



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](#)

碩士學位論文

차나무 부위별 추출물의 식품 및 화장품 원료로의 효능 평가

Evaluation of the extract efficacy prepared from
different parts of *Camellia sinensis* as food and cosmetic
raw material

濟州大學校 大學院

農學科

임상휘

2023年 2月

차나무 부위별 추출물의 식품 및 화장품 원료로의 효능 평가

指導教授 金 柱 成

이 論文을 農學 碩士學位請求論文으로 提出합니다

2022年 12月

임상회의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ ⑩

委員 _____ ⑩

委員 _____ ⑩

濟州大學校大學院

2023年 2月

목 차

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

ABSTRACT

I. 서론.....	1
II. 연구사.....	4
1. 차나무.....	4
2. 차나무의 성분과 활용.....	4
3. 차나무의 연구 현황과 기능성.....	7
4. 차나무 잎 외 다른 부위에 대한 연구.....	11
III. 재료 및 방법.....	14
1. 시료 및 추출물의 제조.....	14
2. 총 페놀 함량 측정.....	16
3. 총 플라보노이드 함량 측정.....	16
4. 항산화 활성 측정.....	17
1) 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거 활성 측정.....	17
2) Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 측정.....	17
3) Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정.....	18
4) Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) 측정.....	19
5. α -Glucosidase 저해활성 측정.....	19
6. Tyrosinase 저해활성 측정.....	20
7. Elastase 저해활성 측정.....	20
8. 여드름 유발균에 대한 항균 활성 측정.....	21
9. High performance liquid chromatography (HPLC)를 이용한 성분 분석.....	22
10. UVB 유도성 세포 손상 보호능 평가.....	24
1) 세포 배양.....	24
2) 피부 세포 독성 평가.....	24
3) UVB 유도성 세포 손상 보호능 평가.....	25
11. 통계처리.....	25

IV. 연구결과 및 고찰.....	26
1. 추출 수율.....	26
2. 총 페놀 함량.....	28
3. 총 플라보노이드 함량.....	30
4. 항산화 활성.....	32
1) DPPH radical 소거 활성.....	32
2) TEAC.....	34
3) FRAP.....	35
4) ORAC.....	36
5. α -Glucosidase 저해활성.....	39
6. Tyrosinase 저해활성.....	41
7. Elastase 저해활성.....	44
8. 여드름 유발균에 대한 항균 활성.....	47
9. HPLC 를 이용한 성분 분석.....	49
10. UVB 유도성 세포 손상 보호능.....	51
1) 차나무 부위별 추출물의 피부 세포 독성.....	51
2) UVB 유도성 세포 손상 보호능.....	53
V. 결론.....	56
인용문헌.....	58

LIST OF TABLES

Table 1. Analysis conditions of catechin compounds using HPLC	23
Table 2. Extraction yield from the different parts of <i>C. sinensis</i>	27
Table 3. Total phenolic content of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	29
Table 4. Total flavonoid content of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	31
Table 5. DPPH free radical scavenging activity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	33
Table 6. Trolox equivalent antioxidant capacity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	34
Table 7. Ferric reducing antioxidant power of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	35
Table 8. Oxygen radical absorbance capacity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i> ...	38
Table 9. α -Glucosidase inhibitory activity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	40
Table 10. Tyrosinase inhibitory activity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i> ..	42
Table 11. Elastase inhibitory activity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	45
Table 12. Correlation between phytochemical and physiological activity	45
Table 13. Antimicrobial activity against <i>Propionibacterium acnes</i> of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	48
Table 14. Catechin compounds content of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i> ...	50

LIST OF FIGURES

Figure 1. Chemical structure of catechins in <i>C. sinensis</i>	6
Figure 2. Each part of <i>C. sinensis</i>	13
Figure 3. Preparation of <i>C. sinensis</i> parts for extraction.....	15
Figure 4. Tyrosinase inhibitory activity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i> ...	43
Figure 5. Elastase inhibitory activity of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	46
Figure 6. The inhibition zone of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i> against <i>P. acnes</i>	48
Figure 7. Cell viability of HaCaT (A) and Detroit (B) cells of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	52
Figure 8. Cell viability on UVB-induced cell damage in HaCaT (A) and Detroit (B) cells of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	55
Figure 9. Physicochemical properties of extracts from the different parts of <i>C. sinensis</i>	57

ABSTRACT

Green tea is a representative health food that is consumed worldwide. As such, *Camellia sinensis* (*C. sinensis*) is cultivated and produced in many regions and used in various industries such as food, cosmetics, and tourism. In this study, the physiological properties of five different parts (leaves, branches, flowers, seeds, and roots) of *C. sinensis* were compared to determine the possibility of using other parts in addition to the leaves of *C. sinensis*. A 70% ethanol extract for each part of *C. sinensis* was prepared and yield, total phenolic content, total flavonoid content, DPPH, TEAC, FRAP, ORAC, α -glucosidase, tyrosinase inhibitory activity, elastase inhibitory activity, antibacterial activity against *Propionibacterium acnes*, high-performance liquid chromatography (HPLC) component analysis, UVB-induced cell damage protection was evaluated and compared. The yield was the highest in flowers and leaves, and the total phenolic content was high in the order of leaves, roots, branches, flowers, and seeds. The total flavonoid content was the highest in the leaves, and there was no significant difference between the remaining parts. Antioxidant experiments including DPPH, TEAC, FRAP and ORAC showed a similar tendency to the total phenolic content. The α -glucosidase activity showed a higher rate of inhibition than that of acarbose, a hypoglycemic agent, in all parts except for the seeds which had no activity, and the highest inhibition rate was noted in the roots. The tyrosinase inhibitory activity was high in the leaves, flowers, and roots, and elastase had high inhibition activity rates in the roots, leaves, and branches. Antibacterial activity against *P. acnes* was high in the leaves and roots, followed by the branches and flowers, but no antibacterial activity was observed in the seeds. The trend of antibacterial activity was very similar to that of total phenolic content and antioxidant activity. HPLC was used to determine the catechin compounds and it was confirmed that EGC and EGCG were most concentrated in leaves, and EC, GCG, and GC contents were varyingly dispersed across all parts. In the evaluation of the protective effect

again UVB irradiation cell damage, the experimental group treated with the seed extract in HaCaT cells showed good efficacy. In Detroit cells, it was confirmed that the survival rate was improved in most of the experimental groups treated with the extract, and the survival rate was especially high in the seeds and flowers. The results of this experiment indicate that various parts of *C. sinensis* such as flowers, roots, branches, and seeds other than the leaves can be used as cosmetic raw materials. In conclusion, *C. sinensis* leaves, branches, flowers, seeds, and roots have different physiological activities and their value in the use of health functional food and cosmetics is high.

I. 서론

21세기 이후 산업과 기술의 발전으로 세계 시장의 규모는 점차 확대되고 있다. 특히 우리나라는 급격한 산업발전을 보여주었고, 각종 산업의 시장 규모 또한 빠르고 눈부신 성장을 이뤄왔다. 산업발전과 시장의 성장으로 인해 국민들의 소득이 증가하였고, 동시에 여가, 문화, 건강과 같은 정신적·문화적 욕구에 대한 관심이 높아졌다. 이에 따라 삶의 질에 대한 문제가 대두되면서 건강식품과 화장품에 대한 수요가 증가하고 있다. 국내 건강기능식품 국내 판매액은 2017년도 이후 연평균 10% 이상, 국내 화장품 시장 규모는 연평균 4.0%로 꾸준한 성장세를 보이고 있고 해외 수출 또한 증가하여 국제적인 경쟁력을 갖춰가고 있는 추세이다(한국보건산업진흥원, 2020; 식품의약품안전처, 2022). 또한 시장과 경제의 발전으로 인해 개개인의 소비활동 수준이 높아짐에 따라 소비욕구의 형태가 다양화, 고급화, 개성화 되어가고 있다. 소비자들의 건강과 미용에 대한 관심의 증가로 안전성과 기능성이 검증된 식품과 화장품에 대한 요구 수준이 갈수록 높아지고 있으며 그에 발맞춰 기업에서는 부작용이 적고 효능이 입증된 원료 개발에 박차를 가하고 있다.

차나무(*Camellia sinensis*)는 아열대 상록 관목의 다년생 식물로 우리나라를 포함하여 열대지방, 아열대 지방 등 다양한 지역에서 재배하고 있다. 국내에서는 전라도, 경상도를 비롯한 남부지역에서 재배하고 있으며 보성, 하동 지역과 제주도가 녹차 생산지로 유명하다. 차나무 잎은 녹차로 가공하여 섭취하고 있으며 오랫동안 가장 많이 소비되는 음료 중 하나로 자리매김해 왔다(Kim et al., 2014b). 녹차에는 많은 생리활성 물질이 함유되어 있기 때문에 예로부터 건강과 미용 등을 목적으로 섭취 및 가공되어 왔으며, 현재에는 건강기능식품, 화장품

업계에서 다양한 제품으로 개발하여 소비하고 있다. 녹차에는 다양한 폴리페놀 성분이 함유되어 있고 그 중 catechin류 화합물이 약 70%를 차지하는 것으로 알려져 있다(Moore et al., 2009). 녹차는 인도와 중국 등의 지역에서 약용 목적으로 사용되어왔으며 최근에는 항산화, 항암, 고혈압 예방, 피부 병원균에 대한 항균 활성, 피부재생, 항노화, 미백 등 다양한 효능들이 과학적으로 규명되었다(Sharma et al., 2012; Kim et al., 2016; Chaikul et al., 2020). 또한 녹차 유래 폴리페놀 성분은 당뇨병과 골다공증에 효과가 있는 것으로 밝혀졌으며, 녹차에서 추출한 테아닌은 수면개선, 우울증, 인지기능개선과 같은 신경계 보호 효과가 있는 것으로 확인되었다(De amorim et al., 2018; Yoneda et al., 2019). 녹차가 가진 건강증진 효능과 각종 질병 예방 효과가 보고된 이후 소비자들의 건강에 대한 관심이 더욱 증가하여 녹차 뿐만 아니라 녹차 가공품의 소비량도 증가하고 있으며, 현재에 이르러서는 전 세계적으로 연간 250만 톤 이상의 차잎이 생산, 가공 및 소비되고 있다(Chacko et al., 2010; Park et al., 2018). 하지만 대량으로 사용되는 차나무 잎에 비해 다른 부위인 가지, 꽃, 씨, 뿌리 등의 사용은 저조한 실정이다. 차 산업에서는 고품질의 차잎을 생산하기 위해 매년 2번씩 전정 작업을 하는데 전정 시 발생하는 부산물인 차나무 가지는 마땅한 활용 방법이 없기 때문에 경제적 가치가 없는 폐기물로 버려지고 있으며 이를 활용할 수 있는 방법이 요구되는 실정이다(Zhang et al., 2021). 또한 꽃을 제거하면 다음 해의 녹차 수확량과 품질이 30% 정도 향상되기 때문에 일부 농가에서는 ethephon, α -naphthaleneacetic acid 등과 같은 화학 물질을 사용하여 차나무 꽃의 개화를 억제하기도 하며, 대부분의 농가에서는 꽃을 그대로 방치하거나 폐기하고 있다(Lin et al., 2003; Chen et al., 2018). 하지만 차나무 꽃에는 여러 효능이 있는 것으로 밝혀졌고, 연간 1 ha 당 3,000-12,000 kg 이상 수확 가능하며, 중국에서는

연간 4백만 톤 이상을 생산할 수 있기 때문에 소비시장만 확보하게 된다면 산업 원료로써 활용성이 매우 높을 것으로 생각된다(Chen et al., 2018).

고령화 사회에 접어들면서 건강과 미용에 대한 관심의 증가로 인해 녹차와 같은 건강식품의 시장 규모가 점차 커져가고 있다. 그에 따라 관광상품화와 체험을 중심으로 차나무 발의 리모델링이나 새로 조성되는 등 차나무 잎의 생산량은 증가하는 추세이다. 하지만 현재까지 차나무 관련 제품과 연구는 주로 잎을 중심으로 진행되어 왔고 재배 과정 중에 가지치기, 수확량 등을 이유로 가지, 꽃, 씨, 뿌리 부위는 대부분이 폐기되고 있는 실정이다. 근래에는 중국과 일본을 중심으로 차나무 부위에 대한 연구가 진행되고 있지만 국내에서는 상대적으로 관련 연구가 미비한 실정이다.

본 연구에서는 차나무 잎 생산과정에서 폐기자원으로 분류되어 버려지는 가지, 꽃, 씨, 뿌리 등의 부위에 대한 활용 방안을 모색하고 식품 및 화장품 시장에서 원료로써 활용 될 수 있도록 도움이 되는 기초자료를 제공하고자 한다. 실험에 사용할 샘플은 잎, 가지, 꽃, 씨, 뿌리 등으로 선정하여 채취하였고, 이를 70% 에탄올로 추출한 뒤 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 항산화(DPPH, TEAC, FRAP, ORAC), 효소 활성(α -glucosidase, tyrosinase, elastase), 여드름 유발균에 대한 항균 활성, HPLC를 이용한 catechin류 화합물 함량 분석 및 UVB 유도성 세포손상 보호능 평가를 통해 다양한 생리활성을 검증하였다.

II. 연구사

1. 차나무

차나무(*Camellia sinensis*)는 아열대 상록 관목의 다년생 식물로 많은 국가에서 녹차를 생산하기 위해 재배하고 있으며 주로 차나무 잎을 활용하고 있다. 차나무 잎은 긴 타원형이고 가장 자리에 톱니가 있으며 길이 3-4 cm의 짙은 녹색이다. 차나무 잎에는 catechin과 같은 폴리페놀 성분이 많이 함유되어 있기 때문에 예로부터 녹차로 가공하여 섭취해왔다. 녹차는 기원전 2737년경 중국에서 처음 시작된 것으로 추정하고 있고, 2006년 기준 전 세계 차 생산량이 364만 톤에 이를 정도로 가장 많이 소비되는 대표적인 음료이다(Vuong, 2014). 차나무는 주로 중국, 인도, 케냐 등지에서 재배하고 있고, 녹차의 소비량이 증대됨에 따라 생산량도 비례적으로 점차 증가하고 있는 추세이다. 국내에서는 보성과 제주지역을 중심으로 차나무 밭을 조성하였으며, 관광상품화를 통해 다양한 수익을 창출하고 있다.

2. 차나무의 성분과 활용

폴리페놀은 식물에서 발견되는 방향족 알코올 화합물의 일종으로 식물 병원균, 초식 동물에 대한 방어작용, 강우, 자외선과 같은 여러 가지 환경적·생물적 요인에 의해 발생하는 스트레스에 대한 방어 작용에 중요한 역할을 하는 이차대사산물이다(Daglia, 2012). 일반적으로 폴리페놀은 항산화 작용과 유기적인 상관 관계가 있다고 알려져 있으며 폴리페놀 화합물의 분자 구조에서 수산기의 수와 위치는 항산화 특성에 큰 영향을 준다(Forester and Lambert, 2011; Yan et al.,

2020). 폴리페놀의 기본 단량체는 페놀 고리이고 그 구조와 강도에 따라 phenolic acids, flavonoids, stilbenes, lignans 등으로 분류할 수 있다.

차나무 잎(Fig. 2A)에는 이러한 폴리페놀 성분이 다량 함유되어 있으며 특히 catechin이 상당량 함유되어 있다. 차나무 잎에서 유래한 catechin은 체지방 분해효과, 암세포 성장 억제, 자외선에 의한 피부 손상 억제 등의 효과가 있으며 catechin 중 항암성분으로 알려진 epigallocatechin gallate (EGCG)는 녹차 한 잔에 150-200 mg 정도가 함유되어 있다고 알려져 있다(Lee et al., 2001; Lin et al., 2005; Yoon et al., 2005). 차나무 잎에 함유된 catechin은 α -phenyl-benzopyran의 기본 구조를 갖는 플라보노이드 화합물로 그 종류로는 EGCG, epicatechin (EC), epicatechin gallate (ECG), epigallocatechin (EGC), galocatechin gallate (GCG), galocatechin (GC) 등이 있으며(Fig. 1), EGCG가 전체 catechin의 약 59%를 차지하고 있고 EGC는 19%, ECG 13.6%, EC 6.4% 정도의 비율로 함유하고 있다(Park et al., 2002; Yan et al., 2020).

폴리페놀 성분은 항산화 활성과 밀접한 관련이 있기 때문에 예로부터 건강과 미용 등을 목적으로 차나무 잎을 녹차로 가공하여 많이 섭취해왔으며 좀 더 다양한 방법으로 활용하기 위한 많은 연구와 제품이 개발되고 있다. 축육이나 어육 가공식품에서는 아질산염을 풍미 향상 등의 목적으로 사용하고 있지만 다량 섭취하게 되면 인체에 독성물질로 작용하기 때문에 이를 줄일 수 있는 방안이 필요하며, Yeo et al. (1994)의 연구에서 녹차의 페놀성 화합물이 아질산염을 제거한다는 것이 밝혀졌고, Choi et al. (2003)은 이를 활용하여 염지재료에 녹차 분말을 혼합한 뒤 소시지의 아질산염을 줄였다는 결과가 있다. 또한 쿠키를 조리 및 가공할 때 발암 가능성이 있는 아크릴아마이드라는 유해물질이 생성되는데, 쿠키 제조 시 녹차 가루를 첨가하면 녹차 함량에 따라 아크릴아마이드 성분이

줄어드는 것을 확인할 수 있다(Hwang and Park, 2021). 그 외에도 차나무 잎을 활용하여 젤리(Kim et al., 2021b), 콤푸차(Woo et al., 2021), 설기떡(Hong et al., 1999), 김스낵(Park et al., 2017), 스펀지케이크(Lee and Hwang, 2016), 쿠키(Choi et al., 2020) 등 다양한 제품이 연구되고 있다.

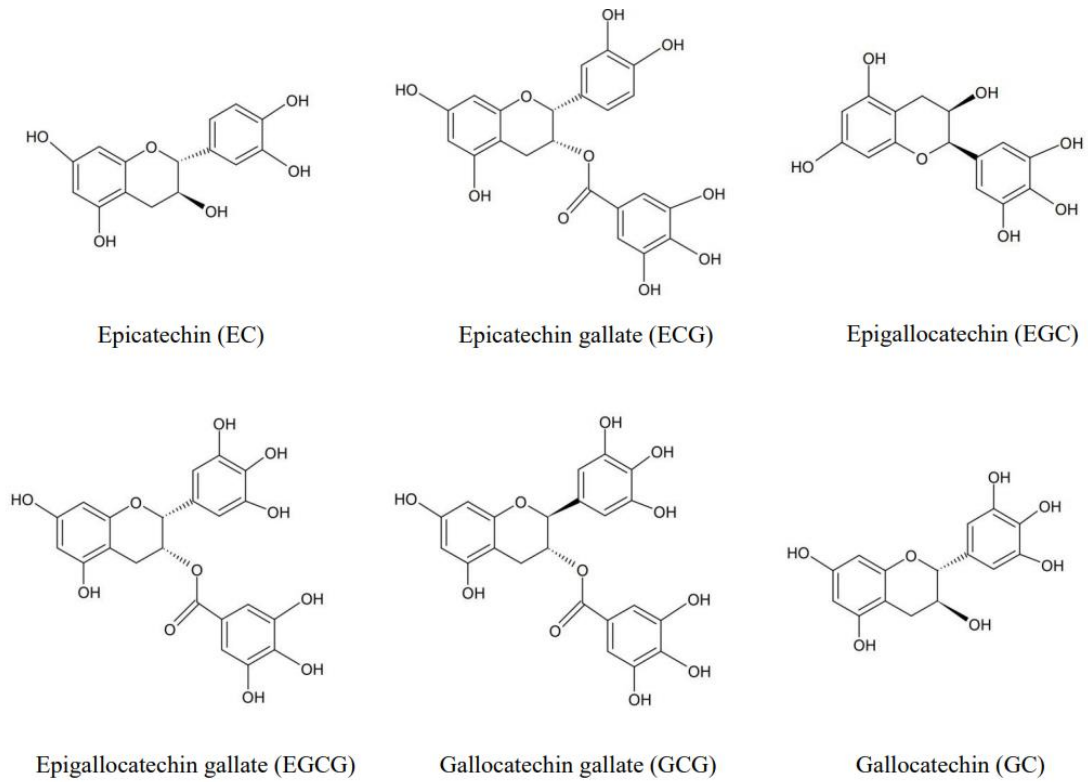


Fig. 1. Chemical structure of catechins in *C. sinensis*

3. 차나무의 연구 현황과 기능성

활성산소는 하나 이상의 짝을 이루지 않은 전자를 가지고 있으며 화학적으로 높은 반응성을 가지고 있기 때문에 세포나 유전물질과 반응하여 노화, 암, 세포 사멸, 심혈관, 염증, 알츠하이머 등의 여러 종류의 피해를 유발하며 생성은 주로 산소의 대사과정에서 자연적으로 발생하고 그 종류에는 superoxide radical, hydroxyl radical, peroxy radical, hydroperoxyl radicals, hydrogen peroxide 등이 있다(Alfadda and Sallam, 2012; Tripathy and Oelmüller, 2012). 항산화제는 자유 라디칼 반응을 억제하거나 세포의 손상을 지연, 억제하는 작용을 하며 활성에 따라 자유 라디칼을 분해하고 제거하는 작용을 하는 효소적 항산화제와 자유 라디칼 연쇄 반응을 방해 하는 비효소적 항산화제로 분류할 수 있으며 비효소적 항산화제에는 carotenoid, glutathione, vitamin C, vitamin E, 식물성 폴리페놀 등을 예로 들 수 있다(Nimse and Pal, 2015). 그 외에도 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tert-butylhydroquinone (TBHQ), propyl gallate (PG) 등과 같은 강력한 합성 항산화제가 전반적으로 여러 산업에서 활용되고 있지만 여러가지 부작용으로 인해 근래에는 그 사용을 자제하는 추세이며 안전성과 부작용이 적은 천연 항산화제에 대한 연구가 많이 진행되고 있다(Kang, 2012).

차나무 잎에는 항산화 활성에 영향을 주는 폴리페놀 화합물이 다양하게 함유되어 있으며, 그 예로 catechin, caffeine, tannin, theaflavins, thearubigins 등을 들 수 있다(Sud and Baru, 2000). 특히 차나무 잎에 다량 함유된 것으로 알려진 catechin의 화학 구조는 자유 라디칼의 활성을 방지할 수 있는 dihydroxy와 trihydroxy 구조를 띄고 있으며 전자를 비편재화(electron delocalization)하여 자유 라디칼을 소거시키기 위한 높은 반응성을 나타낸다(Khan and Mukhtar, 2007). 또한 차나무 유래 EGCG는 높은 항산화 활성과 상대적으로 적은 부작용을 나타내는

천연 항산화제로서, 산화스트레스 개선을 통해 비알코올 지방 간 질환에 대한 예방 효과를 나타내는 등 다양한 생리활성을 가지고 있다(Tang et al., 2021).

당뇨병은 세계적으로 유행하는 질병 중 하나이다. 당뇨병 환자 수는 지속적으로 증가해왔으며 2019년에는 전 세계 당뇨병 인구는 약 4억 명으로 추산되었고 2045년에는 7억 명이 될 것으로 예측되었다(Teo et al., 2021). 당뇨병은 면역체계가 췌장세포를 공격 및 파괴하여 발생하는 자가면역질환인 인슐린 의존성 1형과 인체가 인슐린과 당분 축적에 저항하는 인슐린 비의존성 2형으로 나눌 수 있으며 전체 당뇨병 환자의 90% 정도는 2형 당뇨병에 해당한다(Papoutsis et al., 2021). 2형 당뇨병은 식이 및 생활습관의 변화로 예방 가능한 것으로 간주되어왔지만 그것조차 불가능할 경우에는 주로 약물 치료에 의존하고 있으며 식후 고혈당 관리의 경우 α -glucosidase 억제제를 사용하고 있다(Rosak and Mertes, 2012). 당뇨병 환자는 국내에서도 증가하는 추세에 있고 비례적으로 약물의 사용량도 증가하고 있으나 위장 장애 등 여러 가지 부작용을 방지하기 위해서는 약물 사용을 자제해야 하며, 천연 식물자원에서 유래한 새로운 대체제의 개발이 필요한 실정이다(Choudhury et al., 2018; Papoutsis et al., 2021).

차나무 잎에 다량 함유되어 있다고 알려진 EGCG는 당뇨에 효과가 있는 것으로 밝혀졌으며, Waltner-Law et al. (2002)의 연구에서 EGCG가 H4IIE 마우스의 간암 세포에서 포도당 생성을 감소시키며 인슐린과 마찬가지로 PI3K 신호전달경로를 활성화시킨다고 하였다. 그리고 PEPCK 및 G6Pase와 같은 포도당 신생합성을 제어하는 유전자의 발현을 감소시키며 인슐린과 동일한 kinases를 활성화하고 IRS-1 및 IR- β 와 같은 인슐린 단백질의 인산화를 촉진시킨다는 것을 보여주었다. 당뇨병 실험 쥐 모델 실험에서는 녹차를 먹인

마우스의 경우 고혈당, 고인슐린증, 혈압 상승 등의 개선효과를 나타내었다는 보고가 있다(Tsuneki et al., 2004).

피부는 자외선, 미세먼지 등의 외부적인 요인에 의한 자극을 받기 쉬운 기관이다. 자외선 등에 의해 자극을 받은 피부는 세포의 손상을 억제하기 위해 melanin이 생성되어 색소 침착이 증가하게 된다. 하지만 melanin이 과도하게 증식하게 되면 기미, 주근깨, 피부병, 피부 변색 등을 유발할 수 있기 때문에 melanin 생성을 억제하는 것이 피부 미백에 있어서 매우 중요한 포인트이며 melanin 생성에서 가장 중요한 역할을 하는 효소인 tyrosinase를 저해하는 방법에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Prota, 1980; You et al., 2009; Tu and Tawata, 2015).

차나무 잎에는 매우 높은 tyrosinase 저해활성이 있는 것으로 확인되었으며(Lee et al., 2015a), Thitimuta et al. (2017)의 연구에서 tyrosinase 저해활성에는 차나무 유래 catechin 화합물이 깊게 관여하고 있고, 그 저해활성은 ECG > EGC > EGCG 순서로 확인하였다. 그리고 Kim et al. (2019)은 catechin 화합물이 함유되지 않은 차나무 잎 분획물이 microphthalmia-associated transcription factor (MiTF) 억제와 세포 외 신호조절 인산화효소의 신호전달 체계의 활성화를 통해 tyrosinase 저해활성을 나타낸다는 것을 검증하였다. 이는 차나무 잎에 함유된 성분 중 catechin 화합물 외에도 tyrosinase 저해활성에 영향을 주는 생리활성 물질이 들어있음을 시사한다.

피부 진피 속에는 피부 탄력을 조절하는 불용성 탄성 섬유 단백질인 elastin이 그물망 구조를 형성하고 있는데 분해 효소인 elastase으로 인해 elastin이 분해되면 그물망 구조가 깨지면서 피부가 처지거나 주름이 생기는 등 피부 노화가 발생한다(Kwak et al., 2005). 주름 생성을 억제함으로써 피부 노화를 방지하기

위한 연구의 일환으로 elastase의 활성을 억제하는 물질에 대한 탐색이 지속적으로 이루어지고 있지만 그 효능과 부작용이 확실히 검증되지 않았고 높은 단가로 인해 산업계에서는 활용성이 떨어지는 편으로 천연 유래 저해제의 필요성이 대두되고 있다.

차나무 잎에는 elastase를 저해하는 효능이 있는 것으로 알려졌는데, 미세먼지로 인해 자극된 진피섬유아세포에서 차나무 유래 EGCG가 elastase와 collagenase 활성을 유의적으로 억제하는 것으로 확인되었다(Wang et al., 2019; Lee et al., 2021). Thring et al. (2009)의 연구에서는 EGCG와 같은 차나무 catechin 화합물에서 매우 우수한 elastase 저해활성을 확인하였으며, 근래에서는 elastase 측정 시 EGCG를 양성대조군으로 활용하고 있다(Shirzad et al., 2018; Priani and Fakhri, 2021).

그 외에도 차나무 잎에는 병원성 세균에 대한 항부착효과가 있어서 *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium linens*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus epidermidis* 등의 박테리아에 대한 항균활성을 나타낸다는 연구 결과가 있다(Sharma et al., 2012). Hajiaghaalipour et al. (2013)의 연구에서는 마우스 모델에서 피부조직 손상에 대해 차나무 추출물을 처리했을 경우 콜라겐의 합성과 섬유아 세포가 증식하였으며 상처 치유 속도를 증진시켰다는 보고가 있다. 또한 차나무 잎에는 항노화 활성, 주름개선, 미백 등의 효능이 있으며 산업계에서도 화장품 원료로 활발하게 이용하고 있기 때문에 화장품 소재로서 활용도가 높다는 것을 확인할 수 있다(Lee et al., 2014; Dissanayake et al., 2018; Chaikul et al., 2020).

4. 차나무 잎 외 다른 부위에 대한 연구

차나무 꽃(Fig. 2B)은 흰색이며 집산 화서로써 1-3개의 꽃이 피고 개화기는 9-12월까지이다. 차나무 꽃에는 항산화, 항균, 항염, 항암 활성 및 상당한 양의 catechin (EGCG, EGC, EC, ECG 등)과 caffeine이 함유되어 있어서 자원 활용성이 높을 것으로 판단된다(Lin et al., 2003; Choi et al., 2011; Chen et al., 2018). 또한 diglycosides, kaempferol, myricetin, quercetin 등의 플라보놀 배당체와 다양한 종류의 다당류, 사포닌이 함유되어 있으며(Yang et al., 2009; Chen et al., 2020), Yoshikawa et al. (2005)은 항고지혈증 효과가 있는 floratheasaponins 성분을 차나무 꽃에서 처음으로 발견하였다.

차나무 가지(Fig. 2C)는 전정 과정에서 대부분이 폐기자원으로 분류되어 버려지고 있다. 차나무 가지에 대한 선행연구로는 차나무 가지에 칼슘과 칼륨 같은 미네랄 성분과 glucose (43%), xylose (16%), mannose (10%), galactose (6%) 등이 함유되어 있으며 항산화 활성을 나타내고, caffeine, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate와 같은 생리활성 성분이 확인되었다는 보고가 있다(Lee et al., 2019; Sanz et al., 2020).

차나무 뿌리(Fig. 2D)는 잔뿌리가 적고 주근이 땅 속으로 2-5 m까지 뻗어나가는 이식이 어려운 직근성과 심근성이다(Park, 2007). Na et al. (2018)의 연구에 의하면 차나무 뿌리 추출물에는 피부에 대해 다양한 효능을 나타낸다고 알려진 γ -aminobutyric acid (GABA)가 상당량 존재하며, 총 순수 사포닌이 54%로 인삼 추출물보다 더 많은 사포닌을 함유하고 있고 대기오염물질로 인해 유발되는 피부질환에 대한 보호효과가 있다고 하였다.

차나무 씨(Fig. 2E)는 갈색이고 지름이 약 1 cm이다. 8월 말에 성숙하여 10월이 되면 과실 껍질이 벌어져 1-3개의 씨가 나온다. 씨의 수명은 매우 짧기 때문에

약 10일 정도가 지나면 발아력이 저하된다. 차나무 씨에는 각종 피부염이나 여드름에 효과가 있는 vitamin A, B2, B6, C, E, biotin, niacin 등이 함유되어 있다(Cha et al., 2008). 차나무 씨는 민간에서 일부 오일로 가공하여 화장품의 원료 등으로 사용하고 있으나, 대부분의 화장품 업계에서는 중국에서 저렴한 차나무씨를 수입해서 사용하고 있으며 국산 차나무씨 오일은 산업 원료로는 활용성이 낮은 실정이다(Yang et al., 2016). 차나무씨 오일은 포화지방산이 25%, 불포화지방산이 75% 함유되어 있고 지방산의 종류로는 oleic acid 47.5%, palmitic acid 31.78%, linoleic acid 17.61%, stearic acid 1.31%, linolenic acid 1.16%, gadoleic acid 0.64%로 구성되어 있으며, 불포화지방산이 다량 함유되어 있는 것을 확인할 수 있다(Yahaya et al., 2011; Serin et al., 2013). 그리고 차나무씨 오일에는 모발 퇴색 방지 및 모발 큐티클 보호 효과가 있기 때문에 헤어 케어 제품으로의 활용성도 있는 것으로 고려되고 있다(Min et al., 2013).

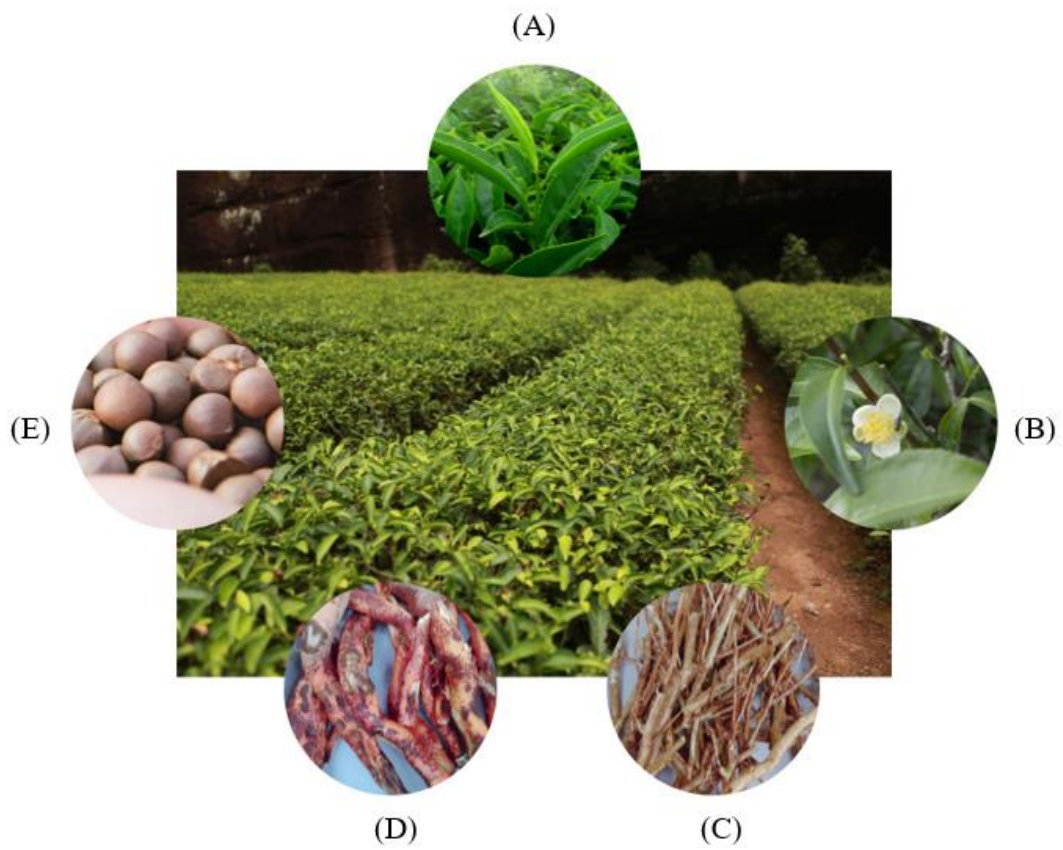


Fig. 2. Each part of *C. sinensis* (A: Leaf; B: Flower; C: Branch; D: Root; E: Seed).

Ⅲ. 재료 및 방법

1. 시료 및 추출물의 제조

1) 실험 재료

본 실험에 사용한 샘플은 제주다원에서 직접 채취하여 실험에 사용하였다. 차나무 잎, 가지, 꽃, 씨, 뿌리를 채취하기 위해 제주다원의 구역을 나누어 샘플을 채취하였다. 1차 채취는 2022년 1월 7일, 2차 채취는 2022년 1월 12일, 3차 채취는 2022년 1월 19일에 진행하였다. 샘플을 채취할 때는 구역에 따라 무작위로 채취하였고, 잎의 경우 수확물과 부산물을 구분하지 않고 채엽하였다. 채취한 샘플의 이물질을 선별한 후에는 흐르는 물에 세척한 뒤 열풍건조기(PFC-P0-91, Nihon-freezer, Namyangju, Korea)를 이용하여 60°C에서 48 시간 동안 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기를 이용하여 분말화를 하였고 실험 시료로써 사용하였다.



Fig. 3. Preparation of *C. sinensis* parts for extraction.

2) 추출물 제조

차나무 부위별 시료를 각각 15 g씩 취하고 무게 대비 20배의 70% 에탄올을 가한 후 초음파세척기(Powersonic 520, Hwashin Technology, Seoul, Korea)를 이용하여 1시간 동안 추출하였고 이를 3회 반복하였다. 이후 filter paper를 이용하여 여과한 뒤 회전식감압농축기(Hei-VAP Precision, Heidolph, Schwabach, Germany)로 농축하였고 동결건조 후에는 실험 샘플로 사용하였으며 모든 과정은 3회 반복하여 실시하였다.

2. 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량의 측정은 Ko et al. (2018)의 방법을 활용하여 측정하였다. 각 추출물 20 μL 에 증류수 700 μL 와 folin ciocalteu 시약 100 μL 를 혼합한 후 2시간 동안 반응하였다. 반응 후에는 20% sodium carbonate를 100 μL 씩 가하여 1시간 동안 정치하고 microplate reader (i-Mark 168-1135, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 표준검량곡선을 작성하여 gallic acid equivalent (GAE)로 나타내었다.

3. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Ko et al. (2018)의 방법을 사용하여 분석하였다. 각 추출물 100 μL 에 에탄올 300 μL , 10% aluminum nitrate 20 μL , 1 M potassium acetate 20 μL 를 혼합하였으며 이후 혼합액에 증류수 560 μL 를 가하여 1시간 동안 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 표준물질로 표준검량곡선을 작성하여 quercetin equivalent (QE)로 나타내었다.

4. 항산화 활성 측정

1) 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거 활성 측정

DPPH는 짙은 보라색을 띠고 517 nm 부근에서 강한 흡수를 나타내는 안정한 자유 라디칼이며, 항산화제로부터 전자나 수소를 공여받아 free radical을 소거하게 되면 보라색이 노란색으로 변하게 되고 이를 분광 광도계를 이용하여 항산화 활성을 측정할 수 있게 된다(Akar et al., 2017).

차나무 부위별 추출물의 DPPH radical 소거능은 Blois (1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 40 μ L에 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH 160 μ L를 혼합하여 암조건에서 30분 동안 반응하였다. 이후 microplate reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

추출물의 DPPH radical 소거능을 계산할 때 DPPH 농도를 50% 감소시키는 시료의 양인 RC_{50} 을 기준으로 항산화능을 측정하였다. 추출물의 DPPH radical 소거능을 비교하기 위한 양성대조군으로 BHT를 사용하였다.

2) Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 측정

TEAC는 ABTS · 라디칼을 소거하는 항산화능을 측정하는 방법이며 ABTS가 과산화물과 반응하게 되면 radical이 형성되고 청록색을 띠게 된다. ABTS radical 합성용액은 항산화 활성을 가진 물질과 반응하게 되면 radical이 소거되고 탈색이 진행되며 이것의 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 확인하는 방법이며 DPPH는 free radical을 측정하지만 TEAC는 cation radical을 측정한다(Re et al., 1999; Villaño et al., 2007).

TEAC는 Zulueta et al. (2009)의 방법을 변형하여 측정하였다. ABTS radical을

생성시키기 위해 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 암소에 24시간 방치시켰으며 실험에 사용하기 직전에 ABTS radical 용액을 750 nm 파장에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 가 되도록 증류수로 희석하였다.

각 추출물 10 μ L에 ABTS radical 혼합용액 200 μ L를 혼합하여 5분간 방치 후 microplate reader를 사용해 750 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 표준물질로 trolox를 사용하였으며 표준검량곡선을 그려 건조시료 1 g당 trolox 농도 (mM TE/g)로 나타내었다.

3) Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정

FRAP은 ferric tripyridyltriazine [Fe(III)-TPTZ] 복합체가 항산화 물질에 의해 3.6의 낮은 pH 조건에서 ferrous tripyridyltriazine [Fe(II)-TPTZ]로 환원되는 과정에서 발생하는 흡광도를 측정하는 방법이다(Benzie and Strain, 1996). FRAP는 항산화 활성보다는 철 이온을 기반으로 환원력을 측정하는 방법으로 시료의 색상에 영향을 받고 실험과정에서 oxygen electrode 안정성을 잃을 수도 있다는 단점이 있지만 쉽고 저렴하다는 장점이 있어서 널리 사용되는 실험방법이다(Yoo et al., 2007).

차나무 부위별 추출물의 FRAP 측정은 Benzie and Strain (1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. 실험 직전에 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6), 10 mM 2,4,6-tripyridyls-triazine와 20 mM FeCl₃를 10 : 1 : 1 비율로 혼합하였고 37°C에서 30분 동안 반응시킨 뒤 FRAP working solution을 제조하였다.

추출물 50 μ L에 FRAP working solution 150 μ L를 가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 뒤에는 microplate reader를 이용해 595 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. FeSO₄를 이용하여 표준검량곡선을 작성한 뒤 시료 1 g당 FeSO₄ 환원력(mM

FE/g)으로 나타내었다.

4) Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) 측정

ORAC는 생체 내의 세포막에 존재하는 지질의 산화 상태를 보는 방법으로 1992년 미국 농무부에서 개발되었다(Cao et al., 1993). ORAC는 일정 시간 동안 활성산소에 의해 손상되어 발색되는 형광값을 측정하는 방법이며, 수용성과 지용성 물질 모두 측정 가능하다는 장점이 있고 식품의 항산화력을 측정할 때 주로 사용하고 있다(Schaich et al., 2015).

차나무 부위별 추출물의 ORAC 측정은 Zulueta et al. (2009)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 50 μ L에 78 nM fluorescein 150 μ L를 가하고 37°C에서 10분간 반응시킨 다음에 221 mM 2,2' azobis (2-amino-propane) dihydrochloride를 첨가하였으며 excitation 파장 485 nm, emission 파장 535 nm에서 1분 간격으로 60분간 형광도를 측정하였다. 표준물질로 trolox를 사용하였고 표준검량곡선을 그려 건조 시료 1 g당 trolox 농도 (mM TE/g)로 나타내었다.

5. α -Glucosidase 저해활성 측정

차나무 부위별 추출물의 α -glucosidase에 대한 저해활성 측정은 *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (*p*NPG)를 이용하여 측정하였다(Ko et al., 2017). 추출물 20 μ L에 20 mM potassium phosphate buffer (pH 6.8) 120 μ L와 0.5 U/mL α -glucosidase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 50 μ L를 혼합한 뒤 incubator에서 37°C 조건으로 10분 동안 배양하였다. 이후 혼합용액에 2 mM *p*NPG 10 μ L를 가하여 37°C에서 10분 동안 반응시켰다. 이 반응액에 0.1 M sodium carbonate 100 μ L를 넣어 반응을

정지시킨 뒤 microplate reader를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하여 추출물의 저해율을 구하였으며 α -glucosidase 활성을 50% 저해하는데 필요한 샘플의 양을 GIC_{50} 으로 표기하였다.

6. Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해 활성은 Ko et al. (2018)의 방법을 변형하여 측정하였으며 tyrosinase에 의해서 발생된 dopachrome의 양을 기질인 tyrosine을 활용하여 측정하였다. 실험에 사용할 혼합액은 증류수, 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5)와 1 mM L-tyrosine을 각각 9 : 10 : 10 비율로 섞어 제조하였다. 96-well plate에 차나무 부위별 추출물 10 μ L에 상기 제조한 혼합액 170 μ L를 넣고 1 KU/mL tyrosinase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 20 μ L를 가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 이후 microplate reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정한 뒤에는 각 부위의 농도별 활성을 저해율 (%)과 tyrosinase 활성을 50% 저해하는데 필요한 샘플의 양(TIC_{50})으로 표기하였다.

7. Elastase 저해활성 측정

차나무 부위별 추출물의 elastase 저해 활성은 Ko et al. (2018)의 방법을 참고하여 측정하였다. 차나무 부위별 추출물 20 μ L를 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0) 120 μ L로 희석한 뒤 1 U/mL elastase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 10 μ L와 elastase 기질인 1 mM N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroanilide를 혼합하여 37°C에서 20분 동안 반응시켰다. 이후 microplate reader로 415 nm에서 흡광도를 측정하였고, 각

부위의 농도별 활성을 저해율 (%)과 elastase 활성을 50% 저해하는데 필요한 샘플의 양(EIC₅₀)으로 표기하였다.

8. 여드름 유발균에 대한 항균 활성 측정

본 실험에 사용한 미생물은 여드름균인 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*, KACC No. 11946)를 농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물과(Wanju, Korea)에서 분양받아 사용하였으며 균의 배양에는 reinforced clostridial medium (RCM) 액체배지 및 고체배지를 제조하여 사용하였다.

여드름균 항균 실험을 위해 *P. acnes* 균을 RCM 액체배지에서 계대배양을 2 회 반복하여 활성화시킨 후 원심분리하여 상층액을 제거하였고 다시 멸균수에 첨가하여 희석한 뒤 접종 밀도를 10⁵ CFU/mL의 농도로 조정된 현탁액 100 µL를 RCM 고체배지에 도말하였다. 이후 paper disc (8 mm/1.5 mm, Advantec, Matsuyama, Japan)에 양성대조균인 erythromycin (Daejung Chemicals, Siheung, Korea)을 10 µg /mL 농도로, 차나무 부위별 추출물을 각각 100 mg/mL 농도로 40 µL 씩 접종한 뒤 37°C incubator (BINDER GmbH, Tuttlingen, Baden-Württemberg, Germany)에서 혐기조건으로 배양하였다.

RCM 고체배지에서 paper disc를 이용한 생육 저지환의 크기를 측정하여 평가하였으며 모든 실험은 3회 반복하여 항균 활성을 확인하였다.

9. High performance liquid chromatography (HPLC)를 이용한 성분 분석

차나무 부위별 추출물의 catechin류 화합물은 HPLC (e2695, Waters Corporation, Milford, MA, USA)를 사용하여 분석하였다. Column은 Sunfire C18 (5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm, Waters Corporation, Milford, MA, USA)을 사용하였고 이동상은 A (0.1% trifluoroacetic acid in distilled water)와 B (0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile) 두 가지 종류의 용액을 사용하였다.

용매 조건은 0분에서 20분까지 이동상 A를 90%로 용리하였고 20분에서 25분까지 이동상 A를 70%가 되도록 한 뒤, 25분에서 35분까지 이동상 A를 30%가 되도록 하고 35분에서 38분까지 이동상 A를 5%로 유지하였으며 이후 45분까지 이동상 A를 90%로 한 후 분석을 완료하였다(Table 1).

샘플의 성분 분리를 위한 이동상의 유속 조건은 1 mL/min, column 온도는 40°C로 고정하였고 시료의 주입량은 20 μ L, 검출 파장은 280 nm 조건으로 분석하였다. 각 standard는 methanol에 녹여 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 및 200 μ g/mL로 만들어 검량선을 작성하였다.

Table 1. Analysis conditions of catechin compounds using HPLC.

Content	Condition		
Column	Sunfire C18 (5 μ m, 4.6 \times 250 mm, Waters, USA)		
Column temperature	40°C		
Wavelength	280 nm		
Mobile phase	A: 0.1% trifluoroacetic acid in water B: 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile		
Flow rate	1 mL/min		
Gradient conditions	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.01	90.00	10.00
	5.00	90.00	10.00
	20.00	70.00	30.00
	25.00	30.00	70.00
	30.00	30.00	70.00
	35.00	5.00	95.00
	38.00	5.00	95.00
	38.10	90.00	10.00
45.00	90.00	10.00	
Injection volume	20 μ L		

10. UVB 유도성 세포손상 보호능 평가

1) 세포 배양

HaCaT (Human keratinocyte, CLS, 330493, American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA) 세포와 Detroit 551 (Human fibroblast, CCL-110, American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA) 세포를 배양 접시의 바닥에 접종한 후 100 units/mL penicillin (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 100 µg/mL streptomycin (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 10% fetal bovine serum (FBS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 함유하는 동물세포 배지인 dulbecco modified eagle medium (DMEM, Corning Inc., Corning, NY, USA)을 넣고 37°C, 5% CO₂ 조건인 항온기(VS-2050C, Vision Science Co., Ltd., Gyeongsan, Korea)에서 배양하였다.

2) 피부세포 독성 평가

피부세포 독성 평가를 위해 HaCaT 세포와 Detroit 세포를 96-well plate에 분주한 후 세포 배양 조건에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 혈청이 함유되지 않은 DMEM과 함께 차나무 부위별 추출물을 희석하여 최종 농도 0.5, 1, 2, 5, 10 µg/mL가 되도록 세포에 처리하고 24시간 동안 추가 배양하였다.

이후 cell counting kit (CCK) 용액 (Dongin LS, Hwaseong, Korea)을 10 µL/well 씩 첨가하고 4시간 동안 배양한 후 spectrophotometer (Fisher Scientific Ltd., Vantaa, Uusimaa, Finland)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하고 세포 생존율을 계산하였다.

3) UVB 유도성 세포손상 보호능 평가

본 실험에서는 UVB에 의한 자극을 조사하여 피부 세포의 손상 정도를 확인하였다. HaCaT 세포와 Detroit 세포를 96-well plate에 분주한 후 세포 배양 조건에서 24시간 동안 배양하였다.

24시간 후 FBS를 포함하지 않는 배지로 교체한 후 4시간 동안 starvation하고, UVP (CL-1000, Analytik Jena US LLC, Germany)를 사용해 5 mJ/cm^2 UVB를 조사하고, 대조군과 차나무 부위별 추출물을 농도별로 세포에 처리하여 24 시간 동안 추가 배양하였다(Kim et al., 2022). 이후 UVB 유도에 의한 피부세포의 손상을 보호하는지 확인하고자 CCK assay를 이용하여 세포 생존율을 측정하였다.

11. 통계처리

본 연구의 실험은 3 회 반복하여 실시하였고, 통계분석은 SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 Duncan의 다중범위검정(Duncan Multiple Range Test, DMRT)과 t -test를 실시함으로써 통계학적으로 유의성을 분석하였다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

IV. 연구결과 및 고찰

1. 추출 수율

추출물의 수율과 효능은 항상 일치하는 것은 아니다. 추출물의 특성에 따라 수율이 높더라도 효능이 낮을 수도 있으며 반대로 효능이 높더라도 수율 자체는 낮을 수도 있다. 하지만 추출물의 효능이 높더라도 수율이 낮으면 경제적 측면에서 산업화에 어려운 점이 있어서 추출 수율은 산업화에서 중요한 척도가 될 수 있다. 차나무 부위별 추출물의 수율은 Table 2에 표기하였다.

꽃의 수율은 58.02%로 가장 높았으며 이후 잎(46.98%), 가지(28.84%), 씨(21.52%), 뿌리(14.20%) 순으로 높은 값을 나타내었다. 꽃은 함유된 꿀로 인하여 높은 당 함량을 나타내며 본 실험에서 용매로 사용한 70% 에탄올에 당 성분이 다량으로 같이 추출되었기 때문에 가장 높은 수율을 나타낸 것으로 생각한다.

Kim et al. (2021a)의 연구에서도 각기 다른 농도의 에탄올로 금화규 꽃을 추출했을 때 본 실험과 동일한 70% 에탄올 추출물에서 가장 높은 당 함량을 나타내었으며, Park et al. (2015)의 연구에서는 추출 수율이 꽃, 잎, 뿌리 순서로 높게 나타나 본 실험 결과와 유사한 경향을 보여주었다.

Table 2. Extraction yield from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	Yield (%)
Leaf	46.98 ± 1.86 ^b
Branch	28.84 ± 1.12 ^c
Flower	58.02 ± 2.24 ^a
Seed	21.52 ± 5.01 ^d
Root	14.20 ± 0.79 ^e

*Means with different letters (a-e) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

2. 총 페놀 함량

페놀은 벤젠에 하이드록시기(-OH)가 붙어 있는 것이며 한 분자 내에 2개 이상의 하이드록시기이 붙어 있는 방향족 화합물을 폴리페놀이라고 한다(Ko et al., 2017). 폴리페놀은 구조적 특성으로 인해 항산화능과 밀접한 관련이 있다고 알려져 있으며 flavonoid, lignan, phenolic acid, stilbene과 tannins 등으로 분류할 수 있다(Gani et al., 2012).

차나무 부위별 추출물에 포함된 총 페놀 함량은 Table 3에 나타내었다. 차나무 잎의 총 페놀 함량은 201.75 mg GAE/g으로 확인되었다. 그 다음으로는 뿌리(175.37 mg GAE/g), 가지(128.94 mg GAE/g), 꽃(91.13 mg GAE/g) 및 씨(21.29 mg GAE/g) 순으로 함량을 확인할 수 있었다. 차나무 잎에는 chlorogenic acid, EC, ECG, EGC, EGCG, GCG, GC, gallic acid, theobromine, theogallin 등 다양한 종류의 폴리페놀 화합물이 함유되어 있는 것으로 보고되었기 때문에 본 실험에서도 잎에서 가장 높은 총 페놀 함량을 나타낸 것으로 보여진다(Yao et al., 2004). 잎을 제외하면 뿌리에서 함량이 높게 나타난 것을 확인할 수 있으며, 이는 차나무 뿌리에 함유된 사포닌 계열 성분에 의한 것으로 생각된다(Na et al., 2018).

Table 3. Total phenolic content of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	TPC (mg GAE/g) ¹⁾
Leaf	201.75 ± 8.43 ^a
Branch	128.94 ± 10.29 ^c
Flower	91.13 ± 7.27 ^d
Seed	21.29 ± 0.73 ^e
Root	175.37 ± 21.46 ^b

*Means with different letters (a-e) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾TPC; Total phenolic content. mg GAE/g (mg gallic acid equivalent per sample 1 g).

3. 총 플라보노이드 함량

플라보노이드는 2개의 벤젠고리와 산화된 헤테로고리가 탄소 원자에 의해 선형으로 사슬 결합되어 있는 C6-C3-C6 골격 구조 형태이며, 플라보노이드의 구조적 다양성은 하이드록실화 패턴과 산화 상태에 따라 flavonol, flavone, isoflavone, flavanone, anthocyanidin, flavanol로 분류된다(Manach et al., 2004; Singla et al., 2019). 플라보노이드의 구조 골격과는 달리 비플라보노이드의 기본 구조는 단일 방향족 고리이며 그 종류로는 phenolic acids, stilbenes, lignans 등으로 분류할 수 있다(Singla et al., 2019).

차나무 부위별 추출물의 총 플라보노이드 함량은 잎(65.28 mg QE/g), 꽃(13.36 mg QE/g), 가지(10.56 mg QE/g), 씨(9.14 mg QE/g) 및 뿌리(7.17 mg QE/g) 순으로 총 페놀 함량과는 다른 양상을 보였다(Table 4). 차나무 잎은 총 페놀 함량과 마찬가지로 가장 높은 총 플라보노이드 값을 나타내었다. 이는 차나무 잎에 들어있는 플라보노이드류 화합물인 catechin, *p*-coumaric acid, kaempferol, quercetin과 3-(*p*-hydroxyphenyl)-propionic acid 등의 영향에 기인한 것으로 생각된다(Yao et al., 2004). 잎과 씨를 제외한 나머지 부위에서는 총 페놀 함량과는 다른 경향을 보였는데, 뿌리의 경우 총 페놀 함량은 잎 다음으로 높았지만 총 플라보노이드 함량은 가장 낮게 나타났다. 이는 함유된 페놀 화합물의 종류가 비플라보노이드 계열이었기 때문에 총 플라보노이드 함량이 낮게 나타난 것으로 생각하며, 항산화 활성이 총 페놀 함량의 경향과 일치한다는 점을 고려했을 때 뿌리, 가지, 꽃 등의 활성에 영향을 주는 비플라보노이드 계열 화합물에 대한 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

Table 4. Total flavonoid content of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	TFC (mg QE/g) ¹⁾
Leaf	65.28 ± 4.72 ^a
Branch	10.56 ± 2.03 ^b
Flower	13.36 ± 1.58 ^b
Seed	9.14 ± 1.85 ^b
Root	7.17 ± 1.83 ^b

*Means with different letters (a-b) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾TFC; Total flavonoid content. mg·QE/g (mg quercetin equivalent per sample 1 g).

4. 항산화 활성

1) DPPH radical 소거 활성

활성산소는 정상수준에서 세포 성장 및 면역, 신호전달을 포함한 세포 반응에 관여를 하는 등 여러가지 유익한 측면도 있지만 과도하게 생성되었을 경우에는 인체를 구성하는 일부 아미노산과 반응하여 단백질 구조를 파괴하여 신경퇴행성 질환, 당뇨병, 죽상동맥경화증을 야기하거나 DNA에 손상을 주어 돌연변이를 유발하고 다양한 부작용을 발생시키기 때문에 활성산소를 억제하는 연구가 많이 진행되고 있다(Cabiscol Català et al., 2000; Zuo et al., 2015). 항산화제는 용해도를 기반으로 분류하면 수용성 항산화제와 지용성 항산화제로 구분할 수 있다. 수용성 항산화제는 세포질, 세포액에 존재하고 그 예로는 vitamin C가 있으며, 지용성 항산화제는 주로 세포막에 존재하고 carotinoid, lipoic acid, vitamin E 등이 있다(Nimse and Pal, 2015). BHA, BHT와 같은 강력한 합성 항산화제가 있지만, 그 부작용이 보고됨에 따라 사용이 기피되고 있으며 보다 안전성이 높은 천연 항산화제의 개발이 필요하다.

차나무 부위별 추출물의 DPPH radical 소거활성은 Table 5에 나타내었다. 차나무 부위별 추출물의 DPPH RC₅₀의 값은 씨를 제외한 모든 부위에서 합성 항산화제인 BHT (132.85 µg/mL)보다 높은 저해율을 보여주었다. 저해율은 잎(18.39 µg/mL), 뿌리(22.34 µg/mL), 가지(35.71 µg/mL), 꽃(39.86 µg/mL), 씨(421.35 µg/mL) 순서로 나타났으며 이는 총 페놀 함량과 일치하는 경향을 나타내었다. 차나무의 항산화와 총 페놀 함량과의 상관관계를 확인하기 위해 피어슨 상관계수를 이용하였다(Table 12). DPPH와 총 페놀 간의 상관관계는 -0.819 (** $p \leq 0.01$)로 확인되어 DPPH와 총 페놀 간의 높은 상관관계를 확인할 수 있으며, 차나무 각

부위에 함유된 페놀 화합물이 그 함량과 활성에 따라 항산화 활성에도 영향을 준 것으로 생각한다.

Table 5. DPPH free radical scavenging activity of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	DPPH (RC ₅₀ : µg/mL) ¹⁾
Leaf	18.39 ± 1.67 ^a
Branch	35.71 ± 2.27 ^{bc}
Flower	39.86 ± 2.73 ^c
Seed	421.35 ± 17.20 ^e
Root	22.34 ± 3.76 ^{ab}
BHT	132.85 ± 1.15 ^d

*Means with different letters (a-e) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾DPPH; Amount required for a 50% reduction of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radicals. ²⁾BHT; Butylated hydroxytoluene.

2) TEAC

추출물의 TEAC 값은 167.43 mM TE/g - 2202.93 mM TE/g의 범위로 모든 부위에서 유의적인 차이를 확인하였다. 잎(2202.93 mM TE/g), 뿌리(1882.28 mM TE/g), 가지(1308.66 mM TE/g), 꽃(1038.96 mM TE/g) 및 씨(167.43 mM TE/g) 순서로 높은 값을 확인하였다(Table 6). 다른 항산화 실험의 경향과 마찬가지로 총 페놀 함량과 매우 유사한 경향성을 나타내고 있고, TEAC와 총 페놀 함량 간의 상관관계는 0.985 (** $p \leq 0.01$)로 매우 높은 값을 보여주고 있다(Table 12). DPPH 실험 결과와 마찬가지로 차나무 부위별 추출물의 TEAC 저해활성은 페놀 화합물에 의한 것으로 생각된다.

Table 6. Trolox equivalent antioxidant capacity of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	TEAC (mM TE/g) ¹⁾
Leaf	2202.93 ± 49.84 ^a
Branch	1308.66 ± 188.25 ^c
Flower	1038.96 ± 64.48 ^d
Seed	167.43 ± 13.05 ^e
Root	1882.28 ± 167.73 ^b

*Means with different letters (a-e) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾TEAC; Trolox equivalent antioxidant capacity was analyzed as trolox equivalent (TE)·mM/g of extract.

3) FRAP

차나무 부위별 추출물의 FRAP 값 범위는 144.93 mM FeSO₄/g - 2930.62 mM FeSO₄/g로 각 부위별 추출물 간의 유의적인 차이를 나타냈으며 DPPH radical 소거활성과 같은 경향을 나타냈다(Table 7). 차나무 잎에서 2930.62 mM FeSO₄/g으로 가장 높은 FRAP 값을 보였지만 차나무 씨에서는 144.93 mM FeSO₄/g으로 가장 낮은 값을 확인할 수 있었다. FRAP는 총 페놀 함량뿐만 아니라 총 플라보노이드 함량과도 매우 높은 양의 상관관계를 보여주고 있으며, 유의성이 있는 것으로 나타났다(Table 12). Malinowska (2013)의 연구에서도 FRAP와 플라보노이드 함량에는 높은 상관관계가 있는 것으로 확인되었으며, FRAP 실험은 다른 항산화 실험에 비해 차나무에 함유된 플라보노이드의 영향을 더 많이 받는 것으로 보여진다.

Table 7. Ferric reducing antioxidant power of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	FRAP (mM Fe/g) ¹⁾
Leaf	2930.62 ± 86.33 ^a
Branch	1294.52 ± 88.18 ^c
Flower	1170.54 ± 138.13 ^c
Seed	144.93 ± 15.99 ^d
Root	1560.32 ± 122.45 ^b

*Means with different letters (a-d) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾FRAP; Ferric reducing antioxidant power was analyzed as ferrous sulfate equivalent (FE)·mM/g of extract.

4) ORAC

차나무 부위별 추출물의 ORAC 값은 Table 8에 표기하였다. 잎에서 3645.84 mM TE/g으로 가장 높은 값을 나타내었고, 그 다음으로는 뿌리와 가지에서 각각 2962.93 mM TE/g, 2793.38 mM TE/g으로 확인되었다. 꽃에서는 2054.15 mM TE/g으로 나타났고 씨에서는 755.88 mM TE/g으로 가장 낮은 항산화 활성을 나타내었다.

항산화 활성 측정법인 DPPH, TEAC, FRAP, ORAC 방법으로 측정된 차나무 부위별 추출물의 항산화 효과는 총 페놀 함량과 유의한 상관관계를 보였으며 이는 페놀 화합물이 항산화 활성과 밀접한 관계가 있다는 보고와 유사한 경향성을 나타내었다(Kim et al., 2004).

활성산소종(Reactive oxygen speices, ROS)은 라디칼과 비라디칼 형태의 대사과정에서 발생하는 산물로 모든 호기성 유기체의 정상적인 산화 과정에서 생성된다. 낮은 수준의 ROS는 세포의 신호 유도과 같은 중요한 역할을 하지만 높은 수준의 ROS가 생성되면 식물체의 세포 단백질, 지질, 핵산에 산화 스트레스를 가하기 때문에 식물은 이 산화스트레스에 대항하기 위해 자연적으로 항산화 방어 시스템을 개발하여 ROS에 의한 손상을 억제한다(Mittler, 2017).

ROS는 자외선, 염분, 고온, 중금속, 가뭄 등 환경 스트레스에 의해 많이 생성되는데 본 실험에서는 차나무 부위 중 생육기간 동안 잎이 외부에 가장 많이, 긴 시간 동안 노출되었기 때문에 여러 가지 환경 스트레스에 의해 식물체에 손상을 줄 수 있는 수준의 ROS가 생성되었고 이에 대항하기 위한 항산화 방어 시스템으로 식물의 저항성을 높일 수 있는 폴리페놀 화합물이 생성되어 항산화 기전을 나타내었기 때문에 외부 노출이 적은 다른 부위에 비해 가장 높은 항산화 활성을 나타낸 것으로 생각한다(Hasanuzzaman et al., 2013;

Hussain et al., 2016; Ali et al., 2019).

식물체의 뿌리는 토양에서 물과 각종 영양소를 흡수하여 잎과 줄기에 전달하는 역할을 하므로 다량의 영양소가 함유되어 있다. 또한 뿌리에는 생장점이 있는데 세포분열을 통해 성장하기 위해 식물 체내의 영양소가 다시 뿌리로 모이게 된다. 그리고 뿌리는 토양 내의 다양한 박테리아, 균, 선충과 상호작용 또는 저항하거나 가뭄, 염분, 중금속 등의 외부적인 스트레스로 인해 2차 대사산물 같은 각종 화학물질을 만들며 이것이 항산화 활성을 나타내기도 한다(Bian and Jiang, 2009; Tripathi et al., 2012; Kim et al., 2015; Lareen et al., 2016). 이러한 이유로 인하여 차나무 잎 다음으로 뿌리에서 높은 항산화 활성을 나타낸 것으로 생각한다.

가지 및 줄기는 식물의 영양분이 이동하는 통로 역할을 한다. 뿌리에서 흡수된 영양분과 수분은 체관과 물관을 타고 올라가 잎으로 전달되고 잎에서 광합성을 통해 생성된 당분 등은 체관을 통해 이동한다. 영양분과 수분이 이동하는 가지와 줄기에는 각종 영양분이 함유되어 있으며 예로부터 구황 식품으로 섭취해오기도 하였다(Kim and Cha, 2013). 또한, 가지 및 줄기의 껍질 부분에 각종 생리활성 물질이 함유되어 있다고 보고된 바 있다(Cho et al., 2020).

본 실험 결과 대체로 차나무 잎과 뿌리에서 높은 항산화 활성을 보여주었는데 차나무 잎에는 다양한 종류의 폴리페놀 화합물이 함유되어 있으며 특히 EGCG와 같은 catechin류 화합물이 많이 들어있다고 알려져 있다. 실제로 본 연구에서도 성분분석 결과 잎에는 EGCG와 EGC 등이 많이 들어있었으며 이러한 성분들로 인하여 높은 항산화 활성을 나타낸 것으로 생각된다. 또한 총 페놀 함량과는 0.968 (** $p \leq 0.01$)로 양의 상관관계를 보여주고 있고(Table 12), Sur et al. (2001)의 연구에서는 차나무 뿌리에서 분리한 사포닌 화합물에서 높은 항산화 활성을

확인할 수 있었다. 선행연구와 본 실험을 참고하였을 때 차나무에는 다양한 종류의 생리활성 성분이 들어있다는 것을 확인할 수 있으며, 이는 항산화 실험 결과에도 영향을 준 것으로 생각된다.

Table 8. Oxygen radical absorbance capacity of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	ORAC (mM TE/g) ¹⁾
Leaf	3645.84 ± 116.97 ^a
Branch	2793.38 ± 179.88 ^b
Flower	2054.15 ± 207.09 ^c
Seed	755.88 ± 171.82 ^d
Root	2962.93 ± 376.60 ^b

*Means with different letters (a-d) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾ORAC; Oxygen radical absorbance capacity was analyzed as trolox equivalent (TE)·mM/g of extract.

5. α -Glucosidase 저해활성

α -Glucosidase는 다당류, 이당류를 단당류로 분해하여 소장에서 탄수화물의 흡수를 촉진시키는 효소이다(Kim et al., 2014a). α -Glucosidase 억제제는 이 효소의 활성을 억제하여 소장의 상위부분에서 흡수되던 단당류를 전체 소장에서 흡수하는 방식으로 탄수화물의 흡수를 지연시켜 식후 고혈당을 감소시키는 작용을 하며, 대표적인 약제로는 acarbose, miglitol 및 voglibose 등이 있다(Derosa and Maffioli, 2012; Yoo, 2012). 하지만 α -glucosidase 억제제는 복합 탄수화물이 포도당으로 분해되는 것을 억제하기 때문에 일부 탄수화물이 장에 남아 결장으로 이동하고 결장에서 박테리아가 복합 탄수화물을 소화하여 위장 장애를 일으킬 수 있으며 실제로 acarbose의 사용은 간염과 위 창자 내 공기 참, 설사, 복통, 변비를 유발한다는 보고가 있다(Josse et al., 2003; Derosa and Maffioli, 2012). 최근 전 세계적으로 당뇨 환자는 증가하는 추세에 있으며, 이를 개선하기 위한 경제적 비용 또한 높아지고 있다(Basu et al., 2019). 그렇기때문에 기업에서는 당뇨 환자를 대상으로 한 건강식품을 개발하고자 노력하고 있고, 항당뇨 활성을 나타내는 다양한 제품을 출시하고 있다.

차나무 부위별 추출물의 α -glucosidase 저해활성은 47.71 $\mu\text{g/mL}$ - 389.36 $\mu\text{g/mL}$ 의 범위로 씨를 제외한 모든 추출물에서 대조구로 사용되는 acarbose (739.91 $\mu\text{g/mL}$)의 저해활성보다 높은 저해율을 나타내었다(Table 9). 특히 뿌리 추출물(47.71 $\mu\text{g/mL}$)에서 그 활성이 가장 두드러지게 나타났으며 가지(150.24 $\mu\text{g/mL}$), 잎(190.38 $\mu\text{g/mL}$), 꽃(389.36 $\mu\text{g/mL}$) 순으로 높은 활성을 보여주었고 씨에서는 활성을 나타내지 않았다. 또한 피어슨 상관계수를 이용하였을 때 페놀과의 상관관계는 -0.615 (* $p \leq 0.05$)로 확인되었다(Table 12).

Jang et al. (2015)의 연구에서는 뽕나무 4가지 부위(열매, 잎, 가지 및 뿌리) 에탄올 추출물의 α -glucosidase 저해활성을 측정한 결과 뿌리, 가지, 잎 및 열매 순으로 높은 활성이 나타내었다고 보고하여 본 실험과 유사한 경향을 확인할 수 있었다. Djamil and Putri (2018)의 연구에서는 바나바잎 70% 에탄올 추출물의 α -glucosidase를 50% 저해하는 샘플의 농도가 78.6 $\mu\text{g/mL}$ 로 확인되었고, 본 연구에서는 차나무 뿌리 추출물의 저해활성이 47.71 $\mu\text{g/mL}$ 으로 확인되어 혈당케어 제품으로 활용되는 바나바잎 추출물보다 높은 항당뇨 활성을 보여주고 있다.

Table 9. α -Glucosidase inhibitory activity of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	GIC ₅₀ ¹⁾ ($\mu\text{g/mL}$)
Leaf	190.38 \pm 28.10 ^b
Branch	150.24 \pm 4.81 ^{ab}
Flower	389.36 \pm 74.79 ^c
Seed	ND ²⁾
Root	47.71 \pm 2.09 ^a
Acarbose	739.91 \pm 18.65 ^d

*Means with different letters (a-d) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾GIC₅₀; Concentration required to reduce 50% of α -glucosidase. ²⁾ND; Not detected.

6. Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase는 자연계에 존재하는 다기능성 Cu 함유 효소로 야채, 과일, 버섯을 장기간 보관할 때 발생하는 갈변 현상에 중요한 역할을 한다(Nerya et al., 2006). 포유동물에서는 melanin 생합성 초기 단계에 관여하는 속도제한 효소이며 L-tyrosin을 산화시켜 반응 생성물인 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)를 생성하거나, DOPA를 산화시켜 DOPA quinone을 만드는 산화효소로 작용한다(Thitimuta et al., 2017). 대부분의 melanin 합성 억제는 tyrosinase 활성을 억제하여 melanin 생성을 억제하는 방향으로 연구가 주를 이루고 있다.

차나무 부위별 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 tyrosinase에 의해서 생성된 dopachrome의 양을 측정하여 표기하였다(Table 10; Fig. 4). 차나무 부위별 추출물의 저해 활성은 농도에 따라 증가하는 경향성을 보이고 있으며, 잎, 꽃, 뿌리에서 가장 높은 저해 활성을 나타내었고 1.25 mg/mL 농도부터는 모두 50% 이상의 저해율이 확인되었다. 그에 반해 가지와 씨는 모든 농도에서 50% 미만의 저해 활성이 확인되었다(Fig. 4A).

차나무 부위별 추출물의 총 페놀 함량은 잎, 뿌리, 가지, 꽃, 씨 순서로 확인되어 꽃을 제외하면 본 실험에서 나타난 저해 활성과 유사한 경향을 보여주고 있다. 항산화 활성과 유기적인 상관관계가 있다고 알려진 페놀 화합물을 이용하여 인간 피부 세포의 활성산소를 억제한다면 피부 노화를 지연시킬 수 있으며, 차나무 부위별 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 피어슨 상관계수를 참고했을 때 페놀 화합물과 상관관계(0.658, $p \leq 0.01$)가 있는 것으로 생각된다(Table 12).

다만 총 페놀 함량과 다른 경향을 보인 꽃 추출물에서는 페놀 화합물이 아닌

tyrosinase 저해율에 영향을 주는 비페놀성 화합물이 함유되어 있음을 고려해볼 수 있으며, Jiang et al. (2006)의 연구에서도 *Pyracantha koidzumii* 추출물에서 높은 tyrosinase 저해 활성을 확인하였지만, 반대로 페놀 함량은 낮은 값을 나타내어 melanin 합성을 저해하는데 비페놀성 화합물이 관여한 것으로 생각된다. 이를 통해 후속 연구로, 차나무 꽃 추출물에 tyrosinase 저해 활성에 관여하는 비페놀성 화합물에 관한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

또한 본 실험에서 나타난 차나무 부위별 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 양성대조군으로 사용한 arbutin 보다는 다소 낮은 활성을 나타내었는데(Fig. 4B), 녹차는 화장품 업계에서 미백 원료로 사용하고 있고 실제로도 녹차 추출물이 미백 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다고 보고된 것과(Korkmaz et al., 2019) 서로 상이한 결과를 나타내었다.

Table 10. Tyrosinase inhibitory activity of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	TIC ₅₀ (mg/mL) ¹⁾
Leaf	1.11 ± 0.07 ^a
Branch	5.50 ± 1.45 ^b
Flower	0.81 ± 0.07 ^a
Seed	ND ²⁾
Root	1.61 ± 0.38 ^a
Arbutin	0.10 ± 0.00 ^a

*Means with different letters (a-b) in the column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾TIC₅₀; Concentration required to reduce 50% of tyrosinase. ²⁾ND; Not detected.

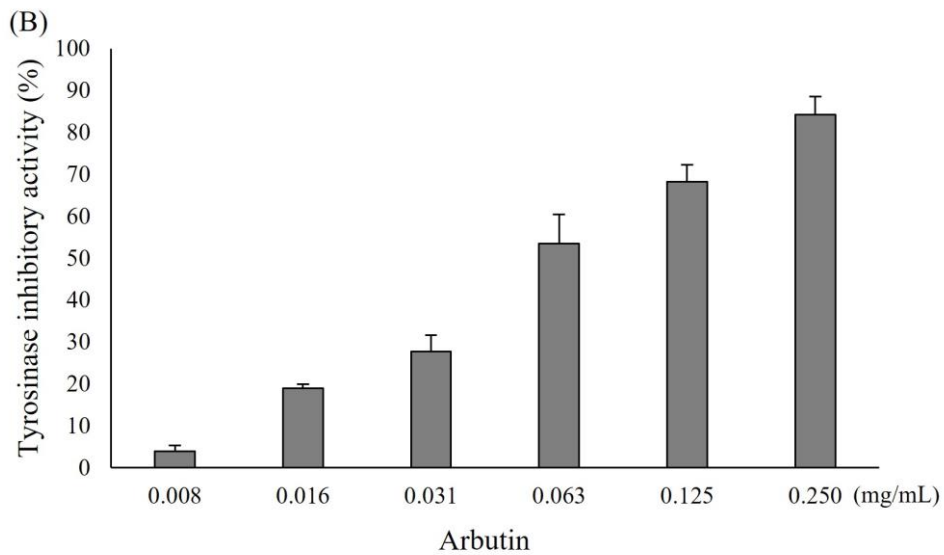
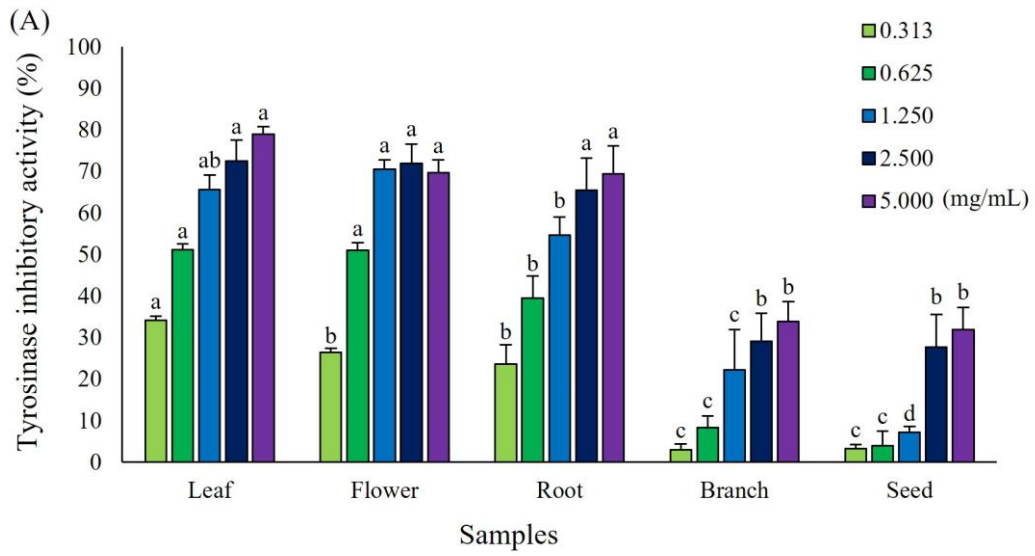


Fig. 4. Tyrosinase inhibitory activity of extracts from the different parts of *C. sinensis*. Means with different letters (a-d) in the column are significantly different as determined by Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$) as means \pm standard deviation (SD) ($n = 3$).

7. Elastase 저해 활성

차나무 부위별 추출물의 elastase 저해 활성은 Table 11과 Fig. 5에 나타내었다. 저해활성은 0.125 mg/mL 농도에서부터 2.5 mg/mL 농도까지 모든 시료에서 저해율이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 뿌리 추출물 0.625 mg/mL 농도부터는 모두 50% 이상의 저해 활성을 보여주었다. 뿌리 다음으로는 잎과 가지에서 저해 활성이 높았고, 꽃과 씨의 모든 농도에서는 50%보다 낮은 저해율이 확인되었다(Fig. 5A).

Shin et al. (2014)의 연구에서 꾸지뽕나무 부위별 추출물의 elastase 저해 활성이 본 실험과 유사하게 뿌리와 잎에서 높게 나타났으며, 본 실험에서 확인된 총 페놀 함량에서도 잎, 뿌리, 가지, 꽃, 씨 순서로 유사한 경향성을 보여주고 있다.

본 실험에서 확인된 elastase 저해활성과 총 페놀 함량과의 상관관계를 확인하기 위해 피어슨 상관계수를 측정한 결과, 차나무 부위별 추출물의 총 페놀 함량과 elastase 저해율은 양의 상관관계(0.838, $p \leq 0.01$)를 나타내어 차나무 부위별 추출물의 elastase 저해 활성은 차나무에 함유된 페놀 화합물에 기인한 것으로 생각한다(Table 12). 또한 본 실험에서 나타난 결과는 양성대조군으로 사용한 ursolic acid보다 낮은 활성을 보여주고 있는데(Fig. 5B), 산업계에서 차나무 잎을 화장품 원료로 사용하는 점이나 선행 연구를 통해 알려진 효능보다 활성이 낮은 것은 차나무를 채취한 시기나 지역적 차이에 의한 것으로 생각되며, 본 실험 결과에서 차나무 잎보다 뿌리에서 더 높은 저해 활성을 확인하였으므로 시기적, 지역적 차이가 있는 다른 차나무 원료에서도 잎보다 뿌리에서 더 높은 elastase 저해 활성을 나타낼 것으로 생각한다(Lee et al., 2015b).

Table 11. Elastase inhibitory activity of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	EIC ₅₀ (mg/mL) ¹⁾
Leaf	1.36 ± 0.33 ^b
Branch	1.52 ± 0.39 ^b
Flower	ND ²⁾
Seed	ND
Root	0.44 ± 0.09 ^a
Ursolic Acid	0.03 ± 0.00 ^a

*Means with different letters (a-b) in the same column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾EIC₅₀; Concentration required to reduce 50% of elastase. ²⁾ND; Not detected.

Table 12. Correlation between phytochemical and physiological activity.

	DPPH ³⁾	TEAC ⁴⁾	FRAP ⁵⁾	ORAC ⁶⁾	GS ⁷⁾	TS ⁸⁾	ES ⁹⁾
Phenol ¹⁾	-0.819**	0.985**	0.917**	0.968**	-0.615*	0.658**	0.838**
Flavonoid ²⁾	-0.295	0.591*	0.831**	0.590*	0.046	0.632*	0.227

Asterisks indicate statistical significance at * $p \leq 0.05$, and ** $p \leq 0.01$. ¹⁾Phenol; Total phenolic content, ²⁾Flavonoid; Total flavonoid content, ³⁾DPPH; DPPH free radical scavenging activity, ⁴⁾TEAC; Trolox equivalent antioxidant capacity, ⁵⁾FRAP; Ferric reducing antioxidant power, ⁶⁾ORAC; Oxygen radical absorbance capacity, ⁷⁾GS; α -Glucosidase inhibitory activity, ⁸⁾TS; Tyrosinase inhibitory activity, ⁹⁾ES; Elastase inhibitory activity.

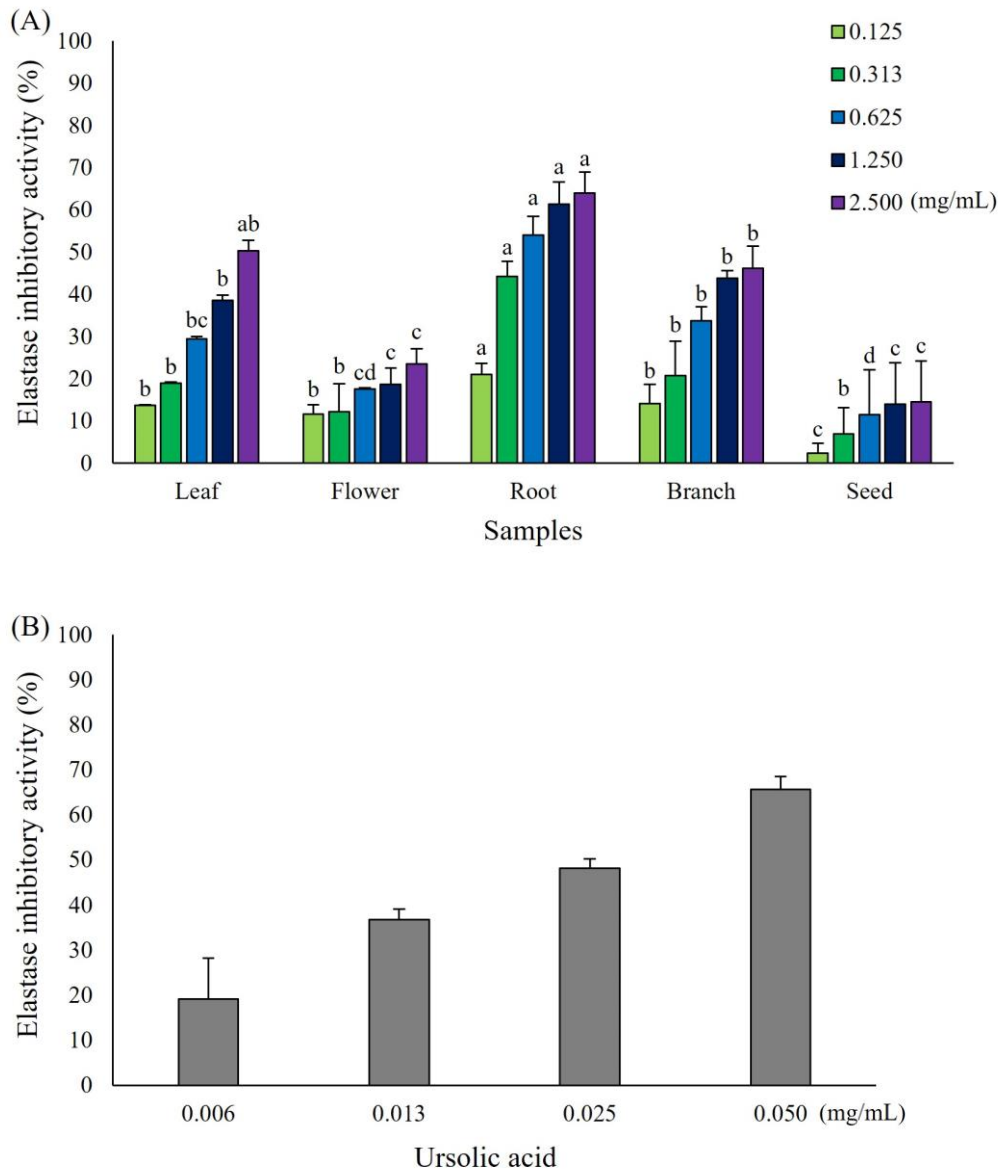


Fig. 5. Elastase inhibitory activity of extracts from the different parts of *C. sinensis*. Means with different letters (a - d) in the column are significantly different by Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$) as means \pm SD ($n = 3$).

8. 여드름 유발균에 대한 항균 활성

*P. acnes*는 혐기성 세균으로 피부의 피지나 각질이 쌓여서 피부 안이 혐기조건이 되면 그 수가 급격히 증가하게 되며 *P. acnes*에서 분비되는 lipase가 중성지방을 분해하고 유리지방산을 생성하여 염증반응 촉진을 통해 여드름 증상이 유발되는 것으로 알려져 있다(Higaki, 2003; Weon et al., 2011).

차나무 부위별 추출물의 여드름균 생육 억제환을 측정한 결과 씨를 제외한 모든 추출물에서 *P. acnes*균에 대한 억제 활성이 확인되었다(Table 13; Fig. 6).

차나무 잎, 뿌리에는 각각 22.7 mm, 21.0 mm로 양성대조군인 erythromycin (21.4 mm)과 유사한 항균 활성을 나타내었으며, 그 다음으로 가지(18.6 mm), 꽃(15.3 mm) 순서로 높은 활성이 확인되었다. Lee et al. (2009)의 연구에서 차나무 잎 추출물이 세균의 세포질막을 손상시켜 세포에 대한 세균의 접착력을 저해할 수 있으며 특정 병원성 박테리아에 대한 항부착 효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 이는 차나무 잎에 함유된 EGCG가 세균의 세포벽에 직접 부착하여 세포벽이나 세포질 효소, 막단백질 등을 손상시키는 원리에 기인하는 것으로 판단된다(Rahardiyan, 2019). 또한 같은 매커니즘으로 차나무 추출물이 *Pseudomonas fluorescens*, *B. subtilis* 등 피부 병원균에 대해 항균 활성을 나타낸다는 보고가 있다(Sharma et al., 2012).

Lee et al. (2020)의 연구에서 생강의 잎, 줄기, 뿌리를 70% 에탄올로 추출하여 *P. acnes*에 대한 저해 활성을 측정했을 때 본 실험과 유사하게 잎, 줄기, 뿌리의 부위에서 높은 항균 활성이 확인되었고, 본 연구에서 차나무 부위별 추출물의 총 페놀 및 항산화 활성이 잎, 뿌리, 가지, 꽃, 씨 순서로 확인되어, 본 실험의 경향과 일치함을 확인할 수 있었다.

Table 13. Antimicrobial activity against *P. acnes* of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	Mark	Clear zone (mm)
Leaf	A	22.70 ± 2.40 ^a
Branch	B	18.60 ± 1.80 ^{ab}
Flower	C	15.30 ± 1.50 ^b
Seed	D	ND ¹⁾
Root	E	21.00 ± 0.70 ^a
Solvent	N.C.	ND
Erythromycin	P.C.	21.40 ± 2.00 ^a

Values are means ± standard deviation (SD) ($n = 3$). *Means with different letters (a - b) in the column are significantly different as determined by Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾ND; Not detected, extract samples from different parts of *C. sinensis* are treated at 100 mg/mL and erythromycin is treated at 10 µg/mL.

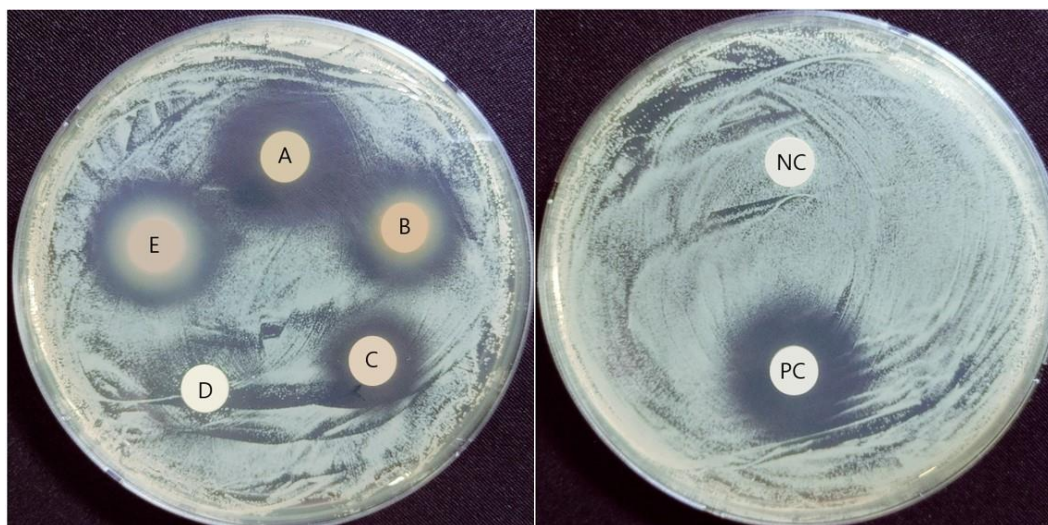


Fig. 6. The inhibition zone of extracts from the different parts of *C. sinensis* against *P. acnes*. A – E; Extraction samples (100 mg/mL) from the different parts [leaf (A), branch (B), flower (C), seed (D), and root (E)] of *C. sinensis*. NC; Solvent, PC; Erythromycin (10 µg/mL).

9. HPLC를 이용한 성분 분석

HPLC를 이용하여 차나무 부위별 추출물의 catechin류 화합물의 성분을 분석한 결과는 Table 14에 나타내었다.

총 5 종의 catechin 화합물을 표준물질로 선정하여 분석을 진행하였다(Zhao, 2003; Park et al., 2012). EGC와 EGCG는 모든 추출물에서 검출되었고 차나무 잎 추출물에서 각각 6.99 mg/g과 15.71 mg/g로 가장 높은 함량을 나타내었다. EC는 가지 추출물에서 4.00 mg/g으로 높은 값을 나타내었으며 씨 추출물에서는 확인되지 않았다. GCG는 뿌리에서 0.74 mg/g으로 높은 함량을 나타내었지만, 잎과 씨 추출물에서는 검출되지 않았으며, GC는 가지 추출물에서 3.02 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타내었다.

일반적으로 잎에서 가장 다양하고 많은 catechin 화합물을 함유하고 있다고 알려졌지만 본 실험에서는 잎 추출물에서 GCG는 검출되지 않았으며, 각 화합물의 함량에 따른 경향성은 EGCG > EGC > EC > GC 순서로 나타났는데 이는 Lee et al. (2015b)의 연구에서 나타난 경향성과 일치하였다. 또한 선행연구에서 확인된 차나무 catechin 화합물의 함량과 본 실험에서 나타난 차나무 추출물의 catechin 화합물 함량의 차이를 확인할 수 있었으며 이는 채취 시기 및 지역에 의해 발생한 것으로 생각한다(Lee and Lee, 2013; Lee et al., 2015b).

Table 14. Catechin compounds content of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

Parts	Catechin compounds (mg/g)				
	EGC ¹⁾	EC ²⁾	EGCG ³⁾	GCG ⁴⁾	GC ⁵⁾
Leaf	6.99 ± 0.95 ^a	3.88 ± 0.15 ^a	15.71 ± 0.50 ^a	ND ⁶⁾	2.04 ± 0.46 ^{ab}
Branch	0.88 ± 0.10 ^b	4.00 ± 0.75 ^a	0.51 ± 0.01 ^c	0.39 ± 0.09 ^a	3.02 ± 1.49 ^a
Flower	0.97 ± 0.31 ^b	2.08 ± 0.34 ^b	4.79 ± 1.11 ^b	0.14 ± 0.02 ^a	2.79 ± 0.47 ^a
Seed	0.28 ± 0.02 ^b	ND	0.12 ± 0.01 ^c	ND	0.22 ± 0.01 ^c
Root	0.30 ± 0.01 ^b	2.17 ± 0.80 ^b	0.22 ± 0.23 ^c	0.74 ± 0.46 ^a	0.53 ± 0.05 ^{bc}

*Means with different letters (a-c) in the same column are significantly different as determined by the Duncan Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). ¹⁾EGC; Epigallocatechin, ²⁾EC; Epicatechin, ³⁾EGCG; Epigallocatechin gallate, ⁴⁾GCG; Gallocatechin gallate, ⁵⁾GC; Gallocatechin. ⁶⁾ND; Not detected.

10. UVB 유도성 세포손상 보호능

1) 차나무 부위별 추출물의 피부 세포 독성

기능성 화장품 원료를 탐색하는 과정에서 우선적으로 고려해야 할 것은 피부를 구성하고 있는 세포종들에게 세포독성을 나타내지 않은 농도 범위를 선정해야 한다. 추출물의 피부 세포독성 범위를 측정하기 위해 CCK assay로 실제 피부 세포인 HaCaT 세포와 Detroit 세포를 배양하면서 차나무 부위별 추출물을 처리하였고 세포 성장 및 증식에 대한 영향을 조사하였다. CCK 용액의 기질인 water soluble tetrazolium salt (WST)는 미토콘드리아 전자전달계에 있는 탈수소효소(dehydrogenase)와 반응하여 환원되고, 황색의 수용성 formazan이라는 발색물질을 생성한다. 세포 탈수소효소에 의해 생성된 formazan은 살아있는 세포 수와 유의한 상관관계를 가지며, 이는 흡광도를 측정함으로써 알 수 있다(Cai et al., 2019).

차나무 부위별 추출물의 세포 생존율은 Fig. 7과 같은 수치로 나타내었다. 차나무 씨 추출물은 0.5 µg/mL - 1 µg/mL에서는 세포독성을 나타내지 않았고 2 µg/mL 농도에서는 HaCaT 세포와 Detroit 세포에서 각각 77.2%, 87.3%의 세포 생존율을 나타내었다. 뿌리 추출물에서는 1 µg/mL - 5 µg/mL에서는 세포독성을 보이지 않았으나 10 µg/mL 농도에서 HaCaT 세포와 Detroit 세포에서 78.2%, 43.2%로 세포 생존율이 낮아졌고, 나머지 부위별 추출물에서는 1 µg/mL - 10 µg/mL 농도에서 세포독성이 확인되지 않았다.

Choi et al. (2019)의 연구에서 오미자 종자 분획물과 EGCG의 HaCaT 세포에 대한 생존율은 10 µg/mL 농도에서 모두 40% 이하의 세포 생존율을 보여주어, 본 실험에서 사용한 차나무 부위별 추출물의 세포 생존율이 더 높은 것으로

확인되었다.

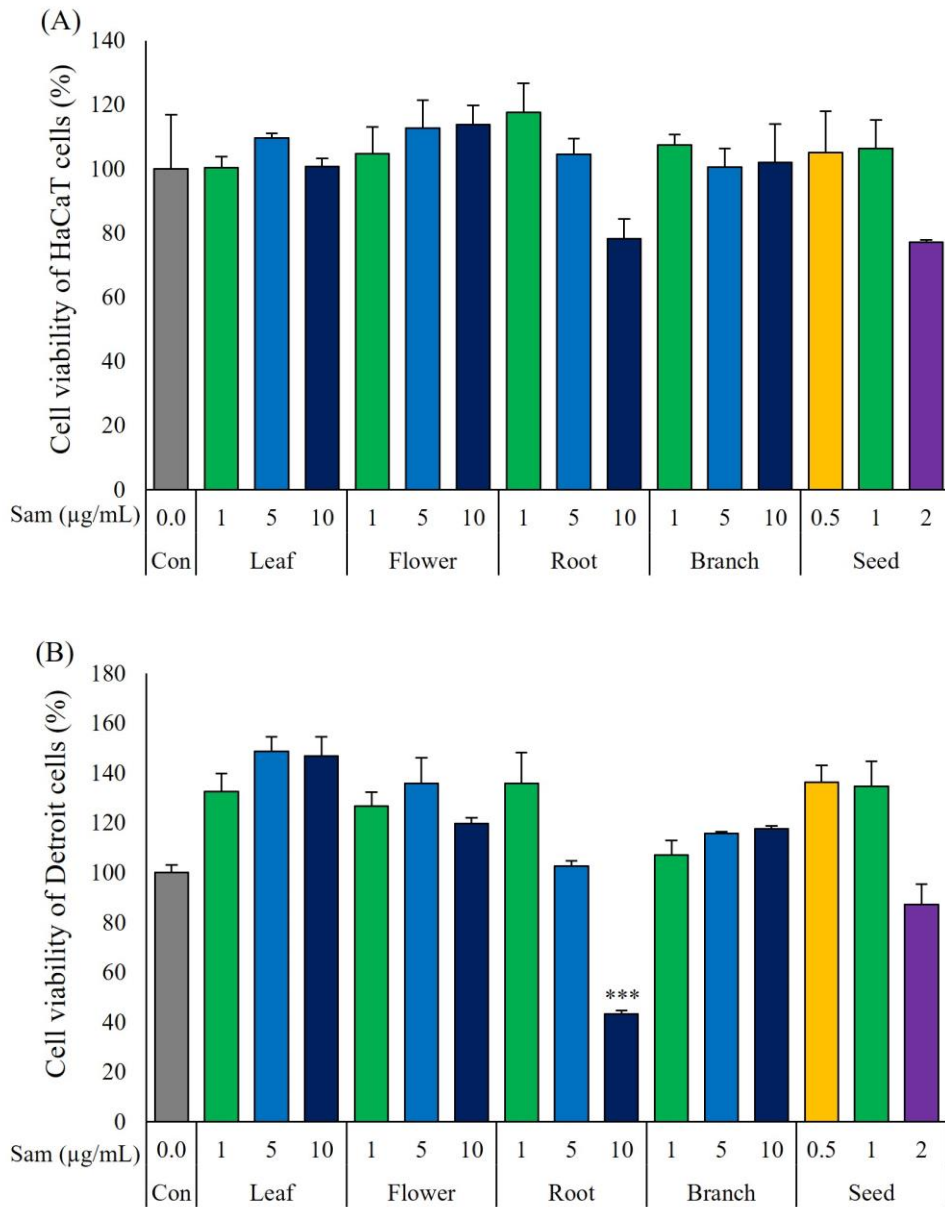


Fig. 7. Cell viability of HaCaT (A) and Detroit (B) cells of extracts from the different parts of *C. sinensis*. Con; Control, Significant difference compared with control by *t*-test as means \pm standard deviation (SD) ($n = 3$) (** $p < 0.001$).

2) UVB 유도성 세포손상 보호능

자외선(Ultraviolet, UV)은 햇빛에서 나오며 10 nm - 400 nm의 파장대를 가진 모든 전자기적 방사에너지를 말한다. 자외선에 과하게 노출 될 경우에는 피부노화, 피부암 등 피부 손상을 초래할 수 있다(Rittié and Fisher, 2002; Rigel, 2008). 자외선의 영역은 크게 UVA, UVB와 UVC로 나눌 수 있는데 UVC (200 nm - 280 nm)는 오존층에 의해 거의 흡수되지만 UVA (320 nm - 400 nm)와 UVB (280 nm - 320 nm)는 지표까지 도달해 생물체의 피부세포에 영향을 끼친다(Diffey, 2002). 특히 생물체 피부암의 90% 정도의 원인은 UVB로부터 유래한다고 알려져 있으며 UVB는 표피의 기저 세포층에 주로 작용하고 장기간 노출 시에는 피부주름, 피부암 등의 부작용을 유발한다(Imokawa and Ishida, 2015). 화장품 산업계에서 제품화와 연구의 주된 방향은 자외선을 차단하여 피부 노화, 주름 형성을 억제하기 위한 방법이 많이 진행되고 있으며 안정성이 떨어지고 부작용을 야기할 수 있는 합성 물질보다는 천연물에서 대체물질을 찾는 것이 중요한 키워드로 작용하고 있다.

HaCaT 세포에서 UVB 조사 후 차나무 부위별 추출물의 세포 생존율은 Fig. 8과 같은 수치로 확인되었다. HaCaT 세포에 UVB를 조사했을 경우 대조군의 생존율은 54%로 확인되었으며, 차나무 씨 추출물을 처리했을 경우에는 0.5 µg/mL - 2 µg/mL 농도에서 85.93% - 86.63%로 대조군 대비 생존율이 증가하였다. 나머지 추출물에서는 대조군보다 조금 더 높은 생존율을 보여주었으나 차나무 뿌리 추출물의 10 µg/mL 농도에서는 44.1%로 생존율이 감소하였다(Fig. 8A).

Detroit 세포에 UVB를 조사했을 경우 대조군의 생존율은 37.89%로 확인되었으며, 차나무 씨 추출물의 0.5 µg/mL 농도에서 59.11%로 생존율이

증가하였지만 1 $\mu\text{g/mL}$ 에서 53.90%, 2 $\mu\text{g/mL}$ 에서 37.77%로 농도가 증가함에 따라 생존율은 감소하는 경향을 나타내었다. 뿌리 추출물에서도 마찬가지로 1 $\mu\text{g/mL}$ 에서 46.75%로 증가하였지만 농도가 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ 으로 증가함에 따라 생존율은 감소하여 10 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 32.01%로 확인되었다. 잎 추출물에서는 모든 농도에서 44.15 - 46.46%로 대조군 대비 생존율이 증가하였으며, 꽃 추출물에서는 5 $\mu\text{g/mL}$ 에서 59.61%의 높은 생존율을 나타내었고 가지 추출물에서는 농도의존적으로 생존율이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 8B).

UVB에 의해 세포가 자극을 받으면 nitric oxide (NO)의 생산을 유발하고, 생성된 NO로 인하여 세포의 apoptosis가 일어난다. Lee et al. (2001)의 연구에서는 녹차의 주요 성분을 이루고 있는 catechin류 화합물이 세포의 apoptosis에 영향을 주었고 세포자살의 대표적인 특징인 DNA fragmentation이 생성되지 않아 UVB에 대해 보호 효과를 나타낸다고 하였으며, Wu et al. (2006)의 연구에서는 catechin이 UVB로 인해 생성된 H_2O_2 와 JNK 활성화를 억제하여 인간 각질세포의 생존율이 증가하였다고 보고하였다.

Park et al. (2006)의 연구에서 tannic acid는 산화 스트레스를 받은 HaCaT 세포에 대해 세포 보호 효과를 나타내고 UVB에 의해 발생한 p38 MAPK와 ERK 활성화를 모두 억제하여 HaCaT 세포에서 효과적인 항염효과를 보여주었는데, 차나무 씨에는 이러한 tannic acid 성분이 다량으로 들어있는 것이 확인되었다(Noh et al., 2011). 그 외에도 UVB를 처리한 마우스에 차나무 씨 추출물의 경구투여 시 콜라겐 밀도의 회복과 항산화 효소 활성을 나타내고 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), MMP-3, MMP-9의 UVB유도 발현을 감소시켜 UVB 조사에 의한 피부 광노화 및 주름 형성 방지에 효과적이라는 연구 결과가 있다(Lim et al., 2014). 본 실험을 통하여 차나무 부위별 추출물은 자외선으로부터

세포 보호 효과가 있음을 확인하였다.

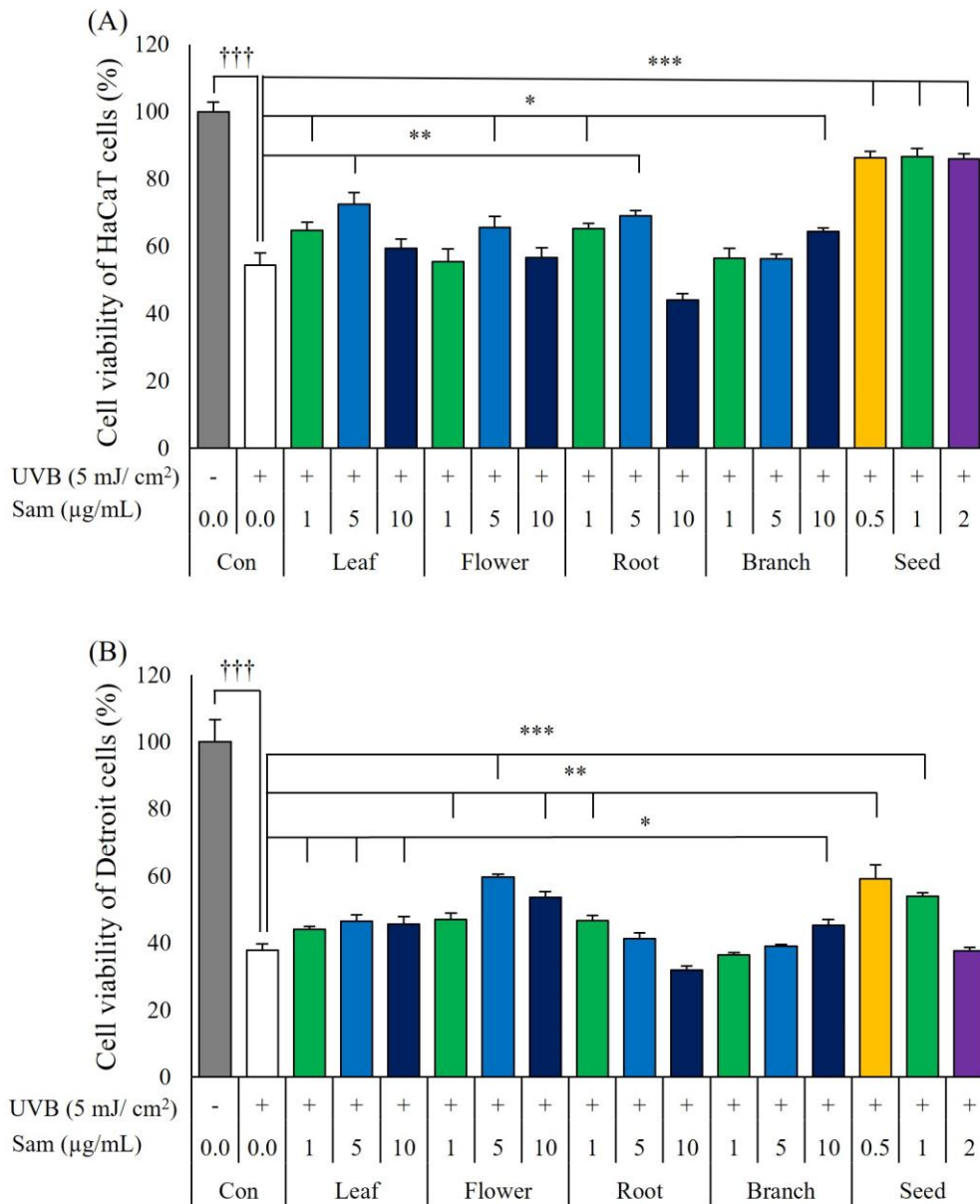


Fig. 8. Cell viability of UVB-induced cell damage in HaCaT (A) and Detroit (B) cells treated with extracts from the different parts of *C. sinensis*. Con: Control, Significant difference compared with control by *t*-test as means \pm SD ($n = 3$). * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) and *** ($p < 0.001$) represents the comparison between Con(+) and samples, and ††† ($p < 0.001$) represents the comparison between Con(+) and Con(-).

V. 결론

녹차는 전 세계적으로 섭취하는 대표적인 건강식품이다. 그만큼 많은 지역에서 차나무를 재배 및 생산하고 있으며 관련 식품, 화장품, 관광 등 여러 산업에 걸쳐서 이용되고 있지만, 주로 차나무 잎을 사용하고 있고 나머지 부위에 대해서는 대부분을 폐기하고 있는 실정이다. 본 연구에서는 차나무의 잎 뿐만 아니라 다른 부위의 활용 가능성을 확인하고자 잎, 가지, 꽃, 씨, 뿌리 등 차나무 5가지 부위에 대한 생리활성을 비교하였다. 차나무 부위별 70% EtOH 추출물을 제조하여 수율, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 항산화 활성(DPPH, TEAC, FRAP, ORAC), 효소 저해활성(α -glucosidase, tyrosinase, elastase), 여드름 유발균에 대한 항균 활성, HPLC 성분 분석, UVB 유도성 세포손상 보호능을 확인하였다(Fig. 9).

수율은 꽃과 잎에서 가장 높았으며 총 페놀 함량은 잎, 뿌리, 가지, 꽃, 씨 순서로 높은 경향을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 잎이 가장 높았고 나머지 부위에서는 유의적인 차이가 없었다. DPPH, TEAC, FRAP, ORAC 등 항산화 실험은 모두 총 페놀 함량과 유사한 경향성을 나타내었다. α -Glucosidase 저해활성은 활성이 나타나지 않은 씨를 제외한 모든 부위에서 혈당강하제인 acarbose 보다 높은 저해율을 보였으며 특히 뿌리에서 가장 높은 저해율을 나타내었다. Tyrosinase 저해 활성은 잎, 꽃, 뿌리에서 높게 나타났고, elastase 저해 활성은 뿌리, 잎, 가지에서 높은 저해율을 보여주었다. *P. acnes* 에 대한 항균 활성은 잎과 뿌리에서 높았고, 그 다음으로 가지, 꽃 순서로 저해 활성을 보여주었으며 씨에서는 항균 활성이 보이지 않았다. 항균 활성의 경향은 총 페놀 함량, 항산화 활성과 매우 유사하게 나타났다. HPLC 를 이용하여 catechin 화합물

함량을 확인해본 결과 EGC 와 EGCG 가 잎에 가장 많이 함유되어 있고, EC, GCG, GC 는 부위별로 다양하게 들어있음을 확인하였다. UVB 조사에 따른 세포손상 보호 효과는 HaCaT 세포에서 씨 추출물을 처리한 실험군이 매우 우수한 효능을 나타내었다. Detroit 세포에서는 추출물을 처리한 대부분의 실험군에서 생존율이 향상된 것을 확인할 수 있었으며, 특히 씨와 꽃에서 높은 생존율을 보여주었다.

본 실험의 결과를 종합하여 보았을 때 차나무 잎, 가지, 꽃, 씨, 뿌리는 각기 다른 다양한 생리활성과 성분을 가지고 있어서 건강기능식품, 화장품으로서의 이용 가치가 높을 것으로 판단된다.

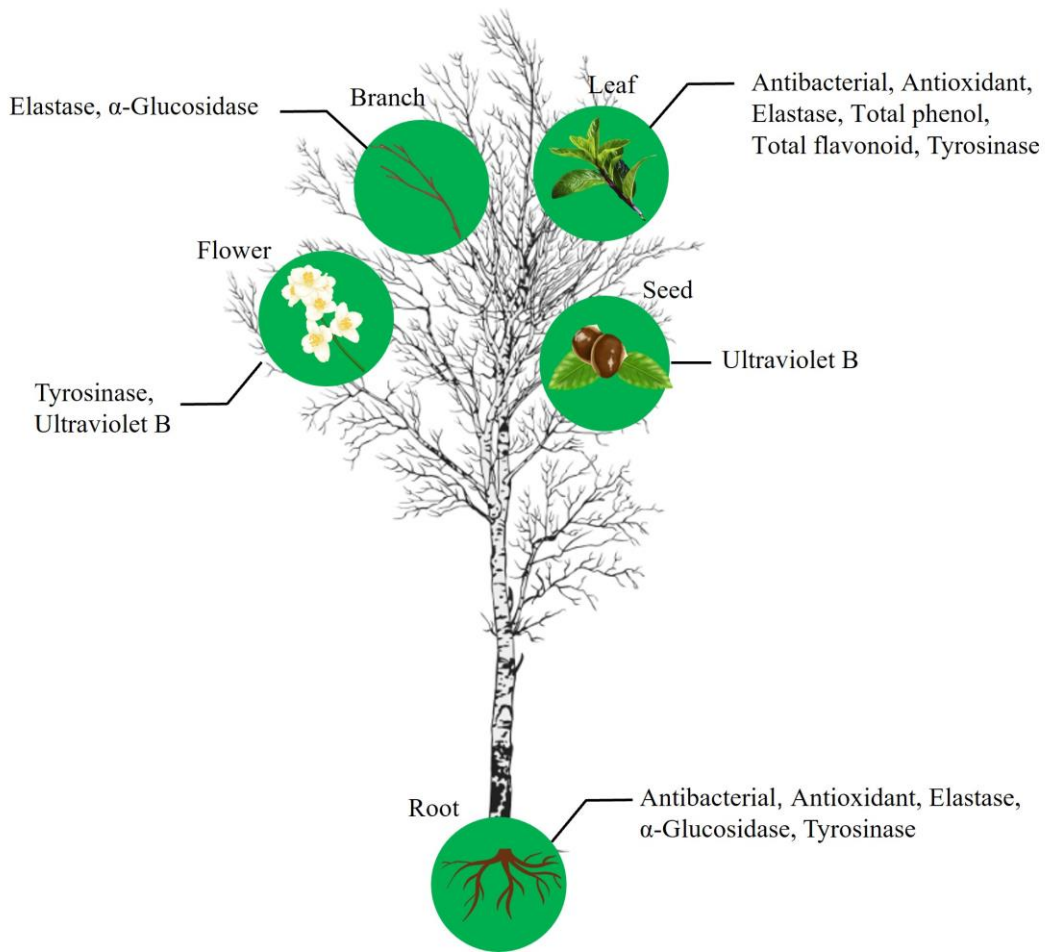


Fig. 9. Physicochemical properties of extracts from the different parts of *C. sinensis*.

인용문헌

- Akar, Z., Küçük, M., Doğan, H. 2017. A new colorimetric DPPH · scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32:640-647.
- Alfadda, A.A., Sallam, R.M. 2012. Reactive oxygen species in health and disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012.
- Ali, M.A., Fahad, S., Haider, I., Ahmed, N., Ahmad, S., Hussain, S., Arshad, M. 2019. Reactive oxygen, nitrogen and sulfur species in plants: Production, metabolism, signaling and defense mechanisms. Wiley-Blackwell. Hoboken, NJ, USA. p.353-370.
- Basu, S., Yudkin, J.S., Kehlenbrink, S., Davies, J.I., Wild, S.H., Lipska, K.J., Sussman, J.B., Beran, D. 2019. Estimation of global insulin use for type 2 diabetes, 2018–30: A microsimulation analysis. *The lancet Diabetes & Endocrinology*, 7:25-33.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of “antioxidant power” : The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70-76.
- Bian, S., Jiang, Y. 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 120:264-270.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:1199-1200.
- Bom, S., Jorge, J., Ribeiro, H.M., Marto, J. 2019. A step forward on sustainability in the cosmetics industry: A review. *Journal of Cleaner Production*, 225:270-290.
- Cabiscol Català, E., Tamarit Sumalla, J., Ros Salvador, J. 2000. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. *International Microbiology*, 2000, 3:3-8.

- Cai, L., Qin, X., Xu, Z., Song, Y., Jiang, H., Wu, Y., Ruan, H., Chen, J. 2019. Comparison of cytotoxicity evaluation of anticancer drugs between real-time cell analysis and CCK-8 method. *ACS Omega*, 4:12036-12042.
- Cao, G., Alessio, H.M., Cutler, R.G. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14:303-311.
- Cha, W.S., Cho, M.J., Ding, J.L., Shin, H.J. 2008. Nutritional component analysis of green tea tree's root and seed. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 23:387-391.
- Chacko, S.M., Thambi, P.T., Kuttan, R., Nishigaki, I. 2010. Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine*, 5:13.
- Chaikul, P., Sripisut, T., Chanpirom, S., Ditthawutthikul, N. 2020. Anti-skin aging activities of green tea(*Camellia sinensis*(L) Kuntze) in B16F10 melanoma cells and human skin fibroblasts. *European Journal of Integrative Medicine*, 40:101212.
- Chen, D., Chen, G., Sun, Y., Zeng, X., Ye, H. 2020. Physiological genetics, chemical composition, health benefits and toxicology of tea(*Camellia sinensis* L.) flower: A review. *Food Research International*, 137:109584.
- Chen, Y., Zhou, Y., Zeng, L., Dong, F., Tu, Y., Yang, Z. 2018. Occurrence of functional molecules in the flowers of tea(*Camellia sinensis*) plants: Evidence for a second resource. *Molecules*, 23:790.
- Cho, E., Kim, H.W., Oh, C.J., Oh, D.S., Kim, J. 2020. A study of antioxidant and antitumor activity of *Mallotus japonicus* bark extracts with different solvents. *Journal of Advanced Engineering and Technology*, 132:95-100.
- Choi, E.Y., Sohn, H.Y., Lee, J.T. 2019. The antioxidant and anti-aging effects of treatment with *Schisandra chinensis* seeds fractions in UVB-irradiated human HaCaT cells. *Journal of Life Science*, 29:1071-1079.
- Choi, S.H., Kwon, H.C., An, D.J., Park, J.R., Oh, D.H. 2003. Nitrite contents and storage

properties of sausage added with green tea powder. Food Science of Animal Resources, 23:299-308.

Choi, S.R., Kim, Y.G., Kim, H.M., Ko, J.A., Seo, B.S., Kim, Y.S., Song, E.J., Seo, K.W.

2011. Physiological activities of methanol extracts from *Camellia sinensis* L. by harvesting parts. Journal of the Korean Tea Society, 17:48-55.

Choi, Y., Kim, E., Kim, H. 2020. Physicochemical and antioxidant properties of cookies

prepared using powders of barley sprout, lemon balm, and green tea. Journal of the Korean Society of Food Culture, 35:459-466.

Choudhury, H., Pandey, M., Hua, C.K., Mun, C.S., Jing, J.K., Kong, L., Ern, L.Y., Ashraf,

N.A., Kit, S.W., Yee, T.S., Pichika, M.R., Gorain, B., Kesharwani, P. 2018. An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 8:361-376.

Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in

Biotechnology, 23:174-181.

De amorim, L. M. N., Vaz, S. R., Cesário, G., Coelho, A. S. G., Botelho, P. B. 2018. Effect

of green tea extract on bone mass and body composition in individuals with diabetes. Journal of Functional Foods, 40:589-594.

Derosa, G., Maffioli, P. 2012. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice.

Archives of Medical Science, 8:899-906.

Diffey, B.L. 2002. Sources and measurement of ultraviolet radiation. Methods, 28:4-13.

Dissanayake, C.Y., Moon, H.H., Yang, K.M., Lee, Y., Han, C.H. 2018. The effects of green

tea(*Camellia sinensis*) flower extract on melanin synthesis in B16-F10 melanoma cells. Korean Journal of Veterinary Research, 58:65-72.

Djamil, R., Putri, Y.E. 2018. Determination of quality parameters, toxicity test, antioxidant

activity, and α -glucosidase inhibitory activity of 70% ethanol extract bungur leaves(*Lagerstroemia speciosa* L. Pers.). Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical

Research, 11:217-221.

Forester, S.C., Lambert, J.D. 2011. The role of antioxidant versus pro-oxidant effects of green tea polyphenols in cancer prevention. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55:844-854.

Gani, A., Wani, S.M., Masoodi, F.A., Hameed, G. 2012. Whole-grain cereal bioactive compounds and their health benefits: A review. *Journal of Food Processing and Technology*, 3:146-156.

Hajiaghaalipour, F., Kanthimathi, M.S., Abdulla, M.A., Sanusi, J. 2013. The effect of *Camellia sinensis* on wound healing potential in an animal model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S.S., Fujita, M. 2013. Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*. Wiley-Blackwell. Hoboken, NJ, USA. p.209-250.

Higaki, S. 2003. Lipase inhibitors for the treatment of acne. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 22:377-384.

Hong, H.J., Choi, J.H., Choi, K.H., Choi, S.W., Rhee, S.J. 1999. Quality changes of Sulgiduk added green tea powder during storage. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 28:1064-1068.

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M.C., Rahu, N. 2016. Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016:7432797.

Hwang, E.S., Park, T.Y. 2021. Quality characteristics, antioxidant activity, and acrylamide content of cookies made with powdered green tea. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 50:1082-1090.

Imokawa, G., Ishida, K. 2015. Biological mechanisms underlying the ultraviolet radiation-induced formation of skin wrinkling and sagging I: Reduced skin elasticity, highly

- associated with enhanced dermal elastase activity, triggers wrinkling and sagging. *International Journal of Molecular Sciences*, 16:7753-7775.
- Jang, Y.J., Leem, H.H., Jeon, Y.H., Lee, D.H., Choi, S.W. 2015. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from *Morus* root bark. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 44:1090-1099.
- Jiang, C.B., Chang, M.J., Wen, C.L., Yi-Pei, L.I.N., Hsu, F.L. 2006. Natural products of cosmetics analysis of extracts of plants endemic to Taiwan for the presence of tyrosinase-inhibitory, melanin-reducing, and free radical scavenging activities. *Journal of Food and Drug Analysis*, 14:346-352.
- Josse, R.G., Chiasson, J.L., Ryan, E.A., Lau, D.C.W., Ross, S.A., Yale, J.F., Leiter, L.A., Maheux, P., Tessier, D., Wolever, T.M.S., Gerstein, H., Rodger, N.W., Dornan, J.M., Murphy, L.J., Rabasa-Lhoret, R., Meneilly, G.S. 2003. Acarbose in the treatment of elderly patients with type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 59:37-42.
- Kang, H.W. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory effect of extracts from *Flammulina velutipes*(Curtis) Singer. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 41:1072-1078.
- Khan, N., Mukhtar, H. 2007. Tea polyphenols for health promotion. *Life Sciences*, 81:519-533.
- Kim, D., Park, N.H., Hwang, J.A., Kim, J., Na, Y.J., Hwang, J.S., Lee, C.S., Yang, D.C. 2019. *Camellia sinensis* leaf extracts lacking catechins exert depigmentary effects through ERK-dependent, MiTF-mediated tyrosinase downregulation in melan-a cells and a human skin equivalent. *Archives of Biological Sciences*, 71:483-488.
- Kim, E.Y., Baik, I.H., Kim, J.H., Kim, S.R., Rhyu, M.R. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 36:333-338.
- Kim, J.H., Lee, S.Y., Park, J.M., Park, J.H., Kwon, O.J., Lee, J.Y. 2014a. Antioxidant

- activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Juniperus rigida* Sieb extracts. Korean Journal of Food Preservation, 21:396-403.
- Kim, J.S., Lee, J., Seo, S.G., Lee, C., Woo, S.Y., Kim, S.H. 2015. Gene expression profile affected by volatiles of new plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* strain JS, in tobacco. Genes and Genomics, 37:387-397.
- Kim, N., Choi, M.H., Park, G.S., Shin, H.J. 2021a. Analysis of antioxidant activity and component contents of *Aurea helianthus* flower extracts with different extraction methods. Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal, 36:130-138.
- Kim, S.G., Jeong, H., Im, A.E., Yang, K.Y., Choi, Y.S., Nam, S.H. 2021b. Production of green tea jelly using theanine and its physiochemical characterization. Korean Journal of Food Science and Technology, 53:553-560.
- Kim, S.H., Lee, M.H., Jeong, Y.J. 2014b. Current trends and development substitute tea and plan in the Korean green tea industry. Food Industry and Nutrition, 19:20-25.
- Kim, S.W., Cha, G.H. 2013. Famine relief during the late Chosun dynasty in 『Limwomgyungjeji』 『Injeji』. Journal of the Korean Society of Food Culture, 28:213-233.
- Kim, S.Y., Paek, S.H., Lee, S.Y., Song, J.H., Kim, J.Y., Lee, J.H., Anti-oxidant, anti-inflammation, and moisturizing effect of callus derived the fragrant roses (wongyo D1-409). Korean Society of Cosmetics and Cosmetology. 12:187-195.
- Kim, Y.H., Kim, W.S., Kim, J.M., Choi, S.I., Jung, T.D., Lee, J.H., Kim, J.D., Lim, J.K., Lee OH. 2016. Optimization of extraction conditions for mixture of *Camellia sinensis* L. and *Artemisia argyi* by response surface methodology. Journal of Food Hygiene and Safety, 31:278-285.
- Ko, H.M., Eom, T.K., Kim, K.C., Yoo, J.H., Lim, J.D., Yoo, C.Y., Kim, J.S. 2018. Biological activity investigation of supercritical fluid extract of fermented mountain

- ginseng adventitious root. *Journal of Advanced Engineering and Technology*, 11:115-121.
- Ko, H.M., Eom, T.K., Song, S.K., Jo, G.Y., Kim, J.S. 2017. Tyrosinase and α -glucosidase inhibitory activities and antioxidant effects of extracts from different parts of *Hypochaeris radicata*. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 25:139-145.
- Korkmaz, N., Sener, S.O., Akkaya, S., Badem, M., Aliyazicioglu, R., Abudayyak, M., Oztas, E., Ozgen, U. 2019. Investigation of antioxidant, cytotoxic, tyrosinase inhibitory activities, and phenolic profiles of green, white, and black teas. *Turkish Journal of Biochemistry*, 44:278-288.
- Kwak, Y.J., Lee, D.H., Kim, N.M., Lee, J.S. 2005. Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 13:213-216.
- Lareen, A., Burton, F., Schäfer, P. 2016. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes. *Plant Molecular Biology*, 90:575-587.
- Lee, E.H., Lee, J.K., Hong, J.T., Jung, K.M., Kim, Y.K., Lee, S.H., Chung, S.Y., Lee, Y.W. 2001. Protective effect of green tea extract, catechin on UVB-induced skin damage. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 16:117-124.
- Lee, J.H., Shim, J.S., Chung, M.S., Lim, S.T., Kim, K.H. 2009. *In vitro* anti-adhesive activity of green tea extract against pathogen adhesion. *Phytotherapy Research*, 23:460-466.
- Lee, K.E., Lee, E.S., Kang, S.G. 2015a. Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of the extract mixtures of *Perilla frutescens*, *Houttuynia cordata* and *Camellia sinensis*. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 41:173-180.
- Lee, K.O., Kim, S.N., Kim, Y.C. 2014. Anti-wrinkle effects of water extracts of teas in hairless mouse. *Toxicology Research*, 30:283-289.
- Lee, K.W., Hong, J.H., Chung, S.H., Kim, Y.K., Park, S., Park, S.I., Shin, M.S. 2021. Wrinkle improvement, whitening effect of boseong *Camellia sinensis* vacuum distilled

extract and antioxidant, antibacterial efficacy of its hydrothermal extract. *The Journal of the Convergence on Culture Technology*, 7:845-855.

Lee, L.S., Kim, S.H., Park, J.D., Kim, Y.B., Kim, Y.C. 2015b. Physicochemical properties and antioxidant activities of loose-leaf green tea commercially available in Korea. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 47:419-424.

Lee, M.H., Lee, S.U. 2013. Analysis by HPLC of catechins, alkaloids and antioxidant activities in Hadong green tea leaves. *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, 30:761-769.

Lee, M.J., Hwang, E.S. 2016. Quality characteristics and antioxidant activity of rice sponge cake with added green tea powder. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 48:354-360.

Lee, M.S., Im, H.J., Jeong, H.S., Cho, H.J., Woo, H.S., Oh, Y.J., Lee, S.I., Kim, H.C., Ahn, K.W., Kim, Y.S., Kim, D.W. 2019. Quantitative determination of marker compounds in the extracts of *Camellia sinensis* L. sub-branches(residual products) by HPLC. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 27:24-29.

Lee, Y.S., Kang, Y.J., Ryu, M.J. 2020. Antibacterial effect and deodorization effect of extracts from different parts of *Zingiber officinale*. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 18:521-531.

Lim, J.Y., Kim, O.K., Lee, J., Lee, M.J., Kang, N., Hwang, J.K. 2014. Protective effect of the standardized green tea seed extract on UVB-induced skin photoaging in hairless mice. *Nutrition Research and Practice*, 8:398-403.

Lin, J., Della-Fera, M.A., Baile, C.A. 2005. Green tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits adipogenesis and induces apoptosis in 3T3-L1 adipocytes. *Obesity Research*, 13:982-990.

Lin, Y.S., Wu, S.S., Lin, J.K. 2003. Determination of tea polyphenols and caffeine in tea flowers(*Camellia sinensis*) and their hydroxyl radical scavenging and nitric oxide

- suppressing effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:975-980.
- Malinowska, P. 2013. Effect of flavonoids content on antioxidant activity of commercial cosmetic plant extracts. *Herba Polonica*, 59
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79:727-747.
- Min, M.J., Choi, M.H., Kim, G.C., Shin, H.J. 2013. Damage prevention effect of green tea seed oil on colored and decolored hair. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 28:287-294.
- Mittler, R. 2017. ROS are good. *Trends in Plant Science*. 22:11-19.
- Moore, R.J., Jackson, K.G., Minihane, A.M. 2009. Green tea(*Camellia sinensis*) catechins and vascular function. *British Journal of Nutrition*, 102:1790-1802.
- Na, H.W., Lee, Y., Park, J.S., Lee, T.R., Kim, H.J. 2018. Green tea root is a potential natural surfactant and is protective against the detrimental stimulant PM2.5 in human normal epidermal keratinocytes. *Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 44:67-72.
- Nerya, O., Ben-Arie, R., Luzzatto, T., Musa, R., Khativ, S., Vaya, J. 2006. Prevention of *Agaricus bisporus* postharvest browning with tyrosinase inhibitors. *Postharvest Biology and Technology*, 39:272-277.
- Nimse, S.B., Pal, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5:27986-28006.
- Noh, K.H., Jang, J.H., Min, K.H., Chinzorig, R., Lee, M.O., Song, Y.S. 2011. Suppressive effect of green tea seed coat ethyl acetate fraction on inflammation and its mechanism in RAW 264. 7 macrophage cell. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40:625-634.
- Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M.C., Brunton, N., Gibney, E.R., Lyng, J. 2021. Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chemistry*, 338:128119.

- Park, H.J., Kim, H.J., Kwon, H.J., Lee, J.Y., Cho, B.K., Lee, W.J., Yang, Y., Cho, D.H. 2006. UVB-induced interleukin-18 production is downregulated by tannic acids in human HaCaT keratinocytes. *Experimental Dermatology*, 15:589-595.
- Park, J.H., Cho, M.H., Lee, K.H. 2018. A cross-cultural study of Korean · Chinese · Japanese consumer perceptions about green tea quality attributes and their consumption behavior. *International Journal of Tourism and Hospitality Research*, 32:251-266.
- Park, J.H., Jeong, H.Y., Cho, J.Y., Moon, J.H. 2017. Antioxidative activity of laver snack prepared with addition of green tea extract. *Journal of the Korean Tea Society*, 23:35-41.
- Park, M.S., Jeong, B.R., Bahk, G.J. 2015. Antioxidant activity and cytotoxicity of ethanol extracts from different parts of *Taraxacum coreanum* Nakai cultivated in South Korea. *Korean Journal of Food and Nutrition*, 28:594-601.
- Park, S.B., Han, B.K., Oh, Y.J., Lee, S.J., Cha, S.K., Park, Y.S., Choi, H.J. 2012. Bioconversion of green tea extract using lactic acid bacteria. *Food Engineering Progress*. 16:26-32.
- Park, Y.G. 2007. Strategy of gene conservation of *Camellia sinensis* in Korea. *Journal of Korean Tea Society*, 13:125-140.
- Park, Y.H., Won, E.K., Son, D.J. 2002. Effect of pH on the stability of green tea catechins. *Journal of Food Hygiene and Safety*. 17:117-123.
- Priani, S.E., Fakhri, T.M. 2021. Insights into molecular interaction of flavonoid compounds in citrus peel bound to collagenase and elastase enzymes: A computational study. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 8:5.
- Prota, G. 1980. Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. *Journal of Investigative Dermatology*, 75:122-127.
- Rahardiyan, D. 2019. Antibacterial potential of catechin of tea(*Camellia sinensis*) and its applications. *Food Research*, 3:1-6.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26:1231-1237.
- Rigel, D.S. 2008. Cutaneous ultraviolet exposure and its relationship to the development of skin cancer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58:S129-S132.
- Rittié, L., Fisher, G.J. 2002. UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Research Reviews*, 1:705-720.
- Rosak, C., Mertes, G. 2012. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: Patient considerations. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 5:357-367.
- Sanz, V., Flórez-Fernández, N., Domínguez, H., Torres, M.D. 2020. Valorisation of *Camellia sinensis* branches as a raw product with green technology extraction methods. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 2:20-24.
- Schaich, K.M., Tian, X., Xie, J. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*. 14:111-125.
- Serin, H., Ozcanli, M., Kemal Gokce, M., Tuccar, G. 2013. Biodiesel production from tea seed(*Camellia Sinensis*) oil and its blends with diesel fuel. *International Journal of Green Energy*, 10:370-377.
- Sharma, A., Gupta, S., Sarethy, I.P., Dang, S., Gabrani, R. 2012. Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food Research*, 135:672-675.
- Shin, H., Jeong, H., Hwang, D., Kim, D. 2014. *Cudrania tricuspidata* root extract as whitening and antiwrinkle cosmetic agent. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 52:701-705.
- Shirzad, M., Hamed, J., Motevaseli, E., Modarressi, M.H. 2018. Anti-elastase and anti-collagenase potential of Lactobacilli exopolysaccharides on human fibroblast. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46:1051-1061.

- Singla, R.K., Dubey, A.K., Garg, A., Sharma, R.K., Fiorino, M., Ameen, S.M., Haddad, M.A., Al-Hiary, M. 2019. Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102:1397-1400.
- Sud, R.G., Baru, A. 2000. Seasonal variations in theaflavins, thearubigins, total colour and brightness of Kangra orthodox tea (*Camellia sinensis* (L) O Kuntze) in Himachal Pradesh. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80:1291-1299.
- Sur, P., Chaudhuri, T., Vedasiromoni, J.R., Gomes, A., Ganguly, D.K. 2001. Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea [*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze] root extract. *Phytotherapy Research*, 15:174-176.
- Tang, G., Xu, Y., Zhang, C., Wang, N., Li, H., Feng, Y. 2021. Green tea and epigallocatechin gallate(EGCG) for the management of nonalcoholic fatty liver diseases (NAFLD): Insights into the role of oxidative stress and antioxidant mechanism. *Antioxidants*, 10:1076.
- Teo, Z.L., Tham, Y.C., Yu, M., Chee, M.L., Cheung, N., Bikbov, M.M., Wang, Y.X., Tang, Y., Lu, Y., Wong, L.Y., Ting, D.S.W., Tan, G.S.W., Jonas, J.B., Sabanayagam, C., Wong, T.Y., Cheng, C.Y. 2021. Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: Systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*, 128:1580-1591.
- Thitimuta, S., Pithayanukul, P., Nithitanakool, S., Bavovada, R., Leanpolchareanchai, J., Saparpakorn, P. 2017. *Camellia sinensis* L. extract and its potential beneficial effects in antioxidant, anti-inflammatory, anti-hepatotoxic, and anti-tyrosinase activities. *Molecules*, 22:401.
- Thring, T.S., Hili, P., Naughton, D.P. 2009. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9:1-11.
- Tripathi, D.K., Singh, V.P., Kumar, D., Chauhan, D.K. 2012. Rice seedlings under cadmium

- stress: Effect of silicon on growth, cadmium uptake, oxidative stress, antioxidant capacity and root and leaf structures. *Chemistry and Ecology*, 28:281-291.
- Tsuneki, H., Ishizuka, M., Terasawa, M., Wu, J.B., Sasaoka, T., Kimura, I. 2004. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic(db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. *BMC Pharmacology*, 4:1-10.
- Tu, P.T.B., Tawata, S. 2015. Anti-oxidant, anti-aging, and anti-melanogenic properties of the essential oils from two varieties of *Alpinia zerumbet*. *Molecules*, 20:16723-16740.
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M.S., Moyá, M.L., Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71:230-235.
- Vuong, Q.V. 2014. Epidemiological evidence linking tea consumption to human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54:523-536.
- Waltner-Law, M.E., Wang, X.L., Law, B.K., Hall, R.K., Nawano, M., Granner, D.K. 2002. Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *Journal of Biological Chemistry*, 277:34933-34940.
- Wang, L., Lee, W., Cui, Y.R., Ahn, G., Jeon, Y.J. 2019. Protective effect of green tea catechin against urban fine dust particle-induced skin aging by regulation of NF- κ B, AP-1, and MAPKs signaling pathways. *Environmental Pollution*, 252:1318-1324.
- Weon, J.B., Ahn, J.H., Ma, C.J. 2011. Antibacterial activity of some medicinal plants against *Propionibacterium acnes*. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 42:98-101.
- Woo, H.G., Lee, C.M., Jeong, J.H., Choi, B.K., Huh, C.K. 2021. Quality characteristics of kombucha made with different mixing ratios of green tea extract and yuzu juice during fermentation. *Korean Journal of Food Preservation*, 28:646-653.
- Wu, W.B., Chiang, H.S., Fang, J.Y., Chen, S.K., Huang, C.C., Hung, C.F. 2006. (+)-Catechin prevents ultraviolet B-induced human keratinocyte death via inhibition of JNK phosphorylation. *Life Sciences*, 79:801-807.

- Yahaya, L.E., Adebowale, K.O., Olu-Owolabi, B.I., Menon, A.R.R. 2011. Compositional analysis of tea(*Camellia sinensis*) seed oil and its application. *International Journal of Research in Chemistry and Environment*, 1:153-158.
- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., Li, F. 2020. Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*, 6:115-123.
- Yang, E.J., Seon, Y.K., Wee, J.H. 2016. Extraction yield and anti-yeast activity of extract from green tea seeds by pretreatment and extraction conditions. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 45:1351-1357.
- Yang, Z., Tu, Y., Baldermann, S., Dong, F., Xu, Y., Watanabe, N. 2009. Isolation and identification of compounds from the ethanolic extract of flowers of the tea(*Camellia sinensis*) plant and their contribution to the antioxidant capacity. *LWT-Food Science and Technology*, 42:1439-1443.
- Yao, L., Jiang, Y., Datta, N., Singanusong, R., Liu, X., Duan, J., Rayment, K., Lisle, A., Xu, Y. 2004. HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea(*Camellia sinensis*) grown in Australia. *Food Chemistry*, 84:253-263.
- Yeo, S.G., Yeum, D.M., Lee, D.H., Ahn, C.W., Kim, S.B., Park, Y.H. 1994. The nitrite-scavenging effects by component of green tea extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 23:287-292.
- Yoneda, Y., Kuramoto, N., Kawada, K. 2019. The role of glutamine in neurogenesis promoted by the green tea amino acid theanine in neural progenitor cells for brain health. *Neurochemistry International*, 129:104505.
- Yoo, H.J. 2012. Pharmacotherapy for postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes. *Journal of Korean Diabetes*, 13:39-43.
- Yoo, K.M., Kim, D.O., Lee, C.Y. 2007. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Science and Biotechnology*, 16:177-182.
- Yoon, W.H., Choi, J.H., Lee, K.H., Kim, C.H. 2005. Antimicrobial and antitumor activities

- of seed extracts of *Camellia sinensis* L. Korean Journal of Food Science and Technology, 37:108-112.
- Yoshikawa, M., Morikawa, T., Yamamoto, K., Kato, Y., Nagatomo, A., Matsuda, H. 2005. Floratheasaponins A– C, acylated oleanane-type triterpene oligoglycosides with anti-hyperlipidemic activities from flowers of the tea plant(*Camellia sinensis*). Journal of Natural Products, 68:1360-1365.
- You, J.K., Chung, M.J., Kim, D.J., Seo, D.J., Park, J.H., Kim, T.W., Choe, M. 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of *Paeonia suffruticosa* water extract. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 38:292-296.
- Zhang, L., Li, M., Li, X., Yan, P., Zhang, L., Han, W. 2021. Summer pruning improves the branch growth and tea quality of tea trees(*Camellia sinensis*). Acta Physiologiae Plantarum, 43:1-12.
- Zhao, B. 2003. Antioxidant effects of green tea polyphenols. Chinese Science Bulletin, 48:315-319.
- Zulueta, A., Esteve, M.J., Frígola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chemistry, 114:310-316.
- Zuo, L., Zhou, T., Pannell, B.K., Ziegler, A.C., Best, T.M. 2015. Biological and physiological role of reactive oxygen species—the good, the bad and the ugly. Acta Physiologica, 214:329-348.
- 식품의약품안전처. 2022. 건강기능식품 매출액, 국내 판매액 및 수출액 – 연도별, 품목별: 2012-2020. https://www.mfds.go.kr/wpge/m_310/de01060310001.do (cited by 2022 November 02).
- 한국보건산업진흥원. 2020. 2020년 화장품산업 분석 보고서. p.12. <https://www.khidi.or.kr/board/view?pageNum=1&rowCnt=10&no1=776&linkId=48857409&menuId=MENU00085&maxIndex=004885740999998&minIndex=00002145679998&>

schType=0&schText=&schStartDate=&schEndDate=&boardStyle=&categoryId=&contin
ent=&country= (cited by 2022 November 02).

감사의 글

어릴 적 아버지께서는 약초꾼 생활을 하셨었다. 제주도 외진 곳에서 작고 허름한 오두막집을 직접 지으시고 거기서 가족이 생활했던 것이 기억이 난다. 집에는 제대로 된 화장실조차 없었고 먹을 것이 풍족하지 않아 학교를 가지 않는 날에는 아버지와 같이 약초 캐러 다녔었다. 그 어린 나이에는 가난이라는 것이 마음에 와 닿지 않았으며 초등학교 장래희망을 누가 물어보면 나중에 커서 약초꾼이 될 거라고 말했고, 때문에 친구들이 놀리곤 했지만 그건 개의치 않았다. 그 어려운 생활을 하던 와중에 강아지도 몇 마리 키웠었다. 그래서 산에 고사리 꺾으러 다니는 걸 좋아하시는 외할머니께서는 강아지들을 데리고 아침에 나가서 해 질 녘 무렵에 돌아오곤 하셨었다. 고사리 꺾으러 나가실 때마다 강아지들도 신난 듯이 외할머니를 따라서 나가곤 했는데, 어느 날은 깊은 곳에 들어가셨다가 나오는 길을 잃어버리신 적이 있다. 그 때 강아지가 앞서가면서 자꾸 뒤돌아보길래 외할머니께서 강아지를 따라가셨고 집을 쉽게 찾아오신 적이 있다. 이 일은 평생 잊지 못할 것 같다. 어떤 날은 아버지께서 산에 가셨다가 밤 늦은 시각에 내려오신 적이 있다. 내려올 당시 숲 속에서 여자 웃음 소리가 들렸다고 하셨다. 귀신의 소리인가 싶어 그 순간이 너무 무서워서 얼른 도망 가야겠다고 생각하셨는데, 이윽고 ‘내가 여기서 도망치면 다시는 산에 올라오지 못한다. 내가 이 일을 계속 할려면 아무리 무서워도 직접 가서 저게 무엇인지 확인을 해야 한다’ 라는 생각으로 두려움을 무릅쓰고 가서 확인을 하셨다고 한다. 정말로 너무나 존경스럽다. 자신의 가치관과 직업을 지키기 위해 그 순간의 두려움을 극복하고 맞서 싸우셨다는 것이 너무 대단하다고 생각한다. 아버지께서 직접 가서 소리의 근원을 확인해보니 작은 나무가 서로 얽혀서 가지끼리 마찰로 인해

나는 소리였다고 한다. 무섭고 두렵다고 생각하는 일도 막상 가서 확인해보면 그리 두려워할 일은 아닌 것 같다. 그렇게 시간은 흘러 약초꾼의 생활을 하며 나는 20대 초반의 나이가 되었다. 군대를 전역하고 앞으로 어떤 것을 해야 할지에 대해 정말 많은 고민을 했다. 고민과 생각이 너무 많아서 어떤 날은 늦은 밤에 혼자 나와서 다음 날까지 하루 종일 걸었던 적도 있다. 제주시에서 서귀포까지 쉬지 않고 밤에 혼자 걸었었는데, 아무리 고민을 하고 생각을 해봐도 인생이라는 것은 답을 주지 않았다. 그래서 내가 할 수 있는 일에는 어떤 일이든지 최선을 다하자는 생각을 했고, 아버지 사업을 도와드리면서 학업에 열중하자는 다짐을 했다. 이후 약초를 캐서 약재상이나 오일장에 팔았던 생활은 점차 성장하여 나중에는 연구소를 설립하게 되었다. 차근차근 화장품 원료를 취급하기 시작해서 다양한 바이오 업체들과 거래를 시작하게 되었으며, 채찍 맞은 말처럼 정말 미친듯이 사업과 학업에 매진했다. 예를 들어 제주도와 국유임산물 계약을 해서 한라산 인근에 제주조릿대 채취장을 관리하고 있었는데, 대기업과 계약을 통해 제주 조릿대를 납품하는 일이 생겼다. 그래서 일이 너무 바빠져서 손이 부족한 상황이 왔지만 나는 대학생의 신분이라서 학교도 가야하는 상황이었다. 그래서 밤에 잠깐 자고 아직 어두울 때 일어나서 산에 가서 일을 했고 다시 아침에 학교에 가서 수업을 들었다. 새벽부터 일하다가 작업복에 장화를 신고 그대로 학교로 갔었지만 그래도 즐거웠으며, 너무나도 피곤하고 지치고 힘들었지만 그럼에도 불구하고 이런 상황이 너무 좋았다. 사업에 많은 시간을 투자했지만 그렇다고 학업을 포기하진 않았다. 학교에서 배울 수 있는 건 최선을 다했고 창업동아리 같은 활동도 기회가 되는대로 신청했으며 창업동아리는 지금 석사과정이 끝나는 날까지도 여러 번 활동을 했기 때문에 정말 많은 것을 배웠다. 조별 과제나 창업동아리는 처음에는 다들

열심히 했지만 나중에는 열정이 떨어져 나 혼자 책임지고 결과를 내야 하는 일이 많았는데 그래도 이것마저 즐거웠으며 나에게 배울 수 있고, 암울한 상황에서 이것을 극복할 수 있는 노력의 기회가 주어졌다는 것에 대해 감사했다. 물론 대학생활 동안 일하는 것이 늘 즐겁고 좋았던 것은 아니다. 학부 2학년 때 경제협력권 사업을 통해 광역과제를 하게 되었는데 이 때는 너무 힘들고 토 나와서 밤에 잠도 제대로 자지 못했고 늘 악몽을 꾸었다. 학부 3학년 때는 수의대와 어류용 항생제 기술개발 과제를 진행했었는데, 너무 힘들어서 두 번 다시 하고 싶지 않다는 생각을 자주 했다. 지금 생각해도 아찔했던 경험이었고 정말 운이 좋아서 극복했던 거였구나 싶다. 2020년 20대 중반에 기능성작물 실험실에 석사과정으로 들어가게 되면서 내 이름으로 농업회사법인 하나를 더 설립하게 되었다. 사업적으로 필요해서라는 이유도 있었지만 개인적으로는 혼자만의 힘으로 제품을 팔아서 내 회사 이름으로 매출을 올리고 싶었다. 그래서 김주성 교수님 밑에서 추출물에 관한 연구를 진행하면서 사업을 동시에 진행했다. 첫 해에는 225만원 매출이 나왔고 2년 차에는 5천만원 매출이 나왔다. 석사 졸업년도인 올 해에는 1억원을 넘게 팔았다. 정말로 운이 좋았던거 같다. 어릴 적에는 늘 운이 없어서 불행하다고 생각했던거 같은데, 모든 것을 내려놓고 기대 없이 평온한 마음으로 일을 하니 운이 생기는거 같다. 내가 힘들 때마다 보는 정말 좋아하는 웹툰이 있다. ‘마왕까지 한 걸음’이라는 만화인데, 등장인물 중 하나인 용사가 죽을 위기에 처하게 되면서 다짐하는 말이 마음에 와 닿는다. 살아남을 수 있는 방법이나 돌파구가 전혀 보이지 않는 상황임에도 좌절하거나 포기하지 않고 ‘그럼에도 상관없다. 나는 이보다 더한 일도 겪었어. 어떻게든 되겠지’라는 말을 하며 최선을 다하는 장면이 있다. 나는 이 장면이 너무나도 마음에 들어서 심적으로 힘들고 우울할 때마다 이 장면을 다시 보고 있다.

사업과 연구를 진행하다보면 도저히 답이 없고 포기하고 싶을 때가 많은데, 그때마다 ‘나는 더한 일도 겪었으니 이것도 어떻게든 해결할 수 있을 것이다’라는 생각을 하면 그 순간을 이겨낼 힘이 생긴다. 내 20대는 이러한 생각과 가치관을 통해 힘들고 어려운 고난을 극복해 왔던 것 같다.

석사과정을 마치며 지난 삶을 돌이켜보니 정말 많은 일이 있었고 혼자서 많이 울었으며 힘든 일을 이겨내기 위해 인내하고 갖은 노력을 했었습니다. 20대까지의 인생에 굴곡이 정말로 많았네요. 저는 인생이란 것은 선택의 연속이며, 외로움은 그 선택의 결과라고 생각합니다. 인간은 어떤 선택을 하던 외로움을 느낄 수밖에 없는 동물이고 그 어떤 선택도 좋고 나쁨이 없는 것 같습니다. 다만 그 선택이라는 것은 감정과 이성의 갈림길에서 어느 쪽 길을 걷는 것인가의 차이라고 생각합니다. 아직 제 삶은 나아가야 할 길이 많이 남았고 앞으로 어떤 일이 더 생길지는 모르겠지만 지금까지 해왔던 것처럼 선택하고, 그 선택으로 인해 발생하는 일에 대해서 담담히 받아들이고 최선을 다하는 마음은 변치 않도록 하겠습니다. 제 20대를 마무리하며 부족한 글을 짧게나마 남깁니다. 감사합니다.

석사과정을 하는 동안 든든한 힘이 되어주신 아버지, 어머니, 큰아버지, 작은아버지 우리 가족들에게 정말 감사합니다. 그리고 사업을 자기 일처럼 생각하고 열심히 일 해준 제주자원식물연구소 직원분들, 특히 박효주 팀장님께 정말로 감사드립니다. 효주형님이 있었기에 우리 사업이 버틸 수 있었고 이만큼 발전할 수 있었습니다. 그리고 2020년도에 기능성작물 실험실에 석사과정으로 들어오게 된 것은 저에게 있어서 인생의 두 번째 변환점이었습니다. 정말 소중한 경험과 너무나도 많은 것을 배웠으며, 실험실에서 배운 것을 사업에 적용해서

활용할 수 있었던 것은 인생 최대의 기회이지 않았나 싶습니다. 특히 사업과 연구 모두 잘 지도해주시고 배려해주신 우리 김주성 교수님께 정말로 감사드립니다. 아직 어리고 부족한 제가 이정도로 발전할 수 있었던 것은 김주성 교수님을 만났기 때문이었습니다. 그리고 저의 첫번째 교수님이신 정용석 교수님이 계셨기 때문에 제가 석사과정을 할 수 있었고 버틸 수 있었습니다. 제가 사업을 번창시켜서 교수님들께 추후 도움이 될 수 있었으면 좋겠습니다. 좋은 강의와 말씀을 해주신 송창길 교수님, 현해남 교수님, 전용철 교수님, 김동순 교수님, 박원포 교수님에게 감사합니다. 그리고 우리 실험실 후배 강소담 학생, 황현우 학생 그리고 박미현, 김지호 학생들 모두 많은 고생을 했습니다. 실험 데이터로 스트레스를 받더라도 끝까지 포기하지 않고 끈기있게 실험해 준 소담이에게 고맙고, 힘든 상황에서도 불굴의 의지를 보여준 현우에게 너무나도 고맙습니다. 이번에 석사과정으로 들어온 미현이도 쉽지 않은 선택이었을텐데 믿고 따라줘서 고맙고 앞으로도 좋은 선후배 관계를 유지했으면 좋겠습니다. 그리고 같이 열심히 실험을 했던 소영이 누나에게 고맙습니다. 덕분에 여드름균에 대한 항균 실험을 성공적으로 마무리할 수 있었습니다. 대학생활 동안 만난 재영이형, 상희누나, 지현이, 지은이, 민아, 영준이, 진우, 현숙이, 유진이, 경표에게도 감사합니다. 덕분에 재밌는 대학생활을 했습니다. 바로 옆 실험실이었던 대호형, 석휘 그리고 늘 고생하는 동식이에게도 감사합니다. 창업동아리를 하며 실험과 논문 작업을 진행해준 박지원 학생, 유다연 학생 그리고 라은서 학생에게도 감사하고 황현우 학생에게 한 번 더 감사합니다. 여러 번의 창업동아리를 무사히 끝낼 수 있었고 수상도 할 수 있었습니다. 사업을 진행하며 큰 도움을 주신 유다영 매니저님 감사합니다. 여러가지 사업 과제를 진행하였고 지원도 받을 수 있었습니다. 사업 관련 어려운 점이나 궁금한 것을

해결 할 수 있도록 도와주신 이해자 과장님, 송중호 박사님께도 감사드립니다.
그리고 바이오에프디엔씨 연구원분들께도 감사드립니다. 덕분에 세포 실험을
진행할 수 있었습니다. 사업을 진행함에 있어서 너무 많은 분들에게 도움이
받았습니다. 그 모든 분들께 감사드립니다.

그리고 인생에 있어서 늘 힘이 되어준 내 친구들 의찬이, 희준이, 상배, 남진이,
지웅이, 동식이, 영락이, 상재, 진호, 세진이, 현종이, 석휘, 형철이, 정민이형,
모자, 민철이, 경원이, 정혁이, 정훈이에게 감사합니다. 무엇보다 다른
대학원이지만 같은 시점에서 늘 응원해준 동용이와 봉수에게도 너무나
감사합니다. 석사과정까지 많은 사람들 만나왔지만 제가 감사의 인사를 드려야할
분들이 너무나도 많습니다. 저도 살면서 다른 사람에게 최소한 받은 것 이상으로
베풀고자 노력해야할 것 같습니다. 감사합니다.