

한국 토종다래(*Actinidia arguta*)순의 주요 영양성분 및 *in vitro* 항산화 활성

진동은 · 박선경 · 박창현 · 승태완 · 최성길 · 허호진*
경상대학교 응용생명과학부(BK21 Plus), 농업생명과학연구원

Nutritional Components of Korean Traditional *Actinidia (Actinidia arguta)* Sprout and *in vitro* Antioxidant Effect

Dong Eun Jin, Seon Kyeong Park, Chang Hyeon Park, Tae Wan Seung, Sung-Gil Choi, and Ho Jin Heo*

Division of Applied Life Science (BK21 Plus), Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University

Abstract Nutritional composition and *in vitro* antioxidant activities of the ethanol extract of Korean traditional actinidia (*Actinidia arguta*) sprouts of the Otumsense variety were investigated to examine the sprouts' nutritional value. The most abundant mineral, amino acid, and fatty acid were calcium, glutamic acid, and α -linolenic acid, respectively. The major free sugar of Otumsense sprouts was sucrose. The level of vitamin C, a natural antioxidant, was highest among other vitamins examined. The amount of total polyphenol was highest in the 40% ethanol extract. The 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical scavenging activity of the 40% ethanol extract was about 94% at a concentration of 1,000 μ g/mL. Malondialdehyde inhibition by the extract increased in a dose-dependent manner (from 0 to 100 μ g/mL). Intracellular reactive oxygen species accumulation resulting from H₂O₂ treatment of PC12 cells significantly reduced when the 40% ethanol extract was present in the media compared to that in PC12 cells treated with H₂O₂ only.

Keywords: Korean traditional *Actinidia* sprout, *Actinidia arguta*, Otumsense, antioxidant activity

서 론

현대 사회에서 암, 뇌·심혈관계질환, 당뇨병, 치매 등 한국인의 수명과 삶의 질을 위협하는 주요 만성질환들의 병리기전은 산화적 스트레스(oxidative stress)와 관련성이 깊은 것으로 보고되고 있다. 대표적으로 인체 내 활성산소는 정상적인 대사과정에서도 소량씩 생성되며 세포 기능유지에도 일부 필요한 물질이지만, 환경오염이나 화학물질에 대한 노출, 스트레스, 비만 등에 의하여 생성량이 증가하거나 제거시스템의 기능이 약화되는 경우 결과적으로 산화적 스트레스가 상승하여 여러 질병을 야기할 수 있다. 지속적으로 과도하게 산화적 스트레스가 상승하면 세포막, DNA, 단백질, 지단백질 등을 공격하여 손상을 초래할 뿐 아니라 염증반응이 신호전달계와 연결되어 있기 때문에 전신적으로 만성적 염증반응이 유도됨으로써 뇌·심혈관계질환, 암, 치매, 당뇨병, 자가 면역 질환 및 노화를 촉진한다고 알려져 있다(1,2). 그러므로 항산화 효과를 가진 천연 식용 자원의 발굴과 관련 소재의 개발은 산업적 활용도가 매우 높아 이를 적극 활용할 필요가 있다. 예로부터 자연에서 다양한 식물성 식재료를 활용하여 왔던

우리나라에서는 철 따라 산과 들에 자생하는 식물의 새순, 잎, 줄기나 꽃 등을 채취하여 여러 방법으로 음식에 이용하였기 때문에 그로부터 vitamins, 무기질, 섬유소 및 다양한 약리작용을 하는 생리활성물질들을 다량 섭취할 수 있었으나 환경의 변화와 식품산업의 발달 등으로 인하여 그 섭취량과 다양성이 점차 줄어들고 있는 실정이다(3).

국내에서 자생되는 토종다래(*Actinidia arguta*)는 다래나무과(Acinidiaceae) 다래나무속(*Actinidia*)의 고부가가치 식품자원으로 온대지역에서 자라는 자웅이주의 덩굴성 낙엽과수로서 원산지는 중국 양자강 유역으로 과수의 재배지역은 연 최저 기온이 15°C 이하로 내려가지 않는 지역이면 가능한 것으로 알려져 있다(4). 다래의 종류는 세계적으로 2-5속 280-560종이 분포하고 있으며, 우리나라에는 다래(*A. arguta*), 개다래(*A. polygama*), 섬다래(*A. rufa*), 쥐다래(*A. kolomikta*) 등 약 4종류가 분포한다(5). 우리나라에 자생하는 토종다래는 내한성과 내병충성이 강한 수종으로 우리나라 산지 전역에 분포하며 일부 남부지방에서는 다래의 어린 잎과 줄기를 포함하는 새순을 봄철에 채취하여 삶아서 나물로 식용하거나 건조시켜 두었다가 채소가 귀한 겨울철에 주로 이용하며, 봄철에 어린 토종다래 순이나 잎을 채취하여 닭고기로 응용하기도 하고 데쳐서 장아찌를 담거나 건조시켜 두었다가 겨울에 묵나물로 먹기도 한다(3). 한방에서는 토종다래의 뿌리는 항암 및 항염증 효과가 있는 것으로 알려져 간종양, 폐종양, 골수종 등의 치료에 사용되어 왔으며(6), 민간에서 토종다래순이나 잎은 소화 불량, 급성위염, 구토, 류머티즘, 중풍 치료제 및 이뇨제로 사용되어 왔다(7).

우리나라 바이오산업에서 활용하고 있는 생물유전자원에 대한

*Corresponding author: Ho Jin Heo, Division of Applied Life Science, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea
Tel: 82-55-772-1907
Fax: 82-55-772-1909
E-mail: hjher@gnu.ac.kr
Received November 11, 2014; revised December 22;
accepted December 26, 2014

해외 의존도는 매우 높은 실정이다. 1992년 유엔환경개발회의에서 채택된 생물다양성협약과 그 연장선상의 나고야의정서(2010)가 2014년 10월 12일 발효됨에 따라 산업적으로 생물유전자원을 활용하여 얻는 부가가치에 대한 권리 나눔이 현실화되고 있다. 우리나라 제약, 건강기능성식품, 화장품 생산을 위한 수입원료로 열티가 수천억원에 임박할 것으로 업계는 추산하고 있어 이에 대한 국내 토종자원에 대한 보호와 지속적인 개발이 요구되는 시점이다. 따라서 본 연구에서는 2013년 국립산림과학원에서 토종다래 자원으로 Otumense 품종을 개발하여 출원한 소재를 제공받아 영양학적인 가치와 산업적 활용 가능성을 연구하고자 하였다. 토종다래 열매에 대한 국내 연구보고는 다소 있으나, 다양한 방법으로 섭취되는 토종다래 순에 대한 영양성분 분석과 관련 연구는 매우 미흡한 실정이므로 소재로서의 우수성을 밝혀 산업화를 위한 객관적 기초자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 국내 토종다래 순은 국립산림과학원으로부터 2013년 8월에 제공받아 냉동보관(-70°C) 하여 사용하였다. 항산화 실험에 사용된 시약 Folin-Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic-acid)(ABTS), 1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), potassium ferricyanide, trichloroacetic acid, 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA), H₂O₂는 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) 제품을 구입하였다. 신경세포배양을 위해 필요한 RPMI 1640 medium과 fetal bovine serum은 Gibco BRL Co. (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며, penicillin, streptomycin, sodium bicarbonate와 HEPES 및 나머지 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co. 제품을 구입하여 사용하였다.

추출물의 제조

건조된 시료 2g에 각각 distilled water와 20, 40, 60, 80, 95% (v/v) EtOH과 100 mL의 증류수를 용매로 하여 2시간 동안 환류냉각 방법으로 추출 하였다. 이 추출액을 여과하여 감압 농축 한 후 동결건조 시킨 후 -20°C 냉동고에 보관하면서 각 실험에 사용하였다.

무기성분 분석

무기성분 분석은 건조된 시료를 마쇄한 후 0.1g에 분해용액(HClO₄:H₂SO₄:H₂O₂=9:2:5 (v/v)) 25 mL를 가하여 열판(hot plate)에서 무색으로 분해 될 때까지 분해한 후 100 mL로 정용하여 여과(Whatman No. 2)한 후 inductively coupled plasma (Aton scan 25, Thermo Jarrell Ash Co., Franklin, MA, USA)로 분석하였다. 분석조건으로는 Radio frequency power 1,300 W이며, analysis pump flow rate 1.5 mL/min으로 하였고, gas flows plasma: 15, auxiliary: 0.2, nebulizer: 0.8 L/min으로 하여 분석하였다(8).

아미노산 분석

건조 시료를 마쇄한 후 일정량 취하여 cap vial에 6 N HCl 용액 3 mL과 함께 가하고 heating block (110±1°C)에서 24시간 동안 가수분해 시킨 후 glass filter로 여과한 여액을 회전진공농축기(EYLYA, N-N series, Tokyo, Japan)를 이용하여 HCl을 제거하고 증류수로 세척한 다음 감압 농축 과정을 3회 반복한 후 sodium citrate buffer (pH 2.2) 2 mL로 용해하고 0.22 µm membrane filter

로 여과한 여액을 아미노산 분석기(Biochrom 30, Biochrom Ltd., Cambridge, UK)를 이용하여 분석하였다. 분석에 필요한 column은 ultrapac 11 cation exchange resin (11±2 µm)를 사용하고, 유속과 buffer는 각각 ninhydrin 25 mL/h와 pH 3.20-10.0으로 하며, column 온도와 reaction 온도는 각각 46°C와 88°C로 44분 동안 분석하였다(8).

지방산 분석

조지방 추출은 건조 시료 마쇄한 후 2g을 원통여지(Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)에 넣고 ethyl ether를 가하여 Soxhlet 추출법으로 약 16시간 추출을 통하여 조지방을 얻고 이에 0.5 N NaOH-MeOH을 각각 첨가한 후 80°C에서 10분간 methyl ester화 시킨 다음 n-heptane 4 mL를 첨가하여 5분간 반응 시키고, NaCl 포화용액 2 mL와 ether 20 mL를 첨가한 후 ether층을 감압·농축하여 GC (GC 5890, Hewlett-packard Co., Avondale, PA, USA)로 분석하였다. 분석조건은 column은 Supelco wax 10 (60 mm×0.32 mm I.D.)를 사용하고, injector 온도와 column oven 온도는 각각 250°C와 260°C로 하며, detector 온도와 carrier gas는 280°C와 N₂로 하고, split ratio는 30:1로 맞추어 수행하였다(8).

유리당 분석

유리당 분석은 건조 시료를 마쇄한 후 Choi 등(9)의 방법으로 유리당 획분을 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 색소 및 단백질분을 Sep-Pak C₁₈로 제거한 다음 HPLC (U3000, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)로 분석하였다. Column은 ZORBAX Carbohydrate (Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 사용하고, solvent와 유속은 80% acetonitrile를 1.0 mL/min으로 하였다. Detector는 RI로 하였고, injection volume은 20 µL로 하였다.

Vitamin B₁, Vitamin B₆ 및 Niacin 분석

균질화한 시료를 50 mL 갈색 정용플라스크에 넣고, 5 mM sodium 1-hexanesulfonate 용액을 가해 30분간 sonicator로 추출한 후, 50 mL로 정용하였다. 추출물은 0.45 µm syringe filter로 여과하여 HPLC (U3000, Dionex)로 분석하였다. Column은 Dionex C₁₈ (4.6×250 mm, 5 µm)를 사용하고, solvent는 A: acetic acid 7.5 mL와 triethylamine 0.2 mL를 함유한 5 mM sodium 1-hexane-sulfonate solution 1 L, B: methanol을 gradient condition으로 분석하였다. HPLC 분석 시 gradient elution 조건은 0 min, A 100% B 0%; 6 min A 100% B 0%; 13 min A 80% B 20%; 15 min A 80% B 20%; 17 min A 20% B 80%; 20 min, A 0% B 100%로 하였으며, 유속은 0.8 mL/min, 검출기는 UV 검출기를 사용하였고, 파장은 270 nm에서 injection volume은 20 µL로 분석하였다(10).

Vitamin B₂ 분석

건조 시료를 균질하게 분쇄한 후 일정량의 시료를 칭량하여 증류수 50 mL로 정용하고, 항온수조(70-80°C)에서 20분간 반응시켰다. 추출액은 방냉한 후 0.45 µm syringe filter로 여과하여 HPLC (U3000, Dionex)로 분석하였다. Column은 Dionex C₁₈ (4.6×250 mm, 5 µm)를 사용하고, 유속은 0.8 mL/min, 주입량은 20 µL, 검출기는 UV 검출기를 사용하였고, 파장은 280 nm에서 injection volume은 20 µL로 분석하였다(10).

Vitamin C 분석

건조 시료를 마쇄한 후 2g에 20 mL의 10% metaphosphoric

acid를 가하여 10분간 현탁시킨 후 적당량의 5% metaphosphoric acid을 넣어 균질화한 다음 100 mL mass flask에 옮기고 소량의 5% metaphosphoric acid액으로 용기를 씻은 후 mass flask에 합하여 100 mL로 정용한 다음 0.22 µm syringe filter로 여과하여 HPLC (U3000, Dionex)로 분석하였다. Column은 Dionex C₁₈ (4.6×250 mm, 5 µm)를 사용하고, solvent는 0.05 M potassium phosphate:acetonitrile (60:40) flow rate는 1.0 mL/min으로 하였으며, UV파장 254 nm injection volume은 20 µL로 분석하였다(11).

β-Carotene 분석

건조 시료를 마쇄한 후 0.5 g을 22 mL cap vial에 넣은 후 10 mL의 1 N KOH가 함유되어 있는 무수에탄올과 20 mg의 산화방지제 BHT를 첨가한다. Cap vial을 heat block에 넣은 후 100°C에서 30분 동안 비누화 시켰다. 비누화 시킨 후 cap vial을 실온에서 식힌다. 식힌 시료를 250 mL 용량의 갈색 분액 여두로 옮겨 포화 식염용액 20 mL과 석유에테르 40 mL를 첨가하여 격렬하게 섞는다. 석유에테르 층만을 회수하여 40°C 이하에서 농축한 후 여과하여 HPLC (U3000, Dionex)로 분석하였다. Column은 Dionex C₁₈ (4.6×250 mm, 5 µm)를 사용하였고, 이동상은 0.22 mM BHT를 함유시킨 ethyl acetate:acetonitrile:acetic acid (30:68:2, v/v/v)를 사용하였다. 유속은 0.8 mL/min, 주입량은 20 µL, 검출기는 photo diode array 검출기 및 파장은 450 nm에서 분석 하였다(8).

Total phenolics

추출 시료 용액 1 mL에 증류수 9 mL를 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 넣고 혼합하여 상온에서 5분간 반응 후 반응용액에 10 mL의 7% Na₂CO₃ 용액을 넣고 혼합한 다음 증류수로 25 mL로 정용하였다. 이 혼합용액을 상온에서 2시간 동안 정치한 후 UV-spectrophotometer (UV-1201, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성된 검량선으로 총 페놀화합물 함량을 계산하였다(12).

ABTS radical 소거활성

2.5 mM ABTS와 1.0 mM AAPH (2,2'-azobis-(2-amidinopropane)HCl)을 100 mM phosphate buffer (pH 7.4)와 함께 혼합하여 734 nm에서 control group의 흡광도 값이 0.700±0.020이 나오도록 조정된 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 20 µL에 흡광도 값을 맞춘 ABTS solution 980 µL를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시키고, UV-spectrophotometer (UV-1201, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 소거활성을 계산하였다(13).

DPPH radical 소거활성

80% 메탄올로 용해시킨 0.1 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)용액을 517 nm에서 흡광도 값이 1.000±0.020이 나오도록 80% methanol로 희석시켜 사용하였다. 농도의 추출물 0.1 mL에 흡광도 값을 맞춘 DPPH 용액 2.9 mL를 가한 후 vortex mixer로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분 간 방치한 후 UV-spectrophotometer (UV-1201, Shimadzu)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(13).

지질 과산화 억제활성

뇌 조직을 이용한 지질 과산화 억제활성 측정은 Chang 등(14)의 방법을 변형하여 사용하였다. ICR-male mouse 4주령을 실험

동물 공급업체(Samtako, Osan, Korea)로부터 구입하여 7일간의 환경 적응 기간을 유지했다. 모든 실험동물은 2마리씩 한 개의 사육케이스에 넣어 항온(22±2°C), 항습(50-55%)을 일정하게 유지하였고, 12시간 간격으로 낮과 밤을 교대시키는 동일한 환경에서 충분한 양의 식수와 사료를 공급하며 사육하였다(동물실험인가번호 GNU-120831-M0037). 상기 환경에서 4주간 사육한 ICR mouse brain을 적출하여 실험에 사용하였다. 뇌 부위 조직에 10 volume의 Tris-HCl buffer (20 mM, pH 7.4)를 혼합한 후 ice cold 상태에서 균질화 시켜 원심분리 하였다. 상등액 0.1 mL에 10 µM FeSO₄ 0.1 mL, 0.1 mM ascorbic acid 0.1 mL 및 시료 0.2 mL를 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 배양 하였다. 그 후 28% trichloroacetic acid 0.1 mL과 1% thiobarbituric acid를 첨가하여 80°C에서 30분간 가열한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

신경세포 내 산화적 스트레스 생성을 측정

PC12 세포(KCLB 21721, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)는 신경세포의 특성을 나타내는 세포로 쥐의 pheochromocytoma로부터 유도된 것을 사용하였다. PC12세포를 25 mM sodium bicarbonate, 10% fetal bovine serum, 50 units/mL penicillin, 25 mM HEPES 및 100 µg/mL streptomycin이 포함된 RPMI 1640 배지에 접종하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

H₂O₂에 의해 유도된 PC12 세포내 산화적 스트레스 생성량을 측정하기 위하여 DCF-DA assay를 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 2×10⁶ cells/well로 분주하고, 추출 sample 농도별로 처리한 후 37°C, 5% CO₂의 조건에서 48시간 동안 배양 후 200 µM H₂O₂를 2시간 처리한다. 250 µM DCF-DA를 넣어 50분간 배양하여 fluorescence microplate reader (Infinite 200, Tecan Co., San Jose, CA, USA)를 사용하여 excitation 파장 485 nm와 emission 파장 535 nm에서 형광을 측정하였다(15).

통계처리

모든 실험은 3회 반복 실시하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 각 평균값에 대한 검증은 SAS version 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

무기성분 함량

토종다래 순에 함유되어 있는 무기성분을 분석한 결과 총 8종이 분리되었으며, 그중 Ca이 408.26 mg/100 g으로 가장 많이 함유되어 있었고, 다음으로 K (254.57 mg/100 g), P (127.98 mg/100 g), Mg (63.26 mg/100 g) 순으로 높은 함유를 나타냈으며, Fe과 Na 함유량은 각각 2.58 mg/100 g, 8.74 mg/100 g으로 비교적 낮은 함유량을 나타냈다(Table 1). 무순과 읍나무 순에 대한 연구와 비교해 보았을 때, Ca 함유량은 각각 274.30 mg/100 g, 68.98 mg/100 g으로 토종다래 순의 Ca 함유량이 상대적으로 우수하였다. 다만 K의 경우, 무순(882.50 mg/100 g) 보다는 낮고 읍나무 순(150.20 mg/100 g) 보다는 높게 나타난 것을 확인 할 수 있었으며, Na의 경우 각각 188.45, 198.90 mg/100 g으로 토종다래 순이 상대적으로 낮은 함유량을 보이는 것을 확인 할 수 있었다(16,17).

아미노산 함량

구성 아미노산을 분석한 결과와 같이 총 17종이 분석되었으며, 구성 아미노산의 함유량은 378.04 mg/100 g이었고, 필수 아미노산

Table 1. Contents of minerals in Korean traditional actinidia sprout (Unit: mg/100 g)

Minerals	Contents
K	254.57±30.75
Ca	408.26±26.55
Mg	63.26±3.24
Na	8.74±0.82
Mn	6.44±1.99
Zn	1.73±0.03
Fe	2.58±2.07
P	127.98±8.09
Total	873.61±73.57

Table 2. Contents of total amino acids in Korean traditional actinidia sprout (Unit: mg/100 g)

Amino acids	Contents
Aspartic acid	54.75±19.15
Threonine	17.70±5.96
Serine	17.40±6.12
Glutamic acid	59.34±16.00
Proline	16.43±5.09
Glycine	20.34±6.83
Alanine	32.95±8.28
Cystine	6.32±3.11
Valine	21.27±4.98
Methionine	6.27±1.67
Isoleucine	19.42±4.49
Leucine	25.02±6.45
Tyrosine	13.55±4.53
Phenylalanine	16.20±5.19
Histidine	7.97±2.67
Lysine	20.89±6.58
Arginine	22.19±4.33
Total E.A.A. ¹⁾	126.76±35.36
Total A.A. ²⁾	378.04±111.51

¹⁾Total essential amino acid²⁾Total amino acid

함유량은 126.76 mg/100 g로 나타났다(Table 2). 분리·동정된 17종의 구성 아미노산 중 주요 아미노산으로는 glutamic acid (59.34 mg/100 g), aspartic acid (54.75 mg/100 g), alanine (32.95 mg/100 g) 순으로 함량이 나타났다. 이 결과로 비교해 볼 때, 다래순의 아미노산 함유량은 18종의 구성아미노산(16)을 구리고 참죽 햇순(438.65 mg/100 g)에 비하여 낮은 함유량을 보였으나 엽나무 햇순(256.72 mg/100 g)과 오가피 햇순(183.79 mg/100 g)의 함유량(18) 보다는 높은 함유량을 보였다.

지방산 함량

지방산을 분석한 결과는 다음과 같다(Table 3). 가장 많이 함유되어 있는 포화지방산으로는 palmitic acid로서 12.14%를 차지하고 있었으며, 불포화지방산으로는 α -linolenic acid로서 66.80%를 차지하였다. 그밖에도 linoleic acid은 13.82% 함유되어 있었다. 또한 포화지방산과 불포화지방산의 비율은 각각 17.14%와 82.26%로 불포화지방산 함량이 높았다. 무순 싹에서는 포화 지방산과 불포화 지방산이 각각 64.94, 35.06%가 함유되어 있다고 보고되

Table 3. Fatty acids composition of Korean traditional actinidia sprout (Unit: %)

Fatty acids	Peak area (%)
Myristic acid ¹⁾	0.32±0.06
Palmitic acid ¹⁾	12.14±1.07
Palmitoleic acid ¹⁾	0.65±0.09
Stearic acid ¹⁾	4.03±0.18
Oleic acid ²⁾	0.99±0.02
Linoleic acid ²⁾	13.82±0.26
α -Linolenic acid ²⁾	66.80±1.44
Eicosadienoic acid ²⁾	0.65±0.07
Saturated fatty acid	17.14±1.40
Unsaturated fatty acid	82.26±1.79

¹⁾Saturated fatty acid²⁾Unsaturated fatty acid**Table 4. Contents of free sugars in Korean traditional actinidia sprout** (Unit: mg/100 g)

Sucrose	Glucose	Fructose	Maltose	Xylose
0.68±0.09	0.14±0.02	0.28±0.04	0.21±0.03	0.57±0.04

었고(16), 블루베리 잎에서는 40.94% (포화 지방산) 54.35% (불포화 지방산)가 함유되어져 있다고 보고되었다(19), 이러한 결과들에 비해 토종다래 순에서는 포화 지방산 보다 불포화 지방산이 많이 함유되어 있는 것을 확인 할 수 있었다.

유리당

토종다래 순에 함유되어 있는 유리당은 fructose, glucose, maltose, xylose 그리고 sucrose 5종류의 유리당이 함유되어 있으며, 그 중 가장 높은 유리당은 sucrose이며 그 함유량은 0.68 mg/100 g 이었고, 다음으로 xylose 0.57 mg/100 g 순으로 높게 나타났다(Table 4). 블루베리 잎과 비파 잎에서의 분석과 비교해 볼 때 블루베리 잎에서는 fructose, glucose, sucrose 그리고 maltose 4종을 유리당의 분석되었으며 그 함유량은 가장 높은 함유량을 보인 glucose 810.00 mg/100 g로 분석되었으며(19), 비파 잎에서는 rhamnose, galactose, glucose 그리고 lactose가 분석되었으며 그 중 rhamnose의 함유량은 3,391.84 mg/L로 가장 높게 분석·보고되었다(20). 이런 결과들로 보아 토종다래 순에서는 다양한 종류의 유리당 분석이 되었지만 유리당 함유량이 블루베리 잎이나 비파 잎 보다는 다소 낮은 함유량을 보이는 것으로 나타났다.

Vitamin B₁, vitamin B₂, niacin, vitamin B₆, vitamin C 및 β -carotene 분석

Vitamin B₁, vitamin B₂, niacin, vitamin B₆, vitamin C 및 β -carotene 함유량을 측정된 결과는 다음과 같다(Table 5). Vitamin B군에서 가장 높게 나타나는 것은 vitamin B₆가 17.99 mg/100 g으로 가장 높게 나타났으며, 다음으로는 niacin, vitamin B₁, B₂ 순으로 높게 나타났다. Vitamin C의 함유량은 42.57 mg/100 g의 함유량을 보였다. 올리브 잎과 월계수 잎의 Vitamin B₁은 각각 1.64 mg/100 g, 0.33%로 분석되었으며, vitamin B₂는 0.22, 0.48 mg/100 g으로 각각 분석 되었다. 또한 vitamin B₆는 분석되지 않았으며, Niacin의 함유량은 각각 2.71, 1.31 mg/100 g로 분석되었다. Vitamin C 분석결과로 올리브 잎은 36.64 mg/100 g, 월계수 잎 13.86 mg/100 g로 분석·보고되었다(21). 결국 토종다래 순의 vitamin B군

Table 5. Contents of vitamin B group, vitamin C and β -carotene in Korean traditional actinidia sprout

Vitamin B ₁ (mg/100 g)	Vitamin B ₂ (mg/100 g)	Niacin (mg/100 g)	Vitamin B ₆ (mg/100 g)	Vitamin C (mg/100 g)	β -Carotene (μ g/100 g)
1.60±0.19	1.15±0.12	12.72±1.04	17.99±1.23	42.57±3.04	390.69±9.25

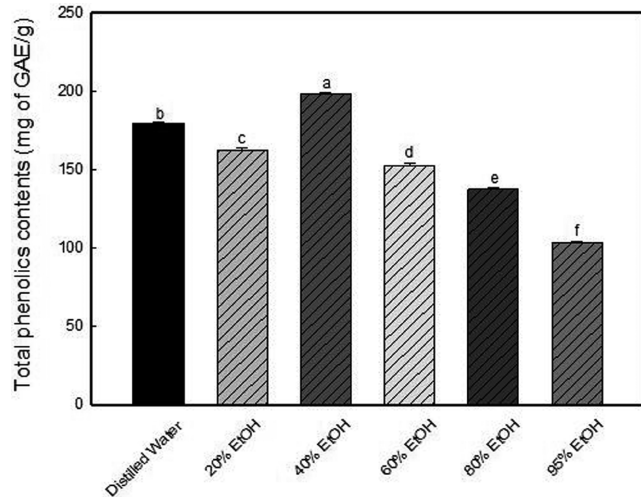


Fig. 1. Total phenolics of distilled water, 20, 40, 60, 80, and 95% ethanol extract of Korean traditional actinidia sprout. Results are shown as mean±SD in triplicate. Different superscript letters indicate significant difference among groups at $p < 0.05$.

과 vitamin C의 함유량이 올리브 잎과 월계수 잎의 함유량보다 높게 나왔으며, 특히 niacin과 vitamin B₆의 함유량이 상대적으로 높은 함유량을 보였다. 토종다래의 비타민 A군에 속하는 β -carotene의 함유량은 390.69 μ g/100 g으로 나타났다. 이 결과는 비파 잎 vitamin A의 함유량(0.039 mg/100 g)보다 약 10배에 가까운 함유량을 보인 것이다(20).

Total phenolics

Total phenolics compound는 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조를 갖는데, 특히 이중 phenolic hydroxyl기가 단백질 및 기타 거대분자들과 결합하는 성질이 강하여 항산화 등과 같은 생리활성 기능을 나타낸다(22). 추출방법 정립을 위하여 다양한 농도의 에탄올을 이용하여 환류냉각 추출을 실시하여 total phenolics를 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. Distilled water, 20, 40, 60, 80, 그리고 95% (v/v) 에탄올에서 각각 179.75, 162.33, 198.08, 152.83, 137.58, 그리고 103.25 mg GAE/g으로 40% 에탄올에서 가장 높은 함유량을 보였다. 이에 반해 엄나무 햇순, 참죽 햇순, 오가피 햇순의 total phenolics 함유량은 각각 16.09, 25.63, 그리고 20.04 mg GAE/g으로 나타났다(19). 이러한 결과들로 보아 토종다래 순에는 엄나무 햇순이나 참죽 햇순, 오가피 햇순 보다 많은 total phenolics 추출량을 포함하고 있다는 것을 확인하였다.

ABTS radical 소거활성 및 DPPH radical 소거활성

ABTS 라디칼 소거활성은 ABTS 라디칼이 시료의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 점을 이용한 측정방법이다. 이 방법의 장점은 hydrogen-donating antioxidants와 chain breaking antioxidants 모두를 측정할 수 있고, aqueous phase와 organic phase 모두에 적용이 가능하다는 점이다(23). 앞서 total phenolics의 결과에서 40% 에탄올 추출물에서 가

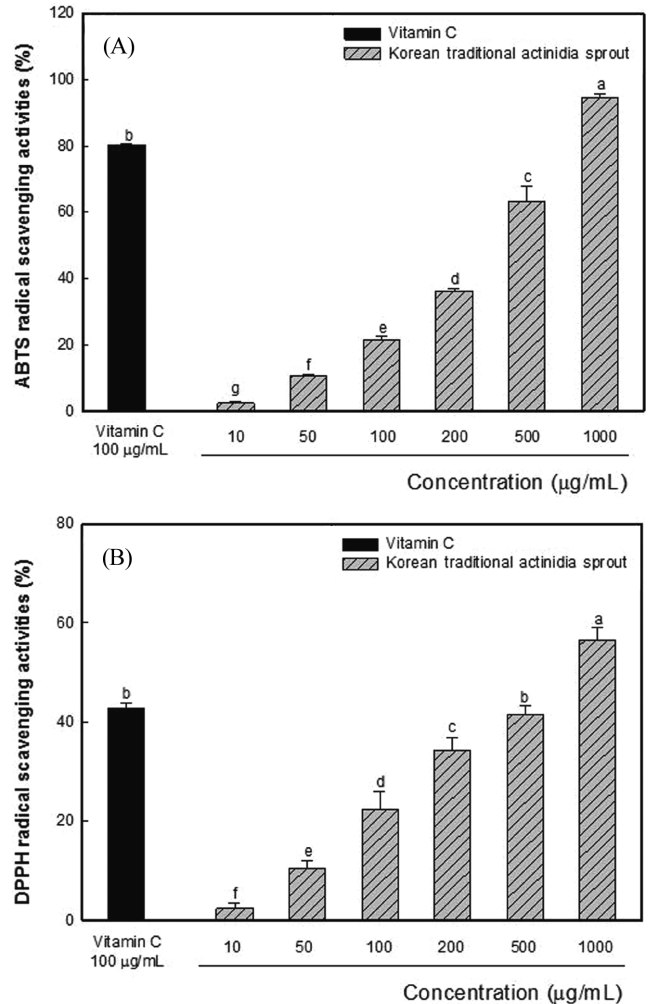


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity (A) and DPPH radical scavenging activity (B) of the 40% EtOH extract from Korean traditional actinidia sprout. Results are shown as mean±SD ($n=3$). Different superscript letters indicate significant difference among groups at $p < 0.05$.

장 phenolics의 함유량이 가장 많아 40% EtOH 추출물을 이용하여 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정 한 결과는 Fig. 2(A)와 같다. 일반적으로 항산화력이 높아 positive control로 많이 사용되는 vitamin C보다 활성은 낮지만 40% EtOH 추출물의 농도가 증가함에 따라 ABTS 라디칼 소거활성이 증가하는 경향을 나타내었으며 최고 농도 1000 μ g/mL 농도에서는 positive control로 사용된 Vitamin C와 유사한 radical 소거 활성능을 보였다. 땅콩 나물에서의 ABTS radical 소거 활성은 잎 추출물 200 μ g/mL 농도에서 48.57%로 나타났고(24), 들깨 새싹 추출물 250 μ g/mL 농도에서는 약 40% 정도의 radical 소거 활성을 보인다고 보고되고 있다(25).

DPPH는 분자 내에 안정한 radical을 함유하지만 cysteine, glutathione과 같은 황 함유 아미노산과 ascorbic acid, α -tocopherol, hydroquinone, pyrogallol과 같은 polyhydroxy aromatic compounds, aminophenol과 같은 aromatic amine 등의 항산화 활성이 있는 물

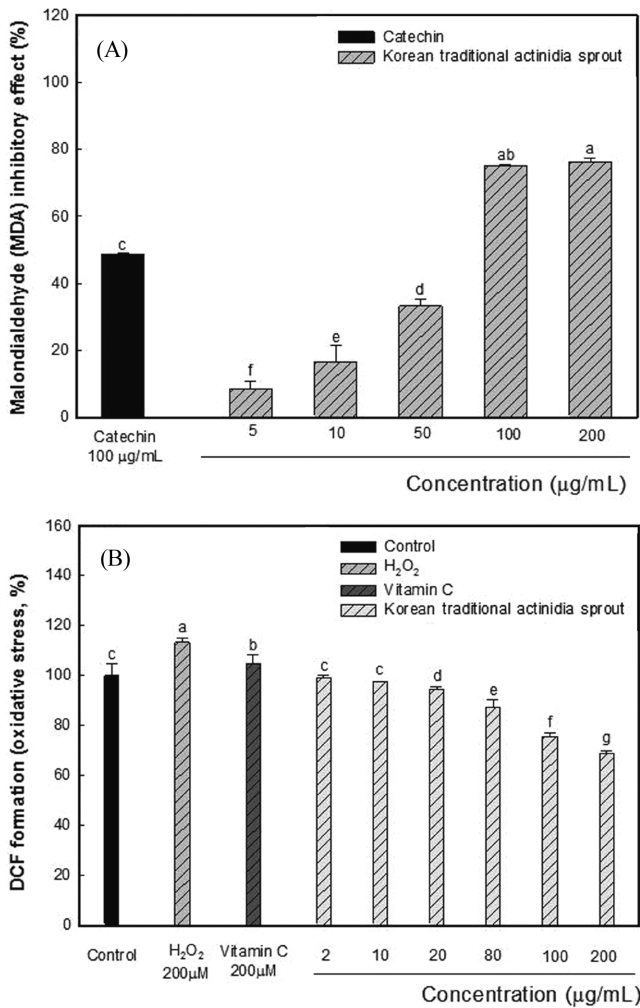


Fig. 3. Inhibitory effect of lipid peroxidation on mouse brain homogenates (A) and effect on ROS production determined in the presence and absence of H₂O₂ in PC12 cell (B). Results are shown as mean±SD ($n=3$). Different superscript letters indicate significant difference among groups at $p<0.05$.

질과 만나면 환원되어 짙은 보라빛이 탈색되어 안정한 화합물로 변화하여 노란빛을 띄게 된다. 이러한 반응의 정도는 항산화제의 수소 공여능에 의존한다. 토종다래 순 EtOH 추출물에서는 Fig. 2(B)와 같이 positive control로 사용된 vitamin C 보다는 낮은 radical 소거 활성을 보이지만 추출물의 농도가 높아짐에 따라 radical 소거 활성이 증가하는 경향을 보였다. 무순, 기생초, 각시취 새싹의 DPPH radical 소거 활성의 경우, 500 μg/mL 농도에서 무순 39.28%의 radical 소거 활성(16)과 기생초와 각시취 새싹 채소에서 각각 459.3, 561.9 μg/mL의 RC₅₀값이 보고되었다(26). 결국 이들 유사 소재에 대한 radical scavenging 연구 결과와 비교해 볼 때, 토종다래 순 추출물 역시 우수한 고부가가치 식품 소재 적성을 함유하고 있는 것으로 판단된다.

지질 과산화 억제 활성 및 세포 내 산화적 스트레스 생성 억제 효과

Reactive oxygen species (ROS)와 같은 산화적 스트레스에 대한 토종다래 순 40% EtOH 추출물의 뇌 조직을 활용한 지질 과산화

억제활성을 분석하여 항산화 효과를 확인하였다. 신경세포막을 구성하고 있는 지질성분은 산화적 스트레스에 취약한 특성을 가지고 있으며, 세포막 손상 및 기타 단백질 손상과도 관계가 있다고 알려져 있다(27). 따라서 본 연구에서는 토종다래 순 40% EtOH 추출물의 mouse 뇌 세포막 지질 과산화 중간생성물인 malondialdehyde (MDA) 생성 억제효과를 살펴보았다. Figure 3(A)에서, 추출물의 농도가 증가함에 따라 MDA 저해활성이 증가하는 것으로 나타났고, positive control로 사용된 catechin 100 μg/mL 보다 동일한 다래 순 추출물 100 μg/mL 농도에서 지질과산화 억제 효과가 catechin보다 약 30% 가량 저해활성이 높은 것을 확인하였다.

퇴행성 신경질환 등은 대부분 산화적 스트레스에 의한 뇌신경 세포의 사멸에 의해 발생되며, natural antioxidants인 flavonoids를 포함한 polyphenols 등은 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호 효과가 우수한 것으로 보고되고 있다(28). Oxidative stress로 인해 세포내 생성된 ROS는 비형광성을 나타내는 DCF-DA를 산화시켜 형광물질인 DCF로 전환시키는데 이렇게 전환된 형광물질의 양을 측정하여 세포내 형성된 ROS를 측정하는 방법이다. 먼저 앞선 *in vitro* antioxidant activities를 통해 상대적으로 우수한 활성을 보여준 토종다래 순 40% EtOH 추출물을 전 처리한 다음, H₂O₂로 세포의 산화적 손상을 유도하여 DCF 형광강도를 관찰한 결과는 Fig. 3(B)와 같다. H₂O₂를 단독 처리한 군에서는 113%로 대조군 100% 대비하여 약 13%의 형광강도 증가를 보인 반면, 추출물을 처리한 군에서는 농도 의존적으로 산화적 손상 보호 효과를 보였다. 특히 농도 200 μg/mL에서는 68.92%로 H₂O₂대비 약 45%정도의 ROS 감소율을 보여주어 뛰어난 신경세포 보호효과를 지니는 것으로 확인되었다. Phenolic compounds는 산화적 스트레스에 의한 세포 손상을 보호할 수 있다는 결과를 보고 하였으며(12,29), 이에 따라 본 연구에서도 토종다래 순 EtOH 추출물에 존재하는 phenolic compounds에 의해 산화적 스트레스가 감소하였으므로 판단된다. 이상의 결과를 종합해볼 때, 상대적으로 우수한 phenolics 함유량을 갖는 토종다래 순 EtOH 추출물은 산화적 스트레스로부터 유발되는 신경세포의 사멸을 일정 수준에서 억제시킬 수 있음을 확인하였다.

요 약

토종다래 순의 무기질은 Ca, K, P 순으로 많았으며, 아미노산은 glutamic acid, aspartic acid가 많이 함유되어 있었다. 지방산 함량은 α-linolenic acid와 linoleic acid 등의 불포화지방산 함유량이 높았으며, 유리당은 sucrose의 함량이 상대적으로 높았다. Vitamin B 그룹에서는 vitamin B₂가 17.99 mg/100 g으로 가장 높았고, vitamin C와 β-carotene 함량은 각각 42.57 mg/100 g, 390.69 μg/100 g이었다. Total phenolics는 40% EtOH 추출물이 198.08 mg GAE/g으로 가장 높았으며, ABTS radical 소거활성 및 DPPH radical 소거 활성에서는 농도 의존적으로 radical 소거 활성을 보였다. 지질 과산화 억제활성(MDA contents)과 세포내 산화적 스트레스 생성 억제효과에서는 지질과산화를 막아주며 신경세포 손상을 일정 수준에서 억제해 주는 것으로 확인하였다. 본 연구 결과를 종합해볼 때, 상대적으로 높은 phenolics를 함유한 토종다래 순은 우수한 영양학적인 구성과 *in vitro* antioxidant activities를 기초로 한 고부가가치 건강기능식품 소재로서의 활용가치가 높다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단에 의해 지원된 연구(KRF-2011-0021664) 및 2013년 산림청 산림과학기술개발사업(2013-자유10)의 지원을 받아 수행된 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

References

- Lodovici M, Guglielmi F, Meoni M, Dolara P. Effect of natural phenolic acids on DNA oxidation *in vitro*. *Food Chem. Toxicol.* 39: 1205-1210 (2001)
- Kim SH, Choi HJ, Oh HT, Chung MJ, Cui CB, Ham SS. Cytoprotective effect by antioxidant activity of *Codomopsis lanceolata* and *Platycodon grandiflorum* ethyl acetate fraction in human HepG2 cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 696-701 (2008)
- Kwak CS, Lee JH. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from sprout of evening primrose (*Oenothera lacinata*) and gooseberry (*Actinidia arguta*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 207-215 (2014)
- Lee SE, Kim DM, Kim KH, Rhee C. Several physicochemical characteristics of kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch.) depend on cultivars and ripening stages. *Korean J. Food Sci. Technol.* 21: 863-868 (1989)
- Oh HJ, Jeon SB, Kang HY, Yang YJ, Kim SC, Lim SB. Chemical composition and antioxidative activity of kiwifruit in different cultivars and maturity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40: 343-349 (2011)
- Xin HL, Wu YC, Su YH, Sheng JY, Ling CQ. Novel flavonoids from the leaves of *Actinidia valvata* Dunn: structural elucidation and antioxidant activity. *Planta Med.* 77: 70-73 (2011)
- Park JH, Lee YJ, Choi JK. Pharmacognostical study on the Korean folk medicine "Da Rae Ip". *Korean J. Pharmacogn.* 36: 26-33 (2005)
- Jeong HR, Jo YN, Jeong JH, Jin DE, Song BG, Jin YR, Kim MJ, Lee U, Heo HJ. Change in the chemical composition of chestnuts (*Castanea crenata*) from different periods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44: 393-400 (2012)
- Choi JH, Jang JG, Pack MH, Oh SK. High performance liquid chromatographic determination of free sugar in ginseng and its products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 13: 107-113 (1981)
- Kim HJ, Jin SI, Jo YN, Jeong JH, Jin DE, Kim MJ, Heo HJ. Nutritional composition of four cultivars (Daehan, Hangawi, Mipung and Ishizuchi) of chestnut (*Castanea crenata*). *J. Agr. Life Sci.* 47: 157-165 (2013)
- Jeong CH, Lee WJ, Bae SH, Choi SG. Chemical components and antioxidant activity of Korean gold kiwifruit. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 859-865 (2007)
- Kwak JH, Choi GN, Pack JH, Kim JH, Jeong HR, Jeong CH, Heo HJ. Antioxidant and neuronal cell protective effect of purple sweet potato extract. *J. Agr. Life Sci.* 44: 57-66 (2010)
- Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J. Agr. Food Chem.* 50: 3713-3717 (2002)
- Chang ST, Wu JH, Wang SY, Kang PL, Yang NS, Shyur LF. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *J. Agr. Food Chem.* 49: 3420-3424 (2001)
- Kim JK, Choi SJ, Cho HY, Hwang HJ, Kim YJ, Lim ST, Kim CJ, Kim HK, Peterson S, Shin DH. Protective effects of kaempferol (3,4',5,7-tetrahydroxyflavone) against amyloid beta peptide (A β)-induced neurotoxicity in ICR mice. *Biosci. Biotech. Bioch.* 74: 397-401 (2010)
- Ha JO, Ha TM, Lee JJ, Kim AR, Lee MY. Chemical components and physiological functionalities of *Brassica campestris* ssp. *rapa* sprouts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1302-1309 (2009)
- Moon KD, Choi HJ, Kim DH, Chung HS. Food nutritional composition of castor aralia (*Kalopanax pictus* N) sprout. *Korean J. Food Preserv.* 19: 720-726 (2012)
- Im HJ, Jang HL, Jeong YJ, Yoon KY. Chemical properties and antioxidant activities of the sprouts of *Kalopanax pictus*, *Cedrela sinensis*, *Acanthopanax cortex* at different plucking times. *Korean J. Food Preserv.* 20: 356-364 (2013)
- Jeong HR, Jo YN, Jeong JH, Kim HJ, Heo HJ. Nutritional composition and *in vitro* antioxidant activities of blueberry (*Vaccinium ashei*) leaf. *Korean J. Food Preserv.* 19: 604-610 (2012)
- Hwang YG, Lee JJ, Kim AR, Lee MY. Chemical components and antioxidative effects of *Eriobotrya japonica* Lindl. leaf. *J. Life Sci.* 20: 1625-1633 (2010)
- Lee OH, Lee HB, Lee J, Son JY, Rhee SK, Kim HD, Kim YC, Lee BY. Chemical properties of olive and bay leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 503-508 (2005)
- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 16th ed. Method 991.43. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1995)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Kang HI, Kim JY, Kwon SJ, Park KW, Kang JS, Seo KI. Antioxidative effects of peanut sprout extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 941-946 (2010)
- Jeong SI, Kim HS, Jeon IH, Kang HJ, Mok JY, Cheon CJ, Yu HH, Jang SI. Antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from *Perilla frutescens*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 46: 87-93 (2014)
- Shin SL, Chang YD, Jeon AR, Lee CH. Effect of different greening periods on antioxidant activities of sprout vegetables of *Coreopsis tinctoria* Nutt. and *Saussurea pulchella* (Fisch.) Fisch. *Korean J. Hort. Sci. Technol.* 27: 503-510 (2009)
- Uchida K, Stadtman ER. Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra and intermolecular cross-linking reaction. *J. Biol. Chem.* 268: 6388-6393 (1993)
- Zhao B. Natural antioxidants protect neurons in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Neurochem. Res.* 34: 630-638 (2009)
- Hurst RD, Wells RW, Hurst SM, McGhie TK, Cooney JM, Jensen DJ. Blueberry fruit polyphenolics suppress oxidative stress-induced skeletal muscle cell damage *in vitro*. *Mol. Nutr. Food Res.* 54: 353-363 (2010)