

들깨잎의 caffeic acid와 rosmarinic acid 함량과 항산화 활성 비교를 통한 우수 유전자원 선발

김영지¹, 이재은², 유은애², 이수경², Xiaohan Wang³, Awararis Derby Assefa³, 노형준^{4*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터 석사연구원, ²농업연수사, ³박사연구원, ⁴농업연구원

Selection of Excellent Genetic Resources Based on Comparison of Caffeic and Rosmarinic Acid Contents and Antioxidant Activity in *Perilla* Accessions

Yeong-Jee Kim¹, Jae-Eun Lee², Eunae Yoo², Sookyeong Lee², Xiaohan Wang³,
Awararis Derby Assefa³ and Hyungjun Noh^{4*}

¹Master's Degree Researcher, ²Researcher, ³Post-doc and ⁴Senior Researcher, National Agrobiodiversity Center, NIAS, RDA, Jeonju 54874, Korea

Abstract - *Perilla* is an annual plant in the family *Lamiaceae* and are widely cultivated in Asian countries. *Perilla* leaves are important sources of bioactive compounds and are reported to exhibit anti-inflammatory, antibacterial, anti-cancer and antioxidant effects, drawing attention as functional food materials. We examined caffeic acid, rosmarinic acid, total phenol content, and antioxidant activity in the leaves of 18 *perilla* accessions obtained from the gene bank of the National Agrobiodiversity Center, Jeonju, Korea. The caffeic acid content ranged between 9.86-27.52 mg/g with an average content of 17.75 mg/g while the level of rosmarinic acid was in the range between 49.14 and 90.30 mg/g with an average content of 61.88 mg/g. The total polyphenol content ranged between 138.39 μ g GAE/mg dried extract (DE) and 378.19 μ g GAE/mg DE with an average content of 225.93 μ g GAE/mg DE. Cluster analysis based on the content of caffeic acid, rosmarinic acid, and antioxidant activity showed that the accessions collections were grouped in two distinct classes. The first group contained six genetic resources with high content of rosmarinic acid, and antioxidant activities respectively. The second group contained 12 genetic resources with high content of caffeic acid. These results could help develop new varieties of nutrient dense *perilla* resources.

Key words – Antioxidants, *Perilla*, Phenolic compounds, Total polyphenol contents (TPC)

서 언

들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* HARA.)는 꿀풀과 들깨속에 속하는 연간 약용식물로 한국, 일본, 인도 등 동아시아 지역에서 주로 재배되고 있다(Assefa *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2019). 들깨잎은 천식 및 감기와 같은 소화기 문제에 효과적인 것으로 알려져 있다. 약리학적으로 항우울증, 항암, 항산화 및 항염증 등의 특성을 가지고 있고, 한국과 중국,

일본에서 마시는 차를 비롯하여 광범위하게 사용되고 있다(Ahmed and Al-Zubaidy, 2020; Hashimoto *et al.*, 2020; Heci, 2001; Lee *et al.*, 2013; Lee and Ohmishi, 2001; Vĩnã-torul *et al.*, 2020; Yu *et al.*, 2017). 최근 들깨잎의 기능이 알려지며 육류, 해산물, 샐러드 및 초밥 등 다양한 식재료로 소비가 증가하고 있고, 이에 따라 들깨잎의 품종 개발을 하여 연간 생산이 가능해졌다(Ahmed, 2019; Hyun *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2020).

들깨잎에는 luteolin 및 apigenin 등을 포함한 플라보노이드, caffeic acid (CA) 및 rosmarinic acid (RA) 등을 포함한 페놀화

*교신저자: E-mail jumpspace@korea.kr
Tel. +82-63-238-4813

합물과 다양한 천연 활성 물질이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Reddy *et al.*, 2021). 최근 연구에 따르면, 폴리페놀 화합물은 항산화 활성에 긍정적인 영향을 미치며(Bampouli *et al.*, 2014; Burkhardt *et al.*, 2015; Dincer *et al.*, 2017; Javanmardi *et al.*, 2003; Jinxue *et al.*, 2021) 효소 억제제로 작용할 수 있다는 결과와 기능성 식품과 제약 제품에 포함될 수 있는 효과적인 후보인 것으로 보고되어 있다(Adisakwattana *et al.*, 2009; Alagawney *et al.*, 2017; Jennings and Barnett, 1998; Karthi-shwaran *et al.*, 2018; McDougall *et al.*, 2005; Meihui *et al.*, 2021).

페놀 화합물 중 하나인 caffeic acid는 항종양 및 항암 활성에 효과적이며(Ang *et al.*, 2015; Giordana *et al.*, 2021), 가장 중요한 폴리페놀 중 하나로 알려진 rosmarinic acid는 면역조절, 항염증, 항암 및 항산화 활성과 같은 다양한 생물학적 활동을 하는 것으로 보고되어있다(Li *et al.*, 2020; Saini *et al.*, 2020; Swamy *et al.*, 2018; Touiss *et al.*, 2021).

본 연구는 국내 들깨의 우수 유전자원 선발을 위한 목적으로, 3개의 대조품종(대유, 대유, 안유)를 비롯하여 원산지가 모두 한국인 들깨 18자원을 이용하여 caffeic acid와 rosmarinic acid 함량을 비교 분석 및 항산화 활성 평가를 함으로써 기능성 천연물 관련 연구에 대한 기초 자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

들깨 종자 및 추출

본 실험에서는 국립농업과학원 농업유전자원센터에서 보존된 들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* HARA.) 18자원과 대조품종 대유, 대유 및 안유를 이용하였다. 2019년 전라북도 전주 인근 시험포장에서 표준재배법에 의거하여 재배 및 수확한 자원을 공시재료로 사용하였다.

항산화 활성 실험 및 caffeic acid와 rosmarinic acid 성분 분석 실험에 사용된 시료는 건조 들깨잎 2g을 추출용매 75% EtOH, N₂(g) 1,200 psi, 70°C 조건으로 고속용매추출장치 ASE-200 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 추출하였다. 추출된 시료는 진공농축기 HT-4X (American Laboratory Trading Lnc, East Lyme, CT, USA)를 40°C 조건에서 농축하였다.

시약

Acetonitrile, ethyl alcohol, methyl alcohol, water는 Thermo Fisher Scientific (Inc., Co., MA, USA)에서 구입하였으며, 항

산화 활성 평가시약인 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), Folin-Ciocalteu Reagent, sodium carbonate (Na₂CO₃), formic acid 및 표준품으로 사용한 L-ascorbic acid, gallic acid는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 모든 시약은 analytical grade로 사용하였다.

Caffeic acid 및 rosmarinic acid 함량 측정

시료 들깨잎의 caffeic acid 및 rosmarinic acid 함량은 Ultra High Performance Liquid Chromatography(초고속액체크로마토그래피, UHPLC, Agilent 1290 Infinity II LC, Agilent Technologies Co., Ltd., Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였으며 표준용액 제조를 위해 사용된 caffeic acid 및 rosmarinic acid는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 분석 조건은 Table 1과 같다.

총 폴리페놀 함량(Total polyphenol contents, TPC) 측정

총 폴리페놀 함량은 microplate reader로 측정하였다. 96-well plate에 200 ppm 시료 100 µL와 1 N Folin-Ciocalteu Reagent 100 µL를 반응시킨 후 암실 조건으로 3분간 실온 보관하였다. 2% Na₂CO₃ 100 µL를 넣은 뒤 암실 조건으로 30분간 실온에서 반응 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 Gallic acid를 사용하였으며, 각 시료에 대하여 3회 반복하여 측정하였다. 측정된 값은 Gallic acid equivalent 농도로 환산하여 비교하였으며, Singleton (1999)의 방법을 참고하여 측정하였다.

Table 1. Conditions of UHPLC for identification and determination of rosmarinic acid

Instrument	Agilent Technologies 1290 series	
Column	Eclipseplus C18 (1.8 µm, 2.1 mm × 50 mm)	
Mobile phase	(A) : 0.1% formic acid in water (B) : 0.1% formic acid in acetonitrile	
Flow rate	0.4 mL/min	
Injection	2 µL	
Wavelength	330 nm	
Time (min)	A (%)	B (%)
5	85	15
10	82	18
15	10	90

DPPH free radical 소거활성 측정

96-well plate에 150 μM DPPH용액 150 μL와 시료 100 μL를 혼합하여 암실 조건으로 30분간 실온에 방치한 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 L-ascorbic acid를 사용하였으며, 각 시료에 대하여 3회 반복하여 측정하였다. 측정값은 L-ascorbic acid equivalent 농도로 환산하여 비교하였으며, Yoshida (1989)의 방법을 참고하였다.

통계분석

모든 실험에 대한 통계 자료의 값은 R 프로그램(www.r-project.org, R i386 4.0.3, Vienna, Austria)을 이용하였으며, p값은 ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결과 및 고찰

Caffeic acid 및 rosmarinic acid 함량 측정

Caffeic acid 표준용액을 0.007–0.500 mg/mL의 단계적으로 희석하여 UHPLC로 분석 후 검량선을 작성하였으며, 0.9996로 높은 직선성의 상관계수(R^2)를 보였다(Fig. 1). 들깨잎 18자원 시료의 caffeic acid는 평균 17.75 mg/g을 함유하고 있었으며,

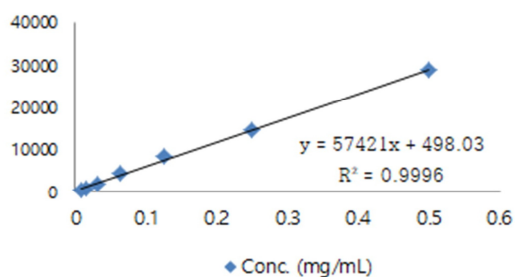


Fig. 1. Calibration curve of caffeic acid Std. solution.

함량 범위는 9.86–27.52 mg/g이었다. 대조품종인 대유, 대유 및 안유는 18.33 mg/g, 16.02 mg/g, 13.49 mg/g이었다. Caffeic acid 고함량 자원은 IT242238 (27.52 mg/g)으로 대조품종 중 가장 높은 값을 보인 대유(18.33 mg/g)보다 약 1.5배 높은 함량을 보였다(Table 2).

Rosmarinic acid 표준용액을 0.007–0.500 mg/mL의 단계적으로 희석하여 UHPLC로 분석 후 검량선을 작성하였으며, 0.9995로 높은 직선성의 상관계수(R^2)를 보였다(Fig. 2). 들깨잎 18자원 시료의 rosmarinic acid는 평균 61.88 mg/g을 함유하고 있었으며, 함량 범위는 49.14–90.30 mg/g이었다. 대조품종인 대유, 대유 및 안유는 49.00 mg/g, 64.21 mg/g, 28.94 mg/g이었다. Rosmarinic acid 고함량 자원은 IT226619 (90.30 mg/g)으로 대조품종 중 가장 높은 값을 보인 대유(64.21 mg/g)보다 약 1.4배 높은 함량을 보였으며(Table 2), 분석 조건으로 들깨잎 시료를 분석하였다(Fig. 3).

총 폴리페놀 함량(Total polyphenol contents, TPC)측정

대조품종인 대유, 대유 및 안유는 12.35 μg · gallic acid equivalent (GAE)/mg · dried extract (DE), 201.10 μg · (GAE)/mg · (DE), 191.90 μg · (GAE)/mg · (DE)의 함량을 보였다. 18자원 들깨의 총 폴리페놀 함량은 138.39–378.19 μg · (GAE)/mg · (DE)

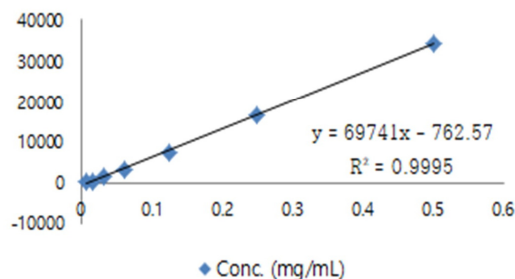


Fig. 2. Calibration curve of rosmarinic acid Std. solution.

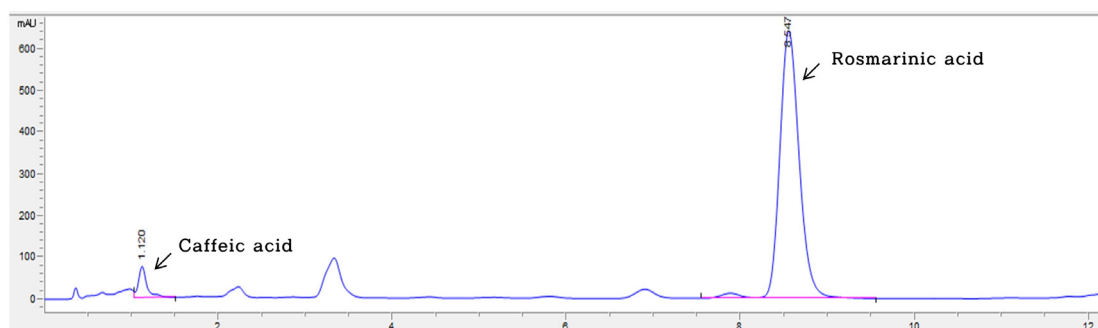


Fig. 3. Chromatogram of caffeic acid, rosmarinic acid in *Perilla* leaf (IT226619).

Table 2. Caffeic acid, rosmarinic acid contents and antioxidant activities of 18 accessions *Perilla* leaves extracts

No.	Accession Number	Origin	Caffeic acid	Rosmarinic acid	TPC	DPPH
			mg/g	mg/g	$\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot \text{DE}$	$\mu\text{g} \cdot \text{ASCE}/\text{mg} \cdot \text{DE}$
1	IT226619	KOR	9.86±0.36	90.30±2.60	378.19±1.17	122.90±0.09
2	IT105964	KOR	11.85±0.39	66.00±1.68	289.55±1.43	119.87±0.35
3	IT117091	KOR	20.35±0.52	65.14±1.64	289.86±1.74	120.10±1.35
4	IT242238	KOR	27.52±0.62	67.48±1.74	182.62±5.14	111.98±0.14
5	IT218811	UNK	21.07±0.53	63.13±1.57	232.56±3.14	115.63±0.31
6	IT242159	KOR	22.53±0.55	61.12±1.49	138.39±0.71	102.21±0.20
7	IT117102	KOR	11.75±0.39	60.67±1.47	260.04±0.8	118.67±0.29
8	IT221569	KOR	21.20±0.53	59.24±1.42	150.29±1.22	103.02±0.15
9	IT104886	KOR	14.38±0.43	59.16±1.42	306.18±1.60	118.70±0.16
10	IT285949	KOR	14.61±0.43	55.21±1.27	204.57±6.10	114.34±0.16
11	IT242254	KOR	13.52±0.42	54.59±1.24	237.21±2.46	116.20±0.13
12	IT235300	KOR	21.65±0.54	54.37±1.23	192.88±0.67	108.10±0.39
13	IT226620	KOR	20.48±0.52	52.19±1.15	179.49±1.41	104.16±0.21
14	IT242096	KOR	19.47±0.50	50.05±1.07	167.08±1.13	102.24±0.50
15	IT117006	KOR	20.72±0.52	49.29±1.04	155.17±3.14	105.59±0.09
16	IT247375	KOR	17.97±0.48	49.14±1.04	176.85±1.18	78.05±0.34
17	IT274907	KOR	17.25±0.47	67.25±1.72	222.84±1.31	121.27±0.07
18	IT226692	KOR	13.26±0.41	89.54±2.57	302.93±0.66	118.80±0.12
19	다유	KOR	18.33±0.47	49.00±0.18	2.47±0.53	88.77±0.72
20	대유	KOR	16.02±0.40	64.21±0.26	40.22±0.24	94.61±0.43
21	안유	KOR	13.49±0.36	28.94±0.16	38.38±0.12	88.63±0.64

의 범위, 평균 $225.93 \mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 을 보였다. 총 폴리페놀 고함량 자원은 IT226619 ($378.19 \mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)였으며, 대조품중 중 높은 값을 보인 대유($201.10 \mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)보다 약 1.9 배 높은 함량을 나타냈다(Table 2).

DPPH Radical 소거능

한국 대조품중인 다유, 대유 및 안유는 $88.77 \mu\text{g} \cdot \text{ascorbic acid equivalent (ASC)}/\text{mg} \cdot \text{dried extract (DE)}$, $94.61 \mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$, $88.63 \mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 값을 보였다. 18자원 들깨 유전자원의 DPPH radical 소거능은 평균 $111.21 \mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 였으며, $78.05\text{--}122.90 \mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 범위를 보였다. 소거능이 가장 우수한 3자원은 IT226619 ($122.90 \mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$), IT274907 ($121.27 \mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$), IT117091 ($120.10 \mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)로 원산지는 모두 한국이었다(Table 2).

18자원 들깨잎의 주성분 분석 결과 제 1, 제 2 주성분으로 전체 변이의 86.59%를 해석 가능하며, caffeic acid와 rosmarinic acid 함량 값의 기여도가 높았다(Table 3). TPC와 DPPH 값은 33.03%, 27.44%로 Dim1에, caffeic acid와 rosmarinic acid 함량의 값은 65.25%, 21.43%로 Dim2에 많은 기여를 하며, Dim1과 Dim2로 전체 변이의 65%, 21.6% 해석이 가능하다(Fig. 4).

Caffeic acid는 rosmarinic acid와 -0.21 , TPC와 -0.57^{**} , DPPH와 -0.26 의 음의 유의성을 보였으며, rosmarinic acid는 TPC와 0.63^{**} , DPPH와 0.65^{**} 의 양의 유의성을 보였다. 또한, 항산화 활성 평가 실험인 TPC와 DPPH는 0.72^{***} 로 높은 양의 유의성($**p < 0.01$, $***p < 0.001$)을 보였고(Fig. 5, Table 4), 이 결과는 TPC와 DPPH 사이에 높은 연관성이 있다는 이전의 연구 결과와 유사하게 나타났다(Um *et al.*, 2017; Tao *et al.*, 2009). 페놀화합물 중의 하나인 caffeic acid는 TPC와 음의 유의성을 나타냈다. 들깨잎의 페놀화합물 중 caffeic acid보다 다

Table 3. Eigenvalues generated and eigenvector by principal component analysis of *Perilla* 18 accessions

Characters	PC1	PC2	PC3	PC4
Caffeic acid	-0.6308	0.7500	0.0846	0.1801
Rosmarinic acid	0.7943	0.4298	-0.4213	-0.0822
TPC ^z	0.9268	-0.1395	0.0507	0.3452
DPPH ^y	0.8448	0.3089	0.4037	-0.1669
Standard deviation	1.6213	0.9285	0.5918	0.4315
Proportion of Variance	0.6503	0.2155	0.0876	0.0466
Cumulative Proportion	0.6503	0.8659	0.9535	1.0000

^zTotal polyphenol content (TPC, $\mu\text{g}\cdot\text{GAE}/\text{mg}\cdot\text{DE}$),

^y1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH, $\mu\text{g}\cdot\text{ASC}/\text{mg}\cdot\text{DE}$).

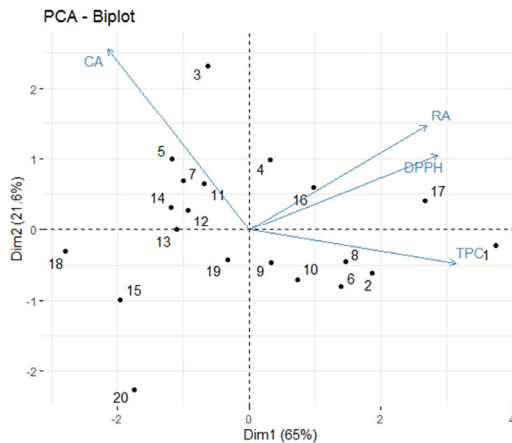


Fig. 4. PCA-biplot of *Perilla* genetic resources showing individual *Perilla* genetic resources, caffeic acid and rosmarinic acid content and antioxidant activities on the first two principal components (CA; caffeic acid, RA; rosmarinic acid).

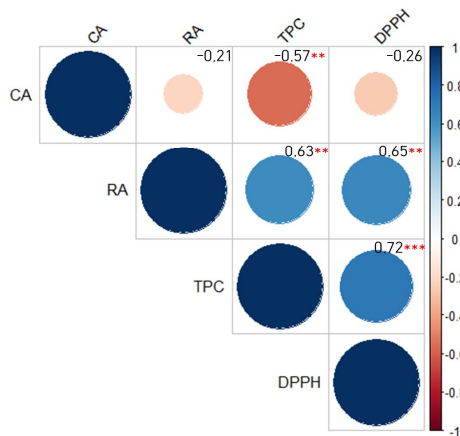


Fig. 5. Pearson's correlation coefficients between CA, RA, TPC and DPPH in 18 *Perilla* leaf accessions (CA; caffeic acid, RA; rosmarinic acid).

Table 4. Person correlation coefficients between major phenolic phytochemicals and antioxidant activities

Characters	Caffeic acid	Rosmarinic acid	TPC ^z	DPPH ^y
Caffeic acid	1.00*	-0.21	-0.57**	-0.26
Rosmarinic acid		1.00*	0.63**	0.65**
TPC ^z			1.00*	0.72***
DPPH ^y				1.00*

^zTotal polyphenol content (TPC),

^y1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH),

*Correlation is significance at the levels of ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, respectively.

른 페놀성 물질이 총 폴리페놀 함량(TPC)에 직접적인 영향을 나타내는 것으로 보이며, 본 연구에서는 caffeic acid보다 rosmarinic acid가 TPC에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.

대조품종(대우, 대우, 안우)을 포함한 21자원의 들깨잎의 caffeic acid, rosmarinic acid 함량 값과 TPC 및 DPPH 값으로 군집분석 결과 2개의 그룹으로 나뉘었다. 그룹 I에서 1번과 8번 자원, 그룹 II에서 6번과 18번 자원은 성분 분석과 항산화 활성 값이 유사한 값을 보였으며, 다른 자원들에 비해 근연 관계임을 나타냈다(Fig. 6). 그룹 간의 기여도는 두 주요 성분 (Dim 1, Dim 2)이 전체 변이의 58.2%, 22.8%임을 확인하였다(Fig. 7).

3개의 대조 자원을 제외한 18 자원 중, 그룹 I은 총 6개의 자원이었으며, caffeic acid (15.45 mg/g) 및 rosmarinic acid (63.29 mg/g), TPC (242.12 $\mu\text{g}\cdot(\text{GAE})/\text{mg}\cdot(\text{DE})$), DPPH (114.07 $\mu\text{g}\cdot(\text{ASC})/\text{mg}\cdot(\text{DE})$) 값을 보였다. 그룹 II는 12개의 자원이었으며, caffeic acid (17.44 mg/g), rosmarinic acid (54.12 mg/g), TPC (201.08 $\mu\text{g}\cdot(\text{GAE})/\text{mg}\cdot(\text{DE})$), DPPH (101.34 $\mu\text{g}\cdot(\text{ASC})/\text{mg}\cdot(\text{DE})$) 값을 보였다.

mg · (DE)값을 보였다. 그룹 I의 caffeic acid 함량은 평균 17.75 mg/g보다 낮지만 rosmarinic acid 함량은 평균 61.88 mg/g보다 높으며 TPC와 DPPH 값 모두 평균보다 높았다. 그룹 II의

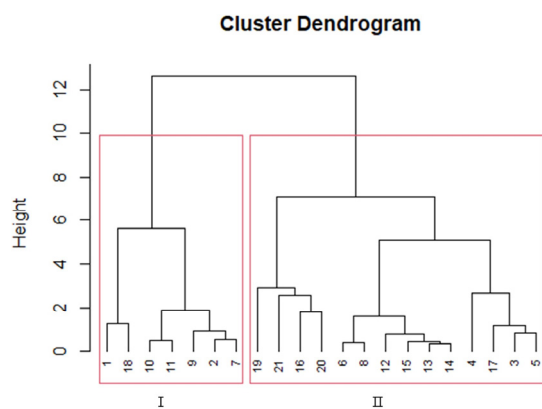


Fig. 6. Hierarchical clustering analysis of phenolic phytochemicals and antioxidant activities in *Perilla* 21 accessions. Hierarchical cluster analysis used by R standardize variables, measured the similarity and connected close of entities.

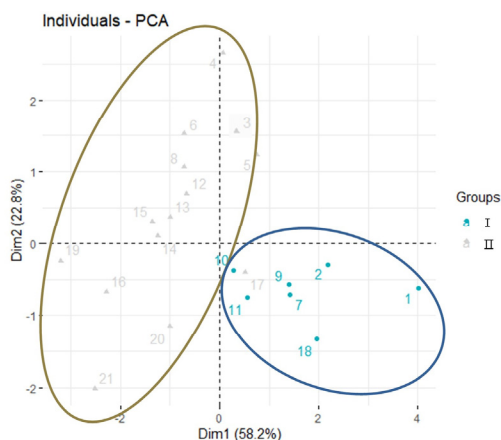


Fig. 7. 2D scatter diagram of principal component analysis (PCA) of 21 *Perilla* leaves based on caffeic acid and rosmarinic acid content, TPC, and DPPH.

caffeic acid 함량은 평균값과 비슷하고, rosmarinic acid 함량 값을 포함하여 TPC와 DPPH 값 모두 평균보다 낮았으며, 이 결과는 들깨잎의 caffeic acid 함량보다 rosmarinic acid 함량이 TPC와 DPPH에 더 영향을 주는 것으로 보여진다(Table 5).

이번 연구에서는 국내산 들깨 18자원의 caffeic acid, rosmarinic acid 함량과 항산화 활성을 확인하는 실험을 하였다. 주성분 분석 결과, caffeic acid와 rosmarinic acid 함량이 제1, 제2 주성분으로, 전체 변이의 86.59%를 해석이 가능하다는 결과를 확인하였다. 상관관계 결과, caffeic acid는 rosmarinic acid, TPC, DPPH와 -0.21, 0.57^{**}, -0.26의 음의 유의성을 보였으며, rosmarinic acid는 TPC와 DPPH와 0.63^{**}, 0.65^{**}의 양의 유의성을 보였다. 총 페놀 함량과 DPPH는 높은 유의성이 있다(Arun *et al.*, 2021)는 이전 연구에서 보고된 결과와 유사한 결과를 얻었으며, 들깨잎의 rosmarinic acid가 caffeic acid보다 항산화 활성에 긍정적인 영향을 나타내는 것으로 사료된다. Caffeic acid와 rosmarinic acid 함량과 TPC 및 DPPH 값으로 군집분석 결과 2개의 집단으로 나누어졌다. 그룹 간의 기여도는 두 주요 성분이 전체 변이의 58.2%, 22.8%였고, 그룹 I에서 1번과 8번 자원, 그룹 II에서 6번과 18번 자원은 다른 자원들에 비해 밀접한 관계임을 확인하였다. 18자원 들깨잎의 평균 caffeic acid, rosmarinic acid 함량과 TPC, DPPH값은 17.75 mg/g, 61.88 mg/g, 225.93 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$, 111.21 $\mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 였으며, 그룹 I은 15.45 mg/g, 63.29 mg/g, 242.12 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$, 114.07 $\mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 였고, 그룹 II는 17.44 mg/g, 56.47 mg/g, 201.08 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$, 101.34 $\mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 였다. 이는 들깨잎의 폴리페놀 화합물 중, caffeic acid 함량보다 rosmarinic acid 함량이 DPPH와 양의 유의성을 나타낸 결과와 유사하게 나타났다. 한국 대조 품종 중 caffeic acid 고함량을 보인 다유는 18.33 mg/g이었으며, 18자원 들깨잎에서 IT242238 (27.52 mg/g)가 다유의 약 1.5배 높은 함량을 보였다. Rosmarinic acid 고함량을 보인 대조 품종 대유는 64.21 mg/g였으며, 18자원 들깨잎에서 IT226619 (90.30

Table 5. Average values of each groups based on phenolic phytochemicals and antioxidant activities

Name	Caffeic acid (mg/g)	Rosmarinic acid (mg/g)	TPC ^z	DPPH ^y
Group I (n=6)	15.45	63.29	242.12	114.07
Group II (n=12)	17.44	56.47	201.08	101.34
Total (n=18)	17.75	61.88	225.93	111.21

^zTotal polyphenol content (TPC, $\mu\text{g} \cdot \text{GAE}/\text{mg} \cdot \text{DE}$).

^y1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH, $\mu\text{g} \cdot \text{ASC}/\text{mg} \cdot \text{DE}$).

mg/g)가 대유의 약 1.4배 높은 함량을 보였다. 총 폴리페놀 함량이 높은 대조 품종 대유는 201.1 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 였으며, 18 자원 들깨잎에서 IT226919 (378.19 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)는 대유보다 약 1.9배 높은 함량을 나타냈다. 대조 품종 중 대유는 94.61 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$ 의 항산화 활성 값을 보였으며 18 자원 들깨잎에서 활성 값이 가장 우수한 자원은 IT226619 (122.90 $\mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)였다. 한국 대조품종 대유, 대유 및 안유와 비교하여 caffeic acid, rosmarinic acid 함량과 항산화 활성이 높은 IT117102와 caffeic acid 함량은 낮지만 rosmarinic acid 함량과 항산화 활성이 높은 IT226619, IT226692, IT274907, IT105964 자원은 고기능성 들깨 품종 연구의 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서는 국내 들깨의 우수 유전자원 선발을 위한 목적으로, 3개의 대조품종(대유, 대유, 안유)을 비롯하여 원산지가 모두 한국인 들깨 18자원을 이용하여 caffeic acid와 rosmarinic acid 함량을 비교 분석 및 항산화 활성 평가를 수행하였다. 주성분 분석 결과, caffeic acid와 rosmarinic acid 함량이 제 1, 제 2 주성분으로 전체 변이의 86.59%를 해석이 가능하였다. 상관관계 결과, caffeic acid는 rosmarinic acid, TPC, DPPH와 음의 유의성을 보였고, rosmarinic acid는 TPC 및 DPPH와 양의 유의성을 보였다. 총 페놀 함량과 DPPH는 높은 유의성이 있다는 이전 연구에서 보고된 결과와 유사한 결과를 확인하였으며, 들깨잎의 rosmarinic acid가 caffeic acid보다 항산화 활성에 긍정적인 영향을 나타내는 것으로 사료된다. Caffeic acid 고함량을 보인 IT242238 (27.52 mg/g)가 대조 품종인 대유(18.33 mg/g)의 약 1.5배 높은 함량을 보였으며, rosmarinic acid 고함량을 보인 IT226619 (90.30 mg/g)가 대조 품종인 대유(64.21 mg/g)의 약 1.4배 높은 함량을 보였다. 총 폴리페놀 함량이 높은 IT226919 (378.19 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)는 대유(201.1 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)의 약 1.9배 높은 함량을 나타냈다. 항산화 활성 값이 가장 우수한 IT226619 (122.90 $\mu\text{g} \cdot (\text{ASC})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)가 대조 품종인 대유(94.61 $\mu\text{g} \cdot (\text{GAE})/\text{mg} \cdot (\text{DE})$)보다 1.3배 높은 항산화 활성 값을 보였다. 이상의 연구결과로 IT242238, IT226619, IT226692, IT274907, IT105964 자원은 고기능성 들깨 품종 연구 및 기능성 천연물 관련 연구에 대한 기초 자료에 대한 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01418501)의 지원에 의해 수행된 결과입니다. 이에 감사드립니다.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Adisakwattana, S., P. Chantarasinlapin, H. Thammarat and S. Yibchok-Anun. 2009. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal α -glucosidase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 24(5):1194-1200.
- Ahmed, H.M. 2019. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Perilla frutescens* (L.) Britt. *Molecules* 24:102.
- Ahmed, H.M. and A.M.A. Al-Zubaidy. 2020. Exploring natural essential oil components and antibacterial activity of solvent extracts from twelve *Perilla frutescens* L. Genotypes. *Arabian J. Chemistry* 13:7390-7402.
- Alagawnay, M., M.E. Abd El-Hack, M.R. Farag, M. Gopi, K. Karthik, Y.S. Malik and K. Dhama. 2017. Rosmarinic acid: modes of action, medicinal values and health benefits. *Animal Health Research Reviews* 18(2):167-176.
- Ang, L.Z.P., R. Hashim, S.F. Sulaiman, A.Y. Coulibaly, O. Sulaiman, F. Kawamura and K.M. Salleh. 2015. *In vitro* antioxidant and antidiabetic activities of *Gluta torquata*. *Ind. Crops Prod* 76:755-760.
- Arun, K.G., D. Subhamoy, P.S. Partha, A. Giulia, M. Poonam and M. Andrea. 2021. Variation in phytochemical, antioxidant and volatile composition of pomelo fruit (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) during seasonal growth and development. *Plants* 10:1941.
- Assefa, A.D., Y.J. Jeong, J.H. Rhee, H.S. Lee, O.S. Hur, J.J. Noh, N.Y. Ro, A.J. Hwang, J.S. Sung and J.E. Lee. 2020. Using phenolic compounds and some morphological characters as distinguishing factors to evaluate the diversity of *Perilla* genetic Resources. *Korean J. Plant Res.* 33:40-49 (in Korean).
- Bampouli, A., K. Kyriakopoulou, G. Papaefstathiou, V. Louli, M. Krokida and K. Magoulas. 2014. Comparison of different extraction methods of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical com-

- position. *J. Appl Res Med Aromat Plants* 1:81-91.
- Burkhardt, A., H.Y. Sintim, A. Gawde, C.L. Cantrell, T. Astatkie, V.D. Zheljzkov and V. Schlegel. 2015. Method for attaining fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seed oil fractions with different composition and antioxidant capacity. *J. Appl Res Med Aromat Plants* 2:87-91.
- Dincer, C., M. Torun, I. Tontul, A. Topuz, H. Sahin-Nadeem, R.S. Gokturk and F. Ozdemir. 2017. Phenolic composition and antioxidant activity of *Sideritis lycia* and *Sideritis libanotica* subsp. *linearis*: Effects of cultivation, year and storage. *J. Appl Res Med Aromat Plants* 5:26-32.
- Giordana, F., T. Federico, G. Riccardo, C. Fabio, T. Claudio, B. Simone, T. Mahmud, K. Hassan and M. Carlo. 2021. Caffeic acid enhances the anti-leukemic effect of Imatinib on chronic myeloid leukemia cells and triggers apoptosis in cells sensitive and resistant to Imatinib. *Int. J. Mol. Sci.* 22(4):1644.
- Gu, S.G., Y.J. Son, J.Y. Park, S.G. Choi, M.H. Lee and H.J. Kim. 2019. Analysis of the seed metabolite profiles and antioxidant activity of *Perilla* varieties. *Korean J. Food Sci. Technol.* 51:193-199 (in Korean).
- Hashimoto, M.C., Y.K. Tanabe, S.D. Hossain, K.T. Matsuzaki, M.H. Ohno, S.S. Kato, M.S. Katakura and O.M. Shido. 2020. Intake of alpha-linolenic acid-rich *Perilla frutescens* leaf powder decreases home blood pressure and serum oxidized low-density lipoprotein in Japanese adults. *Molecules* 25:11-15.
- Heci, Y. 2001. Valuable ingredients from herb *Perilla*, a mini review. *Innov Food Technol.* 29:32-33.
- Hyun, K.W., J.H. Kim, K.J. Song, J.B. Lee, J.H. Jang, Y.S. Kim and J.S. Lee. 2003. Physiological functionality in Geumsan *Perilla* leaves from greenhouse and field cultivation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35:975-979 (in Korean).
- Javanmardi, J., C. Stushnoff, E. Locke and J. Vivanco. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of *Iranian Ocimum* accessions. *Food Chem.* 83:547-550.
- Jennings, P., E. and A.H. Barnett. 1988. New approaches to the pathogenesis and treatment of diabetic microangiopathy. *Diabet Med.* 5:111-117.
- Jinxue, H., L. Lu, S. Mingyue, Y. Tianming, M. Xuejin and W. Yuanxing. 2021. Variations in phenolic acids and antioxidants activity of navel orange at different growth stages. *Food Chemistry* 360:129980.
- Karthishwaran, K., S.O.S.O.A. Shamisi, S.S. Kurup, S. Sakkir and A.J. Cheruth. 2018. Free-radical-scavenging and antioxidant capacities with special emphasis on enzyme activities and *in vitro* studies in *Caralluma flava* NE. *Br. Curr Pharm Biotechnol.* 32:156-162.
- Kim, D.J., A.D. Assefa, Y.J. Jeong, Y.A. Jeon, J.E. Lee, M.C. Lee, H.S. Lee, J.H. Rhee and J.S. Sung. 2019. Variation in fatty acid composition, caffeic and rosmarinic acid content, and antioxidant activity of *Perilla* accessions. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 27:96-107 (in Korean).
- Lee, J.H., K.H. Park, M.H. Lee, H.T. Kim, W.D. Seo, J.Y. Kim, I.Y. Baek, D.S. Jang and T.J. Ha. 2013. Identification, characterisation, and quantification of phenolic compounds in the antioxidant activity-containing fraction from the seeds of Korean perilla (*Perilla frutescens*) cultivar. *Food Chem.* 136: 843-852 (in Korean).
- Lee, J.K. and O. Ohnishi. 2001. Geographic differentiation of morphological characters among perilla crops and their weedy types in East Asia. *Breed Sci.* 51:247-255.
- Li, H.Z., Z. Ren, N.V. Reddy, T. Hou and Z.J. Zhang. 2020. *In Silico* evaluation of antimicrobial, antihyaluronidase and bioavailability parameters of rosmarinic acid in (*Perilla frutescens*) leaf extracts. *SN Appl. Sci.* 2:1547.
- McDougall, G.J., F. Shpiro, P. Dobson, P. Smith, A. Blake and D. Stewart. 2005. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glycosidase. *J. Agric. Food Chem.* 53(7):2760-2766.
- Meihui, Y., L. Bo, Z. Fang, W. Qian, Z. Song, H. Dejian and L. Yue. 2021. Interactions between caffeic acid and corn starch with varying amylose content and their effects on starch digestion. *Food Hydrocol.* 114:106544.
- Reddy, N.V., H.Z. Li, T.N. Hou, M.S. Bethu, Z.Q. Ren and Z.J. Zhang. 2021. Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Perilla frutescens* leaf extract: Characterization and evaluation of antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. *International J. Nanomed.* 16:15-29.
- Saini, R, K., Y.S. Keum and K.R. Rengasamy. 2020. Profiling of nutritionally important metabolites in green/red and green perilla (*Perilla frutescens* Britt.) cultivars: A comparative study. *Ind. Crop. Prod.* 151:112441.
- Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299:152-178.
- Swamy, M.K., U.R. Sinniah A. and Ghasemzadeh. 2018. Anti-cancer potential of rosmarinic acid and its improved production through biotechnological interventions and functional genomics. *Appl Microbiol. Biotechnol.* 102:7775-7793.
- Tao, W., J. Rósa and Ó. Guðrún. 2009. Total phenolic com-

- pounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chem.* 116:240-248.
- Touiss, I., S. Ouahhoud, M. Harnafi, S. Khatib, O. Bekkouch, S. Amrani and H. Harnafi. 2021. Toxicological evaluation and hepatoprotective efficacy of rosmarinic acid-rich extract from *Ocimum basilicum* L. *Evid based Complement Alternat Med.* 2021:6676998. doi: 10.1155/2021/6676998.
- Um, J.N., J.W. Min, K.S. Joo and H.C. Kang. 2017. Antioxidant, anti-wrinkle activity and whitening effect of fermented mixture extracts of *Angelica gigas*, *Paeonid lactiflora*, *Rehmannia chinensis* and *Cnidium officinale*. *Korean J. Med. Crop. Sci.* 25:52-159 (in Korean).
- Vinătoru1, C., A. Peticilă, E. Barcanu, B. Mușat, C. Bratu and O.L. Agapie. 2020. Research on phenolic and biochemical variability in new genotypes of *Perilla frutescens*. *Sci. Hort.* 1:498-503.
- Wang, Z.X., Q.Q. Lin, Z.C. Tu and L. Zhang. 2020. The influence of *in vitro* gastrointestinal digestion on the *Perilla frutescens* leaf extract: Changes in the active compounds and bioactivities. *J. Food Biochem.* 44:e13530.
- Yoshida, T., K. Mori, T. Hatano, T. Okumura, I. Uehara, K. Komagoe, Y. Fujita and T. Okuda. 1989. Studies on inhibition mechanism of autooxidation by tannins and flavonoids. V: Radical scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* 37:1919-1921.
- Yu, H., J.F. Qiu, L.J. Ma, Y.J. Hu, L. Peng and W. Jian-Bo. 2017. Phytochemical and phytopharmacological review of *Perilla frutescens* L. (*Labiatae*), a traditional edible-medicinal herb in China. *Food Chem Toxicol.* 108:375-391.

(Received 15 October 2021 ; Revised 11 November 2021 ; Accepted 15 November 2021)