

시설 내 토경재배에서 병풀(*Centella asiatica*) 두 품종의 성장특성 및 생리활성 비교

오세원¹ · 박수정² · 이성호² · 박연주² · 장금일³ · 유광원⁴ · 김대일⁵ · 신현석^{6*}

¹충북대학교 축산·원예·식품공학부 초빙교원, ²경상국립대학교 원예과학과 연구원, ³충북대학교 식품생명공학과 교수, ⁴한국교통대학교 식품영양학과 교수, ⁵충북대학교 원예과학과 교수, ⁶경상국립대학교 원예과학과 교수

Comparison of Growth Characteristics and Physiological Activity of Two *Centella asiatica* Cultivars in Greenhouse Soil Culture

Sewon Oh¹, Sujeong Park², Seongho Lee², Yeonju Park², Keum-Il Jang³, Kwang-Won Yu⁴, Daeil Kim⁵, and Hyunsuk Shin^{6*}

¹Invited Assistant Professor, Division of Animal, Horticultural and Food Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

²Researcher, Department of Horticultural Science, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Korea

³Professor, Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

⁴Professor, Department of Food and Nutrition, Korea University of Transportation, Chungju 27469, Korea

⁵Professor, Department of Horticultural Science, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

⁶Professor, Department of Horticultural Science, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Korea

Abstract. The study was investigated to compare growth characteristics, the antioxidant activity, and the triterpenoid content of two *Centella asiatica* cultivars ('Giant Tiger Care' and 'Good Tiger Care'). At 41 days after transplanting, lengths of leaf and petiole were significantly longer in 'Good Tiger Care' than in 'Giant Tiger Care'. However, the growth characteristics (leaf area, petiole thickness, petiole length, and weight) were greater in 'Giant Tiger Care' than in 'Good Tiger Care' at 104 days after transplanting (harvest time). Antioxidant activity and total phenol content in four extracts (WE, water extract; HWE, hot water extract; 50E, 50% EtOH extract; 70E, 70% EtOH extract) of the two cultivars were high in 70E of 'Giant Tiger Care'. As a result of the triterpenoids analysis, the major triterpenoids of the two cultivars were identified as madecassoside and asiaticoside. The total triterpenoid content was high in 50E and 70E of 'Giant Tiger Care' and 'Good Tiger Care', respectively but the total triterpenoid content was highest in Good Tiger Care. However, at the 104 days after planting, the yield of 'Giant Tiger Care' was three times higher than that of 'Good Tiger Care'. In addition, the total triterpenoid content that can be produced in the same cultivation area (3.3m²) was 2.459mg in 50E of 'Giant Tiger Care', which was ~2.2times higher than that of 70E of 'Good Tiger Care' (1.103 mg). Thus, it is considered economical to cultivate 'Giant Tiger Care' which has the highest antioxidant activity and high total triterpenoid production per cultivation area.

Additional key words : asiatic acid, asiaticoside, madecassic acid, madecassoside

서론

병풀(*Centella asiatica* L. Urban)은 산형화목 미나리과에 속하는 다년생 포복성 초본식물로 고온다습한 인도양의 열대 지방에서 기원하였다(Hausen, 1993; Gohil 등, 2010). 병풀의 한국 자생지는 제주도 및 일부 남부 도서지역으로 알려져

있다(Kwon 등, 2008). 병풀은 가늘고 긴 포복경이 수평 방향으로 뻗으며, 뿌리가 내리는 포복경의 마디에서 2개의 비늘 모양의 잎이 발생한다. 잎은 2-5cm로 엽두와 엽저는 각각 원두형과 심장저 형태이며 둔거치가 발달한다(Gbolahan 등, 2016). Gohil 등(2010)은 다양한 형태적 특성을 나타내는 20종의 병풀이 존재한다고 보고하였다.

병풀은 아미노산, 페놀, Triterpenoids, 탄수화물 등 다양한 생리활성물질을 풍부하게 함유하고 있어(Belwal 등, 2019), 인도, 말레이시아, 중국 등에서 수백 년 동안 약용작물로 사용

*Corresponding author: shinpomo@gnu.ac.kr

Received August 31, 2021; Revised October 13, 2021;

Accepted October 15, 2021

되어 왔다(Brinkhaus 등, 2000). 병풀의 대표적인 생리활성물질은 Madecassoside, Asiaticoside, Medecassic acid, Asiatic acid 등의 Triterpenoids 성분이며, Triterpenoids는 상처치료(Bonte 등, 1994; Shukla 등, 1999) 외에도 항염증(Liu 등, 2008; Yun 등, 2008), 항암(Cho 등, 2006), 항산화(Zhimin 등, 2017), 신경보호(Mook-Jung 등, 1999; Gohil 등, 2010) 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다.

병풀의 다양한 생리활성 효과로 인해 의약품 및 화장품 소재로 사용하기 위한 병풀의 국내 수요가 증가하고 있는 실정이다(Goo 등, 2018). 하지만 국내 병풀 자생지는 제주도 및 남부지방으로 제한적이기 때문에 대부분 인도, 마다가스카르 등에서 수입하여 이용해왔다(Baek, 1997). 최근 충북 충주 및 경남 합천에서 시설재배를 통해 병풀의 상업적 재배가 수행되고 있으나, 병풀의 기본적인 생장특성에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 또한 병풀을 활용한 대부분의 연구는 생리활성물질의 효과를 검증하는 것으로 매우 한정적이다(Shin 등, 2020). 하지만 식물의 생장특성과 생리활성물질의 함량은 품종과 재배환경에 영향을 받는다(Lee 등, 2014; Suh 등, 2020).

따라서 본 연구는 무가온 온실에서 동일 기간 동안 재배된 병풀 두 품종(‘자이언트 타이거 케어’, ‘굿병풀’)의 기본적인 생장 특성을 조사하였다. 또한, 두 품종에서 추출방법에 따른 항산화 활성 및 Triterpenoids 함량 분석을 수행하여 품종별 생장 특성에 따른 경제적 이용가치를 비교하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 재배

본 연구는 2020년 4월 3일부터 2021년 7월 16일까지 경상국립대학교 종합농장 내 무가온 유리온실(35°09'38.6"N, 128°04'40.0"E)에서 수행하였으며, 충청북도 충주시에 위치

한 농업회사법인 (주)병풀농원에서 구입한 ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’을 재료로 사용하였다. 자체 제작한 총 2개의 배드(608 × 188cm)에 마사토와 원예용상토(Heungnong Bio Soil, Heungnong Seed Co., Korea)를 7:3(v:v)의 비율로 30cm 높이의 토양을 조성하였다. 병풀 두 품종의 모종을 각각 20 × 20cm 간격으로 112주씩 정식하여 2개의 배드에 총 224주를 정식하였다. 병풀의 기본적인 생장특성을 조사하기 위해 정식 후 약 3개월 후 수확하는 관행재배 방식을 참고하여 2020년 4월 3일에 정식하여 7월 16일(정식 후 104일)에 수확하였다. 정식 후 수확일까지 무가온 온실의 평균 온도는 주간 26.0 ± 6.1°C와 야간 17.6 ± 5.9°C(Fig. 1), 상대습도는 62.2 ± 20.8%였다(1-800-Loggers, Onset Computer Corporation, MA, USA). 강광을 차단하기 위해 배드에서 60cm 높이에 97% 차광막을 설치하였고, 식물체의 상부에서 평균 80 μmol·m⁻²·s⁻¹의 광도를 나타냈다(LI250A Light Meter, LI-COR Inc., USA). 뿌리가 활착될 때까지 매일 약 15L 정도 관수하였으며, 이후 2일마다 관수하였다.

2. 생장특성 조사

‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’의 뿌리 활착 후 2020년 4월 24일(정식 21일 후)부터 7월 16일(정식 104일 후)까지 3주간격으로 기부엽의 엽폭, 엽장, 엽병길이를 자를 이용하여 조사하였다.

정식 104일 후 두 품종의 지상부를 수확하여 생체중, 건물중, 엽두께, 엽병두께, 엽면적, 엽록소, Hunter a*을 조사하였다. 미세저울(Ohaus Analytical Plus, Ohaus Corporation, NJ, USA)을 이용하여 생체중을 측정하였고, 건물중은 65°C에서 3일 동안 열풍건조(OF-02GW, JEIO TECH, Daejeon, Korea) 후 측정하였다. 엽두께와 엽병두께는 버니어캘리퍼스(BD500-200, Bluetec, Korea)를 이용하여 가장 두꺼운 부분

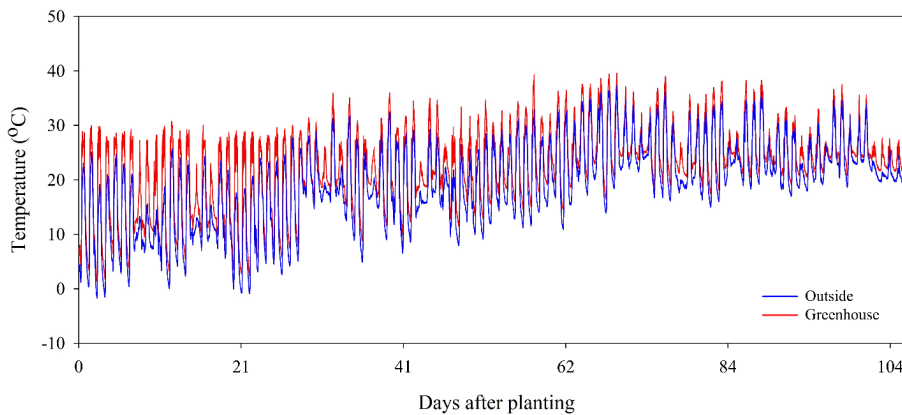


Fig. 1. Changes in daily air temperature inside the non-heated greenhouse where the two *Centella asiatica* were grown and outside in 2020.

을 측정하였고, 엽면적은 엽면적 측정기(LI-3100C, LI-COR, Lincoln, NE, USA)를 이용해 측정하였다. 잎의 엽록소 함량과 색(Hunter a*)을 측정하기 위해 엽록소 측정기(SPAD-502, Minolta, Osaka, Japan)와 색차계(CR-20, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하였고, 기부엽의 중심 부위를 측정하였다.

3. 항산화 활성, 총 페놀 함량, 플라보노이드 함량 분석

정식 104일 후 수확한 ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’의 식물체를 급속냉동기(QUICK FREEZER, Ilshin Biobase, Seoul, Korea)를 이용하여 -70°C로 냉동시킨 후 동결건조(FREEZE DRYER, Ilshin Biobase, Seoul, Korea)하였다. 동결건조된 건조물을 이용하여 냉수(25°C, water extract; WE), 열수(95°C, hot water extract; HWE), 50% 에탄올(50% EtOH extract; 50E), 70% 에탄올(70% EtOH extract; 70E) 추출을 수행하였다. 두 품종의 건조물의 20배(w/v)에 해당하는 용매를 첨가 후 25°C에서 48시간 침지하여 추출하였다. 각 추출물은 8,800 × g에서 20분 동안 원심분리 후 여과지(Whatman filter garde 1, GE Healthcare, Chicago, IL, USA)에 여과하여 침전물을 제거하였다. 여과지를 통과한 여과물은 40°C에서 감압농축(EYELA MG-2200, EYELA Co., Tokyo, Japan) 후 동결건조하였고, 냉수, 열수, 50% 에탄올, 70% 에탄올 추출물로 조제하였다.

냉수, 열수, 50% 에탄올, 70% 에탄올 추출물의 항산화 활성을 조사하기 위해 Ryu 등(2017)의 방법을 이용하여 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) 및 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 자유라디칼 소거능과 Ferric Reducing Antioxidant Power(FRAP) 활성을 분석하였다. 표준물질로는 L-ascorbic acid를 이용하였고, 추출물의 항산화 활성은 mg 아스코르브산 당량 항산화 능력(ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, AEAC)·g⁻¹로 나타냈다.

두 품종의 4가지 추출물에 포함된 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 비색법으로 조사하였다. 총 폴리페놀 함량은 Marinova 등(2005)의 방법에 따라 10μL의 추출물에 10μL의 2% Na₂CO₃와 200μL의 Folin-ciocalteu를 첨가 후 30분 동안 암상태에서 반응시켰다. 이 후, 분광 광도계(UV-1650PC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 750nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 추출물 별 총 폴리페놀 함량은 갈산을 이용하여 검량선을 작성 후 mg 갈산 당량(gallic acid equivalent, GAE)·g⁻¹로 나타냈다.

총 플라보노이드 함량 분석을 위해 20μL 추출물에 40μL의 80% 에탄올을 첨가 후 20μL의 Aluminium nitrate, 20μL의

1M Potassium Acetate, 150μL의 80% 에탄올을 순차적으로 첨가하였다. 이 후, 10분 동안 암상태에서 반응시킨 후 분광 광도계를 이용하여 415nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 추출물 별 총 플라보노이드 함량은 Quercetin을 이용하여 검량선을 작성 후 mg 퀘르세틴 당량(quercetin equivalent, QE)·g⁻¹로 나타냈다(Stanković, 2011).

4. Triterpenoid 함량 분석 및 생산 수율

Triterpenoid 함량 분석을 위해 표준 화합물 Madecassoside, Asiaticoside, Madecassic acid, Asiatic acid(Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)를 MeOH에 용해시키고 0.2μm Syringe Filter로 불용성 성분을 제거하였다. WE, HWE, 50E, 70E의 용매추출물을 High-performance Liquid Chromatography (Agilent 1200 series, Agilent, Santa Clara, USA)를 이용하여 분석하였다. 검출기는 Diode array detector(DAD, 250nm)를 이용하였고, 고정상은 YMC Triart C18(4.6 × 250mm, YCM Co., Ltd., Kyoto, Japan), 이동상은 Acetonitrile(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 Deionized Water를 이용하였다. Column 온도는 30°C에서 유지한 후 1.5mL·min⁻¹ 유속에서 20μL의 시료를 주입하였다.

병풀 두 품종의 단위면적당 Triterpenoid 생산수율은 다음의 식 [단위면적(3.3m²)당 개체수 × 생체중(g) × 총 triterpenoid 함량(mg·g⁻¹)]을 통해 계산하였다.

5. 통계 분석

두 품종 간의 생육특성에 대한 유의성을 검정하기 위해 R software v3.6.0을 이용하여 t-test를 수행하였다. 또한 두 품종의 생육시기에 따른 생육특성의 유의성과 추출물의 항산화 활성 및 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량의 유의성을 검정하기 위해 분산분석(ANOVA) 후 5% 유의수준에서 던컨의 다중검정(Duncan's multiple range test)을 수행하였다.

결과 및 고찰

1. 병풀 두 품종의 생장 변화

병풀 두 품종의 정식 후 수확시기까지의 생장 변화를 조사한 결과, 생장 초반인 정식 21일 후 엽폭은 ‘자이언트 타이거 케어’가 ‘굿병풀’보다 유의적으로 넓었으나, 정식 후 62일까지 두 품종의 엽폭은 유의적인 차이가 없었다(Fig. 2A). 하지만 정식 후 84일부터 104일까지 ‘자이언트 타이거 케어’의 엽폭이 ‘굿병풀’보다 유의적으로 증가하였다. 또한 정식 41일 후 ‘굿병풀’의 엽장과 엽병이 ‘자이언트 타이거 케어’보다 유의

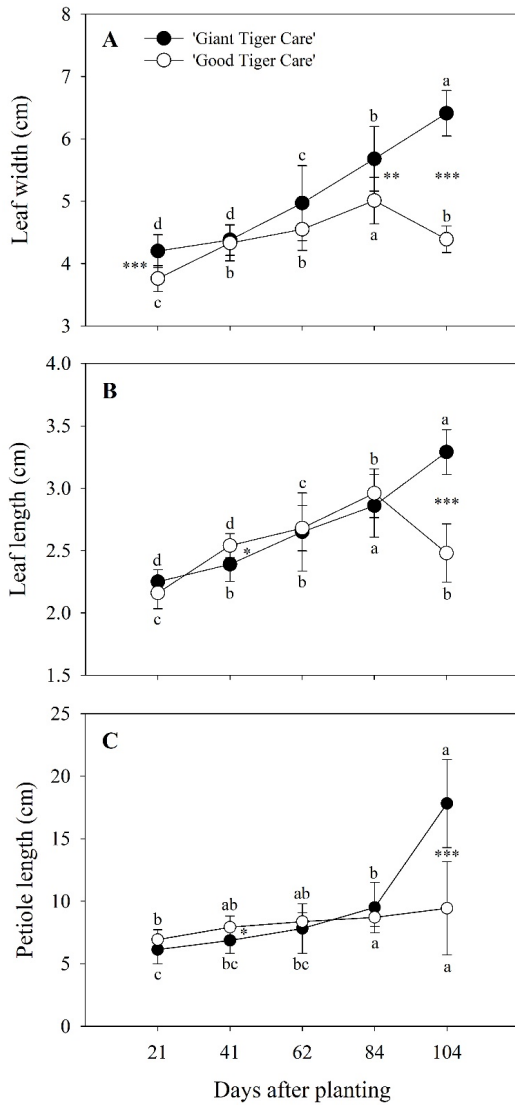


Fig. 2. Changes in leaf width (A), length (B), and petiole length (C) of ‘Giant Tiger Care’ and ‘Good Tiger Care’ from 21 to 104 days after planting in 2020. Data are presented as mean \pm SD (n = 10). Different letters indicate significant difference in growth characteristic between the investigation dates, according to the Duncan’s multiple range test ($p < 0.05$). *, **, and *** indicate significant differences at $p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$, respectively according to the *t*-test.

적으로 증가하였으나 이후 두 품종의 성장 속도는 유사하였다 (Fig. 2B, C). 하지만 정식 후 84일부터 수확일까지 ‘자이언트 타이거 케어’의 생장이 지속적으로 증가하여 수확일에는 ‘굿 병풀’보다 높았다(Fig. 2). 특히 ‘굿병풀’은 수확일에 엽폭과 엽장이 유의적으로 감소하였다(Fig. 2A, B). 수확일에 ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’의 성장 양상이 다른 이유는 두 품종간의 수확기 차이 또는 여름철 고온에 대한 민감성의 차이가 원인일 것으로 생각된다. 본 연구에서는 ‘굿병풀’이 여름철 고온기에 현저한 성장 저하를 나타내는 것을 관찰하였지만 이에 대한 면밀한 분석이 어려웠으며, 추후 안정적인 병풀 생산을 위한 병풀 품종별 수확시기 및 고온처리에 의한 성장 변화에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

정식 후 104일에 두 품종의 식물체를 수확하여 성장특성을 조사한 결과(Table 1), 엽두께는 ‘자이언트 타이거 케어’가 $0.43 \pm 0.55\text{mm}$, ‘굿병풀’은 $0.46 \pm 0.08\text{mm}$ 로 두 품종간의 유의적인 차이가 없었다. 엽면적은 ‘자이언트 타이거 케어’가 ‘굿병풀’보다 2.3배 넓고, 엽병두께가 1.6배 두꺼워 생체중이 2배 높았다. 건물중은 ‘자이언트 타이거 케어’가 ‘굿병풀’보다 유의적으로 2배 높았으나, 수분함량은 두 품종에서 82%로 유의적인 차이가 없었다. 이는 ‘자이언트 타이거 케어’가 ‘굿병풀’보다 엽면적, 엽병길이 및 두께, 생체중이 유의적으로 높기 때문에 건물중 총량 또한 높은 것으로 생각된다. SPAD로 측정된 엽록소 함량은 두 품종 간 유의적인 차이는 없었으나 Hunter a*는 ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’에서 모두 음의 값을 나타내어 녹색이며, ‘자이언트 타이거 케어’가 ‘굿병풀’보다 Hunter a*가 유의적으로 낮아 더 짙은 녹색이었다. Prasad 등(2014)는 인도-갠지스 평원에서 상업적으로 재배되는 엽면적이 다른 4개 병풀 품종의 엽록소 함량이 엽면적과 비례하지 않는다고 보고하였다. 따라서 두 병풀 품종의 식물체 크기와 관련된 성장 특성은 품종에 따른 유전적 소질에 의한 것으로 생각된다(Valadabadi와 Farahani, 2010; Hokmalipour와 Darbandi, 2011). 또한, Madeira 등(2003)은 SPAD 값과 Hunter a*간의 상대적으로 낮은 상관관계를 보고하였다. 따라서 병풀 두 품종의 엽록소 함량과 Hunter a*는 관련이 낮은

Table 1. Growth characteristics of ‘Giant Tiger Care’ and ‘Good Tiger Care’ after harvest on July 16, 2020.

Cultivar	Leaf thickness (mm) ^z	Leaf area (cm ²)	Leaf fresh weight (g)	Leaf dry weight (g)	Petiole thickness (mm)	Relative water content (%)	Chlorophyll (μmol·m ⁻²)	Hunter a*
‘Giant Tiger Care’	0.43 \pm 0.05	7.80 \pm 0.95	0.44 \pm 0.06	0.08 \pm 0.01	2.31 \pm 0.22	81.81 \pm 1.23	29.51 \pm 3.75	-8.89 \pm 0.62
‘Good Tiger Care’	0.46 \pm 0.08	3.43 \pm 0.31	0.23 \pm 0.04	0.04 \pm 0.01	1.41 \pm 0.21	82.34 \pm 2.05	30.37 \pm 4.59	-8.19 \pm 0.47
Significance ^y	NS	***	***	***	***	NS	NS	*

^zData are present as mean \pm SD (n = 10).

^ySignificance level according to the *t*-test. NS, non-significance; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

Table 2. Extraction yield, antioxidant activity, total polyphenol and flavonoid content in four extracts of ‘Giant Tiger Care’ and ‘Good Tiger Care’.

Cultivar	Extract ^z	Yield (w/w%)	ABTS (mg AEAC·g ⁻¹) ^y	DPPH (mg AEAC·g ⁻¹)	FRAP (mg AE·g ⁻¹)	Total polyphenol (mg GAE·g ⁻¹)	Total flavonoid (mg QE·g ⁻¹)
‘Giant Tiger Care’	WE	26.3	99.0 ± 2.4 B,ab ^x	99.2 ± 0.4 C,c	98.4 ± 3.0 AB,ab	117.1 ± 2.8 E,b	24.1 ± 0.6 C,c
	HWE	26.6	74.0 ± 0.4 E,c	62.4 ± 1.8 F,d	68.0 ± 1.4 E,c	109.6 ± 3.1 EF,b	18.4 ± 1.7 E,d
	50E	31.7	97.2 ± 4.7 B,b	104.1 ± 2.0 B,b	94.1 ± 3.6 B,b	199.4 ± 7.7 B,a	30.5 ± 2.2 B,b
	70E	30.7	103.6 ± 1.1 A,a	110.1 ± 2.4 A,a	100.1 ± 1.9 A,a	215.4 ± 16.3 A,a	34.7 ± 1.9 A,a
‘Good Tiger Care’	WE	27.6	43.1 ± 3.7 G,d	33.9 ± 0.5 H,d	40.5 ± 1.0 G,d	102.3 ± 3.2 F,c	7.7 ± 0.8 G,c
	HWE	28.8	64.2 ± 1.7 F,c	53.3 ± 1.2 G,c	58.4 ± 2.6 F,c	97.0 ± 2.0 F,c	12.2 ± 1.5 F,b
	50E	30.3	78.9 ± 1.0 D,b	77.3 ± 0.7 E,b	77.0 ± 2.4 D,b	154.5 ± 5.6 D,b	19.7 ± 0.3 DE,a
	70E	29.8	84.9 ± 1.4 C,a	88.6 ± 2.0 D,a	87.1 ± 4.5 C,a	177.7 ± 2.5 C,a	21.6 ± 1.2 D,a

^zWE, water extract; HWE, hot water extract; 50E, 50% EtOH extract; 70E, 70% EtOH extract.

^yData are present as mean ± SD (n = 3).

^xCapital and small letters indicate the significant differences between 8 extracts from the two cultivars and 4 extracts from each cultivar according to the Duncan’s multiple range test ($p < 0.05$).

것으로 생각되며, 엽록소 함량과 엽색은 병풀 품종 별 특성으로 생각된다.

2. 병풀 두 품종의 항산화 활성 및 총 페놀 함량

ABTS와DPPH 분석을 통한 품종별 항산화 활성은 냉수 및 열수 추출물보다 50%, 70% 에탄올 추출물에서 유의하게 높았다(Table 2). 하지만 ‘자이언트 타이거 케어’의 에탄올 추출물의 항산화 활성은 ‘굿병풀’의 에탄올 추출물보다 유의적으로 높았다. FRAP 분석을 통한 환원능 또한 두 품종에서 모두 에탄올 추출물에서 높았으며, ‘자이언트 타이거 케어’의 환원능은 ‘굿병풀’의 환원능보다 높았다. 특히 두 품종에서 모두 70% 에탄올 추출물의 항산화 활성이 유의적으로 가장 높았다.

총 페놀 함량 또한 두 품종에서 모두 에탄올 추출물에 가장 많이 포함되어 있었다. 이는 병풀을 포함한 여러 작물에서 총 페놀 함량이 에탄올과 같은 유기용매 추출물에서 더 높았던 결과와 같다(Shin 등, 2020; Hong 등, 2021). 또한 두 품종에서 모두 에탄올 추출물의 수율이 냉수 및 열수 추출물보다 높았기 때문에 에탄올 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 냉수 및 열수 추출물보다 높은 것으로 생각된다.

품종별 에탄올 추출물의 총 페놀 함량을 비교한 결과, ‘자이언트 타이거 케어’에서 ‘굿병풀’보다 유의적으로 많은 총 페놀을 함유하였다. 두 품종에서 모두 총 페놀 함량이 가장 높았던 70% 에탄올 추출물을 기준으로 총 폴리페놀 함량은 ‘자이언트 타이거 케어’(215.4 ± 16.3mg GAE·g⁻¹)가 ‘굿병풀’(177.7 ± 2.5mg GAE·g⁻¹)보다 약 1.2배 높았으며, 총 플라보노이드 함량은 ‘자이언트 타이거 케어’(34.7 ± 1.9mg QE·g⁻¹)가 ‘굿병풀’(21.6 ± 1.2mg QE·g⁻¹)보다 약 1.6배 높았다. 동일한 환경조건에서

재배된 병풀 두 품종의 추출물의 항산화 활성과 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량이 ‘자이언트 타이거 케어’가 ‘굿병풀’보다 높은 이유는 동일한 환경조건 내에서도 여름철 고온에 반응하는 품종별 유전적 소질의 차이에 의한 것으로 생각된다.

두 품종에서 항산화 활성이 높을 수록 총 페놀 함량이 높은 이유는 항산화 활성과 총 페놀 함량 간의 높은 상관성 때문으로 생각된다. Song 등(2010)은 중국의 약용작물의 메탄올 추출물의 총 페놀 함량과 항산화 활성을 분석하여 항산화 활성과 총 페놀 함량 간의 높은 상관관계($r^2=0.90$)를 확인하였다. Kiselova 등(2006) 또한 불가리아의 약용 작물의 추출물에서 항산화 활성과 총 페놀 함량간의 높은 상관관계($r=0.92$)를 확인하였다. 병풀의 총 페놀 함량 또한 항산화 활성과 고도의 상관관계($r^2=0.90$)를 갖는 것으로 보고되었다(Zainol 등, 2003).

3. 병풀 두 품종의 추출 용매별 Triterpenoid 함량 비교

정식 후 104일에 수확한 두 품종을 이용하여 4종류의 용매에 따른 Triterpenoid의 추출 함량 및 효율을 확인하였다(Fig. 3). 냉수 추출물에서는 두 품종에서 모두 Triterpenoid가 검출되지 않았다. 열수 추출물에서는 ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’ 모두 Madecassoside와 Asiaticoside만이 검출되었다. Shin 등(2020) 또한 ‘굿병풀’을 이용하여 용매 추출물 별 주요 Triterpenoid 함량을 분석한 결과 냉수 추출물에서는 4가지 Triterpenoids가 검출되지 않았고, 열수 추출물에서는 Madecassoside와 Asiaticoside만이 검출되었다고 보고하였다. 물은 극성 용매로서 식물에서 검출되는 유기화합물을 효율적으로 용해시킬 수 없고(Tommasini 등, 2004; Ong 등, 2006), 병풀의 4가지 Triterpenoids는 극성이 낮아 물에 용해

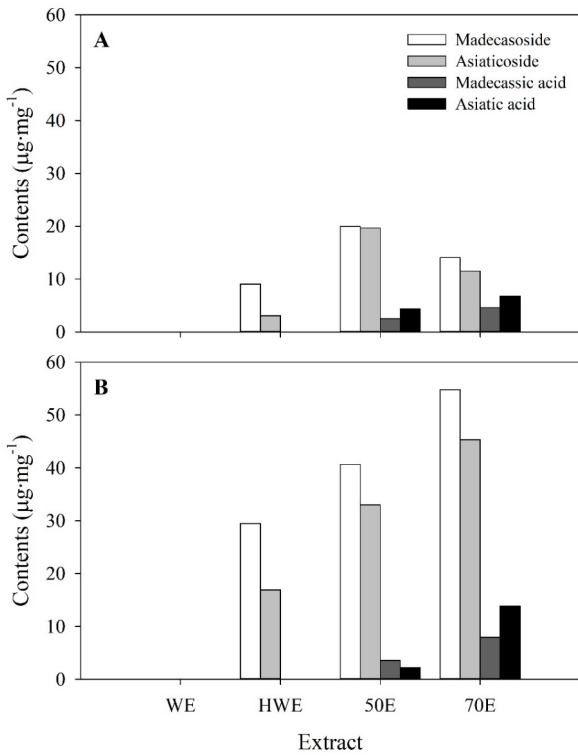


Fig. 3. HPLC analysis of extracts of ‘Giant tiger care’ (A) and ‘Good tiger care’ (B) harvested on July 16, 2020. WE, water extract; HWE, hot water extract; 50E, 50% EtOH extract; 70E, 70% EtOH extract.

되기 어렵다(Zhao 등, 2010). 열수는 상온의 물보다 극성이 낮고, Madecassoside와 Asiaticoside는 Madecassic acid와 Asiatic acid보다 입자의 크기가 작아 열수 추출물에서 검출된 것으로 생각된다(Kim 등, 2009).

50% 에탄올 추출물과 70% 에탄올 추출물에서는 4가지 Triterpenoid가 모두 검출되었다. Puttarak과 Panichayupakaranant(2013) 또한 에탄올 추출물에서 병풀의 Pentacyclic triterpenes 추출 효율이 가장 높았다고 보고하였다. 본 연구에서는 ‘자이언트 타이거 케어’는 50% 에탄올 추출물에서 Madecassoside와 Asiaticoside의 검출량이 가장 높았고, Madecassic acid와 Asiatic acid는 70% 에탄올 추출물에서 검출량이 가장 높았다. ‘굿병풀’에서는 4가지 Triterpenoids 모두 70% 에탄올 추출물에서 검출량이 가장 높았다. 따라서 Madecassic acid와 Asiatic acid의 추출 효율을 증진하기 위해서는 상대적으로 높은 농도의 에탄올을 용매로 하는 것이 효율적일 것으로 생각된다.

두 품종의 4가지 Triterpenoids 함량을 비교한 결과, ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’ 모두 Madecassic acid와 Asiatic acid보다 Madecassoside와 Asiaticoside가 월등히 많이 검출되었다. 따라서 두 품종 모두 선행 연구들의 보고와 동일하게

Triterpenoids 중 Madecassoside와 Asiaticoside가 주성분으로 생각된다(Zheng과 Qin, 2007).

‘자이언트 타이거 케어’에서 Triterpenoid 검출 효율이 높았던 50% 에탄올 추출물에서는 ‘굿병풀’이 ‘자이언트 타이거 케어’보다 Madecassoside와 Asiaticoside의 함량이 각각 2.0배, 1.7배 높았다. ‘굿병풀’에서 추출 효율이 높았던 70% 에탄올 추출물에서는 ‘굿병풀’이 ‘자이언트 타이거 케어’보다 Madecassoside와 Asiaticoside의 함량이 약 3.9배 높았다. ‘자이언트 타이거 케어’의 총 Triterpenoids 함량은 50% 에탄올 추출물과 70% 에탄올 추출물에서 각각 46.53, 37.01 µg·mg⁻¹ 이었고, ‘굿병풀’은 79.37, 121.86 µg·mg⁻¹이었다. 에탄올은 독성이 낮고 식품제조에도 이용가능한 용매이다(Puttarak과 Panichayupakaranant, 2013). 따라서 Triterpenoids 추출 효율을 증진시키기 위해 ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’ 모두 에탄올 추출법을 이용하며, ‘자이언트 타이거 케어’는 50% 에탄올을 용매로 이용하고 ‘굿병풀’은 70% 에탄올을 이용하는 것이 효과적일 것으로 생각된다.

정식 후 104일의 ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’의 3.3m² 당 개체수는 각각 120, 40 개체로 ‘자이언트 타이거 케어’의 생장 및 번식속도가 훨씬 높은 것으로 조사되었다(data not shown). 총 Triterpenoids 함량이 가장 높았던 추출물을 기준으로 하여 Triterpenoids 생산수율을 계산한 결과, ‘자이언트 타이거 케어’는 3.3m² 당 2.459mg[120 개체 × 생체중 0.436g × 총 Triterpenoids 0.047mg·g⁻¹(50E)]이었고, ‘굿병풀’은 1.103mg[40 개체 × 생체중 0.226g × 총 Triterpenoids 0.122mg·g⁻¹(70E)]으로, ‘자이언트 타이거 케어’가 2.2배 더 높았다. 따라서 단위면적 당 생산 가능한 총 Triterpenoids 함량이 많은 ‘자이언트 타이거 케어’를 재배하는 것이 경제적인 것으로 생각된다.

적 요

본 연구는 병풀(*Centella asiatica*) 두 품종(‘자이언트 타이거 케어’, ‘굿병풀’)의 생장 특성과 추출용매에 따른 항산화 활성 및 Triterpenoid 함량을 조사하기 위해 수행되었다. ‘자이언트 타이거 케어’와 ‘굿병풀’의 정식 후 생장 특성은 정식 41일 후 엽과 엽병의 길이 생장에서 ‘굿병풀’이 유의적으로 높았다. 하지만 이후 수확기(정식 104일 후)까지 생장속도는 유사하였다. 정식 후 104일에 수확한 ‘자이언트 타이거 케어’의 식물체 크기와 관련된 생장(엽면적, 엽병두께, 엽병 길이, 생체중)이 ‘굿병풀’보다 유의적으로 높았다. 냉수, 열수, 50% 에탄올, 70% 에탄올 추출물의 자유라디칼 소거능과 환원능으로 평가된 항산화 활성과 총 페놀 함량은 두 품종에서 모두 70%

에탄올 추출물에서 높았다. 추출 용매별 Triterpenoid 함량을 분석한 결과, 두 품종의 주요 Triterpenoid는 Madecassoside와 Asiaticoside로 확인되었다. 품종별 총 Triterpenoids 함량은 ‘자이언트 타이거 케어’의 50% 에탄올 추출물과 ‘굿병풀’의 70% 에탄올 추출물에서 가장 높았으며, ‘굿병풀’이 ‘자이언트 타이거 케어’보다 높았다. 하지만 정식 104일 후 수확량은 ‘자이언트 타이거 케어’가 ‘굿병풀’보다 3배 많아, 동일한 재배 면적(3.3m²)에서 생산 가능한 총 Triterpenoids 함량은 ‘자이언트 타이거 케어’가 2.459mg으로 ‘굿병풀’(1.103mg)보다 약 2.2배 높았다. 따라서 항산화 활성이 가장 높고 단위면적당 총 Triterpenoids 생산량이 높은 ‘자이언트 타이거 케어’를 재배하는 것이 경제적인 것으로 생각된다.

추가 주제어 : 마테카소사이드, 마테카식산, 아시아티코사이드, 아시아티칸

사 사

본 논문은 2021년 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ015285052021)의 지원에 의해 이루어진 것임.

Literature Cited

- Baek Y.W. 1997, Micropropagation of *Centella asiatica* (L.) Urban by *in vitro* cultures and production of triterpene glycosides. PhD Dissertation, Chonnam National Univ., Gwangju, Korea, pp 13-15.
- Belwal T., H.C. Andola, M.S. Atanassova, B. Joshi, R. Suyal, S. Thakur, A. Bisht, A. Jantwal, O.D. Bhatt, and R.S. Rawal 2019, Chapter 3.22-Gotu Kola (*Centella asiatica*). In SM Nabavi, AS Silva, eds, Nonvitamin and nonmineral and nutritional supplements, Academic Press, pp 265-275.
- Bonte F., M. Dumas, C. Chaudagne, and A. Meybeck 1994, Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen I synthesis. *Plant Med* 60:133-135. doi:10.1055/s-2006-959434
- Brinkhaus B., M. Lindner, D. Schuppan, and E.G. Hahn 2000, Review article: chemical, pharmacological and clonical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica*. *Phyto-medicine* 7:427-448. doi:10.1016/S0944-7113(00)80065-3
- Cho C.W., D.S. Choi, M.H. Cardone, C.W. Kim, A.J. Sinskey, and C. Rha 2006, Glioblastoma cell death induced by asiatic acid. *Cell Biol Toxicol* 22:393-408. doi:10.1007/s10565-006-0104-2
- Gbolahan B.W.j., A.I. Abiola, J. Kamaldin, M.A. Ahmad, and M.S. Atanassova 2016, Accession in *Centella asiatica*; current understanding and future knowledge. *J Pure Appl Microbiol* 10:2485-2494. doi:10.22207/JPAM.10.4.02
- Gohil K.J., J.A. Patel, and A.K. Gajjar 2010, Pharmacological review on *Centella asiatica*: a potential herbal cure-all. *Indian J Pharm Sci* 72:546-556. doi:10.4103/0250-474X.78519
- Goo Y.M., Y.S. Kil, S.M. Sin, D.Y. Lee, W.M. Jeong, K. Ko, K. Yang, Y.H. Kim, and S.W. Lee 2018, Analysis of antibacterial, anti-inflammatory, and skin-whitening effect of *Centella asiatica* (L.) Urban. *J Plant Biotechnol* 45:117-124. (in Korean) doi:10.5010/JPB.2018.45.2.117
- Hausen B.M. 1993, *Centella asiatica* (Indian pennywort), an effective therapeutic but a week sensitizer. *Contact Derm* 29:175-179. doi:10.1111/j.1600-0536.1993.tb03532.x
- Hokmalipour S., and M.H. Darbandi 2011, Effects of nitrogen fertilizer on chlorophyll content and other leaf indicate in three cultivars of maize. *World Appl Sci J* 15:1780-1785.
- Hong J.J., H.G. Seol, J.Y. Oh, E.H. Jeong, and Y.H. Chang 2021, Effective component contents and antioxidative activities of unripe apple by extraction methods. *Korean J Food Nutr* 34:174-180. (in Korean) doi:10.9799/ksfan.2021.34.2.174
- Kim W.J., J. Kim, B. Veriansyah, J.D. Kim, Y.W.j Lee, S.G. Oh, and R.R. Tjandrawinata 2009, Extraction of bioactive components from *Centella asiatica* using subcritical water. *J Supercrit Fluids* 48:211-216. doi:10.1016/j.supflu.2008.11.007
- Kiselova Y., D. Ivanova, T. Chervenkov, D. Gerova, B. Galunska, and T. Yankova 2006, Correlation between the *in vitro* antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Res* 20:961-965. doi:10.1002/ptr.1985
- Kwon M.C., J.G. Han, J.H. Ha, S.H. Oh, L. Jin, H.S. Jeong, G.P. Choi, B. Hwang, and H.Y. Lee 2008, Immuno-regulatory effect on *Centella asiatica* L. Urban extraction solvent associated with ultrasonification process. *Korean J Medicinal Crop Sci* 16:294-300. (in Korean)
- Lee S.H., S.H. Lee, S.K. Kim, E.Y. Hong, S.H. Chun, I.C. Son, and D.I. Kim 2014, Effect of harvest time on the several phenolic compounds and fruit quality of grape cultivars. *Korean J Plant Res* 27:119-124. (in Korean) doi:10.7732/kjpr.2014.27.2.119
- Liu M., Y. Dai, X. Yao, Y. Li, Y. Luo, Y. Xia, and Z. Gong 2008, Anti-rheumatoid arthritic effect of madecassoside on type II collagen-induced arthritis in mice. *Int Immunopharmacol* 8:1561-1566. doi:10.1016/j.intimp.2008.06.011
- Madeira A.C., A. Ferreira, A. de Varennes, and M.I. Vieira 2003, SPAD meter versus tristimulus colorimeter to estimate chlorophyll content and leaf color in sweet papper. *Commun Soil Sci Plant Anal* 34:2461-2470. doi:10.1081/CSS-120024779
- Marinova D., F. Ribarova, and M. Atanassova 2005, Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J Univ Chem Technol Metall* 40:255-260.
- Mook-Jung I, J.E. Shin, S.H. Yun, K. Hur, J.Y. Koh, H.K. Park,

- S.S. Jew, and M.W. Jung 1999, Protective effects of asiaticoside derivatives against beta-amyloid neurotoxicity. *J Neurosci Res* 58:417-425. doi:10.1022/(SICI)1097-4547(19991101)58:3<417::AID-JNR7>3.0.CO;2-G
- Ong E.S., J.S.H. Cheong, and D. Goh 2006, Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. *J Chromatogr A* 1112:92-102. doi:10.1016/j.chroma.2005.12.052
- Prasad A., S.S. Dhawan, A.K. Mathur, O. Prakash, M.M. Gupta, R.K. Verma, R.K. Lal, and A. Mathur 2014, Morphological, chemical and molecular characterization of *Centella asiatica* germplasm for commercial cultivation in the Indo-Gangetic plains. *Nat Product Commun* 9:779-784. doi:10.1177/1934578X1400900612
- Puttarak P., and P. Panichayupakaranant 2013, A new method for preparing pentacyclic triterpene rich. *Natural Product Research* 27:684-686. doi:10.1080/14786419.2012.686912
- Ryu B.S., H.E. Choi, W.S. Choi, N.H. Lee, and U.K. Choi 2017, Antioxidant activities of extracts from different parts of the pine tree. *Korean J Food Nutr* 30:1133-1139. (in Korean) doi:10.9799/ksfan.2017.30.6.1133
- Shin H.Y., H. Kim, E.J. Jeong, J.E. Kim, K.H. Lee, Y.J. Bae, and K.W. Yu 2020, Bioactive compounds, anti-oxidant activities, and anti-inflammatory activities of solvent extracts from *Centella asiatica* cultured in Chungju. *Korean J Food Nutr* 33:692-701. (in Korean) doi:10.9799/ksfan.2020.33.6.692
- Shukla A., A.M. Rasik, and B.N. Dhawan 1999, Asiaticoside-induced elevation of antioxidant levels in healing wounds. *Phytother Res* 13:50-54. doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199902)13:1<50::AID-PTR368>3.0.CO;2-V
- Song F.L., R.Y. Gan, Y. Zhang, Q. Xiao, L. Kuang, and H.B. Li 2010, Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. *Int J Mol Sci* 11:2362-2372. doi:10.3390/ijms11062362
- Stanković M.S. 2011, Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci* 33:63-72.
- Suh J.T., K.D. Kim, H.B. Sohn, S.J. Kim, S.Y. Hong, and Y.H. Kim 2020, Comparative study of antioxidant activities at different cultivation area and harvest date of the Gomchwi 'Sammany' variety. *Korean J Plant Res* 33:245-254. (in Korean) doi:10.7732/kjpr.2020.33.4.245
- Tommasini S., D. Raneri, R. Ficarra, M.L. Calabro, R. Stancanelli, P. Ficarra 2004, Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with β -cyclodextrin. *J Pharm Biomed Anal* 35:379-387. doi:10.1016/S0731-7085(03)00647-2
- Valadabadi A.S., and A.H. Faranhani 2010, Effects of planting density and pattern on physiological growth indices in maize (*Zea mays* L.) under nitrogenous fertilizer application. *J Agric Ext Rural Dev* 2:40-47. doi:10.5897/JAERD.9000035
- Yun K.J., J.Y. Kim, J.B. Kim, K.W. Lee, S.Y. Jeong, H.J. Park, H.J. Jung, Y.W. Cho, K. Yun, and K.T. Lee 2008, Inhibition of LPS-induced NO and PGE 2 production by asiatic acid via NF- κ B inactivation in RAW 264.7 macrophages: possible involvement of the IKK and MAPK pathways. *Int Immunopharmacol* 8:431-441. doi:10.1016/j.intimp.2007.11.003
- Zainol M.K., A. Abd-Hamid, S. Yusof, and R. Muse 2003, Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) Urban. *Food Chem* 81:575-581. doi:10.1016/S0308-8146(02)00498-3
- Zhao Y.L., H. Wei, H.H. Zheng, Z. Guo, Y.S. Wei, D.H. Zheng, and J. Zhang 2010, Enhancing water-solubility of poorly soluble drug, asiatic acid with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Dig J Nanomater Biostruct* 5:419-425.
- Zheng C.J. and L.P. Qin 2007, Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities. *J Chinese Integr Med* 5:348-351. doi:10.3736/jcim20070324
- Zhimin Q, C. Xinxin, H. Jingbo, L. Qinmei, Y. Qinlei, Z. Junfeng, and D. Xuming 2017, Asiatic acid enhances Nrf2 signaling to protect HepG2 cells from oxidative damage through Akt and ERK activation. *Biomed Pharmacother* 88:252-259. doi:10.1016/j.biopha.2017.01.067