

## 한약재로부터 선별된 율나무 수피 추출물로부터 항산화 활성물질의 분리

김인원 · 신동화 · 최 응  
전북대학교 식품공학과(농업과학기술연구소)

### Isolation of Antioxidative Components from the Bark of *Rhus verniciflua* STOKES Screened from Some Chinese Medicinal Plants

In-Won Kim, Dong-Hwa Shin and Ung Choi  
Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

#### Abstract

To develop new natural antioxidants, antioxidative activity of ethanol (75%) extracts from 50 edible or medicinal plants were examined on lard and palm oil by Rancimat method (120°C, 20 L/hr). The extracts from *Rhus verniciflua* STOKES showed comparatively strong antioxidative activity on test. Of the solvents used for extraction, chloroform extract exhibited the strongest antioxidant activity. AI (antioxidant index: induction period of oil containing extract/induction period of control oil) of chloroform extract was higher than that of commercial antioxidant, such as BHT, BHA and  $\delta$ -tocopherol. Free phenolic acid fraction (200 ppm) of the chloroform extract from 75% EtOH extract of *Rhus verniciflua* STOKES (RCF) showed stronger activity than that of BHT, BHA, and  $\delta$ -tocopherol at the same concentration. RCF-11 and RCF-13 fractions separated by silicagel column chromatography from the RCF showed stronger activity than other fractions by the Rancimat method.

Key words: antioxidative components, *Rhus verniciflua* STOKES, synergist

#### 서 론

항산화제는 식품의 냄새, 풍미의 변화, 유지의 산패 그리고 변색을 방지, 지연, 억제하는 기능을 가진 화합물을 말하며 동, 식물체<sup>(1,4)</sup> 뿐만 아니라 곰팡이<sup>(5)</sup> 내에도 많이 존재하는 것으로 알려지고 있다. 가장 많이 이용되고 있는 합성항산화제는 phenolic compound계로 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) 그리고 tertiarybutylhydroquinone (TBHQ) 등이 알려져 있으며, 항산화활성은 우수한 반면 식품의 안전성 문제<sup>(6,7)</sup>로 소비자의 기호에 부합되지 못하고 있는 실정이므로 천연물로 대체하기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다<sup>(8-11)</sup>. Phenol계 성분들은 항암작용<sup>(12)</sup>, 혈압강하작용, 피임작용, 간 보호작용, 진경작용 등 여러 작용<sup>(13)</sup>이 알려져 있다. 특히 향신료 및 생약성분중의 phenol계 성분들은 항산화작용을 가진 대표적인 물질로 보고<sup>(14,15)</sup>되고 있으며, 항산화성의 정도

는 식물의 종류 및 이들에 함유되어 있는 항산화 유효성분의 종류에 따라 다르며 추출방법에 따라 현저한 차이가 난다고 한다. Masahino Ogata 등<sup>(14)</sup>은 *Magnolia cortex*에서 phenolic compound와 관련된 magnolol, honokiol의 높은 항산화활성을 확인하였으며, 이런 성분들이 O<sub>2</sub>의 scavenger나 hydroxyl radical의 scavenge 작용 때문이라고 보고하였다. 김 등<sup>(16)</sup> 등은 오배자 (*Rhus japonica* Linne) methanol추출물을 phenolic compound별로 분리하여 각 부분에서 수율도 높고 항산화활성도 높은 gallic acid를 동정하였다.

율나무과(*Anacardiaceae*)에 속하는 율나무는 중국, 일본 등 동북아시아에서 많이 자라는 낙엽활엽소교목으로 이 수액을 율 또는 건칠(*Rhus verniciflua* STOKES)이라하여 한방에서는 구충, 복통, 통경, 변비 등에 그리고 닭과 함께 보신용으로 사용하고 있으며 일상생활에서는 도료 및 공업용으로 사용<sup>(17)</sup>하였다.

율나무의 항산화활성 물질에 대한 연구는 율나무의 에탄올 추출물을 쥐 뇌세포에 적용한 결과 가장 강한 항산화활성을 나타내었다는 연구결과<sup>(18)</sup>만 있을 뿐, 항산화활성 원인물질의 분리에 관한 보고는 거의 없는

Corresponding author: Dong-Hwa Shin, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Dukjindong, Chonju, Chonbuk 561-756, Korea

상태이다. 이에 본 실험에서는 율나무 75% ethanol 추출물의 항산화활성을 Rancimat을 이용하여 활성을 검색·비교하였으며, phenolic 성분을 중심으로 silica gel column chromatography를 실시하여 그 활성물질을 분리하였으며, 일반적으로 synergistic effect가 있다고 알려진 ascorbic acid, citric acid,  $\delta$ -tocopherol을 동·식물 유지에 적용, Rancimat을 이용하여 synergistic effect를 시험하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

임상본초학<sup>(17)</sup>, 전통동양약물 데이터베이스<sup>(18)</sup> 및 대한약전 외 한약 규격집<sup>(20)</sup> 등을 참고하여 검색한 후 안전성을 고려하여 식용 혹은 한약재로 사용하는 것을 실험대상으로 하였다. 재료는 전주 소재 한약방과 식품의약품 안전본부 옥천 약용식물 재배시험장 등으로부터 제공받아 건조하여, 분쇄한 후 에탄올 추출용 시료로 사용하였다.

### 실험유지

항산화 실험에 사용한 유지는 항산화제가 첨가되지 않은 팜유와 돈지를 (주)농심에서, 대두유는 시판품(동방유량)을 구입, 냉동(-75°C) 보관하며 사용하였다.

### 시약

Ascorbic acid,  $\delta$ -tocopherol, BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene) 및 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)는 Sigma사 제품, BF<sub>3</sub> (Boron trifluoride methanol complex)는 BDH Laboratory supplies사 제품, TLC plate (silica gel 60 F<sub>254</sub>, 두께 0.2 mm)와 silica gel 60 (70~230 mesh)은 Merck사 제품을, 그리고 용매 및 기타 시약은 특급 또는 1급품을 사용하였다.

### 사용기기

Rancimat 679 (METHROHM AG, CH-9100 Heris, Switzerland), GC-17A (Shimadzu, Japan), UV spectrophotometer (Shimadzu UV-1201, Japan), UV lamp (spectro line, Japan).

### 항산화활성 물질의 추출

1000 mL의 둥근바다플라스크에 곱게 분쇄한 시료를 넣고 5배 정도의 75% 에탄올을 첨가하여 환류냉각관을 부착하였다. 이들을 수욕상(78±5°C)에서 3시간

가열, 추출 후 여과하고, 그 여액을 45°C에서 감압농축 하였다. 에탄올 추출물 중의 가용성 고형분 함량은 농축물 1 mL를 105°C에서 건조하고, 증발 잔사의 양으로부터 계산하였다.

### 항산화 활성 측정

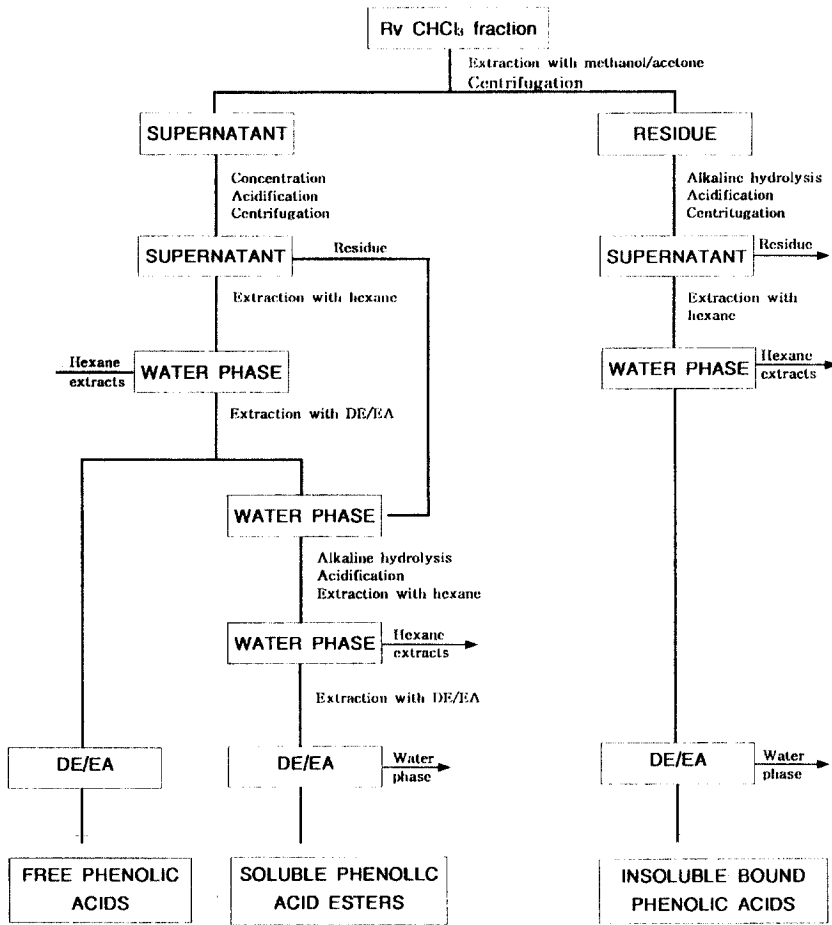
대상식물에서 추출한 에탄올 조추출물을 든지, 팜유에 각각 2.5 g에 대해 1,000 ppm 수준으로 첨가하고 Rancimat을 이용하여, 임 등<sup>(11)</sup>의 방법에 준하여 AI (Antioxidant index: 각 항산화제를 첨가한 실험구의 유도기간을 무첨가구의 유도기간으로 나눈 값)로 항산화력을 비교, 측정하였다.

### 추출물의 분획

용매에 의한 순차분획: 임 등<sup>(11)</sup>의 방법으로 분획하였다. 즉 용매의 극성 정도에따라 4배량의 헥산을 가하고 소량의 증류수를 첨가, 진탕(20 min, 250 rpm)하여 헥산 분획물을 얻고(3회 반복), 물층을 다시 동일한 방법으로 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올을 순차로 가하여 클로로포름, 에틸아세테이트 분획물과 부탄올 분획물을 각각 얻었다. 각 분획물은 감압농축기(45°C)와 진공건조기(45°C)를 사용하여 용매를 완전히 제거한 후 메탄올에 녹여 항산화활성 실험에 사용하였다.

페놀성화합물의 분리: 활성이 높은 클로로포름 분획물을 페놀성화합물을 중심으로 Kozlouaka 등<sup>(21)</sup>과 Krygier 등<sup>(22)</sup>의 방법에 따라 Fig. 1과 같이 분리하였다. 즉 20 g의 율나무 클로로포름 분획물을 같은 농도의 메탄올과 아세톤 동량의 400 mL로 3회 추출하여 여과하고 상정액을 200 mL로 농축하고 산 분해 후 상정액은 헥산 200 mL로 5회 추출하여 지질성분을 제거하였다. 물층은 디에틸에테르(DE)에틸아세테이트(EA) (1:1)로 200 mL 6회 추출하여 DE/EA층을 무수황산 나트륨으로 처리하여 잔여 수분을 제거하고 유리 페놀성산 성분으로 하여 시험재료로 하였다. 가용성 페놀성 에스터 성분은 산 분해 후 잔사에 4 N 수산화나트륨 200 mL 첨가하고 질소가스하 상온에서 4시간 가수분해 시킨 후 유리 페놀성산 성분과 같은 방법으로 분획하였다. 각 분획물은 용매추출물과 같은 방법으로 처리하여 활성을 시험하였다.

Silica gel column chromatography에 의한 분획: 활성이 높은 유리 페놀성산 성분(6 g)을 column (3.6×80 cm)을 이용하여 gradient silica gel column chromatography (클로로포름/메탄올=40:1 → 클로로포름/메탄올/물=20:4:1, v/v/v)실시하여 14개의 소분획을 얻었



\* DE/EA = diethyl ether/ethyl acetate (1 : 1, v/v)

Fig. 1. The schematic diagram of the separation of free phenolic acids, soluble phenolic acid esters and insoluble bound phenolic acids from *Rhus verniciflua* STOKES.

다. 분획물은 순차분획과 같은 방법으로 처리하여 항산화 활성 실험에 사용하였다. 그 중 활성이 강한 RCF-1, RCF-11과 RCF-13을 분리하였다(Fig. 2). RCF-11은 아세틸화하여 다시 RCF-11-1, RCF-11-2, RCF-11-3으로 분리하였고, RCF-13은 헥산/에틸아세테이트/메탄올(8:5:1, v/v/v)에서 RCF-13-1을 분리하였다.

#### Thin layer chromatography

Silicagel column chromatography하여 분리된 각 획분은 silicagel 60 F<sub>254</sub> TLC plate (Merck)에 spotting한 후 column chromatography시 용출용매와 같은 용매계로 전개하여 UV (254 nm, 365 nm) 흡수양상 및 20% 황산용액을 분무하여 발색시 나타나는 spot의 Rf값에

따라 column chromatography 용출물을 분취하여 항산화 활성을 측정하였다.

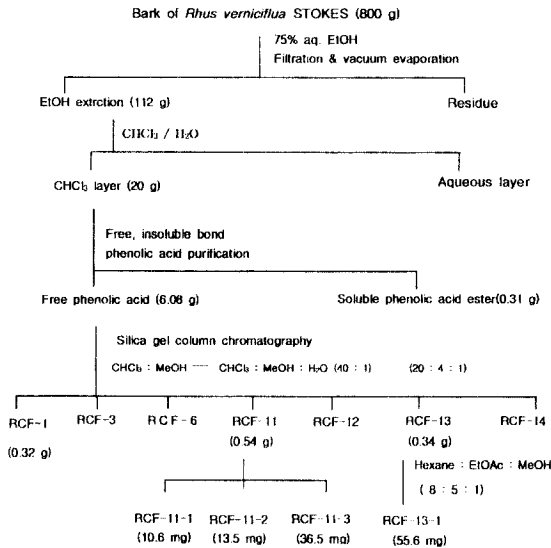
#### Synergistic effect

옻나무에서 분리한 RCF-11에 일반적으로 synergistic effect가 있다고 알려진 ascorbic acid, citric acid,  $\delta$ -tocopherol를 각각 200 ppm 수준으로 첨가하여 돈지, 팜유, 콩기름을 기질로 하여 Rancimat을 이용하여 synergistic effect활성을 시험하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 에탄올 추출물의 항산화활성 검색

각종 식물 추출물에 대한 항산화 효과를 antioxi-



**Fig. 2. Isolation of the antioxidative compounds from *Rhus verniciflua* STOKES.**

dativ index (AI: 각 항산화제를 첨가한 실험구의 유도 기간을 무첨가구의 유도기간으로 나눈 값)로 비교한 결과는 Table 1과 같다. Table 1에서 보면 대부분의 한약재 추출물들이 모두 항산화 효과를 보여 각종 식물체는 양과 그 특성에 차이는 있겠으나 항산화성 물질들을 대부분 함유하고 있음을 알 수 있다.

돈지를 기질로 하였을 때 항산화 활성을 보인 에탄올 추출물의 AI를 살펴보면 건강 3.18, 건칠 5.18, 구맥 3.90, 금권초 3.89, 육두구 4.20등이 다른 생약 추출물들보다 비교적 높은 항산화력을 나타내었으며, 팜유를 기질로 하였을때 에탄올 추출물의 AI는 건강 1.50, 건칠 1.74, 구맥 1.51, 금권초1.53, 육두구 1.05를 나타내어 상당수의 추출물들이 식물성 유지 보다는 동물성 유지에 보다 항산화 효과가 있음을 알 수 있는데 이는 동물성 유지에는 존재하지 않는 tocopherol과 같은 항산화성 물질이 식물성 유지에는 소량이나마 식물체 자체에 존재<sup>(23)</sup>하여 항산화 효과를 나타내기 때문이다.

**Table 1. Antioxidative activity of the ethanol extracts from various medicinal plants on lard and palm oil**

Korean name	Scientific name	Part used	AI <sup>1)</sup>	
			Lard	Palm oil
가시오가피	<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> Seem	stem	1.43	1.15
감국	<i>Chrysanthemum indicum</i> L.	flower	1.20	1.13
감송향	<i>Nardostachys chinensis</i> Batal	root	1.93	1.00
건강	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	root	3.18	1.50
건지황	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboch	root	1.05	1.09
건칠	<i>Rhus verniciflua</i> STOKES	stem	5.18	1.74
검인	<i>Euryale ferox</i> Salisbury	seed	1.18	1.22
계백부자	<i>Aconitum Koreanum</i> R. Raym	root	0.99	1.18
골담초	<i>Caragana sinica</i> Rehder	seed	1.34	1.18
구기자근피	<i>Lycium chinense</i> Miller	root	1.30	1.09
구맥	<i>Dianthus chinensis</i> L.	whole	3.90	1.53
구인	<i>Pericaeta communisma</i> Gete et Hatai	whole	1.05	1.24
구자	<i>Allium tuberosum</i> Rottler	seed	1.10	1.27
구절초	<i>Chrysanthemi Sibirici</i> Herba	whole	0.91	0.97
파루인	<i>Trichosanthes kirilowii</i> Max	seed	0.91	1.27
광도인	<i>Prunus persica</i> L.	seed	1.51	1.07
권백	<i>Selaginella tamariscina</i> Spring	whole	1.23	1.23
규자	<i>Malva verticillata</i> L.	fruit	1.16	1.16
귤피	<i>Citrus unshiu</i> Marcorwicz	bark	1.05	1.29
그늘현삼	<i>Scaro phularia buergeriana</i> Miq	root	1.00	1.14
금권초	<i>Glechomo hederacea</i> var. <i>longituba</i> Nakai	whole	3.89	1.51
금모주척	<i>Citotium barometz</i> J.Sm	root	0.98	1.06
꽃향유	<i>Elsholtzia splendens</i> Nakai	whole	1.28	1.15
파리	<i>Physalis alkekengi</i> var. <i>franchetii</i> Hort	fruit	1.37	1.15
남성	<i>Arisaema japonicum</i> Bl	root	0.89	0.97
당귀	<i>Angelica gigas</i> Nakai	root	1.02	1.02

<sup>1)</sup>AI (antioxidant index) was expressed as induction period of oil containing various plant extracts/induction period of natural oil. Induction period of oil was determined by Rancimat method at 120°C. Each extract, 1,000 ppm, was added and aerated at 20 L (air)/1 hr.

Table 1. continued

Korean name	Scientific name	Part used	AI <sup>1)</sup>	
			Lard	Palm oil
대추	<i>Zizyphus jujuba</i> Miller var. <i>inermis</i> Rehder	fruit	0.99	1.21
동진피	<i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hnce	bark	1.04	1.19
만삼	<i>Codonopsis pilosula</i> NANNF.	root	1.09	1.21
맨드라미	<i>Celosia cristata</i> L.	flower	1.26	1.11
박하	<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i>	leaves	1.07	1.01
방기	<i>Sinomenium acutum</i> Rehder. et Wils	root	0.82	0.92
사삼	<i>Adenophora triphylla</i> var. <i>japonica</i> Hara	root	1.19	1.13
상갈피	<i>Citrus uvshiu</i> Marcorwicz	bark	1.05	1.29
선인장	<i>Lycium Chinense</i> Mill	stem	1.05	0.98
시호	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	root	1.13	1.11
오갈피	<i>Acanthopah Sessiliflorum</i> Seeman	bark	1.02	1.07
오매	<i>Prunus mume</i> Siebold et Zucc	fruit	1.25	1.07
육이인	<i>Prunus humilis</i> Bunge	seed	1.02	0.99
육두구	<i>Myristica fragrans</i> Houttuyn	fruit	4.20	1.05
음양곽	<i>Epimedium koreanum</i> Nakai	leaves	0.99	1.15
인동	<i>Lonicera japonica</i> Thunberg	stem	1.24	1.08
자완	<i>Aster tataricus</i> L.	root	1.07	0.98
지겹승마	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom	fruit	1.88	1.17
지우	<i>Poncirus trifoliata</i> Raf	leaves	1.04	1.14
자유근	<i>Sanguisorba officinalis</i> Linne	root	1.09	1.06
천마	<i>Gastrodia elata</i> Blume	root	1.11	1.13
천초	<i>Rubia akane</i> Nakai.	root	0.98	1.00
초용담	<i>Gentiana scabra</i> Bunge	flower	0.98	1.01
치자	<i>Gradenia jasminoides</i> Ellis	fruit	1.16	1.13
택사	<i>Alisma orientale</i> Juzepczuk	leaves, stem	0.95	1.01
통길경	<i>Platycodon grandiflorum</i> A. De Candolle	root	1.18	1.22
할미꽃	<i>Pulsatilla koreana</i> Nakai	root	1.11	1.10
황기	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	root	0.97	1.04
현초	<i>Geranium thunbergii</i> siebold et Zuccarini	stem	1.31	1.10

또한 동물성 유지와 식물성 유지에서 항산화 효과는 약간의 차이를 보였다. 이와 같은 현상은 칩뿌리 추출물<sup>(24)</sup>, 더덕 추출물<sup>(25)</sup>, 소목, 강진향 추출물<sup>(26)</sup>에서도 같은 결과를 보였으며, 이는 식물성 기름에는 천연으로 들어있는 항산화제의 영향과 유지 자체의 특성으로 알려져 있다.

이들 실험한 대상 식물 추출물 중 건칠 즉 율나무 수피 추출물의 경우 모든 추출물 중 가장 높은 항산화 효과를 나타내어서 율나무에는 유지의 산화억제력이 뛰어난 물질이 존재하는 것으로 추정되었다.

따라서 본 연구에서는 동, 식물성 유지에 뛰어난 항산화 효과가 있는 것으로 확인된 율나무를 대상으로 그 활성물질의 분리를 시도하였다.

**율나무 분획별 항산화 활성**

팜유와 돈지에 대하여 항산화 효과가 우수한 율나

무 수피 에탄올 추출물을 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올 등의 용매로 순차 분획하여 각각 돈지와 팜유에 첨가하여 Rancimat method로 항산화 효과를 비교한 결과는 Table 2와 같다. 율나무의 각 용매별 추출물의 항산화력은 두 유지에서 모두 클로로포름>에틸아세테이트>물>부탄올 순이었다. 클로로포름 분획물을 함량별로 첨가한 결과는 Table 2와 같은데 돈지에 대하여 200 ppm에서 AI가 5.09 및 600 ppm에서 9.47로 무첨가구와 비교한다면 10배 이상 항산화 개선 효과가 있었다. 팜유에 대해서도 200 ppm에서 AI가 1.34 및 600 ppm에서 1.99로 무첨가구와 비교해 보면 2배 정도 항산화 개선 효과가 있었다. 끈적끈적한 gum 성분이 함유된 클로로포름 농축물은 600 ppm 첨가시 돈지 및 팜유에서 각각 AI 9.47 및 1.99로 활성이 우수하였으며, 농도가 증가됨에 따라 그 유효기간도 비례적으로 증가하는 것을 확인하였다.

**Table 2. Antioxidative activity of each fraction of 75% ethanol extract of *Rhus verniciflua* STOKES by concentration on oil**

Fraction	Lard			200 <sup>1)</sup>		
	400	600	200	400	600	200
Crude extract	4.32 <sup>2)</sup>	4.98	6.02	1.24	1.36	1.79
Chloroform	5.09	7.12	9.47	1.34	1.75	1.99
Ethyl acetate	1.90	2.01	2.12	1.13	1.30	1.42
Butanol	1.07	1.11	1.15	1.07	1.10	1.12
Water	1.15	1.50	1.92	1.12	1.15	1.19

<sup>1)</sup>Concentration added of each fraction (ppm).<sup>2)</sup>Refer to the footnote of Table 1.**Table 3. Antioxidative effect of free phenolic acid and soluble phenolic acid ester of chloroform fraction of 75% ethanol extract of *Rhus verniciflua* STOKES on lard and palm oil**

Fraction	Lard			200 <sup>1)</sup>		
	400	600	8.65	200	400	600
Free phenolic acid	4.29 <sup>2)</sup>	6.14	8.65	1.62	2.02	2.46
Soluble phenolic acid ester	1.74	2.30	2.63	1.26	1.33	1.51
BHT	1.52	1.62	1.74	1.02	1.10	1.13
BHA	2.57	3.14	3.54	1.03	1.07	1.10

<sup>1,2)</sup>Refer to the footnote of Table 1.

클로로포름 분획물을 페놀성화합물을 중심으로 용매 분획하여 유리 페놀성산, 가용성 페놀성산 에스터로 나누고 돈지, 팜유에 각각 농도를 달리하여 적용한 것과 일반적으로 많이 사용되고 있는 합성항산화제인 BHT 및 BHA와 항산화 활성 정도를 비교한 결과는 Table 3와 같다. Table 3에서 보면 600 ppm에서 유리 페놀성산 성분의 활성이 가용성 페놀성산 에스터보다 돈지에서는 약 3배, 팜유에서는 1.5배 정도 우수하였다. 유리 페놀성산 성분은 노란색을 띄었고, 600 ppm 첨가시 돈지, 팜유, 콩기름의 세 기질에서 각각 AI 8.65, 2.46, 1.97로 농도가 증가함에 따라 활성이 비례적으로 증가하였으며, 같은 농도에서의 BHT, BHA에 비해 돈지에서 각각 5배, 2.5배 정도 우수하였고, 팜유에서는 2배 정도로 유도기간이 연장되었다. 클로로포름 분획물을 페놀성 성분별로 용매분획 하였을 때 TLC, UV를 통해 확인한 결과 활성물질은 순도가 증가하면서 활성이 증가되고 분리가 용이하였다. 최 등<sup>27)</sup>은 겨자추출물에서 가용성 페놀성산 에스터의 항산화 효과가 우수하고, 그 다음이 유리 페놀성산형이었다고 보고하였으며, 김 등<sup>16)</sup>은 오배자 메탄올 추출물에서 불용성 페놀성산이 가장 항산화효과가 있었다는 보고와는 차이가 있었다. 이는 대상 식물에 따른 활성 물질이 차이가 있다는 것을 알 수 있다.

활성이 증가된 분획물(RCF)을 silicagel column chromatography 하여 용매계(클로로포름/메탄올=40:1 →

**Table 4. Antioxidative activity of fraction RCF-1~RCF-14 obtained by column chromatography of free phenolic acid fraction of *Rhus verniciflua* STOKES on lard and palm oil**

Fraction <sup>2)</sup> (200 ppm)	Antioxidative index <sup>1)</sup>	
	Lard	Palm oil
RCF-1	3.91	1.29
RCF-2	3.72	1.19
RCF-3	3.29	1.13
RCF-4	2.10	1.11
RCF-5	1.99	1.02
RCF-6	2.35	1.06
RCF-7	1.82	1.02
RCF-8	1.92	1.07
RCF-9	1.95	1.15
RCF-10	2.71	1.19
RCF-11	5.57	1.53
RCF-12	6.19	2.14
RCF-13	4.64	1.43
RCF-14	2.51	1.33

<sup>1)</sup>Refer to the footnote of table 1.<sup>2)</sup>Elution condition of silicagel column chromatography (CHCl<sub>3</sub>: MeOH → CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O=40:1 → 20:4:1, v/v/v).

클로로포름/메탄올/물=20:4:1, v/v/v)를 이용, 14개의획분으로 분리하였다. 진공건조 후 메탄올에 용해시킨 획분을 200 ppm 수준으로 돈지와 팜유에 첨가하여 Rancimat method로 획분별 항산화 효과를 비교한 결과는 Table 4와 같다. Table 4에서 보면 클로로포름/메

**Table 5. UV-vis spectral data for fraction of free phenolic acid from *Rhus verniciflua* STOKES separated by sili-cagel column chromatography**

Fraction	$\lambda_{max}$ , nm <sup>1)</sup>	$\Delta\lambda_{nm}$ <sup>2)</sup>
RCF-1	342.50	40
RCF-11	380.00	45.5-55.5
RCF-13	395.00	45-55

<sup>1)</sup>Main peak, solvent: MeOH.

<sup>2)</sup>Spectrum shift, 2 N NaOH 1~2 drop.

탄올=40 : 1 (v/v)의 용매계에서 RCF-1을 분리하였고, 비교적 극성쪽의 클로로포름/에탄올/물=20 : 4 : 1 (v/v/v) 용매계에서 활성이 우수한 RCF-11과 RCF-13을 분리하였다. RCF-1은 UV 365 nm에서 파란 형광을, 254 nm에서 갈색을 보였으며, 황산 발색시 갈색 반점을 나타내었다. RCF-11은 UV 365 nm, 254 nm에서 갈색을, 10% 황산발색시 붉은색을 나타내었다. RCF-13은 UV 365 nm에서 노란색, 254 nm에서 갈색을, 10% 황산용액으로 발색시 노란색을 나타내었다. UV spectrophotometer를 이용하여 scanning한 결과, RCF-1은 342 nm, RCF-11은 380 nm에서 흡수밴드를 보였으며, RCF-13은 395 nm에서 흡수밴드를 보였다. 0.2 N 수산화나트륨용액 한 방울 첨가하여 spectrum의 shift를 본 결과는 Table 5에서 보이는 것과 같이 40 nm 정도 흡수밴드가 이동되었다. 단파장에서 흡수되고, shift되는 것으로 보아 율나무의 항산화활성을 보이는 물질은 carbonyl기를 가지는 flavanone이나 flavone계 화합물로 추정<sup>(26)</sup>할 수 있었다.

**Synergistic effect**

항산화활성이 가장 높게 나타난 RCF-11에 기존에 항산화작용이 있다고 알려진 ascorbic acid, citric acid 및  $\delta$ -tocopherol 200 ppm을 첨가한 후 분획물의 농도를 달리해가며 돈지, 팜유, 콩기름에서 상승효과를 Rancimat에서 본 결과는 Fig 3, 4 및 5와 같다.

동일한 Rancimat 조건에서 돈지를 기질로 한 것을 보면,  $\delta$ -tocopherol (400 ppm)만 첨가하였을 때 AI가 4.72인데 비해 RCF-11 (200 ppm)과  $\delta$ -tocopherol (200 ppm)을 첨가하였을 때 AI가 8.18로 항산화효과가 2배 정도 상승되는 결과를 보였다. 팜유를 기질로 했을 때에도 마찬가지로 ascorbic acid (400 ppm)만 첨가하였을 때 AI가 2.02인데 비해 RCF-11 (200 ppm)과 ascorbic acid (200 ppm)을 첨가하였을 때 AI가 3.09로 1.5배 정도 상승효과가 있었다. RCF-11 분획물의 첨가량이 증가함에 따라 AI도 비례적으로 증가하였으며, 돈지에서는  $\delta$ -tocopherol (200 ppm)과 RCF-11

**Fig. 3. Synergistic effect of several synergists on anti-oxidative activity of RCF-11 isolated from free phenolic acid fraction of CHCl<sub>3</sub> fraction obtained from *Rhus verniciflua* STOKES on lard.**

<sup>1)</sup>Refer to the footnote of Table 1.

**Fig. 4. Synergistic effect of several synergists on anti-oxidative activity of RCF-11 isolated from free phenolic acid fraction of CHCl<sub>3</sub> fraction obtained from *Rhus verniciflua* STOKES on palm oil.**

<sup>1)</sup>Refer to the footnote of Table 1.

(600 ppm)의 AI가 14.28로 활성이 우수하였으며, 팜유와 콩기름에서는 ascorbic acid (200 ppm)와 RCF-11 (600 ppm)의 AI가 각각 3.46 및 3.20으로 활성이 우수하였다. 이 결과는 임 등<sup>(11)</sup>의 소목 추출물에서의 유지에 따라 항산화활성 상승정도의 차이가 있음을 보인 결과와 일치한다. 동물성 유지인 돈지가 식물성 유지인 팜유나 콩기름에 비해 높은 활성을 보이는 것은 식물성 유지에는 그 자체에 유지의 산패를 지연시키는 tocopherol이나 phospholipid같은 성분을 함유<sup>(23)</sup>하고 있기 때문에 큰 지연효과를 보이지 않은 것으로 보인다

**Fig. 5. Synergistic effect of several synergists on anti-oxidative activity of RCF-11 isolated from free phenolic acid fraction of CHCl<sub>3</sub> fraction obtained from *Rhus verniciflua* STOKES on soybean oil.**

<sup>1)</sup>Refer to the footnote of Table 1.

**Fig. 6. Antioxidant activity of different fractions of free phenolic acid from *Rhus verniciflua* STOKES by silicagel TLC. Concentration of each sample was 200 ppm.**

<sup>1)</sup>Refer to the footnote Table 1.

다. 또한 일반적인 현상인 동물성 유지와 식물성 유지에서 각 항산화제들의 활성이 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

## 요 약

일반적으로 많이 사용하고 있는 한약재 중 항산화효과가 있는 대상을 선별하였고 그 중 효과가 우수한 건칠을 대상으로 항산화물질을 분리, 효과를 측정하였다. 건칠(*Rhus verniciflua* STOKES)은 율나무과(*Anacardiaceae*)에 속하는 율나무(*Rhus verniciflua* STOKES)의 수액으로 한방에서는 구충, 복통, 통경, 변

비의 목적으로 사용되어왔다. 율나무 에탄올추출물은 돈지와 팜유를 기질로 Rancimat test에서 항산화효과가 인정되었으며, 용매의 극성을 각각 달리하여 분획하였을 때 chloroform 층에서 항산화 활성이 가장 높았다. 이 분획물을 다시 phenolic compound를 중심으로 용매 분획한 후, 활성이 높은 free phenolic acid부분을 silica gel column chromatography하여 RCF-11 분획하였으며, 이 분획물을 돈지, 팜유 및 대두유에 각각 200 ppm 수준으로 첨가 하였을 때 AI (antioxidant index: 추출물을 넣은 유지의 유도기간을 기질유지의 유도기간으로 나눈 값)는 각각 5.57, 1.53 및 1.54를 나타내었다 이것은 같은 농도에서의  $\delta$ -tocopherol, BHT, BHA 보다 동물성유지인 돈지에서는 4배, 식물성유인 팜유와 콩기름에서는 1.5배 정도 효과가 우수하였다. RCF-11에 항산화작용이 알려진 ascorbic acid, citric acid,  $\delta$ -tocopherol 200 ppm을 첨가한 후 분획물의 농도를 달리해가며 동물성유지와 식물성유지에 적용해보았다. 식물성유에서는 ascorbic acid를 첨가했을 때 단독으로 사용했을 때보다 AI가 1.5배 정도 상승효과가 있었으며, 동물성유에서는  $\delta$ -tocopherol를 첨가했을 때 단독으로 사용했을 때보다 AI가 2배 정도 상승하였다. Rancimat을 통해 항산화 활성이 확인 된 율나무 75% ethanol 추출물의 free phenolic acid 성분은 TLC, UV spectra를 통해 본 결과 flavanone이나 flavone계 화합물로 추정되며, 앞으로 그 원인물질에 대한 구조동정이 요구된다.

## 감사의 글

이 연구는 '98 농림기술 개발연구 과제로 수행하였으며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Takashi, M. and Takayuki, S.: Antioxidative Activities of Natural Compounds Found in Plants, *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1819-1822 (1997)
2. Fereidoon, S. and Ryszard, A.: Antioxidant Activity of Protein Hydrolyzates from Aquatic Species, *JAOCs*, **73**, 1197-1199 (1996)
3. Kim, S.Y., Kim, J.H., Kim, S.K., Oh, M.J. and Jung, M. Y.: Antioxidant Activities of selected oriental Herb Extracts, *JAOCs*, **71**, 633-640 (1994)
4. Yen, G.C., Chen, H.Y. and Peng, H.H.: Antioxidant and prooxidant Effect of Various Tea extracts, *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 30-34 (1997)
5. Yen, G.C. and Lee, C.A.: Antioxidant Activity of Extracts from Mold, *Journal of Food Protection*, **59**, 1327-1330 (1996)
6. Ito, N., Fukushima, S., Hasegawa, A., Shibata, M. and



- Ogiso, T.: Carcinogenicity of butylated hydroxy anisole in F 344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 343 (1983)
7. Branen, A.L.: Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS*, **52**, 59 (1975)
  8. Park J.H., Kang K.C., Baek, S.B., Lee Y.H. and Rhee, K.S.: Separation of Antioxidant Compounds from Edible Marine Algae, *Korean J. Food Sci. Technol*, **23**, 256-261 (1991)
  9. Choi, U., Shin, D.H., Chang, Y.S. and Shin, J.I.: Antioxidant Activity of Ethanol Extract from *Rhus javanica* Linn on Edible Oil, *Korean J. Food Sci. Technol*, **24**, 320-325 (1992)
  10. Cho, S.Y., You, B.J., Chang, M.H., Lee, S.J.: Screening for the Antioxidants in Unused Marine Resources by the Polarographic Method, *Korean J. Food Sci. Technol*, **26**, 417-421 (1994)
  11. Lim, D.K., Choi U. and Shin, D.H.: Antioxidative Activity of Some Solvent Extract from *Caesalpinia sappan* L., *Korean J. Food Sci. Technol*, **28**, 77-82 (1996)
  12. Schwarting, A.E.: "Dimeric Natural Compounds with Pharmacological Activity". In: *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity* (Eds. Wagner, H. and Wolff, P.), 197-211 (1977)
  13. Woo, W.S.: Experimental method of phytochemistry(in Korean), Mineumsa, p.46 (1989)
  14. Masahiro Ogata, Midori Hoshi, Kumiko Shimotohno, Shro Urano and Toyoshige Endo: Antioxidant Activity of Magnolol, Honokiol and related phenolic compounds, *JAOCS*, **74**, 557-562 (1997)
  15. Quinu, L.A. and Tang, H.H.: Antioxidant properties of phenolic compounds in *Macadamia Nuta*, *JAOCS*, **73**, 1585-1588 (1996)
  16. Kim, T.C., Lee, G.D. and Yoon, H.S.: Antioxidative Effectiveness of Methanol Extract in *Galla Rhois*, *Kor. J. Food Hygiene*, **7**, 107-112 (1992)
  17. Shin, M.K.: Coloured Limsangbonchohak(in Korean), Namsandang, p165-718 (1986)
  18. Lim, K.T. and Shin, J.H.: Antioxidative Effects of Ethanol from *Rhus verniciflua* Stokes on Mouse Whole Brain Cells, *Korean J. Food Sci. Technol*, **29**, 1248-1254 (1997)
  19. Traditional oriental medicines database: Seoul National University, Natural Products Research Institute, Seoul system CO., LTD. (1996)
  20. Ji, H.J. and Lee, S.I.: Standard of Chines medicine (Natural medicine)(in Korean), Korean Medical Index Co. p39-651(1989)
  21. Kozlouaka, H., Rotkiewice, D.A., Zadernousk, R. and Sosulski, F.W.: Phenolic acids in rapeseed and mustard. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**, p.6 (1983)
  22. Krygia, K., Sosulski, F. and Hogge: Free, esterified and insoluble bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure. *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 330-334 (1982)
  23. Wiedermann, L.H., and Lee, Y.Z.: The nutrition and processing of edible oil; about soybean oil (in Korean). American soybean association, p.56 (1992)
  24. Oh, M.J., Lee, K.S., Son, H.Y. and Kim, S.Y.: Antioxidative components of pueraria root. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **22**, 793-798 (1990)
  25. Maeng, Y.S. and Baek, H.K.: Antioxidant activity of ethanol extracts from Dodok. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**, 311-315 (1991)
  26. Choi, U.: Development of new natural antioxidant from *Dalbergia odorifera* T.CHEN and *Caesalpinia sappan* L. and food application. A thesis for Ph. D. degree. Chonbuk National Univ., Korea, (1998)
  27. Choi, K.H., Yoon, H.S. and Kim, J.S.: Antioxidative effectiveness of methanol extract in mustard (in Korean). *Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.*, **7**, 165-174 (1989)
  28. Woo, W.S.: Experimental method of phytochemistry (in Korean), Mineumsa, p.81 (1989)

(1999년 1월 29일 접수)