

Antioxidant Activities of Extracts from Medicinal Plants

Hye-Jin Park¹, Sun-Ae Kang¹, Ju-Yeong Lee¹ and Young-Je Cho^{2*}

¹School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²School of Food Science & Biotechnology, Food & Bio-Industry Research Institute,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

약용식물 추출물의 항산화 활성

박혜진¹ · 강선애¹ · 이주영¹ · 조영제^{2*}

¹경북대학교 응용생명과학부, ²경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소

Abstract

In this study, the optimal conditions for phenolic-compound extraction from medicinal plants were found to be 24 h and about 50% ethanol. The electron-donating scavenging activities (DPPH), ABTS radical-cation decolorization (ABTS), antioxidant protection factor (PF), and thiobarbituric acid reaction substance (TBAR) were measured to determine the antioxidant activities of the extracts of *Sanguisorba officinalis* Linn., *Citrus unshiu* Markovich, *Melia azedarach* L., *Asparagus cochinchinensis* Merr., *Citrus unshiu* S., *Polygonum aviculare* L., and *Leonurus sibiricus* L. The total phenolic contents of the extracts of medicinal plants were determined to be 0.45-3.00 mg/g in the water extracts and 0.33-3.15 mg/g in the 50% ethanol extracts. The electron-donating abilities (EDA) of the water and ethanol extracts were both above 85% at the 50 µg/ml concentration. The ABTS radical-cation decolorization was above 80% at the 100 µg/ml concentration in all the extracts of various medicinal plants. The antioxidant protection factor (PF) of the *Melia azedarach* L. extracts was found to be 1.65±0.40 PF in the water extracts at the 100 µg/ml concentration, and was higher than those of the other medicinal-plant extracts. The TBAR inhibition rates of all the medicinal-plant extracts, except *Asparagus cochinchinensis* Merr., were above 85% at the 100 µg/ml concentration. These results confirmed that the various oriental medicinal plants (*Sanguisorba officinalis* Linn., *Citrus unshiu* Markovich, *Melia azedarach* L., *Asparagus cochinchinensis* Merr., *Citrus unshiu* S., *Polygonum aviculare* L., and *Leonurus sibiricus* L.) that were included in this study are useful functional-food sources.

Key words : Medicinal plant resource, extracts, phenolics, antioxidant activities

서 론

활성산소는 생체 내에서 에너지를 생산하는 산화과정 중 생성되는 물질로, 생체 내 존재하는 항산화방어계로 인해 대부분 소멸하게 된다. 하지만, 항산화방어계의 균형이 깨지게 되면 체내 활성산소가 증가하여 체내 여러 생체물질과 쉽게 반응하여 체내 고분자들을 공격하게 된다. 이로 인해 체내의 세포와 조직에 비가역적인 손상, 돌연변이, 세포독성, 발암 등을 초래하고, 체외에서는 피부노화를 비롯한 다양한 피부트러블을 야기하는 등 각종 질병의 원인이

된다(1).

이러한 활성산소를 조절하는 항산화제는 합성항산화제와 천연항산화제로 구분되며 합성 항산화제 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), benzoic acid, p-oxybenzoic ester 등과 천연항산화제 ascorbic acid, tocopherol, carotenoid, flavonoid, glutathione 등이 있다. 합성 항산화제의 경우, 뛰어난 항산화 효과를 보이는 반면 다량 섭취 시 여러 가지 독성을 나타낼 수 있는 것으로 알려져 있어 안전한 천연항산화제 연구에 대한 관심이 높아지고 있다(2,3).

최근 경제성장과 생활수준의 향상으로 건강에 대한 관심이 고조되면서 식품을 통한 생체방어, 노화억제, 질병 예방 등 생리활성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(4). 특히

*Corresponding author. E-mail : yjcho@knu.ac.kr
Phone : 82-53-950-7755, Fax : 82-53-950-7762

인간이 오랫동안 섭취해 온 약용식물은 우리 주변에서 쉽게 찾을 수 있을 뿐만 아니라 안전한 천연물로 일부 성분들은 항산화 시스템 구축에 있어서 체내 활성산소를 감소시켜 질병을 예방 할 수 있는 것으로 보고되어, 이로부터 인체에 안전하고 항산화 효과가 높은 물질을 분리 이용하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다(5). 식물의 2차 대사산물인 phenolic compound는 여러 종류의 과일, 채소, 약초 등 천연물에 다량 분포되어 있으며 alkaloid류, flavonoid류, terpenoid류, phenolic compound류, quinone류 등은 항염, 간독성 완화, 항종양, 동맥경화방지, 항돌연변이, 관절예방, 항당뇨, 항암, 항균활성 등과 같이 건강에 유익한 여러 가지 생리활성 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(6,7).

따라서 본 연구에서는 오래전부터 사용되어 온 150여종의 약용작물로부터 천연항산화물질 및 기능성 물질의 탐색을 위한 연구의 일환으로 150여종의 약용작물 중 항산화능이 비교적 우수하다고 판단되는 약용작물 7종을 예비 선별하여 지유(*Sanguisorba officinalis* L)(8), 진피(*Citrus unshiu* M)(9), 천련자(*Melia azedarach* L)(10), 천문동(*Asparagus cochinchinensis* M)(11), 청피(*Citrus reticulata* B)(9), 편축(*Polygonum aviculare* L)(12), 하고초(*Prunella vulgaris* L)(13) 7종으로부터 생리활성 물질 탐색의 일환으로 항산화 효과를 검토하여 질병의 원인인 활성산소를 감소시켜 안전성이 확보된 새로운 천연항산화제로서의 이용 가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

시료 선정

본 실험에 사용한 약용식물은 2011년 6월 대구 소재의 시중 한약방에서 구입한 지유(*Sanguisorba officinalis* L. : SO), 진피(*Citrus unshiu* M : CM), 천련자(*Melia azedarach* L : MA), 천문동(*Asparagus cochinchinensis* M. : AC), 청피(*Citrus reticulata* B CR), 편축(*Polygonum aviculare* L : PA), 하고초(*Prunella vulgaris* L : PV)를 40 mesh로 분쇄하여 4°C에서 저온저장하며 사용하였다.

추출물 제조

시료의 추출은 식품으로 활용이 가능한 물(열수)과 ethanol을 추출 용매로 사용하여 추출하였다. 열수추출의 경우 분말 시료 1 g을 증류수 200 mL에 침지시켜 증류수가 100 mL이 될 때까지 가열한 후 냉각하고 24시간 동안 상온 교반 추출하였다. Ethanol 추출은 ethanol을 0~100% 농도 별로 제조하여 약용식물 분말 시료 1 g을 각 농도의 ethanol 100 mL에 침지시켜 24시간 동안 상온에서 교반 추출하였다. 각 열수추출물과 ethanol 추출물은 Whatman No.1 filter paper로 여과 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator

(Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축하여 시료의 농도를 50~200 µg/mL로 조절하여 실험에 사용하였다.

Total phenolic contents 정량

Total phenolic contents의 정량은 Folin-Denis 방법(14)으로 측정하였으며, 시료 추출물 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL를 첨가하고 1 N Folin-ciocalteu reagent 0.5 mL를 넣어 잘 섞어주고, 5분간 방치한 후, 종료시약 Na₂CO₃ 1 mL를 가한 후, UV-visible spectrophotometer (Optizen 2120UV Mecasys, Daejeon, Korea)로 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다.

DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical에 대한 소거활성은 Blois의 방법(15)을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1 mL에 60 µM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 3 mL를 넣고 vortex한 후 실온에서 15분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 의해 DPPH radical 소거활성을 계산하였다.

$$\text{DPPH radical 소거활성 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS radical cation decolorization 측정

ABTS [2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등(16)의 방법에 의해 측정하였다. 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM K₂S₂O₈ 88 µL를 섞어 암실에서 14~16시간 반응시켜 radical을 형성시켰다. 이를 absolute ethanol과 약 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7±0.002가 되도록 조절된 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 50 µL와 ABTS solution 1 mL를 혼합하여 30초간 vortex한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하여 다음의 식에 의해 ABTS radical 소거활성을 계산하였다.

$$\text{ABTS radical 소거활성 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

Antioxidant Protection Factor (PF) 측정

PF는 Andarwulan과 Shetty의 방법(17)으로 측정하였다. 10 mg의 β-carotene을 50 mL의 chloroform에 녹인 용액 1 mL를 evaporator용 수기에 넣고 40°C water bath에서 chloroform을 증류시킨 후 20 µL linoleic acid, 184 µL Tween 40과 50 mL H₂O₂를 가하여 emulsion을 만들었다. 시료용액 100 µL에 5 mL의 emulsion용액을 혼합하여 vortex한 후 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 후, 470 nm에서 흡광

도를 측정하여 다음의 식에 의해 PF값을 계산하였다.

$$\text{Antioxidant protection factor(PF)} = \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}$$

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARs) 측정

TBARs는 Burge와 Aust의 방법(18)에 따라 측정하였다. 1% Linoleic acid와 1% Tween 40으로 emulsion을 만들고, 시료 0.2 mL와 emulsion 0.8 mL를 섞은 후 50°C water bath에서 10시간 반응시켰다. 반응 후 반응액 1 mL에 TBA reagent 4mL를 가하고 15분간 중탕한 다음 10분간 냉각시켜 15분간 1,000 rpm으로 원심분리 하였다. 원심분리 한 액을 실온에서 10분간 방치 한 후 상층액을 취해 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TBARs 값은 (흡광도 수치 × 0.0154)로 1 mL 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP)의 μM 로 표시하였다. TBARs에 대한 저해율은 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = (1 - \frac{\text{반응구의 TBARs } \mu\text{M}}{\text{대조구의 TBARs } \mu\text{M}}) \times 100$$

결과 및 고찰

추출물의 total phenol contents 함량

식물성 식품에 존재하는 대표적인 항산화 물질은 vitamin A, C, E와 더불어 flavonoid류, carotenoid류, phenolic compounds가 대표적인데, 특히 phenolic compounds는 phenolic hydroxyl기를 가지고 있어 유해한 radical 제거 효과가 뛰어나 생리활성과 항암 작용, 항산화 활성을 가진다고 보고되어 있다(19). 따라서 7종의 약용식물로부터 phenolic compound를 용출하기 위하여 추출용매의 농도를 달리하여 Folin-Denis 방법(14)을 이용해 각 추출물의 총 페놀 함량을 알아보았다.

식물성분의 phenolic compound는 극성용매에서 용해도가 높아 유기용매에서 총 페놀 함량의 추출수율이 높은 것으로 알려져 있으나(20), 유기용매를 이용한 추출물은 식품소재로 적용시키기 어려워 비교적 추출 수율이 높은 물과 에탄올을 용매로 하여 연구를 진행하였다.

각 시료의 최적 추출조건 확립을 위해 물(열수)과 ethanol 농도별로 추출해 총 페놀 함량을 비교하여 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 진피(CU), 천련자(MA), 천문동(AC), 편축(PA), 하고초(PV)의 경우 열수 추출물에서 총 페놀 함량이 가장 높게 용출되었으며, 지유, 청피의 경우 40% ethanol 추출물에서 가장 높게 용출되는 것을 확인할 수 있었다. 각 시료별 ethanol 추출의 경우 총 페놀 함량이 가장 높게

용출된 지유(SO) 40% ethanol extracts, 진피(CU) 60% ethanol extracts, 천련자(MA) 50% ethanol extracts, 천문동(AC) 40% ethanol extracts, 청피(CR) 50% ethanol extracts, 편축(PA) 50% ethanol extracts, 하고초(PV) 50% ethanol extracts를 각각의 ethanol 추출조건으로 설정하였다. 이는 Jeong 등(21)이 머루 추출물의 총 폴리페놀 함량이 50% ethanol 추출물에서 가장 높게 용출되었다는 연구보고와 유사한 결과를 나타내었으며, 시료 추출을 위한 용매로 ethanol을 다양한 농도로 사용하였으나 편축(PA) 시료를 제외한 6종의 한약재는 ethanol과 같은 유기용매가 함유되어 있는 페놀성물질의 polarity에 영향을 미치지 않아 용출율의 증가에 영향을 미치지 못하였다고 판단된다. 또한 용매 농도별 추출물의 phenolic compounds의 profile도 향후 검토해 봐야할 사항으로 판단되었다.

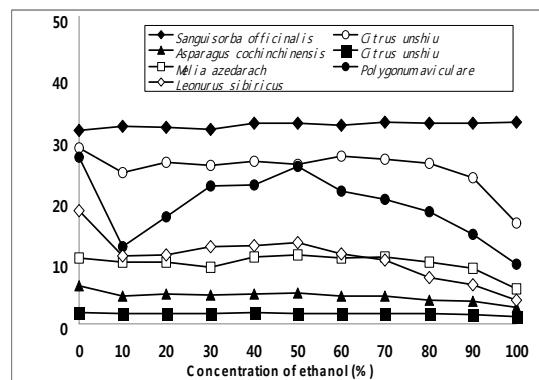


Fig. 1. The effect of ethanol concentration on extraction of phenolic from medicinal plants extracts.

약용식물 7종의 열수추출물과 가장 높은 총 페놀함량을 나타낸 ethanol 추출물의 페놀함량을 측정 한 결과는 Table 1과 같다. 총 페놀 함량은 1.8~32.7 mg/g의 범위를 보였으며 열수추출물의 경우 지유(SO)가 31.5 mg/g으로 가장 높았고, 진피(CU)가 28.5 mg/g, 편축(PA)이 27.1 mg/g으로 비교적 높은 함량을 나타내었으며, 40% ethanol 추출물의 경우, 지유(SO)가 32.7 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타내었고, 다음으로 진피(CU)가 27.2 mg/g로 높았으며, 편축(PA)이 추출물 25.6 mg/g 순으로 높게 나타났다. Ju 등(22)은 약용식물인 한약재의 열수 추출물 16여종의 총 페놀 화합물 함량을 측정한 연구에서는 꿀풀이 5.07 mg/100 g, 단삼이 4.14 mg/100 g, 금물초가 3.73 mg/100 g, 오가피가 3.52 mg/100 g를 나타내었으며, Miliuskas 등(23)은 향료성 약용식물의 메탄올 추출물의 총 페놀 함량을 조사한 연구 결과 멜리르투스가가 4.3 mg/g, 라벤더가 5.4 mg/g, 카모마일이 7.5 mg/g, 제라늄이 25.9 mg/g 함유되어 있다고 보고한 것과 비교하면, 본 연구에 사용된 지유(SO), 진피(CU), 편축(PA), 하고초(PV), 청피(CR)의 총 페놀 함량이 더 높게 나타나 높은 항산화 생리활성을 기대할 수 있을 것으로 기대되었다.

Table 1. The content of total phenolic compound from medicinal plants extracts

Scientific names	Korean names	Phenolic content (mg/g)	
		Water extracts	Ethanol extracts
<i>Sanguisorba officinalis</i> L.	지 유	31.5±0.8	32.7±0.8 ¹⁾
<i>Citrus unshiu</i> M.	진 피	28.5±0.2	27.2±0.8 ²⁾
<i>Melia azedarach</i> L.	천련자	6.1±0.2	5.1±0.1 ³⁾
<i>Asparagus cochinchinensis</i> M.	천문동	1.9±0.2	1.8±0.2 ⁴⁾
<i>Citrus reticulata</i> B.	청 피	10.6±0.2	11.2±0.4 ⁵⁾
<i>Polygonum aviculare</i> L.	편 축	27.1±0.8	25.6±0.8 ⁶⁾
<i>Prunella vulgaris</i> L.	하고초	18.4±0.2	13.3±0.6 ⁷⁾

¹⁾40% Ethanol extracts, ²⁾60% Ethanol extracts, ³⁾50% Ethanol extracts,

⁴⁾40% Ethanol extracts, ⁵⁾50% Ethanol extracts, ⁶⁾50% Ethanol extracts,

⁷⁾50% Ethanol extracts

DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical에 대한 소거활성은 phenolic compounds에 대한 항산화 활성의 지표라 할 수 있으며, free radical을 환원시키는 능력이 클수록 높은 항산화 활성 및 활성 산소에 대한 소거활성을 기대할 수 있다(15). DPPH radical에 대한 소거활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 대조구인 vitamin C를 50 µg/mL 처리하였을 때 65.2%에 비해 진피의 열수추출물과 진피(CU) 60% ethanol 추출물, 천련자(MA) 50% ethanol 추출물, 청피(CR) 50% ethanol 추출물을 50 µg/mL 처리하였을 때 90% 이상의 높은 소거활성을 나타내었다. 그 외 지유(SO) 40% ethanol 추출물, 천문동(AC) 40% ethanol 추출물, 편축(PA) 50% ethanol 추출물, 하고초(PV) 50% ethanol 추출물과 열수 추출물을 50 µg/mL 처리하였을 때에도 80% 이상의 높은 소거활성을 나타내었다. Choe 등(24)은 산수유, 목단피, 산약의 항산화 연구보고에서 물 추출물의 경우 250 µg/mL 농도에서는 산수유, 천화분, 숙지황,

택사, 산약의 물 추출물의 경우 60% 이하의 낮은 DPPH radical 소거활성을 나타내었고, 백복령의 경우 항산화 활성이 거의 나타나지 않는 것으로 보고하였으며, Ju 등(22)은 250 µg/mL 농도에서 산사육, 결명자, 감국, 영경귀, 배초향, 오가피, 당귀의 열수 추출물에서 50% 이하의 DPPH radical 소거활성을 나타낸 것과 비교하면 본 연구에 사용된 시료들의 DPPH 소거능은 매우 우수하였다.

ABTS radical cation decolorization 측정

ABTS radical cation decolorization은 친수성 및 lipophilic 물질의 항산화 활성을 측정하기 위해 사용되는 방법으로, ABTS free radical이 추출물 속의 항산화 물질에 의해 제거되는 것을 측정하여 항산화 효과를 확인할 수 있다(16). Table 3은 ABTS radical cation decolorization을 나타내었으며, 대조구인 vitamin C를 50 µg/mL 처리하였을 때 저해율이 4.8%에 비해 지유, 진피, 청피, 천련자, 천문동, 편축, 하고초의 열수 추출물 50 µg/mL 농도에서 모두 95% 이상의 매우 높은 저해율을 나타내었고, 지유(SO) 40% ethanol 추출물, 진피(CU) 60% ethanol 추출물, 천련자(MA) 50% ethanol 추출물, 천문동(AC) 40% ethanol 추출물, 청피(CR) 50% ethanol 추출물, 편축(PA) 50% ethanol 추출물, 하고초(PV) 50% ethanol 추출물을 200 µg/mL 처리한 경우 모든 시료에서 80% 이상의 높은 저해율을 나타내었다.

이는 Lee 등(25)이 와송과 한약재 복합물의 ABTS radical 소거능을 측정한 결과 1000 µg/mL에서 70% 이상의 소거능을 나타내었다는 보고보다 우수한 결과로, 본 연구에 사용된 7종의 시료의 경우 ABTS free radical에 대해 매우 우수한 산화 억제력을 가지고 있음이 입증되었다.

한편, 일반적으로 식물에 함유된 phenolic compounds는 유해한 radical에 수소를 공여하여 radical을 제거하므로 체내 산화 억제효과가 있는 것으로 알려져 있어 총 페놀 함량

Table 2. DPPH radical scavenging activities of extracts from medicinal plants

Samples	Inhibition activity (%)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic contents (µg/mL)				Phenolic contents (µg/mL)			
	50	100	150	200	50	100	150	200
<i>Sanguisorba officinalis</i> Linne.	91.0±0.5	91.7±0.9	93.1±1.5	88.8±0.9	89.4±0.7 ¹⁾	92.7±0.6	93.0±0.9	93.7±0.3
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	92.4±0.8	89.9±0.2	92.0±0.9	96.2±0.8	92.3±0.1 ²⁾	90.5±0.1	93.1±0.3	99.0±0.8
<i>Asparagus cochinchinensis</i> Merr.	96.0±0.7	96.4±2.3	95.1±2.2	99.1±1.3	92.2±1.5 ³⁾	93.4±0.3	96.1±0.8	92.3±1.6
<i>Citrus unshiu</i> S.	93.6±0.9	94.3±0.3	98.6±1.1	99.9±0.6	93.4±0.5 ⁴⁾	93.0±0.5	99.4±0.5	98.7±0.6
<i>Melia azedarach</i> L.	91.8±0.2	91.8±0.6	92.7±1.0	92.8±1.3	92.1±0.3 ⁵⁾	89.9±0.4	87.3±0.6	80.5±4.8
<i>Polygonum aviculare</i> L.	97.7±0.2	97.1±0.8	96.9±0.3	96.8±1.1	90.2±1.1 ⁶⁾	85.7±0.8	89.7±0.8	89.7±0.7
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	93.1±0.3	93.6±0.2	96.8±0.2	97.0±0.2	87.8±1.2 ⁷⁾	88.9±1.3	83.1±1.0	87.6±1.9
Positive control (Vitamin C)	65.2±1.6	82.6±1.5	94.5±0.4	96.5±0.4	65.2±1.6	82.6±1.5	94.5±0.4	96.5±0.4

¹⁾40% Ethanol extracts, ²⁾60% Ethanol extracts, ³⁾50% Ethanol extracts, ⁴⁾40% Ethanol extracts, ⁵⁾50% Ethanol extracts, ⁶⁾50% Ethanol extracts, ⁷⁾50% Ethanol extracts

Table 3. ABTS radical cation decolorization of extracts from medicinal plants

Samples	Inhibition activity (%)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic contents ($\mu\text{g/mL}$)				Phenolic contents ($\mu\text{g/mL}$)			
	50	100	150	200	50	100	150	200
<i>Sanguisorba officinalis</i> Linne.	99.6 \pm 0.3	99.4 \pm 0.2	99.9 \pm 0.2	100. \pm 0.2	99.9 \pm 0.2 ¹⁾	99.7 \pm 0.2	98.7 \pm 0.3	99.0 \pm 0.4
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	89.1 \pm 2.4	95.8 \pm 0.4	93.7 \pm 1.2	98.7 \pm 0.6	80.4 \pm 0.5 ²⁾	99.6 \pm 0.5	99.4 \pm 0.4	100.0 \pm 0.3
<i>Asparagus cochinchinensis</i> Merr.	99.9 \pm 0.5	99.9 \pm 0.4	99.9 \pm 1.8	100.0 \pm 0.4	99.9 \pm 0.3 ³⁾	98.9 \pm 0.5	98.7 \pm 2.2	87.1 \pm 2.2
<i>Citrus unshiu</i> S.	99.9 \pm 0.3	99.9 \pm 1.0	99.9 \pm 1.0	100.0 \pm 2.1	99.9 \pm 1.8 ⁴⁾	58.7 \pm 3.6	62.7 \pm 3.1	82.6 \pm 4.5
<i>Melia azedarach</i> L.	96.7 \pm 0.7	99.1 \pm 0.6	94.4 \pm 0.7	99.9 \pm 0.4	73.3 \pm 0.4 ⁵⁾	98.3 \pm 0.5	99.9 \pm 0.2	99.9 \pm 0.3
<i>Polygonum aviculare</i> L.	99.6 \pm 0.3	99.9 \pm 0.2	99.6 \pm 0.7	100.0 \pm 0.4	99.9 \pm 0.5 ⁶⁾	99.1 \pm 0.4	99.9 \pm 0.6	100.0 \pm 0.4
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	96.8 \pm 0.8	99.0 \pm 0.3	99.9 \pm 0.3	100.0 \pm 0.1	99.6 \pm 0.2 ⁷⁾	99.1 \pm 0.1	99.9 \pm 0.3	98.5 \pm 0.6
Positive control (Vitamin C)	4.8 \pm 2.7	20.4 \pm 1.7	33.0 \pm 3.5	66.0 \pm 2.3	4.8 \pm 2.7	20.4 \pm 1.7	33.0 \pm 3.5	66.0 \pm 2.3

¹⁾40% Ethanol extracts, ²⁾60% Ethanol extracts, ³⁾50% Ethanol extracts, ⁴⁾40% Ethanol extracts, ⁵⁾50% Ethanol extracts, ⁶⁾50% Ethanol extracts, ⁷⁾50% Ethanol extracts

Table 4. Antioxidant protection factor (PF) activities of extracts from medicinal plants

Samples	Antioxidant protection factor (PF)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic contents ($\mu\text{g/mL}$)				Phenolic contents ($\mu\text{g/mL}$)			
	50	100	150	200	50	100	150	200
<i>Sanguisorba officinalis</i> Linne.	1.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1 ¹⁾	0.8 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	0.6 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	0.0 \pm 0.1	0.0 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1 ²⁾	0.5 \pm 0.1	0.4 \pm 0.3	0.0 \pm 0.4
<i>Asparagus cochinchinensis</i> Merr.	1.2 \pm 0.3	1.5 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	1.7 \pm 0.4	0.6 \pm 0.1 ³⁾	0.3 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1
<i>Citrus unshiu</i> S.	1.0 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1	1.2 \pm 0.3	1.3 \pm 0.3	0.1 \pm 0.1 ⁴⁾	0.0 \pm 0.1	0.0 \pm 0.1	0.0 \pm 0.8
<i>Melia azedarach</i> L.	0.7 \pm 0.2	0.5 \pm 0.2	0.5 \pm 0.1	1.1 \pm 0.2	0.7 \pm 0.1 ⁵⁾	0.6 \pm 0.1	0.5 \pm 0.2	0.8 \pm 0.1
<i>Polygonum aviculare</i> L.	0.6 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	1.0 \pm 0.2 ⁶⁾	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	0.5 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1	1.1 \pm 0.2 ⁷⁾	0.9 \pm 0.3	0.7 \pm 0.2	0.0 \pm 0.2
Positive control (Vitamin C)	1.4 \pm 0.2	1.6 \pm 0.1	1.5 \pm 0.2	1.4 \pm 0.2	1.4 \pm 0.2	1.6 \pm 0.1	1.5 \pm 0.2	1.4 \pm 0.2

¹⁾40% Ethanol extracts, ²⁾60% Ethanol extracts, ³⁾50% Ethanol extracts, ⁴⁾40% Ethanol extracts, ⁵⁾50% Ethanol extracts, ⁶⁾50% Ethanol extracts, ⁷⁾50% Ethanol extracts

Table 5. Inhibition rates Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) of extracts from medicinal plants

Samples	Inhibition activity (%)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic contents ($\mu\text{g/mL}$)				Phenolic contents ($\mu\text{g/mL}$)			
	50	100	150	200	50	100	150	200
<i>Sanguisorba officinalis</i> Linne.	96.8 \pm 1.9	98.5 \pm 0.7	99.9 \pm 0.6	99.9 \pm 0.7	98.4 \pm 0.2 ¹⁾	98.6 \pm 0.2	99.9 \pm 0.3	100.0 \pm 0.4
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	83.1 \pm 3.0	84.6 \pm 4.4	85.0 \pm 5.7	87.1 \pm 2.7	81.1 \pm 5.8 ²⁾	92.0 \pm 1.7	99.6 \pm 1.2	100.0 \pm 1.2
<i>Asparagus cochinchinensis</i> Merr.	50.5 \pm 3.0	51.3 \pm 3.4	78.2 \pm 2.2	99.9 \pm 2.7	80.0 \pm 2.6 ³⁾	80.4 \pm 2.7	93.6 \pm 5.8	99.9 \pm 2.2
<i>Citrus unshiu</i> S.	0.1 \pm 3.3	0.9 \pm 2.1	0.2 \pm 3.1	0.1 \pm 5.3	64.3 \pm 1.1 ⁴⁾	18.6 \pm 2.3	2.7 \pm 4.5	0.0 \pm 2.6
<i>Melia azedarach</i> L.	74.0 \pm 3.0	80.9 \pm 3.6	93.0 \pm 1.7	98.2 \pm 4.1	78.9 \pm 1.0 ⁵⁾	79.8 \pm 3.9	89.1 \pm 3.5	99.8 \pm 1.3
<i>Polygonum aviculare</i> L.	87.7 \pm 3.2	94.6 \pm 0.8	99.9 \pm 0.9	100.0 \pm 0.8	90.9 \pm 1.1 ⁶⁾	95.3 \pm 0.5	99.5 \pm 0.4	100.0 \pm 0.6
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	72.0 \pm 7.1	90.2 \pm 0.6	99.5 \pm 1.1	100.0 \pm 1.0	89.7 \pm 0.6 ⁷⁾	90.1 \pm 1.5	99.0 \pm 1.3	99.9 \pm 1.3
Positive control (Vitamin C)	60.4 \pm 3.3	82.9 \pm 2.1	94.5 \pm 0.4	96.5 \pm 0.4	60.4 \pm 3.3	82.9 \pm 2.1	94.5 \pm 0.4	96.5 \pm 0.4

¹⁾40% Ethanol extracts, ²⁾60% Ethanol extracts, ³⁾50% Ethanol extracts, ⁴⁾40% Ethanol extracts, ⁵⁾50% Ethanol extracts, ⁶⁾50% Ethanol extracts, ⁷⁾50% Ethanol extracts

이 높을수록 항산화 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(26). 하지만 본 연구 결과 총 페놀 함량과는 무관하게 유해 radical 소거 활성이 우수한 것으로 나타났으며, 이는 radical의 기질에 따라 선택적으로 phenolic compound가 작용할 수 있기 때문인 것으로 추정되며, 또한 식물에 함유되어 있는 phenolic compound들의 종류에 따라 유해 radical 소거 활성이 다양한 영향을 받는 것으로 판단되었다(27).

Antioxidant Protection Factor(PF) 측정

지질 산화과정 중 생성되는 peroxy radical과 반응하여 불활성 물질을 형성하고, 이로 인해 free radical에 의한 연쇄 반응을 중단시켜 산화가 발생하게 된다. 이러한 β -carotene linoleate system을 확인코자 β -carotene을 첨가한 linoleic acid emulsion을 이용하여 Antioxidant Protection Factor(PF)를 측정하였다(17). 그 결과 Table 4와 같이 천련자(MA) 열수 추출물을 200 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때 1.7 PF로 대조구인 Vitamin C 200 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때 1.4 PF 보다 높은 수준을 나타내었다. 이를 통해 천련자(MA) 열수 추출물이 Vitamin C와 유사한 수준의 지용성 물질에 대한 항산화 효과를 가지는 것을 확인 할 수 있었다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARs) 측정

지질의 산화 억제효과를 측정하는 지표로 산화과정 중 과산화물로부터 분해되어 생성되는 저분자 화합물인 malondialdehyde의 생성에 미치는 영향을 확인코자 TBARs 생성의 저해율을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 지유, 천련자, 청피, 편축, 하고초의 열수 추출물과 지유(SO) 40% ethanol 추출물, 천련자(MA) 50% ethanol 추출물, 청피(CR) 50% ethanol 추출물, 편축(PA) 50% ethanol 추출물, 하고초(PV) 50% ethanol 추출물을 200 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때 각각의 시료에서 99%에 가까운 높은 저해율을 나타내었다. 특히 지유(SO)의 경우 열수 추출물과 40% ethanol 추출물에서 매우 낮은 농도의 50 $\mu\text{g/mL}$ 처리 시에도 90% 이상의 높은 저해율을 나타내어 대조구인 Vitamin C와 비교한 결과, 지용성 물질에 대한 항산화 활성이 매우 높음을 확인할 수 있었다. 일반적으로 총 페놀 함량의 농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 높아져 양의 상관관계를 보이는 것으로 알려져 있는데, Chae 등(27)은 정금나무열매 추출물이 농도 의존적으로 높은 항산화효과를 나타낸다고 한 보고와 비교하여, 본 연구에 사용된 7종의 약용식물 추출물에서도 유사한 pattern의 결과를 확인 할 수 있었다.

이상의 결과로 지유(SO), 진피(CU), 천련자(MA), 천문동(AC), 청피(CR), 편축(PA), 하고초(PV)의 천연 약용식물 추출물의 열수 추출물과 ethanol 추출물을 이용하여 새로운 천연항산화제 및 기능성 소재로서의 활용 가치가 높은 것으로 확인되었으며, 연구에 사용된 7종의 약용식물자원은 기존에 한약재로 활용하고 있던 것이어서 식용이 가능한 것으

로 비교적 안전한 것으로 알려져 있으나, 향후 기능성 물질로 활용을 위한 연구진행시 안전성 확보 및 다양한 생리 활성 물질 탐색에 대한 연구 개발이 필요할 것으로 사료되었다.

요 약

안전한 천연물을 이용한 천연항산화제 개발 연구에 대한 관심이 고조되는 가운데, 지유, 진피, 천련자, 천문동, 청피, 편축, 하고초 7종의 천연 약용식물 추출물을 통해 항산화 활성을 측정하였다. 추출물의 총 페놀 함량은 지유가 열수 추출물과 40% ethanol 추출물에서 각각 31.5 mg/g, 32.7 mg/g으로 가장 높게 나타났다. 추출물의 수용성 물질에 대한 항산화 효과는 DPPH radical 소거능이 지유, 진피, 천련자, 천문동, 청피, 편축, 하고초 7종의 천연 약용식물의 열수 추출물과 ethanol 추출물에서 80% 이상의 높은 소거활성을 나타내었다. ABTS radical cation decolorization을 측정 한 결과, 7종의 천연 약용식물의 열수 추출물과 ethanol 추출물에서 85% 이상의 높은 저해율을 나타내어 매우 우수한 항산화 효과를 가지고 있음을 입증하였다. 지용성 물질에 대한 항산화 효과를 측정하기 위해 Antioxidant Protection Factor(PF)를 측정한 결과, 천련자 열수 추출물에서 1.65 PF로 대조구인 vitamin C 보다 높은 수준을 나타내어 지용성 물질에 대한 항산화 활성이 높음을 확인하였다. TBARs 생성 저해율을 측정한 결과 지유, 천련자, 청피, 편축, 하고초의 열수 추출물과 ethanol 추출물에서 99%에 가까운 높은 저해율을 나타내어 대조구인 vitamin C보다 지용성 물질에 대한 항산화 활성이 매우 높은 것으로 확인되었다.

참고문헌

1. Cho YJ, Ju IS, Kwon OJ, Chun SS, An BJ, Kim JH (2008) Biological and antimicrobial activity of *Portulaca oleracea*. J Korean Soc Appl Biol Chem, 51, 49-54
2. Branen AL (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J Am Oil Chem Soc, 52, 59-63
3. Choe SY, Yang KH (1982) Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). Korean J Food Sci Technol, 12, 283-288
4. Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim K (2005) Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. Korean J Food Sci Technol, 37, 78-83
5. Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MW,

- Kwon OJ (2008) Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. J Korean Soc Food Sci Nutr, 37, 276-281
6. Huang MT, Ho CT, Lee C (1992) Phenolic compounds in food and their effects on health (II), antioxidants and cancer prevention. ACS symp series 507. American Chemical Society, Washington, DC, USA p 54-71
 7. Kang MA, Kim MB, Kim JH, Ko YH, Lim SB (2010) Integral antioxidative capacity and antimicrobial activity of pressurized liquid extracts from 40 selected plant species. J Korean Soc Food Sci Nutr, 39, 1249-1256
 8. An BJ, Lee JT, Lee SA, Kwak JH, Park JM, Lee JY, Son JH (2004) Antioxidant effects and application as natural ingredients of Korean *Sanguisorba officinalis* L. J Korea Soc Appl Biol Chem, 47, 244-250
 9. Hyon JS, Kang SM, Mahinda S, Koh WJ, Yang TS, Oh MC, Oh CK, Jeon YJ, Kim SH (2010) Antioxidative activities of extracts from dried *Citrus sunki* and *Citrus unshiu* peels. J Korean Soc Food Sci Nutr, 39, 1-7
 10. Yi HS, Heo SK, Yun HJ, Kim BW, Park SD (2008) Anti-oxidative and anti-inflammatory effect of fractionated extracts of *Melia toosendan* in mouse macrophage cells, Korean J Herbology, 23, 121-134
 11. Loi YS, Kweon YM, Park JH, Park SD (2003) Effects of insamgobonwhan and its component groups on antioxidant activities. Korean J Herbology, 18, 41-50
 12. Kim TH (2011) Pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activities of *Polygonum aviculare* extract. Korean J Food Preserv, 18, 250-255
 13. Lee SJ, Sung NJ, Jeong HG, Shin HJ, Chung YC, Seo JK (2008) Antioxidant activities of ethanol extracts from *Prunella vulgaris*. J Korean Soc Food Sci Nutr, 37, 1535-1541
 14. Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J Biol Chem, 12, 239-9249
 15. Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. Nature, 26, 1198-1199
 16. Pellegrin NRRe, Yang M, Rice-Evans C (1998) Screening of dietary carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(2-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. Method Enzymol, 299, 379-389
 17. Andarwulan N, Shetty K (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and *Agrobacterium* transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). J Agric Food Chem, 47, 1776-1780
 18. Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. Method Enzymol, 105, 302-310
 19. Lee YS (2007) Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica dahurica* leaves. Korean J Food Preserv, 14, 78-86
 20. Shin HL (2003) Biological activity of phenol compound from muberry fruits. Sangju National University, Food Engineering, MS Thesis
 21. Jeong HJ, Park SB, Kim SA, Kim HK (2007) Total polyphenol content and antioxidative activity of wild grape (*Vitis coignetiae*) extracts depending on ethanol concentrations. J Korean Soc Food Sci Nutr, 36, 1491-1496
 22. Ju JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ (2006) Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. J Korean Soc Food Sci Nutr, 35, 7-14
 23. Miliauskas G, Venskutonis PR, Been TVA (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plants extracts. Food Chem, 85, 231-237
 24. Choe M, Kim DJ, Lee HJ, You JK, Seo DJ, Lee JH, Chung MJ (2008) A study on the glucose-regulating enzymes and antioxidant activities of water extracts from medicinal herbs. J Korean Soc Food Sci Nutr, 37, 572-547
 25. Lee SJ, Shin JH, Kang JR, Hwang CR, Sung NJ (2012) In vitro evaluation of biological activities of wasong (*Orostachys japonicus* A. Berger) and Korean traditional plants mixture. J Korean Soc Food Sci Nutr, 41, 295-301
 26. Labuza, T.P. (1971) Kinetics of lipid oxidation in foods. CRC Crit. Rev. Food Technol, 2, 335-405
 27. Chae JW, Jo BS, Joo SH, Ahn DH, Chun SS, Cho YJ (2012) Biological and antimicrobial activity of *Vaccinium oldhami* fruit. J Korean Soc Food Sci Nutr, 41, 1-6