KOREAN J. FOOD COOKERY SCI.
Vol. 27, No. 4 August, 2011

아까시 꽃 추출물의 항산화 활성 및 DNA 손상 억제 효과

김수정[1], 서고운[1], 서보영[2], 박은주[2], 이승철[1†]

[1]경남대학교 식품생명학과, [2]경남대학교 식품영양학과

Antioxidant Activity and DNA Damage Protective Effect of a *Robinia pseudoacacia* L. Flower Extract

Su-Jung Kim[1], Go-Un Seo[1], Bo-Young Seo[2], Eunju Park[2] and Seung-Cheol Lee[1†]

[1]Dept. of Food Science and Biotechnology, and [2]Dept. of Food and Nutrition

Kyungnam University

Abstract

The antioxidant properties of *Robinia pseudoacacia* L. water and 70% ethanol extracts were evaluated by determining total phenolic content (TPC), DPPH radical scavenging activity (RSA), and reducing power (RP). The water extract showed higher TPC (9.07 mg/g gallic acid equivalents) and RP than those of ethanol extract, whereas ethanol extract had greater DPPH RSA. The *R. pseudoacacia* L. extracts also showed antigenotoxic effects for 200 μM H_2O_2-induced DNA damage in human leukocytes. The 200 μM H_2O_2-induced DNA damage decreased following treatment with the water extract. Reductions in DNA damage with 50 μg/mL of the water and ethanol extracts were 46.5 and 32.4%, respectively.

Key words : *Robinia pseudoacacia* L., flower, antioxidant activity, DNA damage, antigenotoxic effect

I. 서 론

인체의 노화와 질병을 유발하는 유리 라디칼은 인체 내에서 정상적인 대사과정 중 생물학적 반응으로 형성되며, 세포와 조직에 해로운 독성을 일으켜 여러 가지 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Valko M 등 2007). 이를 해결할 수 있는 항산화제에 관한 관심이 집중되었으나, 기존의 식품에 널리 사용되던 합성 항산화제인 BHT(butylated hydroxytoluene) 및 BHA(butylated hydroxyanisole) 등의 인체에 대한 독성이 보고된 이후로 점점 기피되고 있다(Buxiang S와 Fukuhara M 1997). 따라서 최근에는 천연물에서 추출한 천연 항산화제에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Caillet S 등 2007, Jang IC 등 2008, Jeon GI 등 2009). 천연 항산화제는 대부분 식물 기원의 페놀 화합물로서 유리 라디칼의 생성을 지연시키거나 활성을 저해하여 항산화 물질로서의 역할을 한다(Lee SY 등 2005). 이러한 식물 중에서도 꽃잎에는 플라보노이드 화합물을 다량 포함하고 있으며, 천연 항산화제로의 많은 잠재성을 지니고 있다(Lee JM 등 2001).

아까시나무(*Robinia pseudoacacia* L.)는 콩과식물에 속하며 북아메리카 원산의 낙엽교목으로 수피는 황갈색이고 세로로 갈라지며 낙엽이 변한 가시가 있으며 우리나라 전역에 분포

†Corresponding author: Seung-Cheol Lee, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University
Tel : 82-55-249-2684
Fax : 82-55-249-2995
E-mail : sclee@kyungnam.ac.kr

하고 있다(Choi DH 등 2002). 아까시 꽃은 꿀을 채취하는 주요 소재이며 우리나라가 궁핍한 시기에 간식거리로 널리 식용되기도 하였다. 아까시 꽃의 화학조성은 수분함량이 86.6%, 건물량 기준으로 조단백질 24.55%, 조회분 8.51% 및 총당 40.97%이며 아스코르브산도 160.44 mg% 함유되어 있으며 그 외 유리당, 무기질의 함량 또한 비교적 높은 것으로 보고되었다(Kwon JH 등 1995). 아까시 꽃의 첨가가 전통주의 생리기능성에 미치는 영향 연구(Seo SB 등 2002)에서 아까시 꽃의 안지오텐신 전환효소 및 tyrosinase 저해활성이 확인되었으며, 이외에도 아까시 꽃의 지질성분에 관한 연구(Shin SR 등 1993), 아까시 나무 뿌리껍질의 성분(Kwon YS 등 2000)에 대한 연구가 보고되었다. 아까시 나무와 아까시 꽃에 대한 여러 가지 연구가 보고되어 있지만 항산화 활성에 대한 연구는 아직까지 미미한 실정이다. 본 논문에서는 아까시 꽃을 물과 70% 에탄올 추출물을 이용하여 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, 환원력, 과산화수소에 의한 DNA 손상으로부터의 보호 효과를 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

아까시 꽃(*Robinia pseudoacacia* L.)은 2009년 4월 경남 창원시 마산합포구 소재의 경남대학교 교정에서 채취하였다. 본 연구에 사용된 Folin-Ciocalteu 시약은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)에서 구입하였고, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)와 potassium ferricyanide, vanillin, trichloroacetic acid (TCA), ferric chloride, dimethyl sulfoxide (DMSO), histopaque 1077, low melting agarose (LMA), normal melting agarose (NMA) 그리고 ethidium bromide는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Potassium phosphate monobasic, sodium phosphate dibasic, sodium carbonate anhydrous, hydrochloric acid 등을 비롯한 기타 시약 및 용매는 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

2. 시료의 추출

아까시 꽃 1,054 g을 동결건조기 (FD 5512, IlshinBioBase Co., Yangju, Korea)로 건조하여 155.73 g의 건조 아까시 꽃을 얻은 후, 이를 분쇄하여 500 nm 이하의 분말로 제조하였다. 분말시료 10 g에 200 mL의 용매(70% 에탄올, 물)를 각각 가하여 상온에서 24시간 동안 진탕배양기(HB-201s, Hanbaik Co., Seoul, Korea)를 이용하여 추출하였다. 각각의 추출물은 여과지(Whatman No. 3)로 여과한 후, 회전진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 40℃에서 농축하였다. 각 농축물은 50 mg/mL의 농도로 DMSO에 녹여 4℃에서 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

3. 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Gutfinger(1981)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na_2CO_3용액 1 mL를 가하고 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 첨가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 10분간 13,400×g에서 원심분리한 후, 상징액 1 mL를 취하여 750 nm에서 분광분석기(Shimadzu UV-1601, Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg GAE(gallic acid equivalents)/g 단위로 나타내었다.

4. 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 vanillin 방법(Price ML 등 1978)으로 측정하였다. 즉, 각 시료 1 mL을 2% vanillin (8.0% methanolic HCl) 5 mL과 혼합한 후 상온의 암실에서 20분 동안 반응시켜 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 화합물의 함량은 (+)-catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg CE (catechin equivalents)/g를 구하였다.

5. DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong SM 등(2004)의 방법에 준하여 시료 0.1 mL에 0.041 mM DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식으로 계산

하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{라디칼 소거능} = (1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}) \times 100$$

6. 환원력의 측정

환원력은 Oyaizu M의 방법(1996)에 따라 측정하였다. 즉, 1 mL의 인산염 완충 용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL의 시료와 1% (w/v) potassium ferricyanide 용액 1 mL을 가하고 이 혼합물을 50℃에서 20분간 반응을 시킨 후, 10% (w/v) trichloroacetic acid 용액 1 mL을 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 13,400×g에서 원심분리하여 얻은 상징액 1 mL과 증류수 1 mL을 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL을 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. DNA 손상 억제 효과 측정

신선한 전혈 5 mL을 histopaque 1077을 이용해 백혈구를 분리한 후 본 실험에 사용하였다. 준비된 백혈구 세포에 아까시 꽃의 추출물을 1, 5, 10, 50 μg/mL 농도로 37℃에서 30분간 반응시켰다. 그 후 백혈구를 PBS로 세척하고 인위적으로 산화적 스트레스를 유발하기 위하여 200 μM H_2O_2를 4℃에서 5분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 PBS로 세척하였다. 양성 대조구는 아까시 꽃 추출물 대신 1% DMSO를 처리 후 200 μM H_2O_2를 처리하였다. Comet assay 측정을 위해 반응을 끝낸 백혈구를 75 μL의 0.7% LMA과 섞은 후, 1.0% NMA가 미리 코팅된 슬라이드 위로 현탁액이 골고루 분산되게 한 후 덮개 유리로 덮어 4℃ 냉장고에 보관하였다. 겔이 굳으면 덮개 유리를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 μL로 한 겹 더 덮었다. 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer (2.5 M NaCl, 100 mM Na_2EDTA, 10 mM Tris)에 사용 직전에 1% Triton X-100을 섞은 후 슬라이드를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지시켜 DNA의 이중 사슬을 풀어주었다. 분해가 끝난 후, 슬라이드를 전기영동 수조에 배열하고 4℃의 차가운 전기영동 완충용액 (300 mM NaOH, 10 mM Na_2EDTA, pH〉13)를 채워 20분 동안 DNA 사슬을 풀어 DNA의 알칼리에 불안정한 부위가 드러나게 한 후 25 V/300±3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동하였다. 빛에 의해 DNA가 부가적으로 손상되는 것을 방지하기 위해 위의 과정은 어두운 암실 조건에서 처리하였다. 전기영동이 끝난 후 0.4 M Tris buffer (pH 7.4)에 5분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 슬라이드를 건조시키고 20 μL/mL 농도의 EtBr로 핵을 염색하여 덮개 유리로 덮은 뒤 형광현미경(Leica, Wetzlar, Germany) 상에서 관찰하였다. CCD 카메라 (Nikon, Tokyo, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 영상은 Komet 5.0 comet image analyzing system (Kinetic Imaging, Liverpool, UK)이 설치된 컴퓨터를 통해 분석하였다. H_2O_2에 의한 백혈구의 DNA 손상 및 아까시 꽃 추출물에 의한 손상억제 정도는 핵으로부터 이동해서 꼬리 부분으로 떨어져 나간 꼬리 부분 내 DNA %함량을 측정하여 100%로 환산하여 계산하였다. 각각의 처리구에서 2개의 슬라이드를 만들어 각각 100개 세포의 DNA 손상 정도를 측정하고 각 처리구는 2회 반복 실험하였다.

8. 통계처리

총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능 그리고 환원력에 대한 데이터의 통계처리는 각 시료 당 3회 반복으로 행해졌으며 모든 자료의 분석은 SPSS package for Windows (Ver. 14)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치±표준오차(SE)를 구하고 각 군 간의 평균차이에 대한 유의성 검정을 위해 one-way 분산분석(ANOVA)을 시행하였다. 사후검증으로 항산화력 분석에는 Scheffe test를 이용하였으며 DNA 손상에 대한 각 추출물의 효과는 Duncan's multiple range test를 이용하였다. 통계적 유의성은 95% 수준에서 평가하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 추출물 수율과 총 페놀 함량

용매에 따른 아까시 꽃의 추출물 수율은 Table 1에 나타내었다. 70% 에탄올 추출물은 44.87%로 물 추출물 38.75%보다 높은 수율을 보였다. 아까시 나무 부위별 실험결과 꽃 추출물의 수율은 95% 에탄올 추출물이 13.93%, 물 추출물 31.80%인 결과(Park JS 2008)로 이번 실험결과보다 낮은 수율을 보였다. 이는 추출물을 제조하는 데 있어 에탄올의 농

도, 건조방법, 추출 온도, 농축조건 등이 다르기 때문에 나타난 차이로 볼 수 있다.

페놀화합물은 식물자원에 함유된 천연물질로써 다양한 구조와 생리활성 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Petti S와 Scully C 2009). 따라서 천연물로부터 항산화 물질을 추출하려는 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Surveswaran S 등 2007). 용매별 아까시 꽃의 총 페놀 함량은 Table 1에 나타내었다. 두 추출물 사이에 총 페놀 함량의 큰 차이를 나타내지 않았다. 물 추출물의 총 페놀 함량은 9.07 mg GAE/g 으로 70% 에탄올 추출물보다 조금 더 높게 나타났다. 진달래꽃의 물과 에탄올 추출물이 각각 328.1 mg GAE/g와 209.1 mg GAE/g 인 것(Lee BB 등 2007a)에 비하면 아까시 꽃에 존재하는 페놀 함량은 매우 낮은 것임을 알 수 있다. 아까시 꽃은 흰색을 보이며 다른 꽃에 비하여 색소가 거의 없어 낮은 페놀 함량을 보이는 것으로 여겨진다. 한편, 아까시 꽃의 물 추출물의 경우, 건조 수율(14.78%), 추출 수율(38.75%), 총 페놀 함량(9.07 mg GAE/g)을 고려하면 아까시 꽃 100 g 당 51.95 mg GAE가 존재한다. 이러한 수치를 꽃이 아닌 과일, 채소와 비교해보면 가식부 100 g 당 사과(296.3 mg GAE), 브로콜리(101.6 mg GAE)보다 낮지만 오이(19.5 mg GAE)나 양배추(54.6 mg GAE)보다는 높은 수치이다.

Table 1. Extraction yield, total phenol contents (TPC), and total flavonoid contents (TFC) of extracts from *Robinia pseudoacacia* L. flower

	Solvents for extraction	
	Ethanol	Water
Yield (%)	44.87	38.75
TPC (mg GAE[1]/g)	8.78[3]±0.09	9.03±0.07
TFC (mg CE[2]/g)	0.04±0.01	0.03±0.01

[1] gallic acid equivalent
[2] (+)-catechin equivalents
[3] Means having same superscripts within same row are different($p<0.05$)

2. 총 플라보노이드 함량

플라보노이드는 식물체 속에 포함되어 있으며 일반적으로 당과 결합한 형태인 배당체(aglycone)로 존재하며, 플라보노이드 배당체는 100여 종 이상이 알려져 있다(Park JS 등 2010). 플라보노이드는 C_6-C_3-C_6의 기본 탄소골격을 가지고 있는 페놀계 화합물을 총칭하는 것으로 채소류와 유관부 식물의 꽃, 뿌리, 줄기 등의 부위에 분포하고 있다(Decker EA 1995). 용매별 아까시 꽃의 총 플라보노이드 함량은 Table 1에 나타내었다. 에탄올 추출물의 플라보노이드 함량이 0.04 mg CE/g으로 물 추출물의 0.03 mg CE/g으로 두 추출물 사이에 큰 차이는 없었다. 식용백합의 80% 에탄올 추출물의 플라보노이드 함량(Joung YM 등 2007)은 *L. davidii*의 꽃 부위에서 0.65 mg/mL, *L. lancifolium*의 꽃 부위에서 0.71 mg/mL으로 분석되어 아까시 꽃보다 높은 플라보노이드 함량을 보였다. 그러나 건조수율과 추출수율을 고려하여 계산해 보면 아까시 꽃 100 g 당 0.17-0.23 mg의 플라보노이드가 함유되어 있는데, 이는 쇠비름(0.30 mg CE/100 g)의 경우와 큰 차이가 없다(Andarwulan 등 2010). 한편, 아까시 부위별 연구(Park JS 2008)에서 꽃 추출물의 플라보노이드 함량이 증류수를 용매로 사용한 추출물보다 95% 에탄올 추출물에서 더 높게 나타났다고 보고되었으나, 본 연구에서는 증류수와 70% 에탄올을 사용한 결과 큰 차이를 보이지 않았다.

3. DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 안정한 형태의 DPPH 라디칼이 산화방지물질로부터 전자를 제공 받아 흡광도가 변화하는 원리로 분석되며, 항산화 물질과 반응하게 되면 본래의 보라색의 안정된 자유 라디칼인 DPPH가 무색으로 변하게 된다. (Lee JM 등 2007). 용매에 따른 아까시 꽃의 DPPH 라디칼 소거능을 Table 2에 나타내었다. 아까시 꽃 추출물의 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였다. 전체적으로 70% 에탄올 추출물이 물 추출물 보다 더 높은 활성을 나타내었으며, 1,000 μg/mL의 농도에서 70% 에탄올 추출물과 물 추출물은 각각 14.06과 10.91%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 흰색 등나무 꽃(Oh WG 등 2008)의 경우 1,000 μg/mL 농도에서 74.52%로 높은 활성을 보였으며, 동백나무 꽃(Lee SY 등 2005)의 메탄올 추출물이 100 μg/mL 농도에서 93.00%의 DPPH 라디칼 소거능을 보여 아까시 꽃의 활성보다 다른 꽃들의 항산화 활성이 더 높았다. 그러나, 1,000 μg/mL의 농도에서의 단감와인(17.69%)(Seo 등 2010),

미더덕 에탄올 추출물(4.95%)(Jung 등 2009)과 비교하면 아까시 꽃도 무시할 수 없는 DPPH 라디칼 소거능을 보인다.

Table 2. DPPH radical scavenging activity of extracts from *Robinia pseudoacacia* L. flower (%)

Concentration (μg/mL)	Solvents for extraction		Positive control[2]
	Ethanol	Water	Ascorbic acid
50	-0.15±0.635[c1]	-0.22±0.44[d]	96.23
100	0.51±0.126[c]	1.76±0.58[c]	
500	6.08±0.539[b]	4.69±1.30[b]	
1,000	14.06±0.190[a]	10.91±0.86[a]	

All values in Table are mean±standard deviation.
1) Different letters (a-d) within a column indicate significant difference ($p<0.05$), n=3.
2) Ascorbic acid (50 μg/mL) was used positive control.

4. 환원력

항산화 작용의 여러 가지 기작 중에서 활성 산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력이 환원력이므로 이를 측정하여 항산화 활성을 검정하는 수단으로 이용할 수 있으며, 환원력이 클수록 녹색에 가깝게 발색되므로 항산화 활성이 큰 물질일수록 높은 흡광도 값을 나타낸다(Nam SH 등 2003). 용매에 따른 아까시 꽃의 환원력을 Table 3에 나타내었다. 아까시 꽃 추출물은 농도 의존적으로 환원력이 증가하였다. 물 추출물의 환원력은 1,000 μg/mL의 농도에서 0.438로 가장 높았으며 70% 에탄올의 경우 같은 농도에서 0.373으로 가장 높게 나타났다. 제비꽃 추출물의 항산화 활성 측정결과(Lee BB 등 2008) 1,000 μg/mL의 농도에서 물 추출물이 0.454, 에탄올 추출물 0.233으로 측정되어 본 연구와 비슷한 결과를 볼 수 있다.

DPPH 라디칼 소거능과 비교하여 환원력에서 아까시 꽃 추출물의 항산화능이 비교적 높게 측정되었는데 이는 항산화를 측정하는 방법이 원리에 따라 다양하기 때문이다. 환원력은 아래와 같이 대상물질의 전자가 Fe^{3+}에 전달되어 Fe^{2+}로 환원된 후 $FeCl_3$와 반응하여 생성된 감청색 복합물의 흡광도로 측정되어진다.

$Fe(CN)_6^{3-}$ + 환원물질 → $Fe(CN)_6^{4-}$

$Fe(CN)_6^{4-}$ + $FeCl_3$ → $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$

이와는 달리 DPPH 라디칼 소거능의 경우는 대상물질의 수소가 전달되므로 환원력의 결과와 서로 다르게 측정되기도 한다(Jang IC 등 2008; Lee BB 등 2007a).

A-H + DPPH· → A· + DPPH-H

Table 3. Reducing power of extracts from *Robinia pseudoacacia* L. flower (O.D)

Concentration (μg/mL)	Solvents for extraction		Positive control[2]
	Ethanol	Water	Ascorbic acid
50	0.066±0.002[d1]	0.072±0.003[d]	1.022±0.009
100	0.080±0.001[c]	0.091±0.002[c]	
500	0.206±0.003[b]	0.241±0.012[b]	
1,000	0.373±0.001[a]	0.438±0.004[a]	

All values in Table are mean±standard deviation.
1) Different letters (a-d) within a column indicate significant difference ($p<0.05$), n=3.
2) Ascorbic acid (50 μg/mL) was used positive control

5. 아까시 꽃 추출물의 DNA 손상(Comet assay) 억제 효과

Comet assay에 의해 측정된 산화적 스트레스에 의한 인체 백혈구 DNA 손상에 대한 아까시 꽃 추출물의 효과에 관한 결과는 Fig. 1에 제시하였으며, 그 결과에 대한 형광 현미경으로 확인한 이미지를 Fig. 2에 제시하였다. 1% DMSO를 처리한 정상 대조군 (Normal control, NC, Fig. 2A)의 DNA 손상정도가 7.4%인 것에 비해 200 μM의 H_2O_2를 처리한 양성 대조군 (Positive control, PC, Fig. 2B)에서는 30.5% 정도로 DNA 손상이 유의적으로 많은 것을 확인하였다. 아까시 꽃물 추출물의 경우 200 μM H_2O_2를 처리한 양성 대조군에 비해 모든 농도(1, 5, 10, 50 μg/mL) 에서 유의적으로 DNA 손상을 감소시키는 것으로 나타났으며 농도 간의 유의적 차이는 보이지 않았다. 에탄올 추출물의 경우 10, 50 μg/mL 농도에서만 양성 대조군에 비해 유의적인 감소효과가 있는 것으로 나타났다. 200 μM의 H_2O_2를 처리한 양성 대조군에 대해 DNA 손상 정도를 백분율로 환산하여 DNA 손상 억제

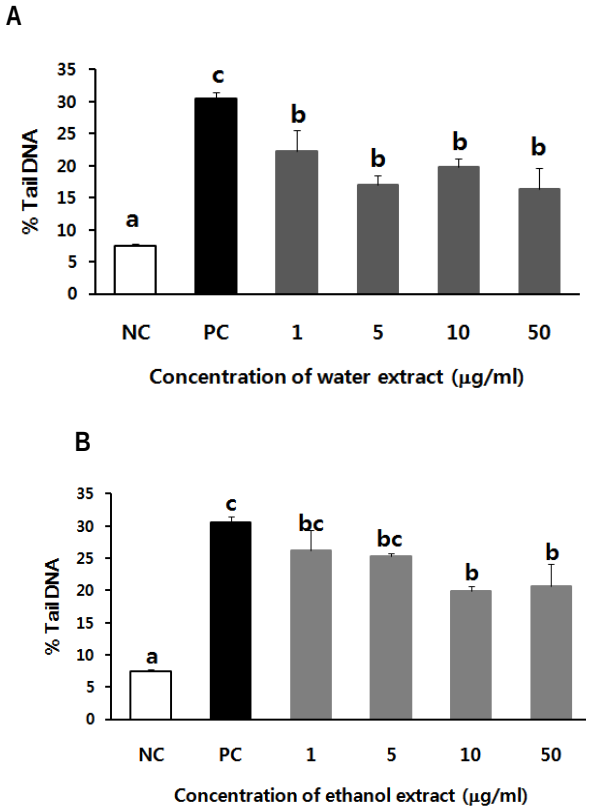

Fig. 1. Effect of supplementation with water (A) and ethanol (B) extracts of *Robinia pseudoacacia* L. flower on H_2O_2-induced DNA damage in human leukocytes.

Values are mean with standard error of duplicate experiments with leukocytes from each of two different donors. NC, DMSO-treated normal control. PC, 200 μM H_2O_2-treated positive control. Values not sharing the same letter are significantly different from one another ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

력(DNA damage inhibition rate)으로 계산하였을 때, 물 추출물의 경우 46.5%, 에탄올 추출물의 경우 32.4%의 DNA 손상 감소 효과를 보였다(Fig. 2C, D).

최근 천연물로부터 항유전독성 물질을 찾기 위한 일환으로 다양한 꽃 추출물의 항산화 및 항유전독성 활성에 관련된 연구가 활발하게 진행되고 있다. 제비꽃 아세톤 추출물은 H_2O_2에 의해 rat pheochromocytoma 12 cell line (PC12 cell)에 유도된 DNA 손상을 효과적으로 감소시켰으며 특히 250 μg/mL에서 약 58%의 DNA 손상 억제력을 나타내는 것

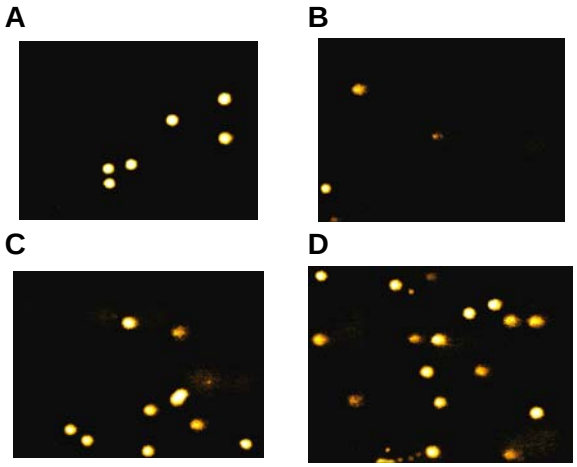

Fig. 2. Micrographs representing images obtained from the comet assay.

DMSO-treated normal control; B, 200 μM H_2O_2-treated positive control; C, water extract of *Robinia pseudoacacia* L. flower + 200 μM H_2O_2; D, ethanol extract of *Robinia pseudoacacia* L. flower + 200 μM H_2O_2.

으로 나타났다(Lee BB 등 2008). 또한 Oh WG 등 (2008)에 의한 등나무 꽃 추출물의 항유전독성 연구 결과, 50 μg/mL의 농도로 처리한 흰색 꽃에서는 메탄올 추출물이 41.2%, 에탄올 추출물이 55.9%, 아세톤 추출물 64.7%, 물 추출물이 64.7%의 활성을 보인 것과 비교하면 본 연구의 아까시 꽃 추출물의 항유전독성 효과가 비교적 우수함을 알 수 있었다. 또한 Jang IC 등(2008)에 의한 코스모스 추출물의 항유전독성 효과를 ED_{50}으로 나타낸 결과, 흰색(0.4 mg/mL) 〉 주황색(0.52 mg/mL) 〉 분홍색(0.55 mg/mL) 〉 보라색(1.08 mg/mL)의 순으로 활성을 나타냈다. 벚꽃 추출물의 항유전독성 효과에 관한 연구(Lee BB 등 2007b)에서도 모든 추출물(메탄올, 에탄올, 아세톤, 물)에서 농도의존적인 DNA 손상 감소 결과를 보였으며, 50 μg/mL 농도의 DNA 손상 억제력은 54~64%로 나타났다. 이는 꽃 추출물에 함유된 플라보노이드를 비롯한 항산화 성분에 의한 것으로 보고된 바 있다(Jeon GI 등 2009). 그러나 본 연구에서 아까시 꽃의 페놀 함량과 항산화력은 기존에 연구된 다른 종류의 꽃 추출물의 페놀 함량과 항산화력에 비해 비교적 낮은 수준인 반면 항유전독성 효과는 다른 꽃 추출물의 결과와 유사한 수준인 것으로 나타났다. 향후 아까시 꽃의 항유전독성 효과에 기여하는 물질 탐색 및 그 작용 기전 연구가 진행되어져야 할 것이다.

Ⅳ. 요 약

아까시 꽃 10 g에 200 mL의 두 가지 용매(물, 70% 에탄올)를 각각 가하여 추출한 다음, 농축하여 각각의 용매별 추출물을 얻었다. 이 용매별 추출물을 이용하여 아까시 꽃의 항산화 활성을 조사하였다. 그 결과, 총 페놀 함량은 물 추출물이 9.07 mg GAE/g로 70% 에탄올 추출물보다 높았고, 총 플라보노이드 함량은 70% 에탄올 추출물에서 0.04 mg CE/g, 물 추출물은 0.03 mg CE/g으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능은 대부분 70% 에탄올 추출물이 물 추출물 보다 더 높은 활성을 나타내었고, 환원력의 경우에는 물 추출물의 환원력은 1,000 mg/mL의 농도에서 0.438로 가장 높았으며 70% 에탄올보다 더 높은 경향을 보였다. Comet assay를 이용한 항유전독성의 효과 분석 결과, 물 추출물에서는 모든 농도에서 유의적인 DNA 손상 억제력을 보였으며, 에탄올 추출물에서는 고농도(10, 50 μg/mL)에서 DNA 손상이 감소되는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 2011학년도 경남대학교 학술연구장려금 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

Andarwulan N, Batari R, Sandrasari DA, Bolling B, Wijaya H. 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. Food Chem 121:1231-1235

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

Buxiang S, Fukuhara M. 1997. Effects of co-administration of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole and flavonoide on the activation of mutagens and drug-metabolizing enzymes in mice. Toxicology 122(1-2):61-72

Caillet S, Yu H, Lessard S, Lamoureux G, Ajdukovic D, Lacroix M. 2007. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. Food Chem 100(2):542-552

Choi DH, Lee HJ, Lee SS, Kim YG, Kang HY. 2002. Studies on biological activity of wood extractives. Mokchae Konghak 30(4):51-57

Decker EA. 1995. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. Nutr Rev 53(3):49-58

Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. J Am Oil Chem Soc 58(11): 966-968.

Jang IC, Park JH, Park E, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidative and antigenotoxic activity of extracts from cosmos(*Cosmos bipinnatus*) flowers. Plant Foods Hum Nutr 63(4):205-210

Jeon GI, Yoon MY, Park HR, Lee SC, Park E. 2009. Neuroprotective activity of *Viola mandshurica* extracts on hydrogen peroxide-induced DNA damage and cell death in PC12 cells. Ann N Y Acad Sci 1171:576-82

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(9):1580-1583

Joung YM, Park SJ, Lee KY, Lee JY, Suh JK, Hwang SY, Park KE, Kang MH. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Lilium* species extracts prepared from different aerial parts. Korean J Food Sci Technol 39(4):452-457

Jung ES, Park E, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activities of extracts from parts of *Styela clava*. J Korean Soc Food Sci Nutr 37(12):1674-1678

Kwon JH, Byun MW, Kim YH. 1995. Chemical composition of acacia flower (*Robinia pseudo-acacia*). J Korean Soc Food Sci Technol 27(5):789-793

Kwon YS, Ban WS, Kim CM. 2000. The chemical constituents of the root cortex of *Robinia pseudo-acacia*. Yakhak Hoeji 44(5):411-415

Larson RA. 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochemistry 27(4):969-978

Lee BB, Chun JH, Lee SH, Park HR, Kim JM, Park EJ, Lee SC. 2007a. Antioxidative and antigenotoxic activity of extracts from Rhododendron mucromulatum Turcz. flowers. J Korean Soc Food Sci Nutr 36(12):1628-1632

Lee BB, Cha MR, Kim SY, Park E, Park HR, Lee SC. 2007b. Antioxidative and anticancer activity of extracts of cherry

(*Prunus serrulata* var. *spontanea*) blossoms. Plant Foods Hum Nutr 62(2):79-84

Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against α-amylase and α-glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. Korean Soc Food Sci Nutr 37(4):405-409

Lee JM, Son ES, Oh SS, Han DS. 2001. Contents of total flavonoid and biological activities of edible plants. Korean J Dietary Culture 16(5):504-514

Lee JM, Chung H, Chang PS, Lee JH. 2007. Development of a methods predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Food Chem 103(2):662-669

Lee SY, Hwang EJ, Kim GH, Choi YB, Lim CY, Kim SM. 2005. Antifungal and antioxidant activities of extracts from leaves and flowers of *Camellia japonica* L. Korean J Medicinal Crop Sci 13(3):93-100

Nam SH, Chang SM, Kang MY. 2003. Varietal difference in antioxidative activity of ethanolic extracts from colored rice bran. J Korean Agric Chem Biotechnol 46(1):16-22

Oh WG, Jang IC, Jeon GI, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidative activity of extracts from *Wisteria floribunda* flowers. J Korean Soc Food Sci Nutr 37(6):677-683

Oyaizu M. 1996. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jap J Nutr 44:307-315

Park JS. 2008. The antioxidantive, antimicrobial activity and tyrosinase activity inhibitory effect of extracts from parts of *Robinia pseudoacacia*. MS Thesis. Soongsil University of Seoul, Korea. pp 22-23

Park JS, Hwang IW, Zheng HZ, Kim SK, Chung SK. 2010. Determination of optimum hydrolysis conditions for flavonoid analysis in plant leaves. Korean J Food Preserv 17:261-266

Petti S, Scully C. 2009. Polyphenols, oral health and disease: A review. J Dent 37:413-423

Price ML, Scoyoc SV, Butler GL. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. J Agric Food Chem 26(5):1214-1218

Seo HK, Jang SY, Kim HJ, Park HR, Park JH, Ahn GH, Lee SC. 2010. Antioxidant activity and neuroprotective effect of concentrates of commercial sweet persimmon wine. Korean J Food Cookery Sci 26(1):13-17

Seo SB, Kim JH, Kim NM, Choi SY, Lee JS. 2002. Effect of acacia flower on the physiological functionality of Korean traditional rice wine. Kor J Microbiol Biotechnol 30(4):410-414

Shin SR, Son YA, Won CY. 1993. Study on the components of lipids in acacia flower. J Food Sci Technol 5:61-67

Surveswaran S, Cai YZ, Corke H, Sun M. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. Food Chem 102(3):938-953

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 39:44-84