

Original Article

Antioxidant Activities of Phenolic Compounds from Medicinal Plants (*Hibiscus esculentus*, *Cirsium japonicum*, *Zizania latifolia* and *Kalopanax pictus*)

Jin-Young Choi, Min-Kyeong Jo, Young-Mi Goo, Hyun-Kyung Kim,
Jin-Won Shin, Dong-Yeong Kim, Hye-Jin Kim, Eun-Ho Lee, Na-Hyun Kim,
and Young-Je Cho*

School of Food science & Biotechnology/Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University

약용식물(오크라, 엉겅퀴, 임나무, 줄풀) 유래 페놀성 물질의 항산화 활성

최진영 · 조민경 · 구영미 · 김현경 · 신진원
김동영 · 김혜진 · 이은호 · 김나현 · 조영제*

경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소

Received: December 7 2015 / Revised: December 18 2015 / Accepted: December 18 2015

Abstract In this study, the antioxidant activity of water and ethanol extracts from *Hibiscus esculentus*, *Cirsium japonicum*, *Zizania latifolia* and *Kalopanax pictus* for functional food source were examined. The optimal conditions for phenolic compounds extraction from medicinal plants were at 50% ethanol with *Hibiscus esculentus* and *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*, at 40% ethanol with *Kalopanax pictus* and at 60% ethanol with *Zizania latifolia*. The total phenolic contents from the extracts of medical plants were determined to be 2.72~34.15 mg/g in the water extracts and 2.83~34.23 mg/g in the ethanol extracts. The electron-donating abilities (EDA) of the water and ethanol extracts were both above 74% at the low concentration of 50 µg/mL. The ABTS radical-cation decolorization was above 88% at 100 µg/mL concentration in all the extracts of various medicinal plants. The antioxidant protection factor (PF) in the water and ethanol extracts of the *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* extracts was 1.73 ± 0.02 PF and

1.76 ± 0.01 PF at 50 µg/mL concentration respectively, and was higher than those of the other medicinal-plant extracts. The TBARS inhibition rates of all the medicinal-plant extracts, were above 80% at the 50 µg/mL concentration except *Hibiscus esculentus*. These results confirmed that the various oriental medicinal plants (*Hibiscus esculentus*, *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*, *Kalopanax pictus* and *Zizania latifolia*) that were included in this study are useful anti-oxidant and functional-food resources.

Keywords: medicinal plants, phenolic compounds, antioxidant activities, extracts

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 각종 질병의 원인이 된다(Cho et al., 2008b). 또한 세포손상 유발인자인 유리라디칼은 생체내의 세포막, DNA 및 효소단백질을 손상시켜 질병을 야기하는 원인이 되며, 노화를 발생시키는 것으로 알려져 있다(Block, 1993; Feskanich et al., 2000; Halliwell and

*Corresponding author: Young-Je Cho
Tel: 82-53-950-7755; Fax: 82-53-950-7762
E-mail: yjcho@knu.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2015 Institute of Agricultural Science and Technology, Kyungpook National University

Gutteridge, 1990; Regnstrm et al., 1992; Gey et al., 1991; Abuja and Albertini, 2001; Ames, 1989). 이러한 활성산소와 유리 라디칼을 조절하는 항산화제는 합성항산화제와 천연항산화제로 구분된다. 합성항산화제는 뛰어난 항산화 효과를 나타내기는 하지만 다량 섭취 시 여러 가지 독성을 나타낼 수 있는 것으로 알려져 있어, 부작용이 없는 안전한 천연항산화제에 대한 관심이 높아지고 있다(Branen, 1975; Choe and Yang, 1982). 특히 약용식물은 우리 주변에서 쉽게 찾을 수 있을 뿐만 아니라, 오랫동안 섭취해 온 약용 및 식품의 재료로 이용되고 있기 때문에 안전성이 확보된 천연물자원이다. 이들 약용식물에 존재하는 일부 성분들은 항산화 시스템에서 체내 활성산소를 감소시켜 질병을 예방 할 수 있는 것으로 보고되어, 안전하고 항산화 효과가 높은 물질을 분리 이용하려는 연구가 진행되고 있다(Cho et al., 2008a; Sa et al., 2013; Lee et al., 2013; Park and Cho, 2014). 식물의 2차 대사산물인 phenolic compound는 여러 종류의 과일, 채소, 약초 등 천연물에 다량 분포되어 있으며 항염증, 간독성 완화, 항종양, 동맥경화억제, 항관절염, 항당뇨, 항암성 등과 같이 건강에 유익한 여러 가지 생리활성 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(Huang et al., 1992; Kang et al., 2010; Kim et al., 1998).

최근 현대인들의 식습관이 점차 변화하고, 생활수준의 향상과 건강 기능성 식품과 의약품에 대한 인식변화에 따라 건강에 대한 관심과 인식이 높아지면서 노화억제, 성인병 예방 및 치료 등의 생리활성을 나타내는 천연물의 성분에 대한 연구가 활발해지고 있다(Shim et al., 2005). 이러한 연구 경향에 따라 세계적으로 다양한 천연 자원으로부터 생리활성을 나타내는 물질을 탐색하는 연구가 끊임없이 진행되고 있는데, 그 중에서도 특히 합성물질이 아닌 식물성 천연물질에 대한 관심이 집중되고 있다(Kim et al., 1999).

따라서 본 연구에서는 오래전부터 식용하여 오던 약용식물 중 오크라(*Hibiscus esculentus*), 영경귀(*Cirsium japonicum var. ussuriense*), 줄풀(*Zizania latifolia*), 엄나무(*Kalopanax pictus*) 등을 선별하여 생리활성 물질 탐색의 일환으로 항산화 효과를 검토하여 질병의 원인인 활성산소를 감소시켜 안전성이 확보된 새로운 천연항산화제로서의 이용 가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

시료 선정 및 추출물 제조

본 실험에 사용한 약용식물은 2014년 6월 대구 소재의 시중 한약방에서 구입한 영경귀(*Cirsium japonicum var. ussuriense*), 줄풀(*Zizania latifolia*), 엄나무(*Kalopanax pictus*), 오크라(*Hibiscus esculentus*)를 40 mesh로 분쇄하여 사용하였다. 각 시료 추출의 최적 조건을 알아보기 위해 추출용매로 물과 ethanol을 0~100%의 농도로 추출하여 최적 조건의 농도를 정하였다. 정해진 최적 조건의 농도에 따라 각 시료 분말 1g을 물과 ethanol 100 mL에 침지하여 추출교반기로 24시간 동안 추출하여 Whatman No. 1 filter paper(Advantec, Tokyo, Japan)로 여과 후 필요에 따라 농축하여 추출물을 제조하여 시료로 사용하였다.

Phenolic compounds 정량

Total phenolic compounds의 정량은 Folin-Denis 방법(1912)으로 측정하였으며, 시료 추출물 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL를 첨가하고 1 N Folin-ciocalteu reagent(JUNSEI, Tokyo, Japan) 0.5 mL를 넣어 잘 섞어주고, 5분간 방치한 후, 종료시약 Na_2CO_3 1 mL를 가한 후, UV-visible spectrophotometer (Optizen 2120UV Mecasys, Daejeon, Korea)로 725 nm에서 1 시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다.

DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical에 대한 소거활성은 Blois의 방법(1958)을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1 mL에 60 μM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)(Sigma-Aldrich Co, Louis, MO, USA) 3 mL를 넣고 vortex한 후 실온에서 15분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH radical 소거활성(%)은 (1-반응구의 흡광도/대조구의 흡광도) \times 100으로 계산하였다.

ABTS radical cation decolorization 측정

ABTS [2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등의 방법(1998)에 의해 측정하였다. 7 mM ABTS(Sigma-Aldrich Co, Louis, MO, USA) 5 mL와 140 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 88 μL 를 섞어 암실에서 14~16시간 반응시켜 radical을 형성시켰다. 이를 absolute ethanol과 약 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7 ± 0.002 가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 50 μL 와 ABTS solution 1 mL를 혼합하여 30초간 vortex한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하여 다음의 식에 의해 ABTS radical 소거활성(%)은 (1-반응구의 흡광도/대조구의 흡광도) \times 100으로 계산하였다.

Antioxidant Protection Factor(PF) 측정

PF는 Andarwulan과 Shetty의 방법(1999)으로 측정하였다. 10 mg의 β -carotene(TCI, Tokyo, Japan)을 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 H_2O_2 를 가하여 emulsion을 만들었다. 시료 용액 100 μL 에 5 mL의 emulsion용액을 혼합하여 vortex한 후 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 후, 470 nm에서 흡광도를 측정하여 PF값은 반응구의 흡광도/대조구의 흡광도의 비로 계산하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARs) 측정

TBARs는 Burge와 Aust의 방법(1978)에 따라 측정하였다. 1% Linoleic acid(Wako, Osaka, Japan)와 1% Tween 40(JUNSEI, Tokyo, Japan)으로 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 4 mL를 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 μM로 표시하였다. TBARs에 대한 저해율(%)은 (1-반응구의 TBARs μM/대조구의 TBARs μM) × 100으로 계산하였다.

통계처리

모든 실험은 6회 이상 반복 측정하였고 자료의 통계처리는 SPSS 7.5 for windows(Statistical Package for Social Science, Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균 ± 표준편차(mean±standard deviation)로 표시하였고 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다중 범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 시료간의 유의차를 P<0.05 수준으로 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

약용식물 추출물의 phenolic compounds 함량

식물성 식품 내에 존재하는 flavonoid류, carotenoid류, phenol 성 화합물 등은 대표적인 항산화 물질로 알려져 있으며, 특히 phenol성 물질은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있어 유해한 radical 제거 효과가 뛰어나 항암 작용, 항산화 등의 생리활성을 가진다고 보고되어 있으며(Lee, 2007), phenol성 물질은 극성용매에서 용해도가 높아 유기용매로 추출했을 때 추출수율이 높은 것으로 알려져 있으나(Shin, 2003), 유기용매를 이용한 추출물은 식품에 적용시키기 어려워 본 연구에서는 식용이 가능한 물과 에탄올을 추출용매로 사용하여 연구를 진행하였다.

오크라, 엉겅퀴, 엄나무, 줄풀 등 각 시료 추출의 용매 최적 조건을 알아보기 위해 추출용매로 물과 ethanol(10~100%)을

사용하여 ethanol 농도별 total phenolic compounds 함량을 비교하여 Figure 1-A에 나타내었다. 그 결과 오크라와 엉겅퀴는 50% ethanol extracts에서, 엄나무는 40% ethanol extracts에서, 줄풀은 60% ethanol extracts에서 가장 높은 total phenolic compounds 함량을 확인할 수 있었으며, 이를 phenolic compound 용출을 위한 최적 농도로 판단하였다. 최적 용매 농도에서 약용식물 4종에 대하여 물과 ethanol 추출물의 total phenolic compounds 함량을 측정된 결과는 Table 1에서와 같이, total phenolic compounds 함량은 물추출물에서 2.72~34.15 mg/g, ethanol 추출물에서 2.83~34.23 mg/g의 용출량을 나타내었다. 각 샘플 간에는 매우 높은 phenolic compound의 함량차이를 나타내었으며, 엄나무 물과 ethanol 추출물에서 각각 34.15 mg/g와 34.23 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 오크라 ethanol 추출물은 5.65 mg/g, 엉겅퀴 water 추출물은 5.18 mg/g, 줄풀 ethanol 추출물은 2.83 mg/g의 함량을 나타내었다. Park 등 (2012)은 지유(*Sanguisorba officinalis*), 진피(*Citrus unshiu*), 천

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

Scientific names	Phenolic content(mg/g)	
	Water extracts	Ethanol extracts
<i>Hibiscus esculentus</i> fruits ¹⁾	3.61 ± 0.21 ^a	5.65 ± 0.23 ^b
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> ²⁾	5.18 ± 0.34 ^a	4.84 ± 0.30 ^b
<i>Kalopanax pictus</i> ³⁾	34.15 ± 1.40 ^a	34.23 ± 4.05 ^a
<i>Zizania latifolia</i> ⁴⁾	2.72 ± 0.11 ^a	2.83 ± 0.05 ^a

¹⁾²⁾: 50% ethanol extracts, ³⁾: 40% ethanol extracts, ⁴⁾: 60% ethanol extracts. Mean ± standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a-c) are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range tests.

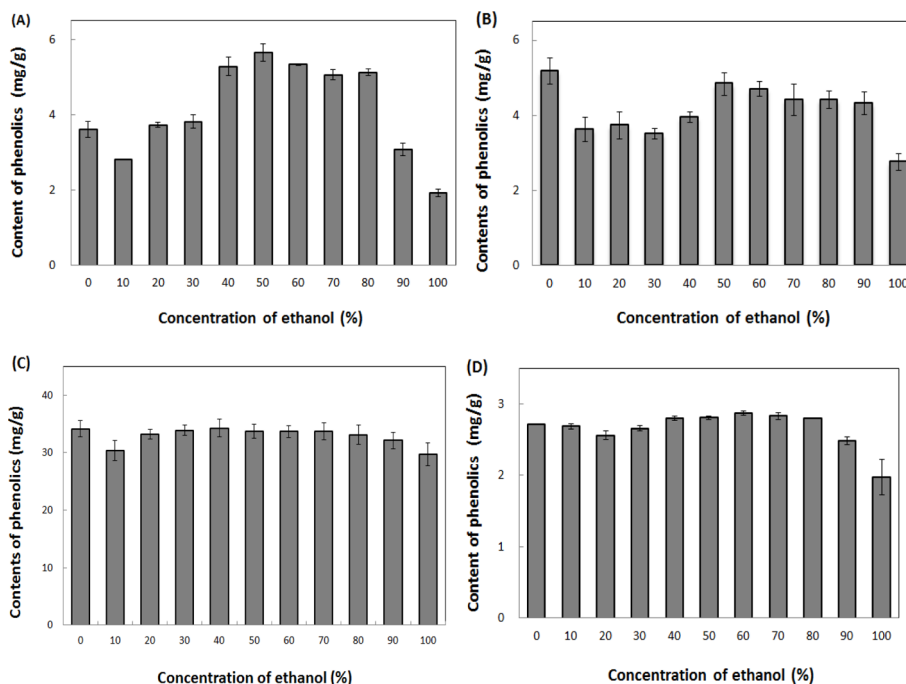


Figure 1. The ethanol concentration on extracts of phenolic from medicinal plants. A: *Hibiscus esculentus* fruits, B: *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*, C: *Kalopanax pictus*, D: *Zizania latifolia*.

련자(*Melia azedarach*), 천문동(*Asparagus cochinchinensis*), 청피(*Citrus reticulata*), 편축(*Polygonum aviculare*), 하고초(*Prunella vulgaris*) 등의 약용작물의 물과 ethanol 추출물의 total phenolic compound 함량을 측정된 결과 각각 1.9~31.5 mg/g 및 1.8~32.7 mg/g의 범위를 나타내었으며, 샘플 간 phenolic compound의 함량 차이도 크게 나타났다고 보고하였으며, 본 연구에 사용된 4종의 약용식물의 경우에도 total phenolic compounds 함량이 2.72~34.23 mg/g으로 샘플 간 phenolic compound의 함량 차이도 크게 나타나 유사한 결과를 얻었다. 또한 phenolic 물질은 극성용매에서 용해도가 높아 유기용매로 추출했을 때 추출수율이 높은 것으로 알려져 있어(Shin, 2003), 추출용매로 ethanol을 다양한 농도로 사용하였으나 Figure 1-C에서와 같이 엷나무에서는 ethanol과 같은 유기용매가 함유되어 있는 페놀성물질의 polarity에 영향을 크게 미치지 않아 ethanol 농도별 용출율의 차이가 크지 않은 것으로 판단되었다.

DPPH radical 소거능 측정

Phenolic compound 등의 전자공여체와 반응하면 phenoxy radical을 생성하는 1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical에 대한 소거활성은 free radical을 환원시키는 능력이 클수록 활성 산소에 대한 높은 소거활성을 기대할 수 있다(Blois, 1958). 따라서 4종의 약용작물 추출물의 DPPH radical에 대한 소거활성을 측정된 결과는 Table 2에서와 같이 대조구인 BHT를 50 µg/mL 처리하였을 때 54.1%인 것에 비해 오크라, 영경귀 및 줄풀의 water 추출물과 ethanol 추출물을 50 µg/mL 처리하였을 때 80% 이상의 높은 소거활성을 나타내었으며, 줄풀의 경우 water 추출물이 ethanol 추출물에 비해 100 µg/mL

이하의 저 농도에서 상대적으로 더 높은 항산화 효과를 나타내었다. 줄풀의 경우 water 추출물이 ethanol 추출물에 비해 상대적으로 다소 높은 활성을 나타내는 것은 추출물에 존재하는 phenolic profile의 차이에 기인한 것으로 추측되며, 향후 물질 동정에 대한 추가적인 연구는 진행되어야 할 것으로 판단되었다. Lee 등 (2002)은 천종의 ethanol 추출물이 500 ppm의 농도에서 41.84%의 DPPH 소거활성을 나타내었다고 보고하였으며, Choe 등(2008)은 250 µg/mL의 농도의 산수유, 천화분, 숙지황, 택사, 산약의 water 추출물에서 60% 이하의 낮은 DPPH 소거활성을 나타내었다고 보고하였다. 또한, Ju 등(2006)은 250 µg/mL의 농도에서 산사육, 결명자, 감국, 영경귀, 배초향, 오가피, 당귀의 water 추출물에서 50% 이하의 DPPH radical 소거활성이 나타났음을 보고하였다. 이상의 결과와 비교하였을 때, 본 연구에 사용된 4종의 약용작물은 50 µg/mL의 농도에서 80% 이상의 소거능을 나타내어 DPPH radical에 대한 산화 억제력이 매우 우수한 것으로 판단되었다.

ABTS radical cation decolorization 측정

일반적으로 식물에 함유된 phenolic compounds는 유해한 radical에 수소를 공여하여 radical을 제거하므로 체내 산화 억제효과가 있는 것으로 알려져 있어 총 페놀 함량이 높을수록 항산화 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(Labuza, 1971). ABTS radical cation decolorization은 친수성 및 lipophilic 물질의 항산화 활성을 측정하기 위해 사용되는 방법으로, potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS + free radical이 추출물 속에 함유된 phenolic compound와 같은 항산화 물질에 의해 제거되어 발생하는 radical 물질의 탈색 정도

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

Sample	Inhibition activity (%)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic content (µg/mL)				Phenolic content (µg/mL)			
50	100	150	200	50	100	150	200	
<i>Hibiscus esculentus</i> fruits	80.7 ± 0.6 ^a	81.3 ± 0.5 ^{ab}	81.0 ± 0.1 ^a	82.7 ± 1.0 ^b	82.8 ± 0.5 ^a	83.3 ± 0.2 ^{ab}	84.0 ± 0.2 ^b	86.4 ± 0.1 ^c
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	79.1 ± 0.6 ^a	80.7 ± 0.7 ^b	81.2 ± 0.6 ^{bc}	81.8 ± 0.2 ^b	80.3 ± 0.6 ^a	82.2 ± 0.2 ^b	82.7 ± 0.6 ^{bc}	83.4 ± 0.1 ^c
<i>Kalopanax pictus</i>	80.1 ± 1.0 ^a	80.3 ± 0.1 ^a	82.1 ± 0.3 ^b	82.3 ± 0.2 ^b	80.2 ± 0.3 ^a	81.9 ± 0.2 ^{ab}	82.3 ± 0.4 ^b	83.1 ± 0.1 ^c
<i>Zizania latifolia</i>	83.3 ± 0.3 ^a	85.4 ± 0.7 ^{ab}	86.2 ± 0.5 ^b	85.9 ± 0.4 ^b	74.1 ± 0.1 ^a	81.2 ± 0.1 ^b	95.9 ± 0.7 ^c	100.0 ± 0.1 ^d
Positive control (BHT)	54.1 ± 1.9 ^a	64.8 ± 0.4 ^b	69.1 ± 0.2 ^{bc}	75.1 ± 0.1 ^c	54.1 ± 1.9 ^a	64.8 ± 0.4 ^b	69.1 ± 0.2 ^{bc}	75.1 ± 0.1 ^c

Mean ± standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a-d) are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

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

Sample	Inhibition activity (%)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic content (µg/mL)				Phenolic content (µg/mL)			
50	100	150	200	50	100	150	200	
<i>Hibiscus esculentus</i> fruits	48.9 ± 0.6 ^a	89.9 ± 0.6 ^b	97.9 ± 0.4 ^c	98.2 ± 0.2 ^c	40.0 ± 1.0 ^a	91.3 ± 0.8 ^b	97.2 ± 0.8 ^{bc}	99.1 ± 0.2 ^c
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	65.5 ± 1.5 ^a	95.5 ± 0.8 ^b	99.4 ± 0.3 ^c	99.7 ± 0.3 ^c	63.0 ± 0.6 ^a	93.4 ± 0.7 ^b	99.3 ± 0.9 ^c	99.6 ± 0.7 ^c
<i>Kalopanax pictus</i>	55.7 ± 0.3 ^a	88.8 ± 0.9 ^b	99.7 ± 0.1 ^c	99.7 ± 0.2 ^c	52.9 ± 0.9 ^a	87.7 ± 0.2 ^b	99.7 ± 0.1 ^c	99.8 ± 0.2 ^c
<i>Zizania latifolia</i>	100.0 ± 0.1 ^a	100.0 ± 0.1 ^a	100.0 ± 0.1 ^a	100.0 ± 0.2 ^a	96.7 ± 1.0 ^a	100.0 ± 0.0 ^b	100.0 ± 0.1 ^b	99.9 ± 0.1 ^b
Positive control (BHT)	4.5 ± 1.2 ^a	64.1 ± 0.5 ^b	82.3 ± 0.7 ^c	85.5 ± 0.8 ^d	4.5 ± 1.2 ^a	64.1 ± 0.5 ^b	82.3 ± 0.7 ^c	85.5 ± 0.8 ^d

Mean ± standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a-d) are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

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

Sample	Antioxidant protection factor (PF)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic content ($\mu\text{g/mL}$)				Phenolic content ($\mu\text{g/mL}$)			
	50	100	150	200	50	100	150	200
<i>Hibiscus esculentus</i> fruits	1.32 \pm 0.04 ^a	1.40 \pm 0.02 ^b	1.43 \pm 0.01 ^{bc}	1.44 \pm 0.02 ^c	1.39 \pm 0.03 ^a	1.41 \pm 0.01 ^{ab}	1.45 \pm 0.01 ^b	1.46 \pm 0.02 ^b
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	1.73 \pm 0.02 ^a	1.76 \pm 0.01 ^b	1.79 \pm 0.01 ^c	1.80 \pm 0.01 ^c	1.76 \pm 0.01 ^a	1.78 \pm 0.01 ^{ab}	1.81 \pm 0.02 ^b	1.82 \pm 0.01 ^b
<i>Kalopanax pictus</i>	1.72 \pm 0.01 ^a	1.74 \pm 0.01 ^{ab}	1.77 \pm 0.01 ^b	1.78 \pm 0.01 ^b	1.75 \pm 0.01 ^a	1.77 \pm 0.01 ^a	1.79 \pm 0.02 ^{ab}	1.80 \pm 0.01 ^b
<i>Zizania latifolia</i>	1.33 \pm 0.01 ^a	1.34 \pm 0.03 ^a	1.37 \pm 0.05 ^b	1.40 \pm 0.02 ^c	1.39 \pm 0.04 ^a	1.52 \pm 0.02 ^b	1.71 \pm 0.01 ^c	1.78 \pm 0.01 ^d
Positive control (BHT)	1.92 \pm 0.01 ^a	2.18 \pm 0.01 ^b	2.31 \pm 0.01 ^c	2.46 \pm 0.03 ^d	1.92 \pm 0.01 ^a	2.18 \pm 0.01 ^b	2.31 \pm 0.01 ^c	2.46 \pm 0.03 ^d

Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a-d) are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

Table 5. Inhibition rates thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) of extracts from medicinal plants

Sample	Inhibition activity (%)							
	Water extracts				Ethanol extracts			
	Phenolic content ($\mu\text{g/mL}$)				Phenolic content ($\mu\text{g/mL}$)			
	50	100	150	200	50	100	150	200
<i>Hibiscus esculentus</i> fruits	38.6 \pm 6.3 ^a	49.7 \pm 4.0 ^b	57.0 \pm 2.2 ^c	61.5 \pm 1.9 ^d	54.2 \pm 0.4 ^a	63.0 \pm 2.9 ^b	69.8 \pm 4.6 ^{bc}	75.9 \pm 5.7 ^c
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	93.3 \pm 1.9 ^a	94.6 \pm 0.9 ^{ab}	95.2 \pm 1.6 ^b	95.7 \pm 0.9 ^b	95.2 \pm 0.7 ^a	95.8 \pm 1.9 ^a	96.6 \pm 0.8 ^a	98.0 \pm 0.3 ^b
<i>Kalopanax pictus</i>	93.9 \pm 0.8 ^a	97.1 \pm 0.8 ^b	97.3 \pm 0.2 ^b	97.3 \pm 1.9 ^b	94.5 \pm 1.1 ^a	95.4 \pm 0.9 ^{ab}	95.9 \pm 1.0 ^{ab}	96.2 \pm 0.1 ^b
<i>Zizania latifolia</i>	80.5 \pm 9.2 ^a	83.4 \pm 4.1 ^b	85.2 \pm 1.0 ^{bc}	86.6 \pm 3.6 ^c	79.7 \pm 1.0 ^a	82.8 \pm 0.6 ^b	85.6 \pm 1.3 ^{bc}	87.0 \pm 1.4 ^c
Positive control (BHT)	98.5 \pm 0.1 ^a	98.8 \pm 0.2 ^a	98.7 \pm 0.2 ^a	98.8 \pm 0.1 ^a	98.5 \pm 0.1 ^a	98.8 \pm 0.2 ^a	98.7 \pm 0.2 ^a	98.8 \pm 0.1 ^a

Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a-d) are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

를 측정하여 항산화 효과를 측정하는 원리이다(Pellegrin et al., 1998). 약용작물 4종에 대한 ABTS radical 제거 효과를 측정 한 결과 Table 3에서와 같이 대조구인 BHT의 ABTS radical cation decolorization이 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 첨가 농도에서 4.53%인 것에 비해 오크라, 엉겅퀴, 엄나무, 줄풀의 water 추출물을 50 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때 모두 약 50% 이상의 더 높은 저해율을 나타내었고, ethanol 추출물을 50 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때도 역시 40% 이상의 저해율을 나타내었다. 특히 줄풀의 경우 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 저 농도 water과 ethanol 추출물에서 97% 이상의 매우 높은 활성을 나타내었으며, 오크라, 엉겅퀴 및 줄풀도 150 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 첨가 농도에서 97% 이상의 ABTS radical 제거 효과를 나타내었다. 이상의 결과를 통해 본 연구에 사용된 4종의 시료 모두 친수성 및 lipophilic 물질에 대해 매우 우수한 산화 억제력을 가지고 있음이 입증되었다. Park 등(2012)은 지유, 진피, 천련자, 천문동, 청피, 편축, 하고초 등 7종의 약용작물의 ABTS radical 소거능을 측정 한 결과 100 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 phenolic 농도에서 모두 90% 이상의 높은 ABTS radical 소거능을 나타내었다는 보고와 유사하였으며, Lee 등(2012)은 한약재 복합물의 ABTS radical 소거능이 1000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 70% 이상의 소거능을 나타내었다는 결과에 비하면, 본 실험에 사용된 약용식물이 ABTS free radical에 대해 매우 우수한 산화 억제력을 가지고 있음이 확인되었다. 이는 radical의 기질에 따라 선택적으로 phenolic compounds가 작용할 수 있기 때문인 것으로 추정되며, 시료의 종류마다 radical 소거 능이 다소 차이가 나는 것은 식물에 함유되어 있는 phenolic compound들의 종류에 따라 유해 radical 소거 활성이 다양한 영향을 받는 것으로 판단되었다(Chae et al., 2012).

Antioxidant Protection Factor(PF) 측정

지질 산화과정 중 생성되는 peroxy radical과 반응하여 불활성 물질을 형성하고, free radical에 의한 연쇄반응을 중단시키는 β -carotene linoleate system으로 지용성 물질에 대한 항산화 효과인 PF를 측정하였다(Zielinski and Kozłowska, 2000). 그 결과 Table 4에서와 같이 오크라, 엉겅퀴, 엄나무 및 줄풀의 water 추출물 50~200 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때 1.32~1.83 PF를 나타내었고, ethanol 추출물에서는 1.39~1.82 PF를 나타내었다. 대조구로 사용된 BHT의 1.92~2.46 PF보다는 낮은 결과를 나타내었으나 항산화의 기준으로 제시된 1.2 PF보다는 높은 수준을 나타내었다(Andarwulan and Shetty, 1999). 이러한 결과를 통해 오크라, 엉겅퀴, 엄나무 및 줄풀 추출물이 지용성 물질에 대한 항산화 효과를 가지고 있음을 알 수 있었다. Park 등(2012)은 지유, 진피, 천련자, 천문동, 청피, 편축, 하고초 등 7종의 약용작물의 water과 ethanol 추출물의 PF를 측정 한 결과 천문동 water 추출물의 1.2~1.7 PF를 제외하고는 모든 시료에서 1.0 PF 이하의 낮은 antioxidant protection factor(PF)를 나타내었다고 보고하였으나, 본 실험재료인 오크라, 엉겅퀴, 엄나무, 줄풀 등 4종은 1.3~1.8 PF 수준의 높은 지용성물질에 대한 항산화 효과를 나타내었다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARs) 측정

산화과정 중 과산화물로부터 분해되어 생성되는 저분자 화합물인 malondialdehyde의 생성을 억제함으로써 항산화 활성을 나타내는 TBARs 생성 억제율을 측정 한 결과는 Table 5에서와 같다. 엉겅퀴 및 엄나무의 water 추출물과 ethanol 추출물에서는 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 저 농도에서도 94% 이상의 높은 저해율

을 나타내어 항산화 효과가 매우 우수함을 알 수 있었다. 오크라의 경우 나머지 3종류의 약용작물에 비해 상대적으로 낮은 항산화효과를 나타내었으나, 오크라 추출물은 첨가되는 phenolic compound에 대하여 농도 의존적으로 항산화 효과가 높아지는 양상을 나타내고 있으며, ethanol 추출물의 경우 200 µg/mL 처리에서 76%의 항산화 효과를 나타내어 4가지 약용작물 모두 지용성 물질에 대한 항산화 활성이 매우 높음을 확인할 수 있었다. 항산화활성 등 생리활성효과는 일반적으로 식물에 함유된 phenolic compounds 함량이 높을수록 항산화 효과도 증가하는 것으로 알려져 있는데(Lee, 2007; Shin, 2003), 배나무 추출물(Lee et al., 2011), 지유, 진피, 천련자, 천문동, 청피, 편축, 하고초 추출물(Park et al., 2012)에서 첨가되는 phenolic compounds 함량이 높아질수록 과 항산화 효과가 높아지는 농도 의존적 상관관계를 나타낸다는 결과와 비교한 결과, 본 연구에 사용된 4종의 천연 약용식물 추출물에서도 첨가되는 phenolic compound의 함량 증가에 따라 농도 의존적으로 항산화 효과가 증가하는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과 본 연구에 사용된 4가지 약용식물에 함유된 phenolic compound는 항산화 효과에 영향을 주는 것으로 확인되었다. 따라서 오크라, 영경귀, 엄나무 및 줄풀 등 4종의 천연 약용식물 추출물은 기존에 우리가 식용으로 이용하던 식물로서 안전성이 확보된 새로운 천연항산화제로서의 활용 가치가 높은 자원으로 확인되었으며, 향후 다양한 생리활성 물질 탐색에 대한 연구가 진행된다면 유용한 기능성 소재로서 개발이 가능하다고 판단된다.

요 약

안전한 천연물을 이용한 천연항산화제 개발 연구의 일환으로, 오크라, 영경귀, 엄나무 및 줄풀 등 4종의 천연 약용식물 추출물의 항산화 활성을 측정해보았다. 추출물의 총 phenolic compounds 함량은 오크라와 영경귀는 50% ethanol, 엄나무는 40% ethanol, 줄풀은 60% ethanol에서 최대용출을 나타내었으며, water 추출물에서 2.72~34.15 mg/g, ethanol 추출물에서 2.83~34.23 mg/g의 용출율을 나타내었다. 4종류 약용식물 water 과 ethanol 추출물의 DPPH radical 소거능은 50 µg/mL의 저 농도에서 모두 74% 이상의 높은 소거활성을 나타내었다. ABTS radical cation decolorization을 측정한 결과, 4종의 약용식물 water 추출물과 ethanol 추출물 100 µg/mL의 농도에서 모두 88% 이상의 높은 저해율을 나타내었다. 지용성 물질에 대한 항산화 효과를 측정하기 위해 antioxidant protection factor(PF)를 측정한 결과, 영경귀 water과 ethanol 추출물 50 µg/mL의 저 농도에서 각각 1.73과 1.76 PF로 다른 약용식물 보다 높은 항산화효과를 나타내었다. TBARS 생성 억제율을 측정한 결과 오크라를 제외한 3종의 약용식물 추출물 50 µg/mL phenolic 농도에서 80% 이상의 생성억제 효과를 나타내었다. 이러한 결과에 따라 다양한 약용식물 추출물이 항산화 및 기능성 식품 소재로 활용이 가능하다고 판단되었다.

References

- Abuja PM, Albertini R (2001) Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 306: 1-17.
- Ames BN (1989) Endogenous DNA damage as related to cancer and aging. *Mutat Res* 214: 41-46.
- 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.
- Block G (1993) Vitamin C, cancer, and aging. *Age* 16: 55-58.
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
- Branen AL (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59-63.
- Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 105: 302-310.
- Chae JW, Jo BS, Joo SH, Ahn DH, Chun SS, Cho YJ (2012) Biological and antimicrobial activity of *Vaccinium oldhami* fruit. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 41: 1-6.
- Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MW, Kwon OJ (2008a) Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 37: 276-281.
- Cho YJ, Ju IS, Kwon OJ, Chun SS, An BJ, Kim JH (2008b) Biological and antimicrobial activity of *Portulaca oleracea*. *J Kor Soc Appl Biol Chem* 51: 49-54.
- 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 Kor Soc Food Sci Nutr* 37: 542-547.
- Choe SY, Yang KH (1982) Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). *Kor J Food Sci Technol* 14: 283-288.
- Feskanich D, Ziegler RG, Michaud DS, Giovannucci EL, Speizer FE, Willett WC, Colditz GA (2000) Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *J Natl Cancer Inst* 92: 1812-1823.
- Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 2399-249.
- Gey KF, Puska P, Jordan P, Moser UK (1991) Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am J Clin Nutr* 53: 326-334.
- Halliwell B, Gutteridge JM (1990) Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods Enzymol* 186: 1-85.
- 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. pp. 54-71.
- Ju JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ (2006) Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 35: 7-14.
- 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 Kor Soc Food Sci Nutr* 39: 1249-1256 (in Korean).
- Kim KS, Shim SH, Jeong GH, Chung CS, Ko KH, Park JH, Huh H, Lee BJ, Kim BK (1998) Anti-diabetic activity of constituents of *Lycii fructus*. *J Appl Pharmacol* 6: 378-382.
- Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Ku HO, Lee HS, Lee KR (1999) Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. *Kor J Pharmacogn* 30: 123-129.
- Labuza TP, Dugan Jr LR (1971) Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol* 2: 355-405.
- Lee CH, Shin SL, Kim NA, Hwang JK (2011) Comparison of antioxidant

- effects of different Korean pear species. *Kor J Plant Res* 24: 253-259.
- Lee JH, Choi HS, Chung MS, Lee MS (2002) Volatile flavor components and free radical scavenging activity of *Cnidium officinale*. *Kor J Food Sci Technol* 34: 330-338.
- Lee SE, Choi Jh, Lee JH, Noh HJ, Kim GS, Kim JK, Chung HY, Kim SY (2013) Screening of useful plants with anti-inflammatory and antioxidant activity. *Korean J Plant Res* 26: 441-449.
- Lee SJ, Shin JH, Kang JR, Hwang CR, Sung NJ (2012) In vitro evaluation of biological activities of wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) and Korean traditional plants mixture. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 41: 295-301.
- Lee YS (2007) Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica dahurica* leaves. *Kor J Food Preserv* 14: 78-86.
- Park HJ, Cho YJ (2014) The effect on anti-oxidative activity and increasing extraction yield of *Aralia elata* Cortex by gamma irradiation. *Korean J Plant Res* 27: 429-438.
- Park HJ, Kang SA, Lee JY, Cho YJ (2012) Antioxidant activities of extracts from medicinal plants. *Kor J Food Preserv* 19: 744-750.
- 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.
- Regnstrm J, Nilsson J, Tornvall P, Landou C, Hamsten A (1992) Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 339: 1183-1186.
- Sa YJ, Park JH, Kim DH, Yeom MH, Cho JC, Kwon YS, Kim MJ (2013) Comparative study of native flowers for anti-oxidative effects in Korea. *Korean J Plant Res* 26: 433-440.
- Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim KN (2005) Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica Keiskei*. *Kor J Food Sci Technol* 37: 78-83. (in Korean).
- Shin HL (2003) Biological activity of phenol compound from mulberry fruits. *MS Thesis*, Sangju National University, Sangju, Korea. pp. 1-60.
- Zielinski H, Kozłowska H (2000) Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains, their different morphological fractions. *J Agri Food chem* 48: 2008-2016.