J Korean Soc Food Sci Nutr
37(12), 1535~1541(2008)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2008.37.12.1535

하고초 메탄올 추출물의 항산화 활성

이수정[1] · 성낙주[1] · 정혜광[2] · 신정혜[3] · 정영철[4] · 서종권[4†]

[1]경상대학교 식품영양학과 · 농업생명과학연구원, [2]조선대학교 약학대학
[3]경남도립남해대학 호텔조리제빵과, [4]한국국제대학교 식품과학부

Antioxidant Activities of Methanol Extracts from *Prunella vulgaris*

Soo Jung Lee[1], Nak Ju Sung[1], Hey Gwang Jeong[2], Jung Hye Shin[3], Young Chul Chung[4], and Jong Kwon Seo[4†]

[1]Dept. of Food Science and Nutrition, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea
[2]Dept. of Pharmacy, College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea
[3]Dept. of Hotel Culinary Arts & Bakery, Gyeongnam Provincial Namhae College, Gyeongnam 668-801, Korea
[4]Division of Food Science, International University of Korea, Gyeongnam 663-759, Korea

Abstract

The aim of the present study was to investigate the antioxidant activities of methanol extracts from whole plant, flower stalk and stem of Hagocho (*Prunella vulgaris*). Content of total phenolic compound was the highest in flower stalk (77.1 mg/100 g) and those of others were below 54.0 mg/100 g. Flavonoid contents was the highest in stem (36.1 mg/100 g) compared to other samples. Electron donating ability of *Prunella vulgaris* was activated at over 70% in all samples at 500 μg/mL concentration, especially, the activity was the highest (92.1%) in flower stalk extracts. Reducing power showed similar tendency to electron donating ability, which was significantly higher flower stalk (0.3~1.9), whole plant (0.2~1.6) and stem (0.2~1.5). Hydroxyl radical was scavenged over 80% in 100 μg/mL concentration and was not significantly different between parts. Antioxidant activity in β-carotene-linoleic acid system was 47.5~84.6% when 1,000 μg/mL methanol extracts was added to reaction mixtures, and flower stalk showed the highest activity. Ability of ABTs cation decolorization from *Prunella vulgaris* was activated over 50% in all samples when 250 μg/mL of methanol extracts was added to reaction mixtures and 500 μg/mL were the most suitable concentration for its activation. Nitric oxide scavenging activity was lower under 20%, but its activity was significantly higher in flower stalk than other parts. The results indicate that flower stalk from *Prunella vulgaris* has potent antioxidant activities.

Key words: Hagocho (*Prunella vulgaris*), antioxidant activities

서 론

생활수준의 향상으로 평균수명이 연장됨에 따라 성인병의 발병이 증가되고 있는데, 성인병은 영양소의 과다섭취, 스트레스, 흡연 및 음주 등에 의해 생체 내 정상적인 세포대사 과정에서 생성되는 활성산소 및 유리라디칼이 세포막의 손상, 지질 산화, 단백질 분해 등을 초래함으로써 발병하게 된다(1). 활성산소 및 유리라디칼은 노화 촉진과도 관련성이 높아, 최근에는 생체 내 항산화 효소 체계를 증강시킬 수 있으며 인체에 무해한 항산화제를 천연식물류로부터 얻고자 하는 시도가 여러 각도에서 수행되고 있다(2). 이미 알려져 있는 항산화성 물질에는 BHA나 BHT 등의 합성 항산화제와 폴리페놀, 플라보노이드 카로티노이드, 아스코르브산, 토코페롤, 인지질 등의 천연 항산화제가 있으나(3) 보다 안전하고 생체 방어 시스템을 증가시킬 수 있는 강한 항산화제에 대한 요구는 날로 증가되고 있는 경향이다.

하고초(*Prunella vulgaris*)는 꿀풀과(*Labiatae*)에 속하며 위쪽으로 화관이 남아 있고, 꽃받침 속에 4분과가 있는 다년생 초본으로 한방에서는 지상부의 전초 말린 것을 하고초라고 부르며, 청간, 이뇨, 소염, 해열 및 혈압강하 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다(4). 하고초 전초에는 ursolic acid (4), caffeic acid, 카로티노이드, 타닌, 유기산 등이 함유되어 있으며(5), 꽃으로부터 saponin, triterpene, 플라보노이드류, streol 및 지방산 등이 보고된 바 있다(6). 생리활성 면에서는 전초의 물추출물로부터 human immunodeficiency virus type-1 억제활성(7), 항알레르기 활성(8) 및 항산화 활성(9)

†Corresponding author. E-mail: sjk9115@hanmail.net
Phone: 82-55-751-8281, Fax: 82-55-751-8100

이 보고되어 있다.

과거로부터 민간 및 한방에서 사용되어 오던 식물류는 생체 내에서 다양한 생리활성 기능을 가지는데 그 활성은 동일 식물이라도 이용 부위에 따라 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다. 그 예로서 백합의 부위별 활성 측정 결과 페놀함량이 높은 잎과 꽃에서 항산화 및 항균 활성이 높았으며(10), 홍화는 꽃잎>새싹>씨의 순서로 항산화능이 우수한 것으로 보고되어 있다(11). 따라서 본 연구에서는 민간에서 약용으로 사용되어온 하고초를 채취하여 지상부를 전초, 꽃대 및 줄기로 구분하여 부위에 따른 생리활성 효능을 측정함으로써 하고초를 이용한 2차 가공 상품을 개발함에 있어 부위별 사용 효율의 증대 및 기능성 향상 방안 모색을 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 추출

하고초(*Prunella vulgaris*)는 경남 함양군 하고초꿀 영농조합으로부터 2007년 6월에 재배하여 채취된 것을 제공받았으며, 뿌리를 제외한 지상부 전체를 '전초'로 하였다. 꽃대는 꽃을 포함한 전초의 상층 부분을 사용하였고, 그 아래 부분을 '줄기'로 하였다. 전초, 꽃대 및 줄기를 각각 열풍 건조시킨 다음 거칠게 마쇄시킨 후 시료 중량에 대해 10배의 메탄올을 가하여 60°C의 수욕 상에서 3시간 동안 환류냉각하면서 2회 반복 추출하였다. 추출된 시료는 여과 후 60°C에서 감압 농축하여 완전 건고시킨 다음 건조물의 무게를 측정하였고, 이를 -20°C에서 냉동 보관해 두고 실험 직전에 메탄올로 일정농도로 조절하여 실험에 사용하였다. 추출수율은 추출 전 하고초 생시료에 대한 추출물의 완전건고 후 무게백분율로 계산하였다.

하고초 추출물의 pH 및 갈색도 측정

하고초 메탄올 추출물을 250 μg/mL 및 1,000 μg/mL의 농도로 조정한 다음 pH 및 갈색도를 측정하였다. pH는 pH meter(410, Thermo Orion, USA)로 측정하였으며, 갈색도는 UV spectrophotometer(Optizen 2120UV, Mecasys Co., Ltd., Korea)로 280 nm와 420 nm에서 각각 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다(12).

총 페놀 및 플라보노이드 정량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(13)에 따라 각 추출물 1 mL에 Foline-Ciocalteau 시약 및 10% Na_2CO_3용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 caffeic acid(Sigma Co., USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량은 Moreno 등(14)의 방법에 따라 추출물 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 및 1 M potassium acetate 각 0.1 mL, ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma Co., USA)을 표준물질로 하여 얻은 검량선으로부터 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 Blois(15)의 방법에 따라 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여능으로 시료의 환원력을 측정하였다. 즉 일정농도의 시료 추출물 2 mL에 10 mg/100 mL의 DPPH 용액 2 mL를 가하여 상온에서 10초간 진탕 교반한 후 20분간 반응시켜 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

환원력 측정

Oyaizu(16)의 방법에 따라 시료액 1 mL에 인산 완충액(200 mM, pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕 상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA용액을 1 mL 가하여 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 얻은 상징액 1 mL에 증류수 및 ferric chloride 각 1 mL를 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거능 측정

Gutteridge(17)의 방법에 따라 1 mM $FeSO_4$/EDTA 용액, 10 mM 2-deoxyribose 및 시료액을 각 0.2 mL씩 혼합하고 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL 및 10 mM H_2O_2 0.2 mL를 차례로 가한 다음 37°C에서 1시간 반응시킨 후 2.8% TCA용액 1 mL로 반응을 정지시키고 95°C의 수욕 상에서 10분간 정치하여 급냉한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 hydroxyl radical 소거능은 시료 첨가 전후의 흡광도 비로부터 산출하였다.

β-carotene-linoleic acid계에서 항산화능 측정

1 mg의 β-carotene을 2 mL의 chloroform으로 용해한 후 10 μL의 linoleic acid 및 400 mg의 Tween 40을 첨가하여 진탕한 다음 회전식 진공증발기에서 chloroform을 제거하고 증류수로 100 mL로 정용한 것을 기질액으로 사용하였다. 기질액 2.5 mL에 시료액 0.5 mL를 가하여 50°C 수욕 상에서 1시간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며(18), 시료의 항산화능은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도비로 산출하였다.

ABTs 라디칼 소거능 측정

ABTs 라디칼 소거능 측정은 Re 등(19)의 방법에 따라 7 mM ABTs 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시켰다. 이를 414 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정한 후 3 mL를 취하여 시료액 1 mL를 가하여 실온에서 10분간

반응시켜 414 nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

Nitric oxide 소거능 측정

Nitric oxide 소거능은 Song과 Moon(20)의 방법에 따라 시료액 0.5 mL에 10 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 mL를 가하여 상온에서 150분간 반응시켰다. 여기에 1 mL의 Griess reagent를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess reagent는 2% sulfanilamide를 함유하는 4% 인산용액과 0.2% naphthylethyl-enediamide 용액을 사용직전에 1:1(v/v)로 혼합하여 사용하였다. Nitric oxide 소거능은 [1−(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)]×100으로 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Kim 등(21)의 방법에 따라 1 mM $NaNO_2$ 용액 1 mL에 시료액 1 mL를 가하고 0.1 N HCl과 0.2 M 구연산 완충액으로 pH 2.5로 보정한 다음, 완충액을 가하여 총 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 반응액 1 mL를 취하여 2% 초산용액 3 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine=1:1) 0.4 mL를 차례로 가한 후 진탕 혼합하여 실온에서 15분간 정치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염 소거능은 시료 무첨가구에 대한 시료첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

통계처리

각 실험은 5회 이상 반복실험을 통하여 결과를 얻어 SPSS 12.0을 사용하여 통계처리 하였으며, 각각의 시료에 대해 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

추출수율, pH 및 갈색도

하고초 부위별 메탄올 추출물의 추출수율, pH 및 갈색도를 측정한 결과는 Table 1과 같다. 추출수율은 전초에서 5.6%, 꽃대 부위에서 4.1%, 줄기에서 5.5%로 메탄올 추출에 따른 하고초 부위별 수율의 차이는 적었다. 시료의 pH는 7.0~7.4의 범위로 시료 간에 유의차가 있었으나, 모두 중성 pH 범위였다.

Ju 등(22)은 16종의 한약재를 대상으로 물추출물의 수율을 측정한 결과 씨>잎>꽃>줄기의 순으로 수율이 높아, 식물류의 추출 시 시료의 사용부위에 따라 수율이 상이한 것으로 보고한 바 있다.

280 nm에서의 흡광도 값은 항산화성 물질의 용출정도와 방향족화합물의 함량을 추정하기 위해 이용되는데(23,24), 하고초 메탄올 추출물은 부위에 관계없이 모두 0.5로 시료간에 유의적인 차이가 없었다. 420 nm에서의 흡광도 값은 갈색화 반응생성물의 농도를 나타내는 것으로 흡광도 값이 클수록 항산화성 물질이 많은 것으로 추정하는데(23,24), 하고초 부위별 메탄올 추출물의 흡광도 값은 전초 및 줄기에서 1.7이었는데, 꽃대는 0.7로 전초와 줄기에 비해 훨씬 낮은 값을 나타내어 갈색화 물질의 함량이 적은 것으로 추정되었다.

16종의 한약재 물추출물의 흡광도를 측정한 결과 꿀풀에서 2.872로 가장 높았으며, 항산화능도 우수한 것으로 보고되어 있으나(22), 갈색화 반응물의 함량이 많을수록 오히려 항산화능이 감소되었다는 보고도 있다(25).

총 페놀화합물 및 플라보노이드 함량

총 페놀화합물 및 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 총 페놀화합물의 함량은 꽃대에서 77.1 mg/100 g으로 다른 부위에 비해 유의적으로 높았으며, 전초와 줄기는 각각 53.9 mg/100 g 및 53.6 mg/100 g으로 함량 차이가 없었다. 플라보노이드는 줄기와 꽃대에서 각각 36.1 mg/100 g과 34.5 mg/100 g으로 정량되어 줄기와 꽃대간의 유의차는 없었다. 반면에 전초는 31.1 mg/100 g으로 꽃대와 줄기에 비해서 낮은 함량이었다. 플라보노이드에 대한 페놀화합물의 함량 비는 꽃대가 약 2.2, 전초와 줄기는 각각 1.7 및 1.5 정도로 페놀화합물의 함량이 더 많은 것으로 나타났다.

한약재 물추출물의 총 페놀화합물과 플라보노이드 함량을 분석한 결과 대부분의 시료에서 총 페놀화합물의 함량이 더 높았으며, 특히 꽃과 잎 부위를 사용한 한약재는 뿌리나 줄기를 사용하는 한약재보다 페놀화합물의 함량이 다소 높은 것으로 보고되어 있다(22). 또한 약용식물의 물추출물에서는 페놀 함량이 플라보노이드보다 높으며, 그 차이가 클수록 항산화능이 높은데, 이는 페놀화합물이 항산화능에 크게 관여하기 때문이라고 알려져 있다(26).

전자공여능

하고초 메탄올 추출물을 100~1,000 μg/mL의 농도로 조

Table 1. Extraction yield, pH and absorbance value of *Prunella vulgaris*

Sample	Effective part (plant parts used)	Yield (%)	pH[1)]	Absorbance at 280 nm[2)]	Absorbance at 420 nm[1)]
Whole[3)]	Total parts	5.6	7.4 ± 0.03^{C}	0.5 ± 0.00^{NS}	1.7 ± 0.00^{B}
Flower stalk	Upper part	4.1	7.0 ± 0.02^{A}	0.5 ± 0.01	0.7 ± 0.01^{A}
Stem	Layer part	5.5	7.1 ± 0.01^{B}	0.5 ± 0.00	1.7 ± 0.00^{B}

[1)]Sample concentration is 1,000 μg/mL. [2)]Sample concentration is 250 μg/mL. [3)]Whole: Flower stalk+Stem.
[A–C]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$. [NS]Not significant.

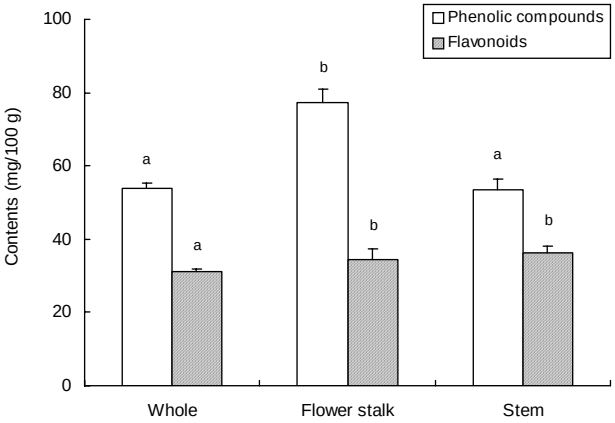

Fig. 1. Total phenolic compounds and flavonoid contents of *Prunella vulgaris*. Whole: Flower stalk+Stem. [a,b]Means with different superscripts in the same experiment are significantly different at $p<0.05$.

Table 2. Electron donating ability of methanol extracts from *Prunella vulgaris* (%)

Samples	Sample concentration (μg/mL)			
	100	250	500	1000
Whole[1)]	17.4±1.36^{aA}	44.4±0.16^{bB}	80.6±0.57^{cB}	89.9±0.08^{dA}
Flower stalk	21.9±0.96^{aB}	52.9±1.07^{bC}	86.9±0.26^{cC}	92.1±0.17^{dC}
Stem	16.6±1.30^{aA}	37.3±1.86^{bA}	73.1±0.28^{cA}	90.7±0.47^{dB}

[1)]Whole: Flower stalk+Stem.
[a–d]Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
[A–C]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

정하여 전자공여능을 측정한 결과는 Table 2에 나타낸 바와 같이 전초, 꽃대 및 줄기 모두에서 농도 의존적으로 활성이 증가하는 경향이었다. 100 μg/mL 첨가 시에는 16.6~21.9%의 범위로 활성이 낮았으나, 500 μg/mL 첨가 시에는 70% 이상, 1,000 μg/mL 첨가 시에는 89.9~92.1%의 범위로 활성이 높아졌으며, 모든 농도에서 꽃대가 가장 활성이 높았다. 이는 시료 중의 총 페놀화합물 함량에 기인된 것으로 생각되는데, 모과 에탄올 추출물의 항산화능을 측정한 연구에서 페놀 함량이 높은 용매 분획물에서 전자공여능도 우수하였다는 Lee 등(27)의 보고와도 잘 일치하였다.

식물체는 그 사용 부위에 따라 전자공여능에 차이를 보이는데, 줄기껍질>잎>열매>뿌리 순으로 껍질이나 잎에서 높으며 이는 식물체내의 페놀화합물 및 플라보노이드 함량에 의존적이라는 보고가 있다(28). 또한 백합의 부위별 전자공여능은 잎>꽃>구근의 순으로 페놀화합물의 함량에 비례적이며, 참나리는 꽃>잎>구근의 순으로 전자공여능이 높았으며 이러한 결과는 플라보노이드 함량에 의존적이라고 보고되어 있는데(11) 이러한 보고들은 본 실험의 결과와도 유사하였다. 반면에 제비꽃 용매별 추출물의 전자공여능은 10.38~21.13%(29), 밤꽃 메탄올 추출물은 17.22%(30)로 시료 중의 페놀화합물 함량과 전자공여능 간에 상관성이 낮았다는 보고도 있다.

Table 3. Reducing power of methanol extracts from *Prunella vulgaris* (absorbance value at 700 nm)

Samples	Sample concentration (μg/mL)			
	100	250	500	1000
Whole[1)]	0.2±0.00^{aA}	0.5±0.01^{bA}	0.9±0.01^{cB}	1.6±0.03^{dB}
Flower stalk	0.3±0.01^{aB}	0.6±0.01^{bB}	1.1±0.02^{cC}	1.9±0.04^{dC}
Stem	0.2±0.00^{aA}	0.5±0.01^{bA}	0.8±0.01^{cA}	1.5±0.02^{dA}

[1)]Whole: Flower stalk+Stem.
[a–d]Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
[A–C]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

환원력

환원력은 Table 3과 같이 전자공여능과 같은 경향으로 시료의 첨가농도가 많아짐에 따라 활성이 증가되었다. 하고초 꽃대는 100~1,000 μg/mL 첨가 시 0.3~1.9, 전초는 0.2~1.6, 줄기는 0.2~1.5의 범위로 꽃대>전초>줄기 순서로 높은 환원력을 나타내었으며, 특히 꽃대에서 유의적으로 활성이 높았다.

한약재 물추출물 중 꿀풀의 환원력이 1,000 μg/mL의 농도에서 1.92로 가장 높았다는 보고(22)는 본 실험과도 잘 일치한 결과였다. 제비꽃 용매별 추출물의 환원력은 1,000 μg/mL의 농도에서 0.101~0.454의 범위로 물추출물에서 가장 높았고 다음으로 메탄올 추출물이었다고 보고되었는데(29), 하고초의 환원력은 제비꽃 추출물에 비해 다소간 높은 것으로 추정되었다.

Hydroxyl radical 소거능

활성산소종 중 지질산화를 일으키는데 중요한 역할을 하는 hydroxyl radical의 소거에 대한 하고초 메탄올 추출물의 영향을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 100 μg/mL 첨가 시에는 80.3~84.9%로 전초에 비해 꽃대와 줄기에서 유의적으로 높았으나 시료의 첨가농도 증가에 따른 활성의 증가폭은 적었으며, 250 μg/mL 첨가 시에는 85.4~86.2%, 1,000 μg/mL 첨가 시에는 87.4~88.8%의 범위로 시료 간에 유의차가 없었다.

백합 에탄올 추출물에서 hydroxyl radical 소거능은 잎>꽃>구근의 순이었으며, 참나리 에탄올 추출물은 구근>꽃>잎의 순으로 꽃의 활성이 다소 높기는 하였으나, 부위별로 큰 차이는 없었다는 보고(11)는, 본 실험과 유사한 결과였다.

β-carotene-linoleic acid계에서 지질과산화 억제능

하고초 메탄올 추출물의 지질과산화 억제능을 β-carotene이 함유된 linoleic acid emulsion계에서 측정한 결과는 Table 5와 같다. 100 μg/mL 첨가 시 지질과산화 억제능은 20.4~25.9%로 꽃대에서 유의적으로 높았으며, 500 μg/mL 첨가 시에는 꽃대에서 67.3%로 전초에 비해 약 1.7배 정도

Table 4. OH radical scavenging ability of methanol extracts from *Prunella vulgaris* (%)

Samples	Sample concentration (μg/mL)			
	100	250	500	1000
Whole[1)]	80.3±1.75^{aA}	85.9±0.36^{bA}	87.5±1.19^{bcA}	88.5±0.85^{cA}
Flower stalk	84.9±0.55^{aB}	85.4±1.02^{abA}	86.9±0.54^{bA}	88.8±1.16^{cA}
Stem	84.6±0.68^{aB}	86.2±0.53^{bA}	86.8±0.24^{bcA}	87.4±0.73^{cA}

[1)]Whole: Flower stalk+Stem.
[a–c]Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
[A,B]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 5. Lipid peroxidation inhibitory effect of methanol extracts from *Prunella vulgaris* in β-carotene-linoleic acid system (%)

Samples	Sample concentration (μg/mL)			
	100	250	500	1000
Whole[1)]	20.4±1.85^{aA}	36.4±1.07^{bA}	38.3±2.83^{bA}	47.5±1.07^{cA}
Flower stalk	25.9±3.21^{aB}	45.7±1.07^{bB}	67.3±5.66^{cC}	84.6±3.86^{dC}
Stem	22.2±1.85^{aAB}	45.1±2.83^{bB}	48.2±0.00^{bB}	77.8±3.71^{cB}

[1)]Whole: Flower stalk+Stem.
[a–d]Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
[A–C]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

더 활성이 높았고, 1,000 μg/mL 첨가 시에도 지질과산화 억제능은 꽃대에서 84.6%로 가장 활성이 높았으나, 전초는 47.5%로 활성이 낮았다.

진달래꽃의 물 및 60% 에탄올 추출물의 지질과산화 억제능은 물 추출물이 다소 높았다고 보고되어 있으며(2), 산사, 두충, 목단피, 오미자 및 마가목 에탄올 추출물은 1,000 μg/mL 첨가 시에 70% 이상의 지질과산화 억제능이 보고된 바 있다(31). 생체 내에서 Fe과 같은 금속류는 과산화수소와 빠르게 반응하여 hydroxyl radical을 형성함으로써 2차 산화가 진행되는데, 세포막의 지질과산화 반응이 radicals에 의해 진행되고 생체 내 DNA의 손상까지 초래한다는 것(31)을 볼 때, hydroxyl radical 소거 및 지질과산화 억제능이 우수한 하고초 꽃대는 2차 산화물의 생성억제제로 유효할 것으로 예상된다.

ABTs 라디칼 소거능

하고초 메탄올 추출물의 ABTs 라디칼 소거능은 Table 6과 같이 250 μg/mL 첨가 시 50% 이상의 활성을 나타내었으며 500 μg/mL 첨가 시에는 88.1~92.3%로 활성이 유의적으로 증가하였다. 그러나 1,000 μg/mL 첨가 시에도 활성은 85.0~91.4%로 500 μg/mL 첨가 시에 비하여 유의적인 차이가 없었으며, 하고초의 부위별 소거능은 전초>꽃대>줄기 순이었다.

진달래꽃의 물 및 60% 에탄올 추출물은 ABTs 라디칼 소거능이 90% 이상으로 높았다고 보고되어 있다(2). 또한

Table 6. ABTs radical scavenging ability of methanol extracts from *Prunella vulgaris* (%)

Samples	Sample concentration (μg/mL)			
	100	250	500	1000
Whole[1)]	28.8±0.70^{aB}	74.3±0.57^{bB}	92.3±0.23^{cC}	91.4±0.76^{cC}
Flower stalk	36.7±0.39^{aC}	75.6±1.62^{bB}	90.6±0.36^{cB}	89.8±0.59^{cB}
Stem	20.0±3.05^{aA}	55.1±2.25^{bA}	88.1±0.97^{cA}	85.0±0.61^{cA}

[1)]Whole: Flower stalk+Stem.
[a–c]Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
[A–C]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

제비꽃 용매별 추출물의 ABTs 라디칼 소거능은 1,000 μg/mL 첨가 시 11.26~43.53%로 아세톤 추출물에서 가장 우수하여 시료의 전자공여능 및 환원력과는 다른 경향을 보이는데, 이는 시료의 항산화능 기작이 상이하기 때문이라고 보고된 바 있다(29). Choi 등(32)은 시판 다류 제품의 열수 추출물에 대한 ABTs 라디칼 소거능 측정결과 시료의 ABTs 라디칼 소거능은 전자공여능과 상관관계가 높으며 그 활성에는 폴리페놀과 비타민 C 이외에 시료 중에 존재하는 다른 항산화성 물질이 기여함을 추정하였는데, 이는 본 실험 결과와도 잘 일치하였다.

Nitric oxide 소거능

Nitric oxide(NO·)는 생체 내에서 NO synthase의 촉매작용에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 반응성이 강한 자유 라디칼로(33), 세포독성이 강하며 다량이 생성될 경우 염증반응, 면역 체계이상 등의 산화반응을 일으키는 것으로 알려져 있다(34).

하고초 메탄올 추출물이 nitric oxide 소거능에 미치는 영향을 비교한 결과 Table 7과 같이 전초, 꽃대 및 줄기는 1,000 μg/mL 첨가 시에도 20% 미만의 소거능을 보여 다른 항산화능 측정 결과에 비해 다소 활성이 낮았다. 반면에 꽃대는 19.7%로 전초 및 줄기에서 각각 14.6% 및 14.9%인 것에 비하면 유의적으로 높았는데, 이러한 현상은 다른 항산화능 측정과도 일치하는 결과였다.

함초는 총 페놀 함량이 높은 추출물에서 nitric oxide 소거

Table 7. NO radical scavenging activity of methanol extracts from *Prunella vulgaris* (%)

Samples	Sample concentration (μg/mL)			
	100	250	500	1000
Whole[1)]	6.3±1.10^{aA}	11.3±2.12^{bAB}	11.8±1.45^{bcA}	14.6±1.70^{cA}
Flower stalk	11.1±2.33^{aB}	14.3±2.12^{aB}	18.3±0.97^{bC}	19.7±1.32^{bB}
Stem	3.5±1.40^{aA}	8.43±1.19^{bA}	14.4±1.16^{cB}	14.9±1.17^{cA}

[1)]Whole: Flower stalk+Stem.
[a–d]Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
[A–C]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

Table 8. Nitrite scavenging activity of methanol extracts from *Prunella vulgaris* in pH 2.5 reaction system (%)

Samples	Sample concentration (μg/mL)			
	100	250	500	1000
Whole[1)]	15.3±2.76^{aA}	19.3±2.52^{bB}	20.0±1.45^{bAB}	21.7±1.07^{bA}
Flower stalk	11.8±1.03^{aA}	13.8±2.34^{abA}	16.1±1.41^{bA}	30.7±1.39^{cB}
Stem	14.7±2.42^{aA}	20.3±1.24^{bB}	21.6±2.85^{bB}	32.5±0.99^{cB}

[1)]Whole: Flower stalk+Stem.
[a-c]Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
[A,B]Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

능이 우수하여 nitric oxide 소거에 페놀화합물이 관여하는 것으로 보고되어 있는데(35), 본 실험결과에서도 페놀화합물의 함량이 높은 꽃대에서 nitric oxide 소거활성이 유의적으로 높았다.

아질산염 소거능

하고초 메탄올 추출물의 아질산염 소거능은 Table 8과 같다. 전초는 250 μg/mL 이상 첨가 시 19.3~21.7%로 시료 첨가량에 따른 아질산염 소거능에 유의차가 없었으나, 꽃대와 줄기는 1,000 μg/mL 첨가 시 30% 이상으로 전초에 비해서 유의적으로 소거능이 높았다.

한약재의 아질산염 소거능은 1,000 μg/mL 농도의 산조인, 산수유, 감국, 꿀풀, 금물초, 오가피, 단삼, 울금 물추출물에서 50% 이상인 것으로 보고되었는데(22), 대부분이 페놀화합물의 함량이 높은 식물들이었다. 차류 및 약용식물류의 아질산염 소거능은 메탄올 추출물이 물추출물보다 높았는데, 이는 메탄올에서 페놀화합물의 용출이 높았기 때문인 것으로 보고되어 있다(36).

요 약

하고초를 부위별(전초, 꽃대 및 줄기)로 메탄올 추출하여 항산화 활성을 비교하였다. 총 페놀화합물은 꽃대에서 77.1 mg/100 g으로 다른 부위에 비해 유의적인 차이를 보였으며, 전초와 줄기는 54.0 mg/100 g 이하였다. 플라보노이드는 줄기에서 36.1 mg/100 g으로 가장 높았다. 전자공여능은 시료의 농도에 의존적으로 증가하는 경향으로 500 μg/mL 첨가 시에는 70% 이상의 전자공여능을 보였으며, 1,000 μg/mL 첨가 시 꽃대에서 92.1%로 유의적으로 높았다. 환원력은 전자공여능과 유사한 경향이었으며, 꽃대에서 100~1,000 μg/mL 첨가 시 0.3~1.9, 전초는 0.2~1.6, 줄기는 0.2~1.5의 범위로 꽃대>전초>줄기 순서로 높았다. Hydroxyl radical 소거능은 100 μg/mL 첨가 시 80% 이상이었으며, 부위별 유의차가 없었다. β-carotene-linoleic acid계에서 지질과산화 억제능은 1,000 μg/mL 첨가 시 47.5~84.6%로 꽃대에서 항산화능이 가장 높았다. ABTs 라디칼 소거능은 250 μg/mL 첨가 시 50% 이상의 소거능을 보였으며, 500~1,000 μg/mL 첨가 시 85.0~92.3%로 농도 간에 유의차가 없었다. 1,000 μg/mL 첨가 시 nitric oxide 소거능은 꽃대에서 19.7%로 전초 및 줄기에 비해 유의적으로 높았고, 아질산염 소거능은 꽃대와 줄기에서 각각 30.7%와 32.5%로 전초에 비해 유의적으로 높았다. 이상의 항산화 활성 분석결과를 종합하여 볼 때 하고초의 꽃대는 전초 및 줄기에 비해 항산화 활성이 높았는데 이는 페놀화합물의 함량에 의존적인 것으로 추정되며, 꽃대 부위를 선별하여 가공식품 소재로 활용할 경우 하고초의 항산화 활성을 보다 부각시킬 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업(106011-03-SB010)의 연구과제로 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Ku HO, Lee HS, Lee KR. 1999. Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. *Korean J Pharmacogn* 30: 123-129.
2. Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MU, Kwon OJ. 2008. Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 276-281.
3. Huang MT, Ho CT, Lee CY. 1992. Phenolic compounds in food. In *Phenolic compounds in food and their effects on health II*. Maple Press, New York, USA. Vol 99, p 2-7.
4. Kim JS, Kang SS, Lee KS, Chang SY, Won DH. 2000. Quantitative determination of ursolic acid from *Prunellae herba*. *Kor J Pharmacogn* 31: 416-420.
5. Sandra J. 1963. Phytochemical studies of *Prunella vulgaris* and *Prunella grandiflora*- I. Saponin and triterpene compounds. *Dissertations Pharm* 15: 333-341.
6. Wang ZJ, Zhao YY, Tu GZ, Hong SL, Chen YY. 1999. Studies on the chemical constituents from *Prunella vulgaris*. *Acta Pharm Sin* 34: 679-681.
7. Lam TL, Lam ML, Au TK, Ip DTM, Ng TB, Fong WP, Wan DCC. 2000. A comparison of human immunodeficiency virus type-1 protease inhibition activities by the aqueous and methanol extracts of Chinese medicinal herbs. *Life Sci* 67: 2889-2896.
8. Ryu SY, Oak MH, Yoon SK, Cho DI, Yoo GS, Kim TS, Kim KM. 2000. Anti-allergic and anti-inflammatory triterpenes from the herb of *Prunella vulgaris*. *Planta Med* 66: 358-360.
9. Liu F, Ng TB. 2000. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Life Sci* 66: 725-735.
10. Joung YM, Park SJ, Lee KY, Lee JY, Suh JK, Hwang SY, Park KE, Kang MH. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Lilium* species extracts prepared from different aerial parts. *Korean J Food Sci Technol* 39: 452-457.
11. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Cartha-*

mus tinctorius L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127-1132.
12. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 27: 978-984.
13. Gutfinger T. 1958. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
14. Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Enthropharmacol* 71: 109-114.
15. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
16. 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.
17. Gutteridge JM. 1984. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl-like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *Biochem J* 224: 761-767.
18. Taga MS, Miller EE, Pratt DE. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidant. *J Am Oil Chem Soc* 61: 928-931.
19. Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTs radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26: 1231-1237.
20. Song HS, Moon KY. 2006. *In vitro* antioxidant activity profiles of β-glucans isolated from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2. *Food Sci Biotechnol* 15: 437-440.
21. Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DW, Kim ST, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.
22. Ju JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ. 2006. Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 7-14.
23. Kang YH, Oark YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Technol* 27: 978-984.
24. Won JT, Kim DH. 1980. Antioxidant activity of various solvents extracts obtained from maillard-type browning reaction mixture. *Korean J Food Technol* 12: 235-241.
25. Shin MJ, Yoon HH, Ahn MS. 2002. A study on the relations between the color intensity and the antioxidant activity of caramelization products. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 603-612.
26. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Technol* 36: 333-338.
27. Lee YM, Shin HD, Lee JJ, Lee MY. 2007. Antioxidative effect of *Chaenomelis fructus* ethanol extract. *Korean J Food Preserv* 14: 177-182.
28. Moon JS, Kim SJ, Park YM, Hwang IS, Kim EH, Park JW, Park IB, Kim SW, Kang SG, Park YK, Jung ST. 2004. Activities of antioxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. *Korean J Food Preserv* 11: 201-206.
29. Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against α-amylase and α-glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 405-409.
30. Choi CS, Song ES, Kim JS, Kang MH. 2003. Antioxidative activities of *Castanea crenata* Flos. methanol extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1216-1220.
31. Choi SI, Lee YM, Heo TR. 2003. Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity *in vitro* of traditional herbal medicine extracts. *Korean J Biotechnol Bioeng* 18: 282-288.
32. Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
33. David AW, Ljubuncic P. 2001. Oxidative stress and vascular smooth muscle cell function in liver disease. *Pharmacol Therape* 89: 295-308.
34. Ding AH, Nathan CF, Stuhr DJ. 1988. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. *J Immunol* 141: 2407-2412.
35. Song HS, Kim DP, Jung YH, Lee MK. 2007. Antioxidant activities of red Hamcho (*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. *Korean J Food & Nutr* 20: 150-157.
36. Lim SM, Cho YS, Kim EJ, Bae MJ, Han JP, Lee SH, Sung SK. 1998. Effect of hot water extracts of *Salvia miltiorrhiza Bge.*, *Prunus persica Stokes*, *Angelica gigas Nakai* and *Pinus strobus* on lipid oxidation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 399-405.

(2008년 10월 23일 접수; 2008년 12월 1일 채택)