약용식물 추출물의 항산화 효과

주 신 윤

숙명여자대학교 식품영양학과

Antioxidant Activities of Medicinal Plant Extracts

Shin Youn Joo

Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Abstract

The antioxidant activities of ethanolic extracts obtained from medicinal plants (*Scutellaria baicalensis* Georgi, *Acanthopanax sessiliflorum* Seeman, *Pueraria lobata* Ohwi, *Portulaca oleracea* Linne, *Crataegus pinnatifida* Bunge var. *typica* Schneider, *Euonymus alatus* Apterus, *Hovenia dulcis* Thunberg, *Prunus yedoensis* Matsumura, *Albizzia julibrissin* Durazz., *Chrysanthemum indicum* Linne) were evaluated for total phenolic content, total flavonoid content, DPPH radicals, nitrites, superoxide radicals, ABTS radical scavenging activity, and reducing power. Antioxidant capacities were the highest in *Prunus yedoensis* Matsumura for DPPH radical scavenging activity (IC₅₀ 5.39 μg/mL), reducing power (2.72, A₇₀₀), and nitrite scavenging activity (IC₅₀ 167.94 μg/mL). *Hovenia dulcis* Thunberg and *Acanthopanax sessiliflorum* Seeman were effective for their nitrite scavenging activities (over 90% at 1 mg/mL). The superoxide radical scavenging activity of *Prunus yedoensis* Matsumura (IC₅₀ 43.39 μg/mL) was stronger than tannic acid (IC₅₀ 46.51 μg/mL). Five samples (*Prunus yedoensis* Matsumura, *Acanthopanax sessiliflorum* Seeman, *Hovenia dulcis* Thunberg, *Crataegus pinnatifida* Bunge var. *typica* Schneider, *Scutellaria baicalensis* Georgi) were effective for their ABTS radical scavenging activity (more than 90% at 0.5 mg/mL). These results suggest that the ethanolic extracts of *Prunus yedoensis* Matsumura could be used as a functional ingredient in food products.

Key words: antioxidant activity, DPPH radical scavenging activity, ABTS⁺ radical scavenging activity, medicinal plants, *Prunus yedoensis* Matsumura

서 론

경제성장과 식생활의 서구화로 인해 비만, 당뇨, 고혈압 및 심장질환 등 다양한 성인병의 발생율이 높아지고 있다. 성인 병의 주된 원인인 활성산소와 free radical은 외부로부터 지 속적인 자극과 에너지 생성을 위한 산화과정에서 상당량 발 생하게 된다. 인체에서는 이에 대한 방어기전으로 산화억제 물질을 생성하여 산화물의 대부분을 소멸시키지만, 환경오 염, 스트레스, 불규칙적인 식습관, 약물, 유전적 요인 등에 의해 항산화 방어계와 균형이 깨어지면서 산화물질이 세포 막 파괴, DNA 변성, 세포노화 등을 초래하게 된다. 활성산소 를 제거하기 위하여 동양의학과 민간에서는 치료 및 예방의 목적으로 사용되고 있는 각종 생약이나 약용식물을 대상으 로 천연항산화제에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(1). 현재 butylated hydroxyanisole(BHA)과 butylated hydroxy toluene(BHT), propyl gallate(PG) 등의 효력이 매우 우수한 합성 항산화제가 개발되어 이용되고 있으나 체내 에너지 생 산과 세포대사 및 호흡작용을 방해하며 발암성이 있고 독성

이 강하다는 문제점이 보고되고 있어, 항산화 효과가 높으면 서 안전하고 경제적인 식물기원의 천연 항산화제의 개발이 절실히 요구되고 있다(2).

최근 연구 대상이 되고 있는 대표적인 항산화 물질로는 식물체의 2차 대사물질이며 미량으로도 현저한 활성을 나타내는 phytochemicals를 들 수 있다(3). 여러 식물은 다양한 활성성분을 함유하고 있고 그 추출물은 해독, 방부, 해열, 수렴, 항염 등의 효능까지 나타내어 식용 또는 치료의 개념으로 사용되고 있다(4). 약용식물의 성분인 비타민 C, 카로티노이드, 식이섬유, 페놀 화합물, 플라보노이드 등은 항종 양활성, 항암활성, 콜레스테롤 저하작용, 항산화성, 정장작용 등 다양한 생리적 기능을 나타내고 있으며(5), 이들에 함유된 유효한 성분은 식품내의 성분과 공존할 경우 synergistic effect를 나타내어 우리 인체에 발생하는 질병에 대한 생체방어시스템의 보강에 효과적이다. 또한 식품이나 주위환경에 혼입되어 있는 환경호르몬의 영향으로부터 인체의 생체 항상성을 유지하는데 도움을 준다(6).

본 연구에 사용된 약용식물인 황금(黃芩, Scutellaria bai-

E-mail: joo@sookmyung.ac.kr

Phone: 82-2-710-9471, Fax: 82-2-710-9479

calensis Georgi)은 꿀풀과에 속하는 식물로서 baicalein, baicalin, wogonin을 비롯한 flavonoid 성분을 함유하고 있 으며 세균과 바이러스 감염, 암과 장염 등의 해열과 진통 등에 효과가 있다고 알려져 있다(7), 오가피(五加皮, Acanthopanax sessiliflorum Seeman)는 두릅나무과에 속한 낙엽 과목으로 한의학에서는 과절염, 근골무력, 위약 등에 사용되 어 왔으며 면역 및 항암작용, 항당뇨 효과 등에 대한 연구가 보고되어 있다(8). 갈근(葛根, Pueraria lobata Ohwi)은 콩 과 식물인 칡의 뿌리로 체내 산화적 스트레스 예방, 과산화 지질 함량 감소. 항당뇨 등의 효능이 알려져 있으며(9). 쇠비 름(Portulaca oleracea Linne)은 쇠비름과 한해살이 식물로 항균작용, 항암효과 등의 효능을 가지며 유효성분으로는 flavonoids, coumarin 등이 확인된 바 있다(10). 산사(山楂, Crataegus pinnatifida Bunge var. typica Schneider)는 산사 나무의 성숙한 과실로서 장미과에 속하며 항산화, 항염효과 등의 효능을 가진다(11). 참빗살나무(Euonymus alatus Apterus)는 노박덩굴과에 속하는 낙엽소교목으로 한방에서 는 자궁출혈, 진통, 진해의 용도로 활용되고 있으며(12), 헛 개나무(Hovenia dulcis Thunberg)는 갈매나무과의 낙엽활 엽 교목으로 그 열매를 지구자(枳椇子)라고 하고 주취, 빈혈, 구갈, 구토, 류마티즘 등의 치료에 사용된다(13). 화피(樺皮, Prunus vedoensis Matsumura)는 장미과 벚나무속에 속하 는 식물로 각기병, 수종, 유선염, 치통 등의 민간약으로 이용 되어 왔으며(14), 합환피(合歡皮, Albizzia julibrissin Durazz.)는 콩과에 속하는 낙엽 활엽 소교목으로 강장, 홍분, 이뇨, 구충 등의 효능이 알려져 있다(15). 감국(甘菊, Chrvsanthemum indicum Linne)은 국화과에 속하는 다년생 초 본으로 항균, 항염, 면역조절, 항산화 활성 등이 밝혀지고 있으며 민간에서는 술을 담아 먹거나 차로 이용하기도 한다 (16). 이들 약용식물의 경우 민간의학이나 한의학에서는 약 용으로 많이 이용되고 있지만 아직까지 그들의 생리활성에 대한 연구가 부족한 실정이다.

이에 본 연구에서는 오랫동안 질병치료와 예방의 목적으로 사용되어온 약용식물 10종을 선정하여 그 항산화 효과를 측정하고 천연 항산화제 개발을 위한 기초 자료를 마련하고 자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 10종의 약용식물(황금, 오가피, 갈근, 쇠비름, 산사, 참빗살나무, 헛개나무, 화피, 합환피, 감국)은 서울경동시장에서 구입하여 분쇄기로 미세 분쇄한 후 80 mesh의 표준망체에 내린 다음 폴리에틸렌 백에 넣어 -40°C deep freezer(Bondiro MCFD 8508 Freeze dryer, Ilshin Co., Seoul, Korea)에 보관하면서 사용하였다. 공시된 시료 및 이용 부분은 Table 1과 같다. 시료는 문헌고찰(17-21)을 통하

Table 1. List of medicinal plants used in this study

Scientific name	Korean name	Used part
Scutellaria baicalensis Georgi	황금	Root
Acanthopanax sessiliflorum Seeman	오가피	Bark
<i>Pueraria lobata</i> Ohwi	갈근	Root
Portulaca oleracea Linne	쇠비름	Stem
Crataegus pinnatifida	산사	Fruit
Bunge var. <i>typica</i> Schneider		
Euonymus alatus Apterus	참빗살나무	Stem
Hovenia dulcis Thunberg	헛개나무	Stem
<i>Prunus yedoensis</i> Matsumura	화피	Bark
<i>Albizzia julibrissin</i> Durazz.	합환피	Bark
Chrysanthemum indicum Linne	감국	Flower

여 여러 생리활성 효과를 나타내는 것을 선정하였다.

성분 분석 및 항산화 실험에 사용한 1,1-diphenyl-1-pic-rylhydrazyl(DPPH), Folin & Ciocalteu, tannic acid 등의 시약은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고 그 외의 시약은 1급을 사용하였다.

추출물 제조

시료 분말에 5배 분량의 70% ethanol을 넣은 후 80℃ 수욕 상에서 환류 냉각하면서 3시간 2회 반복추출 하였다. 각 추 출액은 Whatman No. 2(Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과하여 50℃에서 감압농축한 후 동결건조 하여 -40℃ deep freezer에 보관하면서 사용하였다.

총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis's phenol method(22)에 준하여 측정하였다. 시료액 $150~\mu$ L에 $2,400~\mu$ L의 증류수와 2~N Folin-Ciocalteu reagent $150~\mu$ L를 가한 후 3분간 방치하고 1~N sodium carbonate(Na_2CO_3) $300~\mu$ L를 가하여 암소에서 2시간 동안 반응시킨 후 725~nm에서 흡광도(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)를 측정하였다. Tannic acid를 표준물질로 하여 $0\sim1~m$ g/mL의 농도 범위에서 얻어진 표준 검량선으로부터 추출물의 총 페놀 함량을 계산하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Kang 등(23)의 방법에 준하여 측정하였다. 시료액 1 mL에 90% diethylenglycol 10 mL와 1 N NaOH 1 mL를 가하여 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. Rutin을 표준 물질로 하여 0~1 mg/mL의 농도 범위에서 얻어진 표준 검량 선으로부터 추출물의 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH radical scavenging activity는 Lee 등(24)의 방법에 따라 DPPH radical에 대한 소거 활성을 측정하여 비교,

514 주 신 윤

분석하였다. 시료액 4 mL에 DPPH solution $(1.5\times10^{-4}~{
m M})$ 1 mL를 가하여 교반한 다음 암소에서 30분간 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 계산식 scavenging activity(%)= $100-[({
m OD~of~sample/OD~of~control})\times100]$ 에 의하여 활성도를 산출하였다. 라디칼 소거 활성의 결과는 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(${
m IC}_{50}$)로 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Kato 등(25)의 방법을 변형하여 측정하였다. 1 mM NaNO $_2$ 용액 1 mL에 시료 1 mL를 가한 후 0.1 N HCl(pH 1.2)을 사용하여 pH가 2.0이 되도록 조정하였다. 반응용액에 증류수를 가하여 10 mL가 되도록 한 다음 37° C에서 1시간 동안 반응시키고 test tube에 1 mL씩 취하였다. 여기에 2% acetic acid 5 mL를 첨가하고 griess 시약 0.4 mL를 가하여 교반한 후 실온에서 15분간 방치하여 520 mm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 구하였다. 대조구는 griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하였으며, 계산식 scavenging activity(%)=100- $[(OD \text{ of sample/OD of control})<math>\times$ 100]에 의하여 활성도를 산출하였다. 아질산염 소거능의 결과는 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC_{50})로 나타내었다.

Superoxide 음이온(O2) 라디칼 소거능 측정

Superoxide⁻ 라디칼 소거능은 Liu 등(26)과 Zhao 등(27)의 방법에 준하여 측정하였다. $150~\mu M$ NBT 0.75~m L에 $468~\mu M$ NADH 0.75~m L와 시료 0.3~m L를 첨가하고 100~m M tris-HCl buffer(pH 7.4)를 최종부피가 3~m L가 되도록 가한다. 여기에 $60~\mu M$ PMS 0.75~m L를 첨가하여 5분간 반응시킨후 560~n m에서 흡광도를 측정하였으며, 계산식 scavenging activity(%)= $100-[(OD~of~sample/OD~of~control)\times100]$ 에 의하여 활성도를 산출하였다. 라디칼 소거 활성의 결과는대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC_{50})로 나타내었다.

ABTS 양이온(ABTS⁺) 라디칼 소거능 측정

ABTS⁺ 라디칼 소거능은 Re 등(28)의 방법에 따라 측정하였다. ABTS를 7 mM 농도로 증류수에 용해한 다음 2.45 mM의 potassium persulfate를 가하여 ABTS⁺ 라디칼을 생성시켜 실온의 암소에서 $12\sim16$ 시간 동안 방치 후 사용하였다. 라디칼이 생성된 ABTS 용액을 99.5% ethanol로 희석하여 734 nm에서 흡광도가 0.70 ± 0.02 가 되도록 조정하였다. 소거능은 ABTS 용액 0.9 mL와 시료 0.1 mL를 혼합하여 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 계산식 scavenging activity(%)= $100-[(OD\ of\ sample/OD\ of\ control)\times100]$ 에 의하여 활성도를 산출하였다. 라디칼 소거활성의 결과는 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC_{50})로 나타내었다.

환원력 측정

환원력은 Oyaizu(29)의 방법에 따라 측정하였다. 증류수에 용해한 시료 2.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide 2.5 mL를 가한 다음 50°C water bath에서 20분간 반응시켰다. 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가한 반응액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리(Combi-514R, Hanil, Seoul, Korea)하고 상청액 5 mL를 취하여 증류수 5 mL와 혼합한 다음 0.1% ferric chloride 1 mL를 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력을 나타내었다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 행하여 평균치와 표준편차로 나타내었고, 유의성 검증은 version 12의 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package program을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며, 유의적 차이가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 유의차 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

수율, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

약용식물 10종의 수율, 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 은 Table 2와 같다. 약용식물 70% ethanol 추출물에 대하여 그 수율을 측정한 결과 황금과 감국의 추출물이 각각 26.91

Table 2. Total phenolic and flavonoid contents of the ethanolic extracts obtained from medicinal plants and extraction yields

Source ¹⁾	Total phenolic contents (mg TAE ²⁾ /g)	Total flavonoid contents (mg RE ³⁾ /g)	Yield (%)
SBG	$103.53 \pm 0.15^{4)e5)}$	101.98 ± 0.79^{b}	26.91 ± 0.40^{a}
ASS	$132.27 \pm 7.55^{\circ}$	$42.77 \pm 0.24^{\circ}$	$3.17 \pm 0.11^{\rm h}$
PLO	$153.93 \pm 4.04^{\rm b}$	11.24 ± 0.62^{g}	21.14 ± 0.84^{c}
POL	21.67 ± 1.98^{i}	$5.04 \pm 0.56^{\rm h}$	$9.99 \pm 0.14^{\mathrm{f}}$
CPB	25.57 ± 3.98^{i}	11.46 ± 0.64^{g}	19.55 ± 0.59^{d}
EAA	$47.97 \pm 3.26^{\mathrm{g}}$	$20.84 \pm 1.30^{\rm e}$	$3.29 \pm 0.23^{\rm h}$
HDT	$114.73 \pm 4.97^{\rm d}$	$18.95 \pm 0.72^{\mathrm{f}}$	7.26 ± 0.11^{g}
PYM	320.10 ± 8.64^{a}	226.25 ± 1.62^{a}	7.32 ± 0.09^{g}
AJD	$34.83 \pm 2.74^{\rm h}$	$3.90 \pm 0.55^{\rm h}$	$11.51 \pm 0.76^{\rm e}$
CIL	$51.97 \pm 9.69^{\text{f}}$	39.83 ± 0.45^{d}	$25.47 \pm 0.50^{\mathrm{b}}$
F-value	1230.72***	20764.53***	1371.76***

¹⁾SBG, Scutellaria baicalensis Georgi; ASS, Acanthopanax sessiliflorum Seeman; PLO, Pueraria lobata Ohwi; POL, Portulaca oleracea Linne; CPB, Crataegus pinnatifida Bunge var. typica Schneider; EAA, Euonymus alatus Apterus; HDT, Hovenia dulcis Thunberg; PYM, Prunus yedoensis Matsumura; AJD, Albizzia julibrissin Durazz.; CIL, Chrysanthemum indicum Linne.

²⁾TAE: tannic acid equivalents. ³⁾RE: rutin equivalents.

 $^{^{4)}}$ Mean \pm SD (n=3), *** p<0.001.

⁵⁾Different superscripts (a-i) in a column indicate significant differences at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

%, 25.47%로 높게 나타났고 오가피와 참빗살나무의 추출물이 3.17%, 3.29%로 낮은 수율을 나타내었다. 한약재 열수추출물의 항산화 활성에 관한 연구(18)에서 감국은 9.25%, 오가피는 2.29%의 수율을 나타내어 감국의 경우 증류수를 이용하여 추출하는 방법보다 ethanol을 이용할 경우 그 수율이약 3배 정도 증가하는 것으로 나타났다.

식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있는 방향족 화합물들의 총칭으로 항 산화, 항균, 항암 작용 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것 으로 알려져 있다(30). 약용식물의 총 페놀 함량을 측정한 결과, 화피 추출물이 320.10 mg/g으로 가장 높았고, 그 뒤를 이어 갈근이 153.93 mg/g으로 높게 나타났다. 반면에 쇠비 름과 산사 추출물은 각각 21.67, 25.57 mg/g으로 낮은 함량 을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 총 페놀에서와 같이 화피 추출물이 226.25 mg/g으로 높았으며, 황금 추출물이 101.98 mg/g으로 갈근(11.24 mg/g)보다 높은 함량을 나타내 었다. Kim 등(17)의 연구에 따르면 차전자의 총 페놀 함량이 246.44 mg/g, 애엽 203.92 mg/g, 삼백초 194.60 mg/g으로 높게 나타나 본 연구의 화피보다는 낮은 함량을 보였지만 갈근(153.93 mg/g), 오가피(132.27 mg/g), 헛개나무(114.73 mg/g)에 비해 높은 함량을 나타내었다. 그러나 플라보노이 드 함량의 경우 차전자, 애엽, 삼백초가 각각 48.06 mg/g, 44.52 mg/g, 23.90 mg/g으로 본 연구의 화피보다 매우 낮은 함량을 나타내었고 페놀 함량이 높지 않았던 감국(39.83 mg/g)과 비슷한 함량을 나타내었다. 총 플라보노이드는 페 놀의 범주에 포함되는 물질로서 대부분의 연구(17.18.31)에 서 페놀 함량이 플라보노이드 함량보다 높게 나타난다고 보

고하였으며, 본 연구의 결과도 이와 유사하였다. 또한 페놀 함량이 높을 경우 플라보노이드 함량도 높은 경향을 나타내었지만 모든 시료에서 반드시 그러한 경향을 나타내는 것은 아니라는 것을 알 수 있었으며, 이는 해당 시료 안에 플라보노이드계 폴리페놀 함량보다 비플라보노이드계 폴리페놀이 높기 때문이라고 보고한 Kim 등(17)의 연구와 일치하는 결과를 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능

약용식물 추출물의 DPPH 라디칼 소거능의 결과는 Table 3과 같다. 특유의 자색을 나타내는 DPPH는 분자 내에 free radical을 가지고 있어 항산화 작용을 나타내는 ascorbate, tocopherol, BHA, Maillard형 갈변생성물질 등에 의해 환원되어 탈색이 되는 특성을 가지고 있다(32). DPPH 라디칼소거법은 DPPH의 짙은 자색이 탈색되는 정도에 따라 그물질의 항산화능을 나타내는 방법으로 일반적으로 많이 사용되고 있다.

약용식물 중 가장 높은 DPPH 소거능을 나타낸 시료는 화피로 5.39 $\mu g/mL$ 의 농도에서 50% 라디칼 소거 활성을 나타냈다. Ju 등(33)은 화피에 함유된 diarylheptanoid 화합물, arylbutanoid 화합물이 항산화 활성과 간보호 작용을 가진다고 보고하였고, Jung과 Jung(34)은 화피 추출물이 염증및 알레르기 반응에 효과가 있었다고 보고하였다. 본 실험에서 화피 추출물이 양성대조군으로 사용된 비타민 $C(IC_{50}$ 2.44 $\mu g/mL)$ 와 유사한 라디칼 소거능을 나타내어 우수한 항산화 활성을 보여주었다. 화피 다음으로 헛개나무(IC_{50} 24.87 $\mu g/mL$), 오가피(IC_{50} 27.79 $\mu g/mL$), 황금(IC_{50} 30.15 $\mu g/mL$),

Table 3. DPPH radical, nitrite, superoxide $\bar{}$ and ABTS $\bar{}$ radical scavenging activity of the ethanolic extracts obtained from medicinal plants

Source ¹⁾ —	Antioxidant activities (IC_{50}^{2}) , $\mu g/mL)^{3}$					
	DSA	NSA	SSA	ASA		
SBG	$30.15 \pm 1.06^{4)g5)}$	$\mathrm{ND}^{6)}$	$71.36 \pm 9.87^{\mathrm{d}}$	154.57 ± 2.82^{a}		
ASS	$27.79 \pm 2.92^{\mathrm{g}}$	$204.98 \pm 3.70^{\rm e}$	62.45 ± 8.23^{d}	80.10 ± 1.75^{d}		
PLO	126.91 ± 2.54^{c}	ND	$211.66 \pm 2.11^{\text{b}}$	ND		
POL	177.59 ± 4.08^{a}	618.27 ± 6.37^{c}	ND	ND		
CPB	$56.98 \pm 5.59^{\rm e}$	ND	226.86 ± 9.36^{a}	$150.20 \pm 3.08^{\mathrm{b}}$		
EAA	115.21 ± 6.51^{d}	$410.45 \pm 9.07^{\rm d}$	ND	ND		
HDT	$24.87 \pm 1.37^{\mathrm{g}}$	$173.96 \pm 5.55^{ ext{f}}$	$159.26 \pm 1.46^{\circ}$	142.40 ± 0.67^{c}		
PYM	$5.39 \pm 0.02^{\rm h}$	$167.94 \pm 5.24^{\mathrm{f}}$	$43.39 \pm 6.44^{\rm e}$	$55.05 \pm 0.81^{\rm e}$		
AJD	$158.05 \pm 2.05^{\mathrm{b}}$	$725.99 \pm 2.48^{\mathrm{b}}$	ND	ND		
CIL	$43.34 \pm 1.95^{\text{f}}$	984.65 ± 8.12^{a}	ND	ND		
Positive control	$2.44 \pm 0.04^{\rm h}$	$64.69 \pm 0.25^{\mathrm{g}}$	$46.51 \pm 1.10^{\mathrm{e}}$	$23.52 \pm 0.75^{\text{f}}$		
	(Vitamin C)	(Catechin)	(Tannic acid)	(Trolox)		
F-value	1124.91***	10507.93***	638.25***	6621.86***		

¹⁾SBG, Scutellaria baicalensis Georgi; ASS, Acanthopanax sessiliflorum Seeman; PLO, Pueraria lobata Ohwi; POL, Portulaca oleracea Linne; CPB, Crataegus pinnatifida Bunge var. typica Schneider; EAA, Euonymus alatus Apterus; HDT, Hovenia dulcis Thunberg; PYM, Prunus vedoensis Matsumura; AJD, Albizzia julibrissin Durazz.; CIL, Chrysanthemum indicum Linne.

²⁾Amount required for 50% reduction of scavenging activity.

³⁾DSA, DPPH radical scavenging activity; NSA, nitrite scavenging activity; SSA, superoxide radical scavenging activity; ASA, ABTS⁺ radical scavenging activity.

 $^{^{4)}}$ Mean \pm SD (n=3), *** p<0.001.

⁵⁾Different superscripts (a-h) in a column indicate significant differences at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

⁶⁾ND: not detected.

516 주 신 윤

감국(IC₅₀ 43.34 μg/mL) 순으로 높은 활성을 나타냈으며, 쇠비름(IC₅₀ 177.59 μg/mL)과 합환피(IC₅₀ 158.05 μg/mL)는 낮은 활성을 나타냈다. Kim 등(10)은 쇠비름의 DPPH 라디칼소거 활성 측정 결과 125 μg/mL 농도에서 58.19%의 소거능을 나타냈다고 보고하여 본 연구에서 측정된 쇠비름의 소거능보다 높게 측정되었다.

생약재 41종을 대상으로 DPPH 라디칼 활성을 측정한 결과(19)에 의하면 100 µg/mL의 농도에서 갈근은 26.33%, 헛개나무는 57.98%를 나타내어 본 연구의 결과(갈근 40.94%, 헛개나무 90.95%)와 차이를 보였으나, 이는 본 실험에서 소거능을 계산한 방법과는 다른 vitamin C의 소거능을 100%으로 보았을 때 각 시료의 흡광도를 환산하여 계산한 방법에 의한 차이라 생각된다. Ju 등(18)은 오가피와 감국 열수추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 100 µg/mL의 농도에서 각각 41.51%, 21.45%로 나타났다고 보고하여 본 연구(오가피 87.44%, 감국 87.97%)와 다른 결과를 보여주었다. 이와 같은 결과는 시료 추출 시 사용되는 용매에 따른 차이로 열수추출물에 비해 본 연구에서 사용된 ethanol 추출물에 항산화 성분의 함량이 더 높아 라디칼 소거능이 높게 나타난 것으로 사료된다.

아질산염 소거능

약용식물 추출물의 아질산염 소거능을 pH 2에서 측정한 결과는 Table 3과 같다. Nitrite는 육가공품, 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 amine류와 반응하여 니트로사민(nitrosamine)을 생성하여 암을 유발한다(35). 아질산염 소거능은 니트로사민의 생성 저해효과를 측정하여 항암작용을 알 수 있는 간접적인 지표로 활용되고 있다.

10종의 약용식물 중 화피 추출물의 IC_{50} 이 $167.94~\mu g/mL$ 로 가장 낮은 농도에서 높은 라디칼 소거능을 나타내었고 헛개나무의 IC_{50} 이 $173.96~\mu g/mL$ 로 이와 비슷한 활성을 나타내었다. 반면에 낮은 활성을 나타낸 시료의 경우 1~m g/mL의 농도에서 감국은 53.11%, 황금은 43.01%, 같근은 23.76%, 산사는 47.57%로 나타났다. 쇠비름의 아질산염 소거 활성에 대한 선행 연구(10)에 따르면 쇠비름 ethanol 추출물은 2~m g/mL의 농도에서 39.30%의 소거능을 나타낸다고 보고하여, 본 연구의 쇠비름 활성(73.30%, 1~m g/mL)보다 낮은 결과를 나타냈다. 또한 한약재 열수추출물의 항산화 활성에 대한 연구(18) 결과 1~m g/mL의 농도에서 감국과 오가피가 각각 41.33%, 65.19%의 아질산염 소거능을 나타내어, 본 연구에서 감국 64.66%, 오가피 92.92%의 활성보다 낮게 나타 났다.

양성대조군인 catechin은 64.69 µg/mL의 농도에서 50%의 라디칼 소거능을 보여 화피 추출물과 비교했을 때 화피의활성이 다소 떨어졌다. 그러나 Park 등(36)의 연구에서 약용및 식용으로 많이 사용되는 산수유, 황기, 감초가 1 mg/mL에서 각각 35, 49, 15%의 아질산염 소거능을 나타냈으며, Han 등(37)은 민들레의 꽃, 잎, 뿌리, 전체 추출물이 1 mg/

mL에서 각각 47.37, 47.18, 41.54, 30.01%의 소거 활성을 나타 냈다고 보고하였다. 또한 Ju 등(18)은 1 mg/mL에서 산조인이 86.42%, 꿀풀이 80.58%, 단삼이 50.73%의 아질산염 소거능을 가진다고 보고하였다. 이에 본 연구의 화피, 헛개나무, 오가피 등은 1 mg/mL에서 각각 97.29, 97.35, 92.92%를 나타내어 다른 약용식물에 비해 활성이 높은 것을 알 수 있었다. Kang 등(23)의 연구에서 phenolic acid, flavonoids, 기타 페놀성 물질의 아질산염 소거능을 측정한 결과 pH 1.2에서 caffeic acid, catechin, quercetin 등이 활성을 가지고 있다고보고하였다. 그러나 본 연구 결과 화피를 제외한 헛개나무, 오가피, 황금 등에서 총 페놀 및 총 플라보노이드의 함량과 아질산 소거능 간에 상관관계를 나타내지 않아 페놀성 물질 및 이외에 다른 성분들이 아질산 소거능에 관계를 할 것으로 사료된다.

Superoxide 음이온(O2) 라디칼 소거능

약용식물 추출물의 superoxide 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 10종의 약용식물 중 화피(IC_{50} 43.39 $\mu g/mL$), 오가피(IC_{50} 62.45 $\mu g/mL$), 황금(IC_{50} 71.36 $\mu g/mL$) 에서 높은 소거능을 보였고 쇠비름, 합환피, 감국은 1 mg/mL의 농도에서 각각 16.96, 47.35, 33.04%로 낮은 소거능을 나타냈다. 참빗살나무의 경우 1 mg/mL에서도 superoxide 라디칼 소거능을 나타내지 않아 효능이 없는 것으로 사료된다. Superoxide 라디칼 소거능에서 양성대조군으로 사용된 tannic acid는 46.51 $\mu g/mL$ 의 농도에서 50% 소거능을 나타내어 화피 추출물과 유사한 결과를 보였다.

Park 등(38)은 발효천마 추출물의 라디칼 소거능을 측정한 결과 0.25, 0.5, 1 mg/mL의 농도에서 26.06, 33.13, 43.17%의 억제효과를 나타냈다고 보고하였다. 또한 Rhim 등(39)의소리쟁이 추출물의 항산화 효능 연구 결과 0.1, 0.5 및 1 mg/mL 농도에서 superoxide 소거 활성이 각각 21.5, 61.1 및 78.9%로 나타났으며 양성대조군으로 사용한 catechin의 superoxide 소거 활성은 0.01, 0.1, 0.5 및 1 mg/mL 농도에서 각각 1.8, 22.3, 60.8 및 80.4%로 측정되어 소리쟁이 추출물의 superoxide 소거 활성이 catechin의 활성과 유사하다고 보고하였다. 본 실험에서 화피, 오가피, 황금이 0.5 mg/mL 농도에서 72.42, 73.65, 65.51%의 소거능을 나타내어 발효천마추출물과 소리쟁이 추출물, 또한 catechin에 비해 높은 활성을 가진 것으로 나타났다.

산화물은 체내에서 산화스트레스를 유발하는 것으로 알려져 있으며 특히 활성산소는 인체 내에 매우 독성이 강한물질로 생성과 동시에 superoxide의 저해물질인 superoxide dismutase(SOD)에 의해 독성이 소멸되는 것으로 알려져 있다(40). 이에 높은 superoxide 라디칼 소거능을 나타낸 화피, 오가피, 황금 추출물은 산화적 스트레스와 노화 예방에좋은 효과를 가지고 있는 항산화 물질로써 이용 가능성이 높다고 사료된다.

ABTS 양이온(ABTS⁺) 라디칼 소거능

약용식물 추출물의 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 약용식물 10종 중 화피는 55.05 μg/mL, 오가피는 80.10 μg/mL의 농도에서 50% 라디칼 소거능을 나타내었으며, 갈근, 쇠비름, 참빗살나무, 합환피, 감국의 경우 0.5 mg/mL의 농도에서 각각 62.49, 30.31, 52.58, 43.43, 52.47%의 소거능을 나타냈다.

Kim 등(41)은 0.5 mg/mL의 농도에서 눈개승마 ethyl acetate 분획물이 99.16%, n-butanol 분획물이 89.29%, 양성 대조군인 vitamin C가 99.42%의 활성을 나타냈다고 보고하 여, 눈개승마 ethyl acetate 분획물과 vitamin C의 소거 활성 은 본 연구의 황금(99.16%), 오가피(99.43%), 화피(99.34%) 와 유사하게 보였다. Kim 등(31)은 돼지감자잎의 물과 ethanol 추출물이 5 mg/mL의 농도에서 각각 66.41%와 53.37% 의 활성을 나타냈다고 보고하였으며, Park 등(38)은 2, 4, 8 및 16 mg/mL의 범위에서 발효천마 추출물이 각각 14.43, 19.83, 30.61, 46.21%의 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 나타냈다고 보고하였고, Lee 등(42)은 1 mg/mL에서 하고초 메탄올 추 출물이 85.0~91.4%의 소거능을 나타낸다고 하여 본 연구에 서 가장 낮은 활성을 나타낸 쇠비름보다도 낮게 나타났다. 본 연구에서 화피, 오가피의 ABTS[†] 라디칼 소거능은 양성 대조군으로 사용된 trolox(IC50 23.52 µg/mL)에 비해서는 다 소 낮은 활성을 나타냈지만 눈개승마, 돼지감자잎, 발효천 마, 하고초 등의 다른 약용식물에 비해 높은 활성을 가지고 있으며, 항산화 대조군으로 사용되는 vitamin C와 비슷한 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

환원력 측정

약용식물 추출물의 1 mg/mL 농도에서의 환원력에 대한 흡광도 값을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 환원력은 항산화활성에 관계된 중요한 인자로서 환원력을 가진 물질은

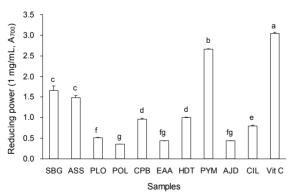


Fig. 1. Reducing power of the ethanolic extracts obtained from medicinal plants. SBG, Scutellaria baicalensis Georgi; ASS, Acanthopanax sessiliflorum Seeman; PLO, Pueraria lobata Ohwi; POL, Portulaca oleracea Linne; CPB, Crataegus pinnatifida Bunge var. typica Schneider; EAA, Euonymus alatus Apterus; HDT, Hovenia dulcis Thunberg; PYM, Prunus yedoensis Matsumura; AJD, Albizzia julibrissin Durazz.; CIL, Chrysanthemum indicum Linne. Different superscripts (a-g) indicate significant differences at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

 ${\rm Fe}^{3+}$ -ferricyanide 복합체를 ${\rm Fe}^{2+}$ 형태로 환원시켜 푸른색을 띄게 한다(43). 10종의 약용식물에서 화피 추출물이 2.72, 황금과 오가피가 1.69와 1.63의 흡광도를 나타내어, 양성대조군인 비타민 C의 3.04와 비교 시 화피 추출물의 활성이 크게 뒤떨어지지 않음을 알 수 있었다.

Kim 등(44)은 1 mg/mL의 농도에서 목통 메탄올 추출물 이 0.05, 치자 추출물이 0.10의 흡광도를 나타냈다고 보고하 여 본 연구의 쇠비름(0.36), 참빗살나무(0.44), 합환피(0.44)보 다 낮은 환원력을 나타냈으며, Kim 등(10)은 쇠비름 ethanol 추출물의 환원력을 측정한 결과 1 mg/mL에서 0.60 이상의 흡광도를 보여 본 연구의 결과보다 높은 활성을 나타냈다. Shon 등(45)은 0.5 mg/mL 농도에서 후발효차 75% ethanol, hot water, 85% ethyl acetate 추출물의 흡광도 수치가 각각 0.78, 0.60, 0.58로 나타났다고 보고하여 본 연구에서 0.25 mg/mL일 때 0.91의 흡광도를 나타낸 화피 추출물보다 낮은 환원력을 보였으며, Kim 등(41)은 1 mg/mL의 농도에서 눈 개승마 ethyl acetate 분획물이 2.69, 80% ethanol 추출물이 2.37의 흡광도를 나타낸다고 보고하여 본 연구의 화피와 비 슷한 환원력을 나타냈다. Ju 등(18)은 오가피와 감국 열수추 출물의 환원력을 측정한 결과 1 mg/mL의 농도에서 흡광도 가 각각 0.71, 0.36으로 나타났다고 보고하여 본 연구(오가피 1.63, 감국 0.80)와 다른 결과를 보여주었다. 이와 같은 결과 는 DPPH 라디칼 소거능 측정에서도 비슷하게 나타났는데 이는 용매에 따른 차이로 사료된다.

상관관계

약용식물 추출물의 항산화 물질과 항산화 활성 간의 상관성을 비교한 결과는 Table 4와 같다. 총 페놀과 총 플라보노이드 간의 상관계수는 0.849(p<0.001)로 양의 상관관계를 보였으며, 총 페놀과 환원력, 총 플라보노이드와 환원력 간의 상관계수는 각각 0.818(p<0.001), 0.914(p<0.001)로 높은 양의 상관관계를 나타내었다. Jang 등(21)은 총 폴리페놀 함량이 높을수록 ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능이 높았으며, 상관계수는 각각 0.915, 0.750으로 양의 상관관계를 보였다고(p<0.01) 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였지만 본 연구에서는 각각의 상관계수가 -0.489(p<0.01), -0.551(0.01)로 다소 낮게 나타났다. 또한 플라보노이드 함량이 높을수록 DPPH 라디칼 소거능과 환원력이 높은 활성을 나타내었으며, 상관계수는 0.514(p<0.05), 0.674(p<0.01)로 각각 양에 상관관계를 나타냈다고 하여 본 연구와 유사한결과를 나타냈다.

여러 항산화 측정 방법에 의한 항산화 활성 간의 상관관계를 살펴보면 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS⁺ 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능과 환원력의 경우 각각 r=0.815(p<0.001), r=-0.794(p<0.001)로 나타나 서로 양과 음의 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 또한 ABTS⁺ 라디칼 소거능과 superoxide⁻ 라디칼 소거능, ABTS⁺ 라디칼 소거능과 환원력은 r=0.851(p<0.001), r=-0.794(p<0.001)로 각각 양과 음의

518 주 신 윤

Table 4. Correlations between antioxidant contents and different antioxidant capacity parameters of the ethanolic extracts obtained from medicinal plants

	Antioxidant contents		Antioxidant activities ¹⁾				
	TPC ²⁾	FC	DSA	NSA	SSA	ASA	RP
Antioxidant contents							
TPC	1.000						
FC	0.849***	1.000					
Antioxidant activities							
DSA	-0.551**	-0.604***	1.000				
NSA	-0.465**	-0.330	0.284	1.000			
SSA	-0.640***	-0.472**	0.695***	0.198	1.000		
ASA	-0.489**	-0.526**	0.815***	0.382^{*}	0.851***	1.000	
RP	0.818***	0.914***	-0.794***	-0.406^*	-0.707***	-0.794***	1.000

¹⁾ Except for reducing power antioxidant activities were evaluated using IC50.

상관관계를 나타내었다. 이는 약초 추출물의 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS⁺ 라디칼 소거능 사이에 양의 상관관계 (0.788, p<0.01)가 있으며, DPPH 라디칼 소거능과 환원력 사이에 양의 상관관계(0.575, p<0.05)가 있다고 보고된 Jang 등(21)의 연구와 유사하였다.

Zheng과 Wang(46)은 폴리페놀성 화합물 이외에 기타 미지의 성분 및 이들 성분 상호 간의 작용에 의해서도 항산화능이 증가한다고 보고하였고, Diplock(47)는 폴리페놀 및 비타민 C 이외의 다른 항산화 물질들의 작용 기작이 연쇄반응개시의 방지, 전이금속 이온과 결합, 과산화물의 분해 등으로 다양하다고 보고하였다. 따라서 페놀성 물질의 함량이높아도 항산화 활성이 반드시 높은 값을 가지는 것은 아니며, 실험방법에 따라 시료의 효능이 다소 다르게 나타날 수있음을 알 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 전통적으로 질병치료와 예방의 목적으로 사용되어온 약용식물 10종을 선정하여 총 페놀 및 총 플라보 노이드 함량과 항산화 효과를 측정하였다. 약용식물의 총 페놀 함량을 측정한 결과 화피 추출물이 320.10 mg/g, 갈근 이 153.93 mg/g으로 높게 나타났으며, 총 플라보노이드 함 량은 화피 추출물이 226.25 mg/g, 황금 추출물이 101.98 mg/g으로 높았다. 약용식물 중 가장 높은 DPPH 라디칼 소 거능을 나타낸 시료는 화피로 IC₅₀ 5.39 μg/mL를 나타냈으 며, 그 다음으로 헛개나무(IC₅₀ 24.87 μg/mL), 오가피(IC₅₀ 27.79 ug/mL) 순으로 높게 나타났다. 아질산 소거 활성 측정 결과 헛개나무가 IC₅₀ 173.96 µg/mL, 화피 추출물이 IC₅₀ 167.94 μg/mL로 비슷한 활성을 나타내었다. Superoxide 라 디칼 소거능과 ABTS⁺ 라디칼 소거능에서는 화피와 오가피 가 유의적으로(p<0.001) 높은 소거능을 보였다. 환원력에 대 한 흡광도 값을 측정한 결과는 10종의 약용식물 중에서 화피 추출물이 2.72의 흡광도를 나타내어, 양성대조군인 비타민

C의 3.04과 비교해도 크게 뒤떨어지지 않음을 알 수 있었다. 본 연구의 결과 화피, 헛개나무, 오가피 추출물은 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 높고, 항산화 활성도 높게 나타나 식품첨가물 및 식품보존제 등 기능성 소재로써 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

- 1. Bauer G. 2000. Reactive oxygen and nitrogen species: efficient, selective, and interactive signals during intercellular induction of apoptosis. *Anticancer Res* 20: 4115–4139.
- Omaye ST, Reddy KA, Cross CE. 1997. Effect of butylated hydroxytoluene and other antioxidants on mouse lung metabolism. J Toxicol Environ Health 3: 829–836.
- 3. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933–956.
- Kim KD. 2004. Research of oriental medicine plant on antioxidation and ultraviolet rays absorption. J Kor Soc Cosm 10: 145–153.
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean J Food Sci Technol 37: 233–240.
- Lee JM, Lee SH, Kim HM. 2000. Use of oriental herbs as medical food. Food Industry and Nutrition 5(1): 50–56.
- Kim JM, Lee CW, Ahn YT, Lee H, Kim C, Kim HW, Cho SI, An WG. 2012. Antimicrobial effect of Scutellariae Radix and its thermal stability. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 26: 325–329.
- 8. Kim HW, Cho SI, Kim GY, Jeon BG, Cho YL, Jeong HW. 2007. Effects of extracts from *Acanthopanax sessiliflorus* SEEM following gamma-ray irradiation on solid tumor and immune cells in mice. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 21: 736–740.
- 9. Choi BS, Kim HY. 2011. Quality characteristics of arrowroot *dasik* prepared with the arrowroot (*Puerariae Radix*) powder. *Korean J Culinary Res* 17: 197–207.
- Kim MJ, Lee SJ, Kim RJ, Jeong BY, Sung NJ. 2011. Mineral content and antioxidants activity of *Portulaca oleracea*. J Life Sci 21: 1393-1400.
- 11. Park SJ, Han KS, Yoo SM. 2012. Nutritional characteristics

²⁾TPC, total phenolic contents; FC, flavonoid contents; DSA, DPPH radical scavenging activity; NSA, nitrite scavenging activity; SSA, superoxide radical scavenging activity; ASA, ABTS⁺ radical scavenging activity; RP, reducing power.

*p<0.05, **p<0.01,***p<0.001.

- and screening of biological activity of *Crataegi fructus*. *Korean J Food & Nutr* 25: 413-418.
- Kang MS, Kim SY, Lee YH, Choi JW, Baek OH, Han HK, Kim SN, Kim JB, Park HJ, Cho YS. 2011. Analysis of nutritional components of *Euonymus sieboldiana* leaves. *J East Asian Soc Dietary Life* 21: 918–923.
- Ahn BS, Kim JW, Kim HT, Lee SD, Lee KW. 2010. Antioxidant effects of *Hovenia Dulcis* in the streptozotocin-induced diabetic rats. *J Vet Clin* 27: 366–373.
- Kim CH, Lee KY, Moon MO, Hyun HJ, Ihm BS, Kim MH. 1998. Natural habitat of *Prunus yedoensis* Matsumura and its morphological variation. *Kor J Plant Tax* 28: 117–137.
- 15. Choi BD, Ryeom K. 1999. Cytotoxicity of the components of *Albizzia julibrissin*. *J Appl Pharmacol* 7: 371–376.
- Yun JH, Hwang ES, Kim GH. 2012. Effects of Chrysanthemum indicum L. extract on the function of osteoblastic MC3T3-E1 cells under oxidative stress induced by hydrogen peroxide. Korean J Food Sci Technol 44: 82-88.
- Kim EJ, Choi JY, Yu M, Kim MY, Lee S, Lee BH. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 44: 337–342.
- Ju JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ. 2006. Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. J Korean Soc Food Sci Nutr 35: 7-14.
- Park YM, Kim SJ, Jo KH, Yang EJ, Jung ST. 2006. Anticariogenic and antioxidant activities from medicinal herbs. J Korean Soc Food Sci Nutr 35: 284-293.
- Lee SE, Lee JH, Kim JK, Kim GS, Kim YO, Soe JS, Choi JH, Lee ES, Noh HJ, Kim SY. 2011. Anti-inflammatory activity of medicinal plant extracts. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19: 217–226.
- 21. Jang GY, Kim HY, Lee SH, Kang YR, Hwang IG, Woo KS, Kang TS, Lee JS, Jeong HS. 2012. Effects of heat treatment and extraction method on antioxidant activity of several medicinal plants. J Korean Soc Food Sci Nutr 41: 914–920.
- 22. Swain T, Hillis WE. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I—The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10: 63–68.
- 23. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232–239.
- Lee YU, Huang GW, Liang ZC, Mau JL. 2007. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. LWT 40: 823–833.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987.
 Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333–1338.
- Liu F, Ooi VEC, Chang ST. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci* 60: 763-771.
- Zhao GR, Xiang ZJ, Ye TX, Yuan YJ, Guo ZX. 2006. Antioxidant activities of Salvia miltiorrhiza and Panax notoginseng. Food Chem 99: 767-774.
- 28. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231–1237.
- 29. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: Antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307–315.

- Duval B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem* 25: 361–377.
- Kim YS, Lee SJ, Hwang JW, Kim EH, Park PJ, Jeon BT. 2011. Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Helianthus tuberosus* L. leaves on t-BHP induced oxidative stress in Chang cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1525-1531.
- 32. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- 33. Ju EM, Lee SE, Hwang HJ, Kim JH. 2004. Antioxidant and anticancer activity of extract from *Betula platyphylla* var. *japonica*. *Life Sci* 74: 1013–1026.
- 34. Jung JY, Jung HA. 2010. Effect of *Phellinus igniarius* Quel extract on the anti-inflammatory, anti allergy, anti-oxidant, anti-wrinkle reaction. *J Korean Oriental Medical Ophthal-mology & Otolaryngology & Dermatology* 23: 42–65.
- 35. Tannenbaum SR, Sinskey AJ, Weisman M, Bishop W. 1974. Nitrite in human saliva. Its possible relationship to nitrosamine formation. *J Natl Cancer Inst* 53: 79–84.
- 36. Park CH, Kim DH, Kim ML. 2008. Biological activities of extracts from *Corni fructus, Astragalus membranaceus* and *Glycyrrhiza uralensis. Kor J Herbology* 23: 93-101.
- Han EK, Jung EJ, Lee JY, Jin YX, Chung CK. 2011. Antioxidative activity of ethanol extracts from different parts of Taraxacum officinale. J Korean Soc Food Sci Nutr 40: 56– 62.
- 38. Park MR, Yoo C, Chang YN, Ahn BY. 2012. Change of total polyphenol content of fermented *Gastrodia elata* Blume and radical scavenging. *Korean J Plant Res* 25: 379–386.
- Rhim TJ, Choi MY, Park HJ. 2012. Antioxidative activity of *Rumex crispus* L. extract. *Korean J Plant Res* 25: 568– 577.
- Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H. 1995. Activeoxygen scavenging activity of plant extracts. *Biol Pharm Bull* 18: 162–166.
- 41. Kim MS, Kim KH, Jo JE, Choi JJ, Kim YJ, Kim JH, Jang SA, Yook HS. 2011. Antioxidative and antimicrobial activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 47–55.
- Lee SJ, Sung NJ, Jeong HJ, Shin JH, Chung YC, Seo JK. 2008. Antioxidant activities of methanol extracts from Prunella vulgaris. J Korean Soc Food Sci Nutr 37: 1535– 1541.
- Pratt DE, Miller EE. 1984. A flavonoid antioxidant in Spanish peanuts (*Arachia hypogoea*). J Am Oil Chem Soc 61: 1064– 1067.
- 44. Kim JK, Kang YM, Eum GS, Ko YM, Kim TY. 2003. Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (Akebia quinate Decaisn, Scirusfluviatilis A. Gray, Gardenia jasminoides for. grandiflora Makino). J Agric Life Sci 37: 69–75.
- Shon MY, Kim SH, Nam SH, Cho YS, Park SK, Sung NJ.
 Antioxidant activity of solvent extracts from Korean fermented tea. Korean J Food Preserv 11: 544–549.
- Zheng W, Wang SY. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J Agric Food Chem 49: 5165–5170.
- 47. Diplock AT. 1997. Will the 'good fairies' please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Radic Res* 27: 511–532.