



재배조건 및 관수방법에 따른 병풀 (*Centella asiatica*) 계통의 생육, Asiaticoside 함량과 항산화활성

최장남¹ · 이희정² · 이윤지³ · 정진태⁴ · 이정훈⁵ · 장재기⁶ · 박춘근^{7†}

Growth Characteristics and Asiaticoside Content, and Antioxidant Activities in *Centella asiatica* by Cultivation and Irrigation Methods

Jang Nam Choi¹, Hee Jung Lee², Yun Ji Lee³, Jin Tae Jeong⁴, Jeong Hoon Lee⁵,
Jae Ki Chang⁶ and Chun Geon Park^{7†}

ABSTRACT

Received: 2020 July 9
1st Revised: 2020 July 27
2nd Revised: 2020 August 18
3rd Revised: 2020 August 19
Accepted: 2020 August 19

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.

Background: *Centella asiatica* is a well-known medicinal plant having a wound healing effect. In this study, the growth, asiaticoside content, and antioxidant components and activity were investigated in *C. asiatica* resources under different cultivation and irrigation conditions.

Methods and Results: The cultivation and irrigation methods were divided as greenhouse and open field, and sprinkler and sub irrigation, respectively. Growth characteristics were measured in aerial parts of *C. asiatica*. Asiaticoside content was analyzed using high performance liquid chromatography. Total polyphenol, total flavonoid and 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity were analyzed for antioxidant activities. Growth was higher under greenhouse and sub irrigation than open field and sprinkler conditions. In the leaves, asiaticoside content was 53.45 mg/g (open field) and 34.38 mg/g (sub irrigation), total polyphenol was 41.14 mg/g (open field) and 25.73 mg/g (sub-irrigation), and total flavonoid was 27.26 mg/g (open field) and 23.72 mg/g (sub-irrigation). DPPH radical scavenging activity in the leaves was 85.97 mg · ascorbic acid equivalent (AAE)/g (open field) and 54.83 mg · AAE/g (sub irrigation).

Conclusions: Asiaticoside and antioxidant components and activity were not accompanied with high yield, although high growth was observed under greenhouse conditions. Therefore, cultural requirements of *C. asiatica* should be sufficiently considered to suit each purpose.

Key Words: *Centella asiatica*, Antioxidant Activities, Asiaticoside, DPPH, Total Flavonoid, Total Polyphenol

서 언

미나리과 다년생 초본식물인 병풀 (*Centella asiatica* L. Urban)은 적설초 (積雪草), 고투콜라 (Gotu kola), 호랑이풀 (Tiger grass) 등 다양한 이름으로 불리며, 고온 다습한 곳에서 자생하는 특성으로 인도양의 열대지방에서 기원한 것

으로 알려진 식물이다 (Hausen, 1993). 병풀은 아프리카의 madagascar 섬, 인도양, 아프리카, 중국, 인도 남방 및 말레이시아 지역 등 고온 다습한 곳에서 광범위하게 분포하고 있다 (Hausen, 1993; Verma *et al.*, 1999; Schaneberg *et al.*, 2003). 전 세계적으로는 약 20 여 종이 알려져 있으며 그 중 3 종은 주로 동남아시아의 열대 및 아열대 지방에 있고 대부

†Corresponding author: (Phone) +82-43-871-5664 (E-mail) pcg@korea.kr

¹농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 약용작물과 전문연구원 / Researcher, Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.
²충북대학교 식품공학과 박사과정생 / Ph. D. student, Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea.

³농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 약용작물과 농업연구사 / Researcher, Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁴농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 약용작물과 농업연구사 / Researcher, Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁵농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 약용작물과 농업연구사 / Researcher, Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁶농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 약용작물과 농업연구관 / Researcher, Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

⁷농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 약용작물과 농업연구관 / Researcher, Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea.

분은 아프리카에 분포한다 (Jo *et al.*, 2014). 또한, 국내에서는 제주도 및 일부 남부 도서 지방의 저습지에서 제한적으로 군생하고 있는 것으로 알려져 있다 (Hausen, 1993; Paek *et al.*, 1996; Kwon *et al.*, 2008).

인도 약전 (Indian Herbal Pharmacopoeia), 독일동종약전 (GHP, German Homoeopathic Pharmacopoeia), 유럽 약전 (European Pharmacopoeia), 중국 약전 (Pharmacopoeia of People's Republic of China) 등에 약재로써 등재된 병풀은 항염증, 콜라겐 합성 촉진, 피부 재생 등의 효과가 뛰어나 오래전부터 인도 및 아시아 지역의 약용식물로 이용되어왔을 뿐 아니라, 의약품 및 화장품 원료로도 활용되고 있다 (Brinkhaus *et al.*, 2000; Schaneberg *et al.*, 2003; Kil *et al.*, 2018). 이러한 치료 효과에는 asiaticoside, madecassic acid 등 병풀의 주요성분들로부터 기인하고 있으며, 이 외에도 항균활성, 항암효과, 신경 안정 효능, 면역 활성 증진 등 병풀의 다양한 생리활성 기능에 관한 연구들이 보고됐다 (Goo *et al.*, 2018).

병풀 주요성분의 기능성이 대중화되면서 병풀의 활용성은 높아졌으나 생육 특성 상, 원줄기의 포복성으로 인한 재배의 어려움과 제한적인 자생지 때문에 전량 수입에 의존하고 있고 (Baek, 1997) 병풀의 재배적 접근 방법에 따른 특성 연구 역시도 전무한 실정이다.

본 연구에서는 재배조건 및 관수방법에 따른 병풀 계통의 생육특성과 성분 분석, 그리고 항산화 물질 및 항산화 활성 분석을 통해 병풀 계통의 품종 육성 및 안정적 생산을 위한 기초자료로 이를 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시재료 및 재배

재배조건 및 관수방법에 따른 병풀 (*Centella asiatica* L. Urban)의 생육과 성분 특성, 그리고 항산화 활성을 평가하기 위해 2018년 6월 충북 충주에서 수집한 병풀 재래종을 증식한 후, 국립원예특작과학원 인삼특작부 (충북 음성) 시험포장 (노지재배)과 비닐하우스 (시설재배)로 각각 나눠 식재하였다.

또한 비닐하우스 내 관수 방법에 따른 특성을 조사하기 위해 관수 방법을 스프링클러 관수와 저면 관수로 나눠 시행하였다. 관수 간격은 스프링클러의 경우, 7 일, 저면관수는 15 일 간격으로 지상부 전용 양액 (Daeyumulpre No.1, DAEYU Co., Ltd., Seoul, Korea)으로 관수 실시하였다. 각 시험처리구는 난괴법 3 반복으로 설계하여 수행하였다.

2. 재배방법 및 관수방법 별 생육특성 조사

병풀 수집종의 재배조건 및 관수방법 별 지상부의 생육조사 항목으로는 엽장, 엽폭, 엽병장, 경장, 경수, 엽수, 생중 (잎, 엽병, 줄기)을 중심으로 조사하였다.

3. 재배방법 및 관수방법 별 asiaticoside 함량 분석

병풀 추출물의 지표성분인 asiaticoside 함량은 HPLC 1260 series (Agilent Technology)를 이용하였으며 HPLC 분석 조건은 Table 1과 같다.

각각의 재배 및 관수 조건에 따른 병풀의 asiaticoside 함량 분석은 잎, 엽병, 줄기로 구분하여 분석하였다. 정량 분석은 표준물질인 asiaticoside (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 63, 125, 250, 500, 1,000 ppm 농도로 분석하여 표준곡선 $y = 1.4712x + 46.6$ ($r^2 = 0.99$)을 통해 mg/g 으로 나타내었다.

Table 1. HPLC analysis conditions for asiaticoside.

| | | | |
|---------------------|--|-----------|-----------|
| HPLC | Agilent Technologies 1260 series | | |
| Column | INNO Column C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) | | |
| Wavelength | 254 nm | | |
| Column temperature | 25°C | | |
| Mobile phase | Solvent A - Water (+ 0.3% Acetic Acid) Solvent B - Acetonitrile | | |
| Flow rate | 0.8 mL/min | | |
| Gradient conditions | Time (min.) | Solvent | Ratio (%) |
| | 0.0 | solvent B | 15% |
| | 10.0 | solvent B | 30% |
| | 20.0 | solvent B | 50% |

4. 재배방법 및 관수방법 별 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin과 Denis (1912)의 방법을 일부 변형하여 실시하였다.

0.1 mL의 각 시료에 증류수를 가하여 0.4 mL로 만들고 여기에 0.05 mL의 Folin-ciocalteu's phenol reagent를 가해주어 혼합한 뒤, 3 분간 실온에서 방치하였다. Na₂CO₃ 포화용액 0.1 mL를 넣어 혼합한 뒤, 증류수를 첨가하여 총 0.35 mL의 샘플을 실온에서 1 시간 방치하였다. 이후 3,000 rpm에 10 분간 원심분리한 뒤, 상등액을 취해 725 nm에서 UV-VIS spectrophotometer (MultiskanGO, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 흡광도를 측정 한 후, 표준물질 catechin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 통해 작성한 표준곡선 $y = 0.0051x + 0.0154$ ($r^2 = 0.9988$)으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

5. 재배방법 및 관수방법 별 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Davis (1947) 방법을 변형시켜 0.1 mL의 에탄올 추출물에 90% diethylene glycol 1 mL를 첨가하고, 다시 1N NaOH을 0.1 mL을 넣고 37°C 항온수조 (WCB30106, DAIHAN Scientific Co., Ltd., Wonju, Korea)에서 1 시간 반응시킨 후 420 nm에서 UV-VIS spectrophoto-

meter (MultiskanGO, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 흡광도를 측정 한 후, 표준물질 naringin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 작성한 표준곡선 $y = 0.0031x + 0.0225$ ($r^2 = 0.994$)으로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

6. 재배방법 및 관수방법 별 DPPH radical 라디칼 소거능 측정

병풀의 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) radical 항산화 활성 측정은 Abe 등 (1998)의 방법을 변형하여 실시하였다. 0.2 mM DPPH 메탄올 용액을 제조하여 조제한 액을 여과지 (Whatman No. 4, Whatman plc, Kent, UK)에 여과하여 준비하였다.

추출물 40 μ l 에 DPPH solution 160 μ l 을 넣고 23°C의 암실에서 30 분간 반응시킨 후, UV-VIS spectrophotometer (MultiskanGO, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 517 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 일반적으로 많이 알려진 L-ascorbic acid (JUNSEI chemical Inc., Tokyo, Japan)와 비교하여 시료구와 대조구 간 흡광도 차이를 mg ascorbic acid equivalents/g으로 나타냈다.

7. 통계분석

본 실험결과의 통계분석은 SAS program (ver. 9.2; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 실시하였으며, 재배조건 (시설재배, 노지재배) 및 관수방법 (스프링클러, 저면)에 따른 각각의 두 그룹 간 유의적 차이는 *t*-test를 통해 5% ($p < 0.05$) 유의수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 재배방법 및 관수방법 별 병풀의 생육특성

재배조건에 따른 병풀 (*Centella asiatica* L. Urban)의 생육 특성을 조사한 결과, 시설에서 재배된 병풀의 생육 특성이 노지재배보다 높은 것으로 나타났다 (Table 2).

생육 조사에서는 잎, 엽병, 줄기에서 시설재배가 노지재배보다 평균 3 배 이상 높았으며 통계적으로 고도로 유의한 결과

를 보였다. 특히, 엽병의 경우, 시설재배가 481 g/m², 노지재배가 66.1 g/m²로, 모든 조사 항목 중 가장 높은 생육 차이를 나타냈다. 경장은 시설재배가 55.8 cm, 노지재배가 32.8 cm 였으며 경수는 시설재배가 107.3 개/m², 노지재배가 72.3 개/m²로, 시설재배에서의 생육 특성이 노지재배보다 높은 것으로 확인되었다. 특히, 시설재배는 노지재배에 비해 온도, 습도, 광, 탄산가스 등의 다양한 환경요소들이 집약적으로 작용되고 비교적 작물의 안정적인 생산성을 가져올 수 있는 것으로 알려져 있어, 병풀의 수량성면에 있어 시설재배 방법이 고려될 수 있을 것으로 판단된다 (Son *et al.*, 2002; Nam *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2016).

한편, 관수방법에 따른 병풀의 생육 특성 결과에서는 저면 관수가 모든 조사 항목에서 스프링클러관수보다 높은 것으로 나타났다 (Table 3). 특히 엽장, 엽폭, 엽병장, 엽중에서 관수 방법 간의 유의적인 차이를 확인할 수 있었다. 반면, 경장, 엽수, 경수, 엽병중, 경중에서는 저면관수가 스프링클러관수보다 높은 것으로 나타났지만, 두 관수 방법 간 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다.

저면관수는 분화류에서 고품질, 대량생산을 위한 관수방법 중 하나로 알려져 있다 (Jung and Son, 2000). 이 관수방법은 식물체에 물리적 자극을 주지 않고 균일한 관수를 통한 수분 이용효율이 높일 수 있고 비료 유실이 적어 비료와 물 사용량을 절감할 수 있는 등 두상관수에 비해 장점을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다 (Son *et al.*, 2002; Kang *et al.*, 2003).

이와 같은 결과를 통해, 잎을 주로 이용하는 병풀의 다수성을 고려한 자원 선발 및 재배 시, 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

2. 재배방법 및 관수방법 별 asiaticoside 함량

병풀의 지표성분인 asiaticoside에 대해, 재배조건에 따른 병풀 부위 별 함량을 비교해 본 결과, 병풀의 잎, 엽병, 줄기 모든 부위에서 각각 53.45 mg/g, 11.82 mg/g, 15.46 mg/g으로, 노지재배가 시설재배보다 높은 asiaticoside 함량을 나타냈으며 잎과 줄기에서는 두 재배방법 간 유의적 차이를 보였다.

관수방법에 따른 병풀 부위 별 asiaticoside 함량은 잎에서 저면관수 (34.38 mg/g)가 스프링클러관수 (18.82 mg/g)보다 높

Table 2. Growth characteristics of *Centella asiatica* by cultural methods

| Method | Leaf (cm/m ²) | | | Stem length (cm/m ²) | Number (ea/m ²) | | Weight (g/m ²) | | | |
|--------------|---------------------------|---------|----------------|----------------------------------|-----------------------------|-----------|----------------------------|------------|------------|--------------|
| | Length | Width | Petiole length | | Leaf | Stem | Leaf | Petiole | Stem | Total |
| Greenhouse | 2.9±0.4 | 5.2±0.5 | 16.4±2.5 | 55.8±12.8 | 3,203±112.3 | 107.3±8.1 | 575.1±59.6 | 481.0±21.4 | 209.6±19.5 | 1,265.6±61.0 |
| Open Field | 2.1±0.3 | 3.7±0.4 | 7.5±2.1 | 32.8±9.3 | 1,592±50.2 | 72.3±8.1 | 181.1±3.0 | 66.1±3.6 | 54.6±16.8 | 302.0±20.5 |
| Significance | ** | *** | *** | NS ¹⁾ | *** | NS | *** | *** | *** | *** |

Significance as cultural types, greenhouse and open field, was analyzed by *t*-test as means ± SD. ¹⁾NS; Non significant, ** and ***; Significance at the 5% ($p < 0.05$) and 1% ($p < 0.01$) level, respectively.

Table 3. Growth characteristics of *Centella asiatica* by irrigation methods.

| Method | Leaf (cm/m ²) | | | Stem length (cm/m ²) | Number (ea/m ²) | | Weight (g/m ²) | | | |
|---------------|---------------------------|---------|----------------|----------------------------------|-----------------------------|-----------|----------------------------|-------------|------------|---------------|
| | Length | Width | Petiole length | | Leaf | Stem | Leaf | Petiole | Stem | Total |
| Sprinkler | 2.9±0.4 | 5.2±0.5 | 16.4±2.5 | 55.8±12.8 | 3,203±112.3 | 107.3±8.1 | 575.1±59.6 | 481.0±21.4 | 209.6±19.5 | 1,265.6±61.0 |
| Subirrigation | 3.5±0.5 | 6.0±0.8 | 22.6±4.0 | 57.1±16.9 | 2,909±231.0 | 57.6±28.0 | 749.5±68.2 | 761.7±251.5 | 188.7±90.9 | 1,699.1±336.0 |
| Significance | ** | ** | * | NS ¹⁾ | NS | NS | ** | NS | NS | NS |

Significance as irrigation types, sprinkler and sub-irrigation, was analyzed by *t*-test as means ± SD. ¹⁾NS; Non significant, ** and ***; Significance at the 5% ($p < 0.05$), 1% ($p < 0.01$) and 0.1% ($p < 0.001$) level, respectively.

Table 4. Asiaticoside component by cultural and irrigation methods.

| Method | | Asiaticoside (mg/g) | | |
|-------------|----------------|---------------------|------------------|---------------|
| | | Leaf | Petiole | Stem |
| Cultivation | Greenhouse | 18.82±0.20 | ND ¹⁾ | 0.95±0.03 |
| | Open field | 53.45±0.59*** | 11.82±0.03 | 15.46±0.17*** |
| Irrigation | Sprinkler | 18.82±0.20 | ND | 0.95±0.03 |
| | Sub-irrigation | 34.38±0.12*** | ND | ND |

Significance as cultural types and irrigation types was analyzed by *t*-test as Means ± SD. *** means significance at the 0.1% ($p < 0.001$) level. ¹⁾ND; means no detected.

은 asiaticoside 함량을 보였으며 유의적인 차이를 나타냈다. 그러나 엽병에서의 asiaticoside 함량은 시설재배와 두 관수방법에서는 검출되지 않았고 줄기에서는 스프링클러에서 0.95 mg/g 였던 반면에 저면관수에서는 검출되지 않았다 (Table 4).

초본 *Centella*는 triterpene ester 배당체인 asiaticoside의 함량이 2% 미만이어서는 안된다고 세계보건기구는 보고하고 있는데 (World Health Organization; WHO, 1999) 본 연구결과에서는 특히 병풀 잎에서 노지재배 (5.4%) 및 저면관수 (3.4%) 처리가 2% 기준을 충족하는 것으로 나타났다.

Asiaticoside는 항박테리아 및 항균활성을 통해 상처치유와 피부질환 치료에 효과를 나타내며 피부 진피에서 콜라겐 합성 촉진하는 것으로 알려져 있는데 (Chang *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2019), 이러한 약리적 기능을 통해 국내에서는 지금까지 다양한 상처 치료 연고제의 원료로써 활용되어왔다. 최근에는 창상치유 촉진을 목적으로 한 피복재 (드레싱재) 제조 연구에서도 asiaticoside의 높은 활용 가능성을 나타내 (Kim *et al.*, 2018), 향후에도 기능성 의료용 소재에도 다양한 형태로 asiaticoside가 접목될 수 있을 것으로 보여진다.

이에 따라, 앞으로 asiaticoside 함량이 우수한 병풀 자원 확보 및 국내 생산 확대를 위한 일안으로 노지재배 및 저면관수 적용이 고려될 수 있을 것으로 판단된다.

3. 재배방법 및 관수방법 별 항산화 성분과 항산화 활성

재배조건 및 관수방법 별 항산화 성분을 비교하기 위해 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 먼저 재배조건 별 병풀 각 부위의 총 폴리페놀 함량은 노지재배에서 잎

(41.14 mg/g) > 엽병 (23.13 mg/g) > 줄기 (21.57 mg/g) 순으로, 잎에서 총 폴리페놀 함량이 높게 나타났으며 시설재배보다 월등히 높았으며 통계적으로도 매우 유의한 차이를 나타냈다. 또한, 관수방법에 따른 총 폴리페놀 함량은 저면관수에서 잎 (25.73 mg/g) > 줄기 (11.37 mg/g) > 엽병 (4.01 mg/g) 순서로 역시 잎에서 가장 높았으며, 스프링클러관수보다 높게 나타나, 관수방법 간에도 유의한 차이를 보였다 (Table 5).

재배조건 별 병풀 각 부위의 총 플라보노이드 함량은 노지재배에서 잎 (27.26 mg/g) > 엽병 (13.97 mg/g) > 줄기 (10.21 mg/g) 순으로 나타났으며, 관수방법 별로는 저면관수에서 잎 (23.72 mg/g) > 줄기 (3.24 mg/g) > 엽병 (6.07 mg/g) 순으로 나타나 총 폴리페놀 함량 조사와 유사한 경향을 보였다 (Table 6).

식물은 온도와 자외선 스트레스의 영향으로 2 차 대사 물질을 증가시키는 경향이 있는데 (Kakani *et al.*, 2003) 강한 자외선과 높은 광환경에서 폴리페놀 및 항산화 활성을 나타내는 페놀계 화합물이 더욱 축적된다고 보고되었다 (Grisebach, 1982; Kim *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2015). 또한, 노지재배에서의 블루베리 및 오디 과실의 총 페놀 함량과 항산화 활성도가 후숙 단계 이전까지 높은 것으로 보고되기도 하였다 (Kim *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2015).

결과적으로, 노지재배 및 저면관수 처리에서 병풀의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 높은 것으로 조사되었으나, 스프링클러 관수에 비해 저면관수가 작물의 항산화 성분 및 활성에 대한 작용에 관해서는 아직까지 연구된 사례가 없어 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Table 5. Total polyphenol component by cultural and irrigation methods.

| Method | | Total polyphenol (mg/g) | | |
|--------------|----------------|-------------------------|---------------|---------------|
| | | Leaf | Petiole | Stem |
| Cultivations | Greenhouse | 13.44±0.01 | 0.52±0.20 | 8.68±0.19 |
| | Open field | 41.14±0.23*** | 23.13±0.42*** | 21.57±0.07*** |
| Irrigation | Sprinkler | 13.44±0.01 | 0.52±0.20 | 8.68±0.19 |
| | Sub-irrigation | 25.73±0.17*** | 4.01±0.13*** | 11.37±0.02** |

Significance as irrigation types, sprinkler and sub-irrigation, was analyzed by *t*-test as means ± SD. ** and ***; significance at the 5% ($p < 0.05$), 1% ($p < 0.01$) and 0.1% ($p < 0.001$) level, respectively.

Table 6. Total flavonoid component by cultural and irrigation methods

| Method | | Total Flavonoid (mg/g) | | |
|-------------|----------------|------------------------|---------------|---------------|
| | | Leaf | Petiole | Stem |
| Cultivation | Greenhouse | 13.96±0.08 | 1.55±0.41 | 3.46±0.28 |
| | Open field | 27.26±0.63*** | 13.97±0.02*** | 10.21±0.45*** |
| Irrigation | Sprinkler | 13.96±0.08 | 1.55±0.41 | 3.46±0.28 |
| | Sub-irrigation | 23.72±0.13*** | 3.24±0.15** | 6.07±0.17*** |

Significance as irrigation types, sprinkler and sub-irrigation, was analyzed by *t*-test as means ± SD. ** and ***; Significance at the 5% ($p < 0.05$), 1% ($p < 0.01$) and 0.1% ($p < 0.001$) level, respectively.

Table 7. DPPH radical scavenging activity by cultural and irrigation methods.

| Method | | DPPH radical scavenging activity (mg AAE/g d.b.) | | |
|-------------|----------------|--|---------------|---------------|
| | | Leaf | Petiole | Stem |
| Cultivation | Greenhouse | 31.02±0.29 | 7.23±0.19 | 24.02±0.20 |
| | Open field | 85.97±0.41*** | 50.23±0.07*** | 48.28±0.14*** |
| Irrigation | Sprinkler | 31.02±0.29 | 7.23±0.19 | 24.02±0.20 |
| | Sub-irrigation | 54.83±0.04*** | 14.32±0.37*** | 29.46±0.22*** |

Significance as cultural types and irrigation types was analyzed by *t*-test as Means ± SD. ***; significance at the 0.1% ($p < 0.001$) level. d.b; dry basis. DPPH radical scavenging activity is expressed in mg ascorbic acid equivalent (AAE) in 1 g of dry basis.

4. 재배방법 및 관수방법 별 DPPH 라디칼 소거능

재배조건 및 관수방법에 따른 DPPH 라디칼 소거능을 비교한 결과는 Table 7과 같다. 재배조건 별로는 노지재배에서 잎 (85.97 mg/g) > 엽병 (50.23 mg/g) > 줄기 (48.28 mg/g) 순이었으며, 관수방법에 따라서는 노지재배에서 잎 (54.83 mg/g) > 줄기 (29.46 mg/g) > 엽병 (14.32 mg/g) 순으로 나타나, 잎에서 가장 높은 항산화 활성을 보였다. 특히, 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량 조사 결과와 비교했을 때, 노지재배와 저면관수에서 항산화 성분과 항산화 활성이 모두 높은 결과를 나타낸 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 노지재배와 저면관수 적용이 항산화 성분 축적 및 항산화 활성 증가 가능성을 시사한다고 볼 수 있다.

DPPH는 항산화활성 물질의 환원력에 의해 항산화 활성이 측정되므로 식물추출물의 페놀성 화합물 함량에 영향을 받는 것으로 알려져 있다 (Kil *et al.*, 2018). 이러한 이유로 본 연구결과가 항산화 성분인 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 많을 때, 항산화 활성에도 영향을 줄 수 있다는 보고와

도 일치하는 결과라고 볼 수 있다 (Han *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2019).

이상의 결과를 종합해 볼 때, 병풀의 생육적 특성은 시설 유무에 따라 분명한 차이를 나타냈으나, 시설 재배에서의 높은 수량성이 asiaticoside, 항산화 성분 및 활성을 반드시 수반하지는 않는다고 볼 수 있다. 따라서 수량성, 지표성분, 항산화 성분 및 활성 등 각각의 목적에 맞도록 재배적 요건이 충분히 고려되어야 할 것으로 판단된다. 또한, 저면관수와 항산화 물질 및 활성과의 작용 기작과 시설에 따른 토양, 수분, 광, 온·습도 등 다양한 재배환경 조건을 통해, 항산화 물질 및 활성 영향에 대한 추가적인 연구가 향후 보완하여야 될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01363802)의 지원에 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Abe N, Murata T and Hirota A.** (1998). Novel DPPH radical scavengers, bisorbicillinol and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* 62:661-666.
- Baek YW.** (1997). Micropropagation of *Centella asiatica*(L.) Urban by *in vitro* cultures and production of triterpene glycosides. Ph. D. thesis, Chonnam National University. Gwangju, Korea. p.13-15.
- Brinkhaus B, Linder M, Schuppan D and Hahn EG.** (2000). Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica*. *Phytomedicine.* 7:427-448.
- Chang MS, Park EH and Kim HD.** (2007). Wound healing effect of novel asiaticoside mimetics simplified the sugar moiety by tetrahydropyrans. *Yakhak Hoeji.* 51:435-439.
- Davis WB.** (1947). Determination of flavanones in citrus fruits. *Analytical Chemistry.* 19:476-478.
- Folin O and Denis W.** (1912). Tyrosine in proteins as determined by a new colorimetric method. *Journal of Biological Chemistry.* 12:245-251.
- Goo YM, Kil YS, Sin SM, Lee DY, Jeong WM, Ko KH, Yang KJ, Kim YH and Lee SW.** (2018). Analysis of antibacterial, anti-inflammatory, and skin-whitening effect of *Centella asiatica*(L.) Urban. *Journal of Plant Biotechnology.* 45:117-124.
- Grisebach H.** (1982). Biosynthesis of anthocyanins, In: P. Markakis (ed.). *Anthocyanins as food colors.* Academic Press. Cambridge, MA, USA. p.47-67.
- Han SH, Jang JK, Ma KH, Kim YJ, Kim SM, Lee HJ and Hong CO.** (2019). Selection of superior resources through analysis of growth characteristics and physiological activity of *schisandra chinensis* collection. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 27:9-16.
- Hausen BM.** (1993). *Centella asiatica*(Indian pennywort), an effective therapeutic but a weak sensitizer. *Contact Dermatitis.* 29:175-179.
- Jo CH, Kim SY and An IS.** (2014). The improving effect of *Centella asiatica* extracts on erythema on scalp of aged 20-50's women. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetics Society.* 12:921-927.
- Jung DH and Son JE.** (2000). Analysis of irrigation characteristics in the subirrigation based potted plant production system. *Proceeding of Bio-Environment Control.* 9:42-46.
- Kakani VG, Reddy KR, Zhao D and Mohammed AR.** (2003). Effects of ultraviolet-B radiation on cotton(*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Annals of Botany.* 91:817-826.
- Kang JG, Yang SY, Lee BS and Chung SJ.** (2003). Effect of changing fertilizer concentrations and fertigation frequencies on growth and fruiting of subirrigated ornamental pepper. *Journal of Korean Society for Horticultural Science.* 44:523-529.
- Kil YS, Sin SM, Lee DY, Jeong WM, Yang KJ, Lee SW, Kim YH and Goo YM.** (2018). Analysis of triterpene glycoside levels and antioxidant activity in the different shoot tissues of *Centella asiatica*(L.) Urban. *Journal of Life Science.* 28:917-922.
- Kim HC, Heo BG, Bae JH, Lee SY, Kang DH, Ryu CS, Kim DE, Choi IJ and Ku YG.** (2016). Comparison of plant growth characteristics and biological activities of four asparagus cultivars by cultural method. *Korea Journal of Plant Resources.* 29:495-503.
- Kim HY, Lee JY, Hwang IK, Han HM, Park BR, Han GJ and Park JT.** (2015). Analysis of Functional constituents of mulberries(*Morus alba* L.) cultivated in a greenhouse and open field during maturation. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition.* 44:1588-1593.
- Kim JG, Jo JG, Kim, HL, Ryou MS, Kim JB, Hwang, HS and Hwang YS.** (2011). Growth and fruit characteristics of blueberry 'northland' cultivar as influenced by open field and rain shelter house cultivation. *Journal of Bio-Environment Control.* 20:387-393.
- Kim MG, Park SI, An GM, Heo SH and Shin MS.** (2019). Antioxidant, whitening, anti-inflammatory effect of supercritical *Centella asiatica* extract and enhancement of skin permeation using epidermal penetrating peptide. *Journal of Investigative Cosmetology.* 15:263-273.
- Kim WI, Ko YG, Park MR, Jung KH and Kwon OH.** (2018). Preparation and characterization of polyurethane foam dressings containing natural antimicrobial agents for wound healing. *Polymer Korea.* 42:806-812.
- Kwon MC, Han JG, Ha JH, Oh SH, Jin L, Jeong HS, Choi GP, Hwang B and Lee HY.** (2008). Immuno-regulatory effect on *Centella asiatica* L. Urban extraction solvent associated with ultrasonification process. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 16:294-300.
- Lee HJ, Lee JH, Jung JT, Lee YJ, Oh MW, Jang JK, Jeong HS and Park CG.** (2019). Changes in free sugar, coixol contents and antioxidant activities of adlay sprout(*Coix lacrym-jobi* L. var. ma-yuen Stapf.) according to different growth stage. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 27:339-347.
- Lee JY, Hwang IG, Park BR, Han HM, Yoo SM, Han GJ, Park JT and Kim HY.** (2015). Physicochemical characteristics and antioxidant activities of mulberries by greenhouse and open field cultivation in maturation degrees. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition.* 44:1476-1483.
- Nam SW, Kim YS and Seo DU.** (2014). Change in the plant temperature of tomato by fogging and airflow in plastic greenhouse. *Protected Horticulture and Plant Factory.* 23:11-18.
- Paek YW, Kim KS and Hwang B.** (1996). Micropropagation of *Centella asiatica* through terminal bud culture. *Korean Journal of Plant Tissue Culture.* 23:235-238.
- Schaneberg BT, Mikell JR, Bedir E and Khan IA.** (2003). An improved HPLC method for quantitative determination of six triterpenes in *Centella asiatica* extracts and commercial products. *Pharmazie.* 58:381-384.
- Son KC, Kim HJ, Park YS and Chae SC.** (2002). Comparison of the growth and development of elatior begonia as affected by the irrigation method and cultivar. *Journal of Korean Society for Horticultural Science.* 43:639-643.
- Verma RK, Bhartariya KG, Gupta MM and Kumar S.** (1999). Reverse-phase high performance liquid chromatography of asiaticoside in *Centella asiatica*. *Phytochemical Analysis.* 10: 191-193.
- World Health Organization(WHO).** (1999). WHO monographs on selected medicinal plants. World Health Organization. Geneva, Switzerland. p.77-85.