목재공학 2017, 45(1): 96~106
J. Korean Wood Sci. Technol. 2017, 45(1): 96~106
pISSN: 1017-0715 eISSN: 2233-7180
https://doi.org/10.5658/WOOD.2017.45.1.96

원저(Original Article)

새덕이 잎 정유의 성분분석 및 항산화활성 평가[1]

정 민 지[2] · 양 지 윤[2] · 최 원 실[3] · 김 재 우[2] · 김 석 주[2] · 박 미 진[2,†]

Chemical Compositions and Antioxidant Activities of Essential Oil Extracted from *Neolitsea aciculata* (Blume) Koidz Leaves[1]

Min-Ji Jeong[2] · Jiyoon Yang[2] · Won-Sil Choi[3] · Jae-Woo Kim[2] · Seok Ju Kim[2] · Mi-Jin Park[2,†]

요 약

본 연구는 hydrodistillation 방법으로 추출한 새덕이 잎 정유의 화학적 조성과 항산화활성을 조사하였다. 새덕이 잎 정유의 화학적 조성은 GC/MS로 분석하였다. 새덕이 잎 정유의 주요 구성성분은 cis-ocimene (11.00%), trans-ocimene (9.65%), elemol (9.15%), β-elemene (8.75%), germacrene-D (7.55%), trans-caryophyllene (5.90%), γ-elemene (5.40%), τ-muurolol (4.95%)인 것으로 나타났다. 새덕이 잎 정유의 항산화 활성은 총 페놀함량 분석, DPPH radical 소거활성, ABTS radical 소거활성, ferric reducing antioxidant power (FRAP) 분석을 통해 평가하였다. 정유의 총 페놀 함량은 136.7 ± 0.13 mg GAE/g으로 분석되었으며, 50% DPPH radical을 소거하는데 필요한 정유의 효과 농도(EC_{50} value)는 639.33 μg/mℓ로 나타났다. 또한, ABTS radical 소거활성은 농도 의존적으로 나타났으며, FRAP value는 31.21 ± 0.12 μM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$/g이었다. 이러한 결과는 새덕이 잎 정유가 건강에 대해 중요한 이점과 기능을 가질 수 있는 항산화 활성을 가지고 있다는 것을 제안한다.

ABSTRACT

This study aims to identify the chemical compositions and antioxidant activities of essential oil, extracted from the leaves of *Neolitsea aciculata* (Blume) Koidz by the hydrodistillation method. To the end, the chemical composition of *N. aciculata* leaf oil was firstly analyzed through GC/MS. The major constituents of essential oil were found to be: cis-ocimene (11.00%), trans-ocimene (9.65%), elemol (9.15%), β-elemene (8.75%), germacrene-D (7.55%), trans-caryophyllene (5.90%), γ-elemene (5.40%) and τ-muurolol (4.95%). Then, the antioxidant potential of the essential oil was evaluated by the methods of total polyphenolic content (TPC) assay, DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power (FRAP). It was estimated that the total polyphenolic content of the oil was 136.7 ± 0.13 mg GAE/g and the efficient concentration of the oil required to scavenge

[1] Date Received December 9, 2016, Date Accepted December 30, 2016
[2] 국립산림과학원 임산공학부 화학미생물과. Division of Wood Chemistry & Microbiology, Department of Forest Resources Utilization, National Institute of Forest Science, Seoul 02455, Republic of Korea
[3] 서울대 NICEM. National Instrumentation Center for Environmental Management, Seoul National University, Seoul 08826, Republic of Korea
† 교신저자(Corresponding author): 박미진(e-mail: lionpmj@korea.kr)

50% DPPH radicals (EC_{50} value) was 639.33 μg/mℓ. Also, ABTS radical scavenging activity was identified to be concentration dependent, while the FRAP value was 31.21 ± 0.12 μM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$/g. Such figures, as a result, suggest that the essential oil extracted from the leaves of *N. aciculata* has its antioxidant activity, which can serve as significant health functional benefits.

Keywords : *Neolitsea aciculata*, essential oil, antioxidant effect, hydrodistillation

1. 서 론

현대인들의 건강한 삶에 대한 관심 증대와 더불어 면역, 노화억제 등의 질병 예방에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다. 노화는 점진적으로 생리적 기능을 저하시켜 질병을 일으키는 주요 요인으로 알려져 있다. 노화로 인해 발생하는 현상의 메커니즘을 가장 잘 설명한다고 받아들여지고 있는 것 중 하나는 free radical 이론이다. Free radical 이론은 시간이 흘러 나이가 들어감에 따라 체내 산화제와 항산화제의 불균형이 발생하며, 그로 인해 산화 스트레스가 증가하고 세포 기능의 조절이 어려워진다는 학설이다. 체내에 잔존하는 free radical 및 활성산소들은 피부노화, 염증, 암 등의 각종 성인병을 일으키는 요소로 작용한다(Wickens, 2001; Lee *et al*., 2015; Lee, 2011). 그 결과 항산화 활성을 비롯하여, 기존 항산화 성분인 비타민 C, 비타민 E, 플라보노이드(flavonoid) 등에도 관심이 증대되고 있다. 최근 이러한 항산화 성분의 천연물 유래 개발 연구에 대한 관심이 높아지면서 합성 원료가 아닌 천연물로부터 항산화 물질을 탐색하기 위한 노력들이 계속되고 있다(Kim *et al*., 2011A).

천연물은 대부분 식물, 동물, 미생물의 2차대사산물과 1차대사산물의 일부 등으로 이루어져 있으며, 식물에는 항산화 활성을 갖는 물질들이 많이 함유되어 있다. 식물에 함유되어 있는 방향성이 강한 물질인 정유(essential oil)는 식물의 특성에 따라 성분조성 및 성분함량 등이 다르고, 이로 인해 보이는 약리활성이 각각 다르다(Kim, 2011). 티트리 오일은 여드름을 유발하는 균의 성장을 억제시키는 항균활성을 보이며 이를 통한 피부 개선 및 모공 개선 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(Kim *et al*., 2013). 라벤더 오일은 여드름 억제뿐만 아니라 스트레스 저감 및 심신 안정 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 아로마테라피의 용도로 널리 사용되고 있다(Holmes and Ballard, 2004). 정유가 가지는 항균 작용과 항산화 활성 등에 대한 관심이 높아지면서, 현재 다양한 식물 정유들이 식품 및 화장품 업계에 천연 향신료, 천연 방부제 및 감미료로서 이용되고 있다(Kim, 2011; Kim *et al*., 2013; Holmes and Ballard, 2004; Lin *et al*., 2007).

각 수종마다 고유의 강한 향을 가진 녹나무과 식물은 온난한 기후에서 자라는 난대성 상록교목으로, 열대와 아열대를 중심으로 약 2,000여 종이 분포하고 있다. 녹나무과 식물은 그 향이 매우 강하여 오래전부터 향료로 사용되어 왔다. 한국에 생육하는 녹나무과 식물은 8속 16종으로, 새덕이를 비롯하여 녹나무, 생달나무, 센달나무, 참식나무, 육박나무 등을 포함하고 있다. 녹나무과 참식나무속 식물인 새덕이는 제주도, 비진도, 완도, 보길도에 주로 분포하고 있다(Shin *et al*., 2006; Takeda *et al*., 1968; Yano *et al*., 1992). 새덕이로부터 추출한 정유는 독특한 향 특성에 의해 오래전부터 비누 제조 시 첨가되어 향을 내는 용도로 사용되어 왔다. 새덕이 정유는 향 특성뿐만 아니라 여러 효능이 있는 것으로 보고되고 있다. 새덕이 정유가 약제에 내성을 가진 병원균의 성장을 억제시키고(Kim *et al*., 2011C), 여드름을 유발하는 박테리아로 알려진 *Propionibacterium acnes*에 의해 유발되는 염증을 억제시킨다고 알려진 바 있다(Kim, 2011). 또한, 새덕이 추출물은 tyrosinase를 억제하는 활성을 가진 것으로 밝혀져 미백효능을 가지는 것으로 알려져 있다(Kim *et al*., 2013). 방향성이 강한 새덕이의 경우 식물 유래 천연 향료로 식품이나 화장품 등에 적용 가능성이 높음에도 불구하고 많은 연

구가 이루어져 있지 않아 새덕이의 이용가능성을 알아보기 위한 연구가 필요하다고 사료된다.

본 연구에서는 국내에 식재되어 있는 녹나무과 참식나무속인 새덕이의 잎 부위로부터 정유를 추출하여 주요 성분을 GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy)로 분석하여 구성성분에 대한 기초자료를 획득하고, 항산화 활성 정도를 조사하여 새덕이 잎 정유의 이용성 및 부가적 가치를 확인하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

본 연구에서 사용된 시험재료는 새덕이(*Neolitsea aciculata* (Blume) Koidz) 잎으로, 2016년 3월경 제주도 서귀포시에 위치한 국립산림과학원 난대아열대산림연구소 시험림에서 채취하였으며, 채취한 잎은 곧바로 4℃ 이하에서 냉장 보관하였고, 정유 추출을 시작하기 전에 잘게 자른 후 시험 재료로 사용하였다.

2.2. 정유 추출 및 수율 분석

정유(essential oil) 추출은 hydrodistillation법으로 추출하였다. 10 ℓ 둥근 플라스크에 약 1 kg의 새덕이 잎과 6 ℓ의 증류수를 첨가하고 가열용 맨틀(MS-DM608 heating mantle, MTOPS®, Yangju, Korea)을 이용하여 가열하였으며, 가열 온도는 102 ± 1℃로 설정하였다. 열에 의해 휘발된 증기는 냉각관에서 응축시킨 후 dean stark trap에서 수집하였다. 물과 정유가 응축되어 있는 트랩에서 물을 제거하여 정유를 얻었다. 물과 분리하여 얻은 정유는 무수아황산나트륨(sodium sulfite anhydrous)을 사용하여 수분을 제거하고 4℃에서 냉장 보관하였다. 추출된 정유의 수율은 다음의 공식에 의하여 계산하였다.

$$\text{EOs}^{1)}\ \text{Yield}\ (\%) = \frac{\text{EOs extractable content}\ (\text{m}\ell)\ /\ \text{Sw}^{2)}\ (\text{g})}{\times\ 100\ (\%)}$$

[1] EOs: Essential Oils

[2] Sw: Oven Dry Weight of Sample

2.3. 정유 성분 정성 및 정량 분석

내부 표준물질 용액은 n-헵탄올(n-heptanol)과 n-테트라데칸산메틸에스터(n-tetradecanoate methyl ester)를 메탄올(methanol)과 디클로로메탄(dichloromethane)의 혼합액(3 : 1, v/v)에 녹여 제조하였다. 액상의 시료를 내부 표준물질 용액으로 균질화하여 분석 시료액을 제조하였으며, 정량을 위한 외부 표준물질 용액은 표준물질을 취하여 내부 표준물질 용액으로 균질화해 표준물질 원액을 제조하였으며, 분석 시 농도는 1-1,000 ppm 수준이 되도록 제조하였다.

새덕이 잎 정유 성분 분석은 GC/MS 장비(Trace 1310/ISQ-LT, Thermo Fisher Scientific, USA)로 수행하였다. 컬럼은 DB-5MS 모세관 컬럼(길이 60 m, 내부직경 0.25 mm, 코팅필름 두께 0.25 μm; Agilent)을 사용하였다. 1 μℓ의 시료를 250℃ 주입구에 20 : 1 분할비로 주입하였으며 운반 가스는 헬륨(helium)으로 사용하였다. 오븐 온도는 최초 50℃에서 5분간 유지하고 10℃/min로 65℃까지 승온 후 30분 유지, 5℃/min로 120℃까지 승온 후 15분 유지, 1℃/min으로 140℃까지 승온 후 11분 유지, 10℃/min로 250℃까지 승온 후 5분 유지, 20℃/min으로 325℃까지 승온 후 6분 유지하였다.

화합물의 검출은 질량분석기로 하였고 인터페이스와 이온소스의 온도는 각각 250℃로 하였다. 질량스펙트럼은 EI-positive 스캔 범위 35～550 *m/z*로 0.2 scans · s^{-1}의 속도로 TIC를 획득하였다.

시료에 존재하는 물질들 중 표준물질이 확보되지 않은 물질들(cis-ocimene, elemol, germacrene-D, γ-elemene, τ-muurolol, γ-eudesmol, germacrene-B, β-farnesene, α-cadinol, τ-cadinol, β-cubebene, α-muurolene, β-muurolene, γ-muurolene, δ-cadinol, veridiflorol, α-fenchene)의 정성은 시료의 TIC (total-ion chromatogram)에서 S/N 비율 100 이상의 피크들의 질량스펙트럼을 NIST 11 (National Institute of Standards and Technology, USA) mass spectral library와 비교하여 수행하였다. 이때 NIST library-search 프로그램의 match 값이 가장 높은 것을 선택하여 monoterpene류와 sesquiterpene류를 중점적으로

확인하였고 피크들의 RT (retention time)와 비교 확인된 화합물명을 목록화하였다.

시료에 존재하는 화합물들의 정량은 각 피크의 질량스펙트럼을 정성한 다음 내부표준물질 피크의 면적과 목적 화합물 피크의 면적비율과 농도간의 직선적 상관성을 이용한 내부표준물질 정량법을 통하여 정량하였다.

2.4. 총 페놀함량 분석

총 페놀함량(total phenolic content)은 Folin-Denis 법(Gutfinger, 1981)을 개량하여 측정하였다. 새덕이 잎 정유 100 μℓ에 2N Folin-Ciocalteu (Sigma-aldrich Co. LLC, St. Louis, MO, USA) 500 μℓ를 넣고 상온에서 5분간 반응시킨 후, 7.5% Na_2CO_3 용액 400 μℓ를 가하여 암실에서 1시간 동안 상온 반응시켰다. 반응이 끝난 시료를 분광 광도계(Epoch™ Multi-Volume multi-sample spectrophotomer system, Biotek, Winooski, USA)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank로 에탄올을 사용하였으며, gallic acid (Sigma-aldrich Co. LLC, St. Louis, USA)를 에탄올(ethanol)에 희석하여 0～100 μℓ/mℓ의 농도로 제조하고 시료와 동일한 방법으로 분석하여 표준 검량선을 작성하였다. 이러한 검량선을 이용하여 갈산당량가(equivalent gallic acid, mg GAE/g)로 정유 시료의 총 페놀함량을 산출하였다.

2.5. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical 소거활성

DPPH radical 소거활성은 Brand-Williams의 방법(Brand-Williams *et al*., 1995)을 개량하여 DPPH에 대한 전자공여활성(electron donating ability, EDA)으로 나타내었다. 먼저, 메탄올에 6개의 다른 농도(100, 200, 400, 600, 800 및 1,000 μg/mℓ)로 용해시킨 새덕이 잎 정유 800 μℓ를 메탄올로 용해시킨 0.15 mM DPPH solution 200 μℓ (Sigma-aldrich Co. LLC, St. Louis, MO, USA)와 혼합한 다음 암실에서 30분간 상온 방치하였다. 분광 광도계(Epoch™ Multi-Volume multi-sample spectrophotomer system, Biotek, Winooski, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank로는 메탄올을 사용하였으며, 대조화합물로는 ascorbic acid를 사용하였다. 모든 측정은 3회 반복 수행하였다.

DPPH radical 소거활성은 다음 식 (1)에 의거하여 산출하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = [(A_{Blank}{}^{1)} - A_{Sample}{}^{2)}) / A_{Balnk}] \times 100 \cdots\cdots (1)$$

[1)] A_{Blank}: Absorbance of methanol

[2)] A_{Sample}: Absorbance of sample

DPPH free radical의 50%를 소거시키는데 필요한 정유의 농도인 EC_{50} (the term half maximal effective concentration) 값도 조사하였다.

2.6. ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical 소거활성

ABTS radical 소거활성 측정은 Re *et al*. (1999)의 방법을 변형하여 사용하였다. ABTS가 과황산칼륨(potassium persulfate)에 의해 전자를 잃게 되면 짙은 청녹색을 띄지만, 항산화 물질의 전자공여능으로 그 색이 옅어진다. ABTS radical 소거활성 측정 실험은 이러한 ABTS의 색 변화를 관찰하여 항산화능을 측정하는 탈색(decolorization) 방법이다. 7.4 mM ABTS와 2.45 mM 과황산칼륨을 섞고, 16～24시간 동안 상온의 암소에서 방치하여 ABTS 양이온($ABTS^+$)을 형성시킨다. 그 후, 이 용액을 734 nm에서 흡광도가 1.5 이하가 되도록 메탄올을 이용하여 희석하였다. ABTS 메탄올 희석용액 190 μℓ와 메탄올로 희식시킨 새덕이 잎 정유(100, 200, 400, 600, 800 및 1,000 μg/mℓ) 10 μℓ를 혼합하여 30분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 시료를 녹인 용매인 메탄올을 대조군으로 하였으며, 식 (1)에 의하여 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

모든 측정은 3회 반복 수행하였다.

2.7. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay

FRAP 측정은 Benzie-Strain (Benzie and Strain, 1999)의 방법을 따랐다. FRAP 시약은 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 증류수에 용해시킨 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 40 mM HCl에 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ)을 각각 10 : 1 : 1 (v/v/v)의 비율로 혼합하여 37℃에서 10분간 가온한 뒤 사용하였다. 새덕이 잎 정유 시료와 FRAP 시약을 혼합하여 암실에서 30분간 상온 반응시켜 준 뒤, 분광 광도계(Epoch^{TM} Multi-Volume multi-sample spectrophotomer system, Biotek, Winooski, USA)를 사용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. FRAP value는 Iron(II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)를 표준물질로 하여 얻은 표준검량선으로부터 계산하였으며, 2가철 당량(Fe(II) equivalent, μM/g)으로 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 정유의 수율

Hydrodistillation 법을 이용하여 새덕이 잎에서 정유를 추출한 결과, 0.28 ± 0.09%의 수율을 나타내었다. 수증기 증류를 통해 추출한 새덕이 정유의 경우 0.11～0.19% 수율을 얻는 것으로 보고된 결과에 비해(Kim, 2011; Lim *et al*., 2008), 약 1.5～2.5배 높은 수준이다. Steam distillation, hydrodistillation, microwave-assisted extraction, supericritical CO_2 추출법 등의 다양한 추출방법에 따라 정유의 수율 차이가 발생 할 수 있다고 알려져 있다(Bendahou *et al*., 2008; Lucchesi *et al*., 2004; Khajeh *et al*., 2004). Bendahou *et al.* (2008)의 보고에 의하면 *Origanum glandulosum*으로부터 hydrodistillation, microwave-assisted extraction 및 solvent-free microwave extraction 방법을 이용하여 정유를 추출한 결과, 추출된 정유의 수율은 hydrodistillation의 경우 4.8%, solvent-free microwave extraction법의 경우 3.3%, microwave-assisted extraction법의 경우 1.0%라고 하였다. 따라서 새덕이 잎으로부터 얻을 수 있는 정유 수율의 차이에 대해 추출법이 하나의 요인으로서 작용했을 것으로 사료된다.

3.2. 정유의 화학적 조성

새덕이 잎 정유의 구성성분 분석 및 정량 분석은 GC/MS 분석을 통해 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 Table 1에 나타내었다. 녹나무과 참식나무속인 새덕이의 잎 정유는 주로 monoterpnene과 sesquiterpene으로 구성되어 있는 것으로 나타났다. Monoterpene류가 약 28.3%, sesquiterpene류가 약 48.2%를 차지하였으며, sesquiterpene류가 monoterpene류의 화합물에 비해 약 1.7배 함유비율이 높은 것으로 나타났다. Lim *et al.* (2008)은 새덕이 잎 정유의 monoterpene류가 30.19%, sesquiterpene류가 31.82%로, 그 함유비율이 유사하다고 밝혀 본 연구 결과와 차이가 있었다.

새덕이 잎 정유의 주성분은 cis-ocimene (11.00%), trans-ocimene (9.65%), elemol (9.15%), β-elemene (8.75%), germacrene-D (7.55%), trans-caryophyllene (5.90%), γ-elemene (5.40%), τ-muurolol (4.95%)으로 분석되었다. Ocimene 성분의 경우 전체 정유의 21.68%로 가장 많이 존재하였으며, 다음으로 elemol이 큰 비중을 차지하였다. 주성분들이 전체 정유의 62.35%로 절반 이상을 차지하는 것으로 나타났다. Komae and Hayashi (1972)에 의하면 일본산 새덕이 잎 정유의 주성분은 β-selinene (22.9%), caryophyllene (13.4%), trans-ocimene (9.5%), β-elemene (5.3%)이라고 하였다. 또한, Kim *et al.* (2011C)에 의하면 한국산 새덕이 잎 정유의 주성분은 dodecen-5-yne (12.5%), calarene (11.8%), elemol (9.5%)라고 하였다. 이러한 연구결과는 본 연구결과와 비교하여, 새덕이 잎 정유의 주성분의 함량뿐만 아니라 주성분의 종류가 다르게 나타났다.

식물 정유의 경우 같은 수종일지라도 채집한 시기

Table 1. Content of the Major Constituents of *Neolitsea aciculata* Leaf Oil

Chemotype	Component Name	*Content (%)*
Monoterpene	1,8-Cineole	0.20
	α-Phellandrene	0.15
	α-Pinene	0.05
	β-Pinene	0.05
	Limonene	0.05
	Linalool	0.75
	Myrcene	0.15
	Sabinene	0.10
	α-Fenchene	0.25
	cis-Ocimene	11.00
	trans-Ocimene	9.65
	trans-Caryophyllene	5.90
Sesquiterpene	β-Elemene	8.75
	β-Eudesmol	2.35
	Caryophyllene oxide	0.10
	Leden	1.20
	α-Cadinol	0.90
	α-Muurolene	0.55
	β-Cubebene	0.60
	β-Farnesene	1.15
	δ-Cadinol	0.35
	Elemol	9.15
	γ-Elemene	5.40
	γ-Eudesmol	1.60
	γ-Muurolene	0.40
	Germacrene-B	1.55
	Germacrene-D	7.55
	β-Muurolene	0.50
	τ-Cadinol	0.85
	τ-Muurolol	4.95
	Veridiflorol	0.30

(계절)와 부위에 따라 그 성분의 차이가 매우 크며 (Hwang *et al*., 2013), 개체별, 서식지별 차이에 의한 구성성분 차이가 있음이 보고되고 있다(Komae and Hayashi, 1972). 또한, 추출방법 차이에 따라서도 구성성분의 차이가 발생한다고 하였다(Bendahou *et al*., 2008; Lucchesi *et al*., 2004; Khajeh *et al*., 2004). 따라서 선행연구와의 성분차이에는 여러 영향 인자가 기인하는 것으로 사료된다.

3.3. 총 페놀함량(TPC)

새덕이 잎 정유가 가지는 항산화 활성에 대해 알

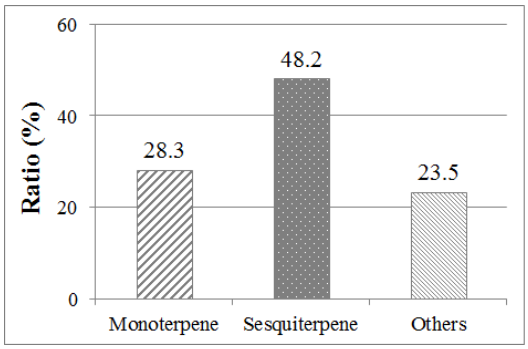

Fig. 1. Chemical compositions of essential oils from leaves of *Neolitsea aciculata* by GC-MS analysis.

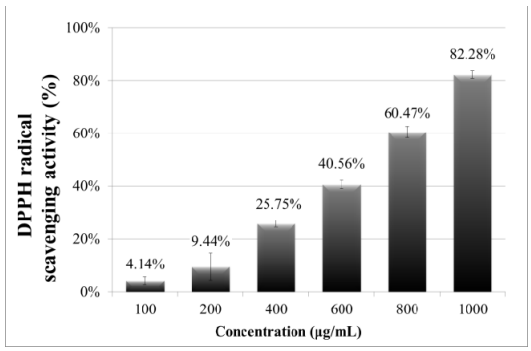

Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of essential oils from leaves of *Neolitsea aciculate.*

아보기 전에, 항산화 활성을 가진 것으로 알려진 페놀성 화합물의 함량을 조사하였다(Kang *et al*., 2002). 총 페놀함량 분석은 phosphomolybdic acid와 반응하면 청색으로 발색되는 Folin-Ciocalteau 시약을 사용하였으며, 그 값은 갈산 당량가(gallic acid equivalent, mg GAE/g)로 표시하였다($R^2 = 0.9959$). 새덕이 잎 정유의 총 페놀함량을 측정한 결과, 새덕이 잎 정유의 총 페놀함량은 136.7 ± 0.13 mg GAE/g으로 나타났다. 항산화 활성을 가진다고 알려진 black cumin seed 정유의 경우 페놀의 함량이 28.2 mg GAE/g이고(Erkan *et al*., 2008), 바질, 레몬, 오렌지, 소나무, 장미나무 등의 시판되는 42종 정유의 페놀함량이 8 mg GAE/g 이하인 것에 비하면(Wang *et al.*, 2008) 새덕이 잎 정유의 페놀함량이 매우 높은 것으로 분석되었다.

3.4. DPPH radical 소거능

새덕이 잎 정유의 항산화 활성을 알아보기 위해 DPPH assay를 수행하였다. 본 연구에서는 새덕이 잎 정유의 성분이 radical을 뺏거나 전자를 공여하는 등의 radical 소거 기작을 통해 free radical의 전자적 안정감을 주는 항산화 소재로 이용이 가능한지를 알아보았다(Kim *et al*., 2011B). 천연 항산화제로 널리 알려져 있는 ascorbic acid를 대조구로 한 새덕이 잎 정유의 radical 소거능에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 새덕이 잎 정유는 농도 의존적으로 DPPH free radical 소거능이 증가하는 것으로 나타났으며, DPPH radical을 50% 소거하는데 필요한 효과 농도인 EC_{50} 값은 639.33 μg/mℓ로 나타났다(Table 2). Erkan *et al.* (2008)은 black cumin seed 정유의 경우 EC_{50} 값이 515 μg/mℓ라고 밝혔으며, Wang *et al.* (2008)에 의하면 타임레드 정유, 서양톱풀 정유, 자스민 정유의 EC_{50} 값이 약 1,000 μg/mℓ라고 하였다. 또한 Bendif *et al.* (2016)은 로즈마리 잎 정유의 경우 EC_{50} 값이 2,775 μg/mℓ라고 밝혔다. 따라서 새덕이 잎 정유의 free radical 소거능은 타임레드, 서양톱풀, 자스민, 로즈마리 잎 정유보다 우수한 것으로 나타났다.

3.5. ABTS radical 소거능

새덕이 잎 정유의 항산화 활성 정도를 측정하기 위해 ABTS assay를 수행하였다. ABTS radical 소거활성은 산화유도제인 과황산칼륨과 반응하여 형성된 ABTS 양이온이 시료의 항산화 물질에 의해 제거될 때 일어나는 탈색 반응을 이용하여 물질의 항산화 능력을 측정하는 방법이다. 새덕이 잎 정유의 ABTS radical 소거능은 Fig. 3과 같다. 새덕이 잎 정유의 100, 200, 400, 600, 800 및 1,000 μg/mℓ 농도에서 ABTS radical 소거활성은 각각 6.47%, 7.71%, 16.19%, 19.33%, 21.34% 및 31.80%로 증가하는 경

Table 2. DPPH Free Radical Scavenging Activity and FRAP Value of Essential Oil from *Neolitsea aciculata* Leaves

	EC_{50} [1] (DPPH radical scavenging)	FRAP value (Ferric reducing antioxidant power)
N. aciculata	639.33 ± 0.12 μg/mℓ	31.21 ± 0.01 μM/g
Ascorbic acid	7.49 ± 0.20 μg/mℓ	80.16 ± 0.20 μM[2]

[1] EC_{50} value: The effective concentration for 50% DPPH free radical scavenging.
[2] Ascorbic acid concentration: 1mM

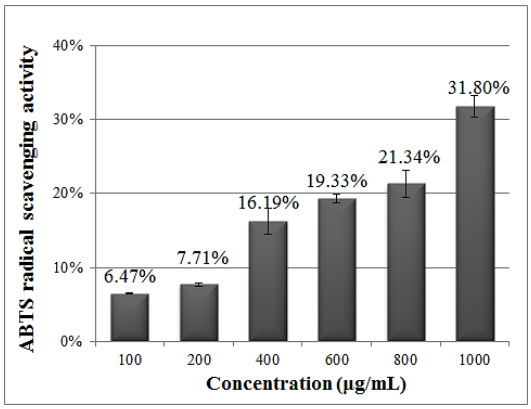

Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of essential oils from leaves of *Neolitsea aciculate.*

향이 나타났다. 이러한 농도에 의존하는 항산화 효과를 보인 것은 새덕이 잎 정유에 함유된 성분 중 항산화 효과를 지닌 총 페놀 성분의 증가로 인한 것으로 사료된다. ABTS radical 소거활성과 DPPH radical 소거 활성은 결과에서 차이를 보였는데, DPPH assay의 경우 free radical을 소거하는 반면, ABTS assay는 cation radical을 소거함에 따라 radical을 제거하는 차이를 가지고 있기 때문이며, 반응물의 종류에 따라 두 기질에 결합 정도가 달라져 radical 제거 능력의 차이를 보이는 것으로 알려져 있다(Kim *et al*., 2015; Yu *et al*., 2012).

3.6. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

항산화 반응 기작에는 효소 촉매 반응과 metal chelation과 같은 비효소적 반응에 의해 일어나는 산화 환원 반응이 존재한다. 비효소적 반응에는 ascorbic acid와 같은 항산화제에 의한 산화 억제 반응과 환원제에 의한 산화 반응 물질의 활성을 감소시키는 반응이 있다. 환원능은 항산화능과 유사하게 언급되고 있으며, 산화 환원과 관련하여 화학양론적으로 쉽게 감소하는 산화제를 이용한 비색법을 이용하여 간단한 방법으로 측정할 수 있다. FRAP assay는 금속 이온인자(Fe^{2+})에 대한 킬레이트 활성을 이용한 방법으로, 활성이 높을수록 산화 반응에서 촉매의 작용을 감소시키고 높은 환원력을 가지는 물질은 흡광도의 수치가 높게 나타나게 된다(Kim *et al*., 2011A). 낮은 pH하에서 ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) complex가 ferrous (Fe^{2+}) form으로 되었을 때, 593 nm의 파장에서 최대 흡광도를 나타내며 강한 푸른색을 보이는 특징이 있다(Benzie and Strain, 1996). FRAP 값은 Benzie-Strain의 방법에 따라 측정하였으며, 그 값은 2가철 당량(Fe(II) equivalent, μM/g)으로 산출하였다. 새덕이나무 잎 정유의 경우 FRAP 값은 31.21 ± 0.12 μM/g으로 나타났고 (R^2 = 0.9994), 1 mM ascorbic acid의 경우 80.2 ± 0.20 μM로 나타났다(Table 2). Teixeira *et al.* (2012)은 페니로얄 정유의 FRAP 값이 약 7 μM/g이라고 하였다. 이러한 결과를 통해 새덕이 잎 정유가 페니로얄 정유보다 환원능이 우수하고, 더 나은 항산화능을 가진다고 사료된다.

4. 결 론

새덕이 정유는 독특한 향 특성뿐만 아니라 병원균 성장 억제 활성, 여드름 유발 박테리아에 의한 염증 억제 활성, 미백효능을 가지는 것으로 밝혀졌지만,

DPPH radical 소거활성을 제외한 다른 항산화 활성에 대한 연구가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 새덕이 잎의 활용가치를 높이고자 새덕이 잎으로부터 정유를 추출하여, 새덕이 잎 정유의 구성 성분에 대한 기초 자료를 제공하고, 다양한 항산화 활성을 평가하여 산업적 이용가능성 및 부가 가치를 확인하였다.

Hydrodistillation법을 통해 얻은 새덕이 잎 정유를 GC/MS를 이용하여 성분 분석을 한 결과, 정유는 주로 sesquiterpene류와 monoterpene류로 구성되어 있는 것을 확인하였다. 또한, 새덕이 잎 정유의 주요 구성성분은 cis-ocimene (11.00%), trans-ocimene (9.65%), elemol (9.15%), β-elemene (8.75%), germacrene-D (7.55%), trans-caryophyllene (5.90%), γ-elemene (5.40%), τ-muurolol (4.95%)로 분석되었다. 다음으로 새덕이 잎 정유의 항산화 활성을 검증하기 위해 총 페놀함량, DPPH radical 소거활성, ABTS radical 소거활성 및 FRAP 분석을 수행하였다. 새덕이 잎 정유의 총 페놀함량은 136.7 ± 0.13 mg GAE/g으로 나타났다. 새덕이 잎 정유의 DPPH radical 소거능은 타임레드, 서양톱풀 자스민 등의 정유보다 우수한 것으로 나타났으며, ABTS radical 소거능이 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 새덕이 잎 정유가 페니로얄 정유와 비교하여 FRAP 활성, 즉 환원능이 더 우수한 것으로 나타났다. 새덕이 잎 정유의 주요 구성성분과 항산화 활성의 관계성에 대해서는 단일 물질에 대한 항산화 활성 검증 실험이 필요하다.

본 연구의 결과를 통해 녹나무과 참식나무속 식물인 새덕이의 잎 정유는 식품 혹은 화장품 등의 산화억제를 위한 첨가물 형태로 다양한 분야에 적용이 가능할 것으로 보여진다.

사 사

본 연구는 2016년도 국립산림과학원 석 · 박사연구원십의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F., Costa, J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation. Food Chemistry 106: 132-139.

Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M.D., Biquiku, L., Bramucci, M., Caprioli, G., Lupidi, G., Quassinti, L., Sagratini, G., Vitali, L.A., Vittori, S., Maggi, F. 2016. *Rosmarinus eriocalyx*: an alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds. Food Chemistry 218: 78-88.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology 299: 15-27.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie 28: 25-30.

Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. 2008. Antioxidant activities of rosemary extract *(Rosmarinus officinalis* L.) blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry 110: 76-82.

Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oils. Journal of the American Oil Chemists Society 58(11): 966-968.

Holmes, C., Ballard, C. 2004. Aroma therapy in dementia. Advanced in Psychiatric Treatment 10: 296-300.

Hwang, S.H., Choi, S.J., Hwang, Y.S., Lim, S.S. 2013. Comparison analysis of essential oils composition in difference parts from *Lindera obtusiloba* BL. according to the season by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Korean Journal of Pharmacognosy 44(1): 30-40.

Kang, M.H., Choi, C.S., Kim, Z.S., Chung, H.K., Min, K.S., Park, C.G., Park, H.M. 2002. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalarial sessiflora* L. Korean Journal of Food Science and Technology 34(6): 1098-1102.

Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F., Bahramifar, N. 2004. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Food Chemistry 86(4): 587-591.

Kim, B.R., Lee, J.S., Kim, D.Y., Kim, B.K., Lee, H.S., Lee, S.W., Kwon, H.J. 2015. Antioxidant and antibacterial activities of the bark of *Fraxinus Rhynchophylla* Hance. Korea. Korean Journal of Aesthetic and Cosmetology 13(3): 339-344.

Kim, M.J., Hong, C.O., Nam, M.H., Lee, K.W. 2011A. Antioxidant effects and physiological activities of Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) extract from different aerial parts. Korean Journal of Food Science and Technology 43(2): 195-199.

Kim, S.H., Lee, S.Y., Hong, C.Y., Gwak, K.S., Yeo, H.M., Lee, J.J., Choi, I.G. 2011B. Whitening and antioxidant activities of essential oils from *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa*. Journal of the Korean Wood Science and Technology 39(4): 291-302.

Kim, S.H., Lee, S.Y., Li, S.H. 2013. The effect of essential oils from tea-tree and palmarosa on the acne skin. Korean Journal of Aesthetic and Cosmetology 11(6): 1083-1090.

Kim, S.S. 2011. Identification of active constituents from *Neolitsea aciculata* and antibacterial, anti-inflammatory activities of Jeju plants essential oils. Ph.D. Thesis. Cheju national university.

Kim, S.S., Hyun, C.G., Choi, Y.H., Lee, N.H. 2013. Tyrosinase inhibitory activities of the compounds isolated from *Neolitsea aciculata* (Blume) Koidz. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 28(4): 685.

Kim, S.S., Kim, J.E., Hyun, C.G., Lee, N.H. 2011C. *Neolitsea aciculate* essential oil inhibits drug-resistant skin pathogen growth and Propionibacterium acnes-induced inflammatory effects of human monocyte leukemia. Natural Product Communications 6(8): 1193-1198.

Komae, H., Hayashi, N. 1972. Terpenes from *Actinodaphne, Machilus* and *Neolitsea* species. Phytochemistry 11(3): 1181-1182.

Lee, B.R. 2011. Assessment of red onion on antioxidant activity in middle aged rat. Master's Thesis. Sookmyung Women's University, Korea.

Lee, K.W., Kim D.Y., Lee M.Y. 2015. Quality Characteristics of *Gastrodia elata* extract glutinous rice porridge jochung and principal component analysis of antioxidant activity. Journal of the East Asian Society of Dietary Life 25(6): 1018-1028.

Lim, S.S., Lee, Y.S., Kim, H.M., Ahn, Y.H., Shin, K.H., Lee, S.H. 2008. GC/MS analysis of volatile constituents from broad-leaved indeciduous trees. Korean Journal of Plant Resources 21(4): 237-248.

Lin, P.W., Chan, W.C., Ng, B.F., Lam, L.C. 2007. Efficacy of aromatherapy (*Lavandula angustifolia*) as an intervention for agitated behaviors in Chinese older persons with dementia: A

cross-over randomised trial. International Journal of Geriatric Psychiatry 22: 405-410.

Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. Journal of Chrmatograhpy A. 1043: 323-327.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannaia, A., Yang, M., Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26(9-10): 1231-1237.

Shin, H.C., Park, N.C., Hwang, J.H. 2006. 17: 68-69. 한국의 난대수종. Korea Forest Research Institute.

Takeda, K., Horibe, I., Teraoka, M., Minato, H. 1968. Components of *Neolitsea aciculata* Kodiz. Structures and absolute configuration of litsealactone, litseaculane, zeylanine and zeylanane. Chemical Communications 16: 940-942.

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Saravia, J.A., Nunes, M.L. 2012. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from portugal: chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobical properties of extracts and essential oil. Industrial Crops and Products 36: 81-87.

Wang, H.F., Wang, Y.K., Yih, K.H. 2008. DPPH free-radical scavenging ability, total phenolic content, and chemical composition analysis of forty-five kinds of essential oils. International Journal of Cosmetic Science 59: 509-522.

Wickens, A.P. 2001. Ageing and the free radical theory. Respiration Physiology 128(3): 379-391.

Yano, K., Akihisa, T., Tamura, T., Matsumoto, T. 1992. Four 4α -methylsterols and triterpene alcohols from *Neolitsea aciculata*. Phytochemistry 31(6): 2093-2098.

Yu, S.Y., Lee, Y.J., Song, H.S., Hong, H.D., Lim, J.H., Choi, H.S., Lee B.Y., Kang S.N., Lee, O.H. 2012. Antioxidant effects and nitrite scavenging ability of extract from *Acanthopanax cortex* Shoot. Korean Journal of food and nutrition 25(4): 793-799.