

마가목 줄기 열수 및 에탄올 추출물의 항산화 활성

유지현[#], 도은수, 장준복, 길기정^{*}

중부대학교 한방제약과학과

Antioxidant Activities of Hot Water and Ethanol Extracts from the stem of *Sorbus commixta* Heal

Ji-Hyun Yoo[#], Eun-Soo Doh, Jun-Pok Chang, Ki-Jung Kil^{*}

Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702, Korea

ABSTRACT

Objectives : In order to investigate the possibility of *Sorbus commixta* Heal, stem (SC) as a natural material, antioxidant activities of the hot water and ethanol extracts were examined.

Methods : The samples of SC were pulverized, and fractions were extracted repeatedly three times from hot water and 70% ethanol at room temperature for 2 hours. The antioxidant activities were analyzed from total polyphenol, flavonoid contents, DPPH, ABTS, hydroxyl radical, Fe²⁺ chelating, and nitrite scavenging activity.

Results : Total polyphenol contents were significantly higher in ethanol extract group (504.39 $\mu\text{g}/\text{mg}$) than in hot water extract group (364.64 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Total flavonoid contents were also significantly higher in ethanol extract group (160.09 $\mu\text{g}/\text{mg}$) than in hot water extract group (124.59 $\mu\text{g}/\text{mg}$). DPPH, ABTS, Fe²⁺ chelating were slightly higher in ethanol extract groups than in hot water extract groups, and increased in a dose-dependent manner. The hydroxyl radical scavenging activity (18.42~23.61%) of ethanol extract groups were shown to be approximately twice higher than that (7.63~10.37%) of hot water extract groups at 12.5~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ concentration. Nitrite scavenging activities of both ethanol and hot-water extract groups were shown to be higher in a dose dependent manner at the concentration of 12.5~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ at pH 3.0 than at pH 1.2, and ethanol extract groups (86.55~96.64%) had higher activity than the hot water extract groups (42.59~92.63%), which was higher than that of the control group antioxidant BHT (72.96~80.11%).

Conclusions : The extracts of SC displayed antioxidant activities which suggested a natural material can be developed to functional material.

Key words : Antioxidant, *Sorbus commixta*, Hot-Water Extract, Ethanol Extracts

I. 서 론

우리나라의 소득수준의 향상과 생활의 다양화 및 고급화에 따라 건강에 대한 관심과 더불어 기능성식품에 대한 욕구가 크게 증대되고 있다¹⁾. 기능성식품의 범위는 유해물질의 중화, 해독 배설, 혈압, 혈당 및 콜레스테롤 저하, 비만예방, 다이어트효과를 가지는 식품에서 더 나아가 생체방어, 면역, 질병의

예방 및 치료, 노화억제, 회복 등의 생체조절 역할까지로 점차 확대되고 있다²⁾. 노화 및 암 발병의 주된 요인 중 하나로 알려진 자유라디칼은 superoxide anion radical, hydroxy radical, 과산화수소와 같은 활성산소종의 산화적 대사산물로, 생체막의 지질을 과산화 시켜 생체막을 변질시킴으로써 효소 불활성, 세포노화, 당뇨병, 동맥경화, 뇌졸중 및 암 등의 질병을 유발한다³⁾. 지금까지 항산화제로 이용되고 있는 성분으로는 BHT와

*Corresponding author : Ki-Jung Kil, Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702,
· Tel : +82-41-750-6225 · E-mail : kildosa@joongbu.ac.kr

#First author : Ji-Hyun Yoo, Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702,
· Tel : +82-41-750-6962 · E-mail : jhyoo@joongbu.ac.kr

· Received : 11 April 2017 · Revised : 4 May 2017 · Accepted : 20 May 2017

BHA 같은 합성 항산화제가 알려져 있으나 독성으로 인하여 사용이 중지되고 있는 실정이다⁴⁾. 이로 인해 유발되는 건강문제를 해결할 수 있는 물질로 천연 항산화제에 대한 관심이 집중되고 있다. 한편 마가목(馬家木, *Sorbus commixta* Hedl.의 줄기)은 장미과의 낙엽활엽 소교목으로 중국에서는 花楸木의 과일, 줄기 및 줄기의 껍질의 기원으로 花楸라고도 불린다⁵⁾. 주로 우리나라 강원도, 전남 및 울릉도에 대형 자생군락지가 발달되어 있으며 중국의 동북, 화북, 감수지역 또는 일본 등지의 해발 500~1200 m의 심산 산복에 천연 분포한다^{5,6)}. 한방에서는 咳嗽를 멎게 하고 痰을 제거하며 脾를 튼튼히 하고, 소변이 잘 나오게 하는 효능이 있다. 또한 慢性氣管枝炎, 肺結核, 水腫으로 사용 해왔고^{7,8)}, 민간요법으로는 기침 또는 신경통 등에 활용되어 왔다⁹⁻¹¹⁾. 현재까지 마가목에 대한 연구는 주로 마가자(열매) 위주의 연구로 집중되어 있으며, 마가목의 줄기를 활용한 항혈전 활성 효과¹²⁾, 마가목 잎, 열매와 수피를 활용하여 항암 효과 연구¹³⁾, 고압용매 추출물의 항산화 효과 연구¹⁴⁾, 마가목 및 현지초 추출물의 골손실 및 연골손상 억제 효과¹⁵⁾ 및 마가목 가지 추출물의 항산화 및 항노화¹⁶⁾에 관련되고 있다고 보고되어 마가목 줄기의 새로운 활성에 대한 기대되고 있는 실정이다. 마가목의 항산화에 대한 연구는 기초적인 실험으로만 이루어지고 있으며, 다양한 항산화 활성 검증 및 추출방법에 따라 항산화의 생리활성변화에 따른 연구는 아직 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 마가목의 열수 및 에탄올 추출물에 따른 항산화 활성 효과를 측정하여 천연소재로서 가능성을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 마가목 줄기(국산)는 대전시 백제허브에서 구입한 후 중부대학교 본초학 연구실에서 기원을 확인한 다음 불순물을 제거하고 분쇄하여 4°C ± 1에서 냉장보관한 후 추출용 시료로 사용하였다.

2. 방법

1) 추출물 제조

열수추출물은 마가목을 분쇄하여 20 g을 삼각플라스크에 넣은 후 증류수 400 ml를 첨가하여 95°C 수욕조에서 2시간씩 3회 반복 추출하였고, 70% 에탄올 추출물은 시료 20 g을 삼각플라스크에 넣은 후 70% EtOH 400 ml를 첨가하여 실온에서 2시간씩 3회 반복 교반 추출 하였다. 그 후 열수 및 70% 에탄올추출물은 여과지를 사용하여 여과한 후 여과한 추출액을 50°C 수욕 상에서 감압농축한 후 동결 건조 하였다.

2) 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법¹⁷⁾을 응용하였다. 시료 추출물 100 μ l에 0.1 N Folin-Ciocalteu 400 μ l를 첨가한 후 1 M Na₂CO₃ 500 μ l를 첨가하여 혼합한 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정

하였다. 표준곡선은 garlic acid를 사용하여 0.1 g를 취하여 50% MeOH 10 ml에 녹인 후 최종 농도가 0, 1, 5, 10, 12.5, 25 μ g/ml이 되도록 조제하여 위와 같은 방법으로 765 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Zhishen등¹⁸⁾이 개발한 분광분석법을 이용하여 측정하였다. 시료 추출물 100 μ l에 증류수 1000 μ l를 가하고 5% NaNO₂ 30 μ l와 10% AlCl₃를 가하여 혼합한 후 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응용액에 1 M NaOH 200 μ l와 증류수 1000 μ l를 가한 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 표준곡선은 Quercetin을 이용하여 최종 농도가 0, 0.39, 0.78, 1.56, 3.125, 6.25 μ g/ml이 되도록 조제하여 위와 같은 방법으로 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) DPPH 라디칼 소거능 활성

각 추출물을 Blois의 방법¹⁹⁾을 변형하여 수소전자공여능에 의한 항산화 활성을 측정하였다. 시료 추출물 100 μ l에 95% EtOH를 용해한 DPPH 100 μ l를 가하여 15분간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성 비교를 위하여 대조군으로는 ascorbic acid를 이용하여 위와 같은 방법으로 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 DPPH에 대한 수소공여능을 측정하였다.

5) ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 Re등 방법²⁰⁾을 변형하여 측정하였다. 7 mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt와 2.4 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 하루 동안 방치하여 ABTS⁺를 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값이 0.8 ~ 1.0이 되도록 증류수로 희석하였다. 농도에 따라 시료 추출물 20 μ l에 희석한 ABTS⁺를 형성시킨 용액 980 μ l를 가한 후 빛을 차단하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군은 ascorbic acid를 사용하여 위와 같은 방법으로 3회 반복 실험하여 ABTS 라디칼 소거활성능을 측정하였다.

6) Hydroxyl 라디칼 소거 활성

Hydroxyl 라디칼 소거능은 Smirnoff와 Cumbes 방법²¹⁾에 따라 FeSO₄와 H₂O₂의 Fenton 반응에 의해 생성된 hydroxyl 라디칼에 의해 가수분해 되는 정도를 통해 측정되었다. 농도 별로 희석된 시료 추출물 40 μ l에 1.5 mM FeSO₄와 6 mM hydrogen peroxide (H₂O₂)를 5:3:5 비율로 희석하여 760 μ l에 가하고 200 mM sodium salicylate를 200 μ l 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군은 ascorbic acid를 사용하여 위와 같은 방법으로 562 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7) Fe²⁺ chelating 활성

Iron-chelating 활성은 Hus의 방법²²⁾에 의해 변형하여 측정하였다. 농도별로 희석된 시료 추출물 150 µl에 2 mM FeCl₂ 15 µl를 가하고 증류수 605 µl를 첨가하여 실온에서 30분 동안 반응하였다. 반응 용액에 5 mM ferrozine를 30 µl 가하여 Fe²⁺-ferrozine complex를 유도하고 5~10분 동안 실온에서 반응시켜 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 562 nm에서 흡광도를 측정한다. 이때 Fe²⁺ 킬레이팅 활성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용하여 위와 같은 방법으로 562 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8) 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Kato 등²³⁾의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료 추출물 40 µl에 1mM NaNO₂ 20 µl를 가하고 0.2 M citrate buffer (pH1.2, 3.0) 140 µl를 가하여 혼합한 후 37°C 인큐베이터에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 2% acetic acid를 1 ml 첨가하고 griess시약 80 µl를 첨가하여 혼합 후 빛을 차단하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정한다. 대조군으로 BHT (Butylated hydroxytoluence)를 사용하여 위와 같은 방법으로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 통계처리

모든 실험의 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차 (mean ± S.D)로 나타냈으며 실험군 간의 유의성은 window 용 SPSS 프로그램(Statistical package for social science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 통계처리는 Student T-test은 p<0.05인 경우 유의성이 있는 것으로 인정하였고, ANOVA test(Tukey's multiple range test)를 통하여 p<0.05 수준에서 평균치를 비교하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 수율과 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

마가목의 열수 및 70% 에탄올의 수열에서는 열수 추출물 처리군 (7.00%)은 70% 에탄올 추출물처리군 (6.67%)에 비해 약간 높게 나타났으나, 큰 차이는 나타나지 않았다. 마가목의 추출물별 총 폴리페놀 함량은 열수 추출물 처리군 (364.64 µg/mg) 보다 70% 에탄올 추출물 처리군 (504.39 µg/mg)에서 다소 높은 함량을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 열수 추출물 처리군 (124.59 µg/mg) 보다 70% 에탄올 추출물 처리군(160.09 µg/mg)에서 약간 높은 함량으로 유의적인 차이를 나타내었다(Table 1).

Table 1. Yield and the contents of polyphenol and flavonoid in the water and 70% EtOH extracts of SC

Group	Yield(%)	Total phenol contents (µg/mg)	Total flavonoid contents (µg/mg)
Hot-Water	7.00	364.64±0.00	124.59±1.69
70% EtOH	6.67	504.39±0.03 ^a	160.09±1.69 ^a

The values are expressed as means±standard deviation of triplicate tests. * : Statistically significant value compared to water by Student's t-test (p < 0.05).

2. DPPH 와 ABTS 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거능 결과(Table 2), 마가목의 각 추출물별 추출물의 농도 의존적으로 소거활성이 높았다. 모든 처리 농도에서 열수 추출물 처리군 보다 70% 에탄올 추출물 처리군에서 높은 것으로 나타내었다. 특히 처리농도 1 µg/ml 일 때 열수 (5.27%) 및 에탄올 추출물 (6.93%)은 대조군인 ascorbic acid (6.92%)와 유사한 활성을 나타내었지만 유의성을 나타내지 않았다. ABTS 라디칼 소거활성 결과(Table 2), 각 추출물별 추출물의 농도 의존적으로 소거활성이 높았다. 1 µg/ml 농도에서는 열수 추출물 (8.77%)과 70% 에탄올 추출물 (12.14%)에서 모두 대조군인 ascorbic acid (7.81%) 보다 높은 활성을 나타내었으며, 열수 추출물 처리군과 대조군 처리군에서는 유의성 있는 활성을 나타내었다. 그러나 추출물별 다른 농도에서는 대조군 보다 다소 낮은 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내었다.

Table 2. DPPH and ABTS radical scavenging activities of water and 70% EtOH extracts from SC

Group	concentration (µg/ml)	Scavenging activity of DPPH radical (%)	Scavenging activity of ABTS radical (%)
Hot-Water	10	21.39±0.30 ^d	43.21±1.32 ^d
	5	12.75±1.12 ^f	24.96±0.92 ^f
	1	5.27±2.80 ^e	8.77±0.59 ^h
70% EtOH	10	26.36±0.12 ^c	59.64±1.44 ^c
	5	15.96±0.41 ^e	37.01±1.58 ^e
	1	6.93±0.76 ^e	12.14±0.42 ^e
Ascorbic acid	10	68.07±0.39 ^a	95.14±0.21 ^a
	5	34.18±0.85 ^b	74.09±0.45 ^b
	1	6.92±0.46 ^e	7.81±0.18 ^h

The values are expressed as means±standard deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-h) are significantly different at p < 0.05 as determined by Tukey's multiple range test.

3. Hydroxyl 라디칼 소거 활성

Hydroxyl 라디칼 소거활성 결과에서는 마가목의 각 추출물별 추출물의 농도 의존적으로 소거활성이 높았다. 처리 농도가 12.5~50 µg/ml 일 때 열수 추출물 처리군 (7.63~10.37%) 보다 70% 에탄올 추출물 처리군 (18.42~23.61%)에서 약 2배 이상의 높은 활성을 나타내었다. 그러나 각 추출물별 추출물은 대조군인 ascorbic acid와 비교하여 낮은 소거활성을 나타내었다(Table 3).

Table 3. Hydroxyl radical scavenging activity of water and 70% EtOH extracts from SC

Group	concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Hydroxyl radical scavenging activity(%)
Hot-Water	50	10.37 \pm 1.51 ^d
	25	10.08 \pm 1.19 ^d
	12.5	7.63 \pm 0.12 ^d
70% EtOH	50	23.61 \pm 1.21 ^b
	25	22.15 \pm 1.16 ^{bc}
	12.5	18.42 \pm 0.76 ^c
Ascorbic acid	50	43.92 \pm 2.82 ^a
	25	23.04 \pm 0.69 ^b
	12.5	10.94 \pm 0.54 ^d

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-d) are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Tukey's multiple range test.

4. Fe²⁺ 킬레이팅 활성

마가목의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성을 측정한 결과(Table 4), 각 추출물별 추출물의 농도의존적으로 킬레이팅 활성이 높았다. 그러나 대조군인 ascorbic acid는 동일한 농도에서 열수 및 70% 에탄올 추출물 처리군에 비해 다소 낮은 활성을 나타내었다. 각 추출물의 처리 농도 50 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 70% 에탄올 추출물 처리군 (13.06%)은 열수 추출물 처리군 (12.27%)에 비해 약간 높은 활성을 나타내었지만, 유의성을 나타내지 않았다.

Table 4. Fe²⁺ chelating activity of water and 70% EtOH extracts from SC

Group	concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Fe ²⁺ chelating activity (%)
Hot-Water	50	12.27 \pm 0.82 ^{ab}
	25	9.28 \pm 1.59 ^{abcd}
	12.5	6.83 \pm 1.07 ^{ode}
70% EtOH	50	13.06 \pm 1.58 ^a
	25	10.31 \pm 2.49 ^{abc}
	12.5	9.30 \pm 0.27 ^{abcd}
Ascorbic acid	50	8.58 \pm 1.70 ^{bcd}
	25	5.32 \pm 0.57 ^{de}
	12.5	4.65 \pm 1.12 ^e

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-e) are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Tukey's multiple range test.

5. 아질산염 소거 활성

마가목 열수 및 에탄올 추출물의 아질산염 소거활성 pH 1.2와 pH 3.0에서 측정한 결과(Table 5), pH와 상관없이 처리 농도(12.5~50 $\mu\text{g/ml}$)에 따라 소거활성이 높았으며, 70% 에탄올 추출물 처리군은 열수 추출물 처리군과 비교하였을 때 다소 높은 활성을 나타내었다. 각 추출물의 처리 농도 50 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 열수 및 70% 에탄올 추출물 처리군은 모두 대조군인 BHT에 비해 높은 활성을 나타냈다. pH 3.0의 경우 처리농도

25~50 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 70% 에탄올 추출물 처리군 (80.02%)은 대조군인 BHT (43.48%)보다 약 2배 이상의 매우 높은 유의성 있는 활성 나타내었다.

Table 5. Nitrite scavenging ability of water and 70% EtOH extracts from SC

Group	concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Nitrite scavenging ability(%)	
		pH 1.2	pH 3.0
Hot-Water	50	92.63 \pm 0.89 ^{ab}	66.82 \pm 1.16 ^c
	25	65.36 \pm 0.89 ^e	41.06 \pm 0.95 ^e
	12.5	42.59 \pm 7.99 ^f	26.78 \pm 0.59 ^f
70% EtOH	50	96.64 \pm 0.14 ^a	82.51 \pm 0.36 ^a
	25	91.97 \pm 1.35 ^{ab}	80.02 \pm 1.29 ^a
	12.5	86.55 \pm 1.81 ^{bc}	72.44 \pm 3.92 ^b
BHT	50	80.11 \pm 0.89 ^{cd}	59.72 \pm 0.23 ^d
	25	75.31 \pm 0.72 ^d	43.48 \pm 1.89 ^e
	12.5	72.96 \pm 1.19 ^{de}	31.38 \pm 1.54 ^f

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-f) are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Tukey's multiple range test.

IV. 고찰

마가목은 예로부터 국내에서는 氣管支炎, 腔腸保護, 動脈硬化, 補血, 泄瀉, 膀胱病, 鎮咳, 咳嗽, 肺結核 등에 한약재로 사용되어 왔다²⁴. 주로 서양에서는 가로수와 정원수로 이용되고 있으며, 열매에는 구연산, 탄닌, 사과산, 카로티노이드 성분이 풍부하여 술이나 잼으로 만들어서 감기와 위장약으로 활용되고 있다²⁵. 마가목 가지에는 prunasin, lupenone, lupeol, catechin-7-O- β -D-apiofuranoside, catechin-7-O- β -D-xylopyranoside 등이 보고되어 있으며^{26,27}, catechin-7-O- β -D-apiofuranoside과 catechin-7-O- β -D-xylopyranoside은 강한 항산화 효과를 가진 성분이라고 보고²⁷된 바 있으나, 마가목은 딸감으로 사용되거나 버려지고 있는 실정¹⁶이다. 이에 마가목의 추출용매, 추출방법 및 다양한 항산화 활성 검증을 확인하여, 항산화 천연소재의 이용가치를 높이고자 하였다.

페놀성 화합물은 식물의 대표적 2차 대사산물로 hydroxyl기를 가지는 방향족 화합물로서 다양한 생리활성에 기여한다. 페놀성 화합물의 종류나 함량에 따라서 항산화 활성에 미치는 영향은 다른 것으로 알려져 있으며^{28,29}, 플라보노이드와 탄닌의 주성분으로 항산화, 항암, 항고혈압, 충치예방, 항에이즈 등의 다양한 생리활성을 가진다. Kim 등³⁰과 Koh 등³¹의 연구결과에 의하면 식물성 추출물은 추출 부위별, 조건, 방법 및 추출용매 등에 따라 유효물질의 함량 및 양상이 다르며, 추출 성분들이 달라지기 때문에 추출 수율에 있어서도 많은 차이를 보인다고 보고하였으나 본 연구에서는 용매간의 추출 수율이 크게 차이가 나지 않았다. 마가목의 열수 추출물 및 70% 에탄올 추출물에 존재하는 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과(Table 1) 마가목의 열수 추출물 처리군 보다 70% 에탄올

추출물 처리군에서 다소 높은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 나타내었다. Kwon과 Park³²⁾의 보고한 연구결과와 비교하였을 때 오미자 추출물의 페놀성 화합물 함량은 물 추출물보다 70% 에탄올 추출물에서 높게 나타난 연구결과로 본 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

항산화 활성의 측정법은 다양하지만 일반적으로 많이 사용하는 방법은 DPPH 라디칼 소거능 측정방법으로 알려져 있다. DPPH는 보라색을 띠는 비교적 안정한 유리 라디칼이며, 항산화 물질과 반응하여 라디칼을 소거시키며 탈색되는 현상을 이용하여 측정하는 방법으로 항산화 작용의 지표로써 많이 이용되고 있다^{33,34)}. 마가목 열수 및 70% 에탄올 추출물과 ascorbic acid의 DPPH 라디칼 소거활성능을 측정한 결과(Table 2), 열수 추출물 처리군은 5.27~21.39%로 70% 에탄올 추출물 처리군은 6.93~26.36%로 보임으로서 전체적으로 열수 추출물 처리군 보다 70% 에탄올 추출물 처리군이 약간 높은 활성을 나타내었다. 또한 마가목의 열수 및 70% 에탄올 추출물 처리군과 대조군인 ascorbic acid에서 모두 농도가 증가할수록 DPPH 소거활성능이 증가함을 알 수 있었다. Kim²⁴⁾은 마가목 추출물의 용매 분획물의 항산화력을 측정한 결과 Quercetin (86.99%) > Ethyl acetate층 (85.71%) > n-BuOH층 (36.55%) > H₂O (3.56%) 층 순으로 DPPH 라디칼 소거하는 활성을 보였으며, 또한 기존에 알려진 플라보노이드 물질인 Rutin (59.53%)과 비교하였을 때 마가목의 EA 층에서 더욱더 강한 항산화력을 나타내었다고 보고하였다. 이에 본 연구결과와 비교하였을 때 70% 에탄올 추출물 처리군에서 낮은 농도에서 강한 항산화력을 가진 것으로 보여지며, Na²⁷⁾ 등이 보고한 catechin-7-O-β-D-apiofuranoside와 catechin-7-O-β-D-xylopyranoside 성분이 다량 함유되어 있는 것으로 사료된다. 추후 단일 추출법에 의해 제조된 마가목 추출물에 포함된 항산화 성분 함량 분석을 통하여 항산화 활성 성분을 보다 효과적으로 추출할 수 있는 방법으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

ABTS 방법은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS⁺이 시료 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 탈색되는 것을 이용한 항산화능 측정하는 방법으로 DPPH의 경우 자유라디칼을 소거하는 반면, ABTS는 양이온 라디칼을 제거하는 방법으로 차이가 있으며, 두 기질과 반응물과의 결합 정도가 달라져 라디칼 제거 능력의 차이가 나타난다³⁵⁾. ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과 (Table 2) 열수 추출물 처리군은 8.77~43.21%의 소거효과를 보였으며, 70% 에탄올 추출물 처리군은 12.14~59.64%의 소거활성으로 추출 용매별로 농도가 높아질수록 활성이 증가하였다. ABTS 라디칼 소거능은 DPPH 라디칼 소거능과 달리 극성과 비극성 시료의 소거활성을 모두 확인할 수 있으므로³⁶⁾ ABTS 라디칼 소거능이 우수한 추출물에서 DPPH 라디칼 소거능도 높은 경향이었고 두 방법 간에 높은 상관관계가 존재함을 보고³⁷⁾하였는데 본 연구결과와도 유사한 경향을 나타내었다.

Hydroxyl 라디칼은 노화와 관련된 원인 물질인 활성산소 중에서 반응성이 가장 강하여 세포막 및 생체 내 각종 조직 등의 산화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다³⁸⁾. 열수 및

70% 에탄올 추출물의 hydroxyl 라디칼의 소거활성을 측정한 결과 (Table 3), 각 추출물별의 처리군은 대조군인 ascorbic acid의 경우 10.94~43.92%에 비해 낮은 활성을 나타내었다. 70% 에탄올 추출물 처리군 (18.42~23.61%)은 열수 추출물 처리군(7.63~10.37%)에서 보다 약 2배 이상 높은 활성을 나타내었다. Choi 등³⁹⁾은 마가목 95% 에탄올 추출물 처리군 1 mg/ml의 농도에서 89.6%로 높은 hydroxyl 라디칼 소거활성을 나타낸다고 보고한 바 있다. 본 연구결과에서는 70% 에탄올 추출물 처리군에서 가장 높은 농도인 50 μg/ml과 비교하였을 때, 23.61%로 Choi 등³⁹⁾에 비해 다소 낮은 소거활성으로 처리 농도 및 추출용매에 따라 활성차이가 다르게 나타나는 것을 확인하였다. 추후 추출물의 항산화성의 차이를 고려한다면 유효 성분 추출 시 추출용매의 차이를 고려해야할 것으로 사료된다.

Fe²⁺ chelating 활성은 생체내의 철 이온 과잉으로 발생할 수 있는 hydrogen peroxide와의 fenton reaction에 의해 단백질 발현의 손상, 산화적 스트레스를 통한 DNA 손상, 세포의 노화 등의 원인으로 알려진 강력한 활성 산소종의 억제에 위한 Fe²⁺ chelating 반응을 이용한 것이다⁴⁰⁾. Fe²⁺ chelating 활성을 측정한 결과(Table 4), 추출물별 추출물의 농도가 높을수록 킬레이팅 활성이 높았으며, 대조군인 ascorbic acid은 4.65~8.58%로 열수 및 70% 에탄올 추출물 처리군 보다 다소 낮은 활성을 보였다. 12.5~50 μg/ml의 농도에서 열수 추출물 처리군은 6.83~12.27%의 활성을 보였고, 70% 에탄올 추출물 처리군에서는 9.30~13.06%로 열수 추출물 처리군에서 보다 약간 높은 활성을 보였다.

일반적으로 폴리페놀과 항산화 활성과의 상관관계에 관한 보고된 연구결과를 살펴보면, 폴리페놀과 DPPH 라디칼과의 상관관계에 대해 Kwon 등⁴¹⁾은 총 페놀함량이 높은 분획물에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였고, Kang 등⁴²⁾은 환원력이 클수록 DPPH 라디칼 소거능이 높은 활성을 보이며 페놀화합물이 DPPH 라디칼 소거능과 밀접한 상관관계가 있다고 보고하였다. 또한 ABTS 라디칼도 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량이 많을수록 항산화능이 우수하다고 알려져 이는 페놀성 화합물이 반응 중 alkyl 라디칼 또는 alkylperoxy 라디칼에 수소를 공여해 라디칼을 제거하여 산화를 억제하기 때문이라고 보고된 바 있으며⁴³⁾, Dlamini 등⁴⁴⁾과 Pasko 등⁴⁵⁾은 폴리페놀함량이 많을수록 환원력은 높다고 보고하였다. 따라서 이상의 결과에서 마가목은 ABTS 라디칼 소거능과 Fe²⁺ 킬레이팅 활성능에서 열수 추출물 보다 70% 에탄올 추출물에서 다소 높게 나타난 것은 높은 폴리페놀 함량에 기인한 것으로 판단된다.

아질산염은 식품의 가공 및 저장, 특히 식육제품이나 수산물에 첨가하여 독소생성 억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되고 있는데, 일정농도 이상 섭취 시 혈액 중의 헤모글로빈이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증을 유발하는 등 각종 중독을 일으킨다고 보고된 바 있다⁴⁶⁾. 또한 발암성 물질로 알려진 nitrosamin의 전구물질로 알려진 아민류를 함유한 식품을 첨가하였을 때 매우 높은 nitrosamine 생성될 수 있으며, pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다⁴⁷⁾. 마가목 열수 및 70% 에탄올 추출물의 아질산염 소거활성 결과에서는 pH와 상관없이 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거활성도 증가하는 경향을 보였다. pH 1.2와 3.0

에서 모두 열수 추출물 처리군 보다 70% 에탄올 추출물 처리군 (72.96~80.11%)에서 높은 활성을 보였으며, 합성항산화제인 BHT (31.38 ~59.72%)보다 높은 소거능을 나타내었다. 또한 농도와 관계없이 pH 3.0 보다 pH 1.2에서 강한 아질산염 소거 활성을 나타내었다. 따라서 이상의 연구결과 아질산염 소거능이 인체의 위내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 우수한 것으로 나타나 마가목 추출물은 생체 내에서도 효과적인 아질산염 소거활성으로 nitrosamine 생성을 억제할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 마가목 줄기 열수 및 70% 에탄올 추출물에 대한 항산화 활성을 검증하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 열수 추출물 처리군 보다 70% 에탄올 추출물 처리군에서 약간 높은 함량으로 유의적인 차이를 보였다.
2. 항산화 활성 (DPPH, ABTS, Fe²⁺+킬레이팅)에서는 농도 의존적으로 70% 에탄올 추출물 처리군은 열수 추출물 처리군 보다 다소 높은 활성을 보였다.
3. Hydroxyl 라디칼 소거능은 70% 에탄올 추출물 처리군 (18.42~23.61%)에서 열수 추출물 처리군 (7.63~10.37%) 보다 약 2배 이상 높은 활성을 보였다.
4. 아질산염 소거능은 열수 및 70% 에탄올 추출물 처리군에서 농도 의존적으로 pH 1.2에서 pH 3.0 보다 높은 소거활성을 보였으며, 70% 에탄올 추출물 (86.55~96.64%)은 열수 추출물 처리군 (42.59~92.63%)과 대조군인 BHT (72.96~80.11%) 보다 높은 활성을 나타내었다.

따라서 마가목 줄기 열수 및 70% 에탄올 추출물은 항산화 활성 효과가 있다고 사료되며, 항산화 천연소재로서 활용가능성이 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 중부대학교 학술연구비 지원에 의하여 이루어진 것임.

References

1. Almeida IF, Valentao P, Andrade PB, Seabra RM, Pereira TM, Amaral MH, Costa PC, Bahia MF. Oak leaf extract as topical antioxidant: Free radical scavenging and iron chelating activities and in vivo skin irritation potential. *Biofactors*. 2008 ; 33 : 267-79.
2. Kim JP, Chon IJ, Cho HK, Ham IH, Whang WK. The antioxidant and the antidiabetic effects of ethanol extract from biofunctional foods prescriptions. *Kor J Pharmacogn*. 2004 ; 35 : 98-103.
3. Hammond B, Kontos A, Hess ML. Oxygen radicals in the adult respiratory distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury, and in cerebral vascular damage. *Can J Physiol Pharmacol*. 1985 ; 63 : 173-87.
4. Brane AL. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc*. 1975 ; 52 : 59-63.
5. Kim C.M., Shin M.G., Ahn D.G. and Lee G.S. Chinese herbal medicine dictionary. Korea : Jungdam, 1999 : 4972.
6. Song HK, So SK, Kim MY, Park JM, Lee SH, Park GS. Vegetation-environment relationships in forest community of ulleung island. *Kor. J. Env. Eco*. 2007 ; 21 : 82-97.
7. Jiangsu New School of Medicine. Chinese Medicine Dictionary Book 1. China : Shanghai Science and Technology Press. 1985 : 274.
8. Li FG. Chinese Changbai Mountain medicinal plant color map. China : People's Health Publishing. 1997 : 237.
9. Park JH. Studies on the origin of korean folk medicine. *Kor. J. Pharmacogn*. 1993 ; 24 : 322-7.
10. Lee SJ. Korean Folk Medicine. Korea : Publishing, Center of Seoul National University. 1966 : 76.
11. Park JH. Korean Folk Medicine. Korea : Pusan National University Publication. 1999 : 85.
12. Kim MS, Seong HJ, Sohn HY. In-vitro Antithrombosis activity of different parts of *Sorbus commixta* from ulleung island, 2016 ; 26 : 289-95.
13. Lee MK, Lee HY, Lee JH, Oh JS, Chio GP, Kim JH, Kim JD. Anticancer effect of *Sorbus commixta* Hedl extracts. *Korean J. Medicinal Croup Sci*. 2002 ; 10 : 403-8.
14. Kang MA, Kim MB, Kim JH, Ko YH, Lim SB. Integral antioxidative capacity and antimicrobial activity of pressurized liquid extracts from 40 selected plant species. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2010 ; 39 : 1249- 56.
15. Moon EJ, Youn YS, Choi BY, Jeing HU, Park JH, Oh MS, Soh YJ, Kim SY. Extracts of *Sorbus commixta* and *Geranium thunbergii* inhibit osteoclastogenesis and stimulate chondrogenesis. *J. Korea Academia-Industrial cooperation Society*. 2010 ; 11 : 3358-65.
16. Lim GN, Park MA, Park SN. Antioxidative and Antiaging Effects of *Sorbus commixta* twig extracts.

1. Almeida IF, Valentao P, Andrade PB, Seabra RM, Pereira TM, Amaral MH, Costa PC, Bahia MF. Oak leaf extract as topical antioxidant: Free radical scavenging and iron chelating activities and in vivo

- J. of the Korean Oil Chemists' Soc. 2011 ; 28 : 482-90.
17. Folin O, Denis W. A colorimetric method for determination of phenols (phenol derivatives) in urine. J. Biol. Chem. 1915 ; 22 : 305-8.
 18. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 1999 ; 64 : 555-9.
 19. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 : 1199.
 20. 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. 1999 ; 26 : 1231-7.
 21. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. Phytochemistry. 1989 ; 28 : 1057-60.
 22. Hus B, Coupar IM, Ng K. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the *Doum palm*, *Hyphaene thebaica*. Food Chem. 2006 ; 98 : 317-28.
 23. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines. Agric. Biol. Chem. 1987 ; 51 : 1333-8.
 24. Kim HW. Screening of Antioxidants from *sorbus commixta* Hedlund and determination of its antioxidant activity. Kon-Kuk University. 1998 : 13, 26, 30.
 25. Borisov Mi, Zhuravelev NS. Flavonoids of the flowers of *Sorbus aucuparia* L. Famatsevtychnyi Zhurnal. 1965 ; 20 : 50-2.
 26. Bhatt LR., Bae MS, Kim BM, Oh GS, Chai KY. A chalcone glycoside from the fruits of *Sorbus commixta* Hedl. Molecules. 2009 ; 14 : 5323.
 27. Na MK, An RB, Lee SM, Min BS, Kim YH, Bae KH, Kang SS. Antioxidant compounds from the stem bark of *Sorbus commixta*. Natural Product Science. 2002 ; 8 : 26.
 28. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C. Bioavailability and bio efficacy of polyphenols in humans. Am J Clin Nutr. 2005 ; 81 : 230-42.
 29. Ryu SW, Jin CW, Lee HS, Lee JY, Sapkota K, Lee BG, Yu CY, Lee MK, Kim MJ, Cho DH. Changes in total polyphenol, total flavonoid contents and antioxidant activities of *Hibiscus cannabinus* L. Korean J Medicinal Crop Sci. 2006 ; 14 : 307-10.
 30. Kim SM, Cho YS, Sung SK. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J. Food Technol. 2001 ; 33 : 626-32.
 31. Koh JH, Hwang MO, Moon JS, Hwang SY, Son JY. 2005. Antioxidative and antimicrobial activities of pomegranate seed extracts. Korean J. Food Cookery Sci. 2005 ; 21 : 171-9
 32. Kwon HJ, Park CG. Biological activities of extracts from Omija (*Schizandra chinensis* Baillon). Korean J. Food Preserv. 2008 ; 15 : 587-92.
 33. Lee JM, Chang PS, Lee JH. Comparison of oxidative stability for the thermally-oxidized vegetable oils using a DPPH method. Kor. J. Food Sci. Technol. 2007 ; 39 : 133-7.
 34. Lee SH, Kang KM, Park HJ, Baek LM. Physiological characteristics of medicinal plant extracts for use as functional materials in seasoning sauce for pork meat. Kor. J. Food Sci. Technol. 2009 ; 41 : 100-5.
 35. Li H, Choi YM, Lee JS, Park JS, Yeon KS, Han CD. Drying and antioxidant characteristics of the shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom in a conveyor-type far-infrared dryer. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2007 ; 36 : 250-4.
 36. Van DBR, Haenen GRMM, Van DBH, Bast A. Applic ability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chem. 1999 ; 66 : 511-7.
 37. Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. The antioxidant activities of some commercial teas. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2003 ; 32 : 723-7.
 38. Heo SI, Wang MH. Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H. Kor J Pharmacogn. 2008 ; 39 : 255-9.
 39. Choi SI, Lee YM, Heo TR. Screening of Hyaluronidase Inhibitory and free radical scavenging activity in vitro of traditional herbal. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 2003 ; 18 : 282-8.
 40. Sakanaka S, Tachibana Y, Okada Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). J. Food Chem. 2005 ; 89 : 569-75.
 41. Kwon HN, Park JR, Jeon JR. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Acer tegmentosum* M. extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2008 ; 37 : 1389-94.
 42. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. Korean J Food Sci Technol. 1995 ; 27 : 978-84.
 43. Labuza TP, Dugan Jr L. Kinetics of lipid oxidation in foods. Crit Rev Food Sci. 1971 ; 2 : 355-405.
 44. Dlamini NR, Taylor J, Rooney LW. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. Food

- Chem, 2007 ; 105 : 1412-9.
45. Pasko P, Barton H, Zagrodzki P, Gorinstein S, Folta M, Zachwieja Z. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem*, 2009 ; 115 : 994-8.
 46. Peter FS. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J Sci Food Agric*, 1975 ; 26 : 1761-6.
 47. Gray JI, Dugan JR. Inhibition of n-nitros-amine formation in model food systems. *J. Food Sci*, 1975 ; 40 : 981-4.