

다양한 천연물 바이오 소재로 부터 에탄올 용매 농도별 추출물 제조 및 항산화 활성 연구

한지원* · 정유진 · 이서연 · 유은서 · 주예윤 · 임지순
건양대학교 제약생명공학과
e-mail:imjst@konyang.ac.kr

Preparation of extracts and research on antioxidant activity by ethanol solvent concentration from various natural biomaterials

Ji-Won Han*, Yu-Jin Jeong, Seo-Yeon Lee, Eun-Seo Yu, Ye-Yun Ju, Ji-Soon Im
Dept. of Pharmaceutics & Biotechnology, Konyang University

요약

본 연구는 두 추출 방법과 에탄올 농도가 다른 20가지 바이오 소재의 항산화 활성을 조사하기 위해 수행되었다. 20가지의 바이오 소재의 총 페놀 성분 측정치 중 sonication 추출물의 함량은 45% 에탄올에서 34.72~1743.64 mg TE/10g, 70% 에탄올에서 25.90~1548.84 mg TE/10g, 95% 에탄올에서 16.30~736.79 mg TE/10g이었다. Shaking 추출물의 함량은 45% 에탄올에서 29.29~1748.24 mg TE/10g, 70% 에탄올에서 25.49~1621.31 mg TE/10g, 95% 에탄올에서 25.71~844.38 mg TE/10g이었다. 일반적으로 에탄올 농도가 높을수록 총 페놀 함량은 감소하는 것으로 나타났다. 전체 플라보노이드 성분 측정치 중 sonication 추출물의 함량은 45% 에탄올에서 9.32~1779.51 mg RE/10g, 70% 에탄올에서 4.41~1538.12 mg RE/10g, 95% 에탄올에서 16.30~736.78 mg RE/10g이었다. Shaking 추출물의 함량은 45% 에탄올에서 7.37~1829.09 mg RE/10g, 70% 에탄올에서 4.25~1450.12 mg RE/10g, 95% 에탄올에서 10.40~1422.54 mg RE/10g이었다. ABTS radical 소거능 측정에서 sonication 추출물의 함량은 45% 에탄올에서 23.53~99.56%, 70% 에탄올에서 18.98~100%, 95% 에탄올에서 4.32~99.08%였다. Shaking 추출물의 함량은 45% 에탄올에서 24.07~99.71%, 70% 에탄올에서 17.73~100%, 95% 에탄올에서 10.31~99.62%였다. 20개의 바이오 소재 중 왕느릅나무(2번), 프로폴리스(7번), 얼그레이 홍차(9번), 장미(12번), 울피(18번), 마테(19번)은 에탄올 농도와 상관없이 매우 높은 항산화력을 보였다.

1. 서론

현대사회는 지속적인 경제성장과 더불어 생활 수준이 향상되어 인간의 수명은 연장되었으나, 과도한 스트레스, 불균형한 식사, 흡연, 과음, 피로 등으로 인간의 수명과 삶을 위협하는 만성질환이 증대되고 있다.[1] 최근에는 산화 억제 효과가 탁월하고 안전하면서 경제적인 항산화제를 천연물로부터 탐색하려는 많은 연구가 진행 중이다.[2]

식품 내에서 항산화 활성을 나타내는 생리활성 성분은 종류가 다양하며 각 성분들은 서로 다른 반응기전에 의해 항산화 활성을 나타낼 수 있으므로, 항산화 활성을 측정하기 위해서는 다양한 항산화 분석법을 이용하여 항산화 활성을 평가하고 가능한 한 생리적 조건에 가까운 조건에서 분석하는 것이 중요하다.[3] 따라서 본 연구에서는 명월초, 왕느릅나무, 어성초, 결명자, 프로폴리스, 얼그레이 홍차, 장미, 아사이베리, 아로니아, 마테 등 총 20가지 천연 바이오 소재를 에탄올의

농도(45%, 70%, 95%)를 달리하여 추출물을 제조한 후 추출 방법(sonication/shaking)에 따른 총 페놀 함량 및 플라보노이드 함량, ABTS radical 소거 활성을 분석하여 각 소재에 대한 항산화력을 스크리닝을 실행하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

실험에 사용한 재료는 분말 시료인 명월초(토종마을), 왕느릅나무(생생드림), 아가리쿠스(성보식품), 어성초(헬로우 그린), 굴피(갑당약초), 결명자(진도허브), 프로폴리스(바른건강), 캐모마일(한국인), 얼그레이 홍차(마이크로파우더), 산수유(굿라이프 265), 야관문(신영물), 장미(미래과학), 모시잎(신선약초), 누에(순천잡실영농조합), 아사이베리(백세식품), 풋사과(차푸드), 아로니아(서래푸드), 울피(어썸티), 마테(장명식품), 도라지(토종마을)를 사용하였다.

2.2 시료의 추출

분말 시료의 추출은 시료 1g에 70% Ethanol 100ml씩 넣어 32°C의 진탕추출기(JSSB-30T, JSR Tech, Korea)에서 100 RPM으로 회전시키면서 18시간 동안 추출하였다. 다른 추출 방법으로는 소니케이터(UCP-20, JEIOTECH, Korea)를 사용하여, 32°C에서 15분 동안 추출하였다. 추출한 시료를 4,000 RPM에서 20분간 원심분리(Fleta-5, Hanil Science Industrial Co.,Ltd., Korea)한 후, 감압여과기(DOA-PT04-AC, GAST., USA)에 Watman No.1 사용하여 여과한 다음 100ml 부피플라스크에 정용한 후 시료로 사용하였다.

2.3 총 페놀 함량 분석

총 페놀 함량은 Folin-Denis' s method에30) 준하여 측정하였다. 미리 추출한 시료액 200, 400 μ l에 각각 증류수 2350, 2150 μ l를 넣고 2N Folin Ciocalteu 150 μ l를 가하여 3분간 방치하고, 1N Sodium Carbonate 300 μ l를 가하여 암소에서 2시간동안 반응시켜 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 70% Ethanol로 Tannic acid(Sigma Chemical Co, USA)를 사용하여 표준검량선을 작성한 후 총 페놀성 화합물 함량을 시료 10g 중 mg Tannic acid Equivalent (mg TE/10g)으로 나타내었다.

2.4 총 플라보노이드 함량 분석

플라보노이드 함량은 Davis 변법을31) 이용하였다. 총 페놀 함량 측정에 사용한 것과 동일한 시료를 사용하였고, 시료액 200, 400 μ l에 90% diethylene glycol 2600, 2400 μ l를 넣고 1N NaOH 200 μ l를 가하여 잘 혼합한 후, 30°C에서 1시간 반응시켜 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 70% Ethanol로 Rutin acid(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하여 표준검량선을 작성한 후 총 플라보노이드 화합물 함량을 시료 10g 중 mg Rutin acid Equivalent (mg RE/10g)으로 나타내었다.

2.5 라디칼 소거활성

ABTS(2,2-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 라디칼에 대한 소거활성은 Van den Berg 등의 방법을32) 이용하여 측정하였다. ABTS 라디칼 소거활성은 증류수 10ml에 7.4mM ABTS 40.6mg과 증류수 100ml에 2.6mM potassium persulfate 70.3mg을 가하여 냉장보관으로 암실에서 12시간 반응시킨 다음, 혼합된 반응용액 1ml를 100ml의 70% Ethanol을 사용하여 희석시킨 후 흡광도 값이 0.8 이상이 되도록 조정하여 ABTS 용액으로 사용하였다. 시료액 100 μ l에 ABTS 용액 3,000 μ l를 가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료액 대신 70% Methanol을 가한 Control의 흡광도를 함께 측정하여 ABTS fre

e radical 소거활성을 백분율로 나타내었다.

$$EDA (\%) = \left(1 - \frac{Abs_{sample} - Abs_{control}}{Abs_{blank}} \right) \times 100$$

2.6 통계처리

실험 결과는 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 분산분석을 실시하였다. 유의성 있는 시료 간 평균값의 비교는 Least Significant Difference에 의해 분석하였다.(P < 0.05)

3. 결과 및 고찰

3.1 총 페놀 함량 측정

추출 방법 중 sonication의 함량은 45% 에탄올에서 34.72~1743.64mg TE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 25.90~1548.84mg TE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 16.30~736.79mg TE/10g 수준이었다. shaking의 함량은 45% 에탄올에서 29.29~1748.24mg TE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 25.49~1621.31mg TE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 25.71~844.37mg TE/10g 수준이었다. 바이오 소재를 에탄올 농도별로 비교해 보았을 때 추출 방법에 상관없이 대체로 45%에서 제일 높게 측정된 소재가 가장 많았고 그 다음 70%가 많았다. 대체적으로 95%에서는 총 페놀 함량이 낮게 측정되는 것을 알 수 있었다.

3.2 총 플라보노이드 함량 측정

추출 방법 중 sonication의 함량은 45% 에탄올에서 9.324~1779.50mg RE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 4.406~1538.11mg RE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 16.30~736.78mg RE/10g 수준이었다. shaking의 함량은 45% 에탄올에서 7.37~1829.09mg RE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 4.25~1450.12mg RE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 10.40~1422.54mg RE/10g 수준이었다. 대체로 sonication를 이용한 추출물보다 shaking을 이용한 추출물의 함량이 더 높게 나타났다.

3.3 ABTS radical 소거활성

추출 방법 중 sonicator의 함량은 45% 에탄올에서 23.53~99.56% 수준이었으며, 70% 에탄올에서 18.98~100% 수준이었고, 95% 에탄올에서는 4.32~99.08% 수준이었다. Shaking의 함량은 45% 에탄올에서 24.07~99.71% 수준이었으며, 70% 에탄올에서 17.73~100% 수준이었고, 95% 에탄올에서는 10.31~99.62% 수준이었다. 95% 에탄올에서는 대체적으로 활성이 낮게 나타났으며, 왕느릅나무(2번), 프로폴리스(7번), 얼그레이 홍차(9번), 장미(12번), 울피(18번), 마테(19번)는 sonication, shaking 그리고 에탄올 농도와 상관없이 98% 이상의 활성을 보여 뛰어난 항산화력을 갖는 것

으로 측정되었다.

4. 결론

본 연구는 추출 방법(sonication/shaking) 과 에탄올 농도 (45%, 70%, 95%)를 달리하여 20가지의 바이오 소재를 대상으로 총 페놀, 플라보노이드 함량, ABTS 라디칼 소거활성을 분석하여 소재에 대한 항산화 활성 연구를 실시하였다. 추출 방법과 에탄올 농도를 달리한 20가지의 바이오 소재에 대한 총 페놀 성분측정 중 sonication의 함량은 45% 에탄올에서 34.71~1743.64mg TE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 25.90~1548.84mg TE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 16.30~736.79mg TE/10g 수준이었다. shaking의 함량은 45% 에탄올에서 29.28~1748.24mg TE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 25.49~1621.31mg TE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 25.71~844.37mg TE/10g 수준이었다. 총 페놀 함량이 가장 높게 측정된 소재는 프로폴리스(7번), 얼그레이 홍차(9번), 장미(12번), 마테(19번)이다. 총 플라보노이드 성분측정 중 sonication의 함량은 45% 에탄올에서 9.32~1779.50mg RE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 4.40~1538.11mg RE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 16.30~736.78mg RE/10g 수준이었다. shaking의 함량은 45% 에탄올에서 7.37~1829.09 mg RE/10g 수준이었으며, 70% 에탄올에서 4.25~1450.12mg RE/10g 수준이었고, 95% 에탄올에서는 10.40~1422.54mg RE/10g 수준이었다. 총 플라보노이드 함량이 가장 높게 측정된 소재는 프로폴리스(7번)와 마테(19번)이다. ABTS radical 소거능 측정에서 sonication의 함량은 45% 에탄올에서 23.53~99.56% 수준이었으며, 70% 에탄올에서 18.98~100% 수준이었고, 95% 에탄올에서는 4.32~99.08% 수준이었다. shaking의 함량은 45% 에탄올에서 24.07~99.71% 수준이었으며, 70% 에탄올에서 17.73~100% 수준이었고, 95% 에탄올에서는 10.31~99.62% 수준이었다. 95% 에탄올에서는 대체적으로 활성이 낮게 나타났으며, 왕느릅나무(2번), 프로폴리스(7번), 얼그레이 홍차(9번), 장미(12번), 울피(18), 마테(19)는 sonication, shaking 그리고 에탄올 농도와 상관없이 98% 이상의 활성을 보여 뛰어난 항산화력을 갖는 것으로 측정되었다.

참고문헌

[1] H. Kang, C.H Park, S.O Kwon, S.G Lee, Antioxidant and anti-inflammatory activities of Chrysanthemum indicum Linne extracts at different ethanol ratios, Korean journal of food science and technology, vol.53, no.4, pp.

416-422 (2021)

[2] H.K Kim, Flavonoid production and antioxidant activity effect by lactic acid bacteria fermentation of deer antler extract, Journal of the convergence on culture technology, vol.8, no.2, pp.399-408 (2022)

[3] Y.J Shin, J.M Jegal, M.H Lee, Quality and Antioxidant Properties of White Bread with Gynura procumbens Powder, Culinary Science & Hospitality Research, vol.25, no.6, pp.1-11 (2019)