

## Antioxidant Activities of Ostrich Fern by Different Extraction Methods and Solvents

So Lim Shin and Cheol Hee Lee\*

Department of Horticultural Science, Chungbuk National University Cheongju 361-763, Korea

Received August 31, 2010 / Accepted January 19, 2011

This study was performed to investigate effective extract conditions in fronds of the Ostrich fern (*Matteuccia struthiopteris*) to increase antioxidant compound contents and antioxidant capacity. Powder (1 g) of lyophilized fronds were mixed with 3 kinds of solvents (MeOH, 80% EtOH and water). Extractions were carried out using not only immersion (room temp.), heating (60°C) and stirring (200 rpm) for 6 hr, but also through sonication in a 42 kHz ultrasonic bath for 15, 30 and 45 min. Extracts were filtrated and measured for contents of soluble solids (SS), total polyphenols (TP; tannic acid as a standard) and total flavonoids (TF; Naringin as a standard). Antioxidant activity was expressed as RC<sub>50</sub> for DPPH and ABTS radical scavenging. SS (0.317 g·g<sup>-1</sup> db), TP (70.90 mg·g<sup>-1</sup> db) and TF (41.53 mg·g<sup>-1</sup> db) contents reached their highest levels when 30 minute sonication extraction with 80% EtOH was performed, and the highest DPPH and ABTS scavenging activity was observed in the same extraction conditions (RC<sub>50</sub>=0.14 mg·ml<sup>-1</sup> and 0.09 mg·ml<sup>-1</sup>, respectively). From the present investigation, it can be concluded that fronds of the ostrich fern can be used as a natural material for antioxidants, and sonication for 15-30 min with 80% EtOH is an ideal extraction method for increasing their antioxidant effects and saving extraction time.

**Key words** : ABTS radical, DPPH radical, flavonoid, *Matteuccia struthiopteris*, polyphenol, ultrasonic

## 서 론

생리활성이 우수한 생물소재는 생물산업적 소재로 활용하기 위해서는 생리활성에 대한 탐색과 별도로 생물자원의 특성을 고려한 제조공정에 관한 검토가 필요하다[5]. 생물소재는 생산에 한계가 있으므로 적은 공간과 비용으로 다량의 생물소재를 생산할 수 있어야 하며, 저렴한 비용으로 동일한 양의 생물소재로부터 가급적 다량의 유용물질을 생산할 수 있는 추출공정이 개발되어야 한다. 열수 추출법은 일반적으로 자주 사용되는 추출방법이지만, 가용성분 위주의 추출로 인한 낮은 추출효율, 높은 에너지소비 및 열에 의한 유용성분의 파괴 등과 같은 단점이 있으므로 천연물의 추출효율을 증가시키기 위하여 마이크로파 추출[6,15], 초임계유체 추출[5,16] 및 초음파추출 등 여러 가지 추출방법이 시도되고 있다[1]. 그러나 장비 설치비가 비싸며 동시에 추출할 수 있는 양이 적으므로 실제로 산업화에 적용하기 어려운 단점이 있다[3,18].

초음파란 주파수가 약 20 kHz 이상인 음파를 뜻하는데, 초음파를 이용한 추출법은 초음파 진동에 의한 공동현상(cavitation)에 의하여 단기간에 큰 에너지가 발생하게 되며, 높은 국부온도로 인하여 주위에 위치한 반응물의 운동에너지를 증가시킬 수 있고 초음파 에너지 충격효과에 의하여 높은 압력을 유도하여 혼합 효과를 증가시킬 수 있으므로, 빠른 반

응시간 동안 높은 효율을 얻을 수 있는 장점이 있다[7,8,14]. 특히 식물을 추출할 때 초음파를 적용할 경우에는 초음파가 식물의 세포벽을 파괴하여 식물 세포 내 유용물질의 용매로의 전달 효율이 향상되기 때문에 생물 활성물과 추출효율이 증가된다고 한다[19].

본 연구에서 사용된 청나래고사리(*Matteuccia struthiopteris*)는 우리나라와 일본에서는 어린 잎을 식용하며[20], 근경은 한방에서는 협과궐(莢果蕨)이라 하여 청열해독과 양혈지형에 사용하는 약용식물이다[1]. 최근에는 청나래고사리 전초의 우수한 항산화활성이 보고되었으며[9], chlorogenic acid, L-Caffeoylhomoserine [13] 및 dolicholes [26] 등의 유용 생리활성 물질이 풍부하게 함유되어 있는 것으로 밝혀져 기능성 식물소재로 부각되고 있다.

따라서 본 연구는 메탄올, 80% 에탄올 및 물 등을 용매로 하여 범용적으로 사용되고 있는 초음파수조에서 청나래고사리를 추출한 다음 기존의 추출방법인 열, 침지 및 교반추출법과의 효율성을 비교하여 저렴한 방법으로 짧은 시간에 청나래고사리로부터 천연 항산화제를 추출하기 적합한 추출공정을 개발하기 위한 기초자료를 제시하기 위하여 수행하였다.

## 재료 및 방법

## 재료수집 및 추출

2007년 7월 31일에 수확한 청나래고사리의 성엽은 수세하여 동결건조한 다음 분쇄하여 사용하였다. 물(deionized wa-

## \*Corresponding author

Tel : +82-43-261-2526, Fax : +82-43-271-5449

E-mail : lecch@cbnu.ac.kr

ter; nano pure grade), 80% 에탄올(Ethanol, Jin chemical pharmaceutical Co., LTD, Siheung, Korea), 100% 메탄올(Methanol, Merck, Darmstadt, Germany)을 용매로 사용하였다. 각 용매와 분쇄시료를 혼합하여 25±2°C의 실온에서 6시간(상온침지추출), 용매와 분쇄시료를 넣은 용기에 냉각관을 부착하여 60°C의 항온수조에서 6시간(환류냉각추출), 분쇄시료와 용매를 삼각플라스크에 담은 후 magnetic bar (4.0×0.7 cm)를 넣어 25±2°C의 실온에서 magnetic stirrer (Wise stir MSH-200, Daihan Scientific, Seoul, Korea)로 200 rpm (상온교반추출)으로 6시간 동안 추출하였다. 초음파 추출은 30×24×14.5 cm 크기의 ultrasonic cleaner (5510-DTH, Branson, Danbury, USA)를 이용하였으며, 초음파 수조와 같은 크기의 아크릴판에 유리병 뚜껑을 부착하여 유리병이 초음파 수조의 하단에 직접 닿지 않도록 하였다(Fig. 1). 건조시료와 용매를 200 ml의 유리병에 넣은 후 혼합하여 아크릴판에 부착하였으며 초음파수조에 5 l의 물을 채운 후 15, 30, 45분 동안 추출하였다. 추출 전 초음파 수조의 수온은 20±2°C였으며, 추출 15분 후에는 1.0±0.5°C, 30분 후에는 2.5±0.8°C, 45분 후에는 3.6±0.7°C가 상승하였다. 추출물은 여과지(Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 감압여과 하였으며, 여과된 추출물의 일부를 증발접시에 담아 60±2°C의 dry oven에 2일 이상 건조시킨 후 데시케이터에서 수분을 제거하여 각 추출물의 가용성 고형분(g·g<sup>-1</sup> db) 함량을 구하였다. 모든 추출물은 잔사를 재추출하지 않고 1회 추출하였으며, 분쇄시료를 동일한 방법으로 2회 이상 추출하였다.

#### 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

추출용매 및 추출방법에 따른 총 폴리페놀의 함량을 측정하기 위하여 청나래고사리의 각 추출물 0.1 ml, 2%의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sodium carbonate, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA) 용액 2 ml를 혼합하고 3분 후 1 N의 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (F9252, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)을 0.1 ml 첨가하여 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer (Ultrospec 4000, Pharmacia Biotech., Orsay, France)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, tannic acid (T0200, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)를 표준물질로 하여 작성한 검량선에 대입하여 건조시료 1 g에서 용출되는 총 폴리페놀의 함량을 tannic acid 기준으로 구하였다[25].

총 플라보노이드 함량은 diethylene glycol 비색법을 이용

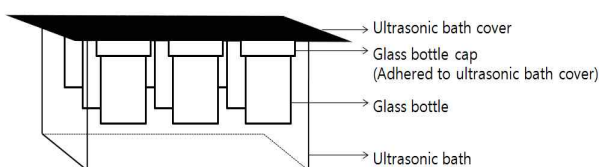


Fig. 1. Ultrasonic bath and bottles used in this study.

하여 측정하였다[21]. 추출물 0.2 ml, diethylene glycol (H26456, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA) 2 ml, 1 N NaOH (Sodium hydroxide solution, Samchun, Pyungtaek, Korea) 2 ml를 혼합한 다음 37±2°C의 water bath에서 1시간 동안 반응시켰으며, 420 nm에서 반응물의 흡광도를 측정하였다. Naringin (N1376, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)을 표준물질로 작성한 검량선에 대입하여 건조시료 1 g에서 용출되는 총 플라보노이드의 함량을 naringin 기준으로 구하였다.

#### 추출물의 radical 소거활성

추출물의 항산화활성을 분석하기 위하여 실제 항산화 활성과 연관이 높아 시료의 항산화활성 특정에 자주 사용되는 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거법[2,4,10]과 극성 및 비극성 시료의 항산화 활성을 모두 측정할 수 있어 DPPH radical 소거능보다 적용 범위가 넓은 ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical 소거법을 이용하였다[17,24].

DPPH radical 소거활성은 0.15 mM의 DPPH (D9132, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)용액 0.8 ml에 4단계로 희석한 각 추출물 0.2 ml를 혼합하여 암실에서 30분 동안 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다[2]. 각 농도별 추출물의 radical 소거활성을 아래의 식에 대입하여 계산하였으며, 대조구의 radical 소거활성을 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(RC<sub>50</sub>, mg·ml<sup>-1</sup>)를 단순회귀분석으로 구하였다.

ABTS radical 소거활성을 분석하기 위하여 2.6 mM potassium persulfate (P5592, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)에 녹인 7.4 mM의 ABTS (A9941, Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA)를 실온·암소에 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시켰으며, 실험 직전 732 nm에서 ABTS용액의 흡광도가 0.7±0.02이 되도록 phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 희석하였다. ABTS용액 950 µl에 각 추출물 50 µl를 첨가하여 암소에서 10분 동안 반응시킨 다음 732 nm에서 흡광도를 측정하였다[24]. ABTS radical 소거활성은 DPPH radical 소거활성과 동일한 방법으로 계산하여 RC<sub>50</sub>으로 나타내었다.

추출물의 DPPH 및 ABTS radical 소거활성을 비교하기 위하여 대조구로 합성 항산화제인 BHT (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol; B1378, Sigma, Steinheim, Germany)를 사용하였으며, 추출물과 동일한 방법으로 실험하여 각 추출물의 항산화활성을 비교하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: 추출물을 넣었을 때의 흡광도

B: 추출물 대신 동량의 용매를 첨가했을 때의 흡광도

#### 통계분석

실험은 3반복을 1회로 하여 3회 반복 실험한 다음 SAS ver-

sion 9.1 (SAS institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 평균을 구하였으며,  $p < 0.05$ 의 유의수준에서 Tukey's studentized range test를 이용하여 통계분석 하였다.

**결과 및 고찰**

**용매 및 추출방법에 따른 추출수율의 변화**

청나래고사리의 성엽은 80% 에탄올을 용매로 30분 동안 초음파추출 했을 때 수율이 가장 높았다. 수율이 가장 낮게 나타난 물을 용매로 상온에서 침지 추출한 추출물보다 1.5배 높은 수율을 보였다(Table 1). 침지 또는 교반 추출법으로 추출했을 때에는 용매에 관계없이 수율수율이 다소 낮은 것으로 나타났으며, 열 추출법으로 추출했을 때에는 초음파 추출에 비하여 높거나 유사한 추출수율을 나타냈다.

**용매 및 추출방법에 따른 phenolic compound 함량 측정**

Tannic acid과 naringin을 표준물질로 하여 추출용매와 추출방법을 달리한 추출물의 총 폴리페놀과 플라보노이드의 함량을 조사한 결과, 청나래고사리의 성엽은 80% 에탄올을 용매로 6시간 동안 교반추출하거나 15-30분 동안 초음파추출 했을 때 총 폴리페놀의 함량이 가장 높았으며, 총 플라보노이드의 함량은 메탄올 또는 80% 에탄올을 용매로 30분 동안 초음파추출했을 때 가장 높았다(Table 2).

추출방법에 관계없이 청나래고사리의 성엽은 80% 에탄올로 추출했을 때 페놀성물질의 추출효율이 가장 우수하였는데, 이는 80% 에탄올은 물과 유기용매가 혼합되어 있으므로 청나래고사리에 함유되어 있는 페놀성물질의 용출이 용이했기 때

문으로 생각된다.

모든 용매에서 대체로 초음파추출 했을 때 페놀성물질의 추출효율이 증가되었으나, 초음파추출 시간의 증가와 페놀성물질 함량은 반드시 비례하지는 않았다. 초음파 추출은 생리활성물질의 용출을 효과적으로 증가시킬 수 있으나[11,12,23,27], 추출용매에 따라 추출 중 발생하는 cavitation으로 인하여 형성된 hydroxy radical이 추출물의 생리활성물질에 영향을 줄 수 있다고 한다[22].

본 연구에서 초음파추출 시간과 페놀성물질의 추출수율이 반드시 비례하지 않는 이유는 cavitation으로 인한 추출물의 성분변화로 추측되었으며, 차후 초음파추출 중 쉽게 파괴되는 물질에 관한 연구가 필요한 것으로 생각된다.

**용매 및 추출방법에 따른 DPPH 및 ABTS radical 소거활성 변화**

각 추출물의 DPPH radical 소거활성을 분석한 결과, 메탄올과 80% 에탄올을 추출용매로 사용했을 때에는 추출방법에 관계없이 합성 항산화제인 BHT와 DPPH radical 소거활성이 유사하였다(Table 3).

그러나 물 추출물은 추출방법에 따라 DPPH radical 소거활성이 크게 달라졌으며, 모든 추출물이 BHT보다 DPPH radical 소거활성이 낮았다. 물 추출물은 초음파 조사시간이 길어질수록 DPPH radical 소거활성이 낮아졌는데, 이는 초음파 추출시간이 길어질수록 총 폴리페놀과 플라보노이드의 함량이 낮아졌기 때문으로 생각된다. 따라서 초음파추출에는 물보다 유기용매를 이용하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

ABTS radical 소거활성을 분석한 결과, 메탄올과 80% 에탄

Table 1. Change of extraction yield of ostrich fern depending on extraction solvent and methods

Solvent	Method	Conditions	Time (min)	Soluble solids (g·g <sup>-1</sup> db)	
MeOH	Immersion	25°C	360	0.236i <sup>z</sup>	
	Heating	60°C	360	0.263de	
	Stirring	200 rpm	360	0.254fg	
	Sonication		42 kHz	15	0.248fgh
				30	0.255rfg
				45	0.241hi
80% EtOH	Immersion	25°C	360	0.284c	
	Heating	60°C	360	0.297b	
	Stirring	200 rpm	360	0.254fg	
	Sonication	42 kHz	15	0.287c	
			30	0.317a	
			45	0.292bc	
Deionized water	Immersion	25°C	360	0.215j	
	Heating	60°C	360	0.270d	
	Stirring	200 rpm	360	0.239i	
	Sonication	42 kHz	15	0.247gh	
			30	0.256ef	
			45	0.266d	

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Tukey's studentized range test at  $p < 0.05$ .

Table 2. Change of total polyphenol and flavonoid contents in extracts obtained from ostrich fern depending on extraction solvent and methods

Solvent	Method	Conditions	Time (min)	Total polyphenol <sup>z</sup> (mg·g <sup>-1</sup> db)	Total flavonoid <sup>y</sup> (mg·g <sup>-1</sup> db)	
MeOH	Immersion	25°C	360	57.86d <sup>x</sup>	35.67e	
	Heating	60°C	360	59.36d	37.09de	
	Stirring	200 rpm	360	61.35cd	41.39ab	
	Sonication		42 kHz	15	61.39cd	40.86abc
				30	61.72cd	41.91a
				45	65.91bc	38.96bcd
80% EtOH	Immersion	25°C	360	69.48ab	35.91e	
	Heating	60°C	360	66.76ab	31.77f	
	Stirring	200 rpm	360	71.05a	35.98e	
	Sonication	42 kHz	15	70.95a	37.90de	
			30	70.90a	41.53a	
			45	69.48ab	38.31cde	
Deionized water	Immersion	25°C	360	25.08h	9.33h	
	Heating	60°C	360	35.68f	11.98h	
	Stirring	200 rpm	360	10.57i	3.69i	
	Sonication	42 kHz	15	48.46e	15.74g	
			30	31.74fg	10.96h	
			45	29.83gh	11.13h	

<sup>z</sup>Milligrams of total polyphenol contents per gram of dried samples based on tannic acid as standard.

<sup>y</sup>Milligrams of total flavonoid contents per gram of dried samples based on naringin as standard.

<sup>x</sup>Mean separation within columns by Tukey's studentized range test at  $p < 0.05$ .

Table 3. Change of DPPH radical and ABTS radical scavenging in extracts obtained from ostrich fern depending on extraction solvent and methods

Solvent	Method	Conditions	Time (min)	DPPH <sup>z</sup> (RC <sub>50</sub> =mg·ml <sup>-1</sup> )	ABTS <sup>+y</sup> (RC <sub>50</sub> =mg·ml <sup>-1</sup> )
MeOH	Immersion	25°C	360	0.14a <sup>x</sup>	0.10a
	Heating	60°C	360	0.16a	0.10a
	Stirring	200 rpm	360	0.14a	0.14ab
	Sonication	42 kHz	15	0.14a	0.11ab
			30	0.13a	0.14ab
			45	0.14a	0.14ab
80% EtOH	Immersion	25°C	360	0.11a	0.11ab
	Heating	60°C	360	0.14a	0.10a
	Stirring	200 rpm	360	0.10a	0.12ab
	Sonication	42 kHz	15	0.12a	0.09a
			30	0.14a	0.09a
			45	0.13a	0.10a
Deionized water	Immersion	25°C	360	0.54b	0.58f
	Heating	60°C	360	0.68b	0.24bc
	Stirring	200 rpm	360	2.60e	0.87g
	Sonication	42 kHz	15	0.48b	0.30cd
			30	1.02c	0.39de
			45	1.37d	0.47ef
BHT <sup>w</sup>				0.12a	0.21a-c

<sup>z</sup>Concentration of the material which is required to scavenge 50% of 0.15 mM DPPH radicals at 30 min after starting the reaction.

<sup>y</sup>Concentration of the material which is required to scavenge 50% of 7.4mM ABTS radicals at 10 minute after starting the reaction.

<sup>x</sup>Mean separation within columns by Tukey's studentized range test at  $p < 0.05$ .

<sup>w</sup>Positive control as synthetic antioxidant.

을 용매로 추출한 추출물은 모두 BHT보다 ABTS radical 소거능이 우수하였다. 메탄올을 용매로 6시간 동안 침지 또는 환류냉각추출한 추출물과 80% 에탄올을 용매로 초음파 추출한 추출물의 ABTS radical 소거능은 통계적으로 유의차가 없었으며, BHT보다 2.3-2.1배 우수한 것으로 나타났다(Table 3). 따라서 80% 에탄올을 용매로 15분동안추출하는 것이 청나래고사리 지상부의 ABTS radical 소거활성을 증가시키면서 빠르게 추출할 수 있는 추출방법으로 생각되었다.

연구의 결과, 메탄올과 80% 에탄올을 용매로 사용했을 때에는 추출방법에 관계없이 조추출물의 상태에서도 항산화활성이 BHT보다 우수하였으나, 물을 용매로 했을 때에는 추출방법에 따라 항산화활성에 차이가 크게 나타났으며, 추출방법에 관계없이 유기용매 추출물보다 항산화활성이 낮게 나타났다.

초음파를 이용한 추출방법은 액체간의 상호탈기작용 등으로 인하여 다양한 활성물질들이 용매로 빠르게 추출되는 장점이 있으나[23], 용매에 따라 추출 중 발생하는 cavitation에 의하여 일부 활성물질이 변성될 수 있으므로[22] 용매와 추출시간을 결정하는 것이 매우 중요하다.

본 연구에서 추출용매 및 추출방법을 달리하여 청나래고사리의 성엽을 추출하여 분석한 결과, 추출용매와 추출방법에 따라 추출수율, 생리활성 물질의 용출 및 생리활성에 차이를 보이는 것으로 나타났으며, 80% 에탄올을 용매로 하여 초음파 수조에서 15-30분 동안 초음파로 추출하는 것은 단기간에 추출효율을 증가시킬 수 있는 효과적인 추출방법인 것으로 확인되었다. 따라서 이를 기초로 하여 초음파 추출을 이용하여 항산화활성이 우수한 청나래고사리의 추출물을 대량생산할 수 있는 추출공정에 관한 추가 연구가 필요한 것으로 생각된다.

## References

- Ahn, D. K. 1998. *Illustrated book of Korean medical herbs*. Gyohaksa, Seoul.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
- Brunner, G. 2005. Supercritical fluids technology and application to food processing. *J. Food Eng.* **67**, 21-33.
- Cha, J. Y., H. J. Kim, C. H. Chung, and Y. S. Cho. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1310-1315.
- Cho, Y. J., S. K. Lee, Y. H. Ahn, and J. H. Pyee. 2003. Development of ultrasonication-assisted extraction process for manufacturing extracts with high content of pinosylvin from pine leaves. *J. Biosyst. Eng.* **28**, 325-334.
- Choi, J. W., D. Y. Ryu, E. H. Hong, M. S. Kwun, J. S. Han, and W. H. Lee. 2000. Microwave assisted extraction of physiologically active materials from *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **15**, 307-312.
- Chung, H. S. and K. W. Youn. 2005. Effects of microwave, ultrasound and roasting pretreatments on hot water extraction of *Acanthopanax senticosus*. *Korean J. Food Preserv* **12**, 146-150.
- Chung, K. W., W. I. Kim, I. K. Hong, and K. A. Park. 2000. Ultrasonic energy effects on squalene extraction from amaranth seed. *Applied Chem* **4**, 149-152.
- Jeong, J. A., S. H. Kwon, and C. H. Lee. 2007. Screening for antioxidative activities of extracts from aerial and underground parts of some edible and medicinal ferns. *Korean J. Plant Res.* **20**, 185-192.
- Jung, S. J., J. H. Lee, H. N. Song, N. S. Seong, S. E. Lee, and N. I. Baek. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**, 135-140.
- Kim, D. H., H. J. Kim, and B. W. Chung. 2006. Extraction of anti-oxidative substance from *Haematococcus pluvialis* using ultrasonification. *J. Eng. Res.* **37**, 79-86.
- Kim, J. H., D. H. Kim, J. H. You, C. H. Kim, M. C. Kwon, N. S. Seong, S. E. Lee, and H. Y. Lee. 2005. Immuno-regulatory activities of various fractions from *Ehpedrae sinica* Stapf, *Rubus coreanus* Miq. and *Angelica gigas* Nakai extracts with ultrasonification. *Korean J. Med. Crop. Sci.* **13**, 161-170.
- Kimura, T., M. Suzuki, M. Takenaka, K. Yamagishi, and H. Shinmoto. 2004. L-O-Caffeoylhomoserine from *Matteuccia struthiopteris*. *Phytochemistry* **65**, 423-426.
- Kruus, P., M. O'Neill, and D. Robertson. 1990. Ultrasonic initiation of polymerization. *Ultrasonics* **28**, 304-309.
- Kwon, J. H., G. D. Lee, K. Kim, J. M. R. Belanger, and J. R. Pare. 2004. Monitoring and optimization of microwave-assisted extraction for total solid, crude saponin, and ginsenosides from ginseng roots. *Food Sci. Biotechnol.* **13**, 309-314.
- Lee, C. J., M. S. Kim, J. Y. Shen, Y. D. Kim, and J. H. Shin. 2003. The extraction condition of pungent compounds from *Zanthoxylum piperitum* D.C. pericarps by using supercritical fluid extraction. *Korean J. Med. Crop. Sci.* **11**, 19-23.
- Li, H., Y. M. Choi, J. S. Lee, J. S. Park, K. S. Yeon, and C. D. Han. 2007. Drying and antioxidant characteristics of the shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom in a conveyer-type far-infrared dryer. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 250-254.
- Luque-Garcia, J. L. and M. D. Luque de Castro. 2004. Focused microwave-assisted soxlet extraction, devices and application. *Talanta* **64**, 571-577.
- Melecchi, M. I. S., V. F. Peres, C. Dariva, C. A. Zini, F. C. Abad, M. M. Martinez, and E. B. Caramao. 2005. Optimization of the sonication extraction method of *Hibiscus tiliaceus* L. flowers. *Ultrason Sonochem.* **13**, 242-250.
- Miyazawa, M., E. Horiuchi, and J. Kawata. 2007. Components of the essential oil from *Matteuccia struthiopteris*. *J. Oleo Sci.* **56**, 457-461.
- NFRI. 1990. *Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation (2)*. National Food Research Institute, Skuba.
- Paniwnyk, L., E. Beaufoy, J. P. Lorimer, and T. J. Mason. 2001. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*. *Ultrason Sonochem* **8**, 299-301.
- Park, J. H., H. S. Lee, H. C. Mun, D. H. Kim, N. S. Seong,

- H. G. Jung, J. K. Bang, and H. Y. Lee. 2004. Improvement of anticancer activation of ultrasonicated extracts from *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* Stapf, *Rubus coreanus* Miq. and *Artemisia capillaris* Thunb. *Korean J. Med Crop Sci.* **12**, 273-278.
24. Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
25. Velioglu, Y. S., G. Mazza, L. Cao, and B. D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 4113-4117.
26. Wojtas, M., T. Bienkoski, M. Zelman-Femiak, S. Tateyama, H. Sagami, T. Chojnacki, W. Danikiericz, and E. Swiezewska. 2005. Dolichols of the fern *Matteuccia struthiopteris*. *Acta Biochim. Pol.* **52**, 255-259.
27. Yasui, K., T. Tuziuti, and Y. Iida. 2005. Dependence of the characteristics of bubbles on type of sonochemical reactors. *Ultrason Sonochem.* **12**, 43-51.

### 초록 : 추출방법 및 용매에 따른 청나래고사리의 항산화 활성

신소림 · 이철하\*

(충북대학교 원예과학과)

본 연구는 청나래고사리 성엽 추출물의 항산화물질의 함량과 항산화능을 향상시킬 수 있는 효과적인 추출방법을 개발하기 위하여 시행하였다. 동결건조한 청나래고사리 성엽의 분쇄시료 1 g을 메탄올, 80% 에탄올 및 물 등 3가지 용매와 섞은 후 6시간 동안 상온 침지, 60°C 가열 및 200 rpm에서 교반하여 추출하거나 42 kHz의 초음파 수조에서 15, 30, 45분 동안 추출하였다. 추출물은 여과한 다음 가용성고형분, 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량을 측정하였으며, 항산화활성은 DPPH와 ABTS radical 소거활성을 RC<sub>50</sub>으로 환산하여 측정하였다. 80% 에탄올을 용매로 하여 30분 동안 초음파추출 하였을 때 가용성고형분(0.317 g·g<sup>-1</sup> db), 총 폴리페놀(70.90 mg·g<sup>-1</sup> db) 및 총 플라보노이드(41.53 mg·g<sup>-1</sup> db)의 추출수율이 가장 우수하였으며, DPPH와 ABTS radical 소거활성 또한 가장 우수하였다(각 RC<sub>50</sub>=0.14 mg·ml<sup>-1</sup>와 0.09 mg·ml<sup>-1</sup>). 상기의 연구결과에 따라 청나래고사리의 성엽은 천연 항산화소재로 활용가능하며, 80% 에탄올을 용매로 15-30분 동안 초음파추출하는 것이 추출물의 항산화효과를 증가시키며 추출에 소요되는 시간을 줄일 수 있는 효과적인 추출방법으로 생각되었다.