

## 싸리(*Lespedeza bicolor*) 추출물의 항산화성에 관한 연구

이양숙 · 주은영 · 김남우<sup>†</sup>  
대구한의대학교 한방생명자원학과

### Antioxidant Activity of Extracts from the *Lespedeza bicolor*

Yang-Suk Lee, Eun-Young Joo and Nam-Woo Kim<sup>†</sup>  
Department of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongbuk 712-715, Korea

#### Abstract

This study was designed to investigate the antioxidant activity of *Lespedeza bicolor* extracts, by measuring electron-donating ability (EDA) using 1,1-diphenyl-2-picryl hydroxyl (DPPH), superoxide dismutase-like activity (SODA) by pyrogallol, and nitrite-scavenging ability. The EDA of water and ethanol extracts in nitrite-scavenging ability of ethand extract showed the highest values of 82.02% and 75.56%, respectively. The SODA increased with the concentrations of extracts, which was 17.21~44.08% in ethanol extract, 19.89~29.86% in pressure-water extract, and 16.53~20.0% in water extract, respectively. The nitrite-scavenging ability of ethanol extract (pH 1.2, 1000ppm) was 99.53% that was higher than both 85.84% in water extract and 74.72% in pressure-water extract. at pH 3.0 was also the highest as 98.20%.

**Key words** : *Lespedeza bicolor*, antioxidant activity, EDA, SOD like activity, nitrite-scavenging ability

#### 서 론

최근 천연물을 대상으로 한 연구가 활발히 수행되면서 천연물에 함유되어 있는 2차 대사산물이 생리활성물질로서 주요 관심사가 되고 있으며 특히, 항산화성 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(1). 생리활성물질은 매우 적은 양으로도 현저한 활성을 나타내는 고부가가치 물질로서 많은 종류가 유용하게 쓰이고 있으며, 새로운 물질들에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다(2,3).

항산화제는 산소를 제거하거나 흡수하는 것이 아니라 free radical과 반응함으로써 특정 비타민류와 필수 아미노산 등의 손실을 최소화 하거나, 유지 제품의 산패를 지연 또는 방지하는 목적으로 사용된다. 현재는 tocopherol과 L-ascorbic acid가 천연 항산화제로 선호되고 있는데, 그 중 tocopherol은 안전성이 높으나 단독으로는 산화반응 저지 능력이 낮으며(4) 가격이 비싸다는 단점이 있다. 화장품이나 식·의약품 등에 많이 사용되는 합성 항산화제로는 BHA

(Butylated hydroxyanisole), BHT(Butylated hydroxytoluene), PG(Propyl gallate), TBHQ(Tertiary butylhydroquinone) 등이 있으나, 이들을 실험동물에 고농도로 투여할 경우에는 간 비대증이 유발되거나 발암성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 특히 BHT는 여러 연구 결과를 통하여 실험동물의 간에서 microsomal enzyme activity를 증가시킨다는 것이 알려지면서, 이들 페놀계 합성 항산화제의 안전성에 대하여 논란이 제기되어 현재에는 그 사용량이 법적으로 규제되어 있다(5-7). 이에 따라 항산화 효과가 높으면서 안전하고 경제적인 식물기원의 천연 항산화제를 개발하고자 하는 많은 연구가 기대 속에 이루어지고 있다(8). 현재까지 알려진 천연 항산화 물질로는 tocopherol류, flavonoid류, nordihydroguaiacol, gossypol, sesamol, oryzanol 및 vitamin C와 vitamin E 등을 들 수 있다(9-12).

싸리(*Lespedeza bicolor*)는 콩과에 속하는 다년생 낙엽관목으로서 잔가지는 능선이 있고 짙은 갈색이며, 목재는 연한녹색을 띠고 골속은 희다. 7~8월에 개화하며, 우리나라 전역의 산과 들에 양지바른 곳에서 생육한다. 싸리 추출물은 예로부터 민간에서 피부질환 치료제로 사용되어 왔다. 싸리에 대한 다양한 생리 효능이 기대되고 있으나, 이에

<sup>†</sup> Corresponding author. E-mail : tree@dhu.ac.kr,  
Phone : 82-53-819-1438, Fax : 82-53-819-1271

대한 연구는 이루어진 바 없다. 본 연구는 씨리의 물 추출물과 에탄올 추출물을 대상으로 전자공여능, SOD 유사활성, 아질산염 소거능 등을 측정, 분석하여 씨리의 천연 항산화제로서의 효능과 이용 가능성에 대하여 알아보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험 재료인 씨리(*Lespedeza bicolor*)는 2003년 10월과 2004년 5월 사이에 경상북도 경산의 야산에서 줄기만 채집하여 동정을 마친 후, 잘게 마쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

### 씨리 추출물의 제조

추출물의 제조는 환류냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 시료 당 10배에 해당되는 양의 각 추출용매를 넣고 80°C의 수욕 상에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 에탄올추출물은 동량의 시료에 70% 에탄올을 넣고 60°C의 수욕 상에서 3시간씩 3회 반복 추출하였으며, 가압열수추출물은 시료의 30배 분량의 증류수를 넣고 압력추출기로 110°C, 1.5 기압 하에서 3시간 동안 추출하였다. 각 추출물은 여과한 다음 rotatory vacuum evaporator(Eyela 400 series, Japan)로 감압농축한 후에 동결건조하여 분말로 제조하여 각종 분석용 시료로 사용하였다.

### 전자공여능(Electron donating ability: EDA) 측정

각 시료의 전자공여능 측정은 Blois의 방법(13)에 준하여 각 추출물의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 즉, 일정 농도의 시료 2 mL에  $2 \times 10^{-4}$  M DPPH용액(dissolved in 99% ethanol)을 1 mL 가하고, 약 10초간 vortex mixing하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 흡수분광광도계를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료 첨가 전·후의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

### SOD 유사활성(Superoxide dismutase-like activity: SODA) 측정

씨리 추출물의 SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund(14)의 방법에 따라 과산화수소( $H_2O_2$ )로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 즉, 일정 농도의 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer (50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane + 10 mM EDTA, pH 8.5) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응 후, 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은

시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

### 아질산염(Nitrite-scavenging ability) 소거능 측정

아질산염( $NaNO_2$ ) 소거 작용은 Kato 등(15)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 1 mM의  $NaNO_2$  용액 2 mL에 소정 농도(100, 500, 1,000 ppm)의 씨리 추출물을 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M citrate buffer를 사용하였다. 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 6.0으로 조정 한 후, 반응용액의 부피를 10 mL로 하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 각각 1 mL씩 취하여 2% acetic acid 5 mL를 첨가하였다. 그리고 Griess reagent(A:B=1:1, A; 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B; 1% naphthylamine in 30% acetic acid) 0.4 ml 첨가하여 vortex mixing 후, 실온에서 15분간 반응시켰다. 반응시킨 시료를 spectrophotometer를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 Griess reagent 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하여 씨리 추출물을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 소거율을 백분율(%)로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 추출물의 전자공여능

씨리의 물추출물과 에탄올추출물 및 압력열수추출물을 대상으로 농도에 따른 DPPH에 대한 전자공여능을 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. 각 추출물의 농도가 100, 300, 500, 1000 ppm에서 물추출물, 에탄올추출물, 가압열수추출물의 전자공여능력은 각각 27.00~82.02%, 27.33~75.56%, 15.85~60.48%이었다. 세 가지 유형의 추출물 모두에서 시료의 농도가 높아질수록 DPPH에 대한 전자공여능도 증가하는 경향이 나타났으며, 모든 농도에서 물추출물이 에탄올추출물과 압력열수추출물보다 더 높은 전자공여능을 보였다. 특히, 1,000 ppm 농도의 물추출물에서 가장 높은 82.02%의 전자공여능을 나타냈다. 이는 페놀화합물의 전자공여능은 전반적으로 농도가 상승할수록 증가한다는 Kang 등(16)과 Kim 등(17)의 보고와도 일치하였다. 솔잎과 녹차에서 물추출물의 전자공여능이 1,000 ppm에서 각각 55.2%와 53.2%라고 보고한 Kim 등(18)의 결과와 본 실험 결과의 82.02%와 비교하면 씨리 물추출물의 전자공여능이 약 1.5배 더 높았다. 한편, 1,000 ppm 농도에서 씨리의 에탄올추출물의 전자공여능은 75.56%로서 솔잎 에탄올추출물(84.4%)보다는 낮은 전자공여능을 나타내었으나 녹차 에탄올추출물(74.9%)의 결과와는 유사하였다. 그리고 씨리나 무 물추출물의 전자공여능력을 Kim 등(19)의 국내산 생약 추출물의 전자공여능 측정 결과와 비교하면, 300 ppm의 농도에서 작약(86.6%), 목단(80.4%), 오미자(85.7%) 등에 비하여 낮게 나타났으나, 두충(42.4%), 산수유(22.8%)보다

는 더 높았다. 또한 diethyl ether를 용매로 추출한 양송이버섯 추출물(33.8%)과 표고버섯추출물(38.4%) 그리고 마늘 추출물(21.1%)의 전자공여능보다는 높았다(20,21). 따라서 싸리나무의 추출물은 비교적 전자공여능력이 높고 천연항산화제의 이용가치가 있는 것으로 생각된다.

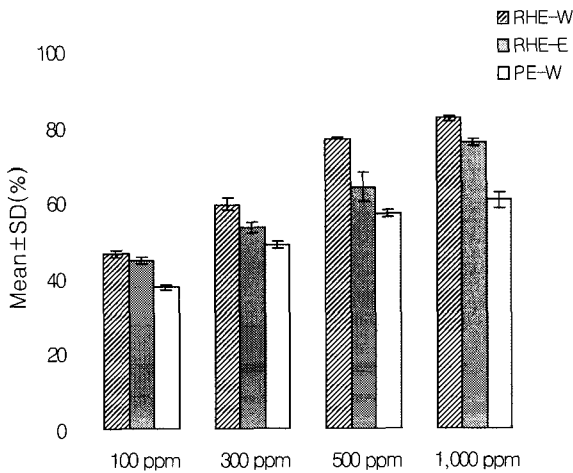


Fig. 1. Electron donating ability of the extract from *Lespedeza bicolor*.

RHE-W: Rotary heating extraction-Water, RHE-E: Rotary heating extraction-Ethanol, PE-W: Pressure heating extraction-Water). All values are expressed as Mean-SD of triplicate determinations.

추출물의 SOD 유사활성

싸리의 물추출물과 에탄올추출물 및 압력열수추출물의 농도에 따른 SOD 유사활성능을 측정한 결과는 Fig. 2와 같았다. 물추출물의 SOD 유사활성능은 16.53%~20.00%, 에탄올추출물은 17.21%~44.08%, 압력열수추출물은 19.59%~29.86%의 범위로 분석되었으며, 모든 추출물에서 농도가 높아짐에 따라서 활성도가 증가하였다. 1,000 ppm 농도의 에탄올추출물에서 44.08%의 가장 높은 SOD 유사활성을 보였으며 물추출물이나 압력열수추출물보다 각각 2.2배, 1.5배 더 높은 SOD 유사활성을 나타내었다.

본 실험결과를 대황(41.53%), 감초(35.63%), 연자육(28.70%), 지황(28.43%) 등의 한국산 약용식물을 대상으로 한 Lim 등(22)의 SOD 유사활성에 대한 결과와 비교하면, 1,000 ppm 농도의 싸리 에탄올추출물의 SOD 유사활성(44.08%)은 더 높은 것으로 나타났으나, 압력열수추출물의 결과(29.86%)와는 비슷하였고, 물추출물의 SOD 유사활성(20.0%)은 더 낮았다. 또한 사과, 케일, 키위, 무차즙액이 24.1%~27.6%의 SOD 유사활성도를 나타낸다는 결과(23)와 비교해보면, 기존에 보고되었던 여러 종류의 천연산물보다 더 높은 활성도를 보이는 것으로 판단할 수 있다. 따라서 싸리 추출물은 항산화 효과가 높은 천연자원으로 이용이 가능하고, 에탄올 추출물이 물추출물에 비해 높은 SOD 유사활성을 나타내는 것으로 보아 추출용매로 에탄올을 이용

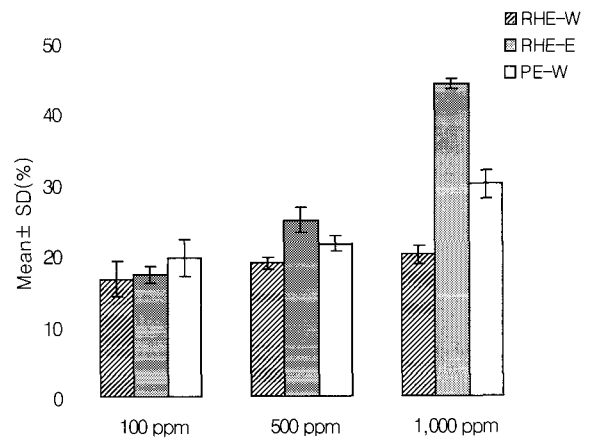


Fig. 2. Superoxide dismutase like activity of the extract from *Lespedeza bicolor* on the autoxidation of pyrogallol.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

한 추출방법이 유용할 것으로 생각된다.

추출물의 아질산염 소거능

싸리의 물추출물과 에탄올추출물 및 압력열수추출물의 농도와 pH에 따른 아질산염 소거작용을 측정하였다. pH 1.2에서 각 추출물의 아질산염 소거능력을 측정한 결과, 에탄올추출물은 100 ppm의 농도에서 35.23%, 500 ppm에서 99.45%, 1,000 ppm에서 99.53%로 분석되어 물추출물과 압력열수추출물보다 높은 아질산염 소거능을 나타내었다. 물추출물은 12.46~85.84%, 압력열수추출물은 15.26~74.72%의 아질산염 소거능을 나타냄으로써 모든 추출물에서 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거능도 높아지는 것으로 분석되었다.

pH 3.0의 경우에 각 추출물의 아질산염 소거능력은 에탄올추출물에서 농도별로 각각 24.77%, 92.68%, 98.20%로 나타났으며, 물추출물은 농도별로 5.23%에서 72.48%, 압력추출물에서는 11.22%에서 52.34%의 아질산염 소거능을 나타내었다(Fig. 4). pH 3.0에서도 pH 1.2에서 보다는 낮았지만 모든 추출물에서 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거능도 높아지는 것으로 분석되었다.

pH 6.0에서는 모든 추출물에서 현저히 낮은 아질산염 소거능을 나타내었으며, 농도와 상관관계가 없는 것으로 분석되었다. 물추출물의 아질산염 소거능은 각 농도별로 9.36%~12.84%, 압력열수추출물은 4.29%~11.89%, 에탄올추출물은 3.68%~5.93%의 범위로 나타났다(Fig. 5).

술잎과 녹차의 물추출물과 에탄올추출물이 pH 1.2와 pH 3.0 조건의 1,000 ppm 농도에서 90% 이상의 아질산염 소거능을 나타낸다고 보고한 Kim 등(18)의 결과와 본 실험결과를 비교하면, 싸리 추출물은 같은 pH 1.2와 pH 3.0 조건에서 1,000 ppm 농도의 에탄올추출물에서 각각 99.53%와 98.20%의 높은 소거능을 보였으며, 물추출물과 압력열수추출물에서는 각각 85.84%, 72.48%의 조금 더 낮은 활성을

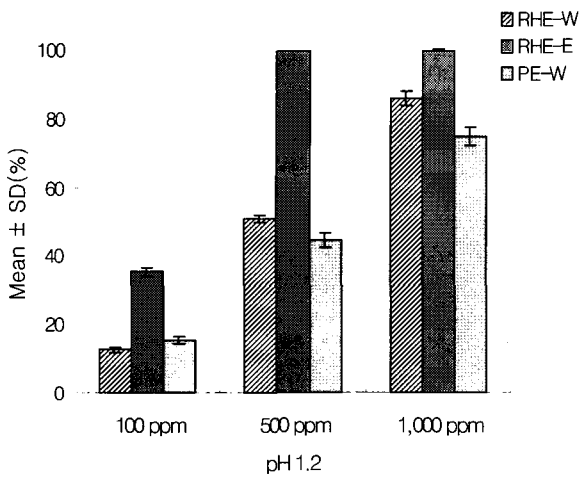


Fig. 3. Nitrite scavenging ability of the extract from *Lespedeza bicolor* at pH 1.2.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

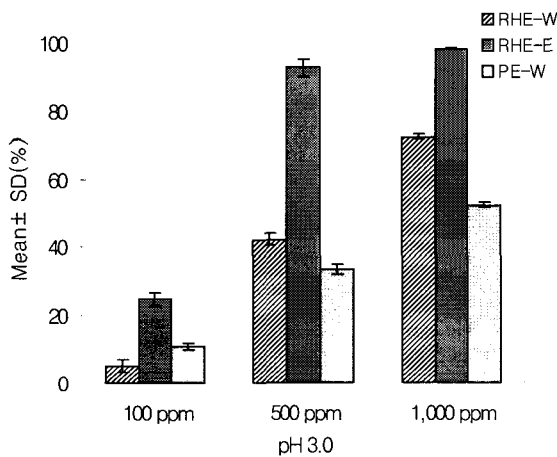


Fig. 4. Nitrite scavenging ability of the extract from *Lespedeza bicolor* at pH 3.0.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

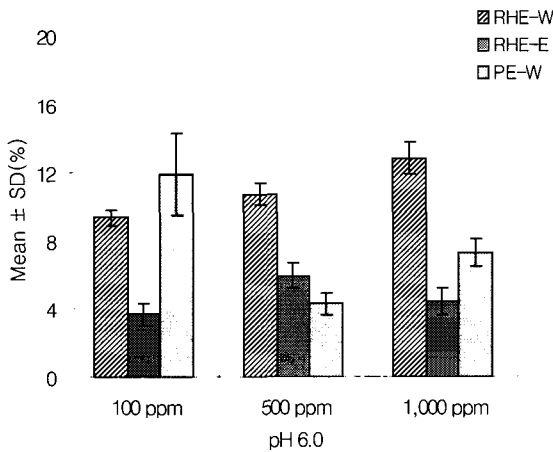


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of the extract from *Lespedeza bicolor* at pH 6.0.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

나타낸 것으로 분석되었다. 또한 본 실험결과를 항암효과가 뛰어난 것으로 알려진 영지와 표고의 에테르추출물의 소거능 68.34%와 68.23%(21)와, 메탄올로 추출한 상황버섯(90.20%), 감초(68.52%), 백지(55.25%)에서의 결과(24)와 비교하여도 싸리 추출물의 아질산염 소거작용이 위의 어떤 천연물 보다 더 뛰어난 것으로 나타났다. 그리고 pH의 변화에 따른 효과에서는 pH가 높아질수록 아질산염 소거능이 감소한다는 Kim 등(25)의 결과와 일치하였으며, 쑥, 결명자, 솔잎, 팽이버섯, 마늘 등에서 보고된 아질산염 소거작용의 경향과도 일치하였다(16,21,26,27). 그러므로 싸리는 아질산염 및 아민이 존재할 수 있는 식품이나 가공품과 함께 사용할 경우에 산화방지 효과 및 nitrosamine의 생성을 억제시키는 효과가 클 것으로 기대되는 천연산물로 사료된다.

### 요 약

싸리(*Lespedeza bicolor*)의 항산화 활성에 대한 연구의 일환으로, 물추출물과 에탄올추출물 및 압력열수추출물에 대하여 각 농도별로 전자공여능, SOD 유사활성, 아질산염 소거능 등을 분석하여 항산화활성을 분석하였다. 전자공여능은 물추출물에서 농도에 따라 46.30~82.02%로 가장 높았고, 에탄올추출물은 44.53~75.56% 그리고 압력열수추출물은 37.40~60.48%로 분석되었다. SOD 유사활성은 에탄올추출물에서 농도에 따라 17.21~44.08%로 가장 높았고, 압력열수추출물이 19.89~29.86%, 물추출물이 16.53~20.0%로 측정되었으며, 각 추출물의 농도가 증가함에 따라 전자공여능과 SOD 유사활성이 증가하는 것으로 나타났다. 그리고 아질산염 소거능은 pH 1.2의 조건에서 1,000 ppm 농도의 에탄올추출물이 99.53%로써 물추출물(85.84%)과 압력열수추출물(74.72%)보다 높은 소거능을 나타내었으며, pH 3.0에서도 에탄올추출물이 98.20%의 높은 아질산염 소거능을 나타내었다.

### 감사의 글

본 연구는 한국과학재단의 Basic Research Program [R12-2003-002-05001-0]의 지원에 의해 수행 되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. 中谷延二. (1990) 最近の天然抗酸化性物質の研究. 日本食品工業學會誌, 37, 569-572
2. 條原和毅. (1992) 食用植物中の生理的機能成分. 食品と開發, 東京, p.29
3. Kang, S.S., Yoon, H.S. and Jang, I.M. (1988) Natural product science. Seoul Univ. Publishers, Seoul, p.71

4. Halliwell, B., Hoult, R.J. and Blake, D.R. (1988) Oxidants, inflammation, and anti-inflammatory drugs. *FASEB J.*, 2, 2867-2870
5. Brannen, A.L. (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy toluene and butylated hydroxy anisole. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 59-63
6. Ito, N., Fukushima, S. and Hasebawa, A. (1983) Carcinogenicity of BHA in F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 70, 343
7. Chan, K.M., Decker, E.A. and Means, W.J. (1993) Extraction and activity of carnosine, a naturally occurring antioxidant in beef muscle. *J. Food. Sci.*, 58, 1-4
8. Larson, R.A. (1988) The antioxidant of higher plants. *Phytochemistry* 27, 969-978.
9. Huson, B. and Lewis, J. (1987) Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oil phospholipid as synergist. *Food Chem.*, 19, 537-541
10. Frankel, E.N. (1996) Antioxidants in lipid foods and their on food quality. *Food Chem.*, 57, p.51-55
11. Giese, J. (1996) Antioxidants tools for preventing lipid oxidation. *Food Technol.*, 5, 73-81
12. Pszczola, D.E. (2001) Antioxidants: From preserving food quality to quality of life. *Food Technol.*, 55, 51-59
13. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200
14. Marklund, S. and Marklund, G. (1975) Involvement of superoxide aminoradical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47, 468-474
15. Kato, H., Lee., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. (1987) Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1333-1338
16. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenol compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28, 232-239
17. Kim, S.M., Cho, Y.S., Sung, S.K., Lee, I.G., Lee, S.H. and Kim, D.G. (2002) Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. *Korean J. Food Sci. An. Resour.*, 22, 13-19
18. Kim, H.K., Choi, Y.J., Jeong, S.W. and Kim, K.H. (2002) Functional activities of microwave-assisted extracts from *Lyophy ulmarium*. *Korean J. Food Preserv.*, 9, 385-390
19. Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C. and Lee, B.Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 80-85
20. Lee, G.D., Chang, H.G. and Kim, H.K. (1997) Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29, 432-436
21. Kim, H.K., Kwon, Y.J., Kwak, H.J. and Kwon, J.H. (1999) Oleoresin content and functional characteristic of fresh garlic. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31, 329-335
22. Lim, J.D., Yu, C.Y., Kim, M.J., Yun, S.J., Lee, S.J., Kim, N.Y. and Chung, I.M. (2004) Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, 12, 191-202
23. Hong, H.D., Kang, N.K. and Kim, S.S. (1998) Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30, 1484-1487
24. Moon, J.S., Kim, S.J. and Park, Y.M. (2004) Activities of antioxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. *Korean J. Food Preserv.*, 11, 201-206
25. Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.L. (2001) The antioxidant ability and nitrate scavenging ability of plant extract. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 33, 623-632
26. Park, S.S., Lee, K.D. and Min, T.J. (1995) Study on the screening and development of antibiotics in the mushrooms. *Korean. J. Mycol.*, 23, 28-36
27. Chung, S.Y., Kim, M.K. and Yoon, S. (1999) Nitrite scavenging effect of method fraction obtained from green yellow vegetable juices. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28, 342-347