

로스팅 담팔수 지상부 추출물 및 분획물의 성분 분석 및 항산화 활성

조 양 희[†] · 최 재 혁 · 김 준 일 · 광 태 일 · 이 우 램[‡]

(주)팜스킨

(2023년 12월 14일 접수, 2024년 2월 14일 수정, 2024년 2월 16일 채택)

Comparison of Ingredients and Antioxidant Activity of Roasted Aerial Parts of *Elaeocarpus sylvestris* Extracts and Fractions

Yang Hee Jo[†], Jae Hyeok Choi, Junil Kim, Taeil Kwak, and Woo-Ram Lee[‡]

Farmskin Inc. 194-25, Osongsaengmyeong 1-ro, Osong-eup,
Heungdeok-gu, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do 28160, Korea

(Received December 14, 2023; Revised February 14, 2024; Accepted February 16, 2024)

요약: 담팔수는 팽이밥목 담팔수과의 상록교목으로 추위에 약하여 아열대 지역에서만 자생하는 식물이다. 담팔수는 flavonoid, coumarin, polyphenol 성분이 보고되어져 있으며, 해당 성분들에 의하여 항균 및 항산화 효능들이 있는 것으로 보고되어져 있다. 본 연구에서는 담팔수의 생리활성을 높이기 위하여 로스팅 기법을 도입하였으며, 로스팅한 담팔수 추출물 및 분획물에 대한 성분 변화를 확인한 후 항산화, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정을 진행하였다. 로스팅 전 후 추출물 분석을 진행하여 총 4 개 성분(brevifolin, ellagic acid, quercetin, kaempferol)의 함량이 증가되는 것을 확인하였으며, 로스팅을 한 추출물에서 보다 나은 항산화 효능을 나타내는 것을 확인하였다. 최적 로스팅 조건은 200 °C에서 30 min 로스팅 처리를 하였을 때 항산화 효능이 가장 뛰어난 것으로 확인하였으며, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 또한 가장 우수한 것으로 확인하였다. 최적 로스팅 조건으로 제조한 담팔수 추출물에서 향상된 항산화 효능을 확인하였으며, 향후 화장품 및 식품 소재로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

Abstract: *Elaeocarpus sylvestris* var. *ellipticus* is an evergreen tree of the family Elaeocarpaceae, which is a plant that grows naturally only in subtropical regions due to its vulnerability to cold. *E. sylvestris* has been reported to have flavonoids, coumarins, and polyphenols, and it is reported that these components have antibacterial and antioxidant effects. In this study, a roasting technique was introduced to increase the physiological activity of *E. sylvestris*, and antioxidant, total phenol, and total flavonoid content were measured after confirming changes in the ingredients of roasted *E. sylvestris* extracts and fractions. We analyzed the extracts before and after roasting and found an increase in the content of four components (brevifolin, ellagic acid, quercetin, and kaempferol), with the roasted extracts showing better antioxidant activity. The optimal roasting condition was confirmed to have the best antioxidant effect when roasting at 200 °C for 30 min, and the total phenol and total flavonoid content were also confirmed to be the best. *E. sylvestris* extract produced under optimal roasting conditions has been confirmed to exhibit improved antioxidant effects, and it is believed that it can be used as a cosmetic and food material in the future.

Keywords: *Elaeocarpus sylvestris*, roasting, antioxidant, total phenolics, total flavonoids

† 주 저자 (e-mail: keily@fromom.net)
call: 02-458-5253

‡ 교신저자 (e-mail: roy@fromom.net)
call: 02-458-5253

1. 서론

피부는 우리 몸을 보호하는 기능뿐만 아니라 미적인 기능을 가지고 있어 최근 피부의 노화방지 및 미백, 주름개선, 피부장벽 강화 등에 대한 사회적인 관심이 증가하고 있다[1]. 피부 노화는 크게 내인성 노화(intrinsic aging)와 외인성 노화(exogenous aging)로 구분할 수 있는데, 내인성 노화란 세포 노화, 콜라겐 감소, 호르몬 변화 등의 요인으로 발생하는 노화이며, 외인성 노화란 자외선, 흡연 등 외부환경의 산화적 스트레스에 의해 발생하는 노화이다[2,3]. 노화의 주요 원인은 식세포(세균, 곰팡이), 환경오염인자(자외선, 방사선, 화학물질), 광화학적 및 생물학적 산화작용의 산물로 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 대표적인 요인이며, 활성산소종에는 하이드록실라디칼(hydroxyl radical, $\bullet\text{OH}$), 슈퍼옥사이드라디칼(superoxide radical, $\bullet\text{O}_2^-$), 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2) 등이 있다[4,5]. 정상적인 세포의 대사과정에서 어느 정도의 자유라디칼과 활성산소 및 과산화물이 생성되지만 생체 내에는 이를 방어할 수 있는 항산화 효소(superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase)와 항산화 물질(vitamin C, vitamin E, glutathione)이 존재하여 산화적 손상을 대처하고 있다[6]. 그러나 이와 같은 항산화 효소 및 물질에 이상이 초래되거나 각종 내외부적 요인들에 의하여 활성산소 생성이 증가할 경우 산화적 스트레스(oxidative stress)가 유발된다[7]. 산화적 스트레스가 유발될 경우 노화, 암, 각종 성인병 등을 일으키기 때문에 이러한 활성산소종을 제거할 수 있는 항산화제에 대한 연구들이 활발하게 진행되고 있다. 활성산소종을 제거할 수 있는 항산화제는 천연 항산화제와 합성 항산화제로 구분할 수 있다. 천연 항산화제에는 동물과 식물에 함유된 flavonoid류, carotenoid류, anthocyanin류, vitamin류, tannin류, glutathione, ubiquinone 등이 있으며, 특히 flavonoid류 물질들은 화학적인 연쇄반응을 통해 알킬라디칼(alkyl radical) 또는 알킬퍼옥시 라디칼(alkylperoxy radical)에 수소를 공여하여 라디칼(radical)을 안정화하여 제거하는 기능을 가지고 있어 항산화 활성뿐만 아니라 항암, 항염증 활성 등을 포함한 다양한 약리작용을 통해 활성산소 제거에 도움을 준다. 합성 항산화제에는 butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluene (BHT) 등이 있으며, 합성 항산화제의 경우 각종 부작용 및 독성 등 문제점이 보고되고 있어 인체에 안전한 천연물 유래 항산화제에 대한 연구가 주목받고 있는 추세이다[8,9].

로스팅(roasting)은 주로 커피, 녹차, 카카오 등에 열을 가하여 색과 향미를 얻는 가공 방법이다[10]. 식물을 로스팅 처리하는 경우 화학적 성분 조성, 물리적 성질, 관능적 요소에 변화를 주는 것으로 보고 되어있다[11-13]. 이는 식물이 함유하고 있는 다양한 생리활성물질이 열에 의해 분해되거나 합성되어 다양한 성분의 변화를 일으키기 때문인 것으로 보고 되어있다[14]. 로스팅에 의해 열이 가해지면 식물의 세포벽이 파괴되고 불용성 성분이 합성을 통하여 생리활성물질이 증가될 수 있다는 연구결과가 보고 되어있으며, 이와 관련된 많은 연구가 진행되고 있다[15-18]. 로스팅에서 가장 중요한 요인으로는 로스팅 온도와 시간이 있으며, 해당 요인은 생리활성물질의 변화에 가장 많은 영향을 미치는 요인이다[19]. 간단한 로스팅 공정으로 식물에 함유되어 있는 생리활성물질을 변화할 수 있으므로 기능성 증가를 야기할 수 있다[20].

담팔수(*Elaeocarpus sylvestris* var. *ellipticus*, *E. sylvestris*)는 팽이밤목 담팔수과의 상록교목으로 추위에 약하기 때문에 한국의 제주도, 일본의 오키나와, 남중국 및 대만 등 아열대 지역에서 자생하고 있다. 전통적으로 우울증, 간질, 편두통, 천식 등에 민간요법으로 사용되어져 왔으며, 최근 연구에 따르면 항종양, 항염증, 신경보호, 항당뇨, 항균 및 항산화 등의 여러 효능이 보고되고 있다. 담팔수의 성분으로는 coniferyl alcohol, pentagalloyl glucose, umbelliferone, scopoletin, ellagic acid, brevifolin, nepitrin, homoplantagin, β -sitosterol, daucosterol이 알려져 있다[21,22].

담팔수에 대한 성분 및 효능 연구는 진행되어져 왔으나, 담팔수의 생리활성을 높이기 위한 연구는 진행되지 않은 상태이며, 생리활성을 높일 수 있는 기법인 로스팅을 이용한 추출물 제조 및 성분 분석, 체계적인 효능 검증은 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내 자생식물인 담팔수의 생리활성을 높이기 위하여 로스팅을 진행하였으며, 이를 통해 얻어진 추출물 및 분획물에 대한 성분 분석, 항산화 활성, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량에 대한 연구를 진행하여 화장품 및 식품 개발의 원료로 활용할 수 있는 기초자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

담팔수 지상부(aerial parts of *E. sylvestris*) 중 잎과 가지를 실험에 사용하였으며, 실험에 사용한 담팔수 지상부는 2021

년에 제주도 소재의 농업회사법인(주) 트리즈바이오텍(Korea)에서 건조된 상태로 구입하여 사용하였다. 표준물질로 사용된 gallic acid, quercetin, ellagic acid, kaempferol은 Sigma-Aldrich (USA)사에서 구입하였으며, brevifolin은 로스팅 한 담팔수 지상부 추출물로부터 분리한 후 분광학적 분석방법을 이용하여 구조를 확인한 후 표준물질로 사용하였다.

2.2. 로스팅 조건 및 추출물, 분획물 제조

건조된 담팔수 지상부는 로스티기(CAFEMASY SCR-205, WUXEY, China)를 이용하여 200 °C에서 30 min 간 3 회 반복하여 로스팅 하였다. 건조된 담팔수 지상부와 로스팅 한 담팔수 지상부 40 g을 각각 70% 에탄올(Duksan, Korea) 2 L로 24 h 동안 1회 추출한 후 여과(Whatman, UK)하여 추출물을 얻었다. 얻어진 추출물을 회전증발농축기(RV10 digital V, IKA, Germany)를 이용하여 40 °C에서 감압 농축하였다.

로스팅 온도와 시간의 범위를 선정하기 위하여 건조된 담팔수 지상부 100 g을 온도 100, 150, 200, 240 °C, 시간 10, 25, 30, 35, 40 min으로 로스팅 한 후 로스팅 한 담팔수 지상부 2 g을 70% 에탄올 40 mL을 가하여 추출물을 제조하였다. 제조된 추출물을 여과하여 농축한 후 사전 예비 실험을 진행하였으며, 이를 바탕으로 로스팅 조건을 온도 200 °C와 시간 30 min으로 선정하였다.

로스팅 최적 조건으로 선정된 조건인 200 °C, 30 min의 추출물로 분획물을 제조하였다. 최적 조건으로 로스팅 한 담팔수 지상부 30 g을 70% 에탄올 50 mL을 가하여 추출물을 제조한 후 여과하여 40 °C에서 감압 농축하였다. 최적 조건의 에탄올 추출물(ES-R-200-30-T)을 증류수(Duksan, Korea)에 현탁 한 후, *n*-hexane (Daejung, Korea), CH₂Cl₂ (Daejung, Korea), EtOAc (Daejung, Korea) 및 *n*-BuOH (Daejung, Korea) 용매 순서로 각각 2 회씩 분획을 반복 실시하였다. 얻은 분획물을 각각 40 °C에서 감압 농축하였으며, 각각의 실험 방법에 따라 전처리 하여 사용하였다.

2.3. DPPH 자유 라디칼 소거 활성

로스팅 담팔수 추출물 및 분획물의 항산화 활성을 확인하기 위하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-aldrich, USA)를 이용하여 자유 라디칼 소거 분석을 수행하였다. 0.01 mg/mL 농도로 제조한 시료와 0.2 mM DPPH 용액을 실온에서 10 min 동안 반응시킨 후 microplate reader (Synergy HTX, BioTek, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거율은 아래의 식에 따

라 계산하였으며, 양성대조군으로는 ascorbic acid (Sigma-aldrich, USA)를 사용하였다.

DPPH radical scavenging activity (%)

$$= \left[1 - \left(\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank1}}}{A_{\text{Control}} - A_{\text{Blank2}}} \right) \right] \times 100$$

$A_{\text{Experiment}}$ = Absorbance values of DPPH radicals after treatment with sample

A_{Blank1} = Absorbance values of ethanol and sample

A_{Control} = Absorbance values of DPPH radicals after treatment with ethanol

A_{Blank2} = Absorbance values of ethanol

2.4. ABTS 자유 라디칼 소거 활성

로스팅 담팔수 추출물 및 분획물의 항산화 활성을 확인하기 위하여 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (Sigma-aldrich, USA) 자유 라디칼 소거 분석을 수행하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate를 2 : 1 비율로 혼합한 후 상온의 어두운 곳에서 7 ~ 10 h 방치하여 ABTS 양이온 라디칼 (ABTS⁺)을 형성시켰다. 0.01 mg/mL 농도로 제조한 시료와 ABTS⁺ 용액을 실온에서 10 ~ 15 min 동안 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거율은 아래의 식에 따라 계산하였으며, 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

ABTS radical scavenging activity (%)

$$= \left[1 - \left(\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank1}}}{A_{\text{Control}} - A_{\text{Blank2}}} \right) \right] \times 100$$

$A_{\text{Experiment}}$ = Absorbance values of ABTS radicals after treatment with sample

A_{Blank1} = Absorbance values of ethanol and sample

A_{Control} = Absorbance values of ABTS radicals after treatment with ethanol

A_{Blank2} = Absorbance values of ethanol

2.5. 총 페놀 화합물 함량 측정

총 페놀 함량 측정은 Folin-ciocalteu's phenol reagent가 페놀성 화합물에 의해 몰디브렌 청색으로 환원되는 원리

로 측정하였다. 전처리된 시료 4 μL 에 증류수 36 μL , Folin-ciocalteau's phenol reagent (Sigma-aldrich, USA) 4 μL 를 혼합하여 5 min 동안 vortex 한 후 7% Na_2CO_3 40 μL 와 증류수 4 μL 를 첨가하였다. 실온에서 90 min 동안 암소 후 microplate reader를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준물질로 사용하였으며, 표준검량선으로부터 총 페놀 함량을 계산하였다.

2.6. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량 측정은 전처리된 시료 10 μL 에 증류수 40 μL , 5% NaNO_2 3 μL 를 혼합하여 5 min 동안 vortex 한 후 10% AlCl_3 3 μL 를 첨가하여 다시 6 min 동안 vortex 하였다. 위 반응액에 1 M NaOH 20 μL 와 증류수 24 μL 를 첨가한 후 microplate reader를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin을 표준물질로 사용하였으며, 표준검량선으로부터 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

2.7. HPLC 분석

담팔수 시료 분석은 고속 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석은 2489 UV/Vis 검출기가 장착된 Alliance e2695 Waters HPLC system (Waters, USA)을 사용하였다. 컬럼은 Waters XBridge[®] BEH 5 μm C_{18} (4.6 \times 250 mm, Waters, USA)을 사용하였고, 용매 A (0.1% formic acid in distilled water) 및 용매 B (0.1% formic acid in acetonitrile)로 구성된 이동상을 다음과 같은 조건으로 분석하였다. 10 ~ 50% B (0 ~ 20 min), 50 ~ 100% B (20 ~ 21 min), 100 ~ 100% B (21 ~ 30 min), 100 ~ 10% B (30 ~ 31 min) 및 10 ~ 10% B (31 ~ 40 min). 시료 주입량은 10 μL 이며, 유속은 1.0 mL/min으로 진행하였으며, 검출 파장은 360 nm로 설정하였다. 표준물질별 검량선을 작성하여 추출물 및 분획물에 함유된 성분 함량값을 계산하였다. 표준물질별 검량선은 농도별로 제조한 표준물질을 분석하여 얻었으며, brevifolin ($y = 12097x - 4598.7$, $R^2 = 0.9996$), ellagic acid ($y =$

$7343.4x - 6158.5$, $R^2 = 0.9999$), quercetin ($y = 39508x - 112619$, $R^2 = 0.9994$), kaempferol ($y = 45109x + 30192$, $R^2 = 0.9995$)로 표준물질별 검량선의 회귀방정식을 얻었다.

2.8. 통계적 분석

모든 실험은 3 회 반복 실시하였으며, 평균 \pm 표준편차 (mean \pm SD)로 표기하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 로스팅을 통한 담팔수 추출물의 성분 변화 확인 및 최적 로스팅 조건 선정

로스팅을 이용하여 천연소재에 함유된 생리활성물질이 변화한다는 연구결과들이 많이 보고되어져 있다[23,24]. 담팔수 지상부의 로스팅 여부에 따라 변화하는 생리활성물질을 확인하고자 제조한 추출물에 대한 성분분석을 HPLC를 이용하여 진행하였다. 그 결과 4 개의 성분의 함량이 변화되는 것을 확인하였으며, LC-MS 분석을 통하여 각 피크의 성분을 확인하였다(Table 1 및 Figure 1). 확인된 성분은 brevifolin, ellagic acid, quercetin, kaempferol으로 모두 담팔수 지상부에서 보고되어진 성분으로 확인하였다. 로스팅에 영향을 주는 주요 요인에는 온도가 있으며, 온도에 대한 조건을 선정하기 위하여 예비실험을 진행하였다. 로스팅 온도는 100, 150, 200, 240 $^{\circ}\text{C}$ 로 선정하였으며, 시간은 30 min으로 설정하였다. 그 결과 200 $^{\circ}\text{C}$ 에서 총 페놀릭 함량 및 총 플라보노이드 함량이 가장 우수한 것으로 확인하였으며, 지표성분 4 종의 함량을 분석한 결과 200 $^{\circ}\text{C}$ 에서 제조한 시료에서 모든 성분의 함량이 증가하는 것으로 확인하였다(Table 2). 항산화 효능 또한 200 $^{\circ}\text{C}$ 에서 가장 뛰어난 것으로 확인되었다(Figure 2). 위의 결과를 바탕으로 최적 로스팅 온도조건은 200 $^{\circ}\text{C}$ 로 선정하였다.

다음으로 로스팅에 영향을 주는 요인인 시간을 선정하기 위하여 담팔수를 200 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 5 ~ 15 min 간격으로 시간을 증가하면서 로스팅 하였다. 그 결과 30 min에서 총

Table 1. Standard Compounds Contents of *E. sylvestris* According to Roasting

Sample name	Contents ($\mu\text{g/g}$ dried weight)				DPPH radical scavenging activity	ABTS radical scavenging activity
	Brevifolin	Ellagic acid	Quercetin	Kaempferol	(% of control)	(% of control)
ES-NR	N.D.	35.0	3.0	N.D.	47.23 \pm 1.34	39.95 \pm 1.62
ES-R	50.7	153.0	6.0	2.6	57.34 \pm 0.34	51.19 \pm 0.56

ES-NR: *E. sylvestris*-Not Roasting, ES-R: *E. sylvestris*-Roasting

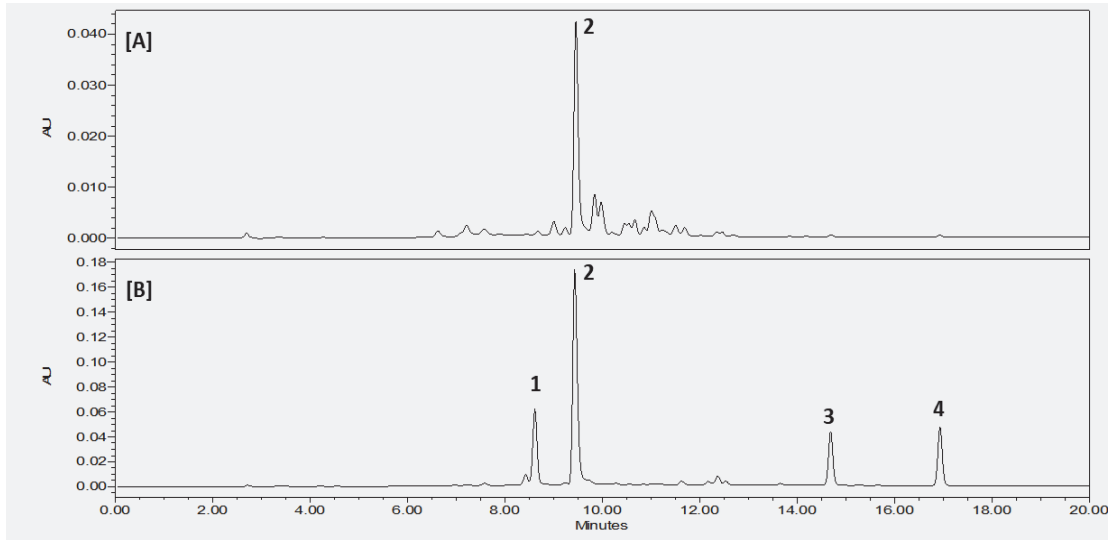


Figure 1. (A) HPLC chromatogram of *E. sylvestris* aerial parts extract and (B) HPLC chromatogram of roasted *E. sylvestris* aerial parts extract; 1. brevifolin, 2. ellagic acid, 3. quercetin, 4. kaempferol.

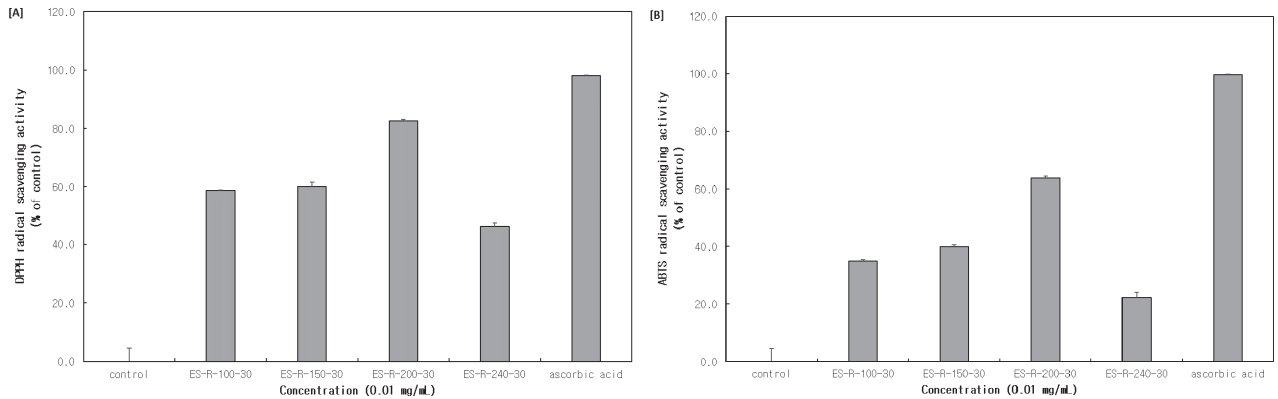


Figure 2. Antioxidant activity of roasting *E. sylvestris* according to temperature. (A) DPPH radical scavenging activity (% of control), (B) ABTS radical scavenging activity (% of control). All values are presented as mean \pm SD (N = 3).

Table 2. Standard Compounds Contents, Total Phenolic Content and Total Flavonoid Content of Roasting *E. sylvestris* According to Temperature

Sample name	Contents ($\mu\text{g/g}$ dried weight)				Total phenolic content (mg GAE/g)	Total flavonoid content (mg QE/g)
	Brevifolin	Ellagic acid	Quercetin	Kaempferol		
ES-R-100-30	N.D.	29.2	2.98	N.D.	0.341 \pm 0.02	0.106 \pm 0.01
ES-R-150-30	N.D.	34.4	3.20	N.D.	0.349 \pm 0.02	0.111 \pm 0.01
ES-R-200-30	47.2	114.5	6.19	2.58	0.548 \pm 0.04	0.200 \pm 0.02
ES-R-240-30	41.0	90.6	3.73	0.49	0.253 \pm 0.02	0.095 \pm 0.00

ES-R-100-30: Roasting temperature 100 °C and roasting time 30 min
 ES-R-150-30: Roasting temperature 150 °C and roasting time 30 min
 ES-R-200-30: Roasting temperature 200 °C and roasting time 30 min
 ES-R-240-30: Roasting temperature 240 °C and roasting time 30 min

Table 3. Standard Compounds Contents, Total Phenolic Content and Total Flavonoid Content of Roasting *E. sylvestris* According to Time

Sample name	Contents ($\mu\text{g/g}$ dried weight)				Total phenolic content (mg GAE/g)	Total flavonoid content (mg QE/g)
	Brevifolin	Ellagic acid	Quercetin	Kaempferol		
ES-R-200-10	9.3	66.3	4.58	0.66	0.481 \pm 0.01	0.145 \pm 0.01
ES-R-200-25	34.6	80.2	4.54	1.84	0.496 \pm 0.04	0.173 \pm 0.01
ES-R-200-30	47.2	114.5	6.19	2.58	0.548 \pm 0.04	0.200 \pm 0.02
ES-R-200-35	31.4	30.3	4.53	1.25	0.476 \pm 0.01	0.159 \pm 0.00
ES-R-200-40	29.1	29.3	3.96	0.93	0.368 \pm 0.01	0.096 \pm 0.01

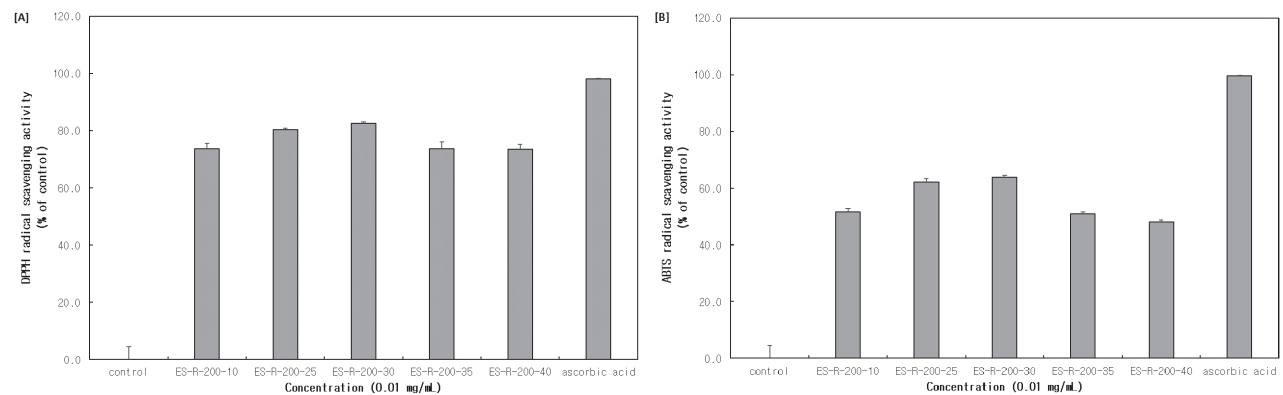
ES-R-200-10: Roasting temperature 200 °C and roasting time 10 min

ES-R-200-25: Roasting temperature 200 °C and roasting time 25 min

ES-R-200-30: Roasting temperature 200 °C and roasting time 30 min

ES-R-200-35: Roasting temperature 200 °C and roasting time 35 min

ES-R-200-40: Roasting temperature 200 °C and roasting time 40 min

**Figure 3.** Antioxidant activity of roasting *E. sylvestris* according to time. (A) DPPH radical scavenging activity (% of control), (B) ABTS radical scavenging activity (% of control). All values are presented as mean \pm SD (N = 3).

페놀릭 함량 및 총 플라보노이드 함량이 가장 우수한 것으로 확인하였으며, 지표성분 4 종의 함량을 분석한 결과 30 min 동안 로스팅 한 시료에서 모든 성분의 함량이 가장 높은 것으로 확인하였다(Table 3). 항산화 효능 또한 30 min에서 가장 뛰어난 것으로 확인되었다(Figure 3). 위의 결과를 바탕으로 최적 로스팅 시간조건은 30 min으로 선정하였다.

3.2. 로스팅 담팔수 추출물 및 분획물의 지표성분 함량 변화

선정된 로스팅 조건으로 제조한 담팔수 추출물(ES-R-200-30-T)을 *n*-hexane (H), CH_2Cl_2 (MC), EtOAc (EA), *n*-BuOH (B) 및 증류수(DW) 순서로 분획을 실시하였다. 제조한 분획물에 대한 지표성분 4 종의 함량을 비교하기 위하여 HPLC 분석을 실시하였다. HPLC 분석 결과 담팔수 추출물의 주피크인 ellagic acid의 경우 상대적으로 ES-R-200-30-T 시료에

서 가장 많이 함유되어 있었으며, EA > B > MC > DW > H의 순으로 함량이 나타나는 것으로 확인하였다. Brevifolin 및 quercetin의 경우 ES-R-200-30-EA에서 가장 많은 함량이 확인되었으며, kaempferol의 경우 ES-R-200-30-MC에 가장 많이 함유되어 있는 것으로 확인하였다(Table 4 및 Figure 4).

3.3. 로스팅 담팔수 추출물 및 분획물의 항산화 활성 비교

천연소재에 대한 항산화 활성 검증 실험에는 여러가지 방법이 있으며 반응 시약에 따라 생성되는 라디칼이 달라 결과의 차이가 존재한다[25]. 가장 널리 사용되는 방법으로는 DPPH와 ABTS radical scavenging assay가 있으며 본 실험에서는 제조한 분획물에 대한 항산화 활성을 확인하기 위하여 두가지의 상기 assay를 모두 실시하였다. 그 결과 DPPH와 ABTS 실험 모두 EA > T > B > MC > DW > H 순으로 항산화 효능이 나타나는 것으로 확인하였다(Table 5).

Table 4. Standard Compounds Contents in Extract and Fractions from Roasting *E. sylvestris*

Sample name	Contents ($\mu\text{g/g}$ dried weight)			
	Brevifolin	Ellagic acid	Quercetin	Kaempferol
ES-R-200-30-T	80.6	195.5	8.4	4.9
ES-R-200-30-H	0.6	1.3	N.D.	N.D.
ES-R-200-30-MC	2.8	5.0	6.8	33.7
ES-R-200-30-EA	110.2	152.1	11.0	2.6
ES-R-200-30-B	39.5	115.2	3.3	N.D.
ES-R-200-30-DW	1.0	2.6	N.D.	N.D.

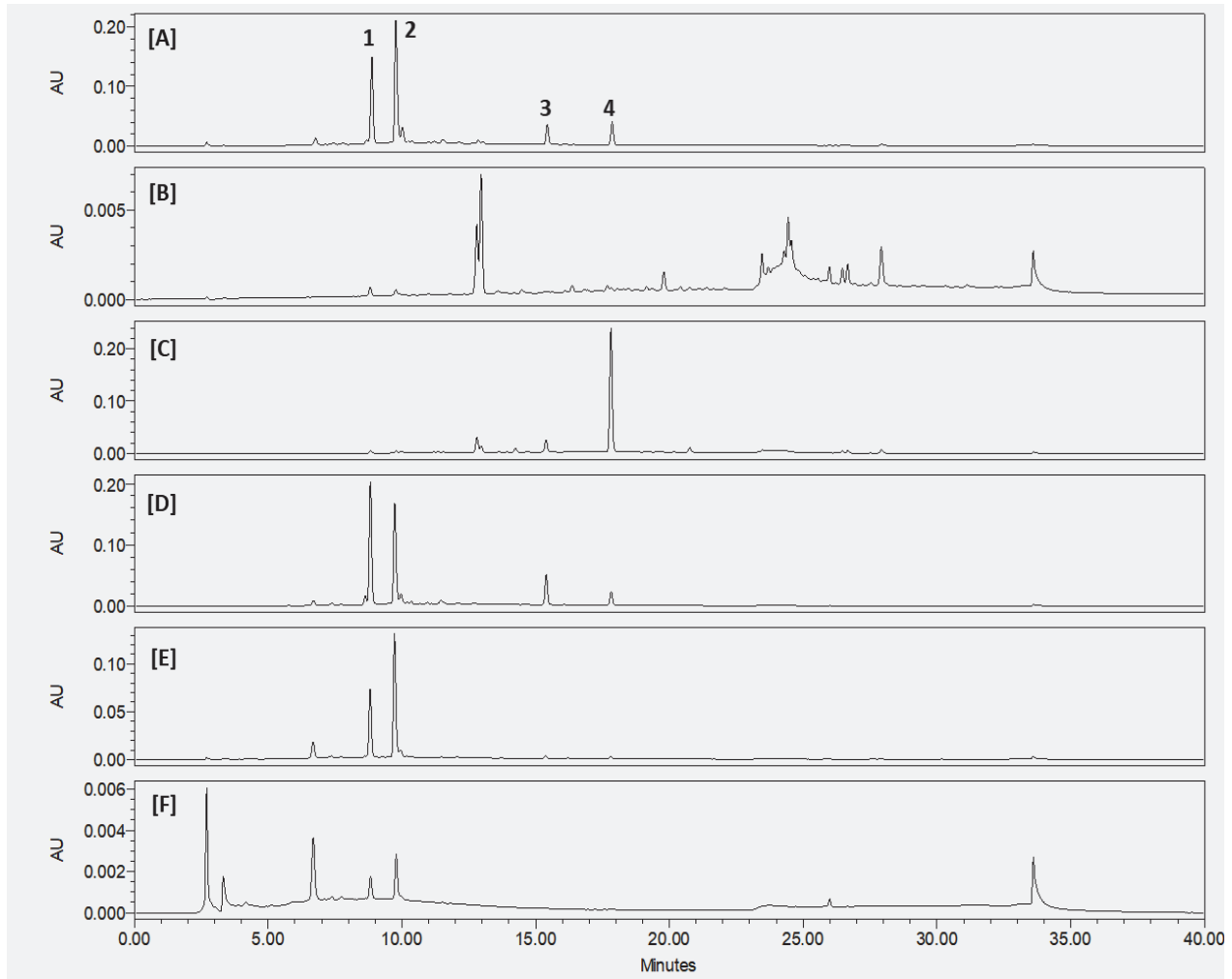


Figure 4. Chromatogram of roasted *E. sylvestris* aerial parts extract and fractions using HPLC analysis. (A) Roasted *E. sylvestris* aerial parts extract, (B) *n*-hexane fraction, (C) CH_2Cl_2 fraction, (D) EtOAc fraction, (E) *n*-BuOH fraction and (F) DW fraction; 1. brevifolin, 2. ellagic acid, 3. quercetin, 4. kaempferol.

Table 5. Antioxidative Activities of Extract and Fractions from Roasting *E. sylvestris*

Sample name	DPPH radical scavenging activity (% of control)	ABTS radical scavenging activity (% of control)
ES-R-200-30-T	82.10 ± 0.37	62.08 ± 0.55
ES-R-200-30-H	12.54 ± 0.85	10.86 ± 0.68
ES-R-200-30-MC	32.26 ± 4.10	27.74 ± 0.70
ES-R-200-30-EA	94.32 ± 0.19	99.69 ± 0.00
ES-R-200-30-B	81.99 ± 0.00	57.40 ± 0.86
ES-R-200-30-DW	28.51 ± 1.03	24.00 ± 0.86
Ascorbic acid	96.25 ± 0.19	99.90 ± 0.09

Table 6. Total Phenolic and Flavonoid Contents in Extract and Fractions from Roasting *E. sylvestris*

Sample name	Total phenolic content (mg GAE/g)	Total flavonoid content (mg QE/g)
ES-R-200-30-T	0.566 ± 0.02	0.202 ± 0.03
ES-R-200-30-H	0.066 ± 0.00	0.087 ± 0.01
ES-R-200-30-MC	0.246 ± 0.01	0.177 ± 0.02
ES-R-200-30-EA	0.541 ± 0.01	0.235 ± 0.04
ES-R-200-30-B	0.310 ± 0.02	0.125 ± 0.00
ES-R-200-30-DW	0.118 ± 0.01	0.038 ± 0.01

3.4. 로스팅 담팔수 추출물 및 분획물의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 비교

천연소재에는 다양한 페놀 성분이 존재하며 이 중 폴리페놀은 페놀 구조가 2 개이상 결합되어 구성된 화합물로서 페닐프로파노이드와 탄닌 등으로 분류된다. 폴리페놀 성분은 강력한 환원력을 가지고 있어 활성산소에 의한 세포손상을 방지하는 항산화 효과를 가지고 있으며 그 외에 항균, 항암, 항염 효능 등 다양한 생리활성을 나타내는 성분이다. 플라보노이드 계열의 성분은 폴리페놀 구성 성분 중 페닐프로파노이드에 포함되는 계열로써 안토시아닌, 카테킨, 이소플라본 등 다양한 구조를 가지고 있으며, 이에 따라 다양한 효능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다[26]. 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 항산화 효능과 상호 관련성이 매우 높은 것으로 보고되어져 있다[27-29]. 본 실험에서는 최적조건으로 로스팅 한 담팔수 추출물 및 분획물에 대한 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량을 비교하고자 실험을 진행하였다. 그 결과 총 페놀 함량의 경우 ES-R-200-30-T에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, EA > B > MC > DW > H의 순으로 함량이 나타나는 것으로 확인하였다. 이는 지표성분 4 종이 모두 페놀 성분이므로

HPLC 분석 결과와 일치하는 것으로 확인하였다. 총 플라보노이드 함량의 경우 ES-R-200-30-EA에서 가장 높은 함량을 확인하였고, T > MC > B > H > DW 순으로 함량이 나타나는 것으로 확인하였다. 이는 플라보노이드 계열인 quercetin의 함량이 많이 있는 분획물 순서로 나타나는 것으로 확인하였다(Table 6). 또한, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높을수록 항산화 효능도 높게 나타난다는 여러 선행연구 결과와 일치하는 것으로 확인하였다.

4. 결론

담팔수의 기능성 생리활성 물질로서의 활용도를 높이기 위하여 로스팅 기법을 도입하였으며, 로스팅을 진행한 담팔수 추출물 및 분획물에 대한 성분 분석과 항산화 효능, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 그 결과 로스팅을 가한 담팔수 추출물에서 총 4 개 성분의 함량이 증가하는 것을 확인하였으며, 항산화 효능 또한 향상되는 것을 확인하였다. 온도 200 °C에서 30 min 간 로스팅 처리한 담팔수 추출물(ES-R-200-30)에서 가장 우수한 항산화 효능을 확인하였으며, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

또한 가장 높게 나타나는 것으로 확인하였다. 최적 로스팅 조건으로 제조한 담팔수 추출물(ES-R-200-30-T)로부터 분획물을 제조하였으며, 제조한 분획물에 대하여 성분 분석 및 항산화 효능을 진행하였다. 그 결과 분획물에 따른 성분 함량의 차이를 확인하였으며, EA > B > MC > DW > H 순서로 항산화 효능이 있는 것을 확인하였다. 총 페놀 함량 측정 결과 로스팅으로 인하여 증가된 성분 4 종 모두 페놀 성분이므로 함량 분석결과 순서인 T > EA > B > MC > DW > H 순서로 나타나는 것을 확인하였으며, 총 플라보노이드 함량의 경우 quercetin 함량이 많은 분획물 순서로 나타나는 것을 확인하였다. 본 연구 결과 담팔수를 최적 조건으로 로스팅 하면 생리활성 물질이 증가하는 것을 알 수 있었으며, 이로 인하여 항산화 효능이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 결론적으로 상기의 실험 결과, 담팔수를 최적 로스팅 조건으로 제조할 경우 항산화 효능이 증대되는 것으로 판단되며, 본 연구를 통해 화장품 및 식품 소재로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 2023년도 중소벤처기업부의 기술개발사업 지원에 의한 연구임[S3373964].

References

1. F. Watanabe, E. Hashizume, G. P. Chan, and A. Kamimura, Skin-whitening and skin-condition-improving effects of topical oxidized glutathione: a double-blind and placebo-controlled clinical trial in healthy women, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, **7**, 267 (2014).
2. M. J. Hardman and G. S. Ashcroft, Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly, *Genome Biol.*, **9**(5), R80 (2008).
3. E. Volpi, A. A. Ferrando, C. W. Yeckel, K. D. Tipton, and R. R. Wolfe, Exogenous amino acids stimulate net muscle protein synthesis in the elderly, *J. Clin. Invest.*, **101**(9), 2000 (1998).
4. E. J. Na, H. H. Jang, and G. R. Kim, Review of recent studies and research analysis for anti-oxidant and anti-aging materials, *Asian J. Beauty Cosmetol.*, **14**(4), 481 (2016).
5. J. K. Hong, A study on skin aging caused by free-radical and on efficacy of antioxidant vitamins, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **7**(2), 51 (2009).
6. A. R. Kim, J. E. Kim, and S. N. Park, Antioxidative activity and component analysis of *Phellinus linteus* extracts, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **37**(4), 309 (2011).
7. S. I. Heo and M. H. Wang, Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H., *Kor. J. Pharmacogn.*, **39**(3), 255 (2008).
8. J. S. Choi, S. D. Han, T. W. Jang, and S. H. Lee, Antioxidant and anti-inflammatory activity of parts of *Rhus javanica* L., *J. Appl. Biol. Chem.*, **62**(2), 195 (2019).
9. M. K. Kim, Y. S. Jin, S. I. Heo, T. H. Shim, J. H. Sa, and M. H. Wang, Studies for component analysis and antioxidant effect, antimicrobial activity in *Acanthopanax senticosus* HAEMS, *Kor. J. Pharmacogn.*, **37**(3), 151 (2006).
10. C. S. Suh and J. K. Chun, Relationships among the roasting conditions, colors and extractable solid content of roasted barley, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **13**(4), 334 (1981).
11. G. H. Choi, H. J. Kim, I. J. Park, B. G. Kim, H. Y. Kim, J. H. Jeong, and J. H. Cho, Antioxidative activity of roasted *Pueraria lobata* root extracts, *Korean J. Food Preserv.*, **24**(3), 440 (2017).
12. Y. B. Song, K. S. Lee, M. S. Lee, and A. J. Kim, Bioactivity changes in mung beans according to the roasting time, *Korean J. Food & Nutr.*, **26**(3), 502 (2013).
13. K. H. Lee, M. J. Kim, and A. J. Kim, Physicochemical composition and antioxidative activities of *Rhynchosia mubilis* according to roasting temperature, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**(5), 675 (2014).
14. M. H. Park, K. C. Kim, and J. S. Kim, Changes in the physicochemical properties of ginseng by roasting, *Korean J. Ginseng Sci.*, **17**(3), 228 (1993).
15. K. M. Cho and O. S. Joo, Enhances antioxidant effect of purple sweet potato by roasting, *Korean J. Food Preserv.*, **19**(5), 735 (2012).
16. H. L. Jang, S. Y. Park, and J. S. Nam, The effects of heat treatment on the nutritional composition and antioxidant properties of hempseed (*Cannabis sativa* L.),

- J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **47**(9), 885 (2018).
17. J. S. Choi, H. Y. Kim, W. T. Seo, J. H. Lee, and K. M. Cho, Roasting enhances antioxidant effect of bitter melon (*Momordica charantia* L.) increasing in flavan-3-ol and phenolic acid contents, *Food Sci. Biotechnol.*, **21**, 19 (2012).
 18. V. Dewanto, X. Wu, K. K. Adom, and R. H. Liu, Thermal processing enhance the nutritional values of tomatoes by increasing total antioxidant activity, *J. Agric. Food Chem.*, **50**(10), 3010 (2002).
 19. M. H. Lee, J. H. Cho, and B. K. Kim, Effect of roasting conditions on the antioxidant activities of *Cassia tora* L., *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**(5), 657 (2013).
 20. J. Y. Park, J. Y. Lee, H. D. Kim, G. Y. Jang, and K. H. Seo, Changes in the constituents and UV-photoprotective activity of *Astragalus membranaceus* caused by roasting, *J. Nutr. Health*, **52**(5), 413 (2019).
 21. H. C. Zhang and H. M. Shi, Studies on chemical constituents from *Elaeocarpus sylvestris*, *Zhong. Yao. Cai.*, **31**(10), 1503 (2008).
 22. L. Wu, J. Wu, S. -P. Chen, Z. J. Li, J. Zhang, E. Yuan, G. Q. Ma, L. Jin, and J. W. Hu, Chemical constituents of the twigs of *Elaeocarpus sylvestris*, *Chem. Nat. Compd.*, **55**(2), 324 (2019).
 23. M. Park and K. G. Lee, Effect of roasting temperature and time on volatile compounds, total polyphenols, total flavonoids, and lignan of omija (*Schisandra chinensis* Baillon) fruit extract, *Food Chem.*, **338**, 127836 (2021).
 24. M. Chbani, B. Matthaus, Z. Charrouf, H. E. Monfalouti, A. Kartah, S. Gharby, and I. Willenberg, Characterization of phenolic compounds extracted from cold pressed cactus (*Opuntia ficus-indica* L.) seed oil and the effect of roasting on their composition, *Foods*, **9**(8), 1098 (2020).
 25. C. S. Kwak and H. I. Choi, *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extract and sequential fractions of flowers of *Prunus persica* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **44**(10), 1439 (2015).
 26. Y. R. Kwon, H. R. Lee, S. H. Hwang, O. J. Kwon, and K. S. Youn, Antioxidant activities and physiological properties of *Euphorbia humifusa* extracts prepared using different solvents, *Korean J. Food Preserv.*, **23**(2), 252 (2016).
 27. J. A. Lim, B. W. Yun, and S. H. Baek, Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Salvia plebeian* R. Br., *Korean J. Medicinal Crop. Sci.*, **15**(3), 183 (2007).
 28. J. Bekir, M. Mars, J. P. Souchard, and J. Bouajila, Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leaves, *Food Chem. Toxicol.*, **55**, 470 (2013).
 29. G. S. Jung, S. H. Lee, S. K. Yang, S. P. Moon, G. Song, and J. Y. Kim, Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory effect of *Boehmeria nivea* vat. nipononivea extracts, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **46**(4), 339 (2020).