머루 과피 용매추출물의 항산화성 및 아질산염 소거작용

최선영 · 조현소 · 성낙주 * 경상대학교 식품영양학과 · 농업생명과학연구원

The Antioxidative and Nitrite Scavenging Ability of Solvent Extracts from Wild Grape (Vitis Coignetiea) Skin

Sun-Young Choi, Hyun-So Cho and Nak-Ju Sung

Dept. of Food Science and Nutrition, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

This study was worked out to investigate antioxidant activity of solvent extracts from wild grape skin by measuring electron donating ability (EDA), reducing power, superoxide dismutase (SOD)-like activity, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and nitrite scavenging ability. Total phenolic compound and flavonoids contents were the highest in ethyl acetate extract, 54.4 ± 1.18 mg/100 g and 645.1 ± 5.05 mg/100 g, respectively. The EDA and reducing power of solvent extracts from wild grape skin were proportionally increased with concentration and ethyl acetate extract ($79.2\pm0.06\%$) showed the stronger than BHT ($74.1\pm0.15\%$) at concentration of 100 µg/mL, especially. SOD-like ability of ethyl acetate ($25.1\pm0.41\%$) and butanol ($20.2\pm0.13\%$) extracts were stronger than other extracts at concentration of 100 µg/mL. TBARS of ethyl acetate extract was higher than ascorbic acid. Nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape skin (pH 2.5, 1,000 µg/mL) were in order of ethyl acetate ($90.5\pm0.75\%$)>butanol ($65.9\pm2.16\%$)>hexane ($58.1\pm1.74\%$)>chloroform ($55.4\pm1.02\%$)>water ($40.9\pm0.35\%$). Antioxidant activity of solvent extracts from wild grape skin was the highest in ethyl acetate extract from the results of our experiments.

Key words: wild grape skin, electron donating ability, nitrite scavenging ability

서 론

최근 건강과 대체의학에 대한 관심의 고조, 합성 의약품에 대한 부작용 우려, 각종 천연 식품의 가공기술 발달과 더불어 천연 식품원료에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다. 이러한 측면에서 주목받고 있는 것이 천연 식물류로서, 오랫동안 복용하여도 독성이 낮으며 미량으로도 현저한 활성을 나타내는 것은 이차 대사물질인 phytochemicals를 함유하고있기 때문이다(1). 식물체에 함유되어 있는 vitamin, carotenoids, cellulose, flavonoids와 phenolic 화합물들은 항돌연변이원성, 콜레스테롤 저하작용, 정장작용, 항산화작용 및항암작용 등 다양한 생리활성 기능을 가지고 있다(2). 이중특히, 페놀 화합물들은 다양한 구조와 분자량을 가지는데 분자 내 phenolic hydroxyl기는 효소 단백질과 같은 거대분자들과 결합하는 성질이 있어 이러한 생리활성 기능을 나타내는 주체로 인정되고 있다(3,4).

페놀 화합물들을 다량 함유하고 있는 대표적인 식품인 포 도과에 속하는 머루(Vitis Coignetiea)는 일명 산포도로 불

리는 낙엽성 넝쿨식물로 세계적으로 광범위하게 재배되는 포도와 형상이 비슷하나 산록 및 계곡에 자생하며 내한성이 강하고 지리적으로 한국, 일본, 중국에 주로 많이 분포하고 있다. 또한 양질의 알칼리성 식품으로 포도보다 10배 이상의 칼륨, 칼슘, 철분과 인을 함유하고 있으며, 유기산과 수용성 비타민 등 필수 영양소가 골고루 들어 있어 성장기 어린이 두뇌발달과 식욕 및 소화촉진의 기능을 한다(5). 예로부터 민간요법으로 열매, 줄기 및 뿌리는 빈혈, 구토, 설사와 두통 등의 치료제로, 열매즙은 피부암 예방과 괴혈병의 치료제 및 이뇨제로 널리 이용되고 있다(6). 그 중 뿌리는 대부분의 resveratrol을 중심 구조로 하고 있는 viniferin, amurensin, heyneanol 등의 물질을 함유하고 있으므로 뛰어난 염증 치 료제로 알려져 있는데(7), resveratrol은 포도의 주요한 천연 페놀 화합물의 구성성분으로 더 잘 알려져 있으며 LDL-콜 레스테롤의 산화 억제, 항산화와 항염증 효과 및 암예방 효 능을 가진 물질이라고 보고된 바 있다(8,9).

포도의 조상으로 포도와 성분이 비슷하지만 그 성분이 약 10배 정도 농축되어 있어 더 우수한 효능을 가진 것으로 보고

[†]Corresponding author. E-mail: snakju@gsnu.ac.kr Phone: 82-55-751-5975, Fax: 82-55-751-5971 되고 있는 머루(10)는 이화학적 성분과 머루를 이용한 머루주, 머루쥬스 및 발효제품 개발(11,12)에 관한 연구만이 진행되었을 뿐 기능성에 관한 체계적인 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 머루 과피를 용매별로 추출하여 항산화 효과를 검색하여 천연 항산화제로서의 효능과 이용가능성에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 용매추출물 조제

머루는 경북 봉화군에서 10월경에 수확한 것으로 흐르는 물에 씻은 후 자연 건조해 물기를 제거한 다음 cheese cloth를 이용하여 가볍게 압착해 과육부와 분리하여 씨를 제거한 다음 동결 건조하였다. 건조 분말 100 g에 약 10배의 80% ethanol을 가하여 실온에서 12시간 동안 정치시켜 3회 반복추출한 후 회전식 증발기에서 완전 건고하여 ethanol 조추출물을 얻었다. 여기에 3차 증류수와 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol을 순차적으로 계통 분획하여 여과한 여액을 감압・농축한 후 시료의 무게로부터 수율을 측정한 다음 3차 증류수를 가하여 1,000 µg/mL의 농도가 되도록 하여 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

총 페놀 화합물 측정

Folin-Denis 방법(13)에 따라 추출물 0.2 mL에 증류수 5 mL와 Folin-Ciocalteau 시약 0.5 mL를 차례로 가하고 3분간 정치시킨 다음 $2\% \text{ Na}_2\text{CO}_3$ 용액 1 mL를 가하여 혼합한 후 1시간 동안 반응시켜 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 tannic acid(Sigma Co., USA)를 사용하였고, 동일한 방법으로 작성된 표준검량곡선으로부터 총 폐놀 화합물 함량을 정량하였다.

총 플라보노이드 측정

Moreno 등(14)의 방법에 따라 추출물 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 방치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin (Sigma Co., USA)을 표준물질로 하여 총 플라보노이드 함 량을 계산하였다.

전자공여 작용 측정

Kang 등(15)의 방법을 변형하여 100, 250, 500 및 1,000 μ g/mL로 농도를 조정한 추출물 1 mL에 4×10^{-4} M 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 용액 5 mL를 가하여 혼합한 다음 30분간 반응시켜 528 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료 첨가군와 무첨가군의 흡광도를 비로 나타내었으며 동일한 방법으로 실험한 butylatedhydroxytoluene(BHT)과 ascorbic acid를 positive control로 하였다.

환원력 측정

Oyaizu(16)의 방법에 따라 추출물에 pH 6.6 sodium

phosphate buffer 2.5 mL와 potassium ferricyanide 2.5 mL를 혼합하여 50°C에서 20분간 반응시킨 후 10% trichloro-acetic acid 2.5 mL를 첨가하고 10분 동안 5,000 rpm에서 원심 분리시켰다. 상충액, 증류수 및 1% ferric chloride를 각각 1 mL씩 가하여 혼합한 다음 700 nm에서 흡광도를 측정하고 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색원리를 이용한 Marklund와 Marklund(17)의 방법에 따라 측정하였다. 추출물 0.2 mL에 tris-HCl buffer 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25° C에서 10분간 방치하였다. 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시키고 산화된 pyrogallol의 흡광도를 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료 첨가군과 무첨가군의 흡광도 비로 나타내었다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정

Buege와 Aust(18)의 방법에 따라 maleic acid buffer(pH 6.5)와 Tween-20 및 0.1 N HCl로 만든 oil emulsion 0.5 mL, 산소종(FeCl₂, CuSO₄) 0.1 mL 및 추출물 0.1 mL를 첨가하고 3차 증류수를 이용하여 최종 반응물을 1 mL로 만들어 37°C 에서 1시간 동안 산화 반응시켰다. 이어 7.2% BHT 50 μL와 TCA/TBA 용액을 2 mL 가하고 15분간 가열・냉각한 다음 2,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 상층액을 취하여 531 nm 에서 흡광도를 측정하였다. TBARS 값은 반응혼합물 L당 mg malondialdehyde(MDA)로 표시하였다.

아질산염 소거작용 측정

Kato 등(19)의 방법에 따라 1 mM NaNO₂용액 1 mL에 추출물을 1 mL씩 첨가하고, 0.1 N HCl 및 0.2 M citrate buffer로 pH 2.5 및 4.2로 보정한 다음 반응용액의 최종부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 다음 반응액을 1 mL씩 취하여 2% acetic acid 3 mL, Griess시약 0.4 mL를 차례로 가하고 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염소거능은 100-[(시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도) ×100]으로 나타내었다.

통계처리

실험 결과는 3회 반복 측정 후 평균 \pm 표준편차로 나타내 었으며, SPSS 12.0을 이용하여 각 시료군간의 유의성을 검증한 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

추출수율, 총 페놀 화합물 및 플라보노이드 함량 머루 과피 용매추출물의 추출수율은(Table 1) water 추출

Table 1. Extraction yield, total phenolic compounds and flavonoids contents of solvent extracts from wild grape skin

Extracts	Extraction vield (%)	Phenolic compounds (mg/100 g)	Flavonoids (mg/100 g)
		4.4 ± 0.99^{a1}	- 0- 0-
Hexane	10.1		6.3 ± 0.47^{a}
Chloroform	7.1	9.0 ± 0.29^{c}	$11.3 \pm 0.31^{\mathrm{b}}$
Ethyl acetate	1.5	$54.4 \pm 1.18^{\rm e}$	$645.1 \pm 5.05^{\rm e}$
Butanol	18.3	28.4 ± 0.83^{d}	77.6 ± 0.84^{d}
Water	61.9	$7.3 \pm 0.97^{\mathrm{b}}$	$13.9 \pm 0.34^{\circ}$

¹⁾Each value with different superscripts within a column in the different solvent was significantly difference at p<0.05.

물에서 61.9%로 가장 높았으며 다음으로 butanol 추출물이 18.3%였으며 다른 추출물의 수율은 10% 미만이었다. 1,000 №g/mL로 농도를 조정한 머루 과피 추출물의 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 총페놀 화합물은 4.4±0.99∼54.4±1.18 mg/100 g의 범위로 ethyl acetate(54.4±1.18 mg/100 g)와 butanol(28.4±0.83 mg/100 g) 추출물을 제외한 여타 추출물에서는 10 mg/100 g이하로 정량되어 추출용매에 따른 함량 차이가 매우 컸다. 플라보노이드의 함량도 이와 동일한 경향으로 ethyl acetate 추출물의 경우 645.1±5.05 mg/100 g으로 다른 용매 추출물에 비하여 월등히 높은 함량이었고 가장 함량이 낮은 hexane 추출물(6.3±0.47 mg/100 g)보다 약 100배 이상, butanol 추출물(77.6±0.84 mg/100 g)에 비해서도 약 8배 더 높은 함량으로 정량되었다.

포도씨 용매별 추출물의 페놀 화합물은 ethyl acetate 추출물에서 유의적으로 높게 함유하고 있다는 보고(20)와 본실험 결과는 동일한 경향이었다. 포도류의 총 페놀 화합물은 과피나 과육보다는 씨에 주로 함유되어 있는 것으로 알려져 있는데 포도의 총 페놀 화합물 함량을 측정한 결과 건물 100 g 당 과육에는 4.19 ± 0.04 g, 씨는 8.58 ± 0.03 g, 과피에는 3.33 ± 0.03 g이 함유되어 있다는 보고(21)가 있으며 포도에서 추출할 수 있는 총 페놀 화합물의 함량은 과육에 10%, 종자에 $60\sim70\%$ 및 종피에는 $28\sim35\%$ 가 함유되어 있다는 보고(22)도 있다.

전자공여 작용

머루 과피 용매추출물의 농도별 전자공여 작용을 측정한 결과(Fig. 1) 가장 활성이 높은 ethyl acetate 추출물의 경우 100 μg/mL에서 전자 공여능은 79.2±0.06%로 BHT(74.1±0.15%)보다 유의적으로 높았으며, 1,000 μg/mL 첨가 시에는 90.9±1.23%로 항산화 활성이 증가하였다. 모든 용매추출물에서 농도가 증가함에 따라 전자공여 작용이 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었으며 1,000 μg/mL 첨가 시 모든 시료의 전자공여 작용은 50%이상이었다.

머루와 포도 용매별 추출물의 전자공여능 측정한 결과 머루보다 포도에서 더 전자공여능이 높았는데, butanol과 ethyl acetate 추출물의 경우 포도에서 약 84.6%, 머루에서는

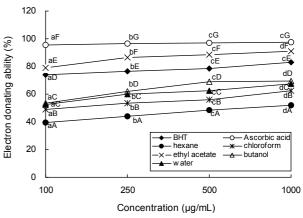


Fig. 1. Electron donating ability of solvent extracts from wild grape skin.

^{a-d}Each value with different superscripts within a same solvent was significantly difference at p<0.05.</p>

A-GEach value with different superscripts within a same concentration was significantly difference at p<0.05.</p>

약 83.4%로 시료 및 용매별 차이는 적었으나, water 추출물은 포도(40.6%)와 머루(11.8%)에서 전자공여능이 큰 차이를 보인다는 보고(5)가 있다. Park과 Oh(23)는 거봉 포도의 경우 종자 ethanol 추출물이 과피 ethanol 추출물보다 더 높은라디칼 소거능을 보였으나 용매별 추출물 경우 종자와 과피모두에서 ethyl acetate와 butanol 추출물에서 항산화 활성이 가장 높다고 하였다. 포도나 머루에 있어서 전자공여 작용은 실험에 사용된 부위에 따라서 다소 상이하지만 추출용매에 따른 차이를 보면 ethyl acetate 추출물에서 높은 활성을 보였으며 이는 본 실험의 결과와 유사한 경향이었다.

환원력

머루 과피 용매추출물을 농도별로 첨가하여 FeCl₃와의 반응 정도를 700 nm의 흡광도로 표시하였는데 발색 정도가 높을수록 환원력이 높음을 의미한다. 모든 시료의 농도가 증가함에 따라 시료의 환원력(Table 2)은 유의적으로 증가하는 경향이었으나, ascorbic acid나 BHT보다 낮은 환원력을 나타내었다. 100 μg/mL에서 시료 추출물의 환원력은 0.13~0.25의 범위였으며, 250 μg/mL 첨가 시 ethyl acetate 추출물이 0.45±0.06으로 환원력이 증가하였으나 다른 추출물은 0.25 미만이었다. 1,000 μg/mL에서 환원력은 ethyl acetate 추출물(0.67)>water 추출물(0.55)>butanol·chloroform 추출물(0.45~0.48)>hexane 추출물(0.25)의 순이었다.

SOD 유사활성

Pyrogallol의 자동산화 반응을 이용하여 머루 과피 용매 추출물의 SOD 유사활성 측정 결과(Fig. 2) 농도가 증가함에 따라 ascorbic acid, hexane, butanol 및 water 추출물을 제외한 다른 추출물들은 유의적 차이가 적었다. 100 µg/mL에서 ethyl acetate 추출물은 ascorbic acid보다 높은 SOD 유사활성을 나타내었으며 다음으로 butanol 추출물이 20.2±0.13%

Table 2. Reducing power of solvent extracts from wild grape skin

(Absorbance at 700 nm)

Extracts	Concentration (µg/mL)				
Extracts	100	250	500	1,000	
ВНТ	0.34 ± 0.15^{aC}	$0.61 \pm 0.14^{\mathrm{bD}}$	$0.90 \pm 0.04^{\mathrm{cD}}$	$1.17 \pm 0.08^{ m dE}$	
Ascorbic acid	$1.03 \pm 0.04^{\mathrm{aD}}$	$2.64 \pm 0.05^{\mathrm{bE}}$	$2.85 \pm 0.26^{\rm cE}$	$2.98 \pm 0.18^{\mathrm{dF}}$	
Hexane	$0.13 \pm 0.02^{\mathrm{aA}}$	$0.15 \pm 0.02^{\mathrm{aA}}$	$0.22 \pm 0.03^{\mathrm{bA}}$	$0.25 \pm 0.04^{\mathrm{bA}}$	
Chloroform	$0.15 \pm 0.02^{\mathrm{aA}}$	$0.25 \pm 0.03^{\mathrm{bB}}$	$0.32 \pm 0.02^{\rm cB}$	$0.45 \pm 0.02^{\mathrm{dB}}$	
Ethyl acetate	$0.25 \pm 0.04^{\mathrm{aB}}$	$0.45 \pm 0.06^{\mathrm{bC}}$	$0.52 \pm 0.04^{\text{cC}}$	$0.67 \pm 0.02^{\mathrm{dD}}$	
Butanol	$0.13 \pm 0.01^{\mathrm{aA}}$	$0.23 \pm 0.04^{\mathrm{bB}}$	$0.35 \pm 0.03^{\text{cB}}$	$0.48 \pm 0.02^{\mathrm{dB}}$	
Water	$0.18 \pm 0.02^{\mathrm{aA}}$	$0.23 \pm 0.02^{\mathrm{bB}}$	$0.37 \pm 0.02^{\rm cB}$	$0.55 \pm 0.03^{\text{dC}}$	

^{a-d}Each value with different superscripts within a same solvent was significantly difference at p<0.05.

A-FEach value with different superscripts within a same concentration was significantly difference at p<0.05.

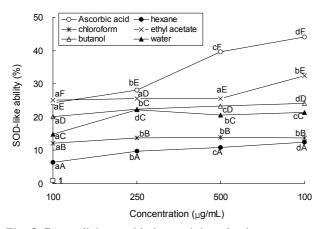


Fig. 2. Pyrogallol autoxidation activity of solvent extracts from wild grape skin.

로 높은 항산화 활성을 보였고 다른 추출물에서는 15% 미만의 낮은 활성을 보였다. 500 μ g/mL 첨가 시 ethyl acetate, butanol 및 water 추출물은 $20.6\pm0.52\sim25.5\pm0.43\%$ 의 활성

을 보이다가 1,000 µg/mL에서는 ethyl acetate 추출물이 32.5±0.45%로 SOD 유사활성이 더 증가하였으나 chloroform 및 hexane 추출물의 경우는 24.1±0.25% 미만의 낮은 활성을 나타내었다. 반면, hexane 추출물은 농도 증가에 따른 유의적 차이는 있었으나, 낮은 SOD 유사활성을 보였다. 이상의 결과로 보아 머루 과피 추출물이 100 µg/mL 농도를 제외하고는 ascorbic acid보다 SOD 유사활성이 낮았는데, 이는 chain-breaking 항산화제로 작용하기 때문인 것으로 추정된다. Chung 등(24)은 60여종의 약용작물에 대한 항산화 활성 결과 평균 34.8%의 활성을 나타낸다는 보고에 비해 머루 과피 용매추출물은 전반적으로 낮은 SOD 유사활성을 보였다.

TBARS의 함량

Oil emulsion을 기질로 하여 활성 산소종(FeCl₂, CuSO₄) 과 머루 과피 용매추출물을 농도별로 첨가한 후 생성된 MDA의 양을 positive control(BHT, ascorbic acid)과 비교실험한 결과는 Table 3에 나타내었다. FeCl₂가 지질산화에 미치는 정도는 추출물과 Fe^{2+} 가 결합하는 능력이 우수할수록 항산화 활성이 뛰어나며, 특히 Fe^{2+} 와 Fe^{3+} 의 비가 1:1일

Table 3. Effect of solvent extracts from wild grape skin on lipid oxidation of oil emulsion containing FeCl₂ and CuSO₄ (mg MDA/L)

					(IIIg WIDA/L)	
Active oxygens	Extracts		Concentration (µg/mL)			
		100	250	500	1,000	
FeCl_2	ВНТ	$1.5 \pm 0.04^{\rm cA}$	$0.9 \pm 0.03^{\mathrm{bA}}$	$0.8 \pm 0.02^{\mathrm{aA}}$	$0.8 \pm 0.02^{\mathrm{aB}}$	
	Ascorbic acid	$2.2 \pm 0.02^{\rm cD}$	$2.1 \pm 0.04^{\text{cC}}$	$1.6 \pm 0.03^{\mathrm{bC}}$	1.0 ± 0.03^{aC}	
	Hexane	$4.3 \pm 0.02^{\mathrm{dG}}$	$3.9 \pm 0.02^{\rm cE}$	$3.2 \pm 0.03^{\mathrm{bE}}$	$2.2 \pm 0.04^{\mathrm{aF}}$	
	Chloroform	1.9 ± 0.05^{dC}	$1.5 \pm 0.03^{\rm cB}$	$1.0 \pm 0.04^{\mathrm{bB}}$	$0.8 \pm 0.02^{\mathrm{aB}}$	
	Ethyl acetate	$1.7 \pm 0.04^{ m cB}$	$1.6 \pm 0.06^{\mathrm{bB}}$	$0.8 \pm 0.02^{\mathrm{aA}}$	$0.7 \pm 0.02^{\mathrm{aA}}$	
	Butanol	$4.2 \pm 0.04^{\mathrm{dF}}$	$3.9 \pm 0.04^{\rm cE}$	$3.2 \pm 0.02^{\mathrm{bE}}$	1.9 ± 0.02^{aE}	
	Water	3.4 ± 0.04^{dE}	$3.1 \pm 0.02^{\rm cD}$	$2.7 \pm 0.02^{\text{bD}}$	$1.6 \pm 0.03^{\mathrm{aD}}$	
	ВНТ	1.9 ± 0.02^{cA}	$1.5 \pm 0.02^{\mathrm{bA}}$	$1.5 \pm 0.02^{\mathrm{bA}}$	1.3 ± 0.02^{aA}	
CuSO ₄	Ascorbic acid	$4.9 \pm 0.02^{\mathrm{dE}}$	$4.8 \pm 0.02^{\mathrm{cF}}$	$3.9 \pm 0.03^{\mathrm{bD}}$	3.8 ± 0.02^{aF}	
	Hexane	$4.9 \pm 0.02^{\mathrm{dE}}$	$4.7 \pm 0.02^{\rm cE}$	$4.5 \pm 0.01^{\mathrm{bF}}$	4.3 ± 0.01^{aG}	
	Chloroform	$5.0 \pm 0.02^{\mathrm{dF}}$	$4.7 \pm 0.02^{\rm cE}$	$4.5 \pm 0.02^{\mathrm{bF}}$	3.5 ± 0.02^{aE}	
	Ethyl acetate	4.4 ± 0.03^{dC}	$3.2 \pm 0.04^{\rm cB}$	$3.1 \pm 0.03^{\mathrm{bB}}$	$2.9 \pm 0.01^{\mathrm{aB}}$	
	Butanol	$4.2 \pm 0.02^{\mathrm{dB}}$	$3.6 \pm 0.03^{\text{cC}}$	3.2 ± 0.02^{bC}	3.1 ± 0.03^{aC}	
	Water	$4.7 \pm 0.01^{ m dD}$	$4.5 \pm 0.03^{ m cD}$	$4.2 \pm 0.02^{\mathrm{bE}}$	$3.4 \pm 0.02^{\mathrm{aD}}$	

^{a-d}Each value with different superscripts within a same solvent was significantly difference at p<0.05.

^{a-d}Each value with different superscripts within a same solvent was significantly difference at p<0.05.</p>

A-FEach value with different superscripts within a same concentration was significantly difference at p<0.05.

A-GEach value with different superscripts within a same concentration was significantly difference at p<0.05.

(%)

Table 4. Nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape skin in different pH reaction system

nU condition	Extracts -	Concentration (µg/mL)			
pH condition	Extracts —	100	250	500	1,000
2.5	Hexane Chloroform Ethyl acetate Butanol Water	32.3 ± 0.60^{aB} 47.8 ± 0.12^{aD} 50.5 ± 0.31^{aE} 37.0 ± 0.78^{aC} 21.8 ± 1.10^{aA}	$40.2 \pm 0.60^{\text{bC}}$ $49.5 \pm 0.31^{\text{bD}}$ $69.1 \pm 0.52^{\text{bE}}$ $38.6 \pm 0.35^{\text{aB}}$ $29.4 \pm 0.29^{\text{bA}}$	$41.6 \pm 0.47^{\text{bC}}$ $52.6 \pm 0.96^{\text{cC}}$ $75.2 \pm 0.26^{\text{cD}}$ $41.4 \pm 0.75^{\text{bB}}$ $34.6 \pm 0.76^{\text{cA}}$	$58.1 \pm 1.74^{\text{cC}}$ $55.4 \pm 1.02^{\text{dB}}$ $90.5 \pm 0.75^{\text{dE}}$ $65.9 \pm 2.16^{\text{cD}}$ $40.9 \pm 0.35^{\text{dA}}$
4.2	Hexane Chloroform Ethyl acetate Butanol Water	$\begin{array}{l} 27.1\pm0.31^{\mathrm{aB}} \\ 29.7\pm0.02^{\mathrm{aC}} \\ 33.2\pm0.12^{\mathrm{aE}} \\ 30.7\pm0.23^{\mathrm{aD}} \\ 20.2\pm0.64^{\mathrm{aA}} \end{array}$	$29.5 \pm 0.01^{\mathrm{bB}}$ $34.5 \pm 0.23^{\mathrm{bD}}$ $40.1 \pm 0.35^{\mathrm{bE}}$ $33.0 \pm 0.61^{\mathrm{bC}}$ $23.2 \pm 0.81^{\mathrm{bA}}$	$30.2 \pm 0.16^{\mathrm{bB}}$ $37.1 \pm 0.29^{\mathrm{cC}}$ $50.1 \pm 0.57^{\mathrm{cE}}$ $41.1 \pm 0.17^{\mathrm{cD}}$ $27.3 \pm 0.23^{\mathrm{cA}}$	$33.5\pm0.56^{\mathrm{cB}}$ $39.4\pm0.12^{\mathrm{dC}}$ $62.3\pm0.31^{\mathrm{dE}}$ $57.8\pm0.52^{\mathrm{dD}}$ $31.8\pm0.75^{\mathrm{dA}}$

a-dEach value with different superscripts within a same solvent was significantly difference at p<0.05.

때 최고의 활성을 나타낸다고 보고되어 있다(25). 추출물의 농도가 증가할수록 TBARS 값이 낮아져 항산화 활성이 유의적으로 증가함을 알 수 있었다. 100 µg/mL 농도에서 ethyl acetate와 chloroform 추출물이 각각 1.7±0.04 mg MDA/L와 1.9±0.05 mg MDA/L로 BHT(1.5±0.04 mg MDA/L)에 가장 근접한 활성을 보였고 다른 추출물은 3.4±0.04 mg MDA/L 이상으로 항산화 활성이 낮았다. 비교적 높은 항산화 활성을 보인 ethyl acetate와 chloroform 추출물의 경우 1,000 µg/mL에서 0.7±0.02 mg MDA/L와 0.8±0.02 mg MDA/L로 BHT 및 ascorbic acid와 유사한 범위였으나 hexane, butanol 및 water 추출물은 1.6±0.03~2.2±0.04 mg MDA/L로 항산화 활성이 낮았다.

CuSO₄에 대한 항산화 활성은 FeCl₂ 첨가 시보다 전체적으로 항산화 활성이 낮았으며 용매추출물 및 첨가 농도에 따른 활성의 차이가 적어 다소 상이한 경향을 보였다. 100 μg/mL에서 BHT가 1.9±0.02 mg MDA/L에 반해 모든 추출물들은 4.2±0.02~5.0±0.02 mg MDA/L의 범위였고 1,000 μg/mL 농도에서는 ethyl acetate 추출물이 2.9±0.01 mg MDA/L로 추출물 중 가장 활성이 높기는 하였으나 BHT (1.3±0.02 mg MDA/L)보다는 활성이 월등히 낮았다.

아질산염 소거작용

pH 2.5와 4.2의 반응용액에서 머루 과피 용매추출물의 아질산염 소거작용을 측정한 결과 Table 4에서 나타낸 바와 같이 반응계의 pH가 낮을수록, 시료 농도가 증가할수록 소거능은 유의적으로 높아졌다. pH 2.5의 반응용액에서는 ethyl acetate 추출물(50.5±0.31∼90.5±0.75%)의 아질산염 소거능이 가장 높아 100 μg/mL의 농도에서도 50% 이상, 1,000 μg/mL에서는 90% 이상으로 활성이 높았다. 여타 추출물은 ethyl acetate 추출물보다 아질산염 소거작용이 낮아 chloroform 추출물이 500 μg/mL 농도에서 52.6±0.95%로 50% 이상의 활성을 보였으며 water 추출물은 1,000 μg/mL 의 농도에서도 40.9±0.35%로 시료 중 아질산염 소거작용이 가장 낮았다. 이러한 경향은 pH 4.2에서도 유사하여 ethyl

acetate 추출물의 경우 33.2±0.12~62.3±0.31%로 유의적으로 높은 소거능을 보였고 다음으로는 butanol 추출물에서 30.7±0.23~57.8±0.52%였으며 그 외에 추출물은 40% 미만의 소거작용을 보였다. Lee 등(26)이 보고한 올리브 잎의 6가지 용매 분획물이 500 µg/mL에서 13~18%의 아질산염 소거작용을 나타낸 결과에 비해 머루 과피 용매추출물의 아질산염 소거작용은 상당히 우수한 것으로 나타났다. 이상의결과를 종합해 보면 총 페놀 화합물의 함량이 높을수록, pH가 낮을수록 아질산염 소거작용이 뛰어나다는 Lee 등(27)과 Kim 등(28)의 보고와 일치하였다. 따라서 머루 과피 용매추출물은 아질산염과 아민이 존재할 수 있는 생체 식품 및 가공식품과 함께 섭취하면 생체 내에서 nitrosamine에 의한암 발생을 예방하는데 도움을 줄 것으로 생각된다.

요 약

머루 과피 용매추출물의 전자공여 작용, 환원력, SOD 유 사활성, TBARS 및 아질산염 소거작용을 측정하여 항산화 기능을 규명하고자 하였다. 총 페놀과 플라보노이드 함량이 가장 높은 ethyl acetate 추출물의 경우 전자공여 작용도 100 ▶g/mL 농도에서 79.2±0.06%로 BHT(74.1±0.15%)보다 더 활성이 높았고, 추출물의 농도에 비례하여 전자공여 작용과 환원력은 유의적으로 증가하였다. SOD 유사활성은 100 μg/ mL 농도에서 ethyl acetate와 butanol 추출물에서 각각 25.1±0.41%와 20.2±0.13%로 다른 추출물에 비해 높은 활 성을 보였다. FeCl₂와 CuSO₄에 대한 항산화 활성도 추출물 의 농도가 높아짐에 따라 그 활성이 증가하는 경향이었는데, ethyl acetate 추출물은 ascorbic acid보다 항산화 활성이 높 았다. 머루 과피 용매추출물의 아질산염 소거작용은 pH 2.5 에서 ethyl acetate(90.5±0.75%)>butanol(65.9±2.16%)>hexane $(58.1 \pm 1.74\%)$ >chloroform $(55.4 \pm 1.02\%)$ >water $(40.9 \pm 1.02\%)$ 0.35%) 추출물의 순으로 소거작용이 높았다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 머루 과피의 항산화 활성은 ethyl acetate 추출물에서 가장 우수하였다.

^{A-E}Each value with different superscripts within a same concentration was significantly difference at p<0.05.

문 헌

- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. Free Radic Biol Med 20: 933-956.
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean J Food Sci Technol 37: 233-240.
- Husain SR, Gillard J, Cullard P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochem* 26: 2489– 2491.
- Takahara U. 1985. Inhibition of lipoxygenase-dependent lipid peroxidation by quercetin. *Phytochem* 24: 1443–1446.
- Cheon KB. 1999. Screening of antioxidant from Vitis Coignetae, Vitis Vinifera L. and comparition of its antioxidant activity. MS Thesis. Kon-Kuk Univ, Seoul.
- 6. Jiangsu New Medical College. 1977. Dictionary of Chinese traditional medicine. Shanghai. p 2315–2318.
- Kai SH, Mao L, Lin NY, Man K. 2000. Four novel oligostilbenes from the root of *Vitis amurensis*. *Tetrahedron* 56: 1321–1329
- Hur SK, Kim SS, Heo YH, Ah SM, Lee BG, Lee SK. 2001. Effects of the grapevine shoot extract on free radical scavenging activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in RAW264.7 macrophage. *J Applied Pharmacology* 9: 188–193.
- Joseph K, Edwin F, Rina G, Bruce G, John EK. 1994.
 Natural antioxidants in grape and wine. J Agric Food Chem 42: 64-69.
- Jung HK. 2004. Investigation of the physiological activity of grapes and development of the functional processed food by use of grapes containing antioxidant ingredients. The Ministry of Agriculture and Forestry (201016–3). p 139.
- Kim SK. 1996. Deacidification of new wild grape wine. Korean J Food Nutr 9: 265–270.
- 12. Kim SY, Kim SK. 1997. Winemaking from new wild grape. Korean J Food Nutr 10: 254–262.
- Gutifinger T. 1958. Polyphenols in olive oil. J Am Oil Chem Soc 58: 966-968.
- Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000.
 Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. J Enthropharmacology

- 71: 109-114.
- Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean Food Sci Technol 28: 232–239.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr* 44: 307–315.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Improvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 47: 468-474.
- Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol 52: 302–310.
- Kato H, Lee IE, Chyen N, Kim SB, Hayase F. 1987.
 Uninhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric Bio Chem 51: 1333-1338.
- Kim YK, Lee HY, Oh DH. 2004. Changes in antioxidative activity and total polyphenols of crude and defatted grape seed extract by extraction condition and storage. *Korean J Food Preservation* 11: 455–460.
- 21. Negro C, Tommasi L, Miceli A. 2003. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology* 87: 41–44.
- 22. Park SJ, Lee HY, Oh DH. 2003. Free radical scavenging of seed and skin extracts from Campbell Early grape (Vitis Labruscana B.). J Korean Soc Food Sci Nutr 32: 115–118.
- Park BJ, Oh DH. 2003. Free radical scavenging effect of seed and skin extracts of Black Olympia grape (Vitis labruscana L.). Korean J Food Sci Technol 35: 121-124.
- Chung IM, Kim KH, Ahn JK. 1998. Screening of Korean medicinal and food plants with antioxidant activity. Korean J Med Corp Sci 6: 311–322.
- 25. Minotti G, Aust SD. 1992. Redox cycling of iron and lipid peroxidation. *Lipids* 27: 219-221.
- Lee OH, Lee HB, Son JY. 2004. Antimicrobial activities and nitrite scavenging ability of olive leaf fractions. Korean J Soc Food Cookery Sci 20: 204–210.
- 27. Lee GD, Chang HG, Kim HK. 1997. Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J Food Sci Technol* 29: 432–436.
- Kim SM, Kim KH, Ahn JK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extract. Korean J Food Sci Technol 33: 623–632.

(2006년 7월 4일 접수; 2006년 10월 2일 채택)