

## 참외 추출물의 항산화 효과 및 tyrosinase 저해활성

신용섭 · 이지은 · 연일권 · 도한우 · 정종도 · 강찬구 · 최성용 · 윤선주<sup>1</sup> · 조준구<sup>1</sup> · 권대준<sup>2\*</sup>

경북농업기술원 성주과채류시험장, <sup>1</sup>(주)바이오파머, <sup>2</sup>아시아대학교 한약자원학과

Received April 23, 2008 / Accepted July 7, 2008

**Antioxidant Effects and Tyrosinase Inhibition Activity of Oriental Melon (*Cucumis melo* L. var *makuwa* Makino) Extracts.** Yong-Seub Shin, Ji-Eun Lee, Il-Kweon Yeon, Han-Woo Do, Jong-Do Cheung, Chan-Ku Kang, Seng-Yong Choi, Sun-Joo Youn<sup>1</sup>, Jun-Gu Cho<sup>1</sup> and Dae-Jun Kwoen<sup>2\*</sup>. *Seongju Fruit Vegetable Experiment Station, Gyeongbuk AR&ES, Seongju, 719-861, Korea, <sup>1</sup>Biofarmer Co. Ltd, Kyungsan, 712-714, Korea, <sup>2</sup>Department of Oriental Medicine Resource, Asia University, Kyungsan, 712-220, Korea* - The biological activities of water extracts from different fruit parts, such as peel, flesh, and placenta, of oriental melon were investigated. The concentrations of total phenolic in fruit extracts were 816.37 µg/ml, 385.23 µg/ml, and 925.56 µg/ml, respectively. Whereas the total flavonoid content in the peel extracts was 231.21 µg/ml, those in the extract of flesh and placenta were 8.16 µg/ml and 36.07 µg/ml, respectively. The DPPH free radical scavenging activity of each fruit extract at 10,000 ppm was 34.84% for peel, 10.70% for placenta and 9.26% flesh. The ABTS radical cation decolorizing activity of each fruit extract at 10,000 ppm was in fruit extracts were 72.92% for peel, 48.0% for flesh and 74.31% for placenta. In addition, xanthine oxidase inhibitory activity, α-Glucosidase inhibition activity, and tyrosinase inhibition activity of the peel extracts appeared to be higher than those of placenta and flesh. Taken together, these results indicated that the peel part of oriental melon contained higher level of total flavonoid content, and several physiological activities including antioxidation, α-Glucosidase inhibition activity, and tyrosinase inhibition activity than did the flesh and placenta parts, and suggested that the peel might have a potential to be applicable as a source for functional foods.

**Key words :** Oriental melon, antioxidant activity, α-Glucosidase inhibition activity, tyrosinase inhibition activity

### 서 론

최근 식품 및 영양물질이 암을 유발시키는 가장 중요한 요인 중 하나로 인식됨에 따라 암의 치료제 개발과 예방요법 등의 창출에 많은 연구가 진행되고 있다. 그러나 이미 개발된 합성 의약품들은 사용량이나 사용빈도에 따라 체내에서 부작용이나 독성이 밝혀지고 있다[14]. 따라서 우리가 일상 생활에서 섭취하고 있는 식품성분으로서 그 자체로는 유전독성이 없는 성분들은 기존 항암제와는 달리 세포독성 및 유전독성이 거의 없기 때문에 인체에 안전하게 사용될 가능성이 높다고 생각하여 우수한 치료제를 천연물로부터 개발하고자 하는 노력이 전 세계적으로 이루어지고 있는 실정이다.

참외는 중앙아시아 인도를 2차 중심지로 하여 중국, 한국 및 일본에서 재배되었다. 우리나라에서는 신라시대 이전부터 참외가 재배된 것으로 추정되며, 각 지방에서 여러 가지 다양한 품종의 재래종 참외가 재배되었다. 참외는 주로 축성이나 조숙재배 작형으로 재배되고 있는데 매년 수확시기가 앞당겨져 무가온임에도 불구하고 12-1월에 정식하는 농가가

많다[17]. 겨울철 저온기의 참외재배는 주산지인 성주를 중심으로 무가온 단동하우스에서 주로 이루어지고 있다.

참외는 비타민C의 함량이 많은 것이 특징이고 참외에 함유되어 있는 포도당과 과당은 인체에 흡수가 빨라 피로회복에 도움을 줄 뿐 아니라 항암효과가 뛰어난 cucurbitacin 이라는 성분을 함유하고 있고, 땀을 많이 흘리는 여름철 갈증을 해소시켜주고, 체질이 산성으로 변하기 쉬운 여름에 좋은 식품이며 서양에서는 주로 생과, 신선과일 샐러드, 설탕을 덜은 냉동 멜론 등으로 이용되고 있다[15]. 동의보감에는 참외가 진해 거담작용을 하고 풍담, 황달, 이뇨에도 효과가 있다고 전해지고 있다. 우리나라의 경우 참외는 대부분 생과로 이용되고 있어 참외의 껍질에 포함되어 있는 성분을 이용할 수 있는 새로운 조리법 및 가공식품으로의 적용이 요구되고 있다[9,10]. 또한 최근 참외는 비닐하우스 재배면적의 증가로 인한 생산량의 증가와 여름철 홍수출하로 인한 가격 하락과 유통체계의 미비 등의 문제점으로 제기되고 있다. 참외는 저온에서 생육장애를 일으킴으로 인해 오랫동안 저장 및 유통하지 못하기 때문에 적절한 가공을 통한 저장성 향상 및 다양한 상품으로의 개발방안이 필요하다[11].

따라서 본 연구에서는 참외의 껍질에 포함되어 있는 성분을 이용할 수 있는 껍질째 먹는 참외 생산 및 식품소재로 활용하기 위해 참외를 부위별로 항산화 활성을 검토하였다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-53-819-8185, Fax : +82-53-819-8135

E-mail : kj0211@hanmail.net

## 재료 및 방법

### 재료 및 시료의 추출

본 실험에 사용된 참외는 경북 성주과채류 시험장에서 선별한 참외를 과육, 껍질, 태좌부분으로 나누어 시료로 사용하였다. 시료 100 g을 파쇄하여 동량의 증류수를 첨가하여 80°C에서 2시간 환류냉각 추출하였으며, 각 추출물을 원심분리하여 상등액을 취하는 과정을 3회 추출한 다음, 이를 모두 합하여 다시 Whatman No. 2 여과지로 감압여과하고, 회전감압농축기(EYELA, N-1000, Japan)로 감압 농축하여 동결건조 후 -20°C에서 냉동 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였다.

### 총 phenol성 물질 함량 측정

추출된 각 phenol성 물질의 함량 측정은 Rhee 등[13]의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 각 phenol성 시료용액 0.2 ml에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 ml를 가하여 충분히 혼합하고 2분후에 50% Folin-Ciocalteu's reagent 0.2 ml를 가하여 상온에서 30분 동안 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량은 gallic acid (0.5 mg/ml)를 표준물질로 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

### 총 flavonoid 물질 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 시료용액 1 ml에 diethylene glycol 10 ml, 1N NaOH 1 ml를 넣고 강하게 진탕한 후 37°C 항온기에서 1시간 정지한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 naringin (0.2 mg/ml)을 표준물질로 사용하여 표준곡선을 통하여 계산하였다.

### 전자 공여능(DPPH radical 소거능) 측정

추출물의 전자공여능(Electron donating abilities, EDA)은 Blois [1]의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 1.0 ml에 0.2 mM의, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 1 ml를 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

### ABTS radical cation decolorization 측정

ABTS radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등 [12]의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 5 ml와 140 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 88  $\mu$ l를 섞은 용액 1 ml와 ethanol 88 ml를 혼합한 ABTS 용액 1 ml와 시료용액 50  $\mu$ l를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 incubation하고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical cation decolorization 효과는 percentage inhibition (%)으로 나타내었다.

### Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte [18]의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료 용액 0.1 ml와 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6 ml에 xanthine (2 mM)을 녹인 기질액 0.2 ml를 첨가하고 xanthine oxidase (0.2 U/ml) 0.1 ml를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 1ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

### $\alpha$ -Glucosidase 저해활성 측정

각 시료용액 0.1 ml에 0.3 U/ml의  $\alpha$ -glucosidase 효소액 0.1 ml, 0.1 M PBS buffer (PH 7.0) 0.5 ml에 넣고 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 3 mM pNPG (Sigma, MO, USA) 0.2 ml를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 0.1 M Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub> 0.5 ml를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다

### Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Yagi 등[20]의 방법에 따라 측정하였다. 반응구는 1/15 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 0.5 ml에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 ml 및 시료용액 0.1 ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase (110 U/ml) 0.2 ml 첨가하여 25°C에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 총 Phenol성 물질 함량

식물이 함유하고 있는 총 페놀성 물질(phenolic compound)의 양은 항산화력의 간접적인 지표가 된다. 페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이들은 phenolic hydroxy기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화, 항균생물 활성 효과 등의 생리활성 기능을 가진다[7]. 참외의 각 부위별 열수추출물에 함유된 총 phenol 함량을 측정된 결과 Table 1과 같이 태좌가 925.56  $\mu$ g/ml로 가장 높게 나타났으며, 껍질이 816.37  $\mu$ g/ml, 과육 순으로 나타났다. 태좌와 껍질의 총 phenol 함량이 과육에 비해 높게 나타났다.

### 총 flavonoid성 물질 함량

또 다른 항산화력의 지표인 총 flavonoid성 물질 함량은

Table 1. Total phenol and total flavonoid contents of the extracts isolated from different fruit parts in oriental melon

Fruit parts	Content ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	Total phenol	Total flavonoid
Peel	816.37 $\pm$ 15.91	231.21 $\pm$ 1.99
Flesh	385.23 $\pm$ 1.54	8.16 $\pm$ 0.77
Placenta	925.56 $\pm$ 21.33	36.07 $\pm$ 2.12

Values are mean $\pm$ SD of triplicate experiments.

Table 1과 같이 naringin으로 표준 곡선을 구하여 계산하였다. 그 결과 껍질이 231.21  $\mu\text{g/ml}$ 로 가장 높게 나타났으며, 태좌가 36.07  $\mu\text{g/ml}$ , 과육 순으로 나타났다. 껍질의 flavonoid 성 함량이 태좌와 과육에 비해 매우 높게 나타났다.

**전자 공여능 확인**

전자 공여능 측정에 사용된 DPPH ( $\alpha,\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl)는 안정한 자유 라디칼로서 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 최대 흡광도를 나타내며 전자 또는 수소를 받으면 517 nm 부근에서 흡광도가 감소하며 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다. 생체막 구성성분을 파괴하며 활성산소를 소거하여 줄 수 있는 활성을 알아보기 위해 참외의 각 부위별 추출물을 1,000 ppm에서 10,000 ppm으로 조제하여 DPPH radical 소거 활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같이 1,000 ppm에서는 껍질이 11.92%로 과육과 태좌에 비해 높은 활성을 보였고, 10,000

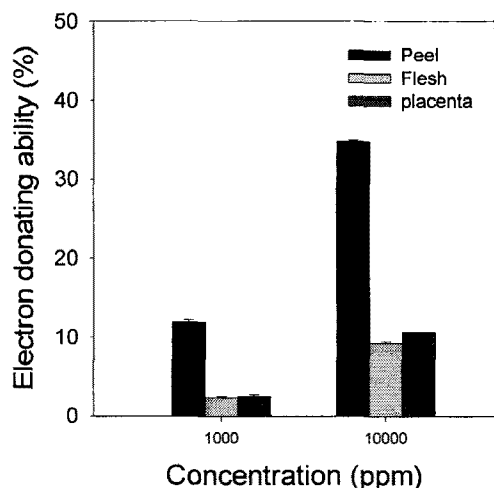


Fig. 1. Electron donating ability of the extracts isolated from different fruit parts in oriental melon. DPPH free radical scavenging activity for test sample was determined with 0.2 mM DPPH ethanolic solution. Values are mean $\pm$ SD of triplicate experiments.

ppm에서는 껍질이 34.84%로 가장 높았으며, 태좌가 10.70%, 과육이 9.26% 순으로 나타났고, 태좌와 과육은 그 활성이 미약하였다. Kang 등[5]은 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenolic 물질에 대한 항산화작용의 지표라 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였다. DPPH는 아스코르빈산, 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 자색이 탈색됨으로써 전자공여능의 차이 측정이 가능하다. 따라서 항산화물질의 전자공여능을 측정할 때는 DPPH 법이 편리하다고 알려져 있으나, 색소가 함유된 추출물의 경우 DPPH법의 적용에는 많은 경험이 요구된다.

**ABTS radical cation decolorization 확인**

물질의 친수성 및 lipophilic 물질의 항산화력을 측정하기 위해 ABTS radical cation decolorization을 부위별로 측정할 결과 Fig. 2와 같이 껍질과 태좌의 경우 1,000 ppm에서는 20-30%의 효과를 나타내었으며, 10,000 ppm에서는 72.92%와 74.31%로 증가되는 것을 알 수 있었다. 과육의 경우에는 10,000 ppm에서 약 48.0%의 활성을 보였다.

**Xanthine oxidase 저해활성 확인**

Xanthine oxidase는 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하며 uric acid가 혈장 내에 증가되면 골절에 축적되므로 통증을 동반하는 통풍을 일으키는 효소로 알려져 왔다[3,4,6,19]. Xanthine oxidase는 분자상의 산소를 수소(전자)수용체로 이용하여 xanthine을 uric acid형으로 산화하는 반응을 촉매하므로 xanthine oxidase의 저해효과는 유리 라디칼의 생성 억제와 더불어 생물학적으로 중요한 의의를 가진다고 할 수 있다. 이러한 요산을 생성하는 xanthine oxidase의 활성저해능

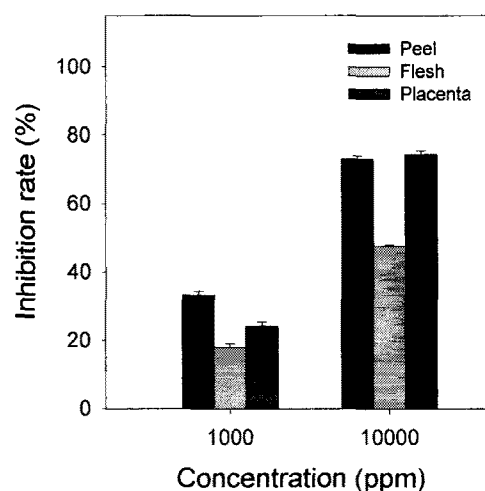


Fig. 2. ABTS radical cation decolorization effect of the extracts isolated from different fruit parts in oriental melon. Values are mean $\pm$ SD of triplicate experiments.

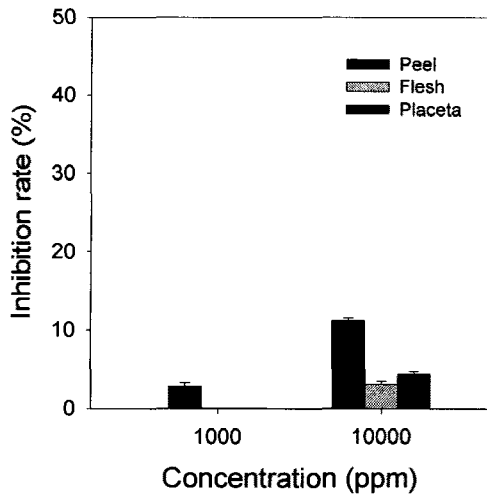


Fig. 3. Xanthin oxidase inhibition activity of the extracts isolated from different fruit parts in oriental melon. Values are mean±SD of triplicate experiments.

을 측정 한 결과 Fig. 3과 같이 1,000 ppm에서는 부위간의 활성이 미약하였으나, 10,000 ppm에서는 껍질 부위가 11.21%의 활성을 보였고, 태좌와 과육은 미약한 활성을 나타내었다.

**α-Glucosidase 저해효과**

α-Glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하는 소화효소이다. 이들은 이당류나 다당류는 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다[2]. α-Glucosidase 저해제는 탄수화물 식이 후 혈당상승을 올릴 수 있다. 그리하여 부위 간 참외 추출물의 α-Glucosidase 저해활성을 측정 한 결과 Fig. 4와 같이 나타내었다. 1,000 ppm에서는 부위간의 껍질은 α-Glucosidase 저해활성이 미약하였으나, 태좌와 과육은 나타내지 않았다. 10,000 ppm에서는 껍질 부위가 27.35%로 태좌와 과육에 비해 높은

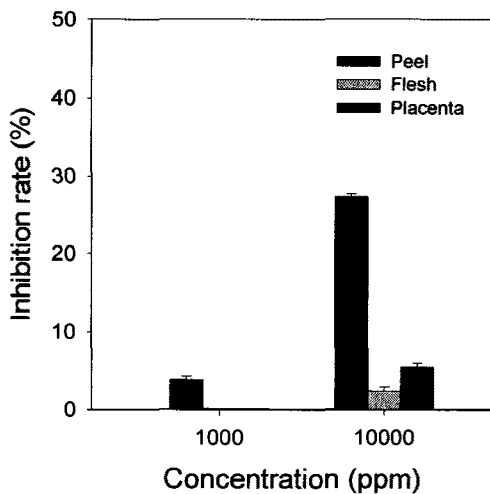


Fig. 4. α-Glucosidase inhibition activity of the extracts isolated from different fruit parts in oriental melon. Values are mean±SD of triplicate experiments.

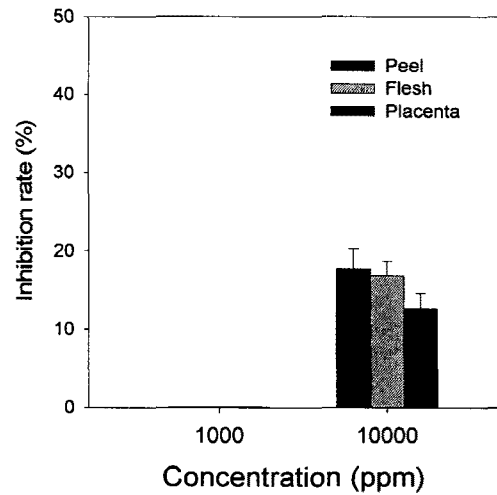


Fig. 5. Tyrosinase inhibition activity of the extracts isolated from different fruit parts in oriental melon. Values are mean±SD of triplicate experiments.

저해활성을 나타내었고, 태좌와 과육은 미약한 저해효과를 나타내었다.

**Tyrosinase 저해효과**

Melanin 생성 억제물질의 탐색법으로는 tyrosinase 활성 저해실험, 배양색소세포를 이용한 실험, 실험동물에서의 *in vivo* 실험, 그중 melanin 합성의 key enzyme인 tyrosinase 활성 저해실험이 melanin 중합체 억제제 개발의 초기 단계에서 채택되고 있다[8,16]. Mushroom tyrosinase 효소를 사용하여 참외추출물의 tyrosinase 저해활성을 측정 한 결과, Fig. 5와 같이 1,000 ppm에서는 tyrosinase 저해활성이 나타내지 않았고, 10,000 ppm에서는 껍질 부위가 17.71%, 과육이 16.81%, 태좌가 12.59%의 순으로 나타났다. 각 부위별 tyrosinase 저해활성은 비교적 20% 이하의 낮은 저해효과를 나타내었다.

**요 약**

참외의 껍질에 포함되어 있는 성분을 이용할 수 있는 껍질째 먹는 참외 생산 및 식품소재로 활용하기 위해 참외를 부위별로 항산화 활성을 조사하였다. 각 부위별 참외의 추출물의 총 phenol 함량은 태좌가 925.56 µg/ml로 가장 높게 나타났으며, 껍질이 816.37 µg/ml, 과육 순으로 나타났고, 총 flavonoid성 함량은 껍질이 231.21 µg/ml로 가장 높게 나타났으며, 태좌가 36.07 µg/ml, 과육 순으로 나타났다. 태좌와 껍질의 총 phenol 함량은 유사하였지만, flavonoid 성 함량은 껍질부분이 가장 높게 나타났다. 참외의 항산화 효과는 전자공여능이 껍질, 과육과 태좌가 10,000 ppm에서 각각 34.84%, 9.26%, 10.70%로 나타났고, ABTS는 각각 72.92%, 48.0%와 74.31%로 나타났다. Xanthine oxidase의 저해활성의 경우 10,000 ppm에서는 껍질 부위가 11.21%의 활성을 보였고, 태

좌와 과육은 미약한 효과를 나타내었다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성은 10,000 ppm에서는 껍질 부위가 27.35%로 태좌와 과육에 비해 높은 저해효과를 나타내었고, 태좌와 과육은 미약한 저해활성을 나타내었다. Tyrosinase 저해활성은 10,000 ppm에서 껍질 부위가 17.71%, 과육이 16.81%, 태좌가 12.59%의 순으로 나타났다. 이러한 결과들은 껍질부분의 경우, 총 flavonoid성 함량 및 항산화 활성,  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성, 그리고, Tyrosinase 저해활성이 과육과 태좌부위보다 높으며 식품소재로 활용이 가능성이 높음을 시사한다.

## References

1. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1202.
2. Gwa, J., Y. S. Jin, W. Han, T. H. Shim, J. H. Sa and M. H. Wang. 2006. Studies for component analysis, antioxidant activity and  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**, 77-81.
3. Hatano, T., T. Yasuhara, T. Fukuda, T. Noro and T. Okuda. 1989. Phenolic constituents of Licorice. II. structures of Licopyranocoumarin, Licoaryl- coumarin and Glisoflavone, and inhibitory effects of Licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 3005-3009.
4. Jones, P. H. 1973. Iodinine as an antihypertensive agent. *Ibid.* **3**, 679.
5. Kang, Y. H., Y. K. Park and G. D. Lee. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 232.
6. Kelley, W. N. and J. B. 1974. Wyngarden: Enzymology of gout. *Adv. Enzymol.* **41**, 23-28.
7. Kuhnau, J. 1976. The flavonoids a class of semiessential food components; their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. diet.* **24**, 117-120.
8. Laskin, J. D. and L. A. Piccinini. 1986. Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B-16/C3 melanoma. *J. Biol. Chem.* **61**, 16626.
9. Lee, G. H., S. K. Kim and M. H. Lee. 2004. Monitoring of organoleptic and physical properties on preparation of oriental melon jelly. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1373-1380.
10. Lee, G. H., S. K. Kim and M. H. Lee. 2005. Quality change of beverage containing muskmelon vinegar and concentrated muskmelon juice during storage. *Kor. J. Food preserv.* **12**, 223-229.
11. Lee, H. J. and J. G. Kim. 2000. The changes of components and texture out of carrot and radish pickles during the storage. *Kor. J. Food Nutr.* **13**, 563-569.
12. Pellegrin, N., R. Roberta, Y. Min and R. E. Catherine. 1998. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extract for antioxidant activities applying 2,2-azino-bis(3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
13. Rhee, K. S., Y. A. Ziprin, vand and K. C. Rhee. 1981. Antioxidant activity of methanolic extracts of various oil-seed protein ingredient. *Korean J. Food Sci.* **46**, 75-81.
14. Rhew, T. H. 1985. Food, nutrition and cancer. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **14**, 305-313.
15. Ronsivalli, L. J. and E. R. Vieira. 1992. Elementary food science. pp. 338-344. AVI Book, New York.
16. Seiberg, M., L. Babiarz and C. B. Lin. 2003. II-41 The PAR-2 pathway is differentially expressed in skin of color. *Pigment Cell Res.* **16**, 591.
17. Shin, Y. S., S. D. Park, H. W. Do, S. G. Bae, J. H. Kim and B. S. Kim. 2005. Effect of double layer nonwoven fabrics on the growth, quality and yield of oriental melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* Mak.) under vinylhouse. *J. Bio-Env. Con.* **14**, 22-28.
18. Stirpe, F. and E. D. Corte. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3861.
19. Storch, H. and E. Ferber. 1988. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.* **169**, 262-267.
20. Yagi, A., T. Kanbara and N. Morinobu. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for Aloe. *Planta Med.* **3981**, 517-519.