

단감 잎 추출물의 생리 활성

손지영^{1,2} · 안광환¹ · 김은경¹ · 최성태¹ · 이동욱² · 박혜원² · 이승철^{2,*}

¹경상남도농업기술원 단감연구소, ²경남대학교 바이오융합학부

Physiological activities of water extracts from sweet persimmon leaves

Ji-Young Son^{1,2}, Gwang-Hwan Ahn¹, Eun-Gyeong Kim¹, Seong-Tae Choi¹,
Dong-Uk Lee², Hye-Won Park², and Seung-Cheol Lee^{2,*}

¹Sweet Persimmon Research Institute, Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services

²School of Bioconvergence, Kyungnam University

Abstract This study was conducted to evaluate several physiological activities of 4 sweet persimmon cultivar leaf water extracts. One new cultivar ('Hongchu' (HC)) and three traditional cultivars ('Sangseojosaeng' (UW), Japanese Uenishiwase; 'Seochonjosaeng' (NW), Japanese Nishimurawase; and 'Buyu' (FY), Japanese Fuyu) were used in this study. The HC extract showed significantly higher DPPH and ABTS radical scavenging activities, tyrosinase inhibitory activity, and acetaldehyde dehydrogenase activity than the other extracts, while the FY extract exhibited a relatively higher alcohol dehydrogenase activity. The HC extract contained higher amount of phenolics and ascorbic acid. These results suggest the possibility of high-quality persimmon leaf tea development using the new sweet persimmon cultivar, HC.

Keywords: persimmon, Hongchu cultivar, antioxidant, alcohol dehydrogenase

서 론

감(*Diospyros kaki* Thunb.)은 한국, 중국, 일본 등에서 주로 재배되고 있으며, 미국, 스페인 등 서양 여러 나라에서도 재배, 생산, 판매되고 있다. 감은 짙은맛 유무에 따라 일반적으로 짙은감과 단감으로 구분되는데, 탈삼 형태에 따라 완전 짙은감, 불완전 짙은감, 완전 단감, 불완전 단감으로 구분되어진다(Yamada, 1993). 우리나라 단감 재배는 중부이남 지역인 경남과 전남지역에서 주로 재배되고 있다. 재배되고 있는 단감 품종의 구성은 만생종인 부유(68.3%)와 차랑(16.6%)이 대부분을 차지하고 있으며, 조생종인 서촌조생(3.9%)과 기타(11.2%)로 구성되어 있다(Korean Statistical Information Service, 2020). 최근 조중생종인 태추, 상서조생 등의 재배면적이 조금씩 늘고 있지만, 만생종 품종의 편중 재배 현상이 심한 편이다(RDA, 2013). 편중 재배에 따른 홍수 출하, 가격 하락 등 많은 문제점을 가지고 있으며, 농가에서의 조중생 단감 신품종의 요구는 매우 높다. 조중생종 단감 품종 육성을 목적으로 개발된 신품종 홍추는 숙기가 10월 상순경인 완전 단감 품종이다.

감에는 포도당, 과당 등의 당질과 비타민 C가 풍부하고 폴리페놀, 펙틴, 카로티노이드 등과 같은 기능성 성분을 많이 함유하고 있다(Lee 등, 2011). 약리작용으로 숙취 해소, 배탈, 기침, 고혈압, 기관지염 등에 효능이 있다고 알려져 있다(Im 등, 2012). 특히, 감나무의 잎은 감잎차의 재료로서 예로부터 민간에서 활용

되어 왔다(Park 등, 1995). 감잎에 대한 임상학적인 약리기작과 그 효능은 동의보감, 본초강목 등 여러 고문헌에서 잘 나타나 있다. 감잎에는 비타민 C 함량이 다른 차류에 비해 높으며 특히, 폴리페놀 성분을 다량으로 함유하고 있어 여러 가지 생리적 활성작용을 갖고 있다고 알려져 있다(Chung 등, 1994). 감잎차는 국산 전통차로서 성인병의 예방 및 스트레스 해소, 니코틴 해독 등 다양한 효능을 가지며, 돌연변이 억제, 암 예방 등의 효과가 있다(Kim, 2001; Song 등, 2000).

본 연구에서는 단감연구소에서 육성한 단감 신품종인 홍추의 이용성 증대를 위한 하나의 방법으로 단감 잎 추출물을 제조하고 실제 음용조건에서 단감 잎 추출물에 포함된 품종별 유효성분을 비교분석하여 건강차로서의 활용 가능성을 검토하기 위해 수행되었다. 비교 품종으로는 완전 단감으로 중생종인 상서조생과 만생종인 부유, 그리고 불완전 단감이면서 조생종인 서촌조생을 이용하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

본 실험에 사용된 4가지 품종인 홍추(Hongchu, HC), 상서조생(Japanese Uenishiwase, UW), 서촌조생(Japanese Nishimurawase, NW), 부유(Japanese Fuyu, FY)의 단감 잎은 2019년 경남 김해시 소재 경남농업기술원 단감연구소 시험포장에서 5월 20일에 채취한 것을 사용하였다. 본 연구의 단감 잎 추출물 제조를 위해 수확한 단감 잎은 일반적인 감잎차 제조공정에 따라 처리하였다. 단감 잎 세척 후 물기를 제거하고 상온에서 16시간 건조하고 면보자기에 싸서 5분간 비빈 후 160°C 팬에서 5분간 1차 뒤움 처리하였다. 완전히 식힌 후 1분간 유념 처리하고 160°C 팬에서 3분간 2차 뒤움 처리 후 완전히 식혔다. 그 후 60°C 팬에서 30분

*Corresponding author: Seung-Cheol Lee, School of Bioconvergence, Kyungnam University, Changwon, Gyeongnam 51767, Korea
Tel: +82-55-249-2684
Fax: +82-505-999-2171

E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr

Received June 14, 2020; revised July 9, 2020;

accepted July 23, 2020

간 수분제거작업을 실시하고 160°C에서 5분간 3차 뒤움 처리작업으로 감잎차를 완성하였다. 완성된 감잎차는 -70°C deep freezer에 보관하면서 시료 제조에 사용하였다. 분석에 사용된 2,2-azilnobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS), alcohol dehydrogenase (ADH), 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNP), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Folin-Ciocalteu 시약, NAD⁺, tyrosinase, L-tyrosine 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 그 이외의 다른 시약들은 분석용 특급을 사용하였다.

시료 조제

단감 잎 추출은 Kim 등(2013)의 감잎차 제조 방법에 따라 위에서 서술한 바와 같이 처리한 단감 잎 1.5 g을 약 90°C의 증류수 100 mL에 3분 동안 침출한 후, 침출액을 Whatman paper No. 1 (GE Healthcare UK Ltd., Buckinghamshire, UK)에 여과하고 4°C에서 냉장 보관하여 실험용 시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀의 함량 측정은 Gutfinger (1981)의 방법을 따랐다. 10배 희석한 각 시료의 추출물 1 mL에 2% Na₂CO₃ 수용액 1 mL을 첨가해 균질화하고 실온에 3분간 방치하였다. 그 뒤 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL을 첨가하고 균질화한 후 20분간 암반응시켰다. 이 후 12,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 추출하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준농도 곡선은 gallic acid (GA)를 이용하여 작성하였다. 총 폴리페놀 분석은 3회 반복으로 이루어졌으며, 그 평균값을 그래프로 표시하고 오차 범위를 나타내었다.

비타민 C 함량

비타민 C 함량 측정은 hydrazine 비색법(Puohan and Gerjovich, 1946)을 따랐다. 단감 잎 추출물을 20배 희석한 후 3개의 시험관(총 비타민 C, 산화형 비타민 C, 대조구)에 시료 1 mL을 넣고 총 비타민 C 측정용 시험관에 0.2% indophenol 용액을 두 방울 가하여 붉은색 반응을 확인했다. 그 뒤 thiourea 1 mL을 첨가하고 대조구를 제외한 시험관에 DNP 용액을 0.5 mL 넣어 37°C 항온수조에서 3시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 시험관을 찬물에 냉각시키면서 85% 황산용액 2.5 mL을 첨가하고, 대조구에는 0.5 mL의 DNP 용액을 첨가했다. 시험관들은 실온에서 30분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정했다. 단감 잎 100 g당 비타민 C의 함량(mg)은 감잎차 추출물의 비타민 C 함량을 희석배수와 검량선을 참조하여 계산한 후 아래의 식으로 계산하여 나타내었다. 비타민 C 함량 분석은 3회 반복으로 이루어졌으며, 그 평균값을 그래프로 표시하고 오차범위를 나타내었다.

비타민C 함량(mg/100 g)

$$= \text{비타민C 량} \times \left(\frac{\text{조제시료 용액량}}{2} \right) \times \left(\frac{100}{\text{시료채취량}} \right) \quad (1)$$

DPPH 라디칼 소거능

단감 잎 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등(2004)의 방법을 따랐다. 10배 희석한 단감 잎 추출물 0.1 mL을 0.041 mM DPPH 0.9 mL에 섞고 상온에서 30분간 반응시켰다. 분광광도계(UV-1601; Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 소거능은 아래의 식으로 계산하여 백분율로 나타내었다. 총 3회 반복으로 이루어졌으며, 그 평균값을 그래프로 표시하고 오차 범위를 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능(%)

$$= \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}} \right) \times 100 \quad (2)$$

ABTS 라디칼 소거능

단감 잎 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 Muller (1985)의 방법을 따랐다. 60배 희석한 단감 잎 추출물 0.1 mL에 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 5.0) 0.1 mL, 10 mM hydrogen peroxide 용액 20 μL을 넣어 섞고 37°C에서 5분간 반응시켰다. 반응 후 0.05 M potassium-citrate buffer (pH 5.0)에 녹인 1.25 mM ABTS 용액 30 μL, peroxidase (5 unit/mL) 용액 30 μL를 반응액에 첨가하고 37°C에서 10분간 반응시켰다. Multiplate reader (Sunrise RC/TS/TS Color-TC/TW/BC/6Filter; Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria)를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능은 식 (3)을 이용하여 계산하고 백분율로 나타내었다. 총 3회 반복으로 이루어졌으며, 평균값을 그래프로 표시하고 오차 범위를 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거능(%)

$$= \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}} \right) \times 100 \quad (3)$$

ADH 활성

단감 잎 추출물의 ADH 활성 측정은 Bergmeyer (1974)의 방법을 변형하여 측정하였다. NADH의 생성량은 분광광도계를 이용해 340 nm에서 흡광도 측정으로 대조구에 대한 상대적 활성을 비교하였다. 반응액은 증류수 0.7 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer (pH 8.8) 0.38 mL, 20 mM NAD⁺ 용액 0.15 mL, 0.2 M ethanol 0.15 용액 mL, 시료 50 μL를 첨가한 후, 25°C 항온수조에서 10분간 방치시켰다. 그 후 ADH (0.25 unit/mL) 용액 27.5 μL를 넣어 반응용액을 만들고 25°C에서 10분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 상대 활성(%)을 나타내기 위한 음성 대조구는 시료 대신 증류수를 첨가했고, 양성 대조구로는 Hepos를 사용했다. ADH 활성도는 반응이 종료될 때의 최대 흡광도를 대조구에서의 최대 흡광도에 대한 비율로 나타냈으며, 반응식은 다음과 같다.

$$\text{ADH 활성(}\%) = \frac{\text{실험구의 최대흡광도}}{\text{대조구의 최대흡광도}} \times 100 \quad (4)$$

Tyrosinase 저해능

Tyrosinase 저해능은 Vanni 등(1990)의 방법에 따라 측정하였다. 50 mM sodium phosphate buffer (0.05M, pH 6.8) 140 μL에 단감 잎 추출물 100 μL, 1.5 KU/mL tyrosinase 용액 20 μL를 혼합 후 기질인 1.5 mM L-tyrosine 용액 40 μL를 넣고 혼합하였다. 혼합액은 37°C에서 15분간 반응시키고 multiplate reader (Sunrise RC/TS/TS Color TC/TW/BC/6Filter; Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria)를 사용하여 492 nm에서 측정하였다. 양성대조구로는 arbutin을, 음성대조구는 시료 대신 증류수를 이용하였으며, tyrosinase 저해능은 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase 저해능(}\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{대조구의 최대흡광도}} \right) \times 100 \quad (5)$$

통계처리

본 연구에서 진행된 모든 분석은 시료 당 3회 반복으로 진행되었으며, IBM SPSS Statistics 23.0 (Armonk, NY, USA) 프로그램을 사용하여 통계 처리하였다. 각 실험 결과의 평균값과 표준편차를 산출한 뒤 일변량 및 상관관계를 분석하였으며, 통계적 유의성은 95% ($p < 0.05$) 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

단감 잎 추출물의 총 폴리페놀 함량과 비타민 C 함량

폴리페놀 화합물은 주로 식물에 분포되어 있는 2차 대사산물로 phenolic hydroxyl기가 효소의 단백질과 같은 거대한 분자와 결합하는 특성이 있어 함량이 높을수록 항암 및 항산화 작용, 항돌연변이 등의 생리적 활성능력이 증가된다(Jeong 등, 2007; Lee 등, 1992). 4가지 품종의 단감 잎 추출물에 대한 총 폴리페놀 함량의 분석은 10배 희석한 시료로 측정하였으며, 이에 대한 결과를 Fig. 1(A)에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 ‘홍추’(HC)(41.95 µg GAE/mL), ‘서촌조생’(NW)(38.28 µg GAE/mL), ‘부유’(FY)(36.14 µg GAE/mL), ‘상서조생’(UW)(23.19 µg GAE/mL) 순으로 나타났다.

비타민 C는 과채류에 많이 함유되어 있으며, 환원력이 강하므로 강력한 산화방지 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Davey 등, 2007). Fig. 1(B)에서와 같이 각 추출물에서 측정된 결과를 바탕으로 얻은 단감 잎의 비타민 C의 함량은 HC, UW, NW, FY가 각각 1,456.92, 241.5, 692.74, 391.16 mg%으로 신품종 HC 추출물에서 가장 높게 나타났다.

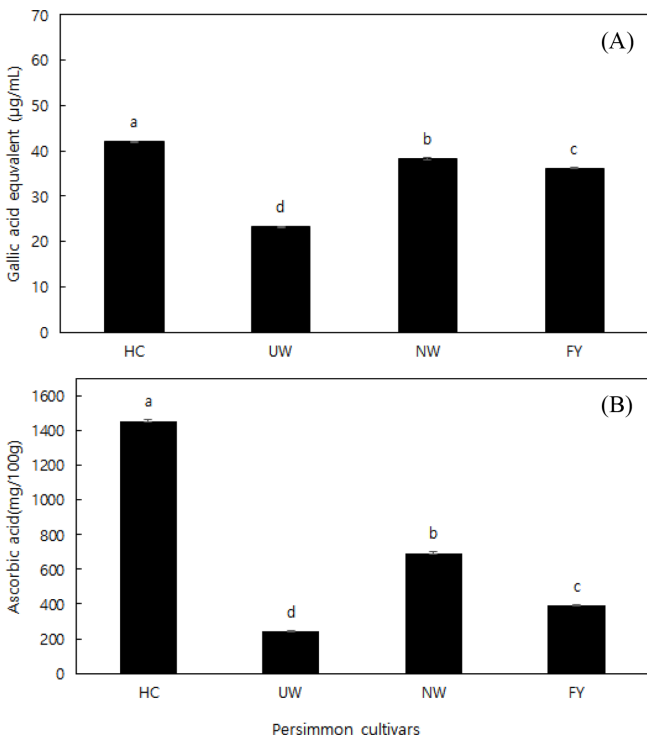


Fig. 1. (A) Total phenolic and (B) ascorbic acid contents of water extract of sweet persimmon leaves. *Each value is mean±SD. Values with different letters on the bars in each figure are significantly different by Duncan’s multiple range test at $p < 0.05$. HC, Hongchoo; UW, Uenishiwase; NW, Nishimurawase; and FY, Fuyu.

한편, Kim 등(2012a)은 처리 조건에 따라 다르지만 청도반시 어린 감잎으로부터 제조한 감잎차 찻물의 폴리페놀 함량이 189/16-311.58 µg/g이며, 비타민 C 함량은 감잎의 220.3-252.5 mg%라고 보고하였다. Hossain (2017)은 건조 방법에 따라 차이가 있지만 5월에 수확한 상주동시, 상감동시, 감주백목, 청도반시, 수홍의 감잎을 열풍건조하였을 때 비타민 C 함량은 8.87-14.87 mg/g이라고 보고하였으며, Roh 등(2000)은 감잎의 비타민 C 함량이 3.37-4.95 mg/g이라고 보고하였다.

홍추(HC)는 경상남도농업기술원 단감연구소에서 육성된 완전 단감 품종으로 2006년 ‘태추’ 품종을 모본으로 ‘금수’ 품종을 부본으로 교배하여 육성되었다. 수확기는 10월 10일로 중생종이며 평균 과중 210 g, 당도 15.7°Bx, 경도 19.3 N (5 mmø)이다. 홍추는 2014년 1차 선발 후 2015년에서 2017년까지 농림축산식품부 국립종자원의 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령에 준하여 수채 생육과 과실 특성을 조사하였고, 연차간 변이가 적고 과실품질이 우수하여 최종 선발되었다. 품종명을 ‘홍추(Hongchoo)’로 명명하여 2018년 10월에 품종보호출원(출원번호: 2018-544)하였다.

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

단감 잎 추출물의 항산화력 측정을 위하여 DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정하였다. 10배 희석한 단감 잎 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 및 60배 희석한 단감 잎 추출물의 ABTS의 라디칼 소거능을 측정하여 품종별 항산화 활성을 비교

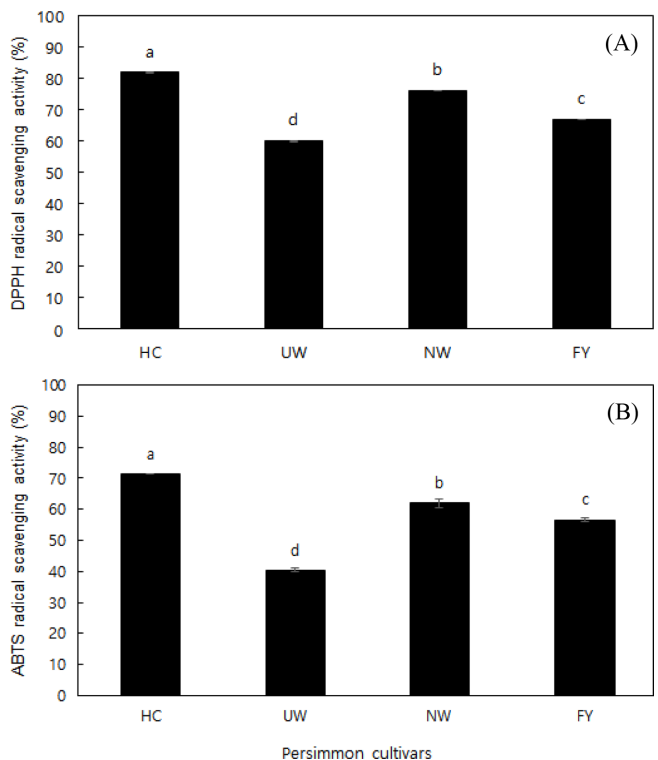


Fig. 2. (A) DPPH and (B) ABTS radical scavenging activities of water extract of sweet persimmon leaves. *Each value is mean±SD. Values with different letters on the bars in each figure are significantly different by Duncan’s multiple range test at $p < 0.05$. HC, Hongchoo; UW, Uenishiwase; NW, Nishimurawase; and FY, Fuyu. Vitamin C, a positive control, showed 15.0% and 51.5% of DPPH and ABTS radical scavenging activity, respectively, at 10 µg/mL concentration.

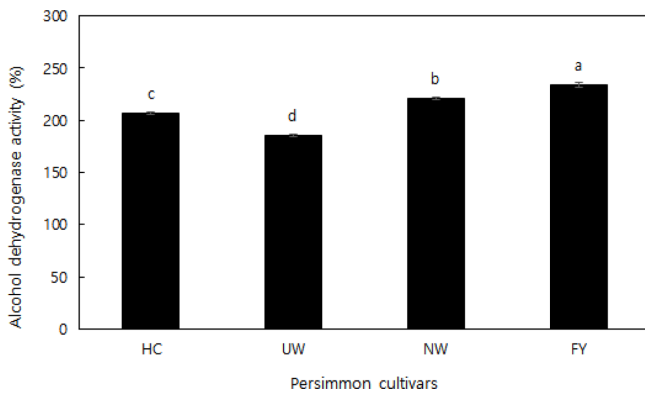


Fig. 3. Effect of water extract of sweet persimmon leaves on alcohol dehydrogenase activity. *Each value is mean±SD. Values with different letters on the bars in each figure are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. HC, Hongchoo; UW, Uenishiwase; NW, Nishimurawase; and FY, Fuyu. Hepos, a positive control, showed 315.79±2.82% ADH activity.

하였다. 그 결과 Fig. 2(A)와 (B)에서와 같이 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능력 모두 HC의 잎 추출물에서 가장 높다는 것을 알 수 있었다. HC 다음으로 NW, FY, UW의 순으로 나타났다. 이 결과로 HC 잎 추출물의 free radical 소거능력이 다른 단감 품종의 잎 추출물에 비해 뛰어남을 알 수 있다. 양성 대조구인 비타민 C는 10 µg/mL 농도에서 각각 15.0%와 51.5%의 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능을 보였다.

DPPH와 ABTS의 라디칼 소거능은 페놀성 화합물의 함량이 많을수록 높게 나타난다고 알려져 있으며, DPPH 및 ABTS는 모두 free radical 물질로서 라디칼 소거능은 유의적 상관관계를 가지는 것으로 알려져 있다(Rice-Evans 등, 1997; Kim 등, 2012b). 비타민 C는 강력한 항산화력을 보이므로, 이들 성분이 많이 함유된 HC가 다른 품종보다 우수한 항산화력을 나타내었다. 한편, DPPH 라디칼은 안정하며 전하를 띠지 않으며, ABTS 라디칼은 양전하를 띠고 있다. 이러한 차이로 인해 일반적으로 DPPH 라디칼은 주로 소수성의 항산화능을 측정하며, ABTS 라디칼은 친수성과 소수성의 항산화능을 같이 측정하는데 이용된다(Floegel 등, 2011).

알코올 대사 관련 효소의 활성에 미치는 영향

알코올 분해대사는 체내에 에탄올이 흡수되었을 때 먼저 알코올 탈수소효소인 alcohol dehydrogenase (ADH)가 작용하여 에탄올을 산화시키는 반응으로 시작된다. 단감 잎 추출물이 에탄올 대사의 주요 효소인 ADH의 활성에 미치는 영향을 확인하였으며, 이에 대한 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

추출물을 첨가하지 않은 음성대조구의 효소 활성을 100%라고 하였을 때, 단감 잎 추출물을 첨가할 경우 Fig. 3에 보이는 바와 같이 음성 대조구에 비해 전체적으로 효소활성이 크게 증가하였음을 확인할 수 있었다. 또한 UW를 제외한 나머지 품종의 잎 추출물은 모두 200% 이상의 ADH 활성을 보였다. 이러한 알코올 대사 관련 효소 연구에서는 양성 대조구로 간장 치료제인 Hepos가 주로 사용되는데 이를 본 연구에서 단감 잎 추출물의 결과와 비교하였다. Hepos 원액은 315.79±2.82%, 2배 희석한 경우 224.44±1.49%, 그리고 3배 희석한 경우에는 178.20±7.37%의 활성을 나타내었다. 이와 비교해본다면 본 연구에서 사용된 단감 잎 추출물 품종 모두 Hepos를 2배 희석한 용액과 유사한 수준을 나타낸다는 것을 알 수 있었으며, 특히 우리나라에서 가장 많이

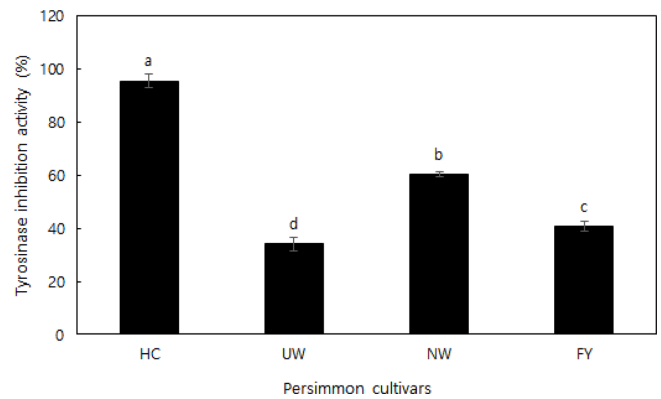


Fig. 4. Tyrosinase inhibitory effect of water extract of sweet persimmon leaves. *Each value is mean±SD. Values with different letters on the bars are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. HC, Hongchoo; UW, Uenishiwase; NW, Nishimurawase; and FY, Fuyu. Arbutin, a positive control, showed 56.0% of tyrosinase inhibition activity at 1 mg/mL concentration.

재배되는 단감 품종인 부유(FY)의 경우 233.59±1.01%로 Hepos 2배 희석 용액보다 더 높은 활성을 나타내었다.

Choung(2003)는 감잎 추출물 25 ppm과 100 ppm 농도에서 각각 95.37%와 107.96%의 ADH 활성을 보인다고 보고하였다. 또한 Kim 등(2001)은 단감을 부위 별로 나누어 물로 추출하여 ADH 활성에 미치는 영향을 조사한 결과 과육이 껍질보다 높았다고 보고하였는데, 이들의 연구에서는 잎 부위는 이용하지 않아 본 연구와 비교하기 어려웠다. 한편, 쥐를 이용한 동물실험에서 감잎의 메탄올 추출물은 알코올을 섭취시킨 쥐의 ADH 생산을 향상시켰다(Ma 등, 2007).

체내 주요 알코올 대사 효소인 ADH는 NAD⁺를 조효소로 이용한다. NAD⁺는 niacin으로부터 생합성되며, malate-aspartate (Asp) shuttle에 의해 NADH로부터 재생되어 알코올 대사 효소의 활성화를 촉진한다(Sugano 등, 1990). 감잎차 찻물에는 7.74-9.61 mg/kg의 Asp가 함유되어 있으며(Kim 등, 2012a), 감잎의 niacin 함량은 보고되지 않았으나 식품성분표에 의하면 단감에는 0.305 mg/100 g으로 보고되어 있어(National Institute of Agricultural Sciences, 2020) 단감 잎에도 어느 정도 niacin이 있을 것으로 유추된다. 단감 잎에 존재하는 niacin과 Asp가 알코올 대사 효소의 활성과 관련이 있을 것으로 생각된다.

Tyrosinase 저해능

Tyrosinase는 멜라닌의 합성에 관여하고 있는 효소로 L-tyrosine에서 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA), L-DOPA quinone를 거쳐서 최종적으로 멜라닌을 만드는 효소이다. 피부가 외부환경 중 특히 자외선에 장시간 노출되었을 때 이 효소의 활성이 촉진되면서 melanosome에서 melanin이 형성되면서 피부에 암갈색의 색소가 침착되기 시작하고 피부노화가 촉진된다. 그러므로 화장품이나 의약품 등의 연구 분야에서는 tyrosinase 효소의 활성을 저해시킬 수 있는 물질에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다(Kim 등, 2012c). Tyrosinase 저해 정도는 폴리페놀 화합물의 종류나 구조와 상관관계가 있다고 알려져 있는데(Kim 등, 1997), 폴리페놀 중 catechin류는 tyrosinase의 활성 저해에 큰 영향을 미치지 않지만, galocatechin류나 epicatechin류는 tyrosinase 저해능에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Ahn 등, 1998). 본 실험에서는 멜라닌 색소 생성에 관여하고 있는 tyrosinase의 활성을 품종별 단

Table 1. Correlation analysis in TPC, Vit. C, DPPH RSA, ABTS RSA, ADH, ALDH, and TIA (tyrosinase inhibition activity)

	TPC	Vit.C	DPPH	ABTS	ADH	Tyrosinase
TPC	1	0.777**	0.915**	0.980**	0.648*	0.787**
Vit. C		1	0.922**	0.882**	0.044	0.996**
DPPH			1	0.965**	0.314	0.940**
ABTS				1	0.494	0.891**
ADH					1	0.052
Tyrosinase						1

**Correlation is significant at the level of $p < 0.01$.

*Correlation is significant at the level of $p < 0.05$.

감 잎 추출액을 활용하여 저해효과를 비교해 보았다. Fig. 4의 결과를 보면 HC 품종의 저해능이 95%로 다른 세 품종에 비해 월등하게 높은 저해 능력을 가지고 있음을 보여준다. 이러한 사실은 신품종 HC 단감 잎 추출물에서 tyrosinase 효소 활성 억제력을 시키는 물질 즉, 미백효과 및 피부노화방지의 기능이 다른 비교 품종에 비해 많이 높다는 것을 의미한다. 양성 대조구인 arbutin은 1 mg/mL 농도에서 56.0%의 tyrosinase 저해능을 보였다. Ahn 등(2002)은 청도반시, 창녕부유, 상주등시의 감잎의 60% 아세톤 추출물이 0.8 mg/mL 농도에서 21.65% tyrosinase 저해능을 보였으며, 이는 flavan-3-ol 골격을 기본으로 하는 축합 탄닌에 의한다고 보고하였다.

상관관계

단감 잎 추출물로 분석한 총 페놀함량 및 비타민 C 함량, DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, 알코올 분해대사 효소활성, tyrosinase 저해능 간의 상관관계를 분석하여 Table 1에 나타내었다. 상관계수 분석한 결과 ADH를 제외한 모든 실험군에서 0.7 이상으로 높게 나타났으며, 특히 총 페놀 함량과 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 사이 상관계수가 매우 높은 수치로 나타났다(0.9 이상). 이는 단감 잎차가 가지는 페놀과 항산화 효과가 매우 밀접한 관계임을 시사한다. 또한 비타민 C는 대표적인 항산화 물질로서 라디칼 소거능 분석뿐만 아니라 tyrosinase 저해능 분석과도 약 0.996으로 매우 높은 수치를 보였다. 반면 ADH 활성에서는 각 실험군들과의 상관계수가 전체적으로 낮게 나타났다. 특히 비타민 C 함량과는 0.044로 극히 낮은 상관성을 보였다. 이를 보아 ADH 활성에 영향을 미치는 성분은 본 실험에서 분석하지 않은 다른 성분이 관여하는 것으로 추정된다.

요 약

단감연구소에서 출하 시기 조절을 위해 육성된 중생종 단감 신품종 홍추와 기존 재배품종 상서조생, 서촌조생, 부유 3품종의 잎 추출물을 제조하여 생리활성을 비교하였다. 그 결과, 홍추의 잎 추출물의 총페놀 함량, Vit. C 함량, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능, ADH 활성에 미치는 영향이 다른 추출물에 비하여 유의하게 높다는 결과를 얻을 수 있었다. ADH 활성도는 부유의 잎 추출물에서 다른 품종에 비해 비교적 높게 나타났다. 이상의 결과는 신품종 단감 홍추의 잎을 이용한 고품질 감잎차의 제조가 가능함을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01270602)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

Ahn BJ, Bae MJ, Choi C. Chemical structure and isolation of glucosyltransferase inhibitor from the Korean persimmon. *Food Sci. Biotechnol.* 7: 23-27 (1998)

Ahn Bj, Bae MJ, Choi HJ, Zang YB, Sung TS, Choi C. Isolation of polyphenol compounds from the leaves of Korean persimmon (*Diospyros kaki* L. Folium). *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45: 212-217 (2002)

Bergmeyer HU. Alcohol dehydrogenase. Vol 1, pp. 428-429. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU (ed). Academic Press, New York, NY (1974)

Choung SY. Establishment of Functionality Evaluation System for Hangover Settlement of Health Functional Food. *KFDA*, Seoul, Korea (2003)

Chung SH, Moon KD, Kim JK, Seong JH, Shon TH. Changes of chemical components in persimmon leaves during growth for processing persimmon leaves tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 141-146 (1994)

Davey MW, Auwerkerken A, Keulemans J. Relationship of apple vitamin C and antioxidant contents to harvest date and postharvest pathogen infection. *J. Sci. Food Agr.* 87: 802-813 (2007)

Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J. Food Compos. Anal.* 24: 1043-1048 (2011)

Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58: 966-968 (1981)

Hossain A. Effect of pretreatment on the quality characteristics and antioxidant properties of Korean major persimmon leaves. MS thesis, Kyungpook National University, Daegu, Korea (2017)

Im CY, Jeong ST, Choi HS, Choi JH, Yeo SH, Kang WW. Characteristics of *Gammakgeolli* added with processed forms of persimmon. *Korean J. Food Preserv.* 19: 159-166 (2012)

Jeong SM, Kim SY, Kim DR, Jo SC, Nam KC, Ahn DU, Lee SC. Effect of heat treatment on antioxidant activity of citrus peels. *J. Agr. Food Chem.* 52: 3389-3393 (2004)

Jeong HJ, Park SB, Kim S, Kim HK. Total polyphenol content and antioxidant activity of wild grape (*Vitis coignetiae*) extracts depending on ethanol concentrations. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 1491-1496 (2007)

Kim OK. Protective effects of extracts *Diospyros kaki* Folium against hepatotoxicity in carbon tetrachloride intoxicated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 97-101 (2001)

Kim JK, Cha WS, Park JH, Oh SL, Cho YJ, Chun SS, Choi C. Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 173-177 (1997)

Kim ID, Chae YG, Kim HR, Son JH, Kim BR, Shin DH. Quality characteristics of persimmon (*Diospyros kaki*, Thunb.) leaf tea solution prepared by processing method. *Kor. Food Serv. Ind. J.* 9: 7-14 (2013)

Kim ID, Kim HR, Noh YJ, Shin DH. Antioxidant activity, ascorbic acid and amino acid content of persimmon (*Diospyros kaki*, Thunb.) leaf tea solution. *Kor. Food Serv. Ind. J.* 8: 7-19 (2012a)

Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Tech-*

- nol. 44: 337-342 (2012b)
- Kim HY, Cho EK, Kang SH, Bae JM, Choi YJ. α -Glucosidase, tyrosinase, and elastase inhibitory effects of enzymatic extracts from *Ecklonia cava* and its alcohol metabolizing activity. *J. Life Sci.* 22: 751-759 (2012c)
- Kim SG, Lee YC, Suh KG, Choi HS. Acetaldehyde dehydrogenase activator from persimmon and its processed foods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 954-958 (2001)
- Korean Statistical Information Service. Census of Agriculture, Forestry and Fisheries. Available from: <http://kosis.kr> Accessed May 28, 2020.
- Lee YR, Chung HS, Seong JH, Moon KD. Quality characteristics of *tofu* with added astringent persimmon powder. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 329-333 (2011)
- Lee KD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood (*Artemisia montana* Pampan). *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 17-22 (1992)
- Ma J, Liu XY, Noh KH, Kim MJ, Song YS. Protective effects of persimmon leaf and fruit extracts against acute ethanol-induced hepatotoxicity. *Prev. Nutr. Food Sci.* 12: 202-208 (2007)
- Muller HE. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS-peroxidase medium. *ZBL Bakt. Mik. Hyg.* 259: 151-158 (1985)
- National Institute of Agricultural Sciences. Korean Food Table. Available from: <http://koreanfood.rda.go.kr> Accessed May 20, 2020.
- Park YJ, Kang MH, Kim JI, Park OJ. Change of vitamin C and superoxide dismutase (SOD)-like activity of persimmon leaf tea by processing method and extraction condition. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 281-285 (1995)
- Puohan M, Gerjovich. The use of 2,4-dinitrophenylhydrazine for the determination of ascorbic acid. *Science* 103: 202-203 (1946)
- RDA. Persimmon growing. pp. 37-42. In: Standard agricultural manual. Rural Development Administration. 6th ed. Suwon, Korea. (2013)
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2: 152-159 (1997)
- Roh YK, Park SH, Jang SH, Sung JJ. Analysis of components and leaves yield by cultivar for persimmon leaf tea. *Korean J. Post-harvest Sci. Technol.* 7: 99-102 (2000)
- Song HS, Lee HK, Kang MH. Antimutagenic effects of persimmon leaf tea extract (PLTE) in mice using micronucleus induction (MN) test. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 881-887 (2000)
- Sugano T, Handler JA, Yoshihara H, Kizaki Z, Thurman RG. Acute and chronic ethanol treatment in vivo increases malate-aspartate shuttle capacity in perfused rat liver. *J. Biol. Chem.* 265: 21549-21553 (1990)
- Vanni A, Gastaldi D, Giunata G. Kinetic investigation on the double enzymatic activity of the tyrosinase mushroom. *Ann. Chim.* 80: 35-60 (1990)
- Yamada M. Persimmon breeding in Japan. *J. Agr. Res. Quart.* 27: 33-37 (1993)