

추출조건에 따른 고구마 잎의 Lutein, β -Carotene 및 Polyphenol 함량

Li Meishan¹ · 장귀영¹ · 이상훈¹ · 황세구² · 신현만² · 김홍식³ · 이준수¹ · 정현상¹

¹충북대학교 식품생명공학과

²충북농업기술원 작물연구과

³충북대학교 식물자원학과

Lutein, β -Carotene, and Polyphenol Contents of Sweet Potato Leaves under Different Extraction Conditions

Meishan Li¹, Gwi Yeong Jang¹, Sang Hoon Lee¹, Se Gu Hwang², Hyun Man Sin²,
Hong Sig Kim³, Junsoo Lee¹, and Heon Sang Jeong¹

¹Department of Food Science and Biotechnology and ³Department of Crop Science, Chungbuk National University

²Department Crop Science, Chungbuk Agricultural Research and Extension Service

ABSTRACT This study was carried out to determine the simultaneous extraction conditions of functional components (lutein, β -carotene, total polyphenol, flavonoids, and phenolic compounds) from sweet potato leaves and to evaluate the antioxidant activities. Extraction conditions included different ethanol concentrations (1st extraction: 99.9% ethanol; 2nd extraction: 50~90% ethanol) and times (30, 60, and 90 min). The highest values of lutein and β -carotene content were obtained by the 2nd extraction at an ethanol concentration of 90%. The extraction yields of lutein and β -carotene decreased with increasing extraction time. The maximum polyphenol, flavonoid, and total phenolic acid contents and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activities were 32.3 mg gallic acid equivalent/g, 17.0 mg catechin equivalent/g, 2,842.6 mg/100 g, 17.0 mg ascorbic acid equivalent/g, and 1.94 mg/mL (IC₅₀) at the 2nd extraction with an ethanol concentration of 60%. The optimum extraction conditions were as follows; ethanol concentrations of the extraction solvent were 99.9% (1st extraction) and 60% (2nd extraction), and extraction time was 30 min.

Key words: sweet potato leaves, carotenoids, phenolic acid, antioxidant activity

서 론

고구마는 주로 아시아 및 아프리카 지역에서 많이 재배되는 농산물로 전 세계적으로 보리와 쌀 등의 곡류와 함께 주요 식량자원으로 이용되고 있으며(1), 지하부인 뿌리뿐만 아니라 지상부인 줄기, 잎도 모두 식용이 가능하여 생산성과 경제성이 매우 높은 작물이다. 하지만 아직까지 고구마의 괴근을 중심으로 연구가 진행되고 있으며 잎과 잎자루에 대해서는 이용도가 미흡하여 버려지거나 사료로만 이용되고 있다.

고구마 잎과 관련된 연구를 살펴보면 고구마 잎에는 단백질뿐만 아니라 carotenoid류를 비롯한 다양한 색소성분과 폴리페놀 및 페놀화합물인 chlorogenic acid가 다량 존재하며 일반 채소류보다도 영양학적으로 우수한 것으로 알려져 있다(2). 고구마 잎에는 페놀계 화합물로 caffeic acid와

quinic acid의 에스테르 결합 형태인 chlorogenic acid와 isochlorogenic acid 등이 다량 함유되어 있으며, 그중 neochlorogenic acid(5-CQA), chlorogenic acid(3-CQA), cryptochlorogenic acid(4-CQA), 4,5-di-O-caffeoylquinic acid(4,5-CQA), 3,5-di-O-caffeoylquinic acid(3,5-CQA), 3,4-di-O-caffeoylquinic acid(3,4-diCQA) 등이 강한 항산화 활성, 항돌연변이, 항종양, 항암 활성을 나타내는 것으로 보고되었다(3,4). 카로티노이드는 천연에 널리 존재하는 화합물로 provitamin A 활성과 항산화성 및 면역체계를 향상시키는 물질로 알려져 있으며 주로 시금치와 브로콜리 등과 같은 엽채류에 다량 존재하는 성분이다(5). β -Carotene은 비타민 A의 전구체로 비타민 A 활성도가 가장 높아 retinol의 1/6에 해당하는 활성도를 가진다(6). 그러나 β -carotene은 산소와 접촉하여 변화할 가능성이 크기 때문에 성분 변화를 최소화하면서 추출하는 방법에 대한 연구나 처리방법을 달리하여 함량 변화를 알아보는 연구가 많이 진행되고 있다(7-9). Lutein은 주로 식물의 엽록체 속에 존재하며, 혈액을 통해 안구조직의 수정체와 황반에 침착되고 항산화능 및 자외선 흡수능을 가지고 있어 눈 건강에 도움을

Received 13 June 2017; Accepted 27 September 2017

Corresponding author: Heon Sang Jeong, Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea

E-mail: hsjjeong@chungbuk.ac.kr, Phone: +82-43-261-2570

주는 것으로 알려져 있다(10). 또한, 백내장 및 노인성 황반 변증의 발생위험을 낮추는 데 도움을 준다고 보고된 이래 단순한 색소로의 의미를 벗어나 기능성 성분으로써 주목받고 있다(11,12). 그 밖에 항산화 및 아질산염 소거능, angiotensin-converting enzyme(ACE) 저해 활성과 같은 생리활성도 우수하여 기능성 채소로 이용하기에 충분한 가치가 있다고 보고된 바 있다(13).

따라서 본 연구에서는 고구마 잎에 다량 함유되어 있는 지용성 성분인 lutein, β -carotene 및 수용성 성분인 페놀류의 이용도를 높이고 산업적으로도 이용할 수 있는 추출조건을 확립하고자 추출용매의 에탄올 농도 및 추출시간별로 유용성분 함량과 항산화 활성의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에 사용한 고구마(*Ipomoea batatas* L.) 잎은 'Jinhongmi' 품종으로 2014년 8월에 충청북도 농업기술원에서 수확 후 40°C 열풍건조기로 건조한 시료를 제공받아 사용하였다. 실험에 사용된 lutein, β -carotene, chlorogenic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, caffeoylquinic acid(4,5-diCQA, 3,5-diCQA, 3,4-diCQA), butylated hydroxytoluene(BHT), gallic acid, (+)-catechin, hydrate, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, L-ascorbic acid는 Samchun Co., Ltd.(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, acetonitrile, ethyl acetate 등은 J.T.Baker Inc.(Phillipsburg, NJ, USA)로부터 HPLC 등급을 구입하여 사용하였다.

에탄올 추출물 제조

고구마 잎의 에탄올 추출물은 다음과 같이 제조하였다. 즉 고구마 잎에 대하여 선행연구를 통하여 최적 가수량을 20배수로 설정하고, 지용성 성분을 효과적으로 추출하기 위하여 먼저 고농도인 99.9% 에탄올로 lutein 및 β -carotene을 1차 추출하고 여과박에 함유한 극성 성분인 폴리페놀 성분을 추출하기 위하여 2차로 에탄올 농도를 50~90%로 조절하여 초음파 추출기(frequency 40 Hz, power 300 W, SD-350 H; Seong Dong, Seoul, Korea)를 사용하여 30분 동안 추출한 다음 3,500 rpm에서 30분간 원심분리(HERMLE centrifuge Z380, Hermle AG, Gosheim, Germany) 한 후 상등액을 분석용 시료로 사용하였다. 시간에 대한 영향을 확인하기 위하여 2차 추출을 60%의 에탄올 농도로 고정하고 추출시간을 각각 30, 60, 90분간으로 설정하여 위와 같은 방법으로 추출하였다. 각각의 추출조건에 따른 에탄올 추출물의 추출 수율은 추출물을 농축 및 건조한 다음 중량을 측정하여 추출 전 고구마 잎 건물량에 대한 백분율로 나타내었다.

Lutein 및 β -carotene 함량 분석

Lutein 함량은 Choi 등(14)의 방법을 변형하여 사용하였다. 즉 lutein과 β -carotene의 산화적 파괴를 방지하기 위하여 일정량의 고구마 잎 분말과 잎 추출물에 6% pyrogallol을 함유한 에탄올을 첨가하고 8 mL의 60% KOH 용액을 가하였다. 70°C 수욕조에서 50분간 검화시키고 0.1% BHT를 함유한 추출용매 에테르를 가하여 루테인과 베타카로틴 성분을 3회 반복 추출한 후 50 mL로 정용하였다. 이 추출물 5 mL를 질소가스를 이용하여 농축시킨 다음 다시 1 mL의 0.1% BHT를 함유한 acetonitrile/ethyl acetate(1:1)에 용해하였다. 추출물을 0.20 μ m PVDF membrane filter로 여과한 후 HPLC(ACME 9000 system, Younglin, Anyang, Korea)로 분석하였다. Column은 YMC-Pack Pro C18 column(4.6 \times 250 mm, 5 μ m, YMC Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 사용하였고, column oven 온도는 25°C, 검출기는 UV(450 nm), 이동상은 acetonitrile(A)과 ethyl acetate(B)를 gradient 조건으로 흘려주었고 gradient 조건은 A:B를 초기 70:30(% v/v)에서 5분에 60:40, 10분에 50:50, 15분에 25:75, 17분에 0:100, 27분에 70:30, 45분에 70:30으로 설정하였으며, 유속은 1.0 mL/min으로 흘려주었으며 주입량은 20 μ L로 하였다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Lee 등(15)의 방법을 변형하여 사용하였으며 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. 즉 각 추출물 100 μ L에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 3분간 방치하였고, 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ L를 첨가 후 실온에서 30분 반응한 다음 750 nm에서 반응액의 흡광도 값을 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료 g 중의 mg gallic acid로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Choi 등(16)의 방법에 따라 추출물 250 μ L에 증류수 1 mL와 5% NaNO₂ 75 μ L를 가한 다음 5분 후 10% AlCl₃·H₂O 150 μ L를 가하여 6분간 방치하고 1 M NaOH 500 μ L를 가하여 11분간 방치한 다음, 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였고, 표준물질로 (+)-catechin hydrate를 사용하여 standard 값을 구한 후 시료 g 중의 mg catechin으로 나타내었다.

페놀산 분석

페놀산은 일정량의 추출물을 취하여 감압 농축하고, 증류수로 녹인 후 diethyl ether/ethyl acetate(1:1) 혼합액을 가하여 3회 반복 추출한 후 농축하여 HPLC용 메탄올에 용해한 다음 0.20 μ m syringe filter(Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 검출기는 UV 280 nm에서 검출하였으며, column은 ODS column(5 μ m, 4.6 \times 250 mm, Agilent Technologies)을 사용하였고, column

oven 온도는 30°C로 설정하였다. 이동상은 0.1% acetic acid가 포함된 증류수(A)와 0.1% acetic acid가 포함된 아세토니트릴(B)을 gradient 조건으로 흘려주었고 gradient 조건은 A:B를 초기 92:8(% v/v)에서 2분에 90:10, 27분에 70:30, 50분에 10:90, 51분에 0:100, 60분에 0:100, 70분에 92:8로 설정하였으며, 유속은 1 mL/min으로 하였고, 주입량은 20 µL로 설정하였다.

항산화 활성

추출물의 항산화 활성은 Blois(17)와 Okawa 등(18)의 방법에 따라 전자공여능(electron donating ability, EDA)으로 측정하였다. 즉 추출물 0.2 mL에 2×10^{-4} M DPPH 용액 0.8 mL를 첨가하고 교반하여 잘 혼합한 후 실온에서 30분간 방치하고 520 nm에서 흡광도 감소치를 측정하였다. 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 하였으며, 각 시료의 농도에 따른 DPPH 라디칼을 소거하여 잔존하는 DPPH 라디칼을 50% 감소시키는 농도 IC₅₀(inhibitory concentration)을 각 시료의 농도로 표현하였다.

추출물의 총 항산화력은 ABTS cation decolorization assay(19)에 의하여 측정하였다. ABTS 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 24시간 동안 암소에서 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 다음 이 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 물 흡광계수($\epsilon=3.6 \times 10^4$ M⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 1 mL에 추출액 50 µL를 가하여 흡광도의 변화를 30분 후에 측정하였으며, 표준물질은 L-ascorbic acid를 동량 첨가하였고, 총 항산화력은 AEAC(L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, mg AA eq/g)로 표현하였다.

통계처리

고구마 잎의 추출조건별 유용성분 분석과 항산화 활성을 조사한 각 실험은 모두 3회 이상 반복 실시하였고 통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용

Table 1. Extraction yield of sweet potato leaves with extraction numbers and ethanol concentration

	Ethanol concentration (%)		Extraction yield (%)
	1st extraction	2nd extraction	
99.9		50	20.0±0.1 ^{a1)2)}
		60	19.3±0.6 ^b
		70	17.0±0.8 ^c
		80	14.5±0.5 ^d
		90	8.3±0.2 ^e

¹⁾Each value was expressed as the mean±standard deviation (n=3).

²⁾Means in the same column with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리 간의 차이 유무를 one-way ANOVA(analysis of variation)로 분석한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 $P<0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

추출조건에 따른 에탄올 추출물 수율

에탄올 농도에 따른 고구마 잎의 추출 수율은 Table 1과 같다. 1차 추출 후 2차 추출 시 추출용매의 에탄올 농도에 따라 추출 수율은 8.3~20.0% 범위였다. 2차 추출 시 추출용매의 에탄올 농도가 높아짐에 따라 감소하였는데 50% 에탄올 농도에서 20.0%로 가장 높은 추출 수율을 보였으며, 90% 농도에서는 8.3%로 낮게 나타났다. 이러한 결과는 산머루로부터 가용성 물질을 추출할 경우 용매의 에탄올 농도에 영향을 많이 받으며 50~70%의 농도에서 추출 수율이 가장 높았다고 보고(20)한 바와 같이 고구마 잎에도 지용성 성분 외에도 수용성 물질이 대량 존재하기 때문이라 판단된다.

에탄올 농도에 따른 lutein과 β-carotene 함량

각각의 추출조건에서 lutein과 β-carotene 함량은 Table 2와 같으며, 표준물질 및 고구마 잎 추출물에 대한 크로마토그램은 Fig. 1A와 같다. Lutein 함량은 1차 추출 시 203.9 µg/g이었으며, 2차 추출 시 에탄올 농도에 따라 각각 234.9,

Table 2. Lutein and β-carotene contents of sweet potato leaves with extraction numbers and ethanol concentration of extraction

Ethanol concentration (%)	1st extraction	2nd extraction				
	99.9	50	60	70	80	90
Lutein (µg/g)	203.9±0.9 ¹⁾	32.3±1.9	47.5±1.5	52.2±2.4	56.7±0.5	56.4±0.9
Total (µg/g)		234.9±1.6 ^{d2)}	249.4±3.4 ^c	255.9±4.7 ^b	261.8±1.2 ^a	262.7±2.3 ^a
Extraction yield (%)	60.4	69.7	74.0	75.9	77.7	77.9
β-Carotene (µg/g)	128.5±2.1	ND ³⁾	6.6±0.0	10.4±0.4	20.0±0.5	21.7±0.4
Total (µg/g)		126.7±1.5 ^c	136.4±0.8 ^d	141.0±1.3 ^c	145.7±1.9 ^b	151.5±2.2 ^a
Extraction yield (%)	55.1	57.3	61.7	63.8	65.9	68.5
Raw material	Lutein (µg/g)			337.7±5.7		
	β-Carotene (µg/g)			233.4±3.9		

¹⁾Each value was expressed as the mean±standard deviation (n=3).

²⁾Means in the same row with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

³⁾ND is not detected.

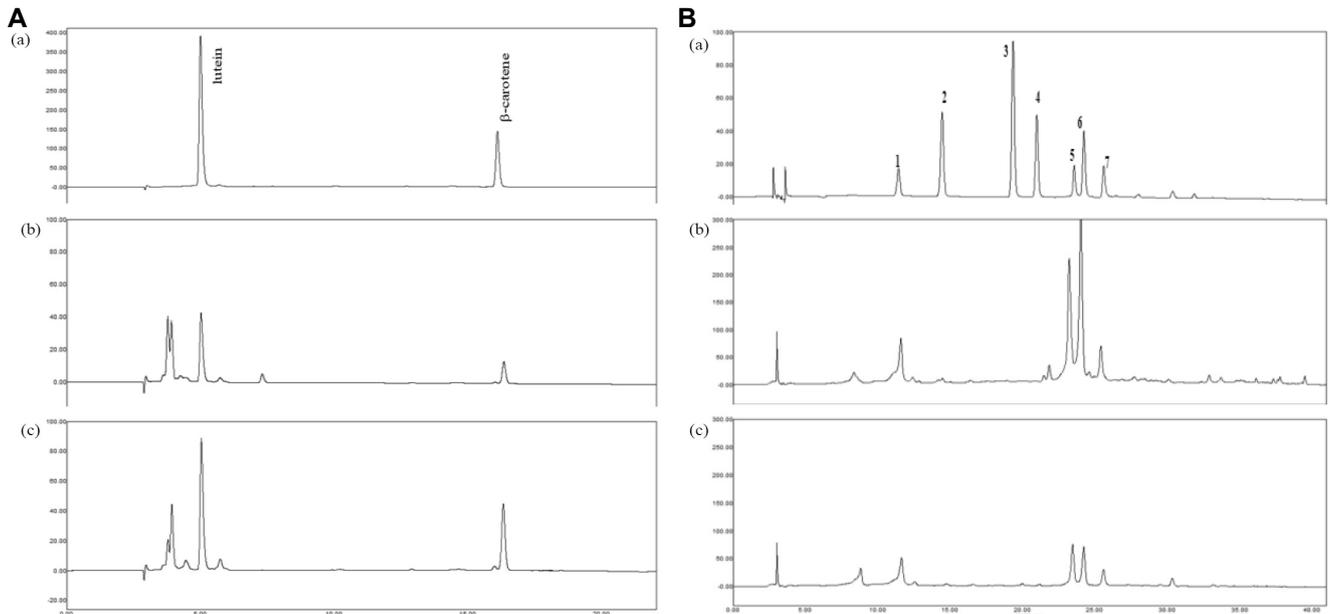


Fig. 1. Representative chromatograms of standard mixture (a), 60% ethanol extracts of sample (b), and 90% ethanol extracts of sample (c). (A) Lutein and β -carotene, (B) Phenolic acid peak. (1) chlorogenic acid; (2) caffeic acid; (3) p -coumaric acid; (4) ferulic acid; (5) 4,5-dicaffeoylquinic acid (4,5-diCQA); (6) 3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-diCQA); (7) 3,4-dicaffeoylquinic acid (3,4-diCQA).

249.4, 255.9, 261.8 및 262.7 $\mu\text{g/g}$ 으로 추출용매의 에탄올 농도가 증가함에 따라 증가하였으며, lutein의 추출물은 각각의 추출농도에서 69.7~77.9%였다. 2차 추출 시 추출용매의 에탄올 농도가 높아짐에 따라 증가하였지만 80% 이상에서는 큰 차이를 나타내지 않았는데, 이는 Heo(21)의 연구에서도 녹차 잎의 lutein 함량은 80% 에탄올에서 증가하다가 100% 에탄올에서 감소하는 경향을 보인다는 결과와 같았다. Lutein 성분은 카로티노이드계의 대표적인 계통으로 비극성을 띠며 유기용매에 녹기 쉽기 때문이라 판단된다. β -Carotene 함량은 1차 추출 시 128.5 $\mu\text{g/g}$ 이었으며, 2차 추출 시 추출용매의 에탄올 농도가 증가함에 따라 각각 126.7, 136.4, 141.0, 145.7 및 151.5 $\mu\text{g/g}$ 으로 증가하였으며, β -carotene 추출물은 각각의 추출농도에서 57.3~68.5% 범위를 나타내었다. 2차 추출 시 에탄올 농도가 높아짐에 따라 함량이 증가하였는데 이는 β -carotene은 lutein보다 더 비극성을 띤 성분이며 에탄올 농도가 높아짐에 따라 추출이 더 용이한 것으로 판단된다. 검화법에 의한 carotenoid의 추출물은 식품소재로 사용하기는 어렵기 때문에 추출 수율은 낮지만 식용 가능한 에탄올로 추출할 경우 1회 추출로 루테인과 베타카로틴을 각각 69.7~77.9% 및 57.3~68.5% 정도 추출할 수 있으므로 항산화 성분과 함께 이용하기 위한 적절한 추출방법이라 판단된다.

추출용매의 에탄올 농도에 따른 항산화 성분 및 활성

추출용매의 에탄올 농도별 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 14.5~32.3 및 5.6~17.0 mg/g 범위를 나타내었고, 그 추출물은 각각 40.7~90.6 및 29.0~88.2% 범위를

나타내었다. 1차 추출 시 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 6.8 및 1.2 mg/g 이었지만, 2차 추출에서는 에탄올 농도 60%에서 각각 25.5 및 15.8 mg/g 으로 최고값을 보인 후 에탄올 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다.

총 플라보노이드 함량의 변화는 총 폴리페놀의 경우와 유사하게 용매의 영향이 큰 것으로 나타났으며 이는 두 성분의 기본구조가 유사하기 때문인 것으로 생각된다. Park 등(22)의 연구에서도 메밀 싹 추출 시 총 폴리페놀 함량은 추출용매의 에탄올 농도가 가장 큰 영향을 준다고 하였으며, Sahin과 Samli(23)의 올리브 잎 추출물의 추출조건 최적화에 대한 연구에서도 총 폴리페놀 함량은 50% 에탄올 농도 조건에서 가장 높은 함량을 나타내었고, 또한 흑마늘의 항산화 활성에 대한 연구에서도 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 일정 수준의 에탄올 농도(50%)까지 증가하다가 그 이후에는 다시 감소하는 경향을 보였다는 Kang 등(24)의 결과와 비교해 볼 때 본 연구와도 유사한 경향을 나타내었다. 이는 폴리페놀 성분은 분자 내에 여러 개 페놀성 수산기를 가진 식물성 성분이며 극성 성질을 띠고 있기에 일정한 에탄올 농도와 배합비로 추출이 용이해진 것으로 판단된다.

추출용매의 에탄올 농도별 항산화 활성을 측정된 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. DPPH 라디칼 소거능(IC_{50})의 경우 1차 추출에서는 21.2 mg/mL 였지만 에탄올 농도에 따라 각각 2.29, 1.94, 2.68, 3.88 및 7.42 mg/mL 로 60%에서 가장 높은 항산화 활성을 나타내었는데, 이는 항산화 활성을 나타내는 페놀성 화합물이 에탄올 농도 60%에서 가장 많이 추출되기 때문(25)이라 판단되며 그 이상의 에탄올 농도에서는 감소하는 경향을 나타내었다. ABTS 라디칼 소거능은

Table 3. Antioxidant activity and antioxidant components of sweet potato leaves with extraction numbers and ethanol concentration

Ethanol concentration (%)	1st extraction		2nd extraction			
	99.9	50	60	70	80	90
Total polyphenol (mg GAE/g) ¹⁾		24.3±0.1	25.5±0.2	20.7±0.2	14.1±0.1	7.7±0.1
Total (mg GAE/g)	6.8±0.1 ⁶⁾	31.1±0.1 ^{b7)}	32.3±0.2 ^a	27.6±0.2 ^c	21.0±0.1 ^d	14.5±0.1 ^e
Extraction yield (%)		87.2	90.6	77.4	58.9	40.7
Total flavonoids (mg CE/g) ²⁾		14.1±0.2	15.8±0.0	13.2±0.1	7.6±0.0	4.5±0.0
Total (mg CE/g)	1.2±0.0	15.3±0.2 ^b	17.0±0.0 ^a	14.4±0.1 ^c	8.8±0.1 ^d	5.6±0.0 ^e
Extraction yield (%)		78.8	88.2	74.7	45.6	29.0
EDA (IC ₅₀ , mg/mL) ³⁾	21.2±1.1	2.29±0.17 ^d	1.94±0.10 ^c	2.68±0.13 ^c	3.88±0.10 ^b	7.42±0.15 ^a
AEAC (mg AA eq/g) ⁴⁾	2.3±0.0	13.6±0.1	14.8±0.1	11.9±0.1	8.4±0.0	5.4±0.0
Total (mg AA eq/g)		15.8±0.1 ^b	17.0±0.1 ^a	14.3±0.1 ^c	10.7±0.0 ^d	7.7±0.0 ^e
Raw material ⁵⁾						
Total polyphenol (mg GAE/g)				38.7±0.9		
Total flavonoids (mg CE/g)				18.8±0.2		
EDA (IC ₅₀ , mg/mL)				1.58±0.02		
AEAC (mg AA eq/g)				19.2±0.2		

¹⁾GAE: gallic acid equivalent.

²⁾CE: catechin equivalent.

³⁾EDA: IC₅₀ of electron donating ability (EDA) by DPPH assay.

⁴⁾AEAC: L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity.

⁵⁾Raw material was extracted by 70% ethanol.

⁶⁾Each value was expressed as the mean±standard deviation (n=3).

⁷⁾Means in the same row with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

에탄올 농도별로 각각 15.8, 17.0, 14.3, 10.7 및 7.7 mg AA eq/g이었으며, DPPH 라디칼 소거능과 유사한 경향을 나타내었다. Woo 등(25)의 연구에서도 건대추 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 추출용매의 농도가 많은 영향을 미치며 처리구별로 90% 에탄올 농도에서 가장 낮은 함량을, 60%의 에탄올 농도에서 가장 높은 함량(5 mg AA eq/g)을 나타내었고, Jang 등(26)의 영경귀 추출물의 폴리페놀 함량이 높을수록 ABTS 라디칼 소거능도 높게 나타내었다는 연구 결과와도 유사하였다. 또한, Yoon 등(27)의 복분자 추출 조건에서 항산화 활성의 경우 에탄올 농도에 의해 크게 영향을 받고 있다는 보고와 같은 경향을 나타내었다.

추출용매의 에탄올 농도에 따른 페놀산 함량

고구마 잎에는 페놀계 화합물로 caffeic acid와 quinic acid의 에스테르 결합 형태인 chlorogenic acid와 iso-

chlorogenic acid 등이 다량 함유되어 있다. 추출용매의 에탄올 농도에 따른 고구마 잎의 페놀산의 함량 변화를 측정하는 결과는 Table 4와 같으며, 표준물질 및 고구마 잎 추출물에 대한 크로마토그램은 Fig. 1B와 같다. Chlorogenic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, 4,5-diCQA, 3,5-diCQA 및 3,4-diCQA 등 7종의 페놀산이 검출되었다. 각각의 페놀산 함량은 에탄올 농도에 의해 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났다. Chlorogenic acid 함량은 70% 에탄올 추출에서 1,517.8 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, caffeic acid, p-coumaric acid 및 ferulic acid, 4,5-diCQA 및 3,5-diCQA 함량은 60% 에탄올에서 각각 66.5, 6.1, 89.5, 225.3 및 845.5 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타낸 후 에탄올 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 총 페놀산 함량은 1차 추출을 99.9%, 2차 추출을 에탄올 농도가 60~70%에서 추출 시

Table 4. Phenolic compound of sweet potato with extraction numbers and ethanol concentration

Ethanol concentration (%)		Phenolic compound (mg/100 g, dry basis)							
1st extraction	2nd extraction	Chlorogenic acid	Caffeic acid	p-Coumaric acid	Ferulic acid	4,5-diCQA	3,5-diCQA	3,4-diCQA	Total
	50	1,425.1±2.4 ^{c23)}	62.3±1.5 ^a	6.0±0.0 ^b	79.3±3.8 ^b	211.2±8.6 ^b	495.8±10.5 ^c	133.4±3.4 ^c	2,413.0±9.3 ^b
	60	1,458.3±3.3 ^b	66.5±3.9 ^a	6.1±0.0 ^a	89.5±1.0 ^a	225.3±0.3 ^a	845.5±25.6 ^a	151.5±5.7 ^b	2,842.6±24.9 ^a
99.9	70	1,517.8±3.1 ^a	55.5±3.4 ^b	6.0±0.0 ^b	78.0±2.0 ^b	186.8±0.9 ^c	781.3±17.8 ^b	197.4±3.8 ^a	2,822.7±21.0 ^a
	80	721.4±1.4 ^d	39.3±1.0 ^c	3.2±0.0 ^c	70.8±1.7 ^c	174.4±3.6 ^d	516.0±4.7 ^c	136.2±2.2 ^c	1,661.2±5.6 ^c
	90	654.3±0.3 ^c	37.3±1.4 ^c	3.1±0.1 ^d	61.3±2.5 ^d	142.7±7.4 ^c	318.1±10.6 ^d	82.4±0.7 ^d	1,299.1±6.6 ^d
Raw material ¹⁾		1,895.0±10.4	70.5±0.4	7.7±1.0	107.0±4.1	87.2±2.9	435.6±11.8	196.8±6.6	2,865.3±10.7

¹⁾Raw material was extracted by 70% ethanol.

²⁾Each value was expressed as the mean±standard deviation (n=3).

³⁾Means in the same column with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table 5. Functional component contents of sweet potato leaves by time of extraction

Variables	Extraction time (min)			
	30	60	90	
Lutein (µg/g)	249.4±3.4 ^{a1)2)}	232.8±1.0 ^b	216.3±0.6 ^c	
β-Carotene (µg/g)	136.4±0.8 ^a	127.2±3.4 ^b	113.6±5.5 ^c	
Total polyphenol (mg GAE/g)	32.3±0.2 ^a	32.4±0.2 ^a	31.0±0.1 ^b	
Total flavonoids (mg CE/g)	17.0±0.1 ^a	16.7±0.1 ^{ab}	16.5±0.1 ^b	
EDA (IC ₅₀ , mg/mL)	1.94±0.10 ^b	2.09±0.14 ^a	2.12±0.04 ^a	
AEAC (mg AA eq/g)	17.1±0.1 ^a	16.2±0.1 ^b	15.7±0.1 ^c	
Phenolic compound (mg/100 g)	Chlorogenic acid	1,458.3±3.3 ^a	1,283±5.0 ^b	1,229.6±6.8 ^c
	Caffeic acid	66.5±3.9 ^a	66.6±1.0 ^a	68.1±2.9 ^a
	p-Coumaric acid	6.1±0.0 ^a	6.0±0.0 ^b	5.9±0.0 ^c
	Ferulic acid	89.5±1.0 ^b	107.0±4.1 ^a	84.5±2.7 ^b
	4,5-diCQA	225.3±0.3 ^a	207.0±10.0 ^b	174.0±9.2 ^c
	3,5-diCQA	845.5±25.6 ^a	704.6±16.0 ^b	694.7±23.6 ^c
	3,4-diCQA	151.5±5.7 ^c	173.7±5.6 ^b	194.5±4.8 ^a

¹⁾Each value was expressed as the mean±standard deviation (n=3).

²⁾Means in the same row with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

가장 높은 함량을 나타내었다. Jung 등(28)은 고구마 잎 3종의 총 페놀산 함량이 250.3~375.7 mg/100 g fw로 함유되어 있다고 보고하였으며 이는 본 연구의 사용된 품종의 함량과 유사한 경향을 보였다. Lee 등(29)은 홍삼 추출물 제조 시 다양한 농도의 에탄올 추출조건에서 측정된 결과 총 페놀 화합물의 함량이 에탄올 농도비가 60%까지는 증가하였으나, 80% 이상의 에탄올 농도에서는 감소한 것으로 보고한 바 있다.

추출시간의 영향

추출시간에 따른 고구마 잎의 lutein, β-carotene, 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 페놀산 함량에 대한 결과는 Table 5와 같다. 1차 추출은 99.9% 에탄올로 추출하고 2차 추출은 농도별 에탄올 추출물의 유용성분 함량 결과를 바탕으로 60% 에탄올을 고정으로 하고 30, 60 및 90분 추출하였다. Lutein의 함량은 추출시간에 따라 각각 249.4, 232.8 및 216.3 µg/g으로 추출시간이 길어짐에 따라 감소하는 경향을 보였으며, β-carotene 함량은 추출시간에 따라 각각 136.4, 127.2 및 113.6 µg/g으로 lutein과 마찬가지로 추출시간이 길어짐에 따라 감소하는 경향을 나타내었다.

이러한 결과는 공액이중결합의 구조 때문에 빛, 산소 및 열에 장기간 노출되어 변화되었기 때문이라 판단되며, 이는 Gao 등(30)의 마리골드로부터 lutein을 추출할 경우 시간과 용매의 영향을 받는 것으로 나타난 연구와 유사하였다. 총 폴리페놀 함량은 추출시간에 따라 각각 32.3, 32.4 및 31.0 mg/g으로 그 추출물은 각각 90.6, 90.9 및 87.1%였다. 총 플라보노이드 함량도 추출시간이 길어짐에 따라 17.0 mg/g에서 16.5 mg/g으로 감소하는 경향을 나타내었다. 추출시간에 따른 고구마 잎 추출물에 대한 DPPH 라디칼 소거 활성은 IC₅₀ 값이 각각 1.94, 2.09 및 2.12 mg/mL로 추출시간이 길어짐에 따라 감소하였으며, ABTS 라디칼 소거능 역시 추출시간이 길어짐에 따라 17.1 mg AA eq/g에서 15.7 mg

AA eq/g으로 감소하였다. 추출시간별 chlorogenic acid, p-coumaric acid, 4,5-diCQA 및 3,5-diCQA는 추출시간이 길어짐에 따라 감소하는 경향을 보였고 3,4-diCQA 및 caffeic acid 함량은 오히려 증가하는 경향을 보였다.

요 약

본 연구는 고구마 잎에 함유된 carotenoids류인 lutein, β-carotene과 항산화 성분을 효과적으로 동시에 추출할 수 있는 방법을 연구하고 각 추출물에 대한 항산화 효과를 평가하였다. 1차 추출은 99.9% 에탄올을 사용하였고 2차 추출은 에탄올 농도를 50~90%로 증가시키며 추출하였다. Lutein과 β-carotene은 2차 추출 에탄올 농도 90%에서 각각 77.9% 및 68.5%로 가장 높은 추출률을 나타내었고 추출시간이 길어짐에 따라 감소하였다. Polyphenol, flavonoid 및 DPPH, ABTS 라디칼 소거능은 2차 추출 에탄올 농도 60%에서 각각 32.3 mg gallic acid equivalent/g, 17.0 mg catechin equivalent/g 및 1.94 mg/mL(EDA, IC₅₀), 17.0 mg AA eq/g(AEAC)으로 가장 높게 나타났으며, 추출시간이 길어짐에 따라 감소하였다. 또한, 총 페놀산 함량은 2차 추출을 에탄올 60~70%에서 추출 시 가장 높은 함량을 나타내었다. 지용성 물질인 carotenoids뿐만 아니라 대량으로 존재하는 수용성 물질인 페놀류를 동시에 추출하기 위해서는 99.9%의 에탄올을 사용하여 1차 추출을 하고, 60% 정도의 에탄올로 2차 추출을 30분 동안 추출 시 높은 추출률을 나타내어 루테인, 베타카로틴 및 폴리페놀 동시 추출법으로 가장 적합할 것으로 판단되었다.

REFERENCES

1. Bovell-Benjamin AC. 2007. Sweet potato: A review of its past, present, and future role in human nutrition. *Adv Food Nutr Res* 52: 1-59.

2. Ishida H, Suzuno H, Sugiyama N, Innami S, Tadokoro T, Maekawa A. 2000. Nutritive evaluation on chemical components of leaves, stalks and stems of sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Poir). *Food Chem* 68: 359-367.
3. Yoshimoto M, Yahara S, Okuno S, Islam MS, Ishiguro K, Yamakawa O. 2002. Antimutagenicity of mono-, di-, and tricaffeoylquinic acid derivatives isolated from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaf. *Biosci Biotechnol Biochem* 66: 2336-2341.
4. Oki T, Masuda M, Furuta S, Nishiba Y, Terahara N, Suda I. 2002. Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. *J Food Sci* 67: 1752-1756.
5. Fu HF, Xie B, Ma S, Zhu X, Fan G, Pan S. 2011. Evaluation of antioxidant activities of principal carotenoids available in water spinach (*Ipomoea aquatica*). *J Food Compos Anal* 24: 288-297.
6. Lee HS, Kim YN. 1997. Beta-carotene and lutein contents in green leafy vegetables. *J East Asian Diet Life* 7: 175-180.
7. Jo JO, Jung IC. 2000. Changes in carotenoid contents of several green-yellow vegetables by blanching. *Korean J Soc Food Sci* 16: 17-21.
8. Kim HY, Lim Y, Russell RM. 2003. Changes in carotenoids contents in pureed and cooked carrot and spinach during storage. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19: 83-95.
9. Stoica A, Dobre T, Stroescu M, Sturzoiu A, Parvulescu OC. 2015. From laboratory to scale-up by modelling in two cases of β -carotene extraction from vegetable products. *Food Bioprod Process* 94: 218-228.
10. Semba RD, Dagnelie G. 2003. Are lutein and zeaxanthin conditionally essential nutrients for eye health?. *Med Hypotheses* 61: 465-472.
11. Gale CR, Hall NF, Phillips DI, Martyn CN. 2001. Plasma antioxidant vitamins and carotenoids and age-related cataract. *Ophthalmology* 108: 1992-1998.
12. Mares-Perlman JA, Millen AE, Ficek TL, Hankinson SE. 2002. The body of evidence to support a protective role for lutein and zeaxanthin in delaying chronic disease. Overview. *J Nutr* 132: 518S-524S.
13. Lee JS, Shin MJ, Park YK, Ahn YS, Chung MN, Kim HS, Kim JM. 2007. Antibacterial and antimutagenic effects of sweetpotato tips extract. *Korean J Crop Sci* 52: 303-310.
14. Choi Y, Lim H, Woo S, Kim HS, Jong SK, Lee J. 2007. Lutein contents of soybeans (*Glycine max* L.) cultivated in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 39: 580-583.
15. Lee HK, Hwang IG, Kim HY, Woo KS, Lee SH, Woo SH, Lee J, Jeong HS. 2010. Physicochemical characteristic and antioxidant activities of cereals and legumes in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1399-1404.
16. Choi Y, Kim M, Shin JJ, Park JM, Lee J. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
17. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
18. Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. 2001. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol Pharm Bull* 24: 1202-1205.
19. Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
20. Jo IH, Kim CY, Lee TW, Lee GH, Choi YH. 2010. Optimization of extraction of effective components from *Vitis coignetiae*, the crimson glory vine. *Korean J Food Preserv* 17: 659-666.
21. Heo JY. 2013. Optimization of lutein extraction in green tea using ASE and its quantitative and qualitative analysis by UPLC. *MS Thesis*. Chung-Ang University, Seoul, Korea. p 24.
22. Park KJ, Lim JH, Kim BK, Jeong JW, Kim JC, Lee MH, Cho YS, Jung H. 2009. Optimization of extraction conditions to obtain functional components from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprouts, using response surface methodology. *Korean J Food Preserv* 16: 734-741.
23. Sahin S, Samli R. 2013. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrason Sonochem* 20: 595-602.
24. Kang JR, Lee SJ, Kwon HJ, Kwon MH, Sung NJ. 2012. Establishment of extraction conditions for the optimization of the black garlic antioxidant activity using the response surface methodology. *Korean J Food Preserv* 19: 577-585.
25. Woo KS, Lee SH, Noh JW, Hwang IG, Lee YR, Park HJ, Lee J, Kang TS, Jeong HS. 2009. Optimization of extraction conditions for dried jujube by response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 244-251.
26. Jang M, Hong EY, Cheong JH, Kim GH. 2012. Antioxidative components and activity of domestic *Cirsium japonicum* extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 739-744.
27. Yoon SR, Jeong YJ, Lee GD, Kwon JH. 2003. Changes in phenolic compounds properties of Rubi Fructus extract depending on extraction conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 338-345.
28. Jung JK, Lee SU, Kozukue N, Levin CE, Friedman M. 2011. Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities in parts of sweet potato (*Ipomoea batata* L.) plants and in home processed roots. *J Food Compos Anal* 24: 29-37.
29. Lee JW, Do JH, Lee SK, Yang JW. 2000. Determination of total phenolic compounds from Korean red ginseng, and their extraction conditions. *J Ginseng Res* 24: 64-67.
30. Gao Y, Nagy B, Liu X, Simándi B, Wang Q. 2009. Supercritical CO₂ extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound. *J Supercrit Fluids* 49: 345-350.