

국내산 자색고구마(*Ipomoea batatas* L. Lam.) 추출물의 항산화활성 평가

공 봉 주 · 한 성 수* · 하 지 훈[†] · 박 수 남[†]

서울과학기술대학교 정밀화학학과 화장품종합기술연구소, *(주)아로코스메틱
(2014년 12월 5일 접수, 2014년 12월 12일 수정, 2014년 12월 26일 채택)

Antioxidant Activities of *Ipomoea batatas* L. Lam. (Purple Sweet Potato) Extracts Cultured in Korea

Bong Ju Kong, Sung Soo Han*, Ji Hoon Ha[†], and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, Cosmetic R&D Center, Seoul National University of Science and Technology,
232 Gongneungro, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea

*Arocsmetic Co. Ltd., Seoul 136-150, Korea

(Received December 5, 2014; Revised December 12, 2014; Accepted December 26, 2014)

요약: 본 연구에서는 국내산 자색고구마(*Ipomoea batatas* L. Lam.) 추출물을 제조하고 이들 추출물에 대하여 항산화 활성을 측정하였다. 자색고구마 추출물은 70% 에탄올 추출물과 그 추출물로부터 에틸아세테이트 분획으로 제조하였다. 추출물 및 분획의 수율은 건조 분말 당 각각 39.2% 및 3.49%이었다. 이들 추출물/분획에 대한 항산화 활성을 확인하기 위해 자유 라디칼(1,1-phenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성과 루미놀 발광법을 이용한 총항산화능 그리고 세포손상에 대한 보호효과를 측정하였다. 자유 라디칼 소거활성(FSC₅₀)은 70%에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획이 각각 90.16 µg/mL와 7.69 µg/mL를 나타내었다. 비교 대조군으로 사용한 (+)-α-tocopherol의 라디칼 소거활성은 8.98 µg/mL로, 에틸아세테이트 분획의 라디칼 소거활성이 보다 큼을 알 수 있었다. 루미놀 발광법을 이용한 70% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획의 총 항산화능(OSC₅₀)은 각각 5.75 µg/mL와 1.92 µg/mL이었다. 비교 대조군으로 사용한 항산화 효능이 매우 우수한 L-ascorbic acid의 항산화능은 1.50 µg/mL로 추출물의 에틸아세테이트 분획과 유사한 활성을 나타내었다. ¹O₂로 유도된 사람 적혈구의 세포손상에 대한 보호 효과 실험에서 에틸아세테이트 분획은 농도 의존적(5 ~ 50 µg/mL)으로 세포보호 효과를 나타내었다. 에틸아세테이트 분획의 세포보호활성(τ₅₀)은 5 µg/mL에서 45.6 min으로 모든 농도에서 비교 대조군인 (+)-α-tocopherol 보다 더 높은 세포보호 효과를 나타내었다. 이상의 결과들로부터 자색고구마의 에틸아세테이트 분획은 뛰어난 항산화능을 나타내며, 이는 피부노화 억제를 위한 항노화 기능성 화장품원료로 응용될 수 있는 가능성을 시사하였다.

Abstract: In this study, the antioxidative effects for the extracts of purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam.) were investigated. The purple sweet potato was extracted with 70% ethanol and the ethyl acetate fraction was obtained from the extracts. The yields of extract and ethyl acetate fraction were 39.2% and 3.49% per dried powder, respectively. To confirm the antioxidative effects of the extracts, free radical scavenging activities (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), total antioxidant capacity by luminol-dependent chemiluminescence assay and the protective effects against reactive oxygen species (ROS) in erythrocytes were measured. Free radical scavenging activities (FSC₅₀) of the 70% ethanol extract and ethyl acetate fraction were 90.16 µg/mL and 7.69 µg/mL, respectively. The free radical scavenging activity of ethyl acetate fraction was higher than that of (+)-α-tocopherol (8.98 µg/mL). Total antioxidant capacities (OSC₅₀) of the 70% ethanol extract and ethyl acetate fraction were 5.75 µg/mL and 1.92 µg/mL, respectively. The capacity of ethyl acetate fraction

[†] 주 저자 (e-mail: snpark@seoultech.ac.kr, jihoon-cos@hanmail.net
call: 02)970-6451)

was similar to L-ascorbic acid, known as a prominent water soluble antioxidant (1.50 $\mu\text{g/mL}$). The cellular protective effects of the ethyl acetate fractions on the $^1\text{O}_2$ -induced cellular damage of human erythrocytes were increased in a concentration dependent manner (5 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$). The τ_{50} value in 5 $\mu\text{g/mL}$ was 45.6 min which was higher than that of (+)- α -tocopherol in all concentrations. These results indicate that the ethyl acetate fraction of purple sweet potato (*I. batatas*) has the excellent antioxidative capacity and could be applicable to anti-aging cosmetic ingredients for skin aging inhibition.

Keywords: *Ipomoea batatas* L. Lam., anthocyanin, antioxidant activity, DPPH

1. 서 론

항노화에 대한 관심이 지속적으로 증가함에 따라 피부 노화 연구가 점차 활발해지고 있다. 특히 피부노화는 태양 자외선과 밀접한 관계가 있으며, 자외선에 의한 피부노화를 광노화라고도 한다. 피부가 자외선에 노출될 시, 자유 라디칼 또는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)가 생성된다. 활성산소는 피부노화의 원인 물질로 자외선뿐만 아니라 정상적인 대사 과정과 스트레스, 흡연, 공해 등 여러 환경적 요인에 의해 생성되어 피부에 산화적 손상을 일으킨다. 이러한 활성산소종에는 슈퍼옥사이드 음이온 라디칼 (superoxide anion radical, $\text{O}_2^{\cdot-}$), 하이드록실 라디칼 (hydroxy radical, $\cdot\text{OH}$)과 같은 라디칼들과 과산화수소 (hydrogen peroxide, H_2O_2), 싱글렛옥시젠(singlet oxygen, $^1\text{O}_2$)과 같은 비 라디칼종이 있으며 이들과 생체 분자들의 반응에서 생성되는 퍼옥시 라디칼(peroxyl radical, $\text{ROO}\cdot$) 및 알콕시 라디칼(alkoxyl radical, $\text{RO}\cdot$)도 포함된다. 이들은 다른 물질들과 반응성이 매우 크다. 특히 그중에서도 세포 손상이나 피부 노화를 주도하는 활성산소로는 싱글렛옥시젠($^1\text{O}_2$)과 하이드록실 라디칼($\cdot\text{OH}$)이 있다[1,2]. 생체 내에서 만들어진 활성산소는 생체를 구성하는 세포나 조직들, 그리고 세포 구성성분들인 지질, 단백질, 핵산(DNA) 및 생체 고분자들과 반응하여 그 성분들을 파괴하거나 손상을 일으킬 수 있다[3-6]. 정상적인 지질, 단백질 및 DNA는 생체뿐만 아니라 피부를 건강하게 유지시키는데 매우 중요한 요소로 이들이 손상될 시 피부 노화에 영향을 미칠 수 있다. 구체적으로 피부의 탄력을 유지하는 콜라겐, 엘라스틴 섬유의 사슬절단 및 비정상적 교차결합을 유도하거나 이들의 분해 효소인 matrix metalloproteinases (MMPs, 예 collagenase 등)을 발현시켜 피부주름을 생성시키고[7,8], 멜라닌 생성반응을 촉진

하여 기미, 주근깨를 발생시키는[9,10] 등 피부노화를 가속화 시킨다. 피부는 이러한 활성산소로부터 세포 및 조직을 보호하기 위한 항산화 시스템을 구축하고 있으며 슈퍼옥사이드 디스뮤테이즈(superoxide dismutase, SOD), 카탈레이즈(catalase) 및 글루타치온 퍼옥시데이스(glutathione peroxidase/reductase)와 같은 효소적, 그리고 비타민 E (α -tocopherol), 비타민 C (L-ascorbic acid), 유비퀴놀(ubiquinol), 카로티노이드(carotenoid) 및 플라보노이드(flavonoid) 등의 비효소적 항산화제들이 존재하여 피부에서 생성된 해로운 활성산소들을 소거하는 역할을 한다[11]. 하지만 자외선 등에 의한 노출로 과잉의 활성산소가 생성되는 경우 이를 붕괴시킬 수 있으며 피부의 산화적 손상을 증가시킬 수 있다. 따라서 피부 노화를 지연시키고 억제하기 위한 전략으로 피부에 안전하고 항산화 효능이 큰 항산화제를 탐색하고, 이를 이용하여 피부항산화 방어망을 구축하여 피부노화를 억제할 수 있는 시스템 개발이 절실히 요구되고 있다[12,13].

자색고구마(*Ipomoea batatas* L. Lam.)는 일반 고구마와 달리 강한 자색을 띤다. 이러한 자색의 주성분은 안토시아닌으로 알려져 있고 이들 색소는 천연 식용 색소로서 널리 사용되고 있다. 안토시아닌은 약 300여 종이 존재하며, 우수한 항산화 효과를 나타낸다고 보고되고 있으며[14-17], 이외에도 항균활성[18], 항고혈압 및 간 보호기능도 있는 것으로 알려진다[19]. 그러나 열이나 빛에 불안정해서 사용 시나 보관에 유의해야 한다. 자색고구마에는 안토시아닌 dicaffeoyl 유도체와 peonidin-3-glucosylglucoside-5-glucoside가 주성분으로 함유되어 있으며 다른 것에 비해 열과 빛에 비교적 안정한 것으로 보고되고 있다[20]. 본 연구실에서는 안토시아닌 함유 천연 추출물로서 아로니아베리(*Aronia melanocarpa*)의 항산화 활성을 조사한 선행 연구가 있다[21]. 본 연구에서는 자색고구마의 70% 에탄

을 추출물과 그 에틸아세테이트 분획에 대하여 피부 광노화에 중요한 $^1\text{O}_2$ 및 $\cdot\text{OH}$ 을 포함하는 새로운 항산화 활성 측정법을 이용하여 항산화능을 재평가하였고, 따라서 자색고구마 추출물이 이들 활성산소에 대한 항산화 활성이 우수함을 확인하였다. 또한 이를 통해 자색고구마 추출물이 기능성 항노화 화장품원료로서 응용 가능성이 있는지를 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 기기 및 시약

자유 라디칼 소거활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical과 화학발광 실험에 사용한 luminol과 EDTA, 비교물질로 사용된 (+)- α -tocopherol과 L-ascorbic acid는 Sigma (USA)에서 구입하였다. 또한 화학발광 실험에 사용한 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan)에서, H_2O_2 는 Daejung Chemical & Metals (Korea)에서 구입하였다. 에탄올, 에틸아세테이트 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. UV-VIS spectrophotometer는 Varian (Australia), 화학발광 실험에 사용된 6-channel LB9505 LT는 Berthold (Germany)사의 제품을 사용하였다.

2.2. 자색고구마 추출물 분획 제조

자색고구마 분말(동이약초, Korea) 100 g을 70% 에탄올 2 L에 침적시키고 24 h 동안 교반하여 추출하였다. 70% 에탄올 추출물 50 mL를 40 °C에서 감압 증류하여 extract fraction 0.98 g (수율 39.2%)을 얻었으며, 70% 에탄올로 모액 200,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 제조하여 실험에 사용하였다. 남은 70% 에탄올 추출물은 감압 증류하여 수증만 남겼다. 그중 350 mL를 에틸아세테이트 (ethylacetate, EtOAc)와 1 : 1 비율로 3번 추출하였다. 그 후 망초산(Na_2SO_4)를 이용하여 물을 제거하고 감압 증류하여 자색고구마 에틸아세테이트 분획(0.61 g, 수율 3.49%)을 얻었으며, 100% 에탄올로 50,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 제조하여 실험에 사용하였다.

2.3. 자색고구마 추출물의 항산화 효과 측정

2.3.1. DPPH법을 이용한 자유 라디칼 소거활성

자유 라디칼은 높은 반응성을 가진 홀 전자를 갖는

원자단으로 매우 불안정하다. 이러한 특징으로 피부 조직에 손상을 입혀 피부 노화를 가속화시킨다. 자색고구마 추출물에 대한 free radical 소거활성 측정은 DPPH를 이용하였다. 실험 방법은 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 에탄올 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 추출물 1 mL을 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군(experiment)으로 하여 다음 식에 의해 DPPH의 활성 저해율을 나타내었다. Free radical 소거활성은 DPPH의 농도가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity, FSC₅₀, $\mu\text{g}/\text{mL}$)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

2.3.2. 루미놀 발광법을 이용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어서 활성산소 소거활성(총항산화능)

Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계는 각종 활성산소종($\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ 그리고 H_2O_2)를 생성시키며 철과 같은 전이금속은 특히 반응성이 큰 $\cdot\text{OH}$ 를 생성시키는데 중요한 역할을 한다. 이 실험에서는 이러한 활성산소에 의해 루미놀이 나타내는 빛을 화학발광기로 검출하여 측정하였다. 실험 방법은 화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 자색고구마 추출물을 50 μL 첨가한 후, 2.5 mM EDTA 40 μL , 5 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 μL , 35 mM 루미놀 80 μL 를 넣고 섞은 후 5 min 동안 항온시켰다. 그 후 Fenton 반응을 일으키기 위해 150 mM H_2O_2 40 μL 를 넣고 25 min 동안 화학발광 정도를 측정하였다. 대조군(control)은 추출물 대신 증류수를 첨가하였고, 공시험(blank)은 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 와 H_2O_2 대신 증류수를 첨가하였다. 화학발광기 6-channel LB9505 LT의 각 채널은 실험 전에 보정하여 채널 간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광으로 측정된 저해율을 다음 식과 같이 나타내었고, 활성산소 소거 활성의 크기는 화학발광의 세기가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity, OSC₅₀, $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Control의 cpm} - \text{Sample의 cpm})}{(\text{Control의 cpm} - \text{Blank의 cpm})} \times 100$$

2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포보호 효과 측정

2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

적혈구는 건강한 성인 남녀로부터 얻었다. 채혈 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 넣은 후, 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심 분리하여 적혈구와 혈장을 분리하였다. 분리한 적혈구는 0.9% saline phosphate buffer (pH 7.4, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 9.6 mM, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.6 mM)로 3회 반복하여 세척하였다. 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D.값이 0.6이었으며 이때 적혈구 수는 약 1.5×10^7 cells/mL이었다.

2.4.2. 자색고구마 추출물의 광용혈 억제 효과

1.5×10^7 cells/mL 적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관(No. 9820)에 넣은 후, 추출물 용액을 농도별로 각각 50 μL 씩 첨가하였다. 암소에서 30 min간 pre-incubation시킨 후, 광증감제인 rose bengal (12 μM) 0.5 mL를 가하고 파라필름으로 입구를 봉한 후 15 min 동안 광조사 하였다. 광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50 cm \times 20 cm \times 25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min 간광을 조사하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 파괴정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance, %)로부터 구하였다. 이 과정에서 적혈구 현탁액 투광도의 증가는 적혈구의 용혈정도에 비례한다. 모든 실험은 20 $^{\circ}\text{C}$ 항온실에서 행하였다.

자색고구마 추출물이 광용혈에 미치는 효과는 암반응 h와 용혈 정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50%가 용혈되는 h인 τ_{50} 을 구하여 비교하였다. 대조군은 τ_{50} 이 29.5 min으로 오차 범위 ± 0.8 min 이내로 모든 경우의 실험에서 재현성이 양호하게 나타났다. Rose bengal을 첨가하고 광조사를 안했을 경우와 rose bengal을 첨가하지 않고 광조사만 했을 경우는 모두 암반응 120 min까지는 용혈이 거의 일어나지 않았다.

모든 실험은 3회 반복하여 평균하였다.

$$\text{Relative protective effects} = \frac{\text{sample } \tau_{50}}{\text{control } \tau_{50}}$$

2.5. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5% 유의 수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 자색고구마 추출물의 항산화 활성

3.1.1. DPPH법을 이용한 자유 라디칼 소거활성

피부가 자외선에 노출되어 생성되는 활성산소 중에서 라디칼 종류인 하이드록실 라디칼($\cdot\text{OH}$)과 수퍼옥사이드($\text{O}_2^{\cdot-}$)는 홀수 전자를 가지고 있어서 에너지가 높고 불안정하며 다른 물질과 반응성이 크다. 이러한 라디칼과 활성산소는 세포의 막 등에서 자동적으로, 연쇄적으로 산화반응을 일으켜서 세포를 손상시키고 파괴한다. 이러한 라디칼 연쇄반응은 지질을 산화시켜서 과산화 지질을 만들고 과산화지질은 피부노화를 가속화시킨다. 이때 주위에 항산화제가 존재하면 라디칼 또는 활성산소에 항산화제가 전자를 주어서 연쇄반응을 차단시킬 수 있다. 따라서 피부노화를 막기 위해서는 전자를 잘 주어 활성산소를 없애고 피부 세포를 보호할 수 있는 항산화제가 필요하다. 이러한 항산화제의 항산화능은 라디칼 소거 능력으로 확인할 수 있다. 이 실험은 라디칼인 DPPH를 이용하여 측정할 수 있다. 자색고구마 70% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획을 DPPH와 반응시켜서 라디칼 소거활성을 측정했다. Figure 1은 자색고구마 70% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획의 라디칼 소거활성을 측정한 결과이다. 70% 에탄올 추출물의 라디칼 소거활성은 $90.16 \mu\text{g/mL} \pm 1.72$, 에틸아세테이트 분획의 라디칼 소거활성은 $7.69 \mu\text{g/mL} \pm 0.35$ 로 나타났다. 라디칼 소거활성 수치가 작을수록 활성이 큼을 나타낸다. 자색고구마의 에틸아세테이트 분획은 항산화 효과가 크게 나타났다. 가장 우수한 라디칼 소거활성을 나타낸다고 알려진 α -tocopherol ($8.98 \mu\text{g/mL} \pm 0.43$)과 거의 같은 라디칼 소거활성 즉 항산화 활성을 나타내었다.

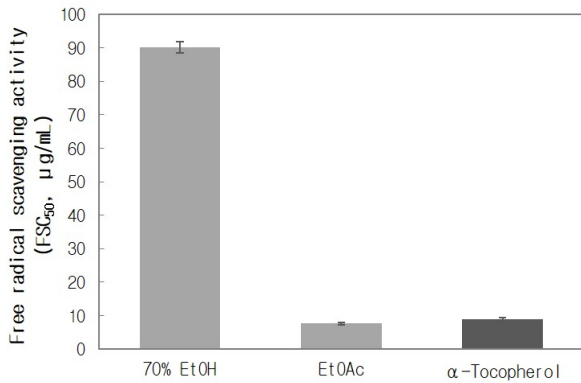


Figure 1. Free radical scavenging ability of purple sweet potato.

이는 저자들이 이전에 보고하였던 안토시아닌 함유 추출물인 아로니아베리 열매 50% 에탄올 추출물 (103.95 µg/mL)이나 에틸아세테이트 분획(16.29 µg/mL)보다도 더 큰 항산화 활성을 나타내었다.

3.1.2. 루미놀 발광법을 이용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂계에 있어서 활성산소 소거활성(총항산화능)

또 다른 활성산소를 발생시키는 실험방법이 있다. Fe³⁺-EDTA/H₂O₂계에서는 Fe³⁺에 의해 촉매되는 Fenton 반응을 통해 활성산소인 하이드록실 라디칼(\cdot OH), 수퍼옥사이드 라디칼(O₂⁻), 과산화수소(H₂O₂)와 같은 활성산소가 발생된다. 생성된 활성산소의 작용으로 루미놀 시약이 산화되면 루미놀은 에너지를 갖는 들뜬 상태로 되고 이어서 바닥 상태로 떨어지면서 빛(발광)을 내게된다. 이 실험에서는 다양한 여러 종류의 활성산소가 생성된다. 이 루미놀 발광 실험법은 여러 종류의 활성산소들을 없앨 수 있는 측정법이기 때문에 그 실험 결과는 총항산화능을 나타낸다. 이 루미놀의 발광 정도를 측정함으로써 활성산소 소거활성(즉, 총항산화능)을 비교할 수 있다. Figure 2는 자색고구마 70% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획의 활성산소 소거활성을 측정한 결과이다. 막대 그래프의 크기가 작을수록 항산화능이 크다. 70% 에탄올 추출물의 총항산화능(OSC₅₀)은 15.75 µg/mL ± 0.85이었으며, 에틸아세테이트 분획의 총항산화능은 1.92 µg/mL ± 0.016이었다. 에틸아세테이트 분획의 항산화능은 항산화능이 매우 크다고 알려진 L-ascorbic acid (1.50 µg/mL ± 0.43)와 비교할 때 거의 비슷한 큰 항산화능

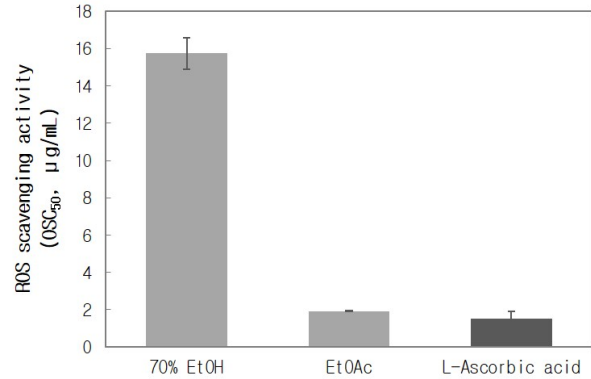


Figure 2. ROS scavenging ability of purple sweet potato extracts (total antioxidant capacity).

을 나타내었다. 이 항산화능 또한 안토시아닌 함유 아로니아베리 열매의 에탄올 추출물(25.00 µg/mL)과 에틸아세테이트 분획(2.86 µg/mL)보다 우수함을 확인하였다[21].

3.2. ¹O₂으로 유도된 사람 적혈구의 파괴에 대한 세포보호 효과

활성산소(¹O₂)에 의한 세포손상을 확인하기 위해 광증감 반응을 이용하였다. 생체 내에는 porphyrin이나 riboflavin과 같은 광증감제들이 존재하며, 이들은 자외선에 노출될 시 광화학적 광증감 반응(photosensitization)을 통해 ¹O₂을 비롯한 다양한 활성산소종을 생성시킨다. 이러한 광증감 반응의 주생성물인 ¹O₂은 반응성이 매우 큰 산화제로 항산화제를 파괴시켜 항산화 방어체계를 붕괴시키고, 세포막에 침투하여 인지질을 포함한 세포 구성성분들의 라디칼 자동산화반응을 개시시킨다. 개시된 라디칼 연쇄반응은 결국 세포막을 파괴시키고 세포손상을 야기하게 된다. 본 실험에서는 광증감제로 rose-bengal을 사용하여 ¹O₂을 발생시켰으며, 이로 유도되는 세포의 손상을 나타내는 지표로써 적혈구의 용혈 정도를 측정하여 자색고구마 추출물의 세포보호 효과를 확인하고자 하였다. 비교물질은 지용성 항산화제인 (+)-α-tocopherol을 사용하였다.

자색고구마의 70% 에탄올 추출물, 에틸아세테이트 분획물에 대하여 5, 10, 25 및 50 µg/mL의 농도에서 적혈구 세포가 50% 파괴되는데 걸리는 시간(τ₅₀)을 통해 세포보호 효과를 비교하였다(Table 1). 세포보호 효과가 높을수록 이 값은 크게 측정된다. 시료를 넣지

Table 1. Cellular Protective Effects of Purple Sweet Potato and (+)- α -Tocopherol on Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	τ_{50} (half time of hemolysis ¹⁾)			
	5	10	25	50
EtOAc	45.6 (± 0.6)	44.4 (± 1.4)	54.4 (± 0.1)	69.5 (± 0.6)
70% EtOH	68.2 (± 2.2)	42.4 (± 0.9)	38.5 (± 1.3)	36.8 (± 0.6)
(+)- α -Tocopherol	35.4 (± 2.1)	37.0 (± 2.1)	40.2 (± 0.5)	43.6 (± 0.9)

¹⁾Control, $\tau_{50} = 29.5 \pm 0.8$ min

얇은 대조군의 경우 약 29.5 ± 0.8 min으로 재현성은 양호하게 나타났다. 자색고구마의 에틸아세테이트 분획물은 각 농도에서 τ_{50} 이 45.6, 44.4, 54.4 그리고 69.5 min으로 10 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 농도 의존적인 세포보호 효과를 나타내었다. 또한 모든 농도에서 비교 물질인 (+)- α -tocopherol보다 우수한 세포보호활성을 보였다. 하지만 70% 에탄올 추출물의 경우 각 농도에서 τ_{50} 이 68.2, 42.4, 38.5 그리고 36.8 min으로 농도가 높아질수록 용혈이 증가하는 경향을 나타내었다. 5 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도 범위에서 에틸아세테이트 분획물은 모두 (+)- α -tocopherol보다도 큰 세포보호활성을 나타내었다.

이러한 결과는 자색고구마의 에틸아세테이트 분획물이 주요 항산화제인 (+)- α -tocopherol보다 우수한 세포 보호능을 가졌음을 보여준다. 자색고구마의 에틸아세테이트 분획물이 안토시아닌 등의 페놀성화합물을 함유하고 있고 이들 화합물이 항산화능을 나타내는 항산화제의 역할을 나타냈음을 시사하는 것으로 판단된다.

4. 결 론

본 연구에서는 자색고구마추출물을 항산화제로서 화장품에 응용 가능성이 있는지를 확인하기 위해 70% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획을 제조하고 추출물에 대한 그 항산화 활성을 측정하였다.

1) 자유 라디칼 소거활성 측정 실험에서 70% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획은 각각 90.16

$\mu\text{g/mL} \pm 1.72$ 와 $7.69 \mu\text{g/mL} \pm 0.35$ 의 자유 라디칼 소거활성을 나타냈다(Figure 1). 대조군으로 강력한 항산화제인 (+)- α -tocopherol의 라디칼 소거활성(FSC₅₀)은 $8.98 \mu\text{g/mL} \pm 0.43$ 로 자색고구마 에틸아세테이트 분획의 라디칼 소거 항산화 활성은 이보다 우수하였다. 이는 저자들이 이전에 보고하였던 안토시아닌 함유 추출물인 아로니아베리 열매 50% 에탄올 추출물 ($103.95 \mu\text{g/mL}$)이나 에틸아세테이트 분획($16.29 \mu\text{g/mL}$)보다도 더 큰 항산화 활성을 나타내었다.

2) 루미놀 발광법을 이용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어 활성산소 소거 활성(총항산화능, OSC₅₀)은 자색고구마 70% 에탄올 분획이 $15.75 \mu\text{g/mL} \pm 0.85$ 이었으며, 그것의 에틸아세테이트 분획의 총항산화능은 $1.92 \mu\text{g/mL} \pm 0.016$ 이었다. 물에 잘 녹는 강력한 항산화제로서 알려진 비교 대조군 L-ascorbic acid의 총항산화능은 $1.50 \mu\text{g/mL} \pm 0.43$ 로 자색고구마 추출물의 에틸아세테이트 분획은 이와 유사한 높은 항산화능을 나타냄을 확인하였다. 이 또한 안토시아닌 함유 아로니아베리 열매의 에탄올 추출물($25.00 \mu\text{g/mL}$)과 에틸아세테이트 분획($2.86 \mu\text{g/mL}$)보다 우수함을 확인하였다.

3) 자색고구마 추출물의 $^1\text{O}_2$ 로 유도된 적혈구 파괴에 대한 세포보호 효과(적혈구 세포가 50% 파괴되는데 걸리는 h, τ_{50})를 확인한 결과, 에틸아세테이트 분획만 5 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$ 까지 농도 의존적으로 세포보호 효과를 나타내었다. 5 $\mu\text{g/mL}$ 를 기준으로 비교 물질로 사용된 지용성 항산화제인 (+)- α -tocopherol (35.4 min)보다 높은 세포보호 효과(45.6 min)를 나타내었으며, 이는 모든 농도에서 유효한 결과임을 알 수 있다.

결론적으로 본 연구에서 사용한 자색고구마의 항산화 활성은 70% 에탄올 추출물보다 에틸아세테이트 분획이 약 10배 정도 우수한 항산화 활성을 나타냄을 확인하였고, 항산화 활성이 큰 안토시아닌이 다량 함유된 것으로 알려진 아로니아베리 열매 추출물보다도 라디칼 소거활성과 총항산화능이 우수하다는 것을 확인하였다. 이를 통해 자색고구마 추출물은 기능성 항산화 활성을 갖는 피부노화 억제용 화장품에 응용 가능성이 있을 것이라 사료된다.

Acknowledgement

이 연구는 2014년 서울과학기술대학교 교내연구비의 지원으로 수행되었습니다.

Reference

1. K. Scharffetter-Kochanek, M. Wlaschek, K. Briviba, and H. Sies, Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts, *FEBS Lett.*, **331**, 304 (1993).
2. M. Wlaschek, K. Briviba, G. P. Stricklin, H. Sies, and K. Scharffetter-Kochanek, Singlet oxygen may mediate the ultraviolet A induced synthesis of interstitial collagenase, *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 194 (1995).
3. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **23**(3), 75 (1997).
4. S. N. Park, Antioxidative properties of baicalin, component from *Scutellaria baicalensis Georgi* and its application to cosmetics (I), *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**(5), 657 (2003).
5. S. N. Park, Effect of natural products on skin cells: action and suppression of reactive oxygen species, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **25**(2), 77 (1999).
6. H. Masaki, Role of antioxidants in the skin : anti-aging effects, *J. Dermatol. Sci.*, **58**, 85 (2010).
7. H. M. Chiang, H. C. Chen, H. H. Chiu, C. W. Chen, S. M. Wang, and K. C. Wen, Neonauclea reticulata (Havil.) Merr stimulates skin regeneration after UVB exposure via ROS scavenging and modulation of the MAPK/MMPs/collagen pathway, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2013**, 9 (2013).
8. D. Bagchi, M. Bagchi, E. A. Hassoun, and S. J. Stohs, *In vitro* and *in vivo* generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides, *Toxicology*, **104**, 129 (1995).
9. M. Iwata, T. Corn, S. Iwata, M. A. Everett, and B. B. Fuller, The relationship between tyrosinase activity and skin color in human foreskins, *J. Invest. Dermatol.*, **95**, 9 (1990).
10. K. Kameyama, T. Takemura, Y. Hamada, C. Sakai, S. Kondoh, and S. Nishi-yama, Pigment production in murine melanoma cells is regulated by tyrosinase, tyrosinase-related protein 1 (TRP), dopachrome tautomerase (TRP 2) and a melanogenic inhibitor, *J. Invest. Dermatol.*, **100**, 126 (1993).
11. S. A. Park, J. H. Ha, and S. N. Park, Antioxidative activity and component analysis of *Broussonetia kazinoki* SIEB extracts, *Appl. Chem. Eng.*, **24**(2), 177 (2013).
12. S. N. Park, S. Y. Kim, G. N. Lim, N. R. Jo, and M. H. Lee, *In vitro* skin permeation and cellular protective effects of flavonoids isolated from *Suaeda asparagoides* extracts, *J. Ind. Eng. Chem.*, **18**(2), 680 (2012).
13. N. R. Jo, H. A. Gu, S. A. Park, S. B. Han, and S. N. Park, Cellular protective effect and liposome formulation for enhanced transdermal delivery of isoquercitrin, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **38**(2), 103 (2012).
14. B. S. Henry, Natural food colors. In natural food colorants, eds. G.A.F. Hendry and J.D. Houghton, **39**, Blackie and Son Ltd., Glasgow (1992).
15. R. L. Jackman, R. Y. Yada, M. A. Jung, and R. A. Speers, Anthocyanin as food colorants, *J. Food Biochem.*, **11**, 201 (1987).
16. R. L. Jackman, R. Y. Yada, and M. A. Jung, Separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis, *J. Food Biochem.*, **11**, 279 (1987).

17. G. Mazza and E. Miniati, Anthocyanins in fruits, vegetables and grains, *Mol. Nutr. Food Res.*, **38**(3), 343 (1994).
18. H. H. Lee, S. G. Kang, and J. W. Rhim, Characteristics of antioxidative and antimicrobial activities of various cultivars of sweet potato, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**(4), 1090 (1999).
19. Y. J. Cho, H. A. Kim, M. A. Bang, Y. B. Oh, B. C. Jeong, Y. H. Moon, and W. J. Jeong, Protective effect of purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam.) on hepatotoxicity rats induced by carbon tetrachloride, *Korean J. Food Culture*, **18**, 202 (2003).
20. Z. Shi, I. A. Bassa, S. C. Gabriel, and F. J. Francis, Anthocyanin pigments of sweet potatoes-*Ipomoea batatas* L. Lam., *J. Food Sci.*, **57**, 755 (1992).
21. H. M. Lee, B. J. Kong, S. S. Kwon, K. J. Kim, H. S. Kim, S. H. Jeon, J. H. Ha, J. S. Kim, and S. N. Park, Antioxidative activities of *Aronia melanocarpa* fruit and leaf extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **39**(4), 337 (2013).