

영여자의 항균, 항혈전 및 항산화 활성 평가

안선미¹ · 장한수² · 권인숙¹ · 손호용^{1,*}
¹안동대학교 식품영양학과, ²경북바이오산업연구원

Evaluation of Antimicrobial, Antithrombin, and Antioxidant Activity of Aerial Bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. Ahn, Seon-Mi¹, Han-Su Jang², In-Sook Kwun¹, and Ho-Yong Sohn^{1,*}. ¹Dept. of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea, and ²Gyeongbuk Institute for Bioindustry, Andong, 760-380, Korea – The annual productions of yam and its aerial bulbils are estimated to 5,000 and 2,500 ton, respectively. But the majority of bulbils had been discarded without specific use. In this study, methanol extract and its organic solvent fractions were prepared from bulbils of *Dioscorea batatas* Decne, and their antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activities were evaluated, respectively. The methanol extract contained 58.98% of water-soluble materials as like yam's extract. But the bulbils's extract contained 12-folds of total polyphenol and 3.4-folds of total flavonoids compared than yam's extract, respectively. For antimicrobial activity the hexane and ethylacetate fraction showed strong antibacterial activity at 500 µg/disc concentration against gram-negative and gram-positive bacteria. Antifungal activity was not observed in any fractions. Strong antithrombin activity was found in the hexane fractions. At 4.8 mg/mL concentration thrombin time (TT) was over 300 sec, which is 4-folds extended than the TT of yam. In a while, the ethylacetate fraction showed strong DPPH scavenging activity (IC₅₀ of 38.1 µg/mL), SOD-like activity and reducing power, which are comparable to vitamin C or BHT. Our results suggest that the bulbils of yam as yam tuber have useful bio-activities, such as antibacterial, antithrombosis, and antioxidant activity.

Key words: Antimicrobial, antioxidant, antithrombosis, aerial bulbils, *Dioscorea batatas* Decne

서 론

마는 백합목 마과식물(*Dioscoreaceae*)로 한국, 일본, 중국 및 열대, 아열대 지역에 널리 분포하고 있는 다년생 덩굴식물로서[1, 7] 국내에서는 *D. opposita* Thunb 또는 *D. batatas*로 분류되는 종류가 주로 재배되고 있다. 이들의 지하괴근은 우수한 영양성분과 saponin, tannin, polyphenol, allantoin, uronic acid, chellidonic acid, sitosterol, mucin, araginine, yonogenin, kryptogenin, diosgenin 등 다양한 생리활성물질들을 포함하고 있어 건강기능성 식품재료로 인정받고 있다[1, 2]. 마는 콜레스테롤 저하효과, 항당뇨, 혈당 강하, 지질분해효소 저해 활성, 항돌연변이 활성, 항비만 및 배변 증대 활성[3, 4, 8, 9, 11, 12] 등이 보고되어 있으며, 급속한 소비증대에 따른 유통 및 저장 분야의 연구도 활발하여, 생마 신선편이 개발 및 갈변, 부패방지에 대한 연구도 진행되고 있다[16, 18]. 또한 본 연구팀에서는 최근, 생마의 추가적인 생리활성 탐색을 위해 항균, 항산화 및 항혈전 활성을 평가하여 생마 추출물의 우수한 항세균, 항혈전 및 항

산화 활성을 보고[5]한 바 있다.

영여자는 마의 겨드랑이 씨, 즉 겨드랑눈이 변태된 결눈의 하나로서 양분을 저장하며 식물의 모체에서 쉽게 땅에 떨어져 무성적으로 새 개체가 되는 주아를 말한다. 현재 국내에서는 연간 5,000톤 정도의 마가 생산되고 있으며, 영여자는 그 절반인 2,000~2,500 톤 정도가 생산되고 있다[6]. 그러나, 영여자는 한국 식품의약품안전청의 식품원재료로 인정되지 못하여 상업적 이용의 한계가 있으며, 산약의 종자로 이용시에는 생마 괴근을 이용하는 경우보다 수확까지 1년이 더 소요되는 문제로 인해 특별한 용도를 찾지 못하고 폐기되고 있는 실정이다. 지금까지 영여자에 대한 연구는 전 세계적으로도 미미하며, 영여자의 기내배양 및 분화, 이에 따른 디오스게닌 함량 변화에 대한 연구만이 한정적으로 이루어져 왔다[1, 7]. 최근 본 연구팀에서는 영여자로부터 5종의 phenanthrene 화합물을 분리하고, 6,7-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene을 포함하는 이들의 항진균 활성을 보고한 바 있으며[7], 본 연구팀의 항진균 활성 이외의 영여자의 또 다른 생리활성이 보고된 적은 없다. 그러나, 경북 북부 지역에서는 오래전부터 생마와 마찬가지로 영여자를 식용 및 약용으로 사용하여 왔으며 무신과 같은 점질성분이 확인되므로 이의 생리활성을 평가하는 것은 의미있다고 판단된다. 따라서, 본 연구에서는 영여자의 다양한 생리활성을

*Corresponding author

Tel: 82-54-820-5491, Fax: 82-54-823-1625

E-mail: hysohn@andong.ac.kr

평가하고 생마와의 기능성을 비교하기 위해, 건조 영여자로부터 메탄을 추출물을 조제하고 이로부터 다양한 유기용매 분획을 조제하여 이들의 항균, 항혈전 및 항산화 활성을 평가하였다. 그 결과, 영여자의 메탄을 추출물 및 이의 핵산 및 에틸아세테이트 분획에서 우수한 항세균 활성을, 메탄을 추출물 및 핵산 분획에서 강력한 항혈전 활성을, 또한 에틸아세테이트 분획에서 우수한 DPPH 소거능, SOD 유사활성 및 환원력을 확인하였다. 본 연구에서는 불용성 폐기지원인 영여자가 생마가 가진 유용 생리활성을 거의 동일하게 가지고 있음을 확인하였으며, 영여자의 새로운 생물소재로의 개발 가능성을 제시하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 영여자 시료의 조제

실험에 사용한 영여자 시료는 2006년 11월 경북 안동에서 수확하여 브러쉬로 이물질을 제거한 후 두께 약 0.3 cm로 절단하고 이를 60°C에서 항량 건조시켜 사용하였다. 영여자 시료는 안동대학교 식품영양학과에 보관되어 있으며(시료번호: A0875), 영여자의 수분함량은 70.0%로, 마의 지하괴근(70.3%)과 유사하였다[5]. 메탄을 추출물 조제를 위해 건조 영여자 10 kg에 20 L의 메탄올을 가하여 상온에서 24시간씩 3회 추출하였다. 이후, 추출액은 filter paper (Whatsman No. 2)로 거른 후 60°C에서 감압 건조하여 조제하였다. 이때 추출효율은 1.05% (w/w)를 나타내어 마의 메탄을 추출효율 1.1%(w/w)와 유사하였다[5]. 메탄을 추출물은 물에 현탁한 후, 핵산, 에틸아세테이트 및 부탄올을 이용하여 순차적으로 분획하였으며, 분획물과 물 잔류물은 동일한 방법으로 감압건조하여 분말화 하였다. 각각의 시료 분말은 DMSO에 녹인 후 적당한 농도로 희석하여 항균 활성, 항혈전 활성 및 항산화 활성에 사용하였다. 항혈전 활성 평가를 위한 thrombin time(TT) 측정시, 혈장은 최근 1개월 동안 약물투여를 받지 않은 지원자의 전혈로부터 조제하였으며, 채혈 후 즉시 4°C에서 5,000 g로 5분 동안 원심분리하여 혈장을 분리하고 냉동한 상태로 보관하였으며(신선동결혈장), 필요시 상온에서 해동하여 사용하였다. 기타 시약은 Sigma Co.(USA)의 제품을 구입하여 사용하였다.

항균 활성 측정

영여자의 메탄을 추출물 및 이들의 분획물의 항균 활성을 평가하기 위해 사용한 세균, 효모 및 식물병원성 곰팡이들은 한국미생물보존센터(KTCC), 일본 Institute for Fermentation, Osaka(IFO), 및 한국농용미생물보존센터(KACC)에서 분양받아 사용하였으며, 자세한 정보는 Table 1에 나타내었다. *Botryosphaeria dothidea* 균주는 검무늬 씌움병균으로 부패과실에서 분리한 균주를 사용하였다. 항세균, 항진균 및 항곰팡이 활성 평가는 기존의 보고한 방법과 동일하게 사용

Table 1. The used microorganisms in this study.

Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> KCTC 1682
	<i>Proteus vulgaris</i> KCTC 2433
	<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1926
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916
	<i>Listeria monocytogenes</i> KACC 10550
	<i>Bacillus subtilis</i> KCTC 1924
Fungi	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 0233
	<i>Candida albicans</i> KCTC 1940
	<i>Botrytis cinerea</i> KACC 40574
	<i>Pyricularia grisea</i> KACC 40414
	<i>Rhizoctonia solani</i> KACC 40101
	<i>Glomerella cingulata</i> KCTC 6075
	<i>Collectotrichum gloeosporioides</i> KCTC 6169
	<i>Phytophthora capsici</i> KACC 40157
<i>Botryosphaeria dothidea</i> (fruit isolate)	

하였으며, 각각 Nutrient agar(Difco Co., USA), Sabouraud dextrose 및 Potato dextrose agar(Difco Co. USA) 배지를 이용하여 각각의 시료 5 µL를 멸균 disc-paper(지름 6.5 mm)에 가하여 생육저지환의 크기를 측정하여 평가하였다[20]. 대조구로는 항세균제인 ampicillin과 항진균제인 miconazole (Sigma Co., USA)을 각각 5 µg/disc 농도로 사용하였으며, 생육저지환의 크기는 육안으로 생육이 나타나지 않는 부분의 지름을 mm 단위로 측정하였고, 3회 이상 평가 후 대표 결과로 나타내었다.

항혈전 활성

항혈전 활성은 시료의 TT를 측정하여 평가하였으며, 트롬빈 저해 활성은 기존의 보고한 Amelung coagulometer KC-1A (Japan)를 이용하여 혈액 응고시간을 측정하여 평가하였다[10, 15, 19, 20]. 37°C에서 0.5 U 트롬빈(Sigma Co., USA) 50 µL와 20 mM CaCl₂ 50 µL, 다양한 농도의 시료 추출액 10 µL를 coagulometer의 튜브에 혼합하여 2분간 반응시킨 후, 혈장 100 µL를 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였으며, 시료 대조군으로는 아스피린(Sigma Co.)을, 용매 대조군으로는 DMSO를 사용하였다. DMSO의 경우 평균 33.0초의 응고시간을 나타내었으며 트롬빈 저해 활성은 3회 이상 반복한 실험의 평균치를 나타내었다.

항산화 활성 평가

영여자의 메탄을 추출물 및 이의 분획물의 항산화 활성은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) radical 소거능, superoxide dismutase(SOD) 유사활성 및 환원력 측정에 의해 평가하였다. 먼저 DPPH 소거능의 경우, 다양한 농도로 희석한 시료 20 µL에 99.5% 에탄올에 용해시킨 2×10⁻⁴ M DPPH 용액 380 µL를 넣고 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 516 nm에서 microplate reader(Asys Hitech, Expert96, Asys Co., Austria)를 사용하여 흡광도를 측정하

였다. 대조구로는 butyl hydroxytoluene(BHT), vitamin C 및 vitamin E(Sigma Co., USA)를 사용하였다. DPPH free radical 소거능은 시료첨가구와 비첨가구의 백분율로 표시하였으며, IC₅₀는 50% 소거능을 나타내는 농도로 계산하였고 최종결과는 3회 측정값의 평균치로 나타내었다[23]. SOD 유사활성 평가는 superoxide와 반응하여 갈변물질을 만드는 pyrogallol 자동산화를 측정하는 Marklund와 Marklund의 방법[13]을 변형하여 측정하였다. 즉 시료용액 0.2 mL에 Tris-HCl buffer(50 mM tris, 10 mM EDTA, pH 8.5) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고, 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료 첨가군과 무첨가군과의 흡광도비로 나타내었다. 한편 환원력 평가는 Oyaizu 등의 방법을 변형하여 측정하였다[14]. 에탄올에 용해한 시료 2.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 10% potassium ferricyanide 2.5 mL를 첨가하고 50°C에서 20 분간 반응시킨 후, 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하여 반응을 종료하고 4000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수한 상등액은 증류수로 2 배 희석한 후, 신선하게 조제된 0.1% ferric chloride 용액과 5:1 (v/v) 비율로 혼합하고 700 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였으며, 대조구로는 BHT를 사용하였다. SOD 유사활성 평가 및 환원력 평가결과는 3회 반복실험 후 평균과 편차로 나타내었다.

기타 분석

총 flavonoid의 함량 측정은 기존의 보고한 방법[23]에 따라 측정하였으며, 각각의 시료를 18시간 메탄올 교반 추출하고 여과한 추출액 400 µL에 90% diethylene glycol 4 mL를 첨가하고 다시 1 N NaOH 40 µL를 넣고 37°C에서 1 시간 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin을 사용하였다. 총 polyphenol 함량은 추출액 400 µL에 50 µL의 Folin-ciocalteu, 100 µL의 Na₂CO₃ 포화용액을 넣고 실온에서 1시간 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다[20]. 표준시약으로는 tannic acid를 사용하였다. 총당 정량의 경우에 phenol-sulfuric acid법을, 환원당 정량의 경우에는 DNS 변법을 이용하였다[21].

결과 및 고찰

영여자의 메탄올 추출물 조제 및 순차적 유기용매 분획물 조제

영여자 40 kg을 세절 후 실온에서 건조하여 건조 시료 12.0 kg을 회수하였으며, 이 중 10 kg을 이용하여 메탄올 추출물 105 g을 조제하였다(추출율 1.05% w/w). 메탄올 추출물을 순차적 분획한 결과, 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 분획물 및 물 잔류물이 각각 17.48%, 5.29%, 7.06% 및 68.24%로 분획되었다(Table 2). 이는 마 추출물의 분획이 각각 7.65%, 17.52%, 7.26% 및 66.71%인 점을 고려하면[5], 영여자 메탄올 추출물 역시 다량의 수용성 성분을 함유하고 있음을 알 수 있으며, 부탄올 분획 효율 역시 마의 경우 7.26%와 매우 유사하였다. 그러나, 마 추출물의 헥산 및 에틸아세테이트 분획 효율이 7.65% 및 17.52%인 점을 고려하면, 영여자 추출물은 마 추출물보다 헥산에 용출되는 오일 성분을 더 많이 포함하고 있음을 알 수 있었다. 한편 영여자 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 마 추출물에 비해 각각 12배 및 3.4 배 높게 나타났으며, 총당 및 환원당 함량은 마 추출물에 비해 상대적으로 적은 양을 나타내었다[5].

조제된 메탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 항균 활성

먼저 항세균제 대조구로 사용된 ampicillin의 경우, 실험에 사용된 6종의 세균에 대해 모두 강한 항균활성을 나타냈으며, 항진균제인 miconazole의 경우 *C. gloeosporioides*을 제외한 *C. albicans*, *S. cerevisiae* 및 식물 병원성 곰팡이에 대해 강력한 활성을 나타내었다(Table 3). 영여자의 메탄올 추출물은 500 µg/disc 농도에서 *S. typhimurium*에는 강한 항균력을 나타내었으며, *S. aureus* 및 *B. subtilis*에 대해서도 양호한 활성이 나타났으며 그 외의 실험균주에서는 항균력이 인정되지 않았다. 이는 마의 메탄올 추출물의 항균 활성과 유사하나, 마 추출물의 경우 *S. aureus*에는 활성을 나타내지 않는 것과는 구별된다. 실제 영여자의 메탄올 추출물 뿐만 아니라, 헥산 및 에틸아세테이트 분획물 역시 *S. aureus*에 우수한 항균 활성을 나타낸 바(Table 3), 마 추출물 및 이의 분획물에서는 나타나지 않는 영여자만의 항균 특

Table 2. The organic solvent fraction yields from methanol extract of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne and composition of the fractions.

Extract/ Fractionates	Fraction yield (%)	Content (mg/g)			
		Total polyphenol	Total flavonoid	Reducing sugar	Total sugar
Methanol ex.	-	60.60	16.4	58.3	174.2
n-Hexane fr.	17.48	12.63	32.1	31.8	371.16
Ethylacetate fr.	5.29	27.48	70.1	38.6	615.5
Butanol fr.	7.06	17.18	34.2	73.6	116.1
Water res.	68.24	4.03	1.38	56.6	121.1

Table 3. Evaluation of antimicrobial activity of methanol extract and its organic solvent fractions of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne against different pathogenic and food-spoilage bacteria and fungi.

Microorganism	Clear zone (mm)							
	¹ Amp (5 µg/disc)	² Mic (5 µg/disc)	Aerial bulbils of <i>Dioscorea batatas</i> Decne					
			³ M. ex.	⁴ H. fr.	⁵ EA. fr.	⁶ B. fr.	⁷ W. res.	
Gram negative	⁸ EC	23.0	⁹ -	-	-	9.0	8.0	-
	PV	32.5	-	-	7.0	10.5	-	-
	ST	33.0	-	16.0	14.0	16.0	8.5	-
Gram positive	SA	19.0	-	8.0	10.5	13.5	-	-
	LM	28.0	-	-	10.5	13.0	-	-
	BS	27.5	-	8.0	10.5	12.0	-	-
Fungi	SC	-	29.0	-	-	-	-	-
	CA	-	27.5	-	-	-	-	-
	BC	-	28.0	-	-	-	-	-
	PG	-	40.0	-	-	-	-	-
	RS	-	32.0	-	-	-	-	-
	GC	-	18.0	-	-	-	-	-
	CG	-	-	-	-	-	-	-
	PC	-	34.5	-	-	-	-	-
	BD	-	32.0	-	-	-	-	-

¹AMP: ampicillin; ²Mic: miconazole; ³M. ex.: methanol extract of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne; ⁴H. fr., ⁵EA. fr., ⁶B. fr. and ⁷W. res.: hexane fraction, ethylacetate fraction, butanol fraction and water residue of the methanol extract of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne; ⁸EC: *Escherichia coli*, PV: *Proteus vulgaris*, ST: *Salmonella typhimurium*, SA: *Staphylococcus aureus*, LM: *Listeria monocytogenes*, BS: *Bacillus subtilis*, BC: *Botrytis cinerea*, PG: *Pyricularia grisea*, RS: *Rhizoctonia solani*, GC: *Glomerellacin cingulata*, CG: *Collectori-cum gloeosporioides*, PC: *Phytophthora capsici*, and BD: *Botryosphaeri dothidea*. ⁹-: No inhibition.

The concentrations of methanol extract and organic solvent fractions used were 500 µg/disc, respectively. The clear zone expressed was included a size of disc-paper (6.5 mm of diameter). The data represent a classical result of three independent determinations.

성으로 판단된다. 분획물 중에서는, 영여자 역시 마 추출물의 분획물과 동일하게 헥산 및 에틸아세테이트 분획에서는 전반적으로 우수한 항세균 활성이 나타났으며, 영여자 추출물에서 생육저지환의 크기가 전반적으로 더욱 크게 나타났다. 시료 모두에서, 영여자에서 분리된 6,7-dihydroxy-2,4-dimethoxy phenanthrene이 나타내는 항진균 활성[6]은 나타나지 않은 바 이는 시료에서의 phenanthrene 화합물 농도가 매우 낮음을 의미한다. 물 잔류물의 경우에는, 마 추출물의 물 분획물과 동일하게 항세균 및 항진균 활성이 전혀 나타나지 않았다. 이러한 결과는 영여자가 생마의 지하 괴근과 유사한 항균력을 가지고 있음을 나타낸다.

영여자 메탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 항혈전 활성

활성 대조구로 사용된 아스피린은 1.5 mg/mL 농도에서, 용매 대조구로 사용된 DMSO에 비해 TT를 약 3배 증대(103.0초)시켜 항혈전제로의 우수성을 확인할 수 있었다(Table 4). 영여자 역시, 메탄올 추출물의 경우, 4.8 mg/mL 농도에서 아스피린 1.5 mg/mL에 해당하는 92.9초의 TT를 나타내어 우수한 항혈전 활성을 나타내었다. 분획물의 경우에는 강력한 항혈전 활성이 헥산 분획에서 나타난 바 4.8 mg/mL 농도에서 300초 이상의 트롬빈 타임을 나타내었으며, 2.4 mg/mL 농도에서도 67초를 나타내었다. 이는 마의 헥센 분획의

Table 4. Antithrombin activities of methanol extract and its organic solvent fractions of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne against human thrombin.

Concentration (mg/mL)		Thrombin time (sec)
DMSO		33.0±0.8
Aspirin	1.0	84.7±0.4
	1.5	103±2.9
Aerial bulbils of <i>Dioscorea batatas</i> Decne		
Methanol ex.	1.2	33.9±1.4
	2.4	48.7±2.2
	4.8	92.9±4.7
Hexane fr.	1.2	36.2±0.7
	2.4	67.3±2.8
	4.8	> 300
Ethylacetate fr.	1.2	31.2±1.2
	2.4	52.3±2.0
	4.8	73.7±5.1
Butanol fr.	1.2	31.0±0.8
	2.4	34.9±1.4
	4.8	44.6±3.4
Water residue	1.2	29.4±2.1
	2.4	36.7±2.1
	4.8	35.2±1.8

Table 5. DPPH scavenging activities of methanol extract and its organic solvent fractions of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne.

Chemical/extract/fractionates	Vitamin C	Vitamin E	¹ BHT	Aerial bulbils of <i>Dioscorea batatas</i> Decene				
				² M. ex.	H. fr.	EA. fr.	B. fr.	W. res.
DPPH scavenging activity (IC ₅₀ µg/mL)	15.2 ±2.96	35.6 ±5.12	18.6 ±4.05	376.3 ±32.18	180.9 ±24.77	38.1 ±5.82	161.4 ±32.14	> 1,000

¹BHT: butyl hydroxytoluene, ²M. ex.: The abbreviations used are the same as in the table 3.

경우와 비교할 때 4배 이상의 강력한 활성이며, 아스피린 항혈전 활성의 약 35% 활성에 해당된다[24, 25]. 영여자 추출물의 헥산 분획물이 마 추출물에 비해 양적으로 2배 이상이며 강력한 항혈전 활성을 가짐을 고려할 때, 영여자의 헥산 분획물은 항혈전제로서의 개발이 가능하리라 판단되며 현재 활성물질의 정제가 진행 중에 있다.

영여자 메탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 항산화 활성

영여자 추출물 및 이의 분획물의 항산화 활성을 DPPH 소거능으로 평가한 결과는 Table 5에 나타내었다. 먼저 vitamin C, BHT 및 vitamin E의 IC₅₀들은 각각 15.2, 18.6, 및 35.6 µg/mL를 나타내어 강력한 DPPH 소거능이 나타났다. 영여자의 메탄올 추출물은 376.3 µg/mL의 IC₅₀를 나타내어 마의 메탄올 추출물(IC₅₀=602.2 µg/mL)보다 우수한 DPPH 소거능을 나타내었다[5]. 분획물 중에서는, 마의 경우와 유사하게 에틸아세테이트 분획에서 가장 강력한 DPPH 소거능이 확인되었고(IC₅₀=38.1 µg/mL), 이 역시 마의 에틸아세테이트 분획보다 약 1/2 감소된 IC₅₀(마의 경우 80.5 µg/mL)를 나타내었다(Table 5). 이는, 영여자의 에틸아세테이트 분획이 마의 그 분획보다 상대적으로 높은 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량(Table 2)과 관련된 것으로 추측된다. 한편 메탄올 추출물 및 각각의 분획물을 대상으로 SOD 유사활성을

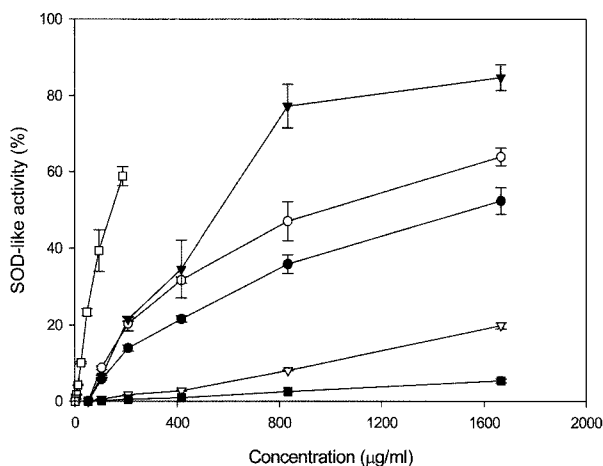


Fig. 1. SOD-like activity of methanol extract and its organic solvent fractions of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. ●, methanol ex., ○, hexane fr.; ▼, ethylacetate fr.; ▽, butanol fr.; ■, water residue and □, vitamin C.

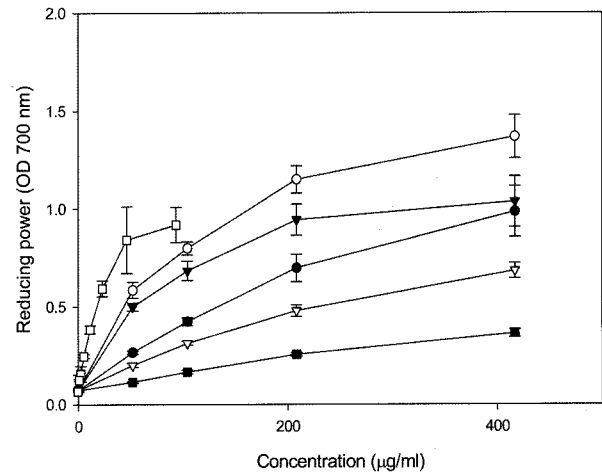


Fig. 2. Reducing power of methanol extract and its organic solvent fractions of aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. ●, methanol ex., ○, hexane fr.; ▼, ethylacetate fr.; ▽, butanol fr.; ■, water residue and □, butyl hydroxytoluene.

측정할 결과, 모두 농도 의존적으로 활성의 증가가 나타났으나 물 잔류물과 부탄올 분획물은 매우 약한 활성을 나타내었다(Fig. 1). 마의 경우와 동일하게 에틸아세테이트 분획에서 가장 우수한 활성이 나타났으며, 헥산 분획물, 메탄올 추출물 순으로 활성이 나타났고, 각각 0.83 mg/mL 농도에서 에틸아세테이트 분획이 77.22%, 헥산 분획이 46.9%, 메탄올 추출물은 35.8%의 활성을 나타내었다. 대조구로 사용된 vitamin C가 0.18 mg/mL 농도에서 58.8%의 활성을 나타낸 것과 비교하면 에틸아세테이트, 헥산 분획물 및 메탄올 추출물은 각각 vitamin C의 36%, 34% 및 23%에 해당하는 활성이었다. 즉, 영여자 추출물의 SOD 유사활성은 마와 유사하나 영여자의 헥산 분획물이 마의 헥산 분획에서의 활성보다 우수하였다(Table 2). 한편 메탄올 추출물 및 각각의 분획물을 대상으로 환원력을 평가한 경우는 Fig. 2에 나타내었다. 대조구인 BHT는 0.05 mg/mL 농도에서 0.84의 흡광도를 나타내어 강력한 환원력을 나타내었다. 추출물 및 분획물의 환원력은 농도에 비례하여 활성이 증가, 헥산 분획에서 가장 강력한 활성이, 그리고 물 잔류물에서 가장 미약한 활성이 나타났다. BHT의 환원력과 비교할 경우, 메탄올 추출물, 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 분획물 및 물 잔류물은 각각 31.6%, 69.6%, 59.4%, 23.8% 및 13.5%로 나타내었다(Fig. 2). 이는 마의 추출물 및 분획물의 환원력이 동일 조건에서

각각 35.7%, 73.4%, 82.7%, 27.8% 및 20.2%인 것[5]과 비교하면, 영여자는 마가 가지는 환원력과 거의 동일한 환원력을 나타낸다고 볼 수 있다. 이상의 결과는 특별한 용도없이 폐기되고 있는 영여자의 새로운 생물소재 개발 가능성을 제시하며, 영여자가 마의 지하괴근이 나타내는 항세균, 항혈전 및 항산화 활성과 거의 동등하거나 우수한 활성을 가지고 있음을 나타내고 있다.

요 약

영여자는 마의 주아를 말하며, 연간 생마 생산량 5,000 톤의 절반인 2,500 톤 정도가 생산되고 있다. 그러나 영여자는 다음해 마의 종자로 일부 이용될 뿐 대부분이 폐기되고 있는 실정이다. 본 연구에서는 영여자의 새로운 생물소재 가능성을 검토하고 생마에서 보고된 항균, 항혈전 및 항산화 활성을 평가하고자, 영여자로부터 메탄올 추출물을 조제하고 이로부터 핵산, 에틸아세테이트, 부탄올의 다양한 유기용매 분획물 및 물 잔류물을 조제하여 각각의 항균, 항혈전 및 항산화 활성을 평가하였다. 영여자 메탄올 추출물은 마의 그것과 유사하게 다량의 수용성 성분을 함유하고 있었으나 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 각각 12배, 3.4배 높았다. 항균 활성의 경우, 핵산 및 에틸아세테이트 분획에서 항세균 활성이 나타나 전반적으로 마와 유사하였으나, 부가적으로 *S. aureus*에 강한 생육저해를 나타내어 마와 차별되었다. 항혈전 활성의 경우, 핵산 분획물이 매우 강력한 활성을 나타내어 4.8 mg/mL 농도에서 300초 이상, 2.4 mg/mL 농도에서 67초의 트롬빈 타임을 나타내어 마의 경우와 비교할 때 4배 이상의 강력한 활성을 나타내었다. 메탄올 추출물 및 유기용매 분획물의 항산화 활성 평가 결과, 에틸아세테이트 분획에서 매우 우수한 DPPH 소거능(IC₅₀=38.1 µg/mL), SOD 유사활성(vitamin C의 36%) 및 환원력(BHT의 59.4%)을 나타내었다. 본 연구결과는, 대부분 폐기되고 있는 영여자의 새로운 생물소재 개발 가능성을 제시하며, 영여자가 마의 지하괴근이 가진 항세균, 항혈전 및 항산화 활성과 거의 동등한, 또는 보다 우수한 활성을 가지고 있음을 나타내고 있다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Ahn J. H., K. H. Son, H. Y. Sohn, and S. T. Kwon. 2005. *In vitro* culture of adventitious roots from *Dioscorea nipponica* Makino for the production of steroidal saponins. *Kor. J. Plant*

Biotechnol. **32**: 317-223.

2. Han, Y. N. S. H. Hahn, and I. R. Lee. 1990. Purification of mucilages from *Dioscorea batatas* and *D. japonica* and their content analysis. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**: 274-283.

3. Kang, T. H., S. Choi, T. Lee, M. Son, and S. Y. Kim. 2008. Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea rhizoma* (1) - Hypoglycemic effect. *Kor. J. Food Nutr.* **21**: 425-429.

4. Kang, T. H., S. Choi, T. Lee, M. Son, J. Park, and S. Y. Kim. 2008. Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea rhizoma* (2) - prevention of diabetic neuropathy by NGF induction. *Kor. J. Food Nutr.* **21**: 430-435.

5. Kim J. I., H. S. Jang, J. S. Kim, and H. Y. Sohn. 2009. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of *Dioscorea batatas* Decne. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 133-139.

6. Kim, J. O., M. J. Jung, H. J. Choi, J. T. Lee, A. K., Lim, J. H. Hong, and D. I. Kim. 2008. Antioxidant and biological activity of hot water and ethanol extracts from *Phellinus linteus*. *J. Kor. Soc. Food Sci Nutr.* **37**: 684-690.

7. Kum, E. J., S. J. Park, B. H. Lee, J. S. Kim, K. H. Son, and H. Y. Sohn. 2006. Antifungal activity of phenanthrene derivatives from aerial bulbils of *Dioscorea batatas* decne. *J. Life Sci.* **16**: 647-652.

8. Kwon, C. S., H. Y. Sohn, S. H. Kim, J. H. Kim, K. H. Son, J. S. Lee, J. K. Lim, and J. S. Kim. 2003. Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**: 1451-1456.

9. Kwon, C. S., I. S. Son, H. Y. Shim, I. S. Kwun, and K. M. Chung. 1999. Effects of yam on lowering cholesterol level and its mechanism. *Kor. J. Food Nutr.* **32**: 637-643.

10. Kwon, C.-S., Y.-S. Kwon, Y.-S. Kim, G.-S. Kwon, I. Jin, G.-C. Ryu, and H.-Y. Sohn. 2004. Inhibitory activities of edible and medicinal herbs against human thrombin. *J. Life Sci.* **14**: 509-513.

11. Kwon, E. G., E. M. Choe, and S. J. Gu. 2001. Effects of mucilage from yam (*Dioscorea batatas* DECNE) on blood glucose and lipid composition in alloxan-induced diabetic mice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **33**: 795-801.

12. Lee I.-S., S.-Y. Chung, C.-S. Shim, and S. J. Koo. 1995. Inhibitory effects of yam (*Dioscorea batatas* DECNE) extracts on the mutagenicity. *Kor. J. Soc. Food Sci.* **11**: 351-355.

13. Marklund, S., and G. Marklund. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**: 469-474.

14. Oh, W. G., I. C. Jang, G. I. Jeon, E. Park, H. R. Park, and S. C. Lee. 2008. Antioxidative activity of extracts from *Wisteria floribunda* flowers. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**: 677-683.

15. Ryu, H. Y., E. J. Kum, K. H. Bae, Y. K. Kim, I. S. Kwon, and H. Y. Sohn. 2007. Evaluation for the antimicrobial, antioxidant and antithrombosis activity of Korean traditional liquors. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 310-315.

16. Ryu, H. Y., S. J. Park, B. H. Lee, and H. Y. Sohn. 2007.

- Control of yam putrefactive psychrotrophic bacterium using clove oil and preparation of functional Fresh-cut. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 66-72.
17. Ryu, H. Y., Y. K. Kim, I. S. Kwun, C. S. Kwon, I. N. Jin, and H. Y. Sohn. 2007. Thrombin inhibition activity of fructus extract of *Crataegus pinnatifida* Bunge. *J. Life Sci.* **17**: 535-539.
 18. Ryu, H. Y., Y. S. Kim, S. J. Park, B. H. Lee, S. T. Kwon and H. Y. Sohn. 2006. Isolation and characterization of yam-putrefactive psychrotrophic bacteria from rotted yam. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **34**: 109-114.
 19. Singleton V. L, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**: 152-178.
 20. Sohn, H. Y. H. Y. Ryu, Y. Jang, H. S. Jang, Y. M. Park, and S. Y. Kim. 2008. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 195-200.
 21. Sohn, H. Y., C. S. Kwon, K. H. Son, G. S. Kwon, H. Y. Ryu, and E. J. Kum. 2006. Antithrombin and thrombosis prevention activity of buckwheat seed, *Fagopyrum esculentum* Moench. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**: 132-138.
 22. Sohn, H. Y., K. H. Son, C. S. Kwon, G. S. Kwon, and S. S. Kang. 2004. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. *Phytomedicine* **11**: 666-672.
 23. Sohn, H.-Y., C.-S. Kwon, K.-H. Son, G.-S. Kwon, Y.-S. Kwon, H.-Y. Ryu, and E.-J. Kum. 2005. Antithrombosis and antioxidant activity of methanol extract from different brands of rice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 593-598.
 24. Sohn, H.-Y., H.-Y. Ryu, Y.-S. Kwon, E.-J. Kum, C.-S. Kwon, G.-S. Kwon, G.-W. Kim, and K. H. Son. 2005. Screening of thrombin inhibitors from medicinal and wild plants (II). *Kor. J. Pharmacogn.* **36**: 263-272.
 25. Sohn, H.-Y., Y.-S. Kwon, Y.-S. Kim, H.-Y. Kwon, G.-S. Kwon, G.-J. Kim, C.-S. Kwon, and K. H. Son. 2004. Screening of thrombin inhibitors from medicinal and wild plants. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 52-61.

(Received July 9, 2009/Accepted July 27, 2009)