

## 장성 대봉감의 부위별 메탄올 추출물의 항산화 활성 및 항암 활성

조영홍<sup>1</sup> · 박지원<sup>1</sup> · 이정민<sup>1</sup> · 안광환<sup>2</sup> · 박해룡<sup>1</sup> · 이승철<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경남대학교 식품생명학과

<sup>2</sup>경남농업기술원 단감연구소

### Antioxidant and Anticancer Activities of Methanol Extracts Prepared from Different Parts of Jangseong Daebong Persimmon (*Diospyros kaki* cv. Hachiya)

Young-Hong Jo<sup>1</sup>, Ji-Won Park<sup>1</sup>, Jeung-Min Lee<sup>1</sup>, Gwang-Hwan Ahn<sup>2</sup>,  
Hae-Ryong Park<sup>1</sup>, and Seung-Cheol Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Gyeongsang 631-701, Korea

<sup>2</sup>Sweet Persimmon Research Institute, Gyungsangnamdo Agricultural  
Research & Extension Services, Gyeongsang 621-802, Korea

#### Abstract

The antioxidant activity of methanol extracts from five different parts (flesh, peel, core, seed, calyx) of Jangseong Daebong persimmon (*Diospyros kaki* cv. Hachiya) were evaluated by determining total phenol content (TPC), DPPH radical scavenging activity (RSA), ABTS RSA, and reducing power (RP). The flesh extract gave the highest yield (92.93%) while the lowest yield was obtained from the seed (5.17%). The seed extract showed the highest total phenolic content ( $76.47 \pm 0.009$  mg GAE/g extract), DPPH RSA ( $IC_{50} = 52.05 \pm 1.61$   $\mu$ g/mL), ABTS RSA ( $IC_{50} = 30.94 \pm 0.41$   $\mu$ g/mL) and RP ( $IC_{50} = 87.94 \pm 0.37$   $\mu$ g/mL). In addition, the calyx extract also showed high antioxidant activity. On the other hand, the core extract gave the lowest TPC and all antioxidant assays. In particular, HT-29 cells showed extensive cell death when treated with 500  $\mu$ g/mL of calyx extracts. Thus, these results suggest that methanolic extracts of Jangseong Daebong persimmon seed and calyx may serve as a potential source of natural antioxidant for food and nutraceutical application.

**Key words:** Jangseong Daebong persimmon, *Diospyros kaki* cv. Hachiya, antioxidant, anticancer, MTT assay

#### 서 론

감(*Diospyros kaki*)은 동양이 원산지인 과실로서 한국, 일본, 중국 등에서 주로 재배되고 있다. 전 세계적으로 분포되어 있는 감나무속(*Diospyros* Linn.) 식물은 약 400여 종으로 대부분 온대나 아열대 지역에 분포되어 있으며 이들 중 과수로 이용되는 것은 10여종이다. 감 품종 중, 갑주백목(甲州百目, *Diospyros kaki* cv. Hachiya) 감은 봉옥(蜂屋), 부사(富士) 등으로 불리기도 하는데, 우리나라 원예시험장에서 1966년에 도입하여 연시 및 꺾임용으로 선발하였다. 1980년대부터 이 품종의 감을 대봉감이라 하며, 경남 하동군과 전남 장성군에서 많이 재배되고 있다(1).

감에는 당질과 비타민 A, C가 풍부하며 장의 수축과 장분비액의 분비를 촉진하고, 예로부터 민간요법으로 이뇨, 딸꾹질, 토혈, 폐열, 숙혈, 주독 및 갈증해소 등에 탁월하다고 알려져 있다(2,3). 붉은 감에는 diospyrin이라는 붉은맛을 내는 수용성 탄닌 성분을 함유하고 있으며 과실, 야채류 및 식물

종자 등의 식물체에 널리 함유되어 수렴이나 지혈작용 등의 약리적 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(4). 또한 감에는 항산화, 항암, 항동맥경화, 알코올 대사촉진, 항혈액응고 등의 생리활성이 보고되고 있다(5-8).

한편 인간을 비롯한 모든 생물체들은 생체 내에서 자유라디칼 반응에 의해 생성되는 유해한 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)을 생성한다. 이러한 활성산소종과 유리라디칼은 체내에서 세포막 손상, DNA 변성, 지질 산화, 단백질 분해 등을 초래하여 생체기능을 저하시킴으로써 노화를 유발할 뿐만 아니라 암, 동맥경화, 심장병, 당뇨병, 류마티스성 관절염 등과 같은 여러 질환의 원인으로 알려져 있다(9). 그러므로 활성산소를 방어하는 항산화 물질이 이러한 질병의 치료 가능성 때문에 주목받고 있으며 항산화 물질에 대한 관심이 급증하고 있다.

또한, 우리나라 사망률의 1위를 차지하는 암은 국민 건강에 위협적인 존재이며(10), 발병하여 계속 진행되는 경우 수술, 약물, 그리고 방사선 요법을 통해 치료하여야 하는 질병

\*Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr  
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

이다(11). 그러나 약물 투여 시 나타나는 후유증이 심각하여 항상 후유증으로 인한 문제가 일어나는 질병이기 때문에, 최근에는 천연물에서 암세포에만 작용을 하며 후유증이 없는 물질을 찾으려는 연구가 계속적으로 진행되고 있다(12).

본 연구에서는 전남 장성군에서 재배되고 있는 대봉감을 부위별(과육, 껍질, 심, 씨, 꼭지)로 나누어 메탄올 추출물을 제조하고, 이 추출물의 총 페놀 함량, 항산화력, 항암 효과를 분석함으로써 감의 부위별 생리활성 기능을 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 대봉감은 전남 장성군 황룡농업협동조합에서 구입하였다. 항산화 활성 측정에 사용된 2,2'-azino-(bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), gallic acid, L-ascorbic acid, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 동물 세포주의 배양을 위해 RPMI 1640 medium, fetal bovine serum(FBS) 및 penicillin, streptomycin 등은 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. 그 외 potassium ferricyanide, trichloroacetic acid(TCA), ferric chloride, dimethyl sulfoxide(DMSO) 등 분석에 사용된 시약 및 용매는 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 추출물 제조

대봉감을 부위별(과육, 껍질, 심, 씨, 꼭지)로 세분하여 동결건조한 후 분쇄기(RT-08, MHK Co., Seoul, Korea)를 이용하여 분말화하였다. 각 대봉감 분말 시료 10 g에 200 mL의 메탄올을 가하여 24°C에서 100 rpm으로 진탕하며 24시간 추출하였다. 각 추출물은 여과지(Whatman No. 1)로 여과한 후, 회전진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 40°C에서 감압 농축하였다. 각 농축물은 50 mg/mL의 농도로 DMSO에 녹여 4°C에서 보관하면서 적당한 농도로 희석해서 실험에 사용하였다.

### 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Gutfinger의 방법(13)을 변형하여 측정하였다. 즉, 1 mg/mL의 농도로 희석한 대봉감 부위별 추출물 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 1 mL를 가하고 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 첨가하여 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 10분간 14,200×g에서 원심분리한 후, 상정액 1 mL를 취하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid 0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/mL을 이용하여 작성한 표준곡선으로 gallic acid equivalent(GAE) 단위로 나타내었다.

### DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등의 방법(14)에 준하여 시료 0.1 mL에 4.1×10<sup>-5</sup> M의 DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 ascorbic acid 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 µg/mL을 같은 방법으로 처리하여 분석하였다. 다양한 농도에서 시료와 양성대조군의 DPPH 라디칼 소거능을 구한 뒤, DPPH 라디칼의 50%를 소거할 때의 추출물의 농도를 IC<sub>50</sub>값으로 나타내었다.

### ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼 소거능은 Muller(15)의 방법에 따라 측정하였다. 시료 0.1 mL에 0.1 M의 인산 완충용액(pH 5.0) 0.1 mL와 10 mM의 hydrogen peroxide 20 mL를 가하고 이 혼합물을 37°C에서 5분간 예비반응을 시켰다. 이 반응물에 1.25 mM의 ABTS와 peroxidase(1 U/mL)를 각각 0.03 mL씩 넣고 다시 37°C에서 10분간 반응시킨 후, Multiplate Reader (Sunrise RC/TS/TS Color-TC/TW/BC/6Filter, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 다양한 농도에서 시료와 양성대조군(ascorbic acid)의 ABTS 라디칼 소거능을 구한 뒤, ABTS 라디칼의 50%를 소거할 때의 추출물의 농도로 IC<sub>50</sub>값으로 나타내었다.

### 환원력

환원력은 Oyaizu의 방법(16)에 따라 측정하였으며, 항산화 물질에 대한 철 이온의 환원력을 측정하는 것이다. 즉, 1 mL의 인산염 완충 용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL의 시료와 1%(w/v) potassium ferricyanide 용액 1 mL를 가하고 이 혼합물을 50°C에서 20분간 반응을 시킨 후, 10%(w/v) trichloroacetic acid 용액 1 mL를 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 14,200×g에서 원심분리 하여 얻은 상정액 1 mL와 증류수 1 mL를 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL를 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 다양한 농도에서 시료와 양성대조군(ascorbic acid)의 환원력을 구한 뒤, 흡광도 0.5의 환원력에 해당하는 추출물의 농도를 IC<sub>50</sub>값으로 나타내었다.

### 암세포 배양

본 실험에 사용한 HT-29 세포주는 인간 대장암 유래의 세포주로 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)으로부터 분양을 받아서 사용하였다. 세포배양을 위해 사용한 배지는 RPMI 1640 medium에 10% fetal bovine serum(FBS) 및 100 U/mL의 penicillin, 100 µg/mL의 streptomycin을 첨가하여 사용하였고, 95%의 습도가 유지되는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator(MOC-18AIC, SANYO, Osaka, Japan)에서 배양하였다.

### MTT reduction assay

대봉감의 부위별 추출물의 암세포 증식억제 실험을 측정

하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 세포주를  $1 \times 10^5$  cell/mL로 96 well plate에 각각 100  $\mu$ L씩 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하고 대봉감 부위별 추출물을 세포에 처리하여 24시간 배양한 후, 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT(5 mg/mL) 용액을 10  $\mu$ L씩 첨가하여 다시 1시간 동안 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. Formazan 형성을 현미경으로 관찰한 후 배지를 완전히 제거하고, DMSO 100  $\mu$ L씩 첨가한 후 ELISA reader(model 680, BioRad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 흡광도 540 nm에서 측정하였다. 추출물을 처리하지 않은 세포를 대조군으로 100% 하였을 때의 상대적인 세포생존율로 나타내었다.

#### 암세포주의 형태학적 변화 관찰

대봉감 꼭지 추출물을 처리하였을 때, HT-29 세포주의 형태학적인 변화를 관찰하기 위해 6 well plate에  $2 \times 10^5$  cells/well로 각각 2 mL씩 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 24시간 배양하였다. 대봉감 꼭지 추출물을 100, 250, 500  $\mu$ g/mL 농도로 처리하고 24시간 배양한 후, 위상차 현미경(Nikon, Tokyo, Japan)을 이용하여 변화된 세포의 형태학적인 특징을 관찰하고 100배로 사진을 촬영하였다.

#### 통계처리

데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다(17).

### 결과 및 고찰

#### 추출 수율

장성 대봉감의 부위별 항산화 활성 및 항암 활성을 조사하기 위해 동결건조한 후 분쇄한 시료를 메탄올로 추출하였다. 대봉감의 부위별 건조 수율 및 건조된 대봉감의 부위별 추출 수율을 Table 1에 나타내었다. 건조 수율의 경우 씨>꼭지>껍질>과육>심 부위의 순으로 높았으며, 이는 수분 함량이 낮은 순을 의미한다. 따라서 씨와 꼭지 부위에 수분이 낮게 함유되어 있고, 심과 과육 부위에 비교적 수분 함량이 높음

을 알 수 있었다. 추출 수율은 과육>심, 껍질>꼭지>씨의 순으로 높았으며, 심과 껍질은 거의 비슷한 추출 수율을 보였다. 과육이 92.93%로 가장 높은 추출 수율을 보였고 씨는 5.17%로 가장 낮은 추출 수율을 보였다. Hajar 등(18)은 멜론의 한 종류인 cantaloupe 메탄올 추출물의 부위별 수율이 과육(89.62%)>껍질(50.33%)>씨(13.66%) 순이라 보고하여 본 실험의 경향과 일치하였는데, 씨 부분의 낮은 추출 수율은 지방, 전분, 단백질 등과 같은 주요 구성성분의 용해도가 낮기 때문이라고 하였다.

#### 총 페놀 함량

감의 떫은맛은 탄닌세포내의 수용성 탄닌인 kaki-tannin에 의한 것이며(19), 이는 catechin, catechin-3-gallate, gallocatechin, gallocatechin-3-gallate로 이루어져 있다. 감에는 tannin, catechin류 등의 기능성 페놀성 화합물이 다량 함유되어 있으므로(20,21), gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 검정 곡선으로부터 장성 대봉감의 부위별 메탄올 추출물의 페놀 함량을 측정하여 Table 1에 나타내었다. 그 결과 씨와 꼭지가 76.47, 73.00 mg GAE/g으로 함량이 높았고, 심에서는 0.89 mg GAE/g으로 가장 낮은 함량을 보였으며, 씨>꼭지>껍질>과육>심의 순으로 측정되었다. Soong과 Barlow(22)는 망고, 타마린드, 용안, 아보카도 등의 과일의 씨가 과육 부위보다 페놀 함량이 높았다고 보고하여 본 연구의 경향과 일치하였다. 한편, Ahn 등(23)은 감 씨를 건조한 후 에탄올로 추출하였을 때 577.37 mg/100 g의 tannin이 정량되었다고 보고하였으나, 본 연구에서는 메탄올로 추출하였고 tannin을 포함하는 총 페놀 함량을 정량하였으므로 직접 비교하기는 어려웠다. Tomás-Barberán 등(24)은 25종의 배, 복숭아, 자두의 페놀 함량을 조사한 결과 과육보다 껍질에 페놀 화합물이 많이 존재한다고 보고하여 본 연구와 일치하는 경향을 보였다. 감의 꼭지(꽃받침)는 다른 과실에서는 찾기 힘들 정도로 큰 크기인데, 과실과 밀착하여 네 쪽으로 갈라져 있다. 꼭지 부위는 감의 생육과 밀접한 관계가 있는데 이 부위를 제거하면 과실이 제대로 발육하지 못한다(25). 부유 품종의 감에서도 꼭지의 페놀 함량이 껍질과 과육의 경우보다 높았으며(26) 그 이유에 대해서는 향후 보다 세밀한 연구가 필요하다.

Table 1. Extraction yield and total phenolic content (TPC) of extracts from different parts of Jangseong Daebong persimmon (*Diospyros kaki* cv. Hachiya)

Parts	Initial weight (g)	Dry weight (g)	Drying yield (%) <sup>1)</sup>	Extract weight (g)	Extraction yield (%) <sup>2)</sup>	TPC (mg GAE <sup>3)</sup> /g)
Flesh	1,721.84	367.50	21.34	341.52	92.93	3.00±0.01
Peel	667.01	182.98	27.43	108.62	59.36	4.18±0.01
Core	202.25	37.06	18.32	22.20	59.91	0.89±0.01
Seed	59.85	29.50	49.29	1.53	5.17	76.47±0.01
Calyx	119.64	50.92	42.56	13.27	26.06	73.00±0.01

<sup>1)</sup>Drying yield (%)=(dry weight/initial weight)×100.

<sup>2)</sup>Extraction yield (%)=(extract weight/dry weight)×100.

<sup>3)</sup>GAE: gallic acid equivalents.

페놀 화합물은 식물의 2차 대사산물의 주요 물질로서 수 산기를 가지는 방향족 화합물을 총칭하며, phenolic hydroxyl기는 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하여 항산화 및 항암 등의 다양한 생리활성을 나타낸다(27). 대부분의 과일에서 과육보다 껍질에 페놀 물질이 풍부하며 껍질과 씨와 같은 가공 부산물을 항산화 소재로 활용할 가치가 있다고 하였다(28). 장성 대봉감의 경우에도 과육 부위보다 씨, 꼭지, 껍질 부위의 페놀 함량이 높아 앞으로 가공 후에 발생하는 이들 부위를 보다 효율적으로 이용할 필요가 있다.

DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼은 안정한 라디칼이지만 전자를 공여할 수 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되고 이를 흡광도로 측정할 수 있어 어떤 물질의 항산화 활성을 분석하는 대표적인 방법으로 이용되고 있다. 장성 대봉감 부위별 추출물의 다양한 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 후, IC<sub>50</sub>을 계산하여 Table 2에 나타내었다. 양성 대조군으로 사용된 L-ascorbic acid(IC<sub>50</sub>=20.99 µg/mL)보다 낮은 농도의 IC<sub>50</sub>은 없었으나, 씨 추출물의 IC<sub>50</sub>이 52.05 µg/mL로 다른 부위에 비해 높은 항산화 활성을 보였으며, 부위별로 씨>꼭지>과육>껍질>심 순으로 활성을 보였다. 부위별 DPPH 라디칼 소거능 순위는 총 페놀 함량의 결과와 대체로 일치하는데, 이는 페놀 화합물이 DPPH 라디칼 소거능과 밀접한 관계가 있음을 의미한다. 한편, 감에 풍부히 함유되어 있는 비타민 C와 카로티노이드도 항산화 활성이 있으므로 본 연구에서 이들 물질을 정량하지는 않았지만 이들 물질도 DPPH 라디칼 소거능에 기여했을 것으로 보인다. 한편, Ahn 등(23)은 감 씨의 DPPH 라디칼 소거능에 대한 IC<sub>50</sub>을 88.98 µg/mL로 보고하였는데, 어떤 품종인지 나타나 있지 않아 정확히 비교하기는 어려웠다.

ABTS 라디칼 소거능

ABTS·<sup>+</sup>에 대한 장성 대봉감 부위별 추출물의 라디칼 소거능을 Table 2에 나타내었다. 씨 추출물의 IC<sub>50</sub>이 30.94 µg/mL로 가장 높은 활성을 보였는데 이는 양성 대조군인 L-ascorbic acid(IC<sub>50</sub>=17.28 µg/mL)보다 약 2배 정도 낮은

활성이었다. 부위별로는 씨>꼭지>과육>껍질>심 순으로 활성을 보였다. 부위별 ABTS 라디칼 소거능 순위는 DPPH 라디칼 소거능의 부위별 순위와 일치하였지만, ABTS 라디칼 소거능의 IC<sub>50</sub>값이 낮아 대봉감의 추출물이 ABTS 라디칼을 더 잘 소거함을 알 수 있었다. 수소 혹은 전자를 받음으로 활성을 나타내는 DPPH 라디칼 소거능에 비해 ABTS 라디칼 소거능의 경우 수소 공여 항산화 물질과 chain breaking 항산화 물질 모두를 측정할 수 있고, 친수성 물질과 소수성 물질의 항산화력 측정에 가능하므로 일반적으로 DPPH 라디칼 소거능보다는 높은 활성을 나타낸다(29). 또한 자유 라디칼인 DPPH와 양이온 라디칼인 ABTS 라디칼의 차이로 인해 이들과 결합하는 페놀물질의 종류가 다름에 따라 라디칼의 제거능력이 차이를 나타낼 가능성도 배제할 수 없다(30).

환원력의 측정

항산화 작용의 여러 가지 기작 중에서 활성 산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력이 환원력이므로 이를 측정하여 항산화 활성을 검정하는 수단으로 이용할 수 있다. 장성 대봉감의 부위별 환원력은 전체적으로 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능과 유사한 경향을 나타내었다(Table 2). 씨 추출물에서 IC<sub>50</sub>이 87.94 µg/mL로 가장 높은 활성을 보이며 양성 대조군에 비해 약 6배 정도 낮은 활성을 나타내었다.

암세포 증식 억제에 미치는 영향

HT-29 세포주에 대한 장성 대봉감의 부위별 추출물의 암세포 증식억제에 대한 영향은 Fig. 1과 같은 결과로 나타났다. 각 추출물의 암세포 증식 억제 효과를 알기 위해 250 µg/mL과 500 µg/mL의 농도로 추출물을 암세포에 첨가하여 MTT reduction assay를 실시하였고, 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하였다. 추출물 농도 500 µg/mL의 결과를 보면, 과육은 88.1%, 껍질은 68.1%, 심은 76.7%, 씨는 61.2%, 그리고 꼭지는 47.7%이었다. 감의 항암 활성은 카로티노이드와 epigallo catechin gallate에 주로 기인하고 있으며(3), 이는 DNA polymerase를 저해(31) 또는 미토콘드리아 막의

Table 2. Antioxidant activity, expressed by IC<sub>50</sub><sup>1)</sup>, of methanolic extracts from different parts of Jangseong Daebong persimmon (*Diospyros kaki* cv. Hachiya) (Unit: µg/mL)

Parts	DPPH RSA <sup>2)</sup>	ABTS RSA <sup>2)</sup>	Reducing power <sup>3)</sup>
Flesh	471.85±4.04	288.19±11.72	531.13±11.46
Peel	3,471.33±38.45	1,667.94±51.99	4,542.98±245.05
Core	23,477.71±2,335.17	6,395.46±1,237.04	14,520.87±465.07
Seed	52.05±1.61	30.94±0.41a	87.94±0.37
Calyx	81.56±1.63	39.17±2.21b	154.56±1.06
Vitamin C	20.99±0.21	17.28±0.60	15.69±0.88

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication.

<sup>1)</sup>Concentration for scavenging 50% of radicals.

<sup>2)</sup>Radical scavenging activity.

<sup>3)</sup>Concentration for scavenging 0.500 value in optical density.

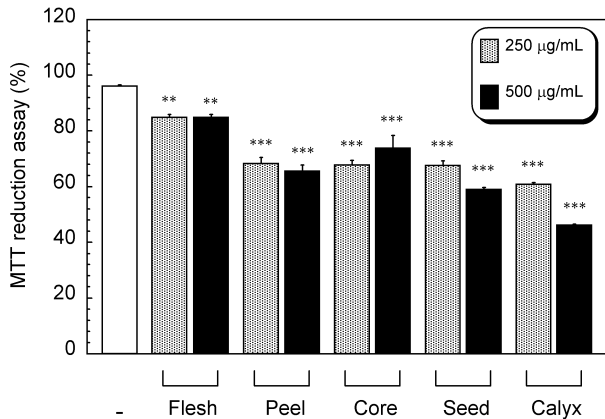


Fig. 1. Cytotoxic effect of extracts from different parts of Jangseong Daebong persimmon (*Diospyros kaki cv. Hachiya*) against HT-29 human colon cancer cells. The cells were treated with various concentrations of different parts of Jangseong Daebong persimmon extracts (flesh, peel, core, seed, calyx). After MTT assay, the MTT reduction rate (means±SD of triplicate determination) were calculated by setting each of control survivals in absence of different parts of Jangseong Daebong persimmon extracts. \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001.

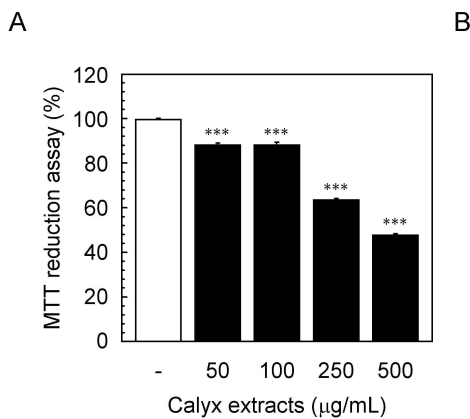


Fig. 2. Cytotoxic effect of extracts of Jangseong Daebong persimmon calyx in HT-29 cells. The cells were exposed to the various concentrations of extracts of Jangseong Daebong persimmon calyx for 24 hr. Cell viability was measured with the MTT reduction assay (A). Morphological changes were monitored for 24 hr (B) (a: control, b: 100 µg/mL, c: 250 µg/mL, d: 500 µg/mL). The photographs were taken with a phase-contrast microscope at 100× magnification. The results are representative of at least two independent experiment. \*\*\*Significant vs. control untreated cells (p<0.001).

과피로 인한 apoptosis의 유도(32) 등의 기작에 의한다고 알려져 있다.

가장 활성이 좋은 장성 대봉감의 꼭지 추출물을 선정하여 농도에 따른 MTT assay를 한 결과, 농도 의존적으로 암세포의 증식 억제 효과가 나타났다(Fig. 2A). 대봉감 꼭지 추출물에 대한 HT-29 세포주의 형태학적인 변화를 관찰하기 위하여 위상차 현미경을 이용하여 관찰하였다. 대조군의 세포는 덩어리가 진 형태로 서로 조밀하게 정상적으로 성장하는 것에 비해 꼭지 추출물을 처리 시 농도 의존적으로 세포수가 적어지고 그 형태가 응축이 되며, 불규칙적인 형태를 보여 주어 세포 사멸이 나타나는 것을 알 수 있었다(Fig. 2B). 이상의 결과로부터 장성 대봉감의 부위별 추출물이 인간 유래 대장암 세포주인 HT-29세포에 대하여 증식을 억제하는 효과를 가지고 있다는 것을 알 수 있었다.

요 약

장성 대봉감을 부위별(과육, 껍질, 심, 씨, 꼭지)로 세분하

여 메탄을 추출물을 제조한 후 항산화 활성과 항암 활성을 조사하였다. 총 페놀 함량은 씨>꼭지>껍질>과육>심의 순위였으며, 항산화 활성에 관해 분석한 항목인 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, 환원력은 모든 경우에서 씨>꼭지>과육>껍질>심의 순위로 나타났다. 인간 유래 대장암 세포주에 대한 대봉감 추출물의 항암 활성은 꼭지>씨>껍질>심>과육의 순서로 측정되었으며, 꼭지 부위 추출물은 농도 의존적으로 항암 활성을 보였다. 이상의 결과로 장성 대봉감의 씨와 꼭지에서 항산화 활성과 항암 활성이 확인되어 이들 부산물을 유용하게 이용할 필요가 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

이 연구는 전남 장성군 황룡농협의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Cho DH, Chon IJ, Kwon ST, Song YS, Chou YD. 2007.

- Genetic relationships of Korean astringent persimmon varieties using AFLP analysis. *J Korean Soc Hort Sci* 25: 114-118.
2. Yu TJ. 1976. *Food Carte*. Pakmyoung Publishing Co., Seoul, Korea. p 129-132.
  3. George AP, Redpath S. 2008. Health and medicinal benefits of persimmon fruit: A review. *Adv Hort Sci* 22: 244-249.
  4. Hanlam E. 1981. Vegetable tannins. In *Biochemistry of plants*. Stumpf PK, Comm EE, eds. Academic Press, New York, USA. p 527-539.
  5. Seo JH, Jeong YJ, Kim KS. 2000. Physiological characteristics of tannins isolated from astringent persimmon fruits. *Korean J Food Sci Technol* 32: 212-217.
  6. Gorinstein S, Kulasek GW, Bartnikowska E, Leontowicz M, Zenser M, Morwicz M, Trakhtenberg S. 2000. The effects of diets, supplemented with either whole persimmon or phenol-free persimmon, on rat fed cholesterol. *Food Chem* 70: 303-308.
  7. Kim SG, Lee YC, Suh KG, Choi HS. 2001. Acetaldehyde dehydrogenase activator from persimmon and its processed food. *Korean J Food Sci Technol* 30: 954-958.
  8. Lee YC, Sa YS, Jeong CS, Suh KG, Choi HS. 2001. Anticoagulating activity of persimmon and its processed food. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 4: 25-29.
  9. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 44-84.
  10. National Statistical Office. 2007. Annual report on the cause of death statistics. Seoul, Korea.
  11. Gailani S, Holland JF, Falkson G, Leone L, Burningham R, Larsen V. 1972. Comparison of treatment of metastatic gastrointestinal cancer with 5-fluorouracil (5-FU) to a combination of 5-FU with cytosine arabinoside. *Cancer* 29: 1308-1313.
  12. Benedetti C, Fabbri M, Sitia R, Cabibbo A. 2000. Aspects of gene regulation during the UPR in human cells. *Biochem Biophys Res Comm* 278: 530-536.
  13. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J Am oil Chem Soc* 58: 966-968.
  14. Jeong SM, Kim SY, Park HR, Lee SC. 2004. Effect of far-infrared radiation on the activity of extracts from *Citrus unshiu* peels. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1580-1583.
  15. Muller HE. 1985. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS-peroxidase medium. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 259: 151-158.
  16. Oyaizu M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jap J Nutr* 44: 307-315.
  17. SAS. 1995. *SAS/STAT user's guide*. SAS Institute, NC, USA.
  18. Hajar II, Kim WC, Abdalbasit AM, Maznah I. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts. *Food Chem* 119: 643-647.
  19. Matosuo T, Ito S. 1978. The chemical structure of kakin-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric Biol Chem* 42: 1637-1643.
  20. Yonemori K, Matsushima J. 1983. Differences in tannins of non-astringent and astringent type fruits of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *J Japan Soc Hort Sci* 52: 135-144.
  21. Achiwa Y, Hibasmi H, Katsuzaki H, Iami K, Komiya T. 1997. Inhibitory effects of persimmon (*Diospyros kaki*) extract and related polyphenol compounds on growth of human lymphoid leukemic cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 1099-1101.
  22. Soong YY, Barlow PJ. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chem* 88: 411-417.
  23. Ahn HS, Jeon TI, Lee JY, Hwang SG, Lim YH, Park DK. 2002. Antioxidative activity of persimmon and grape seed extract: *in vitro* and *in vivo*. *Nutr Res* 22: 1265-1273.
  24. Tomás-Barberán FA, Gil MI, Cremin P, Waterhouse AL, Hess-Pierce B, Kader AA. 2001. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J Agric Food Chem* 49: 4748-4760.
  25. 김성봉. 1998. 단감재배 신기술. 오성출판사, 서울. p 103-107.
  26. Jang IC, Jo EK, Bae MS, Lee HJ, Jeon GI, Park E, Yuk HG, Ahn GH, Lee SC. 2010. Antioxidant and antigenotoxic activities of different parts of persimmon (*Diospyros kaki* cv. Fuyu) fruit. *J Med Plants Res* (in press).
  27. Shahidi F, Nacz M. 2004. *Phenolic in food and nutraceuticals*. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. p 403-442.
  28. Balasundram N, Sundram K, Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 99: 191-203.
  29. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
  30. Wang MF, Shao Y, Li JG, Zhu NQ, Rngarajan M, Iavoie EJ, Ho CT. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46: 4869-4873.
  31. Umekawa H, Takada Y, Furuichi Y, Takahashi T, Achiwa Y, Komiya T, Yoshida S. 1999. Inhibition of eukaryotic DNA polymerase  $\alpha$  by persimmon extract and related polyphenols. *Biochem Mol Biol Int* 47: 795-801.
  32. Qanungo S, Das M, Haldar S, Basu A. 2005. Epigallocatechin-3-gallate induces mitochondrial membrane depolarization and caspase-dependent apoptosis in pancreatic cancer cell. *Carcinogenesis* 26: 958-967.

(2010년 1월 19일 접수; 2010년 2월 22일 채택)