되는 원리를 이용하여 실험한 결과는 Table 1과 같이 나타내었다. 95℃열수추출물과 70% 에탄올추출물의 경우 각각 26.6mg/g과 22.3mg/g으로 95℃열수추출물이 조금 더 높게 나타난 것을 알 수 있었다. 이는 Park 등[12]의 제주조릿대의 12.81~15.98mg/g보다는 많은 양이었으며, Song 등[14]의 조릿대의 41.26~41.46mg/g보다는 다소 적은 양이었으나 이는 추출 방법 등에서 약간의 차이가 있을 수 있으며 또한 시료를 녹이는 용매 등 여러 가지 요인에 의한 차이도 있을 것이라고 사료된다.

Tannin 함량은 총 polyphenol함량과 마찬가지로 95℃열수추출물이 72.2mg/g으로 더 높게 나왔으며 Park 등[12]의 에탄올 추출물에서 18.36mg/g보다는 월등히 많은 양을 함유하는 것으로 나타났다

Table 1. Total phenolic contents, total tannin acid and flavonoid contents of *Sasa quelpaertensis*.

Groups	Polyphenol (mg/g)	Tannin acid (mg/g)	Flavonoid (mg/g)
95℃ water extracts	26.6±0.06	72.1±0.09	17.8±0.00
70% ethanol extracts	22.3±0.04	61.2±0.03	25.4±0.01

3.1.2 총 flavonoid 함량

flavonoid는 관속식물의 식물에 존재하며, 황색을 나타내는 항산화 물질로 이루어진 화합물로[15] 강한 산화제를 투입했을 때 flavonoid를 함유 하고 있는 추출물은 노란색으로 변하게 되는 원리를 이용하여 측정한 결과 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올추출물의 경우 각각 17.8 mg/g 와 25.4mg/g으로 70% 에탄올추출물이 조금 더 높게 나타난 것을 알 수 있었다. 이는 Song 등[14]의 조릿대추출물에서의 21.45~29.49mg/g과 비슷한 양으로 나

타났음을 알 수 있다.

3.1.3 DPPH radical 소거능

매우 안정한 용액인 DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)는 수용성 free radical로 517nm에서 특정한 빛의 흡수를 보여주는 적자색의 화합물로 추출물의 항산화물질을 만나면 radical이 소거되면서 DPPH의 특정한 색인 적자색이 점차적으로 없어지는 특성이 있다 [12]. 이러한 시료의 색과 표준물질의 색의 세기를 비교하여 시료의 물질을 정량하는 화학적 분석법인 비색정량 [16] 측정하였다.

본 연구에서 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올추출물을 증류수에 녹여 500, 1000, 2500, 5000, 10000ppm의 농도로 제조하여 DPPH free radical의 소거활성을 측정 한 결과를 Fig. 1과 Table 2에 나타내었다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 L-ascorbic acid는 IC₅₀값의 77.3ppm에서 50% 이상의 소거율을 보였으며 500ppm에서 78.1%의 소거율을 보인 후 농도에 따른 변화는 거의 없었다. BHT 역시 IC₅₀값이 652ppm이었으며 농도가 1000ppm에서 63.2%의 소거율을 보인 후 큰 변화는 없었다. 95℃ 열수추출물은 IC₅₀값의 2225ppm에서 50%의 소거율을 보였으며, 70% 에탄올추출물은 IC₅₀값의 2196ppm에서 50%의 소거율을 보였다. 강력한 천연항산화제인 L-ascorbic acid과 합성항산화제의 대표라고 할 수 있는 BHT와는 달리 제주 조릿대 잎 추출물에서는 2000ppm 이하에서는 큰 변화를 나타내지 않다가 점차적으로 농도가 증가함에 따라 높은 소거활성을 알 수 있었다. 그리고 2000ppm이하에서는 70% 에탄올 추출물이 소거율이 높게 나타났으며 2000ppm이상에서는 95℃ 열수추출물에서 소거율이 더 높게 나타난 것을 알 수 있었다.

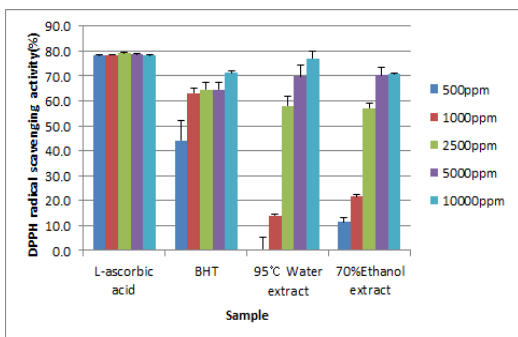


Fig. 1. DPPH free radical scavenging effect of extracts from *Sasa quelpaertensis* presented as them±S.D.

Table 2. DPPH radical scavenging activity of extracts from *Sasa quelpaertensis*.

Cone(ppm)	500	1000	2500	5000	10000	IC ₅₀ (PPM)
L-ascorbic acid	78.1 ±0.29	78.4 ±0.29	79.1 ±0.44	78.6 ±0.60	78.3 ±0.00	77.3
BHT	44.2 ±8.03	63.2 ±1.86	64.6 ±3.06	64.6 ±3.06	71.3 ±0.76	652
95°C water extracts	0.7 ±4.64	14.1 ±0.45	58.1 ±3.60	69.8 ±4.75	76.9 ±2.87	2,225
70% ethanol extracts	11.5 ±1.94	21.7 ±0.84	57.2 ±1.99	70.3 ±3.32	70.8 ±0.29	2,196

3.1.4 ABTS radical 소거능

ABTS radical 소거활성은 DPPH radical과 같은 일종으로 DPPH는 free radical인데 반해 ABTS는 cation radical 이라는 것에서 차이가 있다[14]. 본 연구에서 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올추출물을 증류수에 녹여 500, 1000, 2500, 5000, 10000ppm의 농도로 제조하여 ABTS radical의 소거활성을 측정한 결과를 Fig. 2와 Table 3에 나타내었다. Fig. 2에서 보는바와 같이 L-ascorbic acid는 IC₅₀값이 196ppm에서 50% 이상의

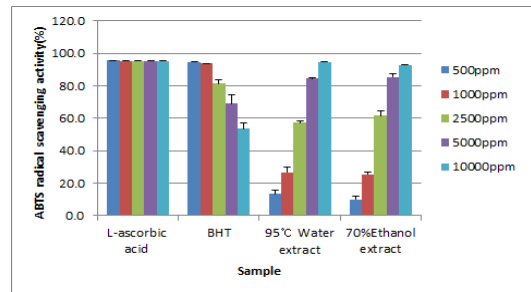


Fig. 2. ABTS cation radical scavenging effect of extracts from *Sasa quelpaertensis* presented as them±S.D.

Table 3. ABTS radical scavenging activity of extracts from *Sasa quelpaertensis*.

Cone(ppm)	500	1000	2500	5000	10000	IC ₅₀ (ppm)
L-ascorbic acid	95.5 ±0.00	95.4 ±0.14	95.4 ±0.14	95.4 ±0.07	95.4 ±0.07	196
BHT	94.8 ±0.00	93.7 ±0.12	81.5 ±2.22	69.1 ±5.65	53.5 ±3.78	166
95°C water extracts	13.4 ±2.61	26.7 ±3.50	57.4 ±1.23	84.5 ±0.30	94.6 ±0.14	2,137
70% ethanol extracts	10.2 ±1.85	25.6 ±1.40	61.7 ±2.70	85.5 ±1.96	93.0 ±0.12	2,013

소거율을 보였으며 500ppm에서 95%이상의 소거율을 보인 후 더 이상 증가하지 않고 그대로 유지 하고 있는 것을 알 수 있었으며, BHT의 경우는 IC₅₀값이 165.7ppm에서 50%이상의 소거율을 나타내었다. 그러나 DPPH radical 소거능에서와는 달리 BHT는 L-ascorbic acid와 같이 농도가 500ppm에서 94.8%의 최대 소거율을 보인 후 농도 증가에 따라서 활성도가 떨어져 1000ppm에서는 53.5%로 낮아지는 것을 알 수 있었다. 제주조릿대 잎 추출물은 낮은 농도에서는 활성도에 많은 영향을 미치지 않는으나 95℃ 열수추출은 IC₅₀값이 2137ppm을 나타내었으며, 70% 에탄올추출물은 IC₅₀값이 2013ppm으로 95℃ 열수추출보다는 약간 낮은 농도에서 나타남을 알 수 있었으며 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올 추출물 모두 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었다.

3.2 세포생존율 측정

본 연구에서 사용된 인간 섬유아세포주인 3T3 (human skin fibroblast)를 이용하여 제주 조릿대 잎의 세포생존율을 확인하였다. 각 추출물을 125~1000ppm 농도로 24시간동안 처리한 결과 최고농도인 1000ppm까지 세포생존율을 보았을 때 Fig. 3에서 살펴보면 95℃ 열수추출물은 세포생존율이 85.6~66.6%로 낮아지는 반면 70% 에탄올추출물은 95.4~92.1%로 90%이상의 생존율이 나타난 것으로 봐서 세포 생존율에 미치는 영향이 현저하게 낮아짐을 알 수 있었다.

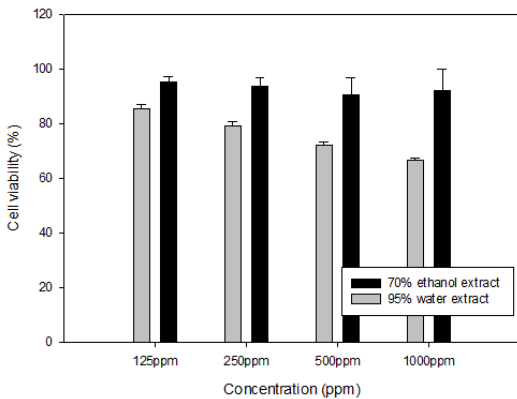


Fig. 3. Cell viability of dependent on concentration from of *Sasa quelpaertensis* presented as them±S.D.

4. 결론

본 연구에서 제주도 한라산에 자생하고 있는 제주조릿대 잎의 항산화 효능과 세포독성에 의한 세포 생존율을 분석하였다. 제주조릿대 잎은 95℃ 증류수와 70% 에탄올 용액으로 각각 추출하여 총 polyphenol함량, Tannin함량, flavonoid 함량과 DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능을 측정하고, 세포배양 후 세포독성 평가를 실시하여 세포생존율을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 첫째, 총 polyphenol함량으로는 95℃ 열수추출물에서 26.6mg/g, 70% 에탄올추출물에서 22.3mg/g으로 95℃ 열수추출물이 약간 높게 나타났으며, 총Tannin의 함량으로는 95℃ 열수추출물이 72.2mg/g, 70% 에탄올추출물에서 61.2mg/g으로 이 역시 95℃ 열수추출물이 약간 높게 나타났, 그리고 polyphenol함량 보다는 탄닌의 함량이 월등하게 높게 나타난 것을 알 수 있었다. 그리고 총 flavonoid 함량은 95℃ 열수추출물이 17.8mg/g, 70% 에탄올 추출물에서 25.4 mg/g으로 70% 에탄올 추출물에 더 많은 함유량을 나타냈다. 둘째, DPPH free radical의 소거능과 ABTS radical 소거활성을 실험한 결과 농도 의존적으로 높아짐을 알 수 있었다. DPPH radical 소거활성에서 강력한 천연항산화제인 L-ascorbic acid와 합성항산화제의 대표라고 할 수 있는 BHT같은 경우에는 아주 소량으로도 소거활성이 나타났으며 일정 농도에서 최대값을 보인 후에는 큰 변화가 나타나지 않은 반면에 제주조릿대 잎 추출물에서는 2000ppm이하에서는 큰 변화를 나타내지 않다가 점차적으로 농도가 증가함에 따라 높은 소거활성이 나타난 것을 볼 수 있었다. ABTS radical 소거활성에서는 L-ascorbic acid는 500ppm이상에서 최대의 활성도를 보인 후 농도 증가에도 그대로 유지 되고 있음을 확인하였으며 BHT와 같은 경우에는 L-ascorbic acid와 같이 500ppm이상에서 최대의 활성도를 보였으나 이후에는 활성이 떨어진 것을 알 수 있었다. 그리고 제주조릿대 잎 추출물에서는 두 추출물 모두 낮은 농도에서는 큰 변화를 나타내지 않다가 농도가 증가함에 따라 높은 소거활성이 나타난 것을 볼 수 있었다. 그리고 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올 추출물에서 약간의 차이가 나는 것을 알 수 있었는데 이는 추출물의 폴리페놀함량과 더불어 다른 극성의 항산화물 등에 의한 영향이 있을 것으로 사료되어진다 [12]. 셋째, 인간 섬유아세포주인 3T3 (human skin

fibroblast)를 이용하여 제주 조릿대 잎의 세포생존율을 확인한 결과 125~1000ppm농도별로 처리했을 때 95℃ 열수추출물은 세포생존율이 85.6-66.6%로 다소 낮아지는 반면 70% 에탄올추출물에서 95.4~92.1%로 높게 나타남을 확인할 수 있었다.

이상과 같은 연구결과로 보았을 때 제주조릿대 잎 추출물은 95℃ 열수추출물과 70% 에탄올 추출물의 농도를 잘 조절하여 사용 한다면 향후 피부 및 두피, 모발 등에 사용할 수 있는 천연 항장소재로서 가능성이 있음을 시사한다.

References

[1] Yeon-Ok Park, Effects of the Extract of *Sasa borealis* Leaves on the Physical and Sensory Characteristics of Cooked Rice, Chonnam National University doctorate thesis, 2008.

[2] Hyun-Ju Jang, Screening for Antioxidant Activity of Jeju Native Plants, Jeju National University master thesis, 2007.

[3] Mi-Gyeong Jang, Apototic activity of the leaf extract of *Sasa quelpaertensis* Nakai in acute leukemia. Cheju National University. 2006.

[4] 허준. 동의보감. p 3059-3061. 3차 개정판. 여강출판사, 서울. 2005.

[5] Hee-Chul Ko, Identification and Biological activities of Phytochemicals Isolated from Citrus sunki, *Sasa quelpaertensis*, and *Petalonia binghamiae*. Jeju National University doctorate thesis, 2010.

[6] Areum Kim, So-Jin Bing, Jinhee Cho, KHINM Herath, Ginnae Ahn, EunJin Park, Min-Ju Kim, Dae-Seung Kim, Ju-Sung Kim, Nam-Ho Lee, Youngheun Jee. Protective effects of *Sasa quelpaertensis* nakai extract on radiation-induced oxidative stress in immune cells. *J. Prev. Vet. Med.* vol. 39. no. 4: 169-174, 2015. DOI: <https://doi.org/10.13041/jpvm.2015.39.4.169>

[7] Numata, M, Conservation implications of bamboo flowering and death in Japan, *Biol. Consero.* 2, 227-229. 1970. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(70\)90120-5](https://doi.org/10.1016/0006-3207(70)90120-5)

[8] Sultana, Nasim., Lee, Nam. Ho, New phenylpropanoids from *Sasa quelpaertensis* Nakai with tyrosinase inhibition activities, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 30(8), 1729-1732, 2009. DOI: <https://doi.org/10.5012/bkcs.2009.30.8.1729>

[9] Folin, O. and W. Denis. On phosphotungsticphospho molybdc compounds as color reagent. *J. Biol. chem.* 12: 239-243. 1912.

[10] 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. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-0)

[11] Blois, M.S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1199-1200, 1958. DOI: <https://doi.org/10.1038/1811199a0>

[12] Hyun-Sun Park, "Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Sasa-quelpaertensis* Extracts", Dept. of Food School of Industry and Engineering, The Graduate School of Industry and Engineering seoul National University of Science and Technology, July, 2013.

[13] Venden Berg R, haenen GR, 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, pp. 511-517, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00089-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00089-8)

[14] W0n-Young Song, SO-jeong Byeon, Jeong -Hwa Choi, "Anti-oxidative and Anti-inflammatory Activities of *Sasa borealis* Extracts", *Agriculture & Life Science* 49(3) pp. 145. MAY, 2015.

[15] Hee-Jeong Park, Ki-Young Lee, Evaluations on Antioxidant Effect of Methanol Extract from Immature Cotton Boll, *Korean J. Plant Res.* 26(4):426-432, 2013.

[16] <http://krdic.naver.com/detail.nhn?docid=18473800>, Colorimetic analysis, 2016, November

이 송 희(Song-Hee Lee)

[정회원]



- 2011년 8월 : 호남대학교 미용교육 대학원 (미용교육학 석사)
- 2016년 2월 : 전남대학교 일반대학원 향장품화학협동과정 박사 수료
- 2013년 10월 : 미용기능장
- 2014년 8월 ~ 현재 : 송희뷰티랜드 원장
- 2015년 3월 ~ 현재 : 무안초당대학교 웨레 강사

<관심분야>

헤어미용, 두피, 화장품

이 무 성(Moo-Sung Lee)

[정회원]



- 1986년 2월 : 서울대학교 섬유공학과 (공학학사)
- 1991년 8월 : 서울대학교 대학원 섬유공학과 (공학박사)
- 1995년 12월 ~ 1997년 8월 : 미국 미네소타주립대 화학공학과 Post-doc
- 1992년 8월 ~ 현재 : 전남대학교 화학공학부 교수

<관심분야>

분해성 고분자재료, 고기능 생활성물질