

유자과즙 추출물의 생리활성 및 항균활성에 관한 연구

이송희¹, 이무성^{2*}

¹전남대학교 대학원 향장품학협동과정, ²전남대학교 응용화학공학부

The Study of Physiological and Antimicrobial Activities on the *Citrus Junos* Extracts with its Textures and Skin

Song Hee Lee¹, Moo Sung Lee^{2*}

¹Interdisciplinary Program of Perfume and Cosmetics, Graduate School of Chonnam National University

²Faculty of Applied Chemical Engineering, Chonnam National University

요약 본 연구는 유자의 과즙을 50°C의 열수 추출물과 70%에탄올 추출물을 이용하여 항산화 효능과 항균효과를 2016년 11월부터 2017년 3월까지 실험하여 분석하였다. 실험결과는 모두 3회 반복 측정하여 평균값(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었다. 연구 결과 총 polyphenol과 Tannin함량은 70%에탄올 추출물에서 7.8±0.02 mgGAE/g, 9.9±0.01 mgTAE/g으로 열수 추출물보다 높은 함유량을 나타냈으며, DPPH radical의 소거능과 ABTS radical 소거능역시 70% 에탄올 추출물에서 농도가 10000 ppm일 때 각각 46.1±4.76%, 37.1±1.23%로 열수 추출물보다 높게 나타났다. 항균효과에서는 *C. albicans*를 제외하고 모든 균에서 항균활성을 나타내었으며, 농도 25 mg/disc에서 *E. coli*는 50°C 열수추출물에서 18±1.73 mm, *S. epidermidis*와 *S. aureus*는 70% 에탄올 추출물 에서 17±4.36 mm, 19±2.86 mm로 열수추출물과 에탄올 추출물 모두 높은 항균력이 있음을 확인 하였다. 이와 같은 결과로 보았을 때 유자과즙추출물을 이용하여 비누, 샴푸 또는 두피개선제등 미용 또는 피부 관련 향장소재로서 활용할 수 있는 기초자료로서 충분한 가치가 있을 것으로 판단된다.

Abstract This study analyzed the antioxidant activities and antibacterial effects of extracts from the fruit of *Citrus junos*. The extracts were obtained in both 70% ethanol solution and distilled water at a distillation temperature of 50°C. Three experiments were carried out between November 2016 and March 2017. The averages and the standard deviations of the results were measured. The total polyphenol and tannin contents of the ethanol extracts were 7.8±0.02 mgGAE/g and 9.9±0.01 mgTAE/g, respectively, which were higher than the concentrations in the water extracts. Furthermore, the ethanol extracts scavenged 46.1±4.76% of DPPH radicals and 37.1±1.23% of ABTS radicals. The scavenging capability of the ethanol extracts was also higher than that of the water extracts. However, the scavenging capability of both types of extracts depended on their concentrations. All the extracts showed active antibiosis effects against every bacteria tested except for *C. albicans*. *E. coli* at 25 mg/disc showed antibiosis with 18±1.73 mm for the water extracts, while *S. epidermidis* and *S. aureus* showed antibiosis with 17±4.36 mm and 19±2.86 mm for the ethanol extracts, respectively. This antibiosis rate is considerably higher. The results suggest that fruit extract from *Citrus junos* could be useful as a primary material for beauty or skin-related products such as soaps, shampoos, and scalp enhancers.

Keywords : Antioxidant, Antimicrobial, *Citrus Junos*, DPPH radical, Polyphenol,

*Corresponding Author : Moo-Sung Lee(Chonnam Univ.)
Tel: +82-62-530-1776 email: moosung@jnu.ac.kr

Received March 16, 2017
Accepted April 7, 2017

Revised (1st April 3, 2017, 2nd April 6, 2017)
Published April 30, 2017

1. 서론

유자(*Citrus Junos* SIEB ex TANAKA)는 향이 강하고 신맛이 강해 주로 당절임 후 유자청으로 담아 차의 형태로 많이 이용되고 있다. 대부분의 감귤류가 주로 과육만 이용되고 있는 반면 유자는 과육과 과피를 모두 활용하는 과일이며, 유자청으로 담아 숙성시킨 후에는 과피를 함께 섭취할 수 있어 특히 과피에 다량 함유된 유효성분을 모두 섭취할 수 있다는 장점을 가지고 있다[1].

우리나라에서는 유자를 예로부터 된장이나 고추장 같은 장류에 활용하거나 양갱과 같은 형태로 활용하여 섭취하였고, 기침이나 거담등 약용으로, 화장품의 향료 등 여러 방면으로 활용해 왔다. 유자는 레몬에 비해 비타민 C의 함량이 3배나 높고, 비타민 B복합체, 카로틴, 헤스페리딘, 구연산등의 성분을 다량 함유하고 있으며 모세혈관을 튼튼히 하고, 혈액순환을 도우며, 염증완화에도 효과가 있어 감기예방과 피부미용에도 효과적이다[2]. 그러나 과일의 영양 성분 중에 특히 비타민 C와 E가 여러 질병 예방에 도움을 주는 것으로 알려져 왔으나 최근에는 비타민뿐만 아니라 과일의 다량 포함된 polyphenol, flavonoid 성분 역시 항산화 역할을 함으로써 질병 예방에 효과적이라는 논문들이 발표되고 있다[3]. 이처럼 유자에 함유된 특수성분인 flavonoid 화합물, limonoid 류, carotenoid와 같은 색소성분, 식이섬유 그리고 정유성분 등 다양한 기능성 성분들은 건강에 관심이 높은 현대인에게 선호도가 높을 뿐만 아니라 이와 관련한 학계의 연구 또한 다양하게 진행되고 있다[2]. 최근 국내 연구동향을 보면 유자, 탱자과피의 추출물에 대한 항당뇨[4]반응 표면분석의 유자씨의 에탄올추출물 항산화 효과[5], 산지에 따른 유자 수확시기별 플라보노이드와 항산화 효과 비교[6], 유자즙의 첨가량에 따른 마요네즈의 저장중의 품질특성[7], 미성숙 감귤 과피 초임계 추출물의 성분 분석과 자궁암세포 성장억제효능[8]등의 연구들이 이루어지고 있다.

따라서 본 연구에서는 유자과즙을 이용하여 50℃의 열수추출물과 70% 에탄올추출물을 가지고 항산화 활성을 비교하여 평가하고 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 에 대한 항균 효과와 *Candida albicans*의 항진균 효과를 연구하여 이 추출물을 이용하여 천연제품으로의 활용 가능성과 향장소재로서의 적합성에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 실험방법

2.1 기기, 시약 및 균주

항산화활성을 위해 실험에 사용된 기기는 항온기 Water Bath[Lab Companion(BW -10H)], 교반기[Lab Companion(BW-10H)], 감압농축기 Rotary evaporator (EYELA- JAPAN), 동결건조기(Ilshin Lab, Freeze dryer with shell Freezer), 흡광도를 측정하기 위하여 ELISA reader(BioTek, ELx808, USA)를 사용하였다. 항균실험에 사용된 기구 및 기기는 무균작업대(HB-402, Hanbaek, Korea)와 배양기(Forma Scientific Co. USA), 고압멸균기(AC-01, Lap Companion)와 시험관혼합기(vortex mixer (VM-96B, Jeio Tech. Co. Ltd), 가열교반기(MS300HS, Misung), petri-dish는 직경 9 mm, 높이 1.5 cm를 사용하였으며, paper disc(Φ 8 mm, Advantec, Japan)를 사용하였고 digital counter(KT0074A, Kartech, Korea)를 이용하여 균 수를 측정하는데 사용 하였다.

항산화활성을 측정하기 위해 사용된 시약은 gallic acid와 Foline-ciocalteu's phenol reagent, L-ascorbic acid, DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)diammonium salt는 Sigma-Aldric(St. Louis, Mo., U.S.A)에서 구입 후 사용하였으며, butylated hydroxytoluene, tannin, sodium carbonate, potassium persulfate등은 Duksan pure chemicals의 시약으로 사용 하였다.

2.2 시료 제조

유자는 2016년 11월 20일 전남 고흥군 도덕면의 현 준농원에서 구입하였으며 추출물을 제조하는 방법은 Fig. 1과 같이 나타났다. 유자는 깨끗하게 씻어서 잘라 씨만 빼고 얇게 슬라이스 하여 식품건조기 리캡(LD-9188H, Korea)을 이용하여 50℃에서 10~14시간 건조하여 사용하였다. 건조한 시료 100 g에 10배의 증류수 1000 mL를 넣어 항온기에서 50℃로 5시간동안 추출하여 열수 추출물을 만들고 70% 에탄올을 이용한 추출물은 실온(25℃)에서 72시간동안 추출한 다음 감압 농축 후 동결건조 하여 분말로 만들어서 사용하였다.

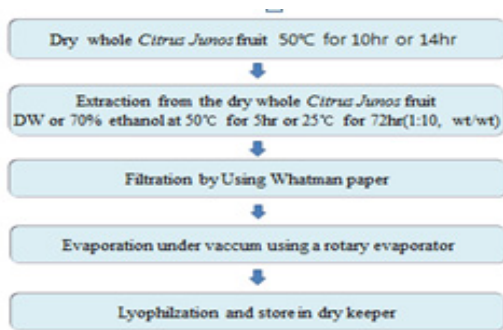


Fig. 1. The Scheme for Completion of the Extracts from *Citrus Junos* fruit in distilled water (DW) or in 70% of ethanol solution.

2.3 총 폴리페놀 함량

총 polyphenol 함량으로는 Folin-Denis 방법[9]을 변형하여 각 추출물 1 mL에 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 시약을 1 mL를 넣은 후 5~7분 방치 후 10% Sodium carbonate 용액 100 μ L를 혼합하여 실온에서 1 시간 동안 방치 후 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 700 nm에서 흡광도로 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하여 얻은 검량선을 이용하여 총 polyphenol 함량을 계산하였고, mgGAE/g(GAE: Gallic acid equivalent)로 나타냈으며 각 추출물에 대해 3회씩 반복 측정 후 평균값으로 평가하였다[10].

2.4 총 탄닌 함량

총 Tannin 함량 또한 Folin-Denis 법[9]을 변형하여 각 추출물 50 μ L에 Folin-Ciocalteu's phenol Reagent 시약 50 μ L를 넣은 다음 5 ~ 8분간 방치한 다음 10% Sodium carbonate 용액을 50 μ L를 혼합한 다음 실온에서 60분 동안 방치한 다음 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 Tannin acid를 사용하여 측정 후 얻은 검량선을 이용하여 Tannin acid 함량을 계산하여 mgTAE/g(TAE: Tannin acid equivalent)로 나타내었으며 각 추출물에 대하여 3회씩 반복 측정 후 평균값을 가지고 평가하였다[10].

2.5 DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능은 Blois 방법[11]의 일부를 변형하여 보라색의 DPPH radical이 시료에 있는 항산화성분

으로 인해 색이 달라지는 원리를 적용하여 측정 하였다 [12]. 각 추출물을 이용하여 증류수에 녹인 다음 각 농도를 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm으로 준비하고 0.2 mM DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)를 ethanol에 녹인 용액을 준비 하였다. 각각의 농도별 시료 20 μ L에 DPPH 용액을 180 μ L를 혼합하여 상온에서 빛을 차단한 후 30분간 방치한 다음 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정 하여 DPPH radical 소거능을 계산하였다. 대조군으로는 L-ascorbic acid와 Butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하였으며, 시료 무 첨가군과 비교해서 계산하여 얻은 값을 백분율(%)로 나타내었다. DPPH radical 소거활성이 50%가 감소할 때의 농도를 IC₅₀으로 표시 하였으며, 각 시료에 대해 3회 반복 측정하여 평균값으로 표기하였다[12].

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{(1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{시료 무첨가군의 흡광도}) \times 100}{}$$

2.6 ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical 소거능은 Vanden Berg[13]등의 방법을 일부 변형한 후 측정하였다. 7.4mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)diammonium salt와 2.45mM potassium persulfate를 용해하여 실온의 암소에서 1일 동안 보관하여 ABTS cation radical을 형성시킨 용액을 734 nm에서 흡광도 값 1.45 \pm 1.5가 될 수 있도록 희석하여 사용하였다. 각 추출물의 농도를 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm으로 준비한 시료 10 μ L에 ABTS 용액을 190 μ L를 혼합 후 실온에서 빛을 차단하고 30분간 반응시켜 ELISA reader(Biotek. ELx808)를 이용해서 700 nm에서 흡광도를 이용하여 ABTS의 cation radical 소거활성을 측정하였다. 대조군으로 L-ascorbic acid와 Butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하여 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 얻은 값을 백분율(%)로 나타내었다. ABTS radical의 소거율 50%가 감소할 때 나타내는 농도를 IC₅₀으로 표시 하였으며 각 시료에 대해 3회 반복 측정된 값을 평균값으로 표기하였다[6].

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{(1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{시료 무첨가군의 흡광도}) \times 100}{}$$

2.7 항균활성 측정

S. aureus, *S. epidermidis*, *E. coli*, *C. albicans* 균주는 모두 1×10^7 mCFU/mL가 되도록 농도를 조절 하여 사용하였으며 이를 agar plate위에 50 μ l를 분주하여 도말한 후 50 mg/mL~500 mg/mL의 농도별 추출물을 주입한 paper disc를 배지 표면위에 올려 배양기(Forma Scientific Co. USA)에서 24시간동안 배양 후 측정하였으며, 대조군으로는 추출물을 녹인 용매 때문에 나타난 항균력이 아니라는 것을 증명하기 위하여 추출물의 용매인 증류수(D.W.)를 사용하여 비교 하였으며 positive control로는 Gentamycin(gibco by Life Technologies)을 사용하였다. 항균효과는 paper disc(8 mm)를 포함한 clear zone(생육저해환)의 지름을 측정하여 나타내었으며, 각 시료에 대하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다[14].

2.8 자료 분석

본 연구의 실험 결과는 모두 3회 반복 측정하여 평균값(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였다.

3. 연구 결과 및 고찰

3.1 항산화 활성

3.1.1 총 폴리페놀과 탄닌 함량

Folin-reagent가 추출물에 들어 있는 polyphenol 성분 에 의해 몰리브덴 청색으로 환원되는 원리를 이용한 실험 결과 총 polyphenol 함량과 Tannin 함량을 Table 1 과 같이 나타내었다. 50℃열수 추출물에서는 4.0±0.01 mgGAE/g, 70% 에탄올 추출물의 경우는 7.8±0.02 mgGAE/g으로 에탄올 추출물에서 더 많은 함량으로 나타난 것을 알 수 있었다. Moon등[6]의 연구에서는 유자 과즙 99.5% 에탄올 추출물에서 1.45±0.01 mg · g^{-1F-W}의 함량으로 본 연구에서 좀 더 많이 나왔음을 알 수 있었다. 그리고 Yoo등[15]의 연구에서 유자 과피의 페놀 함량이 231.5~294.4 mg/100g(2.315~2.944 mg/g)으로 나온 것과 비교 하였을 때 유자 과즙에서 더 많은 함량이 나온 것을 알 수 있었다. Tannin 함량 역시 총 polyphenol 함량과 마찬가지로 열수 추출물에서 4.2±0.00 mgTAE/g, 70% 에탄올 추출물에서 9.9±0.01

mgTAE/g으로 에탄올 추출물에서 더 많이 나왔으며 polyphenol함량보다 더 높게 나왔음을 알 수 있었다.

Table 1. Total phenolic contents, total tannin acid contents of *Citrus junos* Fruit extracts and presented as mean±S.D.

Groups	Polyphenol (mgGAE/g)*	Tannin acid (mgTAE/g)*
<i>Citrus junos</i> Fruit 50°C water extracts	4.0±0.01	6.1±0.00
<i>Citrus junos</i> Fruit 70% ethanol extracts	7.8±0.02	9.9±0.01

*mgGAE/g; GAE: Gallic acid equivalent

*mgTAE/g; TAE: Tannin acid equivalent

3.1.2 DPPH radical 소거능

유자과즙의 열수 추출물과 에탄올 추출물 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm의 농도로 하여 DPPH free radical의 소거활성을 측정 한 결과는 Fig. 1과 Table 2와 같다. Fig. 1에서 유자과즙의 추출물별 변화에서는 모두 농도 의존적으로 소거활성이 증가하였으며 70%에탄올 추출물에서 가장 높은 증가를 볼 수 있었다. Table 2에서 L-ascorbic acid는 IC₅₀값 66 ppm에서 50% 이상 소거율을 보였으며 500 ppm에서 78.4±0.35%의 소거율을 보인 다음 농도가 증가함에 따른 변화는 나타나지 않았다. BHT 역시 IC₅₀값이 232 ppm 이었으며 농도가 1000 ppm에서 63.4%의 소거율을 나타낸 후 큰 변화는 나타나지 않았다. 유자과즙의 열수추출물과 에탄올 추출물에서는 에탄올 추출물이 실험한 농도 내에서는 IC₅₀ 값이 나타나지는 않았으나 에탄올 추출물에서 10000 ppm에서 46.1±4.76(%)으로 나왔다. Jeon[16]등의 연구의 탱자 에탄올 추출물에서 80.0% 내외의 DPPH radical 소거능을 보인 것과 비교하였을 때는 낮은 소거율을 보였으나 농도가 증가함에 따라 소거활성이 증가함을 알 수 있었다. 그러나 Park[4]의 연구에서 유자 과피 80% 에탄올 추출물의 50 μ g/ml에서 53%의 활성을 보인 것으로 보았을 때 유자의 과피와 과육을 포함한 본 연구에서 보다 과피 에서 더 소거활성이 높다는 것을 예측할 수 있었다.

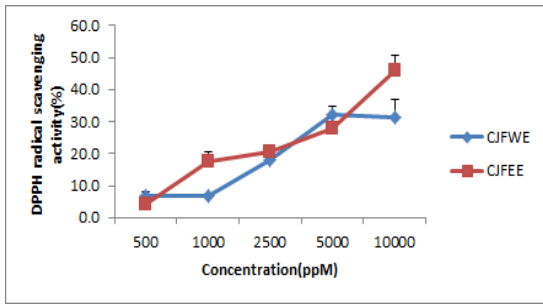


Fig. 2. DPPH free radical scavenging effect of extracts from *Citrus junos* Fruit and presented as mean±S.D. BHT; Butylated hydroxytoluene C.JFWE, *Citrus junos* Fruit 50°C water extracts; C.JFEE; *Citrus junos* Fruit 70% ethanol extracts.

Table 2. DPPH radical scavenging activity of extracts from *Citrus junos* Fruit and presented as mean±S.D.(%)

Cone(ppm)	500	1000	2500	5000	10000	IC ₅₀ [*] (ppm)
L-ascorbic acid	78.4 ±0.35	78.6 ±0.18	79.1 ±0.00	78.4 ±0.35	78.0 ±0.18	66
BHT [*]	60.01 ±0.61	63.4 ±1.86	62.6 ±1.56	61.3 ±0.61	60.3 ±0.17	232
C.JFWE [*]	6.7 ±1.53	6.8 ±0.35	17.9 ±0.47	32.0 ±2.90	31.5 ±5.54	
C.JFEE [*]	4.0 ±0.64	17.7 ±2.66	20.7 ±0.71	28.0 ±0.77	46.1 ±4.76	

^{*}BHT; Butylated hydroxytoluene
^{*}C.J.FWE, *Citrus junos* Fruit 50°C water extracts;
^{*}C.JFEE; *Citrus junos* Fruit 70% ethanol extracts.
^{*}IC₅₀; The values indicate 50% decrease of DPPH radical

3.1.3 ABTS radical 소거능

본 연구의 유자 과즙 열수 추출물과 에탄올추출물을 500, 1000, 2500, 5000, 10000 ppm의 농도로 ABTS radical의 소거활성을 측정된 결과를 Fig. 2와 Table 3에 나타내었다. Fig. 2와 같이 농도가 증가함에 따라 증가함을 알 수 있었으며, 특히 에탄올 추출물에서 더 높은 소거활성을 볼 수 있었다. 그리고 Table 3에서 L-ascorbic acid는 181 ppm에서 50% 이상의 소거율을 보였으며 500 ppm에서 94.9±0.14% 이상의 소거율을 보였으며 BHT의 경우는 110 ppm에서 50%이상의 소거율을 나타내었다. BHT는 1000 ppm에서 92.8±1.35%의 최대 소거율을 보인다음 농도 증가에 따라 소거활성이 떨어지는 것을 알 수 있다. 유자과즙의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서는 실험한 농도 내에서는 IC₅₀값은 나타나지 않았지만 점점 농도가 증가함에 따른 소거활성이 나타난 것을 알 수 있다. 그러나 Shin[17]의 유자 과피의 열수추

출물의 10000 µg/ml에서 82.96±0.51로 나온 것으로 보았을 때 DPPH와 마찬가지로 유자 과피 에서 더 소거 활성이 높다는 것을 알 수 있는 반면 폴리페놀 함량에서 비교 하였을 때는 과피 보다 과즙에서 더 높은 함량이 나온 것으로 보았을 때 radical을 소거하는 특정 성분이 과피에 함유되어 있기 때문으로 추측해볼 수 있다.

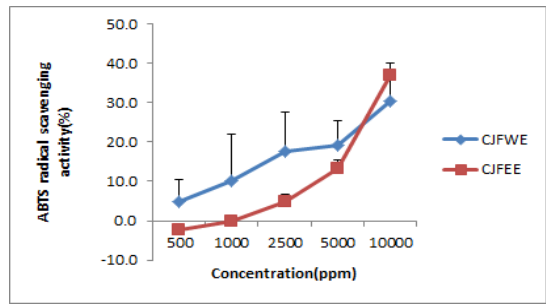


Fig. 3. ABTS cation radical scavenging effect of extracts from *Citrus junos* Fruit and presented as mean±S.D. BHT; Butylated hydroxytoluene C.JFWE, *Citrus junos* Fruit 50°C water extracts; C.JFEE; *Citrus junos* Fruit 70% ethanol extracts.

Table 3. ABTS radical scavenging activity of extracts from *Citrus junos* Fruit and presented as mean±S.D.(%)

Cone(ppm)	500	1000	2500	5000	10000	IC ₅₀ [*] (ppm)
L-ascorbic acid	94.9 ±0.14	94.7 ±0.16	95.1 ±0.00	95.1 ±0.00	95.0 ±0.08	181
BHT [*]	94.0 ±0.46	92.8 ±1.35	83.2 ±2.39	53.7 ±8.85	51.2 ±8.31	110
C.JFWE [*]	4.7 ±5.66	10.1 ±11.88	17.7 ±9.84	19.4 ±5.98	30.4 ±9.66	
C.JFEE [*]	-2.2 ±0.65	-0.1 ±0.43	4.7 ±2.00	13.3 ±2.08	37.1 ±1.23	

^{*}BHT; Butylated hydroxytoluene
^{*}C.J.FWE, *Citrus junos* Fruit 50°C water extracts;
^{*}C.JFEE; *Citrus junos* Fruit 70% ethanol extracts.
^{*}IC₅₀; The values indicate 50% decrease of DPPH radical

3.2 항균 활성 평가

항색포도상 구균으로 피부의 모공이나 땀샘등이 막혀 감염이나 상처에 화농성을 염증을 일으키는 대표적인 균주인 *S. aureus*와 표피의 포도상 구균으로 특히 아토피가 있는 사람 중 90%에서 발견되는 *S. epidermidis*균주[18], 그리고 항균제에는 내성을 가지고 있는[19] *E. coli*와 항생제에 내성균주로 알려진[20] *C. albicans*균주를 이용하여 측정 하였다. 유자과즙의 각 추출물에 대한 항균효과는

paper disc diffusion법을 이용하여 paper disc(8 mm)를 포함한 clear zone(생육저해환)의 지름을 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 유자과즙의 열수 추출과 에탄올 추출물의 25 mg/disc 농도에서 *S. aureus*는 13.00±0.00 mm, 17±4.36 mm의 clear zone을 형성하였으며, *S. epidermidis*는 18±3.54 mm, 19±2.83 mm의 clear zone을 형성하였다. 그리고 *E. coli*에서는 18±1.73 mm, 14±2.3의 clear zone을 형성하였으며 모두 높은 항균 효과를 나타내었다. 그러나 양성대조군과 마찬가지로 열수 추출물과 에탄올 추출물모두 *C. albicans*에 대한 항진균효과는 전혀 나타나지 않음을 알 수 있었다.

추출물의 용매인 증류수(D.W.)에서는 아무런 반응이 일어나지 않았음을 확인하였을 때 유자 과즙의 항균효과는 증류수 때문이 아니라는 것을 확인하였으며, positive control인 Gentamycin은 강력한 항생물질로 알려져 있어 추출물과 같은 항균효과를 나타내는 농도를 실험을 통하여 Table 5에 나타내었다. Table 5에서와 같이 Gentamycin은 0.005 mg/disc와 0.05 mg/disc의 농도에서 비슷한 clear zone을 형성하였으며, *C. albicans*를 제외한 모든 균주에서 강한 항균력을 나타내었다. 따라서, 유자과즙 추출물은 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*에서 강한 항균력이 있음을 확인 하였다.

Table 4. Clear zone of *Citrus junos* Fruit extracts against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Candida. albians* and presented as mean±S.D.

Sample	Concentration (mg/disc)*	D.W.*	C.J.F. [†]	C.J.F. [†]
			50°C WE*	70% EE*
<i>S. aureus</i> Clear zone (mm)	7.5	-	-	8.5±0.71
	15	-	10±0.58	9±1.00
	20	-	12±0.58	10±0.58
	25	-	13±0.00	17±4.36
<i>S. epidermidis</i> Clear zone (mm)	2.5	-	-	8.5±0.00
	5	-	10±0.00	11±0.00
	7.5	-	11±2.52	12±3.06
	15	-	14±2.52	15±2.08
<i>E. coli</i> Clear zone (mm)	20	-	16±2.08	17±2.52
	25	-	18±3.54	19±2.83
	5	-	10±1.76	9.5±0.71
	7.5	-	12±3.33	10.5±0.71
<i>C. albicans</i> Clear zone (mm)	15	-	14±2.08	13±1.41
	20	-	15±1.00	14±1.41
	25	-	18±1.73	14.3±2.3
	7.5	-	-	-

* -: No Inhibition
* parer disc: 8mm
* WE.; water extracts.
* D.W.; distilled water
* C.J.F.; *Citrus junos* Fruit
* EE.; ethanol extracts.

Table 5. Clear zone of Gentamycin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Candida. albians* and presented as mean±S.D.

Concentration	S. A.*	S. E.*	E. C.*	C. A.*
0.005 mg/disc*	10.3±0.56	11.3±0.58	9±0.00	-*
0.05 mg/disc	18.7±0.56	19.7±0.58	15.5±0.71	-*

*S. A.; *Staphylococcus aureus*
*S. E.; *Staphylococcus epidermis*
*E. C.; *Escherichia coli*
*C. A; *Candida albicans*
*parer disc : 8mm parer disc : 8mm
* -: No Inhibition

4. 결론

본 연구는 유자의 과피와 과즙을 포함한 유자과즙을 이용하여 2016년 11월부터 2017년 3월 22일까지 실험을 통해 50°C 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물을 이용하여 비교 분석하였다. 실험결과 총 polyphenol과 Tannin함량은 열수 추출물보다 에탄올 추출물에서 더 높게 나왔으며, 에탄올 추출물에서 각각 7.8±0.02 mgGAE/g, 9.9±0.01 mgTAE/g으로 Tannin함량이 더 높게 나왔음을 알 수 있었다. DPPH free radical 소거능과 ABTS cation radical 소거활성에서 역시 에탄올 추출물에서 더 높게 나왔으며 L-ascorbic acid와 BHT 처럼 IC₅₀ 값에는 도달하지 못하였지만 농도가 높아짐에 따라 소거활성이 높아지는 것을 알 수 있었다.

항균활성을 실험한 결과로는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *C. albians* 균주에 대하여 paper disc diffusion assay에 의한 항균효과에서 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 *C. albians* 균주에서 항진균효과는 전혀 나타나지 않았으나 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*에서는 모두 뛰어난 항균 효과가 나타났으며 특히 *S. epidermidis*에서는 더 높은 항균효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 강력한 항생물질로 알려진 Gentamycin 역시 항생제에 내성이 강한 *C. albians*에서는 항진균 효과가 전혀 나타나지 않았으며, Gentamycin과 비교할 수는 없겠지만 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*에서는 모두 농도에 따른 항균효과는 확실하게 나타났다.

결과적으로 유자 과즙은 에탄올 추출물에서 항산화활성이 더 높게 나타났다. 항균활성에서는 *S. aureus*, *S.*

epidermidis 균주는 에탄올 추출물이 더 효과가 높게 나타났다으며, *E. coli* 에서는 열수 추출물에서 더 높은 항균 활성을 보였다. 이러한 결과를 이용하여 항산화제로서 향장소재 및 합성보존제 대신 보조적으로 활용할 수 있으며 향후 삼푸, 두피개선제 및 두피미스트 등의 미용소재로서도 활용할 수 있는 기초자료로서 활용 가치가 있을 것으로 사료되어진다.

References

- [1] H. S. Yang, "The fermentation characteristics and sensory characteristics of Makgeolli added with different kinds of Citron(*Citrus junos* SIEB ex TANAKA)", Chonnam National University master's thesis, 2011.
- [2] O. C. Kwon, "Quality Characteristics of Traditional Doenjang Prepared with *Citrus junos* SIEB ex TANAKA Juice", Kyonggi National University doctoral dissertation, 2005.
- [3] K. M. Yoo, I. K. Hwang, "In Vitro Effect of Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) Extracts on Proliferation of Human Prostate Cancer Cells and Antioxidant Activity", Korean J. Food sci. Technol 36, pp. 339-344, 2004.
- [4] J. H. Park, "Anti-diabetic and Anticancer effects of Peel of *Citrus junos* and *Poncirus trifoliata*", Graduate school, Dong-Eui National University doctoral dissertation, 2008.
- [5] K. S. Woo, J. Y. Jeong, I. G. Hwang, Y. J. Lee, Y. R. Lee, H. J. Park, E. S. Park, H. S. Jeong, "Antioxidant Activity of Ethanol Extraction on Citron Seed by Response Surface Methodology", J. Korean Soc. Food Sci. Nutr, vol. 38, no. 3, pp. 384-390, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.3.384>
- [6] S. H. Moon, A. D. Assefa, E. Y. Ko, S. W. Park, "Comparison of Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Yuzu(*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) Based on Harvest Time", Korean J. Horticultural Sci. & Technol, vol. 33, no. 2, 4, pp. 283-291 2015.
- [7] K. M. Kim, J. E. Lee, J. S. Kim, S. Y. Choi, Y. E. Jang, "Quality characteristics of mayonnaise with varied amounts of yuzu, juice added during the storage period", Korean J. Food Preserv, vol. 21, no. 6, pp. 799-807, 2014. DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2014.21.6.799>
- [8] J. Y. Moon, Y. W. Song, H. B. Hyun, S. K. Cho, "Chemical Composition and Antiproliferative Activity of Supercritical Extract of Immature *Citrus* Peel in human cervical carcinoma HeLa cells", J. Kor. Acad-Ind. Coop. Soc, vol. 16, no. 12, pp. 8836-8843, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2015.16.12.8836>
- [9] Otto. Folin, w. Denis, "On phosphotungsticphospho molybdc compounds as color reagent", J. Biol. chem 12, pp. 239-243, 1912.
- [10] W. Y. Song, S. J. Byeon, J. H. Choi, "Anti-oxidative and Anti-inflammatory Activities of *Sasa borealis* Extracts", J. Agriculture & Life Sci, vol. 49, no. 3, pp. 145-154, 2015. DOI: <https://doi.org/10.14397/jals.2015.49.3.145>
- [11] M. S. Blois, "Antioxidant determination by the use of a stable free radical", Nature, 26, pp. 1199-1200, 1958. DOI: <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- [12] H. S. Park, "Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Sasa-quelpaertensis* Extracts", Seoul National University master's thesis, 2013.
- [13] B. R. Venden, G. R. haenen, Van de Berg H, Bast A. "Applicability of an improved trolox equivalent anti-oxidant capacity(TEAC) assay for evaluation of anti-capacity measurements of mixture", Food Chem, 66, pp. 511-517, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00089-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00089-8)
- [14] Y. J. Hyun, Y. L. Byeon, "Experimens in Applied Microbiology", p. 269, Hyoibooks 2007.
- [15] K. M. Yoo, J. B. Park, K. S. Seoung, D. Y. Kim, I. K. Hwang, "Antioxidant Activities and Anticancer Effects of Yuza (*Cirtus Junos*)", Food Sci. Industry vol. 38, no. 4, pp. 72-77, 2005.
- [16] R. H. Jeon, H. J. Choi, S. J. Moon, M. S. Na, "The effects of antioxidant and antimicrobial activity with *poncirus trifoliata* ethanol extracts during growth", J. Korean Soc. Cosm. 16, pp. 1225-1230, 2010.
- [17] J. H. Shin, S. J. Lee, J. K. Seo, E. W. Cheon, N. J. Sung, "Antioxidant Activity of Hot-Water Extract from Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) Peel", J. Life Sci, vol. 18, no. 12, pp. 1745-1751, 2008. DOI: <https://doi.org/10.5352/JLS.2008.18.12.1745>
- [18] Y. S. Kim, Y. H. Yoon, H. S. Lee, and K. Y. Kim, "Investigation of Antibacterial Activities of *Smilax china* Folium Extracts and Fractions against Cutaneous Microorganims as a Natural Cosmetics Material", J. Kor. Soc. Cosm, vol. 19, no. 3, pp. 557-564, 2013.
- [19] J. I. Han, H. H. Sung, C. E. Park, "Study on Convergence Technique Using the Antimicrobial Resistance and Virulence Genes Analysis in *Escherichia coli*", J. Korea Convergence Soci, vol. 6, no. 5, 77-84, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15207/JKCS.2015.6.5.077>
- [20] S. M. Ahn, H. Y. Ryu, D. K. Kang, I. C. Jung, and H. Y. Sohn, "Antimicrobial and Antioxidant activity of the Fruit of *Prunus avium* L. Ahn", Kor. J. Microbiol. Biotechnol, vol. 37, no. 4, pp. 371-376, 2009.

이 송 희(Song-Hee Lee)

[정회원]



- 2011년 8월 : 호남대학교 미용교육 대학원 (미용교육학 석사)
- 2016년 2월 : 전남대학교 일반대학원 향장품학협동과정 박사 수료
- 2013년 10월 : 미용기능장
- 2014년 8월 ~ 현재 : 송희뷰티랜드 원장
- 2015년 3월 ~ 현재 : 무안초당대학교 외래 강사

<관심분야>

헤어미용, 두피, 향장소재

이 무 성(Moo-Sung Lee)

[정회원]



- 1986년 2월 : 서울대학교 섬유공학과 (공학학사)
- 1991년 8월 : 서울대학교 대학원 섬유공학과 (공학박사)
- 1995년 12월 ~ 1997년 8월 : 미국 미네소타주립대 화학공학과 Post-doc
- 1992년 8월 ~ 현재 : 전남대학교 화학공학부 교수

<관심분야>

분해성 고분자재료, 고기능 생활성물질
