

해당화(*Rosa rugosa* Thunb.) 부위별 열수추출물의 항산화 활성 분석¹

김 지 우² · 엄 민² · 이 재 원^{2,†}

Antioxidant Activities of Hot Water Extracts from Different Parts of *Rugosa rose* (*Rosa rugosa* Thunb.)¹

Ji-Woo Kim² · Min Um² · Jae-Won Lee^{2,†}

요 약

본 연구에서는 해당화 부위별 열수추출물에 대한 항산화 활성을 분석하였다. 해당화의 부위별 추출물의 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드 함량은 잎에서 가장 높았으며, 각각 107.29, 24.28 mg/g로 나타났다. DPPH와 ABTS 라디칼 소거능은 꽃, 잎, 씨, 열매, 과육 추출물 순으로 활성이 높았으며, 꽃 추출물의 DPPH, ABTS 라디칼 소거능은 각각 IC₅₀ = 0.87, 0.27 mg/ml로 나타났다. 항산화 활성이 가장 높았던 꽃과 잎 추출물에서는 gallic acid가 각각 4.51, 0.97 mg/g로 다른 부위별 열수추출물에서보다 높았다. 해당화 부위별 열수추출물을 분획한 결과(A-F), 꽃 추출물의 C 분획물에서 높은 항산화 활성을 확인하였다. 이것은 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드 함량(3305.43, 878.42 mg/g)에 의한 것이며, *p*-value < 0.001에서 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드의 함량이 증가할수록 라디칼 소거능이 증가하는 상관관계 결과와 일치하였다. 따라서 해당화 열수추출물은 식품, 화장품, 의약품 산업 등에서 천연 항산화제로 사용가능할 것이다.

ABSTRACT

In this study, the antioxidant activities of hot water extracts of *Rugosa rose* (*Rosa rugosa* Thunb.) were evaluated. Total phenolic compounds (TPC) and total flavonoid compounds (TFC) were the highest in the leaf extracts at 107.29 mg/g and 24.28 mg/g, respectively. The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) radical scavenging activity was in the following order: flower extract > leaf extract > seed extract > fruit extract. The IC₅₀ values for DPPH and ABTS of the flower extract were 0.87 mg/ml and 0.27 mg/ml, respectively. The amount of gallic acid was higher in the flower (4.51 mg/g) and leaf extracts (0.97 mg/g) than in the other extracts.

Among the fraction (A-F) of each extract, antioxidant activity was the highest in the C fraction of flower extract.

¹ Date Received September 25, 2017, Date Accepted December 22, 2017

² 전남대학교 농업생명과학대학 산림자원학부. Division of Forest Resources, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju 61186, Republic of Korea

[†] 교신저자(Corresponding author): 이재원(e-mail: ljw43376@chonnam.ac.kr, ORCID: 0000-0003-2528-1905)

It is due to high TPC (3305.43 mg/g) and TFC (878.42 mg/g). Statistical analysis revealed a strong correlation between TFC (or TPC) and radical scavenging activity at p -value < 0.001. Collectively, these results suggest that the hot water extracts of rugosa rose have potential antioxidant effects, and can be used in food, cosmetics, and the pharmaceutical industries.

Keywords : Rugosa rose (*Rosa rugosa* Thunb.), antioxidant, total phenolic compounds, total flavonoid compounds

1. 서 론

생명체는 호흡을 통해 에너지를 얻는 과정에서 활성산소를 발생시킨다. 활성산소는 외부에서 침입한 세균을 산화시켜 살균작용을 하고, 세포사이의 신호를 전달하는 역할을 한다. 하지만 과량의 활성산소는 인체 내의 세포, 지질, DNA 및 효소에 산화적 손상을 일으켜 치매나 각종 질병의 원인이 된다(Kumar 등, 2017). 인체는 활성산소를 제거할 수 있는 예방체계가 존재하지만 현대인들은 스트레스와 식습관 변화, 화학물질의 이용으로 인체가 방어할 수 없는 과량의 활성산소가 체내에 생성되어 문제가 된다(Devasagayam 등, 2004). 과량의 활성산소는 식품섭취를 통해 제거할 수 있으며, 페놀 화합물, 비타민, 테르페노이드, 카로티노이드 등이 그 역할을 한다(Hossain 등, 2007).

항산화제는 크게 천연 항산화제와 합성 항산화제로 구분할 수 있다. 일반적으로 천연 항산화제는 추출물이나 농축물의 형태로 단일 물질인 합성 항산화제와 비교하여 낮은 활성을 나타낸다. 하지만 인체의 흡수량이 높아 합성 항산화제와 비교하여 효율적 이용이 가능하다(Lee와 Shin, 2009). 대표적인 합성 항산화제로는 butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA)가 있으며, 이것은 주로 식품 첨가물로 이용되고 있다(Suh와 Choi, 2010). BHT와 BHA는 저렴한 가격으로 널리 사용되고 있지만 과량 이용시 암을 촉진시키기 때문에 식품 첨가물 수준에서 사용을 권장하고 있다(Williams 등, 1999). 따라서 건강기능식품의 역할을 하면서 안전성이 보장된 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있다.

해당화(*Rosa rugosa* Thunb.)는 염도가 높고 바람이 많이 부는 해안가에서 자생하는 식물로 척박한

환경에 대해 저항성을 가진다. 전통적으로 해당화 뿌리는 당뇨병 치료에 이용되었으며, 최근 연구결과 해당화 뿌리에서 항당뇨 활성을 보이는 triterpenoid saponin이 보고되었다(Thao 등, 2014). Methanol을 이용한 해당화 추출 연구에서는 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능이 다른 염생식물(통통마디, 깻속 등)과 비교하여 높다고 보고하였다(Lee 등, 2004).

현재까지 장미과에 속하는 해당화는 주로 관상용 식물로 알려져 있으며, 상업적으로는 오일과 차의 형태로 소비되고 있다. 해당화 연구에 있어 가장 활발하게 진행되고 있는 뿌리 추출물은 항당뇨에 높은 효과를 보이지만 뿌리를 이용할 시 일회성 작물로 소비되어 지속적인 활용이 어렵다. 따라서 본 연구에서는 작물의 활용성을 증가시키기 위해 지속적으로 소비할 수 있는 해당화 부위(꽃, 잎, 열매)를 이용하여 항산화 활성을 탐색하였으며, 상업적으로 이용되는 해당화 오일 추출과정에서 생산되는 액상산물의 활용 가능성을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료 및 추출물의 제조

해당화(*Rosa rugosa* Thunb.)는 전남대학교 농장(35°10'25.5"N 126°54'00.3"E)에서 2016년 7월에 채취하였다. 꽃, 잎, 열매, 과육, 씨로 분리하여 4℃에서 냉장보관 후 실험에 사용하였다. 열매는 꼭지를 제거한 후 보관하였으며, 과육은 열매를 4등분으로 절단하여 씨를 제거한 후 실험에 사용하였다.

추출 전에 실온에서 각각의 시료 300 g을 증류수 1 l에 침지하여 48시간 동안 유지하였다. 부피가 큰

있는 150 g/l로 48시간 침지시킨 후 실험에 사용하였다. 추출은 cleverger-type 장치로 상압에서 냉각수 순환장치를 이용하여 3회 이상 반복하였다. Heating mantle (MS-DM606, mtops, Seoul, Korea)에서 6시간 동안 열을 가한 후 오일을 추출하고 남은 액상을 열수추출물로 명명하였다. 감압여과기를 이용하여 고체 시료와 액상산물을 분리하였으며, 분리된 액상은 동결건조 후 실험 전까지 분말 상태로 보관하였으며 물에 희석한 후 분석에 사용하였다.

2.2. 총 페놀성 화합물(Total phenolic compounds: TPC) 및 총 플라보노이드(Total flavonoid compounds: TFC) 측정

총 페놀성 화합물(TPC)을 측정하기 위하여 Folin-Denis 법을 사용하였다(Singleton 등, 1999). 각각의 추출물 0.2 ml에 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 1 ml를 혼합한 후 7.5% Na₂CO₃ 0.8 ml를 첨가하였다. 실온에서 차광상태로 2시간 동안 방치한 후 UV-vis spectrophotometer (JP/UV1800, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀성 화합물 측정을 위해 vanillin을 표준물질로 사용하였다.

총 플라보노이드(TFC) 함량은 Smith 등(2015)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 0.5 ml에 증류수 3.2 ml를 넣고 5% NaNO₃ 0.15 ml와 암반응시킨 후, 10% AlCl₃ 0.15 ml를 혼합하여 6분간 반응시켰다. 이후 1 M NaOH 1 ml를 넣고 UV-vis spectrophotometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량 측정을 위해 quercetin을 표준물질로 사용하였다. 분석은 3반복하였으며 결과는 평균값과 표준편차로 표시하였다.

2.3. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 및 ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Brand-Williams 등(1995)

의 방법을 변형하여 측정하였다. Ethanol에 희석된 추출물 0.1 ml와 0.4 mM DPPH 용액 1 ml를 혼합한 후 ethanol 1.4 ml를 첨가하여 최종부피를 2.5 ml로 조절하였다. 혼합물은 실온에서 차광상태로 30분간 반응시킨 다음 UV-vis spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하였다. DPPH 라디칼 소거능은 식 (1)에 의해 구하였다.

ABTS 라디칼 소거능 측정은 Re 등(1999)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 14 mM ABTS와 4.9 mM potassium persulfate 용액을 1 : 1 (v/v)로 혼합하여 12~16시간 동안 차광상태로 방치시켜 ABTS⁺를 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.7~0.8이 되도록 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS⁺용액 0.95 ml에 희석된 추출물 0.05 ml를 첨가하고 10분 후 흡광도의 변화를 측정하였다. 추출물은 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml로 정량하여 실험에 사용하였다. 양성 대조군은 BHT를 사용하였고, ABTS 라디칼 소거능은 식 (1)에 의해 계산하였다. 분석은 3반복 하였으며 결과는 평균값과 표준편차로 표시하였다.

$$\text{라디칼 소거능 (\%)} = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100 \dots \text{식 (1)}$$

As : 추출물 첨가군의 흡광도

Ac : 추출물 무 첨가군의 흡광도

2.4. 당과 유기산 분석

추출성분을 확인하기 위해 HPLC (e2695, Waters, MA, USA) 분석을 실시하였다. 당 분석은 Aminex 87H column (300 × 7.8 mm, Bio-Rad, CA, USA)과 Refractive index detector (2414, Waters, MA, USA)를 사용하였고, 이동상으로는 5 mM 황산을 flow rate 0.6 ml/min으로 분석하였다. 유기산은 C18 column (250 × 4.6 mm, Waters, MA, USA)을 이용하였으며 UV-vis detector (2489, Waters, MA, USA)를 사용하였다. 이동상은 30% methanol (0.1% phosphoric acid, w/w)을 사용하고, Flow rate 1 ml/min

Table 1. Total phenolic and flavonoid compounds in hot water extracts from different parts of rugosa rose

	Total phenolic compounds (mg VE ¹⁾ /g)	Total flavonoid compounds (mg QE ²⁾ /g)
Flower	102.70 (1.56) ³⁾	14.74 (0.07)
Leaf	107.29 (2.37)	24.28 (0.91)
Fruit	32.67 (1.15)	13.26 (0.37)
Sarcocarp	44.20 (0.56)	17.96 (0.13)
Seed	21.75 (0.42)	6.00 (0.21)

¹⁾ Vanillin standard. ²⁾ Quercetin standard. ³⁾ Standard deviation.

으로 분석하였다. 분석용 시료는 0.45 µm filter를 통과시켜 여과 후 분석하였다. 분석은 3반복 하였으며 결과는 평균값과 표준편차로 표시하였다.

2.5. 분획물의 항산화 활성 측정

해당화 열수추출물에서 부위별 항산화 활성이 높았던 추출물(꽃, 잎, 열매)의 항산화 활성 관련 물질을 확인하기 위하여 open column chromatography를 실시하였다. 추출물에 ethanol을 첨가하여 당을 분리하였다. 이 과정을 5회 반복하여 당 제거 후 액상시료는 감압 농축하여 사용하였다. Glass column (26 × 500 mm)에 silica gel 60 (particle size 0.040~0.063 mm, Merck, Darmstadt, Germany)을 충전하였다. 실험은 Kim 등(2008)의 방법을 변형하여 chloroform과 methanol을 혼합시켜 stepwise 방식으로 전개시켰다. 시간에 따라 용출되는 추출물을 test tube에 10 ml씩 수집하였다.

수집된 분획물을 분리하기 위하여 thin layer chromatography (TLC)와 UV-vis spectrophotometer를 사용하였다. TLC는 silica gel 60 F₂₅₄ plates (Merck, Darmstadt, Germany)를 이용하여 chloroform : acetonitrile : methanol을 1 : 15 : 4 비율로 혼합시킨 용매로 전개시켰다. 흡광도는 190 nm부터 800 nm까지 측정하였으며, UV spectrophotometer와 TLC plate를 이용한 각각의 분획물의 Rf 값을 비교하여 구분하였다 (A-F). 분획물의 총 페놀성 화합물, 총 플라보노이드 함량과 DPPH 라디칼 소거능은 2.2, 2.3항과 동일한 방법으로 측정하였다.

2.6. 통계분석

총 페놀성 화합물, 총 플라보노이드, DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 실험은 3반복하였고 실험 결과의 통계적 유의성 분석을 위해 Pearson 상관분석을 실시하였으며, *p*-value < 0.05에서 유의한 결과로 판단하였다. 실험의 통계분석은 IBM SPSS Statistics 23 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 총 페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 측정

페놀성 화합물은 식물이 스스로 보호하고 번식하기 위한 목적(햇빛, 곤충, 동물 등)으로 생성되는 2차 대사산물로 기본 골격은 aromatic ring 구조에 하이드록실기(-OH)를 포함하는 것으로 알려져 있다 (Kähkönen 등, 1999; Chen 등, 1996). 페놀성 화합물의 하이드록실기의 역할은 생체 내의 활성산소를 포착하여 라디칼을 제거할 수 있으며, 페놀성 화합물 구조와 하이드록실기 위치에 따라 항산화 활성의 차이가 난다(Rice-Evan 등, 1996). 지금까지 밝혀진 페놀성 화합물의 효과는 항산화 및 항암작용뿐 아니라 심혈관 질환을 예방하는 등 다양한 생리활성기능을 가지는 것으로 보고되었다(Koo 등, 2016; Valko 등, 2007).

본 실험을 통해 생리활성물질의 유래가 되는 페놀성 물질을 해당화의 각 부위별 열수추출물에서 확인하였다(Table 1). 해당화 추출물의 총 페놀성 화합물

Table 2. Sugars and degradation product in hot water extracts from different parts of rugosa rose (mg/g)

	Fructose	Glucose	Arabinose	Xylose	HMF
Flower	2.67 (0.21) ¹⁾	1.84 (0.18)	2.36 (0.26)	N/A ²⁾	0.10 (0.00)
Leaf	0.47 (0.21)	0.50 (0.09)	0.95 (0.08)	0.96 (0.05)	0.17 (0.12)
Fruit	12.13 (0.60)	8.37 (0.57)	3.97 (0.11)	N/A	0.13 (0.06)
Sarcocarp	12.32 (0.55)	9.86 (0.99)	3.78 (0.17)	N/A	0.23 (0.12)
Seed	1.35 (0.10)	0.95 (0.14)	1.26 (0.02)	0.86 (0.05)	0.27 (0.21)

¹⁾ Standard deviation. ²⁾ Not available.

함량은 잎 107.29 mg/g, 꽃 102.70 mg/g, 과육 44.20 mg/g, 열매 32.67 mg/g, 씨 21.75 mg/g 순으로 높았다. 해당화 부위에 따라 총 페놀성 화합물 함량의 차이는 잎과 씨에서 약 5배로 나타났다.

해당화 잎 추출물 함량은 Kim과 Cha (2017)에 의한 결과와 유사하며 꽃과 잎 추출물의 총 페놀성 화합물은 100 mg/g 이상을 함유하고 있었다. 해당화에 존재하는 총 페놀성 화합물 함량은 플라보노이드보다 부위에 따라서 2.46배에서 6.97배 정도 높게 나타났다. 또한 Choi 등(2003)이 실험한 국내산 다류인 홍차, 한차, 녹차, 인삼차의 총 페놀성 화합물 함량은 각각 101.51, 95.81, 94.90, 28.30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 해당화 잎(107.29 mg/g), 꽃(102.70 mg/g) 추출물에서 함량은 기존 이용되는 차와 비교하여 높게 나타났다. 이것은 연구된 다류와 비교해서 생리활성 측면에서 해당화 잎과 꽃 추출물이 더 경쟁력 있는 것으로 판단된다.

플라보노이드는 C6-C3-C6를 기본골격으로 하는 phytochemical로 식용 및 약용 식물에 다량 함유되어 있으며, 식물체에서 당과 결합하여 배당체 형태로 존재한다(Urquiaga와 Leighton, 2000). 이러한 특성으로 플라보노이드는 친수성과 지용성 성질을 모두 포함할 수 있으며, 폴리페놀 구조에 의해 강력한 라디칼 소거 활성을 가질 수 있다(Van Acker 등, 1996). 해당화 부위별 열수추출물에서 총 플라보노이드 함량은 Table 1에 나타났다.

총 플라보노이드 함량은 꽃 14.74 mg/g, 잎 24.28 mg/g, 열매 13.26 mg/g, 과육 17.96 mg/g, 씨 6.00 mg/g으로 잎 추출물에서 가장 높게 나타났으며 전반적인 경향은 총 페놀성 화합물 함량과 유사하게 나

타났다. 씨 추출물에서 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량이 상대적으로 낮게 나타났으며, 이것은 시료를 분쇄하지 않고 사용해 비교적 단단한 껍질에 의해 화합물 용출이 용이하지 않은 것으로 판단된다.

3.2. 당과 유기산 분석

해당화 부위별 열수추출물에 대한 HPLC 분석 결과는 Table 2와 같다. 추출된 당은 glucose, fructose, arabinose, xylose로 모두 환원성을 가지고 있는 환원당이 검출되었다. 2009년 Xu의 연구에 따르면 정제된 다당에서 항산화 활성을 확인할 수 있었으며, 당의 함량이 항산화 활성에 일부 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다(Xu 등, 2009).

유기산을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 신체 내에서 활성산소를 제거하는데 효과적인 ascorbic acid는 꽃과 잎 추출물에서만 검출되었다. Ascorbic acid는 쉽게 산화되기 때문에 고온에서 장시간 열수추출에 의해 파괴되기 쉽다. 본 실험에서 ascorbic acid는 상대적으로 항산화 활성이 낮은 열매, 과육, 씨 추출물에서 검출되지 않았다. Citric acid는 꽃 추출물에서 가장 많이 검출되었다. Citric acid는 감귤류 과일에 다량 포함되어 있는 물질로 항산화 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(De'Nobili 등, 2016). 따라서 항산화 활성이 가장 높았던 꽃 추출물에서 가장 많이 발견된 것으로 판단된다. Gallic acid는 주로 꽃 추출물에서 발견되었으며, 이것은 과일에서 다량 발견되는 phenolic acid로 강력한 항산화 활성이 있는 것으로 알려져 있다(Aruoma 등, 1993). 또한 gallic acid는 catechin과 결합하여 강력한 항산

Table 3. Organic acids in hot water extracts from different parts of rugosa rose (mg/g)

	Ascorbic acid	Citric acid	Malic acid	Gallic acid	Acetic acid
Flower	0.20 (0.00) ¹⁾	0.75 (0.00)	0.24 (0.01)	4.51 (0.02)	N/A ²⁾
Leaf	0.40 (0.00)	0.27 (0.02)	0.16 (0.01)	0.97 (0.06)	0.04 (0.04)
Fruit	N/A	0.01 (0.00)	0.12 (0.02)	N/A	0.43 (0.74)
Sarcocarp	N/A	0.01 (0.00)	0.10 (0.01)	N/A	N/A
Seed	N/A	0.06 (0.01)	0.12 (0.02)	0.36 (0.07)	N/A

¹⁾ Standard deviation. ²⁾ Not available.

화 작용을 하는 epigallocatechin gallate (EGCG)가 되는 것으로 알려져 있는데, Zhang 등(2014) 연구결과에 따르면 해당화 차 속에 EGCG가 포함되어 있는 것을 확인할 수 있다. Citric acid, malic acid, gallic acid는 꽃, 잎, 씨, 열매, 과육 추출물 순으로 함유되어 있었으며, 이는 항산화 활성을 나타내는 DPPH, ABTS 결과와 유사하였다.

3.3. DPPH와 ABTS 라디칼 소거능

DPPH법은 다른 방법과 비교하여 상대적으로 빠르게 항산화 활성을 평가할 수 있어 가장 널리 이용되고 있다(Yu와 Oh, 2016). 꽃과 잎 추출물을 비교했을 때 잎 추출물이 총 페놀과 총 플라보노이드 함량이 많지만 꽃 추출물의 항산화 활성이 더 높게 나타났다(Fig. 1). 이것은 추출물에 포함된 유기산이 영향을 주었을 것으로 사료된다(Kähkönen 등, 1999). 열매와 과육, 씨 추출물을 비교했을 때 DPPH에서는 항산화 활성의 차이가 거의 없었으며 ABTS에서는 열매 추출물에서 다소 높은 결과를 나타냈다.

DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 1(a)에 나타났다. 해당화 부위별 열수추출물들의 DPPH 라디칼 소거능은 농도 의존적으로 증가하였다. 꽃 추출물의 경우 4.90~88.55%의 소거능을 보였으며, 잎 추출물은 1.84~85.35%로 꽃과 잎의 추출물이 열매(2.07~19.24%), 과육(2.00~18.22%), 씨(4.05~19.68%) 추출물보다 높은 항산화 활성을 나타냈다. 또한 추출물의 DPPH 라디칼을 50% 억제하기 위해 요구되는 추출물의 농도 IC₅₀ (Inhibitory Concentration)에 대한 결과는 꽃, 잎, 씨, 열매, 과육 순으로 나타났다(Table 4).

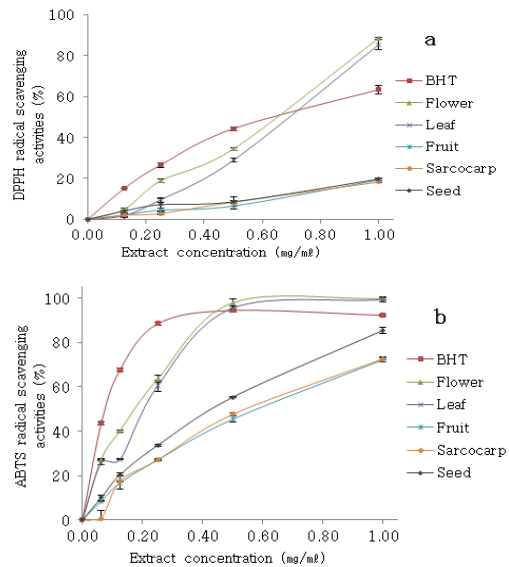


Fig. 1. DPPH and ABTS radical scavenging activities of hot water extracts from different parts of rugosa rose, a: DPPH radical scavenging activity (%), b: ABTS radical scavenging activity (%).

ABTS 라디칼 소거능은 항산화 물질에 의해 강산 화제인 potassium persulfate와 ABTS의 반응으로 생성된 양이온 라디칼이 제거되는 정도를 측정하는 방법이다(Re 등, 1999). 이 방법은 다양한 pH에서 측정할 수 있을 뿐만 아니라 비교적 간단하고 감도가 좋으며 수용성 및 지용성 관련 모든 항산화 물질에 적용이 가능한 것으로 알려졌다(Yu와 Oh, 2016).

ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1(b)와 같다. 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 농도 의존적으로 증가하였다. 열매와 과육 추출물의 경우 DPPH

Table 4. IC₅₀ values of hot water extracts from different parts of rugosa rose

	IC ₅₀ value (mg/ml)	
	DPPH radical scavenging activity	ABTS radical scavenging activity
BHT	0.71 (0.02) ¹⁾	0.13 (0.01)
Flower	0.87 (0.01)	0.27 (0.01)
Leaf	0.92 (0.02)	0.31 (0.01)
Fruit	2.69 (0.01)	0.80 (0.02)
Sarcocarp	2.73 (0.03)	0.81 (0.02)
Seed	2.67 (0.09)	0.71 (0.02)

¹⁾ Standard deviation.

Table 5. Correlation coefficients between each extracts and radical scavenging activities

	TPC ¹⁾	TFC ²⁾	DPPH ³⁾	ABTS ⁴⁾
TPC	1	-	-	-
TFC	0.919*	1	-	-
DPPH	0.895*	0.958*	1	-
ABTS	0.545**	0.500	0.649*	1

¹⁾TPC: Total phenolic compounds. ²⁾TFC: Total flavonoid compounds. ³⁾DPPH: DPPH radical scavenging activity. ⁴⁾ABTS: ABTS radical scavenging activity. *: $p < 0.01$. **: $p < 0.05$.

와 마찬가지로 낮은 항산화 활성을 나타냈다. 꽃에서 IC₅₀ 농도가 0.27 mg/ml로 가장 높은 활성을 확인하였다.

3.4. 통계분석

해당화 부위별 추출물에 포함된 유효물질인 총 페놀성 화합물, 총 플라보노이드 함량과 항산화 활성을 나타내는 DPPH, ABTS의 연관성은 Table 5와 같다. 모든 요인들은 양의 값으로 선형성을 나타내며 0.500~0.958의 상관관계를 확인할 수 있었다. 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드의 상관성은 p -value < 0.01에서 0.919의 높은 연관성을 나타냈다. 총 페놀성 화합물에 영향을 받는 항산화 활성은 각각 DPPH 0.895, ABTS 0.545로 양의 선형성을 확인하였다. 총 플라보노이드에서는 DPPH 0.958, ABTS 0.500의 연관성으로 총 페놀성 화합물과 유사한 결과를 나타냈다. 하지만 ABTS는 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드 결과에서 낮은 유의성을 나타냈다

(Tai 등, 2011). DPPH와 ABTS의 항산화 활성 사이에서는 p -value < 0.01 수준에서 유의한 값을 나타내며 0.649로 선형성을 확인하였다.

3.5. 항산화 물질 탐색

해당화 부위별 추출물을 이용하여 항산화 물질을 탐색하기 위해 과육과 씨를 포함하고 있는 열매와 꽃, 잎 추출물의 분획을 실시하였다. 과육과 씨는 열매에서 분리된 시료로 항산화 활성의 경향이 열매와 유사하여 분획을 실시하지 않았다. Fraction group의 항산화 활성을 측정하기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다(Fig. 2). Chloroform : methanol = 100 : 0의 비극성 용매로 내린 A fraction group에서는 꽃, 잎, 열매 추출물 모두 낮은 항산화 활성을 보였다. 그러나 극성인 methanol이 혼합되기 시작한 이후 용출된 fraction group에서 높은 항산화 활성을 보였다. 종합하면 꽃의 C, 잎의 B, 열매의 B fraction group에서 가장 높은 항산화 활성을 확인하였다.

Table 6. Total phenolic and flavonoid compounds in separated fraction from flower extract of rugosa rose

Fraction	Total phenolic compounds (mg VE ¹⁾ /g)	Total flavonoid compounds (mg QE ²⁾ /g)	DPPH radical scavenging activity (%)
A	N/A ³⁾	N/A	2.12 (2.53) ⁴⁾
B	25.73 (2.36)	23.06 (0.40)	4.70 (1.01)
C	3305.43 (22.35)	878.42 (18.27)	78.93 (0.61)
D	106.33 (1.60)	39.76 (1.63)	9.55 (0.91)
E	52.73 (15.76)	93.02 (8.56)	7.04 (0.46)

¹⁾ VE: Vanillin standard. ²⁾ QE: Quercetin standard. ³⁾ N/A: Not available. ⁴⁾ Standard deviation.

Table 7. Correlation coefficients between extracts obtained from each fraction and radical scavenging activities in open column chromatography

	TPC ¹⁾	TFC ²⁾	DPPH ³⁾
TPC	1	-	-
TFC	0.996***	1	-
DPPH	0.998***	0.996***	1

¹⁾ TPC: Total phenolic compounds. ²⁾ TFC: Total flavonoid compounds. ³⁾ DPPH: DPPH radical scavenging activity. ***: $p < 0.001$

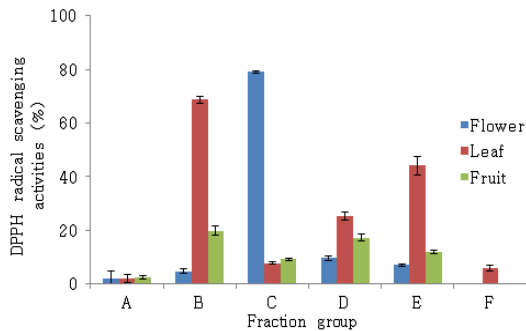


Fig. 2. DPPH radical scavenging activities on each fraction after open column analysis of each extracts from different parts of rugosa rose (at 0.5 mg/ml).

가장 높은 항산화 활성을 나타낸 꽃 추출물 fraction에 대한 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드 함량을 측정하였다(Table 6). Fraction C에서 각각 3305.43 µg/g, 878.42 µg/g으로 다른 fraction에 비해 높은 함량을 나타냈다. 또한 Pearson 상관분석 결과 0.996의 높은 연관성을 나타냈다(Table 7). 총 페놀성 화합물과 DPPH radical scavenging activity는 p -value < 0.001에서 0.998의 높은 연관성을 나타냈다.

4. 결 론

해당화는 화장품이나 향수 오일의 원료로 상업적으로 이용되고 있으나 오일 추출 후 대부분의 액상 산물이 버려지고 있다. 따라서 본 연구에서는 해당화의 활용가치를 높이고자 열수추출물의 항산화 활성을 평가하여 산업적으로 이용가능성을 확인하였다. 해당화의 부위별 열수추출물의 총 페놀성 화합물 함량(TPC)과 총 플라보노이드 함량(TFC)을 측정한 결과 앞에서 가장 높은 함량을 보였으나 항산화 활성에서는 꽃, 잎, 씨, 열매, 과육 순으로 활성이 높았다. 이것은 항산화 활성에 열수추출물에 포함된 TPC, TFC 뿐만 아니라 소량의 유기산이 긍정적인 영향을 주었을 것으로 판단된다. 또한 통계분석 결과 총 페놀성 화합물과 플라보노이드 함량이 DPPH와 p -value < 0.01 수준에서 유의한 값을 나타내며 0.895, 0.958로 선형성을 확인하였다. 항산화 물질을 탐색하기 위해 open column을 실시한 결과 극성 용매인 methanol로 용출된 fraction group에서 높은 항산화 활성을 나타냈다. 본 연구를 통해 해당화 열수추출물에서 항산화 활성을 확인하였고 이를 고부가

가치산물로 활용하는데 있어 본 연구결과는 유용한 자료가 될 것이다.

REFERENCES

- Aruoma, O.I., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B. 1993. Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41(11): 1880-1885.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28(1): 25-30.
- Chen, Z.Y., Chan, P.T., Ho, K.Y., Fung, K.P., Wang, J. 1996. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. *Chemistry and Physics of Lipids* 79(2): 157-163.
- Choi, Y.M., Kim, M.H., Shin, J.J., Park, J.M., Lee, J.S. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 32(5): 723-727.
- De'Nobili, M.D., Soria, M., Martinefski, M.R., Tripodi, V.P., Fissore, E.N., Rojas, A.M. 2016. Stability of L-(+)-ascorbic acid in alginate edible films loaded with citric acid for antioxidant food preservation. *Journal of Food Engineering* 175: 1-7.
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, R.D. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India* 52(10): 794-804.
- Hossain, Z., Mandal, A.K.A., Datta, S.K., Biswas, A.K. 2007. Development of NaCl-tolerant line in *Chrysanthemum morifolium* Ramat. through shoot organogenesis of selected callus line. *Journal of Biotechnology* 129(4): 658-667.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(10): 3954-3962.
- Kim, M.Y., Yi, J.H., Hwang, Y.Y., Song, K.S., Jun, M.R. 2008. Isolation and identification of antioxidant substances from the stems of butterbur (*Petasites japonicus*). *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 37(8): 979-984.
- Kim, S.S., Cha, H.C. 2017. Comparison of the total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of four kinds of sand dune plants living in Taean, Korea. *Korean Journal of Plant Resources* 30: 8-16.
- Koo, K.Y., Kim, W.B., Park, S.H., Kim, M.J., Kim, B.R., Hwang, J.H., Kim, M.J., Son, H.J., Hwang, D.Y., Kim, D.S., Lee, C.Y., Lee, H.S. 2016. Antioxidative properties of *Asparagus cochinchinensis* root. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 45: 524-532.
- Kumar, S., Yadav, M., Yadav, A., Yadav, J.P. 2017. Impact of spatial and climatic conditions on phytochemical diversity and in vitro antioxidant activity of Indian *Aloe vera* (L.) Burm. f. *South African Journal of Botany* 111: 50-59.
- Lee, C.H., Shin, S.L. 2009. Merit and application of plant resources as functional bio-materials for human life and health. *Korean Journal of Plant Resources* 5: 5-24.
- Lee, H.J., Ahn, J.W., Lee, B.J., Moon, S.G., Seo, Y.W. 2004. Antioxidant activity of *Rosa rugosa*. *Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering* 19(1): 67-71.
- 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 Radical Biology and Medicine* 26(9): 1231-1237.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20(7): 933-956.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- Smith, H., Doyle, S., Murphy, R. 2015. Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. *Food Chemistry* 185: 389-397.
- Tai, Z., Cai, L., Dai, L., Dong, L., Wang, M., Yang, Y., Ding, Z. 2011. Antioxidant activity and chemical constituents of edible flower of *Sophora viciifolia*. *Food Chemistry* 126(4): 1648-1654.
- Thao, N.P., Luyen, B.T.T., Jo, S.H., Hung, T.M., Cuong, N.X., Nam, N.H., Kwon, Y.I., Minh, C.V., Kim, Y.H. 2014. Triterpenoid saponins from the roots of *Rosa rugosa* Thunb. as rat intestinal sucrase inhibitors. *Archives of Pharmacal Research* 37(17): 1280-1285.
- Urquiaga, I.N.E.S., Leighton, F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research* 33(2): 55-64.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39(1): 44-84.
- Van Acker, S.A., Tromp, M.N., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., Van Der Vijgh, W.J., Bast, A. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine* 20(3): 331-342.
- Williams, G.M., Iatropoulos, M.J., Whysner, J. 1999. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and Chemical Toxicology* 37(9): 1027-1038.
- Xu, W., Zhang, F., Luo, Y., Ma, L., Kou, X., Huang, K. 2009. Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*. *Carbohydrate Research* 344(2): 217-222.
- Yu, S.C., Oh, T.J. 2016. Antioxidant activities and antimicrobial effects of extracts from *auricularia auricula-judae*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 45(3): 327-332.
- Zhang, J., Rui, X., Wang, L., Guan, Y., Sun, X., Dong, M. 2014. Polyphenolic extract from *Rosa rugosa* tea inhibits bacterial quorum sensing and biofilm formation. *Food Control* 42: 125-131.