

낙상홍 추출물의 효능에 관한 연구

†이 광수 · 박경숙
장안대학교 건강과학부 식품영양과

A Study of Effects of *Ilex serrata* Thunb Extracts

†Kwang-Soo Lee and Kyung-Sook Park
Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Hwaseong 18331, Korea

Abstract

In this study, *Ilex serrata* Thunb was extracted with 70% methanol and concentrated under reduced pressure to measure its total polyphenol contents; furthermore, we examined the effect of electron donating ability of the various extracts. The extract was fractionated using different solvents such as methylene chloride, ethyl acetate, and methanol to investigate total polyphenol contents and electron donating abilities. The total polyphenol contents were 1,058.59±85.85 µg GAE/mL in 70% methanol, 297.29±29.43 µg GAE/mL in methylene chloride, 313.28±9.22 µg GAE/mL in ethyl acetate, and 837.82±31.16 µg GAE/mL in methanol. The total polyphenol contents showed significant differences ($p<0.05$) between the solvents. The electron donating abilities were 72.93±0.29% for 70% methanol extract, 14.02±2.01% for methylene chloride, 24.05±1.75% for ethyl acetate, and 84.08±1.95% for methanol. The electron donating abilities were significantly different ($p<0.05$) between the solvents. The two portions of *Ilex serrata* Thunb extracts obtained from methanol showed significantly relevant results in the total polyphenol contents and electron donating ability, which was higher than the original extract.

Key words: *Ilex serrata* Thunb, total polyphenol contents, electron donating ability

서 론

낙상홍(*Ilex serrata* Thunb)은 감탕나무과에 속하는 일본과 중국원산으로서 나무의 높이는 보통 2~3m 정도이고, 잎은 긴 타원형으로 4~8cm 정도로 작은 구슬모양의 열매를 갖고 있다. 이 열매는 초겨울에 홍색으로 성숙하여 잎이 다 지고 난 1월까지 붉은 색을 유지하고 있어서 흰 눈을 배경으로 한 적색열매는 관상가치가 매우 뛰어난 것으로 알려져 있다(Shim 등 1988). 토양과는 무관하며 건조하지 않은 지역이면 추위와 관계없이 성장이 가능하고, 내조성과 내공해성이 좋아서 바닷가 뿐만 아니라, 도심지에서도 좋은 성장을 보이고 있으며(Choe MS 2000), 내염성 수종으로 분류되어 간척지 권장수종으로도 분류되어 있다(Lee 등 2015).

항산화성 물질과 관련한 연구는 기능성 식품이나 활성산소의 억제에 의한 노화 방지와 연계한 미용 제품의 개발 목적으로 꾸준히 진행되고 있다. Kim YH(2007)는 더덕에서 추출한 saponin의 항산화성, Cha 등(2012)은 시판 흑마늘의 항산화성, Lee 등(2016)은 흑메밀 추출물의 항산화성 및 항염증 활성, Lee & Park(2016)은 커피 폐기물 추출물의 항산화성, Kim 등(2005)은 김정콩에서의 주요 항산화 원인물질 규명 등 다양한 물질에서 항산화성 물질과 관련한 연구가 되고 있다. 활성산소는 반응성이 매우 큰 물질로 생체 내에서 지질의 산화로 인한 세포막의 파괴나 적혈구의 파괴 등 인체에 유해한 물질로 작용하고 있어서 이러한 활성산소를 억제하는 물질에 대한 연구는 오래 동안 지속적으로 연구되고 있는 실정이다.

생체 내에서 생성되는 활성 산소종으로는 hydrogen per-

† Corresponding author: Kwang-Soo Lee, Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Hwaseong 18331, Korea. Tel: +82-31-299-3068, Fax: +82-31-299-3609, E-mail: lkss2920@jangan.ac.kr

oxide, hydroxy radical, superoxide anion radical($\cdot O_2^-$) 등이 있다. Superoxide radical의 생성은 O_2 가 H_2O 로 환원되는 과정에서 생성되는 것으로 미토콘드리아에서 coenzyme Q와 ubiquinone 그리고 2가지의 복합체들에 의해 매개되는 반응에서 전자의 방출로 인해 생성된다. 또한 superoxide radical은 수많은 NADPH oxidase, NAD(P)H oxidase, xanthine oxidase, NO synthase, COX, auto-oxidation 등과 같은 수많은 산화반응을 하는 효소들에 의해서도 생성된다. 그리고 10^{-6} 초의 짧은 수명을 가지며, 액상 용액, 중성 또는 약간의 산성 pH에서 비교적 비반응적이며 SOD에 의해 hydrogen peroxide (H_2O_2)로 빠르게 변환된다(Bomzon & Ljubuncic 2001). 이러한 활성 산소 종들은 산소를 소비하는 생명체 내에서 생성되어 세포막 분해라든지 DNA 합성 억제에 의한 생리적 장애를 주며(Cerutti PA 1985), 심할 경우에는 세포사멸을 초래하는 것으로 알려져 있다(Inze & Van Montagu 1995). Li 등(2007)은 형질전환 감자 식물체에 항산화효소인 superoxide dismutase(SOD) 및 ascorbate peroxidase(APX) 유전자를 도입한 것은 methyl viologen(MV)에 의해 발생하는 산화스트레스에 내성을 갖는 것으로 발표하였고, Lee KH(2005)는 유산소성 에너지 증가로 인하여 활동조직에 공급되는 산소가 수십 배 요구되고 난 이후의 회복기에는 항산화 효소인 SOD가 증가하여 고강도 운동에서도 항산화 효소의 활성도 변화가 있음을 밝혔다. 그리고 고강도 유산소성 운동과 항산화제 처치에 따른 항산화 효소 활성도와 과산화 지질에 미치는 영향(Seo CJ 등 2007), 간 손상된 흰쥐의 혈화혈과 합수혈에 레이저침을 시술하였을 때 변화된 SOD 활성을 이용한 간 손상 회복(Kim WI 등 2012) 등 SOD 활성도와 연계한 연구가 다양한 주제로 활발하게 진행되고 있다.

낙상홍과 관련한 연구는 Lee 등(1979)에 의한 수목 번이 관련한 연구, Shim 등(1993)이 연구한 낙상홍의 번식방법과 식재에 관한 연구, Kim YD(1978)의 종묘적 특성에 관한 연구, Kim IS(2006)의 식재된 낙상홍의 개화시기와 화색 특성에 관한 연구, Kim SI(1996)의 조경수로 활용, Bang SJ(2006)의 간척지에 활용 등 생태학적 측면에서 제한적으로 연구가 되어 있다.

본 실험에서는 낙상홍 열매를 $50^\circ C$ 에서 건조한 후에 70% methanol로 추출한 추출물과 이 추출물에 성질을 달리하는 유기용매로 분획하여 감압 하에 농축한 농축액들을 총폴리페놀 함량 측정과 DPPH에 대한 전자공여능 실험 그리고 superoxide anion radical의 제거능 실험을 통하여 향후 낙상홍 열매를 활용할 수 있는 기초 자료로의 제공과 더불어 최종적으로는 낙상홍에서 생리적 활성에 영향을 주는 성분들의 분리와 구조를 규명함으로써, 향후 기능성 식품의 자원으로 활용할 수 있는 자료를 제공하고자 한다.

실험 재료 및 방법

1. 실험재료, 시약 및 기구

본 연구에 사용된 낙상홍은 장안대학교 혹은 가천대학교 인근 지역에서 비교적 쉽게 채취할 수 있는 낙상홍을 수집하여 건조기에서 $50^\circ C$ 로 72시간 건조한 후에 실험에 사용하였다.

Folin-Ciocalteu법에 사용된 Folin & Ciocalteu's phenol reagent와 항산화성 측정에 사용된 2,2-Diphenyl(1,2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl(DPPH)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. 추출 용매로 사용된 methanol, methylene chloride, ethyl acetate 등은 Daejung (Incheon, Korea) 제품을 사용하였다. Vortex Mixer는 Thermolyne (Iowa, USA)사의 Type 37600 Mixer를 이용하였다. 폴리페놀 함량 측정과 항산화성 측정은 Hitachi사(Tokyo, Japan) U-2000 UV/VIS Spectrophotometer를 이용하였다. Superoxide anion radical 제거에 사용된 cytochrome C, xanthine, sodium deoxycholate와 xanthine oxidase는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) 제품을 사용하였다.

2. 실험방법

70% methanol(MeOH)로 추출하여 감압하에 농축한 용액의 총폴리페놀류 측정과 항산화성 측정을 하여 이에 대한 효능을 먼저 확인한 다음, 극성을 달리하는 용매(MeOH, EA, MC)를 사용하여 분획 추출한 용액에 대하여 동일한 실험을 실시하여 분획에 따른 효능을 확인하였다.

1) *Ilex serrata* Thunb의 추출 및 분리

$50^\circ C$ 에서 72시간 건조한 낙상홍 열매를 70% methanol (MeOH)에 48시간 정치하여 추출하는 방법으로 2회 추출하였고, 추출액은 여과 후 감압상태에서 농축한 다음 폴리페놀함량 측정과 항산화성 물질 측정(전자공여능 측정)을 하였다. 농축액은 다시 methylene chloride(MC)로 추출하였고, 남은 여액은 ethyl acetate(EA)로 추출하였으며, 마지막으로 methanol(MeOH)로 추출하였다. 극성을 달리하는 용매들로 분획 추출한 용액들은 감압 하에 농축한 다음에 폴리페놀 측정과 전자공여능 실험을 하였다.

2) 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu법(Singleton & Rossi 1965)에 따라 측정하였다. 70% methanol로 추출하여 농축한 용액은 50배로 희석하였고, methylene chloride(MC)로 추출하여 농축한 용액은 11배, ethyl acetate(EA)로 추출하여 농축한 용액은 5배, 그리고 methanol(MeOH)로 추출하여 농축한 용액은 10배로 희석하여 실험에 사용하였다. 희석액 400

μL를 취하여 증류수 3.0 mL와 혼합한 후에 Folin-Ciocalteu reagent 200 μL를 넣었고, 이 용액에 포화 Na₂CO₃ 용액 400 μL를 넣고 강하게 저어준 다음 1시간 정치시켰다. 총 폴리페놀 함량의 측정에는 UV spectrophotometer(U-2000 UV/VIS Spectrophotometer, HITACHI, Tokyo, Japan)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량의 산출은 표준물질로 gallic acid를 사용하여 표준 검량선을 구하였고, 검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalents(GAE μg/mL extract)로 환산하였다.

3) 전자공여능 측정

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)의 free radical에 대한 70% methanol로 추출한 농축액과 methylene chloride, ethyl acetate 그리고 ethanol로 분액 추출한 용액의 전자공여능 측정은 Lee & Park(2016)의 방법을 이용하여 측정하였다. 95% 에탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 4 mL에 시료 0.1 μL를 첨가하여 혼합 후 37°C의 항온조에서 1시간 동안 반응시킨 다음 UV spectrophotometer(Hitachi사(U-2000 UV/VIS Spectrophotometer, HITACHI, Tokyo, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 전자공여능(EDA%)은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{Electron donating ability(\%)} = [1 - (\text{A experiment}/\text{A blank})] \times 100$$

A experiment : Absorbance of sample

A blank : Absorbance of control

4) Superoxide 제거능 측정

Superoxide 제거 능력 측정은 superoxide radical에 의해 cytochrome c가 환원되는 양을 측정하는 방법으로 하였다(Mc Cord & Fridovich 1968). 즉, 0.1 mM EDTA를 함유하는 50 mM 인산염 완충액(pH 7.8) 2.1 mL와 0.5 mM xanthine 0.3 mL, 50 μM KCN 0.1 mL, 1% sodium deoxycholate 0.1 mL에 0.1 mM cytochrome c 0.3 mL, xanthine oxidase 0.1 mL(시료를 넣지 않은 상태에서 흡광도가 0.02되게 조절된 것)와 시료액 10 μL를 넣고 550 nm에서 흡광도의 증가를 2분 동안 측정하였다. 이때 환원되는 cytochrome c의 양은 분자 흡광 계수($E_{cm}^M = 195,000$)로 계산하였다.

5) Hydrogen peroxide 제거능 측정

Hydrogen peroxide 제거 능력 실험은 Aebi H(1974)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 50 mM 인산염 완충액(pH 7.0) 2.0 mL에 시료 10 μL와 기질 10 mM H₂O₂용액 1.0 mL를 가하여 240 nm에서 흡광도 변화를 관찰하고, 1분 동안에 1 μM의 H₂O₂를 분해하는 능력을 1 unit로 하였다.

6) 통계처리

모든 실험결과에는 Statistical Package for the Social Science Program(SPSS, version 21)을 사용하여 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 실험군 간의 유의성은 Duncan multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였으며, 모든 실험 3회 반복해서 실행한 평균±표준편차로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량

Ilex serrata Thunb에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 용매를 달리하여 추출한 후, 농축한 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 70% methanol 추출물의 총 폴리페놀 함량은 1,058.59±85.85 μg GAE/mL로 나타났고, 극성을 달리한 추출용매에서는 methanol 추출물이 837.82±31.16 μg GAE/mL로 가장 높은 함량을 보였으며, methylene chloride 추출물은 297.29±29.43 μg GAE/mL로 가장 낮게 나타났다. 이는 Lee & Park(2016)이 용매를 달리한 커피 폐기물 추출물에서는 ethyl acetate 분획물이 가장 높은 함량을 보인 것과는 상이한 결과로, 이는 작용기의 성질에 기인한 것으로 사료되며, 물질의 분리 및 구조 결정에 따른 비교 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p < 0.05$).

2. 전자공여능 측정(Electron Donating Ability Measurement)

Ilex serrata Thunb에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 용매를 달리하여 추출한 후, 농축한 추출물의 전자공

Table 1. The total polyphenol contents obtained from *Ilex serrata* Thunb extracts using different solvents

Extraction solvents	Total polyphenols (μg/mL) ¹⁾
70% MeOH	1,058.59±85.85 ^a
MC	297.29±29.43 ^b
EA	313.28± 9.22 ^c
MeOH	837.82±31.16 ^d
<i>F</i> value	1,184.241* (0.000)

¹⁾ Total polyphenol content was expressed as μg/mL gallic acid equivalents (GAE).

²⁾ Each value is mean±S.D. of triplicate determination (n=3).

* Means with different letters^(a-d) within a column are significantly different at $p < 0.05$.

MC: methylene chloride, EA: ethyl acetate, MeOH: methanol

여능 측정은 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와 같이 70% methanol 추출물의 전자공여능은 $72.93 \pm 0.29\%$ 로 나타났고, 극성을 달리하는 용매로 분획한 추출물에서는 methylene chloride 추출물은 $14.02 \pm 2.01\%$, ethyl acetate 추출물은 $24.05 \pm 1.75\%$ 그리고 methanol 추출물은 $84.08 \pm 1.95\%$ 로 methanol 분획물이 세 용매 중에서 가장 높게 나타났고, 원액보다도 전자공여능이 더 향상된 것으로 나타났다. 극성 용매의 추출물들이 비극성 용매의 추출물보다 높은 전자공여능을 나타냈고, 이는 총폴리페놀의 함량과 같은 결과를 보였다. 각 용매에 따른 전자공여능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p < 0.05$), methanol 분획물의 전자공여능이 원액보다 더 높게 나타난 것은 전자공여능을 갖는 물질 함량이 많아진 때문이 아니라 전자공여성 물질에 작용하여 전자공여능을 떨어뜨리는 상반된 물질 때문인 것으로 사료되며, 이에 대한 규명이 필요하다고 생각한다.

3. Superoxide 제거능 측정

Ilex serrata Thunb에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 용매를 달리하여 추출한 후 농축한 추출물의 superoxide anion radical 제거 측정을 하였고, 그 결과는 Fig. 1과 같다. 그림에서 보는 바와 같이 methanol 분획에서의 superoxide anion radical 제거는 거의 없는 것으로 나타났고, ethyl acetate 분획물에서 superoxide anion radical의 제거능이 가장 큰 폭으로 감소시키는 것으로 나타났으며, methylene chloride 분획에서는 오히려 superoxide anion radical이 증가하는 것으로 나타났다. Superoxide anion radical이 증가한 것으로 나타난 methylene chloride 분획물은 xanthine oxidase의 활성을 증가시키는 것으로 나타났고, 각 용매 분획물에 따른 superoxide anion radical 제거능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p < 0.05$). 전자공여능이 가장 높게 나타난 methanol 분획물이 superoxide anion radical 제거에는 거의 관여하지 않는 것으로 나타났고, 이는 DPPH radical에 관여하는 물질과 xanthine oxidase의 활성에 영

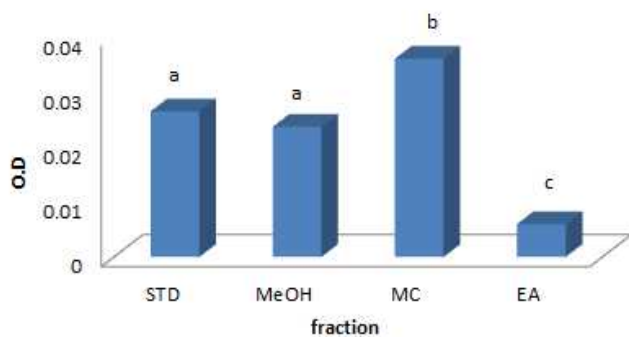


Fig. 1. The measurement of superoxide anion radical depending on fractions.

Table 2. Electron donating ability of *Ilex serrata* Thunb extracts obtained from different solvents

Extraction solvents	Electron donating ability(EDA) ¹⁾
70% MeOH	72.93 ± 0.29^a
MC	14.02 ± 2.01^b
EA	24.05 ± 1.75^c
MeOH	84.08 ± 1.95^d
<i>F</i> value	157.393^* (0.000)

¹⁾ Electron donating ability (EDA) content was %.

²⁾ Each value is mean±S.D. of triplicate determination (n=3).

* Means with different letters^(a-d) within a column are significantly different at $p < 0.05$.

EA: ethyl acetate, MC: methylene chloride, MeOH: methanol

향을 주는 물질이 서로 상이하기 때문으로 사료되며, 낙상홍에는 superoxide anion radical의 생성과 제거에 관여하는 물질이 모두 존재하는 것으로 나타나, 이에 대한 규명이 필요한 것으로 생각한다.

4. Hydrogen peroxide 제거능 측정

Ilex serrata Thunb에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 용매를 달리하여 추출한 후 농축한 추출물의 hydrogen peroxide 제거에 관한 실험 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 methylene chloride 분획물의 hydrogen peroxide 제거능이 가장 높은 것으로 나타났고, ethyl acetate 분획물에는 hydrogen peroxide를 제거하는 물질이 존재하지 않는 것으로 나타났다. 각 용매 분획물에 따른 hydrogen peroxide 제거능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p < 0.05$). Methylene chloride 분획물에서는 hydrogen peroxide 제거가 가장 높게 나타난 반면에, superoxide anion radical의 생성을 촉진시키는 것으로 상반된 결과를 나타나, methylene chloride 분획물의 분리과 분리된 물질의 성분 분석, 그리고 각 성분 물질의 superoxide anion

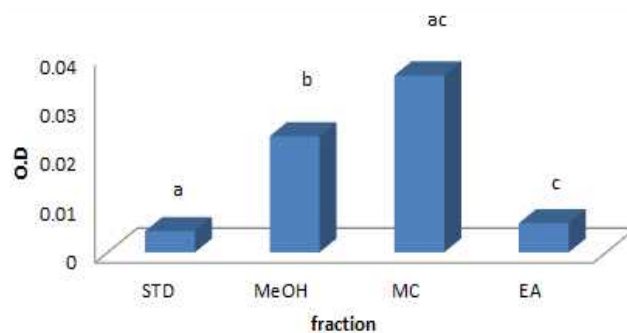


Fig. 2. The measurement of hydrogen peroxide decomposition depending on fractions.

radical 제거능과 hydrogen peroxid 제거능 실험 결과에 의한 상관된 결과에 대한 규명이 필요한 것으로 사료된다.

요약 및 결론

건조한 낙상홍 열매를 70% methanol(MeOH)에 정치하여 추출하고 여과 후 감압상태에서 농축한 다음 폴리페놀함량 측정과 항산화성 물질 측정(전자공여능 측정)을 하였다. 농축액은 다시 methylene chloride(MC)와 ethyl acetate(EA) 그리고 methanol(MeOH)로 분획하여 추출한 후에 폴리페놀 함량 측정, 전자공여능 측정, superoxide anion radical 제거능 측정 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정을 하였다.

1. 총 폴리페놀 함량은 70% methanol(MeOH)에서는 1058.59 ±85.85 µg GAE/mL로 나타났고, 극성을 달리한 추출용매에서는 methanol 추출물이 837.82±31.16 µg GAE/mL로 가장 높은 함량을 보였으며, methylene chloride 추출물은 297.29±29.43 µg GAE/mL로 가장 낮게 나타났다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 $p<0.05$ 에서 유의적인 관계가 있음을 보였다.

2. DPPH에 대한 전자공여능 측정에서 70% methanol 추출물은 72.93±0.29%를 보였고, 분획하여 농축한 실험에서는 methanol로 분획한 것이 84.08±1.95%로 가장 높게 나타났으며, ethyl acetate 추출물의 전자공여능은 24.05±1.75%, methylene chloride의 추출물은 14.02±2.01% 순으로 용매의 극성이 적을수록 낮게 나타났다. 각 용매에 따른 전자공여능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$). 분획한 추출물의 전자공여능이 분획하기 전보다 높은 전자공여능을 나타내었는데, 분획에 의한 전자공여능 저해 물질의 분리에 의한 것인지 혹은 전자공여능 물질의 농도 증가에 의한 것인지는 추후 규명이 필요한 것으로 사료된다.

3. Superoxid anion radical 제거능 측정에서 methanol 분획에서의 superoxide anion radical 제거는 거의 없는 것으로 나타났고, ethyl acetate 분획물에서 superoxide anion radical의 제거능이 가장 큰 폭으로 감소시키는 것으로 나타났으며, methylene chloride 분획에서는 오히려 superoxide anion radical이 증가하는 것으로 나타났다. Methylene chloride 분획물에서의 superoxide anion radical이 증가한 것은 methylene chloride 분획물에 의한 xanthine oxidase의 활성 증가로 사료되며, 각 용매 분획물에 따른 superoxide anion radical 제거능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$). DPPH에 대한 전자공여능이 가장 높게 나타난 methanol 분획물은 superoxide anion radical 제거에 거의 관여하지 않는 것으로 나타났고, 이는 DPPH radical에 관여하는 물질과 xanthine oxidase의 활성에 영향을 주는 물질이 서로 상이한 때문으로 사료되며, 낙상홍에는 superoxide anion radical의 생성과 제거에 관여하는 물질이 모두 존재하

는 것으로 나타나, 이에 대한 규명이 필요한 것으로 생각한다.

4. Hydrogen peroxide 제거능 측정에서 methylene chloride 분획물의 hydrogen peroxide 제거능이 가장 높은 것으로 나타났고, ethyl acetate 분획물에는 hydrogen peroxide를 제거하는 물질이 존재하지 않는 것으로 나타났다. 각 용매 분획물에 따른 hydrogen peroxide 제거능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$). Methylene chloride 분획물에서는 hydrogen peroxide 제거가 가장 높게 나타난 반면에 superoxide anion radical의 생성을 촉진시키는 것으로 나타나 서로 상반된 결과를 보였고, 이에 대한 규명을 위하여 methylene chloride 분획물의 분리와 분리된 물질의 성분 분석, 그리고 각 성분 물질의 superoxide anion radical 제거능과 hydrogen peroxid 제거능 실험 결과에 따른 분석으로 상반된 결과에 대한 규명이 필요한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 장안대학교 2016년도 자체연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Bang SJ. 2006. Effect of soil conditioner on soil properties and growth on plants in reclaimed tidal land. MS Thesis, Hankyong National Univ. Ansong, Korea
- Bomzon A, Ljubuncic P. 2001. Oxidative stress and vascular smooth muscle function in liver disease. *Pharma and Therapeutics* 89:295-308
- Cerutti PA. 1985. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 227:375-381
- Cha JY, Lee SJ, Shin JH, Sung NJ. 2012. Antioxidant and inhibition of nitrosodimethylamine formation in marketing black garlics. *J Agriculture & Life Science* 46:151-162
- Choe MS. 2000. 낙상홍. *Landscaping Tree* 58:22-23
- Inze D, Van Montagu M. 1995. Oxidative stress in plants. *Curr Opin Biotechnol* 6:166-172
- Kim IS. 2006. A study on the flowering time of the garden tree in Sacheon area. MS Thesis, Kyeongsang National Univ. Jinju, Korea
- Kim SH, Kwon TW, Lee YS. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Korean Soc of Food Science and Technology* 37:73-77
- Kim SI. 1996. 새로운 조경수(III X II)-낙상홍-. *Landscaping*

Tree 35:22-24

- Kim WI, Youn DH, Choi CH, Na CS. 2012. Effects of low level laser treatment at LR2 and LR8 acupoint on the liver damage induced in D-GalN in rats. *Korean J of Acupuncture* 29:131-141
- Kim YD. 1978. Studies on the characteristic of seed and nursery of *Ilex serrata* Thunb. Chinju National Univ. 16:31-35
- Kim YH. 2007. Antioxidant activity of saponin from *Codonopsis lanceolata*. Sangmyung Univ. 2007:1-18
- Lee KI. 2005. The alteration of antioxidant enzymes by physical recovery and sedentary recovery. *Korea Sport Research* 16:567-572
- Lee KJ, Lim KB, Park IH. 1979. Subjects of the articles presented in the summer conference : *Ilex*속 수목의 변이에 관한 연구. *J Korean Forest Soc* 43:88-88
- Lee KJ, Song JD, Lee KH. 2015. Possibility of establishment of a tree nursery at Saemangeum reclaimed land and classification of 36 landscape trees based on salt tolerance. *J Korean For Soc* 104:564-577
- Lee KS, Park KS. 2016. A study of effects of coffee waste extracts obtained from solvents. *J Food Nutr* 28:866-870
- Lee SG, Park SY, Hwang IC, Kang H. 2016. Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extracts from *Fagopyrum tataricum*. *J. Naturopathy* 5:9-14
- Li T, Kwon SY, Kim MD, Kim JS, Kwak SS, Lee HS. 2007. Enhanced tolerance to oxidative stress of transgenic potato (cv. Superior) plants expressing both SOD and APX in chloroplasts. *J Plant Biotechnol* 34:299-305
- McCord JM, Fridovich I. 1968. The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 243:5753-5760
- Seo CJ, Yi SM, Ko YW. 2007. The effect of antioxidant supplement on the activity of SOD, CAT and MDA in high intensity aerobic exercise. *J of Korea Sport Research* 18:21-32
- Shim KK, Seo BK, Ha YM, Kim KH, Kwon OJ. 1993. Studies on the propagation and *Ilex serrata* tolerance Thunb. *The Korean Institute of Landscape Architecture* 21:99-104
- Shim KK, Suh BK, Park SH. 1988. Studies on the propagation of *Ilex serrata*. Sungkyunkwan Univ. 39:303-307
- Singleton VL and Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenols with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158

Received 11 October, 2016

Revised 12 October, 2016

Accepted 09 December, 2016