

황기(*Astragalus membranaceus*)의 박피 유무와 재배 년 수에 따른 항산화 활성 연구

고은정* · 성은수* · 이재근* · 나종국** · 임정대*** · 김명조* · 김나영**** · 이귀현*
서정식***** · 최대성***** · 정일민***** · 유창연†

*강원대학교 한방바이오연구소, **미국 펜실베이니아주립대학교 생물학과, ***강원대학교 삼척캠퍼스 생약자원개발학과,
****강원도 송호대학 외식조리과, *****강원도 농업기술원 북부농업시험장, *****강원도 정선군 농업기술센터,
*****건국대학교 생명환경과학대학 응용생물학과

Antioxidant Activities According To Peeling and Cultivated Years of *Astragalus membranaceus* Roots

Eun Jeong Goh*, Eun Soo Seong*, Jae Geun Lee*, Jong Kuk Na**, Jung Dae Lim***, Myong Jo Kim*,
Na Young Kim****, Gwi Hyun Lee*, Jung Sik Seo*****, Dae Sung Cheoi*****,
Ill Min Chung*****, and Chang Yeon Yu†

*Bioherb Research Institute, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

**Biology Department, 208 Mueller Laboratory, Penn State University, University Park, PA 16802, USA.

***Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-711, Korea.

****Food Service Cuisine, Songho College, Hoingsung 225-704, Korea.

*****Northern Agricultural Experimental Station, Gangwondo Agricultural Research and Extension Services,
Cheorwon 269-833, Korea.

*****Gangwondo Jeongseon Agricultural Extension Center, Jeongseon 233-852, Korea.

*****Department of Applied Life Science, College of Life and Environmental Sciences, Konkuk University,
Seoul 143-701, Korea.

ABSTRACT : *Astragalus membranaceus* has a long history of medicinal use in Chinese herbal medicine. It has been shown to have immunostimulant, tonic, antioxidant, antiperspirant, diuretic, anti-diabetic, expectorant properties, and a supplementary medicine during cancer therapy. In this study, we investigated the effect of anti-oxidation of *Astragalus membranaceus* root extract. The anti-oxidative activities of water, 80% methanol, and 100% methanol extracts from *Astragalus membranaceus* were analyzed by DPPH free radical scavenging activity, Superoxide dismutase-like activity, reducing power, and crude ash. The water extract demonstrated to be more effective than methanol extract for a DPPH radicals scavenging activities and reducing power. Superoxide dismutase-like activity showed higher efficiency in 80% methanol extract. Our results indicate that *Astragalus membranaceus* extracts could be used as a source of antioxidant ingredients in the food industry.

Key Words : *Astragalus membranaceus*, Methanol Extract, Antioxidative Activity

서 언

황기 (*Astragali membranaceus*)는 콩과 (*Leguminosae*)에 속한 다년생초본인 단너삼 *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bunge의 뿌리로 기타 다른 *Astragalus*속 식물의 주피를 벗긴 뿌리를 건조한 것으로 알려져 있다. 한국, 중국, 몽고 등 아시아 지역과 유럽 및 아프리카의 일부 지역에 널리 분포하며, 우리나라에서는 주로 강원도 정선, 충청북도 제천, 경기도 포

천에서 재배되고 있다 (Ma *et al.*, 2000). 황기는 신농본초경에서 상품의 약으로 분류하여 기록해 놓고 있으며 우리나라에서는 예부터 민간에서 강장제로서 인삼 다음의 원기 (元氣)를 북돋아 주는 약성 (藥性)을 가진 한약으로 쓰이고 있다. 황기의 생리활성 작용은 항산화효과, 간기능 보호효과, 항바이러스 효과, 항고혈압효과, 세포성장효과 및 면역증강작용 등 다양한 효능이 있다 (Xie *et al.*, 1994; Rios & Waterman, 1997).

황기뿌리에는 포르모노네티 (formononetin), 베타인 (betaine),

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6411 (E-mail) cyyu@kangwon.ac.kr

Received 2009 June 19 / 1st Revised 2009 July 15 / 2nd Revised 2009 July 21 / Accepted 2009 July 28

콜린 (choline), 이소-리퀴리티제닌 (isoloquiritigenin), 아스트라-이소-플라반 (astraisoflavan), 아스트라-프테로-카르판 (astrapterocarpan), 베타-시토스테롤 (β -sitosterol) 등이 성분이 들어 있다. 이 중에 isoflavonoids 성분인 formononetin은 식물성유 사호르몬 (phytoestrogen)으로서 여성호르몬의 천연 대체물질로서 알려져 있다 (Kim *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004). 노화와 성인병 질환의 원인이 활성산소에 기인된 것이라는 학설이 점차 인정되어짐에 따라 활성산소를 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발 연구가 요구된다.

일반적으로 황기의 경우 재배 년 수에 따른 효능의 차이가 있다고 생각되고 있으며, 중국의 경우도 황기는 3~4년 이상 재배된 것을 유통시키는 것으로 보고되어 있다. 그러나 최근 우리나라에서는 주로 1~3년 정도 재배된 황기가 유통되고 있다. 따라서 이 논문에서는 황기 뿌리의 재배 년 수와 박피 유무에 따른 항산화 활성의 차이와 유의성에 대해 알아보았다.

재료 및 방법

1. 식물재료 및 추출

본 연구에 사용된 황기 (*A. membranaceus*)는 강원도 농업기술원 고원농업시험장 (강원도 태백)에 보유하고 있는 것으로 1년 근, 1년 근 박피, 3년 근, 3년 근 박피, 5년 근을 사용하여 각각 100%메탄올, 80% 메탄올, 100% 물에 침지하여 추출하였으며 filter paper (Watman No. 42)로 여과 시킨 후 rotary evaporator를 이용하여 40°C 이하의 중탕에서 감압농축하였다.

2. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성

전자공여능 (EDA; electron donating abilities)을 측정하기 위하여 자유라디칼인 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 사용한 항산화 활성 측정방법을 이용하였다 (Xing *et al.*, 1996). 지금까지 보고된 여러 가지의 항산화력 측정방법 중에서 안정한 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical을 이용한 전자공여능 측정은 가장 보편적으로 이용되고 있다. DPPH는 radical 상태일 때 특유의 보라색은 517 nm에서 최대 흡수 스펙트럼을 나타내는 반면, 항산화제의 작용에 의하여 수소 혹은 전자를 받음으로써 안정한 형태의 화합물로 전환되어 옅은 노란색으로 변하게 된다 (Polovka *et al.*, 2003). 유리 시험관에 4 ml의 MeOH을 넣고 시료 화합물을 농도별로 첨가한 다음, 0.15 mM의 DPPH용액을 1 ml 첨가하여 실온에서 30분간 반응시키고, 517 nm에서 UV/VIS spectrophotometer (U-2000, Hitachi, Japan)로 흡광도를 측정하였다 (Su, Shyu, & Chien, 2008). RC50 ($\mu\text{g/ml}$)은 화합물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 화합물의 농도를 나타내며 비교항산화제로 α -tocopherol, BHA, BHT, ascorbic acid를 사

용하였다.

3. SOD 유사활성 측정

10,000 ppm의 시료 0.2 ml에 tris-HCl buffer 3 ml과 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml을 가하고 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1N HCl 1 ml로 반응을 정지시켜 420 nm에서 spectrophotometer (UV/Vis spectrophotometer U-2000, Hitachi, Japan)로 흡광도를 측정하여 시료용액의 첨가군과 무첨가군 사이의 흡광도 차이를 백분율 (%)로 나타내었다 (Marklund S., Marklund G., 1974). 무첨가군은 시험용액 대신 탈이온수를 첨가하였다 (Jo *et al.*, 2005).

4. Reducing power

10,000 ppm의 시료 200 μl 에 0.2M phosphate buffer (pH 6.6) 500 μl , 1% potassium ferricyanide 500 μl 를 혼합하여 50°C에서 20분간 반응 시킨 후, 500 μl 의 10% trichloacetic acid를 가하였다. 상기 반응액을 1000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 500 μl 의 상층액을 분리하여 증류수 500 μl , ferrichloride 100 μl 를 넣은 반응액의 흡광도를 700 nm에서 측정하였다 (Oyaizu, 1986). 반응액은 Fe^{3+} 과 Fe^{2+} 간의 transformation에 의하여 청록색을 나타내며 흡광도 값이 클수록 높은 환원력을 나타낸다. 비교항산화제로 α -tocopherol, BHA, BHT, ascorbic acid를 사용하였으며, 그 농도는 1,000 ppm으로 하였다.

5. 조회분 함량

시료를 고온에서 연소하여 유기물을 제거하고 잔존하는 중량을 회분으로 한다. 시료를 회화용기에 넣고 직접 600°C 이상의 온도에서 완전히 회화처리하여 회분의 양을 측정하는 직접 회화법 (AOAC, 1990)을 사용하여 조회분 함량을 측정하였다.

1) 회화용기의 함량

깨끗한 회화용기를 전기로에서 600°C 이상으로 가열한 후 테시케이타에 옮겨 실온으로 식힌 다음 곧 화학천칭으로 칭량한다. 다시 2시간 강하게 가열하여 건조칭량하고 함량이 될 때까지 반복한다.

2) 회화

0.5 g의 시료를 용기에 넣고 회화로에 옮겨 600°C에서 10시간 가열하여 백색의 회분을 얻었다.

회화가 끝난 후, 가열을 마치고 200°C까지 그대로 식혀, 테시케이타에 옮긴 후 30분간 방랭하여 무게를 측정하였으며, 다음 식에 따라 산출하였다.

$$\text{회분 (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S} \times 100$$

- W₀ : 항량이 된 회화용기의 무게 (g)
- W₁ : 회화 후의 회화용기와 회분의 무게 (g)
- S : 검체의 채취량 (g)

6. 통계분석

모든 실험은 3번 반복실험 한 후 평균값과 표준편차를 계산하여 제시하였다.

결과 및 고찰

1. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성

DPPH는 화합물 내 질소 중심의 radical로 free radical의 안정된 모델이다. DPPH의 감소는 free radical의 소거반응이 진행됨을 알 수 있고 지질과산화의 초기반응의 억제 정도를 예측할 수 있다. 각 추출 용매별 항산화 활성 측정 결과, 물을 이용한 추출법에서 5년근이 75.0 ± 3.5 µg/µl 로 가장 우수한 활성을 보였으며, 80% MeOH를 이용한 추출법에서 1년근 박피가 260.0 ± 7.0 µg/µl 으로 가장 낮은 활성을 나타내었다. 또한 박피처리를 하지 않은 것이 박피 처리를 한 황기보다 항산화력이 우수하였으며, 이는 약성이 껍질 부분에 더 많이 들어있다는 것을 증명하였다. 전체적으로 재배 년도가 오래될수록 항산화력 또한 비례적으로 증가하는 것을 알 수 있었다 (Table 1). 이와 비슷한 결과, 정 (2005)이 보고한 바에 의하면 재배 년 수에 따른 황기의 DPPH free radical 소거법에

의한 항산화 활성 결과 물 추출물과 MeOH 추출물에서 재배 년 수에 따라 증가하는 결과를 보여주었고, 연도별 황기 추출물의 DPPH 라디칼 및 OH 소거 효과에서도 연근별 황기 에탄올 추출물의 소거능이 재배 년 수가 오래된 황기일수록 높게 나타났다 (Yin et al., 2009).

2. SOD 저해 활성

SOD 유사활성은 물에 존재하는 superoxide radical에 의해 자동 산화가 일어나 갈색물질로 변하는 pyrogallol (과산화수소 전환반응 촉매)의 양을 분석하는 실험 방법이다.

각 추출 용매별 SOD저해 활성을 측정한 결과, 100% MeOH와 80% MeOH 추출이 물 추출보다 높은 활성을 보여, DPPH free radical소거법을 이용한 항산화 측정과는 다른 양상을 보였다. 이는 황기의 항산화 성분의 작용 기작에 의한 차이로 보인다. 100% MeOH추출의 3년 근에서는 92%의 저해율을 보여 가장 우수한 항산화력을 나타내었으며, 물 추출물의 5년 근에서 30.5 ± 0.7%로 가장 낮은 저해율을 보였다. 또한 박피처리를 하지 않은 것이 박피 처리를 한 황기보다 저해율이 우수하였으며, 재배 년도가 오래될수록 저해율 또한 비례적으로 증가하는 것을 알 수 있었다 (Table 2). 이 결과는 재배 년 수에 따른 황기의 메탄올 추출물 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm에서 SOD 저해 활성 실험을 수행하였을 때 전체적으로 재배 년 수가 높을수록 높은 활성이 나타났다고 보고한 것과 일치하는 것을 확인할 수 있었다 (정 2005).

Table 1. DPPH¹⁾ free radical scavenging activity of *Astragalus membranaceus*.

Sample		RC ₅₀ ²⁾ (µg/µl)	
Water extracts	Peeled one year-old root	150.0 ± 7.0	
	One year-old root	115.0 ± 7.0	
	Peeled three years-old root	135.0 ± 3.5	
	Three years-old root	95.0 ± 7.0	
	Five years-old root	75.0 ± 3.5	
100% MeOH extracts	Peeled one year-old root	250.0 ± 3.5	
	One year-old root	210.0 ± 7.0	
	Peeled three years-old root	235.0 ± 3.5	
	Three years-old root	200.0 ± 7.0	
	Five years-old root	165.0 ± 7.0	
80% MeOH extracts	Peeled one year-old root	260.0 ± 7.0	
	One year-old root	235.0 ± 0.0	
	Peeled three years-old root	250.0 ± 0.0	
	Three years-old root	210.0 ± 3.5	
	Five years-old root	130.0 ± 7.0	
α-tocopherol	12.0	BHA ⁴⁾	34.0
BHA ³⁾	14.0	Ascorbic acid	< 2

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, ²⁾RC50(µg/µl) : Amount required for 50% reduction of DPPH after 30min. Each value is mean ± standard deviation of three replicate tests, ³⁾BHA : Butylated Hydroxyanisole, ⁴⁾BHT : Butylated Hydroxytoluene. Values are expressed as mean ± S.D of data obtained from three independent experiments. Each value was significant compared with control at P < 0.05.

Table 2. SOD-liked activity of *Astragalus membranaceus*.

	Sample	Inhibition rate (%)
Water extracts	Peeled one year-old root	25.5±2.1
	One year-old root	21.5±2.1
	Peeled three years-old root	28.0±1.4
	Three years-old root	27.5±0.7
	Five years-old root	30.5±0.7
100% MeOH extracts	Peeled one year-old root	83.0±1.4
	One year-old root	81.5±2.1
	Peeled three years-old root	86.0±0.0
	Three years-old root	92.0±0.0
	Five years-old root	90.0±1.4
80% MeOH extracts	Peeled one year-old root	48.5±2.1
	One year-old root	50.5±0.7
	Peeled three years-old root	59.0±1.4
	Three years-old root	71.0±0.0
	Five years-old root	77.0±1.4
Ascorbic acid		99

Values are expressed as mean ± S.D of data obtained from three independent experiments. Each value were significant compared with control at P < 0.05.

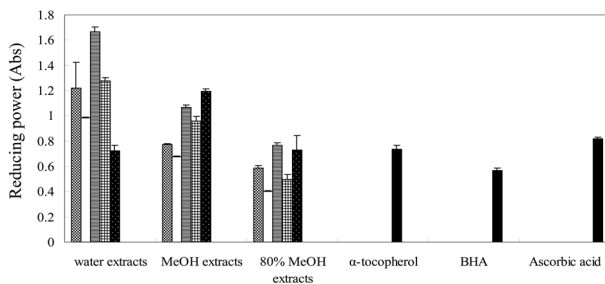


Fig. 1. Reducing power of *Astragalus membranaceus*. Result are expressed as mean ± S.D of data obtained from three independent experiments.

⊗: One year-old root, □: Peeled one year-old root, ▨: Three years-old root, ▩: Peeled three years-old root, ■: Five years-old root

3. Reducing power

각 추출 용매별 환원력 측정 결과, 물을 이용한 추출법에서 가장 우수한 활성을 보였으며, 80% MeOH를 이용한 추출법에서 가장 낮은 활성을 나타내었고, 물 추출물의 3년 근에서 가장 높은 환원력을 보였다. 그러나 MeOH 추출물에서의 환원력은 재배 년 수가 높을수록 환원력이 증가함을 관찰하였다. 또한 박피처리를 하지 않은 것이 박피 처리를 한 황기보다 항산화력이 우수하였다 (Fig. 1). 이는 각 연근별 황기 에탄올 추출물 100 µg/µl, 500 µg/µl, 1,000 µg/µl 에 대한 환원력 측정 결과 재배 년 수가 오래될수록 환원력이 뛰어나다는 결과를 나타냈다 (Yin *et al.*, 2009).

4. 조회분 함량

황기의 재배 년 수 별 회분함량을 측정된 결과, 5년 근에서

Table 3. Comparison of crude ash content of extract from *Astragalus membranaceus*.

Sample	Ratios on crude ash (%)
Peeled one year-old root	1.27
One year-old root	2.13
Peeled three years-old root	1.69
Three years-old root	3.07
Five years-old root	4.46

Values are expressed as mean ± S.D of data obtained from three independent experiments. Each value were significant compared with control at P < 0.05.

4.46%로 가장 많은 회분을 함유하는 것을 알 수 있었다. 또한, 재배 년 수가 증가함에 따라 회분의 함량도 증가하였으며, 박피처리를 하지 않은 황기에서 더 많은 회분함량이 측정되었다 (Table 3). 이는 황 등 (1997)의 여러 개의 약초 조회분 함량 실험에서 측정된 결과와 유사한 값을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 특화작목산학협력단 사업과 강원대학교 한방바이오연구소의 지원에 의하여 연구되었으며, 재료를 제공하여 준 강원도 농업기술원 고원농업시험장에 감사를 포함합니다.

LITERATURE CITED

AOAC. (1990). Official methods of analysis. 15th edition

- Association of official analytical chemists, Washington, D.C., USA.
- Hwang JB, Yang MO and Shin HK.** (1997). Survey for approximate composition and mineral content of medicinal herbs. Korean Society Food Science and Technology. 29:671-679.
- Jo C, Jeong IY, Kim DS, Son JH, An BJ, Choi JS and Byun MW.** (2005). Comparison of the biological activity between a radiation-processed natural extract and a commercial counterpart for an industrial application. Food Engineering Progress. 9:177-181.
- Jung C.** (2005). Studies on immunomodulatory and antioxidant activities of *Astragali membranacei* Radix according to the cultivated years. Kyunghee University.
- Kim HJ, Bae YC, Park RW, Choi SW, Cho SH, Choi YS and Lee WJ.** (2002). Bone protecting effect of safflower seeds in ovariectomized rats. Calcified Tissue International. 71:88-94.
- Kim MJ, Kim JY, Choi SW, Hong JT and Yoon KS.** (2004). Anti-wrinkle effect of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed extract (I). The Society of Cosmetic Scientists Korea. 30:15-22.
- Marklund S and Marklund G.** (1974). Involvement of superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European Journal of Biochemistry. 47:469-474.
- Ma XQ, Duan JA, Zhu DY, Dong TTX and Tsim KWK.** (2000). Species identification of Radix Astragali (Huangqi) by DNA sequence of its 5S-rRNA spacer domain. Phytochemistry. 54:363-368.
- Oraiza M.** (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44:307-315.
- Polovka M, Brezová V and Stasko A.** (2003). Antioxidant properties of tea investigated by EPR spectroscopy. Biophysical Chemistry. 106:39-56.
- Rios JL and Waterman PG.** (1997). A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus*. Phytotherapy Research. 11:411-418.
- Su MS, Shyu YT and Chien PJ.** (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. Food Chemistry. 111:892-896.
- Xiong Q, Kadota S, Tani T and Namba T.** (1996). Antioxidative effect of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 19:1580-1585.
- Xie ZF.** (1994). Classified dictionary of traditional Chinese medicine. New World Press, Beijing. p. 374.
- Yin Y, Heo SI, Jung MJ and Wang MH.** (2009). Antioxidant and antidiabetic effect of various sections of *Astragalus membranaceus*. The Korean Society of Pharmacognosy. 40:1-5.