

## 쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 아미노산 분석과 항산화 활성

류상현, 송원섭\*

\*순천대학교 농업생명과학대학

### Amino Acid Analysis and Antioxidation Activity in *Allium wakegi* Araki

Sang-Hyun Ryu, and Won-Seob Song\*

\*Agriculture and Life Science, Suncheon National Univ., Suncheon 540-742, Korea

#### ABSTRACT

The antioxidative activation of *Allium wakegi* Araki appeared differently according to parts, and the callus cultured with the addition of 2,4-D 1.0mg/L showed the activation of 280 $\mu$ g (RC<sub>50</sub>), and the bulbs and shoots in the natural condition showed 296 $\mu$ g (RC<sub>50</sub>), and 301 $\mu$ g (RC<sub>50</sub>). The total amino acid content was 59.779mg% in the natural leaves and the leaves of bulbs, and was 73.725mg% in the cultured callus(2,4-D 0.5mg/L). The total amino acid content of cultured callus was higher, but the content proportion of essential amino acid to the total amino acid in the natural bulbs was higher, which was 39.462mg%.

**Key words :** *Allium wakegi*, amino acid analysis, antioxidation activity

#### 서언

쪽파의 원산지는 명확히 밝혀져 있지 않으나 아시아의 여러지역과 이집트, 프랑스에서도 유사한 계통이 발견되고 있다는 것은 아마도 파(*Allium fistulosum* L.)와 양파(*Allium ascalonicum* Shallot)의 교잡에 의한 잡종기원이라고 염색체의 핵형에 대한 분석으로 판단하고 있다.

현재 쪽파는 양념채소로서 그 이용도가 증가 추세에 있으며, 잎과 인경에는 양파, 파와 더불어 비타민 B, 비타민 B2, 비타민 C, 단백질, 당질, 섬유질, 회분, 카로틴 등을 함유하고 있으며, 한방에서는 어혈

제거, 구충, 두통, 해열 등에 이용하고 있다. 쪽파가 이처럼 널리 이용되고 있지만 항산화 활성과 아미노산 분석에 관한 연구는 아직 미미한 상태이다.

최근에 들어서 생체내 산소가 각종 물리적, 화학적, 생물학적인 스트레스를 받으면 Superoxide radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), Hydroxyl radical(HO), Hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Singlet oxygen(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)와 같은 유해한 활성산소종(active oxygen species)으로 변하여 인체에 치명적인 생리장해를 일으키고, 심할 경우 질병을 유발하고 생명을 잃게 한다(Bisby, *et al.*, 1993; Fridovich, 1983, 1986; Halliwell and Gutteridge, 1989; Sawyer and Valentine 1981; Singh, 1989)는 보고들이

\*교신저자 : E-mail : fs-20@hanmail.net

있으며, 노화와 성인병 질환의 원인이 활성산소종에 기인된 것이라 보고됨에 따라서 활성 산소종을 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화 활성에 대한 연구 (Chang *et al.*, 1977; Fridovich, 1983; Choi *et al.*, 1998, 2000; Jeong *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2002)가 활발히 진행되어 superoxide dismutase, peroxidase, catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화 효소와 tocopherol, ascorbate, carotenoid, glutathione 등의 천연물 유래의 저분자 항산화 물질에 대한 많은 연구 보고되어 있다(Pratt and Watts, 1964; Chang *et al.*, 1977; Hammerschmidt and Pratt, 1977). 또한 BHT, BHA, Trolox C 등 합성항산화제가 많이 개발되어 의약품과 식품분야 등에 이용되고 있다(Hathno, 1995; Kitahara *et al.*, 1992; Masaki *et al.*, 1995).

그러나 합성항산화제에 대한 소비자의 기피성향과 합성항산화제가 대량 투여된 동물실험에서 발암성이 보고(Branen, 1975)된 이래 합성 항산화제의 사용이 제한되고 있다. 따라서 보다 안전하고 효력이 탁월한 천연항산화제의 개발이 요구되어 지고 있다. 본 연구는 조미채소로 널리 이용되고 있는 쪽파의 생리활성물질인 항산화 활성물질의 활성도와 아미노산 성분분석을 위하여 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 아미노산 성분 분석

전남 보성에서 재배된 쪽파(*Allium wakegi* Araki)

를 채취하여 부위별(인경, 잎)과 조직배양을 통하여 MS배지(2,4-D 0.5mg/L, 1.0mg/l)에서 배양된 캘러스를 이용하였다.

아미노산의 분석을 위하여 자연조건상태에서 건조된 쪽파의 잎, 인경, 캘러스를 분말로 만든 후, 건조된 분말을 각 300mg 취하여 sample tube에 넣고, 산화 방지를 위해 5mL HCl(6N)을 가해서 N<sub>2</sub>로 5분간 purge 시켰다. Tube cap을 꼭 닫은 후, 110°C heating block에서 24시간 방치하고, 가수분해한 다음, 방냉시키어 시료를 10μ 취하여 heating block에서 HCL을 제거하였다. SYKAM Gmbh Amino Analyzer S7130(Made in Germany)에 시료를 통과시키어 아미노산을 Table 1과 같은 조건으로 분석하였다.

### 항산화 활성분석

#### 실험재료

전남 보성에서 재배된 쪽파(*Allium wakegi* Araki)를 채취하여 부위별(인경, 잎)과 조직배양을 통하여 MS배지(2,4-D 0.5mg/L, 1.0mg/l)에서 배양된 캘러스를 가지고 실험하였다.

시료는 실온에서 음건시켜 잘게 부수고, MeOH에 3일간 2회 냉침 추출 하였으며, 추출한 시료는 50°C의 중탕에서 환류 냉각관을 가진 감압 회전 진공농축기에서 농축한 후 동결·건조하여 사용하였다.

### DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성

쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 잎, 인경, 배양된 캘러

Table 1. Operating conditions of amino acid autoanalyzer for analysis of amino acids

Items	Conditions
Instrument	SYKAM Gmbh Amino Analyzer S7130(Made in Germany)
Column	Cation Separation Column(150×4mm), SYKAM
Buffer solution	pH 2.2~10.8, Sodium citrate
Flow rate	Buffer 0.5mL/min, Ninhydrin 0.25mL/min
Analysis time	64min
Reactor temp.	120°C
Column temp.	51-110°C
Detector	UV/Vis detector(570nm), 440nm · proline)
Injection volume	100μl

스를 MeOH에 녹여 최등(Choi et al., 1993)의 방법에 의한 DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성을 측정하였다.

흡광도는 MeOH 용액에 대하여 200-800nm에서 흡광도를 측정하여 최대 흡수파장 (540nm)을 결정하였고, 농도는 이파장에서 각농도별로 흡광도를 측정하여 활성 검정에 가장 적합한 농도(1.5 10<sup>-4</sup>M)를 결정하였다. 인경, 잎, 켈러스의 여러 농도의 시료를 4mL의 MeOH와 DPPH 용액(1.5 × 10<sup>-4</sup>M) 1mL이 혼합된 용액에 첨가시키어 30분간 실온에서 방치 한

후, UV spectrophotometer로 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 1/2로 감소시키는 데 필요한 시료의 양( $\mu$ g)을 RC<sub>50</sub>으로 나타내었으며, 대조구로는 -tocopherol 및 BHA를 사용하여 DPPH 자유라디칼 소거활성을 비교하였다.

DPPH(1,1-diphenyl-2-2-picrylhydrazyl)는 Sigma사의 제품을 사용하였고, 흡광도는 MILTON ROY company spectronic 20D made in U.S.A spectrophotometer를 사용하여 측정하였다.

Table 2. Amino acid content of Allium wakegi Araki

Amino acid	Plant of In nature condition		Callus of In vitro condition	
	Leaf(mg%)	Bulb(mg%)	2,4-D 0.5mg/L(mg%)	2,4-D 1.0mg/L(mg%)
Aspartic acid	4.553	1.760	6.756	4.983
Threonine	2.125	1.476	1.658	0.978
Serine	2.769	1.820	2.028	1.395
Glutamic acid	24.244	6.780	26.555	19.215
Proline	4.350	3.340	2.819	1.438
Glycine	1.619	3.252	0.951	0.536
Alanine	3.691	3.900	16.448	10.835
Valine	3.224	5.396	3.118	1.867
Isoleusine	1.692	1.732	0.709	0.481
Leucine	2.956	2.092	1.279	1.044
Tyrosine	1.297	3.752	1.282	1.454
Phenylalanine	2.179	2.660	0.788	0.029
Histidine	2.202	3.728	1.586	1.186
Lysine	1.223	1.748	0.424	0.131
Arginine	0.648	2.712	6.951	3.604
Cystine	0.221	0.840	0.246	0.215
Methionine	0.050	0.132	0.048	0.023
Tryptophan	0.736	0.936	0.052	0.041
<sup>a</sup> TAA	59.779	48.056	73.725	49.455
<sup>b</sup> EAA	15.651	18.964	9.637	5.739
EAA/TAA(%)	26.181	39.462	13.072	11.604

<sup>a</sup>TAA : Total Amino Acid

<sup>b</sup>EAA : Total Essential Amino Acid

(THR+VAL+MET+ISO+LEU+PHE+HIS+LYS).

## 결과 및 고찰

### 아미노산 성분분석

잎, 인경, MS배지에 2,4-D를 0.5, 1.0 mg/L 첨가시키어 배양한 켈러스 처리구의 단백질 구성 아미노산의 조성을 측정 한 결과는 Table 2와 같다.

아미노산 전체함량을 비교해보면 2,4-D 0.5mg/L를 첨가하여 배양한 켈러스 처리구가 73.725mg%로 아미노산 함량이 가장 많았고, 잎이 59.779mg%, 2,4-D 1.0mg/L를 첨가하여 배양한 켈러스 처리구가 49.455mg%, 인경이 48.056mg% 순으로 나타나 켈러스 2,4-D 0.5mg/L 처리구가 잎보다 높고, 켈러스 2,4-D 1.0mg/L 처리구가 쪽파의 인경보다는 높게 나타났음을 알 수 있었다. 이렇게 켈러스 구성 아미노산의 함량이 높게 나타난 이유는 켈러스가 활성형 조직형태여서 단백질의 함량이 증가된 것으로 생각된다.

처리구 각각에 대해 단백질 구성 아미노산 18종을 분석하였는데 잎의 경우, glutamic acid가 24.244mg%로 가장 많았으며, aspartic acid, proline, alanine 순으로 다량 함유되었고, arginine과 유황을 함유한 cystine, methionine이 가장 적게 함유된 것으로 나타났다. 이러한 결과는 홍경천의 아미노산분석 (Song *et al.*, 2002) 결과와는 차이가 있었으나 종간의 차이로 추측된다. 켈러스 2,4-D 0.5mg/L 처리구의 경우에는 glutamic acid가 26.555mg%로 가장 많았으며, alanine, arginine, aspartic acid 순으로 잎의 조성과는 약간 다른 양상을 나타내었다. 켈러스 2,4-D 1.0mg/L 처리구의 경우에는 glutamic acid가 19.215mg%로 가장 많았으며, alanine, aspartic acid, arginine 순으로 켈러스 2,4-D 0.5mg/L 처리구와 비슷한 양상을 보여주었다. 총함량이 가장 낮은 인경에서의 아미노산 조성은 glutamic acid 6.780mg%, valine 5.396mg%, alanine 3.900mg%으로 잎이나 켈러스 2,4-D 0.5mg/L, 1.0mg/L 처리구에 비해 현저히 낮음을 알 수 있었다. 이런 결과로 보아 쪽파 잎에서는 aspartic acid가 상대적으로 높은 데 비해 인경에서는 valine이 상대적으로 높은 것을 나타나 약간의 차이가 있음을 알 수 있고, 쪽파 잎과 배양켈러스 간에는 아미노산 구성이

상당한 차이가 있는 것으로 확인되었다. 모든 처리구에서 glutamic acid 함량이 가장 높았으며, glutamic acid는 영양학적으로 우수한 아미노산으로 알려져 있으며, 이것은 glutamic acid가 여러 가지 아미노산을 형성하는데 아미노기 공급효과가 크기 때문인 것으로 생각된다. 배양된 켈러스 2,4-D 0.5mg/L 처리구보다 잎에 다량 함유된 Pro의 경우 glutamic acid로 전환되어 아미노산대사에 중요한 역할을 함이 알려져 있고, 잎보다는 배양된 켈러스 2,4-D 0.5mg/L 처리구에서 더 많이 함유되어 있는 arginine는 arginine succinic acid lyase 결핍환자의 치료에 유효하고 (Goodhart and Shils, 1980), 조직에 단백질 합성을 증가시키는 자극물질로 (Montgomery and Dryer, 1980) 보고 되었다. 이것은 생화학적으로 특수한 아미노산 공급원으로서 매우 높은 의의를 지니고 있다고 하겠다. 더불어 영양학적으로 또는 생리 활성적인 면에서 중요한 총아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 잎 26.181mg%, 인경 39.462mg%, 배양된 켈러스 2,4-D 0.5mg/L 처리구 13.072mg%, 켈러스 2,4-D 1.0mg/L 처리구 11.604mg%로 FNB와 FAO(Charles and Beck, 1985)의 36.65mg%에 비해 인경은 약간 높은 값을 나타내었으나 나머지는 낮음을 알 수 있었다.

따라서 인경에서 전체 함량은 더 적었지만 필수 아미노산의 함량 비율은 39.462mg%로 높아서 함유되어있는 아미노산의 조성은 바람직한 결과를 나타내었다.

또한 실험구 모두에서 유황을 함유한 Met 함량이 낮았는데 이 결과는 잎과 인경, 배양된 켈러스 모두 제 1 제한 아미노산은 methionine으로 식물의 제한 아미노산이 유황 함유 아미노산이라는 보고(金 등, 1983)와 일치하였다. 밤잎의 아미노산 함량을 분석한 결과, 필수아미노산은 phenylalanine이 가장 많이 함유되어 있었으며, 총 아미노산 가운데는 glutamic acid가 가장 많이 함유되어 있었고, 총 아미노산 중 필수아미노산은 48.31%를 차지하였으며 (Jeong *et al.*, 2002), 밤잎차의 아미노산을 분석한 결과(Choi *et al.*, 1998) glutamic acid, leucine, serine, 및 valine 등 15종의 구성 아미노산, 11종의 유리아미노산이 확인되

Table 3. DPPH free radical scavenging activities of methanol extract obtained from different part of *Allium wakegi* Araki

MeOH extract	RC50 <sup>z</sup> ( $\mu$ g)
Callus(2,4-D 0.5mg/L)	286
Callus(2,4-D 1.0mg/L)	280
Bulb	296
Leaf	301

<sup>z</sup> Amount required for 50% reduction of DPPH after 30min.

었으며, 필수아미노산도 상당량 함유되어 있어 본 실험과 비슷한 경향을 나타내었다.

본 실험의 결과와 같이 캘러스조직에서도 다량의 아미노산이 함유되어 있어 대량의 캘러스를 언제든 생산할 수 있는 시스템이 확립된다면 생리활성물질을 추출하여 식품에 직접 이용함으로써 새로운 식생활 패턴변화에 큰 영향을 미칠 것으로 생각되며 약용학적으로도 이용가능성이 충분히 있다고 판단되었다.

### 항산화 활성분석

쪽파를 이용하여 인체에 유해한 활성산소종을 제거하는 항산화 활성 물질의 유무를 확인하기 위하여 잎, 인경, 및 2,4-D 0.5mg/L, 1.0mg/L를 첨가하여 배양된 캘러스를 음건시키었다. 음건된 각각의 재료는 잘게 부수어져 MeOH에 48시간 동안 충분히 담근 후, 50C의 증탕에서 감압농축기로 농축, 동결건조하여 농축물을 얻었으며, MeOH에 녹여 DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성을 측정하였다. 4mL의 MeOH와 DPPH용액(1.5 10<sup>-4</sup>M) 1mL가 혼합된 용액에 잎, 인경, 배양된 캘러스를 첨가시킨 후 30분간 실온에서 방치한 후 540nm에서 흡광도를 측정하여 항산화 물질의 활성정도를 관찰, 분석하였다 (Table 3).

배양된 캘러스에서 인경과 잎에 비하여 항산화 활성이 높게 나타났다. Bae *et al.* (2002)은 메탄올 추출시 황산화 활성이 좋다고 하였으며, DPPH시약을 이용하여 methanol 을 용매로 하였을때가 항산화 효과가 높고(Jeong *et al.*, 2002), 밤나무 잎의 MeOH 추출물이 강한 항산화 활성을 나타냈다고 보고하였다

(Choi *et al.*, 2000). 이러한 경향은 본 실험의 결과와 비슷한 경향을 보였으며, 앞으로 조직배양시킨 캘러스의 항산화 활성에 관한 많은 연구가 필요하리라 생각되며, 특히 홍경천의 항산화 활성 분석에서식물 성장조절물질의 종류와 첨가량에 따라서도 항산화 활성정도가 다르게 나타나므로(Song *et al.*, 2002) 이 분야에 대한 세심한 연구가 요구되어진다.

### 적요

쪽파의 잎과 인경, 2,4-D 0.5, 1.0mg/L가 첨가된 MS배지에서 배양된 캘러스로부터 아미노산 분석과 항산화활성을 분석하였다. 총아미노산 분석의 함량은 자연조건상태의 잎에서는 59.779mg% 함유하였으나 2,4-D 0.5mg/L가 첨가된 배지에서 배양된 캘러스에서는 73.725mg%를 함유하였으며 그 가운데 Glutamic acid가 26.555mg%로서 가장 높게 나타났다. 총아미노산 함량에 대한 필수 아미노산의 함량 비율은 자연조건상태의 인경부분이 39.462mg%를 함유하였고, 2,4-D 0.5mg/L가 첨가된 배지에서 배양된 캘러스에서는 13.072mg%를 함유하고 있었다.

### 인용문헌

Bae, Y. I., Y. C. Chung and K. H. Shim. 2002. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Various Solvent Extract from Different Parts of Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). Korean J. Food

- Preservation 9(1):97-101
- Bisby, R. H. and A. W. Parker. 1993. Radiation-induced free radical reactions, pp. 31-37. In poli, G., E. Albano and M. U. Dianxani(ed.), Free radicals: From basic science to medicine, Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.
- Branen, A. L. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS* 52 : 59-63
- Chang, S. S., Ostric-Matijaseice, B., A. I. Hsieholiver and C. L. Hyung. 1977. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* 42 : 1102-1110
- Charles, Z. and R. A. Beck. 1985. Food Chemistry and Nutritional Biochem. John Wiley 95.
- Choi, O. B., G. S. Yoo and K. H. Kim. 1998. The processing of a tea with *Castanea crenata* leaves and its chemical composition. *J. Kor. Tea Soc.* 3(2):105-115
- Choi, Y. H., J. H. Kim, M. J. Kim, S. S. Han and Y. S. Rim. 2000. Antioxidative Compounds in Leaves of *Castanea crenata* S. et Z., Korean J. Medicinal Crop Sci. 8(4):373-377
- Fridovich, I. 1983. Superoxide radical : An endogenous toxicant. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23 : 239-257
- Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* 247 : 1-11
- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge. 1989. Oxygen is poisonous-an introduction to oxygen toxicity and free radicals. In free radicals in biology and medicine. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 1-21, Clarendon Press, Oxford.
- Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E. 1977. Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food Sci.* 43 : 556-561
- Hatano, T. 1995. Constituents of natural mekicines with scavenging effects on active oxygen species- Tannins and related polyphenols. *Natural Medicines* 49:357-363
- Goodhart, R.S. and M.E. Shils. 1980. Modern Nutrition in Health and Disease. Lea and Febiger 1210.
- Jeong, C. H., J. Y. Hur and K. H. Shim. 2002. Chemical Componeants, Antioxidative and Antimicrobial Activities of Chestnut(*Castanea crenata*) Leaves. *Korean J. Food Preservation* 9(2):234-239
- Kitahara, K., Y. Matsumoto, H. Ueda and R. Ueoka. 1992. A remarkable antioxidation effect of natural phenol derivatives on the autoxidation of -irradiated methyl linoleate. *Chem. Pharm. Bull.* 40:2208-2209
- Masaki, H., S. Sakaki, T. Atsumi and H. Sakurai. 1995. Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. *Biol. Pharm. Bull.* 18:162-166
- Montgomery, S. and K. L. Dryer. 1980. Biochemistry, The C. V. Mosby Co. 586.
- Pratt, D. E. and B. W. Watts. 1964. The antioxidant activity of vegetable extracts, I. Flavone aglycones. *J. Food Sci.* 29:17-24
- Sawyer, D. T. and J. S. Valentine. 1981. How super is superoxide? *Acc. Chem. Res.* 14:393
- Singh, A. 1989. Chemical and biochemical aspects of activated oxygen: singlet oxygen, superoxide anion, and related soecies, pp. 17-24. In Miquel, J., quintaniha, A. T., Weber, H.(ed.) Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, Vol. I, CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Song, W. S., H. J. Chi, Y. S. Rim and J. H. Yoon. 2002. Constituents Analysis of Amino Acid and Antioxidative Activity from Cultivated Callus and Rhizome in *Rhodiola sachalinensis*. *Korean J. Plant Res.* 5(1): 78-85
- 김종규, 강갑석, 고영두. 1983. 아카시아 잎에서 분획한 엽록체 단백질과 세포질 단백질의 영양가 및 기능적 성질. *한국식품과학회지* 15(4):321
- (접수일 2004. 1. 02)  
(수락일 2004. 1. 30)