

## 고구마 품종별 수확시기 앞의 저분자항산화물질 함량분석

안영옥 · 김선하 · 이행순 · 이준설 · 마다이푸 · 광상수

# Contents of low molecular weight antioxidants in the leaves of different sweetpotato cultivars at harvest

Young Ock Ahn · Sun Ha Kim · Haeng-Soon Lee · Joon-Seol Lee · Daifu Ma · Sang-Soo Kwak

Received: 13 August 2009 / Accepted: 26 August 2009

© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** Sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] leaves are excellent source of low molecular weight antioxidants such as polyphenols, anthocyanins and carotenoids compared to other leafy vegetables. Endogenous antioxidants in sweetpotato help our bodies to prevent ageing, heart diseases and cancer. In this study, to develop the proper cultivars for the functional feed materials, we investigated the contents of anthocyanin,  $\beta$ -carotene, and polyphenols as well as DPPH radical scavenging activity in leaves of 14 different cultivars at the time of the harvest. They showed a diverse antioxidation activity. In DPPH radical scavenging activity, cultivars of Nanjing 9, Yulmi and Shinzami showed higher activity, whereas cv. Huiza 6 showed the lowest. Cultivars of Shinzami and Shinhwangmi had the highest anthocyanin (3.5 mg/g fr wt) and polyphenol (15.8 mg/g fr wt) content, respectively. Interestingly, there was a high correlation between cultivars with colorful pigments in storage roots and antioxidants activity in leaves. These results suggest that sweetpotato leaves with high antioxidant activity at harvest would be

suitable for functional feed materials.

## 서론

고구마 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam]는 세계 7대 작물로 수분을 제외한 대부분이 에너지공급원인 탄수화물로 높은 열량식품이면서 특히 비타민 C와 카로티노이드, 안토시아닌, 폴리페놀, 각종 무기물, 식이섬유의 함량이 높아 기능성 식품 및 사료로 널리 이용되고 있다 (Bovell-Benjamin 2007). 아프리카와 중국, 일본 등에서는 고구마 잎과 잎자루를 채소로 이용하고 있으며 고구마 잎에는 평균 5% 내외의 단백질이 포함되어 있고 품종에 따라 20% 이상 함유한 경우도 있어 고 단백질 사료로의 가능성이 제기되었다. (Van AL et al. 2003; Bovell-Benjamin 2007). 또한 일본에서는 고구마 잎을 기능성채소로 활용하기 위해 영양성분을 증가시킨 품종 (cv. Suioh)을 개발하여 고구마 잎으로 기능성 차를 개발한 바 있다 (Ishiguro et al. 2004).

육질이 노란색인 황색고구마 품종은 높은 카로티노이드 성분을 함유하고 있고 전세계적으로 비타민 A의 결핍 (vitamin A deficiency, VAD)을 극복하는데 중요한 역할을 하고 있다. 이미 90여년 전에 고구마가 쥐의 VAD 현상을 극복한다는 것이 알려졌으며 (Steenbock 1919), 케냐에서는 황색 고구마를 년 중 섭취 가능한 가장 경제적인 베타카로틴의 재료로 규정하고 이를 소비자에게 널리 홍보하고 있다 (Solomons and Bulux 1997). 카로티노이드는 식물체에서 이소프레노이드의 생합성을 통해 만들어지며 지질산화 라디칼등 활성산소종을 제거하는 강력한 항산화 효능으로 영양소뿐이 아니라 암, 심장질환, 눈 질환등의 예방에 산업적으로 널리 이용되고 있다. (Ben-Amotz and Fishler 1998).

Y. O. Ahn · S. H. Kim · H.-S. Lee · S.-S. Kwak (✉)  
한국생명공학연구원 환경바이오연구센터  
(Environmental Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Daejeon 305-806, Korea)  
e-mail: sskwak@kribb.re.kr

J.-S. Lee  
국립식량과학원 바이오에너지작물센터  
(Bioenergy Crop Research Center, National Crop Research Institute, RDA, Muan, Jeonnam 534-833)

D. Ma  
중국농업과학원 고구마연구소  
(Sweetpotato Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Xuzhou 221121, China)

안토시아닌은 과일과 꽃에서 붉고 푸른 색을 나타내는 플라보노이드 화합물이다. 육질이 자색인 자미, 신자미, 보라미 등의 고구마 저장뿌리는 안토시아닌 색소를 2.28 g/100 g fr wt 내외로 함유하고 있으며 세포의 노화를 촉진시키고 각종 성인병의 원인이 되는 활성산소를 제거하는 항산화 작용이 탁월하다. Islam 등 (2002a)은 고구마 잎에 적어도 15종 이상의 생리활성이 높은 안토시아닌이 존재하며 이는 비타민 C나 E보다 강력한 항산화활성을 보이는 것으로 보고하였다 (Furuta et al. 1995; Rice-Evans et al. 1995; Philpott et al. 2003). 흥미롭게도 많은 식물체의 잎에서 안토시아닌 생합성은 활성산소를 유발하는 외부 환경스트레스에 의해 유도되는 것으로 보고되었으며 특히 잎이나 뿌리에서의 안토시아닌은 외부 공격으로부터 식물체를 보호하는 방어기작에 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Dixon et al. 1994; Neill et al. 2002).

식물의 페놀성화합물은 그 다양성과 광범위한 분포로 인해 가장 중요한 천연항산화제로 인식되고 있다. 폴리페놀과 페놀성화합물 또한 인체에서 각종 산화스트레스로부터 우리 몸을 보호하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 많은 주목을 받고 있다. 고구마뿌리의 대표적 폴리페놀인 hydroxycinnamic acids (HCA)는 강력한 항산화제로서 고구마 조직과 발현시기에 상관없이 대부분의 고구마 품종에 다량으로 함유되어 있다 (Islam et al. 2002b). 이와 같이 폴리페놀은 카로티노이드, 안토시아닌과 더불어 고구마가 높은 항산화활성을 나타내는데 크게 기여하고 있다.

한편, 중국 등 개도국의 소득증가에 따른 축산물의 소비 증가와 바이오 연료용 비식용 곡물 생산이 확대되고 있어 전세계적으로 사료용 작물의 수요는 계속 증가하고 있다. 우리나라 사료작물의 자급률은 굉장히 낮아 식량안보차원에서 사료자원의 안정적인 확보가 중요시되어 기능성이 강화된 사료를 개발하는 것이 요구된다. 저자들은 분자유종으로 고구마의 다양한 항산화물질의 생산을 증가시켜 궁극적으로 환경스트레스에 저항성을 갖고 생산성이 증대된 산업용 고구마를 개발하고 있다 (Lim et al. 2007). 그 동안 고구마연구의 대부분이 뿌리와 건강한 잎을 중심으로 보고되었으나 수확시기 버려지는 노화된 고구마 잎의 영양성분을 품종별로 비교한 연구결과는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 고구마 잎을 기능성 사료로 개발하기 위한 기초 연구로 14품종의 고구마를 대상으로 수확시기 잎의 DPPH 라디칼 소거활성 및 카로티노이드, 폴리페놀, 안토시아닌 등의 저분자항산화물질의 함량을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 식물체 재배

한국생명공학연구원 온실에서 재배한 14종 (한국품종:

White star, Yulmi, Shinzami, Shinhwangmi, Yeonhwangmi, Juhwangmi, Healthymi, Biomi, 중국품종: Yizi 138, Huiza 6, Wanshu 2, Yanshu 8, Xiangza 9, Nanjing 9)의 고구마 순을 2008년 6월 15일 대전시 유성구 전민동 밭에 삼식 후, 10월 28일에 지상부와 뿌리를 수확하였다. 분석을 위한 잎은 줄기에서 분리하여 -80도에 보관하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거활성은 Xiong 등 (1996)의 방법을 응용하여 측정하였다. 고구마 잎 200 mg을 액체질소하에서 막자사발을 이용하여 분쇄한 후, 100% methanol을 이용하여 저분자 항산화물질을 추출하였다. 50 mM의 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액을 이용하여 517 nm에서 반응하지 않고 남아있는 DPPH 양을 구하여 라디칼 소거활성을 측정하였다. 정량한 ascorbic acid (AsA)를 이용하여 standard 값을 구한 후 측정된 DPPH 라디칼 소거활성을 AsA equivalent 양으로 계산하였다.

### 폴리페놀 함량분석

폴리페놀의 분석은 Folin-Ciocalteu 방법 (Islam et al. 2002)을 변형하여 수행하였다. 300 mg의 고구마 잎을 액체질소 하에서 막자사발을 이용하여 분쇄한 후, 15 ml의 80% ethanol 을 넣고 boiling water bath에서 5분간 가열하였다. Ethanol을 evaporation 시킨 후 같은 양의 distilled water를 넣어서 다시 녹인 후, 추출물 100  $\mu$ l를 500  $\mu$ l의 phenol reagent와 섞은 다음 4분간 반응시켰다. 500  $\mu$ l의 sodium carbonate로 반응을 중단시킨 후 600 nm에서 흡광도를 조사하였다. Chlorogenic acid를 이용하여 standard curve를 작성한 후 폴리페놀 양을 chlorogenic acid equivalent 양으로 계산하였다.

### 카로티노이드 함량분석

500 mg의 고구마 잎에 3 ml의 hexane/acetone/ethanol (50:25:25, v/v/v)을 넣고 0.45 ml의 water를 넣어서 유기용매 분획과 수용액 분획을 분리하였다. 카로티노이드가 포함되어있는 유기용매 분획을 질소가스 (N<sub>2</sub>)를 이용하여 evaporation 시킨 후, dry extract를 다시 THF/ACN/methanol (15:30:55 v/v/v)의 용매로 녹인 후 440 nm에서 흡광도를 구하여 베타카로틴을 이용한 standard curve를 이용하여 카로티노이드 함량을 측정하였다.

### 안토시아닌 함량분석

안토시아닌 함량분석은 Dubos 등 (2008)의 방법을 이

용하였다. 200 mg 고구마 잎에 1% HCl이 첨가된 300  $\mu$ l의 acidic methanol을 넣어 4°C 저온에서 빛을 차단한 후 shaking incubation 하였다. 200  $\mu$ l의 water와 500  $\mu$ l의 chloroform을 넣어 추출 한 후, supernatant를 이용하여 530 nm와 657 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. Background를 제거하기 위해 530 nm 흡광도 값에서 657 nm 흡광도 값을 빼주고 authentic cyanidin으로 calibration curve를 만들어 안토시아닌 함량을 계산하였다.

### Glutathione 및 ascorbic acid 및 함량 분석

Glutathione 함량은 Griffith (1980)의 방법으로 glutathione reductase를 이용하여 산화형과 환원형의 glutathione 함량을 spectrophotometer에서 측정하였다. AsA 분석은 Graham과 Annette (1992)의 방법에 따라 고구마 잎을 metaphosphoric acid로 추출한 후 authentic AsA를 이용하여 HPLC로 정량 분석하였다.

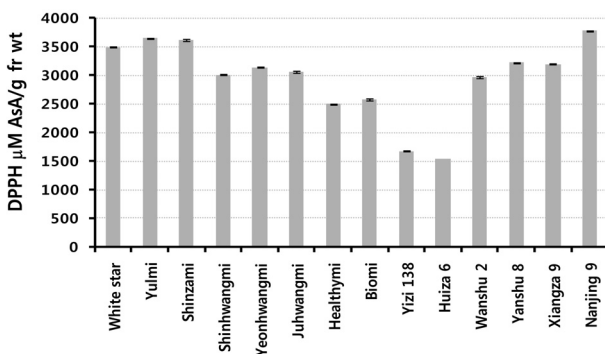
## 결과 및 고찰

### DPPH 라디칼 소거활성

14품종의 고구마 잎을 대상으로 저분자항산화물질의 함량을 비교하기 위한 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하였다 (Fig. 1). 한국품종인 White star, Yulmi, Shinzami, 중국품종인 Nanjing 9의 네 품종이 g fr wt 당 약 3500  $\mu$ M ascorbic acid (ASA) 상당의 높은 활성을 보였으며 중국품종인 Yizi 138과 Huiza 6은 가장 낮은 활성 (약 1500  $\mu$ M AsA)을 보였다. 가장 낮은 위 두 품종을 제외하면 전반적으로 2500  $\mu$ M AsA 이상의 높은 활성을 보였다.

### 폴리페놀 함량 분석

폴리페놀 함량의 경우 한국 품종인 Shinzami, Shinwhangmi,

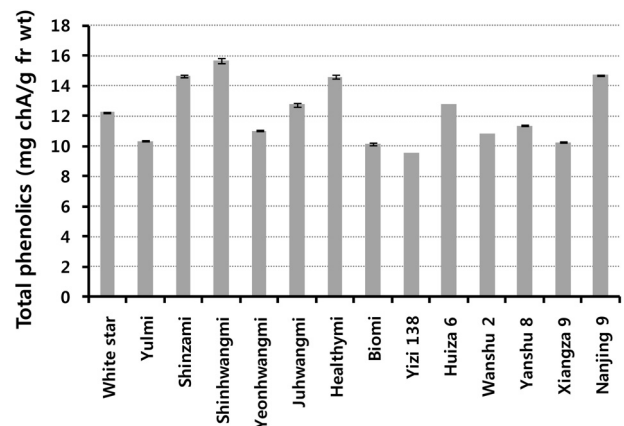


**Fig. 1** DPPH radical scavenging activity of 14 different varieties of sweetpotato. DPPH radical scavenging activity was calculated by calibration curve generated from standard ascorbic acid and expressed as ascorbic acid equivalent per sample (g fr wt). Error bars represent standard deviation from the mean (n = 3)

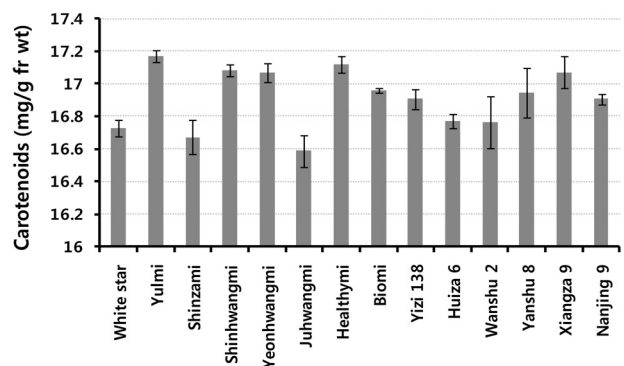
Healthymi와 중국 품종인 Nanjing 9 모두 네 품종이 g fr wt 당 14 mg chlorogenic acid 상당이상의 높은 함량을 보였다 (Fig. 2). 가장 낮은 품종인 Biomi, Yizi 138의 경우에도 10 mg chlorogenic acid에 근접한 함량을 보여 DPPH 라디칼 소거활성과는 달리 품종간의 차이가 크게 나타나지 않았다.

### 카로티노이드 함량 분석

Spectrophotometer를 이용하여 카로티노이드 함량을 분석하였다. 카로티노이드 함량의 경우 품종간의 차이가 매우 적어 조사한 모든 품종이 g fr wt 당 16 mg 이상의 높은 함량을 보였으며 그 중에서도 한국 품종인 Yulmi, Shinwhangmi, Yeonwhangmi, Healthymi와 중국 품종 Xiangza 9가 가장 높은 함량을 보였다 (Fig. 3). 이 결과는 저장뿌리의 카로티노이드 함량이 품종에 따라 큰 차이가 나는 것과는 대조적이다 (Bovell-Benjamin 2007). 이는 카로티



**Fig. 2** Polyphenol contents of 14 different varieties of sweetpotato. Polyphenol contents was calculated by standard curve of authentic chlorogenic acid and expressed as chlorogenic acid equivalent per sample (g fr wt). Error bars represent standard deviation from the mean (n = 3)



**Fig. 3** Carotenoids contents of 14 different varieties of sweetpotato. Carotenoid concentrations were calculated from calibration curve generated from standard  $\beta$ -carotene. Error bars represent standard deviation from the mean (n = 3)

노이드 생합성이 광합성이 일어나는 앞에서 일어나기 때문에 앞에서의 함량은 품종간 차이가 적지만 생성된 카로티노이드가 이동하여 저장뿌리로의 축적은 품종간 차이가 큰 것으로 생각된다. 수확시기 앞의 카로티노이드 함량이 저장뿌리의 주된 카로티노이드인 베타카로틴 함량 (약 2 µg/g fr wt, 미발표 결과)보다 매우 높음이 확인되었다.

안토시아닌 함량 분석

천연색소이면서 항산화제로 널리 쓰이는 안토시아닌의 함량을 분석하였다. 저장뿌리에서는 자미품종에 한정적으로 안토시아닌이 존재하지만 앞에서는 모든 품종에서 안토시아닌이 생합성되는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 가장 높은 함량은 뿌리에서도 안토시아닌이 축적되는 자색고구마인 Shinzami 품종에서 관찰되었으며 함량은 약 3.5 mg/g fr wt에 달하였다. 나머지 품종에서는 대략 1~2 mg/g fr wt의 안토시아닌 함량이 조사되었다 (Fig. 4). 고구마에 있는 안토시아닌은 acylated anthocyanin으로 anthocyanidin은 cyanidin이 70% 이상을 차지하고 나머지는 peonidin이다. 이들 anthocyanidin이 2-3개의 glucoside와 결합되어 있으며 acylation으로 변형되어서 다른 식물이 생산하는 anthocyanin에 비해 훨씬 안정한 것으로 알려져 있어 (Terahara et al. 2004) 수확시기 앞에서도 높은 함량이 유지되는 것으로 생각되어진다.

전체 glutathione 및 ascorbic acid의 함량 분석

환원형과 산화형의 glutathione을 포함하는 총 glutathione 함량을 조사하였다. 중국의 Yanshu 8 품종이 26 nmole/g

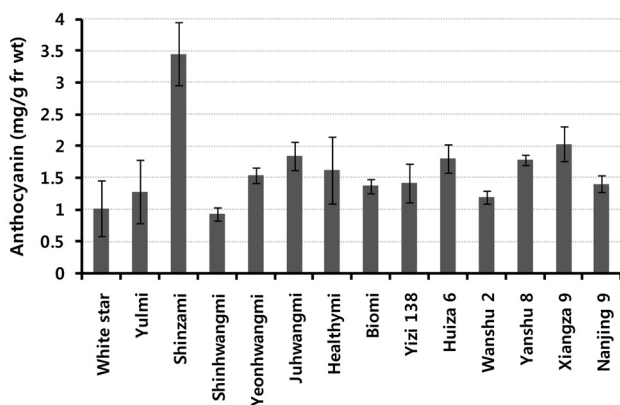


Fig. 4 Anthocyanin contents of 14 different varieties of sweet-potato. Anthocyanin quantification was performed from the readings measured at 530 nm and 657 nm. The reading at 657 nm was subtracted from the reading at 530 nm to eliminate interference. Authentic cyanidin glucoside was used to generate calibration curve. Error bars represent standard deviation from the mean (n = 3)

fr wt의 함량을 보였다. Shinhwangmi의 경우 1.3 nmole/g fr wt, Yulmi 와 Biomi가 5 nmole/g fr wt으로 낮은 함량을 보였으며 그 밖의 나머지 품종들은 10 nmole/g fr wt 전후의 전반적으로 낮은 함량을 보였다 (결과 미제시). 또한 환원형과 산화형의 AsA 함량도 조사하였으나 전체적으로 아주 낮은 함량을 보였다 (결과 미제시). 이는 성장시기에 따라 glutathione 및 AsA의 생합성이 조절되는 것으로 수확하는 시기인 노화가 진행된 식물체에서는 이들 두 저분자 항산화물질의 생합성이 활발하게 일어나지 않기 때문인 것으로 생각된다.

DPPH 라디칼 소거활성이 가장 낮았던 Yizi 138과 Huiza 6의 경우 조사한 모든 이차대사산물의 함량이 전반적으로 낮게 나왔다. DPPH를 이용하는 라디칼 소거활성에는 모든 항산화물질의 활성이 반영되지만 본 연구에서 조사한 4가지 특징적인 저분자항산화물질의 함량이 낮은 것이 두 품종에서 라디칼 소거활성이 낮은 주 원인으로 생각되어진다.

적 요

고구마는 폴리페놀, 안토시아닌, 카로티노이드등의 저분자항산화물질 함량이 다른 작물에 비해 높기 기능성식품으로 이용되고 있다. 본 연구에서는 고구마 잎을 기능성 사료작물로 개발하고자 수확시기 고구마 14품종 잎을 대상으로 DPPH 라디칼 소거활성 및 폴리페놀, 카로티노이드, 안토시아닌의 함량을 조사하였다. DPPH 라디칼 소거활성 조사결과 Nanjing 9, Yulmi, Shinzami 품종이 높은 활성을 보였으며 Huiza 6 품종이 가장 낮은 활성을 보였다. 안토시아닌 함량은 Shinzami 품종이 가장 많았고, 폴리페놀은 Shinhwangmi 품종이 가장 많았으나 그 차이는 크지 않았다. 또한 저장뿌리에서 안토시아닌, 카로티노이드와 같은 천연색소 함량이 높은 품종이 앞에서의 항산화 활성도 높게 나타났다. 본 연구에서 조사한 고구마 잎의 저분자항산화물질의 함량이 전반적으로 높고 품종별 차이가 크지 않은 것으로 조사되어 수확 후 버려지는 지상부가 품종에 관계없이 기능성 사료나 항산화물질의 추출재료로 사용 가능성이 제시되었다.

사 사

이 논문은 2008년 교육과학기술부 한국연구재단 (KRF-2008-532-F00006)과 한중공동연구프로그램의 지원으로 수행되었다.

## 인용문헌

- Ben-Amotz A, Yatziv S, Sela M, Greenberg S, Rachmilevich B, Shwarzman M, Weshler Z (1998) Effect of natural beta-carotene supplementation in children exposed to radiation from the Chernobyl accident. *Radiat Environ Biophys* 37: 187-193.
- Bovell-Benjamin AC (2007) Sweet potato: a review of its past, present, and future role in human nutrition. *Adv Food Nutr Res* 52:1-59.
- Dixon RA, Harrison MJ, Lamb CJ (1994) Early events in the activation of plant defence responses. *Annu Rev Phytopathol* 32:479-501.
- Dubos C, Le Gourrierec J, Baudry A, Huet G, Lanet E, Debeaujon I, Routaboul JM, Alboresi A, Weisshaar B, Lepiniec L (2008) MYBL2 is a new regulator of flavonoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 55:940-953.
- Furuta S, Nishiba Y, Suda I (1995) Antioxidative activity of sweetpotato containing anthocyan pigment. *Sweetpotato Res Front* 1:3
- Graham WD, Annette D (1992) Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in potatoes (*Solanum tuberosum*) and strawberries using ion-exchange chromatography. *J Chromatogr* 594:187-194
- Griffith OW (1980) Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem* 106:207-212.
- Ishiguro K, Toyama J, Islam MS, Yoshimoto M, Kumagai T, Kai Y, Nakazawa Y, Yamakawa O (2004) Suioh, A new sweetpotato cultivar for utilization in vegetable greens. *Acta Hort* 637: 339-345.
- Islam MS, Yoshimoto M, Terahara N, Yamakawa O (2002a) Anthocyanin compositions in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaves. *Biosci Biotechnol Biochem* 66:2483-2486.
- Islam MS, Yoshimoto M, Yahara S, Okuno S, Ishiguro K, Yamakawa O (2002b) Identification and characterization of foliar polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *J Agric Food Chem* 50:3718-3722.
- Lim S, Kim YH, Kim SH, Kwon SY, Lee HS, Kim JS, Cho KY, Paek KY, Kwak SS (2007) Enhanced tolerance of transgenic sweetpotato plants that express both CuZnSOD and APX in chloroplasts to methyl viologen-mediated oxidative stress and chilling. *Mol Breeding* 19:227-239
- Neill SO, Gould KS, Kilmartin PA, Mitchell KA, Markham KR (2002) Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema rugosum*. *Plant Cell Environ* 25:539-547.
- Philpott M, Gould KS, Markham KR, Lewthwaite SL, Ferguson LR (2003) Enhanced coloration reveals high antioxidant potential in new sweetpotato cultivars. *J Sci Food Agric* 83:1076-1082.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB (1995) The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res* 22:375-383.
- Solomons NW, Bulux J (1997) Identification and production of local carotene-rich foods to combat vitamin A malnutrition. *Eur J Clin Nutr* 51 Suppl 4:S39-45.
- Steenbock H (1919) White corn vs. yellow corn and a probable relation between the fat-soluble vitamins and yellow plant pigments. *Science* 50:352-353
- Terahara N, Konczak I, Ono H, Yoshimoto M, Yamakawa O (2004) Characterization of acylated anthocyanins in callus induced from storage root of purple-fleshed sweet potato, *Ipomoea batatas* L. *J Biomed Biotechnol* 2004:279-286.
- Van AL, Hong TT, Ogle B, Lindberg JE (2005) Utilization of ensiled sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves as a protein supplement in diets for growing pigs. *Trop Anim Health Prod* 37:77-88
- Xiong Q, Kabota S, Tadota T, Namba T (1996) Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biol Pharm Bull* 19:1580-1585