

건조방법에 따른 계묵뿌리 추출물의 수소공여능 조사

최동연 · 도재호* · 이광승* · 양차범

한양대학교 식품영양학과, *한국인삼연초연구원

Changes in Hydrogen Donating Activities of the Extract from *Holeleion maximowiczii* Root by Drying Methods

Dong-Yeon Choi, Jae-Ho Do*, Kwang-Seung Lee* and Cha-Bum Yang

Department of Food and Nutrition, Hanyang University

*Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Abstract

Hydrogen donating activities(HDA) of solvent extracts of *Holeleion maximowiczii* roots which were treated with freeze drying, hot air drying and hot air drying after steam blanching were investigated by the method of α,α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH). Hydrogen donating activity of hot air drying after steam blanching group showed the highest activity among three drying methods. Among the extracts of freeze dried root extracted with various solvents, color intensity at 420 nm of aqueous extract was highest, but hydrogen donating activity was shown in order of 50% ethyl alcohol, methyl alcohol, water extracts. By heating the powder of freeze dried root at 100°C, color intensity of its water extract was decreased until 20 min, thereafter it was increased slowly but hydrogen donating activity was rapidly increased until 30 min. Hydrogen donating activity at the concentration of 6.05 mg/ml of 50% alcohol extract was similar to that of α -tocopherol at the concentration of 2×10^{-4} M. Comparison of hydrogen donating activity of the inner and outer solution after dialysis of water extract showed that the outer solution had a stronger hydrogen donating activity than those of the inner one.

Key words: *Holeleion maximowiczii* root, hydrogen donating activity, drying methods

서 론

중국과 일본에는 자생하지 않고 한국에서 자생하고 있는 것으로 알려진 계묵(*Holeleion maximowiczii*)은 전초를 식용으로 할 수 있으며, 이뇨, 건위, 거담 및 진정 효과를 나타내는 식용식물이다^(1,2). 더덕이나 두릅과 같은 식물체에 비해서 계묵은 잘 알려지지도 않았고 일반성분이나 vitamin 조성에 관한 연구가 있는데 불과하다⁽³⁾. 계묵뿌리가 식용작물로서 인정을 받고 대중화가 되려면 타식물체에는 존재하지 않은 특수성분이나 식품화학적 측면에서 특징적인 요소가 있어야 한다고 판단된다. 전초에서는 계묵의 일반성분과 건조방법에 따른 색도변화에 대해서 보고한 바 있으며^(4,5), 본 연구에서는 건조방법을 달리 했을 때 색도와 아울러 노화의 원인중의 한 부분인 산화를 지연 또는 억제시킬 수 있는 가능성을 검토하고자 하였으며, 항산화능 유무를 간단하게 검증할 수 있는 α,α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)을 이용하

여 조사한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 조제

실험에 사용된 계묵뿌리와 건조방법은 전초와 같다⁽⁴⁾. 즉 냉동건조는 일정량의 재료를 냉동건조기에 넣어 -40°C에서 동결건조시켰으며, 열풍건조는 재료를 열풍건조기에 넣어 55°C에서 건조하였고, 증숙건조는 재료를 찜통에 넣어 100°C에서 27분간 증숙시킨 후 55°C에서 건조시켰다. 그리고 이들 3가지 방법으로 건조시킨 재료를 각각 cutting mill로 분쇄(60 mesh)한 후 냉동(-20°C) 보관하면서 사용하였다.

추출물의 추출방법

건조방법을 달리하여 건조한 계묵뿌리분말에 10배량의 용매를 가하여 밀봉한 뒤 실온에서 가끔 흔들어 주면서 20~24시간 방치한 후 원심분리하여 추출물로 사용하였다.

색도측정

Corresponding author: Cha-Bum Yang, Department of Food and Nutrition, Hanyang University, 17 Haengdang-Dong, Sungdong-Gu, Seoul 133-791, Korea

색도측정은 전보⁶⁾와 같이 계목뿌리 추출물을 spectrophotometer(UV-200S, Shimadzu Co.)로 420 nm에서 측정하여 흡광도로 나타내었다.

수소공여능 조사

시료용액의 수소공여능은 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)를 이용한 방법으로 측정하였다⁶⁾. 즉 DPPH 12 mg을 ethanol 100 ml에 용해한 후 증류수 100 ml를 가하고 50% ethanol 용액으로 희석하여 517 nm에서 흡광도를 1.0으로 조정하였다. 이 DPPH 용액 5 ml와 color intensity 측정시의 시료용액 0.5 ml를 혼합하고 30초 후에 흡광도를 측정하였다. 이때 수소공여활성은 517 nm에서 흡광도가 1분, 1 ml당 0.01 감소할 때 1 unit로 하였다.

투석

수소공여능이 높은 물질의 분자량을 추정해 보기 위해 시료 약 2g에 50% ethanol 40 ml를 넣어 24시간 실온 방치후 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 Toyo No. 2 로 여과하여 이중 20 ml를 취해 rotary evaporator에서 50°C 이하로 진공농축한 후 증류수 약 5 ml를 넣고 녹여 cellophane tube(Sigma사, limit MW: 12,000)에 넣은 다음 4°C 에서 24시간 증류수로 투석하였다. Cellophane tube 외, 내액을 따로 농축(50°C 이하로)하여 각각 20 ml로 표정하고 남은 여과액을 취해서 10,000 rpm에서 30분간 원심분리 시켰다⁷⁾. 상등액을 취해 420, 320, 205 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하고 자외부 400~180 nm에서 각각 scanning하고 517 nm에서

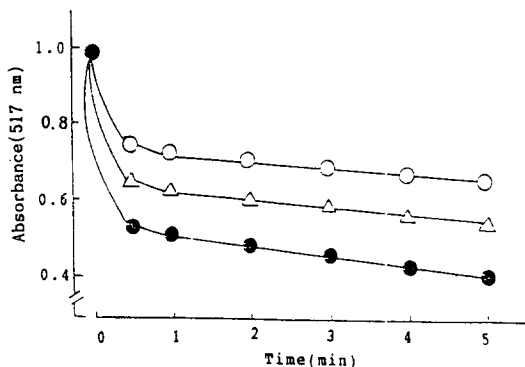


Fig. 1. Reactivity of 50% ethanol extracts from *Holo-leion maximowiczii* root with α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl

○; Freeze drying, △; Hot air drying, ●; Hot air drying after blanching

Hydrogen donating activities were measured by absorbance changes at 517 nm after mixing 5 ml of DPPH solution and 0.5 ml of 50% ethanol extract from *Holo-leion maximowiczii* root powder dried by 3 kinds of drying method.

DPPH 용액을 이용하여 수소공여활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

건조방법에 따른 수소공여능 비교

항산화물질의 가장 특징적인 역할은 oxidative free radical과 반응하는 것으로 이점을 이용하여 항산화능을 측정할 수 있다. DPPH는 안정한 free radical로 cysteine, glutathione과 같은 함유황 amino산과 ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy aromatic compounds(hydroquinone, pyrogallol, etc.), aromatic amines(p-phenylene diamine, p-aminophenol, etc) 등에 의해서 환원되어 탈색되므로 항산화물질의 항산화능을 측정할 때 이 DPPH법이 편리한 방법으로 알려져 있다⁶⁾. 각 시료 0.5 g을 50% ethanol로 24시간 상온에서 추출하여 원심분리 (10,000 rpm, 30분)한 후 그 상등액을 10배로 희석하여 DPPH법에 의한 수소공여능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 수소공여능은 증숙건조가 가장 강하고 그 다음이 열풍건조, 냉동건조 순으로 나타났다. 이것은 계목뿌리의 어떤 성분이 열처리에 의해서 환원력을 가지는 물질로 변환된다는 것을 시사하고 있다.

추출용매에 따른 수소공여능 비교

각 용매에 따른 color intensity와 수소공여능을 조사하기 위해 냉동건조시료 0.5g에 여러가지 용매를 가한 후 24시간 상온에서 추출하고 4°C, 10,000 rpm에서 원심분리한 후 여액을 취해 갈색도와 수소공여능을 측정한 결과는 Table 1과 같다. Color intensity는 증류수구에서 4.375로 가장 높게 나타났고 그다음 ethanol구에서 높게 나타났다. 元 등⁸⁾도 갈색화반응에서 형성된 갈색색소들

Table 1. Comparison of color intensity and hydrogen donating activity of the various solvent extracts from freeze dried *Holo-leion maximowiczii* root

Extracts	Color intensity (420 nm)	Hydrogen donating activity(U)*
Distilled water	4.375	35.8
50% Ethanol	1.195	123.2
Ethanol	1.175	31.8
Methanol	0.210	79.4
Acetone	0.350	33.8
n-Hexane	0.095	13.8
n-Butanol	0.295	23.6
Chloroform	0.375	31.6

Five milliliters of various solvents were added to 0.5g of freeze dried *Holo-leion maximowiczii* root and extracted at room temperature for 24 hrs. The extract was centrifuged at 4°C, 10,000 rpm for 30 min, and absorbance was measured at 420 nm.

*One unit of hydrogen donating activity was defined as 0.01 decrease of absorbance at 517 nm/ml/min using DPPH solution.

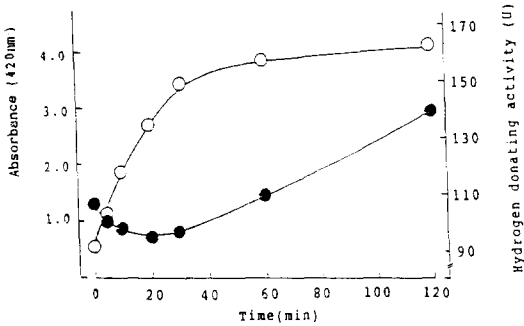


Fig. 2. Relationship between color intensity, hydrogen donating activity and heating time of freeze dried *Holo-leion maximowiczii* root

●: color intensity, ○: hydrogen donating activity. Heating was carried out at 100°C.

은 수용성이 강하다고 보고한 바 있으며, 계목에 함유되어 있는 색소 역시 주로 수용성 색소가 주도적 역할을 하고 있음을 알 수 있다. 반면에 수소공여능은 50% ethanol 구에서 123.2U로 가장 높게 나타났고, 그 다음이 methanol구에서 79.4U로 높게 나타났다. 이는 갈색도와 수소공여능과는 관계가 없음을 의미하며, 갈색도 이외의 다른 물질이 수소공여능에 관여함을 알 수 있다.

가열시간에 따른 색도와 수소공여능 비교

냉동건조시료 0.5g씩을 100°C에서 시간별로 처리하여 50% ethanol로 추출한 액의 색도와 수소공여능은 Fig. 2와 같다. Color intensity는 20분까지는 감소하다가 그 이후에는 증가하였는데 이는 20분까지는 색소가 파괴된 것으로 판단되며 20분 이후의 흡광도 증가는 amino-carbonyl 반응에 의해 갈변반응이 일어났기 때문인 것으로 생각된다. 수소공여능은 열처리 30분까지는 급격한 증가를 보였고 그 이후는 완만한 증가곡선을 보였다. 이러한 결과는 가열시간 30분 이상에서의 갈변물질 생성량과 수소공여능을 갖는 물질의 증가량이 비례하지 않기 때문에 계목의 갈색화 반응 생성물과 수소공여능을 갖는 물질과는 서로 큰 상관관계가 없음을 알 수 있다.

金 등²⁷⁾은 수삼을 100°C에서 5시간까지 시간별로 증삼하였을 때 증삼시간이 길어질수록 갈색도가 점차 증가하였으며, 항산화능은 이 갈색도에 비례하여 증가한다고 보고하여 본 실험의 결과와는 다른 양상을 보이었다. 그리고 자외부에서의 흡수 spectrum의 변화를 더 확실하게 알기 위해 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 냉동건조시료는 100°C에서 30분까지 열처리했을 때에는 320 nm에서 흡수극대를 가지는 물질이 거의 비례적으로 생성된다는 것을 알 수 있었다.

시판 항산화제와의 비교

본 시료중 증숙건조구가 수소공여능이 가장 높아 다른

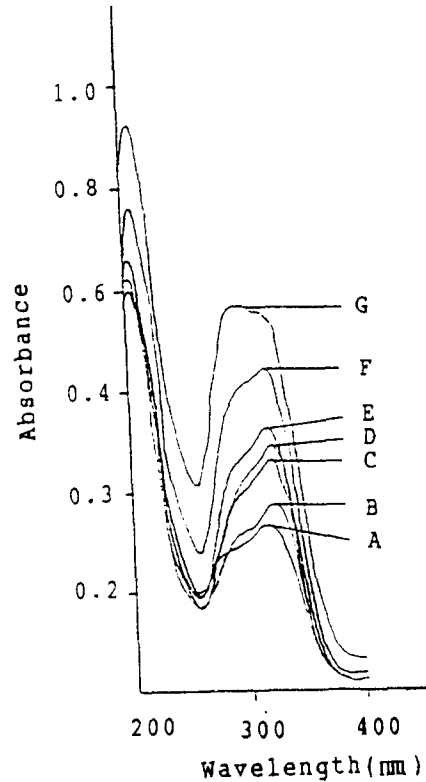


Fig. 3. UV absorption spectra of freeze dried *Holo-leion maximowiczii* root according to heating time (0~120 min)

A; 0 min, B; 5 min, C; 10 min, D; 20 min, E; 30 min, F; 60 min, G; 120 min
Heating was carried out at 100°C.

항산화제와 비교해 보기 위하여 시판되고 있는 항산화제인 BHA, BHT, α -tocopherol의 DPPH 환원활성과 계목 뿌리를 증숙건조하여 50% ethanol로 추출한 추출물의 DPPH 환원활성을 비교한 결과는 Fig. 4와 같다. 증숙건조구의 50% ethanol 추출물, 즉 정제되지 않은 계목에 함유되어 있는 항산화성 물질 6.05 mg/ml의 농도와 2×10^{-4} M의 α -tocopherol 용액과 거의 같은 수준의 수소공여성을 보이기 때문에 계목에 함유되어 있는 항산화성 물질은 합성 항산화제가 아닌 천연 항산화제로 개발 가능성이 큰 식품인 것으로 사료된다.

투석에 의한 항산화물질의 분리

증숙건조한 계목 뿌리의 50% ethanol 추출물을 투석하기 전과 투석후 투석내액과 외액으로 분획하여 420, 320 및 205 nm에서의 흡광도와 수소공여능을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 420 nm에서 흡광도는 투석내액이 외액보다 높았지만 320 nm에서는 외액이 내액보다 약 4.8배 높게 나타났으며, 수소공여능을 비교해 보았을

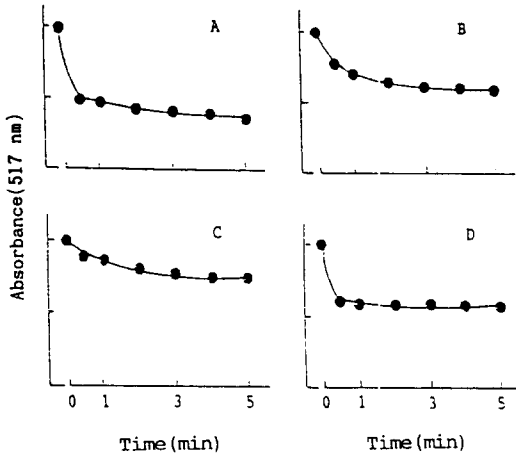


Fig. 4. Reactivity of antioxidants as measured by absorbance change of DPPH at 517 nm
 A: Hot air drying after blanching (6.05 mg/ml, 0.5 ml),
 B: BHA (2×10^{-4} M, 0.5 ml), C: BHT (2×10^{-4} M, 0.5 ml), D: α -Tocopherol (2×10^{-4} M, 0.5 ml)

Table 2. Comparisons of absorbance and hydrogen donating activity of inner and outer solutions after dialyzing 50% ethanol extract of *Holeleion maximowiczii* root*

Solution	Absorbance			Hydrogen donating activity(U)
	420 nm	320 nm	205 nm	
Before dialysis	0.27	18.05	29.35	163
Inner soln.	0.14	2.95	4.00	56
Outer soln.	0.11	14.25	26.15	158

*The root was processed by hot air drying after steam blanching.

때에도 외액이 내액보다 약 3배 정도 높았다. 수소공여 능이 내액보다 외액이 높은 것으로 보아 수소공여능을 갖는 물질의 분자량은 저분자인 것으로 판단된다.

투석전과 투석후 내액과 외액을 400~180 nm까지 scanning한 결과는 Fig. 5와 같이 320 nm에서 흡수극대를 갖는 물질의 대부분이 투석외액에 존재하고 있음을 알 수 있으며 320 nm 부근의 흡수극대를 나타내는 물질이 수소공여능과 깊은 관계를 가지고 있는 것으로 사료된다. 山口와 藤卷⁽⁹⁾은 환원당과 아미노산을 사용하여 얻은 갈변물질을 Sephadex G-15를 이용하여 분리한 결과 고분자량의 melanoidin을 함유한 fraction이 강한 항산화효과를 보였으나 저분자량의 reductone에서는 항산화 효과가 약하다고 보고하였다. 그러나 효과적인 항산화 작용을 가진 melanoidin 색소가 그중에서도 저분자량의 색소들인지 고분자의 색소들인지에 대해서는 아직 확실히 알려져 있지 않다. 계목뿌리에서는 수소공여능이 큰 물질이 투석외액에 존재하므로 12,000보다 작음을 알 수

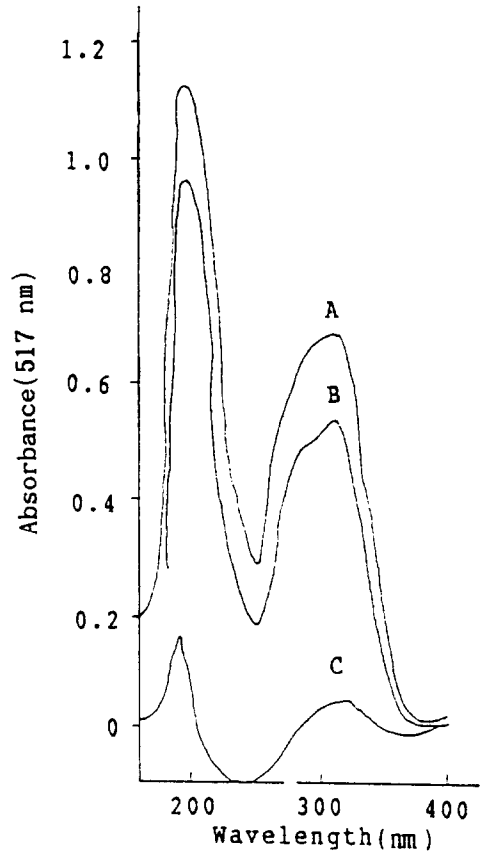


Fig. 5. UV absorption spectra of solutions after dialyzing 50% ethanol extract of *Holeleion maximowiczii* (blanched)
 A: solution before dialysis, B: outer solution, C: inner solution

있었다.

요 약

계목(*Holeleion maximowiczii*)뿌리를 냉동건조, 열풍 건조 및 증숙후 열풍건조의 3가지 방법으로 건조한 후 용매추출하여 DPPH 방법에 의한 수소공여능이 변화를 조사하였다. 증숙한 후 열풍건조구가 가장 큰 수소공여능을 나타냈으며, 여러가지 용매 추출물중에서 물추출물의 색도가 가장 높았으나 수소공여능은 50% ethanol 추출물에서 가장 높게 나타났다. 냉동건조한 계목뿌리를 100°C에서 120분까지 열처리 한 뒤에 흡광도를 조사한 결과는 가열 20분까지는 감소하다가 증가하였으나 수소공여능은 계속 증가하였다. 50% ethanol 추출물(6.05 mg/ml)은 2×10^{-4} M의 α -tocopherol과 비슷한 수소공여능을 보였으며, 투석외액과 내액의 수소공여능을 비교한 결과 외액이 내액보다 강하였다.

문헌

1. 이창복 : 대한 식물도감. 향문사 p.785(1979)
2. 송주택 : 식물학대사전. 거북출판사, p.1068(1985)
3. 김원배, 한세기, 노준현, 하범량, 이경국 : 야생 깨묵의 종자발아 특성 및 식품 영양가에 관한 연구. 농사시험 연구논문집(원예원), 30, 27(1988)
4. 최동연, 김영희, 박 훈, 양차범 : 깨묵뿌리의 화학성분과 건조방법에 따른 변화. 한국식품과학회지, 25(5), 421 (1993)
5. 최동연, 도재호, 이광승, 양차범 : 건조방법에 따른 깨묵 뿌리 추출물의 색도 변화. 한국식품과학회지, 25(5), 417 (1993)
6. Blois, M.S.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200(1958)
7. 김상달, 도재호, 오훈일 : 고려인삼 갈변물질의 항산화효과. 한국농화학회지, 24, 161(1981)
8. 원종태 : 고려대학교 대학원 석사학위논문(1980)
9. 山口直彦, 藤卷正生 : 還元糖とアミノ酸 とのかつ變反應物に関する研究(第13報) かつ變反應物から 抗酸化力の強いメラノイジンの 単離とその 抗酸化性. 日本食品工業學會誌, 5, 84(1973)

(1993년 12월 22일 접수)