

## 감마선을 조사한 桃仁皮의 항산화활성

조우아\*

남부대학교 향장미용학과

### Anti-oxidative Activities Gamma Irradiated Shell of *Persicae semen*

Woo A Cho\*

Dept. of Cosmetology Science, Nambu University

#### ABSTRACT

**Objectives** : This study were carried out to investigate the anti-oxidative activities of  $\gamma$ -SPE(gamma irradiated shell of *Persicae semen* extract with ethanol).

**Methods** : Anti-oxidative was measured by DPPH free radical scavenging activities, nitric oxide radical scavenging activities, SOD-like activities, xanthine oxidase radical scavenging activities, nitrite scavenging activities and tyrosinase inhibition activities.

**Results** : Effects of free radial scavenging was increased by irradiation. Tyrosinase inhibition activities was decreased by  $\gamma$ -SPE.

**Conclusions** : Results suggested that  $\gamma$ -SPE have a potential as a new anti-oxidative material.

**Key words** : *Persicae semen*, gamma irradiation, anti-oxidative activities

## 서론

화장품, 의약품, 식품 등 공중보건산물 제조용 원료로 사용되기 위한 천연성분들은 생리활성을 그대로 유지하면서 제품에 첨가 시 제품의 특성에 영향을 미치지 않도록 무색, 무미, 무취의 상태로 제조하는 공정 기술이 중요하다. 최근 감마선을 이용하여 천연물질의 생리활성 및 효능을 상승시키고, 상품화에 장애요인이 되었던 불필요한 색소와 잔류 불순물을 제거하는 기술이 한국원자력 연구소에서 개발되었다<sup>1)</sup>.

감마선은 물질 투과 시 원자, 원자단, 분자에 이온을 생성하게 하는 전리 방사선 중의 하나로서 그 투과력이 강하여 농산물의 발아 및 발근 억제, 멸균, 식품 물성개선, 화장품 및 의료산업에 많이 쓰이고 있다. 저에너지의 감마선은 식물 유지의 항산화능을 증가시키고, 특정 색소를 파괴하여 밝은 색을 나타내는 것으로 보고되고 있다<sup>2)</sup>.

도인(*Persicae semen*)은 복숭아(*Prunus persicae* L. BATSCH)의 씨로 과다율경, 율경불순, 불임, 근종 등의

여성 퇴행성 질환의 치료제로 한국, 중국, 일본 등에서 오래 전부터 사용되어왔으며 도인을 함유한 한국 전통 처방인 계지복령환<sup>3)</sup>, 실소상가미탕<sup>4)</sup>, 화왕탕<sup>5)</sup> 등은 항산화, 항염, 항암 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 그러나 도인 특유의 진한 색상 때문에 화장품의 색상에 영향을 주므로 화장품에 응용하는 데 한계가 있다.

본 연구에서는 도인 껍질 에탄올 추출물의 짙은 색을 감마선을 이용하여 제거한 후 항산화와 미백활성을 통해 화장품 약리 활성을 검증하여 화장품 소재로서의 가능성을 확인하는 데 그 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 시료

본 실험에 사용된 도인(*Persicae semen*)은 경북 영천

\* 교신저자 : 조우아, 광주광역시 광산구 월계동 864-1번지 남부대학교 향장미용학과  
· Tel : 062-970-0138 · E-mail : swoana@nambu.ac.kr  
· 접수 : 2009년 11월 19일 · 수정 : 2009년 12월 13일 · 채택 : 2009년 12월 21일

시 소재의 (주) 동우당제약에서 국내산을 구입하여 사용하였다. 도인을 알맹이와 껍질을 분리한 후, 껍질만을 에탄올로 추출하여 본 실험에 사용하였다. 즉 시료 10배 양의 80% 에탄올을 가하여 실온에서 24시간씩 3회 침지한 상등액을 여과, 농축하여 동결건조하여 사용하였다. 감마선 조사는 한국원자력연구소 내 선원 10만 Ci, Co-60 방사선 조사 시설을 이용하여 분당 83.3 Gy의 선량률로 조사하였다. 선량은 5, 10, 20 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하여 본 실험의 시료로 사용하였다. 시료의 색상변화는 1차 육안관찰 후, 색차계를 통해 명도, 적색도, 황색도를 확인하였다.

## 2) 시약 및 기기

항산화 관련 실험에는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, pyrogallol, xanthine, xanthine oxidase, butylated hydroxyanisole, griess reagent (Sigma chemical Co, USA), sodium nitrite (Junsei Chemical Co, Japan), mushroom tyrosinase, L-3, 4-dihydroxyphenyl- alanine, ascorbic acid 등을 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기는 UV/vis spectrophotometer (Hitachi 200-10, Japan), ELISA reader (Bio rad, Co, Japan), Color difference meter (Minolta Co Ltd, Japan) 등이다.

## 2. 실험 방법

### 1) 항산화활성 측정

#### (1) 전자공여능 측정

전자공여능(EDA : electron donating abilities)은 Blois<sup>6)</sup>의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 각 시료용액 100  $\mu$ 에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 50  $\mu$ L 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (2) Nitric oxide radical 저해활성 측정

Nitric oxide radical 저해활성은 Lucia 등<sup>7)</sup>의 방법을 통해 측정하였다. Sodium nitroprusside solutions은 10 mM sodium nitroprusside을 20 mM phosphate buffer (pH 7.4)에 녹여 제조하였다. 시료는 20 mM phosphate buffer (pH 7.4)에 녹여 사용하였다. 0.5 mL의 시료와 0.5 mL의 sodium nitroprusside solutions을 25°C에서 150분간 반응시켰다. 반응액 1 mL와 griess reagent solution을 1:1로 반응시켜 542 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (3) Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte<sup>8)</sup>의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 각 시료용액 10  $\mu$ 를 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6 mL에 넣은 후, 여기에 xanthine oxidase (0.2 U/mL) 10

$\mu$ 과 1 mM의 xanthine (20  $\mu$ )을 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨다. 반응물에 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다.

#### (4) Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund<sup>9)</sup>의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 20  $\mu$ 에 Tris-HCl 완충용액 (50 mM tris + 10 mM EDTA, pH 8.5) 260  $\mu$ 와 7.2 mM pyrogallol 20  $\mu$  가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 5N HCl 10  $\mu$ 를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다.

#### (5) 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능 측정은 Gray와 Dugan<sup>10)</sup>의 방법으로 측정하였다. 시료 1 mL와 1 mM NaNO<sub>2</sub> 1 mL에 0.1 N HCl로 pH 1.2로 보정하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 반응용액을 37°C에서 1시간 반응한 다음 각 반응액 1 mL을 취하여 2% 초산용액 5 mL로 반응 정지시킨 후, Griess reagent 0.4 mL을 첨가하였다. 이를 교반 후, 실온에서 15분간 방치하고 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염양을 측정하였다. 대조구는 griess reagent대신 증류수를 첨가하여 측정하였다.

### 2) Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해활성 측정은 Yagi 등<sup>11)</sup>의 방법을 변형하여 측정하였다. 반응구는 0.066 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.

## 3. 통계처리

결과 통계처리는 SPSS 10.0 for Windows program을 사용하였으며 유의차검증은 분산분석(ANOVA : analysis of variance)을 한 후  $p=0.05$  수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT : Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 시료의 색도 측정

도인 껍질 에탄올 추출물(SPE : shell of *Persicae semen* extract with ethanol)을 감마선 조사한 결과는 다음과 같다. Fig. 1에서 확인할 수 있듯이 육안상으로 감마선을 조사한 시료가 비조사구보다 밝은 색상을 나타냄을 확인

할 수 있었다. Table 1은 색차계를 이용하여 색도를 측정하였다. 명도(L)는 조사량이 증가할수록 밝아짐을 확인할 수 있었으며 적색도(R)은 5 kGy를 조사한 시료에서 가장 낮게 측정되었다. 황색도(Y)의 경우 감마선 조사량이 증가할수록 감소하였다. 감마선 조사에 의해서 색소가 제거된 도인 껍질 에탄올 추출물은 식품, 화장품 그리고 의약품 등 산업적 이용가치 측면에서도 널리 이용될 수 있으며, 다량 첨가가 가능하게 되어 도인의 기능성을 최대한 활용하여 고부가가치 원료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

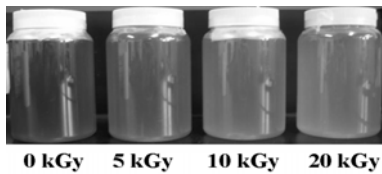


Fig. 1. Pictures of  $\gamma$ -SPE

$\gamma$ -SPE : gamma irradiated Shell of *Persicae semen* extract with ethanol.

Table 1. Effects of Gamma Irradiation on Color Changes of SPE 0.01% solution

Samle (kGy)	Lightness <sup>a</sup>	Redness <sup>b</sup>	Yellowness <sup>c</sup>
0 kGy	89.557±0.02	-0.402±0.01	-0.678±0.0
5 kGy	89.848±0.01	-0.347±0.01	-0.898±0.02
10 kGy	89.633±0.02	-0.398±0.01	-1.036±0.01
20 kGy	89.506±0.03	-0.365±0.01	-1.156±0.01

a : Degree of lightness (white +100 ↔ 0 black).

b : Degree of redness (red +100 ↔ -80 green).

c : Degree of yellowness (yellow +70 ↔ -80 blue).

SPE : Shell of *Persicae semen* extract with ethanol.

## 2. 항산화활성 측정

### 1) 전자공여능 측정

1,1 Diphenyl-2-picryl-hydrazil (DPPH) 라디칼을 이용

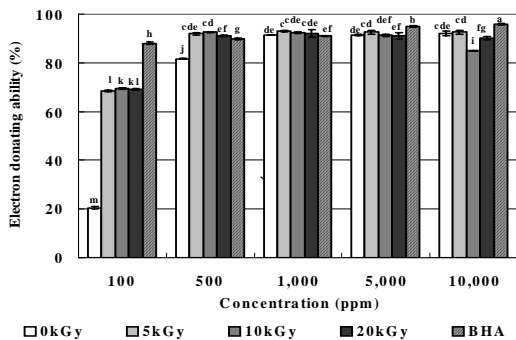


Fig. 2. Electron donating ability of  $\gamma$ -SPE

$\gamma$ -SPE : gamma irradiated Shell of *Persicae semen* extract with ethanol. 0 kGy : non-irradiated SPE. 5 kGy : gamma irradiated SPE at 5 kGy. 10 kGy : gamma irradiated SPE at 10 kGy. 20 kGy : gamma irradiated SPE at 20 kGy. BHA: Butylated hydroxyanisole. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

한 항산화능 측정법은 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용되는 방법이다. 도인 껍질 에탄올 추출물은 감마선 조사 유무에 큰 영향을 받지 않고 항산화능을 유지함을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

### 2) Nitric oxide radical 저해활성 측정

Reactive oxygen species (ROS)의 하나인 nitric oxide radical 저해활성을 측정한 결과 Fig. 3과 같다. 각 시료는 농도의존적으로 nitric oxide radical을 저해하고 비조사구에 비해 10 kGy와 20 kGy에서 높은 활성을 나타냈다.

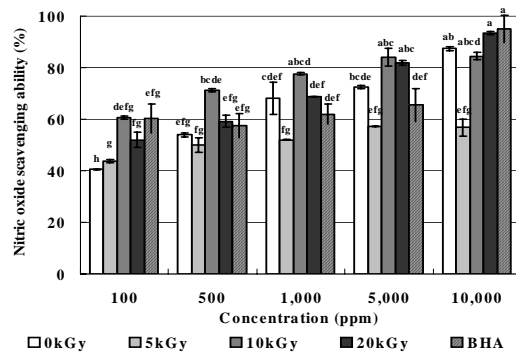


Fig. 3. Nitric oxide scavenging ability of  $\gamma$ -SPE

$\gamma$ -SPE : gamma irradiated shell of *Persicae semen* extract with ethanol. 0 kGy : non-irradiated SPE. 5 kGy : gamma irradiated SPE at 5 kGy. 10 kGy : gamma irradiated SPE at 10 kGy. 20 kGy : gamma irradiated SPE at 20 kGy. BHA: Butylated hydroxyanisole. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

### 3) Xanthine oxidase 저해활성 측정

시료의 방사선 조사 시료 및 비조사 시료의 xanthine oxidase의 저해 활성 및 방사선 조사에 따른 영향을 측정한 결과, 20 kGy의 조사 시료 10,000 ppm에서 1.91%의 낮은 저해활성을 나타내었으며 다른 시료에서는 활성을 나타내지 않았다.

### 4) SOD 유사활성 측정

SOD는 산패로 인하여 형성된 세포에 해로운 환원산 소종을 과산화수소로 전환시키는 반응( $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ )을 촉매하고, catalase는 SOD에 의해 생성된  $H_2O_2$ 를 무해한 물분자와 산소분자로 전환시키는 역할을 하는 효소이다<sup>12)</sup>. Superoxide ( $O_2^-$ ) 산화억제작용은 superoxide와 반응하여 갈변물질을 나타내는 pyrogallol 자동산화반응을 측정하여 SOD유사활성을 측정하였다. 시료의 방사선 조사구 및 비조사구의 SOD 유사활성 및 방사선 조사에 따른 영향을 측정한 결과 Fig. 4와 같이 나타내었다. 방사선 조사 시료와 비조사 시료 모두 농도가 증가함에 따라 유의적으로 높은 SOD 유사활성을 나타내었다. 비조사 시료의 경우 100 ppm에서 비조사 시료가 42.6%의 활성을 나타내었으며 5, 10, 20 kGy 조사 시료는 각각 42.3, 55.8, 56.4%를 나타내었다.

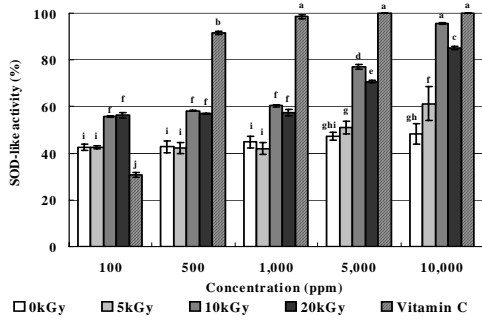


Fig. 4. SOD-like activity of  $\gamma$ -SPE

$\gamma$ -SPE : gamma irradiated shell of *Persicacae semen* extract with ethanol. 0 kGy : non-irradiated SPE. 5 kGy : gamma irradiated SPE at 5 kGy. 10 kGy : gamma irradiated SPE at 10 kGy. 20 kGy : gamma irradiated SPE at 20 kGy. Vitamin C : Ascorbic acid. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

5) 아질산염소거능 측정

아질산염은 육가공품 제조 시 첨가되고 있으나 일정농도 이상 섭취하면 아질산염 자체로 독성을 나타내며, 발암 니트로사민을 생성한다. 니트로사민 생성 반응은 nitrite와 반응할 수 있는 Vitamin C, 토코페롤, 페놀 화합물, BHA 등 의해 억제 될 수 있는 것으로 보고되고 있다<sup>13)</sup>. 시료의 감마선 조사 시료 및 비조사 시료의 아질산염소거능을 측정 한 결과는 다음과 같다. 고농도인 10,000 ppm의 경우를 제외한 모든 시료는 농도와 감마선 조사량이 증가할수록 높은 아질산염소거능을 나타내었다(Fig. 5).

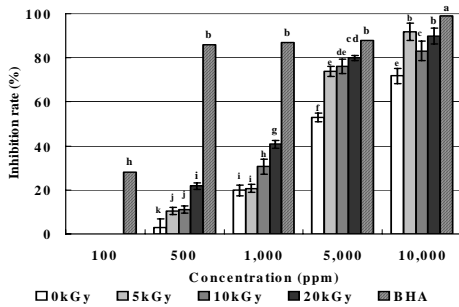


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of  $\gamma$ -SPE

$\gamma$ -SPE : gamma irradiated shell of *Persicacae semen* extract with ethanol. 0 kGy : non-irradiated SPE. 5 kGy : gamma irradiated SPE at 5 kGy. 10 kGy : gamma irradiated SPE at 10 kGy. 20 kGy : gamma irradiated SPE at 20 kGy. BHA : Butylated hydroxyanisole. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

3. Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase는 L-tyrosine과 dihydroxy-L-phenylalanine (DOPA)를 산화시켜 DOPA와 DOPA-quinone을 생성한다. Melanocyte가 생성하는 melanine은 eumelanin과 pheomelanin으로 대별되며, eumelanin은 DOPA chrom을 거쳐서 생성되며 pheomelanin은 melanin polymer의 생성 과정에서

DOPA chrome을 거쳐서 생성된다<sup>14)</sup>. Tyrosinase는 피부의 색소성분인 melanin을 생성하는 데 있어서 key enzyme으로 작용하는 효소이기 때문에 tyrosinase의 활성을 효과적으로 억제할 수 있는 물질은 피부미백을 목표로 하는 기능성 화장품의 첨가제로 이용할 수 있다. Tyrosinase에 대한 시료의 감마선 조사구 및 비조사구의 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 6과 같다.

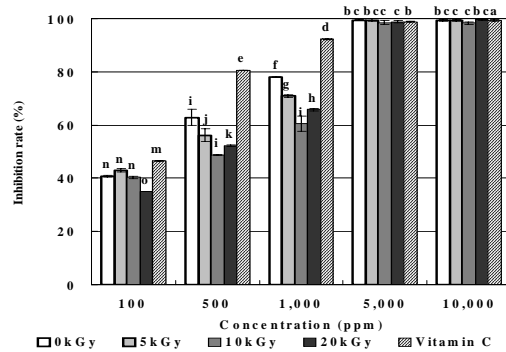


Fig. 6. Tyrosinase inhibition rate of  $\gamma$ -SPE

$\gamma$ -SPE : gamma irradiated shell of *Persicacae semen* extract with ethanol. 0 kGy : non-irradiated SPE. 5 kGy : gamma irradiated SPE at 5 kGy. 10 kGy : gamma irradiated SPE at 10 kGy. 20 kGy : gamma irradiated SPE at 20 kGy. Vitamin C : Ascorbic acid. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

결론

감마선을 조사한 도인겉질 에탄올 추출물(gamma irradiated shell of *Persicacae semen* extract with ethanol)의 화장품 약리활성에 관하여 연구한 결론은 다음과 같다.

1. 시료는 감마선 조사량에 따라 적색도와 황색도의 저하의 변화를 보였으며 색상이 점차 열어짐을 확인할 수 있었다.
2. 항산화 실험에서 감마선을 조사한 경우 nitric oxide radical 제거능과 SOD 유사활성이 증가함을 확인할 수 있었다.
3. Tyrosinase 저해활성실험에서는 1,000 ppm 이하의 농도에서는 감마선 비 조사구가 조사구에 비해 활성이 높았으나 1,000 ppm 이상의 비교적 고농도에서는 미백활성의 차이가 발견되지 않았다.

이와 같은 실험결과로 도인에 감마선을 조사하여 특유의 색상을 제거한 후에도 항산화활성에 큰 변화가 없음을 확인하였다. 그러나 그 이전에 대한 연구가 미비하므로 향후 이에 대한 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

참고문헌

1. Byun MW, Lee JW Application of irradiation

- technology for food safety and security. Food Science and Industry. 2003 ; 32 : 25-42.
2. 전태욱, 박지혜, 신명곤, 김기혁, 변명우. 감마선 조사가 오미자의 생리활성과 색상변화에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 2003 ; 32 : 137-42.
  3. Beob-Jin Kim, Yeon-Kye Kim, Won-Hwan Park, Jeong-Heon Ko, Young-Choon Lee, Cheorl-Ho Kim. A water-extract of the Korean traditional formulation Geiji-Bokryung-Hwan reduces atherosclerosis and hypercholesteremia in cholesterol-fed rabbits. International Immunopharmacology. 2000 ; 3 : 723-34.
  4. Won-Hwan Park, Chang-Hwan Kim, Young-Choon Lee, Cheorl-Ho Kim. Anti-inflammatory effects of a traditional Korean herbal formulation, Silsosangami, consisting of seven medicinal herbs: effect on hemlysis, neutrophil function, and gene expressions of iNOS and COX-2. Vascular Pharmacology. 2005 ; 42 : 7-15.
  5. Won-Hwan Park, Soo-Young Park, Hyung-Min Kim, Cheorl-Ho Kim. Effect of a Korean Traditional formulation, Hwangtang, on superoxide generation in human neutrophils, platelet aggregation in human blood and nitric oxide, prostaglandin E2 production and paw oedema induced by carrageenan in mice. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2004 ; 26 : 53-73.
  6. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 : 1199-200.
  7. Lucia M, Lester P, Marie-Therese Droy-Lefaix, Abdelhafid S, Monique Gardies-Albert. Antioxidant Action of *Ginkgo biloba* Extract EGb 761. Methods in enzymology. 1994 ; 234 : 462-75.
  8. Stirpe F, Corte ED. The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem. 1969 ; 244 : 3855-61.
  9. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Bioche. 1974 ; 47 : 468-9.
  10. Grayand J Dugan Jr LR. Inhibition of N-Nitrosamine formation in model food system. J Food Sci. 1975 ; 40 : 981-5.
  11. Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. Planta Medica. 1986 ; 3981 : 517-9.
  12. Pryor WA. Oxy-radicals and related species. their formation, lifetimes and reactions. Annu Rev Physiol. 1986 ; 48 : 657-67.
  13. RC Shank. Toxicology of N-nitrosocompounds. Toxicol Appl Pharmacol. 1975 ; 31 : 361.
  14. Lerner AB, Fitzpatrick TB. Biochemistry of melanin formation. Physiol Rev. 1950 ; 30 : 91-126.