

아이스플랜트(*Mesembryanthemum crystallinum*)의 생화학적 성분 및 생리활성 효과

강승미 · 김선정 · 하수현 · 이창렬 · 남상해

경남과학기술대학교 식품학과

Biochemical Components and Physiological Activities of Ice Plant (*Mesembryanthemum crystallinum*)

Seungmi Kang, Seonjeong Kim, Suhyun Ha, Changryul Lee, and Sanghae Nam

Division of Food Science, Gyeongnam National University of Science & Technology

ABSTRACT The general components and cyclitol compounds of ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*) were analyzed to examine the possibility of using extracts as functional food materials, the antioxidant effects and antidiabetic activities of the extracts by solvent fraction were tested. Among the mineral contents, contents of K and Na were the largest (1,213.33±2.52 and 545.53±12.01 mg/100 g, respectively), followed by S, Ca, P, and Mg in order of precedence. Among cyclitol compounds, content of D-pinitol was the largest (4.04±0.08 mg/g) while contents of *chi-ro*-inositol and *myo*-inositol were relatively small (2.82±0.01 and 0.25±0.01 mg/g, respectively). Among total phenol contents by solvent fraction, contents of chloroform and ethyl acetate fractions were large (35.80±1.33 and 23.70±0.62 mg GAE/g, respectively). Among antioxidant activity levels examined by DPPH, ABTS, FRAP, and lipid/MA assays, the chloroform fraction commonly showed the highest level of activity while the ethyl acetate fraction showed relatively high levels of activity. The antioxidant activity levels were proportional to total phenol contents by solvent fraction. As for antidiabetic effects, all solvent fractions showed at least 50% α -glucosidase inhibitory activity levels while the ethyl acetate, butanol, and chloroform fractions showed high levels activity of 90.33±0.40, 87.98±0.16, and 86.38±0.51%, respectively. The α -amylase inhibitory activity levels were in the range of 25.63±1.45~60.34±2.67%, which was lower than the α -glucosidase inhibitory activity levels, but the inhibitory activity levels by solvent fraction were similar. Given the above study results, ice plant can be utilized as a natural material with antioxidative and antidiabetic functionality.

Key words: antioxidant, antidiabetic, solvent fraction, lipid/MA assay, ice plant

서 론

최근 서구화된 식습관과 더불어 운동 부족 등의 이유로 비만인구가 증가하고 있으며 이로 인해 당뇨병 환자가 매년 늘어나는 추세이다(1). 그뿐만 아니라 고혈압, 고지혈증, 심혈관계 질환 등의 대사증후군(metabolic syndrome) 질환의 발병률이 증가하고 있으며, 이를 식품을 섭취하여 개선하고자 하는 노력이 이루어지고 있다(2). 당뇨병의 치료는 대부분 약물치료에 의존하고 있으며 식이요법과 운동요법이 병행되고 있다. 따라서 약물복용에 따른 독성과 환자의 내성 등의 문제가 대두하고 있다. 현재 acarbose나 voglibose 등의 저해제가 시판되고 있지만, 복용이 장기간 이루어질

경우 일부 환자에게서 복부팽만감, 구토, 설사 등의 증상이 나타날 수 있어 사용이 제한될 수 있다(3-5). 최근 천연물에서 각종 성인병 예방 및 생체조절기능을 갖는 생리활성물질이 밝혀져 이를 활용하고자 하는 연구가 진행되고 있다. 천연물은 약물복용에 의한 독성 및 알레르기의 부작용이 비교적 적기 때문에 이를 이용한 천연물 유래의 의약품을 포함, 기능성 식품 및 소재의 개발이 관심의 대상이 되고 있다(6-8). 또한, 최근 당뇨병과 항산화 작용이 밀접한 관계가 있는 것으로 알려지면서 약용식물 추출물에 대한 항산화 및 항당뇨 연구가 활발히 수행되고 있다(1,9).

아이스플랜트(*Mesembryanthemum crystallinum*)는 번행초과(Aizoaceae) 솔잎채송화속의 1년생 초목으로 줄기와 잎에 얼음결정과 같은 모양이 있어 아이스플랜트(ice plant)라고 알려져 있다. 발아율이 낮고 성장속도가 느린 다육식물로 남아프리카 나미브사막이 원산지이며, 초장이 10~50 cm 정도로 자라는 포복성 식물이다. 잎과 줄기는 간과 신장의 질병치료에 이용되고 식물에 함유된 polyol은 항산

Received 25 July 2016; Accepted 5 September 2016

Corresponding author: Sanghae Nam, Division of Food Science, Gyeongnam National University of Science & Technology, Jinju, Gyeongnam 52725, Korea
E-mail: shnam@gntech.ac.kr, Phone: +82-55-571-3274

화 능력을 가지고 있으며, 일본에서 성인병 예방에 탁월한 고기능성 식물로 알려져 있다(10). 줄기와 잎에 얼음결정처럼 보이는 블러더 세포(bladder cell)에는 이노시톨류, 베타 카로틴과 같은 인체에 유용한 성분과 각종 미네랄을 함유하고 있으며, 특히 혈당치를 낮추는 pinitol과 중성지방을 억제하는 *myo*-inositol을 함유하고 있으므로 당뇨병 환자에 적합한 힐링푸드라고 알려져 있다(11). 그러나 국내에서는 아직 아이스플랜트에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 본 연구에서는 아이스플랜트의 일반성분과 이노시톨류를 분석하였고, 기능성 식품의 소재로 활용하고자 항산화, 항당뇨 등의 생리활성을 검증하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 용매분획

신선한 아이스플랜트를 송이애농장(Sacheon, Korea)으로부터 구입하여 동결 건조한 후 사용하였다. 건조된 아이스플랜트 분말 200 g에 4 L의 methanol을 가하여 실온에서 3일간 각각 3회 추출·여과한 후 합하여 농축하였다. 그 후 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol로 용매의 극성도를 높여가며 순차적으로 분획하였고, 최종적으로 남은 부분을 aqueous 분획으로 하였다. 이 용매분획물들을 농축하여 -80°C deep freezer에 보관하면서 실험에 사용하였다. 무기질의 분석은 동결 건조한 아이스플랜트 분말을 시료로 사용하였다.

무기질 함량 측정

아이스플랜트의 무기질 함량 분석을 위한 시료의 분해는 AOAC법(12)에 따라 실시하였다. 무기질 분석은 액체크로마토그래피 유도결합플라즈마 질량분석기(liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometer/LC-ICP-MS, Nexion 350D, PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 이용하였다. 표준물질은 혼합표준용액을 사용하였으며 검량방법은 외부표준검량법으로 하여 3회 분석한 결과의 평균값을 나타내었다.

총폴리페놀 함량 측정

시료 중의 총페놀 함량은 Folin-Denis법(13)으로 측정하였다. 시료는 용매분획물을 1 mg/mL의 농도로 methanol에 녹여 조제하고 filter paper로 여과한 것을 사용하였다. 시료 0.5 mL에 2% Na₂CO₃ 용액 0.5 mL를 첨가하여 3분간 반응시킨 후 2 N Folin-Ciocalteu's phenol 0.1 mL를 혼합하여 30°C incubator에서 60분간 발색시켰다. 발색된 시료는 5,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 microplate reader(EL800, BioTek, Winooski, PA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선을 바탕으로 mg GAE(gallic acid equivalents)/g으로 표시하였다. 각 실험은 3회 반복 수행

하여 평균값으로 나타내었다.

Cyclitols 분석

아이스플랜트 분말 시료 1 g에 40 mL의 추출용액(H₂O : C₂H₅OH=1:1, v/v)을 가하고 water bath(100°C, 1 h)에서 cyclitol 화합물을 추출한다. 이후 원심분리(4,000 rpm, 20 min) 하여 cyclitol 화합물이 용출된 상등액을 취하고 이를 다시 80°C의 vacuum concentrator로 추출용액을 완전히 제거하였다. 이어서 시료에 trimethylsilylimidazole : pyridine mixture(1:1, v/v) 200 µL를 가하고 70°C heating block에서 30~40분 동안 반응시켜 유도체화한 후 gas chromatograph(GC)를 사용하여 분석하였다(14). HP-5 capillary column(0.32 mm i.d.×30 m, 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)과 flame ionization detector(FID)가 장착된 gas chromatograph(Model 6890, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였고, 분석조건으로 injector 및 detector의 온도는 각각 280과 300°C로 설정하였다. Oven 온도는 150°C에서 7.5°C/min으로 하여 300°C까지 상승시켰다. Carrier gas는 He, flow rate는 1 mL/min, split ratio는 1:50, 시료의 주입량은 1 µL로 하였다.

DPPH 자유 라디칼 소거능 측정

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 자유 라디칼 소거 활성은 Heo 등(15)의 방법을 변형하여 실험하였다. 아이스플랜트 용매분획물을 methanol에 녹여 농도별(1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 µg/mL)로 희석한 시료 200 µL와 사용 직전에 만든 0.2 mM DPPH를 100 µL 넣고 혼합하여 실온에서 30분 동안 반응시킨 후, microplate reader를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 실험구와 음성대조구의 흡광도를 구하여 아래와 같은 식으로 계산하여 백분율(%)로 표시하였다. 양성대조군으로 BHA의 활성과 비교하였으며 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

$$\text{DPPH 자유 라디칼 소거 활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{실험구의 흡광도}}{\text{음성대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS 양이온 라디칼 소거능 측정

ABTS[2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt] 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation decolorization assay 방법(16)을 수정하여 실시하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate를 최종농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 두어 ABTS 라디칼(ABTS⁺·)을 만들고, ABTS 라디칼은 732 nm에서 흡광도 값이 0.7±0.02가 되도록 PBS(phosphate buffer saline, pH 7.4) buffer로 희석하여 사용하였다. 96 well plate에 희석한 ABTS 용액 200 µL와

methanol에 녹여 농도별로 희석한 시료 100 µL를 섞고 1분 후 microplate reader를 사용하여 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성은 실험구와 음성대조구의 흡광도를 구하여 DPPH와 같이 백분율(%)로 표시하였다. 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다. 양성대조군으로 BHA의 소거 활성과 비교하였다. 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

Ferric reducing antioxidant power(FRAP)

FRAP 실험은 Benzie와 Strain(17)의 방법에 따라 측정하였다. Reaction solution은 300 mM sodium acetate buffer(pH 3.6), 40 mM HCl에 녹인 10 mM TPTZ[2,4,6-tri-(2-pyridyl-1,3,5-triazine)] 및 20 mM iron(III) chloride를 10:1:1로 실험 직전에 만들어 사용하였다. 반응액 200 µL와 methanol에 녹여 농도별로 희석된 시료 50 µL를 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 590 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선으로 FeSO₄·7H₂O를 사용하여 환원력을 계산하였고 양성대조군으로 Trolox의 환원력과 비교하였으며 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

Lipid/MA assay에 의한 항산화 활성 측정

불포화 지방산이 산화될 때 생성되는 malonaldehyde(MA)는 반응성이 너무 크고 불안정하여 정확한 측정이 쉽지 않다. 따라서 MA가 형성된 후 N-methylhydrazine(NMH)과 반응시켜 유도체인 1-methyl pyrazole(1-MP)로 변환시켜 nitrogen phosphorus detector(NPD)가 장착된 GC로 그 함량을 측정하였다. 이 방법은 이미 여러 천연물질의 항산화 효과를 측정하는 데 많이 사용되어온 방법이다(18-20). 즉 0.5 M trizma buffer(pH 7.4), 1 M potassium chloride, 1% SDS, 0.01 M ferrous chloride, 0.3% hydrogen peroxide, 30 µL 대구 간유(cod liver oil)와 농도별(10, 50, 100 및 500 µg/mL in methanol) 용매분획물을 시험관에 넣고 증류수를 가하여 전체 부피를 5 mL가 되도록 하였다. 그리고 자석교반기로서 교반하면서 17시간 동안 37°C의 incubator에 둔 후에 4%의 BHT를 50 µL 가하여 10분 동안 방치하여 산화를 정지시켰다. 그 후 NMH를 30 µL 가하고 상온에서 1시간 동안 반응시켜 1-MP로 유도체화하였다. 이 1-MP는 solid phase extraction(SPE)법으로 분리·정제하는 과정을 거쳤다. 즉 SPE cartridge(MEGA BE-C18, Varian, Harbor, CA, USA)의 activation을 위해서 ethyl acetate, methanol, 증류수의 순으로 각각 10 mL씩을 서서히 통과시키고 유도체화된 시료를 가한 후, 증류수 5 mL를 먼저 통과시키고 이어서 ethyl acetate 10 mL를 통과시켜 반응 생성물인 1-MP를 추출하였다. 여기에 내부 표준물질로 2-methyl pyrazine(2-MP)을 20 µL 가하고 전체 부피를 ethyl acetate로서 10 mL로 정용하였다. 1-MP의 정량 분석은 DB-wax capillary column(0.32 mm i.d.×30 m,

0.25 µm film thickness)과 nitrogen-phosphorous detector(NPD)가 장착된 GC(Model 6890, Agilent Technologies)를 사용하였고, 분석조건으로 injector 및 detector의 온도는 모두 250°C로 설정하였다. Oven 온도는 60°C에서 4°C/min으로 하여 160°C까지 상승시킨 후 2분간 더 유지하도록 하였다. Carrier gas는 He, flow rate는 1.5 mL/min, split ratio는 1:20, 시료의 주입량은 1 µL로 하였다.

α-Glucosidase 저해 활성

α-Glucosidase 저해 활성은 Tibbot과 Skadsen(21)의 방법을 변형하여 수행하였다. Methanol에 녹인 시료(1 mg/mL) 50 µL, α-glucosidase(1 unit/mL) 50 µL, 50 mM potassium phosphate buffer(pH 6.8) 50 µL와 혼합하여 37°C에서 3분간 pre-incubation 한 후, potassium phosphate buffer에 녹인 12 mM p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside 200 µL를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 1 N NaOH 50 µL를 가하여 반응을 정지시키고 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성대조구는 시료 대신 동량의 증류수로 실험하였으며 양성대조군으로 acarbose를 사용하였다. 효소 활성의 저해 정도는 아래의 식에 의하여 산출하였으며, 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

$$\alpha\text{-Glucosidase 저해 활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 처리구의 흡광도}}{\text{음성대조구 흡광도}}\right) \times 100$$

α-Amylase 저해 활성

α-Amylase 저해 활성은 Xu 등(1)의 방법을 응용하여 효소원으로 사람의 타액 amylase를 사용하고 기질로서 starch를 이용하여 효소 활성을 측정하였다. Methanol에 녹인 시료(1 mg/mL) 0.5 mL, α-amylase(5 unit/mL) 0.5 mL, 50 mM potassium phosphate buffer(pH 6.8) 500 µL를 혼합하여 37°C에서 3분간 pre-incubation 한 후 1% starch 0.5 mL를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응물에 48 mM 3,5-dinitrosalicylic acid 발색시약과 30% Na-K-tartrate가 포함된 0.5 M NaOH 1.5 mL를 넣고 100°C에서 5분간 끓여 발색시킨 후 충분히 냉각하였다. 이어서 2.5 mL의 물을 가하고 잘 섞은 후 200 µL씩 96 well plate에 옮겨 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성대조구는 시료 대신 동량의 증류수로 실험하였으며 양성대조군으로 acarbose를 사용하였다. 효소 활성의 저해 정도는 α-glucosidase 저해 활성과 같은 방법으로 산출하였으며 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

통계 분석

실험 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program Ver. 12.0을 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하여 유의성이 있는 경우에 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 시료 간의 유의차를 검정하

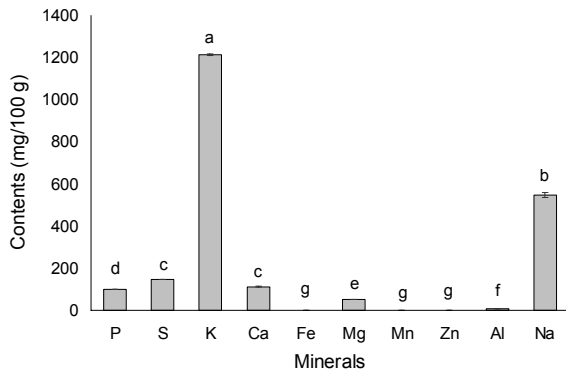


Fig. 1. Content of minerals in ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*). The values represent the mean±SD (n=3). Different letters (a-g) above the bars are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

였다($P<0.05$).

결과 및 고찰

수율

동결 건조한 아이스플랜트 분말을 methanol로 추출하였을 때 추출물의 수율은 시료의 34.05%(w/w)였다. 이 methanol 추출물을 용매의 극성에 따라 순차적으로 용매분획 하였을 때 각각의 분획별 비율은 methanol 추출물의 무게에 대하여 각각 hexane 26.22%, chloroform 1.87%, ethyl acetate 1.80%, butanol 9.31% 및 aqueous 분획 58%(w/w)였다(date not shown).

무기질 함량

Fig. 1은 아이스플랜트의 무기질 함량을 나타낸 것이다. 시료의 무기질 중 K와 Na의 함량이 각각 100 g당 1,213.33 ± 2.52, 545.53 ± 12.01 mg으로 가장 많았고, S, Ca, P, Mg의 순으로 함유되어 있었다. Kim 등(22)은 생육하는 토양에 따라 식물체의 무기질 함량이 차이를 나타내는 것으로 보고한 바 있어, 본 연구 결과는 아이스플랜트가 재배된 토양의 무기질 성분에 따라 차이가 있을 것으로 생각된다. 특히 아이스플랜트는 특유의 소금 결정인 블러더 세포의 형성으로 토양의 나트륨을 흡수, 배출하는 목적으로 재배되어온 작물로 시금치(77.4 mg/100 g), 배추(7.2 mg/100 g), 양배추(16.8 mg/100 g) 등의 여타 작물보다 나트륨 함량이 매우 높게 나타난 것으로 볼 수 있다(23,24).

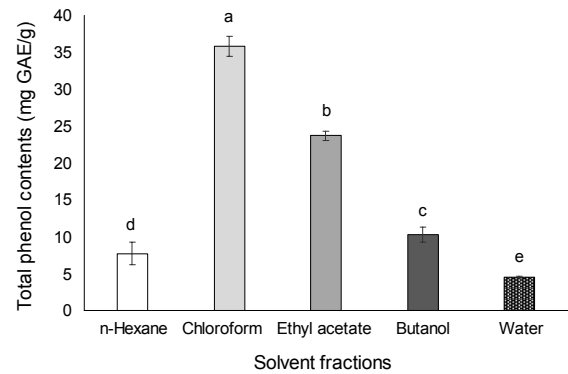


Fig. 2. Total phenolic compounds content in various solvent fraction prepared from *M. crystallinum*. The values represent the mean±SD (n=3). Different letters (a-e) above the bars are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

총폴리페놀 함량

페놀화합물은 phenolic hydroxyl기를 가진 식물체 유래의 대사산물로 단백질 등의 거대분자들과 결합하려는 성질을 가지고 있으므로 인체 내의 라디칼을 제거하는 항산화 효과가 있고 항암, 항염증 및 항알레르기 등의 생리활성 효과가 있으며, 항산화 활성과 양의 상관관계가 있어 간접적인 지표로 활용된다(25). 본 연구에서는 아이스플랜트의 용매 분획별 페놀화합물의 함량을 측정하여 gallic acid와 비교하였다. 한편 Ibtissem 등(26)이 *M. crystallinum*의 열수 추출물의 총페놀 함량을 측정된 결과 23.89 ± 0.27 mg GAE/g으로 나타났다. 본 연구의 분획별 총페놀 함량은 chloroform > ethyl acetate > butanol > hexane > aqueous 분획 순으로 많았으며, 각각 35.80 ± 1.33, 23.70 ± 0.62, 10.28 ± 0.99, 7.69 ± 1.52, 4.52 ± 0.08 mg GAE/g의 함량을 나타내었다(Fig. 2). 이러한 폴리페놀 성분은 Hanen 등(27)의 연구에서 *Mesembryanthemum* 속 식물의 폴리페놀 성분을 분석한 결과 phloretin, quercitrin, avicularin, phloretin xyloglucoside, rutin 등이 검출되었다고 보고하였으므로 아이스플랜트에도 이와 같은 폴리페놀 성분들이 존재하여 활성을 나타내는 것으로 생각된다.

Cyclitols 함량

아이스플랜트의 cyclitol 화합물의 함량은 D-pinitol이 4.04 ± 0.08 mg/g으로 가장 많았으며 myo-inositol은 0.25 ± 0.01 mg/g, chiro-inositol은 2.82 ± 0.01 mg/g으로 상대적으로 적게 함유되어 있었다(Table 1). D-chiro-Inositol과 이것의 methylated form인 D-pinitol(3-O-methyl-chiro-inositol)은 콩류나 술잎 등에 포함된 천연 성분으로

Table 1. Cyclitols content of *M. crystallinum*

Cyclitols	D-Pinitol	myo-Inositol	D-chiro-Inositol	Total
Contents (mg/g)	4.04 ± 0.08 ¹⁾	0.25 ± 0.01 ^c	2.82 ± 0.01 ^b	7.11 ± 0.08

¹⁾The values represent the mean±SD (n=3).

²⁾Different letters are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

Kim 등(28)의 연구에 따르면 국내산 콩의 경우 pinitol을 포함한 total *chiro*-inositol의 함량이 4.36 mg/g으로 나타났다. 콩의 *chiro*-inositol 성분 중 30~40%가 pinitol의 형태로, 40~50%가 galactopinitol의 형태로, 나머지 10~20%가 *chiro*-inositol의 형태로 존재한다고 밝혀졌다(29). 본 실험에서는 총함량이 7.11 mg/g으로 더 많은 이노시톨 함유량을 나타내었다. 또한, Larner(30,31)의 연구에서 *chiro*-inositol 및 pinitol이 인슐린 비 의존형 당뇨병에서 당대사를 조절하는 능력을 가졌다는 연구 결과가 발표되었고, *chiro*-inositol의 섭취로 혈당 강하 효과가 나타나는 것이 확인되었다(32). 따라서 pinitol과 *chiro*-inositol을 함유한 아이스플랜트를 섭취함으로써 제2형 당뇨병에서 혈당치를 조절하는 데 도움을 줄 것으로 판단된다.

항산화 활성

아이스플랜트의 농도별 용매분획물의 DPPH, ABTS 및 FRAP 활성을 측정하였다(Table 2). 용매분획별 활성을 알아보면 활성을 나타내는 유효물질의 화학적 성질을 짐작할 수 있으므로 생리활성물질의 연구에 도움이 될 것으로 생각된다. 항산화 활성의 측정으로 DPPH는 분자 내에 안정한 라디칼을 함유하지만, 항산화 활성이 있는 물질과 반응하면 라디칼이 소거되는 원리를 이용한 시료의 전자 공여능력을 측정하는 방법(33)으로 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용된다. 아이스플랜트 분획 추출물의 농도에 따른 DPPH 라디칼 소거능은 모든 용매분획물에서 농도가 증가함에 따라 상승하였다. Chloroform과 ethyl acetate 분획에서 각각 4.83±0.74~65.52±0.33%, 4.66

±0.81~65.74±0.70%로 활성이 높았으나, butanol, hexane 및 aqueous 분획은 각각 2.25±0.89~21.02±3.21%, 2.20±0.00~8.47±0.43% 및 0.91±0.64~8.58±0.83%로 활성이 비교적 낮게 나타났다.

한편 Hanen 등(27)의 *Mesembryanthemum* 속 식물들의 항산화 활성을 비교한 결과에서 DPPH 라디칼 소거 활성은 본 연구의 재료와 같은 *M. crystallinum* 추출물이 가장 높은 항산화 활성을 보였다고 보고하였으나 본 실험에서와 같은 용매분획별 항산화 활성에 대한 언급은 없었다.

ABTS 라디칼 소거 활성은 유리 라디칼들과 반응하여 만들어진 ABTS⁺가 항산화 물질에 의해 환원되어 소거되는 정도를 측정하는 방법이다. ABTS 라디칼 소거능 또한 모든 용매분획물에서 농도가 증가함에 따라 상승하였다. Chloroform 분획에서 26.75±1.75~83.44±0.14%로 가장 높은 활성을 나타내었고, ethyl acetate와 butanol 분획이 각각 19.09±1.57~83.12±0.00%와 12.56±0.75~82.22±0.28%로 높게 나타났다. 양성대조군인 BHA와 활성을 비교하였을 때 이들 세 분획에 높은 항산화능을 가진 물질이 분포되어 있음을 짐작할 수 있었다. Hexane과 aqueous 분획에서는 각각 8.81±0.51~61.50±1.21%, 5.63±0.14~50.33±1.12%로 낮은 활성을 나타내었다.

FRAP assay는 낮은 pH에서 colored ferrous-TPTZ 복합체에 의해 ferric ion이 ferrous로 전환되는 과정을 분석하여 항산화력을 측정하는 것으로 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에 착안하여 고안된 방법이다(34). FRAP assay에 의한 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성과 유사하게 나타났다. Chloroform과 ethyl acetate 분획

Table 2. Antioxidant activities against various solvent fractions prepared from *M. crystallinum* (%)

Treated conc. (µg/mL)	Antioxidant activities of solvent fractions							
	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous	BHA	Trolox	
DPPH	3.125	2.20±0.00 ^{Cc1)-3)}	4.83±0.74 ^{Fb}	4.66±0.81 ^{Fb}	2.25±0.89 ^{Dc}	0.91±0.64 ^{Cd}	21.18±0.00 ^{Ea}	—
	6.25	3.16±0.80 ^{Cc}	10.08±1.13 ^{Eb}	9.49±0.33 ^{Eb}	3.11±1.61 ^{CDc}	1.39±0.64 ^{Cc}	37.64±0.65 ^{Da}	—
	12.5	3.06±1.56 ^{Cc}	16.89±0.76 ^{Db}	15.92±0.76 ^{Dc}	4.88±2.77 ^{CDd}	1.93±1.44 ^{Cf}	64.40±0.09 ^{Ca}	—
	25	2.41±0.25 ^{Ce}	29.60±0.76 ^{Cb}	27.40±0.83 ^{Cc}	6.33±1.35 ^{Cd}	2.73±0.19 ^{Ce}	85.52±0.16 ^{Ba}	—
	50	5.31±0.40 ^{Be}	47.13±0.09 ^{Bb}	44.72±0.61 ^{Bc}	11.37±0.90 ^{Bd}	4.24±1.56 ^{Be}	91.05±0.09 ^{Aa}	—
	100	8.47±0.43 ^{Ad}	65.52±0.33 ^{Ab}	65.74±0.70 ^{Ab}	21.02±3.21 ^{Ac}	8.58±0.83 ^{Ad}	91.53±0.09 ^{Aa}	—
ABTS	3.125	8.81±0.51 ^{Ee}	26.75±1.75 ^{Db}	19.09±1.57 ^{Ec}	12.56±0.75 ^{Fd}	5.63±0.14 ^{Ef}	45.35±0.37 ^{Da}	—
	6.25	10.11±2.45 ^{Ee}	26.35±0.24 ^{Dc}	31.08±0.79 ^{Db}	16.15±0.71 ^{Ed}	6.77±0.88 ^{Ef}	72.68±0.51 ^{Ca}	—
	12.5	13.95±0.28 ^{De}	44.70±0.88 ^{Cc}	53.43±0.86 ^{Cb}	27.81±0.98 ^{Dd}	10.28±0.51 ^{Df}	83.61±0.24 ^{Aa}	—
	25	22.35±1.02 ^{Cd}	76.26±1.12 ^{Bb}	81.08±0.28 ^{Ba}	46.25±0.51 ^{Cc}	18.60±1.26 ^{Cc}	83.30±0.14 ^{Ba}	—
	50	37.93±0.99 ^{Bc}	83.93±0.14 ^{Aa}	83.36±0.24 ^{Aa}	68.60±1.47 ^{Bb}	32.63±1.67 ^{Bd}	83.61±0.24 ^{Aa}	—
	100	61.50±1.21 ^{Ab}	83.44±0.14 ^{Aa}	83.12±0.00 ^{Aa}	82.22±0.28 ^{Aa}	50.33±1.12 ^{Ac}	83.12±0.24 ^{Aa}	—
FRAP	3.125	1.71±0.58 ^{De}	25.99±2.20 ^{Fb}	16.81±0.72 ^{Fc}	4.64±1.10 ^{Ed}	1.37±1.02 ^{De}	—	35.63±1.53 ^{Fa}
	6.25	2.70±1.54 ^{De}	39.45±0.77 ^{Eb}	23.87±0.35 ^{Ec}	5.54±2.74 ^{Ed}	1.71±0.58 ^{De}	—	54.23±0.22 ^{Ea}
	12.5	5.03±1.17 ^{De}	49.47±0.31 ^{Db}	36.64±0.72 ^{Dc}	11.41±0.82 ^{Dd}	3.04±0.57 ^{CDf}	—	71.01±0.09 ^{Da}
	25	9.74±0.85 ^{Cd}	57.23±0.11 ^{Cb}	55.15±0.67 ^{Cb}	24.80±2.79 ^{Cc}	4.95±1.45 ^{BCe}	—	83.40±0.22 ^{Ca}
	50	14.57±1.31 ^{Be}	70.68±0.14 ^{Bb}	68.32±0.21 ^{Bc}	34.76±1.04 ^{Bd}	5.87±2.17 ^{Bf}	—	90.99±0.11 ^{Ba}
	100	26.59±0.65 ^{Ae}	81.71±0.03 ^{Ab}	79.73±0.13 ^{Ac}	48.46±1.14 ^{Ad}	17.76±1.08 ^{Af}	—	95.20±0.08 ^{Aa}

1) The values represent the mean±SD (n=3).

2) Different small letters within a same row are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

3) Different capital letters within a same column are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

Table 3. Antioxidant activity by lipid/MA assay against various solvent fractions prepared from *M. crystallinum* (%)

Treated concentrations ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibition activities on solvent fractions					
	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Aqueous	BHT
1	0.35 \pm 0.44 ^{Ed1)-3)}	4.47 \pm 1.48 ^{Ec}	10.74 \pm 2.25 ^{Db}	2.68 \pm 3.07 ^{Ec}	0.19 \pm 1.84 ^{Ed}	47.74 \pm 2.33 ^{Da}
5	3.45 \pm 1.24 ^{De}	11.29 \pm 3.27 ^{Dc}	23.20 \pm 2.95 ^{Cb}	5.76 \pm 3.15 ^{Dd}	6.81 \pm 3.26 ^{Dd}	59.18 \pm 4.61 ^{Ca}
10	13.96 \pm 1.55 ^{Cc}	19.91 \pm 2.96 ^{Cc}	39.94 \pm 3.13 ^{Bb}	16.45 \pm 2.09 ^{Cc}	15.63 \pm 1.30 ^{Cc}	67.67 \pm 2.87 ^{Ca}
50	23.07 \pm 3.48 ^{Bc}	38.36 \pm 3.57 ^{Bb}	42.35 \pm 3.58 ^{Bb}	21.16 \pm 3.40 ^{Bc}	25.87 \pm 2.53 ^{Bc}	80.42 \pm 4.01 ^{Ba}
100	25.82 \pm 2.20 ^{Be}	59.19 \pm 1.28 ^{Ab}	46.66 \pm 2.61 ^{Bc}	28.74 \pm 0.96 ^{Be}	33.84 \pm 3.07 ^{Bd}	87.07 \pm 3.59 ^{Ba}
500	44.48 \pm 3.07 ^{Ad}	67.24 \pm 4.33 ^{Ab}	58.50 \pm 1.94 ^{Ac}	56.12 \pm 2.28 ^{Ac}	45.68 \pm 2.70 ^{Ad}	96.34 \pm 2.28 ^{Aa}

¹⁾The values represent the mean \pm SD (n=3).

²⁾Different small letters within a same row are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

³⁾Different capital letters within a same column are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

에서 각각 25.99 \pm 2.20~81.71 \pm 0.03%, 16.81 \pm 0.72~79.73 \pm 0.13%로 높은 활성을 나타내었고, butanol, hexane 및 aqueous 분획은 각각 4.64 \pm 1.10~48.46 \pm 1.14%, 1.71 \pm 0.58~26.59 \pm 0.65% 및 1.37 \pm 1.02~17.76 \pm 1.08%로 다소 낮은 활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 항산화 활성과 용매분획별 페놀화합물의 함량이 비례적으로 일치하는 경향이였다. 또한, Hanen 등(27)의 *Mesembryanthemum* 속 식물들의 항산화 활성을 비교한 결과 ABTS 라디칼 소거 활성과 FRAP assay에서 양성대조군인 Trolox, ascorbic acid보다 높은 활성을 나타내었다고 보고하였다.

Lipid/MA assay에 의한 항산화 활성

Lipid/MA assay는 불포화 지방산이 산화될 때 malonaldehyde가 생성되는 원리를 이용한 측정방법이다. 아이스플랜트의 용매분획물을 농도별로 처리하여 지질을 인위적으로 산화시킨 후 발생하는 malonaldehyde 형성을 억제하는 정도를 BHT와 비교하였다.

Lipid/MA assay에 의한 항산화 활성은 500 $\mu\text{g/mL}$ 처리하였을 때 chloroform 분획에서 67.24 \pm 4.33%로 가장 높았고, ethyl acetate와 butanol 분획에서 각각 58.50 \pm 1.94와 56.12 \pm 2.28%로 비교적 높은 활성을 나타내었다. 한편 hexane과 aqueous 분획에서는 각각 44.48 \pm 3.07과 45.68 \pm 2.70%로 다소 낮은 활성을 나타내었다(Table 3).

본 연구에서 아이스 플랜트 추출물의 항산화능에 대한 검증에서 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능과 FRAP assay에 의한 항산화 효과는 chloroform과 ethyl acetate 분획이 거의 같은 수준으로 가장 높은 활성을 띠었고, butanol > hexane > aqueous 분획의 순으로 나타났다. 또한, 총 phenolic 함량과 lipid/MA assay에 의한 항산화 효과도 chloroform 분획이 가장 높았다. 따라서 chloroform과 ethyl acetate 분획에 항산화 활성을 나타내는 물질이 분포되어 있을 것으로 짐작되었다.

한편 lipid/MA assay로 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)의 줄기 및 뿌리의 향기성분(19), clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry]의 향기추출물(20) 및 뽕나무(*Morus alba* L.)(18) 등에 대한 항산화 활성을 보고한 바가 있으며, 이들은 chloroform 분획과 유사한 di-

chloromethane 추출물에 대한 활성을 보고한 것이였다.

항당뇨 활성

α -Glucosidase는 올리고당이나 이당류를 포도당으로 전환시키는 효소로서 α -glucosidase 저해제는 탄수화물의 소화 흡수를 지연시켜 식후 혈당을 조절하고 비만을 야기하는 고인슐린혈증이나 저혈당을 유발하지 않으며, 인슐린 분비를 촉진하고 소장에서 글루카곤 분비를 억제하는 glucagon-like peptide-1의 분비를 촉진한다(35). α -Glucosidase와 α -amylase 저해 활성은 각각의 용매분획물을 1 mg/mL의 농도로 처리하여 얻은 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 그 결과 α -glucosidase 저해 활성은 전반적으로 모든 용매분획에서 50% 이상의 높은 저해 활성을 나타내었다. 이 중에서 ethyl acetate 분획에서 90.33 \pm 0.40%로 가장 높았고, butanol과 chloroform 분획은 각각 87.98 \pm 0.16%와 86.38 \pm 0.51%로 비교적 높은 저해 활성을 나타내었다. 한편 hexane과 aqueous 분획은 72.24 \pm 2.97%와 54.82 \pm 4.67%로 다른 분획에 비하여 다소 낮은 활성을 나타내었다.

α -Amylase는 탄수화물의 α -D-(1,4)-glucan 결합을 분해하는 효소로 α -amylase 저해제는 소장에서 전분의 소화

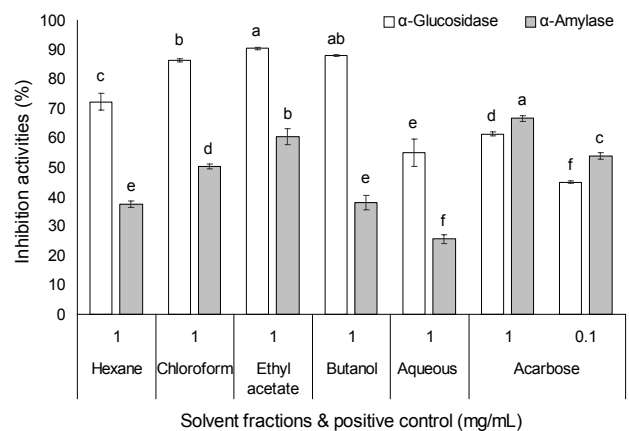


Fig. 3. α -Glucosidase & α -amylase inhibition activities against various solvent fractions prepared from *M. crystallinum*. The values represent the mean \pm SD (n=3). Different letters above the bars are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

를 저해하여 포도당의 흡수를 지연시킴으로써 혈당의 상승을 완만하게 한다(36). α -Amylase 저해 활성은 α -glucosidase 저해 활성보다는 낮은 활성을 나타내었다. 그러나 ethyl acetate 분획에서 $60.34 \pm 2.67\%$ 로 가장 높게 나타났으며, chloroform, butanol, hexane 및 aqueous 분획에서 각각 $50.37 \pm 0.77\%$, $37.95 \pm 2.52\%$, $37.51 \pm 1.05\%$ 및 $25.63 \pm 1.45\%$ 순으로 나타나 α -glucosidase 저해 활성과 유사한 경향을 보였다.

Lee 등(11)의 α -glucosidase 저해 활성을 측정된 결과에서는 열수 추출 후 methanol 추출물 2 mg/mL의 농도에서 acarbose와 유사한 56.6%의 활성을 나타내었으나, 본 연구에서는 ethyl acetate 분획에서 $90.33 \pm 0.40\%$ 로서 동일농도의 acarbose $61.26 \pm 0.65\%$ 보다 훨씬 높은 저해 활성을 보였다. 이를 미루어보아 ethyl acetate 분획에 다른 화학적 특성을 가진 항당뇨성 생리활성물질이 존재할 수 있다고 생각된다. 이와 같은 연구 결과는 혈당 강하제로 시판되고 있는 acarbose와 비교하였을 때 같은 농도에서 저해 활성이 acarbose보다 아이스플랜트 추출물에서 비슷하거나 높게 나타나 혈당 강하를 위한 항당뇨 천연소재로 가치가 높은 것으로 생각한다.

요 약

아이스플랜트(*Mesembryanthemum crystallinum*)의 일반 성분과 cyclitol 화합물을 분석하였으며, 기능성 식품의 소재로 활용 가능성을 알아보기 위하여 추출물의 용매분획별 항산화 효과 및 항당뇨 활성 등을 검증하였다. 무기질 함량은 K와 Na가 각각 $1,213.33 \pm 2.52$ 와 545.53 ± 12.01 mg/100 g으로 가장 많았고, S, Ca, P, Mg의 순이었다. Cyclitol 화합물의 함량은 D-pinitol이 4.04 ± 0.08 mg/g으로 가장 많았으며, *chiro*-inositol과 *myo*-inositol은 각각 2.82 ± 0.01 과 0.25 ± 0.01 mg/g으로 비교적 적게 함유되어 있었다. 용매분획별 총페놀 함량은 chloroform과 ethyl acetate 분획에서 각각 35.80 ± 1.33 과 23.70 ± 0.62 mg GAE/g으로 많았다. DPPH, ABTS, FRAP 및 lipid/MA assay에 의한 항산화 활성은 공통적으로 chloroform 분획에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, ethyl acetate 분획에서 비교적 높은 활성을 나타내었다. 항산화 활성은 용매분획별 총페놀 함량과 비례적이었다. 한편 항당뇨 효과는 α -glucosidase 저해 활성에서 모든 용매분획에서 50% 이상의 활성을 나타내었으며, ethyl acetate, butanol 및 chloroform 분획에서 각각 90.33 ± 0.40 , 87.98 ± 0.16 및 $86.38 \pm 0.51\%$ 의 높은 활성을 나타내었다. α -Amylase 저해 활성은 $25.63 \pm 1.45 \sim 60.34 \pm 2.67\%$ 로서 α -glucosidase 저해 활성보다는 낮았으나, 용매분획별 저해 활성은 유사한 경향을 보였다. 이와 같은 연구 결과로 볼 때 아이스플랜트가 항산화 및 항당뇨 기능성 천연소재로 활용이 가능할 것으로 생각되었다.

감사의 글

이 논문은 2015년도 경남과학기술대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

- Xu ML, Wang L, Xu GF, Wang MH. 2011. Antidiabetes and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of *Sonchus asper* (L) hill extract. *Kor J Pharmacogn* 42: 61-67.
- Miquel J, Quintaniha AT, Weber H. 1989. *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 223-244.
- Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Haase SL, Longo DL, Jameson JL. 2011. *Harrison's principles of internal medicine*. 15th ed, McGraw-Hill, New York, NY, USA. p 2109-2137.
- Jeong IK, Chung JH, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW, Chung YE, Park JY, Hong SK, Lee KU. 2002. Comparative study about the effects of acarbose and voglibose in type 2 diabetic patients. *J Korean Diabetes Assoc* 26: 134-145.
- Tsujimoto T, Shioyama E, Moriya K, Kawaratani H, Shirai Y, Toyohara M, Mitoro A, Yamao J, Fujii H, Fukui H. 2008. Pneumatosis cystoides intestinalis following alpha-glucosidase inhibitor treatment: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol* 14: 6087-6092.
- Ji IH, Kim MN, Chung CK, Ham SS. 2000. Antimutagenic and cytotoxicity effects of *Phellinus linteus* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 322-328.
- Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST, Park KM, Hwangbo S. 2003. Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia of mushroom. *Korean J Food Nutr* 16: 15-21.
- Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H, Masuda K, Arai Y, Shiojima K, Ageta H. 1989. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. II. *Biol Pharm Bull* 22: 606-610.
- Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. 2012. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J* 12: 5-18.
- Agarie S, Kawaguchi A, Kodera A, Sunagawa H, Kojima H, Nose A, Nakahara T. 2009. Potential of the common ice plant, *Mesembryanthemum crystallinum* as a new high-functional food as evaluated by polyol accumulation. *Plant Prod Sci* 12: 37-46.
- Lee SY, Choi HD, Yu SN, Kim SH, Park SK, Ahn SC. 2015. Biological activities of *Mesembryanthemum crystallinum* (ice plant) extract. *J Life Sci* 25: 638-645.
- AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 1110.
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
- Ahn CH, Park PB. 2009. Increase of the D-*chiro*-inositol and D-pinitol contents by abiotic stress in the buckwheat seedlings. *J Life Sci* 19: 1456-1462.
- Heo JC, Lee DY, Son MS, Yun CY, Hwang JS, Kang SW, Kim TH, Lee SH. 2008. Effects of mole crickets (*Gryllotalpa orientalis*) extracts on anti-oxidant and anti-inflammatory activities. *J Life Sci* 18: 509-514.
- 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.
17. Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
 18. Nam SH, Jang HW, Shibamoto T. 2012. Antioxidant activities of extracts from teas prepared from medicinal plants, *Morus alba* L., *Camellia sinensis* L., and *Cudrania tricuspidata*, and their volatile components. *J Agric Food Chem* 60: 9097-9105.
 19. Ko KH, Nam SH. 2012. Antioxidant activities of volatile aroma components from *Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bureau extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1493-1501.
 20. Lee KG, Shibamoto T. 2001. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]. *Food Chem* 74: 443-448.
 21. Tibbot BK, Skadsen RW. 1996. Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative alpha-glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30: 229-241.
 22. Kim YS, Huh MR, Park JC. 2001. Effects of culture media and seawater on growth and mineral concentrations in glasswort (*Salicornia herbacea*). *Korean J Hort Sci Technol* 19: 324-337.
 23. Adams P, Nelson DE, Yamada S, Chmara W, Jensen RG, Bohnert HJ, Griffiths H. 1998. Growth and development of *Mesembryanthemum crystallinum* (Aizoaceae). *New Phytol* 138: 171-190.
 24. Cha MN, Oh MS. 1996. Changes in mineral content in several leaf vegetables by various cooking methods. *Korean J Food Cook Sci* 12: 34-39
 25. Budak HN, Guzel-Seydim ZB. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of wine vinegars produced by two different techniques. *J Sci Food Agric* 90: 2021-2026.
 26. Ibtissem B, Abdelly C, Sfar S. 2012. Antioxidant and antibacterial properties of *Mesembryanthemum crystallinum* and *Carpobrotus edulis* extracts. *Adv Chem Eng Sci* 2: 359-365.
 27. Hanen F, Riadh K, Samia O, Sylvain G, Christian M, Chedly A. 2009. Interspecific variability of antioxidant activities and phenolic composition in *Mesembryanthemum* genus. *Food Chem Toxicol* 47: 2308-2313.
 28. Kim JI, Kim JC, Joo HJ, Jung SH, Kim JJ. 2005. Determination of total *chiro*-inositol content in selected natural materials and evaluation of the antihyperglycemic effect of pinitol isolated from soybean and carob. *Food Sci Biotechnol* 14: 441-445.
 29. Schweizer TF, Horman J, Wurch P. 1978. Low molecular weight carbohydrates from leguminous seeds; a new disaccharide: Galactopinitol. *J Sci Food Agric* 29: 148-154.
 30. Larner J. 1994. Multiple pathways in insulin signalling-fitting the covalent and allosteric puzzle pieces together. *Endocrine J* 2: 167-171.
 31. Larner J. 2001. D-chiro-Inositol in insulin action and insulin resistance—Old-fashioned biochemistry still at work. *IUBMB Life* 51: 139-148.
 32. Pak Y, Paule CR, Bao YD, Huang LC, Larner J. 1993. Insulin stimulates the biosynthesis of *chiro*-inositol-containing phospholipids in a rat fibroblast line expressing the human insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci* 90: 7759-7763.
 33. Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 26: 211-219.
 34. Kwak JH, Choi GN, Park JH, Kim JH, Jeong HR, Jeong CH, Heo HJ. 2010. Antioxidant and neuronal cell protective effect of purple sweet potato extract. *J Agric Life Sci* 44: 57-66.
 35. Cho EK, Choi YJ. 2013. Antioxidant, antidiabetic, and anti-inflammatory effects of extracts and fractions from *Parthenocissus tricuspidata* stems. *J Life Sci* 23: 399-405.
 36. Oh S, Hong SS, Kim YH, Koh SC. 2008. Screening of biological activities in fern plants native to Jeju Island. *Korean J Plant Res* 21: 12-18.