

Changes in the *in vitro* Antioxidant and Antithrombosis Activities of *Salicornia europaea* According to Harvest Time

Mi-Sun Kim¹, Jung-Nam Lee¹, Ha-Jung Seong¹, Deuk Hoi Kim² and Ho-Yong Sohn^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 36729, Korea

²Research Center, Phyto Corporation, Seoul 08826, Korea

Received July 12, 2016 / Revised July 24, 2016 / Accepted July 24, 2016

In Korea, the aerial parts of the halophyte *Salicornia europaea*, known as hamcho, are used in salads in April - June and in oriental medicine in September - October. In this study, with the aim of developing functional foods to aid blood circulation, hot water extract (HWE) and ethanol extract (EE) were prepared using hamcho harvested from the fields of Shinan, Jeonnam, Korea on 5th April (HWE-04, EE-04), 5th July (HWE-06, EE-06), 5th August (HWE-08, EE-08), 5th September (HWE-09, EE-09), and 5th October (HWE-10, EE-10), and their antioxidant and antithrombosis activities were evaluated. Among the HWEs, HWE-10 showed the highest concentration of total polyphenols and total flavonoids (22.4 and 17.6 mg/ml, respectively), and EE-09 had the highest concentration among the EEs (20.1 and 19.3 mg/ml, respectively). Among the HWEs and EEs, HWE-08 and EE-08 had the highest total sugar and reducing sugar content. In the antioxidation assay, HWE-10 and EE-09 showed strong reducing power, as well as DPPH, ABTS, and nitrite scavenging activities. The calculated RC_{50S} of EE-09 against DPPH, ABTS, and nitrite were 578, 277, and 68.8 μ g/ml, respectively. The antithrombosis activity assay revealed that HWE-04, HWE-06, EE-04, and EE-06 had anticoagulation activity against coagulation factors and that HWE-08, HWE-09, EE-08, and EE-09 expressed strong thrombin inhibitory activity, which was comparable to the antithrombosis activity of aspirin. In addition, EE-06 and HWE-08 exhibited strong aggregation inhibitory activities against human platelets. The results suggest that extract from hamcho harvested in particular periods and prepared using a defined solvent has strong potential as a novel food ingredient and an antioxidant and antithrombosis agent.

Key words : Anti-coagulation, anti-oxidation, anti-platelet aggregation, harvest time, *Salicornia europaea*

서 론

염생식물은 염분이 있는 갯벌, 해안가 등에서 생육하는 식물체를 말하며, 이들은 특유한 생육환경으로 인해 육상의 식물체와 차별화된 성분과 다양한 생리활성을 나타낸다. 국내에서는 함초, 해홍나물, 칠면초, 나문재, 해송 등 16과 40여종의 염생식물이 알려져 있으며, 특히 함초는 국내 자생하는 대표적인 식용 및 약용 염생식물로서, 우리나라 남해 및 서해안의 갯벌, 해안가 염습지대에서 대량으로 재배하고 있다[1].

함초(*Salicornia europaea*)는 명아주과의 식물로 마디마디가 통통하고 튀어나온 모양을 하여, 국내에서는 통통마디로도 불리며 특유의 짠맛과 풍부한 미네랄, 부드러운 식감으로 인해 4~6월에는 나물 무침이나 샐러드로 주로 이용되며, 9~10월의

성숙기에는 거친 식감으로 인해 착즙액, 분말, 환 등으로 가공되어 식용되고 있다[6]. 실제 함초는 Na 뿐만 아니라, K, Ca, Mg, Fe 등의 다양한 미네랄을 고농도로 함유하고 있으며, 필수지방산인 리놀렌산이 전체 지방산의 50%에 해당하고 총 아미노산 중 필수 아미노산이 40% 이상을 차지하여 영양적으로도 매우 우수한 식용자원이다[2]. 또한 함초의 지상부의 60%를 차지하는 식이섬유는 민간에서 배변촉진, 위장병 치료에 효과적임이 알려져 있다[9].

함초에 대한 연구는 주로 고지방, 고염식품의 지속적 섭취로 야기되는 고혈압, 비만 등의 예방과 치료를 위한 식물성 소금 대체소재 개발연구의 일환으로 함초빵[2], 함초케익[1], 함초 죽발[22] 등의 비발효성 제품개발이 주로 이루어져 왔으나, 최근에는 함초 요쿠르트[4, 5], 함초 식초[7], 함초 발효유[11], 당절임 발효 함초[8, 23] 등의 발효식품 개발에 집중되고 있다. 함초, 효소처리 함초, 발효함초의 유용 생리활성으로는 항산화 활성[7, 10, 17, 19, 28], 항당뇨 활성[4], 고지혈증 개선 활성[5, 20], 간기능 개선활성[12, 24], 배변촉진활성[8], 정장[16] 및 비만 억제활성[15, 21], 면역능 증강 활성[26], 혈전 용해 활성[29]이 알려져 있으며, 유용생리활성과 관련하여 다당류, flavonoid glycoside, chlorogenic acid를 포함하는 다양한 페놀성 화합물이 보고되어 있다[8, 14, 18, 26]. 그러나 식물의

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5491, Fax : +82-54-820-7804

E-mail : hysohn@anu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

경우 수확시기에 따라 성분과 생리활성이 크게 좌우되며, 또한 함초의 용도가 4~6월의 식용과 9~10월의 약용으로 구분됨을 고려할 때 수확시기별 함초의 유용생리활성 변화에 대한 연구가 필요하나, 현재까지 함초의 수확시기별 성분변화와 활성연구는 매우 제한적이며, 또한 기존 연구가 8~10월에 집중되어 있으며, 생리활성 평가가 항산화 활성에 한정되어 있는 실정이다[6, 17]. 따라서 본 연구에서는 함초를 이용한 기능성 식품 소재개발 연구의 일환으로, 4~10월의 다양한 시기에 채취한 함초를 대상으로 유용성분 분석과 이에 따른 항산화, 항혈전 활성을 분석하였으며, 그 결과 특정시기에 수확된 함초를 특정용매로 추출하는 경우 새로운 항산화제 및 항혈전제로 개발할 수 있음을 확인하여, 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험의 함초 시료는 2015년 6월~2016년 6월에 전남 신안군 농가의 동일장소에서 재배한 함초를 구입하여 사용하였다 (Fig. 1). 열수 추출물 제조를 위해서는 함초시료에 대해 10배의 증류수를 가하고 100℃에서 1시간 가열 추출한 후 방냉하고, 다시 상기 과정을 1회 반복한 후 추출액을 모아 filter paper (Whatman No. 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd. Japan)하여 분말로 조제하였다[13]. 에탄올 추출물은 이물질을 제거하고 수세한 함초에 10배의 95% ethanol (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd., Korea)을 가한 후 상온에서 24시간, 3회 반복 추출하였으며, 추출액은 상기와 동일하게 감압 농축하여 분말로 조제하였다. 조제된 추출물들은 DMSO 또는 증류수에 적당한 농도로 녹여, 성분분석, 혈액응고 저해, 혈소판 응집저해, 적혈구 용혈활성 및 항산화 활성에 사용하였다. 실험에 사용한 함초 시료는 안동대학교 식품영양학과에서 보관하고 있다(voucher specimen 2015-SH1~5).

혈액응고 저해활성

함초 시료의 혈액응고 저해 활성은 기존의 보고한 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 측정하여 평가하였다[13]. 혈장은 시판 control plasma (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, China), PT reagent와 aPTT reagent는 MD Pacific Hemostasis (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, China)의 분석시약을, 기타 시약은 시약급 이상으로 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다[3]. 각각의 혈액응고활성은 3회 반복 측정하였으며, thrombin, prothrombin, 혈액응고인자 저해 활성은 시료 첨가시의 TT, PT 및 aPTT의 평균값을 용매 대조구인 DMSO첨가시의 TT, PT 및 aPTT 평균값의 비로 각각 나타내었다[14]. 이때 시료 대조군으로는 aspirin (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을, 용매 대조군으로는 열수 추출물의 경우 증류수를, 에탄올 추출물의 경우 DMSO를 사용하였으며, 각각의 실험은 3회 반복 측정하였다.

혈소판 응집 저해 활성

혈소판 응집저해 활성은 혈소판이 미세전극에 부착, 응집됨에 따라 발생하는 전기 저항값의 변화를 Whole Blood Aggregometer (Chrono-log, PA, U.S.A)를 사용하여 측정하였다[39]. 먼저 10 mM CaCl₂ 50 µl, suspending buffer 147.5 µl, 함초 추출물 시료 5 µl가 포함된 반응 cuvette에 50 µl의 혈소판 (5×10⁸ cells/ml)을 넣은 후 3분 동안 37℃로 가온 후 응집유도제로 collagen (1 mg/ml)을 2.5 µl를 넣고 혈소판 응집을 측정하였다. 응집반응은 collagen 첨가 후 12분간 측정하였으며, 응집곡선의 area under 값을 구하였다. 함초 추출물의 혈소판 응집도는 시료 첨가시의 area under 값과 용매대조구인 DMSO 첨가시의 area under 값의 비를 백분율로 나타내었다 [13].

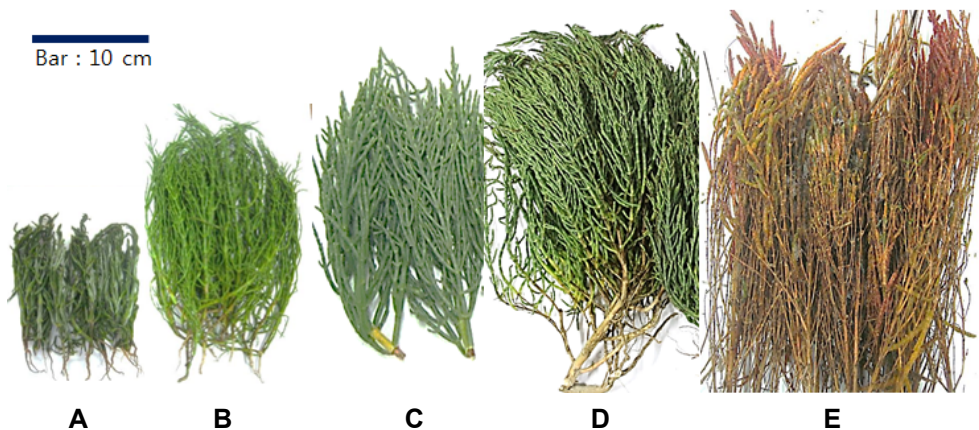


Fig. 1. Photography of the hamcho (*Salicornia europaea*) used. Hamcho was harvested at (A) 5th Apr., (B) 5th Jun., (C) 5th Aug., (D) 5th Sep., and (E) 5th Oct from the culture fields of Shinan, Jeonnam, Korea.

인간 적혈구 용혈 활성 평가

함초 추출물 시료의 인간 적혈구 용혈 활성은, 기존의 보고한 방법[13]과 동일하게 평가하였다. 먼저 PBS로 3회 수세한 인간 적혈구(4%) 100 µl를 96-well microplate에 가하고 다양한 농도의 시료용액 100 µl를 가한 다음 37°C에서 30분간 반응시켰으며, 이후, 반응액을 10분간 원심분리(1,500 rpm)하여 상등액 100 µl를 새로운 microtiter plate로 옮긴 후 용혈에 따른 헤모글로빈 유출 정도를 414 nm에서 측정하였다. 시료의 용매 대조구로는 DMSO (2%)를 사용하였으며, 활성 대조구로는 triton X-100을 사용하였다. 용혈활성은 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$(\%) \text{ Hemolysis} = [(S - C)/(T - C)] \times 100.$$

S: 시료 첨가구의 흡광도, C: DMSO 첨가구의 흡광도, T: triton 첨가구의 흡광도.

항산화 활성

조제된 함초 추출물의 항산화 활성은 기존의 보고[13]한 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 음이온 소거능, ABTS [2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonate)] 양이온 소거능 및 환원력 측정으로 평가하였으며, 최종 항산화 활성의 비교는 RC₅₀ (표준조건에서 활성 radical을 50% 제거하는 데 소요되는 시료의 양)으로 나타내었다. 이때 활성 대조구로는 vitamin C (Sigma Co.)를, 용매 대조구로는 DMSO를 사용하였다. 한편 nitrite 소거능의 경우 아질산염 용액(1 mM)에 시료용액을 가하고 여기에 0.1 N HCl을 가해 pH 1.2로 조정 한 후, 37°C에서 1시간 반응시킨 후 Griess reagent (Sigma Co.)를 가하고 혼합하였다. 이후 15분간 실온에서 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존 nitrite 양을 측정하였다. NSA (%)는 다음의 식에 의해 계산하였으며, 소거 활성의 비교는 RC₅₀으로 나타내었다.

$$NSA (\%) = [1 - (A - C)/B] \times 100,$$

A: 1 mM nitrite 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B: 1 mM nitrite 용액의 흡광도, C: 시료의 흡광도.

기타 분석

Total flavonoid (TF) 및 Total polyphenol (TP) 함량 측정은 기존의 보고된 방법[27]에 따라 측정하였으며, 각각 rutin과 tannic acid를 표준시약으로 사용하였다. 총당 정량의 경우에는 phenol-sulfuric acid법을, 환원당 정량의 경우에는 DNS 변법을 이용하였다[31]. 각각의 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다.

통계분석

실험 결과는 SPSS 23.0 버전을 사용하여 mean±SD 로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, Dun-

can 다중비교 검증법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였다. 유의수준은 p<0.05로 하였다.

결과 및 고찰

함초의 수확시기별 열수 및 에탄올 추출 수율의 변화

식물은 생육 정도에 따라 구성성분 및 생리활성의 변화가 나타난다. 4계절이 분명한 국내에서는, 통상 함초를 3월에 파종하고 9~10월에 수확한다. 4~6월의 어린 함초는 잎, 줄기 부분이 어려우며 식감이 부드러워 생식으로 이용되며, 9월에는 가장 성숙기에 접어들어 함초 수확량이 최고에 이른다. 반면 10월에는 함초가 붉은 색으로 물들며 거친 식감과 함께 식용할 수 없다고 알려져 있다(Fig. 1). 각각의 시기에 채취한 함초의 열수 및 에탄올 추출물의 수율을 측정 한 결과 특징적인 패턴을 나타낸 바, 먼저 열수 추출의 경우 4월 함초4.3% 추출효율이 6월 함초 3.2%로 감소한 후 8월 함초에서는 5.72%로 최고조에 도달하였으나, 이후 서서히 감소하여 10월 함초는 4.56% 추출 수율을 나타내었다. 반면 에탄올 추출의 경우 4월 함초 5.5% 추출효율이 6월 함초 2.7%로 급감한 후 8월에는 열수 추출 수율과 유사한 5.67%를 나타내었으며, 이후 지속적으로 증가하여 10월 함초는 7.22% 추출 수율을 나타내었다. 이러한 결과는 6월 함초가 가장 많은 수분을 함유하여 나타난 결과로 이해되며, 8월 이후 함초의 수용성 성분은 감소되는 반면 지용성 성분은 지속적으로 증가됨을 의미하고 있다.

함초의 수확시기별 열수 및 에탄올 추출물의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 총당 및 환원당 분석

함초 열수 추출물의 총 폴리페놀 함량은 4월 8.8 mg/g에서 지속적으로 증가하였으며, 10월에는 22.4 mg/g에 도달하였다. 반면 총 플라보노이드 함량은 4월 6.3 mg/g에서 6월 11.1 mg/g으로 증가하여 9월까지 유지되다가 10월에 다시 17.6

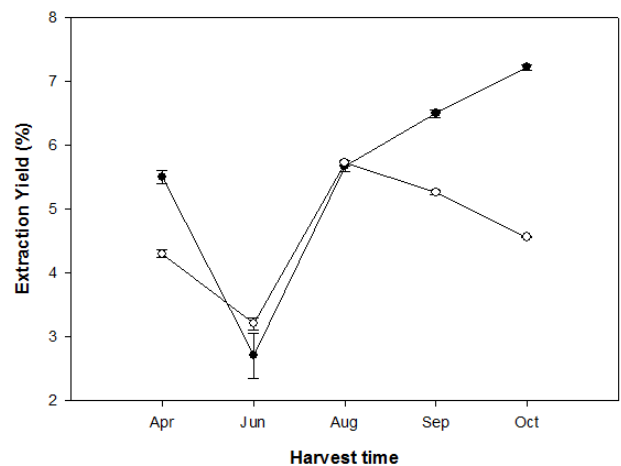


Fig. 2. The yields of hot water (○) and ethanol extraction (●) from hamcho harvested during 5th Apr. to 5th Oct.

mg/g으로 유의적으로 증가하였다(Fig. 3). 이러한 변화는 에탄올 추출물과는 차이가 나타났으며, 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 4월 11.4 mg/g에서 6~8월 14.8~14.9 mg/g으로 미약하게 증가되었다가 9월에는 20.1 mg/g까지 증가 후, 10월 12.4 mg/g으로 급감하였다. 반면 총 플라보노이드 함량은 4~8월에 9.8~10.8 mg/g에서 9월 19.3 mg/g으로 급증하였다가 10월에는 12.8 mg/g으로 유의적으로 감소하였다(Fig. 3). 즉 함초의 경우 수용성 폴리페놀, 플라보노이드 성분은 10월로 갈수록 증가하였으며, 지용성 폴리페놀, 플라보노이드 성분은 9월에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 한편 총당 및 환원당 함량의 경우 열수 추출물 및 에탄올 추출물 모두에서 8월 함초가 가장 높게 나타났으며, 이는 기존의 6, 8, 10월 수확한 함초의 분석보고와 일치되는 결과이다[6]. 그러나 열수 추출물의 경우에는 9월에 감소하였다가 다시 10월에 다시 증가된 반면, 에탄올 추출물은 8월에 최고 함량을 나타낸 이후, 9~10월에는 20~24, 13.1~13.6 mg/g으로 유지되었다(Fig. 3). 따라서 관능성과 부드러운 식감을 고려할 때, 식용으로는 8월 함초가 적합하며, 유용 생리활성소재로 이용하고자 하는 경우 9~10월 함초가 적합함을 알 수 있었다.

함초의 수확시기별 열수 및 에탄올 추출물의 항산화 활성

함초 추출물의 항산화 활성 평가 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 먼저 DPPH 음이온 소거능을 0.5 mg/ml 농도에서 평가한

결과 9월 함초에서 가장 높게 나타났으며, 열수 추출물은 9월 함초의 강력한 DPPH 소거능이 10월까지 유지된 반면 에탄올 추출물은 9월 함초의 72.7% 소거능이 10월 함초에서는 52%로 유의적으로 감소하였다(Fig. 4A, 4E). ABTS 양이온 소거능을 0.5 mg/ml 농도에서 평가한 결과, 열수 추출물에서는 10월 함초가 81.1% 소거능, 에탄올 추출물에서는 9월 함초가 79.2%로 가장 높게 나타났으며, 4월 함초의 경우 추출용매와 무관하게 가장 낮은 소거능을 나타내었다(Fig. 4B, 4F). Nitrite 소거능을 0.2 mg/ml 농도에서 평가한 경우, 열수 추출물은 6, 9, 10월 함초가 57~59%의 유사한 소거능을 나타낸 반면, 에탄올 추출물의 경우 4월에서 9월로 재배시기가 증가할수록 nitrite 소거능도 유의적으로 증가하여 최대 69.4% 소거능을 나타내었으며, 이후 10월에는 8월 소거능 수준으로 감소하였다(Fig. 4C, 4G). 다양한 농도의 시료를 이용하여 DPPH 음이온, ABTS 양이온, nitrite 소거능을 측정한 후, 각각의 추출물의 활성 radical 소거능을 RC₅₀로 계산한 결과, 열수 추출물은 10월이, 에탄올 추출물은 9월이 가장 낮은 RC₅₀를 나타내었다(Table 1). 그러나 대조구로 사용된 vitamin C에 비해서는 상대적으로 미약한 활성을 나타내었다. 한편 환원력 평가에서도, 열수 추출물은 10월 함초가, 에탄올 추출물의 경우 9월 함초가 가장 높은 환원력을 나타내었다. 이러한 결과는 항산화 활성이 우수하다고 알려진 함초를 대상으로 활성 radical을 제거하고자 하는 경우, 열수 추출의 경우 9~10월 함초, 에탄올 추출의 경우 9월

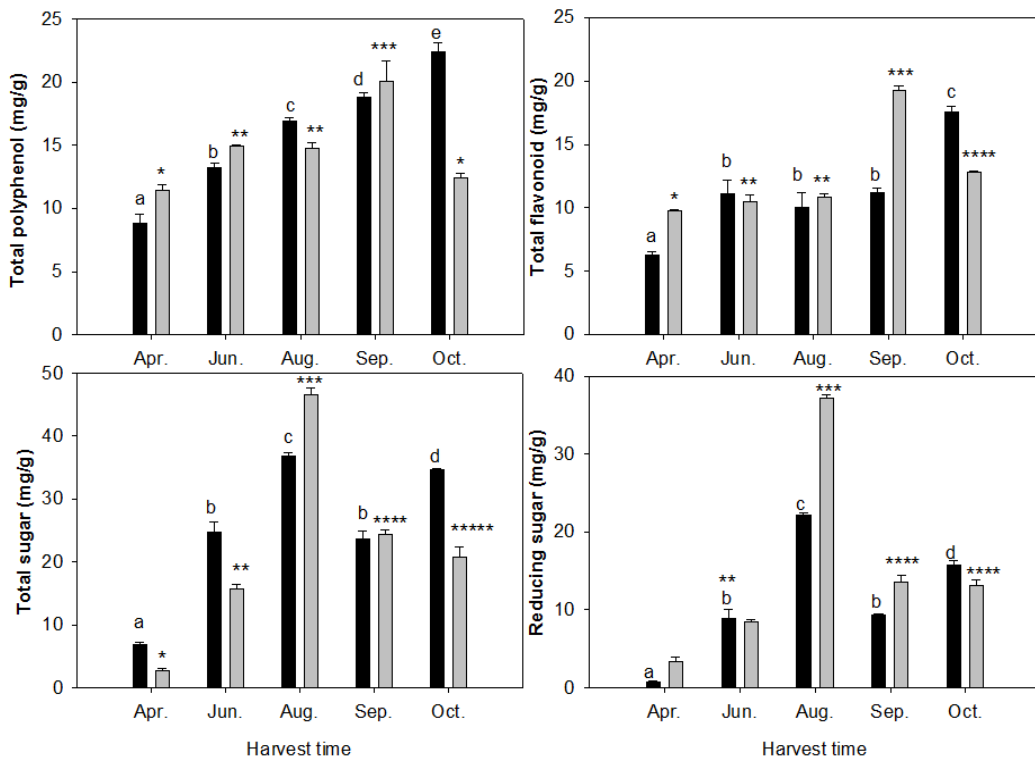


Fig. 3. The contents of total polyphenol, total flavonoid, total sugar and reducing sugar of hot water extracts (black bar) and ethanol extracts (gray bar) from hamcho harvested during 5th Apr. to 5th Oct.

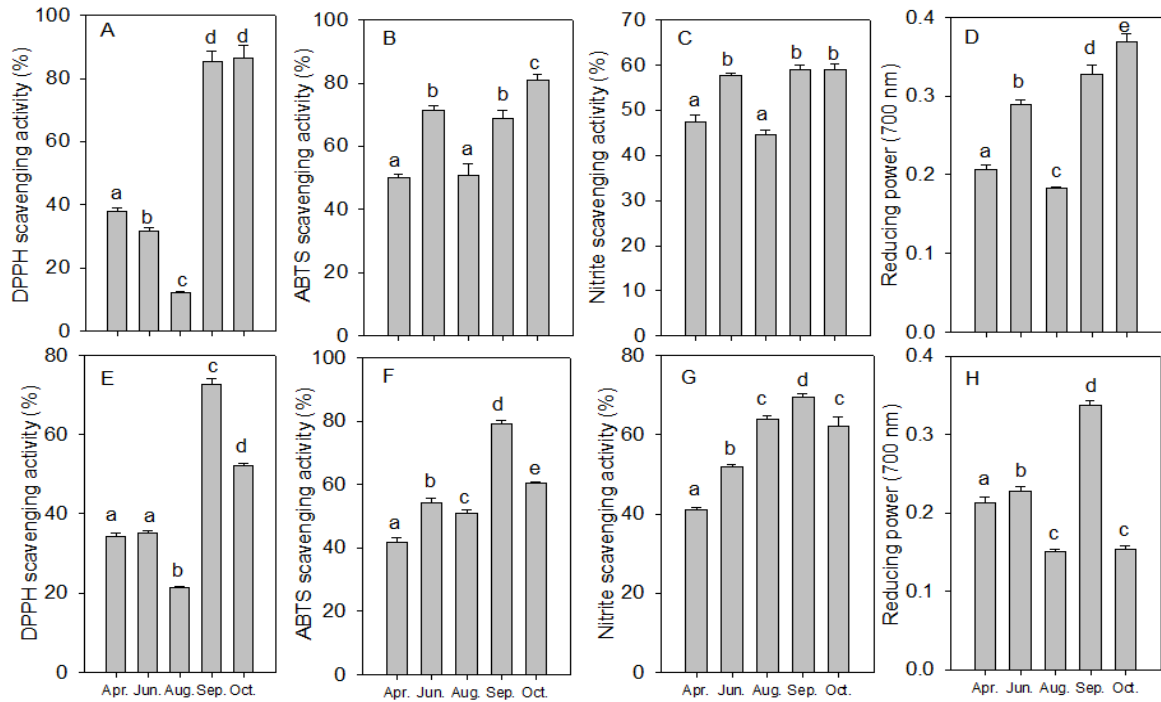


Fig. 4. Changes of the anti-oxidant activities of hot water extracts (A~D) and ethanol extracts (E~H) from hamcho harvested during 5th Apr. to 5th Oct. The concentrations of extract used in (A, B, D, E, F and H) and (C and G) were 0.5 mg/ml and 0.2 mg/ml, respectively.

Table 1. The calculated RC₅₀s as radical scavenging activity of the extracts of hamcho harvested during 5th Apr. to 5th Oct.

Chemical/samples	Radical scavenging activity (RC ₅₀ : µg/ml)			
	DPPH anion	ABTS cation	Nitrite	
Vitamin C	8.2	3.8	11.3	
Hot water extract	Apr.	604.8	483.8	226.9
	Jun.	725.3	322.7	144.1
	Aug.	2062.2	477.5	246.3
	Sep.	960.7	332.9	153.9
	Oct.	564.3	269.4	143.1
Ethanol extract	Apr.	654.4	658.5	249.8
	Jun.	719.1	421.9	177.5
	Aug.	1050	473.1	116.7
	Sep.	578	277.2	68.8
	Oct.	977.1	384.1	126.6

함초를 사용하는 것이 적합함을 의미한다.

함초의 수확시기별 열수 및 에탄올 추출물의 항혈전 활성 및 적혈구 용혈활성

함초 추출물의 항혈전 활성을 평가하기 위해 5 mg/ml 농도의 시료를 이용하여 혈액응고 저해활성을 평가하였다(Table 2, Table 3). 먼저 트롬빈 타임의 경우, 열수 추출물에서는 9월 함초가 트롬빈 타임을 1.76배 연장시켜 가장 트롬빈 저해가 강력하였으며, 이는 에탄올 추출물에서도 1.94배 연장시켜 동일한 패턴을 나타내었다. 이러한 저해활성은 1.5 mg/ml농도

의 아스피린보다 강력한 것으로 확인되었다(Table 2). 반면 외인성 혈전 생성과 관련된 프로트롬빈 저해는 열수 추출물의 경우 4~6월에서 우수하였으며, 에탄올 추출물은 10월에서 가장 강력하였으나, 아스피린(1.5 mg/ml)에 비해 미약한 활성을 나타내었다. 내인성 혈전과 관련된 aPTT의 경우 열수 추출물의 경우 4~6월 함초 추출물에서 아스피린(1.5 mg/ml)보다 우수한 항응고 활성을 나타내었으며, 이는 에탄올 추출물에서도 동일하게 나타났다. 특히 에탄올 추출물의 경우 6월 이후 감소된 aPTT 저해가 10월 함초에서 다시 유의성 있게 증가하였다. 이러한 결과는 4~6월의 함초가 내인성 항응고제로, 8~9월의

Table 2. Anti-coagulation activities of the hot water extracts of hamcho harvested during 5th Apr. to 5th Oct.

Chemical/ Samples	Conc. (mg/ml)	Anti-coagulation activity (x control)		
		Thrombin time	Prothrombin time	aPTT ¹
Control (Water)	-	1.00±0.04 ^a	1.00±0.02 ^a	1.00±0.10 ^a
Aspirin	1.5	1.68±0.06 ^e	1.58±0.07 ^c	1.64±0.06 ^c
Apr.	5.0	1.09±0.04 ^b	1.23±0.03 ^{ab}	1.43±0.04 ^b
June	5.0	1.38±0.00 ^c	1.31±0.01 ^b	1.71±0.02 ^c
Aug.	5.0	1.42±0.02 ^{cd}	1.06±0.06 ^{ab}	1.09±0.01 ^a
Sep.	5.0	1.76±0.01 ^f	1.10±0.02 ^{ab}	1.28±0.18 ^{ab}
Oct.	5.0	1.45±0.02 ^d	1.16±0.04 ^{ab}	1.19±0.09 ^{ab}

¹aPTT : activated Partial Thromboplastin Time

Data are presented as relative clotting time based on solvent control (x control). The thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) of solvent control (dimethylsulfoximide) were 24.1 sec, 18.6 sec and 45.6 sec, respectively. Different superscripts within a column differ significantly (*p*<0.05).

Table 3. Anti-coagulation activities of the ethanol extracts of hamcho harvested during 5th Apr. to 5th Oct.

Chemical/ Samples	Conc. (mg/ml)	Anti-coagulation activity (x control)		
		Thrombin time	Prothrombin time	aPTT
Control (DMSO)	-	1.00±0.02 ^a	1.00±0.02 ^a	1.00±0.03 ^a
Aspirin	1.5	1.68±0.06 ^d	1.58±0.07 ^c	1.64±0.06 ^c
Apr.	5.0	1.49±0.06 ^c	1.16±0.02 ^c	1.78±0.07 ^c
June	5.0	1.22±0.03 ^b	1.14±0.03 ^c	1.43±0.04 ^b
Aug.	5.0	1.84±0.12 ^e	1.14±0.04 ^c	1.15±0.21 ^a
Sep.	5.0	1.94±0.04 ^e	0.84±0.07 ^b	1.05±0.08 ^a
Oct.	5.0	0.97±0.05 ^a	1.25±0.01 ^d	1.56±0.11 ^{bc}

¹aPTT : activated Partial Thromboplastin Time

Data are presented as relative clotting time based on solvent control (x control). The thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) of solvent control (dimethylsulfoximide) were 24.1 sec, 18.6 sec and 45.6 sec, respectively. Different superscripts within a column differ significantly (*p*<0.05).

함초가 트롬빈 저해제로 개발 가능성을 제시하고 있다.

함초 추출물의 항혈전 활성을 평가하기 위해 0.25 mg/ml

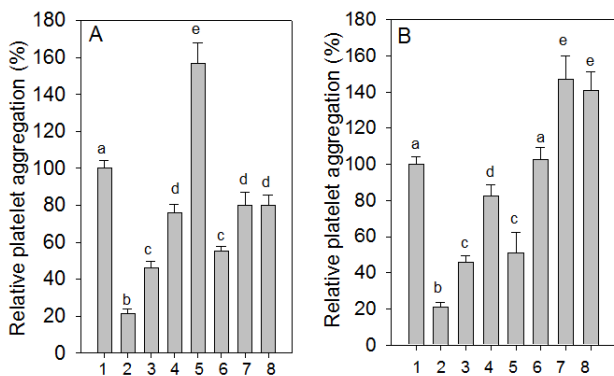


Fig. 5. Platelet aggregation activities of the (A) hot water extracts and (B) ethanol extracts of hamcho harvested during 5th Apr. to 5th Oct. 1: DMSO, 2: aspirin (0.5 mg/ml), 3: aspirin (0.25 mg/ml), 4: hamcho harvested at 5th Apr., 5: hamcho harvested at 5th Jun., 6: hamcho harvested at 5th Aug., 7: hamcho harvested at 5th Sep., and 8: hamcho harvested at 5th Oct.

농도의 시료를 이용하여 인간 혈소판 응집저해능을 평가하였다. 아스피린은 농도 의존적으로 혈소판 응집을 저해하였으며, 0.25 mg/ml 농도에서 46%의 응집도를 나타내었다, 함초 열수 추출물은 8월 함초가, 에탄올 추출물은 6월 함초가 가장 낮은 응집도를 보였으며, 6월 열수 추출물 및 9~10월 에탄올 추출물은 오히려 혈소판 응집을 촉진하였다. 한편 조제된 다양한 함초 추출물의 인간 적혈구 용혈활성을 평가한 결과, 0.5 mg/ml 농도까지 전혀 용혈활성이 나타나지 않았다(results not shown). 상기의 연구 결과는, 함초는 성장단계에 따라 다양한 성분을 함유하며 이에 따라 수확시기별로 다양한 생리활성을 나타냄을 제시하고 있으며, 4~6월의 함초는 내인성 항응고제로, 8~9월의 함초는 트롬빈 저해제로, 9~10월의 함초는 항산화제로 개발 가능성을 제시하고 있다. 본 연구결과는 함초를 이용한 기능성 식품 제조의 기초자료로 이용될 것이다.

감사의 글

본 연구는 2015년도 농림축산식품부 고부가가치식품기술 개발사업(과제번호 115008-2)의 의해 수행되었으며, 이에 감

사드립니다.

References

- An, H. K., Hong, G. J. and Lee, E. J. 2010. Properties of sponge cake with added Saltwort (*Salicornia herbacea* L.). *Kor. J. Food Culture* **25**, 47-53.
- Bae, J. Y., Park, L. Y. and Lee, S. H. 2008. Effects of *Salicornia herbacea* L powder on making wheat flour bread. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 908-913.
- Bijak, M., Bobrowski, M., Borowiecka, M. and Podsedek, A. 2011. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape seeds. *Fitoterapia* **82**, 811-817.
- Cha, J. Y., Jeon, B. S., Kim, B. K., Kang, H. Y. and Cho, Y. S. 2005. Physiological effect of hamcho yogurt on streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Life Sci.* **15**, 619-625.
- Cha, J. Y., Jeon, B. S., Park, J. W., Im, B. K., Jeong, C. Y., Ryu, J. S., Choi, C. K. and Cho, Y. S. 2004. Hypocholesterolemic effect of yogurt supplemented *Salicornia herbacea* extract in cholesterol-fed rats. *J. Life Sci.* **14**, 788-793.
- Cha, J. Y., Jeong, J. J., Kim, Y. T., Seo, W. S., Yang, H. J., Kim, J. S. and Lee, Y. S. 2006. Detection of chemical characteristics in hamcho (*Salicornia herbacea* L) according to harvest periods. *J. Life Sci.* **16**, 683-690.
- Cho, H. D., Lee, J. H., Jeong, J. H., Kim, J. Y., Yee, S. T., Park, S. K., Lee, M. K. and Seo, K. I. 2014. Production of novel vinegar having antioxidant and anti-fatigue activities from *Salicornia herbacea* L. *J. Sci. Food Agric.* **96**, 1085-1092.
- Cho, J. Y., Park, S. Y., Shin, M. J., Gao, T. C., Moon, J. H. and Ham, K. S. 2010. Isolation and identification of antioxidative compounds in fermented glasswort (*Salicornia herbacea* L.) juice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 1137-1142.
- Cho, Y. S., Kim, S. I. and Han, Y. S. 2008. Effects of slander glasswort (*Salicornia herbacea* L.) extract on improvements in bowel function and constipation relief. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **40**, 326-331.
- Han, S. K. 2004. Antioxidant effect of fermented *Salicornia herbacea* L. liquid with EM (Effective Microorganism) on pork. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **24**, 289-302.
- Jeong, C. Y., Ryu, J. S., Choi, C. K., Jeon, B. S., Park, J. W., Shin, G. G., Kim, B. K., Bae, D. W. and Cha, J. Y. 2004. Supplements effect of *Salicornia herbacea* extract powder on preparation and quality characteristics of fermented milk product. *J. Life Sci.* **14**, 755-793.
- Jo, Y. C., Ahn, J. H., Chon, S. M. Lee, K. S., Bae, T. J. and Kang, D. S. 2002. Studies on pharmacological effects of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *Kor. J. Med. Crop Sci.* **10**, 93-99.
- Jung, I. C. and Sohn, H. Y. 2014. Antioxidation, antimicrobial and antithrombosis activities of aged black garlic (*Allium sativum* L.). *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **42**, 285-292.
- Jung, S. H., Park, K. U., Kim, J. Y., Park, C. K., Choi, K. S. and Seo, K. I. 2009. Biological activities of crude polysaccharides and crude saponins from *Salicornia herbacea*. *Kor. J. Food Preserv.* **16**, 109-114.
- Karadeniz, F., Kim, J. A., Ahn, B. N., Kwon, M. S. and Kong, C. S. 2014. Effect of *Salicornia herbacea* on osteoblastogenesis and adipogenesis *in vitro*. *Mar. Drugs* **12**, 5132-5147.
- Kim, S. H., Kim, S. J. and Lee, H. S. 2014. Effect of insoluble dietary fiber extracted from *Salicornia herbacea* L. on large intestinal function in rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **46**, 648-654.
- Kim, H. S., Park, J. W., Lee, Y. J., Shin, G. W., Park, I. B. and Jo, Y. C. 2009. The amino acid content and antioxidant activities of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *Kor. J. Food Preserv.* **16**, 427-434.
- Kim, H. S., Yoon, S. Y. and Cho, J. W. 2008. Quantitative analysis of flavonoids from *Salicornia herbacea* L. extract by LC-MS. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **16**, 231-237.
- Kim, K. R., Choi, J. H., Lee, S. K., Woo, M. H. and Choi, S. W. 2006. Effect of enzymatic hydrolysate of hamcho (*Salicornia herbacea* L) on antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 1356-1362.
- Kim, K. R., Jang, M. J., Choi, S. W., Woo, M. H. and Choi, J. H. 2006. Effects of water extract from enzymic-treated hamcho (*Salicornia herbacea*) on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 55-60.
- Kim, M. J., Jun, H. Y. and Kim, J. H. 2015. Anti-obesity effect of Kor. hamcho (*Salicornia herbacea* L.) powder on high-fat diet-induced obese rats. *J. Nutr. Health* **48**, 123-132.
- Lee KB, Kim JM, Kim MJ, Kang SA. 2014. Antioxidant effect of hamcho (*Salicornia herbacea* L.) and quality characteristics of pettitoes (jokbal) added with hamcho. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **24**, 383-391.
- Park, S. Y., Cho, J. Y., Chung, D. O. and Ham, K. S. 2011. Physicochemical characteristics and physiological activities of naturally fermented glasswort (*Salicornia herbacea* L.) juice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 1493-1500
- Pichiah, P. T. and Cha, Y. S. 2014. *Salicornia herbacea* prevents weight gain and hepatic lipid accumulation in obese ICR mice fed a high-fat diet. *J. Sci. Food Agric.* **95**, 3150-3159.
- Ryu, D. S., Kim, S. H. and Lee, D. S. 2008. Immuno-modulating activity of *Salicornia herbacea* extract. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 135-141.
- Shin, K. S., Boo, H. O., Jeon, M. J. and Ko, J. Y. 2002. Chemical components of native plant, *Salicornia herbacea* L. *Kor. J. Plant Res.* **15**, 216-220.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
- Song, H. S., Kim, D. P., Jung, Y. H. and Lee, M. K. 2007. Antioxidant activities of red hamcho (*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. *Kor. J. Food Nutr.* **20**, 150-157.
- Song, T. C., Lee, C. H., Kim, Y. E., Kim, I. H., Han, D. S. and Yang, D. H. 2007. The functionality of the saltwort (*Salicornia herbacea* L.) extract fermented juice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 395-399.

30. Sweeney, J. D., Hoerning, L. A., Behrens, A. N., Novak, E. and Swank, R. T. 1990. Thrombocytopenia after desmopressin but absence of *in-vitro* hypersensitivity to ristocetin. *Amer. J. Clin. Path.* **93**, 522-525.
31. Valentina, U., Fabcic, J. and Stampar, F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**, 185-192.

초록 : 수확시기에 따른 함초의 항산화 및 항혈전 활성의 변화

김미선¹ · 이정남¹ · 성화정¹ · 김득희² · 손호용^{1*}

(¹안동대학교 식품영양학과, ²과이토크퍼레이션)

함초는 특유의 짠맛, 풍부한 미네랄, 부드러운 식감으로 인해 4~6월에는 나물 무침이나 샐러드로 주로 이용되며, 9~10월에는 약용식물로 이용된다. 본 연구에서는 함초를 이용한 기능성 식품 소재개발 연구의 일환으로, 전남 신안지역 동일 재배지로에서 4~10월 동안 다양한 시기에 채취한 함초로부터 열수 추출물 및 에탄올 추출물을 조제하여 함초의 수확시기별 유용성분 분석과 이에 따른 항산화, 항혈전 활성을 분석하였다. 먼저 폴리페놀 함량의 경우 열수 추출물에서는 성숙기인 10월에 22.4 mg/g으로 가장 높았으며, 에탄올 추출물의 경우 9월에 20.1 mg/g로 가장 높았다. 플라보노이드 함량은 10월 열수 추출물에서 17.6 mg/g, 9월 에탄올 추출물에서 19.3 mg/ml로 가장 높게 나타났다. 총당 및 환원당 함량의 경우 열수 추출물 및 에탄올 추출물 모두에서 8월 함초에서 가장 높게 나타나 생식용으로는 8월 함초가 가장 우수하였다. 항산화 활성은, 10월 함초의 열수 추출물이 가장 우수한 DPPH 음이온 소거능, ABTS 양이온 소거능, nitrite 소거능 및 환원력을 나타내었으며, 에탄올 추출물에서는 9월 함초에서 가장 강력한 항산화력을 나타내었다. 특히 9월 함초의 에탄올 추출물은 DPPH 음이온, ABTS 양이온 및 nitrite에 대한 RC_{50} 이 각각 578, 277, 68.8 μ g/ml로 계산되었다. 한편 항혈전 활성 평가 결과, 4~6월의 함초가 내인성 항응고 활성이, 8~9월의 함초가 트롬빈 저해활성이 가장 우수하며, 6월 함초의 에탄올 추출물과 8월 함초의 열수 추출물은 혈소판 응집저해 활성이 우수함을 확인하였다. 본 연구결과는 특정시기에 수확된 함초 및 특정 용매로 추출한 함초 추출물이 항산화제 및 항혈전제로 개발 가능함을 제시하고 있으며, 함초를 이용한 기능성 식품 제조의 기초자료로 이용될 것이다.