

추출용매에 따른 진피 추출물의 항산화 활성

이성구 · 오성천* · †장재선**

(주)성심바이오, *대원대학교 제약식품계열, **가천대학교 식품영양학과

Antioxidant Activities of *Citrus unshiu* Extracts obtained from Different Solvents

Sung-Gu Lee, Sung-Cheon Oh* and †Jae-Seon Jang**

SungsimBio, Ansan 425-834, Korea

*Dept. of Food & Pharmacecy, Daewon College, Jecheon 390-702, Korea

**Dept. of Food & Nutrition, Gachon University, Sungnam 406-799, Korea

Abstract

In this study, the total polyphenol content, electron donating ability (EDA) and inhibitory activity of glutathione *S*-transferase (GST) of freeze-dried *Citrus unshiu* extracts were examined. The *Citrus unshiu* extracts was obtained from four solvents such as ethyl acetate, acetone, methyl chloride and methanol, to evaluate its functional properties. Total polyphenol contents were measured in the two different extracts, and the extracts were screened for their potential antioxidant activities using tests such as electron donating ability (EDA), glutathione *S*-transferase (GST). The total polyphenol contents of *Citrus unshiu* extracts were 928.48±1.19 µg GAE/mL in ethyl acetate (EA), 886.03±0.44 µg RE/mL in acetone (AC), 413.08±1.39 µg GAE/mL in methylene chloride (MC), 12,648.60±0.56 µg GAE/mL in methanol (MeOH), respectively. Also, the total polyphenol contents of EtOH *Citrus unshiu* extracts were 664.64±0.74 µg GAE/mL in EA, 702.67±0.85 µg RE/mL in AC, 429.64±0.61 µg GAE/mL in MC, 16,108±0.73 µg GAE/mL in MeOH, respectively. The total polyphenol contents were significantly difference ($p<0.05$) between the solvents. The electron donating ability of *Citrus unshiu* extracts were 62.80±0.36% in EA, 97.43±0.51% in AC, 52.20±0.30% in MC, 97.63±0.46% in MeOH, respectively. Also, the electron donating ability of EtOH *Citrus unshiu* extracts were 51.49±0.26% in EA, 63.17±0.31% in AC, 67.68±0.55% in MC, 96.18±0.41% in MA, respectively. The electron donating ability were significantly difference ($p<0.05$) between the solvents. The inhibitory activity of glutathione *S*-transferase in *Citrus unshiu* extracts were 76.22±0.65% in EA, 31.73±0.48% in MC, 97.48±0.56% in MeOH, respectively. Also, inhibitory activity of glutathione *S*-transferase in EtOH *Citrus unshiu* extracts were 75.54±0.55% in EA, 73.53±0.38% in MC, 48.70±0.46% in MeOH, respectively. The inhibitory activity of glutathione *S*-transferase were significantly difference ($p<0.05$) between the solvents. These results indicated that the *Citrus unshiu* extracts is a high-valued food ingredient and the extraction with methanol will be useful as a nutritional source with natural antioxidant activities. Considering high consumer demand beneficial health effects, *Citrus unshiu* extracts can be utilized to develop functional food health- promoting and natural antioxidant agents.

Key words: *Citrus unshiu*, extracting solvents, total polyphenol, electron donating ability (EDA), glutathione *S*-transferase (GST)

서 론

최근에는 건강을 중시하는 현대의 소비자들은 식품의 선택에 있어서도 건강을 증진하는 식품의 생리활성 기능에 대

† Corresponding author: Jae-Seon Jang, Dept. of Food & Nutrition, Gachon University, Seongnam 461-701, Korea. Tel: +82-31-750-4767, Fax: +82-31-750-5974, E-mail: jangjs@gachon.ac.kr

해 관심이 대두되고 있다. 급속한 사회 변화로 인해 현대인은 과도한 스트레스와 부정적인 환경에 노출되어, 체내 자유라디칼 발생이 증가되고 있는데(Kim 등 2012), 대부분의 자유라디칼은 산화적 인산화를 통해 정상적으로 환원되지만, 일부는 인체에 유해한 유리기를 형성하고 있어(Park 등 2010), 체내에 축적된 자유라디칼은 생체막의 손상, 고분자 단백질 및 DNA의 변형과 기능 상실을 초래하여 다양한 퇴행성 질환이 유발될 수 있으므로, 자유라디칼로 인해 발생하는 건강문제를 해결할 수 있는 항산화제에 대한 관심이 집중되고 있다(Kim 등 2009).

이러한 추세에 따라 Son 등(2005)과 Lee & Son(2002)은 차류, Kim 등(2008)과 Kim 등(2006)은 과채류와 식용식물, Jo 등(2007)과 Mun 등(1994)은 후추와 허브, Kim 등(2003)과 Kim 등(1997)은 생약제의 항산화 작용에 관한 연구 등과 같이 천연식물체의 항산화 작용에 관한 연구가 많이 진행되고 있다. 또한, 식용식물 21종을 부유별로 DPPH를 이용하여 유리 라디칼 소거효과를 측정된 결과, 머위잎, 참취잎, 쑥갓잎에서 특이적으로 높은 효과가 있다고 보고하였으며(Chung 등 1998; Cho 등 2001; Kim 등 2008), 또한 자소과 향신료에서 디페놀 화합물(diphenol compound)의 항산화 성분 중에는 BHT에 필적할만한 활성이 있다고 보고하였다(Lee & Lim 1997).

최근 활성산소종은 몸속에서 단백질, 지질, 핵산, 세포 등을 공격하여 산화적 스트레스를 주므로 각종 심혈관질환, 암 및 노화를 촉진시킨다고 보고되어 있으며(Mok 등 2011), 또한 스트레스, 운동 부족과 과식으로 인한 체내의 산화적 손상은 노화, 당뇨, 비만과 같은 만성질환의 주요 원인이며, 체내 항산화 시스템의 불균형에 의해 초래되기도 한다. 항산화제는 자신이 산화됨으로써 체내 세포들이 산화되는 것을 방지해주는 물질로서(Singleton 등 1999), 특히 건강에 대한 욕구가 증대됨에 따라 인공합성품의 사용을 기피하는 추세이므로, 안전성의 확보와 각종 질병의 예방이 동시에 가능한 천연 항산화제를 개발하고자 하는 수요가 증가하고 있다(Lee 등 2008).

글루타티온 전달효소(Glutathione S-transferase; GSTs, EC2.5.1.18, GST)는 1961년 동물에서 처음 발견되었으며, 1970년대에 이르러 글루타티온(GSH)과 chloro-S-triazine계 제초제인 atrazine의 포함반응에 의해 GS-atrazine 복합체 형성을 통해 제초제를 무독화 하여 제초제에 대한 농작물의 손상을 방어할 수 있다는 연구결과에서 처음으로 식물 글루타티온 전달효소가 보고되었다(Dixon 등 2002). 또한 GST의 활성을 나타내는 효소나 유전자 서열이 동물, 식물, 곤충, 선충류, 효모, 호기성 세균 등에서 발견되었고, 현재는 다양한 종에서 GST 효소들이 보고되었다(Sheehan 등 2001). 글루타티온 전달효소의 주요 기능은 알킬, 할로젠화 아릴, 에폭사이드, 에터 등과 같은 친전자성 화합물과 글루타티온(GSH)과의 포함반응을 촉매

하는 것으로(Johansson & Mannervik 2002) 외래성 이물질들에 대한 해독작용을 주 기능으로 하는 다기능 단백질로서 각종 질병과 밀접한 관련이 있고, 각종 화합물과 비공유 결합하여 세포 내 저장(retention) 및 수송에 관여하는 결합 단백질로서의 기능을 갖는다.

진피는 예부터 한약재로 사용되어 왔으며, 익은 귤의 껍질을 건조시킨 것이다. 신선한 귤껍질은 맛이 맵기 때문에 가능하면 저장한 것을 사용하는 것이 좋으며, 오래 저장한 귤껍질을 특히 진피(*Citrus unshiu* M)라고 한다. 껍질에는 비타민 C, 구연산이 풍부하게 들어 있으며, 모세혈관 강화작용을 갖는 비타민 P, 인, 헤스페리딘(hesperidine)이 들어 있다. 이런 성분들은 특히 귤껍질에 많으며, 비타민 C는 과육보다 4배 이상 많다. 진피의 약리작용은 지방산화효소의 활성 증가, 항알레르기 효과, 자궁근의 수축 억제, 진정 효과, 모세혈관 투과성 억제와 모세혈관 강화에 의한 동맥경화 및 고혈압 예방 효과가 있다. 한방에서 진피는 위액 분비를 항진하여 소화를 돕는다고 하며, 기관지염 등으로 인한 기침과 가래 증세를 치료하는데 상용된다(Min 등 2002).

본 연구에서는 진피의 활용도를 높이기 위한 연구의 일환으로 유기용매별에 따른 생리활성물질의 용출량을 측정하기 위해 진피와 에탄올로 추출한 진피 추출물을 대상으로 유기용매인 에틸 아세테이트, 아세톤, 염화 메틸렌, 메탄올을 이용하여 추출한 시료를 대상으로 총 폴리페놀 함량, 전자공여능, glutathione S-transferase(GST)의 활성 저해력을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 진피는 2014년 5월에 제주특별자치도 E농장에서 재배된 것을 제공 받아 사용하였다. -70°C 에서 동결건조(Freeze dryer MCFD8508, Ilshin Lab Co. Ltd., Gyeonggi-do, Korea)하여 마쇄한 분말을 표준망체 No. 80(180 μm mesh, Seoul, Korea)에 통과시킨 후, -18°C 에 저장하면서 사용하였다. 추출에 사용된 시약들은 Duksan Pure Chemical Co.(Gyeonggi, Korea) 제품으로 99.5% 순도로 더 이상의 정제 없이 실험에 사용하였다.

2. 진피 추출물의 제조

본 실험은 60°C 에서 24시간 동안 열풍 건조하여 분말화한 진피 10 g을 100 mL의 80% 에탄올을 이용하여 60°C 에서 3시간 동안 추출하고, filter paper(Whatman No. 3)로 이용하여 2회 여과한 후 진피 추출물은 50°C 에서 농축을 하고, 동결건조기(PVTF 10AT, Inshin, Korea)를 사용하여 동결건조 후 분말화하였다.

3. 진피와 에탄올 진피 추출물의 용매별 추출

진피를 각각 100 g씩 500 mL beaker에 넣고 극성을 달리하는 유기용매인 ethyl acetate, acetone, methylene chloride, methanol 용액 400 mL를 넣은 후에 파라필름으로 밀봉을 한 상태에서 각각 37°C 항온수조에서 72시간 교반하여 유용한 성분을 추출하였다. 추출한 여액은 여과를 한 후에 감압 하에 농축을 하여 얻어진 용액은 더 이상의 농축 없이 총 폴리페놀 함량 측정과 전자공여능, glutathione S-transferase(GST)의 활성 저해력 실험에 사용하였다. 또한 에탄올 진피 추출물에서의 유기용매별 추출도 위와 같은 방법으로 시료를 만들어서 총 폴리페놀 함량 측정과 전자공여능, glutathione S-transferase(GST)의 활성 저해력 실험에 사용하였다.

4. 총 폴리페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Singleton 등(1999)의 Folin-Ciocalteu 방법에 준하여 측정하였다. 추출물 10 µL, 증류수 600 µL, 2 N Folin-Ciocalteu 시약 50 µL를 vortex로 혼합하였다. 3분 후, 혼합물에 20% Na₂CO₃(sodium carbonate) 150 µL와 증류수 1,190 µL를 가하여 2시간 동안 상온에 방치한 후, UV/VIS spectrophotometer(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)로 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid의 검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalents(GAE µg/mL extract)로 환산하였다.

5. 전자공여능 측정

DPPH는 free radical에 대한 시료의 항산화 활성을 평가하기 위하여 Kim 등(2002)의 방법을 응용하여 측정하였다. 95% 에탄올에 용해시킨 0.4 mM DPPH 용액 0.8 mL에 시료 0.2 mL를 첨가하여 혼합 후 암소에서 4 min 동안 방치하고, microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음 식에 의하여 나타내었다.

$$\text{Electron donating ability (\%)} = \frac{1 - [A \text{ experiment} - A \text{ Blank}]}{1 - [A \text{ Blank}]} \times 100$$

6. Glutathione S-transferase의 활성 저해 측정

포합 반응에 대한 초기 속도 측정에는 1,2-dichloro-4-nitrobenzene(DCNB)를 사용하였다. 측정 방법은 적정 용매와 기질, 글루타티온(GSH) 효소를 혼합한 뒤 340 nm에서 UV/VIS spectrophotometer를 이용해서 1 분 동안의 흡광도 변화를 측정하였다. 효소 활성 단위는 1 분당 1 µmol의 생성물 형성을 촉매하는 효소의 양으로 정의하였다. 기질에 대한 활성도 측정 조건은 Table 1에 나타내었다. 그리고 효소의 최적 pH와 최적 온도는 각각 9.0과 55°C인 것으로 나타났고(Cho & Kong

Table 1. Reaction condition for GST activity measurement

Substrate	Buffer (500 µL)	pH	GSH ^a (mM)	Substrate ^a (mM)	ϵ^b (mM ⁻¹ · cm ⁻¹)
CDNB (340 nm)	200 mM KPB ^c	6.5	50	50	9.6

^a: GSH and substrate concentration refer to final concentration

^b: ϵ -molecular coefficient

^c: KPB refers to potassium phosphate buffer

2005), GST 효소 활성 저해와 관련한 실험 조건은 Cho HY (2007)가 밝힌 기질 농도의 영향, pH 영향, 온도의 영향 등을 참조하였다. 먼저 1 mL vial에 500 µL의 0.2 M KPB(pH 7.0)와 420 µL의 증류수를 넣고 잘 혼합시킨 후에 20 µL의 50 mM GSH와 20 µL의 GST를 넣고 강하게 혼합시켰다. 잘 혼합된 용액에 20 µL의 50 mM CDNB를 넣고 강하게 혼합시킨 후에 340 nm에서 UV/VIS spectrophotometer를 이용해서 1분 동안의 흡광도 변화를 측정하여 기본 포합반응으로 하였다.

7. 자료의 통계처리

실험의 분석은 3회 이상 반복 실험하였다. 모든 자료의 통계처리는 SPSS(version 21)를 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었고, 각 처리군 간의 유의성에 대한 검증은 분산분석(one-way ANOVA)을 이용하여 분석하였으며, 실험군 간의 유의성은 Duncan multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량

유기용매별 진피 추출물의 총 폴리페놀의 함량은 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와 같이 총 폴리페놀 함량은 ethyl acetate인 경우 진피는 928.48±1.19 µg GAE/mL, 에탄올 추출 진피는 664.64±0.74 µg GAE/mL로, acetone인 경우 진피는 886.03±0.44 µg GAE/mL, 에탄올 추출 진피는 702.67±0.85 µg GAE/mL로, methylene chloride인 경우 진피는 413.08±1.39 µg GAE/mL, 에탄올 추출 진피는 429.64±0.61 µg GAE/mL로, methanol인 경우 진피는 12,648.60±0.56 µg GAE/mL, 에탄올 추출 진피는 16,108.20±0.73 µg GAE/mL로 나타나, 진피나 에탄올 추출 진피는 모두 methanol로 추출한 것이 상대적으로 높게 나타났으며, 총 폴리페놀의 함량 차이는 유기용매별 통계적으로 유의한 차이가 나타났다($p < 0.05$).

Kim & Han(2014)의 연구에서 참죽나무 순 분말 추출물의 총 폴리페놀 함량이 20% 에탄올 추출물에서 104.35±3.03 mg

Table 2. Total polyphenol contents of extract and EtOH extract in *Citrus unshiu*

Extraction solvents	Total polyphenol ($\mu\text{g/mL}$) ¹⁾	
	<i>Citrus unshiu</i> extract	EtOH extract of <i>Citrus unshiu</i>
EA	928.48 \pm 1.19 ^a	664.64 \pm 0.74 ^a
AC	886.03 \pm 0.44 ^b	702.67 \pm 0.85 ^b
MC	413.08 \pm 1.39 ^c	429.64 \pm 0.61 ^c
MeOH	12,648.60 \pm 0.56 ^d	16,108.20 \pm 0.73 ^d
<i>F</i> value	207,313.053*(0.000)	119,465.112*(0.000)

¹⁾ Total polyphenol content was expressed as $\mu\text{g/mL}$ gallic acid equivalents (GAE)

²⁾ Each value is mean \pm S.D. of triplicate determination (n=3)

* Means with different letters (a-d) within a column are significantly different at $p<0.05$

EA: ethyl acetate, AC: acetone, MC: methylene chloride, MeOH: methanol

GAE/g, 열수 추출에서 45.38 \pm 2.22 mg GAE/g을 나타냈다. Singleton 등(1999)은 식물 폴리페놀이 만성질환에 강력히 저항하는 가능성을 지닌 2차 대사산물이고, 식물유래 식품에서 활성산소를 수용하는 역할을 하여 항산화 효과를 나타낸다고 보고하고 있으며, Yu 등(2012)에 의하면 오가피순 추출물의 총 페놀 함량은 116.33 \pm 60.9 mg GAE/g으로 높게 나타났다. Kong 등(2008)의 보고에서 유색미인 흑진주와 흑광 미강 메탄올 추출물의 총 polyphenol 함량이 각각 5,051.1 mg gallic acid/100 g와 3,287.9 mg gallic acid/100 g의 보고하고 있으며, Oh 등(2010)에 보고한 유색미를 제외한 품종들의 70% 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량이 5.70~10.77 mg gallic acid/100 g의 수준으로서 본 연구와 다른 함량을 보이고 있으나, 항산화제로서 기능성 소재 개발에 의의를 가지고 있다고 할 수 있다고 사료된다. 이는 폴리페놀이 유기용매와 반응하기에 적합한 hydroxyl group이 포함된 입체구조 화합물이기 때문이라 생각된다.

2. 전자공여능 측정

유기용매별 진피 추출물의 electron donating ability(EDA)는 Table 3에 나타내었다. Table 3에서 보는 바와 같이 전자공여능은 ethyl acetate인 경우 진피는 62.80%, 에탄올 추출 진피는 51.49%로 나타났으며, acetone인 경우 진피는 97.43%, 에탄올 추출 진피는 63.17%로 나타났고, methylene chloride인 경우 진피는 52.20%, 에탄올 추출 진피는 67.68%, methanol인 경우 진피는 97.63%, 에탄올 추출 진피는 96.18%로 나타났다. Electron donating ability(EDA)는 유기용매 중 메탄올로 추출하였을 때가 상대적으로 가장 높게 나타났으며, 유기용매별로 통계적으로 유의한 차이가 나타났다($p<0.05$).

Table 3. Electron donating ability (EDA) of extract and EtOH extract in *Citrus unshiu*

Extraction solvents	Electron donating ability (EDA)	
	<i>Citrus unshiu</i> extract	EtOH extract of <i>Citrus unshiu</i>
EA	62.80 \pm 0.36 ^a	51.49 \pm 0.26 ^a
AC	97.43 \pm 0.51 ^b	63.17 \pm 0.31 ^b
MC	52.20 \pm 0.30 ^c	67.68 \pm 0.55 ^c
MeOH	97.63 \pm 0.46 ^d	96.18 \pm 0.41 ^d
<i>F</i> value	9,652.843*(0.000)	3,977.101*(0.000)

¹⁾ Electron donating ability (EDA) content was %

²⁾ Each value is mean \pm S.D. of triplicate determination (n=3)

* Means with different letters (a-d) within a column are significantly different at $p<0.05$

EA: ethyl acetate, AC: acetone, MC: methylene chloride, MeOH: methanol

Min 등(2002)은 국내산 진피 열수 추출물의 electron donating ability는 80.93~83.27%의 범위로 높게 나타났으며, 추출시간이 증가할수록 전자공여능은 점차 증가하였다고 보고하고 있다. Lee 등(2009)의 연구에서 열수 추출한 백문동의 Electron donating ability는 농도에 따른 MDL(middle drying *Liriope platyphylla*)은 53.1~65.4%로 나타내었으며, DL(drying *Liriope platyphylla*)은 4.4~53.9%로 나타난 결과보다 본 연구에서는 전자공여능이 높게 나타났다. Kim YT(2005)와 Park 등(2001)의 연구에서 농도에 따른 GT(green tea)의 EDA는 67.0~87.6%로 나타내었으며, Lee & Lim(1997)의 연구에서 EDA가 MDL는 약 74.7%, DL는 약 90.3%로 나타나, 본 연구와 비슷한 수치를 나타내었다. 이는 합성산화방지제의 대체 물질로 기대를 걸어볼 수 있을 것으로 사료된다.

3. Glutathione S-transferase 활성 저해

유기용매별 진피 추출물의 glutathione S-transferase(GST)에 대한 활성 저해능 결과는 Table 4에 나타내었다. Table 4에서 보는 바와 같이 glutathione S-transferase(GST)에 대한 활성 저해능은 ethyl acetate인 경우 진피는 76.22%, 에탄올 추출 진피는 75.54%로 나타났고, methylene chloride인 경우 진피는 31.73%, 에탄올 추출 진피는 73.53%로 나타났으며, methanol인 경우 진피는 97.48%, 에탄올 추출 진피는 48.70%로 나타났다. Glutathione S-transferase(GST)에 대한 활성 저해능은 진피인 경우, 유기용매 중 메탄올로 추출하였을 때가 가장 높게 나타났으며, 에탄올 추출 진피인 경우는 에탄올과 methylene chloride로 추출할 때가 높게 나타나, 유기용매별로 통계적으로 유의한 것으로 나타났다($p<0.05$).

Lee & Park(2013)의 연구에서 양파 추출물의 유기용매별

Table 4. Inhibitory activity of glutathione S-transferase of extract and EtOH extract in *Citrus unshiu*

Extraction solvents	Inhibitory activity (%)	
	<i>Citrus unshiu</i> extract	EtOH extract of <i>Citrus unshiu</i>
EA	76.22±0.65 ^a	75.54±0.55 ^a
MC	31.73±0.48 ^b	73.53±0.38 ^b
MeOH	97.48±0.56 ^c	48.70±0.46 ^c
F value	10,525.974 [*] (0.000)	3,057.498 [*] (0.000)

¹⁾ Inhibitory activity of glutathione S-transferase was %

²⁾ Each value is mean±S.D. of triplicate determination (n=3)

* Means with different letters (a-c) within a column are significantly different at $p < 0.05$

EA: ethyl acetate, MC: methylene chloride, MeOH: methanol

glutathione S-transferase(GST)에 대한 활성 저해능은 methanol, ethanol, ethyl acetate로 용출한 분획의 GST 활성 저해에 유의성이 있는 것으로 나타나, 본 연구의 결과와 유사한 것으로 나타났다. 항암제 내성(anti-cancer drug resistance)을 설명하기 위해 제안된 하나의 mechanism은 정상세포에 비해서 내성세포에서 GST 분자종들의 발현이 증가하는 것이다. Batist 등(1987)은 adriamycin-resistant human breast cancer cell line (AdrRMCF-7)의 발생과정에서 내성세포에서는 일반세포에 비해서 GST 활성이 45배 증가되었고, 이 증가된 활성 중 90% 이상이 일반세포에서는 정상적으로 발견되지 않는 Pi GST 분자종이라고 보고하였다. 또한 Fahl 등(1993)은 배양시킨 mammalian cell에서 GST 분자종들을 발현시켰더니 항암제인 chlorambutil, melphalan, cisplatin에 의한 내성이 크게 강화되었다고 보고하였다. 이러한 결과들은 mammalian cell에서 특정 GST 분자종들의 과다한 발현은 암 화학요법에서 사용되고 있는 alkylating agents에 의한 생물학적 내성을 유발시킬 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 특정 GST 저해는 항암제, 특히 알킬화제의 효율을 높이는 방안으로 기대할 수 있다.

요 약

본 연구에서는 진피의 활용도를 높이기 위한 연구의 일환으로 유기용매별에 따른 생리활성물질의 용출량을 측정하기 위해, 진피와 에탄올 진피 추출물을 대상으로 유기용매인 에틸 아세테이트, 아세톤, 염화 메틸렌, 메탄올을 이용하여 추출한 시료를 대상으로 총 폴리페놀 함량, 전자공여능, glutathione S-transferase(GST)의 활성 저해력을 측정한 결과는 다음과 같다.

1. 총 폴리페놀 함량은 ethyl acetate인 경우 진피는 928.48±1.19 µg GAE/mL, 에탄올 추출 진피는 664.64±0.74 µg GAE/mL로, acetone인 경우 진피는 886.03±0.44 µg GAE/mL, 에탄올

추출 진피는 702.67±0.85 µg GAE/mL로, methylene chloride인 경우 진피는 413.08±1.39 µg GAE/mL, 에탄올 추출 진피는 429.64±0.61 µg GAE/mL로, methanol인 경우 진피는 12,648.60±0.56 µg GAE/mL, 에탄올 추출 진피는 16,108.20±0.73 µg GAE/mL로 나타나, 진피나 에탄올 추출 진피는 모두 methanol로 추출한 것이 상대적으로 높게 나타났으며, 총 폴리페놀의 함량 차이는 유기용매별 통계적으로 유의한 차이가 나타났다($p < 0.05$).

2. 전자공여능은 ethyl acetate인 경우 진피는 62.80%, 에탄올 추출 진피는 51.49%로 나타났으며, acetone인 경우 진피는 97.43%, 에탄올 추출 진피는 63.17%로 나타났으며, methylene chloride인 경우 진피는 52.20%, 에탄올 추출 진피는 67.68%로 나타났으며, methanol인 경우 진피는 97.63%, 에탄올 추출 진피는 96.18%로 나타났다. Electron donating ability(EDA)는 유기용매 중 메탄올로 추출하였을 때가 상대적으로 가장 높게 나타났으며, 유기용매별로 통계적으로 유의한 차이가 나타났다($p < 0.05$).

3. Glutathione S-transferase(GST)에 대한 활성 저해능은 ethyl acetate인 경우 진피는 76.22%, 에탄올 추출 진피는 75.54%로 나타났으며, methylene chloride인 경우 진피는 31.73%, 에탄올 추출 진피는 73.53%로 나타났으며, methanol인 경우 진피는 97.48%, 에탄올 추출 진피는 48.70%로 나타났다. Glutathione S-transferase(GST)에 대한 활성 저해능은 진피인 경우 유기용매 중 메탄올로 추출하였을 때가 가장 높게 나타났고, 에탄올 추출 진피인 경우는 에탄올과 methylene chloride로 추출할 때가 높게 나타났으며, 유기용매별로 통계적으로 유의한 것으로 나타났다($p < 0.05$).

References

- Batist G, Sinha BK, Katki AG. 1987. Differential formation of hydroxyl radicals by adriamycin in sensitive and resistant MCF-7 human breast tumor. *Cells Biochemistry* 26:3776-3780
- Cho HY, Kong KH. 2005. Molecular cloning, expression, and characterization of a phi-type glutathione S-transferase from *Oryza sativa*. *Pestic Biochem Phys* 83:29-36
- Cho HY. 2007. Studies on the biochemical characterization and the application of plant-specific rice glutathione S-transferase. Ph. D Thesis, Chung Ang Univ. Korea
- Cho SY, Han YB, Shin KH. 2001. Screening for antioxidant activity of edible plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 133-137
- Chung IM, Kim KH, Ahn JK. 1998. Screening of Korean medicinal and food plants with antioxidant activity. *J Korean*

- Medicinal Crop Sci* 6:311-322
- Dixon DP, Laphorn A, Edwards R. 2002a. Plant glutathione transferase. *Genome Biol* 3:30004.1-30004.10
- Fahl WE, Schecter RL, Alaoui-Jamali MA. 1993. Expression of a rat glutathione-S-transferase complementary DNA in rat mammary carcinoma cells: Impact upon alkylation-induced toxicity. *Cancer Research* 53:4900
- Jo DH, Min KJ, Cha CG. 2007. The antioxidant and antitumor effects of the extract of *Bulnesia sarmientia*. *Korean J Fd Hyg Safety* 22:120-126
- Johansson AS, Mannervik A. 2002. Active-site governing high steroid isomerase activity in human glutathione transferase A3-3. *J Biol Chem* 277:16648-16654
- Kang MJ, Shin SR, Kim KS. 2002. Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from dandelion (*Taraxacum officinale*). *Korean J Food Preser* 9:253-259
- Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee YR, Jeong HS. 2008. Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *J Korean Soc Food Tec* 40:166-170
- Kim IS, Park KS, YU HH, Shin MK. 2009. Antioxidant activities and cell viability against cancer cells of *Adenophora remotiflora* leaves. *Korean J East Asian Soc Dietary Life* 19:384-394
- Kim JG, Kang YM, Eom GS, Go YM, Kim TY. 2003. Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (*Akebia quinata* Decaisn, *Scirus fluviatilis* A. Gray, *Gardenia jasminoides* for. *grandiflora* Makino). *J Agiriculture Siences* 37:69-75
- Kim JH, Park JH, Park SD, Choi SY, Seong JH, Hoon KD. 2002. Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powders from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Korea J Food Sci* 34:617-624
- Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeong JM. 2006. Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. *J Korean Soc Appl Boil Chem* 49:328-333
- Kim MH, Park SH, Jeong YJ, Yoon KY. 2012. Sensory properties of *Kalopanax pictus* and *Cedrela sinensis* shoots under different blanching conditions and with different thawing methods. *Korean J Food Preserv* 19:201-208
- Kim MJ, Han YS. 2014. Antioxidant activities of *Cedrela sinensis* tender leaf powder extracts obtained from different solvents. *Korean J Food Nutr* 27:1059-1066
- Kim YE, Lee YC, Kim HK, Kim CJ. 1997. Antioxidative effect of ethanol fraction for several Korean medicinal plant hot water extracts. *Korea J Food Nutr* 10:141-144
- Kim YT. 2005. A study on the antioxidation and antimicrobial effect of bamboo (*Phyllosrachys bambusoides*) essential oil. MS Thesis, Dankook Univ. Korea
- Kong SH, Choi YM, Lee SM, Lee JS. 2008. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the methanolic extracts from milling fractions of black rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:815-819
- Lee HS, Son JY. 2002. Antioxidant and synergist effect of extract isolated from commercial green, oolong and black tea. *Korea J Food & Nutr* 15:377-381
- Lee KS, Park KS. 2013. A study of glutathione S-transferase inhibitors obtained from *Allium cepa* var. *cepa* extract. *Korean J Food & Nutr* 26:725-730
- Lee MA, Choi HJ, Kang JS, Choi YH, Joo WH. 2008. Antioxidant activities of the solvent extracts from *Tetragonia tetragonioides*. *Korean J Life Sci* 18:220-227
- Lee SH, Lim YS. 1997. Antimicrobial effects of *Schizanda chinensis* extract against *Listeria monocytogenes*. *Kor J Appl Microbial Biotechnol* 25:442-447
- Lee SK, Park JH, Kim YT. 2009. A study on the antioxidation and antimicrobial effect of Megmoonong (*Liriope platyphylla* Wang et Tang) water extracts. *Korean J Food & Nutr* 22: 279-285
- Min SH, Park HO, Oh HS. 2002. A study on the properties of hot water extracts of Korean dried tangerine peel and development of beverage by using it. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18:51-56
- Mok JY, Kang HJ, Cho JK, Jeon IH, Kim HS, Park JM, Jeong SI, Shim JS, Jang SI. 2011. Antioxidative and antiinflammatory effects of extracts from different organs of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*. *Kor J Herbology* 26:39-47
- Mun SI, Ryu HS, Lee HJ, Choi JS. 1994. Further screening for antioxidant activity of vegetable plants and its active principles from *Zanthoxylum schinifolium*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 23:466-471
- Oh SK, Kim DJ, Chun AR, Yoon MR, Kim KJ, Lee JS, Hong HC, Kim YK. 2010. Antioxidant compounds and antioxidant activities of ethanol extracts from milling by-products of rice cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:624-630
- Park BH, Choi HK, Cho HS. 2001. Antioxidant effect of aqueous green tea on soybean oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30:552-556
- Park S, Yang S, Ahn D, Yang JH, Cho CH, Kim HY, Lee JH,

- Park JS, Kim DK. 2010. Antioxidant constituents of the heartwood of *Cedrela sinensis* A. Juss. *Korean J Pharmacol* 41:245-249
- Sheehan AP, Meade G, Foley VM, Dowd CA. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferase: Implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J* 360:1-16
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Methods in Enzymology. pp.152-177. Academic Press
- Son GM, Bae SM, Chung JY, Shin DJ, Sung TS. 2005. Antioxidative effect on the green tea and puer tea extracts. *Korea J Food & Nutr* 18:219-224
- Yu SY, Lee YJ, Song HS, Hong HD, Lim JH. 2012. Antioxidant effects and nitrite scavenging ability of extract from *Acanthopanax cortex* shoot. *Korean J Food & Nutr* 25:793-799

Received 27 May, 2015

Revised 11 June, 2015

Accepted 18 June, 2015