

산복사나무(*Prunus davidiana* (Carriere) Franch.) 열매 분획 추출물의 항산화 및 미백 효능

김원백¹ · 박소혜¹ · 황혜선¹ · 우정윤¹ · 이혜련² · 황대연² · 최지혜³ · 이희섭^{1*}

¹부산대학교 식품영양학과
²부산대학교 바이오소재학과
³인제대학교 식품생명과학부

Antioxidative Activities and Whitening Effects of Solvent Fraction from *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. Fruit

Won Baek Kim¹, So Hae Park¹, Hye Sun Hwang¹, Jung Yoon Woo¹, Hye Ryun Lee²,
Dae Youn Hwang², Ji Hye Choi³, and Heeseob Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²Dept. of Biomaterial Science, Pusan National University, Gyeongnam 627-706, Korea

³Dept. of Food and Life Science, Inje University, Gyeongnam 621-749, Korea

Abstract

In this study, methanol extract and its organic solvent fractions were prepared from *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit. Antioxidative activities, polyphenolic and flavonoid contents, and tyrosinase inhibitory activities were evaluated. Among the fractions, ethyl acetate fraction showed the highest antioxidative activity with IC₅₀ values of 5.8 µg/mL and 88.1 µg/mL for DPPH radical and nitrite scavenging, respectively, which were comparable to those of ascorbic acid. Further, total flavonoid and polyphenolic contents were highest in the ethyl acetate fraction with IC₅₀ values of 244.5 mg/g and 210.2 mg/g, respectively. IC₅₀ values for tyrosinase inhibitory activity were 0.310 mg/mL and 0.329 mg/mL for the ethyl acetate and *n*-butanol fractions, respectively. Based on these results, it is suggested that the ethyl acetate fraction of *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit could be used as a functional material in the food and pharmaceutical industries.

Key words: *Prunus davidiana* (Carriere) Franch., extracts, antioxidative activity, tyrosinase inhibitory activity

서 론

산복사나무(*Prunus davidiana* (Carriere) Franch.)는 장미과에 속하는 낙엽소과목으로 높이가 6 m에 달하고 꽃은 4~5월에 잎보다 먼저 피며 핵과(核果)는 난상 원형이며 털이 많고 지름이 5 cm 정도의 크기로 된다(1). 산복사나무의 열매는 개복숭아 또는 돌복숭아라고 불리고 있으며, 주성분은 수분과 당분으로 주석산, 사과산, 시트르산 등의 유기산이 함유되어 있고, 말산과 개미산, 초산, 타르타르산 등의 에스테르와 알코올류, 알데히드류 및 펙틴 등도 풍부한 것으로 알려져 있으며, 과육에는 유리 아미노산이 많이 함유되어 있고, 특히 아스파르트산 함량이 높다(2-4). 또한 단백질, 지질, 당질, 회분, 칼슘, 인, 철분, 나트륨, 칼륨, 비타민 A, B1, B2, C, E 등이 함유되어 있다(5).

산복사나무에 대한 생리활성 연구로는 나뭇가지에 free radical 소거능, 과산화지질에 대한 항산화 작용 및 산패 억

제능과 더불어 항염증에 효과가 있는 것으로 보고되고 있으며(6), 씨에는 죽상동맥경화 예방효과(7), 항혈전(8), tyrosinase 저해 활성이 강한 안식향산 등에 의한 효소적 갈변 현상을 억제(9) 및 방사선에 의한 림프구 DNA 손상에 대한 방어 효과를 가진다고 보고되고 있다(10). 동물실험으로는 고지혈증 및 당뇨 유발 흰쥐에 있어서 산복사나무 열매 중의 생리활성물질이 혈청 지질대사 이상 및 간 기능 장애와 혈당 조절 기능 이상 등에서 오는 생활습관병 예방 및 치료 개선 효과가 보고되고 있으며(11,12), 고콜레스테롤혈증과 당뇨 유발 흰쥐에 있어서 산복사나무 열매 추출액 급여가 Na, K, Cl 농도, 유리지방산, 과산화지질 농도 및 creatine phosphokinase 활성 등은 감소되는 반면, lecithin cholesterol acyltransferase 활성은 증가되는 것으로 산복사나무 열매 중의 생리활성물질이 당질 및 지질대사 이상 등에서 오는 각종 질환의 예방 및 치료에 개선 효과가 보고되고 있다(13,14). 산복사나무 열매는 민간에서 널리 사용되며 식생활 속에

*Corresponding author. E-mail: heeseoblee@pusan.ac.kr
Phone: 82-51-510-2838, Fax: 82-51-583-3648

깊이 파고들어 식품으로 이용되고 있지만, 이에 대한 체계적인 연구가 이루어지고 있지 못한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 산복사나무 열매가 가지는 항산화 성분을 확인하기 위해 산복사나무 열매를 메탄올로 추출 후 용매의 극성을 이용한 분획 추출을 통해 그 활성이 우수한 분획층을 검색하여 새로운 기능성 소재를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 시료는 경남 김해시 삼방동 신어산에서 자생하는 산복사나무(*Prunus davidiana* (Carriere) Franch.) 열매를 2011년 7월경에 채취하여 과육 및 씨를 분리하여 동결 건조시킨 후, 저온실(4°C)에 보관하여 실험재료로 사용하였다.

시료 추출 및 용매 분획

건조한 산복사나무 열매 과육부 100 g을 50 mesh로 분쇄(micro hammer-cutter mill, MHK Trading Co., Bucheon, Korea)하여 그 분말을 80% 메탄올로 25°C, 12시간씩 3회 추출한 후 filter paper(Whatman No. 2, Whatman, Maidstone, UK)로 여과하였고, 얻어진 여액은 감압농축기(EYELA, N-1100 series, Tokyo, Japan)에서 농축하여 메탄올 추출물 40 g을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁 후, 현탁액과 헥산을 1:1 비율로 분획 깔대기에 넣고 헥산층과 물층으로 분획하였고, 헥산층을 다시 감압 농축하여 2 g을 얻었다. 이상의 동일한 과정을 에틸아세테이트, 부탄올, 물로 순차적으로 가하여 각각 7 g, 19 g, 68 g의 분획물을 얻은 후 동결 건조하여 용매를 제거한 뒤 실험에 사용하였다.

Free radical 소거활성 측정

50% 에탄올에 농도별로 용해시킨 추출물 100 µL와 60 µM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 100 µL를 96 well plate에 넣은 후 혼합하고 차광하여 상온에서 30분간 방치시킨 후 ELISA reader(BIO-RAD, Hercules, CA, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 DPPH 소거 효과를 나타내었다(15).

Nitrite 소거 효과

발암성 물질인 nitrosoamine 생성의 전구체로 작용하는 아질산염(nitrite)의 소거능을 측정하였다(16,17). 아질산나트륨(1 mM NaNO₂) 용액 1 mL에 시료 2 mL를 섞고 0.1 N HCl을 사용하여 반응 용액의 pH를 1.2로 조정하였다. 반응용액의 부피를 10 mL로 조정(DW 첨가)한 다음 37°C에서 1시간 동안 반응시키고 시험관(test tube)에 1 mL씩 취한 다음 2% 초산용액(acetic acid) 5 mL를 첨가하고 사용 직전에 조제한 Griess(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것) 시약 0.4

mL를 가하여 잘 혼합한 후 15분간 방치하고 540 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 구하였다. 대조군은 Griess 시약 대신에 증류수 0.4 mL를 가하여 상기의 방법으로 실시하였다.

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

N: nitrite scavenging activity

A: absorbance of 1 mM NaNO₂ added sample after standing for 1 hr

B: absorbance of 1 mM NaNO₂

C: absorbance of control

총항산화능(Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

총항산화능은 TEAC값으로 나타내었다(18). 7 mM ABTS(2,2'-azono-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate))와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 ABTS radical cation(ABTS·⁺)을 만들어 12시간 이상 방치한 후 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.02가 되도록 5 mM PBS(pH 7.4)로 조정된 후 실험에 사용하였다. 20 µL의 시료와 Trolox(표준물질)에 ABTS·⁺ 용액 1 mL를 첨가하여 734 nm에서 6분간 흡광도를 측정하고 시료의 총항산화능은 Trolox 표준용액을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

총폴리페놀 화합물 함량

총폴리페놀 함량은 Folin-denis법을 일부 변형하여 비색 정량하였다(19). 산복사나무 열매 분획물 50 µL에 증류수 500 µL, Folin-Ciocalteu 시약 100 µL를 혼합하여 암소에서 3분간 방치 후 10% Na₂CO₃ 용액 100 µL와 증류수 350 µL를 첨가하여 잘 섞고 암소에서 1시간 방치한 다음 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총폴리페놀 화합물 함량은 caffeic acid를 이용한 검량선에 의해 계산하였다.

총플라보노이드 함량

총플라보노이드 함량은 Davis(20)법을 일부 변형하여 비색 정량하였다. 산복사나무 열매 분획물 100 µL에 90% diethylene glycol 1 mL 및 1 N NaOH 1 mL를 가하고 잘 혼합한 후 37°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총플라보노이드 함량은 quercetin을 이용한 검량선에 의해 계산하였다.

Tyrosinase 저해활성 효과

Tyrosinase 저해활성 측정은 dopachrom 방법을 변형 실험하여 측정하였다(21). 산복사나무 열매 분획물 25 µL에 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5)에 1.16 mM L-tyrosine을 녹인 기질액 215 µL를 더하고 최종적으로 mushroom tyrosinase가 80 U/mL가 되게 10 µL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 490 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 침

Table 1. Yield of 80% methanol extract and its organic fractions from *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit

Extract	Yield (%)
80% MeOH	39.8±0.7 ¹⁾
Hexane fraction	2.2±0.1 ^a
Ethyl acetate fraction	7.0±0.6 ^b
<i>n</i> -Butanol fraction	19.1±1.6 ^c
Water fraction	67.6±2.4 ^d

¹⁾Mean±SD.

^{a-d}Values with different superscripts were significantly different by Duncan's multiple test (p<0.05).

가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

결과 및 고찰

추출 수율

산복사나무 열매 용매별 분획물의 생리활성을 검토하기 위해 건조분말 시료의 80% 메탄올 추출물로부터 용매별 분획을 실시하였다. 산복사나무 열매 80% 메탄올 추출물의 수율은 39.8%였다. 또한 메탄올 추출물로부터 용매의 극성을 이용하여 순차적으로 분획하였을 때, 물 분획물의 수율이 67.6%로 가장 높았으며, 다음으로 부탄올 분획물이 19.1%였다(Table 1). 비극성 부분인 헥산과 에틸아세테이트 분획물은 각각 2.2%와 7.0%로 극성에 따른 차이를 보였다. 여러 연구결과에 의하면 추출에 사용된 용매의 극성이 증가할수록 유용성분의 추출률이 높아지며 물 추출물보다는 aqueous methanol과 ethanol을 사용하였을 경우 추출물의 활성이 증가하는 것으로 보고되었다(22,23). 따라서 본 연구에서는 80% 메탄올을 초기 추출용매로 선택한 후 이를 극성에 따른 다양한 유기용매를 이용하여 분획 추출함으로써 여러 가지 활성 성분을 추출하고, 산복사나무 열매에 존재하는 생리활성물질의 손실을 최소화하고자 하였다.

Free radical 소거활성 측정

항산화 물질은 유리기 소거 작용을 가지며 이는 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식물 중의 항산화 효과나 인체에서 노화를 억제하는 척도로 이용된다. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 분자 내에 안정한 라디칼을 함유하지만 항산화 물질과 반응하여 라디칼이 소거되어 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다(24,25). 산복사나무 열매의 유기용매 분획에 따른 DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 1(A)와 같으며, 농도 의존적으로 소거능이 증가함을 확인할 수 있었다. Fig. 1(A)의 결과를 바탕으로 IC₅₀ 값으로 계산하여 대조군으로 사용된 ascorbic acid와 BHA의 값과 비교하여 Table 2에 나타내었다. IC₅₀ 값은 80% 메탄올 31.9 µg/mL, 헥산 17.8 µg/mL, 에틸아세테이트 5.8 µg/mL, 부탄올 8.1 µg/mL, 물 189.7 µg/mL, BHA 9.2 µg/mL, ascorbic acid 6.1 µg/mL로, 에틸아세테이트 분획물이 대조군인 ascorbic acid와 BHA보다 라디칼 소거능이 높은 것으로 나타났으며 부탄

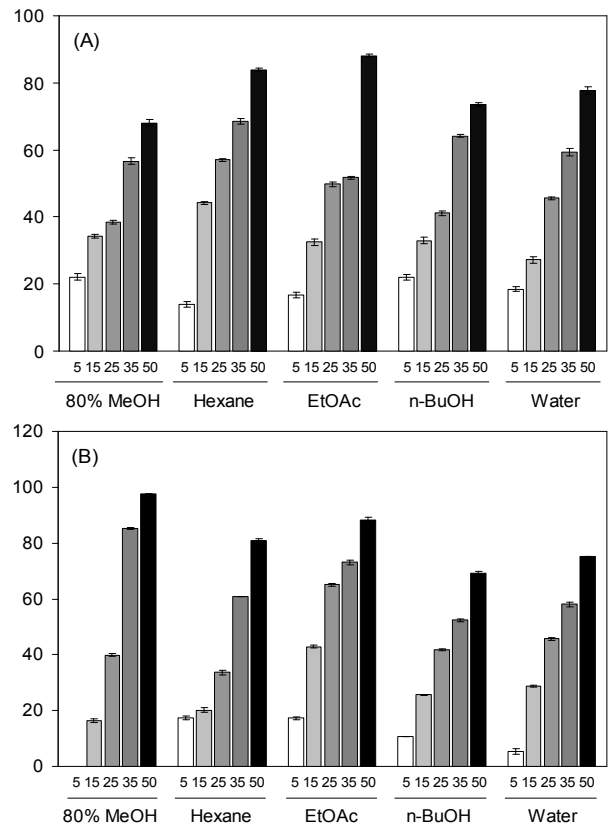


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity (A) and nitrite scavenging activity (B) of organic solvent extracts from *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit.

올 분획물은 에틸아세테이트 분획물보다는 라디칼 소거능이 낮았지만, 대조군인 ascorbic acid와 BHA에 유의적으로 차이가 없는(p<0.05) 높은 라디칼 소거활성을 나타내었다. 헥산과 메탄올, 물 분획물은 상대적으로 낮은 라디칼 소거능을 나타내었다. 이러한 결과는 머루 과피(26)와 눈개승마(27), 선하초(28) 용매별 분획물에서 에틸아세테이트, 부탄올 분획의 DPPH 라디칼 소거능이 높은 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 산복사나무 가지(6)의 용매별 분획물에서 역시 부탄올, 에틸아세테이트 분획물이 가장 우수한 라디칼 소거능을 나타내었으며, 에틸아세테이트와 부탄올 분획 IC₅₀ 값이 20 µg/mL, 15 µg/mL로 가지에 비해서 본 연구에서 사용한 산복사나무 열매의 DPPH 라디칼 소거능이 더 높음을 알 수 있었다. 같은 *Prunus* 계통인 매실 열매와 잎 부분도 용매별 분획에서 에틸아세테이트와 부탄올 분획물이 가장 높은 활성을 보였으며, 에틸아세테이트와 부탄올 분획 IC₅₀ 값이 열매는 29.2 µg/mL, 33.0 µg/mL, 잎은 23.3 µg/mL, 26.9 µg/mL로 산복사나무 열매 분획 추출물의 활성이 높음을 확인할 수 있었다(29). 또한 국내산 복숭아 유과의 품종별 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 IC₅₀ 결과도 Takinosawa Gold, Kawanakawase Hakuto, Madoka, Yumefuji, Nagasawa Hakuho, Hong Bak 품종에 따라 각각 5260, 7240, 5460, 3140, 7190, 7430 µg/mL로 산복사나무 열매 메탄올

추출물의 라디칼 소거능이 훨씬 높음을 확인할 수 있었다(30).

Nitrite 소거 효과

식품의 가공 및 저장, 특히 수산물이나 식육제품에 첨가하여 독소생성억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈액 중의 헤모글로빈이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있으며, 단백질 식품, 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 제 2급 및 제 3급 아민 등의 아민류와 아질산염이 반응하여 발암성 물질인 nitrosoamine을 생성하는 것으로 보고되고 있다(31). 산복사나무 열매의 유기용매 분획에 따른 nitrite 소거능은 Fig. 1(B)와 같으며, DPPH 라디칼 소거능에 비해서는 활성이 낮지만 농도 의존적으로 소거능이 증가함을 확인할 수 있었다. Fig. 1(B)의 결과를 바탕으로 IC₅₀ 값으로 계산하여 Table 2에 나타내었다. 그 결과, IC₅₀ 값은 80% 메탄올 252.8 µg/mL, 헥산 283.8 µg/mL, 에틸아세테이트 88.1 µg/mL, 부탄올 134.8 µg/mL, 물 1033.9 µg/mL, BHA 154.3 µg/mL, ascorbic acid 41.2 µg/mL로 에틸아세테이트 분획물이 다른 분획물들에 비해 소거능이 가장 높은 것을 확인할 수 있었으며 부탄올 분획물은 대조군인 ascorbic acid보다 소거능이 낮았지만 BHA보다 소거능이 유의적으로 높음을 확인할 수 있었다($p < 0.05$). 나머지 분획물은 대조군보다 소거능이 낮았다. 머루종실 용매별 추출물의 아질산염 소거능은 1,000 µg/mL 농도에서 에틸아세테이트, 부탄올 분획이 각각 77, 56%로 다른 분획물에 비해 활성이 높음을 확인할 수 있었으며(32), 이는 다른 분획물에 비해 아질산염 소거능이 높은 결과와 일치할 뿐 아니라 산복사나무 열매 분획 추출물 200 µg/mL 농도에서 에틸아세테이트, 부탄올 분획물의 아질산염 소거능이 88, 69%로 머루종실에 비해 산복사나무 열매가 아질산염 소거 활성이 훨씬 높음을 확인할 수 있다. 이와 같은 결과는 머루 과피(26), 야콘(33), 선학초(28), 연근(34) 분획 추출물에서도 같은 경향을 보이며 이들에 비해 산복사나무 열매 분획 추출물의 아질산염 소거 활성이 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

총항산화능(Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)

ABTS는 비교적 안정한 free radical로서 DPPH방법과 함께 항산화 활성을 스크리닝 하는데 많이 이용되고 있다. 또한 lipophilic 또는 hydrophilic 항산화 물질의 측정에 적용 가능한 방법으로 이 방법에 의한 항산화 활성은 ABTS radical을 억제하거나 소거하는 것에 의해 이루어진다(35). 산복사나무 열매 분획물의 ABTS 양이온 소거능을 Trolox 표준곡선과 비교한 결과와 각 분획물의 농도가 10 µg/mL일 때 ABTS 양이온 소거능을 Table 2에 나타냈다. DPPH, 아질산염 소거능 결과와 마찬가지로 총항산화능 값 역시 에틸아세테이트 분획물이 다른 분획물에 비해 가장 높았으며, 대조군인 BHA와 ascorbic acid와 유의적인 차이가 없음을 확인할 수 있었다. 부탄올 분획물은 대조군에 비해 그 활성이 낮았지만 10 µg/mL 농도에서 50%가 넘는 소거능을 보였으며 다른 분획물은 그에 비해 낮은 ABTS 양이온 소거능을 보였다. 다른 분획에 비해 에틸아세테이트, 부탄올 분획의 활성이 높은 결과는 같은 장미과인 눈개승마 용매 분획 추출물에서도 확인되는데 눈개승마 용매 분획물 중 에틸아세테이트와 부탄올 분획물의 ABTS 양이온 소거능이 500 µg/mL 농도에서 99, 89%로 높게 나온 것을 확인할 수 있었다(27). 또한, 이러한 결과는 산복사나무 열매 분획 추출물이 10 µg/mL 농도에서 에틸아세테이트, 부탄올 분획의 ABTS 양이온 소거능 결과가 97, 78%인 것과 비교하면 눈개승마 용매 분획 추출물에 비해 높은 ABTS 양이온 소거능을 가짐을 확인할 수 있었다. 복숭아 유과의 품종별 ABTS 양이온 소거능 결과(30)에서 20 mg/mL 메탄올 추출물의 가장 높은 값이 99.7%로 10 µg/mL 에틸아세테이트 분획물의 ABTS 양이온 소거능 값인 96.7%와 유사함을 확인할 수 있으며, 같은 메탄올 추출물의 소거능을 비교하면 산복사나무 열매의 10 µg/mL 농도에서 33.4%로 복숭아 유과 추출물보다 낮지만 이는 2,000배 낮은 농도의 차이에 의한 것으로 여겨진다. 따라서 산복사나무 열매 분획의 ABTS 양이온 소거능이 복숭아 유과보다 높음을 확인할 수 있다.

Table 2. Antioxidant activities of *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit extracts

Sample	IC ₅₀ (µg/mL) ¹⁾		TEAC mM Trolox equivalent (%)
	DPPH radical scavenging activity	Nitrite scavenging activity	
80% methanol extract	31.9±0.5 ²⁾	252.8±2.5	4.2±0.0 (33.3±1.0) ³⁾
Hexane fraction	17.8±0.3 ^b	283.8±1.5 ^e	4.0±0.0 (27.5±0.5) ^b
Ethyl acetate fraction	5.8±0.1 ^a	88.1±0.9 ^b	6.2±0.0 (96.7±0.6) ^d
<i>n</i> -Butanol fraction	8.1±0.2 ^a	134.8±1.0 ^c	5.6±0.0 (78.0±0.6) ^c
Water fraction	189.7±5.0 ^c	1033.9±11.4 ^f	3.4±0.0 (8.5±0.2) ^a
BHA	9.2±0.0 ^a	154.3±1.1 ^d	6.2±0.0 (96.7±0.3) ^d
Ascorbic acid	6.1±0.0 ^a	41.2±0.3 ^a	6.2±0.0 (97.2±0.0) ^d

¹⁾IC₅₀ values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

²⁾Mean±SD.

³⁾The tested concentration was 10 µg/mL.

^{a-f}Values with different superscripts were significantly different by Duncan's multiple test ($p < 0.05$).

총폴리페놀 화합물 함량 분석

폴리페놀은 식물 내에 존재하는 여러 페놀화합물의 총칭이다. 이것은 식물의 모든 부분에 존재하는 식물의 2차 대사산물 중 하나이며, phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물을 가지고 있어 다양한 구조와 많은 종류가 보고되어 있다. 이들은 phenolic hydroxyl기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 쉽게 결합하여 radical에 수소를 공여해 그 radical을 제거함으로써 산화억제 작용을 나타내며(36), 페놀성 화합물은 항돌연변이원성, 콜레스테롤 저하작용, 정장작용, 항암 및 항산화 작용 등 다양한 생리활성을 기능을 가지는 것으로 보고되고 있으며(37), 또한 천연항산화제로 작용할 수 있는 폴리페놀화합물은 식물에 존재하는 phytochemical로서, 여러 가지 식용 및 약용 식물에 다량 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다(38).

산복사나무 열매 분획물의 총폴리페놀 화합물 함량을 측정한 결과(Table 3) 에틸아세테이트 분획물이 210.2 mg/g으로 가장 높은 것으로 나타났으며, 다음으로 부탄올 분획물이 198.5 mg/g으로 많았다. 이는 앞선 DPPH, 아질산염 소거능 및 총항산화능 결과와 일치하는 것으로 페놀화합물의 함량이 높을수록 항산화 활성이 높으며, 이는 항산화 활성과 총페놀화합물 간에 연관성이 있음을 시사한다. 머루종실(32) 용매별 분획물의 총폴리페놀 화합물 함량은 에틸아세테이트, 부탄올 분획이 0.649 mg/g, 0.305 mg/g으로 다른 용매 분획물에 비해 많았으며 본 연구와 같은 경향의 결과를 보였다. 또한 이 결과는 머루종실에 비해 산복사나무 열매의 총페놀화합물 함량이 높다는 것도 보여준다. 그 외에도 복분자(39), 머루 과피(26), 선확초(28) 연근(34), 칠면초(40) 용매별 분획물이 같은 경향의 결과를 보였으며, 이들 중 산복사나무 열매의 용매별 분획물의 총폴리페놀 함량이 가장 높음을 확인할 수 있었다. 또한 복숭아 유과(30)와 복숭아 유과 씨(41) 메탄올 추출물과 같은 *Prunus* 계통인 매실로 만들어진 한약재인 오매(42) 에탄올 추출물의 총폴리페놀 화합물 함량도 산복사나무에 미치지 못하는 것을 확인할 수 있었다.

총플라보노이드 함량 분석

플라보노이드는 C6-C3-C6를 기본골격으로 하는 노란색 계통의 색소로, 자연계에 널리 분포되어 있다. 플라보노이드

계 색소로는 flavones, flavanones, flavonols, anthocyanidins, catechins 등이 있으며, quercetin, rutin, kaempferol, myricetin 등은 항암 및 항돌연변이성을 가지고 있다고 알려져 있다(43). 또한 천연항산화제로 작용할 수 있는 플라보노이드 화합물은 식물에 존재하는 phytochemical로서, 여러 가지 식용 및 약용 식물에 다량 함유되어 있으며 폴리페놀 함량이 높은 식물의 대부분이 플라보노이드 함량도 높다고 보고되고 있다(38). 이는 폴리페놀 화합물과 플라보노이드 화합물의 함량 간에 상관관계를 나타낸다.

총플라보노이드 함량 역시 에틸아세테이트 분획물이 244.5 mg/g으로 분획물 중 가장 높았으며 부탄올 분획물은 138.1 mg/g으로 에틸아세테이트 분획물에 비해 유의적으로 낮은 함량을 보였지만, 나머지 분획물들에 비해 높은 플라보노이드 함량을 나타냈었다(Table 3). 이는 앞선 DPPH, 아질산염 소거능 및 총항산화능 결과 및 총폴리페놀 화합물 함량과 일치하는 것을 확인할 수 있다. 같은 장미과 과실인 복분자(39) 용매 분획별 총플라보노이드 함량은 에틸아세테이트, 부탄올 분획이 77.9, 73.4 mg/g으로 나머지 분획에 비해 2배 이상의 함량을 보였는데 이는 본 연구 결과의 경향과 일치함을 확인하였으며, 이러한 결과는 산복사나무 열매보다 2~3배 낮은 결과로 산복사나무의 플라보노이드 함량이 매우 높음을 확인할 수 있었다. 그 외에도 머루 과피(26), 칠면초(40), 구실잣밤나무(44)에서도 같은 경향을 보였으며 이들 모두 산복사나무 열매 분획 추출물의 플라보노이드 함량에 미치지 않는 결과를 보임을 확인할 수 있었다.

Tyrosinase 저해활성 효과

Tyrosinase는 피부 멜라닌 생성에 있어서 매우 중요한 역할을 하고 있으며, melanosome 내에서 tyrosine을 산화시켜 DOPA를 만드는 tyrosine hydroxylase로, DOPA를 산화시켜 DOPA quinone을 만드는 DOPA oxidase로서 작용하여 멜라닌 중합체를 합성하는데 중요한 효소로 작용한다(45). Tyrosinase의 활성을 억제하는 유효물질에는 ascorbic acid, arbutin, kojic acid, azelaic acid, tropolone 등이 보고되고 있으나 안전성과 경제성에 문제가 있어 최근에는 다양한 종류의 식물로부터 tyrosinase 활성 억제작용을 나타내는 물질을 분리하여 이용하고자 하는 시도가 활발히 진행되고 있다(46). 여러 가지 식물에 존재하는 페놀성 화합물은 tyrosinase의 기질인 tyrosine과 구조적으로 유사하여 기질 유사체의 역할을 함으로써 tyrosinase 활성을 저해한다는 사실은 이전의 연구들을 통해 밝혀진 바가 있다(47,48). 또한 여러 연구를 통해 폴리페놀화합물을 다량으로 함유하는 식물 또는 그 추출물은 높은 항산화활성을 가지기 때문에, tyrosinase에 의한 산화반응을 통해 발생하는 물질들을 환원시켜 멜라닌 생합성 반응을 억제시키는 특성을 나타낸다(49).

산복사나무 열매 80% 메탄올 추출물과 이를 극성과 비극성 용매로 분획한 추출물의 tyrosinase 저해활성은 추출물의 처리농도에 따라 의존적으로 저해능이 증가됨을 알 수 있었

Table 3. Total polyphenol and flavonoid contents of *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit extracts

Sample	Content (mg/g)	
	Total flavonoid	Total polyphenol
80% methanol extract	56.0±0.6 ¹⁾	79.3±0.8
Hexane fraction	26.5±0.0 ^b	50.8±0.5 ^b
Ethyl acetate fraction	244.5±1.4 ^d	210.2±3.9 ^d
<i>n</i> -Butanol fraction	138.1±0.3 ^c	198.5±1.9 ^c
Water fraction	5.8±0.0 ^a	14.7±0.9 ^a

¹⁾Mean ± SD.

^{a-d}Values with different superscripts were significantly different by Duncan's multiple test (p<0.05).

Table 4. Whitening effect of *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit extracts

Sample	IC ₅₀ (mg/mL) ¹⁾
80% methanol extract	1.295±0.005 ²⁾
Hexane fraction	ND ³⁾
Ethyl acetate fraction	0.310±0.002 ^b
<i>n</i> -Butanol fraction	0.329±0.006 ^c
Water fraction	ND
Albutin	0.262±0.002 ^a

¹⁾IC₅₀ values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

²⁾Mean ± SD.

³⁾Not detected.

^{a-c}Values with different superscripts were significantly different by Duncan's multiple test ($p < 0.05$).

다. IC₅₀ 값은 80% 메탄올 1.295 mg/mL, 에틸아세테이트 0.310 mg/mL, 부탄올 0.329 mg/mL, 대조군인 albutin 0.262 mg/mL로 에틸아세테이트 분획물이 다른 분획물들에 비해 저해능이 가장 높은 것을 확인할 수 있었으며, 다음으로 부탄올 분획물의 저해능이 높았다. 물과 헥산층은 tyrosinase 활성이 나타나지 않았다(Table 4). 이는 앞선 항산화 결과 및 총페놀, 플라보노이드 함량과 같은 경향을 보이는 것으로 항산화능과 tyrosinase 저해활성이 서로 상관관계가 있다는 것을 확인할 수 있다. 같은 장미과인 눈개승마(27)에서도 비슷한 경향을 보이는데 항산화활성이 높았던 에틸아세테이트 분획이 5.0 mg/mL 농도에서 저해율이 59%로 다른 분획들에 비해 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었다. 또한 산복사나무 열매 에틸아세테이트 분획이 0.400 mg/mL 농도에서 63% tyrosinase 저해활성을 보임으로써 눈개승마보다 활성이 우수함을 확인하였다. 또한 섬서쭈부쟁이(50) 용매별 분획물에서도 같은 경향을 나타내었으며, 저해활성은 산복사나무 열매보다 낮았다.

이상의 결과에서 산복사나무 열매의 유기용매 추출분획 중에서 에틸아세테이트와 부탄올 분획의 활성이 다른 분획에 비해서 높은 생리활성을 나타냈으며, 다른 연구결과들과 비교 시에도 그 활성이 매우 높은 것으로 판단된다. 산복사나무 열매 추출물중 에틸아세테이트 분획 및 부탄올 분획에 대한 생리활성 물질에 대한 분석 및 분리 연구가 필요한 것으로 판단되며 이를 통해서 산복사나무 열매는 기능성 소재 개발에 유용한 자원으로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 산복사나무 열매 과육부를 80% 메탄올 추출물과 이를 극성과 비극성에 따른 순차적 분획물에 대하여 DPPH 소거능, nitrite 소거능, 총항산화능 및 총플라보노이드, 총폴리페놀 함량을 측정하고 tyrosinase 저해활성을 측정하였다. 그 결과 DPPH 소거능의 IC₅₀ 값은 에틸아세테이트 분획과 부탄올 분획이 5.8±0.1 µg/mL, 8.1±0.2 µg/mL로

높은 활성을 나타내었으며, nitrite 소거능 역시 에틸아세테이트 분획과 부탄올 분획의 IC₅₀ 값이 88.1±0.9 µg/mL, 134.8±1.0 µg/mL로 높은 활성을 나타내었다. 총항산화능(TEAC)은 에틸아세테이트 분획이 6.21±0.01 mM로 높은 활성을 나타내었으며 ascorbic acid, BHA와 유의적인 차이가 없는 항산화능을 보였다. 총플라보노이드와 총폴리페놀 함량 역시 에틸아세테이트 분획과 부탄올 분획에서 244.5±1.4, 138.1±0.3 mg/g과 210.2±3.9, 198.5±1.9 mg/g으로 가장 높았으며, tyrosinase 저해활성의 IC₅₀ 값도 0.310±0.002, 0.329±0.006 mg/mL로 에틸아세테이트 분획과 부탄올 분획의 활성이 높았다. 따라서 본 연구 결과 산복사나무 열매의 에틸아세테이트 분획물과 부탄올 분획은 높은 항산화 활성 및 tyrosinase 저해활성을 가지고 있으며 이는 천연항산화제 및 미백제로서 활용이 가능함을 시사하며 추가적인 연구를 통해 기능성 소재 개발에 유용한 자원으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

문 헌

1. Park JH, Lee JK. 2000. *Encyclopedia of herbal medicine*. Shinilbooks, Seoul, Korea. p 177-179.
2. Lee HB, Yang CB, Yu TJ. 1972. Studies on the chemical composition of some fruit vegetables and fruits in Korea (I). *Korean J Food Sci Technol* 4: 36-43.
3. Lee DS, Woo SK, Yang CB. 1972. Studies on the chemical composition of major fruits in Korea - On non-volatile organic acid and sugar contents of apricot (maesil), peach, grape, apple and pear and its seasonal variation-. *Korean J Food Sci Technol* 4: 134-139.
4. Song JH, Son MA, Kim MH. 1992. Comparison of the cell wall components and polygalacturonase activity in peach types. *Korean J Food & Nutrition* 5: 111-115.
5. Seo MH, Lee YM. 2000. *Common trees in Korea (3)*. Hyeonamsa Publishing Co., Seoul, Korea. p 146-147.
6. Cha BC, Lee EH. 2004. Antioxidant and antiinflammation activities of *Prunus persica* tree extracts. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 289-294.
7. Yoon IH, Seo BI, Kim SH. 1996. The effect of *Persicac semen* on the atherosclerosis in rabbit. *J Herbology* 11: 79-98.
8. Kim DH, Lee KS, Song BK. 2000. A study on the analgesic and anticoagulative effects of *Persicac semen* and *Carthami flos* of aqua-acupuncture. *J Oriental Gynecol* 13: 60-73.
9. Lee JY, Hong SG, Choi SW. 2000. Inhibition of enzymatic browning of apple juices by benzoic acid isolated from peach (*Prunus persica* Batsch) seeds. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7: 103-107.
10. Kim JK, Park TW, Lee CJ, Chai YG. 1999. Evaluation of protective effect of peach kernel extracts on radiation-induced DNA damage in human blood lymphocytes in the single cell gel electrophoresis assay. *J Korean Asso Radiat Prot* 24: 93-99.

11. Kim HS. 2004. Effects of the *Prunus persica* Batsch var. *davidiana* Max extract on the lipid compositions and enzyme activities in hyperlipidemic rats. *Korean J Food Nutr* 17: 328-336.
12. Kim HS. 2004. Effects of the *Prunus persica* Batsch var. *davidiana* Max extract on the blood glucose and serum lipid components in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Nutr* 17: 337-345.
13. Kim HS. 2005. Effects of *Prunus persica* Batsch var. *davidiana* Max extract on the free fatty acid, creatine phosphokinase and LCAT activities in hypercholesterolemic rats. *Korean J Food Nutr* 18: 265-271.
14. Kim HS. 2005. The effects of *Prunus persica* Batsch var. *davidiana* Max hot-water extract on the lipid peroxide and creatine phosphokinase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Nutr* 18: 272-278.
15. Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasugara T, Yoshida T, Okuda T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances, VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull* 37: 2016-2021.
16. Kato H, Lee IE, Cheyen NV, Kim SB, Hayse F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
17. Kim DA, Ahn BW, Yeum DM, Lee DH, Kim SB, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.
18. 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.
19. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
20. Xu ML, Hu JH, Wang L, Kim HS, Jin CW, Cho DH. 2010. Antioxidant and anti-diabetes activity of extracts from *Machilus thunbergii* S. et Z. *Korean J Medicinal Crop Sci* 18: 34-39.
21. Kim SS, Hyun CG, Lee JS, Lim JH, Kim JY, Park DH. 2007. *In vitro* screening of Jeju medicinal plants for cosmeceutical materials. *J Appl Biol Chem* 50: 215-220.
22. Duh PD, Yeh DB, Yen GC. 1992. Extraction and identification of an antioxidant component from peanut hull. *J Am Oil Chem Soc* 69: 818-819.
23. Bałasińska B, Troszyńska A. 1998. Total antioxidative activity of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract measured in vitro by liposome model and murine L1210 cells. *J Agric Food Chem* 46: 3558-3563.
24. Lee KS, Kim GH, Kim HH, Choi JW, Lee HC, Song MR, Kim MR, Lee GH. 2009. Physicochemical characteristics of *Liriope platyphylla* tubers by drying process. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1104-1110.
25. Jeon HR, Kim MH, Son CW, Kim MR. 2009. Quality characteristics and antioxidant activity of calcium-added gallic yanggaeng. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 195-200.
26. Choi SY, Cho HS, Sung NJ. 2006. The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape (*Vitis Coignetia*) skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 961-966.
27. Kim MS, Kim KH, Jo JE, Choi JJ, Kim YJ, Kim JH, Jang SA, Yook HS. 2011. Antioxidative and antimicrobial activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 47-55.
28. Min KJ, Song JW, Cha CG. 2008. The antioxidative and antitumor activity of extracts of *Agrimonia pilosa*. *J Fd Hyg Safety* 23: 149-156.
29. Yoon JH, Yang DC, Song WS. 2005. Antioxidative activity of the extracts of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). *Korea J Plant Res* 8: 188-193.
30. Kim KH, Kim DM, Yu S, Yook HS. 2012. Antioxidant and whitening activities of various cultivars of Korean unripe peaches (*Prunus persica* L. Batsch). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 156-160.
31. Swann PF. 1975. The toxicology of nitrate, nitrite and *n*-nitroso compounds. *J Sci Food Agric* 26: 1761-1770.
32. Park HS. 2011. Comparison of antioxidant activities of wild grape seed (*Vitis coignetia* seed) extracts by solvents. *Korean J Culinary Res* 17: 270-279.
33. Kim AR, Lee JJ, Jung HO, Lee MY. 2010. Physicochemical composition and antioxidative effects of yacon (*Polyminia Sonchifolia*). *J Life Sci* 20: 40-48.
34. Lee JJ, Ha JO, Lee MY. 2007. Antioxidative activity of lotus root (*Nelumbo nucifera* G.) extracts. *J Life Sci* 17: 1237-1243.
35. Hassas-Roudsari M, Chang PR, Pegg RB, Tyler RT. 2009. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanol and hot water extraction. *Food Chem* 114: 717-726.
36. Labuza TP. 1971. Kinetic of lipid oxidation in foods. *CRS Crit Rev Food Technol* 2: 355-405.
37. Chio SY, Cho HS, Sung NJ. 2006. The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape (*Vitis coignetia*) skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 961-966.
38. Choi SY, Lim SH, Kim JS, Ha TY, Kim SR, Kang KS, Hwang IK. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 37: 549-556.
39. Cho WG, Han SK, Sin JH, Lee JW. 2008. Antioxidant of heating pork and antioxidative activities of *Rubus coreanus* Miq. extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 820-825.
40. Lee KS, Gim JC, Son SM, Lee KY. 2011. Antioxidative effect of *Suaeda japonica* ethanol extract and solvent partitioned fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 804-808.
41. Kim DM, Kim KH, Kim YS, Koh JH, Lee KH, Yook HS. 2012. A study on the development of cosmetic materials using unripe peaches seed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 110-115.
42. Jeon YH, Kwon JE, Kim MR. 2010. Study on antioxidant and cytotoxic activities in ethanol extract from *Prunus mume*. *J East Asian Soc Dietary Life* 20: 751-758.
43. Hetog 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.
44. Kim JY, Yoon WJ, Yim EY, Park SY, Kim YJ, Song GP. 2011. Antioxidative and antimicrobial activities of *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* extracts. *Korean J Plant Res* 24: 200-207.
45. Hearing VJ, Jiménez M. 1987. Mammalian tyrosinase the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *Int J Biochem* 19: 1141-1147.
46. Jung SW, Lee MK, Kim SJ, Han DS. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.
47. Boissy RE, Manga P. 2004. On the etiology of contact/occupational vitiligo. *Pigment Cell Res* 17: 208-214.
48. Sugumaran M. 2002. Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and

- melanin in insects. *Pigment Cell Res* 15: 2-9.
49. Kim YJ, Uyama H. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell Mol Life Sci* 62: 1707-1723.
50. Kim HH, Park GH, Park KS, Lee JY, Kim TH, An BJ. 2010. The effect of *Aster glehni* Fr. Schm. extracts on whitening and anti-wrinkle. *J Life Sci* 20: 1034-1040.

(2012년 6월 12일 접수; 2012년 9월 12일 채택)