

들깨잎의 품종에 따른 성분분석 및 생리활성물질 탐색

한호석 · 박정혜 · 최희진 · 손준호 · 김영활* · 김 성** · 최 청

영남대학교 생물산업공학부, 대구보건대학 임상병리과*, 아시아대학교 한방식품영양학과**
(2003년 12월 19일 접수)

Biochemical analysis and physiological activity of perilla leaves

Ho-Suk Han, Jung-Hye Park, Hee-Jin Choi, Jun-Ho Son

Yeung-Hweal Kim*, Sung Kim**, and Cheong Choi*

Department of Food Science & Technology Yeungnam University, Kyungsan, 712-749, Korea

Department of Clinical Pathology, Daegu Health College, Daegu, 702-240, Korea*

Department of Oriental Medical Food and Nutrition, Asia University, Kyungsan 712-220, Korea**

(Received December 19, 2003)

Abstract

The biochemical components of *Namcheondlggae*, *Miryangdlkkae 25*, *Boradlggae* and *Ipdlkkae 1* were measured. The samples were extracted with hot water, 60% acetone or 80% ethanol for screening physiological activity. The crude protein content (4.36%) was found in the *Miryangdlkkae 25* and calcium content (497.5 mg%) was found in the *Namcheondlggae* among the tested 4 perilla leaves. Fructose was 30.86 mg% in the *Namcheondlggae* and free amino acids at all perilla leaves was detected seventeen. In *Boradlggae*, glutamic acid and alanine were 25.37 and 11.91 mg%. Totally nine non-volatile organic acids were also detected and the contents of malic acid and glutaric acid were 28.34 and 14.57 mg% in *Boradlggae*. The *Miryangdlkkae 25* had the highest vitamin C amount which was 113.24 mg%. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition activity of 60% acetone extract of *Miryangdlkkae 25* was 39.20% when added as addition of 200 ppm level and xanthine oxidase inhibition activity of 80% ethanol extract of *Boradlggae* was 46.71%. Electron donating activity of 60% acetone extract from *Namcheondlggae* was the strongest inhibition activity as 98.19% when 200 ppm level of the sample extracts were added.

Key Words : perilla leaves, biochemical analysis, angiotensin converting enzyme(ACE), tyrosinase, xanthine oxidase, electron donating ability

I. 서 론

들깨 (*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara)는 꿀풀과에 속하는 1년생 초본으로서 중국 및 동아시아가

원산지이고 우리나라에서는 통일신라시대부터 재배되어온 대표적 유류작물 중 하나이며, 현재 우리나라 이외에 인도, 일본 등에서도 널리 재배되고 있다 (1-3). 과거에는 주로 종실을 채취할 목적으로 들깨를

재배하는 동안 잎을 이용하였으나 식생활 수준의 향상, 육류 소비의 증가 및 외식문화의 발달과 더불어 잎만을 생산하기 위한 잎들깨용 품종이 개발되어 연중 생산이 가능해졌다⁴⁾. 들깨잎은 한국인이 즐겨먹는 채소로서 이용형태로는 독특한 향미와 개운한 맛 때문에 육류 섭취 시 상추와 깻잎도 함께 먹으며 깻잎절임, 튀김, 나물, 깻잎김치 및 양념으로도 많이 쓰이며, 들깨잎에서 추출한 정유는 소스, 과자, 치약 등의 향료로도 이용되며 강한 방부력을 가지고 있어 향료로도 이용되고 있다^{5,6)}. 한방에서는 강장, 소화, 충독, 해독, 음종 및 옷의 해독 등에도 사용되고 있으며, 잎에 함유되어 있는 식이 섬유소는 당뇨병, 비만예방, 항균 및 항암효과가 있는 것으로 알려져 있다^{7,8)}. 들깨잎의 주요 색소인 anthocyanins, flavones 및 flavone glycosides와 같은 안토시아닌계 색소가 많이 함유되어 있어 일본에서는 식용 착색제로 이용되고 있다^{9,10)}. 들깨잎에는 칼슘, 철, 인, 마그네슘 등의 미네랄과 풍부한 비타민 A, C 및 lysine, linolenic acid 등의 식물성 영양소와 노화방지에 효과적인 flavonoids 성분이 다량 함유되어 있다고 알려져 있다^{11,12)}. 들깨잎에 함유된 자색색소를 HPLC로 분석한 결과 13종의 자색색소로 구성된 강한 항산화물질로 알려진 cyanidin을 가진 anthocyanin임을 확인하였다¹³⁾. 들깨잎의 주된 향기 성분은 perilla ketone이 90% 이상 함유되어 있다고 보고하였고⁶⁾ 깻잎의 정유에서 farnescenes 및 α -pinene을 비롯한 18종의 성분이 동정되었다^{14,15)}. 최근 들깨잎의 생리기능성이 밝혀지면서 들깨잎의 추출물에서 항산화작용, 항돌연변이 및 항암효과 등의 연구가 수행되었다^{16,17)}. 그러나 들깨잎의 영양성분, 향기 및 생리활성에 대한 전반적인 연구와 저장성과 변패 등의 문제로 생식 이외의 가공품에 대한 개발은 아직도 미비한 실정이다.

본 연구에서는 들깨잎의 전반적인 성분분석과 더불어 생리활성물질 탐색을 위하여 심혈관질환 예방에 관련된 angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성, 피부 미백에 관련된 tyrosinase 저해활성, 통풍과 관련된 xanthine oxidase 저해활성 및 전자공여능에 의한 항산화활성 등을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara)잎은 경상남도 밀양시 영남농업시험장에서 4월에 채취한 남천들깨, 밀양들깨 25호, 보라들깨 및 잎들깨 1호 등의 4품종을 분양 받아 이물질을 제거하고 세척한 후, polyethylene 필름에 넣어 4°C로 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

2. 일반성분

들깨잎의 일반성분 분석은 AOAC법¹⁸⁾에 준하여 수분 함량은 105°C 상압건조법, 조회분 함량은 550°C 직접 회분법, 조섬유는 시료를 1.25% H₂SO₄와 1.25% NaOH로 분해시킨 다음 건조 및 회화시켜 계산하였고, 조지방 함량은 Soxhlet법 및 조단백 함량은 Kjeldahl법으로 질소를 정량하고 시료의 질소함량에 질소계수를 곱하여 단백질 함량을 나타내었다.

3. 무기물 함량

들깨잎의 무기물 함량은 건식분해법¹⁹⁾으로 분해하였다. 즉, 각각의 시료를 550°C에서 12시간 회화한 뒤 (HCl:H₂O=1:4, v/v) 10mL로 씻어내고 100mL 메스플라스크에 증류수로 채운 다음 0.45 μ m membrane filter(Waters, Miliford, USA)로 여과한 여액 10mL를 채취하여 발광분광 광도계(ICP: Inductively coupled plasma Spectrometry, Jobin-Yvon, JY 38 Plus, France)로 분석하였다. 이때 분석조건은 nebulizer pressure: 3.5 bar for Meinhard type C, aerosol flow rate: 0.3L/min, auxiliary gas: 0.3L/min for multi element analysis of aqueous, cooling gas: 12L/min으로 하였다.

4. 비타민 C 함량

비타민 C 함량은 Sood 등²⁰⁾의 방법을 응용하여 시료 40g을 마쇄하고 80% ethanol 200mL를 가해 2시간 3번 반복하여 환류추출, 여과하여 rotary vacuum evaporator(Eyila, Rikakikai, N-11, Japan)로

감압건고 시키고 증류수 20mL를 넣어 2배 농축한 여액 1mL를 취하여 다시 감압건고 후 초순수 methanol(Merck, Darmstadt, Germany)을 가하여 0.45 μ m membrane filter 및 Sep-pak plus C₁₈ cartridge(Waters, Milford, USA)에 통과시켜 색소와 고분자 물질을 제거한 다음 high performance liquid chromatography(HPLC)로 분석하였다. 이때 HPLC의 분석조건은 column: μ -bondapak C₁₈ 3.9 \times 300mm, detector: 254nm, mobile phase: methanol, flow rate: 1.0mL/min, injection volume: 2 μ L였으며 Shimadzu LC-10 system을 사용하였다.

5. 유리 아미노산 함량

유리 아미노산 함량은 Terashita 등²¹⁾의 방법에 따라 시료 40g을 마쇄하고 80% ethanol 200mL를 가해 2시간 3번 반복하여 환류추출, 여과하여 rotary vacuum evaporator로 감압건고 시키고 증류수 20mL를 넣어 2배 농축한 여액 2mL를 취하여 다시 감압건고 후 0.2M lithium citrate buffer(pH 2.2)를 2mL가하여 0.22 μ m membrane filter 및 Sep-pak plus C₁₈ cartridge에 여과시켜 색소와 고분자 물질을 제거한 다음 아미노산 자동분석기로 분석하였다. 이때 분석조건은 column length: Li form 4.6 \times 60mm, wave length: 440nm, 570nm, column temp.: 30 $^{\circ}$ C-70 $^{\circ}$ C-38 $^{\circ}$ C, buffer solution: pH 2.2 Lithium citrate buffer, flow rate: buffer 0.35mL/min, ninhydrin 0.3mL/min, injection volume: 10 μ L였으며 Hitachi amino acid analyzer를 사용하였다.

6. 유리당 함량

유리당 함량은 Im 등²²⁾의 방법에 따라 시료 40g을 마쇄하고 80% ethanol 200mL를 가해 2시간 3번 반복하여 환류추출, 여과하여 rotary vacuum evaporator로 감압건고 시키고 증류수 20mL를 넣어 2배 농축한 여액 5mL를 취하여 양이온과 음이온 물질을 제거하기 위해 Mixed bed resin TMD-8 (1:1 mixture of strong cation and anion exchange resin, Sigma, USA)을 약 10g을 가하고 4 $^{\circ}$ C에서 1일간 방치한 후 이온교환수지를 제거하기 위하여 Whatman No2 여과지에 methanol로 여과, 세척한

다. 이액을 진공 건고 시키고 5mL 초순수 물(Merck, Darmstadt, Germany)로 정용한 후 0.45 μ m membrane filter 및 Sep-pak plus C₁₈ cartridge에 통과시켜 색소와 고분자 물질을 제거한 다음 HPLC로 분석하였다. 이때 분석조건은 column: rezex RNM, RPM(7.8 \times 300mm, Phenomenex, USA), detector: Shimadzu RID-6A, 8 \times 10⁶ RIU, mobile phase: water, flow rate: 0.6mL/min, temp.: 75 $^{\circ}$ C, injection volume: 20 μ L, software: DS chrom plus(Donam systems Inc., Korea)였으며 Young-In HPLC 930 pump를 사용하였다.

7. 비휘발성 유기산 함량

비휘발성 유기산 함량은 Ha 등²³⁾의 방법에 따라 시료 40g을 마쇄하고 80% ethanol 200mL를 가해 2시간 3번 반복하여 환류추출, 여과하여 rotary vacuum evaporator로 감압건고 시키고 증류수 20mL를 넣어 2배 농축한 여액 3mL를 다시 감압건고 한 후 여기에 14% BF₃/methanol 2mL를 가하여 80 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응한 것을 실온에서 20분간 methylation 시켰다. 여기에 4mL의 포화 ammonium sulfate와 chloroform을 가하여 methyl ester 층을 chloroform 층으로 이행시키고, 소량의 무수 sodium sulfate를 가하여 탈수시킨 다음 2 μ L를 gas chromatography(GC)에 주입하여 분석하였다. 이때 분석조건은 column: DB-waxter 0.53mm \times 30m, detector: FID, injector temp.: 230 $^{\circ}$ C, detector temp.: 250 $^{\circ}$ C, carrier gas: N₂(2mL/min), software: DS chrom plus(Donam systems Inc., Korea)였으며 DS 6200(Donam systems Inc., Korea)를 사용하였다.

8. 추출물의 제조 및 수율 측정

들깨잎 4품종별 100g을 각각 열수, 60% acetone, 80% ethanol을 가하여 4 $^{\circ}$ C에서 24시간 추출한 후, 위와 같은 조건으로 3회 반복하고 상등액을 모아 Whatman No.2 여과지로 여과한 다음 rotary vacuum evaporator를 사용하여 감압농축한 뒤 high speed refrigerated centrifuge(himac CR 21E, Hitachi, Japan)로 3000rpm에서 30분간 원심 분리시켜 chlorophyll과 잔여물을 제거하고 남은 상등액을 freeze dryer(DC 1316, Il-sin, Korea)로 동결건조하여

생리활성탐색을 위한 시료로 사용하였다. 또한 각각의 추출물에 대한 수율은 추출전의 무게에 대한 동결건조 후의 무게를 측정하여 나타내었다.

9. 효소활성저해 실험

1) Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해

Angiotensin converting enzyme 저해효과 측정은 Cushman과 Ondetti의 방법²⁴⁾을 변형하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3M NaCl을 함유하는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 Hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma, USA) 2.5mM을 녹인 액 0.15mL, ACE(0.2unit/mL, Sigma, USA) 0.1mL와 각 추출시료 용액 0.1mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1N HCl 0.25mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 1.5mL의 ethylacetate를 첨가하였다. Ethylacetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 흡광도 228nm에서 측정한 후 다음 식에 따라 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량}}\right) \times 100$$

2) Tyrosinase 저해

Tyrosinase 활성저해 측정은 Yagi 등²⁵⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 0.5mL의 1/15M sodium phosphate buffer(pH 6.8)에 0.2mL의 mushroom tyrosinase(110units/mL, Sigma, USA), 0.2mL의 L-3,4-dihydroxyphenyl alanine(10mM L-DOPA, Sigma, USA) 기질용액 및 각 추출시료 용액 0.1mL를 혼합하여 37°C에서 2분간 반응시킨 후 475nm에서 측정된 값과 추출시료액 대신 증류수 0.1mL를 첨가하여 흡광도를 측정된 값으로 DOPA chrome의 변화를 저해율(%)로 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 O.D.}}{\text{대조구의 O.D.}}\right) \times 100$$

3) Xanthine oxidase 저해

Xanthine oxidase 활성저해 측정은 Stirpe와 Corte의 방법²⁶⁾에 따라 측정하였다. 즉, 반응구는 0.1M

potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6mL에 xanthine(Sigma, USA) 2mM을 녹인 기질액 0.2mL와 xanthine oxidase(0.2unit/mL, Sigma, USA) 0.1mL 및 각 추출시료 용액 0.1mL를 가하고 대조구에는 추출시료액 대신 증류수를 0.1mL 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시키고 1N HCl 1mL를 첨가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292nm에서 측정하여, 다음 식으로 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}}\right) \times 100$$

4) 전자공여능

DPPH(α , α -diphenyl-2-picryl-hydrazyl, Sigma, USA) radical에 대한 소거활성은 Blois²⁷⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 추출시료 용액 1mL에 2×10^{-4} M DPPH 0.5mL를 넣고 vortex한 후 30분 동안 방치한 다음 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{전자공여능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

10. 통계처리

통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하여 각각의 시료에 대해 평균±표준편차로 나타내었으며, 각 군에 따른 유의차 검증은 분산분석(ANOVA : analysis of variance)과 Duncan의 다중검증법(DMRT : Duncan's multiple range test)²⁸⁾으로 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반성분 분석

들깨잎의 일반성분은 <Table 1>과 같이 수분함량은 남천들깨에서 86.68%이었고, 회분함량은 밀양들깨 25호에서 2.09%이었고, 조섬유함량은 잎들깨 1호에서 3.48%이었다. 조지방함량은 남천들깨와 잎들깨에서 0.70%이었고, 조단백함량은 밀양들깨 25호에서 4.36%이었다. 4품종 모두 비슷한 함량을 나타냈으나, 수분함량이 적었던 밀양들깨 25호가 회분과

<Table 1> Proximate composition of perilla leaves
Unit(%)

Proximate compositions	Namcheon dlggae	Miryang dlkkae 25	Boradlggae	Ipdlkkae 1
Moisture	86.68	85.10	85.66	85.59
Ash	1.93	2.09	1.91	2.05
Crude fiber	2.87	2.79	2.89	3.48
Crude fat	0.70	0.57	0.63	0.70
Crude protein	4.08	4.36	3.67	4.19

조단백의 함량이 많은 것으로 나타났다. 이는 Choi 등²⁹⁾이 다른 품종에 비해 함량이 가장 많다고 보고한 엽실 깻잎의 조지방 함량 0.9% 보다는 낮았으나, 조단백 함량의 경우 약 0.7% 높은 것으로 나타났다.

2. 무기물 함량 분석

무기물의 분석결과 <Table 2>에서와 같이 8종류의 무기물을 분석하였으며, 다른 품종에 비해 밀양들깨 25호가 Mn, Cu, Zn, Mg 및 Ca의 함량이 각각 359.0, 1408.6, 7434.4, 294.4 및 497.5mg%로 높게 나타났다. Choi 등²⁹⁾이 연구한 엽실 깻잎의 Ca 함량 174.17mg%보다 높게 나타났으며, 한국인 영양권장량에 나타나 있는 들깨잎의 무기질 함량 중 K의 경우 303.0mg%로 본 연구보다 높게 나타났으나 Ca과 Fe의 함량은 본 연구에서 각각 299.5, 578.3mg%정도 높게 나타났다³⁰⁾.

<Table 2> Mineral component of perilla leaves
Unit(mg%)

Minerals	Namcheon dlggae	Miryang dlkkae 25	Boradlggae	Ipdlkkae 1
Mn	65.0	359.0	80.2	187.1
Fe	577.7	581.4	453.5	649.6
Cu	31.0	1408.6	563.3	241.2
Zn	237.0	7434.4	3405.3	1400.8
Na	37.4	19.7	14.4	46.1
Mg	101.2	294.4	112.7	128.1
K	86.0	40.3	70.7	69.9
Ca	186.7	497.5	211.4	261.6

3. 비타민 C 함량 분석

품종별 비타민 C의 함량 역시 <Table 3>에서 보

<Table 3> Ascorbic acid component of perilla leaves
Unit(mg%)

	Namcheon dlggae	Miryang dlkkae 25	Boradlggae	Ipdlkkae 1
Ascorbic acid	58.96	113.24	61.19	66.02

는 바와 같이 밀양들깨 25호가 다른 품종에 비해 113.24mg%로 매우 높은 것으로 나타났다. 밀양들깨를 기준으로 비교 분석한 결과 Choi 등⁴⁾과 Hong 등⁵⁾의 연구보다 각각 9.77, 90.2mg%정도 높은 것으로 조사되었고, Choi 등²⁹⁾이 보고한 비타민 C의 함량에서는 엽실 깻잎이 62mg%인 것에 비해 약 51mg% 정도 높은 것으로 나타났다. 이는 들깨잎의 품종 및 수확시기 또는 엽령의 차이에 의해 함량 차이가 생기는 것으로 사료된다.

4. 유리 아미노산 함량 분석

들깨잎의 유리 아미노산 종류는 <Table 4>와 같이 약 17종이 검출되었으며, 이 중 주요 성분은

<Table 4> Free amino acid contents in perilla leaves
Unit(mg%)

Free amino acids	Namcheon dlggae	Miryang dlkkae 25	Boradlggae	Ipdlkkae 1
Aspartic acid	3.48	2.22	4.10	3.60
Threonine	2.66	1.47	2.27	1.86
Serine	4.17	2.93	4.02	2.97
Glutamic acid	16.80	23.78	25.37	23.06
Proline	0.73	0.60	0.70	0.68
Glycine	2.42	1.09	1.60	3.56
Alanine	11.46	11.06	11.91	10.70
Valine	1.42	1.47	1.93	1.87
Cystine	2.17	2.78	1.44	2.54
Methionine	0.08	0.03	0.42	0.07
Isoleucine	1.44	0.93	1.23	1.23
Leucine	1.29	0.98	1.22	1.15
Tyrosine	1.40	0.74	1.17	1.19
Phenylalanine	0.94	0.68	0.76	1.06
Lysine	1.55	0.79	1.10	1.33
Histidine	0.16	0.12	0.15	0.16
Arginine	0.73	0.37	0.50	0.56

glutamic acid, alanine, serine, aspartic acid, glycine 및 cystine 등의 순서로 많았으며, 그중 남천들깨에서 threonine의 함량이 가장 높았고, 보라들깨가 다른 품종에 비해 유리 아미노산 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. Choi²⁹⁾가 연구한 유리 아미노산 함량과는 다소 차이를 나타내었는데, 이는 품종과 수확 시기 및 분석 방법에 따라 달라지는 것으로 생각된다. 또한 대부분 수용성인 유리 아미노산은 음료형태의 제품에 잔존하여 맛을 형성하므로 적은 양이나 매우 중요한 요소라고 보고하였다. 또한 피로 회복에 효과가 있는 tyrosine도 소량 함유되어 있으므로 음료의 신소재 개발에 기대되는 바이다.

5. 유리당 함량 분석

들깨잎의 유리당 함량 결과는 <Table 5>에서 보는 바와 같이 5종류의 당이 검출되었으나, 각 품종에 따라 검출되지 않은 당도 있었다. 4품종 모두 검출된 당은 fructose, glucose 및 lactose의 순으로 검출되었고, sucrose의 경우 남천들깨와 보라들깨가 각각 29.41, 28.89mg%로 나타났으며, 잎들깨 1호에서만 arabinose가 검출되었다. 전체적인 유리당 함량은 남천들깨가 다른 품종에 비해 다소 높은 편이었으나, 품종별 차이는 거의 없는 것으로 나타났다.

<Table 5> Free sugar contents in perilla leaves Unit(mg%)

Free sugars	Namcheon dlggae	Miryang dlkkae 25	Boradlggae	Ipdlkkae 1
Sucrose	29.41	-	28.89	-
Lactose	13.58	12.26	12.27	10.49
Glucose	16.68	14.66	17.48	15.81
Fructose	30.86	28.64	28.91	30.60
Arabinose	-	-	-	9.82

6. 비휘발성 유기산 함량 분석

들깨잎에 함유되어 있는 비휘발성 유기산은 <Table 6>과 같이 9가지가 검출되었으며, lactic acid의 경우 4품종 모두에서 검출되지 않았다. malic acid, glutaric acid, citric acid 및 fumaric acid의 순서로 함량이 나타났으며, 비휘발성 유기산의 함량은 전체적으로 밀양들깨 25호가 62.84mg%로 다른 품

<Table 6> Non-volatile organic acid contents in perilla leaves Unit(mg%)

Organic acids	Namcheon dlggae	Miryang dlkkae 25	Boradlggae	Ipdlkkae 1
Lactic acid	-	-	-	-
Oxalic acid	1.06	1.03	1.08	1.23
Malonic acid	0.34	0.46	0.63	0.44
Fumaric acid	5.00	6.97	3.79	3.82
Levulinic acid	1.81	3.54	2.57	2.61
Succinic acid	0.06	0.09	0.07	0.06
Glutaric acid	9.62	15.21	14.57	1.39
Malic acid	26.57	25.58	28.34	25.94
Citric acid	5.18	7.39	7.06	2.30
Pyroglutamic acid	1.24	2.57	1.39	0.93

종에 비해 높은 것으로 나타났다. Kim 등³¹⁾의 연구에 따르면 oxalic acid가 식이 중 바람직하지 못한 성분중의 하나이며 무기질의 흡수를 방해하거나, 임상적 여러 질환에 관계가 있는 것으로 보고하였으며, 들깨잎의 oxalic acid 함량이 137.97mg%인데 반해 본 연구에서는 1.03-1.23mg%로 매우 낮은 값을 나타내 매우 상이한 결과를 보였다.

7. 추출물의 수율

들깨잎으로부터 생리활성 물질을 탐색하기 위하여 열수, 60% acetone 및 80% ethanol 등의 추출용매를 동결시킨 수율을 측정할 결과 <Table 7>에서 보는 바와 같이 4품종 모두 60% acetone에서 가장 높았고, 80% ethanol 및 열수 등으로 각각 나타났으며, 품종별로는 보라들깨가 다른 품종에 비해 수율이 높은

<Table 7> The yield of extracts from perilla leaves by hot water, 60% acetone and 80% ethanol Unit(mg%)

Free sugars	Namcheon dlggae	Miryang dlkkae 25	Boradlggae	Ipdlkkae 1
Hot water	0.40	0.43	0.61	0.65
60% acetone	1.90	2.96	3.05	2.28
80% ethanol	1.64	1.54	2.78	1.54

것으로 나타났다. 이는 극성이 높은 용매에서 용해도가 높기 때문이라고 판단되며, 전반적으로 수율이 낮은 이유는 껍질에 함유되어 있는 성분들이 다른 채소류들 보다 그 함량이 적기 때문이라고 사료된다.

8. 효소활성저해 효과

1) Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해 효과

고혈압 발생기작에서 renin-angiotensin system은 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다. 특히 ACE은 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I 으로부터 C-말단의 dipeptide를 가수분해시켜 혈관 수축 작용을 하는 octapeptide인 angiotensin II를 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. 생성된 angiotensin II는 부신피질에서 알도스테론의 분비를 촉진하여 물과 나트륨의 배설을 억제한다. ACE는 또한 혈관이완작용을 가진 nonapeptide인 bradykinin을 억제시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다²⁴⁾. 이러한 ACE에 대한 저해효과를 측정 한 결과는 <Fig. 1~3>에서 보는 바와 같이 최고 200ppm 농도에서 각 추출물에 대한 품종별로 나타내었다. 4품종 모두 60% acetone 추출물에서 다른 추출물보다 높은 저해활성을 나타냈으며, 그 중 열수와 60% acetone 추출물에서는 밀양들깨 25호가 34.38%, 39.20%, 80% ethanol 추출물에서는 남천들깨가 19.78%의 저해율을 보였다. 이는 Hattori 등³²⁾의 연구에서 탄닌 화합물과 효소의 결합은 아미드 결합과 탄닌의 phenol성 수산기의 수소결합에 의한 반응으로 단백질과 탄닌 복합체를 형성하여 pH, 이온강도, 단백질 및 탄닌의 농도에 의한 상호작용으로 비경쟁적으로 효소를 저해함으로써 효소를 불활성화 시킨다고 보고하였다. Son 등³³⁾이 연구한 한국산 검정콩에서는 300ppm 농도에서 검정콩 1호의 안토시아닌 용액이 66%의 높은 저해율을 보였으며, Choi 등³⁴⁾의 한국산 인삼에서 분리하여 가장 높은 활성을 보인 compound II 화합물은 157ppm에서 31.86% 보다는 높은 저해활성을 나타내었다.

2) Tyrosinase 저해 효과

tyrosinase는 tyrosine으로부터 3,4-dihydroxyphenyl alanine(DOPA)과 DOPA-quinone을 거쳐 최종적으로

로 흑갈색의 melanin 색소 생성에 관계하는 효소로써 야채나 과일류 특히 감자의 갈변현상과 피부에 암갈색의 색소 물질을 침착 시키는 원인이 되기도 한다. 이를 바탕으로 Yagi 등²⁵⁾은 중국 한방 제재에서 tyrosinase 저해제를 연구하였고, 지금까지 천연물에서 추출한 tyrosinase 저해제로는 aloesin, hinokitol 및 quercetin등이 알려져 있으며, hinokitol은 이미 화장품공업에도 이용되고 있다. 또한 Funayama 등³⁵⁾에 의한 생약 추출물에서 polyphenol 화합물로 추정되는 acetone 추출물과 우롱차의 catechin류들 중 gallate가 붙은 화합물이 tyrosinase 저해효과가 높다고 보고하였다. 이는 단백질과의 결합으로 quinone류와 단백질의 활성부위와의 결합으로 침전물을 형성하여 효소를 불활성화 시킨다고 보고하였다. Park과 Chang³⁶⁾은 한국산 식용버섯 중 석이버섯에서 methyl orsellinate, methyl lecanorate 및 methyl gyrophorate로부터 tyrosinase 저해가 탁월하다고 밝혔다. 본 실험에서는 melanin 색소 생성에 관여하는 tyrosinase에 대해 각 추출물에 따른 품종별 저해효과를 <Fig. 1~3>에 나타내었다. 품종간의 차이에서는 보라들깨가 열수 추출물에서 22.14%로 가장 높았으며, 60% acetone 및 80% ethanol 추출물에서는 밀양들깨 25호가 각각 15.21%, 17.08%의 저해율을 보였다. 그러나 그 저해정도가 매우 미비한 편이므로 들깨잎을 이용하여 미백효과를 얻기는 어려울 것으로 판단된다.

3) Xanthine oxidase 저해 효과

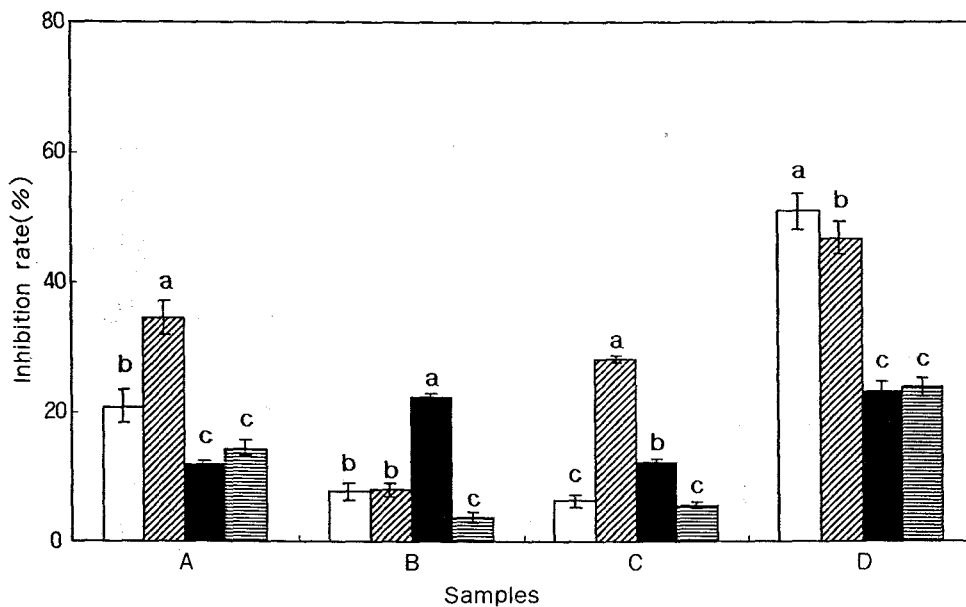
통풍은 생합성에 의한 purine 뉴클레오티드의 과다생성을 일으키는 여러 가지 대사이상에 기인하는 요산의 과다 생성이 원인이며, xanthine oxidase는 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 효소로서 대사산물인 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하며, 이 urate가 혈장 내에서 증가되면 골절에 축적되므로 통증을 동반하여 통풍을 일으키는 효소로 알려져 왔다^{37,38)}. 이러한 통풍에 사용되는 약물 중 allopurinol과 alloxanthine은 xanthine oxidase의 효소 활성을 저해함으로써 요산의 생성을 억제하며 저농도에서도 비경쟁적 저해제로 작용한다. Hatano 등³⁹⁾은 galloyl기를 함유한 flavonoid 화합물이 xanthine oxidase 저해효과가 우수하였으며 경쟁적으로 저해한다는 사실을 보고하였다. 이러한 요산을 생성하는

xanthine oxidase에 대한 활성저해능을 측정한 결과 <Fig. 1~3>의 결과에서와 같이 200ppm에서 열수 추출물은 밀양들깨 25호가 28.04%로 가장 높았으며, 60% acetone 및 80% ethanol 추출물에서는 보라들깨가 40.76%, 46.71%로 다른 품종에 비해 높게 나타났다. 그러나 Son 등³³⁾이 보고한 한국산 검정콩의 생리활성에서는 250ppm에서 70%이상의 강한 저해 활성이 나타났으며, Choi 등³⁴⁾의 경우에서도 인삼에서 분리한 compound I, II에서 각각 82.79%, 81%의 높은 활성에 비해 본 실험에서는 다소 낮은 저해율을 보였는데, 이는 들깨잎에서의 phenol 성분 및 flavonoid 화합물의 함량이 다른 식품물에 비해 다소 적어 저해율이 낮은 것으로 사료되어진다.

4) 전자공여능

전자공여능은 활성 radical에 전자를 공여 하여 식품중의 지방질산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐만 아니라 인체 내에서 활성 radical에 의한 노화를 억제하는 작용으로도 이용되고 있다⁴⁰⁾. 또한 Kim 등⁴¹⁾이 보고한 항산화 물질의 가장 특징적인

역할은 oxidative free radicals과 반응하는 것으로 본 실험에서는 환원성 물질의 분석시약으로 안전한 free radical인 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)를 이용하여 각 추출물의 전자공여능을 조사한 결과는 <Fig. 1~3>에 나타내었다. 200ppm 농도에서 열수 및 60% acetone 추출물은 각각 50.84%, 98.19%로 남천들깨가 높은 radical 소거능을 나타냈으며, 80% ethanol에서는 보라들깨가 87.44%로 나타났다. 이는 Kim 등⁴²⁾이 연구한 국내산 생약류의 열수 추출물 200ppm 농도에서 목단, 황금, 산수유 및 작약의 전자공여능 보다는 낮았으나, 두충과 시호보다는 높은 저해율을 보였으며, Choi 등⁴³⁾의 한국산 인삼으로부터 분리한 polyphenol 화합물의 분획물 II 35.17%보다 높은 것으로 나타났다. Kang 등⁴⁴⁾은 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenolic 물질에 대한 항산화작용의 지표라고 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였으며, DPPH는 아스코르빈산, 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 자색이 탈색됨으로써 전자공여능의



<Fig. 1> Inhibition effect of hot water extracts from perilla leaves on angiotensin converting enzyme, tyrosinase, xanthine oxidase and electron donating ability.

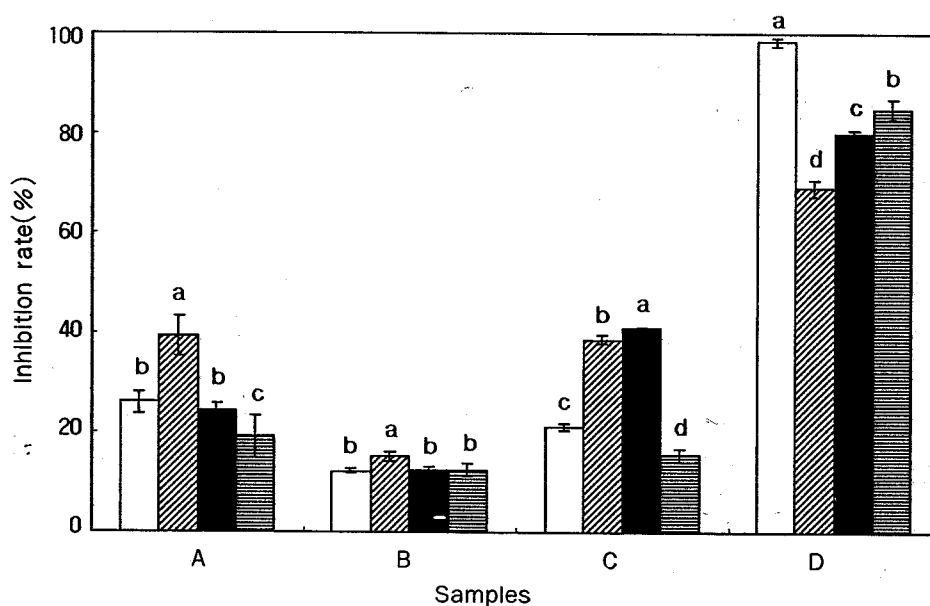
Each sample was tested at the concentration of 200ppm.

Values represent mean ± S.D. of 5 replications.

P-values was determined by F-test.

A : angiotensin converting enzyme, B : tyrosinase C : xanthine oxidase, D : electron donating ability

□ : Namcheondlggae ▨ : Miryangdlkkae 25 ■ : Boradlggae ▤ : Ipdllkkae 1



<Fig. 2> Inhibition effect of 60% acetone extracts from perilla leaves on angiotensin converting enzyme, tyrosinase, xanthine oxidase and electron donating ability.

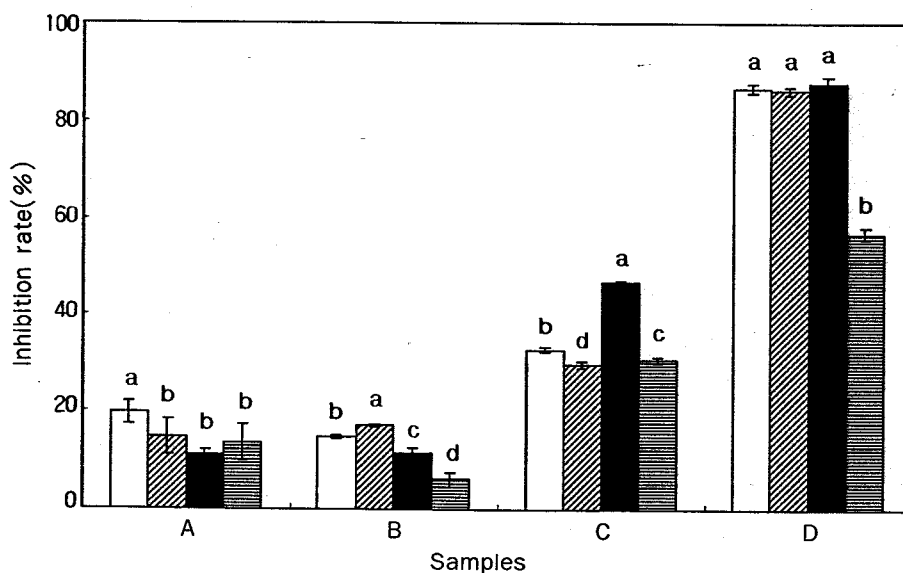
Each sample was tested at the concentration of 200ppm.

Values represent mean \pm S.D. of 5 replications.

P-values was determined by F-test.

A : angiotensin converting enzyme, B : tyrosinase C : xanthine oxidase, D : electron donating ability

□ : *Namcheondlggae* ▨ : *Miryangdlkkae 25* ■ : *Boradlggae* ▤ : *Ipdlkkae 1*



<Fig. 3> Inhibition effect of 80% ethanol extracts from perilla leaves on angiotensin converting enzyme, tyrosinase, xanthine oxidase and electron donating ability.

Each sample was tested at the concentration of 200ppm.

Values represent mean \pm S.D. of 5 replications.

P-values was determined by F-test..

A : angiotensin converting enzyme, B : tyrosinase C : xanthine oxidase, D : electron donating ability

□ : *Namcheondlggae* ▨ : *Miryangdlkkae 25* ■ : *Boradlggae* ▤ : *Ipdlkkae 1*

차이를 측정한다고 보고한 바 있다. 본 연구에서는 항산화효과가 높은 들깨잎을 이용한 고기능성 음료 및 가공식품의 개발이 기대되는 바이다.

IV. 요약

한국산 들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara) 잎 남천, 밀양 25호, 보라 및 잎들깨 1호 등 4품종의 성분 분석과 열수, 60% acetone 및 80% ethanol로 생리활성물질을 추출하여 탐색하였다. 조섬유 및 조지방의 함량은 3.48%, 0.70%로 잎들깨 1호, 조단백의 함량은 4.36%로 밀양들깨 25호, Ca의 함량은 497.5mg%로 남천들깨가 가장 많았다. HPLC를 이용하여 유리당을 분석한 결과 5종류의 당 sucrose, lactose, glucose, fructose 및 arabinose가 검출되었고, fructose 함량이 30.86mg%로 남천들깨가 가장 높았으며, 들깨잎의 유리아미노산의 종류는 4품종 모두 17개의 유리 아미노산이 검출되었다. 밀양들깨 25호에서는 glutamic acid, alanine의 함량이 각각 25.37, 11.91mg%로 다른 품종 보다 유리아미노산의 함량이 많았다. 비휘발성 유기산의 경우 4품종에서 9개의 비휘발성 유기산이 검출되었으며, 보라들깨에서 malic acid 28.34mg%, glutaric acid 15.21mg% 순으로 나타났다. 비타민 C의 함량은 밀양들깨 25호가 113.24mg%로 가장 높았다. ACE의 저해활성을 측정한 결과 밀양들깨 25호가 60% acetone 추출물 200ppm에서 39.20%, xanthine oxidase는 보라들깨의 80% ethanol 추출물 200ppm에서 각각 46.71% 및 DPPH에 의한 항산화 효과는 남천들깨의 60% acetone 추출물 200ppm에서 98.19%의 강한 저해효과를 나타내었다.

■ 참고문헌

- 1) Lee JL, Han ED, Lee ST, Park HW. Study on the evaluation of oil quality and the differences of fatty acid composition between varieties in perilla(*perilla frutescens* Britton var. *japonica* Hara). Korean J Breed 18: 228-233, 1986.
- 2) Park JH, Yang CB. Studies on the removal of phytate from korean perilla(*perilla ocimoides*, L.) protein. Korean J Food Sci Technol 22: 343-349, 1990.
- 3) Heath HB, MBE, Pharm B. Flavor Technology. The AVI publishing Co. Inc. Westprot 269-367, 1978.
- 4) Choi YH, Han JS. Vitamin C and mineral contents in perilla leaves by leaf age and storage conditions. Korean J Soc Food cookery Sic 17: 583-588, 2001.
- 5) Hong YP, Kim SY, Choi WY. Postharvest changes in quality and biochemical components of perilla leaves. Korean J Food Sci Technol 18: 255-258, 1986.
- 6) Guenther E. Essential oils, 2nd ed. Robert, E. Krieger Publishing Co. 3, 1974.
- 7) Lim SU, Seo YH, Lee YG, Baek NI. Isolation of volatile allelochemicals from leaves of *perilla frutescens* and *artemisia asiatica*. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 37: 115-123, 1994.
- 8) Mercurio KC, Behm PA. Effect of fiber type and level on mineral excretion transit time and intestinal history. J Food Sci 46: 1462-1463, 1981.
- 9) Ishikura N. Anthocyanins and flavones in leaves and seeds of *perilla* plant. Agric Biol Chem 45: 1855, 1981.
- 10) Tamura H, Fujiwara M, Sugisawa H. Production of phenyl-propanoids from cultured callus tissue of the leaves of Akachirimem-shiso(*perilla* sp.). Agric Biol Chem 53: 1971, 1989.
- 11) Kim KH, Chang MW, Park KY, Rhee SH, Rhew TH, Sunwoo YI. Antitumor activity of phytol identified from perilla leaf and its augmentative effect on cellular immune response. Korean J Nutrition 26: 379-389, 1993.
- 12) Tateba H, Morita K, Kameda W, Tada M. Photochemical reaction of perollaldehyde under various conditions. Biosci Biotechnol Biochem 56: 614, 1992.
- 13) Choung MG, Kwon YC, Kwak, YH. Test of components related to quality in perilla leaves(I. Test of purple pigment in perilla leaves). RDA J Agri Sci 40: 127-132, 1998.
- 14) Sakai T, Hirose Y. Bull Chem Soc Japan 42: 3615, 1969.
- 15) Schultz TH, Flath RA, Mon TR., Enggling SB,

- Teranishi, R. Isolation of volatile components from a model system. *J Agric Food Chem* 25: 446-449, 1977.
- 16) Park KY, Lee KI, Rhee SH. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153, 1992.
 - 17) Lee KI, Rhee SH, Kim JO, Chung HY, Park KY. Antimutagenic and antioxidative effects of perilla leaf extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 175-180, 1993.
 - 18) AOAC. The Official Methods of Analysis 14th ed. The Association of official Analysis Chemists. Washington D.C. 1984.
 - 19) National research council, mineral tolerance of domestic animals. National Academy of Sciences. Washington D.C. 1980.
 - 20) Sood SP, Sartori LE, Wittmer DP, Haney WG. High pressure liquid chromatographic determination of ascorbic acid in selected foods and multivitamin products. *Anal Chem* 48: 796, 1976.
 - 21) Terashita T, Kitamoto Y, Matsumoto T, Hosoi N, Ichikawa Y, Kono, M. Nitrogen metabolism in *Favolus arcularius*. Changes in composition of free and protein amino acids during development of the mycelium and fruiting bodies. *Transaction of the Mycological Society of Japan* 25: 187-198, 1984.
 - 22) Im MH, Choi JD, Chung HC, Lee SH, Lee CW, Choi C, Choi KS. Improvement of *Meju* preparation method for the production of Korean traditional *Kanjang*. *Korean J Food Sci Technol* 30: 608-614, 1998.
 - 23) Ha JH, Hawer WD, Park YK, Nam YJ, Analysis of non-volatile organic acid with capillary gas chromatography. *J of korean society analytical science* 1: 131-135, 1988.
 - 24) Cushman DW, Ondetti MA. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem Pharmacology* 29: 1871-1877, 1980.
 - 25) Yagi A, Kanbara T, Morinobu, N. The effect of tyrosinase inhibition for aloea. *Planta Medica* 3981: 517-519, 1986.
 - 26) Stirpe F, Corte ED. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol Chem* 244: 3855-3863, 1969.
 - 27) Blois MS. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 26: 1198-1199, 1958.
 - 28) Duncan DB. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1, 1955.
 - 29) Choi YW. Development of labor saving and environment friendly cultivation method for the production of high quality perilla leaf in *Miryang* area. the ministry of agriculture and forestry. The final research paper 322-339, 2002.
 - 30) Recommended dietary allowances for Koreans, 7th Revision. The Korean nutrition society 2000.
 - 31) Kim ES, Im KJ. A study on oxalic acid and calcium content in korean foods. *K J Nutrition* 10: 104-110, 1977
 - 32) Hattori MN, Ishigami T, Hara Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferas from *streptococcus mutans*. *Chem Pharm Bull* 38: 717-720, 1990.
 - 33) Son JH, Choung MG, Choi HJ, Jang UB, Son GM, Byun MW, Choi C. Physiological effect of korean black soybean pigment. *Korean J Food Sci Technol* 33: 764-768, 2001.
 - 34) Choi HJ, Jang UB, An BJ, Choi C. Identification of biologically active compounds from *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean J Food Sci Technol* 34: 493-497, 2002.
 - 35) Funayama M, Kimura S. Studies on cosmetic ingredients from crude drugs(1) inhibition of tyrosinase activity by crude drugs. *Shoyakugaku Zasshi* 43: 142-147, 1989.
 - 36) Park YH, Chang SK. Screening of inhibitory effect of edible mushrooms on tyrosinase and isolation of active component. *J Fd Hyg Safety* 12: 195-199, 1997.
 - 37) Jones PH. Iodine as an antihypertensive agent. *Ibid* 3: 679, 1973.
 - 38) Storch J, Feber E. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH

- oxidase and xanthine oxidase. *Anal Biochem* 169: 262, 1988.
- 39) Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Okuda T. Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. *Planta Med* 57: 83, 1991.
- 40) Choi JH, Oh SK. Studies on the anti-aging action of korean ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 17: 506-515, 1985.
- 41) Kim MJ, Byun MW, Jang MS. Physiological and antibacterial activity of bamboo(*Sasa coreana* Nakai) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 135-142, 1996.
- 42) Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85, 1995.
- 43) Choi HJ, Han HS, Park JH, Son JH, Bae JH, Seung TS, Choi C. Antioxidantive, phospholipase A2 inhibiting, and anticancer effect of polyphenol rich fraction from *Panax ginseng* C. A. Meyer. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 46: 251-256, 2003.
- 44) Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 27: 978-984, 1995.