

야생산사(*Crataegus pinnatifida* Bunge)과육 용매별 추출물의 항산화 효과

Duan Yishan · 김민아 · 성종환 · 이영근 · 김동섭 · 정헌식 · 김한수[†]

부산대학교 식품공학과

Impacts of Various Solvent Extracts from Wild Haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge) Pulp on the Antioxidative Activities

Yishan Duan, Min-A Kim, Jong-Hwan Seong, Young-Guen Lee, Dong-Seob Kim, Hun-Sik Chung and Han-Soo Kim[†]

Dept. of Food Science & Technology, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

Abstract

Haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge) belongs to the rose family and has beneficial health effects such as anti-obesity and gastroprotective activities. This study compared the antioxidative activities of various solvent extracts from haw. After removing seeds, pulpy was extracted with 70% methanol, 70% ethanol, chloroform :methanol(CM, 2:1, v/v), *n*-butanol, and ethyl acetate(EA). Total phenol contents were 71.46, 70.41, 47.63, 47.49 and 45.95 mg/g in the 70% methanol, 70% ethanol, CM, *n*-butanol and EA extracts, respectively. Total flavonoid contents of CM and *n*-butanol extracts were higher compared to other extracts at 1.63 mg/g and 1.59 mg/g, respectively, whereas EA extract had the lowest flavonoid content at 1.12 mg/g. Corresponding to total phenol contents, among NO₂ radical scavenging activity, antioxidant activity by β -carotene bleaching assay, and superoxide dismutase(SOD)-like ability, 70% methanol and 70% ethanol extracts showed higher antioxidative activities than the other extracts. However, the lowest activities were *n*-butanol extract in NO₂ radical scavenging activity as well as EA extract in antioxidant activity by β -carotene bleaching assay and SOD-like ability. These results suggest that haw extracts are available as a new natural antioxidant, and its activities are attributed to antioxidant substances such as phenolic compounds and flavonoids.

Key words : *Crataegus pinnatifida* Bunge, antioxidative activity, total phenol, flavonoid

서 론

활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 지질, 단백질, 핵산 등을 손상시키고, 산화 스트레스(oxidative stress)를 유발하여 암, 노화, 당뇨, 동맥경화 등과 같은 질병을 야기한다고 알려져 있으며, 항산화 물질은 전자 공여를 통하여 free radical을 소거시키는 작용을 한다고 한다(Novo & Parola, 2008). 천연 항산화제는 ascorbic acid, proanthocyanidin, β -carotene 등이 있는데, 야채나 과일 등에 풍부하게 함유되어 있는 페놀 화합물은 대표적인 천연 항산화 물질로, 구조에 free radical의 수용체로 작용하는 phenolic hydroxyl기를 포함하고 있기 때문에 항산화 활성을 나타낸다고 한다(Kim & Choi 2008). 또한, flavonoid는 식물계에 널리 존재하는 색소 성분의 페놀성 화합물로 심혈관계 보호 및 LDL 산화 저해 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 구조에 따라 flavanol, fla-

vone, flavonol, flavanone, isoflavone 등으로 나누어진다(Heim *et al* 2002). 따라서 이러한 생리 활성 물질(bioactive components)을 함유하고 있는 야채나 과일의 섭취는 여러 질환의 위험을 줄일 수 있다는 점에서 매우 중요하게 여겨지고 있다(Liu RH 2003). 실제로, 40~50대 남성을 대상으로 채식자군과 비채식자군으로 나누어 관상동맥 심장질환의 위험도를 비교한 결과, total cholesterol의 농도는 비채식자군에서 유의적으로 높게 나타났으며, coronary risk는 채식자군에서 2%, 비채식자군에서 6%로 나타나, 채식자 그룹에서 관상동맥 심장질환의 위험도가 유의적으로 낮아졌다는 연구 결과가 있다(Hong *et al* 1996). 또한, 35세 이상의 남성을 채식자군 및 비채식자군으로 나누어 혈청 지질과 총 항산화 활성을 비교한 결과, 비채식자군에서 total cholesterol, triglyceride(TG), low density lipoprotein(LDL)-cholesterol 및 lipoprotein a의 농도가 증가하였으며, 총 항산화 활성도 낮은 경향으로 나타나 식이 조절을 할 경우 동맥경화 예방에 효과적일 것이라고 하였다(Kim *et al* 2000).

산사(*Crataegus pinnatifida* Bunge)는 장미과(Rosaceae)에

[†]Corresponding author : Han-Soo Kim, Tel : +82-55-350-5351, Fax : +82-55-350-5359, E-mail: kimhs777@pusan.ac.kr

속하는 붉은색의 열매로 예로부터 항비만, 소화기 질환 등에 이용되었다(Bae & Kim 2003, Park *et al* 2012). 영양 성분으로는 유리당, 유기산 및 미네랄 등을 함유하고 있는데, 특히 미네랄 중에서 칼륨, 칼슘의 함량이 높다고 알려져 있고(Chon *et al* 2005, Lee & Lee 2012), 약리 성분으로는 cyanidin-3-galactoside, protocatechuic acid, hyperoside, isoquercitrin, pyrogallol, ursolic acid, corosolic acid, (-)-epicatechin 등이 알려져 있다(Kim *et al* 1993, Oh & Kim 1993, Park *et al* 1994, Liu *et al* 2010, Ryu *et al* 2010). 산사의 생리활성으로는 항산화(Liu *et al* 2010), 항혈전(Ryu *et al* 2007), 항균(Ryu *et al* 2010), 항동맥경화증(Lee *et al* 2003), 항고지혈증(Kwon & Kim 2010), 간 손상 예방(Shin *et al* 2010) 및 기억력 개선(Wang *et al* 2009) 등이 과학적으로 규명되어 있다. 한편, 식빵에 산사 분말의 첨가는 기능성 식빵의 제조가 가능하며, 3% 첨가구의 물성 및 관능적 특성이 가장 높았다고 하며(Kim & Jeong 2007), 산사 농축액 10%를 첨가한 산사편은 냄새, 맛 등 전반적인 기호도가 좋게 나타나, 이용 가치가 높을 것이라고 하였다(Shin & Yoon 2011). 또한, 25% 알콜 용액을 8주간 급여시켜 간 손상을 유발시킨 흰쥐에 있어 산사 추출액의 섭취는 간장의 중량을 증가시키고, glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT), alkaline phosphatase(ALP), lactate dehydrogenase(LDH)의 활성을 감소시켜 간 손상 예방 효과가 있다고 보고된 바 있다(Seo BI 2005). 산사 물 추출물은 60% ethanol 추출물에 비하여 α -amylase 및 α -glucosidase 저해 활성이 높게 나타나, 항당뇨 효과가 있을 것이라는 연구 결과가 있었으나(Kim *et al* 2007), 산사의 항산화 활성에 대한 체계적이고 효율적인 연구는 부족한 실정이다. 이에 본 연구에서는 산사를 용매별로 추출하여 total phenol, flavonoid 함량 및 NO₂ radical 소거능과 더불어 β -carotene에서의 항산화 활성과 SOD 유사 활성을 살펴본 후 새로운 기능성 소재로의 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 시료는 강원도 정선군 남면 일대 야산에서 자생하는 산사를 2011년 10월 중하순 채취하여 과육을 분리하여 진공 동결 건조(EYELA, FDU-2000, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)시킨 후 분쇄기(DCM-5500, Dae-Chang, Seongnam, Korea)로 마쇄하여 -80°C (SW-UF-400, Sam-Won Co., Busan, Korea)에 저장하며 본 실험에 사용하였다.

2. 시료 추출

시료의 용매별 추출은 Fig. 1과 같이, 산사 과육 분말 100 g에 10배(1:10, w/v)의 70% methanol을 가하여 24시간씩 총

2회 추출하였다. 또한, 70% ethanol, chloroform : methanol(CM, 2:1, v/v), *n*-butanol, ethyl acetate(EA) 용매를 가하여 동일한 방법으로 추출하였으며, 여과지(filter paper, Advantec, No.1)를 이용하여 여과하였다. 여과된 각 추출물을 rotary evaporator(EYELA, N-N series, Tokyo, Japan)를 이용해 40°C 에서 감압 농축하여 용매를 완전히 제거한 후 농축물을 -80°C (SW-UF-400, Sam-Won Co., Busan, Korea)에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였으며, 시료의 수율은 추출 전 시료 중량에 대한 추출 후 건조 중량 백분율로 나타내었다(Jang *et al* 1996).

3. Total Phenol 측정

Total phenol 함량은 Gutfinger T(1981)에 준하여 Folin-Denis' 방법에 따라 측정하였다. 시료 0.4 mL에 DW 4 mL 및 Folin-Denis' reagent 0.5 mL를 첨가하여 3분간 방치한 후, 10% Na₂CO₃ 0.5 mL를 가하고 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액의 흡광도는 UV/VIS-spectrophotometer(Specord 200, Analytik-Jena, Jena, Germany)를 이용하여 700 nm에서 측정하였고, 표준물질로는 caffeic acid를 사용하였으며, 시료 1 g 당 caffeic acid mg으로 표시하였다.

4. Total Flavonoid 측정

산사 용매별 추출물의 total flavonoid 함량은 시료 1 mL에 10% aluminum nitrate 0.5 mL 및 1 M potassium acetate 0.5

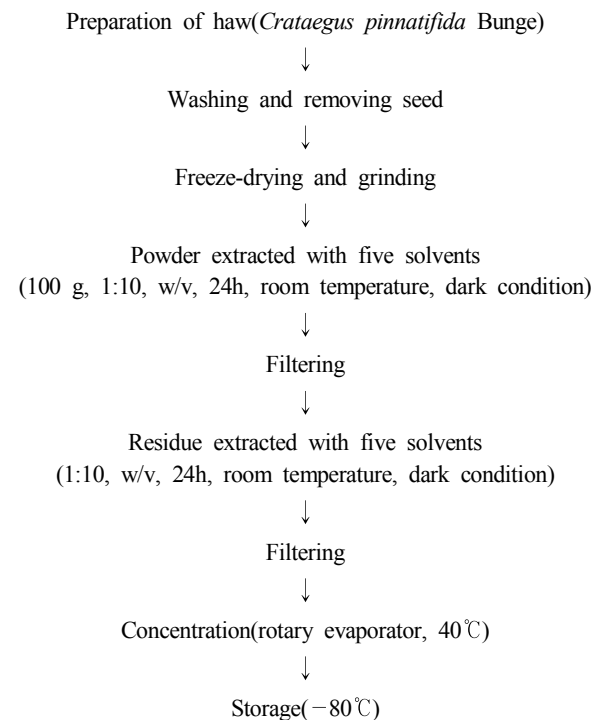


Fig. 1. Processing procedure of haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge) extract.

mL, 80% ethanol 2 mL를 혼합하여 40분 방치시킨 후 UV/VIS-spectrophotometer(Specord 200, Analytik-Jena, Jena, Germany)로 415 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 표준물질로는 quercetin을 사용하였으며, 시료 1 g 당 quercetin mg으로 나타내었다(Mello *et al* 2010).

5. NO₂ Radical Scavenging Activity 측정

아질산염 소거능은 Kato *et al*(1987) 및 Lee *et al*(2006)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 1 mL와 1 mM sodium nitrite 0.5 mL를 혼합하여 0.2 M citrate buffer(pH 2.5) 8.5 mL를 첨가한 후, 37°C에서 1시간 반응시켰다. 반응액 1 mL에 2% acetic acid 3 mL 및 griess reagent(1% sulfanilic acid in 30% acetic acid:1% naphthylamine in 30% acetic acid=1:1) 0.4 mL를 가하고 15분간 실온에 방치시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 산사 용매별 추출물의 아질산염 소거능은 다음의 식에 의하여 나타내었다.

$$\text{Nitrite scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{A-B}{C}\right) \times 100$$

A : Absorbance of sample

B : Absorbance of DW instead of sodium nitrite

C : Absorbance of DW instead of sample

6. β-Carotene Bleaching Assay

β-carotene에서의 항산화 작용은 Jeong *et al*(2008)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, chloroform 10 mL에 β-carotene 1 mg을 용해하여 linoleic acid 20 mg 및 tween 40을 200 mg 가하고, rotary vacuum evaporator(EYELA, N-N series, Tokyo, Japan)을 이용하여 40°C에서 농축하였다. 농축물에 DW 100 mL를 첨가한 후 진탕하여 β-carotene emulsion을 조제하였다. β-Carotene emulsion 3 mL와 시료 0.3 mL를 혼합하여 50°C에서 2시간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\beta\text{-Carotene bleaching activity(\%)} = \left(1 - \frac{S_0 - S_{120}}{B_0 - B_{120}}\right) \times 100$$

S₀ : Absorbance of sample after 0 min

S₁₂₀ : Absorbance of sample after 120 min

B₀ : Absorbance of blank after 0 min

B₁₂₀ : Absorbance of blank after 120 min

7. Superoxide Dismutase(SOD) Like Ability

산사 과육 용매별 추출물의 SOD 유사활성은 Marklund & Marklund(1974)의 방법에 준하여 측정하였다. 시료 0.2 mL

에 50 mM tris-HCl buffer(pH 8.5) 3 mL 및 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하여 25°C에서 10분간 반응시켰다. 반응액에 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 다음의 식에 따라 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD likes activity(\%)} = \left(1 - \frac{S-A}{B}\right) \times 100$$

S : Absorbance of sample

A : Absorbance of DW instead of pyrogallol

B : Absorbance of DW instead of sample

8. 통계 처리

분석 결과의 통계 처리는 평균값과 표준편차를 계산하여 나타내었다. 군 간의 차이는 one-way analysis of variance (ANOVA, IBM SPSS statistics ver. 21)로 분석하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 수율

산사 과육의 용매별 추출 수율은 Table 1과 같다. 70% methanol 추출물은 60.45±1.12%로 추출 용매 중 가장 높은 것으로 나타났고, 70% ethanol 추출물은 59.79±2.26%로 70% methanol 다음으로 높은 수율을 보였으나, 유의적인 차이는 없었다. Chloroform : methanol(CM, 2 : 1, v/v) 추출물은 31.18±1.53%로 70% methanol 및 70% ethanol 추출물 다음으로 높은 수율을 보였다. *n*-Butanol 추출물은 13.24±1.06%의 수율을 보였으며, ethyl acetate(EA) 추출물은 5.05±0.86%로 추출 용매 중 유의적으로 가장 낮은 수율을 나타내었다.

2. Total Phenol의 함량

산사 과육의 추출 용매별 total phenol 함량은 Fig. 2와 같다. 70% methanol 추출물이 71.46±1.68 mg/g으로 추출 용매 중 가장 높은 함량을 나타내었으며, 70% ethanol이 70.41±1.47 mg/g의 함량을 보여 70% methanol 다음으로 높게 나타났으나, 두 용매 추출물 간에는 유의적인 차이가 없었다. 한편, *n*-Butanol 추출물은 45.95±0.32 mg/g의 함량으로 추출 용매 중 유의적으로 가장 낮은 것으로 나타났다. CM 및 EA 추출물은 각각 47.63±0.32 mg/g, 47.49±0.12 mg/g의 함량을 나타내어 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 다양한 약용식물로부터 total phenol의 함량을 비교한 결과, 산사는 73,296 μg/g으로 나타나 본 실험 결과의 70% methanol 추출물과 유사한 결과로 나타났다(Lim *et al* 2004). 또한 산사는 차조기 및 하

Table 1. Yield of various solvent extracts of pulpy from haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge)

Solvent	Yield(%)
70% methanol	60.45±1.12 ^{a1)}
70% ethanol	59.79±2.26 ^a
CM ²⁾	31.18±1.53 ^b
n-Butanol	13.24±1.06 ^c
EA ³⁾	5.05±0.86 ^d

¹⁾ The data are presented as means±S.D of 3 times. Means with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

²⁾ CM : Chloroform : methanol=2:1(v/v).

³⁾ EA : Ethyl acetate.

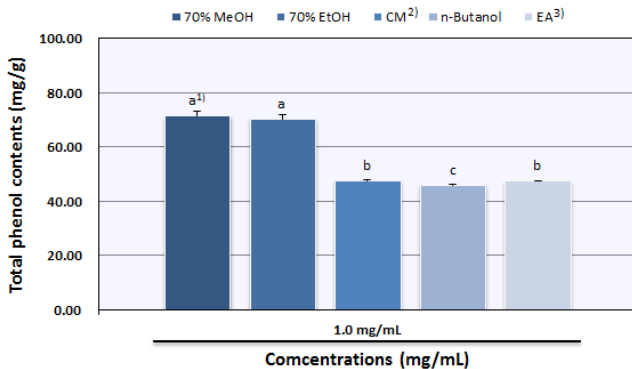


Fig. 2. Total phenol contents of various solvent extracts of pulpy from haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge).

¹⁾ The data are presented as means±S.D. of 3 times. Means with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

²⁾ CM : Chloroform : methanol=2:1(v/v).

³⁾ EA : Ethyl acetate.

수오보다 높은 polyphenol 함량을 보였다고 보고되어 있으며 (Lee *et al* 2009), 차 제품 중 높은 항산화력을 나타낸 것은 녹차와 홍차류이고, 이들의 항산화력은 flavonoid나 vita- min C보다 polyphenol성 화합물에 의한 것으로 보고되어 있다 (Choi *et al* 2003). 한편, phenol성 물질은 아질산염의 분해를 통해 nitrosamine 생성을 억제하며, quinone으로 산화되어 free radical 소거 등을 통해 항산화력을 나타낸다고 한다(Kang *et al* 1996). 본 실험 결과 70% methanol 및 70% ethanol 추출물에서 total phenol 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

3. Total Flavonoid의 함량

산사 과육 추출물의 total flavonoid 함량은 Fig. 3과 같다.

CM 추출물이 1.63±0.00 mg/g으로 추출 용매 중 가장 높게 나타났으며, n-butanol 용매 추출물이 1.59±0.04 mg/g으로 CM 다음으로 높게 나타났으나, 유의적인 차이는 없었다. 70% methanol과 70% ethanol 추출물은 각각 1.26±0.04 mg/g 및 1.26±0.04 mg/g으로 유의적인 차이가 없었으며, EA 추출물이 1.12±0.08 mg/g으로 추출 용매 중 유의적으로 가장 낮은 함량을 보였다. Flavonoid 중 일부는 낮은 농도에서도 높은 전자 공여능을 나타낸다고 보고되어져 있고(Kang *et al* 1996), 오렌지 및 포도의 total flavonoid 함량은 과육보다 껍질에서 더 높다고 하며(Goulas & Manganaris 2012), 한편, 산사 methanol 분획물의 flavonoid 함량은 n-hexane 분획물에서 0.0180 mg/g, ethyl acetate 분획물에서 0.0096 mg/g, butanol 분획물에서 0.0013 mg/g의 함량을 보여 추출 용매에 따라 함량 차이를 보였다고 한다(Ryu *et al* 2007). 이는 추출 용매에 따른 성분 조성 및 함량 등이 달라지기 때문인 것으로 보고되어 있으며 (Jayaprakasha *et al* 2001), 따라서 본 실험 결과, 산사의 용매별 추출물 중 CM 및 n-butanol 추출물에서 total flavonoid 함량이 제일 높은 것으로 확인되었다.

4. NO₂ Radical Scavenging Activity

NO₂는 식품 첨가 물질로 산성 조건 하에서 2급 아민 등의 아민류와 반응하여 발암 물질인 nitrosamine을 형성하고, 일정량 이상 섭취하게 되면 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있어 문제시 되고 있다(Jeong *et al* 2006). 산사 과육 용매별 추출물의 NO₂ radical 소거 활성은 Fig. 4와 같으며, 모든 시료 농도에서 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 70% methanol 추출물은 농도별로 각각 7.56±1.67%, 16.73±1.14%,

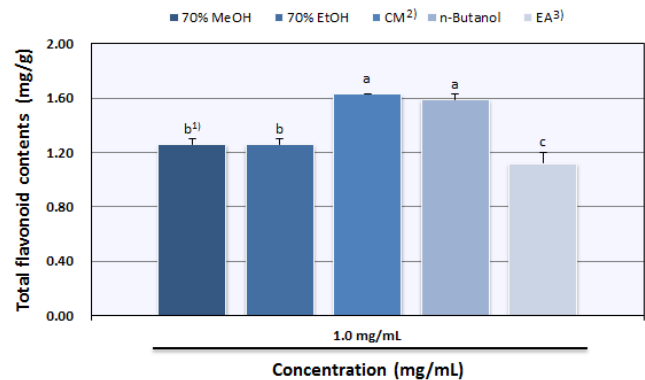


Fig. 3. Total flavonoid contents of various solvent extracts of pulpy from haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge).

¹⁾ The data are presented as means±S.D. of 3 times. Means with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

²⁾ CM : Chloroform : methanol=2:1(v/v).

³⁾ EA : Ethyl acetate.

31.55±2.29%를 나타내어 용매 추출물 중 가장 높은 소거 활성을 보였지만, 70% ethanol 추출물(7.36±1.52%, 16.33±2.57%, 29.03±1.22%)과 유의적인 차이는 없었다. CM 추출물은 농도별로 6.75±0.46%, 15.02±1.09%, 27.92±2.23%의 소거 활성을 나타내었고, EA 추출물은 농도별로 5.24±0.87%, 14.42±0.60%, 26.81±1.84%, n-butanol은 4.54±0.46%, 13.51±0.91%, 25.91±2.40%의 소거 활성을 보였으며, CM 추출물 0.2 mg/mL(6.75±0.46%)를 제외한 CM 및 EA, n-butanol 추출물간의 유의적인 차이는 없었다. 대조군인 ascorbic acid는 농도별로 27.22±0.46%, 45.16±0.17%, 58.27±0.80%의 유의적인 차이를 보였으며, 용매별 추출물과도 유의적인 차이를 나타내었다. 한편, 산사 및 행인, 산약, 지실 추출물의 아질산염 소거능은 산사가 다른 추출물에 비하여 높게 나타났다고 보고되어져 있으며(Park *et al* 2006), 산사, 차조기, 현초, 하수오를 에탄올로 추출하여 농도별 아질산염 소거능을 측정하였을 때, 산사, 현초, 차조기, 하수오 순으로 높은 소거능을 나타내어 산사가 유의적으로 가장 높은 소거 활성을 보였다고 보고되어 있다(Lee *et al* 2009). Flavonoid 중의 일부는 아질산염 소거율이 낮지만, phenolic acid는 아질산을 분해함으로 높은 아질산염 소거능을 나타낸다고 한다(Kang *et al* 1996). 본 실험 결과, 70% methanol 및 70% ethanol 추출물에서 높은 아질산염 소거 활성을 보였으며, 이는 산사 과육의 total phenol 함량 결과와 유사한 것으로 나타났다.

5. β-Carotene에 의한 항산화 활성

추출 용매별 β-Carotene에서의 항산화 작용은 Fig. 5와 같다. 산사 과육의 70% methanol 추출물은 시료 농도에 따라

53.97±2.23%, 70.30±0.58%, 80.29±2.48%로 추출 용매 중 가장 높은 활성을 나타내었으나, 70% ethanol 추출물(53.20±0.92%, 70.02±0.92%, 78.45±0.96%)의 활성과 유의적인 차이는 없었다. n-Butanol 추출물은 32.10±0.83%, 41.77±1.82%, 47.73±0.78%, CM 추출물은 30.27±0.37%, 38.88±0.28%, 46.87±0.37%의 활성을 나타내었고, EA 추출물은 25.68±0.90%, 31.67±3.27%, 40.10±1.34%로 추출 용매 중 유의적으로 가장 낮은 활성을 나타내었다. 대조군인 ascorbic acid는 농도별로 93.02±0.16%, 94.57±0.28%, 95.17±0.27%로 다른 용매 추출물에 비하여 높은 활성을 나타내었다. β-carotene은 산화에 의해 빠르게 탈색이 일어나는데, 항산화제가 존재할 경우, free radical 등을 중화시켜 β-carotene의 탈색을 저해하게 되며, 이러한 원리를 이용하여 β-carotene에서의 항산화 작용을 측정한다고 알려져 있다(Jayaprakasha *et al* 2001). 라즈베리와 블루베리를 80% methanol로 추출한 β-carotene에 대한 항산화 효과는 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 경향이라고 하였다(Jeong *et al* 2008). 만다린과 오렌지 및 포도의 β-carotene 산화도는 과육보다 껍질의 활성이 더 높게 나타났으며, 항산화력은 total phenol, flavonoid 함량과 밀접한 연관성이 있다고 보고되어 있다(Goulas & Manganaris 2012). 본 실험 결과, 산사 과육의 β-carotene에서의 항산화 활성은 total phenol 함량과 유사하게 70% methanol 및 70% ethanol 추출물에서 높은 것으로 나타났다. 이는 산사의 phenol 및 flavonoid 성분 때문인 것으로 추정된다.

6. Superoxide Dismutase(SOD) Like Ability

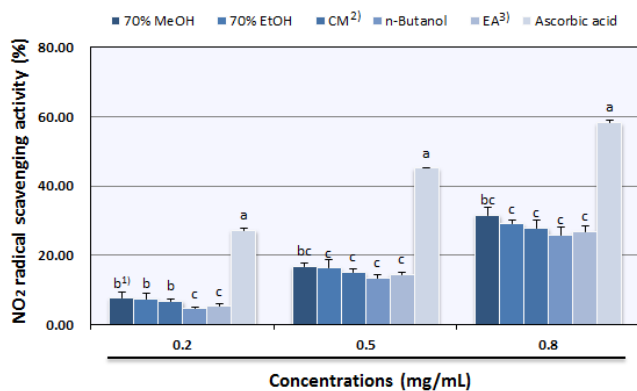


Fig. 4. NO₂ radical scavenging activity of various solvent extracts of pulpy from haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge).

1) The data are presented as means±S.D. of 3 times. Means with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.
 2) CM : Chloroform : methanol=2:1(v/v).
 3) EA : Ethyl acetate.

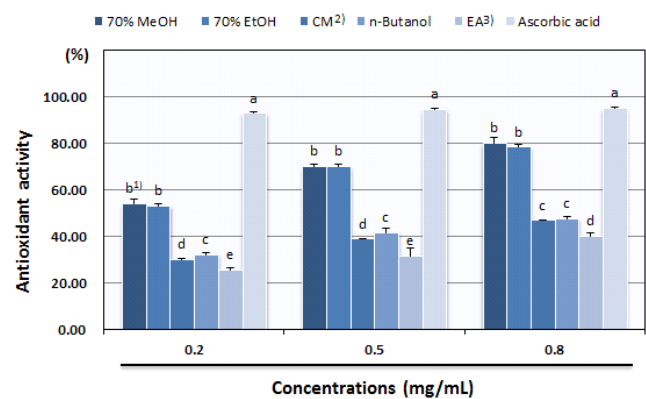


Fig. 5. Antioxidant activity of various solvent extracts of pulpy from haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge) by β-carotene bleaching assay.

1) The data are presented as means±S.D. of 3 times. Means with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.
 2) CM : Chloroform : methanol=2:1(v/v).
 3) EA : Ethyl acetate.

산사 과육에 있어서 용매별 추출물 SOD 유사 활성은 Fig. 6과 같다. 70% methanol 추출물은 시료 농도에 따라 $12.57 \pm 0.00\%$, $13.31 \pm 0.92\%$, $14.64 \pm 0.92\%$ 로 추출 용매 중 유의적으로 가장 높게 나타났으며, 70% ethanol이 $10.50 \pm 0.68\%$, $10.65 \pm 0.51\%$, $11.39 \pm 0.26\%$ 로 70% methanol 다음으로 유의적으로 높은 활성을 보였다. CM 추출물은 $8.14 \pm 1.17\%$, 8.58 ± 0.77 , $9.47 \pm 1.60\%$, *n*-butanol 추출물은 $5.18 \pm 3.02\%$, $6.21 \pm 1.36\%$, $7.10 \pm 1.28\%$ 로 나타났고, EA 추출물은 $2.81 \pm 0.44\%$, $3.11 \pm 2.89\%$, $4.29 \pm 2.19\%$ 로 추출 용매 중 가장 낮은 활성을 보였다. 대조군인 ascorbic acid는 농도별로 $19.82 \pm 1.43\%$, $44.23 \pm 0.68\%$, $74.85 \pm 0.26\%$ 로 나타나 용매별 추출물보다 유의적으로 높은 활성으로 확인되었다. Superoxide radical은 지질과산화물을 생성하여 세포 손상을 초래하는데, superoxide dismutase(SOD)는 이러한 superoxide radical을 소거함($O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$)으로써 항산화 효과를 나타내며, SOD 유사활성은 이와 비슷한 작용을 하는 물질로 자동산화를 억제하여 유용한 생리활성을 나타낸다고 알려져 있다(McCord & Fridovich 1969, Lee & Bae, 2011). 산사를 비롯한 오미자, 산수유, 감초 및 황기 등의 약용식물에 있어서 SOD 활성은 대체로 높은 것으로 보고되어져 있는데(Lim *et al* 2004, Kim & Choi 2008, Park *et al* 2008), SOD와 같은 항산화 효소는 지질과산화 억제와 더불어 superoxide radical에 대한 방어효과를 기대할 수 있다고 한다(McCord & Fridovich 1969, Sung *et al* 2000). 따라서 산사 과육 추출물은 이러한 지질과산화 억제 작용 등이 있을 것이라고 사료된다.

요 약

산사에 함유되어 있는 생리활성 물질의 특성을 알아보고

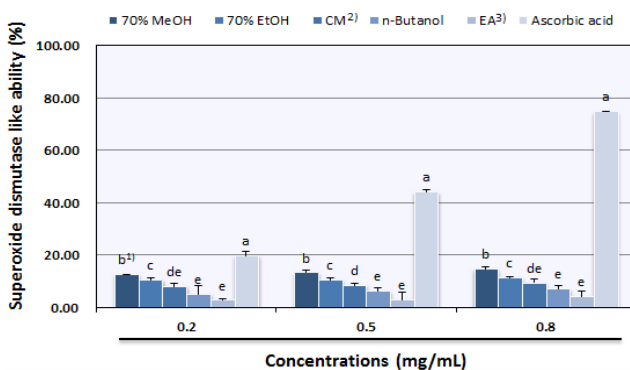


Fig. 6. Superoxide dismutase like ability of various solvent extracts of pulpy from haw(*Crataegus pinnatifida* Bunge).

- The data are presented as means±S.D. of 3 times. Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.
- CM : Chloroform : methanol=2:1(v/v).
- EA : Ethyl acetate.

70% methanol, 70% ethanol, chloroform:methanol(CM, 2:1, v/v), *n*-butanol 및 ethyl acetate(EA)의 5가지 용매를 사용하여 추출한 추출물의 용매별 항산화 활성 측정을 통하여 산사의 항산화 활성 및 천연 기능성 식품 재료로서의 가치를 검토하고자 본 실험을 수행하였다. 산사 과육의 total phenol 함량은 70% methanol, 70% ethanol, CM, EA, *n*-butanol 추출물 순으로 높게 나타났으며, 특히 70% methanol 및 70% ethanol 추출물은 각각 71.46 mg/g, 70.41 mg/g의 높은 함량을 보였다. Total flavonoid 함량은 CM(1.63 mg/g), *n*-butanol(1.59 mg/g), 70% methanol(1.26 mg/g), 70% ethanol(1.26 mg/g) 및 EA(1.12 mg/g) 순으로 높게 측정되었다. NO₂ radical 소거 활성은 total phenol 함량과 동일한 경향으로 나타났으며, β-carotene에서의 항산화 활성은 70% methanol, 70% ethanol, *n*-butanol, CM, EA 추출물, superoxide dismutase(SOD) 유사 활성은 70% methanol, 70% ethanol, CM, *n*-butanol, EA 추출물 순으로 높은 것으로 나타났다. 대부분 70% methanol 및 70% ethanol 추출물에서 활성이 높게 측정되었으며, 이는 산사 속에 함유되어 있는 total phenol 및 flavonoid와 같은 항산화 성분 때문인 것으로 추정되며, 특히 total phenol에 의한 것으로 생각된다. 따라서 산사는 항산화제 및 기능성 식품 소재로 활용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년) 지원에 의하여 수행되었습니다.

Reference

- Bae MH, Kim HH (2003) Mechanism of *Crataegi fructus* extract induced endothelium-dependent vasorelaxation in rabbit carotid artery. *Korean J Herbology* 18: 169-180.
- Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS (2003) The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
- Chon JW, Park SJ, Han JH, Park SH (2005) Study of *Crataegi fructus* for medicinal foods applications - nutrition composition and scheme for foods-. *Korean J Oriental Physiology Pathology* 19: 1220-1224.
- Goulas V, Manganaris GA (2012) Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry* 131: 39-47.
- Gutfinger T (1981) Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ (2002) Flavonoid an-

- tioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. *J Nutr Biochem* 13: 572-584.
- Hong SI, Park HJ, Kwak SJ, Park SH, Yu HJ, Won DJ, Prak JS, Lee DJ, Ahn SH, Koo JS (1996) Comparison of atherosclerotic heart disease risks between vegetarian and non-vegetarian. *Korean J Medicine* 51: 45-52.
- Jang EH, Pyo YH, Ahn MS (1996) Antioxidant effect of omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *Korean J Soc Food Sci* 12: 372-376.
- Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK (2001) Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chemistry* 73: 285-290.
- Jeong CH, Choi SG, Heo HJ (2008) Analysis of nutritional compositions and antioxidative activities of Korean commercial blueberry and raspberry. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 37: 1375-1381.
- Jeong CH, Nam EK, Shim KH (2006) Antioxidative activities and nitrate scavenging activity in different parts of *Erigeron annuus*. *J Agric Life Sci* 40: 13-20.
- Kang YH, Park YK, Lee GD (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F (1987) Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *J Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
- Kim JH, Kim MU, Cho YJ (2007) Isolation and identification of inhibitory compound from *Crataegi fructus* on α -amylase and α -glucosidase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50: 204-209.
- Kim JS, Choi SY (2008) Physicochemical properties and antioxidative activities of omija (*Schizandra chinensis* Bailon). *Korean J Food Nutr* 21: 35-42.
- Kim JS, Jeong SH (2007) Quality characteristics of bread added with *Crataegus pinnatifida* Bunge powder. *J East Asian Soc Dietary Life* 17: 125-129.
- Kim JS, Lee GD, Kwon JH, Yoon HS (1993) Identification of phenolic antioxidative components in *Crataegus pinnatifida* Bunge. *J Korean Agric Chem Soc* 36: 154-157.
- Kim SG, Kim HI, Yum MS, Jo H, Oh YY, Kwan HJ, Cho WH, Park JS (2000) Comparison of serum lipid profiles and total antioxidants status in vegetarian and non-vegetarian groups. *Korean J Medicine* 58: 197-203.
- Kwon SH, Kim JB (2010) Effects of *Crataegii fructus* on the diet-induced hyperlipidemia in rats. *Korean J Oriental Physiology Pathology* 24: 67-73.
- Lee EJ, Bae JH (2011) Study on the alleviation of an alcohol induced hangover and the antioxidant activity by mulberry fruit. *Korean J Food Nutr* 24: 204-209.
- Lee JJ, Lee HJ (2012) Comparisons of physicochemical composition of Korean and Chinese *Crataegi fructus*. *Korean J Food Preserv* 19: 569-576.
- Lee SC, Kim SY, Heong SM, Park JH (2006) Effect of far-infrared irradiation on catechins and nitrite scavenging activity of green tea. *J Agric Food Chem* 54: 399-403.
- Lee SH, Kang KM, Park HJ, Baek LM (2009) Physiological characteristics of medicinal plant extracts for use as functional materials in seasoning sauce for pork meat. *Korean J Food Sci Technol* 41: 100-105.
- Lee SK, Lee SS, Baek JW, Lee SJ, Kim KH (2003) Effect of *Crataegii fructus* on serum lipid in high cholesterol diet induced hyperlipidemia rats. *Korean J Oriental Preventive medical Soc* 7: 13-22.
- Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee, SJ, Kim NY, Chung IM (2004) Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
- Liu P, Yang B, Kallio H (2010) Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major*) fruit by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry* 121: 1188-1197.
- Liu RH (2003) Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 78: 517-520.
- Liu T, Cao Y, Zhao M (2010) Extraction optimization, purification and antioxidant activity of procyanidins from hawthorn (*C. pinnatifida* Bge. var. *major*) fruits. *Food Chemistry* 119: 1656-1662.
- Marklund S, Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- McCord JM, Fridovich I (1969) Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biological Chemistry* 244: 6049-6055.
- Mello BCBS, Petrus JCC, Hubinger MD (2010) Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. *J Food*

- Engineering* 96: 533-539.
- Novo E, Parola M (2008) Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 1: 1-58.
- Oh IS, Kim IH (1993) Pharmaco-constituents of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* leaves(I). *Korean J Pharmacogn* 37: 476-482.
- Park CS, Kim DH, Kim ML (2008) Biological activities of extracts from *Corni fructus*, *Astragalus membranaceus* and *Glycyrrhiza uralensis*. *Korean J Herbology* 23: 93-101.
- Park CS, Yang KM, Kim ML (2006) Functional properties of medicinal plant extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 720-727.
- Park SJ, Shin EH, Lee JH (2012) Biological activities of solvent fractions from methanolic extract of *Crataegi fructus*. *Korean J Food Nutr* 25: 897-902.
- Park SW, Yook CS, Lee HK (1994) Chemical components from the fruits of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa*. *Korean J Pharmacogn* 25: 328-335.
- Ryu HY, Ahn SM, Kim JS, Jung IC, Sohn HY (2010) Antimicrobial activity of fruit of *Crataegus pinnatifida* Bunge against multidrug resistant pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* sp. *Korean J Microbiol Biotechnol* 38: 77-83.
- Ryu HY, Kim YK, Kwon IS, Kwon CS, Jin IN, Sohn HY (2007) Thrombin inhibition activity of fructus extract of *Crataegus pinnatifida* Bunge. *J Life Science* 17: 535-539.
- Seo BI (2005) Preventive effects of water extracts from *Crataegi fructus* on hyperlipiderma and liver damage induced by alcohol. *Korean J Herbology* 20: 35-43.
- Shin JH, Jo MJ, Park SM, Park SJ, Kim SC (2010) Hepatoprotective activity of *Crataegii fructus* water extract against cadmium-induced toxicity in rats. *Korean J Oriental Physiology Pathology* 24: 249-257.
- Shin SJ, Yoon HH (2011) Quality characteristics of Sansapyun with various amounts of *Crataegi fructus* concentrate. *Korean J Culinary Research* 17: 181-190.
- Sung KS, Chun C, Kwon YH, Kim KH, Chang CC (2000) Effects of red ginseng component on the antioxidative enzymes activities and lipid peroxidation in the liver of mice. *J Ginseng Res* 24: 29-34.
- Wang SB, Ahn EM, Jung JW (2009) The fruits of *Crataegus pinnatifida* Bunge ameliorates learning and memory impairments induced by scopolamine. *Korean J Herbology* 24: 165-171.

접 수: 2014년 1월 8일
 최종수정: 2014년 5월 4일
 채 택: 2014년 6월 21일