

쇠무릎과 청미래덩굴 부위별 추출물의 이화학적 특성에 관한 연구

정갑섭^{1*}

¹동명대학교 식품공학과

A Study on Physicochemical Properties of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Extracts

Kap-Seop Jeong^{1*}

¹Department of Food Science & Technology, Tongmyong University

요 약 야생생물자원의 기능성 탐색의 일환으로 쇠무릎과 청미래덩굴의 부위별 추출물에 대한 몇 가지 이화학적 특성을 비교·고찰하였다. 추출물은 증류수>메탄올>에탄올 순이었으며, 추출된 유리 아미노산은 총 16종으로서 쇠무릎은 proline이, 청미래덩굴은 phosphoserine과 glutamic acid의 함량이 가장 높았다. 갈변도와 방향족 화합물 함량은 청미래덩굴 잎은 메탄올 추출물이 가장 높고 에탄올, 증류수 순이었으나, 쇠무릎 잎의 경우 증류수 추출물의 흡광도가 가장 높고, 메탄올, 에탄올 순으로 나타났다. 청미래덩굴 잎과 뿌리의 전자공여능은 잎은 에탄올>메탄올>증류수, 뿌리는 메탄올>에탄올>증류수 순이었고 쇠무릎은 증류수>에탄올>메탄올 순이었다. 올리브유에 대한 산화억제 작용은 TBA가를 기준하여 합성 항산화제인 BHT에 비해 쇠무릎 잎은 82.1%, 청미래덩굴 잎은 84.0%의 값을 보였다. 쇠무릎 줄기의 메탄올 추출물은 *Bacillus subtilis*에 대해 항균력을 보였으며, 청미래덩굴 잎 추출물은 *Bacillus subtilis*, *Vibrio vulnificus* 및 *Salmonella enterica*에 대하여 항균력이 있었다. 그리고 중금속 이온의 흡착 및 회수실험 결과 동일한 금속농도에서 Cd(II)에 대한 청미래덩굴의 흡착률보다 Pb(II)에 대한 쇠무릎의 흡착률이 더 높았다.

Abstract Physicochemical properties of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* extracts were investigated for the purpose of functionality research on the natural bio-resources. Extraction contents were order of distilled water>methanol>ethanol solvent, the highest free aminoacids were proline from *Achyranthes japonica*, phosphoserine and glutamic acid from *Smilax china*, respectively. BI and TAC by spectrophotometric absorbance were order of methanol>ethanol>water in *Smilax china* leaf extract, but water>methanol>ethanol in *Achyranthes japonica* leaf extract. EDA was high in ethanol extract from *Smilax china* leaf and in methanol extract from *Smilax china* root, and in water extract from *Achyranthes japonica*. TBA value of *Achyranthes japonica* leaf and *Smilax china* leaf-ethanol extracts on olive oil was 82.1% and 84.0%, respectively, for that of an artificial antioxidant BHT. Antimicrobial effect was observed in *Achyranthes japonica* stem-methanol extract on *Bacillus subtilis*, in *Smilax china* leaf-ethanol extract on *Bacillus subtilis*, *Vibrio vulnificus* and *Salmonella enterica*, respectively. And the adsorption of Pb(II) on *Achyranthes japonica* was higher than that of Cd(II) on *Smilax china* under the same metal ion concentration.

Key Words : *Achyranthes japonica*, *Smilax china*, Total Aromatics Content, Electron Donating Ability, Antimicrobial Effect, Metal adsorption

1. 서론

생물자원으로 이용 가능한 천연물들은 그 종류와 분

포가 다양하며 각기 수많은 기능성을 가지고 있어 잠재적인 가치가 우수하므로 식용 혹은 약용소재로서의 활용성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있고[1,2], 국내 식품

*교신저자 : 정갑섭(ks0903@tu.ac.kr)

접수일 11년 04월 07일

수정일 11년 06월 28일

계재확정일 11년 07월 07일

산업에 있어 이들 자원의 이용은 민간 전통요법에서 비롯되었기 때문에 민간에서 전해오던 야생 생물자원을 산업화하기 위한 기초연구 및 제품화 연구가 활발하여 항염증, 항산화, 해독, 증강속 흡착작용 등 다양한 생리 기능성과 그 활성물질의 구명이 진행되고 있다[3~6].

식품이나 약용성 개발을 위하여 이미 기능성이나 활성이 충분히 규명된 식물 뿐 아니라 다양한 생태에서의 야생식물에 대하여도 그 성분과 작용에 대한 적극적인 탐색과 기초연구가 필요할 것이다. 특히 민간요법으로 은닉되어 오는 야생 동식물자원들의 기능성에 대한 다양하고도 체계적인 연구가 되어야 할 필요가 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 이러한 필요성에 따라 야생 식물자원의 식용 및 약용화를 위한 기초연구로서 쇠무릎과 청미래덩굴 추출물을 대상으로 그 이화학적 특성을 구명하고자 하였다.

우리나라 전국 각지의 산과 들, 낮은 지대, 길가 풀숲이나 논둑, 밭둑에서 자생하는 쇠무릎(*Achyranthes japonica*)은 비름과의 여러 해살이 풀로서, 네모지고 가지가 많이 갈라지는 원줄기의 마디가 특히 굵고 소의 무릎 뼈와 같은 형태를 이루고 있어 쇠무릎 또는 우슬이라고 불리며, 봄이나 여름에 연한 잎과 줄기를 삶아 나물로 먹는 식용 및 약용식물이다[7]. 쇠무릎의 효능은 뿌리를 류머티스 및 관절통의 울혈제거, 신경통, 정혈, 이뇨, 두통 등의 약으로 쓰고, 민간요법으로 난소의 분비 기능을 감퇴시키는 작용이 있어 유산에 부작용 없이 잘 듣는다고 하며, 쇠무릎의 잎과 뿌리를 잘 달여서 시럽 상태로 만들어 형겅에 적셔 바르면 유선염에 효과가 있는 것으로 알려지고 있다[8]. 쇠무릎의 기능활성을 발현하는 주요 성분으로는 saponin, caffeic acid, polysaccharides, rubrosterone 등이 보고되어 있다[9].

그리고 백합과의 덩굴식물인 청미래덩굴(*Smilax china*)은 명감나무, 망개나무, 매발톱가시라고도 불리며, 주로 산지의 숲 가장자리에서 자라고, 굵고 딱딱한 뿌리 줄기가 꾸불꾸불 옆으로 길게 뻗어가며, 줄기는 마디마다 굽으면서 갈고리 같은 가시가 있다[10]. 잎은 두껍고 윤기가 있으며, 붉은 색의 열매는 둥글고 명감 또는 망개라고 하여 식용하며, 어린 순은 나물로 식용할 뿐 아니라 성체의 잎은 떡을 싸서 불지 않게 하거나 여름철에도 독특한 향과 맛을 내며 쉬지 않게 하는 천연 보존제로 사용되고 있다[11,12]. 그리고 뿌리는 이뇨, 거풍 효능이 있으며, 특히 수은 중독에 대한 해독효능이 우수한 것으로 알려져 있으며, 관절염, 요통, 종기 등에 사용한다[8,10]. 그러나 이러한 다양한 생리 기능성과 활성에 비해 체계적인 연구는 아직 충분하지 못한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 야생하는 쇠무릎과 청미래덩굴

을 채취하여 부위별로 몇 가지 용매로 추출하고, 추출물의 성분과 갈변도, 방향족화합물 함량, 전자공여능, 항산화활성, 항균력 및 증강속 흡착성 등 이화학적 특성에 대하여 고찰하였다.

2. 실험

2.1 재료 및 추출

본 실험에 사용한 쇠무릎과 청미래 덩굴은 야산에서 자생하는 생체를 채취하여 잎, 줄기 및 뿌리로 분리하여 증류수로 수회 세척하고, 30일간 음건한 후 ball mill로 분쇄한 것을 20mesh 크기로 체질하여 사용하였다. 추출 방법은 분말시료에 중량비로 10배의 95% 에탄올과 메탄올 및 증류수를 용매로 하여 환류추출하고, 추출액을 원심분리기(Hanil MF-800)로 2,500rpm에서 10분간 원심분리하여 추출물을 얻고, 이 추출액을 -15℃에서 저장하며 실험의 원료로 사용하였다.

2.2 성분 함량분석

생체 건조물 분말의 일반성분 함량으로 수분은 AOAC 법[13]에 준하여 105℃에서 상압가열건조법, 조지방은 에틸에테르를 이용한 Soxhlet추출법, 조단백질은 micro-Kjeldahl법, 회분은 550℃에서 직접회화법으로 측정하였고[14], 탄수화물 함량은 전체 시료에서 상기의 측정 항목을 제외한 나머지 무게 %로 하였다. 유리 아미노산의 함량은 다음과 같이 측정하였다. 각 추출물 30mg을 취하여 6N HCl 10mL을 가하고 110℃에서 24시간 가수분해한 다음 glass filter를 이용하여 감압여과하였다. 여과액을 농축한 뒤 pH 2.2의 citrate phosphate 완충용액을 이용하여 10mL로 정용한 후 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기(S433 Sykam, Germany)를 이용하여 분석하였다. 그리고 추출물의 유리당 함량은 식품공전의 당류분석법[14]을 적용하여 분석하였다. 즉 fructose, glucose, sucrose, maltose 등 당류 표준품을 50g 아세토니트릴로 용해하여 각각 10mg/mL가 되도록 표준용액을 제조하고, 시료 검체 5g에 50g의 아세토니트릴을 가하여 homogenizer로 추출한 다음 10mL 메스플라스크에 정용하고, 이를 0.45µm membrane filter로 여과하여 시험용액을 조제하여 이를 HPLC로 분석하였다. 유리아미노산과 유리당 함량 분석조건은 다음 표 1과 같다.

[표 1] 추출물의 유리 아미노산과 유리당 분석조건

[Table 1] Analytical Condition for Free Aminoacid and Free Sugar of Extracts

항목	아미노산 분석조건	항목	유리당 분석조건
Model	Amino Acid Analyzer S433(Sykam)	Model	Agilet 1100 Series
Column	Separation column LCA K06 (Lithium High Resolution PEEK Column)	Column	Prevail Carbohydrate(5 μ m, 250mm)
Detector	UV 570nm, 440nm	Mobile phase	75% Acetonitril
Reagent Flow rate	0.25 mL/min	Flow rate	1.0 mL/min
Buffer Flow rate	0.45mL/min	Det.	RI
Reactor Temp.	120 $^{\circ}$ C		

2.3 기능성 분석

2.3.1 갈변도 및 방향족 화합물 함량 측정

생체 재료의 각 부위별 추출물을 대상으로 0~1.0 v/v% 농도의 수용액을 조제하고, vortex mixer로 30초간 교반한 다음 분광광도계(Jasco V-570)를 사용하여 파장 420nm에서 갈변도(brown intensity, BI)를, 파장 280nm에서 방향족 화합물 함량(total aromatics contents, TAC)을 각각 흡광도 측정으로 구하였다[5,15].

2.3.2 전자공여능 측정

각 추출물의 전자공여능(Electron Donating Ability, EDA)은 산화제인 DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)가 hydrazine 형태로 환원되는 정도를 측정하여 결정하였다. 즉 Kang 등의 방법[16]을 일부 변형하여 추출물 시료 2mL에 2 mL의 에탄올과 0.5mM DPPH 1mL를 가한 후 vortex mixer로 진탕하고, 암소에서 30분 정치후 분광광도계로 517nm에서의 흡광도 측정으로 구하였다. EDA는 시료 첨가구와 대조구의 흡광도를 사용하여 백분율로 나타내었다.

2.3.3 TBA가 측정

올리브유를 기질로 사용하여 일정량의 에탄올 추출물 시료를 첨가하여 기질용액을 조제하고, 실온에서 교반반응으로 산화시키면서 TBA(thiobarbituric acid)가 경시변화를 측정하여 추출물의 항산화 효과를 고찰하였다[5]. 일정시간 간격으로 혼합 시료액 2 g을 채취하여 벤젠 10 mL로 용해한 다음, 0.69 g의 TBA 수용액과 초산이 1:1로 혼합된 TBA시액 10 mL를 첨가하고, 이를 vortex mixer로 30초간 교반하였다. 다시 4분간 정치한 후 분액 깔대기로 분리하여 아래층 용액을 시험관에 받고, 이를 끓는 물 속에서 30분간 가열한 다음 흐르는 물 속에서 냉각하여 분광광도계로 파장 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 방법으로 시료없는 상태에서 공시험을 행하여 {(시료의 흡광도-공시험의 흡광도) \times 300}/시료량(g)의 식

으로부터 TBA가를 구하였다[15].

2.3.4 항균활성 측정

항균활성 측정은 paper disc법으로 행하였다[11]. 먼저 2% agar가 함유된 생육배지를 petri dish에 얇게 펴고, 그 위에 균주 20 μ l를 접종한 0.75% agar가 함유된 생육배지 2.5mL를 증충하여 표면을 건조시킨 후 사용하였다. 각각의 시료용액은 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 제공하였다. 제공된 시료용액은 멸균된 8mm paper disc에 50 μ l(2mg/disc)씩 흡수시킨 후 추출용매를 완전히 휘발시킨 다음 시험용 평판배지 위에 놓아 밀착시켰다. Paper disc를 밀착시킨 각각의 배지는 37 $^{\circ}$ C의 incubator에서 24~ 48 시간 배양하여 저해환의 직경을 측정하여 항균활성을 검토하였다. 이때 사용한 균주는 Salmonella enterica, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Vibrio vulnificus 등 5종을 사용하였다.

2.3.5 중금속 흡착성 측정

시료 분말의 중금속 흡착성을 다음과 같이 측정하였다[17]. pH와 농도를 조절한 중금속 이온 용액을 각각 100mL씩 삼각플라스크에 취하고, 여기에 시료 분말을 0.5~1g 주입한 다음 진탕기에서 약 200rpm의 속도로 진탕 흡착시켰다.

흡착 후 일정 시간 후 진탕을 중지하고, 0.45 μ m 막여과지를 사용하여 진공 흡인여과하였으며, 이 때 삼각플라스크의 내벽과 흡착제의 표면에 부착되어 있는 중금속 이온을 중류수로 수 회 세척하며 여과하였다. 각각의 이온이 들어있는 여액을 200mL로 정용한 다음 여액 중에 포함된 중금속의 양을 ICP-OES로 정량하였으며, 중금속의 흡착량은 시료 1g당 흡착량으로 환산하였다.

또한 흡착 후 여과지에 흡착된 중금속을 여과지 채로 0.5N 질산 용액 50mL와 함께 250mL삼각 플라스크에 넣고, 200rpm의 속도로 30분간 진탕하여 흡착된 중금속을 회수하였다. 즉 진탕된 용액을 여과지로 여과하고, 여액

[표 2] 쇠무릎과 청미래덩굴 추출물의 가용성 고형분 함량비교

[Table 2] Comparison of Soluble Solid Contents of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Extracts

Temp.	쇠무릎									청미래덩굴					
	Stem			Leaf			Root			Leaf			Root		
	Water	EtOH	MeOH	Water	EtOH	MeOH	Water	EtOH	MeOH	Water	EtOH	MeOH	Water	EtOH	MeOH
36℃	105.33	3.33	54.50	274.5	10.5	41.67	289.17	2.17	50.50	19.0	3.7	10.1	11.7	2.2	3.2
60℃	159.33	9.83	67.17	296.5	25.33	69.67	336.67	1.17	65.17	22.0	6.3	13.7	13.6	2.5	3.2

Unit : mg/g dry basis

중에 포함된 증금속의 양을 AA로 측정하였다. 이 때 Cd(II)와 Cu(II) 이온의 농도는 각각 228.8nm과 324.0 nm의 파장에서 각각 측정하였다.

높게 나타났다.

3. 결과 및 고찰

3.1 추출물 및 성분함량

각 조건에서 추출한 시료액 2mL를 시계접시에 취하여 105℃에서 증발건조하고 30분간 데시케이터 중에서 냉각하여 항량으로 될 때까지 증발건조한 잔사의 무게를 측정하여 가용성 고형분(soluble solid, SS) 함량으로 하여 그 결과를 표 2에 나타내었다. 청미래덩굴 뿌리를 제외하고는 모두 36℃보다 60℃의 SS함량이 높게 나타났으며, 청미래 덩굴보다는 쇠무릎의 추출함량이 상당히 높았다. 특히 60℃에서 쇠무릎 뿌리의 증류수 추출물은 고형분 함량이 336.67 mg/g 건조기준 으로 가장 높았으며, 용매별로는 증류수 추출물의 수율이 가장 높고, 다음으로 메탄올, 에탄올 추출물 순으로서 용매의 극성이 클수록 추출률이 높게 나타났다.

[표 3] 쇠무릎과 청미래덩굴의 일반성분 함량 비교

[Table 3] Comparison of Proximate Composition of *Achyranthes japonica* and *Smilax china*

Composition(%)	쇠무릎			청미래덩굴
	Leaf	Stem	Root	Leaf
Moisture	10.06	10.12	10.12	6.03
Crude ash	17.27	12.8	10.23	5.40
Crude protein	19.95	7.99	7.59	13.19
Crude lipid	4.50	5.08	1.40	5.10
Carbohydrate	48.22	64.01	70.66	70.28

* : All data are mean value of triplicate

청미래덩굴 잎의 일반성분 함량은 탄수화물의 함량이 70.28%로 가장 높게 나타났고, 수분 함량은 6.03%, 조단백질은 13.19%, 조지방은 5.10%, 회분은 5.40% 등으로서 탄수화물>조단백질>수분>회분>조지방의 순서였다. 두 시료의 잎에서의 조지방은 큰 차이가 없으나 조단백질은 쇠무릎 잎에서의 함량이 훨씬 높게 나타났다.

3.1.1 일반성분 함량

쇠무릎과 청미래덩굴 분말의 일반성분 함량은 표 3과 같았다. 쇠무릎의 수분은 잎, 줄기, 뿌리 모두 10% 정도로 비슷하게 나타났고, 조회분 함량은 잎 17.27%, 줄기 12.8%, 뿌리 10.23%로 잎에서 가장 높았다. 조단백질 함량은 잎에서 19.95%로 가장 높았으며 줄기, 뿌리 순으로 나타났다. 조지방의 경우 각각 4.50%, 5.08%, 1.40%로 나타났으며, 식이 및 비식이를 포함한 탄수화물 함량은 뿌리에서 70.66%로 가장 높았고, 잎에서 48.22%로 상대적으로 낮게 함유되어 있었다. 청미래덩굴 잎의 일반성분 함량은 탄수화물의 함량이 70.28%로 가장 높게 나타났고, 수분 함량은 6.03%, 조단백질은 13.19%, 조지방은 5.10%, 회분은 5.40%로서 탄수화물>조단백질>수분>회분>조지방의 순서였다. 두 시료 잎에서의 조지방은 큰 차이가 없으나 조단백질은 쇠무릎 잎에서의 함량이 훨씬

3.1.2 유리당 함량

60℃에서 쇠무릎과 청미래덩굴의 에탄올 추출물의 유리당 함량을 표 4에 나타내었다. 쇠무릎의 줄기 추출물에서 sucrose가 58.4mg/100g으로 가장 높았으며 fructose>glucose 순으로 나타났다. 뿌리 추출물에서는 fructose의 함량이 62.58mg/100g으로 높았으며 sucrose> glucose 순으로 검출되었다. 전체적으로 보면 줄기보다 뿌리에서의 유리당 함량이 더 높음을 알 수 있다. 청미래 덩굴의 유리당 함량은 잎 추출물은 fructose가 161.24mg/100g으로 가장 높게 나타났고, glucose>sucrose순이었다. 뿌리 추출물의 함량은 fructose>glucose>sucrose 순으로서 잎의 추출물이 뿌리 추출물 보다 함량이 높은 것으로 나타났다. 이들 두 시료의 총 유리당 함량을 비교하면 청미래덩굴 잎>쇠무릎 뿌리>쇠무릎 줄기>청미래덩굴 뿌리의 순이었다.

[표 4] 쇠무릎과 청미래덩굴 에탄올 추출물의 유리당 함량 비교

[Table 4] Comparison of Free Sugar of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Ethanol Extracts

구분	쇠무릎		청미래덩굴	
	Stem	Root	Leaf	Root
	Fructose	24.93	62.58	161.24
Glucose	10.44	23.04	129.21	18.32
Sucrose	58.44	49.23	30.66	0.00
Total	93.80	134.86	321.11	53.71

3.1.3 유리아미노산 함량

쇠무릎의 줄기 및 뿌리와 청미래덩굴의 잎 및 뿌리에 대한 60℃에서의 에탄올 추출물의 유리아미노산 함량을 분석한 결과를 표 5에 나타내었다. 총 16종의 아미노산이 검출되었으며, 쇠무릎 줄기와 뿌리 모두 L-proline 성분이 총 아미노산 중 약 46~70% 정도로 유리되었다. 줄기의 경우 L-proline 함량이 69.36%, 다음으로 phosphoserine 8.65%, r-aminobutyric acid 4.44%, L-alanine 3.38% 순으로 나타났고, 뿌리는 L-proline 함량이 45.92%로 가장 높은 것을 제외하고는 줄기와 반대로 L-alanine 10.61%, r-aminobutyric acid 6.90%, phosphoserine 6.44% 등의 순으로 유리되었다. 청미래덩굴의 경우 잎 추출물이 phosphoserine을 52.25% 함유하고 있어 가장 높게 나타났고, taurine 12.54% > L-alanine 8.67% > r-aminobutyric acid 6.47% 등의 순서로 함량 분포를 보였으며, 뿌리의 경우 L-glutamic acid가 17.56%로서 가장 높게 나타났고, L-alanine 15.77%, phosphoserine 15.21%, L-serine 9.41% 등의 순서로 함량 분포를 보였다. 한편 추출물로 유리되는 필수 아미노산의 종류는 threonine, valine, leucine, isoleucine, phenylalanine 및 arginine 등 6종으로 검출되

었으며, 유리 아미노산의 전체량에 대한 필수 아미노산의 비율은 쇠무릎의 경우 뿌리와 줄기에서 각각 17.7%와 4.81%이었고, 청미래덩굴의 경우 잎과 뿌리에서 각각 9.4%와 19.09%로 얻어졌다. 청미래 덩굴 뿌리가 예부터 차궁기에 구황식품으로 사용되었다는 사실[18]에 비추어 볼 때 필수 아미노산 제공원로서의 역할이 타당한 것으로 보여진다.

3.2 기능성분 함량

3.2.1 갈변도 및 방향족 화합물 함량

쇠무릎과 청미래덩굴 부위별 에탄올 추출물 시료의 수용액에 대한 갈변도(BI)와 방향족 화합물 함량(TAC)을 흡광도 측정값으로 나타낸 결과는 표 6과 같았다. 시료의 농도 증가에 따른 파장 420nm에서의 BI와 280nm에서의 TAC는 시료 부위에 관계없이 거의 모두 선형적으로 증가하였다. 청미래덩굴 잎 추출물의 BI와 TAC는 메탄올 추출물이 가장 높고 에탄올, 증류수 순이었으나, 쇠무릎 잎의 경우 증류수 추출물의 흡광도가 가장 높고, 메탄올, 에탄올 순으로 나타났다. 1%의 농도에서 두 시료의 잎 추출물의 갈변물질의 흡광도를 비교하면 증류수 용매에서 쇠무릎의 경우가 청미래덩굴의 약 30배이고, 방향족 화합물의 흡광도는 메탄올 용매에서 청미래덩굴의 경우가 쇠무릎의 약 3배로 나타나 동일한 농도에서도 시료와 추출 용매의 종류에 따라 흡광도가 달라 추출되는 갈변 성분과 방향족 화합물의 종류 및 함량이 다른 것으로 추측된다. 이는 앞서 유리당이나 유리 아미노산의 함량이 시료별로 상이한 것과도 관련되는 것으로 생각된다. 그리고 표 6에서 갈변물질의 함량이 클수록 방향족 화합물 함량도 비례하여 증가하는 것으로 나타났다. 갈변반응 물질이 기능성을 가지는 것으로 알려져 있어[5, 19], 갈변도가 큰 잎이 뿌리나 줄기에 비해 기능성이 클 것으로 예상된다.

[표 5] 쇠무릎과 청미래덩굴 에탄올 추출물의 유리 아미노산 함량 비교

[Table 5] Comparison of Free Aminoacids of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Ethanol Extracts

Amino acid	<i>Achyranthes japonica</i>		<i>Smilax china</i>		Amino acid	<i>Achyranthes japonica</i>		<i>Smilax china</i>	
	Stem	Root	Leaf	Root		Stem	Root	Leaf	Root
phosphoserine	8.65	6.44	52.25	15.21	L-alanine	3.38	10.61	8.67	15.77
taurine	4.57	2.82	12.54	4.66	L-valine*	1.20	4.65	2.31	2.64
L-aspartic acid	0.29	0.35	0.37	1.49	L-isoleucine*	0.89	3.46	2.25	7.43
L-threonine*	1.18	1.20	1.09	2.39	L-leucine*	0.91	4.55	2.20	3.54
L-serine	0.83	2.92	1.38	9.41	L-tyrosine	0.26	2.80	3.24	5.27
L-glutamic acid	3.11	1.26	2.76	17.56	L-phenylalanine*	0.34	3.55	1.40	2.80
L-proline	69.36	45.92	1.78	4.78	r-aminobutyric acid	4.44	6.90	6.47	5.41
L-glycine	0.27	2.26	1.13	1.38	L-arginine*	0.29	0.29	0.15	0.29
					Total (%)	100	100	100	100

* : Essential amino acid

[표 6] 쇠무릎과 청미래덩굴 추출물의 BI와 TAC 비교

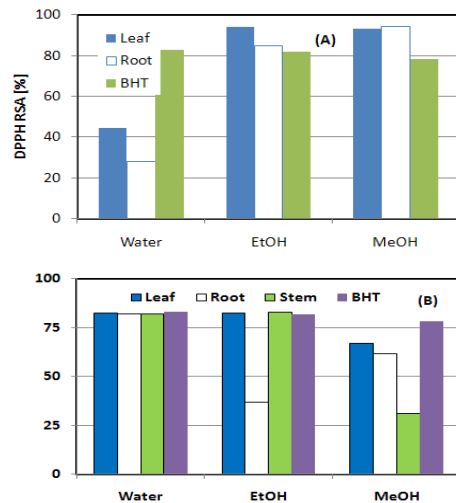
[Table 6] Comparison of BI and TAC of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Extracts

Extracts	Concentration(v/v%)	Abs. for BI ($\lambda=420\text{nm}$)			Abs. for TAC ($\lambda=280\text{nm}$)			
		Water	EtOH	MeOH	Water	EtOH	MeOH	
<i>Smilax china</i>	Leaf	0.2	0.0088	0.0523	0.1855	0.0088	0.1453	0.2904
	Root	0.2	0.0043	0.0002	0.0027	0.0294	0.0114	0.0473
	Leaf	0.6	0.0241	0.1506	0.5559	0.0241	0.4193	0.896
	Root	0.6	0.0160	0.0017	0.0103	0.1056	0.0522	0.1557
	Leaf	1.0	0.0358	0.2570	0.9060	0.0358	0.7238	1.4730
	Root	1.0	0.0186	0.0036	0.0160	0.1620	0.0873	0.2491
<i>Achyranthes japonica</i>	Leaf	0.2	0.1358	0.0484	0.0772	0.2222	0.0299	0.0658
	Stem	0.2	0.0073	0.0013	0.0051	0.0293	0.0010	0.0216
	Root	0.2	0.0114	0.0012	0.0027	0.0553	0.0025	0.0138
	Leaf	0.6	0.4087	0.1527	0.2313	0.6542	0.1158	0.2022
	Stem	0.6	0.0197	0.0051	0.0076	0.0731	0.0102	0.0604
	Root	0.6	0.0257	0.0020	0.0140	0.1507	0.0322	0.0627
	Leaf	1.0	1.0639	0.2571	0.3798	1.0639	0.2704	0.3434
	Stem	1.0	0.0359	0.0098	0.0158	0.1310	0.0227	0.1151
	Root	1.0	0.0391	0.0031	0.0177	0.2434	0.0446	0.1022

3.2.2 전자공여작용

두 시료 추출물의 항산화력을 측정하기 위하여 DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능(EDA)을 측정하여 각 부위의 용매별 DPPH 라디칼 소거능을 그림 1에 나타내었다. 산화성 자유라디칼은 노화, 발암 및 식품의 산화와 관련되어 있는 것으로 알려져 있는데, 전자공여작용을 가지는 물질은 이러한 라디칼을 소거함으로써 항산화제로 작용한다[20]. 항산화 기능을 가진 천연물질은 동식물계에 널리 분포되어 있으며, 아스코르빈산, 토코페롤, 카르테노이드 등 천연 항산화 물질은 지방 산화를 억제하고 암, 심장혈관계 질환 등을 예방, 지연시킴으로써 노화방지 역할도 한다[21]. BHA(butylated hydroxyanisol)나 BHT(butylated hydroxytoluene) 등과 같은 합성 항산화제도 항산화 기능이 우수하여 식품에 많이 사용되고 있으나 안전성에 대한 우려[21,22]로 그 사용에 규제가 되고 있다.

청미래덩굴의 잎 추출물 결과인 그림 1(A)에서는 에탄올>메탄올>증류수 순으로 에탄올 추출물이 가장 높은 소거능을 보였고, 뿌리 추출물은 메탄올>에탄올>증류수 순의 소거능을 보였다. 잎과 뿌리의 추출물에서 에탄올과 메탄올이 BHT의 DPPH 소거능보다 높게 나타났으나, 증류수 추출물은 BHT보다 낮게 나타났다. 그림 1(B)에 도시된 쇠무릎은 모든 부위의 추출물이 증류수>에탄올>메탄올 순으로 증류수 추출물이 가장 높은 소거능을 보였으며, 이 추출물의 전자공여작용은 합성항산화제인 BHT의 DPPH 소거능과 비교하였을 때 큰 차이가 나지 않았다.



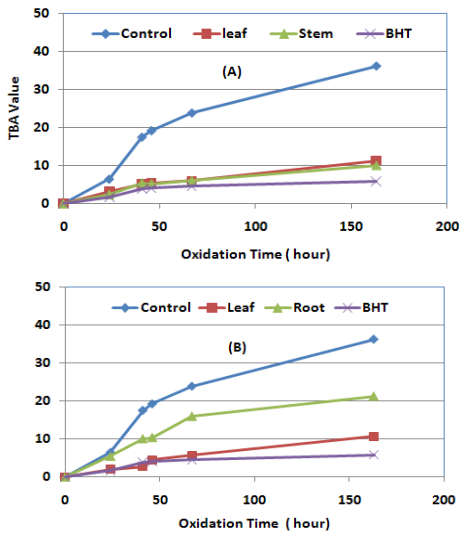
[그림 1] 청미래덩굴(A)과 쇠무릎(B) 추출물의 DPPH radical 소거능 비교

[Fig. 1] Comparison of DPPH Radical Scavenging Ability of *Smilax china*(A) and *Achyranthes japonica*(B) Extracts

3.2.3 TBA가

유지의 산화 생성물인 malondialdehyde가 TBA와 반응할 때 항산화 물질이 관여할 경우 산화정도를 감소시킬 수 있으므로 TBA가 측정은 유지의 산화 안정도를 확인하는 한 방법이 될 수 있다[23]. 쇠무릎과 청미래덩굴 에탄올 추출물의 올리브유에 대한 산화 억제효과를 검토하기 위하여 올리브유에 각 추출물을 첨가하고 첨가하지

않은 대조구와 TBA가 경시변화를 측정하여 그림 2에 도시하였다. TBA가 높을수록 산화가 많이 진행됨을 나타내는데, 그림의 2(B)에서 보이듯이 쇠무릎 추출물의 경우 산화 시간 24시간까지는 대조구의 TBA와 같이 추출물 모두 TBA의 증가를 보여 그다지 큰 산화 억제효과를 보이지 않았으나, 2일 이후부터는 산화시간의 증가에 따라 대조구의 TBA가 증가에 비해 더 낮은 증가율을 보여 항산화 효과가 있음을 보여준다. 그 중 잎 추출물의 TBA는 합성 항산화제인 BHT의 것에 비하여 82.1%로써 상당히 높은 항산화력이 있음을 알 수 있다. 이에 비해 그림 2(A)의 청미래덩굴 추출물의 경우 잎과 줄기 추출물 모두 대조구에 비해 상당히 낮은 TBA를 보이고 있고, 잎 추출물은 쇠무릎보다 높으며 BHT의 84.0%의 항산화 효과가 있음을 보여주고 있다.

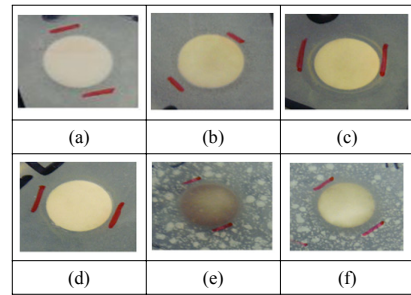


[그림 2] 청미래덩굴(A)과 쇠무릎(B) 에탄올 추출물에 의한 올리브오일의 TBA값 변화 비교
 [Fig. 2] TBA Changes of Olive Oil by *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Ethanol Extracts

3.2.4 항균활성

5가지 균주에 대한 쇠무릎의 줄기 추출물과 청미래덩굴의 잎 추출물의 항균력 측정결과를 clear zone 직경으로 표 7과 그림 3에 나타내었다.

쇠무릎 줄기는 MeOH추출물의 경우에만 *Bacillus subtilis*에 대해 항균력을 보였으며, 청미래덩굴 잎 추출물은 *Staphylococcus aureus*와 *Bacillus cereus* 및 *Bacillus subtilis*에 대한 MeOH추출물의 경우를 제외하고는 항균력이 있음을 확인하였다. 청미래덩굴 추출물의 결과 에탄올 추출물의 경우 *Vibrio vulnificus*가 Clear zone의 직경이 가장 컸으며, 메탄올 추출물의 경우 *Salmonella enterica*의 직경이 더 크게 나타나 항균력이 우수함을 알 수 있었다.



[그림 3] 쇠무릎과 청미래덩굴 추출물의 항균력 비교 ((a)~(f)는 표 7의 첨자와 동일)

[Fig. 3] Comparison of Antimicrobial Effects of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Extracts((a)~(f) are same as Table 7)

이상과 같이 본 연구에서 검토한 두 시료 모두 상당한 기능적 활성을 가짐을 알 수 있으나 식품재료나 천연물 중에도 고유의 성분이지만 독소적인 요소가 있을 수 있으므로, 식용이나 약용으로 활용하기 위해서는 이에 대한 추가적인 검토가 필요할 것이라 사료된다.

[표 7] 쇠무릎과 청미래덩굴 추출물의 항균력 비교(Clear zone diameter, mm)

[Table 7] Comparison of Antimicrobial Effects of *Achyranthes japonica* and *Smilax china* Extracts(Clear zone diameter, mm)

Bacteria	Cell Count	<i>Smilax china</i> leaf		<i>Achyranthes japonica</i> leaf	
		EtOH	MeOH	EtOH	MeOH
<i>Bacillus subtilis</i>	7.7×10^6	20 ^{a)}	-	-	40 ^{b)}
<i>Vibrio vulnificus</i>	8.1×10^6	30 ^{c)}	25 ^{d)}	-	-
<i>Salmonella enterica</i>	1.2×10^6	20 ^{e)}	30 ^{f)}	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.6×10^5	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	8.1×10^6	-	-	-	-

3.2.5 중금속 흡착성

Pb(II)와 Cd(II) 이온에 대한 쇠무릎과 청미래덩굴의 흡착률 및 회수율의 변화는 표 8과 같이 나타났는데, 동일한 농도에서 Cd(II)에 대한 청미래덩굴의 흡착률보다 Pb(II)에 대한 쇠무릎의 흡착률이 더 높았으나, 회수율은 이와 반대의 경향을 보였다. 실험농도 범위에서 두 시료 모두 초기 10분 정도의 흡착시간까지 흡착률이 급속히 증가하고 시간경과에 따라 증가량이 둔화되어 30분에서 거의 최대 흡착률을 보였다. 초기농도 변화에 따른 금속 이온의 흡착률 변화를 비교하면 초기농도가 낮을수록 흡착률이 증가하여 흡착시간 30분에서 초기농도 50ppm의 경우에는 쇠무릎에 대한 Pb(II)의 흡착률은 93.8%, 청미래덩굴에 대한 Cd(II)의 흡착률은 67.6%이었다. 각 시료에 대한 금속이온의 회수율을 비교하면 초기농도 50ppm의 경우에는 쇠무릎에 대한 Pb(II)의 흡착률인 93.8% 흡착, 즉 1g당 4.69mg이 흡착되고 이 중 89%인 4.17mg/g이 회수되었으며, 청미래덩굴에 대한 Cd(II)의 흡착률인 67.6%, 즉 1g당 3.38mg이 흡착되고, 이의 93.46%인 3.16mg/g의 회수율을 보였다. 이러한 결과는 감잎에 대한 120ppm 농도의 Pb(II)의 흡착률인 66%나 Cd(II)의 흡착률인 54%[17]보다 훨씬 높은 값이었다.

4. 결론

본 연구에서는 생물자원의 유용성 활용을 위해 쇠무릎과 청미래덩굴의 부위별 몇 가지 용매 추출물에 대하여 추출성분의 함량, 기능성분의 함량 및 활성 등 추출물의 이화학적 특성을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 청미래덩굴의 가용성 고형분 함량 2.2~22.0 mg/g 보다 쇠무릎의 고형분 함량이 2.17~159.3 mg/g의 범위로서 높게 얻어졌으며, 용매별로는 증류수>메탄올>에탄올 순의 추출률을 보여 용매의 극성이 클

수록 추출률이 높았으며, 추출온도가 높을수록 수율이 높았다. 각 추출물의 유리 아미노산은 총 16종으로 검출되었으며, 이 중 쇠무릎 추출물은 proline이, 청미래덩굴 추출물은 잎에서는 phosphoserine이, 뿌리에서는 glutamic acid가 각각 가장 함량이 높은 유리 아미노산 성분이었다. 유리당의 함량은 쇠무릎 줄기와 뿌리 추출물에서 sucrose와 fructose가, 청미래덩굴 잎과 뿌리에서는 fructose가 가장 높은 함량으로 검출되었다.

2. 청미래덩굴 잎 추출물의 갈변도(BI)와 방향족 화합물 함량(TAC)는 메탄올 추출물이 가장 높고 에탄올, 증류수 순이었으나, 쇠무릎 잎의 경우 증류수 추출물의 흡광도가 가장 높고, 메탄올, 에탄올 순으로 나타났다. BI가 클수록 TAC도 비례하여 증가하는 것으로 나타났으나 동일한 농도에서도 시료와 추출 용매의 종류에 따라 흡광도가 달라 추출되는 갈변성분과 방향족 화합물의 종류 및 함량이 다른 것으로 추측된다.
3. 청미래덩굴 추출물의 전자공여능은 잎은 에탄올>메탄올>증류수, 뿌리는 메탄올>에탄올>증류수 순이었으며, 잎과 뿌리의 에탄올 및 메탄올 추출물이 BHT의 DPPH 소거능보다 높게 나타났으나, 증류수 추출물은 BHT보다 낮게 나타났다. 쇠무릎은 모든 부위의 추출물이 증류수>에탄올>메탄올 순의 라디칼 소거능을 보였으며, 증류수 추출물의 전자공여능은 합성항산화제인 BHT의 전자공여능과 비교하였을 때 큰 차이가 나지 않았다.
4. 시료의 첨가에 따른 올리브유의 산화억제 작용은 TBA가를 기준하여 합성 항산화제인 BHT에 비해 쇠무릎 잎의 에탄올 추출물은 82.1%, 청미래덩굴 잎 추출물은 84.0%의 값을 보였으며, 쇠무릎 줄기의 메탄올 추출물은 Bacillus subtilis에 대해 항균력을 보였으며, 청미래덩굴 잎 추출물은 Bacillus subtilis, Vibrio vulnificus 및 Salmonella enterica에

[표 8] 쇠무릎과 청미래덩굴의 중금속 흡착률 및 회수율

[Table 8] Adsorption and Recovery rates of Heavy Metal by *Achyranthes japonica* and *Smilax china*

Process Time	Pb(II) by <i>Achyranthes japonica</i>				Cd(II) by <i>Smilax china</i>			
	Adsorption		Recovery		Adsorption		Recovery	
	50 ppm	200 ppm	50 ppm	200 ppm	50 ppm	200 ppm	50 ppm	200 ppm
1 min	73.0	69.3	80.7	63.1	51.9	31.4	82.2	70.6
5 min	83.4	74.2	82.5	65.3	67.8	34.9	85.5	75.3
10 min	92.0	84.9	88.9	67.3	63.0	38.5	88.9	78.2
30 min	93.8	88.0	89.0	73.0	67.6	38.4	93.4	80.7

대하여 항균력이 있음을 확인하였다. 그리고 중금속 이온의 흡착 및 회수실험 결과 동일한 금속농도에서 Cd(II)에 대한 청미래덩굴의 흡착률보다 Pb(II)에 대한 쇠무릎의 흡착률이 더 높았으나, 회수율은 이와 반대의 경향을 보였다.

References

- [1] Kim E. Y., Baik I. H., Kim J. H., Kim S. R., Rhyu M. R., "Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants", *Korean J. Food Sci. Technol.*, 36(2), pp. 333-338, 2004.
- [2] Shin S. R., Hong J. Y., Nam H. S., Yoon K. Y., Kim K. S., "Anti-oxidative effects of extracts of Korean herbal materials", *J. Korean Soc., Food Sci., Nutr.*, 35(2), 187-191, 2006.
- [3] Kim H. K., Na G. M., Ye S. H., Han H. S., "Extraction Characteristics and Antioxidative Activity of *Lycium chinese* Extracts", *Korean J. of Food Preservation*, 11(3), pp. 352-357, 2004.
- [4] Park D. H., Park, J. M., "Removal of Hexavalent Chromium by using Biomass", *Korean Chem. Eng. Res.*, 44(2), pp. 107-113, 2006.
- [5] Jeong K. S., Lee N. G., "Functional properties and antioxidant effects of *Solanum nigrum*-ethanol extracts", *J. of Environ. Sci.*, 18(11), pp. 1207-1214, 2009.
- [6] Lee, M.Gyu., Park, K.T. and Kam, S.K, "Biosorption of Copper by the Immobilized Biomass of Marine Brown Algae(Phaeophyta) *Hizikia fusiformis*", *Korean J. Life Science*, 8(2), pp. 208-215, 1998.
- [7] Kim T. J., "Korean Wild Flower", *Kyohaksa*, pp336, 1998.
- [8] Jang J. K., "Sanyacho Dongeuibogam", *Academy Book*, pp330, 2001.
- [9] Choi H. S., "A Study on the Biological Activities of *Achyranthis Radix* Ethanol Extract", *Chosun University, Doctorial Thesis*, p.11, 2006.
- [10] Korea Lifestyle Disease Prevention Research Society, "Encyclopedia of Oriental Medicinal Plants", *Itembooks*, pp456, 2007.
- [11] Choi H. Y., "Antimicrobial Effect of Ethanol Extract of *Smilax china* Leaf", *Korean J. Sanitation*, 19(3), pp. 22-30, 2004.
- [12] Lee H. S., Jang M. S., "A Study on Quality Characteristics and Storage of Julpyun Affected by Chungmirae(*Smilax china* L.) leaf powder", *Korean J. Food Cookery Sci.*, 21(4), pp. 482-489, 2005.
- [13] Kenneth Helrich, "Official methods of analysis", 15th, *Association of official analytical chemists, Washington D.D., USA*, p40, 1990.
- [14] Chae S. G., Kang K. S., Ma S. J., Bang K. W., Oh M. H., Oh S. H., "Standard Food Analysis-Theory & Practice", *Ji-Gu Pub. Co.*, pp221, 2003.
- [15] Kang Y. H., Park Y. K., Oh S. R., Moon K. D., "Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts", *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(6), pp. 978-984, 1995.
- [16] Kang Y. H., Park Y. K., Lee G. D., "The Nitrite Scavenging and Electron Donating Ability of Phenolic Compounds", *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28(2), pp. 232-239, 1996.
- [17] Park K. H., Kwon Y. D., Park M. A., Park B. J., "A Study on the Adsorption Kinetics of the Heavy Metals, Cd(II), Pb(II), Cu(II) and Zn(II) Ions by the Persimmon Leaves", *J. of the Korea Society for Environmental Analysis*, 4(3), pp. 159-167, 2001.
- [18] Song H. S., Park Y. H., Jung S. H., Kim D. P., Jung Y. H., Lee M. K., Moon K. Y., 2006, "Antioxidant activity of extracts from *Smilax china* root", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35(9), pp. 1133-1138, 2006.
- [19] Shin J. H., Choi D. J., Chung M. J., Kang M. J., Sung N. J., "Changes of physicochemical components and antioxidant activity of aged garlic at different temperature", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 37(9), pp. 1174-1181, 2008.
- [20] Kim H. K., Kim Y. E., Do J. R., Lee Y. C., Lee B. Y., "Antioxidative Activity and Physiological Activity of Some Korean Medicinal Plants", *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(1), pp. 80-85, 1995.
- [21] Yang H. C., Jung K. M., Gang K. S., Song B. J., Lim H. C., Na H. S., Mun H., Heo N. C., "Physicochemical composition of seaweed *fulvescens*(*Capsosiphon fulvescens*)", *Korean J. Food Sci. Technol.*, 37(6), pp. 912-917, 2005.
- [22] Park J. H., Kang K. C., Baek S. B., Lee Y. H., Rhee K. S., "Separation of antioxidant compounds from edible marine algae", *Korean J. Food Sci. Technol.*, 23, pp. 256-261, 1991.
- [23] Oh M. J., Son H. Y., Kang J. C., Lee K. S., "Antioxidative Effect of *Pueraria* Root Extract on Edible Oils and Fats", *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 19(5), pp. 448-456, 1990.

정 갑 섭(Kap-Seop Jeong)

[정회원]



- 1982년 2월 : 부산대학교 화학공학(공학사)
- 1984년 2월 : 부산대학교 화학공학(공학석사)
- 1993년 8월 : 부산대학교 화학공학(공학박사)
- 1990년 3월 ~ 2006년 2월 : 동명대학 공업화학과/식품가공조리과 전임강사/조교수/부교수
- 2006년 3월 ~ 현재 : 동명대학교 식품공학과 부교수

<관심분야>

광촉매 분해, 식품공정, 농수산생물 기능성