

두릅 순 및 잎 추출물의 항산화 효과

차재영¹ · 안희영 · 엄경은 · 박보경 · 전방실 · 조영수*

동아대학교 생명공학과, ¹대선주조(주) 기술연구소

Received March 6, 2009 / Accepted April 20, 2009

Antioxidative Activity of *Aralia elata* Shoot and Leaf Extracts. Jae Young Cha¹, Hee Young Ahn, Kyung Eun Eom, Bo Kyung Park, Bang Sil Jun and Young Su Cho*. *Department of Biotechnology, College of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea and ¹Technical Research Institute, Daesun Distilling Co., Ltd. Busan 619-934, Korea* - The comparative activities of aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* shoot (AES) and leaf (AEL) were tested by *in vitro* experimental models of linoleic acid peroxidation by thiocyanate and thiobarbituric acid (TBA) methods and scavenging activities of free radicals by DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl). In addition, bio-active materials (phenolic compounds and minerals) were also measured. The extract yield of each solvent extracted from AES and AEL was 3.08% and 3.13% in aqueous, 0.58% and 0.66% in ethanol, and 0.81% and 1.73% in methanol, respectively. The highest extract yield was found in the aqueous extract from AEL. Major mineral contents (mg%) of AES and AEL were 575.7 and 759.3 in Ca, 353.5 and 330.0 in K, and 31.3 and 31.0 in Mg, respectively. The highest free radical scavenging activity was found in the aqueous extract by 28.69% at 0.1% additional level from AES and in the methanol extract by 92.36% at 0.1% additional level from AEL. Free radical scavenging activity was stronger in AEL than in AES. In antioxidative activities determined by thiocyanate and TBA methods against lipid peroxidation using linoleic acid, ethanol extracts from AEL showed the highest antioxidative activity at all treatment concentrations. These results may provide the basic data to understand the biological activities of bio-active materials derived from AES and AEL.

Key words : *Aralia elata*, antioxidative activity, lipid peroxidation, DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl), phenolic compounds

서 론

식생활이 서구화되어지면서 암, 뇌질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등 만성적인 생활 습관병이 증가하고, 생체방어, 질병의 예방 및 회복, 노화방지 등의 건강기능성에 대한 관심이 고조되고 있다[1,17]. 이러한 각종 질병과 노화는 대사과정 중에 생성되는 활성산소와 과산화지질 등의 산화반응에 기인하는 것으로 알려지면서 천연물 유래의 여러 항산화 물질에 대한 연구가 활발히 전개되고 있다[23,24,33,43,44]. 천연물에 존재하는 대표적인 항산화 물질로는 phenolic compounds [6], ascorbic acid [21], tocopherol [32], carotenoids [42], flavonoids [11], zinc [7], glutathione [8] 등이 알려져 있으나 극히 일부의 물질을 제외하고는 실용적으로 사용되는 경우는 별로 없기 때문에 효과적인 항산화제 개발을 위해서는 독성이 낮은 천연물에 대한 보다 광범위한 검색과 연구가 필요한 실정이다. 지금까지 천연 항산화제로 연구 개발된 것을 보면 phenolic compounds, flavonoids, carotenoids 등 식물화합물이 주류를 이루고 있는데 이러한 연구의 일환으로써 phenolics 화합물을 많이 함유한 두릅 추출물에 관심이

집중되고 있다[18,36,40].

두릅나무(*Aralia elata* Seem)는 두릅나무과에 속하는 식물로 예로부터 민간과 한방에서 당뇨병, 신장병, 급만성 간염, 위장질환 개선과 강장제로 이용되어져 왔으며, 어린잎과 줄기는 특유의 향과 약간 쓴 맛이 있어 기호식품으로 각광받고 있는 가운데 식용 가능한 야생식물들의 새로운 식품학적 가치가 인정되면서 농가소득 증대를 위한 대체작물로 생산량이 점차 증가 추세에 있는 실정이다[29,14,46]. 두릅나무는 오가피(*Acanthopanax sessiliflorus*), 인삼(*Panax ginseng*), 음나무(*Kalopanax pictus* var. *magnificus*) 등과 같이 두릅나무과(*Araliaceae*)에 속하는 약용식물로 주로 약재로 사용되어지고 있는데[29], 그 약효성분은 triterpenoid saponin, oleanolic acid, sitosterol, choline, hederagenin, congmyanosides A, C, D, echinocystic acid, alkaloid, palmitic acid, linoleic acid, methyl eicosanoate, 3,4-dihydroxybenzoic acid 및 hexacosol 등이 알려져 있다[36,39,40]. 또한 두릅 순에는 ascorbic acid, retinol, β -carotene와 같은 비타민이 풍부할 뿐만 아니라 K, Ca, P, Mg와 같은 무기질도 많이 함유하고 있어 고급 신선채소로 많이 이용되며, 최근에는 무공해 건강식품을 선호하는 식생활 요구에 맞추어 잎 김치와 피클 등의 김치류와 고혈압 환자용 음료개발 등 건강기능성 식품 소재로 활용됨으로서 그 이용가치가 점차 증가하는 추세에 있다

*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : choys@dau.ac.kr

[14,18-20,29]. 두릅나무의 약리적인 효과는 주로 혈당저하 효과, 알코올 흡수 저해효과, 위염 및 위궤양 효과가 보고되어져 왔으며, 최근 들어 간독성 보호 효과, 지질저하 효과 및 항산화가 보고되고 있다[15,22,30,46,47]. 두릅나무는 다양하고 우수한 약리작용을 가지고 있으면서 마우스를 이용한 단회독성 실험에서 두릅추출물을 투여 가능 최대용량인 5,000 mg/kg b.w.까지 어떠한 독성 소견도 보이지 않아 독성이 없는 안전한 천연물로 확인됨으로서 기능성식품 소재로 활용하는데 아무런 문제가 없는 것으로 사료되어 진다[45].

그러나 두릅나무에 폴리페놀 화합물이 많이 함유되어 있어 항산화작용이 기대되고 있으나 이에 대한 구체적인 연구는 거의 없는 실정므로 본 연구에서는 두릅나무 순과 잎의 추출물에 존재하는 생리활성 물질의 소재개발을 위하여 용매 추출물별 생리활성물질과 이화학적 특성 및 항산화 효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 시험 물질인 두릅순은 2008년 3~4월경 경남 양산시 동면 인근에서 자생하는 길이 10 cm 이하의 식용적기인 새순을 채취하였으며, 두릅 잎은 두릅새순이 완전히 자란 잎을 채취하여 수세하고, 통풍이 잘되는 음지에서 자연 건조 시킨 후 100 mesh 분말로 만들어 시료로 사용하였다.

시료의 추출 및 수율 측정

수용성 추출물은 두릅 순 및 두릅 잎 건조 분말 시료에 10 배 양의 증류수를 가한 후 80°C 항온수조에서 3시간씩 교반하면서 3회 반복 추출하였으며, 에탄올 및 메탄올 각 70% 용매를 수용성 추출물과 동일한 방법으로 추출한 후 추출액을 모아 여과지(Whatman No.2)로 여과시켜 여과액을 rotatory vacuum evaporator로 감압 농축하여 각각의 용매를 제거시킨 후 freeze dryer로 동결건조 하여 추출 수율을 구하였다.

총 폴리페놀 화합물의 함량 측정

총 폴리페놀 화합물의 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 것을 이용한 Folin-Denis법[41]을 약간 변형시켜 측정하였다. 즉, 시료용액 0.5 ml에 Folin-ciocalteu's phenol reagent 2.5 ml를 첨가하여 잘 혼합하고 5분간 실온에서 방치하였다. 정확히 5분 반응시킨 후 7.5% Na₂CO₃ 2 ml를 가하여 혼합하고 50°C에서 5분간 발색시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. Tannic acid를 이용한 표준곡선은 tannic acid 1 g을 50% 메탄올용액 1 ml에 녹이고 최종농도가 0, 50, 100, 150, 200, 300 및 500 µg/ml 용액이

되도록 취하여 위와 같은 방법으로 760 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

무기물 함량 측정

두릅 순 및 두릅 잎 동결건조 분말의 무기물 함량은 AOAC 분석 방법에 준하여 측정하였다[2]. 즉, 두릅 순 및 두릅 잎 동결건조 분말 1 g을 각 550°C 회화로에서 3시간 회화시킨 후 6 N HCl에 용해시켜 완전히 산분해 시켜 수욕상에서 산을 완전히 제거하고, 이 건고물에 3 N HCl를 가하여 Whatman No. 4 여과지로 여과하여 원소 종류에 따라 각각 일정비율로 희석하여 원자흡광 분광광도계(AAnalyst 300, Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)를 이용하여 측정하였다.

DPPH법에 의한 항산화 활성 측정

DPPH (*α,α'*-diphenyl-β-picrylhydrazyl) 용액은 100 ml 에탄올에 DPPH 16 mg을 녹인 후 증류수 100 ml를 혼합하여 Whatman filter paper NO. 2에 여과시켜 만들었다. 이 용액 5 ml에 일정농도(0.025%, 0.05%, 0.1%)의 시료용액 1 ml을 혼합한 후 실온에서 30분간 반응시킨 후 528 nm에서 흡광도의 감소를 측정하였다. 이때 대조구인 BHT는 0.05% 농도로 첨가하여 위와서와 동일한 방법으로 흡광도 감소를 측정하였다. DPPH를 이용한 전자공여능(electron donating ability; EDA)[3]은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다.

$$EDA (\%) = \{1 - (\text{Abs}/\text{Abs}_c)\} \times 100$$

Abs: Absorbance of control treatment at 528 nm

Abs: Absorbance of sample treatment at 528 nm

Thiocyanate에 의한 항산화 활성 조사

Ohkawa의 방법[37]에 따라 먼저 linoleic acid (25 mg/ml in EtOH), ferrous chloride (2.45 mg/ml in 3.5% hydrochloric acid), ammonium thiocyanate (0.3 g/ml in H₂O), 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0)를 조제하여 이들을 stock solution으로 사용하였다. 혼합용액은 시료용액 0.2 ml, linoleic acid 0.2 ml을 시험관에 넣고 혼합한 후 phosphate buffer 0.4 ml와 증류수 0.2 ml를 가하여 40°C에서 incubation하면서 일정간격으로 측정하였다. 측정방법은 혼합용액에서 0.1 ml을 취하여 시험관에 넣고 70% ethanol 3 ml과 ammonium thiocyanate 용액 0.1 ml, ferrous chloride 용액 0.1 ml를 혼합한 후 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 BHT를 0.05% 농도로 사용하여 BHT 첨가구로 하였다.

TBA (2-thiobarbituric acid)에 의한 항산화 활성 조사

시료용액 1.0 ml, linoleic acid (25 mg/ml in EtOH) 1.0

ml을 시험관에 넣고 혼합한 후 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) 2 ml와 증류수 1.0 ml를 가하여 40°C에서 incubation 하면서 일정간격으로 측정하였다. 측정 방법[4]은 시료액 0.5 ml를 centrifuge tube에 넣고 35% trichloroacetic acid 0.25 ml와 0.75% aqueous TBA 0.5 ml를 가하여 혼합한 후 boiling water bath에서 가끔 shaking하면서 15분간 처리하여 흐르는 물에 냉각시킨 후 70% trichloroacetic acid 0.5 ml를 가한 다음 20분 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하고, 그 상정액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

두릅 순 및 두릅 잎의 추출 수율

천연물로부터 생리활성물질과 같은 유효성분을 가장 효율적으로 추출하기 위하여 사용량, 추출 용매의 종류, 추출 온도 및 시간 등이 검토되고 있다[5,13,16]. 천연물 중에는 catechins, pectin, caffeine, flavonoids, tocopherol과 같은 식물성 phenolic compounds는 수용성 또는 지용성으로 구분되어 있어 추출되는 용매에 따라 추출되는 성분들이 달라지기 때문에 추출 수율에 있어서도 많은 차이를 보이고 있다[5,28]. 본 실험에서 추출된 두릅 순 및 두릅 잎의 수용성 추출물의 수율은 각각 3.08% 및 3.13%였으며, 에탄올 추출 수율은 각각 0.58% 및 0.66였고, 메탄올 추출 수율은 각각 0.81% 및 1.73%로 용매 중에서는 수용성 추출에서 수율이 가장 높았으며, 두릅 순 보다는 두릅 잎에서 추출 수율이 더 높았다 (Table 1). Shin [38]은 두릅, 오가피, 느릅나무 뿌리의 수용성 추출물 수율이 각각 18.5%, 8.8%, 11.8%라고 하였으나, 본 실험 결과에서 두릅 순 및 두릅 잎의 수용성 추출물의 수율이 더 낮은 경향을 보여 뿌리에서 더 많은 성분이 추출되는 것으로 사료된다.

총 폴리페놀 화합물의 함량

폴리페놀 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물로서 flavonoid, catechin, tannin 류로 크게 구분된다. 특히, 페놀성 화합물들은 전자공여능이 있어 높은 항산화 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다[9,27]. 본 실험에서 사용한 두릅 순 및 두릅 잎 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 두릅 순 및 두릅 잎 전체를

Table 1. Extracted yield in the aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* shoot (AES) and leaf (AEL)

Extracts	Extracted yield (%)	
	AES	AEL
Aqueous	3.08	3.13
Ethanol	0.58	0.66
Methanol	0.81	1.73

Table 2. Total phenolic compounds concentrations in the aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* shoot (AES) and leaf (AEL)

Extracts	Total phenolic compounds concentrations (%)	
	AES	AEL
Aqueous	4.68±0.16	10.74±0.97
Ethanol	6.61±0.23	16.20±0.65
Methanol	5.00±0.07	16.68±0.71

Values are mean±SD, n=3.

동결건조 하여 얻어진 시료에서 총 폴리페놀 화합물 함량은 각각 2.46% 및 6.13%로 두릅 잎에서 더 많이 함유되었다. 두릅 순 수용성 추출물의 총 폴리페놀 화합물은 4.68% 함유되어 있었으며, 에탄올 및 메탄올 추출물 중에는 각각 6.60% 및 5.00% 함유되어 있어 에탄올 추출물에서 가장 높은 함량을 보였다. 또한 두릅 잎의 수용성 추출물에는 10.74%, 에탄올 추출물에는 16.20%, 메탄올 추출물에는 16.68% 함유되어 있었으며, 두릅 순과는 달리 메탄올 추출물에서 가장 높은 함량을 보였다. 그리고 두릅 순 보다는 두릅 잎에서 총 폴리페놀 화합물 함량이 높았다.

국내산 식물성 천연물 중의 총 폴리페놀 화합물 함량을 분석한 결과를 보면 솔잎 1.61%~1.80%[48], 음양곽 8.12%[26], 뽕나무 잎 1.32% 및 꾸지뽕나무 잎 1.34%[4], 호두 2.06%, 밤 속껍질 5.76%, 칩뿌리 2.01%, 감잎 5.76% 등에서 비교적 높은 농도로 조사 되었으며, 선인장 열매에서도 3.4%~4.9%로 상당히 많은 양의 폴리페놀 화합물을 함유하고 있는 것으로 조사되었다[34]. Han 등[18]은 땅 두릅 메탄올 추출물에서 5.83% 및 땅 두릅 잎 메탄올 추출물에서 7.83%로 땅 두릅보다 땅 두릅 잎에서 높은 폴리페놀 함량을 보여 본 실험결과와 일치하였다. 또한 Jung 등[25]의 조사에서는 두릅나무 잎, 줄기, 뿌리의 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 화합물은 각각 6.21%, 6.53%, 7.02%로 보고되었으며, Lee 등[35]은 섬고사리와 물영경귀 잎의 총 폴리페놀 함량이 각각 12.07% 및 13.02%로 상당히 높았다고 하였다. Kim 및 Im [28]은 두릅순의 조사포닌 함량을 측정된 결과 7.38%로 높았으며, Han 등 [18]은 총 플라보노이드 함량이 땅 두릅 및 땅 두릅잎 메탄올 추출물에서 각각 1.13% 및 1.54%로 조사되어 본 결과와는 상당히 다른 결과를 보여 주었다. 이상의 결과들을 비교해보면 두릅 순 및 두릅 잎에서 많은 양의 폴리페놀 화합물을 함유하고 있으며, 특히 두릅 잎의 메탄올 추출물에서 많은 폴리페놀 화합물을 함유하고 있어서 향후 천연 항산화제로서의 사용 가능성과 노화 관련 개선/예방제 건강기능식품 소재 개발 가능성도 있을 것으로 사료되어 진다.

두릅 순 및 두릅 잎의 무기질 함량

두릅 순 및 두릅 잎을 동결건조 하여 얻어진 시료의 무기

Table 3. Mineral concentrations in *Aralia elata* shoot (AES) and leaf (AEL)

Minerals	Mineral concentrations (mg%)	
	AES	AEL
Ca	575.66±1.51	759.33±1.30
K	353.50±0.75	330.00±0.70
Mg	31.26±0.09	30.97±0.08
Mn	2.60±0.01	1.69±0.01
Zn	1.25±0.01	1.18±0.01
Na	0.64±0.00	0.48±0.00
Fe	0.52±0.00	0.69±0.01

Values are mean±SD, n=3.

질 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 무기질 성분 조성 비율을 보면 전체적으로 두릅 순 및 두릅 잎에서 Ca이 각각 575.7 및 759.3 mg%로 가장 많이 함유되어 있었고, 다음으로 K가 353.5 및 330.0 mg%, Mg가 31.3 및 31.0 mg%였으며, Zn, Mn, Na, Fe 성분은 소량씩 함유되어 있었다. Han 등[18]이 측정된 결과에서는 땅 두릅과 땅 두릅 잎에서 K가 각각 264.0 및 172.0 mg%로 가장 많이 함유되어 있었고, 그 다음으로 Ca이 각각 36.0 및 140.0 mg%로 함유 되어 본 실험 결과와는 다른 양상을 보였다. 그러나 K가 두릅 순보다는 두릅 잎에 낮은 함량을 보인 것과 Ca이 두릅 순보다는 두릅 잎에서 훨씬 많은 함량을 보인 결과는 동일하였다. Kim 등[31]은 남해안 지역에서 9월에 채취한 함초에서 무기질 성분을 분석한 결과 Ca 성분이 가장 높다고 하였다. 이처럼 두릅에서 무기질 성분 중 Ca 함량이 높은 것은 인슐린 분비와 작용에 필수적인 역할을 하는 점을 감안하면 두릅나무의 주요 효능으로 알려진 당뇨병 치료와 무관하지 않으며[14,30,38,46], K 함량이 높은 것 또한 식염의 과다섭취로 인한 피해를 막아주어 혈압을 강하시키는 고혈압 치료제로 알려진 것과 무관하지 않는 것[14]으로 사료되어 진다.

DPPH free radical에 의한 전자공여 활성

DPPH는 비교적 안정한 free radical로써, ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는데, 이러한 DPPH법은 식물 추출물의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 활성과도 연관성이 매우 높기 때문에 많이 이용되고 있다 [3,4,13]. 두릅 순 수용성 추출물의 DPPH free radical 소거정도를 측정하여 전자공여능으로 항산화 활성을 나타낸 결과, 0.1%, 0.05%, 0.025 농도에서 각각 28.69%, 20.14%, 19.95%로 나타나 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으나, 에탄올 및 메탄올 추출물에서는 항산화 활성이 아주 낮게 나타났다 (Table 4). Kim 등[34]은 약용식물의 수용성 추출물에서 전자공여능에 의한 항산화 활성을 측정된 결과 1.0 mg/ml

Table 4. DPPH free radical scavenging activities in the aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* shoot (AES) and leaf (AEL)

Composition	Concentration (%)	Radical scavenging activities (%)	
		AES	AEL
BHT	0.05	92.29±0.33	
	0.025	19.95±0.72	41.32±0.12
	0.05	20.14±0.29	41.77±0.17
Aqueous	0.1	28.69±0.31	54.89±0.07
	0.025	0.00±0.00	36.85±0.26
	0.05	1.62±0.09	67.03±0.47
Ethanol	0.1	2.78±0.30	89.77±0.18
	0.025	1.42±0.14	41.00±0.27
	0.05	3.63±0.25	77.53±0.82
Methanol	0.1	9.97±0.31	92.36±0.12

BHT: butylated hydroxytoluene.

(0.1%) 농도에서 당귀 15.8%, 감초 13.3%, 옥죽 5.4%로 보고 되어 본 실험결과와 유사한 것으로 나타났다. 그러나 저자들의 예비실험에서 고농도인 두릅순 수용성 추출물 0.25% 및 5.0% 처리에 의해 DPPH free radical 소거능이 각각 82.8% 및 88.1%였으며, 두릅잎 수용성 추출물 0.25% 및 5.0% 처리에 의한 DPPH free radical 소거능은 각각 86.7% 및 89.3%로 상당히 높은 것으로 나타났으며, 이 때 대조군으로 사용된 시판 합성 항산화제인 BHT 0.05% 처리에 의해서도 91.8%였다 (미발표). 특히 두릅잎 추출물의 0.1% 첨가구에서는 수용성 추출물 54.86%, 에탄올 추출물 89.77%, 메탄올 추출물 92.36%로 높게 나타났으나, 이보다 낮은 농도 처리에 의해서는 전자공여능이 다소 떨어지는 경향을 보였다 (Table 4). 메탄올 추출물 0.1% 첨가는 시판 항산화제로 사용되고 있는 BHT 0.05% 처리의 92.29%와 비슷한 수준으로 가장 높은 전자공여능을 나타내었다. Han 등[18]은 땅 두릅 및 땅 두릅잎 추출물 100 µg/ml 농도에서 DPPH free radical 소거능은 각각 97.84 및 99.69%였으며, 천연 항산화 ascorbic acid 및 합성 항산화제 BHT의 DPPH free radical 소거능은 각각 96.15%와 86.22% 정도의 항산화능을 보여 땅두릅 및 땅 두릅 잎에서 우수한 항산화능이 있었다고 하였다. 이상의 결과에서 두릅의 DPPH free radical 소거능은 추출 용매의 차이에 의해 크게 영향을 받는 것으로 나타났으며, 특히 두릅잎의 메탄올 추출물에서 비교적 높은 항산화 활성을 가진 것으로 보여 항산화 기능성 소재로 적합한 것으로 사료되어 진다.

불포화 지방산 Linoleic acid 산화 실험계를 이용한 항산화 활성

불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate 방법으로 두릅순 및 두릅잎 추출물의 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 1과 2에 나타내었다. 두릅순 추출물을 사용한 모든

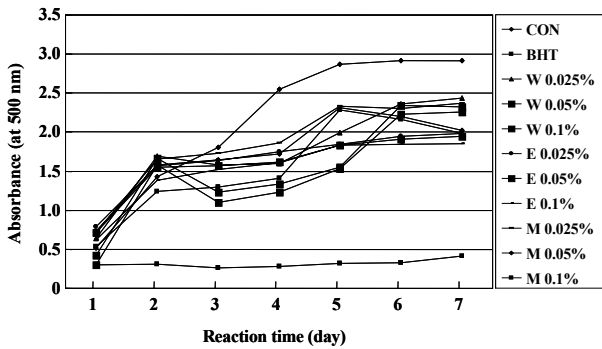


Fig. 1. Antioxidative activities of the aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* shoot against the linoleic acid oxidation measured by the ferric thiocyanate method. Con: control, BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%), W: aqueous extract, E: ethanol extract, M: methanol extract.

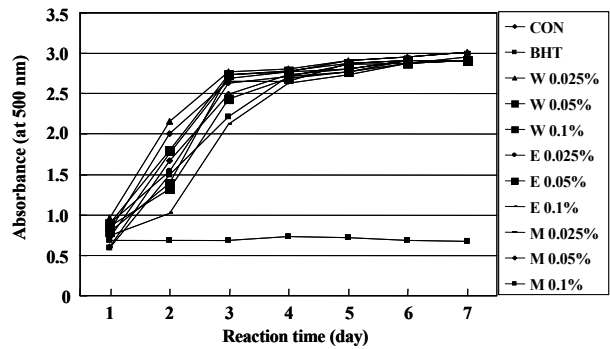


Fig. 3. Antioxidative activities of the aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* shoot against the lipid peroxidation measured by the ferric TBA method. Con: control, BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%), W: aqueous extract, E: ethanol extract, M: methanol extract.

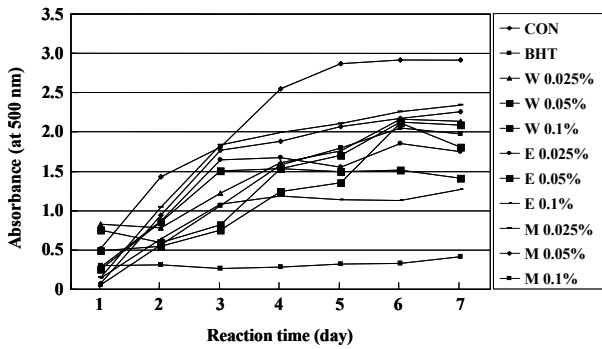


Fig. 2. Antioxidative activities of the aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* leaf against the linoleic acid oxidation measured by the ferric thiocyanate method. Con: control, BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%), W: aqueous extract, E: ethanol extract, M: methanol extract.

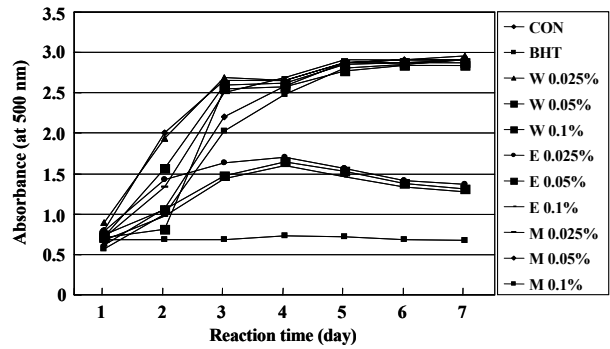


Fig. 4. Antioxidative activities of the aqueous, ethanol, and methanol extracts from *Aralia elata* leaf against the lipid peroxidation measured by the ferric TBA method. Con: control, BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%), W: aqueous extract, E: ethanol extract, M: methanol extract.

실험구에서 반응 3일째까지 산화반응이 계속 증가 경향을 보이다가 4일째부터는 서서히 증가하면서 7일째 최고조에 이르렀다. 한편 두릅잎 추출물을 사용한 실험구에서는 수용성 추출물과 메탄올 추출물은 반응 일수와 함께 산화 반응이 증가하는 경향을 보인 반면 두릅잎 에탄올 추출물에서는 수용성과 메탄올 추출물보다 전체적으로 약 절반 정도의 산화반응을 보여 가장 높은 항산화 활성이 유지되었다. 이들에 비해 대조구로 사용된 시판 합성 항산화제인 BHT는 매우 강한 항산화 작용을 보였다. Choi 등[12] 및 Chang 등[10]도 식품으로 사용되어 그 안전성이 확인된 각종 식물 및 약재에 에탄올과 물로 추출하여 항산화력을 검색한 결과, 에탄올 추출물이 물 추출물 보다 항산화 효과가 강하고 추출 수율도 높았다고 하였다. 불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 TBA 방법으로 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 4에 나타내었다. 추출물 무첨가 대조구에서는 반응일수 증가와 함께 계속

적으로 산화반응이 증가하는 경향을 보였으며, 두릅 순 및 두릅 잎 추출물에서는 반응 3일째까지 대조구와 비슷한 수준으로 산화반응이 증가하는 경향을 보이다가 반응 4일째부터 더 이상 산화반응이 증가하지 않고 비교적 높은 항산화 활성을 나타내었다. TBA법으로 불포화 지방산인 linoleic acid의 산화 반응을 측정한 결과에서도 thiocyanate 방법으로 측정한 결과와 마찬가지로 두릅 순 및 두릅 잎의 에탄올 추출물에서 우수한 항산화 활성을 보였다.

이상의 실험결과에서 항산화 활성과 밀접한 관련성을 가지고 있는 총 폴리페놀 화합물 함량, DPPH free radical 소거 활성능, 불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate 법 및 TBA법으로 지질과산화 정도는 두릅순 추출물보다는 두릅잎 추출물에서 더 우수한 항산화 활성을 가진 것으로 나타나 향후 천연 항산화제 소재 개발에 유용하게 사용될 것으로 사료되어 진다.

요 약

두릅 순 및 두릅 잎의 천연 항산화제 소재 개발을 목적으로 생리활성물질 분석과 항산화 활성을 DPPH free radical 소거 활성능, 불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate법 및 TBA법으로 지질과산화 정도를 측정 하였다. 두릅 순 및 두릅 잎으로 부터 추출된 수율은 수용성 3.08% 및 3.13%, 에탄올 추출물 0.58% 및 0.66%, 메탄올 추출물 0.81% 및 1.73%로 용매 중에서는 메탄올 추출에서 수율이 높았으며, 두릅 순 보다는 두릅 잎에서 추출 수율이 높았다. 두릅순의 총 폴리페놀 화합물 함량은 수용성 4.68%, 에탄올 6.60% 및 메탄올 5.00%로 에탄올 추출물에서 가장 높았으며, 두릅 잎에서는 수용성 10.74%, 에탄올 16.20% 및 메탄올 16.68%로 메탄올 추출물에서 가장 높은 함량을 보였고, 두릅 순 보다는 두릅 잎에서 총 폴리페놀 화합물 함량이 높았다. 미네랄 함량은 두릅 순 및 두릅 잎에서 Ca이 각각 575.7 및 759.3 mg%로 가장 많이 함유되었고, 다음으로 K가 353.5 및 330.0 mg%, Mg가 31.3 및 31.0 mg%였으며, Zn, Mn, Na, Fe 성분은 소량씩 함유되어 있었다. DPPH free radical 소거 활성능은 두릅 순 수용성 추출물 0.1% 농도에서 28.69%로 에탄올과 메탄올 추출물보다 높았으며, 두릅 잎 추출물 0.1% 첨가구 에서 수용성 추출물 54.86%, 에탄올 추출물 89.77%, 메탄올 추출물 92.36%로 메탄올 추출물에서 가장 높게 나타났다. DPPH free radical 소거 활성능 측정에서는 두릅 잎 메탄올 추출물 0.1% 첨가가 시판 합성 항산화제인 BHT 0.05% 처리의 92.29%와 비슷한 수준으로 가장 높은 전자공여능을 나타내었다. 불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate법으로 항산화 활성을 측정한 결과에서는 두릅 잎 에탄올 추출물에서 높았으며, TBA법 항산화 활성 측정에서도 두릅순과 두릅 잎 에탄올 추출물에서 각각 우수한 항산화 활성을 보였다. 이상의 실험결과에서 항산화 활성과 밀접한 관련성을 가지고 있는 총 폴리페놀 화합물 함량, DPPH free radical 소거 활성능, 불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate법 및 TBA법으로 지질과산화 정도는 두릅 순 추출물 보다는 두릅 잎 추출물에서 더 우수한 항산화 활성을 가진 것으로 나타나 향후 천연 항산화제 소재 개발에 유용하게 사용될 것으로 사료되어 진다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

- Ahmed, K. A., M. Sekaran Muniandy, and I. S. Ismail. 2009. N^ε-(Carboxymethyl)lysine and Coronary Atherosclerosis-Associated Low Density Lipoprotein Abnormalities in Type 2 Diabetes: Current Status. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **44**, 14-27.
- AOAC. 1975. official methods of analysis. 12th ed., Association of official analytical chemists. Washington, D.C., U.S.A.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
- Cha, J. Y., H. J. Kim, C. H. Chung, and Y. S. Cho. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1310-1315.
- Cha, J. Y., J. J. Jeong, Y. T. Kim, W. S. Seo, H. J. Yang, J. S. Kim, and Y. S. Lee. 2006. Detection of chemical characteristics in Hamcho (*Salicornia herbacea*) according to harvest periods. *J. Life Sci.* **16**, 683-690.
- Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1131-1136.
- Cha, J. Y., J. S. Heo, B. K. Park, H. Y. Ahn, B. S. Jun, and Y. S. Cho. 2008. Antioxidative activity of zinc-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-10 in *in vitro* model system. *J. Life Sci.* **19**, 179-184.
- Cha, J. Y., S. H. Park, J. S. Heo, and Y. S. Cho. 2008. Suppressive effect of administrated glutathione-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 on the oxidative stress in alcoholic fatty liver. *J. Life Sci.* **18**, 1053-1058.
- Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1131-1136.
- Chang, Y. S., U. Choi, D. H. Shin, and J. I. Shin. 1992. Synergistic of *Rhus javanica* L. ethanol extract containing several synergist. *Korean J. Food Sci. Technol.* **24**, 149-153.
- Chen, Y. T., R. L. Zheng, Z. J. Jia, and J. Ju. 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biol. Med.* **9**, 19-21.
- Choi, U. D., H. Shin, Y. S. Chang, and J. I. Shin. 1992. Screening of natural antioxidant from plant and antioxidant effect. *Korean J. Food Sci. Technol.* **24**, 142-148.
- Choi, H. J., W. S. Lee, S. J. Hwang, I. J. Lee, D. H. Shin, H. Y. Kim, and K. U. Kim. 2000. Changes in chemical compositions of green tea under the different extraction conditions. *J. Life Sci.* **10**, 202-209.
- Choi, M. S., D. H. Do, and D. J. Choi. 2002. The effect of mixing beverage with *Aralica continentalis* Kitagawa root on blood pressure and blood constituents of the diabetic and hypertensive elderly. *Korean J. Food Nutr.* **15**, 165-172.
- Chung, C. K. and M. E. Jung. 2003. Ethanol fraction of *Aralia elata* Seemann enhances antioxidant activity and lowers serum lipids in rats when administered with benzo(a)pyrene. *Biol. Pharm. Bull.* **26**, 1502-1504.
- Chung, S. H., K. D. Moon, J. K. Kim, J. H. Seong, and T. H. Sohn. 1994. Changes of chemical components in persimmon leaves during growth for processing persimmon leaves tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 141-146.
- Creager, M. A., T. F. Lüscher, F. Cosentino, and J. A. Beckman. 2003. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation* **108**, 1527-1532.
- Han, G. J., D. S. Shin, and M. S. Jang. 2008. A study of

- the nutritional composition of *Aralica continentalis* Kitagawa and *Aralica continentalis* Kitagawa leaf. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**, 680-685.
19. Han, G. J., M. S. Jang, and D. S. Shin. 2007. Changes in the quality characteristics of *Aralica continentalis* Kitagawa pickle during storage. *Korean J. Food Cookery Sci.* **23**, 294-301.
 20. Han, G. J. and M. S. Jang. 2008. Quality characteristics of *Aralica continentalis* Kitagawa leaf-kimchi as affected by storage time. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 1202-1207.
 21. Helmersson, J., J. Arnlöv, A. Larsson, and S. Basu. 2008. Low dietary intake of beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid is associated with increased inflammatory and oxidative stress status in a Swedish cohort. *Br. J. Nutr.* **15**, 1-8.
 22. Hwang, Y. P., J. H. Choi, and H. G. Jeong. 2009. Protective effect of the *Aralia continentalis* root extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem. Toxicol.* **47**, 75-81.
 23. Jialal, I. and S. Grundyl. 1992. Effects of dietary supplementation with alpha-tocopherol on the oxidative modification of low density lipoprotein. *J. Lipid Res.* **33**, 899-906.
 24. Johnson, J. E., R. Walford, D. Harma, and J. Miquel. 1986. In 'Free radicals, aging and degenerative disease', Alen R. Liss, N.Y.
 25. Jung, W. S., C. Y. Yu, J. G. Park, M. J. Kim, J. H. Kim, and J. K. Kim. 2006. Comparison of biological activities in extracts from *Oplonanax elatus*. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **14**, 630-631.
 26. Kim, E. Y., I. H. Baik, J. H. Kim, S. R. Kim, and M. R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 333-338.
 27. Kim, H. J., B. S. Jun, S. K. Kim, J. Y. Cha, and Y. S. Cho. 1998. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 1217-1222.
 28. Kim, J. Y., Y. S. Maeng, and K. Y. Lee. 1995. Antioxidative effects of soybean extracts by using various solvents. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 635-637.
 29. Kim, N. H., D. C. Yang, and A. H. Eom. 2004. A phylogenetic relationships of *Araliaceae* based on PCR-RAPD and ITS sequences. *Korean J. Plant Res.* **17**, 82-93.
 30. Kim, Y. H. and J. G. Im. 1999. Effect of sapanin from the shoot of *Aralia elata* in normal rats and streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 912-916.
 31. Kim, Y. S., M. R. Huh, and J. C. Park. 2001. Effects of culture media and seawater on growth and mineral concentrations in glasswort (*Salicornia herbacea*). *Korean J. Hort. Sci. Technol.* **19**, 342-347.
 32. Koskas, J. P., J. Cillard, and P. Cillard. 1984. Autoxidation of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides with and without tocopherols. *JAOCS* **61**, 1467-1472.
 33. Kuhnu, J. 1976. The flavonoids; a class of semiessential food components; their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet* **24**, 117-120.
 34. Lee, J. H. and S. R. Lee. 1994. Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 310-316.
 35. Lee, S. O., H. J. Lee, M. H. Yu, H. G. Im, and I. S. Lee. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 233-243.
 36. Ma, S. J., B. S. Ko, and K. H. Park. 1995. Isolation of 3,4-dihydroxybenzoic acid with antimicrobial activity from bark of *Aralia elata*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 807-812.
 37. Ohkawa, H., N. Ohishi, and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
 38. Shin, K. H. 2006. Effects of *Araliaceae* on lipid levels of plasma and liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 1172-1177.
 39. Song, S. J., N. Nakamura, C. M. Ma, M. Hattori, and S. X. Xu. 2001. Five saponins from the root bark of *Aralia elata*. *Phytochemistry* **56**, 491-497.
 40. Suh, S. J., U. H. Jin, K. W. Kim, J. K. Son, S. H. Lee, K. H. Son, H. W. Chang, Y. C. 00. Lee, and C. H. Kim. 2007. Triterpenoid saponin, oleanolic acid 3-O-β-d-glucopyranosyl(1→3)-α-1-rhamnopyranosyl(1→2)-α-1-arabinopyranoside (OA) from *Aralia elata* inhibits LPS-induced nitric oxide production by down-regulated NF-κB in raw 264.7 cells. *Arch. Biochem. Biophys.* **497**, 227-233.
 41. Swain, T., W. E. Hillis, and M. Oritega. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 83-88.
 42. Terao, J. 1989. Autoxidation activity of β-carotene-related carotenoids in solution. *Lipids* **24**, 657-661.
 43. Vinson, J. A. and B. A. Hontz. 1984. Phenol antioxidative index: Comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 401-403.
 44. Wong, S. F., B. Holliwell, R. Richimond, and W. R. Skowroneck. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic Biochem.* **14**, 127-134.
 45. Yang, H. K., J. Y. Jin, J. M. Kim, M. S. Ko, H. J. Hong, S. C. Kim, and Y. J. Lee. 2006. Single oral dose toxicity study of the extract of *Aralia elata* in mice. *J. Toxicol. Pub. Health* **22**, 439-443.
 46. Yoshikawa, M., T. Murakawa, E. Harada, N. Murakami, J. Yamahara, and H. Matsuda. 1996. Bioactive saponins and glycosides. VII. On the hypoglycemic principles from the root cortex of *Aralia elata* Seem.: structure related hypoglycemic activity of oleanolic acid oligoglycoside. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)* **44**, 1923-1927.
 47. Yoshikawa, M., H. Matsuda, Harada, N. Murakami, J. Wamahara, and N. Murakami. 1994. Elatoside E, a new hypoglycemic principle from the root cortex of *Aralia elata* Seem.: structure-related hypoglycemic activity of oleanolic acid glycosides. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)* **42**, 1354-1356.
 48. Yoo, J. H., J. Y. Cha, Y. K. Jeong, K. T. Chung, and Y. S. Cho. 2004. Antioxidative effects of pine (*Pinus densiflora*) needle extracts. *J. Life Sci.* **14**, 863-867.