# 비타민나무(Sea Buckthorn, *Hippophae rhamnoides*) 추출물의 이화학적 성분 분석과 항산화 활성효과

김경민[2] · 박민희[2] · 김경희[1] · 임상현[1] · 박유화[3] · 김영남[1]*

[1]강원도농업기술원 농산물이용시험장, [2]강원대학교 BT특성화학부,
[3]강원대학교 농업생명과학대학 자원생물환경학과

# Analysis of Chemical Composition and *in vitro* Anti-oxidant Properties of Extracts from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*)

**Kyung Min Kim[2], Min Hee Park[2], Kyung Hee Kim[1], Sang Hyun Im[1], Yoo Hwa Park[3], and Young Nam Kim[1]***

[1]*Agriproduct Processing Experiment Station, Gangwon-do Agricultural Research & Experiment Services, Chuncheon 200-822, Korea*
[2]*School of Biotechnology, Kangwon National university, Chuncheon 200-701, Korea*
[3]*Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea*

Received March 10, 2009; Accepted May 11, 2009

**Total polyphenol contents and antioxidative activity of water and ethanol extracts from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves, branches (bough and twig) and roots were analyzed. The level of crude ash and crude protein in water extract of leaves, branches (bough and twig), and roots were shown to be a bit higher than ethanol extracts. Especially crude protein contents from water extract of leaves, bough, twig, and roots were 14.90, 18.60, 18.03, and 16.61% respectively. Total polyphenol content of ethanol extracts of all parts of Sea buckthorn was ranged from 106.33±2.32 μg/g to 147.78±3.06 μg/g showing higher amount than water extracts. To investigate antioxidative activity of Sea buckthorn, DPPH free radical scavenging activity, hydroxy radical scavenging activity, and SOD-like activity were analyzed. The results showed that the antioxidative activity of ethanol extracts was relatively higher than water extracts. The $IC_{50}$ values for DPPH free radical scavenging activity was ranged from 23.58±0.84 μg/mL to 59.35±1.69 μg/mL. Compared to 68.85±1.44% of SOD-like activity from L-ascorbic acid used as a control, the ethanol extract of Sea buckthorn branches showed relatively strong activity of 35.03±2.33%. The highest hydroxy radical scavenging activity was shown as 66.12±8.73% from ethanol extract of Sea buckthorn roots which was similar value to 72.47±2.83% of L-ascorbic acid.**

**Key words:** *antioxidative activity, DPPH,* Hippophae rhamnoides, *hydroxy radical activity, polyphenol, SOD-like activity, Sea Buckthorn*

## 서 론

Sea Buckthorn(*Hippophae rhamnoides*)은 일반적으로 Sandthorn, Swallow-thorn 및 Sea-berry로도 알려져 있는 보리수과(Elaeagnaceae)에 속하는 낙엽성 관목으로 중앙아시아에서 유럽에 이르는 넓은 지역에 자생하며 러시아, 유럽, 캐나다, 중국, 몽골, 히말라야산맥 주변국가 등에서 폭 넓게 재배되고 있다[Rousi, 1971; Li and Schroeder, 1996; Merja *et al.*, 2006; Ricahrd and Paul, 2008]. 노란색 또는 오렌지색의 작은 열매를 맺는 Sea Buckthorn은 내한성이 매우 강한 식물로서 가뭄과 한발에서도 잘 견디며 -43~40°C의 온도분포의 다양한 기후조건과 토양조건에서 생육이 가능할 뿐만 아니라, 질소고정능력이 뛰어난 뿌리의 생육이 매우 좋아 토양침식의 예방, 토양 개간, 간척 등의 목적에 아주 적합한 식물로 알려져 있다[Bailey and Bailey, 1978; Heinze and Fiedler, 1981]. 한국과 북한에서는 비타민나무 또는 산자나무로 알려져 있는 Sea Buckthorn은 러시아, 중국과 일본에서 각각 시베리아 파인애플, 사극(沙棘), 싸지(Sajee) 등의 여러 이름으로 불린다. 가장 넓은 재배면적을 갖는 중국에서는 이미 오래전부터 토양유실방지 및 사막 재 식림

*Corresponding author
Phone: +82-33-248-6532; Fax: +82-33-248-6555
E-mail: ynkim@korea.kr

doi:10.3839/jabc.2009.011

을 위해 건조하고 척박한 기후조건의 동북, 화북, 서북지역에 Sea Buckthorn을 식재하여 임목자원 뿐만 아니라 가축의 사료나 다양한 종류의 식약용 가공식품을 개발하여 활용하여 왔다. 최근 Sea Buckthorn의 열매, 잎, 수피 등의 뛰어난 생리활성효과 및 영양학적 가치를 활용한 기능성식품으로의 상업화 가능성에 대한 많은 관심과 연구가 집중되면서 중국과 러시아를 비롯한 인도, 일본, 유럽 및 캐나다 등 전 세계적으로 그 재배면적이 점차적으로 확대되어가고 있는 추세이다.

Sea Buckthorn의 열매에는 탄수화물, 단백질, 유기산 및 비타민 C(ascorbic acid)가 풍부하며, 재배지역에 따라 차이가 있기는 하나, 일반적으로 열매 100 g 당 최고 2,500 mg 정도 함유되어 있는 비타민 C는 딸기, 키위, 오렌지, 토마토, 당근 등의 과채류보다 더 많이 함유되어 있다고 보고되었다[Bernath and Foldesi, 1992]. 또한 Sea buckthorn의 열매에는 globulins, albumins과 같은 단백질과 linoleic acids, linolenic acids와 같은 지방산의 함량이 매우 높을 뿐만 아니라, 폴리페놀류(polyphenolics), 토코페롤(tocopherol), 카로테노이드(carotenoids), 플라보노이드(flavonoids) 등의 항산화성 생리활성물질이 풍부하게 함유되어 있는 것으로 알려져 있다[Yang *et al.*, 2001; Kallio *et al.*, 2002; Yang and Kallio, 2002]. 다른 식물과는 다르게 Sea Buckthorn의 과피 및 종자에는 linoleic acid와 -linolenic acids 뿐만 아니라 palmitoleic acids, vaccenic acids, 및 oleic acids을 포함하는 monounsaturated fatty acids(MUFA) 등 건강에 유익한 지방산 함량이 특이적으로 높은 것으로 보고된 바 있다[Gao *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2001; Kallio *et al.*, 2002; Rosch *et al.*, 2003]. 오래전부터 Sea Buckthorn을 활발히 재배하고 있는 지역에서는 말, 가축 및 애완동물의 사료로 Sea Buckthorn의 잎을 사용하여 왔으며, 평균 15%의 단백질이 풍부하게 함유되어 있는 것으로 알려진 Sea Buckthorn 잎은 그 활용가치가 매우 클 것으로 여겨지고 있다[Li, 2002].

가장 일반적으로 사용되고 있는 Sea Buckthorn 제품은 열매 및 종자로부터 추출한 오일류가 주를 이루며, 중국, 러시아, 몽골 등지에서는 오래전부터 구내염(oral mucositis), 질염(vaginal mucositis) 등의 염증과 화상(burns), 궤양(ulcers), 치질(hemorrhoids) 등의 치료에 전통생약으로 활용되어 왔을 뿐만 아니라, 여러 피부질환 및 모발손상 예방용 제품의 첨가물로 이용되어 왔다[Lectchamo, 2002]. 이와 같은 Sea buckthorn의 약리효과에 대한 임상실험이 1950년대 러시아에서 처음 시도 된 이후 중국과 러시아에서는 Sea buckthorn의 열매와 종자로부터 추출한 오일의 다양한 기능성 천연물질 개발을 위한 활발한 연구가 주도적으로 진행되어 왔다[Gurevick, 1956; Li and Wang, 1998]. 이미, 1977년에 중국의 Pharmacopoeia에 Sea buckthorn 오일이 등록되었으며, 중국과, 러시아, 몇몇 북 유럽국가에서는 액상형, 분말형, 필름형, 고약, 환약, 연고, 에어로졸 등 여러 형태의 의약품과 화장품이 주로 Sea buckthorn 열매나 종자오일로부터 개발되어 사용되고 있다. 또한 잼, 쥬스와 같은 열매를 활용한 제품뿐만 아니라 잎을 활용한 추출농축액, 차, 분말차, 동물사료 등 Sea buckthorn을 활용한 다양한 제품이 개발되어 활용되고 있다[Li and Wang, 1998]. 그럼에도 불구하고 Sea Buckthorn 잎이나 수피, 가지의 이화학적 구성성분에 대한 문헌자료는 매우 부족한 실정이다[Tiffany *at el.*, 2005]. 특히 우리나라에서는 강원도 농업기술원 북부농업시험장에서 보고한 강원지역 비타민나무 재배적지 탐색과 비타민나무 번식기술 연구에 대한 자료(2007년 연구과제계획서)를 제외하고는 Sea Buckthorn에 대한 연구가 이루어진바 없으며, Sea Buckthorn의 영양학적 가치나 생리활성 기능성에 대한 관련정보가 매우 부족한 것이 현실이고 이에 대한 연구결과가 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 2005년도에 강원도 농업기술원 북부시험장에서 국내 여건에 맞는 Sea Buckthorn의 번식체계를 확립하고 농가소득증대를 위한 기능성 신작목 재배확대를 위한 목적으로 중국, 러시아, 몽골 등지에서 들여와 강원도 철원지역에서 재배하여 온 Sea Buckthorn(*Hippophae rhamnoides*)의 잎과 가지 및 뿌리를 부위별로 수거하여 1차적으로 Sea Buckthorn 부위별 일반성분 함량과 항산화 기능을 분석하였다. 현재 중국, 러시아, 캐나다 등에서 영양학적 가치와 생리활성효과에 대한 Sea Buckthorn의 우수한 잠재적 가치를 상업적으로 활용하고자 하는 많은 관심과 연구가 집중되고 있고, 국내에서도 새로운 기능성작목으로 재배를 희망하는 농가의 관심이 점차 증가하고 있는 추세와는 달리 이에 대한 연구가 거의 이루어지지 않고 있는 실정임으로, 향후 Sea Buckthorn 국내재배 확대를 통한 기능성 식의약품 개발과 상업화에 도움이 될 수 있는 기초자료로 활용할 수 있도록 하는데 본 연구의 기본 목적이 있다.

## 재료 및 방법

**공시재료 및 시료의 추출.** 본 연구에 사용된 공시재료는 강원도 농업기술원 북부농업시험장에서 2005년도에 중국 및 몽골 중앙도 좀모트시 지역에서 수집한 야생종자를 발아시켜 재배한 2년생 Sea buckthorn(*Hippophae rhamnoides*)의 잎, 잔가지, 굵은 가지, 뿌리로 2007년 5월에 채취한 것을 제공받아 사용하였다. 공시재료는 선별 후 물로 세척한 다음 탈수하고, 자외선 열풍건조기로 건조하여 roller crusher로 분쇄한 후 물과 에탄올을 용매로 하여 추출하였다. 분쇄한 Sea buckthorn 부위별 분말은 각각 시료중량 대비 20배의 물 또는 에탄올을 가하여 추출용기에 넣고 상온의 수욕조상에서 12시간씩 3회 반복 추출하였다. 각 추출액은 Whatman No. 2 filter paper로 여과하여 혼합하였으며, vacuum rotary evaporator로 감압 농축한 후, 동결건조 시킨 것을 조추출물로 하여 실험에 사용하였다.

**일반성분의 분석.** 조추출물의 일반성분 분석은 AOAC 방법[1980]에 따라 수분은 105°C 상압건조법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법으로 Gerhardt사(Germany)의 Soxtherm SOX406을 사용하였고, 조단백질은 단백질 자동분석장치(2300 Kjeltec Analyzer Unit, Foss Tecator, Sweden)를 이용하여 질소계수 6.25를 곱하여 %함량으로 표시하였다. 조회분은 550°C에서 백색에서 회백색의 회분이 얻어질 때까지 회화하여 정량하였다. 탄수화물은 100에서 수분, 조지방, 조단백질, 조회분 함량을 감한 값으로 계산하였다.

**총페놀성 화합물 함량.** 총페놀성 물질(total phenolic compounds) 함량은 Folin-Denis방법에 따라 분석하였다

[Singleton and Rossi, 1965]. 추출물을 1.0 μg/mL 농도로 준비한 후, 75 mL의 증류수를 넣은 100 mL의 메스플라스크에 1 mL씩 넣고 잘 혼합하여 Folin-Denis시액 5 mL와 탄산나트륨($Na_2CO_3$) 포화용액 10 mL를 차례로 넣은 다음 증류수로 100 mL 용량으로 채웠다. 이 반응용액을 균일하게 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후, UV/VIS 분광광도계로 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며, Tannic acid를 표준물질로 하여 표준 검량곡선을 작성하여 시료중의 총 폴리페놀 함량을 계산하였다.

**DPPH 자유라디칼(Free radical)소거 활성의 측정.** 추출물의 검체를 적당한 농도로 에탄올 혹은 메탄올로 희석한 용액 2 mL와 0.1 mM DPPH(1,1-dipehny1-2-picrylhy-drazyl) 2 mL씩을 vortex로 균일하게 혼합한 다음, 실온에서 30분간 방치한 후, 517 nm서 흡광도를 측정하였다. 항산화효과는 검체를 포함하지 않은 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도로서 $IC_{50}$(μg/mL)으로 표시하였으며, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하여 나타내었다. 검체의 항산화효과는 항산화제로 사용되고 있는 BHT(t-butylated hydroxy toluene), α-tocopherol (Sigma사) 및 ascorbic acid(Sigma사)의 측정값을 대조구로 하여 비교하였다.

**Superoxide dismutase 유사활성(SOD-like activity) 측정.** Sea buckthorn 부위별 추출물의 SOD 유사활성은 Marklund and Marklund[1974]의 방법에 따라 $H_2O_2$로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 각 시료 0.2 mL에 Tris-Cl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl] amino methane+10 mM EDTA, pH 8.4) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시키고, 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 추출물 첨가구와 무 첨가구의 흡광도차이를 백분율(%)로 환산한 값으로 다음과 같이 계산하였다.

SOD 유사활성=
[1–(시료 첨가구의 흡광도/무 첨가구의 흡광도)]×100

**Hydroxy radical 소거 활성의 측정.** Hydroxy radical 소거활성은 Gutteridge[1984]의 방법을 변형하여 측정하였다. 2-deoxyribose는 fenton 반응에 의해서 hydroxy radical에 의해 산화되어 malondialdehyde로 분해된다. Fenton 반응은 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 1 mL, 시료용액 0.2 mL 및 10 mM 2-deoxy-D-ribose 용액 0.2 mL의 혼합용액에 10 mM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 용액 0.2 mL를 첨가하고, $H_2O$ 0.2 mL을 더하여 총 1.8 mL가 되게 하여 10 mM $H_2O_2$ 0.2 mL를 넣어 유발시켰다. 반응용액 2 mL를 37°C의 shaking water bath에서 2시간동안 반응시킨 후, 2.8% trichloroacetic acid 용액 1 mL와 1.0% thiobarbituric acid 용액 1 mL를 첨가하여 100°C의 끓는 물에서 10분간 중탕으로 가열하였다. 중탕가열을 마친 반응용액은 다시 얼음냉각수에 담가 냉각시킨 후에 520 nm에서 UV spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다. Fenton 반응으로 생성된 thiobarbituric acid-reactive substance(TBARS) 값은 tetraethoxypropane(TEP)를 표준용액으로 하여 적성한 검량선을 기준으로 malondialdehyde의 상당량으로 환산하여 계산하였다.

Hydroxy radical 소거활성(%)=
[1–(시료 첨가구의 흡광도/무 첨가구의 흡광도)]×100

## 결과 및 고찰

**Sea Buckthorn(비타민나무) 추출물의 일반성분 함량.** 에탄올과 물을 용매로 하여 추출한 Sea Buckthorn(비타민나무)의 잎, 줄기(잔가지, 굵은 가지) 및 뿌리 부위별 조추출물을 동결 건조하여 얻은 시료의 조단백질, 조지방 및 조회분 함량에 대한 분석결과는 Table 1에 나타낸 바와 같다. 비타민 나무의 각 부위별 추출물의 조단백질과 조회분 함량은 잎, 줄기 및 뿌리 모든 부위에서 물 추출물이 에탄올 추출물보다 높은 것으로 나타났다. 조지방 함량의 경우, 각 부위별 물 추출물을 동결 건조한 시료에서는 측정되지 않은 반면, 에탄올 추출물에서는 잎(Leaf), 잔가지(Twig), 굵은가지(Bough), 뿌리(Root)에서 각각 4.12, 3.34, 3.11, 1.11%인 것으로 분석되었다. 비타민 나무의 부위별 추출물의 일반성분 함량을 비교하여 보면, 물 및 에탄올을 용매로 하여 추출된 시료 모두에서 조단백질 함량의 경우 굵은 가지 및 잔가지에서의 함량이 뿌리나 잎 보다 더 높은 것으로 분석되었으며, 조 지방은 잎>줄기>뿌리, 조회분은 뿌리>줄기>잎의 순으로 그 함량이 높은 것으로 나타났다. Table 1의 결과에 따르면 분석에 사용된 비타민 나무 모든 부위에서 조단백질 함량은 조지질 함량보다 더 많이 함유되어 있는 것을 알 수 있다.

Li *et al.*[2002]의 보고한 바에 의하면 비타민 나무의 잎에는 다른 식물과 달리 특이적으로 평균 15% 정도의 단백질이 함유되어 있어 가축사료로 유용하게 활용되어 왔다고 한다. 본 연구를 통한 분석 결과에서는 잎의 물 추출물에서 조단백질 함량이 약 14.90%로 이와 매우 유사한 값을 갖는 것으로 확인되었으나, 잎의 에탄올 추출물에서는 다소 낮은 약 9.45%의 값을 갖는 것으로 측정되었다. 특이적으로 잔가지 및 굵은 가지에서 15%이상의 조단백질 함량이 측정되었으며, 뿌리의 물 추출물

**Table 1. General compositions of water and ethanol extract from Sea Buckthorn leaves, branches, and roots***

| Contents | Leaves | | Branches (Bough) | | Branches (Twig) | | Roots | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Water | EtOH | Water | EtOH | Water | EtOH | Water | EtOH |
| Crude Ash (%) | 4.36 | 2.19 | 7.88 | 3.42 | 7.91 | 1.42 | 13.90 | 8.62 |
| Crude Protein (%) | 14.90 | 9.45 | 18.60 | 15.20 | 18.03 | 15.07 | 16.61 | 9.81 |
| Crude Fat (%) | ND* | 4.12 | ND* | 3.11 | ND* | 3.34 | 0.02 | 1.11 |
| Moisture (%) | 19.53 | 9.18 | 11.93 | 6.19 | 9.77 | 6.49 | 15.17 | 10.35 |

*All test were conducted in triplicate and the values are average of triplicate.
**ND, not detected

**Table 2. Total amount of polyphenolic compound of Sea Buckthorn leaves, branches, and roots extracted by water and ethanol***

| Extract of: | Total phenolic contents (μg/g) | |
|---|---|---|
| | Water Extract | Ethanol extract |
| Leaves | 120.06±4.73 | 147.78±3.06 |
| Branches (Bough) | 84.11±0.42 | 141.11±2.15 |
| Branches (Twig) | 95.28±3.95 | 106.33±2.32 |
| Roots | 113.00±1.26 | 121.28±0.98 |

*All values are expressed as Mean±SD of triplicates ($n=3$).

에서도 16.61%의 높은 조단백질 함량을 포함하는 것으로 나타났다.

**총 polyphenol 함량.** Table 2에 물 또는 에탄올을 용매로 하여 추출한 비타민 나무의 잎, 가지 및 뿌리의 부위별 조추출물에 포함된 총 polyphenol 함량을 나타내었다. 전반적으로 에탄올을 용매로 한 추출물에서 물을 용매로 한 추출물보다 총 polyphenol 함량이 높은 것으로 분석되었으며, 비타민 나무 부위별로 보면 잎의 총 polyphenol 함량이 물 또는 에탄올을 용매로 사용한 경우 모두 가지 및 뿌리의 추출물 보다 높은 함량을 갖는 것으로 나타났다. 비타민나무 잎의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 총 polyphenol 함량은 147.78±3.06 μg/g이었으며, 잔가지 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량 141.11±2.15 μg/g과 유의적인 큰 차이는 없으나, 굵은 가지 에탄올 추출물의 106.33±2.32 μg/g과 뿌리의 에탄올 추출물의 121.28±0.98 μg/g 보다 높았다. 잎의 물 추출물의 총 polyphenol 함량은 120.06±4.73 μg/g로 잔가지 물 추출물(84.11±0.42 μg/g) 또는 굵은 가지 물 추출물(95.28±3.95 μg/g)보다 높은 값을 보였으며 뿌리의 물 추출물과 유사한 함량을 보였다.

Tiffany(2005) 등에 따르면 건조하기 전 75% 정도의 수분함량을 갖는 비타민나무 잎의 총 폴리페놀함량은 약 59 mg/g dm (dry matter)으로 50~100°C에서 평형수분함량이 1~3%로 건조된 경우 34~45 mg/g dm으로 감소하였다고 보고한 바 있다. 본 연구에서는 비타민 나무 잎의 물 및 에탄올 추출물에서 각각 120.06±4.73 및 147.78±3.06 μg/g인 것으로 분석되어 이 값과는 많은 차이가 있다. 이러한 이유는 본 연구에서는 추출용매로 물과 95% 에탄올을 사용하여 추출 후 동결 건조한 시료의 총 폴리페놀 함량을 Tannic acid를 표준물질로 하여 작성된 표준 검량곡선으로 계산 하였으며, Tiffany(2005) 등은 80% 에탄올을 용매로 하여 페놀성 성분을 추출하는 과정과 표준물질로서 gallic acid를 사용한 총 폴리페놀 함량 측정방법의 차이에 기인하는 것으로 사료된다.

**DPPH free radical 소거활성.** 비타민나무 부위별 추출물의 DPPH free radical 소거능에 대한 결과는 Table 3에 나타내었다. 실험에 사용된 부위별 추출물의 항산화 활성은 DPPH free radical을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도($IC_{50}$)로 나타냈으며, 천연항산화제로 사용되고 있는 L-ascorbic acid를 대조구로 사용하였다. Table 2에 나타낸 바와 같이 전반적으로 각 부위별 추출물의 DPPH free radical 소거 활성은 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 물 추출물의 경우 비타민 나무 잎 추출물이 가지 또는 뿌리 추출물 보다 높은 소거활성을 보였으며 에탄올 추출물의 경우 잔가지 추출물의 소거활성이 높은 것으로 분석되었다. 이는 비타민 나무 잎의 물 추출물과 잎 또는 잔가지의 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 측정된 것으로 미루어 보아 이들 부위에 함유되어 있는 페놀성 화합물이 DPPH free radical 소거활성에 기여함으로써 항산화활성에 영향을 미치는 것으로 유추할 수 있다.

**Table 3. Scavenging activity of water and ethanol extracts of Sea Buckthorn leaves, branches, and roots against DPPH free radical**

| Extract of: | DPPH radical scavenging activity ($IC_{50}$: μg/mL)* | |
|---|---|---|
| | Water | Ethanol |
| Leaves | 28.19±0.12 | 32.13±0.31 |
| Branches (Bough) | 46.74±1.30 | 23.58±0.84 |
| Branches (Twig) | 45.10±1.98 | 59.35±1.69 |
| Roots | 41.86±0.66 | 40.03±2.01 |
| **Positive control** | | |
| L-Ascorbic acid | 9.73 | |

*Values are averages of triplicates ($n=3$).

추출용매에 따른 부위별 추출물의 DPPH free radical 소거활성은 잔가지 추출물을 제외한 모든 부위에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 물을 용매로 한 잔가지 추출물의 $IC_{50}$은 46.74 μg/mL로 잎, 뿌리 추출물보다 높았으며 굵은 가지 추출물과 비슷한 값을 보인 반면, 에탄올을 용매로 한 잔가지 추출물의 $IC_{50}$은 23.58 μg/mL로 DPPH free radical 소거활성이 가장 좋은 것으로 나타났으며 잔가지 물 추출물이 갖는 활성의 2배에 가까운 값을 보였다. 비타민 나무 추출물은 추출용매와 상관없이 본 연구에서 사용된 모든 부위에서 대조구로 사용된 L-ascorbic acid의 $IC_{50}$(9.73 μg/mL) 값 보다 다소 높은 값을 보였으나, 실험에 사용된 비타민 나무의 추출물이 정제되지 않은 조추출물임을 감안한다면 대조구인 L-ascorbic acid와 비교하여 볼 때 비교적 우수한 소거활성을 갖는 것으로 보인다.

최근에 비타민나무(Sea Buckthorn)가 갖는 잠재적인 우수한 경제적, 상업적 가치에 대한 많은 관심이 증가하면서 중국과 러시아를 비롯한 인도, 일본, 유럽 및 캐나다 등 전 세계적으로 그 재배면적이 점차 확대되어가고 있는 추세이나 지금까지 비타민나무 잎의 항산화기능과 관련한 연구 자료가 문헌상에 보고된 바가 없어 본 연구결과와 직접 비교하기는 어렵다. 일반적으로 녹차와 같은 다류 가공식품의 관심과 소비가 증가하고 있는 세계적인 추세에서, 국내에서는 덩굴차, 감국, 화살나무, 생강, 감잎, 두충, 오미자 등 다양한 자원식물유래 기능성 다류 식품 개발과 소비가 이루어지고 있다. 최근의 자료에 의하면, 덩굴차 추출물의 각 분획물이 1,000 ppm(1 mg/g)의 농도에서 70-98%의 높은 전자공여활성을 갖으며[Hyun *et al.*, 2007], 생감국꽃의 경우 2 mg/mL의 농도에서 5.51%의 전자공여능은 덖음 시간이 길어질수록 증가하는 경향이 있어 12.5분 이상 덖음처리할 경우 7.61%로 증가하였고[Yu *et al.*, 2008], 화살나무 잎은 덖음처리 전 DPPH free radical 소거활성에 대한 $IC_{50}$이 19.1 μg/mL로 덖음처리 한 경우(21.9 μg/mL)보다 활성이 높은 것으로 보고된 바 있다[Kwon *et al.*, 2007]. 이와 같은 자료를 비교하여 볼 때, 비타민 나무 잎의 물 추출물이 갖는 DPPH

**Table 4. Superoxide Dismutase-like Activity (SOD-like activity) of water and ethanol extract of Sea Buckthorn leaves, branches, and roots***

| Extract of**: | SOD-like activity (%) | |
|---|---|---|
| | Water | Ethanol |
| Leaves | 11.38±1.82 | 33.23±1.99 |
| Branches (Bough) | 21.26±1.21 | 35.03±2.33 |
| Branches (Twig) | 11.44±2.91 | 31.14±4.53 |
| Roots | 5.99±7.35 | 32.34±3.62 |
| **Positive control** | | |
| L-Ascorbic acid (10 μg/mL) | 68.85±1.44 | |

*All test were conducted in triplicate and the values are average of triplicate.
**500 μg/mL of each extract was used.

**Table 5. Hydroxyl radical scavenging Activity of water and ethanol extract of Sea Buckthorn leaves, branches, and roots***

| Extract of**: | Inhibition activity (%) | |
|---|---|---|
| | Water | Ethanol |
| Leaves | 12.89±3.78 | 49.46±2.18 |
| Branches (Bough) | 14.11±1.37 | 27.95±4.01 |
| Branches (Twig) | 13.24±2.22 | 32.25±1.22 |
| Roots | 10.42±2.08 | 66.12±8.73 |
| **Positive control** | | |
| L-Ascorbic acid (10 μg/mL) | 72.47±2.83 | |

*All test were conducted in triplicate and the values are average of triplicate.
**50 μg/mL of each extract was used

free radical 소거활성에 대한 $IC_{50}$이 28.19 μg/mL인 본 연구결과를 감안하면 비타민 나무 잎을 소재로 덖음 차나 발효차와 같은 기능성 식품의 개발 또는 잠재적 활용가능성이 있다고 할 수 있다.

**Superoxide Dismutase(SOD)-like activity.** 비타민 나무의 부위별 물 추출물과 에탄올 추출물 500 μg/mL에 대한 SOD 유사활성 결과는 Table 4에 나타냈다. 에탄올 추출물의 경우 부위별로 유의적인 차이를 보이지 않았으나 물 추출물은 잔가지 추출물의 SOD 유사활성이 21.26%로 잎의 11.38%, 굵은 가지의 11.44% 보다 약 두 배 가까운 활성을 보였다. 추출용매에 상관없이 모든 부위의 추출물은 대조구인 L-ascorbic acid의 SOD 유사활성(68.85%) 보다 전반적으로 낮은 활성을 보였으나, 이러한 이유는 실험에 사용된 시료가 정제되지 않은 조추출물임을 감안하여야 할 것으로 사료된다. 전반적으로 비타민 나무 부위별 추출물 모두에서 에탄올을 용매로 한 경우가 물을 용매로 한 경우 보다 SOD 유사활성이 약 1.6~5.4배 더 높은 것으로 분석 되었으며, 잔가지의 에탄올 추출물이 35.03%로서 가장 높은 활성을 나타내었다. 특이적으로 비타민나무 뿌리의 물 추출물은 5.99%의 매우 낮은 SOD 유사활성을 보였다.

SOD는 잘 알려진 항산화효소의 일종으로 생체내에서 superoxide anion($O_2^-$)을 과산화수소(Hydrogen peroxide: $H_2O_2$)로 전환시키는 반응을 촉매한다. 과산화수소는 DNA를 포함한 세포 구성성분들에 산화적 손상을 일으킴으로서 노화 및 질병의 원인이 되는 활성산소(ROS, reactive oxygen species)의 하나이다. SOD에 의해 superoxide anion이 전환되어 생성된 과산화수소는 catalase 또는 peroxidase에 의해 물 분자와 산소분자로 전환되어 생체 내 산화적 피해가 감소하게 된다. 보편적으로 산야채, 과채류를 포함한 식물의 페놀성 화합물들은 superoxide anion의 반응성을 효과적으로 억제하는 SOD 유사활성이 높아 산화적 스트레스로 인한 세포손상을 감소하여 줄 수 있는 효과적인 천연 항산화제로 인식되어 있으며 이러한 SOD 유사활성을 갖는 천연물질이 풍부한 식품의 섭취가 적극 권장되어 왔다.

국내 자생 약용식물 및 식용작물을 대상으로 한 항산화활성 및 생리활성 기능에 대한 연구보고에 의하면, Chung *at al.* [1998]의 경우 SOD 유사활성 실험에 사용된 추출물의 정확한 농도는 언급되어 있지 않으나, 25종의 조사대상 식물별 활용부위의 80% 에탄올 추출물에서 SOD 유사활성은 10.37~53.45%를 나타낸 것으로 보고한 바 있고, Lee 등[2005]과 Lim 등[2004]은 오가피, 구기자, 복분자, 갈근, 생강 등 국산 식약용식물 82종의 SOD 유사활성 분석결과 13.5~21.27%의 SOD 유사활성이 있다 하였다. 또한 천연 항산화제로 알려진 ascorbic acid의 함량이 높은 과채류를 대상으로 한 연구[Hong *et al.*, 1998]에서 사과, 브로콜리, 키위, 딸기의 SOD 유사활성이 각각 14.6, 41.7, 27.6, 및 30.2%인 것으로 발표한바 있다. 본 연구에서는 비타민 나무 잎, 줄기, 뿌리의 에탄올 추출물이 갖는 SOD 유사활성이 31~35%였으며, 물 추출물의 SOD 유사활성은 6~21%였다. 위와 같은 연구결과와 비교하여 볼 때 비타민 나무의 부위별 추출물이 갖는 SOD 유사활성은 이미 식용으로 활용되고 있는 다양한 국내 자생식물 및 생약재의 천연 추출물과 유사한 활성도를 보이는 것을 알 수 있으며, 따라서 비타민 나무의 각 부위는 우수한 항산화효과를 갖는 기능성 천연물로서의 활용가치가 있을 것으로 사료된다.

**Hydroxy radical scavenging activity.** Fenton reaction을 활용하여 비타민 나무 부위별 추출물의 hydroxy radical(·OH) 소거활성을 측정한 결과는 Table 5에 나타낸 바와 같다. 추출물 50 μg/mL의 농도에서 hydroxy radical 소거활성은 비타민 나무 모든 부위에서 에탄올 추출물이 물 추출물 보다 약 두 배 이상의 활성을 보였다. 대조구로 사용한 ascorbic acid는 10 μg/mL의 농도에서 72.47±2.83%의 높은 ·OH 소거활성을 보였으며, 잎의 에탄올 추출물의 ·OH 소거활성은 49.46±2.18%로 대조구인 ascorbic acid보다는 낮기는 하나 비교적 높은 ·OH 소거활성을 보였다. 비타민 나무 잎의 에탄올 추출물은 총 polyphenol 함량이 가장 높은 값으로 측정된 바 있으며(Table 2), 항산화활성을 나타내는 지표로서 측정한 DPPH free radical 소거능 및 SOD 유사활성 또한 유의적인 높은 활성을 보인바 있다(Table 3, 4). 특이적으로 뿌리의 에탄올 추출물은 대조구와 비슷한 66.12±8.73%의 높은 OH 소거활성을 나타내었다. 뿌리의 에탄올 추출물은 앞서 언급한 대로 DPPH free radical 소거능(Table 3)과 SOD 유사활성(Table 4)에서 다른 부위의 추출물과 비교하여 볼 때 비교적 높은 활성을 보인바 있고, 총 polyphenol 함량 또한 부위별 물 추출물 보다 높았으며, 다른 부위의 에탄올 추출물의 함량과 유의적인 큰 차이를 보이지 않

았다(Table 2). 이와 같은 결과로 미루어 보아 비타민 나무의 잎과 뿌리는 항산화활성이 높은 기능성 천연자원으로의 활용가치가 내재되어 있다고 판단된다.

## 초 록

본 연구에서는 비타민나무의 기능성 소재 개발을 위한 기초자료로 활용하기 위해 일반 성분, 이화학적특성 중 총 페놀함량과 DPPH free radical 소거활성, SOD 유사활성, Hydroxy radical scavenging activity를 이용한 항산화활성을 측정하였다. 비타민나무는 잎, 잔가지, 굵은 가지, 뿌리의 4가지 부위를 물과 에탄올을 용매로 추출하여 실험에 사용한 결과, 일반 성분의 경우 비타민 나무의 모든 부위에서 조회분과 조단백질의 함량이 에탄올 추출물보다 물 추출물에서 더 높은 것으로 확인되었다. 총 폴리페놀함량은 잎과 뿌리 부위해서 높은 결과를 보였으며, 물 추출물에 비해서 에탄올 추출물의 함량이 더 높은 것으로 확인되었다. DPPH radical 제거활성은 잔가지를 제외한 부위에서 에탄올 추출물보다 물 추출물이 높은 활성을 보였고, 특이적으로 에탄올을 용매로 한 잔가지 추출물의 $IC_{50}$이 23.58±0.84%로 가장 높은 활성을 나타내었다. SOD 유사활성능은 물 추출물보다 에탄올 추출물이 높았으며, 그 중 잔가지의 에탄올 추출물이 35.03±2.33%의 가장 높은 활성을 나타내었다. Hydroxy radical scavenging 활성은 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 2배 이상의 높은 활성을 보였고, 그 중 뿌리 부위의 에탄올 추출물이 66.12±8.73%의 높은 활성을 보였다. 결과적으로 본 연구에서는 비타민나무 추출물의 영양학적 가치와 항산화활성을 확인하였고, 그로 인한 기능성소재로써의 개발이 가능할 수 있음을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 2008년도 강원도 농업기술원의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

## 참고문헌

AOAC (1980) Official Methods of Analysis of the A.O.A.C, Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. USA.

Bailey LH and Bailey EZ (1978) Hortus third. A concise dictionary of plants cultivated in the United States and Canada. McMillan Publ. Co., New York.

Bernath J and Foldesi D (1992) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): a promising new medicinal and food crop, *J Herbs Spices Med Plants* **1**, 27-35.

Chung IM, Kim KH, and Ahn JK (1998) Screening of Korean medicinal and food plants with antioxidant activity. *Korean J Medicinal Crop Sci* **6**, 311-322.

Gao X, Ohlander M, Jeppsson N, Bjork L, and Trajkovski V (2000) Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) during maturation. *J Agric Food Chem* **48**, 1485-1490.

Gurevick SK (1956) The application of sea buckthorn oil on ophthalmology. *Vesttn Ottamologu* **2**, 30-33.

Gutteridge JM (1984) Reactivity of hydroxyl and hydroxyl like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides, and benzoate. *Biochem J* **224**, 761-767

Heinze M and Fiedler HJ (1981) Experimental planting of potash waste dumps. I. Communication: Pot experiments with trees and shrubs under various water and nutrient conditions. *Archiv Acker Pflanzen Bodenkunde* **25**, 315-322.

Hong HD, Kang NK, and Kim SS (1998) Superoxide dismutans-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetable. *Korean J Food Sci Technol* **30**, 1484-1487.

Hyun SH, Lee JS, Lee KB and Lee JS (2007) Antioxidative activity of *Gynostemma pentaphyllum* Makino extracts. *Korean J Food Sci Technol* **39**, 447-451.

Kallio H, Yang B, Peippo P, Tahvonen R, and Pan R (2002) Triacylglycerols, glycerophospholipids, tocopherols, and tocotrienols in berries and seeds of two subspecies (ssp. *sinensis* and *mongolica*) of sea buckthorn (*Hippophae rhammoides*). *J Agric Food Chem* **50**, 3004-3009.

Kwon GJ, Choi DS and Wang MH (2007) Biological activities of hot water extracts from *Euonymus alatus* leaf. *Korean J Food Sci Technol* **39**, 569-574

Lee YS, Joo EY, and Kim NW (2005) Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J Food Preserv* **12**, 75-79.

Letchamo W, Klevakin R, and Lobatcheva II (2002) Heavy metal accumulation in sea buckthorn cultivars in Siberia. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), pp. 399-401, Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA.

Li TSC (2002) Product development of sea buckthorn. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), pp. 393-398, Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA.

Li TSC and Wang LCH (1998) Physiological components and health effects of ginseng, echinacea and sea buckthorn. In: G. Mazza (ed.), Functional foods, biochemical & processing aspects. Technomic Publ Co. Inc., Lancaster, PA.

Li TSC and Schroeder WR (1996) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A multipurpose plant. *Horttechnology* **6**, 370-386.

Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim N, and Chung IM (2004) Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plant. *Korean J Med Crop Sci* **12**, 191-202.

Marklund S and Marklund G (1974) Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* **47**, 468-474.

Merja H, Jyrki P, and Riitta JT (2006) Effects of different organic farming methods on the concentration of phenolic compounds in sea buckthorn leaves. *J Agric Food Chem* **56**, 7678-7685.

Ricahrd TB, and Paul ES (2008) *Hippophae rhamnoides* L. common seabuckthorn. In: The woody plant seed manual. pp. 588-589, USDA.

Rosch D, Bergmann M, Knorr D, and Kroh LW (2003) Structure-antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and

their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice. *J Agric Food Chem* **51**, 4233-4239.

Rousi A (1971) The genus Hippophae L. A taxonomic study. *Ann Bot Fenn* **8**, 177-227.

Singleton VL and Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am J Enol Vitic* **16**, 144-158.

Tiffany TYG, Stefan C, and Arnie H (2005) Effect of drying on the nutraceutical quality of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *sinensis*) leaves. *J Food Science* **70**, 514-518

Yang B and Kallio H (2002) Composition and physiological effects of sea buckthorn (Hippophae) lipids. *Trends Food Sci Tech* **13**, 160-167.

Yang B, Karlsson RM, Oksman PH, and Kallio HP (2001) Phytosterols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries: Identification and effects of different origins and harvesting times. *J Agric Food Chem* **49**, 5620-5629.

Yu JS, Hwang IG, Woo KS, Chang YD, Lee CH, Jeong JH and Jeong HS (2008) Physicochemical characteristics of *Chrysanthemum indicum* L. flower tea according to different pan-firing times. *Korean J Food Sci Technol* **40**, 297-302.