

비파의 품종별 항산화 활성 평가

신현진¹ · 김경희² · 황혜림² · 김나영³ · 김성환³ · 육홍선^{2*}

¹충남대학교 수의학과

²충남대학교 식품영양학과

³중부대학교 식품영양학과

Antioxidant Activities of Extract Fractions of Leaves from Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by Cultivars

Hyun-Jin Shin¹, Kyoung-Hee Kim², Hye-Rim Hwang², Na-Young Kim³,
Sung-Hwan Kim³, and Hong-Sun Yook^{2*}

¹Research Institute of Veterinary Medicine and ²Dept. of Food and Nutrition,
Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Jungbu University, Chungnam 312-702, Korea

Abstract

In this study, we compared the antioxidant activities of three loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by cultivars (Daebang, Bubang and native cultivar). The leaves were extracted by 80% ethanol and then fractionated with various solvents (n-hexane, ethyl acetate, n-butanol, and water) for biological activities and bioactive compounds analysis. Total polyphenol content of extracts and fractions was in the range of 84.93~478.50 mg/g gallic acid equivalent (GAE). From highest to lowest GAE, the fractions were n-butanol > ethyl acetate > n-hexane > 80% ethanol > water. Among the three cultivars, the highest polyphenol content was found from native cultivar. As for DPPH radical scavenging activity, the n-butanol fraction showed the highest activity, and native cultivar was the highest on the IC₅₀ values (0.18 mg/mL). In the nitrite scavenging activity, the ethyl acetate fraction (54.99~60.86%) showed the most effective activity on the Bubang cultivar was higher than others. The ursolic acid content of the ethyl acetate fraction showed the highest (51.41 mg/g) in the Daebang cultivar. Based on all these results, the Bubang cultivar showed relatively higher antioxidant and nitrite scavenging activities, but the ursolic acid content was higher in the Daebang cultivar. These results suggest that extracts from loquats (*Eriobotrya japonica* Lindl.) can be used as bioactive and functional materials that could be important information for industrial use in the future.

Key words: leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.), polyphenol, free radical, nitrite scavenging activity, ursolic acid

서 론

비파(*Eriobotrya japonica* Lindl.)는 장미과의 상록 교목으로 우리나라에서는 제주도, 경남 및 전남지방 등 온화한 기후 조건에서 주로 자생하고 예로부터 민간요법으로 청폐, 진해, 거담, 건위, 이뇨, 기관지염, 구역질, 딸꾹질 및 부종 등에 효능이 있다고 알려져 있다(1). 특히 비파잎에는 terpenoid(2,3)와 flavonoid(4) 등의 유용한 화합물을 다량 함유하고 있어 항산화, 항염증, 항 HIV, 항돌연변이 및 항암활성 등이 보고(5-7)되고 있다. 일본과 중국 등의 최근 연구에 따르면 비파 종자 추출물이 활성 산소종(reactive oxygen species; ROS)을 제거하거나 산화적 스트레스를 억제하며(8,9), LDL oxidation을 방지하는 효과가 있음이 확인되었다(10).

비파 잎에서는 항당뇨 효과(11)와 항염증 및 항암효과를 나타내는 물질의 존재를 확인하기도 하였다(12). 국내에서는 비파 과실의 성분분석(13-15)이나 비파 부위별 용매추출물의 항산화 및 항균활성에 관한 연구(16,17), 비파 잎의 특정 성분을 이용한 peroxynitrite 소거능에 대한 연구(18), nitrite 소거능 및 항 돌연변이 효과에 관한 연구(16) 등이 진행되었다. 이렇게 비파는 그 열매와 잎에 대해 항산화, 항염증, 항 HIV, 항돌연변이 및 항암활성을 비롯한 다양한 생리활성이 보고(8-12)되고 있으며 비파환, 비파잼, 비파잎차, 비파주스를 비롯한 가공식품으로도 많이 만들어져 판매되고 있다. 또한 무목, 전중, 남, 대방, 부방 등을 비롯하여 다양한 품종들이 있어 품종에 따라 다양한 생리활성 차이가 있을 것으로 기대되고 있다. 외국의 경우 11종의 *Eriobotrya*종의 잎에 대

*Corresponding author. E-mail: yhsuny@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6840, Fax: 82-42-821-8887

한 페놀 및 플라보노이드 함량 및 항산화 활성에 관한 연구가 진행되어 있으나(19) 국내의 경우 비파의 품종별 생리활성에 대한 연구는 비파 품종별 triterpenic acids 함량에 관한 연구 외에는 별다른 연구가 없는 실정이다(20).

따라서 본 연구에서는 비파의 여러 품종 중에서 대방, 부방, 재래종의 비파잎을 80% 에탄올로 추출하여 농축한 후 이를 여러 용매로 추출·분획하고 분리한 다음 이 분획들의 총 페놀 함량, 항산화 활성 및 아질산염 소거능을 측정하고, 품종에 따른 비파잎의 ursolic acid 함량을 분석함으로써 비파잎의 품종 간 생리활성을 비교하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 비파잎은 전남 진해 농업기술센터에서 비파의 대방, 부방, 재래종 품종을 제공받아 사용하였다. 각 시료는 수세하여 잎 표면의 털을 제거한 후, 3일 동안 음건하여 -70°C 에 보관하면서 사용하였다.

용매추출

건조된 비파잎 100 g에 10배의 80% 에탄올을 가하여 20분간 sonication한 후, 150 rpm의 25°C shaking incubator (Wisecube, Daihan Scientific, Seoul, Korea)에서 12시간 진탕 추출하였으며, 이 과정을 3회 반복하였다. 추출액은 여과지(Whatman No.4, Middlesex, UK)로 여과한 후 회전진공농축기(Eyela A-1000S, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 40°C 에서 감압 농축하여 80% 에탄올 추출물을 얻었다. 농축된 80% 에탄올 추출물을 극성의 차이를 이용해서 다른 용매를 첨가하여 단계적으로 분획하였다. 비파잎의 80% 에탄올 추출물을 증류수에 용해시킨 후 분획 깔대기에 넣고 n-hexane, ethyl acetate 및 n-butanol을 순차적으로 가하여 각 분획물을 얻었고 최종 남은 용액은 물 분획물이라 칭하였다(Fig. 1). 이 분획물들은 감압농축과 동결건조를 통해 용매를 제거한 후 실험에 사용하였다. 품종별 80% 에탄올 추출물의 수율은 대방 11.17%, 부방 21.43%, 재래종 27.03%이었다.

Total polyphenol 화합물 함량 측정

총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 방법(21)을 사용하여 분석하였다. 각 추출물 및 분획물을 methanol로 녹여 최종 농도를 0.5 mg/mL 로 하였고 각각의 시료 0.1 mL에 Folin-Ciocalteu's reagent(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 0.2 mL를 첨가하고 23°C 에서 1분간 유지시켰다. 그 후 5% Na_2CO_3 3 mL를 가하여 23°C 에서 1시간 방치 후 UV/Vis-spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid(Sigma Chemical Co.)를 이용하여 검량곡선을 작성한 후 함량 계산에 활용하였다.

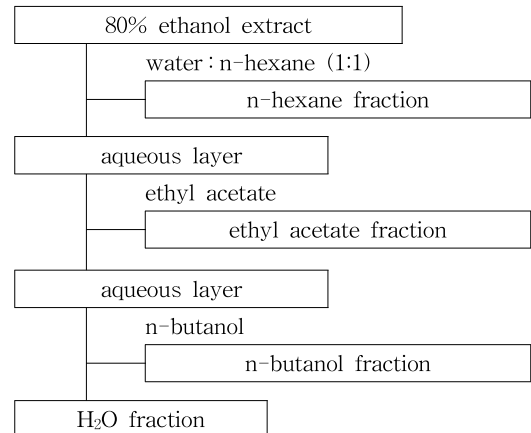


Fig. 1. Procedure for fractionation of 80% ethanol extract from leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by various solvent.

DPPH radical 소거능 분석

각 추출물 및 분획물에 대한 DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) radical 소거능은 Blois 방법(22)에 의하여 측정하였다. 즉, 시료 1 mL와 2×10^{-4} M DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액 3 mL를 5초 동안 vortex mixer로 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 UV/Vis-spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Co.)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거능은 다음과 같은 계산식에 의해 환산하였으며, 대조구에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC_{50})로 표시하였다. 대조구는 시료 대신 메탄올 1 mL를 첨가하여 측정하였다.

$$\text{DPPH-radicals scavenging activity}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

아질산염 소거능(nitrite-scavenging ability, NSA)

각 추출물 및 분획물의 아질산염 소거능은 Gray와 Dugan(23)의 방법에 준하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 1 mM 아질산 나트륨 용액 0.1 mL에 각각의 추출물을 0.2 mL를 가하고, 여기에 0.1 N 염산(pH 1.2) 및 0.2 N 구연산 완충용액(pH 3.0, 4.2 및 pH 6.0)을 0.7 mL 가하여 반응용액의 부피를 1 mL로 하였다. 이를 37°C 에서 1시간 동안 반응시킨 다음 여기에 2% 초산 5 mL, Griess 시약(acetic acid에 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것으로 사용 직전에 제조) 0.4 mL를 가하여 혼합시키고 15분간 실온에서 방치시킨 후 UV/Vis-spectrophotometer(UV-1800, Shimadzu Co.)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다. 그리고 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 추출액 첨가 전후의 아질산염 백분율(%)로 표기하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

N: 아질산염 소거술

A: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료 대신 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

C: 시료 추출물 자체의 흡광도

HPLC에 의한 ursolic acid 함량 분석

Ursolic acid 함량 분석은 Acme 9000 HPLC(Young Lin Instrument Co., Anyang, Korea)를 이용하여 분석하였으며 각 품종별 에틸아세테이트 분획물을 methanol에 녹여 sepapak(Waters, Milford, MA, USA)으로 색소 제거 후 0.25 μm membrane filter(Millipore, Darmstadt, Germany)로 여과하여 사용하였다. Column은 Symmetry C18 5 μm(4.6×150 mm, Waters), 이동상은 methanol : 0.03 M phosphate buffer(pH 2.8)(88:22)를 사용하였고, 이동속도는 1.0 mL/min, 검출기는 HPLC 내의 UV detector(검출파장 210 nm), 시료 주입량은 20 μL이었다. 표준시료는 ursolic acid(Fluka, Buchs, Switzerland)를 사용하였고, 분석에 사용된 용매는 HPLC급을 사용하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS 14.0(Statistical Package for Social, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 유의적 차이가 있는 항목에 대해서 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 유의차 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 화합물 함량 분석

비파잎의 품종별 추출물 및 분획물의 총 폴리페놀 화합물 함량을 측정된 결과를 Table 1에 나타내었다. 그 결과 총 폴리페놀 화합물 함량은 부탄올 분획물이 가장 높은 함량을 보였고, 그 다음은 에틸아세테이트, 헥산, 80% 에탄올, 물 분획물 순으로 나타났다. 3품종 중에서 총 폴리페놀 화합물이 가장 높은 품종은 재래종 품종으로 부탄올 분획물이 478.50 ± 6.89 mg/g으로 측정되었고, 에틸아세테이트 분획물(296.59

± 4.76 mg/g) > 헥산 분획물(219.45 ± 0.42 mg/g) > 80% 에탄올 추출물(208.5 ± 3.78 mg/g) > 물 분획물(132.07 ± 2.58 mg/g) 순으로 측정되었다. 본 연구에 사용된 비파 품종의 경우 대방 품종은 일본 농림성 원예시험장에서 전중 품종에 남 품종을 교배하여 육성한 품종으로 추위에 강하고 6월 초순이면 수확이 가능한 조생종이고 부방 품종은 진운 품종과 서수 품종의 교잡 품종으로 하우스 적응성이 높아 하우스 재배에 적합한 품종이며, 재래종은 중국산 비파, 이른바 당비파가 주류를 이루기 전에 재배되었던 품종을 말한다(24). 비파 잎 추출물의 항산화 및 항균활성을 연구한 Lee와 Kim(25)은 80% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량이 215 mg/g으로 나타났다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 결과를 나타내었으며, Jeong 등(26)은 비파엽 열수추출물의 생리활성 연구 결과 총 폴리페놀 화합물 함량이 28.91 mg/g으로 보고하고 있어 본 연구결과보다 낮은 결과를 나타내었다. 이와 같은 결과는 오디 추출물의 항산화 활성과 페놀성 화합물의 구성에 관한 연구(27)에서 오디의 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 페놀성 화합물의 함량이 높다는 연구와 일치한 것으로, 항산화성 페놀 화합물은 에탄올 추출이 열수 추출보다 효과적인 방법임을 시사하고 있으며, 비파잎의 높은 페놀 화합물 함량을 얻기 위해서는 재래종 품종이 좋을 것으로 여겨진다.

DPPH radical 소거능

비파잎 추출물 및 분획물의 항산화 활성을 평가하기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정하여 DPPH의 free radical을 50% 저해했을 때의 시료 농도(IC₅₀)를 Table 2에 나타내었다. 80% 에탄올 추출물의 경우 대방 품종의 항산화 활성이 가장 높았으나 부방 품종과의 유의차는 보이지 않았다. 반면, 분획물 중 가장 활성이 높은 분획물은 부탄올 분획물로, 재래종 품종이 0.18 mg/mL, 부방 품종이 0.22 mg/mL, 대방 품종의 IC₅₀값이 0.23 mg/mL로 나타나 3품종 중에서 재래종 품종이 가장 높은 라디칼 소거능을 나타내었다. 그 다음으로 높은 활성을 보이는 분획물은 3품종 모두 에틸아세테이트 분획물 > 80% 에탄올 추출물 > 물 분획물 > 헥산 분획물 순으로 나타났다. 비파잎 분획물의 항산화 활성은 양성 대조군인 ascorbic acid의 IC₅₀(0.03 mg/mL)과 비교해 볼 때 비교적 높은 항산화 활성을 나타내었다. Shim(28)은 비파잎을 메탄

Table 1. Total polyphenol contents of the solvent fraction from 80% ethanol extract from different cultivar of leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.)

Solvent	Total polyphenol contents (mg/g GAE ¹⁾)		
	Daebang	Bubang	Native cultivar
80% ethanol extract	166.83 ± 4.65 ^{2dB3)}	200.64 ± 5.67 ^{cA}	208.5 ± 3.78 ^{dA}
n-Hexane fraction	218.50 ± 2.48 ^{cA}	198.02 ± 5.17 ^{cB}	219.45 ± 0.42 ^{cA}
Ethyl acetate fraction	267.07 ± 5.00 ^{bC}	278.02 ± 5.17 ^{bB}	296.59 ± 4.76 ^{bA}
n-Butanol fraction	389.45 ± 4.60 ^{aC}	410.88 ± 7.19 ^{aB}	478.50 ± 6.89 ^{aA}
Water fraction	84.93 ± 2.58 ^{eC}	100.64 ± 3.57 ^{dB}	132.07 ± 2.58 ^{eA}

¹⁾GAE: gallic acid equivalents.

²⁾Each value is mean ± SD (n=3).

³⁾Value with different letters within a column (a-e) and a row (A-C) differ significantly (p<0.05).

Table 2. DPPH radical scavenging activity of the solvent fractions from 80% ethanol extract from Bubang cultivar of leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.)

Solvent	IC ₅₀ (mg/mL) ¹⁾		
	Daebang	Bubang	Native cultivar
Ethanol (80%) extract	0.43 ± 0.00 ^{2)cB3)}	0.44 ± 0.02 ^{cB}	0.50 ± 0.00 ^{bA}
n-Hexane fraction	2.05 ± 0.05 ^{aB}	1.14 ± 0.01 ^{aC}	4.87 ± 0.21 ^{aA}
Ethyl acetate fraction	0.40 ± 0.01 ^{cA}	0.34 ± 0.00 ^{dB}	0.40 ± 0.01 ^{bA}
n-Butanol fraction	0.23 ± 0.01 ^{dA}	0.22 ± 0.01 ^{eA}	0.18 ± 0.01 ^{cB}
Water fraction	0.80 ± 0.01 ^{bA}	0.78 ± 0.02 ^{bA}	0.57 ± 0.01 ^{bB}

¹⁾Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines.

²⁾Each value is mean ± SD (n=3).

³⁾Value with different letters within a column (a-e) and a row (A-C) differ significantly (p<0.05).

올로 추출하여 극성과 비중에 따라 순차적으로 용매 분획한 결과, 수소공여능이 가장 높은 추출물(0.1% 농도)은 82%로 에틸아세테이트 분획물이었고, 그 다음으로 부탄올 65%, 물 51% 순으로 높게 나타났다고 보고하여 본 연구결과와 다르게 에틸아세테이트 층에서 높은 항산화 활성을 나타내었다고 보고하여, 본 연구결과와 차이를 나타내었으나 이러한 결과는 IC₅₀ 값을 구한 것이 아니라 한 농도에서만 측정하였기 때문에 차이를 나타낸 것으로 여겨진다. 페놀 화합물 함량이 높은 비파잎 부탄올 분획물에서 DPPH 라디칼 소거활성이 높게 나타난 것은, 각 추출물이 함유하고 있는 총 페놀 화합물의 함량이 증가하면 항산화 활성도 증가한다는 여러 보고와 유사한 결과(29,30)이나 페놀 화합물 함량 의존적으로 DPPH 라디칼 소거활성이 증가하지는 않았다.

아질산염 소거능

비파잎 추출물 및 분획물의 아질산염 소거능을 pH 조건을 1.2, 4.0 및 6.0으로 달리하여 측정한 결과는 Table 3에 나타내었다. 활성이 가장 높은 pH 1.2 조건에서 아질산염 소거능은 3품종 모두 에틸아세테이트(54.99~60.86%) 분획물이 가장 높은 활성을 나타냈으며, 그 다음으로 부탄올 분

획물이 51.92~55.0%, 80% 에탄올 추출물이 50.6%의 활성을 가졌다. 품종별 아질산염 소거능을 살펴보면 각 분획물마다 부방 품종의 활성이 가장 높게 나타났고 대방과 재래종은 부방보다 낮은 활성을 보였고 두 품종 간의 유의차는 거의 없는 것으로 확인되었다(Fig. 2). 비파 부위별 에탄올 추출물의 생리활성을 연구한 Park 등(31)은 비파잎의 아질산염 소거능을 분석한 결과 500 mg/mL에서 73%로 나타났고, Bae 등(16)은 비파 부위별 다양한 용매 추출물의 아질산염 소거를 조사한 결과 비파잎의 에틸아세테이트 분획물이 80%의 높은 활성을 나타내었다고 보고하고 있다. 각 분획물의 아질산염 소거능은 pH 증가에 따라 감소하였는데, 이는 nitrosamine 생성은 pH 의존적이며 아질산염 소거능 역시 강산성 조건에서 높으며 pH가 높아질수록 감소하는 것으로 보인다는 보고(32,33)와 유사한 경향이다. 연구 결과, 3품종 모두 에틸아세테이트 분획물의 아질산염 소거능이 인체의 위내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 우수한 것으로 측정되었으며 특히 부방 품종의 에틸아세테이트 분획물은 생체 내에서도 효과적인 아질산염 소거작용을 통해 nitrosamine 생성을 억제할 것으로 사료된다.

Table 3. Nitrite scavenging activity of the solvent fractions from 80% ethanol extract from different cultivar of leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.)

Cultivar	Solvent	Nitrite scavenging activity (%) (100 µg/mL) ¹⁾		
		pH 1.2	pH 4.2	pH 6.0
Daebang	Ethanol (80%)	50.64 ± 0.92 ^{2)b3)}	29.83 ± 4.90 ^a	6.99 ± 1.23 ^{bc}
	n-Hexane	42.11 ± 1.92 ^d	30.48 ± 2.95 ^a	26.34 ± 4.14 ^a
	Ethyl acetate	54.99 ± 0.68 ^a	28.66 ± 2.53 ^a	9.95 ± 2.46 ^b
	n-Butanol	51.92 ± 2.27 ^b	29.31 ± 2.53 ^b	4.30 ± 2.03 ^c
	Water	45.61 ± 1.04 ^c	27.76 ± 1.25 ^a	7.26 ± 2.13 ^{bc}
Bubang	Ethanol (80%)	55.56 ± 3.06 ^b	22.42 ± 0.00 ^{bc}	5.64 ± 1.60 ^{ab}
	n-Hexane	48.74 ± 0.26 ^c	24.66 ± 0.45 ^b	15.64 ± 1.60 ^a
	Ethyl acetate	60.86 ± 0.51 ^a	22.57 ± 0.94 ^{bc}	8.72 ± 1.18 ^{ab}
	n-Butanol	54.88 ± 0.96 ^b	19.88 ± 1.13 ^a	2.31 ± 0.77 ^{ab}
	Water	49.99 ± 1.15 ^c	19.73 ± 5.28 ^a	8.20 ± 0.44 ^b
Native cultivar	Ethanol (80%)	53.05 ± 0.46 ^{cd}	25.63 ± 3.03 ^{bc}	11.92 ± 2.89 ^c
	n-Hexane	43.94 ± 1.99 ^e	28.57 ± 1.51 ^b	24.50 ± 2.89 ^b
	Ethyl acetate	56.41 ± 2.03 ^b	25.49 ± 1.35 ^{bc}	8.39 ± 4.41 ^c
	n-Butanol	55.00 ± 0.41 ^{bc}	22.83 ± 1.35 ^{cd}	9.27 ± 0.00 ^c
	Water	49.34 ± 1.61 ^c	21.85 ± 1.92 ^d	— ⁴⁾

¹⁾Sample concentration. ²⁾Each value is mean ± SD (n=3).

³⁾Value with different letters within a column differ significantly (p<0.05). ⁴⁾Not detected.

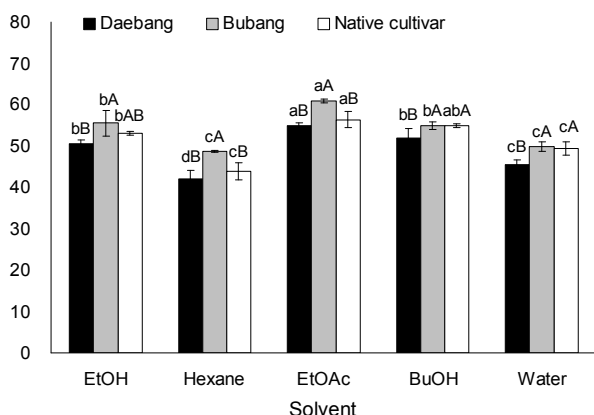


Fig. 2. Nitrite scavenging activity of various solvent fractions from 80% ethanol extract from different cultivar of leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) at pH 1.2 condition. Values are means \pm standard deviation of triplicate determinations. ^{A,B}Values with different superscript letters in the same solvent are significantly different ($p < 0.05$). ^{a-d}Values with different superscript letters in the same cultivar are significantly different ($p < 0.05$).

Ursolic acid 함량

비파잎의 주요한 활성성분으로 알려진 ursolic acid 함량을 에틸아세테이트 분획물을 대상으로 품종별로 측정하여 Table 4에 나타내었다. 에틸아세테이트 분획물의 ursolic acid 함량은 3품종 중에서 대방 품종이 51.41 mg/g으로 가장 높게 분석되었고, 부방 품종이 39.85 mg/g, 재래종이 31.13 mg/g으로 분석되었다. Lee 등(20)은 대방, 미황, 무목, 전중 등의 4가지 비파엽을 대상으로 에틸아세테이트 soxhlet 추출용매에서 ursolic acid 함량을 측정된 결과 0.22~0.26%의 함량을 나타내었으며 대방보다는 미황 및 무목 품종에서 높은 ursolic acid 함량을 나타내었다고 보고하고 있어 본 실험에 사용된 비파엽 품종보다 다른 품종들에서 높은 ursolic acid 함량을 나타낸 것으로 확인되었다. 한편, 비파잎에는 ursolic acid 외에도 chlorogenic acid, quercetin-3-sambubioside, methyl chlorogenate, kaempferol, quercetin-3-rhamnosides 등의 항산화 활성을 가지는 물질들이 있으며 (4) 이들 물질 성분은 항산화 활성 외에 여러 다양한 생리활성을 가지고 있는 것으로 보고되어져 있어, 본 연구 및 Lee 등(20)의 연구에서 사용한 비파 품종 외에 좀 더 다양한 비파 품종별 생리활성 성분들에 대한 연구들을 통해 좀 더 우수한 활성을 지닌 비파 품종의 재배가 가능할 것으로 사료된다.

Table 4. Ursolic acid contents of ethyl acetate fractions from 80% ethanol extract from different cultivar of leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.)

Cultivar	Ursolic acid content (mg/g EtOAc fr.)
Daebang	51.41 \pm 1.67 ^{1)a2)}
Bubang	39.85 \pm 1.35 ^b
Native loquat	31.13 \pm 3.14 ^c

¹⁾Each value is mean \pm SD (n=5).

²⁾Means with different letters within a column differ significantly ($p < 0.05$).

요 약

본 연구에서는 비파잎의 품종 중에서 대방, 부방, 재래종의 비파잎을 80% 에탄올로 추출하여 농축한 후 이를 여러 용매로 추출·분획하고 분리한 다음 이 분획들의 품종에 따른 비파잎의 ursolic acid 함량을 분석하고 품종 간 생리활성을 비교 분석하였다. 비파잎 에탄올 추출물 및 분획물의 총 폴리페놀 화합물 함량은 84.93~478.5 mg/g GAE로 부탄올 분획물이 가장 높은 함량을 보였고 에틸아세테이트, 헥산, 80% 에탄올, 물 분획물 순으로 나타났다. 3품종 중에서 총 폴리페놀 화합물이 가장 높은 품종은 재래종 품종이었다. DPPH 라디칼 소거능은 3품종 모두 부탄올 분획물이 가장 높았으며, 3품종 중에서 재래종 품종의 IC₅₀값이 0.18 mg/mL로 분석되어 각 분획물 및 3품종 중 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 아질산염 소거능은 3품종 모두 에틸아세테이트(54.99~60.86%) 분획물이 가장 높은 활성을 나타냈으며, 3품종 중 부방 품종의 활성이 가장 높게 나타났다. 비파잎의 에틸아세테이트 분획물의 ursolic acid 함량은 3품종 중에서 대방 품종이 51.41 mg/g으로 가장 높게 분석되었다(부방: 39.85 mg/g, 재래종: 31.13 mg/g). 이상의 연구 결과로 비파잎의 80% 에탄올 추출물 및 용매 분획물은 부방 품종에서 비교적 높은 항산화 활성 및 아질산염 소거활성을 지니고 있으며, ursolic acid 함량은 대방 품종에서 높은 함량을 가지는 것으로 분석되었다. 따라서 유효한 생리활성을 나타낸 품종별 비파잎에 대한 연구는 비파잎의 산업적 이용에 효율적인 자료로 이용될 것이다.

감사의 글

본 연구는 충남대학교 교내연구지원사업을 통해 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Lee CB. 1982. *Korean Pictorial Book of Plants*. Hyangmoonsa, Seoul, Korea. p 684-687.
- Shimizu M, Uemitsu N, Shiota M, Matsumoto K, Tezuka Y. 1996. A new triterpene ester from *Eriobotrya japonica*. *Chem Pharm Bull* 44: 2192-2182.
- Nozatto N, Matsumoto K, Uemitsu N. 1994. Triterpene from leaves of *Eriobotrya japonica*. *Nat Ned* 48: 336.
- Jung HA, Pard JC, Chung HY, Kim J, Choi JS. 1999. Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Arch Pharm Res* 22: 213-218.
- Ito H, Kobayashi E, Li SH, Hatano T, Sugita D, Shimura S, Itoh Y, Tokuda H, Nishino H, Yoshida T. 2002. Antitumor activity of compounds isolated from leaves of *Eriobotrya japonica*. *J Agric Food Chem* 50: 2400-2403.
- De Tommasi N, De Simone F, Pizza C, Mahmood N, Moore PS, Coti C, Orsi N, Stein ML. 1992. Constituents of *Eriobotrya japonica*. A study of their antiviral properties. *J Nat Prod* 55: 1067-1073.

7. Choi JS, Park DY, Moon SH, Rhee SH, Young HS. 1994. Antimutagenic effect of plant flavonoids in the *Salmonella* assay system. *Arch Pharm Res* 17: 71-75.
8. Hamada A, Yoshioka S, Takuma D, YoKota J, Cui T, Kusunose M, Miyamura M, Kyotani S, Nishika Y. 2004. The effect of *Eriobotrya japonica* seed extract on oxidative stress in adriamycin-induced nephropathy in rats. *Biol Pharm Bull* 27: 1961-1964.
9. Yokota J, Daisuke T, Hamada A, Masahide O, Saburo Y, Kusunose M, Miyamura M, Kyotani S, Nishioka Y. 2006. Scavenging of reactive oxygen species by *Eriobotrya japonica* seed extract. *Biol Pharm Bull* 29: 467-471.
10. Koba K, Matsuoka A, Osada K, Huang YS. 2007. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. *Food Chem* 104: 308-316.
11. Chen J, Li WL, Wu JL, Ren BR, Zhang HQ. 2008. Hypoglycemic effects of a sesquiterpene glycoside isolated from leaves of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). *Phytomedicine* 15: 98-102.
12. Banno N, Akihisa T, Tokuda H, Yasukawa K, Taguchi Y, Akazawa H, Ukiya M, Kimura Y, Suzuki T, Nishino H. 2005. Anti-inflammatory and antitumor-promoting effect of the triterpene acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Biol Pharm Bull* 28: 1995-1999.
13. Cho YS, Park SK, Lee HY. 1991. Composition of free sugars, organic acids and free amino acids in loquat flesh. *J Korean Soc Food Nutr* 20: 89-93.
14. Lee BY, Park EM, Kim EJ, Choi HD, Kim IH, Hwang JB. 1996. Analysis of chemical components of Korean loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. *Korean J Food Sci Technol* 28: 428-432.
15. Bae YI, Shim KH. 1998. Nutrition components in different parts of Korean loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Korean J Pstharv Sci Technol* 5: 57-63.
16. Bae YI, Chung YC, Shim KH. 2002. Antimicrobial and antioxidant activities of various solvent extract from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Korean J Food Preserv* 9: 97-101.
17. Bae YI, Jeong CH, Shim KH. 2005. Antioxidative and antimicrobial activity of epicatechin isolated from leaves of loquat (*Eriobotrya japonica*). *J Food Sci Nutr* 10: 118-121.
18. Soung DY, Kim JS, Chung HY, Jung HA, Park JC, Choi JS. 1999. Flavonoids and chlorogenic acid from *Eriobotrya japonica* scavenge peroxyxynitrite. *Nat Prod Sci* 5: 80-84.
19. Hong Y, Lin S, Jiang Y, Ashraf M. 2008. Variation in contents of total phenolics and flavonoids and antioxidant activities in the leaves of 11 *Eriobotrya* species. *Plant Foods Hum Nutr* 63: 200-204.
20. Lee KI, Park MY, Pyo BS, Kim SM. 2010. Development of an effective extraction method for the quality control of *eriobotrae folium*: determination of triterpenic acids. *Kor J Pharmacogn* 41: 62-66.
21. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
22. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1200.
23. Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40: 981-984.
24. Fruit Crops Experiment Station. <http://nanji.jares.go.kr/html/technique/medlar02.htm>
25. Lee KI, Kim SM. 2009. Antioxidative and antimicrobial activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 267-273.
26. Jeong YS, Jung HK, Youn KS, Kim MO, Hong JH. 2009. Physiological activities of the hot water extract from *Eriobotrya japonica* Lindl.. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 977-982.
27. Bang IS, Park HY, Yuh CS, Kim AJ, Yu CY, Chimire B, Lee HS, Park JG, Chung MG, Lim JD. 2007. Antioxidant activities and phenolic compounds composition of extracts from mulberry (*Morus alba* L.) fruit. *Korean J Med Crop Sci* 15: 120-127.
28. Shim KH. 1998. Studies on the chemical compounds, biological activities and utilization of loquat in Korea. Report National Research Foundation of Korea (961-0605-037-2). p 19.
29. Seo YH, Kim IJ, Yie AS, Min HK. 1999. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoid in waxy corn (*Zea mays* L.). *Korean J Food Sci Technol* 31: 581-585.
30. Lee SE, Kim YS, Kim JE, Bang JK, Seong NS. 2004. Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. *japonica* N. and *Hemipteleae davidii* P. *J Korean Med Crop Sci* 12: 321-327.
31. Park YS, Park YJ, Kim HJ, Im MH, Lee MK, Kim YM, Cho JY, Heo BG. 2008. Physiological activity of ethanol extract from the different plant parts of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Kor J Hort Sci Technol* 26: 75-80.
32. Kang YH, Park YK, OH SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine meddle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 27: 978-984.
33. Kytopoulos SA. 1987. Ascorbic acid and formation of N-nitroso compounds: possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 45: 1344-1350.

(2012년 3월 28일 접수; 2012년 5월 30일 채택)