pISSN 1225-4339 eISSN 2287-4992
Korean J. Food Nutr. Vol. 28. No. 6, 1098~1106 (2015)
http://dx.doi.org/10.9799/ksfan.2015.28.6.1098

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

국내 산림식물 11종의 항산화 활성

조명래 · 이종석* · 이사라* · 손연경* · 배창환* · 여주홍* · 이해석 · 마진경 · 이옥환 · †김종예
강원대학교 식품생명공학과, *국립생물자원관 유용자원분석과

Antioxidant Activity of 11 Species in Korean Native Forest Plants

MyoungLae Cho, Jong Seok Lee*, Sarah Lee*, Youn Kyoung Son*, Chang-Hwan Bae*, Joohong Yeo*, Hae-Sock Lee, Jin-Gyeong Ma, Ok-Hwan Lee and †Jong-Yae Kim
Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea
**Biological and Genetic Resources Assessment Division, National Institute of Biological Resources, Incheon 22689, Korea*

Abstract

This study aimed to investigate antioxidant activities from 11 forest plants, and determine their total phenolics, flavonoids and proantocyanidins contents. In addition, the antioxidant activities were correlated with antioxidant compounds. Among the samples, *Cornus officinalis*, *Castanea crenata*, *Lindera erythrocarpa*, *Carpinus laxiflora* and *Pourthiaea villosa* showed significantly higher 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (IC_{50}=21.12~28.93 μg/mL) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothia zoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (IC_{50}=28.18~52.55 μg/mL) radical scavenging ability with reducing power (IC_{50}=59.91~93.64 μg/mL) than other plants; and *C. crenata*, *L. erythrocarpa* and *Rubus coreanus* showed strong nitric oxide (NO) inhibition activity (≥60%). In addition, *L. erythrocarpa*, *C. laxiflora* and *P. villosa* showed higher oxygen radical absorbance capacity (ORAC) values (≥1,100 μM TE/g sample) than other samples. High total phenolic contents were observed in *C. crenata* (429.11 mg GAE/g), *L. erythrocarpa* (437.11 mg GAE/g), *C. laxiflora* (408.67 mg GAE/g) and *P. villosa* (404.11 mg GAE/g). The DPPH and ABTS radical scavenging activity with reducing power were significantly correlated with total phenolic contents (R^2=0.71~0.79), but total phenolic contents were not correlated with NO inhibition and ORAC (R^2=0.35~0.43). Therefore, these results suggested that *C. officinalis*, *C. crenata*, *L. erythrocarpa*, *C. laxiflora* and *P. villosa* are potential natural antioxidative candidate ingredients.

Key words: forest plants, DPPH, ABTS, reducing power, polyphenols

서 론

활성산소종이라 불리는 ROS(reactive oxygen species)는 인체의 대사과정에서 자연스럽게 발생되며, 과도한 운동, 환경호르몬 등 인체의 산화적 스트레스로 발생되기도 한다(Cho 등 2011). 활성산소종의 종류로는 hydroxyl radical(OH), superoxide radical(O^{2-}), hydrogen peroxide(H_2O_2) 등이 있는데, 과발현된 ROS는 생체내의 세포막, 단백질, DNA 손상 등을 일으켜 암, 당뇨, 고혈압, 비만, 노화 등의 각종 질병을 유발한다(Gardner & Fridovich 1991; Drooge W 2002; Willcox 등 2004). 따라서 기능성 식품, 화장품 및 의약품 산업에서는 이러한 ROS를 제거하기 위하여 propyl gallate(PG), butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene(BHT) 등의 합성 항산화제를 사용하여 왔으나, 많은 연구에서 이들 합성 항산화제가 암을 유발하거나, 세포내 독성을 나타내는 등의 부작용을 초래한다고 보고하였다(Ito 등 1986; Safer & al-Nughamish 1999). 이러한 이유로 합성 항산화제보다 더 안전하고 효과적인 천연 항산화제를 찾고자 하는 연구가 지속되어 오고 있으며, 민간

† Corresponding author: Jong-Yae Kim, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea. Tel: +82-33-250-6455; Fax: +82-33-259-5565, E-mail: jongkim@kangwon.ac.kr

요법이나 한방에서 효능이 입증된 육상생물을 이용한 천연 항산화제 연구를 위주로 수행하여 왔다.

국내에 자생하는 식물은 총 205과 1,157속 4,940종으로 우리나라와 국토 면적이 비슷한 영국(2,000여종), 덴마크(1500여종)와 비교하면 상당히 다양성이 높으며, 같은 동북아시아 국가인 일본, 중국보다 다양한 종이 분포하고 있어서 이들을 이용한 기능성 소재 개발은 반드시 필요하다(Kim 등 2012a). 따라서 많은 연구자들이 국내 자생 식물을 이용한 기능성 연구를 수행하고 있는데, Jeong 등(2004)은 천연 항산화제 개발을 목적으로 118종의 국내 자생 식물의 항산화 활성을 조사하였으며, 그 중 녹차, 인진쑥, 황금, 삼백초, 작약 등이 우수한 항산화 활성을 보인다고 보고하였고, Choi 등(2010)은 7종의 자생허브와 4종의 도입허브를 이용하여 항산화 및 항균활성을 연구하였다. 또한 Hyun 등(2007) 및 Jang 등(2015)은 제주도에 자생하는 식물들을 이용하여 항산화 활성을 조사하고, 화장품 소재를 탐색하였다. 국내 산림지역에 자생하는 식물들의 생리활성과 관련하여 Kim 등(2015a)이 느릅나무 뿌리인 유근피의 항산화 활성에 대하여 연구하였고, Kim 등(2015b)은 가시오가피를 이용한 항산화 활성에 관하여 연구하였다. 이와 같이, 산림지역에 자생하는 식물의 개별적 기능성에 관한 연구는 다양하게 수행되었으나, 산림지역 자생 식물의 다품종 항산화 활성에 관한 비교 연구는 현재까지 거의 수행되지 않았다. 하지만, 산림지역 자생 식물의 기능성 연구는 향후 국내 자생 식물의 보존 및 활용 차원에서 매우 중요한 연구라 생각된다.

본 연구는 예부터 약용으로 사용되었거나, 현재 식품공전에 등록된 국내 산림지역 자생 식물을 식품산업에 활용하고자 항산화 활성을 연구하던 중, 11종이 다른 종들과 비교하여 우수한 항산화 활성을 보였기 때문에 수행되었다. 본 연구에서 사용된 산림지역 자생 식물 중 산수유, 복분자 딸기는 주로 열매 추출물의 항산화 및 항암활성 등의 연구가 수행되었으며(Jeon 등 2008; Choung & Lim 2012), 진달래의 경우, 꽃 추출물을 이용한 항산화 활성 등이 연구되었다(Park 등 2006). 하지만, 현재까지 국내 산림지역 자생 식물을 이용하여 열매를 제외한 잎, 줄기 및 잔가지 추출물의 항산화 활성에 관한 연구는 거의 없으며, 이를 식품 산업에 적용하고자 한 예도 없다. 따라서 본 연구에서는 국내 산림지역 자생 식물 11종의 잎, 줄기 및 잔가지 부분을 70% 에탄올로 추출하였으며, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) 라디칼 소거능, reducing power, oxygen radical absorbance capacity(ORAC) 및 nitric oxide(NO) 라디칼 소거능을 이용하여 항산화 활성을 측정하였다. 또한 항산화 활성의 주요 성분으로 예상되는 총 폴리페놀, 플라보노이드 및 프로안토시아니딘 함량을 측정하였으며, 주요 항산화 활성과 항산화 성분들과의 연관성을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

Folin-Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, sodium carbonate, aluminium nitrate, potassium acetate, sodium hydroxide, acetic acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid(Trolox), potassium persulfate, potassium ferricyanide, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), trichloroacetic acid, 2,2'-azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride(AAPH) 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, fluorescein sodium salt는 Junsei Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 그 외, 실험에 사용한 시약은 분석용으로 Sigma(Sigma-Aldrich Co.)로부터 구입하여 사용하였다.

2. 산림자생 식물 추출물 제조

본 연구에 사용한 11종의 산림자생 식물은 2014년 7월부터 9월까지 울산광역시 울주군(박달나무, *Betula schmidtii*), 충청북도 옥천 및 영동(산수유, *Cornus officinalis*; 복분자딸기 *Rubus coreanus*), 충청남도 청양(진달래, *Rhododendron mucronulatum*; 갈참나무, *Quercus aliena*), 경상북도 상주 및 고령(밤나무, *Castanea crenata*; 비목나무, *Lindera erythrocarpa*; 쇠물푸레, *Fraxinus sieboldiana*), 경상남도 합천(오이풀, *Sanguisorba officinalis*), 제주도 제주시(된장풀, *Desmodium caudatum*; 윤노리나무, *Pourthiaea villosa*)에서 채집하였으며, 시료는 국립생물자원관에서 제공하였다. 본 연구에서 사용된 각 산림자생 식물의 학명 및 부위는 Table 1에 나타내었다. 산림자생 식

Table 1. The information of Korean native forest plants

No	Family	Plant species	Parts
1	Betulaceae	*Betula schmidtii* Regel	Leaf
2	Cornaceae	*Cornus officinalis* Siebold & Zucc.	Leaf, twig
3	Ericaceae	*Rhododendron mucronulatum* Turcz.	Leaf, twig
4	Fabaceae	*Desmodium caudatum* (Thunb.) DC.	Leaf, twig
5	Fagaceae	*Castanea crenata* Siebold & Zucc.	Leaf
6	Fagaceae	*Quercus aliena* Blume	Leaf
7	Lauraceae	*Lindera erythrocarpa* Makino	Leaf, twig
8	Oleaceae	*Fraxinus sieboldiana* Blume	Leaf
9	Rosaceae	*Pourthiaea villosa* (Thunb.) Decne.	Leaf
10	Rosaceae	*Rubus coreanus* Miq.	Twig
11	Rosaceae	*Sanguisorba officinalis* L.	Stem

물의 추출은 수용성 화합물과 지용성 화합물을 함께 추출하기 위하여 70% 에탄올을 사용하였으며, 각 시료 100 g을 70% 에탄올 1,000 mL에 침지시킨 후 실온에서 24시간 동안 추출하였다. 상기 추출 과정을 3회 반복하고, 얻어진 추출액은 모두 합하여 filter paper(Whatman, No. 3, Maidstone, Kent, UK)로 여과한 후, 회전진공농축기(EYELA, N-3000, Tokyo, Japan)를 사용하여 감압농축한 후, 동결건조(Ilshinbiobase Co., Ltd, Yangju, Korea) 하였다.

3. DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Cho 등(2011)의 방법을 이용하여 측정하였다. 70% ethanol을 사용하여 용해시킨 시료 0.1 mL와 0.4 mM DPPH 용액 0.1 mL를 혼합한 뒤, 30분 동안 암소에서 반응시켰다. Microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)의 515 nm에서 흡광도 값을 측정하였으며, DPPH 라디칼 소거능은 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

A_c: 공시료 흡광도, A_s: 시료군 흡광도

4. ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 지용성 및 수용성 성질의 항산화 물질 모두 사용 가능한 항산화 활성 측정 방법으로, ABTS의 양이온 라디칼의 흡광도가 항산화 물질에 의해 감소되는 원리에 기초한 방법이다(Cho 등 2013). ABTS 라디칼 소거능은 Re 등(1999)의 방법으로 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 빛을 차단한 상태로 12~16시간 동안 상온에서 반응시켜 ABTS 양이온을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70±0.02가 되도록 무수에탄올을 이용하여 조절하였다. 시료 50 µL와 150 µL의 희석된 ABTS 용액을 첨가하고, 20분 동안 상온에서 반응시켜 microplate reader의 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능} = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

A_c: 공시료 흡광도, A_s: 시료군 흡광도

5. 환원력 측정

환원력(reducing power)은 ferric-ferricyanide (Fe^{3+})가 ferrous (Fe^{2+})로 환원되는 능력을 측정한 방법으로 Cho 등(2011)의 방법으로 측정하였다. 시료 0.5 mL, 0.2 M sodium phosphate buffer 0.5 mL, 1% potassium ferricyanide 0.5 mL를 혼합하여 50℃에서 20분간 반응시킨 후, 10% trichloroacetic acid 0.5 mL를 넣어주고 12,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후, 1.0 mL 상등액과 0.1% Iron(Ⅲ) chloride 0.2 mL를 첨가하여 상온에서 10분간 반응하고, microplate reader 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. Reducing power의 환원력은 vitamin C의 25 µg/mL 농도의 환원력을 100%로 계산하였다.

6. Oxygen radical absorbance capacity(ORAC) 활성 측정

ORAC assay는 Ou 등(2001)의 방법을 응용하여 실험하였다. 75 mM phosphate buffer(pH 7.4)에 시료를 용해시키고, 40 nM의 fluorescein 150 µL와 18 mM AAPH 25 µL를 첨가하여 37℃에서 15분간 반응시켰다. 형광분광광도계는 37℃로 조정 후, excitation 파장 485 nm와 emission 파장 520 nm에서 3분에 1번씩 90분간 측정하였다. 표준물질로는 trolox(0~10 µM)을 사용하였으며, 표준시약과 시료의 under the curve(AUC)를 측정하고 µM TE/mg으로 표기하였다.

$$\text{Area under the curve (AUC)} = 1+f1/f0+f2/f0+f3/f0+f4/f0+\cdots f31/f0$$

7. Nitric oxide(NO) 라디칼 소거능 측정

NO 라디칼 소거능은 Rockett 등(1991)의 방법을 응용하여 실험하였다. 시료 0.5 mL에 1 mM $NaNO_2$ 용액 0.5 mL를 첨가하고, 0.1 N HCl로 반응용액의 pH를 1.2로 보정한 다음 반응용액의 최종부피를 증류수를 가하여 5 mL로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 동안 반응시킨 다음 반응액을 1 mL씩 취하여 2% acetic acid 5 mL와 Griess 시약(A:B=1:1, A: 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B: 1% naphthylamine in 30% acetic acid) 0.4 mL를 첨가하여 잘 혼합한 다음, 실온에서 15분간 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO 라디칼 소거능은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{NO 라디칼 소거능} = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

A_c: 공시료 흡광도, A_s: 시료군 흡광도

8. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu을 이용하여 Kahkonen 등(1999)의 방법으로 측정하였다. 각 시료 500 mL에 12.5% (w/v) sodium carbonate 용액 1.25 mL와 1.0 M Folin-Ciocalteu's reagent 250 µL를 혼합하여 암소에서 40분간 방치 후 microplate reader 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 표준물질로 이용하였으며, 총 폴리페놀 함량은 mg GAE/g sample로 나타내었다.

9. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Ordonez 등(2006)의 방법에 따라 측정하였으며, 각 시료 0.5 mL에 2% (w/v) aluminum chloride 0.5 mL를 첨가하여 상온에서 60분간 반응시킨 후 microplate reader의 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 표준물질로 이용하였으며, 총 플라보노이드 함량은 mg QE/g sample로 나타내었다.

10. 총 프로안토시아니딘 함량 측정

총 프로안토시아니딘 함량은 vanillin-hydrochloric acid(V-HCl)를 이용하였으며, Mitsunaga 등(1998)의 방법을 응용하여 측정하였다. 각 시료 0.5 mg을 methanol 5 mL에 용해 후, 4% (w/v) vanillin 용액 3 mL를 첨가하여 강하게 stirring 하였다. 그 후, concentrated hydrochloric acid 1.5 mL를 반응용액에 첨가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후, microplate reader의 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 프로안토시아니딘 함량은 catechin을 표준물질로 이용하였으며, μg CE/g sample로 나타내었다.

11. 통계분석

모든 실험은 3반복으로 측정한 값을 평균±표준편차로 나타내었으며, 실험 결과의 통계적 유의성은 one-way ANOVA 분석을 하였다. 실험 간 최소 유의차 검정(LSD)에 의해 평균 간의 유의차를 $p<0.05$ 유의수준에서 Tukey's test로 유의성을 검정하였다. 실험의 통계 분석은 SAS 9.3(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 환원력 측정

국내 산림지역 자생 식물 70% 에탄올 추출물의 항산화 활성은 Table 2에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 산수유, 밤나무, 비목나무, 윤노리나무가 30 μg/mL 이하의 낮은 IC_{50} 값을 보이면서 가장 높은 활성을 보였다. 또한 갈참나무, 복분자딸기, 오이풀 역시 40 μg/mL 이하의 낮은 IC_{50} 값을 보이면서 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 그러나 된장풀은 55.30 μg/mL의 IC_{50} 값으로 13종의 시료 중에서 가장 낮은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 비교대조군으로 사용한 vitamin C와 BHA는 각각 7.47, 13.64 μg/mL의 IC_{50} 값을 보이면서 본 연구에서 사용된 산림지역 자생 식물 추출물보다 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 이상의 결과는 Kim 등(2004)이 보고한 산수유 추출물의 DPPH 라디칼 소거능(1 mg/mL, 66.7%)보다 높았으며, Govindarajan 등(2003)이 보고한 된장풀 50% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능(IC_{50} 2.5 mg/mL) 보다 상당히 높은 결과를 보였다. 그러나 Rim 등(2000)의 연구에서 보고된 밤의 내피 추출물 IC_{50} 값 5.8 μg/mL 보다는 낮은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 한편, 산림지역 자생 식물 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 밤나무가 IC_{50} 28.15 μg/ mL의 값을 보이면서 가장 높은 ABTS 라디칼 소거능을 나타내었으나, 비교대조군으로 사용한 vitamin C(17.56 μg/mL)나 BHA(12.29 μg/mL) 보다는 낮은 ABTS 라디칼 소거능을 보였다. 밤나무를 제외한 나머지 시료들 중에서는 산수유, 윤노리나무가 IC_{50} 값이 50 μg/mL 이하의 높은 ABTS 라디칼 소거능을 보였다. 그러나 쇠물푸레, 복분자딸기는 IC_{50} 값이 100 μg/ mL 이상으로 다른 시료들과 비교하여 낮은 ABTS 라디칼 소거능을 보였으며, 박달나무는 120.76 μg/mL의 IC_{50} 값으로 가장 낮은 ABTS 라디칼 소거능을 보였다. 이상의 연구결과는 Lee 등(2014)이 보고한 윤노리나무의 ABTS 라디칼 소거능(410 μg/mL)보다 낮은 IC_{50} 값을 보였다. 산림지역 자생 식물 11종 70% 에탄올 추출물의 reducing power는 vitamin C 25 μg/ mL의 환원력을 100으로 계산하여 IC_{50} 값을 분석하였다. Table 2에서 보면, 산수유가 IC_{50} 값이 59.91 μg/mL로 가장 높은 환원력을 보였으며, 밤나무, 비목나무, 윤노리나무 순으로 높은 환원력을 나타내었다. 그러나 진달래, 쇠물푸레, 오이풀은 IC_{50} 값이 100 μg/mL 이상으로 낮은 환원력을 보였으며, 된장풀이 183.51 μg/mL의 IC_{50} 값으로 가장 낮은 환원력을 보였다. 이상의 결과들을 정리하면, 11종의 산

Table 2. IC_{50} values of DPPH and ABTS radical scavenging effects and reducing power of Korean native forest plants

No	DPPH	ABTS	Reducing power[1)]
1	41.16±1.93[2)bc3)]	120.76±0.28[a]	95.97±0.33[de]
2	21.13±0.25[g]	44.85±2.16[g]	59.91±0.37[j]
3	45.59±0.42[b]	71.60±4.80[de]	102.47±0.31[cd]
4	55.30±3.48[a]	78.26±2.18[d]	183.51±4.57[a]
5	21.13±0.91[g]	28.15±1.16[i]	68.92±0.84[i]
6	38.66±1.45[c]	56.54±3.54[f]	91.34±2.06[ef]
7	22.54±0.30[fg]	52.55±2.24[f]	75.43±4.53[gh]
8	40.70±1.07[bc]	103.17±2.78[c]	115.42±5.37[b]
9	28.93±3.52[de]	33.65±3.56[h]	93.64±3.23[de]
10	32.76±0.89[d]	106.01±2.60[b]	83.59±1.12[g]
11	35.05±1.81[de]	71.91±3.54[e]	109.23±5.50[c]
Vitamin C	7.47±0.23[i]	17.56±0.29[jk]	-
BHA	13.64±1.31[h]	12.29±1.05[j]	-

[1)] Reducing power was expressed as a percentage of the activity shown by 0.25 μg/mL vitamin C.
[2)] Value are Mean ± S.D.
[3)] Different superscripts in the same column are significant differences ($p<0.05$).

림지역 식물 추출물의 DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 reducing power는 산수유가 가장 높게 나타났으며, 밤나무, 비목나무에서 높은 항산화 활성을 보였다. 또한 윤노리나무는 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 높게 나타났으나, reducing power는 높지 않았다. 이렇게 같은 시료에서도 라디칼 소거능 및 reducing power가 다르게 나타나는 이유는 항산화 활성은 다양한 메커니즘에 의해 측정되기 때문이라 예상된다(Kim 등 2015b). 또한 본 연구결과에서 항산화 활성을 갖는 시료들은 비교대조군으로 사용한 vitamin C나 BHA보다 낮은 항산화 활성을 나타내었는데, 이러한 이유는 본 연구에서 사용한 추출물이 단일성분이 아니기 때문이라 생각된다.

2. NO 라디칼 소거능 및 ORAC 활성 측정

국내 산림지역 자생 식물 11종 추출물의 NO 라디칼 소거능은 Fig. 1에 나타내었다. 70% 에탄올 추출물 중에서 밤나무, 복분자딸기가 200 μg/mL 농도에서 약 63%의 NO 라디칼 소거능을 보이면서 가장 높은 활성을 나타내었고, 비목나무가 60%의 NO 라디칼 소거능으로 높은 활성을 보였다. 또한 박달나무, 산수유, 진달래, 쇠물푸레, 윤노리나무, 오이풀이 200 μg/mL에서 50% 이상의 높은 NO 라디칼 소거능을 보였다. 이러한 결과는 Jee SO(2009)가 보고한 상백피 에탄올 추출물의 NO 라디칼 소거능(500 μg/mL, 53.0%)과 유사한 활성을 보였으며, Kim 등(2012b)이 보고한 약쑥, 강화사자발쑥, 개똥쑥의 NO 라디칼 소거능(200 μg/mL, 49.22~53.61%)과도 유사한 결과를 보였다. 그러나 된장풀은 200 μg/mL 농도에서 약 49%의 NO 라디칼 소거능을 보였는데, 이 결과는 Hyun 등(2007)이 보고한 된장풀 70% 메탄올 추출물의 NO 라디칼 소거능(10 mg/mL, 40%) 보다는 높았다. 한편, 산림지역 자생 식물의 ORAC는 비목나무가 1,273 μM TE/g sample로 가장 높게 나타났으며, 윤노리나무가 1,129 μM TE/g sample로 높은 ORAC 값을 보였다(Fig. 2). 하지만, 박달나무, 갈참나무, 복분자딸기는 각각 565, 588, 553 μM TE/g sample로 11종의 시료 중에서 가장 낮은 ORAC 값을 보였다. 산림지역 자생 식물 추출물의 ORAC를 다른 연구들과 비교하면, 만병초 추출물은 131.0 μM TE/g sample로 본 연구보다 낮게 나타났으며(Rhim & Choi 2011), 뽕나무 어린 가지의 50% 에탄올 추출물은 3,483 μM TE/g sample로 비목나무 보다 3배정도 높게 나타났다(Park & Hong 2014). 따라서 본 연구결과에 의하면 비목나무가 라디칼 소거능(DPPH, ABTS, NO)과 환원력, ORAC 모두에서 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 밤나무는 ORAC을 제외한 DPPH, ABTS 라디칼 소거능, 환원력 및 NO 라디칼 소거능에서 높은 항산화 활성을 보였다. 또한 산수유는 DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 환원력에서만 높은 활성을 보였으며, 윤노리나무는 DPPH, ABTS 라디칼 소거능, 환원력 및 ORAC에서 높은 항산화 활성을 보였다.

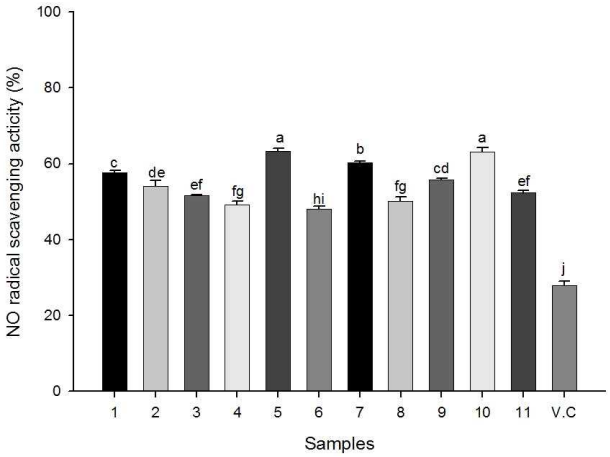

Fig. 1. NO radical scavenging activity of Korean native forest plants. Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups (p<0.05) by one-way ANOVA. Each samples used at a concentration of 200 μg/mL.

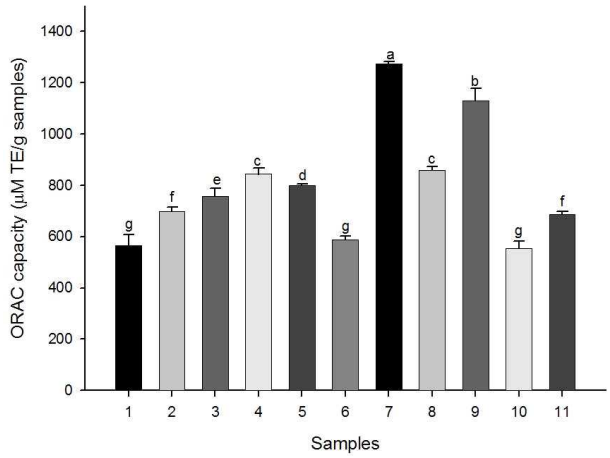

Fig. 2. ORAC values of Korean native forest plants. Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups (p<0.05) by one-way ANOVA.

3. 총 폴리페놀, 플라보노이드 및 프로안토시아니딘 함량 측정

식물에 함유되어 있는 phytochemical 성분들은 높은 항산화 활성을 보이기 때문에 천연 항산화제로 사용이 가능하다고 보고된다(Choi 등 2006; Lee 등 2011). 따라서 본 연구에서도 이들 phytochemical을 분석하기 위하여, 산림지역 자생 식물 추출물의 총 폴리페놀, 플라보노이드 및 프로안토시아딘 함량을 분석하였다. 국내 산림지역 자생 식물 추출물의 총 폴리페놀, 플라보노이드 및 프로안토시아니딘 함량은 Table 3

에 나타내었다. 총 11종의 식물 추출물 중에서 비목나무가 437.1 mg GAE/g sample로 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 보였으며, 밤나무(429.1 mg GAE/g sample), 윤노리나무(404.1 mg GAE/g sample), 산수유(346.2 mg GAE/g sample) 역시 높은 총 폴리페놀 함량을 보였다. 그 외 나머지 식물 추출물에서는 된장풀(162.8 mg GAE/g sample)을 제외하고 204.9~273.6 mg GAE/g sample로 유사한 총 폴리페놀 함량을 보였다. 이 결과는 Kim 등(2004)이 보고한 20종의 약용식물 추출물의 총 폴리페놀 함량 2.62~81.20 mg GAE/g sample 보다 높게 나타났으며, Lee 등(2014)의 연구에서 보고한 윤노리나무(331.45 mg GAE/g sample)와 쉬땅나무(252.59 mg GAE/g sample)의 총 폴리페놀 함량과 유사하였다. 한편, 11종 추출물의 총 플라보노이드 함량은 쇠물푸레에서 각각 66.76 mg QE/g sample로 가장 높게 나타났으며, 비목나무가 49.93 mg QE/g sample, 밤나무가 47.90 mg QE/g sample로 다른 식물 추출물보다 높은 총 플라보노이드 함량을 보였다. 또한 된장풀은 총 폴리페놀과 함께 총 플라보노이드 함량도 가장 낮은 25.23 mg QE/g sample을 보였다. Kim 등(2004)에 의하면 오갈피나무의 총 플라보노이드 함량은 44.04 mg QE/g sample로 비목나무와 유사하였으며, 각시둥글레의 총 플라보노이드 함량은 65.56 mg QE/g sample로 쇠물푸레와 유사하였다(Kim 등 2012a). 그러나 콩과 싸리속 식물인 비수리의 총 플라보노이드 함량은 90.15 mg QE/g sample로 본 연구에서 수행한 11종 식물 추출물 보다 높게 나타났다(Kim 등 2012a). 국내 산림지역 자생 식물의 프로안토시아니딘 함량은 총 11종의 시료 중에서 비목나무(536.22 μg CE/g sample), 윤노리나무(497.52 μg CE/g sample)가 높은 프로안토시아딘 함량을 보였다. 그러나 진달래, 갈참나무, 쇠물푸레, 복분자딸기, 오이풀에서는 프로안토시아니딘이 검출되지 않았다. 이상의 결과는 국내 산림지역에 자생하는 식물에 함유되어 있는 총 폴리페놀, 플라보노아드 및 프로안토시아니딘 함량은 식물의 종에 따라 다르게 함유되어 있는 것을 의미하며, 같은 종에서도 추출방법 및 식물의 자생환경(일조량, 강수량 등)에 영향을 받는 것으로 예상된다.

Table 3. Total phenolic, total flavonoid and total proanthocyanidin contents of Korean native forest plants

NO	TP (mg GAE/g)[1)]	TF (mg QE/g)	TA (μg CE/g)
1	204.89±4.95[2)h3)]	37.85±0.86[de]	68.44±9.64[e]
2	346.22±4.44[c]	36.21±1.39[e]	49.00±1.47[f]
3	228.22±3.24[f]	36.36±0.87[e]	N.D[4)]
4	162.78±0.51[i]	25.23±0.20[h]	232.33±10.11[c]
5	429.11±9.58[a]	47.90±0.92[c]	160.67±4.55[d]
6	213.44±7.72[g]	32.23±1.02[f]	N.D
7	437.11±9.90[a]	49.93±1.66[b]	536.22±21.74[a]
8	239.89±1.35[e]	66.76±1.26[a]	N.D
10	404.11±1.35[b]	38.39±0.95[d]	497.52±18.67[b]
11	273.56±3.17[d]	28.14±0.63[g]	N.D
12	235.44±2.99[ef]	37.92±0.63[de]	N.D

1) TP; Total phenolic contents, TF; Total flavonoid contents, TA; total proanthocyanidin, GAE; Gallic acid equivalent, QE; Quercetin equivalent, CE; Catechin equivalent.
2) Value are Mean ± S.D.
3) Different superscripts in the same column are significant differences (p<0.05).
4) N.D; not detected.

4. 상관관계 분석

식물에 함유되어 있는 항산화 성분(폴리페놀, 플라보노이드, 프로안토시아니딘)은 항산화 활성과 밀접한 연관성을 갖는다(Kim 등 2015b). 따라서 본 연구에서는 산림지역 자생 식물 11종의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성들과의 연관성을 분석하였다(Table 4). 산림지역 자생 식물 추출물의 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성과의 연관성은 ABTS와 reducing power가 R^2=0.76로 가장 높게 나타났으며, DPPH

Table 4. Correlation analysis (R) between the antioxidant activity and antioxidant compounds of Korean native forest plants

	TP[1)]	TF	DPPH	ABTS	RP	NOI	ORAC
TP	1.00	0.13**	0.69**	0.76**	0.76**	0.42**	0.40**
TF	0.13**	1.00	0.12**	0.05**	0.07**	0.01**	0.17**
DPPH	0.69**	0.12**	1.00	0.51*	0.86**	0.40**	0.05**
ABTS	0.76**	0.05**	0.51*	1.00	0.61**	0.16	0.24**
RP	0.76**	0.07**	0.86**	0.61**	1.00	0.37**	0.08**
NOI	0.42**	0.01**	0.40**	0.16	0.37**	1.00	0.02
ORAC	0.40**	0.17**	0.05**	0.24**	0.08**	0.02	1.00

1) TP; Total phenolic contents, TF; Total flavonoid contents, RP; Reducing power, NOI; NO inhibition.
*p<0.05 and **p<0.01

(R^2=0.69) 역시 높은 연관성을 보였다. 그러나 총 폴리페놀과 NO 라디칼 소거능과의 연관성은 R^2=0.42로 낮게 나타났는데, 이러한 이유는 낮은 총 폴리페놀 함량을 보였던 박달나무, 복분자딸기가 높은 NO 라디칼 소거능을 가지며, 높은 총 폴리페놀 함량을 보였던 윤노리나무가 낮은 NO 라디칼 소거능을 갖기 때문이라 생각된다. 또한 총 폴리페놀 함량과 ORAC과의 연관성 역시 R^2=0.40으로 낮게 나타났는데, 이는 총 폴리페놀 함량이 낮은 쇠물푸레의 높은 ORAC와 총 폴리페놀 함량이 높은 산수유, 밤나무의 낮은 ORAC 때문이라 예상된다. 또한 총 폴리페놀 함량과 ORAC의 연관성이 라디칼 소거능 및 reducing power의 연관성보다 낮게 나타나는 이유는 라디칼 소거능 및 reducing power는 phenolic 화합물에 특이적으로 반응하는데 반해, ORAC는 페놀성 화합물뿐만 아니라, 비페놀성 화합물에도 반응하기 때문인 것으로 예상된다(Prior 등 2005; Speisky 등 2012). 총 플라보노이드 함량과 항산화 활성과의 연관성은 전체적으로 R^2=0.01~0.17로 낮은 연관성을 보였다. 한편, 항산화 활성들 상호간의 연관성은 DPPH와 reducing power가 R^2=0.86으로 가장 높게 나타났으며, ABTS와 reducing power도 R^2=0.61로 높은 연관성을 보였다. 이상의 결과로 보아, 산림지역 자생 식물 추출물의 항산화 활성은 플라보노이드 계통의 물질들보다는 페놀릭 성분으로 인하여 나타나는 것으로 예상된다. Kim 등(2004)은 항산화 활성을 나타내는 약용식물 20종이 총 플라보노이드보다는 총 폴리페놀과 높은 연관성을 갖는다고 보고하였으며, 제주자생식물의 DPPH 라디칼 소거능 역시 총 폴리페놀 함량과 높은 연관성(R^2=0.878)을 보였다(Hyun 등 2007). 그러나 Kim 등(2012a)은 일반적으로 총 폴리페놀과 항산화 활성이 밀접한 관계를 가지지만, 폴리페놀 화합물 종류에 따라 다르며, 폴리페놀 화합물 중 특정 성분에 기인하는 경우도 있다고 보고하였다. 따라서 정확한 항산화 성분을 분석하기 위해서는 HPLC를 이용한 단일물질로의 분리 및 단일물질의 구조분석이 필요할 것으로 보인다.

요약 및 결론

본 연구는 예부터 약용으로 사용되었거나, 현재 식품으로 사용되고 있는 국내 산림지역에 자생하는 식물 11종의 잎, 가지 및 잔가지를 식품 산업에 유용하게 사용하기 위하여 70% 에탄올을 이용하여 추출 후 항산화 활성(DPPH, ABTS 라디칼 소거능, reducing power, NO 라디칼 소거능, ORAC)을 측정하였으며, 이들의 총 폴리페놀, 플라보노이드 및 프로안토시아니딘 함량을 측정하였다. 또한 항산화 성분과 항산화 활성과의 연관성을 분석하였다. 그 결과, 11종의 산림지역 자생 식물 중에서 산수유, 밤나무, 비목나무, 윤노리나무는 높은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능과 reducing power를 보였다. 또한 밤나무, 비목나무, 복분자딸기는 60% 이상의 NO 라디칼 소거능을 보였으며, 비목나무, 윤노리나무는 우수한 ORAC 값을 보였다. 총 폴리페놀 함량은 밤나무, 비목나무, 윤노리나무에서 높게 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 쇠물푸레가 가장 높게 나타났다. 또한 총 프로안토시아니딘 함량은 비목나무, 윤노리나무에서 높게 분석되었으며, 진달래, 갈참나무, 쇠물푸레, 복분자딸기, 오이풀에서는 검출되지 않았다. 이들 항산화 성분과 항산화 활성과의 연관성은 총 폴리페놀과 DPPH, ABTS, reducing power가 R^2=0.69~0.76으로 높게 나타났으나, 총 폴리페놀과 NO 라디칼 소거능, ORAC는 낮게 나타났다(R^2=0.40~0.42). 따라서 국내 산림지역 자생 식물의 항산화 활성은 페놀릭 성분에 의한 것으로 예상되며, 높은 항산화력을 가진 산수유, 밤나무, 비목나무, 윤노리나무의 잎 및 잔가지 에탄올 추출물은 식품산업에서 천연 항산화제 및 항산화 활성 첨가제로 충분히 사용 가능할 것으로 보여진다.

감사의 글

본 연구는 정부(환경부)의 재원으로 국립생물자원관의 지원을 받아 수행하였습니다(NIBR201528101).

References

Cho ML, Lee HS, Kang IJ, Won MH, You SG. 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chem* 127:999-1006

Cho ML, Yoon SJ, Kim YB. 2013. The nutritional composition and antioxidant activity from *Undariopsis peterseniana*. *Ocean Polar Res* 35:273-280

Choi IY, Song YJ, Lee WH. 2010. DPPH radical scavenging effect and antimicrobial activities of some herbal extracts. *Kor J Hort Sci Technol* 28:871-876

Choi YM, Chung BH, Lee JS, Cho YG. 2006. The antioxidant activities of *Artemisia* spp. collections. *Kor J Crop Sci* 51:209-214

Choung MG, Lim JD. 2012. Antioxidant, anticancer and immune activation of anthocyanin fraction from *Rubus coreanus* Miquel fruits (Bokbunja). *Korean J Med Crop Sci* 20:259-269

Drooge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82:47-95

Gardner PR, Fridovich I. 1991. Superoxide sensitivity of the

Escherichia coli aconitase. *J Biol Chem* 266:19328-19333

Govindarajan R, Rastogi S, Vijayakumar M, Shirwaikar A, Rawat AKS, Mehrotra S, Pushpangadan P. 2003. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biol Pharm Bull* 26:1424-1427

Hyun SH, Jung SK, Jwa MK, Song CK, Kim JH, Lim SB. 2007. Screening of antioxidants and cosmeceuticals from natural plant resources in Jeju island. *Korean J Food Sci Technol* 39:200-208

Ito N, Hirose M, Fukushima S. 1986. Modifying effects of antioxidants on chemical carcinogenesis. *Toxicol Pathol* 14:315-323

Jang HJ, Bu HJ, Lee S. 2015. Screening for antioxidative activity of Jeju native plants. *Korean J Plant Res* 28:158-167

Jee SO. 2009. Antioxidant activities and whitening effect of the mulberry (*Morus alba* L.) root bark extracts. *Korean J Plant Res* 22:145-151

Jeon YH, Kim MH, Kim MR. 2008. Antioxidative, antimutagenic, and cytotoxic activities of ethanol extracts from *Cornus officianalis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:1-7

Jeong SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baeg NI. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47:135-140

Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47:3954-3962

Kim EJ, Choi JY, Yu M, Kim MY, Lee S, Lee BH. 2012a. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 44:337-342

Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36:333-338

Kim JM, Cho ML, Seo KE, Kim YS, Jung TD, Kim YH, Kim DB, Shin GH, Oh JW, Lee JS, Lee JH, Kim JY, Lee DW, Lee OH. 2015a. Effect of extraction conditions on *in vitro* antioxidant activities of root bark extract from *Ulmus pumila* L. *J Korean Soc Food Nutr* 44:1172-1179

Kim RJ, Kang MJ, Hwang CR, Jung WJ, Shin JH. 2012b. Antioxidant and cancer cell growth inhibition activity of five different varieties of *Artemisia cultivars* in Korea. *J Life Sci* 22:844-851

Kim YH, Cho ML, Kim DB, Shin GH, Lee JH, Lee JS, Park SO, Lee SJ, Cho OH, Lee OH. 2015b. The antioxidant activity and their major antioxidant compounds from *Acanthopanax senticosus* and *A. koreanum*. *Molecules* 20:13281-13295

Lee JY, You JH, Kim SW. 2014. Study on the antioxidant effect and total phenolics content in Rosaceae plant stem. *J Environ Sci Int* 23:2129-2134

Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. 2011. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:29-36

Mitsunaga T, Doi T, Kondo Y, Abe I. 1998. Color development of proanthocyanidins in vanillin-hydrochloric acid reaction. *J Wood Sci* 44:125-130

Ordonez AAL, Gomez JD, Vattuone MA, Isla MI. 2006. Antioxidant activity of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chem* 97:452-458

Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agr Food Chem* 49:4619-4626

Park HM, Hong JH. 2014. Effect of extraction methods on antioxidant activities of *Mori ramulus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1709-1715

Park SW, Kim SG, Kim MJ. 2006. Antioxidative activity and cytotoxicity on human KB cell of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flower. *Korean J Food Preserv* 13: 501-505

Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53:4290-4302

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237

Rhim TJ, Choi MY. 2011. The antioxidative effects of *Rhododendron brachycarpum* extracts. *Korean J Plant Res* 24:456-460

Rim YS, Park YM, Park MS, Kim KY, Kim MJ, Choi YH. 2000. Screening of antioxidants and antimicrobial activity in native plants. *Korean J Med Crop Sci* 8:342-350

Rockett K, Awburn MM, Cowden WB, Clark IA. 1991. Killing of *Plasmodium falciparum in vitro* by nitric oxide derivatives. *Infect Immun* 59:3280-3283

Safer AM, al-Nughamish AJ. 1999. Hepatotoxicity induced by the antioxidant food additive, butylated hydroxytoluene (BHT),

in rats: an electron microscopical study. *Histol Histopathol* 14:391-406

Speisky H, Lopez-Alarcon C, Gomez M, Fuentes J, Sandoval AC. 2012. First web-based database on total phenolics and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of fruits produced and consumed within the South Andes region of South America. *J Agric Food Chem* 60:8851-8859

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci* 44:275-295

Received 9 December, 2015
Revised 11 December, 2015
Accepted 28 December, 2015