creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

博士學位論文

초피 등 제주 식물 에센셜 오일의 화학조성 및 생물활성 연구

濟州大學校 大學院

化 學 科

金 泉 奭

2013 年 8月

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

초피 등 제주 식물 에센셜 오일의 화학조성 및 생물활성 연구

指導敎授 李 璿 柱

金 泉 奭

이 論文을 理學 博士學位 論文으로 提出함

2013年 8月

金泉奭의 理學 博士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ ㊞

委 員 _____ ㊞

委 員 _____ ㊞

委 員 _____ ㊞

委 員 _____ ㊞

濟州大學校 大學院

2013年 8月

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

The Chemical Composition And Biological Activities of The Essential Oils Extracted from *Zanthoxylum piperitum* And Other Jeju plants

Chunsuk Kim
(Supervised by Professor Sunjoo Lee)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Science

2013. 8.

This thesis has been examined and approved.

Committee Chairman.....

Committee Member.....

Committee Member.....

Committee Member.....

Committee Member.....

.....
Date

Department of Chemistry

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

목 차

List of Schemes ····· vii

List of Tables ····· viii

List of Figures ····· xi

List of Abbreviations ····· xv

Abstracts ····· xiv

Ⅰ. 서론 ····· 1

1. 천연물 이용현황 ····· 1

2. 국내·외 바이오산업 현황 ····· 3

3. 제주지역 바이오산업 현황 ····· 4

Ⅱ. 연구방법 ····· 6

1. 시약 및 기기 ····· 6

1-1. 에센셜 오일 추출 ····· 6

1-2. 에센셜 오일의 향 성분 분석 ····· 8

2. 재료 ····· 9

2-1. 초임계 유체 이산화탄소 추출에 이용된 재료 ····· 9

2-2. 수증기 증류 추출에 이용된 재료 ····· 13

3. 실험방법 ····· 14

3-1. 항염증 실험 ····· 14

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-2. 세포독성 실험 ····· 16

3-3. 싸이토카인 실험 ····· 18

3-4. 항산화 실험 ····· 20

3-5. 티로시나제 저해능 실험 ····· 22

3-6. 엘라스타제 저해능 실험 ····· 23

3-7. 멜라닌 저해활성 실험 ····· 24

3-8. 여드름균에 대한 항균활성 실험 ····· 25

3-9. 피부포도상구균에 대한 항균활성 실험 ····· 26

Ⅲ. 결과 및 고찰 ····· 27

1. 초임계유체 추출기를 이용한 추출 ····· 27

1-1. 초임계유체 추출법에 대한 개요 ····· 27

1-1-1. 초임계 유체 ····· 27

1-1-2. 초임계유체 이산화탄소 ····· 28

1-1-3. 온도와 압력에 따른 상태 변화 ····· 28

1-2. 초임계유체 이산화탄소 추출 공정 ····· 29

2. 아로마테라피와 에센셜 오일 ····· 30

2-1. 아로마테라피의 정의 ····· 30

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2-2. 아로마테라피의 목적 ····· 30

2-3. 에센셜 오일 ····· 31

2-4. 에센셜 오일의 주요 작용 ····· 32

2-5. 에센셜 오일 추출방법 ····· 34

2-6. 에센셜 오일의 일반적인 구조와 특성 ····· 34

2-6-1. Monoterpenes ····· 35

2-6-2. Sesquiterpenes ····· 36

2-6-3. Alcohols ····· 36

2-6-4. Phenols ····· 36

2-6-5. Aldehydes ····· 37

2-2-6. Ketones ····· 37

2-6-7. Oxides ····· 38

2-6-8. Esters ····· 38

2-6-9. Ethers ····· 38

3. 활성산소와 항산화제 ····· 39

4. 염증 ····· 42

4-1. 염증의 정의 ····· 42

4-2. 염증의 원인 ····· 43

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

4-3. 림프관 및 림프절 ····· 43

4-4. 염증의 반응 ····· 44

4-5. 염증의 전신적 영향 ····· 45

4-6. Nitric oxide 생성과 염증 관계 ····· 46

5. 초임계유체 이산화탄소 추출 결과 ····· 48

5-1. 온도와 압력에 따른 수율변화 ····· 48

5-1-1. 온도에 따른 수율변화 ····· 48

5-1-2. 압력에 따른 수율변화 ····· 49

5-1-3. 제주왕벚나무의 경우 시간경과에 따른 수율변화 ····· 50

5-1-4. 삼백초의 경우 80℃, 350 bar에서 수율변화 ····· 54

5-1-5. 초피나무의 경우 80℃, 350 bar에서 수율변화 ····· 55

5-2. 초임계유체 추출물들의 향 성분 분석 결과 ····· 57

5-2-1. *n-alkane* (C_5 ~ C_{26}) standard solution GC-MS 데이터 ····· 57

5-2-2. 제주왕벚나무 ····· 58

5-2-3. 삼백초 ····· 61

5-2-4. 초피나무 ····· 64

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-3. 수증기 증류 추출물들의 향 성분 분석 결과 ····· 67

5-3-1. 순비기나무 ····· 67

5-3-2. 해국 ····· 68

5-3-3. 털머위 ····· 70

5-4. 항염증 효과 ····· 72

5-4-1. 에센셜 오일들의 반응 후 OD 변화 ····· 72

5-4-2. Sodium nitrite를 이용한 농도에 따른 Nitric oxide 생성량 ···· 73

5-5. 세포독성 결과 ····· 78

5-5-1. 540 nm에서 에센셜 오일들의 OD ····· 78

5-6. 싸이토카인 결과 ····· 85

5-6-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물들에 대한 싸이토카인 결과 ····· 85

5-6-2. 수증기 증류물들에 대한 싸이토카인 결과 ····· 98

5-7. 항산화 효과 ····· 107

5-7-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 항산화 효과 ····· 107

5-7-2. 수증기 증류물들의 항산화 효과 ····· 111

5-8. 티로시나제 저해능 ····· 114

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-8-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 티로시나제 저해능 ···· 114

5-9. 엘라스타제 저해능 ····· 118

5-9-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 엘라스타제 저해능 ···· 118

5-10. 멜라닌 저해활성 ····· 122

5-10-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 멜라닌 저해활성 ····· 122

5-11. 세포독성 결과 ····· 124

5-11-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물들에 대한 세포독성 ····· 124

5-11-2. 멜라닌 저해능과 세포독성 ····· 126

5-12. 항균활성 ····· 127

5-12-1. 여드름균에 대한 에센셜 오일들의 항균 활성 ····· 127

5-12-2. 피부포도상구균에 대한 에센셜 오일들의 항균 활성 ····· 133

Ⅳ. 요약 및 결론 ····· 137

Ⅴ. 참고문헌 ····· 142

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

List of Schemes

Scheme 2-1. Procedure of Nitric Oxide Assay ---------- 14

Scheme 2-2. Procedure of MTT Assay ---------- 16

Scheme 2-3. Procedure of Cytokine Test ---------- 19

Scheme 2-4. Procedure of DPPH Antioxidant Assay ---------- 21

Scheme 2-5. Procedure of Tyrosinase Inhibition Assay ····· 22

Scheme 2-6. Procedure of Elastase Inhibition Assay ····· 23

Scheme 2-7. Procedure of Melanin Inhibition Assay ····· 24

Scheme 2-8. Procedure of Antibacterial Test with P. acnes ····· 25

Scheme 2-9. Procedure of Antibacterial Test with S. epidermidis ····· 26

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

List of Tables

Table 3-1. Yield variation of PYE essential oil with temperature ---- 48

Table 3-2. Yield variation of PYE essential oil with pressure ---- 49

Table 3-3. Yield variation of PYE essential oil at 70℃ and 350 bar ---- 50

Table 3-4. Yield variation of PYE essential oil at 80℃ and 350 bar ---- 51

Table 3-5. Yield variation of PYE essential oil at 80℃ and 200 bar ---- 52

Table 3-6. Yield variation of PYE essential oil at 80℃ and 300 bar ---- 53

Table 3-7. Yield variation of SCE essential oil at 80℃ and 300 bar ---- 54

Table 3-8. Yield variation of ZPE essential oil at 80℃ and 300 bar ---- 55

Table 3-9. GC-MS data of *n*-alkane (C_5 ~ C_{26}) standard solution ---- 57

Table 3-10. GC-MS data of PYE essential oil ---- 58

Table 3-11. GC-MS data of PYE essential oil with standard solution ---- 60

Table 3-12. GC-MS data of SCE essential oil ---- 61

Table 3-13. GC-MS data of SCE essential oil with standard solution ---- 63

Table 3-14. GC-MS data of ZPE essential oil ---- 64

Table 3-15. GC-MS data of ZPE essential oil with standard solution ---- 66

Table 3-16. GC-MS data of VRE essential oil ---- 67

Table 3-17. GC-MS data of ASA essential oil ---- 69

Table 3-18. GC-MS data of FJA essential oil ---- 70

Table 3-19. NO production of SCF-CO_2 extracts with concentration ---- 74

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-20. NO production of steam distillates with concentration ---------- 76

Table 3-21. Optical density of SCF-CO_2 extracts and steam distillates ---------- 78

Table 3-22. Cytotoxicity of SCF-CO_2 extracts with concentration ---------- 80

Table 3-23. Cytotoxicity of steam distillates with concentration ---------- 81

Table 3-24. TNF-α production of PYE essential oil at 450 nm ---------- 86

Table 3-25. TNF-α production of SCE essential oil at 450 nm ---------- 87

Table 3-26 TNF-α production of ZPE essential oil at 450 nm ---------- 88

Table 3-27. IL-6 production of PYE essential oil at 450 nm ---------- 90

Table 3-28. IL-6 production of SCE essential oil at 450 nm ---------- 91

Table 3-29. IL-6 production of ZPE essential oil at 450 nm ---------- 92

Table 3-30. IL-1β production of PYE essential oil at 450 nm ---------- 94

Table 3-31. IL-1β production of SCE essential oil at 450 nm ---------- 95

Table 3-32. IL-1β production of ZPE essential oil at 450 nm ---------- 96

Table 3-33. TNF-α production of VRE essential oil at 450 nm ---------- 98

Table 3-34. TNF-α production of ASA essential oil at 450 nm ---------- 99

Table 3-35. TNF-α production of FJA essential oil at 450 nm ---------- 100

Table 3-36. IL-6 production of VRE essential oil at 450 nm ---------- 101

Table 3-37. IL-6 production of ASA essential oil at 450 nm ---------- 102

Table 3-38. IL-6 production of FJA essential oil at 450 nm ---------- 103

Table 3-39. IL-1β production of VRE essential oil at 450 nm ---------- 104

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-40. IL-1β production of ASA essential oil at 450 nm ---- 105
Table 3-41. IL-1β production of FJA essential oil at 450 nm ---- 106
Table 3-42. Optical density of SCF-CO_2 extracts at various concentrations and 515 nm ---- 107
Table 3-43. DPPH radical scavenging activity of SCF-CO_2 extracts ---- 108
Table 3-44. Optical density of steam distillates at various concentrations and 515 nm ---- 111
Table 3-45. DPPH radical scavenging activity of steam distillates ---- 112
Table 3-46. Optical density of blank in tyrosinase inhibition assay ---- 113
Table 3-47. Optical density of experiment in tyrosinase inhibition assay ---- 114
Table 3-48. Tyrosinase inhibition activity of SCF-CO_2 extracts ---- 117
Table 3-49. Optical density of blank in elastase inhibition assay ---- 118
Table 3-50. Optical density of experiment in elastase inhibition assay ---- 118
Table 3-51. Elastase inhibition activity of SCF-CO_2 extracts ---- 119
Table 3-52. Optical density of essential oils at 450 nm ---- 122
Table 3-53. Melanin inhibition activity of SCF-CO_2 extracts ---- 123
Table 3-54. Optical density of essential oils at 540 nm ---- 124
Table 3-55. Cytotoxicity of SCF-CO_2 extracts with B16/F10 cell ---- 124
Table 3-56. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 9009 ---- 127
Table 3-57. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 9010 ---- 129
Table 3-58. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 0081 ---- 131
Table 3-59. Optical density of essential oils on S. epidermidis CCARM 3809 ---- 133
Table 3-60. Optical density of essential oils on S. epidermidis CCARM 3710 ---- 135

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

List of Figures

Figure 1-1. Market trend of global bio-industry ---- 3
Figure 1-2. Market trend of domestic bio-industry ---- 3
Figure 1-3. Present condition of Jeju bio-industry ---- 4
Figure 2-1. Supercritical fluid carbon dioxide extractor used in experiment ---- 6
Figure 2-2. Steam distillation equipment used in experiment ---- 7
Figure 2-3. Collection places of Jeju endemic plants ---- 9
Figure 2-4. Jeju endemic plants for experiment ---- 10
Figure 2-5. Powder of raw materials after crush ---- 11
Figure 2-6. Pictures of essential oils after SCF-CO_2 extraction ---- 12
Figure 2-7. Jeju endemic plants used in steam distillation ---- 13
Figure 2-8. Reaction for mitochondrial dehydrogenase enzyme ---- 12
Figure 2-9. Types and actions of cytokines ---- 18
Figure 2-10. Absorption spectra of DPPH and oxidation of DPPH radicals ---- 20
Figure 3-1. Carbon dioxide pressure-temperature phase diagram ---- 27
Figure 3-2. Change of CO_2 state in supercritical condition ---- 28
Figure 3-3. Simplified SCF-CO_2 process flow diagram ---- 29
Figure 3-4. Aroma inhalation route of essential oils ---- 33
Figure 3-5. General structures and properties of essential oils ---- 35
Figure 3-6. Oxidative and anti-oxidative mechanism in the cells ---- 40
Figure 3-7. Antioxidant protection for cells ---- 41
Figure 3-8. Steps of the inflammatory response ---- 44
Figure 3-9. Yield variation of PYE essential oil with temperature ---- 48
Figure 3-10. Yield variation of PYE essential with pressure ---- 49
Figure 3-11. Yield variation of PYE essential oil at 70℃ and 350 bar ---- 50

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Figure 3-12. Yield variation of PYE essential oil at 80℃ and 350 bar ---------- 51

Figure 3-13. Yield variation of PYE essential oil at 80℃ and 200 bar ---------- 52

Figure 3-14. Yield variation of PYE essential oil at 80℃ and 300 bar ---------- 53

Figure 3-15. Yield variation of SCE essential oil at 80℃ and 300 bar ---------- 54

Figure 3-16. Yield variation of ZPE essential oil at 80℃ and 300 bar ---------- 55

Figure 3-17. Yield variation of essential oils at 80℃ and 300 bar ---------- 56

Figure 3-18. GC-MS chromatogram of *n-alkane* (C_5~C_{26}) standard solution ------ 57

Figure 3-19. GC-MS chromatogram of PYE essential oil ---------- 58

Figure 3-20. GC-MS chromatogram of PYE essential oil with standard solution ---- 57

Figure 3-21. GC-MS chromatogram of SEC essential oil ---------- 57

Figure 3-22 GC-MS chromatogram of SCE essential oil with standard solution ---- 57

Figure 3-23 GC-MS chromatogram of ZPE essential oil ---------- 57

Figure 3-24. GC-MS chromatogram of ZPE essential oil with standard solution ---- 65

Figure 3-25. GC-MS chromatogram of VRE essential oil ---------- 67

Figure 3-26. GC-MS chromatogram of ASA essential oil ---------- 68

Figure 3-27. GC-MS chromatogram of FJA essential oil ---------- 70

Figure 3-28. Nitric oxide standard calibration curve ---------- 73

Figure 3-29 NO production of supercritical fluid carbon dioxide extracts -------- 75

Figure 3-30 NO production of steam distillates ---------- 77

Figure 3-31. Cytotoxicity of SCF-CO_2 extracts with concentration ---------- 82

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Figure 3-32. Cytotoxicity of steam distillates with concentration ---------- 82

Figure 3-33. NO production and cytotoxicity of SCF-CO_2 extracts ---------- 83

Figure 3-34. NO production and cytotoxicity of steam distillates ---------- 84

Figure 3-35. Mouse TNF-α ELISA standard calibration curve at 450 nm ------ 85

Figure 3-36. TNF-α production of PYE essential oil at 450 nm ---------- 86

Figure 3-37. TNF-α production of SCE essential oil at 450 nm ---------- 87

Figure 3-38. TNF-α production of ZPE essential oil at 450 nm ---------- 88

Figure 3-39. Mouse IL-6 ELISA standard calibration curve at 450 nm ---------- 89

Figure 3-40. IL-6 production of PYE essential oil at 450 nm ---------- 90

Figure 3-41 IL-6 production of SCE essential oil at 450 nm ---------- 91

Figure 3-42. IL-6 production of ZPE essential oil ate 450 nm ---------- 92

Figure 3-43. Mouse IL-1β ELISA standard calibration curve at 450 nm -------- 93

Figure 3-44. IL-1β production of PYE essential oil at 450 nm ---------- 94

Figure 3-45. IL-1β production of SCE essential oil at 450 nm ---------- 95

Figure 3-46. IL-1β production of ZPE essential oil at 450 nm ---------- 96

Figure 3-47. TNF-α production of VRE essential oil at 450 nm ---------- 98

Figure 3-48. TNF-α production of ASA essential oil at 450 nm ---------- 99

Figure 3-49. TNF-α production of FJA essential oil at 450 nm ---------- 100

Figure 3-50. IL-6 production of VRE essential oil at 450 nm ---------- 101

Figure 3-51. IL-6 production of ASA essential oil at 450 nm ---------- 102

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Figure 3-52. IL-6 production of FJA essential oil at 450 nm ---------- 103
Figure 3-53. IL-1β production of VRE essential oil at 450 nm ---------- 104
Figure 3-54. IL-1β production of ASA essential oil at 450 nm ---------- 105
Figure 3-55. IL-1β production of FJA essential oil at 450 nm ---------- 106
Figure 3-56. Standard calibration curve of Vitamin C at 515 nm ---------- 109
Figure 3-57. Standard calibration curve of SCE at 515 nm ---------- 109
Figure 3-58. DPPH radical scavenging activity of SCF-CO_2 extracts ---------- 110
Figure 3-59. DPPH radical scavenging activity of steam distillates ---------- 113
Figure 3-60. Standard calibration curve of *Saururus chinensis* ---------- 115
Figure 3-61. Standard calibration curve of Arbutin ---------- 116
Figure 3-62. Tyrosinase inhibition activity of SCF-CO_2 extracts ---------- 117
Figure 3-63. Standard calibration curve of *Saururus chinensis* ---------- 119
Figure 3-64. Standard calibration curve of oleanolic acid ---------- 120
Figure 3-65. Elastase inhibition activity of SCF-CO_2 extracts ---------- 120
Figure 3-66. Melanin inhibition activity of SCF-CO_2 extracts ---------- 123
Figure 3-67. Cytotoxicity of SCF-CO_2 extracts with B16/F10 cell ---------- 125
Figure 3-68. Melanin inhibition activity and cytotoxicity of SCF-CO_2 extracts with B16/F10 cell ---------- 126
Figure 3-69. Optical density of essential oil on P. acne CCARM 9009 --------- 128
Figure 3-70. Optical density of essential oil on P. acne CCARM 9010 --------- 130
Figure 3-71. Optical density of essential oil on P. acne CCARM 0081 --------- 132
Figure 3-72. Optical density of essential oil on S. epidermidis CCARM 3809 ---- 134
Figure 3-73. Optical density of essential oil on S. epidermidis CCARM 3710 ---- 136

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

List of Abbreviations

PYE	*Prunus yedoensis matsumura*
SCE	*Saururus chinensis*
ZPE	*Zanthoxylum piperitum*
VRE	*Vitex rotundifolia*
ASA	*Aster spathulifolius*
FJA	*Farfugium japonicum*
SCF-CO_2	Supercritical fluid carbon dioxide
OD	Optical density
SC_{50}	Scavenging concentration of 50 percent
IC_{50}	Inhibition concentration of 50 percent
CH_2Cl_2 (MC)	Methylene chloride
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
Vit. C	Vitamin C
Arb.	Arbutin
MTT	3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)
DMSO	Dimethyl sulfoxide
LPS	Lipopolysaccharide
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
FBS	Fetal bovine serum
PBS	Phosphate buffered saline
NO	Nitric oxide
α-MSH	α-Melanocyte stimulating hormone
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyphenylalanine

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Abstracts

Two kinds of research projects were conducted for this thesis. One is research on the chemical composition and biological activity of supercritical fluid carbon dioxide (SCF-CO_2) extracts from *Prunus yedoensis matsumura (PYE)*, *Saururus chinensis (SCE)* and *Zanthoxylum piperitum (ZPE)*. The other is that of volatile oils extracted by steam distillation from *Vitex rotundifolia (VRE), Aster spathulifolius (ASA)* and *Farfugium japonicum (FJA)*. The purpose is to obtain the scientific data to investigate the applicabilities of essential oils extracted from those plants.

For extracts of supercritical fluid carbon dioxide, monoterpenes such as, α-pinene (22.38%), 2-β-pinene (20.1%) and camphor (13.1%) were found as the major components in PYE. In the case of SCE, sesquiterpenes δ-cadinol (22.5%) and δ-cadinene (19.7%) as well as a diterpene *trans*-phytol (13.7%) were identified. The major chemical constituents of ZPE included octanoic acid (13.4%), *n*-heptanol (9.8%) and 1-octanol (8.1%).

For steam distillates, the major components in ASA were found to be germacrene-d (35.1%), *trans*-caryophyllene (15.9%) and *trans*-phytol (14.9%). On the other hand, manoyl oxide (14.3%), α-terpineol (13.1%) and α-pinene (10.0%) were verified in VRE as major ingredients. In the case of FJA, trans-caryophyllene (28.9%) and 9,10-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene (19.32%) were identified.

The effects of SCF-CO_2 extracts and steam distillates on nitric oxide(NO), Tumor necrosis factor (TNF)-α, interleukin (IL)-1β and IL-6 production in lipopolysaccharide (LPS)-activated RAW 264.7 macrophages were examined. The results from pro-inflammatory cytokine and mediator examinations indicated that PYE, SCE and ZPE have excellent dose-dependent inhibitory activities. Each steam distillates of VRE, ASA and FJA showed good dose-dependent inhibitory activities.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Anti-oxidant radical scavenging activity, tyrosinase inhibition activity, melanin inhibition and antibacterial activity were carried out. For DPPH anti-oxidant assay and tyrosinase inhibition assay, only SCE has some activity(SC_{50} : 111.89, IC_{50} : 557.05). In the case of melanin inhibition assay, inhibition activities of the supercritial carbon dioxide extracts was increased in dose-dependent manner. Especially, inhibition activity of the ZPE was 0.83-fold compare with max. inhibition of the control at 200 μg/mL. And inhibition activity of the ZPE was 1.21-fold in comparision to albutin, the positive control, at 50 μg/mL.

In conclusion, SCE and ZPE can be powerful natural agents to manage inflammatory diseases and skin whitening. So Both supercritical fluid carbon dioxide-extracts and steam distillates of SCE and ZPE will be commercially very useful essential oils.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

I. 서 론

1. 천연물 이용현황

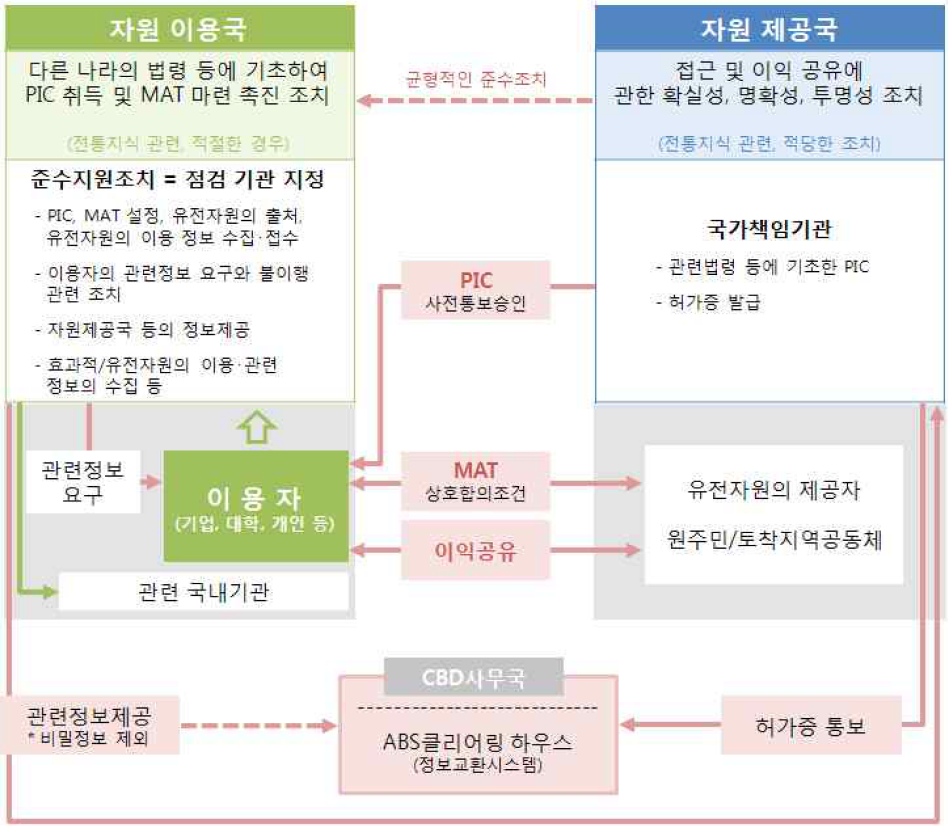
천연물이란 자연계에 존재하는 동·식물, 미생물과 이들의 대사산물을 포함하는 매우 넓은 의미의 개념으로서, 예로부터 식량자원으로 뿐만 아니라 경험적으로 질병의 예방·치료에 사용하면서 자연스럽게 약용자원으로 역할을 해왔다. 특히 식물자원은 동서양을 막론하고 의약용 소재로서 사용한 역사가 오래되어 풍부한 임상적 경험을 가지고 있고, 지역과 민족에 따라 다양한 식물자원을 1차적인 의약품으로 여전히 사용하고 있어 그 자체로서 의약품일 뿐만 아니라 식물자원의 활성물질을 이용한 신약개발에 있어서도 중요한 원천소재 역할을 하고 있다.

이렇듯 생물자원은 우리 삶을 지탱해주는 기본 토대이며 산업적으로도 다양하게 이용되어 경제적 이익을 주고 있다. 이러한 고부가가치의 고기능성 생물자원들을 확보하기 위해 국가별 그리고 지역별로 많은 노력들을 기울이고 있다. 이러한 추세에 맞추어 각 국가에서 자국의 생물자원 보호와 유용한 생물자원을 산업적으로 활용하여 얻는 이익을 그 자원의 제공 국가나 원주민과 공평하게 나누기 위한 **“나고야의정서”**가 2010년 10월 국제연합기구 3대 환경협약 중 하나인 생물다양성협약 총회에서 채택되어 자원제공국과 이용국이 상호간 공존 할 수 있는 기반이 마련되고 있다. 반면에 고 기능성 생물자원 확보를 위한 국가 간의 보이지 않는 생물자원 전쟁이 다가오고 있다고 할 수 있다.

국내의 생물자원 관련 산업 중 바이오산업 시장규모는 2010년 기준으로 9조원 이상이고, 연평균 15% 내외의 지속적인 성장 추세이다. 생물자원의 약 70% 이상을 해외에서 들여올 만큼 해외 생물자원 의존도가 높은 우리나라는 나고야의정서 발효에 따른 영향이 작지 않을 것으로 판단되어진다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

<나고야의정서 ABS의 구조와 흐름>



자료 : 지식경제부(2012). 『기업이 알아야 할 ABS 가이드북』

이러한 위기에 효과적으로 대응하기 위해 제주의 지리적 및 생물학적 환경을 최대한 활용할 필요성이 있다. 즉 만 여종의 생물종다양성을 보유하고 있으며, 섬이라는 지리적 특성에 의해 한반도와 격리됨으로써 생물자원 반입반출 관리에 유리하다는 점 등을 활용하여 고기능성 생물자원 탐색 및 데이터베이스화 그리고 전통지식의 현황조사 및 DB 구축 등을 통해 제주의 가치를 극대화함으로써 제주의 경쟁력을 확보할 필요성이 있다. 또한 국내·외 연관 산업 현황을 파악함으로써 보다 효과적으로 유전자원의 고기능성 탐색과 관련한 연구를 수행할 수 있을 것으로 판단되어 진다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2. 국내·외 바이오산업 현황

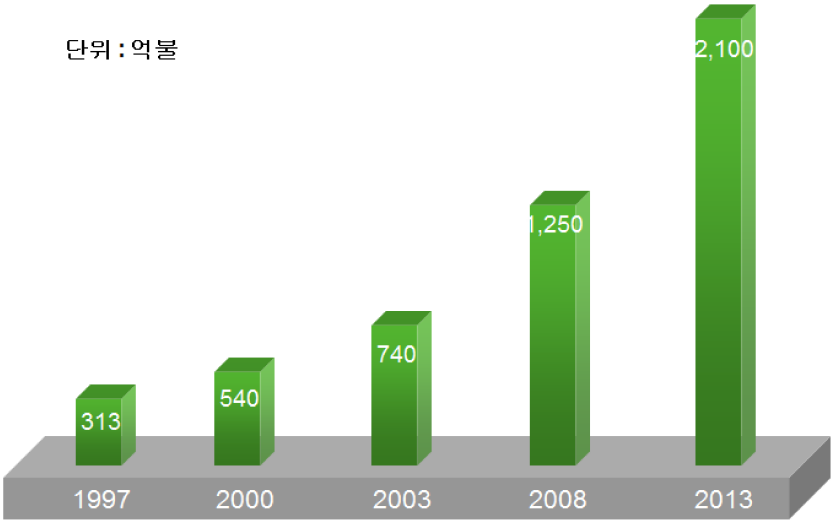


Figure 1-1. Market trend of global bio-Industry

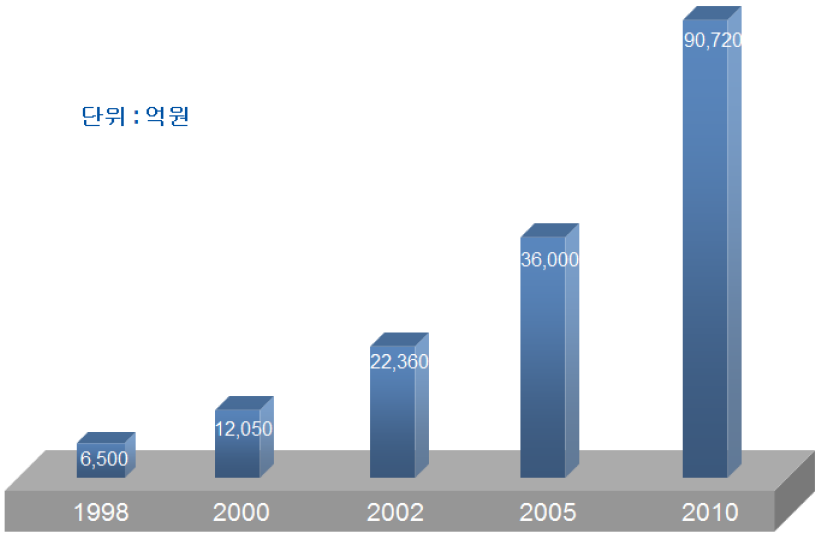


Figure 1-2. Market trend of domestic bio-industry

해외 바이오산업 시장 동향을 보면 2013년 기준 약 2,100억 달러로 연평균 15% 이상의 성장률을 보이고 있다. 또한 국내 바이오산업 시장 동향을

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

보면 2010년 기준 시장 규모가 약 9조원이며 연평균 약 15%이상의 성장률을 보이고 있다. 그리고 국내 관련 산업의 시장 규모는 2005년 이후 매우 급속도로 성장하고 있는 것으로 나타났으며, 2010년 이후 연평균 19.4%의 성장률을 보여주고 있다.

3. 제주지역 바이오산업 현황



Figure 1-3. Present condition of Jeju bio-industry

지난 2013년 2월 제주테크노파크 정책기획단에서 발표한 **"제주지역 바이오산업 실태분석보고서"**를 보면 제주지역 바이오 관련 기업체수는 총 349개사로 종사자수는 2007년 3,341명에서 2011년 4,285명으로 증가하였으며, 매출액은 2007년 4,944억 원에서 2011년 8,927억 원으로 증가한 것으로 나타났다.

또한 지식재산권의 경우 2007년도 488건에서 2011년 1039건으로 크게 증가하고 있는 추세이다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

위의 자료(Figure 1-3)에서 보듯이 고용, 매출, 지식재산권 등 모든 측면에서 괄목할 만한 성장을 보이는 것은 그 동안의 연구개발을 통해 기존 단순가공 위주에서 고부가가치 제품생산이 가능한 기술력을 보유한 기업이 증가한 것으로 보인다. 특히 이러한 기업들의 기술 경쟁력 확보를 위해서는 고급 연구 인력을 다수 보유하고 있는 제주대학교의 역할 또한 매우 중요하다고 판단되어지며, 산·학 간 유기적인 협업을 통해 **연구 성과가 곧 산업 성장으로 연결되어 질 수 있도록 상호 공동의 노력이 매우 중요**하다고 생각되어진다.

국내·외 바이오산업의 시장동향(Figure 1-1, Figure 1-2)에서 나타듯이 바이오산업과 관련된 산업이 지속적으로 성장할 것으로 예측되며, 특히 Health & Beauty와 관련된 바이오산업의 부가가치가 급속히 성장할 것으로 판단되어 진다. 더불어 생물종다양성보존, 유전자원의 접근 및 이익 공유를 골자로 한 나고야의정서가 2014년 2분기에 발효될 것으로 보여 더욱더 국가 또는 지역의 특화 자원에 대한 심도 있는 연구개발이 필요하다고 생각된다.

이에 본 연구에서는 제주의 자생식물 중 제주왕벚나무, 삼백초, 초피나무 등 총 6종에 대하여 환경 친화적이면서 용매 추출법 중 하나인 초임계유체 이산화탄소 추출법과 비용매 추출법인 수증기 추출법을 이용하여 에센셜 오일들을 추출하였고, 이들의 향 성분들을 GC-MS를 이용하여 분석하였다. 그리고 현대인들의 복잡한 사회구조와 다변화된 업무 및 인간관계로 인한 스트레스에 의해 다양한 질병들이 발생하고 통증의 원인이 다양화됨에 따라 이들과 연관된 항염증(NO assay)실험과 Health & Beauty와 관련된 항산화, 미백 및 항균실험 등을 수행하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅱ. 연구방법

1. 시약 및 기기

1-1. 에센셜 오일 추출

제주 자생식물들로부터 에센셜 오일을 추출하기 위하여 두가지 방법을 사용하였다. 첫째는 초임계유체 이산화탄소 추출기를 이용하여 제주왕벚나무(*Prunus yedoensis matsumura*), 삼백초(*Saururus chinensis*), 초피나무(*Zanthoxylum piperitum*)로부터 에센셜 오일들을 추출하였다. 이때 사용된 초임계유체 이산화탄소추출기는 아주대학교 초임계연구소에서 제작하였으며, 모델명은 SFE0305R1으로 제주테크노파크 생물종다양성연구소에 설비되어져 있다(Figure 2-1).



Figure 2-1. Supercritical fluid carbon dioxide extractor used in experiment

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

두 번째는 수증기 증류 추출기(Figure 2-2)를 이용하였으며, 이 장비는 10세기경 아랍에서 최초로 개발되어 지금까지도 많이 이용되고 있는 에센셜 오일 추출방법이다. 원리를 살펴보면, 시료를 선반이나 채 위에 올려놓고 수증기를 이용하여 식물의 세포벽을 깨서 에센셜 오일을 추출하는 방법을 말하며, 일정온도 이상이 되면 식물에서 향기물질이 증발 되는데, 이 증발된 향기물질을 다시 냉각 시킨 것이 액체상태의 에센셜 오일이다. 수증기 증류법은 매우 경제적이고 대량으로 아로마 오일을 얻어낼 수 있으며, 짧은 시간에 많은 양을 추출할 수 있다는 장점이 있으나[1], 고온에서 열에 의해 불안정하여 성분이 파괴되기도 하기 때문에 가능한 짧은 시간(약 5시간 내외)내에 에센셜 오일을 추출하는 것이 좋다.

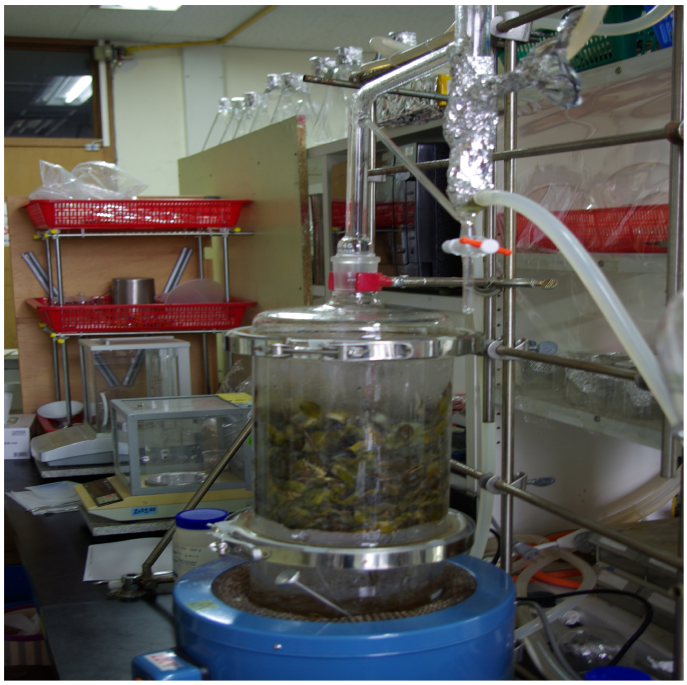


Figure 2-2. Steam distillation equipment used in experiment

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1-2. 에센셜 오일의 향 성분 분석

에센셜 오일의 경우 일반적으로 휘발성(volatile)이 강한 성분으로 구성되어져 있으며, GC-MS를 이용한 이들 성분을 분석하는 방법이 효과적인 방법으로 알려져 있다. 본 실험에서 사용된 GC-MS의 경우 Rtx-5MS non-polar column(30 m x 0.25 ㎜ x 0.25 ㎛)이 장착된 Shimadzu GC-MS ultra 2010을 사용하여 분석을 수행하였다. 온도 세팅의 경우 40℃에서 hold time을 5 min.으로 하고 40℃에서 100℃까지 온도 상승 속도는 5℃/min.으로, 이후 100℃에서 10 min. hold한 후 100℃에서 300℃까지 2℃/min. 속도로 온도를 상승시켰으며, 마지막으로 300℃에서 2-분간 hold시켰다. 이때 injector 온도는 230℃이었다. carrier gas(He)의 flow rate은 1.5 mL/min.이며, split ratio는 1:10으로 하였다. Injection sample의 경우 extracts 1 mg을 dichloromethane(CH_2Cl_2)으로 1/50(v/v)으로 희석하여 1㎕를 취한 후 Injection하였다. 이러한 휘발성 물질들은 MS에 기초하여 확인하였으며, retention indices는 *n*-alkane (C_5 ~ C_{26})의 homologous series를 사용하여 측정하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2. 재료

2-1. 초임계유체 이산화 탄소 추출에 이용된 재료



Figure 2-3. Collection places of Jeju endemic plants

초임계유체 이산화탄소 추출에 사용된 실험재료(Figure 2-4, Figure 2-5)들은 제주왕벚나무, 삼백초와 초피나무로 제주왕벚나무의 경우 2012년 4월 제주특별자치도 한라산 중산간 지역(신례리 등)에서 채집하였으며, 삼백초와 초피나무의 경우는 2012년 7월 초 한라산 인근 야생에서 채집하였다. 제주 왕벚나무의 경우 꽃 부분만을 분리하여 시료로 사용하였고, 삼백초의 경우 잎 부위를 그리고 초피나무의 경우는 줄기와 잎 부위를 시료로 사용하였다.

이러한 과정으로 분리된 시료들을 열풍건조기(40℃)에서 약 30시간 건조시킨 후 파쇄기를 이용하여 고른 입자(fine particles, 평균직경 0.4 ㎜)로 파쇄 하여 사용하였다(Figure 2-6). 이렇듯 작은 입자로 파쇄 시킨 이유는 입자의 크기가 작을수록 추출 속도가 증가하며, 특정 크기 이하에서는 추출 속도가 급격히 증가

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

한다는 연구결과[2)3)]를 활용한 것이다.

추출 초기 단계에서 시료 표면에 노출되어 있는 오일이 먼저 추출되고 이로 인해 표면의 오일양이 감소하면 시료 내부로의 용매의 확산에 의해 내부의 오일이 추출되기 때문이다. 즉 입자의 크기가 감소함에 따라 표면에 노출되어 있는 오일의 양이 증가하게 되고 입자 내부로 용매가 확산되는 길이가 짧아지기 때문에 높은 추출 효율을 얻을 수 있는 것이다.[4)5)6)]

본 연구에서는 위의 방법으로 시료들을 건조 시킨 후 미세한 입자로 파쇄하고 초임계유체 이산화탄소 추출기를 이용하여 추출하였으며 각 시료별로 온도와 압력에 따른 수율의 변화들에 대해 연구하였다.

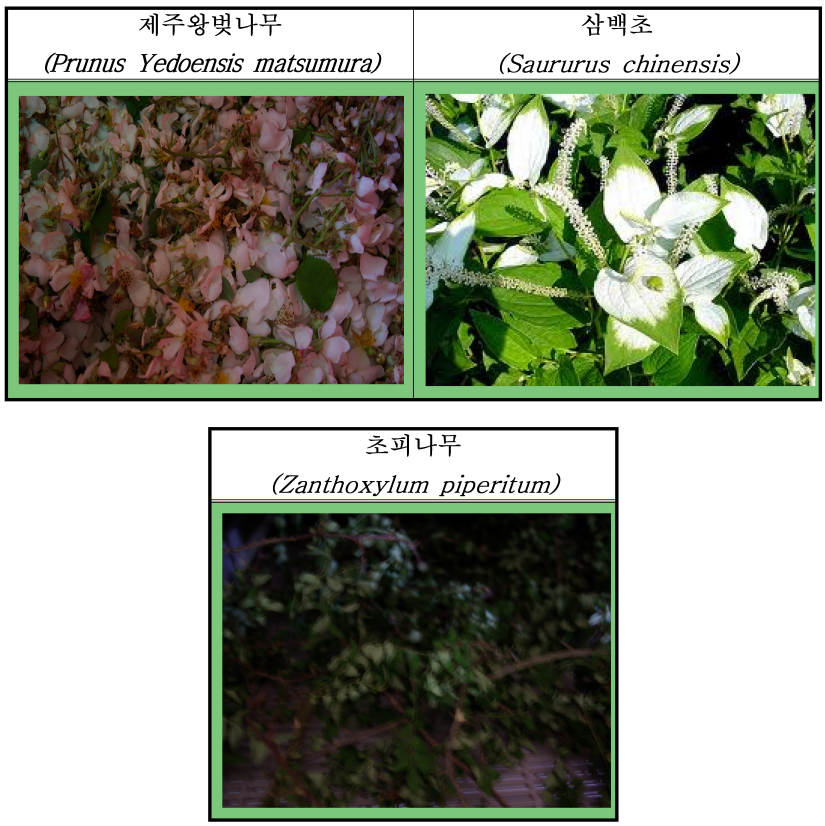


Figure 2-4. Jeju endemic plants for experiment

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

제주왕벚나무 (*Prunus Yedoensis matsumura*)	삼백초 (*Saururus chinensis*)
	

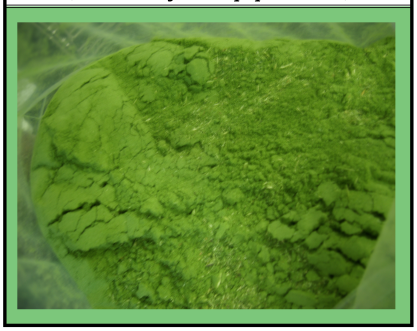
초피나무 (*Zanthoxylum piperitum*)


Figure 2-5. Powder of raw materials after crush

제주왕벚나무 (*Prunus Yedoensis matsumura*)	삼백초 (*Saururus chinensis*)
	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY



Figure 2-6. Pictures of essential oils after supercritical fluid carbon dioxide extraction

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2-2. 수증기 증류 추출에 이용된 재료

수증기 추출법에 이용된 재료는 제주 자생식물들로 주로 겨울에 자라는 순비기나무(*Vitex rotundifolia*), 해국(*Aster spathulifolius*) 그리고 털머위(*Farfugium japonicum*)를 이용하였으며, 11월 중순부터 12월 중순 사이 제주 해변에서 채집하였다. 순비기나무의 경우 줄기부분을 그리고 해국과 털머위는 잎 부분을 분리하여 시료로 사용하였다(Figure 2-7).

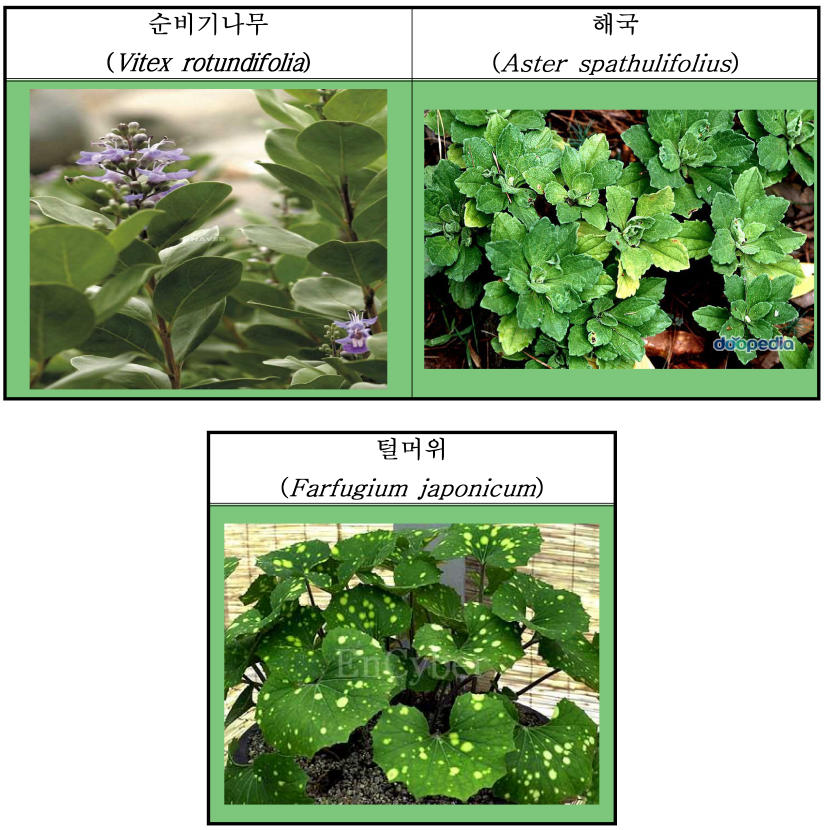


Figure 2-7. Jeju endemic plants used in steam distillation

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3. 실험방법

3-1. 항염증 실험

Nitric oxide assay는 대식세포(macrophage)의 활성을 측정하는 방법 중의 하나로 in vitro상에서 cell supernatant에 녹아 있는 nitric oxide의 양을 정량하는 것으로 대식세포의 중요한 기능 중의 하나인 phagocytosis(식세포작용)와 관련된 간접적인 활성 측정의 하나이다. 주로 세포독성 실험(MTT assay)과 병행하여 면역 활성 물질의 최초 적정 농도 설정이나 초기 활성물질 분획의 검색이 많이 이용되고 있다. 또한 실험에 사용되는 Lipopolysaccharide (LPS)는 Tool-like-receptor (TLR)에 의해 encoded된 TLR4 단백질을 경유하여 induced nitric oxide synthase의 발현에 영향을 주게 되어 nitric oxide 생성량을 증가시키는 염증과 관련된 pathogen이다.

Raw 264.7 cell을 $2x10^5$ cells/well로 24 well plate에 각 1 mL씩 seeding
↓37^oC incubation, 18hr
각 well에 LPS 1 μg/mL 농도로 자극을 주고, Samples를 농도별(200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562, 0.781 μg/mL)로 처리
↓37^oC incubation, 24hr
각 well에서 Medium 100 μL와 Griess reagent 100 μL를 96 well plate에 넣어 반응
↓암조건, Room temperature, 10 min.
Read the OD value at 540 nm

Scheme 2-1. Procedure of Nitric oxide assay

세포배양의 경우 Murine macrophage cell line인 RAW 264.7 cell을 한국세포주 은행(KCLB : Seoul, Korea)으로부터 분양 받아 100 U/mL Penicillin

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(Gibco, USA), 100 μg/mL streptomycin (Gibco, USA) 그리고 10% fetal bovine serum (FBS : Gibco, Grand Island, USA)이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM ; Gibco, Grand Island, USA) 배지를 사용하여 37℃, 5% CO_2 incubator 조건에서 배양하였으며, 2-3일 간격으로 계대배양을 하였다.[7)8)9)10)]

KCLB에서 분양받은 Raw264.7cell을 $3x10^5$ cells/well로 24 well plate에 각 각 1 mL씩 seeding하고 18시간동안 37℃에서 배양한 후 각 well에 LPS를 1 μg/mL농도로 자극을 주고, 각각의 시료들을 200 μg/mL을 시작으로 2-fold dilution하여 24시간 동안 37℃에서 배양하였다. 그리고 각 well에서 Medium 100 μL와 Griess reagent 100 μL를 96 well plate에 넣어 실온, 암조건 하에서 10분 동안 반응시키고 540 nm에서 ELISA reader를 이용하여 OD를 측정하였다(Scheme 2-1).[11)]

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-2. 세포독성 실험

MTT assay는 생세포에서 수용성 기질인 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)를 불용성 dark blue formazan으로 전환시키는 미토콘드리아의 탈수소화 효소 능력(Figure 2-8)에 기초한 실험방법으로 세포증식 및 세포생존율(세포독성) 등을 측정하는 매우 합리적인 방법이다.

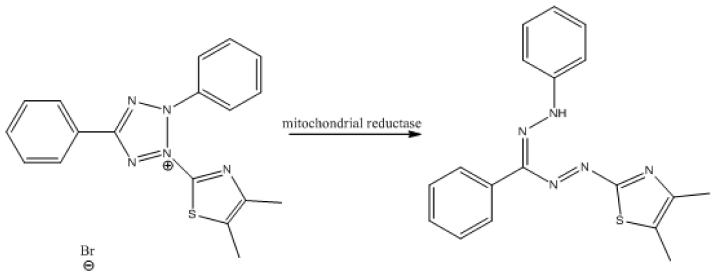


Figure 2-8. Reaction for mitochondrial dehydrogenase enzyme

Raw 264.7 cell을 $1x10^5$ cells/well로 24 well plate에 각 1 mL씩 seeding 후 200, 100, 50. 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.563, 0.781 ㎍/mL로 samples 처리
↓37°C incubation, 48hr
Medium 250 ㎕ 제거 후 MTT reagent 250 ㎕ 처리
↓37°C incubation, 4hr
Medium 모두 제거 후 DMSO:EtOH 1:1 용액 1mL 처리
↓30 min.
96 well plate에 150 ㎕씩 Transfer
↓30 min.
Read the OD value at 540 nm

Scheme 2-2. Procedure of MTT assay

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

미리 배양된 Raw 264.7 cell을 $1x10^5$ cells/well로 24 well plate에 각 1 mL씩 plating 한 후 2-fold dilution으로 200 ㎍g/mL부터 0.781 ㎍g/mL농도까지 samples를 처리하고 48시간 동안 37℃에서 배양하였다. 그리고 Medium 250 ㎍L를 제거하고 MTT 시약 250 ㎍L을 처리하고 다시 4시간 동안 37℃에서 배양한 후 Medium을 완전히 제거한 후에 DMSO : EtOH 1:1 용액 1 mL를 처리하고 30분 후 96 well plate에 150 ㎍L 옮긴다. 그리고 30분 후에 ELISA Reader를 이용하여 540 nm에서 Optical density를 측정하였다(Scheme 2-2).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-3. 싸이토카인 실험

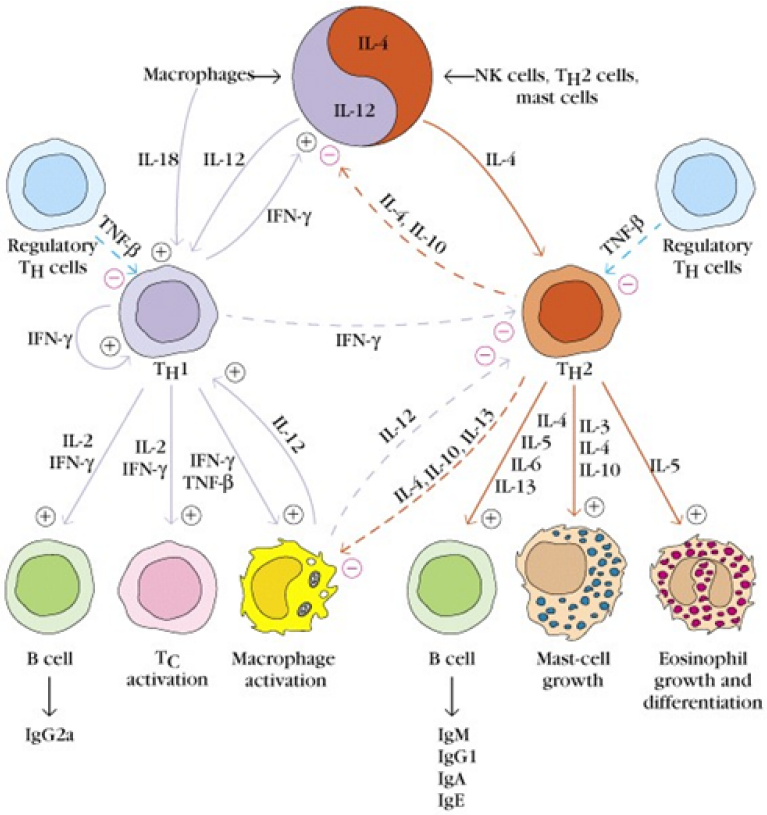


Figure 2-9. Types and actions of cytokines

면역 반응이 적절하게 일어나기 위해서는 여러 면역세포들의 직접적인 또는 간접적인 상호작용이 있어야 한다. 면역세포의 상호작용에는 한 세포 표면에 있는 수용체와 다른 세포 표면에 있는 리간드 또는 수용체간의 직접적인 결합을 통한 세포간의 communication이 중요한 수단이 되고 있다. 면역 반응에서의 세포 상호 작용은 이와 같이 수용체간의 직접적인 접촉에 의하여 나타나기도 하지만 종종 이러한 직접적인 상호작용과 더불어 세포가 분비해낸 단백질에 의하여 나타나는 경우도 많다. 이들 단백질들은 어떤 세포에 의해 만들어져, 그 세포 밖으로 분비되며, 다시 자신이나 이웃한 세포 또는 먼 곳에 있는 세포에 작용하게 된다. 이러한 단백질들은 작용한 세포의 증식과 분화를 유도하기도 하며, 기

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

능과 활성의 변화를 유도할 수 있기 때문에 이들을 일반적으로 싸이토카인(Cytokine)이라 부른다. 이러한 싸이토카인 중 TNF-α, IL-6 그리고 IL-1β의 경우 전염증성영향(pro-inflammatory effects)을 가지고 있다고 보고되어져 왔다. 특히 TNF-α의 경우는 IFN-γ와 LPS로 활성화된 대식세포에서 NO 생성을 공동상승 시키는데 중요한 역할을 하며, 폐혈성 쇼크(Septic shock), 악액질(cachexia) 그리고 염증, 세포독성과 같은 생리학적 효과를 갖고 있는 것으로 알려져 있다. 반면에 IL-6는 lipopolysaccharide (LPS)에 의해 유도된 발열의 내생 매개자(세포간 단백질, endogenous mediator)로 알려져 있다.[12)13)14)15)16)]

Raw 264.7 cell을 1x10^5 cells/well을 24 well plate에 분주
↓37°C CO_2 incubation, 18hr
배양시킨 cell을 1 μg/μL LPS가 포함된 배지로 교환 후, 시료를 첨가
↓37°C incubation, 24hr
Centrifuge 후 상층액 분리
↓냉동보관
TNF-α, IL-6, IL-1β 정량 by mouse ELISA kit (BD biosciences, USA)

Scheme 2-3. Procedure of Cytokine test

Cytokine test는 24 well plate에 RAW 264.7 cell을 3.0 x 10^5 cell/well로 분주하여 37°C, 5% CO_2 incubating 조건하에서 18시간 배양한 후 실험에 사용하였다. 전 배양시킨 cell을 1 μg/mL LPS가 포함된 배지로 교환 후, 시료를 각각 첨가하여 24시간 배양하였으며, 24시간 후 배지를 원심 분리하여 얻어진 상층액을 이용하여 TNF-α, IL-6, IL-1β를 정량하였다 정량은 mouse ELISA kit (BD bioscience, USA)를 이용하였다(Scheme 2-3).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-4. 항산화 실험

DPPH antioxidant assay는 DPPH((1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 이용하여 추출물의 라디컬 소거효과로 항산화 활성을 측정하였다. DPPH는 광범위하게 이용되는 간단한 항산화 검색방법으로 특히 phenol과 aromatic amine의 항산화 활성의 측정에 많이 사용되는 방법이다.

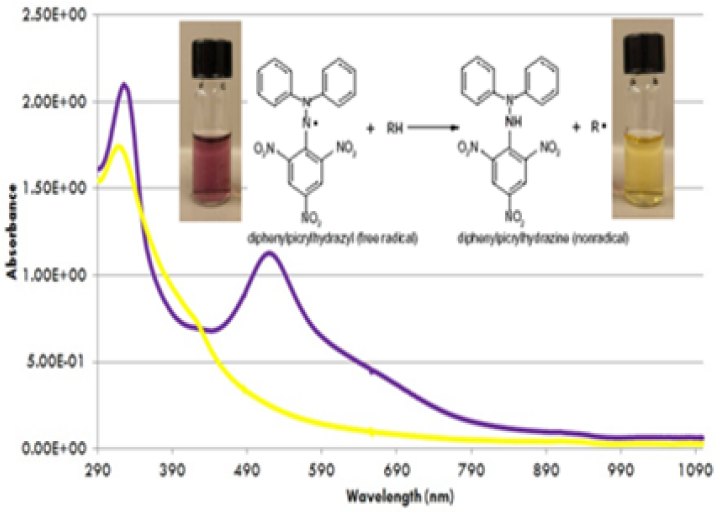


Figure 2-10. Absorption spectra of DPPH and oxidation of DPPH radicals

이러한 DPPH의 원리를 간단히 설명하면, 위의 그림과 같이 DPPH radical은 보라색을 띠고 있는데, 이것이 항산화제(시료)와 반응하면 옅은 노랑색을 띠게 된다. 이런 색의 변화는 항산화능의 척도가 되며, 항산화능이 뛰어난 시료 또는 농도가 진한 시료를 처리하면 색의 변화가 뚜렷하고, 반대로 효과가 떨어지는 시료나 농도가 옅은 시료를 처리하면 보라색에서 변화가 거의 일어나지 않는다. 이때 실험에서 사용되는 515 nm의 흡광도에서는 보라색은 감지하고 노란색은 감지하지 못하여 흡광도 값(OD)을 얻을 수 있다. 즉, 효과가 뛰어난 시료에서는 작은 흡광도 값을, 반대로 효과가 떨어지는 시료에서는 큰 흡광도 값을 갖게 된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

4.0 mM DPPH solution을 1/20로 희석하여 준비

↓

농도별(200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562, 0.781 μg/mL)로 준비된 Samples를 96 well plate에 20 μL씩 add

↓

준비된 0.2mM DPPH solution을 각 well에 180 μL씩 처리

↓after 15 min at 37°C(암조건)

Read the OD value at 515 nm

Scheme 2-4. Procedure of DPPH antioxidant assay

DPPH radical 소거 활성 실험은 Blois법[17]을 응용하였으며, 실험방법은 다음과 같다. 4.0 mM DPPH 용액을 1/20으로 희석하여 준비하고 농도별(200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562, 0.781 μg/mL)로 준비한 시료들을 96 well plate에 20 μL씩 첨가하고, 준비된 0.2mM DPPH 용액을 사용된 각 well에 180 μL씩 처리하였다. 이후 37℃ 암조건에서 15분 간 반응시킨 후 515 nm에서 ELISA reader를 이용하여 대조군(Vitamin C)과 비교하였다(Scheme 2-4).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-5. 티로시나제 저해능 실험

Tyrosine은 효소인 tyrosinase에 의하여 멜라닌 생성의 전구체가 되는 DOPA와 dopaquinone으로 대사된다. 따라서 tyrosinase의 억제는 피부의 멜라닌 색소의 조절을 통하여 피부 미백 효과를 기대할 수 있다. tyrosinase inhibition assay에서는 mushroom tyrosinase를 이용한 DOPA-chrome법[18]을 응용하여 측정하였다.

96 well plate의 사용할 각 well에 0.1 M Potassium phosphate buffer(pH 6.5) 100 μL, 1.0 mM L-Tyrosine 40 μL씩 Add
↓
농도별(200, 100, 50, 25 μg/mL)로 준비된 Samples를 96 well plate 20 μL씩 Add
↓(Blank, Read the OD value at 490 nm)
1,000 U/ mL 농도의 mushroom tyrosinase를 40 μL 처리
↓after 15 min. at 37°C (암조건)
Read the OD value at 490 nm

Scheme 2-5. Procedure of Tyrosinase inhibition assay

0.1 M Potassium phosphate buffer(pH6.5) 100 μL와 1.0mM L-Tyrosine 40 μL을 96 well plate에 넣는다. 이후 준비된 시료들을 농도별(200, 100, 50, 25 μg/mL)로 20 μL씩 첨가한 후 490 nm에서 Blank의 OD을 측정한다. 그 이후 1,000 U/mL 농도의 mushroom tyrosinase 40 μL를 처리하고 37℃ 암조건에서 15분 간 반응시키고 490 nm에서의 OD을 측정하였다. 이때 사용된 대조군으로는 Arbutin을 사용하였다(Scheme 2-5).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-6. 엘라스타제 저해능 실험

Elastase inhibition activity는 James의 방법[19]에 따라 측정하였으며, 피부노화, 특히 주름(wrinkle)생성에 있어 주된 역할을 하는 matrix metallo-proteinases (MMPs)인 elastase의 활성 저해 정도를 측정하여 시료의 주름 개선 효과 정도를 측정하였다.

96 well plate의 사용할 각 well에 12.5 mM 기질(Suc-Ala-Ala-Ala-p-nitro anilide) 5 μL, Buffer(Tris 0.2 M : HCl 0.1 M 1:1 solution, pH 8.0) 125 μL를 넣어둠
↓
농도별(200, 100, 50, 25 μg/mL)로 준비된 Samples를 20 μL씩 처리
↓(Blank, Read the OD value at 405 nm)
Enzyme(0.1 μg/mL) 13μL와 Buffer 37 μL를 섞어(total 50 μL) 각 well에 처리
↓after 15 min at 25°C(암조건)
Read the OD value at 405 nm

Scheme 2-6. Procedure of Elastase inhibition assay

96 well plate의 사용할 각 well에 12.5mM 기질(Suc-Ala-Ala-p-nitro anilide) 5 μL와 Buffer(Tris 0.2M : HCl 0.1 M 1:1 solution, pH8.0) 125 μL를 넣고 농도별(200, 100, 50, 25 μg/mL) 시료들을 각각 20 μL씩 처리하고 405 nm에서 Blank의 OD을 측정하였다. 그리고 나서 Enzyme(0.1 ㎎/mL) 13 μL와 Buffer 37 μL(총 50μL)를 섞어 각 well에 처리한 후 25℃ 암조건에서 15분간 반응시킨 후 405 nm에서 OD을 측정하였다. 이때 대조군은 Oleanolic acid를 사용하였다(Scheme 2-6).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-7. 멜라닌 저해활성 실험

B16/F10 cell을 1x10^5 cells/well로 24 well plate에 각 1 mL씩 seeding
(in 1 μM α-MSH) 후 200, 100, 50. 25 μg/mL로 samples 처리

↓37°C incubation, 48hr

Medium 제거 후, PBS로 washing

↓dry the cell pellet in 60°C oven, add 1N NaOH 500 μL to melt the melanin

Read the OD value at 450 nm

Scheme 2-7. Procedure of Melanin inhibition assay

Melanin inhibition assay는 malanoma cell인 B16/F10 cell을 DMEM 배지를 사용하여 24well plate에 1x10^5 cells/well로 seeding 하고나서 1 μM α-MSH (alpha melanocyte-stimulating hormone)로 처리하여 37℃에서 48시간 동안 배양하였다. 이후 배지를 제거하고 PBS로 세척 후, 세포를 수확하여 1N NaOH를 첨가하여 세포를 완전히 녹인 후 450 nm에서 ELISA reader로 측정하여 대조군(Arbutin)과 비교하였다(Scheme 2-7).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-8. 여드름균에 대한 항균 실험

96well plate를 준비하고 시험균주가 접종된 동일량의 배지(GAM Broth) 분주

↓

samples의 농도를 125 ㎍/mL를 시작으로 serial dilution

↓

약 18시간 동안 37℃ incubating(혐기성 균인 P. Acne의 경우 혐기조건에서 배양)

↓

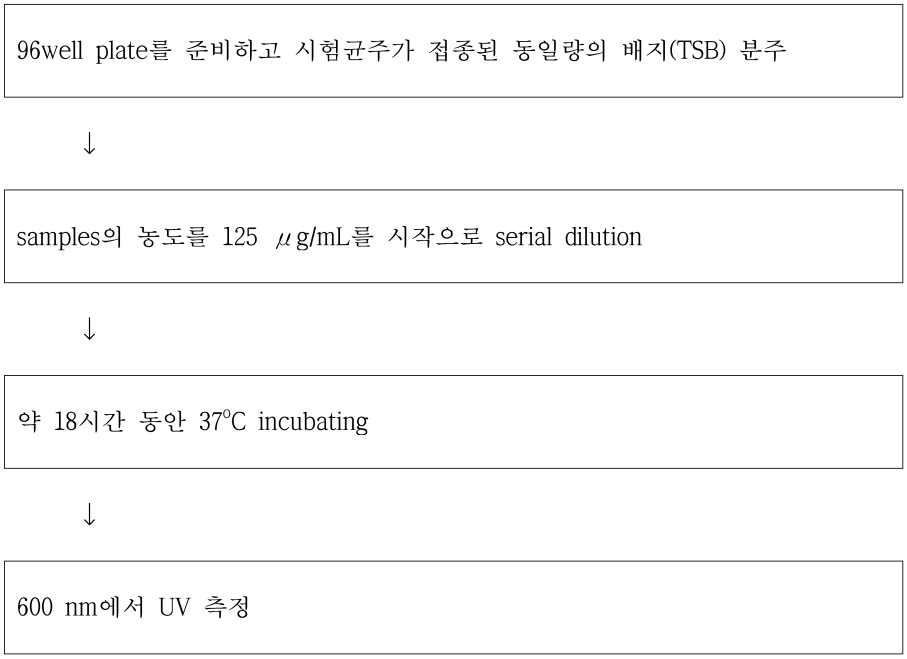
600 nm에서 UV 측정

Scheme 2-8. Procedure of Antibacterial test with P. acnes

96 well plate의 사용할 well에 시험균주가 접종된 동일량의 배지(GAM Broth)를 분주시킨 후 100 ㎍/mL에서 1.953 ㎍/mL까지 serial dilution 시키고 혐기조건 하에서 37℃, 18 시간 동안 배양시키고 600 nm에서 각 농도별 OD을 측정하였다(Scheme 2-8).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3-9. 피부포도상구균에 대한 항균 실험



Scheme 2-9. Procedure of Antibacterial test with S. epidermidis

96 well plate의 사용할 well에 시험균주가 접종된 동일량의 배지(TSB)를 분주시킨 후 100 μg/mL에서 1.953 μg/mL까지 serial dilution 시키고 37℃, 18 시간 동안 배양시키고 600 nm에서 각 농도별 OD을 측정하였다 (Scheme 2-9)

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 초임계유체 추출기(Supercritical Fluid Extractor)를 이용한 추출

1-1. 초임계유체 추출법에 대한 개요

1-1-1. 초임계 유체(Supercritical Fluid)

초임계 유체란 어떤 물질의 임계점(critical point)이상의 온도와 압력 조건에서 존재하는 유체로 액체와 기체의 중간 특성을 나타내며 밀도를 연속적으로 변화시킬 수 있기 때문에 용해도, 점도, 확산계수 등의 상태를 쉽게 조절할 수 있다.[20] 또한, 낮은 점도와 표면장력 및 높은 확산계수의 특성을 나타내어 고체 물질 내부로의 효과적인 침투가 가능하기 때문에 유효 성분의 효율적 추출에 적합하다. 이런 장점들로 인하여 초임계 유체 추출은 유기용매 추출에 비하여 짧은 시간 내에 높은 추출수율을 얻을 수 있는 매우 효과적인 공정기술이라 할 수 있다.[21]

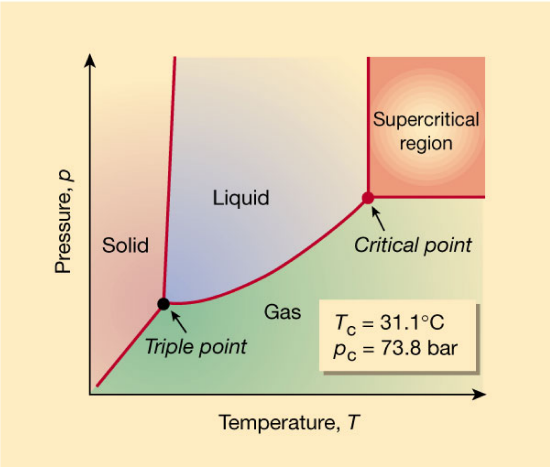


Figure 3-1. Carbon dioxide pressure-temperature phase diagram

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1-1-2. 초임계유체 이산화탄소

초임계유체 이산화탄소의 경우 임계점(73.8 bar, 31℃)이 비교적 낮고(Figure 3-1) 불연성이며 재활용이 용이한 천연 용매라고 할 수 있으며, 추출물과의 반응성 및 부식성이 거의 없고 가격이 비교적 저렴하다는 장점을 가지고 있어 초임계 유체 추출공정에서 가장 널리 이용되고 있다[22)23)24)]

1-1-3. 온도와 압력에 따른 초임계 상태에서 이산화탄소의 상태변화[25)]

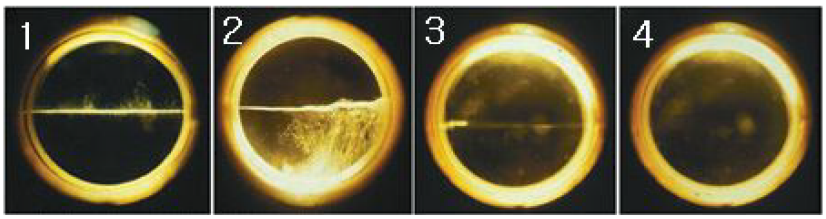


Figure 3-2. Change of CO_2 state in supercritical condition

첫 번째 반응 용기의 온도와 압력이 높지 않으면 이산화탄소는 액체와 같이 기체가 뚜렷한 경계를 두고 존재하게 된다. 두 번째 온도와 압력을 높이면 처음에는 액체 이산화탄소가 끓기 시작하며 세 번째 온도와 압력이 높아지면 액체와 기체를 구분하는 경계가 희미해진다. 그리고 마지막으로 네 번째의 경우 온도와 압력이 액체와 기체를 구분할 수 없는 임계점을 넘어서면 초임계상태가 돼 경계가 사라진다(Figure 3-2).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1-2. 초임계유체 이산화탄소 추출 공정

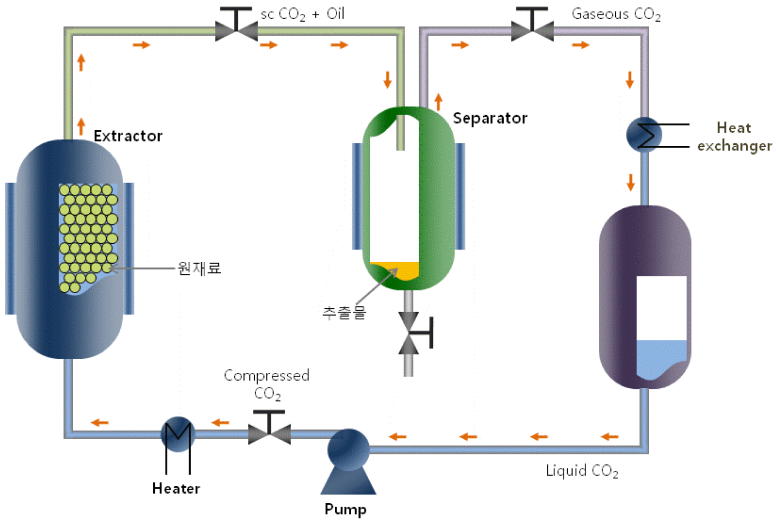


Figure 3-3. Simplified supercritical fluid carbon dioxide process flow diagram

초임계 유체 추출 기술은 종래의 추출기술의 원리가 복합된 기술이다. 기존의 기술로는 분리가 어려웠던 이성질체, 열 변성 혼합물의 분리, 고분자물질의 정제, 천연식물로부터 의약, 향료와 같은 유효성분의 분리 등을 비롯해서 에너지 절약형 무공해 공정개발 등 그 응용범위가 넓으며, 최근 상업화가 활발히 진행되는 첨단 분리기술의 하나이다.[26)27)] 초임계 유체의 용해력을 이용하여 물질을 추출하는 것으로 추출단계와 분리단계로 이루어진다.(Figure 3-3) 추출단계에서는 시료와 초임계유체 용매가 서로 추출단계에서 나오는 용질을 함유하고 있는 초임계 유체는 온도(chiller, heater)나 압력(Pump)에 의하여 분리단계에서 용질과 분리된다. 추출단계에서는 Extractor내에서 작업조건(온도, 압력)을 조정함으로써 초임계 유체의 용해력을 변경시켜 시료중의 특정 성분을 Seperator 내에서 선택적으로 추출할 수 있다. 초임계 물질로 가장 많이 이용되고 있는 이산화탄소는 임계조건에 쉽게 접근할 수 있으며, 인체에 무해할 뿐 아니라 불연성이고 화학적으로 안정하고 임계온도가 낮으므로 용질 성분의 변질을 일으키지 않는 장점을 갖고 있어 의약품, 식품 등을 추출하는데 적합하여 초임계 추출용매로 널리 이용된다.[28)]

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2. 아로마테라피(Aromatherapy)와 에센셜 오일(essential oils)

2-1. 아로마테라피의 정의

아로마(aroma : 향기)와 테라피(therapy : 치료)를 합성한 용어로 향기치료 또는 향기요법을 가리키는 말이다. 식물에서 추출한 100%의 Natural essential oil을 이용하여 질병을 예방하고 치료하는 자연의학의 한 형태이다.[29] 영어명 'Aromatherapy'는 프랑스 화학자인 르네 모리스 가테포세(Rene-Maurice Gattefosse)가 1937년에 언급한 프랑스어 'Aromatherapie'에서 기원한다. 그는 현대과학 및 실험에 기초한 아로마테라피 체제를 의학적인 근거를 가지고 발전시켰다. 1977년 최초로 아로마테라피 관련 책이 영어로 출간되었는데 로버트 티저랜드(Robert Tisserand)의 "아로마테라피의 예술(Art of Aromatherapy)" 이 바로 그것이다. 이 책은 전인론적이고 처음으로 에센셜 오일의 전체적인 심원한 관점과 의학적 적용으로 융합시킨 아로마테라피로 발전시킨 책이다.

2-2. 아로마테라피의 목적

인간의 美에 대한 욕망은 기원전으로 거슬러 올라간다. 과거 미인의 대표적인 상징이 우리가 잘 아는 클레오파트라이다. 이렇듯 과거에는 외형적인 미에 대한 관심이 주된 것이었으나 현대로 오면서 美는 뷰티(beauty)라는 포괄적인 개념으로 외형적인 아름다움뿐만 아니라 내면적인 아름다움, 육체적인 건강뿐만 아니라 정신적인 건강 그리고 질병을 치료하는 목적을 포함하여 질병을 예방하고 스트레스를 해소하는 **육체와 정신 그리고 영혼(body + mind + sprit)이 조화**된 아름다움(beauty)을 추구하고 있다. 이러한 현대인들의 욕구에 부합하여 에센셜 오일을 이용하는 대체 의학적 치료법이 현대적인 아로마테라피이다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2-3. 에센셜 오일

에센셜 오일은 자연에서 성장하거나 유기농법으로 재배된 방향성 식물의 잎, 줄기, 껍질, 꽃잎, 뿌리 등에서 추출한 방향유(정유, 精油)를 일컫는데, 식물에서 추출한 호르몬 성분으로 식물의 생명력 원천이라 할 수 있다. 인체 사용가능 정유는 약 100여종이 있으며 단일 오일로 쓰일 수도 있고 사용목적에 따라 최소량의 사용으로 충분한 효과를 나타내기 위하여 2~3 종류를 혼합해서 사용할 수도 있다.

모든 정유는 소독 및 방부 효과가 뛰어나며 100% 순수 자연성분으로 생명력과 치유력을 가지고 있으며, 모든 식물들이 에센셜 오일을 함유하고 있는 것은 아니며 약 400가지 정도의 오일을 상업적으로 사용하기 위하여 생산한다. 모든 방향유가 아로마테라피용으로 사용되어지는 것은 아니며(전체 방향유 생산의 5% 미만이 아로마테라피 용도로 사용) 향수, 화장품, 음식, 제과, 음료, 주스, 의약품, 샴푸나 린스 같은 제품 등에 방향유가 훨씬 폭넓게 사용되어지고 있다.[30]

일반적으로 에센셜 오일을 허브와 혼동하는 경우가 많은데 에센셜 오일은 식물 성분을 포함하고 있으며, 식물 그 자체의 치료 효과를 보유하고 있는 식물로부터 추출된 농축액이고 허브는 지구상에 자생하는 식물로 방향성 있는 식물의 꽃, 잎, 줄기, 뿌리, 씨앗 등을 채취하여 식용, 약용, 방향 등 인간의 생활에 도움이 되는 식물을 허브라 하고 허브의 종류는 약 2,500여 종이며, 건강, 식용, 신선함, 미용을 충족시키는 인간에게 유용한 모든 초본식물을 일컬으므로 에센셜 오일은 허브보다 훨씬 강력하여 소량만을 사용한다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2-4. 에센셜 오일의 주요 작용

에센셜 오일의 주요 작용은 체내에 자극을 주며 몸의 기능을 활성화 시키는 자극촉진작용, 피로를 풀고 심신을 이완 시키는 진정작용, 엔도르핀을 많이 나오게 하여 기분을 좋게 하는 최음작용, 체내의 신진대사 기능을 촉진시키는 작용으로 신체의 밸런스를 조절하며, 백혈구의 수를 증가시켜 체내의 면역기능을 향상시키는 등 매우 다양하다. 대부분의 에센셜 오일의 치유 효과는 주로 흡입을 통하여 마음과 감성의 경로를 따라서 일어나는데, 1920년대 초 과학자인 Gatti & Gayola는 에센셜 오일의 치료적 특성에 대하여 살펴보았다. 그리고 소화를 통한 것이 아닌 흡입을 통하여 에센셜 오일이 가지는 진정 혹은 자극효과에 대하여 관심을 가졌다. 특히 에센셜 오일은 전인적 관점에서 주의 깊게 선택한다면 정서적이거나 감성적인 상태를 해결하기 위한 이상적인 도구로 받아 들여졌다.

에센셜 오일분자가 우리의 코를 통하여 흡입하게 되면 두 가지 경로가 동시에 발생하게 된다. 대부분의 분자들은 피할 수 없이 폐로 들어가게 되고 그 나머지는 뇌로 가게 된다. 폐에서는 즉각적인 물리적 효과를 발휘하고 바로 혈액의 흐름으로 유입돼 신체 전반에 흘러가게 된다. 뇌로의 흡입 경로는 에센셜 오일이 흡입되면 방향 분자는 바로 공기를 따라서 후각상피세포(olfactory epithelium가 있는 코의 천장으로 유입된다. 이곳은 우표만한 크기로 코의 윗부분을 따라 얇은 점막 층이 형성되어 있으며 미세하고 얇은 머리카락 같은 섬모가 자리하고 있으며(cilia), 5백만 개의 후각 뉴런을 통하여 후구(olfactory bulb)로 전달된다. 후구는 뇌의 앞부분에 있는 구조로서, 냄새 감각의 정보 교환 기관이라 할 수 있다. 그리고 냄새 신호는 후구에서 뇌피질과 변연계(limbic system)로 모두 전달되어, 실제 정보가 전달될 뿐만 아니라 감정적 반응도 일어나게 되는 것이다.

작은 방향 분자들이 후각섬모들에 어떤 형태로 붙잡혔을 때 방향 분자들이 가지고 있는 정보메시지가 후각구를 통해서 변연계로 전달되게 된다. 이

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

러한 경로를 통해 기억과 감성적인 반응이 야기되는 것이다. 이러한 메시지들은 행동으로 전환하게 되며 결국에 가서는 행복감, 긴장이완, 진정 혹은 자극하는 것에 반응하여 신경화학물질이 분비되게 되는 것이다.[31]

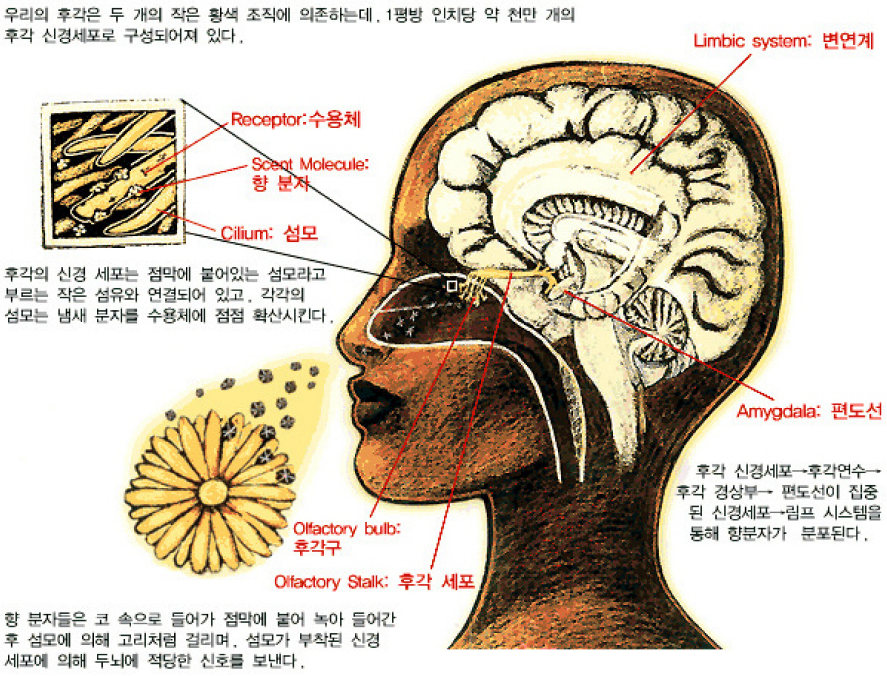


Figure 3-4. Aroma inhalation route of essential oils[32]

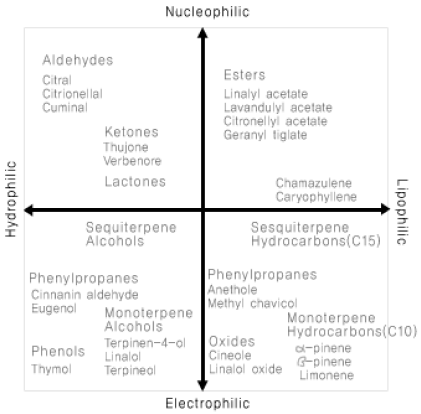
제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2-5. 에센셜 오일 추출방법

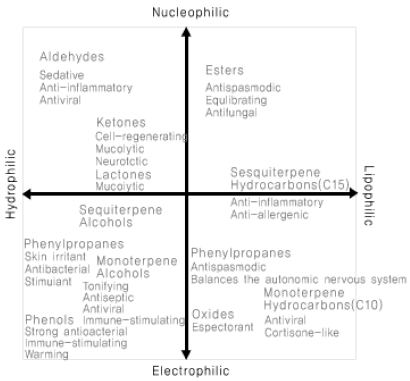
에센셜 오일을 추출하는 방법은 크게 용매를 이용하는 방법과 용매를 이용하지 않는 방법으로 나눌 수 있으며 용매를 이용하는 추출법으로는 냉침법, 온침법, 용매추출법 그리고 초임계유체 이산화탄소 추출법이 있다. 반면에 용매를 이용하지 않는 방법에는 압착법과 수증기 증류법이 있으며, 본 논문에서는 친환경적이면서 수율(yield)이 우수한 초임계유체 이산화탄소 추출법과 비용매 추출법인 수증기 추출법을 이용하여 에센셜 오일을 추출하였다.

2-6. 에센셜 오일의 일반적인 구조와 특성[33)34)]

1. 에센셜 오일과 화학성분



2. 에센셜 오일의 화학성분과 효능



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3. 화학성분과 에센셜 오일

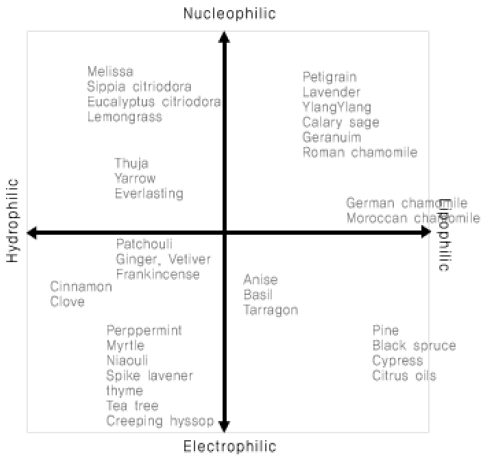


Figure 3-5. General structures and properties of essential oils

2-6-1. Monoterpenes

Monoterpene은 탄화수소로 알려져 있으며 적어도 하나의 이중결합에 10개의 탄소원자를 가지고 있다. 그들은 open chain, monocyclic, bicyclic 혹은 방향족으로 분류된다. 모노터펜은 아로마오일을 구성하는 가장 대표적인 유기분자로 대부분의 오일에 함유되어 있다. 꿀풀과 소나무과, 산형과, 운향과 식물 에센셜 오일의 대부분을 차지하며 모노터펜 성분이 많은 아로마오일들은 색이 비교적 투명하고 점도가 약하며 분자량이 작아 잘 휘발되어 가벼운 탑노트(Top note)향이며 쉽게 산화되는 특징을 가진다. 그렇기 때문에 피부점막을 자극해 발작을 일으킬 수 있으므로 주의해야 하고 대표성분으로는 pinene, limonene, myrcene 등이 있다. 주로 모노터펜은 살균, 항균, 항바이러스, 살충작용을 한다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2-6-2. Sesquiterpenes

세스퀴터펜은 주로 목질, 뿌리, 국화과식물에서 나타나고 미들노트(Middle note) 또는 베이스노트(Base note)향을 갖는다. 세스퀴터펜 탄화수소 분자는 15개의 탄소원자와 적어도 하나의 탄소 간 이중결합(C=C)을 가지고 있으며 수소원자의 개수에 따라 다양해진다. 세스퀴터펜은 주로 항균, 항진균, 항바이러스, 항히스타민, 항알러지효과와 약간의 해열 및 혈압강화 효과를 갖는다. 대표 성분으로는 chamazuLene, farnescene 등이 있다.

2-6-3. Alcohols

모노터펜알코올은 10개의 탄소원자를 가지고 있으며, 탄소 골격 어딘가에 수산기(hydroxyl group)가 있다. 세스퀴터펜 알코올은 15개 탄소 원자를 가지고 있으며, 마찬가지로 수산기를 갖고 있다. 알코올의 일반적인 특성은 어린이나 노인에게 가장 안전하게 피부에 사용할 수 있고 심리적으로 기분 좋은 고양효과를 지니고 있다. 치료적인 효능은 항진균, 항균성을 갖고 있으며 안전하게 사용할 수 있으며, 근육 및 신경의 항경련작용 및 혈관과 림프계 정체를 줄여 순환과 면역계를 자극, 강화시켜 주며 국소적인 마취, 진통효과를 가지고 피부에 도포 시 시원한 느낌이 있다는 특징이 있다. 대표 성분으로는 geraniol, citronellol, linalool, nerol, bisanolol, menthol 등이 있다.

2-6-4. Phenols

페놀은 알코올 보다 항균성이 더욱 강하지만, 피부 단백질과도 반응하므로 피부와 점막에 자극이 심하다. 향이 매우 강하고 잘 휘발되지 않는 특성을 가지고 있으며, 치료적인 효능으로는 매우 강력한 항전염

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

성, 항균, 항바이러스 효과를 가지고 있고, 혈액순환을 자극하여 몸을 따뜻하게 해주므로 수족냉증, 뻣뻣한 근육의 개선효과가 있으며 중추신경계를 자극하고, 면역계자극을 활성, 혈압상승효과가 있다. 페놀은 피부 점막에 매우 자극적이므로 반드시 희석해서 사용해야 하고 중추신경계나 간을 손상시킬 가능성이 있으므로 다량, 장기간 사용해서는 안 된다. 대표 성분으로는 cavacrol, eugenol, thymol 등이 있다.

2-6-5. Aldehydes

알데하이드는 주로 과일향 특히 레몬향이 나고 터펜이나 알코올만큼 안전하지는 않지만 다른 성분에 비해서 자극이 덜하다. 치료적인 효능은 강한 항바이러스, 항균효과를 가지므로 항 전염효과를 가지고 있으며, 혈관 확장과 혈압강하제, 중추신경계를 진정, 이완시키는 효과를 가지고 있다. 주의사항은 피부점막에 사용하거나 민감성 피부, 알레르기 피부에는 약간 자극적이며 국소적 염증을 유발할 가능성이 있다. 대표 성분으로는 citral, citronellal, geranial, cinnamic, aldehyde 등이 있다.

2-6-6. Ketones

케톤은 강한 민트-캠퍼향이 나고 매우 안정적이며 잘 산화되지 않고 간에서 분해되지 않는 특징이 있다. 치료적 효능은 강력한 거담제(항응고제)로 만성 기관지 질환, 가래기침, 상기도 호흡문제, 호흡곤란을 완화하는 작용이 있고 세포재생 효과가 탁월하여 외상치료에 효과가 있다. 케톤은 아로마오일 성분 중 잠재된 유독성이 높아 특히 주의해서 사용해야 하고 다량으로 사용하면 신경독성, 발작, 유산을 유발할 수 있으므로 반드시 1% 미만으로 희석해서 사용한다. 또한 체내에서 쉽게 분해되지 않으므로 장기간 반복사용은 위험하다. 대표성분으로는 camphor, menthone, verbenone, camphone, fenchone 등이 있다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2-6-7. Oxides

옥사이드의 향은 캠퍼와 같은 매우 강한 향이 나고 저 농도라고 해도 전체의 향에 큰 영향을 미치며 매우 불안정하여 공기나 고온 물에 장시간 노출되면 빨리 산화되는 특성이 있다. 치료적 효능의 경우 1,8-cineole은 기관지 점막을 자극하여 강한 거담작용을 하고 기관지 질환 관련 치유효과를 가진다. 항감염, 항균, 항바이러스 작용을 가지기도 한다. 사용 시 주의할 점은 1,8-cineole은 신경독성을 갖고 있으며 강한 향이 점막에 자극적이므로 과다 사용 시 천식을 유발할 가능성도 있다. 대표성분으로는 1,8-cineole, bisabolol oxide가 있다.

2-6-8. Esters

에스테르는 꽃향이나 숙성한 과일향이 나고 증기추출 시 식물에 있던 에스테르나 알코올, 유기산 성분은 추출과정에서 화학적 변화를 일으켜 원래의 식물향과 증류된 아로마오일의 향에 차이가 나기도 한다. 치료적 효능은 염증의 진정효과, 항염효과, 신경계를 안정시키고 강화시키는 특성이 있으며, 항진균효과를 가진다. 체내에서 쉽게 배출되어 안전한 성분이고 피부에 미치는 해가 거의 없으며 대표성분으로는 boryl acetate, menthyl acetate, linalyl acetate, geranyl acetate 등이 있다.

2-6-9. Ethers

Ether의 경우 치료적 효능은 균형, 진정제, 온열 효과, 정신자극 신경계 독성 등이 있으며, 대표 성분으로는 anethol, methylchavicol, safrol, myristicin 그리고 apiol 등이 있다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3. 활성산소와 항산화제

인간은 누구나 호흡을 하며 산소를 들여 마시게 된다. 즉 산소는 우리의 생명을 유지하는데 있어 필수불가결한 요소이며 인체 내 독극물질 해독을 위해서도 필요하다. 그러나 이렇게 유용한 산소가 반드시 인체에 유익한 것은 아니어서 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 광화학반응 등 각종 공해물질, 물리 화학적, 환경적 요인 등에 의해 수퍼옥사이드 라디칼(super oxide radical, $\cdot O_2^-$), 하이드록시 라디칼(hydroxyl radical, HO·), 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2), 일중항산소(singlet oxygen, $^1O_2$)와 같은 반응성이 매우 큰 free radical로 전환되면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키는 양면성이 있다.

산소는 환원과정에서 세포성분과 세포의 기질에 손상을 주는 인자인 HO·와 $^1O_2$를 계속 생성하여 생체막의 필수 구성분인 불포화지방산의 탄소사슬을 공격하여 미크로좀(microsome), 미토콘드리아(mitochondria), 리조좀(lysosome)막을 손상시키고, 과산화물은 DNA와 RNA에 작용하여 생화학적 변화를 초래해서 질병과 노화 촉진 및 발암물질로 작용한다.(Figure 3-6)[35)36)37)38)]

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

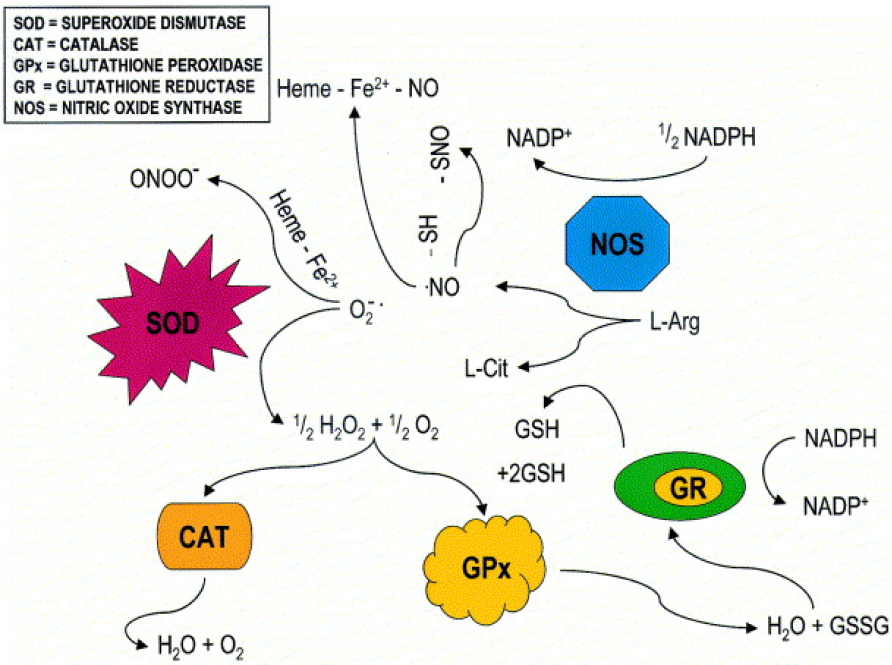


Figure 3-6. Oxidative and anti-oxidative mechanism in the cells[39]

이때 항산화제는 여분의 전자를 free radical에 주어 이들을 중화시켜 free radical chain reaction을 멈추게 함으로써 이들로 인한 질병 등의 위험을 감소시키게 된다.(Figure 3-7)[40]

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

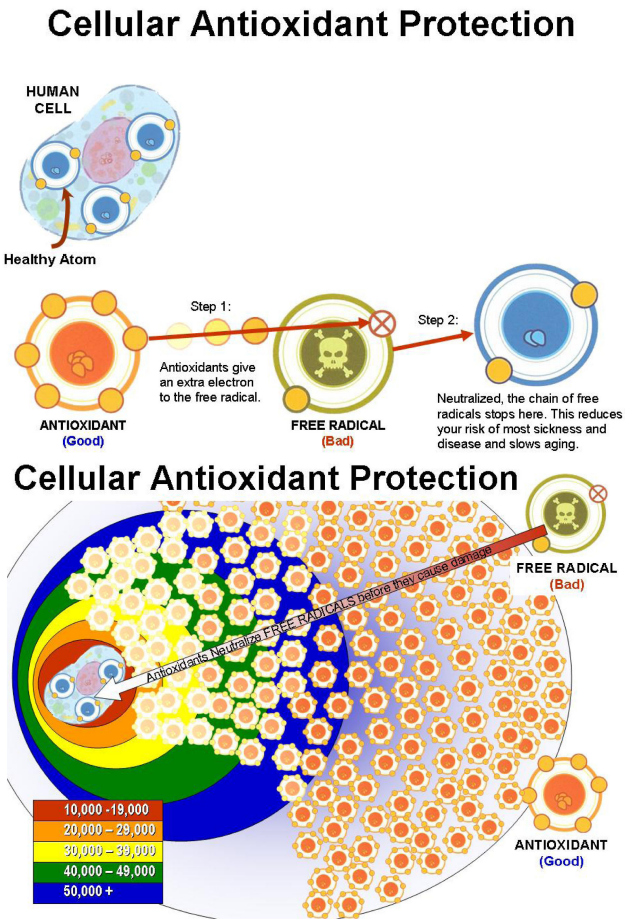


Figure 3-7. Antioxidant protection for cells[41]

이러한 활성산소를 제거하기 위한 항산화제에는 butylated hydroxytoluene(BHT), butylated hydroxyanisol(BHA), propyl gallate(PG) 등과 같은 합성 항산화제, tocopherol류, flavonoids류, 탄닌류, ascorbic acid, carotenoids, glutathione, 아미노산 등과 같은 천연 항산화제 및 SOD와 같은 항산화 효소가 있다. 그런데 합성 항산화제인 BHT와 BHA 등은 탁월한 항산화 효과와 경제성 때문에 지금까지 널리 사용되어 왔으나, 간 비대, 간장 중 microsomal 효소활성 증가, 체내 흡수물질의 독성화 및 발암 가능성 등의 문제가 제기되어 허용대상 식품이나 사용량이 엄격히 제한되고 있다. 또한 tocopherol과 ascorbic acid 같은 천연 항산화제는 안전성은 높

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

지만 단독으로는 산화연쇄반응 저지 능력이 낮고 가격이 비싼 단점이 있다. 이러한 이유로 최근에는 천연물로부터 보다 안전하고 경제적이며 효과가 뛰어난 항산화제를 분리·이용하려는 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 식물유래 물질로 식물의 2차 대사산물은 자유라디칼과 활성산소의 생성을 억제하거나 제거하여 산화를 방지하기 때문에 이에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다.[42)43)]

4. 염증(Inflammation)

4-1. 염증의 정의

얼굴에 부스럼이 나거나 손발 등에 열이 가해지거나, 강산, 강알칼리 등이 묻었을 때 그 국소는 붉게 열이 나며 동통을 일으킨다. 이와 같은 상태는 마치 그곳이 불에 타고 있는 것과 같은 감각으로 기원전 그리스 로마시대부터 염증이라 불려왔다. 그러나 염증에 대한 정의는 기원전부터 현대에 이르기 까지 다소 그 의미가 변하여 왔다.[44)45)] 염증은 여러 가지 자극으로 그 국소에서 일어나는 복잡한 생체반응 과정이다. 염증은 해로운 자극 물질을 파괴하고 희석하며 격리시킨다. 계속된 염증 반응으로 손상된 조직은 여러 형태로 치유되고 구축된다. 염증의 말기 현상인 치유(healing)와 재구축(reconstitution)을 수복(repair)이라고 한다. 이와 같은 염증과정은 조직의 손상에 대한 즉각적인 혈관변화 반응과 동시에 신체의 수복기전이 시작되는 동시성이며 연속적인 것이 특징이다.

수복은 두 가지 기전으로 이루어진다. 첫째 기전은 상해를 받은 조직의 실질세포가 재생(regeneration)되어 결손부위를 채우게 되는 기전이고, 다른 기전은 섬유 모세포의 증식에 의하여 생긴 반흔 조직(scar tissue)이 결손부위를 대치함으로써 이루어진다. 후자의 과정에서는 염증 병소에 반흔이 남게 된다. 이와 같은 염증은 개체를 해로운 자극으로부터 보호하는 유익한 생체 반응이다. 그러나 염증과 수복이 항상 개체에 유익한 작용만

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

을 하는 것은 아니며 개체에 해로운 영향을 미치기도 한다. 따라서 염증은 외부의 자극에 대한 양면성을 가지고 있는 생체의 반응이라고 할 수 있다. 일반적으로 세포의 손상은 유해한 자극으로 인한 세포의 수동적인 생체 반응이지만, 염증은 유해한 자극에 대한 생체의 능동적인 방어 반응이라고 볼 수 있다.

4-2. 염증의 원인

염증을 일으키는 원인은 여러 가지가 있지만 물리적 인자(기계적 상해 작용, 온도, 방사선 등)와 화학적 인자(강산을 비롯한 독극물 등), 병원 미생물(세균감염 등의 기생충에 의한 것), 면역학적 자극(알레르기 등) 등을 들 수 있으며, 이중에 병원 미생물에 의한 것이 가장 많다. 이러한 원인으로 인한 염증은 일어나는 시간의 경과에 따라 급성염증(acute inflammation)과 만성염증(chronic inflammation)으로 구분된다.[46] 급성염증은 원인에 관계없이 비교적 일정하게 반응을 나타내는데 만성 염증은 원인에 따라 형태가 다양하게 나타난다.

4-3. 림프관 및 림프절

림프관 및 림프절은 단핵 식세포계와 함께 국소적인 염증반응의 일차적 방어가 무너졌을 때 염증 삼출액이 주변 림프관을 통해 해당 림프절로 이동하게 됨으로 염증인자(예: 세균)가 직접 혈액내로 침투되는 것을 막는 일시적인 이차적 방어선의 역할을 한다. 그러나 손상이 심할 경우에는 손상의 원인 인자가 림프액으로 운반되어 림프관염 및 림프절염을 초래할 수도 있다. 예를 들면 목감기가 걸렸을 때 편도가 붓거나 목 부위의 림프절이 붓는 경우를 쉽게 경험할 수 있다. 또 다리에 염증이 있으면 서혜부 림프절이 붓는 것은 2차적으로 림프절염이 생긴 것이다. 대개 림프절에서 병원체가 제거되지만 제거되지 못한 것은 해당 림프절을 벗어나 림프관으로 들어가 전신 혈액순환에 파급되어 균혈증(bacteremia)을 야기할 수도 있다. 이 경우

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

심한 때에는 전신순환을 통해 세균이 퍼져 심내막염, 뇌막염, 신장농양 및 화농성 관절염 등을 초래할 수도 있는 패혈증(sepsis)이 되기도 한다.

4-4. 염증의 반응

혈관이 일시적으로 수축하여 확장이 일어나 혈액량은 증가하고 혈류속도는 느려지게 되는데 이 때 호중구가 빠져나오고, RBC(Red blood cell), 물 등이 빠져나오는데 이것을 출혈(hemorrhage)이라 한다. 이것들이 빠져나오면서 고름(농)이라는 것이 생기게 된다. 고름이 생긴 곳에서는 영양분을 필요로 하며 모세혈관의 증가와 섬유모세포가 증가하게 됨으로써 새살이 돋아나기 시작한다. 이 시기를 육아조직(granulation tissue)이라 한다. 염증이 생긴 후 회복, 흉터(반흔), 염증반복, 만성염증으로 결과가 나타날 수 있다. 이때 만성염증은 시간적 개념을 말하며 림프구, 형질세포, 대식세포 등이 있다.

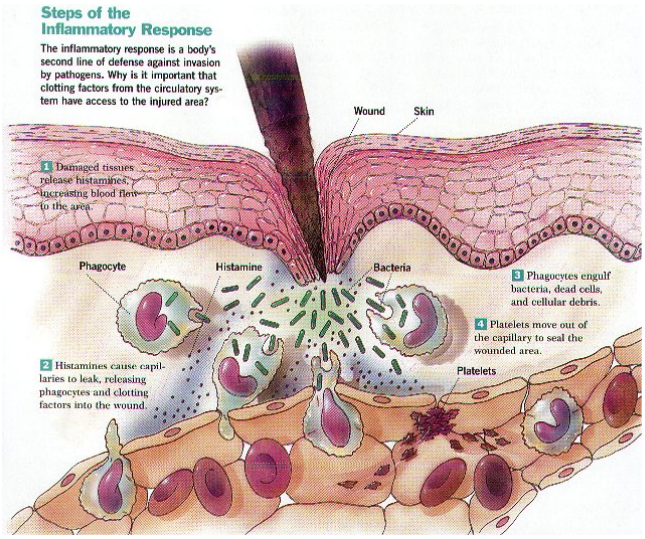


Figure 3-8. Steps of the inflammatory response

위의 그림은 일반적인 염증반응 과정을 보여주고 있다(Figure 3-8).[47] 세포에 충격이 가해지거나 박테리아가 침투하게 되면 마스트세포(mast

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

cell)에 의해 histamine이 생성되며, 각각의 혈관(vasolidation)에서 더 많은 혈액들이 생성되게 된다. 이로 인한 혈관투과성(vascular permeability)의 증가로 혈장(plasma)이 세포사이로 새어나가게 되고 중성호성백혈구(neutrophils)에 의해 그 지역의 침윤(infiltration)이 발생하게 된다. 이러한 기작에 의해 염증지역이 성장하게 되거나 또는 식세포들이 침입한 박테리아를 먹어치우게 된다.

4-5. 염증의 전신적 영향[48)]

염증 시 전신적으로 일어나는 현상 중 흔히 관찰되는 소견은 발열과 백혈구의 증가라고 할 수 있다. 염증이 발생되었을 때 나타나는 가장 흔한 전신적 반응은 발열이며, 특히 감염을 동반한 염증이 있을 때는 더욱 뚜렷하다. 세균이 몸 안에 들어와서 혈중에 순환하는 균혈증 대부분이 체온이 급격하게 상승하는 스파이크 열(spike fever)을 발생하게 된다. 그 외의 급성기 반응에는 식욕감퇴, 단백질 소모의 증가, 저혈압, 간에서 합성되는 C-반응성 단백질(C-reactive protein), 보체 및 응고단백 등의 증가, 그리고 말초백혈구의 다양한 변화 등이 있다. 이러한 급성기 발열반응에서 **인터류킨-1(IL-1)과 종양괴사인자(TNF)는 중요한 매개물질로 작용**한다.[49)] 염증 반응이 있을 때 말초 혈액의 백혈구 수의 증가를 흔히 볼 수 있으며, 특히 세균의 감염이 있을 때 현저하다. 이때 백혈구 수는 1 ㎜^{3}당 15,000 ~ 20,000개 정도이나 경우에 따라 40,000개 또는 100,000개 까지 증가하기도 한다. 이와 같은 백혈구의 심한 증가를 백혈병 시 벽혈구가 심하게 증가하는 것과 유사하다고 하여 유백혈병 반응(leuke-moid reaction)이라고 한다. 말초 백혈구 수는 처음에는 IL-1 및 TNF의 작용에 의한 골수 내에 저장된 성숙한 백혈구가 혈중으로 방출되므로 증가하나 심한 경우에는 보다 미숙한 호중구의 증가를 동반하게 되는데 그 현상을 좌방이동(left shift, 대개 모세포를 좌측부터 쓰고 성숙된 세포는 우측으로 나열하기 때문에 좌측이동은 결국 미숙 백혈구의 혈액에 출현을 의미한다)이라 한다. 대부분의 세균 감염으로 호중구증가증(neuphilia)이 초래되나, 전염성 단핵구증, 백일해, 볼거리, 풍진

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

등과 같이 바이러스성 감염에서는 오히려 림프구 증가증이 있다. 그리고 기관지 천식, 고초열 및 기생충 감염과 같이 알레르기와 관련 있는 경우에는 호산구 증가증(eosinophilia)을 보인다. 장티푸스, 바이러스, 리케치아 및 특수한 원충류의 감염이 있을 때에는 반대로 백혈구 감소증이 있으며, 백혈구 수의 감소는 파종성 암종 또는 심한 속립성결핵(miliary tuberculosis)에서도 볼 수 있다.

4-6. Nitric oxide (NO) 생성과 염증 관계

염증반응은 병리학적 상태에서 중요한 역할을 한다.[50] 염증반응 중에서 대식세포는 외부 침입 물질에 대한 방어 기전을 신속하게 보내는 역할을 한다. 대식세포가 활성화 되면, 대식세포는 많은 염증성 인자들을 생산하는데, 그 인자들에는 Tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin (IL), leukotrienes, nitric oxide (NO) 등이 있다.[51][52] 이러한 cytokine의 과잉생산은 류마티스성 관절염, 천식, 호흡기 질환, 폐혈증 등의 질환을 유발하는 중요한 인자가 된다.[53] 그 결과 염증 반응을 억제하는 것은 염증성 질환을 치료하는데 큰 도움이 된다.

nitric oxide (NO)는 높은 반응성을 가진 생체 생성분자로서, nitric oxide synthase (NOS)에 의해 L-argine으로부터 생성된다.[54] NO는 신경전달, 혈관의 이완 및 세포 매개성 면역반응에 관여하는데, 특히 대식세포에 lipopolysaccharide (LPS)로 자극하면 inducible Nitric oxide synthase (iNOS)가 발현되어 NO을 생성하게 된다.[55][56][57][58][59] 이렇게 생성된 NO는 염증반응을 매개하는 역할을 하게 된다. NO의 발현과 염증성 싸이토카인 (cytokine)의 생산은 주로 mitogen-activated protein kinases (MAPKs)를 통해 일어난다.[60] MAPKs의 구성은 주요하게 3개로 이루어져 있다; extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-jun NH_2-terminal kinase (JNK), p38이 그 구성인자들이다.[61] MAPKs의 활성은 대식세포에서 NO의 생산과 전염증성 싸이토카인 (cytokine)의 발현을 초래한다.[18] 따라서 항염증성 약물의 개발

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

은 MAPKs의 활성을 억제하는 물질의 개발로도 그 의미를 확대할 수 있으며, 이는 염증성 인자들 생산의 억제에 영향을 줄 수 있음을 보여준다. Nuclear Factor kappa B ($NF_{\kappa B}$)는 선천성 면역반응에서 병원성 미생물을 인식하여 Toll like receptor (TLR)을 통하여 활성화 된다.[62] 특히 TLR4의 ligand인 LPS는 그람 음성 박테리아의 외부세포막의 구성성분으로 대식세포를 활성화시키며, 또한 endotoxic shock의 원인물질로써 알려져 있다.[63] 대식세포를 LPS로 자극하면 TNF-α, IL-1, IL-6 등과 같은 싸이토카인(cytokine) 및 NO의 발현을 증가시킨다. LPS가 혈액에 있을 경우 즉각적으로 LBP (lipopolysaccharide binding protein)와 접합하고 다시 CD14와 복합체를 형성하는데 이렇게 형성된 LPS/LBP/CD14 복합체가 세포표면에 작용하여 MAPK (mitogen-activated protein kinase)의 활성화 및 $NF_{\kappa B}$의 활성화를 일으킨다.[64][65][66]

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5. 초임계유체 이산화탄소 추출 결과

5-1. 초임계유체 이산화탄소추출 시 온도와 압력에 따른 수율변화

5-1-1. 일정한 압력(350 bar)하에서 온도 변화에 따른 수율(yield)변화

Table 3-1. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil with temperature

Temperature (°C)	60	70	80
Yield (%)	0.6	1.45	3.8

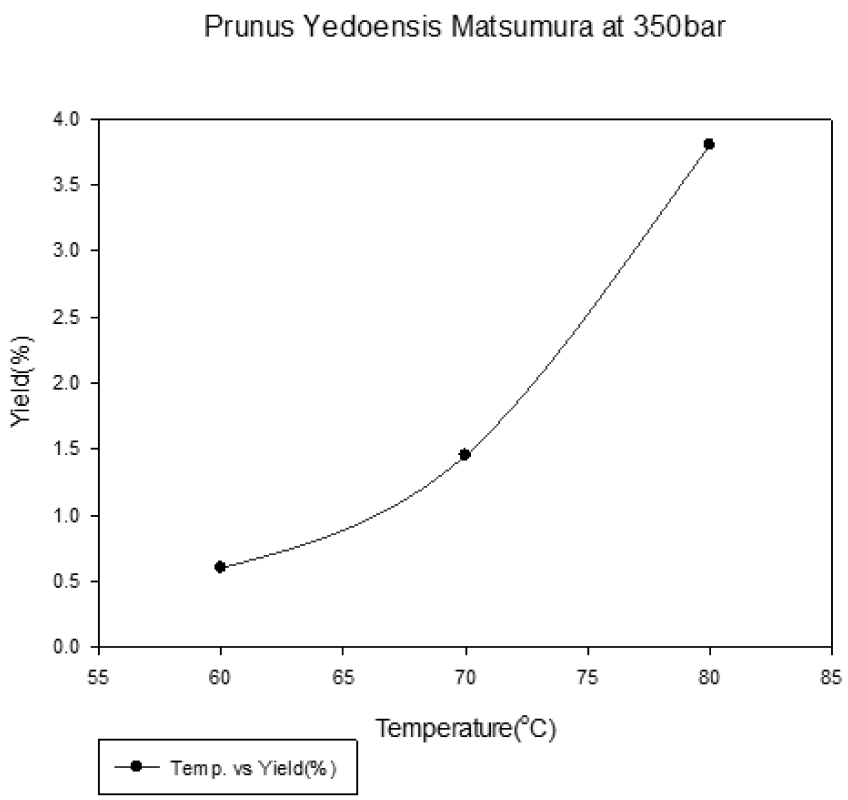


Figure 3-9. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil with temperature

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-1-2. 일정한 온도(80℃)하에서 압력 변화에 따른 수율(yield)변화

Table 3-2. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil with pressure

Pressure (bar)	200	300	350
Yield (%)	0.56	2.45	3.8

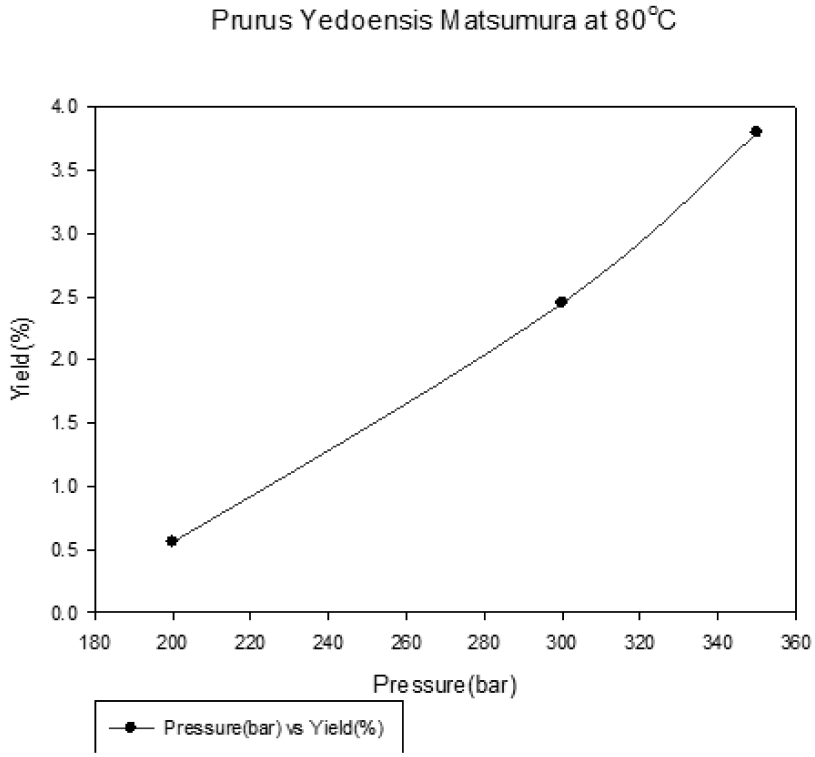


Figure 3-10. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil with pressure

초임계유체 이산화 추출의 경우 압력과 온도에 비례하여 수율이 증가함을 알 수 있었다. 그러나 온도의 경우 60℃ 이상에서는 일정한 압력 하에서 온도에 비례하여 증가하는 반면, 60℃ 미만에서는 반대로 온도가 낮아질수록 수율이 증가하는 이른바 교차상태가 발생하는데 이는 초임계 상태에서 용매의 밀도와 용질의 용해도 간 경쟁에 의해 발생하게 된다[67]. 그리고 일정한 온도 하에서 압력이 증가 시 수율이 비례하여 증가하는 것은

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

초임계 하에서 압력이 증가함에 따라 용매의 밀도가 상대적으로 증가하게 되고 결국 초임계유체 이산화탄소의 용해도가 증가함으로써 수율이 증가하게 되는 것이다.[68]

5-1-3. 제주왕벚나무의 경우 특정 온도와 압력 하에서 시간경과에 따른 수율변화

Table 3-3. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 70℃ and 350 bar

Time (min.)	30	60	90	120	150	180
Yield (%)	0.25	0.39	0.53	0.74	0.94	1.44

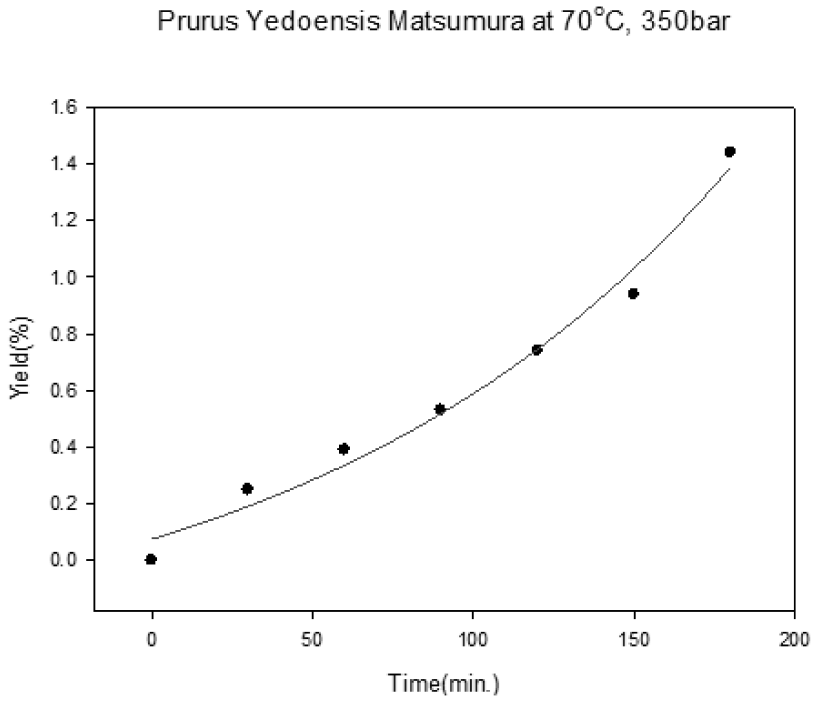


Figure 3-11. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 70℃ and 350 bar

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-4. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 80℃ and 350 bar

Time (min.)	30	60	90	120	150	180
Yield (%)	1.76	2.39	2.92	3.36	3.72	3.8

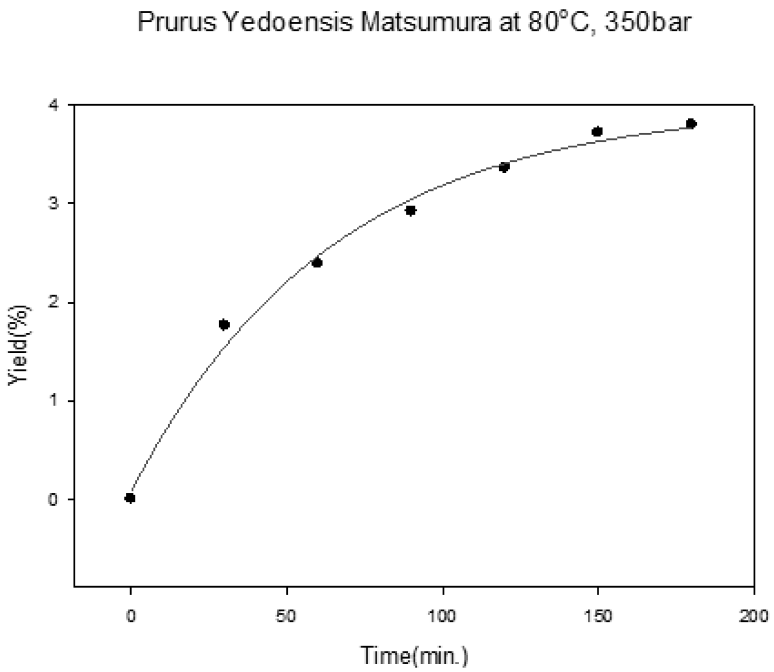


Figure 3-12. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 80℃ and 350 bar

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-5. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 80℃ and 200 bar

Time (min.)	30	60	90	120	150	180	210	240
Yield (%)	0.21	0.32	0.43	0.64	0.90	1.33	1.33	1.34

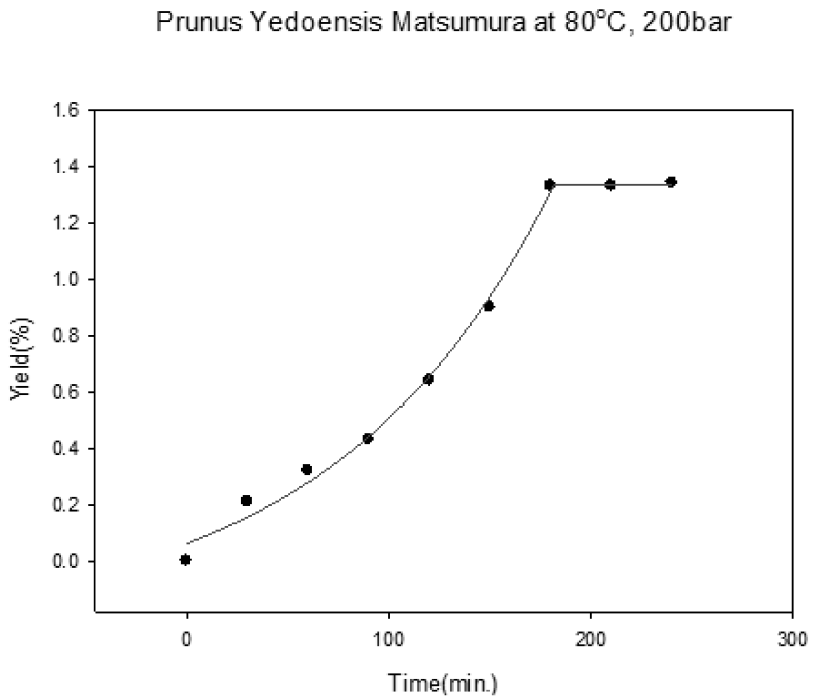


Figure 3-13.Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 80℃ and 200 bar

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-6. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 80℃ and 300 bar

Time (min.)	30	60	90	120	150	180	210	240
Yield (%)	1.02	1.42	1.67	1.93	1.93	1.93	1.93	1.93

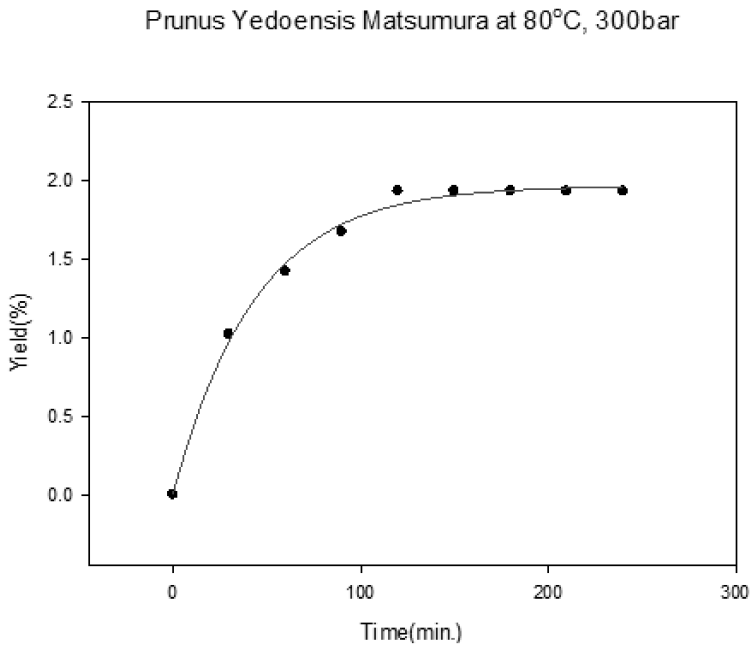


Figure 3-14. Yield variation of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 80℃ and 300 bar

제주왕벚나무의 경우 일정 압력에서 온도변화에 따른 수율변화 그리고 일정 온도에서 압력변화에 따른 수율변화를 확인한 결과 온도 및 압력이 높아질수록 수율이 증가함을 알 수 있었다. 이는 높은 압력 범위에서 용해도가 용질의 증기압에 의해 더 큰 영향을 받기 때문에 동일 압력조건에서 온도가 증가할수록 초임계 유체의 밀도는 감소하나 용질의 증기압 증가가 더 크게 작용하여 결과적으로 용해도가 증가하고 이로 인해 수율이 비례하여 증가하게 되는 것이다.[69)70)] 또한 초임계유체 이산화탄소 추출의 경우 2시간 내외에 추출평형 상태에 도달하는 것으로 확인되었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-1-4. 삼백초의 경우 80℃, 350 bar에서 시간경과에 따른 수율변화

Table 3-7. Yield variation of *Saururus chinensis* essential oil at 80℃ and 300 bar

Time (min.)	30	60	90	120	150	180	210	240
Yield (%)	0.17	0.34	0.89	1.45	1.95	2.85	2.98	2.98

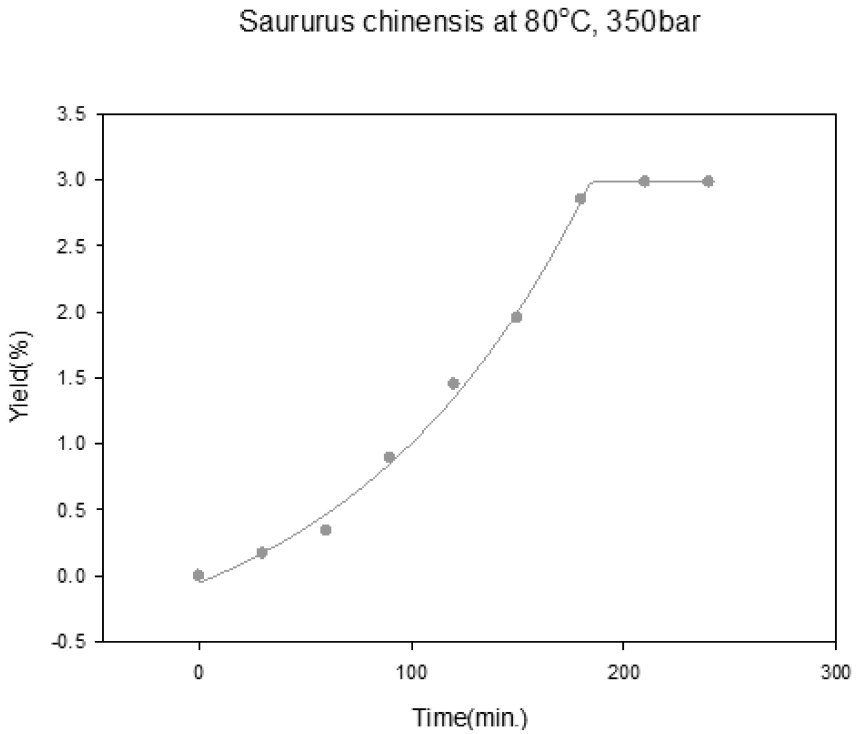


Figure 3-15. Yield variation of *Saururus chinensis* essential oil at 80℃ and 300 bar

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-1-5. 초피나무의 경우 80℃, 350 bar에서 시간경과에 따른 수율변화

Table 3-8. Yield variation of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 80℃ and 300 bar

Time (min.)	30	60	90	120	150	180	210	240
Yield (%)	0.20	0.63	1.05	1.87	2.77	3.11	3.12	3.12

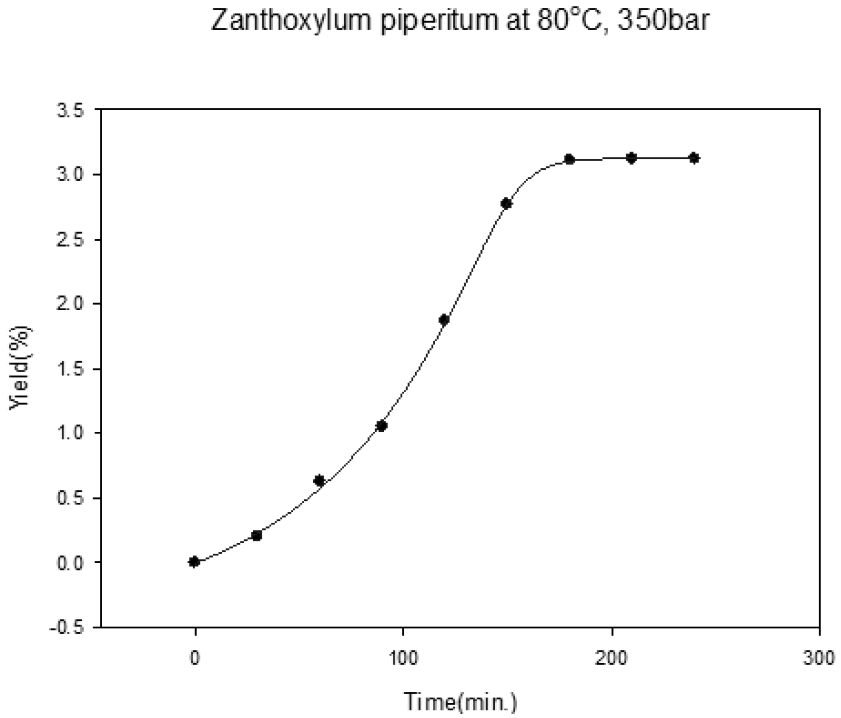


Figure 3-16. Yield variation of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 80℃ and 300 bar

삼백초와 초피나무의 경우도 2시간 내외에 추출평형 상태에 도달하는 것으로 나타났으며, 이는 시료에 최소의 충격을 주는 환경 친화적이면서 높은 수율의 우수한 추출법임을 확인 시켜 주었다

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-1-6. 80℃, 350 bar에서 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 수율비교

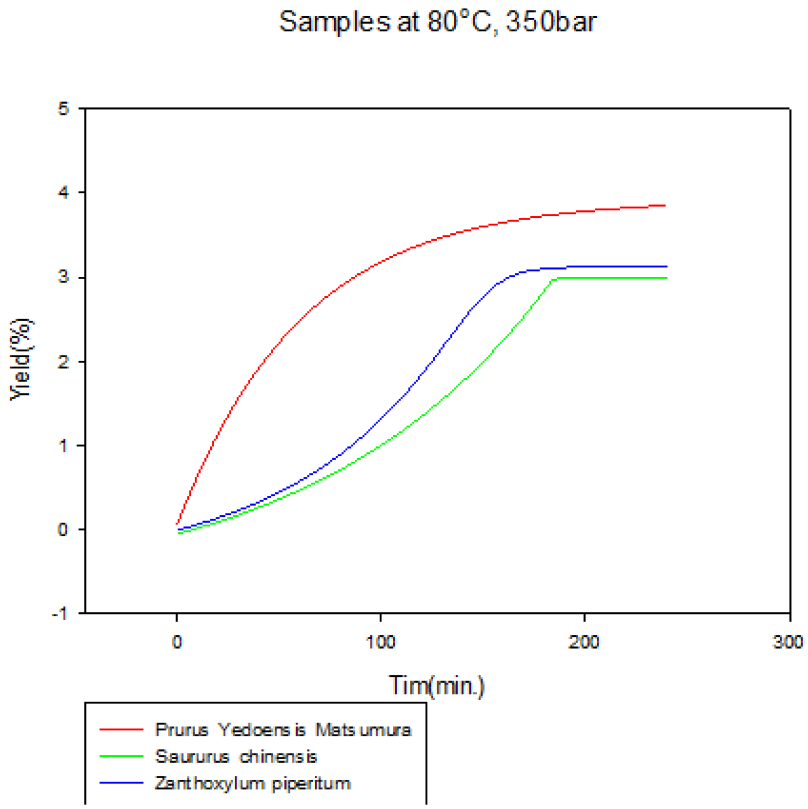


Figure 3-17. Yield variation of essential oils at 80℃ and 300 bar

일정한 온도 및 압력(80℃, 350 bar)하에서 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 추출 경향을 비교한 결과 제주왕벚나무의 수율이 가장 좋았으며, 반면에 초피나무의 수율이 가장 낮았다. 그러나 세 가지 시료 모두 약 2시간 이내에 추출량의 95%이상이 추출되었으며 추출 시간이 3시간 이내에 추출량이 급속히 증가하다 그 이후 소량만 추출되는 유사한 경향들을 보여주었다. 이는 빠른 열 및 물질전달 속도, 높은 확산계수로 인한 시료 내부로의 빠른 침투성 등과 같은 초임계 유체의 특성을 반영하는 결과이며, 비교적 짧은 시간 내에 시료에 최소의 충격을 주는 환경 친화적인 추출법임을 증명한다 할 수 있다[71].

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-2. 초임계유체 이산화탄소추출물들의 향 성분 분석 결과

5-2-1. *n*-alkane (C_5~C_{26}) standard solution의 GC-MS 데이터

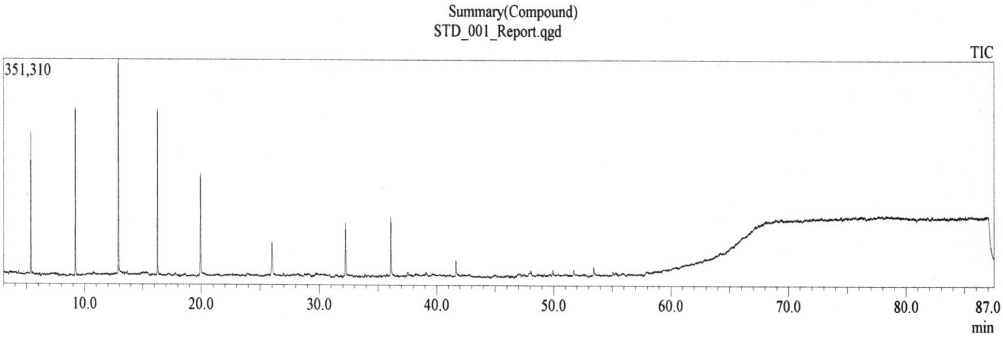


Figure 3-18. GC-MS chromatogram of *n*-alkane (C_5 ~ C_{26}) standard solution

Table 3-9. GC-MS data of *n*-alkane (C_5 ~ C_{26}) standard solution

R. Time	Name
5.370	Octane (CAS) n-Octane
9.195	Nonane (CAS) n-Nonane
12.905	Decane (CAS) n-Decane
16.275	Undecane (CAS) n-Undecane
19.940	Dodecane (CAS) n-Dodecane
26.000	Tridecane (CAS) n-Tridecane
32.245	Tetradecane (CAS) n-Tetradecane
36.090	Pentadecane (CAS) n-Pentadecane
38.020	Hexadecane
39.086	Heptadecane
40.078	Octadecane
41.650	Nonadecane (CAS) n-Nonadecane
48.052	Eicosane (CAS) n-Eicosane
49.037	Heneicosane
49.935	Docosane (CAS) n-Docosane
50.353	Tricosane
50.794	Tetracosane
51.710	Pentacosane
51.715	Hexacosane (CAS) n-Hexacosane

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-2-2. 제주왕벚나무(*Prunus yedoensis matsumura*)

1) *n*-alkane (C_5~C_{26}) standard solution이 없는 상태의 GC-MS 데이터

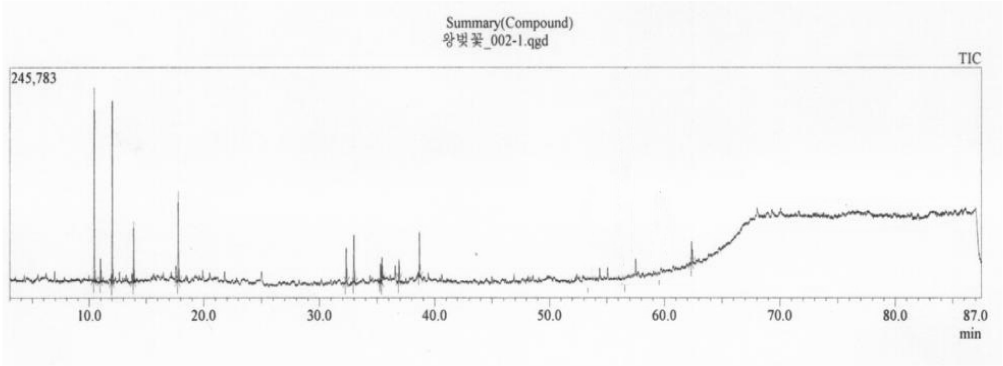


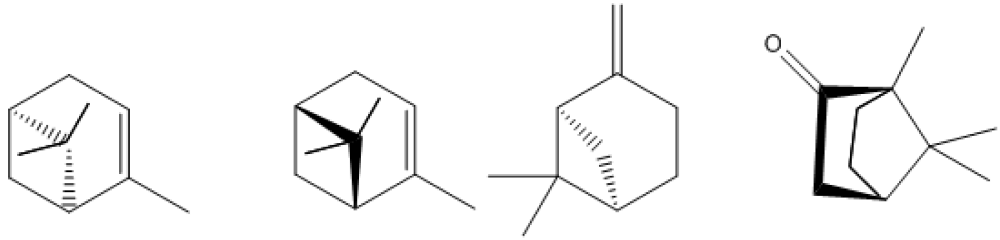
Figure 3-19. GC-MS chromatogram of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil

Table 3-10. GC-MS data of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil

R. Time	R.I.	Name	% A
10.435	933.4	α-pinene	22.38
10.970	947.8	Camphene	3.35
12.014	976.0	2-β-pinene	20.09
13.895	1029.4	Sylvestrene	7.45
17.782	1141.1	Camphor	13.07
32.325	1402.0	Junipene	7.73
32.994	1419.4	trans-Caryophyllene	8.76
35.412	1482.3	Germacrene-d	4.18
36.889	1541.4	δ-cadinene	3.60
38.674	1633.9	(-)-Caryophyllene oxide	9.39
		total	100

제주왕벚나무의 경우 10종의 화학적 성분들을 100% 확인할 수 있었으며 주요 성분으로는 monoterpene류인 α-pinene(22.38%), 2-β-pinene(20.09%) 그리고 Camphor(13.07)이었으며, 이들의 화학적 구조는 다음과 같다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY



(+)- α -pinene (-)- α -pinene 2- β -pinene Camphor

monoterpene류인 α-pinene은 채소류에 많이 함유되어져 있으며, 주로 온도 및 빛의 세기 등 환경에 영향을 주는 것으로 알려져 있으며, Camphor는 마취 및 진정 효과가 있는 것으로 보고되어지고 있다.

2) *n*-alkane (C_5~C_{26}) standard solution을 포함한 상태의 GC-MS데이터

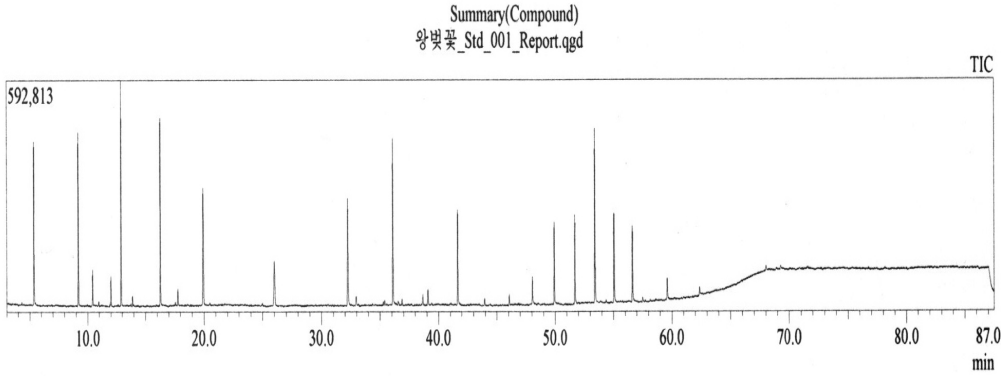


Figure 3-20. GC-MS chromatogram of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil with standard solution

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-11. GC-MS data of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil with standard solution

R. time	Name
5.365	Octane (CAS) n-Octane
9.195	Nonane (CAS) n-Nonane
10.420	α -pinene
12.000	2-β-pinene
16.275	Undecane (CAS) n-Undecane
19.940	Dodecane (CAS) n-Dodecane
25.995	Tridecane (CAS) n-Tridecane
32.250	Tetradecane (CAS) n-Tetradecane
36.090	Pentadecane (CAS) n-Pentadecane
41.645	Nonadecane (CAS) n-Nonadecane
48.050	Eicosane (CAS) n-Eicosane
49.920	Hexacosane (CAS) n-Hexacosane
51.710	Hexacosane (CAS) n-Hexacosane
51.710	Hexacosane (CAS) n-Hexacosane

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-2-3. 삼백초(*Sarurus chinensis*)

1) *n*-alkane (C_5~C_{26}) standard solution이 없는 상태의 GC-MS 데이터

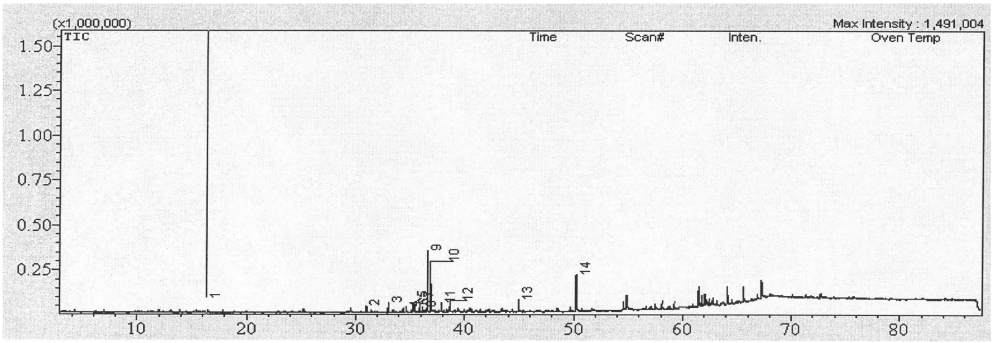


Figure 3-21. GC-MS chromatogram of *Saururus chinensis* essential oil

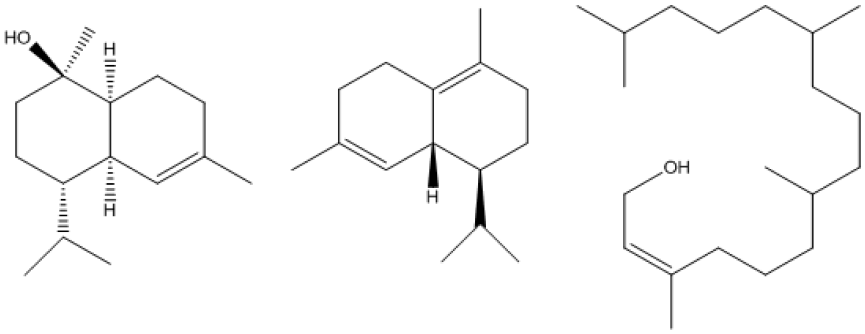
Table 3-12. GC-MS data of *Saururus chinensis* essential oil

R. Time	R.I.	Name	% A
16.321	1101.3	Linalool	5.46
32.989	1419.3	trans-Caryophyllene	4.72
34.626	1461.9	Farnesol	3.33
35.280	1478.9	γ-muurolene	4.15
35.410	1482.3	Germacrene-d	3.58
35.901	1495.1	sesquisabinene hydrate	3.97
36.128	1501.0	α-muurolene-(-)	2.43
36.601	1513.3	δ-cadinol	22.51
36.879	1520.5	δ-cadinene	19.74
37.895	1546.9	Germacrene B	3.56
38.671	1567.1	(-)-Caryophyllene oxide	5.38
44.971	1951.9	6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	4.27
50.234	2223.0	trans-phytol	13.69
		total	96.79

삼백초 추출물의 경우 GC-MS로 분석한 결과 약 96.79%의 성분을 확인할 수 있었으며, 주요 성분으로는 sesquiterpene류인 δ- cadinol(22.51%), δ- cadinene

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(19.74%) 그리고 diterpene류인 trans-phytol이 확인되었다. 이들의 화학적 구조는 다음과 같다.



δ-cadinol δ-cadinene trans-phytol

δ-cadinol은 동물 또는 미생물 뿐만 아니라 여러 식물에 의해 생성되는 sesquiterpenoid alcohol로 torreyol이라고 부르기도 한다. 일반적으로 항균활성을 갖고 있다. diterpene류인 trans-phytol은 식품에 많이 포함되어져 있으며 레프숨병(Refsum's disease) 환자의 경우 치명적이 될 수 있다.

2) *n*-alkane (C_5~C_{26}) standard solution을 포함한 상태의 GC-MS 데이터

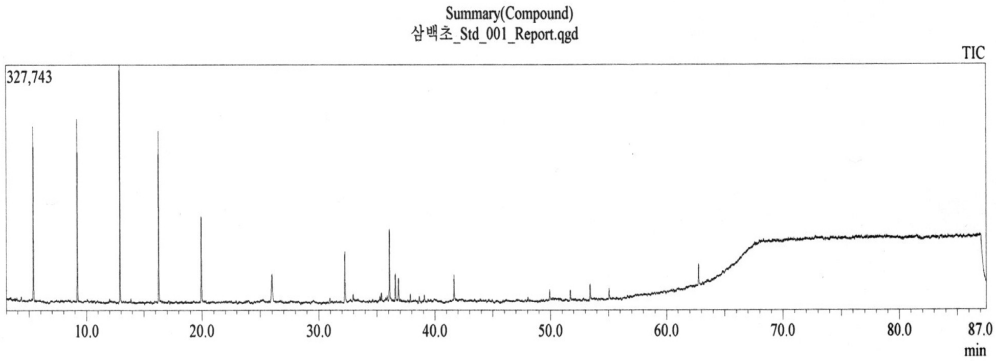


Figure 3-22. GC-MS chromatogram of *Saururus chinensis* essential oil with standard solution

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-13. GC-MS data of *Saururus chinensis* essential oil with standard solution

R. time	Name
5.370	Octane (CAS) n-Octane
9.200	Nonane (CAS) n-Nonane
12.905	Decane (CAS) n-Decane
16.275	Undecane (CAS) n-Undecane
19.940	Dodecane (CAS) n-Dodecane
26.000	Tridecane (CAS) n-Tridecane
32.250	Tetradecane (CAS) n-Tetradecane
36.085	Pentadecane (CAS) n-Pentadecane
36.585	Torreyol
36.860	.delta.-Cadinene
41.650	Eicosane (CAS) n-Eicosane
53.420	Hexacosane (CAS) n-Hexacosane

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-2-4. 초피나무(*Zanthoxylum piperitum*)

1) *n*-alkane (C_5~C_{26}) standard solution이 없는 상태의 GC-MS 데이터

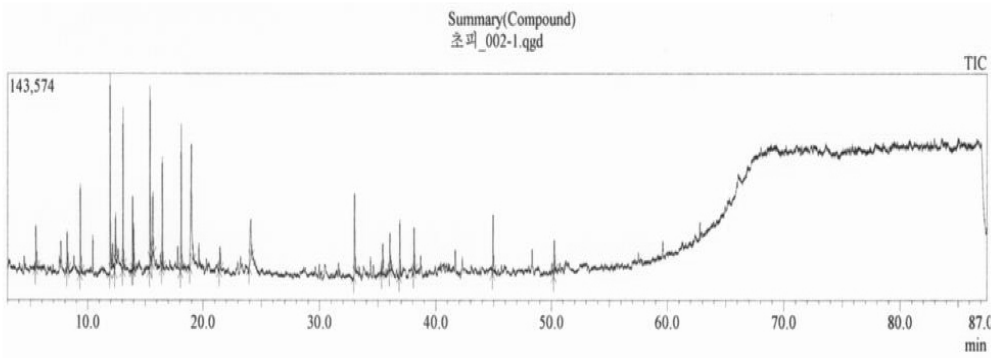


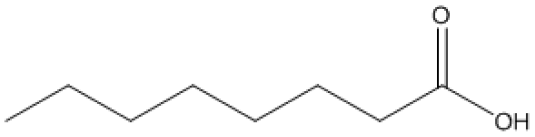
Figure 3-23. GC-MS chromatogram of *Zanthoxylum piperitum* essential oil

Table 3-14. GC-MS data of *Zanthoxylum piperitum* essential oil

R. Time	R.I.	Name	% A
5.466	802.6	Hexanal	2.44
8.186	873.8	1-Hexanol	2.06
9.331	903.8	n-Heptanal	4.23
11.947	974.3	1-Heptanol	9.82
12.433	987.4	Hexanolic acid	3.84
13.069	1005.0	Octanal	6.50
13.894	1029.5	β-phellandrene	3.18
13.991	1032.4	1,8-Cineole	2.06
15.406	1074.4	1-Octanol	8.06
15.660	1081.9	Heptanoic acid	5.44
16.472	1105.5	Nonanal	4.64
18.103	1150.0	Citronella	7.58
18.971	1173.7	Caprylic acid	13.37
21.449	1225.0	β-citronellol	1.66
24.079	1268.5	Nonanoic acid	5.43
32.987	1419.3	trans-caryophyllene	5.55
35.409	1482.3	Germacrene-d	1.77
36.018	1498.1	2-Tridecanone	2.50
36.884	1541.3	δ-cadinene	3.04
38.108	1608.3	Nerolidol	2.11
44.939	2248.8	Farnesyl acetate 3	2.82
		total	98.1

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

초피나무 추출물을 GC-MS로 분석한 결과 약 98.1%의 성분을 확인할 수 있었으며, 주요 성분으로는 caprylic acid(13.37%), 1-heptanol(9.82%), 1-octanol(8.06%)이었다. 이들 중 caprylic acid의 화학적 구조는 다음과 같다.



Caprylic acid

caprylic acid는 항균효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 특히 황색포도상구균(Staphylococcus aureus)에 효과적인 것으로 보고되어 지고 있다.

2) *n*-alkane (C_5~C_{26}) standard solution을 포함한 상태의 GC-MS 데이터

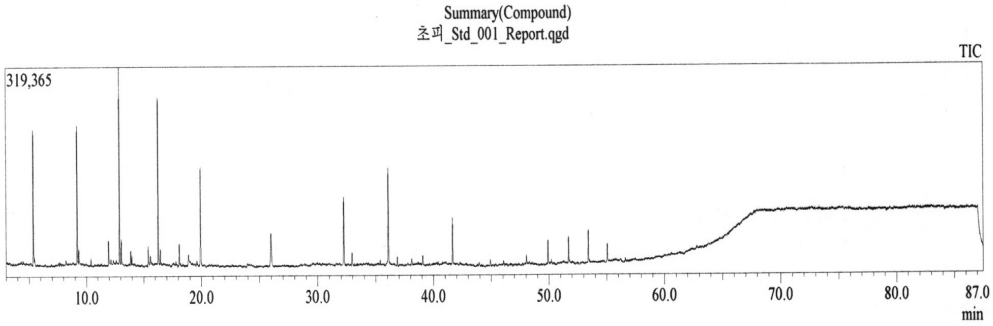


Figure 3-24. GC-MS chromatogram of *Zanthoxylum piperitum* essential oil with standard solution

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-15. GC-MS data of *Zanthoxylum piperitum* essential oil with standard solution

R. time	Name
5.365	Octane (CAS) n-Octane
9.190	Nonane (CAS) n-Nonane
11.945	1-Heptanol (CAS) HEPTANOL
12.900	Decane (CAS) n-Decane
13.060	Octanal (CAS) n-Octanal
13.880	Sabinene
15.405	1-Octanol (CAS) Octilin
16.270	Undecane (CAS) n-Undecane
18.090	Citronella
19.935	Dodecane (CAS) n-Dodecane
25.985	Tridecane (CAS) n-Tridecane
32.240	Tetradecane (CAS) n-Tetradecane
36.085	Pentadecane (CAS) n-Pentadecane
41.640	Eicosane (CAS) n-Eicosane
49.915	Hexacosane (CAS) n-Hexacosane
51.700	Pentacosane (CAS) n-Pentacosane
53.410	Pentacosane (CAS) n-Pentacosane
55.045	Hexacosane (CAS) n-Hexacosane

초임계유체 이산화탄소 추출법을 이용한 에센셜 오일들의 주요 성분들은 생물학적 활성이 우수한 terpene류 들이 주요 성분으로 확인 되었으며, 이를 통해 항염증 및 항균 등에 우수한 효과가 있을 것으로 기대된다. 이러한 근거로 항염증을 중심으로 한 실험들을 수행하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-3. 수증기 증류 추출물들의 향 성분 분석 결과

5-3-1. 순비기나무(*Vitex rotundifolia*)

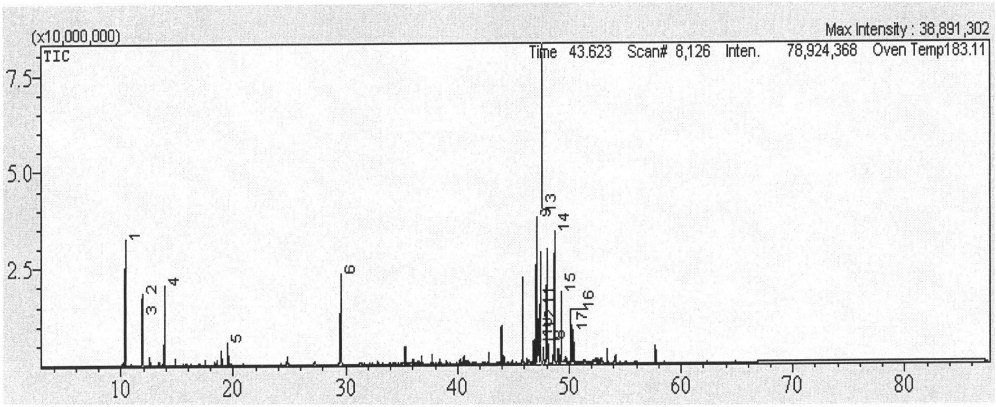


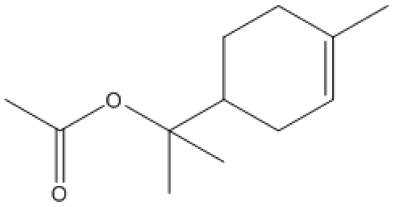
Figure 3-25. GC-MS chromatogram of *Vitex rotundifolia* essential oil

Table 3-16. GC-MS data of *Vitex rotundifolia* essential oil

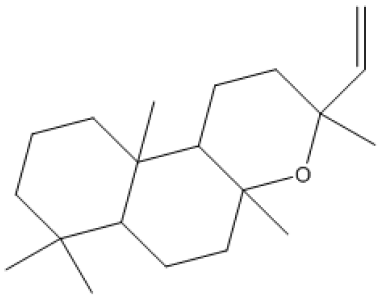
R. Time	R.I.	Name	% A
10.392	932.3	α-pinene	10.04
11.883	972.5	Sabinene	5.12
11.957	974.4	2-β-pinene	3.14
13.903	1029.6	1, 8-cineole	4.95
19.514	1188.4	Cyclohexene, 1-methyl-4-(2-propanol-2-yl)-	1.42
29.592	1357.5	α-terpinyl acetate	13.05
47.204	1986.8	β-iso-methyl ionone	1.88
47.293	1988.2	Biformene	4.27
47.540	1992.0	Manoyl oxide	14.29
49.316	2128.3	Dehydroabietane	5.94
50.170	2256.2	trans-phytol	3.55
50.395	2309.5	Thunbergol	2.12
		total	69.77

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

순비기나무의 경우 약 0.12%의 수율로 에센셜 오일을 얻을 수 있었으며, 에센셜 오일의 69.77%의 성분을 확인할 수 있었다. 주요 성분은 terpenoid류인 α-pinene(10.04%), α-terpinyl acetate(13.05%) 그리고 Manoyl oxide(14.29%)이었다. 이들의 화학적 구조는 다음과 같다.



α-terpinyl acetate



manoyl oxide

terpenoid류인 α-terpinyl acetate는 일반적으로 항균작용 및 복통완화작용을 하는 것으로 알려져 있으며, diterpenoid류인 manoyl oxide는 항균효과가 있는 것으로 보고되어 지고 있다.

5-3-2. 해국(*Aster spathulifolius*)

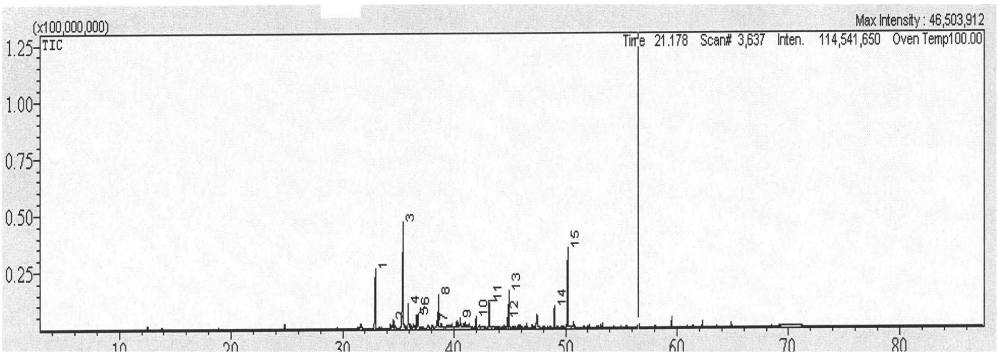


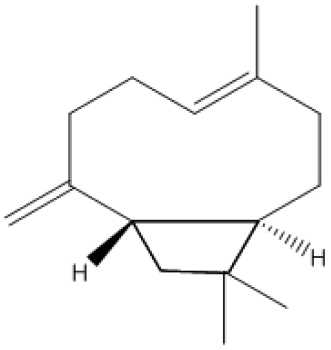
Figure 3-26. GC-MS chromatogram of *Aster spathulifolius* essential oil

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

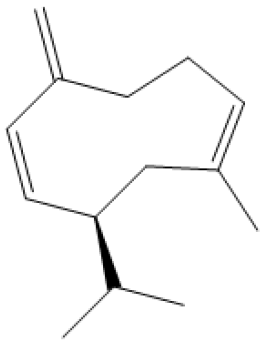
Table 3-17. GC-MS data of *Aster spathulifolius* essential oil

R. Time	R.I.	Name	% A
32.935	1417.9	trans-Caryophyllene	15.95
34.547	1459.9	(Z)-β-farnescene	1.24
35.433	1482.9	Germacrene-d	35.10
35.895	1494.9	Bicyclogermacrene	4.10
36.664	1529.7	Methyl (Z)-dec-2-en-4,6-diyonate	2.00
36.802	1536.9	δ-cadinene	2.18
38.459	1641.2	Spathulenol	1.10
38.610	1655.3	(-)-Caryophyllene oxide	6.03
40.562	1830.8	α-cadinol	1.22
41.967	1920.2	Stearaldehyde	1.43
43.140	1923.3	2-(1-E-propenyl)-4-methoxyphenyl 2-methylbutanoate	4.28
44.738	1948.3	Neophytadiene	1.44
44.903	1950.8	6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	5.61
49.004	2096.7	α-podocarpene	3.46
50.199	2263.2	trans-phytol	14.86
		total	100

해국의 경우 0.02%의 수율로 에센셜 오일을 얻을 수 있었으며, 에센셜 오일의 100% 성분을 확인할 수 있었다. 또한 주요성분으로는 sesquiterpene류인 trans-caryophyllene(15.95%), germacrene-d(35.10%) 그리고 trans-phytol(14.86)이였다. 이들의 화학적 구조는 다음과 같다.



trans-caryophyllene



Germacrene-d

bicyclic sesquiterpene류인 tans-caryophyllene은 항염증 효과를 갖고 있으며, sesquiterpene류인 germacrene-d는 주로 나무의 주성분으로 항균 및 살충 효과를 갖고 있는 것으로 알려져 있다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-3-3. 털머위(*Farfugium japonicum*)

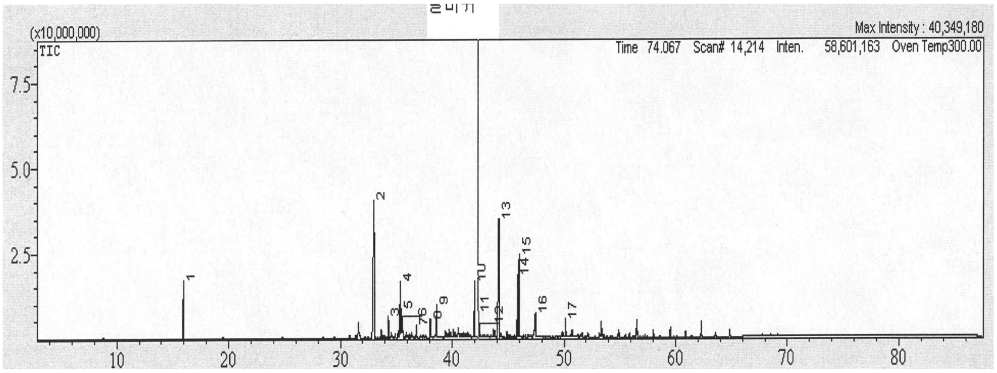


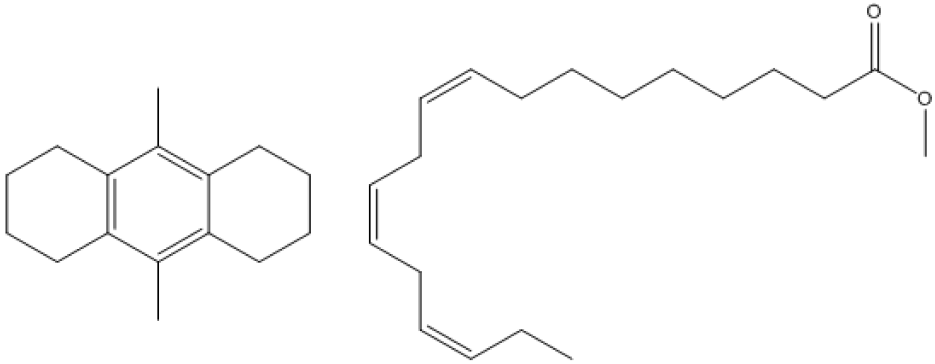
Figure 3-27. GC-MS chromatogram of *Farfugium japonicum* essential oil

Table 3-18. GC-MS data of *Farfugium japonicum* essential oil

R. Time	R.I.	Name	% A
15.944	1091.7	n-Undecanol	4.74
32.993	1419.5	trans-caryophyllene	28.96
34.275	1419.5	α-humulene	2.33
35.320	1452.8	α-amorphene	6.53
35.436	1480.0	ar-curcumene	2.77
35.500	1483.0	β-selinene	1.45
36.794	1484.7	Cadinene	1.22
38.034	1601.3	d-nerolidol	1.65
38.598	1654.2	(-)-Caryophyllene oxide	3.03
41.989	1905.3	Stearaldehyde	6.21
42.320	1910.5	5,8-dimethyl-1-octyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	2.35
44.153	1939.1	9,10-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene	19.32
45.839	1965.5	cis,cis-octadeca-9,17-dienal	6.29
45.986	1967.8	Methyl linolenate	8.35
47.444	1990.5	Pentadecylic acid	2.04
50.156	2252.9	trans-phytol	1.48
		total	98.72

털머위의 경우 약 0.01%의 수율로 에센셜 오일을 얻을 수 있었으며, 98.72%의 성분을 확인하였다. 주요 성분은 trans-caryophyllene(28.96%)와 9,10-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene(19.32) 그리고 terpene ester류인 Methyl linolenate이었다. 이들의 화학구조는 다음과 같다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY



9,10-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene Methyl linolenate

terpene ester류인 methyl linolenate은 항산화 및 멜라닌 저해능을 갖고 있는 것으로 보고되어지고 있다.

수증기 증류물들의 경우도 초임계유체 이산화탄소 추출물과 유사하게 sesquiterpene, diterpene, terpene ester 등이 주요성분으로 확인되었으며, 항염증 등 우수한 생물학적 활성을 기대할 수 있었으며 이러한 결과를 통해 항염증을 중심으로 한 생물학적 활성 실험을 수행하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-4. 항염증 효과

5-4-1. 초임계유체 이산화탄소 및 수증기 증류 추출물(에센셜 오일)들의 반응 후 OD 변화

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5	6.25
PYE	0.155	0.159	0.164	0.169	0.177	0.178
SCE	0.197	0.163	0.156	0.156	0.162	0.164
ZPE	0.162	0.162	0.154	0.150	0.154	0.170

Concentration (μg/mL) / Samples	3.125	1.562	0.781	+	-
PYE	0.185	0.186	0.188		
SCE	0.173	0.176	0.186	0.218	0.157
ZPE	0.192	0.214	0.217		

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5	6.25
VRE	0.163	0.158	0.148	0.156	0.183	0.181
ASA	0.162	0.150	0.144	0.147	0.175	0.177
FJA	0.155	0.156	0.145	0.151	0.170	0.186

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Concentration (μg/mL) / Samples	3.125	1.562	0.781	+	-
VRE	0.196	0.204	0.204		
ASA	0.178	0.186	0.188	0.218	0.157
FJA	0.187	0.198	0.199		

5-4-2. Sodium nitrite ($NaNO_2$)를 이용한 농도에 따른 Nitric oxide 생성량

농도에 따른 nitric oxide의 생성량 측정을 위하여 standard calibration curve를 활용하여 그 상대적인 값들을 구하였다. 데이터 분석은 Sigmaplot ver. 12를 이용하였으며 non-linear regression을 이용하였고, Rsqr는 0.9991 이다.

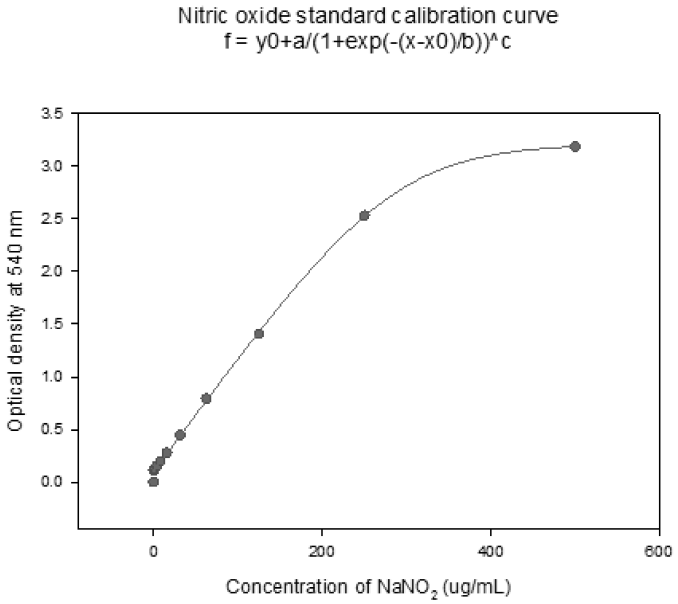


Figure 3-28. Nitric oxide standard calibration curve

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-19. NO production of supercritical fluid carbon dioxide extracts with concentration

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5	6.25
PYE	3.910	4.283	4.749	5.216	5.962	6.055
SCE	7.828	4.656	4.002	4.002	4.563	4.749
ZPE	4.563	4.563	3.816	3.443	3.816	5.309

Concentration (μg/mL) / Samples	3.125	1.562	0.781	+	-
PYE	6.708	6.802	6.988		
SCE	5.589	5.869	6.802	9.789	4.096
ZPE	7.362	9.415	9.695		

※ Nitric oxide (NO)의 농도 단위는 pg/mL

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

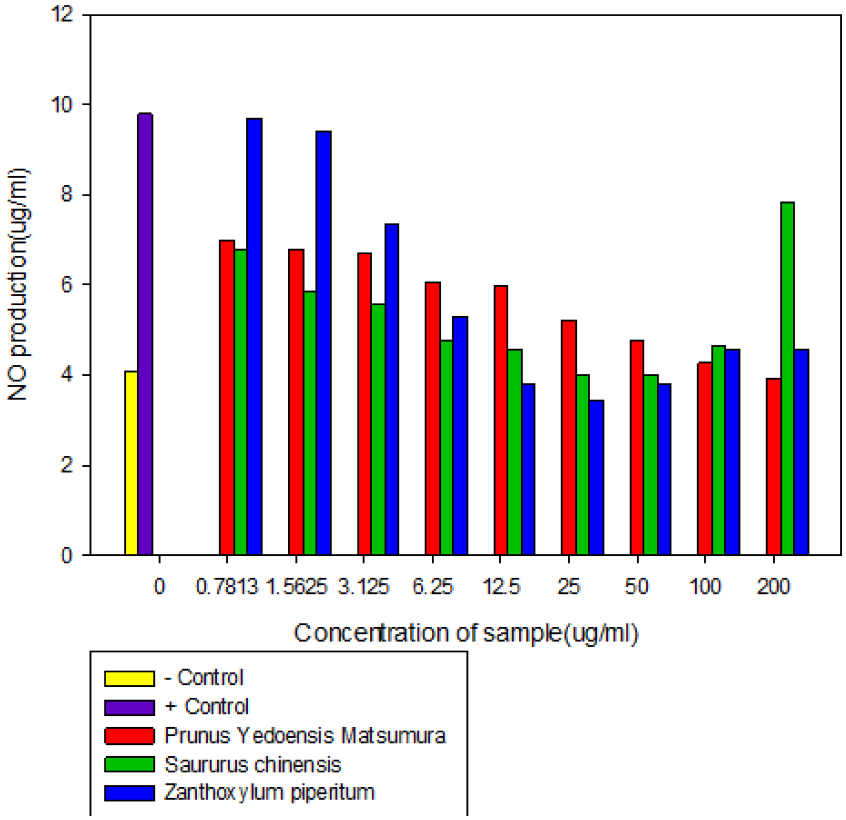


Figure 3-29. NO production of supercritical fluid carbon dioxide extracts

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-20. NO production of steam distillates with concentration

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5	6.25
VRE	4.656	4.189	3.257	4.003	6.522	6.335
ASA	4.563	3.444	2.884	3.163	5.775	5.936
FJA	3.910	4.003	2.977	3.537	5.309	6.802

Concentration (μg/mL) / Samples	3.125	1.562	0.781	+	-
VRE	7.735	8.482	8.482		
ASA	6.055	6.802	6.988	9.789	4.096
FJA	6.895	7.922	8.015		

※ Nitric oxide (NO)의 농도 단위는 pg/mL

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

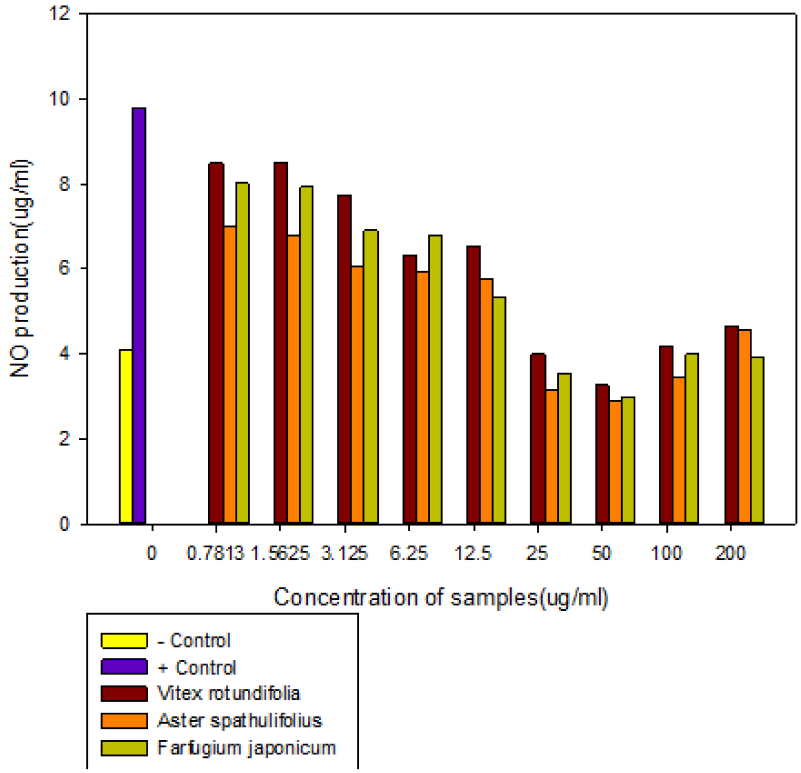


Figure 3-30. NO production of steam distillates

순비기나무의 경우 25, 12.5, 6.25 ㎍/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.98배, 1.59배, 1.55배의 NO 생성율을 보여 25 ㎍/mL농도에서 매우 우수한 항염증 효과를 보여주었다. 그리고 **해국의 경우** 25, 12.5 ㎍/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.77배, 1.41배의 NO 생성율을 보여 **25 ㎍/mL농도에서 매우 좋은 항염증 효과**를 보여주었다. 털머위의 경우 6.25, 3.125 ㎍/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 각각 1.66배, 1.68배의 NO 생성율을 보여주었다. 그러나 털머위의 경우도 LPS 처리군(+control)에 비해 0.69배, 0.70배를 보여 다소의 항염증 효과를 보여주는 것으로 나타났다

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-5. 세포독성 결과

5-5-1. 540 nm에서의 초임계유체 이산화탄소 및 수증기 추출물들의 OD

Table 3-21. Optical density of supercritical fluid carbon dioxide extracts and steam distillates

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5
PYE	0.709	0.761	0.794	0.808	0.853
SCE	0.055	0.245	0.782	0.793	0.794
ZPE	0.061	0.079	0.787	0.789	0.795

Concentration (μg/mL) / Samples	6.25	3.125	1.562	0.781	Control
PYE	0.858	0.865	0.894	0.903	
SCE	0.801	0.795	0.800	0.808	0.793
ZPE	0.853	0.854	0.809	0.832	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5
VRE	0.049	0.052	0.152	0.785	0.791
ASA	0.065	0.093	0.142	0.787	0.793
FJA	0.066	0.076	0.079	0.638	0.747

Concentration (μg/mL) / Samples	6.25	3.125	1.562	0.781	Control
VRE	0.791	0.791	0.847	0.825	
ASA	0.799	0.800	0.805	0.846	0.793
FJA	0.800	0.820	0.869	0.881	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

cell viability(%) 측정의 경우, absorbance는 MTT가 세포의 환원(보라색)된 양을 나타내며 각 well에 존재하는 생존 세포수와 비례하므로 control의 absorbance를 100으로 놓고 samples의 각 농도별 absorbance를 상대적인 값으로 환산하여 계산하였다.

Table 3-22. Cytotoxicity of supercritical fluid carbon dioxide extracts with concentration

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5
PYE	89.45	95.96	100.13	101.89	107.57
SCE	6.94	30.9	98.64	100	100.16
ZPE	7.69	9.96	99.24	99.50	100.25

Concentration (μg/mL) / Samples	6.25	3.125	1.562	0.781	Control
PYE	108.23	109.08	112.74	113.87	
SCE	101.02	100.35	100.91	101.88	100%
ZPE	107.57	107.69	102.02	104.92	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-23. Cytotoxicity of steam distillates with concentration

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	12.5
VRE	6.18	6.56	19.17	99.08	99.76
ASA	8.2	11.73	17.91	99.24	100.03
FJA	8.32	9.58	9.96	80.45	94.2

Concentration (μg/mL) / Samples	6.25	3.125	1.562	0.781	Control
VRE	99.81	99.79	106.81	104.04	
ASA	100.79	100.88	101.51	106.68	100%
FJA	100.91	103.40	109.58	111.1	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

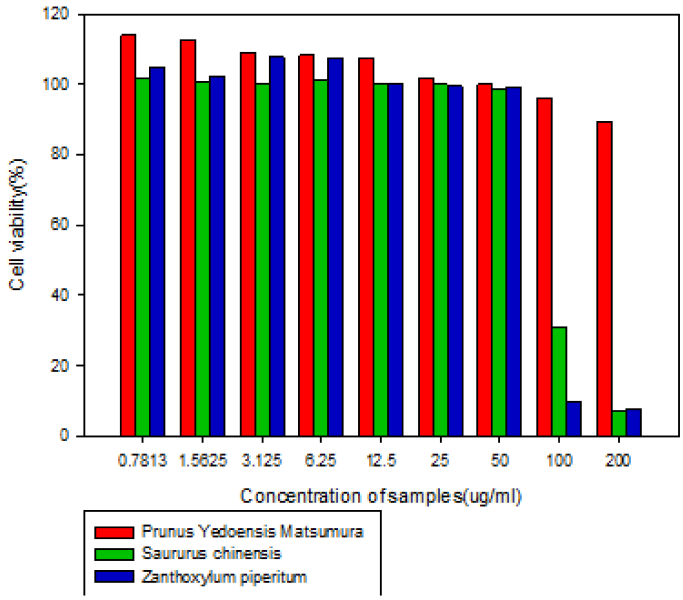


Figure 3-31. Cytotoxicity of supercritical fluid carbon dioxide extracts with concentration

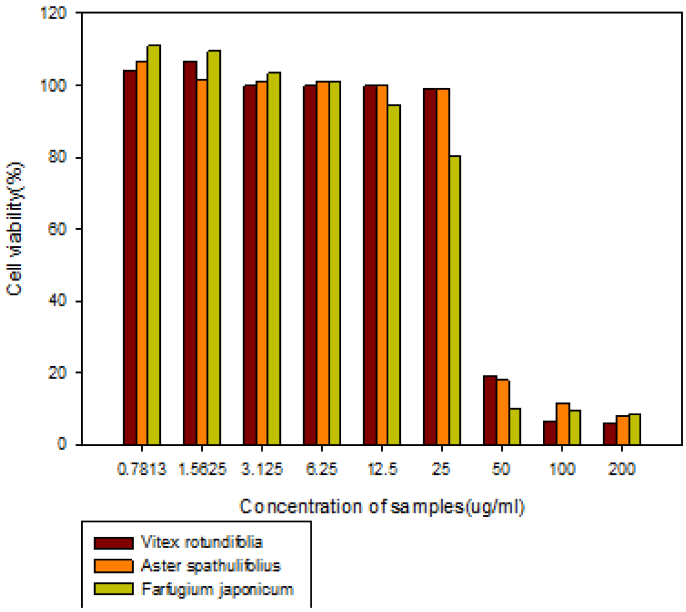


Figure 3-32. Cytotoxicity of steam distillates with concentration

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

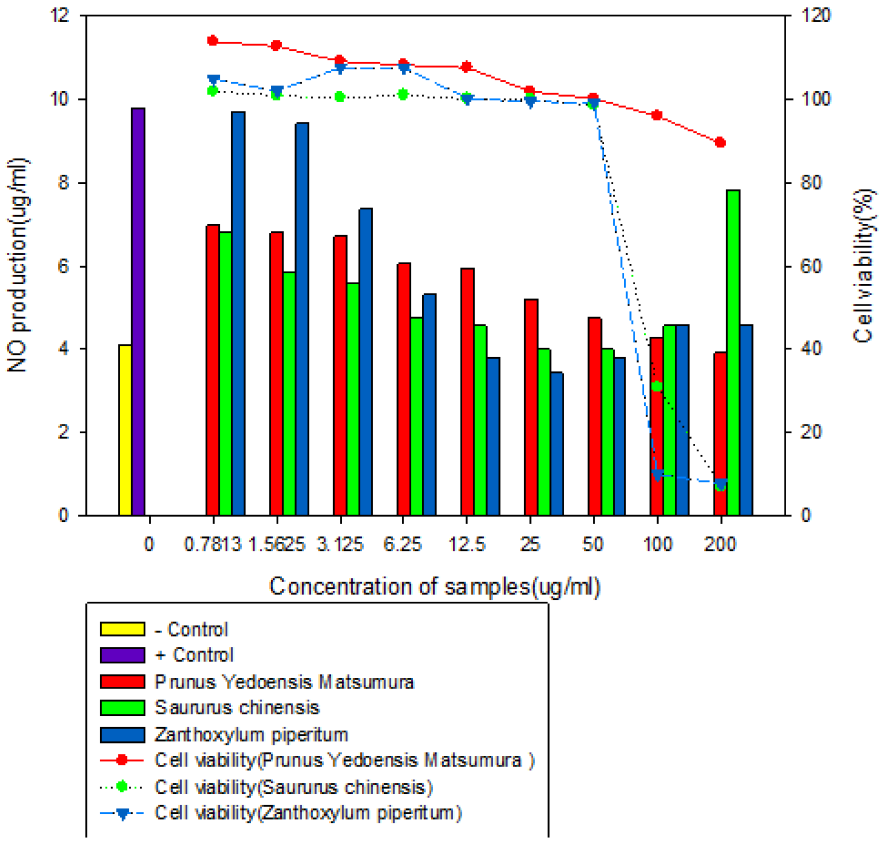


Figure 3-33. NO production and cytotoxicity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

초임계유체 이산화탄소 추출물 중 제주왕벚나무의 경우 200, 100, 50 μg/mL에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 NO 생성율이 각각 0.95배, 1.05배, 1.16배로 거의 100% 항염증 효과를 보여주었으며, **삼백초**의 경우 25, 12.5, 6.25 μg/mL에서 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.98배, 1.11배, 1.16배로 **적은 농도에서도 100%에 가까운 항염증 효과**를 보였다. 또한 **초피나무**의 경우 50, 25, 12.5, 6.25 μg/mL 농도에서 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.93배, 0.84배, 0.93배, 1.30배를 보여 **매우 낮은 농도에서 100%의 항염증 효과**를 보여 **충분한 상업적 가치**를 지닌 것으로 나타났다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

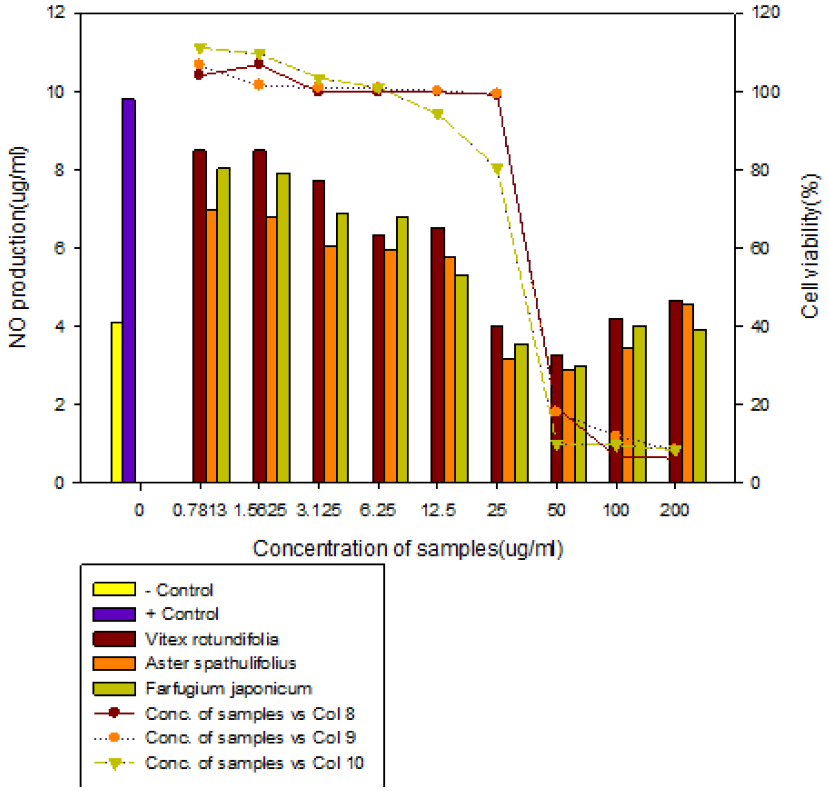


Figure 3-34. NO production and cytotoxicity of steam distillates

수증기 증류물 중 **순비기나무의** 경우 25, 12.5, 6.25 ㎍/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.98배, 1.59배, 1.55배의 NO 생성율을 보여 **25 ㎍/mL농도에서 매우 우수한 항염증 효과**를 보여주었다. 그리고 **해국의 경우** 25, 12.5 ㎍/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.77배, 1.41배의 NO 생성율을 보여 **25 ㎍/mL농도에서 매우 좋은 항염증 효과**를 보여주었다. 털머위의 경우 6.25, 3.125 ㎍/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 각각 1.66배, 1.68배의 NO 생성율을 보여주었다. 그러나 털머위의 경우도 LPS 처리군(+control)에 비해 0.69배, 0.70배를 보여 다소의 항염증 효과를 보여주는 것으로 나타났다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-6. 싸이토카인 결과

5-6-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물(에센셜 오일)들에 대한 싸이토카인 결과

1) 초임계유체 이산화탄소 추출물의 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

(1) TNF-α standard calibration curve

염증매개인자인 TNF-α (Tumor necrosis factor-α)의 증감 경향을 확인하기 위하여 우선 Sigmaplot ver. 12.0을 이용하여 standard calibration curve를 non-linear regression을 이용하여 그렸으며, 이때 Equation은 sigmoidal 5 parameter를 이용하였고 Rsqr는 0.9993이었다.

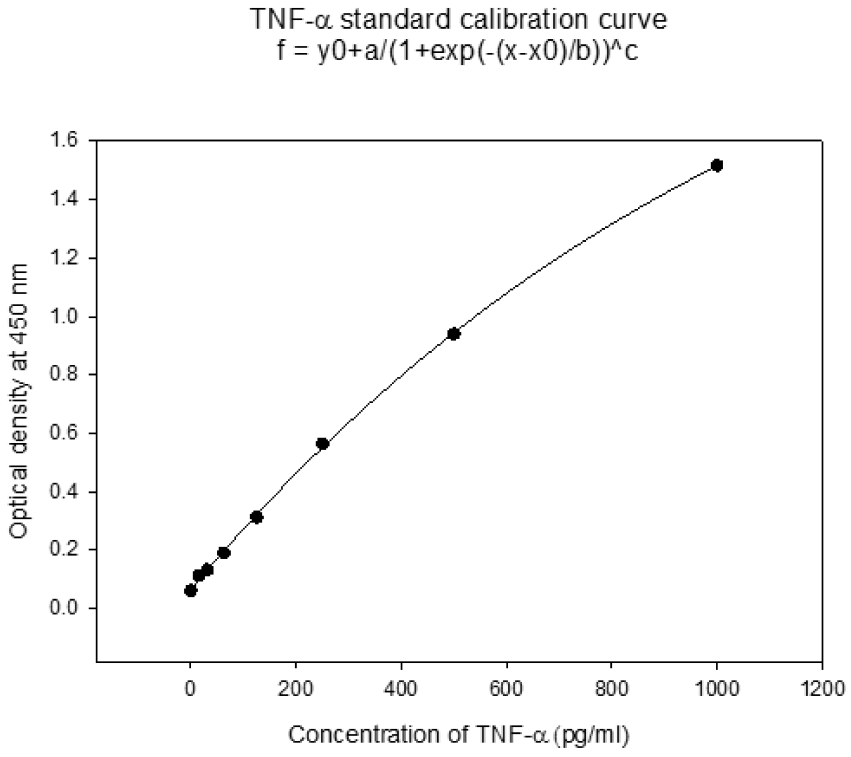


Figure 3-35. Mouse TNF-α ELISA standard calibration curve at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(2) 제주왕벚나무 에센셜 오일 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

제주왕벚나무의 농도에 따른 항염증 효과를 확인하기 위하여 standard calibration curve (Figure 3-35)를 이용하고 염증매개인자의 생성량 변화를 측정하였다.

Table 3-24. TNF-α production of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 450 nm

Concentration of PYE (μg/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of TNF-α (pg/mL)
-	0.088	0.078	0.068	0.078±	5.610±
+	1.578	1.463	1.488	1.600±	994.520±
25	1.101	1.007	0.975	1.028±	561.270±
50	1.029	1.045	0.974	1.016±	552.090±
100	1.043	0.948	0.975	0.989±	532.120±
200	0.846	0.882	0.834	0.854±	437.490±

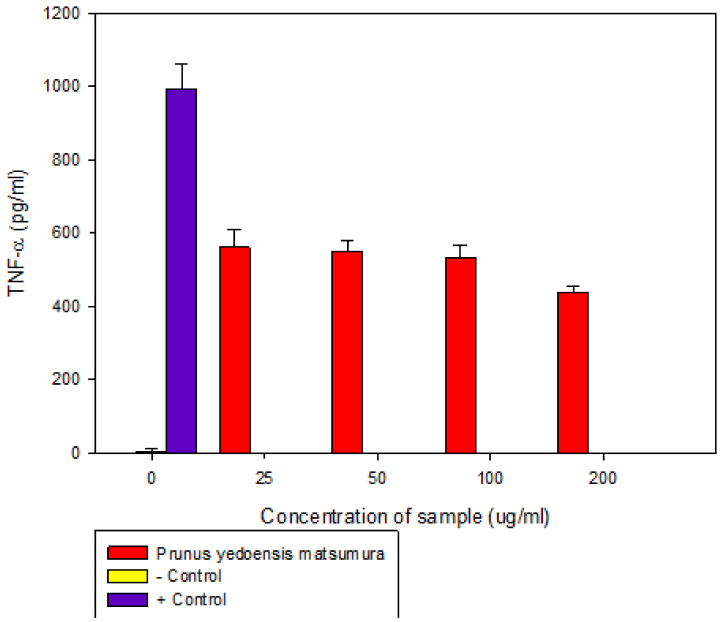


Figure 3-36. TNF-α production of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(3) 삼백초 에센셜 오일 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

Table 3-25. TNF-α production of *Saururus chinensis* essential oil at 450 nm

Concentration of SCE (μg/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of TNF-α (pg/mL)
-	0.072	0.0720	0.073	0.072±	2.970±
+	0.766	0.793	0.751	0.770±	376.270±
25	0.46	0.476	0.477	0.471±	204.560±
50	0.301	0.298	0.281	0.293±	110.460±
100	0.118	0.125	0.116	0.120±	25.190±
200	0.073	0.09	0.073	0.078±	5.920±

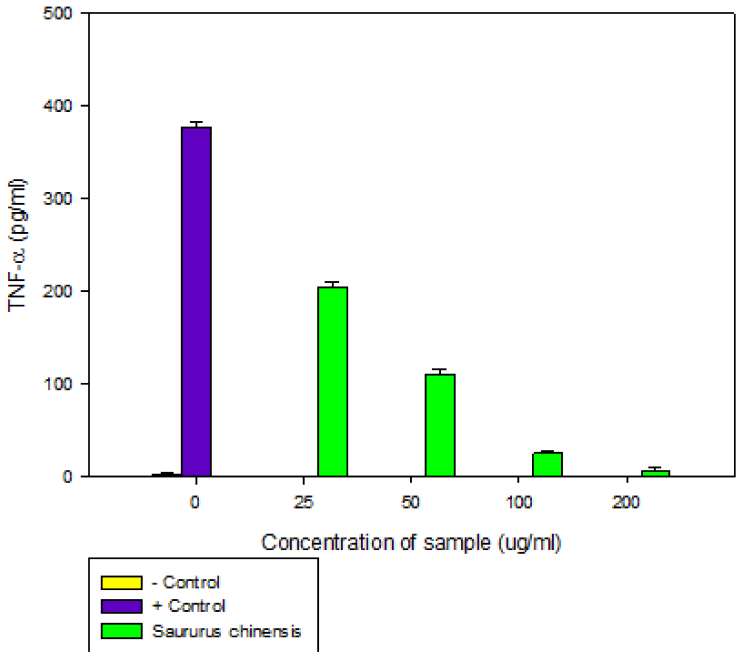


Figure 3-37. TNF-α production of *Saururus chinensis* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(4) 초피나무 에센셜 오일 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

Table 3-26. TNF-α production of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 450 nm

Concentration of ZPE (μg/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of TNF-α (pg/mL)
-	0.077	0.073	0.075	0.075±	4.210±
+	1.038	0.986	1.113	1.046±	574.790±
0.78125	0.769	0.750	0.806	0.775±	385.530±
1.5625	0.692	0.685	0.702	0.693±	333.830±
3.125	0.602	0.617	0.608	0.609±	283.230±
6.25	0.483	0.504	0.461	0.483±	211.050±
12.5	0.356	0.353	0.339	0.349±	139.320±
25	0.210	0.212	0.192	0.205±	66.160±

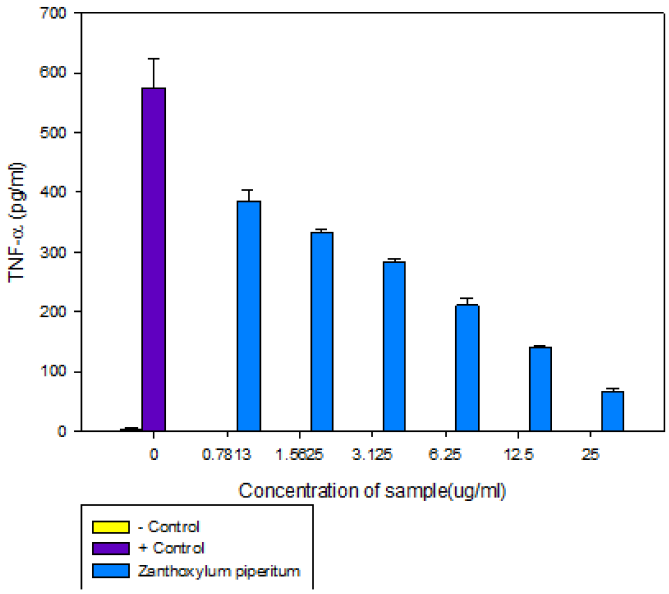


Figure 3-38. TNF-α production of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 450 nm

제주왕벚나무, 삼백초, 초피나무로부터 얻어진 에센셜 오일의 경우 세포 독성 없이 염증매개인자인 TNF-α의 생성을 농도 의존적으로 억제하였다

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2) 초임계유체 이산화탄소 추출물의 농도에 따른 IL-6의 생성량 변화

(1) IL-6 standard calibration curve

염증매개인자인 IL-6(Interleukin-6)의 증감 경향을 확인하기 위하여 우선 Sigmaplot ver. 12.0을 이용하여 standard calbration curve를 non-linear regression을 이용하여 그렸으며, 이때 Equation은 sigmoidal 5 parameter를 이용하였고 Rsqr는 0.9993이다.

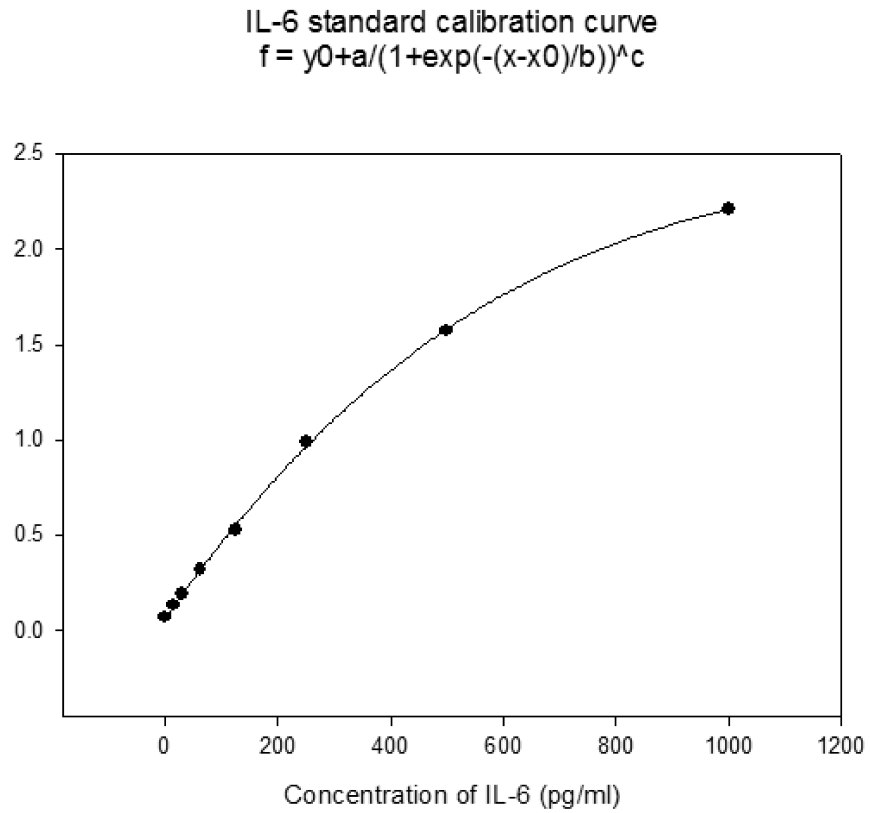


Figure 3-39. Mouse IL-6 ELISA standard calibration curve at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(2) 제주왕벚나무 에센셜 오일 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

제주왕벚나무의 농도에 따른 항염증 효과를 확인하기 위하여 standard calibration curve (Figure 3-39)를 이용하고 염증매개인자 IL-6 생성량 변화를 측정하였다.

Table 3-27. IL-6 production of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 450 nm

Concentration of PYE (μg/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of IL-6 (pg/mL)
-	0.078	0.077	0.076	0.077±	5.140±
+	0.733	0.719	0.703	0.72±	349.550±
25	0.631	0.585	0.545	0.587±	270.500±
50	0.645	0.534	0.536	0.572±	261.800±
100	0.598	0.516	0.501	0.538±	242.530±
200	0.394	0.358	0.329	0.360±	145.150±

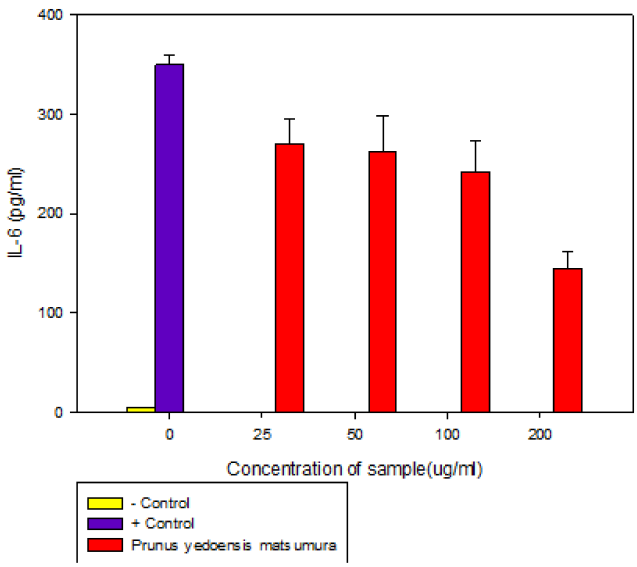


Figure 3-40. IL-6 production of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(3) 삼백초 에센셜 오일 농도에 따른 IL-6의 생성량 변화

Table 3-28. IL-6 production of *Saururus chinensis* essential oil at 450 nm

Concentration of SCE (㎍/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of IL-6 (pg/mL)
-	0.075	0.072	0.073	0.075±	3.440±
+	0.698	0.713	0.711	0.710±	342.690±
25	0.694	0.710	0.698	0.701±	338.560±
50	0.674	0.698	0.689	0.690±	330.150±
100	0.229	0.237	0.210	0.225±	76.350±
200	0.093	0.087	0.089	0.090±	11.060±

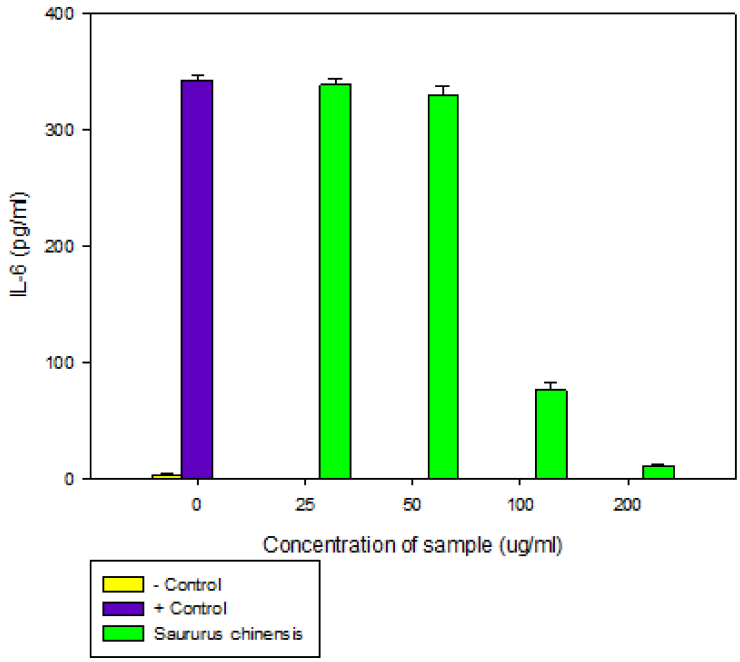


Figure 3-41. IL-6 production of *Saururus chinensis* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(4) 초피나무 에센셜 오일 농도에 따른 IL-6의 생성량 변화

Table 3-29. IL-6 production of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 450 nm

Concentration of ZPE (㎍/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of IL-6 (pg/mL)
-	0.077	0.075	0.073	0.075±	4.210±
+	1.035	1.032	0.998	1.020±	556.150±
0.78125	0.930	1.001	0.999	0.977±	523.270±
1.5625	0.960	0.921	0.932	0.938±	495.170±
3.125	0.943	0.842	0.862	0.882±	457.170±
6.25	0.765	0.759	0.841	0.788±	394.300±
12.5	0.580	0.559	0.544	0.561±	255.290±
25	0.228	0.212	0.225	0.222±	74.530±

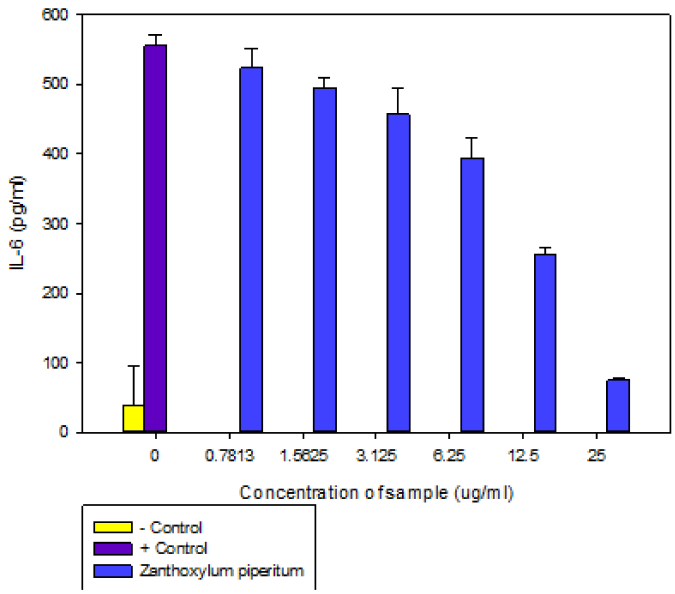


Figure 3-42. IL-6 production of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 450 nm

제주왕벚나무와 초피나무로부터 얻어진 에센셜 오일의 경우 세포독성 없이 농도 의존적으로 염증매개인자인 IL-6의 생성을 억제하는 것으로 나타났다. 그러나 삼백초의 경우 뚜렷한 경향을 보이지 않았다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3) 초임계유체 이산화탄소 추출물의 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

(1) IL-1β standard calibration curve

염증매개인자인 IL-1β (Interleukin-1 beta)의 증감 경향을 확인하기 위하여 우선 Sigmaplot ver. 12.0을 이용하여 standard calibration curve를 non-linear regression을 이용하여 그렸으며, 이때 Equation은 sigmoidal 5 parameter를 이용하였고 Rsqr는 0.9989이었다.

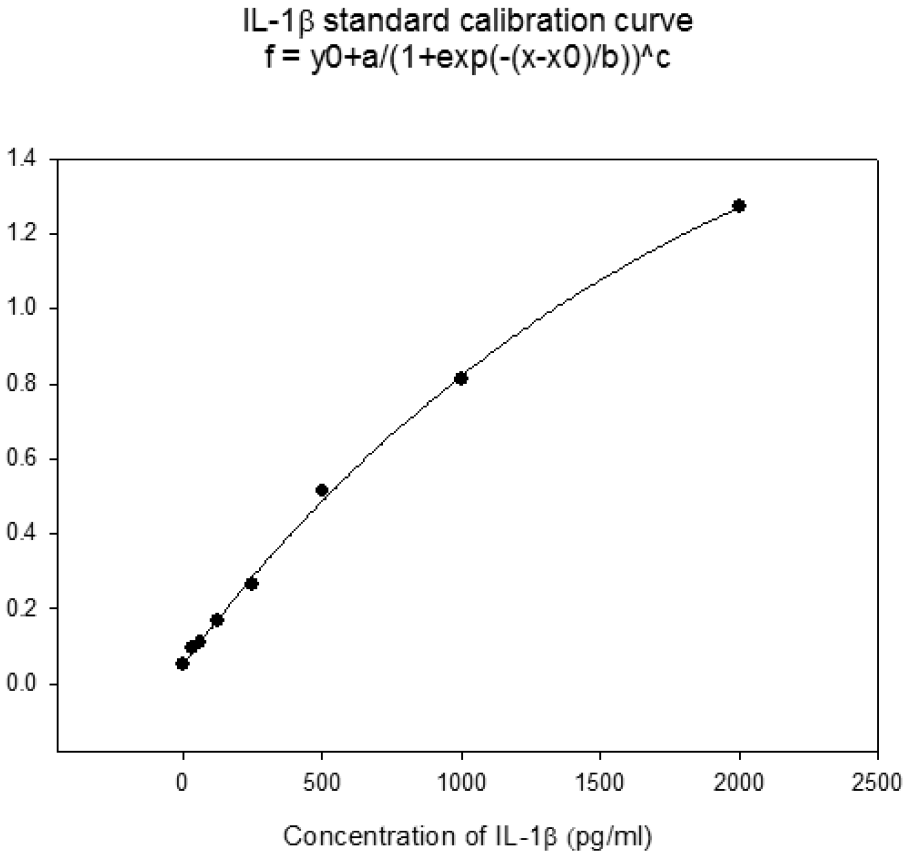


Figure 3-43. Mouse IL-1β ELISA standard calibration curve at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(2) 제주왕벚나무 에센셜 오일 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

제주왕벚나무의 농도에 따른 항염증 효과를 확인하기 위하여 standard calibration curve (Figure 3-43)를 이용하고 염증매개인자 IL-1β 생성량 변화를 측정하였다.

Table 3-30. IL-1β production of *Prunus yedoensis matsumura* essential oil at 450 nm

Concentration of PYE (μg/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of IL-1β (pg/mL)
-	0.076	0.079	0.077	0.077±	5.300±
+	0.191	0.168	0.155	0.171±	49.940±
25	0.150	0.136	0.136	0.141±	35.180±
50	0.150	0.138	0.127	0.138±	34.070±
100	0.137	0.129	0.128	0.131±	30.730±
200	0.130	0.131	0.129	0.130±	30.090±

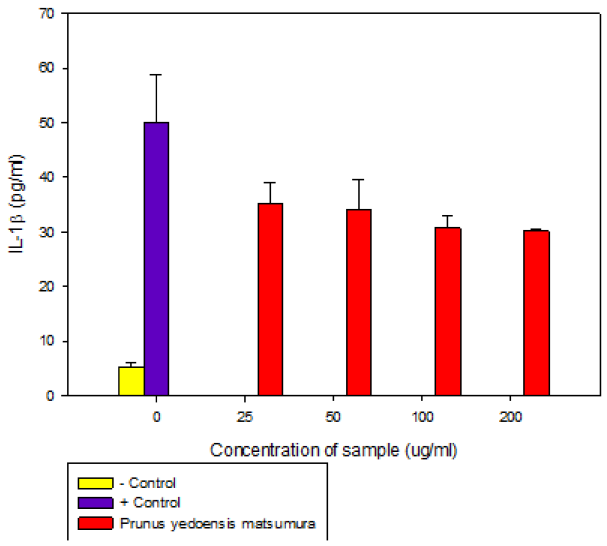


Figure 3-44 IL-1β production of P*runus yedoensis matsumura* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(3) 삼백초 에센셜 오일 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

Table 3-31. IL-1β production of *Saururus chinensis* essential oil at 450 nm

Concentration of SCE (μg/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of IL-1β (pg/mL)
-	0.079	0.074	0.075	0.076±	4.680±
+	0.185	0.189	0.177	0.184±	55.900±
25	0.105	0.101	0.100	0.102±	16.850±
50	0.102	0.104	0.105	0.104±	17.630±
100	0.097	0.095	0.099	0.097±	14.500±
200	0.083	0.087	0.085	0.085±	8.880±

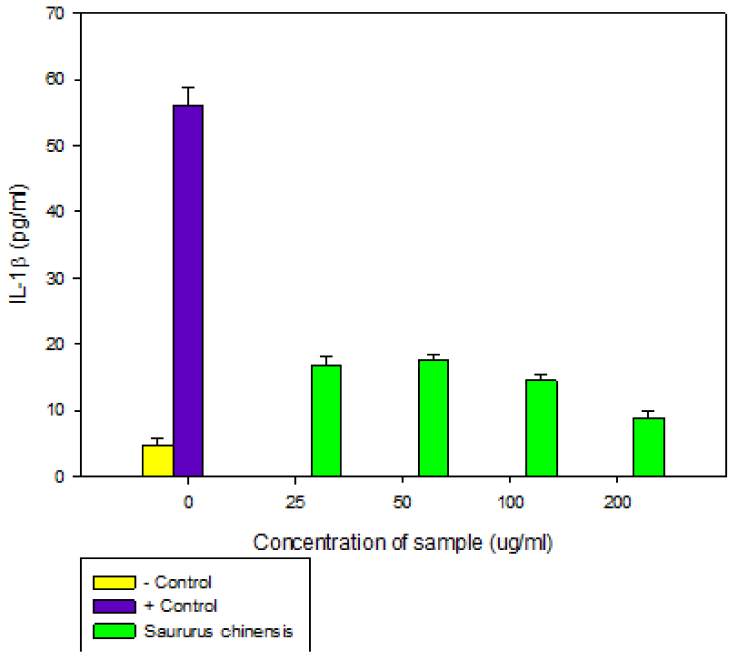


Figure 3-45. IL-1β production of *Saururus chinensis* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(4) 초피나무 에센셜 오일 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

Table 3-32. IL-1β production of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 450 nm

Concentration of ZPE (μg/mL)	OD	OD	OD	Average	Concentration of IL-1β (pg/mL)
-	0.088	0.079	0.081	0.083±	7.790±
+	0.203	0.183	0.201	0.196±	61.760±
0.78125	0.198	0.198	0.191	0.196±	61.750±
1.5625	0.159	0.163	0.159	0.160±	44.610±
3.125	0.114	0.120	0.115	0.116±	23.610±
6.25	0.084	0.088	0.086	0.0860±	9.340±
12.5	0.083	0.086	0.083	0.0840±	8.410±
25	0.081	0.082	0.083	0.0820±	7.470±

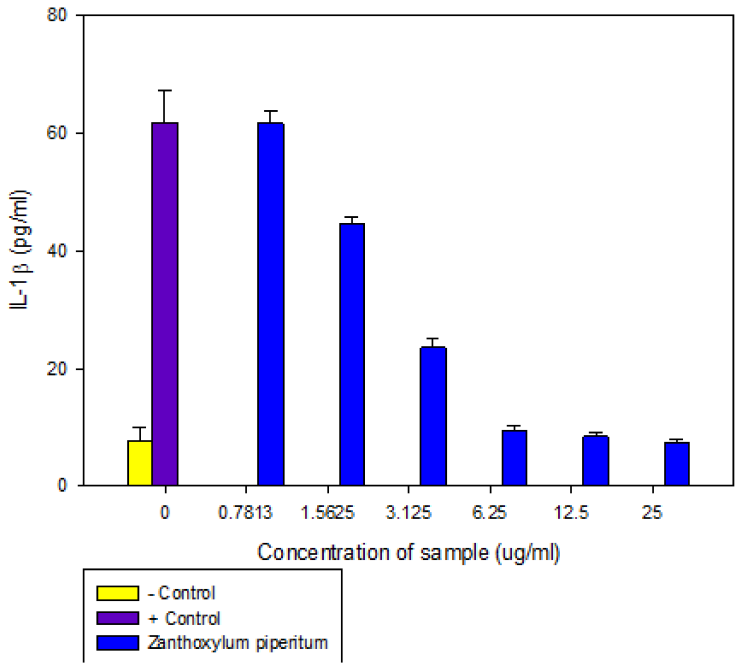


Figure 3-46. IL-1β production of *Zanthoxylum piperitum* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

제주왕벚나무와 초피나무로부터 얻어진 에센셜 오일의 경우 세포독성 없이 농도 의존적으로 IL-6의 생성을 억제하는 것으로 나타났다. 그러나 삼백초의 경우 뚜렷한 경향을 보이지 않았다.

초임계유체 이산화탄소 추출물(제주왕벚나무, 삼백초, 초피나무) 중 특히 초피나무 에센셜 오일의 경우 TNF-α, IL-6, IL-1β에 대해 세포독성 없이 농도 의존적으로 뚜렷한 감소 경향을 보여 주었다.

이러한 결과는 이들 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 주요 성분들이 생물학적 활성을 갖는 terpene류 임에 기인하는 것으로 보이며, 항염증 실험인 NO assay 결과와도 잘 부합되었다. 더불어 초피나무 에센셜 오일의 경우 매우 우수한 항염증 효과를 보여주었으며 싸이토카인 실험에서도 농도 의존적으로 염증매개인자들의 농도 감소 경향이 매우 뚜렷하여 염증치료제로써의 활용 가능성이 매우 높은 것으로 나타났다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-6-2. 수증기 증류 추출물(에센셜 오일)들에 대한 싸이토카인 실험 결과

1) 수증기 증류 추출물의 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

(1) 순비기나무 에센셜 오일 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

Table 3-33. TNF-α production of *Vitex rotundifolia* essential oil at 450 nm

Concentration of VRE (μg/mL)	OD	Concentration of TNF-α (pg/mL)
-	0.0680	16.074
+	0.2470	207.190
0.781	0.2333	191.861
1.562	0.2033	158.722
3.125	0.1821	135.649
6.25	0.1693	121.853
12.5	0.1473	98.374
25	0.1380	88.535
50	0.0699	18.004
100	0.0693	17.395

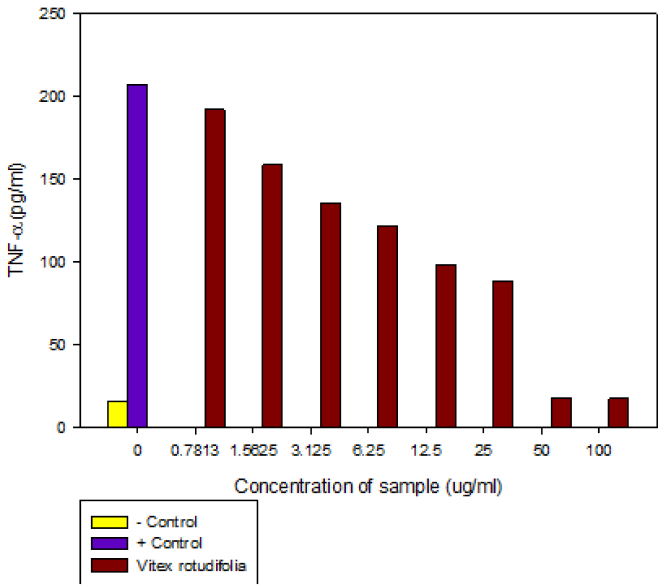


Figure 3-47. TNF-α production of *Vitex rotundifolia* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(2) 해국 에센셜 오일 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

Table 3-34. TNF-α production of *Aster spathulifolius* essential oil at 450 nm

Concentration of ASA (μg/mL)	OD	Concentration of TNF-α (pg/mL)
-	0.0680	16.074
+	0.2470	207.190
0.781	0.2463	191.861
1.562	0.2253	182.967
3.125	0.2131	169.484
6.25	0.1988	153.801
12.5	0.1831	136.73
25	0.1780	131.219
50	0.0993	48.133
100	0.0732	21.363

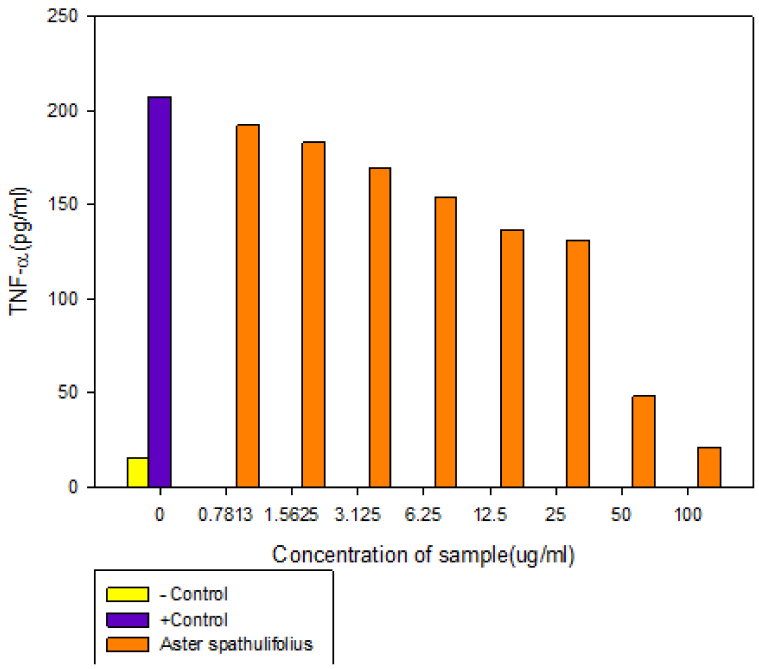


Figure 3-48. TNF-α production of *Aster spathulifolius* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(3) 털머위 에센셜 오일 농도에 따른 TNF-α의 생성량 변화

Table 3-35. TNF-α production of *Farfugium japonicum* essential oil at 450 nm

Concentration of FJA (μg/mL)	OD	Concentration of TNF-α (pg/mL)
-	0.0680	16.074
+	0.2470	207.190
0.781	0.2469	207.078
1.562	0.2203	177.430
3.125	0.2175	174.336
6.25	0.2004	155.549
12.5	0.1839	137.598
25	0.1820	135.541
50	0.1061	55.170
100	0.0794	27.688

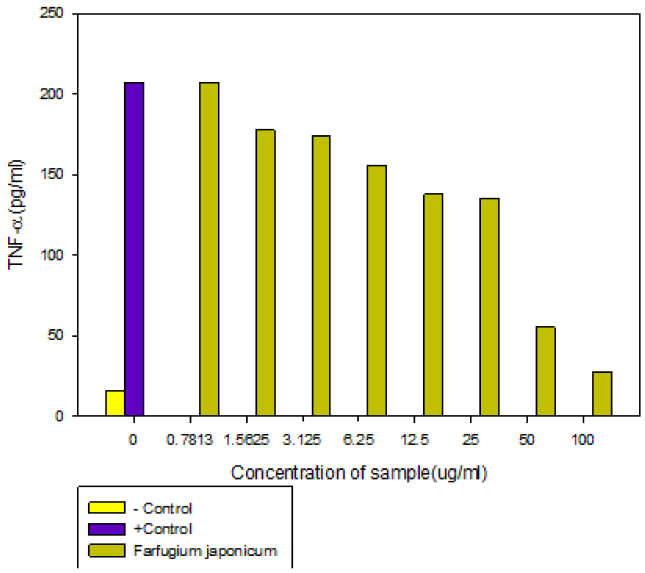


Figure 3-49. TNF-α production of *Farfugium japonicum* essential oil at 450 nm

수증기 추출물(순비기나무, 해국, 털머위)들의 경우 세포독성 없이 농도 의존적으로 TNF-α 생성을 효과적으로 감소시키는 것으로 나타났다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2) 수증기 증류 추출물의 농도에 따른 IL-6의 생성량 변화

(1) 순비기나무 에센셜 오일 농도에 따른 IL-6의 생성량 변화

Table 3-36. IL-6 production of *Vitex rotundifolia* essential oil at 450 nm

Concentration of VRE (㎍g/mL)	OD	Concentration of IL-6 (pg/mL)
-	0.0860	34.444
+	0.2190	175.993
0.781	0.2023	157.628
1.562	0.2020	157.299
3.125	0.1970	151.836
6.25	0.1830	136.623
12.5	0.1670	119.385
25	0.1360	86.426
50	0.1703	122.928
100	0.1560	107.624

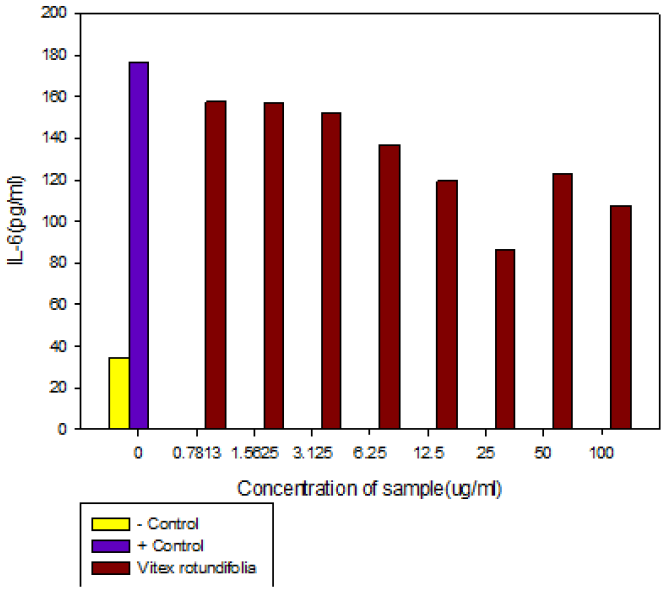


Figure 3-50. IL-6 production of *Vitex rotundifolia* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(2) 해국 에센셜 오일 농도에 따른 IL-6의 생성량 변화

Table 3-37. IL-6 production of *Aster spathulifolius* essential oil at 450 nm

Concentration of ASA (㎍/mL)	OD	Concentration of IL-6 (pg/mL)
-	0.0860	34.444
+	0.2190	175.993
0.781	0.1019	50.821
1.562	0.1038	52.787
3.125	0.1033	52.270
6.25	0.1035	52.477
12.5	0.1030	51.959
25	0.0930	41.637
50	0.0850	33.419
100	0.0890	37.523

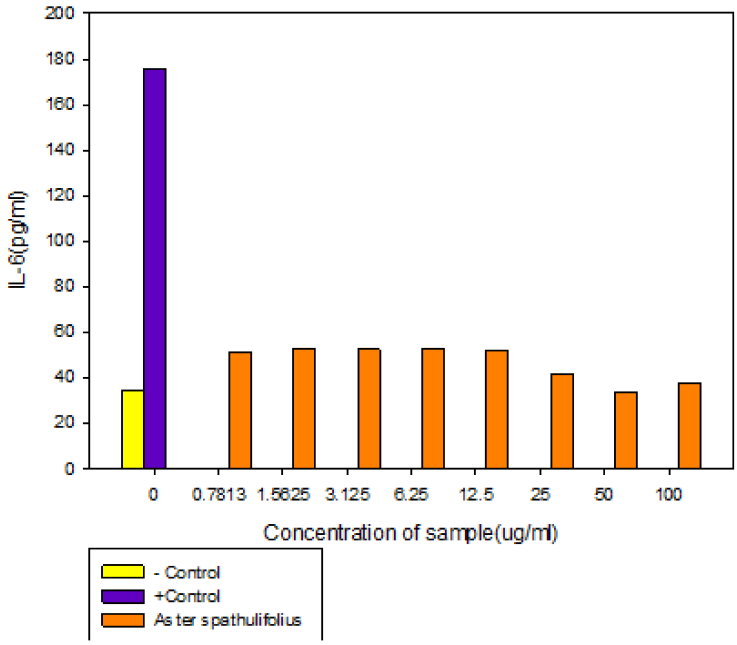


Figure 3-51. IL-6 production of *Aster spathulifolius* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(3) 털머위 에센셜 오일 농도에 따른 IL-6의 생성량 변화

Table 3-38. IL-6 production of *Farfugium japonicum* essential oil at 450 nm

Concentration of FJA (㎍/mL)	OD	Concentration of IL-6 (pg/mL)
-	0.0860	34.444
+	0.2190	175.993
0.781	0.1790	132.300
1.562	0.1687	121.209
3.125	0.1380	88.535
6.25	0.1250	74.867
12.5	0.1020	50.924
25	0.0790	27.279
50	0.0783	26.564
100	0.0760	24.217

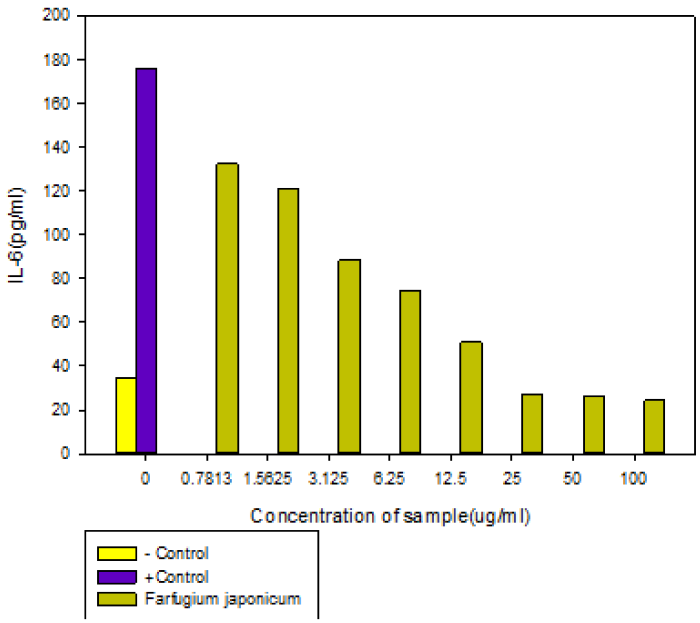


Figure 3-52. IL-6 production of *Farfugium japonicum* essential oil at 450 nm

수증기 추출물 중 순비기나무와 털머위의 경우 세포독성 없이 농도 의존적으로 IL-6의 생성을 효과적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 해국의 경우 대체적으로 감소하나 그 경향은 뚜렷하지 않았다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3) 수증기 증류 추출물의 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

(1) 순비기나무 에센셜 오일 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

Table 3-39. IL-1β production of *Vitex rotundifolia* essential oil at 450 nm

Concentration of VRE (μg/mL)	OD	Concentration of IL-1β (pg/mL)
-	0.0720	20.141
+	0.1990	154.020
0.781	0.1723	125.078
1.562	0.1520	103.366
3.125	0.1383	88.852
6.25	0.1383	88.852
12.5	0.1370	87.481
25	0.1165	65.984
50	0.0761	24.319
100	0.0752	23.401

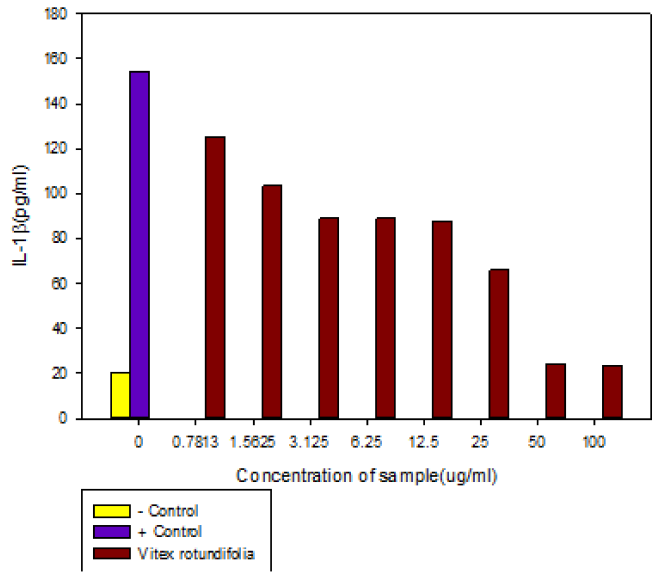


Figure 3-53. IL-1β production of *Vitex rotundifolia* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(2) 해국 에센셜 오일 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

Table 3-40. IL-1β production of *Aster spathulifolius* essential oil at 450 nm

Concentration of ASA (μg/mL)	OD	Concentration of IL-1β (pg/mL)
-	0.0720	20.141
+	0.1990	154.020
0.781	0.1220	71.727
1.562	0.1083	57.453
3.125	0.1070	56.103
6.25	0.1020	50.924
12.5	0.0760	24.217
25	0.0716	19.733
50	0.0870	35.470
100	0.0780	26.257

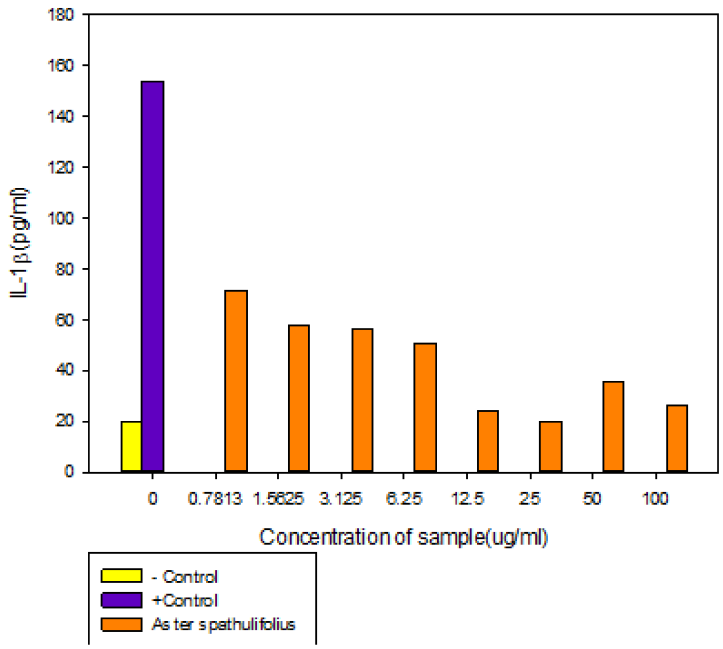


Figure 3-54. IL-1β production of *Aster spathulifolius* essential oil at 450 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(2) 털머위 에센셜 오일 농도에 따른 IL-1β의 생성량 변화

Table 3-41. IL-1β production of *Farfugium japonicum* essential oil at 450 nm

Concentration of FJA (μg/mL)	OD	Concentration of IL-1β (pg/mL)
-	0.0720	20.141
+	0.1990	154.020
0.781	0.1217	71.414
1.562	0.1213	70.995
3.125	0.1110	60.257
6.25	0.1103	59.530
12.5	0.1020	50.925
25	0.0770	25.237
50	0.0710	19.123
100	0.0693	17.395

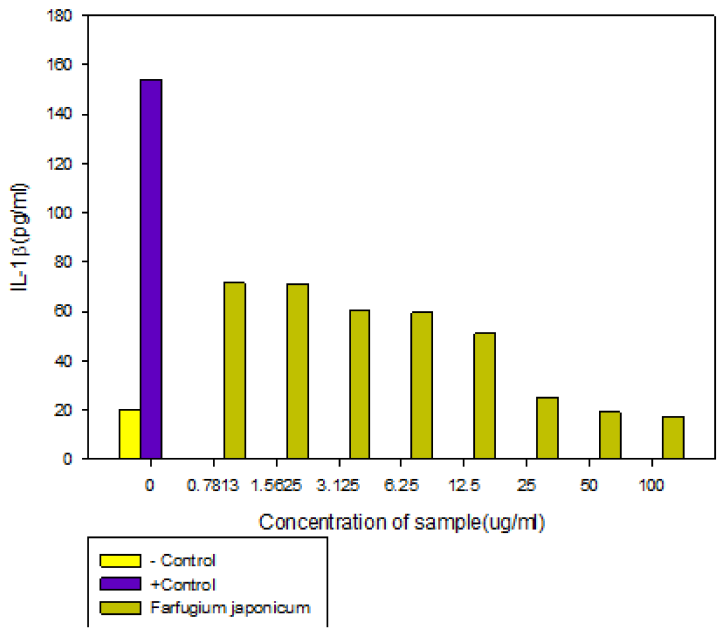


Figure 3-55. IL-1β production of *Farfugium japonicum* essential oil at 450 nm

수증기 추출물의 경우 세포독성 없이 농도 의존적으로 염증매개인자인 IL-1β의 생성을 완만하게 감소시키는 것으로 나타났다. 이는 항염증 실험과도 일치하는 결과를 나타냈다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-7. 항산화 효과

5-7-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물(에센셜 오일)들의 항산화 효과

Table 3-42. Optical density of supercritical fluid carbon dioxide extracts at various concentrations and 515 nm

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	12.5
PYE	0.935	0.950	0.950	0.953	0.953
SCE	0.306	0.544	0.713	0.940	0.942
ZPE	0.636	0.745	0.855	0.925	0.940
Vit. C	0.028	0.045	0.052	0.110	0.524

Samples \ Concentration (μg/mL)	6.25	3.125	1.562	0.781	Control
PYE	0.953	0.954	0.954	0.954	
SCE	0.945	0.949	0.952	0.954	
					0.955
ZPE	0.949	0.953	0.953	0.954	
Vit. C	0.787	0.818	0.821	0.821	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

$$\% = \left(1 - \frac{Asample}{Acontrol}\right) \times 100$$ Equation 1

A_{sample} : 시료의 흡광도

$A_{control}$: 대조군의 흡광도

Table 3-43. DPPH radical scavenging activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	12.5
PYE	2.100	0.540	0.495	0.173	0.151
SCE	67.398	42.980	25.330	1.530	1.304
ZPE	34.333	21.931	10.430	3.094	1.503
Vit. C	97.038	95.081	94.478	88.399	45.058

Samples \ Concentration (μg/mL)	6.25	3.125	1.562	0.781	SC_{50}
PYE	0.129	0.106	0.048	0.036	>200
SCE	0.983	0.549	0.323	0.104	111.890
ZPE	0.584	0.193	0.143	0.058	>200
Vit. C	17.587	14.256	13.994	13.961	13.383

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-43에서의 SC_{50} (50% scavenging concentration)은 sigmaplot v. 12.0을 이용하여 standard calibration curve를 그리고 난 후 비선형회귀분석(non-linear regression)을 통하여 계산하였으며, 이때 Vit. C의 Rsqr값은 0.9994 그리고 삼백초의 Rsqr값은 0.9852이었다. 삼백초와 Vitamin C의 standard calibration curve는 아래와 같다.

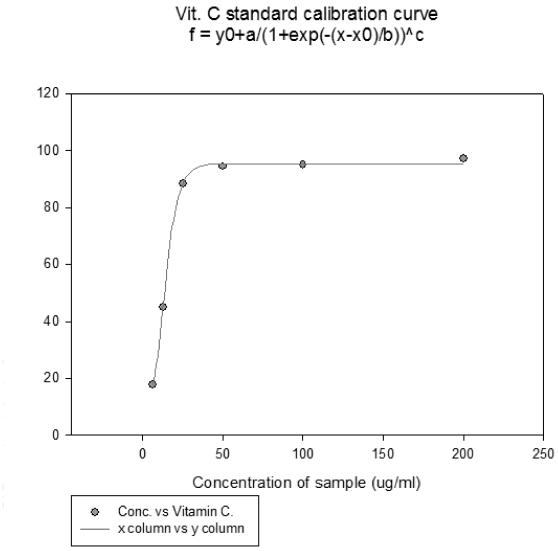


Figure 3-56. Standard calibration curve of Vitamin C at 515 nm

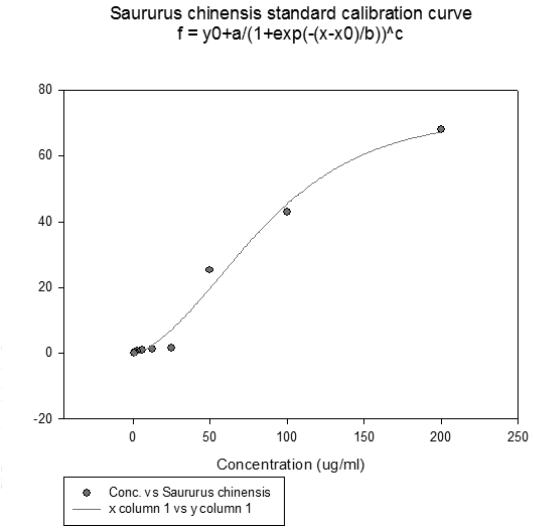


Figure 3-57. Standard calibration curve of *Saururus chinensis* at 515 nm

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

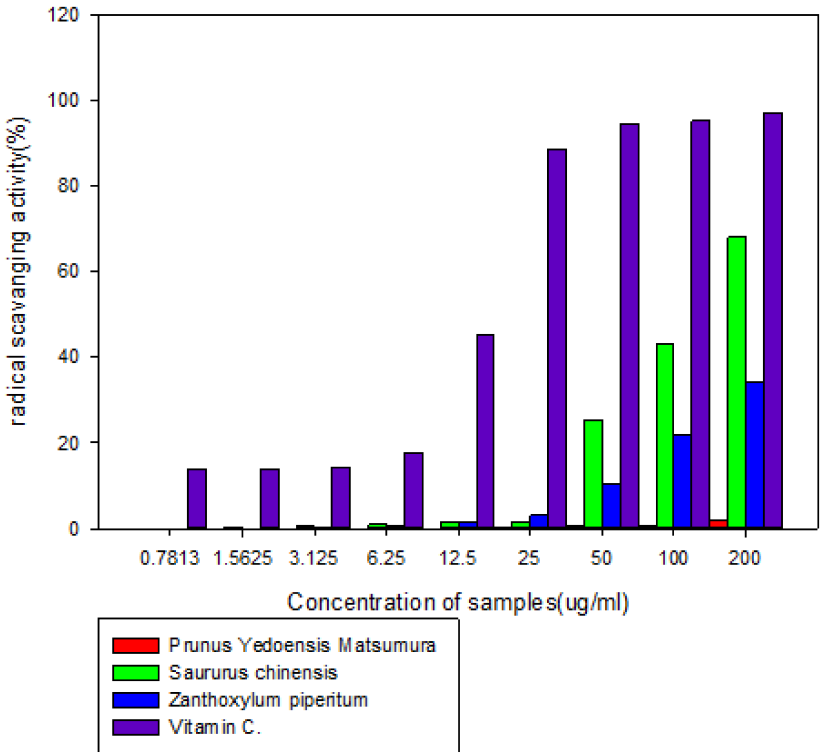


Figure 3-58. DPPH radical scavenging activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

초임계유체 이산화탄소 추출물 중 유일하게 삼백초만이 라디컬 소거 능력을 보여주었으나 대조군(Vitamin C)에 비해서는 그 활성이 작은 것으로 나타났다. 이러한 이유는 초임계유체 이산화탄소 추출물들의 주된 구성성분들이 비극성 물질들이기 때문으로 판단되어진다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-7-2. 수증기 증류물(에센셜 오일)들의 항산화 효과

Table 3-44. Optical density of steam distillates at various concentrations and 515 nm

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	12.5
VRE	0.801	0.807	0.809	0.807	0.808
ASA	0.802	0.811	0.809	0.809	0.812
FJA	0.804	0.811	0.804	0.806	0.805
Vit. C	0.0283	0.045	0.052	0.110	0.524

Samples \ Concentration (μg/mL)	6.25	3.125	1.562	0.781	Control
VRE	0.806	0.798	0.808	0.808	
ASA	0.816	0.801	0.817	0.815	
					0.809
FJA	0.808	0.807	0.808	0.811	
Vit. C	0.787	0.818	0.821	0.821	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

DPPH 라디컬 소거능은 Equation 1.을 이용하여 계산하였다.

Table 3-45. DPPH radical scavenging activity of steam distillates

Samples \ Concentration (μg/mL))	200	100	50	25	12.5
VRE	0.989	0.247	0.000	0.247	0.247
ASA	0.865	0.247	0.124	0.124	0.247
FJA	0.618	0.989	0.618	0.371	0.494
Vit. C	97.038	95.081	94.478	88.399	45.058

Samples \ Concentration (μg/mL)	6.25	3.125	1.562	0.781	SC_{50}
VRE	0.371	0.136	0.124	0.124	-
ASA	0.000	0.989	0.742	0.494	-
FJA	0.124	0.247	0.124	0.371	-
Vit. C	17.587	14.256	13.994	13.961	13.383

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

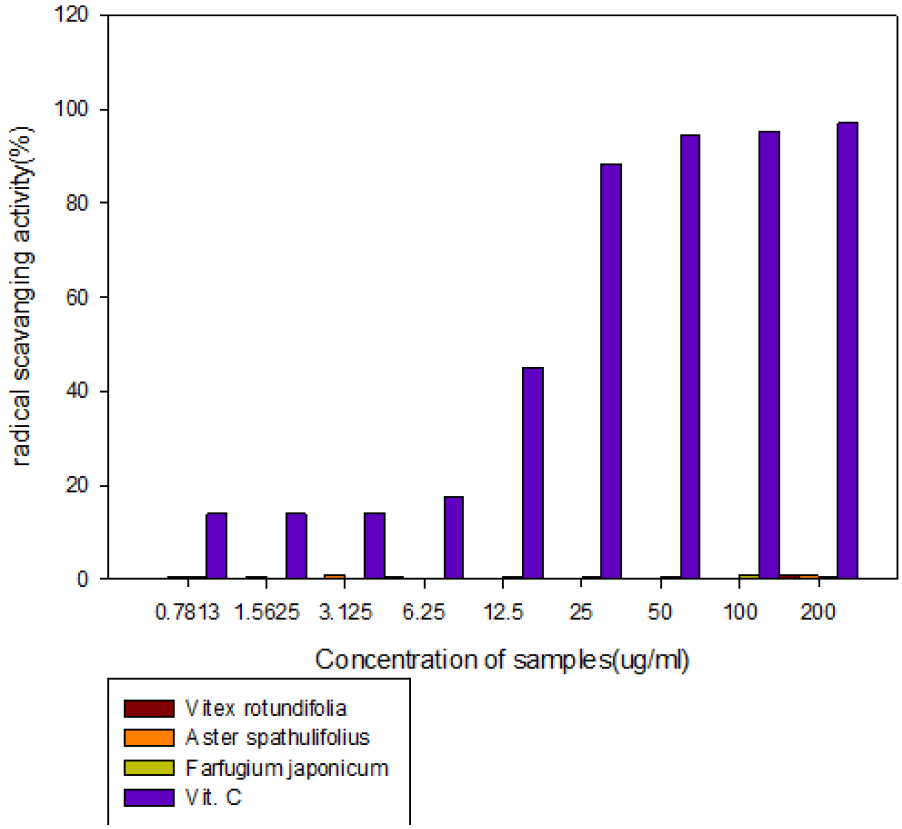


Figure 3-59. DPPH radical scavenging activity of steam distillates

Steam distillation으로 얻어진 에센셜 오일의 경우 항산화 능력이 없는 것으로 나타났다. 이는 이들 증류물들의 주성분이 hydrophobic terpene류임에 기인한 결과로 판단되어 진다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-8. 티로시나제 저해능

5-8-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물(에센셜 오일)들의 티로시나제 저해능

Table 3-46. Optical density of blank in tyrosinase inhibition assay

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	0
PYE	0.214	0.122	0.082	0.056	0.038
SCE	0.207	0.119	0.079	0.051	0.038
ZPE	0.162	0.087	0.065	0.054	0.040
Control (Arbutin)	0.038	0.036	0.037	0.038	0.037

Table 3-47. Optical density of experiment in tyrosinase inhibition assay

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	0
PYE	0.768	0.674	0.623	0.585	0.579
SCE	0.654	0.613	0.587	0.576	0.583
ZPE	0.877	0.704	0.658	0.631	0.627
Control (Arbutin)	0.352	0.433	0.497	0.548	0.563

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

$$Inhibition(\%) = \left[1 - \left\{\frac{Aexp - Ablank}{Acontrol}\right\}\right] \times 100 \qquad \text{Equation 2}$$

A_{blank} : 반응 전 시료의 흡광도
A_{exp} : 반응 후 시료의 흡광도
$A_{control}$: 대조군의 흡광도

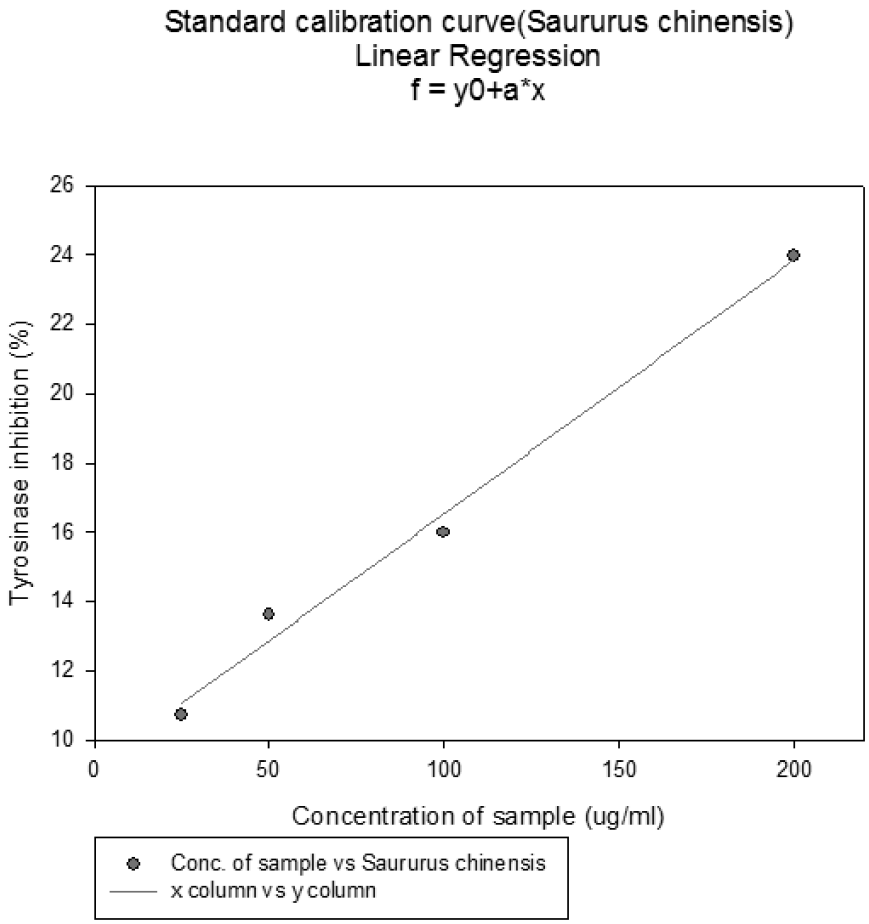


Figure 3-60. Standard calibration curve of *Saururus chinensis*

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

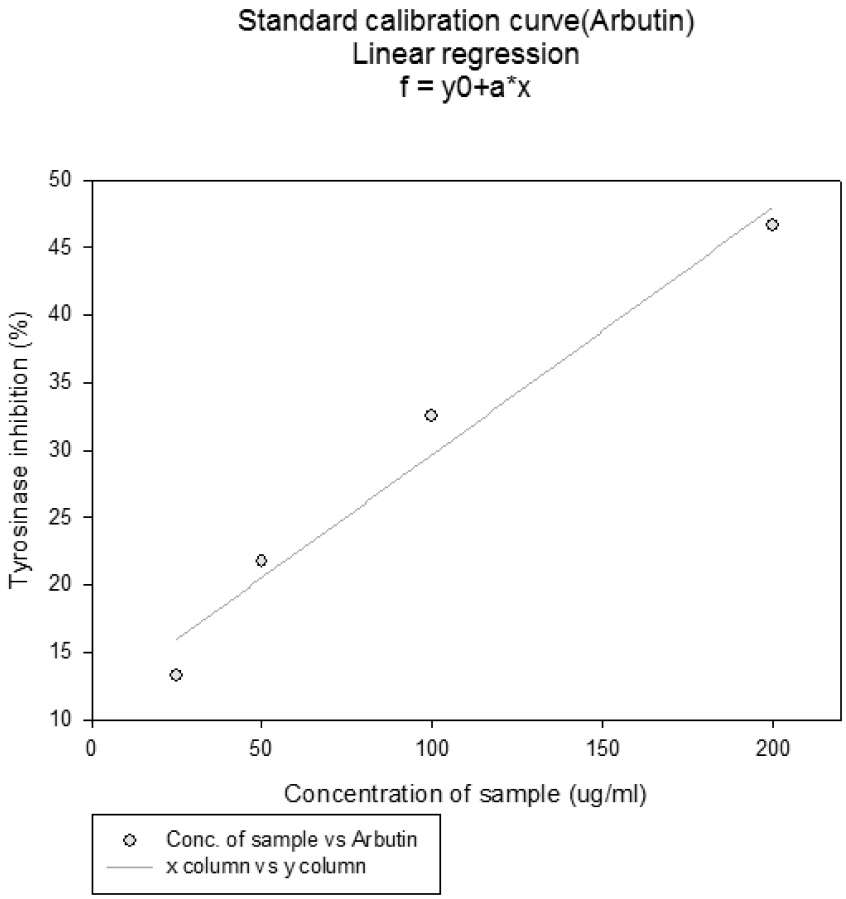


Figure 3-61. Standard calibration curve of Arbutin

Sigmaplot ver.12를 이용하여 각각의 standard calibration curve를 그리고 이를 이용하여 IC_{50} (50% Inhibition concentration)을 계산하였다. 이때 삼백초의 경우 Rsqr값은 0.9901 이었으며, 대조군인 Arbutin의 경우 Rsqr값은 0.9702이었다.

티로시나아제 저해능은 Equation 2에 의하여 계산하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-48. Tyrosinase inhibition activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	IC_{50} (μg/mL)
PYE	5.8	6.1	8.0	10.0	-
SCE	23.9	16.0	13.6	10.7	557.048
ZPE	-21.6	-5.0	-0.8	1.9	-
Control (Arbutin)	46.6	32.5	21.8	13.3	211.019

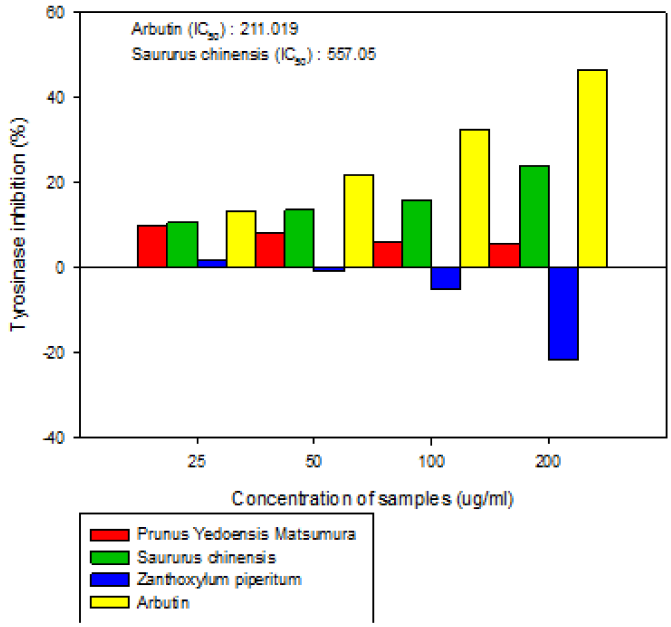


Figure 3-62. Tyrosinase inhibition activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

삼백초 에센셜 오일의 경우 Control 대비 약 2.64배의 IC_{50}을 보였으며, 독특하게도 초피나무의 경우는 농도에 따라 Tyrosinase를 생성하는 경향을 보였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-9. 엘라스타제 저해능

5-9-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물(에센셜 오일)들의 엘라스타제 저해능

Table 3-49. Optical density of blank in elastase inhibition assay

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	0
PYE	0.159	0.148	0.113	0.060	0.061
SCE	0.278	0.139	0.081	0.069	0.066
ZPE	0.321	0.141	0.096	0.071	0.065
Control (Oleanolic acid)	0.065	0.063	0.063	0.066	0.066

Table 3-50. Optical density of experiment in elastase inhibition assay

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	0
PYE	1.033	1.033	1.011	0.966	0.962
SCE	1.077	0.988	0.952	0.941	0.985
ZPE	1.373	1.122	1.020	0.978	0.982
Control (Oleanolic acid)	0.575	0.832	0.907	0.939	0.958

$$Inhibition(\%) = \left[1 - \left\{\frac{Aexp - Ablank}{Acontrol}\right\}\right] \times 100 \qquad \text{Equation 3}$$

A_{blank} : 반응 전 시료의 흡광도
A_{exp} : 반응 후 시료의 흡광도
$A_{control}$: 대조군의 흡광도

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

엘라스타제 저해능은 Equation 3에 의하여 계산하였다.

Table 3-51. Elastase inhibition activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	IC_{50}
PYE	3.638	2.425	0.992	0.110	-
SCE	11.907	6.394	3.969	3.858	995.473
ZPE	-15.986	-8.158	-1.874	0.000	-
Control (Oleanolic acid)	43.770	15.215	6.946	3.748	233.664

*** sample을 넣지 않은 상태의 흡광도는 평균값으로 계산(Acontrol=0.907)**

각각의 standard calibration curve는 sigmaplot ver. 12.0을 사용하였고, 이를 통해 IC_{50}을 계산하였다. 이때 삼백초의 경우 Rsqr값은 0.9795 그리고 대조군인 Oleanolic acid의 Rsqr값은 0.9784이었다.

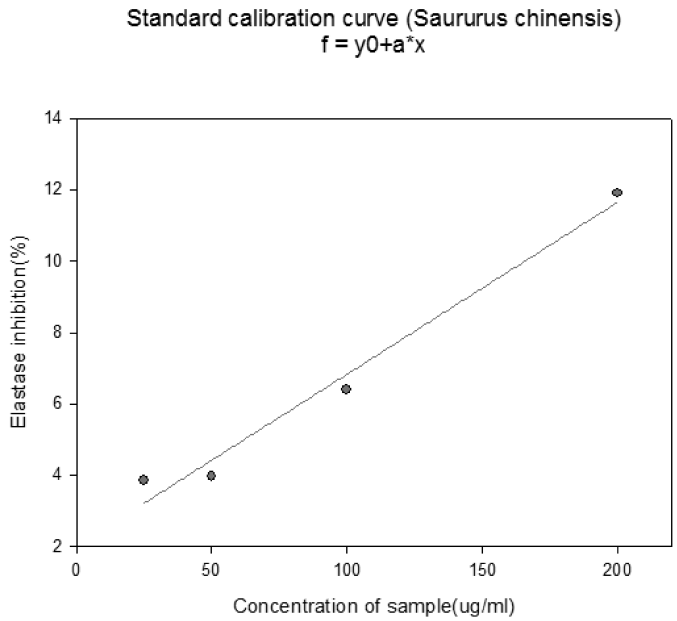


Figure 3-63. Standard calibration curve of *Saururus chinensis*

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

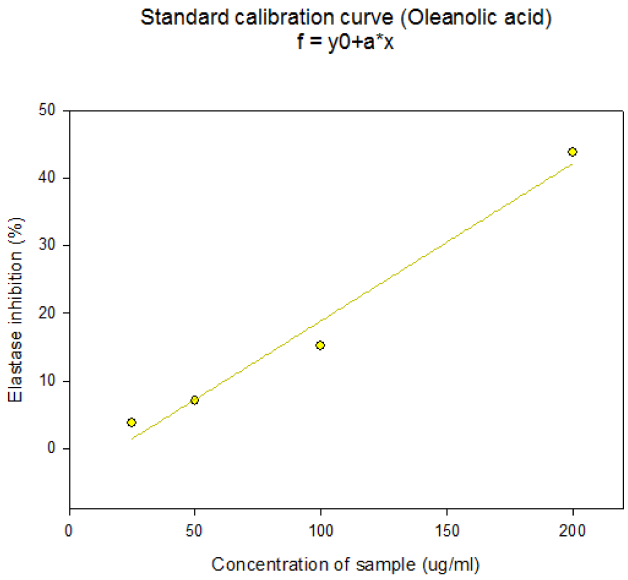


Figure 3-64. Standard calibration curve of oleanolic acid

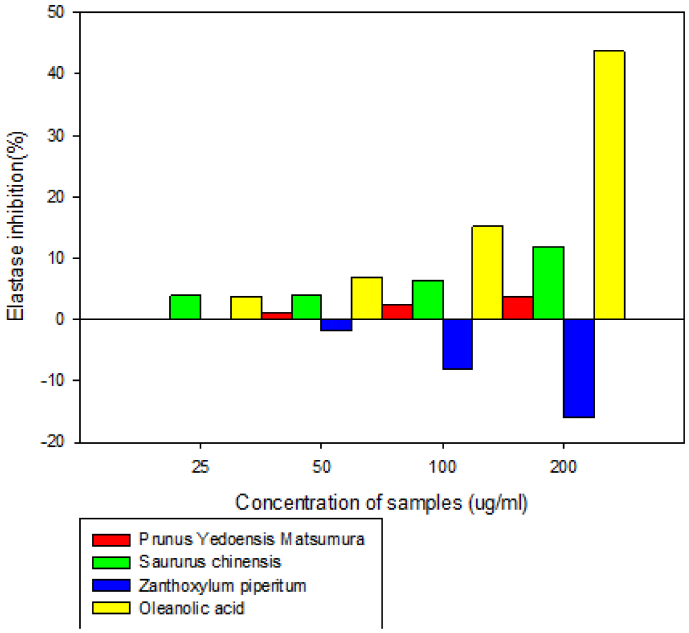


Figure 3-65. Elastase inhibition activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

삼백초와 Control의 IC_{50}은 Sigmaplot ver.12를 이용하여 standard calibration curve를 그리고 IC_{50}을 계산하였다. 삼백초의 경우 농도에 따라 저해능이 증가하는 경향을 보였으나 유의한 IC_{50}을 보이지는 못했다. 또한 티로시나제 저해 활성 실험과 동일하게 초피나무의 경우는 효소를 생성하는 경향을 보였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-10. 멜라닌 저해활성

5-10-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물(에센셜 오일)들의 멜라닌 저해활성

Table 3-52. Optical density of essential oils at 450 nm

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25	0	-
PYE	0.196	0.188	0.189	0.197	0.191	0.158
SCE	0.197	0.178	0.185	0.191	0.194	0.147
ZPE	0.195	0.193	0.169	0.183	0.191	0.149
Arbutin	0.163	0.168	0.174	0.192	0.193	0.154

$$Inhibition(\%) = [1 - (Aexp/Acontrol)] \times 100 \quad \text{Equation 4}$$

A_{exp} : 반응 후 시료의 흡광도

$A_{control}$: 대조군의 흡광도

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

멜라닌 저해활성은 Equation 4에 의하여 계산하였다.

Table 3-53. Melanin inhibition activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

Concentration (μg/mL) / Samples	200	100	50	25
PYE	1.010	5.051	4.545	0.505
SCE	0.505	10.101	6.566	3.535
ZPE	1.515	2.525	14.646	7.576
Arbutin	17.677	15.151	12.121	3.030

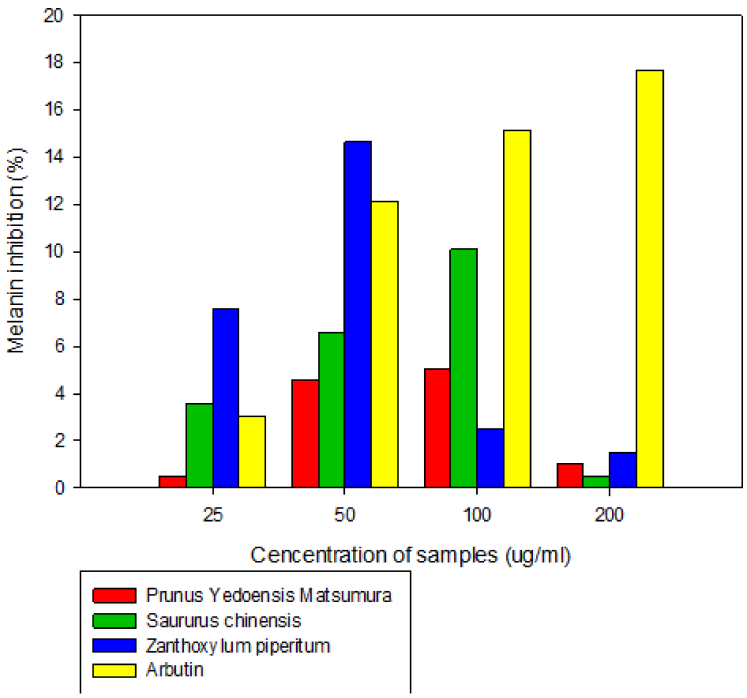


Figure 3-66. Melanin inhibition activity of supercritical fluid carbon dioxide extracts

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-11. 세포독성 결과

5-11-1. 초임계유체 이산화탄소 추출물(에센셜 오일)들에 대한 세포독성

Table 3-54. Optical density of essential oils at 540 nm

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	0	-
PYE	0.738	1.499	1.551	1.553	2.035	1.602
SCE	0.314	1.402	1.561	1.558	1.808	1.495
ZPE	0.201	0.418	1.491	1.631	1.812	1.534

세포독성의 경우 각각의 absorbance는 MTT가 세포의 환원(보라색)된 양을 나타내며 각 well에 존재하는 생존 세포수와 비례하므로 control의 absorbance를 100으로 놓고 samples의 각 농도별 absorbance를 상대적인 값으로 환산하여 계산하였다.

Table 3-55. Cytotoxicity of supercritical fluid carbon dioxide extracts with B16/F10 cell

Samples \ Concentration (μg/mL)	200	100	50	25	0
PYE	47.644	96.772	100.129	100.258	
SCE	20.271	90.510	100.775	100.581	100 (1.549)
ZPE	12.976	26.985	96.256	105.294	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

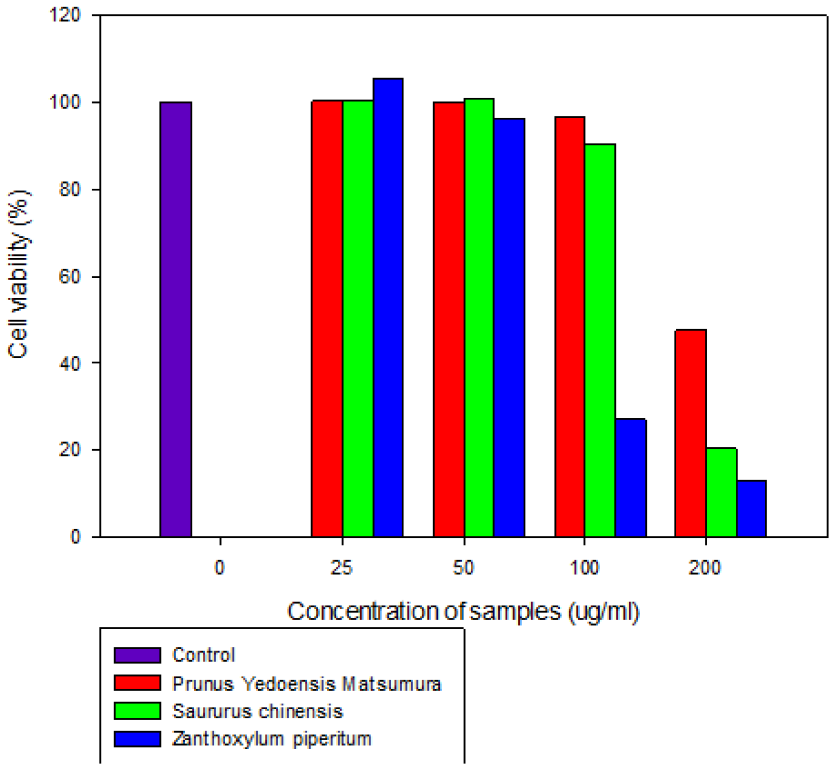


Figure 3-67. Cytotoxicity of supercritical fluid carbon dioxide extracts with B16/F10 cell

세포독성 실험 결과 제주왕벚나무의 경우 100 ㎍g/mL까지 그리고 삼백초와 초피나무의 경우 50 ㎍g/mL까지 세포독성이 없는 것으로 나타났다. 2-11-2에서 멜라닌 저해능과 세포독성에 대해서 종합적으로 설명하도록 하겠다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-11-2. 멜라닌 저해능과 세포독성

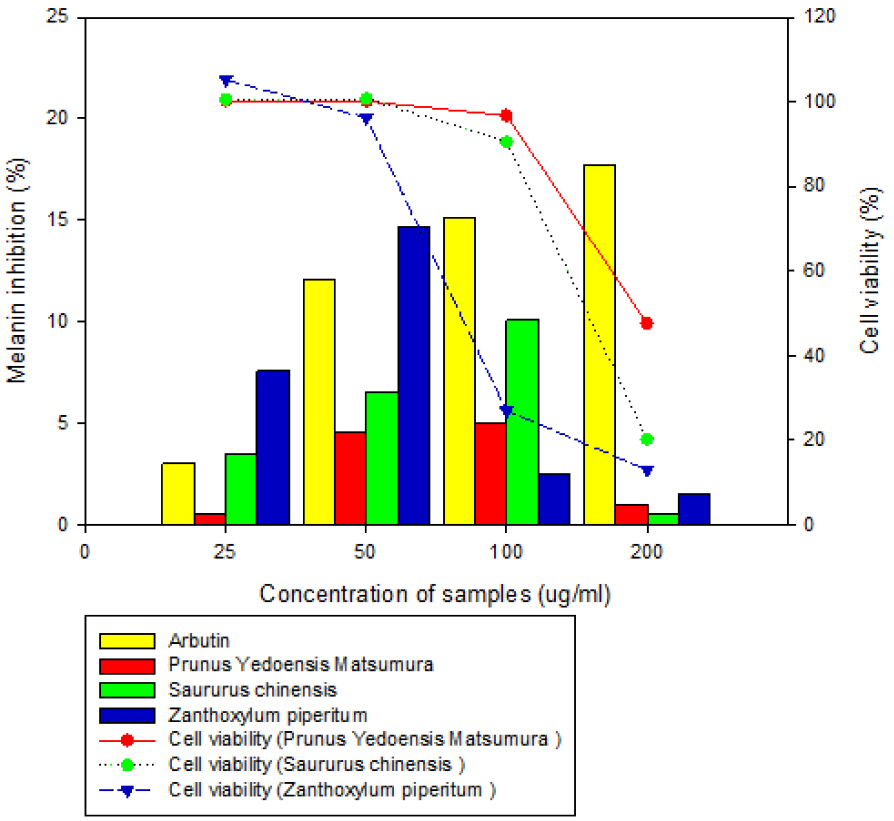


Figure 3-68. Melanin inhibition activity and cytotoxicity of supercritical fluid carbon dioxide extracts with B16/F10 cell

제주왕벚나무와 삼백초 에센셜 오일의 경우 세포독성이 거의 없는 100 μg/mL까지 농도 의존적으로 멜라닌 생성저해 능력이 증가하였으며, 초피나무 에센셜 오일의 경우 세포독성이 거의 없는 50 μg/mL까지 농도 의존적으로 멜라닌 생성저해 능력이 상승하였다. 또한 초피나무 에센셜 오일의 경우 알부틴(control)의 최대 멜라닌 저해율(200 μg/mL) 대비 약 0.83배의 저해능력을 보여줬으며, 같은 농도(50 μg/mL)에서는 알부틴 대비 약 1.21배의 멜라닌 생성 저해능을 보여주었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-12. 항균활성

5-12-1. 여드름 균(P. acnes)에 대한 에센셜 오일들의 항균 활성 실험 결과

Table 3-56. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 9009

Concentration (μg/mL) / Samples	125	62.5	31.25	15.625	7.8125	3.9063	1.9531	0
PYE	1.0140	0.8930	0.8590	0.8040	0.7780	0.8230	0.8400	0.9810
SCE	0.8140	0.7620	0.7580	0.7590	0.7400	0.8390	0.9060	1.0380
ZPE	0.7240	0.7090	0.7410	0.7610	0.7780	0.7950	0.8570	1.0290
VRE	0.7610	0.8560	0.8750	0.8220	0.8530	0.8580	0.8660	1.0160
ASA	0.8210	0.8210	0.7480	0.8430	0.7770	0.8210	0.8730	1.0210
FJA	0.7850	0.7570	0.7580	0.8470	0.9190	0.9100	0.9760	1.1480

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

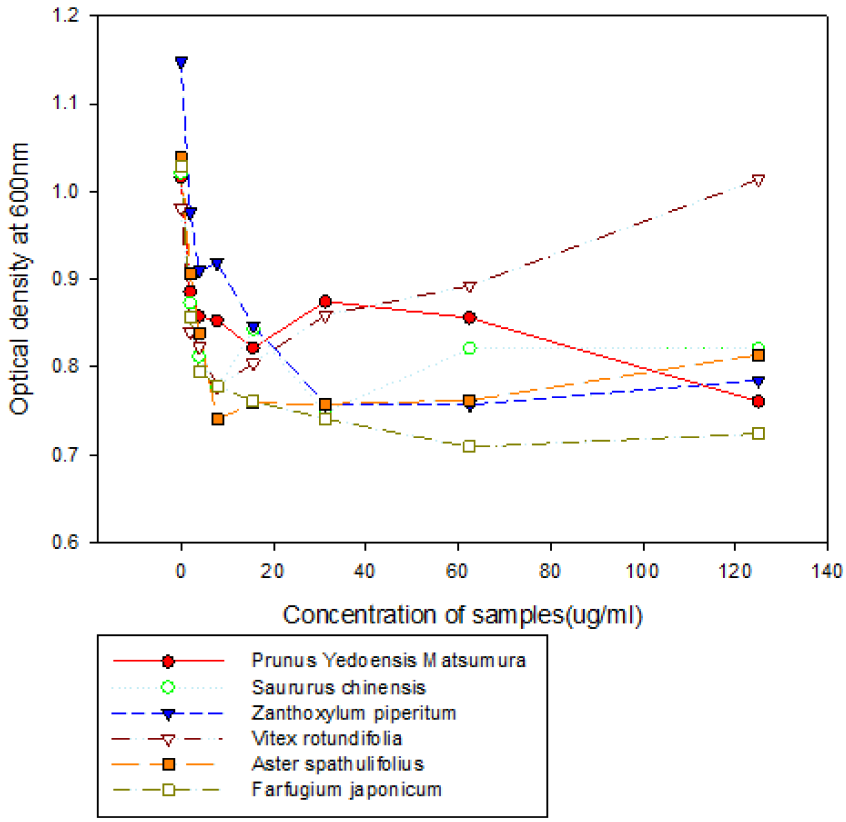


Figure 3-69. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 9009

P. acne CCARM 9009에 대한 초피나무와 털머위 등 에센셜 오일의 경우 20 μg/mL까지 급격한 OD의 감소를 보여 유의할 만한 항균 활성능력을 보여주었으며, 순비기나무를 제외하고 다른 에센셜 오일의 경우 전체적으로 OD가 감소하는 경향을 보여주었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-57. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 9010

Concentration (μg/mL) / Samples	125	62.5	31.25	15.625	7.8125	3.9063	1.9531	0
PYE	1.7370	1.5300	1.4400	1.4510	1.4570	1.4760	1.3870	1.4120
SCE	1.1680	1.3750	1.2960	1.3670	1.3820	1.4920	1.4220	1.5210
ZPE	1.6550	1.7180	1.4570	1.4910	1.5540	1.3330	1.3850	1.4890
VRE	0.8720	1.9450	1.9750	1.6780	1.4400	1.3710	1.4800	1.4380
ASA	1.8270	1.8610	1.3240	1.5040	1.2790	1.6150	1.3270	1.4290
FJA	1.4260	1.3870	1.3690	1.3540	1.4350	1.5030	1.4270	1.5170

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

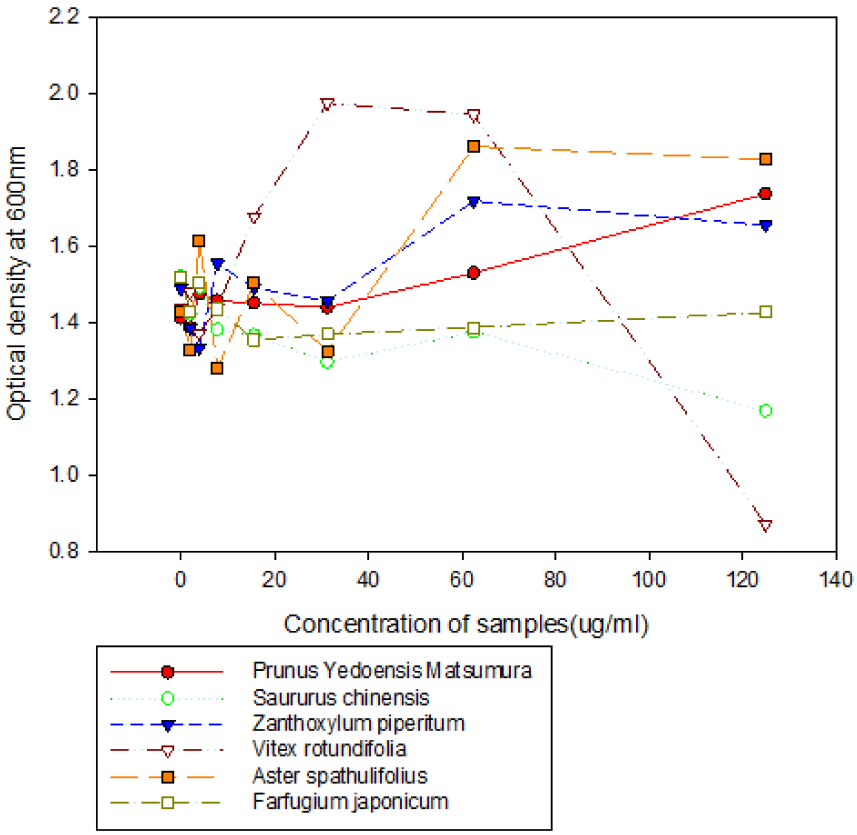


Figure 3-70. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 9010

P. acne CCARM 9010에 대한 에센셜 오일들의 OD에는 일정한 경향성을 찾을 수 없었으며, 항균활성이 없는 것으로 보인다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-58. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 0081

Samples \ Concentration (μg/mL)	125	62.5	31.25	15.625	7.8125	3.9063	1.9531	0
PYE	0.6800	0.7510	0.9080	0.9650	0.9780	0.9460	0.9340	0.9950
SCE	0.7450	0.8270	0.8850	0.9300	0.9410	0.9440	0.9420	0.9870
ZPE	0.6990	0.8150	0.9420	1.0160	1.0140	1.0370	1.0220	1.1270
VRE	0.9660	0.8950	0.7340	0.6970	0.7690	0.8570	0.9440	1.0390
ASA	0.6770	0.7580	0.7490	0.7930	0.8360	0.8750	0.9170	0.9610
FJA	0.7430	0.8030	0.7580	0.8100	0.8600	0.8990	0.9340	0.9690

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

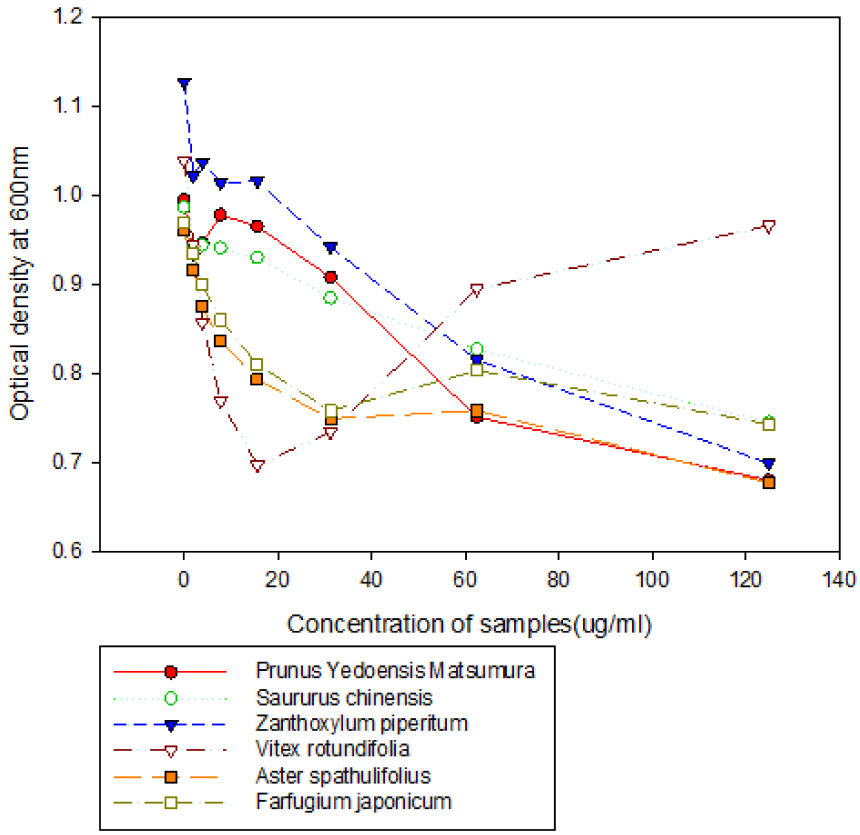


Figure 3-71. Optical density of essential oils on P. acne CCARM 0081

P. acne CCARM 0081에 대한 에센셜 오일들의 OD의 변화 경향을 확인한 결과 순비기나무 에센셜 오일의 경우 20 μg/mL까지 급격히 감소하다가 다시 증가하는 경향을 보였으며, 그 외 에센셜 오일의 경우 40~60 μg/mL까지 급격히 감소하다 그 이후 완만히 감소하는 경향을 보여 다소의 항균능력을 보여주었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5-12-2. 피부포도상구균(S. epidermidis)에 대한 에센셜 오일들의 항균 활성

Table 3-59. Optical density of essential oils on S. epidermidis CCARM 3809

Concentration (μg/mL) / Samples	125	62.5	31.25	15.625	7.8125	3.9063	1.9531	0
PYE	0.7480	0.9400	1.0370	1.0100	1.0260	1.0100	0.9940	1.0040
SCE	0.8300	1.0970	1.1450	1.1130	1.0700	1.0370	1.0010	1.0810
ZPE	1.1450	1.1880	1.2920	1.2570	1.2380	1.1820	1.1050	1.1450
VRE	0.5710	0.6440	0.9290	0.9830	1.0270	1.1330	1.1720	1.1460
ASA	0.8300	0.9270	0.8140	0.8870	0.9020	0.8380	0.8540	0.9240
FJA	0.7200	0.9150	0.8840	0.9410	0.9340	0.8260	0.9540	0.9540

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

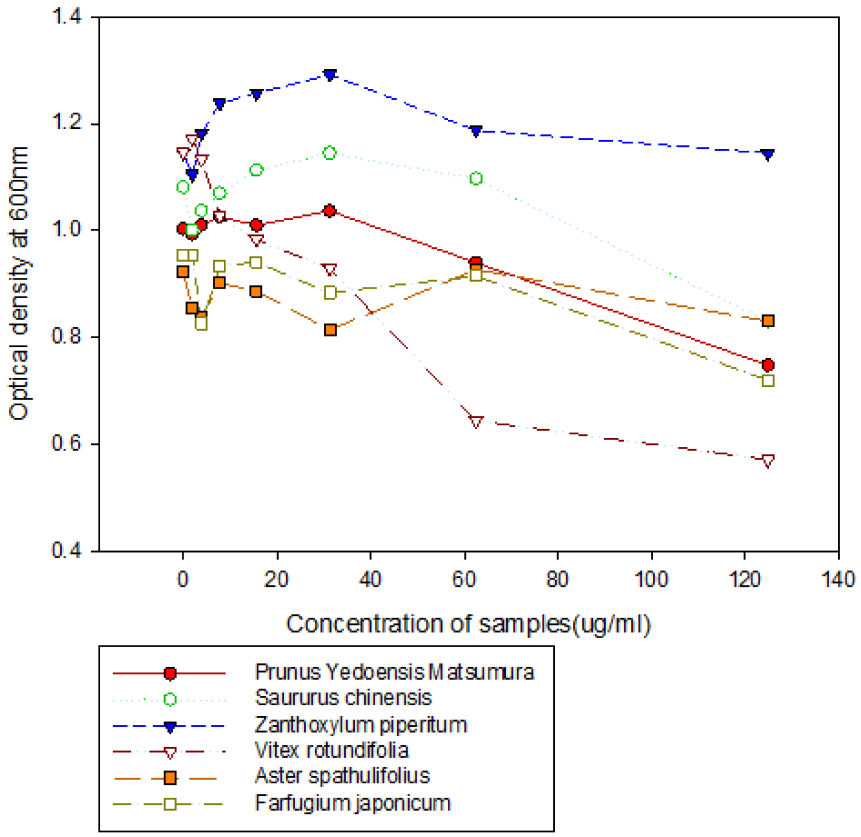


Figure 3-72. Optical density of essential oils on S. epidermidis CCARM 3809

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 3-60. Optical density of essential oils on S. epidermidis CCARM 3710

Concentration (㎍/mL) / Samples	125	62.5	31.25	15.625	7.8125	3.9063	1.9531	0
PYE	1.2310	0.9790	0.8520	0.8480	0.8270	0.7960	0.8320	0.7710
SCE	1.1430	1.0940	0.9840	0.7830	0.7350	0.7790	0.7330	0.7710
ZPE	1.3360	1.4680	1.3130	0.9280	0.8900	0.8630	0.9430	1.0050
VRE	1.0540	0.9820	1.0970	0.9600	1.0530	1.1040	1.1770	0.8790
ASA	1.2670	1.0950	0.9750	0.8570	0.8710	0.8310	0.9470	1.0160
FJA	1.2200	1.1390	0.9920	0.8340	0.7500	0.8260	0.7310	0.8190

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

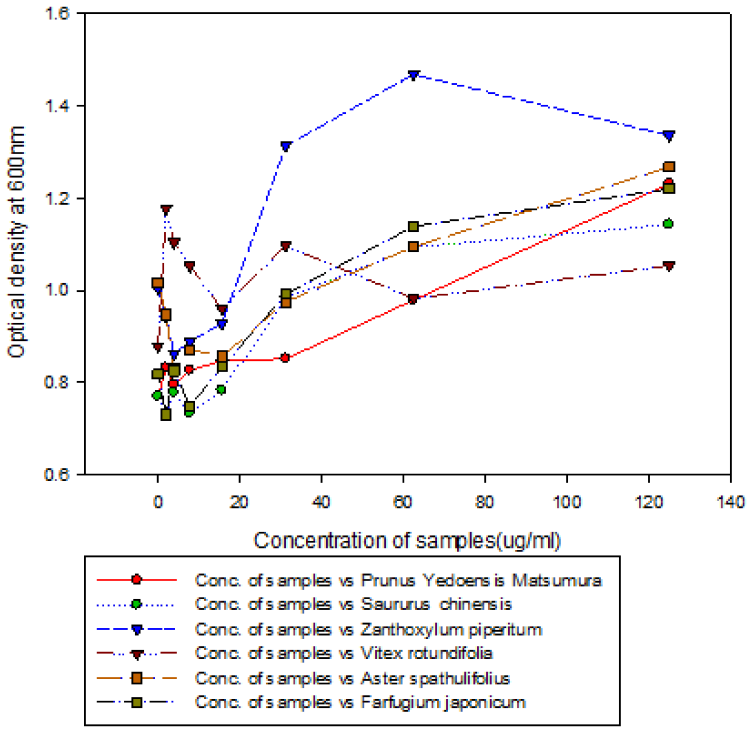


Figure 3-73. Optical density of essential oils on S. epidermidis CCARM 3710

초임계유체 이산화탄소 추출물 및 수증기 추출물들의 경우 피부포도상 구균에 대해서는 항균활성을 보이지 않았다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅳ. 요약 및 결론

현대의 과학은 융합의 시대를 지나 자연과 조화를 이루고 지속성장 가능한 사회를 만들기 위해 부단히 노력해 나가고 있다. 또한 2010년 10월 「나고야의정서」가 채택됨으로써 국가 간 고 기능성 생물자원 확보와 기능성 탐색 연구의 필요성이 더욱 증가되어지고 있다. 그리고 현대사회는 “winner takes everything“을 외치며, 더욱더 복잡해지고 효율성만을 강조하는 경쟁시대를 유도함으로써 결국 인간들에게 다양한 스트레스를 가하게 되고 이로 인해 원인불명의 통증과 염증 그리고 다양한 질병들을 일으키고 있다. 더불어 생물종다양성 보존과 유전자원 접근 및 이익 공유를 목표로 한 나고야 의정서가 곧 발효 될 것으로 보임에 따라 국가 간 바이오산업 관련 경쟁이 심화되어 질것으로 판단되어진다. 이에 따라 자국의 특화 유전자원을 이용한 연구개발의 중요성이 더욱 증대되고 있다.

이에 따라 본 논문에서는 제주에 자생하고 있는 제주왕벚나무, 삼백초, 털머위 등 6종의 식물을 대상으로 비용매 추출법인 “수증기 추출법” 뿐만 아니라 환경 친화적이면서 산업적 활용 가치가 큰 에센셜 오일 추출법인 “초임계유체 이산화탄소 추출법”을 이용하여 에센셜 오일들을 추출하고 이들을 대상으로 항염증, 항균 및 항산화 실험 등 총 6종의 실험을 수행하였다.

또한 에센셜 오일의 향 성분 분석에 매우 유용한 GC-MS를 이용하여 이들의 화학적 조성을 확인하였다. Rtx-5MS 비극성 컬럼(30m x 0.25㎜ x 0.25 ㎛)이 장착된 Shimadzu GC-MS ultra 2010을 이용하여 추출된 에센셜 오일들의 화학적 성분들을 분석한 결과 초임계유체 이산화탄소 추출물 중 제주왕벚나무의 경우 monoterpene류인 α-pinene (22.38%), 2-β-pinene (20.09%) 그리고 camphor (13.07)가 주성분으로 나타났으며, 삼백초의 경우 sesquiterpene류인 δ-cadinol (22.51%), δ-cadinene (19.74%)이 주된 성분으로 확인되었다. 또한 초피나무의 경우 caprylic acid (13.37%)가 주성분으

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

로 나타났다. 그리고 수증기 추출물 중 순비기나무의 경우 α-pinene (10.04%), terpenoid류인 α-terpinenyl acetate (13.05%), manoyl oxide (14.29%)가 주성분으로 나타났으며, 해국 그리고 털머위의 경우 각각 sesquiterpene류인 trans-caryophyllene (15.95%), germacrene-d (35.10%), diterpene류인 trans-phytol (14.86) 그리고 trans-caryophyllene (28.96%)와 9,10-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro- anthracene(19.32)이 주성분으로 나타났다.

본 실험에 이용된 에센셜 오일 추출법 중 먼저 초임계유체 이산화탄소 추출물에 대해 요약하여 설명 하고자 한다. 제주자생식물 중 제주왕벚나무, 삼백초 그리고 초피나무를 대상으로 초임계유체 이산화탄소 추출법을 적용시켜보았다. 우선 일정한 압력(350 bar)하에서 온도를 60℃에서 80℃까지 변화시켰을 때 이들의 수율은 온도에 비례하여 증가하는 것으로 나타났으나, 일반적으로 60℃ 미만에서는 온도가 낮을수록 수율이 증가하는 교차현상이 발생하게 되는데, 이는 초임계유체 이산화탄소의 밀도와 용질의 용해도 사이의 경쟁효과로 설명할 수 있다. 또한 일정한 온도(80℃) 하에서 압력을 200 bar에서 350 bar로 증가시켰을 때 이들의 수율은 압력에 비례하여 증가하는 것을 알 수 있었는데, 이는 압력이 증가할수록 초임계유체 상태의 용해도가 용매의 밀도에 크게 의존하기 때문에 알력이 증가할수록 수율이 증가하게 되는 것이다. 이를 요약해 보면, 압력을 200 bar에서 350 bar까지 그리고 온도를 60℃에서 80℃까지 변화시켜 이들의 추출 경향을 살펴보았을 때 350 bar, 80℃에서 최적의 수율을 보여주었으며, 평균 2시간 내외에 에센셜 오일이 거의 100% 추출되었고 수율이 평균 3%(w/w)내외로 나타나 다른 기존의 추출법에 비해 매우 높은 수율을 보여주었다. 이는 빠른 열 및 물질전달 속도, 높은 확산계수로 인한 시료 내부로의 빠른 침투성 등과 같은 초임계 유체의 특성을 반영하는 결과이며, 비교적 짧은 시간 내에 시료에 최소의 충격을 주는 환경 친화적인 추출법임을 증명한다 할 수 있다. 반면에 비용매 추출법 중의 하나인 수증기 추출법을 이용하여 순비기나무, 해국 그리고 털머위로부터 얻어진 에센셜 오일들의 수율은 각각

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

0.12%(w/w), 0.02%(w/w) 그리고 0.01%(w/w)이었으며, 추출시간은 약 4시간 정도 소요되었다.

위의 두 가지 방법에 의하여 얻어진 에센셜 오일들을 대상으로 한 항염증 실험(NO assay)을 수행하였다. 활성화된 human macrophage에 의해 생성된 nitric oxide(NO)는 폐혈증(sepsis)과 관절염(arthritis)에 중요한 역할을 한다.[72] 그러므로 염증세포(inflammatory cells)에서 iNOS의 조절을 통한 nitric oxide(NO)의 저해는 새로운 염증치료 방법을 제시하여 준다 할 수 있다. 이러한 항염증제로서의 잠재력을 입증하기 위하여 제주왕벚나무, 삼백초, 초피, 순비기나무, 해국 그리고 털머위 에센셜 오일을 대상으로 NO assay를 수행하였다. 우선 초임계 추출물 중 제주왕벚나무의 경우 200, 100, 50 μg/mL에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 NO 생성율이 각각 0.9배, 1.05배, 1.16배로 거의 100% 항염증 효과를 보여주었으며, 삼백초의 경우 25, 12.5, 6.25 μg/mL에서 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.98배, 1.11배, 1.16배로 적은 농도에서도 100%에 가까운 항염증 효과를 보였다. 또한 초피나무의 경우 50, 25, 12.5, 6.25 μg/mL 농도에서 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.93배, 0.84배, 0.93배, 1.30배를 보여 매우 낮은 농도에서 100%의 항염증 효과를 보여 산업적으로도 충분한 활용 가치를 갖고 있음을 보여주었다. 또한 싸이토카인 실험을 통해 염증매개인자인 TNF-α, IL-6, IL-1β 생성량을 에센셜 오일들의 농도별로 조사해본 결과 세포독성 없이 각각의 염증매개인자들이 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보여주었으며, **특히 초피나무의 경우는 그 경향이 매우 뚜렷**하였다.

더불어 항염증 실험에 있어 수증기 추출물 중 순비기나무의 경우 25, 12.5, 6.25 μg/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.98배, 1.60배, 1.55배의 NO 생성율을 보여 25 μg/mL농도에서 매우 우수한 항염증 효과를 보여주었다. 그리고 해국의 경우 25, 12.5 μg/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 0.77배, 1.41배의 NO 생성율을 보여 25 μg/mL농도에서 매우 좋은 항염증 효과를 보여주었다. 털머위의 경우 6.25,

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3.125 μg/mL 농도에서 세포독성 없이 LPS 비 처리군(-control) 대비 각각 1.66배, 1.68배의 NO 생성율을 보여주었다. 그러나 털머위의 경우도 LPS 처리군(+control)에 비해 0.69배, 0.70배를 보여 다소의 항염증 효과를 보여주는 것으로 나타났다. 또한 싸이토카인 실험에서도 초임계유체 이산화탄소 추출물들과 유사하게 염증인자인 TNF-α, IL-6, IL-1β 생성량을 상기의 에센셜 오일들의 농도별로 조사해본 결과 세포독성 없이 농도 의존적(dose-dependent)으로 염증매개인자들이 감소하는 경향을 보여주었다.

DPPH 항산화 실험에서는 삼백초만이 다소의 활성을 보여주었으며 그 외 시료들은 항산화 효능을 보여주지 못했다. 이는 대부분의 에센셜 오일의 구성성분들이 비극성(친지질성)물질로 구성되어짐에 따른 결과로 보인다.

티로시나제 저해능 실험의 경우 삼백초만이 control 대비 약 2.64배의 IC_{50}을 보여 다소의 저해능을 보여주었으며, 엘레스타제 저해능 실험에서는 시료들 모두 유의할만한 저해능력을 보여주지 못하였다.

멜라닌 저해활성 실험에서 제주왕벚나무와 삼백초의 경우 세포독성이 거의 없는 25 μg/mL에서 100 μg/mL농도까지 농도 의존적으로 멜라닌 생성 저해 능력이 증가하였으며, 초피나무의 경우 세포독성이 거의 없는 50 μg/mL까지 농도 의존적으로 멜라닌 생성저해 능력이 상승하였다. 또한 초피나무의 경우는 알부틴(control)의 최대 멜라닌 저해율(200 μg/mL) 대비 약 0.83배의 저해능력을 보여주었으며, 같은 농도(50 μg/mL)에서는 알부틴 대비 1.21배의 멜라닌 생성 저해능 보여주었다.

항균실험의 경우 P. acne CCARM 9009에 대한 초피나무와 털머위 등 에센셜 오일의 경우 20 μg/mL까지 급격한 OD의 감소를 보여 유의할 만한 항균 활성능력을 보여주었으며, 순비기나무를 제외한 다른 에센셜 오일의 경우 전체적으로 OD가 감소하는 경향을 보여주었다. 또한 P. acne CCARM 0081에 대한 에센셜 오일들의 OD의 변화 경향을 확인한 결과 순비기나무

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

에센셜 오일의 경우 20 μg/mL까지 급격히 감소하다가 다시 증가하는 경향을 보였으며, 그 외 에센셜 오일의 경우 40~60 μg/mL까지 급격히 감소하다 그 이후 완만히 감소하는 경향을 보여 다소의 항균능력 보유하고 있는 것으로 판단되어 졌다. 반면에 S. epidermidis에 대해서는 에센셜 오일 모두 항균능력이 없는 것으로 나타났다.

본 연구의 실험결과 초임계유체 이산화탄소 추출물과 수증기 추출물들의 매우 우수한 항염증 효과를 확인할 수 있었으며, 특히 초피나무와 삼백초의 경우 저 농도에서도 거의 100%가까운 항염증 효과를 보여 상업적으로 매우 유용한 물질임이 확인 되었고, 수증기 추출물들의 경우 초임계유체 이산화탄소 추출물들에 비해 고 농도에서 세포독성이 큰 반면 세포독성이 없는 저 농도에서 다소의 항염증 효과를 보여주었다. 그리고 싸이토카인 실험에서도 **농도 의존적(dose-dependent)**으로 염증매개인자들의 뚜렷한 감소 경향을 보여주었다. 더불어 멜라닌 저해활성 실험에서 초피의 경우 50 μg/mL의 농도에서 대조군인 알부틴 대비 1.21배의 저해능력을 보여주어 피부미백과 관련한 화장품 재료로 활용 가능성을 보여주었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅴ. 참고문헌

1) K. Mu'azu et al., **2009**. Economic Analysis of Production of Essential Oil using Steam Distillation Technology, *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 17(2), 218-222

2) Salgin, Ul, A. Çalılmı, and E. Z. Uysal., **2007**. Supercritical fluid extraction of jojoba oil, *JAOCS.* **81**, 293-296

3) Fattori, M., N. R. Bulley, and A. Meisen., **1988**. Carbon dioxide extraction of canola seed : Oil solubility and effect of seed treatment, *JAOCS.* **65**, 968-974

4) Kang, Y. S., S. W. Rho, and K. P. Yoo., **2001**. Influence of the ration of inlet tube diameter to the extractor diameter on supercritical extraction process, *Theor. Appl. Chem. Eng.* **7**, 3307-3310

5) Rezaei, K., and F. Temelli., **2001**. On-line extraction-reaction of canola oil using immobilized lipase in supercritical CO_2, *J. Supercrit. Fluids*. 19, 263-274

6) Bhupesh, C. R., and G. Motonobu, and H. Tsutomu., **1996**. Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide: experiments and modeling, *Ind. Eng. Chem. Res*. **35**, 607-612

7) Choi, S. Y.; Kang, S. H.; Park, S. Y.; Jin, Y. J.; Moon, S. W.; Kim, S. J., **2004** Antioxidant and inducible nitric oxide synthase inhibitory activities of ethanol extract of Pisdium guajava leaf. *Cheju Journal of Life Science.,* 7(1), 71-82

8) Kim, S. B.; Kang, S. H.; Park, S. Y.; Choi, S. Y.; Kim, S. J.; Kim, W. T., **2004**. Antioxidant Activity of Dragonflys Extracts. *Cheju Journal of Life Science*., 7(1), 35-51

9) Wang, L. -Y.; Unehara, T.; Kitanaka, S., **2005**. Anti-inflammatory Activity of New Guaiane Type Sesquiterpene from Wikstroemia indica., *Chem. Pharm. Bull*., 53(1), 137-139

10) Lee, S. M.; Na, M. K.; An, R. B.; Min, B. S.; Lee, H. K., **2003** Antioxidant Activity of Two Phloroglucinol Derivatives from Dryopteris crassirhizoma. *Biol. Pharm. Bull*., 26(9), 1354-1356

11) Calas-Grierson, M. et al., **2004**. Nitric oxide function in the skin.. *Elsevier Inc.,* 10, 179-193

12) Feldmann, M., **2008**. Many cytokines are very useful therapeutic targets in disease. *J. Clin. Invest*., 118: 3533-3536

13) Ding, C., F. Cicuttini, J. Li, G. Jones., **2009**. Targeting IL-6 in the treatment of inflammatory and autoimmune diseases. *Expert Opin. Investig. Drugs*., 18: 1457-1466

14) Sugita, T., **2009**. Targeting therapy for inflammatory diseases by anti-TNF alpha biologics.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Yakugaku Zasshi. 129: 19-24.

15) Kim, J.H., R.A. Bachmann, J. Chen., **2009**. Interleukin-6 and insulin resistance. *Vitam. Horm*., 80: 613-633

16) Yoon, W.J., J.Y. Moon, G. Song, Y.K. Lee, M.S. Han, J.S. Lee, B.S. Ihm, W.J. Lee, N.H. Lee, C.G. Hyun., **2010**. *Artemisia fukudo* essential oil attenuates LPS-induced inflammation by suppressing NF-kappa Band MAPK activationin RAW264.7 macrophages. *Food Chem. Toxicol*., 48:1222-1229

17) Blois, M. S., **1958**. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 1199-1200

18) Mason, H.S. and E.W., Peterson., Melanoproteins I., **1965**. Reactions between enzyme-generated quinones and amino acids., *Biochim. Biophys*. Acta., 111, 134-146

19) James, A.E.K., D.W. Timothy, and L. Gordon., **1996**. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Bio chemistry*., 35, 9090

20) Cho, Y. K., H. S Kim, J. W Kim, S.Y. Lee, W.S. Kim, J. H. Ryu, and G. B. Lim., **2004**. Extraction of glabridin from licorice uing supercritical carbon dioxide, *KSBB J*., 19, 427-432

21) Ah-Reum Hwang, In-Il Jung, Gio-Bin Lim, and Jong-Hoon Ryu., **2009**. Extraction of oil from Canola Seeds with Supercritical Carbon Dioxide, *KSBB J*., 24, 367-376

22) Coelho, J. A. P., A. P. Pereira, R. L. Mendes, and A. M. F. Palavra., **2003**. Supercritical carbon dioxide extraction of Foeniculum vulgare volatile oil, *Flavour Fragr. J.* 18, 316-319

23) de Azevedo, A. B. A., T. G. Kieckbush, A. K. Tashima, R. S. Mohamed, P. Mazzafera, and S. A. B. Vieira de Melo., **2008**. Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide, *J., Supercrit,. Fluids*, 44, 186-192

24) Riera, E., Y. Golas, A. Blanco, J. A. Gallego, M. Blasco, and A. Mulet., **2004**. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound, *ultrason. Sonochem*, 11, 241-244

25) Darr, J. A., **1999**. New Directions in Inorganic and Metal-Organic Coordination Chemistry in Supercritical Fluids, *Chemical reviews*, 99(2)

26) Almeida. P. Ferreira. S., **2007**, Crossover pressure for SFE of spearmint(*Mentha spicata L.*) essential oil with pure CO_2 and with CO_2 with ethanol. In: I Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids, Prosciba 2007. Book of Abstracts, p. 31

27) Mukhopadyay, M. (Ed.), **2000**. Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide, *CRC Press, Boca Ratón, FL, USA,* p. 3

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

28) Rui L. Mendes et al., **2003**. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with pharmaceutical importance from microalgae, *Inorganica Chemica Acta*, 356, 328-334

29) Koo, Ji Eun, Ham, Myung Ok., **2012**. Tendency of Ingredient of Aroma Oil for Hair Loss Management, *J. Kor. Soc. Esthe. & Cosm*., 2012, vol. 7(2), 87-95

30) Hyun, C.G., G.C. Kim, K.T. Hwang, N.H. Lee., **2010**. Recent scientific advances on some essential oils in skin care. *Household and Personal Care TODAY*, 16-18

31) Shirley Price, aromatherapy for Health professionals, **1999**

32) AromaGEO.com

33) Kurt Schnaubelt, Advanced Aromatherapy, **1995**

34) Vicki Pitman, Aromatherapy, **2004**

35) Shin, Choon-Hea., **2001**. Studies on the Antioxidative Character in the Ethyl Acetate Extraction of *Rumex crispus*, *Korean J. Biotechnol*, *Bioeng*., 16(6), 592-602

36) Fridovich, I., **1986**. *Arch. Biochem. Biophys* **247**, 1

37) McCord, J.M., and Fridovich, I., **1988**. *Free Rad. Biol. Med*. **5**. 363

38) Freeman, B.A., and Carpo, J.D., **1982**. *Lab. Invest*. **47**, 412

39) Mruk DD, Silvestrini B, Mo MY, Cheng CY., **2002.** Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception.*, 65(4), 305-11

40) Karen, One of the best and most enjoyable ways to avoid disease

41) Karenjatkins.com

42) Doh, E. S.; Chang, J. P.; Kil, K. J.; Choi, M. S.; Yang, J. K.; Yun, C. W.; Jeong, S. M.; Jung, Y. H.; Lee, G. H., **2011**. Antioxidative Activity and Cytotoxicity of Fermented *Allium victorialis* L. Extract, *Korean J. Plant Res*., 24(1), 30-39

43) Kang, M. A.; Kim, M. B.; Kim, J. H.; Ko, Y. H.; Lim, S. B., **2010** Integral Antioxidative Capacity and Antimicrobial Activity of Pressurized Liquid Extracts from 40 Selected Plant Species, *J Korean Soc Food Sci Nutr*, *39(9)*, 1249-1256

44) Rocha e Silva M. A brief survey of the history of inflammation, **1978**, Agents Action 1994, **43**, 86-90

45) Benaroyo L., **1994**. [How do we define inflammation?]. Schweiz Rundsch Med Prax, **83,** 1343-7

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

46) A Scott, K M Khan, J L Cook, V Duronio., **2004**. What is "inflammation"? Are we ready to move beyond Celsus?, *Br J Sports Med*, **38**, 248-249

47) Potter, P. T. & Zautra, A. J., **1997**. Stressful life events' effects on rheumatoid arthritis disease activity., *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 65(2), 319-323

48) KOPA drug Delivery System

49) Rina Yu., **2005**. Modulation of Obesity-Related Pathologies Based on Inflammation Theory, *Food Ind. and Nutri*., 10(3), 5-9

50) Kundu, J.K., Serh. Y.J., **2008**. Inflammation: gearing the journey to cancer, *Mutat Res*, 659: 15-30

51) Guha, M., Mackman, N., **2001**. LPS induction of gene expression in human monocytes. *cellular Signal*, 13, 85-94

52) Kubes, P., Mccafferty, D.M., **2000**. Nitric oxide and intestinal inflammation. *American J Medicine*, 109, 150-158

53) Lin, W.W., Karin, A., **2007**. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*, 117, 1175-1183

54) Nathan, C., Xie, Q.W., **1994**. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem,* 269, 13725-13728

55) Kawamata, H., Ochiai, H., Mantani, N., Terasawa, K., **2000**. Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase by Juzen-taiho-to in LPS-activated RAW264.7 cells, a murine macrophage cell line. *Am J Chin Med*, 28, 217-226

56) Lee, B.G., Kim, S.H., Zee, O.P., Lee, K.R., Lee, H.Y., Han, J.W., Lee, H.W. **2000**. Suppression of inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages by two-carboline alkaloids extracted from Melia azedarach. *Eur J Pharmacol*, 406, 301-309

57) Seo, W.G., Pae, H.O., Oh, G.S., Chai, K.Y., Yun, Y.G., Kwon, T.O., Chung, H.T., **2000**. Inhibitory effect of ethyl acetate fraction from Cudrania tricuspidata on the expression of nitric oxide synthase gene in RAW 264.7 macrophages stimulated with interferon-and lipopolysaccharide. *Gen Pharmacol*, 35, 21-28

58) Chiou, W.F., Chou, C.J., Chen, C.F., **2001**. Camptothecin suppresses nitric oxide biosynthesis in RAW 264.7 macrophages. *Life Sci.*, 69, 625-635

59) Seo, W.G., Pae, H.O., Oh, G.S., Kim, N.Y., Kwon, T.O., Shin, M.K., Chai, K.Y., Chung, H.T., **2001**. The aqueous extract of Rhodiola sachalinensis root enhances the expression of inducible nitric oxide synthase gene in RAW 264.7 macrophage. *J Ethnophamacol*, 76, 119-123

60) Chan, E.D., Riches, D.W., **2001**. IFN-γ + LPS induction of iNOS is modulated b

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

y ERK, JNK/SAPK,and p38 mapk in a mouse macrophage cell line. *Am J Physiol Cell Physiol*, 280, C441-C450

61) Cobb, M.H., Goldsmith, E.J., **2000**. Dimerization in MAP-kinase signaling. *Trends Biochem Sci*, 25, 7-9

62) Celec, P., **2004**. Nuclear factor kappa B-molecular biomedicine: the next generation. *Biomed Pharmacother*, 58, 365-371

63) Watson, R. W., H. P. Redmond, and H. D. Bouchier., **1994**. Role of endotoxin in mononuclear phagocyte-mediated inflammatory responses. *J. Leukoc. Bio*. 56, 95-103.

64) Zhao, Q., Shepherd, E.G., Manson, M.E., Nelin, L.D., Sorokin, A., Liu, Y., **2005**. The role of mitogen activated protein kinase phosphatase-1 in the response of alveolar macrophages to lipopolysaccharide: attenuation of proinflammatory cytokine biosynthesis via feedback control of p38. *J Biol Chem*, 280, 8101-8108

65) Ajizian, S.J., English, B.K., Meals, E.A., **1999.** Specific inhibitors of p38 and extracellular signal regulated kinase mitogen-activated protein kinase pathways block inducible nitric oxide synthase and Tumor necrosis factor accumulation in murine macrophages stimulated with lipopolysaccharide and interferon-gamma. *J Infect Dis*, 179, 939-944

66) Dong, Z., O'Brian, C.A., Fidler, I.J., **1993**. Activation of Tumoricidal properties in macrophages by lipopolysaccharide requires protein-tyrosine kinase activity. *J Leukoc Biol,* 53, 53-60

67) King, M.B., T.R. Bott and R.S. Mahmud., **1987.** Equilibrium and rate data for the extraction of lipids using compressed carbon dioxide. *Sep. Sci. Tech*. 22, 1103-1107

68) Seok-Hee Lee, Jae-Kee Cheon and Chang-Sik Ju., **2000,** Lipid Extraction of Sea Tangel with Supercritical Carbon Dioxide, *Food Eng Prog*, 4, 19-24

69) Cho. Y. K., H. S Kim, J. W Kim, S. Y. Lee, W. S. Kim, J. H. Ryu, and G. B. Lim., **2004**. Extraction of glabridin from licorice using supercritical carbon dioxide. *KSBB J*. **19**, 427-432

70) King, J. W., A. Mohamed, S. L. Taylor, T. Megrahtu, and C. Paul., **2001**. Supercritical fluid extraction of Vernonia galamensis seeds, *Ind. Crops Prod*. **14**, 241-249

71) Grosso, C., A.C. Oliveira, A.M. Mainar, J.S. Urieta, J.G. Barroso, A.M. Palavra., **2009**. Antioxidant activities of the supercritical and conventional Satureja Montana extracts. *J. Food Sci*., 74:C713-717

72) Murakami, A., H. Ohigashi., **2007**. Targeting NOX, iNOS and COX-2 in inflamm-atorycells:chemoprevention using food phytochemicals. *Int. J. Cancer*., 121, 2357-2363.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

감사의 글

대학(원)을 졸업하고 전공과는 다른 IT 기획업무를 수행해 오다가 우연한 기회에 광역경제권 선도사업 관련 업무로 다시 제주대학교로 돌아오게 되었습니다. 시간은 지나기 전에 보면 멀게만 느껴지지만 지나고 나면 너무 빠른 것 같더군요. 대학교에 돌아와서 뒤를 돌아보니 20년이 넘는 세월이 제 뒤에 남겨져 있었습니다. 너무 많은 시간들이 한순간에 스쳐 지나간 것처럼 보였습니다. 하지만 화학과는 예전처럼 제자들을 사랑하시는 교수님들께서 그 자리를 지키고 계셨습니다.

IT 관련 기획업무를 하면서 느꼈던 것이 전문가로 인정받기 위해서는 박사학위를 가져야 한다는 것을 피부로 느끼게 되었습니다. 그리고 언젠가는 학위를 받겠다고 결심도 하였습니다. 하지만 직장생활을 하면서 학위를 받기는 여러 가지 제약들이 많았고 시간만 그렇게 흘러가 버렸습니다.

그러다가 광역경제권 선도사업을 통해 제주대학교에 올 기회가 생긴 저로서는 다시 박사학위에 도전하고자 하는 열망이 생겼고, 당시 사업단장님이셨던 이선주 교수님의 배려로 박사학위 과정에 입학 할 수 있게 되었습니다. 감사합니다 교수님!!

하지만 짧지 않은 시간 동안 전공과는 다른 분야에서 활동하다 보니 이론에 대해서는 무리가 없었지만, 실험에는 적응이 힘들었습니다. 이때 힘이 되어준 저희 실험실에 백승준 대학원생에게 감사의 말을 전합니다.

또한 광역경제권 선도사업으로 인연을 맺고 저의 지도교수님이 되어주신 이선주 교수님께 우선 감사의 말씀 올립니다. 그리고 산학협력단장이라는 막중한 업무에도 시간을 내어 저의 논문게재와 많은 조언을 아끼지 않으신 이남호 교수님, 언제나처럼 저의 마음속에 스승님으로 계신 정덕상 교수님, 논문의 완성도를 높여주시기 위하여 논문 한자 한자 검토해주시고 조언해 주신 강창희 교수님, 그 외 변종철 교수님, 김덕수 교수님과 김원형 교수님께 엎드려 감사의 말씀 올립니다. 더불어 저의 논문에 매우 중요한 장비인

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

초임계유체 이산화탄소 추출기와 관련 실험 장비들을 사용할 수 있도록 배려해주신 제주테크노파크 정책기획단 서인수 박사님께도 특별히 감사의 말씀 드립니다.

그리고 오랜만에 실험실 생활을 시작한 저에게 조언을 아끼지 않은 후배 한충훈 박사와 부희정 박사, 여러 가지 행정 지원을 해준 상희 선생과 성천선생에게도 감사하다는 말 전합니다.

끝으로 자식에 대한 사랑을 잘 표현하지 못하시고 평생을 묵묵히 부족한 자식을 위해 사랑을 실천하신, 지금은 곁에 안 계신 아버지, 불편한 자식을 위해 희생만을 해 오신 어머니와 저를 위해 양보만을 해 오신 경수형님과 동생 경철이에게 이 논문을 바칩니다.

이제 다시 저는 사회라는 바다를 향하여 항해를 시작하게 될 것입니다. 작은 돛단배를 타고 닻을 올려 때로는 바람에 순응하면서 때로는 바람을 거스르면서 수평선 너머 그곳을 향해 열심히 달려 갈 것입니다. 그리고 박사학위를 받은 2013년 이 여름을 잊지 않도록 하겠습니다. 또한 화학과 출신으로 부끄럽지 않도록 열심히 노력하며 살아가겠습니다. 이는 저를 도와주신 여러분과 저와의 약속이며 가족과의 언약이기도 하기에 저는 이를 지키기 위해 최선을 다하겠다는 말씀을 마지막으로 올리면서.....

2013년 유난히 더운 어느 여름날에 김천석 씀

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY