

Antioxidative Activity and Chemical Characteristics of Leaf and Fruit Extracts from *Thuja orientalis*Hee-Young Ahn¹, Su-Jin Heo¹, Min-Jung Kang¹, Jae-Hong Lee¹, Jae-Young Cha² and Young-Su Cho^{3*}¹Department of Medical Biosciences, Graduate School, Dong-A University, Busan 604-714, Korea²Technical Research Institute, Daesun Distilling Co., Ltd., Busan 619-934, Korea³Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received March 9, 2011 / Accepted April 14, 2011

The contents of bioactive materials (e.g. polyphenolics compounds, flavonoids, minerals, and fatty acids) and antioxidative activities (DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl) free radical scavenging activity, peroxidation of linoleic acid and rat hepatocyte microsome, and Fe/Cu reducing power) were tested by *in vitro* experimental models using water, ethanol and methanol extracts of leaves (TOL) and fruits (TOF) from *Thuja orientalis*. Methanol extract from TOL showed the highest extraction yield (12.90%) as well as contents of polyphenolic compounds (16.02%) and flavonoids (0.25%). Major minerals were Ca, K, and Mg. Major fatty acids were palmitic and lauric acids in TOL and palmitic and decanoic acids in TOF. In oxidation of *in vitro* models using DPPH free radical scavenging activity, Fe/Cu reducing power, Fe²⁺/ascorbate-induced linolenic acid peroxidation by ferric thiocyanate and thiobarbituric acid (TBA) methods, and autooxidation of rat hepatic microsomes membrane, antioxidative activities were stronger in all extracts of TOL than in those of TOF in a dose-dependent manner. From these results, methanol extract of TOL was shown to have the most potent antioxidative properties and the highest content of antioxidative compounds such as polyphenolic compounds and flavonoids.

Key words : *Thuja orientalis*, DPPH, antioxidative activity, polyphenolic compounds, flavonoids.

서론

현대 산업사회에서 지속적인 경제성장과 국민들의 생활수준은 향상되었으나, 환경오염 및 실내 활동으로 인한 운동부족, 일상 생활 속의 스트레스, 서구화된 음식문화로 인해 뇌혈관계 질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등의 순환계 질환과 암으로 인한 사망률이 크게 증가하고 있는 실정이다. 이러한 각종 질병과 노화는 대사과정 중에 체내에서 유입된 이질성물질(Xenobiotics)로 인한 세포 내 유리기(Free radical) 생성이나 산화 스트레스에 의한 생체막 과산화지질의 증가로 인해 조직 세포에 산화적 손상을 주어 조직의 정상적인 생리적 기능이 저하되는 것과 무관하지 않다[24,30]. 이러한 산화적 손상을 억제 할 수 있는 플라보노이드와 폴리페놀을 비롯한 다양한 천연물 유래의 항산화 물질에 대한 연구가 활발히 전개되고 있다[17,18]. 천연물에 존재하는 대표적인 항산화 물질로는 phenolic compounds [6], ascorbic acid [14], tocopherol [19], carotenoids [29], flavonoids [10], zinc [7], glutathione [8] 등이 알려져 있으나 효과적인 항산화제 개발을 위해서는 독성과 같은 안전성 문제를 해결 할 수 있는 천연물에 대한 보다 광범위한 검색과 연구가 필요한 실정이다.

측백나무(*Thuja orientalis*)는 중국 북부 지방이 원산으로 정원수나 생울타리로 많이 심고 있으며, 우리나라에서는 설악산 이북이나 고산 지대에 주로 분포하고, 성장이 느리고 서양 측백처럼 수평으로 퍼지고 향기가 있다. 측백나무 열매에는 지방과 saponin이 많이 함유되어있고, 잎에는 flavonoid, 정유물질(thujene, thujone, fenchone, pinene, caryophyllene), 펙, 탄닌, 수지 등이 함유되어 있다[21,32]. 측백나무 열매는 항균활성이 우수하여 살충제로 이용되고 있으며, 잎은 flavonol 유도체들이 함유되어 있어 높은 항산화 효과와 함께 아토피 치료에 효과적이라 하였다[22]. 그러나 측백나무는 우수한 항균 및 항충 작용은 알려져 있으나, 건강기능식품이나 기능성 화장품 소재로서 일반 이화학적 분석 결과와 항산화 작용에 관한 구체적인 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 측백나무 잎과 열매에 존재하는 생리활성 물질을 탐색하기 위하여 용매 추출물별 이화학적 특성과 항산화 효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 측백나무(*Thuja orientalis*) 잎과 열매는 2010년 7월경에 부산광역시 사하구 하단동 소재 승학산 일대에서 자생하고 있는 것을 직접 채취하여 음지에서 건조시켜

*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : choys@dau.ac.kr

분쇄 후 시료로 사용하였다.

시료의 추출 및 수율 측정

수용성 추출물을 얻기 위하여 각각 건조된 분말 시료에 10 배 양의 3차 증류수를 가한 후 40°C 항온수조에서 3시간씩 교반 하면서 3회 반복 추출하였으며, 70% 에탄올 및 70% 메탄올 용매를 수용성 추출물과 동일한 방법으로 추출한 후 추출액을 모아 여과지(Whatman No.2)로 여과시켜 얻은 여액을 감압 농축하여 각각의 용매를 제거시킨 후 동결건조 하여 추출 수율을 구하였다.

페놀성 화합물 함량 측정

페놀성 화합물의 함량은 Folin-ciocalteu's phenol reagent를 이용하여 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis법[28]으로 비색시켜 spectrophotometer (Hitachi U-2900, Tokyo, Japan)의 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 함량은 tannic acid를 일정 농도(0-500 µg/ml)로 하여 시료와 동일한 방법으로 측정된 표준곡선으로부터 계산하였다.

Flavonoid 함량 측정

Flavonoid 함량은 Jia 등의 방법[16]에 따라 각 시료의 추출 용매별 농도에 정제수와 5% NaNO₂ 용액 및 10% AlCl₃·6H₂O를 잘 혼합하여 반응시킨 용액을 spectrophotometer (Hitachi U-2900, Tokyo Japan)의 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 함량은 표준 물질로서 (+)-catechin hydrate을 일정 농도(20-200 µg/ml)로 시료와 동일한 방법으로 측정하여 작성한 표준곡선으로부터 계산하였다.

미네랄 함량 측정

측백나무 잎 및 열매의 미네랄 함량은 AOAC 분석 방법[1]에 준하여 측정하였다. 즉, 각 시료 분말 1 g을 취해 550°C에서 3시간 회화시킨 후 6 N HCl에 용해시켜 가수분해 후 수용상에서 산을 완전히 제거하고, 이 건고물에 3 N HCl를 가하여 여과한 후 원소 종류에 따라 각각 일정비율로 희석하여 원자흡광 분광광도계(Analyst 300, Perkin Elmer, Norwalk CT, USA)를 이용하여 측정하였다.

지방산 조성 분석

지방산 분석은 Garces 및 Mancha 방법[13]으로 각 시료 분말의 지질을 chloroform 및 methanol 혼합액(2:1)으로 추출하였다. 추출된 지질 용액에 methanol:HCl (5:1, v/v%) 용액으로 methylation 한 후 hexane으로 지방산 methylester를 추출하여 Omega-Wax capillary column (30 m × 0.25 µm, Supelco, USA)을 사용하여 Gas chromatography (GC-17A, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 지방산을 분석하였다. 지방산 분

석 결과는 각 지방산 표준물질과 동일한 retention time에 검출된 것으로 하였으며, 이때 검출된 총 지방산의 면적에 대한 각 지방산의 면적 비율(%)로 나타내었다.

DPPH에 의한 항산화 활성 측정

항산화 활성 측정은 Blois 방법[3]에 따라 각 용매 추출물 분말을 0.01, 0.05 및 0.1% 농도로 만든 시료 용액에서 α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging 활성을 spectrophotometer (Hitachi U-2900, Tokyo Japan)의 528 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다. 이때 활성 비교는 합성 항산화제 butylated hydroxytoluene (BHT)를 0.05% 농도로 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다.

DPPH radical scavenging activity (%)=[1-(sample absorbance_{528nm})/control absorbance_{528nm}]*100

Fe/Cu 환원력 측정

Fe-환원력 측정은 Zhu 등의 방법[33]에 따라 각 용매 추출물 0.01, 0.05 및 0.1% 농도의 시료 용액에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 및 1% (w/v) potassium ferricyanide [K₃Fe(CN)₆]를 혼합하여 50°C에서 반응 시키고 10% trichloroacetic acid (w/v) 상층액에 증류수 및 0.5% ferric chloride (FeCl₃)를 혼합한 후 실온에서 반응 시켜 spectrophotometer (Hitachi U-2900, Tokyo Japan)의 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 한편, Cu-환원력 측정도 각 용매 추출물 0.01, 0.05 및 0.1% 시료 용액에 0.01 M CuCl₂, 7.5 mM ethnolic neocupronine solution, 1 M NH₄OAc buffer를 혼합하여 상온에서 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 환원력 비교를 위하여 천연 항산화제 ascorbic acid와 합성 항산화제 BHT를 각각 시료와 동일한 농도와 방법으로 흡광도를 측정하였다.

Fe⁺⁺/ascorbate에 의해 유도된 항산화 활성 조사

성장기의 정상 흰쥐 간 조직으로부터 microsome 분획을 조제 하였다. 간 microsome 분획을 이용한 항산화 활성은 Wong 등의 방법[31]에 따라 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5), 간 microsome 분획 (1 ml 중 1 mg의 단백질 함유), 0.1 mM ascorbate 및 5 mM FeSO₄ 반응액을 잘 혼합한 후 37°C에서 1시간 반응시켜 과산화를 유도시켰다. 이때 대조구는 시료를 첨가시키지 않고 동일한 방법으로 실시하였다. 반응액에 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액을 가하고 원심분리 한 후 상등액에 0.67% TBA를 넣고 가열하여 발색시켰다. 발색된 반응액은 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 지질과산화의 억제율은 대조구의 흡광도에 대한 저해율(%)로 비교하였다.

TBA (2-thiobarbituric acid)에 의한 항산화 활성 측정

Linoleic acid (25 mg/ml in EtOH)를 기질로 하여 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0)와 각 시료 용액을 가하여 40°C에서 1주일 동안 지질 과산화를 유도하였다[6]. 과산화 지질 측정은 반응액에 35% trichloroacetic acid와 0.75% aqueous TBA를 혼합하고 가열처리 한 후 70% trichloroacetic acid를 가한 다음 원심분리 하여 그 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Thiocyanate에 의한 항산화 활성 측정

Ohkawa의 방법[25]에 따라 먼저 linoleic acid로 유도된 과산화 지질 용액에 70% ethanol과 ammonium thiocyanate 용액(0.3 g/ml in H₂O), ferrous chloride 용액(2.45 mg/ml in 3.5% hydrochloric acid)을 혼합한 후 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 BHT를 0.05% 농도로 사용하였다.

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차(mean±SD)로 표시하였다[12].

결과 및 고찰

측백나무 잎 및 열매의 추출 수율

측백나무 잎 및 열매 물 추출물의 수율은 각각 6.49 및 12.65%였으며, 에탄올 추출물 수율은 각각 8.02 및 8.92%였고, 메탄올 추출물 수율은 각각 12.90 및 12.33%로 용매 중에서 측백나무 잎에서는 메탄올 추출물에서, 열매에서는 물 추출물과 메탄올 추출물 수율이 서로 비슷했으나 물 추출물에서 조금 더 높았다(Table 1). 식용식물 중의 flavonoid와 같은 페놀성 화합물은 수용성 또는 지용성으로 구분되어 있어 추출되는 용매에 따라 성분들이 달라지기 때문에 추출 수율에 있어서도 차이를 보인다고 하였다[9].

총 폴리페놀 화합물의 함량

측백나무 잎과 열매 용매별 추출액의 총 폴리페놀 화합물 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 측백나무 잎의 총 폴리

페놀 화합물은 물, 에탄올 및 메탄올 추출물에서 각각 11.62, 13.17 및 16.02%로 메탄올 추출물에서 가장 높았다. 또한 측백나무 열매의 총 폴리페놀 화합물 함량은 물, 에탄올 및 메탄올 추출물에서 각각 6.11, 7.65 및 12.67%가 함유되어 측백나무 잎과 동일하게 메탄올 추출물에서 가장 높았다. 그리고 측백나무 열매보다는 측백나무 잎에서 총 폴리페놀 화합물 함량이 높았다. 이러한 결과로부터 페놀화합물 함량은 추출용매가 영향을 주는 것을 알 수 있다.

플라보노이드 함량

Flavonoid의 함량은 측백나무 잎의 물, 에탄올 및 메탄올 추출물에서 각각 0.09, 0.18 및 0.25% 함량을 보였다(Table 1). 측백나무 열매에서는 물, 에탄올 및 메탄올 추출물에서 각각 0.03, 0.06 및 0.09%의 함량을 보였다. 측백나무의 잎과 열매 추출물의 flavonoid 함량은 모두 메탄올 추출물에서 가장 높았다. 대부분의 식물체에서 polyphenolic compounds 함량이 flavonoids 보다 많이 함유 되어 있으며, 대체로 polyphenolic compounds 함량이 많은 식물이 flavonoids의 함량도 많이 함유하고 있는 것으로 알려져 있다[11,20].

무기질 함량

측백나무 잎 및 열매 시료의 무기질 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 무기질 성분 조성 비율을 보면 전체적으로 측백나무 잎 및 열매에서 Ca이 각각 986.67 및 1011.67 mg/100 g으로 가장 많이 함유되어 있었고, 다음으로 K가 68.83 및

Table 2. Mineral contents in *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF)

	Mineral contents (mg/100 g dry wt)	
	TOL	TOF
Calcium	986.67±11.26	1011.67±10.73
Potassium	68.83±0.85	120.23±0.33
Magnesium	15.97±0.03	11.83±0.09
Iron	2.42±0.02	0.28±0.04
Sodium	2.37±0.03	15.90±0.06
Manganese	0.71±0.01	0.24±0.02
Zinc	0.27±0.01	0.20±0.07

Values are mean±SD, n=3.

Table 1. Extracted yield, the concentrations of polyphenolic compounds and flavonoids in the water, ethanol, methanol extracts from *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF)

	Extracted yield (%)		Polyphenolic compounds concentrations (%)		Flavonoids concentrations (%)	
	TOL	TOF	TOL	TOF	TOL	TOF
Water	6.49 ^a	12.65 ^b	11.62±0.42 ^a	6.11±0.70 ^a	0.09±0.01 ^a	0.03±0.07 ^a
Ethanol	8.02 ^b	8.92 ^a	13.17±0.90 ^b	7.65±0.71 ^b	0.18±0.02 ^b	0.06±0.01 ^b
Methanol	12.90 ^c	12.33 ^b	16.02±0.42 ^c	12.67±0.38 ^c	0.25±0.02 ^c	0.09±0.03 ^c

Values are mean±SD, n=3. Values with different letters are significantly different at p<0.05.

120.23 mg/100 g, Mg가 15.97 및 11.83 mg/100 g였으며, Fe, Na, Mn, Zn 성분은 소량씩 함유되어 있었다.

지방산 조성

측백나무 잎과 열매의 주요 지방산 성분으로 palmitic acid 가 각각 64.9 및 58.1%로 가장 많이 함유 되어 있었고, 다음으로는 잎에서 lauric acid가 20.9%, 열매에서 decanoic acid가 39.6%로 많은 함량을 보였다(Table 3). 측백나무 잎에서 총 지방산 중 포화 지방산이 99.3%, 불포화 지방산이 0.7%를 차지하였고, 측백나무 열매에서는 포화 지방산 만으로 구성되어 있었다. 다른 침엽수 열매에 가장 많이 함유된 지방산 함량을 보면 oleic acid로 소나무 35.42%, 해송 34.03%, 리기다 32.23%, 잣나무 31.17%가 함유되어 있었고, 그 다음으로 linoleic acid 가 리기다 23.86%, 잣나무 22.87%, 소나무 20.15%, 해송 19.57%가 각각 함유되어 있어 종에 따라 지방산 조성에 큰 차이를 보이는 것으로 사료되어 진다[4].

DPPH free radical scavenging 활성

DPPH는 비교적 안정한 free radical로써 식물 추출물의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 활성과도 연관성이 매우 높기 때문에 많이 이용되고 있다[3,5]. 측백나무 잎과 열매의 용매별 추출물의 DPPH free radical scavenging 활성은 시료의 처리 농도 증가와 함께 활성도 증가되는 경향을 보였다(Fig. 1). 특히 DPPH free radical scavenging

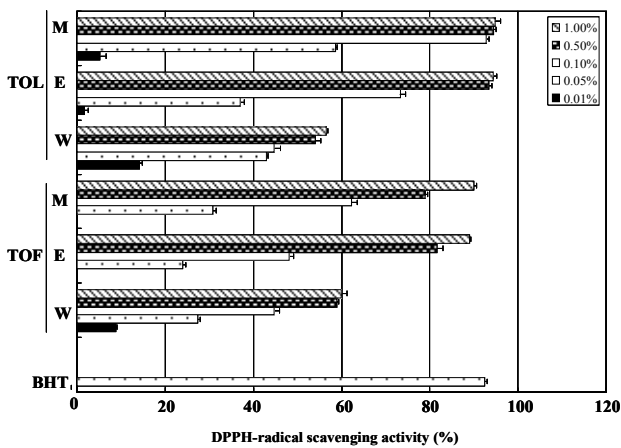


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of water (W), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF). BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%). Values are mean±SD, n=3.

활성은 측백나무 열매와 메탄올 추출물에서 높은 활성을 보였다. 약용식물의 물 추출물 1.0 mg/ml (0.1%) 농도에서 DPPH free radical scavenging 활성을 측정한 경우 당귀 15.8%, 감초 13.3%, 옥죽 5.4%로 보고되었다[23]. 이에 비해 본 실험결과 동일 농도 처리의 측백나무 잎과 열매 물 추출물에서 각각 44.7%와 44.8%로 상당히 높은 것으로 나타났다. 측백나무 잎의 에탄올 추출물의 경우는 1.0 및 0.5% 처리 농도에서 89.1% 및 81.6%로 나타났으며, 열매는 94.5% 및 93.4%로 상당히 높은 활성을 보였다. 이상의 결과에서 측백나무의 DPPH free radical scavenging 활성은 추출 용매의 차이에 의해 크게 영향을 받는 것으로 나타났으며, 특히 측백나무 열매의 메탄올 추출물에서 비교적 높은 항산화 활성을 나타냄으로서 건강기능식품이나 화장품 소재의 천연자원으로 적합할 것으로 사료되어 진다.

환원력 효과

Fe 또는 Cu-환원력에 의한 항산화 반응은 수소 원자를 제공하는 유리 라디칼의 연쇄 반응으로 환원력 효과는 반응 물질의 흡광도 수치가 높을수록 환원력의 세기가 높다는 것을 나타낸다[15]. 측백나무 잎과 열매의 용매별 추출물의 Fe-환원력은 모두 메탄올, 에탄올 및 물 추출물의 처리 농도 증가와 함께 활성이 증가하였다(Table 4). 또한 Fe-환원력은 메탄올, 에탄올 및 물 추출물 모두 측백나무 잎 추출물이 열매 추출물보다는 환원력 효과가 높았다.

Cu-환원력의 경우도 측백나무 잎 및 열매의 메탄올, 에탄올 및 물 추출물 모두 처리 농도 증가와 함께 높아지는 것으로 나타났으며(Table 4), 측백나무 잎 추출물이 열매 추출물 보다 환원력이 높았다. 이 때 대조구로 BHT 및 ascorbate를 시료와 동일한 농도에서 실험한 결과 BHT 및 ascorbate의 1%에 해당하는 Fe-환원력 흡광도와 측백나무 잎 물 및 메탄올 추출물 0.5% 처리와 유사한 효과를 보여 동일 농도에서 ascorbate 보다는 측백나무 잎과 열매 용매별 추출물의 대부분이 모두 높은 환원력을 가지고 있었다.

간장 microsome의 지질 과산화 억제활성

지질 과산화 반응은 여러 가지 독성 화학물이나 약물 또는 당뇨병 등 생체 이상에 의해 간세포에 중대한 손상을 입히는 것으로 알려져 있다[26]. 이러한 기전은 조직 내 세포의 산화적 스트레스 증가 또는 항산화적 방어력의 감소로 인해 일어나게 되며, 생체 내에서 퇴행성 과정을 거쳐 질환을 유발하거나 노

Table 3. Fatty acid compositions of *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF) (weight %)

Fatty acid	Decanoic acid (10:0)	Lauric acid (12:0)	Myristic acid (14:0)	Palmitic acid (16:0)	Palmitoleic acid (16:1, n=7)	SFA	MUFA
TOL	0.6±0.0	20.9±0.2	12.9±0.8	64.9±2.1	0.7±0.0	99.3±1.0	0.7±0.0
TOF	39.6±1.2	0.0±0.0	2.3±0.1	58.1±0.9	0.0±0.0	100.0±1.1	0.0±0.0

SFA: saturated fatty acid, MUFA: monounsaturated fatty acid

Table 4. Reducing power of water (W), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF)

Composition	Conc. (%)	Fe-Reducing power		Cu-Reducing power	
		TOL	TOF	TOL	TOF
BHT	0.01		0.34±0.02		0.90±0.01
	0.05		1.14±0.05		2.42±0.00
	0.10		1.25±0.06		2.83±0.00
	0.50		1.28±0.10		3.31±0.01
	1.00		1.58±0.04		3.62±0.00
AA	0.01		0.96±0.07		0.74±0.00
	0.05		1.00±0.05		0.90±0.00
	0.10		1.27±0.03		1.81±0.01
	0.50		1.31±0.06		2.00±0.01
	1.00		1.70±0.09		2.30±0.03
Water	0.01	0.12±0.00	0.16±0.00	0.18±0.00	0.14±0.00
	0.05	0.44±0.01	0.46±0.03	0.68±0.00	0.64±0.00
	0.10	0.75±0.01	0.80±0.03	1.09±0.01	0.78±0.01
	0.50	1.69±0.00	1.05±0.00	2.42±0.00	2.15±0.01
	1.00	2.20±0.15	1.34±0.15	2.64±0.01	2.53±0.01
Ethanol	0.01	0.17±0.00	0.14±0.00	0.13±0.00	0.33±0.00
	0.05	0.52±0.01	0.43±0.02	0.56±0.00	0.63±0.00
	0.10	1.04±0.00	0.76±0.04	1.07±0.02	1.11±0.00
	0.50	1.11±0.04	0.95±0.03	3.19±0.01	2.68±0.00
	1.00	1.54±0.17	1.12±0.05	3.21±0.01	2.72±0.01
Methanol	0.01	0.25±0.00	0.16±0.00	0.13±0.00	0.33±0.00
	0.05	0.89±0.03	0.54±0.01	0.73±0.00	0.87±0.00
	0.10	1.29±0.06	0.91±0.03	1.29±0.02	1.57±0.03
	0.50	1.78±0.03	1.25±0.18	2.90±0.01	2.56±0.00
	1.00	2.00±0.01	1.96±0.02	3.01±0.01	2.73±0.01

BHT: butylated hydroxytoluene, AA: ascorbic acid.

화를 촉진 시키는 원인으로 알려져 있어[2,27], 생체 내에서 지질 과산화물의 제어는 매우 중요하다. 동물 체내에서 생체 막 지질의 과산화물 생성 정도를 나타내는 TBARS 함량은 각 조직 세포의 microsome에 Fe⁺⁺/ascorbate을 첨가하여 비효소적으로 유도하는데[31], 측백나무 잎과 열매의 용매별 추출물이 TBARS 함량에 미치는 영향은 전반적으로 물 추출물 보다 에탄올과 메탄올 추출물에서 지질 과산화 억제 효과가 높았다 (Fig. 2). 특히, 측백나무 잎의 에탄올 추출물 1.0, 0.5, 0.1, 0.05 및 0.01% 농도에서 각각 79.8, 79.3, 77.03, 74.24 및 71.19%의 높은 억제효과를 보였고, 측백나무 열매의 에탄올 추출물 또한, 같은 농도에서 각각 80.9, 77.6, 77.3, 73.1 및 61.4%로 우수한 지질 과산화 억제 효과를 나타내었다(Fig. 2).

불포화 지방산 linoleic acid 산화 실험계를 이용한 항산화 활성

불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate 방법으로 측백나무 잎 및 열매의 용매별 추출물의 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 반응 7일째에 대조구에 대한 상대 활성으로 나타낸 결과는 측백나무 잎 추출물에서는 1% 처

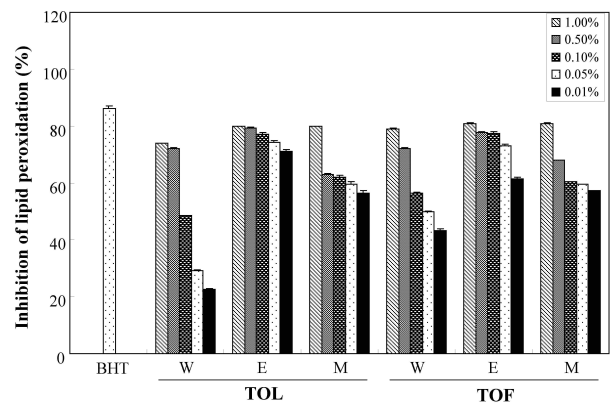


Fig. 2. Antioxidant activities of water (W), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF) on lipid peroxidation using rat liver microsome as measured by TBARS method. BHT : butylated hydroxytoluene (0.05%). Values are mean ±SD, n=3.

리 시 물 추출물이 가장 높은 저해율을 보였고, 메탄올, 에탄올 순으로 저해 활성을 보였다. 측백나무 열매의 용매별 추출물

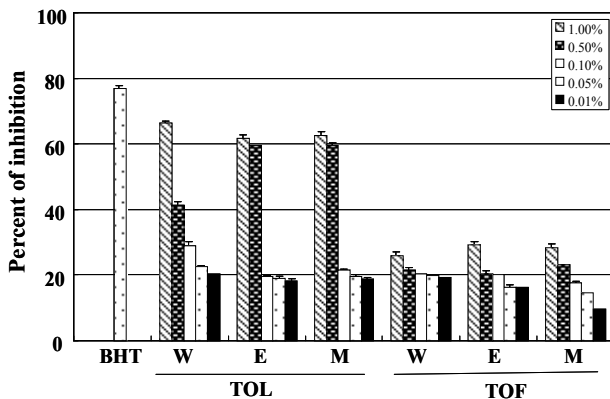


Fig. 3. Antioxidant activities of water (W), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF) on mangosteen on linoleic acid oxidation as measured by the ferric thiocyanate method. BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%). Values are mean \pm SD, n=3.

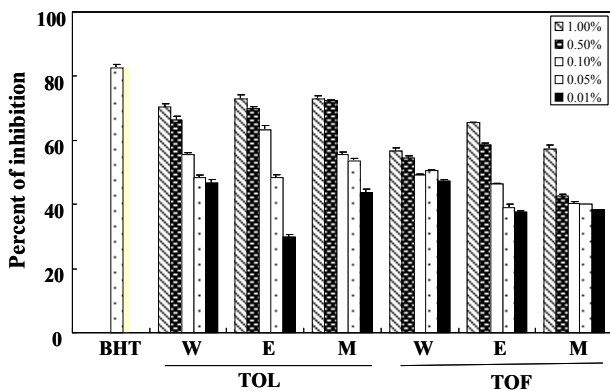


Fig. 4. Antioxidant activities of water (W), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Thuja orientalis* leaves (TOL) and fruits (TOF) on lipid peroxidation as measured by ferric TBA method. BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%). Values are mean \pm SD, n=3.

의 결과는 에탄올, 메탄올, 물 추출물 순으로 높은 저해율을 보였다. 측백나무 잎 추출물의 평균적인 저해율은 약 65%였고, 측백나무 열매 추출물은 30% 이하의 낮은 저해 활성을 보였으며, 이들에 비해 대조구로 사용된 시판 합성 항산화제인 BHT는 약 77%의 높은 항산화 활성을 보였다.

불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 TBA법으로 항산화 활성을 측정된 결과 thiocyanate 방법으로 측정된 결과와 비슷한 경향을 나타내었다(Fig. 4). 측백나무 잎 추출물은 약 75% 이하의 높은 저해 활성을 보였으며, 측백나무 열매 추출물은 잎 추출물 보다 조금 못한 65% 이하의 활성을 보였다. 이때 대조구로 사용된 시판 합성 항산화제인 BHT는 약 80%의 높은 항산화 활성을 보였다.

이상의 실험결과에서 항산화 활성과 밀접한 관련성을 가지고 있는 총 폴리페놀 화합물 및 플라보노이드 함량, DPPH

free radical scavenging 활성, reducing power Cu/Fe, 간장 microsome의 지질 과산화 억제활성, 불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate법 및 TBA법으로 지질과산화 정도는 측백나무 열매 추출물보다는 잎 추출물에서 더 우수한 것으로 나타났다. 조정적 측면으로만 많이 이용되어 왔던 측백나무는 이상의 실험결과를 바탕으로 향후 천연 항산화제의 소재로서 건강기능식품이나 화장품 소재 개발에 유용하게 사용될 것으로 사료되어 진다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

1. A.O.A.C. 1975. Official methods of analysis. 12th eds., Association of official analytical chemists. Washington, D.C., U.S.A.
2. Bidlack, W. R. and A. L. Tappel. 1973. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids* **8**, 177-178.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
4. Hwang, B. H., J. H. Cho, S. S. Ham, and H. Y. Kang. 2000. Chemical Analysis of Pinus Leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 6-9.
5. 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.
6. Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1131-1136.
7. Cha, J. Y., J. S. Heo, B. K. Park, H. Y. Ahn, B. S. Jun, and Y. S. Cho. 2008. Antioxidative activity of zinc-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-10 in *in vitro* model system. *J. Life Sci.* **19**, 179-184.
8. Cha, J. Y., S. H. Park, J. S. Heo, and Y. S. Cho. 2008. Suppressive effect of administrated glutathione-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 on the oxidative stress in alcoholic fatty liver. *J. Life Sci.* **18**, 1053-1058.
9. Cha, J. Y., H. Y. Ahn, K. E. Eom, B. K. Park, B. S. Jun, and Y. S. Cho. 2009. Antioxidative activity of *Aralia elata* shoot and leaf extracts. *J. Life Sci.* **19**, 652-658.
10. Chen, Y. T., R. L. Zheng, Z. J. Jia, and J. Ju. 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biol. Med.* **9**, 19-21.
11. Choi, Y. M., J. B. Gu, M. H. Kim, and J. S. Lee. 2008. Antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from thirty Korean medicinal plants. *Food Sci. Biotechnol.* **17**, 1235-1239.
12. Duncan, D. B. 1959. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **1**, 1-42.
13. Garces, R. and M. Mancha. 1993. One-step lipid extraction

- and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. *Anal. Biochem* **211**, 139-143.
14. Helmersson, J., J. Arnlöv, A. Larsson, and S. Basu. 2008. Low dietary intake of beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid is associated with increased inflammatory and oxidative stress status in a Swedish cohort. *Br. J. Nutr.* **15**, 1-8.
 15. Jayaprakasha, G. K., R. P. Singh, and K. K. Sakariah. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chem* **73**, 285-290.
 16. Jia, Z., M. Tang, and J. Wu. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* **64**, 555-559.
 17. Jialal, I. and S. Grundyl. 1992. Effects of dietary supplementation with alpha-tocopherol on the oxidative modification of low density lipoprotein. *J. Lipid Res.* **33**, 899-906.
 18. Johnson, J. E., R. Walford, D. Harma, and J. Miquel. 1986. In 'Free radicals, aging and degenerative disease', Alen R. Liss, N.Y.
 19. Koskas, J. P., J. Cillard, and P. Cillard. 1984. Autoxidation of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides with and without tocopherols. *JAOCS* **61**, 1467-1472.
 20. Kim, E. Y., I. H. Baik, J. H. Kim, S. R. Kim, and M. R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 333-338.
 21. Lee, S. K., J. K. Kim, Y. H. Ham, and Y. S. Bae. 2002. Extractives from the leaves of *Thuja orientalis* Linnaeus. *J. Korean Forest Energy* **21**, 56-64.
 22. Lee, G. S., D. P. Ike, J. Y. Choi, S. Y. Yoon, J. H. Choi, T. J. Kang, S. K. Oh, and J. H. Cheong. 2008. Effect of SPZZC, a composition of herb extracts, on atopic dermatitis in BALB/c and NC/Ng a mouse. *Yakhak Hoeji* **52**, 232-239.
 23. Lee, J. H. and S. R. Lee. 1994. Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 310-316.
 24. Mushtakova, V. M., V. A. Fomina, and V. V. Rogovin. 2007. Effect of some xenobiotics on oxidative metabolism of human blood neutrophils. *Bull. Exp. Biol. Med.* **143**, 344-346.
 25. Ohkawa, H., N. Ohishi, and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem* **95**, 351-358.
 26. Plaa, G. L. and H. Witschi. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-131.
 27. Saito, M. 1988. Interaction between lipid peroxide formation and nutritional status. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **41**, 343-349.
 28. Swain, T., W. E. Hillis, and M. Oritega. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 83-88.
 29. Terao, J. 1989. Autoxidation activity of β -carotene-related carotenoids in solution. *Lipids* **24**, 657-661.
 30. Wells, P. G., G. P. McCallum, C. S. Chen, J. T. Henderson, C. J. Lee, J. Perstin, T. J. Preston, M. J. Wiley, and A. W. Wong. 2009. Oxidative stress in developmental origins of disease: teratogenesis, neurodevelopmental deficits, and cancer. *Toxicol. Sci.* **108**, 4-18.
 31. Wong, S. F., B. Holliwell, R. Richmond, and W. R. Skowroneck. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic Biochem* **14**, 127-134.
 32. Xu, G. H., I. J. Ryoo, Y. H. Kim, S. J. Choo, and I. D. Yoo. 2009. Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of *Thuja orientalis*. *Arch. Pharm. Res.* **32**, 275-282.
 33. Zhu, Q. V., R. M. Hackman, X. X. Jodilensunsa, R. R. Holt, and C. L. Keen. 2002. Antioxidative activities of Oolong tea. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6229-6934.

초록 : 측백나무 잎 · 열매 추출물의 이화학적 특성 및 항산화 효과

안희영¹ · 허수진¹ · 강민정¹ · 이재홍¹ · 차재영² · 조영수^{3*}

(¹동아대학교 대학원 의생명과학과, ²대전주조(주) 기술연구소, ³동아대학교 생명공학과)

측백나무 잎 및 열매 물, 에탄올 및 메탄올 추출물의 생리활성 물질(총 폴리페놀 화합물, 플라보노이드, 미네랄, 지방산 조성) 분석과 항산화 활성(DPPH free radical scavenging 활성, Cu/Fe-환원력, 간 조직 microsome 생체막 및 linoleic acid 과산화지질)을 측정하였다. 측백나무 잎의 메탄올 추출물에서 추출 수율(12.90%), 폴리페놀 화합물(16.02%) 및 플라보노이드(0.25%) 함량이 가장 높았다. 측백나무 잎 및 열매의 주요 미네랄은 Ca, K, 및 Mg이었다. 측백나무 잎의 주요 지방산은 palmitic acid 및 lauric acid였으며, 열매는 palmitic acid 및 decanoic acid가 높은 함량을 보였다. DPPH free radical scavenging 활성, Cu/Fe-환원력, 간 조직 microsome 생체막 및 linoleic acid의 과산화 지질 측정에 의한 항산화 활성은 측백나무 열매보다는 잎 추출물에서 높았으며, 시료 처리 농도 의존적으로 활성이 증가되는 것으로 나타났다. 이상의 실험 결과에서 측백나무 잎의 메탄올 추출물에서 높은 항산화 활성이 있었으며, 이는 폴리페놀 화합물과 플라보노이드와 같은 항산화 활성을 나타내는 생리활성 성분을 많이 함유하고 있는 것으로 나타나 향후 건강기능식품이나 화장품의 천연 항산화제 소재개발에 유용하게 사용될 것으로 사료된다.