

## 추출 방법이 개두릅 추출물의 항산화 활성에 미치는 영향

강경명 · 노홍균 · 박창수 · 윤광섭 · 홍주현 · 이신호<sup>†</sup>

대구가톨릭대학교 식품가공학과

### Antioxidative Activity of *Kalopanax pictus* Shoot Extracted Using Different Extraction Methods

Kyoung-Myoung Kang, Hong-Kyoon No, Chang-Su Park, Kwang-Sup Youn,  
Joo-Heon Hong, and Shin-Ho Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food Service & Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

#### Abstract

The antioxidative activity of *Kalopanax pictus* shoots extracted using five different methods, stirrer extraction (SE), ultrasonification extraction (USE), vacuum extraction (VE), reflux extraction (RE), and reflux extraction after ultrasonification extraction (RUE), was evaluated to determine the most effective extraction method. RUE showed the highest yield of extract, and total polyphenol and flavonoid content. Additionally, the RUE extract showed higher antioxidative activity than that of the other extracts based on DPPH and ABTS free radical scavenging (90.85%, 99.83%), reducing power activity (OD 0.95, 700 nm), nitrite scavenging activity (55.46%), and ferrous ion chelating effect (45.12%).

**Key words:** *Kalopanax pictus*, antioxidant, DPPH ( $\alpha, \alpha'$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl), phenolic compounds

#### 서 론

인간은 호흡과정에서 노화 및 질병의 원인이 되는 radical 등의 활성산소를 생성하며, 인체는 체내 산화를 방어할 수 있는 다양한 항산화 물질을 생성하여 항상성을 유지한다. 그러나 체내 항산화 체계는 다량의 산화물을 모두 방어할 수 없으므로 항산화제를 추가 섭취하여 체내 산화를 막는 것은 노화 방지 및 질병 예방에 매우 중요하다. 기존에는 효과가 빠른 합성 항산화제가 많이 사용되었으나, butylated hydroxytoluene과 butylated hydroxyanisole 등의 합성 항산화제의 발암성, 변이원성 등이 알려지면서(1) 식물의 2차 대사산물을 이용한 천연 항산화제를 개발이 왕성하게 진행되고 있다. 특히 약용식물의 약리효과는 항산화 효과로 설명되기도 하며(2), 약용식물이 일반식이 과·채류보다 항산화 효과가 우수한 경향을 보이므로(3) 천연 항산화제를 개발하기 위하여 다양한 민간·전통 약용식물들의 항산화 효과를 분석하는 것은 매우 중요하다.

엄나무(*Kalopanax pictus*)는 오갈피나무과로 엄나무, 개두릅나무라고도 하며(4), 우리나라 전 지역에 자생하는 낙엽 활엽교목으로 군집성은 적고 국내, 중국 및 일본 등 동북아시아 지역에 분포되어 있다(5). 엄나무에는 saponin인 kalopanaxsaponin과 phenol성 화합물인 liriiodendrin, syringin,

chlorogenic acid 등이 알려졌으며, 특히 엄나무 순은 일명 개두릅이라 하여 새순을 채취하여 산채로 널리 이용되고 있는 건강식품 중 하나이며, polyphenol이 비교적 많이 함유되어 있어 면역 활성, 항산화활성 및 소염효과가 있는 것으로 보고되고 있다(6-8). 이러한 개두릅에 대한 연구가 일부 보고되었을 뿐 개두릅 시료를 이용하여 다양한 추출방법에 따른 항산화 활성의 효과를 비교한 연구는 거의 전무한 실정이다.

본 연구는 상온교반추출법, 환류냉각추출법, 감압추출법, 초음파추출법, 환류냉각과 초음파 병행추출법으로 개두릅 추출물을 제조한 후 이에 함유된 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량 그리고 항산화 활성 등을 비교하여 가장 효과적인 추출방법을 제시하고, 기능성식품 소재를 개발하는데 기초자료로 활용하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

본 실험에 사용된 개두릅은 2012년 5월 초순에 강원도 강릉시에서 재배한 것을 대관령영농회에서 구입하여 세척한 후 동결건조(PVTFD20R, Ilshin lab., Suwon, Korea)하여 분쇄기로 분말화 한 후 -70°C deep freezer에 보관하면서

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: leesh@cu.ac.kr  
Phone: 82-53-850-3217, Fax: 82-53-850-3217

사용하였다.

#### 추출물의 제조 및 수율 측정

개두릅의 추출방법은 분쇄시료 100 g에 10배의 80% 에탄올을 가한 후 상온교반추출(SE, stirrer extraction), 초음파추출(USE, ultrasonification extraction), 감압추출(VE, vacuum extraction), 환류냉각추출(RE, reflux extraction), 환류냉각과 초음파 병행추출 방법(RUE, reflux extraction after ultrasonification extraction)으로 추출물을 제조하였다.

상온교반추출은  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 실온에서 교반기(HANBAK Scientific Co., Bucheon, Korea)를 이용하여 150 rpm으로 24시간 교반시켜 2회 반복 추출하였고, 환류냉각추출은 분쇄시료와 80% 에탄올을 넣은 용기에 냉각관을 부착하여  $60^\circ\text{C}$ 의 항온수조에서 3시간 2회 반복 추출하였다. 감압추출은 Kim 등(9)의 방법을 변형하여, 분쇄시료를 부직포에 담아 감압추출기(FT110, Benchtop rapid extractor, ARM-FIELD, Hampshire, UK)를 이용하여 실온에서 2시간 동안 8.0 bar의 압력 하에서 2회 반복 추출하였으며, 초음파 추출은 유리병에 분쇄시료와 80% 에탄올을 혼합한 후 유리병이 초음파 수조(NXPC-4020P, KODO, Hwaseong, Korea) 바닥에 닿지 않도록 하여 40 KHz 초음파를 가하여 2시간 동안 2회 반복 추출하였다. 환류냉각과 초음파 병행추출 방법은 Park 등(10)의 방법을 변형하여 상기와 같은 방법으로 3시간 동안 환류냉각 추출한 후 2시간 동안 1회 초음파 추출하였다.

각각의 추출물은 여과지(Whatman No. 3, Whatman, Maidstone, UK)로 여과한 후 회전진공농축기(WB 2000, Heidolph, Schwabach, Germany)로 농축하고, 각 농축물은 동결건조 하여 분말화 시켰으며 이를  $100 \sim 1,000 \mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 항산화 활성을 측정하였다.

각 추출물들의 수율은 추출액을 동결건조 시켜서 건물 중량을 구한 다음 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 나타내었다.

#### 총 폴리페놀 함량 측정

Singleton 등(11)의 방법에 따라 각 추출물 1 mL에 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent 1 mL를 가하여 실온에서 3분간 반응시킨 후,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (75 g/L) 1 mL를 가한 다음 암소에서 1시간 동안 방치한 후 분광광도계(Pharmacia Biotech Ultraspec 1000, Cambridge, UK)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 한 표준곡선에 의하여 산출하였다.

#### 총 플라보노이드 함량 측정

Abdel-Hameed(12)의 방법에 따라 각 추출물 0.1 mL에 5% sodium nitrite 0.15 mL를 가한 후  $25^\circ\text{C}$ 에서 6분간 방치한 다음 10% aluminium chloride 0.3 mL를 가하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 5분간 방치하였다. 다음 1 N NaOH 1 mL를 가하고 vortex상에서 가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 rutin hydrate(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 검

량선에 의하여 함량을 산출하였다.

#### DPPH 라디칼 소거능

Blois의 방법(13)을 변형하여 각 추출물 0.4 mL에 0.4 mM DPPH( $\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl) 에탄올 용액 0.8 mL를 진탕 혼합하고, 10분간 방치 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, DPPH radical scavenging ability (%) =  $100 - [(OD \text{ of sample} / OD \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성을 산출하였다.

#### ABTS radical 소거활성 측정

Re 등(14)의 방법에 따라 7.4 mM ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt]와 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온·암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시킨 다음 실험 직전에 ABTS 용액을 732 nm에서 흡광도가  $0.700 \pm 0.030$ 이 되도록 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 희석된 용액 950  $\mu\text{L}$ 에 각 추출물 50  $\mu\text{L}$ 를 가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, ABTS radical scavenging ability (%) =  $100 - [(OD \text{ of sample} / OD \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성을 산출하였다.

#### 환원력 측정

Oyaizu(15)의 방법에 따라 각 추출물 2.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide[ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] 2.5 mL를 각각 혼합하고 혼합물을  $50^\circ\text{C}$  항온수조에서 20분간 반응시킨 다음 10% trichloroacetic acid(TCA :  $\text{CCl}_3\text{COOH}$ , w/v) 2.5 mL를 첨가하여 반응액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 다음 상등액 5 mL에 증류수 5 mL를 첨가하고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 아질산염소거능 측정

Kato 등(16)의 방법에 따라 각 추출물 1 mL에 1 mM  $\text{NaNO}_2$  용액 1 mL를 가하고 0.1 N HCl을 가하여 총 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을  $37^\circ\text{C}$ 에서 1시간 반응시킨 후 1 mL를 취하여 2% 초산용액 4 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1:1) 0.4 mL를 가한 후 실온에서 15분간 방치하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, nitrite scavenging activity (%) =  $100 - [(OD \text{ of sample} / OD \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 산출하였다.

#### Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

Marklund와 Marklund(17)의 방법에 따라 각 추출물 200  $\mu\text{L}$ 에 pH 8.5로 조정된 tris-HCl buffer 용액 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 200  $\mu\text{L}$ 를 가하고  $25^\circ\text{C}$ 에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, SOD-like activity (%) =  $100 - [(OD \text{ of sample} / OD \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성을

산출하였다.

#### Ferrous ion chelating 효과 측정

Yen 등(18)의 방법에 따라 시액 1 mL, 80% ethanol 0.8 mL, 2 mM FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O[iron(II) chloride tetrahydrate] 용액 0.1 mL, 5 mM ferrozine[3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid] 용액 0.1 mL를 첨가한 다음 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산식, ferrous ion chelating effect(%) = 100 - [(OD of sample/OD of control) × 100]에 의하여 산출하였다.

#### 통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 행하였으며, 평균치 간의 유의성은 SPSS system(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package(version 12.0)를 이용하였고 p<0.05 수준으로 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다.

## 결과 및 고찰

#### 추출방법에 따른 추출수율의 변화

추출방법을 달리한 개두릅 추출물의 추출수율은 Table 1과 같다. 추출수율은 초음파추출법(USE)이 15.03%로 가장 낮았고, 상온고반추출법(SE), 감압추출법(VE), 환류냉각추출법(RE)은 각각 15.43%, 16.87%, 17.83%를 나타내었다. 환류냉각과 초음파 병행추출법(RUE)이 19.83%로 가장 높았다. 이는 환류냉각 추출할 때에는 용출되지 않았던 다양한 활성물질들이 초음파 에너지로 인한 액체 간의 상호 탈기 작용 등으로 인해 유용물질들이 용출되었기 때문으로 판단된다(19).

#### 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량의 변화

식물성 식품 속에 함유되어 있는 많은 생리활성 물질 중 페놀(phenol)이 가장 많이 함유되어 있으며, 또한 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다. 플라보노이드는 식물에 의해 합성된 폴리페놀(polyphenol)의 가장 큰 부류이며, 효과적인 free radical scavenger로서 항산화 효과를 가진다(20). 추출 방법을 달리한 개두릅 추출물의 총 폴리페놀 함량

Table 2. Comparison of total polyphenol and total flavonoid contents of *Kalopanax pictus* shoot extracted by different methods

Extraction method <sup>1)</sup>	Total polyphenol (dry basis, mg GAE/g)	Total flavonoid (dry basis, mg RE/g)
SE	134.88±3.72 <sup>2)c3)</sup>	39.54±2.84 <sup>c</sup>
USE	134.71±0.28 <sup>c</sup>	41.51±2.86 <sup>c</sup>
VE	140.79±2.46 <sup>b</sup>	49.39±3.98 <sup>b</sup>
RE	150.80±1.24 <sup>a</sup>	58.59±3.98 <sup>a</sup>
RUE	153.43±1.28 <sup>a</sup>	62.53±5.43 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>All abbreviations are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

<sup>3)</sup>Different letters within a column (a-c) are significantly different (p<0.05).

과 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 총 폴리페놀 함량은 RUE와 RE가 각각 153.43, 150.80 mg GAE/g이었으며, VE, SE, USE 순이었다. 총 플라보노이드 함량은 RUE와 RE가 각각 62.53, 58.59 mg RE/g을 나타내었으며, 총 폴리페놀 함량과 유사한 경향을 나타내었다. 이는 추출방법에 따라 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량에 차이가 있다는 보고(21)와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 Yu 등(22)은 감국의 가열 시 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 증가되었다고 보고하였으며, Hong 등(23)은 치커리의 경우 볶음 온도와 시간이 증가할수록 총 페놀성 성분과 항산화 활성이 증가함을 보고하였다. 따라서 보다 많은 유효 성분을 추출하기 위해서는 시료에 따른 최적의 추출방법을 사용하는 것이 중요하다고 사료된다.

#### DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 변화

DPPH radical 소거능은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐 아니라 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다(24). 추출방법을 달리한 개두릅 추출물의 농도별 DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼의 소거능의 측정 결과는 Fig. 1과 같다. 모든 추출물은 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거능이 높아지는 경향을 나타내었다. 추출방법은 RUE가 가장 좋았으며, 100, 250, 500, 1,000 µg/mL 농도별로는 각각 15.80, 26.20, 52.90, 90.85%를 나타내었다. ABTS는 비교적 안정한 free radical로서 DPPH 방법과 함께 항산화활성을 스크리닝 하는데 많이 이용되고 있다. 또한 lipophilic 또는 hydrophilic 항산화 물질의 측정에 적용 가능한 방법으로 알려져 있다. ABTS는 양이온 라디칼을, DPPH는 음이온 라디칼을 소거하는 활성을 흡광도로 측정하는 방법으로 두 방법에 대한 기질과 반응물질과의 결합정도가 달라 추출물을 이용한 라디칼 소거활성 측정값에서 차이가 나타날 수 있다(25). ABTS 라디칼 소거능은 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 1). 500 µg/mL에서 RE(98.78%) 및 RUE(99.16%)가 VE(97.20%), USE(95.61%), SE(93.35%)에 비하여 유의적으로 높은 활성을 나타내

Table 1. Extraction yields of *Kalopanax pictus* shoot according to extraction methods (dry basis, %)

Extraction method <sup>1)</sup>	Extraction yield
SE	15.43±0.21 <sup>c</sup>
USE	15.03±0.15 <sup>c</sup>
VE	16.87±0.11 <sup>b</sup>
RE	17.83±0.91 <sup>b</sup>
RUE	19.83±1.22 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>SE, stirrer extraction; USE, ultrasonification extraction; VE, vacuum extraction; RE, reflux extraction; RUE, reflux extraction after ultrasonification extraction.

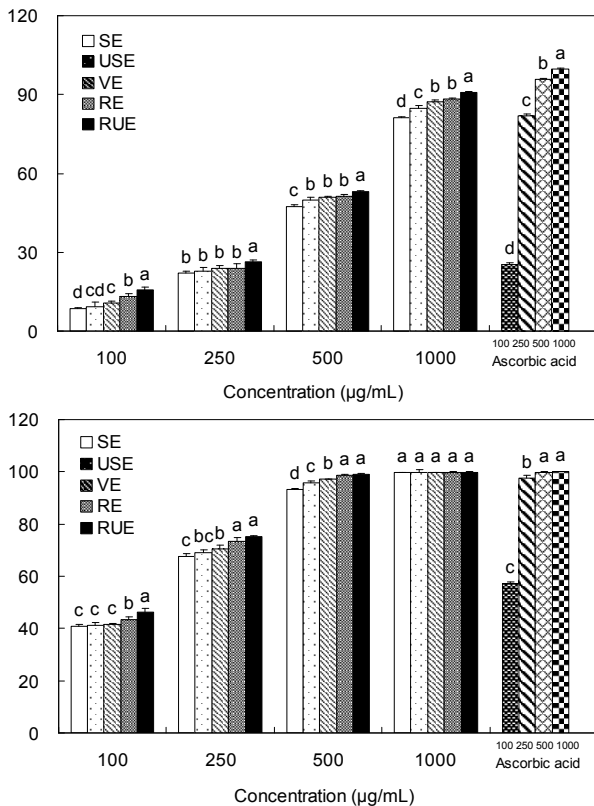


Fig. 1. Effect of extraction method on DPPH and ABTS radical scavenging activity of *Kalopanax pictus* shoot extract. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ). All abbreviations are the same as in Table 1.

었고, 1,000 µg/mL에서는 모든 실험군이 유의적 차이를 나타내지 않았다. 이상의 결과 개두릅 추출물의 높은 phenol성 화합물 함량과 라디칼 소거활성으로 노화억제와 함께 산화적 장애를 방어하는 천연물 소재로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

환원력의 변화

환원력을 발휘하는 물질은 전자 공여체로 작용하며, 지질 과산화 과정에서 중간 생성물의 형성을 감소시켜 2차적인 항산화제 역할을 하는 것으로 알려지고 있다(26). 추출방법을 달리한 모든 개두릅 추출물은 농도가 증가할수록 환원력이 증가하는 경향을 나타내었고, 그중 추출물 농도가 1,000 µg/mL일 때 VE, RE, RUE가 1.00에 가까운 흡광도 값을 나타내었다(Fig. 2). 환원력은 일반적으로 페놀 함량과 상관관계가 높다고 보고(27)되고 있으며, 이는 본 실험 결과와도 유사하였다. 따라서 개두릅에 함유되어 있는 페놀 성분이 활성산소에 수소 및 전자를 공여함으로써 활성산소 사슬을 파괴하여 높은 환원력을 나타내는 것으로 판단된다.

아질산염 소거능의 변화

발암에 관련된 물질로 알려진 nitrite 및 nitrite로 전환이 가능한 nitrate는 일정 농도 이상 섭취 시 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성한다. 또한 혈액 중의 he-

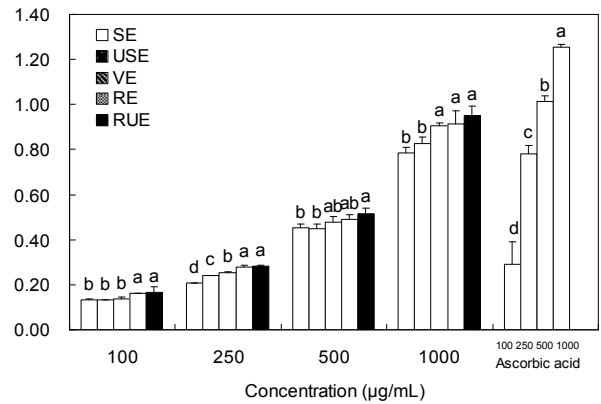


Fig. 2. Effect of extraction method on reducing power of *Kalopanax pictus* shoot extract. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ). All abbreviations are the same as in Table 1.

moglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 각종 증독을 일으키는 것으로 알려져 있어(28) 아질산염 소거능은 항암작용을 간접적으로 알 수 있는 하나의 지표로 이용된다. 추출방법을 달리한 개두릅 추출물의 농도별 아질산염 소거능의 측정 결과는 Fig. 3과 같다. 모두 농도증가에 비례하여 활성이 증가되었으며, 1,000 µg/mL에서의 아질산염 소거능은 RUE(55.46%) > RE(52.53%) > VE(48.67%) > USE(46.01%) > SE(42.61%) 순으로 나타났으며, RUE가 VE, USE, SE와 비교하여 12~23% 이상 높은 아질산염 분해효과를 나타내었다. Kim 등(29)의 팽이버섯, 하수오, 오미자, 행인 등이 20% 이하의 소거능을 나타내었다는 결과와 비교하면 개두릅은 높은 아질산염 소거능을 갖는다고 할 수 있다. 또한 Yamada 등(30)은 폴리페놀과 플라보노이드 화합물이 종류에 따라 차이는 있으나 아질산염을 효과적으로 분해하여 nitrosamine의 생성을 억제한다는 보고하여 본 연구와 일치하였다.

SOD 유사활성의 변화

항산화 효소인 SOD는 세포에 유해한 oxygen radical을

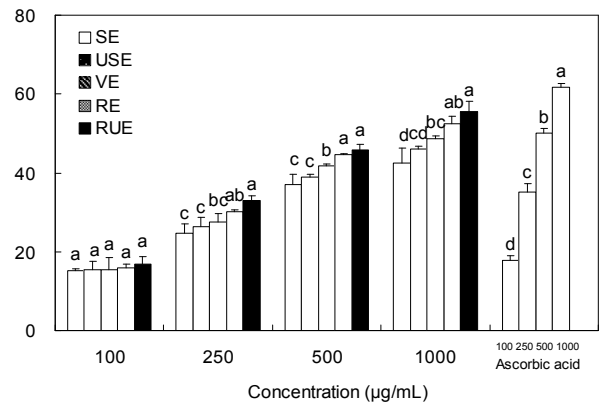


Fig. 3. Effect of extraction method on nitrite scavenging activity of *Kalopanax pictus* shoot extract. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ). All abbreviations are the same as in Table 1.

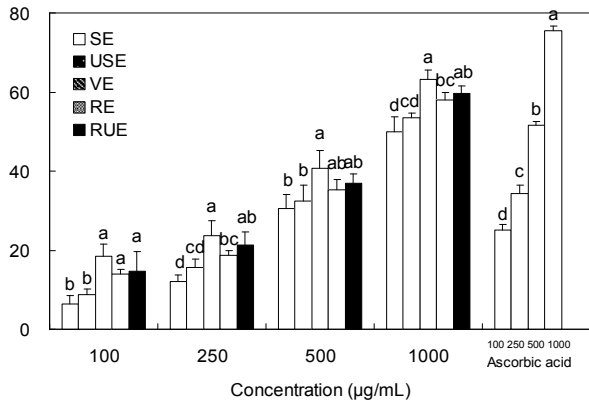


Fig. 4. Effect of extraction method on SOD-like activity of *Kalopanax pictus* shoot extract. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ). All abbreviations are the same as in Table 1.

과산화수소로 전환시킴으로써 과산화수소가 catalase에 의해 물 분자와 산소 분자로 전환될 수 있도록 하여 활성산소로부터 생체를 보호하는 기능을 한다(17). 추출 방법에 따른 개두릅 추출물의 SOD 유사활성을 농도에 따라 측정된 결과 1,000 µg/mL에서 VE(63.29%) > RUE(59.61%) > RE(57.89%) > USE(53.57%) > SE(49.90%) 순으로 나타났으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 SOD 유사활성도 유의적으로 증가하였다(Fig. 4). VE가 가장 높은 SOD 유사활성 효과를 나타내었으며, SE보다 21% 이상 높은 것으로 나타났다. 본 실험 결과를 약용식물을 대상으로 한 Lim 등(31)의 감초(35.63%), 인진(25.40%), 황기(23.13%), 천궁(18.47%) 등의 SOD 유사활성보다 높았으며, An과 Lee(32)의 산사자 물 추출물과 에탄올 추출물이 12% 미만의 활성을 나타낸다는 결과와 비교하면 개두릅이 기존에 보고된 여러 종류의 천연물보다 더 높은 활성도를 갖는다고 할 수 있다. 따라서 개두릅 추출물은 항산화 효과가 높은 소재로 활용이 가능할 것으로 판단되었다.

Ferrous ion chelating 효과의 변화

Fe, Cu, Co, Ni, Sn 등과 같은 산화 환원이 용이한 금속이나 이들의 금속염은 지질 산화 과정에서 촉매로 작용할 수 있는 금속이다. 특히 일부 식품에 함유되어 있는 Fe<sup>2+</sup>나 Cu<sup>2+</sup> 등은 hydroxyl radical(-OH)과 superoxide radical(O<sup>2-</sup>) 등의 생성을 촉진하여 식품의 지질산화를 가속화 시키게 된다. 이러한 금속에 대한 봉쇄 효과는 금속 촉매제로 인한 free radical의 생성을 억제함으로써 지질산화를 방지할 수 있는 능력을 측정하는 지표로 이용된다(33). 추출방법을 달리한 개두릅 추출물의 ferrous ion chelating 효과는 RUE > RE > VE > USE > SE 순으로 높았으며, 위에서 언급한 다른 항산화 활성 실험보다 다소 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 5). 이는 ferrous ion chelating 효과는 금속을 제거하는 실험이고, 다른 항산화 능력 실험은 유리라디칼 등을 제거하는 실험으로 작용기작이 다르기 때문으로 판단되며(34), 총 폴리페놀

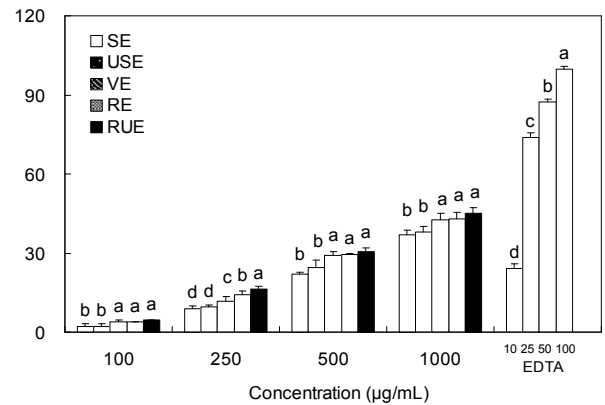


Fig. 5. Effect of extraction method on ferrous ion chelating effect of *Kalopanax pictus* shoot extract. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ). All abbreviations are the same as in Table 1.

및 총 플라보노이드 등의 항산화물질과는 상관성이 다소 낮은 것으로 판단된다. 이러한 결과는 Woo(35)의 30종의 국화과 식물 잎과 꽃 추출물의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능 및 ferrous ion chelating 효과는 총 폴리페놀 함량(R<sup>2</sup>=0.0452), 총 플라보노이드 함량(R<sup>2</sup>=0.0784), DPPH radical 소거능(R<sup>2</sup>=0.0030) 및 ABTS radical 소거능(R<sup>2</sup>=0.0006)과는 상관관계가 거의 없는 것으로 나타나 본 연구결과와 유사하였다.

상온교반, 초음파, 감압, 환류냉각, 환류냉각과 초음파 병행 추출방법으로 추출방법을 달리한 개두릅 추출물의 항산화 물질 함량과 추출물의 항산화 효과는 다른 경향을 나타내었다. 이는 식물 추출물의 항산화 효과가 추출조건에 따라 다르게 나타난다고 보고한 Kim 등(36)의 결과와 같이 동일한 식물도 추출조건을 달리함으로써 생리활성물질 추출수율 및 생리활성 효과를 증가시킬 수 있는 것으로 판단되었다. 상기 추출방법 중 환류냉각과 초음파 병행 추출법으로 추출한 추출물의 항산화 효과가 높았다. 이 결과는 환류냉각 추출물보다는 초음파를 병행한 추출물의 항암활성이 더 높았다고 한 Park 등(19)의 결과와 생체 방어기능을 증진시키기 위한 추출공정으로 초음파 무처리보다 초음파 처리를 병행하여 추출한 것이 더 적합한 방법이라고 한 Kim 등(37)의 결과와 유사하였다. Kim 등(38)은 식물의 경우 적절한 세기의 초음파는 식물 세포벽을 파괴하여 생리활성물질의 용출을 증진시켜주며, 식물 세포내로 용출 용매의 물질 전달 효율을 향상시켜준다고 보고하였다(39). 따라서 초음파와 환류냉각 추출 병행방법은 추출물의 생리활성을 높일 수 있는 효과적인 추출방법이라고 판단된다. 또한 이러한 추출방법은 차후 식물 추출물의 기능성 생리활성을 연구할 때 효율적인 추출방법으로 다양하게 활용 가능할 것으로 판단된다. 또한 개두릅 추출물은 기능성 증진을 위한 다양한 식품 소재로의 활용 가능성이 있을 것으로 사료되며, 이러한 결과가 실제로 체내에서 적용되는지는 *in vivo* 연구를 통하여 살펴볼 필요가 있는 것으로 사료된다.

## 요 약

개두릅 추출물의 항산화 활성을 증가시킬 수 있는 적정 추출방법을 개발하기 위하여 상온교반, 초음파, 감압, 환류냉각, 환류냉각과 초음파 병행 추출법을 이용하여 추출한 개두릅 추출물의 항산화 활성을 비교하였다. 추출수율은 환류냉각과 초음파 병행 추출물에서 높게 나타났다. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량 또한 환류냉각과 초음파 병행 추출물이 각각 153.43 mg GAE/g, 62.53 mg RE/g으로 높았으며, 모든 추출물은 항산화 실험에서 농도 증가에 비례하여 활성이 증가하였다. 환류냉각과 초음파 병행 추출물은 추출농도 1,000 µg/mL에서 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능(90.85%, 99.83%), 환류력(OD 0.95, 700 nm), 아질산염 소거능(55.46%), ferrous ion chelating 효과(45.12%)가 우수하거나 유사하였다.

## 감사의 글

본 연구는 대구가톨릭대학교 교비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Branen AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59-63.
- Wang TC, Ti MC, Lo SC, Yang CC. 2007. Free radical-scavenging activity of aqueous extract of *Pteris multifida* Poiret. *Fitoterapia* 78: 248-249.
- Liu H, Qiu N, Ding H, Yao R. 2008. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Res Int* 41: 363-370.
- Lee E, Choi MY, Park HJ, Cha BC, Cho SH. 1995. Chemical constituents and biological activity of *Kalopanax Cortex*. *Kor J Pharmacogn* 26: 122-129.
- Park CH, Ahn SD, Jang BH, Ham SS. 1995. *Explanation of herbs at hills and moors*. Kangwon University publishing occupation, Chuncheon, Korea. p 102.
- Jun DH, Lee JT, Cheon SJ, Lee CE, Kim TH, Lee DH, Han JG, Kim SH. 2009. Polyphenol and anti-oxidant effects of *Kalopanax septemlobus* Koidz. leaf extracts. *Korean J Plant Res* 22: 343-348.
- Kim SH, Park YG, Jang YS, Han JG, Chung HG. 2007. Oxidative stress in the cell and antioxidant activity of *Kalopanax pictus* extracts. *Mokchae Konghak* 35: 126-134.
- Park HJ, Nam JH, Jung HJ, Kim WB, Park KK, Chung WY, Choi JW. 2005. In vivo antinociceptive antiinflammatory and antioxidative effects of the leaf and stem bark of *Kalopanax pictus* in rats. *Kor J Pharmacogn* 36: 318-323.
- Kim JH, Sung NY, Kwon SK, Jung PM, Choi JI, Yoon YH, Song BS, Yoon TY, Kee HJ, Lee JW. 2010. Antioxidant activity of stevia leaf extracts prepared by various extraction methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 313-318.
- Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK, Lee HY. 2004. Effect of ultrasonification process on enhancement of immuno-stimulatory activity of *Ephedra sinica* Stapf and *Rubus coreanus* Miq. *Korean J Biotechnol Bioeng* 19: 113-117.
- Singleton VL, Joseph A, Rossi J. 1958. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagent. *Am J Clin Nutr* 68: 1474-1479.
- Abdel-Hameed ESS. 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem* 114: 1271-1277.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- 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.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by non-dialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Yen GC, Duh PD, Tsai HL. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem* 79: 307-313.
- Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK, Lee HY. 2004. Improvement of anticancer activation of ultrasonicated extracts from *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* Stapf, *Rubus coreanus* Miq. and *Artemisia capillaris* Thunb. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 273-278.
- Beecher GR. 2003. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 133: 3248S-3254S.
- Chung HJ. 1999. Antioxidative effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1316-1320.
- Yu JS, Woo KS, Hwang IG, Chang YD, Jeong HJ, Lee CH, Jeong HS. 2008. Quality characteristics of *Chrysanthemum indicum* L. flower tea in relation to the number of pan-firing. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 647-652.
- Hong MJ, Lee GD, Kim HK, Kwon JH. 1998. Changes in functional and sensory properties of *Chicory* roots induced by roasting processes. *Korean J Food Sci Technol* 30: 413-418.
- Choi JH, Oh SK. 1985. Studies on the anti-aging action of Korean ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 17: 506-515.
- Kang MH, Park CG, Cha MS, Seong NS, Chung HK, Lee JB. 2001. Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 138-142.
- Yen GC, Chen HY. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J Agric Food Chem* 43: 27-32.
- Osawa T. 1994. Novel natural antioxidant for utilization in food and biological system. In *Postharvest Biochemistry of Plant Food Material in the Tropics*. Uritani I, Garcia VV, Mendoza EM, eds. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan. p 241-251.
- Na GM, Han HS, Ye SH, Kim HK. 2004. Physiological activity of medicinal plant extracts. *Kor J Food Preserv* 11: 388-393.
- Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.

30. Yamada T, Yamamoto M, Tamura A. 1978. Studies on the formation of nitrosamines VII; The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. *J Food Hyg Soc Jpn* 19: 224-229.
31. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
32. An BJ, Lee JT. 2002. Studies on biological activity from extract of *Crataegi Fructus*. *Kor J Herbology* 17: 29-38.
33. Yoo MY, Kim SK, Yang JY. 2004. Characterization of an antioxidant from sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 32: 307-311.
34. Graf E, Eaton JW. 1990. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic Biol Med* 8: 61-69.
35. Woo JH. 2008. Antioxidant substance and biological activity of compositae species. *MS Thesis*. Chungbuk Natl University, Cheongju, Korea. p 42-44.
36. Kim HK, Kwon, YJ, Kim YE, Nahmgung B. 2004. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Aster scaber* Thunb extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Kor J Food Preserv* 11: 88-93.
37. Kim JH, Kim DH, You JH, Kim CH, Kwon MC, Seong NS, Lee SE, Lee HY. 2005. Immune-regulatory activities of various fractions from *Ehpedrae Sinica* STAPF, *Rubus Coreanus* Miq. and *Angelica gigas* Nakai extracts with ultrasonification. *Korean J Medicinal Crop Sci* 13: 161-170.
38. Kim DH, Kim HJ, Chung BW. 2006. Extraction of anti-oxidative substance from *Haematococcus pluvialis* using ultrasonification. *J Eng Res* 37: 79-86.
39. Yasui K, Tuziuti T, Iida Y. 2005. Dependence of the characteristics of bubbles on types of sonochemical reactors. *Ultrason Sonochem* 12: 43-51.

(2012년 8월 20일 접수; 2012년 10월 22일 채택)