

## 현사시나무 추출물의 항산화활성과 성분분석

최선일<sup>1</sup> · 황석준<sup>2</sup> · 이옥환<sup>1</sup> · 김종대<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 바이오산업공학부 식품생명공학전공, <sup>2</sup>강원도 보건환경연구원

### Antioxidant Activity and Component Analysis of *Populus Tomentiglandulosa* Extract

Sun-Il Choi<sup>1</sup>, Seok-Jun Hwang<sup>2</sup>, Ok-Hwan Lee<sup>1</sup>, and Jong Dai Kim<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

<sup>2</sup>Gangwon Institute of Health and Environment

**Abstract** *Populus Tomentiglandulosa* (PT) is known for pharmacological effects against ischemia-injury and immune activity. This study aimed to investigate the nutritional components, total phenol and flavonoid contents, antioxidant activities of PT extract. Among the mineral contents, the K content (907.5 mg/100 g) was the highest in the PT extract. Vitamins C (6.1 mg/100 g) and nicotinic acid (3.1 mg/100 g) were also found in high amounts. Fructose (2.2%) and glucose (1.6%) were found as free sugars in the PT extract. The total phenolic and flavonoid contents of PT extract were 115.4±0.85 mg GAE/g and 20.9±1.14 mg QE/g, respectively. Results of HPLC analysis of PT extract identified catechin (9.1±0.27 mg/g), caffeic acid (4.1±0.57 mg/g), *p*-coumaric acid (2.1±0.49 mg/g), chlorogenic acid (1.6±1.86 mg/g), and gallic acid (1.4±0.35 mg/g), respectively. These results suggest that the PT extract possesses high nutritional component and antioxidant properties, which can be used as functional bioresources.

**Keywords:** *Populus Tomentiglandulosa*, nutritional component, antioxidant activity, phenolic compounds

## 서 론

인간을 포함한 호기성 생물들은 산소를 이용한 에너지 대사를 통해 살아가며, 대사과정 중에 이용되는 산소의 1-3%는 물리적, 화학적, 생물학적인 요인에 의하여 불가피하게 활성산소를 생성한다. 생성된 활성산소는 세균이나 이물질로부터 신체를 보호하는 대식세포의 살균작용뿐만 아니라 오래된 단백질 제거 등의 유용한 측면이 있다. 하지만 활성산소는 반응성이 매우 강하기 때문에 과다 발생 시 세포막을 구성하는 당과 지질의 산화를 일으켜 세포막 손상시키고, 단백질의 변성, 효소의 불활성화, DNA의 절단 등을 유발함으로써(Gutteridge 등, 1994; Halliwell 등, 1987) 노화를 촉진하기도 하며 당뇨병(Hertog와 Hollman, 1996), 고혈압(Formica와 Regelson, 1995), 동맥 경화증(Hertog 등, 1993; Ness와 Powles, 1997), 염증(Middleton 등, 2000), 암과 같은 만성 퇴행성 질환(Block와 Langseth, 1994; Serdula 등, 1996)을 일으키는 원인으로 작용하는 것으로 알려져 있다. 만성퇴행성질환의 예방이나 치료를 위하여 유해 활성 산소를 억제하거나 조절할 수 있는 기능성물질에 대한 연구에는 quercetin, kaempferol, naringin 등의 flavonoid 화합물 및 이들 배당체(Hollman 등, 1997; Kawasaki

등, 1986; Mian와 Mohamed, 2001; Xu 등, 1994), catechin 등과 같은 tannin 류와 chlorogenic acid, vanillic acid, gallic acid, caffeic acid, ferulic acid 등의 phenolic acid (Azuma 등, 1999; Laranjiinha 등, 1995; Papadopoulos와 Boskou, 1991; Yan 등, 1999),  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid 등의 vitamin 류(Malik 등, 1997)가 보고된 바 있다. 최근 국가 간 생물자원을 활용하는 나고야 의정서 협약 이후 이러한 성분들을 함유하고 있는 국내 자생식물자원에 관심이 깊어지고 있는 실정이다.

현사시나무(*Populus Tomentiglandulosa*)는 버드나무과(Salicaceae)에 속하며 은백양나무와 수원사시나무를 우리나라에서 인공 교배하여 조경수와 가로수 식재용으로 널리 보급한 수종이다. 현사시나무는 성장이 빠르며 건조한 곳에서도 잘 자라는 특성을 갖고 있으며, 천근성으로 인해 뿌리로부터 줄기가 잘 돌아나는 특징을 갖는 낙엽교목이다. 최근 버드나무과 식물추출물의 약리학적 효능으로 *Populus balsamifera* 추출물의 항 박테리아 활성 (Simard 등, 2014), *Populus nigra* 추출물의 항염증과 간보호 효과 (Debbache 등, 2013), *Populus davidiana* 추출물의 항산화 활성 (Zhang 등, 2006) 및 *Populus Tomentiglandulosa* 추출물의 신경세포 보호효과(Lee 등, 2019) 등이 연구된 바 있으나 현재까지 우리나라에서 교배하여 만든 현사시나무 추출물의 식품학적 성분 분석, 페놀성 성분 및 항산화성분에 대한 연구는 시도된 바 없기 때문에 이에 대한 기초자료가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 향후 현사시나무 추출물이 식품소재로 활용 시 기초자료로 활용 가능한 식품학적 성분분석(일반성분, 무기질, 비타민, 유리당)을 실시하였고, 건강기능성 식품소재로 활용 시 표준화를 위한 총페놀, 총플라보노이드 및 페놀성 화합물 함량을 분석하였다. 또한, 현사시나무 추출물의 기초적인 항산화

\*Corresponding author: Dr. Jong Dai Kim, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea  
Tel: +82-33-250-6456  
Fax: +82-33-259-5561  
E-mail: jongdai@kangwon.ac.kr  
Received January 30, 2020; revised March 11, 2020; accepted March 20, 2020

활성을 분석하고자 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 및 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) 라디칼 소거능을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 추출물 제조

본 실험에 사용한 현사시나무는 춘천시 동산면의 야산에서 채취하여 현사시나무의 수피 부분만 분리하여 70% 에탄올에 70°C로 24시간 3회 추출하였고 Whatman No. 1 (Whatman Ltd., Maidstone, Kent, UK) 여과지를 이용하여 여과한 후, 회전진공농축기(EYELA, SN-1100, Tokyo, Japan)를 사용하여 50°C에서 감압농축하였다. 농축된 추출물은 동결건조기(PVTF 10AT, Ilsin, Dongducheon, Korea)를 이용하여 분말화한 후, 시료로 사용하였다. 추출수율(%)은 동결건조된 분말의 무게를 측정하여 구하였다.

### 현사시나무 추출물의 일반성분 분석

일반성분은 AOAC법(1990)에 따라 분석하였으며 수분 함량은 105°C 상압가열건조법, 회분 함량은 550°C에서 직접회화법을 이용하여 분석하였다. 조단백질 함량은 micro-kjeldahl법을 이용한 단백질 자동분석기(Kjeltec protein analyzer, Tecator, Hoganas, Sweden)로 측정되었으며, 조지방 함량은 Soxhlet법을 이용하여 분석하였다. 탄수화물 함량은 위의 측정치를 합한 값을 100에서 뺀 차감 값으로 하였다.

### 현사시나무 추출물의 무기질 조성 분석

무기질(Ca, P, Mg, K, Na, Fe, Zn, Cu, Mn) 함량은 AOAC법(1984)에 의하여 분석하였다. 시료를 0.1 mg 단위까지 정확히 칭량하여 550°C에서 6시간 동안 회화시킨 다음, 20°C sand bath 상에서 5 mL의 HNO<sub>3</sub> 용액을 가하여 10분 동안 가온하고 방냉 후, 25 mL volumetric flask에 넣고 증류수를 가해 여과하면서(Whatman filter paper No. 41) 정용하였다. 이렇게 여과된 여과액을 각 희석용액으로 적절한 농도로 희석한 후 inductively coupled spectrometer (ICP, Lactam 8440, Plasma Lab., Victoria, Australia)를 이용한 유도결합 plasma 방출분석법으로 분석하였다.

### 현사시나무 추출물의 비타민 함량분석

비타민 함량은 식품공전법(2006)을 응용하여 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)로 분석하였다. Vitamin C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, nicotinic acid를 0.1 g씩 각각 100 mL 플라스크에 넣어 3차 증류수로 정용한 후, 용해시켜 표준용액을 만든 후, 0.45 µm MILLEX-HV13 필터(Millipore, Bedford, MA, USA)로 여과하여 사용하였다. HPLC 장비는 270 nm UV 검출기가 부착된 장비이며(HEWLETT PACKARD 1090 series, Palo Alto, CA, USA) column은 shiseido C<sub>18</sub> (5 µm, 4.6×250 nm, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 시료용액의 주입량은 20 µL이며, 이동상 A는 1.25 mM의 PIC B7 (1-heptanesulfonic acid sodium salt) 및 acetic acid 1%를 용해한 수용액이며 이동상 B는 1.25 mM의 PIC B7 및 acetic acid 1%를 용해한 60% methanol을 사용하였다. 이동상의 유속은 0.5 mL/min으로 0-1분 사이에는 100% A 이동상을, 1-25분까지는 순차적으로 100% B 이동상이 되도록 흘려주었으며, 25-28분 사이에는 100% B 이동상으로 흘려주었다. 끝으로 10분간 100% A 이동상을 흘려주었다.

### 현사시나무 추출물의 유리당 함량분석

유리당의 함량은 Richmond 등(1981)의 HPLC 분석조건을 응용하여 HPLC (Waters 2659, Waters, Milford, MA, USA)로 분석하였다. 시료 5 g을 칭량하여 80% methanol 100 mL를 넣고 균질화한 후 환류냉각기를 부착한 추출장치에 옮긴 후 80°C에서 2시간 동안 추출한 후 여과하였다. 이 추출조작을 2회 반복하여 모은 여액을 45°C에서 감압농축한 후 증류수를 넣어 100 mL로 정용하였다. 조제한 시료용액은 -70°C에서 냉동 보관하면서 분석하였다. 분석조건은 Sugar-Pak I column (300 mm×6.5 mm, 10 µm, Waters, Milford, MA, USA)과 용출용매 Ca-EDTA (500 mg/L)를 조합하였다. 전처리된 시료 1 mL를 취하여 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 column에 20 µL씩 주입하였다. 용출 용매는 0.5 mL/min로 흘려보냈으며 검출은 refractive index (RI) detector (2414 RI, Waters, Milford, MA, USA)를 이용하였다.

### 총 페놀 및 플라보노이드 함량 분석

현사시나무 추출물의 총 페놀 함량은 Gutfinger(1981)의 방법을 변형하여 분석하였다. 현사시나무 추출물 1 mL을 test tube에 가한 후 10% Folin-Ciocalteu 시약과 2% sodium carbonate 용액을 각각 1 mL 가한 다음 25°C에서 한 시간 동안 반응시킨 후, microplate reader를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였으며, 실험 측정은 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

현사시나무 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(2000)의 방법에 따라 실험하였다. 현사시나무 추출물 0.5 mL을 test tube에 가한 후, 10% aluminum nitrate 0.1 mL을 혼합한 후 40분간 실온에서 반응시켰다. 그 다음 1 M potassium acetate와 80% 에탄올을 각각 0.1 mL과 4.3 mL을 가한 후 40분간 실온에서 반응 후 415 nm에서 흡광도를 측정하고 quercetin을 표준물질로 이용하여 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

### HPLC를 통한 페놀 성분 분석

현사시나무 추출물의 페놀성 화합물 분석은 다음과 같이 현사시나무 추출물 10 mg을 50% ethanol로 녹였으며 0.45 µm Millipore membrane filter로 여과하였다. HPLC 장비는 Waters 2690이며 column은 Shiseido C<sub>18</sub> (5 µm 4.6×250 nm, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 검출기는 photodiode array detector (PDA)을 이용하여 278 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이동상은 solvent A (acetic acid:water=3:97, v/v)와 solvent B (acetic acid:acetonitrile:water=3:25:72, v/v)를 사용하여 1 mL/min의 유속으로 60분간 분석하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical을 이용한 항산화 활성은 Chu 등(2000)의 방법을 변형하여 실험하였으며, 아래와 같은 식(Formula 1)에 의해 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었다. 현사시나무 추출물 0.2 mL에 4×10<sup>-4</sup> M DPPH 용액 0.8 mL 가하여 잘 혼합한 후 상온의 암소에서 10분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

$$\text{Formula (1)} = [1 - (A/B)] \times 100 (\%)$$

A: absorbance value of testing solution

B: absorbance value of control solution

**ABTS 라디칼 소거활성**

2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical에 대한 항산화의 변화 측정은 Re 등(1999)의 방법을 약간 응용하여 실험하였다. 7mM의 농도로 녹인 ABTS 용액 5 mL에, 140 mM 농도의 potassium persulfate 용액 88 µL를 첨가하여 암소에서 14-16시간 동안 반응 후 ABTS 용액 1 mL를 5 mM의 phosphate buffer (pH 7.4)로 희석하여 750 nm에서 흡광도가 0.70±0.02가 되도록 하였다. 희석한 ABTS 용액 1 mL에 현사시나무 추출물 10 µL를 가한 후 실온에서 6분간 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 3회 반복하여 평균값을 사용하였다. ABTS 라디칼 소거능은 Formula (1)을 이용하여 계산하였다.

**통계처리**

자료분석은 통계 소프트웨어 statistical analysis system (SAS) program을 이용하였고 Duncan의 다중 범위 검정(Duncan's multiple range test)을 이용하여 실험군의 평균값 간의 유의성(α)은 0.05 유의수준에서 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**추출수율 및 일반성분 조성**

현사시나무 수피를 70% 에탄올로 추출한 후, 여과, 농축, 동결 건조하여 분말화 한 추출물의 수율을 구한 결과 7.78%로 나타났다. 현사시나무 추출물의 일반성분 조성은 Table 1과 같이, 탄수화물이 88.6%, 수분 5.11%, 조단백질 2.5%, 조회분 2.3%, 조지방 1.5%로 나타나 탄수화물 함량이 가장 높았고 수분, 조단백질, 조회분, 조지방의 함량 순으로 나타났다. 현재 현사시나무의 식품학적 성분분석에 대한 연구가 많지 않아 본 연구 결과에 대한 문헌적 고찰이 어려우나, 현사시나무와 같은 버드나무과에 속하는 버드나무(*Salix Koreensis* Andersson) 가지 추출물의 항산화 및 항염증 효과를 평가한 Kim(2018)의 연구에 의하면, 버드나무 가지를 증류수와 80% 메탄올에 24시간 동안 shaking하여 추출한 각각의 추출물의 추출수율은 증류수 추출물에서 130 mg/100 g, 메탄올 추출물에서 150 mg/100 g으로 나타나 본 연구의 결과와는 다르지만 유기용매에서 높은 것으로 나타났다. 이는 현사시나무와의 시료 차이 뿐만 아니라 추출방법(온도, 시간) 등의 차이에 의한 것으로 사료된다.

**현사시나무 추출물의 무기질 함량**

현사시나무 추출물의 무기질 함량을 분석한 결과, Table 2와 같다. 추출물의 무기질 함량은 K (907.5 mg/100 g), P (93.8 mg/100 g), Mg (85.0 mg/100 g), Ca (77.5 mg/100 g), Na (23.4 mg/100 g), Mn (2.9 mg/100 g), Zn (2.6 mg/100 g), Fe (1.4 mg/100 g), Cu (0.6 mg/100 g) 순으로 나타났다. 무기질 성분 중에서는 K가 가장 높았고 그 다음으로 P와 Mg 등의 순으로 함량이 높았다. 하지만 Enzmann 등(1969)의 연구에 따르면 북미사시나무(*Populus tremuloides*)의 무기질 분석 결과 P, K, Na, Mg에 비하여 Ca의 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 품종과 재배 지역에 따른 무기질 조성 변화로 사료된다.

**현사시나무 추출물의 비타민 함량**

현사시나무 추출물의 비타민 함량을 분석한 결과 Table 3과 같이 vitamin C (6.1 mg/100 g), nicotinic acid (3.1 mg/100 g), vitamin B<sub>2</sub> (0.3 mg/100 g), vitamin B<sub>6</sub> (0.01 mg/100 g) 순으로 나타났다. Igwemmar 등(2013)의 연구 결과에 따르면 추출온도와 추출

**Table 1. Proximate composition of 70% ethanol extract from *Populus Tomentiglandulosa* (unit: %)**

Proximate composition	<i>Populus Tomentiglandulosa</i> 70% ethanol extract
Carbohydrate	88.6
Moisture	5.1
Crude protein	2.5
Crude ash	2.3
Crude lipid	1.5
Total	100.0

**Table 2. Mineral contents of 70% ethanol extract from *Populus Tomentiglandulosa* (unit: mg/100 g)**

Minerals	<i>Populus Tomentiglandulosa</i> 70% ethanol extract
K	907.5
P	93.8
Mg	85.0
Ca	77.5
Na	23.4
Mn	2.9
Zn	2.6
Fe	1.4
Cu	0.6

**Table 3. Vitamin contents of 70% ethanol extract from *Populus Tomentiglandulosa* (unit: mg/100 g)**

Vitamins	<i>Populus Tomentiglandulosa</i> 70% ethanol extract
Vitamin C	6.1
Nicotinic acid	3.1
Vitamin B <sub>2</sub>	0.3
Vitamin B <sub>6</sub>	0.01
Vitamin B <sub>1</sub>	- <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Not detected

**Table 4. Free sugar contents of 70% ethanol extract from *Populus Tomentiglandulosa* (unit: %)**

Free sugar	<i>Populus Tomentiglandulosa</i> 70% ethanol extracts
Fructose	2.2
Glucose	1.6
Lactose	- <sup>1)</sup>
Maltose	-

<sup>1)</sup>Not detected

시간은 비타민 함량 감소에 큰 영향을 미치며, 본 연구의 추출과정은 70% ethanol을 이용하여 70°C로 24시간 추출하였기 때문에 추출온도와 시간의 영향으로 손실되기 쉬운 일부 비타민이 파괴가 되어 함량이 낮은 것으로 사료된다.

**현사시나무 추출물의 유리당 조성**

현사시나무 추출물의 유리당 조성을 분석한 결과 Table 4와 같다. 추출물에 함유된 유리당은 fructose (2.2%)와 glucose (1.6%)

**Table 5. Total phenol and flavonoid contents of 70% ethanol extract from *Populus Tomentiglandulosa***

<i>Populus Tomentiglandulosa</i> 70% ethanol extract	
Total phenol contents (mg GAE <sup>1)</sup> /g)	115.4±0.85
Total flavonoid contents (mg QE <sup>2)</sup> /g)	20.9±1.14

<sup>1)</sup>GAE: Gallic acid equivalent<sup>2)</sup>QE: Quercetin equivalent**Table 6. Phenolic compounds of 70% ethanol extract from *Populus Tomentiglandulosas***

Phenolic compounds	<i>Populus Tomentiglandulosa</i> 70% ethanol extract (mg/g)
Catechin	9.1±0.27
Caffeic acid	4.1±0.57
Chlorogenic acid	1.6±0.86
<i>p</i> -Coumaric acid	2.1±0.47
Gallic acid	1.4±0.35

로 확인되었고 lactose와 maltose는 확인되지 않았다. 이러한 결과는 Escher 등(2004)의 연구에서 이태리사시나무(*Populus euramericana*)의 유리당 분석결과 fructose, glucose, sucrose가 확인되었고 그 중 fructose의 함량이 가장 높다는 연구결과와 유사한 경향을 보였다.

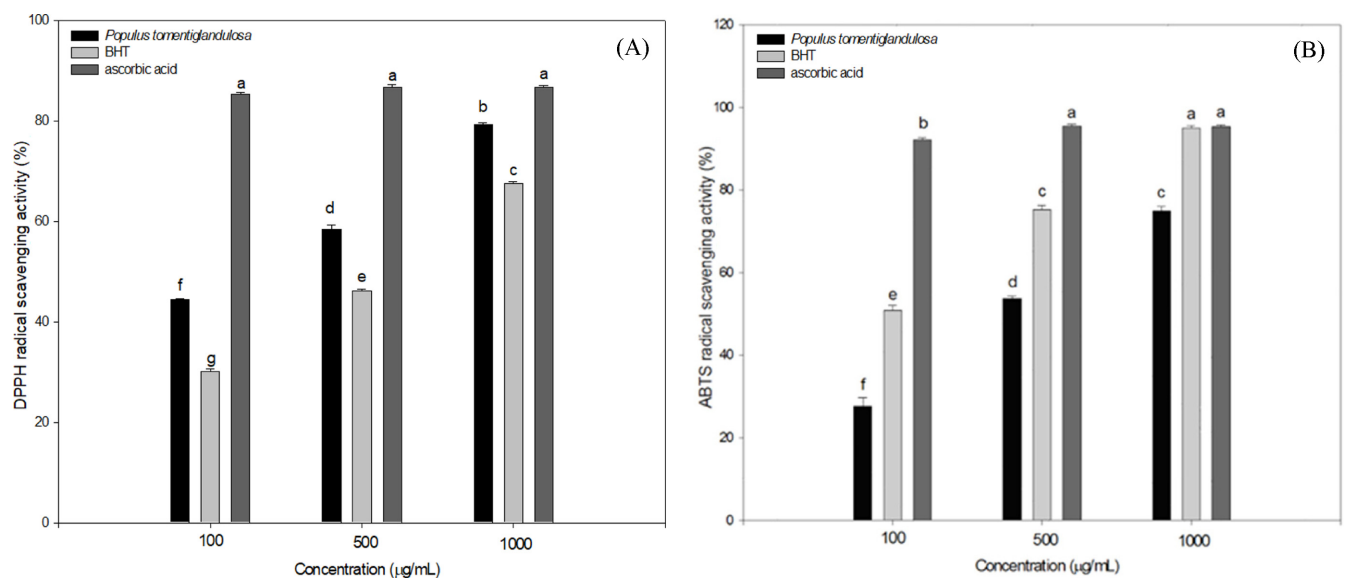
#### 현사시나무 추출물의 총 페놀, 총 플라보노이드 및 페놀성 화합물 함량

페놀계 성분들은 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화-환원 반응에서 기질로 작용하고, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl (OH)기를 가진 방향족 화합물로서 플라보노이드와 탄닌이 주성분으로 항산화, 항암, 고혈압 등의 다양한 생리활성을 가진다. 현사시나무 추출물의 페놀 및 플라보노이드 함량 분석 결과 Table 5와 같이, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 각각

115.4±0.85 mg GAE/g, 20.9±1.14 mg QE/g으로 나타났다. 또한, 현사시나무 추출물의 페놀성 화합물의 함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다. HPLC 분석 시 현사시나무 추출물의 개별 페놀성 성분은 표준물질과의 retention time 비교를 통해 분석하였으며(data not shown), 현사시나무 추출물에는 catechin (9.1±0.27 mg/g)이 가장 많이 함유되어 있었고 caffeic acid (4.1±0.57 mg/g), *p*-coumaric acid (2.1±0.47 mg/g), chlorogenic acid (1.6±0.86 mg/g), gallic acid (1.4±0.35 mg/g) 등의 페놀성 화합물이 함유되어 있었다. 본 연구 결과는 국내 9종 산림식물 추출물의 항산화활성은 평가한 Sim 등(2019)의 연구와 비교해 볼 때 현사시나무 추출물의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 까치밥나무의 총 페놀(40.6±0.32 mg GAE/g) 및 총 플라보노이드(19.0±0.86 mg QE/g) 함량보다 높았고 쯤레나무 추출물의 총 페놀(183.0±1.96 mg GAE/g) 및 총 플라보노이드(24.3±0.22 mg QE/g) 함량 보다는 낮았다.

#### 현사시나무 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성

DPPH radical은 alcohol 용액 내에서는 DPPH의 질소 원자와 alcohol간에 수소결합이 형성되기 때문에 다른 유리 라디칼보다 비교적 안정하고, 항산화 활성을 갖는 물질과 반응하면 진보라색의 DPPH의 색깔이 점점 열어져 흡광도가 감소하게 되므로 흡광도의 감소를 측정함으로써 radical 소거 활성을 쉽게 측정 할 수 있다. DPPH와 같은 극성의 실험계에서는 지용성의 비타민 E 또는 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT)와 같은 물질보다 ascorbic acid와 같은 수용성 항산화제들의 항산화 활성이 높은 것으로 측정된다. 이러한 DPPH radical 소거활성은 식물 추출물의 항산화능 측정에 매우 편리한 방법이다. 현사시나무 추출물과 대조군으로 사용한 ascorbic acid와 BHT의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 1(A)에 나타내었다. 현사시나무 추출물의 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거 활성이 증가하는 경향을 나타내었고 현사시나무 추출물 1,000 µg/mL 농도에서 79.2% 소거 활성을 보였다. 반면, 대조군으로 사용한 ascorbic acid와 BHT의 1,000 µg/mL 농도에서의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 86.7, 67.6%로 나타나 현사시나무 추출물 1,000



**Fig. 1. DPPH (A) and ABTS (B) radical scavenging activities of *Populus Tomentiglandulosa* 70% ethanol extract.** Results are presented as the mean±standard deviation of 3 independent in triplicate. Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

µg/mL 농도에서의 DPPH 라디칼 소거능은 BHT보다 높은 소거 활성을 보였다.

ABTS cation decolorization assay는 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS radical이 항산화 물질에 의해 제거되어 청록색이 탈색된다. ABTS 탈색반응은 이미 생성된 free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타내어 ABTS의 소거활성을 측정하는 방법으로 탈색반응이 1분 안에 종료되므로 단시간에 측정할 수 있고, 소수성과 친수성 모두에 적용할 수 있다. ABTS radical에 대한 현사시나무 추출물과 대조군으로 사용한 ascorbic acid와 BHT의 항산화 활성은 Fig. 1(B)에 나타내었다. 현사시나무 추출물의 농도가 높아질수록 ABTS radical 소거활성이 증가하는 경향을 나타내었으나 모든 농도에서 ascorbic acid나 BHT에 비해 낮은 활성을 보였다. 최근 Lee 등(2019)은 백서에 현사시나무 추출물을 급여한 결과, 아스코르빈산을 급여한 대조군에 비해 신장이나 간장에서 superoxide dismutase 2, catalase 등의 항산화 효소를 증가시킨다고 보고한 바 있다. 현사시나무 추출물의 항산화력은 항산화성분에 기인한 것으로 사료되며, 현사시나무 추출물에 함유된 catechin과 caffeic acid 등의 페놀성 화합물 들은 높은 항산화력에 갖는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 현사시나무 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정하여 항산화 활성을 평가하였지만, 향후 효소계 및 비효소계 항산화활성 및 세포모델에서의 reactive oxygen species 저감 효능 등의 추가 연구가 필요한 것으로 사료된다.

### 요 약

본 연구에서는 현사시나무 추출물에 대한 일반성분, 무기질, 비타민, 유리당, 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 및 HPLC를 이용하여 페놀성 화합물을 분석하였으며 DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 통하여 추출물의 항산화 활성을 조사하였다. 추출물의 일반성분 분석결과, 탄수화물, 수분, 조단백질, 회분, 조지방은 각각 88.6, 5.11, 2.5, 2.3, 1.5%로 확인되었다. 무기질 분석결과, Ca (77.5 mg/100 g), Mg (85.0 mg/100 g), Na (23.4 mg/100 g), K (907.5 mg/100 g), P (93.8 mg/100 g), Fe (1.4 mg/100 g), Zn (2.6 mg/100 g), Cu (0.6 mg/100 g), Mn (2.9 mg/100 g)을 함유하고 있었다. 비타민의 경우, vitamin C (6.1 mg/100 g), vitamin B<sub>2</sub> (0.3 mg/100 g), vitamin B<sub>6</sub> (0.01 mg/100 g), nicotinic acid (3.1 mg/100 g)가 확인되었다. 유리당 조성은 glucose 1.6%, fructose 2.2%였고 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 각각 115.4±0.85 mg GAE/g, 20.9±1.14 mg QE/g으로 나타났다. HPLC 분석결과 catechin (9.1±0.27 mg/g), caffeic acid (4.1±0.57 mg/g), p-coumaric acid (2.1±0.47 mg/g), chlorogenic acid (1.6±0.86 mg/g), gallic acid (1.4±0.35 mg/g)가 주요 성분으로 확인되었다. 현사시나무 추출물은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 보였고 이는 추출물에 함유된 항산화성분에 기인한 것으로 판단되었다. 본 연구에서는 현사시나무 추출물의 일반성분, 무기질, 비타민, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량, 주요 페놀성 화합물 및 항산화활성을 평가하였지만 향후 현사시나무 추출물이 식품소재 또는 건강기능식품 소재로서 활용 가치를 높이기 위해서는 세포 및 동물모델에서의 바이오마커 평가 및 작용기전 연구가 추가되어야 할 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 논문은 2019년도 강원대학교 대학회계 연구비의 지원을 받아 수행한 연구임.

### References

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 14th ed. Method 879. Association of Official Analytical chemists, Washington, DC, USA (1984)

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method 788. Association of Official Analytical chemists, Washington, DC, USA (1990)

Azuma K, Nakayma M, Koshioka M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamaguchi Y, Ito H, Higashio H. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. J. Agric. Food Chem. 47: 3963-3966 (1999)

Block G, Langseth L. Antioxidant vitamins and disease prevention. Food Technol. 48: 80-84 (1994)

Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. J. Sci. Food Agric. 80: 561-566 (2000)

Debbache-Benaid N, Atmani-Kilani D, Schini-Keirith VB, Djebbi N. Pharmacological potential of *Populus nigra* extract as antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. Asian Pac. J. Trop Biomed. 3: 697-704 (2013)

Enzmann JW, Goodrich RD, Meiske JC. Chemical composition and nutritive value of poplar bark. J. Anim. Sci. 29: 653-660 (1969)

Escher P, Eiblmeier M, Hetzger I, Renneberg H. Seasonal and spatial variation of carbohydrates in mistletoes (*Viscum album*) and the xylem sap of its hosts (*Populus euamericana* and *Abies alba*). Physiol. Plant. 120: 212-219 (2004)

Formica JV, Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Food Chem. Toxicol. 33: 1061-1080 (1995)

Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. J. Am. Oil Chem. Soc. 58: 966-968 (1981)

Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health, and disease. Oxford university press, Oxford, UK. pp. 1-62 (1994)

Halliwell BH, Gutteridge JMC, Arouoma OI. The deoxyribose method: simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. Anal. Biochem. 165: 215-219 (1987)

Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet 342: 1007-1011 (1993)

Hertog MGL, Hollman PCH. Potential health effects of the dietary flavonoid quercetin. Eur. J. Clin. Nutr. 50: 63-71 (1996)

Hollman PCH, Trijp JMP, Buysman MNCP, Gaag MS, Mengelers MJB, Vries JHM, Katan MB. Related bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. FEBS Letters 418: 152-156 (1997)

Igwemmar NC, Kolawole SA, Imran IA. Effect of heating on vitamin C content of some selected vegetables. Int. J. Sci. Technol. Res. 2: 209-212 (2013)

Kawasaki M, Kanomata T, Yoshimata K. Flavonoids in the leaves of twenty-eight polygonaceous plants. Bot. Mag. Tokyo 99: 63-74 (1986)

Kim MH. Antioxidant activity and anti-inflammatory effects of *Salix koreensis* Andersson branches extracts. J. Korean Soc. Food Cult. 33: 104-111 (2018)

Korea Food and Drug Administration. Food Standard Codex. Method 396-398. Korean Foods Industry Association, Cheongju, Korea (2006)

Laranjiinha J, Almeida L, Maderia V. Reduction of ferrylmyoglobin by dietary phenolic acid derivatives of cinnamic acid. Free Radical Bio. Med. 19: 329-337 (1995)

Lee CH, Park JH, Ahn JH, Kim JD, Cho JH, Lee TK, Won MH. Stronger antioxidant enzyme immunoreactivity of *Populus tomentiglandulosa* extract than ascorbic acid in rat liver and kidney. Iran. J. Basic Med. Sci. 22: 963-967 (2019)

Lee TK, Park JH, Ahn JH, Kim H, Song M, Lee JC, Kim JD, Jeon YH, Choi JH, Lee CH, Hwang IK, Yan BC, Won MH, Kang IJ. Pretreatment of *Populus tomentiglandulosa* protects hippocampal CA1 pyramidal neurons from ischemia-reperfusion injury in gerbils via increasing SODs expressions and maintaining BDNF and IGF-I expressions. Chin. J. Nat. Medicines 17: 424-434 (2019)

Malik MN, Fenko MD, Shiekh AM, Wisniewski HM. Isolation of α-

- tocopherol (vitamin E) from garlic. *J. Agric. Food Chem.* 45: 817-819 (1997)
- Middleton EJ, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cell: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol. Rev.* 52: 673-751 (2000)
- Miean KH, Mohamed S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plant. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3106-3112 (2001)
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71: 109-114 (2000)
- Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int. J. Epidemiol.* 26: 1-13 (1997)
- Papadopoulos G, Boskou D. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 669-671 (1991)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26:1231-1237 (1999)
- Richmond ML, Brandao SCC, Gray JI, Markakis P, Stine CM. Analysis of simple sugar and sorbitol in fruit by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 29: 4-7 (1981)
- Serdula MK, Byers MAH, Simoes E, Mendlein J.M, Coates RJ. The association between fruits and vegetable intake and chronic disease risk factors. *Epidemiol.* 7: 161-165 (1996)
- Sim WS, Lee JS, Lee S, Choi SI, Cho BY, Choi SH, Han X, Jang GW, Kwon HY, Choi YE, Kim JY, Kim JD, Lee OH. Antioxidant effect of extracts from 9 species of forest plants in Korea. *J. Food Hyg. Saf.* 34: 404-411 (2019)
- Simard F, Legault J, Lavoie S, Pichette A. Balsanones D-I, dihydrocinnamoyl flavans from *Populus balsamifera* buds. *Phytochemistry* 100: 141-149 (2014)
- Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than is genistein in adult women. *J. Nutr.* 124: 825-8332 (1994)
- Yan X, Suzuki M, Ohnishi-Kameyama M, Sada Y, Nakanishi T, Nagata T. Extraction and identification of antioxidants in roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *J. Agric. Food Chem.* 47: 4711-4713 (1999)
- Zhang X, Thuong PT, Min BS, Ngoc TM, Hung TM, Lee IS, Na MK, Seong YH, Song KS, Bae KH. Phenolic glycosides with antioxidant activity from the stem bark of *Populus davidiana*. *J. Nat. Prod.* 69: 1370-1373 (2006)