

## 건조방법에 따른 꾸지뽕열매 추출물의 항산화활성과 Angiotensin Converting Enzyme I 저해활성

윤광섭<sup>†</sup> · 김재원  
대구가톨릭대학교 식품가공학전공

### Antioxidant and Angiotensin Converting Enzyme I Inhibitory Activities of Extracts from Mulberry (*Cudrania tricuspidata*) Fruit subjected to Different Drying Methods

Kwang-Sup Youn<sup>†</sup> and Jae-Won Kim

Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

#### Abstract

The physiological functionalities of 70% ethanol extracts (EE) from *Cudrania tricuspidata* fruit (ECFD, EE of *C. tricuspidata* subjected to freeze-drying; ECHD, EE of *C. tricuspidata* subjected to heat air drying; ECID, EE of *C. tricuspidata* subjected to infrared drying) were investigated. Yields of freeze-dried powders of ECFD, ECHD, and ECID were 51.50%, 53.91%, and 56.14%, respectively. Color L\*, a\*, b\*, and H° values of ECHD and ECID decreased. Dried ECHD and ECID had relatively higher contents of total polyphenolics and flavonoids than ECFD. Electron donating abilities at a concentration of 10 mg/mL (w/v) were in order of ECID (62.37%) > ECHD (80.17%) > ECFD (77.80%). Reducing powers (OD<sub>700</sub>) of ECFD, ECHD, and ECID were 0.75, 1.70, and 1.89, respectively. Additionally, ABTS radical scavenging ability of ECID was the highest with a value of 62.37% at a concentration of 10 mg/mL (w/v). Nitrite scavenging activities of ECFD, ECHD, and ECID at a concentration of 10 mg/mL (w/v) were 28.76%, 30.69%, and 41.64%, respectively. SOD (superoxide dismutase)-like activities at 5 mg/mL (w/v) were in the order ECFD (891.93 mUnits) > ECHD (723.02 mUnits) > ECID (611.97 mUnits). Whereas ferrous ion chelating activity of ECFD (52.36%) and ECID (47.16%) was significantly higher than that of ECHD (30.04%). ACE inhibitory and xanthine oxidase (XO) inhibitory activities of ECHD and ECID at a concentration of 1 mg/mL (w/v) were higher than those of ECFD. In conclusion, we provided experimental evidence that extracts of pre-dried *C. tricuspidata* exhibit increased physiological functionalities. Further, infrared drying technique is the best method for enhancement of antioxidant activity of *C. tricuspidata* fruit.

**Key words:** ACE inhibitory, antioxidant, mulberry, pre-drying, *Cudrania tricuspidata* fruit

#### 서 론

정상적인 생명활동을 통하여 생성된 활성산소는 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase 등과 같은 단백질 항산화제뿐만 아니라 glutathione, 비타민 C, 비타민 E, coenzyme Q 등과 같은 비 단백질 항산화제에 의해 제거되는 것으로 알려져 있다(1). 그러나 생체가 과도한 스트레스를 받거나 과음, 흡연, 피로 또는 각종 질병상태에서는 활성산소 생성계와 제거계 사이의 불균형이 초래되어 과잉의 활성산소 생성으로 조직이 손상되며 이로 인해 노화가 촉진되고 발암, 고혈압, 동맥경화 및 당뇨 등과 같은 각종질환을 유발하는 것으로 보고되고 있다(2). 이러한 질병의 원인으로 superoxide anion radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydroxyl(OH), singlet oxygen(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) 및 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 등과 같은 free radical과의 관련성이 대두됨

에 따라 식의약적인 측면에서 활성산소를 감소시킬 수 있는 천연식물자원을 활용한 소재 개발이 요구되고 있는 실정이다.

꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)는 뽕나무과에 속하는 낙엽교목으로 동아시아에서 주로 분포하고 있으며 우리나라에서는 1종만이 전국 각지에서 자생하고 있다. 예로부터 나무 잎, 줄기, 뿌리는 습진, 폐결핵, 만성 요통, 타박상, 급성관절염 등의 한방치료에 사용되었으며, 동의보감에서는 꾸지뽕 열매가 강장, 자양, 숙취해소, 간과 신장 보호효과 등이 있는 것으로 보고되었다(3). 또한 항균 및 항산화 작용(4), 항당뇨(5), 항고지혈증(6), 항고혈압(7), 항세포독성(8) 등에 관한 연구가 활발해짐에 따라 전남·북 지역을 중심으로 재배면적이 급속히 늘어가고 있다.

식물기원의 항산화 활성을 가지는 생리활성 물질은 잎, 꽃, 열매, 줄기, 뿌리 및 수피 등의 모든 부분에 존재하며 주로 페놀성 화합물에 의한 것으로 알려져 있다. 특히, 꾸지뽕나

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: ksyoun@cu.ac.kr  
Phone: 82-53-850-3209, Fax: 82-53-850-3209

무의 여러 부위는 항산화성이 높은 것으로 보고되고 있는데, 꾸지뽕 잎 메탄올 추출물에서 높은 생리활성을 보이는 dihydroquercetin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside 등 8종의 성분이 확인 동정되어 천연항산화제로써 개발가능성이 제기된 바 있으며(9), 수피 역시 taxifolin, orobol, eridictyol, dihydrokaempferol, steppogenin 등과 같은 플라보노이드계 화합물에 의해 높은 항산화성을 나타낸다고 보고되었다(10). 또한 근피의 경우 ethylacetate와 ether 분획물에서 높은 항산화성을 보이는 6-p-hydroxybenzyl kaempferol-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside 등을 비롯한 4종의 플라보노이드가 확인된 바 있으며(11), 열매의 경우는 모노아민산화효소 억제 효능을 보이는 gancanonin A, 4'-O-methylalpinumisoflavone, alpinulmisoflavone 등과 같은 프리넬화 이소플라본이 분리 동정되었다(12).

이와 같이 기능성 소재활용에 관한 연구를 통해 꾸지뽕나무의 우수성이 밝혀져 왔으나 건조방법에 따른 꾸지뽕나무 열매 추출물의 생리활성에 관한 연구는 전무한 실정이며 이들을 유용하게 사용하기 위해서는 그 효능에 대한 과학적인 근거의 제시가 절실히 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 다양한 효능을 가지는 꾸지뽕나무 열매의 이용가치를 향상시키고 효율적인 건조방법을 구명하고자 건조방법에 따른 생리활성을 조사함으로써 기능성 소재개발의 기초자료로 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에서 사용된 꾸지뽕(*Cudrania tricuspidata*) 열매는 2010년 9월에 경북 경산 진량에서 수확한 열매를 주식회사 상로(Gyeongsan, Korea)에서 공급받았으며, 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다.

### 건조방법

꾸지뽕나무 열매의 건조분말을 제조하기 위하여 반으로 절단한 열매를 동결건조, 열풍건조 및 적외선건조를 하였다. 동결건조는 Freeze dryer(FD SFDSM12, Samwon, Seoul, Korea)로 건조하였으며, 열풍건조는 hot-air dryer(OF-22GW, JEIO TEC, Daejeon, Korea)를 이용하여 60°C에서 44시간 건조하였으며, 적외선건조는 infrared dryer(IRD-250, Woori Sci, Pocheon, Korea)를 이용하여 60°C에서 40시간 건조하여 일정수분함량(4% 이하)까지 건조하였다. 각각의 건조물은 균질기(Nihonseili, Kaisha Ltd, Tokyo, Japan)를 사용하여 40 mesh로 분쇄한 후 분말을 제조하여 실험에 사용하였다.

### 꾸지뽕 열매 추출물 조제 및 수율

건조 방법별 꾸지뽕나무 열매를 추출하기 위하여 70%

ethanol을 사용하였다. 환류 냉각관을 부착시키고 시료 100 g에 70% ethanol을 1:8의 비율로 넣고 80°C의 맨틀 상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 Whatman No. 1(Toyo Ltd., Tokyo, Japan) 여과지로 여과하였다. 다음 rotary vacuum evaporator(rotary vacuum evaporator N-N series, Eyela, Tokyo, Japan)로 감압농축한 후에 동결건조(FD SFDSM12)하여 분말을 제조하였으며 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 수율은 꾸지뽕나무 열매 무게에 대한 추출분말의 무게백분율로 각각 계산하였다.

### 수분함량 및 색도

수분함량은 적외선 수분 측정기(HG53, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 색도는 색차계(Chromameter CR-200, Minolta, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, 밝기를 나타내는 L\*(lightness), 적색도를 나타내는 a\*(redness), 황색도를 나타내는 b\*(yellowness) 및 H°(hue angle value)를 측정하였다.

### 폴리페놀 함량 측정

Dewanto 등(13)의 방법에 따라 시료추출액 100  $\mu$ L에 2% sodium carbonate 2 mL에 50% Folin-Ciocalteu reagent 100  $\mu$ L를 가한 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였으며 gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

### 플라보노이드 함량 측정

Abdel-Hameed (14)의 방법에 따라 시료추출액 100 mL에 5% sodium nitrite 0.15 mL를 가한 후 25°C에서 6분간 방치한 다음 10% aluminium chloride 0.3 mL를 가하여 25°C에서 5분간 방치하였다. 다음 1 N NaOH 1 mL를 가하고 vortex 한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 rutin hydrate(Sigma-Aldrich Co.)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

### 전자공여능

Blois(15)의 방법에 따라 시료추출액 0.2 mL에 0.4 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 용액 0.8 mL를 가하여 10분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, electron donating ability(%)=100-[OD of sample/OD of control]×100에 의하여 활성도를 산출하였다.

### ABTS radical 소거활성 측정

Re 등(16)의 방법에 따라 7.4 mM ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt]와 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온·암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시킨 다음 실험 직전에 ABTS 용액을 732 nm에서 흡광도가 0.700±0.030이 되도록 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 희석된 용액 950  $\mu$ L에 시료추출액 50  $\mu$ L를 가하여

암소에서 10분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, ABTS radical scavenging ability(%)=100-[(OD of sample/OD of control)×100]에 의하여 활성을 산출하였다.

#### 환원력 측정

Arabshahi-Delouee와 Urooj(17)의 방법에 따라 시료추출액 1 mL에 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide 용액 2.5 mL를 가한 후 50°C에서 30분간 반응시켰다. 다음에 10% trichloroacetic acid(TCA) 용액 2.5 mL를 가한 후 1,650×g에서 10분간 원심분리 하였으며, 상정액 2.5 mL에 증류수 2.5 mL와 0.1% FeCl<sub>3</sub> 용액 0.5 mL를 가한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 아질산염 소거능(nitrite scavenging activity) 측정

Kato 등(18)의 방법에 따라 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 1 mL에 시료추출액 1 mL를 가하고 0.1 N HCl과 0.2 M citrate buffer(pH 2.5)를 가하여 총 부피를 10 mL로 조정하였다. 다음에 37°C에서 1시간 반응시킨 후 1 mL를 취하여 2% 초산용액 3 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1:1) 0.4 mL를 순차적으로 가한 후 실온에서 15분간 방치, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess reagent 대신 증류수를 사용하였으며 계산식, nitrite scavenging activity(%)=100-[(OD of sample/OD of control)×100]에 의하여 산출하였다.

#### Ferrous ion chelating 효과 측정

Yen 등(19)의 방법에 따라 시료추출액 1 mL, 80% ethanol 0.8 mL, 2 mM FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O[iron(II) chloride tetrahydrate] 용액 0.1 mL, 5 mM ferrozine[3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid]용액 0.1 mL를 첨가한 다음 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 대표적 chelating agent인 EDTA를 사용하였으며 계산식, ferrous ion chelating effect(%)=100-[(OD of sample/OD of control)×100]에 의하여 산출하였다.

#### Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

Martin 등(20)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA를 함유하는 50 mM tris-HCl buffer(pH 7.4) 용액 3 mL에 시료추출액 0.2 mL를 가해 25°C에서 5분간 가온한 다음 5 mM hematoxylin 60 μL를 가해 10분간 반응시켜 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성도는 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 계산하였다.

#### Angiotensin I -converting enzyme(ACE) 저해활성

ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung의 방법(21)을 변형하여 측정하였으며, 조효소액은 rabbit lung acetone powder(Sigma-Aldrich Co.)를 0.2 g/10 mL(w/v)의 농도로 4°C

에서 24시간 추출한 후, 원심분리(4°C, 4,000 rpm, 40 min)하여 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 기질은 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 hippuryl-histidyl-leucine(HLL, Sigma-Aldrich Co.)을 5 mg/mL(w/v)의 농도로 녹인 후 기질로 사용하였다. ACE 저해활성은 시료추출액 50 μL에 ACE 조효소액 50 μL를 가한 다음 37°C에서 5분간 예비반응을 시킨 후, 기질 50 μL를 가하고 다시 37°C에서 1시간 반응시켰다. 다음 1 N HCl 150 μL를 가하여 반응을 정지시키고 750 μL의 ethyl acetate를 가한 후, 1분간 교반하고 원심분리(4°C, 5,000 rpm, 10 min)한 다음 500 μL의 상등액을 얻었다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시켜 2 mL의 methanol을 넣은 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 추출용매 50 μL를 가하여 측정하였으며, 저해활성은 계산식, ACE inhibition(%)=[1-((C<sub>Abs</sub>-S<sub>Abs</sub>)/(C<sub>Abs</sub>-B<sub>Abs</sub>))]×100: "C<sub>Abs</sub>: 대조구 흡광도, S<sub>Abs</sub>: 시료 흡광도, B<sub>Abs</sub>: 시료 무첨가구의 흡광도"에 의하여 산출하였다.

#### Xanthine oxidase(XO) 저해활성 측정

Ozer 등(22)의 방법에 따라 신선한 우유로부터 부분 정제한 XO를 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 신선한 우유 1 L를 하루 동안 4°C로 냉각한 후 EDTA와 toluene을 최종 농도가 각각 2 mM 및 3%(v/v)되게 첨가하여 Waring blender로 30분간 교반, 냉각하는 조작을 3회 반복하였다. 다음에 6겹의 cheese cloth로 여과한 여액 765 mL에 38% ammonium sulfate 175 g으로 포화시킨 후 8,000×g에서 15분간 원심분리 하여 상정액을 얻었다. 상정액 820 mL에 50% ammonium sulfate 49.2 g을 포화한 후 침전물을 10,400×g에서 30분간 원심분리하여 얻은 후 0.1 mM EDTA를 함유하는 10 mM tris-HCl(pH 7.6)-5 mM 2-mercaptoethanol(buffer A) 용액에 현탁 시켰다. 이 현탁액은 투석용 튜브(dialysis tube, cut off MW 20,000)에 넣어 0.1 M EDTA를 함유하는 완충용액(A용액) 4.6 L로 투석하였다. 다음에 10,000×g에서 30분간 원심분리 하여 상정액(효소용액) 25 mL를 얻었다. 효소반응액은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 3.15 mL, 시료추출액 50 μL, 효소액 100 μL를 가하여 30°C에서 10분간 preincubation 시킨 후 최종으로 60 μM xanthine 용액을 가하여 5분간 반응시킨 후 292 nm에서의 흡광도를 측정하였으며 계산식, xanthine oxidase inhibition(%)=100-[(OD of sample/OD of control)×100]에 의하여 산출하였다.

#### 통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 행하여 평균치와 표준편차로 나타내었고, 유의성 검증은 version 12의 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package program(23)을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

Table 1. Yields, moisture content and hunter's color value of 70% ethanol extracts of fruit powder from *Cudrania tricuspidata* with different drying methods

Samples <sup>1)</sup>	Yields (%, dry basis)	Moisture content	Hunter's color value			
			Lightness (L*)	Redness (a*)	Yellowness (b*)	Hue angle (H°)
ECFD	51.50±0.58 <sup>2)c3)</sup>	3.94±0.09 <sup>NS</sup>	48.29±0.13 <sup>a</sup>	10.54±0.04 <sup>a</sup>	12.40±0.06 <sup>a</sup>	54.80±0.10 <sup>a</sup>
ECHD	53.91±0.86 <sup>b</sup>	3.98±0.05	46.03±0.02 <sup>b</sup>	7.51±0.05 <sup>b</sup>	8.84±0.05 <sup>b</sup>	53.40±0.10 <sup>b</sup>
ECID	56.14±0.63 <sup>a</sup>	3.95±0.11	43.16±0.13 <sup>c</sup>	6.77±0.02 <sup>c</sup>	7.40±0.03 <sup>c</sup>	50.97±0.25 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>ECFD, ethanol extract of *C. tricuspidata* with freeze drying; ECHD, ethanol extract of *C. tricuspidata* with heat air drying; ECID, ethanol extract of *C. tricuspidata* with infrared drying.

<sup>2)</sup>Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

<sup>3)</sup>Different superscripts within a column (a-c) indicate significant differences (p<0.05).

<sup>4)</sup>NS: not significant.

## 결과 및 고찰

### 수율, 수분함량 및 색도

건조방법에 따른 꾸지뽕나무 열매 70% ethanol 추출물을 동결건조 하였을 때의 수율, 수분함량 및 색도는 Table 1과 같다. 수율은 ECFD(ethanol extract of *C. tricuspidata* with freeze drying), ECHD(ethanol extract of *C. tricuspidata* with heat air drying) 및 ECID(ethanol extract of *C. tricuspidata* with infrared drying)가 각각 51.50%, 53.91% 및 56.14%로 적외선건조, 열풍건조, 동결건조 순으로 높은 수율을 나타내었다. 식물성 polyphenolic 화합물들은 수용성 또는 지용성으로 구분되어 있어 추출되는 용매 및 조건에 따라 그 성분들이 달라지기 때문에 추출 수율에 있어서도 많은 차이를 나타낸다(24). 본 연구에서 열풍 및 적외선 처리 시 추출수율이 증가하는 현상은 열처리로 인하여 불용성 성분들이 가용성화 됨에 따라 용출이 용이하게 된 결과(25)라 판단되며, 80% 이상이 탄수화물 및 단백질로 구성되어 있는 꾸지뽕나무 열매의 경우 비극성 용매에서도 잘 용출된 결과로 사료된다(26). 수분함량은 ECFD, ECHD, ECID에서 각각 3.94%, 3.98% 및 3.95%로 유의적인 차이는 없었다. 색도에서는 L\*, a\*, b\* 및 H° 값 모두 열풍 및 적외선건조 처리 시 감소하는 경향을 보였으며, 이는 건조하는 과정 중에 특이적으로 발생하는 비효소적 갈색화 반응에 영향을 미친 것으로 사료된다.

### 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

건조방법에 따른 꾸지뽕나무 열매 추출물의 total polyphenol 및 total flavonoid 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 그 결과 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 꾸지뽕 열매 동결건조 추출물분말 g당 각각 8.06 mg 및 1.52 mg이 검출되었으며, 열풍건조에서는 각각 12.27 mg 및 2.82 mg으로 동결건조에 비하여 52.23% 및 65.79%가 증가하였다. 또 적외선건조에서는 각각의 함량이 15.09 mg 및 2.90 mg으로 동결건조에 비하여 87.22% 및 90.79%가 증가하는 결과는 나타내어 일반적으로 열처리 시 페놀성 화합물이 변형되어 그 함량은 감소된다고 보고(27)와는 상반된 결과를 나타내었다. 초기 식품 건조 시 열이 가해지면 아미노산의 peptide,

Table 2. Total polyphenol and flavonoid contents of 70% ethanol extracts of fruit powder from *Cudrania tricuspidata* with different drying methods (mg/g, dry basis)

Measurement	ECFD <sup>1)</sup>	ECHD <sup>2)</sup>	ECID <sup>3)</sup>
Polyphenols	8.06±0.13 <sup>4)c5)</sup>	12.27±0.33 <sup>b</sup>	15.09±0.34 <sup>a</sup>
Flavonoids	1.52±0.09 <sup>b</sup>	2.82±0.08 <sup>a</sup>	2.90±0.12 <sup>a</sup>

<sup>1-3)</sup>See Table 1.

<sup>4)</sup>Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

<sup>5)</sup>Different superscripts within a row (a-c) indicate significant differences (p<0.05).

단백질의 α-amino group과 당의 반응에 의한 비효소적 갈변반응이 주로 일어나게 되며, 적정 열처리하는 식품성분 내 환원당과 질소화합물의 갈색화 반응을 일으키며, 생성된 산물은 항산화 효과를 가진다고 보고된 바 있다(28). 본 연구에서 꾸지뽕열매 열풍건조 및 적외선 건조 시 phenolic 유도체들의 형성이 높아졌다고 볼 수 있는데 이는 적정 온도에 의하여 불용성 폴리페놀 화합물이 고분자 화합물로부터 유리되어 유리형 폴리페놀 화합물로 분해된 것으로 시사된다(29). 이는 Lee 등(30)의 보고에서 총 폴리페놀성 물질이 열처리한 썬바퀴뿌리에서 가장 많이 함유되어 있다는 결과와 유사한 경향을 보였다. 한편 Kim 등(31)은 250°C의 조건에서 80% 에탄올을 가하여 추출한 꾸지뽕나무 열매의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 1.27 mg/g 및 0.45 mg/g 이라 보고하여 본 연구에 비해 월등히 낮은 함량을 나타내었는데 이는 고온에 의한 열적손실에 따른 차이로 판단된다. 따라서 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 증가되는 현상은 추출 시 가용성물질의 용출이 용이하게 됨과 동시에 적정 온도에 따른 갈변화 반응으로 새롭게 생성된 산물이 영향을 미치는 것으로 사료되며 특히, 꾸지뽕나무 열매의 경우 적외선건조 시 페놀화합물 등의 유용성분의 추출함량 증대에 좋은 영향을 미칠 수 있을 것으로 여겨진다.

### 전자공여능, 환원력 및 ABTS 라디칼 소거활성

건조방법에 따른 꾸지뽕열매 추출물의 전자공여능, 환원력 및 ABTS 라디칼 소거활성을 비교한 결과는 Table 3과 같다. 10 mg/mL의 농도에서 전자공여능은 ECFD(52.48%), ECHD(59.27%), ECID(62.37%)로 적외선건조, 열풍건조, 동

Table 3. Electron donating ability, reducing power, and ABTS radical scavenging ability of 70% ethanol extracts of fruit powder from *Cudrania tricuspidata* with different drying methods

Measurement	ECFD <sup>1)</sup>	ECHD <sup>2)</sup>	ECID <sup>3)</sup>
Electron donating ability (% , 10 mg/mL)	52.48±0.50 <sup>4)c5)</sup>	59.27±0.77 <sup>b</sup>	62.37±0.73 <sup>a</sup>
Reducing power (OD <sub>700</sub> , 10 mg/mL)	0.75±0.00 <sup>c</sup>	1.70±0.04 <sup>b</sup>	1.89±0.04 <sup>a</sup>
ABTS radical scavenging ability (% , 5 mg/mL)	77.80±1.21 <sup>b</sup>	80.17±1.91 <sup>b</sup>	90.46±0.62 <sup>a</sup>

<sup>1-3)</sup>See Table 1.

<sup>4)</sup>Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

<sup>5)</sup>Different superscripts within a row (a-c) indicate significant differences (p<0.05).

결건조 순으로 높은 활성을 보였으며, 환원력에서도 유사한 경향을 나타내었다. 5 mg/mL의 농도에서 ABTS 라디칼 소거활성에서는 ECFD(77.80%), ECHD(80.17%), ECID(90.46%)로 열풍건조 및 적외선건조가 동결건조에 비하여 각각 2.37% 및 10.29%가 증가하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 건조꾸지뽕열매 추출물의 항산화 활성과의 관련성을 비교한 결과, 유용성분 함량이 높을수록 라디칼 소거능이 높아지는 양적 상관관계를 나타내었는데 이러한 활성의 증가는 건조 시 열에 의하여 furan, pyrrol 등의 유도체, reducton류, 알돌형 축합반응에 의해 생성된 maillard 생성물질에 기인한 결과라 사료된다(32). Maillard 반응은 비효소적 갈변 반응으로 유리된 aldehyde group이나 keto group을 가진 환원당 또는 가수분해 되는 환원당을 만들 수 있는 당류와 아미노산, 펩타이드, 단백질 등과 같은 amino group을 가진 질소화합물이 가열 반응하여 갈색물질을 형성한다. 기질의 종류 및 농도, 반응온도 및 시간, pH 등의 요인에 의해 식품의 색, 향, 안정성 및 항산화 특성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 반응 생성물은 항산화성, 항돌연변이성 등 여러 생리활성을 가지는 것으로 보고되고 있다(33).

#### 아질산염 소거능, SOD 유사활성 및 ferrous ion chelating 효과 측정

건조방법에 따른 꾸지뽕열매 추출물의 아질산염 소거능, SOD 유사활성 및 체내에서 세포의 지질 및 단백질의 산화를 촉진하는 Fe<sup>2+</sup>의 chelating 효과를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 10 mg/mL의 농도에서 아질산염 소거능은 ECFD(28.76%), ECHD(30.69%), ECID(41.64%)로 적외선건조, 열풍건조, 동결건조 순으로 높은 활성을 나타내었다. 5 mg/mL의 농도에서 SOD 유사활성은 ECFD에서는 611.97 mUnit, ECHD에서는 723.02 mUnit, ECID에서는 891.93 mUnit로 열풍건조 및 적외선건조가 동결건조에 비하여 각각 18.15%

및 45.75% 높았다. Nice 등(34)은 SOD가 열안정성이 뛰어나지만 아니라 SOD와 유사활성을 나타내는 물질은 SOD와 결합된 polyphenol 또는 flavonoid 등을 비롯한 각종 phytochemicals 물질인 것으로 보고한 바 있다. 따라서 열풍건조 및 적외선 건조 시 활성이 증가하는 현상은 새로운 SOD 유사활성을 가지는 물질이 생성됨을 나타내며 폴리페놀의 함량이 증가하는 현상과 관련이 있는 것으로 사료된다. 반면 10 mg/mL의 농도에서 ferrous ion chelating 효과에서는 ECFD(52.36%)> ECID(47.16%)> ECHD(30.04%)의 순으로 동결건조 처리구에서 높은 활성을 나타내었는데 이는 금속이온을 제거할 수 있는 물질과 radical을 제거할 수 물질의 차이에 따른 결과라 사료되며(35), 동결건조 한 꾸지뽕열매 추출물은 체내에 생성된 Fe<sup>2+</sup>를 효과적으로 제거시킬 수 있는 천연물로 활용할 수 있을 것으로 여겨진다.

#### ACE 저해활성 및 xanthine oxidase(XO) 저해활성 측정

건조방법에 따른 꾸지뽕열매 추출물의 ACE 저해활성 및 XO 저해활성을 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. ACE 저해활성에서는 ECFD, ECHD 및 ECID가 각각 27.37%, 36.67% 및 58.25%로 열풍건조 및 적외선건조가 동결건조에 비하여 각각 9.30% 및 30.88%가 증가하였다(Fig. 1A). 일반적으로 ACE 저해활성의 phenol 유래의 화합물과 단백질과의 결합은 단백질의 아미드결합과 페놀성 수산기 간의 수소결합에 의한 반응으로 단백질과 복합체의 침전물을 형성하며, 이러한 현상은 pH, 이온강도, 단백질 및 phenol 농도에 의한 상호작용으로 비경쟁적으로 효소를 저해함으로써 효소의 용해성 및 안정성을 저하시켜 효소의 불활성화를 일으키는 것으로 보고되고 있다(36). 따라서 본 연구에서 건조방법에 따른 활성의 차이는 처리 조건에 따른 단백질 및 phenol성 물질의 상호작용에 의한 유도체물질에 기인한다고 볼 수 있을 것으로 사료된다. 한편 XO 저해활성에서는 ECFD, ECHD 및

Table 4. Nitrite scavenging activity, superoxide dismutase (SOD) like activity, and ferrous ion chelating activity of 70% ethanol extracts of fruit powder from *Cudrania tricuspidata* with different drying methods

Measurement	ECFD <sup>1)</sup>	ECHD <sup>2)</sup>	ECID <sup>3)</sup>
Nitrite scavenging activity (% , 10 mg/mL)	28.76±1.25 <sup>4)5)</sup>	30.69±1.14 <sup>b</sup>	41.64±1.23 <sup>a</sup>
SOD-like activity (mUnits, 5 mg/mL)	611.97±10.55 <sup>c</sup>	723.02±14.22 <sup>b</sup>	891.93±19.17 <sup>a</sup>
Ferrous ion chelating activity (% , 10 mg/mL)	52.36±0.29 <sup>a</sup>	30.04±0.39 <sup>c</sup>	47.16±0.55 <sup>b</sup>

<sup>1-3)</sup>See Table 1

<sup>4)</sup>Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

<sup>5)</sup>Different superscripts within a row (a-c) indicate significant differences (p<0.05).

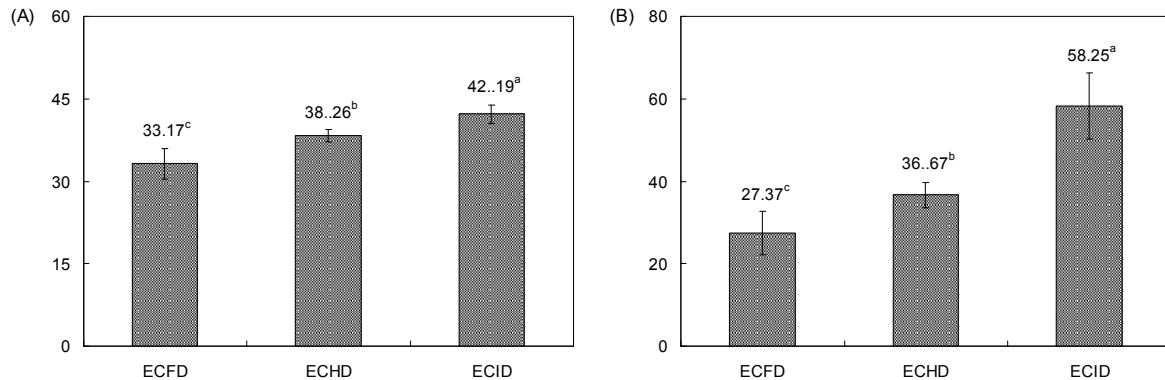


Fig. 1. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity, and xanthine oxidase (XO) inhibitory activity of 70% ethanol extracts of fruit powder from *Cudrania tricuspidata* with different drying methods (100 mg%, dry basis). Values are means  $\pm$  standard deviation of triplicate determinations. Different superscripts on the same bars (a-c) indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

ECID가 각각 33.17%, 38.26% 및 42.19%로 열풍건조 및 적외선건조가 동결건조에 비하여 각각 5.09% 및 9.02%가 증가하였다(Fig. 2A). Hatano 등(37)은 galloyl기를 함유한 flavonoid 화합물이 XO를 경쟁적으로 저해한다고 하였으며, 본 연구에서 건조방법에 따라 저해활성이 차이를 나타내는 것은 총 플라보노이드 함량의 차이와 더불어 새롭게 생성된 산물에 의한 결과라 여겨진다. 이상의 결과 건조방법에 따른 꾸지뽕나무 열매 추출물은 다양한 항산화 활성 증대효과를 나타냄으로써 산화적 손상 예방 소재개발에 활용 가치가 있다고 사료되며 적외선 건조처리 시 고품질 제품 생산에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

## 요 약

건조 꾸지뽕나무 열매의 기능성 소재로서의 개발 가능성을 알아보기 위하여 70% ethanol 추출물에 대한 생리활성을 측정하였다. 실험군은 꾸지뽕나무 열매 동결건조분말 70% ethanol 추출물(ECFD), 열풍건조분말 70% ethanol 추출물(ECHD), 적외선건조분말 70% ethanol 추출물(ECID)을 각각 동결건조하여 실험에 사용하였다. 수율은 적외선건조에서 높은 수율을 나타내었다. 색도는 L\*, a\*, b\* 및 H° 값 모두 열풍건조 및 적외선건조에서 감소하였으며, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 적외선건조에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 전자공여능은 적외선건조에서 높은 활성을 나타내었으며, 환원력 및 ABTS 라디칼 소거활성에서도 유사한 경향을 나타내었다. 아질산염 소거능은 적외선건조, 열풍건조, 동결건조 순으로 높은 활성을 나타내었다. SOD 유사활성은 동결건조에서는 611.97 mUnit, 열풍건조에서는 723.02 mUnit, 적외선건조에서는 891.93 mUnit로 열풍건조 및 적외선건조가 동결건조에 비하여 각각 18.15% 및 45.75% 높은 활성을 나타내었다. 반면 ferrous ion chelating 효과에서는 동결건조(52.36%) > 적외선건조(47.16%) > 열풍건조(30.04%)의 순으로 동결건조 처리구에서 높은 활성을 나타내었다. ACE 저해활성에서는 열풍건조 및 적외선건조가 동결건조

에 비하여 각각 9.30% 및 30.88%가 증가하였으며, XO 저해활성에서는 열풍건조 및 적외선건조가 동결건조에 비하여 각각 5.09% 및 9.02%가 증가하였다. 이상의 결과 적외선 건조처리한 꾸지뽕나무 열매 추출물은 다양한 항산화 활성 증대효과를 나타냄으로써 산화적 손상 예방 소재개발에 활용 가치가 있다고 사료된다.

## 감사의 글

본 논문은 2012년도 대구가톨릭대학교 교내연구비 지원에 의한 것으로 감사드립니다.

## 문 헌

- Johnston RB Jr, Keele BB Jr, Misra HP, Lehmeyer JE, Webb LS, Baehner RL, Rajagopalan KV. 1975. The role of superoxide anion generation in phagocytic bactericidal activity. Studies with normal and chronic granulomatous disease leukocyte. *J Clin Invest* 55: 1357-1372.
- Danrong Z, Yuquiong C, Dejiang N. 2009. Effect of water quality on the nutritional components and antioxidant activity of green tea extracts. *Food Chem* 113: 110-114.
- Jang IM. 2003. *Treatise on Asian Herbal Medicines*. Natural Products Science Seoul National University Press, Seoul, Korea.
- Ottersen T, Vance B, Doorenbos NJ, Chang BL, el-Feraly FS. 1997. The crystal structure of cudranone, 2,6,3'-trihydroxy-4-methoxy-2'-(3-methyl-2-butenyl)-benzophenone: a new antimicrobial agent from *Cudrania chochinchi-nensis*. *Acta Chem Scand B* 31: 434-436.
- Chen F, Nakashima N, Kimura I, Kimura M. 1995. Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves (*Folium mori*) and cortex mori radices in streptozotocin-induced diabetic mice. *Yakugaku Zasshi* 115: 476-482.
- Cha JY, Kim HJ, Jun BS, Cho YS. 2000. Effects of water-extract of leaves from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid concentration of serum and liver in rats. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 303-308.
- Kang DG, Hur TY, Lee GM, Oh HC, Kwon TO, Sohn EJ, Lee HS. 2002. Effects of *Cudrania tricuspidata* water ex-

- tract on blood pressure and renal functions in NO-dependent hypertension. *Life Sci* 70: 2599-2609.
8. Lee IK, Kim CJ, Song KS, Kim HM, Koshino H, Uramoto M, Yoo ID. 1996. Cytotoxic benzyl dihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. *Phytochemistry* 41: 213-216.
  9. Chon IJ, Lee SW, Cha JH, Han JH, Whang WK. 2005. Antioxidant compounds of *Cudrania tricuspidata* leaves. *Yakhak Hoeji* 49: 416-421.
  10. Lee IK, Song KS, Kim SJ, Kim HM, Oh GT, Yoo ID. 1994. Tumor cell growth inhibition and antioxidative activity of flavonoids from the stem bark of *Cudrania tricuspidata*. *Agric Chem Biotechnol* 37: 105-109.
  11. Lee SJ. 2002. Antioxidative activity of flavonoid compounds from *Cudrania tricuspidata* root bark. *MS Thesis*. Chung-Ang University, Seoul, Korea.
  12. Han XH, Hong SS, Hwang JS, Jeong SH, Hwang JH, Lee MH, Lee MK, Lee DH, Ro JS, Hwang BY. 2005. Monoamine oxidase inhibitory constituents from the fruits of *Cudrania tricuspidata*. *Arch Pharm Res* 28: 1324-1327.
  13. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
  14. Abdel-Hameed ESS. 2008. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem* 114: 1271-1277.
  15. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
  16. 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: 1231-1237.
  17. Arabshahi-Delouee S, Urooj A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem* 102: 1233-1240.
  18. Kato H, Lee IE, Chuyen N, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
  19. Yen GC, Duh PD, Tsai HL. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and garlic acid. *Food Chem* 79: 307-313.
  20. Martin JP Jr, Dailey M, Sugarman E. 1987. Negative and positive assay of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336.
  21. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
  22. Ozer N, Müftüoğlu M, Ataman D, Ercan A, Oğüs IH. 1999. Simple, high-yield purification of xanthine oxidase from bovine milk. *J Biochem Biophys Methods* 39: 153-159.
  23. Chae SI, Kim BJ. 1995. *Statistical analysis for SPSS/PC*. Bubmoon Publishing Co., Seoul, Korea, p 66-75.
  24. Cha JY, Jeong JJ, Kim YT, Seo WS, Yang HJ, Kim JS, Lee YS. 2006. Detection of chemical characteristics in Hamcho (*Salicornia herbacea*) according to harvest periods. *J Life Sci* 16: 683-690.
  25. Woo KS, Hwang IG, Noh YH, Jeong HS. 2007. Antioxidant activity of heated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts in Korean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 689-695.
  26. Oh PS, Lee HJ, Lim KT. 2009. Inhibitory effect of glycoprotein isolated from *Cudrania tricuspidata* bursae on histamine release and COX-2 activity in RBL-2H3 cells. *Korean J Food Sci Technol* 41: 405-412.
  27. Kang HK, Yoo YK, Lee SK. 2003. Effects of prestorage heat treatment on changes of phenolic compound contents and incidence of skin blackening in 'Niitaka' pear fruits during cold storage. *J Kor Soc Hort Sci* 44: 197-200.
  28. Kim JH, Kwak DY, Choi MS, Moon KD. 1999. Comparison of the chemical compositions of Korean and Chinese safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Korean J Food Sci Technol* 31: 912-918.
  29. Johnson JE, Walford R, Harma D, Miquel J. 1986. *Free radicals, aging and degenerative disease*. Alen R, ed. Liss, New York, NY, USA. p 325-371.
  30. Lee KS, Kim GH, Kim HH, Kim ES, Park HM, Oh MJ. 2008. Quality characteristics of tea thermally processed from dried *Ixeris dentata* root. *Korean J Food Preserv* 15: 524-531.
  31. Kim OK, Ho JN, Nam DE, Jun WJ, Hwang KT, Kang JE, Chae OS, Lee JM. 2012. Hepatoprotective effect on *Cudrania tricuspidata* extracts against oxidative damage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 7-13.
  32. Yen GC. 1990. Influence of seed roasting process on the changes in composition and quality of sesame (*Sesame indicum*) oil. *J Sci Food Agric* 50: 563-570.
  33. Park NY, Jeong YJ, Lee GD, Kwon JH. 2000. Monitoring of maillard reaction characteristics under various roasting conditions of *Polygonatum odoratum* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 647-654.
  34. Nice DJ, Robinson DS, Holden MA. 1995. Characterisation of a heat-stable antioxidant co-purified with the superoxide dismutase activity from dried peas. *Food Chem* 52: 393-397.
  35. Seo SJ, Choi Y, Lee SM, Kong S, Lee J. 2008. Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 129-135.
  36. Funayama S, Hikino H. 1979. Hypotensive principles of *Diospyros kaki* leaves. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 27: 2865-2868.
  37. Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Okuda T, Ikegami Y, Matsuda M, Yazaki K, Agata I, Nishibe S, Noro T, Yoshizaki M, Okuda T. 1991. Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. *Planta Med* 57: 83-84.

(2012년 6월 20일 접수; 2012년 7월 16일 채택)