

사과 잎(apple leaf) 추출물의 항산화 효과

남승숙* · 고경숙†

*원광대학교 대학원 뷰티디자인과 박사과정, 대학원생

†원광대학교 뷰티디자인학부, 교수

(2020년 9월 3일 접수: 2020년 10월 29일 수정: 2020년 10월 29일 채택)

Antioxidants of apple leaf extract

Nam Seoung Sook* · Ko Kyoung-Sook†

*Student, Dept. of Beauty Design School of Wonkwang University

†Professor, Dept. of Beauty Design Wonkwang University

(Received September 3, 2020; Revised October 29, 2020; Accepted October 29, 2020)

요약 : 본 연구는 사과 잎 추출물의 화장품 소재로 응용하기 위한 가능성을 평가하기 위하여 에탄올 70%로 추출하여 실험을 진행하였다. 사과 잎 추출물을 GC/MS로 분석하였고, 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 DPPH radical 소거 활성을 통하여 항산화, 세포생존율(MTT assay) 확인을 통한 독성 평가를 하였으며, Nitric oxide (NO) 생성 저해 측정을 통해 사과 잎 추출물을 처리한 군에 4.6배의 NO 생성량이 감소하는 것을 확인하였고, 항염효과를 알아보았다. 총 폴리페놀 함량은 78.80 ± 0.25 mg/g, 총 플라보노이드 65.25 ± 6.62 mg/g로 나타났다. DPPH radical 소거 활성은 추출물 농도 0.25%에서 $79.8 \pm 0.99\%$, 0.5%에서 $88.13 \pm 0.89\%$, 1%에서 $96.83 \pm 2.00\%$ 로 소거능이 증가함을 확인하였다. 세포 생존율 평가는 고농도인 1000 ppm 농도에서도 $91.19 \pm 3.49\%$ 로 80% 이상의 생존률을 확인하였다. GC-MS 성분분석 결과 catechol(5.65%), DL-Gluciol(12.05%), Ascorbic acid(2.41%), Phytol(13.88%), Hexanoic acid(5.47%) 등 항산화 화장품 소재로 활용이 사료된다.

이에 실험 결과 사과 잎 추출물을 이용한 천연 기능성 화장품 소재 개발에 있어 중요한 기초 자료로 이용되고자 한다.

주제어 : 사과 잎, 항산화, 항염증, 천연화장품, 플라보노이드, 폴리페놀

Abstract : In this study, in order to evaluate the possibility of applying apple leaf extract as a cosmetic material, we conducted an experiment by extracting with 70% ethanol. Apple leaf extract is analyzed by GC/MS, and toxicity is evaluated through polyphenol, flavonoid content and DPPH radical scavenging activity, antioxidant, and cell viability (MTT assay) OK, and nitric oxide (NO). It was confirmed that the NO production amount decreased 4.6 times in the group treated with the apple leaf extract through the measurement of the production inhibition of), and the anti-

†Corresponding author
(E-mail: nam9718@naver.com)

inflammatory effect was investigated. The total polyphenol content was 78.80 ± 0.25 mg /g and the total flavonoids were 65.25 ± 6.62 mg /g. It was confirmed that the DPPH scavenging activity increased sagonun at $79.8 \pm 0.99\%$ at an extract concentration of 0.25%, $88.13 \pm 0.89\%$ at 0.5%, and $96.83 \pm 2.00\%$ at 1%. The cell viability was evaluated at $91.19 \pm 3.49\%$ even at a high concentration of 1000 ppm, confirming a viability of 80% or more. As a result of component analysis of GC-MS, it can be used as an antioxidant cosmetic material such as catechol (5.65%), DL-Gluciol (12.05%), Ascorbic acid (2.41%), Phytol (13.88%), Hexanoic acid (5.47%). Conceivable.

The result of this experiment will be used as an important basic material in the development of natural functional cosmetic materials using apple leaf extract.

Keywords : apple leaf, Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Natural Cosmetic, Flavonoids, polyphenols

1. 서론

인간의 평균 수명이 증가하면서 건강한 삶과 외적인 미에 대한 욕구가 강해지고, 생활수준이 높아짐에 따라 건강과 웰빙에 대한 인식이 증가하여 질병 방지와 노화 억제에 대한 관심이 높아지고 있다[1]. 피부 염증 및 막의 지질과 산화, 피부 면역기능 억제를 초래하고, 피부의 항산화 방어막을 파괴하며 DNA 손상과 함께 피부 노화의 원인이 된다.

활성산소를 억제시키는 항산화제로 널리 알려진 물질들은 superoxide dimutase, catalase, glutathione reductase 등의 효소계열의 항산화제와 phenol계 화합물, gallic acid 유도체, tocopherol류, flavone 유도체, phyllozcurcin류 catechin, nordihydroguaiaretic acid, gossypol, lignan 배당체 등의 천연 항산화제 (natural antioxidants), butylated hydroxyanisole (BHA) 와 butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate (PG) 등의 합성 항산화 물질들이다[2].

천연 항산화제 천연물의 생리 활성 성분들은 항산화, 항균, 항염증, 항노화 및 항암활성 효능을 가지고 있다[3]. 천연소재 등의 안정성 물질들로 우수한 천연 항산화 효능의 천연물질 원료로는 줄기, 잎 열매, 뿌리, 꽃 씨앗, 부위에서 염증, 해독, 항산화와 관련된 유효 성분들이 함유되어 있다[4]. 천연 원료를 통한 항산화, 미백, 항염증, 등의 효능을 갖는 기능성 제품을 개발하고, 합성 원료에 대한 심각한 독성과 부작용에 경쟁력을 갖는 천연물 소재 개발이 활발히 이뤄지고 있다[5].

사과(Malus domestica Borkh)는 식이섬유, 미

네랄, vitamin C 와 같은 영양분을 함유하고 있으며 그 외에도 carotenoids, flavonoids, isoflavonoids, phenolic acids 등의 다양한 phytochemical에 의해서 항산화, 항암 및 심혈관 질환, 비만 예방, 주름개선 효과가 있다[6]. 사과 과피 추출물이 항산화 효과를 가지고, 다양한 염증 관련 효소의 활성을 억제, 염증완화, 항염 효과를 완하시켜준다[7]. 꽃잎 추출물에 항산화 활성, 미백, 콜라겐 생합성 증진 효과와 여드름균인 P.acnes에 대한 항균 활성을 보였으며, 추출물의 함유된 다량의 페놀성 화합물로부터 기인한 것이다[8]. 사과 잎 추출물은 대한 화장품 협회에 등록된 화장품 소재로 피부 컨디셔닝 소재로 사용되고 있다[9]. 사과의 항산화 효과 연구로는, 사과 과육, 사과 과피, 사과꽃잎 등 있다. 사과에 많이 함유된 대표적인 플라보노이드 물질인 Kaempferol과 quercetin 으로 보고되어 있다[10]. 사과 잎 또한 사과와 유사한 성분을 기대해 볼 수 있다. 따라서 본 연구에서는 사과 잎의 활성 성분을 추출하여 항산화 효과와 세포 독성을 분석하여 사과 잎의 천연성분을 화장품 소재로 활용 가능성을 살펴보고 화장품 산업에 활용 가능성을 평가하고자 한다.

2. 실험

2.1. 실험재료

본 연구에 사용된 사과 잎은 2019년 10월경 충북 음성군에서 재배된 사과 잎을 수확하여 실험 재료로 사용하였다. 사과 잎은 세정 후 60°C의 열풍건조기에 넣고 2일간 건조하였다. 건조된

사과 잎은 50-100 mesh로 분쇄하여 추출에 사용하였다. 95% 식물성 무변 성 에탄올 (EE, Duksan Pure Chemical Co. Ltd., Ansan, Korea)을 70%로 농도를 조정하여 시료 무게 5 g의 10배가 되도록 가하여 상온에서 3회 추출하였다. 이후 추출액은 filter paper(Whatman No. 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)하여 농축된 추출물을 동결건조(일신바이오 베이스 PVTFD-100R, Dongducheon, Korea)하여 분말형태로 제조하였다.

2.2. 사과 잎 추출물의 항산화 측정

2.2.1. Polyphenol 함량 측정

사과 잎 추출물의 폴리페놀 함량은 Davis 방법에 의해 따라 Folin-Ciocalteu's 발색법으로 분석하였다[11]. 시료 0.5 g을 용매 10 mL를 넣고 20분간 방치후 10분간 원심 분리 후 여과지에 3회 추출하여 부피 50 mL 함량을 구했다. 사과 잎 추출물 100 μ L 2% Na_2CO_3 2 mL를 넣어 주고, 혼합한 후 2분 방치한다. 50% folin-ciocalteu's phenol reagent 100 μ L를 넣고 혼합하여 30분 방치한 다음 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 Gallic acid를 이용하였고 gallic acid equivalent 함량을 (GAE/g extract)로 산출하였다.

2.2.2. Flavonoid 함량 측정

사과 잎 추출물의 플라보노이드 함량은 Davis 방법에 따라 측정하여 추출물 용액 2 mL에 0.2 mM의 DPPH 1 mL를 넣고 혼합 한 후 30분 암실에서 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 quercetin를 이용하였고 플라보노이드 함량은 quercetin equivalent (QE/g) 함량을 산출하였다.

2.3. DPPH radical 소거활성 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)에 대한 소거 활성측정 효과를 측정 공여능 (electron donating ability, EDA) bis방법을 이용하여 측정하였다[12]. 99% 메탄올에 시료를 녹여 농도별로 희석하여 측정하였다. DPPH용액 180 μ L시료액 20 μ L 혼합하여 실온에 30분 방치후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군의 흡광도를 백분율로 표시하고 활성비교를 위해 천연 항산화제

Ascorbic acid (Sigma-Aldrich Co., St Louis, USA)를 사용하였다.

DPPH radical 소거활성 (%)=

$$100 - \left\{ \frac{\text{첨가군 흡광도}}{\text{무첨가군 흡광도}} \times 100 \right\}$$

2.4. GC-MS 분석

사과 잎 추출물의 주정추출(EE)에서 얻은 추출물의 유효성분을 분석하기 위해 GC-MS 장비 (GC- 2010 ;Shimadzu Co., Japan)를 이용하였다. 추출물은 DMSO에 교반한 후, 원심분리기를 이용하여 부유물을 제거하고 마이크로 필터(0.45 μ m)로 여과하여 시료를 준비하였다. 컬럼은 BD-5 (60 mm \times 0.25 mm \times 0.25 mm), carrier gas는 He으로 flow rate 1 mL/min, injection 온도는 250 $^{\circ}$ C, split ratio 10:1, oven 온도는 50-300 $^{\circ}$ C/3 $^{\circ}$ C 승온, injection volume은 1 μ L 조건으로 성분분석을 하였고, mass selective detector (MSD)에서 mass range 28-550, acquisition mode는 scan mode 조건으로 성분들을 정량하였다.

2.5. 세포 독성 검정

2.5.1. 세포배양

실험에 사용되는 마우스 대식세포 RAW 264.7 cell은 한국세포주 은행 (KCLB,40071)에서 분양 받아 배양하여 사용하였다. RAW 264.7 cell의 세포배양을 위해 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM)과 fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin은 Invitrogen Co. (Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.5.2. 세포 생존률 측정

세포독성 및 세포 증식법으로 사용되는 방법중의 하나인 MTT assay는 96 well plate를 사용하여 측정하였다.

생존율은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazoliumbromide(MTT)를 실시하였다. 추출물을 dimethyl sulfoxide (DMSO:Sigma-Aldrich,USA)에 녹인 후 세포배양 배지에 희석하여 농도별로 처리하였다. RAW 264.7세포를 96 well plate 1 \times 10⁴ cell/mL의 농도에 분주하여 세포배양기 (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)에서 안정화 시킨 후 농도별로 추출물을 처리하여 24시간 배양하였다. 이후 MTT시약을 첨가하여 생존 세포 효소작용

에 환원되도록 만들었다. 3시간 더 배양 후 배양액을 제거한 다음 각 well에 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 녹여 Microplate reader (BioTek, US)를 사용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.6. 항염증 평가

사과 잎 추출물 NO 생성억제 측정 위해 RAW 264.7 대식세포의 NO 생성된 양은 세포 배양액 중 NO₂⁻를 griess 시약을 사용하여 RAW 264.7 cell로 측정하였다. 각 well에 세포 배양 상등액 100 uL 와 griess시약 100 uL 혼합하였다. 반응시킨 후 540 nm에 Microplate reader를 이용하여 흡광도 측정 하였고 NO₂⁻양은 NaNO₂의 표준곡선에 의해 평가 하였다[13].

2.7. 통계처리

모든 실험 결과는 3회 반복 실험을 실시하였고 평균 ± 표준 편차(Mean ±SD)의 형식으로 편차를 표시하였다. 대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검정분석은 Students t-test 로 비교 P가 0.05 이하인 것과 0.01 이하인 것만 유의한 것으로 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 추출물의 수율

사과 잎 추출물의 수율을 조사하기 위하여 추출 전 시료 무게와 동결건조된 분말의 무게를 측정한 결과 추출 수율은 11.2±2.1%로 측정되었다. 분말은 어두운 갈색을 나타냈다.

3.2. 총 폴리페놀 함량 측정 결과

페놀성 화합물은 모든 식물체에 분포 성분으로 다양한 생리활성효과를 갖는다고 보고된 바 있다. 페놀 화합물은 지질 산화분해 지연으로 항산화 활성에 특효가 있다고 보고되고 있다[14]. 식물체의 2차 대사 산물의 하나로서 phenolic hydroxyl(OH)기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 항산화, 항암등의 다양한 생리 활성을 가진다[15]. 사과 잎 추출물에 존재하는 총 폴리페놀의 함량을 Gallic acid를 기준물질로 측정한 결과 Table 1와 같이 78.80±0.25 mg(GAE)/g으로 매우 높은 폴리 페놀 함량을 나타냈다. 김일남의 연구에서 사과 과피 추출물의

폴리 페놀 함량이 6.8±0.5 mg(GAE)/g으로 나타났다[16]. 이러한 결과를 볼 때, 사과잎 추출물은 항산화 기능이 효과적인 것으로 나타났다.

Table 1. Total Polyphenol contents of Apple leaves(equivalent of mg/g gallic acid)

Sample	Total Polyphenol
apple leaf extract	78.80±0.25 ²⁾

- 1) Total Polyphenol contents expressed as GAE(gallic acid equivalent) per gram
- 2) Mean±SD

3.3. 총 플라보노이드 함량 측정 결과

플라보노이드는 phenylchromone의 부수체로 관속식물에 널리 분포되어 있는 화합물이다[17]. 식물유래 페놀성 화합물은 단순한 phenol류, phenolic acid류, phenylpropanoid류 flavonoid류 등이 대부분 항균, 항산화, 항알레르기에 효과가 있다고 보고 되고 있다[18]. 사과 잎 추출물에 존재하는 총 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 표준곡선($y=0.0697x+0.106$ and $R^2 =0.9984$)를 참조하여 Table 2에 플라보노이드 함량을 나타냈다. 그 결과 총 플라보노이드 함량은 65.25±6.62 µg/mL로 나타났다.

사과 잎 70% ethanol 추출물에서는 플라보노이드 함량은 43.39 mg/g, 산딸기 잎의 플라보노이드 함량은 49.81±2.39 mg/g로 나타났다. 이러한 결과 플라보노이드가 다량 함유되어 피부 생리 활성도가 높을 것으로 판단된다.

Table 2. Total flavonoid contents of 70% ethanol extracts

Sample	Total flavonoid (QE/100g)
apple leaf extract	65.25±6.62

Data are means±S.D. of 3 experiments

3.4. DPPH radical 소거능에 의한 항산화 측정

DPPH는 식물 추출물의 항산화 활성을 측정할 수 있어 많이 이용하는 방법이다. DPPH는 안정한 free radical로써 항산화제, 방향족, 아민류 등에 의해 환원되어 보라색이 탈색되는 원리 이용으로 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데

많이 활용되고 있다[19]. 인체내에 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용하는 항산화 물질의 수소공여능 측정방법으로 활용할 수 있다 [20]. 본 연구에서 사과 잎 추출물의 항산화 활성을 알아보기 위해 농도별로 DPPH radical 소거능을 관찰하였다. 대조군으로 선정한 비타민 C가 0.1%일 때, 96.2±2.76%의 결과를 보였다. 사과 잎 추출물의 DPPH 측정 결과 0.25%에서 79.8±0.99%, 0.5%에서 88.13±0.89%, 1%에서 96.83±2.00%로 저농도에서도 50%가 넘는 높은 소거능을 확인할 수 있었다. Fig. 1 사과 과피 추출물 0.1 mg/mL에 18.9%±1.6, 0.5 mg/mL에 46.3%±2.3, 1.0 mg/mL에 58.1±3.9%의 유의적인 DPPH radical 소거능을 보였고[21]. 사과과피

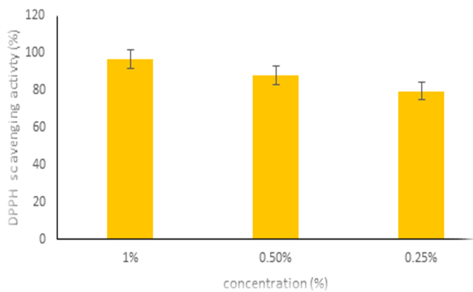


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of apple leaf extract.

Values are represented as mean±SD (n=3); p<.001 compared with control group.

추출물의 농도가 증가함에 따라 전자 공여능이 향상된 선행 연구결과를 확인하였고, 아로니아추출물의 DPPH radical 소거능 70% 에탄올 추출물에서 84.3% 초음파 공정을 거친 에탄올 추출물에서는 90.4%로 전자 공여능을 나타냈다[22]. 이에 항산화기능이 높으면 활성산소로부터 노화 및 세포 손상을 방지할 수 있다. 이러한 결과로 사과 잎 추출물은 항산화 활성 물질이 함유되어 화장품 소재로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

3.5. GC-MS성분평가

사과 잎 추출물의 주요성분을 GC-MS로 분석하였다. 성분분석결과 항산화 물질인 catechol (5.65%), 피부 보습 효능을 가진 D-sorbitol (12.05%), vitamin C인 ascorbic acid (2.41%), phytol(13.88%)등의 성분이 주요성분으로 확인되었다. 특히, Phytol(13.88%) 성분은 항산화, 노화 예방 소재로 활용 가능한 화합물로 항산화 기능을 가진 화장품 소재로 활용이 가능할 것으로 사료된다. 권혁동(1997) 외 논문에 의하면 암세포 성장에 비교적 높은 억제 효과 성분인 사과 잎 추출물 Hexanoic acid (5.47%)이 유해물질로부터 피부를 보호해주는 성분으로 사료 된다[23].

그 외 물질들 51종의 주요 물질로 확인되었다 Fig. 2, Table 3.

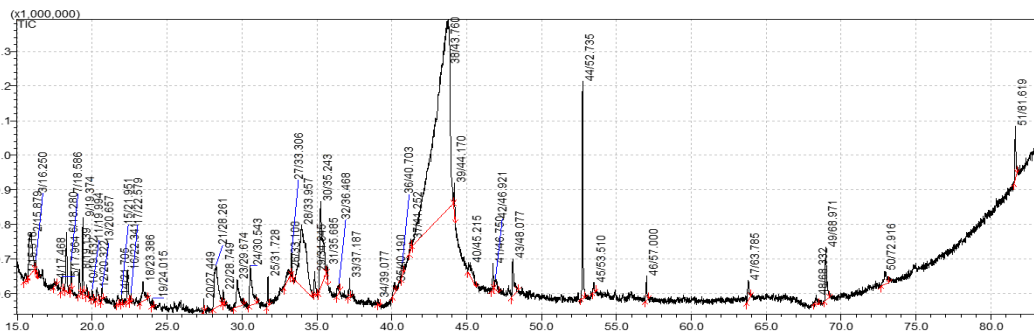


Fig. 2. GC-MS graph of apple leaf extract.

Bioactive compounds were indentified in 70% ethanol of apple leaf extract. Comparison of standard computer software data(GC-MS system data) and spectrum: Methylidyntrisformamide (1.46%),Benzofuran,(6.62%),Hydroquinone(1.36%), Sucrose(11.96%), 2-Deoxy-D- galactose(6.78%), Tridecanoic acid(3.01%), Hexadecanoic acid(1.75%),Octadecanoicacid(5.23%), D-Homo(11.8%), beta.-Sitosterol(5.88%), GC-MS.gas chromatography-mass spectrometry

Table 3. Chemical composition of apple leaf extract by GC-MS analysis

Peak	Compound name	Real Time (min)	Height %
1	Glyceraldehyde	15.87	2.69
2	Catechol	18.28	3.74
3	Dodecane	18.58	1.8
4	1,2,6-Hexanetriol	19.13	1.59
5	Benzofuran, 2,3-dihydro-	19.37	4.79
6	Isosorbide	22.34	2
7	2-Methoxy-4-vinylphenol	23.38	1.26
8	Sucrose	28.26	2.73
9	D-Glucitol, 1,4-anhydro-	29.67	1.74
10	.beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-	30.54	2.55
11	Catechol	31.72	1.91
12	2-Butanone, 4-(4-hydroxyphenyl)-	33.3	1.58
13	D-Glucitol, 1,4-anhydro-	33.95	3.92
14	Diethyl Phthalate	34.84	1.43
15	Hexanoic acid, 2-ethylhexyl ester	35.24	5.47
16	Benzenepropanoic acid, 4-hydroxy-, methyl ester	37.18	1.21
17	D-sorbitol	43.76	12.05
18	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	44.17	1.86
19	1-Dodecanol, 3,7,11-trimethyl-	46.75	1.61
20	l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	48.07	2.41
21	Phytol	52.73	13.88
		60	100

content(%)=peak area of each compound/peak area of internal standard $\times 100$
 EE, ethanol extract, DMSO, dimethyl sulfoxide.

3.6. MTT assay에 의한 세포생존율 측정

추출물의 독성을 평가하기 위해 세포독성 및 세포 증식 검색법으로 사용하는 방법 중 하나로 MTT assay는 96 well plate를 사용하여 검사 결과를 ELISA microplate reader로 570 nm에서 흡광도를 이용하여 측정하였다. 그 결과 사과 잎 추출물의 농도에 따른 안정성을 관찰 MTT assay 결과이다. Fig. 3 저농도에서 고농도로 처리함에 따라 농도 의존적으로 세포생존율이 변화하는 것을 확인하였다. 고농도인 1000 ppm 농도에서도 $91.19 \pm 3.49\%$ 로 80% 이상의 생존율을 확인하였다.

3.7. Raw264.7 cell의 Nitric oxide(NO)생성 억제능 측정

사과 잎 추출물의 염증성 질환을 초래하는 NO 생성 양을 알아보기 위해 Nitric Oxide assay와 염증매개 물질인 LPS를 단독처리했을 때 NO 생성량이 $32.4 \pm 1.24 \mu\text{M}$ 이며, 아무것도 처리하지 않은 군에서는 $2.3 \pm 0.15 \mu\text{M}$, 250 ppm에서 $26.42 \pm 2.1 \mu\text{M}$, 500 ppm에서 $17.2 \pm 2.5 \mu\text{M}$, 1000 ppm은 $7.04 \pm 2.4 \mu\text{M}$ 로 관찰되었다. LPS만 처리한 군에서 사과 잎 추출물 1000 ppm을 처리한 군에 4.6배의 NO 생성량이 감소하는 것을 확인하였다 Fig. 4.

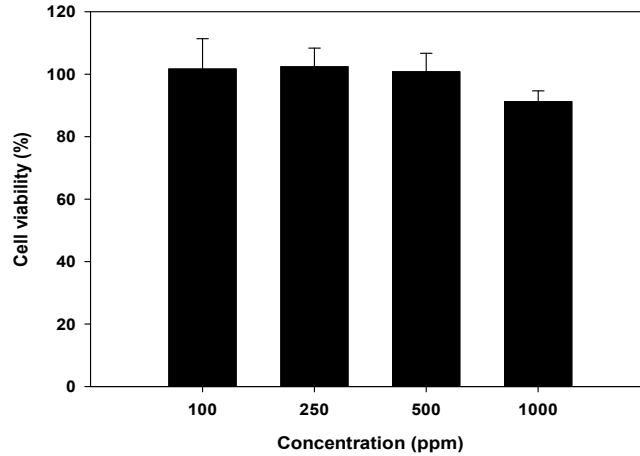


Fig. 3. Cell viability of RAW 264.7 cells after incubation in the presence of various concentrations of apple leaf extract for 24h.

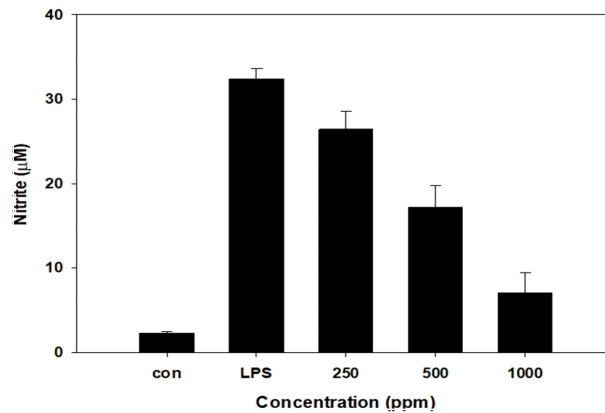


Fig. 4. Inhibitory effect of Pyrus Malus apple leaf extract on Nitric Oxide. NO production in a culture medium of LPS-stimulated RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were treated with 2 µg/ml of lipopolysaccharide LPS and apple leaf extract for 24 h.

4. 결론

본 연구는 사과 잎 추출물의 화장품에 응용하기 위한 소재로서 항염, 항산화 효과를 알아보기 위하여 성분분석과 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 알아보았다. 또한 항산화 활성을 알아보고 자 70% 에탄올을 추출하여 DPPH radical 소거능을 통해 확인하고, 세포 생존율 평가와 항염증 평가를 실시하였다.

그 결과 사과 잎 추출물의 총 폴리페놀 함량은 78.80 ± 0.25 mg(GAE)/g으로 분석 되었으며, 플라보노이드 함량은 65.25 ± 6.62 mg (TAE)/g 로 나타났다. DPPH radical 소거능은 사과 잎 추출물 0.25%에서 $79.8 \pm 0.99\%$, 0.5%에서 $88.13 \pm 0.89\%$, 1%에서 $96.83 \pm 2.00\%$ 로 저농도에서 농도가 증가할수록 항산화 활성이 증가하여 라디칼 소거능도 함께 증가함을 확인하였다. 세포 생존율 평가 결과에서는 최고 농도인 1000 ppm에서 $91.19 \pm 3.49\%$ 의 생존율 평가 결과

80% 이상의 세포 생존율을 관찰하였다. 또한 염증성 질환을 초래하는 NO assay에서 사과 잎 추출농도 250 ppm에서 $26.42 \pm 2.1 \mu\text{M}$, 500 ppm에서 $17.2 \pm 2.5 \mu\text{M}$, 1000 ppm에서 $7.04 \pm 2.4 \mu\text{M}$ 로 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 NO 생성량이 감소하였음을 확인하였다. 사과 잎 추출물의 주요성분을 에탄올 70% 방법으로 추출하여 얻은 시료의 유효성분을 GC-MS로 성분분석결과 산화물질인 catechol (5.65%), 화장품 제조 시 사용 가능한 식물성 소재인 피부 보습제로 사용 가능하며 DL-Gluciol (12.05%), vitamin C인 Ascorbic acid (2.41%) 화합물, Phytol (13.88%), Hexanoic acid (5.47%) 등 항산화 화장품 소재로 활용이 높은 것으로 판단된다.

이를 통해 사과 잎 추출물을 이용한 화장품 소재로서 항산화, 항염, 효과가 있는 안전한 소재로 활용 가능성을 확인할 수 있었다. 부산물을 이용하여 천연 항산화제를 얻을 수 있다면 경제적인 측면에서도 도움이 되며[24], 연구가 계속된다면 천연 기능성 화장품 소재로서의 개발 가치가 높은 것으로 사료된다.

References

1. H. A. Yu, C. D. Kim "Applicability of *Lindera obtusiloba* Flower Extracts as Cosmetic Ingredients". *Asian journal of beauty and cosmetology*, Vol.15, No.2 pp. 132-144, (2017)
2. Y. M. Yun, Y. S. Han, "Effect of Anti-oxidant Activity and the Skin Whitening Action on *Plantago asiatica* L. Root Extract" *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, Vol.29, No.3 pp. 199-204, (2014)
3. D. S. An, S. J. Seo, N. W. Kim, Y. S. Lee, "Anti-aging and Anti-inflammatory Activity of *Rhus javanica* Branches Extracts", *Journal of Investigative Cosmetology*, Vol. 13, No.2 pp. 103-111, (2017)
4. M. K. Kim "Comparison of Antioxidant, Antimicrobial Activity and Anti-inflammatory effects of on Neem (*Azadirachta indica*) Extracts with Different Extraction Methods", *Journal of the Korea Soc. Beauty and Art*, Vol.20, No.3 pp. 265-278, (2019)
5. M. S. Seo, Y.A. J. Jin-T. Lee. "The Study of Cosmeceutical Activities from *Lentinula edodes* extracts and Application a Natural Cosmetic Material", *Journal of Oil & Applied Science*, Vol.35, No.4 pp. 1003-1012, (2018)
6. S. h. Ko, Y. S. Kim, J. H. Lee, I. H. Kim, S. B. Kim, K. B. Noh, S. W. Shin, E. S. Jung, D. H. Park. "Functional Characterization of Callus Extracts of Apple 'Hirosaki' for Cosmetic Materials" *Korean society for biotechnology and bioengineering journal*, Vol.28, No.4 pp. 244-248, (2013)
7. I.R. Kim "Inhibitory Effects of Apple Peel Extract on Inflammatory Enzymes", *Korean journal of food science and technology*, Vol.47. No.4, pp. 534-538, (2015)
8. S. h. Ko, Y. S. Kim, J. H. Lee, I. H. Kim, S. B. Kim, K. B. Roh, S. W. Shin, E.S Jung, D. h. Park. "Functional Characterization of Callus Extracts of Apple 'Hirosaki' for Cosmetic Materials", *Korean society for biotechnology and bioengineering journal*, Vol.28, No.4 pp. 244-248, (2013)
9. www.kcia.or.kr Pyrus Malus (Apple) Leaf Extract CAS NO 85251-63-4
10. S. J. Choi, E.A. Cho, E. H. Cho, Y. J. Jeong, C. S. Ku, B. J. Ha, H. J. Chae, "Screening of Functional Materials from Solvent Fractions of Apple Flower Leaf Extract", *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, Vol.26. No.2 pp. 165-171, (2011)
11. J. A. Park "Antioxidant effects of *Rumex crispus* L. leaf extracts and protective effects on Human HaCaT Keratinocyte", *Journal of the Korea Soc. Beauty and Art*, Vol. 12. No.2 pp.189-198, (2011)
12. S. h. You. J. S. Moon, "A Study on Anti-oxidative, Anti-inflammatory, and Melanin Inhibitory Effects of *Chrysanthemum Sibiricum* Extractv", *Journal of oil &*

- applied science*, Vol.33, No.4 pp. 762-770, (2016)
13. J. Kim, J. G. Park, C. M. Lee, S. G. Kim. "Effect of the Pine Cone Extract Phytochemical and Physiological activity on HaCaT Cells", *Asian journal of beauty and cosmetology*, Vol.17, No.3 pp. 353-363, (2019)
 14. J. S. Park, I. h. Han. "Effect of Extraction Solvent on the Physiological Properties of Korean Pear Peel (Pyrus pyrifolia cv. Niitaka)", *Korean Society of Food Science and Technology*, Vol.47, No.2, pp. 254-260, (2015)
 15. K. S. Ko, "A Study on the Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Scutellaria baicalensis Extracts", *Journal of the Korea Soc Beauty and Art*, Vol.14, No.2 pp. 233-249, (2013)
 16. I. R. Kim, "Inhibitory Effects of Apple Peel Extract on Inflammatory Enzymes", *Korean journal of food science and technology*, Vol.47, No.4, pp. 534-538, (2015)
 17. K. S. Ko. "A Study on Antioxidant Effect of Methanol Extract from Viola Mandshurica", *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, Vol.18, No.5 pp. 1082-1086, (2012)
 18. S. h. You, J. S. Moon, "A Study on Anti-oxidative, Anti-inflammatory, and Melanin Inhibitory Effects of Chrysanthemum Sibiricum Extract", *Journal of oil & applied science*, Vol.33, No.4, pp. 762-770, (2016)
 19. K. S. Ko. "A Study on the Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Scutellaria baicalensis Extracts", *Journal of the Korea Soc. Beauty and Art*, Vol.14, No.2 pp. 233-249, (2013)
 20. S. J. Choi¹, E. A. Cho, E. H. Cho¹, Y. J. Jeong, C. S. Ku, B. J. Ha, H. J. Chae, "Screening of Functional Materials from Solvent Fractions of Apple Flower Leaf Extract", *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, Vol.26, No.2 pp. 165-171, (2011)
 21. I. R. Kim, "Inhibitory Effects of Apple Peel Extract on Inflammatory Enzymes", *Korean journal of food science and technology*. Vol.47 No. 4, pp. 534-538, (2015)
 22. N. Y. Kim, J. H. Kim, G. P. Choi, H. Y. Lee, "Comparison of Anti-Skin Wrinkle Activities of Aronia melanocarpa Extracts by Extraction Methods", *Korean Jnalour of Medicinal Crop Science*, Vol.22, No.3 pp. 217 - 222, (2014)
 23. H. D. Kwon, J. H. Park, J. Park, K. S. Cha, W. K. Lee, S. T. Ha, "Antitumor Activity and Substantial Identification of the Solvent Extracts from pulsatilla koreana, clematis florida and ulmus davidiana", *Pusan. Institute Health & Environ.* Vol.7, pp. 56-73, (1997)
 24. M. J. Kim, Y. G. Kim, H. S. Kim, C. Cheong, K. H. Jang, S. A. Kang, "Effects of Antioxidant Activities in Ethanol Extract of Apple Peel, Grape Peel, and Sweet Potato Peel as Natural Antioxidant", *Journal of the Korea Academia-Industrial*, Vol.15, No.6 pp. 3766-3773, (2014)