

# 동백 열수추출물의 용복합 활성

서영옥\*, 김춘득\*\*

을지대학교 대학교 지식경영 교육원 뷰티예술학과\*, 남부대학교 향장미용학과\*\*

## Fusion-Complex Activity of *Camellia extract*

Young-Ok Seo\*, Chun-Dug Kim\*\*

Dept. of Beauty Continuing Educating Center, Eulji University\*

Dept. of Beauty Cosmetology Nambu University\*\*

**요 약** 본 동백나무 열수추출물의 용복합 활성을 측정하기 위해서 동백나무의 채취시기별, 부위별 웰니스 활성 성분의 결정요인으로 항산화 활성물질을 규명하고자 하였다. 카테킨성분 함량 분석에서 동백의 특이 카테킨 성분이 있음을 확인할 수 있었고, 동백추출물의 항산화활성 검증결과 항산화 소거능이 함유된 결과로 나타났다. 동백나무의 부위별 항산화 활성은 꽃에서 가장 항산화 억제 작용이 높게 나타났으며, 총 폴리페놀 함량은 New leaves 92.09  $\mu$ g/mL, old leaves 82.53  $\mu$ g/mL, stem 77.51  $\mu$ g/mL, flower 86.86  $\mu$ g/mL, 분석되어 새잎이 높았으며, 플라보노이드 함량은 동백의 stem 223.29 (mg/g), new leaves 196.14 (mg/g), old leaves 168.29 (mg/g), flower 159.00 (mg/g) 순으로 플라보노이드 함량은 줄기가 높게 나타났다 유리아미노산 함량은 GAVA가 모든 시료에서 높았고 유리아미노산 함량은  $\gamma$ -Amino butyric acid (GAVA)가 모든 시료에서 높게 나타났다.

**주제어** : 동백, 용복합, 항산화, 유리아미노산, 폴리페놀함량

**Abstract** To determine fusion-complex activity of *Camellia extract* extracted hot water, this study was conducted. Special catechin was identified at this extract by analysis of catechin. In analysis of antioxidant activity, the extract was contained antioxidant material and flower among the other parts showed high antioxidant activity. flavonoid showed most high content of *Camellia*. Flavonoid content was found to be 223.29 $\pm$ 0.005 mg/g to measured most high to stem, a control group was measured Green tea new leaves 126.14 $\pm$ 0.005 mg/g. Total polyphenol content exhibited most high content at new leaves and flavonoid showed most high content at stem.  $\gamma$ -Amino butyric acid (GAVA) among the free amino acid showed highly at all parts.

**Key Words** : *Camellia*, Fusion-complex, Antioxidant, Free amino acid, Polyphenol.

### 1. 서론

동백나무의 새잎과 묵은잎, 가지, 꽃봉우리의 약리학적 효과로 동백나무 잎은 건선, 인후통증, 화상에 효능이

있고, 가지와 열매는 머리비듬, 보혈, 비출혈, 어혈, 연골증, 월경이상, 이뇨, 인후통증, 장출혈, 중독, 출혈, 타박상, 토혈과 각혈, 행혈, 화상에 효능이 있다고 알려져 있다 [1, 2]. 동백나무는 중국과 일본에서는 내상과 외상에서 발생

Received 5 May 2015, Revised 12 June 2015  
Accepted 20 July 2015  
Corresponding Author: Chun-Dug Kim  
(Dept. of Beauty Cosmetology Nambu University)  
Email: dscdlove@hanmail.net

© The Society of Nambu University. 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.

ISSN: 1738-1916

하는 혈토, 출혈에 지혈제와 "Oketsu"증상을 치료하는데 사용하였으며 전통적으로 항염증, 강정, 권위제로 사용된 약용식물의 일종이다[3].

동백나무의 잎, 가지의 추출물은 염증유발의 중요인자인 NO 및 PGE2 생성을 저해하여 우수한 항염증에 약리학적 효과가 있음이 보고되었다[4]. 일본에서는 동백을 산차(山茶)라 하여 민간에서 토혈증에 사용 한다는 보고가 있으며, 알코올 흡수억제와 미백작용 등의 생리활성 보고가 있는데, 이는 quercetin과 epicatechin과 같은 폴리페놀 화합물에 의한 것으로 보고하였다[5,6]. 동백유박의 연구에서는 동백 유박 에탄올과 에탄올 추출물과 부탄올 추출물이 식중독균, 식품관련의 세균 및 효모 등의 14균주에서 항균활성 결과가 보고되었다[7].

단백질을 분리, 제조 후 용해도, 유화력, 기포성, 유지 및 수분 흡착력 등의 단백질의 기능적으로 실험 하여 동백나무 단백질 분리물의 전체 아미노산의 내용은 43.67%였고 총 아미노산은 글루탐산, 아르기닌, 아스파르트산과 류신등의 순서로 결과를 발표했다[8].

최근 모발화장품의 경우 스타일링과 세정기능을 하는 정도의 단순한 제품에서 사용자의 모발과 두피상태에 따라 선택할 수 있도록 보다 전문화·세분화 되었다 [9,10]. 아울러 현대인들의 외모관심이 증가함에 따라 동백나무와 같은 추출물을 첨가한 샴푸를 제조하여, 산화염모제 시술 후 발생하는 두피의 접촉성 알레르기 피부염과 비듬, 지루성 피부염에 대한 완화효과 및 모발 염색유지에 대한 신소재 모발화장품원료로서의 적합성에 대한 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 동백나무 가지 추출물을 이용하여 생리활성 물질을 분석한 후 항산화 활성 및 항균, 항염 활성 등 생리활성을 규명하고자 하였으며, 물리화학적 성분분석 통하여 국내자생 자원식물의 활용가치를 증진하고자 한다. 또한 동백추출물을 산화염모제 시술 후 발생하는 알레르기성 접촉성피부염 개선의 두피와 모발화장품에 적용시키고자 한다.

## 2. 연구방법

### 2.1 시료 제조

동백나무는 전남삼림자원연구소 내에 생육하고 있는

동백나무의 new leaves을 5월초, old leaves, flower는 2월에 채취하여 그늘에 말려 각 5 g씩 분쇄한 후, 70% EtOH 100 mL 을 가하여 72 hrs 실온(약 25°C) 침지한 후 400 mesh로 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator (N-100, Japan : R-215, Buchi, Korea)에 45°C 로 항온수조엿 감압·농축시켰다. 농축액 추출물은 48 시간동안 -18°C로 얼린 후 동결건조기(No, FDS 8508, Ilshin Bio Base, Korea)에 넣어 -80°C에서 96시간 방치하여 분말형태로 제조하였다. 시료농축액의 증발잔류물 (1 g, 120°C, 60 min) 모두 5.6%의 동일한 농도를 시료로 사용하여 측정결과 old leaves 5.6%, new leaves 9.3%로 측정되었으며 새 잎 추출물을 물로 희석하여 두 추출물 모두 증발잔류물 5.6%의 동일한 농도로 하여 시료로 사용하였다. 증발 잔류물은 추출 전 시료의 중량에 대한 각 추출물의 동결 건조 후 중량 백분율로 계산하였다.

### 2.2 동백나무 추출물의 기기 및 성분 분석

동백시료를 완전히 말린 후 200 µl의 solvent로 녹여 0.45 µm로 filtering 후 microcentrifuge 상층액을 HPLC로 분석(Waters 2695 separation module system, Waters 2996 PDA detector)하였다. 기기는 Waters 2695 separation module system, Waters 2996 PDA detector 와 Column : YMC-Pack-Pro, C-18, S-5 µm, 12 nm, 4.6 I.d. 250 mm를 베이스로 하였고, Eluent는 0.05%, TFA 7%, MeCN 25%, MeCN for 60 min, 0.7 mL/min로 하였으며 Detection은 230 nm로 측정하였다.

### 2.3 동백추출물의 항산화 활성 측정

#### 2.3.1 항산화 활성

##### (DPPH radical scavenging activity)

전자공여능측정은 $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH)를 사용한 방법으로 70% Ethanol로 용해시킨 100 µM에 DPPH 용액 1 mL 농도별로 희석된 시료용액 0.4 mL을 첨가하여 vortex mixer로 5초간 진탕하고, 암소에서 30분 동안 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화 활성은 다음 식에 의해 계산되어졌다. Positive control로 L-ascorbic acid를 사용하였고 25µM에서 약 79% 소거율을 나타낸 것으로 실험의 신뢰성을 확인하였다.

Inhibition(%) = [(무첨가구의 흡광도-시료첨가구의 흡광도)/무첨가구의 흡광도]×100

**2.3.2 동백추출물의 총 Flavonoid 함량측정**

총 플라보노이드 함량은 Dewanto V<sup>®</sup>의 방법에 따라 Folin-ciacent<sup>9)</sup>가 각 시료용액 300 μL에 증류수 1200 μL을 첨가한 후 vortex mixer로 진탕하여 혼합한다. 그 후 5% NaNO<sub>2</sub> 90 μL 첨가 후 25 °C에서 5분간 반응시키고, 10% AlCl<sub>3</sub> 90 μL 첨가 후 25°C에서 5분간 반응시키며 1M NaOH 200 μL 첨가 후 10분 반응시켜 510 nm에서 3번 반복하여 흡광도를 측정한다

**2.3.3 동백추출물의 총 Polyphenol radical 함량측정**

동백의 new leaves, old leaves, stem, flower, 녹차 new leaves은 동결건조 된 분말을 MeOH, H<sub>2</sub>O 일정량으로 희석용액을 사용하였다. 각 시료용액 200 μL, 1N Folin-Ciocalteu's reagent 1000 μL 첨가 후 3분간 암소에 보관한 후 0.75% Na<sub>2</sub>CO<sub>2</sub> 800 μL를 첨가하고 30분간 암소에 방치 후 760 nm (UV/VIS spectrophotometer, OPTIZEN 3220UV)에서 흡광도를 측정 하였으며, 그 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선을 기준으로 산출 하였다.

**2.4 동백나무 추출물의 유리아미노산 측정**

동백나무 잎 열수추출물의 유리아미노산 함량 Cystin

을 분석하기 위하여 peroxidation 시킨 후 110°C에서 24 시간 Hcl hydrolysis 가수분해 하였으며, 가수분해 후 interna lstd (non-leucine)을 첨가한다.

가수분해된 Amino acid을 phenyl isothiocyanate (PITC)로 유도체화 한다(이소시안산페닐 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Nco). 유도체화 용액(MeOH: H<sub>2</sub>O: TEA: PITC =7: 1: 1: 1) 20 ul의 상온에서 30분간 반응한 후 완전히 말린 후 200 μl의 solvent로 녹여 microventrifuge로 농축시킨 후 상층액을 HPLC의 auto sampler에 안치한다. solvent에 녹인 시료는 0.45 μm filter로 filtering 하였다. 23종의 아미노산이 측정되었으며 그 중에 일부만 성분을 표기했다.

**3. 결과 및 고찰**

**3.1 동백추출물의 항산화활성**

산화 활성 검증결과, 동백나무 new leaves이 200 μg/mL 수준에서 가장 높은 DPPH free radical 소거능을 보였으며, 동백나무 old leaves, stem, flower는 500 μg/mL 에서 활성을 보였고, 녹차 new leaves이 가장 낮은 DPPH free radical 소거능을 보였다 <Table 2>. 생리활성에 관여하는 성분함량을 분석한 결과 채취시기에 따라 성분의 함량이 다른 연구의 보고가 있었고 본 연구의 결과와 유사하게 나타났다[9].

<Table 1> Content of catechin and their derivatives from each part of *Camellia*

Sample	(-) C	(-) EC	(-) EGCG	(-) GCG	(-) ECG	(-) CG
Old leaves	124.42	3759.9	2749.08	0	496.66	0
Stem	22.46	0951.44	0	0	0	0
Flower	0	0	0	0	0	0
New leaves	244.32	668.08	0	0	0	0

Unit: mg/mL EGCG : Epigallocatechin gallate, C: catechin, GCG : galocatechin gallate, CG :catechin gallate

<Table 2> DPPH radical scavenging activity of *Camellia*

Concentration (μg/mL)	<i>Camellia</i>				Green tea
	New leaves	Old leaves	Stem	Flower	Control
15	66.55±0.001	12.29±0.031	12.64±0.031	8.86±0.001	20.6±0.001
30	78.98±0.023	27.13±0.023	26.1±0.001	18.48±0.023	38.67±0.031
60	77.1±0.001	27.03±0.031	39.55±0.031	33.22±0.023	56.6±0.023
80	72.83±0.023	37.55±0.001	54.75±0.023	47.87±0.002	56.19±0.001
100	88.17±0.031	56.53±0.031	52.27±0.001	55.5±0.023	75.72±0.031
200	92.09±0.001	82.53±0.031	77.51±0.031	86.86±0.031	76.41±0.001
500	92.3±0.023	91.13±0.001	83.01±0.023	94.15±0.023	74.55±0.023
EC50	8.79±0.023	93.66±0.023	73.66±0.031	88±0.023	46.04±0.023

Unit: %

### 3.2 동백추출물의 카테킨 및 카페인 유도체 함량

카테킨의 성분 중 가장 많이 차지하며 폴리페놀 일종으로 떫은맛을 내는 성분에 해당된다. 주로 광합성에 의해 생성되므로 new leaves보다 성숙된 old leaves에 많으며 노화 및 발암물질의 생성에 원인이 되는 활성산소 억제기능을 가지고 있다. 이외에도 체내 중금속 제거, 혈중 콜레스테롤 저하, 비만예방에 따른 다이어트 효과도 기대되는 성분이다. 동백나무의 카테킨 함량을 보면 flower는 전혀 함유하고 있지 않은 것으로 조사되었다. 반면 이른 봄에 채취하여 가공한 old leaves이 (-)C과 (-)EC 함유량이 높게 조사되었다 <Table 1>. 카테킨성분 함량에 대한 전의 연구결과와 마찬가지로 동백중에 catechin 성분이 있음을 확인할 수 있었다[11].

### 3.3 총 Polyphenol와 Flavonoid함량

총 Polyphenol 함량은 New leaves 260.88 (mg/g), stem 76.18 (mg/g), old leaves 61.18 (mg/g), flower 56.47 (mg/g)로 나타났다. 대조군인 green tea는 104.26 (mg/g)로 동백의 new leaves가 Polyphenol함량이 더 높았다 <Table 3>.

<Table 3> Total Polyphenol content each part of Camellia

Sample	Fraction	Total polyphenols (mg/g)
Camellia	New leaves	260.88±0.012
	Old leaves	61.18±0.013
	Stem	76.18±0.004
	Flower	56.47±0.001
Green tea	New leaves	104.26±0.007

플라보노이드 함량은 동백의 stem 223.29 (mg/g), new leaves 196.14 (mg/g), old leaves 168.29 (mg/g), flower 159.00 (mg/g) 순으로 타나났다. Green tea보다 126.14 (mg/g)로 동백나무가 플라보노이드 함량이 더 높았다. 대조군인 green tea는 104.26 (mg/g)로 동백의 새 잎이 Polyphenol함량이 더 높았다 <Table 4>.

<Table 4> Total flavonoid content each part of Camellia

Sample	Fraction	Total flavonoids (mg/g)
Camellia	New leaves	196.14±0.001
	Old leaves	168.29±0.003
	Stem	223.29±0.005
	Flower	159.00±0.016
Green tea	New leaves	126.14±0.005

Unit: µg/mL

### 3.4 유리아미노산 함량

동백나무의 부위별 함량을 열수추출 측정할 때  $\gamma$ -Amino butyric acid (GABA)와 Theanine 성분 모두 높은 것으로 조사되었다. GABA는 old leaves 5.08 µg/mL, stem 8.4 µg/mL, flower 7.38 µg/mL, new leaves 12.47 µg/mL으로 검출되었다 <Table 5>. 이는 new leaves GABA의 검출이 2.44 µg/mL이 증가하였다. Theanine은 Cystein과 Cystine은 old leaves, flower, new leaves 등에서 전혀 검출이 되지 않았다. old leaves 0.29 µg/mL stem 1.18 µg/mL flower 0.39 µg/mL new leaves 1.08 µg/mL로 나타났다. Aspartic acid는 old leaves 0.19 µg/mL, stem 4.41 µg/mL, flower 0.92 µg/mL, new leaves 1.7 µg/mL 되었고, arginine는 old leaves 0.14 µg/mL, stem 6.00 µg/mL, flower 2.38 µg/mL, new leaves 6.18 µg/mL로 나타났다.

모발건강에 관여하는 Methionine 단백질 합성에 대한 연구[12]와 같이 본 연구에서 동백 중의 Lysine과 Methionine, Valine함량은 필수적인 핵산의 구성성분으로 모발, 피부 및 손톱의 이상을 예방하는 황의 주요 공급원이다 [13]. 또한 염기성 아미노산은 여러 가지 단백질 속에 함유되어 있으며, 혈액 속에 헤모글로빈이 약 11%로 함유되어 있는 것으로 알려져 있다[14,15]. 모발 속에 함유되어 있는 Histidine은 old leaves에서는 미 검출되었지만, flower에서 0.49 µg/mL, stem에서 3.01 µg/mL, new leaves에서 3.48 µg/mL로 검출되었다. 이는 new leaves 일수록 함유도가 높은 것으로 나타났다.

<Table 5> Content of amino acid in Camellia

Amino acid \ Part	Old leaves	Stems	Flower	New leaves
Theanine	0.29	1.18	0.39	1.08
GABA	5.08	8.4	7.38	12.47
Valine	3.3	1.81	0.52	4.4
Lysine	0.23	1.03	0.23	0.94
Methionine	0	0.3	0	1
Glutamine	0.048	6.21	4.74	9.54
Glutamic acid	0.85	3.7	1.44	4.23
Tryptophan	2.26	2.93	0.46	3.17
Histidine	0	3.01	0.49	3.48
Aspartic acid	0.19	4.41	0.92	1.7
Asparagine	0.14	6	2.38	6.18

Unit: µg/m: GABA,  $\gamma$ -Amino butyric acid.

#### 4. 결론

카테킨성분 함량은 동백의 특이 catechin 성분이 있음을 확인할 수 있었다. 동백추출물의 항산화활성 검증결과 항산화 소거능이 함유된 결과로 나타났으며, 동백나무의 부위별 항산화 활성은 flower에서 가장 항산화 억제 작용이 높게 나타남을 알 수 있었다. 총 Polyphenol 함량은 new leaves가 높았으며, 플라보노이드 함량은 stem이 높게 나타났다. 유리아미노산 함량은 GAVA가 모든 시료에서 높게 나타났다.

#### REFERENCES

- [1] S, H. Lee, S. K. Kim, Natural distribution and characteristics of populations of *Camellia japonica* in Korea, Journal of The Korean Society for Horticultural Science, Vol. 33, No. 2, pp. 196-208. 1992.
- [2] M. Yoshikawa, T. Morikawa, Y. Asao, E. Fujiwara, The Structures of noroleanane and oleanane type triterpene oligoglycosides with gastroprotective and platelet aggregation activities from buds of *Camellia japonica*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 55, No. 4, pp. 606-612. 2007.
- [3] H. J. Kim, D. J. Lee, J. J. Ku, K. W. Pak, S. H. Kang, C. Moon, P. J. Lee, Anti-inflammatory effect of extracts from folk plants in Ulleung island, The Plant Resources Society of Korea, 26(2), pp. 166-177. 2013.
- [4] J. H. Kim, C. H. Jeong, K. H. Shim, Antioxidative and anticancer activities of various solvent fractions from the leaf of *Camellia japonica* L. The Journal of Korean Society of Food Preservation, Vol. 17, No. 2, pp. 267-274, 2010.
- [5] H. G. Ki, S. J. Yun, J. B. Lee, S. J. Kim, S. C. Lee, Y. H. Won, Microorganisms isolated from acne and their antibiotic susceptibility, Korean Journal of Dermatology, Vol. 43, No. 7, pp. 871-875,
- [6] S. K. Kang, O. J. Choi, Y. D. Kim, H. C. Lee, S. H. Cho, I. H. Lho, A study on the functional properties of *Camellia (Camellia japonica* L.) seed protein isolate. The Plant Resources Society of Korea, Vol. 11, No. 3, pp. 272-278. 1998.
- [7] S, H. Lee, S. K. Kim, Natural distribution and characteristics of populations of *Camellia japonica* in Korea. Journal of The Korean Society for Horticultural Science, Vol. 33, No. 2, pp. 196-208, 1999.
- [8] M. H. Choi, M. J. Min, D. S. Oh. Antimicrobial and antioxidant activity of *Camellia japonica* extracts for cosmetic applications, Journal of microbiology and biotechnology, Vol. 28, No. 2, pp. 99-105. 2013.
- [9] B. S. Kim, O. J. Choi, K. H. Shim. Properties of chemical components of *Camellia japonica* L. leaves according to picking time. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, Vol. 34, No. 5, pp. 681-686. 2005.
- [10] H. B. Kim, C. Y. Ju, C. C. Hee, C. S. In, Lee S. Y. Physiological activities of the crude extracts from native camellia (*Camellia japonica* L.) in Korea. The Plant Resources Society of Korea, Vol. 14, No. 2, pp. 82, 2001.
- [11] E. H. Kang, J. W. Hian, Studies on the physical changes of damaged hair according to the emulsion type of hair cosmetics, The Korean society of Cosmetology, Vol. 33, No. 1, pp. 283-291. 2005
- [12] S. N. Pak, J. Y. Kom, H. J. Yang, Antioxidative and antiaging effects of Jeju native plant extracts (II). Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea, Vol. 33, No. 3, pp. 165-173, 2007.
- [13] H. H. Kim, K. S. Ko, Study of Cosmetic biological activity and cytotoxicity on rosemary extract. The Korea Society of Beauty and Art, Vol. 14, No. 4, pp. 235-249, 2013.
- [14] Ju-Hee Kim, Sook-Young Lee, Su-In Cho. Anti-proliferative effect of *camellia japonica* leaves on human leukemia cell line. The Korea association of herbology, Vol. 18, No. 1, pp. 93-98, 2003.
- [15] V. Dewanto, W. Xianzhong, R. H. Liu, Processed sweet corn has higher antioxidant activity. Journal, of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 50, No. 17, pp. 4959-4964, 2002.

- [15] S. I. Cho, H. W. Kim, G. J. Lee, Biological activities of extracts of fermented *Camellia japonica* leaf and flower, Korean Journal of Herbology, Vol. 21, No. 2, pp. 56-62, 2006.

서 영 옥(Seo, Young Ok)



- 2011년 8월 : 남부대학교 교육대학원(미용교육석사)
- 2014년 8월 : 남부대학교 향장미용학과(향장미용학박사)
- 2015년 3월 ~ 현재 : 을지대학교 지식경영교육원 뷰티예술학과 외래교수
- 관심분야 : 헤어미용
- E-Mail : mykjj051@hanmail.net

김 춘 득(Kim, Chun Dug)



- 2005년 2월 : 순천향대학교 보건학 박사
- 2006년 3월 ~ 현재 : 남부대학교 향장미용학과 교수
- 관심분야 : 통계 실험 향장미용
- E-Mail : kobhs@naver.com