

추출조건에 따른 진달래 화분의 이화학적 특성

박난영¹ · 정용진² · 우상철[†]

[†]대구보건대학 소방안전관리과, ¹(주)계명푸드텍스, ²계명대학교 식품가공학과

Extraction Conditions for *Rhododendron mucronulatum* Pollen

Nan-Young Park, Yong-Jin Jeong² and Sang-Chul Woo[†]

Department of Fire Safety Management, Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea

¹Keimyung Foodex Co. Ltd., Daegu 702-701, Korea

²Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

The physicochemical properties of *Rhododendron mucronulatum* pollens were examined after the use of various extraction conditions. The levels of phenolic compounds and electron donating abilities (DPPH) were better after 80% (v/v) ethanol extraction than after water extraction. The content of phenolic compounds and the DPPH were high when the solvent ratio was 20X. The content of phenolic compounds was highest at 45°C (347.60 mg/100 g). The DPPH was highest, at 67.93%, when extraction was performed at 25°C. An extraction time of 6 hr yielded the highest content of phenolic compounds (312.63 mg/100 g). The DPPH did not vary with extraction time. Both the levels of phenolic compounds and DPPH values rose when extractions were performed twice. In summary, a solvent ratio of 20X, an extraction temperature of 25 - 45°C, double extraction, and an extraction time of 6 h are optimal for extraction, with maximal DPPH and phenolic content, of *Jindalrae* pollens.

Key words : *Jindalrae* pollen, total phenol, electron donating ability

서 론

1)

진달래(*Rhododendron mucronulatum* T.)는 철쭉과에 속하는 낙엽 활엽 관목으로 우리나라 전국에 야생하며 꽃은 옅은 홍색으로 4월에 잎보다 먼저 피는 한국을 대표하는 야생화이다(1). 진달래꽃은 화전을 만들어 먹거나 진달래술(두견주)을 담그기도 하고 한방에서는 꽃을 영산홍이라 하고, 약재로 쓰는데 해수, 기관지염, 감기로 인한 두통에 효과가 있고 강장, 이뇨 작용이 있다고 알려져 있다(2). 최근 웰빙(well-being) 열풍으로 식품 산업에서 합성 향산화제의 첨가는 매우 효과적이었음에도 불구하고 건강에 대한 소비자들의 인식 전환과 합성 향산화제의 독성에 대한 법적 규제가 점점 강해지면서 천연 향산화제의 상업적 이용에 대한 연구가 보다 활발히 이루어지고 있다. 최근 식물의

화분은 기능성 소재로 많이 이용되고 있으며(3), 동의보감 등의 한방과 임상 시험에서도 영양효과, 신경장애, 정장작용, 동맥경화증, 성인병 등에 대한 예방과 개선 등의 효과가 높아 그 생리학적 가치가 매우 높은 것으로 평가되고 있다(4-7). 또한 건강보조식품의 소재로서 체력증강, 피부노화 방지, 순환기 계통의 강화, 내분비기능의 정상화, 소화촉진, 스트레스 완화 및 면역기능 향상에 효과가 있다고 알려져 있다(8). 화분의 주요 구성성분으로는 탄수화물 50%, 단백질 20%, 지방 10%, 무기질 2%, 비타민 B₂와 효소, 식품호르몬, 항생물질 등으로 구성되어 있으나 화분은 종류 및 환경에 따라 각각 성분들의 양은 많이 달라질 수 있으며(9), 진달래꽃의 성분에 관한 연구로 Wada(10)는 메탄올 추출물에서 azalein과 배당체 1종을 처음 분리하였고, Lu 등(11)은 진달래속 식물의 정유성분에 관하여 보고한 바 있으며, Park 등(12)은 진달래꽃 추출물의 항산화 효과 및 인체 KB cell에 대한 세포독성에 대한 결과를 보고하였다. 생체에

[†]Corresponding author. E-mail : wsc@mail.thc.ac.kr,
Phone : 82-53-320-1431, Fax : 82-53-320-1439

치명적인 산소독성을 일으키는 활성산소는 세포구성 성분 들인 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역 적 파괴작용을 함으로써 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨씨 병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 자기면역질환 등의 각종 질병 및 노화를 일으키는 것으로 알려져 있다(13). 이 때 항산화 성 물질은 식품의 산화를 방지할 뿐 아니라, 유리 라디칼 (free radical)에 의한 생체산화를 방지함으로써 여러 가지 질병을 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다(14). 진달래는 전통적인 허브소재로 주류, 떡 등에 널리 이용할 때 화분을 제거한 꽃잎만 사용하고 있어 기능성이 배제되어 사용되어 왔다. 이러한 진달래 화분의 기능성 또는 유해성에 관한 연구를 위하여 추출조건의 설정이 매우 중요하다고 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 진달래 화분을 이용한 다양한 연구 를 위한 기초 연구로써 추출 조건에 따른 기능적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 진달래(Korean azalea flower)는 2005년 5월 경북 영천시에서 채취하여 음건한 후 꽃잎을 제거하고 밀봉하여 실온에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

일반성분 분석

일반성분 분석은 진달래에서 꽃잎을 떼어내고 화분만 분리시켜 80 mesh 이하로 분쇄하여 화분분말 자체로 수분 함량은 105℃ 상압가열건조법(15), 조단백 함량은 Kjeldahl 법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법 그리고 조회분은 550℃ 직접 회화법으로 분석하였다.

총 페놀성 화합물 함량 측정

진달래꽃 화분 추출액의 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법(16)에 준하여 비색 정량하였다. 즉, 추출액 2 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 2 mL를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 2 mL를 첨가한 후 실온에서 1시간 방치 한 후 UV-visible spectrophotometer(UV-1601, shimadzu, Japan) 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 tannic acid 를 표준물질로 사용하여 상기의 방법으로 작성한 표준곡선 으로부터 환산하였다.

전자공여능 측정

시험용액의 전자공여능(Electron donating ability, EDA) 측정은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH)을 사용한 방 법(17)에 준하였다. 즉, DPPH 12 mg을 absolute ethanol 100

mL에 용해한 후 50% ethanol로 DPPH 용액의 흡광도를 약 1.0이 되도록 조정하였다. 추출액 1 mL를 시험관에 가하 고 DPPH 용액 4 mL를 혼합하여 30초간 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 아래의 식으로부터 시 료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시 하여 전자공여능으로 하였다.

$$EDA(\%) = (1 - \frac{A_s}{A_c}) \times 100$$

A_s : 시료 첨가구의 흡광도

A_c : 시료 무첨가구의 흡광도

추출조건 설정 시험

분쇄하여 보관한 진달래 화분 2.5 g에 10배, 20배량의 증류수(w/v)와 80% 에탄올(w/v)을 가하여 추출온도 25℃, 45℃, 95℃에서 각각 0, 3, 6, 9, 12시간 추출한 후 여과지 (Whatman No. 5)로 여과하여 시료로 분석시료로 사용하 였다.

추출횟수에 따른 영향

진달래 화분 2.5 g에 상기에서 추출한 적정 용매양과 추출온도에서 적정시간 추출한 후 설정된 조건에서 1~5회 반복 추출·여과하여 여액을 분석하였다.

결과 및 고찰

일반성분

진달래꽃 화분의 일반성분을 분석한 결과 Table 1과 같이 수분함량은 12.02%로 나타났으며, 조지방, 조회분과 조단 백은 각각 4.05%, 5.31%, 10.82%로 나타났다. Lee 등(18)에 따르면 장미의 일반성분은 수분 함량 7.90%이며, 조단백 함량은 12.97%, 조지방 함량은 11.07%, 회분 함량은 4.70% 으로 나타났다. 수분 함량과 조회분은 진달래 화분 분말이 높았으며, 조단백과 조지방의 함량은 진달래꽃 화분이 장 미보다 조금 낮은 함량을 나타내었다.

Table 1. Proximate composition of *Rhododendron mucronulatum* pollen

(unit : %)				
Proximate composition	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude ash
Content	12.02±0.05 ¹⁾	10.82±0.14	4.05±0.02	5.31±0.01

¹⁾Mean of triplicates ± s.d.

추출조건 설정

진달래 화분을 물과 80% 에탄올로 각각 추출하여 항산화능을 측정된 결과 Table 2와 같이 나타내었다. 총 페놀성 화합물의 경우 물 추출액 363.13 mg%, 80% 에탄올 추출액 560.07 mg%로 80% 에탄올 추출액에서 높은 함량을 나타내었고, DPPH에 의한 전자공여능도 물 추출액보다 80% 에탄올에서 61.53%로 물 추출액보다 1.7배 높은 전자공여활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Choi 등(19)의 보고에서 에탄올은 물과 함께 식품공업에서 다양하게 사용되는 추출용매이며 일부 생약의 에탄올 추출물은 물 추출물보다 높은 기능성을 지니고 다른 용매보다 안정하며, 물 추출물보다는 에탄올 추출물에서 전자공여능이 더 뛰어난 것으로 나타나 본 연구와 일치하는 경향을 나타내었다. 전자공여능은 유리 라디칼에 전자를 공여하여 지질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있다. 즉 항산화 물질은 지질의 산화 과정에서 생성되는 R·, ROO· 등의 유리 라디칼에 전자를 전해주는 역할을 함으로써 산화가 계속되는 것을 방지해 주는 것으로 알려져 있다(20). Kwon 등(21)은 복령을 물 및 에탄올로 각각 추출하고 전자공여능을 측정된 결과 물 추출물보다 에탄올추출물의 활성이 우수하였다고 보고함으로써 본 실험의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

Table 2. Total phenols and electron donating ability of *Rhododendron mucronulatum* pollen extract by solvents

Solvent	Total phenol content (mg%)	Electron donating ability (%)
Water	363.13±5.51 ¹⁾	36.70±0.40
80% ethanol	560.07±2.89	61.53±0.15

¹⁾Mean of triplicates ± s.d.

진달래 화분 분말의 용매비에 따른 영향은 80% 에탄올에 각각 10배, 20배의 용매비로 추출한 결과, 총 페놀성 화합물은 20배 추출액보다 10배 추출액에서 560.07 mg%로 높은 함량을 나타내었으나, 단위당 페놀성 함량이 20배 추출액이 높은 것으로 나타났다(Table 3). 전자공여능은 20배 추출액에서 67.93%로 10배 추출액 보다 더 높은 전자공여능을 나타내었다.

Table 3. Total phenols and electron donating ability of *Rhododendron mucronulatum* pollen extract by solvent ratio

Solvent ratio	Total phenol content (mg%)	Electron donating ability (%)
1 : 10	560.07±2.89 ¹⁾	61.53±0.15
1 : 20	328.53±2.38	67.93±0.06

¹⁾Mean of triplicates ± S.D.

진달래 화분 분말의 추출온도에 따른 영향은 20배량의 80% 에탄올로 25, 45 및 95°C에서 각각 추출한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 총 페놀성 화합물은 25°C 추출물이 328.53 mg%, 45°C 추출물 347.60 mg%, 95°C 추출물 322.77 mg%로 45°C에서 추출한 추출물이 가장 높은 함량을 나타내었다. 이는 에탄올은 끓는점이 낮아 페놀성 물질의 경우 열변성을 일으켜 페놀성 화합물 함량이 95°C에서 감소되었다고 생각된다. DPPH에 의한 전자공여능은 25°C 추출물 67.93%, 45°C추출물 61.27%, 95°C추출물 53.73%로 실온(25°C)에서 추출한 추출물이 가장 높은 전자공여활성을 나타내었다.

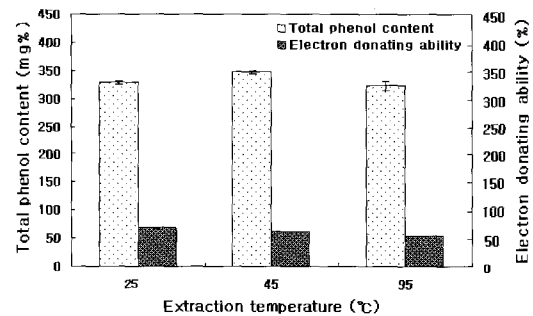


Fig. 1. Total phenols and electron donating ability of *Rhododendron mucronulatum* pollen extract by various temperature.

진달래 화분 분말을 추출시간별로 추출한 결과 페놀성 화합물은 6시간까지 312.63 mg%로 계속 증가하다가 그 이후로 줄어드는 경향을 보였다(Fig. 2). 이러한 현상은 Kim 등(20)이 보고한 페놀성 물질은 그 구조가 대부분 불안정하여 지속적인 추출로 인하여 물리적 열변성을 일으켜 불용성 물질로 변성되거나, 단백질이나 기타 고분자 화합물과 결합하여 침전되었다는 결과와 유사하였으며, 또한 여과과정에서 일부 침전 잔사로 제거된 것으로도 추정된다. DPPH에 의한 전자공여능은 추출시간에 따른 큰 차이는 없었으나, 즉시 추출한 추출물이 89.91%로 가장 높은 전자공여능을 나타내었다.

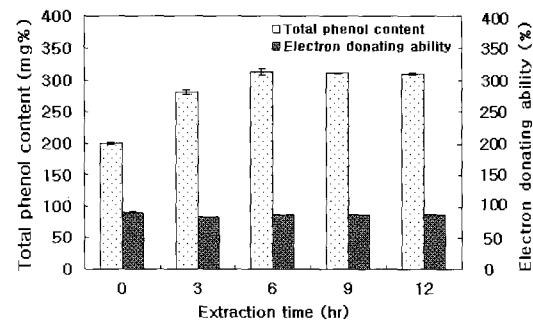


Fig. 2. Total phenols and electron donating ability of *Rhododendron mucronulatum* pollen by extraction time.

진달래 화분 분말의 추출횟수에 따른 영향은 80% 에탄올로 6시간씩 5회 추출한 결과, 페놀성 화합물은 1회 추출액에서 291.40 mg%로 가장 높게 나타났으며, 이는 단위당 추출횟수에 따른 페놀성 화합물도 1회 추출이 가장 높은 것으로 나타났다. 1회 이후로 점차 감소하여 5회 추출액에서는 10.57 mg%로 페놀성 화합물의 추출량이 줄어드는 것으로 나타났다(Fig. 3). DPPH에 의한 전자공여능은 페놀성 화합물과는 달리 1회 추출액에서보다 2회 추출액에서 90.37%로 가장 높게 나타났으며, 2회 추출 이후부터 점차 감소하는 것으로 나타났다. Kim 등(20)에 따르면 계피추출액의 경우 1시간씩 수회 추출한 경우 3회가 우수한 것으로 나타났으며, 본 실험의 결과에서 추출횟수에 따른 경우 3회가 항산화성이 우수한 것으로 나타났다.

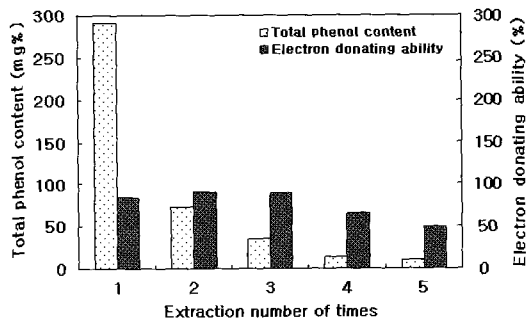


Fig. 3. Total phenols and electron donating ability of *Rhododendron mucronulatum* pollen by extraction number of time.

요 약

진달래 화분의 다양한 이용성과 기능성에 관한 연구를 위한 기초연구의 일환으로 추출조건별 이화학적 특성을 조사하였다. 페놀성 화합물과 DPPH에 의한 전자공여능은 물보다 80%에탄올이 우수하였으며, 용매비에 따른 페놀성 화합물과 전자공여능은 용매비가 20배에서 높은 것으로 나타났다. 추출온도에 따른 페놀성 화합물은 45℃에서 347.60 mg%로 높게 나왔으며, 전자공여능은 25℃에서 67.93%로 높게 나타났다. 추출시간에 따른 페놀성 화합물의 추출물은 6시간동안 추출한 추출물이 312.63 mg%로 가장 높았으며, 전자공여능은 추출시간에 따라 크게 차이가 나지 않았으나, 바로 추출하였을 때 가장 높게 나타났다. 추출 횟수에 따른 페놀성 화합물의 단위당 추출물과 전자공여능은 2회 추출이 높은 것으로 나타났다. 따라서 진달래 화분의 추출물은 페놀성 화합물과 DPPH에 의한 전자공여활성은 용매비 20배, 추출온도 25~45℃, 추출횟수 2회, 추출시간 6시간에서 전반적으로 우수한 것으로 나타났다.

참고문헌

1. 육창수 (1990) 원색 한국 약용식물 도감. 도서출판 아카데미서적. 서울. p.418
2. Chung, T.Y., Kim, M.A. and Daniel, J. (1996) Antioxidative activity of phenolic acids isolated from *Jindalrae* Flowers(*Rhododendron mucronulatum* Turcz.). *Agric. Chem. Biotechnol.*, 39, 320-326
3. Tyler, V.E., Brady, L.R., Robbers, J.E. (1986) "Pharmacognosy", Lee and Febiger, Philadelphia, 8th edition, 426-448
4. Kim, H.J., Lee, K.H., Kim, E.S. and Park, S.B. (1992) A study on components pollen load. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21, 566-572
5. An, B.J., Lee, C.E., Son, J.H., Lee, J.Y., Choi, G.H. and Park, T.S. (2005) Antioxidant, anticancer and tyrosinase inhibition activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* T. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 48, 280-284
6. McGraw-Hill Inc. (1977) Pollen. In McGraw-Hill Encyclopedia of science and Technology, McGraw-Hill Inc. p.529
7. 최승윤 (1995) 양봉학, 집현사. 서울, p.324
8. Lew, Y.S. (1998) A review on the efficacy of natural pollen described in an orient medical handbook "Gong-Eui-Pogam", *Korean J. Apic.* 39, 26-47
9. Kim, J.G. and Son, J.H. (1998) Progress of chemical composition on pulverization of pollen loads. *Korean J. Apic.* 5, 23-30
10. 채영복, 김완주, 지옥표, 안미자, 노영주 (1988) 한국유용식물자원 연구총람, 한국화학연구소, p.794
11. Lu, Y. and Xind, J. (1982) *Chemical Abstract* 97, 159557
12. Park, S.W., Kim, S.G. and Kim, M.J. (2006) Antioxidative activity and cytotoxicity on human KB cell of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flower. *Korean J. Food Preserv.*, 13, 501-505
13. Park, S.W. (2000) Isolation and characterizations of antioxidative flavone glycosides from *Humulus japonicus*. Ph. D. Thesis, Kyungpook University. Daegu, Korea.
14. An, B.J., Lee, C.E., Son, J.H., Lee, J.Y., Choi, G.H. and Park, T.S. (2005) Antioxidant, Anticancer and tyrosinase inhibition activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* T. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 48, 280-284
15. A.O.A.C. (1990) Official methods of analysis. 15th Edition, 1, 9
16. Amerine, M.A. and Ough, C.S. (1980) Methods for

- analysis of musts and wine. John Wiley & Sons Co., New York, USA, p.177.
17. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 4617, 1198-1199.
 18. Lee, H.R., Lee, J.M., Choi, N.S. and Lee, J.M. (2003) The antioxidative and antimicrobial ability of ethanol extracts from *Rosa hybrida*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 35, 374-375
 19. Choi, U., Shin, D.H., Chang, Y.S. and Shin, J.I. (1992) Screening of natural antioxidant from plant and their solvents and some extraction condition on antioxidant activity in cinnamon extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25, 204-209
 20. Kim, N.M., Sung, H.S. and Kim, W.J. (1993) Effect of solvents and some extraction condition on antioxidant activity in cinnamon extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25, 204-209

(접수 2006년 10월 30일, 채택 2007년 1월 26일)