

헛개나무 잎과 과병추출물의 몇가지 기능성

정창호 · 심기환
경상대학교 식품공학과

Some Functional Properties of Extracts from Leaf and Fruit Stalk of *Hovenia dulcis*

Chang-Ho Jeong and Ki-Hwan Shim

Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University

Abstract

The present study was conducted to investigate antioxidant, nitrite scavenging and alcohol degradation effects of extracts from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis*. Yields of various solvent extracts for *Hovenia dulcis* leaf and fruit stalk of were higher in water and methanol extract layer, respectively. Ethanol extracts of *Hovenia dulcis* leaf and fruit stalk of were fractionated with different solvents such as hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water, yields of water fraction were highest. In the solvent extracts using methanol, ethanol, hexane, chloroform and water, ethanol extracts showed the most effective antioxidant and nitrite-scavenging effects. Ethanol extracts from *Hovenia dulcis* leaf and fruit stalk of were fractionated, the most antioxidant and nitrite-scavenging effects were ethyl acetate fraction. Alcohol degradation effects from different parts of *Hovenia dulcis* showed higher leaf and fruit stalk than xylem, branch and seed. Alcohol degradation effects of extracts from leaf and fruit stalk increased as time passed.

Key words : ethanol extract, ethyl acetate fraction, antioxidant, nitrite-scavenging effect.

서 론

생체조직과 식품 등에서 안전성 및 식품의 품질에 큰 문제가 되고 있는 지질산화를 억제하기 위하여 현재 많이 사용되는 합성 항산화제로는 BHA, BHT 및 TBHQ 이며, 천연 항산화제로서는 tocopherol 정도이다. 인공합성 항산화제는 50 mg/kg/day 이상 섭취할 경우 생체 효소 및 지방의 변화로 질병을 유발하거나 암이 유발된다고 보고하는 등(1) 그 사용량을 법적으로 엄격히 규제하고 있기 때문에 독성이 거의 없는 천연물로부터 산화방지제를 개발하려는 연구가 활발히 진행되

어 왔다(2-4).

식품의 가공 및 저장 특히 수산물이나 식육제품에 첨가되어 독소생성억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하며 메트헤모글로빈 중 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급, 3급 아민과의 nitroso화 반응은 위장 내의 낮은 산성 조건에서 쉽게 일어나며 발암물질인 nitrosamine을 생성할 수 있으므로 아질산염과 아민을 동시에 섭취했을 때 위에서 nitrosamine의 생성을 억제할 수 있는 많은 연구가 진행되고 있으며, 비타민 C, α -tocopherol, sulfur dioxide, 총 phenol 화합물 등이 니트로사민 생성을 억제한다고 보고하고 있다(5-7).

Corresponding author : Ki-Hwan Shim, Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea
E-mail : khshim@nongae.gsnu.ac.kr

헛개나무(*Hovenia dulcis* Thunb.)는 갈매나무과의 낙엽활엽교목(落葉闊葉喬木)으로 호깨나무, 허리깨나무, 지구(枳俱), 백석목(白石木), 목밀(木密), 현포리(玄圃梨) 등으로 불리우며, 우리 나라에서는 설악산, 오대산, 지리산 및 한라산 등에서 주로 자생하고, 남부지방의 일반 농가에서도 재배하는 교목으로 잎, 줄기 및 열매로 만든 차가 주독(酒毒)제거 및 과음(過飲)시 부작용으로 나타나는 황달, 지방간, 간경화증, 위장병 및 대장염 등의 간 기능 보호에 효능이 뛰어난 것으로 전해지고 있다(8-10). 헛개나무에 관한 연구로는 Takai 등(11)이 뿌리 표피에서 peptide alkaloid를 단독 분리하였으며, Inoue 등(12)은 뿌리로부터 saponin의 분리·구조결정을 보고하였고, Okuma 등(13)은 헛개나무의 물추출물이 알콜을 투여한 쥐의 혈중 알콜 농도를 저하시키는 효과가 있는 것을 보고하였으며, 정 등(14, 15)은 헛개나무 잎과 과병의 화학성분 분석과 헛개나무 잎차의 이화학적 특성에 대하여 보고하였다.

이와 같이 헛개나무는 각종 스트레스, 운동 부족 및 과음으로 발생하는 알콜성 간질환 예방 등의 효능과 생리적 기능성이 뛰어난 교목으로서 잎, 줄기, 열매와 뿌리를 이용한 식품첨가물, 각종 건강보조식품 및 의약품 개발에 관한 약리학적 연구를 적극적으로 해야 할 필요가 있는 데 반해, 국내에서 생육하는 헛개나무는 그 식품학적, 약리학적 연구에 대하여 거의 보고되어 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식품첨가물, 건강보조식품 및 의약품으로서의 활용도를 높이기 위한 일환으로 국내에서 생육하는 헛개나무의 잎과 과병의 추출물을 이용하여 항산화, 아질산염소거 및 알콜분해 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에서 사용한 헛개나무는 1998년 7월에 경남 진주 근교에서 재배되는 것을 채취하여 냉동보관하면서 실험재료로 사용하였다.

추 출

시료의 용매별 추출은 각 시료 100 g을 물, 메탄올, hexan, 클로로포름 및 에탄올 각 300 ml로서 60℃에서 3시간 환류냉각 추출을 3회 반복하여 냉각한 다음 매 회 여과한 여액을 혼합하고 rotary vacuum evaporator로 농축하여 냉장보관하면서 시료로 사용하였으며, 용매

분획별 시료는 시료 200 g을 메탄올 600 ml로 3회 추출하여 조 등(16)의 방법으로 용매분획한 후 시료를 조제하여 실험에 사용하였다.

가용성 고형물

용매별 및 각 분획별 가용성 고형분의 함량은 추출 시료를 정용한 후 정용액 1 ml를 취해 105℃에서 건조 후 증발 잔사량을 확인하여 시료에 대한 가용성 고형분 함량을 백분율로 나타내었다.

항산화 효과

시료에 대한 항산화 효과는 Blois 방법(17)에 따라 α, α' -diphenyl- β -picryl hydrazine (DPPH)의 환원성을 이용하여 516 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer로 측정하였다. 즉 각 추출물과 대조구에 사용한 BHA, BHT 및 tocopherol의 농도를 0.1%되게 조제하여 조제시료 1 ml와 4×10^{-4} M DPPH 용액 3 ml를 5초 동안 vortex mixer로 혼합하여 증류수에 대한 흡광도를 측정하고, 대조구는 시료대신 에탄올 1 ml을 첨가하여 대조구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

$$\text{항산화성(수소공여능)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

아질산염소거 효과

추출물에 대한 아질산염 소거능은 Gray와 Dugan 등(18)의 방법에 준하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 1 ml에 추출시료를 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정 후 반응용액의 부피를 10 ml로 하여 37℃에서 1시간 반응시킨다. 그리고 반응액 1 ml를 취하고 2% 초산용액 5 ml를 첨가한 다음 Griess 시약 0.4 ml를 가하여 혼합한 다음 15분 방치후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하며, 공시험구는 시료 대신 증류수를 첨가하여 측정하였으며, 소거율은 제거된 아질산염의 백분율을 아래의 식에 의해 산출하였다.

$$R(\%) = 1 - \left(\frac{C - B}{A - B} \right) \times 100$$

R: 아질산염 소거율

A: 1시간 반응후의 1 mM NaNO₂의 흡광도

B: 공시험구의 흡광도

C: 추출시료 첨가구의 흡광도

알콜분해능

25% ethyl alcohol 500 ml에 헛개나무 부위별로 50 g 씩 담구어 1~5주동안 실온에 보관하면서 알콜분해효과를 알콜증류법(19)으로 측정하였다.

호기(呼氣) 알콜농도

호기알콜농도 실험은 Okuma 등(13)의 방법으로 건강한 성인남자를 대상으로 시험 전날밤은 음주를 금지하고, 시험당일은 공복시에 시험을 실시하였으며, 호기(呼氣)중 알콜농도 측정에는 반도체식 가스센스를 내장한 장치를 이용하였다. 대조구 시험에는 100 ml의 증류수를 음용하게 한 후, 알콜이 검출되지 않은 것을 확인한 다음, 0.3 g/kg 체중의 알코올이 되도록 조정된 25% 소주를 15분이내에 모두 마시게 하였다. 30~150분 후에 호기중의 알코올 농도를 측정하였으며, 시료 2 g을 증류수 100 ml에 침출한 후 알콜을 마시고 난 후 즉시 음용하게 한 후 30분 마다 호기 알콜농도를 측정하였다.

결과 및 고찰

용매별 추출수율

헛개나무의 기능성에 적합한 용매를 선정하기 위하여 각 용매별로 추출수율을 확인한 결과는 Table 1과 같다. 즉, 잎의 경우에는 가장 극성이 강한 물추출물에서 21.9%, 과병의 경우에는 methanol에서 50.6%로 가장 추출수율이 높게 나타난 반면 잎과 과병의 chloroform 층에서 0.4%, 0.1%로 추출수율이 가장 낮게 나타났다. 문 등(20)은 감잎의 용매별 추출수율을 조사한 결과 부탄올과 물층에서 각각 22.4%로 높게 나타났다고 보고하였다.

Table 1. Yields of various solvent extracts from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis* (%)

Samples	Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Leaf	10.5	13.9	3.2	0.4	21.9
Fruit stalk	50.6	45.5	0.7	0.1	33.3

에탄올 추출물의 계통분획별 추출수율

시료처리의 용이성과 추출수율이 높은 ethanol 추출물을 rotary vaccum evaporator로 농축한 후 비극성~극성 용매를 순차별로 계통분획하여 얻은 추출수율은

Table 2와 같다. 즉, 헛개나무잎과 과병에서 가장 극성이 높은 물 추출물에서 각각 5.2%와 40.6%로 높게 나타났으나, chloroform 분획층에서는 sample 모두가 0.8%와 0.7%로 수율이 낮게 나타났다. 배(21)는 비과잎의 메탄올층을 계통분획한 결과 hexan 0.57%, 클로로포름 0.28%, 에칠 아세테이트 0.36%, 부탄올 3.89%, 물 5.10%로 물층에서 가장 높은 추출수율을 나타내었다고 보고하였다.

Table 2. Yields of various solvents fractions of ethanol extract from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis* (%)

Samples	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Leaf	1.9	0.8	3.5	2.7	5.2
Fruit stalk	1.3	0.7	0.6	2.3	40.6

용매별 항산화 효과

헛개나무 잎과 과병의 항산화 효과는 oxidative free radical 반응을 이용한 환원성 물질의 분석시약인 α - α' -diphenyl- β -picryl hydrazyl(DPPH)방법으로 각 용매별로 추출한 시료의 항산화 효과는 Table 3과 같다. 즉, 잎과 과병 모두 ethanol 추출물이 69.5%와 60.7%로 항산화 효과가 가장 높게 나타났으며, methanol > water > chloroform > hexane 순으로 나타났다. 김 등(22)은 국내 생약재 추출물 중 목단과 황금추출물의 수소공여능이 각각 86.6%와 85.7%로 가장 높게 나타났다고 보고하였다.

Table 3. Antioxidant activities of various solvent extracts from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis* (%)

Samples	Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Leaf	64.2	69.5	13.9	19.1	48.2
Fruit stalk	58.2	60.7	12.6	25.1	38.1

에탄올 추출물의 계통분획별 항산화 효과

헛개나무 잎과 과병의 용매별 추출물 중 항산화 효과가 가장 높은 ethanol 추출물을 비극성~극성 용매로 순차별로 계통분획하여 항산화 효과를 분석한 결과는 Table 4와 같다. 즉, 잎과 과병 모두 ethyl acetate 층에서 88.3%와 77.6%로 가장 높게 나타났으며, 잎의 경우 butanol > chloroform > water > hexane 순으로 나타났고, 과병의 경우는 chloroform > butanol > water > hexane

순으로 항산화 효과가 나타나 합성 항산화제와 항산화 효과를 비교한 결과 거의 유사한 결과를 보여 천연 항산화제로서의 이용가치가 높을 것으로 추정된다.

Table 4. Antioxidant activities of various solvents fractions of ethanol extract from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis*

Samples	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Leaf	1.1	52.7	88.3	61.0	52.1
Fruit stalk	35.5	66.5	77.6	56.7	47.2

용매별 아질산염 소거능

본 실험에서는 위(胃)의 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 각 추출물과 분획물의 아질산염 소거작용을 측정하였고, 그 결과는 Table 5와 같다. 즉, 잎과 과병의 경우 ethanol 추출물에서 각각 62.2%와 58.4%로 아질산염 소거 효과가 가장 높게 나타난 반면, 잎의 hexane 추출물과 과병의 chloroform 추출물에서는 12.3%와 15.7%로 아질산염 소거 효과가 가장 낮게 나타났다. 정 등(23)은 녹즙재료로 많이 이용되는 신선초, 케일, 당근으로 제조한 녹즙을 이용하여 아질산염 소거능을 측정한 결과 14.0~91.2%로 나타났으며, 수용성 획분보다 메탄올 가용성 획분, pH는 산성(1.2)에서 그 효과가 가장 우수하였다고 보고하였다.

Table 5. Nitrite-scavenging effects of various solvent extracts from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis*

Samples	Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Leaf	58.2	62.2	12.3	32.8	49.2
Fruit stalk	50.2	58.4	19.3	15.7	54.4

에탄올 추출물의 계통분획별 아질산염 소거능

헛개나무잎과 과병의 용매별 추출물 중 아질산염 소거 효과가 가장 높은 에탄올 추출물을 비극성~극성 용매를 순차별로 계통분획하여 아질산염 소거 효과를 분석한 결과는 Table 6과 같다. 즉, 잎과 과병의 ethyl acetate 분획층에서 각각 87.4%와 62.2%로 아질산염 소거 효과가 가장 높게 나타났으나, 잎의 chloroform 분획층과 과병의 butanol 분획층에서는 12.7%와 3.3%로 가장 낮게 나타났다. 도 등(24)은 결명자를 메탄올로 추출하여 용매별 분획을 행하여 아질산염 소거 효과를 분석한 결과 ethyl acetate 분획층에서 91.3%로 높게 나

타났다고 보고하였다.

Table 6. Nitrite-scavenging effects of various solvents fractions of ethanol extract from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis*

Samples	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Leaf	25.1	12.7	87.4	45.7	42.2
Fruit stalk	42.2	20.6	62.2	3.3	35.3

알콜분해능

헛개나무의 부위별로 알콜분해능을 1~5주동안 보관하면서 알콜증류법으로 알콜함량을 확인한 결과는 Table 7과 같다. 즉, 과병과 잎을 5주동안 보관하면서 알콜분해효과를 조사한 결과 1주부터 점차적으로 알콜 함량이 줄어드는 경향을 나타내어 마지막인 5번째에는 약 50%이상의 알콜분해효과를 나타내었으나, 다른 부위에는 알콜분해효과를 나타내지 않았다.

Table 7. Alcohol degradation effects from different parts of *Hovenia dulcis*

Samples	Alcohol concentration(%)				
	1 week	2 week	3 week	4 week	5 week
Xylem	23.5	22.7	22.1	21.8	21.5
Branch	22.9	22.8	22.5	22.2	22.0
Fruit stalk	19.5	16.0	13.0	10.5	9.0
Seed	22.7	22.5	22.4	22.2	22.1
Leaf	22.3	17.5	17.1	16.5	16.0

* Stored sample 50g in 25% ethyl alcohol 500ml.

호기(呼氣) 알콜농도

헛개나무잎과 과병 물추출물의 섭취가 음주 후 알콜 농도에 미치는 영향에 대하여 건강한 시험자를 대상으로 한 호기(呼氣) 알콜농도 측정 결과는 Table 8과 같다. 음주 후 잎과 과병 물추출물을 섭취한 시험자의 호기(呼氣) 알콜 농도는 대조구에 비하여 음주 150분 후에는 현저하게 낮은 호기 알콜 농도를 나타내어 잎과 과병의 추출물이 알콜 농도를 저감시키는 효과가 있는 것으로 추정되어 앞으로 숙취제거 성분의 규명에 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다. 박 등(25)은 mildronate가 알콜 섭취로 인한 부작용인 숙취 현상과 간세포의 손상을 감소시키는 좋은 효과를 나타내었다고 보고하였으며, Okuma 등(13)은 헛개나무는 음주 후 체내에 있어서 혈중 알콜 농도와 acetaldehyde 농도를 저하시키는 효과가 있다고 보고하였고, 음주에 의

한 숙취 증상을 경감함과 동시에 흡기(吸氣)중의 알코올 농도의 소실을 앞당긴다고 보고하였다.

Table 8. Alcohol degradation effects of extracts from leaf and fruit stalk of *Hovenia dulcis*

Samples	Alcohol concentration(%)				
	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.	150 min.
Control	0.088	0.087	0.076	0.071	0.070
Leaf	0.085	0.083	0.065	0.059	0.046
Fruit stalk	0.080	0.078	0.064	0.057	0.041

* Two g was percolated in 100 ml of distilled water for 1 min. drunk after 25% alcohol and then drinking. alcohol degree was measured every 30 min. by alcohol meter.

요 약

헛개나무 추출물을 이용하여 항산화, 아질산염소거 및 알콜분해 효과 등을 조사한 결과는 다음과 같다. 헛개나무 잎과 과병의 용매별 추출수율을 측정된 결과 잎은 물층, 과병에서는 메탄올층에서 각각 높게 나타났으며, 에탄올 추출물을 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물과 같은 용매를 이용하여 계통분획한 후 추출수율은 잎과 과병 모두 물분획층에서 높게 나타났다. 메탄올 에탄올, 핵산, 클로로포름 및 물 추출물을 이용하여 항산화 효과 및 아질산염소거 효과를 측정된 결과 에탄올 추출물에서 높은 활성을 나타내었으며, 에탄올 추출물을 계통분획하여 항산화 및 아질산염소거 효과를 측정된 결과 에틸아세테이트 분획층에서 활성이 높게 나타났다. 헛개나무의 부위별 알콜분해효과는 잎과 과병에서 높게 나타났고, 잎과 과병의 알콜분해효과는 시간이 경과함에 따라 증가하였다.

참고문헌

1. Branan, A. L. (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy-anisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52-59
2. 최용, 신동화, 장영상, 신재익 (1992) 식물성 천연 항산화물질의 검색과 그 항산화력 비교. *한국식품과학회지*, 24(2), 142-148
3. 맹영선, 박혜경 (1991) 더덕에탄올추출물의 항산화 효과. *한국식품과학회지*, 23(3), 311-316
4. 오만진, 손화영, 강재철, 이기순 (1990) 식용유지에

- 대한 칩뿌리의 항산화효과. *한국영양식품학회지*, 19, 448-452
5. Normington, K. W., Baker, I., Molina, M., Wishnok, J. S. (1986) Tannenbaum, S. R. and Puju, S. Characterization of a nitrite scavenger 3-hydroxy-2-pyranone from chinese wild plum juice. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 215-221
6. 김선봉, 안방원, 염동민, 이동호, 박영호, 김동수 (1987) 천연 식품성분에 의한 발암성 니트로사민 생성인자 분해작용, 2. 해조추출물의 아질산염분해 작용. *한국수산학회지*, 20(5), 469-474
7. 강운한, 박용곤, 이기동 (1996) 페놀성 화합물의 아질산염 소거 및 전자공여 작용. *한국식품과학회지*, 28(2), 232-239
8. 이영노 (1997) *원색한국식물도감*. 교학사, p.476
9. 주상우 (1992) *원색한국식물도감 산과 들의 계절식물*. 참한출판사, p. 535
10. 김태정 (1996) *한국의 자원식물III*. 서울대학교출판부, p.72
11. Takai, M., Ogihara, Y., Iitaka, Y. and Shibata, S. (1975) Peptides in higher plants. I. conformation of frangulanine. *Chem. Pharm. Bull.*, 23(11), 2556-2559
12. Inoue, O., Takeda, T., and Ogihara, Y. (1978) Carbohydrate structures of three new saponins from the root bark of *Hovenia dulcis*(Rhamnaceae). *J. Chem. Soc. Perkin.*, 1289-1293
13. Okuma, Y., Ishikawa, H., Ito, Y., Hayashi, Y., Endo, A., and Watanabe, T. (1995) Effect of extracts from *Hovenia dulcis* Thunb. on alcohol concentration in rat and men administered alcohol. *日本營養・食糧學會誌*, 48(3), 167-172
14. 정창호, 심기환 (1999) 헛개나무 잎과 과병의 화학 성분. *한국농산물저장유통학회지*, 6(4), 469-474
15. 정창호, 배영일, 심기환 (2000) 헛개나무잎차의 이화학적 특성. *한국농산물저장유통학회지*, 7(1), 117-123
16. 조영수, 서권일, 심기환 (2000) 한국산 작두콩 추출물의 항균활성. *한국농산물저장유통학회지*, 7(1), 195-200
17. Blois, M. S. (1977) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *J. Agric. Food Chem.*, 25, 103-107
18. Gray, J. I. and Dugan Jr. L. R. (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.*, 40, 81
19. 유태종의 4인 (1984) *식품가공실험*. 문운당, p.163

20. 문숙희, 김정옥, 이숙희, 박건영, 김광혁, 류태형 (1993) 감잎 핵산분획의 항돌연변이 효과와 항돌연변이 물질의 GC-MS를 이용한 동정. 한국영양식량학회지, **22(3)**, 307-312
21. 배영일 (1999) 한국산 비파의 기능성 및 이용에 관한 연구. 경상대학교 박사학위논문
22. 김현구, 김영언, 도정룡, 이영철, 이부용 (1995) 국내산 생약추출물의 항산화 효과 및 생리활성. 한국식품과학회지, **27(1)**, 80-85
23. 정소영, 김낙경, 윤선 (1999) 녹즙추출물의 아질산염 소거능에 대한 연구. 한국식품영양과학회지, **28(2)**, 342-347
24. 도정룡, 김선봉, 박영호, 박영범, 최재수, 김동수 (1993) 결명자의 아질산염 소거작용. 한국식품과학회지, **25(5)**, 526-531
25. 박선민, 강박광, 정태호 (1998) Mildronate가 혈청 알코올 농도와 숙취에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, **27(1)**, 168-174

(접수 2000년 7월 15일)