

## 거제 맹종죽엽 물 추출물과 에탄올 추출물의 항산화 활성 및 항혈전 활성

조은아<sup>1</sup> · 김소영<sup>1,2</sup> · 나인호<sup>1</sup> · 김동청<sup>3</sup> · 인만진<sup>3</sup> · 채희정<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>호서대학교 식품생물공학과 및 기초과학연구소, <sup>2</sup>내추럴초이스(주) <sup>3</sup>청운대학교 식품영양학과

### Antioxidant and Anticoagulant Activities of Water and Ethanol Extracts of *Phyllostachys pubescence* Leaf Produced in Geoje

Eunah Cho<sup>1</sup>, Soyoung Kim<sup>1,2</sup>, Inho Na<sup>1</sup>, Dong Chung Kim<sup>3</sup>, Man-Jin In<sup>3</sup>, and Hee Jeong Chae<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Biotechnology, and Institute of Basic Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

<sup>2</sup>Natural Choice Co., Ltd, Asan 336-795, Korea

<sup>3</sup>Department of Human Nutrition and Food Science, Chungwoon University, Hongseong 350-701, Korea

Received July 21, 2010; Accepted August 4, 2010

Antioxidant and anticoagulant activities of water extract and 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescence* leaf (PPL) produced in Geoje were investigated. Total polyphenol contents of PPL-water extract and PPL-70% EtOH extract were measured as 80.6±3.2 and 71.3±2.7 mg/g, respectively. DPPH radical scavenging activity of PPL-water extract and PPL-70% EtOH extract were 50% and 90%, respectively. The anticoagulant activity, in intrinsic pathway of activated partial thromboplastin time (APTT) showed a concentration-dependency. This results showed that PPL-water extract and PPL-70% EtOH extract have high antioxidant and anticoagulant activities.

**Key words:** *Phyllostachys pubescence*, water extract, ethanol extract, antioxidant activity, anticoagulant activities

현대인의 식생활과 생활방식의 변화에 따라 비만, 고혈압, 동맥경화 등의 질병이 증가하고 있는 추세이다[Kwon 과 Kang, 1993]. 특히 최근에는 건강의 유지와 증진에 유익한 효과를 갖는 기능성 식품 및 대체의학에 대한 관심이 급증하고 있다. 따라서 생리활성 물질을 함유하고 있는 천연소재의 식품을 비롯한 생물들에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[Merete, 2002; Millen 등, 2002; Penny 등, 2002; Sacks과 Katan, 2002].

동의보감, 본초강목 및 신농본초경에 따르면 대나무는 예로부터 증풍과 발한 및 고혈압을 치료하는 민간요법으로 사용되어 왔고, 노화방지에 좋은 식물로 소개되고 있다[Lee 와 Moon, 2003]. 특히 대나무 잎은 해열, 거담, 청량 등의 목적으로 폐렴, 기관지염 등의 구갈에 사용되었다고 기록되어 있다[Kwoon 과 Hwang, 2001]. 또한 현재 대나무 잎을 이용한 죽엽차, 죽엽주, 죽엽 냉면 및 대나무 통을 이용한 대나무밥, 대통주 등이 식용으로 이용되고 있고, 죽력, 죽력고, 죽엽 및 대나무 수액 등은 민간약으로 활용되고 있다[Chung과 Yu, 1995; Zang 등, 2002].

최근 연구에서는 대나무 추출물의 항산화 활성, 항돌연변이

효과, 간독성 억제효과 및 항균 활성 등의 다양한 생리활성이 보고되었다[Sin과 Han, 2002; Lee 등, 2004; Ju 등, 2005]. 우리나라에 분포하고 있는 대나무 중 경제수종으로는 왕대(*Phyllostachys bambusoides* S. st), 솜대(*Phyllostachys bambusoides nigra* var. *henonis* Stapf), 맹종죽(*Phyllostachys pubescence* Mael)이 주를 이루고 있으며 전라남도과 경상남도에 주로 서식하고 있다.

우리나라의 대나무가 외국산에 비해 품질이 매우 뛰어나다고 보고된 바 있다[Park, 2006]. 그 중 맹종죽은 중국이 원산으로 주로 죽순을 먹는다고 하여 식용죽 또는 죽순대라고도 하며, 굵은 죽순이 식용으로 쓰인다. 반면, 죽질이 매우 연하여 죽세공에는 이용되지 않는다. 맹종죽은 죽재와 죽순을 함께 수취할 수 있기 때문에 왕대나 솜대보다도 경제성이 매우 높다고 보고된 바 있다[Kim 등, 1982; Jeong 등, 1983; Ahn 등, 2003].

경남 진주산 왕대 및 맹종죽 추출물은 *in vitro*에서 강력한 항산화 효과 및 low density lipoprotein(LDL) 산화 억제효과가 있음이 보고되었다[Lee 와 Moon, 2003]. 또한 진주산 왕대와 솜대, 맹종죽, 조릿대 추출물을 대상으로 1,1-diphenyl-2-picryl-hydra-zyl(DPPH)법에 의한 항산화 활성을 측정 한 결과, 맹종죽 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물이 다른 시료들에 비해 높은 항산화 활성을 나타내었으며 조릿대, 솜대, 왕대의 순으로 항산화 효과가 높게 나타났다고 보고된 바 있다[Lee 와 Moon, 2003].

\*Corresponding author

Phone: +82-41-540-5642; Fax: +82-41-532-5640

E-mail: hjchae@hoseo.edu

2007년 산림청 임산물 통계에 의하면 경남 거제도에는 우리나라 맹종죽엽의 80% 이상이 분포하고 있고, 전국 맹종죽순 생산량의 90%를 차지하고 있다. 그러나 대부분 요리용으로 소비되는 실정이다. 따라서 가공식품이나 화장품의 원료로서 다양한 용도개발이 요구된다[In 등, 2010].

현재까지 맹종죽엽(*Phyllostachys pubescence* leaf, PPL)의 생리활성에 대한 보고는 주로 항산화 및 항균활성에 대한 보고가 대부분이고 항혈전에 대한 보고는 전무하다. 본 연구에서는 맹종죽엽의 활용성을 높이고자 맹종죽의 물과 에탄올 추출물의 항산화, 항혈전 활성 및 총 폴리페놀 함량에 대한 분석을 실시하였다.

맹종죽엽은 거제(경남)에서 재배된 것을 사용하였으며, 맹종죽엽의 추출을 위해 물과 에탄올(Pretanol A, Duksan Pure Chemical, Korea)을 사용하였다. Folin-ciocalteu reagent와 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)는 Sigma사(MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였고, 항혈액응고 활성 분석을 위해 plasma(TEControl N, TECO, Neufahrn, Germany)를 사용하였다. 그 밖의 사용한 시약은 모두 일급시약을 사용하였고, 실험에 사용된 모든 증류수는 1차 증류수를 사용하였다.

맹종죽잎을 깨끗한 물로 수세하고 열풍건조기(T2AL, Taeyang, Korea)를 사용하여 50°C에서 열풍건조하였다. 건조 후 맹종죽엽을 제분기(Chyun Tech Industrial Co., 1-Phase Induction Motor, Korea)를 사용하여 100 mesh로 분쇄한 후 120 mesh sieve로 맹종죽엽 분말의 입도를 균일하게 하였다. 맹종죽엽 분말을 진탕항온수조(Jeio Tech, Model BS-31, Korea)에서 각각 물과 70%(v/v) 에탄올을 추출용매로 70°C, 125 rpm에서 4시간 동안 추출한 후 여과지(filter paper, No. 42, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)를 이용하여 여체를 분리하였다. 여과한 추출액을 동결건조기(Ilshin Lab Co. Ltd., Model No. FD8512, Korea)를 이용하여 분말화하여 기능성 평가 시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis assay법[Folin과 Denis, 1915]

으로 측정하였다. 건조된 맹종죽엽(*Phyllostachys pubescence* leaf, PPL)을 건조 중량 대비 5% 농도로 물과 70% 에탄올에 현탁한 후 70°C에서 4시간동안 추출하여 맹종죽엽의 추출물을 조제하였다. 추출물을 농도별로 희석하여 시료 희석액 0.1 mL에 folin-ciocalteu reagent 50 µL를 첨가하여 혼합한 후 4분간 실온에서 반응시킨 다음, 20% sodium carbonate anhydrous 포화용액 1.5 mL를 첨가하여 2분간 반응시키고 microplate reader(VERSA max, Molecular Device, USA)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 chlorogenic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 산출하였다. 실험결과는 3회 반복 측정 후 평균±표준오차로 나타내었다. 맹종죽의 70% 에탄올 추출물과 물 추출물은 각각 80.6±3.2 mg/g과 71.3±2.7 mg/g의 총 폴리페놀 함량을 나타내었다. 70% 에탄올 추출물이 물 추출물보다 높은 폴리페놀 함량을 나타내었다. 오죽의 물 추출물의 경우 0.02 mg/g으로 보고된 바 있는데[Kim 등, 2010], 맹종죽엽(PPL) 추출물의 총 폴리페놀함량은 이보다 약 3500배 높은 값을 나타냈으며, 물 추출물보다 에탄올 추출물에서 더 높은 총 폴리페놀 함량을 갖는 것도 위의 실험결과와 유사한 결과이다. 이것은 페놀성 물질이 대부분 물보다는 에탄올에 더 많이 용해되는 성질을 띄는 것으로 판단된다.

항산화 활성으로는 DPPH radical 소거 활성법을 이용하여 측정하였다[Heo 등, 2006]. DPPH 용액 160 µL와 시료 40 µL를 첨가하여 암소(dark site)에서 30분간 방치하여 반응시킨 다음 microplate reader를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성(%)은 1-[(시료첨가구의 흡광도/무시료첨가구의 흡광도)100]으로 나타내었다. 양성대조군으로는 항산화 효과가 알려진 ascorbic acid(vitamin C)를 이용하였으며 65 µg/mL의 농도에서 90% 이상의 높은 항산화 활성을 보였다. Fig. 1은 물과 70% 에탄올로 추출한 맹종죽엽 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 비교한 것이다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 맹종죽엽의 물 추출물과 70% 에탄올 추출물은 250 µg/mL 농도

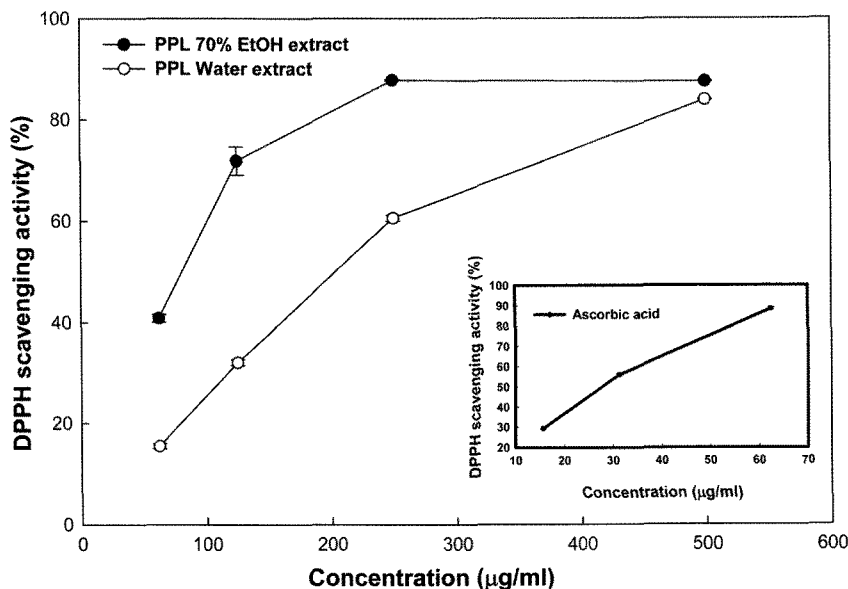


Fig. 1. DPPH radical-scavenging activity of *Phyllostachys pubescence* leaf extracts.

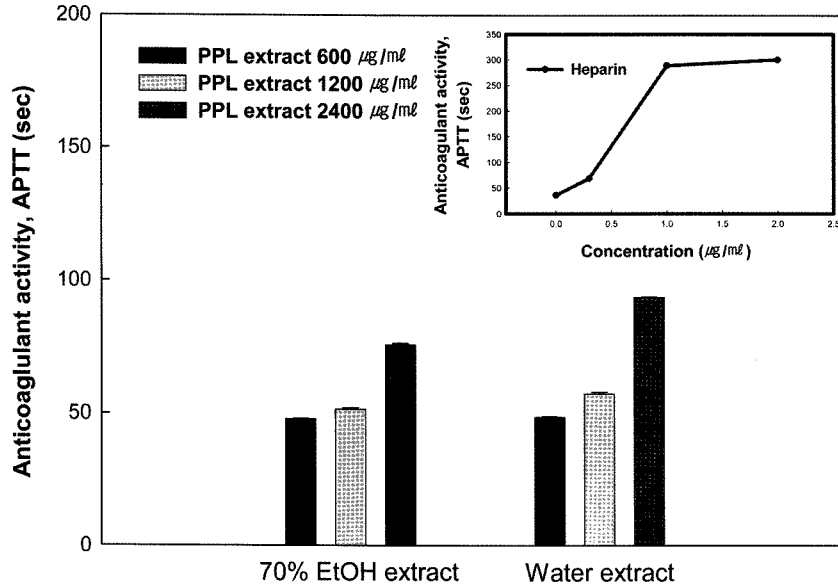


Fig. 2. Effect of *Phyllostachys pubescence* leaf extracts on anticoagulant activity expressed as activated partial thromboplastin time (APTT).

에서 각각 50%와 90%의 항산화 활성을 보였다. 한국산(생산 지역 미상) 맹종죽엽 물 추출물의 경우 30 mg/mL에서 라디칼 소거활성이 작용하지 않는 것으로 보고된 바 있다[Kim 등, 2001]. 맹종죽엽 물 추출물의 항산화 효과는 기존에 보고된 맹종죽엽 물 추출물[Kim 등, 2001]과 비교하여 높은 활성을 나타낸 것임을 확인할 수 있었으며, 물보다는 에탄올 추출물에서 더 높은 항산화 활성을 나타내었다.

맹종죽엽 추출물의 항혈전 활성 중 내인성경로(intrinsic pathway)에서의 활성을 확인하고자 activated partial thromboplastin time(APTT) assay로 측정하였다[Irving 등, 1993; Kim 등, 1998]. 각각 맹종죽엽의 물 추출물과 70% 에탄올 추출물을 coagulometer(Coatron M1, TECO, Neufahrn, Germany)를 사

용하여 응고될 때까지의 시간을 측정하였다. 맹종죽엽의 물 추출물과 70% 에탄올 추출물로 내인성 경로인 APTT 항혈전 활성을 측정된 결과, 70% 에탄올 추출물의 경우 2.4 mg/mL 처리군에서는 대조군 대비 209.4%로, 물 추출물의 경우 2.4 mg/mL 처리군에서 대조군 대비 260%로 항혈액응고활성이 매우 높음을 확인하였다(Fig. 2). 흑삼 추출물의 경우 3.33 mg/mL에서 대조군 대비 118.8%의 APTT를 나타내었다고 보고된 바 있다[Roh와 Park, 2008]. 이것으로부터 맹종죽엽 물과 에탄올 추출물의 항혈액응고활성은 혈액응고기전에서 내인성 경로인자에 대해 조절 작용을 갖는 것으로 볼 수 있다.

맹종죽엽 추출물의 항혈전 활성 중 외인성 경로(extrinsic pathway)에서의 활성을 확인하고자 prothrombin time(PT) assay

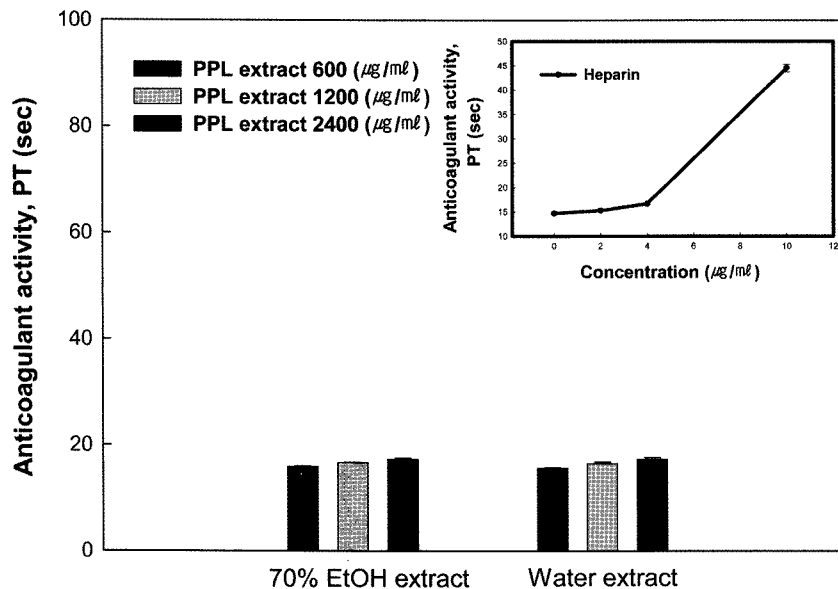


Fig. 3. Effect of *Phyllostachys pubescence* leaf extracts on anticoagulant activity expressed as prothrombin time (PT).

로 측정하였다[Irving 등, 1993; Kim 등, 1998]. 맹종죽엽의 물 추출물과 70% 에탄올 추출물로 외인성 경로인 PT의 항혈전 활성을 측정한 결과, 외인성 경로인 PT에서 70% 에탄올 추출물과 물 추출물은 각각 대조군 대비 119.7%와 114.9%로서 항혈액응고 활성이 크게 높지 않음을 확인하였다(Fig. 3). 호이초 추출물의 경우에도 1.5 µg/mL의 농도에서 대조군 대비 110.8%의 수준으로 미약하게 항혈액응고 활성이 증가하였다고 보고된 바 있는데[Sohn 등, 2008], 맹종죽엽 추출물의 경우도 이와 유사한 결과를 보였다. 이것으로부터 맹종죽엽 추출물의 항혈액응고 활성은 혈액응고기전에서 외인성 경로인자에 대해서는 낮은 조절 작용을 갖는 것으로 볼 수 있다.

결론적으로, 맹종죽엽을 각각 물과 70% 에탄올로 추출하여 제조한 추출물에 대한 총 폴리페놀함량, 항산화활성 및 항혈액응고활성을 검토한 결과 총 폴리페놀 함량과 연관되는 항산화활성의 일종인 DPPH 라디칼 소거능이 높게 분석되었으며, 70% 에탄올 추출물에서 물 추출물보다 더 높은 항산화 활성이 있음을 확인하였다. 또한 항혈액응고활성의 내인성 경로인 APT를 검토한 결과, 농도 의존적으로 항혈액응고 활성이 보임을 확인하였다.

### 참고문헌

- Ahn SY, Shin HJ, Byeon HS, Park SB, and Kong YT (2003) Physical and mechanical properties of *Phyllostachys pubescens* according to growth age or felling time. *J Kor For En* **22**, 8-16.
- Chung DK and Yu RN (1995) Antimicrobial activity of bamboo leaves extract on microorganisms related to kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* **27**, 1035-1038.
- Folin O and Denis W (1915) A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *J Biol Chem* **22**, 305-308.
- Heo JC, Park JY, An SM, Lee JM, Yun CY, Shin HM, Kwon TK, and Lee SH (2006) Anti-oxidant and anti-tumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* Blume. *Korean J Food Preserv* **13**, 83-87.
- In MJ, Park MK, Kim SY, Chae HJ, Chae MW, Sone J, Ji HS, Han KS, and Kim DC (2010) Composition analysis and antioxidative activity of maengjong-juk (*Phyllostachys pubescence*) leaves tea. *J Appl Biol Chem* **53**, 116-119.
- Irving F, Adrian D, Peter L, Jane E, Kathleen F, Elizabeth L, Don H, Tim M, John W, and John M (1993) Anticoagulant activity of HirulogTM, a direct thrombin inhibitor, in humans. *Thromb Haemost* **69**, 157.
- Jeong JS, Kim SI, Hong HP, Oh SW, and Won JS (1983) Effect of silicic acid on the sprout of *Phyllostachys edulis* Makino. The Research Reports of the Forest Research Institute No. **30**, Seoul, Korea.
- Ju IO, Jung GT, Ryu J, Choi JS, and Choi YG (2005) Chemical components and physiological activities of bamboo (*Phyllostachys bambusoides* Starf) extracts prepared with different methods. *Kor J Food Sci Technol* **37**, 542-548.
- Kim KI, Seo HD, Lee HS, Jo HY, and Yang HC (1998) Studies on the blood anticoagulant polysaccharide isolated from hot water extracts of *Hizikia fusiforme*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **27**, 1204-1210.
- Kim NK, Cho SH, Lee SD, Ryu JS, and Shim KH (2001) Functional properties and antimicrobial activity of bamboo (*Phyllostachys* sp.) extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* **8**, 475-480.
- Kim SI, Jeong JS, and Won JS (1982) Effects of culm-cutting on the sprouting in *Phyllostachys edulis*. The Research Reports of the Forest Research Institute No. **29**, Seoul, Korea.
- Kim YS, Cho KA, and Choi DB (2010) Effect of solvents of extraction on the viological activities of *Phyllostachys nigra* Munro. *Appl Chem Eng* **21**, 6-10.
- Kwon TY and Kang SK (1993) Development of food industry and our dietary life. *Korean J Food Culture* **8**, 351-358.
- Kwoon M and Hwang HJ (2001) Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic and derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem* **49**, 4646-4655.
- Lee MJ and Moon GS (2003) Antioxidative effects of Korean bamboo trees, wand-dae, som-dae, maengjong-juk, jolit-dae and o-juk. *Kor J Food Sci Technol* **35**, 1226-1232.
- Lee MJ, Kim EY, Jung KO, Park KY, and Moon GS (2004) Antimutagenic effects of Korean bamboo trees and inhibitory effect of hepatic toxicity of bamboo extracts coated rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **33**, 1279-1285.
- Merete O (2002) Nutritional modification of cardiovascular disease risk. *Int Congress Series* **1229**, 109-114.
- Millen BE, Quatromoni PA, Nam BH, O'Horo CE, Polak JF, and D'Agostino RB (2002) Dietary patterns and the odds of carotid atherosclerosis in women: the framingham nutrition studies. *Prev Med* **35**, 540-547.
- Park EJ (2006) A study on the health functionalities and food development of bamboo shoot. Ph. D. Thesis, Chonnam University, Gwangju, Korea.
- Penny ME, Kris Kari DH, Andrea B, Stacie MC, Amy EB, Kirsten FH, Amy EG, and Terry DE (2002) Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* **113**, 71-88.
- Roh SS and Park JH (2008) The effects of ginseng radix preparata extract on anti-thrombotic activity. *J East-West Med* **33**, 47-61.
- Sacks FM and Katan M (2002) Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Am J Med* **113**, 13-24.
- Sin MK and Han SH (2002) Effects of methanol extracts from bamboo (*Pseudosasa japonica* Makino) leaves extracts on lipid metabolism in rats fed high fat and high cholesterol diet. *Kor J Food Culture* **17**, 30-36.
- Sohn HY, Ryu HY, Jang Y, Jang HS, Park YM, and Kim SY (2008) Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Kor J Microbiol Biotechnol* **36**, 195-200.
- Zang Y, Wu X, and Yu ZY (2002) Comparison study on total flavonoid content and anti-free radical activity of leaves of bamboo, *Phyllostachys nigra* and *Ginkgo biloba*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **27**, 254-257.