

구아바(*Psidium guajava* L.) 잎의 항산화 활성 및 tyrosinase 저해효과

박병재*, Michio Onjo¹

키타미공업대학 SVBL, ¹카고시마대학 농학부

Antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf

Byoung-Jae Park* and Michio Onjo¹

SVBL, National University Corporation Kitami Institute of Technology, Kitami, Hokkaido 090-8507, Japan

¹Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima 890-0065, Japan

Abstract - This research was designed to investigate the antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf. Total phenol content was obtained from guava leaf extract of 19.0 (g/100g, D.W.). The crude extract exhibited significantly antioxidant activities (IC50value 102.5 µg/ml, free radical scavenging; 49.4 µg/ml, SOD like activity). The crude extract of guava leaf was fractionated into four partition layers; hexane (G-H), ethylacetate (G-E), butanol (G-B) and water (G-W) layer. The extracts of G-E, G-B, G-W showed high radical scavenging activities of over 50% at 100µg/ml. SOD like activities of G-E, G-B, G-W were revealed, as 81.8%, 84.7%, 65.3% at 100µg/ml, while those of G-H did not showed the effectively. The crude extract of guava leaf showed high tyrosinase inhibitory effect as 60.8% at 1mg/ml, the measurement of G-E, G-B, G-W were 65.2%, 62.8%, 51.6% and that of G-H was not effective. These results indicate that useful bioactive substances exist in the guava leaf extracts, especially G-E, G-B. And the guava leaf has the potential of being developed into health related products.

Key words - guava (*Psidium guajava* L.), total phenol, antioxidant, tyrosinase

서 언

다양한 물리·화학적 요인에 의해 superoxide anion, hydroxyl radical, hydrogen peroxide 같이 체내에서 생성된 활성산소종은 그 소거능시스템의 불균형에 의해 조직을 손상시키는 결과 암, 당뇨병, 고혈압, 동맥경화와 같은 다양한 질병과 노화, 생리적 기능의 저하 등을 유발시키는 원인 중의 하나로 알려져 있다. 활성산소종에 의한 인체 내의 손상으로 부터 보호하는 항산화물질에 대한 연구는 다양하게 이루어지고 있으며, 최근에는 합성항산화물질에 대한 의문을 가지며 자연소재로부터 항산화물질을 찾으려 노력하고 있다.

식물에는 다양한 활성산소종을 제거할수 있는 항산화 성분들이 다량 함유되어 있고, 과수, 야채, 차, 허브 등과 같은 식물로 부터의 얻어진 비타민, 페놀화합물, 카로티노이드 등의 항산화물질에 대한 많은 연구가 보고되고 있고 (Nakamura et al., 1990; 유익동 등, 2005), 더불어 효과적이며 경제적인 항산화물질에 대한 개발과 연구에 관심이 고조되고 있다.

구아바(*Psidium guajava* L.)는 Myrtaceae과에 속하고, 열대지역으로부터 아열대지역에 걸쳐 중요한 과수작물로서 널리 분포하고 있다. 구아바의 과실, 뿌리, 잎은 오랫동안 민간약으로서 급성위장염과 설사, 이질 뿐만 아니라 당뇨의 치료에도 이용되어져 왔다(Lozoya et al., 2002). 구아바에는 terpenoid, flavonoid, tannin 등과 같은 여러 유효성분이 알려져 있으며(Begum et al., 2002; Tanaka et

*교신저자(E-mail) : seabass80@hanmil.net

al., 1992), 과실에는 myricetin, apigenin, ellagic acid, anthocyanin 등의 페놀성 화합물과 비타민C, 카로티노이드 등이 높은 함량으로 함유되어 있다(Miean and Mohamed, 2001; Misra and Seshadri, 1968; Mercadante et al., 1999). 과실과 잎의 고혈당 억제효과나 지사, 해열, 항균, 항돌연변이 등의 효과가 보고(Jin et al., 2006; Chen and Yang, 1983; Olajide et al., 1999; Arima and Danno, 2002)되고 있고, 이러한 구아바의 기능적성분, 의약적효능에 기인하여 과실을 이용한 주스 뿐만아니라 잎을 이용한 음료나 차의 생산과 그 수요가 증대되고 있다.

천연생리활성물질을 이용한 식품 및 의약품 등의 개발이 요구되고, 그 효능에 대한 과학적 분석을 위한 유효성분 탐색의 일환으로서, 기능성소재로서 가능성이 높은 구아바잎의 추출물과 용매분획물에 대한 항산화활성과 tyrosinase 저해활성을 측정하였다.

재료 및 방법

추출 및 용매분획

본 실험은 일본, Kagosima현의 Ibusuki에서 재배되고 있는 구아바잎을 2008년 5월 초순에 채취하여, 음건하고 분쇄한 것을 추출시료로 사용하였다. 구아바잎 80 g을 70% MeOH, 1 L로 24시간씩 3회반복 침출하여 추출하였다. 추출물은 filter paper로 여과하여 감압농축기로 농축한 후, 동결건조하여 20.56 g을 얻었고, 각 실험의 시료로 사용하였다.

용매분획은 동결건조된 구아바잎 추출물 15 g에 대하여 hexane, ethylacetate, butanol, 물을 각각 500 ml, 3회씩 분획하였다. 각각의 용매분획물은 감압농축기로 농축 후, 동결건조하였다. hexane분획은 0.57 g, ethylacetate 분획은 3.08 g, butanol분획은 4.15 g, 물분획은 7.16 g을 얻었고, 분획물은 각 실험의 시료로 사용하였다.

총페놀화합물 함량

총페놀화합물의 함량은 Folin-Denis방법에 준하여 측정하였다. 동결건조된 추출물은 50%에탄올에 용해시켜 시료로 하였다. 각각의 시료용액 60 µl에 증류수 960 µl, Folin-Denis 시약 60 µl를 첨가해 교반하였다. 혼합용액에 포화 Na₂CO₃ 120 µl 첨가해 교반후, 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응용액은 spectrometer(Ultrospec 3300 pro, USA)로 640 nm

에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 catechin(TCI, Japan), gallic acid(TCI, Japan)를 이용하여 작성된 검량선으로 총 페놀화합물의 함량을 계산하였다.

Free radical 소거활성

Free radical 소거활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Wako) 라디칼에 대한 전자공여효과에 나타나는 시료의 환원력으로 측정하였다. 동결건조된 각각의 추출물 농도별 시료 1 ml에 500 µM DPPH 용액 1 ml를 첨가해 교반후, 37°C, 암소에서 20분간 반응시켰다. 반응용액은 517 nm의 흡광도를 측정하여, radical scavenging activity를 계산하였다.

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: 시료첨가 흡광도

B: 시료무첨가 흡광도

SOD(Superoxide dismutase) 유사활성 측정

구아바잎 추출물 및 분획물을 50% DMSO로 용해시켜 시료용액으로 하였다. SOD 유사활성은 SOD 활성 검출 kit (Wako)를 이용하여 NBT(Nitro blue tetrazolium) 환원법에 의해 측정하였다. 일정농도의 0.1 ml 시료에 0.1 M phosphate buffer(pH8.0), 0.2 mM xanthine, 0.24 mM NO₂-TB의 발색시약 1.0 ml과 0.049 Unit/ml xanthine oxidase 1 ml를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후, 69 mM NaDS 2 ml로 반응을 정지시키고, 560 nm에서 흡광도를 측정하여 SOD 유사활성을 계산하였다.

Tyrosinase 저해효과

Tyrosinase 저해효과는 50 ml phosphate buffer(pH6.8) 750 µl에 10 mM L-tyrosine 100 µl와 각각의 농도별 시료용액 50 µl를 첨가하여 37°C에서 5분간 정치후, mushroom tyrosinase 400 Unit/ml 100 µl를 첨가하여 37°C에서 반응시켰다. 15분 후 100 mg/ml albutin 20 µl로 반응을 정지시킨후 476 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

구아바잎 80 g에 대한 70% 메탄올 추출물은 20.56 g으로 25.7%의 추출수율을 보였다. 구아바잎 추출물의 총페놀화합물은 19.0(g/100 g, D.W.)로 높은 함량을 나타냈다. 추출물에 대한 radical 소거활성의 IC₅₀는 102.5으로 강한

활성을 나타냈고, SOD 유사활성의 IC50는 49.4로 저농도에서도 강한 활성을 보였다(Table 1). 1.0 mg/ml농도의 음양곽, 해동피, 당귀 추출물의 radical 소거활성이 각각 69.5, 43.4, 15.8%라는 보고(Kim et al., 2004)와 비교하면 구아바잎 추출물은 강한 활성으로 천연항산화소재로서의 가능성이 높음을 시사한다. Hsieh et al.(2007)은 구아바잎 추출물의 주요 페놀화합물은 ferulic acid, gallic acid, quercetin가 각각 9.42, 12.18, 12.26 mg/g으로 높은 함량을 나타낸다고 보고하였다. Quercetin, gallic acid, ferulic acid, caffeic acid, chlorogenic acid 등의 페놀화합물의 함량이 높을수록 radical 소거능 및 SOD 유사 활성도 높아지는 양의 상관관계를 나타낸 보고하고 있다(Chen and Yen, 2007; Choi et al., 2005).

구아바잎 추출물의 용매분획물에 대한 radical 소거활성을 측정된 결과, 100 µg/ml의 농도에서도 ethylacetate, butanol, 물분획은 50% 이상의 높은 소거활성을 보였다. radical 소거활성은 butanol > ethylacetate > 물분획 순으

로 높은 활성을 보였고, 각 분획물의 농도가 증가할수록 소거능이 높아지는 경향을 나타냈다. hexane분획의 소거활성은 거의 보이지 않았다(Fig. 1).

용매분획별 SOD 유사활성에 대한 결과, ethylacetate, butanol, 물분획은 100 µg/ml의 농도에서 각각 81.8, 84.7, 65.3%로 높은 활성을 나타냈으며, 각 분획물의 농도가 증가할수록 SOD 유사활성도 증가하는 경향을 나타냈다. SOD 유사활성에서도 hexane 분획의 활성은 보이지 않았다(Fig. 2).

Tyrosinase는 산화반응에 의해 피부 melanine 생합성을 촉진시키는 중요한 효소로서 피부노화 및 색소침착을 일으키고, 과실이나 야채의 갈변화를 일으키는 주요 원인으로 알려져 있다(Prota, 1988). 구아바잎의 추출물과 용매분획물의 tyrosinase 저해효과를 측정된 결과, 추출물 1 mg/ml의 농도에서 60.8%의 저해효과를 보였으며, 용매분획은 ethylacetate(65.2%), butanol(62.8%), 물(51.6%), hexane(28.9%) 분획의 순으로 tyrosinase 저해효과를 보였다(Table 2.). Boissy and Manga(2004)는 tyrosinase 저해

Table 1. Extract yield, total phenol content, scavenging and SOD like activities of guava leaf extracts

	Yield (%)	Total phenol content (g/100g, D.W.)	Activities IC50 (µg/ml)	
			Scavenging	SOD like
Crude extract	25.7±3.1	19.0±2.8	102.5	49.4

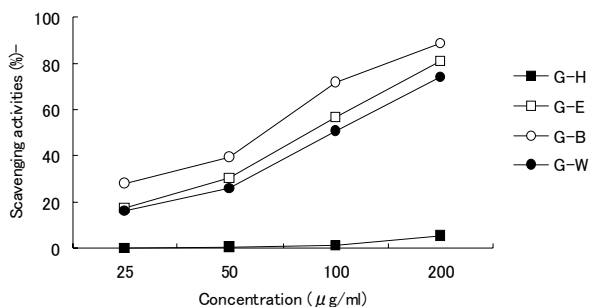


Fig. 1. Free radical scavenging activities of extract fractions from guava leaf G-H; hexane fraction, G-E; ethyl acetate fraction, G-B; butanol fraction, G-W; water fraction.

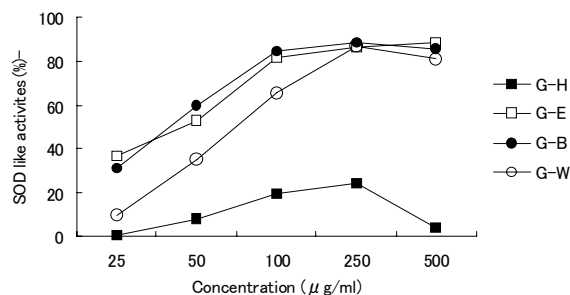


Fig. 2. SOD like activities of extract fractions from guava leaf G-H; hexane fraction, G-E; ethyl acetate fraction, G-B; butanol fraction, G-W; water fraction.

Table 2. Tyrosinase inhibitory effects of extract fractions from guava leaf

Concentration (mg/ml)	Inhibition rate (%)				
	Crud extract	Hexane	Ethyl acetate	Butanol	Water
0.2	20.8±0.4	7.2±3.4	8.9±0.5	8.5±1.7	11.8±4.9
0.5	50.9±1.7	17.5±1.7	44.9±2.1	42.0±0.6	33.7±3.0
1.0	60.8±2.2	28.9±3.4	65.2±2.8	62.8±1.5	51.6±1.3

효과를 보이는 12종의 페놀화합물을 분리했고, Wang et al. (2006)은 tyrosinase 저해효과와 항산화활성이 높은 *Sophora japonica*와 *Spatholobus suberectus*에서 높은 페놀함량의 결과로부터 이들 활성과 페놀화합물의 함량과 상관관계가 있음을 시사했다.

구아바잎 추출물은 높은 페놀화합물을 함유하고, 항산화 활성과 tyrosinase 저해효과가 우수한 것으로 나타났다. 그러므로 구아바잎을 활용한 기능성식품 및 의약품의 원료나 첨가물 등의 다양한 제품에 이용될수 있는 기능성소재로 사료된다.

적 요

본 연구는 기능성소재 개발에 이용될수 있는 유용한 기초자료를 얻고자 구아바 잎의 총페놀화합물의 함량, 항산화활성, tyrosinase저해활성을 측정하였다.

1. 구아바잎 추출물의 총페놀화합물은 19.0(g/100 g, D.W.)의 함량으로 강한 항산화활성을 보였다(radical 소거활성의 IC50는 102.5 µg/ml, SOD 유사활성의 IC50는 49.4 µg/ml).
2. 용매분획물의 radical 소거활성을 측정한 결과, 100 µg/ml의 농도에서도 ethylacetate(G-E), butanol(G-B), 물분획(G-W)은 50% 이상의 높은 소거활성을 보였다. radical 소거활성은 G-B > G-E > G-W 순으로 높은 활성을 보였고, 각 분획물의 농도가 증가할수록 소거능이 높아지는 경향을 나타냈다. hexane분획(G-H)의 소거활성은 보이지 않았다.
3. 용매분획별 SOD 유사활성에 대한 결과, 100 µg/ml의 농도에서 G-E, G-B, G-W는 각각 81.8, 84.7, 65.3%로 높은 활성을 나타냈으며, 각 분획물의 농도가 증가할수록 SOD 유사활성도 증가하는 경향을 나타냈다. G-H의 활성은 보이지 않았다.
4. 구아바잎의 추출물과 용매분획물의 tyrosinase저해효과를 측정한 결과, 추출물 1 mg/ml의 농도에서 60.8%의 저해효과를 보였으며, 용매분획은 G-E(65.2%), G-B(62.8%), G-W(51.6%), G-H(28.9%)의 순으로 tyrosinase 저해효과를 보였다.

인용문헌

Begum S., S.I. Hassa, B.S. Siddiqui, F. Shaheen, M.N. Ghayur and A.H. Gilani. 2002. Triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava*. *Phytochemistry* 61: 399-403

Chen H.Y. and G.C. Yen. 2007. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava leaves. *Food Chemistry* 101: 686-694

Chen J.T. and R.S. Yang. 1983. Hypoglycemic effect of guava juice in mice and human subjects. *Am. J. Chin. Med.*, 11: 74-76

Choi S.Y., S. H. Lim, J. S. Kim, T. Y. Ha, S. R. Kim, K.S. Kang and I.K. Hwang. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37(4): 549-556

Hsieh C.L., Y.C. Lin, G.C. Yen and H.Y. Chen. 2007. Preventive effects of guava leaves and its active compounds against α -dicarbonyl compounds-induced blood coagulation. *Food Chemistry* 103: 528-535

Jin Y.J., S.H. Kang, S.Y. Choi, S.Y. Park, J.G. Park, S.W. Moon, D.B. Park and S.J. Kim. 2006. Effect of fermented guava leaf extract on hyperglycemia in low dose streptozotocin-induced diabetic mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38(5): 679-683

Kim E.Y., I.H. Baik, J.H. Kim, S.R. Kim and M.R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 333-338

Lozoya X., H. Reyes-Morales, M.A. Chavez-Soto, C. Martinez-Garcia Mdel, Y. Soto-Gonzalez and S.V. Doubova. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phyto drug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *J. Ethenopharmacol.* 83: 19-24

Mercadante A.Z., A. Steck and H. Pfander. 1999. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): isolation and structure elucidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 145-151

Miean K.H. and S. Mohamed. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 3106-3112

Misra k. and T.R. Seshadri. 1968. Chemical components of the fruits of *Psidium guajava*. *Phytochemistry* 7: 641-645

Nakamura Y., Kawagishi S. Watanabe K. and Osawa J. 1990. Functional food chemistry. Sankyou Publisher Inc. Tokyo (in Japan)

Olajide O.A., S.O. Awe and J.M. Makinde. 1999. Pharmacological studies on the leaf of *Psidium guajava*. *Fitoterapia*, 70: 25-31

Prota G. 1988. Progress in the chemistry of melanins and related metabolites, *Medicinal Research Reviews* 8(4): 525-556

Tanaka T., N. Ishida, M. Ishimatsu, G. Nonaka and I. Bishioka.
1992. Tannins and related compounds. CXVI. Six new
complex tannins, guajavins, psidinins and psiguavin from
the bark of *Psidium guajava* L.. Chem. Pharm. Bull. 40:
2092-2098
Wang K.H., R.D. Lin, F.L. Hsu, Y.H. Huang, H.C. Chang, C.Y.

Huang and M.H. Lee. 2006. Cosmetic applications of
selected traditional Chinese herbal medicines. Journal of
Ethnopharmacology 106: 353-359
유익동, 김종평, 김원근, 윤봉식, 유인자. 2005. 천연물 유래 향산
화 기능성 화장품 신소재 개발, 대한화장품학회지 25(2):
349-357

(접수일 2008.8.18; 수락일 2008.10.14)