

피라칸타 추출물의 항산화 효능에 관한 연구

†이 광 수

장안대학교 건강과학부 식품영양과

A Study of Antioxidant Effects of *Pyracantha angustifolia*(Franch.) C. K. Schneid Extract

†Kwang-Soo Lee

Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 18331, Korea

Abstract

In this study, *Pyracantha angustifolia* (Franch.) C. K. Schneid was extracted with 70% methanol at room temperature for 48 hrs and concentrated under reduced pressure to measure its total polyphenol contents; furthermore, the effect of electron donating ability was examined. Methylene chloride, ethyl acetate, and methanol were used to fractionate the extract to testify total polyphenol contents, electron donating abilities, the removal abilities of superoxide radical as well as hydrogen peroxide. The total polyphenol contents were 2007.30 ± 109.28 μg GAE/mL in 70% methanol extract, 273.39 ± 10.19 μg GAE/mL in methylene chloride fraction, 80.57 ± 0.64 μg GAE/mL in ethyl acetate fraction, and $1,160.87 \pm 44.71$ μg GAE/mL in methanol fraction. The total polyphenol contents showed significant differences ($p < 0.05$) between the solvents. The electron donating ability was $79.07 \pm 7.31\%$ for 70% methanol extract, $22.34 \pm 0.64\%$ for methylene chloride fraction, $5.33 \pm 0.28\%$ for ethyl acetate fraction, and $32.26 \pm 1.10\%$ for methanol fraction. The electron donating abilities were significantly different ($p < 0.05$) between the solvents. The removal ability of superoxide radical was 0.018 ± 0.003 for 70% methanol extract, 0.007 ± 0.002 for methylene chloride fraction, 0.0147 ± 0.003 for ethyl acetate fraction, and nothing for methanol fraction. The measurement of hydrogen peroxide decomposition was 0.022 ± 0.0046 for 70% methanol extract, 0.0027 ± 0.0015 for methylene chloride fraction, 0.0037 ± 0.0012 for ethyl acetate fraction, and 0.0009 ± 0.0001 for methanol fraction.

Key words: *Pyracantha angustifolia* (Franch.) C. K. Schneid, total polyphenol contents, electron donating ability, superoxide radical

서 론

현대인의 생활수준의 향상과 급속하게 변화하는 사회에 적응하면서 생기는 스트레스로 다양하게 표출되는 건강 문제로 인하여 건강에 관련한 관심이 증가하고 있다. 특히, 첨가물에 대한 관심은 인체에 무해한 천연물을 선호하고 있고, 이로 인하여 천연물 추출물의 활성산소종(ROS)을 저해하는 생리 활성에 관한 연구가 꾸준히 진행되고 있다. 활성산소종들은 미토콘드리아 내에서 에너지를 생성하기 위해서 산소를 소비하는 과정에서 생성되며, 세포막 분해라든지 DNA

합성 억제에 의한 생리적 장애를 주는 것으로 밝혀졌고(Cerutti PA 1985), 심할 경우에는 세포사멸을 야기할 수 있다(Inze & Van 1995). Lee KH(2005)는 활동조직에 공급되는 산소가 수십 배 요구되는 유산소성 운동 후의 회복기에는 항산화 효소인 SOD가 증가함을 밝혔고, 이는 고강도 운동 시에 항산화 효소의 활성도 변화에 기인한 것으로 설명하였다. 항산화성 물질과 관련한 연구는 환경적 요인에 의한 스트레스와 다량의 자외선 노출에 따른 활성산소종의 생성으로 인한 피부 노화방지(Black DL 등 1991), 여드름과 아토피 등과 관련한 피부질환(Cho 등 2008), 더덕에서 추출한 saponin의 항산화성

† Corresponding author: Kwang-Soo Lee, Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 18331, Korea. Tel: +82-31-299-3068, Fax: +82-31-299-3609, E-mail: lkss2920@jangan.ac.kr

(Kim YH 2007), lipoxygenase(LOX)와 kunitz trypsin inhibitor (KTI) 단백질 결핍공으로 제조한 간장과 일반콩의 품질 특성 비교(Hwang 등 2012), 천연물의 항산화와 피부노화와 연계한 주름 억제 등을 목적으로 한 연구(Zhoh 등 2002; Kang 등 2009), 흑메밀 추출물의 항산화성 및 항염증 활성(Lee 등 2016), 황산화 활성을 갖는 울피 추출물을 활용한 향장 소재 개발(Jeong 등 2011), tyrosinase의 활성 저해 기능으로 인한 미백제로써 활용(Van Gelder 등 1997), 검정콩에서의 주요 항산화 원인물질 규명(Kim 등 2005) 등 반응성이 커서 인체에 유해한 영향을 주는 활성산소종의 억제제와 관련한 연구는 활발하게 진행되고 있다.

본 연구에 사용하고자 하는 피라칸타(*Pyracantha angustifolia* (Franch.) C. K. Schneid.)는 장미과(Rosaceae) 피라칸타속(*Pyracantha* 속)에 속하는 상록 관엽식물로, 가지가 많고 잎은 선상 타원형으로 꽃도 잘 피고, 결실도 잘되며, 꽃은 5~6월에 개화하여 10~11월에 적색이나 등황색의 열매를 맺고, 겨울 내내 유지되어 관상용으로 일부 화단에 많이 심는다. 보통 1~2 m 정도까지 자라며, 잎은 선상 타원형이고, 원산지는 중국으로 우리나라에서는 주로 남부 지역에서 서식하고 있다. 재배 식물로 속국명은 피라칸타속으로 14종이 있는 것으로 분류되어 있다. 피라칸타 추출물과 관련한 연구는 피라칸타에서 추출한 selenium-enriched polysaccharides의 난소암 전이 억제와 관련한 효능(Sun 등 2016), 유방암 전이 억제와 관련한 효능(Yuan 등 2016), 피라칸타에서 추출하여 분리한 water-soluble polymeric polyphenolic proanthocyanidines 분획물이 quercetin의 셀 항산화 활성 향상에 미치는 영향(Zhao 등 2015) 등 피라칸타에 함유된 성분을 추출한 연구가 최근 진행되고 있다. 특히, Min 등(2013)은 피라칸타의 잎, 줄기 및 뿌리 추출액의 선행실험에서 피라칸타의 뿌리 추출액이 돼지 단위 발생 난자의 체외 발달한 배반포에서 ROS의 수준이 감소함을 나타냈고, 이는 식물성 항산화제인 페놀이 뿌리 추출액에 존재하기 때문인 것으로 보고하고 있으나, 피라칸타와 관련한 연구는 미미한 편이다.

본 실험에서는 피라칸타 열매를 50°C에서 건조하였고, 이를 분쇄한 후에 70% methanol로 추출하여 농축한 추출물과 농축한 추출물을 성질을 달리하는 유기용매로 분획하여 감압 하에 농축한 분획물들을 총 폴리페놀 함량 측정, DPPH에 대한 전자공여능 실험, superoxide radical의 제거능 실험 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정을 통하여 향후 피라칸타 열매의 약리적 효능을 활용할 수 있는 기초 자료로의 제공과 더불어 최종적으로는 피라칸타에서 생리적 활성에 영향을 주는 성분들을 분리하여 그 구조를 규명함으로써 향후 기능성 식품 혹은 암 전이 저해와 관련한 자원으로 활용할 수 있는 자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료, 시약 및 기구

본 연구에 사용된 피라칸타는 가천대학교 인근 지역에서 채취한 피라칸타를 증류수로 씻은 후에 건조기에서 50°C로 72시간 건조하였고, 이를 분쇄하여 실험에 사용하였다.

Folin-Ciocalteu법에 사용된 Folin & Ciocalteu's phenol reagent와 전자공여능 측정에 사용된 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl(DPPH)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. 추출 용매로 사용된 methylene chloride, ethyl acetate, methanol 등은 Daejung(Incheon, Korea) 제품을 사용하였다. Vortex Mixer는 Thermolyne(Iowa, USA)사의 Type 37600 Mixer를 이용하였다. 전자공여능 측정, 폴리페놀 함량 측정, superoxide anion radical 제거능 측정 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정은 TECAN사(Salzburg, Austria) Infinite 200 PRO NanoQuant UV/VIS Spectrophotometer를 이용하였다. Superoxide anion radical 제거에 사용된 cytochrome C, xanthine, sodium deoxycholate와 xanthine oxidase는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. 명시되지 않은 시약은 1급(95% 이상) 시약을 사용하여 실험하였다.

2. 실험방법

70% methanol(MeOH)로 추출하여 감압 하에 농축한 용액을 총폴리페놀류 측정, 항산화성 측정, superoxide 제거능 측정 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정을 하여 이에 대한 효능을 먼저 확인하였고, 극성을 달리하는 용매(MC, EA, MeOH)로 분획·농축한 용액에 대하여 동일한 실험을 통하여 분획에 따른 효능을 확인하였다.

1) *Pyracantha angustifolia*의 추출 및 분리

50°C에서 72시간 건조한 피라칸타 열매를 분쇄한 다음 상온에서 70% methanol(MeOH)에 48시간 정치하여 추출하는 방법으로 2회 추출하였고, 추출액은 여과 후 감압상태에서 농축한 다음 총 폴리페놀류 측정, 항산화성 측정, superoxide 제거능 측정 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정을 하였다. 농축액은 다시 methylene chloride(MC)로 추출하였고, 남은 여액은 ethyl acetate(EA)로 추출하였으며, 마지막으로 methanol(MeOH)로 추출하였다. 극성을 달리하는 용매들로 분획 추출한 용액들은 감압 하에 용매를 완전히 제거하였고, 잔여물은 1.6 mL의 70% methanol에 용해시켜서 실험에 사용하였다.

2) 총 폴리페놀 함량 측정

Folin-Ciocalteu법(Singleton & Rossi 1965)에 따라서 총 폴리페놀 함량 측정을 측정하였다. 70% methanol로 추출하여

농축한 용액은 30배로 희석하였고, methylene chloride, ethyl acetate, methanol로 추출한 용액은 감압 하에 완전히 농축하였으며, 1.6 mL의 70% methanol에 용해시킨 분획물들은 희석하지 않고 실험에 사용하였다. 시료액 400 µL를 취하여 증류수 3.0 mL와 혼합한 후에 Folin-Ciocalteu reagent 200 µL를 넣었고, 이 용액에 포화 Na₂CO₃ 용액 400 µL를 넣은 후, vortex mixer에서 강하게 저어준 다음 상온에서 1시간 정치시켰다. 총 폴리페놀 함량의 측정은 UV spectrophotometer(Infinite 200 PRO NanoQuant UV/VIS Spectrophotometer, TACAN, Salzburg, Australia)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량 산출은 gallic acid를 사용하였다. 즉, 표준물질로 사용한 gallic acid로 구한 표준 검량선을 사용하여 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalents(GAE µg/mL extract)로 환산하였다.

3) 전자공여능 측정

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)의 free radical 제거능 측정은 70% methanol로 추출한 농축액과 methylene chloride, ethyl acetate 그리고 methanol로 분액 추출한 용액을 Lee & Park(2015)의 방법에 준하여 전체 부피를 조정하는 방법으로 실험을 하였다. 즉, 95% 에탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 800 µL에 시료 20 µL를 첨가하였고, 혼합 후 1시간 동안 37°C의 항온조에서 반응시킨 다음 UV spectrophotometer (Infinite 200 PRO NanoQuant UV/VIS Spectrophotometer, TACAN, Salzburg, Australia)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능(EDA%)은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{Electron donating ability(EDA\%)} = \left[1 - \frac{A_{\text{experiment}}}{A_{\text{blank}}} \right] \times 100$$

A experiment: Absorbance of sample

A blank: Absorbance of control

4) Superoxide 제거능 측정

Superoxide 제거 능력 측정은 xanthine oxidase와 xanthine에 의해 발생된 superoxide radical이 cytochrome c를 환원시키는 양을 측정하는 방법으로 하였다(McCord & Fridovich 1969). 즉, 0.1 mM EDTA를 함유하는 50 mM 인산염 완충액(pH 7.8) 2.1 mL와 50 µM KCN 0.1 mL, 0.5 mM xanthine 0.3 mL, 1% sodium deoxycholate 0.1 mL에 xanthine oxidase 0.1 mL(시료를 넣지 않은 상태에서 흡광도가 0.02되게 조절한 것), 0.1 mM cytochrome c 0.3 mL와 시료액 10 µL를 넣고, 550 nm에서 흡광도의 증가를 2분 동안 측정하였다. Superoxide radical의 제거능은 환원되는 cytochrome c의 spectrophotometer의 흡광도 변화로 표시하였다.

5) Hydrogen peroxide 제거능 측정

Hydrogen peroxide 제거 능력 실험은 Aebi H(1974)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 50 mM 인산염 완충액(pH 7.0) 2.0 mL에 시료 10 µL와 기질 10 mM H₂O₂용액 1.0 mL를 가하여 240 nm에서 흡광도 변화를 관찰하였다. Hydrogen peroxide 제거능은 1분 동안 감소된 흡광도의 변화량으로 표시하였다.

3. 통계처리

모든 실험결과는 Statistical Package for the Social Science Program(SPSS, version 23)을 사용하여 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 실험군 간의 유의성은 Duncan multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였으며, 모든 실험은 3회 반복해서 실행한 평균±표준편차로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량

Pyracantha angustifolia(Franch.) C. K. Schneid에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 농축한 용액을 용매를 달리하여 추출한 후, 농축한 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 70% methanol 추출물의 총 폴리페놀 함량은 2007.30±109.28 µg GAE/mL로 나타났고, 극성을 달리한 추출용매에서는 methanol로 분획한 분획물이 1,160.87±44.71 µg GAE/mL로 가장 높은 함량을 보였으며, ethyl acetate로 추출한 분획물은 80.57±0.64 µg GAE/mL로 가장 낮게 나타났다. 이는 Lee & Park(2015)이 용매를 달리한 커피 폐기물 추출물에서는 ethyl acetate 분획물이 가장 높은 함량을 보인 것과는 상이한 결과로 나타났으

Table 1. The total polyphenol contents obtained from *Pyracantha angustifolia*(Franch.) C. K. Schneid extracts using different solvents

Extraction solvents	Total polyphenols (µg/mL) ¹⁾
70% MeOH	2007.30±109.28 ^a
MC	273.39±10.19 ^b
EA	80.57±0.64 ^c
MeOH	880.53±803.31 ^d
<i>F</i> value	671.183* (0.000)

¹⁾ Total polyphenol content was expressed as µg/mL gallic acid equivalents (GAE).

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

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

MC: Methylene chloride, EA: Ethyl acetate, MeOH: Methanol.

나, 낙상홍(Lee & Park 2016)에서는 methanol로 분획한 분획물에서 가장 높은 함량이 나타난 것으로 보고하여 본 연구와 일치함을 보였다. 커피 추출물의 경우는 로스팅하는 과정에서 다당류나 극성을 나타내는 물질들이 열분해된 것으로 추정하고 있으나, 커피 원두의 로스팅 전·후에 따른 비교 연구가 필요한 것으로 사료된다. 총 폴리페놀 함량은 울피의 60% ethanol 추출물에서는 164.82 μg GAE/mL(Jeong HR 등 2011), 콩류에서는 802.01~918.29 μg GAE/mL(Hwang CR 등 2012), 일반 채소류에서는 평균 0.32~49.26 μg GAE/mL(Suh JH 등 2013)로 나타난 것과의 비교에서 이들보다 상당히 많은 양의 총 폴리페놀이 있는 것으로 나타났다. 그리고 70% methanol로 추출한 추출물의 총 폴리페놀 함량은 피라칸타가 낙상홍보다 더 많이 함유한 것으로 나타나, 기능성 식품으로의 개발과 연계한 연구가 더 진행할 필요가 있는 것으로 사료된다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 유의적인 관계가 있는 것으로 나타났다($p<0.05$).

2. 전자공여능 측정(Electron donating ability measurement)

Pyracantha angustifolia(Franch.) C. K. Schneid에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 용매를 달리하여 추출한 후 농축한 추출물의 전자공여능 측정은 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와 같이 70% methanol 추출물의 전자공여능은 $79.07\pm 7.31\%$ 로 나타났고, 극성을 달리하는 용매로 분획한 추출물에서는 methylene chloride 추출물 $22.34\pm 0.64\%$, ethyl acetate 추출물 $5.33\pm 0.28\%$ 그리고 methanol 추출물 $32.26\pm 1.10\%$ 로 methanol 분획물이 세 용매 중에서 가장 높게 나타났으나, 전체적인 분획물에서의 전자공여능은 감소한 것으로 나타났다. Lee & Park(2016)의 낙상홍 추출물에 대한 선행 연

Table 2. Electron donating ability of *Pyracantha angustifolia* (Franch.) C. K. Schneid extracts obtained from different solvents

Extraction solvents	Electron donating ability (EDA) ¹⁾
70% MeOH	79.07 ± 7.31^a
MC	22.34 ± 0.64^b
EA	5.33 ± 0.28^c
MeOH	32.26 ± 1.10^d
<i>F</i> value	216.701^* (0.000)

¹⁾ Electron donating ability (EDA) content was %.

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

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

MC: Methylene chloride, EA: Ethyl acetate, MeOH: Methanol.

구에서 나타난 methanol 분획물에서의 전자공여능이 원액 추출물의 전자공여능보다 높게 나타난 것과는 상이함을 보였으나, methanol 분획물이 다른 용매로 분획한 분획물보다 높은 전자공여능을 나타내는 것에는 일치함을 보였다. 또한, Jin 등(2004)은 청미래 덩굴잎에서의 추출물 분획에 대한 선행실험에서 ethyl acetate 분획에서 전자공여성이 가장 높게 나타난 것으로 보고하여 본 실험의 결과와는 상이한 것으로 보고하였는데, 이는 식물의 줄기나 잎 그리고 열매에 따른 조성의 차이에 의한 것으로 사료가 되며, 이에 대한 규명이 필요하다. 전체 분획물에서의 전자공여능이 낮게 나타남은 시료 채취 시기에 따른 특정 성분의 변질이나 구성 성분 차이에 따른 용매에 대한 용해도 감소 등 여러 요인들에 대한 연구가 더 진행될 필요가 있는 것으로 사료된다. 추출 원액에서 나타난 전자공여능은 이를 나타내는 물질의 분리와 구조 규명, 그리고 기능성 제품으로 개발 가능성에 대하여 연구할 필요가 있는 것으로 사료된다. 각 용매에 따른 전자공여능은 유의적인 관계가 있는 것으로 나타났다($p<0.05$).

3. Superoxide 제거능 측정

Pyracantha angustifolia(Franch.) C. K. Schneid에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 이 농축액을 추출 용매를 달리하는 방법으로 분획한 후에 농축한 분획물의 superoxide radical 제거 측정을 하였고, 그 결과는 Fig. 1과 같다. 그림에서 보는 바와 같이 피라칸타의 추출 원액에서는 0.018 ± 0.003 , methylene chloride 분획물 0.007 ± 0.002 , ethyl acetate 분획물 0.0147 ± 0.003 의 변화량을 나타내었으나, methanol 분획물에서는 변화가 없는 것으로 나타났다. Lee & Park(2016)의 낙상홍 실험에서는 methylene chloride 분획물에서 가장 큰 제거능이 나타났고, methanol 분획물, ethyl acetate 분획물 순으로

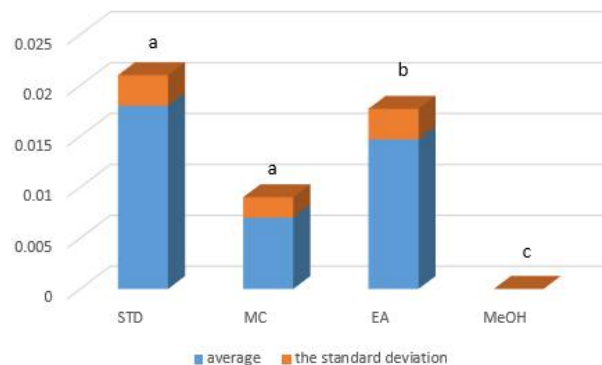


Fig. 1. The measurement of superoxide radical depending on fractions. * Means with different letters(^{a-c}) within a column are significantly different at $p<0.05$. STD: 70% methanol extract, MeOH: Methanol, MC: Methylene chloride, EA: Ethyl acetate.

보고한 것과는 상이한 결과로 나타났다. 특히, 피라칸타의 methanol 분획물에서는 superoxide radical 제거능이 전무한 것으로 나타난 반면에 전자공여성은 가장 높게 나타나, 난소암 전이 억제와 관련한 효능에 관여하는 것으로 알려진 polysaccharides(Sun 등 2016)의 분포에 기인한 것으로 사료되나, 이에 대한 연구는 지속될 필요가 있다고 사료된다. 분획물간의 용매는 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다($p<0.05$)

4. Hydrogen peroxide 제거능 측정

Pyracantha angustifolia(Franch.) C. K. Schneid에서 70% methanol로 추출하여 농축한 용액과 농축한 용액을 용매를 달리 하여 분획·추출한 후 농축한 분획물들의 hydrogen peroxide 제거에 관한 실험 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 원액에서는 0.022 ± 0.0046 , methylene chloride 분획물 0.0027 ± 0.0015 , ethyl acetate 분획물 0.0037 ± 0.0012 , methanol 분획물 0.0009 ± 0.0001 로 감소하는 것으로 나타났다. 피라칸타 추출 원액에서의 hydrogen peroxide 제거능은 낙상홍 추출 원액(Lee & Park 2016)의 선행실험과 유사함을 나타내고 있으나, 분획물들에 대한 실험에서는 상이한 것으로 나타났다. 즉, 피라칸타의 분획물에서는 hydrogen peroxide의 제거능이 거의 없는 것으로 나타난 반면에, 낙상홍에서는 methylene chloride와 methanol의 분획물에서 hydrogen peroxide의 제거능이 있는 것과는 대조적이었다. 피라칸타 분획물들에서의 hydrogen peroxide 제거능이 미약하게 나타난 것은 분획 과정에서의 농도 감소에 따른 영향이나 분획으로 인한 구성 물질간의 상승 효과 감소에 따른 영향 등 감소 원인에 대한 연구가 필요한 것으로 사료된다. 분획용매에 따른 hydrogen peroxide 제거능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$).

요약 및 결론

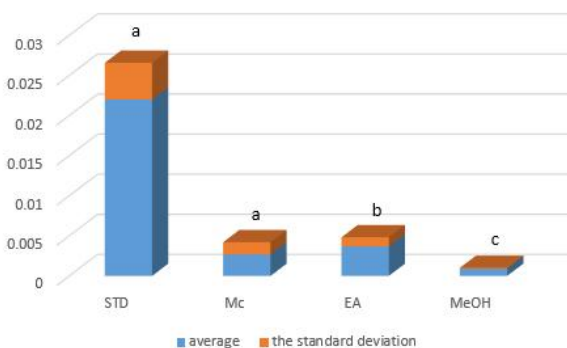


Fig. 2. The measurement of hydrogen peroxide decomposition depending on fractions. * Means with different letters (^{a-c}) within a column are significantly different at $p<0.05$. STD: 70% methanol extract, MeOH: methanol, MC: methylene chloride, EA: ethyl acetate.

건조한 후 분쇄한 피라칸타 열매를 70% methanol(MeOH)에 상온에서 정치하여 추출하고, 여과 후 감압상태에서 농축한 농축액과 농축액을 methylene chloride(MC)와 ethyl acetate(EA) 그리고 methanol(MeOH)로 분획하여 추출한 농축액에 대하여 폴리페놀함량 측정과 항산화성 물질 측정(전자공여능 측정), superoxide radical 제거능 측정 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정을 하였다.

1. 총 폴리페놀 함량은 70% methanol(MeOH)에서는 2007.30 ± 109.28 $\mu\text{g GAE/mL}$ 로 나타났고, 극성을 달리한 용매로 추출한 분획물에서는 methanol 분획물이 $1,160.87\pm 803.31$ $\mu\text{g GAE/mL}$ 로 가장 높은 함량을 보였으며, ethyl acetate 분획물은 80.57 ± 0.64 $\mu\text{g GAE/mL}$ 로 가장 낮게 나타났다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 $p<0.05$ 에서 유의적인 관계가 있음을 보였다.

2. DPPH에 대한 전자공여능 측정에서 70% methanol 추출물은 $79.07\pm 7.31\%$ 를 보였고, 분획하여 농축한 실험에서는 methanol로 분획한 것이 $32.26\pm 1.10\%$ 로 가장 높게 나타났으며, ethyl acetate 추출물의 전자공여능은 $5.33\pm 0.28\%$ 로 가장 낮게 나타났다. 분획 추출한 분획물에서의 전자공여능은 원액의 전자공여능에 비해 매우 낮은 것으로 나타나, 이에 대한 추후 규명이 필요한 것으로 사료된다. 분획용매에 따른 전자공여능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$).

3. Superoxid radical 제거능 측정에서 피라칸타 원액에서는 0.018 ± 0.003 , methylene chloride 분획물 0.007 ± 0.002 , ethyl acetate 분획물 0.0147 ± 0.003 의 변화량을 나타내었으나, methanol 분획물에서는 변화가 없는 것으로 나타났다. Ethyl acetate의 분획물에서 superoxide radical 제거능이 가장 큰 폭으로 감소시키는 것으로 나타났고, 이는 분획물이 xanthine oxidase의 활성 증가로 사료되나, 이에 대한 관련성의 연구는 필요한 것으로 사료된다. Methanol 분획에서의 superoxide radical 제거능은 거의 없는 것으로 나타났다. 각 용매 분획물에 따른 superoxide anion radical 제거능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$).

4. Hydrogen peroxide 제거능 측정에서 원액에서는 0.022 ± 0.0046 , methylene chloride 분획물 0.0027 ± 0.0015 , ethyl acetate 분획물 0.0037 ± 0.0012 , methanol 분획물 0.0009 ± 0.0001 로 감소하는 것으로 나타났다. Methylene chloride 분획물과 ethyl acetate 분획물에서 hydrogen peroxide 제거능은 거의 유사한 결과를 보였으나, 그 제거능은 매우 미약한 것으로 나타났다. Methanol 분획물에서의 hydrogen peroxide 제거능은 없는 것으로 나타났다. 각 용매 분획물에 따른 hydrogen peroxide 제거능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p<0.05$).

감사의 글

본 연구는 장안대학교 2017년도 자체연구비 지원에 의하

여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Aebi H. 1974. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd ed., Bergmyer. H. U.(ed.) vol. 2, pp.673-684. New York and London, Academic Press
- Black DL, Chatterjee R, Hannon DP. 1991. Chronic ultraviolet radiation-induced increase in skin iron and the photoprotective effect of topically applied iron chelators. *Photochem Photobiol* 54:215-223
- Cerutti PA. 1985. Prooxidant states and tumor promotion, *Science* 227:375-381
- Cho SH, Choi YJ, Rho CW, Choi CY, Kim DS, Cho SH. 2008. Reactive oxygen species and cytotoxicity of bamboo (*Phyllostachys pubescens*) sap. *Korean J Food Preserv.* 15: 105-110
- Hwang CR, Lee SJ, Kang JR, Kwon MH, Kwon HJ, Chung JI, Sung NJ. 2012. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of *Kanjang* made from soybean cultivars lacking lipoxygenase and kunitz trypsin inhibitor protein. *J Agriculture & Life Science* 46:109-123
- Inze D, Van Montagu M. 1995. Oxidative stress in plants. *Curr Opin Biotechnol* 6:166-172
- Jeong HR, Kim JH, Jo YN, Jeong JH, Heo HJ. 2011. Characterization as cosmetic substances of chestnut inner skin extracts with antioxidant activity. *J Agriculture & Life Science* 45: 183-191
- Jin TY, Park JR, Kim JH. 2004. Electron donating abilities, nitrite scavenging effects and antimicrobial activities of *Smilax china* leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33:621-625
- Kang DY, Shin MO, Son JH, Hae SJ. 2009. The antioxidative and antimicrobial effects of *Celastrus orbiculatus*. *J Life Sci* 19:52-57
- Kim SH, Kwon TW, Lee YS. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Korean Soc. of Food Science and Technology* 37: 73-77
- Kim YH. 2007. Antioxidant activity of saponin from *Codonopsis lanceolata*. Sangmyung Univ. 2007:1-18
- Lee KH. 2005. The alteration of antioxidant enzymes by physical recovery and sedentary recovery. *Korea Sport Research* 16:567-572
- Lee KS, Park KS. 2015. A study of effects of coffee waste extracts obtained from solvents. *J Food Nutr* 28:866-870
- Lee KS, Park KS. 2016. A study of effects of *Ilex serrata* Thumb extracts. *J Food Nutr* 29:946-951
- Lee SG, Park SY, Hwang IC, Kang H. 2016. Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extracts from *Fagopyrum tataricum*. *J Naturopathy* 5:9-14
- McCord JM, Fridovich I. 1968. The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 243:5753-5760
- Min SH, Yeon JY, Kim JW, Park SY, Lee YH, Kang SC, Koo DB. 2013. Pyracantha extract acts as an antioxidant agent to support porcine parthenogenetic embryo development *In Vitro*. *J Emb Transfer* 28:243-250
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenols with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158
- Suh JH, 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
- Sun Q, Dong M, Wang Z, Wang C, Sheng D, Li Z, Huang D, Yuan C. 2016. Sulfenium-enriched polysaccharides from *Pyracantha fortuneana* (Se-PFPs) inhibit the growth and invasive cells through inhibiting β -catenin signaling. *Oncotarget* 7: 28369-28383
- Van Gelder CWG, Flurkey WH, Wichers HJ. 1997. Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. *J Phytochem* 45:1309-1323
- Yuan C, Wang C, Wang J, Kumar V, Anwar F, Xiao F, Mushtaq G, Liu Y, Kamal MA, Yuan D. 2016. Inhibition on the growth of human MDA-MB-231 breast cancer cells *in vitro* and tumor growth in a mouse xenograft model by Se-containing polysaccharides from *Pyracantha fortuneana*. *Nutr Re.* 36:1243-1254
- Zhao CF, Lei DJ, Song GH, Zhang H, Xu H, Yu LJ. 2015. Characterisation of water-soluble proanthocyanidines of *Pyracantha fortuneana* fruit and their improvement in cell bioavailable antioxidant activity of quercetin. *Food Chem* 169: 484-491
- Zhoh CK, Kim BN, Hong SH, Han CG. 2002. The antimicrobial effects of natural aromas for substitution of parabens. *J Soc Cosme Scientists Korea* 28:166-185

Received 12 October, 2017

Revised 15 October, 2017

Accepted 08 November, 2017