

관중, 참지네고사리 및 더부살이고사리 분획물의 항산화 활성

김나래, 권혁준, 조주성, 이철희*

충북대학교 원예과학과

Antioxidant Activities of Fractions Obtained from *Dryopteris crassirhizoma*, *D. nipponensis* and *Polystichum lepidocaulon*

Na Rae Kim, Hyuk Joon Kwon, Ju Sung Cho and Cheol Hee Lee*

Department of Horticultural Science, Chungbuk Nat'l Univ., Cheongju 361-763, Korea

Abstract - This study was carried out to develop ferns as the natural antioxidant materials by graduating and extracting fronds of *Dryopteris crassirhizoma*, *Dryopteris nipponensis*, and *Polystichum lepidocaulon*, which belong to Dryopteridaceae, using solvent, and analyzing the antioxidant effect of each fraction. The n-butanol fraction of *D. crassirhizoma* ($550.0 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), the ethyl acetate fraction of *D. nipponensis* ($374.8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), and the n-butanol fraction of *P. lepidocaulon* ($781.8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) showed relatively higher total contents of polyphenol. The chloroform fraction of *D. crassirhizoma* ($72.9 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), and the n-hexane fraction of *D. nipponensis* ($72.9 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) and *P. lepidocaulon* ($154.5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) contained relatively higher total contents of flavonoids. DPPH radical scavenging activity was most excellent in the n-butanol fraction of *D. crassirhizoma* ($\text{RC}_{50}=0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) and *P. lepidocaulon* ($\text{RC}_{50}=0.04 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), and the water fractions of *D. nipponensis* ($\text{RC}_{50}=0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). ABTS radical scavenging activity was potent in the n-hexane and n-butanol fractions of *D. crassirhizoma* (each $\text{RC}_{50}=0.02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), the ethyl acetate fraction of *D. nipponensis* ($\text{RC}_{50}=0.03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), and the n-butanol fraction of *P. lepidocaulon* ($\text{RC}_{50}=0.06 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). There was the large amount of total polyphenol content in the n-butanol fraction of *D. crassirhizoma* and *P. lepidocaulon*, and their radical scavenging activities were potent. Therefore, it was thought that biologically active substances of each fraction layer are required to be analyzed and used.

Key words - ABTS radical, DPPH radical, n-Butanol, n-Hexane, Phenolic compounds

서 언

최근 건강한 삶에 관한 관심이 증가하면서 다양한 건강 보조제품에 대한 수요가 급증하고 있다. 특히 특정 질병의 치료와 예방을 목적으로 하지는 않지만, 전반적인 인체의 산화를 방지하여 노화 및 질병을 예방할 수 있는 항산화제에 대한 소비자의 인식이 증가하면서 다양한 항산화제 개발에 관한 연구가 증가하고 있다(Woo *et al.*, 2009). 기존에는 가격이 싸고 효과가 빠른 합성 항산화제를 주로 이용하였다. 그러나 합성 항산화제인 BHT와 BHA 등을 다량 섭취할 경우 발암 및 간독성 등의 부작용이 발생할 수 있다는 것이 알려지면서(Branen, 1975; Ito *et al.*, 1983), 안전한 천연 항산화제의 개발을 위한 다양한 연구가 수행되고 있다.

가장 많이 활용되는 천연 항산화제로는 비타민 C(ascorbic acid)와 E(tocopherol)가 있다. 비타민 E는 단독으로 사용할 경우 항산화 효과가 합성 항산화제보다 낮고 상대적으로 가격이 비싼 단점이 있으며, 비타민 C는 산소, 열 및 빛과 같은 외부 환경에 민감하게 반응하여 쉽게 분해되는 단점이 있다(Halliwel *et al.*, 1988; Hong *et al.*, 2008; Sa *et al.*, 2004). 따라서 기존의 천연 항산화제보다 항산화 효과가 높으면서, 인체에 안전하고 경제적인 천연소재를 선별하기 위한 다양한 연구가 필요하다고 본다.

식물은 환경적 또는 비환경적 스트레스를 극복하고 적응하기 위하여 alkaloid, flavonoid, steroid, polyphenol, terpenoid, quinone 등 다양한 2차 대사산물을 생산한다. 또한 식물이 생산하는 2차 대사산물은 식물 뿐 아니라 인간 체내의 산화작용을 방지하는 항산화 효과가 있으며, 항암, 항균, 항

*교신저자(E-mail) : leech@chungbuk.ac.kr

당뇨, 항고혈압 등 다양한 유용 생리활성을 띠는 것으로 알려져 있다(Paek *et al.*, 2001). 따라서 오랜 세월동안 환경에 적응하며 살아온 식물일수록 다양한 2차 대사산물을 생산할 것으로 기대된다.

양치식물은 고생대 테본기에 출현하여 약 4억년 동안 지구상의 다양한 환경변화에 적응하며 살아온 식물군이며, 전 세계에는 약 11,000여종이 분포하고, 한국에는 약 350여종이 분포하는 것으로 알려져 있다(KFS, 2005; Wallace *et al.*, 1991). 지구상에서 가장 오랫동안 생존해 온 식물 분류군 중 하나로 알려진 양치식물은 다수의 연구에서 항산화(Ding *et al.*, 2008; Oh *et al.*, 2008), 항균(Hum *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2008a, 2008b), 항당뇨(Oh *et al.*, 2008), 항고혈압(Oh *et al.*, 2008), 항암(Oh *et al.*, 2008) 및 면역체계 강화(Liu *et al.*, 1998) 등 유용 생리활성이 높은 것으로 보고되어 있다. 그러나 우리나라에는 다수의 양치식물이 자생함에도 불구하고 양치식물의 약리적 가치에 관한 인식이 부족하여 이들의 생리활성에 관한 연구 및 이를 활용한 건강 기능성 소재 개발이 매우 미흡한 실정이다.

본 연구는 항산화 효과가 높은 것(Shin, 2010)으로 나타난 면마과의 양치식물인 관중, 참지네고사리 및 더부살이고사리의 지상부 추출물을 각 용매별로 순차 분획한 다음 항산화 물질의 함량 및 항산화 활성을 분석하였다. 각 시료별로 항산화능이 높은 분획물을 선별하여, 이를 바탕으로 경제적으로 항산화 천연소재를 활용할 수 있는 방안을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 수집 및 추출

연구에 사용한 관중(*Dryopteris crassirhizoma*), 참지

네고사리(*D. nipponensis*) 및 더부살이고사리(*Polystichum lepidocaulon*)는 제주도에 자생하는 개체를 충북 청주시에 위치한 무가온 비닐하우스에서 3년 이상 재배한 것을 사용하였다(Table 1). 각 식물의 지상부는 수확한 다음 수세 후 절단하여 동결건조기(FD8512, IIShin Lab. Co. Ltd., Korea)를 이용하여 동결건조 하였으며, 건조한 시료는 분쇄기(FM-681C, Hanil Electric, Korea)로 곱게 분쇄하였다. 분쇄한 시료는 메탄올을 용매로 하여 Shin(2010)의 방법으로 30×24×14.5 cm 크기의 초음파 수조(5510-DTH, Bransonic, USA)에서 30분 동안 초음파 추출하였다. 메탄올 조추출물은 여과지(Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Japan)와 vacuum pump(GAST, USA)를 이용하여 감압여과하여 사용하였다.

조추출물은 rotary vacuum evaporator(N-1000, Eyela, Japan)로 감압농축하여 가용성 고형분을 얻었으며, 가용성 고형분, 초순수 및 n-hexane(K3480974 526 Merck KGaA, USA)을 1 : 9 : 10의 비율로 혼합하여 분획하였다. 분획한 다음 수층은 chloroform(AC0684, Jin Chemical Co. Ltd, Korea), ethyl acetate(E0190, Samchun Pure Chemical, Korea), n-butanol(AB0658, Junsei chemical Co. Ltd, Japan) 및 물의 순으로 순차적으로 용매 분획하였으며, 각 분획층은 rotary vacuum evaporator로 감압농축 하였다(Fig. 1).

총 폴리페놀의 함량

각 분획물의 총 폴리페놀의 함량은 Velioglu 등(1998)의 방법을 응용하여 구하였다. 분획물 0.1 mL와 2% Na₂CO₃ 2 mL를 혼합하여 3분 동안 실온에서 반응시킨 다음, 1 N의 Folin & Ciocalteu's phenol reagent(F9252, Sigma, USA)를 0.1 mL 첨가하여 혼합하였다. 혼합물은 실온에서 30분 동안 반응시켰으며, UV/Visible Spectrophotometer

Table 1. Moisture and soluble solids contents of each samples obtained from frond extracts

Scientific name	Moisture (%)	Soluble solids ² (mg·g ⁻¹)				
		n-Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	n-Butanol	Water
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	74.84	50.9a ^y	1.2e	7.5d	25.1b	9.0c
<i>Dryopteris nipponensis</i>	65.02	77.2a	3.8e	4.6d	26.4b	119.0c
<i>Polystichum lepidocaulon</i>	63.65	81.3b	5.4e	13.7d	49.6c	164.6a

²Milligrams of soluble solids in each fractions obtained from gram of dried fronds.

^yMean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test, $p < 0.05$.

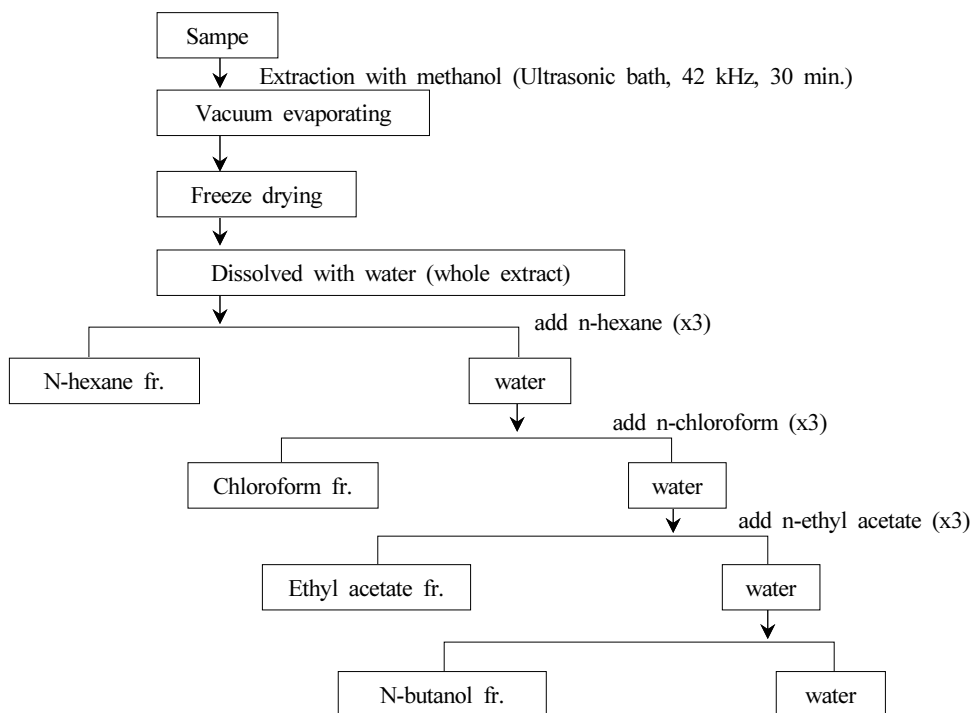


Fig. 1. Schematic diagram for solvent fractionation of whole extract using n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and n-butanol.

(Ultrospec 4000, Pharmacia Biotech.)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다(Velioglu *et al.* 1998). 표준물질은 tannic acid (T0200, Sigma, China)로 하였으며, 이를 이용하여 검량선을 작성한 다음 각 분획물의 건조 고형분 g당 총 폴리페놀 함량(mg·g⁻¹)을 tannic acid 기준으로 환산하였다.

총 플라보노이드의 함량

총 플라보노이드의 함량은 NFRI(1990)의 방법을 응용하여 구하였다. 각 분획물 0.2 mL, diethylene glycol(H26456, Sigma, USA) 2 mL, 1N NaOH 0.2 mL를 첨가한 다음 혼합하여 37°C의 항온수조(VS-190CS, Vision Sci., Korea)에서 1시간 동안 반응시켰으며, 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드의 함량은 naringin(NI376, Sigma, USA)을 표준물질로 하여 작성한 검량선에 대입하여 각 분획물의 건조 고형분 g당 총 플라보노이드 함량(mg·g⁻¹)을 naringin 기준으로 환산하였다.

DPPH radical 소거활성

각 분획물 0.2 mL와 0.15 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 용액 0.8 mL를 혼합하여 실온 암 상태에서 30분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측

정하였다(Blois, 1958). 각 분획물의 DPPH radical 소거활성(RC₅₀)은 분획물을 4단계 이상의 농도로 희석하여 각 희석 농도별 DPPH radical 소거활성을 구하였다. 그 다음 이를 선형 회귀분석을 이용하여 분획물 대신 메탄올을 첨가한 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 각 분획물의 가용성 고형분의 농도(mg·mL⁻¹)로 나타냈다.

ABTS radical 소거활성

각 분획물의 ABTS radical 소거활성은 Re 등(1999)의 방법을 응용하여 구하였다. 7.4 mM의 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) radical ion (ABTS^{•+})과 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온 · 암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시켰다. Radical을 형성시킨 ABTS 용액은 실험 직전에 732 nm에서 OD값이 0.7±0.03(mean±SE)이 되도록 phosphate-buffered saline(pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 각 분획물은 4단계 이상으로 희석하여 실험하였으며, 각 농도별 분획물 50 µL에 ABTS 용액 950 µL를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다(Re *et al.*, 1999).

결과 및 고찰

수분 함량 및 추출 수율

면마과 3종의 관중, 참지네고사리 및 더부살이고사리 성엽의 수분함량과 가용성 고형분 함량은 Table 1과 같다. 성엽의 수분함량은 63.65~74.84% 였으며, 관중(74.84%), 참지네고사리(65.02%), 더부살이고사리(63.65%) 순으로 높았다. 또한 면마과 3종의 추출수율을 분석한 결과, 관중은 n-hexane 분획물, 참지네고사리, 더부살이고사리는 water 분획물에서 추출수율이 각 50.9, 119.0, 164.6 mg·g⁻¹로 가장 높았으며, n-hexane, n-butanol, ethyl acetate 분획물 순으로 가용성 고형분 함량이 높았다.

총 폴리페놀 함량

관중, 참지네고사리, 더부살이고사리 성엽의 조추출물을 순차적 용매 분획하여 얻어진 분획물의 총 폴리페놀 함량은 Table 2와 같다. 관중은 n-butanol 분획물에서 총 폴리페놀 함량(550.0 mg·g⁻¹)이 많았으며, 다음은 ethyl acetate, water, chloroform, n-hexane 분획물 순이었다. 참지네고사리는 ethyl acetate 분획물에서 총 폴리페놀 함량(374.8 mg·g⁻¹)이 가장 많았으며, n-butanol, chloroform, water, n-hexane 분획물 순으로 함량이 많았다. 더부살이고사리는 관중과 같이 n-butanol 분획물에서 총 폴리페놀 함량(781.8mg·g⁻¹)이 면마과 3종의 분획물 중에서 가장 많았다. 더부살이고사리의 폴리페놀 함량은 n-butanol 분획물 다음으로 ethyl acetate, water, n-hexane, chloroform 분획물 순으로 많았다.

식물체에 함유되어 있는 폴리페놀은 항산화, 항암, 항알러지 등 다양한 생리활성 효과를 보이므로(Lee *et al.*, 2005), 본 연구에서 총 폴리페놀 함량이 많은 것으로 밝혀진 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물은 천연 항

산화제 및 건강 기능성 식품 등 다양한 기능성 소재로 활용이 가능하다고 생각된다.

Woo 등(2010)의 기생초 분획물과 Noh 등(2009)의 목련 분획물의 총 폴리페놀 함량은 chloroform 분획물에서 가장 많았다. 그러나 본 연구에서 사용한 면마과 3종 분획물의 총 폴리페놀 함량의 경우에는 다 높은 경향을 보였는데, 이는 식물과 추출방법이 다르기 때문이라고 생각된다. Kim 등(2005)과 Kim 등(2008)은 용매, 추출시간 및 추출법을 달리하면 폴리페놀 함량이 달라지는 결과를 발표하였다. 따라서 총 폴리페놀 함량이 가장 많았던 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물을 용매, 추출시간 및 추출법을 달리하여 총 폴리페놀 함량을 증가시킬 수 있는 방법을 찾아야 할 것으로 생각된다.

총 플라보노이드 함량

면마과 3종의 성엽 조추출물을 순차적 용매 분획하여 얻어진 분획물의 총 플라보노이드의 함량은 Table 3과 같다. 관중은 chloroform 분획물의 총 플라보노이드 함량이 72.9 mg·g⁻¹로 가장 많았으며, 관중 분획물의 총 플라보노이드 함량은 16.5(water 분획물)~72.9 mg·g⁻¹(chloroform 분획물)의 범주였다. 참지네고사리는 n-hexane 분획물의 총 플라보노이드 함량이 72.9 mg·g⁻¹로 가장 많았으며, 관중의 chloroform 분획물과 총 플라보노이드 함량이 동일하였다. 참지네고사리 분획물의 총 플라보노이드 함량은 33.8(n-butanol 분획물)~72.9 mg·g⁻¹(n-hexane 분획물)으로 나타났다. 더부살이고사리도 참지네고사리와 마찬가지로 n-hexane 분획물에서 함량이 가장 많았으며, 면마과 3종에서 더부살이고사리 n-hexane 분획물(154.5 mg·g⁻¹)이 총 플라보노이드 함량이 가장 많은 것으로 나타났다.

Kim 등(2004)과 Choi 등(2005)은 일반적으로 식물의

Table 2. Total polyphenol contents of each fractions obtained from frond extracts

Scientific name	Total polyphenols ^z (mg·g ⁻¹)				
	n-Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	n-Butanol	Water
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	120.2d ^y	118.0d	365.7b	550.0a	223.6c
<i>Dryopteris nipponensis</i>	155.0c	292.4b	374.8a	315.5b	166.9c
<i>Polystichum lepidocaulon</i>	158.3d	142.9d	527.7b	781.8a	245.8c

^zMilligrams of total polyphenol contents per gram of dried soluble solids on tannic acid as standard.

^yMean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test, $p < 0.05$.

총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드의 함량은 서로 비례한다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 Jeong 등(2007)의 연구결과와 동일하게 양치식물의 경우 총 플라보노이드 함량과 폴리페놀 함량은 연관성이 낮은 것으로 나타났다. 또한 양치식물의 총 플라보노이드 함량은 극성이 낮은 용매에서 함량이 많은 것으로 확인되었다.

DPPH radical 소거능

본 연구에서는 free radical의 일종으로 체내 산화의 원인으로 알려진 DPPH radical이 항산화 물질에 의하여 환원되는 원리를 이용하여(Blois, 1958), 면마과 3종 성엽 분획물의 DPPH radical 소거능의 RC₅₀ 값을 측정한 결과는 Table 4와 같다.

관중 분획물의 RC₅₀은 0.02(n-butanol 분획물)~0.21 mg·mL⁻¹(n-hexane 분획물) 이었다. 관중 n-butanol 분획물은 0.02 mg·mL⁻¹로 관중 분획물 중에서 가장 높은 DPPH radical 소거능을 보였다. 관중의 분획물 중에서 chloroform, ethyl acetate, water 분획물은 동일한 RC₅₀ 값을 나타냈다(RC₅₀=0.04 mg·mL⁻¹). 참지네고사리는 water 분획물의 DPPH radical 소거능(RC₅₀=0.01 mg·mL⁻¹)이 면마과 3종의 분획물 중에서 가장 우수하였다. 참지네고사리 분획물의 RC₅₀은 0.01(water 분획물)~0.38 mg·mL⁻¹

(ethyl acetate 분획물)이었다. 더부살이고사리는 n-butanol 분획물에서 DPPH radical 소거능(RC₅₀=0.04 mg·mL⁻¹)이 높았으며, 관중 분획물의 chloroform, ethyl acetate 분획물과 DPPH radical 소거능이 비슷하였다. 더부살이고사리 분획물의 RC₅₀은 0.04(n-butanol 분획물)~0.69 mg·mL⁻¹(n-hexane 분획물) 이었다.

본 연구에서 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물과 참지네고사리의 water 분획물은 합성항산화제로 알려져 있는 BHT(RC₅₀=0.12 mg·mL⁻¹)보다 각각 6, 3, 12배 높으므로, 합성 항산화제를 대신할 수 있는 천연 항산화제로의 사용 가능성을 확인할 수 있었다. 또한 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물은 DPPH radical 소거활성과 총 폴리페놀 함량이 서로 비례하므로, 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물의 DPPH radical 소거활성과 총 폴리페놀 함량의 연관성을 알 수 있었다.

Choi 등(2003)의 밤꽃 메탄올 추출물, Kim 등(2004)의 약용식물 물 추출물, Kim 등(2005)의 머루종자 에탄올 추출물을 이용한 항산화 연구에서도 free radical 소거능과 총 폴리페놀 함량이 밀접하게 관련이 있는 것으로 확인되었다. 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물은 총 폴리페놀 함량뿐만 아니라 DPPH radical 소거능 또한 우수하여 천연 항산화제로의 개발 가능성을 확인할 수 있었다.

Table 3. Total flavonoid contents of each fractions obtained from frond extracts

Scientific name	Total flavonoids ^z (mg·g ⁻¹)				
	n-Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	n-Butanol	Water
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	58.3b ^y	72.9a	44.7c	48.9c	16.5d
<i>Dryopteris nipponensis</i>	72.9a	47.1ab	67.6a	33.8b	56.2ab
<i>Polystichum lepidocaulon</i>	154.5a	52.3d	82.6b	60.7c	19.0e

^zMilligrams of flavonoid contents per gram of dried soluble solids on naringin as standard.

^yMean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test, p<0.05.

Table 4. DPPH radical scavenging of each fractions obtained from frond extracts

Scientific name	DPPH RC ₅₀ ^z (mg·mL ⁻¹)				
	n-Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	n-Butanol	Water
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	0.21c ^y	0.04b	0.04bc	0.02a	0.04bc
<i>Dryopteris nipponensis</i>	0.28c	0.05b	0.38d	0.04b	0.01a
<i>Polystichum lepidocaulon</i>	0.69e	0.54d	0.07b	0.04a	0.38c

^zConcentration of the material which is required to scavenge 50% of 0.15 mM DPPH radicals at 30 min. after starting the reaction.

^yMean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test, p<0.05.

Table 5. ABTS radical scavenging of each fractions obtained from frond extracts

Scientific name	ABTS ^{•+} RC ₅₀ ^z (mg·mL ⁻¹)				
	n-Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	n-Butanol	Water
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	0.02a ^y	0.14e	0.04c	0.02b	0.10d
<i>Dryopteris nipponensis</i>	0.15c	0.04a	0.03a	0.04a	0.12b
<i>Polystichum lepidocaulon</i>	0.54c	0.56c	0.09a	0.06a	0.26b

^zConcentration of the material which is required to scavenge 50% of 7.4 mM ABTS radicals at 10 min. after starting the reaction.

^yMean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test, $p < 0.05$.

ABTS radical 소거능

ABTS radical 소거능은 ABTS의 양이온 라디칼의 흡광도가 항산화제에 의해 감소되는 원리에 기초한 방법으로, potassium persulfate와 ABTS의 산화에 의해 라디칼을 형성시킨 후 각각의 시료에 대한 free radical 소거능을 측정함으로써 항산화 활성을 확인할 수 있다(Re 등, 1999). 면마과 3종의 성엽 조추출물 및 순차 분획물을 대상으로 ABTS radical 소거능을 측정한 결과는 Table 5와 같다.

관중의 분획물별 ABTS radical 소거능은 n-hexane, n-butanol 분획물에서 동일하게 가장 높았으며(RC₅₀=0.02 mg·mL⁻¹), 면마과 3종의 분획물 중에서 가장 높은 ABTS radical 소거능을 보였다. 다음으로는 ethyl acetate, water, chloroform 분획물 순으로 ABTS radical 소거능이 높은 것으로 분석되었다. 참지네고사리는 ethyl acetate 분획물에서 ABTS radical 소거능(RC₅₀=0.03 mg·mL⁻¹)이 높았다. 다음은 chloroform 및 n-butanol 분획물이 동일한 ABTS radical 소거능(RC₅₀=0.04 mg·mL⁻¹)을 보였으며, water, n-hexane 분획물에서 낮은 경향을 보였다. 더부살이고사리는 n-butanol 분획물에서 ABTS radical 소거능(RC₅₀=0.06 mg·mL⁻¹)이 높았으며, 다음은 ethyl acetate, water, n-hexane, chloroform 분획물 순이었다.

총 폴리페놀 함량 및 DPPH radical 소거능이 높았던 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물은 ABTS radical 소거능도 높은 것으로 나타났다. Woo 와 Lee(2008)는 구절초와 남구절초의 수확시기에 따라 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능이 달라진다는 것을 보고하였다. 그러므로 향후 면마과 3종의 성엽을 수확시기를 달리하여 항산화 활성이 높게 나오는 적정 시기를 찾아낼 필요가 있다고 생각된다.

본 연구의 결과를 종합하면 항산화 물질 및 radical 소거능이 높은 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물은

천연 항산화제 이외에도 천연약물 등으로 활용이 가능할 것으로 생각되었다.

적 요

본 연구는 면마과에 속한 관중(*Dryopteris crassirhizoma*), 참지네고사리(*Dryopteris nipponensis*) 및 더부살이고사리(*Polystichum lepidocaulon*)의 성엽을 용매별로 분획 추출한 다음 각 분획물의 항산화 효과를 분석하여 천연 항산화 소재로 개발하기 위하여 수행하였다. 총 폴리페놀의 함량은 관중의 n-butanol 분획물(550.0 mg·g⁻¹), 참지네고사리의 ethyl acetate 분획물(374.8 mg·g⁻¹), 더부살이고사리의 n-butanol 분획물(781.8 mg·g⁻¹)에서 가장 많았다. 총 플라보노이드의 함량은 관중의 chloroform 분획물(72.9 mg·g⁻¹), 참지네고사리와 더부살이고사리의 n-hexane 분획물에서 각 72.9, 154.5 mg·g⁻¹로 총 플라보노이드 함량이 가장 많았다. DPPH radical 소거활성은 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물(RC₅₀=0.02와 0.04 mg·mL⁻¹)과 참지네고사리의 water 분획물(RC₅₀=0.01 mg·mL⁻¹)에서 가장 높았다. ABTS radical 소거활성은 관중의 n-hexane과 n-butanol 분획물(각 RC₅₀=0.02 mg·mL⁻¹), 참지네고사리의 ethyl acetate 분획물(RC₅₀=0.03 mg·mL⁻¹) 및 더부살이고사리의 n-butanol 분획물(RC₅₀=0.06 mg·mL⁻¹)에서 가장 높았다. 연구의 결과, 관중과 더부살이고사리의 n-butanol 분획물은 총 폴리페놀의 함량이 많으며 radical 소거활성이 높았으므로 각 분획층의 유용 생리활성 물질을 분석하여 이용할 필요가 있는 것으로 생각되었다.

사 사

이 논문은 2010년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

인용문헌

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Branen, A.L. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. American Oil Chem. Soc.* 52:59-63.
- Choi, S.Y., E.S. Song, J.S. Kim and M.H. Kang. 2003. Antioxidative activities of *Castanea Crenata* Flos. methanol extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 6:1216-1220 (in Korean).
- Choi, S.Y., S.H. Lim., J.S. Kim, T.Y. Ha, S.R. Kim, K.S. Kang and I.K. Hwang. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37:549-556 (in Korean).
- Ding, Z.T., Y.S. Fang, Z.G. Tai, M.H. Yang, Y.Q. Xu, F. Li and Q.E. Cao. 2008. Phenolic content and radical scavenging capacity of 31 species of ferns. *Fitoterapia* 79:581-583.
- Halliwell, B., R.J. Hoult and D.R. Blake. 1988. Oxidants, inflammation and anti-inflammatory drugs. *FASEB J.* 2: 2867-2870.
- Hong, J.H., K.S. Song, K.J. Kim, C.S. Lee, B.M. An and B.S. Kim. 2008. Nanocapsulation of L-ascorbic acid in non-aqueous system. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 19:604-608 (in Korean).
- Hum, H., H. Cao, Y. Jian, X. Zheng and J. Liu. 2008. Chemical constituents and antimicrobial activities of extracts from *Pteris multifida*. *Chem. Natur. Comp.* 44: 106-108.
- Ito, N., S. Fukushima, A. Hasegawa, M. Shibata and T. Ogiso. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Cancer Inst.* 70:343-347.
- 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 (in Korean).
- 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 (in Korean).
- Kim, M.B., S.H. Hyun, J.S. Park, M.A. Kang, Y.H. Ko and S.B. Lim. 2008. Integral antioxidative capacity of extracts by pressurized organic solvent from natural plants in Jeju. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37:1491-1496 (in Korean).
- Kim, N.Y., Y.K. Kim, K.J. Bae, J.H. Choi, J.H. Moon, G.H. Park and D.H. Oh. 2005. Free radical scavenging effect and extraction condition of ethanol extracts and fractions of wild grape seed (*Vitis coignetiea*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34:755-758 (in Korean).
- Korean Fern Society (KFS). 2005. Illustrated fern native to Korea. Geobook, Seoul (in Korean).
- Lee, Y.A., H.Y. Kim and E.J. Cho. 2005. Comparison of methanol extracts from vegetables on antioxidative effect under in vitro and cell system. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34:1151-1156. (in Korean).
- Liu, B., F. Diaz, L. Bohlin and M. Vasange. 1998. Quantitative determination of antiinflammatory principles in some *Polypodium* species as a basis for standardization. *Phytomedicine* 5:1487-1494.
- National Food Research Institute (NFRI). 1990. Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation (2). National Food Research Institute, Skuba, Japan, p. 61.
- Noh, J.W., I.G. Hwang, E.M. Joung, H.Y. Kim, S.J. Chang and H.S. Jeong. 2009. Biological activities of *Magnolia denudata* Desr. flower extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38:1478-1484 (in Korean).
- Oh, S.J., S.S. Hong, Y.H. Kim and S.C. Koh. 2008. Screening of biological activities in fern plants native to Jeju island. *Korean J. Plant Res.* 21:12-18 (in Korean).
- Paek, K.Y., K.W. Kim, C.K. Kim, Y.G. Park, W.Y. Soh, S.H. Son, J.K. Sohn, G.B. Shim, Y.H. Ahn, J.S. Eune, Y.B. Lee, J.S. Lee, C.H. Lee, H.T. Lim, J.D. Chung, S.O. Jee, B.H. Han, E.J. Hahn, J.W. Heo and B. Hwang. 2001. The newest plant tissue culture-technique. Hyangmunsa, Seoul (in Korean).
- 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.
- Sa, J.H., W. Lee, I.C. Shin, K.J. Jeong, T.H. Shim, H.S. Oh, Y.J. Kim, E.H. Cheung, G.G. Kim and D.S. Choi. 2004. Antioxidant effect of *Rosa davurica* Pall extract on oxidation of human low density lipoprotein (LDL). *Korean J. Food Sci. Technol.* 36:311-316 (in Korean).
- Shin, S.L. 2010. Functional components and biological activities of Pteridophytes as healthy biomaterials. Department of Horticulture, Ph.D. Diss, Chungbuk Nat. Univ., Cheongju (in Korean).
- Singh, M., N. Singh, P.B. Khare and A.K.S. Rawat. 2008a.

- Antimicrobial activity of some important *Adiantum* species used traditionally in indigenous systems of medicine. *J. Ethnopharmacol.* 115:327-329.
- Singh, M., R. Govindarajan, A.K.S. Rawat and P.B. Jhare. 2008b. Antimicrobial flavonoid rutin from *Pteris vittata* L. against pathogenic gastrointestinal microflora. *American Fern J.* 98:98-103.
- 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.
- Wallace, R.A., G.P. Sanders and R.J. Ferl. 1991. *Biology: The science of life.* 3rd eds. HaroerCollins Publishers Inc, New York.
- Woo, J.H. and C.H. Lee. 2008. Effect of harvest date on antioxidant of *Dendranthema zawadskii* var. *latilobum* (Maxim.) Kitam and *D. zawaskii* var. *yezoense* (Maek.) Y.M. Lee & H.J. Choi. *Korean J. Plant. Res.* 21:128-133 (in Korean).
- Woo, J.H., H.S. Jeong, Y.D. Chang, S.L. Shin and C.H. Lee. 2010. Antioxidant activities of fractions obtained from flowers of *Coreopsis tinctoria* Nutt. *Korean J. Hort. Sci. Technol.* 28:115-119 (in Korean).
- Woo, J.H., S.L. Shin, Y.D. Chang and C.H. Lee. 2009. Comparison of antioxidant effects by different extraction methods in flowers of *Aster scaber*, *Aster maackii*, *Coreopsis lanceolata* and *Coreopsis tinctoria*. *Korean J. Plant Res.* 22:381-388 (in Korean).
- (접수일 2012.1.12; 수정일 2012.2.8; 채택일 2012.3.16)