

국내산 왕대 줄기 추출물의 두피 화장품 소재 가능성 탐색

문승재*, 신현재**,[†]

*전남도립대학교 뷰티아트과

**조선대학교 생명화학고분자공학과

Exploring the possibility of scalp cosmetic material of domestic *Phyllostachys bambusoides* stem extract

Seung-Jae Moon*, Hyun-Jae Shin**,[†]

*Department of Beauty Art, Jeonnam State University, Damyang, Korea

**Department of Biochemical Polymer Engineering, Chosun University, Gwangju, Korea

(Received : Apr. 25, 2020, Revised : May 28, 2020, Accepted : Jun. 20, 2020)

Abstract : Bamboo is a plant belonging to the native Gramineae and has long been popular in Korea and other countries. Among the different types of bamboo is *Phyllostachys bambusoides*, which is useful for a variety of purposes as it possesses useful properties and has a wide range of beneficial uses such as a pulpwood, timbering, and medicinal usages. The bamboo stem contains cellulose and lignin and contains various polyphenol compounds. It has also been reported that bamboo stems have antioxidant and UV-protective activities, especially in the cosmetic application of bamboo stems. However, no research has been conducted on the scalp cosmetics of the *Phyllostachys bambusoides*. In this study, antioxidant activity and polyphenol content were investigated to inquire the possibility of *Phyllostachys bambusoides* being a cosmetic material. Total polyphenol content concentration was calculated to be 500 µg/mL, and antioxidant assays (DPPH, ABTS) were performed resulting in the range of 50-900 µg/mL (IC₅₀). All five fractions showed no cytotoxicity up to the concentration of 100 µg/mL by MTT assay. Therefore, in this study, the antibacterial, antioxidant, and polyphenol contents of domestic bamboo royal extract were analyzed to investigate its potential as a cosmetic material for improving scalp.

Keyword : Bamboo, *Phyllostachys bambusoides*, polyphenol, antibacterial, cosmetic material

1. 서론

대나무는 대나무과에 속하는 식물로 외떡잎식물 벼목 화본과의 속하는 여러해살이 상록 교목의 총칭으로 줄기는 땅위줄기와 땅속줄기로 이루어지며 모두 세포벽이 목질화하여 딱딱하며, 잘 분지한다. 대나무는 우리나라의 호남, 영남 지방이 주산지이며, 약 70여종이 자생하고 있다. 대표적으로 왕대, 솜대, 맹종죽, 조릿대, 신이대 등으로 알려져 있다[1].

대나무는 죽세공품, 건축용재, 녹용재, 펄프용재 등으로 사용되어 왔으며 그 이외에 용도에 따라 식품,

의약품 등에 사용되고 있다[2]. 대나무는 뿌리에서부터 잎까지 약용으로 활용도가 높아 예로부터 민간요법으로 널리 사용되었고, 동의보감, 본초강목 및 산농본초경에서 증풍과 고혈압 치료에 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 있다[3]. 대나무의 주요 특성의 하나는 육상 식물과 달리 황산기를 함유한 다당을 다량 함유하고 있으며 이 산성 다당은 항종양, 항바이러스, 면역증강 및 혈액 항응고 작용 등 다양한 기능을 하는 것으로 보고되어 있다[4]. 대나무 추출물에는 폴리페놀류 중 플라보노이드 계열의 화합물이 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며, 대나무 추출물의 효능으로 열내림, 출혈방지, 항산화 활성, 이노 작용, 항바이러스 등의 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[5].

최근 현대인의 스트레스 중에 하나인 탈모에 대한 급격한 관심 증가로 두피개선 및 탈모 예방 기능성 샴푸의 시장 규모가 최근 4년 사이 13배 증가한 1,600억 원으로 계속 성장하고 있는 추세이다[6]. 국내 탈모 인구는 약 1,000만 명 이상이며, 탈모 시장규모도 약 4조 원에 이르고 있으며, 2014-2017년까지 모발

[†]Corresponding Author

성명 : 신 현 재

소속 : 조선대학교 생명화학고분자공학과

주소 : 광주광역시 동구 필문대로 309

전화 : 062-230-7518

E-mail : shinhj@chosun.ac.kr

이식수술을 받은 환자 수도 연평균 30-40% 증가하고 있다[7]. 두피에는 다양한 피부 상재균이 존재하며, pH 밸런스, 과도한 자외선 노출, 피지 분비 불균형 및 면역력 저하로 인해 지루성 두피염을 비롯한 각종 두피 질환이 발생하며, 이와 같은 두피의 문제는 탈모의 직접적인 요인이 되고 있다[8]. 탈모를 예방을 위하여 항산화 작용과 항균 작용을 갖고 3있는 천연 추출물이 함유된 제품에 대한 관심이 증가하고 있다.

본 연구에서는 대나무 줄기 추출물의 항산화 활성과 항균 활성을 확인하고 두피 개선 화장품 소재로서 적용 가능성에 대해서 조사하였다.

2. 실험방법

2.1 추출방법

전라남도 담양군에서 구입한 대나무 (*Phyllostachys bambusoides*) 줄기를 건조 후 세절하여 사용하였다. 대나무 줄기 추출물의 추출 방법별 활성을 확인하기 위하여 열수, 주정, 유기용매를 사용하여 추출하였다. 열수추출은 autoclave를 사용한 추출과 100°C에서 끓인 추출방법을 사용하였다. 건조된 대나무 줄기 50 g을 증류수 800 mL에 넣어 autoclave를 사용하여 121°C에서 90분간 추출하였다. 추출된 용액은 필터 후 동결건조 하였다(PB1). 건조된 대나무 줄기 50 g을 증류수 1 L에 넣어 100°C에서 24시간동안 가열하여 추출하였다. 추출된 용액은 필터 후 동결건조 하였다 (PB5). 건조된 대나무 줄기 10 g을 50% 에탄올과 80% 에탄올 800 mL에 각각 넣어 7일간 침지 추출하였다. 추출된 용액은 필터 후 감압농축을 하였다 (50% 에탄올 추출물 : PB2, 80% 에탄올 추출물 : PB3). 건조된 대나무 줄기 10 g을 100% 에탄올 800 mL에 각각 넣어 7일간 침지 추출하였다. 추출된 용액은 필터 후 감압농축을 하였다(PB4).

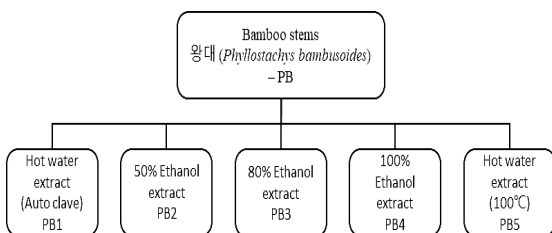


Figure 1. Schematic diagram of the extract preparation from bamboo stem (*Phyllostachys bambusoides*).

2.2. 항산화 활성 분석

2.2.1 DPPH radical scavenging

시료의 전자공여능(Electron Donating Abilities)은 Blois의 방법을 변형 실험하였다[9]. 농축된 각각의 시료의 농도를 100-10,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도가 되도록 조제하고, 농도별 샘플 200 μL 에 4×10^{-4} M의 α, α -diphenyl- β -picryl-hydrazyl(DPPH) 용액 1

mL를 넣고 15분 동안 방치 후 517 nm에서 흡광도를 SCINCO UV-Vis spectrophotometer s-3100 (Seoul, Korea)을 이용하여 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였고, 농도범위는 100-1,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 측정 하였다.

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = 1 - \frac{\text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of control}} \times 100$$

2.2.2 ABTS radical scavenging

증류수에 용해한 7 mM의 ABTS potassium persulfate 2.45 mM potassium persulfate를 1:1로 넣어 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 이 되도록 PBS (pH 7.4)로 희석하였다[10]. 12-16시간 동안 암소에 방치하고 Radical stock solution은 희석된 용액 800 μL 에 농도별로 제조된 sample 200 μL 씩을 가하여 15분 동안 방치 후 720 nm에서 흡광도를 SCINCO UV-Vis spectrophotometer s-3100 (Seoul, Korea)을 이용하여 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였고, 농도범위는 100-1,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 측정 하였다.

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = 1 - \frac{\text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of control}} \times 100$$

2.3. 총 폴리페놀 함량 분석

AOAC의 Folin-Denis 법을 일부 변형하여 비색 정량하였다[11]. 추출된 각각의 시료의 농도를 1,000, 5,000 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도가 되도록 조제하고 이 용액 0.2 mL에 Na_2CO_3 를 2.0 mL 가하고 2분간 실온에서 방치한 후 50% Folin Ciocalteu's 시약을 0.2 mL 가하여 혼합하고 실온에서 30분 정치한 후 분광광도계(UV-Vis Spectrophotometer, UV-2450, SHIMAZU Co., Ltd Japan)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 *p*-coumaric acid의 농도를 달리하여 조제한 후 표준 곡선을 작성하고 모든 처리는 3회 반복하여 측정하였다. 전체 폴리페놀 함량 계산은 *p*-coumaric acid를 standard 물질로 하여 0-100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 제조하고 흡광도를 측정한 후 표준곡선을 이용하여 각 추출물의 총 폴리페놀 함량 계산하였다.

2.4. Disc diffusion 법을 이용한 항균력 시험

왕대 줄기 추출물의 항균 활성을 disc diffusion법으로 평가하였다[12]. 대상균주로는, 그람 음성균으로 *Bacillus subtilis* KCCM 11316, *Staphylococcus aureus* KCCM 11764, 그람 양성균으로는 *Salmonella typhimurium* KCTC 1926를 사용하였다. Tryptic soy broth (TSB)에 균을 분주하여 24 시간동안 37°C에서 150 rpm으로 배양해 흡광도를 0.5로 맞춘 후 TSA 배지에 50 μL 를 도말하였다. 추출물을 0.1-50 mg/mL 농도로 희석하여 paper disc (8 mm)에 50 μL 씩 흡수시키고 24시간동안 37°C에

서 배양 후, disc 주변에 생성된 clear zone의 크기로 활성을 측정하였다. Positive control으로 0.1 mg/mL ampicillin (A)을 사용하였다.

2.5. 지표성분 HPLC 분석

건조된 왕대 줄기에서 추출된 추출물들을 HPLC를 이용하여 추출물에 함유될 것으로 예상되는 polyphenol인 catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, rutin, luteolin을 기준물질을 분석하였고, 기준물질의 retention time을 비교하여 함량 및 함유여부를 확인하였다[13]. HPLC는 SPD-20A UV 검출기가 장착된 LC-20AD SHIMADZU HPLC를 사용하였고, 검출파장은 254 nm를 사용하였다. Column은 XBridge C18 5 μ m (4.6 x 150 mm)을 사용하였으며 분석 조건은 표에 정리하였다.

Table 1. Operating conditions for HPLC analysis

Column	XBridge C18 5 μ m (4.6 x 150 mm)
Flow rate	0.7 mL/min
Solvent A	Water (0.3% Acetic acid)
Solvent B	Methanol (0.3% Acetic acid)
Mobile phase	10-40% B 60 min
Time	60 min
Temperature	40°C
Detection Wavelength	254 nm
Injection volume	30 μ L

2.6. 세포 생존을 분석(MTT Assay)

간세포주인 HepG2 세포를 96 well plate에 배양한 후, 시료를 24시간 동안 처치. 그리고 생존해 있는 세포를 MTT (0.2 mg/mL)에 4시간동안 반응 시킨 후, 상층을 제거하고 well 당 200 μ L의 dimethyl sulfoxide를 넣어 생성된 formazan crystals을 녹였다[14]. 마지막으로 microplate reader (Versamax, Molecular Device, Sunnyvale, CA)를 이용하여 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 아무것도 처치하지 않은 control를 기준으로 비교하였다. [생존율 (control 대비 %) = 100 \times (약물을 처치한 샘플의 흡광도)/(control의 흡광도)].

2.7. 통계처리

모든 결과 값은 세 번 반복실험 후 통계처리 하였으며, 실험에 의해 얻어진 값들의 평균으로 나타내었다. 대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검증은 SPSS 23 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 t-Test 를 실시하였으며, $p < 0.05$ 이하 경우 유의하다고 판정 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 왕대 줄기 추출물 수율

추출된 왕대 줄기 추출물의 수율은 Table 2 에 나타내었다. 왕대 줄기 추출물의 수율은 대부분 10% 이하였으며, 유기용매로 추출했을 때의 수율이 1.00%, 1.12%로 가장 낮은 것으로 확인되었다. Autoclave를 사용하여 추출하였을 때가 6.14%로 가장 높은 수율로 확인되었다. 기존의 연구에서 대나무 줄기 추출물은 3.0-3.5%로 알려져있고, 용매별 대나무 추출물의 수율은 본 연구에서는 1.0-6.14%로 높은 수율로 확인되었다[15]. 이는 autoclave를 사용하여 추출해 수율이 증가된 것으로 보인다. autoclave 추출시 압력이 가해져 세포막이 분해되어 용매의 이동이 증가해 추출수율이 높아진다고 알려져 있다[15]. 기존의 연구 결과와 동일한 결과가 확인되었고 기존의 연구에서는 유기용매 추출물보다 autoclave를 사용한 열수추출의 추출 수율이 약 5%정도 높은 것으로 확인되었으며, 이는 본 연구 결과와 동일한 것으로 확인되었다.

Table 2. Yield results of *Phyllostachys bambusoides* extracts.

Sample	무게(g)	수율(%)
PB1	3.07	6.14
PB2	1.95	3.90
PB3	1.41	2.82
PB4	0.50	1.00
PB5	1.38	2.76

3.2 항산화 활성 측정 결과

3.2.1 DPPH free radical scavenging activity

용매별로 추출된 왕대 줄기 추출물 PB1, PB2, PB3, PB4, PB5의 DPPH free radical 소거능을 확인하였다(Figure 2, Table 3). 왕대 줄기 추출물의 IC₅₀는 797.73-955.43 μ g/mL 로 확인되었고, DPPH radical 소거능을 확인한 결과 ascorbic acid 보다 낮은 활성을 보였다. 전체적인 활성을 비교 하였을 때 열수 추출과 유기용매 추출보다는 주정 추출의 항산화 활성이 높게 확인되었다. 추출물 중에서는 PB3 가 가장 활성이 높은 것으로 확인되었으며, IC₅₀ 값은 797.79 μ g/mL 이었다.

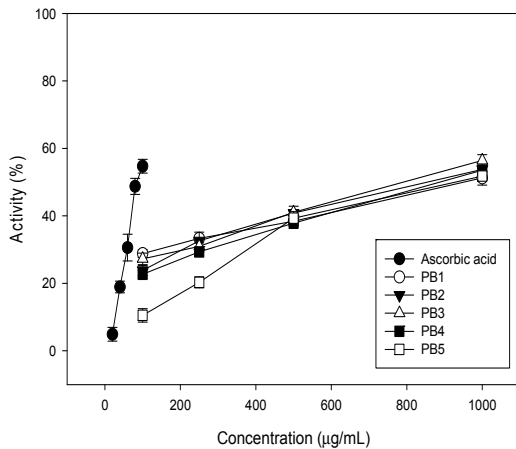


Figure 2. Results of DPPH free radical scavenging activity from *Phyllostachys bambusoides* extracts.

3.2.1 ABTS scavenging activity

용매별로 추출된 왕대 줄기 추출물 PB1, PB2, PB3, PB4, PB5의 ABTS radical 소거능을 확인하였다(Figure 3, Table 3). 왕대 줄기 추출물의 IC₅₀는 430.23-548.68 µg/mL로 확인되었고, ABTS radical 소거능 측정 결과는 DPPH radical 결과보다 활성이 좋은 것으로 확인되었다. 또한 양성 대조군인 ascorbic acid보다는 낮은 활성이 확인되었다. 전체적인 활성을 비교하였을 때 열수 추출과 유기용매 추출보다는 주정 추출의 항산화 활성이 높게 확인되었다. 추출물 중에서는 PB3가 가장 활성이 높은 것으로 확인되었으며, IC₅₀ 값은 430.23 µg/mL 이었다.

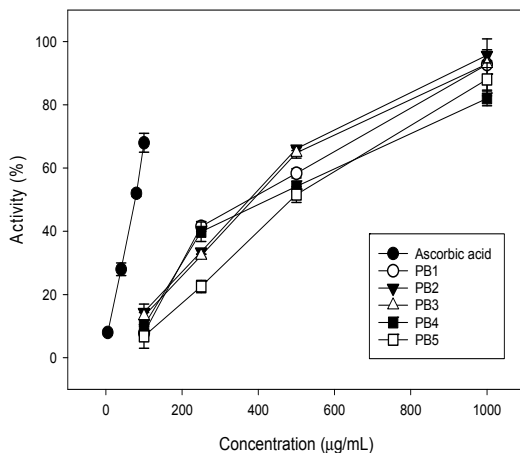


Figure 3. Results of ABTS radical scavenging activity from *Phyllostachys bambusoides* extracts.

3.3 Total polyphenol 측정 결과

대나무 추출물에 가장 많이 함유되어 있는 것으로 알려져있는 *p*-coumaric acid를 standard로 설정하여 대나무 줄기 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정하

였다. 용매별로 추출된 왕대 줄기 추출물의 함량은 51.38-139.30 COUE µg/mL로 확인되었다(Table 2). 추출용매와 추출 방법에 따라 총 폴리페놀 함량의 차이가 2배 이상 나타나는 것이 확인되었다. 특히 주정추출물인 PB2, PB3의 함량은 각각 138.17 COUE µg/mL, 139.30 COUE µg/mL로 높은 함량이 확인되었다. 이는 에탄올 추출시 다량의 폴리페놀류가 추출된 것으로 보인다. 기존 연구에서 습대줄기 추출물에서 80% 에탄올 추출물에서 가장 높은 폴리페놀 함량이 측정되었다[13]. 본 연구에서도 80% 에탄올 추출물은 PB3의 총 폴리페놀 함량이 가장 높은 것으로 확인되었다. 이는 기존의 연구와 동일한 결과이다.

Table 3. Antioxidant activity results and total polyphenol contents results of *Phyllostachys bambusoides* extracts

Sample	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	ABTS IC ₅₀ (µg/mL)	TPC (COUE µg/mL)
PB1	955.43	501.68	51.38
PB2	846.08	435.05	138.17
PB3	797.73	430.23	139.30
PB4	882.08	509.83	130.72
PB5	892.54	548.68	125.76

3.4 항균 활성 측정 결과

왕대 줄기 추출물의 항균 활성을 평가하였다. 항산화 활성 측정 결과 가장 높은 활성을 가지는 PB3 추출물의 항균 활성을 확인하였다(Figure 4, Table 4). PB3의 항균 활성은 고농도에서 항균활성을 보이는 것으로 확인되었다. PB3 500 mg/mL 농도에서 Clear zone on plate는 그람 음성균인 *Bacillus subtilis*에서는 12.53 mm, *Staphylococcus aureus*에서는 17.57 mm, 그람 양성균인 *Salmonella typhimurium*에서는 12.79 mm로 확인되었다. 기존의 연구에서도 대나무 추출물은 에탄올 추출물에서 우수한 항균 활성을 보이는 것으로 알려져있다[16]. 대나무 잎 추출물은 *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudo mnas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* 등에서 항균 활성을 나타낸다고 보고되어 있다[12]. 대나무 줄기 추출물 또한 비슷한 항균 활성을 보이는 것을 확인하였으며, 왕대, 습대 추출물에서 높은 항균 활성을 보인다고 알려져 있는데 이는 본 연구결과와 동일한 결과로 확인되었다.

Table 4. Antimicrobial activities of 500 mg/mL bamboo stem extract (PB3)

Sample	Clear zone (mm)
<i>Bacillus subtilis</i>	12.53
<i>Staphylococcus aureus</i>	17.57
<i>Salmonella typhimurium</i>	12.79

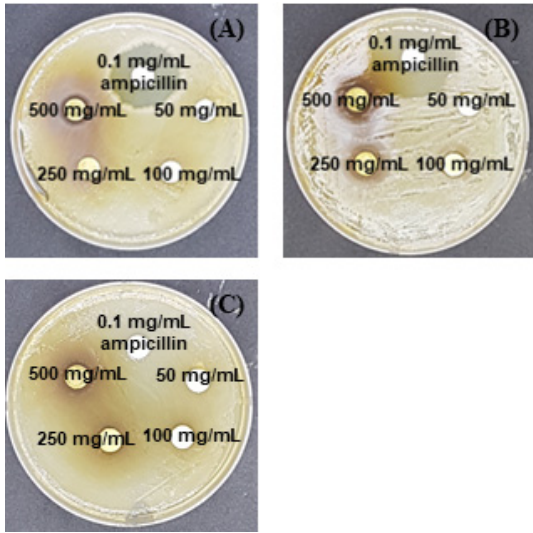


Figure 4. Comparison of antimicrobial activities results by PB3 extract. *Bacillus subtilis* (A), *Staphylococcus aureus* (B), *Salmonella typhimurium* (C).

3.4 왕대 줄기 추출물 지표성분 HPLC 분석 결과

왕대 줄기 추출물에 함유되어 있는 polyphenol류를 HPLC 분석을 통해 확인하였다. 분석에 사용된 standard 물질은 죽순에 많이 함유되어 있다고 알려진 catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, rutin, luteolin을 사용하였다. 왕대 추출물의 지표성분 분석 결과는 아래 Figure 5와 Table 5에 나타내었다. 각각의 추출물에서 6가지 standard 물질은 동일하게 확인되었으나, luteolin은 PB3와 PB4에서만 확인되었다. 추출방법에 따라 추출되는 폴리페놀에 차이가 있는 것으로 확인되었다[13]. 기존의 연구에서도 ethanol의 함량이 높은 추출물에서 luteolin이 추출된 것으로 확인되었다. 이는 luteolin의 solubility 차이로 인한 것으로 ethanol의 함량이 높은 추출물에서 확인된 것으로 판단된다.

Table 5. Polyphenol contents using quantitative analysis of *Phyllostachys bambusoides* extracts

No.	Standard	PB1	PB2	PB3	PB4	PB5
1	Catechin	25.53	7.27	7.06	9.00	28.42
2	Chlorogenic acid	0.74	9.14	19.85	12.91	10.76
3	Caffeic acid	7.04	0.61	11.19	3.21	5.40
4	p-Coumaric acid	5.19	4.71	5.77	4.64	2.94
5	Ferulic acid	0.07	0.40	0.53	0.55	0.30
6	Rutin	0.46	1.86	1.41	2.34	2.07
7	Luteolin	-	-	0.03	0.35	-

3.5 왕대 줄기 추출물 세포독성 시험 결과

화장품 성분 중에서 유효 물질로 사용하려면 원료 성분의 안정성이 중요하다. 본 연구에서는 대나무 줄기 추출물을 두피 개선 화장품의 유효 성분으로써의 가능성을 탐색하기 위해 세포 독성 평가를 실시하였다 (Figure 6). 대나무 줄기 추출물인 왕대(PB1, PB2, PB3, PB4와 PB5)의 간세포 독성여부를 확인하고자 왕대 추출물들을 100 µg/mL 로 간세포주에 처치 후 24시간 배양 후 MTT assay를 실시하였다. 왕대 추출물(PB1, PB2, PB3, PB4와 PB5) 모두 처치한 농도에서 세포독성이 거의 관찰되지 않았다.

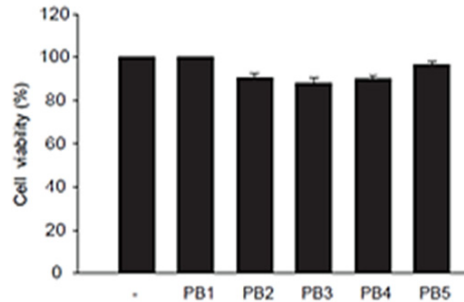


Figure 6. Cytotoxicity result (MTT assay) of the Bamboo extracts (PB1, PB2, PB3, PB4, PB5).

3.6 통계처리

모든 결과 값은 세 번 반복실험 후 통계 처리 하였으며, 실험에 의해 얻어진 값들의 평균표준편차로 나타내었다. 대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검증은 SPSS 23 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 t-test를 실시하였으며, p값이 0.05 이하의 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

4. 결론

국내산 왕대 줄기를 열수(PB1, PB5), 주정(PB2, PB3), 유기용매(PB4)를 사용하여 추출해 항산화 및 항균 활성에 대한 효능을 확인하였다. DPPH free radiacl, ABTS radical를 사용하여 항산화 활성 측정 결과 PB3의 항산화 활성이 가장 높은 것으로 확인되었다. IC₅₀가 각각 797.73 µg/mL, 430.23 µg/mL로 확인되었다. 총 페놀 함량 또한 PB3가 139.30 COUE µg/mL로 가장 높은 것으로 활용되었다. 항산화 활성이 가장 높은 PB3의 그람 음성균인 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 와 그람 양성균인 *Salmonella typhimurium* 의 항균활성을 측정하였다. 측정 결과 12.35-17.57 mm 로 확인되었으며, 기존 논문과 동일한 결과로 확인되었다. HPLC를 이용한 정량 분석에서 EtOH 추출물에서 luteolin이 추가적으로 추출되었는데 이는 추출용매에 따라 추출되는 폴리페놀의 종류가 달라 추출된 것으로 확인되었다. 간세포주를 사용한 독성검사에서 세포 독성이 전혀 관찰되지 않았다. 항산화 활성과 항균 활성이 우수한 PB3는 두피 개선 소재로의 활용 가능성을 확인하였다.

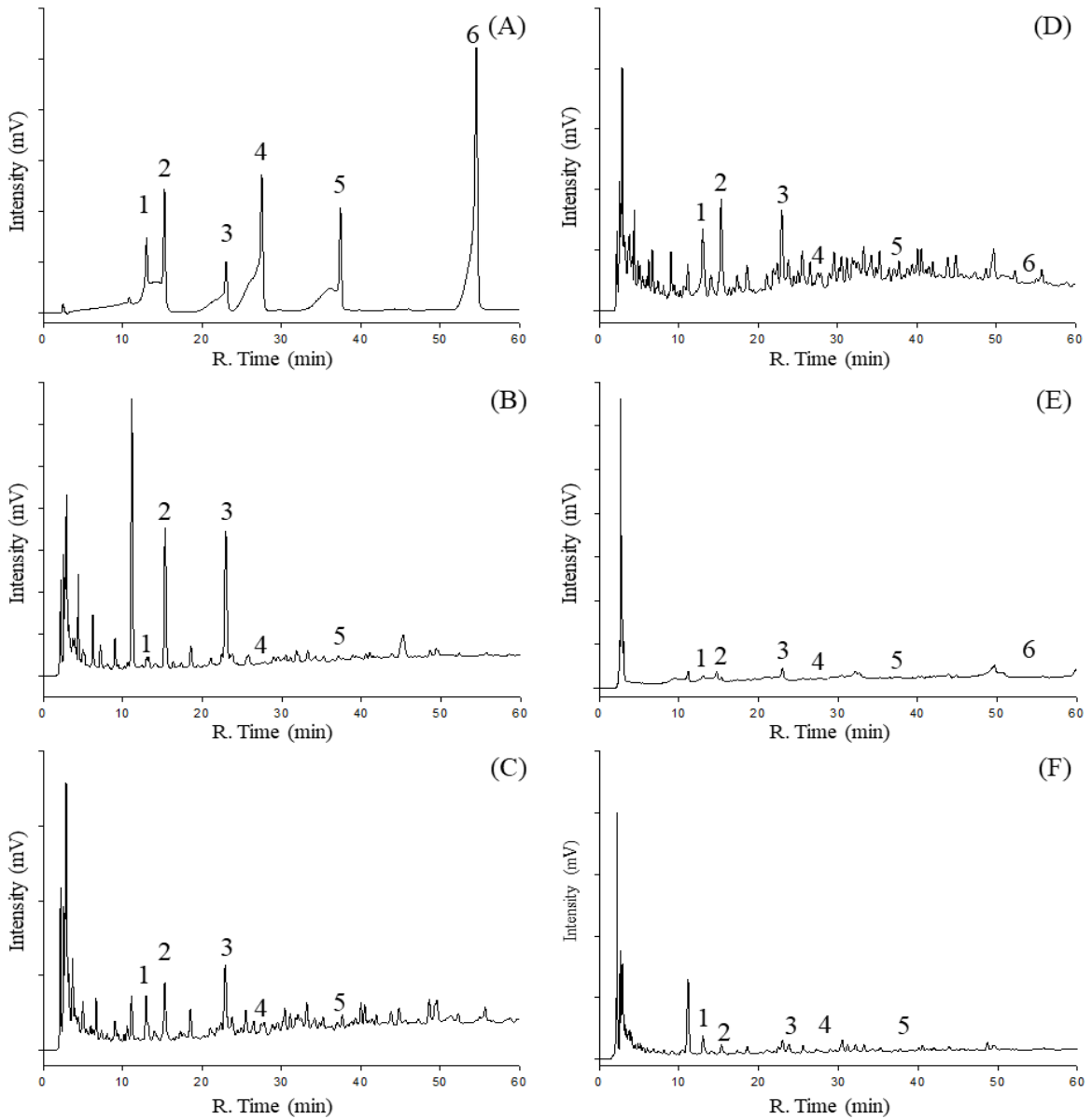


Figure 5. HPLC chromatogram of (A) bamboo stem extracts standard mixture, (B) PB1, (C) PB2, (D) PB3, (E) PB4, and (F) PB5 using diode array detection at 254 nm. Numbers indicate the following: (1) catechin; (2) chlorogenic acid; (3) caffeic acid; (4) *p*-coumaric acid; (5) ferulic acid; (6) rutin; (7) luteolin.

감 사

본 연구는 산림청(한국임업진흥원) 산림과학기술 연구개발사업(2020262D10-2022-AC02)의 연구비 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참고문헌

1. Peng, P. and She, D., Carbohydr. Polym., 112, 701-720 (2014).
2. Jeong, C. H., Choi, S. G. and Heo, H., Korean J. Food Sci. Technol., 40(5), 586-592 (2008).

3. Wang, J., Yue, Y. D., Tang, F. and Sun, J., *Molecules*, 17(10), 12297-12311 (2012).
4. Lu, B., Wu, X., Tie, X., Zhang, Y. and Zhang, Y., *Food Chem. Toxicol.*, 43(5), 783-792 (2005).
5. Yang, J. H., Choi, M. H., Yang, S. H., Cho, S. S., Park, S. J., Shin, H. J. and Ki, S. H., *J. Agric. Food Chem.*, 65(31), 6665-6673 (2017).
6. Y. S. Hwang, *Korean Industrial Chemistry News*, 10(5), 40 (2007).
7. Kim, J. W., Jo, A. H., Lee, J. H., *AJMAHS*, 9(3), 375-387 (2019).
8. Jung, Y. S., Song, H. J., Kim, S. M., Park, S. C., Choi, Y. K., and Kim, H. J., *J. Kor. Soc. Cosm.*, 18(6), 1377-1383 (2012).
9. Blois, M. S., *Nature*, 181(4617), 1199-1200 (1958).
10. Jeong, C. H., Choi, G., Kim, J., Kwak, J., Heo, H., Shim, K. H., Cho, B. R., Bae, Y. I., and Choi, J. S., *J. Food Sci. Nutr.*, 14(4), 283-289 (2009).
11. Choi, M. H., Kim, M. J., Jeon, Y. J. and H. J. Shin, *KSBB J.*, 29(3), 145-154 (2014).
12. Choi, H. S., Kim, G. C., and Shin, H. J., *KSBB J.*, 27(2), 131-135 (2012).
13. Choi, M. H., Jo, H. G., Yang, J. H., Ki, S. H., and Shin, H. J., *Int. J. Mol. Sci.*, 19(2), 409 (2018).
14. Choi, M. H., Yang, S. H., and Shin, H. J., *KSBB J.*, 33(1), 41-47 (2018)
15. Choi, M. H., Kim, D. S., and Shin, H. J., *J. of Advanced Engineering and Technology*, 11(1), 7-13 (2018).
16. Baek, J. W., Chung, S. H., and Moon, G. S., *Korean Journal of Food Science and Technology*, 34(6), 1073-1078 (2002).