

ORIGINAL ARTICLE

진도산 울금(*Curcuma longa* L.) 추출물의 총 플라보노이드 함량 및 항산화 활성

오다영 · 김한수*

부산대학교 식품공학과

Total Flavonoid Content and Antioxidant Activities of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts in Jindo Korea

Da-Young Oh, Han-Soo Kim*

Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

Abstract

The present study were conducted to determine physiological activities and antioxidant effects [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical scavenging activity, reducing power, Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and Fe²⁺ (ferrous ion) chelating capacity] of 70% methanol, chloroform:methanol, 2:1 volume ratio (CM) and ethyl acetate extract of turmeric (*Curcuma longa* L.). Bioactive compound of tannin 0.125±0.007 mg Catechin Equivalent (CE)/g dry weight. Turmeric extracts yield were 70% methanol 16.54%, CM 5.64% and ethyl acetate 4.14%, respectively. Antioxidant activity of the samples exhibited a dose-dependent increase. Results showed that extraction solvent had significant effects on total flavonoid content and antioxidant effects of ethyl acetate. But ferrous ion-chelating capacity of 70% methanol extract was higher than CM and ethyl acetate extract. From the results of this study, turmeric can be utilized as a valuable and potential nutraceutical for the functional food industry.

Key words : Turmeric (*Curcuma longa* L.), Antioxidant activity, Tannin, Reducing power, Ferrous ion chelate

1. 서론

울금(*Curcuma longa* L.)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 속근성 초본식물로 인도와 중국을 비롯한 아시아에 자생하고 있으며(Araujo and Leon, 2001), 생리활성물질 등 다양한 연구가 진행되고 있다(Mohebbati et al., 2017). 커큐민(curcumin)은 curcuminoid에 속하는 울금의 주요 성분으로, 혈중 콜레

스테롤과 혈당 농도 등을 조절하여 생활습관병(lifestyle related disease)을 예방하는 것으로 알려져 있다(Sukandar et al., 2010).

서구화된 생활습관 및 식생활 변화로 고콜레스테롤혈증 및 고혈압, 당뇨병, 비만 등 대사증후군(metabolic syndrome)이 급격히 증가되는 추세이다(Kowalska and Olejnik, 2016).

대사증후군은 주요 사망 원인으로 68%를 차지하고

Received 24 January, 2019; Revised 5 March, 2019;
Accepted 6 March, 2019

*Corresponding author: Han-Soo Kim, Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea
Phone : +82-55-350-5351
E-mail : kimhs777@pusan.ac.kr

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© 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.

있고, phytochemical인 생리활성물질은 산화적 스트레스 조절작용이 있어 이러한 질병을 예방하는 것으로 알려져 있다(Huang et al., 2005; Selby-Pham et al., 2017). 산화적 스트레스의 원인인 활성산소종(reactive oxygen species)이나 유리기(free radical)는 대사과정 중에 지속적으로 생성되며(Bagchi and Puri, 1998), 심장순환기 계질환(Coronary Heart Disease, CHD)과 중양, 퇴행성 류마티스 관절염 등의 질병을 일으키는 것으로 보고되어 있다(Barros et al., 2007). 울금은 커큐민 2.10%, demethoxycurcumin 0.46%, bis-demethoxycurcumin (bDMC) 0.10% 등을 함유하고 있으며(Kim et al., 2013), calebin 및 cyclocurcumin 또한 울금의 성분으로 알려져 있다(Ali et al., 2014). 울금 추출물은 항산화 및 항고혈압 작용 및 인슐린 비의존성 당뇨병과 관련된 효소인 α -glucosidase와 α -amylase 활성 조절 등 항당뇨 효과가 있는 것으로 보고되어 있다(Lekshmi et al., 2014; Chahdoura et al., 2017). 이에, 활성산소종을 조절 및 제거 능력을 지닌 천연 유래 항산화 소재에 대한 연구의 필요성이 대두되면서 천연물을 탐색하는 것은 중요한 의미를 지닌다고 하였다(Kim et al., 2009). 따라서 본 연구는 진도산 울금의 탄닌(tannin) 함량을 측정하고, 70% 메탄올, 클로로포름:메탄올(chloroform:methanol, CM, 2:1, v/v), 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 용매를 사용하여 총 플라보노이드(total flavonoid), DPPH 라디칼 소거활성, 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) 라디칼 소거활성, 환원력(reducing power) 및 Fe^{2+} (ferrous ion) 킬레이트 능력 등의 항산화 활성을 분석하여, 천연 항산화제로서 울금의 유용성에 대한 기초자료를 마련하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

전남 진도(Jindo, Jeonnam, Korea) 영농조합법인에서 구입한 울금(*Curcuma longa* L.)은 진공동결건조(EYELA, FDU-2000, Rikakikai Co., Tokyo, Japan) 시킨 후, 분쇄기(HMF-3250S, Han-I1 Co., Seoul, Korea)로 마쇄한 다음 $-80^{\circ}C$ 초저온 냉동고(DF-8514, I1-Shin BioBase Co., Daegu, Korea)에 저장하며 본 실험에 사용하였다.

2.2. 시료의 추출

진공동결 건조된 울금 100 g을 취하여 70% 메탄올, chloroform:methanol (CM, 2:1, v/v), 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 용매를 각 10배 가하여(1:10, w/v) 24시간씩 2회 추출한 후, 여과(filter paper, Advantec, No.2, Tokyo, Japan)하였다. 각 추출물은 진공회전농축기(Hei-VAP Advantage, Heidolph Co., Germany)를 이용하여 $40^{\circ}C$ 에서 감압농축하여 용매를 제거한 후 실험에 사용하였고, 시료의 수율은 시료 중량에 대한 추출 후 건조 중량 백분율(%)로 나타내었다.

2.3. 탄닌 함량 측정

울금의 탄닌 함량은 Paaver et al.(2010)의 방법을 변형하여 분석하였다. 울금 분말 0.06 g에 메탄올 6.0 mL를 넣고 교반한 후 30분간 방치하고 여과하였다. 여과액 2.0 mL에 증류수 50.0 mL를 가하여 실험에 사용할 추출 용액을 조제하였다. 추출 용액 2.0 mL에 0.1 M $FeCl_3$ 1.0 mL와 동량의 0.008 M $K_3Fe(CN)_6$ 1.0 mL를 가하여 현탁시킨 후, 실온에서 1시간 30분 동안 방치하여 분광광도계(Specord 200 Plus, Analytikjena Co., Jena, Germany)를 이용하여 720 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 (+)-catechin을 사용하여 표준검량 곡선을 작성하였고, 시료 g 당 mg CE (mg of catechin equivalents) dry weight로 나타내었다.

2.4. 총 플라보노이드 측정

총 플라보노이드 함량은 Chang et al.(2002)의 two complementary colorimetric 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 추출액 0.5 mL에 10% aluminium nitrate 0.5 mL와 동량의 1 M potassium acetate 0.5 mL를 가한 후, 80% 에탄올 2.0 mL를 혼합하여 교반하였다. 40분간 실온에 방치하여 반응시켰고 분광광도계를 이용하여 415 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 이 때 표준물질인 quercetin (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)을 사용하여 표준 검량곡선을 작성하였으며, 시료 g 당 mg QE (mg quercetin equivalents)로 계산하였다.

2.5. DPPH 라디칼 소거활성 측정

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성은 용매 별 시료 추출물 0.4 mL와 0.15 mM DPPH 2.8 mL를 교반하고, 암소에 30분간 방치시킨 후 517

nm에서 흡광도를 측정하였다(Mensor et al., 2001). 활성 비교를 위한 양성대조구로 합성항산화제인 BHA (butylated hydroxyanisole, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하여 같은 방법으로 흡광도를 측정하였으며, 아래의 식을 이용하여 백분율로 표시하였고, 각 농도 별로 3회 반복 측정한 후 평균값±표준편차로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} \\ = [1 - (\text{Sample OD}_{517} / \text{Blank OD}_{517})] \times 100 \%$$

2.6. ABTS 라디칼 소거활성 측정

2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) 라디칼 양이온 decolorization assay에 의한 방법(Erel, 2004)을 변형하여 항산화 활성을 분석하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 1:1 (v/v)의 비율로 섞어 16시간 동안 암실에서 반응시켜 ABTS 라디칼을 형성시킨 후, 에탄올로 희석하여 분광광도계를 이용하여 734 nm에서 흡광도 값이 0.70(±0.02)이 되도록 조절하였다. 각 농도 별 시료 추출액 0.11 mL에 희석된 용액 3.0 mL를 첨가하여 10분 동안 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한, 활성 비교를 위해 BHA를 양성대조구로 설정하였고 아래의 식을 사용하여 백분율로 표시하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} \\ = [1 - (\text{Sample OD}_{734} / \text{Blank OD}_{734})] \times 100 \%$$

2.7. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) 측정

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) 측정은 Ortuno et al.(2016)에 준하여 측정하였다. 0.3 M sodium acetate buffer (pH 3.6)와 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) 용액 및 20 mM ferric chloride를 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 교반하여 37°C 수조에서 10분간 반응시켜 FRAP 시약을 조제하였다. 울금의 농도 별 시료 추출액 0.2 mL에 FRAP 시약 3.0 mL를 가하여 37°C 수조에서 30분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ferrous sulfate를 이용하여 표준 검량 곡선을 작성한 후 환원력을 표시하였다. 양성대조구는 L-ascorbic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하였다.

2.8. Fe²⁺ (ferrous ion) 킬레이트 능력 측정

울금의 Fe²⁺ (ferrous ion) 킬레이트 능력은 Singh and Rajini(2004)의 방법에 준하여 측정하였다. 시료 1.0 mL에 2 mM iron (II) chloride tetrahydrate 0.1 mL, 5 mM ferrozine(3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid sodium salt) 0.2 mL, 에탄올 3.0 mL를 혼합하여 실온에 10분간 방치하여 ferrozine-Fe²⁺ complex를 형성시킨 후, 분광광도계를 이용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. Fe²⁺ 킬레이트 능력은 다음의 식에 따라 백분율로 나타내었으며 양성대조구로 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하였다.

$$\text{Ferrous ion-chelating capacity (\%)} \\ = [1 - (\text{Sample OD}_{562} / \text{Blank OD}_{562})] \times 100 \%$$

2.9. 환원력 측정

울금의 환원력(reducing power)은 Ferreira et al. (2007)의 방법을 변형하여 측정하였다. 용매 별 시료 추출 용액 1.0 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 1.5 mL와 1% potassium ferricyanide 1.0 mL를 넣고 교반시킨 후, 50°C의 수조에서 20분간 방치시켰다. 반응시킨 혼합액을 냉각시킨 다음, 10% trichloroacetic acid 1.5 mL를 첨가하여 섞은 후, 3,000 rpm에 10분간 원심분리하였다. 상등액 1.0 mL를 취하여 증류수 3.0 mL 및 0.1% ferric chloride solution 0.2 mL와 잘 교반시켜 10분간 방치시킨 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. BHA를 사용하여 양성대조구로 설정하였고, 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다.

2.10. 통계 처리

실험치의 통계처리는 3회 반복 실험하여 측정하였으며, 평균값±표준편차로 나타내었다. 유의성 검정은 일원 분산분석법으로 분석하였고, p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험값 간의 유의적인 차이를 표시하였다. 시료 농도 별 결과값에 대한 IC₅₀ 및 EC₅₀은 선형회귀분석을 통하여 구하였고, 통계처리 프로그램은 IBM SPSS statistic ver. 22를 사용하였다.

Table 1. Contents of tannin, values of IC₅₀ and EC₅₀ in the bioactivity evaluation assays from turmeric (*Curcuma longa* L.)

Assay ¹⁾	Value		
	70% Methanol	CM ³⁾	EA ⁴⁾
Tannin (mg CE ²⁾ /g dry weight)	0.125±0.007		
Extraction yields (%)	16.54	5.64	4.14
Total flavonoid (mg QE ⁵⁾ /g)	0.320±0.001 ⁶⁾	1.452±0.016 ^b	2.069±0.009 ^c
DPPH (IC ₅₀ ⁷⁾ , mg/mL)	1.758±0.024 ^c	0.323±0.002 ^b	0.286±0.001 ^a
ABTS (IC ₅₀ , mg/mL)	1.066±0.006 ^c	0.391±0.007 ^b	0.309±0.002 ^a
FIC (IC ₅₀ , mg/mL)	0.399±0.001 ^a	4.028±0.456 ^c	1.528±0.017 ^b
FRAP (EC ₅₀ ⁸⁾ , mg/mL)	6.105±0.110 ^c	1.436±0.011 ^b	1.186±0.055 ^a
RP (EC ₅₀ , mg/mL)	4.547±0.109 ^c	1.201±0.016 ^b	0.900±0.006 ^a

¹⁾DPPH radical scavenging activity (DPPH), ABTS radical scavenging activity (ABTS), ferric reducing antioxidant power (FRAP), ferrous ion-chelating capacity (FIC), reducing power (RP).

²⁾CE: catechin equivalents. ³⁾CM: chloroform:methanol (2:1, v/v). ⁴⁾EA: ethyl acetate.

⁵⁾QE: quercetin equivalents.

⁶⁾The values are means±standard deviation (n=3). Values with the different letters in the same row are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range tests.

⁷⁾IC₅₀: half maximal inhibitory concentration. ⁸⁾EC₅₀: half maximal effective concentration.

3. 결과 및 고찰

3.1. 수율

70% 메탄올, chloroform:methanol (CM, 2:1, v/v) 및 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 용매를 사용한 울금의 추출 수율은 Table 1에 나타내었다. 70% 메탄올 추출물은 16.54%, CM 추출물 5.64%, 에틸 아세테이트 추출물이 4.14%로 70% 메탄올 추출물에서 수율이 가장 높게 나타났으며, 에틸 아세테이트 추출물에서 낮은 수율을 보였다.

3.2. 탄닌 함량

울금의 탄닌 함량은 Table 1과 같으며, 0.125±0.007 mg catechin equivalent (CE)/g dry weight 함유하고 있는 것으로 관찰되었다. 탄닌은 녹차, 적포도주, 콩 및 사탕수수 등 식물에 함유되어 있는 폴리페놀 구조로 지질과산화 저해, 항균, 항염증 및 항암성 등의 효과가 보고되어 있다(Bennick, 2002; Okuda, 2005).

3.3. 총 플라보노이드 함량

울금 용매 별 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Table 1에 나타내었으며, 에틸 아세테이트 추출물 2.069±0.009 mg quercetin equivalents (QE)/g, CM 추출물에서 1.452±0.016 mg QE/g, 70% 메탄올 추출물 0.320±

0.001 mg QE/g 순으로 70% 메탄올 추출물이 유의적인 차이를 보이며 낮게 나타났다(p<0.05). 플라보노이드는 차, 레드와인, 올리브, 콩기름, 과일 및 채소 등에 존재하는 페놀계 화합물로 6,000종 이상의 플라보노이드가 알려져 있다(Yao et al., 2004). Akinola et al.(2014)은 울금(*Curcuma longa*) 및 자바강황(*Curcuma xanthorrhiza*)의 플라보노이드 함량이 741.36 및 220.53 mg naringenin equivalents (Ng)/g 함유되어 있다고 한다. 본 연구 결과, 울금의 에틸 아세테이트 추출물에서 CM 및 70% 메탄올 추출물에 비하여 유의적인 차이로 총 플라보노이드 함량이 높게 관찰되었다(p<0.05).

3.4. DPPH 라디칼 소거활성

울금의 용매 별 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성은 Fig. 1과 같으며, IC₅₀값을 구하여 Table 1에 나타내었다. 양성대조군으로 BHA (butylated hydroxyanisole)를 사용하였고, 울금의 3가지 용매 별 추출물을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL의 농도에서 측정된 결과, 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거활성이 유의하게 증가되는 것으로 나타났(p<0.05). 농도 별 에틸 아세테이트 추출물은 33.97±0.30%, 62.50±0.72%, 83.82±0.14%, 90.61±0.17%, IC₅₀ 0.286±0.001 mg/mL, CM 추출물에서 31.35±0.50%, 56.02±0.26%,

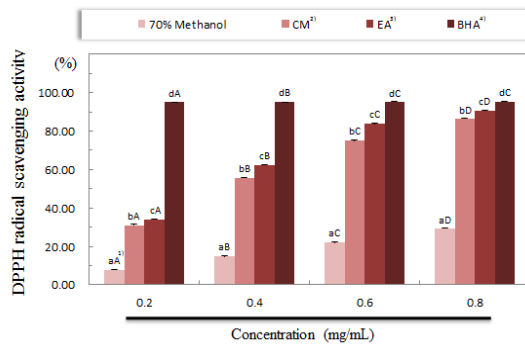


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means±standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

²⁾CM: chloroform:methanol (2:1, v/v).

³⁾EA: ethyl acetate.

⁴⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

74.98±0.21%, 86.46±0.11%, IC₅₀ 0.323±0.002 mg/mL, 70% 메탄올 추출물 7.83±0.29%, 14.78±0.11%, 21.85±0.34%, 29.33±0.22%, IC₅₀ 1.758±0.024 mg/mL로 에틸 아세테이트 추출물에서 유의적인 차이로 높은 활성을 보였다($p<0.05$). BHA는 각 농도에서 94.95±0.00%, 95.09±0.04%, 95.23±0.04%, 95.27±0.04%로 강력한 DPPH 라디칼 소거활성이 관찰되었다($p<0.05$). 한편, Choi(2009)는 울금의 DPPH 라디칼 소거활성에서 IC₅₀은 증류수 분획물이 759.28 µg/mL로 높았으며, 에틸 아세테이트 분획물에서 9.86 µg/mL로 낮게 나타났다고 하였다. 따라서 본 실험에서도 울금의 용매 별 추출물 DPPH 라디칼 소거활성에 대한 IC₅₀은 에틸 아세테이트 및 CM에서 낮은 것으로 확인되었다.

3.5. ABTS 라디칼 소거활성

울금의 용매 별 추출물과 BHA의 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) 라디칼 소거활성은 Fig. 2와 같으며, IC₅₀값을 구하여 Table 1에 나타내었다. 에틸 아세테이트 추출물은 농도 별(0.2~0.8 mg/mL)로 각각 34.06±0.29%, 58.58±0.30%, 73.78±0.69%, 83.38±0.47%, IC₅₀ 0.309±0.002 mg/mL로 울금의 용매 별 추출물에 있어 유의적인 차이를 보이며 높은 활성을 보였다($p<0.05$). CM 추출물이 29.34±0.55%,

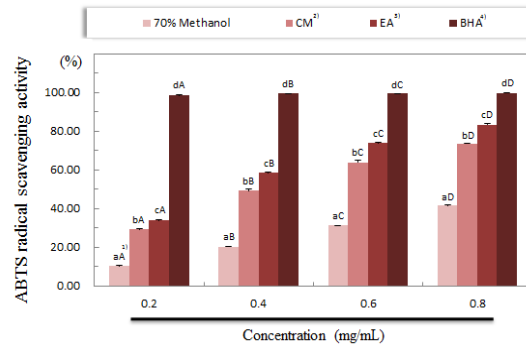


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means±standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

²⁾CM: chloroform:methanol (2:1, v/v).

³⁾EA: ethyl acetate.

⁴⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

49.37±0.81%, 63.94±0.95%, 73.59±0.34%, IC₅₀ 0.391±0.007 mg/mL, 70% 메탄올 추출물 10.43±0.08%, 20.47±0.00%, 31.34±0.17%, 41.52±0.25%, IC₅₀ 1.066±0.006 mg/mL 순으로 측정되었다. 양성대조구인 BHA는 각 농도에서 98.59±0.08%, 99.42±0.00%, 99.56±0.00%, 99.76±0.08%로 유의적인 차이를 보이며 증가되는 것으로 나타났다($p<0.05$).

ABTS 라디칼 소거활성은 potassium persulfate와 반응에 의하여 진한 청색/녹색의 양이온 라디칼을 형성시킨 후, 항산화 활성을 측정하는 분석법으로(Durmaz, 2012), 시약 조제가 어렵고 안정성이 떨어지는 것으로 알려져 있다(Marecek et al., 2017).

본 실험 결과, 에틸 아세테이트 추출물에서 강한 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내었으며, 총 플라보노이드 용매 별 함량 및 DPPH 라디칼 소거활성에 대한 결과와 유사한 경향으로 확인되었다.

3.6. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) 분석은 Fig. 3에 나타내었고, EC₅₀을 구한 값은 Table 1과 같다. 양성대조구로 ascorbic acid를 사용하였고, 3가지 용매의 농도 별(0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL) 측정 결과는 양성대조구를 포함하여 농도의 증가에 따라 유의하게 증가되는

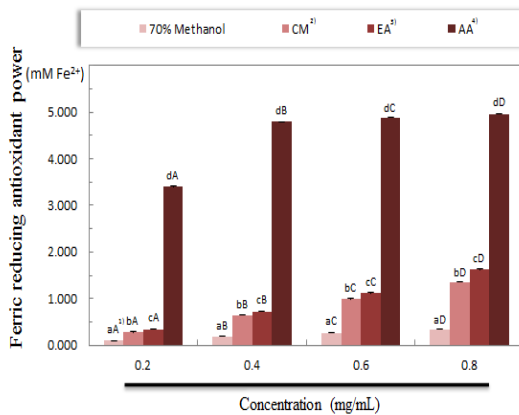


Fig. 3. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹The values are means±standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

²CM: chloroform:methanol (2:1, v/v).

³EA: ethyl acetate.

⁴AA: ascorbic acid.

것으로 나타났다($p<0.05$). 에틸 아세테이트 추출물에서 농도 별(0.2~0.8 mg/mL)로 0.339 ± 0.007 , 0.718 ± 0.001 , 1.120 ± 0.022 , 1.623 ± 0.024 mM Fe²⁺, EC₅₀ 1.186 ± 0.055 mg/mL, CM 용매 추출물에서 0.281 ± 0.007 , 0.639 ± 0.008 , 0.989 ± 0.010 , 1.351 ± 0.007 mM Fe²⁺, EC₅₀ 1.436 ± 0.011 mg/mL, 70% 메탄올 추출물은 0.101 ± 0.002 , 0.183 ± 0.002 , 0.261 ± 0.006 , 0.343 ± 0.002 mM Fe²⁺, EC₅₀ 6.105 ± 0.110 mg/mL로 에틸 아세테이트 추출물에서 유의적으로 높은 환원력을 보였다($p<0.05$). Ascorbic acid는 3.404 ± 0.017 , 4.791 ± 0.001 , 4.877 ± 0.008 , 4.961 ± 0.001 mM Fe²⁺의 강한 환원력이 관찰되었다($p<0.05$).

생강과에 속하는 *Curcuma alismatifolia* 잎의 감마선 조사에 따른 생리활성 변동에서 0, 10, 15 및 20 Gy의 조사량에 따라 항산화 활성 증가와 IC₅₀값이 감소되는 것으로 보고하였다(Taheri et al., 2014). Akinola et al.(2014)는 울금의 항산화 활성은 플라보노이드 함량과 FRAP와 상관관계가 있다고 하며, 폴리페놀 함량에 따라 항산화 활성이 증가된다고 하였다. 본 연구에서도 용매 별 총 플라보노이드 함량과 FRAP 분석 결과의 양상이 동일한 것으로 나타났다.

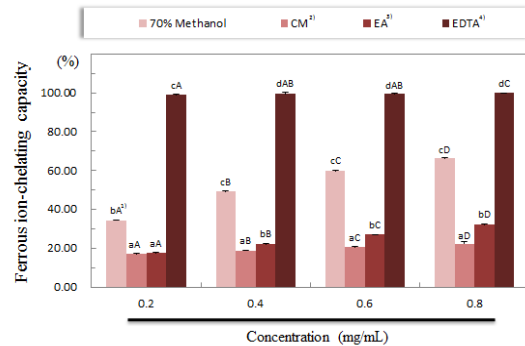


Fig. 4. Ferrous ion-chelating capacity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹The values are means±standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

²CM: chloroform:methanol (2:1, v/v).

³EA: ethyl acetate.

⁴EDTA: ethylenediaminetetra-acetic acid.

3.7. Fe²⁺ (ferrous ion) 킬레이트 능력

울금의 용매 별 Fe²⁺ (ferrous ion) 킬레이트 능력은 Fig. 4에 나타내었으며, IC₅₀ 값은 Table 1과 같다. EDTA를 사용하여 비교하였으며, 울금의 농도 별(0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL) 측정 결과, 농도 의존적으로 유의하게 증가되는 것으로 나타났다($p<0.05$).

70% 메탄올 추출물에서 0.2~0.8 mg/mL 농도에서 $34.39\pm 0.07\%$, $49.19\pm 0.16\%$, $59.87\pm 0.18\%$, $66.27\pm 0.16\%$, IC₅₀ 0.399 ± 0.001 mg/mL, 에틸 아세테이트 추출물은 각각 $17.50\pm 0.50\%$, $22.18\pm 0.51\%$, $27.08\pm 0.15\%$, $32.25\pm 0.22\%$, IC₅₀ 1.528 ± 0.017 mg/mL, CM 추출물이 $17.03\pm 0.57\%$, $18.94\pm 0.26\%$, $20.49\pm 0.48\%$, $22.31\pm 1.34\%$, IC₅₀ 4.028 ± 0.456 mg/mL로 관찰되었다. 70% 메탄올 추출물에서 유의적인 차이를 보이며 강한 Fe²⁺ 킬레이트 능력을 나타내었다($p<0.05$). 양성대조구인 EDTA는 각 농도에서 $98.94\pm 0.18\%$, $99.56\pm 0.61\%$, $99.49\pm 0.52\%$, $99.92\pm 0.04\%$ 로 확인되었다($p<0.05$). Fe²⁺는 활성산소종(reactive oxygen species) 생성을 촉진하며, Fe²⁺ 킬레이트 능력이 있는 물질은 항산화 작용이 있다고 한다(Ak and Gulcin, 2008). 또한, Fe²⁺와 ferrozine은 복합체를 형성하는 것으로 보고되어

있다(Ebrahimzadeh et al., 2008). 본 실험 결과, 70% 메탄올 추출물은 에틸 아세테이트 및 CM 추출물에 비하여 높은 Fe^{2+} 킬레이트 능력을 가지는 것으로 측정되었다.

3.8. 환원력

각 용매 별 추출물과 양성대조구인 BHA의 환원력(reducing power)은 Fig. 5와 같으며, EC_{50} 을 구한 값은 Table 1에 표시하였다. 에틸 아세테이트 추출물에서 0.197 ± 0.005 , 0.356 ± 0.008 , 0.496 ± 0.008 , 0.625 ± 0.007 의 흡광도로 관찰되었고, EC_{50} 0.900 ± 0.006 mg/mL로 확인되었다. CM 추출물은 0.132 ± 0.003 , 0.261 ± 0.002 , 0.373 ± 0.005 , 0.469 ± 0.006 , EC_{50} 1.201 ± 0.016 mg/mL, 70% 메탄올 추출물이 0.044 ± 0.002 , 0.078 ± 0.001 , 0.104 ± 0.001 , 0.136 ± 0.001 , EC_{50} 4.547 ± 0.109 mg/mL로 에틸 아세테이트 추출물에서 유의적으로 높은 환원력을 나타내었다. BHA는 각 농도에서 1.189 ± 0.006 , 1.492 ± 0.005 , 1.504 ± 0.010 , 1.516 ± 0.003 의 흡광도를 나타내며 강력한 환원력을 갖는 것으로 확인되었다($p < 0.05$). 환원력은 항산화 활성이 있는 물질과 potassium ferricyanide (Fe^{3+}) 이 potassium ferrocyanide (Fe^{2+})를 형성하여 나타난다고 하였다(Raja and Pugalendi, 2010). 본 실험에서 용매 별 환원력은 에틸 아세테이트 추출물에서 높았으며, CM 추출물 및 70% 메탄올 추출

물 순으로 나타났고, 총 플라보노이드 함량과 유사한 양상으로 관찰되었다.

4. 결론

진도산 울금의 탄닌 함량과 에틸 아세테이트, 클로로포름:메탄올(chloroform:methanol, CM, 2:1, v/v) 및 70% 메탄올 용매 추출물을 사용하여 총 플라보노이드(total flavonoid) 함량, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성, 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) 라디칼 소거활성, 환원력(reducing power), Ferric Reducing Antioxidant Powe (FRAP), Fe^{2+} (ferrous ion) 킬레이트 능력을 측정하여 울금의 기능성 식품 소재로서 활용 가능성을 확인한 결과는 다음과 같다. 탄닌 함량은 0.125 ± 0.007 mg Catechin Equivalent (CE)/g dry weight으로 측정되었고, 추출 수율은 에틸 아세테이트 4.14%, CM 5.64% 및 70% 메탄올 16.54%로 확인되어 70% 메탄올 추출물에서 추출 수율이 높은 것으로 관찰되었다. 총 플라보노이드(total flavonoid) 함량은 에틸 아세테이트, CM, 70% 메탄올 순으로 각각 2.07, 1.45, 0.32 mg Quercetin Equivalents (QE)/g의 함량으로 나타났으며, 에틸 아세테이트 추출물에서 유의적인 차이를 보이며 높게 관찰되었다($p < 0.05$). DPPH 라디칼 소거활성은 에틸 아세테이트 추출물은 33.97~90.61%, CM 추출물이 31.35~86.46%, 70% 메탄올 추출물에서 7.83~29.33% 순으로 확인되었다. ABTS 라디칼 소거활성은 용매 농도 별 에틸 아세테이트 34.06~83.38%, CM 29.34~73.59%, 70% 메탄올 10.43~41.52% 순으로 동정되었다. FRAP는 에틸 아세테이트, CM, 70% 메탄올 추출물 순으로 각각 $0.339 \sim 1.623$, $0.281 \sim 1.351$, $0.101 \sim 0.343$ mM Fe^{2+} 로 나타났으며, 총 플라보노이드, DPPH 라디칼 소거활성 및 ABTS 라디칼 소거활성과 유사한 경향을 보였다. Fe^{2+} 킬레이트 능력은 에틸 아세테이트 17.50~32.25%, CM 17.03~22.31%, 70% 메탄올 추출물이 34.39~66.27% 순으로 관찰되었다. 환원력은 에틸 아세테이트 $0.197 \sim 0.625$, CM $0.132 \sim 0.469$, 70% 메탄올 $0.044 \sim 0.136$ 의 순으로 흡광도를 나타내어, 에틸 아세테이트 추출물에서 높은 환원력을 갖는 것으로 확인되었다. 울금 용매 별 추출물의 총 플라보노이드 함량 및 항산화 활성은

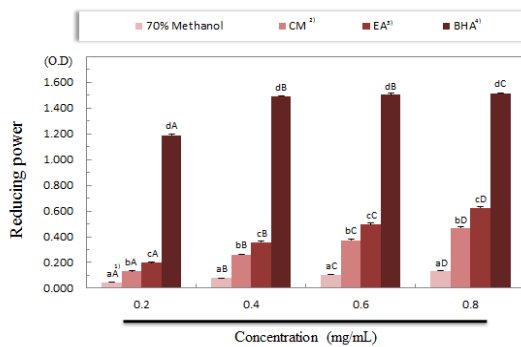


Fig. 5. Reducing power of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

1) The values are means±standard deviation (n=3). Bars with the different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.
 2) CM: chloroform:methanol (2:1, v/v).
 3) EA: ethyl acetate.
 4) BHA: butylated hydroxyanisole.

에틸 아세테이트 용매 추출물에서 높은 것으로 측정되었다. 이상의 결과, 울금은 기능성 식품 소재로서 활용될 수 있을 것으로 사료되며, 천연 항산화제로서 가치가 있는 것으로 판단된다.

REFERENCES

- Ak, T., Gulcin, I., 2008, Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin, *Chem. Biol. Interact.*, 174(1), 27-37.
- Akinola, A. A., Ahmad, S., Maziah, M., 2014, Total antioxidant capacity, flavonoid, phenolic acid and polyphenol content in ten selected species of *Zingiberaceae* rhizomes, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, 11(3), 7-13.
- Ali, I., Haque, A., Saleem, K., 2014, Separation and identification of curcuminoids in turmeric powder by HPLC using phenyl column, *Anal. Methods*, 6(8), 2526-2536.
- Araujo, C. A. C., Leon, L. L., 2001, Biological activities of *Curcuma longa* L., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96(5), 723-728.
- Bagchi, K., Puri, S., 1998, Free radicals and antioxidants in health and disease: a review, *East. Mediterr. Health J.*, 4(2), 350-360.
- Barros, L., Ferreira, M. J., Queiros, B., Ferreira, I. C., Baptista, P., 2007, Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities, *Food Chem.*, 103(2), 413-419.
- Bennick, A., 2002, Interaction of plant polyphenols with salivary proteins, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 13(2), 184-196.
- Chahdoura, H., Adouni, K., Khelifi, A., Dridi, I., Haouas, Z., Neffati, F., Achour, L., 2017, Hepatoprotective effect of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers against diabetes type II induced in rats, *Biomed. Pharmacother.*, 94, 79-87.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C., 2002, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *J. Food Drug Anal.*, 10(3), 178-182.
- Choi, H. Y., 2009, Antioxidant activity-of *Curcuma longa* L. novel foodstuff, *Mol. Cell. Toxicol.*, 5(3), 237-242.
- Durmaz, G., 2012, Freeze-dried ABTS⁺ method: A ready-to-use radical powder to assess antioxidant capacity of vegetable oils, *Food Chem.*, 133(4), 1658-1663.
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., Bekhradnia, A. R., 2008, Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran, *Afr. J. Biotechnol.*, 7(18), 3188-3192.
- Erel, O., 2004, A Novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation, *Clin. Biochem.*, 37(4), 277-285.
- Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L., 2007, Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity, *Food Chem.*, 100(4), 1511-1516.
- Huang, D., Ou, B. R., Prior, L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J. Agric. Chem.*, 53(6), 1841-1856.
- Kim, E., Kim, M. S., Rhyu, D. Y., Min, O. J., Baek, H. Y., Kim, Y. J., Kim, H. A., 2009, Hypoglycemic effect of *Eriobotrya japonica* (*E. japonica*) in db/db mice, *Korean J. Food Nutr.*, 22(2), 159-165.
- Kim, M. S., Chun, S. S., Choi, J. H., 2013, Effects of turmeric (*Curcuma longa* L.) on antioxidative systems and oxidative damage in rats fed a high fat and cholesterol diet, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 42(4), 570-576.
- Kowalska, K., Olejnik, A., 2016, Beneficial effects of cranberry in the prevention of obesity and related complications: Metabolic syndrome and diabetes - A review, *J. Funct. Foods*, 20(1), 171-181.
- Lekshmi, P. C., Arimboor, R., Nisha, V. M., Menon, A. N., Raghu, K. G., 2014, *In vitro* antidiabetic and inhibitory potential of turmeric (*Curcuma longa* L) rhizome against cellular and LDL oxidation and angiotensin converting enzyme, *J. Food Sci. Technol.*, 51(12), 3910-3917.
- Marecek, V., Mikyska, A., Hampel, D., Cejka, P., Neuwirthova, J., Malachova, A., Cerkal, R., 2017, ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt, *J. Cereal Sci.*, 73(1), 40-45.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitao, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. D., Coube, C. S., Leitao, S. G., 2001,

- Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method, *Phytother. Res.*, 15(2), 127-130.
- Mohebbati, R., Anaiegoudari, A., Khazdair, M. R., 2017, The effects of *Curcuma longa* and curcumin on reproductive systems, *Endocrine Regulations*, 51(4), 220-228.
- Okuda, T., 2005, Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants, *Phytochem.*, 66(17), 2012-2031.
- Ortuno, J., Serrano, R., Jordan, M. J., Banon, S., 2016, Relationship between antioxidant status and oxidative stability in lamb meat reinforced with dietary rosemary diterpenes, *Food Chem.*, 190(1), 1056-1063.
- Paaver, U., Matto, V., Raal, A., 2010, Total tannin content in distinct *Quercus robur* L. galls, *J. Medic. Plants Res.*, 4(8), 702-705.
- Raja, B., Pugalendi, K. V., 2010, Evaluation of antioxidant activity of *Melothria maderaspatana in vitro*", *Cent. Eur. J. Biol.*, 5(2), 224-230.
- Selby-Pham, S. N., Miller, R. B., Howell, K., Dunshea, F., Bennett, L. E., 2017, Physicochemical properties of dietary phytochemicals can predict their passive absorption in the human small intestine, *Sci. Rep.*, 7(1), 1931-1945.
- Singh, N., Rajini, P. S., 2004, Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel, *Food Chem.*, 85(4), 611-616.
- Sukandar, E. Y., Permana, H., Adnyana, I. K., Sigit, J. I., Ilyas, R. A., Hasimun, P., Mardiyah, D., 2010, Clinical study of turmeric (*Curcuma longa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts as antihyperglycemic and antihyperlipidemic agent in type-2 diabetes -dyslipidemia patients, *Intern. J. Pharmacol.*, 6(4), 456-463.
- Taheri, S., Abdullah, T. L., Karimi, E., Oskoueian, E., Ebrahimi, M., 2014, Antioxidant capacities and total phenolic contents enhancement with acute gamma irradiation in *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae) leaves, *Int. J. Mol. Sci.*, 15(7), 13077-13090.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S. S., 2004, Flavonoids in food and their health benefits, *Plant Foods Hum. Nutr.*, 59(3), 113-122.

• 오다영, 부산대학교 식품공학과 대학원생
zoo2965@nate.com
• 김한수, 부산대학교 식품공학과 교수
kimhs777@pusan.ac.kr