

## 어성초의 아임계수 추출물의 항산화 활성 및 Acetylcholinesterase 저해 활성

조은경 · 이승철<sup>†</sup>

경남대학교 식품생명학과

### Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Subcritical Water Extracts from *Houttuynia cordata* Thunb

Eun-Kyung Jo and Seung-Cheol Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea

#### Abstract

*Houttuynia cordata* Thunb powder (0.05 g) was placed in a stainless vessel containing 10 mL of water, and subcritical water (SCW) extraction was carried out at various temperatures (50, 100, 200, and 300°C) for 10, 30, and 60 min. SCW treatment significantly affected physiologically important compounds, antioxidant activity, and acetylcholinesterase inhibitory activity of *H. cordata* Thunb extracts. *H. cordata* Thunb extracted at 300°C for 30 min had the highest quercetin content, DPPH radical scavenging activity, total phenolic content, and acetylcholinesterase inhibitory activity, whereas the extract at 100°C for 10 min possessed the highest flavonoid content. The highest ABTS radical scavenging activity was found in *H. cordata* Thunb extracted at 200 and 300°C for 60 min. These results indicate that SCW extraction might be a useful processing method for obtaining valuable materials from *H. cordata* Thunb.

**Key words:** *Houttuynia cordata* Thunb, subcritical water extraction, quercetin, antioxidant activity, acetylcholinesterase inhibitory activity

#### 서 론

어성초(*Houttuynia cordata* Thunb)는 삼백초과(Saururaceae)에 속하는 다년생 초본식물로서 우리나라의 안면도, 울릉도, 부산 등지의 습지에서 주로 자라며, 중국과 일본에서도 자생하고 있다(1). 지역에 따라 약간의 차이는 있으나, 보통 4월경에 싹이 트고, 6~8월경에 꽃이 피며, 특유의 독특한 냄새(비린내)를 함유한 생리활성물질들이 있다. 어성초는 한방에서 지혈, 이뇨, 이습, 소종, 영심, 해독, 타박상, 출혈, 혈변, 심계, 부종 치료에 주로 사용되는 약초로서(2),즙채(葢菜), 중약(重藥) 등으로 불리기도 한다. 어성초에는 플라보노이드 유도체인 quercetin, quercitrin, isoquercitrin, reynoutrin, hyperin, rutin 등이 함유되어 있으며, 정유에는 decanoyl acetaldehyde, methyl nonylketone, lauraldehyde, myrcene 등이 함유되어 있다(3). 이러한 성분들로 인해 어성초는 약리학적으로 항종양 효과가 있다고 보고되었다(4). 어성초는 식품 소재로서도 주목을 받고 있어 우리나라의 식품분야 학술지에서 항균(5), 항산화(6), 항백혈병 및 고지혈증 억제효과(7), 신경세포 보호작용(8) 등이 보고된 바 있다. 식물 소재에 함유된 유용 물질을 회수하기 위한 가공 방법

은 여러 가지가 있다. 이러한 가공의 기본 원리는 가열, 전자기파, 발효 등을 통하여 고분자 물질에 공유결합된 형태로 존재하는 유용 물질을 유리화시키는 것이다(9). 아임계수(subcritical water, SCW)는 물의 임계점인 374°C, 22.064 MPa 이하의 고온고압수를 일컫는다. 아임계수는 높은 밀도와 높은 반응성, 유기 화합물에 대한 높은 용해도, 그리고 중합체에 함유된 에스테르, 에테르 결합의 가수분해 등의 독특한 성질을 갖는다(10). 이로 인해 다양한 분야에 아임계수가 활용되고 있는데, 그중에는 생물체로부터 유용물질을 추출하는 것이 포함되어 있다. 아임계수 추출은 전통적인 추출 기술보다 빠르고, 일반적으로 높은 수율과 유기 용매의 사용을 억제할 수 있는 친환경적인 이점을 제공하는데(11), 이로 인해 로즈마리(12), 감초(13), 차가버섯(14) 등으로부터 아임계수를 이용하여 항산화물질을 추출한 연구가 보고된 바 있다. 본 연구에서는 어성초로부터 아임계수를 포함하는 다양한 온도(50, 100, 200, 300°C)에서 추출하여 인체에 유용한 생리활성물질인 페놀 함량, 플라보노이드 함량, quercetin 함량을 분석하였으며, 대표적인 생리활성기능인 항산화 활성과 acetylcholinesterase 저해 활성을 분석하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr  
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

## 재료 및 방법

### 시약

L-Ascorbic acid, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) tablets, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB), gallic acid, quercetin, acetylthiocholine esterase, 그리고 acetylthiocholine iodide 시약은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, Folin-Ciocalteu 시약은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)에서 구입하였다. Aluminum chloride hexahydrate는 Daejung Chemical Co.(Siheung, Korea), quercetin hydrate는 Acros Organics(Geel, Belgium)에서 구입하였다. 기타 시약 및 용매는 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 어성초 아임계수 추출물 제조

본 실험에서 사용된 어성초는 금강제약(Changwon, Korea)에서 2011년에 구입하였으며, 동결건조한 후 분쇄하여 500 nm 이하의 분말로 만들었다. 어성초 분말(0.05 g)을 10 mL의 증류수와 함께 스테인리스 관(14×1 cm<sup>2</sup>)에 넣고 뚜껑으로 단단히 막은 후 원하는 온도의 고온 가마(Daeil Engineering, Seoul, Korea)에 방치하였다. 고온 가마의 온도는 50, 100, 200, 300°C(스테인리스 관의 내부 압력은 0.002~5 MPa)로 조절하였고, 추출 시간은 각각 10, 30, 60분이었다. 추출 후, 스테인리스 관을 고온 가마에서 꺼내어 실온에서 냉각하였다. 추출액을 0.2 µm 여과막(Advantec, Tokyo, Japan)으로 여과한 후, -70°C 심온냉동고(Operon Co., Seoul, Korea)에 저장하면서 필요할 때마다 꺼내어 해동한 후 분석에 이용하였다.

### 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Gutfinger의 방법(15)을 변형하여 측정하였다. 즉, 어성초 추출액을 10배로 희석한 후 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 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 10분간 13,400×g에서 원심분리한 후, 상정액 1 mL를 취하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선과 비교하여 gallic acid 당량(GAL)/mL로 나타내었다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Chang (16)의 방법을 이용하여 비색 정량하였다. 10배로 희석한 어성초 추출액 0.5 mL에 95% 에탄올 1.5 mL, 10% aluminum chloride 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 증류수 2.8 mL를 차례로 첨가하여 혼합한 후, 실온에서 30분간 정치하여 반응시킨 분광광도계(UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 415 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은

Table 1. HPLC operating conditions for the analysis of quercetin

Items	Conditions
Instrument	Shimadzu Co. Ltd., Kyoto, Japan
Column	Shim-pack VP-ODS (5 µm, 250×4.6 mm) A: 0.1% formic acid, B: 100% methanol
Mobile phase	Gradient: 80%→0% A within 25 min 20%→100% B within 25 min
Flow rate	1 mL/min
Detection	375 nm
Injection volume	20 µL

quercetin을 표준물질로 하여 작성한 표준검량곡선을 통해 quercetin 당량(QE)/mL로 나타내었다.

### Quercetin 류의 분석

어성초의 아임계수 추출물에 존재하는 quercetin의 정량 분석을 위하여 HPLC(Shimadzu Co. Ltd.)를 사용하였다. HPLC는 Shimadzu LC-6AD pumps, Shimadzu SPD-10AVP UV-VIS detector로 구성되었으며, 칼럼은 Shim-pack VP-ODS(5 µm, 250×4.6 mm, Shimadzu Co. Ltd.)를 이용하였다. 용매는 0.1% formic acid(buffer A)와 100% methanol(buffer B)을 사용하였고, 1 mL/min의 유속으로 375 nm에서 분석하였다. 자세한 HPLC 분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

### DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등(17)의 방법에 준하여 10배로 희석한 어성초 추출액 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 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

### ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼 소거능은 Pellegrini 등(18)의 방법에 따라 측정하였다. 10배로 희석한 시료 100 µL에 0.1 M의 phosphate buffer(pH 5.0) 100 µL와 10 mM의 hydrogen peroxide 20 µL를 가하고 이 혼합물을 37°C에서 5분간 예비반응을 시켰다. 이 반응물에 1.25 mM의 ABTS와 peroxidase(1 U/mL)를 각각 30 µL 넣고 다시 37°C에서 10분간 반응을 시킨 후, 405 nm에서 Multiplate Reader(Sunrise RC/TS/TS Color-TC/TW/BC/6Filter, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

Acetylcholinesterase(AChE) 저해 활성

AChE 저해 활성 측정은 acetylcholine iodide를 기질로 사용하는 Lee 등(19)의 방법으로 측정하였다. 10배로 희석한 시료 30 µL에 phosphate buffer(100 mM, pH 8.0) 2.8 mL, AChE(0.25 U/mL) 30 µL, DTNB(39.6 mg of DTNB and 15 mg of sodium bicarbonate dissolved in 10 mL phosphate buffer pH 8.0) 100 µL를 넣고 혼합한 후, 25°C에서 5분간 반응시킨 후, substrate(108.35 mg of acetylthiocholine iodide in 5 mL of H<sub>2</sub>O) 30 µL 넣고 30분간 실온에서 반응한 후, 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{AChE 저해 활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 이루어졌으며, 그 평균값은 SPSS software(Ver. 12, SPSS Academy, Seoul, Korea)를 사용하여 General Linear Model의 방법에 따라 처리하였다. 모든 처리값의 차이는 신뢰수준 95%(p<0.05)로 비교하여 분석되었다.

결과 및 고찰

총 페놀 함량

페놀성 화합물은 식물의 2차 대사산물의 주요 물질로서 수산기를 가지는 방향족 화합물을 총칭한다. 페놀성 화합물이 반응을 억제시킬 수 있는 것은 페놀이 수소원자를 라디칼에 제공하여 라디칼을 안정하게 만들고, 공명 혼성체를 형성할 수 있으므로 비교적 안정하여 산소와 반응이 어려워서 유리 라디칼을 안정화시키기 때문이다(20). 따라서 일반적으로 식물성분의 항산화 활성은 페놀성 화합물이 원인물질로 관련되어 있는 것으로 알려져 있어 아임계수 추출 조건이 어성초의 페놀 물질 유리화에 미치는 영향을 분석하였다(Table 2). 어성초를 50°C에서 물로 추출할 경우, 시간이 경과함에 따라 10분간 추출 시 10.29±0.15 µg GAE/mL에서 60분간 추출 시 10.96±0.06 µg GAE/mL로 유의차를 보이며

약간 증가하였다. 100°C에서도 비슷한 경향으로 추출 시간이 총 페놀 함량에 큰 영향을 주지 않았으나 200°C와 300°C에서는 각각 10분간 추출 시 14.22±0.13과 16.13±0.24 µg GAE/mL에서 60분간 추출 시 29.25±0.37과 32.34±0.46 µg GAE/mL로 큰 증가를 보였다.

아임계수는 식물의 페놀 물질 추출에 매우 효과적임이 여러 논문에서 보고되었는데, 감초의 경우 50°C에서 10분간 추출한 경우에 비하여 300°C에서 60분간 추출하였을 때 약 7.5배의 페놀 함량이 증가하였으며(13), 차가버섯은 같은 추출 조건에서 약 6배의 페놀 함량이 증가하였다(14). 본 연구의 어성초는 300°C에서 30분과 60분간 추출하였을 때 유의차가 없이 가장 높은 페놀 함량을 보였으며, 이는 50°C에서 10분간 추출한 경우에 비해 3배 이상 높은 수치이다. 한편, Cheigh 등(21)도 흑미강으로부터 아임계수로 추출한 경우 온도가 높아질수록 페놀 함량이 증가하였으며, 이는 일반 열수, 설탕용액, 에탄올을 이용한 추출보다 훨씬 높은 페놀 함량을 보였음을 보고하였다. 이상의 결과는 아임계수가 어성초를 비롯한 식물로부터 페놀 물질을 유리화하는 능력이 매우 우수함을 시사한다.

총 플라보노이드 함량

플라보노이드는 페닐기 2개가 C<sub>3</sub> 사슬을 매개하여 결합된 물질로서 항균, 항암, 항바이러스, 항염증 등의 활성을 나타내어 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에 활용되고 있다(22). 어성초에도 다양한 플라보노이드가 함유되어 있으며 어성초의 생리활성 기능에 영향을 주고 있다(3). 어성초의 각 아임계수 추출물의 총 플라보노이드 함량을 Table 3에 나타내었다. 어성초 추출물의 플라보노이드 함량은 50°C, 10분간 추출 조건에서 1.62±0.13 µg QE/mL인 것에 비하여, 100°C에서 10분간 추출하였을 때 2.55±0.59 µg QE/mL로 가장 높았으며, 같은 온도에서 30분(2.49±0.12 µg QE/mL), 60분(2.47±0.13 µg QE/mL)도 유의차가 없이 비슷한 함량을 보였다. 그러나 추출 온도가 높아질수록 플라보노이드 함량은 줄어들었는데, 200°C와 300°C에서 60분간 추출하였을 때 각각 0.53±0.23과 0.61±0.13 µg QE/mL로 가장 낮은

Table 2. Effects of subcritical water extraction on total phenol content from *Houttuynia cordata* Thunb (Unit: µg GAE/mL)

Temperature (°C)	Time (min)		
	10	30	60
50	10.29±0.15 <sup>cw</sup>	10.51±0.06 <sup>bw</sup>	10.96±0.06 <sup>aw</sup>
100	12.92±0.23 <sup>bx</sup>	13.35±0.35 <sup>abx</sup>	13.58±0.23 <sup>ax</sup>
200	14.22±0.13 <sup>cy</sup>	21.51±0.23 <sup>by</sup>	29.25±0.37 <sup>ay</sup>
300	16.13±0.24 <sup>bz</sup>	33.34±0.96 <sup>az</sup>	32.34±0.46 <sup>az</sup>

Different letters within a row (a-c) and a column (w-z) are significantly different (p<0.05), n=3.

*Houttuynia cordata* Thunb powder (50 mg) was extracted with water (10 mL) at given temperature for given time. The extract was filtered through 0.2 µm membrane, then the filtrate was analyzed.

Table 3. Effects of subcritical water extraction on total flavonoid content from *Houttuynia cordata* Thunb (Unit: µg QE/mL)

Temperature (°C)	Time (min)		
	10	30	60
50	1.62±0.13 <sup>ay</sup>	1.47±0.01 <sup>byx</sup>	1.39±0.13 <sup>aby</sup>
100	2.55±0.59 <sup>az</sup>	2.49±0.12 <sup>az</sup>	2.47±0.13 <sup>az</sup>
200	1.93±0.62 <sup>azy</sup>	1.78±0.27 <sup>ay</sup>	0.53±0.23 <sup>bx</sup>
300	1.85±0.13 <sup>azy</sup>	1.08±0.48 <sup>bx</sup>	0.61±0.13 <sup>bx</sup>

Different letters within a row (a,b) and a column (x-z) are significantly different (p<0.05), n=3.

*Houttuynia cordata* Thunb powder (50 mg) was extracted with water (10 mL) at given temperature for given time. The extract was filtered through 0.2 µm membrane and diluted 10-fold with water before analysis.

함량이었다.

이상의 결과는 폴리페놀 함량의 경우와는 약간의 차이가 있었다. 즉, 어성초 추출물의 폴리페놀 함량은 300°C의 30분, 60분 추출 조건까지 아임계수 처리 온도와 시간이 증가할수록 증가하는 양상을 보였으나, 플라보노이드 함량은 200°C 이상의 온도에서는 추출 시간이 증가할수록 감소하는 경향이다. 폴리페놀은 폭넓은 다양한 화합물군을 포함하고 있으나, 플라보노이드는 폴리페놀보다는 특정 화합물로 한정되어 있다. 플라보노이드 화합물은 분해되어도 페놀기만 포함되어 있다면 Folin-Ciocalteu 시약을 환원시켜 발색되어 폴리페놀로 분석이 되지만(15) 플라반 핵 골격 구조를 잃어버리므로 플라보노이드로는 측정이 되지 않는다(16). 이런 이유로 플라보노이드는 200°C 이상의 조건에서 분해되면 감소된 수치로 분석되지만 폴리페놀은 감소되지 않는 결과를 유래한 것으로 보인다. 한편, 인삼을 고온고압 처리한 경우에도 150°C에서 처리 시간이 증가할수록 플라보노이드는 급감하는 경향을 보였다(23).

#### Quercetin 함량

어성초에서는 여러 화합물이 생리활성물질이 발견되었는데, 본 실험에서는 그중에서 항산화능이 잘 알려진 quercetin의 함량을 HPLC로 분석하여 Table 4에 나타내었다. 300°C에서 30분간 처리한 어성초 추출물에서 15.75±0.20 µg/mL로 가장 높은 quercetin 함량을 보였으며, 200°C에서 10분과 30분간 처리한 경우에 각각 12.59±0.23, 13.31±0.28 µg/mL로 비교적 높은 함량을 보였다. 이러한 결과는 50°C와 100°C에서 각각 10분간 추출한 경우의 quercetin 함량인 5.30±

0.08, 7.03±0.15 µg/mL과 비교해 보면 매우 높은 수치이다. 이러한 결과는 온도와 시간을 달리하며 양과에서 quercetin을 추출한 경우를 보면 50°C에서 180°C까지 온도와 시간이 증가할수록 추출량이 증가한다는 결과(24)와 일치하는 경향을 보였다. 그러나 100, 200, 300°C에서 60분간 추출한 경우에 quercetin 함량이 감소하였는데 이는 quercetin이 고온에서 장시간 노출될 경우에는 분해되는 것으로 추정된다. Quercetin은 자외선(25)과 전기화학적 자극(26)에 의해 분해되며, 양과의 경우 볶았을 때는 quercetin 함량이 증가하지만 삶았을 때에는 quercetin 함량이 줄어든다는 보고(27)가 있어 주위 조건에 매우 민감함을 알 수 있다.

한편, Table 4의 quercetin 함량 분석 결과는 Table 3의 플라보노이드 분석 결과보다 대체로 높은 수치를 보이고 있는데 이는 플라보노이드의 경우 10배 희석한 시료를 이용하여 분석하였기 때문이다. 또한, 본 실험은 0.05 g의 어성초 분말을 10 mL의 물로 추출하였으므로 300°C에서 30분간 추출한 경우의 15.75 µg quercetin/mL 결과는 157.5 µg quercetin/0.05 g 어성초 분말로 볼 수 있으며, 이는 3.15 mg quercetin/g 어성초 분말로 환산할 수 있다. 이러한 결과는 어성초 잎과 줄기를 각각 건조한 후 제조한 분말을 75% 에탄올로 추출하여 quercetin 함량을 분석하여 각각 0.81%와 0.07%의 함량을 확인하였다는 결과(28)와 비교하였을 때, 잎보다는 낮고 줄기보다는 높은 결과이다. 본 실험에 사용한 어성초는 잎과 줄기가 혼합된 형태이며, 양과의 경우 에탄올이 물보다 quercetin 추출에 더 효율적이었던 결과(24)를 고려하면 아임계수를 이용하여 매우 높은 양의 quercetin을 추출할 수 있는 것으로 보인다.

#### DPPH 라디칼 소거능

어성초 아임계수 추출물의 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거능으로 측정하여 Table 5에 나타내었다. 어성초 아임계수 추출물은 300°C, 30분에서 가장 높은 활성(44.07±2.65%)을 나타내었으며, 50°C, 10분에서 가장 낮은 활성(3.83±0.66%)을 나타냈다. 아임계수 처리 온도와 시간이 증가할수록 활성이 높아지는 경향이 있었지만, 100 µg/mL의 L-ascorbic acid(89.38±1.52%)와 비교했을 때보다는 낮은 활성을 보였다. L-Ascorbic acid가 높은 항산화활성을 지닌 단일 화합물이며, 항산화 활성이 잘 알려진 감초가 300°C, 30분의 아임계수 추출 조건에서 본 연구의 20배 농도의 추출물이 91.86%

Table 4. Effects of subcritical water extraction on quercetin content from *Houttuynia cordata* Thunb (Unit: µg/mL)

Temperature (°C)	Time (min)		
	10	30	60
50	5.30±0.08 <sup>bx</sup>	5.54±0.14 <sup>bw</sup>	6.24±0.19 <sup>ax</sup>
100	7.03±0.15 <sup>cy</sup>	11.12±0.08 <sup>ax</sup>	9.75±0.04 <sup>bz</sup>
200	12.59±0.23 <sup>bz</sup>	13.31±0.28 <sup>ay</sup>	8.99±0.29 <sup>cy</sup>
300	6.79±0.06 <sup>cy</sup>	15.75±0.20 <sup>az</sup>	8.97±0.15 <sup>by</sup>

Different letters within a row (a-c) and a column (w-z) are significantly different ( $p < 0.05$ ),  $n = 3$ .

*Houttuynia cordata* Thunb powder (50 mg) was extracted with water (10 mL) at given temperature for given time. The extract was filtered through 0.2 µm membrane, then the filtrate was analyzed.

Table 5. DPPH radical scavenging activity of subcritical water extracts from *Houttuynia cordata* Thunb (Unit: %)

Temperature (°C)	Time (min)			L-Ascorbic acid (100 µg/mL)
	10	30	60	
50	3.83±0.66 <sup>by</sup>	4.86±1.04 <sup>bw</sup>	6.78±0.92 <sup>aw</sup>	89.38±1.52
100	8.92±0.77 <sup>bz</sup>	9.06±0.13 <sup>bx</sup>	10.24±0.66 <sup>ax</sup>	
200	8.70±0.58 <sup>cz</sup>	21.22±1.00 <sup>by</sup>	37.21±1.93 <sup>ay</sup>	
300	9.58±1.34 <sup>bz</sup>	44.07±2.65 <sup>az</sup>	41.42±1.55 <sup>az</sup>	

Different letters within a row (a-c) and a column (w-z) are significantly different ( $p < 0.05$ ),  $n = 3$ .

*Houttuynia cordata* Thunb powder (50 mg) was extracted with water (10 mL) at given temperature for given time. The extract was filtered through 0.2 µm membrane, then the filtrate was analyzed.

**Table 6. ABTS radical scavenging activity of subcritical water extracts from *Houttuynia cordata* Thunb** (Unit: %)

Temperature (°C)	Time (min)			L-Ascorbic acid (100 µg/mL)
	10	30	60	
50	5.64±3.30 <sup>by</sup>	6.10±7.11 <sup>bx</sup>	16.15±1.98 <sup>ay</sup>	95.66±0.91
100	18.32±0.52 <sup>az</sup>	18.32±2.29 <sup>ay</sup>	19.11±5.26 <sup>ay</sup>	
200	10.50±2.64 <sup>cy</sup>	38.28±1.66 <sup>bz</sup>	55.00±4.47 <sup>az</sup>	
300	16.37±2.94 <sup>cz</sup>	36.64±2.98 <sup>bz</sup>	53.80±0.82 <sup>az</sup>	

Different letters within a row (a-c) and a column (w-z) are significantly different (p<0.05), n=3.

*Houttuynia cordata* Thunb powder (50 mg) was extracted with water (10 mL) at given temperature for given time. The extract was filtered through 0.2 µm membrane, then the filtrate was analyzed.

의 DPPH 라디칼 소거능을 보인 것(13)을 고려하면 어성초의 항산화능도 매우 높은 것임을 알 수 있다.

**ABTS 라디칼 소거능**

어성초 아임계수 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 Table 6에 나타내었다. 50°C, 10분의 추출물이 5.64±3.30%로 가장 낮았으며, 200°C, 60분 추출물이 55.00±4.47%로 가장 높았다. 200°C와 300°C에서 추출 시간이 증가할수록 어성초 아임계수 추출물의 ABTS 라디칼 소거능도 급격히 증가하였으나, 100 µg/mL의 L-ascorbic acid(95.66±0.91%)와 비교했을 때보다는 낮은 활성을 보였다. Jeong 등(8)은 어성초의 60% 메탄올 추출물이 5 mg/mL 농도에서 99.27%의 ABTS 라디칼 소거능을 보인다고 보고하였다. 본 실험은 50 mg을 10 mL의 증류수로 추출한 액 자체를 분석하였으므로 Jeong 등(8)의 결과와 직접 비교하기는 어렵지만 추출액에서 고형물이 차지하는 비율이 일반적으로 10% 이하로 매우 낮기 때문에 200°C와 300°C에서 60분간 추출한 어성초 아임계수 추출물의 ABTS 라디칼 소거능이 매우 높다는 것을 알 수 있다.

**AChE 저해 활성**

뇌조직의 모든 신경세포에서 발견되는 신경전달물질로서 acetylcholine(ACh)은 시냅스와 시냅스 사이의 신경전달에 관계하는 중요한 신경전달물질로 알려져 있다. ACh 합성효소의 활성은 연령이 증가함에 따라 감소하며 이로 인한 ACh의 함량 감소는 알츠하이머 질병과 밀접한 관계가 있다. 따라서 ACh를 분해하는 효소인 AChE의 활성을 저해하는 것

**Table 7. Acetylcholinesterase inhibitory activity of subcritical water extracts from *Houttuynia cordata* Thunb** (Unit: %)

Temperature (°C)	Time (min)		
	10	30	60
50	28.98±3.91 <sup>ay</sup>	29.62±2.03 <sup>ay</sup>	25.38±1.77 <sup>azx</sup>
100	34.00±1.32 <sup>abz</sup>	35.84±0.33 <sup>az</sup>	31.96±1.16 <sup>by</sup>
200	34.11±1.20 <sup>az</sup>	34.42±0.16 <sup>az</sup>	35.53±0.47 <sup>az</sup>
300	34.31±0.94 <sup>bz</sup>	36.53±1.14 <sup>az</sup>	34.94±1.09 <sup>abz</sup>

Different letters within a row (a,b) and a column (x-z) are significantly different (p<0.05), n=3.

*Houttuynia cordata* Thunb powder (50 mg) was extracted with water (10 mL) at given temperature for given time. The extract was filtered through 0.2 µm membrane, then the filtrate was analyzed.

은 알츠하이머 질병의 예방에 매우 효과적이다(29).

어성초 아임계 추출물이 AChE 활성에 미치는 영향을 Table 7에 나타내었다. 추출 온도가 높을수록 AChE 억제 활성은 증가하여 300°C, 30분의 추출 조건에서 36.53±1.14%로 가장 높았다. Choi 등(30)은 70% 메탄올로 어성초를 추출하여 2.5 mg/mL의 농도에서 분석한 결과 75.3%의 AChE 저해 활성을 나타낸다고 보고한 바 있다. 전술한 바와 같이 본 실험의 추출물은 50 mg의 어성초를 10 mL의 증류수로 추출한 액 자체이므로 Choi 등(30)의 경우와 같이 추출물의 농축물의 결과와 직접 비교하기는 어려우나 아임계수를 이용한 추출법이 매우 효과적임을 알 수 있다.

**요 약**

어성초(*H. cordata* Thunb) 건조 분말(0.05 g)을 10 mL의 증류수와 함께 스테인리스 용기에 넣고 밀봉한 후 여러 온도(50, 100, 200, 300°C)에서 10, 30, 60분간 추출하였다. 추출 온도와 시간은 어성초 추출물의 중요 성분, 항산화 활성, acetylcholinesterase 저해 활성에 크게 영향을 미쳤다. 300°C에서 30분간 처리한 어성초 추출물에서 가장 높은 페놀 함량(33.34±0.96 µg gallic acid equivalents/mL), quercetin 함량(15.75±0.20 µg/mL), DPPH 라디칼 소거능(44.07±2.65%), acetylcholinesterase 저해 활성(36.53±1.14%)이 나타났다. 플라보노이드 함량은 100°C 10분 추출물에서 2.55 µg quercetin equivalents/mL로 가장 높게 측정되었다. 100°C 이상의 고온에서 밀폐된 증류수는 높은 압력에서 아임계수 형태로 존재하는데 이러한 아임계수는 고품질의 어성초 추출물을 제조하는데 매우 유용하였다.

**감사의 글**

본 논문은 2011학년도 경남대학교 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

**문 헌**

1. Jang SM, Noh SH, Park SD. 1999. *Herbal resource plant*. Hakmoon Press, Seoul, Korea. p 452.
2. Han JH, Kim KY. 2004. *Herbal pharmacology*. Euisungdang,

- Seoul, Korea. p 161-164.
3. Hong ND, Kim NJ. 2004. *Quality control of herbal medicines*. Shinil Books, Seoul, Korea. p 476-477.
  4. Kim SK, Ryu SY, Choi SU, Kim YS. 2001. Cytotoxic alkaloids from *Houttuynia cordata*. *Arch Pharm Res* 24: 518-521.
  5. Song JH, Kim MJ, Kwon HD, Park IH. 2003. Antimicrobial activity of fractional extracts from *Houttuynia cordata* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1053-1058.
  6. Lee YJ, Shin DH, Chang YS, Shin JH. 1993. Antioxidative effect of some edible plant solvent extracts with various synergists. *Korean J Food Sci Technol* 25: 683-688.
  7. Chung CK, Ham SS, Lee SY, Oh DH, Choi SY, Kang IJ, Nam SM. 1999. Effects of *Houttuynia cordata* ethanol extracts on serum lipids and antioxidant enzymes in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 205-211.
  8. Jeong HR, Kwak JH, Kim JH, Choi GN, Jeong CH, Heo HJ. 2010. Antioxidant and neuronal cell protective effects of an extract of *Houttuynia cordata* Thunb (a culinary herb). *Korean J Food Preserv* 17: 720-726.
  9. Niwa Y, Kanoh T, Kasama T, Neigishi M. 1998. Activation of antioxidant activity in natural medicinal products by heating, brewing and lipophilization. A new drug delivery system. *Drugs Exptl Clin Res* 14: 361-372.
  10. Ramos L, Kristenson EM, Brinkman UA. 2002. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *J Chromatogr A* 975: 3-29.
  11. Huie CW. 2002. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Anal Bioanal Chem* 373: 23-30.
  12. Ibanez E, Kubatova A, Senorans FJ, Cavero S, Reglero G, Hawthorne SB. 2003. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants. *J Agric Food Chem* 51: 375-382.
  13. Baek JY, Lee JM, Lee SC. 2008. Extraction of nutraceutical compounds from licorice roots with subcritical water. *Sep Purif Technol* 63: 661-664.
  14. Seo HK, Lee SC. 2010. Antioxidant activity of subcritical water extracts from Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*). *Sep Sci Technol* 45: 198-203.
  15. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
  16. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chen JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal* 10: 178-182.
  17. 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.
  18. Pellegrini N, Re R, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol* 299: 379-389.
  19. Lee HJ, Kim JS, Heo KY, Lee KB, Lee IK, Song KS. 1999. Inhibitory activities of Basidiomycetes on prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase and coagulation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 336-343.
  20. Ahn SI, Heung BJ, Son JY. 2007. Antioxidative activity and nitrite-scavenging abilities of some phenolic compounds. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 19-24.
  21. Cheigh CH, Chung EY, Ko MJ, Cho SW, Chang PS, Park YS, Lee KA, Paik HD, Kim KT, Hong SI, Chung MS. 2010. Effect of subcritical water for the enhanced extraction efficiency of polyphenols and flavonoids from black rice bran. *Food Eng Progress* 14: 335-341.
  22. Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem* 40: 2379-2383.
  23. Yang SJ, Woo KS, Yoo JS, Kang TS, Noh YH, Lee J, Jeong HS. 2006. Change of Korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol* 38: 521-525.
  24. Kang SK, Kim YD, Hyun KH, Kim YW, Seo JS, Park YK. 1998. Development of separating techniques on quercetin-related substances in onion (*Allium cepa* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 687-692.
  25. Fahlman BM, Krol ES. 2009. UVA and UVB radiation-induced oxidation products of quercetin. *J Photochem Photobiol B: Biology* 97: 123-131.
  26. Zhou A, Kikandi S, Sadik OA. 2007. Electrochemical degradation of quercetin: Isolation and structural elucidation of the degradation products. *Electrochem Comm* 9: 2246-2255.
  27. Lombard K, Peffley E, Geoffriau E, Thompson L, Herring A. 2005. Quercetin in onion (*Allium cepa* L.) after heat-treatment simulating home preparation. *J Food Comp Anal* 18: 571-581.
  28. Lee ST, Lee YH, Choi YJ, Shon GM, Lee HJ, Heo JS. 2002. Composition of quercetin and soluble tannin in *Houttuynia cordata* Thunb according to growth stages and plant parts. *Korean J Medicinal Corp Sci* 10: 12-16.
  29. Yu SQ, Utsuki HW, Brossi T, Greig ANH. 1999. Synthesis of novel phenserine-based-selective inhibitors of butyrylcholinesterase for Alzheimer's disease. *J Med Chem* 42: 1855-1861.
  30. Choi JH, Kim MY, Cui X, Jeon H, Kim DK, Lim JP, Leem K. 2002. Effect of several herbs on acetylcholinesterase enzyme activity. *Kor J Herbology* 17: 131-138.

(2011년 8월 2일 접수; 2011년 8월 24일 채택)