

## Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Jeju Camellia Mistletoe (*Korthalsella japonica* Engl.)

Da Hee Kang<sup>1†</sup>, Eun Mi Park<sup>1†</sup>, Ji Hye Kim<sup>1</sup>, Jung Woo Yang<sup>2</sup>, Jung Hyun Kim<sup>3</sup> and Min Young Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Toxicology Laboratory, Major in Biomaterials, College of Applied Life Science, SARI, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

<sup>2</sup>Dong Baek Sa Rang (Love Camellia), Jeju 697-832, Korea

<sup>3</sup>Department of Tourism & Food Service Cuisine, Cheju Tourism College, Jeju 690-791, Korea

Received May 2, 2016 / Revised June 3, 2016 / Accepted July 2, 2016

Mistletoes are hemi-parasitic plant growing on different host tree and shrubs. They are traditionally used in folkloric medicine for the treatment of diarrhea, cough, diabetes, hypertension, cancer and skin infection. The purpose of this study was to determine the contents of phenolics and antioxidant activity of 70% ethanol, 100% methanol and hot water extracts of Jeju camellia mistletoe (*Korthalsella japonica* Engl.). Ethanol was most effective in extracting total phenols (7,427 mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g) and flavonoid (1,777 mg rutin equivalent (RE)/100 g). The free radical scavenging activity, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) (EC<sub>50</sub> = 7.8 mg/ml) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (EC<sub>50</sub> = 1.4 mg/ml), and the capacity for chelating metal ions (EC<sub>50</sub> = 8.0 mg/ml) and reducing power (EC<sub>50</sub> = 14.9 mg/ml) of the samples also higher in ethanolic extracts. The strong correlation ( $r^2 = -0.996 \sim -0.881$ ) between antioxidant capacities and the phenolic contents implied that phenolic compounds are a major contributor to the antioxidant activity of the ethanolic extracts of Jeju camellia mistletoe. As conclusions, Jeju camellia mistletoe contains bioactive substances with a potential for reducing the physiological as well as oxidative stress and this could explain the suggested cancer preventive effect of these plants as well as their protective role on other major diseases.

**Key words** : Antioxidant activity, Jeju camellia mistletoe, phenolics, solvent extraction

### 서 론

최근 의학의 발달 및 생활환경과 영양상태가 개선되어 건강에 대한 욕구가 증대됨에 따라 well-being이 새로운 트렌드로 떠오르고 있다[24, 26]. 이에 따라 건강을 유지하기 위해 항산화제에 대한 관심이 증가하고 있는데, 오랫동안 이용되어 온 합성 항산화제인 benzoic acid, butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) 등은 우수한 항산화능을 보이지만 다량 섭취 시 암 유발 등 안전성에 대한 논란이 계속되어 왔다[1, 9]. 따라서 이를 대체하기 위해 천연물 소재를 활용한 항산화제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 특히 항산화제의 원료로 주로 사용되는 식물체에 함유된 2차 대사산물이 신진대사 및 생리활성을 촉진하는 물질로 보고되었다[14]. 식물 유래 생리활성물질로 널리 알려진 phenolic compounds, flavonoids 등은 신체 내 산화적 스트레스 및 활

성산소종(Reactive oxygen species, ROS)의 생성을 억제하여 암, 심혈관계 질환 등 만성 질병을 예방하고 노화의 지연 및 방지에 도움이 되어 의약품, 화장품, 식품 등의 원료로 활용되고 있다[12, 19].

겨우살이는 겨우살이과에 속하는 상록성 관목으로 여러 종류의 나무를 숙주로 하여 수분과 영양분 등을 취하며 살아가며 자체적으로 광합성을 하는 능력을 지니고 있어 반기생 식물로 분류된다[13, 20, 25]. 겨우살이는 아프리카, 유럽, 아시아 등 세계 전역에 분포해 있으며 우리나라에 자생하는 겨우살이는 단향과의 겨우살이, 붉은 겨우살이, 동백나무 겨우살이, 꼬리 겨우살이와 참나무 겨우살이 등 2과 4속 5분류군이 분포하고 있다[2]. 유럽에서는 1920년대에 이미 항암활성이 인정됨에 따라 종양 치료제로 사용되고 있을 뿐만 아니라 고혈압, 동맥경화 등의 의약품 및 기능성 식품의 원료로 이용되고 있다[13, 31]. 우리나라에서는 유럽에 비해 비교적 늦게 연구가 시작되었지만, 이들의 천연물 소재로서의 잠재성이 인정됨에 따라 다양한 연구가 활발히 진행되고 있다. 한국산 겨우살이는 열매가 백색인 유럽산과 달리 황색을 띠고 식물의 모양과 성분의 차이가 많은 것으로 알려져 있는데[20], 유럽산 겨우살이와는 달리 특유의 alkaloid를 함유하고 있어 상대적으로 높은 항암 활성을 가지며[11, 20], 겨우살이의 주성분인 lectin은 면역력 증강, 항암 활성, 세포독성 등에 효과적이라는 보고가 있다[16]. 이외에도 국내에 자생하는 겨우살이의 효능을 입증

† Authors contributed equally.

\*Corresponding author

Tel : +82-64-754-3349, Fax : +82-64-756-3351

E-mail : jeffmkim@jejunu.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.

하기 위해 항암, 항균, 항산화, 유전독성 및 각종 생리활성 효과 등에 대한 연구가 이루어지고 있다[20, 23, 25].

이처럼 겨우살이에 대한 활발한 연구가 진행되고 있음에도 불구하고 동백나무 겨우살이에 대한 성분 및 생리학적 활성에 대한 연구가 이루어지지 않고 있다. 또한 겨우살이는 기주목, 생산지역 및 수확시기 등 다양한 요인에 따라 성분 및 효능의 차이가 발생되나[29] 이들에 대한 명확한 연구가 되어 있지 않을 뿐더러 효능에 대해서도 연구가 미흡한 실정이다. 특히 타 지역과 달리 독특한 기후 및 토양을 지닌 제주도에서 서식하는 동백나무 겨우살이의 잠재적 가능성에 비해 이에 대한 구체적인 연구가 전무한 상황이므로 이에 대한 과학적 연구가 절실하다고 판단된다. 따라서 본 연구는 제주도 동백나무 겨우살이의 생리활성 성분 및 항산화 활성을 측정하여 천연물 항산화제 및 기능성 소재로서의 소재화 가능성을 검토하고 다양한 기능성 소재 개발을 위한 기초적 특성 연구의 기초 자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료의 제조

본 실험에 사용된 동백나무 겨우살이는 제주특별자치도 서귀포시 안덕면에 위치한 카멜리아힐에 서식하고 있는 동백나무를 숙주로 하여 기생하는 겨우살이를 2015년 5월에 채취하여 사용하였다. 채취한 시료는 증류수로 세척한 뒤 원재료를 동결건조 후 분쇄기로 파쇄한 분말을 이용하였다. 동백나무 겨우살이 추출물의 제조는 건물 중량의 10배(w/v) 부피에 100% 메탄올과 70% 에탄올을 첨가하여 25°C, 150 rpm 조건하에 24시간 동안 2회 반복 추출 후 여과하여 사용하였다. 열수 추출물은 95°C에서 4시간 동안 2회 연속 추출한 다음 여과하여 사용하였다. 양성대조군으로 사용된 L-ascorbic acid는 1 mg/ml의 농도로 제조하였다.

### 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량 측정은 Kim 등[10]의 방법에 의해 실행하였다. 96-well plate에 시료 용액 30 µl를 농도별로 분주하고, 95% ethanol 30 µl, 증류수 150 µl, Folin-Ciocalteu reagent 15 µl를 순서대로 첨가하여 잘 혼합한 뒤 실온에 5분 동안 반응시킨다. 반응시킨 후 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 30 µl를 첨가하여 혼합하고 1시간 동안 차광하여 반응시킨 후 microplate reader (Spectra MR, Dynex, VA, USA)를 이용해 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid standard solution (0.125, 0.25, 0.5, 1 mg/ml)을 통해 표준곡선을 작성하고 그 결과를 mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g dried weight로 나타내었다.

### 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Kim 등[10]의 방법에 의해 실행하였다. 먼저 96-well plate의 각 well에 시료 용액 30 µl를 넣고 증류수 120 µl, NaNO<sub>2</sub> 9 µl를 순서대로 첨가하여 실온에 6분 동안 반응시키고, 10% AlCl<sub>3</sub> 9 µl를 첨가하여 다시 실온에 6분 간 반응시킨다. 그 후 1 M NaOH 60 µl, 증류수 72 µl를 첨가하여 실온에 15분간 반응시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 rutin을 이용하여 총 플라보노이드 함량(mg rutin equivalent (RE)/100 g)을 산출하였다.

### DPPH radical 소거 활성

DPPH radical 소거 활성은 Kim 등[10]의 방법에 의해 실행하였다. 농도별 시료 용액 100 µl를 96-well plate에 분주하고, 0.4 mM DPPH 용액 100 µl를 첨가하여 잘 섞은 후 차광하여 실온에 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 시료 첨가군과 무첨가군의 차이를 계산하여 활성을 비교분석하였고, DPPH radical을 50% 소거하는 유효농도(EC<sub>50</sub>)를 계산하여 나타내었다. 양성대조군으로 L-ascorbic acid를 이용하여 겨우살이 추출물의 DPPH radical 소거능을 비교분석하였다.

### Hydrogen peroxide 소거 활성

총 hydrogen peroxide 소거 활성은 Kim 등[18]의 방법에 의해 실행하였다. 시료 용액 80 µl와 10 mM hydrogen peroxide 20 µl, 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 5.0) 100 µl를 첨가하여 잘 혼합하고 37°C에서 5분 동안 반응시킨 후, 1.25 mM 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) 30 µl, 1 U/ml peroxidase 30 µl를 가하여 37°C에서 10분간 반응시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 시료 첨가군과 무첨가군의 차이를 계산하여 나타내고, hydrogen peroxide를 50% 소거하는 유효농도(EC<sub>50</sub>)를 계산하여 용매 및 농도에 따른 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거능을 비교하였다. 양성대조군으로는 L-ascorbic acid를 사용하여 겨우살이 추출물의 hydrogen peroxide 소거능을 비교분석하였다.

### Ferrous ion chelating 활성

Chelating 활성은 Kim 등[10]의 방법에 의해 실행하였다. 농도별로 희석한 시료 용액을 96-well plate에 250 µl씩 분주하고, 2 mM ferrous chloride (FeCl<sub>2</sub>) 5 µl, 5 mM ferrozine[3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p'-disulfonic acid monosodium salt hydrate] solution 10 µl를 순서대로 첨가하여 섞은 후 상온에서 10분 동안 반응시킨 뒤 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 첨가군 및 무첨가군의 흡광도 차이를 계산하였고, chelating 활성이 50%에 도달하는 농도(EC<sub>50</sub>)를 구하였다. 양성대조군으로 L-ascorbic acid를 이용하여 ferrous ion chelating 활성을 측정함으로써 겨우살이 추출물의

항산화능을 비교분석하였다.

#### 환원력 측정

환원력은 Kim 등[10]의 방법에 의해 실행하였다. 농도별 시료 용액 200  $\mu$ l, 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 200  $\mu$ l와 1% potassium ferricyanide 200  $\mu$ l를 순서대로 넣고 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응 시켰다. 10% trichloroacetic acid 200  $\mu$ l를 첨가하여 반응을 정지시키고, 96-well plate에 상층액 100  $\mu$ l를 분주한 뒤 0.1% ferric chloride 20  $\mu$ l와 증류수 100  $\mu$ l를 넣고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 농도별 흡광도는 시료 무침가군과 흡광도 차이를 통해 흡광도를 계산하였고, OD 값이 0.5에 도달하는데 필요한 시료의 농도(EC<sub>0.5</sub>)를 통해 환원력을 나타내었다. 양성대조군으로 L-ascorbic acid를 활용하여 겨우살이 추출물의 환원력을 비교 분석하였다.

#### 통계방법

모든 실험 결과는 3회 반복 측정 후 평균값과 그의 표준편차를 나타내었다. 성분 함량 측정 결과는 Duncan's multiple range tests를 실시하였고, 항산화 활성의 결과는 Student's t-test를 실시하여 나타내었다.

## 결과 및 고찰

#### 총 폴리페놀 함량

동백나무 겨우살이 추출물을 이용하여 총 페놀성 화합물 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 70% 에탄올 추출물의 경우 7,427 mg GAE/100 g dried weight로 유의적으로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었고( $p < 0.05$ ), 100% 메탄올과 열수 추출물은 각각 6,578 mg GAE/100 g dried weight, 5,320 mg GAE/100 g dried weight의 함량을 보여(Table 1), 추출물 간의 총 폴리페놀 함량의 차이는 추출 시 사용한 용매의 용해력에 따른 차이로 인한 것으로 판단된다.

마이크로웨이브 추출법에 의한 겨우살이의 총 폴리페놀 함량 측정 결과[16], 50 ml/g (20 mg/ml)의 물 추출물이 149.17 mg%로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었고 이를 본 실험 결과의 70% 에탄올 추출물(100 mg/ml)의 함량을 환산하여 (1,485.4 mg%) 비교했을 때 약 10배 가량 높은 함량을 나타내

었다(Table 1). 이와 같이 추출농도에 따른 함량의 차이를 통해 겨우살이의 기능성 성분을 효과적으로 추출해 낼 수 있는 적정 농도가 있음을 확인하였고, 이에 따라 최적의 농도 및 조건을 찾아내기 위한 구체적인 성분 분석이 필요하다고 사료된다.

또한 Simona 등[29]의 연구에서 유럽산 겨우살이의 수확시기별 총 폴리페놀 함량의 차이를 비교분석한 결과 5월에 수확한 겨우살이의 물 추출물이 209.51 mg GAE/g으로 가장 높은 함량을 보인 반면 12월에 수확한 겨우살이의 에탄올 추출물이 51.96 mg GAE/g으로 가장 낮은 함량을 나타내었는데, 본 실험 결과에서 에탄올 추출물이 가장 높은 함량을 보인 것과 상반된 결과를 보였다(Table 1). 이와 같은 결과를 통하여 겨우살이가 서식하는 지역 및 수확 시기에 따라 성분의 차이가 있을 것으로 예상되어 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

#### 총 플라보노이드 함량

동백나무 겨우살이에 대한 총 플라보노이드 함량은 Table 1에 나타내었다. 70% 에탄올 추출물에서 1,777 mg RE/100 g으로 유의적으로 가장 높은 총 플라보노이드 함량을 보였고( $p < 0.05$ ), 100% 메탄올과 열수 추출물 각각 1,623 mg RE/100 g과 830 mg RE/100 g으로 측정되어 앞선 동백나무 겨우살이의 총 폴리페놀 함량 측정 결과와 같은 양상을 띄고 있음을 알 수 있다(Table 1).

유럽산 겨우살이의 총 플라보노이드 함량 측정 결과와 비교하였을 때 약 0.97 mg/g dry plant로 나타나[22] 본 연구에서 사용한 제주산 동백나무 겨우살이의 총 플라보노이드 함량이 약 17배 가량 높다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Choi 등[4]의 연구에서 지역 및 숙주식물 별 14종의 겨우살이의 플라보노이드 함량 측정 결과 전북, 제주, 지리산 등에 서식하는 신갈나무 및 굴참나무 등의 겨우살이가 다른 시료에 비해 많은 플라보노이드 함량이 검출되었고, Kim 등[12]의 연구에서 참나무 겨우살이의 총 플라보노이드 함량은 57.02 mg/g extract로 본 연구에서의 가장 높은 함량을 보인 70% 에탄올 추출물(17.77 mg/g)보다 비교적 높은 함량을 나타내는 것으로 보았을 때 이는 지역에 따른 자연환경의 차이뿐만 아니라 기주에 따른 플라보노이드 함량의 차이가 발생할 수 있기에 향후 이에 대한 비교연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

상기 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정을 통해 유의

Table 1. Total phenolic and flavonoid contents of the 100% methanol, 70% ethanol and hot water extracts from Jeju camellia mistletoe

Solvent	Total phenolic contents (GAE <sup>1</sup> ) mg/100 g)	Total flavonoid contents (RE <sup>2</sup> ) mg/100 g)
100% methanol	6,578.4±79.35 <sup>a</sup>	1,623.1±98.40 <sup>a</sup>
70% ethanol	7,426.7±114.68 <sup>b</sup>	1,776.9±32.40 <sup>b</sup>
Hot water	5,320.2±61.58 <sup>c</sup>	829.9±10.86 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>GAE (gallic acid equivalent); <sup>2</sup>RE (rutin equivalent).

All values are mean  $\pm$  S.D. from three separated experiments. <sup>a-c</sup> Mean values not sharing the same letter are significantly different at  $p < 0.05$  by one-way analyses of variance followed by Duncan's multiple range tests.

적으로 높은 함량을 나타낸 100% 메탄올과 70% 에탄올 추출물을 이용하여 항산화 활성을 평가하였다.

**DPPH radical 소거 활성**

DPPH는 진한 자색을 띠는 free radical 형태로 존재하여 항산화 활성을 띠는 물질을 만나면 radical이 환원되어 소거되면서 노란색으로 탈색되는데 이 변화 정도를 흡광도를 측정함으로써 항산화능을 계산한다[16]. 동백나무 겨우살이의 DPPH radical 소거 활성에 대한 결과는 Fig. 1과 같다. 시료의 농도가 증가함에 따라 DPPH 소거 활성이 증가하는 것을 알 수 있으며, 양성대조군으로 사용한 1 mg/ml L-ascorbic acid의 활성이 85.6%인 것과 비교하였을 때 다소 낮게 나타났으나 메탄올, 70% 에탄올 두 추출물 간의 DPPH radical 소거 활성을 비교하였을 때 모든 농도에서 70% 에탄올 추출물에서 높은 활성을 보였다(Fig. 1). DPPH radical을 50% 소거하는 유효농도(EC<sub>50</sub>)를 환산하였을 때 메탄올 추출물은 10.9 mg/ml, 70% 에탄올 추출물은 7.8 mg/ml의 값을 나타내어 통계적 유의차를 보였다(p<0.05)(Fig. 1). 또한 농도가 5 mg/ml일 때 겨우살이 추출물의 DPPH radical 소거 활성은 약 30%로 나타났는데 이와 같은 결과는 Simona 등[28]의 연구에서 5 mg/ml의 농도에서 겨우살이 추출물의 DPPH radical 소거 활성이 26%를 나타낸 것과 유사한 수치를 보였다.

Ju 등[8]의 연구에서 용매별 겨우살이 추출물의 기능성 성분 및 DPPH radical 소거 활성 비교 결과, 50% 에탄올 추출물이 증류수 및 100% 에탄올 추출물에 비해 높은 폴리페놀 함량을 나타내었고 DPPH radical 소거 활성에서도 비슷한 양상을

띄고 있음을 확인할 수 있었는데, 본 연구에서도 마찬가지로 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 보인 70% 에탄올 추출물에서 여타 추출물에 비해 유의적으로 높은 DPPH radical 소거 활성을 보이는 것과 유사한 경향을 나타내는 것으로 미루어 보아 총 폴리페놀 함량과 DPPH radical 소거 활성간의 깊은 상관관계가 있다고 판단되어 본 연구에서 수행한 기능성 성분과 DPPH radical 소거능 간의 상관관계에 대하여 조사할 필요가 있다고 판단된다.

**Hydrogen peroxide 소거 활성**

Hydrogen peroxide는 생체 내에서 superoxide dismutase (SOD)가 superoxide와 반응하여 생성되는데 산화적 스트레스에 의해 과도하게 생성된 hydrogen peroxide는 DNA, 단백질 등을 손상 시킬 뿐만 아니라 과산화지질의 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, apoptosis와 necrosis 같은 세포상해를 일으킨다[5, 15]. 동백나무 겨우살이 추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거 활성은 Fig. 2에서 보이는 것과 같이 두 시료 모두 농도 의존적으로 증가하는 것을 볼 수 있었다. 추출물의 농도가 1 mg/ml부터 70% 에탄올 추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거능이 약 65.5%로 급격히 증가하였으며 동일 농도의 양성대조군인 L-ascorbic acid의 활성(100.2%)과 비교하였을 때 약 1.5배의 활성의 차이를 확인할 수 있었다. 또한 가장 높은 농도인 4 mg/ml에서 100% 메탄올과 70% 에탄올 추출물 각 72%, 85%로 70% 에탄올 추출물의 활성이 약 113% 높은 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

Papuc 등[22]의 연구에서 유럽산 겨우살이를 이용한 60% 에탄올 추출물의 소거능이 약 0.37%에 못 미치는 것과 비교하

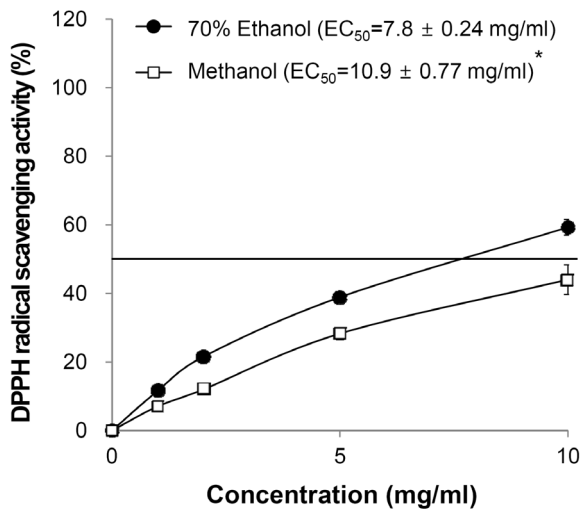


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of methanol and 70% ethanol extracts of Jeju camellia mistletoe (*Korthalsella japonica*). EC<sub>50</sub> means the effective concentration at which the antioxidant was 50%. Each value is expressed as mean on at which the \*statistically differences from methanol extract (p<0.05). L-ascorbic acid was used for the positive control (data not shown).

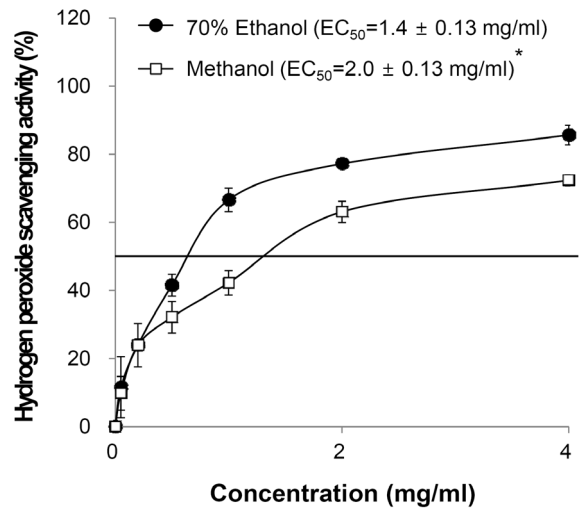


Fig. 2. Hydrogen peroxide scavenging of methanol and 70% ethanol extracts of Jeju camellia mistletoe (*Korthalsella japonica*). EC<sub>50</sub> means the effective concentration at which the antioxidant was 50%. Each value is expressed as mean on at which the \*statistically differences from methanol extract (p<0.05). L-ascorbic acid was used for the positive control (data not shown).

였을 때 본 연구에서의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거 활성이 우수함을 확인할 수 있었고, 이와 같이 유럽산 겨우살이와 제주 동백나무 겨우살이의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거 활성이 다르게 나타난 것은 겨우살이가 기생하는 숙주의 종 및 서식하는 환경의 차이 등에 의한 것으로 기인된다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거능에 대한 EC<sub>50</sub> 값을 환산하였을 때 70% 에탄올 추출물이 1.5 mg/ml, 100% 메탄올 추출물이 2.4 mg/ml로 70% 에탄올 추출물이 100% 메탄올 추출물에 비해 유의적인 소거능을 나타내었고( $p < 0.05$ )(Fig. 2), 본 연구의 다른 항산화 활성 실험 결과와 비교했을 때 가장 우수한 활성을 보였다(Fig. 2).

**Ferrous ion chelating 활성**

Free radical에 의한 체내 세포에서의 지질 및 단백질의 산화를 촉진하는 금속이온인자(Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 등)는 지방 산화반응에 촉매작용을 하여 금속이온 복합체를 형성함으로써 항산화 효과를 나타낸다[6]. Fe<sup>2+</sup>는 여러 금속이온 중 가장 강력한 산화촉진제로 ferrozine과 정량적으로 반응하여 붉은색을 띠는데 이때 킬레이트(chelate) 효과를 가진 물질이 존재하면 Fe<sup>2+</sup>-ferrozine complex 형성이 억제되어 발색이 저해되는 원리[3]를 이용하여 항산화 활성을 측정하였다.

용매별 동백나무 겨우살이 추출물의 ferrous ion chelating 활성을 측정한 결과는 Fig. 3에 나타난 것과 같이 농도가 증가함에 따라 chelating 활성이 증가하는 양상을 보였고, 용매 차이에 따른 chelating 활성을 비교하였을 때 70% 에탄올 추출물이 100% 메탄올 추출물과 비교하였을 때 비교적 높은 활성을 나타내었다(Fig. 3). 높은 chelating 활성을 보인 70% 에탄올

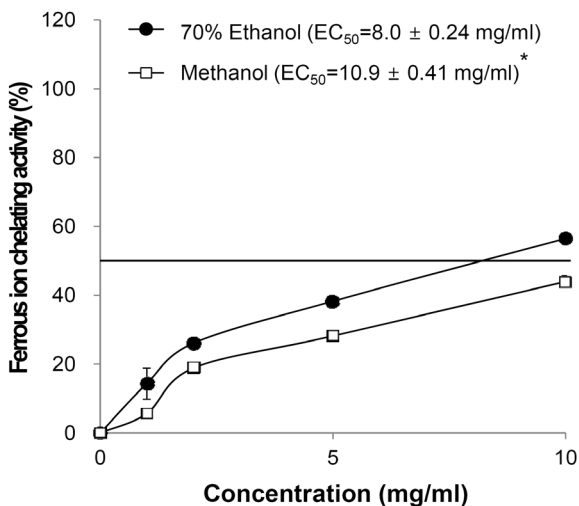


Fig. 3. Ferrous ion chelating of methanol and 70% ethanol extracts of Jeju camellia mistletoe (*Korthalsella japonica*). EC<sub>50</sub> means the effective concentration at which the antioxidant was 50%. Each value is expressed as mean on at which the \*statistically differences from methanol extract ( $p < 0.05$ ). L-ascorbic acid was used for the positive control (data not shown).

추출물(12.1%)과 양성대조군인 L-ascorbic acid의 활성(40.9%)을 동일 농도에서 비교하였을 때 약 3.4배의 차이를 확인할 수 있었으며, EC<sub>50</sub> 값을 통해 용매 간의 활성을 비교분석한 결과 100% 메탄올 추출물은 15.9 mg/ml, 70% 에탄올 추출물은 9.4 mg/ml로 70% 에탄올을 용매로 사용한 추출물에서 우수한 chelating 활성을 나타내었다( $p < 0.05$ )(Fig. 3).

유럽산 겨우살이의 chelating 활성 측정 결과 에탄올 추출물이 약 54% 활성을 나타낸 것[22]과 비교하였을 때 본 연구에서의 활성이 비교적 높은 것으로 보아 유럽산 겨우살이에 비해 국내산 겨우살이가 높은 활성을 가진다는 보고[8, 16]에 부합되는 결과를 보이고 있다. 또한 숙주 식물에 따른 겨우살이의 항산화 효능에 대한 연구에서[21] cocoa tree, cashew tree 겨우살이의 메탄올 추출물의 chelating 활성은 각 55%와 65%로 본 연구에서의 활성보다 비교적 높은 것으로 보았을 때 이는 겨우살이의 기생 숙주의 종의 차이와 서식지의 환경에 따른 차이에 따른 것으로 기인된다.

**환원력 측정**

환원력은 항산화 작용의 여러 기작 중에서 활성산소종 및 유기기에 전자를 공여하는 능력을 말하며, ferric-ferricyanide (Fe<sup>3+</sup>) 혼합물이 수소를 공여하여 free radical을 안정화시켜 ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>)로 전환하는 환원력을 흡광도 값으로 나타낸 것으로서[17], 높은 항산화 활성을 가지는 물질은 높은 흡광도 값을 나타낸다[7]. 동백나무 겨우살이의 환원력을 측정한 결과, Fig. 4에 나타난 것과 같이 농도의존적인 경향을 보였으나 각 농도별 용매에 따른 환원력의 차이가 크게 나타나지 않았

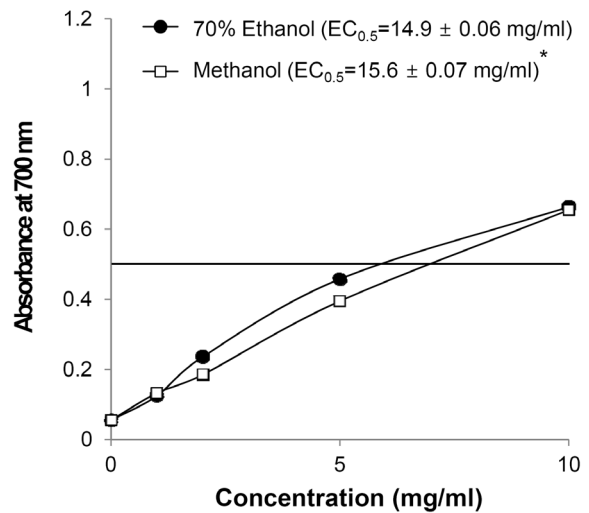


Fig. 4. Reducing power of methanol and ethanol extracts of Jeju camellia mistletoe (*Korthalsella japonica*). EC<sub>0.5</sub> means the effective concentration at which the absorbance was 0.5. Each value is expressed as mean on at which the \*statistically differences from methanol extract ( $p < 0.05$ ). L-ascorbic acid was used for the positive control (data not shown).

다(Fig. 4). 양성대조군으로 사용한 L-ascorbic acid의 흡광도 값(0.68)과 동일 농도(1 mg/ml)에서 추출물의 환원력(약 0.1)과 비교하였을 때 활성이 다소 낮게 나타났다. 흡광도 값이 0.5에 도달하기 위해 유효한 농도인 EC<sub>0.5</sub>로 나타내었을 때 메탄올 추출물은 15.6 mg/ml, 70% 에탄올 추출물은 14.9 mg/ml로 유의적 차이를 보여 70% 에탄올 추출물이 비교적 높은 환원력을 나타내었다( $p < 0.05$ )(Fig. 4).

환원력을 측정하는 ferric reducing antioxidant power (FRAP) 방법에 의한 겨우살이의 항산화능 측정 결과[30] 메탄올 분획물이 아세톤 분획물에 비해 약 10배에서 70배 이상의 높은 폴리페놀 함량을 보였으며, FRAP 활성을 측정한 결과에서도 같은 양상을 나타냄에 따라 이들의 상관관계를 분석한 결과, 메탄올 분획물의 총 폴리페놀 함량과 환원력 간의 상관관계수가 0.939로 측정되어 유의한 상관관계를 보임을 확인하였다. 이에 따라 본 연구에서 사용된 겨우살이 추출물의 기능성 성분과 환원력을 포함한 항산화 활성간의 상관관계에 대한 분석이 필요할 것으로 판단된다.

**기능성 성분과 항산화능 상관관계**

겨우살이의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 증가할수록 항산화 활성 또한 증가하는 것을 통해 동백나무 겨우살이에 포함된 기능성 성분과 항산화 활성간의 깊은 상관관계가 있을 것으로 판단되었고, 여타 연구결과들을 통해 겨우살이의 기능성 성분과 항산화 활성간의 높은 상관관계를 보이는 것을 확인할 수 있었다[8, 30]. 이에 따라 pearson correlation 방법을 이용한 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성(EC<sub>50</sub>, EC<sub>0.5</sub>)에 관한 상관관계를 분석하였다(Table 2).

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 증가함에 따라 항산화 활성을 나타내는EC<sub>50</sub> 및 EC<sub>0.5</sub> 값이 감소하는 경향을 보이고 있기 때문에 모두 음의 상관관계를 나타내고 있고, 각 상관관계수에 대한 절대값이 1에 가까워질수록 높은 상관관계를 나타낼 수 있다(Table 2).

총 폴리페놀 함량과 항산화 활성간의 상관관계수의 절대값은 모두 0.01 수준에서 유의함을 보여 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성간의 깊은 상관관계가 있음을 확인하였고( $p < 0.01$ ), 총 폴리페놀 함량과 환원력 간의 상관관계에서  $r^2 = -0.996$ 으로 가장 높은 상관관계를 보였다(Table 2). 총 플라보노이드 함량과 라

디칼 소거능(DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)간의 상관관계 또한 0.01 수준에서 유의함을 보였으며, chelating 활성 및 환원력에 대한 상관관계는 0.05 수준에서 유의함을 나타내었다.

겨우살이의 총 폴리페놀 함량과 환원력 간의 상관관계가 가장 높았던 반면에 총 플라보노이드 함량과 환원력 간의 상관관계수는 -0.881로 가장 낮은 수준을 보이는 것을 확인할 수 있었는데, 이는 겨우살이의 다양한 항산화 기작 중에 지질 산화 억제 효능보다는 라디칼 소거 활성에 상대적으로 효과적이라는 결과[27]와 일치하는 경향을 확인할 수 있다.

**감사의 글**

본 논문은 중소기업청에서 지원하는 2015년도 산학연협력 기술개발사업(No. C0345499)의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

**References**

1. Chae, J. W., Kong, H. J., Lee, M. J., Park, J. Y., Kim, J. H., Kim, Y. H., Lee, C. E. and Kim, K. H. 2010. The Anti-oxidant effect of extracts from the *Vaccinium oldhami*. *J. Life Sci.* **20**, 1235-1240.
2. Chang, C. S. and Hwang, S. Y. 2004. Effect of lipid metabolism in *Viscum album* lectin on rats. *Kor. J. Clinical Lab. Sci.* **36**, 131-136.
3. Chang, M. S., Park, M. J., Jeong, M. C., Kim, D. M. and Kim, G. H. 2012. Antioxidative activities and antibrowning effects of green tea extracts and propolis. *Kor. J. Food Cook. Sci.* **28**, 319-326.
4. Choi, K. and Hwang, K. H. 2008. Comparative study of main ingredients of Korean mistletoes depending on host plants. *Kor. J. Forest Soc.* **2008**, 139-140.
5. Hyon, J. S., Kang, S. M., Mahinda, S., Koh, W. J., Yang, T. S., Oh, M. C., Oh, C. K., Jeon, Y. J. and Kim, S. H. 2010. Antioxidative activities of extracts from dried Citrus sunki and C. unshiu peels. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 1-7.
6. Jeon, S. M., Kim, S. Y., Kim, I. H., Go, J. S., Kim, H. R., Jeong, J. Y., Lee, H. Y. and Park, D. S. 2013. Antioxidant activities of processed Deoduck (*Codonopsis lanceolata*) extracts. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 924-932.
7. Jeong, C. H., Kang, S. T., Joo, O. S., Lee, S. C., Shin, Y. H., Shim, K. H., Cho, S. H., Choi, S. G. and Heo, H. J. 2009. Phenolic content, antioxidant effect and acetylcholinesterase inhibitory activity of Korean commercial green, puer, oolong, and black teas. *Kor. J. Food Preserv.* **16**, 230-237.
8. Ju, M. J., Do, J. R., Kwon, J. H. and Kim, H. K. 2009. Physiological activities of mistletoe extracts from *Viscum album* L. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 529-534
9. Kang C. S., Lee, M. J., Park, C. B. and Bang, I. S. 2012. Study on the antioxidative and physiological activities of *Saururus chinensis* Extract. *J. Life Sci.* **22**, 807-814.
10. Kang, D. H. and Kim, M. Y. 2015. Comparative phenolic composition and antioxidant properties of honey and hon-

Table 2. Correlation coefficients between antioxidant compounds and antioxidant activities of Jeju camellia mistletoe

	DPPH <sup>3)</sup>	HP <sup>4)</sup>	FIC <sup>5)</sup>	RP <sup>6)</sup>
TPC <sup>1)</sup>	-0.981**	-0.986**	-0.995**	-0.996**
TFC <sup>2)</sup>	-0.926**	-0.922**	-0.886*	-0.881*

<sup>1)</sup>TPC (total phenolic contents); <sup>2)</sup>TFC (total flavonoid contents); <sup>3)</sup>DPPH (DPPH radical scavenging activity); <sup>4)</sup>HP (hydrogen peroxide scavenging activity); <sup>5)</sup>FIC (ferrous ion chelating activity); <sup>6)</sup>RP (reducing power).

- eycomb extracts. *J. Life Sci.* **25**, 1169-1175
11. Khwaja, T. A., Varven, J. C., Pentecost, S. and Pande, H. 1980. Isolation of biologically active alkaloids from Korean mistletoe *Viscum album coloratum*. *Cell Mol. Life Sci.* **36**, 599-600.
  12. Kim, E. J., Choi, J. Y., Yu, M. R., Kim, M. Y., Lee, S. H. and Lee, B. H. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **44**, 337-342
  13. Kim, I. B., Jeong, J. S., Yoon, T. J. and Kim, J. B. 2013. Safety evaluation of Korean mistletoe extract. *Kor. J. Food Nutr.* **26**, 383-390.
  14. Kim, J. H., Lee, S. Y., Kwon, O. J., Park, J. H. and Lee, J. Y. 2013. Anti-aging and anti-diabetes effects of *Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum* extracts. *J. Life Sci.* **23**, 616-621.
  15. Kim, Y., S. Mahinda, Koh, K., Jeon, Y. and Kim, S. 2009. Reactive oxygen species scavenging activity of Jeju native citrus peel during maturation. *Kor. J. Soc. Food Sci Nutr.* **38**, 462-469.
  16. Lee, H. J., Do, J. R., Kwon, J. H. and Kim, H. K. 2010. Antioxidant effects of *Viscum album* L. extracts by extraction conditions. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 14-19.
  17. Lee, J. B., Park, H. K., Lee, J. S. and Kim, M. H. 2011. Studies on antioxidant activity, total flavonoids and polyphenols, and reducing power in Yakju with different ratios of dandelion root. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **21**, 882-887.
  18. Lee, J. E., Kim, J. H. and Kim, M. Y. 2015. Changes in phenolic composition, antioxidant and antidiabetic properties of Jeju *Citrus sudachi* as influenced by maturity. *J. Life Sci.* **25**, 1311-1318.
  19. Lee, J. Y., Ko, S. H., Moon, S. J., Yu, J. H. and Kim, S. W. 2013. Investigation of forest therapeutic function according to the antioxidant activity and total phenolics in magnoliaceae flower. *Kor. Institute Forest Reaction Welfare.* **17**, 81-86.
  20. Lee, S. J., Lee, M. K., Choi, G. P., Kim, N. Y., Roh, S. K., Heo, M. Y., Kim, J. D., Lee, H. Y. and Lee, J. H. 2003. Inhibitory effect of Korean mistletoes on the oxidative DNA damage. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **11**, 89-96.
  21. Oluwaseun, A. A. and Ganiyu, O. 2008. Antioxidant properties of methanolic extracts of mistletoes (*Viscum album*) from cocoa and cashew trees in Nigeria. *African J. Biotech.* **7**, 3138-3142.
  22. Papuc, C., Crivineanu, M., Goran, G., Nicorescu, V. and Durdun, N. 2010. Free radicals scavenging and antioxidant activity of European mistletoe (*Viscum album*) and European birthwort (*Aristolochia clematidis*). *Rev. Chem.* **61**, 619-622.
  23. Park, J. H., Ji, S. T., Hyun, C. K., Chin, K. B. and Shin, H. K. 2000. Investigation of *in vitro* antigenotoxic effect of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) using Comet assay. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 461-468.
  24. Park J. H., Kang, B. W., Kim, J. E., Seo, M. J., Lee, Y. C., Lee, J. H., Joo, W. H., Choi, Y. H., Lim, H. S., Jeong, Y. K. and Lee, B. K. 2008. Effect of ethanol extract from peel of *Citrus junos* and *Concirus trifoliata* on antioxidant and immune activity. *J. Life Sci.* **18**, 403-408.
  25. Seo, J. H., Choi, Y. H., Kim, J. S., Kim, S. K., Choi, S. H., Kim, Y. S., Kim, Y. K., Kim, S. H. and Ryu, S. Y. 2004. Active principles of the methanol extract of korean mistletoe responsible for the inhibitory effect on the proliferation of human tumor cell lines. *Kor. J. Phar.* **35**, 134-138.
  26. Shin, J. H., Lee, S. J., Seo, J. K., Cheon, E. W. and Sung, N. J. 2008. Antioxidant activity of hot-water extract from yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) peel. *J. Life Sci.* **18**, 1745-1751.
  27. Song, H. S., Park, Y. H., Kim, S. K., Moon, W. K., Kim, D. W. and Moon, K. Y. 2004. Downregulatory effect of extracts from mistletoe (*Viscum album*) and pueraria root (*Pueraria radix*) on cellular NF- $\kappa$ B activation and heir antioxidant activity. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1594-1600.
  28. Vicass, S., Rugina, D., Sconta, Z., Pintea, A. and Socaciu, C. 2011. The *in vitro* antioxidant and anti-proliferative effect and induction of phase II enzymes by a mistletoe (*Viscum Album*) extract. *Bulletin UASVM. Agri.* **68**, 482-491.
  29. Vicaș, S. I., Rugină, D. and Socaciu, C. 2011. Comparative study about antioxidant activities of *Viscum album* from different host trees, harvested in different seasons. *J. Med. Plants Res.* **5**, 2237-2244.
  30. Vicas, S., Prokisch, J., Rugina, D. and Socaciu, C. 2009. Hydrophilic and lipophilic antioxidant activities of mistletoe (*Viscum album*) as determined by FRAP method. *Notulae Botanicae Horti. Agrobotanici Cluj-Napoca.* **37**, 112.
  31. Yoon, T. J., Yang, W. S., Park, S. M., Jung, H. Y., Lee, A. N., Jung, J. H., Kang, T. B., Yoo, Y. C. and Kim, J. B. 2009. *In vivo* toxicity and immunoadjuvant activity of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract fermented with lactobacillus. *Kor. J. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 560-565.

**초록 : 제주 동백나무 겨우살이의 용매별 기능성 성분 및 항산화 작용**

강다희<sup>1\*</sup> · 박은미<sup>1\*</sup> · 김지혜<sup>1</sup> · 양정우<sup>2</sup> · 김정현<sup>3</sup> · 김민영<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>제주대학교 생명자원과학대학 바이오소재전공 독성학 실험실, <sup>2</sup>동백사랑 영농조합법인, <sup>3</sup>제주관광대학교)

본 연구에서는 제주에서 자생하는 동백나무 겨우살이의 용매별 기능성 성분 및 항산화 활성에 대한 평가를 시행하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과 모두 70% 에탄올 추출물에서 높은 함량을 보였다. DPPH, hydrogen peroxide 소거능, ferrous ion chelating, 환원력을 통해 항산화 활성을 측정하고 이를 EC<sub>50</sub> 및 EC<sub>0.5</sub>로 나타낸 결과 모든 실험에서 70% 에탄올을 용매로 사용한 겨우살이 추출물에서 높은 활성을 나타내었다. 상기의 결과를 통하여 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성간의 깊은 관련성을 예상해볼 수 있었고 이를 상관관계를 통해 분석해 본 결과, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성이 0.01 및 0.05 수준에서 유의한 상관관계를 보임을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들을 통해 잠재적 항산화제로서의 제주산 동백 겨우살이의 가능성이 있다고 판단되어 향후 구체적인 연구가 필요하다고 사료된다.