pISSN 1225-4339 eISSN 2287-4992
Korean J. Food Nutr. Vol. 30. No. 4, 771~779 (2017)
https://doi.org/10.9799/ksfan.2017.30.4.771

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

연잎, 연 줄기 및 연자방 추출물의 *In Vitro* 항산화 활성과 항균 활성에 관한 연구

이기원 · 김용환* · †신경옥
삼육대학교 식품영양학과, *경기대학교 식품생물공학과

In Vitro Antioxidant Activities and Antimicrobial Activity of Lotus (Leaf, Stem, and Seed Pod) Extracts

Ki-Won Lee, Yong-Hwan Kim* and †Kyung-Ok Shin
Dept. of Food and Nutrition, Sahmyook University, Seoul 01795, Korea
**Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 16227, Korea*

Abstract

The purpose of this study was to investigate and analyze the total phenolic content (TPC), antioxidant activities (FRAP, ABTS, and DPPH), and antibacterial properties of lotus (*Nelumbo nucifera*) extracts. Lotus leaves, stems, and seed pods were extracted with deionized water at 95℃, and with 70.5% ethanol at 85℃. The TPC ranged from 8.12 to 215.12 GAE mg/g. The ethanol extract of the seed pod had the highest TPC, and the TPC of the corresponding deionized water extract was 161.45 mg/g. FRAP values ranged from 104.03 to 3,546.39 TEAC μmol/g, ABTS radical cation scavenging activities ranged from 105.11 to 3,956.94 TEAC μmol/g, and DPPH radical scavenging activities ranged from 37.29 to 2,549.46 TEAC μmol/g. EC_{50} values ranged from 0.26 to 9.63 mg/mL, and 0.31 to 21.21 mg/mL for ABTS and DPPH, respectively. The ethanol and deionized water extracts of the seed pod showed higher TPC and stronger antioxidant properties (FRAP, ABTS, and DPPH) than those of characteristic of the leaf extracts. The ethanol and deionized water extracts of the seed pod showed antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* with inhibition zones of 9.0 to 14.0 mm, and the ethanol extract of the leaf showed antimicrobial activity against *B. subtilis* and *S. aureus* with inhibition zones of 9.0 and 10.0 mm, respectively. Thus, the lotus seed pod could be used to produce novel teas, and could be a potential source of therapeutic ingredients for food and medicine.

Key words: lotus (*Nelumbo nucifera*), total phenolic content, antioxidant activity, antimicrobial activity

서 론

Well-being 시대를 지나 well-dying 추세인 백세시대(百歲時代)를 맞아 질병 없이 활기찬 노후를 생각하여 건강에 대한 관심이 증대되고 있는 요즘 약(藥)보다 자연식품으로 이를 보완하고자 하는 추세이며, 각종의 생리활성 효과를 가지는 식물(植物)에 대하여 많은 연구가 이루어지고 있다. 이에 부응하여 각종 wild herb, medicinal plants, herbal tea 등의 항산화 활성에 대한 보고와 항균 활성 및 약리성분에 관한 다수의 보고(Mothana & Lindequist 2005; Shunying 등 2005; Apetrei 등 2011; Lee 등 2013; Shin 등 2016; Zhang 등 2017)가 있다.

최근 새로운 기능성 자원으로서의 활용을 위하여 연(蓮) 재배 및 수확 과정에서의 부산물에 대한 검토 필요성이 제기되고 있다. 연(蓮)은 Genus Nelumbo Adans(Lotus) Species *Nelumbo nucifera* Gaen(Sacred lotus)으로서 온대로부터 열대

† Corresponding author: Kyung-Ok Shin, Dept. of Food and Nutrition, Sahmyook University, Seoul 01795, Korea. Tel: +82-2-3399-1657, Fax: +82-2-3399-1655, E-mail: skorose@syu.ac.kr

기후에 이르기까지 폭 넓게 분포되어 있으며, 수심 2.5 m 이내의 범람지역, 호수, 습지, 늪, 호수 및 연못 등에서 서식하며, 인공재배도 하고 있다. 연은 이집트를 비롯한 중동지역과 인도, 중국 등에서 오래전부터 꽃, 잎, 열매(연밥, 蓮子) 및 뿌리(연근, 蓮根)까지 식품과 의약품으로 사용되어져 왔다. 아시아 지역에서는 잎으로 밥을 싸서 먹거나, 어린 잎 또는 어린 줄기를 다른 채소와 함께 샐러드나 피클로 만들어 먹기도 하며, 뿌리를 각종 요리의 재료로 다양하게 조리하여 soup, 튀김 등으로 섭취해 왔다. 또한 Dhanarasu & Al-Hazimi (2013)의 연구에서는 연이 약초로서도 다양하게 활용되어 설사, 비정상적 출혈, 소화불량, 발열, 불면증에 대한 전통적인 민간요법 치료제로 사용되어 왔다고 보고하였다. Pal & Dey (2015)는 잎, 줄기, 열매 및 뿌리가 식용과 질병 치료를 위한 전통의약품으로 사용되어 왔으며, 완숙된 열매는 양질의 단백질 자원 및 유지 자원으로 활용되기도 하고, 간 보호, 면역력 증진, 진통 효과, antiperkinsonian, 저혈당, 피부병 등에 효과를 가지고 있다고 보고하였다. Hazarika 등(2016)은 연이 중국과 인도 지역에서 생장하는 Asian lotus(*Nelumbo nucifera*)와 북미의 동부 및 남부 지역에서 생장하는 American lotus (Water chinquapin or *Nelumbo lutea*)로 분류되며, 해열, 면역력 증진, 항산화, 항바이러스, 설사 방지, 항염증, 항암, 간 보호, 상부 위장관 출혈, 저혈당 등에 효과를 가지고 있다고 보고하였다. Huang 등(2011)과 Rather 등(2016)은 연근과 연잎 추출물의 육가공품 및 돼지고기와 쇠고기에 대한 항산화 효과에 대하여 보고하였으며, Qi & Zhou(2013)는 연밥 껍질 추출물의 Chinese cantonese sausage에 대한 항산화 및 비만 방지 효과에 대한 유용성을 보고하였다. 또한 연잎 차 제조와 그 품질 특성 및 연꽃이 기능성 음료로서의 항산화 효과에 대한 Kim 등(2006)과 Nanasombat 등(2015)의 보고, 연잎 분말의 첨가가 설기떡과 절편에 대한 항균효과를 나타내었다는 보고(Han & Yoon 2007; Yoon SJ 2007), 연근 분말 첨가가 식빵 반죽 품질과 된장 품질에 미치는 영향에 대한 보고가 있다(Kim 등 2002; Park 등 2005). 이외에도 연잎과 연밥 및 연근의 항산화 활성과 항균 활성을 검토한 다수의 선행 연구가 있다(Jung 등 2003; Lee 등 2005; Lee 등 2006a; Rai 등 2006; Li 등 2008; Akinjogunla 등 2009; Lee 등 2010; Yi 등 2016).

우리나라에서는 백련의 꽃과 잎을 건조시켜 연꽃차와 연잎차로 활용하며, 당뇨병 및 간 기능 증진에 효과가 있다고 알려져 차(茶)로 음용하고 있다. 또한 잎과 연근 및 연밥을 식용으로 광범위하게 사용하고 있다. 그러나 연밥을 채취한 후 연자방(蓮子房, seed pod)은 사찰 등에서 차와 술 등으로 일부 활용되기도 하지만, 대부분 토끼 등 초식동물의 사료로 일부 사용되거나, 폐기물로 분리되어 버려지고 있는 실정이며, 연 줄기 역시 활용되지 못하고 폐기되고 있다. 이들 폐기자원을 활용하기 위한 시도로 Kim 등(2016a)의 연잎, 연 줄기 및 연자방 분말이 흰쥐의 혈중 생화학적 인자에 미치는 영향에 대한 보고, Al-Khafaji AH(2012)와 Devi & Krishna(2012) 및 Gnana & Estherlydia(2014)의 연밥 껍질과 연 줄기의 항균효과와 항산화 효과를 검토한 보고 등으로 관련 연구는 아직 미미한 실정으로서 추가적인 연구가 더 이루어져야 할 것이다.

이에 본 연구는 연 줄기나 연자방의 분말이나 이들의 추출물을 새로운 음용 차(茶)로 제조하거나, 부가가치가 높은 생리활성 효과를 가지고 있는 기능성 자원으로서의 활용을 위한 기초자료를 제공하고자 항산화 및 항균 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 시료 준비

연구에 사용된 연(蓮)은 백련으로서, 잎과 줄기는 2014년 9월 중순, 연자방(蓮子房)은 연밥(蓮子)이 제거된 상태로 2014년 10월 하순에 경기도 시흥에 위치한 연(蓮) 농원에서 구입하였으며, 탈 이온수로 불순물을 세척하고 음건하여 분쇄하고, 진공포장 후 −18℃ 냉동실에 보관하여 사용하였다. 이들 분쇄한 재료들 20 g씩을 500 mL의 95℃ 탈 이온수와 85℃ 70.5% 에탄올에 각각 가하여 환류냉각기가 부착된 heating mantle에서 3시간씩 2회 추출하였다. 추출액은 압착 여과 후 원심분리(6,000 rpm, 30 min, 4℃)하고, 상등액을 45℃에서 진공농축 후, 동결건조(LYPH-LOCK 12, Labconco, USA)하여 분말 시료로 하였다.

2. 시약

본 실험에 사용된 시약들은 각각 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt form(ABTS), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchloroman-2-carboxylic acid(Trolox)는 Fluka(Switzerland) 제품, Folin-Ciocalteu reagent(FC reagent), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine(TPTZ), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), potassium persulfate는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA) 제품, gallic acid, sodium carbonate, sodium acetate, acetic acid, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$는 Riedel de Haën(Selze, Germany) 제품을 사용하였으며, 기타 시약과 용매는 analytical grade를 사용하였다.

3. 항산화 활성 측정

1) 측정용 시료 조제

80% methanol 10 mL에 동결건조 분말(1 g)을 가하고, 1시간 초음파 처리하여 용해시켜 상온에서 24시간 방치 후, 원심

분리(8,000 rpm, 10 min, 4℃)하여 조제 시료(100 mg/mL)를 제조하였으며, 이를 24시간 이내에 사용하였다.

2) 총 페놀 함량 측정(Total Phenilic Content: TPC)

연잎, 연 줄기 및 연자방의 총 페놀 함량 측정은 Waterhouse AL(2002)의 방법에 의하여 측정하였다. 조제 시료 20 μL에 탈 이온수 1.58 mL를 가하고, Folin-Ciocalteau's(FC) reagent 100 μL를 첨가하여 vortex로 혼합하였다. 실온에서 5분간 반응시킨 후, 20% sodium carbonate 용액 300 μL를 첨가하여 실온의 암소에서 2시간 반응시키고 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 조제 시료 1 g에 해당하는 gallic acid의 용량(GAE mg/g dry weight)으로 표시하였다.

3) FRAP에 의한 환원력 측정

연잎, 연 줄기 및 연자방의 FRAP 환원력은 Pulido 등(2000)의 방법에 의하여 측정하였다. FRAP 용액은 40 mM HCl에 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridy-s-triazine)을 녹인 용액 2.5 mL와 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 2.5 mL 그리고 300 mM acetate buffer(pH 3.6) 25 mL를 혼합하여 37℃에서 보관하여 준비하였다. FRAP 용액 900 μL에 시료 30 μL와 탈 이온수 90 μL를 혼합하여 37℃에서 30분간 반응 시킨 후 595 nm 파장에서 흡광도(Spectrophotometer; Human corporation, Korea)를 측정하였다. 시료의 환원력은 trolox를 이용하여 TEAC μmol/g dry weight로 표시하였다.

4) ABTS 래디칼 소거활성 측정

ABTS 래디칼 소거활성은 Re 등(1999)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 140 mM potassium persulfate($K_2S_2O_8$)를 혼합하여 12~16시간 암소에서 반응시킨 후 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)를 사용하여 734 nm 파장에서 흡광도 값 0.7(±0.02)이 되도록 희석하여 사용하였다. Radical inhibition(%)이 20~80%가 되도록 희석한 조제 시료 10 μL와 ABTS 용액 1 mL를 혼합하여 15분간 반응시킨 후, 734 nm 파장에서 흡광도(Spectrophotometer; Human corporation, Korea)를 측정하였다. ABTS radical cation scavenging capacity는 제시된 공식 (1)에 의하여 계산하였으며, 각 시료의 래디칼 소거능은 TEAC μmol/g dry weight로 나타내었다.

$$\text{ABTS Scavenging activity(\%)} = [(ABTS_{Control} - ABTS_{Sample})/ABTS_{Control}]\times 100 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

$ABTS_{Control}$ = Absorbance of a blank sample at the beginning of the reaction (t=0 min)

$ABTS_{Sample}$ = Absorbance of a test sample at the end of the reaction (t=15 min)

5) DPPH 래디칼 소거활성 측정

DPPH 래디칼 소거활성은 Thaipong 등(2006)의 방법에 의하여 측정하였다. DPPH stock solution은 DPPH 24 mg을 methanol 100 mL에 용해시킨 후 −20℃에서 보관하면서 사용하였다. DPPH 용액은 515 nm 파장에서 흡광도 값 1.1(±0.02)이 되도록 methanol로 희석하여 사용하였다. Radical inhibition(%)이 20~80%가 되도록 희석한 조제 시료 50 μL와 DPPH 용액 2 mL를 혼합하여 실온의 암소에서 30분간 반응시킨 후, methanol을 blank로 하여 515 nm에서 시료의 잔존 흡광도를 측정하였다. DPPH radical scavenging capacity는 제시된 공식 (2)에 의하여 계산하였으며, 각 시료의 래디칼 소거능은 TEAC μmol/g dry weight로 나타내었다.

$$\text{DPPH Scavenging activity(\%)} = [(DPPH_{Control} - DPPH_{Sample})/DPPH_{Control}]\times 100 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

$DPPH_{Control}$ = Absorbance of a blank sample at the beginning of the reaction (t=0 min)

$DPPH_{Sample}$ = Absorbance of a test sample at the end of the reaction (t=30 min)

6) EC_{50} value 측정

ABTS radical cation scavenging capacity와 DPPH radical scavenging capacity의 EC_{50} value는 Alexander 등(1999)의 방법에 따라 제시된 공식 (3)에 의하여 계산하였다.

$$EC_{50} = D - [(A - 50\%\ \text{max response})\times(D - C)]/(A - B) \quad \cdots (3)$$

A = Immediately higher response of 50% max response

B = Immediately lower response of 50% max response

D = log concentration corresponding to A response

C = log concentration corresponding to B response

4. 항균 활성 측정

1) Preparation of bacterial cultures

연잎, 연 줄기 및 연자방의 항균 활성 측정을 위한 그람 양성균 및 그람 음성균은 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC, Daejeon, Korea)에서 구입하였으며, 실험에 사용된 균주와 배지는 Table 1에 제시하였다. 각 균주를 해당 배지에 접종하여 30 및 37℃에서 2회 계대 배양 후 항균 활성 실험 시까지 glycerol(20%, v/v)을 가하여 −80℃에서 보관하였다.

2) Antibacterial assay

추출물의 항균 활성은 disk diffusion 법으로 측정하였다(EUCAST 2015). 항균 활성 평가를 위해 해당 배지(Difco, USA)

Table 1. Microorganisms and culture media

Microorganisms	Media	Temperature (℃)
Bacillus subtilis KCTC 2189	Nutrient broth and agar	30
Staphylococcus aureus KCTC 3881	Tryptic soy broth and agar	37
Pseudomonas aeruginosa KCTC 2004	Nutrient broth and agar	37
Enterobacter aerogenes KCTC 2190	Nutrient broth and agar	30
Escherichia coli KCTC 1682	Tryptic soy broth and agar	37

에 각 균주를 접종하여 30 및 37℃에서 18시간 동안 배양한 후, 각 균주를 0.5 McFarland turbidity standards로 조정하여 Mueller-Hinton agar(Difco, USA)에 100 μL 도말하고, 각 시료 추출물 20 μL를 흡착시킨 paper disc(6mm, Whatman, USA)를 Mueller-Hinton agar에 놓고, 35±1℃에서 16~20시간 배양 후 생육저지환(mm)의 크기를 측정하여 항균 활성을 평가하였다. 대조구로는 ceftazidime 30 μg, gentamycin 10 μg, cefotaxime 30 μg, chloramphenicol 30 μg antibiotic disc(Oxoid Basingstoke, United Kingdom)를 사용하였으며, 생육저지환의 크기는 육안으로 생육이 나타나지 않는 부분의 지름을 mm 단위로 측정하였고, 3회 이상 평가 후 대표 결과로 나타내었다.

5. 통계처리

모든 분석 항목에 대한 측정은 3회 반복하여 실시하였고, 획득한 결과는 SPSS(version 18.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균±표준편차를 구하였다.

결과 및 고찰

1. 항산화 활성

1) 총 페놀 함량

95℃ 탈 이온수와 85℃ 70.5% 에탄올 추출물의 총 페놀함량은 Table 2에서와 같이 연잎, 연 줄기 및 연자방의 총 페놀 함량은 8.12~215.12 GAE mg/g으로 나타났다. 이중 연자방의 70.5% 에탄올 추출물의 경우, 가장 많은 215.12 GAE mg/g을, 연자방의 탈 이온수 추출물의 경우 161.45 GAE mg/g을 나타내어 연잎에 비하여 5.1~6.2배의 함량을 나타내었다. 그러나 연 줄기는 탈 이온수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물이 각각 8.12 GAE mg/g과 16.26 GAE mg/g을 나타내어 연잎에 비하여 소량(31~39%)의 함량만을 나타내었다. 선행연구(Jeong 등 2010)에서는 백련잎, 백련근, 홍련잎 및 홍련근의 에탄올 추출물의 총 페놀화합물의 함량이 각각 24.33, 5.13, 23.25 및 4.92 mg/g이라고 보고하였으며, 연잎의 80% 에탄올 추출물 ethyl acetate 분획물의 총 페놀 함량이 346 mg/g이라고 보고(Lee 등 2015)하였다. 또한 112종의 traditional Chinese medicinal plant의 메탄올 추출물의 총 페놀 함량이 0.22~50.3 mg/100 g이라는 보고(Cai 등 2004), herbal medicine인 *Withania somnifera*와 *Enicostemma littorale*의 열수 추출물과 hot methanol 추출물의 총 페놀 함량이 9.9~44.41 mg/g이라는 보고(Vinotha 등 2014), medicinal plant 4종의 80% 메탄올 추출물의 총 페놀 함량이 33.42~84.8 mg/g이라는 보고(Johnson & Ayoola 2015), *E. arvense*(root, reproductive stem, vegetative stem)의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 시료 농도에 따른 총 페놀 함량이 각각 36.53~409.20, 17.87~203.20 및 16.53~167.87 mg/g이라는 보고가 있다(Kim 등 2016b).

2) FRAP 환원력

95℃ 탈 이온수와 85℃ 70.5% 에탄올 추출물의 FRAP 환원력은 Table 2에서와 같이 연잎, 연 줄기 및 연자방의 환원력은 104.03~3,546.39 TEAC μmol/g으로 나타났다. 이 중 연자방의 70.5% 에탄올 추출물의 경우, 가장 높은 3,546.39 TEAC μmol/g을 보였으며, 연자방의 탈 이온수 추출물의 경우 2,776.94 TEAC μmol/g을 나타내어 연잎에 비하여 5.2~6.2배의 환원력을 나타내었다. 그러나 연 줄기는 70.5% 에탄올 추출물과 탈 이온수 추출물이 207.19 TEAC μmol/g과 104.03 TEAC μmol/g을 나타내어 연잎에 비하여 낮은 환원력(23~30%)을 나타내었다. 한편, 45종의 medicinal plant의 80% 메탄올 추출물의 환원력이 1.23~453.53 μmol/g이라는 보고(Li 등 2008), 열수 추출한 black tea가 0.788 mol/kg, green tea가 1.825 mol/kg, 13종의 herbal tea가 0.127~1.725 mol/kg, 11종의 fruit tea가 0.301~1.121 mol/kg의 환원력을 나타내었다는 보고(Veljković 등 2013), herbal medicine인 *Withania somnifera*의 열수 추출물과 hot methanol 추출물이 677 μmol/g과 1,266 μmol/g, *Enicostemma littorale*의 열수 추출물과 hot methanol 추출물이 244 μmol/g과 659 μmol/g의 환원력을 나타내었다는 보고(Vinotha 등 2014)가 있다. 개망초의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 환원력이 33.54 μmol/g과 42.21 μmol/g이라는 보고(Kim & Choi 2015), moss(*H. plumaeforme, T. kanedae, L. juniperoideum*)의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 환원력이 393.19~1,070.14 μmol/g이라는 보고(Shin 등 2016), *E. arvense*(root, reproductive stem, vegetative stem)의 열수 추출

Table 2. Total phenolic content and FRAP value of lotus

Lotus	Total phenolic content (GAE mg/g)		FRAP (TEAC μmol/g dry weight)	
	DIW[1)]	EtOH[2)]	DIW	EtOH
Leaf	25.68±0.45[3)]	41.50±0.77	442.39±3.29	680.61±4.76
Stem	8.12±0.77	16.26±0.63	104.03±1.86	207.19±3.70
Seed pod	161.45±2.32	215.12±3.98	2,776.94±8.22	3,546.39±9.18

[1)] Deionized water extract at 95℃.
[2)] 70.5% ethanol extract at 85℃.
[3)] Values represented mean±S.D. of three parallel measurements.

물과 70.5% 에탄올 추출물의 시료 농도에 따른 환원력이 각각 157.92~1,574.58 μmol/g, 160.14~1,234.58 μmol/g 및 161.25~1,985.14 μmol/g이라는 보고(Kim 등 2016b)되었으며, foxtail millet의 혼합용매(absolute EtOH:water:HOAC) 추출물의 환원력이 3.02~26.94 μmol/g이라는 보고도 있다(Zhang 등 2017).

3) ABTS 래디칼 소거활성

ABTS 래디칼 소거활성은 Table 3에서와 같이 연잎, 연 줄기 및 연자방의 소거활성은 105.11~3,956.94 TEAC μmol/g으로 나타났다. 이중 연자방의 70.5% 에탄올 추출물의 경우, 가장 높은 3,956.94 TEAC μmol/g을, 연자방의 탈 이온수 추출물의 경우, 3,187.55 TEAC μmol/g을 나타내어 연잎에 비하여 4.1~6.7배의 소거활성을 나타내었다. 그러나 연 줄기는 70.5% 에탄올 추출물과 탈 이온수 추출물이 287.39 TEAC μmol/g과 105.11 TEAC μmol/g을 나타내어 연잎에 비하여 낮은 소거활성(23~30%)을 나타내었다. 한편, 112종의 traditional Chinese medicinal plant의 메탄올 추출물의 소거활성이 46.7~17,323 μmol/100 g이라는 보고(Cai 등 2004), 45종의 medicinal plant의 80% 메탄올 추출물의 소거활성이 0.97~265.43 μmol/g이라는 보고(Li 등 2008), 열수 추출한 3종의 tea(green, white, black)가 1,772~1,328 μmol/g, 4종의 herbal tea(lemon balm, puerh tea, peppermint, chamomile)가 610~180 μmol/g의 소거활성을 나타내었다는 보고(Anna 등 2010)가 있다. 열수 추출한 black tea가 3.21 mol/kg, green tea가 3.21 mol/kg, 13종의 herbal tea가 3.17~3.27 mol/kg, 11종의 fruit tea가 2.59~3.23 mol/kg의 소거활성을 나타내었다는 보고(Veljković 등 2013), herbal medicine인 *Withania somnifera*의 열수 추출물과 hot methanol 추출물이 88.42 μmol/g과 389.07 μmol/g, *Enicostemma littorale*의 열수 추출물과 hot methanol 추출물이 38.95 μmol/g과 253.80 μmol/g의 소거활성을 나타내었다는 보고(Vinotha 등 2014)하였다. 개망초의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 소거활성이 90.10 μmol/g과 116.97 μmol/g이라는 보고(Kim & Choi 2015), moss(*H. plumaeforme, T. kanedae, L. juniperoideum*)의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 소거활성이 1,078.11~2,587.33 μmol/g이라는 보고(Shin 등 2016), *E. arvense*(root, reproductive stem, vegetative stem)의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 시료 농도에 따른 소거활성이 각각 317.00~3,529.56, 285.89~2,627.33 및 383.67~3,951.78 μmol/g이라는 보고(Kim 등 2016b), foxtail millet의 혼합용매(absolute EtOH:water:HOAC) 추출물의 소거활성이 3.69~59.92 μmol/g이라는 보고도 있다(Zhang 등 2017).

4) DPPH 래디칼 소거활성

DPPH 래디칼 소거활성은 Table 4에서와 같이 연잎, 연 줄기 및 연자방의 소거활성은 37.29~2,549.46 TEAC μmol/g으로 나타났다. 이중 연자방의 70.5% 에탄올 추출물의 경우 가

Table 3. ABTS radical cation scavenging activity of lotus

Lotus	TEAC (μmol/g dry weight)		EC_{50} values (mg/mL)	
	DIW[1)]	EtOH[2)]	DIW	EtOH
Leaf	447.32±4.54[3)]	950.42±8.83	2.26±0.23	1.07±0.01
Stem	105.11±1.79	287.39±1.70	9.63±0.16	3.52±0.02
Seed pod	3,187.55±12.95	3,956.94±19.07	0.32±0.00	0.26±0.00

[1)] Deionized water extract at 95℃.
[2)] 70.5% ethanol extract at 85℃.
[3)] Values represented mean±S.D. of three parallel measurements.

장 높은 2,549.46 TEAC μmol/g을, 연자방의 탈 이온수 추출물의 경우 1,567.46 TEAC μmol/g을 나타내어 연잎에 비하여 7.4~9배의 소거활성을 나타내었다. 그러나 연 줄기는 70.5% 에탄올 추출물과 탈 이온수 추출물이 114.46 TEAC μmol/g과 37.29 TEAC μmol/g을 나타내어 연잎에 비하여 낮은 소거활성(21~33%)을 나타내었다. 한편, 열수 추출한 black tea가 0.181 mol/kg, green tea가 0.18 mol/kg, 13종의 herbal tea가 0.062~1.18 mol/kg, 11종의 fruit tea가 0.034~0.181 mol/kg의 소거활성을 나타내었다는 보고(Veljković 등 2013), herbal medicine인 *Withania somnifera*의 열수 추출물과 hot methanol 추출물이 23.84 μmol/g과 134.41 μmol/g, *Enicostemma littorale*의 열수 추출물과 hot methanol 추출물이 5.89 μmol/g과 41.31 μmol/g의 소거활성을 나타내었다는 보고(Vinotha 등 2014)가 있다. 개망초의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 소거활성이 10.80 μmol/g과 14.90 μmol/g이라는 보고(Kim & Choi 2015), moss(*H. plumaeforme, T. kanedae, L. juniperoideum*)의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 소거활성이 42.11~298.78 μmol/g이라는 보고(Shin 등 2016), *E. arvense*(root, reproductive stem, vegetative stem)의 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 시료 농도에 따른 소거활성이 각각 49.33~940.44, 96.00~ 1044.89 및 119.33~1,021.00 μmol/g이라는 보고(Kim 등 2016b)가 있으며, foxtail millet의 혼합용매(absolute EtOH: water:HOAC) 추출물의 소거활성이 0.93~4.74 μmol/g이라는 보고도 있다(Zhang 등 2017).

5) EC_{50} value

ABTS 래디칼 소거활성의 EC_{50} value는 Table 3에서와 같이 0.26~9.63 mg/mL로 나타났으며, 연자방의 70.5% 에탄올 추출물의 경우, 0.26 mg/mL, 연자방의 탈 이온수 추출물의 경우 0.32 mg/mL로 나타났다. DPPH 래디칼 소거활성의 EC_{50} value는 Table 4에서와 같이 0.31~21.21 mg/mL로 나타났으며, 연자방의 70.5% 에탄올 추출물의 경우, 0.31 mg/mL, 연자방의 탈 이온수 추출물의 경우, 0.50 mg/mL를 나타내었다. 이를 통하여 연자방의 70.5% EtOH 추출물과 탈 이온수 추출물이 연잎의 추출물과 연 줄기의 추출물에 비하여 대단히 높은 ABTS 소거활성과 DPPH 소거활성을 나타내었다는 것을 알 수 있었다.

2. 항균 활성

연잎과 연자방의 95℃ 탈 이온수 추출물과 85℃ 70.5% 에탄올 추출물의 5종의 균주에 대한 항균 활성은 Table 5에서와 같이 3종의 균주에 대해서만 9.0~14.0 mm의 생육저지환을 나타내었으며, 연잎의 에탄올 추출물이 *B. subtilis* 10.0 mm, *S. aureus* 9.0 mm, 연자방의 탈 이온수 추출물이 *B. subtilis* 12.5 mm, *S. aureus* 13.0 mm, *P. aeruginosa* 9.0 mm, 연자방의 에탄올 추출물이 *B. subtilis* 13.0 mm, *S. aureus* 14.0 mm, *P. aeruginosa* 9.0 mm를 나타내었다. 그러나 *E. aerogenes*와 *E. coli*에는 항균 활성을 나타내지 않았으며, 연잎 탈 이온수 추출물과 연 줄기 추출물은 5종의 균주 모두에 대하여 항균 활성을 나타내지 않았다. 이는 *S. aureus*에 대한 연잎의 95% 에탄올 추출물과 70℃ 증류수 추출물이 14.3 mm, 10.3 mm의 생육저지환을 나타내었으나, *E. coli*에 대해서는 항균 활성을 나타내지 못했다는 보고(Yisa J 2009)와 연잎의 50~95% 에탄올 추출물이 *S. aureus*에 대하여 10.68~7.22 mm의 생육저지환을 나타내었다는 보고(Lee 등 2012)와 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 Arjun 등(2009)이 보고한 연잎의 메탄올(50~100%) 추출물의 생육저지환이 *B. subtilis* 13.0~15.0 mm, *S. aureus* 10.0~12.0 mm로서 유사한 경향을 보였으나, *E. coli* 9.0~11.0 mm의 경우와는 상이한 결과를 나타내었다. 또한 연잎의 70% 에탄올 추출물의 증류수 분획이 *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*에 항균 활성을 나타내지 않았다는 보고(Lee 등 2006b), *E. coli*에 대하여 연 줄기의 메탄올 추출물(5~15 μg/mL)이 1.1~1.4 mm의 확산을 보였다는 보고(Devi & Krishna 2012)와 유사한 경향을 나타내었다. 한편, 설기떡과 절편에 첨가한 연잎 분말이 항균효과를 나타내었다는 보고(Han & Yoon 2007; Yoon SJ 2007), 연꽃의 hydro distilled water 추출물인 essential oil이 *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*에 대하여 항균 활성을 나타내지 못했으나, *E. coli*에 대하여 19.3 mm의

Table 4. DPPH radical scavenging activity of lotus

Lotus	TEAC (μmol/g dry weight)		EC_{50} values (mg/mL)	
	DIW[1)]	EtOH[2)]	DIW	EtOH
Leaf	173.21±0.49[3)]	340.61±2.01	4.57±0.01	2.32±0.01
Stem	37.29±0.08	114.46±1.41	21.21±0.05	6.91±0.09
Seed pod	1,567.46±28.83	2,549.46±33.67	0.50±0.01	0.31±0.00

[1)] Deionized water extract at 95℃.
[2)] 70.5% ethanol extract at 85℃.
[3)] Values represented mean±S.D. of three parallel measurements.

Table 5. Antibacterial activity of different common natural extracts concentrations and antibiotics against pathogenic bacteria using disc diffusion method

Lotus	Extracts	Diameter for the inhibition zone (mm)				
		B. subtilis KCTC 2189	*S. aureus* KCTC 3881	*P. aeruginosa* KCTC 2004	*E. aerogenes* KCTC 2190	*E. coli* KCTC 1682
Leaf	DIW[1)]	NIZ[3)]	NIZ	NIZ	NIZ	NIZ
	EtOH[2)]	10	9	NIZ	NIZ	NIZ
Stem	DIW	NIZ	NIZ	NIZ	NIZ	NIZ
	EtOH	NIZ	NIZ	NIZ	NIZ	NIZ
Seed pod	DIW	12.5	13	9	NIZ	NIZ
	EtOH	13	14	9	NIZ	NIZ

1) Deionized water extract at 95℃.
2) 70.5% ethanol extract at 85℃.
3) NIZ: No inhibition zone.

생육저지환을 나타내었다는 보고(Sittiwet C 2009), 연꽃의 열수 추출물과 80% 에탄올 추출물이 *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*에 대하여 18.0~33.0 mm, 20.0~36.0 mm의 생육저지환을 나타내었다는 보고(Hassan 등 2009)와 연밥 껍질의 추출물이 *E. coli*에 대하여 12.0 mm의 생육저지환을 나타내었다는 Al-Khafaji AH(2012)의 보고도 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 연잎 및 연밥 채취 후 폐기되는 연 줄기 및 연자방을 새로운 자원으로 활용하기 위한 기초자료로 사용하고자 항산화 및 항균활성을 측정하였다. 총 페놀 함량은 8.12~215.12 GAE mg/g 범위로서, 연자방의 에탄올 추출물이 가장 높았으며, 연자방의 탈 이온수 추출물은 161.45 mg/g으로 나타났다. FRAP 환원력은 104.03~3,546.39 TEAC μmol/g 범위, ABTS 소거활성은 105.11~3,956.94 TEAC μmol/g 범위, DPPH 소거활성은 37.29~2,549.46 TEAC μmol/g 범위로서, 연자방의 에탄올 추출물이 FRAP 환원력과 ABTS 소거활성 및 DPPH 소거활성이 가장 높게 나타났으며, 연자방의 탈 이온수 추출물은 FRAP 환원력 2,776.94 μmol/g, ABTS 소거활성 3,187.55 μmol/g, DPPH 소거활성 1,567.46 μmol/g을 나타내었다. EC_{50} value는 0.26~9.63 mg/mL(ABTS)와 0.31~21.21 mg/mL(DPPH) 범위로서 연자방 에탄올 추출물이 가장 높은 ABTS 및 DPPH 소거활성을 나타내었다. 연자방의 에탄올 및 탈 이온수 추출물의 *B. subtilis*, *S. aureus* 및 *P. aeruginosa*에 대한 항균 활성은 9.0~14.0 mm의 생육저지환을 나타내었으며, 연잎의 에탄올 추출물의 *B. subtilis*와 S. *aureus*에 대한 항균 활성은 9.0~10.0 mm의 생육저지환을 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 연자방의 70.5% 알코올 및 열수 추출물은 연잎에 비하여 총 페놀 함량이 다량 존재하며, 대단히 높은 FRAP 값과 ABTS 소거활성 및 DPPH 소거활성을 가지고 있어서 기존의 차(茶) 등으로 활용되는 연잎을 대체하여 새로운 차(茶) 자원 식품의 이용 증대 및 약리효과를 가지고 있는 자원으로서의 활용 가능성을 기대할 수 있다고 판단된다. 또한 일부 균주에 대하여 항균 활성을 나타내어 새로운 항균 자원으로서의 가치도 있다고 하겠다.

References

Akinjogunla OJ, Adegoke AA, Udokang IP, Adebayo-Tayo BC. 2009. Antimicrobial potential of *Nymphaea lotus* (Nymphaeaceae) against wound pathogens. *J Med Plant Res* 3:138-141

Alexander B, Browse DJ, Reading SJ, Benjamin IS. 1999. A simple and accurate mathematical methods for calculation of the EC_{50}. *J Pharmacol Toxicol* 41:55-58

Al-Khafaji AH. 2012. Antimicrobial activity of lotus (*Nelumbo nucifera*) fresh seed epricarp against some bacterail species and *Candida albicans*. *Journal of Thi-Qar University* 4:32-38

Anna R, Franciszek Ś, Bożżena W-R. 2010. Antioxidant properties of tea and herbal infusions-A short report. *Pol J Food Nutr Sci* 60:33-35

Apetrei CL, Tuchilus C, Aprotosoaie AC, Oprea A, Malterud KE, Miron A. 2011. Chemical, antioxidant and antimicrobial investigations of *Pinus cembra L.* bark and needles. *Molecules* 16:7773-7788

Arjun P, Priya SM, Sivan PSS, Krishnamoorthy M, Balasubramanian K. 2009. Antioxidant and antimicrobial activity

of *Nelumbo nucifera* Gaertn. leaf extracts. *J Acad Indus Res* 1:15-18

Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 74:2157-2184

Devi CK, Krishna DG. 2012. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Nelumbo nucifera* stem. *International Journal of Chromatographic Science* 2:1-3

Dhanarasu S, Al-Hazimi A. 2013. Phytochemistry, pharmacological and therapeutic applications of *Nelumbo nucifera*. *Asian Journal of Phytomedicine and Clinical Research* 1:123-136

EUCAST. 2015. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Disk Diffusion Test Manual. v 5.0, available at: http://www.eucast.org

Gnana JA, Estherlydia D. 2014. Phytochemical screening and antioxidant activity of lotus (*Nelumbo nucifera*) stem. *Int J Pharm Bio Sci* 5:385-393

Han KY, Yoon SJ. 2007. Quality characteristics of lotus leaf *Jeolpyun* during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1604-1611

Hassan A, Rahman S, Deeba F, Mahmud S. 2009. Antimicrobial activity of some plant extracts having hepatoprotective effects. *J Med Plant Res* 3:20-23

Hazarika, Ahmad F, Ananya, Kamal A. 2016. Hepatoprotective and antioxidant properties in *Nelumbo nucifera* (lotus). *Int J Pharm Sci Rev Res* 39:19-25

Huang B, He J, Ban X, Zeng H, Yao X, Wang Y. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. *Meat Sci* 87:46-53

Jeong CH, Son KB, Kim JH, Kang SK, Park EY, Seo KI, Shim KH. 2010. Antioxidant and anticancer activities of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf and root. *Korean J Food Preserv* 17:131-138

Johnson OO, Ayoola GA. 2015. Antioxidant activity among selected medicinal plants combinations (multi-component herbal preparation). *International Journal of Pharma Research and Health Sciences* 3:526-532

Jung HA, Kim JE, Chung HY, Choi JS. 2003. Antioxidant principles of *Nelumbo nucifera* stamens. *Arch Pham Res* 26:279-285

Kim DC, Kim DW, In MJ. 2006. Preparation of lotus leaves tea and its quality characteristics. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49:163-164

Kim YH, Choi KS. 2015. Effects of *Erigeron annus in vitro* antioxidant properties and extract on serum lipid in mice. *Korean J Food Nutr* 28:387-395

Kim YH, Choi KS. Shin KO. 2016a. The effect of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf, stem, and *yeonjabang* powder extract on the biochemical factors in serum in mice fed a high-fat diet. *Korean J Food Nutr* 29:684-691

Kim YH, Shin KO. Choi KS. 2016b. *In vitro* antioxidant properties of *Equisetum arvense* and its effects on serum lipid levels in mice fed a high-fat diet. *Korean J Food Nutr* 29:347-356

Kim YS, Chun SS, Jung ST, Kim RY. 2002. Effects of lotus root powder on the quality of dough. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18:573-578

Lee DB, Kim DH, Je JY. 2015. Antioxidant and cytoprotective effects of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves phenolic fraction. *Prev Nutr Food Sci* 20:22-28

Lee HK, Choi YM, Noh DO, Suh HJ. 2005. Antioxidant effect of Korean traditional lotus liquor (*Yunyupju*). *International J Food Sci Technol* 40:709-715

Lee JY, Yu MR, An BJ. 2010. Comparison of biological activity between *Nelumbo nucifera* G. extracts and cosmetics adding *Nelumbo nucifera* G. *Journal of Life Science* 20:1241-1248

Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2006a. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35:182-186

Lee KS, Oh CS, Lee KY. 2006b. Antimicrobial effect of the fractions extracted from a lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35:219-223

Lee SS, Imm JY, Han YS. 2012. The improvement effect of lotus leaf extracts on Acne skin. *Kor J Aesthet Cosmetol* 10:405-413

Lee YJ, Kim DB, Lee JS, Cho JH, Kim BK, Choi HS, Lee BY, Lee OH. 2013. Antioxidant activity and anti-adipogenic effects of wild herbs mainly cultivated in Korea. *Molecules* 18:12937-12950

Li HB, Wong CC, Cheng KW, Chen F. 2008. Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT* 41:385-390

Mothana Ramzi AA, Lindequist U. 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *J Ethnopharmacol* 96:177-181

Nanasombat S, Thonglong J, Jitlakha J. 2015. Formulation and

characterization of novel functional beverages with antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities. *Functional Foods in Health and Disease* 5:1-16

Pal I, Dey P. 2015. A review on lotus (*Nelumbo nucifera*) seed. *IJSR* 4:1659-1666

Park IB, Park JW, Kim JM, Jung ST, Kang SG. 2005. Quality of soybean paste (*Doenjang*) prepared with lotus root powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34:519-523

Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J Agric Food Chem* 48: 3396-3402

Qi S, Zhou D. 2013. Lotus seed epicarp extract as potential antioxidant and antiobesity additive in Chinese Cantonese Sausage. *Meat Sci* 93:257-262

Rai S, Wahile A, Mukherjee K, Saha BP, Mukherjee PK. 2006. Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *J Ethnopharmacol* 104:322-327

Rather SA, Masoodi FA, Akhter R, Rather JA, Shiekh KA. 2016. Advances in use of natural antioxidants as food additives for improving the oxidative stability of meat products. *Madridge J Ft* 1:10-17

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

Shin KO, Choi KS, Kim YH. 2016. *In vitro* antioxidative activity of moss extract, and effect of moss on serum lipid level of mice fed with high-fat diet. *Trop J Pharm Res* 15:1215-1224

Sittiwet C. 2009. Antimicrobial activity of essential oil from *Nelumbo nucifera* Gaertn pollen. *Int J Pharmacol* 5:98-100

Shunying Z, Yang Y, Huaidong Y, Yue Y, Guolin Z. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J Ethnopharmacol* 96:151-158

Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Composition Analysis* 19:669-675

Veljković JN, Pavlović AN, Mitić SS, Tošć SB, Stojanović GS, Kaličanin BM, Stanković DM, Stojković MB, Mitić MN, Brcanović JM. 2013. Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: spectrophotometrical and electrochemical approaches. *J Food Nutr Res* 52:12-24

Vinotha S, Thabrew I, Sri Ranjani S. 2014. *In vitro* antioxidant activity of two selected herbal medicines. *International Journal of Medical, Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering* 8:836-841

Waterhouse AL. 2002. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, pp.I1.1.1-I1.1.8

Yi Y, Sun J, Xie J, Min T, Wang LM, Wang HX. 2016. Phenolic profiles and antioxidant activity of lotus root varieties. *Molecules* 21:863-874

Yisa J. 2009. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Scoparia dulcis* and *Nymphaea lotus*. *Aust J Basic & Appl Sci* 3:3975-3979

Yoon SJ. 2007. Quality characteristics of *Sulgitteok* added with lotus leaf powder. *Korean J Food Cookery Sci* 23:433-442

Zhang L, Li J, Han F, Ding Z, Fan L. 2017. Effects of different processing methods on the antioxidant activity of 6 cultivars of foxtail millet. *J Food Qual* 2017:1-9

Received 25 April, 2017
Revised 25 May, 2017
Accepted 03 July, 2017