

저장에 따른 상추의 카로티노이드와 안토시아닌 함량 및 항산화능 변화

박우성¹ · 김혜진¹ · 정혜진¹ · 천만석² · 김성태³ · 서승연³ · 임성호³ · 정영학³ · 천지원⁴ · 안선경³ · 안미정¹

¹경상대학교 약학대학, 약학연구소, ²한국과학영재학교
³경남과학고등학교, ⁴경상대학교사범대학부설고등학교

Changes in Carotenoid and Anthocyanin Contents, as well as Antioxidant Activity during Storage of Lettuce

Woo Sung Park¹, Hye Jin Kim¹, Hye-Jin Chung¹, Man Seog Chun², Seong Tae Kim³, Seung Yeon Seo³, Seong Ho Lim³, Yeong Hak Jeong³, Jeewon Chun⁴, Sun Kyoung An³, and Mi-Jeong Ahn¹

¹College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Gyeongsang National University

²Korea Science Academy, ³Gyeongnam Science High School

⁴Gyeongsang National University High School

ABSTRACT Lettuce (*Lactuca sativa*) is an important dietary leafy vegetable that is primarily consumed as a fresh or salad material. It has a number of cultural varieties with green and/or red color. Carotenoids and anthocyanins are known to be responsible for these two colors, respectively. In this study, carotenoid and anthocyanin contents were determined to evaluate the stability of these functional pigments during storage at home. Analyses were carried out at the beginning, 3, 6, 9, and 12 days after harvest. In the course of storage at room temperature, total carotenoid levels rapidly decreased, and the decrease was found to be greatest during the first 3 days. Meanwhile, carotenoid level slightly changed within the first 9 days at 4°C after harvest. This result suggests that carotenoids in green lettuce are more stable when refrigerated than at room temperature. Meanwhile, total anthocyanin content in red lettuce did not significantly decrease during storage at room temperature and 4°C, which indicates that anthocyanins have higher stability during storage compared with carotenoids in green lettuce. Anthocyanin extract exhibited higher antioxidant activity than carotenoid extract based on 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging assay. Antioxidant activity of anthocyanin extract may also be estimated directly by the presence of another potent hydrophilic antioxidant compound, which is ascorbic acid in this extract. In addition, anthocyanin extract showed about a 5-fold higher amount of anthocyanins than carotenoids in the carotenoid extract. The high correlation between carotenoid content with ABTS radical scavenging activity indicates that ABTS assay is more suitable than 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging assay for detecting antioxidant capacity of carotenoid extract from lettuce.

Key words: *Lactuca sativa*, carotenoids, anthocyanins, storage

서 론

카로티노이드는 탄소 40개가 기본이 되어 이루어진 천연 색소로 식물 및 일부 미생물에 의해서 합성된다. 노란색~빨간색을 나타내며, 식물에서는 색소체에서 합성되어 저장되는데 광합성의 보조색소로서 광흡수에 관여할 뿐만 아니라 과다한 빛에너지로부터 식물세포를 보호하는 역할도 하고 있다. 또한 광합성을 하지 않는 과일이나 종자, 꽃과 같은 기관에서는 잡색체에 축적되어 여러 가지 색깔을 나타내게 하여 번식을 위한 동물 유인의 한 도구로써 사용되며, 식물

호르몬인 abscisic acid 합성의 전구물질이다(1). 한편 카로티노이드를 생합성하지 못하기 때문에 음식을 통해서 얻어야 하는 사람이나 동물의 건강유지에도 카로티노이드는 유익한 물질이다(2). 즉 이들 색소는 생체 내에서 항산화제의 역할을 수행하며(3), 피부노화나 심혈관계 질환, 몇 가지 형태의 암을 비롯한 백내장이나 황반변성과 같은 노화와 관련된 안과질환을 예방한다는 연구 결과가 있다(4). 일반적으로 카로티노이드는 지용성이며 구조적으로 공액이중결합을 많이 가지고 있어 빛이나 산소, 온도 등에 불안정하다. 특히 산성조건에서 쉽게 분해된다.

안토시아닌 색소는 자연계에 존재하는 수용성 색소 중 가장 큰 그룹을 이루고 있으며 대부분의 고등식물에 함유되어 있다. 주로 과일과 꽃에 존재하며 붉은색, 자주색, 푸른색 등을 띠고 있다. 카로티노이드와 마찬가지로 빛이나 산소, 열에는 불안정하나 카로티노이드와는 반대로 산성조건에서

Received 1 June 2015; Accepted 13 August 2015

Corresponding author: Mi-Jeong Ahn, College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 52828, Korea
E-mail: amj5812@gnu.ac.kr, Phone: +82-55-772-2425

안정한 편이다(5). 강한 항산화 활성과 항돌연변이 활성을 가지고 있으며, 이외에도 항염증 작용, 항미생물 작용, 혈소판 응집 억제 작용, 기억력 감퇴 개선 작용 등이 알려져 있다(6,7).

상추(*Lactuca sativa* L.)는 국화과(Compositae)에 속하는 1년생 근생엽의 초본식물로 지상부는 주로 쌈채소 또는 샐러드로 많이 이용되고 있다. 일반적으로 상추의 수분 함량은 95%이고 비타민 A, B, C, E 및 다량의 철분과 섬유소를 함유하고 있으며, 항염증 작용, 항산화 작용, 진정 작용 등의 생리활성이 알려져 있다(8,9). 상추에 함유되어 있는 기능성 색소로는 카로티노이드 성분과 적상추 중의 안토시아닌 성분이 있다(9,10). 최근에는 텃밭의 활성화로 가정에서 상추를 재배하여 섭취하는 경우가 증가하고 있으며, 가정에서는 상추의 수확 또는 구입 후 주로 실온 또는 냉장상태에서 보관하면서 소비하고 있다. 상추의 저장 중 기능성 색소 함량 변화에 대한 기존 연구로는 high-density polyethylene film 포장처리가 잎상추에 미치는 영향(11), 품종 및 재배시기 등이 잎상추의 저장수명 및 품질에 미치는 영향(12) 등이 있으나 주로 총 카로티노이드 함량 변화만을 다루고 있으며, 유통과정이나 저온저장 중의 함량 변화에 중점을 두고 있다.

따라서 본 실험에서는 우리나라에서 주로 재배되고 있는 청상추 품종인 청치마상추와 적상추 품종인 적치마상추에 대하여 수확 후 가정에서의 일반적인 저장조건과 저장기간에 따라 상추 중의 카로티노이드와 안토시아닌의 함량 변화를 각각 관찰하였다. 즉 예비실험에서 안토시아닌 성분은 검출되지 않았으나 적치마상추보다 높은 카로티노이드 함량을 보인 청치마상추에 대하여 카로티노이드 함량 변화를 HPLC-DAD를 통하여 분석하였으며, 안토시아닌 성분이 검출된 적치마상추에 대하여 안토시아닌 함량 변화를 UV/Vis Spectrophotometer를 통하여 분석하였다. 그리고 이들 상추의 카로티노이드와 안토시아닌 함유 추출물의 항산화 실험을 수행하여 기능성 색소 함량과 항산화 활성과의 관계를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

경상남도 진주시 진성면 경남과학고등학교 부속농장에서 재배한 청치마상추와 적치마상추를 2014년 7월에 채취하여 수확한 당일(0일) 및 수확한 후 3, 6, 9, 12일간 냉장(4°C) 및 실온 조건에서 각각 보관하였다. 즉 수확한 상추를 수돗물로 씻은 다음 물기를 최대한 제거하고 실온저장의 경우에는 신문지에 싸서 종이상자에 보관하였고, 냉장저장의 경우에는 가용용 비닐봉투에 넣어 입구를 약간 열어둔 채 4°C로 맞춘 냉장고에서 보관하였다. 보관한 상추는 시료당 3배수를 취하여 동결건조(FDB-5503, Operon, Kimpo, Korea)한 후 -80°C에 보관한 다음 실험에 사용하였다.

시약

카로티노이드 표준물질로 사용한 violaxanthin, lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, α -carotene, 9Z- β -carotene, all-*trans*- β -carotene(β -carotene), 13Z- β -carotene은 Indofine Chemical(Hillsborough, NJ, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. Chlorophyll a와 b, anthocyanin 표준물질로 사용한 cyanidin-3,5-diglucoside는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다. HPLC용 메탄올과 물은 Fisher Scientific(Santa Clara, CA, USA)의 제품을 사용하였으며, methyl-*tert*-butyl-ether(MTBE)는 J.T.Baker(Center Valley, PA, USA) 제품을 사용하였다. 항산화 활성 측정에서 양성대조군으로 사용한 *tert*-butylhydroxytoluene(BHT)과 Trolox는 Sigma-Aldrich Co.의 제품을 사용하였으며, 기타 시약은 특급시약을 사용하였다.

카로티노이드 성분의 분석

동결건조 한 상추 시료 250 mg을 미리 차게 해둔 유발에 넣은 다음 seasand와 NaHCO₃ 및 Na₂SO₄를 소량씩 넣고, 약 15 mL의 아세톤(0.01% BHT)을 2~3회 나누어 가하면서 유봉으로 곱게 갈아주었다. 추출액을 취해서 15 mL conical tube에 옮겨 담아 10분간 3회 초음파 추출하였다. 초음파 추출 후 원심분리기(Eppendorf 5430R, Hamburg, Germany)를 이용하여 4°C, 5,000 rpm에서 10분간 원심분리를 실시하여 얻은 상정액을 0.45 μ m membrane filter (PTFE, 13 mm, Whatman, Florham Park, NJ, USA)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 10배 농축하고 최종부피를 같게 맞춘 후 HPLC를 실시하였다. 모든 실험과정은 최대한 빛을 줄인 상태에서 실시하였다.

카로티노이드 성분의 정량은 Ha 등(4)의 연구에서 보고된 외부표준법에 의하여 정량하였다. 즉 각각의 표준물질을 0.01% BHT가 함유된 아세톤, 메틸렌클로라이드에 녹여서 최종농도가 100 μ g/mL가 되도록 하였고, 아세톤으로 serial dilution 하여 최종농도가 100, 50, 25, 12.5, 6.3, 3.1, 1.6, 0.8 μ g/mL인 표준용액을 만든 후 HPLC를 실시하여 검량선(calibration curve)을 작성하였다.

HPLC 분석에는 온도조절이 가능한 Agilent 1260 HPLC system(Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany)을 사용하였으며, 칼럼은 YMC C₃₀ carotenoid column(3 μ m, 4.6 \times 250 mm, YMC Co., Kyoto, Japan)을 사용하였다. 전개조건으로는 A용액으로는 메탄올 : MTBE : 물=81:15:4를, B용액으로는 메탄올 : MTBE : 물=6:90:4를 사용하여 A용매를 100%로 하여 15분간 흘려준 후, 35분 동안 서서히 비율을 증가시켜 B용매가 100%가 되도록 흘려주었다. 유속은 분당 0.7 mL가 되도록 흘려주었으며, 칼럼의 온도는 30°C로 유지하였고 시료의 주입량은 10 μ L로 하였다. DAD 검출기와 표준용액의 흡수스펙트럼을 사용하여 각각의 카로티노이드 성분을 확인하였으며, 450 nm에서 검출한 각 피크

의 면적을 정량에 사용하였다.

안토시아닌 성분의 분석

안토시아닌은 빛과 온도에 불안정하기 때문에 카로티노이드 성분 분석의 경우와 같이 최대한 빛을 차단한 저온의 상태에서 분석하였다(13). 즉 동결건조 한 상추 시료 250 mg을 1% 염산-메탄올 용액 15 mL를 사용하여 10분간 3회 초음파 추출하였고, 추출액을 원심분리기를 이용하여 4°C, 5,000 rpm에서 15분간 원심분리를 실시하였다. 상정액을 0.45 µm membrane filter(PTFE, 13 mm, Whatman)로 여과하여 얻은 안토시아닌 추출물 100 µL를 900 µL의 50 mM KCl buffer(pH 1.0)와 50 mM sodium acetate buffer(pH 4.5)에 각각 혼합한 후, 520 nm와 700 nm에서 UV/Vis 검출기(Optizen POP, Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 각각의 흡광도를 측정하였으며, 총 안토시아닌의 함량은 아래의 식을 이용하여 구하였다.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH 1.0}} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH 4.5}}$$

$$\text{Anthocyanin } (\mu\text{g/mL}) = (A \times \text{MW} \times 1000 / \epsilon) \times \text{dilution factor}$$

$$\epsilon = 30,175, \text{ MW of cyanidin-3,5-diglucoside} = 611$$

DPPH 라디칼 소거 활성 측정

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH; Sigma-Aldrich Co.)을 메탄올에 녹여 0.2 mM 농도로 만들어 96 well plate에 각각 180 µL를 넣고, 앞에서 제조한 카로티노이드 추출물을 20 µL(최종농도, 21.3 mg·FW(fresh weight)/mL)씩 넣어주었다. 실온에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader(PerkinElmer, Victor X5, Turku, Finland)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다(14). 라디칼 소거 활성 정도는 Trolox(Sigma-Aldrich Co.)를 표준물질로 하여 µmol Trolox equivalent(TE)/g·FW로 나타내었다.

FRAP(ferric reducing antioxidant power)를 이용한 항산화능 측정

Fe³⁺ 이온이 Fe²⁺ 이온으로 환원되어 짙은 푸른색의 ferrous-tripyridyltriazine 복합체를 형성하는 반응을 이용하여 안토시아닌 추출물의 항산화능을 측정하였다(15,16). 즉 300 mM sodium acetate buffer(pH 3.6)(Junsei, Saitama, Japan) 용액, 40 mM HCl(Matsuno Chem., Osaka, Japan) 용액으로 제조한 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-

triazine, Fluka, Buchs, Switzerland)와 20 mM FeCl₃·6H₂O(Sigma, Shanghai, China) 용액을 각각 10:1:1(v/v/v)로 혼합하여 FRAP 시약을 만들었다. 96 well plate에 FRAP 시약 180 µL와 안토시아닌 추출물 20 µL를 가하고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 항산화능은 FeSO₄·7H₂O(Junsei)를 표준물질로 하여 µmol FeSO₄ equivalent/g·FW로 표시하였다.

ABTS 라디칼 소거 활성 측정

2.45 mM potassium persulfate(Sigma-Aldrich Co., Tokyo, Japan) 에탄올 용액에 최종농도가 7 mM 되게끔 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS; Sigma-Aldrich Co., Munich, Germany)를 가한 후, 차광조건 하에 4°C에서 12시간 반응시켜 ABTS^{•+} 라디칼 용액으로 만들었다(17). 990 µL의 ABTS^{•+} 라디칼 용액에 10 µL의 시료액(최종농도, 2.13 mg FW/mL)을 가하고 30°C에서 5분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거 활성 정도는 Trolox를 표준물질로 하여 µmol TE/g·FW로 나타내었다.

통계처리

성분 분석과 항산화 활성에 대한 결과는 3반복을 통하여 얻은 평균값±표준편차로 나타내었으며, Microsoft Excel 2010 software(Microsoft, Redmond, WA, USA)의 one-way analysis of variance(ANOVA) 통계처리 방법을 사용하여 실험군 간을 비교하였다. 신뢰구간 P<0.05%의 값으로 통계적인 유의성을 인정하였다. 상관관계 분석에는 IBM SPSS Statistics 21.0(Armonk, NY, USA) 프로그램을 사용하였다.

결과 및 고찰

청치마상추 중의 카로티노이드 함량 변화

지금까지 국내산 상추품종에 대하여 총 카로티노이드 함량 외에 카로티노이드 성분에 대하여 함량 분석한 연구는 보고된 바 없으며, 상추의 상온보관 중 카로티노이드 함량 변화에 대한 연구도 보고된 바 없다. 따라서 저장기간과 저장방법에 따른 국내산 청치마상추 중의 카로티노이드 함량을 분석하였다. 먼저 카로티노이드 표준용액의 HPLC 크로마토그램으로부터 얻은 검량선(Table 1)을 사용하여 각 시

Table 1. Linear range and correlation coefficients of calibration curves

Carotenoids	Range (µg/mL)	Slope (a) ¹⁾	Intercept (b) ²⁾	Regression (r ²)	LOD (ng)
Violaxanthin	0.02 ~ 12.5	100.17	6.50	0.9987	~10
Lutein	0.02 ~ 12.5	165.82	-30.61	0.9980	~10
Zeaxanthin	0.02 ~ 12.5	135.59	-14.19	0.9982	~10
13Z-β-Carotene	0.02 ~ 25	128.53	-14.95	0.9993	~10
All-trans-β-carotene	0.02 ~ 50	130.00	-15.50	0.9997	~10
9Z-β-Carotene	0.02 ~ 25	122.66	-4.09	0.9999	~10

^{1),2)}Slope and intercept represent *a* and *b* in *Y=ax+b* linear model. *Y* means peak area and *x*, concentration.

료 중의 카로티노이드에 해당하는 피크의 면적에 대하여 함량을 구하였다(Table 2). 여섯 가지 표준물질 모두 0.02~12.5/25/50 µg/mL의 농도구간에서 r^2 값이 모두 0.998 이상으로 높은 직선성을 나타내었으며, 평균회수율은 83.5~108.4%였다. 검출한계(limit of detection, LOD)는 모든 표준물질에 대하여 약 10 ng이었다. HPLC 크로마토그램에서 각 머무름시간(retention time)에 나타나는 피크의 확인은 표준용액 중의 각 카로티노이드 표준물질의 머무름시간과 비교하였으며, 각 피크의 스펙트럼을 표준물질의 스펙트럼

과 비교하여 각 카로티노이드 성분으로 동정하였다. 즉 청치마상추의 HPLC 크로마토그램에서 카로티노이드 성분 외에 chlorophyll a와 b에 해당하는 피크도 관찰되었는데, 카로티노이드 성분들의 스펙트럼의 경우에는 Fig. 1의 all-*trans*-β-carotene의 스펙트럼에서 440과 470 nm 근처에서 두 개의 흡수극대를 보이는데 반하여, chlorophyll의 경우에는 chlorophyll b의 경우에서처럼 440 nm 근처에서 한 개의 흡수극대를 보이며 600 nm보다 큰 파장에서도 흡광을 보였으므로 카로티노이드 성분에 의한 피크와 명확하게 구

Table 2. Carotenoid contents in green lettuce¹⁾

Samples		Contents (mg/100 g·FW (fresh weight))							
Keeping methods	Days ²⁾	Violaxanthin	Lutein	Zeaxanthin	13Z-β-Carotene	All- <i>trans</i> -β-carotene	9Z-β-Carotene	Others	Total
Room temperature	0	1.95±0.39 ^{a3)}	2.16±0.12 ^a	0.05±0.01 ^a	0.11±0.03 ^a	1.96±0.14 ^a	0.28±0.01 ^a	1.90±0.19 ^a	8.41±0.90 ^a
	3	1.13±0.10 ^b	1.53±0.08 ^b	0.06±0.03 ^a	0.12±0.02 ^a	1.04±0.06 ^b	0.25±0.06 ^a	1.29±0.01 ^b	5.42±0.35 ^b
	6	0.71±0.18 ^c	0.78±0.07 ^c	0.03±0.00 ^b	0.11±0.01 ^a	0.76±0.05 ^b	0.21±0.02 ^a	0.94±0.03 ^c	3.54±0.36 ^c
	9	0.47±0.02 ^d	0.64±0.06 ^c	0.02±0.00 ^b	0.09±0.01 ^a	0.46±0.05 ^c	0.16±0.03 ^b	0.62±0.01 ^d	2.46±0.17 ^d
	12	0.46±0.02 ^d	0.50±0.06 ^c	0.03±0.01 ^b	0.10±0.01 ^a	0.48±0.02 ^c	0.17±0.01 ^b	0.57±0.04 ^d	2.30±0.17 ^d
Refrigeration	3	2.29±0.41 ^a	1.89±0.17 ^a	0.04±0.01 ^a	0.16±0.02 ^a	1.65±0.13 ^a	0.29±0.04 ^a	2.03±0.07 ^a	8.35±0.85 ^a
	6	2.59±0.45 ^a	2.16±0.10 ^a	0.05±0.01 ^a	0.16±0.02 ^a	1.82±0.06 ^a	0.31±0.04 ^a	2.14±0.05 ^a	9.24±0.73 ^a
	9	2.50±0.65 ^a	1.87±0.11 ^a	0.05±0.02 ^a	0.16±0.02 ^a	1.21±0.19 ^a	0.31±0.04 ^a	2.25±0.00 ^a	8.94±1.02 ^a
	12	1.27±0.17 ^b	1.71±0.08 ^a	0.04±0.01 ^a	0.13±0.02 ^a	0.70±0.01 ^b	0.19±0.05 ^b	0.85±0.03 ^c	4.90±0.37 ^b

¹⁾Data are expressed as the mean and SD of three independent experiments.

²⁾Days after harvest.

³⁾Means with different letters in the same column are significantly different ($P<0.05$).

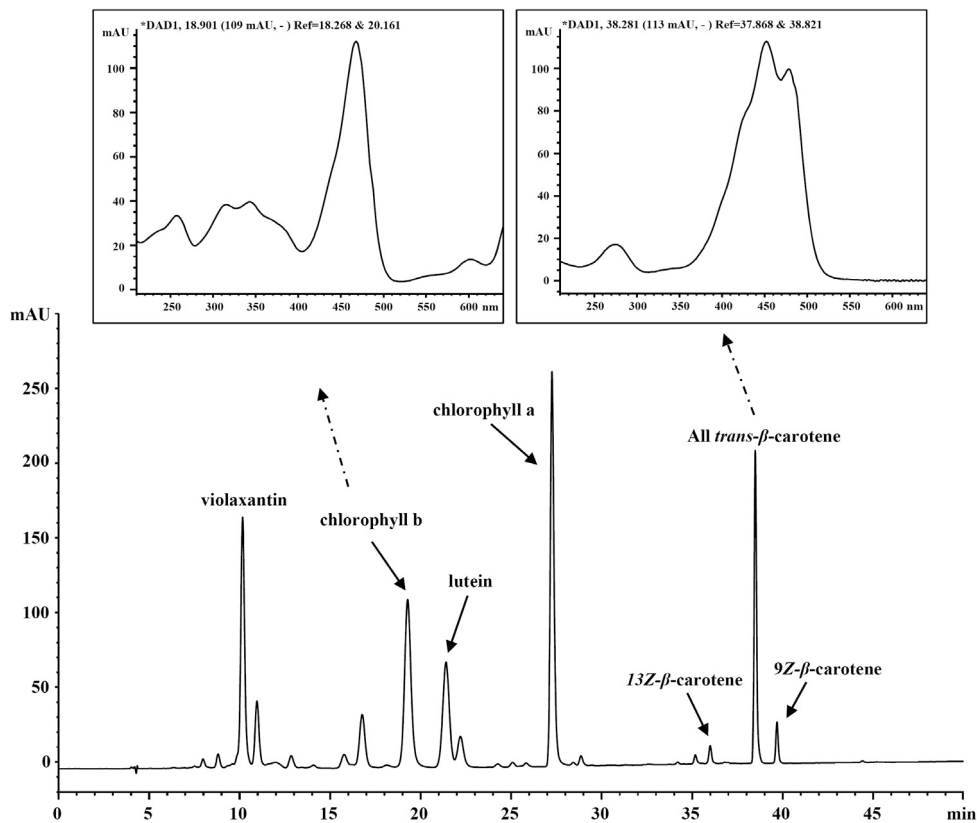


Fig. 1. HPLC chromatogram of green lettuce extract (450 nm).

별할 수 있었다.

청치마상추의 주요 카로티노이드 성분은 violaxanthin, lutein, all-*trans*- β -carotene이었으며, 수확한 직후(0일)의 청치마상추 중의 총 카로티노이드 함량은 8.41 ± 0.90 mg/100 g·FW였다(Table 2).

한편 저장기간에 따른 카로티노이드 함량 변화를 측정할 결과 실온에서 보관한 청치마상추의 경우 저장기간이 길어질수록 총 카로티노이드 함량이 현저하게 줄어드는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 12일 동안 실온에서 저장하였을 경우 함량이 약 1/4로 줄어들었으며 수확 후 3일이 지났을 경우에 약 1/2만큼 감소하였다. 수확 후 9일 이후에는 함량이 일정하게 유지되는 경향을 보였다. 그러나 냉장보관의 경우에는 수확 후 9일이 지난 시료에서도 카로티노이드의 함량에 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 냉장보관에서의 이러한 결과는 수확 직후 수분을 제거한 다음 HDPE 필름으로 밀봉하여 냉장저장 했을 때의 카로티노이드 함량 변화를 측정한 연구에서 카로티노이드 함량 변화가 10일까지 크지 않았다는 기존 연구 결과와 일치하였다(12). 그러나 상업적으로 HDPE 필름으로 밀봉하여 냉장보관 하였을 경우 수확 후 40일까지 3 mg/100 g·FW 정도의 적은 함량 감소를 보였다는 기존 연구 결과와는 달리 본 연구에서는 수확 후 12일이 지난 시료에서 함량이 약 1/2로 줄어들었으므로 밀봉을 하지 않는 일반적인 가정에서의 냉장보관의 경우 10일 전까지는 소비를 하는 것이 바람직함을 알 수 있었다. 카로티노이드 성분별로는 상대적으로 낮은 함량을 보인 zeaxanthin, 13Z- β -carotene, 9Z- β -carotene의 경우에는 실온저장에서도 함량 변화가 적었으나 청치마상추의 주요 카로티노이드 성분인 violaxanthin, lutein, all-*trans*- β -carotene의 경우에는 실온저장에서의 함량 감소가 현저하였으며, 특히 violaxanthin, lutein의 함량 감소폭이 상대적으로 컸다. 실온저장에서의 상추는 외관상으로 수확 후 3일째에 끝부분이 건조해지기 시작하였고 그 이후로 끝부분부터 황변하다가 나중에는 갈변하였다. 이상의 결과로부터 청치마상추의 카로티노이드 성분은 실온보관에서보다 냉장보

관에서 더 안정하다는 것을 알 수 있었다(Fig. 2).

적치마상추 중의 안토시아닌 함량 변화

수확한 적치마상추에 대하여 저장기간과 저장방법에 따른 안토시아닌 함량을 분석하였다. 그 결과 수확한 직후(0일)의 적치마상추 중의 총 안토시아닌 함량은 37.3 ± 3.6 mg/100 g·FW였다. 저장기간에 따른 안토시아닌 함량 변화를 보면 실온에서 보관한 경우에는 카로티노이드 성분의 함량 변화와는 달리 저장기간이 길어짐에 따른 안토시아닌 함량의 변화가 유의적으로 관찰되지 않았다(Fig. 3). 다만 수확 직후의 시료에서보다 전체적으로 안토시아닌 함량이 증가하는 경향을 보였는데 이는 과채류 중의 안토시아닌 성분이 일반적인 페놀성 화합물과는 달리 수확 후 숙성되는 기간 중에 증가하는 경향이 있다는 기존의 연구 결과와 일치하였다(18). 냉장보관의 경우에는 수확 후 3일째 시료에서 수확 직후의 시료에서보다 안토시아닌 함량의 평균값이 높았으나, 수확 후 6일째와 9일째 시료에서는 수확 후 3일째 시료에서보다 감소하여 수확 직후 시료에서의 안토시아닌 함량과 유사하였다. 이러한 결과는 냉장기간이 길어짐에 따라 발생한 수분 고임 현상으로 인하여 수용성 안토시아닌 성분의 일부가 용출되어 나왔기 때문인 것으로 추정하였다. 전반적으로 안토시아닌 성분 분석이 카로티노이드 성분 분석에 비하여 시료 간의 오차 범위가 크게 나온 것은 적치마상추의 경우 상추잎에 녹색 부분과 적색 부분이 공존하고 있으므로 안토시아닌 분석에 있어서 시료의 채취 부위가 카로티노이드 분석의 경우보다 더 민감하게 작용한 것에 기인했다고 추정하였다. 또한 적치마상추 중의 안토시아닌 성분의 경우에는 저장온도나 저장기간에 따른 함량 변화가 크지 않았으므로 청치마상추 중의 카로티노이드 성분보다 저장온도나 저장기간에 대한 안정성이 더 높다는 것을 알 수 있었다.

청치마 카로티노이드 추출물의 항산화능

상추의 항산화능에 대한 기존 연구로는 신선한 채소를 메탄올로 추출하여 ABTS와 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정

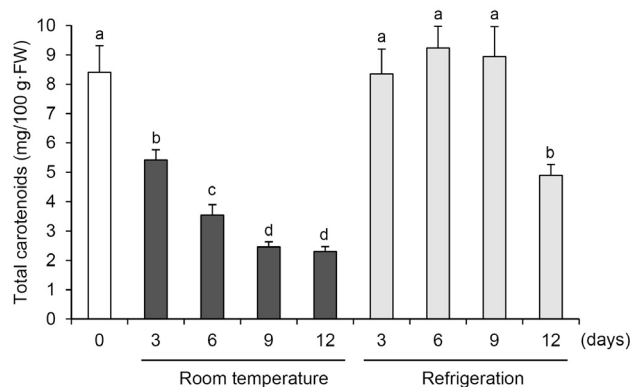


Fig. 2. Changes in carotenoid content of green lettuce during storage. Means with different letters above the bars are significantly different ($P < 0.05$).

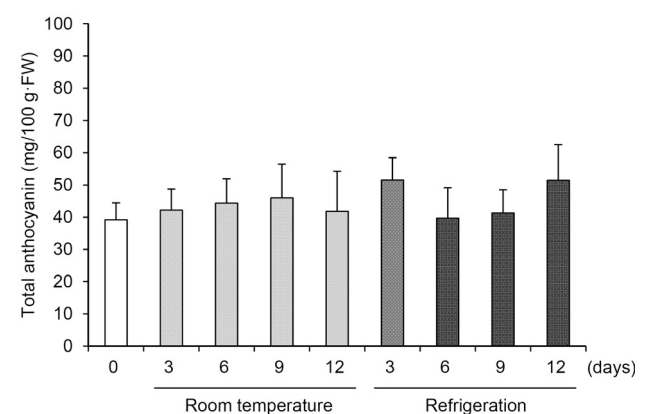


Fig. 3. Changes in anthocyanin content of red lettuce during storage.

한 경우에 상추의 항산화능이 브로콜리, 적양배추, 시금치보다는 낮으나 양파와 감자보다는 높은 것으로 나타났다(19). 그러나 신선한 재료를 10% 수용성 메탄올로 추출하여 ABTS와 FRAP assay로 항산화능을 측정하였을 경우에는 양파와 적양배추, 양배추, 시금치, 양파가 상추보다 높은 항산화 활성을 보였다(20). 국내 채소류에 대한 항산화능 연구에서는 산성의 수용성 메탄올 추출액에 대하여 실시한 DPPH 라디칼 소거 활성 결과 상추의 항산화능이 양파와 당근, 마늘, 콩나물, 감자, 고구마보다는 낮은 반면에 치커리와 파슬리보다는 높았다(21). 에탄올 추출물을 사용한 DPPH 라디칼 소거 활성에 있어서는 국내산 상추의 항산화능이 청고추나 마늘, 양파, 당근, 오이보다는 높았고, 생강과 파프리카, 토마토보다는 낮았다(22). 이렇듯 추출방법이나 항산화능 측정 방법에 따라 항산화능의 측정 결과가 다양하게 나오는 것을 알 수 있으며, 현재까지 국내산 상추에 대하여 카로티노이드 추출물과 안토시아닌 추출물에 대한 항산화능이 보고된 바 없으므로 본 연구에서 이들 추출물에 대한 항산화능을 측정하여 총 카로티노이드 함량이나 총 안토시아닌 함량과의 상관성을 알아보려 하였다.

먼저 저장기간과 저장방법에 따른 청치마상추의 카로티노이드 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정된 결과 2.6~3.3 TE/g·FW에 해당하는 라디칼 소거 활성을 보였으나 총 카로티노이드 함량과의 상관계수가 0.21로 저장기간이나 저장방법에 따른 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 4A, Table 3). 반면에 ABTS 라디칼 소거 활성에 있어

Table 3. Pearson's correlation coefficients of antioxidant activities, total carotenoids and total anthocyanin content

Traits ¹⁾	ACD	ACA	AAF	AAA
TC	0.21 ^{NS}	0.90 ^{**}		
ACD		0.17 ^{NS}		
TA			0.39 ^{NS}	0.45 ^{NS}
AAF				0.85 ^{**}

¹⁾TC, total carotenoid content; ACD, antioxidant activity of carotenoid extract on DPPH assay; ACA, antioxidant activity of carotenoid extract on ABTS assay; TA, total anthocyanin content; AAF, antioxidant activity of anthocyanin extract on FRAP assay; AAA, antioxidant activity of anthocyanin extract on ABTS assay.

NS: not significant. **Significant at $P < 0.01$.

서는 2.1~4.7 TE/g·FW에 해당하는 라디칼 소거 활성을 보였으며, 저장기간이나 저장방법에 따른 총 카로티노이드 함량과 0.90의 높은 상관관계를 보였다(Fig. 4B, Table 3). 이상의 결과로부터 DPPH 라디칼을 이용하는 실험방법보다 ABTS 라디칼을 이용하는 항산화 활성 측정법이 카로티노이드 추출물의 항산화 활성 측정에 보다 적합한 실험방법임을 알 수 있었다. 실제로 용액의 pH에 민감하며 카로티노이드의 흡수대와 근접한 흡수대를 사용하는 DPPH 라디칼을 사용하는 방법에 비하여 ABTS 라디칼을 사용하는 방법이 수용성 또는 지용성 항산화 물질에 모두 적용 가능하며 oxygen radical absorbance capacity(ORAC) assay와의 상관관계가 더 높다는 기존 연구 결과가 있다(19,23-25).

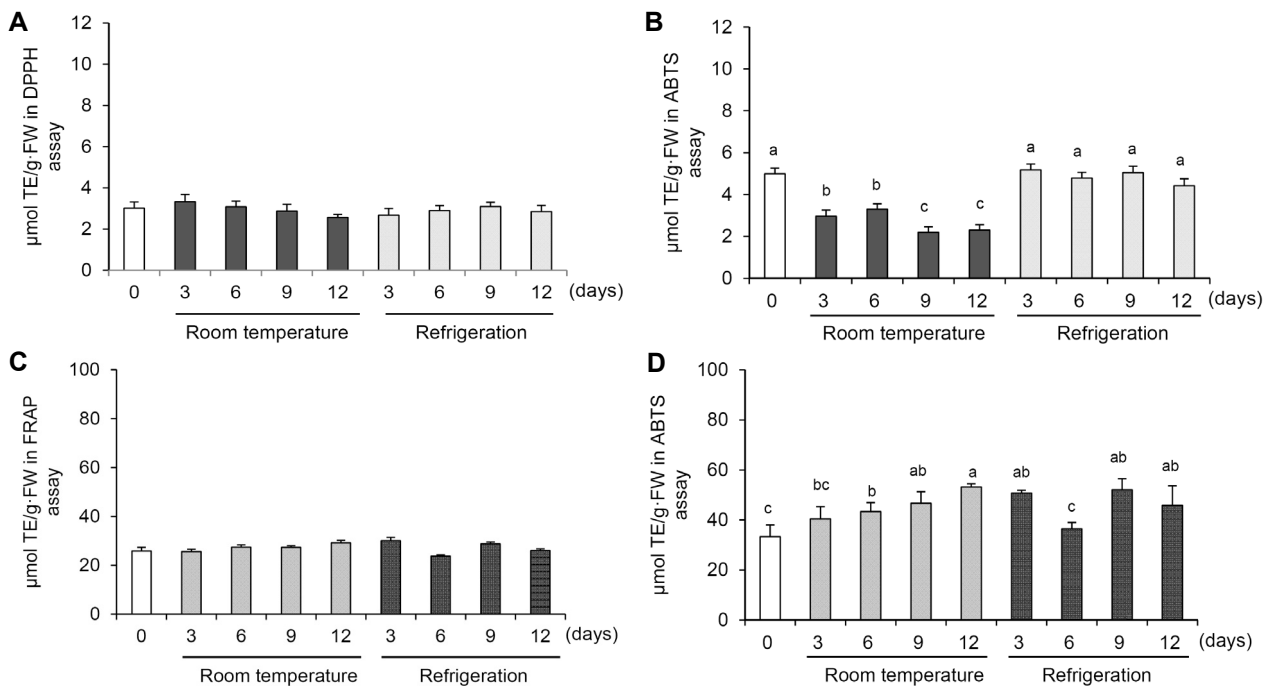


Fig. 4. Antioxidant activities of carotenoid and anthocyanin extracts from green and red lettuce, respectively. (A) and (B), antioxidant activities of carotenoid extracts on DPPH and ABTS assays, respectively; (C) and (D), antioxidant activities of anthocyanin extracts on FRAP and ABTS assays, respectively. Means with different letters above the bars are significantly different ($P < 0.05$).

적치마 안토시아닌 추출물의 항산화능

DPPH 라디칼 소거 활성을 이용한 항산화능 측정법이 낮은 pH를 지닌 안토시아닌 추출물에는 적합하지 않았으므로 FRAP assay를 적용하여 저장기간과 저장방법에 따른 적치마상추의 안토시아닌 추출물의 항산화능을 측정하였다. 그 결과 안토시아닌 추출물이 23.8~30.1 TE/g·FW의 항산화능을 보였다(Fig. 4C). 안토시아닌 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성에 있어서는 33.3~53.2 TE/g·FW에 해당하는 항산화능을 보였다(Fig. 4D). 또한 FRAP assay에서의 안토시아닌 추출물의 항산화능과 총 안토시아닌 함량과의 상관관계수가 0.39, ABTS assay의 경우에는 0.45로 낮은 상관관계를 보여주었다(Table 3). FRAP assay와 ABTS assay와의 상관관계수는 0.85로 높은 상관관계를 보였다(Table 3). 한편 ABTS 라디칼을 이용한 항산화능 측정에서 적치마상추의 안토시아닌 추출물이 청치마 카로티노이드 추출물보다 전반적으로 10배 이상 높은 Trolox 당량을 보였는데, 이는 적상추가 청상추보다 더 높은 항산화능을 보인다는 기존의 연구 결과와 일치하였다(26). 이러한 결과는 안토시아닌 추출물에 들어 있는 안토시아닌 함량이 카로티노이드 추출물에 들어 있는 카로티노이드 함량보다 5배 정도 높으며, 수용성인 안토시아닌 추출물에 비타민 C와 같은 다른 수용성 항산화 물질이 공존하고 있는 데 기인한다고 볼 수 있다. 즉 안토시아닌 성분이 검출되지 않은 청치마상추의 안토시아닌 추출물의 경우에도 80% 이상의 DPPH 라디칼 소거 활성을 보인 것으로 안토시아닌이 아닌 다른 수용성 항산화 물질의 존재를 추정할 수 있으며(data not shown), 이로 인해 상추의 저장기간 중 안토시아닌에 비하여 상대적으로 불안정한 비타민 C가 저장기간이 길어짐에 따라 그 함량이 줄어들어 총 안토시아닌 함량과 항산화능과의 상관관계가 낮아졌다고 볼 수 있다. 실제로 수용성 항산화 물질인 비타민 C가 청상추나 적상추 중에 5~20 mg/100 g·FW 정도 함유되어 있는 것으로 보고된 바 있다(12,27).

요 약

저장기간과 저장방법에 따른 청치마상추와 적치마상추 중의 카로티노이드 성분과 안토시아닌 성분의 함량 변화를 관찰하고, 함량 변화에 따른 항산화 활성을 알아보기 위하여 본 실험을 수행하였다. 그 결과 실온에서 보관한 청치마상추의 경우 저장기간이 지남에 따라 총 카로티노이드의 함량이 현저하게 줄어드는 것을 볼 수 있었으나 냉장보관의 경우 수확 후 9일이 지난 시료에서도 함량의 유의적 변화가 관찰되지 않았다. 적치마상추 중의 안토시아닌 함량 변화에 있어서는 실온에서 보관한 경우와 냉장에서 보관한 경우 간의 유의적인 차이점이 관찰되지 않았으며 저장기간에 따른 차이점도 관찰되지 않았다. 따라서 청치마상추 중의 카로티노이드 성분은 실온에서보다 냉장보관에서 더 안정하다는 것을 알 수 있었으며, 적치마상추 중의 안토시아닌 성분은 저

장기간과 저장온도에 있어서 카로티노이드 성분보다 안정하다는 것을 알 수 있었다. 한편 DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼을 이용한 항산화 활성을 측정한 결과 ABTS 라디칼을 이용한 항산화 활성 방법이 총 카로티노이드의 함량에 비례하여 항산화 활성을 보였다. 또한 안토시아닌 추출물이 카로티노이드 추출물보다 높은 활성을 보였는데, 이러한 결과는 안토시아닌 성분의 항산화 활성이 카로티노이드 성분보다 높아서라기보다는 총 안토시아닌 함량이 총 카로티노이드 함량보다 약 5배 이상 높은 점과 비타민 C와 같은 상추에 함유되어 있는 다른 수용성 항산화 물질로 인한 것으로 추정하였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린 21사업(과제번호 SSAC, grant# No. PJ01106402)과 2014 창의재단 R&E 지원에 의해 이루어진 결과이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Demmig-Adams B, Gilmore AM, Adams WW 3rd. 1996. Carotenoids 3: in vivo function of carotenoids in higher plants. *FASEB J* 10: 403-412.
- Rao AV, Rao LG. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res* 55: 207-216.
- Stahl W, Sies H. 2005. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta* 1740: 101-107.
- Ha JL, Bae JS, Park MK, Kim Y, Ha SH, Bae JM, Back K, Lee CH, Lee SW, Ahn MJ. 2009. Quantitative analysis of carotenoids in carrot cultivars produced in Korea. *J Environ Sci* 18: 1135-1141.
- Strack D, Wray V. 1993. The anthocyanins. In *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*. Harborne JB, ed. Chapman & Hall, London, UK. p 1-22.
- Luo H, Lv XD, Wang GE, Li YF, Kurihara H, He RR. 2014. Anti-inflammatory effects of anthocyanins-rich extract from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) on croton oil-induced ear edema and *Propionibacterium acnes* plus LPS-induced liver damage in mice. *Int J Food Sci Nutr* 65: 594-601.
- Zheng W, Wang SY. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J Agric Food Chem* 51: 502-509.
- Jang SW, Lee EH, Kim WB. 2007. Analysis of research and development papers of lettuce in Korea. *Kor J Hort Sci Technol* 25: 295-303.
- Mulabagal V, Ngouajio M, Nair A, Zhang YJ, Gottumukkala AL, Nair MG. 2010. In vitro evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties. *Food Chem* 118: 300-306.
- Kim HJ, Fonseca JM, Choi JH, Kubota C. 2007. Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoid of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *J Agric Food Chem* 55: 10366-10372.
- Jeong JC, Park KW, Yang YJ. 1990. Influence of packing with high-density polyethylene film on the quality of leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Cheongchima) during low temperature storage. *J Kor Soc Hort Sci* 31: 219-225.

12. Yang YJ, Park K, Jeong JC. 1991. The influence of pre- and post-harvest factors on the shelf-life and quality of leaf lettuce. *Korean J Food Sci Technol* 23: 133-140.
13. Giusti MM, Wrolstad RE. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Curr Protoc Food Analyt Chem* F1.1.2-F1.2.13.
14. Bae JY, Rhee YS, Han SY, Jeong EJ, Lee MK, Kong JY, Lee DH, Cho KJ, Lee HS, Ahn MJ. 2013. A comparison between water and ethanol extracts of *Rumex acetosa* for protective effects on gastric ulcers in mice. *Biomol Ther* 20: 425-430.
15. Benzie IF, Strain JJ. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 299: 15-27.
16. Kim YS, Hwang JW, Park PJ, Jeong JH. 2014. Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Chrysanthemum boreale* on *t*-BHP induced oxidative stress in Chang cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 60-66.
17. Garzón GA, Wrolstad RE. 2009. Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chem* 114: 44-49.
18. Jones RB. 2017. Effects of postharvest handling conditions and cooking on anthocyanin, lycopene, and glucosinolate content and bioavailability in fruits and vegetables. *New Zeal J Crop Hort* 35: 219-227.
19. Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Compos Anal* 24: 1043-1048.
20. Proteggente AR, Pannala AS, Paganga G, Van Buren L, Wagner E, Wiseman S, Van De Put F, Dacombe C, Rice-Evans CA. 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radic Res* 36: 217-233.
21. Suh J, Paek OJ, Kang YW, Ahn JE, Yun J, Oh KS, An YS, Park SH, Lee SJ. 2013. Study on the antioxidant activity in the various vegetables. *J Fd Hyg Safety* 28: 337-341.
22. Kim JY, Lee CR, Cho KH, Lee JH, Lee KT. 2009. Antioxidative and Lp-PLA₂ inhibitory activities in 29 fruits and vegetables. *Korean J Food Preserv* 16: 512-517.
23. Kedare SB, Singh RP. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol* 48: 412-422.
24. 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: 1231-1237.
25. Kim MJ, Park E. 2011. Feature analysis of different *in vitro* antioxidant capacity assays and their application to fruit and vegetable samples. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1053-1062.
26. Llorach R, Martínez-Sánchez A, Tomás-Barberán FA, Gil MI, Ferreres F. 2008. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chem* 108: 1028-1038.
27. Luna MC, Martínez-Sánchez A, Selma MV, Tudela JA, Baixauli C, Gil MI. 2013. Influence of nutrient solutions in an open-field soilless system on the quality characteristics and shelf life of fresh-cut red and green lettuces (*Lactuca sativa* L.) in different seasons. *J Sci Food Agric* 93: 415-421.