

솔잎, 녹차 및 비타민나무 잎 혼합추출물의 항산화효과

지희영¹ · 박민규¹ · 주신윤^{1,*}
¹대전대학교 식품영양학과

Antioxidant effect of complex extracts from pine needle, green tea, and sea buckthorn leaves

Hee Young Ji¹, Min Gyu Park¹, and Shin Youn Joo^{1,*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Daejin University

Abstract This study investigated the antioxidant effects of complex extracts from pine needles (PN), green tea (GT), and sea buckthorn leaves (SL). Measurement of total polyphenol and flavonoid content, DPPH radical scavenging activity (DPPH), ABTS⁺ radical scavenging activity (ABTS), and reducing power (RP), showed that SL extract (SE) had the highest values. The superoxide radical scavenging activity (SSA) and nitrite scavenging activity (NSA) were the highest in the GT extract (GE). In most experiments, the PN extract (PE) showed higher activity in complex extracts than in single extracts. The combination of GT and SL led to a higher activity than that exhibited by GT (DPPH and ABTS at 300 ppm, RP at 100 and 500 ppm) and SL (SSA at 100 ppm and NSA at 300 ppm) alone. These results suggest that the combination of PE, GE, and SE may be a useful functional food material in the food industry.

Keywords: pine needle, green tea, sea buckthorn leaves, functional food, radical scavenging

서 론

최근 서구화된 식생활, 신체활동의 감소, 과음, 흡연 등 잘못된 생활습관으로 생활습관병의 발생이 증가하고 있다(Kang 등, 2013). 생활습관병의 근본적인 원인으로 체내 조직의 산화적 손상을 말할 수 있으며, 이러한 산화적 손상으로부터 인체를 보호하기 위해서는 항산화 물질을 섭취하여 체내의 항산화 균형을 유지해야 한다(Seifried 등, 2007; Jeong 등, 2015). 항산화제로는 합성 항산화제가 경제적으로 유리하여 많이 이용되었지만 여러 가지 부작용이 지적되면서 합성 항산화제 대신 천연 항산화제에 대한 관심이 높아지고 있다(Jeong 등, 2015). 최근 연구되고 있는 천연 항산화 소재는 소리쟁이(Kim 등, 2018), 구아바 잎(Cheon 등, 2019), 마치현(Jeong 등, 2019), 감 심지(Byun 등, 2020) 등으로 대부분 식물의 줄기, 열매, 꽃, 잎, 씨앗, 뿌리이다. 식물에 함유되어 항산화 활성을 나타내는 물질은 페놀성 성분이며 이는 free radical의 생성 억제 및 활성 저해 작용을 나타낸다고 보고되고 있다(Pyo 등, 2004; Elzaawely 등, 2007). 그러나 천연 항산화제는 합성 항산화제보다 항산화 활성이 낮다는 문제가 제기되고 있어 이를 보완하기 위한 방법으로 항산화 성분들 간의 시너지 효과(synergy effect)에 대한 연구가 진행되고 있다(Jeong 등, 2015; Wang 등, 2011). 또한 생리활성을 나타내는 식물성 소재를 일정

한 비율로 혼합 추출하여 그 추출물의 생리활성을 확인하는 연구도 진행되고 있다. 이에 대한 연구로는 포도가지와 새송이버섯 혼합추출물의 항염증과 아토피 피부염 개선 상승효과(Yin 등, 2016), 고욤잎, 감잎 및 뽕잎 혼합추출물의 항아토피 효과(Cho 등, 2016), 차와 산사의 블렌딩이 항산화 효능과 관능평가에 미치는 영향(Chun과 Kwon, 2016), 맥문동, 오미자 및 인삼 혼합추출물의 생리활성(Gu와 Hong, 2017), 좁은잎천선과 조릿대 혼합추출물의 항산화 활성(Kwon 등, 2020) 등이 있지만 미흡한 실정이다.

솔잎(pine needle)은 소나무(*Pinus deflora* Sieb. et. Zucc.)의 잎으로 노화성 만성질환인 고혈압, 신경통, 동맥경화증, 당뇨병 등의 예방에 도움을 주고 치료에도 효과가 있다고 보고되었다(Jin 등 2006). 솔잎에는 정유성분인 α -pinene, β -pinene, camphene, phellandrene, borneol과 플라보노이드류인 kaempferol, quercetin 등이 풍부하게 함유되어 있다(Kim과 Shin, 2005). 녹차(green tea)는 비타민, 무기질, 타닌, 카테킨류, 카페인 및 클로로필 등 다양한 성분을 함유하는 것으로 알려져 있으며, 카테킨류 중 비타민 C보다 항산화 효과가 20배 높은 EGCG (epigallocatechin gallate)의 함량이 높은 것으로 보고되고 있다(Kang 등, 2007; Shin과 Choi, 2018). 이러한 녹차의 효능으로는 항균작용(Roh 등, 1996), 항암작용(Cheng 등, 1989), 그리고 고혈압 및 동맥경화의 예방(Mineo 등, 1989) 등이 알려져 있다. 비타민나무의 열매와 잎에는 비타민 C와 E 그리고 아미노산 등의 함량이 높아 면역 활성, 노화방지에 효능이 뛰어난 것으로 보고되어 있다(Tiffany 등 2005). 특히 잎과 종자의 추출물에는 카로티노이드(carotenoids), 폴리페놀류(polyphenolics), 플라보노이드(flavonoids) 등의 항산화 물질이 다량 함유되어 있으며(Kim 등, 2009), 쥐를 이용한 동물실험 결과 비타민나무 잎 70% EtOH 추출물이 관절염 치료에 효과를 보였다고 보고하였다(Ganju 등, 2005).

현재까지 녹차에 대한 항산화 활성 연구는 많이 진행되어 있

*Corresponding author: Shin Youn Joo, Department of Food Science and Nutrition, Daejin University, Pocheon, Gyeonggi 11159, Republic of Korea

Tel: +82-31-539-1865

Fax: +82-31-539-1860

E-mail: joo@daejin.ac.kr

Received February 16, 2021; revised April 27, 2021;

accepted May 7, 2021

지만 비타민나무 잎과 솔잎의 항산화 활성에 대한 연구는 부족한 실정이다. 또한 이들의 혼합추출물에 대한 연구는 전무한 실정으로 본 연구에서는 솔잎, 녹차 및 비타민나무 잎의 단일 및 혼합추출물 7종의 항산화활성을 밝히고, 건강 기능성 식품 산업에서 복합 소재로 활용될 수 있는 기초자료를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물 제조

본 실험에 사용된 녹차는 티젠(Teazen, Haenam, Korea), 솔잎 가루는 약초인(Yakchoin, Jecheon, Korea), 비타민나무 분말은 녹차마을영농조합(Green tea village agricultural association corporation, Boseong, Korea)에서 제조한 것을 사용하였다. Folin & Ciocalteu's reagent, DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ascorbic acid, gallic acid 등은 Sigma-Aldrich (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 그 외 1급 시약을 구매하여 사용하였다.

항산화 물질 및 항산화 활성 측정을 위한 단일 및 혼합추출물은 다음과 같이 제조하였다. 단일추출물은 솔잎, 녹차 및 비타민나무 잎 분말 각 1g에 80% ethanol 99 mL를 넣고 shaking incubator (20°C, 150 rpm)에서 24시간 추출하였고, 혼합추출물은 솔잎(0.50 g) · 녹차(0.50 g), 솔잎(0.50 g) · 비타민나무잎(0.50 g), 녹차(0.50 g) · 비타민나무잎(0.50 g), 솔잎(0.33 g) · 녹차(0.33 g) · 비타민나무잎(0.33 g)을 같은 비율로 섞은 분말 1g에 80% ethanol 99 mL를 넣어 shaking incubator (20°C, 150 rpm)에서 24시간 추출하였다.

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등(2002)의 방법을 일부분 변형하여 측정하였다. 단일 및 혼합추출물 0.1 mL에 증류수 2 mL와 2 N Folin-ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 가하여 균일하게 혼합한 후 실온에 3분간 방치하였다. 방치 후 10% Na₂CO₃ 포화용액 2 mL를 혼합하여 암실에서 1시간 동안 반응시킨 다음 분광광도계(WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 이용하여 725 nm에서 측정하였다. Gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량은 Lee 등(1997)의 방법을 변형하여 측정하였다. 단일 및 혼합추출물 0.2 mL에 1 N NaOH 0.6 mL, diethylene glycol 4 mL를 넣고 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였고, naringin을 이용하여 얻어진 표준곡선으로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

DPPH radical 소거능

DPPH radical 소거능은 Blois (1958)의 방법에 따라 단일 및 혼합추출물 500 µL에 DPPH solution (1.5×10⁻⁴ M) 2 mL를 가하여 혼합하고 실온의 암실에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Blank absorbance} - \text{Sample absorbance}}{\text{Blank absorbance}} \times 100$$

ABTS⁺ radical 소거능

ABTS⁺ radical 소거능은 Re 등(1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate 용액을 14:1로 혼합(v/v)하여 실온의 어두운 곳에서 20시간 동안 반

응시킨 후 증류수를 가하여 734 nm에서의 흡광도 값이 0.70 내외가 되도록 희석하였다. 희석액 1.6 mL와 단일 및 혼합추출물 0.1 mL를 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 다음 734 nm에서 흡광도를 측정 후 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{ABTS}^+ \text{ radical scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Blank absorbance} - \text{Sample absorbance}}{\text{Blank absorbance}} \times 100$$

Superoxide radical 소거능

Superoxide radical 소거능은 Wang 등(2007)의 방법을 변형하여 측정하였다. 단일 및 혼합추출물 0.1 mL에 0.4 mM xanthine과 0.24 mM nitro blue tetrazolium (NBT)을 1:1의 비율로 혼합하여 만든 용액을 0.5 mL를 가한 후 0.049 unit/mL의 xanthine oxidase 1 mL를 혼합하였다. 혼합액은 37°C에서 40분간 반응시킨 다음 69 mM Sodium dodecyl sulfate (SDS) 1 mL를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정 후 다음의 계산식으로 소거능을 산출하였다.

$$\text{Superoxide radical scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Blank absorbance} - \text{Sample absorbance}}{\text{Blank absorbance}} \times 100$$

아질산염 소거능

아질산염 소거능(nitrite scavenging activity)은 Kato 등(1987)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 단일 및 혼합추출물 0.2 mL에 1 mM sodium nitrite 0.1 mL를 가하고 0.1 N HCl (pH 1.2) 1 mL를 혼합한 다음 1시간 동안 37°C에서 반응시켰다. 반응액에 2% acetic acid 5 mL와 griess 시약 0.4 mL를 가한 후 혼합하여 15분간 실온에서 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정 후 다음의 계산식으로 소거능을 산출하였다.

$$\text{Nitrite scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Blank absorbance} - \text{Sample absorbance}}{\text{Blank absorbance}} \times 100$$

환원력

환원력(reducing power)은 Wong과 Chye (2009)의 방법을 변형하여 측정하였다. 단일 및 혼합추출물 0.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer 0.5 mL와 1% potassium ferricyanide 0.5 mL를 넣고 혼합한 후 50°C에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 용액에 10% trichloroacetic acid 0.5 mL와 0.1% FeCl₃ 0.2 mL를 혼합하여 흡광도 700 nm에서 측정하였다.

통계처리

솔잎, 녹차 및 비타민나무 잎의 항산화 활성은 적어도 3회 이상 반복 실험하여 평균과 표준편차로 결과를 나타냈다. 통계분석은 SPSS 21.0 (IBM Inc., Armonk, NY, USA)를 이용하였다. 시료 간 차이유무를 확인하기 위해 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 유의적 차이가 있는 경우 Tukey's multiple comparison test (p<0.05)를 이용하여 사후검정을 시행하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

솔잎추출물(PE), 녹차추출물(GE), 비타민나무잎추출물(SE), 솔

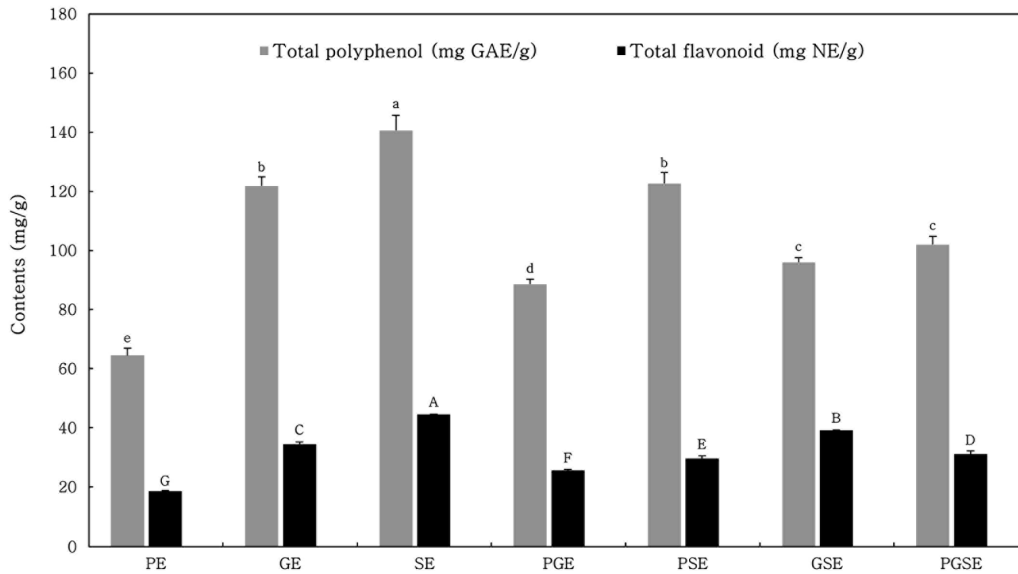


Fig. 1. Total polyphenol and flavonoid contents of single and complex extract from pine needle, green tea, and sea buckthorn leaves. Values are means±standard deviation of three experiments. Means with different letters (a-c, A-G) within the same activity are significantly different ($p<0.05$). PE; pine needles extract, GE; green tea extract, SE; sea buckthorn leaf extract, PGE; pine needles and green tea extract, PSE; pine needles and sea buckthorn leaf extract, GSE; green tea and sea buckthorn leaf extract, PGSE; pine needles, green tea and seabuckthorn leaf extract, GAE; gallic acid equivalent, NE; naringin equivalent.

잎과 녹차추출물(PGE), 솔잎과 비타민나무잎추출물(PSE), 녹차와 비타민나무잎추출물(GSE), 솔잎, 녹차 및 비타민나무잎추출물(PGSE)의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드의 함량은 Fig. 1에 나타났다. 시료 7종의 총 폴리페놀 함량은 64.53-140.59 mg GAE/g으로 SE가 가장 높은 함량을 나타냈고, 그 다음 GE와 PSE, GSE와 PGSE, PGE, PE 순으로 높게 나타났다($p<0.05$). Cheon 등 (2019)은 구아바잎의 총 폴리페놀 함량이 271.57 mg GAE/g이라고 보고하여 본 연구에서 총 폴리페놀 함량이 가장 높았던 SE보다 높았고, Kim과 Kim (2019)은 돌의잎의 총 폴리페놀 함량이 68.80 mg GAE/g이라고 보고하여 본 연구에서 총 폴리페놀 함량이 가장 낮았던 PE와 유사한 함량을 나타냈다.

총 플라보노이드 함량은 총 폴리페놀 함량과 유사한 경향을 나타내어 SE가 44.53 mg NE/g으로 다른 시료에 비해 높은 함량을 보였고 PE가 가장 낮은 함량을 나타냈다($p<0.05$). Lee 등(2018b)은 비타민나무잎의 총 플라보노이드 함량이 26.07 mg QE/g이라고 보고하여 본 연구의 결과보다 낮은 함량을 보였고, Kim과 Kim (2019)은 돌의잎의 총 폴리페놀 함량이 23.86 mg QE/g이라고 보고하여 본 연구의 PGE와 유사한 함량을 나타냈다.

솔잎은 단일추출물에 비해 혼합추출물에서 총 폴리페놀 함량은 24.09-58.11 mg GAE/g 증가하였고, 총 플라보노이드 함량은 7.02-12.55 mg NE/g 증가하는 것으로 나타났다. Kim과 Kim (2019)의 보고에 따르면 식물추출물은 각자 지닌 여러 가지 성분에 따라 활성의 차이를 보이지만 추출물에 함유되어 있는 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량이 많을수록 생리활성 증진에 긍정적인 영향을 줄 수 있다. 이에 본 연구에서 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량이 높게 나타난 GE, SE 및 GSE는 높은 항산화 활성을 기대할 수 있을 것으로 사료되며, 항산화 물질의 함량이 낮게 나타난 솔잎추출물도 녹차 및 비타민나무 잎과 함께 추출할 경우 활성이 증가되어 긍정적인 영향을 줄 것으로 판단된다.

DPPH radical 소거능

DPPH radical 소거능의 측정 결과는 Table 1과 같다. 양성 대조군인 비타민 C는 50 ppm 농도에서 32.07%의 radical 소거능을 나타내어 다른 시료에 비해 높은 활성을 보였다($p<0.05$). 단일추출물의 DPPH radical 소거능은 두 농도 모두에서 SE, GE, PE 순으로 높게 나타났다($p<0.05$). Lee 등(2018b)은 비타민나무잎추출물의 DPPH radical 소거능 측정결과, 100 ppm에서 83.12%의 소거능을 나타냈다고 보고하여 본 연구결과에 비해 다소 높은 활성을 나타냈다.

혼합추출물은 두 농도 모두에서 GSE가 가장 높은 radical 활성을 보여주었다($p<0.05$). GE와 SE의 단일추출물에 비해 혼합추출물의 활성이 낮은 경향을 나타냈지만 PE의 경우 녹차와 비타민나무 잎을 혼합하면 DPPH radical 소거능이 증가하였고, GE는 300 ppm에서 단일추출물에 비해 비타민나무 잎과의 혼합추출물 활성이 높게 나타났다($p<0.05$). Chun과 Kwon의 연구(2016)에서 녹차 및 황차의 단일추출물과 녹차와 산사, 황차와 산사의 혼합추출물을 비교한 결과 단일추출물에 비해 산사를 혼합한 시료의 DPPH radical 소거능이 유의성 있게 증가하였다고 보고하였으며, Jeong 등(2015)은 과채류 혼합군 45종 중 아시아베리와 양배추 혼합군이 가장 높은 항산화 상승작용을 나타냈다고 보고하였다. 또한 Wang 등(2011)은 시료에 함유된 서로 다른 항산화 성분이 각각의 상이한 메커니즘을 통해 radical 소거능을 나타내고, 이러한 활성을 나타내는 과정에서 서로를 보완해주는 작용이 나타난다고 보고하였다. 따라서 본 연구의 결과는 항산화활성을 지닌 시료를 혼합할 경우 그 활성이 증가할 수 있는 가능성을 보여주었다고 사료된다.

ABTS⁺ radical 소거능

ABTS⁺ radical 소거능의 결과는 Table 1과 같이 나타났다. 비타민 C의 ABTS⁺ radical 소거능은 50 ppm에서 57.71%로 가장 높

Table 1. DPPH and ABTS⁺ radical scavenging activities of single and complex extract from pine needle, green tea, and sea buckthorn leaves

	DPPH radical scavenging activities (%)		ABTS ⁺ radical scavenging activities (%)	
	50 ppm	300 ppm	50 ppm	300 ppm
PE ¹⁾	9.58±0.15 ^{2)e3)}	41.28±1.51 ^f	5.08±0.30 ^f	23.16±0.51 ^f
GE	21.36±0.54 ^c	88.20±0.14 ^c	14.15±0.59 ^c	60.44±0.80 ^c
SE	26.33±0.42 ^b	94.50±0.28 ^a	15.79±0.43 ^b	80.02±2.03 ^a
PGE	13.34±2.12 ^d	66.07±3.00 ^e	8.87±0.31 ^e	39.16±0.53 ^e
PSE	14.76±0.45 ^d	78.44±1.87 ^d	8.92±0.37 ^e	49.35±1.40 ^d
GSE	19.55±1.15 ^c	91.24±1.59 ^b	12.91±0.17 ^d	62.87±0.13 ^b
PGSE	15.19±1.01 ^d	78.70±1.04 ^d	9.62±0.47 ^e	49.95±0.53 ^d
Vitamin C	32.07±2.84 ^a	-	57.71±1.21 ^a	-

¹⁾PE; pine needles extract, GE; green tea extract, SE; sea buckthorn leaf extract, PGE; pine needles and green tea extract, PSE; pine needles and sea buckthorn leaf extract, GSE; green tea and sea buckthorn leaf extract, PGSE; pine needles, green tea and seabuckthorn leaf extract.

²⁾Data are means±standard deviation.

³⁾Different superscripts (a-f) in a column indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's multiple comparison test.

Table 2. Superoxide radical and nitrite scavenging activities of single and complex extract from pine needle, green tea, and sea buckthorn leaves

	Superoxide radical scavenging activities (%)		Nitrite scavenging activities (%)	
	100 ppm	200 ppm	100 ppm	300 ppm
PE ¹⁾	20.96±4.57 ^{2)f3)}	50.69±2.33 ^c	37.20±1.09 ^b	66.98±2.24 ^{cd}
GE	56.94±2.12 ^b	69.08±0.60 ^a	41.35±0.95 ^a	76.04±0.84 ^a
SE	43.00±2.47 ^d	64.71±1.24 ^b	39.27±2.08 ^{ab}	69.22±0.88 ^{bc}
PGE	46.47±2.47 ^d	61.79±1.46 ^{bc}	41.55±1.33 ^a	70.24±1.77 ^{bc}
PSE	36.04±1.94 ^e	57.09±1.16 ^d	37.72±0.64 ^b	65.03±2.66 ^d
GSE	51.54±2.18 ^c	64.32±2.52 ^b	38.34±0.65 ^{ab}	70.24±0.62 ^{bc}
PGSE	44.60±1.89 ^d	60.34±1.55 ^c	37.31±0.71 ^b	71.25±2.38 ^b
Standard	76.68±0.48 ^a (Tannic acid)	-	33.48±3.77 ^e (Vitamin C)	-

¹⁾Abbreviations are the same as in Table 1.

²⁾Data are means±standard deviation.

³⁾Different superscripts (a-f) in a column indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's multiple comparison test.

은 활성을 나타냈다($p<0.05$). 단일추출물은 50 ppm과 300 ppm 모두에서 SE가 각각 15.79, 80.02%로 높은 활성을 보였으며, 혼합추출물에서는 GSE가 각각 12.91, 62.87%로 높은 활성을 보여주었다($p<0.05$). ABTS⁺ radical 소거능의 측정결과는 DPPH radical 소거능과 유사한 경향을 보였다. Lee 등(2018a)의 연구에서 딸기 잎의 항산화 활성을 측정된 결과, DPPH와 ABTS⁺ radical 소거능은 시료의 활성이 유사한 경향을 나타냈다고 보고하였다. 이러한 이유는 free radical을 제거하는 공통 메카니즘에 의한 것으로 보고되어 본 연구 결과와 유사하였다.

Wang 등(2011)은 과일류와 채소류를 혼합하였을 경우 그에 함유된 성분에 따라 각각의 과일류와 채소류가 나타내는 활성보다 높아지거나 낮아질 수 있다고 보고하였고, Hidalgo 등(2010)은 quercetin과 myceritin의 혼합물은 단일물질에 비해 항산화 활성이 낮아졌고 epicatechin과 quercetin-3-glucoside의 혼합물은 단일물질에 비해 항산화 활성이 높아졌다고 보고하였다. 본 연구에서 일부 혼합추출물의 활성이 단일추출물의 활성보다 낮게 나타난 것은 솔잎, 녹차, 비타민나무 잎에 함유된 성분에 의한 상호작용으로 혼합추출물의 활성이 저해된 것으로 생각된다. 반면에 단일추

출물에 비해 혼합추출물의 활성이 높은 시료도 있었는데, 솔잎은 50 ppm와 300 ppm 모두에서 녹차 및 비타민나무 잎과의 혼합(PGE, PSE, PGSE)에 의해 활성이 증가하였고, 녹차는 300 ppm에서 비타민나무 잎과의 혼합(GSE)에 의해 활성이 증가하는 것으로 보였다($p<0.05$). Lee 등(2011)은 6종의 단일 생약재와 3종의 생약복합제의 ABTS⁺ radical 소거능(RC₅₀) 측정 결과, 단일 생약재 6종은 24.06-1,000 ppm, 생약복합제 3종은 41.61-123.98 ppm의 활성을 나타냈으며 9종의 시료 중 어성초, 홍화, Mix-2에서 각각 24.06, 18.91, 41.61 ppm로 높았다고 보고하였고, Chun과 Kwon(2016)은 황차 단일추출물에 비해 황차와 산사의 블렌딩에서 radical 소거능이 유의적 증가했다고 보고하여 본 연구결과와 같이 혼합되는 시료의 종류와 비율이 radical 소거능에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

Superoxide radical 소거능

각 시료별 superoxide radical 소거능을 측정된 결과는 Table 2와 같다. superoxide radical 소거능의 양성 대조군은 타닌으로 시료 용액 100 ppm 농도에서 소거능이 76.68%로 높게 나타났다

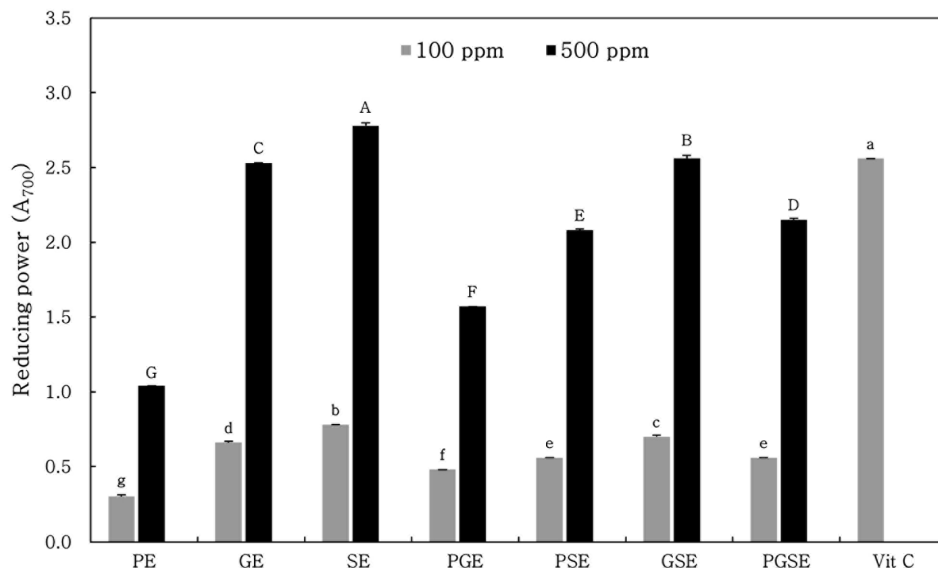


Fig. 2. Reducing power of single and complex extract from pine needle, green tea, and sea buckthorn leaves. Values are means±standard deviation of three experiments. Means with different letters (a-g, A-G) within the same activity are significantly different ($p < 0.05$). PE; pine needles extract, GE; green tea extract, SE; sea buckthorn leaf extract, PGE; pine needles and green tea extract, PSE; pine needles and sea buckthorn leaf extract, GSE; green tea and sea buckthorn leaf extract, PGSE; pine needles, green tea and seabuckthorn leaf extract.

($p < 0.05$). 양성 대조군을 제외한 100 ppm과 200 ppm 모두에서 GE의 활성이 각각 56.94, 69.08%로 가장 높았다($p < 0.05$). Moon 등(2003)은 항산화 활성을 측정하는 방법에 따라 시료의 활성이 상이하게 나타나므로 여러 가지 방법을 사용하여 측정해야 한다고 보고하였고, Kim과 Kim (2019)은 돌의 차추출물의 DPPH radical, nitric oxide radical, superoxide radical, hydroxyl radical 소거능 측정 결과 시료에 따라 각기 다른 경향을 나타냈다고 보고하였다. 본 연구에서도 DPPH radical 소거능과 ABTS⁺ radical 소거능은 SE의 활성이 가장 좋았지만 superoxide radical 소거능의 경우 GE의 활성이 높게 나타나 선행연구와 유사한 결과를 보여주었다.

솔잎은 두 농도 모두에서 녹차 및 비타민나무 잎과의 혼합(PGE, PSE, PGSE)에 의해 활성이 증가하였는데($p < 0.05$) 이러한 경향은 DPPH와 ABTS⁺ radical 소거능 결과에서도 볼 수 있었다. 또한 비타민나무 잎은 100 ppm에서 녹차 및 비타민나무 잎과의 혼합(GSE, PGSE)에 의해 radical 소거능이 증가하는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 특히 솔잎추출물인 PE는 7종 시료 중 가장 낮은 활성을 보였는데 녹차 및 비타민나무 잎과 함께 추출할 경우 15.08-25.51%의 활성 증가를 나타내어 향후 솔잎을 이용한 기능성 식품개발 시 유용한 자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

아질산염 소거능

아질산염 소거능의 측정 결과는 Table 2와 같다. 아질산염 소거능은 100 ppm에서 GE와 PGE가 각각 41.35%, 41.55%로 높은 활성을 보였고, 300 ppm에서는 GE와 PGSE가 각각 76.04, 71.25%로 높게 나타났다($p < 0.05$). 양성 대조군인 비타민 C의 소거능은 33.48%로 7종 시료 중 가장 낮은 활성을 보였다($p < 0.05$). Lee 등(2018b)은 비타민나무잎추출물의 아질산염 소거능은 비타민 C보다 우수한 활성을 가지고 있다고 보고하여 본 연구 결과와 유사하게 나타났다.

솔잎 단일추출물(PE)은 녹차 및 비타민나무 잎과 혼합할 경우 두 농도에서 3.26-4.27%의 아질산 소거능이 증가하였고, 비타민

나무잎추출물(SE)은 솔잎, 녹차 및 비타민나무 잎과의 혼합에 의해 300 ppm에서 1.02-2.03% 증가하였다. Jeong 등(2015)은 과채류 10종을 혼합하여 45군의 혼합군에 대한 항산화 상승작용을 측정된 결과, DPPH radical 소거능에서 26군의 길항작용과 4군의 상승작용, FRAP 환원능에서는 14군의 길항작용과 15군의 상승작용을 보였다고 보고하여 항산화 측정 방법에 따라 항산화 상승작용의 경향이 달라지는 것을 알 수 있었다.

환원력

환원력의 측정 결과는 Fig. 2와 같다. 비타민 C의 환원력은 100 ppm 농도에서 2.56 O.D.로 시료 중 가장 높은 활성을 보였다($p < 0.05$). 시료 7종의 환원력은 100 ppm에서 0.30-0.78 O.D., 500 ppm에서 1.04-2.78 O.D.로 나타났으며, 두 농도 모두에서 SE의 활성이 가장 높았고 GSE가 그 다음으로 높은 활성을 나타냈다. Lee 등(2018a)은 딸기잎추출물의 환원력 측정 결과, 시료 140 ppm 농도에서 0.5 O.D.를 나타냈다고 보고하여 본 연구의 SE, GSE, GE, PSE, PGSE 보다 낮은 활성을 보였다.

단일추출물에 비해 혼합추출물의 환원력이 높게 나타난 시료는 솔잎과 녹차였다. 솔잎은 두 농도 모두에서 PGS, PSE, PGSE의 환원력이 높았고, 녹차는 100 ppm에서 GSE의 환원력이 높게 나타났다. 솔잎추출물인 PE는 대부분의 항산화 측정에서 7종 시료 중 활성이 가장 낮았던 시료로 솔잎 단일추출물보다는 녹차 및 비타민나무 잎과의 혼합에 의해 항산화 활성이 개선됨을 알 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 솔잎, 녹차 및 비타민나무 잎의 추출물과 그 혼합추출물의 항산화 활성을 조사하였다. 시료 7종의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량은 SE가 가장 높게 나타났다. DPPH, ABTS⁺ radical 소거능 및 환원력은 SE가 가장 높은 활성을 보였고, superoxide radical 소거능과 아질산염은 GE의 활성이 가장 높

았다. PE는 대부분의 실험에서 녹차 및 비타민나무 잎과의 혼합 추출물이 단일추출물에 비해 높은 활성을 보였다. GE는 DPPH radical 소거능(300 ppm), ABTS⁺ radical 소거능(300 ppm) 및 환원력(100 및 500 ppm)에서 비타민나무 잎과 혼합추출하면 그 활성이 높아졌고, SE는 superoxide radical 소거능(100 ppm)과 아질산염 소거능(300 ppm)에서 녹차와 혼합추출하면 활성이 높아지는 경향을 보였다. 이상의 결과에서 PE는 단일 및 혼합추출물 7종 중에서 가장 낮은 활성을 나타낸 시료로 녹차 및 비타민나무 잎과 함께 혼합(PGSE)하여 사용한다면 솔잎의 낮은 항산화 활성을 개선시킬 수 있을 것으로 사료된다. 또한 본 연구 결과는 솔잎, 녹차 및 비타민나무 잎을 이용한 건강 기능성 식품 산업에서 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

References

Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200 (1958)

Byun EB, Kim MJ, Kim SJ, Oh NS, Park SH, Kim WS, Song HY, Han JM, Kim KW, Byun EH. Antioxidant activity and neuroprotective effects of ethanol extracts from the core of *Diospyros kaki*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 52: 60-66 (2020)

Cheng SJ, Gao YN, Ho CT, Wang ZY. Studies on anti mutagenicity and anti carcinogenicity of green tea antioxidant. *Food Sci. Ind.* 22: 61-66 (1989)

Cheon WY, Seo DY, Kim YH. Antioxidative and hepatocyte protective effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaves cultivated in Korea. *Korean J. Food Nutr.* 32: 033-040 (2019)

Cho BO, Yin HH, Shin JY, Fang CZ, Chang CD, Jang SI. Anti-atopic effects of mixed extracts from date plum, persimmon, and mulberry leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 45: 501-509 (2016)

Chun YS, Kwon DY. The influence of blending tea and *Crataegi Fructus* on antioxidant activities and sensory evaluation. *J. Tea Culture & Industry Studies.* 33: 263-280 (2016)

Dewanto V, Wu X, Liu RH. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4959-4964 (2002)

Elzaawely AA, Xuan TD, Koyama H, Tawata S. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. *Food Chem.* 104: 1648-1653 (2007)

Ganju L, Padwad Y, Singh R. Anti-inflammatory activity of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves. *Int. Immunopharmacol.* 5: 1675-1684 (2005)

Gu YR, Hong JH. Physicochemical characteristics and physiological activities of mixture extracts from *Liriope platyphylla*, *Schizandra chinensis*, and *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J. Food Preserv.* 24: 431-439 (2017)

Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, de Pascual-Teresa S. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem.* 121: 691-696 (2010)

Jeong KH, Ji YS, Kil KJ, Yoo JH. Antioxidant effects of ethanol extracts from different parts of *Portulacae Herba*. *Kor. J. Herbol.* 34: 59-65 (2019)

Jeong SJ, Shim HR, Lee JS, Nam HS, Lee HG. Antioxidant and synergistic activities of fruit and vegetable concentrates. *Korean J. Food Sci. Technol.* 47: 240-245 (2015)

Jin SY, Han YS, Joo NM. Optimization of iced cookies with the addition of pine leaf powder. *Korean J. Food Cookery Sci.* 22: 164-172 (2006)

Kang HJ, Kim HS, Jeon IH, Mok JY, Han KS, Jang SI. Effect of antioxidant and blood flow improvement of grape leaf extract and resveratrol from vitis romaneti. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 1736-1743 (2013)

Kang ST, Yoo UH, Nam KH, Kang JY, Oh KS. Antioxidative effects of green tea extract on the oxidation of anchovy oil. *J. Agric. Life Sci.* 41: 47-53 (2007)

Kato H, Le IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* 51: 1333-1338 (1987)

Kim KC, Kim JS. Physiological activity of the extract from dolwoe (*Gynostemma pentaphyllum* makino) leaves tea by different ethanol concentrations. *J. Plant Biotechnol.* 46: 37-44 (2019)

Kim IY, Lee JY, Jeong YH. Antioxidant activities of *Rumex crispus* L. root extracts and fractions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 47: 1234-1241 (2018)

Kim KM, Park MH, Kim KH, Im SH, Park YH, Kim YN. Analysis of chemical composition and in vitro antioxidant properties of extracts from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). *J. Appl. Biol. Chem.* 52: 58-64 (2009)

Kim YS, Shin DH. Volatile components and antibacterial effect of pine needle (*Pinus densiflora* S. and Z.) extracts. *Food Microbiol.* 22: 37-45 (2005)

Kwon HY, Choi SI, Han XG, Men X, Jang GW, Choi YE, Kang JC, Cho JH, Lee OH. Antioxidant components and antioxidant activities of mixtures with *Sasa quepaertensis* Nakai and *Ficus erecta* var. *sieboldii*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 52: 369-376 (2020)

Lee YC, Hwang KH, Han DH. Composition of *Opuntia ficus-india*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 847-853 (1997)

Lee SG, Jeong HJ, Lee EJ, Kim JB, Choi SW. Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extracts from medicinal herb mixtures. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 200-205 (2011)

Lee DS, Kim KH, Yook HS. Antioxidant effects of fractional extracts from strawberry (*Fragaria ananassa* var. 'Seolhyang') leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 47: 263-270 (2018a)

Lee SY, Shon JY, Kang KO. Nutritional components and antioxidant activities of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf and berry extracts. *J. East Asian Soc. Diet Life.* 28: 31-39 (2018b)

Mineo S, Syuji W, Toshimitu H, Munehisa A, Kenjiro J, Seiji O, Saburo Y, Naokata M. Studies on hypoglycemic constituents of Japanese tea. *Yakugaku Zasshi.* 108: 964-970 (1988)

Moon GS, Kwon TW, Ryu SH. Comparison of antioxidative activities of soybean components by different assays. *Korea Soybean Digest.* 20: 28-36 (2003)

Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rogen RT. Antioxidant activity and phenolic compounds of swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chem.* 85: 19-26 (2004)

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)

Roh HJ, Shin YS, Lee KS, Shin MK. Effect of water extract of green tea on the quality and shelf life of cooked rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 417-420 (1996)

Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J. Nutr. Biochem.* 18: 567-579 (2007)

Shin CM, Choi YJ. Effect of green tea extract on lipid oxidation of water/horse oil emulsion. *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.* 19: 407-414 (2018)

Tiffany TYG, Stefan C, Arnie H. Effect of drying on the nutraceutical quality of sea buckthorn leaves. *J. Food Sci.* 70: 514-518 (2005)

Wang S, Meckling KA, Marccone MF, Kakuda Y, Tsao R. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. *J. Agric. Food Chem.* 59: 960-968 (2011)

Wang J, Yuan X, Jin Z, Tian Y, Song H. Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chem.* 104: 242-250 (2007)

Wong JY, Chye FY. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *J. Food Compos. Ana.* 122: 269-277 (2009)

Yin HH, Cho BO, Lee HS, Chu JI, Jang SI. Synergistic effects of grape branch and *Pleurotus eryngii* extract combination against inflammation on activated mast cells and atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 48: 582-589 (2016)