

히비스커스 추출물의 항산화 효과

신동화^{1,*} · 문지선^{2,†}

¹건국대학교 일반대학원 생물공학과, 박사

²중원대학교 뷰티메디컬학과, 교수

(2024년 3월 25일 접수: 2024년 4월 19일 수정: 2024년 4월 23일 채택)

Antioxidant Effect of Hibiscus Extract

Dong-Hwa Shin^{1,*} · Ji-Sun Moon^{2,†}

¹Department of Biotechnology, Graduate School of Konkuk University

²Professor Department of Beauty Medical, Jungwon University

(Received March 25, 2024; Revised April 19, 2024; Accepted April 23, 2024)

요약 : COVID-19로 인하여 현대인들은 유해환경 및 다양한 자극에 따른 불안 심리가 높아지게 되면서 천연물질을 선호하게 되었다. 따라서 전통의학에서 무독성 식물로 인정한 히비스커스를 천연화장품 소재로서의 적절성을 알아보고자 히비스커스 추출물의 항산화 효과(폴리페놀, 플라보노이드, DPPH, ABTS)를 연구하여, 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 히비스커스의 총 폴리페놀은 HSE 100%일 때 433 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타났다. 둘째, 총 플라보노이드는 HSE 100%에서 488 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 항산화 능력이 높게 나타났다. 셋째, DPPH radical 소거능은 원액 HES 100%에서 94.04%, 희석액 HSE 20%에서 89.54%로 나타났다. 넷째, ABTS radical 소거능은 HSE 원액 100%에서 98.95%, 희석액 HSE 20%에서 94.84%로 각각 90% 이상의 높은 소거능을 나타냈다. 이러한 연구 결과 히비스커스 추출물은 향후 화장품 천연소재의 항산화 원료로 사용이 가능하다고 사료된다.

주제어 : 히비스커스, 폴리페놀, 플라보노이드, DPPH, ABTS

Abstract : Due to COVID-19, modern people have come to prefer natural substances as anxiety due to harmful environments and various stimuli has increased. Therefore, in order to find out the appropriateness of hibiscus, which is recognized as a non-toxic plant in traditional medicine, as a natural cosmetic material, the antioxidant effects (polyphenol, flavonoid, DPPH, ABTS) of hibiscus extract were studied, and the following results were obtained.

First, the total polyphenol of hibiscus was found to be 433 $\mu\text{g}/\text{mL}$ when the HSE was 100%. Second, the total flavonoids showed high antioxidant capacity at 488 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in 100% of the HSE. Third, the DPPH radical scavenging ability was found to be 94.04% in the undiluted HES and 89.54% in the

[†]Corresponding author
(E-mail: mjs@jwu.ac.kr)

diluted HSE 20%. Fourth, the ABTS radical scavenging ability was 98.95% in 100% of the HSE stock solution and 94.84% in the diluted HSE 20%, respectively, showing a high scavenging ability of more than 90%. As a result of these studies, it is thought that the hibiscus extract can be used as an antioxidant raw material for natural cosmetics in the future.

Keywords : Hibiscus, Polyphenols, Flavonoids, DPPH, ABTS

1. 서론

COVID-19로 인하여 현대인들은 유해환경 및 다양한 자극에 따른 불안 심리가 높아지게 되었다. 따라서 화장품의 원료 또한 트리블과 부작용이 없으며 친환경적이고 자연지향적인 천연물질이 주목받게 되면서[1] 천연물질을 활용한 천연 화장품, 한방화장품 등 다양한 제품들이 출시되는 시기가 도래하였다[2].

천연물질은 오랜 기간 생약(生藥) 및 기능성 식품과 화장품 원료에서 BT(Bio Technology) 기술과 함께 괄목할 만한 성장을 하고 있으며[3] 화학물질에 비해 자극과 부작용이 적어 안정적이다[4]. 그러므로 전통의학에서 1년간 인체에 꾸준히 투여하여도 안전하다고 발표된 무독성 식물인 [5] 히비스커스(*Hibiscus sabdariffa* L.)를 식품분야에서는 음료와 쌀쿠키[6,7] 그리고 피로예방 및 회복에 따른 효과[8] 등과 미생물에 대한 항균능력이 뛰어났다는 것이 확인되었다[9]. 이처럼 식품분야에서는 다양한 방법으로 활발한 연구가 진행되었으나 화장품 분야의 연구는 미비한 상태이므로 히비스커스에 대해서 알아보하고자 한다.

히비스커스(*Hibiscus sabdariffa* L.)는 이집트의 아름다움에 신인 'HIBIS(히비스)'와 그리스어의 다향하다는 의미의 'ISCO(이스코)'의 합성어가 어원이다[8].

아욱과(Malvaceae)로 분류되는 히비스커스는 속씨식물이며 가지는 많이 갈라지고 잎은 광택이 있는 진녹색이다[10]. 넓은 깔때기 모양의 꽃잎은 5장의 붉은 색이고 수술은 합쳐져서 꽃밥이 끝에 달린다[11].

원산지는 불분명하지만 주로 인도와 사우디아라비아로 추정하며[12] 현재는 열대 아시아와 중서부 아프리카 동남아시아 등에서 재배되고 있다[13].

히비스커스꽃의 주요 성분은 플라보노이드, 유기산, 안토시아닌[14]이며, 유효성분으로는 아스

코르브산, 칼슘, 철, 마그네슘, 칼륨 등이 함유되어 있다[8].

현재 히비스커스는 추출물로 사용하며 구연산, 사과산 등이 함유되어 있고, 안토시아닌계의 색소인 적색을 띠는데 이는 음료, 디저트, 간식 등의 식품 재료에 전반적으로 응용되고 있다[15]. 따라서 다양한 분야의 연구가 진행되고 있는 히비스커스 추출물이 기능성 화장품의 천연 화장품 소재로서의 적절성을 연구하고자 한다.

2. 연구방법

2.1. 재료 및 사용시약

본 연구에 사용한 이집트산 히비스커스(*Hibiscus sabdariffa* L.)는 2019년 1월에 100 g을 구입하였다. 항산화, 플라보노이드, 폴리페놀 함량 측정에 사용된 ethanol은 J.T.Baker(Philipsburg, USA)의 특급시약을 사용하였다. 그리고 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), potassium persulfate, diethylen glycol, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid); ABTS, BHA (Butylated hydroxyanisole), NaOH, Na₂CO₃ folin & ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, naringin은 모두 Sigma(St. Louis, MO, USA)사의 특급시약을 사용하였으며, 위 시약은 (주)동원과학으로부터 구매하였다.

2.2. 추출물

히비스커스를 깨끗이 세척한 후 정제수 5 kg과 히비스커스 100 g을 넣은 후 85°C에서 4시간 동안 3회 반복하여 추출하였다. 히비스커스 100 g을 70% 에탄올 1,00 mL을 가한 후 실온에서 12시간 동안 3회 반복하여 추출하였다. 시료의 감압 추출한 후 농축 및 여과 과정을 거쳐 성분들의 파괴를 최소화하기 위해 저온추출기계(BBC, 2019)를 보유한 B사에 의뢰하였다. 항산화 실험

을 하기 위한 최종 용량은 희석된 시료 50 mL로 진행하였고 열과 빛의 손실을 최소화하기 위해서 포일과 아이스박스를 사용하였다.

2.3. 사용기기

본 연구에 사용된 기기로는 Oil-free Vacuum Pump (DHCL group, Taiwan), Heating Mantles (MTOPOS, Korea), micro-ELISA(BIO-TEK, USA), rotary evaporator N-1000 (EYELA, Japan)등을 이용하였다.

2.4. 총 폴리페놀 함량 측정

Cheung et. al(2003)의 측정법을 활용하여 페놀고리와 반응하는 folin으로 초록색의 발색현상을 이용하는 방법이다[16].

증류수 50 mL에 Na₂CO₃ 시약 1 g을 녹여 보관하였다. 시약은 증류수와 1:1로 혼합하여 사용하였다. 시료는 96 well에 각각 50 μ L씩 분주하였다. 그리고 folin 시약 50%를 50 μ L씩 첨가하여 혼합한 후 Na₂CO₃ 용액을 100 μ L씩 분주하여 반응 시켰다. 측정은 micro-ELISA로 하였으며, 파장은 740 nm로 고정하여 측정하였다. 시료의 활성 비교와 실험의 오류는 positive control인 gallic acid를 이용하여 체크하였고, 음성대조군은 증류수를 이용하였다.

2.5. 총 플라보노이드 함량 측정

알칼리 시약에 반응시켜 황색을 띠게 되는 방법으로 김경옥 외(2014)의 측정법을 활용하였다 [17]. NaOH 2 g을 증류수 50 mL에 녹여서 1N NaOH를 제조하였다. 시료를 96 well에 100 μ L씩 분주하고 Diethylen glycol을 50 μ L씩 분주하고 잘 혼합한 후 1N NaOH를 100 μ L씩 추가로 분주하여 반응시켰다. 측정은 micro-ELISA로 하였으며, 파장은 420 nm로 고정하여 측정하였다. 시료의 활성 비교와 실험의 오류는 positive control인 Naringin을 이용하여 체크하였고 음성대조군은 증류수를 이용하였다.

2.6. DPPH radical 소거능

Blois(1958)의 방법을 일부분 수정하여 활용하였다[18].

Ethanol 95% 50 mL에 DPPH 시약 3.5 mg을 잘 녹여서 포일로 감싼 후 아이스박스에 보관하

였다. 시료는 96 well에 100 μ L씩 분주하고 DPPH 시약을 추가로 100 μ L씩 분주하여 잘 혼합한 후 빛의 영향을 최소화 하도록 포일로 감싸 상온에서 30분간 반응 시킨다. 측정은 micro-ELISA로 하였으며, 파장은 517 nm로 고정하여 측정하였다. 시료의 활성 비교와 실험의 오류는 positive control인 BHA를 이용하여 체크하였고, 음성대조군은 증류수를 이용하였다. DPPH radical 소거능은 아래 식을 활용하여 산출하였다.

Electron donation ability(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{추출물첨가구의흡광도}}{\text{무첨가구의흡광도}} \right) \times 100$$

2.7. ABTS radical 소거능

Roerta et al.(1999)의 방법으로 실시하였다[19].

증류수 50 mL에 ABTS 시약 0.142 g을 잘 녹이고 potassium persulfate 0.033 g을 녹여둔 ABTS 시약과 혼합한 후 포일로 빛을 차단하여 상온에 두었다가 12시간 이후 흡광도로 측정하였다. 흡광도 측정 값1을 확인하고 실험을 진행하였다. 시료를 96 well에 100 μ L씩 분주하고 ABTS 시약도 100 μ L씩 추가로 분주하여 혼합하였다. 포일을 이용하여 빛의 영향을 최소화하고 상온에 30분 반응시켰다. 측정은 micro-ELISA로 하였으며, 파장은 740 nm로 고정하여 측정하였다. 시료의 활성 비교와 실험의 오류는 positive control인 BHA를 이용하여 체크하였고, 음성대조군은 증류수를 이용하였다. ABTS radical 소거능은 아래 식을 활용하여 산출하였다.

Electron donation ability(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{추출물첨가구의흡광도}}{\text{무첨가구의흡광도}} \right) \times 100$$

2.8. 통계처리

실험결과는 3회 반복하였으며, 데이터 통계분석은 평균값±표준편차(mean±standard deviation, SD)로 나타내었다. 이를 통한 **p*-value 값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 총 폴리페놀 함량

Cheung et. al(2003)의 방법[16]으로 얻은 히비스커스 추출물(*Hibiscus sabdariffa* extract : HSE)의 총 폴리페놀 함량 실험결과, HSE 100% 원액에서는 433 $\mu\text{g}/\text{mL}$, HSE희석액은 20%에서는 272 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10%는 186 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 5%는 122 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2%는 52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타났다. 이와 같은 결과는 황서정(2015)의 연구에 의하면 아스코르브산의 함량이 높다고 알려진 브로콜리와 붉은 고추의 함량과 비슷한 84.44 mg으로 나타났으며 [13], 안토시아닌의 연구는 붉은 색소뿐만 아니라 항산화 작용도 우수하였고[20], 유수민(2019)의 연구에 따르면 히비스커스 차의 폴리페놀 함량은 83.25 mg/TAE/g이며, ABTS radical 소거능도 87.07%로 높은 결과를 보였다[6].

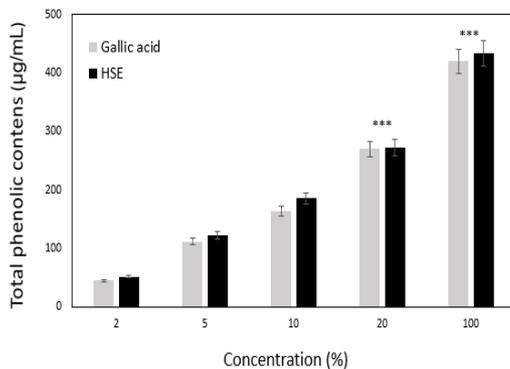


Fig. 1. Total amount of polyphenol in *Hibiscus sabdariffa* extract. HSE: *Hibiscus sabdariffa* extract, Positive control group: Gallic acid, Values represent the $M \pm S.D.$ of three independent experiments ($***p < 0.001$).

3.2. 총 플라보노이드 함량

실험결과, 히비스커스 추출물의 총 플라보노이드 함량은 HSE 100% 원액에서는 488 $\mu\text{g}/\text{mL}$, HSE 희석액은 20%에서는 458 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10%는 315 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 5%는 181 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2%는 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타났다. 이와 같이 다양한 분야에서 히비스커스에 대한 연구가 진행되었으나[4, 5, 6], 화장품 원료로서는 연구가 미비한 상태이므로 이번 연구를 통하여 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드

함량을 측정한 결과 선행논문 보다 높은 수치를 나타냈다.

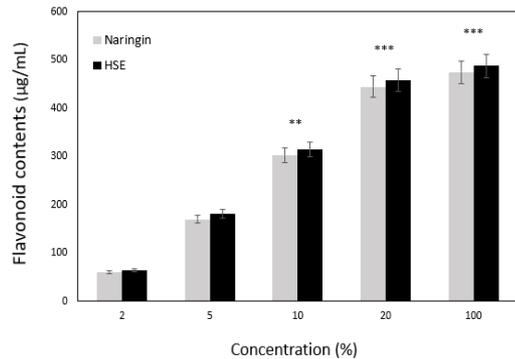


Fig. 2. Total amount of flavonoid in *Hibiscus sabdariffa* extract. HSE: *Hibiscus sabdariffa* extract, Positive control group: Naringin, Values represent the $M \pm S.D.$ of three independent experiments ($**p < 0.01$, $***p < 0.001$).

4.3. DPPH radical 소거능

실험결과, 히비스커스 추출물에 따른 DPPH radical 소거능은 HSE 100% 원액에서는 94.04%, HSE 희석액은 20%에서는 89.54%, 10%는 79.43%, 5%는 69.29%, 2%는 52.67%로 나타났다. 특히 HSE 100% 원액에서는 90% 이상의 소거능을 보였다. 대조군인 BHA(Butylated hydroxyanisole)는 농도 0.1 mg/mL에서 80%의 소거능을 보였다. 따라서 히비스커스 추출물이 합성 항산화제보다 항산화 활성도가 높은 것으로 나타났다. DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능도 합성 항산화제인 BHA보다 높은 소거능을 확인하였다. 그러나 히비스커스는 식물로서 성장 환경, 계절, 지역 등에 따라 성분 함량의 편차는 생길 수 있다고 사료된다.

4.4. ABTS radical 소거능

ABTS와 DPPH는 모두 안정적인 자유 라디칼로, 라디칼 활성이 있는 상태에서는 ABTS는 청록색, DPPH는 보라색을 나타내 항산화 물질에 의해 라디칼 활성이 소거된 경우 특유의 색과 흡광도가 사라지는 원리로 ABTS와 DPPH는 유사한 메커니즘으로 반응하기 때문에 높은 상관관계를 나타내지만 시약의 분자 구조적 특징, 항산화 물질 구조와 용해도 등 다른 수치를 나타내기도

한다[21, 22, 23]. 실험결과 히비스커스 추출물에 따른 ABTS radical 소거능은 HSE 100% 원액에서는 98.95%, HSE 희석액은 20%에서는 94.84%, 10%는 78.44%, 5%는 68.11%, 2%는 50.40%로 나타났다. 특히 HSE 100% 원액은 98% 이상의 소거능을 보였다. 대조군 BHA의 최고 농도인 0.1 mg/mL에서는 95%의 소거능을 보여 히비스커스 추출물이 합성 항산화제보다 항산화 활성도가 높은 것으로 사료된다.

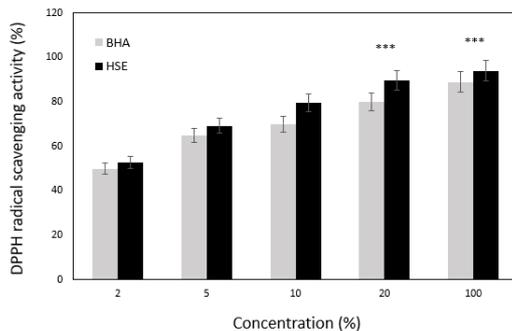


Fig. 3. DPPH solutions were treated with varying concentrations of *Hibiscus sabdariffa* extract. HSE: *Hibiscus sabdariffa* extract, Positive control group: BHA. Values represent the $M \pm S.D.$ of three independent experiments (** $p < 0.001$).

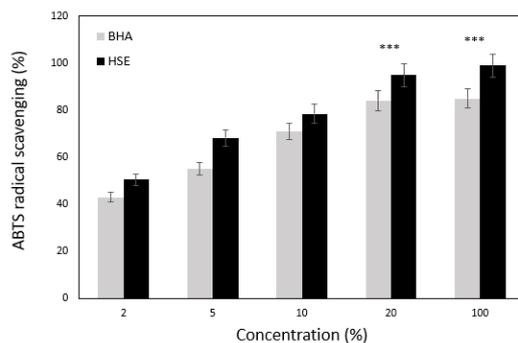


Fig. 4. ABTS solutions were treated with varying concentrations of *Hibiscus sabdariffa* extract. HSE: *Hibiscus sabdariffa* extract, Positive control group: BHA. Values represent the $M \pm S.D.$ of three independent experiments (** $p < 0.001$).

4. 결론

본 연구는 히비스커스 추출물이 천연화장품의 식물성 소재로 적합함에 대한 항산화활성 연구를 진행하여 총 폴리페놀, 플라보노이드, DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능을 측정하였고, 결과는 다음과 같다.

1. 히비스커스의 총 폴리페놀은 각각 HSE 100%일 때 433 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타났다.
2. 총 플라보노이드는 HSE 100%에서 488 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 항산화 능력이 높게 나타났다.
3. DPPH radical 소거능은 원액 HSE 100%에서 94.04%, 희석액 HSE 20%에서 89.54%로 대조군 BHA의 활성보다 항산화능이 높게 나타났다.
4. ABTS radical 소거능은 HSE 원액 100%에서 98.85%, 희석액 HSE 20%에서 94.84%로 각각 90% 이상의 높은 소거능을 나타냈다. 이는 대조군 BHA의 소거능 보다 높다.

이러한 연구 결과로 현재 다양한 분야에서 활용하고 있는 히비스커스 추출물은 향후 화장품 천연소재의 항산화 원료로 사용이 가능하다고 사료된다.

References

1. J. H. Joo, "The Effects of Elderly People's Perception of Wellbeing Behavior and Wellbeing Dietary Consumer Attitudes on Subjective Quality of Life and Life Satisfaction", Doctoral dissertation, Daegu University, (2015).
2. S. H. Park, "A Study on the Effect of Hair Toner on Damaged Hair Using Raspberry Extract", Doctoral dissertation, Incheon National University, (2018).
3. M. H. Park & S. C. Lee & K. H. Shin, "Development and use of functional materials using natural products", Korea Institute of Science and Technology Information, Seoul, (2004).

4. S. H. Kim & D. H. Park, "Relative comparison of the efficacy of natural hair essence prepared using oriental medicine raw material extract", *Journal of the Korean Society of Aesthetics*, Vol.17 No.2, pp.399-406, (2011).
5. Badreldin H & Ali Naser & Al Wabel and Gerald, "Phytochemical, Pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L. : A review", *Phytotherapy research*, Vol.19 No.5, pp.369-375, (2005).
6. S. M. Yoo, "A study on the Effect of Inner Beauty Food of Commercial Teas", A master's thesis, Kyunggi University, (2019).
7. J. O. Lee & H. J. Chung, "Quality Characteristics and Antioxidant Properties of Rice Cookies Amended with Hibiscus Powder", *Journal of the Korean Society of Dietary Culture*, Vol.33 No.5, pp.451-457, (2018).
8. S. H. Choi, "Volatile Aroma Components of Hibiscus Herb tea", *Journal of the Korean Tea Society*, Vol.14 No.1, pp.476-485, (2008).
9. J. H. Lee, "Studies on Antimicrobial Activities of Hibiscus extract against Oral Microorganisms and Bioefficacy Evaluation", A master's thesis, Hoseo University, (2017).
10. E. A. Kim, "The functional characteristics of Hibiscus sabdariffa L. and Punica granatum L. as ingredients for beverage", Doctoral dissertation, Dankook University, (2017).
11. L. S. Cho, "Natural Dyeing of Fabrics with Hibiscus syriacus L. and Hibiscus sabdariffa L. Extract", A master's thesis, Gyeongsang National University, (2015).
12. A. Ismail & E. H. K. Ikram and H. S. M. Nazri, "Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) seeds nutritional composition protein quality and health benefits", *Food*, Vol.2 No.1, pp.1-16, (2008).
13. S. J. Hwang, "Processing Optimization and Quality Characteristics of Low-Fat Yogurt Prepared with Roselle", A master's thesis, Sookmyung Women's University, (2015).
14. Eggenesperger, H. & Wilker, M, "Hibiscus-Extrakt-Ein haut vertra glicher wirkst off koplex aus AHA'a und polysacchariden", *Parfumerie und Kosmetik*, Vol.9 pp.540-543, (1996).
15. A. A. Abou-Arab & F. M. Abu-Salem and E. A. Abou-Arab, "Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (hibiscus subdariffa)", *Journal of American Science*, Vol.7 No.7, pp.445-456, (2011).
16. L. M. Cheung & P. C. K. Cheung and V. E. C. Ooi, "Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts," *Food Chemistry*, Vol.81 No.2. pp. 249-255, (2003).
17. K. O. Kim & Y. N. Liu & L. N. Yoon and H. J. Park, "Comparison of Quality Characteristics and Antioxidative Activities of Cookies Containing Blueberry Powder and Different Types of Egg Yolk," *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.43 No. 7, pp. 999-1008, (2014).
18. M. S. Blois, "Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical," *Nature*, Vol.181 No.4617, pp. 1199-1200, (1958).
19. R. Cazzola & B. cestaro & G. cervato, "Studies on the antioxidant activity of milk caseins," *International Journal of food Sciences and Nutrition*, Vol.50 No.4, pp. 291-296, (1999).
20. P. J. Tsai & J. McIntosh & P. Pearce & B. Camden and B. R. Jordan, "Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) extract", *Food Research International*, Vol.35 No.4, pp.351-356, (2002).
21. Blois MS. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*, Vol.181 No.4617, pp.1199-1200, (1958).
22. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, RiceEvans C. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free*

- Radical Biology and Medicine*, Vol.26, No.10, pp.1231-1237, (1999).
23. Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK. "Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods", *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol.24, No.7, pp. 1043-1048, (2011).