

추출용매 및 발아시기에 따른 무순 추출물의 항산화 활성 비교

한진희¹ · 문혜경¹ · 정신교¹ · 강우원^{2*}

¹경북대학교 식품공학부
²경북대학교 식품외식산업학과

Comparison of Antioxidant Activities of Radish Bud (*Raphanus sativus* L.) According to Extraction Solvents and Sprouting Period

Jin-Hee Han¹, Hye-Kyung Moon¹, Shin-Kyo Chung¹, and Woo-Won Kang^{2*}

¹School of Food Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Dept. of Food and Food Service Industry, Kyungpook National University, Gyeongbuk 742-711, Korea

ABSTRACT The purpose of this study is to investigate the total polyphenol and antioxidant activities of radish buds (*Raphanus sativus* L.) based on sprouting periods and extraction solvents in order to present basic data that are needed for using the radish buds as functional food material. The antioxidant activities were assessed by using various antioxidant models (DPPH, TBARS, Rancimat method, POV). The total polyphenol contents according to the extraction solvents were 84.11 and 296.51 mg/g, and the ethanol extract on day 4 of showed the highest value as 296.51 mg/g. As for DPPH radical-scavenging activity, on the day 4 of sprouting, water extracts indicated the highest scavenging activity by 86.67%, and the acetone extracts indicated a rather low scavenging activity as 77.23%. As for TBARS measurement of the radish bud extracts on day 4 of sprouting the extract of 70% ethanol was highest (71.48%). On day 8 of sprouting the TBARS value was increased and the methanol extract was highest (78.99%). As for the oxidative induction period on day 4 of sprouting in Rancimat measurement, the methanol extract was highest (6.07 hours) on day 4 and the antioxidant index was 1.16. On day 12 of sprouting, the general oxidative induction period tended to be reduced to 5.25 to 5.91 hours. In the peroxide value measurement on day 4 of sprouting and beginning of the storage, the extracts showed no difference between 3.02 meq/kg oil and 4.12 meq/kg oil, and on the day 60 of storage, the water extract (43.83 meq/kg oil) and the methanol extract (45.42 meq/kg oil) were lowest with higher antioxidant effect. In conclusion, the radish bud extract with higher total polyphenol contents and antioxidant activities may serve as functional material for food additives, such as natural antioxidants and food preserving agents.

Key words: radish bud (*Raphanus sativus* L.), total polyphenol, DPPH radical, TBARS, Rancimat method

서 론

새싹채소는 종자를 발아시켜 어린 싹을 이용하는 것으로 싹이 트는 시기에 성장을 위해 여러 물질을 생합성하여 비타민 및 미네랄 함량이 성체의 3~4배에 이르는 등 영양학적으로 우수한 것으로 알려져 있다. 또한 전반적인 산업의 고도화와 도시화로 식생활에 대한 소비자의 인식이 전환되어 웰빙에 대한 관심 증가로 인한 건강지향의 식생활을 선호하게 됨에 따라 새싹채소에 관한 소비가 증대되고 있는 실정이다(1-3). 새싹채소로 이용되는 종류 중 무순은 무 특유의 향기와 특 쏘는 듯한 매운맛이 있으며 샐러드나 무침, 샌드위치, 김초밥 등에 많이 이용되므로 젊은이들도 좋아하는 채소이

다. 무순은 십자화과 식물로서 항암물질로 알려져 있는 indole계 화합물이 존재하며 멜라닌 합성에 관여하는 tyrosinase의 활성을 저해하는 효과가 다른 채소에 비하여 높다고 보고된 바 있다(4).

최근 인구 고령화에 따른 현대인의 건강에 대한 관심 증가 및 삶의 질에 대한 인식 변화와 더불어 노화 억제 및 질병 예방에 대한 관심이 증가되고 있으며(5), 각종 성인병 퇴치를 위한 자연 건강식의 개발 및 기능성을 갖는 식품에 대한 요구가 커지고 있다. 특히 식료품으로부터 유래하는 생리활성을 나타내는 기능성 식품에 대한 연구가 최대의 관심사가 되고 있다(6). 이런 성인병 및 노화관련 각종 질환들은 활성산소에 의해 인간의 대사과정 중에 끊임없이 발생되어 생체를 노화시키는 주요인자로 작용하고 있다고 알려져 있는데, 활성산소를 방어하는 항산화물질이 노화 및 성인병 같은 질병의 치료 가능성 때문에 주목받고 있으며, 그중 천연물에서 추출한 천연항산화제에 관한 연구가 활발하다(7,8). 이런 활

Received 31 July 2013; Accepted 23 October 2013

*Corresponding author.

E-mail: wwkwang@knu.ac.kr, Phone: 82-54-530-1303

성산소 생성을 억제하기 위한 항산화물질로서 아스코르빈산, 토코페롤, 카로티노이드, 플라보노이드, 탄닌 등의 천연 항산화제와 함께 butylated hydroxyanisole(BHA) 및 butylated hydroxytoluene(BHT) 등의 합성항산화제가 개발되어 식품, 화장품 등에 산화방지제로 많이 사용되고 있다. 천연항산화제들은 항산화력이 비교적 낮고 합성항산화제의 경우는 생체 효소 및 지방의 변이원성 및 독성으로 인체에 암을 유발할 수 있다는 보고(9)가 있어 안전하고 강한 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 최근 사용빈도가 높아지면서 향미 식품으로서 가치가 주목되고 있으나 아직 연구된 바 없는 무순을 용매별로 추출 후 항산화 효과를 검증하여 천연항산화 소재로서의 이용가치를 규명하고 건강기능성 식품소재로서 산업적으로 이용할 수 있는 고부가가치성 소재개발을 위한 기초적 연구 자료로써 활용하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용된 시료는 종자 소독이 되지 않은 무 씨앗을 아시아 종묘(주)(Seoul, Korea)에서 구입하여 수온이 28~30°C인 물에 4~5시간 침지한 후 자동재배기(Miracle sprouter KM-130, Hygreen, Seoul, Korea)에 넣어 25±2°C의 저온 incubator(VS-1203PFC, Vision Scientific, Daejeon, Korea)에 재배시켰다. 재배 후 발아가 되면 조명을 주어 녹화 단계를 거친 후 4일, 8일, 12일 발아시기별로 채취하여 동결건조기(FD SFDSM24, Samwon, Seoul, Korea)로 건조한 후 시료로 사용하였다. 추출에 사용된 용매와 시약은 특급 및 일급 시약을 구입하여 사용하였다.

용매별 추출물 제조 및 추출 수율 측정

추출용매에 따른 무순 추출물은 Fig. 1과 같이 에탄올, 메탄올, 아세톤, 물 처리구로 나누어 제조하였다(10). 에탄올추출물은 각 시료 2 g을 사용하여 70% 에탄올 300 mL에 현탁시킨 후 80°C에서 2시간 환류 추출하고 여과하였다. 여액은 유기용매가 완전히 휘발할 때까지 진공농축기(R-114, BÜCHI, Flawil, Switzerland)로 감압농축 하고 여액은 원심분리기(VS-21SMT, Vision Scientific)로 5,000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 동결건조 하였다. 건조한 시료는 eppendorf tube에 나누어 냉동 보관하였다. 메탄올추출물은 각 시료 2 g을 80% 메탄올 300 mL에 현탁시키고 80°C에서 2시간 환류 추출한 후 에탄올추출물과 동일한 방법으로 처리하였으며, 아세톤추출물은 각 시료 2 g을 75% 아세톤 300 mL에 현탁시키고 70°C에서 2시간 환류 추출한 후 에탄올추출물과 동일한 방법으로 처리하였다. 또한 물추출물은 증류수 300 mL에 현탁시킨 후 100°C에서 2시간 환류 추출한 후 에탄올추출물과 동일한 방법으로 처리하였

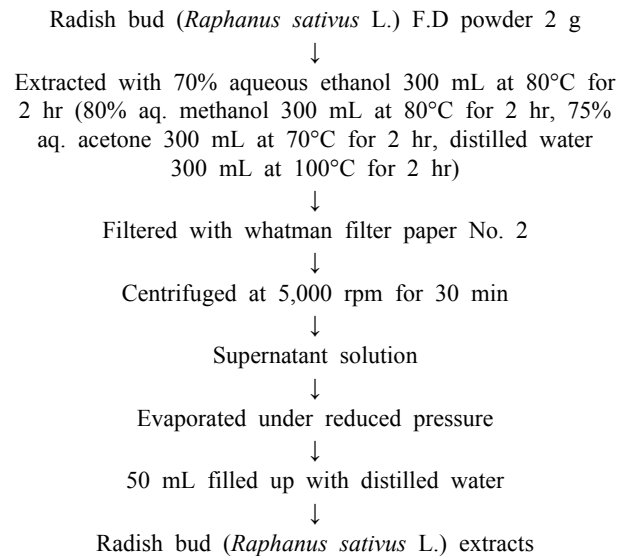


Fig. 1. Schematic procedure for preparation of different solvent extracts of radish bud.

다. 이렇게 제조한 시료는 추출 수율을 구하고 항산화 측정 시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 화합물 함량 측정

폴리페놀 화합물 함량은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis 방법(11)을 이용하여 측정하였다. 시료용액 0.1 mL에 증류수 1.9 mL를 가하여 잘 혼합한 후 0.2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 0.2 mL 첨가하여 혼합한 후 실온에서 3분간 방치한 다음 Na₂CO₃ 포화용액 0.4 mL와 증류수 1.9 mL를 가하여 암실에서 1시간 동안 방치하여 상등액을 UV/Vis-spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 곡선은 gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 이용하여 검량곡선을 작성한 후 함량 계산에 활용하였다.

DPPH radical 소거능 측정

각 추출물에 대한 DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) radical 소거능은 Blois 방법(12)에 의하여 측정하였다. 즉 시료 0.2 mL와 2×10⁻⁴ M DPPH 용액 3 mL를 5초간 voltex mixer로 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 UV/Vis-spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu Co.)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거능은 다음과 같은 계산식에 의해 환산하였다.

$$\text{DPPH radicals scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 측정

각 추출물의 TBARS 측정은 Yook 등(13)과 Kang 등(14)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 기질 용액은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol을 4:1로 혼합한 용매에 linoleic acid methyl ester를 10 μ L 첨가하여 기질용액을 조제하였다. 이 기질용액에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 각 추출물과 비교구인 BHA, BHT를 0.01%(w/v) 농도로 각 시료액을 첨가한 후 60°C shaking incubator (Wisecube, Daihan Scientific, Seoul, Korea)에서 100 rpm으로 계속 진탕하면서 경시적으로 TBA(2-thiobarbituric acid) 1.0 mL, 0.75% TBA 시약 2.0 mL를 가한 다음 vortex mixer로 진탕하여 90°C에서 45분간 가열시키고 이 반응액을 실온까지 냉각시켜 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리 하여 그 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. TBARS 값은 시료 첨가군의 흡광도와 증류수를 대조군으로 한 흡광도로부터 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{TBARS (\%)} = (A - B/A) \times 100$$

A: Absorbance of blank, B: Absorbance of sample

Rancimat에 의한 산화안정도 측정

각 추출물의 Rancimat 방법(15)에 의한 산화안정도 측정은 각 추출물 및 BHA와 BHT를 대두유에 첨가한 후 자동산화 측정 기계인 Rancimat(679, Metrohm Co., Herisau, Switzerland)를 이용한 CDM(conductometri determination method)으로 평가하였다. Reaction vessel에서 시료 유지 5 g에 각 추출물 100 μ L를 취한 후 120°C로 조절된 aluminum heating block 상에서 시간당 20 L의 여과된 공기를 주입하여 산화시켰다. 이때 발생하는 휘발성 산화 생성물을 60 mL의 증류수가 들어 있는 absorption vessel에 이행시켜 전기전도도의 변화에 따라 자동적으로 산출된 유도기간으로 항산화 정도를 측정하였으며, 항산화력의 비교는 추출물을 첨가하지 않은 유지시료를 대조구로 하여 산출한 antioxidative index(AI)로써 표시하였다.

$$\text{AI} = \text{시료 첨가군의 유도기간} / \text{무첨가군의 유도기간}$$

과산화물가 측정

각 추출물의 과산화물가에 의한 항산화성 측정은 I.U.P.C의 방법(16)에 의해 측정하였다. 즉 정제 대두유 3 g에 각 용매에 따른 추출물 100 μ L를 시험관에 넣고 60°C incubator(KJ-605, Kiwoo Medical, Co., Seoul, Korea)에서 12시간 동안 저장하여 산화를 촉진시켰다. 추출물의 비교구로는 BHT와 BHA를 녹인 용액을 사용하여 실험구와 같은 조건으로 실험하였다.

산화를 촉진시킨 시료를 공전 삼각 플라스크에 넣고 질소 가스로 플라스크내의 공기를 치환시킨 후 chloroform 10 mL, acetic acid 15 mL 및 KI 포화용액 1 mL를 첨가하고 1분간 진탕시켜 5분간 암소에 방치시킨 후, 증류수를 75 mL 첨가 혼합하여 0.01 N Na₂S₂O₃ 용액으로 I₂를 청남색에

서 무색으로 될 때까지 적정하여 과산화물가(POV)를 측정하였다. 이때 POV는 다음과 같은 식으로 산출하였다.

$$\text{POV (meq/kg)} = (A - B) \times 0.01 \times F/S \times 1000$$

A: 저장후 시료의 0.1 N Na₂S₂O₃ 용액의 적정소비량(mL)

B: 실험시작 시 시료의 0.1 N Na₂S₂O₃ 용액의 적정소비량(mL)

F: 0.01 N Na₂S₂O₃의 factor

S: 시료 채취량(g)

통계처리

통계처리는 SPSS 14.0(Statistical Package for Social, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 항산화 시험에서 각각의 시료에 대해 3회 반복 측정하여 평균± 표준오차로 나타내었으며, 각 군에 따른 유의성 검증은 분산 분석(ANOVA)을 한 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 나타내었다.

결과 및 고찰

용매별 추출수율

추출용매에 따른 무순으로부터 항산화물질을 가장 효율적으로 추출하기 위한 용매를 선정하기 위하여 극성이 다른 4종의 용매를 사용하여 추출수율을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 발아 4일째의 용매별 무순 추출물의 추출수율은 75% 아세톤(34.0%)>물(31.7%)>70% 에탄올(30.1%)>80% 메탄올(27.0%)로, 75% 아세톤추출물이 가장 높은 수율을 나타내었고 80% 메탄올추출물에서 가장 낮은 수율을 나타내었다. 이와 반대로 발아 8일과 발아 12일에서는 70% 에탄올추출물이 가장 높은 수율을 나타내었고 75% 아세톤추출물이 가장 낮은 수율을 나타내었다. Jun 등(17)의 연구에서 용매별 canola meal의 추출수율은 메탄올에서 가장 높았고 다음으로 에탄올, 물, 아세톤 순으로 나타났다고 보고하였다. Chung(18)은 추출용매에 따른 아사이베리의 추출수율에서 에탄올, 물, 메탄올 순으로 높게 나타났다고 보고하였고 그 결과를 지방의 일부가 에탄올에 용출되어 나왔기 때문인 것으로 보았다. 또한 Kwon 등(19)은 마카분말의 용매별 추출수율을 측정한 결과 물, 메탄올, 에탄올 순으로 높게 나타났다고 보고하였고 이때 추출용매의 극성이 증가할수록 식물체에 존재하는 수용성 폴리페놀 화합물과 방향족 아민

Table 1. Yield of radish bud extracts prepared with different extraction solvents

Sprouting period (day)	Yield (dry basis%, w/w)			
	70% ethanol	80% methanol	75% acetone	Distilled water
4	30.1 ¹⁾	27.0	34.0	31.7
8	38.2	36.8	35.8	37.5
12	47.5	45.5	38.7	40.1

¹⁾Yield=(weight of solid extract/ weight of dry sample)×100.

등의 용출이 증가하여 결과적으로 극성용매에서의 추출수율이 높게 나타난 것이라고 보고하여 본 실험의 결과를 뒷받침해 주고 있다.

Total polyphenol 화합물 함량

Polyphenol은 식물 내에 존재하는 여러 페놀화합물의 총칭으로 식물의 모든 부분에 존재하는 식물의 2차 대사산물 중의 하나이며, phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물을 가지고 있어 다양한 구조와 많은 종류가 보고되어 있다(20). 이들은 phenolic hydroxyl기 때문에 단백질 등의 거대 분자들과 쉽게 결합하여 radical에 수소를 공여해 그 radical을 제거함으로써 산화억제작용과 항암 등의 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(21-23). 발아시기별로 추출용매를 달리하여 추출한 무순 추출물의 total polyphenol 화합물의 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 발아 4일째에서의 polyphenol 화합물 함량은 에탄올추출물이 296.51 mg/g으로 가장 높은 것으로 나타났으며 다음으로 메탄올추출물이 219.39 mg/g으로 많았다. 발아 8일째에서는 에탄올추출물의 함량이 가장 높았으며 메탄올추출물과 아세톤추출물은 각각 197.72 mg/g, 200.45 mg/g으로 유의차가 없는 것으로 나타났다. 발아 12일째에서도 비슷한 경향을 보였으나 polyphenol 화합물 함량이 발아 4일째와 발아 8일째보다 그 함량이 낮게 나타났으며 물추출물이 다른 추출물에 비해 현저히 낮은 함량을 보여주었다. 이러한 결과는 Kim 등(24)의 연구에서 오죽의 추출용매에 따른 polyphenol 화합물 함량이 물추출물에서 가장 낮게 나타났다고 보고한 결과와 Kwon과 Park(25)의 연구에서 오미자추출물의 페놀성 화합물 함량이 물추출물보다 에탄올추출물이 높다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였으며, 반면에 Kwon 등(26)의 마카분말의 경우 물추출물에서 polyphenol 함량이 가장 높게 나타났다고 보고한 연구결과와 상반된 결과를 보여주었다.

DPPH radical 소거능 측정

DPPH는 아스코르빈산 및 토코페롤, 폴리페놀 화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소가 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원되어짐에 따라 짙은 자색이 탈색되어지는 원리를 이용한 것으로서 항산화물질의 수소공여능을 측정하는데 널리 이용되어진다(27). 발아시기별로 추출용매

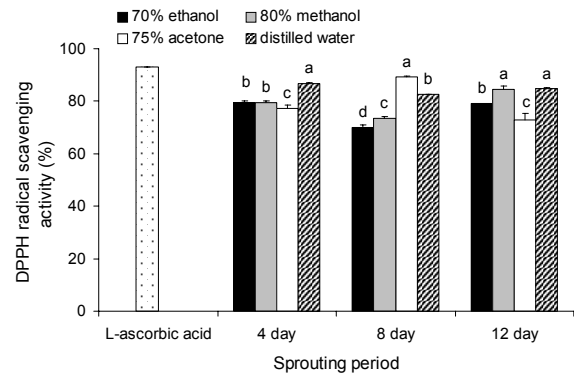


Fig. 2. Comparison of DPPH radical scavenging activities of radish bud extracts prepared with different extraction solvents. Values are mean±SD (n=3). Bars with different alphabet letters are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test. Each sample was tested at the concentration of 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The concentration of positive control (L-ascorbic acid) solutions were measured at 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

를 달리하여 추출한 무순 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 추출용매에 따른 무순 추출물은 발아시기에 따라 라디칼 소거능도 변화되는 것으로 보였다. 발아 4일째에 물추출물이 86.67%로 가장 높은 소거능을 보였으며 아세톤추출물에서 77.23%로 낮은 소거능을 보였고 에탄올추출물과 메탄올추출물은 유의차가 없는 것으로 나타났다. 발아 8일째 라디칼 소거능은 아세톤추출물이 89.18%로 가장 높았으며 에탄올추출물이 70.14%로 가장 낮은 소거능을 보였다. 이는 발아 4일째와는 다른 패턴의 결과를 보였다. 또 발아 12일째의 라디칼 소거능은 4일째와 비슷한 양상을 보였다. 물추출물과 메탄올추출물의 소거능이 높은 경향을 보였지만 두 추출물간의 유의차는 없었고 에탄올추출물과 아세톤추출물 순으로 라디칼 소거능을 보였다. 무순 추출물의 항산화 활성은 양성 대조군인 L-ascorbic acid의 소거능인 93%보다 낮은 값이었지만 전체적으로 물추출물의 라디칼 소거능 효과가 다른 추출물에 비해 매우 높은 것으로 나타났다. 본 실험에서 라디칼 소거능은 polyphenol 함량이 높은 에탄올추출물에서 가장 높게 나타날 것이라는 기대와 달리 물추출물에서 높게 나타났다. 일반적으로 극성과 비중에 따라 페놀성 화합물이 많이 포함되어 추출되어 라디칼 소거능에 관여하는데 물추출물의 높은 라디칼 소거능의 원인은 무순에 함유되어 있는 페놀성 화합물

Table 2. Total polyphenol contents of radish bud extracts prepared with different extraction solvents

Sprouting period (day)	Polyphenol contents (mg GAE ¹⁾ /100 g, dry basis)			
	70% ethanol	80% methanol	75% acetone	Distilled water
4	296.51±3.98 ^{2)a3)}	219.39±0.82 ^b	208.16±2.51 ^c	132.45±1.08 ^d
8	278.91±3.92 ^a	197.72±2.56 ^b	200.45±5.16 ^b	100.35±2.02 ^c
12	267.64±2.14 ^a	217.60±2.10 ^b	165.28±1.87 ^c	84.11±1.57 ^d

¹⁾Total polyphenol contents was expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) per 100 gram.

²⁾Each value is presented as mean±SD (n=3)

³⁾Means within each row with different letters are significantly different ($P<0.05$).

과 그 이외의 다른 성분이 관여하면서 라디칼 소거능을 높게 나타낸 것으로 보인다. 다른 연구에서는 도토리가루 추출물의 전자공여능을 측정한 결과 물추출물에서 가장 높았고 그 다음 75% 에탄올, 메탄올 순으로 높았다고 보고하였다(28). Dong 등(29)은 정향추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 연구에서 총 페놀 함량이 가장 낮은 물추출물에서 DPPH 라디칼 소거능이 가장 높게 나타나 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능과는 상관관계가 없다고 보고함으로써 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보여주었다. 이 결과로 항산화 활성에 작용하는 물질은 페놀성 화합물 외에 다른 성분이 있을 것으로 생각되어지며 Gopalan 등(30)은 발아된 새싹채소에서는 효소, 각종 아미노산, 비타민 무기질을 비롯한 식이섬유소와 기능성 생리활성물질을 다량 함유하고 있다고 보고하였고, Kim과 Lee(31)의 새싹채소의 생리활성 연구에서 무 새싹의 비타민 함량을 분석했을 때 씨앗보다 새싹에서 약 3배 차이를 보인다고 한 결과로 볼 때 본 연구에서는 무순이 가지고 있는 수용성 비타민들이 물추출물에 가장 잘 추출되어져 다른 용매들보다 높은 항산화 활성을 나타내는 것으로 사료된다.

TBARS 측정

TBARS를 통한 지질과산화 억제효과의 측정은 불포화지방산을 함유한 지질이 산화되어 형성되는 지질과산화물인 malondialdehyde(MDA)와 thiobarbituric acid(TBA)가 반응하여 붉은색의 TBA를 형성하게 되는데(32), 이 발색의 정도를 비색정량 하여 항산화력을 측정하는 것으로 결과는 Fig. 3과 같다.

무순은 발아시기별로 추출용매를 달리하여 추출한 후 측정하였다. 발아 4일째 무순 추출물의 TBARS값은 70% 에탄올추출물이 71.48%로 가장 높은 값을 보였으며 80% 메탄올추출물과 물추출물은 유의차가 없는 것으로 나타났다. 발아 8일째가 되면서 TBARS값은 상승하였으나 발아 4일

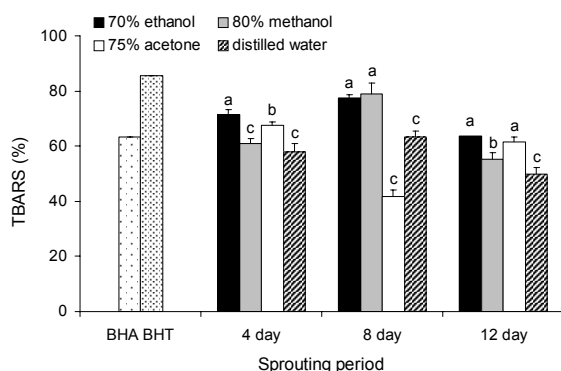


Fig. 3. Comparison of TBARS values of radish bud extracts prepared with different solvents. Values are mean±SD (n=3). Bars with different alphabet letters are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test. Each sample was tested at the concentration of 1,000 $\mu\text{g/mL}$. The concentration of positive control (BHA, butylated hydroxyanisole; BHT, butylated hydroxytoluene) solutions were measured at 100 $\mu\text{g/mL}$.

제와는 다르게 메탄올추출물이 78.99%로 가장 높은 값을 보였고, 아세트 추출물의 값이 가장 낮게 나타났다. 발아 12일이 되면서 TBARS값은 상대적으로 낮아졌으며, 발아 4일째와 유사한 경향의 값을 나타내었다. 한편 발아 4일째와 발아 8일째에서 가장 항산화 활성이 높게 나타난 에탄올추출물의 TBARS값은 대조군인 BHT값의 63.47%보다도 더 높은 항산화 활성을 보여주었다. 메탄올추출물과 아세트추출물은 BHT보다는 낮지만 높은 항산화 효과가 있는 것으로 나타내었다. 페놀성 화합물이 지방산 초기생성물인 hydroperoxide 및 기타 반응물질과 반응하여 산화를 억제시킨다고 보고되어지는데(33), 본 실험에서 에탄올추출물과 메탄올추출물의 폴리페놀 함량이 다른 추출물에 비해 많았던 결과와 일부 일치하는 것으로 나타났다. 일반적으로 식물에 함유된 폴리페놀 화합물은 유해한 radical에 수소를 공여하여 radical을 제거하므로 체내 산화 억제효과가 있는 것으로 알려져 있으며 총 페놀 함량이 높을수록 항산화 활성도 증가하는 것으로 보고되고 있지만(34), 본 연구 결과에서 총 페놀 함량에 따른 항산화 활성이 비례하는 결과와 비례하지 않는 결과가 반복되는 것은 추출용매 및 무순의 발아시기에 따른 폴리페놀화합물이 radical의 기질에 따라 선택적으로 작용할 수 있기 때문인 것으로 추정되어지며, 또한 폴리페놀 화합물의 종류에 따라 유해 radical 소거활성이 다양한 영향을 받는 것으로 판단되어진다(35). 그 외에도 십자화과 채소에 많이 함유되어 있는 황황화합물인 methylethyl, butyl 형태의 thiophene 유도체와 isothiocyanate류에 의해 항산화 활성이 강한 것으로 추정하고 있다(36). 이와 같이 합성항산화제와 비슷한 항산화력을 보이는 무순은 천연항산화제로서의 사용 가능성이 있을 것으로 보이며 지속적인 연구를 통해 큰 기대 효과를 줄 수 있을 것이라 사료된다.

Rancimat에 의한 산화안정도 측정

Rancimat에 의한 산화안정도 측정은 고온에서 공기를 주입하여 유지가 산화되면서 생성되는 aldehyde 및 ketone 등의 휘발성 물질에 의한 증류수의 전기전도도 차이를 측정하여 유도기간을 산출함으로써 유지의 산화안정도를 알 수 있는 방법이다(37). 이를 통해 산화안정도를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 산화유도와 항산화력은 산화유도기간과 항산화지표로서 나타냈으며, 유지에 추출용매만을 첨가한 대조구와 합성항산화제인 BHA와 BHT를 추출용매에 용해하여 측정한 양성대조구로 비교하였다. 대조구의 산화유도기간은 5.18~5.23시간이었고 BHA와 BHT는 각각 6.10~6.13시간과 6.50~6.55시간이었다. 또 항산화지표로는 BHA가 1.16~1.18을, BHT가 1.24~1.26 값을 나타내었다.

발아시기별로 추출용매를 달리하여 추출한 무순 추출물의 산화유도기간은 발아 4일째에 메탄올추출물이 6.07시간으로 가장 높게 나타났고 에탄올추출물과 아세트추출물은 5.72~5.73시간으로 유의한 수준을 보였으며, 물추출물이 가장 낮은 유도기간을 나타냈다. 항산화지표로는 각각

Table 3. Comparison of antioxidative activities of radish bud extracts prepared with different extraction solvents

Sprouting period (day)	Antioxidative activity determined by Rancimat							
	70% ethanol		80% methanol		75% acetone		Distilled water	
	IP ¹⁾	AI ²⁾	IP	AI	IP	AI	IP	AI
Control	5.23±0.02 ^{3)a4)}	1.00±0.00 ^A	5.25±0.02 ^a	1.00±0.00 ^A	5.20±0.02 ^a	1.00±0.00 ^A	5.18±0.05 ^a	1.00±0.00 ^A
BHA	6.13±0.03 ^a	1.17±0.01 ^A	6.12±0.01 ^a	1.16±0.01 ^A	6.10±0.01 ^a	1.17±0.01 ^A	6.11±0.02 ^a	1.18±0.01 ^A
BHT	6.55±0.10 ^a	1.25±0.02 ^A	6.50±0.03 ^a	1.24±0.01 ^A	6.53±0.02 ^a	1.26±0.01 ^A	6.51±0.02 ^a	1.25±0.01 ^A
4	5.72±0.01 ^b	1.09±0.01 ^B	6.07±0.03 ^a	1.16±0.01 ^A	5.73±0.03 ^b	1.10±0.01 ^B	5.24±0.09 ^c	1.00±0.01 ^C
8	5.88±0.14 ^a	1.13±0.03 ^A	5.92±0.02 ^a	1.13±0.00 ^A	5.77±0.08 ^a	1.10±0.02 ^A	5.55±0.04 ^b	1.06±0.01 ^B
12	5.56±0.04 ^b	1.06±0.01 ^B	5.91±0.03 ^a	1.13±0.01 ^A	5.65±0.13 ^b	1.08±0.03 ^B	5.25±0.03 ^c	1.00±0.01 ^C

¹⁾Induction period (IP) of oil was determined by test of Rancimat at 120°C.

²⁾Antioxidative index (AI) was expressed as the induction period of soybean oil containing extracts/ induction period control soybean oil, concentration of sample in AI test: 1,000 µg/mL.

³⁾Each value is presented as mean±SD (n=3).

⁴⁾Means in IP (a-c) and AI (A-C) of each row with different letters are significantly different ($P<0.05$).

1.00~1.16의 수준을 보였다. 발아 8일째의 무순 추출물의 산화유도기간은 발아 4일째 산화유도기간보다 전반적으로 낮게 나타났으며, 메탄올추출물과 에탄올추출물, 아세트추출물은 비슷한 경향을 보이며 유의차가 없었으나 물추출물의 산화유도기간이 낮게 나타나는 것으로 보인다. 발아 12일이 되면서 전반적인 산화유도기간이 5.25~5.91시간으로 낮게 나타나는 경향을 보였으며 메탄올추출물을 제외한 나머지 추출물은 발아 4일째와 유사한 패턴을 보였다. 항산화 지표 또한 1.00~1.13의 수준을 나타냈다.

전반적으로 모든 발아시기에서 메탄올추출물의 항산화력이 가장 좋은 것으로 나타났으며, 물추출물을 제외한 모든 추출물에서 이와 유사한 항산화력을 보였다. 또한 발아시기가 긴 무순 추출물보다 발아시기가 짧은 무순 추출물의 항산화력이 더 높은 것으로 나타났다. 이는 폴리페놀의 함량에 따라 일치하는 것으로 나타났으며, Rhi와 Shin(38)의 연구 결과에서 동결건조 커피를 극성도에 따라 추출하여 항산화 효과를 실험한 결과와도 유사한 것으로 나타났다. 따라서 합성항산화제인 BHA나 BHT를 대체하여 천연항산화제로서 기능을 할 수 있을 것으로 보이며, 합성항산화제인 BHA와 BHT의 항산화력이 무순 추출물의 항산화력과 큰 차이가 없었던 것은 BHA나 BHT가 Rancimat의 120°C 고온에서는 항산화력이 저하되는 것으로 보인다. 이런 점을 감안한다면 이들과 유사하거나 높은 항산화력을 가지고 있을 것이라 생각되어진다.

과산화물 측정

발아시기별로 추출용매를 달리하여 추출한 무순 추출물의 과산화물 측정 결과는 Fig. 4와 같다. 과산화물가는 대두유에 추출물을 첨가하지 않은 대조군과 합성항산화제인 BHT, BHA를 첨가한 군으로 저장 60일 동안 비교하면서 항산화성을 측정하였다. 대조군의 과산화물가는 저장기간 중 지속적으로 증가하여 저장 60일에서 57.24 meq/kg으로 증가하였고 합성항산화제인 BHT와 BHA는 저장 60일에서 각각 36.91 meq/kg과 38.94 meq/kg을 나타냈다.

발아 4일째 무순 추출물의 과산화물가는 저장기간이 길어질수록 유의적으로 증가하였다. 저장기간 0일에서 각 추출물들이 3.02~4.21 meq/kg oil로 차이를 보이지 않았으며, 저장기간 60일에서 물추출물이 43.83 meq/kg oil과 메탄올추출물에서 45.42 meq/kg oil을 나타내어 두 추출물이 가장 낮은 값을 나타내 항산화 효과가 높았으며, 발아 8일째와 발아 12일째의 무순 추출물에서도 모두 비슷한 경향을 보이고 저장기간이 늘어날수록 과산화물가도 증가하는 것으로 나타났다. 전체적으로 보면 저장 후 10일까지 과산화물의 생성량이 급격하게 증가하다가 20일~40일 사이에서는 완만하게 증가하였고 다시 40일~50일 사이에서는 급격하게 증가하였다. 이와 같은 반응은 유지의 자동산화가 진행되는 동안 산패로 인해 생성되는 hydroperoxide의 함량이 일단 최고조에 달한 후 다시 감소하는 것과 비슷한 것으로서 유지 산패의 일반적인 경향으로 사료된다(39). 각 발아시기별로 추출한 추출용매 중 물추출물과 메탄올추출물의 과산화물가가 합성항산화제와 비교하여 저장기간 중 계속 낮은 값을 나타내어 상대적으로 산화에 대한 억제효과가 높음을 알 수 있었다. Choi(40)의 연구에서 brazilin을 potato chip에 첨가하여 추출한 유지의 과산화물가 변화를 측정된 결과 brazilin이 합성항산화제인 BHA와 BHT 처리구보다 과산화물가가 낮아 과산화물 생성 억제력이 높다고 하였는데 이는 유지의 이중결합 정도와 산화방지물질에 따라 차이가 있다고 하였다. 또 지방산이 저장기간의 경과에 따라 linolenic acid가 감소하고 산화에 안정한 포화지방산의 함량이 증가한다고 하였는데 가열산화의 주요한 품질지표인 palmitic acid(C_{16:0})와 linoleic acid(C_{18:2})의 비율(C_{18:2}/C_{16:0})을 비교하여 보면 각 항산화제의 산화억제력을 알 수 있다고 하였다. 따라서 각 추출물들이 가지고 있는 지방산들이 유지의 지방산 비율에 영향을 미쳐 산화억제속도를 조절함으로써 합성항산화제보다 항산화 효과가 높을 것으로 판단되어진다. 또한 추출용매의 종류에 따른 차이는 Park과 Son(41)의 연구에서와 같이 경향이 대두유상에서 메탄올과 에테르추출물의 항산화 효과는 우수하였으나 물추출물은 별다른 항

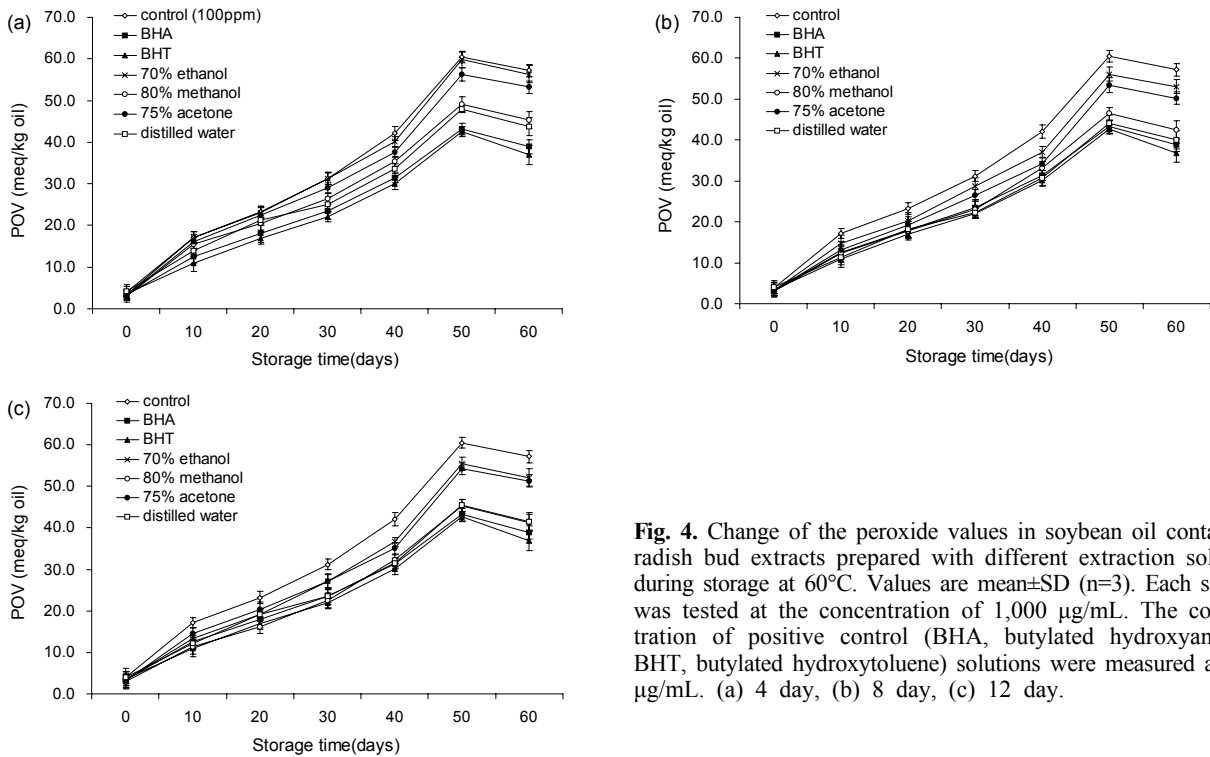


Fig. 4. Change of the peroxide values in soybean oil containing radish bud extracts prepared with different extraction solvents during storage at 60°C. Values are mean±SD (n=3). Each sample was tested at the concentration of 1,000 µg/mL. The concentration of positive control (BHA, butylated hydroxyanisole; BHT, butylated hydroxytoluene) solutions were measured at 100 µg/mL. (a) 4 day, (b) 8 day, (c) 12 day.

산화 효과를 가지지 않았는데, 이는 정향에 함유되어 있는 항산화물질이 지용성 물질이기 때문이라고 보고한 결과와는 다소 상반된 결과를 나타내었다. 이와 같은 결과로는 Kim 등(42)이 대두유에 산사 추출물을 첨가하여 항산화 활성을 비교한 결과 토코페롤이나 BHA, BHT 등에 비하여 우수하였다는 보고에서처럼 식물의 추출물이 유지 산패억제를 위한 항산화제로 사용될 수 있음을 보여주고 있다. 이와 같이 용매별로 항산화활성이 다르게 나타나는 것은 식물에 함유된 성분들이 추출용매의 극성도에 따라 성분의 용출 정도가 다르기 때문인 것으로 천연항산화제를 사용하기 위해서는 용매별 항산화물질을 지속적으로 연구하여 구명할 필요가 있을 것으로 판단되어진다.

요 약

본 연구에서는 무순을 발아시기별로 70% 에탄올, 80% 메탄올, 75% 아세톤, 물 등 용매종류에 따라 추출한 후 폴리페놀 함량과 전자 공여능, TBARS, 산화안정도 측정, 과산화물 등 항산화특성을 확인하는 실험을 하였다. 폴리페놀 함량은 발아 4일째에서 에탄올추출물이 296.51 mg/g으로 가장 높은 것으로 나타났으며 다음으로 메탄올추출물이 219.39 mg/g으로 많았다. 발아 8일째에서는 에탄올추출물의 함량이 가장 높았으며 메탄올추출물과 아세톤추출물은 각각 197.72 mg/g, 200.45 mg/g으로 유의차가 없는 것으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능 측정에서 발아 4일째에 물추출물이 86.67%로 가장 높은 소거능을 보였으며 아세톤추출

물에서 77.23%로 낮은 소거능을 보였다. 발아 8일째 라디칼 소거능은 아세톤추출물이 89.18%로 가장 높았으며 에탄올추출물이 70.14%로 가장 낮은 소거능을 보였다. 또 발아 12일째의 라디칼 소거능은 4일째와 비슷한 양상을 보였다. TBARS를 통한 지질과산화 억제효과 측정에서 발아 4일째 무순추출물의 TBARS값은 70% 에탄올추출물이 71.48%로 가장 높은 값을 보였으며 발아 8일째가 되면서 TBARS값이 상승하여 메탄올추출물이 78.99%로 높은 값을 보였고, 아세톤 추출물의 값이 가장 낮게 나타났다. 발아 12일이 되면서 TBARS값은 상대적으로 낮아졌으며, 발아 4일째와 유사한 경향의 값을 나타내었다. Rancimat에 의한 산화안정도 측정에서 발아 4일째의 산화유도기간은 메탄올추출물이 6.07시간으로 가장 높게 나타났고 항산화지표는 1.16의 수준을 보였다. 발아 8일째의 산화유도기간은 발아 4일째 산화유도기간보다 전반적으로 낮게 나타났으며, 메탄올추출물과 에탄올추출물, 아세톤추출물은 비슷한 경향을 보이며 유의차가 없었으나 물추출물의 산화유도기간이 낮게 나타나는 것으로 보였다. 발아 12일이 되면서 전반적인 산화유도기간이 5.25~5.91시간으로 낮게 나타나는 경향을 보였으며 메탄올추출물을 제외한 나머지 추출물은 발아 4일째와 유사한 패턴을 보였다. 항산화지표 또한 1.00~1.13의 수준을 나타냈다. 과산화물 측정에서 무순추출물의 과산화물가는 저장기간이 길어질수록 유의적으로 증가하였다. 발아 4일째 저장기간 0일에서 각 추출물들이 3.02~4.21 meq/kg oil로 차이를 보이지 않았으며, 저장기간 60일에서 물추출물이 43.83 meq/kg oil과 메탄올추출물에서 45.42 meq/kg

oil을 나타내어 두 추출물이 가장 낮은 값을 나타내 황산화 효과가 높았으며 발아 8일째와 발아 12일째의 무순추출물에서도 모두 비슷한 경향을 보이며 저장기간이 늘어날수록 과산화물가도 증가하는 것으로 나타났다. 본 연구 결과 무순추출물은 총 페놀 함량이 높고 항산화활성도 높게 나타나 천연항산화제와 같은 식품첨가물 및 식품보존제 등 기능성 소재로써 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Han JH, Moon HK, Kim JK, Kim GY, Kang WW. 2003. Change in chemical composition of radish bud (*Raphanus sativus* L.) during growth stage. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19: 596-602.
- Choi JW, Park SY, Yeon JH, Lee MJ, Chung DH, Lee KH, Kim MG, Lee DH, Kim KS, Ha SD. 2005. Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *J Food Hyg Safety* 20: 43-47.
- Kurtzweil P. 1999. Questions keep sprouting about sprouts. *FDA Consumer Magazine* 7: 1-2.
- Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DS. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.
- Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim KN. 2005. Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. *Korean J Food Sci Technol* 37: 78-83.
- Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 182-186.
- Kim TH. 2008. Antioxidative and biological activities of *Santalum album* extracts by extracting methods. *Korean J Food Preserv* 15: 456-460.
- YU MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* rehder. *Korean J Food Sci Technol* 1: 128-134.
- Branen AL. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59-63.
- McGrath RM, Kaluza WZ, Daiber KH, Van der Riet WB, Glennie CW. 1982. Polyphenols of sorghum grain, their changes during malting and their inhibitory nature. *J Agric Food Chem* 30: 450-456.
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Yook HS, Kim SA, Jo SK, Byun MW. 1996. Effect of gamma irradiation on the antioxidative activity and *in vitro* genotoxic safety of red ginseng powder. *J Food Hyg Safety* 11: 41-50.
- Kang MH, Park CG, Cha MS, Seng NS, Chung HK, Lee JB. 2001. Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 138-142.
- Cha GS, Choi CU. 1990. Determination of oxidation stability of perilla oil by the Rancimat method. *Korean J Food Sci Technol* 22: 61-65.
- Kwak HJ, Kwon YJ, Jeong PH, Kwon JH, Kim HK. 2000. Physiological activity and antioxidative effect of methanol extract from onion (*Allium cepa* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 349-355.
- Jun HI, Wiesenborn DP, Kim YS. 2011. Antioxidant activities of various solvent extracts from canola meal. *Korean J Food Preserv* 18: 59-64.
- Chung HJ. 2012. Physiological activity of acai berry (*Euterpe oleracea* Mart.) extracted with different solvents. *Korean J Food Culture* 27: 75-81.
- Kwon YS, Jeon IS, Hwang JH, Lim DM, Kang YS, Chung HJ. 2009. Biological activities of maca (*Lepidium meyenii*) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 817-823.
- Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Korean J Food Sci Technol* 38: 128-134.
- Kang MH, Cho CS, Kim ZS, Chung HK, Min KS, Park CG, Park HW. 2002. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1098-1102.
- Lee SY, Shin YJ, Park JH, Kim SM, Park CS. 2008. An analysis of the *Gyungokgo's* ingredients and a comparison study on anti-oxidation effects according to the kinds of extract. *Kor J Herbology* 23: 123-136.
- Kwak JH, Choi GN, Park JH, Kim JH, Jeong HR, Jeong CH, Heo HJ. 2010. Antioxidant and neuronal cell protective effect of purple sweet potato extract. *J Agric & Life Sci* 44: 57-66.
- Kim YS, Cho KA, Choi DB. 2010. Effects of solvents of extraction on the biological activities of *Phyllostachys nigra* Munro. *Appl Chem Eng* 21: 6-10.
- Kwon HJ, Park CG. 2008. Biological activities of extracts from *Omija* (*Schizandra chinensis* Baillon). *Korean J Food Preserv* 15: 587-592.
- Kwon YS, Jeon IS, Hwang JH, Lim DM, Kang YS, Chung HJ. 2009. Biological activities of maca (*Lepidium meyenii*) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 817-823.
- Kim HS, Hong MJ, Kang IY, Jung JY, Kim HK, Shin YS, Jun HJ, Suh JK, Kang YH. 2009. Radical scavenging activities and antioxidant constituents of oriental melon extract. *J Bio-Environment Control* 18: 442-447.
- Shim TH, Jin YS, Sa JH, Shin IC, Heo SI, Wang MH. 2004. Studies for component analysis and antioxidative evaluation in acorn powders. *Korean J Food Sci Technol* 36: 800-803.
- Dong S, Jung SH, Moon JS, Rhee SK, Son JY. 2004. Antioxidant activities of clove by extraction solvent. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 609-613.
- Gopalan C, Rama Sastri BV, Balasubramanian SC. 2004. *Nutritive values of indian foods*. National Institute of Nutrition, Indian Council of Medical Research, Hyderabad, Indian. p 1-156.
- Kim DS, Lee KB. 2010. Physiological characteristics and manufacturing of the processing products of sprout vegetables. *Korean J Food Cookery Sci* 26: 238-245.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
- Lee SE, Kim YS, Kim JE, Bang JK, Seong NS. 2004. Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. *japonica* N. and *Hemiptelea davidii* P. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 321-327.
- Labuza TP, Dugan Jr LR. 1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol* 2: 335-405.
- Chae JW, Jo BS, Joo SH, Ahn DH, Chun SS, Cho YJ. 2012.

- Biological and antimicrobial activity of *Vaccinium oldhami* fruit. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1-6.
36. Jang HW, Ka MH, Lee KG. 2008. Antioxidant activity and characterization of volatile extracts of *Capsicum annuum* L. and *Allium* spp. *Flavour Fragrance J* 23: 178-184.
 37. Yen GC, Chang YC, Su SW. 2003. Antioxidant activity and active compounds of rice koji fermented *Aspergillus candidus*. *Food Chem* 83: 49-54.
 38. Rhi JW, Shin HS. 1996. Physicochemical properties of antioxidant fractions extracted from freeze-dried coffee by various solvents. *Korean J Food Sci Technol* 28: 109-116.
 39. Chae SK, Kim SH, Shin DH, Oh HG, Lee SJ, Jang MH, Choi U. 2000. *Food Chemistry*. Hyoil, Seoul, Korea. p 557-560.
 40. Choi U. 2009. Antioxidative activity of brazilin on potato chips. *Korean J Food & Nutr* 4: 662-668.
 41. Park SI, Son JY. 2004. Effects of clove extracts on the autoxidation and thermal oxidation of soybean oil. *Korean J Food Cookery Sci* 20: 81-85.
 42. Kim JS, Lee GD, Kwon JH, Yoon HS. 1993. Antioxidative effectiveness of ether extract in *Crataegus pinnatifida* Bunge and *Terminalia chebula* Retz. *Korean J Agric Chem Soc* 36: 203-207.