

Antioxidant and antimicrobial activities of black *Doraji* (*Platycodon grandiflorum*)

Soo-Jin Lee¹, Woo-Suk Bang¹, Ju-Yeon Hong², O-Jun Kwon³, Seung-Ryeul Shin²,
Kyung-Young Yoon^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

²Faculty of Herbal Food and Nutrition, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

³Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation, Gyeongsan 712-210, Korea

흑도라지의 항산화 및 항균 활성

이수진¹ · 방우석¹ · 홍주연² · 권오준³ · 신승렬² · 윤경영^{1*}

¹영남대학교 식품영양학과, ²대구한의대학교 한방식품조리영양학부, ³대경지역사업평가원

Abstract

This study was conducted to investigate the antioxidant and antimicrobial activities of the hot-water and methanol extracts of raw and black *Doraji* to increase its utilization. In order to prepare the black *Doraji*, it was steamed for 15 days at a temperature of 60°C and then it was dried at a temperature of 30°C for 3 hr. The methanol extract from the black *Doraji* (BM) contained the highest levels of total polyphenols among the extracts, and the total polyphenol content of the extract from a black *Doraji* was higher than that of the extract from a raw *Doraji*. The total flavonoid contents of the hot-water extract from a black *Doraji* (BW) was the highest (7.94 mgQE/g) among the samples. The DPPH and ABTS radical scavenging activities increased according to the increase in the concentrations of the *Doraji* extracts. The BM has the highest radical scavenging activity among the extracts. Each extract showed a slight difference in the antibacterial activity according to the tested strains. The Black *Doraji* showed a higher antimicrobial activity compared to the raw *Doraji*. The hot-water extracts demonstrated higher activities than the methanol extracts, and the BW revealed the strongest activity. In this study, the black *Doraji* showed more effect of the antioxidant and anti-microbial activities than the raw *Doraji*. These results will provide fundamental data for improving the sitological value and the black *Doraji* can be used as a valuable resource for the development of nutraceutical foods.

Key words : *Platycodon grandiflorum*, black *Doraji*, antioxidant activity, antimicrobial activity

서 론

산업의 발달과 더불어 의약품, 농약, 식품첨가물 등과 같이 각종 환경성 화학물질의 다양화와 사용량의 증가로 인하여 암 및 노화 등 퇴행성 질환의 발생 빈도가 높아지고 있다. 환경성 화학물질에 의한 세포막의 손상은 세포의 기능을 원활하지 못하게 할 뿐 아니라 DNA 및 단백질을 손상 시킴으로써 노화, 암 및 각종 성인병을 유발한다(1). 노화 및 암 발병의 주된 요인 중 하나로 알려진 자유라디칼은

superoxide anion radical, hydroxy radical, 과산화수소와 같은 활성산소종의 산화적 대사산물로, 생체막의 지질을 과산화시켜 생체막을 변질시킴으로써 효소 불활성, 세포노화, 동맥경화, 당뇨병, 뇌졸중, 암 등의 질병을 유발한다(2). 그러므로 생체내 자유라디칼의 생성을 억제하는 것이 질병 예방을 위한 중요한 과제로 되고 있다. 천연물질 중에는 여러 가지 산화방지 작용을 가진 물질이 많이 존재하며, 특히 식물성 물질에 대한 항산화 연구가 많이 진행되고 있다(3).

도라지는 섬유질이 풍부하고 칼슘과 철이 많이 함유된 알칼리성 식품이며, 오래전부터 생채, 전, 나물 등 식용으로

*Corresponding author. E-mail : yoonky2441@ynu.ac.kr
Phone : 82-53-810-2878, Fax : 82-53-810-4768

뿐만 아니라 약용으로도 이용되고 있다(4). 주요 약리 성분으로는 triterpenoid계 saponin으로 도라지의 아린맛 성분인 플라티코딘과 함께 거담작용, 진해작용, 해열, 진통 등의 약리작용이 있는 것으로 알려져 있다(5). 특히, 도라지는 전통적으로 기관지 질환에 사용되어 왔는데, 기관지, 천식 질환자의 객담에서 분리된 세균을 이용하여 도라지 추출물의 항균효과를 알아본 결과, ethyl ether 추출물이 기관지 세균에 대하여 매우 높은 항균력이 있으며, 세균의 성장을 억제하는 약리성 유용물질이 다소 포함되어 있는 것으로 보고되었다(5).

이처럼 도라지는 다양한 기능성과 그와 관련된 여러 가지 생리 활성 성분을 함유하고 있어 건강기능식품 소재로 개발 가능성이 높아지고 있다. 이에 따라 도라지의 이용성을 증진시키기 위하여 도라지에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재까지 알려진 도라지에 관한 연구는 일반성분 및 약리성분에 관한 연구를 비롯하여 기관지 효능과 장생도라지의 화학성분과 생리활성 및 건강기능식품 개발연구 등 다양하다(4-6). 또한 도라지에서 추출한 사포닌의 항비만효과와 HPLC를 이용하여 도라지의 사포닌 분석 등이 있다(7-9). 최근에는 도라지의 기능성을 증진시키기 위한 다양한 방법이 연구되고 있으며, 그 중 증숙을 이용한 도라지의 가공품인 홍도라지 추출액의 제조 및 품질 특성 연구가 이루어지고 있다.

증숙은 한방에서 찌서 익히는 것을 말하며 홍삼 또는 흑삼을 만들 때에 주로 사용하는 방법으로, 현재 그 영역이 확대 적용되어 흑마늘, 흑더덕, 흑양파 등이 개발 및 시판되고 있다. 증숙을 통해 제조된 발효 흑대추는 기능성 성분의 추출율이 매우 높고 생대추에 비해 항산화 활성이 증가되었다(10). 또한 증숙된 발효더덕은 생더덕에 비해 유용성분의 함량이 높았으며, 증숙가공 공정을 통해 항산화 활성이 증진되었다(11,12). 이와 같이 기능성 성분의 추출효율 및 생리활성 증대를 위하여 다양한 식품을 대상으로 증숙하여 기능성 식품을 제조하려는 시도가 증가하고 있다. 그러나 현재 기능성 식품소재로 각광받고 있는 흑도라지의 품질 특성 및 생리활성에 관한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 생도라지로부터 증숙을 이용하여 흑도라지를 제조한 다음 추출용매에 따른 도라지의 폴리페놀 함량, 항산화 및 항균 활성을 측정하여 식품학적 우수성을 확인하고 건강기능성 식품소재로서의 가능성을 알아보 고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 도라지는 경상북도 영주시에서 재배된 3년근을 사용하였다. 흑도라지는 세척된 도라지를 60℃항

온기(BJP-1033FW, Lihom-Cuchen, Seoul, Korea)에서 15일 간 증숙하였고, dry oven(Vision scientific Co., Korea)을 이용하여 30℃에서 3시간 건조하여 흑도라지를 제조하였다. 제조된 흑도라지와 생도라지는 -42℃ deep freezer(MDF-415, Sanyo, Tokyo, Japan)에 보관하면서 사용하였다.

추출물 제조

도라지의 기능성 측정을 위한 추출물은 도라지 시료 40 g당 용매(3차 증류수, 80% methanol) 400 mL를 넣고 잘 섞은 다음, 열수추출물은 70℃의 shaking water bath에서, 메탄올추출물은 60℃의 shaking water bath에서 5시간 동안 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻어진 각 추출액은 filter paper(Whatman No. 1, Maidstone, England)로 거른 후 감압농축(R-124, Buchi, Flawil, Switzerland)하고, 각각의 농축된 추출물은 동결 건조(FD-1, EYELA, Tokyo, Japan)하여 일정량의 농도로 만들어 실험에 사용하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(13)으로 측정하였다. 도라지 추출물을 농도별로 0.2 mL씩 시험관에 취하고 여기에 0.2 mL Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에 방치하였다. 3분 후 10% Na₂CO₃ 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수 4 mL를 첨가하여 실온의 암실에 1시간 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정(U-2900, Hitachi, Tokyo, Japan)하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid(Sigma, MO, USA)를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(14)의 방법에 준하여 측정하였다. 도라지 추출물을 농도별로 0.5 mL씩 취하고 10% aluminum nitrate와 1 M potassium acetate를 각각 0.1 mL를 넣고, 80% ethanol 4.3 mL를 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 후 415 nm에서 흡광도를 측정(U-2900, Hitachi, Tokyo, Japan)하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 quercetin(Sigma, MO, USA)을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하여 함량을 구하였다.

항산화활성

도라지의 항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) 및 hydroxyl radical 소거능으로 나타내었다. DPPH radical 소거능은 Blois(15)의 방법으로 측정하였다. 안정한 free radical인 DPPH(Sigma, MO, USA)에 대한 시료 용액과의 전자공여 효과로 이 반응에 의해 DPPH radical이 감소하는 정도를 spectrophotometer(U-2900, Hitachi, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 도라지 추출물을 농도별로 0.5 mL를 취하고

0.1 mM DPPH 용액 1 mL를 가하여, 10초간 vortex mixing 후 상온에서 30분간 반응시켜 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTS 소거활성은 Re 등(16)의 방법을 변형하여 실험하였다. ABTS 7 mM과 potassium persulfate 2.45 mM을 증류수에 용해하여 12~16시간 동안 암소에 방치하여 ABTS cation radical(ABTS⁺)을 형성시킨 후, 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.750 ± 0.002 가 되도록 ethanol로 희석하였다. 희석된 ABTS⁺ 용액 1 mL에 도라지 추출물 3 mL를 가하여 6분 동안 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 다음 식을 이용하여 ABTS⁺ radical 소거능(%)을 나타내었다.

Hyroxyl 라디칼 소거능은 Guteeridge(17)의 방법에 따라 시험관에 1 mM FeSO₄와 EDTA, 10 mM 2-deoxyribose, 도라지 추출물을 각각 0.2 mL씩 가하고 0.1 phosphate buffer (pH 7.4) 1.2 mL와 10 mM H₂O₂ 0.2 mL, 1 mM ascorbic acid 0.2 mL를 가하여 37°C 수욕상에서 1시간 반응시켰다. 반응시킨 용액 0.5 mL에 2.8% TCA(trichloroacetic acid)용액 1 mL를 가하여 반응을 중지시킨 후, 1% TBA(thiobarbituric acid)용액 1 mL를 가하여 100°C의 수욕상에서 10분간 가열시켰으며, 반응용액을 급냉하여 523 nm에서 흡광도를 측정하여, hydroxyl radical 소거능(%)으로 나타내었다.

사용균주 및 배지

도라지의 항균활성 측정을 위해 사용된 미생물은 기관지 질환자의 객담에서 주로 분리되는 것(5)으로 *Mycobacterium sp.* KCTC 1829, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2245, *Corynebacterium diphtheriae* KCTC 3075, *Streptococcus pyogenes* KCTC 3096을 한국생명공학연구원으로부터 구입·분양받았다. 또한 일반 세균은 *Escherichia coli* ATCC 43894, O157:H7과 *Bacillus cereus* ATCC 13061을 사용하였다. 사용된 배지는 *Mycobacterium sp.* KCTC 1829의 경우 medium for KCTC 1829로 각 성분을 배합하여 사용하였고, *S. aureus* KCTC 1928와 *K. pneumoniae* KCTC 2245의 경우 nutrient agar, *C. diphtheriae* KCTC 3075는 rabbit blood agar를 사용하였으며, *St. pyogenes* KCTC 3096은 brain heart infusion agar를 사용하였다.

항균활성 측정

연속 배양시킨 균주는 초기균수가 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL이 되도록 희석하여 멸균된 PCA배지에 각각의 균주를 접종하고 잘 섞은 다음, 멸균된 plate에 분주하여 살짝 굳힌 뒤, plate 표면에 놓아 밀착시켰다. 농도별로 제조한 도라지 추출물을 멸균된 유리 실린더에 50 μ L씩 접종하여 추출물이 충분히 흡수되도록 3시간 동안 4°C 냉장온도에서 보관 후

37°C incubator에서 24~48시간동안 배양하여 실린더 주변의 clear zone(직경, mm)을 측정하여 각 추출물의 항균활성을 비교하였다.

결과 및 고찰

추출물 수율, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

도라지에 대한 열수 및 메탄올 추출 수율은 Table 1과 같다. 생도라지의 경우 열수 및 메탄올 추출물의 수율은 각각 22.64%와 26.98%로 메탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 높은 수율을 나타냈다. 4년 및 24년근 도라지를 메탄올 및 열수로 추출한 결과 추출수율이 19-25%였으며, 생육기간에 관계없이 메탄올 추출이 열수 추출에 비해 높은 추출수율을 나타내어 본 연구결과와 유사하였다(4). 반면 흑도라지는 열수 추출이 30.32%, 메탄올 추출의 경우 29.41%로 두 용매간의 추출수율은 유사하였으며, 생도라지에 비해 높은 추출수율을 나타내었다. 이는 증숙에 의해 도라지 세포벽과 분자구조가 파괴에 따라 조직이 연화되어 추출 효율이 증가한 것으로 판단된다(11). 따라서 흑도라지를 기능성 식품소재로 이용 시 도라지 내에 함유된 유용성분의 추출이 용이할 것으로 판단된다.

Table 1. Extraction yield, total polyphenols, and flavonoids contents of *Doraji* extracts

Sample ¹⁾	Extraction yield (% dry basis)	Total polyphenols (mg/g-extract powder)	Total flavonoids (mg/g-extract powder)
RW	22.64±1.43 ²⁾	9.84±0.09	2.06±0.13
BW	30.32±0.95	21.16±0.69	7.94±0.73
RM	26.98±1.54	11.89±0.31	0.53±0.06
BM	29.41±1.51	28.38±0.56	5.38±0.03

¹⁾RW, Hot water extract from raw *Doraji*, BW, Hot water extract from black *Doraji*, RM, Methanol extract from raw *Doraji*, BM, Methanol extract from black *Doraji*.

²⁾Mean±SD (n=3).

도라지의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정된 결과(Table 1), 추출 용매에 상관없이 흑도라지가 생도라지보다 총 폴리페놀 함량이 높았으며, 추출 용매에 따라서는 열수 추출물보다 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량이 높았다. 흑도라지 메탄올 추출물의 함량이 28.38 mg/g으로 가장 높았으며, 생도라지 메탄올 추출물은 11.89 mg/g으로 흑도라지 추출물보다 다소 낮은 값을 나타냈다. 생도라지 열수 추출물은 9.94 mg/g으로 4시료군 중 가장 낮은 함량을 나타내었다. 이와 같은 결과는, Choi 등(18)이 보고한 생마늘과 흑마늘의 총 폴리페놀 함량의 경향과 유사하였으며, 열처리 과정을 거치면서 식물체 내 화합물의 구조적 전환으로 폴리페놀 화합물로 전환되었거나, 열처리로 인하여 페놀화합물을 유리형으로 전환시켜 용출이 용이해졌기 때문으로

판단된다.

플라보노이드는 C₆-C₃-C₆를 기본골격으로하는 담황색 또는 노란색을 띠는 페놀계 화합물의 총칭으로, 채소류 이상의 고등식물과 일부 녹조류만이 합성한다. 동물은 합성능력이 없어 식물에만 존재하며, 채소류와 유관속 식물의 잎, 꽃, 과실, 줄기, 뿌리 등 거의 모든 부위에 존재한다(19). 도라지의 총 플라보노이드 함량도 폴리페놀 함량과 유사한 경향으로 추출 용매에 관계없이 흑도라지의 총 플라보노이드 함량이 생도라지에 비해 높았으며, 추출 용매에 따라서는 열수 추출물이 메탄올 추출물보다 높은 함량을 나타내었다. 즉, 흑도라지 열수 추출물이 7.94 mg/g으로 가장 높았으며, 생도라지 메탄올 추출물이 0.53 mg/g으로 가장 낮은 함량을 나타냈다. Hwang 등(20)이 보고한 결과에 따르면, 배즙의 열처리 온도와 시간이 증가할수록 시료의 총 플라보노이드 함량도 증가하는 경향을 보였다. 이는 열처리에 의해 화합물의 결합이 파괴되었거나 고분자의 페놀성 화합물 및 단백질에 결합한 페놀성 화합물이 열처리에 의해 저분자의 페놀성 화합물로 전환되었기 때문으로 판단된다. 또한 메탄올 추출물보다 열수 추출물의 플라보노이드 함량이 높은 것은 Jang(19)이 보고한 겨우살이 추출물의 결과와 같은 경향으로, 이는 플라보노이드가 수용성 물질이기 때문으로 판단된다.

항산화 활성

도라지 추출물의 농도별 DPPH 라디칼 소거능을 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다. 흑도라지 메탄올 추출물이 모든 농도에서 가장 높은 소거능을 나타냈다. 그 다음으로 흑도라지 열수 추출물, 생도라지 메탄올 추출물, 생도라지 열수 추출물의 순으로 소거능이 높았다. 흑도라지 메탄올 추출물의

경우, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 62.38%로 50%이상의 소거능을 보였으며, 흑도라지 열수 추출물의 경우에도 같은 농도에서 49.81%의 소거능으로 50%에 가까운 소거능을 나타냈다. 생도라지 열수 추출물과 메탄올 추출물의 경우에는 3000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 두 시료군 모두 49.66%로 동일한 소거능을 보였으며, 약 50%의 소거능을 나타냈다. 총 폴리페놀 함량이 높게 나타난 시료군에서 DPPH 라디칼 소거능도 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 Hwang 등(21)이 보고한 열처리에 따른 더덕과 도라지의 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 경향을 나타내었다. 또한 투석막으로 분리한 가공마늘 갈변물질의 생리활성에서 DPPH 라디칼 소거능의 경우, 생마늘과 홍마늘의 경우에는 유의적인 활성 차이가 없었으나 흑마늘은 유의적으로 활성이 높았다(22). 이는 증숙과정 중 열처리에 따른 페놀성 화합물 등을 포함한 항산화물질의 용출이 증가하였거나 항산화 활성이 좋은 물질로의 변환에 의한 것으로 판단된다(12).

도라지의 각 추출물의 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 Fig. 2와 같다. DPPH 라디칼 소거능과 마찬가지로 총 폴리페놀 함량이 가장 높은 시료군에서 가장 높은 소거능을 보였다. 즉, 흑도라지 메탄올 추출물이 가장 높은 소거능을 보였으며, 생도라지 열수 추출물이 가장 낮은 소거능을 나타냈다. 용매 추출물에 따라서는 메탄올 추출물이 열수 추출물보다 높은 소거능을 보였으며, 생도라지보다는 흑도라지가 높은 소거능을 나타냈다. 추출물 90 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 흑도라지 메탄올 추출물은 80% 이상의 소거능을 보인 반면, 생도라지 열수 추출물은 35.91%의 소거능을 나타냈다. 이와 같은 결과는 열처리에 의한 인삼 추출물의 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 나타낸 결과(8)와 유사하였다. 열처리한 더덕과 도라지의 ABTS 라디칼 소거능을 생더덕과 생도라지와 비교한

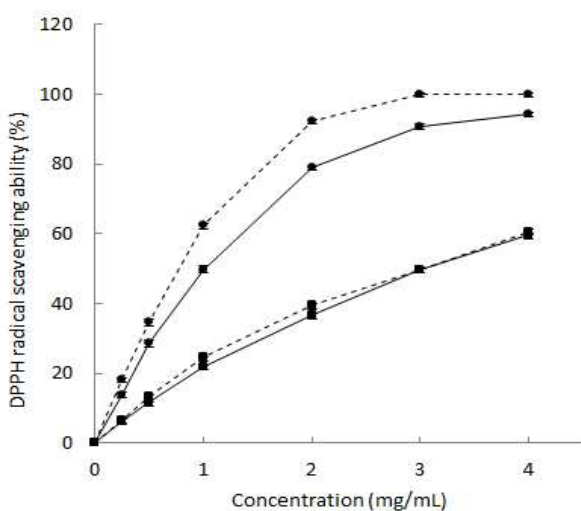


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of hot-water(—) and methanol(---) extracts from raw(■) and black(●) *Doraji*.

Mean±SD (n=3).

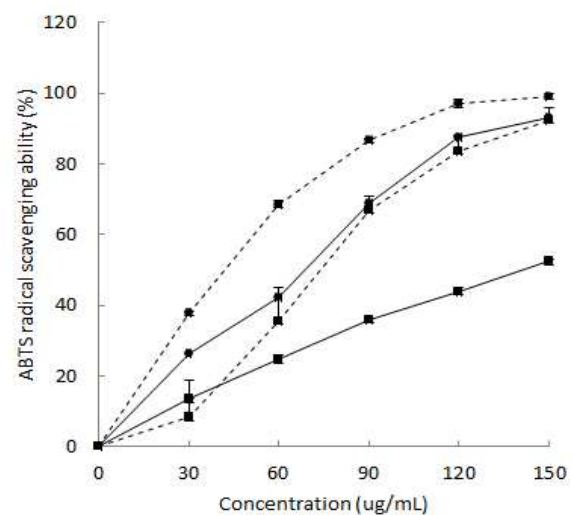


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of hot-water(—) and methanol(---) extracts from raw(■) and black(●) *Doraji*.

Mean±SD (n=3).

결과, 열처리에 의해 라디칼 소거능이 증가하였다(21). 또한 숙성 홍마늘과 흑마늘에서 ABTS 라디칼 소거능을 측정 한 결과, 생마늘은 숙성한 마늘보다 라디칼 소거능이 낮았 으며, 홍마늘은 2000 µg/mL의 농도에서 56.10%의 소거능 을 보였고, 흑마늘은 500 µg/mL의 농도에서 61.86%로 50% 이상의 ABTS 라디칼 소거능을 보였다(22). 이는 흑도라지 의 높은 총 폴리페놀 함량뿐만 아니라 갈변반응 중 생성된 항산화 관련 물질이 항산화활성 증가에 기여한 것으로 판단 된다(23).

도라지 추출물의 hydroxyl 라디칼 소거능은 흑도라지 추 출물이 생도라지 추출물에 비해 다소 높은 것으로 나타났으 나(Fig. 3), DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능에 비해 그 차이는 크지 않았다. 추출 용매에 따른 결과는 DPPH 라디칼이나 ABTS 라디칼 소거능과 유사한 경향으로 메탄올 추출물이 열수 추출물보다 높은 소거능을 나타냈다. 이것 또한 총 폴리페놀 함량과 상관관계를 가지는 것으로 판단된다.

각 추출물의 DPPH, ABTS 및 hydroxyl 라디칼 소거능의 IC₅₀을 구한 값은 Table 2에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거 능의 경우, 흑도라지 메탄올 추출물의 IC₅₀이 937.38 µg/mL 로 가장 낮은 값을 나타내어 DPPH 라디칼 소거능이 가장 우수함을 알 수 있었다. 또한 ABTS 라디칼 소거능도 흑도 라지 메탄올 추출물의 IC₅₀이 50.07 µg/mL로 소거능이 가장 우수하였다. 반면, hydroxyl 라디칼 소거능의 경우에는 흑 도라지 열수 추출물의 IC₅₀이 5107.26 µg/mL로 가장 낮은 값을 보였다. 더덕의 경우에도 증숙을 통하여 생성된 발효 더덕이 낮은 IC₅₀을 나타내어 항산화 활성이 증가하여 본 연구 결과와 같은 경향을 보였다(11).

이상의 결과에서 흑도라지가 생도라지에 비해 높은 항산 화 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 이러한 결과는 흑도라지

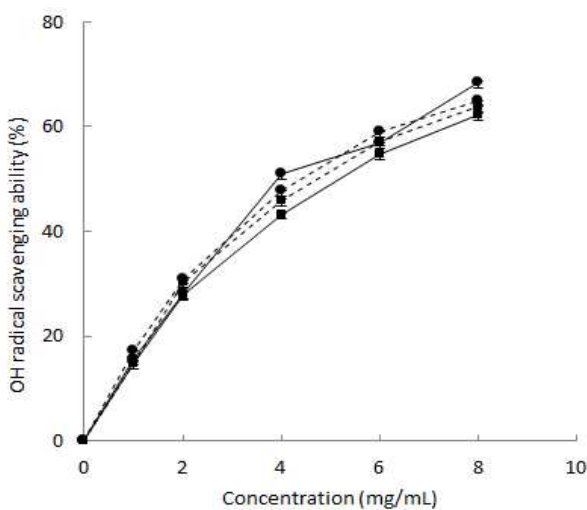


Fig. 3. Hydroxyl radical scavenging activity of hot-water(—) and methanol(---) extracts from raw(■) and black(●) *Doraji*. Mean±SD (n=3).

Table 2. Free radical scavenging activity(IC₅₀) of *Doraji* extracts

Sample ¹⁾	IC ₅₀ (µg/mL)		
	DPPH radical	ABTS radical	OH radical
RW	3123.6±15.3 ²⁾	137.2±8.9	5632.6±35.6
BW	1155.0±21.6	70.4±5.6	5107.3±55.8
RM	3043.8±10.5	78.2±7.8	5376.3±43.2
BM	937.4±13.6	50.1±5.5	5197.6±12.8

¹⁾RW, Hot water extract from raw *Doraji*, BW, Hot water extract from black *Doraji*, RM, Methanol extract from raw *Doraji*, BM, Methanol extract from black *Doraji*.
²⁾Mean±SD (n=3).

의 높은 폴리페놀 함량에 기인한 것으로 판단되며, 또한 증숙 과정 중 형성된 갈변물질이 일부 항산화 효과를 증가 시킨 것으로 판단된다. Lee 등(24)은 갈변 물질의 생성이 많아질수록 항산화 활성 및 라디칼 소거능이 증가한다고 보고하여 본 연구 결과와 같았다.

Table 3. Antimicrobial activity of *Doraji* extracts against bronchus diseases bacteria

Microorganisms	Sample ¹⁾	(Diameter of clear zone, mm)	
		Sample concentration (mg/mL)	
		50	100
<i>Mycobacterium sp.</i>	RW	10.33±1.53 ²⁾	11.67±2.89
	BW	NC ³⁾	12.67±2.08
	RM	10.33±1.53	11.67±2.89
	BM	11.33±1.53	12.00±2.00
<i>Staphylococcus aureus</i>	RW	NC	10.00±1.00
	BW	11.00±2.00	13.00±1.73
	RM	NC	10.00±1.00
	BM	NC	11.67±0.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	RW	NC	10.17±2.02
	BW	9.33±0.58	11.00±1.00
	RM	NC	10.17±2.02
	BM	9.67±0.58	10.67±1.53
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	RW	NC	12.33±2.52
	BW	NC	11.17±1.26
	RM	NC	12.33±2.52
	BM	NC	11.67±3.06
<i>Streptococcus pyogenes</i>	RW	NC	11.67±3.06
	BW	NC	11.67±1.53
	RM	NC	11.67±3.06
	BM	NC	10.67±1.15

¹⁾RW, Hot water extract from raw *Doraji*, BW, Hot water extract from black *Doraji*, RM, Methanol extract from raw *Doraji*, BM, Methanol extract from black *Doraji*.
²⁾Mean±SD (n=3), disk diameter (8 mm) was included.
³⁾NC, No clear zone.

항균활성

도라지 추출물의 기관지염 유발 미생물인 *Mycobacterium* sp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*와 *Streptococcus pyogenes*에 항균활성을 측정하였으며, 그 결과는 Table 3과 같다. 10 mg/mL의 추출물 농도에서는 모든 균에서 clear zone을 확인 할 수 없었다. *Mycobacterium*에서 50 mg/mL 농도에서 흑도라지 열수추출물을 제외한 모든 추출물에서 항균효과를 나타내었으며, 흑도라지 메탄올 추출물이 가장 높은 활성을 나타내었다. 반면, 100 mg/mL 농도에서는 흑도라지 열수추출물이 가장 높은 항균활성을 보였으나 다른 추출물과의 항균효과는 큰 차이를 나타내지 않았다. *S. aureus*에 대한 항균효과를 살펴보면, 50 mg/mL 농도에서는 *Mycobacterium* sp.와 달리 흑도라지 열수추출물에서만 항균 효과를 나타내었다. 또한 모든 농도에서 가장 높은 항균효과를 나타내었으며, 100 mg/mL에서는 13.00 mm의 clear zone을 나타내어 강한 항균활성을 보였다. 도라지 추출물의 *K. pneumoniae*에 대한 항균활성은 50 mg/mL 농도에서 흑도라지 추출물에서 clear zone을 확인할 수 있었으며, 생도라지 추출물에서는 항균활성을 보이지 않았다. 모든 도라지 추출물은 100 mg/mL 농도에서는 10.17~11.00 mm의 clear zone을 보여 *K. pneumoniae*에 대한 유사한 항균활성을 나타내었다. *C. diphtheriae*의 경우, 50 mg/mL 농도에서 모든 추출물에서 clear zone이 나타나지 않은 반면, 100 mg/mL 농도에서는 11.17~12.33 mm의 clear zone이 나타났으며, 생도라지가 흑도라지에 비해 다소 높은 항균활성을 나타내었다. 또한 생도라지 추출물이 흑도라지 추출물에 비해 높은 *C. diphtheriae* 항균활성을 나타내었다. *S. pyogenes*의 경우, 50 mg/mL에서 모든 추출물의 항균활성은 나타나지 않았으나 100 mg/mL 농도에서는 강한 항균 활성을 보였으며, 이중 흑도라지 열수추출물이 가장 높은 항균활성을 나타내었다. 이상의 결과 균마다 약간씩의 차이는 있었으나, 50 mg/mL에서는 흑도라지 추출물이 생도라지 추출물에 비해 *S. aureus*와 *K. pneumoniae*에 대해 다소 높은 항균활성을 보였으며, 100 mg/mL에서는 각 항균활성에 큰 차이를 나타내지 않았다.

일반 세균 *Escherichia coli*와 *Bacillus cereus*에 대한 도라지 추출물의 항균 활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. *E. coli*에 대한 도라지 추출물의 항균활성을 측정한 결과, 생도라지 추출물은 10~50 mg/mL 농도에서 clear zone을 확인할 수 없었으며, 100 mg/mL 농도에서 낮은 항균활성을 나타내었다. 반면 흑도라지 추출물의 경우 열수추출물은 10 mg/mL에서 항균활성을 나타내었으며, 농도가 증가함에 따라 항균 활성이 증가하여 100 mg/mL 농도에서 12.33 mm의 clear zone을 보여 매우 강한 항균활성을 나타내었다. 또한 메탄올 추출물에서도 50 mg/mL 이상에서 항균활성을 나타내었다. *B. cereus*에 대한 항균활성 측정 결과, *E. coli*

항균활성과 유사한 경향을 보였다. 생도라지의 경우 50 mg/mL 이하의 농도에서는 clear zone이 나타나지 않았으며, 100 mg/mL 농도에서 항균활성을 나타내었다. 반면, 흑도라지 열수 추출물의 경우 10 mg/mL 농도에서 약한 활성을 보였으며, 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하여 100 mg/mL 농도에서 강한 항균활성을 보였다. 또한 흑도라지 메탄올 추출물의 경우 10 mg/mL 농도에서는 항균활성이 나타나지 않았으나 50 mg/mL 농도에서 강한 항균활성을 나타내었다.

이상의 결과에서 도라지는 기관지 질병유발 미생물뿐만 아니라 일반 세균에도 강한 항균 효과를 가지는 것을 볼 수 있었으며, 그 중 *C. diphtheriae* 균에서 가장 높은 항균 활성을 보였다. 또한 흑도라지 추출물이 생도라지 추출물에 비해 높은 항균활성을 가지는 것으로 나타났다. 특히, 흑도라지 열수 추출물의 경우에는, 기관지염에 관여하는 *Mycobacterium*, *S. aureus*와 *K. pneumoniae* 3가지 균에서 가장 높은 항균 활성을 나타냈으며, 일반 세균 2종에서도 매우 높은 항균 활성 보였다. 기관지, 천식 질환자의 객담에서 분리되는 세균을 이용하여 도라지 추출물의 항균효과를 측정한 결과(5), ethyl ether 추출물이 기관지 세균에 대하여 80% 이상의 항균력을 나타내었으며, 그 외의 추출물에서도 용매에 따른 차이는 있었으나 세균의 성장을 억제하는 약리성 유용물질들이 다수 포함되어 있는 것으로 보고되었다. 이러한 항균효과는 흑도라지의 높은 폴리페놀 함량뿐만 아니라 높은 사포닌 함량에 의한 것으로 판단된다(25). 페놀 화합물은 항산화, 항암 효과는 물론 항염증 작용에 크게 관여하는 것으로 보고되고 있다(26,27). 도라지 사포닌의 항균효과에 관한 보고는 다수로, 그중 Takagi와 Lee(28)는 crude platycodin에 대해 도라지 사포닌이 효과가 있음을 보고하였다.

Table 4. Antimicrobial activity of *Doraji* extracts against food poisoning bacteria

Microorganisms	Sample ¹⁾	(Diameter of clear zone, mm)		
		Sample concentration (mg/mL)		
		10	50	100
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	RW	NC ²⁾	NC	9.00±0.00
	BW	10.33±1.53 ³⁾	11.00±2.00	12.33±1.15
	RM	NC	NC	9.00±0.00
	BM	NC	10.00±1.00	11.33±1.15
<i>Bacillus cereus</i>	RW	NC	NC	10.15±0.70
	BW	9.33±0.58	10.00±0.00	13.17±1.04
	RM	NC	NC	10.17±0.76
	BM	NC	13.00±2.00	13.33±2.08

¹⁾RW, Hot water extract from raw *Doraji*, BW, Hot water extract from black *Doraji*, RM, Methanol extract from raw *Doraji*, BM, Methanol extract from black *Doraji*.

²⁾NC, No clear zone.

³⁾Mean±SD (n=3), disk diameter (8 mm) was included.

요 약

본 연구는 다양한 생리활성을 지닌 도라지를 이용하여 흑도라지를 제조하고 이들의 항산화 활성 및 항균 활성을 일반 도라지와 비교하여 측정하였다. 흑도라지는 도라지를 60℃ 항온기에서 15일간 증숙한 후 30℃ dry oven에서 3시간 건조하여 제조하였다. 총 폴리페놀 함량은 흑도라지의 메탄올 추출물이 28.38 mg/g으로 가장 높았다. 흑도라지가 생도라지보다 폴리페놀 함량이 높았으며, 메탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 더 높은 함량을 나타냈다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 흑도라지 메탄올 추출물이 가장 높은 소거능을 나타내었다. Hydroxyl 라디칼 소거능의 경우 2000 µg/mL의 농도까지는 흑도라지의 메탄올 추출물이 소거능이 좋았으나, 8000 µg/mL의 농도에서는 흑도라지 열수 추출물이 소거능이 가장 우수하였다. 도라지 추출물의 항균활성 결과는 균마다 약간의 차이는 있었으나, 흑도라지 열수 추출물이 일반 세균 2종을 포함하여, 기관지염 관련 미생물 3종에서도 가장 높은 항균 활성을 나타냈다. 이상의 결과로 흑도라지는 생도라지에 비해 높은 폴리페놀 함량과 항산화 및 항균 활성을 나타내어 기능성 식품 소재로서의 이용성이 매우 높을 것으로 판단된다.

References

- Ames BN (1970) Identification of environmental chemicals causing mutation and cancer. *Science*, 204, 589-592
- Hammond B, Kontos A, Hess ML (1985) Oxygen radicals in the adult respiratory distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury. and in cerebral vascular damage. *Can J Physiol Pharmacol*, 63, 173-187
- Shin DH (1997) The study course and movement of natural antioxidants. *Kor J Food Sci Technol*, 30, 14-18
- Shon MY, Seo JK, Kim HJ, Sung NJ (2001) Chemical compositions and physiological activities of Doraji (*Platycodon grandiflorum*). *Korean Soc Food Sci Nutr*, 30, 717-720
- Lee IS, Choi MC, Moon HY (2000) Effect of *Platycodon grandiflorum* A. DC extract on the bronchus diseases bacteria. *Korean J Biotechnol Bioeng*, 15, 162-166
- Chung JH, Shin PG, Ryu JC, Jang DS, Cho SH (1997) Pharmaceutical substances of *Platycodon grandiflorus (jacquin)* A. De Candolle. *Agr Chem Biotechnol*, 40, 152-156
- Han LK, Zheng YN, Xu BJ, Okuda H, Kimura Y (2002) Saponins from *Platycodi Radix* ameliorate high fat diet-induced obesity in mice. *J Nutr*, 132, 2241-2245
- Kim HK, Choi JS, Yoo DS, Cho YH, Yon GH, Hong KS, Lee BH, Kim HJ, Kim EJ, Park BK, Jeong YC, Kim YS, Ryu SY (2007) HPLC analysis of saponins in *Platycodi Radix*. *Korean J Pharmacogn*, 38, 192-196
- Ha YW, Na YC, Seo JJ, Kim SN, Linhardt RJ, Kim YS (2006) Qualitative and quantitative determination of ten major saponins in *Platycodi Radix* by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection and mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1135, 27-35
- Hong JY, Nam HS, Yoon KY, Shin SR (2012) Antioxidant activities of extracts from fermented black jujube. *Korean J Food Preserv*, 16, 901-908
- Song CH, Seo YC, Choi WY, Lee CG, Kim DU, Chung JY, Chung HC, Park DS, Ma CJ, Lee HY (2012) Enhancement of antioxidative activity of *Codonopsis lanceolata* by stepwise steaming process. *Korean J Med Crop Sci*, 20, 238-244
- Kim SS, Ha JH, Jeong MH, Ahn JH, Yoon WB, Park SJ, Seong DH, Lee HY (2009) Comparison of biological activities of fermented *Codonopsis lanceolata* and fresh *Codonopsis lanceolata*. *Korean J Med Crop Sci*, 17, 280-285
- Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*, 12, 239-243
- Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA (2000) Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol*, 71, 109-114
- Blois ML (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1224
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Catherine RE (1998) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med*, 26, 1231-1237
- Gutteridge JM (1984) Reactivity of hydroxyl and hydroxyl-like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *J Biochem*, 224, 761-767
- Choi DJ, Lee SJ, Kang MJ, Cho HS, Sung NJ, Shin JH (2008) Physicochemical characteristics of black garlic (*Allium sativum* L.). *Korean Soc Food Sci Nutr*, 37, 465-471
- Jang TO, Yoo YH, Hwang YC, Kim HK, Woo HC (2010) Total polyphenol content and antioxidative activities of

- mistletoe (*Viscum album*) extracts by supercritical carbon dioxide. Korean Soc Food Sci Nutr, 39, 20-24
20. Hwang IG, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Yang MH, Jeong HS (2006) Change of physicochemical characteristics of Korean pear (*Pyrus pyrifolia Nakai*) juice with heat treatment conditions. Korean J Food Sci Technol, 38, 342-347
21. Hwang CR, Oh SH, Kim HY, Lee SH, Hwang IG, Shin YS, Lee JS, Jeong HS (2011) Chemical composition and antioxidant activity of Deoduk (*Codonopsis lanceolata*) and Doraji (*Platycodon grandiflorum*) according to temperature. Korean Soc Food Sci Nutr, 40, 798-803
22. Shin JY, Kang MJ, Kim RJ, Ryu JH, Kim MJ, Lee SJ, Sung NJ (2011) Biological activity of browning compounds from processed garlicks separated by dialysis membrane. Korean Soc Food Sci Nutr, 40, 357-365
23. Gu FL, Kim JM, Abbas S, Zhang XM, Xia SQ, Chen ZX (2010) Structure and antioxidant activity of high molecular weight maillard reaction products from casein-glucose. Food Chem, 120, 505-511
24. Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Jung WJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ (2010) Antioxidant activity of aged red garlic. J Life Sci, 20, 775-781
25. Lee SJ, Shin SR, Yoon KY (2013) Physicochemical properties of black Doraji (*Platycodon grandiflorum*). Korean J Food Sci Technol, 45, 1-6
26. Cowan MM (1999) Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev, 12, 564-582
27. Kim HJ, Lee JW, Kim YD (2011) Antimicrobial activity and antioxidant effect of *Curcuma longa*, *Curcuma aromatica* and *Curcuma zedoaria*. Korean J Food Preserv, 18, 219-225
28. Takagi K, Lee BE (1972) Pharmacological studies on *Platycodon grandiflorum* A. DC. Acute toxicity and central depressant activity of crude platycodin. J Pharm Soc Jpn, 92, 951-960

(접수 2013년 6월 5일 수정 2013년 7월 29일 채택 2013년 8월 1일)