

아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌분획의 항산화 활성 효과

임정대¹ · 차환수² · 정명근¹ · 최리나¹ · 최덕주 · 윤예리[†]

¹강원대학교 생약자원개발학과, ²한국식품연구원, 인천재능대학교 한식명품조리과

Antioxidant Activities of Acidic Ethanol Extract and the Anthocyanin Rich Fraction from *Aronia melanocarpa*

Jung-Dae Lim¹ · Hwan-soo Cha² · Myoung-gun Choung¹ · Ri-na Choi¹ · Duck-joo Choi · Aye-Ree Youn[†]

¹Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-905, Korea

²Korea Food Research Institute, SungNam 463-746, Korea

Department of Korean Master Work and Culinary Arts, JEI College, Incheon 401-714, Korea

Abstract

The objective of this study was to investigate the antioxidant activities and anthocyanin profiles in the anthocyanin rich fraction (ARFAM) of *Aronia melanocarpa*, which are considered functional substances and are available as food coloring agents in Korea. Anthocyanins were identified by reversed-phase C18 column chromatography and HPLC-DAD-ESI/MS analysis. The antioxidative activity of the acidic ethanol extract (AME) and the anthocyanin-rich fraction (ARFAM) was determined by scavenging of the diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical, the hydroxy radical, and the superoxide anion in addition to reducing power using a commercial antioxidant as a reference.

Key words: *Aronia melanocarpa*, anthocyanins, antioxidative activity

I. 서론

베리류와 적색의 과일은 건강상의 장점을 가지고 있다고 알려진 페놀성 항산화 물질의 주요한 소재이다. 블랙 초크베리(black chokeberry)라고 불리는 아로니아(*Aronia melanocarpa*)는 식품산업에 천연색소의 원료로 광범위하게 사용되고 있으며 열매가 위 점막 손상(Valcheva-Kuzmanova S 등 2005)과 대장암(Lala G 등 2006)을 포함한 다양한 질환에 대한 보호효과를 가지고 있다. 아로니아 베리의 추출물은 혈소판의 부착을 저해하고 응집을 감소시키며 산소래디칼의 발생과 염증마커의 생산을 감소시키는 효과가 있음이 알려져 있다(Han GL 등 2005, Olas B 등 2008). 현재 사용되는 베리류에서 가장 높은 항산화 활성을 나타내는 것이 아로니아 베리이며 blueberry나 cranberry 보다 더 높은 항산화 활성을 나타내는 것은 높은 함량의 페놀성 화합물과 연관이 있다(Zheng W와 Wang S 2003). 아로니아 베리에 chlorogenic 및 neochlorogenic acid, 5개

의 quercetin 유도체, 축합형 탄닌 성분이 높은 수준으로 포함되어져 있다(Gu LW 등 2004, Oszmianski J와 Wojdylo A 2005). 또한 아로니아에 가장 풍부한 폴리페놀성 항산화 화합물 중 하나가 안토시아닌이며 아로니아 베리는 cyanidin-3-galactoside와 cyanidin-3-arabinoside, cyanidin-3-xyloside, cyanidin-3-glucoside 등 4가지 종류의 안토시아닌으로 구성되어있다(Slimestad R 등 2005).

하지만 아로니아의 성분 및 생리활성에 관한 연구는 대부분 열매 에탄올 및 열수 추출물 자체, 또는 특정 가공공정에서 나오는 제품을 대상으로 하고 있기 때문에 아로니아의 안토시아닌 분획이 가지는 고유한 생리활성 평가는 진행되고 있지 못한 실정이다. 또한 다양한 과실이나 꽃에 포함된 각각의 안토시아닌의 비교에 있어 구성된 안토시아닌(anthocyanidin)의 종류, 하이드록시기(hydroxy group)의 개수, 부착된 당의 종류와 개수, 아실화(acylation)의 유무에 기인하여 서로 다른 화학적 구조를 가지게 되고 이러한 화학적 구조에 의해 서로 다른 생물학적 활성, 생체이용률 등이 달라질 수 있다는 점(Wu X 등 2004)을 고려하여 볼 경우 서로 다른 과실이나 꽃에 포함된 안토시아닌의 종류 및 안토시아닌에 의한 생리활성 검정을 별도로 수행할 필요가 있다고 판단되어진다.

[†]Corresponding author: Aye-Ree Youn, Jaenung College, Songnim 4-dong, Dong-gu, Incheon, Korea
Tel: +82-32-890-7463
Fax: +82-32-890-7469
E-mail: miniyoun@jeiu.ac.kr

따라서 본 연구에서는 아로니아 베리로부터 추출물과 추출물에 포함되어진 안토시아닌 분획을 획득하고 아로니아 추출물과 아로니아 안토시아닌 분획의 항산화 효능을 검토함으로써 아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획을 이용한 식품 소재개발 및 활용성 증진을 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

실험에 사용한 아로니아(블랙초크베리, 2013년산)는 전북 고창에서 재배, 수확된 것을 구입하여 분석에 사용하였다. 생시료를 동결건조하여 분쇄한 다음 100 mash size로 분말화 하여 -20°C 보관하여 사용하였다. 안토시아닌 추출물은 10 g에 0.1% hydrochloric acid를 함유한 증류수를 첨가하여 암조건 하에서 24시간 추출하였으며, 아로니아 안토시아닌 분획물은 안토시아닌 추출물에서 C18 Sep-Pak SPE 카트리지(Water Co., Milford, MA, USA)를 이용하여 흡착 시킨 후 증류수와 10% 메탄올로 세척하고 다시 메탄올로 용출 분획하여 사용하였다.

실험에 사용한 시약 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), α -tocopherol, butylated hydroxyanisole (BHA), (+)-catechin, quercetin, vanillic acid, ascorbic acid는 Sigma사(Sigma Chemical. Co., St. Louis. MO, USA)의 특급시약을 사용하였다.

2. DPPH radical 소거 활성 검정

시험관에 아로니아 추출물(AME) 및 아로니아 안토시아닌 분획물(ARFAM)을 농도별(25, 50, 100, 200 μ g/mL)로 첨가한 다음 100 mM tris-HCl buffer (pH 7.4) 400 μ L과 0.5 mM의 DPPH 1,600 μ L를 첨가한 후 20분간 암실에서 반응시킨 뒤 UV-1200 UV/VIS spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan) 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois MS 1958). 이때 기질과 DPPH가 없는 initial (Ai), 과 blank (Ab)를 측정하며, 시료 첨가 후 흡광도(As)를 측정하고, RC50 (μ g/mL)은 화합물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50.0% 감소시키는 화합물의 농도를 나타내며, 기존의 항산화제인 α -tocopherol, BHA 등의 합성 항산화물과 (+)-catechin, quercetin, vanillic acid와 상호 비교하였다.

3. Hydroxy radical 활성 검정

아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획의 hydroxy radical 소거 활성검정은 Fenton 반응에 의한 2-deoxyribose가 hydroxy radical에 의해 산화되어 malonaldehyde로 변환된 후 chromagen을 형성하는 정도를 측정하는 방법을 이용하였다(Unno T 등 1997). 아로니아 추출물 및 아로

니아 안토시아닌 분획 농도별 시료(5.952, 11.905, 23.810, 47.619 μ g/mL) 0.075 mL을 eppendorf tube에 취했다. 1 mL의 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.4), 0.2 mL의 10 mM 2-deoxyribose, 0.2 mL의 10 mM FeSO₄·EDTA, 0.2 mL의 10 mM H₂O₂ 각각 가하여 37°C에서 암 상태로 4시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 1 mL의 2.8% (w/v) trichloroacetic acid를 가하여 반응을 중지시킨 후에 다시 1 mL의 1.0% (w/v) thiobarbituric acid TBA (Sigma-Aldrich)를 첨가한 후 이 반응액을 끓는 물에 10분 동안 처리한 후 급속 냉각시키고, UV-1200 UV/VIS spectrometer를 이용하여 532 nm에서 흡광도로 측정하여 검정하였다. Hydroxyl radical 소거활성 검정은 아로니아 안토시아닌 분획물의 첨가 농도에 따라 hydroxyl radical에 의해 2-deoxyribose가 산화되는 것을 저해하는 비율로 계산하며, 기존의 합성 항산화제인 (+)-catechin, quercetin을 대조군으로 상호 비교하였다.

4. Superoxide radical 소거활성 검정

아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획의 superoxide radicals 소거활성은 NBT (nitro-blue tetrazolium)환원법을 사용하여 검정하였다(Parejo I 등 2002). 즉, 3 mM xanthine 80 μ L, 0.05 mM sodium carbonate buffer (pH 10.5) 1.92 μ L, 3 mM ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA) 80 μ L과 0.75 mM NBT 80 μ L로 구성된 혼합액에 아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획물을 4.908, 9.816, 14.724, 19.623 μ g/mL의 농도로 각각 처리하였으며, 대조군으로 사용된 항산화제인 ascorbic acid, quercetin, (+)-catechin은 0.613, 1.227, 2.454, 4.098 μ g/mL의 농도로 각각 처리하였다. 이 혼합물을 25°C에서 10분간 incubation 하며, 다시 1.0 mL의 XOD (6 mU/mL)를 첨가하여 반응을 시작한 후 25°C에서 20분간 반응하였다. 그 후 0.02 mL의 6 mM CuCl₂를 첨가하여 반응을 종결시킨 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 농도별 시료 첨가 양에 따른 NBT환원에 대한 저해능을 50% 감소시키는 화합물의 농도(IC50, 50% inhibition concentration)로 나타내며, 합성 항산화제인 ascorbic acid와 (+)-catechin, quercetin 대조군으로 상호 비교하였다.

5. 환원력 검정

아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획의 환원력은 Oyaizu의 방법에 따라 측정하였다(Oyaizu M 1986). 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 1 mL, 시료 1 mL 및 1% potassium ferricyanide 1 mL을 가하고, 이 혼합물을 50°C에서 20분간 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 1 mL을 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 1000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상정액 2 mL과 메탄올 2

mL을 넣고 0.1% iron chloride 용액 0.1 mL을 넣은 후 UV/VIS spectrophotometer를 이용 흡광도를 700 nm에서 측정하였다. 반응액은 Fe^{3+} 과 Fe^{2+} 간의 transformation에 의하여 청록색을 나타내며 흡광도 값이 클수록 높은 환원력을 나타낸다. 대조구로는 합성 항산화제인 ascorbic acid, α -tocopherol, (+)-catechin, quercetin를 사용하였다.

5. 통계처리

실험은 3회 반복 실시하였으며, 유의성 검증을 위하여 statistical analysis system 6.0 for windows program (SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 ANOVA analysis와 duncan's multiple range test 방법으로 5% 수준에서 유의성을 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. DPPH radical 소거 활성

아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획물의 DPPH free radical 소거 활성을 일반적으로 식물체에 많이 존재하는 polyphenol 화합물인 (+)-catechin, quercetin, vanillic acid와 비교하였다. 전자공여능은 지질과산화 반응을 연쇄적으로 일으키는 반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 제공하여 산화의 진행과정을 정지시킨다. 산화성 free radical은 생체 내에 존재하는 단백질과 세포막의 지질 등을 산화시켜 막에 쌓인다거나 DNA 등에 손상을 일으켜 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다(Ames BN 등 1995). DPPH는 항산화 물질로부터 전자 혹은 수소를 받으면 비라디칼로 전환되면서 흡광도가 변화됨에 따라 짙은 자주색이 탈색되는 정도를 지표로 하여 항산화 능력을 측정하는 방법이다. 하지만 이 방법은 DPPH가 pH, 빛 그리고 온도에 민감하게 영향을 받는 것이 단점으로 알려져 있다(Yoo KM 등 2007).

아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획물의 DPPH radical 소거활성은 합성 항산화제나 polyphenol성 화합물 대조군과 비교하여 낮은 활성을 보였고 IC50 ($\mu\text{g/mL}$) 값이 각각 148.04 및 74.08 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타나 아로니아 추출물 보다 아로니아 안토시아닌 분획에서 더 높은 DPPH radical 소거 활성을 Table 1에 나타내었다. 이와 비교하여

대조군으로 사용된 합성 항산화제인 BHT가 13.59 $\mu\text{g/mL}$, α -tocopherol이 16.50 $\mu\text{g/mL}$ 의 결과 값을 나타내었고 (+)-catechin은 11.79 $\mu\text{g/mL}$, quercetin은 12.92 $\mu\text{g/mL}$ 을 나타내었는데 (+)-catechin, quercetin의 라디칼 소거활성이 높은 것은 동일한 o-catechol 그룹을 가지고 있는 단량체 형태의 polyphenol의 특성을 가지고 있기 때문으로 사료되며 아로니아 안토시아닌 분획의 경우 이러한 o-catechol 그룹을 가지고 있는 단량체 형태의 polyphenol과 유사한 정도의 활성을 가지기 위해서는 아로니아 안토시아닌 분획물의 74.08 $\mu\text{g/mL}$ 보다 높은 75 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 농도가 적용 되어야 할 것으로 판단된다. 반면 vanillic acid의 경우 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 경우에서도 IC50값을 나타내지 못하였고 이러한 경향은 농도가 증가하여도 매우 낮게 유지되었는데 이는 vanillic acid가 가지는 o-methoxyphenol 구조에 기인하여 분자안정화에 있어 전자편중(electron concentration)이 결여되어 있기 때문으로 생각되어진다.

비록 아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획물의 DPPH radical 소거활성이 합성 항산화제나 polyphenol성 화합물 대조군보다 낮은 활성을 나타내었으나 블루베리, 크렌베리, 적포도주에서 DPPH radical 소거활성을 검정한 결과 IC50값이 280~340 $\mu\text{g/mL}$ 의 수준에서 관찰되어 진다고 보고하였다(Oszmianski J와 Wojdyla A 2005). 이와 비교하여 보면 아로니아 추출물은 다른 베리류 보다 약 2배, 아로니아 안토시아닌 분획물의 경우 다른 베리류 보다 약 4배 이상의 높은 항산화 활성을 가지고 있음을 알 수 있다. Lidija J 등(2007)의 보고에 의하면 아로니아 추출물이 black currant red raspberry, blackberry, sour cherry, sweat cherry, straw berry의 추출물보다 더 많은 총 안토시아닌 함량 및 총페놀 함량을 가지며 이에 따라 trolox equivalent에 의한 측정에 의해 가장 높은 항산화 활성을 가진다고 한다. 뿐만 아니라 Bermudez-Soto MJ와 Tomas barberan FA (2004)는 아로니아 열매가 가지는 항산화 활성에 아로니아에 포함되어져 있는 안토시아닌이 약 33%의 공헌도를 가진다는 보고를 통하여, 아로니아 안토시아닌 분획물의 경우 단순 추출물 보다 안토시아닌이 가지는 특이성에 의하여 전자공여능이 높고 radical을 소거하는 활성이 높다는 것을 알 수 있다.

Table 1. DPPH radical scavenging activities of water extract and anthocyanin rich fraction in fruit of *Aronia melanocarpa*

Samples	α -tocopherol	BHT	AME ¹⁾	ARFAM ²⁾	(+)-catechin	Quercetin	Vanillic acid
IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	16.5±0.2 ³⁾ c	13.6±0.2 ^b	148.0±1.5 ^e	74.1±0.3 ^d	11.8±0.7 ^a	12.9±0.5 ^a	>200 ^f

¹⁾Extract of water containing hydrochloric acid (0.1%)

²⁾Anthocyanin rich fraction of *Aronia melanocarpa* fruits

³⁾Mean values±SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (a-f) within a row are significantly different at $p<0.05$.

2. Hydroxy radical 활성 검정

Hydroxy radical($\cdot\text{OH}$)은 활성산소 중 반응성이 매우 강하여 생체 산화에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Chung YC 등 1997). 특히 hydroxy radical은 DNA의 purine과 pyrimidine염기를 무차별적으로 공격하여 다양하게 변형시킬 뿐만 아니라 deoxyribose부분을 공격하여 DNA사슬의 절단(scission)을 일으킨다. 암, 동맥경화증, 자가면역질환, 관절염, 폐질환, 당뇨병, 심근경색증, 뇌 및 신경질환 등의 발생과 진행경과에 free radical이 관여하고 있다는 증거들이 많이 보고되고 있다(Rice-Evans CA 등 1996).

Fig. 1에서 보는 바와 같이 quercetin의 경우 23.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리 시 16.31%의 hydroxy radical 소거활성을 나타내었으며 농도가 증가할수록 소거활성이 높아져 47.62 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리 시 27.11%의 소거활성을 나타내었다. 또한 (+)-catechin의 경우 23.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리 시 저해활성을 나타내지 않다가 47.619 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리 시 16.24%의 소거활성을 나타내었다. 아로니아 추출물, 아로니아 안토시아닌 분획물의 경우 97.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리 시 각각 13.00, 6.46%의 소거활성을 나타내었다. Hydroxy radical 저해활성을 hydroxy radical을 50% 수준으로 저해하는데 요구되어지는 농도(IC50)로 비교하였을 때 quercetin과 catechin 각각 79.24, 143.41 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고 아로니아 추출물은 469.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 아로니아 안토시아닌 분획물은 367.77 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도를 나타내었다 (Table 2). Quercetin의 경우 hydroxy radical에 대한 소거활성이 매우 높아 효과적인 hydroxy radical을 소거제로 활용될 수 있는데 이러한 이유는 quercetin은 전자편중에 대한 높은 안정성을 가지므로 hydroxy radical에 쉽게 수소원자를 공여할 수 있기 때문으로 사료되어진다. 반면 (+)-catechin이나 아로니아 안토시아닌 분획물의 경우 quercetin보다 다소 낮은 활성을 나타내었는데 이러한 것은 (+)-catechin이나 아로니아 안토시아닌 분획물의 경우 hydrogen peroxide를 소거하는 기능 뿐만 아니라 hydrogen peroxide 작용을 억제하여 hydroxy radical의 발생을 방지하는 기전으로 작용하는 것으로 생각되어진다. 실제 Fenton 반응에서 2-deoxyribose, $\text{FeSO}_4 \cdot \text{EDTA}$, hydrogen peroxide (H_2O_2)만 첨가된 것에 비하여 2-deoxyribose, $\text{FeSO}_4 \cdot \text{EDTA}$, hydrogen peroxide (H_2O_2)의 혼합물에 (+)-catechin이나 아

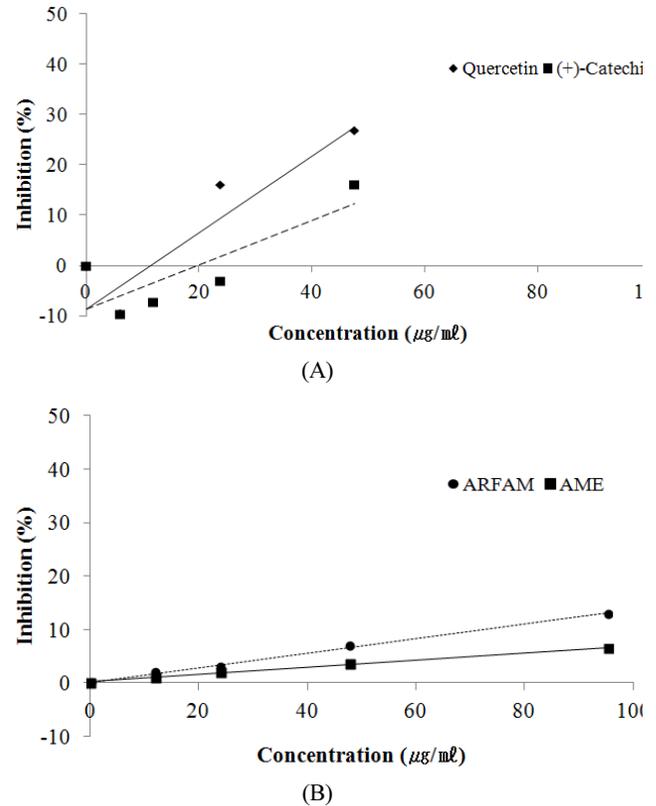


Fig. 1. Inhibition rate of hydroxyl radical by different concentration. (A) Quercetin and Catechin, (B) extract of water containing of hydrochloric acid and anthocyanin rich fraction of *Aronia melanocarpa* Miquel fruits ARFAM).

로니아 안토시아닌 분획물이 처리된 경우 파장 532 nm에서 흡광도가 다소 증가하였고 이러한 이유는 아로니아 안토시아닌 분획물에 존재하는 안토시아닌 성분이나 (+)-catechin 성분이 2-deoxyribose 등과 Conjugated 축합을 형성하였기 때문이라고 생각되며 이를 통해 hydroxy radical에 의한 손상을 억제하였기 때문으로 생각된다. 이러한 결과는 Ku M 등(2008)이 보고한 바와 같이 (+)-catechin과 같은 항산화제가 guaiacol-HRP(horse radish peroxidase)- H_2O_2 system을 이용하여 hydrogen peroxide의 소거활성 검정하는데 있어 hydrogen peroxide 소거 활성이 다소 낮으며 HRP에 의해 산화된 guaiacol이 (+)-catechin과 같은 phenol성 항산

Table 2. Hydroxy radical scavenging activities of water extract and anthocyanin rich fraction in fruit of *Aronia melanocarpa* Miquel

Sample	AME ¹⁾	ARFAM ²⁾	(+)-catechin	Quercetin
Hydroxy radical scavenging activity (IC ₅₀ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ³⁾	469.1±21.7 ^d	367.8±34.4 ^c	143.4±66.4 ^b	79.2±18.7 ^a

¹⁾Extract of water containing hydrochloric acid (0.1%)

²⁾Anthocyanin rich fraction of *Aronia melanocarpa* fruits

³⁾Mean values±SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (a-d) within a row are significantly different at $p<0.05$.

화제와 축합반응을 한 결과와 유사한 결과를 보였다.

3. Superoxide anion radical 소거활성

정상적인 산화적 인산화의 과정 동안 소모되는 전체 산소의 0.4~4.0% 정도는 free radical, superoxide(O₂·-)로 전환되며 생성된 superoxide는 다른 Reactive oxygen species (ROS)로 전환되어 직접적 또는 간접적으로 세포손상을 유발하는 것으로 알려져 있다. 정상적으로는 superoxide는 내인성 항산화 방어기전에서 superoxide dismutase (SOD)에 의해 빠르게 과산화수소(H₂O₂)로 전환된다. 그러나 이 내인성 항산화 방어체계가 세포내 산화 환원 균형을 유지하는데 문제가 생길 경우 결과적으로 산화적 스트레스가 일어나게 되며 이 산화적 스트레스는 직접적으로 세포 내 거대분자의 손상을 일으키거나 세포손상을 일으키는데 중요한 역할을 한다 (Korycka-Dahl M 등 1979).

아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획의 superoxide anion radical 소거활성을 측정하여 합성 항산화제와 polyphenol 화합물과 비교한 결과(Table 3), 아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획물의 superoxide anion radical 소거활성은 ascorbic acid나 quercetin, (+)-catechin보다는 낮은 소거활성을 나타내었다. 하지만 Kim YC와 Chung SK (2002)가 보고한 바와 같이 한국 약용식물의 총 폴리페놀 함량과 superoxide 소거활성과 상관관계를 분석시 상관계수가 0.8111로 높은 것으로 나타났다. 이 결과와 비교했을 때 아로니아 안토시아닌 분획의 경우 안토시아닌과 같은 폴리페놀성 화합물이 superoxide anion radical 소거활성을 나타내는 것으로 판단되어진다. 그리고 아로니아 추출물의 경우 비록 안토시아닌의 함량 수준이 안토시아닌 분획보다 낮게 나타났지만, 추출물에 포함되어진 다른 폴리페놀성 화합물의 기여에 의하여 안토시아닌 분획과 유사한 수준의 superoxide anion radical 소거활성을 나타내는 것으로 판단되어진다.

4. 환원력 검정

기존의 항산화제인 ascorbic acid, quercetin, (+)-catechin, α-tocopherol 중에서는 ascorbic acid가 가장 높은 환원력을 나타내었으며 quercetin, (+)-catechin 그리고 α-tocopherol

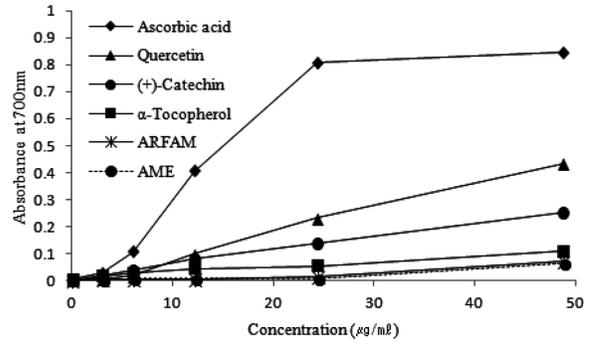


Fig. 2. Reducing power of several antioxidants and anthocyanin rich fraction of *Aronia melanocarpa* Miquel fruits (ARFAM).

의 순으로 높은 환원력을 나타내었다. 이와 비교하였을 때 아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획은 기존 항산화제 중 가장 약한 환원력을 나타낸 α-tocopherol 보다는 더 낮은 활성을 나타내었으나 처리 농도를 높여 분석하였을 때 환원력이 증가하는 경향을 나타내었고, 아로니아 추출물 및 아로니아 안토시아닌 분획이 50 µg/mL 이상에서 유의할 만한 농도 의존적 환원력을 나타내어 항산화 능력을 가지고 있음이 기대된다.

IV. 결론

아로니아 베리로부터 추출물과 추출물에 포함되어진 안토시아닌 분획을 획득하고 아로니아 추출물과 아로니아 안토시아닌 분획의 항산화 효능(DPPH radical 소거활성, hydroxy radical 활성, superoxide radical 소거활성 및 환원력)을 알아보았다. DPPH radical 소거활성은 합성 항산화제나 polyphenol성 화합물 대조군과 비교하여 낮은 활성을 보였다. IC50은 아로니아 추출물(148.04 µg/mL) 보다 아로니아 안토시아닌 분획(74.08 µg/mL)에서 더 높은 DPPH radical 소거 활성을 나타내었다. Hydroxy radical 활성은 농도가 증가할수록 소거활성이 높아지는 것으로 나타났으며, 아로니아 추출물, 아로니아 안토시아닌 분획물의 경우 97.23 µg/mL 처리 시 각각 13.00, 6.46%의 hydroxy radical 소거활성을 나타내었다. 또한 hydroxy radical을 50% 수준으로 저해하는데 요구되어지는 농도(IC50)로 비

Table 3. Superoxide anion radical scavenging activities of water extract and anthocyanin rich fraction in fruit of *Aronia melanocarpa* Miquel

Sample	Ascorbic acid	AME ¹⁾	ARFAM ²⁾	(+)-catechin	Quercetin
Superoxide anion radical scavenging activity (IC ₅₀ µg/mL ³⁾)	1.14±0.18 ^a	16.04±2.68 ^d	14.72±1.29 ^d	3.24±0.25 ^e	2.36±0.25 ^b

¹⁾Extract of water containing hydrochloric acid (0.1%)

²⁾Anthocyanin rich fraction of *Aronia melanocarpa* fruits

³⁾Mean values±SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference letter (a-f) within a row are significantly different at p<0.05.

교 시 quercetin과 catechin 각각 79.24, 143.41 $\mu\text{g/mL}$, 아로니아 추출물과 분획물은 각각 469.10 $\mu\text{g/mL}$, 367.77 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도를 나타내었다. 아로니아 안토시아닌 분획은 안토시아닌과 같은 폴리페놀성 화합물이 superoxide anion radical 소거활성을 나타내며, 아로니아 추출물은 안토시아닌 분획과 유사한 수준의 superoxide anion radical 소거활성을 나타냈다. 환원력 검정에서는 가장 약한 환원력을 보인 α -tocopherol 보다는 낮은 활성을 보였지만 처리 농도를 높였을 때 환원력이 증가하는 경향을 나타내었고, 아로니아 추출물 및 분획물이 50 $\mu\text{g/mL}$ 이상에서 유의할 만한 농도 의존적 환원력을 나타내어 항산화 능력을 가지고 있음이 기대되었다.

References

- Ames BN, Gold LS, Willett WC. 1995. The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci* 92(12):5258-5265
- Bermudez-Soto MJ, Tomas barberan FA. 2004. Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *European Food Res Technol* 219(2):133-141
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181(4617):1199-1200
- Chung YC, Huang C, Tseng CP. 1997. Removal of hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus* sp. strain CH11 in a biofilter. *J Chem Tech Bio* 69(1):58-62
- Gu LW, Kelm MA, Hammerstone JF, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S, Prior RL. 2004. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J Nutr* 134(2):613-617
- Han GL, Li CM, Mazza G, Yang XG. 2005. Effect of anthocyanin rich fruit extract on PGE2 produced by endothelia cells. *J Hyg Res* 34(5):581-584
- Kim YC, Chung SK. 2002. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. *Food Sci Biotech* 11(4):407-411
- Korycka-Dahl M, Richardson T, Hicks CL. 1979. Superoxide dismutase activity in bovine milk serum and its relevance for oxidative stability of milk. *J Food Prot* 42(3):867-871
- Ku M, Koche RP, Rheinbay E, Eric M, Chad N, Simon K. 2008. Genomewide analysis of PRC1 and PRC2 occupancy identifies two classes of bivalent domains. *Plos Genet* 4(10):242-248
- Lala G, Malik M, Zhao CW, He J, Kwon Y, Giusti MM. 2006. Anthocyanin rich extracts inhibit multiple biomarkers of colon cancer in rats. *Nutr Cancer* 54(1):84-93
- Lidija J, Marihan S, Martina MK, Ivana N. 2007. Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruits juices. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 103(16):58-64
- Olas B, Wachowicz B, Tomczak A, Erler J, Stochmal A, Oleszek W. 2008. Comparative anti-platelet and antioxidant properties of polyphenol-rich extracts from berries of *Aronia melanocarpa*, seeds of grape and bark of *Yucca schidigera* in vitro. *Platelets* 19(1):70-77
- Oszmianski J, Wojdylo A. 2005. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 221(2):809-813
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr* 44(16):307-315
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas Romero A, Flerlage N, Burillo J, Conida C. 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem* 50(23):6882-6890
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Review article. *Free Rad Biol Med* 20(7):933-956
- Slimestad R, Torskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH. 2005. Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *J Food Comp Anal* 18(1):61-68
- Unno T, Sakane I, Masumizu T, Kohno M, Kakuda T. 1997. Antioxidative activity of water extracts of Lagerstroemia speciosa leaves. *Biosci Biotech Biochem* 4(10):1772-1774
- Valcheva-Kuzmanova S, Marazova K, Krasnaliev I, Galunska B, Borisova P, Belcheva A. 2005. Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Exp Toxicol Pathol* 56(6):385-392
- Wu X, Gu L, Prior RL, McKay S. 2004. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia and Sambucus and their antioxidant capacity. *J Agr Food Chem* 52(26):7846-78756
- Yoo KM, Kim DO and Lee CY. 2007. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci Biotech* 16(27):177-182
- Zheng W, Wang S. 2003. Oxygen radical absorb-ing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem* 51(2):502-509

Received on May 19, 2014/ Revised on Sep. 12, 2014/ Accepted on Sep. 15, 2014