

울릉도산 산채류 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 항산화 활성

이승욱* · 이효정 · 유미희 · 임효권 · 이인선¹

계명대학교 식품가공학 전공, ¹계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구(TMR) 센터

Total Polyphenol Contents and Antioxidant Activities of Methanol Extracts from Vegetables produced in Ullung Island

Syng-Ook Lee*, Hyo Jung Lee, Mi Hee Yu, Hyo Gwon Im, and In-Seon Lee¹

Department of Food Science and Technology, Keimyung University

¹The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

To discover new functional materials using edible plants, antioxidant activities of methanol extracts from various parts of seven wild vegetables were investigated *in vitro*. Total polyphenol contents, determined by Folin-Denis method, varied from 16.74 to 130.22 µg/mg. Radical-scavenging activities of methanol extracts were examined using α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay. Inhibition effects on peroxidation of linoleic acid determined by ferric thiocyanate (FTC) method and on oxidative degradation of 2-deoxy-D-ribose in Fenton-type reaction system were dose-dependent. *Athyrium acutipinulum* Kodama (leaf and rood), *Achyranthes japonica* (Miq.) Nakai (seed), and *Solidago virga-aurea* var. *gigantea* Nakai (root) showed relatively high antioxidant activities in various systems.

Key words: wild vegetables, antioxidant, total polyphenol, free radicals

서론

최근 들어 인간의 수명이 증가하고 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 여러 측면에서 노화억제와 건강 유지를 위한 기능성 생리활성 물질에 대한 연구가 미생물과 식물분야에서 광범위하게 연구되고 있다(1-2). 생체 내에서 산화와 관련된 현상으로 인식되고 있는 노화의 원인으로 산소에서 유래되는 superoxide anion radical, hydroxy radical, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등의 활성산소의 역할이 대두되어 이들의 제거에 대한 관심이 높아지고 있다(3). 활성산소는 강한 산화력이 있어 세포막 분해, 단백질 분해, 지방 산화, DNA 합성 억제, 광합성 억제, 엽록체의 파괴 등 생체 내에서 심각한 생리적인 장애를 유발한다(4,5). 생체 내에서는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione reductase 등의 항산화 효소와 tocopherol 등과 같은 천연항산화제가 존재하여 산소 상해에 대한 방어기능을 하고는 있지만(6,7), 과도한 스트레스에 노출되어 있는 현대인의 복잡한 생활 속에서 더욱 효과적인 식이성 항산화제의 필요가 절실해지고 있다. BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole), PG(propyl gallate), TBHQ(tertiary butylhydro-

quinone), ascorbic acid, tocopherol 류, β-carotene 등은 활성산소의 산화기작을 여러 경로에서 차단하거나 지연시키는 작용을 하는 항산화제로서 그 중 항산화 효과가 뛰어난 BHT와 BHA의 합성산화제는 우수한 효과와 저렴한 가격 때문에 tocopherol이나 vitamin C보다 널리 사용되어 왔다. 그러나 50 mg/kg/day의 용량에서 지질변화 및 발암 독성 때문에 사용이 제한되어(8,9), 이들 합성 항산화제를 대체할 안전하고 경제적인 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있다.

산야채류는 영양적인 면이나 기호적인 면에서 중요성이 인식되지 않았으나 국민소득수준의 향상과 더불어 식생활의 양상이 주식 위주에서 벗어나 점차 다양화 되어가면서 최근 그 섭취량이 증가하고 있으며, 채소류를 비롯한 다양한 식물류에서 항산화성, 항암성, 항진균성 등의 생리기능성이 알려지게 되면서 상용하던 채소류뿐 아니라 야생산채에 대해서도 기능적 측면에서 관심을 가지게 되었다(10-12). 식물 성분의 생리적 기능으로서는 지금까지 vitamin C, carotenoids, cellulose 등의 성분들이 항돌연변이원성을 비롯한 항종양활성, 암유발 억제활성, 항산화성, 콜레스테롤 저하작용 또는 정장작용 등의 기능을 가진다고 보고되고 있으나 산채류의 생리적 기능이나 활성성분에 대해서는 극히 일부이며 대부분은 약용식물류와 채소류에 대한 연구들이 주를 이루어 왔다(13). 이러한 약용 식물류, 다류, 혹은 채소류의 경우 항산화성 등의 기능성을 가지는 것은 이들이 polyphenol을 다량 함유하고 있기 때문이라고 생각되고 있다.

울릉도의 대표적인 특산물인 산채류에는 울릉미역취, 눈개승

*Corresponding author: In-Seon Lee, The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, 1000 Sindang-Dong, Dalseo-Gu, Daegu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-5906
Fax: 82-53-580-5538
E-mail: inseon@kmu.ac.kr

마, 물엿경귀, 쇠무릅, 섬고사리, 부지깅이, 서덜취, 쇠비름이 등이 있다. 이들 산채류에서 연구의 관심이 되고 있는 기능성 성분으로는 건물기준함량의 15-45%를 점유하는 것으로 알려진 식이섬유(14)와 당과 결합한 배당체의 형태로 여러 산채류에 존재하는 flavonoid를 비롯한 polyphenol류(15)들이 있으며, 울릉도 산채식물 역시 상당량의 polyphenol을 함유하고 있어 항산화의 다양한 기능성을 발견할 수 있을 것으로 기대된다. 국내의 경우 산채류의 생리활성에 대해 연구가 많지 않으며, 국외의 경우 산채식물의 생리활성에 관한 연구로는 쇠비름의 항암(16), 항돌연변이(16), 항염증(17) 작용에 대한 보고가 있으나, 그 외 산채식물에 대한 연구는 아직까지 다양하게 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 특히 산채식물을 이용한 새로운 기능성 소재의 개발에 우선하여 생산량과 소비량이 비교적 양호하고 울릉도를 대표하는 특산물로 알려져 있는 산채류 7종 즉, 물엿경귀, 쇠무릅, 울릉미역취, 섬고사리, 서덜취, 눈개승마 및 쇠비름을 선정하여 각 부위별 메탄올추출물을 제조한 후 이들의 항산화 효과를 검색하여 천연 항산화제 개발에 필요한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

시료제조

본 실험에서 사용한 산채류는 경북 울릉도 지역에서 채배된 식용 가능한 산채나물 7종으로 Table 1과 같다. 이들 산채류는 각 부위로 나누어 그늘에서 말린 후 실온에서 80% 메탄올로 3회 반복 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No 3., England)를 사용하여 여과하고 rotary vacuum evaporator(BUCHI Rotavapor R-205, Switzerland)로 감압농축한 후 동결 건조하여 항산화 활성 검정에 사용하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 분석방법으로 널리 사용되고 있는 Folin-Denis법을 응용하여 측정하였다. 즉, 각 메탄올 추출물 시료 1 mg을 증류수 1 mL에 녹이고 10배 희석한 희석액 2 mL에 2 배로 희석한 Folin 시약 2 mL을 첨가하고 잘 혼합한 후 3분간 방치한 후 2 mL의 10% Na₂CO₃를 서서히 가하였다. 이 혼합액을 1시간동안 방치한 후 UV/visible spectrophotometer (UVIKON 922, Kontron, Italy)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. Tannic acid를 이용한 표준곡선은 tannic acid의 최종농도가 5, 25, 50 µg/mL 이 되도록 하여 위와 같은 방법으로 700 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등의 방법(18)에 의해 측정하였다. 각 시료 100 µL를 80% ethanol 900 µL에 희석한 후 100 µL를 취하여 10% aluminum nitrate와 1 µM potassium acetate를 함유하는 80% ethanol 4.3 mL에 혼합하여 실온에서 40분 방치한 뒤 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 total flavonoid 함량은 quercetin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

α-α-Diphenyl-β-picrylhydrazyl radicals의 소거활성

DPPH 라디칼의 소거활성은 Blois의 방법(19)에 따라 각 시료의 DPPH 라디칼에 대한 환원력을 측정하였다. 각 추출물을 농도별로 99% 메탄올에 녹인 후, 800 µL를 취하여 메탄올에 녹인 DPPH 용액(0.15 mM) 200 µL와 혼합하여 30분경과 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC₅₀값으로 나타내었다.

ABTS radical 소거활성

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS+· cation decolourisation assay방법(20)에 의하여 시행하였다. 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma Chemical Co., USA)와 2.45 mM potassium persulfate를 최종 농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS+·을 형성시킨 후 732 nm에서 흡광도 값이 0.70(±0.02)이 되게 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4)로 희석하였다. 희석된 용액 990 µL에 sample 10 µL를 가하여 정확히 1분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC₅₀값으로 나타내었다.

Hydrogen peroxide 소거활성

Park 등의 방법(21)에 따라 96 well micro plate에 PBS 100 µL, 물에 녹인 시료 20 µL을 넣고 1 mM H₂O₂를 가하여 5분 방치한 다음, 1.25 mM ABTS 30 µL와 PBS에 녹인 1 u/mL peroxidase 30 µL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Linoleic acid에 대한 항산화 효과

우선 linoleic acid(25.2 mg/mL in absolute alcohol), 30% ammonium thiocyanate 및 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)를 각각 조제하여 반응기질로 사용하였다. Linoleic acid 기질용액 4 mL와 물에 녹인 각 시료용액 4 mL를 tube에 넣고 혼합한 후 phosphate buffer 8 mL와 absolute alcohol 4 mL를

Table 1. List of vegetables

Korean name	Botanical name	Part used
Sumgosari	<i>Athyrium acutipinulum</i> Kodama	Leaf, Root
Noongaesungma	<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> (Maxim.) H.Hara	Leaf, Root
Soimurp	<i>Achyranthes japonica</i> (Miq.) Nakai	Leaf, Seed
Muleonggeongkui	<i>Cirsium nipponicum</i> (Maxim.) Makino	Leaf, Root, Seed, Stem
Soibireum	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Leaf
Sedulchui	<i>Saussurea grandifolia</i> Maxim.	Leaf, Root
Ullungmyukchui	<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>gigantea</i> Nakai	Root, Seed

가하여 cap을 한 후 40°C에서 100 rpm으로 3일간 incubation하여 ferric thiocyanate(FTC)법으로 각 시료의 linoleic acid에 대한 산화방지 효과를 측정하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 BHA를 시료농도의 1/10이 되도록 첨가하여 같은 방법으로 항산화 효과를 측정하였다.

FTC법에 의한 항산화 효과는 Nakatani와 Kikuzaki의 방법(22)을 변형하여 측정하였다. 즉, linoleic acid 반응기질용액 100 µL를 시험관에 취하고 75% ethanol 9.7 mL, 30% ammonium thiocyanate 100 µL, 20 mM ferrous chloride 100 µL를 순서대로 혼합하여 정확히 3분간 방치한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2-Deoxy-D-ribose에 대한 항산화 효과

2-Deoxy-D-ribose에 대한 항산화 효과는 Cheng 등의 방법(23)에 준하여 실시하였다. 2.8 mM 2-deoxy-D-ribose, 1.4 mM H₂O₂를 함유하는 10 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4) 일정량에 물에 녹인 각각의 시료와 premix 된 EDTA/FeCl₂(100 µM EDTA pH 7.0, 20 µM FeCl₂)를 첨가하여 최종 반응액이 2.0 mL가 되게 한 후 37°C에서 4시간동안 반응시켰다. 10% trichloroacetic acid(TCA)로 반응을 중지 시키고 1% thiobarbituric acid(TBA)와 잘 혼합하여 95°C에서 20분간 반응시킨 후 실온에서 냉각하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

이상의 모든 실험 측정치는 최소 3번 반복 실시하여 그 평균값으로 나타내었다.

결과 및 고찰

폴리페놀 함량과 플라보노이드함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl(OH)기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하며, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다. 본 실험에서는 산채식물들의 메탄올 추출물에 존재하는 총 폴리페놀의 함량은 tannic acid를 기준물질로, 총 플라보노이드

함량은 quercetin을 기준물질로 하여 측정하였다(Table 2). 부위별로 보면 물영경귀 잎과 섬고사리 잎 추출물에 각각 130.22와 120.69 µg/mg로 높은 폴리페놀 함량이 존재하고, 섬고사리 잎, 눈개승마 잎, 물영경귀 잎 추출물에 각각 16.75, 16.47, 13.30 µg/mg으로 플라보노이드가 많이 존재하는 것으로 나타났다. 반면, 쇠무릅 뿌리, 물영경귀 씨와 줄기 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 16.74, 29.20, 27.27 µg/mg으로 3% 이하의 아주 낮은 함량을 보였고, 쇠무릅 씨와 물영경귀 줄기의 총 플라보노이드 함량은 각각 1.41과 2.36 µg/mg으로 0.3%이하의 아주 낮은 함량을 보여 대체로 잎에 페놀성 화합물들이 많이 존재함을 알 수 있다. 대부분의 식물들이 대체로 뿌리에는 낮은 폴리페놀 함량을 보이고 있지만, 울릉지역취의 경우는 이와 달리 뿌리 추출물에 127.15 µg/mg으로 매우 높은 함량을 보였다. 그러나 플라보노이드 함량은 높은 폴리페놀의 함량에 비해서 7.57 µg/mg로 낮게 나타났다. 국내산 식용식물종의 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량을 분석한 결과를 살펴보면 국내 시판되는 일부 다류의 경우 홍차, 인삼차, 녹차, 한차의 폴리페놀 함량은 각각 101.51, 28.30, 94.90, 95.81 µg/mg이고, 플라보노이드 함량은 각각 16.75, 3.29, 6.72, 6.06 µg/mg이며(24), 홍화씨, 순 및 꽃의 폴리페놀 함량은 각각 12.34, 5.10, 8.05%(25), 한방 아로마 식물인 Salvia officinalis, Matricaria recutita, Potentilla fruticosa의 폴리페놀 함량은 각각 22.6, 7.5, 37.9 µg/mg이며, 플라보노이드 함량은 각각 3.5, 7.1, 6.1 µg/mg으로 보고되었다(26). 그리고 아르헨티나 여러 지역 propolis의 플라보노이드 함량은 13.3-42.06 µg/mg으로 보고되었다(18). 이들 결과들과 비교해 볼 때 산채식물들 특히 물영경귀 잎, 섬고사리 잎, 울릉지역취 뿌리 등은 상당히 많은 폴리페놀과 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 나타났다.

DPPH free radical의 소거활성

DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는데 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다. 각 메탄올 추출물과 합성 항산화제인 BHA와

Table 2. Content of total polyphenols and flavonoids in methanol extracts from vegetables

Plant	Part used	Total polyphenols ¹⁾ (µg/mg)	Total flavonoids ²⁾ (µg/mg)
<i>Athyrium acutipinulum</i> Kodama: (AA)	Leaf	120.69 ± 18.33 ³⁾	16.75 ± 0.43
	Root	54.00 ± 13.95	2.32 ± 0.16
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> (Maxim.) H.Hara: (AD)	Leaf	66.48 ± 9.68	16.47 ± 0.18
	Root	72.94 ± 10.31	14.63 ± 0.59
<i>Achyranthes japonicqa</i> (Miq.) Nakai: (AJ)	Leaf	16.74 ± 5.67	4.57 ± 0.27
	Seed	33.94 ± 20.29	1.41 ± 0.20
<i>Cirsium nipponicum</i> (Maxim.) Makino: (CN)	Leaf	130.22 ± 12.17	13.30 ± 0.07
	Root	35.85 ± 10.12	6.28 ± 0.24
	Seed	29.20 ± 3.74	6.20 ± 0.45
	Stem	27.27 ± 1.40	2.36 ± 0.33
<i>Portulaca oleracea</i> L.: (PO)	Leaf	53.50 ± 7.02	0.36 ± 0.04
<i>Saussurea grandifolia</i> Maxim.: (SG)	Leaf	58.44 ± 8.15	5.75 ± 0.02
	Root	41.79 ± 6.31	7.62 ± 0.08
<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>gigantea</i> Nakai: (SV)	Root	127.15 ± 9.61	7.57 ± 0.31
	Seed	55.53 ± 14.98	15.82 ± 1.63

¹⁾Milligrams of total polyphenol content/g of plants based on tannic acid as standard.

²⁾Milligrams of total flavonoid content/g of plants based on quercetin as standard.

³⁾Each value is mean ± S.D. (n≥3).

Table 3. Scavenging effects of butylated hydroxyanisole (BHA) and methanol extracts from vegetables on α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl radicals (DPPH \cdot)

Plant	Part used	Scavenging effect (%) ¹⁾	RC ₅₀ ²⁾ (μ g/mL)
BHA (10 μ g/mL)		89.32 \pm 1.32 ³⁾	5.25
<i>Athyrium acutipinulum</i> Kodama: (AA)	Leaf	100	13.02
	Root	100	42.44
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> (Maxim.) H.Hara: (AD)	Leaf	97.28 \pm 5.89	48.27
	Root	91.05 \pm 8.36	53.54
<i>Achyranthes japonicqa</i> (Miq.) Nakai: (AJ)	Leaf	1.71 \pm 2.10	253.87
	Seed	40.15 \pm 3.20	80.62
<i>Cirsium nipponicum</i> (Maxim.) Makino: (CN)	Leaf	100	33.04
	Root	46.00 \pm 6.14	114.66
	Seed	37.67 \pm 8.00	143.20
<i>Portulaca oleracea</i> L.: (PO)	Leaf	54.91 \pm 1.11	90.53
	Leaf	68.87 \pm 4.87	70.06
<i>Saussurea grandifolia</i> Maxim.: (SG)	Leaf	87.79 \pm 6.51	56.41
	Root	70.84 \pm 6.95	64.50
<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>gigantea</i> Nakai: (SV)	Root	100	14.91
	Seed	90.02 \pm 3.25	57.14

¹⁾The concentration of all test samples was 100 μ g/mL except BHA (10 μ g/mL).

²⁾Concentration required for 50% reduction of DPPH \cdot at 30 min after starting the reaction.

³⁾Each value is mean \pm S.D. (n \geq 3).

Table 4. Scavenging effects of Trolox and methanol extracts from vegetables on 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) radicals (ABTS+ \cdot)

Part	Part used	Scavenging effect (%) ¹⁾	RC ₅₀ ²⁾ (μ g/mL)
Trolox (15 μ M)		67.20 \pm 0.32	10.89 (μ M)
<i>Athyrium acutipinulum</i> Kodama: (AA)	Leaf	96.59 \pm 1.41 ³⁾	43.93
	Root	98.57 \pm 0.67	35.39
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> (Maxim.) H.Hara: (AD)	Leaf	98.50 \pm 0.29	40.65
	Root	98.69 \pm 0.25	43.95
<i>Achyranthes japonicqa</i> (Miq.) Nakai: (AJ)	Leaf	53.74 \pm 1.05	92.59
	Seed	91.60 \pm 1.55	50.05
<i>Cirsium nipponicum</i> (Maxim.) Makino: (CN)	Leaf	93.37 \pm 2.77	50.81
	Root	94.20 \pm 2.19	52.35
	Seed	57.02 \pm 1.59	88.24
<i>Portulaca oleracea</i> L.: (PO)	Leaf	45.45 \pm 1.96	106.43
	Leaf	95.74 \pm 2.52	52.94
<i>Saussurea grandifolia</i> Maxim.: (SG)	Leaf	98.18 \pm 0.77	45.64
	Root	79.12 \pm 0.48	62.29
<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>gigantea</i> Nakai: (SV)	Root	97.42 \pm 0.57	29.08
	Seed	98.59 \pm 0.13	40.09

¹⁾The concentration of all test samples was 100 μ g/mL except Trolox (15 μ M).

²⁾Concentration required for 50% reduction of ABTS+ \cdot at 1 min after starting the reaction.

³⁾Each value is mean \pm S.D. (n \geq 3).

의 항산화 효과를 DPPH \cdot 의 소거활성을 측정하여 비교하였다 (Table 3). 섬고사리 잎과 울릉미역취 뿌리 추출물의 RC₅₀ 값이 각각 13.02와 14.91 μ g/mL로 가장 높은 소거활성을 보였으며, RC₅₀ 값이 5.25 μ g/mL인 BHA와 비교해서도 그 활성이 크게 차이가 나지 않았다. 항산화 성분 함량과 free radical 소거활성과의 관계를 살펴보면 폴리페놀 함량에 비례하여 활성이 증가하는 것을 볼 수 있는데(R²=0.82, data not shown), 특이한 점은 폴리페놀 함량 30 μ g/mg를 기준으로 그 이상인 시료에 비해 그 이하의 함량을 보인 쇠무릅 잎, 물영경귀 씨와 줄기의 DPPH \cdot 소거활성이 급격히 떨어지는 것을 볼 수 있었다. 반면, 플라

보노이드 함량과는 상관관계가 없었다. 사용된 식물들의 부위 중 산채로서 식용하고 있는 잎의 활성만을 비교해 본 결과 섬고사리가 제일 높았으며 그 다음은 물영경귀와 눈개승마로 나타났다. Jung 등(27)은 오미자 종자의 메탄올 추출물의 RC₅₀ 값을 33.2 μ g/mL로 보고하였고, Li 등(28)은 해양균류의 라디칼 소거능을 조사하여 RC₅₀ 값을 29-200 μ g/mL로 보고하였다.

ABTS free radical 소거활성

ABTS와 potassium persulfate를 암소에 방치하면 ABTS+ \cdot 이 생성 되는데 추출물의 항산화력에 의해 ABTS+ \cdot 이 소거되어

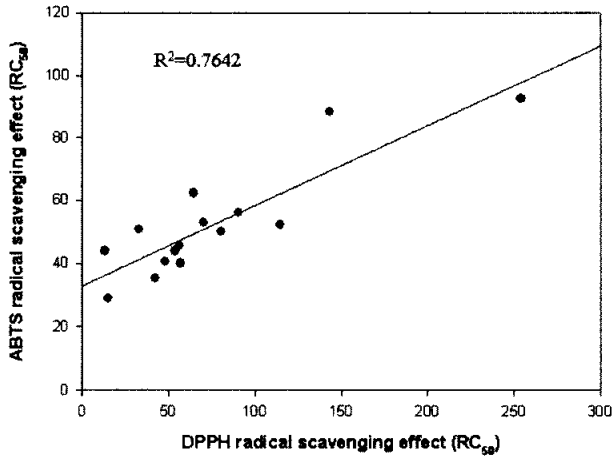


Fig. 1. Correlation between ABTS+ · and DPPH · scavenging effects of methanol extracts from vegetables.

radical 특유의 색인 청록색이 탈색된다. 이와 같이 ABTS+ · 탈색 반응은 이미 생성된 Free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타내어 ABTS+ ·의 소거활성능을 측정하는 방법으로 ABTS+ · 탈색 반응이 1분 안에 종료 되므로 단시간에 측정할 수 있고, 소수성과 친수성 모두에 적용 가능하다.

본 실험에서는 산채식물들과 Trolox의 ABTS+ ·의 소거활성을 비교 측정하여 나타내었다(Table 4). 섬고사리 잎, 뿌리 그리고 울릉미역취 뿌리 추출물의 RC₅₀ 값이 각각 40.93, 35.39, 29.08 µg/mL로 가장 높은 소거활성을 보였으며, 이는 DPPH ·의 소거활성과 유사한 경향이다. 물엿경귀 씨와 줄기를 제외한 나머지 산채나물들의 DPPH · 및 ABTS+ ·의 소거활성도 비슷하게 나타나 R²=0.76의 상관관계를 보였다(Fig. 1). 따라서 산채나물의 폴리페놀성 물질들은 두 가지 형태의 radical 모두에서 우수한 소거활성을 나타내었다.

Miliauskas 등(26)이 여러 한방 및 아로마 식물의 에틸 아세테이트, 아세톤 그리고 메탄올 추출물에 대한 DPPH ·의 소거활성과 ABTS+ · 소거활성의 상관관계를 R²= 0.64, 0.83, 0.76

으로 나타났다고 보고하였고 Choi 등(24)은 국내 시판되는 다류의 항산화물 검색한 결과 R²=0.93의 DPPH ·의 소거활성과 ABTS+ · 소거활성간의 높은 상관관계가 존재한다고 보고하였다. 이들과 비교할 때 산채식물들의 ABTS+ · 소거활성능이 DPPH ·의 소거활성능 보다 다소 높게 나타나지만 그 경향은 매우 유사함을 알 수 있었다.

Hydrogen peroxide 소거활성

Peroxidase의 기질인 ABTS를 이용하여 각 시료들의 H₂O₂에 대한 소거활성을 측정하였다. 산채나물들 대부분은 100 µg/mL 농도에서 60% 이하의 낮은 저해율을 나타냈으나 폴리페놀 함량이 상대적으로 높은 섬고사리 잎과 뿌리, 울릉미역취 뿌리에서 각각 72.83, 89, 99.62%로 나타나 이는 ascorbic acid(10 µg/mL)가 70.52%를 나타낸 것 보다 높은 활성을 나타내었다. 또한 앞에서 본 free radicals 소거활성과 마찬가지로 플라보노이드 함량과는 상관관계가 없었으나 폴리페놀 함량에 비례하여 그 활성이 증가함을 보여 폴리페놀 함량과 밀접한 관련이 있음을 나타내었다(R²=0.75, data not shown). 그러나 물엿경귀 잎은 총 폴리페놀 함량이 130.22 µg/mg로써 가장 높게 나타났으나 상대적으로 낮은 52.37%의 소거활성을 나타냈고 섬고사리 뿌리는 폴리페놀 함량이 54 µg/mg인데 반해 98%의 높은 소거활성을 보여 폴리페놀과 H₂O₂ 소거 활성의 상관관계를 보이지 않았다. Park 등(21)은 환삼덩굴로부터 분리한 luteolin-7-O-β-D-glucoside의 산화억제율을 보았을 때 농도 50 µg/mL에서 62.4%를, 농도 100 µg/mL에서 93.9%의 소거활성을 보였다.

Linoleic acid에 대한 항산화 효과

지질산화 초기에 발생되는 과산화물은 ferrous chloride와 반응하여 빨간색에 가까운 ferric chloride 색소를 생성하게 되며, 지질산화가 계속 진행되면 malonaldehyde와 같은 저분자의 화합물이 생성되는데 이것은 TBA와 결합하여 빨간색의 화합물을 형성한다. 이와 같이 FTC법은 산화 초기에 생성되는 과산화물의 양을 측정하여 지질산화의 정도를 측정하게 된다. 따라서 본 실험에서는 불포화지방산인 linoleic acid를 기질로 하여

Table 5. Scavenging effects of ascorbic acid and methanol extracts from vegetables on hydrogen peroxide (H₂O₂)

Plant	Part used	Scavenging effect (%) ¹⁾
Ascorbic acid (10 µg/mL)		70.52 ± 1.69
<i>Athyrium acutipinulum</i> Kodama: (AA)	Leaf	72.83 ± 2.55 ²⁾
	Root	89.00 ± 3.13
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> (Maxim.) H.Hara: (AD)	Leaf	60.07 ± 1.03
	Root	48.12 ± 2.59
<i>Achyranthes japonicqa</i> (Miq.) Nakai: (AJ)	Leaf	35.52 ± 5.08
	Seed	50.86 ± 1.17
<i>Cirsium nipponicum</i> (Maxim.) Makino: (CN)	Leaf	52.37 ± 6.66
	Root	39.60 ± 6.71
	Seed	41.08 ± 3.77
	Stem	19.04 ± 0.89
<i>Portulaca oleracea</i> L.: (PO)	Leaf	47.05 ± 4.23
<i>Saussurea grandifolia</i> Maxim.: (SG)	Leaf	50.42 ± 4.85
	Root	44.59 ± 2.65
<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>gigantea</i> Nakai: (SV)	Root	99.62 ± 0.49
	Seed	68.11 ± 2.51

¹⁾The concentration of all test samples was 100 µg/mL except ascorbic acid (10 µg/mL).

²⁾Each value is mean S.D. (n≥3).

Table 6. Inhibition effects of BHA and methanol extracts from vegetables on the oxidation of linoleic acid as measured by the thiocyanate method at 72 hr

Part	Part used	Inhibition rate (%)	
		100 µg/mL	10 µg/mL
BHA		88.90 ± 0.70	88.40 ± 2.50
<i>Athyrium acutipinulum</i> Kodama: (AA)	Leaf	92.92 ± 0.48 ¹⁾	46.73 ± 6.67
	Root	87.75 ± 2.94	35.69 ± 3.29
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> (Maxim.) H.Hara: (AD)	Leaf	93.42 ± 0.29	77.33 ± 2.78
	Root	92.12 ± 2.82	65.49 ± 7.84
<i>Achyranthes japonicqa</i> (Miq.) Nakai: (AJ)	Leaf	91.64 ± 1.81	47.73 ± 3.12
	Seed	93.13 ± 0.45	71.71 ± 3.12
<i>Cirsium nipponicum</i> (Maxim.) Makino: (CN)	Leaf	93.11 ± 0.13	55.60 ± 0.04
	Root	94.02 ± 0.90	63.87 ± 4.15
	Seed	94.04 ± 2.60	34.21 ± 3.42
	Stem	89.02 ± 5.05	33.20 ± 1.04
<i>Portulaca oleracea</i> L.: (PO)	Leaf	93.93 ± 0.45	36.25 ± 1.12
<i>Saussurea grandifolia</i> Maxim.: (SG)	Leaf	92.84 ± 0.40	86.23 ± 0.03
	Root	91.67 ± 0.97	86.91 ± 1.20
<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>gigantea</i> Nakai: (SV)	Root	92.72 ± 0.23	84.38 ± 4.95
	Seed	92.65 ± 1.91	88.69 ± 0.89

¹⁾Each value is mean ± S.D. (n≥3).

Table 7. Preventing effects of methanol extracts from vegetables on 2-deoxy-D-ribose oxidative degradation induced by Fenton reagent

Plant	Part used	Preventing effect (%) ¹⁾
<i>Athyrium acutipinulum</i> Kodama: (AA)	Leaf	16.32 ± 1.10 ²⁾
	Root	14.07 ± 1.10
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> (Maxim.) H.Hara: (AD)	Leaf	46.43 ± 0.74
	Root	52.11 ± 6.31
<i>Achyranthes japonicqa</i> (Miq.) Nakai: (AJ)	Leaf	100
	Seed	84.85 ± 4.08
<i>Cirsium nipponicum</i> (Maxim.) Makino: (CN)	Leaf	63.39 ± 7.04
	Root	45.05 ± 5.12
	Seed	94.31 ± 6.95
	Stem	74.42 ± 3.30
<i>Portulaca oleracea</i> L.: (PO)	Leaf	25.07 ± 2.54
<i>Saussurea grandifolia</i> Maxim.: (SG)	Leaf	75.49 ± 1.57
	Root	61.64 ± 1.03
	Seed	93.90 ± 3.48
<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>gigantea</i> Nakai: (SV)	Root	9.02 ± 2.62
	Seed	93.90 ± 3.48

¹⁾The concentration of all test samples was 100 µg/mL.

²⁾Each value is mean ± S.D. (n≥3).

산채나물의 산화방지 효과를 검색하였다.

농도 100 µg/mL에서는 모든 산채류에서 90% 이상의 산화억제율을 보여 합성 항산화제인 BHA(10 µg/mL)의 항산화 효과보다도 다소 높게 나타났다(Table 6). 특히, 서덜취와 울릉미역취는 10 µg/mL에서도 BHA(10 µg/mL)와 비슷한 저해율을 나타냈다. Ismail 등(29)은 *Srobilanthes crispus* 잎의 ethyl acetate 추출물(0.2 mg/mL) 처리로 인해 linoleic acid의 산화가 약 85% 억제되었다고 보고하였으며, Zainol 등(30)은 *Centella asiatica* (L.) Urban의 항산화 효과를 생산지역별과 부위별로 비교하여 0.2 mg/mL의 농도에서 전반적으로 50-90% 정도의 억제효과를 보였다고 보고하였다. 위의 결과들로 볼 때, linoleic acid의 산화를 초기단계에서 효과적으로 억제하여 산화의 진행을 상당히 지연시키는 것을 알 수 있다. 이와 같은 효과는 phenol기에

존재하는 OH기가 DPPH나 ABTS radical과 linoleic acid의 산화로 인해 생성되는 radical에 작용하는 기작에서 차이를 보인다는 보고(31)와 유사한 결과이다.

2-Deoxy-D-ribose에 대한 항산화 효과

2-Deoxy-D-ribose는 Fenton reagent로부터 생성된 hydroxy radicals에 의해 산화되어 malondialdehyde를 생성한다. 이러한 2-deoxy-D-ribose의 산화적 분해 정도는 산성 조건 하에서 TBA를 첨가하여 95°C 이상으로 가열하여 생성되는 빨간색의 화합물(thiobarbituric acid reactive species, TBAR)을 흡광도로 측정하여 나타낸다. 이에 따라 여러 가지 산채식물들의 2-deoxy-D-ribose의 산화 저해 정도를 검색해본 결과(Table 7), 섬고사리 잎과 물영경귀 잎, 그리고 미역취 뿌리의 저해율은 16.3, 63.3,

9.0%로 낮게 나타났으나, 쇠무를 잎과 씨, 물영경귀 씨, 울릉미역취 씨는 116.9, 84.8, 94.3, 93.9%로 높은 저해율을 보였다. Nandita 등(32)은 고구마 껍질(5 mg/mL)에서 약 75% 산화억제율을 보고하였고, Park 등(21)은 환삼덩굴로부터 분리한 luteolin-7-O-β-D-glucoside를 분획별(1 μg/mL)로 2-deoxy-D-ribose의 산화억제율을 보았을 때 메탄올, 클로로포름, 부탄올 분획물에서 각각 82.3, 90.4, 88.1%의 산화억제율을 보고하였다. 이들 결과들과 비교할 때 울릉도산 산채식물들 중 쇠무를 잎과 뿌리, 물영경귀 씨, 울릉미역취 씨는 hydroxy radicals을 소거하여 2-deoxy-D-ribose의 산화를 효과적으로 억제하는 것을 알 수 있었다. 그러나 이러한 활성이 폴리페놀 함량이나 플라보노이드 함량은 상관성을 보이지 않아 2-deoxy-D-ribose의 산화를 저해하는 것은 추출물에 함유된 폴리페놀 이외 다른 물질에 의한 것이라 짐작된다.

요 약

본 연구에서는 산채식물들을 이용한 새로운 기능성 소재의 개발에 우선하여 생산량과 소비량이 비교적 양호한 산채류 7종 즉, 물영경귀, 쇠무를, 울릉미역취, 섬고사리, 서덜취, 눈개승마 및 쇠비름을 선정하여 각 부위별 메탄올추출물을 제조한 후 이들의 항산화 활성을 검색하였다. 총 폴리페놀성 화합물의 함량은 16.74-130.20 μg/mg으로 다양하게 나타났다. 섬고사리 잎과 울릉미역취 뿌리는 DPPH·와 ABTS· 소거활성에서 각각 13.20과 14.91 μg/mL, 43.93과 29.08 μg/mL의 RC₅₀ 값을 보여 가장 높은 소거활성을 나타냈으며 또한 폴리페놀의 함량에 비례하여 소거활성이 증가하여 폴리페놀 함량과 free radical 소거활성은 깊은 연관성이 있음을 알 수 있었다. H₂O₂에 대한 소거활성은 섬고사리 잎과 뿌리 및 울릉미역취 뿌리에서 각각 72.83, 89, 99.62%로 높은 활성을 나타냈고 이러한 결과 역시 폴리페놀 함량과의 연관성을 나타냈다. 산채나물 추출물을 이용하여 linoleic acid에 대한 과산화 억제 효과를 ferric thiocyanate법으로 살펴본 결과, 100 μg/mL의 처리농도에서 모두 90% 이상의 산화억제 효과를 보였고, 10 μg/mL 처리 농도에서는 울릉미역취 뿌리와 씨 그리고 서덜취 잎에서 각각 83.4, 87.4, 79.8%의 산화억제 효과를 보였다. Hydroxy radical에 의한 2-deoxy-D-ribose의 산화억제 효과는 100 μg/mL의 처리농도에서 쇠무를 잎과 씨, 물영경귀 씨, 울릉미역취 씨는 116.9, 84.8, 94.3, 93.9%로 높은 저해율을 보였다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문 헌

1. Goldberg I. Functional Foods. Chapman & Hall Press. New York, NY, USA. pp. 3-550 (1994)
2. Sadaki O. The development of functional foods and materials. Bioindustry 13: 44-50 (1996)
3. Fridorich I. The biology of oxygen radicals. Science 201: 875-881 (1978)
4. Gardner DR, Fridovich I. Superoxide sensitivity of *Escherichia coli* 6-phosphogluconate dehydratase. J. Biol. Chem. 266: 1478-1483 (1991)
5. Imlay IA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. Sci-

- ence 232: 1302-1309 (1986)
6. Choi DS, Go HY. Chemistry of Functional Food. JI-GU Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 78-79. (1995)
7. Kim TS, Kang SJ, Park WC. Changes in antioxidant and antioxidant enzymes activities of soybean leaves subjected to water stress. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biol. 42: 246-251 (1999)
8. Branen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxy toluene. J. Am. Oil Chem. Soc. 52: 59-63 (1975)
9. Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylated hydroxy anisole in F344 rats. J. Cancer Inst. 70: 343-347 (1983)
10. Kaba T, Morita K, Inoue T. Antimutagenic action of vegetable factor on the mutagenic principle of tryptophane pyrolysate. Mutation Res. 53: 351-353 (1978)
11. Han KS, Ham SS, Jeong EH, Lee HK. Antimutagenic effects of the edible mountain herb juices against Trp-P-1 and 2AF. J. Fd Hyg. Safety 7: 161-168 (1992)
12. Kwon YJ, Kim KH, Kim HK. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Ligularia fischeri* extracts with different microwave-assisted extraction conditions. Korean J. Food Preser. 9: 332-337 (2002)
13. Ham SS, Lee SY, Oh DH, Kim SH, Hong JG. Development of Beverages Drinks Using Mountain Edible Herbs. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 92-97 (1997)
14. Lee KS. Content analysis, intake estimation and physiological function of dietary fibers in Korean food. PhD thesis. Ewha Womans University, Seoul, Korea (1997)
15. Singleton VL. Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. Adv. Fd. Res. 27: 149-242 (1981)
16. Yen GC, Chen HY, Peng HH. Evaluation of the cytotoxicity, mutagenicity and antimutagenicity of emerging edible plants. Food Chem. Toxicol. 39: 1045-1053 (2001)
17. Chan K, Islam MW, Kamil M, Radhakrishnan R, Zakaria MNM, habibullah M, Attas A. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (Haw) Celak. J. Ethnopharmacol. 73: 445-451 (2000)
18. Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 109-114 (2000)
19. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. J. Agric. Food Chem. 25: 103-107 (1977)
20. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biol. Med. 26: 1231-1237(1999)
21. Park SW, Chung SK, Park JC. Active oxygen scavenging activity of luteolin-7-O-β-D-glucoside isolated from *Humulus japonicus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 1127-1132 (2000)
22. Nakatani N, Kikuzaki H. A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Origanum vulgare* L). Agric. Biol. Chem. 51: 2727-2781 (1987)
23. Cheng Z, Li Y, Chang W. Kinetic deoxyribose degradation assay and its application in assessing the antioxidant activities of phenolic compounds in a Fenton-type reaction system. Analytica Chimica Acta 478: 129-137 (2003)
24. Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. The antioxidant activities of the some commercial teas. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 723-727 (2003)
25. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 1127-1132 (2000)
26. Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem. 85: 231-237 (2004)
27. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT (Omija) seed. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 928-935 (2000)

28. Li XF, Li Y, Nam KW, Kim DS, Chio HD, Son BW. Screening of radical scavenging activity from the marine-derived fungus. Korean J. Pharmacogn. 33: 219-223 (2002)
29. Ismail M, Manickam E, Danial AM, Rahmat A, Yahaya A. Chemical composition and antioxidant activity of *Strobilanthes crispus* leaf extract. J. Nutr. Biochem. 11: 536-542 (2000)
30. Zainol MK, Abd-Hamid A, Yusol S, Muse R. Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) Urban. Food Chem. 81: 575-581 (2003)
31. Paker L, Glazer AN. Oxygen radicals in biological systems. pp. 343-355. In: Methods in Enzymology 186. Academic Press, London, UK (1990)
32. Nandita S, Rajini PS. Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. Food Chem. 85: 611-616 (2004)

(2004년 12월 1일 접수; 2005년 1월 14일 채택)