

## 돌미나리 추출물의 함유성분 분석과 항산화 활성

황석준 · 박성진<sup>1</sup> · 김종대\*

강원대학교 식품생명공학과, <sup>1</sup>한림성심대학교 관광외식조리과

### Component Analysis and Antioxidant Activity of *Oenanthe javanica* Extracts

Seok-Jun Hwang, Sung-Jin Park<sup>1</sup>, and Jong-Dai Kim\*

Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

<sup>1</sup>Department of Tourism Food Service Cuisine, Hallym Polytechnic University

**Abstract** The purpose of this study was to determine the possibility of using *Oenanthe javanica* as a natural health food source. To accomplish this, its general and biological activities were measured. Its carbohydrate, crude protein, crude lipid, and ash contents were 44.7, 9.8, 8.9, and 27.8%, respectively. The K content was largest for minerals followed by Ca, P, and Mg, which means that *Oenanthe javanica* is an alkali material. The concentrations of total phenol and flavonoids of OJE were  $88.9 \pm 0.46$  mg GAE/g, and  $28.6 \pm 0.64$  mg QE/g, respectively. Gallic acid, catechin, chlorogenic acid, and caffeic acid in OJE as measured by using HPLC were  $0.9 \pm 0.23$ ,  $1.2 \pm 0.19$ ,  $227.1 \pm 0.62$ , and  $4.0 \pm 0.35$  mg/g. The DPPH and ABTS radical scavenging activities of OJE were 72.2%, and 66.1%, respectively, at 1,000  $\mu$ g/mL. The FRAP and reducing power of OJE were 0.79, and 0.41 absorbance units value respectively, at 1,000  $\mu$ g/mL. OJE possessed significant antioxidant properties, which suggests its great potential as a functional ingredient for food applications.

**Keywords:** *Oenanthe javanica*, antioxidant activity, nutrients, health food

## 서 론

최근 우리나라는 서구화에 따른 식습관의 변화로 고단백, 고지방 등 동물성 식품의 섭취가 증가하고 있는 추세이며 이로 인하여 각종 암이나 성인병 등 과거에는 흔하지 않았던 질병으로 인한 사망률이 증가하고, 심장병, 당뇨, 고혈압 등의 만성 질환이 사회문제로 대두되고 있다. 이것으로 인하여 건강에 대한 관심은 매우 높아지고 있어서 최근에는 건강에 도움이 되는 천연물에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다(1,2).

이에 따라 이의 예방 및 치료를 위해서는 약물 이외의 식생활 변화가 절실히 요구되고 있다. 따라서 무엇을 어떻게 먹을 것인지에 대한 관심이 증대되면서 건강보조식품, 영양보충용 및 식사대용식품 등의 특수영양식품과 다양한 형태의 먹거리가 소개되어 있으며 최근에는 건강기능식품의 개발에 많은 관심이 집중되면서(3), 특히 식물자원들의 성분과 기능에 관한 과학적인 연구가 활발히 진행되고 있다(4-6). 그러나 식물자원을 이용한 건강기능식품의 제조·사용이 늘어나고 있는 만큼 고가의 비용과 효능에 대한 논란 및 형태의 제한 등이 맹점으로 대두되면서(7), 국민의 건강과 복지를 위해서는 또 다른 대안이 요구되고 있다. 따라서 식품의 3차 기능은 물론 영양 가치와 기호성이 동시에 충

족될 수 있으며 과학적인 근거를 바탕으로 접근한 경제적인 약이성 식품 또는 음식이 대안 중의 하나가 될 수 있으며 이 분야의 연구가 필요하리라 보여진다. 따라서 안전하고 경제적이면서 항산화 효과가 뛰어난 식물기원의 천연항산화제를 개발하고자 하는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 식물체는 외부자극에 대한 생체내의 다양한 생리활성물질의 생산과 광합성 과정에서 발생하는 활성산소종에 대한 산화적 손상으로부터 보호할 수 있는 다양한 형태의 항산화물질을 생산하는 것으로 알려져 있어, 식물체의 항산화 효과에 관한 많은 연구가 진행이 되고 있다. 한약재로 사용되는 약용식물, 과일·채소 등의 식용식물의 항산화 효과에 관한 연구가 보고되어 있고, 이들로부터 규명된 항산화 물질로는 quercetin, kaempferol, naringin 등의 플라보노이드 화합물 및 이들 배당체, catechin 등과 같은 탄닌류, chlorogenic acid, vanillic acid, gallic acid, caffeic acid, ferulic acid 등의 phenolic acid,  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid 등의 비타민 등이 알려져 있다(8-16). 한편 식물체로부터 수많은 항산화 물질이 분리, 보고되어져 있지만, 과학적으로 확인된 항산화 물질은 미약한 실정으로, 고부가가치의 천연물 소재 발굴이 필요로 하고 있다.

한편 돌미나리(*Oenanthe javanica*)는 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본으로 쌍떡잎식물이다. 돌미나리는 계곡의 샐터나 들의 습지 또는 물가에서 야생하는 것으로, 물미나리에 비하여 잎사귀가 많으며 줄기가 짧고 줄기 아래가 약간 붉은 색을 띤다. 또한 독특한 향미가 나며 다양한 용도로 식용되어져 있고 혈압강하, 해열, 진정, 변비예방, 및 하혈 등에 효과가 있고, 항균 작용과 고혈압에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다(17,18). 돌미나리는 여러 가지 민간요법에도 사용되어 왔으며 한방에서는 수근이라 하여 해열, 이뇨효능이 있어 황달, 수종, 소변불리, 고혈압 등을 치료하는데 달여서 복용하기도 하고, 또한 중국에서는

\*Corresponding author: Jong-Dai Kim, Department of Food science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 200-701, Korea  
Tel: 82-33-250-6456  
Fax: 82-33-241-0508  
E-mail: jongdai@kangwon.ac.kr  
Received February 25, 2013; revised March 7, 2013;  
accepted March 14

음주 후의 열독 제거에 이용되고 있다. 우리나라의 민간에서는 변비, 두드러기에 돌미나리를 찧어서 생즙을 마시기도 한다.

따라서 본 연구에서는 돌미나리에 대하여 기능성 검토와 이용 개발을 위하여 일반성분 분석, 무기질, 비타민, 유리당 분석을 통하여 영양적 가치를 평가하고 생리활성 효과를 검토하기 위하여 항산화 활성을 규명함으로써 돌미나리를 이용한 기능성 식품을 개발하기 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 돌미나리는 춘천시 석사동에서 재배된 것을 채취하여 70% 에탄올에 70°C로 24시간 3회 추출하였고 Whatman No. 1 (Whatman Ltd, Maidstone, Kent, UK) 여과지를 이용하여 여과한 후, 회전진공농축기(EYELA, SN-1100, Tokyo, Japan)를 사용하여 50°C에서 감압농축 하였다. 농축된 추출물은 동결건조기(PVTEA 10AT, ILSIN, Korea)을 이용하여 -55°C에서 급속동결과정을 거쳐 분말 상태로 준비하여 시료로 사용하였으며, 그 수율은 14.5%이었다.

### 돌미나리 추출물의 일반성분 분석

돌미나리의 일반성분은 AOAC 법(19)과 식품공전의 분석방법(20)에 따라 3회 분석하여 평균값으로 하였다. 즉, 수분 함량은 105°C 상압건조법, 회분 함량은 550°C에서 직접회화법을 이용하여 분석하였다. 조단백질 함량은 micro-kjeldahl 법을 이용한 단백질 자동분석기(Kjeltec protein analyzer, Tecator, Sweden)로, 조지방 함량은 Soxhlet 법을 이용하여 분석하였다. 총 당질 함량은 위의 측정치를 합한 값을 100에서 뺀 값으로 하였다.

### 돌미나리 추출물의 무기질 조성 분석

무기질(Ca, P, Mg, K, Na, Fe, Zn, Cu, Mn) 함량은 AOAC법(21)에 의하여 분석하였다. 즉, 시료를 0.1 mg 단위까지 정확히 칭량하여 550°C에서 6시간 동안 회화시킨 다음, 20°C sand bath 상에서 5 mL의 HNO<sub>3</sub> 용액을 가하여 10분 동안 가온하고 방냉 후, 25 mL volumetric flask에 넣고 증류수를 가해 여과하면서(whatman filter paper No. 41) 정용하였다. 이렇게 여과된 여과액을 각 희석용액으로 적절한 농도로 희석한 후 Inductively Coupled Spectrometer (ICP, Lactam 8440, Plasma Lab., Australia)를 이용한 유도결합 Plasma 방출분석법으로 분석하였으며, 분석조건은 approximate RF Power가 1,150 W이며, analysis pump rate는 100 rpm으로 하였고, nebulizer pressure와 observation height는 각각 30 psi 및 15 mm로 하였다.

### 돌미나리 추출물의 비타민 분석

비타민 함량은 식품공전의 분석방법(20)을 응용하여 HPLC로 분석하였다. HPLC로 분석하기 이전에 vitamin C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, nicotinic acid를 0.1 g씩 각각 100 mL 플라스크에 넣어 3차 증류수로 정용한 후, 용해시켜 표준농축용액을 만들었다. 이것을 3차 증류수로 희석하여 적정 농도의 표준용액을 만들어 0.45 μm MILLEX-HV13 필터(Millipore)로 여과하여 사용하였다. HPLC 장비 270 nm UV 검출기가 부착된 장비(Hewlett Packard 1090 series)이며 column은 shisedo C<sub>18</sub> (5 μm, 4.6×250 nm, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 이동상은 A상과 B상으로 사용하였는데 A상은 PIC B<sub>7</sub> (1-heptanesulfonic acid sodium salt) 1.25 mM 및

acetic acid 1%를 용해한 수용액이며, B상은 PIC B<sub>7</sub> 1.25 mM 및 acetic acid 1%를 용해한 60% methanol이다. 이동상의 유속은 0.5 mL/min으로 0-1분 사이에는 100% A 이동상을, 1-25분까지는 순차적으로 100% B 이동상이 되도록 흘러주었으며, 25-28분 사이에는 100% B 이동상으로 흘러주었다. 끝으로 10분간 100% A 이동상을 흘러주었다. 시료용액의 주입량은 20 μL이다.

### 돌미나리 추출물의 유리당 분석

유리당의 함량은 Richmond 등(22)의 HPLC 분석조건을 응용하였다. 즉, 시료 5 g을 칭량하여 80% methanol 100 mL를 넣고 13,000 rpm에서 3분 동안 균질화 하였다. 이 균질체를 환류냉각기를 부착한 추출장치에 옮긴 후 80°C에서 2시간 동안 추출한 후 여과하였다. 이 추출조작을 2회 반복하여 모은 여액을 45°C에서 감압·농축한 후 증류수를 넣어 100 mL로 정용하였다. 이렇게 조제한 시료용액은 -70°C에서 냉동 보관하면서 분석하였다. 분석조건은 Sugar-Pak column (Waters, USA, 300 mm×6.5 mm)과 용출용매 Ca-EDTA (500 mg/L)를 조합하였다. 전처리 된 시료 1 mL를 취하여 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 column에 20 μL씩 주입하였다. 이때의 column의 온도는 90°C를 유지하였다. 용출용매는 0.5 mL/min로 흘러보냈으며 검출은 refractive index (RI) detector를 이용하였다. 표준용액과 시료의 유리당 peak를 직접 비교하여 확인하였다. 정량은 각 표준물질의 검량곡선을 따로 작성한 후 peak의 면적에서 산출하였다.

### 돌미나리 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량 분석

돌미나리 70% 에탄올 추출물의 총 페놀 함량은 Gutfinger법(23)을 변형하여 분석하였다. 돌미나리 70% 에탄올 추출물 1 mL을 test tube에 가한 후 10% Folin-Ciocalteu 시약과 2% sodium carbonate 용액을 각각 1 mL 가한 다음 25°C에서 한시간 동안 반응시킨 후, microplate reader을 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였으며, 실험 측정은 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

돌미나리 70% 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Moreno 등의 방법(24)에 따라 실험하였다. 돌미나리 70% 에탄올 추출물 0.5 mL을 test tube에 가한 후, 10% aluminum nitrate 0.1 mL을 혼합한 후 40분간 실온에서 반응을 시킨다. 그 다음 1M Potassium acetate 와 80% 에탄올을 각각 0.1 mL과 4.3 mL을 가한 후 40분간 실온에서 반응을 시킨다. 그 후 415 nm에서 흡광도를 측정하고 quercetin을 표준물질로 이용하여 표준곡선을 작성한 후 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

### HPLC를 통한 페놀 성분 분석

돌미나리 70% 에탄올 추출물의 페놀 성분을 분석하기 위하여 HPLC로 분석하였다. HPLC로 분석하기 이전에 돌미나리 70% 에탄올 추출물 10 mg을 50% ethanol로 녹였으며 0.45 μm Millipore membrane filter로 여과하였다. HPLC 장비는 Waters 2690이며 column은 sheseido C<sub>18</sub> (5 μm 4.6×250 nm, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 검출기는 photodiode array detector (PDA)을 이용하여 278 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이동상은 solvent A (acetic acid: water=3:97, v/v)와 solvent B (acetic acid:acetonitrile:water=3:25:72, v/v)을 사용하여 1 mL/min의 유속으로 60분간 분석하였다. HPLC condition은 Table 1에 기술하였다.

**Table 1. HPLC conditions for analysis of phenolic compound**

Instriment	Water 2690 (Waters, Milford, MA, USA)
Column	Shiseido C <sub>18</sub> (5 μm 4.6×250 nm, Tokyo, Japan)
Mobile phase	A: 3% acetic acid, 97% water B: 3% acetic acid, 25% acetonitrile, 72% water
Flow rate	1 mL/min
Injection volume	20 μL
Gradient	80% A+20% B
Detector	278 nm

**DPPH radical 소거활성**

DPPH radical을 이용한 항산화 활성은 Chu 등의 방법(25)을 약간 변형하여 실험하였다. 농도별로 나눈 돌미나리 70% 에탄올 추출물 0.2 mL에 4×10<sup>-4</sup> M DPPH 용액 0.8 mL 가하여 잘 혼합한 후 상온의 암소에서 10분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [1 - (A/B)] \times 100$$

- A: absorbance value of testing solution
- B: absorbance value of control solution

**ABTS radical 소거활성**

ABTS radical에 대한 항산화의 변화 측정은 Re 등 방법(26)을 약간 응용하여 실험하였다. 7 mM의 농도로 녹인 ABTS 용액 5 mL에, 140 mM 농도의 potassium persulfate 용액 88 μL을 첨가하여 암소에서 14-16시간 동안 반응을 시킨다. 반응시킨 후 ABTS 1 mL를 5 mM의 phosphate buffer (pH 7.4)로 희석하여 750 nm에서 흡광도가 0.7±0.02가 되도록 한다. 희석한 ABTS 용액 1 mL에 농도별로 나눈 돌미나리 70% 에탄올 추출물 10 μL씩 처리하여 실온에서 6분간 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = [1 - (A/B)] \times 100$$

- A: absorbance value of testing solution
- B: absorbance value of control solution

**FRAP를 통한 환원력 측정**

FRAP assay는 Benzene와 Strain 방법(27)에 의해 실험하였다. 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 10 mM HCl로 녹인 40 mM TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-triazine), 그리고 10 mM iron chloride를 각각 10:1:1 (v/v) 첨가하여 FRAP 용액을 만들었다. 농도별로 나눈 돌미나리 70% 에탄올 추출물 50 μL와 증류수 150 μL, 그리고 FRAP 용액 1.5 mL을 가하였다. 4분간 반응을 시키고 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**환원력 측정**

돌미나리 70% 에탄올 추출물의 환원력은 Jayprakasha 등의 방법(28)에 의해 실험하였다. 농도별로 나눈 돌미나리 70% ethanol 추출물 0.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 2.5 mL과 1% potassium ferricyanide 2.5를 가하고 50°C에서 20분간 반응을 시킨다. 반응을 시킨 후에 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 가하고 10분동안 1,790×g에서 원심분리를 한다. 상층액 2.5 mL과 증류수 2.5 mL, 그리고 0.1% iron (III) chloride 0.5 mL을

**Table 2. Proximate composition of 70% ethanol extracts from *Oenanthe javanica*** (unit: %)

Nutrients	<i>Oenanthe javanica</i> 70% ethanol extract
Moisture	8.8±1.4
Carbohydrate	44.7±2.3
Crude protein	9.8±1.5
Crude lipid	8.9±2.5
Crude Ash	27.8±0.9

Values are mean±SD. Values are mean of triplicates.

**Table 3. Mineral contents of 70% ethanol extracts from *Oenanthe javanica*** (unit: mg/100 g)

Ingredients	<i>Oenanthe javanica</i> 70% ethanol extracts
K	10,372.9±15.3
P	865.1±10.3
Mg	198.3±11.2
Na	134.6±5.9
Ca	82.6±14.3
Cu	82.6±0.1
Mn	2.6±0.9
Zn	2.6±0.7
Fe	1.9±4.2

Values are mean±SD. Values are mean of triplicates.

첨가하여 반응시키고 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**통계처리**

실험에서 얻어진 결과는 SAS (ver. 8.01, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) (package release 8.01)를 이용하여 평균±표준편차로 표시하였고, 평균값의 통계적 유의성은 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**일반성분 함량**

본 연구에서 분석된 돌미나리 추출물의 일반성분 함량은 Table 2에 정리하였다. 추출물 100 g (wet weight basis)중에는 수분 8.8%, 탄수화물 44.7%, 조단백 9.8%, 조지방 8.9%, 조회분 27.8%가 함유된 것으로 분석되어 돌미나리 추출물의 주된 성분은 대부분의 식물체의 구성성분인 탄수화물과 회분으로 구성되어 있었으며, 일반성분 중에서 조지방 함량이 가장 낮은 것으로 나타났다. 이는 Heo 등(29)의 연구결과와는 큰 차이가 나는 결과로 채취시기에 따른 성분의 차이로 판단된다.

**무기질 함량**

Table 3은 돌미나리 추출물 100 g 중 무기질 함량을 분석한 결과이다. 칼륨이 약 10.4 g으로 가장 함량이 높았고 그 다음이 인 (865.1 mg), 마그네슘(198.3 mg), 칼슘(82.6 mg) 순이었다. 미량영양소인 철분, 구리, 아연 및 망간 함량도 각각 1.9, 2.4, 2.6, 및 2.63 mg 함유되어 있는 것으로 분석되었다. 이처럼 돌미나리 추출물에서 무기질 성분 중 칼륨함량이 높은 것은 식염의 과다섭취로 인한 피해를 막아주어 혈압을 강하시키는 고혈압치료제로 알려진 것과 무관하지 않는 것(30)으로 생각된다.

**Table 4. Vitamin contents of 70% ethanol extracts from *Oenanthe javanica*** (unit: mg/100 g)

Ingredients	<i>Oenanthe javanica</i> 70% ethanol extracts
Vitamin C	21.9±0.5
Vitamin B <sub>1</sub>	1.2±1.1
Vitamin B <sub>2</sub>	2.3±0.6
Vitamin B <sub>6</sub>	0.04±0.1
Nicotinic acid	8.3±1.2

Values are mean±SD. Values are mean of triplicates.

**Table 5. Free sugar contents of 70% ethanol extracts from *Oenanthe javanica*** (unit: %)

Ingredients	<i>Oenanthe javanica</i> 70% ethanol extracts
Glucose	2.4±1.3
Fructose	4.3±0.9
Lactose	ND
Maltose	ND

Values are mean±SD. Values are mean of triplicates.

<sup>1</sup>ND: Not detected

#### 비타민 분석 결과

돌미나리 70% 에탄올 추출물의 비타민 함량분석 결과 Table 4 과 같다. 추출물의 성분들을 각각 확인해보면 vitamin C (21.9 mg/100 g), vitamin B<sub>1</sub> (1.2 mg/100 g), vitamin B<sub>2</sub> (2.3 mg/100 g), vitamin B<sub>6</sub> (0.04 mg/100 g), nicotinic acid (8.3 mg/100 g)로 나타났다. 성분들 중에서 vitamin C의 함량이 가장 높았으며 nicotinic acid, vitamin B<sub>2</sub>, vitamin B<sub>1</sub>, vitamin B<sub>6</sub>의 함량 순으로 나타났다. 돌미나리 70% ethanol 추출물의 비타민 성분 함량이 낮은 것은 추출 온도가 높아 일부 비타민이 파괴가 되어 함량이 낮은 것으로 사료된다. 비타민 C 분석 결과(207.33 mg)(31)와는 매우 큰 차이가 있었으나 본 연구의 시료 전처리 과정에 추출 시 열에 의해 파괴된 것으로 생각된다.

#### 유리당 분석

돌미나리 70% 에탄올 추출물의 유리당 함량분석 결과 Table 5 와 같다. 추출물의 유리당 성분들을 각각 확인해보면 glucose 2.4%, fructose 4.3%의 함량이 확인됐고 lactose와 maltose는 확인되지 않아, 유리당 조성면에서 본다면 Kim 등(32)의 연구결과와 유사한 결과를 나타내었다.

#### 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 분석 결과

페놀계 물질들은 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화-환원 반응에서 기질로 작용하고, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl (OH)기를 가진 방향족 화합물들을 가리키며 플라보노이드와 탄닌이 주성분으로 항산화, 항암, 고혈압 등의 다양한 생리활성을 가진다(33). 돌미나리 70% 에탄올 추출물의 페놀 및 플라보노이드 함량 분석 결과 Table 6과 같다. 돌미나리 70% 에탄올 추출물의 총 페놀함량과 총 플라보노이드 함량은 각각 88.9±0.46 mg GAE/g, 28.6±0.64 mg QE/g 나타났다. 한편 Huda 등(34)은 돌미나리 methanol 추출물의 페놀 함량은 7.41 mg TAE (tannic acid equivalent)/100 g 나타났으며 Wan-Ibrahim 등(35)은 돌미나리 물 추출물의 페놀함량이 684±14.7 mg GAE/g 보고한 것과 비교하면, 돌미나리의 품종에 따른 함량차이로 판단된다.

**Table 6. Total phenol, and flavonoid contents of 70% ethanol extracts from *Oenanthe javanica***

	<i>Oenanthe javanica</i> 70% ethanol extracts
Total phenol content (mg GAE/g)	88.9±0.46
Total flavonoid content (mg QE/g)	28.6±0.64

GAE: Gallic acid equivalent  
QE: Quercetin equivalent

**Table 7. Phenolic compounds of 70% ethanol extracts from *Oenanthe javanica* by HPLC** (unit: mg/g)

	<i>Oenanthe javanica</i> 70% ethanol extracts
Gallic acid	0.9±0.23
Catechin	1.2±0.19
Chlorogenic acid	227.1±0.62
Caffeic acid	4.0±0.35
<i>p</i> -coumaric acid	ND
Ferulic acid	ND

Values are mean±SE. Values are mean of triplicates.

<sup>1</sup>ND: Not detected

#### HPLC을 통한 페놀성분 분석 결과

돌미나리 70% 에탄올 추출물의 페놀 함량 분석결과를 Fig. 1 과 Table 7에 나타내었다. HPLC의한 분석 결과 돌미나리 추출물의 페놀 함량은 chlorogenic acid가 227.1±0.62 mg/g로서 가장 많은 양이 함유 되어 있는 것으로 확인이 되었고 caffeic acid, catechin, gallic acid의 함량이 높은 것으로 나타났다. *p*-Coumaric acid, ferulic acid는 확인되지 않았다.

#### DPPH radical 소거활성

DPPH radical은 alcohol 용액 내에서는 DPPH의 질소 원자와 alcohol간에 수소결합이 형성되기 때문에 다른 유리 라디칼보다 비교적 안정하고, 항산화 활성을 갖는 물질과 반응하면 진보라색의 DPPH의 색깔이 점점 떨어져 흡광도가 감소하게 되므로 흡광도의 감소를 측정함으로써 radical 소거 활성을 쉽게 측정 할 수 있다(36). DPPH와 같은 극성의 실험계에서는 지용성의 비타민 E 또는 BHT, BHA와 같은 물질보다 ascorbic acid와 같은 수용성 항산화제들의 항산화 활성이 높은 것으로 측정된다. 이러한 DPPH radical 소거활성은 식물 추출물의 항산화능 측정에 매우 편리한 방법이다. 돌미나리 70% 에탄올 추출물과 대조군으로 사용한 ascorbic acid와 BHT의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 돌미나리 추출물의 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성이 증가하는 경향을 나타내었고 돌미나리 추출물 1,000 µg/mL 농도에서 72.2% 소거활성을 보였다. 대조군으로 사용한 BHT도 농도가 높아질수록 DPPH radical 소거활성이 증가를 하였으나 ascorbic acid는 소거활성이 증가를 하지 않았다. Ascorbic acid와 BHT의 1,000 µg/mL 농도에서 각각 86.7%, 67.6% 보였다. 1,000 µg/mL 농도에서 돌미나리 추출물은 1,000 µg/mL 농도의 BHT보다 높은 소거활성을 보였다. 한편 Wan-Ibrahim 등(35)은 돌미나리 물 추출물에서 45.0±4.4% (1 mg/mL) 나타냈다. 결과를 종합하여 볼 때 돌미나리는 수용성 항산화화합물보다 지용성 항산화 화합물의 함량이 더욱 많이 함유되어 있을 것으로 사료된다.

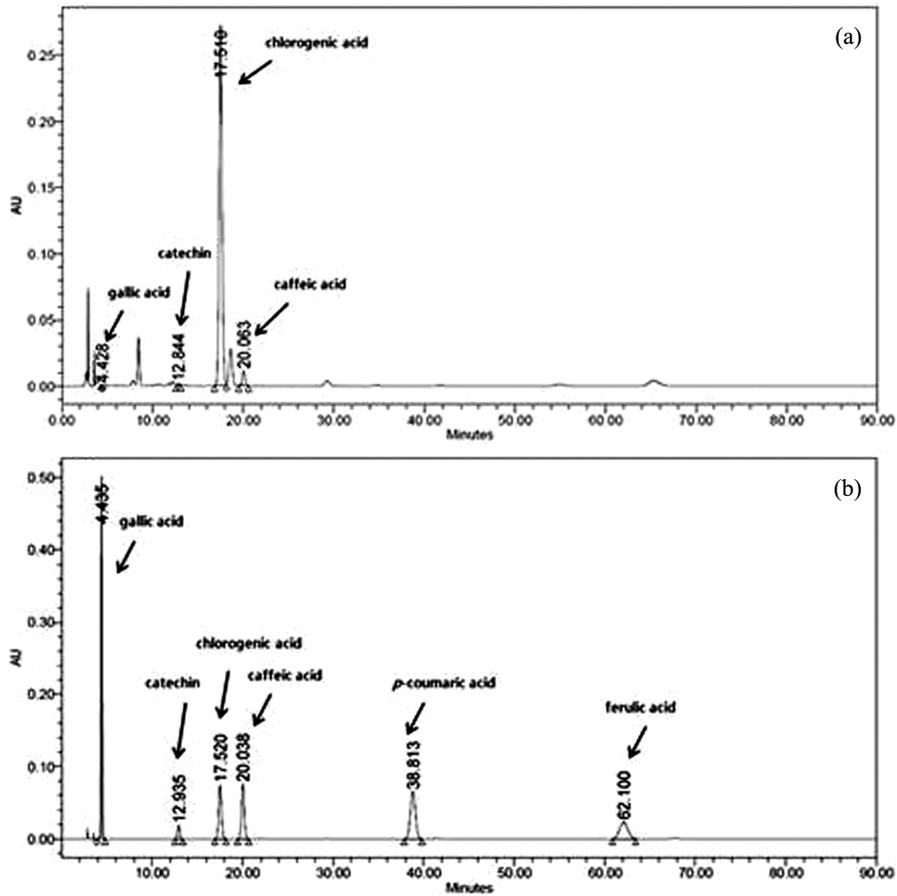


Fig. 1. HPLC chromatograms. (a) major phenolic compounds in *Oenanthe javanica* 70% ethanol extracts; (b) standard phenolic compounds.

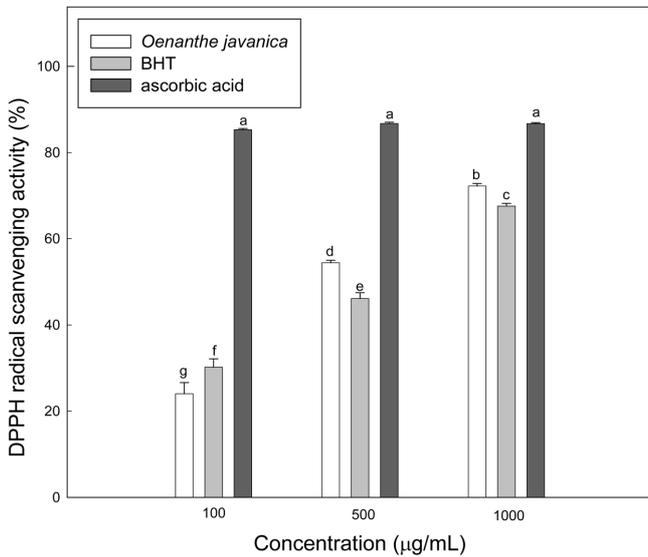


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of *Oenanthe javanica* 70% ethanol extracts. <sup>a-g</sup>Values are mean±standard deviation (n=3), mean in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple test.

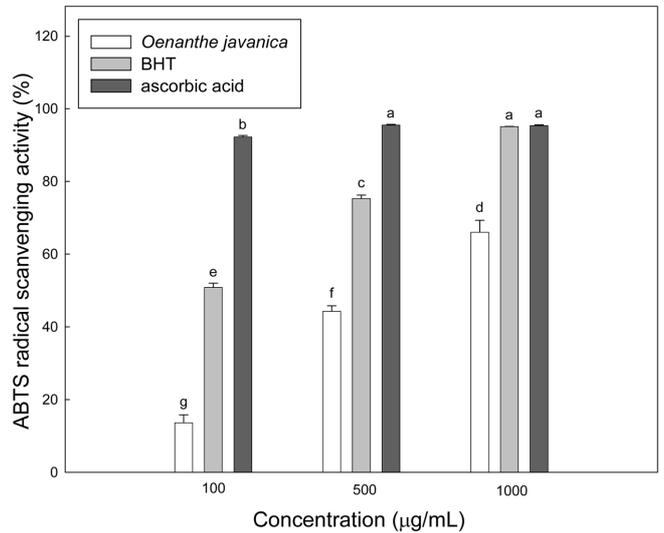
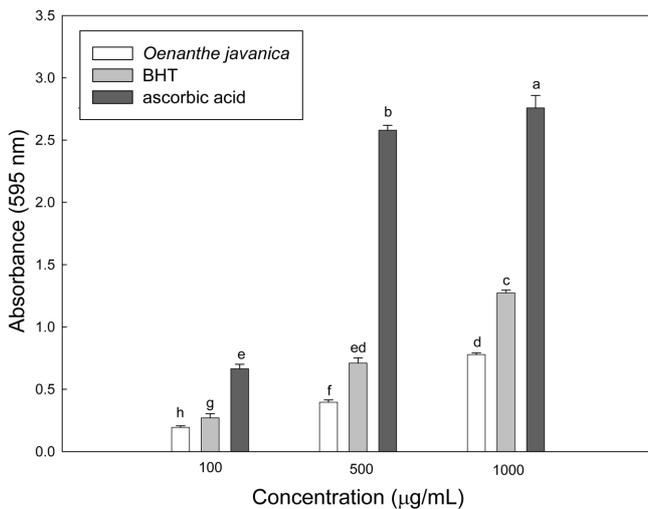


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of *Oenanthe javanica* 70% ethanol extracts. <sup>a-g</sup>Values are mean±standard deviation (n=3), mean in the same column not sharing a common letter are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple test.

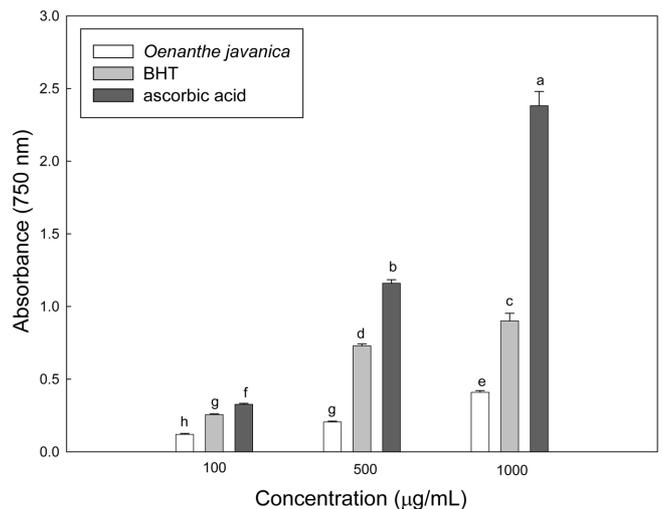
ABTS radical 소거활성

ABTS cation decolorization assay는 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS radical이 항산화 물질에 의해 제거되

어 청록색이 탈색된다. 이 ABTS 탈색반응은 이미 생성된 free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타내어 ABTS의 소거활성을 측정하는 방법으로 탈색반응이 1분 안에 종료되므로 단시



**Fig. 4. Antioxidative activities of *Oenanthe javanica* 70% ethanol extracts using FRAP.** <sup>a-h</sup>Values are mean±standard deviation (n=3), mean in the same column not sharing a common letter are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple test.



**Fig. 5. Antioxidative activities of *Oenanthe javanica* 70% ethanol extracts using reducing power.** <sup>a-h</sup>Values are mean±standard deviation (n=3), mean in the same column not sharing a common letter are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple test.

간에 측정할 수 있고, 소수성과 친수성 모두에 적용할 수 있다 (37,38). ABTS radical에 대한 돌미나리 70% 에탄올 추출물과 대조군으로 사용한 ascorbic acid와 BHT의 항산화 활성은 Fig. 3에 나타내었다. 돌미나리 추출물의 농도가 높아질수록 ABTS radical 소거활성이 증가하는 경향을 나타내었고 돌미나리 추출물 1,000 µg/mL농도에서 66.1% 소거활성을 보였다. Ascorbic acid와 BHT의 1,000 µg/mL 농도에서 각각 95.3%, 95.1% 보였다. 1,000 µg/mL 농도에서 돌미나리 추출물은 100 µg/mL 농도의 BHT보다 높은 소거활성을 보였다.

#### FRAP을 통한 환원력 측정

FRAP 방법은 colored ferrous tropyridyl triazine complex에 의해 ferric ion이 ferrous로 전환되는 과정을 분석함으로써 시료 내의 총 항산화력을 측정하는 방법으로 낮은 pH에서 환원제에 의해 3가 철이 2가 철로 환원되는 원리를 기초로 고안되어진 방법이고 흡광도가 증가할수록 항산화 활성이 높다는 것을 의미한다 (39). 돌미나리 70% 에탄올 추출물의 FRAP 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 돌미나리 추출물은 농도가 증가할수록 흡광도 값이 증가하는 경향을 나타내었고 돌미나리 추출물 1,000 µg/mL 최종 농도에서 0.79 흡광도(595 nm)값 나타내었다. 대조군으로 사용한 ascorbic acid와 BHT 모두 흡광도 값이 증가하는 경향을 나타내었고 1,000 µg/mL 최종 농도에서 각각 2.76, 1.28 흡광도(595 nm) 값을 나타내었다. 1,000 µg/mL의 농도에서 돌미나리 추출물은 100 µg/mL 농도에서의 ascorbic acid와 500 µg/mL에서의 BHT의 유사한 환원력을 가졌다. 한편 Wan-Ibrahim 등(35)은 돌미나리 물 추출물이  $842 \pm 14.7$  µmol iron(II) sulphate equivalent/g의 효과를 나타냈으며 Kwon 등(40)은 돌미나리 methanol 추출물이 농도 의존적으로 trolox equivalent 값이 증가함을 보고하여 본 실험결과와 유사한 경향을 보였다.

#### 환원력 측정

환원력은 potassium ferricyanide reduction법을 사용한 추출물의 환원력을 평가하는 것으로서 reductone의 항산화 반응은 hydrogen atom을 제공함으로써 자유 라디칼 연쇄를 변환시키며, reductone

은 또한 과산화의 일정한 전구물질과 반응하여 과산화물을 형성한다. 환원력에서 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내며, 높은 환원력을 가지는 물질은 흡광도의 수치가 높게 나타난다(41). 그 수치는 반응계에 첨가되는 시료의 특성, 시료의 추출용매의 종류에 따라 달라진다. 돌미나리 70% 에탄올 추출물의 환원력 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 돌미나리 추출물은 농도가 증가할수록 흡광도 값이 증가하는 경향을 나타내었고 돌미나리 추출물 1,000 µg/mL 최종 농도에서 0.41 흡광도(750 nm)값을 나타내었다. 대조군으로 사용한 ascorbic acid와 BHT 모두 흡광도 값이 증가하는 경향을 나타내었고 1,000 µg/mL 최종 농도에서 각각 2.39, 0.90 흡광도(750 nm)값을 나타내었다. 1,000 µg/mL의 농도에서 돌미나리 추출물은 100 µg/mL 농도에서의 ascorbic acid와 100 µg/mL에서의 BHT의 유사한 환원력을 가졌다. 한편 Huda 등(34)은 돌미나리 methanol 추출물이 농도 의존적으로 환원력이 증가함을 보고하여 본 실험결과와 유사한 경향을 보였다. 항산화 반응은 reductones이 제공하는 수소원자가 free radical 사슬을 분해함으로써 시작되면, reducing power는 첨가되는 시료의 농도변화에 따라 큰 변화를 나타내어진다. 환원력은 항산화 활성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 그러므로 환원력은 항산화 활성에 대한 중요한 인자로 작용한다.

## 요 약

본 연구에서는 돌미나리 70% 에탄올 추출물의 일반성분, 무기질, 비타민, 유리당, 총 페놀과 플라보노이드 함량 및 HPLC을 이용하여 페놀 성분을 분석하였으며 DPPH, ABTS, FRAP assay 및 reducing power를 측정하여 *in vitro* 항산화 활성을 평가하였다. 돌미나리 70% 에탄올 추출물의 일반성분 함량은 수분 8.8%, 탄수화물 44.7% 조지방 8.9%, 조단백질 9.8%, 조회분 27.8%로 확인되었다. 추출물의 무기질 조성을 분석한 결과 K이 10,372.9 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 가졌고 P, Mg, Na, Ca, Mn, Zn, Cu, Fe의 함량 순으로 나타났다. 추출물의 비타민 함량을 분석한 결과 vitamin C 21.9 mg/100 g, vitamin B<sub>1</sub> 1.2 mg/100 g, vitamin B<sub>2</sub> 2.3 mg/100 g, vitamin B<sub>6</sub> 0.04 mg/100 g, nicotinic acid 8.3

mg/100 g으로 확인되었다. 추출물의 유리당 함량을 분석한 결과 glucose 2.4%, fructose 4.3%으로 나타났다. 추출물의 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 결과 각각 88.9±0.46 mg GAE/g, 28.6±0.64 mg QE/g로 확인되었다. HPLC를 이용한 페놀성분의 분석 결과, chlorogenic acid의 함량이 가장 높았으며 caffeic acid, catechin, gallic acid 순으로 각각 227.1±0.62, 4.0±0.35, 1.2±0.19, 0.9±0.23 mg/g의 함량을 보였다. DPPH assay 결과, 1,000 µg/mL의 농도에서 72.2% 소거활성을 나타냈고, ABTS assay는 1,000 µg/mL의 농도에서 66.1% 소거활성을 보였으며 FRAP assay는 1,000 µg/mL의 농도에서 0.79 흡광도 값을 보였으며 reducing power activity 측정결과 1,000 µg/mL의 농도에서 0.41의 흡광도 값을 나타냈다. 돌미나리 추출물은 여러 가지 유용한 기능성 생리활성 성분을 함유하고 있어 앞으로 건강식품 소재로서 그 이용가치가 높다고 사료된다.

## 문 헌

1. Assano N, Tomioka E, Kizu H, Matsui K. Sugars with in ring isolated from leaves of *Morus bombycis*. Carbohydr. Res. 253: 235-245 (1994)
2. Han SH, Woo NRY, Lee SD, Kang MH. Antioxidative and antibacterial activities of endemic plants extract in Korea. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14: 49-55 (2006)
3. Park SH, Han JH. The effects of uncooked powdered food on nutrient intake, serum lipid level, dietary behavior and health index in healthy women. Korean J. Nutr. 36: 49-63 (2003)
4. Choi MS, Do DH, Choi DJ. The effect of mixing beverage with *Aralia continentatis* Kitagawa root on blood pressure and blood constituents of the diabetic and hypertensive elderly. Korean J. Food Nutr. 15: 165-172 (2002)
5. Cha WS, Kim CK, Kim JS. On the Development of functional health beverages using Citrus reticulate, *Ostrea glgas*. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 17: 503-507 (2002)
6. Kim JH, Park JH, Park SD, Choi SY, Seong JH, Moon KD. Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powders from safflower seed. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 617-624 (2002)
7. Han H, Song YJ, Park SH. Development of drink from composition with medicinal plants and evaluation of its physiological function in Aorta relaxation. Korean J. Oriental Physiol. Pathol. 18: 1078-1082 (2004)
8. Miesan KH, Mohamed S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plant. J. Agr. Food Chem. 49: 3106-3112 (2001)
9. Hollman PCH, Trijp JMP, Buysman MNCP, Gaag MS, Mengelers MJB, Vries JHM, Katan MB. Related bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. FEBS Lett. 418: 152-156 (1997)
10. Kawasaki M, Kanomata T, Yoshimata K. Flavonoids in the leaves of twenty-eight polygonaceous plants. Bot. Mag. Tokyo. 99: 63-74 (1986)
11. Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than is genistein in adult women. J. Nutr. 124: 825-8332 (1994)
12. Azuma K, Nakayma M, Koshioka M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamaguchi Y, Ito H, Higashio H. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. J. Agr. Food Chem. 47: 3963-3966 (1999)
13. Papadopoulos G, Boskou D. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 68: 669-671 (1991)
14. Laranjiinha J, Almeida L, Maderia V. Reduction of ferrylmyoglobin by dietary phenolic acid derivatives of cinnamic acid. Free Radical Bio. Med. 19: 329-337 (1995)
15. Yan X, Suzuki M, Ohmishi-Kameyama M, Sada Y, Nakanishi T, Nagata T. Extraction and identification of antioxidants in roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). J. Agr. Food. Chem. 47: 4711-4713 (1999)
16. Malik MN, Fenko MD, Shiekh AM, Wisniewski HM. Isolation of a-tocopherol (vitamin E) from garlic. J. Agr. Food Chem. 45: 817-819 (1997)
17. Tang QQ, Otto TC, Lane MD. Mitotic clonal expansion: A synchronous process required for adipogenesis. P. Natl. Acad. Sci. USA 100: 44-49 (2003)
18. Lane MD, Tang QQ, Jiang MS. Role of the CCAAT Enhancer Binding proteins (C/EBPs) in Adipocyte Differentiation. Biochem. Bioph. Res. Co. 266: 677-683 (1999)
19. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 15<sup>th</sup> ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA (1999)
20. Korea Food and Drug Administration. Food Standard Codex. Korean Foods Industry Association, Seoul, Korea. p. 301 (2002)
21. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 14<sup>th</sup> ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA (1984)
22. Richmond ML, Brandao SCC, Gray JI, Markakis P, Stine CM. Analysis of simple sugar and sorbitol in fruit by HPLC. J. Agr. Food Chem. 29: 4-7 (1981)
23. Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. J. Am. Oil Chem. Soc. 58: 966-968 (1981)
24. Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 109-114 (2000)
25. Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. J. Sci. Food Agr. 80: 561-566 (2000)
26. 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)
27. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal. Biochem. 239: 70-76 (1996)
28. Jayaprakaha GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed (*Vitisvinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. Food Chem. 73: 285-290 (2001)
29. Heo SJ, Yang MO, Cho EJ. Analysis of Umberiferaceae wild plants and antioxidative activity of pork meat products added with wild plants. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 17: 456-463 (2001)
30. Choi MS, Do DH, Choi DJ. The effect of mixing beverage with *Aralia continentatis* Kitagawa root on blood pressure and blood constituents of the diabetic and hypertensive elderly. Korean J. Food Nutr. 15: 165-172 (2002)
31. Lee MY, Yoo MS, Whang YJ, Jin YJ, Hong MH, Pyo YH. Vitamin C, total polyphenol, flavonoid contents and antioxidant capacity of several fruit peels. Korean J. Food Sci. Technol. 44: 540-544 (2012)
32. Kim MJ, Yang SA, Park JH, Kim HI, Lee SP. Quality Characteristics and Anti-proliferative Effects of Dropwort Extracts Fermented with Fructo- oligosaccharides on HepG2 Cells. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 432-437 (2011)
33. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 82: 47-95 (2001)
34. Huda-Faujan N, Noriham A, Norrakiah AS, Babji AS. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. Afr. J. Biotechnol. 8: 484-489 (2009)
35. Wan-Ibrahim WI, Sidik K, Kuppasamy UR. A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. Food Chem. 122: 1139-1144 (2010)
36. Que F, Mao L, Zhu C, Xie G. Antioxidant properties of Chineses yellow wine, its concentrate and volatiles. LWT-Food Sci. Technol. 39: 111-117 (2006)
37. Li H, Choi YM, Lee JS, Park JS, Yeon KS, Han CD. Drying and antioxidant characteristics of the shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom in a conveyer-type far-infrared dryer. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 250-254 (2007)
38. Jeong JW, Lee YC, Jung SW, Lee KM. 1994. Flavor components of citron juice as affected by the extraction method. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 709-712 (1994)

39. Student AK, Hsu RY, Lane MD. Induction of fatty acid synthetase synthesis in differentiating 3T3-L1 preadipocytes. J. Biol. Chem. 225: 4745-4750 (1980)
40. Kwon DJ, Yoon S, Carter O, Bailey GS, Dashwood SH. Antioxidant and antigenotoxic activities of *Angelica Keiskei*, *Oenanthe javanica* and *Brassica oleracea* in the *Salmonella* mutagenicity assay and in HCT116 human colon cancer cells. Biofactors. 26: 231-244 (2006)
41. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients 2: 1231-1246 (2010)