

연구노트

제주산 알로에 베라(*Aloe vera* Linne)의 항산화 효과

설남규 · 장은영 · 성장훈¹ · 문기원¹ · 이재환*
성균관대학교 식품생명공학과, ¹(주)김정문 알로에 생명과학연구소

Antioxidant capacities of Aloe vera (*Aloe vera* Linne) from Jeju Island, Korea

Nam Gyu Seol, Eun Yeong Jang, Jang Hoon Sung¹, Gi Won Moon¹, and JaeHwan Lee*

Department of Food Science and Biotechnology, Sungkyunkwan University, Suwon, Korea

¹KJM Aloe R&BD Center KIM JEONG MOON ALOE CO., LTD.

Abstract The antioxidant capacity of aloe vera gel (AG), aloe vera exudates (AE), and a low molecular filtrate of aloe vera gel (ALMF) prepared from aloe vera grown on Jeju Island, Korea was evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assays, and total phenolic content (TPC), and total flavonoid content (TFC) were determined. The phenolic compounds in aloe samples were analyzed. Antioxidant capacities in oil-in-water emulsions following riboflavin photosensitization were analyzed using lipid hydroperoxide. AE had significantly higher antioxidant capacity than that of the other samples based on the DPPH, ABTS, and ORAC assays ($p < 0.05$). Lipid hydroperoxide values of 5 mg/mL for AG, AE, and ALMF were 521.78, 272.32, and 699.89 mmol/kg oil, respectively, whereas that of samples without aloe vera was 893.07 mmol/kg oil over 48 h. AE had higher TPC and TFC values. Aloesin and aloin were found in AE, whereas those compounds were only found in trace amounts in AG and ALMF.

Keywords: Aloe vera, antioxidant activity, phenolic compounds

서 론

알로에 베라(*Aloe vera*) 잎은 겔 형태로 되어 있으며 약 98%가 수분이다. 총 고형물 함량은 0.66%며 수용성 고형성분은 0.56%, 고형성분은 다당류(55%), 당류(17%), 미네랄(16%), 단백질(7%), 지질(4%) 및 페놀성분(1%)으로 구성되었고 항종양, 항산화, 항염증 및 피부질환완화 등의 기능성을 보유하고 있다(1). 알로에 베라 겔은 다당류로 구성되어 있으며 주요 구성성분은 acetylated mannan인 glucomannans이고 이 밖에 xylose, rhamnose, galactose, arabinose, lupeol, cholesterol, campesterol 및 β -sitosterol 등이 있다(2). 페놀성분으로는 anthraquinones이 주 성분이며 당과 결합된 배당형 및 유리형으로 존재한다. 알로에 베라의 노란색 삼출물에는 유리형 anthraquinones과 이들의 유도체인 isobarbain, anthrone C-glycosides 및 chromones이 포함되어 있다. Chromones의 종류로는 8-C-glycosyl-7-O methyl-(S) aloesol, isoaloesin D 및 aloeresin E이 보고되었다(3).

알로에 베라의 항산화능에 대한 연구는 보고되었으나 제주산 알로에 베라의 페놀성분 및 항산화능에 대해서는 아직 완전히 밝혀지지 않았다.

본 연구에서는 제주산 알로에 베라의 동결건조된 알로에 젤(AG), 알로에 수분 삼출물의 동결건조 시료(AE), 알로에 가공 중 발생하는 저분자 여과액 동결건조물(ALMF)의 페놀성분 분석 및 항산화성을 다양한 방법을 활용하여 측정하였다.

재료 및 방법

재료

제주산 알로에 베라(*Aloe vera* Linne)이며, (주)김정문알로에 제주농장에서 알로에 잎, 알로에 베라 저분자 물질 여과액은 (주)김정문알로에사에서 제공받았다. DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid), potassium persulfate, Folin-Ciocalteu 시약, aluminum chloride, potassium acetate, AAPH(2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride, quercetin, fluorecein sodium salt, trolox, riboflavin, aloesin, aloeresin, 및 aloin은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. Tannic acid는 Riedel-deHaen사(Seelze, Germany) 에서, potassium phosphate는 Yakuri사(Osaka, Japan)에서 구입하였다.

시료의 준비 및 처리

알로에 베라 잎을 수세 후 상·하부와 가시 및 껍질을 제거하고, 한번 더 수세한 후 믹서(Linaset A. S., Czech)로 3분간 분쇄하였다. 분쇄물을 8000 rpm에서 30분간 원심분리(Vision Scientific Co., LTD, Bucheon, Korea) 한 뒤 상층부를 동결건조하였다. 상·하부를 제거한 알로에 베라 잎을 하단부터 1 cm 간격으로 칼집

*Corresponding author: JaeHwan Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Sungkyunkwan University, Suwon, Gyeonggi 440-746, Korea

Tel: 82-31-290-7809

Fax: 82-31-290-7882

E-mail: s3hun@skku.edu

Received June 23, 2012; revised July 28, 2012;

accepted July 29, 2012

을 내고 증류수에 담가 3°C에서 1시간 동안 삼출시킨 후 삼출된 액을 동결건조 하였다. 알로에 베라 젤 동결건조물, 알로에 베라 수분 삼출물의 동결건조물, 알로에 가공 중 발생하는 저분자여과액의 동결건조물을 각각 AG, AE 및 ALMF로 명명하였다. 이때 ALMF인 저분자여과액은 알로에 베라 젤 중 분자량 50,000 이하를 지닌 물질을 세라믹 환외여과농축 시스템(Tami, France)으로 분리된 물질이다.

DPPH 라디칼 소거능 활성

DPPH 라디칼 소거능 활성은 Lee 등(4)의 방법을 사용하였다. 시료 0.1 mL를 메탄올 용액에 녹인 0.1 mM DPPH 1.5 mL에 첨가하여 암실에서 30분간 정치시킨 후, UV/Vis-spectrophotometer(model UV-1240 CE, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 EC_{50} (mg/mL)로 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거능 활성

ABTS(2,2'-azinobis-3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) 라디칼 소거능 활성은 Re 등(5)의 방법을 일부 변형하여 사용하였다. 7 mM ABTS 수용액과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 암실에서 16시간 반응시켰다. UV/Vis-spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도가 0.70 ± 0.05 가 되도록 ethanol로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 1.9 mL과 시료 0.05 mL를 혼합하여 6분간 상온에서 정치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 EC_{50} (mg/mL)로 나타내었다.

폴리페놀 및 플라보노이드 함량

총 페놀함량은 Folin-Ciocalteu 방법에 따라 측정하였다. 시료 0.25 mL에 증류수 4 mL과 증류수와 1:1(v/v)으로 희석한 Folin-Ciocalteu시약 0.25 mL를 첨가하여 30초간 혼합 후 5분간 정치하였다. 위 용액에 포화된 sodium carbonate 0.5 mL를 첨가하여 30분간 정치한 뒤, UV/Vis spectrophotometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 tannic acid equivalent(μ M)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 시료 0.5 mL에 95% ethanol 1.5 mL, 10% aluminum chloride 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 증류수 2.8 mL를 혼합한 뒤 30분간 정치하고 UV/Vis spectrophotometer를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin equivalent(μ M)로 나타내었다.

ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) assay

75 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 AAPH를 300 mM 농도로 녹인 용액은 4°C에 보관하여 사용하였으며, fluorescein sodium salt는 50 nM phosphate buffer(0.1 mM EDTA)에 녹여서 사용하였다. Fluorescein을 37°C water bath에서 15분간 정치 후 시료, fluorescein, AAPH를 최종 부피비로 각각 0.01, 2.7, 0.02 mL가 되도록 혼합하였다. 형광분광광도계(LS-55, Perkin Elmer, Llantrisant, UK)를 이용하여 37°C에서 40분간 매분 측정하였다. 이 때 excitation 파장은 493 nm, emission 파장은 515 nm이었고 결과는 trolox equivalent(μ M)로 나타내었다.

알로에 유화액 제조

유화액은 증류수와 콩기름(97.5:2.5, w/w)에 0.25% tween 20을 첨가한 후 DE/T 25 균질기(Ika@werke, Staufen, Germany)를 이용하여 3분간 혼합하고, 초고압균질기(D.O.S., Gyeonggi, Korea)를 이용하여 25000 Pa에서 3번 반복 처리 하여 제조 하였다. 이 유

화액에 riboflavin을 0.02 mg/mL 첨가 후 알로에 시료를 1, 5 mg/mL의 농도로 첨가하였다. 알로에 첨가 유화액을 1 mL씩 air-tight vial에 취하여 형광등을 활용하여 제조된 광산화장치에서 1333 lux로 0, 24, 48시간 동안 처리하였다.

리보플라빈 수증유적형 유화계에서 항산화능 분석

리보플라빈 수증유적형 유화계에서 lipid hydroperoxide 분석은 Kim 등(6)의 방법을 사용하였다. 간단히, 0.4 M HCl에 녹인 0.132 M BaCl₂ 용액과 0.144 M FeSO₄를 혼합한 뒤 원심분리한다. 상층액과 3.94 M Thiocyanate solution을 동일양 혼합한 용액(0.072 M Fe²⁺ solution)을 만든다. 유화액 0.2 mL에 isooctane/2-propanol(3:1, v/v) 혼합용매 1.5 mL를 넣고 10초간 3회 vortexing 한 뒤, 10,000 rpm에서 3분간 원심분리한다. 상층액 0.1 mL를 취하여 methanol/1-butanol(2:1, v/v) 혼합용매 1.4 mL를 넣고, 0.072 M Fe²⁺ solution 30 μ L를 혼합하여 암실에서 20분간 정치한 후 UV/Vis-spectrophotometer로 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

HPLC 분석

각 시료의 페놀성분은 HPLC/UV(Hitachi, Tokyo, Japan)로 분석되었고 사용한 컬럼은 4 μ m Waters Novapak C18 reversed-phase HPLC column (150×3.9 mm I.D.)이었다. 이동상으로 A용매는 1%(v/v) 초산과 B용매는 100% acetonitrile을 사용하였다. 유량은 0.6 mL/min, B용매는 0-5분 동안 15%, 5-44분 동안 35%로 증가시키고, 44-45분엔 15% 감소시켰으며, 안정화를 위해 45-60분 동안 15%를 유지하였다. 시료 주입량은 10 μ L, 검출 파장은 254 nm이었다. 표준시약으로 aloesin, aloeresin 및 aloin을 사용하였다.

통계처리

측정된 DPPH, ABTS, ORAC, TPC 및 TFC 결과는 SPSS program(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석 후 유의차가 있는 경우에는 다중비교법인 Tukey HSD's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 에서 유의수준을 비교하였다.

결과 및 고찰

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 활성

제주산 알로에 베라의 동결건조된 알로에 젤(AG), 알로에 수분 삼출물의 동결건조 시료(AE), 알로에 가공 중 발생하는 저분자여과액 동결건조물(ALMF)의 DPPH와 ABTS의 라디칼 소거능은 Table 1에 나타내었다. DPPH 분석법의 경우 AE, ALMF 시료의 EC_{50} 값은 9.23, 73.56 mg/mL로 나타났으며 AG의 경우 유효한 값이 검출되지 않았다. ABTS 분석법의 경우 AG, AE, 및 ALMF 시료의 EC_{50} 값은 71.48, 3.13, 45.32 mg/mL로 나타났다. AE가 다른 시료에 비해 라디칼 소거 활성이 높았다. Vega-Gálvez 등(7)은 DPPH법에 의한 알로에 베라 젤의 항산화능을 IC_{50} 로 13.47 mg/mL로 보고하였다. 이는 본 연구결과인 AG의 EC_{50} 인 71.48 mg/mL보다 항산화능이 높은 수준이다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

제주산 알로에 베라의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석 결과는 Table 1에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량 분석 결과 AG, AE, 및 ALMF 시료 각 1 mg/mL 당 tannic acid 6.16, 31.70, 및 4.15 μ M만큼의 효과를 나타내었다. 총 플라보노이드 함량 분석의 경우 AG, AE 및 ALMF 시료 각 1 mg/mL 당 quercetin 5.38, 41.57 및 0.14 μ M 만큼의 효과를 나타내었다. AE가 다른

Table 1. Free radical scavenging capacity, total phenolic content, and total flavonoid content of aloe gel (AG), aloe exudates (AE), low molecular filtrate of aloe vera gel (ALMF)

	EC ₅₀ (mg/mL)		Tannic acid equivalent (μM)	Quercetin equivalent (μM)
	DPPH	ABTS	TPC	TFC
AG	n.d. ¹⁾	71.48c	6.16b	5.38b
AE	9.23a ²⁾	3.13a	31.7c	41.57c
ALMF	73.56b	45.32b	4.15a	0.14a

¹⁾Not detected

²⁾Different letters are significant at the same column at $p < 0.05$.

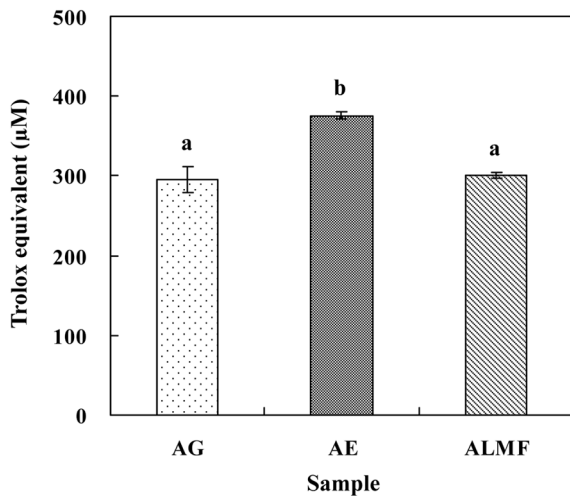


Fig. 1. Oxygen radical absorbance capacity of AG, AE, and ALMF for trolox equivalent (μM). Different letters are significant at the same treatment at $p < 0.05$.

시료에 비해 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높았다. 페놀성 화합물은 수소를 공여하여 라디칼을 제거함으로써 항산화작용을 하는 것으로 보고되었으며(8) 이 외에 항암 등 여러 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(9).

ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay

알로에 베라 시료의 ORAC 수치 차이는 Fig. 1에 나타내었다. ORAC 분석법의 경우 AG, AE 및 ALMF 시료의 값은 trolox equivalent로 각각 295, 375 및 300 μM을 보였다. AE가 다른 시료에 비해 ORAC 활성이 높았으나 Table 1과 다른 측정법을 활용하여 항산화활성을 조사한 결과 AG와 ALMF의 항산화능이 상대적으로 높게 나타났다. ORAC 분석법은 항산화 물질의 유리 라디칼 소거능력을 측정하는 방법으로 기존 여러 항산화능 측정 방법에 비해 반응 감도가 예민하다고 알려져 있다(10,11). Zheng 과 Wang(12)에 의하면 알로에 베라의 ORAC 수치는 1.88 μmol trolox equivalent/g 시료)로 39가지 측정된 herb 중 가장 낮은 항산화능을 보였다.

Lipid hydroperoxide 법

Lipid hydroperoxide 법은 DPPH, ABTS, TPC, TFC 및 ORAC 방법들과 달리 oil-in-water 유화상태에서의 실제 유지의 산화 여부를 lipid particle을 회수하여 측정하는 방법이다. 알로에 베라에 의한 광산화 수중유적형 유화계에서 산화 시간에 따른 lipid hydroperoxide(mmol/kg oil)의 변화는 Fig. 2에 나타내었다. AG,

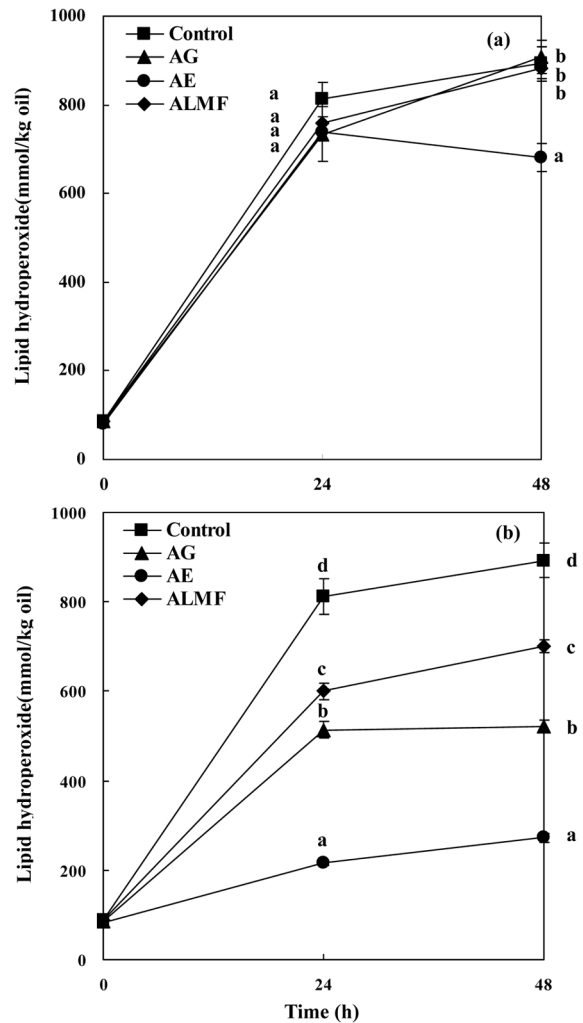


Fig. 2. Lipid hydroperoxide in oil-in-water emulsions with riboflavin photosensitization containing 1 mg/mL (a) and 5 mg/mL (b) AG, AE, and ALMF. Different letters are significant at the same treatment at $p < 0.05$.

AE 및 ALMF 시료 각 1 mg/mL당 48시간 산화 이후의 lipid hydroperoxide의 값은 각각 907.34, 681.40 및 882.23 mmol/kg oil로 나타났으며, 시료 5 mg/mL의 경우, 각각 521.78, 272.32 및 699.89 mmol/kg oil이었다. 알로에 시료가 첨가되지 않은 대조구가 893.07 mmol/kg oil을 고려 시, 대조군에 비해 5 mg/mL AG, AE 및 ALMF 시료 모두 유지 산화 안정성이 증가하였으며, 1 mg/mL 보다 농도 의존적으로 산화 안정성을 증가시켰었다. 이는 알로에 베라 시료의 페놀성 물질과 고분자 다당류에 의한 유화안정성에 기인 한 것으로 판단된다. 단백질이나 탄수화물 다당류 첨가가 수중유적형 유화계에서 산화안정성을 증대시킨다는 연구가 다수 발표되었다(13,14). 이는 유지와 수분사이의 계면에 이들 다당류가 일종의 유화제로 작용하면서 산소나 금속이온 등의 접근성 및 활성에 영향을 미치는 것으로 보고되었다(14).

HPLC 분석

표준물질 aloesin, aloeresin, 및 aloin의 크로마토그램(a)과 알로에 시료 AG(b), AE(c), ALMF(d)의 크로마토그램은 Fig. 3에 나타내었다. Aloesin, aloeresin 및 aloin은 본 HPLC 분석조건에서 각각 14.59, 37.34 및 45.15분에 검출되었다. 시료의 aloesin, alo-

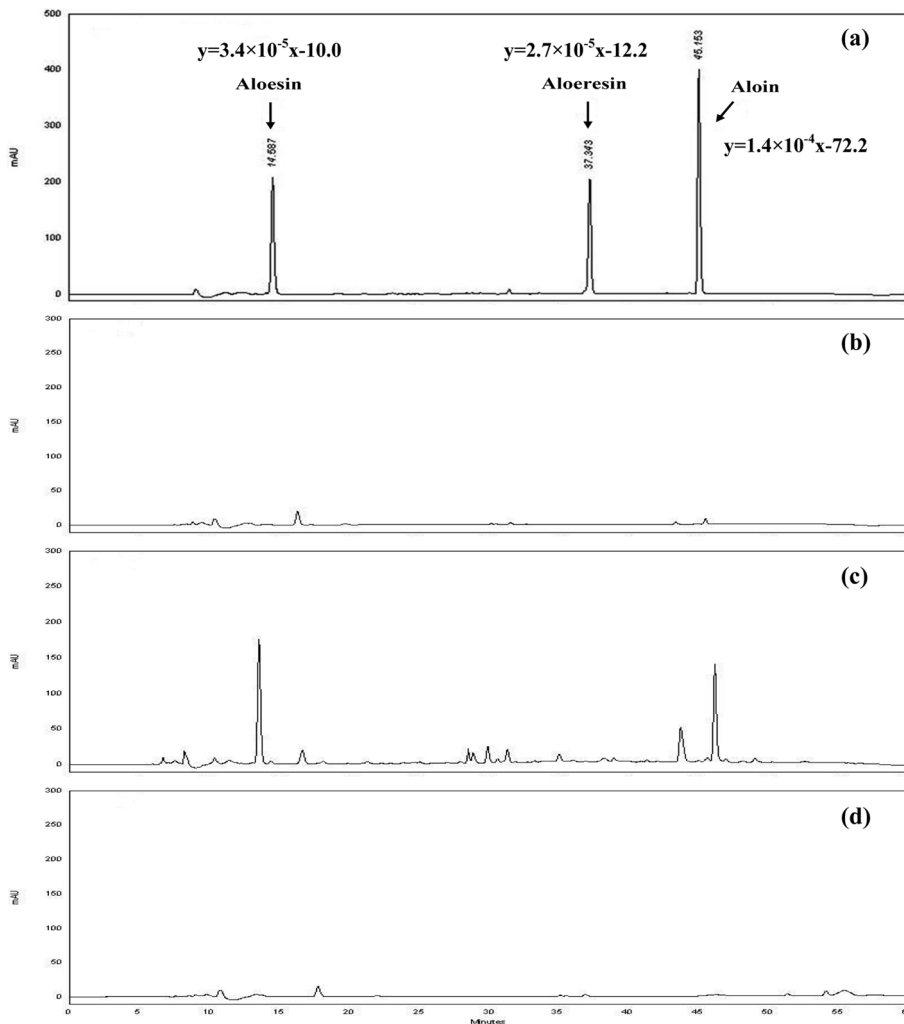


Fig. 3. Representative HPLC chromatograms of aloesin, aloeresin, and aloin (a), AG (b), AE (c), and ALMF (d). Concentration of each compound was calculated according to the equation made from standard curves, $y=ax+b$, where x and y are peak areas and concentration (unit: μM) of standard compound, respectively

eresin 및 aloin 함량은 Table 2에 나타내었다. AE시료에서는 aloesin, aloeresin 및 aloin이 각각 10.76, 0.83 및 24.38 $\mu\text{mol/g}$ 시료로 검출되었으나 ALMF시료에서는 검출되지 않았다. AG시료의 경우 aloesin과 aloeresin은 검출되지 않았으나 aloin은 0.71 $\mu\text{mol/g}$ 시료가 검출되었다. 이는 알로에 베라 젤(AG) 제조 중 표층으로부터 유래된 것으로 판단된다. 알로에 베라 젤은 aloin이나 다른 hydroxy anthracene 유도체를 포함하면 안되나 준비과정 중 비의도적으로 포함될 수 있음이 보고되었다(15). Rebecca 등(3)은 *Aloe secundiflora* 삼출물의 페놀성분을 분석하여 주요 성분이 aloesin, aloeresin 및 aloin임을 보고하였다. 이들 페놀성 물질은 알로에 제품의 위조를 판별하는 데 사용되기도 한다(15).

AE시료가 기타 시료에 비해 높은 항산화능을 보유한 것은 이들 페놀성분을 더 많이 보유한 것에 기인한 것으로 판단된다. 본 연구결과 제주산 알로에 베라의 표층에는 페놀성분 및 항산화능이 높으나 알로에 베라 젤 및 저분자 여과액에는 상대적으로 낮은 것을 확인하였다. 다만 수중유적형 유허계에서는 알로에 베라 젤이 높은 항산화능을 나타냈는데 이는 저분자 페놀성 물질뿐 아니라 고분자인 다당류의 역할에 기인한 것으로 판단된다. 다당류를 포함한 polymer는 수중유적형 유허계에서 유지 particle 형성 시 유허기능 제공이나 구리나 철이온과 같은 산화촉진 금속

Table 2. Concentration of aloesin, aloeresin, and aloin in aloe gel (AG), aloe exudates (AE), low molecular filtrate of aloe vera gel (ALMF)

	Aloesin ($\mu\text{mol/g}$ sample)	Aloeresin ($\mu\text{mol/g}$ sample)	Aloin ($\mu\text{mol/g}$ sample)
AG	n.d. ¹⁾	n.d.	0.71a ²⁾
AE	10.76	0.83	24.38b
ALMF	n.d.	n.d.	n.d.

¹⁾Not detected

²⁾Different letters are significant at the same column at $p<0.05$.

이온의 활성화에 영향을 주어 유허의 산화안정성에 영향을 미치는 인자로 보고되고 있다(14,16).

감사의 글

본 연구는 지식경제부(Ministry of Knowledge Economy) 한국 산업기술진흥원(KIAT)의 Inter-ER Cooperation Projects의 지원으로 이루어졌습니다.

문헌

1. Ahlawat KS, Khatkar BS. Processing, food applications, and safety of aloe vera products: A review. *J. Food Sci. Technol.* 48: 525-533 (2011)
2. Hamman JH. Composition and applications of aloe vera leaf gel. *Molecules* 13: 1599-1616 (2008)
3. Rebecca W, Kayser O, Hagels H, Zessin KH, Madundo M, Gamba N. The phytochemical profile and identification of main phenolic compounds from the leaf exudate of *Aloe secundiflora* by high-performance liquid chromatography-mass spectroscopy. *J. Chromatogr. A* 14: 83-86 (2003)
4. Lee JH, Renita M, Pioritto RJ, Martin SKSt, Schwartz SJ, Vodovotz Y. Isoflavone characterization and antioxidant activity of Ohio soybeans. *J. Agr. Food Chem.* 52: 2647-2651 (2004)
5. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
6. Kim TS, Decker EA, Lee JH. Antioxidant capacities of α -tocopherol, trolox, ascorbic acid, and ascorbyl palmitate in riboflavin photosensitized oil-in-water emulsions. *Food Chem.* 133: 68-75 (2012)
7. Vega-Gálvez A, Uribe E, Perez M, Tabilo-Munizaga G, Vergara J, Garcia-Segovia P, Lara E, Scala KD. Effect of high hydrostatic pressure pretreatment on drying kinetics, antioxidant activity, firmness and microstructure of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel. *LWT-Food Sci. Technol.* 44: 384-391 (2011)
8. Labuza TP. Kinetics of lipid oxidation in foods. *Crit. Rev. Food Technol.* 2: 335-405 (1971)
9. Lee YA, Kim HY, Cho EJ. Comparison of methanol extracts from vegetables on antioxidative effect under *in vitro* and cell system. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 1151-1156 (2005)
10. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Hampsch-Woodill M, Huang D, Ou B, Jacob R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of plasma and other biological and food samples. *J. Agr. Food Chem.* 51: 3273-3279 (2003)
11. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized method for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agr. Food Chem.* 53: 4290-4302 (2005)
12. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agr. Food Chem.* 49: 5165-5170 (2001)
13. Chaiyasit W, McClements DJ, Decker EA. The relationship between the physicochemical properties of antioxidants and their ability to inhibit lipid oxidation in bulk oil and oil-in-water emulsions. *J. Agr. Food Chem.* 53: 4982-4988 (2005)
14. McClements DJ, Decker EA. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J. Food Sci.* 65: 1270-1282 (2000)
15. Bozzi A, Perrin C, Austin S, Arce F. Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. *Food Chem.* 103: 22-30 (2007)
16. Bouyer E, Mekhloufi G, Rosilio V, Grossiord JL, Agnely F. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? *Int. J. Pharm.* 436: 359-378 (2012)