

감마선 조사에 의한 총목피(*Aralia elata* Cortex)의 추출수율 증대 및 항산화 효과

박혜진¹, 조영제^{2*}

¹내추럴에프앤피 연구개발부, ²경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소

The Effect on Anti-oxidative Activity and Increasing Extraction Yield of *Aralia elata* Cortex by Gamma Irradiation

Hye-Jin Park¹ and Young-Je Cho^{2*}

¹Natural F&P Co., Ltd, Chongwon 363-883, Korea

²School of Food science & Biotechnology / Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract - This study was designed to investigate the effects on anti-oxidative activities and increasing extraction yield of *Aralia elata* Cortex by gamma irradiation. Electron spin resonance (ESR) analysis as physical techniques for irradiation identification of *Aralia elata* showed that a pair of peak appeared on a space of 6.0 mT at the left and right of symmetric unspecific central ESR spectrums, confirming that the plant was gamma-irradiated. The optimum extracting conditions for preparing gamma irradiated samples from *Aralia elata* Cortex were to extract with 50% ethanol for 15 hrs after 10 kGy irradiation. DPPH scavenging activity and ABTS radical cation inhibitory activity of the water and 50% ethanol extracts from non irradiated and irradiated *Aralia elata* Cortex was very high as over 80% and 98%, respectively, at tested low concentration of 50 µg/mL. Antioxidant protection factor (PF) as anti-oxidation indicator of lipophilic compounds showed a very high level of activity as 2.18~2.78 PF. As for TBARS, water and ethanol extracts showed high level. Increase of TBARS inhibitory activity of water extracts was not shown by gamma-ray irradiation but ethanol extracts showed slight increasement of TBARS inhibitory activity with 10 kGy gamma-ray irradiation. These results shown confirmed increasement of extraction yield for phenolic compounds and anti-oxidative activity from *Aralia elata*. Thus, the treatment of gamma-irradiation can be used a way to amplify a solubility for biological active compounds and anti-oxidative activity in plants.

Key words - Anti-oxidative activity, Solubility, *Aralia elata* Cortex, Extracts, Gamma irradiation

서 언

활성산소(oxygen free radical)는 쌍을 이루고 있지 않는 전자를 가진 불안정한 상태의 반응성이 큰 산소화합물로 생체 내 에너지 생산을 위한 세포의 에너지 대사과정 중 생성되며, 이는 체내에 존재하는 항산화방어계에 의해 전자와 결합하여 물로 환원되어 대부분 소멸한다(Cho *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2000). 그러나 항산화방어계의 균형이 깨지면 체내의 활성산소량이 증가하여 체내의 세포와 조직을 공격하고, 비가역적 손상에 의한 암, 뇌졸중, 심근경색, 동맥경화, 당뇨병 등과 같은 염증성

질환을 초래하고, 피부 노화를 비롯한 피부트러블을 야기하는 원인이 되기도 한다(Cho *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2000). 항산화제는 합성항산화제와 천연항산화제로 구분되며 합성 항산화제는 소량으로도 뛰어난 항산화 효과를 보이는 반면, 다량 섭취 시 체내에서 독성을 나타낼 수 있는 것으로 보고되면서 안전한 천연항산화제에 대한 관심이 고조되고 있다(Boo *et al.*, 2011; Branen 1975; Chae and Cho, 2012; Choe *et al.*, 1982; Lee 2011; Xu *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2011). 반면, 천연항산화제는 각종 질병이나 상처 회복에 효과적으로 작용하며 체내 독성이 적어 특별한 부작용이 없는 것으로 알려져 높은 선호도를 보이고 있다(Lee *et al.*, 2005). 또한 최근 경제성장과 생활수준의

*교신저자(E-mail) : yjcho@knu.ac.kr

향상으로 건강에 대한 관심이 고조되어 천연 항산화 소재개발에 대한 관심이 높아지면서 식품을 이용한 생체방어, 노화억제, 질병 예방 등 생리활성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 (Lee *et al.*, 2005). 특히 천연 약용식물은 일부 성분들이 체내에서 유해 활성산소를 감소시키는 생리활성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있어, 이로부터 인체에 안전하고 질병을 예방할 수 있는 생리활성을 가진 물질을 탐색하려는 연구가 이루어지고 있다(Cho *et al.*, 2008).

두릅나무(*Aralia elata* Seemann)는 Araliaceae (두릅나무과)에 속하는 낙엽관목으로 국내 전국 각지에 분포하고, 봄에 올라오는 새순은 식용이 가능하다. 두릅나무의 뿌리나 줄기 껍질을 말린 것을 총목피(*Aralia elata* Cortex)라 하여 한약재로 쓰이며, 혈당저하(Kim, 2006), 항균(Kim, 2006), 간독성 완화(Kim *et al.*, 1994) 및 항산화 효과(Yoshikawa *et al.*, 1994) 등 다양한 약리성이 있는 것으로 보고되고 있다. 또한 독성이 없는 것으로 확인되어 식품소재로의 활용에 문제가 없는 것으로 밝혀져 있다(Yang *et al.*, 2006).

감마선 조사는 식품의 부패방지, 안전성 및 보존성 향상 효과가 있는 것으로 보고되어 식품, 제약, 의료 및 화장품 소재 등에 널리 적용되고 있는 친환경적 기술이다(Byun, 1994; Thayer, 1990; Lee *et al.*, 2001). 방사선 조사 식품은 평균 10 kGy 이하로 조사된 모든 식품에서 어떠한 독성학적 위해나 영양학적, 미생물학적 문제를 일으키지 않음에 따라 국제적으로 인정되었다(Jo and Kwon, 2002). 특히, 천연 약용식물에 있어서 감마선 조사처리는 기능성 물질의 탐색에 적용되어 추출수율을 증진시키고, 본래 가지고 있던 생리활성을 유지하여 산업적 응용을 용이하게 하는 방법으로도 알려져 있다(Lee *et al.*, 2005; Jo *et al.*, 2003). 국내에서는 천연 약용식물에 대해 방사선 조사 처리가 허용되지 않은 실정이나(KFDA, 2011), 방사선 조사처리를 통한 식품 및 기능성 소재로서의 활용은 여전히 기대되고 있다(Park, 2006).

따라서 본 연구에서는 감마선 조사가 천연약용식물인 총목피의 추출수율과 항산화 효과에 미치는 영향을 검토하여 총목피의 기능성 소재로서의 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 총목피(*Aralia elata* Cortex)는 대구 소재의 시중 한약방에서 유통되는 국내산 한약규격품을 구입하였

다. 시료의 방사선 조사여부 확인 시험을 위한 시료는 건조 포장된 시료를 세절하여 시료로 사용하였고, 시료의 용출물 및 항산화 활성평가 시험을 위한 시료는 40 mesh로 분쇄하여 4℃에서 저온저장하면서 시료로 사용하였다.

시료의 감마선 조사 처리(Irradiation)

시료의 감마선 조사는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소의 Co-60 감마선 조사시설(100 kCi point source, AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, Canada)을 이용하여 실온에서 시간당 일정한 선량률로 0, 5, 10, 30 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였으며, 이 때 흡수선량은 ceric/cerous dosimeter를 사용하여 확인되었다.

시료의 감마선 조사 여부 판정을 위한 전자스핀공명법(Electron spin resonance, ESR) 분석

ESR 분석법은 방사선 조사 시 입사된 에너지의 일부가 분자결합을 붕괴시켜 방출된 이온이나 자유라디칼을 측정하는 방법으로, 다른 방법에 비해 시료에 손상을 주지 않고 간편성, 신속성의 장점을 가진다(Stachowics *et al.*, 1992). 시료의 ESR 분석은 식품공전(KFDA, 2011) 및 CEN 방법(European Committee for Standard, 2002)에 준하여 시료를 50℃ dry oven에서 건조시켜 수분과 단수명 ESR center를 제거한 후 ESR pyrex tube에 0.4g 씩 충전하여 사용하였다. 전 처리한 시료는 ESR spectrometer (JES-TE 200, Jeol, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. ESR 분석은 microwave power 0.4 mW, microwave frequency 9.10~9.13 GHz, center field 324.0~325.5 mT, sweep width 2.5×10 mT, modulation frequency 100 kHz, modulation width 0.5 mT, amplitude 4.0×10 Time, sweep time 30 sec, time constant 0.03 sec의 조건으로 측정하였다. 방사선 조사에 의해 유도된 free radical을 확인하고, ESR signal에서 나타나는 peak-to-peak height를 ESR signal intensity로 나타내었으며, g-value는 내장된 프로그램에 의해 측정하였다(Noh and Kwon, 2003). ESR signal의 결과는 Origin (Origin, 1999)에 의해 분석하였다.

추출물 제조

추출수율 및 항산화활성 측정을 위한 시료 추출은 물 추출의 경우 선량별로 조사한 총목피 분말 1g을 증류수 200 ml에 침지하여 추출물이 100 ml가 될 때까지 가열한 후 냉각하여 24시간 동안 교반 추출하였으며, ethanol 추출은 총목피 분말 1g을

10~100% ethanol 100 ml에 침지하여 24시간 동안 교반 추출하였다. 추출시간별 용출을 측정은 선량별로 조사한 총목피 분말 1 g을 용매 100 ml에 침지하여 상온에서 0~30시간동안 추출하며 용출율을 측정하였다. 각 추출물은 Whatman No. 1 filter paper로 여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator (Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축하여 시료로 사용하였다.

조사처리 시료의 total phenolic 함량 분석

Total phenolic 함량은 Folin-Denis 방법(1912)으로 측정하였으며, 시료 추출물 1 ml에 95% ethanol 1 ml와 증류수 5 ml를 첨가하고 1 N Folin-ciocalteu reagent 0.5 ml를 넣어 잘 혼합하여, 5분간 방치한 후, 종료시약 Na₂CO₃ 1 ml를 가한 후, UV-visible spectrophotometer (Optizen 3220UV Mecasys, Daejeon, Korea)로 725 nm에서 1시간 이내에 측정하였으며, 이를 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다.

조사처리 시료의 DPPH radical 소거 효과 측정

DPPH radical에 대한 소거효과는 Blois의 방법(1958)에 준하여 측정하였다. 각 시료 1 ml에 60 μM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 3 ml를 넣고 vortex한 후 실온에서 15분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거 효과는 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Electron donation ability (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}\right) \times 100$$

조사처리 시료의 ABTS radical 소거 효과 측정

ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical 소거 효과 측정은 Pellegrini *et al.*의 방법(1999)에 의해 측정하였다. 7 mM ABTS 5 ml와 140 mM K₂S₂O₈ 88 μl를 혼합하여 암실에서 14~16시간 반응시켜 radical을 생성시킨 후, 이를 absolute ethanol과 약 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7 ± 0.002가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 시료 50 μl와 ABTS solution 1 ml를 혼합하여 30초간 vortex한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거 효과는 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}\right) \times 100$$

조사처리 시료의 Antioxidant protection factor(PF) 측정

PF는 Andarwulan과 Shetty의 방법(1999)으로 측정하였다. β-carotene 10 mg을 chloroform 50 ml에 녹인 용액 1 ml를 evaporator용 수기에 넣고 40°C water bath에서 chloroform을 증류시킨 후 linoleic acid 20 μl, tween 40 184 μl, H₂O₂ 50 ml를 첨가하여 emulsion을 제조하였다. 시료 100 μL에 emulsion 5 ml를 혼합해 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 후, 470 nm에서 흡광도를 측정하여 다음의 식에 의해 PF값을 계산하였다.

$$\text{Antioxidant Protection Factor (PF)} = \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}$$

조사처리 시료의 Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) 측정

TBARs는 Burge와 Aust의 방법(1978)에 의해 측정하였다. 1% linoleic acid와 1% tween 40으로 emulsion을 제조하고, 시료 0.2 ml와 emulsion 0.8 ml를 혼합한 후 50°C water bath에서 10시간 이상 반응시켰다. 반응 후 반응액 1 ml에 TBA reagent 4 ml를 가하고 15분간 중탕한 다음 10분간 냉각시켜 15분간 1,000 rpm으로 원심분리 하였다. 원심분리 한 액을 실온에서 10분간 방치 한 후 상층액을 취해 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TBARs 값은 (흡광도 수치 × 0.0154)로 1 ml 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP)의 μM로 계산한 후 다음의 식으로 TBARs에 대한 저해율을 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{\text{TEP content of sample}}{\text{TEP content of control}}\right) \times 100$$

통계처리

본 실험의 결과는 3회 반복하여 측정한 평균값을 나타내었으며, 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 통계처리는 분산분석(analysis of variance) 및 duncan의 다중범위검정법(duncan's multiple range test)으로 95% 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

시료의 감마선 조사여부 확인을 위한 전자스핀공명(ESR) 특성

총목피의 감마선 조사선량에 따른 ESR 측정 결과는 Fig. 1과 Table 1에 나타내었다. 식품공전에는 감마선 조사 여부의 확인을 위한 ESR 판정에 cellulose를 함유한 비조사 식품에서 나타나는 중심부의 신호 왼쪽(저자장)과 오른쪽(고자장)에 cellulose radical에 의해 생성되는 한 쌍의 peak가 6.0 mT의 간격을 두고 나타나면 방사선 조사된 것으로 판정토록 고시하고 있다 (KFDA 2011). 본 연구에서도 감마선 비조사구(0 kGy)의 경우 대칭적인 unspecific central ESR 신호를 보여주었으나, 감마선 조사구(5, 10, 30 kGy)에서는 대칭적인 unspecific central ESR 신호가 좌우 6 mT 간격으로 한 쌍의 peak로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 Lee *et al.* (2002)이 보고한 cellulose를 포함한 식품에서 나타나는 cellulose radical에 의해 생성되는 ESR 신호와 유사한 것으로 판단되었다. g-Value (g_0, g_1, g_2)도 감마선 비조사구에 비해 감마선이 조사된 시료에서 높게 측정

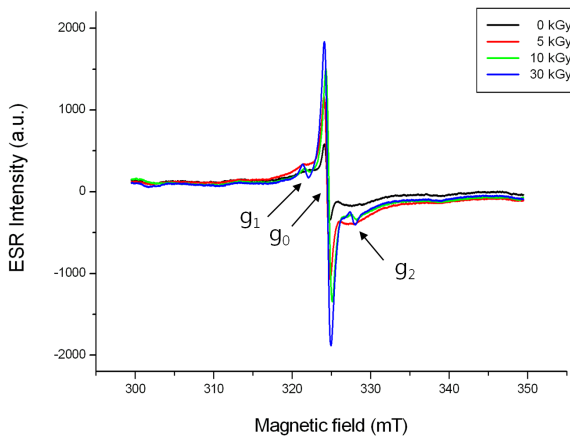


Fig. 1. Typical electron spin resonance spectra of irradiated *Aralia elata* Cortex.

Table 1. ESR signal parameter^z of radiation-induced radicals from irradiated *Aralia elata* Cortex

ESR parameter	Irradiation dose (kGy)			
	0	5	10	30
g_0	2.0036 ± 0.0002 ^a	2.0060 ± 0.0001 ^{bc}	2.0064 ± 0.0001 ^c	2.0053 ± 0.0013 ^b
g_1	-	2.0231 ± 0.0008 ^a	2.0236 ± 0.0002 ^b	2.0237 ± 0.0004 ^b
g_2	-	1.9915 ± 0.0022 ^a	1.9877 ± 0.0018 ^b	1.9870 ± 0.003 ^b

^zg-value = [71.448 × microwave frequency (GHz)]/Magnetic field (mT). The data were expressed as the mean ± SD (n = 3).

되었으며, 감마선의 선량이 증가할수록 높아지는 경향을 나타내었다. 따라서 본 실험에 사용된 총목피 시료는 감마선이 조사되었음을 확인할 수 있었다.

감마선 조사시료 추출물의 total phenolic 용출 변화

식물의 2차 대사산물인 phenol compound는 항산화제를 비롯한 다양한 생리활성 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다 (Huang *et al.*, 1992; Kang *et al.*, 2010). 따라서 본 연구에서는 다양한 선량(0, 5, 10, 30 kGy)으로 방사선 조사처리를 한 총목피로부터 용매농도별, 추출시간별 추출물의 total phenolic 함량을 측정하여 감마선 조사가 총목피의 phenolic 성분의 용출에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 다양한 감마선 조사선량을 처리한 후 추출시간에 따른 추출물의 total phenolic 함량을 살펴보기 위하여 감마선 조사한 총목피를 물과 50% ethanol을 추출용매로 하여 30시간 동안 추출하며 3시간 간격으로 측정하였다. 그 결과 Fig. 2A와 B에서와 같이 15시간까지 phenolic 함량의 용출이 급격히 증가하다가 15시간 이후부터는 그 함량의 변화가 거의 없었다. 물 추출물의 경우 Fig. 2A에서 제시된 것처럼 감마선을 조사하지 않은 총목피와 5 kGy의 약한 감마선을 조사한 총목피의 추출율은 유사하게 나타났으며, 10 kGy와 30 kGy의 조사선량을 처리한 총목피의 phenolic 추출수율은 무처리와 5 kGy 처리에 비해 상대적으로 높은 추출 수율을 나타내었다. 10 kGy와 30 kGy의 조사선량에서는 추출 수율의 차이가 거의 없는 것으로 나타났으며, 10 kGy의 선량에서 가장 높은 17.3 mg의 phenolic 함량이 확인되었다. 또한, 알콜 추출물의 경우에도 Fig. 2B에서와 같이 감마선을 조사하지 않은 총목피와 5 kGy의 약한 감마선을 조사한 총목피에 비해 10 kGy와 30 kGy의 조사선량을 처리한 총목피에서 상대적으로 높은 추출 수율을 나타내었다. 이때의 phenolic 함량은 10 kGy에서 18.9 mg/g을 나타내어 최적 방사선 조사량은 10 kGy로 판단되었다. 또한 동일한 감마선량을 조사한 총목피의 경우 물 추출물보다 알콜 추출물의 추출수율이 더 높게 나타났다.

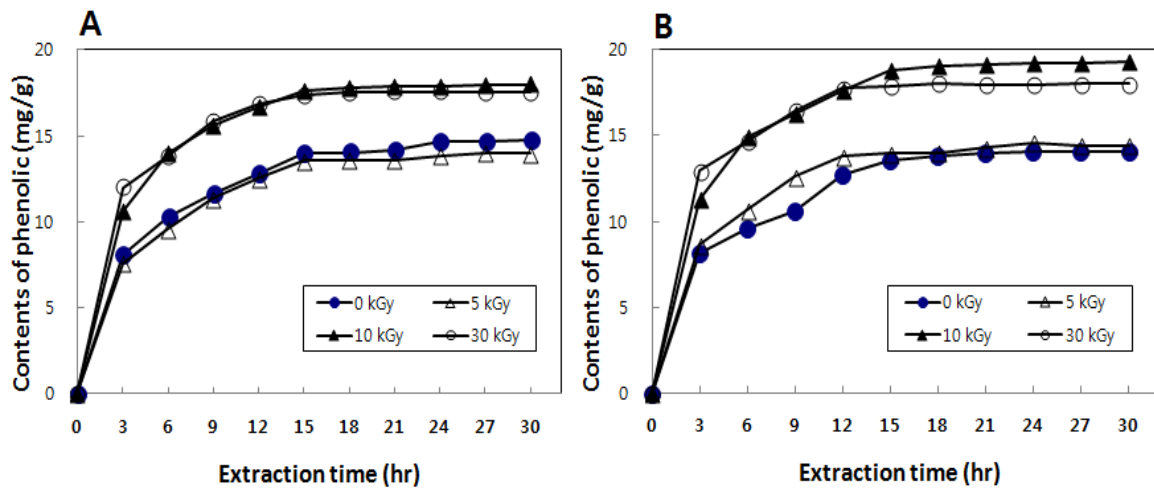


Fig. 2. Effect of extraction time on total phenolics contents of extracts from irradiated *Aralia elata* Cortex. Irradiation dose were 0~30 kGy. A: water extracts, B: ethanol extracts. The data were expressed as the mean \pm SD (n = 3), Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

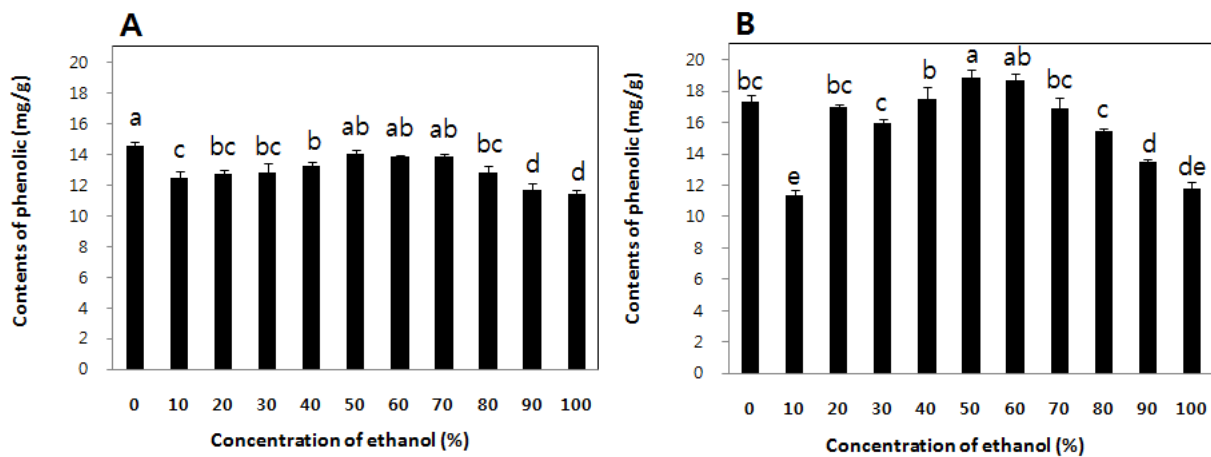


Fig. 3. Effect of ethanol concentration on total phenolics contents of extracts from irradiated *Aralia elata* Cortex. Ethanol concentration was 0~100%. A: 0 kGy irradiation, B: 10 kGy irradiation. The data were expressed as the mean \pm SD (n = 3), Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

총목피 분말에 다양한 감마선 조사선량을 처리한 후 ethanol 농도별 추출수율을 살펴보기 위하여 시료에 ethanol을 0~100%까지 다양한 농도로 첨가한 후 15시간 동안 추출하여 phenolic 함량을 측정하였다. 그 결과 Fig. 3-A에서와 같이 감마선 무처리 시료의 경우 물 추출물에서 최대 용출량을 나타내었으며, 물 추출물과 ethanol 농도별 추출 수율의 차이는 크게 나타나지 않았다. 그러나 감마선을 10 kGy 처리한 총목피의 경우 Fig. 3B에서와 같이 물 추출물에 비하여 에탄올 추출물에서 용매 농도별 추출 수율이 매우 다양하게 나타났으며, 50% ethanol에서 최대 추출 수율을 나타내었다.

이러한 결과로 보아 물 추출물이나 용매 추출물 제조 시 감마선 조사는 생리활성 물질의 추출수율을 증가시키며, 이는 Kwon *et al.* (2007)의 감마선 조사 처리한 소목 추출물의 총 페놀 함량이 비조사구에 반해 조사구에서 증가하였다는 보고와 Beaulieu *et al.* (1999)이 양송이를 감마선 2 kGy 조사 처리한 경우 추출물의 페놀성 물질 함량이 증가하였다는 보고와 같은 양상을 나타내는 결과임을 확인할 수 있었다. 또한 선량별 추출물의 phenolic 함량을 비교하였을 때에도 10 kGy에서 가장 높은 phenolic 함량을 나타내어, 총목피의 생리활성물질 추출을 위한 효과적인 조건은 감마선 10 kGy를 조사하여 물과 50%

ethanol을 사용하여 15시간 추출하는 것이 최적이었음을 확인하였다. IAEA는 식품에 조사할 수 있는 감마선의 최대 허용량을 10 kGy 이내로 한정하고 있다. 상기의 연구 결과에 의하면 10 kGy와 30 kGy의 조사구간에 용출량의 차이는 거의 없어, 본 연구에서는 10 kGy 이내의 감마선 처리 시료에 국한하여 연구를 진행하였다.

감마선 조사시료 추출물의 DPPH radical 소거능

DPPH radical 소거능은 항산화 활성의 지표라 할 수 있으며, free radical에 대한 환원력이 클수록 높은 활성산소소거 능력을 기대할 수 있다(Pokomy, 1991). 감마선을 0~10 kGy 조사한 총목피 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정 한 결과는 Fig. 4A에서와 같이 총목피의 물 추출물의 경우, 비조사구와 조사구

를 total phenolic 함량 기준 50~250 µg/ml로 처리하였을 때 모두 80% 이상의 매우 높은 저해 효과를 나타내었으며, 에탄올 추출물의 경우 Fig. 4B에서와 같이 감마선 조사선량이 높아질수록 항산화능도 다소 높아지는 양상을 나타내었다. 이는 Choe *et al.* (2008)이 보고한 한약재의 물 추출물을 이용한 DPPH radical 소거능을 검토한 연구에서 산수유, 목단피, 산약의 물 추출물이 10,000 µg/ml와 5,000 µg/ml 고농도 처리 시 90% 이상의 DPPH radical 소거효과를 나타내었다는 결과와 Ju *et al.* (2006)이 보고한 감국, 결명자, 당귀, 배초향, 산사육, 영경귀, 오가피의 열수 추출물을 250 µg/ml 농도로 처리하였을 때 50% 이하의 DPPH radical 소거능을 나타낸 것과 비교해 보았을 때, 본 연구에 사용된 총목피의 경우 비교적 낮은 농도에서도 매우 우수한 DPPH radical 소거능을 지닌 것으로 확인할 수 있었다.

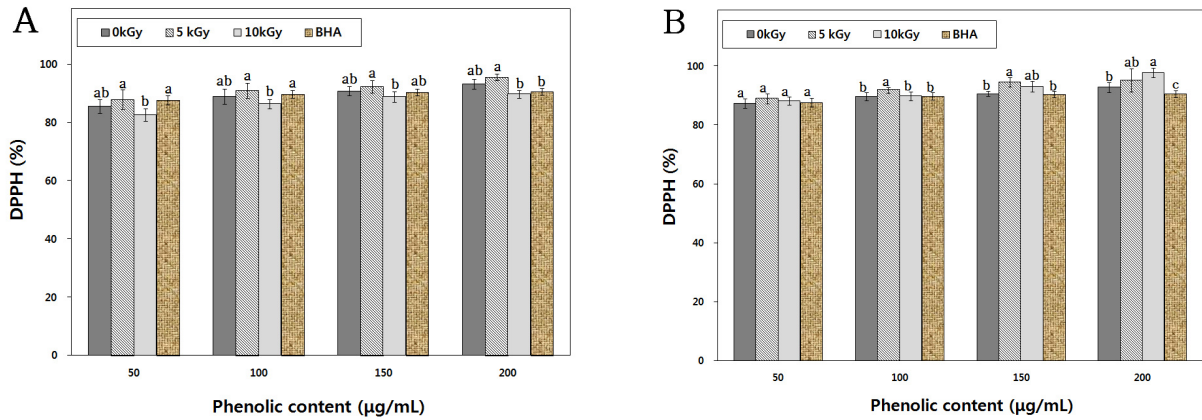


Fig. 4. DPPH radical scavenging activities of extracts from irradiated *Aralia elata* Cortex. Phenolic content were 50~200 µg/ml. Irradiation dose were 0~10 kGy. A: water extracts, B: ethanol extracts. The data were expressed as the mean ± SD (n = 3), Means with different superscript letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

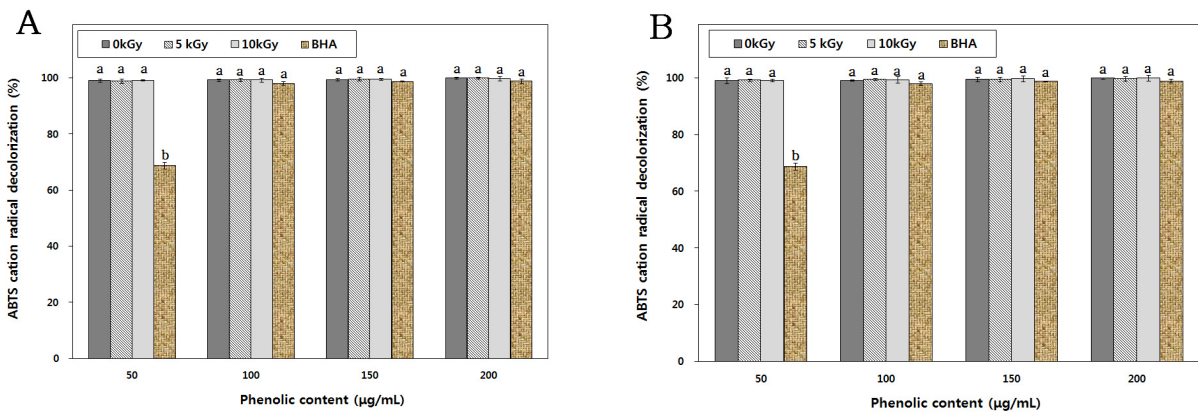


Fig. 5. ABTS radical scavenging activities of extracts from irradiated *Aralia elata* Cortex. Phenolic content were 50~200 µg/ml. Irradiation dose were 0~10 kGy. A: water extracts, B: ethanol extracts. The data were expressed as the mean ± SD (n = 3), Means with different superscript letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

감마선 조사시료 추출물의 ABTS radical decolorization

ABTS radical decolorization은 ABTS free radical이 시료의 항산화 물질에 의해 제거되는 것을 측정하여 친수성 및 lipophilic 물질의 항산화 활성을 확인할 수 있다(Pellegrini *et al.*, 1999). 이 방법은 hydrogen-donating antioxidant와 chain breaking antioxidant 모두를 측정할 수 있으며, aqueous phase와 organic phase 모두에 적용이 가능할 뿐만 아니라, 표준물질의 사용으로 추출물의 상대 비교가 가능하도록 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물속의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색의 탈색 정도를 측정하는 방법이다. Fig. 5A와 B에서와 같이 총목피 추출물의 ABTS radical 저해율은 감마선 0~10 kGy 처리군의 물 및 ethanol 추출물을 total phenolic 함량 기준 50~250 µg/ml의 농도로 처리하였을 때, 모든 처리구에서 98.0% 이상의 매우 높은 저해율을 나타내었다. 이는 positive control로 사용한 BHA를 50 µg/ml로 처리하였을 때 관찰된 68.8%보다 매우 높은 수준이었으며, 외송과 한약재 복합물의 ABTS radical 저해율이 1,000 µg/ml에서 70% 이상으로 나타났다는 Lee *et al.* (2012)의 보고보다 우수한 결과였다. 따라서 총목피 열수 및 50% ethanol 추출물의 친수성 및 lipophilic 물질에 대한 항산화 효과는 감마선 조사처리에도 변함없이 매우 우수한 것으로 판단할 수 있었다.

감마선 조사시료 추출물의 Antioxidant Protection Factor (PF)

지질 산화과정 중 생성되는 free peroxy radical은 β-carotene의 이중결합을 공격하여 불활성 물질을 형성하고 이로 인해

free radical에 의한 연쇄반응을 중단시켜 산화가 발생하게 된다(Jung *et al.*, 2010). 산화가 진행되면서 β-carotene의 오랜 지색의 색소가 탈색되고, 이러한 색소 파괴정도를 흡광도로 측정하여 그 차이를 산출해 시료의 항산화 활성을 측정하였다. Fig. 6A에서와 같이 0~10 kGy의 선량으로 조사된 총목피의 물 추출물의 경우 감마선의 조사선량이 높아질수록 PF값이 높아지는 결과를 나타내었으며, 10 kGy 조사한 추출물에서 2.78의 매우 높은 PF값을 나타내었다. Ethanol 추출물의 경우도 역시 Fig. 6B에서와 같이 처리한 감마선 조사량이 높아짐에 따라 비례적으로 PF값이 높아지는 양상을 나타내었으나, 물 추출물에 비해 상대적으로 낮은 PF값을 나타내었다. 이러한 결과는 positive control로 사용한 BHA가 1.42 PF값을 나타낸 것과 비교하면, 감마선 조사한 총목피 열수 추출물의 경우 매우 높은 지용성 항산화력을 가지는 것으로 확인할 수 있었으며, 50% ethanol 추출물 또한 BHA와 유사한 수준의 지용성 항산화력을 가지는 것으로 판단되었다. 이는 감마선의 조사가 phenolics의 용출율에 영향을 미칠 뿐만 아니라 추출물 속의 phenolic profile에도 영향을 미치는 것이기 때문인 것으로 추정되며, 이에 대한 연구는 추후 진행이 되어야 할 것으로 판단되었다.

감마선 조사시료 추출물의 thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) 저해능

지질의 산화 억제효과를 측정하는 지표로 산화과정 중 과산화물로부터 분해되어 생성되는 저분자 화합물인 malondialdehyde의 생성(Buege and Aust, 1978)에 총목피 물 및 ethanol 추출물이 미치는 영향을 확인하고자 하였다. 0~10 kGy의 선량으로 조

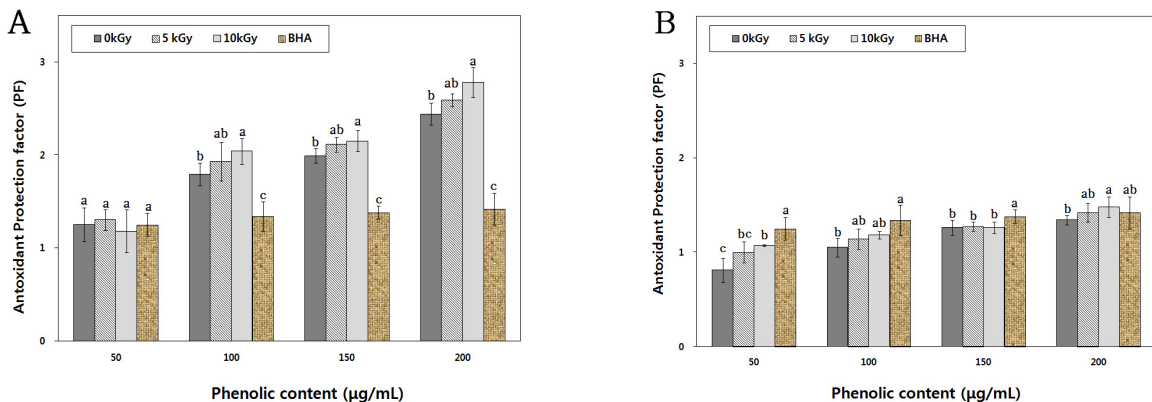


Fig. 6. Antioxidant protection factor (PF) activities of extracts from irradiated *Aralia elata* Cortex. Phenolic content were 50~200 µg/ml. Irradiation dose were 0~10 kGy. A: water extracts, B: ethanol extracts. The data were expressed as the mean ± SD (n = 3), Means with different superscript letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

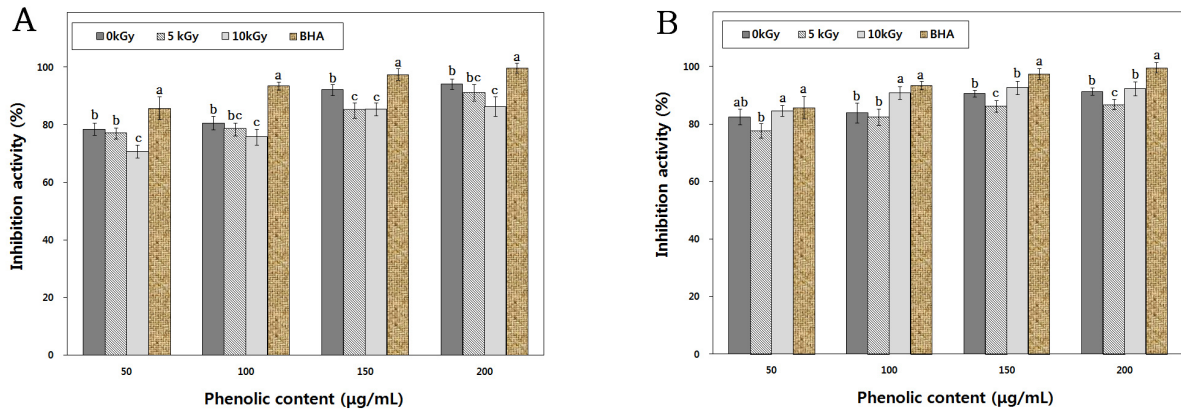


Fig. 7. Inhibition rates thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) of extracts from irradiated *Aralia elata* Cortex. Phenolic content were 50~200 µg/ml. Irradiation dose were 0~10 kGy. A: water extracts, B: ethanol extracts. The data were expressed as the mean ± SD (n = 3), Means with different superscript letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

사된 총목피의 TBARs 값은 Fig. 7A에서와 같이 물 추출물의 경우 total phenolic 함량 기준 200 µg/ml 처리 시 86.3~94.1%의 값을 나타내었으며, 감마선의 조사에 의한 TBARs 저해능의 상승은 관찰되지 않았다. 또한 Fig. 7B에서와 같이 ethanol 추출물 200 µg/ml 처리 시에도 86.8~92.3%의 높은 항산화력을 나타내었고, 10 kGy의 감마선 조사 시료의 경우 150 µg/ml 이하의 처리에서 감마선에 의해 TBARs 저해능의 상승이 약하게 관찰되었다. Chae *et al.* (2012)의 정금나무열매 추출물이 농도의존적으로 높은 항산화효과를 나타낸다는 보고와 본 실험결과를 비교해 본 결과 total phenolic 함량의 농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 높아지는 농도의존형 상관관계를 보이는 것을 확인할 수 있었다.

따라서 상기의 연구결과, 감마선조사는 식물체를 원료로 추출물의 제조 시 생리활성 물질의 추출수율을 증가시키는 작용을 하며, 10 kGy 정도의 조사선량이 추출물의 항산화능을 다소 높여주는 역할을 수행하는 것으로 확인되었다.

적 요

본 연구에서는 감마선 조사가 총목피 추출물의 생리활성에 미치는 영향을 검토하였다. 감마선 조사한 총목피의 감마선 조사여부를 확인하기 위하여 전자스핀공명(ESR) 분석을 시행한 결과 대칭적인 unspecific central ESR 신호 좌우로 cellulose를 함유한 조사 식품에서 나타나는 한 쌍의 peak가 6.0 mT의 공간을 두고 나타나 감마선을 조사한 시료로 판별되었다. 감마선 조사된 총목피의 최적 추출조건은 10 kGy를 조사한 시료를

50% ethanol을 사용하여 15시간 추출이었다. 감마선을 조사한 총목피의 항산화 효과를 확인한 결과 DPPH radical 소거효과와 ABTS radical 저해는 총목피의 물 추출물과 50% ethanol 추출물의 경우, 비조사구와 조사구를 저 농도인 50 µg/ml 처리하였을 때 각각 80%와 98% 이상의 매우 높은 저해 효과를 나타내었다. 지용성 물질의 항산화 활성의 지표인 antioxidant Protection Factor (PF)는 2.18~2.78 PF로 매우 높은 PF값을 나타내었다. TBARs의 경우 물과 ethanol 추출물 모두 높은 TBARs값을 나타내었다. 물 추출물은 감마선의 조사에 의한 TBARs 저해능의 상승은 관찰되지 않았으나, ethanol 추출물은 10 kGy의 감마선 조사에 의해 TBARs 저해능의 상승이 약하게 관찰되었다. 이상의 결과 총목피는 감마선의 조사에 의해서 총목피의 phenolic 성분들의 용출율과 항산화 효과가 증대되는 현상을 확인하였다. 또한 감마선 조사가 식물체로부터 생리활성물질의 용출 증대와 항산화 활성을 증폭시킬 수 있는 수단으로 활용이 가능할 것이라 판단되었다.

References

Andarwulan, N. and K. Shetty. 1999. Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrobacterium-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 47:1776-1780.

Beaulieu, M., M.B. Daprano and M. Lacroix. 1999. Dose rate effect of gamma irradiation on phenolic compounds, polyphenol oxidase, and browning of mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 47:2537-2543.

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Boo, H.O., S.J. Hwang, C.S. Bae, S.H. Park and W.S. Song. 2011. Antioxidant activity according to each kind of natural plant pigment. *Korean J. Plant Res.* 24:105-112 (in Korean).
- Branen, A.L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52:59-63.
- Buege, J.A. and S.D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol.* 52:302-310.
- Byun, M.W. 1994. Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisotope News* 9:32-37.
- Chae, J.W. and Y.J. Cho. 2012. Antioxidative activity of extracts from *Sambucus williamsii var coreana*. *Korean J. Plant Res.* 25:1-9 (in Korean).
- Chae, J.W., B.S. Jo, S.H. Joo, D.H. Ahn, S.S. Chun and Y.J. Cho. 2012. Biological and antimicrobial activity of vaccinium oldhami fruit. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41:1-6 (in Korean).
- Cho, Y.J., I.S. Ju, O.J. Kwon, S.S. Chun, B.J. An and J.H. Kim. 2008. Biological and antimicrobial activity of *Portulaca oleracea*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 51:49-54 (in Korean).
- Cho, Y.J., I.S. Ju, S.S. Chun, B.J. An, J.H. Kim, M.W. Kim and O.J. Kwon. 2008. Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. Flowers. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37:276-281 (in Korean).
- Choe, M., D.J. Kim, H.J. Lee, J.K. You, D.J. Seo, J.H. Lee and M.J. Chung. 2008. A study on the glucose-regulating enzymes and antioxidant activities of water extracts from medicinal herbs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37:572-547 (in Korean).
- Choe, S.Y. and K.H. Yang. 1982. Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). *Korean J. Food Sci. Technol.* 14:283-288 (in Korean).
- European Committee for Standard. 2002. Detection of irradiated food containing cellulose, method by ESR spectroscopy. English version of DIN EN1787.
- Folin, O. and W. Denis. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color Reagents. *J. Biol. Chem.* 12:239-9249.
- Huang, M.T., C.T. HO and C. Lee. 1992. Phenolic compounds in food and their effects on health (II), antioxidants and cancer prevention. ACS symp series 507. American Chemical Society. Washington. DC. USA. pp. 54-71.
- Jo, C., J.H. Son, H.J. Lee and M.W. Byun. 2003. Irradiation application for color removal and purification of green leaves extracts. *Radiat. Phys. Chem.* 66:179-184.
- Jo, D.J. and J.H. Kwon. 2002. Characteristics of thermoluminescence and electron spin resonance and organoleptic quality of irradiated raisin and dried banana during storage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31:609-614 (in Korean).
- Ju, J.C., J.H. Shin, S.J. Lee, H.S. Cho and N.J. Sung. 2006. Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35:7-14 (in Korean).
- Jung, E.H., I.K. Hwang and T.Y. Ha. 2010. Properties and antioxidative activities of phenolic acid concentrates of rice bran. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42:593-597 (in Korean).
- Kang, M.A., M.B. Kim, J.H. Kim, Y.H. Ko and S.B. Lim. 2010. Integral antioxidative capacity and antimicrobial activity of pressurized liquid extracts from 40 selected plant species. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39:1249-1256 (in Korean).
- KFDA. 2011. Korean Food Standard Code. Korea Food and Drug Administration. Seoul, Korea. p. 10-8-46 (in Korean).
- KFDA. 2011. Korean Food Standard Code. Korea Food and Drug Administration. Seoul, Korea. p. 2-1-9~2-1-10 (in Korean).
- Kim, I.S. 2006. Anti-oxidative activity and influence on cell-proliferations of the *Aralia elata* Cortex. Ph.D Thesis, Kangwon University, Korea (in Korean).
- Kim, Y.K., S.Y. Nam, Y.B. Chung and C.C. Lee. 1994. Studies on the effects of *Aralia elata* on antitumor and immunity activities. *Kyung Sung University Bulletin* 15:251-262 (in Korean).
- Kwon, B.J., U.H. Jung, H.R. Park, D.H. Shin and S.K. Jo. 2007. Effects of gamma irradiation on color changes and antioxidative activities of *Caesalpinia sappan* L. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36:1055-1061 (in Korean).
- Lee, E.Y., J.Y. Jeong, J.E. Noh, D.J. Jo and J.H. Kwon. 2002. Detection characteristics of TL, ESR and DNA comet for irradiated soybeans. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34:18-23 (in Korean).
- Lee, H. 2011. Effects of *Lxeris dentata* ext. on lowering lipid and antioxidation. *Korean J. Plant Res.* 24:55-60 (in Korean).
- Lee, J.W., K.H. Cho, S.Y. Lee and M.W. Byun. 2001. The changes of allergenic and antigenic properties of egg white albumin (*Gal d 1*) by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30:500-504 (in Korean).
- Lee, N.Y., C. Jo and M.W. Byun. 2005. Application of irradiation technology for development of functional natural materials. *Food industry and Nutrition* 10:26-31 (in Korean).

- Lee, S.J., J.H. Shin, J.R. Kang, C.R. Hwang and N.J. Sung. 2012. *In vitro* evaluation of biological activities of Wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) and Korean traditional plants mixture. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41:295-301 (in Korean).
- Li, H.C., S. Yashiki, J. Sonoda, H. Lou, S.K. Ghosh, J.J. Byrnes, C. Lema, T. Fujiyoshi, M. Karasuyama and S. Sonoda. 2000. Green tea polyphenols induce apoptosis *in vitro* in peripheral blood T lymphocytes of adult T-cell leukemia patients. Japan J. Cancer Res. 91:34-40.
- Noh, J.E. and J.H. Kwon. 2003. Multistep identification of γ -irradiated boiled-dried anchovies by analysis of thermoluminescence, electron spin resonance, hydrocarbon and 2-alkylcyclobutanone. J. Korean Soc. Food Sic. Nutr. 32:8-14 (in Korean).
- Origin. 1999. Origin tutorial. Ver. 6.0. Microcal Software. Inc. Northampton, MA. 20-45.
- Park, T.S. 2006. Effect of irradiated green tea poly polyphenol addition into cosmetic composition and development of a cosmetics without antiseptics. MS Thesis, Daegu Hanny University, Korea (in Korean).
- Pellegrini, N., R. Re, M. Yang and C.A. Rice-Evans. 1999. Screening of dietary carotenoid and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying the 2,2'-azinobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. Methods Enzymol. 299:379-389.
- Pokomy, J. 1991. Natural antioxidants for food use. Trends in Food Science & Technology 2:223-227.
- Shim, J.S., S.D. Kim, T.S. Kim and K. Kim. Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *angelica keiskei*. Korean J. Food Sci. Technol. 37:78-83 (in Korean).
- Stachowics. W., G. Strzelozak-Burlinska and J. Michalik. 1992. Application of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy for control of irradiated food. J. Sci. Food Agric. 58:407-415.
- Thayer, D.W. 1990. Food irradiation: benefits and concerns. J. Food Quality 13:147-169.
- Xu, M.L., L. Wang and M.H. Wang. 2011. The antioxidant and anticancer effects of MeOH extract of *Liriodendron tulipifera*. Korean J. Plant Res. 24:23-29 (in Korean).
- Yang, H.K., J.Y. Jin, J.M. Kim, M.S. Ko, H.J. Hong, S.C. Kim and J.Y. Lee. 2006. Single oral dose toxicity study of the extract of *Aralia elata* in mice. J. Toxicol. Pub. Health 22:439-443.
- Yang, Y.J., H.J. Kim, S.H. Kang and S.C. Kang. 2011. Screening of natural herb resources for antioxidative effects in Korea. Korean J. Plant Res. 24:1-9 (in Korean).
- Yoshikawa, M., H. Matsuda, E. Harada, T. Murakami, N. Wariishi, J. Yamahara and N. Murakami. 1994. Elatoside E, a new hypoglycemic principle from the root cortex of *Aralia elata* Seem.: structure-related hypoglycemic activity of oleanolic acid glycosides. Chem. Pharm. Bull. 42:1354-1356.

(Received 30 April 2014 ; Revised 4 August 2014 ; Accepted 18 August 2014)