

울금(*Curcuma longa* L.) 추출물의 산화억제 및 질소산화물 소거활성

오다영 · 김한수[†]

부산대학교 식품공학과
(2019년 1월 23일 접수: 2019년 3월 11일 수정: 2019년 3월 12일 채택)

Evaluation of Oxidation Inhibition and Nitrogen Oxide Scavenging Activity from *Curcuma longa* L. Extracts

Da-Young Oh · Han-Soo Kim[†]

Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea
(Received January 23, 2019; Revised March 11, 2019; Accepted March 12, 2019)

요 약 : 울금(*Curcuma longa* L.)의 산화억제 및 질소산화물 소거활성 등 기능성 소재로서 활용 가능성을 검토한 결과, 프로안토시아니딘(proanthocyanidin) 함량은 69.000 ± 2.737 mg catechin equivalents (CE)/g dry weight으로 확인되었으며, 증류수(distilled water, DW), 70% 에탄올 및 노르말 부탄올(*n*-butanol)의 3가지 용매를 사용한 추출 수율은 DW (17.11%), 70% 에탄올(15.26%), 노르말 부탄올(4.12%) 순으로 관찰되었다. 총 플라보노이드(total flavonoid) 함량은 DW, 70% 에탄올 및 노르말 부탄올에서 각각 0.032, 0.512 및 2.221 mg quercetin equivalents (QE)/g의 함량으로 나타났고, 노르말 부탄올에서는 유의적인 차이를 보이며 높게 관찰되었다($p < 0.05$). Nitric oxide (NO) 라디칼 소거활성은 농도 별(0.2~0.8 mg/mL) DW에서 15.64~26.20%, 70% 에탄올 10.52~20.76%, 노르말 부탄올에서 13.39~69.92%로 확인되었다. Nitrite (NO₂) 소거활성은 DW 및 70% 에탄올과 비교하였을 때 노르말 부탄올에서 강한 NO₂ 소거활성을 보였다. β -carotene 탈색 저해활성은 DW에서 8.81~25.93%, 70% 에탄올 1.20~20.20%, 노르말 부탄올 12.08~43.93%로 나타났다. 지질과산화 저해활성은 DW, 70% 에탄올 및 노르말 부탄올에서 각각 5.60~27.54%, 37.78~50.79% 및 41.79~46.39%로 동정되었다. 이에, 천연 항산화제 등 기능성 소재로서의 활용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

주제어 : 울금, 산화억제 활성, 프로안토시아니딘, 질소산화물 소거활성, 총 플라보노이드

Abstract : The aim of the present investigation was to assess the oxidation inhibition by nitrogen oxide scavenging activity and physiological activities. Bioactive compound of proanthocyanidin 69.000 ± 2.737 mg catechin equivalents (CE)/g dry weight. Antioxidant effects (nitric oxide radical scavenging activity, nitrite scavenging activity, β -carotene bleaching assay and lipid peroxidation

[†]Corresponding author
(E-mail: kimhs777@pusan.ac.kr)

inhibition activity) of distilled water (DW), 70% ethanol and *n*-butanol extract of turmeric (*Curcuma longa* L.). Turmeric extracts yield were DW 17.11%, 70% ethanol 15.26% and *n*-butanol 4.12%, respectively. Oxidation inhibition activity of the samples exhibited a dose-dependent increase. However, in the current study, none of the samples evaluated showed activity as strong as the BHA and trolox. Total flavonoid content was the highest in the *n*-butanol extract, followed by 70% ethanol and DW extract. Further, nitrite scavenging activity was the highest for the *n*-butanol extract. As a result of this experiment, the turmeric can be utilized as a valuable and potential natural oxidation inhibition for the functional food industry.

Keywords : Turmeric (*Curcuma longa* L.), Oxidation inhibition activity, Proanthocyanidin, Nitrogen oxide scavenging activity, Total flavonoid

1. 서론

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의한 산화적 스트레스(oxidative stress)가 암 발생은 물론 중양, 심장순환계질환(coronary heart disease, CHD) 및 퇴행성 질환인 류마티스 관절염 등과 관련되는 것으로 알려져 있어, 산화억제 물질을 규명하는 것은 중요한 의미를 지닌다고 한다[1,2]. 생체 내 산화억제 효소로 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GO_x)와 식품 또는 보충제로 섭취되는 비타민 E, 비타민 C, 카로티노이드(carotenoid), 미량금속(Se, Mn, Zn), 플라보노이드(flavonoid), 다불포화지방산(ω -3 및 ω -6 지방산) 등이 있으며, 라디칼(radical)의 연쇄 반응을 차단해주거나 파괴시켜 산화적 스트레스를 막아주는 기전으로 보고되어 있다[3,4]. 과일 및 야채에 많이 함유되어 있는 폴리페놀 화합물(polyphenolics)은 유리 라디칼(free radical) 소거 활성을 가지며[5], 항노화, 항고혈압 및 항당뇨 등의 작용이 있다고 한다[6]. 울금(*Curcuma longa* L.)은 생강과에 속하는 다년생 속근성 초본식물로 오랜 기간 동안 향신료로 이용되고, 질병 치료제로 알려져 있다[7,8]. 울금은 신장, 간장, 심장, 신경 및 비뇨기계 등의 보호작용[9]과 항염증, 항암, 산화억제 및 간 보호 기능 등의 효과가 있는 것으로 보고되어져 있다[10]. 울금의 생리활성물질 성분으로 알려진 curcuminoid에 속하는 커큐민(curcumin)은 혈당 농도 및 혈중 콜레스테롤 농도를 조절하여 생활습관병을 예방하며[11], 울금에서 얻은 정유(essential oil)는 항진균 효과가 있는 것으로 나타났다[12]. 플라보노이

드는 flavonols, flavones, flavan-3-ols, flavanones, 안토시아니딘(anthocyanidins), 프로안토시아니딘(proanthocyanidin) 및 isoflavones 등이 있으며 활성산소 제거능과 항염증, 항암, 심혈관계질환 및 신경계 보호 기능이 있다고 한다[13]. 메타분석(meta-analysis)에서[14] 항산화성 생리활성물질 섭취는 일중항산소 제거 등으로 암 발생 위험과 각종 질환의 예방과 개선에 도움을 주는 것으로 보고하였다.

이에 본 연구는 울금의 생리활성물질과 증류수(distilled water, DW), 70% 에탄올 및 노르말부탄올(*n*-butanol) 용매 추출물의 총 플라보노이드(total flavonoid) 함량과 산화억제 활성(β -carotene bleaching assay), 질소산화물 소거활성(nitric oxide scavenging activity 및 nitrite scavenging activity), 지질과산화 저해활성(lipid peroxidation inhibition)을 통하여 바이오헬스 기능성 식품소재 등 울금 활용의 기초자료를 제시하고자 실험을 행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

본 실험에 사용된 울금(*Curcuma longa* L.)은 전남 진도(Jindo, Jeonnam, Korea) 영농조합법인에서 구입하여 진공동결건조(EYELA, FDU-2000, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)시킨 후, 분쇄기(HMF-3250S, Han-I1 Co., Seoul, Korea)로 마쇄하여 본 실험의 시료로 사용하였다. 증류수(distilled water, DW) 추출은 시료 100 g을 취해 DW를 10배 가하여(1:10, w/v) 70°C에서 2

시간씩 2회 추출하여 여과(filter paper, Advantec, No.1, Tokyo, Japan) 하였고, 울금 100 g에 70% 에탄올, 노르말 부탄올(*n*-butanol) 용매를 각각 10배 가하여(1:10, w/v) 24시간 2회 추출한 후 여과(filter paper, Advantec, No.2, Tokyo, Japan)시켰다. 각 추출물은 진공회전농축기(Hei-VAP Advantage, Heidolph Co., Germany)를 이용하여 40°C에서 감압 농축하여 용매를 제거한 후, -80°C 초저온 냉동고에 저장하면서 본 실험에 사용하였다. 수율은 시료 중량에 대한 추출 후 건조 중량 백분율(%)로 DW 17.11%, 70% 에탄올에서 15.26%, 노르말 부탄올 추출물은 4.12%를 각각 얻어 본 실험에 사용하였다.

2.2. 프로안토시아닌 함량 측정

프로안토시아닌(proanthocyanidin) 함량은 Butler 등의 방법[15]을 변형하여 분석하였다. 울금 분말 0.03 g에 메탄올 2.0 mL를 가하여 교반한 후 여과(filter paper, Advantec, No.2, Tokyo, Japan)하여 추출 용액을 조제하였다. 추출 용액 1.0 mL에 1% 바닐린-메탄올 (w/v) 2.0 mL를 넣고 동량의 25% 황산-메탄올 2.0 mL를 가하여 잘 혼합한 후 30°C 수조에서 15분간 반응시켰다. 메탄올 1.0 mL를 첨가시키고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하여 분광광도계(Specord 200 Plus, Analytikjena Co., Jena, Germany)로 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 (+)-catechin (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)을 사용하여 프로안토시아닌 함량을 산출하였고, 시료 g 당 mg CE (mg of catechin equivalents)로 표시하였다.

2.3. 총 플라보노이드 측정

울금의 용매 별 총 플라보노이드(total flavonoid) 함량은 two complementary colorimetric 방법[16]을 변형하여 측정하였다. 시료 0.5 mL에 10% aluminium nitrate 0.5 mL 및 1 M potassium acetate 0.5 mL를 가하였고, 80% 에탄올 2.0 mL를 혼합하여 교반한 후, 40분간 실온에 방치시켜 415 nm 흡광도에서 분광광도계를 사용하여 측정하였다. 표준물질인 quercetin (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)을 사용하여 표준 검량곡선을 작성하였으며 시료 g 당 mg QE (mg of quercetin equivalents)로 계산하였다.

2.4. Nitric oxide (NO) 라디칼 소거활성 측정

울금의 Nitric oxide (NO) 라디칼 소거활성은 Kumaran와 Karunakaran의 방법[17]을 변형하여 측정하였다. 용매 별 추출물의 각 농도 1.0 mL에 10 mM sodium nitroferricyanide (III) dihydrate 및 0.2 M PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4) 5.0 mL를 가하여 교반한 후 25°C 수조에서 150분간 반응시켰다. 1% sulfanilamine과 2% H₃PO₄ 1.0 mL 및 0.1% N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride 1.0 mL를 반응액 0.5 mL와 잘 혼합한 후 25°C 수조에서 30분간 방치한 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하여 백분율(%)로 나타내었다.

양성대조구로 trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하였다.

Nitric oxide (NO) radical scavenging activity (%) = $[1 - (\text{Sample OD}_{540} / \text{Blank OD}_{540})] \times 100 \%$

2.5. Nitrite (NO₂) 소거활성 측정

울금의 nitrite (NO₂) 소거활성은 Choi 등의 방법[18]을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 1.0 mL와 1 mM sodium nitrite 1.0 mL 및 0.2 M citrate buffer (pH 2.5) 7.0 mL를 가하여 교반한 후, 수조에서 37°C로 1시간 동안 반응시켰다. 반응액 0.4 mL에 2% 초산 3.0 mL를 가한 후, Griess 용액(1% sulfanilic acid:1% 1-naphthylamine, 1:1, v/v) 0.4 mL를 혼합하여 15분간 방치시켜 흡광도(520 nm)를 측정하여 백분율(%)로 표시하였고, 양성대조구로 BHA (butylated hydroxyanisole, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 사용하였다.

Nitrite (NO₂) scavenging activity (%)

$$= [1 - (\text{Reacted sample OD}_{520} - \text{Sample OD}_{520} / 1 \text{ mM NaNO}_2 \text{ OD}_{520})] \times 100 \%$$

2.6. β -carotene bleaching을 이용한 산화 억제 활성 측정

β -carotene 탈색을 이용한 산화억제 활성은 Takada 등의 방법[19]을 변형하여 측정하였다. 클로로포름 10.0 mL에 β -carotene 1.0 mg을 첨가하여 β -carotene 용액을 조제하였고 조제된 β -carotene 용액 1.0 mL를 둥근 플라스크에 가한 후 linoleic acid 20.0 mg과 Tween 40 200.0

mg을 첨가하여 충분히 교반하였다. 남아있는 클로로포름을 40°C의 진공회전농축기로 제거한 후, 증류수 100.0 mL를 넣고 혼합한 emulsion을 실험 직전에 조제하여 사용하였다. 시험관에 β -carotene-linoleic acid emulsion 4.0 mL와 농도 별 추출물 0.08 mL를 가하여 교반한 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다($t=0$ min). 다시 50°C의 수조에서 2시간 동안 반응시켜 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며($t=120$ min), 활성 비교를 위하여 BHA를 사용하였다.

Oxidation inhibition activity (%)

$$= \left(1 - \frac{A_s(t=0) - A_s(t=120)}{A_b(t=0) - A_b(t=120)} \right) \times 100 \%$$

A_s = The absorbance in the presence of sample extract.

A_b = The absorbance of the blank.

2.7. 지질과산화 저해활성 측정

지질과산화 저해활성(lipid peroxidation inhibition)은 Siriwardhana 등의 방법[20]을 변형하여 측정하였다. 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL로 희석한 용매 별 각 농도 1.0 mL와 2.5% linoleic acid emulsion 및 에탄올 2.0 mL 그리고 phosphate buffer (pH 7.0) 10.0 mL를 첨가하여 혼합한 후, 증류수 8.0 mL를 가하여 교반하였다. 빛을 차단한 40°C 수조에 혼합액을 24시간 동안 반응시킨 후, 반응액 0.1 mL에 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL와 에탄올 3.7 mL, 0.02 M ferrous chloride 및 3.5% 염산 0.1 mL를 가하여 3분간 교반하여 지질과산화 정도에 따른 흡광도 차이를 500 nm에서 측정하였다. 양성대조구로

BHA를 사용하였으며, 아래의 식에 의하여 백분율(%)로 지질과산화 저해활성을 나타내었다.

$$\text{Lipid peroxidation inhibition activity (\%)} \\ = [1 - (\text{Sample OD}_{500} / \text{Blank OD}_{500})] \times 100 \%$$

2.8. 통계 처리

실험 데이터는 3회 반복 측정하였으며, 평균값 \pm 표준편차($n=3$)로 나타내었다. 유의성 검정은 일원분산분석법으로 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의적인 차이를 확인하였다. 시료 농도 별 결과값에 대한 IC_{50} 은 선형회귀분석을 통하여 구하였고, 통계처리 프로그램은 IBM SPSS statistic ver. 22를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 프로안토시아닌 함량

올금의 프로안토시아닌(proanthocyanidin) 함량을 Table 1에 나타내었으며, 69.000 ± 2.737 mg catechin equivalents (CE)/g dry weight로 측정되었다. Abirami와 Kanagavalli(2013)는 doxorubicin으로 유도된 심근장애 흰쥐에서, 프로안토시아닌이 glutathione peroxidase (GO_x), glutathione-S transferase (GST) 및 glutathione reductase (GR)의 활성을 개선시켜 심근손상을 예방하며, 강력한 산화억제작용을 보인다고 하였다[21]. 프로안토시아닌 함량은 엘더베리(elderberry) 및 초크베리(chokeberry)가 23 mg/100 g FW (fresh weight) 및 664 mg/100 g FW [22], 스코티아(*Schotia latifolia*) 48.76 \pm

Table 1. Contents of proanthocyanidin and total flavonoid in the bioactivity evaluation assays from turmeric (*Curcuma longa* L.)

Assays			
Proanthocyanidin (mg CE ¹ /g dry weight)	69.000 \pm 2.737		
	DW ²	70% Ethanol	<i>n</i> -Butanol
Total flavonoid (mg QE ³ /g)	0.032 \pm 0.000 ^{a4}	0.512 \pm 0.007 ^b	2.221 \pm 0.015 ^c

¹CE: catechin equivalents. ²DW: distilled water. ³QE: quercetin equivalents.

⁴The values are means \pm standard deviation ($n=3$). Values with the different letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests.

0.00 mg CE/g[23], 사과에 100 g 당 100 mg 함유되어 있다고 하며[24], 식물의 나무껍질, 잎, 과일 및 씨 등에 주로 존재하는 것으로 보고되어 있다[25,26].

따라서 본 연구에서 울금은 프로안토시아닌 성분분이 높은 것으로 확인되어 항산화적 생리활성 효과가 있을 것으로 사료된다.

3.2. 총 플라보노이드 함량

울금의 용매 별 추출물 총 플라보노이드(total flavonoid) 함량은 Table 1에 나타내었으며, 노르말 부탄올 추출물에서 2.221 ± 0.015 mg quercetin equivalents (QE)/g으로 다른 용매 추출물에 비해 유의적인 차이를 보이며 높게 관찰되었다 ($p < 0.05$). 70% 에탄올 추출물은 0.512 ± 0.007 mg QE/g, DW 추출물에서 0.032 ± 0.000 mg QE/g으로 DW 추출물이 유의적인 차이로 낮은 것으로 나타났다($p < 0.05$). Tanvir 등(2017)은 울금의 에탄올 및 DW 추출물의 산화억제 활성에서 플라보노이드 함량은 $0.29 \pm 0.007 \sim 9.66 \pm 0.042$ g CE/100 g의 범위로 나타났으며, 에탄올 추출물은 DW 추출물 보다 높은 함량을 보인 것으로 보고되어 있다[27].

본 실험 결과, 각 용매 별 울금의 총 플라보노이드 함량은 노르말 부탄올, 70% 에탄올 및 DW 순으로 확인되었다. 한편, 플라보노이드는 혈압 및 혈관 확장과 지질농도에 관여하여 개선 효과를 주는 것으로 알려져 있다[28].

3.3. Nitric oxide (NO) 라디칼 소거활성

각 용매 별 nitric oxide (NO) 라디칼 소거활성은 Fig. 1과 같으며, IC_{50} 을 구한 값은 Table 2에 나타내었다. 활성 비교를 위해 양성대조구로 Trolox를 사용하였고, 울금의 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL 등 각 농도 별 NO 라디칼 소거활성을 측정된 결과, 농도 의존적으로 증가되는 것으로 나타났다. DW 추출물의 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL 농도에서 각각 $15.64 \pm 0.74\%$, $24.13 \pm 0.22\%$, $25.15 \pm 0.22\%$, $26.20 \pm 0.06\%$, IC_{50} 2.173 ± 0.128 mg/mL, 70% 에탄올 추출물은 $10.52 \pm 0.58\%$, $15.39 \pm 0.53\%$, $18.25 \pm 0.34\%$, $20.76 \pm 0.58\%$, IC_{50} 2.513 ± 0.064 mg/mL, 노르말 부탄올 추출물에서 $13.39 \pm 0.69\%$, $40.16 \pm 0.45\%$, $55.83 \pm 0.10\%$, $69.92 \pm 0.39\%$, IC_{50} 0.515 ± 0.002 mg/mL로 관찰되었다. 0.2 mg/mL 농도를 제외한 모든 농도에서 노르말 부탄올 추

출물이 높은 NO 라디칼 소거활성을 보였다.

Trolox는 각 농도에서 $83.59 \pm 0.67\%$, $90.56 \pm 0.50\%$, $90.27 \pm 0.33\%$, $90.59 \pm 0.06\%$ 로 강력한 NO 라디칼 소거활성을 나타내었다($p < 0.05$). NO는 세포와 조직에 손상을 주는 것으로 보고되어 있으며, NO 라디칼 소거활성 측정은 산화억제 활성을 탐색하는 방법 중 하나로 알려져 있다 [29].

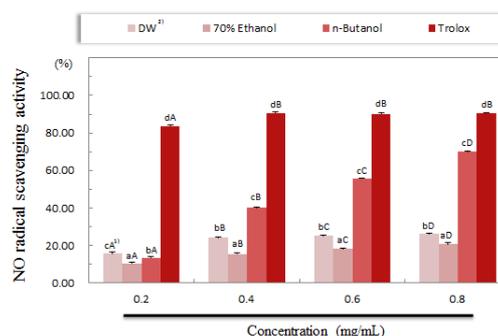


Fig. 1. Nitric oxide (NO) radical scavenging activity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range tests. ²⁾DW: distilled water.

3.4. Nitrite (NO₂) 소거활성

울금의 각 용매 별 nitrite (NO₂) 소거활성은 Fig. 2에 나타내었으며, IC_{50} 을 구한 값은 Table 2와 같다. 노르말 부탄올 추출물에서 농도 별 (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL)로 각각 $19.76 \pm 0.64\%$, $39.21 \pm 0.31\%$, $52.34 \pm 0.31\%$, $66.29 \pm 0.18\%$, IC_{50} 0.533 ± 0.001 mg/mL로 다른 용매 추출물보다 유의적인 차이를 보이며 높은 NO₂ 소거활성을 보였다($p < 0.05$).

70% 에탄올 추출물은 각 농도 별 $3.46 \pm 0.53\%$, $8.35 \pm 1.33\%$, $13.03 \pm 0.93\%$, $16.90 \pm 1.10\%$, IC_{50} 2.843 ± 0.093 mg/mL이었으며, DW 추출물에서는 $2.55 \pm 0.53\%$, $3.46 \pm 1.10\%$, $4.58 \pm 0.77\%$, $5.60 \pm 0.31\%$, IC_{50} 3.751 ± 0.886 mg/mL로 관찰되었다.

소거활성 비교를 위한 양성대조구로 BHA를 사용하였고 각 농도에서 $70.06 \pm 0.00\%$, $70.88 \pm$

Table 2. IC₅₀ values of NO radical scavenging activity, NO₂ scavenging activity, antioxidant activity by BC bleaching assay and LPI activity by turmeric (*Curcuma longa* L.)

Assay ¹⁾	IC ₅₀ ²⁾ value (mg/mL)		
	DW ³⁾	70% Ethanol	n-Butanol
NO	2.173±0.128 ^{b4)}	2.513±0.064 ^c	0.515±0.002 ^a
NO ₂	3.751±0.886 ^b	2.843±0.093 ^b	0.533±0.001 ^a
BC	1.594±0.117 ^b	1.568±0.228 ^b	0.956±0.112 ^a
LPI	1.123±0.032 ^b	0.701±0.012 ^a	1.320±0.147 ^c

¹⁾Nitric oxide (NO) radical scavenging activity, nitrite (NO₂) scavenging activity, antioxidant activity by β -carotene (BC) bleaching assay and lipid peroxidation inhibition (LPI) activity.

²⁾IC₅₀: half-maximal inhibitory concentration. ³⁾DW: distilled water.

⁴⁾The values are means±standard deviation ($n=3$). Values with the different letters in the same row are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

0.77%, 71.59±1.10%, 71.08±0.98%로 강력한 NO₂ 소거활성을 보였다. 아질산염(NO₂)은 세포 파괴, 위암 및 대장암 등을 일으키는 것으로 알려져 있으며[30,31], NO₂ 소거활성은 N-nitroso 화합물의 형성을 감소시켜 활성산소 제거와 항암 효과 등이 있다고 한다[32].

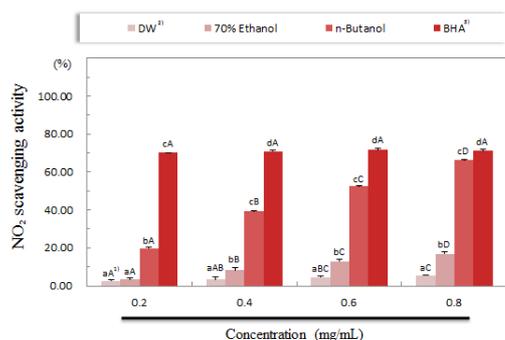


Fig. 2. Nitrite (NO₂) scavenging activity of various solvent extracts from turmeric(*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means±standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests. ²⁾DW: distilled water.

³⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

3.5. β -carotene bleaching을 이용한 산화 억제 활성

β -carotene 탈색을 이용한 산화억제 활성은 Fig. 3과 같으며, IC₅₀을 구한 값은 Table 2에 나타내었고, 활성 비교를 위하여 BHA를 사용하였다. 올금의 각 용매 별 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL의 농도에서 β -carotene 탈색 저해활성을 측정된 결과, 각 농도에서 농도 의존적으로 증가되는 것으로 나타났다($p<0.05$). 노르말 부탄올 추출물에서 농도 별로 각각 12.08±0.29%, 27.19±0.71%, 36.75±1.68%, 43.93±3.77%, IC₅₀ 0.956±0.112 mg/mL로 나타났으며, 0.2 mg/mL의 농도를 제외하고는 70% 에탄올 및 DW 추출물 보다 β -carotene 탈색 저해활성이 강한 것으로 확인되었다($p<0.05$). 70% 에탄올 추출물에서 각각 1.20±0.61%, 7.80±1.26%, 16.05±1.07%, 20.20±2.20%, IC₅₀ 1.568±0.228 mg/mL, DW 추출물은 각각 8.81±0.68%, 17.87±0.38%, 23.54±0.68%, 25.93±0.97%, IC₅₀ 1.594±0.117 mg/mL로 나타났다. BHA는 각 농도에서 66.27±6.70%, 76.71±1.33%, 81.31±0.87%, 81.75±1.89%로 강한 β -carotene 탈색 저해활성이 관찰되었다. 산화억제 효과가 있는 폴리페놀 화합물(polyphenolics)은 β -carotene 탈색의 진행을 억제하는 것으로 보고되어 있으며[33], β -carotene bleaching은 수성 emulsion에 linoleic acid를 이용하여 β -carotene 탈색을 통한 산화억제 활성의 측정으로 널리 이용되고 있다[34].

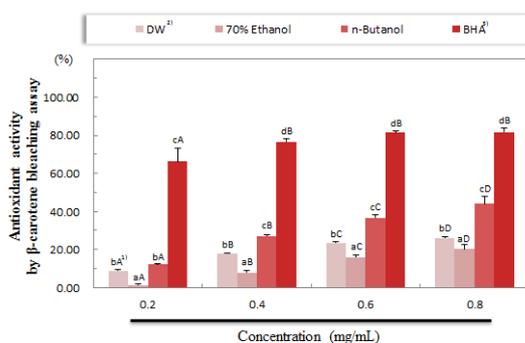


Fig. 3. Antioxidant activity by β -carotene (BC) bleaching assay of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests. ²⁾DW: distilled water. ³⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

3.6. 지질과산화 저해활성

울금의 용매 별 추출물과 양성대조구인 BHA의 지질과산화 저해활성(lipid peroxidation inhibition)은 Fig. 4와 같으며, IC_{50} 을 구한 값은 Table 2에 나타내었다. 울금 추출물의 각 농도(0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL)에서 지질과산화 저해활성을 측정된 결과, 노르말 부탄올 농도 별 추출물에서 각각 $41.79 \pm 0.24\%$, $43.18 \pm 0.07\%$, $44.34 \pm 0.07\%$, $46.39 \pm 0.54\%$, IC_{50} 1.320 \pm 0.147 mg/mL로 나타났으며, 0.2 mg/mL의 농도에서 70% 에탄올 및 DW 추출물 보다 지질과산화 저해활성이 강한 것으로 확인되었다($p<0.05$). 0.4, 0.6, 0.8 mg/mL 농도에서는 70% 에탄올 보다는 활성이 낮았지만, DW 보다 지질과산화 저해활성이 높은 것으로 관찰되었다($p<0.05$). 70% 에탄올 추출물에서 각각 $37.78 \pm 0.93\%$, $46.20 \pm 0.33\%$, $48.63 \pm 0.24\%$, $50.79 \pm 0.24\%$, IC_{50} 0.701 \pm 0.012 mg/mL, DW 추출물에서 각각 $5.60 \pm 0.13\%$, $15.57 \pm 0.99\%$, $22.60 \pm 0.87\%$, $27.54 \pm 1.57\%$, IC_{50} 1.123 \pm 0.032 mg/mL로 나타났다. BHA는 각 농도에서 $47.97 \pm 0.20\%$, $48.40 \pm 0.24\%$, $50.48 \pm 0.13\%$, $57.16 \pm 2.50\%$ 로 지질과산화 저해활성이 강한 것으로 관찰되었다. 지질과산화는 지질 이중층막에서 발생하는 3단계(개시/전파/종결)의 산화 과정으로 주로 활성산소

종(reactive oxygen species, ROS)에 의하여 개시되는 것으로 보고되어 있으며, 신경변성질환, 심장질환, 죽상동맥경화증, 간질환 및 노화과정 등의 요인으로 작용되는 것으로 알려져 있다[35]. 본 실험 결과, 노르말 부탄올 및 70% 에탄올 추출물에서 지질과산화 저해활성이 높은 것으로 확인되어 천연 산화억제제로서의 효과가 클 것으로 사료된다.

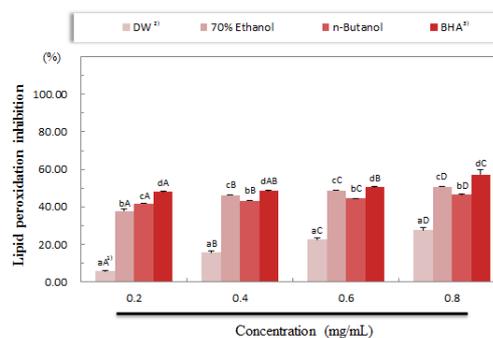


Fig. 4. Lipid peroxidation inhibition (LPI) activity of various solvent extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.).

¹⁾The values are means \pm standard deviation ($n=3$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests. ²⁾DW: distilled water. ³⁾BHA: butylated hydroxyanisole.

4. 결론

울금(*Curcuma longa* L.)의 노르말 부탄올(*n*-butanol), 70% 에탄올 및 증류수(distilled water, DW) 용매를 사용하여 산화억제 활성(β -carotene bleaching assay), 질소산화물 소거활성(nitric oxide scavenging 및 nitrite scavenging activity) 및 지질과산화 저해활성(lipid peroxidation inhibition) 등의 실험을 통한 울금의 기능성 식품소재로서 활용 가능성을 검토한 결과, 프로안토시아닌(proanthocyanidin) 함량은 69.000 ± 2.737 mg catechin equivalents (CE)/g dry weight로 측정되었다. 수율은 DW 17.11%, 70% 에탄올에서 15.26%, 노르말 부탄올 4.12% 순으로 확인되었다. 총 플라보노이드(total flavonoid) 함량은 노르말 부탄올 추출물에

서 2.221 ± 0.015 mg quercetin equivalents (QE)/g, 70% 에탄올 및 DW 추출물은 0.512 ± 0.007 및 0.032 ± 0.000 mg QE/g으로 확인되어, 노르말 부탄올 추출물에서 유의적인 차이를 보이며 높게 관찰되었다($p < 0.05$). Nitric oxide (NO) 라디칼 소거활성은 각 농도별, DW 추출물에서 15.64~26.20%, 70% 에탄올 추출물은 10.52~20.76%, 노르말 부탄올 추출물에서 13.39~69.92%로 동정되었다. 노르말 부탄올 추출물은 각 농도에서 0.2 mg/mL 농도를 제외하고는 비교적 높은 NO 라디칼 소거활성을 나타내었다. 노르말 부탄올 농도 별 추출물의 nitrite (NO₂) 소거활성에서는 19.76~66.29%로 70% 에탄올 및 DW 추출물과 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이며 높은 NO₂ 소거활성을 보였다($p < 0.05$). 70% 에탄올 추출물에서 3.46~16.90%, DW 추출물에서는 2.55~5.60%로 관찰되었다. β -carotene 탈색을 이용한 산화억제 활성은 노르말 부탄올 추출물의 0.2~0.8 mg/mL 농도에서 12.08~43.93%로 나타났으며, 70% 에탄올 추출물은 1.20~20.20%, DW 추출물에서 8.81~25.93%로 확인되었다. 노르말 부탄올 추출물은 0.2 mg/mL의 농도를 제외하고는 70% 에탄올 및 DW 추출물보다 유의적인 차이를 보이며 탈색 저해활성이 강한 것으로 확인되었다($p < 0.05$). 지질과산화 저해활성은 노르말 부탄올 추출물 0.2~0.8 mg/mL의 농도에서 41.79~46.39%, 70% 에탄올 및 DW 추출물에서 각각 37.78~50.79%, 5.60~27.54%로 동정되었다. 노르말 부탄올 추출물은 0.4 mg/mL 농도 이상에서 70% 에탄올 추출물 보다는 낮았지만, DW 추출물 보다 활성이 강한 것으로 관찰되었다($p < 0.05$). 이에 울금의 용매 별 추출물 총 플라보노이드 함량은 노르말 부탄올 추출물에서 우수한 것으로 나타났으며, 노르말 부탄올 추출물이 질소산화물 소거활성 및 β -carotene 탈색을 이용한 산화억제 활성에서 0.2 mg/mL의 농도를 제외하고는 높은 활성을 갖는 것으로 확인되어 천연 산화억제제로서 가치가 있을 것으로 판단된다.

References

1. K. Bagchi, S. Puri, "Free radicals and antioxidants in health and disease: a review", *East. Mediterr. Health J.*, Vol.4, No.2 pp. 350-360, (1998).
2. L. Barros, M. J. Ferreira, B. Queiros, I. C. Ferreira, P. Baptista, "Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities", *Food Chem.*, Vol.103, No.2 pp. 413-419, (2007).
3. R. K. Gupta, A. K. Patel, N. Shah, A. K. Chaudhary, U. K. Jha, U. C. Yadav, P. K. Gupta, U. Pakuwal, "Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer", *Asian Pac. Cancer Prev.*, Vol.15, No.11 pp. 4405-4409, (2014).
4. V. Pandhair, B. S. Sekhon, "Reactive oxygen species and antioxidants in plants: an overview", *J. Plant Biochem. Biotechnol.*, Vol.15, No.2 pp. 71-78, (2006).
5. E. Herrera, R. Jiménez, O. I. Aruoma, S. Hercberg, I. Sánchez-García, C. Fraga, "Aspects of antioxidant foods and supplements in health and disease", *Nutr. Rev.*, Vol.67, No.1 pp. S140-S144, (2009).
6. Y. J. Lee, E. O. Kim, S. W. Choi, "Isolation and identification of antioxidant polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) seeds", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.40, No.4 pp. 517-524, (2011).
7. C. A. C. Araujo, L. L. Leon, "Biological activities of *Curcuma longa* L.", *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Vol.96, No.5 pp. 723-728, (2001).
8. R. Mohebbati, A. Anaeigoudari, M. R. Khazdair, "The effects of *Curcuma longa* and curcumin on reproductive systems", *Endocrine Regulations*, Vol.51, No.4 pp. 220-228, (2017).
9. S. Senan, D. Kizhakayil, T. E. Sheeja, B. Sasikumar, A. I. Bhat, V. A. Parthasarathy, "Novel polymorphic microsatellite markers from turmeric, *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae)", *Acta Bot. Croat.*, Vol.72, No.2 pp. 407-412, (2013).
10. J. S. Yook, M. Kim, S. J. Lee, J. U. Choi,

- Y. S. Cha, "Improvement effect of artificial rice containing *curcuma longa* L. extract on lipid parameters in C57BL/6J mice", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.44, No.8 pp. 1114-1120, (2015).
11. E. Y. Sukandar, H. Permana, I. K. Adnyana, J. I. Sigit, R. A. Ilyas, P. Hasimun, D. Mardiyah, "Clinical study of turmeric (*Curcuma longa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts as antihyperglycemic and antihyperlipidemic agent in type-2 diabetes-dyslipidemia patients", *Intern. J. Pharmacol.*, Vol.6, No.4 pp. 456-463, (2010).
 12. Y. Hu, J. Zhang, W. Kong, G. Zhao, M. Yang, "Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*", *Food Chem.*, Vol.220, pp. 1-8, (2017).
 13. W. Bai, C. Wang, C. Ren, "Intakes of total and individual flavonoids by US adults", *Int. J. Food Sci. Nutr.*, Vol.65, No.1 pp. 9-20, (2014).
 14. H. D. Woo, J. Kim, "Dietary flavonoid intake and smoking-related cancer risk: a meta-analysis", *PLoS One*, Vol.8, No.9 pp. e75604-e75616, (2013).
 15. L. G. Butler, M. L. Price, J. E. Brotherton, "Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization", *J. Agric. Food Chem.*, Vol.30, No.6 pp. 1087-1089, (1982).
 16. C. C. Chang, M. H. Yang, H. M. Wen, J. C. Chern, "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods", *J. Food Drug Anal.*, Vol.10, No.3 pp. 178-182, (2002).
 17. A. Kumaran, R. J. Karunakaran, "Nitric oxide radical scavenging active components from *Phyllanthus emblica* L.", *Plant Foods Hum. Nutr.*, Vol.61, No.1 pp. 1-5, (2006).
 18. D. Choi, K. A. Cho, M. S. Na, H. S. Choi, Y. O. Kim, D. H. Lim, S. J. Cho, H. Cho, "Effect of bamboo oil on antioxidative activity and nitrite scavenging activity", *J. Ind. Eng. Chem.*, Vol.14, No.1 pp. 765-770, (2008).
 19. H. Takada, K. Kokubo, K. Matsubayashi, T. Oshima, "Antioxidant activity of supramolecular water-soluble fullerenes evaluated by β -carotene bleaching assay", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol.70, No.12 pp. 3088-3093, (2006).
 20. N. Siriwardhana, K. W. Lee, Y. J. Jeon, S. H. Kim, J. W. Haw, "Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition", *Food Sci. Technol. Int.*, Vol.9, No.5 pp. 339-346, (2003).
 21. M. Abirami, U. Kanagavalli, "Cardioprotective effect of grapeseed proanthocyanidin on doxorubicin induced myocardial injury in rats", *Int. J. Pharm. Life Sci.*, Vol.4, No.1 pp. 2288-2293, (2013).
 22. X. Wu, L. Gu, R. L. Prior, S. McKay, "Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity", *J. Agric. Food Chem.*, Vol.52, No.26 pp. 7846-7856, (2004).
 23. B. O. Mbaebie, H. O. Edeoga, A. J. Afolayan, "Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq", *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, Vol.2, No.2 pp. 118-124, (2012).
 24. L. Bravo, "Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance", *Nutr. Rev.*, Vol.56, No.11 pp. 317-333, (1998).
 25. R. A. Dixon, D. Y. Xie, S. B. Sharma, "Proanthocyanidins a final frontier in flavonoid research?", *New Phytol.*, Vol.165, No.1 pp. 9-28, (2005).
 26. J. A. Kennedy, G. P. Jones, "Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of

- excess phloroglucinol”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.49, No.4 pp. 1740–1746, (2001).
27. E. M. Tanvir, M. Hossen, M. Hossain, R. Afroz, S. H. Gan, M. Khalil, N. Karim, “Antioxidant properties of popular turmeric (*Curcuma longa*) varieties from Bangladesh”, *J. Food Qual.*, Vol.2017, pp. 1–8, (2017).
 28. J. M. Geleijnse, P. C. Hollman, “Flavonoids and cardiovascular health: which compounds, what mechanisms?”, *Am. J. Clin. Nutr.*, Vol.88, No.1 pp. 12–13, (2008).
 29. Y. Sueishi, M. Hori, M. Kita, Y. Kotake, “Nitric oxide (NO) scavenging capacity of natural antioxidants”, *Food Chem.*, Vol.129, No.3 pp. 866–870, (2011).
 30. M. W. Byun, H. S. Yook, K. S. Kim, C. K. Chung, “Effects of gamma-irradiation on physiological effectiveness of Korean medicinal herbs”, *Rad. Physics Chem.*, Vol.54, No.3 pp. 291–300, (1999).
 31. J. H. Han, H. K. Moon, S. K. Chung, W. W. Kang, “Comparison of physiological activities of radish bud (*Raphanus sativus* L.) according to extraction solvent and sprouting period”, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.44, No.4 pp. 549–556, (2015).
 32. J. S. Choi, S. H. Park, J. H. Choi, “Nitrite scavenging effect by flavonoids and its structure-effect relationship”, *Arch. pharm. Res.*, Vol.12, No.1 pp. 26–33, (1989).
 33. D. Pastore, D. Trono, L. Padalino, S. Simone, D. Valenti, N. Di Fonzo, S. Passarella, “Inhibition by α -tocopherol and L-ascorbate of linoleate hydroperoxidation and β -carotene bleaching activities in durum wheat semolina”, *J. Cereal Sci.*, Vol.31, No.1 pp. 41–54, (2000).
 34. I. MikaMi, M. YaMaguChi, H. Shinmoto, T. Tsushida, “Development and validation of a microplate-based β -carotene bleaching assay and comparison of antioxidant activity (AOA) in several crops measured by β -carotene bleaching, DPPH and ORAC assays”, *Food Sci. Technol. Res.*, Vol.15, No.2 pp. 171–178, (2009).
 35. P. Podloucká, K. Berka, G. Fabre, M. Paloncýová, J. L. Duroux, M. Otyepka, P. Trouillas, “Lipid bilayer membrane affinity rationalizes inhibition of lipid peroxidation by a natural lignan antioxidant”, *J. Phys. Chem. B.*, Vol.117, No.17 pp. 5043–5049, (2013).