

Antioxidant and α -Glucosidase Inhibition Activity of Solvent Fractions from *Prunus mume* Ethanol Extract

Jeong-Ho Kim¹, Hyun-Dong Cho², Yeong-Seon Won³, Wool-Lim Park³, Hye-Ji Min³, Sim-Hee Han⁴, Kwang-Deog Moon¹ and Kwon-Il Seo^{3*}

¹Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

²Industry-Academy Cooperation, Dong-A University, Busan 49315, Korea

³Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 49315, Korea

⁴Department of Forest Genetic Bio-resources, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea

Received September 17, 2019 / Revised October 8, 2019 / Accepted October 21, 2019

Prunus mume, known as maesil in Korea, has been widely cultivated in East Asia and used as medication and food. However, because most of the previous studies concerning *P. mume* had been investigated its under extract state, detailed studies are still required for its extensive utilization. In this study, we evaluated the antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of solvent fractions of *P. mume* ethanol extracts. The ethyl acetate fraction showed higher DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, reducing power, and hydrogen peroxide scavenging activity than other fractions. The DPPH radical scavenging activities of ethyl acetate fraction was 67.79%; ABTS radical scavenging activity was 60.03%; reducing power (OD_{670}) was 1.26; and hydrogen peroxide scavenging activity was 93.18% at 500 μ g/ml. Also, the ethyl acetate and methanol fraction showed effective levels of α -glucosidase inhibition activity (69.25% and 72.29% at 500 μ g/ml). Total polyphenol contents and total flavonoid contents of the ethyl acetate fraction were 88.28 mg/g (gallic acid equivalent) and 70.38 mg/g (quercetin equivalent), respectively. These results suggest that the physiological activities of the ethyl acetate fraction are associated with its polyphenol and flavonoid contents. Therefore, this study can be used as basic data for developing natural antioxidants and potential functional material using *P. mume*.

Key words : Antioxidant, α -glucosidase, *Prunus mume*, solvent fraction

서론

현대사회는 고령 인구가 증가함에 따라 웰빙에 대한 욕구가 증가하고 있고, 국민 생활 수준이 향상됨에 따라 식생활 패턴이 건강 지향적으로 변하여 건강기능식품이나 유효성이 탁월한 제품들에 대한 소비자들의 관심이 지속적으로 커져가고 있는 실정이다[40]. 이에 따라 기능성 식품과 그 소재에 대한 연구 및 개발이 필수적이며 생리활성 효능을 나타내는 천연소재를 찾고자 하는 연구들이 지속적으로 진행되고 있다[2].

인체 내 산화 촉진 물질과 억제 물질은 서로 균형을 이루고 있지만, 항상성이 무너질 경우 활성산소와 같은 산화촉진물질이 과다하게 생성된다. 생성된 활성산소는 세포호흡 과정 중 세포 내 신호전달 물질로서 작용할 뿐만 아니라 외부로부터

인체 내로 침입하는 다양한 병원성 미생물 및 독소에 의해 유도되는 면역 반응에서 체내 돌연변이 세포와 조직 및 기타 노화된 세포들을 제거하는 등 인체 면역 반응에 있어 중요한 역할을 수행하고 있다[21].

반면에, 활성산소의 체내 부정적인 영향에 대한 연구 또한 활발히 이루어 지고 있으며, 대표적으로 H_2O_2 (hydrogen peroxide), $\cdot HO$ (hydroxyl radical), $\cdot O_2^-$ (superoxide anion radical) 등의 활성산소종이 알려져 있다[30]. 과생성된 활성산소는 체내에서 산화적 스트레스를 유도하여 세포 내 DNA 산화, 단백질 산화 및 형태학적 변형을 포함하여 피부노화, 고혈압을 비롯하여 사망 원인 1위 질병인 암 등 다양한 질환을 일으킨다고 보고되어져 있다[23, 30]. 인체는 이에 대응하기 위해 glutathione reductase, catalase, superoxide dismutase 등과 같은 항산화 효소들을 생성하고, 식이 섭취를 통해 합성 항산화제나 ascorbic acid 등의 수용성 항산화 물질 및 α -tocopherol이나 카로티노이드 같은 지용성 항산화 물질을 공급받아 산화를 막고 과잉 생성된 활성산소종을 제거하기도 한다[12, 23, 32]. 그러나 합성 항산화제인 butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole 등을 과하게 섭취할 경우 신장, 간, 위장점막 등에 독성을 일으키는 것으로 알려져 있기에 이에 대한

*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7565, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : kseo@dau.ac.kr

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

안전성 문제가 심각하므로 사용을 자제하고 있다[6, 14]. 이에 검정보리[36], 감국[13] 및 녹차[34] 등 천연소재를 이용한 천연 항산화제에 대한 연구가 지속적으로 진행되고 있다.

매실(*Prunus mume* Siebold & Zucc)은 장미과에 속하는 과수인 매화나무의 열매로서 꽃은 3~4월에 잎이 나기 전에 피고, 열매는 6~7월경 수확된다. 원산지는 중국으로 주로 한국, 일본 및 중국에 분포하고 있다[19]. 이러한 매실은 예로부터 민간에서는 매실청 및 매실장아찌 등의 형태로 식용되고 있으며, 한의학적으로는 한의서인 명의별록, 신농본초경 및 본초강목 등에 해독, 설사, 치질, 구충, 기침 및 구토 등의 치료에 효능이 있는 것으로 기재되어 있다[3, 12, 20, 31]. 매실의 주요성분으로는 구연산, 사과산 및 숙신산 등의 각종 유기산과 K, P, Ca 등 다량의 무기질을 함유하고 있으며 tannin과 rutin 등의 플라보노이드 및 페놀성분을 함유하고 있다[18, 37]. 이러한 매실의 생리활성 성분들은 항균활성, 피로회복 효과, 항비만, 항산화, 노폐물 제거 등과 같은 생리활성 효과를 가진 것으로 알려져 있다[12, 31, 32, 43]. 그러나 매실의 기능성에 대한 연구는 대부분 조추출물의 형태로 이루어져 있으며 세부적인 분획물을 이용한 생리활성 비교 연구는 미비한 실정이다.

매실은 국내 전역에서 재배되고 있으나 국내에서 생산 및 판매되는 매실은 대부분 남부지역에서 생산되어지고 있다. 2015년 한국농촌경제연구원에서 발표한 자료에 따르면, 2007년 26,041톤의 생산량을 보였으나 2010년에는 37,905톤을 나타냈으며 2014년에는 44,883톤의 생산량을 보이며 매실에 대한 생산량이 증가하고 있는 추세에 있다. 특히 건강에 대한 소비자들의 선호도가 높아짐에 따라, 매실을 이용한 음료, 주류 및 식초 등의 다양한 가공식품 및 건강식품의 수요가 증가함

에 따라 매실을 이용한 식품시장에 대한 관심이 증가하고 있다[10, 27]. 현재 매실을 이용한 농축액, 소금, 잼, 김치 및 캔디 같은 다양한 제품이 산업적으로 개발되어지고 있으며[27], 매실의 활용을 위한 가공 기술의 연구 또한 꾸준히 진행 중에 있다[3].

따라서 본 연구에서는 산업적으로 이용가능한 매실 에탄올 추출물을 이용하여 용매분획을 통해 분획물을 제조하고 각각의 생리활성을 평가하였다. 이를 통하여 매실 분획물의 기능성을 확인하고 이를 이용하여 매실 분획물의 기능성식품 소재화에 있어 기초 자료로서 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

매실 추출물 및 분획물의 제조

매실 추출물의 제조는 2019년 7월 순천엔매실(주)에서 구입한 매실을 세척한 다음 제핵 및 파쇄과정을 거쳐 실험에 사용하였다. 매실 파쇄액은 에탄올과 1:1 (w/v)로 혼합하여 24시간 실온에서 교반한 후 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 Büchner funnel에 여과지를 이용하여 감압여과하였다. 상기 여액을 감압농축 및 동결 건조를 실시하였으며 수득된 추출물의 수율은 6.18%로 나타났다.

매실 분획물은 Fig. 1과 같이 계통 분획을 실시하여 *Prunus mume* hexane fraction (PMHF), *Prunus mume* methanol fraction (PMMF), *Prunus mume* ethyl acetate fraction (PMEF), *Prunus mume* butanol fraction (PMBF) 및 *Prunus mume* aqueous fraction (PMAF)을 얻었으며 이를 감압농축 및 동결 건조한 후 얻은 분획물의 수율은 각각 0.65%, 2.33%, 4.14%, 38.36%

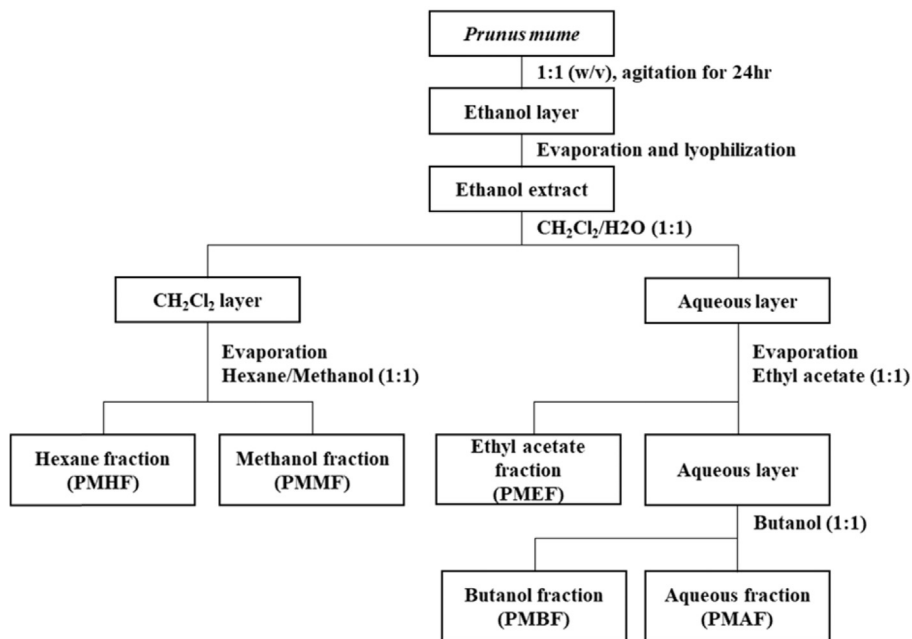


Fig. 1. Procedure of extract and fraction layers of *Prunus mume*.

및 54.43%로 나타났다. 수득된 시료는 냉동보관 하였으며 생리활성 실험에는 dimethyl sulfoxide (DMSO) 및 증류수로 녹여 실험에 사용하였다.

매실 분획물의 DPPH radical scavenging 활성

매실 분획물의 농도별 DPPH radical 소거활성은 Blois 방법 [5]을 이용하여 측정하였다. α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazine (DPPH)의 환원성을 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분획물을 각각 10-500 $\mu\text{g/ml}$ 으로 희석하여 농도별 및 대조구로 사용한 0.1% dibutylated hydroxytoluene (BHT)와 0.1% α -tocopherol 1 ml를 0.4 mM DPPH 용액 3 ml와 5초 동안 vortex mixer로 혼합한 후 이를 30분간 암소에서 반응시켜 흡광도를 측정하고, control은 에탄올 1 ml를 첨가하여 control에 대한 흡광도의 감소비율로 나타났다.

매실 분획물의 ABTS radical scavenging 활성

매실 분획물에 대한 ABTS radical 소거 활성은 Biglari 등 [4]의 방법을 이용하여 측정하였다. 7 mM의 2,2'-Azobis(2-amino-propane) dihydrochloride (Sigma-Aldrich Co.)는 2.45 mM의 ABTS와 혼합한 후 23°C의 암소에서 16시간 동안 라디칼을 생성시켰다. ABTS 용액의 농도는 734 nm에서 0.70 ± 0.01 의 흡광도가 되도록 증류수를 이용하여 조정하였다. 시료 0.1 ml와 3.9 ml ABTS 용액을 혼합하고 vortexing 후 실온에서 6분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 734 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer (U-1800, Hitachi)로 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거활성은 control에 대한 흡광도의 감소비율(%)로 표시하였다.

매실 분획물의 reducing power 활성

매실 분획물의 환원력은 Yildirim 등 [41]의 방법을 변형하여 측정하였다. 매실 분획물을 각 농도별로 희석한 시료 1 ml에 2.5 ml의 phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6)과 2.5 ml의 potassium ferricyanide (1%, w/v)를 첨가하여 섞은 후, 50°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액에 2.5 ml의 trichloroacetic acid (10%, w/v)를 첨가하여 반응을 종료한 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 상층액의 1 ml을 취해 시험관에 담고 1 ml의 증류수와 0.2 ml의 FeCl_3 (0.1%, w/v)을 첨가하여 700 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer (Hitachi)로 흡광도를 측정하였다.

매실 분획물의 hydrogen peroxide 소거 활성

과산화수소(H_2O_2) 소거활성능은 Müller [30]의 방법에 따라 분획물을 농도별로 희석하여 100 μl 를 96 microwell plate에 넣고 20 μl 의 hydrogen peroxide (Junsei Chemical Co., Ltd, Japan)를 첨가시키고 37°C의 incubator에서 5분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후, 1.25 mM ABTS (Sigma-Aldrich, Co.)와

peroxidase (1 unit/ml; Sigma-Aldrich, Co., ST. Louis, MO, USA)를 각각 30 μl 씩 첨가하여 혼합하고 37°C의 incubator에서 10분간 반응시킨 후, microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

α -Glucosidase 억제 활성

매실 분획물의 α -glucosidase 억제 활성은 Kim 등 [22]의 방법에 따라 농도별 매실 분획물을 각각 50 μl , 0.2 unit/ml α -glucosidase 50 μl 와 200 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) 50 μl 를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 다음에 3 mM pNPG (p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) 100 μl 를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.1 M Na_2CO_3 750 μl 첨가하여 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로는 acarbose를 사용하였다. 저해활성은 control과 비교하여 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법에 따라 측정하였다 [9]. 즉, 10배로 희석한 시료 0.1 ml에 증류수 8.4 ml와 2 N Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich, Co., ST. Louis, MO, USA) 0.5 ml를 첨가하고 20% Na_2CO_3 (Junsei Chemical Co., Ltd, Japan) 1 ml를 가하여 2시간 방치하였다. 반응물의 흡광도는 725 nm에서 UV/Vis-spectrophotometer (U-1800, Hitachi)를 사용하여 측정하였고, gallic acid (Sigma-Aldrich, Co.)를 이용한 표준곡선으로 양을 환산하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Abdel-Hameed [1]의 방법을 변형하여 측정하였다. 10배로 희석한 시료 1 ml에 5% sodium nitrite 0.15 ml를 가한 후 25°C에서 6분간 반응시킨 후 10% aluminum chloride 0.3 ml를 가하여 5분간 방치하였다. 이후 1 N NaOH 1 ml를 가하고 교반한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며, rutin hydrate (Sigma-Aldrich Co.)를 이용한 표준곡선으로 양을 환산하였다.

통계처리

통계분석은 각 시료군 간의 유의적인 변화를 one-way ANOVA 검정에 의한 평균 및 표준편차로 표시하였다.

결과 및 고찰

매실 분획물의 DPPH 라디칼 소거 활성

매실 분획물의 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. DPPH 라디칼은 항산화물질로부터 수소이온이나 전자를 제공받아 안정화된 상태로 전환되며 흡광도가 변화하는데, 이 방법은 항산화 물질의 라디칼 소거 활성을 측정하기 위하여

널리 사용되고 있다[26]. 양성대조구인 0.1% α -tocopherol과 0.1% BHT에서 각각 90.21% 및 92.44%로 가장 높게 측정되었고, PMEF의 경우 저농도인 10 μ g/ml의 농도에서는 라디칼 소거활성이 거의 나타나지 않았으나 농도가 높아짐에 따라 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가하여 250 및 500 μ g/ml의 농도에서는 45.86% 및 67.79%의 활성을 보이며 가장 뛰어난 활성을 보유하는 것으로 확인되었다. PMMF 및 PMBF의 경우 또한 농도의존적으로 활성이 증가하는 경향을 보였으며 500 μ g/ml의 농도에서 각각 30.39% 및 40.72%의 활성을 나타내었다. PMHF 및 PMAF는 고농도인 500 μ g/ml에서 2.96% 및 5.65%로 측정되어 DPPH 라디칼 소거 활성을 거의 나타내지 않는 것으로 나타났다.

Hwang 등[13]은 감국 추출물과 용매별 분획물의 DPPH 라디칼에 대한 항산화 활성은 ethyl acetate 분획물의 활성이 93.84%로 가장 높은 활성을 나타냈다고 보고하였으며 aqueous 분획물의 활성이 가장 낮은 것으로 보고하였으며, Lee 등[24]은 딸기 잎을 이용한 분획물의 항산화 활성에서 ethyl acetate 분획물과 butanol 분획물의 활성이 가장 뛰어나며 hexane 분획물의 경우 가장 낮은 활성을 보유한 것으로 보고하였다. 또한 홍마늘로부터 분획을 통해 얻은 분획물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 chloroform, ethyl acetate, water, hexane 및 butanol 분획물의 순서로 나타난다고 보고한 바 있기에 각 분획물의 DPPH 라디칼 소거활성은 용매와 시료의 차이에 따라 상이한 것으로 판단된다[11]. 이에 따라 본 실험에 사용된 매실의 경우 DPPH 라디칼 소거 활성을 갖는 분획물인 PMMF, PMEF 및 PMBF가 항산화 활성을 나타내는 비극성 용매에 친화성이 더 강한 성분을 함유하고 있을 것으로 생각된다.

매실 분획물의 ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼은 항산화 물질에 의하여 수소를 제공받아 안

정한 물질로 변하는 과정에서 특유의 푸른색을 잃는 원리를 이용하는 실험 방법으로서 시료의 항산화 활성을 측정하는데 이용되어지고 있다[35]. 본 연구에서 매실 분획물인 PMHF, PMMF, PMEF, PMBF 및 PMAF의 ABTS 라디칼 소거 활성은 Fig. 3과 같다. 대체적으로 시료의 첨가 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 경향이었으며 추출용매에 따라 활성의 차이가 매우 큰 것으로 나타났다. 활성이 가장 높았던 PMEF는 500 μ g/ml의 농도에서 60.03%의 활성을 보였으나 나머지 시료의 경우 13%-25%의 활성을 나타내어 ABTS 라디칼 소거활성이 크지 않음을 알 수 있었다. DPPH는 자유라디칼을 소거하고, ABTS를 양이온 라디칼을 소거하기에 활성 차이가 나는 경우가 있으며, 두 기질과 반응물과의 결합 정도에 따라 라디칼을 소거하는 능력에서도 차이가 있는 것으로 알려져 있다[28]. 이에 본 연구에서의 매실 분획물의 DPPH 및 ABTS 소거 활성은 각각의 기질과 결합 정도가 다르기에 차이가 있는 것으로 판단되며, PMEF군이 가장 우수한 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내었다.

매실 분획물의 reducing power 활성

Reducing power assay는 Fe^{3+} 가 항산화물질과 반응하여 Fe^{2+} 로 환원되면서 전환되는 환원력을 흡광도의 변화된 값으로 활성을 판단하는 방법이다[19]. 매실 분획물의 농도별 환원력 활성을 알아본 결과는 Fig. 4와 같다. PMEF의 경우 가장 높은 500 μ g/ml의 농도에서 양성대조구인 0.1% α -tocopherol (2.11)과 0.1% BHT (2.43) 보다 활성이 다소 낮은 것으로 나타났으나 다른 분획물과 비교하여 1.26의 가장 높은 흡광도 값을 나타내었다. 다음으로 활성이 있는 PMMF의 경우 농도의존적인 활성을 나타내었으나 500 μ g/ml의 농도에서 0.49의 값을 보여 약간의 활성이 있는 것으로 확인되었다. 그러나 PMHF, PMBF 및 PMAF에서는 농도별 큰 차이를 나타내지 않았으며

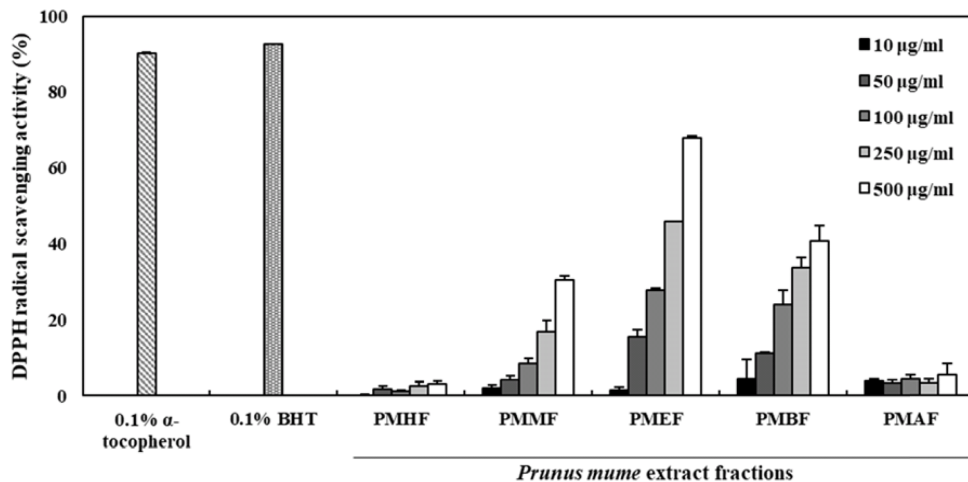


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of *Prunus mume* extract fractions. PMHF: *Prunus mume* hexane fraction, PMMF: *Prunus mume* methanol fraction, PMEF: *Prunus mume* ethyl acetate fraction, PMBF: *Prunus mume* butanol fraction, PMAF: *Prunus mume* aqueous fraction. Data values are expressed as mean as SD (n=3).

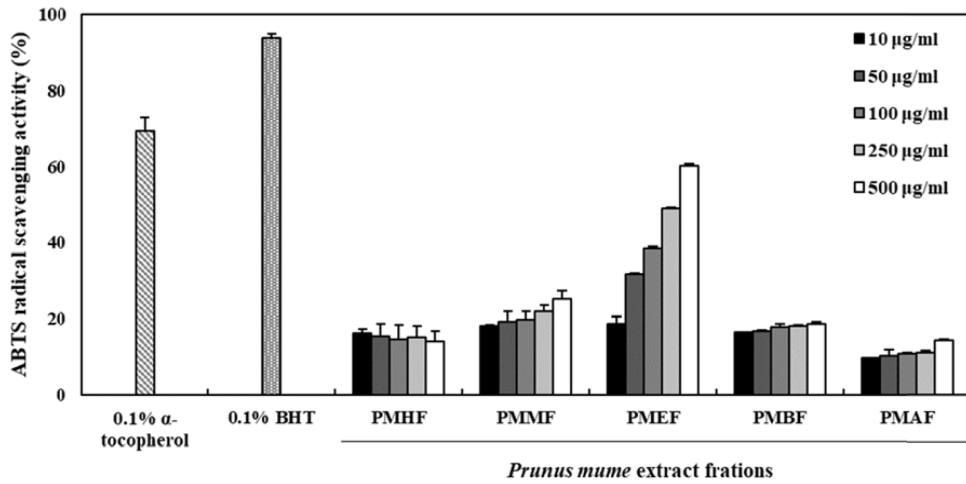


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of *Prunus mume* extract fractions. PMHF: *Prunus mume* hexane fraction, PMMF: *Prunus mume* methanol fraction, PMEF: *Prunus mume* ethyl acetate fraction, PMBF: *Prunus mume* butanol fraction, PMAF: *Prunus mume* aqueous fraction. Data values are expressed as mean as SD (n=3).

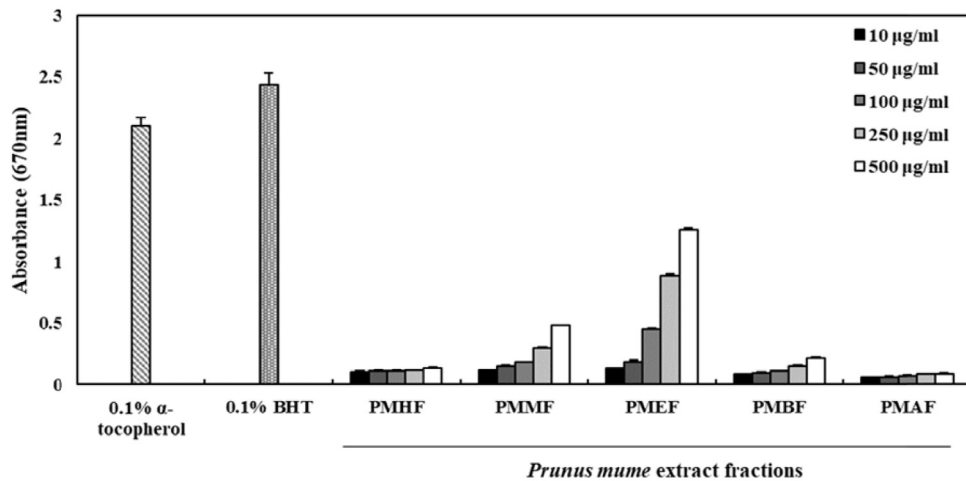


Fig. 4. Reducing power of *Prunus mume* extract fractions. PMHF: *Prunus mume* hexane fraction, PMMF: *Prunus mume* methanol fraction, PMEF: *Prunus mume* ethyl acetate fraction, PMBF: *Prunus mume* butanol fraction, PMAF: *Prunus mume* aqueous fraction. Data values are expressed as mean as SD (n=3).

그 활성 또한 크지 않았다. 블랙초크베리 분획물을 이용하여 환원력 활성을 연구한 결과에서 ethyl acetate 분획물의 환원력이 500 µg/ml의 농도에서 1.22의 흡광도 값을 나타내며 가장 뛰어난 것으로 나타났으며[7], 블랙커런트를 이용한 분획물의 항산화 비교 연구에서 ethyl acetate 분획물이 가장 높은 환원력을 보유했던 것으로 보고된 바 있다[23]. 따라서 본 연구결과에서의 PMEF의 높은 환원력 활성은 이와 유사함을 알 수 있었으며, 라디칼 소거능과 유사한 경향을 보이는 것으로 확인된다.

매실 분획물의 hydrogen peroxide 소거 활성

Hydrogen peroxide는 체내에 미치는 독성은 낮지만 효소에 의하여 쉽게 전환되어 활성산소를 생성하며 이렇게 생성된

활성산소는 금속이온과 반응하여 hydroxyl radical을 생성하여 체내 강한 독성을 띄어 DNA 손상, 체내 노화 등에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[17]. 매실 분획물의 농도별 hydrogen peroxide 소거 활성 결과는 Fig. 5에 나타냈다. 각 매실 농축액은 PMAF를 제외하고 농도의존적으로 소거 활성이 증가하는 경향으로 나타났다. 양성 대조구인 0.1% α-tocopherol과 0.1% BHT는 각각 80.72%와 89.98%의 소거 활성을 보였으며, 가장 활성이 높은 PMEF는 농도별로 10, 50, 100, 250 및 500 µg/ml의 농도에서 79.43%, 80.67%, 82.31%, 91.73% 및 93.18%로 나타나 모든 농도에서 가장 높은 활성을 나타냈으며 특히, 양성 대조구와 비슷한 활성을 보여 뛰어난 hydrogen peroxide 소거 활성을 보유했던 것으로 나타났다. PMHF, PMMF 및 PMBF의 경우 500 µg/ml의 농도에서 80.98%, 84.85% 및

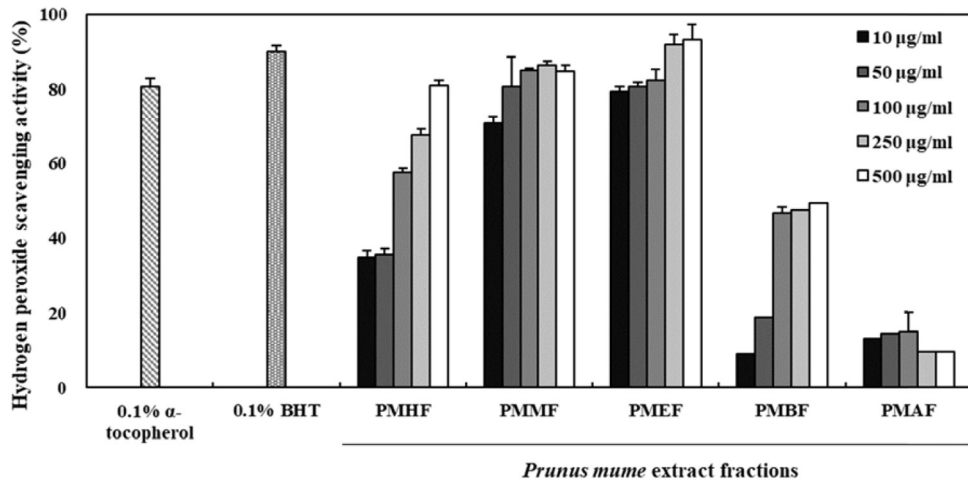


Fig. 5. Hydrogen peroxide scavenging activity of *Prunus mume* extract fractions. PMHF: *Prunus mume* hexane fraction, PMMF: *Prunus mume* methanol fraction, PMEF: *Prunus mume* ethyl acetate fraction, PMBF: *Prunus mume* butanol fraction, PMAF: *Prunus mume* aqueous fraction. Data values are expressed as mean as SD (n=3).

49.47%의 소거 활성을 보여 뛰어난 소거 활성을 갖는 것으로 확인되었으나, PMAF의 경우에는 전반적으로 소거 활성이 크지 않은 것으로 나타났다.

본 연구결과를 통하여 매실 분획물의 항산화 활성을 알아본 결과 PMAF가 가장 뛰어난 항산화 활성을 보유하고 있는 것으로 나타났으며 다음으로는 PMMF, PMHF, PMBF 및 PMAF 순서로 나타났다. Lee 등[25]은 hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol 분획물을 이용하여 soybean oil을 이용한 항산화 활성을 평가하였을 때 ethyl acetate 분획물이 가장 뛰어난 항산화 활성을 나타냈다고 보고하였으며, Yoon 등[42]은 국내 및 중국 매실의 methanol 추출물을 이용한 분획물의 항산화 활성에서 ethyl acetate 분획물 및 butanol 분획물의 항산화 활성이 우수하였다고 보고하였다. 또한 Mitani 등[29]은 매실은 neochlorogenic acid, chlorogenic acid, prunose 등의 항산화 활성을 지니는 페놀 성분을 다량 함유하고 있는 것으로 보고하였다. 이에 매실 추출물을 이용한 계통분획 과정에서 항산화 활성을 가지는 성분이 ethyl acetate 분획물에 다량 함유되어 있기에 항산화 활성을 나타낸 것으로 판단된다.

매실 분획물의 α-glucosidase 억제 활성

α-glucosidase 억제는 소장 내에 존재하는 당류의 가수분해 억제를 통해 식후 급격한 혈당 상승을 억제하게 되므로 당뇨 연구에 있어 기초 연구로서 활용되는 실험이다[22]. Evans 등[8]은 산화적 스트레스가 β-cell의 기능장애를 일으켜 인슐린의 분비 장애와 관련이 있다고 보고하였기에 본 실험을 통하여 우수한 항산화 활성을 지닌 매실 분획물의 항당뇨 효능을 알아보려 하였다. 매실 분획물을 이용한 α-glucosidase 억제 활성을 알아본 결과는 Fig. 6과 같다. 양성 대조구인 0.1% acarbose는 73.58%의 억제 활성을 나타내었고, PMMF와 PMEF는 농도가 높아짐에 따라 활성이 증가하는 경향을 보이며 500

µg/ml의 농도에서 각각 72.29% 및 69.15%의 억제 활성을 나타내어 매우 높은 당 분해효소 억제 활성을 가짐을 알 수 있었다. Shin 등[37]은 고지방식이의 섭취를 통한 당뇨 유발 흰쥐를 이용한 연구에서 매실 추출물의 섭취에 따라 당뇨 증상이 개선된다고 보고하였다. 이는 본 결과에서의 α-glucosidase 억제 활성과 연관이 있는 것으로 생각되었다.

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

페놀 성분, 비타민 및 카로티노이드를 포함하는 천연 항산화제는 알러지, 동맥경화, 염증 등의 질병 관련 산화적 스트레스를 예방하는데 효과적인 물질로서 작용한다[39]. 매실 분획물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정 결과는 Table 1과 같다. 총 폴리페놀 함량은 PMAF와 PMMF가 88.28 mg/g 및 70.38 mg/g으로 높은 함량을 나타내었다. 다음으로 PMBF와 PMHF에서 각각 13.24 mg/g 및 6.69 mg/g으로 나타났으며, PMAF의 경우 1.64 mg/g으로 함량이 매우 낮은 것으로 나타났다. 매실 분획물의 총 플라보노이드 함량은 위의 총 폴리페놀 함량 결과와 유사한 경향으로 PMAF와 PMMF가 31.37 mg/g 및 31.51 mg/g으로 높게 나타났으며 다음으로 PMHF (14.42 mg/g), PMBF (9.85 mg/g) 및 PMAF (1.63 mg/g)의 순서로 나타났다. Shin 등[38](2010)은 흑마늘 분획물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 보고한 연구에서 chloroform 분획물이 가장 함량이 높았으며 그 다음으로 ethyl acetate 분획물의 함량이 높다고 보고하였으며, 또한 레드 비트 뿌리를 이용한 분획물에서는 ethyl acetate 분획물의 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타난 연구가 보고된 바 있다[21]. 본 연구 결과와는 다소 상이한 결과이지만 이는 원료인 매실이 함유한 성분의 극성 및 함량에 따른 결과로 보인다. 이상의 결과로 PMAF의 뛰어난 항산화 및 α-glucosidase 활성 저해 효과는 다량으로 함유된 페놀 및 플라보노이드 복합물에 의하

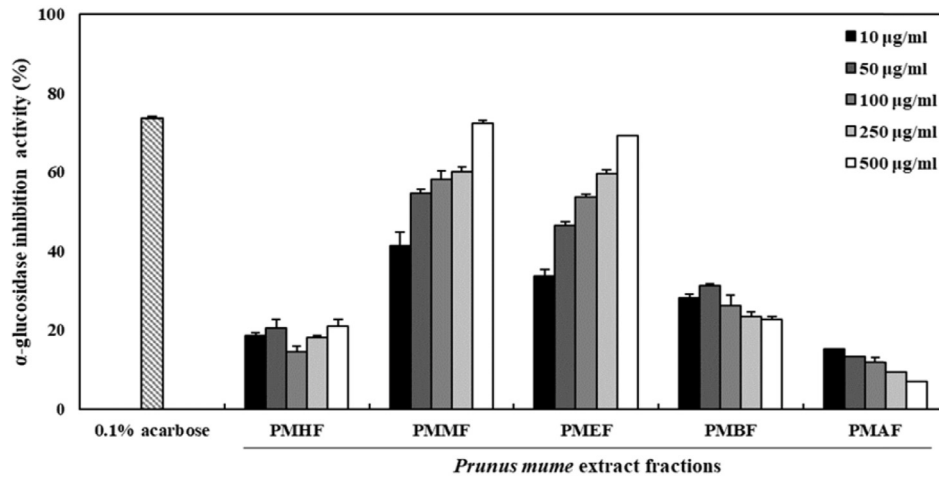


Fig. 6. α-Glucosidase inhibition activity of *Prunus mume* extract fractions. PMHF: *Prunus mume* hexane fraction, PMMF: *Prunus mume* methanol fraction, PMEF: *Prunus mume* ethyl acetate fraction, PMBF: *Prunus mume* butanol fraction, PMAF: *Prunus mume* aqueous fraction. Data values are expressed as mean as SD (n=3).

Table 1. Total polyphenol and total flavonoid contents of *Prunus mume* fractions extracted with ethanol

Samples	Contents (mg/g)	
	Total polyphenol contents (GAE ¹⁾)	Total flavonoid contents (QE ²⁾)
PMHF ³⁾	6.69±0.55	14.42±1.79
PMMF ⁴⁾	70.38±5.68	31.51±4.59
PMEF ⁵⁾	88.28±7.42	31.37±7.71
PMBF ⁶⁾	13.24±1.44	9.85±0.66
PMAF ⁷⁾	1.64±0.14	1.63±0.13

¹⁾GAE: gallic acid equivalent.

²⁾QE: Quercetin equivalent.

³⁾PMHF: *Prunus mume* hexane fraction.

⁴⁾PMMF: *Prunus mume* methanol fraction.

⁵⁾PMEF: *Prunus mume* ethyl acetate fraction.

⁶⁾PMBF: *Prunus mume* butanol fraction.

⁷⁾PMAF: *Prunus mume* aqueous fraction.

Data values are expressed as mean as SD (n=3).

여 일어난 것으로 사료되며, 기능성 식품 및 천연 항산화제로서 활용가치가 가장 높은 분획물은 PMAF인 것으로 판단된다.

감사의 글

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 농생명기술개발사업의 지원을 받아 연구되었기에 이에 감사드립니다(316009-5).

References

1. Abdel-Hameed, E. S. S. 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus*

species leaf samples. *Food Chem.* **114**, 1271-1277.
 2. Azuma, K., Nakayama, M., Koshioka, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H. and Higashio, H. 1999. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3963-3966.
 3. Baek, J. H. and Choi, J. I. 2010. Analysis of consumer behavior toward and preferences for *Prunus mume* (Maesil), the Chinese plum. *Kor. J. Food Preserv.* **17**, 571-580.
 4. Biglari, F., AlKarkhi, A. F. F. and Easa, A. M. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of carious date plum (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem.* **107**, 1636-1641.
 5. Blois, M. S. 1958. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
 6. Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**, 59-63.
 7. Choi, E. Y., Jang, Y. A. and Lee, J. T. 2015. Anti-oxidant, astringent, and anti-aging effects from fractions of black chokeberries cultivated in Korea. *J. Invest. Cosmetol.* **11**, 115-122.
 8. Evans, J. L., Goldfine, I. D., Maddux, B. A. and Grodsky, G. M. 2002. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr. Rev.* **23**, 599-622.
 9. Gao, X., Bjork, L., Trajkovski, V. and Uggla, M. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *J. Sci. Food Agric.* **80**, 2021-2027.
 10. George, V. C., Kumar, D. R. N., Suresh, P. K., Kumar, S. and Kumar, R. A. 2013. Comparative studies to evaluate relative *in vitro* Potency of luteolin in inducing cell cycle arrest and apoptosis in HaCaT and A375 cells. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* **14**, 631-637.
 11. Hwang, C. R., Shin, J. H., Kang, M. J., Lee, S. J. and Sung, N. J. 2012. Antioxidant and antiobesity activity of solvent fractions from red garlic. *J. Life Sci.* **22**, 950-957.

12. Hwang, J. Y., Ham, J. W. and Nam, S. H. 2004. The antioxidant activity of maesil (*Prunus mume*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **36**, 461-464.
13. Hwang, S. W., Cha, J. Y., Lee, H. Y., Kim, B. R., Park, M., Lee, B. R., Moon, K. H., Lee, J. H., Kim, D. G., Kim, W., Jeong, K. O. and Lee, Y. M. 2017. Antioxidant activity and inhibition activity against α -glucosidase and PTP1B of *Chrysanthemum indicum* L. extract and fractions. *J. East Asian Soc. Diet Life.* **27**, 235-242.
14. Ito, N., Fukushima, S., Hagiwara, A., Shibata, M. and Ogiso, T. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.* **70**, 343-352.
15. Ji, Y. J. and Im, M. H. 2017. Optimization of blue berry extraction for beverage production using enzyme treatment. *Kor. J. Food Preserv.* **24**, 60-67.
16. Kang, K. M. and Lee, S. H. 2013. Effects of extraction methods on the antioxidative activity of *Artemisia* sp. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 1249-1254.
17. Kang, M. J., Kim, K. S. and Shin, S. R. 2002. Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from Dandelion (*Taraxacum officinale*). *Kor. J. Food Preserv.* **9**, 253-259.
18. Kang, S. K., Kang, S. H. and Kim, Y. D. 1999. Studies on the acetic acid fermentation using Maesil juice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 695-700.
19. Kim, D. H. 2010. Food chemistry, pp. 251-266, Tamgudang, Seoul, Korea
20. Kim, I. H., Kim, J. B., Cho, K. J., Kim, J. H. and Om, A. S. 2012. Cytoprotective effect of ethanol extract from Maesil (*Prunus mume* Sieb. Et Zucc.) on alloxan-induced oxidative damage in pancreatic-cell, HIT-T15. *Kor. J. Plant Res.* **25**, 184-192.
21. Kim, I. Y., Lee, J. Y. and Jeong, Y. H. 2018. Antioxidant activities of *Rumex crispis* L. root extracts and fractions. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **47**, 1234-1241.
22. Kim, K. Y., Nam, K. A., Kurihara, H. and Kim, S. M. 2008. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry* **69**, 2820-2825.
23. Kim, M. S. and Sohn, H. Y. 2016. Anti-oxidant, anti-coagulation, and anti-platelet aggregation activities of black currant (*Ribes nigrum* L.). *J. Life Sci.* **26**, 1400-1408.
24. Lee, D. S., Kim, K. H. and Yook, H. S. 2018. Antioxidant effects of fractional extracts from strawberry (*Fragaria ananassa* var. Seolhyang) leaves. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **47**, 263-270.
25. Lee, J. H., Na, M. S. and Lee, M. Y. 2004. Effects of ethanol extract of *Prunus mume* on the antioxidative system and lipid peroxidation on ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver. *Kor. J. Food Preserv.* **11**, 71-78.
26. Lee, J. M., Chang, P. S. and Lee, J. H. 2007. Comparison of oxidative stability for the thermally-oxidized vegetable oils using a DPPH method. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **39**, 133-137.
27. Lee, K. B., Seo, Y. I. and Mo, S. W. 2011. How to activate the *Prunus mume* (maesil) industry in Gwangyang region. *J. Ind. Econ. Busi.* **24**, 2609-2623.
28. Lee, S. O., Kim, M. J., Kim, D. G. and Choi, H. J. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 139-147.
29. Mitani, T., Horinishi, A., Kishida, K., Kawabata, T., Yano, F., Mimura, H., Inaba, N., Yamanishi, H., Oe, T., Negoro, K., Mori, H., Miyake, Y., Hosoda, A., Tanaka, Y., Mori, M. and Ozaki, Y. 2013. Phenolics profile of mume, Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) fruit. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **77**, 1623-1627.
30. Müller, H. E. 1985. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganisms on an ABTS peroxidase medium. *Zbl. Bakt. Hyg.* **A259**, 151-154.
31. Paik, I. Y., Chang, W. R., Kwak, Y. S., Cho, S. Y. and Jin, H. E. 2010. The effect of *Prunus mume* supplementation on energy substrate levels and fatigue induction factors. *J. Life Sci.* **20**, 49-54.
32. Park, H. J., Kim, M. M. and Oh, Y. 2012. Effect of fruit extract of *Prunus mume* on the scavenging activity of reactive oxygen species and melanin production in B16F1 cells. *J. Life Sci.* **22**, 936-942.
33. Park, J. W., Park, M. S. and Lee, Y. S. 2015. The monitoring of supply and demand on *Prunus mume*. *Agricultural and Rural Economic Trends* **Spring**, 87-95.
34. Peluso, I. and Serafini, M. 2017. Antioxidants from black and green tea: from dietary modulation of oxidative stress to pharmacological mechanisms. *Br. J. Pharmacol.* **174**, 1195-1208.
35. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
36. Shen, I., Zhang, H., Cheng, L., Wang, L., Qian, H. and Qi, X. 2016. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland barley. *Food Chem.* **194**, 1003-1012.
37. Shin, E. J., Hur, H. J., Sung, M. J., Park, J. H., Yang, H. J., Kim, M. S., Kwon, D. Y. and Hwang, J. T. 2013. Ethanol extract of the *Prunus mume* fruits stimulates glucose uptake by regulating PPAR- γ in C2C12 myotubes and ameliorates glucose intolerance and fat accumulation in mice fed a high-fat diet. *Food Chem.* **141**, 4115-4121.
38. Shin, J. H., Lee, H. G., Kang, M. J., Lee, S. J. and Sung, N. J. 2010. Antioxidant activity of solvent fraction from black garlic. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 933-940.
39. Van, H. P. 2016. Phenolic compounds of cereals and their antioxidant capacity. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **56**, 25-35.
40. Yi, M. R., Kang, C. H. and Bu, H. J. 2017. Antioxidant and antiinflammatory activity of extracts from red beet (*Beta vulgaris*) root. *Kor. J. Food Preserv.* **24**, 413-420.
41. Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 4083-4089.
42. Yoon, J. H., Yang, D. C. and Song, W. S. 2005. Antioxidative activity of the extracts of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). *Kor. J. Plant Res.* **8**, 188-193.
43. Zou, B., Ge, Z., Zhu, W., Xu, Z. and Li, C. 2015. Persimmon

tannin represses 3T3-L1 preadipocyte differentiation via up-regulating expression of miR-27 and down-regulating expression of peroxisome proliferator-activated receptor- γ

in the early phase of adipogenesis. *Eur. J. Nutr.* **54**, 1333-1343.

초록 : 매실 순차분획물의 용매별 항산화 활성 및 α -glucosidase 억제 효과

김정호¹ · 조현동² · 원영선³ · 박울림³ · 민혜지³ · 한심희⁴ · 문광덕¹ · 서권일^{3*}

(¹경북대학교 식품공학부, ²동아대학교 산학협력단, ³동아대학교 생명공학과, ⁴국립산림과학원 산림생명자원부)

매실은 주로 동아시아에서 재배되는 매실나무의 과실로서 예로부터 한약재나 장아찌 및 청 등으로 가공하여 섭취해왔다. 그러나 매실을 이용한 기존 연구는 대부분 추출물 상태에서 진행하였기에 보다 광범위한 식품학적 이용을 위하여 세부적인 추가 연구가 필요한 실정이다. 본 연구는 이러한 매실을 이용하여 hexane, methanol, ethyl acetate, butanol 및 aqueous 분획물을 제조하고 각각의 생리활성을 평가하였다. 매실 분획물의 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, 환원력 및 H₂O₂ 소거활성을 통하여 확인하였고, 그 중 ethyl acetate 분획물(PMEF)은 양성 대조구와 유사하거나 다소 낮게 나타나 가장 뛰어난 항산화 활성을 보였다. 당 분해효소인 α -glucosidase 활성 억제 활성은 PMEF 및 methanol 분획물의 활성이 양성 대조구인 acarbose와 근접한 활성을 나타냈다. 매실 분획물의 총 폴리페놀 함량은 ethyl acetate 및 methanol 분획물이 각각 88.28 mg/g 및 70.38 mg/g으로 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 31.37 mg/g 및 31.51 mg/g으로 나타났다. 결과적으로 매실 분획물은 항산화 및 당 분해효소 활성 억제 효과가 있는 것으로 나타나 본 연구를 통해 얻은 결과는 매실의 기능성 식품 소재화 및 천연 항산화제 개발에 대한 기초 자료로서 활용될 수 있을 것으로 생각된다.