



ISSN 1229-8565 (print) ISSN 2287-5190 (on-line)
한국지역사회생활과학회지 34(4): 569~579, 2023
Korean J Community Living Sci 34(4): 569~579, 2023
<http://doi.org/10.7856/kjcls.2023.34.4.569>

오리나무 잎 추출물의 이화학적 성분 및 항산화 활성 연구

장희영 · 이주민^{1)†}

조선대학교 영양교육대학원 대학원생 · 조선대학교 식품영양학과 교수¹⁾

The Study of Physicochemical Composition and Antioxidant Activities of *Alnus japonica* Leaves

Hee-Young Jang · Joomin Lee^{1)†}

Graduate Student, Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju, Korea

Professor, Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju, Korea¹⁾

ABSTRACT

This study examined the physicochemical characteristics and antioxidant activities of *Alnus japonica* (AJ) leaves. The carbohydrate content of an 80% ethanol AJ extract sample accounted for the highest proportion, followed by crude protein, moisture, crude ash, and crude fat. Sixteen amino acids were detected in the 80% ethanol AJ extract. The major organic acids were citric acid, malic acid, succinic acid, acetic acid, and formic acid. The highest level of saturated fatty acids was palmitic acid, followed by tricosanoic acid, heneicosanoic acid, stearic acid, and lignoceric acid. Monosaturated fatty acids (cis-10-heptadecenoic acid, elaidic acid, and oleic acid) and polyunsaturated fatty acids (linolenic acid) were detected in the 80% ethanol AJ extract. Oleic acid comprised the highest monounsaturated fatty acid content, and 8.89% linolenic acid was detected in the polyunsaturated fatty acid. The order of mineral content was Ca>K>Mg. The total polyphenol and flavonoid contents of the 80% ethanol AJ extract were significantly higher than those of the distilled water extract. The ABTS- and DPPH-radical scavenging activities were higher in the 80% ethanol AJ extract, while ferric acid-reducing antioxidant power was higher in the distilled water extract. These results suggest that AJ leaves contain valuable phytochemicals, have high antioxidant activities, and may be developed as healthy, functional foods.

Key words: *Alnus japonica* leaves, nutritional components, antioxidant activity

Received: 31 October, 2023 Revised: 7 November, 2023 Accepted: 22 November, 2023

[†]**Corresponding Author:** Joomin Lee Tel: 82-62-230-7722 E-mail: joominlee@chosun.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

I. 서론

인간의 평균 수명 연장과 더불어 코로나 바이러 스(COVID-19) 이후 건강에 대한 현대인들의 관심은 점차 높아지고 있으며 이에 따라 건강기능식품에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Jaeger et al. 2021). 이들 식품에 포함된 생리활성물질의 기능 중 항산화 역할은 생체 내 에너지를 생산하는 과정에서 산화적스트레스로 생성된 산화를 조절하거나 산화물을 제거하는 일련의 체계이며 이러한 과정에서 과하게 발생된 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)의 상태를 정상으로 회복 및 생성을 억제하는 방어기전으로 주목받고 있다(Lee et al. 2008). 환경적인 스트레스 및 유전적인 요인에 의해 발생하는 활성산소종은 DNA, 단백질, 지질과 반응하여 이들을 손상시키며 동맥경화, 당뇨, 신경퇴화와 세포노화까지 야기하는 원인으로 작용한다(Jomova et al. 2023). 항산화제는 활성산소종과 반응함으로써 비타민과 필수아미노산 등의 손실 최소화 및 유지 제품의 산패를 늦추거나 방지하는 목적으로 이용되고 있다(Jun et al. 2013).

오리나무(*Alnus japonica*)는 자작 나무과인 낙엽 교목으로 우리나라 중부 이북의 해발고도 200~900 m 지역에 자생하고 있으며 꽃은 취산화서이며 잎사귀 모양은 타원형이고 가장자리는 잔톱니 모양으로 이루어져 있다(Kim & Cho 2019). 오리나무는 해열(解熱), 지혈(止血) 등의 효능을 가지고 있는 것으로 알려졌다(An et al. 1999). 오리나무에는 루페논, 베타아밀린, 글루테놀, 타락세롤, 베틀린산 등 여러 가지 성분의 triterpenoid 외에 β -sitosterol, 헵타코산, 지방족인 alcohol, pyrocatechol 계열 탄닌과 pillioin, 살비제닌 및 5-hydroxy-4', 7-dimethoxyflavone 등의 flavonoid 화합물이 함유되어 있다(Lee et al. 1992; Halliwell

1996; Wada et al. 1998; Kim et al. 2005; Kuroyanagi et al. 2005; Na et al. 2012). 또한 오리나무는 항암효과(Stević et al. 2010), 항산화 효과(Lee et al. 2000; Kim et al. 2004), 항염효과 (Lee et al. 2000), 간 보호 효과(Lee & Lee 2016) 및 오리나무 줄기의 항균 활성 효과(Kim & Cho 2019) 등에 관한 연구가 보고 되었지만 현재까지 오리나무 잎의 항산화 성분에 관한 연구는 부족한 실정이다. 본 연구에서는 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 이화학적 성분을 분석하였고, 증류수 추출물과 항산화 활성을 비교하였다.

II. 연구방법

1. 실험재료

본 연구를 위해 사용된 오리나무 잎은 2021년 7월 충청북도 괴산에서 구매하여 사용하였다. 오리나무 잎은 세척 한 후 실온에서 건조 후에 동결 건조기를 이용하여 건조하였으며 분쇄기(EV-GB 8000 model, Everhome, Seoul, Korea)를 이용하여 분쇄한 후 -70°C 초저온냉장고에 보관하며 사용하였다.

2. 시료추출

오리나무 잎 분말 시료 일정량에 20배 부피의 80% 에탄올 및 증류수를 flask에 붓고 환류 냉각관을 장착한 65°C의 heating mantle(Mtops ms-265, Seoul, Korea)을 통해 3시간씩 총 3회 반복 추출하였다. 이후 오리나무 잎 추출액을 whatman filterpaper(Whatman No.2)를 사용하여 걸러내고 추출된 여액은 40°C 수욕 상에서 진공회전농축기를 이용하여 용매 제거 후 감압농축하여 동결건조하였다. 에탄올 추출물은 영양 및 기능성 성분분석과 항산화 평가를 위해 사용되었

고, 증류수 추출물과 항산화 활성을 비교하였으며, 시료는 사용 전까지 -70°C 에 보관하였다.

3. 일반성분 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 일반성분은 A.O.A.C(Association of Official Analytical Chemists 2005)을 이용하여 실험하였다. 조회분은 550°C 회화법, 조지방은 Soxhlet법, 수분함량은 105°C 건조법으로 측정하였고 조단백질은 원소분석기를 통해 질소량을 일정한 양으로 나누고 정량한 값에 질소계수 6.25를 곱셈하여 계산하였다. 탄수화물은 100에서 조단백질, 수분, 회분, 조지방의 값을 제한값으로 표시하였다.

4. 지방산 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 지방산 조성 분석은 Wungaarden의 방법(1967)에 따라 분석하였다. 시료 2 g을 chloroform-methanol로 추출 여과하고 감압 농축한 지방질을 약 100 mg을 취하여 4 mL의 1N-KOH-ethanol 용액에 섞은 후 유지 방울이 존재하지 않을 때 까지 교반하였다. 5 mL의 14% BF_3 -Methanol을 혼합하여 환류냉각기를 부착하여 5분간 80°C 에서 heating하여 메틸에스테르화하고 용액에 NaCl 포화용액 3 mL와 헥산 1 mL를 넣어 흔들어 교반 후 시험관에 옮겨 두고 상층을 분리하였다. 여기에 무수 Na_2SO_4 를 혼합하여 수분을 없앤 후 0.5 mL를 유리병에 취한 후 가스 크로마토그래피(HP 5890 series II, Agilent, Waldbronn, Germany)로 분석하였다.

5. 유기산 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물 0.5 g에 증류수 20 mL를 넣은 후, 80°C 이상의 water bath에서

4시간 동안 가열시켜 추출한 용액을 Whatman membrane filter($1\ \mu\text{m}$)를 이용하여 여과시켰다. 그 후 30 mL로 정용하여 이를 Whatman membrane filter($0.45\ \mu\text{m}$)로 여과하였고 Prominence HPLC (HPLC-20 AD Prominence, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용해 분석하였다.

6. 구성 아미노산 분석

분해관에 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물 0.5 g에 3 mL의 6N HCl를 혼합하여 탈기 후 121°C 에서 24시간 동안 가수분해하였다. 그 후 glassfilter로 여액을 여과하고 회전진공농축기 (EYELA VACUUM NVC-1100, Tokyo, Japan)로 감압하였으며 농축한 뒤에 sodium phosphate buffer (pH 7.0) 10 mL로 정용하였다. 용액 1 mL를 취하여 membrane filter($0.2\ \mu\text{m}$)로 걸러낸 후에 Amino acid autoanalyzer(S433-H, Sykam GmbH, Eresing, Germany)를 이용해 분석하였다.

7. 무기질 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 무기질 함량은 A.O.A.C 방법(2005)에 따라 분석하였다. 시료 0.5 g에 10 mL의 20% HNO_3 , 3 mL의 60% HClO_4 를 취하여 색이 투명해질 때까지 가열한 후 0.5 M HNO_3 로 50 mL를 정용시켰다. 각각의 항목별 표준용액을 혼합 후 유리병에 8 mL씩 정용하여 표준용액으로 한 다음 0.5 M HNO_3 를 대조군으로 하여 유도결합플라즈마 spectrum analyzer (ICP-OES, PerkinElmer, CT, USA)로 분석하였다.

8. 총 polyphenol 함량

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물과 증류수 추출물의 총 polyphenol 함량은 Folin-Denis의 방법

(1912)을 응용하여 측정하였다. 1.5 mL tube에 시료 및 농도별 standard 용액 200 μ L와 Folin reagent 200 μ L을 넣은 후 실온에서 3분간 반응시켰다. 10% NaCO_3 400 μ L을 첨가하여 vortex 한 후 암소에서 40분간 반응시켰다. 그 후 UV-spectrophotometer(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 tannic acid를 이용하여 표준곡선을 그리고 추출물의 총 polyphenol 함량을 산출하였다.

9. 총 flavonoid 함량

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물과 증류수 추출물의 총 flavonoid 함량은 Davis법을 변형한 Chae 등의 방법(2002)에 따라 측정하였다. 1.5 mL tube에 시료 및 농도별 standard 용액 500 μ L에 diethylene glycol 500 μ L를 첨가한 후 1N NaOH 10 μ L을 넣고 37°C heating block에서 60분 동안 반응시켰다. 그 후 UV-spectrophotometer(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용해 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Rutin을 이용하여 표준곡선을 그리고 추출물의 총 flavonoid 값을 계산하였다.

10. ABTS⁺ 라디칼 소거능 측정

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물과 증류수 추출물의 2,2'-Azinobis-3-ethylbenzo thiazoline-6-sulfonic acid(ABTS) radical 소거능은 Re 등의 방법(1999)을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.4 mM potassium persulfate를 1:1 비율로 섞어 암실에서 24시간 동안 방치하여 radical 생성을 유도하였다. 그 후 7 mM ABTS 용액에 2.4 mM potassium persulfate 10 mL를 주입하였다. UV-spectrophotometer(Bio-Rad,

Hercules, CA, USA)로 750 nm에서 흡광도 값이 0.7 정도가 되도록 메탄올로 희석하여 사용하였다. ABTS⁺ 라디칼 용액 450 μ L와 각 농도별로 제조된 시료를 각 50 μ L 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 UV-spectrophotometer (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 750 nm에서 흡광도 측정하였다.

11. DPPH radical 소거능

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물과 증류수 추출물의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거능은 Blois의 방법(1958)에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료추출액과 희석한 DPPH 용액을 혼합한 후 37°C heating block을 이용하여 30분간 반응시켰다. 그 후 UV-spectrophotometer(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 595 nm에서 흡광도 측정하여 분석하였다.

12. Ferric acid reducing antioxidant power (FRAP) assay

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물과 증류수 추출물의 FRAP는 Benzie&Strain(1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. FRAP reagent(300 mM sodium acetate buffer(pH 3.6)(Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) 10 mL, 10 mM 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine(TPTZ) (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) 1 mL, 20 mM ferric chloride(Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) 1 mL를 혼합하여 사용하였다. 각각의 시료 10 μ L와 증류수 90 μ L를 FRAP reagent 200 μ L와 혼합하고 UV-spectrophotometer(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 측정 후 FRAP 값을 계산하였다.

13. 통계처리

본 연구에서 실행한 모든 실험은 독립적으로 3회에 걸쳐 반복 시행하였으며 측정결과는 평균(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었고, GraphPad Prism 6 program (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)를 이용하여 각 실험군 간의 유의성 검사 및 증명하였다. p<0.05 수준으로 Student t-test와 분산분석(One way ANOVA(Duncan's multiple range test))을 통해 사용한 각 시료 간의 통계적 유의성을 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반성분 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 가장 많은 일반성분은 탄수화물로 77.84%이었으며, 조단백질 9.16%, 수분 5.05%, 조회분 4.9%, 조지방 3.05%로 나타났다.

Table 1. Proximate compositions of *Alnus japonica* leaves

Composition	AJ-EE ¹⁾ (Dry Matter Basis, %)
Moisture	5.05 ± 0.11
Crude ash	4.90 ± 0.10
Crude protein	9.16 ± 0.24
Crude fat	3.05 ± 0.50
Carbohydrate	77.84 ± 0.85

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica* leaves

All values are expressed as the mean ± SD of triplicate determinations.

2. 구성 아미노산 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 구성아미노

Table 2. Free amino acid contents of *Alnus japonica* leaves

Amino acid	(mg/100g) AJ-EE ¹⁾
Essential	
Threonine	393.03 ± 1.47
Valine	450.76 ± 2.33
Methionine	68.46 ± 5.03
Isoleucine	354.26 ± 1.15
Leucine	698.73 ± 2.98
Phenylalanine	467.04 ± 3.68
Histidine	264.23 ± 1.80
Lysine	378.94 ± 3.58
Arginine	405.86 ± 2.48
Total EAA ²⁾	3,481.31
Non-essential	
Aspartic acid	650.20 ± 7.57
Serine	449.39 ± 4.01
Glutamic acid	868.79 ± 5.02
Proline	534.69 ± 4.25
Glycine	450.89 ± 5.21
Alanine	487.08 ± 1.52
Tyrosine	288.05 ± 3.25
Total AA ³⁾	3,729.08
EAA/AA(%)	93.35

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica* leaves

²⁾Total EAA: Total essential amino acids.

³⁾Total AA: Total amino acids.

All values are expressed as the mean ± SD of triplicate determinations.

산 함량분석은 Table 2와 같다. 구성 아미노산은 필수아미노산 9종 및 비필수아미노산 7종이 검출되었으며 총 16종이 검출되었다. 필수아미노산은 leucine이 698.73 mg/100g으로 가장 높은 함량을 보였고 phenylalanine, valine, arginine, threonine, lysine, isoleucine, histidine, methionine 순으로 높게 나타났다. 필수아미노산의 총 함량은 3,481.31 mg/100g이었다. 비필수 아미노산은 glutamic acid가 868.79 mg/100g로 가장 높게 나타났으며 aspartic acid,

proline, alanine, glycine, serine, tyrosine 순으로 높은 함량을 보였다. 총 비필수 아미노산은 3,729.08 mg/100g로 나타났다.

3. 유기산 함량 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 유기산 함량은 Table 3과 같다. 검출된 유기산은 총 5가지로, 이중 citric acid가 7,329.69 ppm으로 가장 많이 검출되었고 그다음으로는 malic acid, succinic acid, acetic acid, formic acid순으로 높게 나타났다. 가장 높게 나타난 citric acid는 감귤류의 과일에 있는 산 화합물로서 시트르산은 향료, 킬레이트제, 산성화제로 자연적인 보존제로서 식품에 산성 또는 신맛을 첨가 및 환경친화적인 청소제 이용, 굳은 석회질을 녹이는데 사용된다(Zhang et al. 2013). 또한, succinic acid는 격리제, 완충액 및 증화제로서 식품에 사용되며 당의 발효로 발생한 석신산은 발효주에 짠맛, 쓴맛, 신맛의 조합을 만들어내기도 한다(Zhang et al. 2013).

Table 3. Organic acid contents of *Alnus japonica* leaves

	(ppm)
Organic acids	AJ-EE ¹⁾
Citric acid	7,329.69 ± 2.04
Malic acid	4,984.72 ± 4.20
Succinic acid	1,830.13 ± 0.77
Formic acid	200.87 ± 4.55
Acetic acid	1,648.91 ± 1.56
Total	15,994.32

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica* leaves
All values are expressed as the mean ± SD of triplicate determinations.

4. 지방산 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 지방산 분석 결과는 Table 4와 같다. 포화지방산은 5종, 단일

불포화지방산은 3종, 다가불포화지방산은 1종이 검출되었다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 지방산은 palmitic acid가 42.84% 그다음으로는 tricosanoic acid, heneicosanoic acid, stearic acid, lignoceric acid 순으로 포화지방산이 나타났다. 단일불포화지방산은 oleic acid의 함량이 6.97%로 가장 높게 나타났으며, cis-10-heptadecenoic acid는 6.58%, elaidic acid는 1.68% 순으로 검출되었다. 또한, 다가불포화지방산은 linolenic acid가 8.89% 나타났다.

Table 4. Free acid contents of *Alnus japonica* leaves

	(% total fatty acids)
Free acids	AJ-EE ¹⁾
Palmitic acid (C16:0)	42.84 ± 1.07
Stearic acid (C18:0)	4.68 ± 0.48
Heneicosanoic acid (C21:0)	6.02 ± 1.52
Tricosanoic acid (C23:0)	20.95 ± 0.11
Lignoceric acid (C24:0)	1.38 ± 0.15
Saturated	75.88
cis-10-Heptadecenoic acid (C17:1)	6.58 ± 0.20
Elaidic acid (C18:1n9t)	1.68 ± 0.15
Oleic acid (C18:1n9c)	6.97 ± 0.05
Monounsaturated	15.23
Linolenic acid (C18:3n3)	8.89 ± 0.48
Polyunsaturated	8.89
Total	100.00

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica* leaves

All values are expressed as the mean ± SD of triplicate determinations.

5. 무기질 분석

오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 총 무기질 분석 결과는 Table 5와 같다. 총 무기질 함량은 19,908.05 ppm로, Ca 함량이 11,720.37 ppm으로 가장 많았고 K, Mg, Mn, Fe, Zn, Na, Cu 순으로 검출되었다. 무기질은 신진대사, 성장 등

생명유지에 필수영양소로서 일정량의 섭취가 반드시 필요하며 섭취가 부족하면 결핍증이 나타난다(Dubey & Thakur 2020). 과거 식량부족 및 영양공급의 부족으로 대부분의 사람이 무기질이 결핍증으로 이에 관한 연구가 활발히 이루어졌고 영양권장량 기준을 설정하여 적절한 섭취를 권고해왔다(Gray et al. 1983; Raab et al. 1989; Shin et al. 2011). Ca는 체내 무기질 중 39%를 차지하며 골격 및 치아를 구성하는 성분이며 체내 Ca 함량의 약 99% 이상이 골격과 치아에 존재한다. 또한, 근육, 신경 등의 정상적인 기능을 유지하며 Ca 결핍 시 골격량의 감소, 골다공증 등의 골격 관련 질병 원인이 되기도 하며 과잉섭취 시 신석증, 비정상적인 혈청 칼인산효소 수치 등을 나타낸다(Kim et al. 2014). K은 체내에서 체액을 조절 및 pH의 균형을 이루는 역할을 하고 신경전달 자극, 근육을 수축 작용하는 기능을 한다. 또한, 심장기능에서 혈압저하 등 심박동과 맥박을 정상으로 유지하는 역할도 한다(Baez et al. 2023).

Table 5. Mineral contents of *Alnus japonica* leaves

Minerals	(ppm)
	AJ-EE ¹⁾
Ca	1,1720.37 ± 2.06
K	5,772.52 ± 3.25
Mg	1,674.25 ± 1.54
Fe	258.33 ± 1.52
Na	24.60 ± 6.32
Mn	401.53 ± 2.01
Cu	7.67 ± 0.15
Zn	48.77 ± 1.52
Total	19,908.05

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica* leaves

All values are expressed as the mean ± SD of triplicate determinations.

6. 총 polyphenol 및 총 flavonoid 함량

Polyphenol 화합물은 식물계에 분포하며 분자 안에 두 개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물(Yu et al. 2006)로서 시력증진, 항산화, 항암 등의 다양한 효능을 가지고 있다(Kang et al. 2002; Lee et al. 2008). 추출법에 따른 오리나무 잎의 총 polyphenol 및 총 flavonoid 함량은 Table 6에 나타내었다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량은 104.02 mg TAE/g이며 총 flavonoid 함량은 76.71 mg RE/g이다. 또한, 오리나무 잎 증류수 추출물의 총 polyphenol 함량은 70.95 mgTAE/g이며 총 flavonoid 함량은 32.57 mg RE/g이다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물이 증류수 추출물 보다 총 polyphenol 및 flavonoid 함량이 유의적으로 높게 나타났다. 사방오리 유기용매 추출물의 총 flavonoid 함량은 메탄올, 헥산, 다이클로로메탄 분획물 각각에서 67.70, 57.08, 50.71 µg/mg으로 나타나 본 연구와 큰 차이를 나타내었다(Choi & Joo 2019).

Table 6. Total polyphenol and total flavonoid contents of *Alnus japonica* leaves

	AJ-EE ¹⁾	AJ-WE ²⁾
Total polyphenol (mg TAE ³⁾ /g)	104.02 ± 0.67	70.95 ± 3.69*
Total flavonoid (mg RE ⁴⁾ /g)	76.71 ± 2.95	32.57 ± 0.65*

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica* leaves

²⁾AJ-WE, water extract of *Alnus japonica* leaves

³⁾TAE: Tannic acid equivalent

⁴⁾RE: Rutin equivalent

All values are expressed as the mean ± SD of triplicate determinations.

**p*<0.05; Significantly different for AJ-EE and AJ-WE by the Student's *t*-test

7. ABTS⁺ radical 소거능

오리나무 잎의 ABTS⁺ radical 소거능은 Table 7과 같다. 오리나무잎 80% 에탄올 추출물의 ABTS⁺ radical 소거능은 0.125 mg/L 농도에서 48.15%, 0.25 mg/mL 농도에서 61.42%, 0.5 mg/mL 농도에서 89.12%로 나타났다. 오리나무 잎 증류수 추출물의 ABTS⁺ radical 소거능은 0.125 mg/mL 농도에서는 16.67%, 0.25 mg/mL 농도에서 34.39%, 0.5 mg/mL 농도에서 66.74%로 나타났다. 또한 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물 ABTS⁺의 IC₅₀ 값은 0.18 mg/mL, 오리나무 잎 증류수 추출물은 0.37 mg/mL로 나타나 오리나무 잎 80% 에탄올 추출이 오리나무 잎 증류수 추출물보다 ABTS⁺ radical 소거 활성이 높았다.

Table 7. ABTS radical-scavenging activity of *Alnus japonica* (Thunb.) steudel leaves

	Concentration (mg/mL)	ABTS ⁺ radical scavenging activity (%)	IC ₅₀ ³⁾ (mg/mL)
AJ-EE ¹⁾	0.125	48.15 ± 2.65 ^c	0.18
	0.25	61.42 ± 3.37 ^d	
	0.5	89.12 ± 0.34 ^e	
AJ-WE ²⁾	0.125	16.67 ± 3.28 ^a	0.37
	0.25	34.39 ± 0.15 ^b	
	0.5	66.74 ± 2.11 ^d	

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica* leaves

²⁾AJ-WE, water extract of *Alnus japonica* leaves

³⁾IC₅₀ is the concentration of sample required for scavenging radicals by 50%

Data are the mean ± SD of triplicate experiments (n=3). Means with different letters (a-e) within the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

8. DPPH radical 소거능

오리나무 잎의 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과는 Table 8과 같다. 오리나무 잎 80% 에탄올

추출물의 DPPH 라디칼 소거능 값은 0.125 mg/mL 농도에서 40.16%, 0.25 mg/mL에서 68.15%, 0.5 mg/mL 농도에서 69.73%로 나타났으며 IC₅₀ 값은 0.26 mg/mL로 나타났다. 또한, 오리나무 잎 증류수 추출물에서는 0.125 mg/mL, 0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL 농도에서 각각 19.85%, 39.06%, 66.42%, 로 나타났으며 IC₅₀ 값은 0.36 mg/mL로 나타났다. 자작나무과 서어나무속에 속하는 *Carpinus pubescens* Burkil 에탄올 추출물을 이용하여 DPPH radical 소거능을 측정된 결과, 0.1024, 0.512, 2.56, 12.8 μg/mL의 시료 처리에 의해 각각 21.85, 37.04, 86.99, 99.85%로 나타나 본 연구와 큰 차이를 보였다(Lee et al. 2016). 본 연구의 결과, 오리나무 잎의 DPPH radical 소거능은 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물이 오리나무 잎 증류수 추출물보다 높은 것으로 나타났다.

Table 8. DPPH radical-scavenging activity of *Alnus japonica* leaves

	Concentration (mg/mL)	DPPH radical scavenging activity (%)	IC ₅₀ ³⁾ (mg/mL)
AJ-EE ¹⁾	0.125	40.16 ± 1.52 ^b	0.26
	0.25	68.15 ± 3.63 ^c	
	0.5	69.73 ± 3.14 ^c	
AJ-WE ²⁾	0.125	19.85 ± 3.90 ^a	0.36
	0.25	39.06 ± 2.60 ^b	
	0.5	66.42 ± 0.37 ^c	
Ascorbic acid	1,000	91.52	
BHA ⁴⁾	1,000	88.25	

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica*

²⁾AJ-WE, water extract of *Alnus japonica*

³⁾IC₅₀ is the concentration of sample required for scavenging radicals by 50%

⁴⁾BHA: butylated hydroxyanisole

The data are the mean ± SD of triplicate experiments (n=3). Means with different letters (a-c) within the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

9. FRAP(환원력) 분석

오리나무 잎의 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과는 Table 9와 같다. 추출법에 따른 FRAP 활성을 비교한 결과, 증류수 추출물은 18.56 μ M로 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물 14.72 μ M 보다 유의하게 높게 나타났다.

Table 9. Ferric-reducing antioxidant power of *Alnus japonica* leaves

	(FeSO ₄ ·7H ₂ O eq, μ M)
	Ferric reducing antioxidant power
AJ-EE ¹⁾	14.72 \pm 0.05*
AJ-WE ²⁾	18.56 \pm 0.04

¹⁾AJ-EE, 80% ethanol extract of *Alnus japonica*

²⁾AJ-WE, water extract of *Alnus japonica*

Data are the mean \pm SD of triplicate experiments (n=3). All values are expressed as the mean \pm SD of triplicate determinations.

*p<0.05; Significantly different for AJ-EE and AJ-WE by the Student's t-test

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 영양 및 기능성 성분 함량을 분석하였고 증류수 추출물과 항산화 활성을 비교하였다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물에서 탄수화물이 가장 높은 비중을 차지하였고 조단백질, 수분, 조회분, 조지방 순으로 높은 것으로 나타났다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물은 총 16종의 아미노산(필수아미노산 9종, 비필수아미노산 7종)을 함유하고, 필수아미노산은 leucine, 비필수 아미노산으로 glutamic acid가 가장 높게 나타났다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물은 총 5가지 유기산을 함유하고, citric acid가 가장 많이 검출되었으며 malic acid, succinic acid, acetic acid, formic acid

순으로 높게 나타났다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물은 포화지방산으로 palmitic acid과 tricosanoic acid를 많이 함유하고, 단일불포화지방산은 oleic acid, 다가불포화지방산으로 linolenic acid 함량이 가장 많았다. 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물의 무기질은 총 8종으로 Ca뿐 아니라 K과 Mg을 많은 것으로 나타났다. 총 polyphenol과 flavonoid 함량은 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물에서 증류수 추출물보다 유의적으로 많았다. 또한 ABTS+ radical 소거능과 DPPH radical 소거능은 오리나무 잎 80% 에탄올 추출물에서 증류수 추출물보다 높았다. 그러나 FRAP 활성은 오리나무 잎 증류수 추출물에서 80% 에탄올 추출물보다 유의적으로 높게 나타났다. 따라서 본 연구의 결과로 오리나무 잎은 필수아미노산 및 필수지방산을 비롯한 무기질 및 기능성분을 많이 함유하고 있어 항산화제 등 건강기능식품으로 개발 가능성이 있는 것으로 사료된다.

References

- An SW, Kim YG, Kim MH, Lee BI, Lee SH, Kwon HI, Hwang B, Lee HY(1999) Comparison of hepatic detoxification activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* Thumb and *Alnus japonica* Steud. Koran J Med Crop Sci 7(4), 263-268. analysis. Paju: Jigu-Moonwha Sa, pp381-382
- AOAC(2005) Official methods of analysis. 18th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA.
- Baez G, Chirio M, Pisula P, Seminario E, Carasa N, Philippi R, Aroca-Martinez G, Musso CG (2023) Hyponatremia and malnutrition: a comprehensive review. Ir J Med Sci 2023 Sep 13. doi: 10.1007/s11845-023-03490-8
- Benzie IF, Strain JJ(1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 239(1), 70-76. doi:10.1006/abio.19

- 96.0292
- Blois MS(1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nat* 181, 1199-1200. doi:10.1038/1811199a0
- Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH(2002) Standard food analysis. Jigu-moonwha Sa. pp381-382
- Choi HJ, Joo WH(2019) In Vitro antioxidant activity of *Alnus firma* extracts. *J Life Sci* 29(2), 231-238
- Folin O, Denis W(1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12(2), 239-249
- Dubey P, Thakur V, Chattopadhyay M(2020) Role of minerals and trace elements in diabetes and insulin resistance. *Nutr* 12(6), 1864. doi:10.3390/nu12061864
- Gray GE, Paganini-Hill A, Ross RK(1983) Dietary intake and nutrient supplement use in a Southern California retirement community. *Am J Clin Nutr* 38(1), 122-128. doi:10.1093/ajcn/38.1.122
- Halliwell B(1996) Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 16(1), 33-49
- Jaeger SR, Vidal L, Ares G, Chheang SL, Spinelli S. (2021) Healthier eating: Covid-19 disruption as a catalyst for positive change. *Food Qual Prefer* 92, 104220. doi:10.1016/j.foodqual.2021.104220.
- Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M(2023) Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol* 97(10), 2499-2574. doi:10.1007/s00204-023-03562-9
- Jun DH, Kim HY, Han SI, Kin YH, Kim SG, Lee JT(2013) Studies on antioxidant effect of mushroom complex. *J Life Sci* 23(3), 377-382. doi:10.5352/JLS.2013.23.3.377
- Kang MH, Cho CS, Kim ZS, Chung HK, Min KS, Park CG, Park HW(2002) Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Korean J Food Sci Technol* 34(6), 1098-1102
- Kim HJ, Yeom SH, Kim MK, Shim JG, Paek IN, Lee MW(2005) Nitric oxide and prostaglandin E2 synthesis inhibitory activities of diarylheptanoids from the barks of *Alnus japonica* steudel. *Arch Pharm Res* 28(2), 177-179. doi:10.1007/BF02977711
- Kim HS, Cho SJ(2019) Antibacterial and antibiofilm activities of *Alnus japonica* stem extract against *Porphyromonas gingivalis*. *J Life Sci* 29(12), 1386-1392. doi:10.5352/JLS.2019.29.12.1386
- Kim MG, Kim YS, Kim YS, Lee SB, Ryu KS, Yoon MH, Lee JB(2014) A study on the content of minerals in fortified food. *J Fd Hyg Safety* 29(2), 99-104 doi:10.13103/jfhs.2014.29.2.099
- Kim ST, Kim JD, Ahn SH, Ahn GS, Lee YI, Jeong YS(2004) Hepatoprotective and antioxidant effects of *Alnus japonica* extracts on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res* 18(12), 971-975. doi:10.1002/ptr.1540
- Kuroyanagi M, Shimomae M, Nagashima Y, Muto N, Okuda T, Kawahara N, Nakane T, Sano T(2005) New diarylheptanoids from *Alnus japonica* and their antioxidative activity. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 53(12), 1519-1523. doi:10.1248/cpb.53.1519
- Lee JY, Lee MO(2016) Influential factors for the knowledge and awareness of adults on periodontal diseases and their belief. *J Korean Cont Assoc* 16(1), 295-307
- Lee MW, Kim JH, Jeong DW, Ahn KH, Toh SH, Surh YJ(2000) Inhibition of cyclooxygenase-2 expression by diarylheptanoids from the bark of *Alnus hirsuta* var. *sibirica*. *Biol Pharm Bull* 23(4), 517-518. doi:10.1248/bpb.23.517
- Lee MW, Tanaka T, Nonaka GI, Nishioka I(1992) Dimeric ellagitannins from *Alnus japonica*. *Phytochemistry* 31(8), 2835-2839
- Lee SH, Jin KS, Kwon HJ, Kim BW(2016) Antioxidative and anti-inflammatory activities of *Carpinus pubescens* Burkill extract in RAW 264.7 cells. *Microbiol Biotechnol Letters* 44(2), 117-123
- Lee SY, Shin YJ, Park JH, Kim SM, Park CS(2008) An analysis of the Gyungokgo's ingredients and a comparison study on anti-oxidation effects according to the kinds of extract. *Korean J Herbol* 23(2), 123-136
- Lee YA, Kim KH, Kim JS, Cho SM, Kim SW, Lee MW(2000) Antioxidative effects of diarylheptanoids from *Alnus hirsuta*. *Arch*

- Pharm Res 44(2) 193-196
- Na CS, Lee SB, Kin JB, Chung HS, Dong MS(2012) Effect of hot water extract of *Alnus japonica* Steud on th experimentally-induced acute gastritis and peptic ulcers in rats. Korean J Pharmacogn 431(1), 72-78
- Raab CA, Bock MA, Carpenter K, Medeiros D, Ortiz M, Read M, Schutz HG, Sheehan ET, Williams DK(1989) Targeting messages to supplement users. J Am Diet Assoc 89(4), 545-546
- 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 Radic Biol Med 26(9-10), 1231-1237
- Shin Y, Kim SD, Kim BS, Yun ES, Chang MS, Jung SO, Lee YC, Kim JH, Chae YZ(2011) Content of minerals and vitamins in commercial beverages and liquid teas. J Fd Hyg Safety 26(4), 322-329
- Stević T, Savikin K, Zdunić G, Stanojković T, Juranić Z, Janković T, Menković N(2010) Antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activity of *Alnus incana* (L.) ssp. *incana* Moench and *A. viridis* (Chaix) DC ssp. *viridis* extracts. J Med Food 13(3), 700-704. doi: 10.1089/jmf.2009.0111
- Wada, H, Tachibana H, Fuchino H, Tanaka N(1998) Three new diarylheptanoid glycosides from *Alnus japonica*. Chem Pharm Bull 46(6), 1054-1055
- Wungaarden DV(1967) Modified rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Anal Chem 39(7), 848-849 doi:10.1016/ 0021-9673(85)80015-7
- Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS(2006) Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zyzyphus jujuba* var. *inermis* rehder. Korean J Food Sci Technol 38(1), 128-134
- Zhang QC, Zhao Y, Bian HM(2013) Antiplatelet activity of a novel formula composed of malic acid, succinic acid and citric acid from *Cornus officinalis* fruit. Phytother Res 27(12), 1894-1896. doi: 10.1002/ptr.4934