

## 황토노각플러스 추출물의 항산화, 항염 및 항미생물 효능

조준희<sup>1</sup>, 이지안<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>서경대학교 일반대학원 미용예술학과 학생, <sup>2</sup>서경대학교 일반대학원 미용예술학과 교수

### Anti-oxidant, Anti-inflammation and Anti-microbial Effects of Hoangtonogak Plus Extracts

Jun-Hee Cho<sup>1</sup>, Ji-An Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Student, Dept. of Beauty Art, Graduate School, Seokyeong University

<sup>2</sup>Professor, Dept. of Beauty Art, Graduate School, Seokyeong University

**요약** 본 연구에서는 황토노각플러스 추출물의 생리활성 평가를 통해 화장품 원료로서의 가능성을 조사하였다. 황토노각플러스 추출물에 대한 항산화 효과는 DPPH/ABTS 라디칼 소거능 활성 및 FRAP 분석, 세포 생존율은 MTT assay, 항염증 효과는 nitric oxide(NO) 생성억제 및 iNOS 단백질 발현 수준, 항균 효과는 총 3종 균주 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* 및 *Escherichia coli*에 대한 한천 확산법을 측정하였다. 메탄올추출물(MN)과 열수추출물(WN)의 총폴리페놀 함량은 각각  $2.92 \pm 0.01$  mgGAE/g,  $1.67 \pm 0.02$  mgGAE/g로 나타났다. MN 추출물의 DPPH, ABTS 및 FRAP 값은 모든 농도에서 WN 추출물보다 높게 나타났다. RAW264.7 세포에 대한 두 추출물의 세포 독성은 관찰되지 않았다. 더욱이 1 mg/mL 농도에서 MN과 WN 추출물의 NO 생성량은  $11.69 \mu\text{M}$ 과  $20.4 \mu\text{M}$ 로 측정되었으며, MN 추출물의 iNOS 단백질 발현 수준은 추출물 농도 의존적으로 억제되었다. 또한 MN 추출물은 *S. epidermidis* 균주에서만 항균 효능을 보였다. 이러한 결과들로 황토노각플러스 추출물은 항산화, 항염, 항균효능을 지닌 천연물질 후보로서 가능성이 높다고 판단된다.

**주제어** : 황토노각플러스, 항산화, 항염, 항균, 화장품 원료

**Abstract** This study evaluated the possibility of Hoangtonogak Plus extracts as a bioactive ingredients for cosmetic products. Methanol(MN) and hot-water(WN) extracts were analysed by DPPH/ABTS radical scavenging activity, FRAP value for anti-oxidant activity, MTT assay for cell viability, inhibition of NO production and iNOS protein expression for anti-inflammatory effect, paper disc diffusion method for anti-microbial activity against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli*. The contents of total polyphenol of MN and WN extracts were  $2.92 \pm 0.01$  mgGAE/g and  $1.67 \pm 0.02$  mgGAE/g, respectively. DPPH, ABTS and FRAP values of MN extracts were higher than WN at each concentration. No significant cytotoxicity was observed in RAW264.7 cells. Furthermore, NO production of MN and WN at 1 mg/mL concentration was measured as  $11.69 \mu\text{M}$ ,  $20.4 \mu\text{M}$ , respectively. In addition, MN extracts showed anti-microbial effect only on *S. epidermidis*. Also MN extracts suppressed iNOS protein level in a concentration-dependent manner. According to our results, the MN extracts demonstrated its potential as a natural source of antioxidant with anti-microbial and anti-inflammatory properties.

**Key Words** : Hoangtonogak Plus, Antioxidant, Anti-inflammation, Anti-microbial, Cosmetic ingredient

### 1. 서론

오이 (*Cucumis sativus* L.)는 박과식물에 속하는

덩굴작물로 주로 생식용으로 이용되며, 재배 특성상 여름에 소비가 가장 높다. 오이 과육의 풍부한 폴리페놀 함량으로 인해 식용분야 외에도 Cucurbitacin B 성분

\*This Research was supported by Seokyeong University in 2020.

\*Corresponding Author : Ji-An Lee (jessicajlee@naver.com)

Received November 16, 2020

Accepted December 20, 2020

Revised December 3, 2020

Published December 28, 2020

의 전립선 암세포 성장을 저해하는 항암[1], 오이로부터 추출한 ascorbic acid oxidase 특성 규명을 통한 항산화[2], 오이 줄기로부터 분리된 sphingolipid 성분이 토마토와 식물 재배 시 유해한 병원체에 대해 미생물의 성장을 억제하는 항미생물[3], acetic acid-induced writhing 마우스 동물 모델에서 진통제 활성[4] 등의 약리학적 효능이 보고되어 있다. 특히 화장품 산업과 관련하여 오이 메탄올추출물의 미백연구[5], 오이 착즙액 (crude juice)의 hyaluronidase 저해 및 항주름성 elastase 저해 효능[6], 오이 씨앗 추출물의 항궤양[7], 오이꽃 추출물의 항염 활성[8] 등에 대한 선행연구가 보고되어 있다. 그러나 오이는 계절, 성숙단계, 친환경 및 일반 재배조건, 계통 또는 품종별 오이의 기능성분 함량이 다르며, 소비자 기호도에 부합하는 품질의 고급화를 위한 신품종 개발이 활발히 진행되고 있으며, 동시에 신품종의 기능성에 대한 효능 평가 연구가 꾸준히 보고되고 있다 [9-12]. 일반노각(yellowish overripe cucumber)은 조리법과 관련된 영양 성분 변화 또는 건강기능 식품 개발을 위한 약리효능 등 주로 식품관련 연구가 주로 이루어져 있다[13]. 황토노각플러스(Hoangtonogak Plus)는 백다다기 계통과 기존 평택 지역재래종을 교배한 새로운 품종명이며, 국립종자원(www.seed.go.kr) 품종보호권 등록번호 5288로 등록된 신품종으로 생리활성 물질 탐색에 관한 기초연구가 아직 보고된 바가 없다. 본 연구에서는 건조된 황토노각플러스의 껍질과 과육을 실험소재로 하여 다양한 성분의 추출이 가능하고, 추출 후 분리 정제가 용이하여 식물체의 생리활성 물질 추출에 유기용매로써 가장 많이 활용되고 있는 메탄올과 추출 시 유기용매와 달리 독성 잔존 가능성이 없는 정제수, 두 가지 용매를 사용하여 각 황토노각플러스 추출물의 항산화, 세포 안전성, 항염, 항균 등을 포함한 생리활성을 비교·평가하였다. 또한 이러한 활성을 나타내는 유효성분의 분리 및 규명을 통한 체계적이고, 효율적인 미용제품 개발 연구에 기초 자료를 제시하고자 하였다.

## 2. 연구방법

### 2.1 추출물 제조

황토노각플러스는 평택시 농업기술센터 (<https://agri.pyeongtaek.go.kr>)에서 제공받아 사용하였다. 껍질을 포함한 황토노각플러스 과육 건조중량 122 g에 6

0% 메탄올 5L를 첨가하여 60°C에서 15시간 또는 추출 전 건조중량 102 g에 5L의 정제수를 첨가한 80°C 조건에서 15시간 추출하여 여과 후 농축하였다. 동결건조 후 최종 얻어진 분말 시료의 중량은 메탄올추출물(MN, 60% methanol extract)의 경우 27.626 g (수율 22.6%), 열수추출물(WN, hot-water extract)은 24.787 g (수율 24.3%)이었다.

### 2.2 항산화 활성 측정

#### 2.2.1 전자공여능 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거활성을 측정하기 위해 Blies[14]법을 변형하여 사용하였다. 각 시료 100  $\mu$ l에 200  $\mu$ M DPPH 100  $\mu$ l를 넣고 vortex 한 후 15분 동안 반응시킨 다음 ELISA reader(SpectraMax 340, Biotek, Italy)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 L-Ascorbic acid(Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)를 사용하였다.

#### 2.2.2 ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS radical 소거능을 측정하기 위해 Fellegrini 등[15]의 방법을 사용하였다. 즉, 14 mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazokine-6-sulfonic acid) 10 mL와 4.90 mM  $K_2S_2O_8$  을 동량으로 혼합하여 암소에서 14~16시간 반응시키고, 최종적으로 대조군의 흡광도 값이 734 nm에서 약  $0.7 \pm 0.02$  를 나타내도록 ABTS solution을 제조하였다. 추출물 20  $\mu$ l에 ABTS solution 180  $\mu$ l를 첨가하여, 30분간 반응한 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 L-Ascorbic acid를 사용하였다.

#### 2.2.3 FRAP value 측정

황토노각플러스 메탄올과 열수추출물에 의한 철이온의 환원력 측정은 Benzie의 방법을 변형하여 수행하였다[16]. 표준물질 Iron(II) sulfate ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )를 농도별로 제조하여 표준검량곡선을 작성하였다. FRAP 용액(0.3 M acetate buffer pH3.6 40 mL + 0.01 M TPTZ(0.04 mM HCl) 4 mL + 0.02 mM  $FeCl_3$  4 mL + 증류수 4.8 mL)을 만든 후, 각각 200  $\mu$ l씩 분주하였다. 분주된 FRAP 용액에 농도별 추출물 20  $\mu$ l를 첨가한 다음 37°C에서 4분간 반응시킨 뒤 594 nm에

서 흡광을 측정하였다.

### 2.2.4 총폴리페놀 함량 측정

폴리페놀 함량은 AOAC[17]의 방법을 변형한 Folin-Denis법으로 수행하였다. 각 추출물을 농도별로 제조한 시료 200  $\mu$ l에 Folin-Denis reagent 200  $\mu$ l를 첨가하여 상온에서 5분간 반응시킨 후, 최종농도 5%가 되도록  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 를 넣어 암소에서 방치하였다. 1시간 후, 상등액을 취하여 96 well plate에 옮겨 흡광도를 760 nm 파장에서 측정하였다. 이때 표준물질인 gallic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 mg gallic acid equivalent(GAE)/g로 나타내었다.

## 2.3 항염증 효과 측정

### 2.3.1 세포주 및 세포 생육 배지

본 실험에 사용된 세포주는 마우스 대식세포, RAW264.7 cell(mouse leukaemic monocyte macrophage cell line, KCLB 40071)을 사용하였으며, 세포배양을 위해 10% FBS(fetal bovine serum, Gibco., USA)와 1% penicillin-streptomycin을 포함하는 DMEM을 사용하였고, 세포는 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.

### 2.3.2 MTT assay에 의한 세포 생존율 측정

추출물에 대한 세포독성을 알아보기 위하여 MTT 방법을 이용하여 측정하였다. RAW 264.7 cell(5X10<sup>4</sup> cells/well)을 96 well plate에서 배양한 다음 각 추출물을 농도별로 처리하여 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 조건에서 24시간 배양하였다. 각 well에 5 mg/mL 농도의 MTT 용액 50  $\mu$ l씩 넣고 2시간 추가 배양하였다. 배지 제거 후, 형성된 formazan 결정을 100  $\mu$ l의 DMSO 용액에 용해시켜 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포독성은 세포만 배양한 음성대조군의 100% 생존율을 기준으로 시료 처리군의 상대적인 세포 생존율을 계산하였다.

### 2.3.3 NO 저해활성 측정

Nitric oxide (NO)는 RAW264.7 cell에서 nitric oxide synthase에 의해 발현되며 세포배양 상층액으로 분비된 NO의 생성 정도를 Griess 시약을 사용하여 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 형태로 측정하였다[18]. 세포를 96 well plate에서 5X10<sup>4</sup> cells/well이 되도록 계수하여 배양한 후 추출물을 농도별로 처리하고, 1시간 경과 후 LPS(100

ng/mL)를 처리하였고 24시간 배양하였다. 배양액의 상층액을 회수하여 Griess 시약과 반응시켜 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.3.4 염증관련 단백질 발현측정

RAW264.7 cell을 6 well plate에서 4X10<sup>5</sup> cells/mL의 세포수가 되도록 배양액에 부유시켜 3 mL씩 분주하여 배양하였다. 배양액을 제거한 다음 PBS(phosphate buffered saline)로 세척한 후 새로운 DMEM 배지로 교체하였다. 세포에 각 추출물을 농도별로 처리하여 2시간 동안 배양한 후 염증유도물질 LPS(100 ng/mL)를 처리하고 배양하였다. 단백질 발현 수준을 측정하기 위해 24시간 후, 배지를 제거하고 차가운 PBS로 세척한 다음 cell lyses에 RIPA lysis buffer를 첨가하여 단백질을 추출하였다. 단백질을 정량화하여, 10% SDS-PAGE에 전기영동한 후, PVDF membrane으로 이송하여 5% BSA에 1시간 blocking하였다. 1차 항체로는 Rabbit 항-iNOS(Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)와 Mouse 항- $\beta$ -actin을 2차 항체로는 항-rabbit IgG, HRP-linked antibody(Cell Signaling Technology, MA, USA)와 항-mouse IgG, HRP-linked antibody를 사용한 후, Chemiluminescence detection kit (EZ-Western Lumi Pico, D oGen, Seoul, Korea)로 단백질을 검출하였다[19].

## 2.4 항균활성 측정

### 2.4.1 실험균주 및 배양

항균력 검색 실험에 사용한 공시균주는 그람양성균 *Staphylococcus epidermidis*(KCTC No. 1917), *Staphylococcus aureus*(KCTC No. 1621) 및 그람음성균 *Escherichia coli*(KCTC No. 1039)을 한국생명공학연구원 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC, Korea)에서 분양받아 37°C, nutrient broth(Difco, USA)에서 배양하였다.

### 2.4.2 한천평판확산

항균활성 측정 방법으로는 paper disc diffusion에 의하여 실시하였다. 평판배지에 배양된 3가지 균주를 액체 배지 10 mL에서 18~24시간 배양하여 활성화시킨 후 멸균된 면봉으로 균일하게 도말하였다. 멸균된 8 mm의 paper disc(Advactec, Japan)를 평판배지에 올려놓고 0.03 mL/disc가 되도록 각 추출물을 농

도별로 흡수시켜 37°C에서 18~24시간 배양하여 disc 주위의 clear zone(mm, disc 포함)의 직경을 측정하였다.

### 2.5 통계분석

본 연구에 제시된 모든 결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 평균값 사이에 대한 유의성은 student's *t*-test를 이용하여 *p*-value값을 계산하여 통계적 유의성 검증을 실시하였다. *p*<0.05인 경우 \*로 표기하였고, *p*<0.001인 경우 \*\*로 표기하여 유의성을 나타내었다.

## 3. 연구 결과 및 고찰

### 3.1 항산화 활성

#### 3.1.1 DPPH 라디칼 소거 효능

DPPH radical 소거능은 안정한 라디칼 화합물인 DPPH가 항산화제로부터 받은 전자에 의해 환원되는 원리로 식물 추출물뿐만 아니라 정제된 페놀화합물의 항산화 활성을 측정하는 보편적인 방법이다[20]. 황토노각의 메탄올추출물(MN) 또는 열수추출물(WN)의 라디칼 소거능을 측정한 결과 양성대조군인 L-Ascorbic acid (1 mg/mL)의 경우 94.7±0.10%로 나타났으며, Fig. 1에서 보는 바와 같이 각 추출물 농도 증가에 따른 라디칼 소거능이 증가함을 확인하였다. 2002년 Kaur는 아시아의 여러 채소를 대상으로 용매에 따른 항산화 활성 결과를 보고하였으며[21], 그 중 오이는 본 연구에서 사용된 메탄올과 같은 유기 용매인 에탄올을 사용하여 항산화능이 34.3%로 증류추출법(28.0%)보다 높다고 보고하였다. DPPH 라디칼 소거능 결과를 통해 황토노각플러스 추출물이 천연식물자원 유래 항산화제 후보물질로서 가능성이 높을 것으로 기대된다.

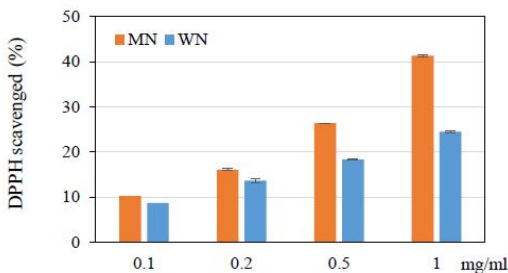


Fig. 1. Effect of the concentration of various Hoangtonogak Plus extracts on DPPH radical scavenging. Results are the mean±S.D. from three independent experiments.

#### 3.1.2 ABTS 라디칼 소거능 효과

ABTS radical은 ABTS salt와 강력한 산화제의 일종인 potassium persulfate를 반응시켜 생성된 청록색의 ABTS<sup>+</sup>가 수소를 제공하는 항산화제에 의해 환원되는 원리로 소수성(hydrophobic) 시료에 적합한 DPPH와 달리 친수성(hydrophilic) 또는 친유성(lipophilic) 시료의 항산화 활성 평가에 유용하다[22]. Fig. 2에서 보는 바와 같이 ABTS 라디칼 소거능 결과 최고 농도 1 mg/mL에서 메탄올추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성은 40.83±0.24%로 열수추출물(26.71±0.14%)보다 1.53배 높게 나타났다. 또한 DPPH와 ABTS 결과에서 확인된 각 추출물 농도 의존적 라디칼 소거능 증가는 황토노각플러스 메탄올과 열수추출물 내 항산화 활성에 기여하는 유효 성분의 가능성을 시사한다.

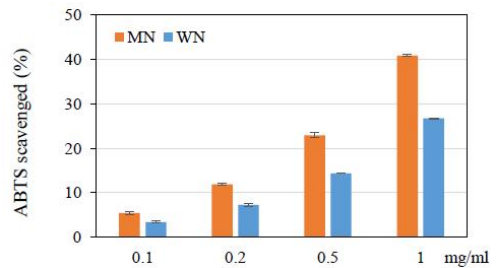


Fig. 2. Effect of the concentration of various Hoangtonogak Plus extracts on ABTS radical scavenging. Results are the mean±S.D. from three independent experiments.

#### 3.1.3 FRAP value 측정

분광광도기를 이용한 대표적인 항산화 측정법으로는 DPPH, ABTS, FRAP assay 등이 있으며, 라디칼 소거능을 측정하는 DPPH와 ABTS 분석법과 달리 FRAP은 낮은 pH조건하에서 Fe<sup>3+</sup>가 Fe<sup>2+</sup>로 환원되는 원리를 이용한다. 표준물질 ferrous sulfate(FeSO<sub>4</sub>)의 농도로 표기된 황토노각 각 추출물의 환원력은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 메탄올 또는 열수추출물 처리농도(0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/mL)에 비례하여 증가하였으며, 메탄올추출물이 열수추출물보다 높게 나타나 황토노각플러스 메탄올추출은 우수한 항산화 물질로 사료된다.

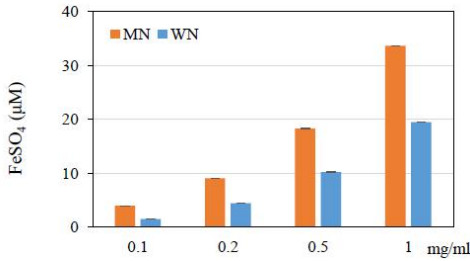


Fig. 3. Ferric reducing antioxidant power assay of Hoangtonogak Plus extracts. Results are the mean±S.D. from three independent experiments.

3.1.4 총 폴리페놀 함량

황토노각플러스 메탄올과 열수추출물의 총 폴리페놀 함량 측정 결과는 Table 1과 같다. 메탄올추출물은 2.92±0.01 mgGAE/g, 열수추출물은 1.67±0.02 mgGAE/g으로 메탄올추출물의 폴리페놀함량이 열수추출물에 비해 1.75배 높게 나타났다. 2012년 Abu-Reidah는 오이 과육에는 약 73 종의 폴리페놀화합물이 함유되어 있다고 보고한 바 있다[23]. 따라서 껍질과 과육을 혼합한 황토노각플러스 메탄올과 열수추출물의 항산화 유효성분 분석연구 또한 필요할 것으로 사료된다.

Table 1. Total polyphenol contents of Hoangtonogak Plus extracts.

Sample	Phenolics content (mg/g)*
MN	2.92±0.01
WN	1.67±0.02

\*Gallic acid was used as standard. Data are represented as mean±SD, mgGAE/g

3.2 항염증 활성

3.2.1 MTT assay에 의한 세포 생존율 측정

그람음성세균의 세포벽 물질인 Lipopolysaccharide(LPS)는 대식세포를 활성화시켜 NO, 사이토카인, 활성산소를 포함한 다양한 염증매개 물질을 분비시킨다. 마우스 대식세포주, RAW264.7 cell을 이용하여 황토노각플러스 추출물의 세포 독성을 측정하였다. 추출물을 농도 0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/mL로 24시간 처리한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 추출물 최고농도 1 mg/mL에서 세포 독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 항염증 활성에서 추출물의 농도를 세포 독성이 나타나지 않은 유효농도 1 mg/mL 이하에서 진행하였다.

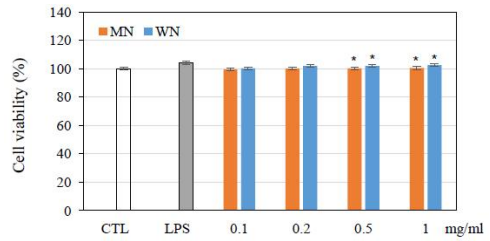


Fig. 4. Effect of Hoangtonogak Plus extracts on cytotoxicity in RAW264.7 cells. Results are the mean±S.D. from three independent experiments. \*p<0.05 compared to the negative control.

3.2.2 NO 생성 억제 효과

체내 NO는 synthase(iNOS)에 의해 생성되는 염증 매개 물질로 외부에서 침입한 병원체에 대한 방어기전 중 하나로써 과량의 NO 생성은 노화와 질병을 일으킨다. 황토노각플러스 추출물에 대한 NO 생성억제 정도를 알아보기 위해 NO 유도물질로 알려진 LPS를 처리하여 생성된 NO 양을 Griess 시약을 이용하여 측정하였다. 그 결과 Fig. 5에서 보는 바와 같이 LPS 처리한 후 NO 생성량은 대조군에 비해 약 3배 증가되었으며, 또한 모든 추출물에서 농도 의존적으로 NO 생성을 억제하였다. Agatemor et al., [2015]는 agar에 의해 유도되는 쥐의 발 부종 동물모델에서 오이 균질현탁액(homogenate) 농도별 처리에 따른 부종이 감소되는 것을 보고하였다[24].

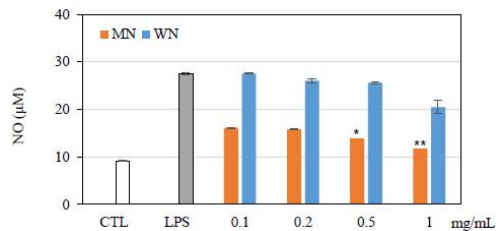


Fig. 5. Inhibitory effect on NO production of Hoangtonogak Plus extracts in LPS-stimulated RAW264.7 cells. Results are the mean±S.D. from three independent experiments. \*p<0.05; \*\*p<0.001 compared to the positive control.

3.2.3 iNOS 단백질 발현 감소 효과

마우스 대식 세포주, RAW264.7 세포에 LPS로 염증

반응을 유도한 다음 황토노각플러스 추출물을 처리한 후 iNOS의 단백질 발현 수준을 immunoblotting 분석법으로 측정하였다. 그 결과 Fig. 6에서 보는 바와 같이 단독으로 LPS 처리 시 iNOS 단백질 발현이 현저히 증가하였으며, 황토노각플러스 메탄올추출물의 처리 농도에 의하여 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인하였다. 따라서 황토노각플러스의 피부에 대한 염증 완화 효과가 있을 가능성을 확인할 수 있다.

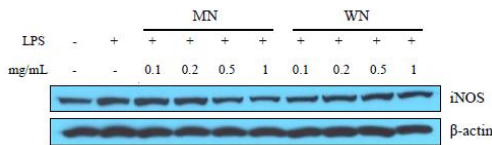


Fig. 6. Inhibitory effect on the protein level of iNOS in RAW264.7 macrophage cells. Cells were stimulated with LPS in the presence of Hoangtonogak Plus extracts. The  $\beta$ -actin was used as an internal control.

### 3.3 항균활성

피부의 상태 균이면서 염증에 관여하는 주된 균주로는 아토피 피부염을 유발시키는 *S. aureus*, 피부 점막에 상재하며, 여드름 등 피부 염증을 악화시키는 *S. epidermidis* 그리고 대표적인 Gram 음성균 *E. coli*가 있다. 황토노각플러스 추출물의 항균활성을 확인한 결과는 Table 2와 같다. 양성대조군 Ampicillin (25 mg/mL)의 경우 균주 *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. coli*에서 각각 0.5 mm, 1.3 mm, 0.6 mm로 clear zone을 형성하였다. 황토노각플러스 메탄올 추출물의 경우 *S. aureus*와 *E. coli* 균주에서 열수추출물은 3종 균주 모두에서 항균 활성이 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 Chung & Moon[25]의 오이추출물에 의한 항미생물 연구에서 DMSO로 오이추출물을 용해시킨 후 *S. aureus*, *S. cerevisiae*와 *E. coli* 균주에 최종농도 10%로 추출물을 처리하였을 때 항균력이 나타나지 않은 결과와 유사하다. 반면 *S. epidermidis* 균주에서는 메탄올 추출물 10 mg/mL의 저농도에서 0.1 mm로 항균 효과가 나타났으며 50 mg/mL과 25 mg/mL의 고농도에서 0.2 mm로 항균효과가 증가하였다. 이러한 결과를 토대로 황토노각플러스 메탄올추출물 10 mg/mL 이상의 고농도 조건에서 피부 여드름균인 *S. epidermi*

*dis*의 생장이 억제되는 것을 확인하였다.

Table 2. Anti-microbial activity of Hoangtonogak Plus extracts on several microorganisms.

Conc. (mg/mL)	Inhibition zone diameter (mm)								Amp (25 mg/mL)
	50		25		10		5		
Strains	W	M	W	M	W	M	W	M	
<i>S. epidermidis</i>	-	0.2	-	0.2	-	0.1	-	-	0.5
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6

Amp: Ampicillin

## 4. 결론

본 연구에서 사용된 황토노각플러스는 국립종자원에 등록된 (등록번호 5288) 신품종을 이용하여 천연 화장품 원료로서 가능성을 조사하고자 메탄올 또는 정제수 두 가지 용매에 따른 추출물의 항산화, 세포 안전성, 항염, 항균 활성을 평가하였다.

황토노각플러스의 60% 메탄올추출물의 수율은 2.76%, 열수추출물의 경우 2.47%로 두 가지 용매 차이에 따른 수율은 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 항산화 효능을 평가하기 위해 라디칼 소거 원리를 이용한 DPPH와 ABTS 분석 결과, 메탄올추출물 농도에 비례하여 라디칼 소거 활성이 증가하는 것을 확인하였다. 메탄올추출물은 열수추출물보다 철의 환원을 더욱 증가시켰으며, 총폴리페놀 함량 측정 결과 메탄올추출물이 2.92±0.01 mgGAE/g, 열수추출물이 1.67±0.02 mgGAE/g으로 메탄올추출물의 항산화 활성이 탁월함을 확인하였다.

황토노각플러스 추출물은 0.1~1 mg/mL의 농도 범위에서 쥐의 대식세포주, RAW264.7 세포에서 세포 안전성이 확보되었으며 이러한 농도조건하에서 메탄올 또는 열수추출물의 항염 효능을 평가하기 위해 염증매개 물질인 NO와 NO형성을 위한 효소 iNOS의 단백질 발현 수준을 확인하였다. 그 결과 메탄올추출물 농도 0.5 mg/mL부터 최고농도 1 mg/mL로 추출물 농도가 높아질수록 억제 효능이 증가하였으며, 이러한 NO 생성억제 결과는 immunoblotting을 통해 iNOS의 단백

질 발현 수준이 메탄올추출물 처리에 따라 감소하는 것으로 확인되었다.

황토노각플러스 추출물의 항균 효능을 평가하기 위하여 Gram 양성균인 *S. aureus*와 *S. epidermidis* 또는 Gram 음성균 *E. coli* 를 대상으로 한천평판확산법을 수행한 결과 *S. epidermidis* 균주에 대해 항균 활성이 확인되었다.

본 연구에서는 화장품 원료로서 가능한 천연 소재 발굴 탐색을 위해 기존 천연식물 자원으로부터 개발된 신제품을 탐색 소재로 한 화장품 원료 연구를 통해 황토노각플러스의 메탄올과 열수추출물의 항산화, 항균, 항염 활성에 기여하는 유효성분을 이용한 화장품, 의료, 식품 등 다양한 산업분야에서 활용 가치가 높을 것으로 판단된다.

## REFERENCES

- [1] Y. Gao, M. S. Islam, J. Tian, V. w Y. Lui & D. Xiao. (2014). Inactivation of ATP citrate lyase by cucurbitacin B: A bioactive compound from cucumber, inhibits prostate cancer growth. *Cancer Letters*, 349(1), 15-25. DOI : 10.1016/j.canlet.2014.03.015
- [2] J. W. Kim, E. S. Park & S. Yoon, (1985). Characteristics of ascorbic acid oxidase in cucumbers. *The Korean Journal of Nutrition*, 18(4), 312-317.
- [3] J. Tang, X. Meng, H. Liu, J. Zhao, L. Zhou, M. Qiu, X. Zhang, Z. Yu & F. Yang. (2010). Antimicrobial activity of sphingolipids isolated from the stems of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Molecules*, 15, 9288-9297. DOI : 10.3390/molecules15129288
- [4] D. Kumar, S. Kumar, J. Singh, Narender, Rashmi, B. D. Vashistha, N. Singh. (2010). Free radical scavenging and analgesic activities of *Cucumis sativus* L. fruit extract. *Journal of Young Pharmacists*, 2(4), 365-368. DOI : 10.4103/0975-1483.71627
- [5] H. Kai, J. Baba & T. Okuyama. (2008). Inhibitory effect of *cucumis sativus* on melanin production in melanoma B16 cells by downregulation of tyrosinase expression. *Planta Medica*, 74, 1785-1788. DOI : 10.1055/s-0028-1088338
- [6] N. K. Nema, N. Maity & B. Sarkar. (2011). *Cucumis sativus* fruit-potential antioxidant, anti-hyaluronidase, and anti-elastase agent. *Archives Dermatological Research*. 303, 277-252. DOI : 10.1007/s00403-010-1103-y
- [7] N. S. Gill, M. Garg, R. Bansal, S. Sood, a. Muthuraman, M. Bali and P. D. Sharma. (2009). Evaluation of antioxidant and antiulcer potential of *Cucumis sativum* L. seed extract in rats. *Asian Journal of Clinical Nutrition*, 1(3), 131-138. DOI: 10.3923/ajcn.2009.131.138
- [8] N. muruganatham, S. Solomon & M. M. senthamilselvi. (2016). Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of *Cucumis sativus*(cucumber) flowers. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(4), 1740-1745. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(4).1740-45
- [9] J. H. Kim, J. J. Kim, H. K. Oh, M. J. Chang & S. H. Kim. (2007). Seasonal variation of mineral nutrients in korean common fruits and vegetables. *Journal of the East Asian Society of Dietary Life*, 17(6), 860-875
- [10] S. W. Par, J. W. Lee, Y. C. Kim, K. Y. Kim, J. H. Hong, M. R. Lee & S. J. Hong. (2004). Relationship between physicochemical quality attributes and sensory evaluation during fruit maturation of cucumber. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, 22(2), 177-182.
- [11] S. A. Kim, S. S. Chun & J. H. Lee. (2015). Physicochemical analyses and korean consumers' acceptability of environment-friendly and conventionally grown cucumber. *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 28(6), 1071-1081. DOI : 10.9799/ksfan.2015.28.6.1071
- [12] S. Y. Yang, H. G. Kim, S. J. Lee, W. M. Cha, C. H. Ahn & H. O. Boo. (2013). Comparison of the antioxidative abilities of greenhouse-grown cucumber according to cultivars and growth stages. *Korean Journal of Plant Resources*, 26(5), 548-556. DOI : 10.7732/kjpr.2013.26.5.548
- [13] H. Kim & H. Chung. (2017). Comparison of nutrient content and retention rate among bhaichung cucumber, white dadagi cucumber, and yellowish overripe cucumber according to different cooking methods. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 46(11), 1350-1357. DOI : 10.3746/jkfn.2017.46.11.1350
- [14] M. S. Blois. (1958, April). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

- [15] N. Fellegrini, R. Ke, M. Yang & C. R. Evans. (1999). Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-enthylenbenzothiazoline-6-sulfo nic acid) radical cation decolorization assay. *Methods in Enzymology*, 299, 379-389. DOI : 10.1016/S0076-6879(99)99037-7
- [16] I. F. Benzie & J. J. Strain. (1996). The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as measurement of "antioxidant power" The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-6. DOI : 10.1006/abio.1996.0292
- [17] AOAC. (1980). Official Methods of Analysis. 13 th ed., *Association of Official Analytical Chemists*. (pp. 376-384). Washington D.C, USA.
- [18] A. Murakami, M. Nakashima, T. Koshiba, T. Maoka, H. Nishino, M. Yano, T. Sumida, O. K. Kim, K. Koshimizu & J. Ohigashi. (2000). Modifying effects of carotenoids on superoxide and nitric oxide generation from stimulated leukocytes. *Cancer Letters*, 149, 115-123. DOI : 10.1016/s0304-3835(99)00351-1
- [19] Y. Wang, E. S. Kim & J. A. Lee. (2018). The study of antioxidant and anti-inflammatory effects of notoginseng root(NGR) hot water extracts. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 24(5), 1014-1020.
- [20] E. A. Shalaby & S. M. M. Shanab. (2013). Comparison of DPPH and ABTS assays of determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 42(5), 556-564.
- [21] C. Kaur & H. C. Kapoor. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 153-161. DOI : 10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x
- [22] P. Shah & H. A. Modi. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*, 3(VI), 636-641.
- [23] I. M. Abu-Reidah, d. Arraez-Roman, R. Quirantes-Pine, S. Fernandez-Arroyo, a. Segura-Carretero & A. Fernandez-Guiterrez. (2012). HPLC-ESI-Q-TOF-MS for a comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in cucumber whole fruit extract. *Food Research International*, 46(1),

108-117.

DOI : 10.1016/j.foodres.2011.11.026

- [24] U. M-M Agatemor, O. F. C. Nwodo & C. A. Anosike. (2015). Anti-inflammatory activity of *Cucumis sativus* L. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2), 1-8. DOI : 10.5352/JLS.2008.18.4.467
- [25] S. H. Chung & S. H. Moon. (2001). Antimutagenic and antimicrobial effect of cucumber (*Cucumis sativus*) extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 30(6), 1164-1170.

## 조 준 희(Jun-Hee Cho)

[정회원]



- 2018년 2월 : 서경대학교 대학원 미용예술학 석사
- 2020년 12월 : 서경대학교 대학원 미용예술학 박사 재학
- 2018년 3월 ~ 현재 : 서경대학교 미용예술대학 뷰티테라피 & 메이크업학과 시간강사

· 관심분야 : 피부미용, 화장품, 미용교육

· E-Mail : jjunhya@daum.net

## 이 지 안(Ji-An Lee)

[정회원]



- 2007년 2월 : 서경대학교 대학원 미용예술학 석사
- 2012년 2월 : 원광대학교 대학원 미용학 박사
- 2013년 9월 ~ 현재 : 서경대학교 미용예술대학 뷰티테라피 & 메이크업학과 교수

· 관심분야 : 피부미용, 화장품, K-Beauty, 미용교육

· E-Mail : jessicajlee@naver.com