

비파 메탄올 추출물의 생리활성 및 방사선 조사 효과

김희정 · 조철훈¹ · 김태훈 · 김동섭 · 박문영² · 변명우*

한국원자력연구소 방사선식품 · 생명공학연구팀, ¹충남대학교 동물자원생명과학과, ²전남농업기술원 난지과수시험장

Biological Evaluation of the Methanolic Extract of *Eriobotrya japonica* and Its Irradiation Effect

Hee Jung Kim, Cheorun Jo¹, Tae Hoon Kim, Dong Sup Kim, Moon Young Park², and Myung-Woo Byun*

Radiation Food Science & Biotechnology Team, Korea Atomic Energy Research Institute

¹Department of Animal Science and Biotechnology, Chungnam National University, Korea

²Subtropical Fruit Crops Experiment Station, Jeonnam Agricultural Research & Extension Services, Korea

Abstract *Eriobotrya japonica* has been used as a folk medicine for treatment of skin diseases, inflammation, coughing, phlegm, and ulcers in Korea and other Asian countries. In a search for possible bioactive agents from natural sources, we found that the methanolic extracts from various parts of *E. japonica* showed moderate antioxidative and antimicrobial activities in several *in vitro* bioassay systems. Additionally, the respective parts of *E. japonica* were irradiated at 20 kGy to investigate the effects of irradiation. Gamma irradiation of *E. japonica* extracts removed the deep greenish color without affecting its natural biological activities such as its antioxidative and antimicrobial properties. Based on these findings, the methanolic extracts of this plant source may be not affected by gamma irradiation as its bioactive constituents may be insensitive to this irradiation. Moreover, the methanolic extract of *E. japonica* may serve as a good natural resource for beneficial functions in food and other related industries.

Key words: *Eriobotrya japonica*, loquat, antioxidative, antimicrobial, irradiation

서 론

최근 소득 증가로 인한 생활수준의 향상으로 인해 식품의 영양학적 측면에서 생체방어, 질병의 방지 및 회복, 노화억제 등의 건강 기능성 측면에 대한 관심이 한층 더 증가되고 있다. 인간의 각종 질병 중 생활 습관에서 유래하는 대부분의 질병은 생체 내에서 산화적 스트레스에 의해 끊임없이 생산되는 활성 산소 종에 기인하는 것으로 알려져 있는데 superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, hydroxyl 및 peroxy nitrite 등과 같은 활성 산소 종들은 인간의 대사과정 중에 끊임없이 발생되어 노화 및 관련 질병의 주요 인자로 작용하고 있다(1). 이런 활성산소의 독성을 억제하기 위한 항산화 활성 물질로서 비타민 C, 비타민 E, 카로테노이드, 플라보노이드, 탄닌 및 인지질 등의 천연 항산화제와 함께 butylated hydroxyanisole(BHA) 및 butylated hydroxytoluene (BHT) 등의 합성 항산화제가 있다. 천연 항산화제들은 항산화력이 비교적 낮고 합성 항산화제의 경우는 생체 효소 및 지방의 변이원성 및 독성으로 인체에 암을 유발할 수 있다는 보고가 있어(2), 보다 안전하고 효과적인 항산화제의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

또한 소비자의 건강 지향적 욕구가 증대되어 인공 합성보존제의 기피현상이 사회전반에서 일어나고 있으며, 안전성이 문제시 되는 합성 항산화제 대신 천연 항산화 성분을 이용하여 식품저장 중 일어나는 미생물에 의한 변질을 방지하고자 하는 연구도 활발히 진행되고 있다.

비파(*Eriobotrya japonica* L.)는 장미과의 상록 교목으로 우리나라에서는 제주도, 경남 및 전남지방 등 온화한 기후 조건에서 주로 자생하고 예로부터 민간요법으로 청폐, 진해, 거담, 건위, 이뇨, 폐열해소, 기관지염, 구역질, 딸꾹질 및 부종 등에 효능이 있다고 알려져 있다(3). 그리고 비파 잎에는 티페노이드(4,5)와 플라보노이드(6) 등의 유용한 화합물을 다량 함유하고 있어 항산화, 항염증, 항HIV, 항돌연변이 및 항암활성(7-9)이 보고되고 있으며, 비파 씨는 polyphenol 화합물군과 amygdalin 등이 함유되어 있어 산화적 스트레스를 감소시켜 주며 또한 항산화효과도 보고 되어 있다(10,11). 이와 같이 다양한 생리활성을 지니고 있는 비파를 이용해서 식품 및 관련 산업에 적용하기 위한 연구는 전무한 실정이며, 그 이유 중의 하나는 비파의 제한적 분포 및 천연에 널리 분포하는 클로로필과 같은 색소 때문에 고유의 진한 색상이 가공 시에 문제점으로 부각되고 있기 때문이다.

한편, 감마선 조사는 모든 식품 및 소재의 부패방지, 제품의 안전성 및 보존성 향상의 효과가 보고되어 식품뿐만 아니라 제약 및 화장품과 같은 공중보건산물에 널리 사용되고 있다(12). 또한 감마선 조사기술은 잔류독성이 전혀 없고 식품 원래의 품질을 유지하면서 여러 가지 긍정적인 효과가 보고 된 바 있고(13) 가공 공정 및 기능성 향상(14)에 까지 이용범위가 확대되고 있는 추세로 앞으로도 식품을 포함한 여러 산업의 분야에 효과적으로 활

*Corresponding author: Myung-Woo Byun, Radiation Food Science and Biotechnology Team, Advanced Radiation Technology Institute, 1266 Shinjeong-dong, Jeongeup, 580-185, Korea
Tel: 82-63-570-3200
Fax: 82-63-570-3202
E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr
Received May 18, 2006; accepted August 30, 2006

용할 수 있을 것으로 기대된다. 특히 최근에는 천연 추출물의 감마선 조사에 의한 투명한 색상으로의 변화 및 화합물의 생리활성 상승효과가 보고 되어있으며(15), 이의 천연기능성 소재로서 활용도 진행 중에 있다(16).

따라서, 본 실험에서는 잎, 과육 및 씨 등 부위별 비파 추출물의 항산화, 항균 및 돌연변이원성 활성을 평가를 하였으며 감마선 조사에 의한 산업적 이용 가능성을 검토하여 새로운 천연 기능성 소재로서의 개발 및 응용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 비파(*E. japonica* L.)는 2005년에 5~7월에 경남 거제에서 재배되어 전남농업기술원 난지과수시험장에서 확인된 것을 사용하였으며 부위별(잎, 과육 및 씨)로 구분하여 실험하였다. 과육은 냉동 보관하여 추출용 시료로 사용하였으며, 신선한 잎과 씨는 분쇄하여 사용하였다.

추출 및 감마선 조사

부위별 비파 추출은 각 시료 300 g을 순수 메탄올 1.2 L로 72 시간 동안 실온에서 침지 추출하였고, 이것을 3회 반복하여 얻은 추출물을 혼합하여 여과 후 감마선 조사 (0 및 20 kGy)를 하였다. 감마선 조사선량(20 kGy)은 이전연구에서 최적선량을 준용하여 사용하였다(17).

감마선 조사는 한국원자력연구소 내 선원 10만 Ci의 Cobalt-60 감마선 조사 시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온(14°C)에서 분당 83.3 Gy의 선량율로 0 및 20 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter(5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다. 비조사구인 0 kGy는 동일한 온도효과를 얻기 위하여 감마선 조사시설 외부에 둔 후 조사 직후 처리구와 함께 4°C 냉장고에 저장하였다. 각 추출물은 감압농축(rotary vacuum evaporator N-11, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)한 후에 동결 건조(vacuum freeze dryer, Model SFDSF12, Samwon Freezing Co., Seoul, Korea)하여 분말로 제조한 후 분석용 시료로 사용하였다. 또한, 추출된 분말의 수율은 잎 32.0%, 씨 9.69% 및 과육 20.58%로 나타났다.

색도 측정

감마선 조사에 따른 시료의 색변화를 조사하기 위하여 추출물 10 mL을 quartz cell(CM A-98, 10 mm)에 옮기고 color difference meter(Spectrophotometer CM-3500d, Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였으며 Illuminant D65 10 광원을 사용하였다. 기기는 측정 전 표준흑판과 표준백판으로 표준화한 후 사용하였으며 Hunter color L*(명도, lightness), a*(적색도, redness) 및 b*(황색도, yellowness)를 측정하였다. 측정된 값은 Spectra Magic Software(version 2.11, Minolta Cyber Chrom Inc., Osaka, Japan)를 이용하여 기록하였다.

총 페놀 함량

총 페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu(18)의 방법을 사용하여 분석하였다. 동결 건조된 조사 및 비조사 부위별 비파 추출물을

메탄올로 녹여 최종농도를 0.5 mg/mL로 하였고 각각의 시료 0.1 mL에 Folin-Ciocalteu's reagent(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 0.2 mL을 첨가하고 23°C에서 1분간 유지시켰다. 그 후 5% Na₂CO₃ 3 mL을 가하여 23°C에서 1시간 방치 후 분광광도계(Shimadzu UV-1601PC, Osaka, Japan)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 검량곡선을 작성한 후 함량 계산에 활용하였다.

항산화성 측정

1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) radical scavenging

activity: 부위별 비파 추출물의 전자공여능은 Blois(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1 mL에 0.2 mM DPPH 1 mL을 넣고 교반한 후 실온에서 30분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음의 계산식에 의해 계산되었다.

$$\text{전자 공여능(\%)} = [1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$$

β -Carotene bleaching assay: 감마선 조사된 부위별 비파 추출물의 항산화 효과 변화를 측정하기 위하여 Matthus(20) 방법을 변형하여 β -carotene bleaching assay를 실시하였다. β -Carotene(1 mg/mL in chloroform)용액 1 mL에 linoleic acid 40 μ L와 Tween 80 400 μ L을 플라스크에 넣은 후 질소가스로 클로로포름을 휘발시키고 증류수 100 mL을 서서히 넣은 후 천천히 교반하였다. 이 용액 5 mL에 시료 200 μ L를 넣은 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 최초 흡광도를 측정한 후 반응용액 50°C water bath에 보관하면서 15분 간격으로 최대 120분까지 측정하였다.

Ferric-reducing antioxidant potential(FRAP) assay:

FRAP 측정은 Benzie와 Strain(21)의 방법을 참고하여 측정하였다. FRAP reagent는 25 mL acetate buffer(300 mM, pH 3.6)를 37°C에서 가온한 후, 40 mM HCl에 용해한 10 mM 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine(TPTZ, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). 5 mL 과 20 mM ferric chloride hexahydrate(FeCl₃ · 6H₂O) 2.5 mL를 넣은 후 37°C에서 10분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산은 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2.5 및 5 mM의 농도로 반복하여 작성한 FeCl₃ · 7H₂O의 검량식에 대입하여 구하였다.

Reducing power: Reducing power는 Oyaizu(22)의 방법에 따라 측정되었다. 시료(0.1-1 mg/mL)에 200 mM sodium phosphate buffer(pH 6.6)과 1% potassium ferricyanide 2.5 mL를 넣어 50°C에서 20분간 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid를 첨가하여 교반시켜 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 한다. 그 다음 상층액 5 mL과 증류수 5 mL 그리고 1% ferric chloride를 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Xanthine oxidase 저해활성: Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte(23)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료 0.2 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine(2 mM)을 녹인 기질액 0.4 mL을 첨가하고 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.2 mL를 가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 20% trichloroacetic acid로 반응을 종료시켰다. 반응용액은 원심분리한 후 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

Table 1. Changes of Hunter color value of the irradiated methanolic extracts from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*)¹⁾

Part	Irradiation (kGy)	Color value		
		L	a	b
Leaf	0	3.0 ^b	-1.5 ^b	12.7 ^a
	20	10.6 ^a	0.7 ^a	4.8 ^b
SEM ²⁾		0.01	0.01	0.02
Seed	0	95.9 ^b	-4.7 ^b	22.0 ^a
	20	99.6 ^a	0.03 ^a	17.7 ^b
SEM		0.019	0.006	0.01
Flesh	0	96.8 ^b	-4.4 ^b	0.1 ^a
	20	99.9 ^a	0.1 ^a	0.01 ^b
SEM		0.01	0.02	0.02

¹⁾Values with different letters (a, b) within the same column differ significantly ($p < 0.05$).

²⁾Standard errors of the mean ($n = 6$).

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

항균효과 측정

부위별 비파 추출물의 항균효과는 disc 한천배지 확산법으로 측정하였다. 즉, 생육 저해환 측정을 위해 멸균한 각각의 생육배지를 petri dish에 15 mL씩 분주하여 응고시킨 후 균 배양액 0.1 mL을 접종한 후 고르게 퍼지도록 하였다. 그 다음 멸균된 paper disc를 평판배지 표면에 밀착시킨 후 추출물 50 μ L를 첨가하여 각 균주의 배양온도에서 배양하여 paper disc 주변에 생성된 저해환의 직경(mm)을 나타냈으며 실험은 2회 반복하여 평균값으로 나타냈다.

돌연변이원성 시험(Ames test)

시험방법은 Maron과 Ames(24)의 방법에 준하여 실시하였다. 시험에 사용된 균주는 *Salmonella Typhimurium* LT2를 친주로 하는 *S. Typhimurium* TA98과 TA100으로 한국화학연구소 안전성 센터에서 분양받아 형질을 확인 후 사용하였다. 대사 활성을 위한 간 균질액(S9 fraction)은 Sprague-Dawley rat의 간으로부터 분리한 것으로 Oriental Yeast Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하였으며, 5%(v/v)의 S9 mixture를 제조하여 사용하였다. S9 mixture는 0.5 mL/plate로 처리했으며, 그의 활성은 2-aminoanthracene(2-AA)의 돌연변이 유발로 확인하였다. 음성대조물질로는 시험물질의 조제에 사용한 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하였으며, 양성대조물질로는 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO), sodium azide(SA) 및 2-AA를 Sigma사(St Louis, MO, USA)로부터 구입하여 이용하였다.

시험물질의 처리는 대사활성계를 적용(+S) 및 미적용(-S) 하여 direct plate incorporation 방법으로 하였으며, 각 농도군당 2개 plate를 사용하였다. 시험물질 0.1 mL과 S9 mixture(또는 멸균 증류수) 0.5 mL에 nutrient broth에서 12시간 배양시켜 대수기 상태에 이르도록 한 균의 배양액 0.1 mL을 top agar에 혼합하여 minimal glucose agar plate에 부어 고화시킨 다음, 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 집락수를 계수하였다.

시험 결과는 복귀돌연변이 집락수의 평균과 표준편차로 나타내었으며, 돌연변이 유발성의 판정은 복귀변이 집락수가 용매 대조군의 2배 이상이면서 용량의존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS software에서 분산분석하고 유의성이 있는 경우, least square 평균값을 Duncan의 multiple range test를 통하여 평균간의 유의성차를 확인하였다($p < 0.05$).

결과 및 고찰

색도측정

비파 메탄올 추출물의 감마선 조사 전과 20 kGy 조사 후의 색도를 측정한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 명도를 나타내는 L*값의 경우 부위별 비파 추출물 모두 조사 후에 증가한 것으로 밝은 색을 나타냄을 확인하였고, 적색도(a* 값)의 경우도 조사 후에 증가하는 경향을 나타내었다. 반면, 황색도(b* 값)는 세 시료 모두 조사 후에 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다고($p < 0.05$). 이는 감마선 조사에 의해 클로로필이 파괴되었다는 보고(25)와 감마선 조사한 간장의 갈색도가 없어진다는 보고(26)와도 유사한 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 천연물 내, 특히 잎에 다량 존재하는 클로로필 및 천연 색소물질의 파괴에 의해서 명도가 높아지는 것으로 판단되며 이러한 천연물은 식품이나 화장품 등에 첨가하여 사용할 때 천연물 자체의 색소로 인하여 다량 첨가하기 어려운 점을 해결 할 수 있는 긍정적인 결과로 생각된다.

총 페놀 함량

페놀성 화합물은 식물계에 광범위하게 분포하는 식물 2차 대사산물의 하나로써 다양한 구조와 현저한 생리활성을 가진다. 본 실험에서 부위별 비파 메탄올 추출물의 총 페놀 화합물의 함량은 Table 2에 나타내었다. 비파 잎 비조사구와 조사구의 페놀함량은 각각 94.2 ± 5.9 및 85.0 ± 2.9 mg/g이었으며, 씨 추출은 29.3 ± 0.3 및 31.5 ± 0.1 mg/g이고, 과육 추출물의 경우 20.7 ± 1.5 및 21.2 ± 2.1 mg/g이었다. 비파 각 부위에서 조사구와 비조사구의 통계상 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 그리고 비파 부위별 총 폴리페놀 함량은 조사구와 비조사구 모두 잎, 씨 및 과육 순이었다.

항산화성 측정

비파 부위별 메탄올 추출물의 항산화 효과는 electron donating ability, β -carotene bleaching assay, FRAP assay 및 reducing power의 방법으로 측정하였다.

Table 2. Effect of irradiation on the total phenolic contents (mg/g sample, dry matter basis) of the methanolic extracts (0.05 mg/mL) from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica* L.)¹⁾

Part	Irradiation dose (kGy)		SEM ²⁾
	0	20	
Leaf	94.2 ^a	85.0 ^a	9.17
Seed	29.3 ^b	31.5 ^b	1.79
Flesh	20.7 ^b	21.2 ^c	0.19
SEM ³⁾	1.79	2.06	

¹⁾Values with different letters (a-c) within the same column differ significantly ($p < 0.05$).

²⁾Standard errors of the mean ($n = 6$).

³⁾ $n = 9$.

Table 3. Effect of irradiation on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity (%) of the methanolic extracts from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*)¹⁾

Part	Extract concentration (mg/mL)	Irradiation dose (kGy)		SEM ²⁾
		0	20	
Leaf	0.05	94.2 ^a	92.9 ^a	0.92
Seed	0.05	60.0 ^b	52.8 ^b	3.33
Flesh	0.05	4.41 ^c	4.22 ^c	0.19
SEM ³⁾		2.32	3.21	

¹⁾Values with different letters (a-c) within the same column differ significantly ($p < 0.05$).

²⁾Standard errors of the mean ($n = 6$).

³⁾ $n = 9$.

DPPH를 이용한 비파 각 부위별 메탄올 추출물의 전자공여능을 측정된 결과를 Table 3에 나타내었다. 감마선 조사 및 비조사 추출물 모두에서 농도가 높을수록 DPPH에 대한 전자공여능도 증가하는 경향을 보였으며, 감마선 조사에 의한 영향은 없었다. 또한, 부위별 추출물의 전자공여능을 비교했을 때 씨와 과육 추출물보다 잎 추출물이 92.9-94.2%로 더 높은 활성을 보였다.

β -Carotene-linoleic acid model system은 linoleic acid와 β -carotene이 반응하여 β -carotene 특유의 주황색이 급격히 퇴색되는 것을 시료가 어느 정도 억제하는지를 흡광도를 통해 확인하는 방법(27)이다. 실험결과, β -carotene함량이 30분 쯤 모든 시료에서 감소하여 이후 시간에서는 비교적 일정한 값을 보였다(Fig. 1). 또한, 과육 추출물 보다 잎과 씨 추출물이 강한 β -carotene 유지력을 보였다. 조사에 의한 β -carotene 유지력의 차이는 유의성이 없는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

Ferric reducing antioxidant power(FRAP) 측정(28) 결과, 씨와 과육 추출물 보다 잎 추출물이 44.4-52.6 μ M FRAP/sample로 강한 항산화효과를 나타내었으며, 씨와 과육 추출물의 FRAP value는 유의차가 없었다(Table 4). 또한, 조사 전과 후 부위별 비파 추출물의 FRAP value도 유의차는 없었다($p < 0.05$).

Reducing power 테스트에서는 추출물 농도가 증가할수록 환원력이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 2). 씨와 과육 추출물보다 잎 추출물의 최대 OD 값(700 nm)이 3.3으로 가장 강한 환원력을 나타내었으며, 조사 전과 후의 환원력의 차이는 없었다($p < 0.05$).

비파 부위별 메탄올 추출물의 항산화 테스트에서 잎이 가장 강한 항산화 활성을 보였으며 방사선 조사에 의한 유의적인 차이도 나타나지 않았다($p < 0.05$). Bac 등(29)은 비파 부위별 용매가 용부의 항산화 활성을 비교해본 결과, 비파 부위별 메탄올 추출물에서 씨 추출물이 잎(55%)과 과육(21%) 보다 강한 라디칼 소거활성(61%)을 나타내었지만, 메탄올 추출물을 유기 용매로 순차 분획한 후의 수소공여능은 잎, 씨 및 과육의 에칠아세테이트 추출물에서 각각 82, 68 및 30%로 가장 높은 활성을 나타났다고 보고하고 있다. Kim 등(30)의 보고에서는 홍화의 부위별 화학성분과 DPPH 라디칼 소거활성을 비교해본 결과, 씨보다 잎에서 총 페놀 함량이 높았으며, 라디칼 소거활성이 높은 것으로 나타났다. 이와 같이, 여러 보고에서 씨와 과육보다 잎에서 총 페놀 함량 및 항산화 효과가 상대적으로 높은 것을 알 수 있다. 본 연구에서도 잎의 총 페놀 함량이 씨와 과육에 비하여 상대적으로 높았으며, 항산화 활성도 잎이 가장 높았다. 이는 비파 잎에는 암 예방 혹은 항염증 효과와 같은 각종 생리 활성 물질이 다량 함유되어 있어 이 같은 결과를 보이는 것으로 추측된다(31). 잎의 항산화 활성 성분의 생체대사 연구의 필요성이 요구되는 대목이

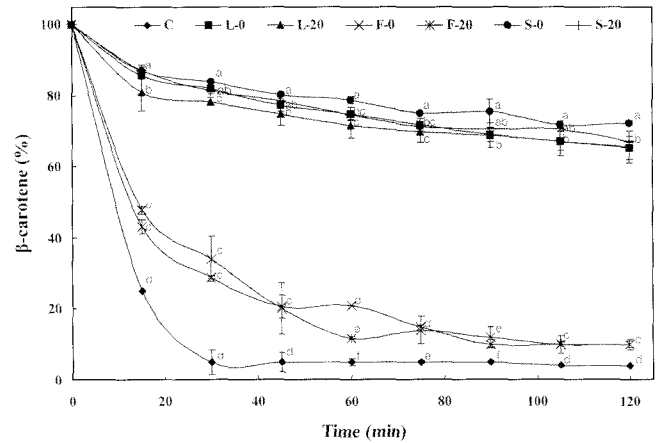


Fig. 1. Effect of irradiation on the β -carotene bleaching assay of the methanolic extracts from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*). C: control, L-0: leaf-0 kGy, L-20: leaf-20 kGy, F-0: flesh-0 kGy, F-20: flesh-20 kGy, S-0: seed-0 kGy, S-20: seed-20 kGy. ^{a-e}Different letters within the same measurement time differ significantly ($p < 0.05$).

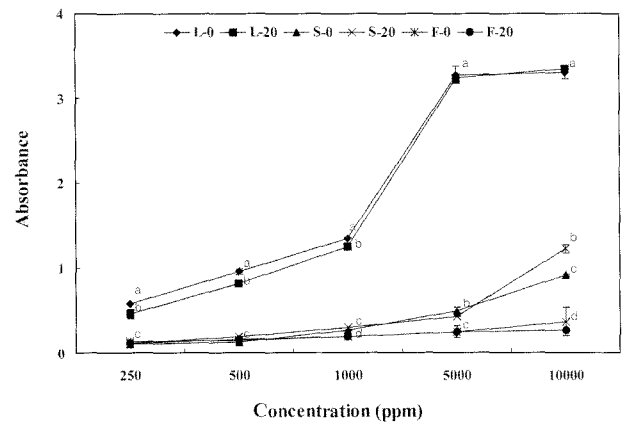


Fig. 2. Effect of irradiation on the reducing power of the methanolic extracts from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*). L-0: leaf-0 kGy, L-20: leaf-20 kGy, F-0: flesh-0 kGy, F-20: flesh-20 kGy, S-0: seed-0 kGy, S-20: seed-20 kGy. ^{a-d}Different letters within the same measurement time differ significantly ($p < 0.05$).

라 사료된다. 한편, 녹차 추출물 및 한약재에 감마선 조사 시 항산화 작용에는 영향을 주지 않는 보고(32, 33)와 유사한 결과를 얻었다. 따라서 감마선 조사는 비파 추출물의 생리활성에 영향 없이 산업적으로 불필요한 선택을 제거하는데 유용한 방법임을 본연구의 결과로부터 다시 한번 증명하였다.

Xanthine oxidase 저해활성

통풍을 일으키는 원인 물질로 알려진 요산을 생성하는 xanthine oxidase에 대한 활성 저해능을 측정된 결과를 Table 5에 나타내었다. 비파 부위별 메탄올 추출물에 대한 xanthine oxidase 저해 활성을 비조사구와 조사구로 비교하였을 때, 통계학적으로 감마선 조사에 의한 차이는 없었다($p < 0.05$). 잎과 씨 추출물의 xanthine oxidase 활성은 통계적으로 유의차가 없었으나 과육 메탄올 추출물의 활성은 잎과 씨에 비하여 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 비파에는 플라보노이드 화합물의 함유가 보고되어 있는데 일반적으로 플라보노이드류는 xanthine oxidase에 대해 강한 저해 활

Table 4. Effect of irradiation on the FRAP (ferric reducing/antioxidant power) value (μM FRAP/sample) of the methanolic extracts (0.05 mg/mL) from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*)¹⁾

Part	Irradiation dose (kGy)		SEM ²⁾
	0	20	
Leaf	52.6 ^a	44.4 ^a	8.26
Seed	9.5 ^b	10.7 ^b	3.76
Flesh	0.9 ^b	3.6 ^b	2.33
SEM ³⁾	3.12	3.61	

¹⁾Values with different letters (a-c) within the same column differ significantly ($p < 0.05$).

²⁾Standard errors of the mean ($n = 6$).

³⁾ $n = 9$.

성을 나타내며 이 활성은 페놀성 수산기가 많은 플라보노이드일 수록 그 저해작용이 강하고 수산기의 위치에 따라 저해효과가 다르다는 보고가 있다(34,35). 따라서 비파의 각 부위에 대한 xanthine oxidase 활성을 저해하는 화합물의 추가적인 연구로서 xanthine oxidase의 활성을 저해하는 물질을 순수 분리하여 특정화에 성공한다면 비파를 이용한 효과적인 통풍예방물질의 개발이 기대된다.

항균효과 측정

미생물에 의한 식품의 변패를 방지하기 위하여 비파 부위별 메탄올 추출물의 항균효과를 디스크 확산법으로 측정된 결과를 Table 6에 나타내었다. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Bacillus subtilis* 및 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 비파 각 부위별 추출물의 항균 효과는 9에서 14 mm의 저해환을 나타내었으며, 감마선 조사 전 후의 활성 변화에 유의차는 없었고 또한, 시료와 실험균주에 의한 항균효과의 유의적인 차이도 없었다($p < 0.05$).

돌연변이원성 시험(Ames test)

감마선 조사한 비파 추출물의 유전 독성학적 안전성을 평가하기 위하여 *Salmonella Typhimurium* TA98 및 TA100 균주를 이용한 유전자 복귀돌연변이 시험을 시행하여 복귀변이 집락수를 조

Table 5. Effect of irradiation on the xanthine oxidase inhibition activity (%) of the methanolic extracts from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*)¹⁾

Part	Extract concentration (mg/mL)	Irradiation dose (kGy)		SEM ²⁾
		0	20	
Leaf	0.5	39.6 ^a	38.6 ^a	2.17
Seed	0.5	35.3 ^a	35.9 ^a	1.71
Flesh	0.5	20.2 ^b	20.0 ^b	1.18
SEM ³⁾		3.48	2.35	

¹⁾Values with different letters (a-c) within the same column differ significantly ($p < 0.05$).

²⁾Standard errors of the mean ($n = 6$).

³⁾ $n = 9$.

사한 결과는 Table 7에 나타내었다. 예비시험결과에 따라 모든 시료는 최대 포화농도인 10,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 를 최고 농도로 설정하여 실험을 수행하였다. 현재 관정기준은 식품의약품 안전청 기준으로 대사활성의 유, 무에 관계없이 최소 1개 균주에서 평판당 복귀변이 집락 수에 있어서 1개 이상의 농도에서 재현성이 증가를 나타낼 때 양성으로 판정한다. 본 실험을 보면 먼저 대사활성 부재시의 경우, 감마선 조사한 비파 부위별 메탄올 추출물은 모든 시험균주에서 시험 적용 농도인 10,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 까지의 농도에서 복귀변이 집락수의 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았으며 용매 대조구와 비교해서도 차이를 보이지 않았다.

일반적으로 돌연변이원성의 판정은 음성대조구 복귀변이 집락수의 2배 이상인 경우를 양성으로 하므로 본 실험의 감마선 조사한 비파 부위별 메탄올 추출물에 대하여 전 시험적용농도에서 복귀변이를 유발하지 않는 것으로 보아 감마선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었다. 따라서 감마선 조사된 비파 추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 유전독성학적 변이원성시험에서 감마선 조사가 생약재가 유전독성학적으로 안전하다는 Jo 등(36)의 보고와도 잘 일치하였다. 따라서 본 시험 조건 하에서 비파 부위별 메탄올 추출물은 독성을 일으키지 않는 것이 시사되어 비파는 식품, 화장품 등의 천연 기능성 소재 소재로서 응용이 기대되는 자료가 얻어졌다고 판단된다.

Table 6. Antimicrobial activity of the methanolic extracts (0.5 mg/mL) from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*) measured by paper disc diffusion method

Part	Irradiation dose (kGy)	Microorganisms				
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Leaf	0	12.0 \pm 0.1 ¹⁾	14.0 \pm 0.4	11.0 \pm 0.1	12.0 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1
	20	11.0 \pm 0.1	14.0 \pm 0.1	12.0 \pm 0.1	11.0 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1
	SEM ²⁾	0.07	0.27	0.07	0.14	0.10
Seed	0	11.0 \pm 0.1	14.0 \pm 0.1	12.0 \pm 0.0	12.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1
	20	13.0 \pm 0.2	12.0 \pm 0.1	13.0 \pm 0.1	12.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1
	SEM	0.16	0.10	0.50	0.11	0.51
Flesh	0	-	13.0 \pm 0.4	10.0 \pm 0.1	10.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1
	20	-	13.0 \pm 0.2	12.0 \pm 0.1	11.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1
	SEM	-	0.29	0.11	0.14	0.07

¹⁾Size of inhibitory zone (disc diameter, 8.0 mm).

²⁾Standard errors of the mean ($n = 6$).

Table 7. Revertant colonies in the *Salmonella Typhimurium* reversion assay of the methanolic extract from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*)¹⁾

Sample	Irradiation dose (kGy)	Dose (µg/plate)	Number of revertant colonies (His+) per plate			
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)	TA100 (-S9)	TA100 (+S9)
Leaf	0	250	31 ± 3	39 ± 6	327 ± 7	376 ± 25
		500	26 ± 1	39 ± 4	257 ± 1	272 ± 13
		1000	23 ± 6	33 ± 8	224 ± 3	333 ± 7
	20	250	30 ± 6	36 ± 6	347 ± 30	440 ± 11
		500	28 ± 4	34 ± 7	344 ± 62	376 ± 34
		1000	21 ± 10	28 ± 1	305 ± 17	355 ± 4
Seed	0	250	35 ± 6	34 ± 7	386 ± 26	426 ± 37
		500	30 ± 4	32 ± 10	307 ± 29	342 ± 31
		1000	22 ± 6	32 ± 2	262 ± 23	286 ± 22
	20	250	34 ± 2	35 ± 8	442 ± 71	502 ± 88
		500	26 ± 2	34 ± 3	348 ± 1	311 ± 10
		1000	20 ± 4	34 ± 1	245 ± 16	298 ± 25
Flesh	0	250	33 ± 2	38 ± 4	443 ± 1	490 ± 25
		500	31 ± 1	133 ± 6	294 ± 11	422 ± 42
		1000	25 ± 1	30 ± 1	260 ± 8	323 ± 10
	20	250	30 ± 1	42 ± 11	406 ± 42	434 ± 3
		500	27 ± 1	35 ± 7	332 ± 4	419 ± 27
		1000	25 ± 6	26 ± 6	294 ± 5	407 ± 10
Negative control	H ₂ O		30 ± 4	38 ± 6	328 ± 36	363 ± 51
Positive control	4-NQO		1236 ± 283			
	2-AA		993 ± 123			
	SA		1721 ± 57			
	2-AA		1011 ± 56			

4-NQO: 4-nitroquinoline-1-oxide, SA: sodium azide, 2-AA: 2-aminoanthracene.

¹⁾Values are the mean ± SD ($p < 0.05$).

요 약

본 연구에서는 비파의 산업적 이용 평가를 목적으로 하여 부위별 비파 추출물의 생리활성 및 감마선 조사효과를 평가하였다. 비파 추출물의 감마선 조사에 의한 색도변화에서 명도 및 적색도는 증가하였고 황색도는 감소하여 더 밝은 색을 띄었다. 총 페놀 함량은 비파 잎에서 94.1 mg/g으로 가장 높았으며, 다음으로 씨, 과육 순으로 나타났으며 조사후의 유의적인 변화는 없었다. 항산화 효과로서는 electron donating ability, β-carotene bleaching assay, FRAP assay 및 reducing power을 측정하였는데 이와 같은 항산화 관련 실험에서 비파 부위별 메탄올 추출물 중 잎이 씨와 과육보다 상대적으로 강한 활성을 보였으며 감마선조사에 의한 유의적인 변화는 관찰되지 않았다($p < 0.05$). 본 실험에서의 결과로서 비파에서는 총 페놀 함량이 높을수록 항산화 활성 비례 증가함을 시사하는 자료가 얻어졌다. Xanthine oxidase 저해활성 측정결과, 비파 잎이 39.6%, 씨가 35.4%로 유의적 차이는 없었으나 과육은 20.2%로 차이를 나타냈다. 또한, 조사에 의한 유의적 차이는 없었다. 부위별 비파 추출물의 항균효과를 paper disc법을 이용하여 측정한 결과, 잎 추출물이 가장 강한 항균 활성을 가지는 10에서 14 mm의 저해환을 나타내었으며, 특히 대장균에 대해서는 감마선 조사에 의한 유의적 변화 없이 가장 강한 항균 활성 나타냈었다. Ames test를 이용한 복귀돌연변이 시험에서는 10,000 µg/plate이하 일 때 부위별 비파 메탄올 추출물의 돌연변이

이원성이 나타나지 않는 것으로 확인되었다. 이상의 결과로부터 다량의 페놀성 화합물을 함유하고 있는 비파의 생활 습관성병 예방 및 기능성 천연 소재로서의 개발이 기대되며 감마선 조사에 의한 비파 성분의 화학적 변형에 관한 고찰이 필요하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 및 한국과학기술기획평가원의 2005년 원자력 중장기 연구개발사업의 지원으로 수행되었습니다.

문 헌

1. Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim K. Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 78-83 (2005)
2. Choe SY, Yang KH. Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). Korean J. Food Sci. Technol. 14: 283-288 (1982)
3. Lee CB. Korean Pictorial Book of Plants. Hyangmoonsa. Seoul, Korea. pp. 684-687 (1982)
4. Shimizu M, Uemitsu N, Shirota M, Matsumoto K, Tezuka Y. A new triterpene ester from *Eriobotrya japonica*. Chem. Pharm. Bull. 44: 2191-2182 (1996)
5. Nozato N, Matsumoto K, Uemitsu N. Triterpenes from leaves of *Eriobotrya japonica*. Nat. Med. 48: 336 (1994)
6. Jung HA, Park JC, Chung HY, Kim J, Choi JS. Antioxidant fla-

- vonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. Arch. Pharm. Res. 22: 213-218 (1999)
7. Ito H, Kobayashi E, Li SH, Hatano T, Sugita D, Shimura S, Itoh Y, Tokuda H, Nishino H, Yoshida T. Antitumor activity of compounds isolated from leaves of *Eriobotrya japonica*. J. Agric. Food Chem. 50: 2400-2403 (2002)
 8. De Tommasi N, De Simone F, Pizza C, Mahmood N, Moore PS, Coti C, Orsi N, Stein ML. Constituents of *Eriobotrya japonica*. A study of their antiviral properties. J. Nat. Prod. 55: 1067-1073 (1992)
 9. Choi JS, Park KY, Moon SH, Rhee SH, Young HS. Antimutagenic effect of plant flavonoids in the *Salmonella* assay system. Arch. Pharm. Res. 17: 71-75 (1994)
 10. Hamada A, Yoshioka S, Takuma D, Yokota J, Cui T, Kusunose M, Miyamura M, Kyotani S, Nishika Y. The effect of *Eriobotrya japonica* seed extract on oxidative stress in adriamycin-induced nephropathy in rats. Biol. Pharm. Bull. 27: 1961-1964 (2004)
 11. Yokota J, Daisuke T, Hamada A, Masahide O, Saburo Y, Kusunose M, Miyamura M, Kyotani S, Nishioka Y. Scavenging of reactive oxygen species by *Eriobotrya japonica* seed extract. Biol. Pharm. Bull. 29: 467-471 (2006)
 12. Byun MW. Application of irradiation techniques to food industry. Radioisotope News 9: 32-37 (1994)
 13. Thayer DW. Food irradiation: Benefits and concerns. J. Food Quality 13: 147-169 (1990)
 14. Lee JW, Yook HS, Cho KH. The change of allergenic and antigenic properties of egg white albumin (*Gal dl*) by gamma irradiation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 500-504 (2001)
 15. Jo C, Son JH, Byun MW. Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extracts. Radiat. Phy. Chem. 66: 179-184 (2003)
 16. Jo C, Jeong IY, Kim DS, Son JH, An BJ, Choi JS, Byun MW. Comparison of the biological activity between a radiation processed natural extract and a commercial counterpart for an industrial application. Food Eng. Prog. 9: 177-181 (2005)
 17. Jo C, Son JH, Lee HJ, Byun MW. Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extract. Radiat. Phy. Chem. 66: 179-184 (2003)
 18. Gao X, Bjork L, Trajkovski V, Uggla M. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test system. J. Sci. Food Agric. 80: 2021-2027 (2000)
 19. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidants capacity and total phenols. Food Chem. 94: 550-557 (2006)
 20. Matthaus B. Antioxidants activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. J. Agric. Food Chem. 50: 3444-3452 (2002)
 21. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay. Anal. Biochem. 230: 70-76 (1996)
 22. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutr. 44: 307-315 (1986)
 23. Stripe F, Corte ED. The regulation of rat liver xanthine oxidase. J. Biol. Chem. 244: 3855-3863 (1969)
 24. Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutat. Res. 113: 173-215 (1983)
 25. Son JH, Jo C, Kim MR, Kim JO, Byun MW. Changes in microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *Kanjang* and *Shoyu*. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 338-344 (2001)
 26. Byun MW, Jo C, Lee KH, Kim KS. Chlorophyll breakdown by gamma irradiation in model system containing linoleic acid. J. Am. Oil Chem. Soc. 79: 145-150 (2002)
 27. Wettsinghe M, Shahdi F. Evening primrose meal a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. J. Agric. Food Chem. 47: 1801-1812 (1999)
 28. Anna G. Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays. Food Chem. 96: 131-136 (2006)
 29. Bae YL, Chung YC, Shim KH. Antimicrobial and antioxidant activities of various solvent extract from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*, Lindl.). Korean J. Food Preserv. 9: 97-101 (2000)
 30. Kim JH, Kim JK, Kang WW, Ha YS, Choi SW, Moon KD. Chemical composition and DPPH radical scavenger activity in different sections of safflower. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 733-738 (2003)
 31. Huang Y, Li J, Cao Q, Yu SC, Lv XW, Jin Yong, Zhang L, Zou YH, Ge JF. Anti-oxidative effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf in chronic bronchitis rats. Life Sci. 78: 2749-2757 (2006)
 32. Son JH, Jo C, Kim MR, Kim JO, Byun MW. Effect of gamma irradiation on removal of undesirable color from green tea extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 1305-1308 (2001)
 33. Byun MW, Jo C, Jeon TW, Hong CH. Effect of gamma irradiation on color characteristics and biological activities of extracts of *Lonicera japonica* (Japanese honeysuckle) with methanol and acetone. Lebensm.-Wiss. Technol. 37: 29-33 (2004)
 34. Hayashi T, Sawa K, Morita N. Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. J. Nat. Prod. 51: 345-348 (1988)
 35. Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Okuda T. Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. Planta Med. 57: 83-84 (1991)
 36. Jo SK, Yook HS, Byun MW. Genotoxicological safety of the gamma irradiated medicinal herbs in the *Salmonella Typhimurium* reversion assay. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 958-964 (1997)