

빨간 함초의 지질 과산화 및 라디칼 형성에 대한 항산화 활성

†송희순 · 김동필 · 정영희 · 이미경
광주보건대학 식품영양과

Antioxidant Activities of Red Hamcho(*Salicornia herbacea L.*) against Lipid Peroxidation and the Formation of Radicals

†Hee-Sun Song, Dong-Pil Kim, Yong-Hee Jung and Mi-Kyung Lee

Dept. of Food & Nutrition, Gwangju Health College, Gwangju 506-701, Korea

Abstract

Hamcho(*Salicornia herbacea*, glasswort), a halophyte, is an annual succulent shrub that grows on coastal wetlands and has been regarded as a functional food for good health. Natural dried red and green Hamcho were extracted with 25% ethanol and water at 70°C. The antioxidant activities of these four extracts were examined by six different assays, including the measurement of total phenolics, radical scavenging effects on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), nitric oxide(NO) and nitrite(NO₂) scavenging effects, reducing power, and the inhibitory effect on tyrosinase activity. The total phenolic contents of the four extracts were high at 237~255 mg of gallic acid equivalents per 1 g of dried sample tested. The green Hamcho extracts contained more phenolic compounds than the red Hamcho extracts. When they were compared to tocopherols, the antioxidant activities of the green and red Hamcho powders were significantly higher at the same concentration levels(5 mg and 3 mg, respectively) in a POV test. The inhibition effects of the four extracts at a level of 75 μl were higher than 98% in the POV test. The red Hamcho 25% ethanol extract showed a high significant effect on DPPH radical scavenging(SC₅₀, 90.1 μl). The green Hamcho 25% ethanol extract, however, showed a high significant effect on NO radical scavenging(SC₅₀, 6.1 μl). The NO₂ radical scavenging effect was assayed at pH 1.2, 4.2 and 6.0, and all the Hamcho extracts scavenged the NO₂ radical much more effectively at pH 1.2. The NO₂ scavenging effect of the red Hamcho 25% ethanol extract(64%) was as high as that of 5 mM vitamin C at pH 1.2(p<0.05). In the reducing power test, the red Hamcho 25% ethanol extract revealed the highest ferric ion reducing activity among the Hamcho extracts, and its activity was as high as that of 0.33 mg/ml of vitamin C. The four Hamcho extracts showed high tyrosinase inhibition effects of more than 80%, and their activities were higher than 50 μg of kojic acid. The green and red Hamcho 25% ethanol extracts totally inhibited tyrosinase activity(100%). Therefore, the results suggest that red Hamcho extracts may serve as useful natural antioxidants along with green Hamcho extracts.

Key words: Hamcho, *Salicornia herbacea*, antioxidant, radical scavenging activity, tyrosinase activity.

서 론

함초(*Salicornia herbacea L.*)는 명아주과에 속하는 식물로 우리나라 서해안이나 남해안, 제주도, 울릉도 및 백령도 등

섬지방의 바닷물이 닿는 해안이나 갯벌 그리고 염전 주위에 무리지어 자생한다¹⁾. 중국의 옛 의학책인 ‘신농본초경’에서는 맛이 몹시 짜다 하여 함초(鹹草), 또는 염초(鹽草)라고 하였고, 몹시 희귀하고 신령스러운 풀이라 하여 신초(神草)라고

[†] Corresponding author: Hee-Sun Song, Departments of Food & Nutrition, Gwangju Health College, Gwangju 506-701, Korea.
Tel: +82-62-958-7595, Fax: +82-062-958-7591, E-mail: songuta@ghc.ac.kr

도 하였으며, 통통하고 마디마다 뛰어나온 풀이라 하여 통통 마디라고 부르기도 하였다¹⁾. 함초는 초봄에 연두빛, 여름에는 녹색 그리고 가을에는 붉은 색으로 변하며, 녹색을 띠는 함초는 셀러드용으로 식용된다. 함초에는 Na, K, Ca, Mg 및 Fe과 같은 무기질이 다른 식물에 비해 많이 함유되어 있고, 필수지방산인 리놀렌산과 필수아미노산이 풍부한 것으로 알려져 있다^{2~5)}. 또한 식이섬유도 풍부하여 건강 기능성 식품 소재로 주목받고 있다¹⁾.

초봄에서 여름에 채취되는 녹색 함초를 대상으로 화장품 원료와 식품 첨가물로서 이용 가능성을 탐색하기 위한 항균과 항산화 및 돈육 지방의 항산화 효과에 대한 연구가 보고되어 있다^{6~9)}. 이러한 연구에 의하여 함초는 지질 과산화 억제, 자유 라디칼 소거 및 미백 효과 등 항산화적 활성을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 함초에서 검출된 betaine 성분이 혈청의 호모시스테인 수준을 낮추는 것으로 보고되었으며⁵⁾, 동물 실험에 의하여 함초 추출물의 동맥경화, 고지혈증, 지방간 및 체중 증가 억제 효과가 알려져 있다¹⁰⁾. 또한, 동물 실험에서 사염화탄소로 인한 간독성 유발을 억제하는 것으로도 보고되었다¹¹⁾. 그러나 이러한 연구들은 주로 초봄에서 여름에 채취되는 녹색 함초를 대상으로 하였고, 가을에 채취되는 빨간 함초의 생리적 활성에 대한 연구는 전혀 보고되어 있지 않다.

본 연구는 천연항산화 소재로서 빨간 함초의 이용 가능성을 분석하기 위하여 여름에 채취한 녹색 함초와 가을에 채취한 빨간 함초를 물과 25% 에탄올로 추출하여 총 폐놀 성분 함량, DPPH, NO와 NO₂ 라디칼의 소거 활성, 환원 능력 및 tyrosinase 활성 저해 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

시료인 빨간 함초는 2004년 9월에 전라남도 해남에서 10 kg을 채취하여 자연 건조시킨 것을, 녹색 함초는 2004년 6월에 전라남도 해남에서 10 kg을 채취하여 자연 건조시킨 것을 사용하였다.

2. 함초 추출액의 제조

각 자연 건조시켜 분쇄한 함초 50 g을 1 l의 증류수 및 25% 에탄올로 70°C에서 24 시간 추출하였다. 추출한 용액을 여과지(No.1)로 두 번 여과하여 각 800 ml를 얻었고, 각 시료 별 추출 과정을 2회 반복하여 얻어진 추출물 혼합액 1.6 l를 본 실험에 사용하였다. 각 추출물을 20 ml 씩 3개의 50 ml 코니칼 튜브에 넣은 다음 동결 건조하였고, 이 과정을 3번 반복하여 얻어진 값으로부터 추출물의 수율을 계산하였다.

3. 총 폐놀 함량

추출물 1 ml에 0.2 N Folin-Ciocalteu's 용액 1 ml를 첨가하여 실온에서 3분간 반응시켰다. 반응액에 10% sodium carbonate 1 ml를 넣어 실온에서 1시간 동안 침전 반응을 시킨 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 총 폐놀 함량은 765 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 정량하였다¹²⁾. 정량 검사를 위한 표준물질로는 gallic acid(Sigma, St, Louis, USA)를 사용하였으며 gallic acid의 표준곡선을 이용하여 시료의 총 폐놀 함량을 조사하였다.

4. 지질 과산화 억제(POV) Test

함초 추출물에 대한 과산화물의 억제 효과는 Osawa와 Namiki¹³⁾ 및 Song 등¹⁴⁾의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 시료는 증류수에 녹여 사용하였다. 리놀산 0.13 ml에 100% 에탄올 10 ml, 50 mM 인산완충액(pH 7.4) 10 ml 그리고 시료를 50 ml cornical tube에 넣은 다음 최종 용액량이 25 ml가 되도록 증류수를 첨가하였다. 교반기(vortexer, Barnstead/thermo-lyne, Iowa, USA)를 이용하여 용액을 섞은 후 40°C 항온 교반기(Sanwoo, Seoul, Korea)에서 20일간 반응시키며 과산화물을 측정하였다. 대조군은 시료대신에 증류수를 사용하였다. 과산화물가의 측정은 thiocyanate 법을 이용하였다. 즉, 반응액 0.1 ml를 시험관에 넣고 70% 에탄올 4.7 ml, 30% NH₄SCN 0.1 ml, 3.5% 염산 용액에 녹인 0.02 M FeCl₂ 용액 0.1 ml를 차례로 가하여 섞은 후 3분간 상온에 방치하였다. 분광광도계(UV-1650 PC, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 500 nm의 흡광도에서 과산화물을 측정하였고 항산화 활성을 나타내는 값으로 활용하였다.

5. DPPH 라디칼 소거작용

시료는 함초 추출물에 증류수를 가하여 다양한 농도로 희석하여 사용하였으며, 증류수만을 넣은 것을 대조군으로 하였다. 시료 1 ml에 100% 에탄올 2 ml를 넣고 DPPH(1,1-di-phenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 0.5 ml를 넣었다. 사용한 DPPH 용액은 3.5 ml에서 0.1 mM이 되도록 제조하였다. DPPH-시료 혼합액을 10분간 방치 후 UV-분광광도계를 이용하여 흡광도 517 nm에서 라디칼 소거 활성(SC₅₀)을 측정하였다¹⁵⁾. SC₅₀은 대조군 값을 반으로 낮추는 데 요구되는 천연 추출물의 양 (μ l)이며, 직선의 식($Y=aX+b$)을 이용하여 계산하였다. 직선의 식과 측정치와의 상관계수는 0.9 이상이었다($r>0.9$).

6. NO 라디칼 소거작용

시료는 추출물을 다양한 농도로 20 mM phosphate buffer(pH 7.4)에 희석하여 사용하였고 대조군은 시료 대신에 20 mM phosphate buffer(pH 7.4)만을 넣은 것을 사용하였다. 시험

관에 시료 용액 0.5 ml와 10 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 ml를 넣어 섞은 후 150분간 상온에서 반응하도록 방치하였다. 10 mM sodium nitroprusside 용액은 실험 직전에 20 mM phosphate buffer(pH 7.4)에 용해한 다음 사용하였다. 반응액에 1 ml의 Greiss reagent 용액을 넣어 섞은 후 흡광도 542 nm에서 소거 활성을 측정하였다^{15,16)}. Greiss reagent 용액은 A용액과 B용액을 각각 50 ml씩 실험 직전에 섞어 만든 것을 사용하였다. A용액은 2% sulfanilamide와 4% phosphoric acid가 함유되도록 제조하였다. B용액은 0.2% naphthylethylenediamide 용액을 사용하였다. 함초 추출물의 DPPH 및 NO 라디칼에 대한 소거 활성을 조사하였고, 상대적인 자유 라디칼 소거 활성을 다음의 식을 활용하여 계산하였다.

$$\text{Relative radical scavenging activity(\%)} = [1 - (\text{extract absorbance}/\text{control absorbance})] \times 100$$

7. NO₂ 라디칼 소거작용

NO₂ 소거 효과는 pH를 달리한 조건에서 측정하였다^{17~19)}. 추출물 0.5 ml에 1 mM sodium nitrite 용액 0.5 ml를 섞은 후 최종 5 ml가 되도록 완충용액을 넣어 pH 조건을 달리하였다. 즉, pH 1.2는 0.1 N HCl 용액으로, pH 4.2와 pH 6.0은 0.2 M citric acid 용액으로 산성조건을 맞춘 후 완충용액으로 사용하였다. 추출물이 섞인 혼합물을 37°C 항온 교반기에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액 0.5 ml에 2.5 ml의 2% acetic acid 와 0.2 ml의 Greiss reagent를 넣어 섞은 후 상온에서 15분간 방치하였다. 사용된 Greiss reagent A용액과 B용액은 각각 1:1로 실험 직전에 섞어 만든 것을 사용하였다. A용액은 30% acetic acid에 1% sulfanilic acid를 함유 그리고 B용액은 30% acetic acid에 1% naphthylamine이 함유되도록 제조하였다. NO₂ 소거 효과는 반응액에 남은 NO₂의 양을 520 nm에서 비색측정을 통해 분석하였다. 반응액의 흡광도(S_{Abs}), Greiss reagent 대신에 중류수를 넣고 측정한 흡광도(B_{Abs}) 및 추출액 대신에 중류수를 첨가하여 측정한 흡광도(C_{Abs})를 이용하여 상대적인 NO₂ 소거 효과를 다음의 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{NO}_2 \text{ scavenging effect(\%)} = [1 - (S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}})/C_{\text{Abs}}] \times 100$$

8. 환원력 측정

함초 추출물의 환원력을 Yildirim 등²⁰⁾의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 추출액 1 ml에 2.5 ml의 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6)와 2.5 ml의 1% potassium ferricyanide를 첨가하여 섞은 다음 항온 수욕조(Waterbath, Sanwoo, Seoul, Korea)에서 50°C로 유지하면서 30분간 반응시켰다. 반응액에 2.5 ml의 10% trichloroacetic acid을 첨가하여 섞은 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 상층액 1 ml를 취해 시험관에 넣고 1

ml의 중류수와 0.2 ml의 0.1% FeCl₃을 첨가하여 균질한 다음 700 nm의 흡광도에서 환원력을 측정하였다.

9. Tyrosinase 활성 저해 효과 측정

함초 추출액 1 ml에 0.175 M phosphate buffer(pH 6.8) 0.4 ml와 5 mM L-DOPA 0.4 ml를 넣은 혼합액에 mushroom tyrosinase(110 units/ml, Sigma, st, Louis, USA) 0.2 ml를 첨가하여 37°C의 항온수욕조에서 10분간 반응시켰다. 분광광도계를 이용하여 475 nm에서 반응액의 흡광도(S_{Abs}), 효소액 대신에 중류수를 넣고 측정한 흡광도(B_{Abs}) 및 추출액 대신에 중류수를 첨가하여 측정한 흡광도(C_{Abs})를 이용하여 다음의 식을 통해 tyrosinase inhibition effect를 계산하였다¹⁹⁾.

$$\text{Inhibition effect(\%)} = [1 - (S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}})/C_{\text{Abs}}] \times 100$$

10. 통계처리

각 실험군 간의 비교분석은 SPSS 프로그램을 이용하여 ANOVA로 분석 후 5% 유의수준에서($\alpha=0.05$) Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 총 페놀 함량

빨간 함초의 물 및 25% 에탄올 추출물은 건조시료 1.0 g 당 약 0.4 mg이 얻어졌다. 녹색 함초에서는 약 0.3 mg의 추출물이 얻어졌다. 추출액 1 ml를 동결 건조하였을 때 얻어진 양은 빨간 함초 물 추출물과 25% 에탄올 추출물의 경우 18.7 mg과 18.8 mg으로 녹색 함초 물 추출물(12.3 mg)과 25% 에탄올 추출물(13.4 mg)보다 추출물의 수율이 좀 더 높았다(Table 1). 빨간 함초 및 녹색 함초의 4종의 추출물에서 조사된 총 페놀함량은 추출물 1 ml에서 9.5~10.2 mg으로 측정되었다. 즉, 건조된 함초 1.0 g에는 237~255 mg(약 2.4~2.6%)의 페놀 화합물이 함유된 것으로 측정되었다(Table 1). 함초 추출물 중 녹색 함초 25% 에탄올 추출물의 총 페놀 함량이 10.2 mg/ml로 높게 나타났다($p<0.05$). 건조된 식물성 식품 45종의 총 페놀함량은 0.1~5%, 그리고 감잎, 칡뿌리의 경우 2%(20 mg/g) 이상의 높은 함량으로 보고되어 있으며^{21,22)}, 이러한 결과와 비교할 때 함초 추출물의 총 페놀 함량은 비교적 높다고 할 수 있다. 페놀 성분의 항산화 활성은 구조에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있으나¹²⁾, 총 페놀 함량과 항산화 활성과는 상관관계가 있는 것으로 보고되어 있다^{12,23)}.

2. 지질 과산화 억제 효과(POV Test)

함초의 지질 과산화 억제 활성에 대한 결과는 Fig. 1, 2에

Table 1. The yields of Hamcho extracts and their amount of total soluble phenolics

	Extract yield ¹⁾		Total soluble phenolics ^{3,4)} (mg/ml, extract solution)
	g/g, dried weight	mg/ml, extract solution ²⁾	
Green Hamcho aqueous extract	0.25±0.01	12.3±0.4	9.7±0.1 ^b
Green Hamcho 25% ethanol extract	0.27±0.02	13.4±0.9	10.2±0.1 ^a
Red Hamcho aqueous extract	0.37±0.05	18.7±1.9	9.5±0.1 ^c
Red Hamcho 25% ethanol extract	0.38±0.03	18.8±1.0	9.7±0.1 ^b

¹⁾ Each value was expressed as the mean±S.D. of triplicate assays,

²⁾ Extract solution yield was 25 ml/g, dried Hamcho weight,

³⁾ A standard compound was gallic acid for total phenolic compounds assay,

⁴⁾ Values with alphabet within column are significantly different by Duncan's multiple range test($p<0.05$).

나타내었다. 추출하기 전의 건조된 녹색 및 빨간 함초의 항산화 활성을 비교하기 위해 잘 알려진 항산화제인 토코페롤과 비타민 C를 사용하였다(Fig. 1). 시료 3~5 mg에서는 두 함초 시료의 지질 과산화 억제 활성은 87~98%로 토코페롤 및 비타민 C보다 높은 활성을 보였다. 1 mg에서는 녹색 함초의 활성이 높았으나, 0.5 mg 수준에서는 두 함초 모두 지질 과산화 억제율이 50% 미만을 나타내었다. 항산화제인 토코페롤은 55%의 지질 과산화 억제율을 보였다. 본 연구 결과는 함초의 지질 산화 억제 활성에 대한 이전 보고와 마찬가지로 녹색 함초가 뛰어난 항산화 활성을 지니고 있음을 나타내었다^[6,7]. 뿐만 아니라 높은 항산화 활성을 나타낸 빨간 함초 역시 녹색 함초와 함께 천연 항산화 소재로서의 이용가치가 높은 것으로 평가되었다.

추출물의 경우, 75 μ l 이상에서는 네 추출물 모두 98%의 높은 항산화 활성을 나타냈다(Fig. 2). 그러나 25 μ l에서는 빨간 함초 추출물의 경우, 여전히 높은 항산화 활성을 보인 반면, 녹색 함초 추출물은 80% 이하로 활성이 낮아졌다. 12.5 μ l에서는 네 종류의 함초 추출물들의 항산화 활성은 40% 미

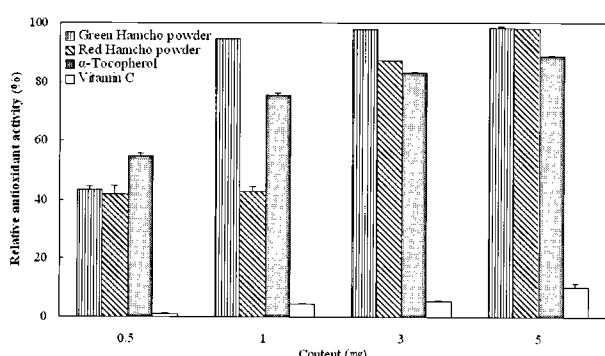


Fig. 1. Relative antioxidant activity of Hamcho powder against lipid peroxidation.

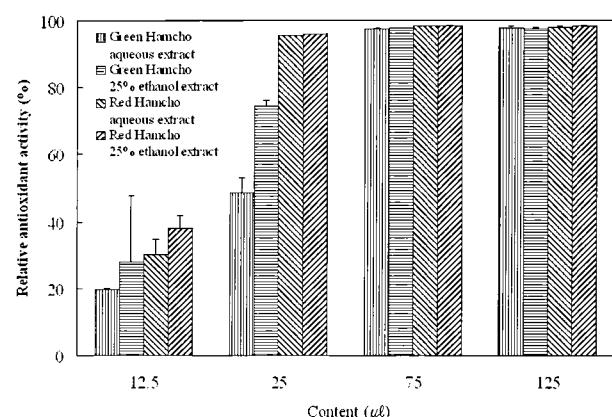


Fig. 2. Relative antioxidant activities of Hamcho extracts against lipid peroxidation.

만으로 낮아졌다. 낮은 농도에서 녹색 함초보다는 빨간 함초가 물 추출물보다는 25% 에탄올 추출물의 항산화 활성이 약간 더 높았다.

3. DPPH 라디칼 소거 활성 효과

DPPH 라디칼에 대한 함초 추출물의 소거 활성 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 모두 농도의 준적인 증가 경향을 보였다. 추출물들 모두 200 μ l의 농도에서 약 60% 이상의 높은 라디칼 소거 활성을 보였다. 함초 추출물들 중에서 빨간 함초 25% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성이 88%로 가장 높게 나타났다($p<0.05$). 빨간 함초는 25% 에탄올 추출물의 경우 100 μ l의 농도에서 다른 추출물과 비교하여 69%의 높은 소거 활성을 보였다. DPPH 라디칼 형성을 50%로 낮추는데 요구되는 농도 SC₅₀은 빨간 함초 25% 에탄올 추출물은 90.1 μ l로서 비타민 C 22 μ g의 소거 활성과 같았다^[15,24,25]. 또한, 라디칼 소거에 대한 항산화 활성이 높은 것으로 보고된 바 있는 녹색 함초 추출물보다^[8] 빨간

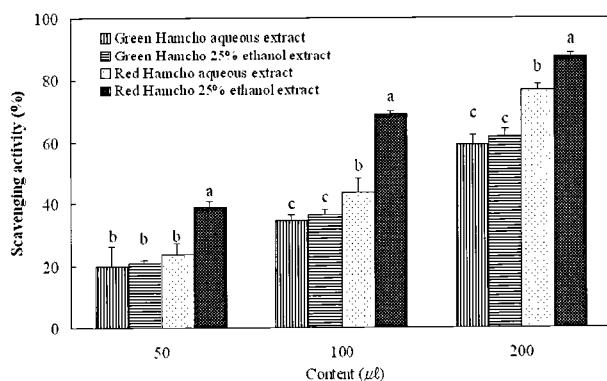


Fig. 3. DPPH radical scavenging activities of Hamcho extracts.

Values with different alphabet within the same content level are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

함초 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성이 높았다($p<0.05$).

4. NO 라디칼 소거 활성 효과

NO 라디칼 소거능에 대한 함초 추출물의 활성(Table 2)은 모두 농도의존적인 증가 경향을 보였다. NO 라디칼 소거에 대한 빨간 함초 추출물의 활성은 녹색 함초 25% 에탄올 추출물의 활성보다 낮았다. 즉, 빨간 함초의 물 및 25% 에탄올 추출물과 녹색 함초의 물 및 25% 에탄올 추출물의 SC_{50} 은 각각 $9.5 \mu\text{l}$, $9.0 \mu\text{l}$, $25.1 \mu\text{l}$ 및 $6.1 \mu\text{l}$ 로 계산되었으며, 동일 조건에서 비타민 C $77 \mu\text{g}$ 의 소거 활성과 유사한 수준을 나타내었다^{15,24,25)}. 녹색 함초의 물 추출물은 다른 추출물의 NO 라디칼 소거 활성과 비교하여 유의적으로 낮았다($p<0.05$).

5. NO_2 라디칼 소거 활성 효과

함초 추출물들의 NO_2 소거에 대한 활성을 pH를 달리한 조건에서 조사한 결과(Fig. 4), pH가 낮을수록 NO_2 소거 활성이

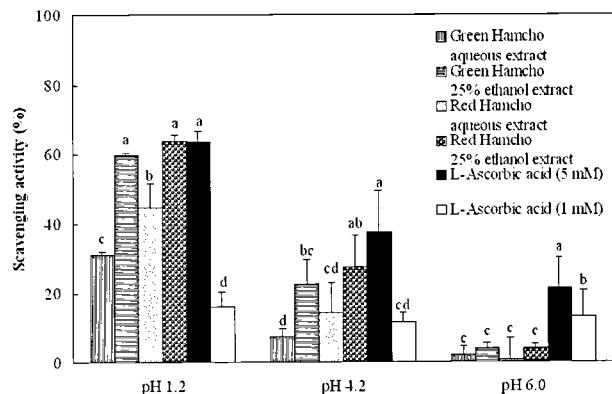


Fig. 4. NO_2 Scavenging activities of Hamcho extracts.

The pH was set at 1.2 using a 0.1 N HCl or at 4.2 and 6.0 using a 0.2 M citric acid buffer,

Values with different alphabet within the same pH level are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

더 높았다. NO_2 는 산성 조건에서 발암 물질인 nitrosamine의 형성을 보다 쉽게 하는 것으로 알려져 있다²⁶⁾. 그러므로 강산 조건에서 NO_2 라디칼을 소거하는 것은 매우 중요한 의미를 가진다. 감귤 추출물과 청미래 덩굴 추출물 등은 강산에서 NO_2 라디칼 소거 활성이 높은 것으로 보고되었다^{17,19)}. 그러나 일반적인 항산화제와 활성 정도를 비교한 결과를 제시하지 않아서 이를 추출물의 높은 항산화적 활성이 상대적으로 어느 정도의 활성을 의미하는지는 제시하지 못했다. 본 연구에서는 잘 알려진 항산화제인 비타민 C를 표준물질로 사용하여 함초 추출물의 NO_2 라디칼 소거 활성 정도를 비교하였다. pH 1.2에서 네 종류의 함초 추출물들의 NO_2 소거 활성은 1 mM의 비타민 C 활성보다 높았다. 빨간 함초 25% 에탄올 추출물의 활성은 약 64%로 5 mM의 비타민 C 활성과 거의 유사한 효과를 보였다($p<0.05$). pH 4.2에서는 5 mM의 비타민 C 활성보다는 추출물들의 활성이 낮았지만, 녹색 함초 및 빨

Table 2 . Radical scavenging activities of Hamcho extracts on NO radical

	Radical scavenging activity(%) ¹⁾				$SC_{50}(\mu\text{l})^2$
	1 μl	5 μl	10 μl	30 μl	
Green Hamcho aqueous extract	16.9 ± 6.6	27.9 ± 6.7	34.7 ± 3.8	53.1 ± 1.9	25.1 ± 1.4^c
Green Hamcho 25% ethanol extract	34.0 ± 3.5	50.1 ± 0.5	61.2 ± 1.6	61.8 ± 1.8	6.1 ± 0.0^a
Red Hamcho aqueous extract	17.0 ± 3.7	30.8 ± 7.5	51.2 ± 0.7	58.8 ± 1.8	9.5 ± 0.4^b
Red Hamcho 25% ethanol extract	3.2 ± 4.2	36.9 ± 6.9	52.3 ± 1.0	55.7 ± 4.3	9.0 ± 1.5^b

¹⁾ Each value was expressed as the mean \pm S.D. of triplicate assays,

²⁾ Values with different alphabet within column are significantly different by Duncan's multiple range test($p<0.05$).

간 함초 25% 에탄올 추출물은 1 mM의 비타민 C 활성보다는 높은 활성을 보였다. 그러나 pH 6.0에서는 함초 추출물들 모두 1 mM의 비타민 C 활성보다 낮은 활성을 보여 약산 이상의 조건에서는 NO₂ 라디칼 소거 활성이 거의 없는 것으로 판단되었다. 전반적으로 25% 에탄올 추출물이 물 추출물보다 높은 소거 활성을 보였으며, 녹색 함초보다는 빨간 함초의 NO₂ 라디칼 소거 활성이 높은 것으로 나타났다.

6. 환원력 효과

일반적으로 항산화제는 자체 산화되어 체내에서 중요한 역할을 하는 물질의 산화를 방지하며, 다른 물질에 대한 환원 능력이 높을수록 항산화 활성이 높은 것으로 평가한다. 함초 추출물의 Fe³⁺를 Fe²⁺로 환원시키는 환원 효과를 조사한 결과 (Fig. 5), 네 종류의 추출물 모두 농도 의존적으로 환원 효과가 증가했다. 추출물 0.1~1 mL의 농도 범위에서 빨간 함초 25% 에탄올 추출물의 환원 효과가 가장 높았으며, 그 다음으로 녹색 함초 25% 에탄올 추출물, 빨간 함초 물 추출물 그리고 녹색 함초 물 추출물의 순서로 환원 효과가 높게 나타났다. 강력한 환원제인 비타민 C의 환원력과 비교하여 볼 때, 추출물 1 mL의 농도에서 빨간 함초의 25% 에탄올 추출물의 환원 효과는 0.33 mg의 비타민 C 활성과 유사한 높은 환원 효과를 보였다.

7. Tyrosinase 활성 저해 효과

함초 추출물의 tyrosinase 활성 저해 효과를 Fig. 6에 나타내었으며, tyrosinase 저해 효과가 높은 것으로 알려진 kojic acid의 활성과 비교하여 조사하였다. 녹색 함초의 미백 효과 및 tyrosinase 저해 효과는 이미 보고된 바 있다⁹. 본 실험의 결과, 녹색 함초의 tyrosinase 저해 효과는 물 및 25% 에탄올을 추

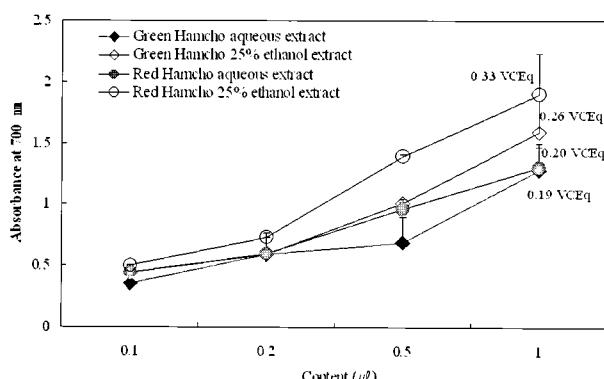


Fig. 5. Reducing power of Hamcho extracts.

High absorbance indicates high reducing power. Reducing power of control was 0.20 ± 0.01 at absorbance of 700 nm. VCEq(vitamin C equivalent, mg) was calculated from the standard curve of vitamin C at the level of 0.01~0.5 mg.

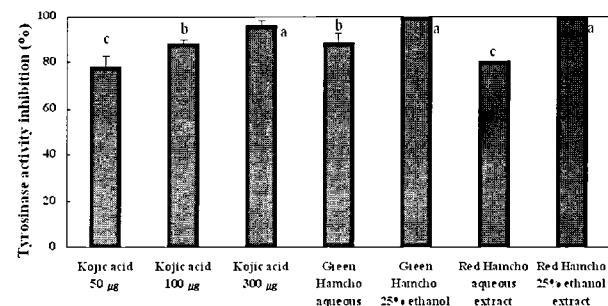


Fig. 6. Tyrosinase inhibition activities of Hamcho extracts.

Different alphabets mean significant difference by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

출물 1 mL에서 88% 이상으로 높은 활성을 지니는 것으로 나타났다. 뿐만 아니라 빨간 함초 추출물 역시 80% 이상으로 높은 tyrosinase 저해 효과를 나타냈으며, 이는 kojic acid 50 μg의 활성보다 높았다. 녹색 및 빨간 함초 25% 에탄올 추출물은 약 100%의 저해 활성을 보였으며, 이는 kojic acid 300 μg의 활성보다도 높았다.

Tyrosinase 활성 억제 효과, NO 라디칼 소거 활성에서는 총 페놀 함량이 높았던 녹색 함초 25% 에탄올 추출물의 항산화 활성이 가장 높았다. 즉, 함초의 미백 활성은 함초의 총 페놀 함량의 영향을 받는 것으로 판단되었다. 그러나 지질 과산화 억제 효과, DPPH 라디칼 소거 및 환원력 실험에서는 총 페놀 함량과 항산화 활성과의 양적 상관관계가 없었다. 본 연구 결과 총 페놀 함량이 항산화 활성에 영향을 미치는 정도가 다르며, 지질 과산화 억제, DPPH와 NO₂ 라디칼 소거 그리고 환원력 활성에 페놀 성분 이외의 다른 성분이 역할을 하는 것으로 검토되었다. 전체 결과를 통해 빨간 함초 추출물은 이미 보고된 바 있는 녹색 함초 추출물과 함께 천연 항산화 소재로서의 이용 가능성이 높은 것으로 판단되었다.

요약 및 결론

건조된 빨간 함초와 녹색 함초를 물 또는 25% 에탄올로 추출하여 총 페놀 성분 함량, DPPH, NO와 NO₂ 라디칼의 소거 활성, 환원 능력 및 tyrosinase 활성 저해 효과를 분석하였다. 함초의 물 및 25% 에탄올 추출물의 얻어진 양은 건조 시료 1.0 g에서 약 0.3~0.4 mg이었다. 총 페놀 함량은 추출물 1 mL에서 9.5~10.2 mg 즉 건조 함초 1.0 g당 237~255 mg으로 측정되었으며, 녹색 함초의 25% 에탄올 추출물이 가장 높게 나타났다 ($p < 0.05$). 건조된 녹색 및 빨간 함초의 지질 과산화 억제 활성은 시료 3~5 mg에서 87~98%로 토코페롤 및 비타민 C보다 높은 활성을 보였다. 추출물의 DPPH, NO 및 NO₂ 라디칼

소거 활성은 모두 농도 의존적인 증가 경향을 보였다. 추출물들 모두 200 μl 의 농도에서 약 60% 이상의 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 보였고, 빨간 함초 25% 에탄올 추출물의 SC_{50} 이 90.1 μl 로 DPPH 라디칼 소거 활성이 가장 높게 나타났다 ($p<0.05$). NO 라디칼 소거에 대한 빨간 함초의 물 및 25% 에탄올 추출물과 녹색 함초의 물 및 25% 에탄올 추출물의 SC_{50} 은 각각 9.5 μl , 9.0 μl , 25.1 μl 및 6.1 μl 로 계산되었으며, 녹색 함초 25% 에탄올 추출물이 1~30 μl 의 농도에서 가장 높은 활성을 보였다($p<0.05$). 함초 추출물들은 pH 1.2에서 전반적으로 높은 NO_2 소거 활성을 보였다. pH 1.2에서 네 종류의 함초 추출물들의 NO_2 소거 활성은 1 mM의 비타민 C 활성보다 높았으며, 빨간 함초 25% 에탄올 추출물의 활성은 약 64%로 5 mM의 비타민 C 활성과 거의 유사한 효과를 보였다 ($p<0.05$). 네 종류의 함초 추출물들 모두 농도 의존적으로 환원 효과가 증가했다. 추출물 0.1~1 mL 의 농도 범위에서 빨간 함초 25% 에탄올 추출물의 환원 효과가 가장 높게 나타났으며, 추출물 1 mL 의 농도에서 0.33 mg의 비타민 C 활성으로 표현되는 높은 환원 효과를 보였다. 함초 추출물들의 tyrosinase 활성 저해 효과는 1 mL 추출물이 tyrosinase 활성 저해제인 kojic acid 50 μg 의 활성보다 높은 88% 이상의 항산화 활성을 보였다. 본 연구의 결과를 통해 빨간 함초 추출물은 이미 항산화 활성이 알려져 있는 녹색 함초와 더불어 천연 항산화 소재로서의 개발 가치가 높은 것으로 검토되었다.

참고문헌

- Choi, JK. Korean herbs, flowers, and trees as traditional medicine 1, pp.63-74. Hanmunhwa, Seoul. Korea. 2001
- Min, JG, Lee, DS, Kim, TJ, Park, JH, Cho, TY and Park, DI. Chemical composition of *Salicornia herbacea* L. *J. Food Sci. Nutr.* 7:105-107. 2002
- Shimizu, K. Effects of salt treatments on the production and chemical composition of salt wort (*Salicornia herbacea* L.), rhodesgrass and alfalfa. *Jpn. J. Trop. Agr.* 44:61-67. 2000
- Lee, JS and Ihm, BS. Studies on the vegetation of the salt marsh in the southwestern coast of Korea. *Kor. J. Ecology*. 11:175-192. 1998
- Lee, CH, Kim, IH, Kim, YE, Oh, SW and Lee, HJ. Determination of betaine from *Salicornia herbacea* L. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 33:1584-1587. 2004
- Han, SK, Kim, SM and Pyo, BS. Antioxidative effect of glasswort(*Salicornia herbacea* L.) on the lipid oxidation of pork. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 23:46-49. 2003
- Han, SK and Kim, SM. Antioxidative effect of *Salicornia herbacea* L. grown in closed sea beach. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 32:207-210. 2003
- Lee, JT, Jeong, YS and An, BJ. Physiological activity of *Salicornia herbacea* L. and its application for cosmetic materials. *Kor. J. Herbology*. 17:51-60. 2002
- Lee, JT and An, BJ. Detection physical activity of *Salicornia herbacea* L. *Kor. J. Herbology*. 17:61-69. 2002
- Jo, YC, Ahn, JH, Chon, SM, Lee, KS, Bae, TJ and Kang, DS. Studies on pharmacological effects of glasswort(*Salicornia herbacea* L.). *Kor. J. Medicinal Crop. Sci.* 10:93-99. 2002
- Choi, IK. Protective effect of *Salicornia hearbacea* L. against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Duksung Bull. Pharm. Sci.* 9:51-69. 1998
- Rapisarda, P, Tomaino, A, Cascio, RL, Bonina, F, Pasquale, AD and Saija, A. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *J. Agric. Food Chem.* 47:4718-4723. 1999
- Osawa, T and Namiki, MA. Novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *Eucalyptus* leaves. *Agric. Biol. Chem.* 45:735-739. 1981
- Song, HS, Ueda, H and Sawamura, M. Antioxidative activity of citrus peel essential oils and their components against linoleic acid oxidation. *Food Sci. Technol. Res.* 7:50-56. 2001
- Song, HS and Moon, KY. *In vitro* antioxidant activity profiles of β -glucans isolated from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2. *Food Sci. Biotechnol.* 15:437-440. 2006
- Marcocci, L, Packer, L, Dory-Lefait, MT, Sekaki, A and Gardés-Albert, M. Antioxidant action of *Ginkgo biloba* extract Egb 76. *Methods Enzymol.* 234:462-475. 1994
- Chawla, SP, Jo, C, Kang, HJ, Kim, MJ and Byun, MW. Bioactivities of citrus (*Citrus unshiu*) peel extracts subjected to different extraction conditions, storage temperatures and irradiation. *J. Food Sci. Nutr.* 8:349-355. 2003
- Kang, YH, Park, YK and Lee, GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Kor. J. Food Technol.* 28:232-239. 1996
- Song, HS, Park, YH, Jung, SH, Kim, DP, Jung, YH, Lee, MK and Moon, KY. Antioxidant activity of extracts from *Smilax china* root. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35:1133-1138. 2006
- Yildirim, A, Mavi, A and Kara, AA. Determination of

- antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J. Agric. Food Chem.* 49:4083-4089. 2001
21. Lee, JH and Lee, SR. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 26:310-316. 1994
22. Shin, SC. Studies on the components of Korean lettuce. Ph.D. Thesis, Chonnam University, Kwangju. Korea. 1989
23. Park, YK, Lee, WY, Park, SY, Ahn, JK and Han, MS. Antioxidant activity total phenolic content of *Callistemon citrinus* extracts. *Food Sci. Biotechnol.* 14:212-215. 2005
24. Song, HS, Lee, YJ, Kim, SK, Moon, WK, Kim, DW, Kim, YS and Moon, KY. Downregulatory effect of AGI-1120(α -glucosidase inhibitor) and chaga mushroom(*Inonotus obliquus*) on cellular NF- κ B activation and their antioxidant activity. *Kor. J. Pharmacogn.* 35:92-97. 2004
25. Song, HS, Park, YH, Kim, SK, Moon, WK, Kim, DW and Moon, KY. Downregulatory effect of extracts from mistletoe(*Viscum album*) and pueraria root(*Pueraria radix*) on cellular NF- κ B activation and their antioxidant activity, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 33:1594-1600. 2004
26. Jensen, FB. Uptake and effects of nitrite and nitrate in animals In: Nitrogen metabolism and excretion. Walsh, PJ and Wright, P(eds), pp.299-300. CRC Press Inc., New York USA. 1995

(2007년 4월 3일 접수; 2007년 5월 10일 채택)