

## 한국산 및 중국산 비자 열매의 항산화 활성과 유효성분 비교

김셋별<sup>1</sup> · 김병우<sup>2,3</sup> · 현숙경<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>동의대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>블루바이오소재개발센터, <sup>3</sup>동의대학교 바이오응용공학부

### Comparison of antioxidant activities and effective compounds in Korean and Chinese *Torreya* seeds

Saet Byul Kim<sup>1</sup>, Byung Woo Kim<sup>2,3</sup>, and Sook Kyung Hyun<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, College of Nursing, Healthcare Sciences & Human Ecology, Donggeui University

<sup>2</sup>Blue-Bio Industry RIC, Donggeui University

<sup>3</sup>Department of Biotechnology and Bioengineering, College of Engineering, Donggeui University

**Abstract** To evaluate the antioxidant activities of Korean and Chinese *Torreya* seeds, their total phenolic compound content, total flavonoid content, DPPH radical and ONOO-scavenging activities were compared using their water and methanol extracts. The effective compounds were identified and quantitatively analyzed by GC-MS. The DPPH and ONOO-scavenging activities were the highest in the Korean *Torreya* seeds. After using GC-MS to identify the active compounds, a total of eight compounds were identified in Korean *Torreya* seeds, and five compounds were found in Chinese *Torreya* seeds. In conclusion, we could confirm the antioxidant activity and the difference between active compounds of the Korean and Chinese *Torreya* seeds; we also confirmed the superiority of Korean *Torreya* seeds. Furthermore, this basic data about the Korean and Chinese *Torreya* seeds can be provided to consumers, so that they can select proper and suitable functional foods.

**Keywords:** *Torreya nucifera*, *Torreya grandis*, seeds, antioxidant, effective compound

## 서 론

비자나무(*Torreya nucifera*)는 우리나라의 남부지방과 일본에 자생하는 주목과(Taxaceae)의 상록교목으로 비자나무의 성숙된 종자에서 종피를 제거하고 건조한 것을 비자(비자나무의 익은 열매)라 하며, 식욕 증진, 소화 촉진, 변비 및 치질 등의 약리작용을 나타내며 구충제로 이용되어 왔다(Ha, 2008; Xiao과 Dang, 2014). *T. nucifera*의 약리학적 활성에 대한 연구로는 항산화, 항증식, 항염증, 간 보호와 신경 보호 효과에 대해 보고되어져 있다(Chen 등, 2010; Jeon 등, 2009; Oh 등, 2013). 중의학에서 생약재로 사용되는 비자(*Torreya grandis*)는 우리나라의 비자와 동일한 속에 속하는 식물이나 서로 다른 종이다(Lee, 1993). *T. grandis*의 활성 연구로는 항산화, 항염증, 동맥경화와 열매 기름에 대한 조성 및 분석에 대해 보고된 바 있다(Chen 등, 2000; Chen 등, 2006; Shi 등, 2009; He 등, 2016). 그리고 중국 비자나무의 80% 가량이 저장성(중국 화둥 지방, 상하이 아래 위치)에 조성되어 있고 시중

에 유통되는 비자는 중국에서 수입되어 판매되는 경우가 많다. 이는 한국의 비자나무는 100년이 지나도 겨우 20 cm 정도밖에 자라지 않는 귀한 나무로 천연기념물로 지정할 만큼 희귀한 자원이기 때문이다. 최근에 국립산림품종관리센터에서는 비자나무를 미래 신약과 신소재 개발 등 다양한 산업에서 중요한 자원으로 품종 개발 가능성이 높은 산림 작물로 선정하였으며 한국에서는 비자 추출물에서 나온 피부 유연화제(피부를 부드럽고 고르게 만들어주고 얇은 보습막을 씌워 수분이 날아가는 것을 억제)를 사용한 화장품이 나왔으며 중국에서는 심각한 대기오염으로 피부건강에 대한 중국 소비자들의 관심이 높아져 비자에 대한 수요가 증가하는 추세이다. 또한 소비자의 식생활 패턴이 안전하고 건강에 유익한 식품을 선호하는 추세이며, 노령 인구가 늘어나면서 질병을 예방하기 위한 건강 기능성 식품의 섭취가 증가되고 있다(Lee와 Lee, 2012). 따라서 현재 국내에서 유통되고 있는 비자는 일반적으로 한국산과 중국산 비자가 이용되고 있으나 한국산 및 중국산 비자에 대한 성분과 효능의 비교 연구는 미흡한 실정이다.

이에 본 연구에서는 한국산 및 중국산 비자의 기능성을 평가하고자 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물을 사용하여 총 페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거 활성 그리고 ONOO<sup>-</sup> 소거 활성 측정을 통해 항산화 활성 효과를 비교하였으며 GC-MS를 이용하여 유효성분을 동정하였고 그 함량을 분석하였다. 이러한 결과로 비자가 다양한 기능성 식품 소재로 활용할 수 있는 자료를 제공하고, 소비자들에게 올바른 기능성 식품을 선택할 수 있는 기초자료를 제공하고자 실시하였다.

\*Corresponding author: Sook Kyung Hyun, Department of Food and Nutrition, College of Nursing, Healthcare Sciences & Human Ecology, Donggeui University, Busan 47340, Korea  
Tel.: +82-51-890-1595

Fax: +82-505-182-6873

E-mail: skhyun@deu.ac.kr

Received February 27, 2018; revised March 28, 2018;

accepted March 28, 2018

## 재료 및 방법

### 실험재료

실험에 사용된 중국산 비자는 대한생약에서 구입하였으며, 한국의 제주산과 전남산 비자는 서울시 제기동 약령시장의 온라인 쇼핑몰인 인차와 천년약초에서 각각 건조된 것을 구입하여 사용하였으며, 그 표본은 동의대학교에 보관하였다(No. 20170101-103). 항산화 활성 및 유효성분 분석을 위하여 각각의 비자 추출은 H<sub>2</sub>O와 MeOH 용매를 사용하여 각각 가한 후 80°C 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 그리고 추출액은 여과하여 40°C 이하에서 감압농축(N-1100, EYELA Co., Tokyo, Japan)하여 사용하였다.

### 시약

실험에 사용된 folin-ciocalteu's phenol reagent, tannic acid, quercetin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)와 L-ascorbic acid, diethylenetriaminepenta-acetic acid (DTPA), dihydrorhodamine 123 (DHR 123), L-penicillamine, dimethyl suberate, methyl palmitate, methyl oleate, 2-monopalmitin은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 1,2-heptanediol, catechol, dimethyl azelate는 Tokyo chemical industry Co. (Tokyo, Japan)에서 구입, peroxyntirite (ONOO<sup>-</sup>)는 Cayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI, USA)으로부터 구입하였으며, 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

### 총 페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 페놀성 화합물의 함량은 AOAC(2005)의 Folin-Denis 방법을 일부 수정하여 Foline-Ciocalteu 시약이 추출물의 페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 정량 분석하였다. 각각의 추출물 0.2 mL에 3차 증류수 1.8 mL를 가한 후 Foline-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 혼합하여 실온에 3분간 방치한 다음 sodium carbonate 포화용액 0.4 mL와 증류수 1.4 mL를 혼합 후 실온에 1시간 방치한 후 microplate reader (Spectra-Max 190, Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 tannic acid를 사용하였으며, tannic acid 검량선과 비교하여 총 페놀성 화합물의 함량(mg/g dry weight)을 구하였다. 또한 총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등(2000)의 방법을 변형하여 각각의 추출물 0.1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL와 1 M potassium acetate 0.1 mL 그리고 80% ethanol 4.7 mL를 가하여 25°C에서 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 정량은 quercetin을 사용하여 위와 동일한 방법으로 측정된 표준곡선으로 각 추출물의 플라보노이드 총 함량(mg/g dry weight)을 구하였으며, 실험은 3회 반복 측정하여 평균값을 사용하였다.

### DPPH radical 소거 활성 측정

시료의 전자공여능 측정은 Blois(1958)의 방법을 변형하여, 각 농도별 시료(6.25-200 µg/mL)를 MeOH에 녹인 뒤 160 µL씩 취하여 1.5×10<sup>-4</sup> M 농도로 MeOH에 용해시킨 DPPH 용액 40 µL와 잘 혼합하였다. 이 반응 혼합액을 차광상태로 30분 동안 실온에 방치한 후, microplate reader로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로 L-ascorbic acid를 농도별로 조제하여 사용하였으며, 각 농도별 시료는 color control을 제외한 시료별 측정값과 시료를 첨가하지 않은 대조군값을 비교하여 free radical 소거활성을 백분율로 나타내고 50% 소거농도(IC<sub>50</sub>)를 계산하였다. 측정치는 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

### Peroxyntirite 소거 활성 측정

ONOO<sup>-</sup> 소거 활성 Kooy 등(1994)의 방법을 약간 변형하여 DHR 123의 산화를 측정하였다. Ethanol로 녹인 DHR 123 (5 mM)은 -20°C에서 stock solution으로 저장하였다. 90 mM sodium chloride, 50 mM sodium phosphate, 5 mM potassium chloride로 조제한 buffer (pH 7.4)를 DTPA solution 100 µM과 섞어, DHR 123의 최종 농도가 5 µM이 되도록 한다. 이 working solution에 시료와 authentic ONOO<sup>-</sup>를 첨가하면 5분 후, 비형광성의 DHR 123이 형광성의 rhodamine 123으로 바뀌게 된다. 이 형광물질을 microplate fluorescence reader (Paradigm<sup>TM</sup>, Beckman, Germany)로 excitation, emission wavelength 각각 485 nm와 535 nm에서 측정하였다. 결과는 DHR 123 산화 저해 백분율로서 평균±표준편차(n=3)로 나타내었다.

### 유효성분 동정 및 정량분석

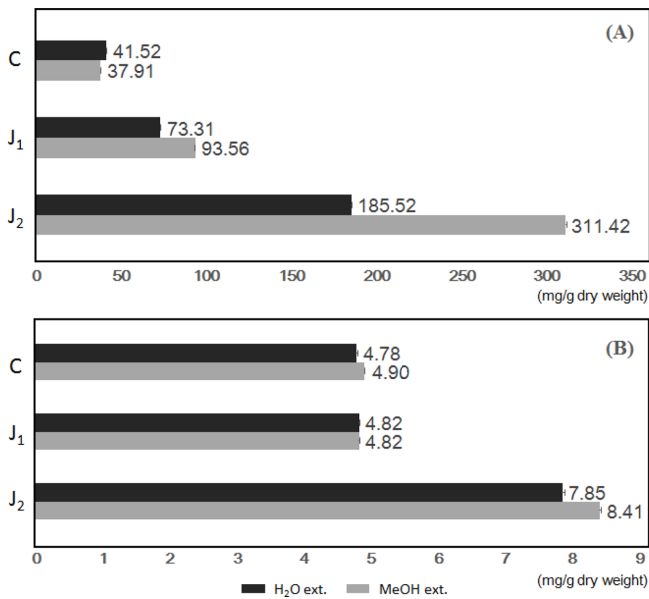
비자의 유효성분은 GC-MS에 의해 분리 및 동정되었으며 동정된 유효성분 중 7종의 표준품을 사용하여 정량분석을 실시하였다. GC-MS 분석 장치는 QP-2010 Ultra (Shimadzu, Japan)를 이용하였으며, 칼럼은 DB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 mm)를 사용하였다. 주입 온도는 280°C, 칼럼온도는 60°C에서 2분간 유지시킨 후 200°C까지 10°C/min으로 320°C까지 5°C/min으로 10분간 유지하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 총 페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 함량 측정

식물들이 함유하는 많은 생리활성물질 중에서 플라보노이드, 타닌, 안토시아닌, 페놀산 및 카테킨 등은 페놀성 화합물에 해당한다(Choi 등, 2010). 이 중 플라보노이드는 식물계에 존재하는 천연 항산화제의 대부분을 차지하며, 이러한 플라보노이드는 지방질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 함으로써 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과를 나타내어 오늘날 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에서 활용되고 있다(Choi 등, 2006; Lim 등, 1996). 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드 함량 측정은 항산화 활성 측정에 매우 중요한 인자로 작용할 수 있기 때문에 한국산과 중국산 비자 추출물들을 비교하여 보았다.

한국의 제주산과 전남산 및 중국산 H<sub>2</sub>O 추출물에 대한 총 페놀성 화합물의 함량을 측정한 결과, 전남산 비자가 185.52±0.24 mg/g으로 함량이 가장 높았으며, 제주산 비자 73.31±0.15 mg/g, 중국산 비자 41.52±0.25 mg/g 순으로 나타났으며, MeOH 추출물의 총 페놀성 화합물의 함량을 측정한 결과 전남산 비자 311.42±0.56 mg/g, 제주산 비자 93.56±0.11 mg/g, 그리고 중국산 비자 37.91±0.05 mg/g 함유량을 나타내었다(Fig. 1A). 그 결과 전남산의 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물에서 총 페놀성 화합물 함량이 제일 높은 수치를 나타냄을 확인 할 수 있었으며 한국산과 중국산을 비교하였을 때 한국산의 총 페놀성 화합물 함량이 아주 높은 것을 확인 할 수 있었다. Jeon 등(2009)에 의하면 한국산 비자 물 추출물에서 109.97±1.19 mg/g으로 다른 용매 추출물보다 페놀성 화합물 함량이 높은 것을 확인할 수 있었으며, Shi 등(2009)에 따르면 중국산 비자의 에탄올 추출물의 총 페놀성 화합물이 12.9 mg/mg으로 나타나 함량의 차이를 보였다. 한국의 제주산과 전남산 그리고 중국산 H<sub>2</sub>O 추출물에 대한 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 전남산 비자 7.85±0.04 mg/g 함량이 가장 높았으며, 제주산 비자 4.82±0.02 mg/g, 중국산 비자 4.78±0.03 mg/g 순

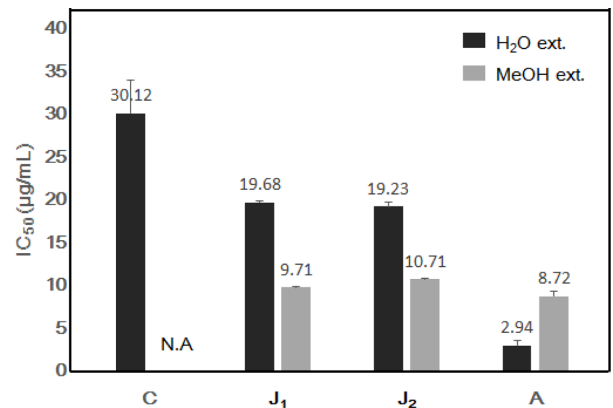


**Fig. 1.** Total polyphenol (A) and flavonoid (B) contents in the water and methanol extracts from *Torreya grandis* seed and *Torreya nucifera* seed. C: *Torreya grandis* (China), J<sub>1</sub>: *Torreya nucifera* (Jeju), J<sub>2</sub>: *Torreya nucifera* (Jeonnam).

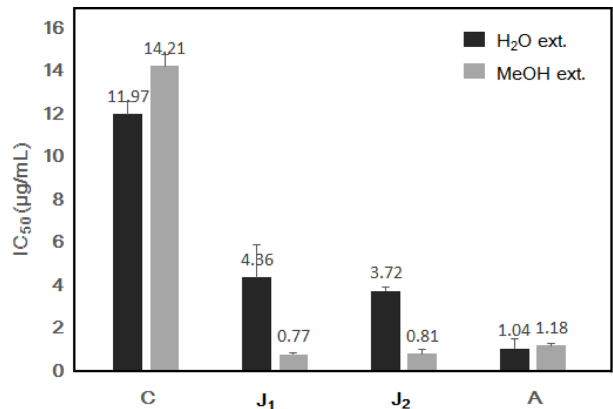
으로 나타났으며, MeOH 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정 한 결과 전남산 비자 8.41±0.02 mg/g, 중국산 비자 4.90±0.00 mg/g 그리고 제주산 비자 4.82±0.01 mg/g 함유량을 나타내었다(Fig. 1B). 그 결과 전남산 비자의 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물에서 총 플라보노이드 함량이 제주산과 중국산 비자 보다 2배 높은 수치를 나타내었다. 플라보노이드 함량에서도 Jeon 등(2009)의 연구 결과에 의하면 물 추출물에서 24.52±0.45 mg/g, 에탄올 추출물에서 0.83±0.10 mg/g를 함유한다는 결과와 비교하면 물 추출물의 플라보노이드 함량은 낮았으나 메탄올 추출물의 함량은 더 높게 나타남을 확인할 수 있었으며 이는 실험에 사용된 재료의 생산지, 건조 및 추출 방법 등의 차이에서 비롯된 것으로 생각된다.

#### DPPH radical 소거 활성

자주색을 띠는 안정적인 DPPH 라디칼이 항산화제에 의해 환원됨으로써 짙은 자주색이 탈색되어 수소 공여능이나 유리기 소거능을 평가하는 방법으로 항산화활성을 평가하는데 많이 이용되고 있다(Villano 등, 2007). 한국의 제주산과 전남산 및 중국산 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물에 대한 DPPH 라디칼 소거 활성을 비교한 결과 모든 시료에서 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거 활성이 유의적으로 증가하였다. H<sub>2</sub>O 추출물에서 IC<sub>50</sub> 값이 각각 중국산 비자 30.12±3.81 µg/mL, 제주산 비자 19.68±0.21 µg/mL 그리고 전남산 비자 19.23±0.43 µg/mL로 대조군인 L-ascorbic acid는 2.94±0.43 µg/mL와 비교하였을 때 소거 활성이 크게 나타나지 않았으며, MeOH 추출물에서 IC<sub>50</sub> 값은 제주산 비자 9.71±0.11 µg/mL, 전남산 비자 10.71±0.08 µg/mL로 대조군으로 쓰인 L-ascorbic acid는 8.72±0.62 µg/mL로 제주산 비자와 전남산 비자가 아주 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 가지는 것을 알 수 있었으며 중국산 비자는 활성이 나타나지 않았다(Fig. 2). Jeon 등(2009)에 의하면 비자의 물과 에탄올 추출물은 0.1 mg/mL에서 가장 높은 전자공여효과를 나타내었으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 전자공여능은 유의적으로 감소한다는 결과를 보고하여



**Fig. 2.** IC<sub>50</sub> values of DPPH radical scavenging activities in *Torreya grandis* seed and *Torreya nucifera* seed. C: *Torreya grandis* (China), J<sub>1</sub>: *Torreya nucifera* (Jeju), J<sub>2</sub>: *Torreya nucifera* (Jeonnam), A: L-Ascorbic acid. Values are mean±SD (n=3). N.A. is no activity.

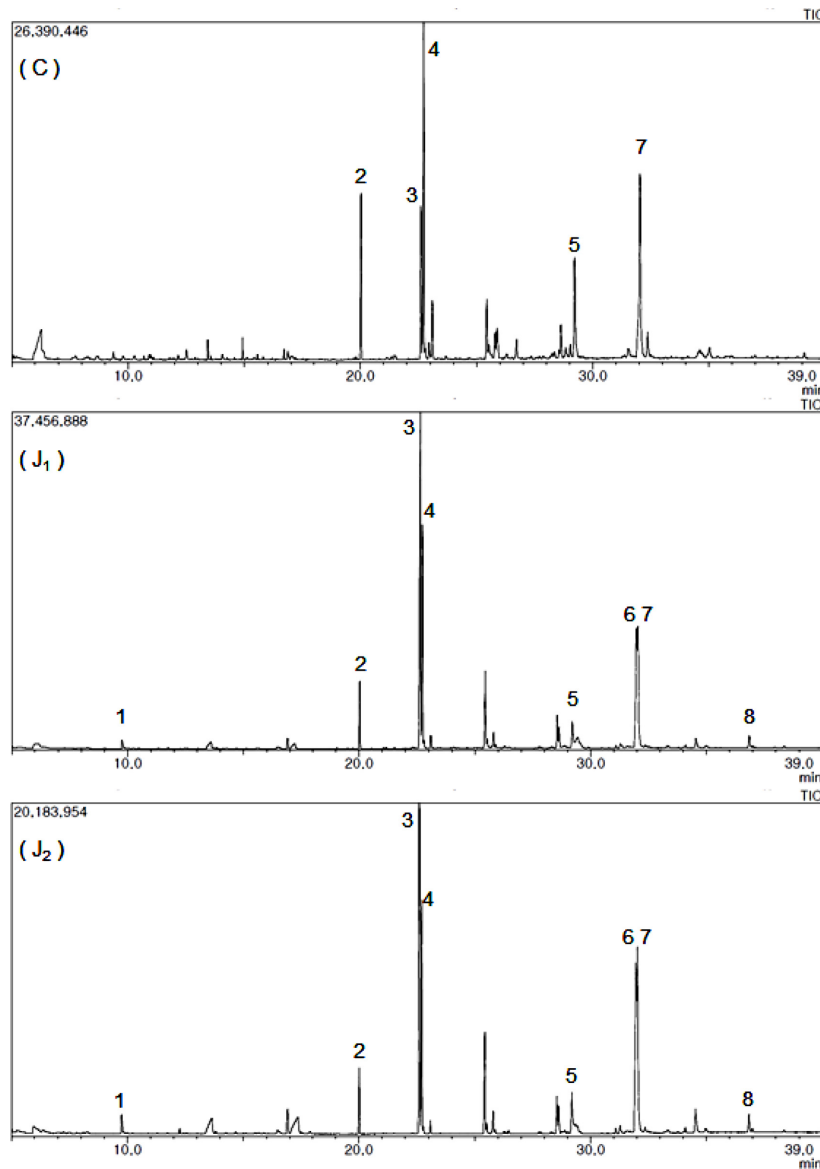


**Fig. 3.** IC<sub>50</sub> values of ONOO<sup>-</sup> scavenging activities in *Torreya grandis* seed and *Torreya nucifera* seed. C: *Torreya grandis* (China), J<sub>1</sub>: *Torreya nucifera* (Jeju), J<sub>2</sub>: *Torreya nucifera* (Jeonnam), A: L-Penicillamine. Values are mean±SD (n=3).

본 연구 결과와는 상반된 결과를 보였다. 일반적으로 전자공여능은 시료의 함량이 증가할수록 전자공여효과가 증가하는 결과를 나타내고 본 연구 결과에서도 시료의 함량이 증가할수록 전자공여효과 즉, 소거 활성이 증가됨을 다시 한번 확인할 수 있었다.

#### Peroxynitrite 소거 활성

반응성이 매우 높은 강력한 산화제인 ONOO<sup>-</sup>는 다른 자유 라디칼보다 비교적 안정한 분자로 단백질과 지질의 과산화유발하고 DNA의 산화와 세포독성을 일으키거나 암, 동맥경화, 당뇨병 등과 같은 만성 질환에 관여한다고 보고된 바 있다(Lin 등, 1997; Virag 등, 2003). 하지만 인체 내에는 ONOO<sup>-</sup> 소거에 관여하는 효소계가 존재하지 않으므로 ONOO<sup>-</sup>의 소거 활성을 갖는 물질의 탐색은 큰 의의가 있다(Choi 등, 2002). 한국의 제주산과 전남산 그리고 중국산 비자의 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물에 대한 ONOO<sup>-</sup> 소거 활성을 비교한 결과 모든 시료에서 추출물의 농도가 증가함에 따라 ONOO<sup>-</sup> 소거 활성이 유의적으로 증가하였으며, 100 µg/mL 농도에서 중국산, 제주산, 전남산 비자 H<sub>2</sub>O 추출물에서 각각 92.31, 96.48 그리고 97.36%로 나타났으며 MeOH 추출물에서는 각각 98.06, 98.04 그리고 97.43%로 나타났다. 제주산



**Fig. 4. Gas chromatograms of the methanol extracts of *Torreya grandis* seed and *Torreya nucifera* seed.** C: *Torreya grandis* (China), J<sub>1</sub>: *Torreya nucifera* (Jeju), J<sub>2</sub>: *Torreya nucifera* (Jeonnam), 1: catechol, 2: methyl palmitate, 3: methyl linoleate, 4: methyl oleate, 5: 2-monopalmitin, 6: 1-monolinolein, 7: 2-monoolein, 8: β-tocopherol.

과 전남산 비자의 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물에서 IC<sub>50</sub> 값이 중국산 비자 보다 소거 활성이 2배 이상 높은 것으로 확인 할 수 있었으며 한국의 제주산과 전남산 비자 모두 MeOH 추출물이 0.77±0.08 µg/mL과 0.81±0.18 µg/mL로 L-penicillamine 1.18±0.1 µg/mL인 대조구보다 강력한 소거 활성을 가지는 것을 확인하였다(Fig. 3).

**GC-MS를 이용한 유효성분 동정**

한국의 제주산과 전남산 그리고 중국산 비자 MeOH 추출물을 GC-MS를 이용하여 총 8종의 유효성분을 동정하였다. 중국산 비자에서는 methyl palmitate, methyl linoleate, methyl oleate, 2-monopalmitin 그리고 2-monoolein으로 5종의 화합물이 확인되었으며, 한국의 제주산과 전남산 비자에서는 catechol, methyl palmitate, methyl linoleate, methyl oleate, 2-monopalmitin, 1-monolinolein, 2-monoolein 그리고 β-tocopherol로 8종의 화합물이 확인되었다(Fig. 4). 대상 물질의 머무름 시간(t<sub>r</sub>)과 피크 면적(peak area)

은 Table 1에 나타내었다. 한국의 제주산과 전남산 및 중국산 비자의 유효 성분들을 비교해 보면 중국산에서는 methyl palmitate가 전체 피크 면적의 8.08%로 제주산 3.11%와 전남산 4.24% 보다 많은 피크 면적을 보여주었다. Methyl linoleate와 methyl oleate는 중국산 비자에서는 8.58%와 19.16%로 제주산과 전남산 비자에서는 18.37, 28.07%와 12.61, 16.29%로 나타나 중국산과 국산의 함량과 그 비율이 서로 다를 수 있었다. 또한 2-monopalmitin도 methyl palmitate와 비슷하게 중국산 비자에서는 8.03%로 제주산과 전남산에서는 3.86%와 3.22%로 나타났다. 1-monolinolein은 중국산 비자에서는 확인할 수 없었고, 제주산과 전남산 비자에서는 15.14%와 14.79%로 확인하였으며, 2-monoolein은 중국산, 제주산 그리고 전남산 비자에서 각각 19.47, 14.62 그리고 12.63%의 함유량을 확인하였다. β-tocopherol은 제주산과 전남산 비자에서만 확인되었고 중국산에는 확인되지 않아 한국산과 중국산의 유효성분 차이를 확인할 수 있었다.

**Table 1. Components of identified compounds by GC-MS**

Peak No.	Compounds	$t_R$ (min)	Peak area (%)		
			C	$J_1$	$J_2$ <sup>1)</sup>
1	catechol	9.76	N.D. <sup>2)</sup>	1.31	0.80
2	methyl palmitate	20.02	8.08	3.11	4.24
3	methyl linoleate	22.63	8.58	18.37	28.07
4	methyl oleate	22.72	19.16	12.61	16.29
5	2-monopalmitin	29.20	8.03	3.86	3.22
6	1-monolinolein	31.98	N.D.	15.14	14.79
7	2-monoollein	32.04	19.47	14.62	12.63
8	$\beta$ -tocopherol	36.85	N.D.	1.32	1.19
Total			63.32	70.34	81.23

<sup>1)</sup>C: *Torreya grandis* (China),  $J_1$ : *Torreya nucifera* (Jeju),  $J_2$ : *Torreya nucifera* (Jeonnam).

<sup>2)</sup>N.D. is not detected.

**Table 2. Quantitative results of identified compounds by GC-MS**

Compounds	Concentration (ppm)		
	C	$J_1$	$J_2$ <sup>1)</sup>
1,2-heptanediol	1.46	N.D. <sup>2)</sup>	N.D.
catechol	26.04	89.48	97.84
dimethyl suberate	5.54	N.D.	N.D.
dimethyl azelate	27.37	0.36	N.D.
methyl palmitate	106.59	61.21	32.37
methyl oleate	159.72	145.88	81.37
2-monopalmitin	748.11	309.81	233.45

<sup>1)</sup>C: *Torreya grandis* (China),  $J_1$ : *Torreya nucifera* (Jeju),  $J_2$ : *Torreya nucifera* (Jeonnam).

<sup>2)</sup>N.D. is not detected.

### 정량분석

한국의 제주산과 전남산 그리고 중국산 비자 MeOH 추출물에서 동정된 유효성분 중에서 7종의 성분을 정량분석 하였다(Table 2). 분석 결과 비자 MeOH 추출물에서 2-monopalmitin의 함량이 가장 많았으며 중국산, 제주산, 전남산 비자에서 각각 784.11, 309.81, 그리고 233.45 ppm으로 중국산 비자에서 가장 많이 검출되었다. Methyl oleate와 methyl palmitate는 중국산 비자에서 각각 159.72 ppm과 106.59 ppm으로 제주산과 전남산 비자에서는 145.88 ppm과 81.37 ppm 그리고 61.21 ppm과 32.37 ppm으로 검출되었다. Dimethyl azelate는 중국산과 제주산 비자에서 각각 27.37 ppm과 0.36 ppm이 검출되었고, 전남산 비자에서는 검출되지 않았다. Catechol은 중국산, 제주산, 전남산 비자에서 각각 26.04, 89.48 ppm 그리고 97.84 ppm으로 한국의 전남산 비자에서 가장 많이 검출되었고, 1,2-heptanediol과 dimethyl suberate는 중국산에서 1.46 ppm과 5.54 ppm으로 제주산과 전남산 비자에서는 검출되지 않았다. Catechol은 산화 안정성, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거 활성 및 억제 효과가 있는 것으로 보고되어있으며(Hasegawa 등, 2015), methyl palmitate는 염증 세포의 침투 및 이에 따른 반응성 산소종(ROS) 생성을 억제하고 사이토카인 효과를 조절하는 능력이 있다고 보고되었으며(Sharawy 등, 2013), methyl oleate는 테스토스테론 증가 효과를 나타내어 남성 불임치료의 메커니즘이 보고되어져있다(Seres 등, 2014). 정량 분석 결과 중국산에서는 1,2-heptanediol과 dimethyl suberate가 중국산에서만 검출되었고 catechol은 중국산에 비해 제주산과 전남산 비자에서 검출 함량이 높았으며, methyl palmitate, methyl oleate 그리고 2-monopalmitin은

중국산 비자에서 함량이 높은 것으로 확인되어 한국산과 중국산 비자의 유효성분을 비교할 수 있었다.

## 요 약

한국산 및 중국산 비자의 기능성을 평가하고자 H<sub>2</sub>O와 MeOH의 추출물을 사용하여 총 페놀성 화합물, 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거 활성 및 ONOO<sup>-</sup> 소거 활성 측정을 통해 항산화 활성 효과를 비교하였으며 GC-MS를 이용하여 유효성분을 동정하였고 그 함량을 분석하였다. 한국산과 중국산 비자의 총 페놀성 화합물 함량 비교에서는 한국의 전남산 비자 H<sub>2</sub>O 추출물이 제주산, 중국산 비자 H<sub>2</sub>O 추출물보다 2배 이상 높게 나와 함량이 가장 높았으며 MeOH 추출물에서는 한국의 전남산 비자가 제주산 비자보다 3배 이상, 중국산 비자보다 8배 높게 나왔다. 총 플라보노이드 함량에서는 한국의 전남산 비자 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물 모두 제주산과 중국산 비자 보다 2배 높은 수치를 나타냄을 확인할 수 있었다. 따라서 중국산 비자보다 한국산 비자의 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다. DPPH 라디칼과 ONOO<sup>-</sup> 소거 활성 효과에서도 농도가 증가함에 따라 소거 활성이 농도 의존적으로 증가하였고 한국산 비자 H<sub>2</sub>O와 MeOH 추출물이 아주 좋은 소거 활성을 가지는 것을 알 수 있었으며 특히 ONOO<sup>-</sup> 소거 활성에서 한국산 MeOH 추출물 모두 대조구인 L-penicillamine 보다 좋은 강력한 소거 활성을 가지는 것을 알 수 있었다. GC-MS를 이용하여 유효성분을 동정한 결과, 한국산 비자에서는 총 8종의 화합물이 확인되었으며 중국산 비자에서는 총 5종의 화합물이 확인되었다. 모든 비자의 가장 높은 피크인 methyl linoleate와 methyl oleate의 피크 면적이 한국산과 중국산의 함량과 그 비율이 서로 반대임을 알 수 있었다. 동정된 화합물 중에서 7종의 성분을 정량 분석한 결과에서는 한국산과 중국산 모두 2-monopalmitin 함량이 가장 많이 검출되었다. 1,2-heptanediol과 dimethyl suberate는 중국산 비자에서만 검출되었고 제주산과 전남산 비자에서는 검출되지 않았다. Dimethyl azelate는 중국산 비자에서 한국산 비자 보다 높게 검출되었고 제주산 비자에서는 소량, 전남산 비자에서는 검출되지 않았다. 이러한 연구 결과를 고려할 때 한국산과 중국산 비자의 뚜렷한 항산화 활성과 유효성분 차이를 확인 할 수 있었으며, 비자가 산지별 그리고 용매별에 따라 다양한 항산화 활성을 가지는 것으로 조사되어 천연 항산화제로서의 개발 가능성이 높은 자원으로 판단되며, 소비자들에게 올바른 기능성 식품을 선택할 수 있는 기초자료로 제공될 수 있을 것이다.

## 감사의 글

이 연구는 산업통상자원부·부산광역시 지원 지역혁신센터사업(RIC 08-06-07) 동주대학교 블루바이오 소재 개발 및 실용화 지원 센터의 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

## References

- AOAC. Official method of analysis. 18th ed. 45. pp. 21-22. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA (2005)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1202 (1958)
- Chen ZL, Chen Z, Hou L, Xu Z, Zheng H. The preventive effect of the oil from the seed of *Torreya grandis* cv. merrillii on experimental atherosclerosis in rats. *Zhong Yao Cai*. 23: 551-553 (2000)

- Chen BQ, Cui XY, Zhao X, Zhang YH, Piao HS, Kim JH, Lee BC, Pyo HB, Yun YP. Antioxidative and acute antiinflammatory effects of *Torreya grandis*. *Fitoterapia* 77: 262-267 (2006)
- Chen SP, Dong M, Kita K, Shi QW, Cong B, Guo WZ, Sugaya S, Sugita K, Suzuki N. Anti-proliferative and apoptosis-inducible activity of labdane and abietane diterpenoids from the pulp of *Torreya nucifera* in HeLa cells. *Mol. Med. Rep.* 3: 673-678 (2010)
- Choi JS, Chung HY, Kang SS, Jung MJ, Kim JW, No JK, Jung HA. The structure-activity relationship of flavonoids as scavengers of peroxynitrite. *Phytother. Res.* 16: 232-235 (2002)
- Choi JH, Lee EY, Kim JS, Choi GB, Jung SG, Ham YS, Seo DC, Heo JS. Physiological activities according to cultivars and parts of Ulsan pear. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 49: 43-48 (2006)
- Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Lim SS. Physiological activities of extract from edible mushrooms. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1087-1096 (2010)
- Ha JY. The review and all the problem to solve on the Naeuiwonjabon: A preceding study on the Donggeuibogam. *Uisahak* 17: 23-36 (2008)
- Hasegawa U, Moriyama M, Uyama H, Vlies AJ. Catechol-bearing block copolymer micelles: Structural characterization and antioxidant activity. *Polymer* 66: 1-7 (2015)
- He Z, Zhu H, Li W, Zeng M, Wu S, Chen S, Qin F, Chen J. Chemical components of cold pressed kernel oils from different *Torreya grandis* cultivars. *Food Chem.* 209: 196-202 (2016)
- Jeon HS, Lee YS, Kim NW. The antioxidative activities of *Torreya nucifera* seed extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1-8 (2009)
- Kooy NW, Royall JA, Ischiropoulos H, Beckman JS. Peroxynitrite mediated oxidation of dihydrorhodamin 123. *Free Radical. Bio. Med.* 16: 149-156 (1994)
- Lee JJ, Lee HJ. Comparisons of physicochemical composition of Korean and Chinese *Crataegi Fructus*. *Korean J. Food Preserv.* 19: 569-576 (2012)
- Lee YG. Illustrated flora of Korea. 5<sup>th</sup> ed. p. 56. Hyangmoonsa, Seoul, Korea (1993)
- Lim DK, Choi U, Shin DH. Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 83-89 (1996)
- Lin KT, Xue JY, Sun FF, Wong PY. Reactive oxygen species participate in peroxynitrite-induced apoptosis in HL-60 cells. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 230: 115-119 (1997)
- Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71: 109-114 (2000)
- Oh J, Rho HS, Yang Y, Yoon JY, Lee J, Hong YD, Kim HC, Choi SS, Kim TW, Shin SS, Cho JY. Extracellular signal-regulated kinase is a direct target of the anti-inflammatory compound amentoflavone derived from *Torreya nucifera*. *Mediat. Inflamm.* 2013: 761506 (2013)
- Seres AB, Ducza E, Bathori M, Hunyadi A, Beni Z, Dekany M, Hajagos-Toth J, Verli J, Gaspar R. Androgenic effect of honeybee drone milk in castrated rats: Roles of methyl palmitate and methyl oleate. *J. Ethnopharmacol.* 153: 446-453 (2014)
- Sharawy MH, El-Agamy DS, Shalaby AA, Ammar EM. Protective effects of methyl palmitate against silica-induced pulmonary fibrosis in rats. *Int. Immunopharmacol.* 16: 191-198 (2013)
- Shi H, Wang H, Wang M, Li X. Antioxidant activity and chemical composition of *Torreya grandis* cv. Merrillii seed. *Nat. Prod. Commun.* 4: 1565-1570 (2009)
- Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya ML, Troncoso AM, Garcia-Parrilla MC. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71: 230-235 (2007)
- Virag L, Szabo E, Gergely P, Szabo C. Peroxynitrite induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol. Lett.* 140-141: 113-124 (2003)
- Xiao Y, Dang Z. Research on the citation of herbal in Donggeuibogam. *Zhonghua Yi Shi Za Zhi* 44: 227-231 (2014)