J Korean Soc Food Sci Nutr
45(12), 1725~1731(2016)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2016.45.12.1725

증포 삼채뿌리 메탄올추출물의 항산화 성분 및 항산화 활성

전현일[1] · 양재헌[2] · 송근섭[1] · 김영수[1]
[1]전북대학교 식품공학과
[2]전북대학교 헬스케어사업단

Antioxidant Compounds and Activities of Methanolic Extracts from Steam-Dried *Allium hookeri* Root

Hyun-Il Jun[1], Jae-Heon Yang[2], Geun-Seoup Song[1], and Young-Soo Kim[1]
[1]*Department of Food Science and Technology and* [2]*Center for Healthcare Technology Development, Chonbuk National University*

ABSTRACT This study was carried out to investigate the effects of steam-drying on antioxidant compounds and antioxidant activity of *Alliun hookeri* root (AHR). The yield of methanolic extracts, total phenolic content (TPC), browning intensity (280 nm and 420 nm), and organosulfur compound contents (alliin and cycloalliin) in raw and steam-dried AHRs were 10.71~37.40%, 15.53~36.36 μg/mg, 0.48~2.09, 0.01~0.25, 1.46~700.61 μg/mg, and 1,173.95~2,182.60 μg/mg, respectively. Yield, TPC, and browning intensity of AHRs increased by steam-drying, whereas organosulfur compound contents decreased. Of all methanolic extracts from raw and steam-dried AHRs, four-time steam-drying showed the lowest EC_{50} values (0.43, 7.53, 0.34, and 0.48 mg/mL, respectively) for DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, SOD-like activity, and reducing power, whereas four-time steam-drying resulted in the highest TPC (36.36 μg/mg) and browning intensity (2.09 and 0.25 at 280 and 420 nm, respectively). The antioxidant activities of methanolic extracts from raw and steam-dried AHRs were closely correlated with their TPC, browning intensity, and organosulfur compound content, showing correlation determination coefficient (R^2) values higher than 0.82. As a result, four-time steam-drying of AHRs could be useful as potential antioxidant sources.

Key words: steam-drying, *Allium hookeri* root, methanol extracts, antioxidant compounds, antioxidant activities

서 론

삼채(*Allium hookeri*)는 해발 1,400미터 이상의 고랭지에서 자생하는 백합과(Liliaceae)의 파속 식물(*Allium* species)로 원산지인 미얀마에서는 쥬밋이라고 불리며 식용과 약용으로 사용되는 국민채소이다(1). 삼채는 2011년 국내 현지화에 성공한 후에 전국 각지에서 재배되면서 생산량이 지속해서 증가하고 있으나 삼채의 뿌리, 잎, 꽃 등 각 부위 중에서 식품 가공원료로는 아직 뿌리가 주를 이루고 있다(2). 삼채뿌리(*Allium hookeri* root, AHR)는 gallic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid, hydroxybenzoic acid, vanillic acid, ferulic acid, sinapic acid, catechin, rutin 등 페놀성 화합물과 allicin을 포함한 alkyl thiosulfinate 형태의 함황화합물을 다량 함유하고 있어 항산화, 항당뇨, 항염증, 항노화 등 다양한 생리활성이 있다고 알려져 있다(3-6).

국내 건강기능식품(2015년)의 시장 규모는 전년보다 16.2%가 증가한 2조 3,291억 원이었고, 품목별 생산실적은 홍삼(38.1%), 개별인정형(17.5%), 비타민 및 무기질(11.4%), 프로바이오틱스(8.7%), 밀크씨슬 추출물(3.9%) 순으로 면역기능 개선이나 영양소 보충과 같이 항노화와 관련성이 높은 제품이 79.5% 이상으로 나타났다(7). 이는 노화에 영향을 주는 체내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 함량을 줄이는 데 효과적인 식품 소재나 이를 활용한 건강기능성 식품에 관심이 높은 국내 고령화 사회의 상황이 반영된 결과로 판단된다(8). 그러나 건강기능식품 산업의 큰 성장에도 불구하고 건강기능식품 소재 대부분을 수입하고 있어 국내에서 수급 가능한 새로운 소재 확보가 필요한 상황에서 삼채뿌리는 좋은 천연소재로 판단된다(9).

건강기능식품 제조 시 천연 식품 소재의 생리활성을 증가시키기 위해 발효, 가열, 건조 등 다양한 가공방법이 많이 사용된다(10). 일반적으로 항산화 성분은 식품 소재에 메탄올, 에탄올, 열수 등 추출용매를 첨가하여 추출하지만, 추출용매, 추출시간, 추출온도 등 추출조건에 따라 기능성 성분의 함량과 활성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(9,10).

Received 16 August 2016; Accepted 11 November 2016
Corresponding author: Young-Soo Kim, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju, Jeonbuk 54896, Korea
E-mail: ykim@jbnu.ac.kr, Phone: +82-63-270-2569

마늘(*Allium sativum* L.), 양파(*Allium cepa* L.), 부추(*Allium tuberosum* R.) 등 파속식물이 현재 건강기능식품으로 활용되는 상황에서 아직 삼채뿌리는 뛰어난 생리활성에도 불구하고 건강기능식품으로 활용이 미비한 실정이다(11). 이에 본 연구에서는 삼채뿌리를 항산화 용도의 건강기능식품으로 활용하기 위한 기초자료를 얻고자 증포처리 횟수가 삼채뿌리 메탄올추출물의 항산화 성분(페놀성 화합물, 갈변물질, 함황화합물 등)과 항산화 활성(DPPH 라디칼 소거 활성, ABTS 라디칼 소거 활성, SOD 유사 활성, 환원력 등)에 미치는 영향에 대하여 비교 분석하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에 사용한 삼채는 전북 순창지역에서 2015년에 재배된 것으로 줄기와 뿌리를 절단한 후 뿌리만 열풍 건조(70°C, 12시간)하여 사용하였다. Pyrogallol, gallic acid, DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS(2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiozoline-6-sulfonic acid), BHT (butylated hydroxytoluene), ascorbic acid, alliin 등은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA), cycloalliin은 Wako사(Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan)에서 구입하였으며, 그 밖의 시약들은 analytical 및 HPLC grade를 사용하였다.

증포처리 및 메탄올추출물 제조

건조한 생 삼채뿌리 300 g을 상압증자기(HD-300, Hyundaetotalmacine Co., Ltd., Gimpo, Korea)에 넣고 증자(100°C, 4시간)한 후에 열풍 건조(60°C, 8시간)하는 증포처리 과정을 각각 2회와 4회 반복하였다. 증포처리한 삼채뿌리는 송풍 건조(30°C, 24시간)한 것을 완제품으로 하였다.

메탄올추출물 제조는 생 삼채뿌리와 증포처리한 삼채뿌리를 제분(Single type stainless roller, Shinpoong Eng. Ltd., Gwangju, Korea)한 후에 표준망체(250 μm, Daihan Scientific Co., Ltd., Seoul, Korea)로 체질하였다. 체질한 삼채뿌리 100 g에 80% 메탄올 1,000 mL를 첨가하여 초음파 처리(25°C, 30분)한 후에 원심분리(5,000 rpm, 10 min) 및 여과(Whatman No. 4, GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Sweden)하는 과정을 3회 반복하여 얻었다. 이렇게 얻어진 여액을 모아서 동결 건조한 후 -20°C에 보관하면서 항산화 활성의 분석 시료로 사용하였다.

갈변도 측정

갈변도는 DuBois 등(12)의 방법을 변형하여 측정하였다. 분말 시료 10 g에 80% 메탄올 100 mL를 첨가하여 균질화시킨 후에 원심분리(5,000 rpm, 10분) 및 여과(Whatman No. 4)한 용액을 280 nm와 420 nm에서 흡광도를 측정하였고 대조구로는 80% 메탄올을 사용하였다.

총페놀성 화합물 측정

총페놀성 화합물 함량(total phenolic content, TPC)은 ISO 14502-1(13)의 방법을 이용하여 측정하였다. 메탄올추출물 1 mL에 10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 5 mL를 첨가하여 3분간 반응시킨 후에 7.5% Na_2CO_3 4 mL를 첨가하였다. 이 반응액을 암소에서 반응(23°C, 1시간)시킨 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 추출물의 총페놀성 화합물 함량은 gallic acid를 표준물질로 하여 추출물 mg당 μg gallic acid로 나타내었다.

Alliin과 cycloallin 측정

Alliin과 cycloalliin 함량은 Ichikawa 등(14)의 방법을 변형하여 사용하였다. Alliin과 cycloalliin은 Xevo TQ-S mass spectrometer(MS/MS)가 장착된 ACQUITY UPLC system(Waters Co., Milford, MA, USA)에서 분석되었다. 시료 주입량은 5 μL, 칼럼은 Acquity UPLC BEH Amide column(2.1 mm×150 mm, 1.7 μm, Waters Co.), 칼럼 온도는 30°C이고 유속은 0.5 mL/min이었다. 이동상은 10 mM ammonium formate(pH 3.0, 용매 A)와 0.1% formic acid가 함유된 acetonitrile(용매 B)이었으며, gradient program은 0~0.5분은 용매 B를 100%로 유지, 0.5~4분은 용매 B를 100%에서 50%로 감소, 4~4.5분은 용매 B를 50%로 유지, 4.5~6.0분은 용매 B를 50%에서 100%로 증가, 6~10분은 용매 B를 100%로 유지하게 설정하였다. UPLC-MS/MS 기기는 Xevo TQ-S(Waters Co.)를 사용하였으며 검출 및 정량을 위한 MS/MS는 전기분무 이온화(electrospray ionization, ESI) 방식의 양이온 모드에서 multiple reaction monitoring(MRM) 방법을 사용하였다. 분석 파라미터는 온도 380°C, ion spray voltage 3.0 kV, capillary voltage 3 kV, con voltage 30 kV, source offset 30 V, collision energy 650 L/h, desolvation gas 150 L/h였다. 이때 alliin과 cycloalliin 표준품의 전구이온(m/z 178.14) 및 생성이온(m/z 88.09)의 머무름 시간은 각각 3.34분과 3.47분이었으며 데이터 처리장치는 MassLynx software(version V4.1, Waters Co.)를 사용하였다.

항산화 활성 측정

DPPH 라디칼 소거 활성은 Kano 등(15)의 방법을 변형하여 측정하였다. 메탄올추출물 1.5 mL에 100 μM DPPH 용액 1.5 mL를 첨가하여 암소에서 30분간 반응시킨 후에 515 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구로는 ascorbic acid를 사용하였다. DPPH 라디칼의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(the half maximal effective concentration, EC_{50}, μg/mL)는 다음의 식에 의하여 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

DPPH radical scavenging activity (%)=

$$\frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

ABTS 라디칼 소거 활성은 Re 등(16)의 방법을 이용하여 측정하였다. 메탄올추출물 30 μL에 ABTS 라디칼 용액 3 mL를 첨가하여 암소에서 6분간 반응시킨 후에 734 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구로는 BHT를 사용하였다. ABTS 라디칼의 흡광도를 50% 감소시키는 데 필요한 시료의 농도(EC_{50}, μg/mL)는 다음의 식에 의하여 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

$$\text{ABTS radical cation scavenging activity (\%)} = \frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

SOD 유사 활성은 Li(17)의 방법을 이용하여 측정하였다. 메탄올추출물 300 μL에 1 mM EDTA를 함유한 50 mM tris-HCl buffer(pH 7.4, 37°C) 2,650 μL와 1 mM HCl에 녹인 60 mM pyrogallol 50 μL를 첨가하여 5분간 반응시킨 후에 325 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구로는 ascorbic acid를 사용하였다. Pyrogallol의 흡광도를 50% 감소시키는 데 필요한 시료의 농도(EC_{50}, μg/mL)는 다음의 식에 의하여 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

환원력은 Oyaizu(18)의 방법을 이용하여 측정하였다. 메탄올추출물 1 mL에 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% $K_2Fe(CN)_6$ 2.5 mL를 첨가하여 50°C에서 20분간 반응시켰다. 이 반응액에 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하여 원심분리(3,500 rpm, 10분) 한 후에 상등액을 취하였다. 이 상등액 5 mL에 증류수 5 mL와 0.1% $FeCl_3$ 1 mL를 첨가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구로는 ascorbic acid를 사용하였다. 환원력은 시료액 첨가구와 무첨가구의 흡광도의 차이로 나타내었으며, 반응액의 흡광도가 0.5가 되는 데 필요한 시료의 농도(EC_{50}, μg/mL)는 얻어진 결과에서 산출하여 나타내었다.

통계분석

각 실험은 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 SAS 통계 프로그램(Ver. 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 시료 간의 유의성은 $P<0.05$ 수준에서 one way ANOVA로 분산분석한 후에 Duncan's multiple range test로 비교하였으며, 총페놀성 화합물과 갈변물질 같은 항산화 성분과 항산화 활성의 연관성은 Pearson 상관분석을 이용한 단순회귀분석(simple regression analysis)을 하여 비교하였다.

결과 및 고찰

항산화 성분

생(control) 및 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물의 수율 및 항산화 성분 결과는 Table 1 및 Fig. 1과 같다. 생 및 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물의 수율과 총페놀성 화합물 함량은 10.71~37.40%와 15.53~36.36 μg/mg으로 증포처리에 의해서 증가하였다. 특히 증포처리 횟수가 2회에서 4회로 증가함에 따라 생 삼채뿌리 메탄올추출물보다 수율은 각각 3.4배와 3.5배, 총페놀성 화합물 함량은 각각 2.1배와 2.3배 증가하였다. 삼채뿌리에는 gallic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid, hydroxybenzoic acid, vanillic acid, ferulic acid, sinapic acid, catechin, rutin 등과 같은 비배당체뿐만 아니라 ferulic acid-4-*O*-β-D-glucopyranoside와 같은 배당체 형태 등 다양한 페놀성 화합물이 존재한다고 알려져 있다(3,19). 이와 같은 결과는 수삼보다 홍삼 메탄올추출물의 총페놀성 화합물 함량이 높았다는 기존의 연구결과와 유사하였으며, 이는 삼채뿌리가 고온에서 찌고 말리는 과정에서 삼채뿌리의 식물 세포벽 내부로 증기의 유입과 배출이 반복되면서 고분자 페놀성 화합물이 저분자 페놀성 화합물로 분해되거나 세포벽과 결합한 bound형 페놀성 화합물이 추출용매에 손쉽게 용해되는 free형 페놀성 화합물로 전환되기 때문에 생 삼채뿌리보다 증포 삼채뿌리의 TPC가 증가한 것으로 추정된다(20,21).

생 및 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물의 갈변도는 측정 파장과 관계없이 증포처리에 의해서 증가하였으며, 이는 총페놀성 화합물 함량의 경우와 유사한 경향이었다. 특히 증포처리 횟수가 2회에서 4회로 증가함에 따라 생 삼채뿌리보다 280 nm에서는 각각 3.8배와 4.4배, 420 nm에서는

Table 1. Yield, total phenolic content, browning intensity, and organosulfur compounds of 80% methanol extract from steam-dried *Allium hookeri* root

Components		Steam drying times		
		Control	2	4
Yield (%)		10.71±0.67[b1)2)]	36.92±0.69[a]	37.40±0.41[a]
Total phenolic content (μg/mg)		15.53±0.69[c]	33.18±0.60[b]	36.36±0.82[a]
Browning intensity	280 nm	0.48±0.01[c]	1.82±0.01[b]	2.09±0.01[a]
	420 nm	0.01±0.00[c]	0.21±0.00[b]	0.25±0.00[a]
Organosulfur compound (μg/g)	Alliin	700.61±9.11[a]	4.40±0.79[b]	1.46±0.08[c]
	Cycloalliin	2,182.60±4.52[a]	1,173.95±27.29[c]	1,253.43±5.97[b]

[1)]Values are mean±SD (n=3).
[2)]Different lower case letters (a-c) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

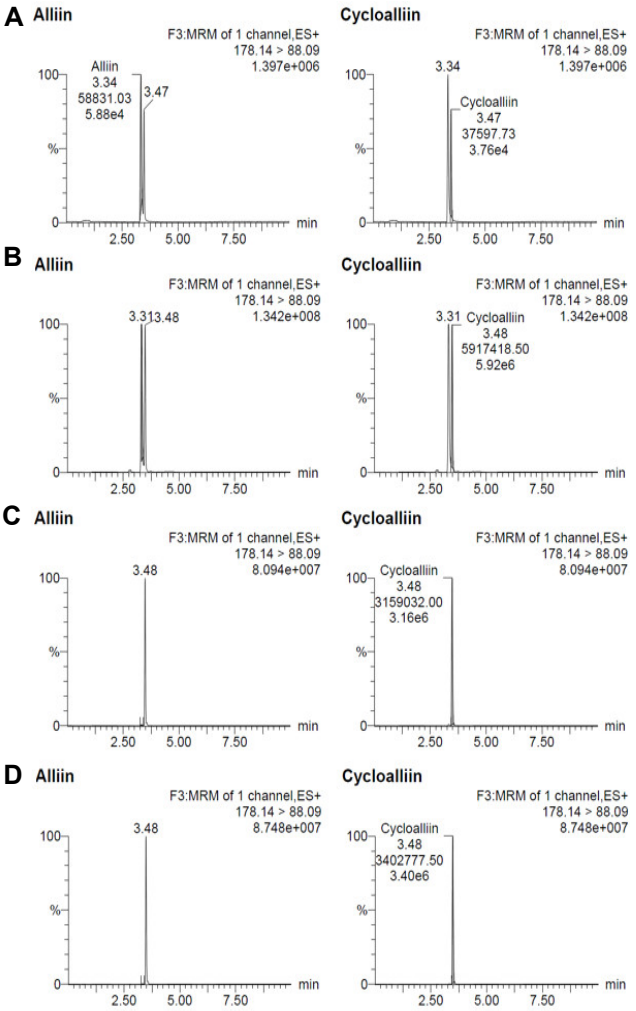

Fig. 1. MRM mass chromatograms for alliin and cycloalliin by UPLC-ESI/MS/MS in positive mode. A: standard (1 mg/mL), B: control, C: steam drying (2 times), D: steam drying (4 times).

각각 21.0배와 25.0배 증가하여 furfural, hydroxymethyl furfural 등과 같은 갈변 중간생성물보다 항산화 성분으로 알려진 고분자 melanoidin(갈변물질 또는 갈색색소) 생성이 많은 것으로 나타났다(12). 이와 같은 결과는 추출온도와 추출시간이 증가할수록 홍삼 열수추출물의 갈변도가 증가했다는 기존의 연구 결과와 유사하였으며, 이는 고온의 증포과정 중에 삼채뿌리에 존재하는 유리당, 유리아미노산, 페놀성 화합물 등의 성분들이 고온의 증포과정 중에 Maillard 반응, caramelization 반응, 페놀성 화합물 자동산화반응 등과 같은 비효소적 갈변 반응이 일어나서 melanoidin으로 전환되기 때문으로 추정된다(22,23).

UPLC-ESI/MS/MS를 사용하여 함황화합물을 분석하였을 때, alliin과 cycloalliin 표준품의 전구이온(m/z 178.14) 및 생성이온(m/z 88.09)의 머무름 시간은 각각 3.34분과 3.47분이었으며, 생 및 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물에서도 유사한 머무름 시간에 alliin과 cycloalliin이 관찰되었다(Fig. 1). 이는 원소분석기로 분석한 황 성분(24)이 아닌 삼채뿌리의 함황화합물 함량을 개별적으로 동정하여 분석한 최초의 결과이다. 생 및 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물의 alliin과 cycloalliin 함량은 각각 1.46~700.61 μg/mg 및 1,173.95~2,182.60 μg/mg으로 증포처리에 의해서 감소하였다. 즉 증포처리 횟수가 2회에서 4회로 증가함에 따라 생 삼채뿌리 메탄올추출물에 비하여 alliin은 각각 159.2배와 479.9배, cycloalliin은 각각 1.9배와 1.7배 감소하여 alliin이 증포처리 과정에서 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 삼채뿌리의 중요한 기능성 성분 중 하나인 함황화합물이 증포처리 횟수가 증가할수록 감소한다는 결과(2,24)와 유사하였으며, 이는 삼채뿌리에 존재하던 alliin이 증포처리 과정에서 파쇄, 절단, 전단, 휘발 등과 같은 물리적 요인과 alliinase와 같은 분해효소에 의해서 allicin, diallyl sulfide, diallyl disulfide, diallyl trisulfide 등과 같은 다양한 저분자 thiosulfinates로 전환되어 급격히 감소하는 것으로 추정된다(6). 반면에 환상구조로 되어 있는 imino 화합물인 cycloalliin은 신선한 상태에서는 그 함유량이 적을지라도 열처리 후에는 총함황화합물의 50% 이상이 남아 있기 때문에 증포처리한 삼채의 함황화합물 지표물질로서 alliin보다 적합하다고 판단된다(25,26).

결과적으로 증포처리는 삼채뿌리 특유의 이취와 매운맛을 감소시켜줄 뿐만 아니라 페놀성 화합물과 갈변물질 같은 항산화 성분 함량을 증가시켜주므로 항산화용 건강기능성 식품 소재로 활용하기 위한 적합한 방법으로 판단된다(27). 그러나 증포처리 조건에 따라 색, 영양성분, 기능성 성분 및 이화학적 특성이 변하기 때문에 소재의 활용도를 높이기 위해서는 다른 항산화 성분에 관한 추가적인 연구가 필요하다.

항산화 활성 및 항산화 성분과의 상관성

생 및 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물의 항산화 활성에 대한 결과는 Table 2와 같다. 생 및 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물을 0.01~15 mg/mL의 농도로 조제하여 DPPH 라디칼 소거 활성, ABTS 라디칼 소거 활성, SOD 유사 활성 및 환원력에 관한 항산화 활성을 EC_{50} 값으로 산출한 결과, DPPH 라디칼 소거 활성은 0.43~1.81 mg/mL, ABTS 라디칼 소거 활성은 7.53~13.71 mg/mL, SOD 유사 활성은 0.34~3.23 mg/mL 및 환원력은 2.20~8.38 mg/mL로 나타났으며, 모든 측정방법에서 증포처리에 의해 생 삼채뿌리보다 크게 감소하였다. 또한, 증포처리 횟수가 2회에서 4회로 증가함에 따라 생 삼채뿌리보다 DPPH 라디칼 소거 활성의 EC_{50} 값이 각각 3.4배와 4.2배, ABTS 라디칼 소거 활성의 EC_{50} 값이 각각 1.4배와 1.8배, SOD 유사 활성의 EC_{50} 값이 각각 6.0배와 9.5배, 환원력의 EC_{50} 값이 각각 3.4배와 3.8배 감소하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 증포처리한 삼채뿌리 열수추출물이 생 삼채뿌리 열수추출물보다 EC_{50} 값이 감소하며 증포처리 횟수가 증가할수록 더 많이 감소하였다는 기존의 연구 결과와 유사하였다(24). 이는 페놀성 화합물의 phenolic hydroxyl group과 갈변반응으로 생성

Table 2. EC_{50} value of 80% methanol extract from steam-dried *Allium hookeri* root

Components		EC_{50}[1)] value (mg/mL) by steam drying times			
		Comparison[2)]	Control	2	4
Antioxidant activity	DPPH radical scavenging activity	0.02±0.00[d3)4)]	1.81±0.01[a]	0.53±0.08[b]	0.43±0.01[c]
	ABTS radical scavenging activity	0.71±0.02[d]	13.71±0.55[a]	9.81±1.34[b]	7.53±0.29[c]
	SOD-like activity	0.01±0.00[d]	3.23±0.09[a]	0.54±0.01[b]	0.34±0.02[c]
	Reducing power	0.02±0.00[d]	8.38±0.89[a]	2.45±0.02[b]	2.20±0.02[c]

[1)]EC_{50} value is expressed as the effective concentration at which antioxidant activity using DPPH radicals, ABTS radicals, and pyrogallols were scavenged by 50%; absorbance was 0.5 for reducing power.
[2)]Comparison is ascorbic acid for DPPH radical scavenging activity, SOD-like activity, and reducing power; and butylated hydroxytoluene (BHT) for ABTS radical scavenging activity.
[3)]Values are mean±SD (n=3).
[4)]Different lower case letters (a-d) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple range test (P<0.05).

Table 3. Regression analysis[1)] for EC_{50}[2)] value between each antioxidant activity and antioxidant compound of 80% methanol extract from steam-dried *Allium hookeri* root

DPPH radical scavenging activity	ABTS radical scavenging activity	SOD-like activity	Reducing power
$Y=-0.068X_1+2.863$, $R^2=0.99$	$Y=-0.271X_1+18.037$, $R^2=0.95$	$Y=-0.143X_1+5.435$, $R^2=0.99$	$Y=-0.310X_1+13.132$, $R^2=0.99$
$Y=-0.890X_2+2.224$, $R^2=0.99$	$Y=-3.540X_2+15.530$, $R^2=0.95$	$Y=-1.863X_2+4.097$, $R^2=0.99$	$Y=-4.027X_2+10.236$, $R^2=0.99$
$Y=-5.965X_3+1.857$, $R^2=0.99$	$Y=-23.734X_3+14.068$, $R^2=0.95$	$Y=-12.496X_3+3.328$, $R^2=0.99$	$Y=-27.008X_3+8.575$, $R^2=0.99$
$Y=0.002X_4+0.473$, $R^2=1$	$Y=0.007X_4+8.646$, $R^2=0.87$	$Y=0.004X_4+0.428$, $R^2=1$	$Y=0.009X_4+2.299$, $R^2=1$
$Y=0.001X_5-1.170$, $R^2=0.98$	$Y=0.005X_5+12.618$, $R^2=0.82$	$Y=0.003X_5-3.013$, $R^2=0.98$	$Y=0.006X_5-5.187$, $R^2=0.99$

[1)]X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, Y, and R^2 are total phenolic content, browning intensity at 280 nm, browning intensity at 420 nm, alliin content, cycloalliin content, and correlation determination coefficient, respectively.
[2)]EC_{50} value is expressed as the effective concentration at which antioxidant activity using DPPH radicals, ABTS radicals, and pyrogallols were scavenged by 50%; absorbance was 0.5 for reducing power.

된 melanoidin이 가진 강한 환원성으로 인하여 라디칼 소거, 과산화물 분해 등과 같은 항산화 활성을 가지기 때문에 증포처리 과정에서 생성된 페놀성 화합물과 갈변물질이 증포처리한 삼채뿌리 메탄올추출물의 항산화 활성에 영향을 주었을 것으로 추정된다(28,29). 한편 기존에 보고된 DPPH 라디칼 소거 활성의 경우 생 삼채뿌리 메탄올추출물에서 분리한 ferulic acid-4-*O*-β-D-glucopyranoside는 대조구인 ascorbic acid보다 더 낮은 EC_{50} 값을 나타내어 조추출물인 메탄올추출물을 정제함으로써 다양한 항산화 활성을 가진 항산화 물질의 분리 및 획득이 가능하다고 판단된다(19).

메탄올추출물에 함유된 항산화 성분과 각 항산화 활성 EC_{50} 값의 상관성을 살펴본 결과(Table 3), 총페놀성 화합물 함량 및 갈변도(280 nm와 420 nm)의 결정계수(correlation determination coefficient, R^2) 값은 0.95~0.99로 각 항산화 활성과 강한 상관성을 나타내었다. 함황화합물의 R^2 값은 alliin이 0.87~1, cycloalliin이 0.82~0.99로 각 항산화 활성에 따라서 차이를 보였으며, 특히 ABTS 라디칼 소거 활성의 R^2 값이 낮게 나타났다. 한편 회귀분석에서 얻은 기울기(항산화 활성의 능력을 의미) 값을 비교해 보면 각 항산화 활성의 항산화 성분별 기울기 값은 큰 차이를 보였으나, 총페놀성 화합물 함량(-0.310~-0.068) 및 갈변물질(280 nm에서 -4.027~-0.890, 420 nm에서 -27.008~-5.965)은 음의 값을, 함황화합물(alliin이 0.002~0.009, cycloalliin이 0.001~0.006)은 양의 값을 나타내었다. 따라서 증포처리로 인한 삼채뿌리의 함황화합물 함량이 감소한다 할지라도 총페놀성 화합물과 갈변물질의 함량이 증가하여 삼채뿌리의 전체적인 항산화 활성이 증가된 것으로 판단된다. 이와 같은 결과는 귀리 메탄올추출물이 DPPH 라디칼 소거 활성, ABTS 라디칼 소거 활성, 환원력 등과 같은 항산화 활성에서 총페놀성 화합물이 높은 상관성을 보였으나 비타민 E는 상관성이 낮았다는 기존의 결과와 유사하였으며, 이는 항산화 성분의 종류와 특성에 따라 라디칼 소거능이나 금속이온 환원력이 변하기 때문으로 판단된다(30,31).

요 약

증포처리가 삼채뿌리 메탄올추출물의 항산화 성분(총 페놀성 화합물 함량, 갈변물질, 함황화합물) 및 항산화 활성(DPPH 라디칼 소거 활성, ABTS 라디칼 소거 활성, SOD 유사 활성, 환원력)에 미치는 영향을 조사하였다. 증포 횟수가 2회에서 4회로 증가함에 따라 생 삼채뿌리보다 총 페놀성 화합물 함량이 각각 2.1배와 2.3배 증가했으며 갈변물질

도 파장에 상관없이 유사한 경향이었다. 반면 함황화합물은 alliin이 각각 159.2배와 479.9배, cycloalliin이 각각 1.9배와 1.7배 감소하였다. 생 및 증포 삼채뿌리 메탄올추출물의 항산화 활성의 EC_{50} 값은 DPPH 라디칼 소거 활성이 0.43~1.81 mg/mL, ABTS 라디칼 소거 활성은 7.53~13.71 mg/mL, SOD 유사 활성은 0.34~3.23 mg/mL, 환원력은 2.20~8.38 mg/mL로 증포처리에 의해서 생 삼채뿌리보다 EC_{50} 값이 감소하였다. 항산화 성분과 각 항산화 활성에 대한 EC_{50} 값의 결정계수(R^2)는 0.82 이상의 높은 값을 나타내어 강한 상관성을 나타내었다. 결과적으로 증포처리는 삼채뿌리의 항산화 활성을 증가시키는 데 효과적인 가공방법으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청의 공동연구사업 “삼채를 이용한 식이소재 개발 및 기능성 유효성분 탐색(Project No. PJ01049004)”의 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Ayam VS. 2011. *Allium hookeri*, Thw. Enum. A lesser known terrestrial perennial herb used as food and its ethnobotanical relevance in Manipur. *Afr J Food Agric Nutr Dev* 11: 5389-5412.
2. Won SG. 2015. A study on antioxidative effects and antioxidative substances by various extract methods from different parts of *Allium hookeri*. *MS Thesis*. Kyungnam University, Changwon, Korea.
3. Park SY, Je JY, Ahn CB. 2015. Phenolic composition and hepatoprotective activities of *Allium hookeri* against hydrogen-peroxide-induced oxidative stress in cultured hepatocytes. *J Food Biochem* 40: 284-293.
4. Lee EB, Kim JH, Yang JH, Kim YS, Jun HI, Ki B, Lee SH, Kim YS, Han S, Kim DK. 2015. Antioxidant and longevity properties of the root of *Allium hookeri* in *Caenorhabditis elegans*. *Kor J Pharmacogn* 46: 234-242.
5. Roh SS, Kwon OJ, Yang JH, Kim YS, Lee SH, Jin JS, Jeon YD, Yokozawa T, Kim HJ. 2016. *Allium hookeri* root protects oxidative stress-induced inflammatory responses and β-cell damage in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 16: 63.
6. Rhyu DY, Park SH. 2013. Characterization of alkyl thiosulfinate in *Allium hookeri* root using HPLC-ESI-MS. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 56: 457-459.
7. MFDS. 2016. Analysis report for annual production of functional food in 2016. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea. p 1-12.
8. Son CG. 2014. Progress of functional food market in Korea and strategy of Korean medicine. *J Korean Med* 35: 68-74.
9. Jun HI, Park SY, Jeong DY, Song GS, Kim YS. 2014. Quality properties of yogurt added with hot water concentrates from *Allium hookeri* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1415-1422.
10. Jang JY, Lee J, Choi EJ, Choi HJ, Oh YJ, Lee SH, Kim HJ. 2015. Effect of starter cultures on the antioxidant activities of *Allium hookeri* root-hot water extract. *Korean J Food Cook Sci* 31: 98-102.
11. Kim KH, Kim HJ, Byun MW, Yook HS. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract from six vegetables containing different sulfur compounds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 577-583.
12. DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
13. ISO 14502-1. 2005. Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1. content of total polyphenols in tea－colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent.
14. Ichikawa M, Mizuno I, Yoshida J, Ide N, Ushijima M, Kodera Y, Hayama M, Ono K. 2006. Pharmacokinetics of cycloalliin, an organosulfur compound found in garlic and onion, in rats. *J Agric Food Chem* 54: 9811-9819.
15. Kano M, Takayanagi T, Harada K, Makino K, Ishikawa F. 2005. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoera batatas* cultivar Ayamurasaki. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 979-988.
16. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
17. Li X. 2012. Improved pyrogallol autoxidation method: a reliable and cheap superoxide-scavenging assay suitable for all antioxidants. *J Agric Food Chem* 60: 6418-6424.
18. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction－antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap J Nutr* 44: 307-315.
19. Jun HI, Jang H, Ahn D, Kim DK, Yang JH, Yun BS, Kim YS. 2015. Isolation and characterization of phenolic compound from *Allium hookeri* root for potential use as antioxidant in foods. *Food Sci Biotechnol* 24: 2031-2034.
20. Jin Y, Kim YJ, Jeon JN, Wang C, Min JW, Jung SY, Yang DC. 2012. Changes of ginsenosides and physiochemical properties in ginseng by new 9 repetitive steaming and drying process. *Korean J Plant Res* 25: 473-481.
21. Lee JW, Kim NY, Oh HL, Lee KJ, Yang KH, Doh ES, Kim MR. 2011. Antioxidant activity of *Rehmanniae Radix* Preparata prepared from dried root through steaming-drying cycles. *J East Asian Soc Diet Life* 21: 838-843.
22. Lee GS, Nam KY, Choi JE. 2013. Ginsenoside composition and quality characteristics of red ginseng extracts prepared with different extracting methods. *Korean J Med Crop Sci* 21: 276-281.
23. Lertittikul W, Benjakul S, Tanaka M. 2007. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein－glucose model system as influenced by pH. *Food Chem* 100: 669-677.
24. Jun HI, Jang HN, Yang JH, Song GS, Kim YS. 2015. Physicochemical properties and antioxidant activities of steam-dried *Allium hookeri* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 412-417.
25. Yanagita T, Han SY, Wang YM, Tsuruta Y, Anno T. 2003. Cycloalliin, a cyclic sulfur imino acid, reduces serum triacylglycerol in rats. *Nutrition* 19: 140-143.
26. Jung EB, Choi JH, Yu HJ, Kim KH, Lee SK, Hwang YI, Lee SH. 2013. Organosulfur compounds in fermented garlic extracts and the effects on alcohol induced cytotoxicity in CYP2E1-transfected HepG2 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 342-347.
27. Rosen RT, Hiserodt RD, Fukuda EK, Ruiz RJ, Zhou Z, Lech

J, Rosen SL, Hartman TG. 2001. Determination of allcin, *S*-allylcysteine and volatile metabolites of garlic in breath, plasma or simulated gastric fluids. *J Nutr* 131: 968S-971S.
28. Jacobo-Velázquez DA, Cisneros-Zevallos L. 2009. Correlations of antioxidant activity against phenolic content revisited: a new approach in data analysis for food and medicinal plants. *J Food Sci* 74: R107-R113.
29. Lee MJ, Kim HD, Park JW, Kim DS. 1992. Comparison of the antioxidant activity of melanoidin with commercial antioxidants and their synergistic effects. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 686-692.
30. Ham H, Woo KS, Lee B, Park JY, Sim EY, Kim BJ, Lee C, Kim SJ, Kim WH, Lee J, Lee YY. 2015. Antioxidant compounds and activities of methanolic extracts from oat cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 1660-1665.
31. Jun HI, Kim YA, Kim YS. 2014. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. fruits. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 381-388.