

효소 종류에 따른 참죽 추출물의 산화방지 효과

오민희 · 장혜림 · 임예진 · 윤경영*
영남대학교 식품영양학과

Antioxidant Activities of *Cedrela sinensis* Hydrolysates Prepared Using Various Enzymes

Min Hui Oh, Hye Lim Jang, Lim Ye Jin, and Kyung Young Yoon*
Department of Food and nutrition, Yeungnam University

Abstract This study was conducted to analyze the functional component contents and antioxidant activities of *Cedrela sinensis* extracts hydrolyzed using four different enzymes. The yield of Viscozyme extract was the highest among the samples, and all enzymatic extracts, except for the commercial glucoamylase (AMG) extract, had significantly higher total polyphenol and flavonoids contents compared to the non-enzymatic extract ($p<0.05$). Viscozyme extract showed the highest 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and Fe^{2+} chelating ability among the samples. All enzymatic extracts showed high >90% 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical scavenging activity, and there was no significant difference between the enzymatic and non-enzymatic extracts. The reducing power of the extracts using Shearzyme or Viscozyme was significantly higher than that of the other samples ($p<0.05$). Therefore, the results indicated that all enzymatic extracts (especially Viscozyme extract), except for the AMG extract, showed high antioxidant activity compared to the non-enzymatic extract. These result suggested that the enzymatic extracts of *C. sinensis* can be used in functional foods.

Keywords: *Cedrela sinensis*, enzymatic hydrolysis, antioxidant activity, polyphenol

서 론

참죽(*Cedrela sinensis*)은 참죽나무 잎의 순으로 대나무처럼 순을 먹는 다하여 붙여진 이름이다(1). 참죽은 탄수화물, 단백질, 지방질과 다량의 비타민 C를 함유할 뿐만 아니라 칼슘, 칼륨 등의 무기질 함량도 높다(2). 특히 유리아미노산 중에서도 글루탐산(*glutamic acid*) 함량이 많아 감칠맛이 높고 독특한 향과 맛으로 무침, 김치, 장아찌 등으로 주로 이용되며, 사찰에서는 차 또는 나물 등 고급 전통식품으로 이용되어져왔다. 또한 한방에서는 소염, 해독, 살충의 효능으로 장염, 이질 등의 치료에 이용되며 수렴제, 피부질환에 효능이 있는 것으로 알려져 있다(1,3). 참죽은 기능성 성분인 폴리페놀화합물 및 플라보노이드 함량이 높고, 산화방지, 항염증, 고혈압 및 당뇨예방, 항고혈압 등 다양한 생리기능성을 가지는 것으로 보고되고 있어 최근에는 참죽의 기능성 소재로서의 이용에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(2,4).

식품으로부터 기능성 물질을 추출하기 위해 다양한 방법이 이용되고 있는데, 그 중 유기용매를 이용한 추출이 가장 일반적이다. 유기용매 추출법은 기능성 성분을 비롯한 목적 성분의 추출 효율은 높으나 잔류 유기용매의 안전성과 추출 후 유기용매의 환

경오염에 대해 우려되는 부분이 있어(5) 이와 같은 단점을 보완할 수 있는 다양한 추출 방법이 모색되고 있다. 그 중에서도 효소를 이용한 추출방법은 독성이 없고 친환경적이며 불용성의 기능성 성분을 수용성으로 전환시킴으로써 추출의 효율 증대와 이로 인한 산화방지 효과를 향상시킬 수 있다(6). 인삼의 효소처리 및 열처리에 따른 산화방지 활성측정 연구에 따르면 수율, 폴리페놀함량 및 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) 라디칼 소거능에서 효소처리구가 열수추출군 보다 높은 값을 보였으며(7), 황기(8), 연잎(9), 메밀(10)의 효소추출법 또한 우수한 라디칼 소거활성 및 높은 폴리페놀함량을 보였다. 이와 같이 다양한 식물을 대상으로 효소를 이용하여 추출한 결과 기능성 성분의 추출함량 및 산화방지 활성이 다른 추출 방법에 비해 높게 나타난다고 보고되고 있으나, 참죽의 효소분해에 관한 연구보고는 없다.

따라서 본 연구에서는 영양성분 및 기능성 성분의 함량이 높은(2) 참죽을 이용하여 기능성 식품의 소재로 이용하고자 하였다. 이를 위해 참죽을 시판되고 있는 복합효소를 이용하여 가수분해하여 기능성 성분을 추출하고, 이들 각 효소별 추출물의 기능성분의 함량 및 산화방지 효과를 비교 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서는 경상북도 상주시에서 재배된 참죽 순(15-22 cm)을 외서농협을 통해 구입하였다. 구입 후 이물질을 제거하여 동결건조 후 Food Mixer (FM-681C, Hanil, Incheon, Korea)를 이용하여 마쇄한 후 45 메쉬(Chung Gye Indus. MFG. Co., Seoul, Korea)로 체질하였다. 이후 $-40^{\circ}C$ 초저온냉동기(deep

*Corresponding author: Kyungyoung Yoon, Department of Food and nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan, Gyeongbuk 38541, Korea
Tel: +82-53-810-2878
Fax: +82-53-810-4768
E-mail: yoonky2441@ynu.ac.kr
Received March 3, 2015; revised March 20, 2015;
accepted May 7, 2015

freezer, MDF-415, Sanyo, Tokyo, Japan)에 보관하면서 실험에 사용하였다.

효소 추출물의 조제

참죽의 추출을 위해 사용된 효소는 Novozymes사(Bagsvaerd, Denmark)의 AMG 300 L, Celluclast 1.5 L, Shearzyme plus, Viscozyme L를 사용하였고, 각 효소의 특성은 Table 1에 나타내었다. AMG 300 L의 글루코아밀레이스(glucoamylase) 효소활성은 300 units/mL, Celluclast 1.5 L의 셀룰로스가수분해효소(cellulase) 활성은 400 units/mL이었으며, Shearzyme plus와 Viscozyme L의 자일란가수분해효소(xylanase) 활성은 각각 300 units/mL과 140 units/mL이었다. 이때 글루코아밀레이스 효소활성은 40°C, pH 5.0에 가용녹말(soluble starch)로부터 1 mole의 포도당(glucose)을 생산하는 효소의 양을 1 unit로 하였다. 셀룰로스가수분해효소 활성은 50°C, pH 5.0에서 0.1% 카복실메틸셀룰로스(carboxymethylcellulose, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)로부터 1분간 1 mole의 glucose를 생산하는 효소의 양을 1 unit로 하였다. 또한 자일란가수분해효소 활성은 45°C, pH 5.0에서 0.1% birch wood xylan (Sigma Chemical Co.)로부터 1분간 1 mole의 자일로스(xylose)를 생산하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

참죽 추출물 제조를 위한 가수분해 조건은 각 효소의 최적 pH와 온도를 참조하였으며(Table 1), 모든 효소의 최적 조건을 만족하는 온도와 pH로 선정하였다. 즉, 효소를 이용한 참죽의 추출은 50 mL conical tube에 0.1 N 아세트산 완충용액(acetate buffer, pH 4.5) 30 mL와 참죽 동결건조 분말 1.5 g 및 기질의 1% (v/v)에 해당하는 효소를 잘 혼합한 뒤 진탕배양기(shaking incubator, KMC-8480SF, Vision scientific Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 50°C에서 80 rpm으로 48시간 동안 교반하였다. 그 후 90°C에서 5분 동안 효소를 불활성화 시킨 뒤 3,500 rpm에서 원심분리(Supra-21K, Hanil, Incheon, Korea)하였다. 원심분리 후 상층액을 Whatman No. 1 (Maidstone, England)으로 여과한 후 모든 효소 추출물을 동일하게 30 mL로 정량하여 향후 실험을 진행하였다. 위의 실험과 동일하나 효소 첨가를 제외한 효소 비처리군을 실험 비교군(control)으로 사용하였다.

추출물의 수율 측정

효소 추출물의 일정량을 동결건조한 후 중량법으로 각 효소별 추출물의 수율을 %로 표시하였으며, 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{수율(\%)} = \frac{\text{가수분해 후 추출물의 건조 중량(g)}}{\text{가수분해에 사용된 참죽의 중량(g)}} \times 100$$

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 폴린-데니스(Folin-Denis) 방법(10)으로 측정하였다. 추출물 0.2 mL와 Folin-ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 잘 혼합한 후 실온에서 3분간 방치하였다. 그 후 10%

Na₂CO₃ 0.4 mL와 증류수 4 mL를 첨가하여 실온에서 1시간 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 갈산(gallic acid, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)의 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등(11)의 방법으로 측정하였다. 각각의 효소별 추출물 0.5 mL와 10% 질산알루미늄(aluminum nitrate) 0.1 mL, 1 M 아세트산포타슘(potassium acetate) 0.1 mL, 80% 에탄올(ethanol) 4.3 mL를 넣고 혼합한 뒤 실온에서 40분간 반응시킨 후 415 nm 흡광도를 측정하였으며, 퀘세틴(querctin, Sigma Chemical Co.)을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성 측정을 Blois (12)의 방법으로 측정하였다. 즉, 효소별 추출물 2 mL와 0.2 mM DPPH 용액 1 mL를 10초간 vortex mixing 후 20분간 37°C에서 반응시켜 DPPH 라디칼이 감소되는 정도를 517 nm에서 흡광도를 측정하여 소거활성을 구하였다.

ABTS 라디칼 소거활성 측정

2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 소거활성 능력은 Re 등(13)의 방법을 일부 수정하여 실험하였다. ABTS 7 mM과 과황산포타슘(potassium persulfate) 2.45 mM을 증류수에 용해하여 혼합한 후 ABTS 양이온 라디칼(cation radical, ABTS^{•+})을 형성을 위해 암소에서 12-16시간 동안 방치한 다음, 라디칼이 형성된 용액을 80% 에탄올을 이용하여 734 nm에서 0.700±0.002의 흡광도 값을 가지도록 희석하였다. 각 효소별 추출물 50 µL와 희석된 ABTS 용액 1 mL를 혼합한 후 실온에서 6분 동안 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Fe²⁺ 킬레이트(chelating) 효과

Fe²⁺ 킬레이트 효과는 Dinish 등(14)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 시험관에 효소별 추출물 1 mL를 가하고 2 mM 염화철(FeCl₂), 5 mM 페로진(ferrozine, 3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p,p'-disulfonic acid monosodium salt hydrate)을 각각 25 µL를 혼합하여 실온에서 10분 동안 방치 후 562 nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 값의 차이를 백분율로 환산하여 나타내었다.

환원력

환원력은 Mau 등(15)의 방법으로 측정하였다. 각 효소별 추출물을 e-tube에 250 µL씩 취하고, 1% potassium ferricyanide (K₃Fe(CN)₆)와 0.2 M 인산소듐완충용액(sodium phosphate buffer, pH 6.6) 각각 250 µL씩 첨가하고 혼합하여 50°C에서 20분간

Table 1. Optimum hydrolyzation conditions of enzyme preparations used for extraction of *C. sinensis*

| Commercial enzyme | Source | Optimum conditions | | Enzyme composition |
|-------------------|---|--------------------|------------------|---|
| | | pH | Temperature (°C) | |
| AMG 300L | <i>Aspergillus niger</i> | 4.5 | 60 | Glucoamylase |
| Celluclast 1.5L | <i>Trichoderma reesei</i> | 4.5-6.0 | 50-60 | Cellulase |
| Shearzyme plus | <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Trichoderma reesei</i> | 4.0-5.5 | | Cellulase, xylanase, β-glucanase |
| Viscozyme | <i>Aspergillus aculeatus</i> | 3.3-5.5 | 25-55 | β-Glucanase, cellulase, hemicellulase, xylanase |

반응시킨 후, 10% 트라이클로로아세트산(trichloroacetic acid, CCl_3COOH , w/v) 250 μL 첨가하였다. 위 반응액을 25°C, 1,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액 500 μL 에 증류수 500 μL 와 0.1% 염화철(ferric chloride, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 100 μL 를 첨가하여 혼합한 다음 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

본 실험결과는 3회 반복으로 수행된 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 각 실험 결과에 대한 통계분석은 SPSS (Ver. 21, Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 일원배치 분산분석법을 시행하였다. 각 실험군의 평균치간의 유의적 차이는 던칸시험(Duncan's multiple range test)으로 검증하였다.

결과 및 고찰

효소 추출물의 수율

참죽에 대한 각 효소별 추출물의 수율과 효소 비처리군 대비 효소 처리군의 수율 증가 비율은 Table 2와 같다. AMG 추출물을 제외한 대부분의 효소 처리군의 수율이 효소 비처리군 보다 높은 수율을 보였으며, Viscozyme 추출물의 수율은 49.06%로 효소 비처리군 대비 61.8% 증가율로 가장 높은 수율을 나타내었다. 그 다음 Celluclast, Shearzyme, AMG 순으로 각각 41.84, 37.20, 30.16%의 수율을 나타내었다. 본 연구는 Oh 등(16)의 호박분말 효소가수분해물 연구에서 Viscozyme 효소가수분해물이 가장 높은 수율을 보인 것과 Kim 등(9)의 쓴메밀의 효소처리추출이 물, 70% 에탄올, 100% 메탄올 추출보다 높은 수율을 보인 연구와 비슷한 경향을 보였다. 이는 Viscozyme, Celluclast, Shearzyme 효소는 식물세포벽분해 복합효소로서 셀룰로스가수분해효소, 헤미셀룰로스가수분해효소(hemicellulase), 자일란가수분해효소 등이 식물의 세포벽에 존재하는 불용성의 고분자물질 및 생리활성 물질들을 가용화함으로써 추출물의 향상을 가져온 것으로 판단된다(17).

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

참죽 효소 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 Table 3에 나타내었다. 총 폴리페놀함량은 Celluclast 추출물이 939.37 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었으며, 그 다음 Viscozyme, Shearzyme, AMG 추출물 순서로 각각 900.77, 860.07, 777.96 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 나타냈다. Celluclast 추출물이 비효소 추출물(741.47 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 대비 약 26.7% 증가하였으며, Viscozyme과 Shearzyme은 각각 약 21.5, 16.0%의 증가를 보였다. 이와 같은 결과는 귀리(18), 연잎(8)을 효소를 이용하여 추출하여 폴리페놀함량을 측정한 결과, 효소 처리군이 효소 비처리군보다 높은 폴리페놀함량을 나타낸 결과와 유사하였다. 그러나 본 연구에서 AMG 추출물은 비효소 추출물보다 높은 폴리페놀 함량을 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

플라보노이드는 C6-C3-C6의 기본 골격으로 하는 페놀계 화합물의 하나로 채소류 식물의 뿌리, 줄기, 과일 등 모든 부위에 존재하며, 종류에 따라 다양한 생리활성을 가진다. 그 중 채소 및 과일에 포함된 플라보놀(flavonol)계의 퀘르세틴(quercetin), 캄페롤(kaempferol)과, 플라본(flavone)계의 리보닌(limonin), 에피게닌(api-genin) 등은 항암효과를 나타낸다(19,20). 참죽의 효소 추출물별 총 플라보노이드 함량은 214.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 Viscozyme 추출물이 가장 높은 값을 나타내었으며, Celluclast (194.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Shearzyme (171.61 $\mu\text{g}/\text{mL}$), AMG (154.35 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 추출물 순으로 높은 함량을 보였다. 비효소 추출물은 159.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 AMG 추출물보다 높은 값을 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

Table 2. Yields of enzymatic extracts of *C. sinensis*

| Enzyme | Yield (%) | Rate of increase (%) |
|------------|-------------------------|----------------------|
| Control | 30.29±2.42 ^c | 100.0 |
| AMG | 30.16±2.83 ^c | 99.0 |
| Celluclast | 41.84±1.41 ^b | 135.4 |
| Shearzyme | 37.20±1.41 ^b | 122.2 |
| Viscozyme | 49.06±1.41 ^a | 161.8 |

Mean±SD (n=3)

Values with different superscript letters in the column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Effect of enzyme treatments on contents of total polyphenols and flavonoids (g/mL)

| Enzyme | Total polyphenol | Total flavonoid |
|------------|---------------------------|--------------------------|
| Control | 741.47±1.94 ^c | 159.25±6.04 ^d |
| AMG | 777.96±16.89 ^c | 154.35±2.70 ^d |
| Celluclast | 939.37±37.25 ^a | 194.75±5.71 ^b |
| Shearzyme | 860.07±34.61 ^b | 171.61±1.80 ^c |
| Viscozyme | 900.77±9.95 ^{ab} | 214.94±4.44 ^a |

Mean±SD (n=3).

Values with different superscript letters in the column are significantly different at ($p < 0.05$).

이와 같이 AMG 추출물을 제외한 모든 효소 추출군은 효소 비처리군보다 높은 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량을 보였다. 이는 식물 세포벽에 존재하는 다당류, 단백질, 리그닌 등의 세포벽 성분과 결합되어 존재하던 불용성의 폴리페놀 화합물이 세포벽 분해효소의 작용에 의해 유리됨에 따른 용출증가에 의한 것으로 판단된다(21). 반면 AMG 추출물의 폴리페놀 함량 및 플라보노이드 함량이 효소 비처리군과 유의적인 함량 차이를 보이지 않는 것은 Viscozyme, Celluclast 및 Shearzyme과 달리 α -1,4 또는 α -1,6 glucosidic 결합만을 분해하기 때문에 셀룰로스와 헤미셀룰로스로 구성된 세포벽의 분해가 어려워 기능성 성분의 용출이 다소 낮았던 것으로 판단된다. 이상의 결과, 대부분 식물류의 산화방지능은 페놀성 화합물의 기인된 것으로 보고되고 있어(22), AMG 외 다른 효소를 이용하여 참죽을 추출하여 폴리페놀 함량을 증가시킴으로써 참죽의 기능성 소재로서의 이용 가능성을 높일 수 있을 것으로 판단된다.

DPPH 라디칼 소거능

참죽 효소 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 1과 같이, Viscozyme 추출물이 가장 높은 소거능을 나타내었다. 그 다음으로 AMG 추출물, Shearzyme 추출물, Celluclast 추출물의 순으로 높았다. Viscozyme과 AMG 추출물의 라디칼 소거능은 각각 69.91, 68.11%로 비효소 추출물 62.97% 보다 유의적으로 높았던 반면 ($p < 0.05$), Celluclast 추출물은 59.19%로 비효소 추출물에 비해 낮은 소거능을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 이와 같이 Celluclast 추출물을 제외한 모든 효소 처리군이 비효소 추출물에 비해 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내는 것은 자유라디칼 소거능과 총 폴리페놀 함량의 상관관계를 보인 연구(23)와 유사한 결과를 보였다. 하지만 비효소 추출물의 소거능이 Celluclast 추출물보다 높은 소거능을 띄는 것은 페놀성 물질이 라디칼을 효과적으로 제거하나 라디칼의 기질에 따른 페놀성 물질의 선택적 작용(24) 또는 효소 추출을 통한 저분자의 다당류, 색소의 생성으로 Celluclast 추출물의 활성에 영향을 끼친 것으로 판단된다(25).

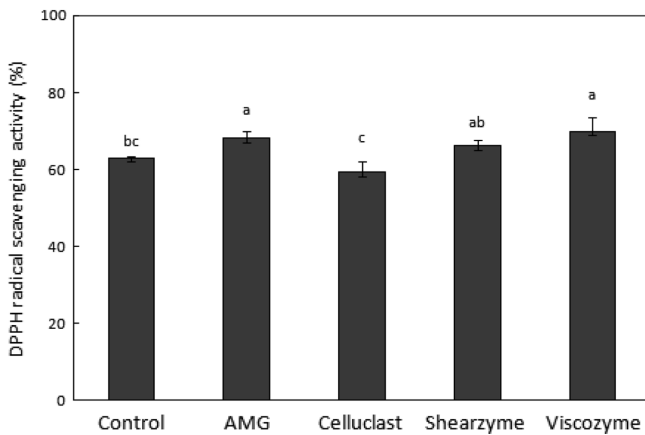


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of enzymatic extracts of *C. sinensis*. Mean±SD ($n=3$). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$.

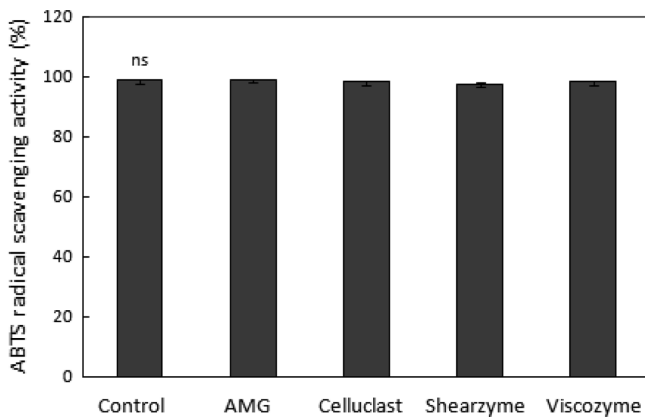


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of enzymatic extracts of *C. sinensis*. Mean±SD ($n=3$). ns, not significantly different

ABTS 라디칼 소거능

참죽 효소추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 측정 시 그 값이 매우 높아 효소 추출액을 3배로 희석하여 측정되었다. 이러한 결과는 Fig. 2와 같이, Shearzyme과 AMG 추출물의 ABTS 라디칼 소거능이 98.89%로 가장 높았으며, 그 다음으로 비효소 추출물(97.99%), Celluclast 추출물(93.11%), Viscozyme 추출물(91.91%) 순으로 높았으나 각 추출물간 유의적인 차이는 없었다. 본 연구에서는 추출물을 3배 희석하였음에도 불구하고 비효소 추출물을 포함한 모든 추출군에서 90% 이상의 ABTS 라디칼 소거능을 보여 DPPH 라디칼에 비해 매우 높은 소거활성을 보였다. 또한 Viscozyme을 제외한 모든 추출군에서 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 경향을 나타내었다. Lee 등(26)의 국내산 산채류의 물 및 메탄올 추출물, Lee 등(23)의 연구에서 메탄올을 이용한 울릉도 산채류 추출물의 DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼 소거능이 양의 높은 상관관계를 띠는 것으로 보고하였는데, 이는 본 연구 결과와 유사하였다. 그러나 Wojdyło 등(27)은 32종 허브류 효소추출물의 산화방지 활성을 측정한 결과, DPPH 라디칼 소거능이 ABTS 라디칼 소거능 보다 높은 값을 나타내었다고 보고해, 본 연구 결과와 다소 차이가 있었다. 이는 일반적으로 페놀성 물질의 함량이 높을수록 DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼 소거능이 높은 것으로 알려져 있으나 라디칼의 종류에 따라 작용하는 페놀성 물질의 종류가 달라 기존의 연구와 상이한 결과를 보인 것으로 판단된다.

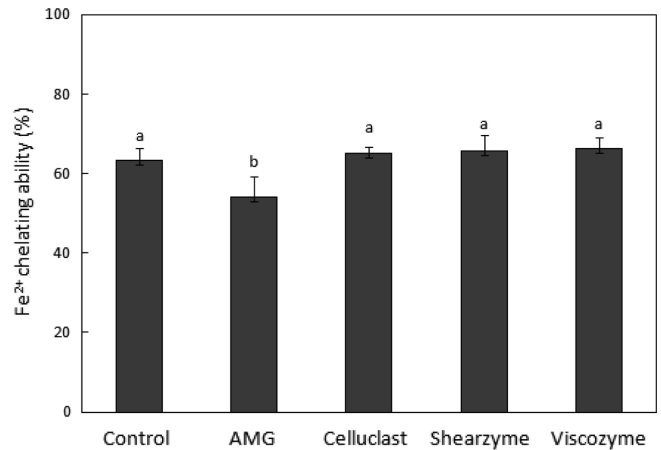


Fig. 3. Fe²⁺ chelating ability of enzymatic extracts of *C. sinensis*. Mean±SD ($n=3$). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$.

Wang 등(28)의 연구에서는 세이지 추출물의 (+)-1-hydroxypinoresinol-1-β-D-glycoside와 homoplantagin인 폴리페놀 화합물은 ABTS 라디칼 소거능은 있으나 DPPH 라디칼은 제거하지 못하는 것으로 보고되었다. 따라서 참죽추출물에도 ABTS 라디칼을 소거하는 특정 폴리페놀 화합물의 함량이 높을 것으로 예상되며 추후 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Fe²⁺ chelating 효과

금속 이온은 하이드록시라디칼(hydroxy radical) 생성 및 하이드로과산화물(hydroperoxide) 분해반응의 촉매역할을 하는 것으로 알려져 있다. Fe²⁺은 과산화수소와 결합하여 옥시라디칼(oxyradical)의 생성과 지질산화반응을 야기시키므로, 참죽 효소 추출물의 유리라디칼(free radical)의 생성을 억제하고 지질산화를 방지하는 능력을 측정하고자 Fe²⁺ 킬레이트 효과를 측정하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 참죽의 각 효소별 추출물의 Fe²⁺ 킬레이트 효과는 Viscozyme 추출물이 66.19%로 가장 높았다. 그 다음 Shearzyme, Celluclast, 비효소, AMG 추출물이 각각 65.6, 65.11, 63.16, 53.91%로 AMG 추출물을 제외한 모든 처리군에서 샘플간 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과에서 Fe²⁺ 킬레이트 효과는 다른 라디칼 소거능에 비해 폴리페놀 화합물의 함량과는 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 30종의 국화과 식물 추출물의 폴리페놀 및 산화방지 효과를 측정된 결과(29), ferrous ion 킬레이트 효과는 총 폴리페놀 함량($R^2=0.0452$) 및 플라보노이드 함량($R^2=0.0784$), DPPH 라디칼 소거능($R^2=0.0030$), ABTS 라디칼 소거능($R^2=0.0006$) 모두 상관관계가 없는 것으로 보고되어 본 연구와 유사하였다. 이는 라디칼 소거능과 Fe²⁺ 킬레이트의 작용 기작이 다르므로 두 실험의 결과가 상이한 것으로 판단된다(30).

환원력

참죽 효소 추출물의 환원력을 측정된 결과는 Fig. 4와 같이 나타났다. 환원력은 산화방지 활성의 주요 지표 중 하나로 환원력의 크기가 클수록 녹색에 가까운 색을 띠며 높은 흡광도를 나타낸다(31). Shearzyme과 Viscozyme 추출물의 환원력은 1.7로 다른 효소 추출물에 비해 높은 값을 나타냈다. 그 다음으로 비효소 추출물이 1.60, AMG 추출물이 1.59, Celluclast 추출물이 1.57의 값을 보였다. Shearzyme 추출물과 Viscozyme 추출물은 비효소 추출물보다 유의적으로 높은 환원력을 보였으며, 이와 같은 결과는

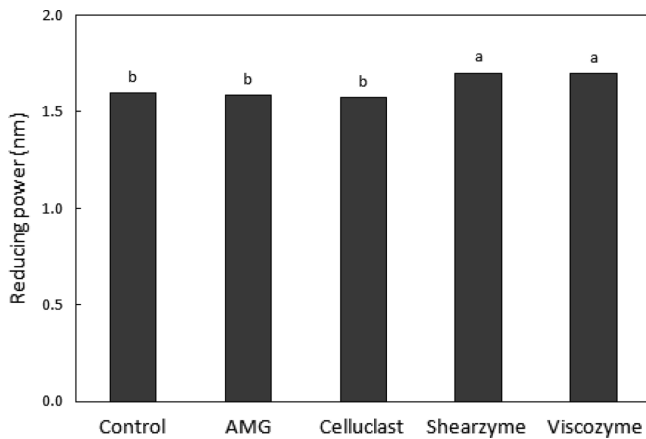


Fig. 4. Reducing power of various enzymatic extracts from *C. sinensis*. Mean±SD ($n=3$). Values with different letters in the column are significantly different at $p<0.05$.

두 효소 추출물에 존재하는 폴리페놀과 같은 리덕톤이 제공하는 수소원자가 라디칼의 사슬을 절단함으로써 높은 산화방지 활성을 보인 것으로 판단된다(32). 또한 Shearzyme, Viscozyme 복합 효소를 참죽 추출에 사용함으로써 비수용성 물질이 수용성 물질로 전환됨으로써 이들 물질의 산화방지 활성이 향상되어 높은 환원력을 보인 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 기능성이 높은 참죽을 효소를 이용하여 추출하고 각 효소에 따른 추출물의 기능성 성분의 함량 및 산화방지 활성을 측정하였다. Viscozyme 추출물이 가장 높은 수율을 보였으며, AMG 효소 추출물을 제외한 효소 처리군이 효소 비처리군에 비해 유의적으로 높은 polyphenol 및 flavonoid 함량을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 Viscozyme 추출물이 가장 높았으며, 그 다음 AMG, Shearzyme, Celluclast 추출물의 순으로 높았다. ABTS 라디칼 소거능은 추출물을 희석했음에도 불구하고 모든 처리군에서 90% 이상의 높은 활성을 보였다. Fe^{2+} 킬레이트 효과는 Viscozyme 추출물이 가장 높은 활성을 보였으며, 그 다음 Shearzyme, Celluclast, 비효소, AMG 추출물 순으로 나타났다. 환원력은 Shearzyme과 Viscozyme 추출물이 가장 높았으며, 그 다음으로 비효소, AMG, Celluclast 추출물 순으로 나타났다. 이상의 결과에서 효소를 이용하여 참죽을 추출할 경우 효소를 처리하지 않는 경우에 비해 높은 산화방지 활성을 나타내었으며, 특히, Viscozyme 처리 시 가장 높은 수율과 산화방지 활성을 나타내어 참죽의 기능성 식품 소재화를 위해 기능성 성분 추출 시 효소의 이용을 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

References

- Park JC, Yu YB, Lee JH, Kim NJ. Studies on the chemical components and biological activities of edible plants in Korea (VI). *J. Korean Soc. food Sci. Nutr.* 23: 116-119 (1994)
- 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)
- Kim SH, Jang SY, Jeong YJ. Change in the quality characteristics of *Acanthopanax* and *Cedrela* Shoot by salting condition. *Korean J. Food Preserv.* 19: 501-509 (2012)
- Park JC, Kim SH. Seasonal variation of flavonoid contents in the leaves of *Cedrela sinensis*. *J. Korean Soc. food Sci. Nutr.* 24: 578-581 (1995)
- Ko SC, Kang SM, Ahn G, Yang HP, Kim KN, Jeon YJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from *Sargassum coreanum*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 494-499 (2010)
- Kim YC, Cho CW, Rhee YK, Yoo KM, Rho JH. Antioxidant activity of ginseng extracts prepared by enzyme and heat treatment. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 1482-1485 (2007)
- Kwon SC, Choi GH, Hwang JH, Lee KH. Physicochemical property and antioxidative activity of hot-water extracts from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 406-413 (2000)
- Choi SJ, Kim SY, Lee SC, Lee JM, Lee JM, Lee IS, Jung MY, Yang SM, Chae HJ. Anti-oxidant and whitening effects of cell lytic enzyme-treated Lotus leaf extract. *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* 24: 579-583 (2009)
- Kim JE, Joo SI, Seo JH, Lee SP. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory effect of tartary buckwheat extract obtained by the treatment of different solvents and enzymes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 989-995 (2009)
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* 12: 239-243 (1912)
- Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71: 109-114 (2000)
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-2000 (1958)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Bio. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Dinish TCP, Madeira VMC, Almeida LM. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-amonosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* 315: 161-169 (1999)
- Mau JL, Lin HC, Song SF. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res. Int.* 35: 519-526 (2002)
- Oh CK, Kim MC, Oh MC, Yang TS, Hyun JS, Kim SH. Antioxidant activities in enzymatic hydrolysates of pumpkin powder (*Cucurbita* spp.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 172-178 (2010)
- Lee PH, Park SY, Jang TH, Yim SH, Nam SH, In MJ, Kim DC, Chae HJ. Effects of complex carbohydrase treatment on physiological activities of pear peel and core. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 404-410 (2014)
- Alrahmany R, Tsopmo A. Role of carbohydrases on the release of reducing sugar, total phenolics and on antioxidant properties of oat bran. *Food Chem.* 132: 413-418 (2012)
- Lim BO, Choi SH, Kim EK, Lee SJ, Je JY, Jeon YJ, Kim BK, Park SH, Moon SH, Jeon BT, Lee KH, Park TK, Park PJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from *Stellaria dichotoma*. *J. Med. Food* 11: 723-732 (2008)
- Decker EA. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutr. Rev.* 53: 49-58 (1995)
- Arranz S, Saura Calixto F. Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: A study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet. *J. Cereal Sci.* 51: 313-318 (2010)
- Jung SJ, Lee, JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baek NI. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Appl. Bi.* 47: 135-140 (2004)
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 233-240 (2005)
- Liu F, Ng TB. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Life Sci.* 66: 725-735 (2000)
- Lee SH, Shin SL, Kim NR, Hwang JK. Comparison of antioxi-

- dant effects of different Korean pear species. Korean J. Plant Res. 24: 253-259 (2011)
26. Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 29-36 (2011)
27. Wojdyło A, Oszmianski J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chem. 105: 940-949 (2007)
28. Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC, Ho CT. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). J. Agr. Food Chem. 46: 4869-4873 (1998)
29. Woo JH, Lee CH. Correlation analysis of factors affecting antioxidative effect in 30 compositae species. In: Paper presented at 18th Annual Meeting of Korean Society of Plant Tissue Culture. November 1-2, Ramada hotel, Cheongju, Korea. The Plant Resources Society of Korea, Jeonju, Jeonbuk (2007)
30. Dehpour AA, Ebrahimzadeh MA, Fazel NS, Mohammad NS. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. Grasas Aceites 60: 405-412 (2009)
31. Park SJ, Park DS, Lee SB, He X, Ahn JH, Yoon WB, Lee HY. Enhancement of antioxidant activities of *Codonopsis lanceolata* and fermented *Codonopsis lanceolata* by ultra high pressure extraction. J Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 1898-1902 (2010)
32. Park HS. Antioxidant and nitrite scavenging activities of solvent extracts from *Rhus verniciflua* Stokes. J. East Asian Soc. Dietary Life 21: 677-682 (2011)