

울금(*Curcuma longa* L.)의 용매 별 추출물이 생리활성 및 산화억제에 미치는 영향

오다영 · 김한수[†]

부산대학교 식품공학과

(2018년 6월 25일 접수: 2018년 9월 11일 수정: 2018년 9월 20일 채택)

Effects of the Physiological Activities and Oxidation Inhibitory Action of Turmeric (*Curcuma longa* L.) by Various Solvents

Da-Young Oh · Han-Soo Kim[†]

Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

(Received June 25, 2018; Revised September 11, 2018; Accepted September 20, 2018)

요약 : 울금(*Curcuma longa* L.)의 사포닌 함량과, 증류수(distilled water, DW), 70% 에탄올 및 노르말 부탄올의 3가지 용매를 사용하여 산화억제 효과를 통한 기능성 식품 소재로서의 가치를 확인한 결과, 총 사포닌 함량은 7.506 ± 0.349 mg SE/g dry weight으로 확인되었다. 추출 수율은 DW (17.11%), 70% 에탄올(15.26%), 노르말 부탄올(4.12%)로 DW에서 가장 높게 나타났으며, 노르말 부탄올 추출물에서 낮은 수율을 보였다. 항산화 활성은 농도가 높아질수록 활성이 증가되는 것으로 관찰되었다. 총 페놀 함량은 DW, 70% 에탄올, 노르말 부탄올 순으로 각각 8.57, 41.01, 119.11 mg GAE/g의 함량으로 나타났으며, 노르말 부탄올 추출물에서 유의적인 차이를 보이며 높게 관찰되었다($p < 0.05$). DPPH 라디칼 소거활성은 DW, 70% 에탄올, 노르말 부탄올 순으로 확인되었다. ABTS 라디칼 소거활성, 환원력 및 ferric reducing antioxidant power (FRAP) 또한 DPPH 라디칼 소거활성과 비슷한 양상으로 나타났지만, ferrous ion 킬레이트 능력은 노르말 부탄올(15.87~21.17%), 70% 에탄올(26.10~50.76%), DW (44.47~84.24%) 순으로 측정되었다. 이에, 울금은 산화억제 및 생리활성을 가지는 것으로 규명되었으며 기능성 식품 소재로서의 활용 가능성이 높은 것으로 사료된다.

주제어 : 울금, 산화억제, 환원력, FRAP, DPPH

Abstract : The aim of the present study was to evaluate of turmeric (*Curcuma longa* L.) on the physiological activities and oxidation inhibitory action. The effects of various solvents (distilled water DW, 70% ethanol and *n*-butanol) on the total phenolics content (TPC) of turmeric and their corresponding biological activity were studied. Bioactive compound of total saponin 7.506 ± 0.349 mg SE/g dry weight. Turmeric extracts yield were DW (17.11%), 70% ethanol

[†]Corresponding author
(E-mail: kimhs777@pusan.ac.kr)

(15.26%) and *n*-butanol (4.12%), respectively. Oxidation inhibitory action of the samples exhibited a dose-dependent increase. However, in the current study, none of the samples evaluated showed activity as strong as the BHA, ascorbic acid and EDTA. Results showed that extraction solvent had significant effects on TPC and oxidation inhibitory action (DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, reducing power and ferric reducing antioxidant power) of *n*-butanol. Turmeric exhibited the antioxidant properties, which suggests that the plant material could be used for further studies as a potential source for bioactive and natural antioxidant.

Keywords : Turmeric (*Curcuma longa* L.), Oxidation inhibitory, Reducing power, FRAP, DPPH

1. 서론

최근 수명이 연장됨에 따라 건강에 대한 관심이 높아지면서 천연물인 식물의 잎, 열매, 뿌리 등에 함유된 생리활성 성분과 항산화 물질을 규명하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다[1]. Phytochemical 구성 성분 중의 생리활성물질은 산화적 스트레스 조절과 연관되어 있으며[2], 생물학적 이용 가능성을 증가시키고 치료 효과를 높여주는 것으로 알려져 있어 식물체에서 항산화 물질을 탐색, 연구하는 것은 중요한 의미를 지닌다고 한다[3]. 유리기(free radical)는 높은 반응성과 함께 단백질, 지질, 탄수화물, DNA 등의 세포에 손상을 주는 요인으로 작용하여 궁극적으로 산화 스트레스를 일으키는 것으로 알려져 있으며[4], 여러 질병의 주된 원인으로는 활성산소종(reactive oxygen species)과 활성질소종(reactive nitrogen species) 등 다양하게 존재하는 것으로 알려져 있다[5]. 천연물로부터 유래된 식물성 생리활성물질은 카로티노이드, 페놀성 물질, 알칼로이드, 질소 함유 화합물 및 함유 화합물 등이 있으며[6], 항암[7], 항균[8], 항산화[9] 및 항면역활성[10] 등의 작용이 있다고 한다. 수천 가지의 화합물 중 페놀성 물질은 식물체에 풍부하게 함유되어 있고, 8,000개 이상의 물질로 존재하는 것으로 보고되어 있다[11]. 총 페놀은 화학 구조에 따라 페놀산, 스틸벤(stilbene), 리그난(lignan) 및 플라보노이드 등이 있으며, 환원성, 수소공여체 및 일중항 산소분자 제거 작용이 있다고 한다[11,12]. 천연물 중에서도 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 울금(*Curcuma longa* L.)은 다년생 속근초 초본식물로 인도와 중국 등 주로 아시아 국가에서 자생하고 있는 것으로 알려져 있다[13].

동남아시아에서 오랫동안 향신료로 사용하였고, 전염병 치료 의약품으로 사용되어 왔다[14]. 울금 추출물은 신장, 간장, 심장, 신경 및 비뇨기계 등 보호작용과 항당뇨에 효능이 있는 것으로 보고되어져 있다[15]. 주요 생리활성물질로 알려진 커큐민(curcumin)은 미국 식품의약국(U.S. food and drug administration)에서 안전성이 입증되었고, 광범위한 생물학적 작용을 가지는 것으로 보고되어 왔으며[16], 백혈병, 악성종양, 전립선암, 염증에 표적으로 작용하여 완화 효과를 나타내었다고 한다[17].

따라서, 본 연구는 울금의 총 사포닌, 페놀 함량과 증류수(distilled water, DW), 70% 에탄올 및 노르말 부탄올의 세 가지 용매를 사용하여 라디칼 소거활성, 환원력, ferrous ion 킬레이트 능력을 측정하여 울금의 생리활성 성분 및 산화억제 효과를 산업적으로 활용하는데 기초 자료로 제시하고자 실험을 행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

실험에 사용된 시료인 울금은 전남 진도(Jindo, Jeonnam, Korea) 영농조합법인에서 구입하여 자연 건조시킨 뒤 분쇄기(HMF-3250S, Han-I1 Co., Seoul, Korea)로 마쇄한 다음 -80°C 초저온 냉동고(DF-8514, I1-Shin BioBase Co., Daegu, Korea)에 저장하며 본 실험에 사용하였다.

2.2. 시료의 추출

시료의 증류수(distilled water, DW) 추출은 동결 건조된 울금 100 g 취해 DW를 10배 가하여

(1:10, w/v) 70°C에서 2시간씩 2회 추출하여 여과(filter paper, Advantec, No.1, Tokyo, Japan)하였고, 울금 100 g에 70% 에탄올, 노르말 부탄올 용매를 각각 10배 가하여(1:10, w/v) 24시간씩 2회 추출한 뒤 여과(filter paper, Advantec, No.2, Tokyo, Japan)하였다. 각 추출물은 진공회전농축기(Hei-VAP Advantage, Heidolph Co., Germany)를 이용하여 40°C에서 감압 농축하여 용매를 제거한 후, -80°C 초저온 냉동고에 저장하면서 본 실험에 사용하였고, 시료의 수율은 추출 전 시료 중량에 대한 추출 후 건조 중량 백분율(%)로 나타내었다.

2.3. 총 사포닌 함량 측정

총 사포닌은 함량은 Xu와 Chang의 방법[18]에 준하여 측정하였다. 울금 분말 0.5 g에 석유에테르 10.0 mL를 넣고 교반한 후, 4시간 동안 방치하고 여과(filter paper, Advantec, No.2, Tokyo, Japan)하여 탈지시켰다. 여과한 잔여물을 80% 메탄올 10.0 mL을 가하여 추출하여 실험에 사용할 추출 용액을 조제하였다. 추출 용액 0.3 mL에 8% vanillin 용액 0.3 mL을 첨가하였다. 그런 다음 황산 3.0 mL 첨가한 후, 혼합한 뒤 60°C에서 10분간 방치시키고 냉각하였다. 흡광도는 분광광도계(Specord 200 Plus, Analytikjena Co., Jena, Germany)를 이용하여 544 nm 파장에서 측정 하였다. 표준물질로는 saponin (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)을 사용하여 표준검량 곡선을 작성하여 울금의 총 사포닌 함량을 산출하였고 시료 g 당 mg SE (mg of saponin equivalents) dry weight로 나타내었다.

2.4. 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu reagent (FCR) 방법[19]을 변형하여 측정하였다. 시료 추출액 1.0 mL에 증류수 4.0 mL을 넣고, FCR 0.5 mL를 첨가한 후, 잘 교반하여 3분간 실온에 방치한 뒤 10% sodium carbonate 용액 0.5 mL을 가하여 실온에 1시간 동안 반응 시켰다. 분광광도계를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하여 표준 검량 곡선을 작성하였고 시료 g 당 mg GAE (mg of gallic acid equivalents)로 나타내었다.

2.5. DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거활성은 Blois의 방법[20]에 준하여 측정하였다. 각 용매 별 시료 추출물 0.4 mL과 0.15 mM DPPH 2.8 mL를 교반하고 암소에 30분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 합성항산화제인 BHA (butylated hydroxyanisole, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하여 같은 방법으로 흡광도를 측정하여 다음 식을 사용하여 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{DPPH radical scavenging activity (\%)} \\ = [1 - (\text{Sample OD}_{517} / \text{Blank OD}_{517})] \\ \times 100 \% [20] \end{aligned}$$

2.6. ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS radical cation decolorization assay에 의한 방법[21]을 변형하여 ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 라디칼을 이용한 항산화 활성을 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 1:1 (v/v)의 비율로 섞어 15시간 동안 암실에서 반응시켜 ABTS 라디칼을 형성시킨 후, 에탄올로 희석시킨 다음 분광광도계를 이용하여 734 nm에서 흡광도 값이 0.70(±0.02)이 되도록 조절하였다. 희석된 용액 3.0 mL에 시료 추출액 0.11 mL를 첨가한 후 10분 뒤 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군은 BHA를 사용하였고 ABTS 라디칼 소거활성은 다음 식을 사용하여 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{ABTS radical scavenging activity (\%)} \\ = [1 - (\text{Sample OD}_{734} / \text{Blank OD}_{734})] \\ \times 100 \% [21] \end{aligned}$$

2.7. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정

울금의 ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정은 Thaipong 등의 방법[22]을 변형하여 측정하였다. 0.3 M sodium acetate buffer (pH 3.6)와 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) 용액 및 20 mM ferric chloride를 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 교반하여 37°C 수조에서 10분간 반응시켜 FRAP 시약을 조제하였다. 각 용매 별 시료 추출액 0.2 mL에 FRAP 시약

3.0 mL를 잘 혼합한 후 30분간 수조에 방치시킨 뒤 분광광도계를 사용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한, ferrous sulfate를 이용하여 표준 검량 곡선을 작성한 후 환원력을 표시하였다. 양성대조군은 L-ascorbic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하였다.

2.8. Ferrous ion 킬레이트 능 측정

Ferrous ion 킬레이트 능 측정은 Robu 등의 방법[23]에 준하여 측정하였다. 시료 1.0 mL에 2 mM iron (II) chloride tetrahydrate 0.1 mL, 5 mM ferrozine (3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4"-disulfonic acid sodium salt) 0.2 mL, 에탄올 3.0 mL을 혼합하여 실온에 10 분간 방치시켰고, ferrozine-Fe²⁺ 복합체를 형성시킨 뒤 분광광도계를 이용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ferrous ion 킬레이트 능력은 다음과 같은 식에 따라 백분율로 나타내었으며 양성대조군은 EDTA (ethylenediaminetetraacetic, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하였다.

$$\begin{aligned} & \text{Ferrous ion-chelating capacity (\%)} \\ & = [1 - (\text{Sample OD}_{562} / \text{Blank OD}_{562})] \\ & \quad \times 100 \% \text{ [23]} \end{aligned}$$

2.9. 환원력 측정

환원력 측정은 Singhal 등의 방법[24]을 변형하여 측정하였다. 용매 별 시료 추출물 1.0 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 1.5 mL와 1% potassium ferricyanide 1.0 mL를 넣고 교반시킨 후 50°C의 수조에서 20분간 방치시켰다. 반응시킨 혼합액을 냉각시킨 다음에 10% trichloroacetic acid 1.5 mL를 첨가하여 섞은 후 3,000 rpm에 10분간 원심분리하였다. 상등액 1.0 mL를 취하여 증류수 3.0 mL 및 0.1% ferric chloride 용액 0.2 mL을 시험관에 넣고 잘 혼합시켜 10분 뒤 분광광도계를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 양성대조군은 BHA를 사용하여 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다.

2.10. 통계 처리

실험 데이터의 통계처리는 3 변수 값으로 측정하였으며, 평균값±표준편차로 나타내었다. 결과 값 간의 유의성 검정은 ANOVA (IBM SPSS statistics ver. 21) 분석 후 $p < 0.05$ 수준에서

Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의적인 차이를 알아보았다. 또한, 시료 농도 별 결과값의 IC₅₀ 및 EC₅₀은 선형 회귀분석을 통하여 구하였고, 통계처리 프로그램은 IBM SPSS statistic ver. 22를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 수 율

울금의 용매 별 추출은 증류수(distilled water, DW), 70% 에탄올, 노르말 부탄올을 사용하였고, 각각의 추출 수율은 Table 1에 나타내었다. DW 17.11%, 70% 에탄올에서 15.26%, 노르말 부탄올 4.12%로 DW에서 추출 수율이 가장 높게 나타났으며, 노르말 부탄올 추출물에서 가장 낮은 수율을 보였다.

3.2. 총 사포닌 함량

울금의 총 사포닌 함량은 Table 1과 같이 7.506 ± 0.349 mg SE (saponin equivalents)/g dry weight으로 나타났다. 사포닌은 고등 식물에 넓게 분포되어 있으며, 계면활성의 특징과 구조적으로 당부와 비당부가 glycoside로 결합되어 있는 것으로 알려져 있고, 약리학적 성질과 생리활성이 뛰어나 민간요법으로 사용되어 왔다[25]. 또한, 항진균, 항균성, 암세포 증식 억제 및 바이러스 비활성화 등의 효과가 있는 것으로 보고되어 있다[26]. 인삼의 조 사포닌의 함량은 $4.30 \pm 0.09 \sim 15.46 \pm 0.76\%$ 함유한 것으로 관찰되었으며[27], 땅두릅 63.700 mg/g, 땅두릅 잎이 63.500 mg/g, 홍삼 뿌리 및 두릅나무 뿌리에 각각 2.47, 2.16 (w/w % dry weight) 함유되어 있는 것으로 보고하였다[28]. 울금의 총 사포닌을 백분율로 환산하여 비교 분석 하였을 때 $0.80 \pm 0.03\%$ 로 나타나 홍삼 뿌리 및 두릅나무 뿌리 보다는 낮지만 그 양은 많은 것으로 확인되었다.

3.3. 총 페놀 함량

울금의 용매 별 추출물의 총 페놀의 함량은 Table 1에 나타내었으며, 노르말 부탄올 추출물에서 119.111 ± 0.401 mg GAE (gallic acid equivalents)/g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 70% 에탄올 추출물 41.013±0.308 mg GAE/g 및 DW 8.572±0.067 mg GAE/g 함량으로 확인되어 DW 추출물에서 유의적으로 낮은

Table 1. Contents of total saponin, values of IC₅₀ and EC₅₀ in the bioactivity evaluation assays from turmeric (*Curcuma longa* L.)

Assays ¹⁾	Values		
	DW ³⁾	70% Ethanol	<i>n</i> -Butanol
Total saponin (mg SE ²⁾ /g dry weight)	7.506±0.349		
Extraction yields (%)	17.11	15.26	4.12
Total phenol content (mg GAE ⁴⁾ /g)	8.572±0.067 ^{a5)}	41.013±0.308 ^b	119.111±0.401 ^c
IC₅₀ (mg/mL)⁶⁾			
DPPH (IC ₅₀ , mg/mL)	6.289±0.051 ^c	0.770±0.007 ^b	0.276±0.002 ^a
ABTS (IC ₅₀ , mg/mL)	4.144±0.043 ^c	0.912±0.005 ^b	0.322±0.004 ^a
FIC (IC ₅₀ , mg/mL)	0.239±0.001 ^a	0.842±0.014 ^a	4.231±0.788 ^b
EC₅₀ (mg/mL)⁷⁾			
FRAP (EC ₅₀ , mg/mL)	18.593±0.873 ^c	3.361±0.019 ^b	1.150±0.031 ^a
RP (EC ₅₀ , mg/mL)	12.017±0.488 ^c	2.483±0.050 ^b	0.820±0.002 ^a

¹⁾DPPH radical scavenging activity (DPPH), ABTS radical scavenging activity (ABTS), ferric reducing antioxidant power (FRAP), ferrous ion-chelating capacity (FIC), reducing power (RP).

²⁾SE: saponin equivalents. ³⁾DW: distilled water. ⁴⁾GAE: gallic acid equivalents.

⁵⁾The values are means±standard deviation (*n*=3). Values with the different letters in the same row are significantly different (*p*<0.05) by Duncan's multiple range tests.

⁶⁾IC₅₀: half maximal inhibitory concentration. ⁷⁾EC₅₀: half maximal effective concentration.

것으로 관찰되었다(*p*<0.05). Polyphenol은 하나 이상의 페놀 그룹을 가지는 화합물로서 항염증, 항알레르기, 항균 및 암 예방 등의 효과가 있는 것으로 보고되어 있다[29]. 또한, 페놀 화합물은 식물체에 넓게 분포되어 있는 것으로 알려져 있다[30]. 21 가지의 식물(잎, 열매 및 뿌리) 메탄올 추출물에 대한 라디칼 소거활성 연구에서 페놀 성분은 고벨화 추출물에서 728.430±0.140 mg GAE/g, 젠다루사 식물 80.550±0.560 mg GAE/g, 핑거루트에서 45.960±0.450 mg GAE/g의 함량이 관찰되었고, 울금은 85.320±0.830 mg GAE/g으로 고벨화 보다는 낮지만 핑거루트 및 젠다루사 식물 보다 함량이 높은 것으로 나타났다[31]. 본 연구 실험 결과, 노르말 부탄올 추출물에서 DW 및 70% 에탄올 추출물에 비해 유의적인 차이를 나타내며 높은 수준으로 페놀 함량이 확인되었다(*p*<0.05).

3.4. DPPH 라디칼 소거활성

용매 별 DPPH 라디칼 소거활성은 은 Fig. 1과 같으며 IC₅₀값을 구하여 Table 1에 표시하였다. 각 시료를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL의 농도에서 측정된 결과 농도 의존적으로 유의하게 증가되는 것으로 나타났다(*p*<0.05). 또한, 노르말 부탄올

추출물은 각각 35.48±0.24%, 64.95±0.24%, 84.12±0.53%, 91.76±0.29%로 울금의 용매 별 추출물에 있어 유의적인 차이를 보이며 가장 높은 활성을 보였고(*p*<0.05), IC₅₀ 값은 0.276±0.002 mg/mL로 확인되었다. 70% 에탄올 추출물에서 각각 14.87±0.17%, 28.25±0.24%, 41.15±0.60%, 52.31±0.21%, IC₅₀ 0.770±0.007 mg/mL, DW 추출물에서 각각 2.57±0.12%, 3.35±0.42%, 5.07±0.50%, 7.23±0.08%, DW 추출물에서 유의적으로 낮은 활성을 나타내었으며(*p*<0.05), IC₅₀은 6.289±0.051 mg/mL로 관찰되었다. 또한, 양성대조군인 BHA는 각 농도에서 94.95±0.00%, 95.09±0.04%, 95.23±0.04%, 95.27±0.04%로 강한 소거활성이 관찰되었다(*p*<0.05). DPPH 라디칼 소거활성 실험은 Goldschmidt와 Renn에 의하여 라디칼 소거활성 평가를 쉽고 빠르게 측정하는 것으로 알려져 있으며[32], DPPH 라디칼은 진한 보라색을 형성하고 수소공여체(H-donors)와 반응하여 라디칼이 감소하게 되면서 옅은 노란색으로 변하는 것으로 알려져 있다[33]. 울금 용매 별 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성은 노르말 부탄올에서 DW 및 70% 에탄올과 비교 했을 때 유의적으로 높은 활성이 관찰되었다(*p*<0.05).

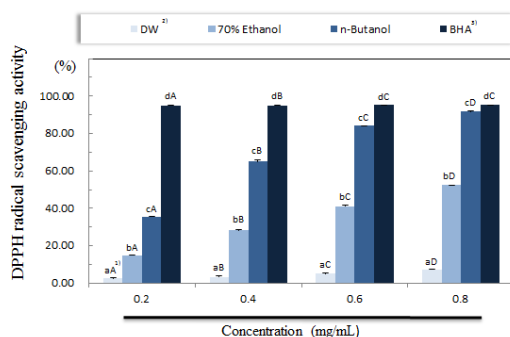


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

²⁾DW: distilled water.

³⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

3.5. ABTS 라디칼 소거활성

각 용매 별 ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) 라디칼 소거활성은 Fig. 2와 같으며 IC_{50} 값을 구하여 Table 1에 나타내었다. 양성대조군으로 BHA를 사용하였으며, 울금의 3가지 용매 별 추출물을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL의 농도에서 측정된 결과 양성대조군을 포함하여 농도 의존적으로 유의하게 증가하는 것으로 나타났다($p<0.05$). 노르말 부탄올 추출물에서 $33.82 \pm 0.22\%$, $56.24 \pm 0.75\%$, $71.25 \pm 0.66\%$, $81.24 \pm 0.22\%$, IC_{50} 0.322 ± 0.004 mg/mL로 70% 에탄올 추출물에서 각각 $11.40 \pm 0.15\%$, $22.95 \pm 0.25\%$, $35.23 \pm 0.51\%$, $46.44 \pm 0.08\%$, IC_{50} 0.912 ± 0.005 mg/mL, DW 추출물에서 각각 $2.53 \pm 0.08\%$, $5.36 \pm 0.17\%$, $8.67 \pm 0.22\%$, $12.04 \pm 0.08\%$, IC_{50} 4.144 ± 0.043 mg/mL 순으로 DW 추출물에서 유의적으로 가장 낮은 활성을 나타내었으며($p<0.05$), 추출 용매 별 IC_{50} 은 높은 결과값을 나타냈다. 또한 양성대조군인 BHA는 각 농도에서 $98.59 \pm 0.08\%$, $99.42 \pm 0.00\%$, $99.56 \pm 0.00\%$, $99.76 \pm 0.08\%$ 로 농도가 높아질수록 유의하게 증가되는 것으로 나타났다($p<0.05$). 청색/녹색을 형성하는 $ABTS^{\cdot+}$ 는 항산화 능력에 의해 감소되며 친수성, 친유성 및 색소가 강한 물질 모두 적용되는 것으로 보고

하였다[34]. 피꾸알(Picual) 산지의 39 가지 올리브 오일로 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성, ORAC (oxygen radical absorbance capacity), β -carotene-linoleate model system의 라디칼 소거활성 연구에서 총 페놀 함량과 상관관계가 높은 실험은 ABTS 라디칼 소거활성인 것으로 나타났다[35], 본 연구에서도 총 페놀 함량이 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성에 영향을 미친 것으로 생각된다.

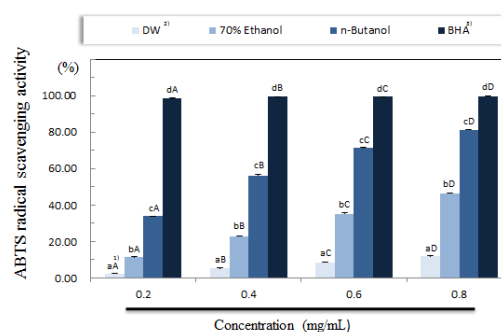


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

²⁾DW: distilled water.

³⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

3.6. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

용매 별 ferric reducing antioxidant power (FRAP)는 Fig. 3과 같으며 EC_{50} 을 구한 값은 Table 1에 나타내었다. 양성대조군은 ascorbic acid를 사용하여 나타내었다. 각 농도별(0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL)로 측정된 결과 양성대조군을 포함하여 농도 의존적인 경향을 보였다($p<0.05$). 노르말 부탄올 추출물에서 0.414 ± 0.007 , 0.822 ± 0.008 , 1.280 ± 0.006 , 1.721 ± 0.050 mM Fe^{2+} , EC_{50} 1.150 ± 0.031 mg/mL로 울금의 용매 별 추출물에 있어서 유의적인 차이를 보이며 높은 환원력이 관찰되었다($p<0.05$). 70% 에탄올 추출물에서 각각 0.147 ± 0.001 , 0.298 ± 0.007 , 0.433 ± 0.005 , 0.594 ± 0.003 mM Fe^{2+} , EC_{50}

3.361±0.019 mg/mL 및 DW 추출물에서 각각 0.037±0.001, 0.066±0.002, 0.091±0.002, 0.117±0.004 mM Fe²⁺, EC₅₀ 18.593±0.873 mg/mL 순으로 DW 추출물에서 유의적으로 낮은 환원력을 나타내었다(*p*<0.05). 또한, 양성대조군인 ascorbic acid는 3.404±0.017, 4.791±0.001, 4.877±0.008, 4.961±0.001 mM Fe²⁺로 농도가 높아질수록 유의하게 증가되는 것으로 나타났다(*p*<0.05). FRAP는 ferrous complex의 진한 청색을 형성하며 593 nm에서 흡광도를 측정하는 것으로 잘 알려져 있으며[36], 햄버거에 3.5% 울금의 첨가는 2.61 mM Fe²⁺/kg FE (fresh meat)로 관찰되어, 양성대조군인 ascorbic acid 4.13 mM Fe²⁺/kg FE 보다 낮지만 무첨가군 0.45 mM Fe²⁺/kg FE보다 높은 것으로(*p*<0.001) 나타나 강한 항산화 활성을 보인 것으로 보고되어 있다[37]. 울금의 용매 별 추출물 중 노르말 부탄올에서 비교적 높은 환원력이 관찰되었고, 산화억제 효과와 환원력은 밀접한 관계를 갖는 것으로 보고되어[38] 그에 따른 울금의 노르말 부탄올 추출물은 천연 산화방지제로서 효과가 클 것으로 사료된다.

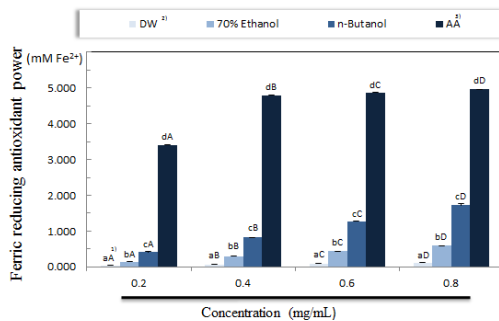


Fig. 3. FRAP (ferric reducing antioxidant power) of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means±standard deviation (*n*=3). Bars with the different letters are significantly different (*p*<0.05) by Duncan's multiple range tests.

²⁾DW: distilled water.

³⁾AA: ascorbic acid.

3.7. Ferrous ion 킬레이트 능

Ferrous ion 킬레이트 능은 Fig. 4와 같으며 IC₅₀을 구한 값은 Table 1에 나타내었다. 양성대

조군은 EDTA를 사용하여 나타내었고, 울금의 각 농도별로 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL의 농도에서 측정된 결과 농도가 높아질수록 유의하게 증가되는 것으로 나타났다(*p*<0.05). DW 추출물에서 44.47±0.15%, 65.70±0.31%, 77.50±0.33%, 84.24±0.50%, IC₅₀ 0.239±0.001 mg/mL로 유의적인 차이를 보이며 가장 높은 ferrous ion 킬레이트 능을 보였다(*p*<0.05). 70% 에탄올 추출물에서 26.10±0.24%, 33.71±0.23%, 42.75±0.67%, 50.76±0.29%, IC₅₀ 0.842±0.014 mg/mL, 노르말 부탄올 추출물은 15.87±0.53%, 17.61±0.64%, 19.19±0.37%, 21.17±0.79%, IC₅₀ 4.231±0.788 mg/mL 순으로 추출 용매 중 유의적인 차이를 보이며 ferrous ion 킬레이트 능이 낮게 관찰되었다(*p*<0.05). 양성대조군인 EDTA는 98.94±0.18%, 99.56±0.61%, 99.49±0.52%, 99.92±0.04%로 나타났다. Wang 등[39]은 아이스랜드에 분포하는 해조류 추출물의 라디칼 소거활성을 통한 항산화 효과 연구에서 총 페놀 함량과 ORAC, DPPH 라디칼 소거활성과 연관성이 높은 것으로 나타났지만, ferrous ion 킬레이트 능 분석에서는 총 페놀 함량과 명확한 상관관계가 없는 것으로 보고하였다. 본 실험에서 울금의 ferrous ion 킬레이트 능은 각 농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL에 있어 농도 의존적으로 유의하게 증가되는 것으로 관찰되었다.

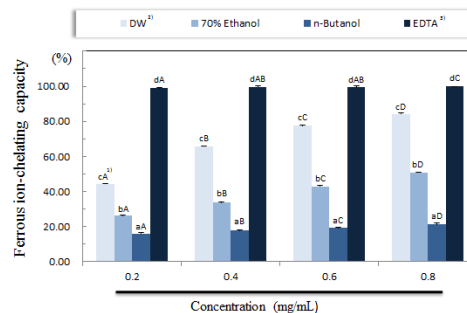


Fig. 4. Ferrous ion-chelating capacity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means±standard deviation (*n*=3). Bars with the different letters are significantly different (*p*<0.05) by Duncan's multiple range tests.

²⁾DW: distilled water.

³⁾EDTA: ethylenediaminetetra-acetic acid.

3.8. 환원력

울금의 각 용매 별 환원력은 Fig. 5와 같으며 EC_{50} 을 구한 값은 Table 1에 표시하였다. 양성대조군은 BHA를 사용하여 나타내었다. 노르말 부탄올 추출물에서 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL 농도 별로 흡광도가 각각 0.208 ± 0.004 , 0.383 ± 0.004 , 0.554 ± 0.004 , 0.670 ± 0.004 , EC_{50} 0.820 ± 0.002 mg/mL로 울금의 용매 별 추출물에 있어 유의적인 차이를 보이며 높은 환원력을 보였다($p < 0.05$). 70% 에탄올 추출물에서의 흡광도는 각각 0.070 ± 0.002 , 0.138 ± 0.001 , 0.188 ± 0.003 , 0.237 ± 0.004 , EC_{50} 2.483 ± 0.050 mg/mL, DW 추출물에서 각각 0.015 ± 0.002 , 0.025 ± 0.002 , 0.036 ± 0.001 , 0.050 ± 0.002 , EC_{50} 12.017 ± 0.488 mg/mL 순으로 DW 추출물에서 유의적으로 낮은 흡광도를 나타내었다($p < 0.05$). BHA는 각 농도에서 1.189 ± 0.006 , 1.492 ± 0.005 , 1.504 ± 0.010 , 1.516 ± 0.003 으로 강한 환원력을 나타내었다($p < 0.05$). 환원력은 화합물의 전자전달 능력과 관련이 있는 것으로 보고되어 있으며, 항산화 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다[40]. 울금의 용매 별 환원력은 노르말 부탄올 추출물에서 환원력이 가장 높았으며($p < 0.05$), 총 페놀, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성의 분석 결과와 일치하는 것으로 확인되었다.

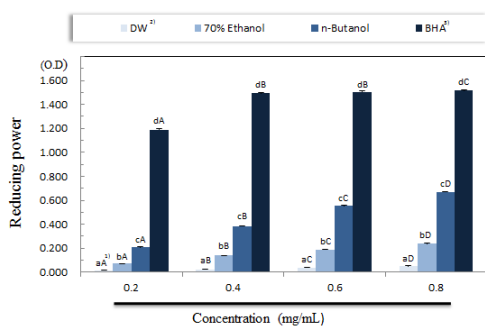


Fig. 5. Reducing power of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

²⁾DW: distilled water.

³⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

4. 결론

울금의 증류수(distilled water, DW), 70% 에탄올 및 노르말 부탄올의 3가지 용매를 사용하여 총 페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, 환원력, FRAP (ferric reducing antioxidant powe), ferrous ion 킬레이트 능을 통하여 울금의 산화억제 효과를 확인한 결과, 총 사포닌 함량은 7.506 ± 0.349 mg SE/g dry weight으로 측정되었고, 추출 수율은 DW (17.11%), 70% 에탄올(15.26%), 노르말 부탄올 (4.12%)로 DW에서 추출 수율이 높게 나타났다. 총 페놀 함량은 DW, 70% 에탄올 및 노르말 부탄올 순으로 각각(8.57, 41.01, 119.11 mg GAE/g)의 함량을 나타냈으며, 노르말 부탄올 추출물에서 유의적인 차이를 보이며 가장 높게 관찰되었다($p < 0.05$). DPPH 라디칼 소거활성은 DW (2.57~7.23%), 70% 에탄올(14.87~52.31%), 노르말 부탄올(35.48~91.76%) 순으로 동정되었다. ABTS 라디칼 소거활성은 DW (2.53~12.04%), 70% 에탄올(11.40~46.44%), 노르말 부탄올(33.82~81.24%)로 나타났다. 환원력은 DW (0.015~0.050), 70% 에탄올(0.070~0.237), 노르말 부탄올(0.208~0.670) 순으로 나타나 노르말 부탄올에서 높은 환원력을 갖는 것으로 나타났다. FRAP는 DW, 70% 에탄올, 노르말 부탄올 순으로 각각 $0.037 \sim 0.117$, $0.147 \sim 0.594$, $0.414 \sim 1.721$ mM Fe^{2+} 로 나타났으며, 총 페놀, DPPH 라디칼 소거활성 및 ABTS 라디칼 소거활성과 동일한 경향으로 관찰되었다. Ferrous ion 킬레이트 능은 노르말 부탄올(15.87~21.17%), 70% 에탄올(26.10~50.76%), DW (44.47~84.24%) 순으로 관찰되었다. 울금의 용매 별 추출물의 총 페놀 함량 및 항산화 능 실험을 비교하였을 때, 활성이 높은 노르말 부탄올 용매를 사용하는 것이 바람직한 것으로 판단된다. 따라서 본 실험 결과, 울금의 추출 용매에 따른 항산화 효과를 확인하였으며, 천연 항산화제 및 기능성 식품 소재로서의 가치가 있을 것으로 추정된다.

References

1. S. Y. Lee, J. Y. Shon, K. O. Kang, "Nutritional components and antioxidant

- activities of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf and berry extracts”, *J. East Asian Soc. Diet. Life*, Vol.28, No.1 pp. 31–39, (2018).
2. D. Huang, B. Ou, R. L. Prior, “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.53, No.6 pp. 1841–1856, (2005).
 3. K. Kowalska, A. Olejnik, “Beneficial effects of cranberry in the prevention of obesity and related complications: Metabolic syndrome and diabetes—A review”, *J. Funct. Foods*, Vol.20, pp. 171–181, (2016).
 4. T. Bahorun, M. A. Soobrattee, V. Luximon-Ramma, O. I. Aruoma, “Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease”, *Int. J. Med. Update*, Vol.1, No.2 pp. 25–41, (2006).
 5. S. S. Gill, N. Tuteja, “Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants”, *Plant Physiol. Biochem.*, Vol.48, No.12 pp. 909–930, (2010).
 6. R. H. Liu, “Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action”, *J. Nutr.*, Vol.134, No.12 pp. 3479S–3485S, (2004).
 7. C. T. Ho, T. Ferraro, Q. Chen, R. T. Rosen, M. T. Huang, “Phytochemicals in teas and rosemary and their cancer-preventive properties”, *In ACS symposium series (USA)*, pp. 1–19, (1994).
 8. M. M. Cowan, “Plant products as antimicrobial agents”, *Clin. Microbiology Rev.*, Vol.12, No.4 pp. 564–582, (1999).
 9. D. P. Tomer, L. D. McLeman, S. Ohmine, P. M. Scherer, B. K. Murray, K. L. O’Neill, “Comparison of the total oxyradical scavenging capacity and oxygen radical absorbance capacity antioxidant assays”, *J. Med. Food*, Vol.10, No.2 pp. 337–344, (2007).
 10. M. Serafini, I. Peluso, “Functional foods for health: the interrelated antioxidant and anti-inflammatory role of fruits, vegetables, herbs, spices and cocoa in humans”, *Current Pharmaceutical Design*, Vol.22, No.44 pp. 6701–6715, (2016).
 11. M. Palermo, N. Pellegrini, V. Fogliano, “The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables”, *J. Sci. Food Agric.*, Vol.94, No.6 pp. 1057–1070, (2014).
 12. C. K. Lim, W. N. Tiong, J. L. Loo, “Antioxidant activity and total phenolic content of different varieties of *portulaca grandiflora*”, *Int. J. Phytoth.*, Vol.4, No.1 pp. 1–5, (2014).
 13. C. A. C. Araujo, L. L. Leon, “Biological activities of *Curcuma longa* L.”, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Vol.96, No.5 pp. 723–728, (2001).
 14. R. Mohebbati, A. Anaigoudari, M. R. Khazdair, “The effects of *Curcuma longa* and curcumin on reproductive systems”, *Endocrine Regulations*, Vol.51, No.4 pp. 220–228, (2017).
 15. S. Senan, D. Kizhakayil, T. E. Sheeja, B. Sasikumar, A. I. Bhat, V. A. Parthasarathy, “Novel polymorphic microsatellite markers from turmeric, *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae)”, *Acta Bot. Croat.*, Vol.72, No.2 pp. 407–412, (2013).
 16. S. J. Hewlings, D. S. Kalman, “Curcumin: A Review of Its’ Effects on Human Health”, *Foods*, Vol.6, No.10 pp. 92–102, (2017).
 17. M. Saladini, S. Lazzari, F. Pignedoli, R. Rosa, F. Spagnolo, E. Ferrari, “New Synthetic Glucosyl-Curcuminoids, and their ¹H and ¹³C NMR Characterization, from *Curcuma longa* L.”, *Plant Foods Hum. Nutr.*, Vol.64, No.3 pp. 224–229, (2009).
 18. B. Xu, S. K. Chang, “Phytochemical profiles and health-promoting effects of cool-season food legumes as influenced by thermal processing”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.57, No.22 pp. 10718–10731, (2009).
 19. D. Huang, B. Ou, R. L. Prior, “The

- chemistry behind antioxidant capacity assays”, *J. Agric. Food Chemistry*, Vol.**53**, No.6 pp. 1841–1856, (2005).
20. M. S. Blois, “Antioxidant determinations by the use of a stable free radical”, *Nature*, Vol.**181**, No.4617 pp. 1199–1200, (1958).
 21. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”, *Free Radical Biology Medic.*, Vol.**26**, No.9–10 pp. 1231–1237, (1999).
 22. K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos, D. H. Byrne, “Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts”, *J. Food Composi. Anal.*, Vol.**19**, No.6–7 pp. 669–675, (2006).
 23. S. I. L. V. I. A. Robu, A. C. Aprotosoia, A. Miron, O. A. N. A. Cioancă, U. R. S. U. L. A. Stănescu, M. O. N. I. C. A. Hăncianu, “*In vitro* antioxidant activity of ethanolic extracts from some *Lavandula* species cultivated in Romania”, *Farmacia*, Vol.**60**, No.30 pp. 394–401, (2012).
 24. M. Singhal, A. Paul, H. P. Singh, “Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives”, *J. Saudi Chem. Soc.*, Vol.**18**, No.2 pp. 121–127, (2014).
 25. S. Sparg, M. E. Light, J. Van Staden, “Biological activities and distribution of plant saponins”, *J. Ethnopharmacology*, Vol.**94**, No.2–3 pp. 219–243, (2004).
 26. V. A. Motz, C. P. Bowers, A. R. Kneubehl, E. C. Lendrum, L. M. Young, D. H. Kinder, “Efficacy of the saponin component of *Impatiens capensis* Meerb. in preventing urushiol-induced contact dermatitis”, *J. Ethnopharmacology*, Vol.**162**, No.13 pp. 163–167, (2015).
 27. G. Y. Nam, S. R. Go, G. J. Choe, “Relationship of saponin and non-saponin for the quality of ginseng”, *J. Ginseng Res.*, Vol.**22**, No.4 pp. 274–283, (1998).
 28. H. D. Hess, M. Kreuzer, T. E. Diaz, C. E. Lascano, J. E. Carulla, C. R. Soliva, A. Machmüller, “Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid”, *Animal Feed Sci. Technol.*, Vol.**109**, No.1–4 pp. 79–94, (2003).
 29. S. Chirumbolo, “Plant phytochemicals as new potential drugs for immune disorders and cancer therapy: really a promising path?”, *J. Sci. Food Agric.*, Vol.**92**, No.8 pp. 1573–1577, (2012).
 30. M. E. Cartea, M. Francisco, P. Soengas, P. Velasco, “Phenolic compounds in Brassica vegetables”, *Molecules*, Vol.**16**, No.1 pp. 251–280, (2010).
 31. J. A. Vinson, Y. Hao, X. Su, L. Zubik, “Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.**46**, No.9 pp. 3630–3634, (1998).
 32. M. N. Alam, N. J. Bristi, M. Rafiqzaman, “Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity”, *Saudi Pharmaceutical J.*, Vol.**21**, No.2 pp. 143–152, (2013).
 33. M. C. Foti, “Use and Abuse of the DPPH • Radical”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.**63**, No.40 pp. 8765–8776, (2015).
 34. A. Floegel, D. O. Kim, S. J. Chung, S. I. Koo, O. K. Chun, “Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods”, *J. Food Composi. Anal.*, Vol.**24**, No.7 pp. 1043–1048, (2011).
 35. C. S. Sánchez, A. T. González, M. C. García-Parrilla, J. Q. Granados, H. L. G. De La Serrana, M. L. Martínez, “Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content”, *Analytica Chim. Acta*, Vol.**593**, No.1 pp. 103–107, (2007).
 36. A. A. Akinola, S. Ahmad, M. Maziah, “Total anti-oxidant capacity, flavonoid, phenolic acid and polyphenol content in

- ten selected species of *Zingiberaceae* rhizomes”, *Afr. J. Tradit. Complementary Altern. Med.*, Vol.11, No.3 pp. 7-13, (2014).
37. S. Mancini, G. Preziuso, G. Paci, “Effect of turmeric powder (*Curcuma longa* L.) and ascorbic acid on antioxidant capacity and oxidative status in rabbit burgers after cooking”, *World Rabbit Sci.*, Vol.24, No.2 pp. 121-127, (2016).
38. D. H. Kim, G. T. Jeong, “Antimicrobial and antioxidant activities of extracts of marine green-algae *Enteromorpha intestinalis*”, *KSBB J.*, Vol.29, No.2 pp. 92-97, (2014).
39. T. Wang, R. Jonsdottir, G. Ólafsdóttir, “Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds”, *Food Chem.*, Vol.116, No.1 pp. 240-248, (2009).
40. H. Demir, L. Açıık, E. B. Bali, L. Y. Koç, G. Kaynak, “Antioxidant and antimicrobial activities of *Solidago virgaurea* extracts”, *Afr. J. Biotechnology*, Vol.8, No.2 pp. 274-279, (2009).