

## 아마란스 꽃 추출물의 항산화에 관한 연구

조현주 · 김정원\* · 윤진아\*\* · 김경임\*\*\* · 정강현 · 송병춘\*\*\*\* · †안정희\*\*\*\*

서울과학기술대학교 식품공학과, \*(주)큐앤에이코리아, \*\*배화여자대학교 식품영양과,  
\*\*\*혜전대학교 호텔조리외식계열, \*\*\*\*건국대학교 식품생명과학부

### Antioxidant Activities of Amaranth (*Amaranthus* spp. L.) Flower Extracts

Hyeon-Ju Jo, Jeong Won Kim\*, Jin-A Yoon\*\*, Kyoung Im Kim\*\*\*, Kang-Hyun Chung,  
Byeong Chun Song\*\*\*\* and †Jeung Hee An\*\*\*\*

Dept. of Food Science and Technology, Seoul National University of Science & Technology, Seoul 139-743, Korea

\*Q&A Korea Corporation, Pyeongchang 232-933, Korea

\*\*Dept. of Food & Nutrition, Baewha Women's University, Seoul 110-735, Korea

\*\*\*Dept. of Hotel Baking Technology, Hyejeon College, Hongseong 350-702, Korea

\*\*\*\*Division of Food Bioscience, Konkuk University, Chungju 380-701, Korea

### Abstract

This study investigates the free radical-scavenging activities of Amaranth (*Amaranthus* spp. L.) red and purple flower extracts. The methanol and hot water extracts of flower are being evaluated for its total polyphenol and flavonoid contents, scavenging activities by the DPPH and ABTS analysis, SOD-like activity, and inhibition activities of superoxide radical on the HL-60 cells and nitric oxide of the RAW 264.7 cells. The PFM (purple flower extracted with MeOH) showed the highest total phenolic and flavonoid content, 606.95 mg GAE/100 g and 254.69 mg CE/100 g, respectively. Amongst the scavenging activities of the DPPH radicals, PFM(RC<sub>50</sub>=155.06 μg/ml) is the highest of all the samples. The ABTS radical-scavenging activity is also highest for PFM (53.16%) at the 250 μg/ml concentration. But, the SOD-like activity of the PFW (purple flower extracted with hot water) increases more than 3 folds of the PFM. In the leukemia HL-60 cell, the PFM shows strongly inhibited superoxide radical generations at a concentration of 200 μg/ml at 72.34%, which increases with 1.79 folds more than the RFW (red flower extracted with hot water). The inhibition activity of nitric oxide in Raw 264.7 cells is the highest for PMF (46.90%) at a 250 μg/ml concentration. In conclusion, PMF show the highest flavonoid contents and the most powerful free radical-scavenging activity. Our results suggest that the increase of antioxidant activities depend on flavonoid contents. Thus, Amaranth flower can be useful for natural antioxidant compounds.

Key words: amaranth, free radical-scavenging activity, antioxidant activity

### 서론

생체 내 대부분의 산소와 질소는 호흡 대사과정 중 산화-인산화 과정을 통해 정상적으로 환원되나, 과도하게 발생되는 경우 산소와 질소는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)과 활성질소종(reactive nitrogen species, RNS)이 된다(Fang

FC 2004, de Zwart 등 1999, Kim 등 2007). 또한 병원균, 박테리아, 바이러스 등이 체내에 침입할 경우 호중구와 macrophage 등이 활성화되어지며, 이때 활성라디칼인 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hydroxyl radical(OH·), 수퍼옥사이드 라디칼(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 nitric oxide(NO) 등이 과도하게 생성되면서 단백질을 변성시키거나 지질에 결합하여 활성라디칼을 생성한다. 이러한 활성 라

† Corresponding author: Jeung Hee An, Division of Food Bioscience, Konkuk University, Chungju 380-701, Korea. Tel: +82-43-840-3584, Fax: +82-43-840-3585, E-mail: anjhee@kku.ac.kr

디칼은 DNA에 대해 알킬화(alkylation)를 일으켜서 세포와 조직을 손상시키며 연속적인 carcinogenesis에 관여되고 있다. 뿐만 아니라 세포 내에서 세포막 손상, 지질 산화, 단백질 분해 등을 초래하여, 뇌혈관 질환, 심장 질환, 자가면역 질환, 소화기 질환, 동맥경화와 같은 만성 질환들의 발생을 증가시키는 위험성이 있는 것으로 알려져 있다(Lodovici 등 2001, Kim 등 2008, Jeon 등 2013). 이러한 질병을 초래하는 위험요소인 활성라디칼을 효과적으로 제거할 수 있는 방법 중의 하나는 천연 항산화제의 섭취이다(Jeon 등 2013). 따라서 최근에는 식용 가능한 작물을 대상으로 활성라디칼 제거능이 높고, 인체에 무해한 성분을 찾으려는 시도가 활발히 진행되고 있다(Park 등 2010, Jeon 등 2013).

아마란스(*Amaranth*)는 비름과(*Amaranthus* spp. L.)에 속하는 일년생 유사 화곡류(cereal)이고, 쌍자엽 식물(Lee 등 1996a)로 다른 곡류에 비해 불포화 지방산의 함량이 높고, 주 지방산은 리놀레산으로 구성되어 있다. 포함된 단백질 15~16% 중에는 lysine과 황 함유 아미노산이 풍부하다고 보고되어 있으며(Lee 등 1996a), 국내에서는 관상용으로 강원 일부지역에서 재배되고 있고, 독특한 맛과 영양가치가 높아, 국수, 비스킷(종실) 등의 식품 개발에도 이용되고 있다(Choi HS 2011; Kim & Ryoo 2002). 이러한 아마란스의 생리적 연구로는 간과 혈액 내의 총 콜레스테롤, 중성지질과 LDL-콜레스테롤의 수준을 낮춰주고, apo-lipoprotein A와 HDL-콜레스테롤 수준을 높여주며, 콜레스테롤 합성에 관여하는 HMG-CoA reductase 억제 효과(Caselato-Sousa & Amaya-Farfán 2012, Qureshi 등 1996)와 소아 지방변증(coeliac disease) 환자의 gluten-free 식사요법에 이용되는 것으로 보고되어 있다(George 등 2013). 또한 종자 메탄올 추출물에서는 위암과 대장암 증식 억제 효과(Lee 등 1996b)가 알려져 있으며, 꽃은 약용으로 보고되어 있으나, 이에 대한 기능성 연구는 매우 미비하다(Tenney L 2000).

본 연구는 아마란스 꽃의 열수 추출물과 메탄올 추출물을 조제하여 총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정과 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능, superoxide dismutase(SOD) 유사 활성을 측정하여 세포내에서 활성산소종 억제 효과는 대식세포주인 RAW 264.7 세포내에서 NO 억제 활성, HL-60 세포내에서 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 생성 저해 활성을 측정하여 아마란스 꽃이 가진 기능성 식품소재로서의 개발 가능성을 검토하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

재료는 강원도 평창지역에서 채취한 아마란스 붉은색 꽃과 보라색 꽃을 깨끗이 수세하여 세정 및 세절하여 자연건조 후 마쇄하여 실험에 사용하였다.

### 2. 추출물 제조

본 실험에 사용한 열수 추출물은 수직 환류냉각기가 부착된 추출 플라스크에 건조 시료 30 g과 증류수 10배수(v/w)를 가하여 autoclave(SJ-220A100, Sejong Scientific Co., Ltd., Bucheon, Korea)를 이용하여 121 °C에서 15분 동안 1.23 bar의 압력으로 추출하여 얻었다. 메탄올 추출물은 추출 플라스크에 건조 시료 30 g과 메탄올 10배수(v/w)를 혼합하여 실온에서 24시간 진탕하여 얻었다. 제조한 추출물은 감압여과기로 여과한 여과액을 회전식진공농축기(R-114, Buchi Co., Flawil, Switzerland)를 사용하여 농축시킨 후 동결건조기(Ilshin Co., Seoul, Korea)로 건조 후 분말 상태로 냉동고(-70 °C)에 보관하면서 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 아마란스 추출물은 붉은 색 꽃 메탄올 추출물(red flower extracted with MeOH: RFM, 4.32 g), 보라색 꽃 메탄올 추출물(purple flower extracted with MeOH: PFM, 5.21 g), 붉은 색 꽃 열수 추출물(red flower extracted with hot water: RFW, 6.43 g) 및 보라색 꽃 열수 추출물(purple flower extracted with hot water: PFW, 7.21 g) 등 4종류이다.

### 3. 총 폴리페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법(Singleton & Rossi 1965)을 변형하여 측정하였다. 각각의 추출물을 증류수에 용해한 시료에 2N Folin-Ciocalteu's phenol reagent 및 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(Daejung chemicals & Metals Co., LTD., Gyeonggi, Korea)을 차례로 가한 다음, 실온에서 60분간 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선에 근거하여 추출물 g당 mg gallic acid equivalent (GAE, dry basis)로 폴리페놀의 함량을 산출하였다.

### 4. 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)과 Singleton 등(1999)의 방법을 응용하여 측정하였다. 각 시료를 5% NaNO<sub>2</sub>(Daejung chemicals & Metals Co.)과 증류수를 혼합하여 5분간 반응시키고, 10% AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O를 첨가하여 다시 6분간 반응시킨 후 1M NaOH(Daejung chemicals & Metals Co.)와 섞어 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 (+)-catechin hydrate를 사용하여 검량선을 작성한 후 추출물의 총 플라보노이드 함량은 mg (+)-catechin hydrate(CE, dry basis)로 나타내었다.

### 5. DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH에 대한 수소공여 효과로 측정하는 라디칼 소거능은 Blois(1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 일정 농도로 희석된 시료와 0.2 mM DPPH solution을 가하여 잘 혼합한 후,

암소에서 30분간 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능 결과 값은 추출물 첨가구와 무첨가구를 비교하여 라디칼의 소거 활성을 백분율(%)로 나타내어, 농도에 따른 DPPH 라디칼 소거능을 확인하였다. 전자공여능(electron donation ability, EDA) 계산식은  $EDA(\%) = 100 - [(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다.

## 6. ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Arano 등(2001), Re 등(1999)의 방법을 변형하여 사용하였다. 7 mM ABTS 용액에 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 암소에서 약 24시간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이  $1.0 \pm 0.02$ 가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. ABTS solution을 시료와 혼합하여 암소에서 6분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 추출물 첨가구와 무첨가구를 비교하여 라디칼의 소거 활성을 백분율(%)로 나타내었다.

## 7. SOD 유사 활성

SOD 유사 활성 측정은 알칼리 상태에서 pyrogallol(Sigma-Aldrich)의 자동산화에 의한 발색 원리를 이용한 Marklund S와 Marklund G(1974)의 방법을 변형하여 측정하였다. 일정 농도로 희석된 시료에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM trisamino-methane+10 mM EDTA, pH 8.5)와 7.2 mM pyrogallol을 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl를 가하여 반응을 정지시키고, 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사 활성은 추출물 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

## 8. 세포 배양

HL-60(human promyelocytic leukemia cells)와 RAW 264.7 (macrophage cell)은 세포주를 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB)으로부터 분양받아 100 units/ml의 penicillin-streptomycin(GIBCO, Grand Island, NY, USA)과 10%의 fetal bovine serum(Hyclone, Logan, UT)이 함유된 RPMI 1640 또는 DMEM 배지(Welgene, Dalseogu, Daegu, Korea)를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항온기에서 배양하였다.

## 9. 슈퍼옥사이드 라디칼(O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 생성 저해 활성 측정

O<sub>2</sub><sup>-</sup> 생성 저해 활성 측정은 Kim 등(2002)의 방법을 변형하여 사용하였다. HL-60 세포를  $4 \times 10^5$  cell/ml로 조정하여 DMSO 1.25%(v/v)를 첨가하여 6일간 배양 후 granulocyte-like phenotype으로 분화시켰다. 6일 후 분화된 세포주의 morphology와 분화전의 morphology를 현미경으로 비교 관찰하였다. 분

화시킨 HL-60 세포를 PBS 용액을 사용하여 세척하고, 3,000 rpm에서 2회 원심 분리하여 세포를 세척한 후 PBS 용액에 재현탁하여 세포수가  $1.0 \times 10^6$  cell/ml가 되도록 조정하였다. 세포현탁액을 1 ml 씩 microtube에 분주하고, 시료 50 μl를 첨가하여 37°C에서 15분간 배양한 후 세포외부에 있는 물질을 제거하기 위해 시료가 들어있는 세포부유액을 원심분리한 후에 37°C로 가온한 PBS 용액으로 재현탁하였다. O<sub>2</sub><sup>-</sup> 생성을 유도하기 위해 세포부유액에 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA, Sigma-Aldrich) 용액(20 uM)을 5 μl를 첨가한 후 90초 후 cytochrome c (20 mg/ml) 50 μl를 첨가하고, 37°C에서 15분간 반응시켰다. 반응 정지를 위해 냉수에서 5분간 정지한 다음 6,500 rpm에서 1분간 원심 분리하여 상층액을 취해 550 nm에서 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 생성에 의한 cytochrome c의 환원 정도를 측정하였다. 결과값 산출 후, HL-60세포에 대한 시료의 독성 여부를 확인하기 위해 trypan blue를 사용하여 생세포수를 측정하였다.

## 10. Nitric Oxide(NO) assay

NO 측정은 RAW 264.7 cell의 supernatant에서의 nitric oxide (NO)의 양을 측정을 하였다(Green 등 1982). 96 well plate에  $1 \times 10^6$ 개의 cell을 PBS로 2번 수세한 후에 무혈청 배지(Welgene)로 교체 후 LPS(1 mg/ml), tetrahydrobiopterin(BH<sub>4</sub>, 10 μg/ml), 200 mM l-arginine 그리고 IFN-γ (100 U/ml)를 각각의 well에 다 첨가하여 자극시켰다. 그 배지에 시료를 처리하여 실험하였다. NO 생성량은 supernatant를 모아 griess reagent로 10분간 반응시킨 후에 540 nm에서 흡광도로 측정하였다.

## 11. 통계처리

본 연구에서 실험값에 대한 통계분석은 SPSS 18.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program을 이용하여 분산분석(ANOVA)법을 실행하였으며, 실험군 간의 유의성은 Duncan의 다중범위 시험법(Duncan's multiple range test)으로  $p < 0.05$  수준에서 유의적 차이를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 총 폴리페놀 및 플라노이드 함량

아마란스 꽃 추출물의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 Table 1과 같다. 폴리페놀 함량은 RFM 363.68±19.73, PFM 606.95±64.38, RFW 482.62±98.99, PFW 363.19±55.92 mg GAE/100 g으로 나타났으며, 추출물 간의 유의적 차이가 있었다. 총 폴리페놀 함량은 PFM, RFW, RFM, PFW의 순으로 나타났으며, PFM에서 606.95±64.38 mg GAE/100 g으로 가장 높았다. 아마란스 종자의 폴리페놀 함량은 400~440 mg/kg, 새싹은 350~370 mg/kg으로 보고되어 있으며(Caselato-Sousa & Amaya-Farfán

**Table 1. Comparison of total polyphenol and flavonoid contents of extracts from Amaranth flowers**

Sample	Total phenolic content (mg GAE <sup>1</sup> /100 g)	Total flavonoid content (mg CE <sup>2</sup> /100 g)
RFM	363.68±19.73 <sup>b</sup>	170.89±23.8 <sup>b</sup>
PFM	606.95±64.38 <sup>a</sup>	254.69±15.8 <sup>a</sup>
RFW	482.62±98.99 <sup>ab</sup>	18.63± 4.2 <sup>c</sup>
PFW	363.19±55.92 <sup>b</sup>	12.20± 3.6 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>) Total phenolic content was expressed as mg/g gallic acid equivalent (GAE).

<sup>2</sup>) Total flavonoid content was expressed as mg/g catechin equivalent (CE).

<sup>3</sup>) Each value is mean±SD of triplicate determinations (n=3).

<sup>4</sup>) Means with different letters (a~c) within a column are significantly different at  $p<0.05$ .

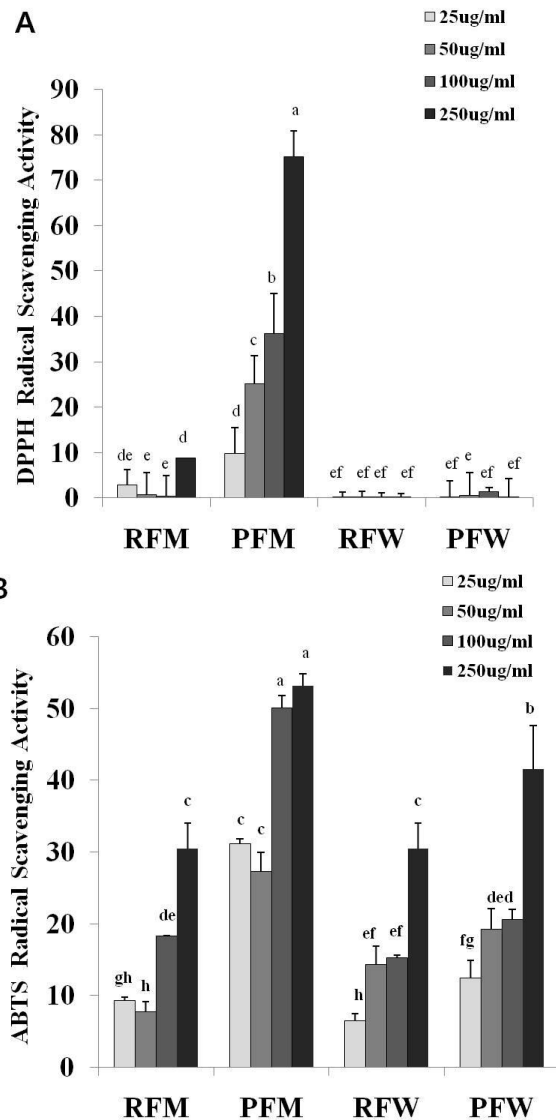
2012) 아마란스 꽃 추출물보다는 폴리페놀 함량이 낮았다. 또한 맨드라미 꽃의 메탄올과 물 추출물의 폴리페놀 함량은 3.09~6.8 mg GAE/g으로 그 양이 아마란스 꽃 추출물과 비슷하였다(Kim 등 2012).

아마란스 추출물의 플라보노이드 함량은 RFM 170.89±23.8, PFM 254.69±15.8, RFW 18.63±4.2, PFW 12.20±3.6 mg CE/100 g 으로 추출물 간의 유의적 차이가 보였다. 특히 PFM는 PFW 보다 플라보노이드 함량이 21배 가량 높으며, 플라보노이드의 함량의 차이는 추출 방법에 따라 큰 것으로 사료된다. 아마란스 새싹의 플라보노이드 함량은 300~690 mg/kg으로 보고되어, 아마란스 꽃 메탄올 추출물이 아마란스 새싹의 함량보다 높음을 알 수 있었다(Caselato-Sousa & Amaya-Farfán 2012).

## 2. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 변화

아마란스의 꽃 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 결과는 Fig. 1A와 같다. DPPH 라디칼 소거 활성은 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 PFM 추출물(75.12%)이 유의적으로 가장 높았으며, 다른 추출물의 활성은 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에도 10% 이하의 낮은 활성을 보여주었다. 특히 PFM의  $\text{RC}_{50}$ (50% reduction concentration) 값은 155.06  $\mu\text{g/ml}$ 로 합성 항산화제인 butylated hydroxytoluene (BHT)의  $\text{RC}_{50}$ (120  $\mu\text{g/ml}$ )과 유사한 활성을 보여주었다(Woo 등 2010). 또한 국화과 식물 15종 꽃의 에탄올 추출물 중 DPPH 소거능이 높은 편에 속하는 알프스민들레( $\text{RC}_{50}$  = 110  $\mu\text{g/ml}$ ), 저먼캐모마일( $\text{RC}_{50}$  = 140  $\mu\text{g/ml}$ ), 수리취( $\text{RC}_{50}$  = 160  $\mu\text{g/ml}$ )들의 꽃과 유사한 활성을 보여주었다(Woo 등 2010).

아마란스 꽃 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성을 평가한 결과는 Fig. 1B에 나타내었다. 총 4개의 아마란스 추출물 중 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 PFM의 활성이 53.16%로 가장 좋았으



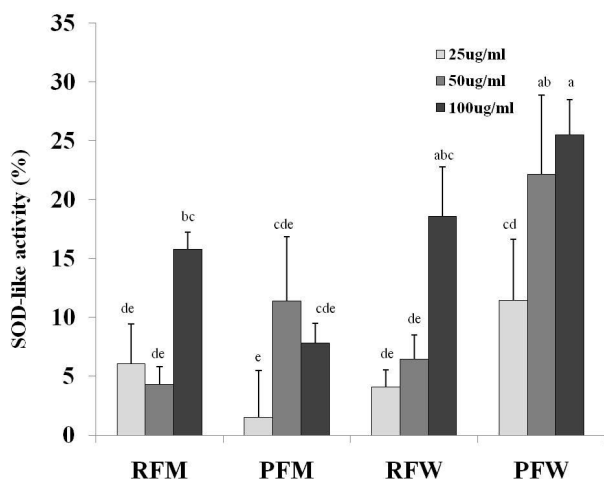
**Fig. 1. Reactive oxygen species scavenging activities.** A: DPPH scavenging activities of flower extracts from Amaranth. RFM: red flower extracted with MeOH, PFM: purple flower extracted with MeOH, RFW: red flower extracted with hot water, PFW: purple flower extracted with hot water. B: ABTS scavenging activities of Amaranth flower extracts. Values with different letters were significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value is mean±S.D. (n=3).

며, PFW(41.55%), RFW(30.52%), RFM(30.34%)의 순으로 활성을 나타내었으며 유의적인 차이가 있었다. 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 PFM(50.09%)의 활성이 가장 좋았으며, 다른 추출물에서도 활성이 보였으나 20% 미만으로 그 활성이 크지 않았다. 아마란스 추출물 중 ABTS 라디칼 소거능이 가장 높게 나

타난 PFM( $RC_{50}=100 \mu\text{g/ml}$ )은 천연 항산화제인 ascorbic acid ( $RC_{50}=200 \mu\text{g/ml}$ )보다 2.0배, BHT( $RC_{50}=220 \mu\text{g/ml}$ )보다 2.2배 우수한 활성을 보여주었다. 이것은 국화과 15종 꽃 중 가장 높은 활성을 보인 저면캐모마일( $RC_{50}=100 \mu\text{g/ml}$ )과 같은 활성을 보여주었다(Woo 등 2010). 본 연구의 결과에 따르면 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높게 측정된 PFM 추출물에서 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능도 증가하는 결과를 보여주었다. 이는 각 추출물이 함유하고 있는 총 페놀 화합물의 함량이 증가하면서 항산화 활성도 증가한다는 연구와 유사한 결과를 보여주었다(Seo 등 1999). 그러나 ABTS 라디칼 소거 활성과 DPPH 라디칼 소거 활성과는 결과에서 차이를 나타내었는데, 이는 반응속도가 빠른 ABTS 라디칼과는 달리 DPPH 라디칼의 반응속도는 화합물에 따라서 매우 다르다고 알려져 있으며(Huang 등 2005), ABTS 라디칼은 DPPH 라디칼과 달리 극성과 비극성 물질 모두와 반응하여 소거되며, ABTS 라디칼과 잘 반응하는 항산화 물질이 DPPH 라디칼과는 전혀 반응하지 않을 수도 있다고 알려져 있다(Kim 등 2013; Re 등 1999). 본 연구 결과, 물과 메탄올의 극성 차이와 용해되어 나온 활성 성분의 차이로 ABTS 라디칼에서 더 높은 활성을 보인 것으로 사료된다.

### 3. SOD 유사 활성의 변화

아마란스 추출물들의 SOD 유사 활성을 측정할 결과는 Fig. 2와 같다.  $100 \mu\text{g/ml}$  농도에서 아마란스 추출물은 PFW(25.51%),

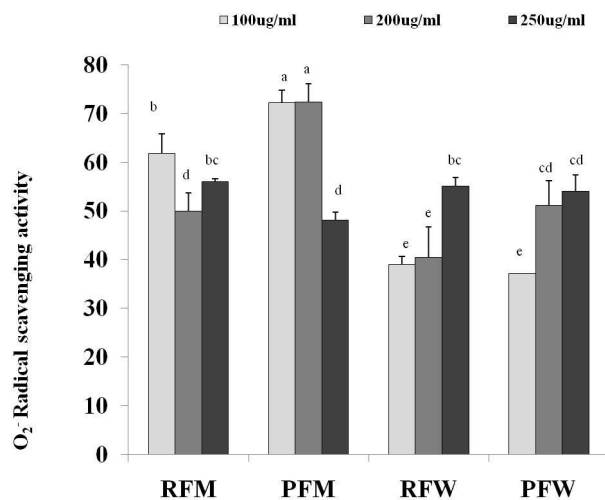


**Fig. 2.** SOD-like activity of flower extracts from Amaranth. RFM: red flower extracted with MeOH, PFM: purple flower extracted with MeOH, RFW: red flower extracted with hot water, PFW: purple flower extracted with hot water. Values with different letters were significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value is mean $\pm$ S.D. (n=3).

RFW(18.59%), RFM(15.78%), PFM(7.83%)의 순으로 SOD 유사 활성이 나타났으며, 그 중 PFW는 PFM보다 3배 가량 높은 SOD 유사 활성을 보였다.  $50 \mu\text{g/ml}$  농도에서는 PFW(22.18%), PFM(11.38%), RFW(6.47%), RFM(4.32%)의 순으로 활성이 나타났으며,  $100 \mu\text{g/ml}$  농도에서와 같이  $50 \mu\text{g/ml}$ 에서도 PFW에서 다른 추출물과 비교하였을 때 유의적으로 차이가 있는 높은 활성이 나타났다. 산채류 34종의 물과 메탄올 추출물(Lee 등 2011)  $1 \text{ mg/ml}$  농도에서 SOD 유사 활성을 측정하였을 때 거의 모든 시료의 활성이 나타나지 않았으며, 그 농도를  $5 \text{ mg/ml}$ 로 높였을 때 활성이 0.4~100%로 나타났다는 연구와 쑥 추출물(Kang & Lee 2013)이  $10 \text{ mg/ml}$ 의 농도에서 44.38~68.29%의 활성을 보인다는 결과와 비교하면 아마란스 꽃 추출물이 기존에 보고된 여러 종류의 천연물보다 낮은 농도에서도 더 높은 SOD 유사 활성을 보여주었다. 이와 같이 아마란스의 라디칼 소거능이 매우 우수하기 때문에 항산화 기능성 소재로의 연구가 요구된다.

### 4. 세포내에서 생성되는 슈퍼옥사이드 라디칼( $O_2^-$ )의 저해 활성

백혈병 세포주 HL-60에서 TPA에 의해 유도된  $O_2^-$  생성 저해 활성을 측정해 보았으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다. 아마란스 추출물의  $200 \mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 RFM(49.96%), PFM(72.34%), RFW(40.40%), PFW(51.15%)로 세포내  $O_2^-$  생성을 억제시켰으며, 가장 높은 활성을 보인 추출물은 PFM으로 가장 낮은 활성을 보인 RFW보다 1.79배 높은 활성을 보였다.  $100 \mu\text{g/ml}$



**Fig. 3.** Effects of flower extracts from Amaranth on TPA-induced superoxide radical( $O_2^-$ ) formation in HL-60 cells. Values with different letters were significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value is mean $\pm$ S.D. (n=3).

의 농도에서는 PFM(72.26%), RFM(61.77%), RFW(38.98%), PFW(37.10%)의 순으로 추출물간 유의적 차이가 있는 저해 활성을 보였으며, 200  $\mu\text{g/ml}$  농도와 같이 PFM이 가장 높은 활성을 보였다. 물 추출물에서는 농도에 따라 그 활성이 증가하는 경향을 보였으나, 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 PFM의 활성이 감소하는 결과를 보여주었다.

본 연구에 따르면 DPPH나 ABTS의 라디칼 소거능에서 가장 높은 활성을 보인 PFM이 세포내에서 생성된  $\text{O}_2^-$  라디칼 소거 활성도 높아, DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성에 영향을 미친 폴리페놀과 플라보노이드가 세포내에서도 효과를 보인 것으로 사료된다. 아마란스 꽃 추출물의 세포내  $\text{O}_2^-$  생성 저해 활성은 하고초 약침액 1  $\text{mg/ml}$  농도에서 20.8%의 활성을 보인 연구결과(Park 등 2001)와 인삼 메탄올 추출물의 경우(Keum 등 2000) 0.5  $\text{mg/ml}$ 의 농도일 경우 50% 정도의 활성을 보인 결과를 감안했을 때, 낮은 농도에서도 높은 억제 활성이 있음을 알 수 있었다.

#### 5. 세포내에서 생성되는 NO 생성 억제 활성

본 연구에서는 아마란스 추출물이 세포 내에서 NO 생성에 어떠한 영향을 끼치는지 알아보기 위하여 대식세포 RAW 264.7에 추출물을 25, 50, 100, 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하였고, 그 결과는 Fig. 4와 같다. 추출물들의 RAW 264.7 대식 세포에 대한 독성은 나타나지 않았다(데이터 제시하지 않음). 아마란스 꽃 추출물은 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 PFM(46.90%),

RFM(25.17%), RFW(23.67%), PFW(21.85%) 순으로 유의적 차이가 있는 억제 활성을 보여주었다. 이는 700  $\mu\text{g/ml}$  농도의 보두산 메탄올 추출물이 69.5%의 NO 생성을 감소시켰고, 보두는 38.9%, 감초는 77.4% 감소시켰다는 결과와 비교하였을 때(Kim 등 2009), 아마란스 꽃 추출물의 세포내 NO 생성 억제 활성은 다른 천연물보다 낮은 농도에서도 우수한 활성을 보인다고 판단된다. 이와 같은 아마란스 추출물의 높은 NO 생성 억제 활성은 염증 억제 효과가 좋은 소재로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

### 요 약

본 연구는 아마란스의 붉은 색과 보라색 꽃 열수 추출물과 메탄올 추출물의 폴리페놀과 플라보노이드 함량 측정과 DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성, SOD 유사 활성을 측정하였으며, 세포내에서 생성된 superoxide 라디칼 제거 활성과 산화질소 생성 억제 활성을 분석하여 새로운 식물 유래 라디칼 소거 활성 물질을 개발하기 위하여 시행하였다. 총 폴리페놀의 함량은 아마란스 추출물 중 보라색 꽃 메탄올 추출물이 606.95  $\text{mg GAE}/100 \text{g}$ 으로 가장 높았으며, 플라보노이드 함량은 254.69  $\text{mg CE}/100 \text{g}$ 으로 가장 높았다. 또한 DPPH 라디칼 소거 활성에서도 보라색 꽃 메탄올 추출물의  $\text{RC}_{50}$  값이 155.06  $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. ABTS 라디칼 소거능 측정에서는 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 보라색 꽃 메탄올 추출물의 활성이 53.16%로 가장 좋았으며, 보라색 꽃 열수 추출물(41.55%), 붉은 꽃 열수 추출물(30.52%), 붉은 꽃 메탄올 추출물(30.34%)의 순으로 활성을 나타내었다. 이와 반대로 SOD 유사 활성은 보라색 꽃 열수 추출물에서 메탄올 추출물의 활성보다 3배나 높은 결과를 보여주었다. 세포내 superoxide 라디칼 제거 활성은 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 보라색 꽃 메탄올 추출물(72.34%)이 붉은 색 꽃 열수 추출물(40.40%)보다 1.79배 높은 활성을 보였다. 세포내 NO 생성 억제 활성을 조사한 결과에서는 보라색 꽃 메탄올 추출물이 250  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 46.90%의 가장 높은 저해 활성을 보여주었다. 본 연구의 결과, 플라보노이드 함량이 높은 보라색 꽃 메탄올 추출물에서 라디칼 소거능이 높았으며 강력한 항산화제 활성을 보여주었다. 이러한 결과로 보아 아마란스 꽃의 새로운 항산화 소재로서 개발 가능성을 보여주었다.

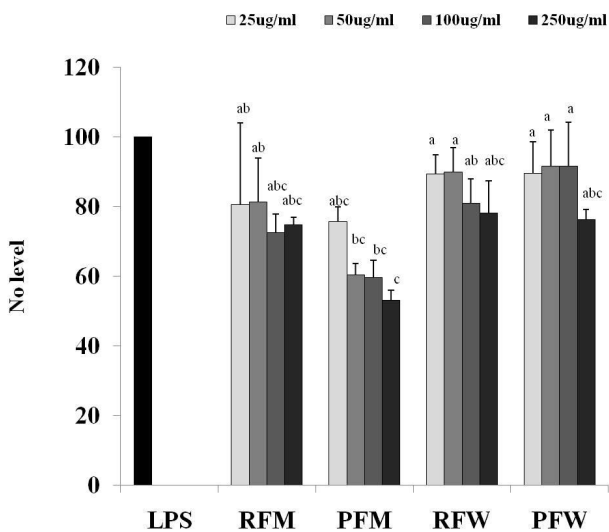


Fig. 4. Inhibitory effects of flower extracts from Amaranth on nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells. Values with different letters were significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value is mean  $\pm$  S.D. (n=3).

### 감사의 글

본 연구는 (주)큐앤에이코리아의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

## References

- Arnao MB, Cano A, Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem* 73:239-244
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Caselato-Sousa VM, Amaya-Farfán J. 2012. State of knowledge on amaranth grain: a comprehensive review. *J Food Sci* 77:93-104
- Choi HS. 2011. Effect of adding amaranth powder on noodle quality. *J Korean J Food & Nutr* 24:664-669
- de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. 1999. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 26:202-226
- Fang FC. 2004. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: Concepts and controversies. *Nat Rev Microbiol* 2:820-832
- George B, Vinoth Kumar R, Chakraborty S. 2013. Molecular characterization of Chilli leaf curl virus and satellite molecules associated with leaf curl disease of *Amaranthus* spp. *Virus Genes* 2013 Dec 25. [Epub ahead of print]
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. 1982 Analysis of nitrate, nitrite, and [<sup>15</sup>N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126:131-138
- Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 53:1841-1856
- Jeon SM, Kim SY, Kim IH, Go JS, Kim HR, Jeong JY, Lee HY, Park DS. 2013. Antioxidant activities of processed deoduck (*Codonopsis lanceolata*) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:924-932
- Kang KM, Lee SH. 2013. Effects of extraction methods on the antioxidative activity of *Artemisia* sp. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1249-1254
- Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ. 2000. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Letters* 150:41-48
- Kim HW, Murakami A, Nakamura Y, Ohigashi H. 2002. Screening of edible Japanese plants for suppressive effects on phorbol ester-induced superoxide generation in differentiated HL-60 cells and AS52 cells. *Cancer Letter* 176:7-16
- Kim HY, Ko JY, Song SB, Kim JI, Seo HI, Lee JS, Kwak DY, Jung TW, Kim KY, Oh IS, Jeong HS, Woo KS. 2012. Antioxidant activities of solvent fractions from methanolic extract of cockscomb (*Celosia cristata* L.) flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:1502-1507
- Kim JS, Ryoo HJ. 2002. Application to the biscuits manufacture of processed amaranth seeds. *The Korean Society of Food and Nutrition* 15:321-325
- Kim KH, Kim DM, Byun MW, Yun YS, Yook HS. 2013. Antioxidant activity of *Panax ginseng* flower-buds fermented with various microorganisms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:663-669
- Kim PJ, Yun HJ, Heo SK, Kim KA, Kim DW, Kim JE, Park SD. 2009. Anti-inflammatory effect of Bodusan. *Kor J Herbology* 24:49-56
- Kim SH, Choi HJ, Oh HT, Chung MJ, Cui CB, Ham SS. 2008. Cytoprotective effect by antioxidant activity of *Codonopsis lanceolata* and *Platycodon grandiflorum* ethyl acetate fraction in human HepG2 cells. *Korean J Food Sci Technol* 40:696-701
- Kim YC, Hong HD, Rho JH, Cho CW, Rhee YK, Yim JH. 2007. Changes of phenolic acid contents and radical scavenging activities of ginseng according to steaming times. *J Ginseng Res* 31:230-236
- Lee JH, Kim KJ, Lee J, Lee ST, Ryu SN. 1996a. Functional ingredient and their some variance in amaranth and quinoa. *Korean J Crop Sci* 41:145-165
- Lee JH, Moon HI, Lee JI, Kang CW, Lee ST. 1996b. Isolation and identification of squalene and antineoplastic activity of its residue extract in Amaranth. *Korean J Crop Sci* 41:450-455
- Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. 2011. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:29-36
- Lodovici M, Guglielmi F, Meoni M, Dolara P. 2001. Effect of natural phenolic acids on DNA oxidation *in vitro*. *Food Chem Toxicol* 39:1205-1210
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47:469-474
- Park SH, Cho KH, Shon YH, Lim JK, Nam KS. 2001. Testing of cancer chemopreventive potential of *Prunella vulgaris* L. aqua-acupuncture solution using biochemical markers of carcinogenesis. *Kor J Pharmacogn* 32:163-167

- Qureshi AA, Lehmann JW, Peterson DM. 1996. Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female chickens. *J Nutr* 126:1972-1978
- 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
- Seo YH, Kim IJ, Yie AS, Min HK. 1999. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoids in waxy corn (*Zea mays* L.). *Korean J Food Sci Technol* 31:581-585
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299:152-178
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158
- Tenney L. 2000. Today's Herbal Health. 5th ed. pp. 2. Woodland
- Woo JH, Shin SL, Lee CH. 2010. Antioxidant effects of ethanol extracts from flower species of compositae plant. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:159-164
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555-559

---

접 수 : 2013년 11월 21일  
 최종수정 : 2014년 2월 13일  
 채 택 : 2014년 4월 1일