

자색고구마 추출물의 항산화 효과

김수정 · 김정상*

경북대학교 응용생명과학부 생명식품공학전공 및 식품공학부 식품소재공학 전공

Antioxidative Effects of Purple Sweet Potato Extracts

Su Jung Kim, Jong-Sang Kim

*School of Applied Bioscience and School of Food Science and Biotechnology,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea*

Abstract

The colored sweet potato, particularly purple sweet potato, has been well known to contain anthocyanins abundantly. This study was conducted to examine the antioxidant properties of purple sweet potato. The chopped purple sweet potato was extracted 2 times with water or acetone for 18 hours at 28°C. The antioxidative potential of each solvent extract was assessed by DPPH free radical scavenging activity assay, FRAP assay, and total phenolic contents. The results showed that both extracts had not only high DPPH free radical scavenging activity but had high level of total phenolic compounds. Furthermore, both solvent extracts were found to have antioxidative effects in human colon cancer cells (HCT 116, HT 29) in DCFDA assay. The notable antioxidant activity of purple sweet potato suggests its significant health benefit and deserves further study to develop into functional food ingredient.

Key words : purple sweet potato, antioxidant, FRAP assay

서 론

오늘날 지나치게 서구화된 식습관으로 인하여 심장병, 뇌졸중, 암, 고혈압, 당뇨병 등의 만성질환이 증가하고 있어, 국민 건강 측면에서 만성질환예방효과를 지니는 식품소재들에 대한 관심이 증대되고 있다(1). 활성산소 또는 반응성 산소종은 인체 내에서 다양한

생물학적 반응에서 발생되는데, 세포와 조직에 손상을 유발하고, 이로 인하여 만성질환의 주요 원인물질로 알려져 있다(2). 따라서 최근 인체에 유해한 활성산소와 같은 자유기(free radical) 형성을 억제활성을 갖는 천연물소재 및 이를 이용한 식품개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그리고 소비자들이 쉽게 접할 수 있는 각종 과실이나 채소에서 항산화 활성 등과 같은 생리활성을 가지는 화합물을 효율적으로 분리하고 표준화하여 건강기능식품으로 개발하고자 하는 노력이 점차적으로 증가하고 있는 추세이다(3,4).

*Corresponding author. E-mail : vision@knu.ac.kr,

Phone : 82-53-950-5752, Fax : 82-53-950-6750

(Received October 17, 2010; Examined November 16, 2010;

Accepted November 25, 2010)

고구마는 수분을 제외한 대부분이 전분으로서 우수한 탄수화물의 공급원으로 쌀, 보리 등의 곡류와 함께 주요 식량자원으로 이용되어 왔으며 천연의 β -carotene과 각종 무기물과 비타민 및 식이섬유의 공급원으로서 그 영양성과 기능성이 확인되면서 건강보조 식품의 재료로 이용되고 있다(5). 최근 고구마의 기능성과 가공이용성을 향상시킨 새로운 품종의 고구마가 육성되고 있는 가운데 특히 새로운 천연 식품 색소원으로 주목 받고 있는 고구마들이 큰 각광을 받고 있다. β -carotene을 다량 함유한 황색고구마 및 천연의 anthocyanin 색소를 다량 함유한 자색고구마가 대표적인 예다(6). 본 연구에서는 자색 고구마를 사용하여 물과 아세톤으로 추출하고 이들 추출물의 항산화 활성을 조사함으로써 건강기능식품소재로서의 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용된 자색고구마는 2009년 대구 시내 재래시장에서 구입하였다. 고구마를 분쇄기를 사용하여 껍질째 미세하게 분쇄한 후 -20°C 의 냉장온도에 보관하면서 실험에 사용하였다.

추출 및 고형분 함량 측정

자색고구마 분쇄물 50 g을 100 mL의 물과 아세톤으로 18시간 동안 28°C shaking incubator에서 200 rpm으로 추출하였다. 물 추출물과 아세톤 추출물 105°C 에서 2시간 동안 건조 하였고 데시케이터에서 15분간 방냉한 후 미량저울을 사용하여 고형분함량을 측정하였다.

세포주 및 배양

세포모델계 항산화활성 평가를 위하여 사람의 대장 암세포주인 HCT-116와 HT-29를 사용하였으며, RPMI 배지에 10% FBS를 첨가하여 배양하였다. 이들 세포주는 37°C 에서 5% CO_2 에 적응시켜 배양하였으며, 2~3일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

DPPH radical 소거활성 측정

DPPH radical 소거 실험은 광범위하게 쓰이는 간단하고 편리한 항산화 평가법으로, 페놀성 화합물들을 포함하여 수소공여체 (H-donor)와 반응하는 능력을 원리로 하여 측정하는 것이다(7). 자색고구마 추출물의 DPPH radical에 대한 소거능 측정은 각 농도별 (0.31 mg/mL, 0.63 mg/ml, 1.25 mg/mL, 2.50 mg/mL, 5.00 mg/mL, 10.00 mg/mL)로 진행하였으며, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)용액 4 mL 씩을 vortex로 균일하게 혼합한 다음, 실온에서 30분간 방치한 후 513 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} =$$

$$(1 - \text{시료흡광도} / \text{대조군흡광도}) \times 100$$

총페놀 함량의 측정

총페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법에 의해 비색 정량하였다. 즉, 자색고구마의 물과 아세톤 추출물에 Folin-reagent 1 mL를 가하여 방치한 후 10% Na_2CO_3 을 혼합하고 실온에서 방치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

철이온 환원능

FRAP assay는 ferric tripyridyltriazine complex가 환원되면 593 nm에서 푸른색을 띠는 경향을 이용한 실험으로 실험에 필요한 positive control은 α -tocopherol과 delphinidin을 사용하였으며, 96-well plate에 170 μL distilled water, 7 μL 의 농도별 표준용액 (0.1~1.0 mM, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 30 μL 의 FRAP reagent (acetate buffer 200 mL, TPTZ solution 20 mL, FeCl_3 solution 20 mL, distilled water 24 mL)를 넣고 섞어준 후, 4분이 지나서 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DCFDA assay에 의한 내생적 ROS 저해효과

H_2DCFDA 는 esterase에 의해 불투과성의 DCF로 가수분해 되고 세포내에서 ROS에 의해 형광을 나타낸다. 자색고구마의 내생적 ROS 저해능력을 측정하기 위해 본 실험을 하였다. Black-coated 96-well plate에 세포를 3×10^4 /well의 세포를 배양 후 24시간 동안

시료를 처리하였다. 암조건에서 50 μM DCFDA를 넣고 excitation 485 \pm 20 nm, emission 530 \pm 20 nm에서 형광광도계 (Infinite 200; Tecan, Grodig, Austria)를 사용하여 측정하였고, 200 μM 의 tert-butylhydroperoxide (TBH)를 40분간 처리 후 2차 형광을 측정하였다. TBH에 의한 상대적인 형광값은 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{rel. FI(\%)} = [(F_{40\text{min}} - F_{0\text{min}})/F_{0\text{min}}] \times 100$$

결 과

고형분 함량

자색고구마의 물 추출물과 아세톤 추출물의 고형분 함량은 35.17 mg/mL, 26.33 mg/mL이었다.

DPPH radical 소거활성

자색고구마의 물 추출물 및 아세톤 추출물 모두 농도의존적으로 DPPH 라디칼 소거능을 가지며, 특히 아세톤 추출물의 활성이 더 높게 나타났다. 자색고구마 아세톤 추출물 5 mg/mL 농도에서는 positive control로 사용된 delphinidin 100 μM 의 DPPH 소거활성과 유사한 정도로 70% 소거능을 보였다 (Figure 1).

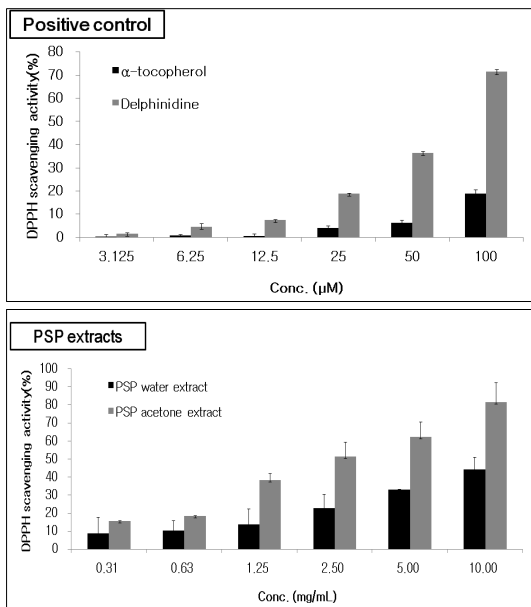


Figure 1. DPPH radical scavenging activity of purple sweet potato (PSP) extracts.

총 페놀 함량

Gallic acid의 페놀 함량과 비교하여 자색고구마의 물 및 아세톤 추출물의 페놀 함량을 측정한 결과, 아세톤 추출물 보다 물 추출물에 더 많은 페놀 성분이 함유되어 있음을 확인하였다 (Figure 2).

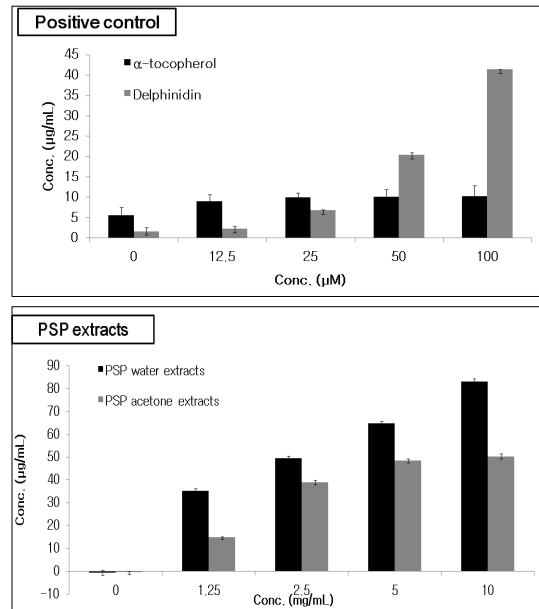


Figure 2. Total phenolic contents of purple sweet potato (PSP) extracts.

철이온 환원 능력

자색고구마의 물 및 아세톤 추출물의 3가 철에서 2가 철로의 환원시키는 능력을 측정한 결과, 자색고구마의 물 추출물 및 아세톤 추출물 모두 1.25~10 mg/mL의 농도에서 FRAP level이 증가하였다. 자색고구마의 아세톤 추출물 1.25 mg/mL은 positive control로 사용된 α -tocopherol과 delphinidin 100 μM 과 유사한 FRAP level을 나타내었다 (Figure 3).

세포내 ROS 생성 저해능

세포수준에서의 항산화 활성을 탐색하기 위해 자색고구마 물 및 아세톤 추출물의 독성실험을 선행하였으며, 그 결과 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 생존율 100%를 나타내었다. 50 및 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 두 농도로 세포실험을 실행하였다. 세포 수준에서 자색고구마의 물 및 아세

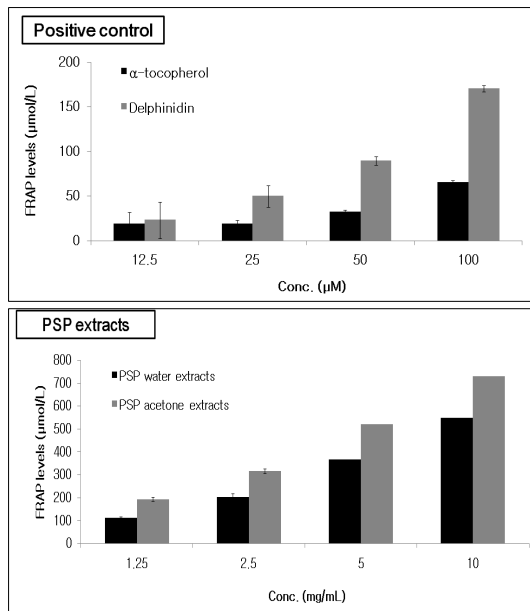


Figure 3. Ferric reducing activity of purple sweet potato (PSP) extracts.

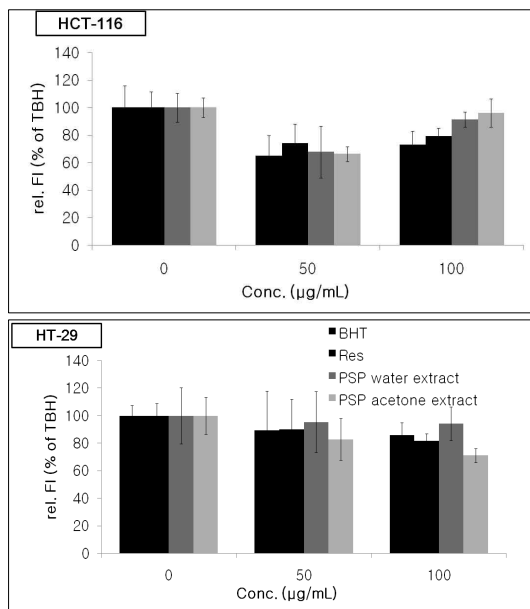


Figure 4. Inhibition of intracellular ROS generation by purple sweet potato (PSP) extracts.

톤 추출물의 항산화 효과를 조사하기 위해 녹색의 H₂DCFDA 형광염료를 사용하였다. 양성대조 군으로 사용한 butylated hydroxytoluene (BHT)과 비교할 때, 50 µg/mL의 자색고구마 물 추출물 및 아세톤 추출물의 ROS 생성 저해능이 HCT-116와 HT-29 두 세포주 모두에서 관찰되었다. 하지만 자색고구마 아세톤 추

출물 100 µg/mL의 농도일 때 HCT-116세포에서 ROS 생성 저해능이 오히려 감소하였다 (Figure 4).

고 찰

산화제와 항산화제의 불균형에 의하여 세포에 손상이 가해지는 것을 ‘산화적 스트레스’라고 정의하는데, 산화제는 생체내에서 정상적인 대사과정에서 생성되며, 병리상태에서 더 많이 만들어 진다 (8). 산화적 스트레스는 노화, 암, 동맥경화등 대부분의 만성질환의 직접적인 원인으로 알려져 있어, 이를 제어하는 항산화소재의 발굴이 식품소재분야의 주요관심사로 떠오르고 있다 (9). 본 연구에서는 안토시아닌성분을 고농도로 함유하고 있는 자색고구마의 항산화활성을 평가하고, 건강기능식품소재로서의 가능성을 살펴보고자 연구하였다. 자색고구마의 물 또는 아세톤 추출물은 3가 철의 환원능과 DPPH라디칼 소거능 모두 높은 것으로 나타났다. 그러나 세포모델계에서의 활성산소소거능은 상대적으로 높지 않은 것으로 나타나, *in vitro* 또는 식품모델계에서는 항산화활성이 발현되지만, 세포내로의 이송이 제한되어 생체내 활성은 상대적으로 약한 것으로 추정된다. 또한, 자색고구마의 아세톤 추출물은 물 추출물 보다 더 높은 DPPH 라디칼 소거능 및 3가 철이온 환원 능력을 보였다. 그러나 총 페놀 함량의 경우 물 추출물에서 더 높게 나타난 것으로 보아 안토시아닌과 같은 폴리페놀 성분 외의 다른 화합물에 의하여 항산화 활성이 발현되는 것으로 추정된다.

참고문헌

1. Park SH, Hwang HS, Han JH. 2004. Development of drink from composition with medicinal plants and evaluation of its physiological function. Korean J Nutr 37:364-372.
2. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J

- Biol Chem 12:239-249.
3. Cho YJ, Ju IS, Kim BC, Lee WS, Kim MJ, Lee BG, An BJ, Kim JH, Kwon OJ. 2007. Biological activity of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50:198-203.
 4. Shin DB, Lee DW, Yang R, Kim JA. 2006. Antioxidative properties and flavonoids contents of matured Citrus peel extracts. *Food Sci Biotechnol* 15:357-362.
 5. Kim S, and Ryu CH. 1995. Studies on the nutritional components of purple sweet potato. *Korean J Food Sci Technol* 27:819-825
 6. Kim SJ, Rhim JW, Jung ST, Ahn YS, and Oh Y. 1997. Carotenoid contents of yellow sweet potatoes. *Korean J Food Sci Technol* 29:218-222
 7. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
 8. Sies H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 82:291-295
 9. Finkel T, Holbrook NJ. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408:239-247