

## 추출방법에 따른 돼지감자 잎의 항산화 및 생리활성 비교

김재원 · 김종규 · 송인성 · 권은성 · 윤광섭<sup>†</sup>

대구가톨릭대학교 식품공학전공

### Comparison of Antioxidant and Physiological Properties of Jerusalem Artichoke Leaves with Different Extraction Processes

Jae-Won Kim, Jong-Kyoun Kim, In-Seong Song, Eun-Sung Kwon, and Kwang-Sup Youn<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

#### Abstract

The physiological properties of water extracts from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves (JAL) with different extraction processes (stirrer extraction, SE; reflux extraction, RE; autoclave extraction, AE; low temperature high pressure extraction, LTPE) were investigated. The freeze-dried powder yields of SE, RE, AE, and LTPE were 22.33%, 29.88%, 31.65, and 15.74%, respectively. AE showed the highest value of extract yield. The  $a^*$  and  $b^*$  values were higher in AE compared to other extracts. Total polyphenolics and flavonoids contents in AE was significantly higher than in other extracts. The amount of proanthocyanidin related substances were highest in LTPE (29.36 mg/g), followed by RE (21.57 mg/g), SE (20.35 mg/g), and AE (13.02 mg/g). The electron donating abilities of SE, RE, AE, and LTPE at a concentration of 500  $\mu\text{g/mL}$  (w/v) were 76.16%, 39.55%, 25.50%, and 12.59%, respectively. Reducing power for the four different processes was 1.79, 1.60, 1.51, and 1.17, respectively. Additionally the same tendency was observed with electron donating ability and reducing power for ABTS radical and nitrite scavenging abilities. AE and LTPE showed relatively high antioxidant activities. *Alpha*-glucosidase, xanthine oxidase, and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of LTPE at a concentration of 500  $\mu\text{g/mL}$  (w/v) were somewhat higher than other extracts. Additionally, there was significantly higher or little lower inhibitory activity compared to the control group. In conclusion, we provided experimental evidence that extracts of JAL have potential as functional materials, and component analysis of JAL could be used as new cosmeceuticals. Also, LTPE is the superior method for the enhancement of biological activity.

**Key words:** Jerusalem artichoke leaves, antioxidant, physiological functionalities, extraction

#### 서론

최근 국민 식생활 수준의 개선과 가공 산업의 발달로 각종 농산 생산물들의 상당량이 산업적으로 가공처리 되고 있으나 제조 과정 중에 대량의 부산물이 발생하고 있으며, 이들 대부분은 폐기물로 버려지고 있어 이를 자원화 하려는 연구가 다각적으로 이루어지고 있다(1). 특히 천연물의 미량 원소 중 폴리페놀성 화합물 항산화제가 질환의 예방 및 치료제로서 관심을 끌고 있으며 부산물을 활용한 고부가가치의 기능성 소재로 사용될 수 있는 천연신소재 발굴이 주목을 받고 있다.

돼지감자(*Helianthus tuberosus* L.)는 국화과 해바라기 속의 쌍떡잎 다년생 식물로 일명 돼지감자 혹은 똥판지로 불리며 다이어트에 좋고, 특히 성인병예방에 효과적인 것으로 알려지면서 최근 들어 주목받고 있는 작물로 북아메리카가 원산지이며, 우리나라의 기후조건에 맞아 전국 각지에

자생하고 있다(2). 돼지감자는 환경적응성이 강하며 생산량이 30 t/ha 이상 가능한 것으로 나타나 대량 수확할 수 있고 비교적 저렴한 가격으로 고소득을 올리는 경제작물로 인정되고 있다. 국내에서 재배 가능성이 충분히 입증됨에 따라 돼지감자 및 어린잎의 활용도를 높이기 위하여 건조, 분말가공, 나물통조림, 염장포장 등 중간가공품 개발 등이 이루어지고 있으나 제품의 기호성과 생리적 효능이 규명되어 있지 않아 생산과 판매에 어려움이 따라왔으며, 따라서 이를 자원화 하려는 연구가 다각적으로 이루어질 필요가 있다. 돼지감자의 구근을 수확하기 위해서는 수확 전 어린잎을 솟아 주게 되는데 이때 채취되는 어린잎을 민간에서는 데쳐서 씹을 싸 먹거나 그대로 무쳐서 나물로 먹기도 하였으며, 물로 달여서 차처럼 음용하기도 하였다. 최근에는 나물용 재료로 건조하거나 분말로 이용하는 등 활용범위가 증대되고 있으나 대부분은 폐기물로 버려지고 있어 폐자원 활용 측면에서도 의의를 찾을 수 있다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: ksyoun@cu.ac.kr  
Phone: 82-53-850-3209, Fax: 82-53-850-3209

돼지감자의 주된 성분은 fructose 중합체인 이눌린으로 이는 피경 건물중량의 약 75%를 차지한다(3). 이눌린의 효능으로 변비개선, 장 질환예방, 혈청 콜레스테롤 감소, 혈중 지질저하 및 혈당강하 등의 효능이 있는 것으로 보고(4)되었다. 현재까지 돼지감자의 연구로는 피경에 그 주제가 한정되어 왔으나 최근 들어 돼지감자 잎의 간세포 보호효과(5), 돼지감자 잎 분획물의 유용성분과 항산화 활성(6) 등이 보고되면서 돼지감자 잎의 우수성이 밝혀진바 있다. 한편 돼지감자 잎의 추출방법에 따른 기능적 특성에 관한 연구는 전무한 실정이며 이들을 유용하게 사용하기 위해서는 그 효능에 대한 과학적인 근거의 제시가 절실히 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 돼지감자 잎의 이용가치를 향상시키고 효율적인 추출방법을 구명하고자 추출방법에 따른 생리활성을 조사함으로써 효과적인 추출방법을 제시하고, 기능성 소재로서의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 연구에서 사용한 돼지감자(*Helianthus tuberosus* L.) 잎은 2009년 6월 전남 장성군 삼계면에서 채취한 것을 제공 받았으며 세척한 후 동결건조(freeze dryer, FD SFDSM12, Samwon, Seoul, Korea)한 다음 분쇄기(IKA A11 basic, IKA-Werke GmbH, Staufen, Germany)를 사용하여 40 mesh로 분쇄한 분말을  $-50^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 추출물의 제조 및 수율 측정

돼지감자 잎 추출방법은 분쇄시료 100 g에 10배의 증류수를 가한 후 상온교반추출(stirrer extraction, SE), 환류냉각추출(reflux extraction, RE), 가압가열추출(autoclave extraction, AE), 저온고압추출(low temperature high pressure extraction, LTPE) 방법으로 추출물을 제조하였다. 상온교반추출은  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 실온에서 교반기(Wise Stir SMHS-3, DAIHAN Scientific Co., Seoul, Korea)를 이용하여 250 rpm으로 24시간 3회 반복 추출하였고, 환류냉각추출은 분쇄시료와 용매를 넣은 용기에 냉각관을 부착하여  $80^{\circ}\text{C}$ 의 맨틀 상에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 가압가열추출은 고압autoclave(DF-100A, DOORI Scientific Co., Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여  $121^{\circ}\text{C}$ 에서 15분 동안 추출하였으며 저온고압추출은 rapid extractor(FT110, Benchtop rapid extractor, ARMPFIELD, Hampshire, England)를 이용하여 실온에서 1시간 동안 8.0 bar의 압력 하에서 2회 반복 추출하였다. 각각의 추출물은 Whatman No. 1 여과지(Toyo Ltd., Tokyo, Japan)로 여과한 다음 rotary vacuum evaporator(rotary vacuum evaporator N-N series, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압농축한 후에 동결건조(FD SFDSM12, Samwon)하여 분말 시료를 제조하였으며  $-50^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서

실험에 사용하였다. 각 추출물들의 수율은 추출액을 동결건조시켜 건물 중량을 구한 다음 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 나타내었다.

### 색도 측정

추출 분말의 색도는 표준백색판으로 보정된 Chromameter(Chromameter CR-200, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. Hunter scale에 의한  $L^*$ (lightness),  $a^*$ (redness-greenness),  $b^*$ (yellowness-blueness) 및  $H^{\circ}$ (Hue angle) 값을 측정하였으며, Chroma value는 다음의 계산식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Chroma value} = \sqrt{a^2 + b^2}$$

### 폴리페놀 함량 측정

Dewanto 등(7)의 방법에 따라 시료 100  $\mu\text{L}$ 에 2% sodium carbonate 2 mL와 50% Folin-Ciocalteu reagent 100  $\mu\text{L}$ 를 가한 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였으며 gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

### 플라보노이드 함량 측정

Abdel-Hameed(8)의 방법에 따라 시료 100 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 1mL를 가하고 vortex 상에서 가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 rutin hydrate(Sigma-Aldrich Co.)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

### 프로안토시아닌 함량 측정

Vanillin-sulfuric acid법(9)에 따라 시료 200  $\mu\text{L}$ 에 1.2% vanillin 용액 500  $\mu\text{L}$ 와 20% sulfuric acid 500  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 20분간 방치한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였으며, (+)-catechin(Sigma-Aldrich Co.)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성 측정

Blois(10)의 방법에 따라 시료 0.2 mL에 0.4 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 용액 0.8 mL를 가하여 10분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 계산식 DPPH radical scavenging ability(%) =  $100 - [(O.D \text{ of sample} / O.D \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성도를 산출하였다.

### 환원력 측정

Saeedeh와 Asna(11)의 방법에 따라 시료 1 mL에 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide 용액 2.5 mL를 가한 후  $50^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 반응시켰다. 다음 10% trichloroacetic acid(TCA) 용액 2.5 mL를 가한 후  $1,650 \times g$ 에서 10분간 원심분리 하였으며, 상청액 2.5 mL에 증류수 2.5 mL와 0.1%  $\text{FeCl}_3$  용액 0.5 mL를 가한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### ABTS radical 소거활성 측정

Re 등(12)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  $\mu$ L에 추출물 50  $\mu$ L를 가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 계산식 ABTS radical scavenging ability(%) =  $100 - [(O.D \text{ of sample} / O.D \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성을 산출하였다.

### 아질산염 소거능 측정

Kato 등(13)의 방법에 따라 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 1 mL에 추출물 1 mL를 가하고 0.1 N HCl과 0.2 M citrate buffer(pH 2.5)를 가하여 총 부피를 10 mL로 조정하였다. 다음에 37°C에서 1시간 반응시킨 후 1 mL를 취하여 2% 초산용액 3 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1:1) 0.4 mL를 순차적으로 가한 후 실온에서 15분간 방치, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess reagent 대신 증류수를 사용하였으며, 계산식 nitrite scavenging activity(%) =  $100 - [(O.D \text{ of sample} / O.D \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 산출하였다.

### $\alpha$ -glucosidase 저해효과 측정

Kim 등(14)의 방법에 따라 추출물 0.05 mL, 1 unit/mL  $\alpha$ -glucosidase 0.05 mL와 200 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 0.05 mL를 잘 혼합하여 37°C에서 10분간 전처리 하였다. 다음에 3 mM pNPG(*p*-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside) 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.75 mL로 반응을 정지시켜 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 저해활성은  $\alpha$ -glucosidase inhibition(%) =  $[1 - (C_{Abs} - S_{Abs}) / (C_{Abs} - B_{Abs})] \times 100$ : “C<sub>Abs</sub>, 대조구 흡광도; S<sub>Abs</sub>, 시료 흡광도; B<sub>Abs</sub>, 시료 무첨가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

### Xanthine oxidase(XO) 저해활성 측정

Stirpe와 Della Corte의 방법(15)에 따라 추출물 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 2 mM xanthine 기질액 0.2 mL를 첨가하고 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하였다. 다음에 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종결시킨 다음, 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 계산식 xanthine oxidase inhibition(%) =  $100 - [(O.D \text{ of sample} / O.D \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 산출하였다.

Angiotensin I-converting enzyme(ACE) 저해활성 측정 ACE 저해활성은 Cushman과 Chung의 방법(16)을 변형

하여 측정하였으며, 조효소액은 rabbit lung acetone powder(Sigma-Aldrich Co.)를 0.2 g/10 mL(w/v)의 농도로 4°C에서 24시간 추출한 후, 원심분리(4°C, 4,000 rpm, 40 min)하여 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 기질은 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 HLL(hippuryl-histidyl-leucine, Sigma-Aldrich Co.)을 5 mg/mL(w/v)의 농도로 녹인 후 기질로 사용하였다. ACE 저해활성은 시료 50  $\mu$ L에 ACE 조효소액 50  $\mu$ L를 가한 다음 37°C에서 5분간 예비 반응을 시킨 후, 기질 50  $\mu$ L를 가하고 다시 37°C에서 1시간 반응시켰다. 다음 1 N HCl 150  $\mu$ L를 가하여 반응을 정지시키고 750  $\mu$ L의 ethyl acetate를 가한 후, 1분간 교반하고 원심분리(4°C, 5,000 rpm, 10 min)한 다음 500  $\mu$ L의 상등액을 얻었다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시켜 2 mL의 methanol을 넣은 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 추출용매 50  $\mu$ L를 가하여 측정하였으며, 저해활성은 계산식 ACE inhibition(%) =  $[1 - (C_{Abs} - S_{Abs}) / (C_{Abs} - B_{Abs})] \times 100$ : “C<sub>Abs</sub>, 대조구 흡광도; S<sub>Abs</sub>, 시료 흡광도; B<sub>Abs</sub>, 시료 무첨가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

### 통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 행하여 평균치와 표준편차로 나타내었고, 유의성 검증은 version 12의 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

## 결과 및 고찰

### 수율 및 색도

추출방법을 달리한 돼지감자 잎의 추출수율 및 색도는 Table 1과 같다. 추출수율은 환류냉각추출(RE, reflux extraction), 상온교반추출(SE, stirrer extraction), 가압가열추출(AE, autoclave extraction), 저온고압추출(LTPE, low temperature high pressure extraction)이 각각 22.33%, 29.88%, 31.65% 및 15.74%로 추출방법에 따라 유의적인 차이를 나타내었으며, 가압가열추출, 환류냉각추출, 상온교반추출, 저온고압추출 순으로 높은 수율을 나타내었다. 식물성 polyphenolic 화합물의 경우 수용성 또는 지용성으로 구분되며 추출되는 조건에 따라 그 성분들이 달라지기 때문에 추출수율에 있어서도 많은 차이를 나타낸다(17). 일반적으로 열처리 공정에 의하여 불용성 세포벽의 수용화에 의해 수용성식이섬유가 증가하게 되며(18), 수용화 과정 중에 식물조직의 구조적인 변화에 따라 불용성 식물세포벽으로부터 식이섬유 성분이 용해된다. 고압 하에서는 단백질이 변성되거나 세포막이 비가역적으로 분해되어 막 투과성이 증가됨에 따라 물질 이동이 용이하게 되어 보다 많은 성분이 세포 밖으로 용출되는 것으로 추정하고 있다. 본 연구에서 환류냉각추

Table 1. Yields, and Hunter's color value of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves extracts with different extraction methods

Samples <sup>1)</sup>	Yields (%, DB <sup>2)</sup> )	Hunter's color value				
		L* (lightness)	a* (redness)	b* (yellowness)	H° (hue angle)	Chroma value
SE	22.33±0.20 <sup>3)c4)</sup>	35.97±0.72 <sup>NS5)</sup>	-1.49±0.05 <sup>c</sup>	1.43±0.04 <sup>d</sup>	135.87±0.49 <sup>a</sup>	2.07±0.06 <sup>c</sup>
RE	29.88±0.14 <sup>b</sup>	34.69±0.91	-1.59±0.11 <sup>c</sup>	1.71±0.14 <sup>c</sup>	132.33±0.59 <sup>b</sup>	2.34±0.17 <sup>b</sup>
AE	31.65±0.31 <sup>a</sup>	35.91±1.00	-0.17±0.02 <sup>a</sup>	3.43±0.16 <sup>a</sup>	92.77±0.38 <sup>d</sup>	3.43±0.16 <sup>a</sup>
LTPE	15.74±0.14 <sup>d</sup>	34.50±0.24	-1.24±0.02 <sup>b</sup>	2.24±0.03 <sup>b</sup>	118.33±0.29 <sup>e</sup>	2.56±0.03 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>SE, stirrer extraction; RE, reflux extraction; AE, autoclave extraction; LTPE, low temperature high pressure extraction.

<sup>2)</sup>DB: dry basis.

<sup>3)</sup>Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

<sup>4)</sup>Different superscripts within a column (a-d) indicate significant differences (p<0.05).

<sup>5)</sup>NS: not significant.

출 및 가압가열추출 시 높은 수율을 나타내는 것은 열과 압력에 의하여 불용성 성분들이 가용성화 됨에 따라 용출이 용이하게 된 결과라 판단되며, 가압가열추출에서 추출시간 대비 높은 수율을 나타내는 점으로 볼 때 적정 고온의 온도 처리와 압력에 의한 추출법이 산업적 적용에 경제적인 것으로 판단된다. 한편 Jin 등(19)은 저온고압 공정을 통한 매자나무 추출물이 일반 추출공정을 통한 추출물에 비해 약 1.3 배 수율이 향상된다고 보고하여 본 연구와는 상반된 결과를 나타내었는데 이는 고압 추출공정이 길어짐에 따라 수율 또한 증가한다는 보고(20)로 미루어 볼 때 적정 추출조건을 통하여 수율을 증진시킬 수 있을 것으로 여겨진다. 색도에서는 밝기를 나타내는 L\* 값의 경우 추출방법에 따른 차이는 나타나지 않았다. 반면 가압가열추출 및 저온고압추출의 경우 적색도를 나타내는 a\* 및 황색도를 나타내는 b\* 값은 증가하였으며, 색상을 나타내는 H°값 및 채도를 나타내는 chroma value는 감소하는 경향을 나타내었다.

#### 폴리페놀, 플라보노이드 및 proanthocyanidin 함량

추출방법을 달리한 돼지감자 잎 추출물의 폴리페놀, 플라보노이드 및 proanthocyanidin의 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. SE, RE, AE 및 LTPE의 폴리페놀 함량은 g당 39.76 mg, 41.12 mg, 96.90 mg 및 56.71 mg으로 상온교반추출 및 환류냉각추출의 경우 대등한 함량을 나타낸 반면 가압가열추출 및 저온고압추출에서는 유의적으로 높은 함량을 나타내었는데, 특히 가압가열추출이 다른 추출방법에 비하여 1.7~2.4배 높은 함량을 나타내었다. Yuan 등(6)의 보고에 따르면 돼지감자 잎의 분획별에 따른 총 폴리페놀 함량의 경우 60% 에탄올을 가한 crude 추출물의 경우 g당 101.07

mg이 검출되었다고 보고하여 본 연구에서 가압가열추출물과 유사한 함량을 나타내었다. 한편 petroleum ether, ethyl acetate, n-butanol 및 water fraction의 경우에는 g당 각각 31.89 mg, 266.69 mg, 135.72 mg 및 52.45 mg이 검출되었으며 추출용매에 따른 함량의 차이를 나타내는 것으로 보고하였다. 동정된 주된 활성성분으로는 3-O-caffeoylquinic acid, caffeic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, 1,5-dicaffeoylquinic acid, 4,5-dicaffeoylquinic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid methyl ether 등의 화합물이 확인되었는데 본 연구에서 추출방법에 따른 활성의 차이는 페놀 화합물의 함량 비에 따른 결과라 사료된다. 플라보노이드 함량에서는 g당 각각 24.10 mg, 22.44 mg, 30.58 mg 및 26.24 mg으로 가압가열추출 및 저온고압추출에서 높은 함량을 나타내어 폴리페놀 함량의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. Proanthocyanidin 함량에서는 SE, RE, AE 및 LTPE가 g당 각각 20.35 mg, 21.57 mg, 13.02 mg 및 29.36 mg으로 저온고압추출에서 가장 높은 함량이 검출된 반면 가압가열추출에서는 상온교반 및 환류냉각추출에 비해 낮은 함량을 나타내어 고온에 의한 성분의 손실이 있는 것으로 나타났다. 식품 중 과일 및 채소류의 경우 열처리 시 열에 민감한 성분의 손실은 발생하지만 처리하는 동안 발생하는 다양한 화학적 변화에 의해 생리활성 물질이 증가되며, 대표적인 성분이 폴리페놀인 것으로 보고되고 있다(21). 또한 열처리에 따른 페놀성 함량의 증가 원인은 식물체의 배당체로 존재하는 페놀성 물질이 불용성 성분으로부터 유리되기 때문이며, 항산화활성의 증가 요인은 열처리 시 항산화활성을 갖는 페놀성 물질의 증가(7)와 비효소적 갈변반응인 maillard 반응의 중간 생성물중 일부가 항산

Table 2. Total polyphenol, flavonoid, and proanthocyanidin contents of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves extracts with different extraction methods (mg/g, dry basis)

Measurement	SE <sup>1)</sup>	RE <sup>2)</sup>	AE <sup>3)</sup>	LTPE <sup>4)</sup>
Polyphenols (mg GAE <sup>5)</sup> /g)	39.76±0.12 <sup>8)c9)</sup>	41.12±3.41 <sup>c</sup>	96.90±2.55 <sup>a</sup>	56.71±2.51 <sup>b</sup>
Flavonoids (mg RHE <sup>6)</sup> /g)	24.10±0.57 <sup>c</sup>	22.44±0.26 <sup>c</sup>	30.58±1.61 <sup>a</sup>	26.24±0.84 <sup>b</sup>
Proanthocyanidins (mg CE <sup>7)</sup> /g)	20.35±1.42 <sup>b</sup>	21.57±1.16 <sup>b</sup>	13.02±0.52 <sup>c</sup>	29.36±1.88 <sup>a</sup>

<sup>1-4)</sup>See Table 1.

<sup>5-7)</sup>GAE, gallic acid equivalents; RHE, rutin hydrate equivalents; CE, catechin hydrate equivalents.

<sup>8)</sup>Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

<sup>9)</sup>Different superscripts within a row (a-c) indicate significant differences (p<0.05).

화활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(22). Choi 등(23)은 표고버섯을 autoclave 장치로 100°C와 121°C의 온도에서 각각 15분, 30분 열처리 시 free형, bound형의 폴리페놀 화합물의 증가와 항산화활성 등이 증가한다고 보고하여 본 연구와 일치하는 결과를 나타내었다. 이와 같은 현상은 식물체의 세포벽에 불용성 polymer와 함께 공유결합을 형성하여 존재하는 bound형 폴리페놀 화합물이 열처리에 의해 free형 폴리페놀로 유리되어 용출이 용이해지거나, 일부 고분자의 페놀성 화합물이 저분자의 폴리페놀로 전환되었기 때문이라 보고한 바 있다. 한편 Jiratanan과 Liu(24)는 열처리에 의한 유용성분과 항산화 활성은 식물체의 종류나 결합구조에 따라 다양하게 나타난다고 보고하였으며 소재에 따른 성분의 변화가 영향을 미치는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 가압 가열추출 시 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 증대된 결과는 이에 기인된 현상이라 사료되며 저온고압추출에서 함량이 증대되는 현상은 높은 압력에 의하여 식물체의 세포벽이 파괴되어 bound형 페놀성 화합물이 유리되기 때문이라 판단된다.

#### DPPH 라디칼 소거활성 및 환원력

추출방법을 달리한 돼지감자 잎 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성 및 환원력을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 10~1,000 mg% 농도에서의 DPPH 라디칼 소거활성은 추출방법 별 유의적인 차이를 나타내었으며 농도가 증가함에 따라 활성은 비례적으로 증가하였다. 100 mg%의 농도에서 SE, RE, AE 및 LTPE는 각각 65.80%, 21.56%, 12.61% 및 11.23%로 가압가열추출 및 저온고압추출에서 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 가압가열추출물은 대조군인 BHT(butylated hydroxytoluene)보다 우수한 활성을 나타내었다. 농도가 증가할수록 환원력도 유의적으로 증가하였으며 DPPH 라디칼 소거활성과 유사한 경향을 나타내었는데, 50 mg% 농도에서의 환원력(OD<sub>700</sub>)은 LTPE(0.69)가 BHT(0.70)와 대등한 값

을 나타내었으며 SE, RE, AE에서 추출물의 농도가 증가함에 따라 그 활성 역시 증가하기 때문에 기능성 소재로서의 활용도는 높을 것으로 사료된다. Osawa(25)는 phenol성 물질이 항산화능을 포함한 다양한 생리적 효능을 나타내며 이는 주로 환원력에 의한 효과라고 보고한 바 있으며, Kwon 등(26)은 처리온도(110~150°C), 시간(1~5 h)을 변수로 고온고압 처리한 결과 항산화활성, 폴리페놀, 플라보노이드 및 갈변지표 물질인 HMF(5-hydroxymethylfurfural) 함량이 유의적으로 증가하였으며 처리 시간보다는 온도에 더 많은 영향을 준다고 보고하여 온도와 압력에 따른 상관관계를 보고하였다. 따라서 가압가열추출에서 DPPH 라디칼 저해활성 및 환원력이 높은 현상은 이에 함유된 폴리페놀 함량 및 갈변물질에 기인된 것으로 판단되며 추출방법에 따라 항산화성분의 전환 및 추출되는 정도가 달라짐에 따른 결과로 여겨진다. 한편 낮은 농도에서도 우수한 활성을 나타낸 가압가열추출의 경우 단일 성분이 아닌 추출물임을 고려해 볼 때 활성성분의 분리 및 구조 동정을 통하여 우수한 유효성을 가지는 항산화제 개발이 가능할 것으로 판단된다.

#### ABTS 라디칼 소거활성 및 아질산염 소거능

추출방법을 달리한 돼지감자 잎 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성 및 아질산염 소거능을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. SE, RE, AE 및 LTPE의 ABTS 라디칼 소거활성은 농도가 증가함에 따라 그 활성도 비례적으로 증가하였으며 10 mg% 농도에서는 추출방법에 따른 모든 추출물이 대조군 BHT보다는 낮은 활성을 나타낸 반면, 50~500 mg%의 농도에서는 가압가열추출 및 저온고압추출에서 BHT와 유사하거나 다소 높은 활성을 나타내었다. 한편 동일 농도(50~500 mg%)의 모든 처리구에서 ABTS 라디칼 소거능이 전자공여능에 비하여 높은 활성을 나타내는 것은 라디칼을 제거하는 기작이 다르고, 기질이 결합하는 정도가 다르다는 점에서 낮은 농도에서도 높은 활성을 나타내는 것으로 판단된다

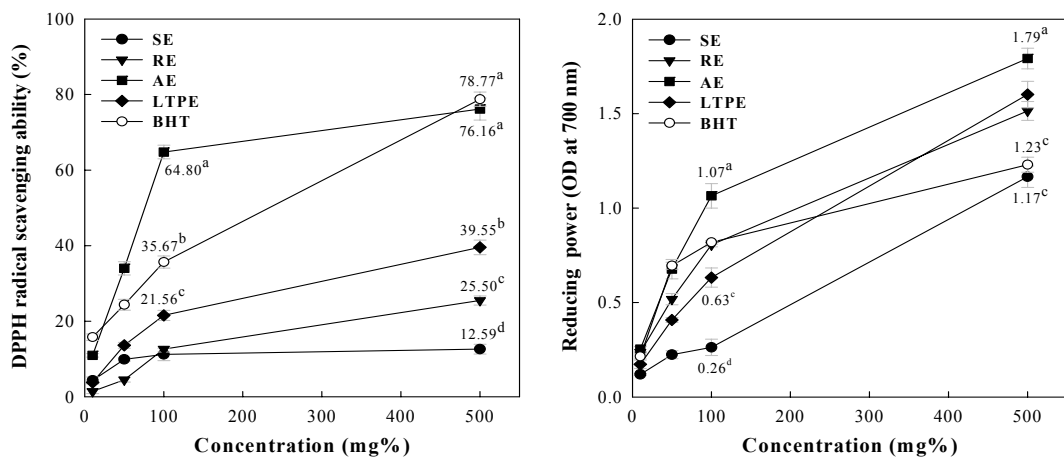


Fig. 1. DPPH radical scavenging ability and reducing power of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves extracts with different extraction methods. Values are means  $\pm$  standard deviation of triplicate determinations. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ).

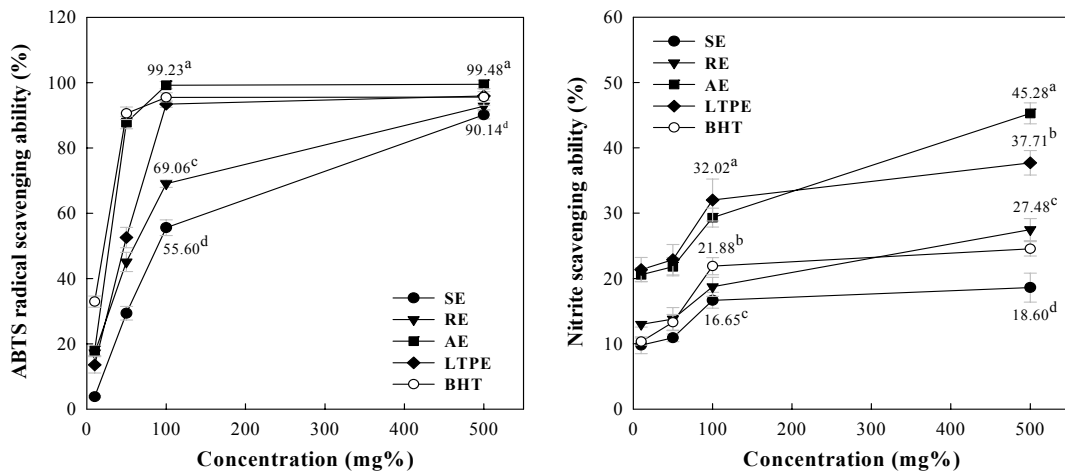


Fig. 2. ABTS radical scavenging ability and nitrite scavenging ability of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves extracts with different extraction methods. Values are means  $\pm$  standard deviation of triplicate determinations. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ).

(12). 10~500 mg%의 농도에서의 아질산염 소거능은 AE (20.57~45.28%) 및 LTPE(21.36~37.71%)가 BHT(10.34~24.54%)에 비해 유의적으로 높은 활성을 나타내었으며 가압가열추출, 저온고압추출, 환류냉각추출, 상온교반추출 순으로 높은 활성을 나타내었다. Takashi 등(27)의 보고에 따르면 폴리페놀과 플라보노이드 화합물은 종류에 따라 차이는 있으나 phenolic 유도체들이 nitroso 화합물의 생성을 억제한다고 하여 본 연구에서 추출방법에 따른 소거활성의 차이는 페놀화합물의 함량 차이에 의한 결과라 판단되며, 유용성분의 함량이 높을수록 라디칼 소거능이 높아지는 양적 상관관계를 나타내는 것으로 확인되었다.

#### $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase 및 ACE 저해활성

추출방법을 달리한 돼지감자 잎 추출물의  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase(XO) 및 angiotensin I-converting enzyme(ACE) 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 500  $\mu$ g/mL 농도에서  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 SE, RE, AE 및 LTPE가 각각 22.76%, 36.30%, 47.27% 및 54.59%로 저온고압추출에서 가장 높았으며, 다음으로 가압가열, 환류냉각,

상온교반추출 순으로 나타났다. 일반적으로 폴리페놀과 사포닌계 화합물이  $\alpha$ -glucosidase 효소 활성 저해에 관여하는데 vanillic acid, *p*-hydroxybenzaldehyde과 같은 phenolic acid계 및 플라보노이드계 화합물이 항산화 효과뿐만 아니라 높은  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 보고되고 있다(28). 현재 당뇨병 치료를 위해 사용되고 있는 경구 혈당강하제는 작용기전에 따라 인슐린분비촉진제, 간에서 포도당신합성 억제제, 인슐린 감작제 그리고 소화관에서 포도당 흡수를 지연시키는 약물인  $\alpha$ -glucosidase 저해제 등으로 분류된다. 이들 중 식후의 혈당을 강하하기 위해 널리 쓰이는 약제 중의 하나가  $\alpha$ -glucosidase 저해제이며, 현재 acarbose와 voglibose 등의  $\alpha$ -glucosidase 저해제가 시판되고 있으나 이들 약제를 장기간 복용할 경우 일부 환자에서 복부팽만감, 구토, 설사 등 부작용을 나타날 수 있다(29). 이에 부작용이 적은 천연물로부터 혈당강하제를 찾으려는 연구가 활발히 진행되고 있으며 황금(30), 베밀(31), 조릿대잎(32), 복분자(33) 등의 추출물에서  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 높다고 보고된 바 있다. 돼지감자 잎 저온고압추출의 경우 양성 대조군인

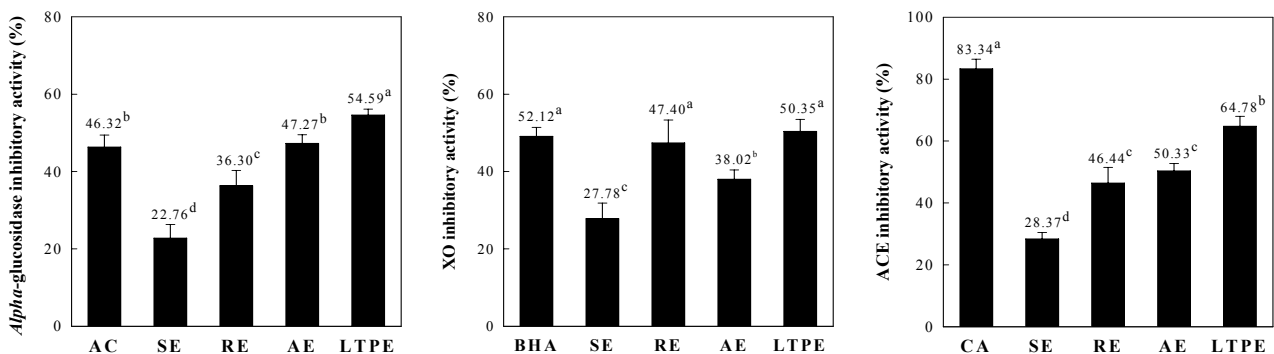


Fig. 3.  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase (XO), and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves extracts with different extraction methods (500  $\mu$ g/mL, dry basis). Values are means  $\pm$  standard deviation of triplicate determinations. Bars/mean values with different letters are significant differences ( $p < 0.05$ ). The concentrations of positive control (AC, acarbose; BHA, butylated hydroxyanisole; CA, catechin) solutions were measured at 500  $\mu$ g/mL.

acarbose(46.32%, 500 µg/mL)보다 높은 저해활성을 나타내어 향후 혈당의 급격한 증가를 예방할 수 있는 기능성 소재로서의 개발 가능성이 있을 것으로 사료된다.

XO는 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하여 염증 및 심한 통증을 동반하는 통풍과 신장에 침착시 신장질환을 유발하는 효소로 알려져 있다. XO의 저해는 활성산소의 생성을 억제하므로 항산화, 노화 및 항암 등 생물학적으로 중요한 효소라고 할 수 있다. 500 µg/mL 농도에서 XO 저해활성은 SE, RE, AE 및 LTPE가 각각 27.78%, 47.40%, 38.02% 및 50.35%를 나타내었으며 저온고압추출에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 상온교반추출 및 가압가열추출의 경우 합성 산화방지제인 BHA(butylated hydroxyanisole)에 비하여 유의적으로 낮은 저해활성을 나타내었으나, 환류냉각추출 및 저온고압추출의 경우 대조군에 근접하는 저해활성을 나타내었다.

ACE 저해활성은 SE, RE, AE 및 LTPE가 각각 28.37%, 46.44%, 50.33%, 64.78%로 저온고압추출에서 가장 높았고 다음으로 가압가열추출, 환류냉각추출, 상온교반추출 순의 저해활성을 나타내었다. 항고혈압활성의 차이는 식물자원에 함유된 다양한 페놀화합물의 작용에 의한 가능성이 높다는 보고와(34) 식물체 잎에서 분리한 페놀성 물질 중 flavonoid 성분이 ACE 저해활성을 높인다는 보고(35)로 볼 때 활성의 차이는 추출방법에 따라 함유되는 페놀화합물에 기인한 것으로 추측되며, 향후 체계적인 분석이 필요할 것으로 사료된다. 한편 돼지감자 잎 추출물의 경우 대표 저해인자로 알려진 활성물질인 catechin(83.34%)의 수준에는 미치지 못하나 높은 활성을 나타내어 천연 항고혈압 소재로서의 이용 가능성을 예견케 하였으며, 특히 저온고압추출 시 우수한 활성을 나타내어 산업적 활용에 기여할 수 있으리라 사료된다.

이상의 결과  $\alpha$ -glucosidase, XO 및 ACE 저해활성 모두에서 저온고압추출이 우수한 저해활성을 나타내었는데 이는 저온고압 하에서 세포막이 비가역적으로 분해되거나 막 투과성이 증가됨에 따라 물질 이동이 용이하게 되어 보다 많은 성분이 세포 밖으로 쉽게 용출되어 나옴과 동시에 약용식물의 주요 유용성분을 불순물 없이 높은 순도로 추출할 수 있는 공정(36)과 낮은 온도 하에서 열적손실이 적음에 따라 기능 특이성을 나타내는 것으로 추정되며, 추후 어떤 물질에 의해 저해활성이 높아졌는지 추가적인 연구와 효능검증이 요망된다. 또한 돼지감자 잎 추출물의 경우 단일 성분이 아닌 추출물임을 고려해 볼 때 추후 분리 및 구조 동정을 통하여 천연의 건강소재 자원으로 매우 유용할 것으로 생각된다.

## 요 약

돼지감자 잎의 활용 및 생리활성을 증가시킬 수 있는 적정 추출방법을 알아보기 위하여 환류냉각, 상온교반, 가압가열 및 저온고압 추출법을 이용하여 추출한 돼지감자 잎 추출물의 생

리활성을 비교하였다. 추출수율은 가압가열추출, 환류냉각추출, 상온교반추출, 저온고압추출 순으로 높은 수율을 나타내었다. 폴리페놀 함량은 상온교반추출 및 환류냉각추출의 경우 대등한 함량을 나타낸 반면 가압가열추출 및 저온고압추출에서는 유의적으로 높은 함량을 나타내었으며, 플라보노이드 함량은 가압가열추출 및 저온고압추출에서 높은 함량을 나타내었다. Proanthocyanidin 함량에서는 저온고압추출에서 가장 높은 함량이 검출된 반면 가압가열추출에서는 상온교반 및 환류냉각추출에 비해 낮은 함량을 나타내었다. 항산화 활성에서는 모든 추출물이 농도가 증가함에 따라 활성은 비례적으로 증가하였다. 가압가열추출 및 저온고압추출에서 유의적으로 높은 활성을 나타내었으며,  $\alpha$ -glucosidase, xanthine oxidase 및 angiotensin I-converting enzyme 저해활성에서는 저온고압추출물에서 우수한 활성을 나타내었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 가압가열 및 저온고압추출물이 소재 활용가치가 높을 것으로 사료되며 천연 항산화제 및 기능성 증진을 위한 소재로 이용 가능할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 논문은 2012년도 대구가톨릭대학교 학부교육선진화 선도대학 지원 사업에 의한 것으로 감사드립니다.

## 문 헌

- Hwang IT, Hwang JS, Lim HK, Park NJ. 2010. Biorefinery based on weeds and agricultural residues. *Kor J Weed Sci* 30: 340-360.
- Go GS, Jeon US. 2003. *Ferns, fern-allies and seed-bearing plants of Korea*. Iljinsa, Seoul, Korea. p 659.
- Kim CG, Kim SI, Shin HK. 1993. Effect of fructooligosaccharide-inulin of Jerusalem artichoke on the growth of intestinal microorganisms of pig. *Korean J Food Sci Technol* 25: 395-399.
- Carabin IG, Flamm WG. 1999. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regul Toxicol Pharmacol* 30: 268-282.
- Kim YS, Lee SJ, Hwang JW, Kim EH, Park PJ, Jeon BT. 2011. Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Helianthus tuberosus* L. leaves on *t*-BHP induced oxidative stress in Chang cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1525-1531.
- Yuan X, Gao M, Xiao H, Tan C, Du Y. 2012. Free radical scavenging activities and bioactive substances of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves. *Food Chem* 133: 10-14.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
- Abdel-Hameed ESS. 2008. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem* 114: 1271-1277.
- Sun B, Ricardo-da-Silva JM, Spranger I. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins.

- J Agric Food Chem* 46: 4267-4274.
10. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
  11. Arabshahi-Delouee S, Urooj A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem* 102: 1233-1240.
  12. 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.
  13. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
  14. Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. 2008. Potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Gratelou-pia elliptica*. *Phytochemistry* 69: 2820-2825.
  15. Stirpe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
  16. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
  17. Cha JY, Jeong JJ, Kim YT, Seo WS, Yang HJ, Kim JS, Lee YS. 2006. Detection of chemical characteristics in Hamcho (*Salicornia herbacea*) according to harvest periods. *J Life Sci* 16: 683-690.
  18. Hwang JK, Kim CT, Hong SI, Kim CJ. 1994. Solubilization of plant cell walls by extrusion. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 358-370.
  19. Jin L, Ha JH, Jeong MH, Chung EK, Chung AR, Kim JC, Ahn JH, Lee HY. 2009. Enhancement of the antioxidant and anticancer activities of *Berberis koreana* bark by using a low temperature and high-pressure extraction process. *Korean J Food Sci Technol* 41: 284-291.
  20. Han JG, Ha JH, Choi YB, Go JL, Kang DH, Lee HY. 2009. The comparison of extraction process for enhancement of immunomodulating activities of *Ulva pertusa kjellman*. *Korean J Food Sci Technol* 41: 380-385.
  21. Nicoli MC, Anese M, Parpinel M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Technol* 10: 94-100.
  22. Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lerici CR. 2000. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed food. *Trends Food Sci Technol* 11: 340-346.
  23. Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99: 381-387.
  24. Jiratanan T, Liu RH. 2004. Antioxidant activity of processed table beets (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) and green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem* 52: 2659-2670.
  25. 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.
  26. Kwon OC, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Hong JT, Jeong HS. 2006. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) on the high temperature and pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol* 38: 331-336.
  27. Yamada T, Yamamoto M, Tanimura A. 1978. Studies on the formation of nitrosamines, 7: The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. *J Food Hyg Soc Japan* 19: 224-227.
  28. Xu ML, Wang L, Hu JH, Wang MH. 2009. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of some wild vegetable extracts. *J Agric Food Chem* 47: 4121-4125.
  29. Hanefeld M. 1998. The role of acarbose in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 12: 228-237.
  30. Nishioka T, Kawabata J, Aoyama Y. 1998. Baicalein, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *Scutellaria baicalensis*. *J Nat Prod* 61: 1413-1415.
  31. Kim JE, Joo SI, Seo JH, Lee SP. 2009. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect of tartary buckwheat extract obtained by the treatment of different solvents and enzymes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 989-995.
  32. Hwang JY, Han JS. 2007. Inhibitory effects of *Sasa borealis* leaves extracts on carbohydrate digestive enzymes and postprandial hyperglycemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 989-994.
  33. Kwon JW, Lee HK, Park HJ, Song JY. 2012. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miq. extracts using different extraction methods. *Korean J Food Cookery Sci* 28: 1-8.
  34. Kim KM, Suh HJ, Chung SH, Cho WD, Ma SJ. 1999. Chemical structure of angiotensin converting enzyme inhibitor isolated from onion flesh. *Food Sci Biotechnol* 8: 329-332.
  35. Kameda K, Takaku T, Okyada H, Kimyra Y, Okuda T, Hatano T, Agata I, Arichi S. 1987. Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J Nat Prod* 50: 680-683.
  36. Shouqin Z, Junjie Z, Changzhen W. 2004. Novel high pressure extraction technology. *Int J Pharm* 278: 471-474.

(2012년 9월 17일 접수; 2012년 11월 20일 채택)