

## 국내산 밤 일부 품종의 기능성 성분분석과 항산화 및 대식세포 활성

이현주<sup>1</sup> · 정미자<sup>2</sup> · 조재열<sup>3</sup> · 함승시<sup>4</sup> · 최 먼<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 식물생명공학전공, <sup>2</sup>강원대학교 BK21사업단(뉴트라슈티컬바이오)  
<sup>3</sup>강원대학교 BT특성화학부(대학), <sup>4</sup>강원대학교 BT특성화학부(대학) 식품생명공학전공

### Antioxidative and Macrophage Phagocytic Activities and Functional Component Analyses of Selected Korean Chestnut (*Castanea crenata* S. et Z.) Cultivars

Hyeon-Ju Lee<sup>1</sup>, Mi Ja Chung<sup>2</sup>, Jae Youl Cho<sup>3</sup>, Seung-Shi Ham<sup>4</sup>, and Myeon Choe<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Plant Biotechnology, <sup>2</sup>The Nutraceutical Bio Brain Korea 21 Project Group, <sup>3</sup>Dept. of Biomaterials Engineering, and <sup>4</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, Division of Biotechnology, School of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

#### Abstract

Antioxidative and macrophage phagocytic activities and contents of functional component in selected Korean chestnuts (Dantaek, Daebo, Okkwang, Seokchu, Byunggo) were evaluated. Coumarin, gallic acid and catechin in inner skin and whole kernel of selected Korean chestnuts were detected by HPLC. The predominant functional components in inner skin of chestnut were catechin, followed by gallic acid and coumarin. However, the whole kernel had only gallic acid. Thus, the antioxidant properties of gallic acid and catechin were evaluated through DPPH radical-scavenging activity and SOD like activity. Gallic acid and catechin at 6.0 mg/100 g exhibited 69.4% and 38.3% of scavenging activities on DPPH radical, respectively. DPPH radical-scavenging activity of gallic acid increased in a concentration-dependent manner. Gallic acid was found to possess higher DPPH radical-scavenging activity than equivalent amount of catechin at all concentrations, whereas catechin was found to have higher SOD like activity than gallic acid. In addition, pre-incubation of macrophage with white kernel extract from Byunggo resulted in a significant increase of phagocytic activity and yellow kernel extracts from Byunggo, Dantaek, Daebo and Okkwang, leading to an increase in phagocytic activity compared with untreated cells. Yellow kernel extracts was found to have higher phagocytic activity than white kernel extracts. Byunggo had the highest phagocytic activity. The results suggest that the Korean chestnut may provide a natural source of antioxidants and active immunity.

**Key words:** Korean chestnut, antioxidant, phagocytic activities, catechin, gallic acid

#### 서 론

밤나무는 참나무과에 속하는 낙엽교목으로 우리나라 전역에 걸쳐 자생 또는 재배되고 있으며 과실은 주로 식용, 약용, 가공식품 등으로 이용하고 있다(1-3). 2000년 이상의 재배역사를 가진 것으로 추정되는 밤(*Castanea crenata* S. et Z.)은 우리의 기호 식생활과 밀접한 관련이 있고 오늘날 밤의 생산량은 연간 10만 톤에 달하고 있으며 그 수요는 60% 정도가 생식용, 30% 정도가 수출용 그리고 약 5%가 가공용으로 이용되고 있다(3,4). 그러나 밤은 깎밤의 상태로 일본에 수출하고 있는데 종의 확대재배와 수작업으로 껍질을 박피하기 때문에 인건비 등으로 인하여 한국산 밤이 중국산 밤에 비해 가격경쟁력이 떨어져 수출이 점점 어려운 상황에 있다(5).

따라서 국제적 경쟁력을 확보하고 국내의 밤 소비 확대를 위해 한국산 밤의 우수성을 과학적 연구를 통해 입증하고자 하는 시도들이 진행 중에 있다. 특히 현재 식품에 대한 웰빙 개념이 매우 중요하게 인식되면서 유기농산물과 같은 친차연적 식품 자체가 보유한 영양 및 생체조절기능에 대한 관심이 매우 증가하고 있다.

지금까지 밤의 생리활성에 관한 연구는 밤나무 잎차의 항알레르기 효과(6), 밤 껍질의 용매분획별 항산화 활성과 항산화 물질의 분리(7) 등이 있으며, 저장(4), 가공식품 제조(8), 밤 전분의 제조(9), 변색(10) 등에 대한 연구들이 이루어져 왔다. 이와 같이 밤에 대한 다양한 연구들이 진행되어져 오고 있으나, 현재 식품은 맛과 기호성과 더불어 식품의 3차 기능인 면역력의 증진, 질병의 예방이나 회복, 노화억제 등 복잡한 생명활동을 조절하는 기능성식품으로 중요성이 강

\*Corresponding author. E-mail: mchoe@kangwon.ac.kr  
Phone: 82-33-250-8645, Fax: 82-33-250-7451

조되고 있어 본 연구에서는 국내산 밤의 기능성을 알아보았다.

밤나무의 밤 껍질, 밤잎차 및 밤꽃의 항산화 효과(7,11,12)가 이미 보고되어 있어, 국내산 밤의 내피와 과육에도 항산화 기능을 갖는 물질이 풍부할 것이라고 사료되어, 먼저 본 연구에서는 국내산 밤의 내피와 과육에 함유된 기능성 물질을 분석하였고, 이들 물질들의 항산화 효과를 알아보았다. 항산화력과 면역증강작용은 위 보호(13), 노화방지(14) 그리고 신장보호 효과(15) 등 다양한 질병들과 관련하여 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 항산화 물질을 다량 함유하고 있고, 주로 식용하거나 일부 한약재 및 양급 등의 가공식품으로 이용되고 있는 밤 과육이 갖는 면역증강작용 효과를 대식세포의 활성화에 미치는 영향을 연구하므로 알아보았다. 이와 같은 연구들을 통해 한국산 밤의 우수한 기능성을 증명하여 국내외 밤 소비확대와 새로운 건강식품 및 건강 기능성 소재 개발에 활용하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다. 또한 밤 가공과정 중 대량 폐기되고 있는 밤 내피에 함유된 생리활성 물질을 분석한 후 주요 물질들의 항산화성을 조사하여, 밤 내피가 항산화 기능성 소재로서 활용할 수 있을지에 대한 가능성을 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 시료 수집

단택은 공주, 충주, 대보는 공주, 부여, 산청, 옥광은 공주, 청양, 충주, 부여, 석추는 충주 그리고 병고는 공주와 부여에서 각각 10 kg씩 수집하였다. 밤은 외피(outer skin), 내피(inner skin)를 제거한 후 전체 식용 과육의 가운데를 잘라 외부를 둘러싸고 있는 노란과육과 내부에 존재하는 흰과육으로 분리하였다. 분리된 시료 중 내피와 전체과육은 기능성 물질을 추출하고 분리하기 위하여 사용하였다.

### 추출물의 제조

건조된 전체과육, 노란과육 및 흰과육을 분쇄한 후 10.7배의 증류수를 첨가한 다음 60°C shaking incubator에서 24시간 추출하여 원심분리한 후 상층액을 취하였다. 이들 상층액을 여과한 후 회전진공증발기로 감압·농축하여 완전 건조시킨 다음 이들 고형분은 용해하여 대식세포 활성 실험에 사용하였다.

### 유효성분의 추출 및 분리

페놀 화합물 추출은 Uzelac 등(16)의 방법에 따라 추출하였고, HPLC로 분석하였다. Column은 LUNA C-18 column(4.6×250 mm I.D., 5 µm)을 사용 하였으며, 이동상의 조성 및 용매구배 조건은 Uzelac 등(16)의 방법과 Kubola와 Siriamornpun(17)의 방법에 의해 분리하였다. 이동속도는 1 mL/min이었고, column 온도는 40°C로 일정하게 유지하였으며, 검출기는 UV(278 nm)이었다.

### DPPH radical 소거활성

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)의 환원에 의한 free radical 소거활성을 관찰하기 위하여 Chung 등(18)의 방법을 변형하여 측정하였다. 다양한 농도(0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0)의 gallic acid와 catechin을 ethanol에 녹여 준비한 시료 300 µL와 1.5×10<sup>-4</sup> M DPPH용액 100 µL를 가하여 혼합한 다음 30분간 반응시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성을 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH 소거활성 (\%)} = (1 - \text{시료첨가구의 흡광도} / \text{시료무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

### Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Chung 등(19)의 방법에 따라 측정한다. 다양한 농도(0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0)의 gallic acid와 catechin 용액 0.2 mL에 pH 8.5로 조정된 tris-HCl 완충용액 3.0 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정한다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성 (\%)} = (1 - \text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

### 대식세포의 phagocytosis 측정방법

사용된 세포주 RAW 264.7 대식세포는 Korea Cell Line Bank(KCLB)로부터 구입하여 사용하였고, 측정방법은 12 well plate에 배지(RPMI 1640에 10% FBS, 1% 항생제 포함)에 1 mL 세포액(1×10<sup>5</sup> cell/mL)을 넣고 12시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 배양하였다. 각 well의 상층액을 제거한 후 국내산 밤 단택, 대보, 석추, 옥광, 병고의 노란과육이나 흰과육의 물 추출물(0.2 mg/mL)을 함유하고 있는 RPMI 1640를 2 mL씩 첨가하여 다시 6시간 동안 배양하였다. 그 후 각 well의 배지를 제거한 후 FITC-dextran(1 mg/mL)를 1 mL 처리하여 30분 동안 어두운 상태로 배양한 후, FITC 용액을 모두 제거한 후 차가운 PBS로 4번 세척하였다. 차가운 PBS 1 mL를 넣고 scraper로 긁어서 15 mL tube에 옮기고 1200 rpm에서 5분 동안 원심분리한 후 PBS를 제거하고 고정액(3.7% formaldehyde가 포함된 PBS) 1 mL 넣고 좌우로 흔들면서 mesh에 걸러서 Flow cytometry system tube에 옮기고 Flow cytometry system(DB model FACScan, USA)으로 촬영하였다.

### 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며 실험치는 평균값과 표준편차로 나타내었고, SPSS program 중에서 분산분석(ANOVA)을 실시하여 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range

**Table 1. Weight from different sections and cultivars of *Castanea crenata* S. et Z.**

Cultivars	Weight from different part (g/100 g a chestnut)				
	Outer skin	Inner skin	Whole kernel	White kernel	Yellow kernel
Dantaek <sup>1)</sup>	14.3±1.18 <sup>a2)</sup>	13.7±0.25 <sup>a</sup>	72.0±3.06 <sup>b</sup>	30.4±1.29 <sup>b</sup>	41.6±1.77 <sup>c</sup>
Daebo	12.7±2.34 <sup>a</sup>	12.7±2.48 <sup>a</sup>	74.6±2.99 <sup>a</sup>	28.8±1.15 <sup>c</sup>	45.8±1.84 <sup>b</sup>
Okkwang	11.8±2.66 <sup>a</sup>	10.8±0.46 <sup>b</sup>	77.4±1.22 <sup>a</sup>	34.6±0.55 <sup>a</sup>	42.8±0.68 <sup>c</sup>
Seokchu	9.9±0.17 <sup>b</sup>	14.6±2.33 <sup>a</sup>	75.5±0.23 <sup>a</sup>	30.5±0.09 <sup>b</sup>	45.0±0.14 <sup>b</sup>
Byunggo	10.7±2.95 <sup>a</sup>	10.0±0.11 <sup>b</sup>	79.3±2.14 <sup>a</sup>	28.4±0.77 <sup>c</sup>	50.9±1.37 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Korean name. <sup>2)</sup>Means with different letters differ significantly from different cultivars in the same column (p<0.05), as determined by Duncan's multiple range test, n=3.

test에 의해 검정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 밤의 품종별 부위별 무게 측정

밤을 보면 바깥에 외피, 그 다음 내피가 있고 외피와 내피를 제거하면 식용으로 사용되는 전체과육을 볼 수 있다. 전체과육은 다시 가운데를 자르면 외부를 둘러싸고 있는 노란 과육과 내부에 존재하는 흰과육으로 분리할 수 있다. 품종별 이들 부위별 무게를 측정한 결과는 Table 1과 같다.

#### 국내산 주요 5품종 밤의 내피와 과육의 유효성분 분리

국내산 주요 5품종 밤의 내피와 과육에 함유된 주요 기능성 성분은 coumarin, gallic acid 그리고 catechin이었고, 그 함량은 Table 2에 나타내었다. Coumarin은 과육에서는 검출되지 않았고, 내피에서만 검출되었는데 단택에서 1.35±0.13 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었고 가장 적은 양이 검출된 옥광(0.15±0.02)과 비교하면 9배 높은 함량이었다. 석추, 병고 및 대보에는 각각 0.86±0.13, 0.74±0.18 그리고 0.61±0.05 mg/100 g 함유되어 있었다. Gallic acid는 밤의 내피와 과육에서 모두 검출되었는데 모든 품종이 과육에 비해 내피에서의 함유량이 더 많았다. Catechin은 내피에

**Table 2. Contents of coumarin, gallic acid and catechin in inner skin and whole kernel of *Castanea crenata* S. et Z.<sup>1)</sup>**  
(mg/100 g)

Cultivars	Coumarin	Gallic acid	Catechin
Daebo <sup>2)</sup> (inner skin)	0.61±0.05 <sup>c3)</sup>	2.84±0.74 <sup>a</sup>	5.87±0.05 <sup>b</sup>
Daebo (whole kernel)	-	1.31±0.32 <sup>d</sup>	-
Dantaek (inner skin)	1.35±0.13 <sup>a</sup>	3.65±0.21 <sup>a</sup>	4.75±0.63 <sup>c</sup>
Dantaek (whole kernel)	-	0.84±0.18 <sup>f</sup>	-
Okkwang (inner skin)	0.15±0.02 <sup>d</sup>	1.58±0.51 <sup>d</sup>	3.65±0.72 <sup>d</sup>
Okkwang (whole kernel)	-	1.41±0.27 <sup>d</sup>	-
Seokchu (inner skin)	0.86±0.13 <sup>b</sup>	3.25±0.62 <sup>a</sup>	6.94±0.34 <sup>a</sup>
Seokchu (whole kernel)	-	2.55±0.43 <sup>c</sup>	-
Byunggo (inner skin)	0.74±0.18 <sup>b</sup>	2.74±0.25 <sup>b</sup>	5.73±0.73 <sup>a</sup>
Byunggo (whole kernel)	-	1.24±0.17 <sup>d</sup>	-

<sup>1)</sup>Determined by HPLC. <sup>2)</sup>Korean name. <sup>3)</sup>Means with different letters differ significantly from different cultivars in the same column (p<0.05), as determined by Duncan's multiple range test, n=3.

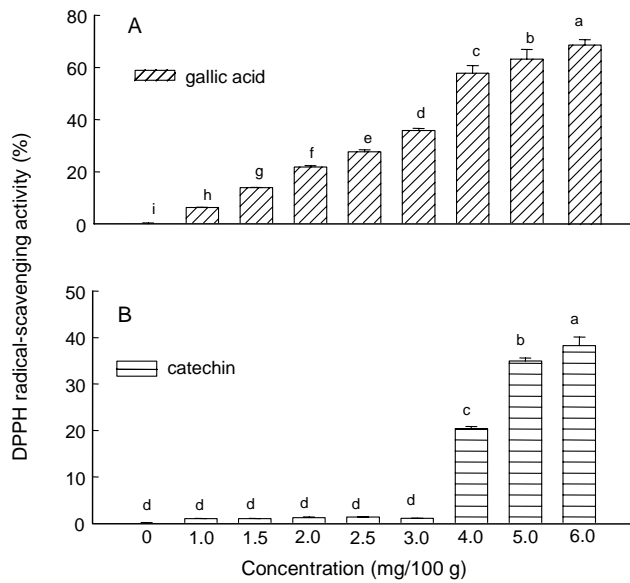
서 검출되었고, 과육에서는 검출되지 않았으나, 석추에서 가장 높은 함량을 나타내었다. Catechin은 석추(6.94±0.34)> 대보(5.87±0.05)> 병고(5.73±0.73)> 단택(4.75±0.63)> 옥광(3.65±0.72) 순이었다.

Kwon 등(7)은 밤 귀피의 용매분획별 항산화 물질을 GC로 분석하였는데 salicylic acid, p-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, syringic acid, gallic acid, ferulic acid, ellagic acid를 확인하였고, 이 중 gallic acid와 ellagic acid가 각각 107.39 mg%와 172.22 mg%였다고 보고하였으며, Vekari 등(20)은 밤나무 껍질과 밤과실에서 ellagic acid를 검출하였다. Kwon 등(7)의 보고는 본 실험에서 사용한 국내산 주요 5품종 밤의 내피와 과육에서 gallic acid가 검출되었다는 것과 일치하였다.

#### DPPH radical 소거활성에 미치는 영향

Gallic acid와 catechin이 농도별 DPPH radical 소거활성에 미치는 영향을 Fig. 1에 나타내었다. Gallic acid는 1.0 mg/100 g부터 농도 의존적으로 DPPH radical 소거작용이 증가하는 경향을 보여주었고 6 mg/100 g에서는 69.4% DPPH radical 소거작용을 나타내었다. Catechin은 3 mg/100 g까지는 DPPH radical 소거활성이 거의 나타나지 않았지만 4 mg/100 g에서는 20%의 소거활성을 나타내었고, 6 mg/100 g에서는 38.3% DPPH radical 소거활성을 나타내었다. Gallic acid가 catechin보다는 높은 DPPH radical 소거활성을 나타내었다.

Barreira(21)는 밤 꽃, 잎, 껍질 및 간밤의 추출물이 강한 항산화력 가지고 있다고 하고, Kang 등(22)과 Guo 등(23)은 gallic acid가 전자공여능, 아질산염 소거능 등 강한 라디칼 소거능을 가진다고 보고하였다. Gallic acid가 산업적으로 이용되는 것은 gallic acid methyl ester, gallic acid lauryl ester, propyl gallate와 같은 유도체로 이들 유도체들 중 propyl gallate가 가장 높은 항산화성을 나타내는 것으로 알려져 있다(24). Catechin은 polyphenol성 화합물로 높은 항산화력을 가지는 것으로 보고되었다(25,26). Gallic acid와 catechin은 ascorbic acid와 비교해 높은 DPPH radical 소거활성을 나타내었다(27,28). 약용작물로 알려져 있는 *Bergenia ciliate*와 *Bergenia ligulata*의 잎에서 각각 0.014%와 0.01%의 gallic acid가 함유되어 있고, catechin은 각각 0.015와 0.009% 함유



**Fig. 1.** DPPH radical scavenging activity (%) of gallic acid (A) and catechin (B) in *Castanea crenata* S. et Z. Various concentration samples (0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, and 6.0 mg/100 g) were mixed with DPPH solution, and the mixture were incubated at 37°C and expressed as absorbance change at 532 nm. Means with different letters differ significantly from each other ( $p < 0.05$ ), as determined by Duncan's multiple range test,  $n=3$ .

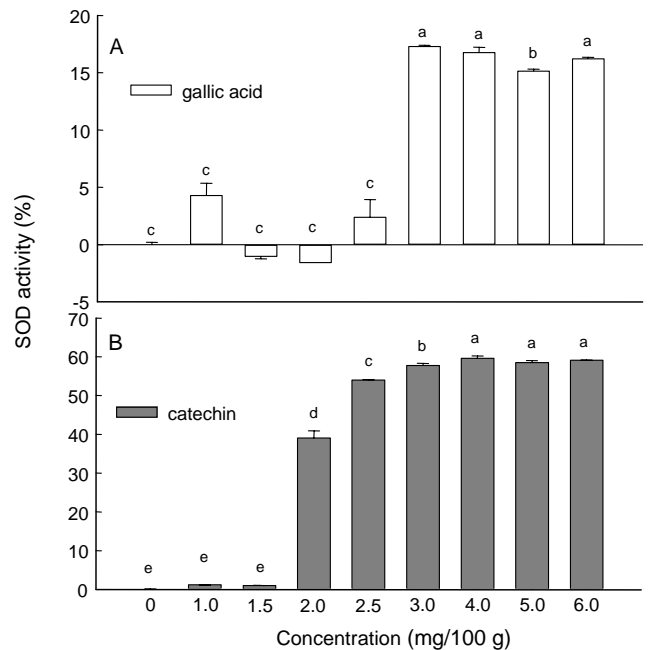
되어 있다고 알려져 있는데(29), 이는 밤에 함유된 gallic acid(0.004~0.0045%)와 catechin(0.0037~0.0069%)보다는 많이 함유되어 있으나 밤 과육은 쉽게 식용할 수 있다는 장점을 가지고 있다.

따라서 식용되거나 가공식품 원료로 사용되는 밤 과육을 섭취하였을 때 항산화력이 뛰어나고 부작용이 없는 천연항산화제를 섭취하는 것이며, 밤 내피는 천연항산화제를 얻을 수 있는 유용식물 자원으로 이용될 수 있을 가능성을 제시하고 있다. Catechin은 ascorbic acid보다 수습에서 수천 배까지 높은 가격으로 판매되고 있어 이들 항산화제를 다량으로 얻을 수 있는 유용식물 자원 확보는 산업적 가치가 있을 것으로 사료된다.

#### Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

밤에 함유된 gallic acid와 catechin이 SOD 유사활성에 미치는 영향력은 Fig. 2에 나타내었다. 생체 내에서 superoxide radical을 과산화수소로 전환시키는 SOD 유사활성은 gallic acid를 2.5 mg/100 g 가했을 때까지는 영향을 나타내지 않았지만 3 mg/100 g 농도의 gallic acid에 의해 SOD 유사활성이 17.3% 증가하였다. Catechin 함량이 2 mg/100 g일 때 39% SOD 유사활성이 증가하였고, 2.5 mg/100 g에서는 50%이상 SOD 유사활성이 증가하였으며, 6.0 mg/100 g에서는 59.1% SOD 유사활성 증가하였다.

Shin 등(30)은 산지별 마늘즙의 SOD 유사활성을 알아본 있는데 농도가 증가할수록 이들 활성이 감소하였고, 모든



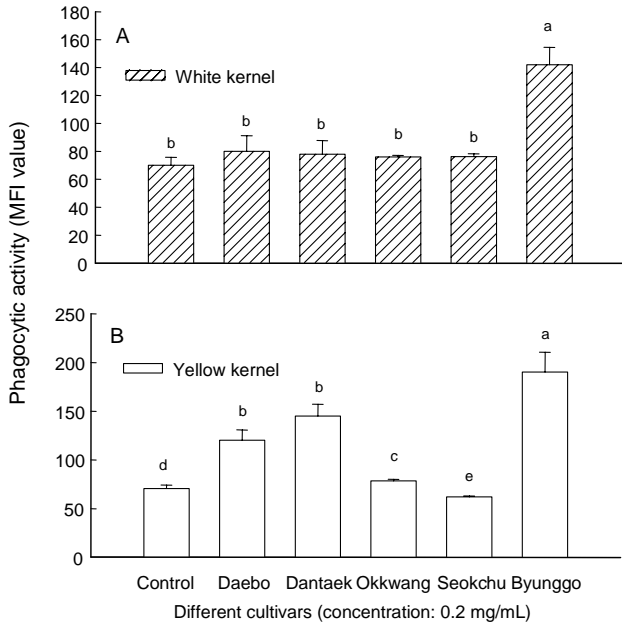
**Fig. 2.** Effects of gallic acid (A) and catechin (B) on superoxide dismutase (SOD) activity. Means with different letters differ significantly from each other ( $p < 0.05$ ), as determined by Duncan's multiple range test,  $n=3$ .

처리군에서 15.0%미만의 활성을 보여 주었다고 보고하였으나, 오미자의 추출물은 본 연구 결과처럼 SOD 유사활성이 농도 의존적으로 증가하였고, 1000  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 대조군과 비교하여 SOD 유사활성이 50%이상 증가하였는데 이것은 ascorbic acid와 BHT와 비슷한 활성이었다(31).

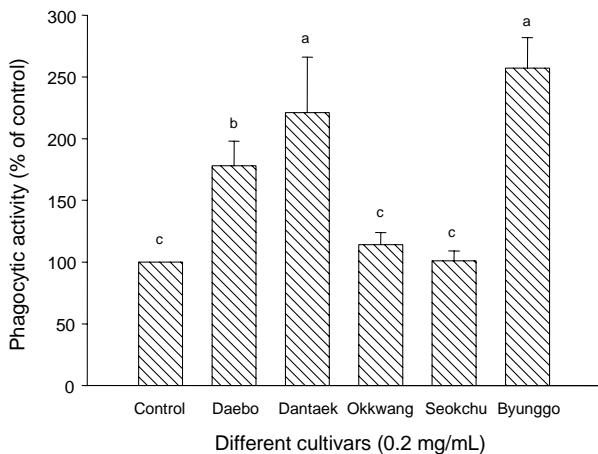
Lee 등(32)은 도토리의 항산화력이 gallic acid에 의한 것이라고 보고하였고, 녹차의 catechin은 polyphenol성 화합물로서 조직이나 체액에서 radicals를 제거한다(33). 즉, gallic acid와 catechin이 강한 항산화력을 가지고 있다는 것은 gallic acid와 catechin을 다량 함유하고 있는 밤을 섭취하므로 소비자에게 좋은 항산화 급원을 제공하여 줄 수 있을 것이라는 것을 시사하고 있다. 특히 식용으로 사용하는 밤의 과육은 gallic acid가 다량 함유되어 있고, gallic acid의 강한 항산화력은 유해성 활성산소로부터 국민 건강을 지켜줄 수 있는 새로운 건강식품으로 추천할 수 있을 것이다. 또한 밤의 과육에는 gallic acid만 함유되어 있었지만 폐기되고 있는 밤의 내피에서 gallic acid, coumarin과 catechin이 모두 함유되어 있고, 고가의 천연항산화제인 catechin을 다량 함유하고 있으므로 밤 내피를 이용하여 항산화제를 개발한다면 농산물 가공 부산물을 이용한 농가 수입에 많은 공헌을 할 수 있을 것이다. Catechin은 녹차에 다량 함유된 기능성 물질로 알려져 있으나(25-27) 녹차를 이용하여 항산화제를 개발하는 것보다는 국내의 미활용 농산자원의 가공 부산물인 밤 내피를 이용하는 것이 산업적 경제성을 높여줄 수 있을 것으로 사료된다.

밤의 전체과육, 노란과육 및 흰과육 추출물의 면역증강능(대식세포 활성화)

노란과육, 흰과육 및 전체과육 추출물이 대식세포 활성화에 미치는 영향력을 Fig. 3, 4에 나타내었다. 국내산 밤 주요



**Fig. 3. Effects of white and yellow kernel extracts from domestic chestnut (*Castanea crenata* S. et Z.) cultivars on phagocytic activity.** Phagocytic activity of Raw 264.7 cells against FITC-dextran was measured by flow cytometry system after treatment with water extracts (0.2 mg/mL) of white and yellow kernel from the selected Korean chestnut cultivars. Means with different letters differ significantly from each other ( $p < 0.05$ ), as determined by Duncan's multiple range test,  $n = 3$ .



**Fig. 4. Effects of whole extract from domestic chestnut (*Castanea crenata* S. et Z.) cultivars on phagocytic activity.** Phagocytic activity of Raw 264.7 cells against FITC-dextran was measured by flow cytometry system after treatment with water extracts (0.2 mg/mL) from the selected Korean chestnut cultivars. The results were compared to the phagocytic activity of the control untreated cells (represented as 100% activity). Means with different letters differ significantly from each other ( $p < 0.05$ ), as determined by Duncan's multiple range test,  $n = 3$ .

품종(단택, 대보, 석추, 옥광, 병고) 중 병고가 가장 높은 활성을 나타내었고, 노란과육 추출물이 흰과육 추출물보다 대식세포 활성을 더욱 더 증가시켰다(Fig. 3A, B). 전체 과육 추출물은 병고, 단택 그리고 대보 순으로 높은 대식세포 활성을 보여 주었다(Fig. 4).

대식세포의 식작용(phagocytosis)은 면역기능 활성화의 중요한 척도로 사용되고 있다. Monobe 등(34)은 강한 항산화력을 가진 녹차 catechins의 농도가 증가할수록 대식세포 활성이 증가하였다고 하였고, 녹차잎 추출물들도 대식세포 활성을 증가시켰다고 보고하였다. 항산화력과 면역증강능을 가진 천연기능성 소재들은 다양한 질병을 예방(13,15)하거나 노화억제에 효과(14)가 알려져 있으므로, 천연항산화제를 함유하고 있고 면역증강능을 가진 대보, 단택 그리고 병고의 과육은 면역력의 증진, 질병의 예방이나 회복, 노화억제 등 신체 조절기능을 갖는 기능성식품으로서 이용될 수 있을 것이다.

모든 결과를 종합해보면 본 연구는 국내산 밤 과육과 내피으로부터 기능성 특수 성분 분석 및 건강 기능성을 증명하여 국내의 식용밤의 소비 확대 유도와 함께 식·의약 소재로 활용 가능성을 제시하였다.

요 약

국내산 밤 일부 품종(단택, 대보, 석추, 옥광, 병고)의 기능성 성분 분석과 이들 물질들의 항산화력 및 밤 추출물이 대식세포 활성화에 미치는 영향력을 알아보았다. 국내산 밤 일부 품종의 내피와 과육에서 coumarin, gallic acid 그리고 catechin이 HPLC에 의해 검출되었다. 밤 내피에 가장 풍부한 기능성 성분은 catechin이고 그 다음 gallic acid와 coumarin 순이었으나, 과육에서는 gallic acid만 검출되었다. 따라서 밤의 기능성 성분인 gallic acid와 catechin의 항산화력을 DPPH radical 소거작용과 SOD 유사활성을 통해 알아보았다. Gallic acid와 catechin을 6.0 mg/100 g 처리하였을 때 DPPH radical 소거작용이 각각 69.4%와 38.3%였으며, gallic acid의 DPPH radical 소거작용은 농도 의존적이었다. Gallic acid를 동일한 농도의 catechin과 비교하면 모든 농도 구간에서 catechin보다 gallic acid가 높은 DPPH radical 소거활성을 나타내었다. 그러나 SOD 유사활성은 gallic acid보다 catechin이 높았다. 더하여 밤의 과육, 노란과육 및 흰과육 추출물들이 대식세포 활성화에 미치는 영향력을 알아보았다. 병고 흰과육 추출물은 현저하게 대식세포 활성을 증가시켰고, 병고, 단택, 대보 및 옥광의 노란과육 추출물 역시 아무것도 처리하지 않은 세포와 비교하여 현저히 대식세포를 활성화시켰다. 노란과육 추출물이 흰과육 추출물보다 더욱 더 대식세포 활성을 증가시켰고, 5품종 중 병고가 대식세포 활성을 가장 증가시켰다.

## 감사의 글

본 연구는 산림청의 지원과 강원대 BK21, 바이오누리사업 및 생명공학연구소의 일부 지원으로 수행한 연구결과입니다.

## 문헌

- Lee TB. 1994. *Illustrated flora of Korea*. Hyangmoon Press, Seoul. p 273-289.
- 손철호, 석현덕, 민경택. 2003. 국내 밤산업의 동향과 전망. 농촌경제연구소. p 77-79.
- Kim JS, Jung BH, Joo RW, Choi SI. 2004. Marketing of chestnut and economic analysis of chestnut cultivation. *Korean J Forest Economics* 12: 12-21.
- Nha YA, Yang CB. 1996. Change of constituent components in chestnut during storage. *Korean J Food Sci Technol* 28: 1164-1170.
- Kim JH, Park JB, Choi CH. 1997. Development of chestnut peeling system. Annual Meeting of The Biosystems Eng. p 150-154.
- Choi OB, Kim KM, Yoo GS, Park KH. 1998. Anti-allergic effect of *Castanea crenata* leaf tea. *Korean J Food Sci Technol* 30: 468-471.
- Kwon EJ, Kim YC, Kwon MS, Kim CS, Kang WW, Lee JB, Chung SK. 2001. Antioxidative activity of solvent fraction and isolation of antioxidant compound from chestnut husk. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 726-731.
- Kim SK, Jeon YJ, Kim YT, Lee BJ, Kang OJ. 1995. Sensory evaluation and retrogradation properties of chestnut mook. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 601-605.
- Park YH, Kim SK, Lee SY, Kim JB. 1984. Rheological properties of gelatinized chestnut starch solution. *Korean J Food Sci Technol* 16: 314-318.
- Cho SH, Sung NK, Ki WK, Hur JH, Shim KH, Chung DH. 1988. Effect of blanching on the prevention of discoloration in the thermal-treated chestnut power. *J Korean Soc Food Nutr* 17: 211-214.
- Choi OB, Yoo GS, Park KH. 1999. Antioxidative and anti-microbial effects of water extracts with *Castanea crenata* leaf tea. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1128-1131.
- 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.
- El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S. 2003. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *J Ethnopharmacol* 84: 251-258.
- Chung HY, Kim HJ, Kim KW, Choi JS, Yu BP. 2002. Molecular inflammation hypothesis of aging based on the anti-aging mechanism of calorie restriction. *Microsc Res Techniq* 59: 264-172.
- Beal MF, Palomo T, Kostrzewa RM, Archer T. 2000. Neuroprotective and neurorestorative strategies for neuronal injury. *Neurotox Res* 2: 71-84.
- Uzelac DV, Pospisil J, Levaj B, Delonga K. 2005. The study of phenolic profiles of raw apricots and apples and their purees by HPLC for the evaluation of apricot nectars and jams authenticity. *Food Chem* 91: 373-383.
- Kubola J, Siriamornpun S. 2008. Phenolic contents and anti-oxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chem* 110: 881-890.
- Chung MJ, Kang AY, Park SO, Park KW, Jun HJ, Lee SJ. 2007. The effect of essential oils of dietary wormwood (*Artemisia princeps*), with and without added vitamin E, on oxidative stress and some genes involved in cholesterol metabolism. *Food Chem Toxicol* 45: 1400-1409.
- Chung MJ, Sung NJ, Park CS, Kweon DK, Mantovani A, Moon TW, Lee SJ, Park KH. 2008. Antioxidative and hypo-cholesterolemic activities of water-soluble puerarin glycosides in HepG2 cells and in C57 BL/6J mice. *Eur J Pharmacol* 578: 159-170.
- Vekari SA, Gordon MH, Garcia-Macias P, Labrinea H. 2008. Extraction and determination of ellagic acid content in chestnut bark and fruit. *Food Chem* 110: 1007-1011.
- Barreira JCM, Ferreira ICFR, Oliveira MBPP, Pereira JA. 2008. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skin and fruit. *Food Chem* 107: 1106-1113.
- Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
- Guo G, Cao G, Sofic E, Ronald LP. 1997. High-performance liquid chromatography coupled with coulometric array detection of electroactive components in fruits and vegetables: relationship to oxygen radical absorbance capacity. *J Agric Food Chem* 45: 1787-1796.
- Okezie IA. 1993. Evaluation of antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *J Agric Food Chem* 41: 1880-1885.
- Da Silva EL, Piskula M, Terao J. 1998. Enhancement of antioxidative ability of rat plasma by oral administration of (-)-epicatechin. *Free Radic Bio Med* 24: 1209-1216.
- Lotito SB, Fraga CG. 1998. (+)-Catechin prevents human plasma oxidation. *Free Radic Bio Med* 24: 435-441.
- Geetha T, Garg A, Chopra K, Kaur IP. 2004. Delineation of antimutagenic activity of catechin, epicatechin and green tea extract. *Mutat Res* 556: 65-74.
- Kosar M, Goger F, Baser KHC. 2008. In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *J Agric Food Chem* 56: 2369-2374.
- Dhalwal K, Shinde VM, Biradar YS, Mahadik KR. 2008. Simultaneous quantification of bergenin, catechin, and gallic acid from *Bergenia ciliata* and *Bergenia ligulata* by using thin-layer chromatography. *J Food Compos Anal* 21: 496-500.
- Shin JH, Ju JC, Kwen OC, Yang SM, Lee SJ, Sung NJ. 2004. Physicochemical and physiological activities of garlic from different area. *Korean J Food and Nutr* 17: 237-245.
- Kim JS, Choi SY. 2008. Physicochemical properties and antioxidative activities of Omija (*Schizandra chinensis* Bailon). *Korean J Food and Nutr* 21: 35-42.
- Lee MH, Jeong JH, Oh MJ. 1992. Antioxidative activity of gallic acid in acorn extract. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 693-700.
- Yang CS, Maliakal P, Meng X. 2002. Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42: 25-54.
- Monobe M, Ema K, Kato F, Maeda-Yamamoto M. 2008. Immunostimulating activity of a crude polysaccharide derived from green tea (*Camellia sinensis*) extract. *J Agric Food Chem* 56: 1423-1427.

(2008년 6월 23일 접수; 2008년 8월 13일 채택)