

남해산 고사리의 이화학적 특성 및 항산화 활성

심혜진·황초롱·강재란·강민정·신정혜[†]

(재)남해마늘연구소

Physicochemical Characteristics and Antioxidant Activity of Bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) in Namhae

Hye-Jin Sim · Cho-Rong Hwang · Jae-Ran Kang · Min-Jung Kang · Jung-Hye Shin[†]

Namhae Garlic Research Institute, Gyeongnam 668-812, Korea

Abstract

In this study, we investigate the physicochemical characteristics of dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae. The moisture, ash, crude protein and crude lipid content was 10.79±0.31%, 6.16±0.04%, 33.20±0.40% and 2.45±0.27%, respectively. The total mineral (Ca, Fe, K, Mg, Na, Mn) content was 36720.1±495.7 mg/kg, with K being the highest at 31890.0±503.8 mg/kg. The total free amino acid content was 704.41 mg/100 g, the amount of methionine, citrulline and sarcosine being higher than the others. The water and 50% ethanol extracts from the dried bracken were evaluated for the total poly phenolic compound content, antioxidant activity and xanthine oxidase and α -glucosidase inhibitory activity. The total polyphenol content in the 50% ethanol extract (1574.86±18.31 mg/100 g) was higher than in the water extract (1240.24±16.32 mg/100 g). The DPPH and ABT radical scavenging activity was increased according to the concentration of bracken extract, and the activity in the 50% ethanol extract was higher than in the water extract. In addition, the xanthine oxidase and α -glucosidase inhibitory activity was also higher in the 50% ethanol extract than in the water extract. In conclusion, bracken has great antioxidative and antidiabetic effects and can be used as a preventive agent for oxidation and diabetes.

Key words: bracken, free amino acid, antioxidant activity, α -glucosidase

I. 서론

고사리(*Pteridium aquilinum* Kuhn)는 열대지방에서부터 온대지방에 이르기까지 광범위하게 분포(Jo JS 1978)되어 있는 고사릿과의 여러해살이 양치식물로서(Lee SY 등 2010), 식물 전체에 털이 있고 황록색으로 뿌리줄기는 땅속 깊게 옆으로 포복하고 잎은 큰 삼각형이며 드문드문 난다(Lee IS & Choi JK 2011). 우리나라 전국 산야의 어디에서도 잘 자라며 특히 남부와 제주도에 많이 분포하는데(Lee SS 등 2008) 남해군 창선면에서는 1,500여 농가가 460 ha 규모로 고사리를 재배하고 있다. 남해군은 최대 고사리 주산지로서 전국 생산량의 37%를 차지하고 있으며, 단일품목으로 연간 100억원 이상의 고소득을 창출하고 있고, 남해산 고사리는 해풍과 따뜻한 기후의 영향으로 향이 진하고 식감이 부드럽다는 평을 받고 있다.

고사리는 우리의 식생활에서 즐겨 애용되고 있는 산채로 어린순을 채취하여 삶아서 식용으로 사용하는데(Lee IS & Choi JK 2011), 무기물이 풍부하며 치아와 뼈를 튼튼하게 하고 신진대사를 촉진시켜 체내의 노폐물을 배출시키며, asparagine, glutamic acid, astragaline과 같은 성분과 비타민 B₁, B₂, D 및 식이섬유를 다량 함유하고 있어 변비 예방과 부기를 빼는 데 효과적이다(Lee SY 등 2010, Park CH 등 2014). 한편, 고사리에는 일부 인체에 유해한 성분들도 함유되어 있는 것으로 보고되고 있는데, 그 중 하나는 비타민 B₁의 파괴효소인 thiaminase로 최근의 연구에서 thiaminase는 물이나 알코올에 쉽게 용해되므로 보통 식사에서 먹는 양이나 섭취하는 기간 및 조리과정을 고려하면 안전하다고 보고되어 있다(Lee IS & Choi JK 2011). 유독성분으로 알려져 있는 brakentoxin 및 아린 맛의 주성분인 prunasin은 물에 충분히 우려내어 조리하면 크게 걱정할 필요가 없다고 보고되어 있어(Park CH 등 2014) 통상적인 조리과정을 거친 후 섭취하면 건강상 문제가 되지는 않는다.

최근 들어 사회가 복잡해지고 오염 물질이 많아지면서 스트레스로 인한 여러 질병과 각종 성인병으로 고생하는

[†]Corresponding author: Jung-Hye Shin, Namhae Garlic Research Institute, Namhae-daero 2465-8, Idong-myeon, Namhae-gun, Gyeongsangnam-do 668-812, Korea
Tel: +82-55-860-8947
Fax: +82-55-860-8960
E-mail: whanbee@hanmail.net

사람들이 늘어나고 있어(Song WY 등 2010), 천연에 존재하는 식물체를 대상으로 생리활성을 확인하고 기능성 물질을 규명하는 연구(Jo JS 1978)와 더불어 안전한 천연 항산화제의 개발을 위한 다양한 연구들 또한 수행되고 있다(Jun HI 등 2014). 식물들은 외부의 자극에 의한 스트레스를 극복하고 적응하기 위하여 alkaloid, flavonoid, steroid, polyphenol, terpenoid 및 quinone 등 다양한 2차 대사산물을 생성하는데, 고사리는 고생대 데본기에 출현하여 약 4억년 동안 지구상에서 환경에 적응하면서 살아온 식물군으로 다양한 2차 대사산물을 가지고 있을 것으로 생각되고 있으며, 이들 2차 대사산물은 식물체뿐만 아니라 인체 내에서도 유용한 성분으로 작용할 것으로 기대되고 있다(Shin SL & Lee CH 2010, Kim NR 등 2012).

지금까지 고사리에 관한 연구로는 고사리장아찌의 이화학적 특성 변화(Lee IS & Choi JK 2011), 고사리의 무기성분 함량(Lee SY 등 2010), 조리방법에 따른 고사리의 항산화 및 항균 활성(Park CH 등 2014) 등에 관한 연구들이 있는데, 이러한 선행 연구들을 통하여 고사리는 항산화 활성을 중심으로 한 다양한 생리활성을 가진 것으로 사료되지만 관련 연구는 아직 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 남해산 건조 고사리의 성분을 분석하고, 용매별 추출물을 제조하여 그에 따른 항산화 활성을 확인하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출물 제조

건조 가공된 남해산 고사리는 창선농협으로부터 제공받아 시료로 사용하였다. 건조 고사리는 분쇄기(HMF-3450S, Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄하여 60 mesh 표준망체로 체질한 후 영양성분 분석에 사용하였다. 마쇄한 건조 고사리 시료 100 g에 물 및 50% 에탄올을 각각 2 L씩 가하여 실온에서 24시간 정치시켜 추출한 후 감압여과 하였다. 50% 에탄올 추출물은 회전식 진공농축기(N-1110S-W, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 완전 건조 시킨 다음 증류수에 재용해하여 물 추출물과 함께 동결건조한 후 생리활성 분석용 시료로 사용하였다.

2. 일반성분 분석

수분함량은 분쇄한 시료 약 1.0 g을 취하여 적외선 수분측정기(MB45, OHAUS, Pine Brook, NJ, USA)로 측정하였다. 조단백, 조지방, 조회분 함량은 AOAC방법(AOAC 2000)에 준하여 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 550°C에서 직접 회화법으로 분석하였다.

3. 무기물 분석

분쇄한 건조 고사리 0.5 g을 마이크로웨이브용 teflon vessel에 칭량하여 질산(70%) 10 mL를 가한 다음 hood 내에서 4시간동안 예비 분쇄한 후 microwave digestion system(QWAVE1000, Questron Technologies Corp., Mississauga, Canada)을 이용하여 분쇄하였다. 분쇄된 액에 초순수를 가해 50 mL로 희석하고 여과 한 다음 시험용액으로 사용하였다. 시험용액 중 무기물의 검출 및 정량은 ICP-OES(Optima 7300DV, Perkin-Elmer Co., Shelton, CT, USA)를 이용하였으며 RF power는 1,300 W, concentric glass nebulizer를 사용하고 Ar plasma gas flow rate는 15.0 L/min, Ar auxiliary gas flow rate는 0.2 L/min, Ar nebulizer gas flow rate는 0.6 L/min 유속으로 분석하였다.

4. 유리아미노산 분석

시료 2 g을 취하여 에탄올 30 mL와 함께 균질화한 다음 원심분리(4,000 rpm, 10 min) 하였다. 잔사에 80% 에탄올 30 mL를 가하여 2회 반복 추출한 다음 상등액을 모아 농축한 후 pH 2.2 lithium citrate 완충액을 가해 5 mL로 정용하여 0.2 µm membrane filter 및 sep-pak C₁₈ cartridges에 차례로 통과시켜 아미노산 자동분석기(Biochrom 30+, Biochrom Ltd, Cambridge, England)로 분석하였다.

5. 총 폴리페놀 화합물의 함량 측정

총 폴리페놀 화합물의 함량은 Folin-Denis법(Ragazzi E & Veronese G 1973)에 따라 시료액 1 mL에 2M Folin-Ciocalteu 시약(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 1 mL를 넣고 3분 후 10% Na₂CO₃ 용액 1 mL씩을 혼합하여 실온의 암실에서 1시간 정치한 다음 분광광도계(Libra S 35, Biochrom, Cambridge, England)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 폴리페놀 화합물의 함량을 계산하였다.

6. DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거활성(Blois MS 1958)은 DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)에 대한 전자공여 활성으로 나타내었다. 즉, 추출물과 DPPH 용액(5 mg/100 mL methanol)을 동량으로 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도비(%)로 나타내었다.

7. ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS 라디칼 소거활성(Re R 등 1999)은 7 mM의 ABTS

(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate), Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정된 ABTS 용액을 사용하였으며, ABTS 용액에 동량의 시료액을 혼합하여 실온에서 10분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거활성은 시료 무첨가구에 대한 시료첨가구의 흡광도비로 계산하였다.

8. Xanthine oxidase(XO) 저해 활성 측정

XO 저해 활성은 Stirpe F & Corte Della E(1970)의 방법에 따라 측정하였다. 각 추출물 0.3 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 2 mM을 녹인 기질액 3 mL를 혼합하였다. 여기에 0.2 U/mL 농도의 XO 0.3 mL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 20% trichloroacetic acid 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292 nm에서 측정하였다. 시료에 대한 XO 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

9. α -Glucosidase 저해 활성 측정

α -Glucosidase 저해 활성은 Kim KY 등(2008)의 방법을 변형하여 시료액 10 μ L를 0.7 unit/mL 농도의 α -glucosidase 효소액(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 50 μ L와 혼합하여 405 nm에서 반응전의 흡광도를 측정하였다. 그 후 5분간 실온에 방치하고 기질액 5 mM pNPG(p-nitrophenyl- α -glucopyranoside, Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 50 μ L를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음, 다시 405 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 변화로부터 효소 저해활성을 계산하였다.

10. 통계처리

모든 실험은 4회 반복하여 실시하였으며 실험으로부터 얻은 결과는 SPSS 12.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 분석하였다. 결과치는 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 시행하였다. 동일한 농도 내에 시료간의 유의차는 Student t -test를 통해 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반성분

남해산 건조 고사리의 수분, 회분, 조단백질 및 조지방

함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 수분은 10.79 \pm 0.31%, 회분은 6.16 \pm 0.04%, 조단백질 함량은 33.20 \pm 0.40%, 조지방 함량은 2.45 \pm 0.27%였다. 건조 고사리의 일반적인 수분, 회분, 조단백질, 조지방의 함량은 각각 12.20%, 7.20%, 25.80% 및 0.60%로 알려져 있다(Ministry of Food and Drug Safety 2011). 남해산 건조 고사리는 일반적인 건조 고사리에 비해 수분은 1.4%, 회분은 1% 정도 더 낮았으나 조단백질과 조지방의 함량은 더 높아 차이가 있었다.

2. 무기물 함량

남해산 건조 고사리의 무기물 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 모두 6종(Ca, Fe, K, Mg, Na, Mn)의 무기물이 검출되었으며 총량은 36,720.1 \pm 495.7 mg/kg이었다. 검출된 무기물 중 칼륨의 함량이 31,890.0 \pm 503.8 mg/kg으로 가장 높았으며, 다음으로 마그네슘이 2,799.0 \pm 9.6 mg/kg으로 함량이 높았는데, 칼륨과 마그네슘이 전체 무기물 함량의 94%를 점유하였고 철분은 19.9 \pm 1.5 mg/kg으로 미량 함유되어 있었다.

보통 건조 고사리의 무기물은 칼륨(28,790 mg/kg), 인(2,460 mg/kg), 칼슘(1,880 mg/kg), 나트륨(150.0 mg/kg) 및 철(64.0 mg/kg)의 순서로 높게 함유되어 있는데(Ministry of Food and Drug Safety 2011), 본 연구결과에서도 칼륨의 함량이 가장 높아 고사리의 주된 무기물임을 알 수 있다. 칼륨은 나트륨과 상호작용하여 식염의 과다섭취로 인한 피해를 막아주어 혈압을 강하시켜주는데(Shin YS 등 2012), 고사리는 칼륨의 좋은 급원이 된다.

자생고사리와 재배고사리 간의 무기성분 함량을 분석한 결과, 질소, 인, 칼륨 등 3대 성분은 재배고사리에서 높았고 마그네슘은 자생고사리에서 더 높아 차이를 보이며 이는 시비여부와 고사리의 성숙 정도에 따른 것이라

Table 1. Proximate composition of dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae (%)

Items	Moisture	Ash	Crude protein	Crude lipid
Contents	10.79 \pm 0.31	6.16 \pm 0.04	33.20 \pm 0.40	2.45 \pm 0.27

Table 2. Mineral content of dried bracken (*Pteridium aquilinum*; Kuhn) harvested in Namhae

Mineral	Contents (mg/kg)
Ca	1,700.0 \pm 14.8
Fe	19.9 \pm 1.5
K	31,890.0 \pm 503.8
Mg	2,799.0 \pm 9.6
Na	188.2 \pm 2.1
Mn	129.7 \pm 1.1
Total	36,720.1 \pm 495.7

는 Lee SY 등(2010)의 보고로 미루어 볼 때 본 연구의 분석 결과와 여타 연구에서의 분석 결과와의 차이도 재배 환경에 기인하는 것으로 추정된다.

3. 유리아미노산 함량

유리아미노산은 단백질에 포함된 아미노산에 비해 식품의 다른 성분과 반응이 빠르며, 식품 조리 시 당류와 반응하여 갈변반응을 일으켜 색이나 풍미를 향상시키거나 혹은 반대로 식품의 품질을 저하시키는 요인으로 작용할 수 있다(Friedman M & Levin CE 2008). 따라서 식재료 중의 유리아미노산 함량을 알아보는 것은 영양이나 조리 측면에서도 의미가 있는데 유리아미노산 중 aspartic acid와 glutamic acid는 구수한 맛을 형성하고, threonine, serine 및 proline 등은 단맛을 형성하여 기호도를 높이는 반면, isoleucine과 leucine은 쓴맛을 나타낸다고 알려져 있으며 필수아미노산류 함유 비율은 단백질의 질을 평가하는 기준이 된다(Kim HR & Ahn JB 2014).

Table 3. Free amino acid contents of dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae

Free amino acid	Contents (mg/100 g)
L-aspartic acid	17.22±2.50
L-threonine	15.77±2.90
L-serine	16.75±3.16
L-asparagine	31.53±1.22
L-glutamic acid	35.55±3.84
Sarcosine	83.50±1.74
Glycine	10.52±2.11
L-alanine	21.85±0.45
L-citrulline	84.16±13.05
α-Aminobutyric acid	19.65±3.50
L-valine	23.09±1.31
L-cystine	2.61±0.87
L-methionine	121.12±1.45
Cystathionine-1	40.10±1.50
Cystathionine-2	15.36±2.15
L-isoleucine	14.74±2.15
L-leucine	41.89±1.54
L-tyrosine	35.00±0.91
β-Alanine	19.98±1.45
L-homocystine	2.17±0.32
Ornithine	0.61±0.63
L-lysine	0.98±0.04
1-Methylhistidine	50.24±0.91
Total	704.41±31.72

남해산 건조 고사리의 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 총 23종의 유리아미노산이 검출되었으며 총량은 704.41 mg/100 g으로 정량되었다. 유리아미노산 중 L-methionine이 121.12 mg/100 g으로 가장 높은 함량이었으며, 그 다음으로는 L-citrulline, sarcosine 및 1-methylhistidine이 각각 84.16 mg/100 g, 83.50 mg/100 g과 50.24 mg/100 g씩 함유되어 있었는데 이들 아미노산이 전체 아미노산 함량의 48% 이상을 구성하고 있어 주요 유리아미노산으로 확인되었다.

단백질의 질은 필수아미노산인 히스티딘, 이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트레오닌, 트립토판 및 발린의 함량으로 평가 될 수 있는데(Kim HR & Ahn JB 2014), 남해산 건조 고사리는 트립토판을 제외한 8개 필수아미노산을 함유하고 있고, 이들의 함량이 전체 유리아미노산 중 41%를 차지하고 있어 영양적인 측면에서 우수한 식품 소재임을 알 수 있었다. 고사리의 아미노산 함량에 대한 체계적인 보고는 찾기 어려운 실정으로 고사리의 영양학적 가치를 검증하기 위한 폭넓은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

4. 고사리 추출물 중 총 폴리페놀 화합물의 함량

고사리 물 및 50% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량을 측정된 결과(Table 4), 50% 에탄올 추출물에서 1,574.86 mgGAE/100 g으로 물 추출물의 1,240.24 mgGAE/100 g에 비해 더 높은 함량이었다.

고사리에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물들의 양은 섭취를 위한 조리과정에 따라 그 함량에 차이가 생기게 된다. 데치기 전 고사리의 총 폴리페놀 화합물의 함량은 53.50±0.63 mgGAE/100 g raw weight(RW)이던 것이 데치기 과정에서 조리수로 용출되어 19.54±0.12 mgGAE/100 g RW로 감소하였는데, 다진 파와 마늘 등의 양념을 첨가하여 볶은 후에는 96.11± 0.34 mgGAE/100 g RW으로 그 함량이 다시 증가하는 것으로 보고되어 있다(Park CH 등 2014). 건조 나물의 특성상 반드시 데친 후 건조하고, 조리를 위해 다시 데치거나 물에 불리는 과정을 거치게 되므로 조리과정을 통해 생리활성 물질의 손실을 최소화하

Table 4. Total polyphenol content in the water and 50% ethanol extract from dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae

Extract solvent	Total polyphenol contents (mgGAE/100 g)
Water	1,240.24±16.32
50% ethanol	1,574.86±18.31 ^{*)}

^{*)} Significantly increased, compared between water and 50% ethanol extract in the same concentration, by Student *t*-test at *p*<0.05.

거나, 보완할 수 있는 조리법이 연구되어야 할 것으로 생각된다.

폴리페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 갖는 것으로 알려져 있는데(Hyon JS & Kang SM 2010), 이는 phenolic hydroxyl기를 가지기 때문에 단백질을 비롯한 다른 거대 분자들과 쉽게 결합하여 항산화, 항염증, 항암 및 항고혈압 등의 다양한 생리적 기능을 나타내는 것으로 보고된 바 있다(Boo HO 등 2009, Park HJ & Kim GH 2014). 항산화 활성에 관여하는 주요 물질은 폴리페놀과 플라보노이드 성분이라고 보고되어 있는데(Kwon WY 등 2014), 이들 화합물의 함량과 항산화 활성간의 상호작용에 대한 많은 연구결과들에서 알 수 있듯이 식물체가 지니고 있는 폴리페놀 화합물의 함량을 조사함으로써 식물 유래 천연추출물의 항산화 활성을 탐색하는 일차적인 자료가 될 수 있을 것으로 판단된다.

5. 고사리 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성

짙은 보라색을 나타내는 안정한 라디칼인 DPPH는 전자 혹은 수소를 제공받으면 비라디칼로 전환되어 탈색되는 원리(Lee JM 등 2007)를 이용한 DPPH 라디칼 소거활성을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 고사리의 물과 50% 에탄올 추출물을 62.5, 125, 250, 500 및 1,000 µg/mL의 농도로 조절하여 측정된 결과, 모든 추출물에서 농도가 증가됨에 따라 유의적으로 그 활성이 증가하였다. 물 추출물보다는 50% 에탄올 추출물에서 활성이 더 높아 1,000 µg/mL 농도에서 라디칼 소거활성은 50% 에탄올 추출물은 60% 이상이었으나, 물 추출물의 활성은 50% 미만이었다.

제주도에서 자생하는 양치식물 중 난지성인 것들을 중

Table 5. DPPH radical scavenging activity in the water and 50% ethanol extract from dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae

Concentration (µg/mL)	DPPH radical scavenging activity (%)	
	Water Ex.	50% ethanol Ex.
62.5	2.73±0.72 ^a	5.74±1.43 ^{a*1)}
125	7.36±1.51 ^b	11.43±0.22 ^{b*}
250	13.77±1.00 ^c	20.66±0.14 ^{c*}
500	24.82±2.12 ^d	37.35±1.30 ^{d*}
1000	48.68±1.08 ^e	61.79±1.16 ^{e*}

¹⁾ Significantly increased, compared between water and 50% ethanol extract in the same concentration, by Student *t*-test at *p*<0.05.

^{a-e} Mean in the same extract with different superscripts are significantly different from each other by Duncan's multiple range test at *p*<0.05.

심으로 25종을 선정하여 생리활성을 확인한 결과, 10 mg/mL 농도에서 DPPH에 대한 전자공여능은 쇠고기(41.9%), 일색고사리(34.1%), 풀고사리(29.2%), 홍지네고사리(27.7%)가 비교적 활성이 높았는데, 이 중 일색고사리의 경우 일상 생활에서 차로 음용하며 항산화활성이 높은 것으로 알려진 차나무 잎의 전자공여능(30.9%)보다 활성이 더 높은 것으로 보고되어 있다(Oh SJ 등 2008). 식용 또는 약용하는 양치식물류의 지상부와 지하부 추출물을 조제하여 DPPH 라디칼 소거능을 RC₅₀ 값으로 산출한 결과 청나래고사리의 근경 추출물(98 mg/mL)과 고사리의 근경 추출물(107 mg/mL)은 ascorbic acid(26 mg/mL)에 비해서는 소거활성이 낮았으나 BHT(121 mg/mL)보다는 높았다고 보고되어 있다(Jeong JA 등 2007). 이상의 결과 및 본 연구 결과를 종합하여 볼 때 고사리는 전자공여활성이 우수한 식물류임을 알 수 있다.

In JP 등(2014)과 Hwang CR 등(2014a)의 보고에 따르면 라디칼 소거활성은 총 폴리페놀 함량과 양의 상관관계를 나타내는데, 천연식물에 함유된 폴리페놀 화합물은 유해한 라디칼에 수소를 공여하여 라디칼을 제거함으로써 체내의 산화를 억제하게 되므로 총 폴리페놀 화합물의 함량이 높을수록 항산화 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다(Song YS 등 2014). 본 연구에서도 총 폴리페놀 화합물의 함량이 더 높았던 50% 에탄올 추출물의 라디칼 소거활성이 더 높아 폴리페놀 화합물이 라디칼 소거활성에 기여하는 것으로 생각된다.

6. 고사리 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성

ABTS⁺⁺ 라디칼 소거활성 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS⁺⁺ free radical이 시료 내의 항산화 물질에 의해 양이온이 제거되어 라디칼 특유의 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법으로(Choi YM 등 2003), DPPH 라디칼 소거능과 함께 항산화 활성을 스크리닝 하는데 많이 이용되고 있으며 ABTS⁺⁺ 라디칼 탈색 반응은 단시간에 측정할 수 있고 소수성과 친수성 모두에 적용 가능하여 활성이 더 민감하게 나타난다(Lee EK 등 2014). ABTS 라디칼은 양이온 라디칼인 반면 DPPH 라디칼은 자유 라디칼로 기질의 성질이 다르며(Lee SO 등 2005), 추출물 중 항산화 물질의 특성에 따라 결합정도가 다를 수 있어(Yi MR 등 2014), 추출물의 항산화 활성을 측정할 때에는 두 종류의 라디칼 소거활성을 모두 측정하여 비교할 필요가 있다고 보고되어 있다(Cho YJ 등 2008).

고사리 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성을 측정된 결과는 Table 6과 같이 시료의 농도가 증가함에 따라 그 활성이 역시 증가하는 경향이었으며 DPPH 라디칼 소거활성의 결과와 같이 고사리 추출물의 농도가 증가하면서 ABTS 라디칼 소거활성이 유의적으로 증가하였다. 이는 발효옷 추출물의 농도가 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL로

Table 6. ABTS radical scavenging activity in the water and 50% ethanol extract from dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae

Concentration (µg/mL)	ABTs radical scavenging activity (%)	
	Water Ex.	50% ethanol Ex.
62.5	2.09±0.32 ^a	4.01±0.93 ^{a*1)}
125	5.20±0.92 ^b	6.24±0.64 ^b
250	10.21±0.51 ^c	12.92±0.89 ^{c*}
500	20.79±1.10 ^d	26.05±0.44 ^{d*}
1000	38.70±0.61 ^e	49.71±0.29 ^{e*}

¹⁾ Significantly increased, compared between water and 50% ethanol extract in the same concentration, by Student *t*-test at *p*<0.05.

^{a-e} Mean in the same extract with different superscripts are significantly different from each other by Duncan's multiple range test at *p*<0.05.

증가할수록 ABTS 라디칼 소거활성이 유의적으로 증가하고 DPPH 라디칼 소거활성 또한 유의적으로 증가한다는 Rha YA 등(2014)의 연구결과와 일치하였다. 모든 농도에서 물 추출물에 비하여 50% 에탄올 추출물에서 라디칼 소거활성이 더 우수하였으며, 1,000 µg/mL 농도에서 물 추출물의 활성은 38.70%였고, 50% 에탄올 추출물의 활성은 49.71%였다.

7. 고사리 추출물의 xanthin oxidase 저해 활성

Xanthin oxidase(XO)는 purine 대사에 관여하는 효소(Seo SJ & Kim NW 2014)로서 xanthine 또는 hypoxanthine의 산소를 떼어내면서 과산화수소(H₂O₂)를 생성하게 되고, 나머지 골격이 uric acid를 형성하여 혈장 내에 과량 존재하게 되면 골절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍과 신장에 침착되어 신장질환을 일으키는 효소로 알려져 있다(Kwon YR 등 2014). XO 저해 활성은 유리 라디칼의 생성 억제와도 상관성이 높아 항산화 활성을 측정하는 방법으로도 사용되므로, 생물학적으로 중요한 의의를 가진다고 할 수 있다(Cho YJ 2014, Hwang CR 등 2014b).

고사리 물과 50% 에탄올 추출물을 125, 250, 500, 1,000 µg/mL의 농도로 조절하여 XO 저해 활성을 측정한 결과(Table 7), 시료의 농도가 증가할수록 그 활성 또한 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 1,000 µg/mL 농도에서 물 추출물의 활성은 35.40%였고, 50% 에탄올 추출물은 40.33%였으며 모든 농도에서 물 추출물 보다는 에탄올 추출물의 저해 활성이 더 높은 것으로 나타났다.

29종의 한약재를 대상으로 XO 저해활성을 실험한 결과, 황금 추출액의 활성이 가장 높았는데 이는 황금에 폴리페놀 화합물의 함량이 높아 항산화 활성을 높이며, 체

Table 7. Xanthin oxidase inhibition activity in the water and 50% ethanol extract from dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae

Concentration (µg/mL)	Xanthin oxidase inhibition activity (%)	
	Water Ex.	50% ethanol Ex.
125	7.95±0.52 ^a	11.78±0.66 ^{a*1)}
250	16.36±0.43 ^b	20.24±0.15 ^{b*}
500	22.97±0.37 ^c	28.13±0.32 ^{c*}
1000	35.40±0.39 ^d	40.33±0.40 ^{d*}

¹⁾ Significantly increased, compared between water and 50% ethanol extract in the same concentration, by Student *t*-test at *p*<0.05.

^{a-d} Mean in the same extract with different superscripts are significantly different from each other by Duncan's multiple range test at *p*<0.05.

내의 활성 산소종을 줄임과 동시에 상관성이 높은 XO 저해활성도 높여 과다한 요산에 의한 질병의 예방과 치료에 효과적임을 시사한다는 Shin YJ 등(2013)의 보고가 있는데, 본 연구의 결과에서도 항산화 활성이 높았던 50% 에탄올 추출물에서 XO 저해활성이 더 높아 일치하는 경향이였다.

8. 고사리 추출물의 α-glucosidase 저해 활성

α-Glucosidase는 소장 of brush-border membrane에 존재하여 α-amylase에 의해 분해된 당질 중 엿당을 최종적으로 단당류인 포도당으로 전환시키는 효소로서, α-glucosidase 활성을 저해시킴으로써 당질의 가수분해를 방해하고 포도당의 흡수과정을 지연시켜 식후 혈당 농도를 조절할 수 있다(Hong JH 등 2008, Lee JN 등 2014). 수많은 약용 식물들은 기존의 약물보다 인체에 부작용이 적고 치료 효과가 높아서 대체 약품으로 개발하려는 목적으로 조사되고 있는데, 식물에 존재하는 폴리페놀 화합물은 단백질과 결합하여 탄수화물 가수분해 효소인 α-glucosidase를 저해한다고 알려져 있다(Kim JS 2014).

고사리 추출물의 α-glucosidase 저해 활성을 측정한 결과는 Table 8과 같다. 물 추출물은 모든 농도에서 10% 미만의 낮은 저해 활성을 보인 반면, 50% 에탄올 추출물에서는 농도 의존적으로 그 활성이 증가하였다. 또한, 1,000 µg/mL 농도에서 50% 에탄올 추출물의 활성은 30.04%로 물 추출물보다 월등히 높은 저해 효과를 가지는 것으로 나타났다.

Kim NR 등(2013)이 고사리 등 양치식물 9종의 α-glucosidase 억제활성을 분석한 결과, 대조구인 acarbose의 IC₅₀ 값이 1,413.70 µg/mL일 때 고사리 성엽과 근경의 IC₅₀ 값은 각각 539.95 µg/mL와 205.84 µg/mL로 고사리의 α-

Table 8. α -Glucosidase inhibition activity in the water and 50% ethanol extract from dried bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) harvested in Namhae

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	α -Glucosidase inhibition activity (%)	
	Water Ex.	50% ethanol Ex.
125	ND ¹⁾	4.23 \pm 0.92 ^a
250	ND	6.59 \pm 0.34 ^b
500	2.99 \pm 0.24 ^a	9.86 \pm 0.75 ^{c*2)}
1000	3.49 \pm 0.09 ^b	30.04 \pm 0.61 ^{d*}

¹⁾ ND: Not detected.

²⁾ Significantly increased, compared between water and 50% ethanol extract in the same concentration, by Student *t*-test at $p < 0.05$.

^{a-d} Mean in the same extract with different superscripts are significantly different from each other by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

glucosidase 억제활성은 acarbose에 비해 더 우수한 것으로 보고되어 있다.

IV. 결론

고사리는 고생대 데본기에 출현하여 오랜 기간 환경에 적응하면서 살아온 식물군으로 외부 스트레스를 극복하고 적응하기 위해 다양한 2차 대사산물을 가지고 있을 것으로 기대되므로 본 연구에서는 남해산 건조 고사리의 일반성분을 분석하고 용매별 추출물을 제조하여 항산화 활성을 확인하였다. 수분, 회분, 조단백질, 조지방 함량은 각각 10.79 \pm 0.31%, 6.16 \pm 0.04%, 33.20 \pm 0.40%, 2.45 \pm 0.27%였다. 무기물은 6종이 검출되었는데 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 나트륨, 망간 및 철의 순으로 함량이 높았고, 총량은 36,720.1 \pm 495.7 mg/kg이었으며 칼륨의 함량이 월등히 높아 전체 무기물 함량의 86.85%를 차지하였다. 유리아미노산은 총 23종이 검출되었으며 L-methionine이 121.12 mg/100 g으로 가장 많이 함유되어 있었고 L-methionine, L-citrulline, sarcosine 및 1-methylhistidine이 전체 아미노산 함량의 48% 이상을 구성하고 있어 주요 유리아미노산으로 확인되었다. 고사리 물 및 50% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 화합물의 함량을 측정한 결과, 50% 에탄올 추출물은 1,574.86 mgGAE/100 g으로 물 추출물의 1,240.24 mgGAE/100 g에 비해 더 높았다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 폴리페놀 화합물의 함량과 비례하여 50% 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 활성이 높았으며, xanthin oxidase의 저해 효과 또한 동일한 경향을 나타내었다. α -Glucosidase 저해 활성은 물 추출물에서 10% 미만의 낮은 저해 활성을 보인 반면, 50% 에탄올 추출물에서는 물 추출물 보다 월등히 저해 효과가 높았다. 이러한

결과를 바탕으로 고사리는 인체 내에서도 유용한 성분으로 작용할 것으로 기대되며 항산화제, 당뇨병 치료제로서의 가능성이 있을 것으로 사료된다.

References

- AOAC. 2000. Official method of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. pp 17-24
- Boo HO, Lee HH, Lee JW. 2009. Different of total phenolics and flavonoids, radical scavenging activities and nitrite scavenging effects of *Momordica charantia* L. according to cultivars. Korean J Med Crop Sci 17(1):15-20
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181(4617):1199-1200
- Cho YJ. 2014. Antioxidant, angiotensin converting enzyme and xanthin oxidase inhibitory activity of extracts from *Saururus chinensis* leaves by ultrafine grinding. Korean J Food Preserv 21(1):75-81
- Cho YJ, Ju IS, Yun DH, Chun SS. 2008. Biological activity of extracts from garden sage (*Salvia officinalis* L.). J Appl Biol Chem 51(6):296-301
- Choi YM, Kim MH, Shin JJ. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. J Korean Soc Food Sci Nutr 32(5):723-727
- Friedman M, Levin CE. 2008. Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide. J Agric Food Chem 56(15):6113-6140
- Hong JH, Kim HJ, Choi YH, Lee IS. 2008. Physiological activities of dried persimmon, fresh persimmon and persimmon leaves. J Korean Soc Food Sci Nutr 37(8):957-964
- Hwang CR, Seo WT, Bae WY, Kang MJ, Shin JH. 2014a. Physicochemical characteristics and biological activities of *Artemisia argyi* H. J Life Sci 24(4):377-385
- Hwang CR, Tak HM, Kang MJ, Suh HJ, Kwon OO, Shin JH. 2014b. Antioxidant and antiobesity activity of natural color resources. J Life Sci 24(6):633-641
- Hyon JS, Kang SM. 2010. Antioxidative activities of extracts from dried *Citrus sunki* and *C. unshiu* peels. J Korean Soc Food Sci Nutr 39(1):1-7
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 26(1):1231-1237
- In JP, Shin JM, Hur SJ, Lee SK. 2014. Antioxidative, antimicrobial and anticytotoxic activities of seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(7):980-988
- Jeong JA, Kwon SH, Lee CH. 2007. Screening for antioxidative activities of extracts from aerial and under ground parts of some edible and medicinal ferns. Korean J Plant Res 20(2):

- 185-192
- Jo JS. 1978. Physico-chemical properties of bracken (*Pteridium aquilinum*) root starch. Korean J Food Sci Technol 10(1): 57-62
- Jun HI, Kim YA, Kim YS. 2014. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. fruits. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(3):381-388
- Kim HR, Ahn JB. 2014. Analysis of free amino acids and polyphenol compounds from lycopene variety of cherry tomatoes. Korean J Culinary Res 20(3):37-49
- Kim JS. 2014. Antioxidant, α -glucosidase inhibitory and antimicrobial activities of extracts from *Maesa japonica* (Thunb.). Korean J Med Crop Sci 22(4):289-294
- Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. 2008. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. Phytochem 69(16):2820-2825
- Kim NR, Chi LW, Lee CH. 2013. Alpha-glucosidase inhibition activity of methanol extracts obtained from nine pteridophyte species native to Korea. Korean J Plant Res 26(4): 411-416
- Kim NR, Kwon HJ, Cho JS, Lee CH. 2012. Antioxidant activities of fractions obtained from *Dryopteris crassirhizoma*, *D. nipponensis* and *Polystichum lepidocaulon*. Korean J Plant Res 25(2):176-183
- Kwon WY, Lee EK, Yoon JA, Chung KH. 2014. Quality characteristics and biological activities of vinegars added with young leaves of *Akebia quinata*. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(7):989-998
- Kwon YR, Cho SM, Hwang SP, Kwon GM. 2014. Antioxidant, physiological activities, and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Portulaca oleracea* extracts with different extraction methods. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(3):389-396
- Lee EK, Kwon WY, Lee JW. 2014. Quality characteristics and antioxidant activity of vinegar supplemented added with *Akebia quinata* fruit during fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(8):1217-1227
- Lee IS, Choi JK. 2011. Physicochemical properties of fernbracken *jangachi* during Korean traditional pickling process. J East Asian Soc Dietary Life 21(4):545-552
- Lee JM, Chang PS, Lee JH. 2007. Comparison of oxidative stability for the thermally-oxidized vegetable oils using a DPPH method. Korean J Food Sci Technol 39(2):133-137
- Lee JN, Kim HE, Kim YS. 2014. Anti-diabetic and anti-oxidative effects of *Opuntia humifusa* cladodes. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(5):661-667
- Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. J Korean Soc Food Sci Nutr 34(2):139-147
- Lee SS, Jeong JG, Choi CH, Kim CH. 2008. A herbarological study on the plants of pteridaceae in Korea. Kor J Herbol 23(3): 33-40
- Lee SY, Park KY, Park YH. 2010. Nutrient contents of bracken (*Pteridium aquilinum* L.) and soil chemical properties of Its habitat in the coastal area. Korean J Soil Sci Fert 43(5): 631-636
- Ministry of Food and Drug Safety. 2011. Food and nutrient data system. Available from: <http://www.foodnara.go.kr/kisna/index.do?nMenuCode=17>. Accessed January 03, 2015
- Oh SJ, Hong SS, Kim YH, Koh SC. 2008. Screening of biological activities in fern plants native to Jeju island. Korean J Plant Res 21(1):12-18
- Park CH, Kim KH, Yook HS. 2014. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) according to cooking methods. Korean J Food Nutr 27(3):348-357
- Park HJ, Kim GH. 2014. Use of oriental melon peel extracts to maintain the quality of *Agaricus bisporus* during its storage. Korean J Food Preserv 21(4):473-482
- Ragazzi E, Veronese G. 1973. Quantitative analysis of phenolic compounds after thin-layer chromatographic separation. J Chromatogr 77(2):369-375
- Rha YA, Choi MS, Park SJ. 2014. Antioxidant and anti-adipogenic effects of fermented *Rhus verniciflua*. Korean J Culinary Res 20(3):137-147
- Seo SJ, Kim NW. 2014. Antioxidant activities of extracts from leaves and stems of *Achyranthes japonica*. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(7):972-979
- Shin SL, Lee CH. 2010. Antioxidant effects of the methanol extracts obtained from aerial part and rhizomes of ferns native to Korea. Korean J Plant Res 23(1):38-46
- Shin YJ, Hwang JM, Lee SC. 2013. Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of hot water extracts of medicinal herbs. J Korean Soc Food Sci Nutr 42(10):1712-1716
- Shin YS, Lee MJ, Lim YS, Lee ES, Ahn JH, Han YY, Lim JH, Park SD, Chai JH. 2012. Effect of culture methods on growth and mineral contents in Chinese toon (*Cedrela sinensis* A.J. uss.). Korean J Bio-Env Control 21(4):392-397
- Song WY, Sung BH, Kang SK, Choi JH. 2010. Effect of water extracts from *Phellinus linteus* on lipid composition and antioxidative system in rats fed high fat high cholesterol diet. J Korean Soc Food Sci Nutr 39(1):71-77
- Song YS, Chu GM, Jang SH, Goo AJ. 2014. Antioxidant activity of bamboo powder and its immunoreactivity in the pig. Korean J Vet Serv 37(2):111-122
- Stirpe F, Corte Della E. 1970. The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion of type D (dehydrogenase) into type O (oxidase) by a thermolabile factor, and reversibility by dithioerythritol. BBA - Enzymology 212(1):195-197
- Yi MR, Hwang JH, Oh YS. 2014. Quality characteristics and antioxidant activity of immature citrus unshiu vinegar. J Korean Soc Food Sci Nutr 43(2):250-257

Received on Jan.9, 2015/ Revised on May14, 2015/ Accepted on May15, 2015