

잎들깨 유전자원의 기능성분 및 항산화 활성

안연주 · 김정인* · 김상우* · 김성엽* · 오은영* · 이정은* · 이은수* ·
유은애** · 성정숙*** · 이명희**** · 김춘송**** · †김민영*

농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 발작물개발과 산학협동과정 박사과정생

*농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 발작물개발과 농업연구사

농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터 농업연구사, *농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터 농업연구관

****농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 발작물개발과 농업연구관

Functional Components and Antioxidant Activities of Perilla Leaf Genetic Resource

Yeon Ju An, Jung In Kim*, Sang Woo Kim*, Sungup Kim*, Eunyoung Oh*, Jeongeun Lee*, Eunsoo Lee*,
Eunae Yoo**, Jung-Sook Sung***, Myoung Hee Lee****, Choon-Song Kim**** and †Min Young Kim*

Doctor's Student, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA,
Miryang 50424, Korea

*Associate Researcher, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA,
Miryang 50424, Korea

**Associate Researcher, National Agrobiodiversity Center, NIAS, RDA, Jeonju 54874, Korea

***Research Officer, National Agrobiodiversity Center, NIAS, RDA, Jeonju 54874, Korea

****Research Officer, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA,
Miryang 50424, Korea

Abstract

The objective of this study was to investigate the distribution of functional compounds in perilla leaves of various genetic resources and their antioxidant activities. A comprehensive analysis of functional compounds was conducted for 90 genetic resources, focusing on total polyphenol content (TPC), total flavonoid content (TFC), individual phenolic content (IPC), and lutein. Their antioxidant activities were then analyzed based on their radical scavenging capacity using ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The TPC content exhibited a range of 13.19 to 35.85 mg gallic acid equivalent/g, whereas the TFC content varied from 11.74 to 46.51 mg catechin equivalent/g. Total IPC was detected in a range of 6,310.98 to 40,491.82 $\mu\text{g/g}$. Lutein was detected at levels between 70.97 and 597.97 $\mu\text{g/g}$. ABTS and DPPH radical scavenging activities of perilla leaves ranged from 30.39 to 58.58 mg trolox equivalent (TE)/g and from 7.74 to 46.56 mg TE/g, respectively. Furthermore, correlation analysis demonstrated that rosmarinic acid, a phenolic acid, exhibited a significantly positive correlation with antioxidant activity. These findings suggest that various genetic resource of perilla leaves could effectively mediate antioxidant capacity. Results of this study provide valuable information for use of perilla leaves in Korea as functional food materials.

Key words: perilla leaf, genetic resource, functional compound, antioxidant activity

† Corresponding author: Min Young Kim, Associate Researcher, Upland Crop Breeding Research Division, Dept. of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Miryang 50424, Korea. Tel: +82-55-350-1215, Fax: +82-55-350-3050, E-mail: kmyqwer@korea.kr

서 론

최근 다양한 질병과 전염병 등으로 건강과 면역에 대한 사람들의 관심이 높고, 항산화 활성 및 기능성이 우수한 농산물에 대한 관심도 함께 증가하고 있다(Kim 등 2022). 우리나라의 대표 유식작물 중 하나인 들깨 [*Perilla frutescens* var. *japonica* (Hassk.) Hara.]는 한국을 중심으로 중국, 인도, 일본 등 동아시아에서 널리 재배되고 있는 꿀풀과 들깨속에 속하는 1년생 초본 작물이다. 과거에는 주로 종실유를 채취할 목적으로 들깨가 재배되어 왔으나 최근 육류의 소비 증가 및 웰빙에 의한 쌈채소 소비 시장의 급성장으로 최근 들깨잎용 품종이 개발되어 연중 생산이 가능해졌다(Lee 등 2009). 독특한 향미와 개운한 맛 때문에 쌈채소뿐만 아니라 깻잎 절임, 깻잎 김치, 나물 및 양념으로도 많이 쓰인다(Kim 등 2022). 또한 한의학에서는 강장, 소화, 충독, 해독, 음종 및 옷의 해독 등에도 사용되고 있으며, 깻잎에 함유되어 있는 식이 섬유소는 당뇨병, 비만예방, 항암 및 항산화 효과가 있는 것으로 알려져 있어 기능성 채소로도 개발 가치가 높다(Mercurio & Behm 1981).

다양한 질병의 원인으로 알려진 활성산소(reactive oxygen radical, ROS)는 쌍을 이루지 못한 전자에 의해 높은 반응성을 가지며 이는 산화적 스트레스의 직접적 원인이 된다(Kim 등 2019). 따라서 최근 세포내 활성산소 억제제를 위해 항산화에 좋은 다양한 성분들을 많이 섭취하고 있는 실정이다(Kim 등 2022). 활성산소는 세포막 지질의 과산화를 촉진하고 NF- κ B(nuclear factor kappa B)를 비롯한 다양한 신호전달 체계를 활성화 시킴으로써 염증반응을 촉진한다(Zhang 등 2002). 몸속 염증 및 항염 반응은 외부 자극에 대하여 스스로를 보호하기 위한 가장 첫번째 면역 작용 중의 하나이나, 그 정도가 과도하게 되면 관절염, 천식, 만성 장염 및 위염, 건선, 피부염 등의 염증 질환을 유발하게 된다(Guo 등 2011). 체내 활성산소를 제거하기 위해 다양한 연구가 진행되고 있을 뿐 아니라(Jennings & Barnett 1988), 천연 항산화제에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있다(Um 등 2017).

들깨잎에는 luteolin, caffeic acid, quercetin, rosmarinic acid, lutein 등의 페놀 및 기능 성분이 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(Yamazaki & Saito 2006). 특히 luteolin은 플라보노이드계 화합물로 항바이러스와 미백 활성, 항산화 활성을 가지고(Jeon 등 2014), caffeic acid는 페놀산 중 계피산의 일종으로 커피, 허브, 와인 등에 포함되어 있으며(Li 등 2019), 산화스트레스 유발 및 aflatoxin의 생산을 억제할 수 있다고 알려져 있다(Oh & Lee 2003). Caffeic acid의 이합체인 rosmarinic acid는 체내에서 생성되는 활성산소를 제거하는 역할을 함으로써 항산화와 치매 예방에 좋고(Kim 등 2019), 맥아당을 포

도당으로 분해시키는 작용을 해서 혈중 당분을 체외로 배출시켜 혈당의 상승을 억제하는 작용을 한다고 알려져 있다(Hyun 등 2003). 또한 lutein은 주로 식물의 엽록체 속에 존재하며, 시력 보호의 기능이 있어 눈 건강에 도움을 주는 것으로 알려져 있고(Semba & Dagnelie 2003), 면역 및 항암 활성을 가지며 여러 만성질환의 예방과 상관성이 있다(Granado 등 2003).

유전자원이란 자연계에 존재하는 종자, 미생물, 동물, 곤충 등 모든 생명체 및 넓게는 DNA, genome 등을 포함하며, 현재는 물론 미래에도 인류 생존 및 복지에 필수 불가결한 존재로(Oh Y 2004) 오랫동안 인류 공동유산(common her-itage)으로 인정되어왔다. 우리나라는 약 26만여 건의 식물유전자원을 보유하고 있는 세계 5위 수준의 종자 강국이지만 종자 시장 내 차지하는 비중은 1% 내외이다(Shin J 2012). 따라서 국내 유전자원의 국제 경쟁력을 강화하기 위해 적극적인 확대 및 발전을 위한 방안을 모색해야 할 필요가 있을 것으로 보인다(Kwak 등 2012). 현재 들깨의 기능성분 및 항산화 활성에 대한 연구는 품종별로 다양하게 진행되어 보고되어 있지만, 유전적 다양성을 가지는 유전자원 간의 유용성분 분포에 따른 항산화 활성에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 농업적으로 이용 가치가 높고, 생리활성 성분의 차이가 다양한 유전자원을 대상으로 들깨 유용성분과 항산화 활성을 평가하여 상관관계를 구명하고, 국내 들깨의 우수 유전자원의 선발에 활용하여 기능성 식품 소재 개발에 유용한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

본 연구에 사용한 시험재료는 국립농업과학원 농업유전자원센터에서 분양받은 90자원의 들깨종자를 2022년도에 경상남도 밀양 소재의 국립식량과학원 남부작물부 시험포장에서 재배하여 개화 이전의 잎을 수확한 후 동결건조하여 사용하였다. 항산화 활성 측정 및 기능성분 분석에 사용된 Trolox, ABTS, DPPH, Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, catechin hydrate, sodium nitrite, aluminum chloride hexahydrate, sodium carbonate 등은 Sigma(Sigma-Aldrich Co., Steinheim, Germany)로부터 구입하여 사용하였다. 사용된 시약은 analytical 및 HPLC 등급을 사용하였다.

2. 총 폴리페놀 함량 (total polyphenol contents, TPC) 및 총 플라보노이드 함량 (total flavonoid contents, TFC)

잎들깨 시료 0.5 g을 80% methanol 20 mL 가해 24시간 교반추출(multi shaker MMS, Eyla)하여 잎들깨 추출물을 제조

하여 실험에 사용하였다. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu phenol reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 한 Woo 등(2010)의 방법을 변형하여 분석하였다. 잎들깨 추출물에 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ L를 가하고 5분간 보관한 후 7.5% Na_2CO_3 80 μ L를 가하여 혼합하였다. 암소에서 30분간 발색시킨 후 750 nm에서 Spectrophotometer Reader(VERSAmax)로 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준 물질로 하여 검량선을 작성하였고, mg gallic acid equivalent(GAE)/g(dry basis)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Dewanto 등(2002)의 방법에 따라 추출물 100 μ L에 증류수 400 μ L와 5% NaNO_2 30 μ L를 가한 뒤, 5분 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 30 μ L를 가하여 혼합하였다. 6분 후 1 N NaOH 200 μ L, 증류수 240 μ L를 가한 후 강하게 vortex 한 뒤, 13,500 rpm, 5분 동안 원심분리하여 상등액 200 μ L를 취하였다. 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였으며, (+)-catechin(Sigma-Aldrich Co.)을 표준 물질로 하여 검량선을 작성하였고, mg catechin equivalent (CE)/g (drybasis)로 나타내었다.

3. ABTS 및 DPPH radical 소거 활성

잎들깨 추출물의 항산화 활성 분석은 ABTS 및 DPPH radical 소거 활성을 측정하였으며, Trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC) 방법을 변형하여 측정하였다(Re 등 1999). ABTS radical 소거 활성은 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate 용액을 1:1 비율로 섞은 후 상온에서 12시간 보관하여 ABTS 양이온을 형성시켜 흡광도 값이 0.8-1.1의 수치가 되도록 증류수로 희석하였다. 20 μ L 잎들깨 추출물에 ABTS solution 200 μ L를 분주하여 30분간 암반응 시킨 후 735 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DPPH radical 소거 활성은 20 μ L 잎들깨 추출물에 0.2 mM DPPH solution 200 μ L를 분주하였고, 30분간 암반응 시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 및 DPPH radical 소거 활성 측정에 표준물질로 Trolox를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료의 항산화력을 mg trolox equivalent (TE)/100 g (dry basis)로 나타내었다.

4. Phenolic compounds 및 lutein 함량

잎들깨의 phenolic compounds 추출을 위해 분쇄된 시료 0.5 g에 80% methanol 20 mL를 가하여 3시간 교반 추출하였다. 또한 lutein 추출을 위해 분쇄된 시료 0.2 g에 Acetone 15 mL를 분주하여 30분간 초음파 추출하여 분석에 사용하였다. 함량 분석은 High Performance Liquid Chromatography(HPLC, 액체크로마토그래피, Ultimate 3000, Thermo fisher)를 이용하여 측정하였으며 phenolic compounds의 분석 조건은 Table 1,

lutein의 분석 조건은 Table 2와 같다.

5. 통계분석

모든 실험에 대한 통계 자료의 값은 R studio(ver. 4.2.0)을 이용하였으며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성 검정하였고, 상관관계 분석(Correlation analysis), 군집분석(CA; cluster analysis) 및 주성분 분석(PCA; principal component analysis)을 수행하였다. 상관관계 분석은 Pearson's correlation coefficient를 기반으로 하여 수행하였고, 들깨 유전자원의 군집 특성을 파악하고 보다 가시화하기 위해 'pheatmap' 라이브러리(library)를 이용하여 군집분석을 포함하는 heatmap을 작성하였다. 또한, 변

Table 1. The analytical conditions of HPLC for identification and determination of phenolic compounds

Instrument	HPLC Ultimate 3000	
Column	YMC Triart C-18 (50×2 mm, 1.9 μ m)	
Mobile phase	(A): 0.1% acetic acid in water (B): 0.1% acetic acid in acetonitrile	
Flow rate	0.4 mL/min	
Injection vol.	5 μ L	
Wavelength	330 nm	
Time(min)	A (%)	B (%)
1	95	5
3	85	15
9	81	19
12	72	28
16	40	60
22	95	5

Table 2. The analytical conditions of HPLC for identification and determination of lutein

Instrument	HPLC Ultimate 3000	
Column	Supersil column (4.6×150 mm, 5 μ m)	
Mobile phase	(A): 75% methanol (B): Ethyl acetate	
Flow rate	1.0 mL/min	
Injection vol.	10 μ L	
Wavelength	450 nm	
Time(min)	A (%)	B (%)
1	70	30
15	10	90
20	70	30
25	70	30

수들 간의 기여도 정도를 분석하여 주성분 분석을 수행하였으며, 상관관계수 행렬의 고유벡터(eigenvector)를 제1주성분(PC1)부터 제8주성분(PC8)까지 나타내었고, 각 주성분별 고유치(eigenvalue) 및 기여율(contribution)을 표로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량 (total polyphenol contents, TPC) 및 총 플라보노이드 함량 (total flavonoid contents, TFC)

90자원의 유전자원 잎들개 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정 결과 평균 26.55 mg GAE/g, 13.19~35.85 mg GAE/g의 범위로 나타났으며(Table 3), 총 폴리페놀 고함량 자원은 IT117017 (35.85 mg GAE/g)이었다. 이전 Kim 등(2019)의 잎들개 유전자원의 항산화 활성 평가 연구에서 한국 품종인 다유의 총 폴리페놀 함량은 29.32 mg GAE/g으로 유사한 결과로 보고되었다. 총 플라보노이드 함량 측정 결과 평균 31.12 mg CE/g, 11.74~46.51 mg CE/g의 함량 범위로 나타났으며(Table 3), 총 플라보노이드 고함량 자원 또한 유전자원 IT117017(46.51 mg CE/g)으로 총 폴리페놀 고함량 자원과 같은 자원으로 나타났다. 이전 연구(Kwak 등 2013)인 잎들개와 참깨잎 추출물의 플라보노이드 함량 비교 분석한 연구에서 들깨잎의 총 플라보노이드 함량이 약 100 mg GAE/100 g으로 보고되어 선행연구보다 본 연구에서 다소 낮은 함량 결과를 보였고, 이는 사용된 시료의 재배 환경, 추출 방법 및 조건 등에 차이가 있기 때문인 것으로 생각된다(Kwak 등 2013).

2. ABTS 및 DPPH radical 소거 활성

잎들개 추출물의 항산화 활성은 ABTS 및 DPPH radical 소거 활성을 측정하였다. 시료의 특성에 따른 ABTS와 DPPH radical과의 결합 정도가 다를 수 있으므로(Shin 등 2008), 본 연구에서는 두 radical 소거 활성을 모두 분석하였다. 잎들개 추출물의 ABTS radical 소거능의 측정 결과 전체 자원 평균 47.67 mg TE/g, 30.39~58.58 mg TE/g의 활성 범위로 나타났으며

(Table 3), ABTS radical 소거능이 가장 높은 자원은 국내 수집종인 IT113193(58.58 mg TE/g)로 나타났다. DPPH radical 소거능 측정 결과 전체 자원 평균 46.56 mg TE/g, 7.74~46.56 mg TE/g의 활성 범위로 나타났으며(Table 3), DPPH radical 소거능이 가장 높은 자원 또한 국내 수집종 중 IT105990(46.56 mg TE/g)로 나타났다. 잎들개의 폴리페놀 성분이 항산화성 및 암세포 독성을 일으키는 들깨잎 함유 활성 물질로 보고된 바 있고(Izumi 등 2012), 선행연구 및 본 연구의 결과를 볼 때 국내의 잎들개 자원은 우수한 항산화 활성을 가지는 것으로 나타났으며, 항산화제 개발 및 육종 등에 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 생각된다(Kim 등 2022).

3. Phenolic compound 및 lutein 함량

Kim 등(2023), Lee 등(2009)에서 잎들개 품종의 기능 성분 분석 연구가 수행되고 있지만, 품종 육성의 기초가 되는 유전자원에 대한 연구는 아직까지 미흡한 실정이다. 선행연구로 잎들개의 phenolic acid인 rosmarinic acid와 caffeic acid, flavone 성분인 apigenin, luteolin이 분리, 정제, 동정 연구가 진행된 바 있고(Meng 등 2009), 본 연구에서는 잎들개의 phenolic compound인 rosmarinic acid, caffeic acid, luteolin과 carotenoid인 lutein 분석을 수행하였다. 잎들개 추출물의 caffeic acid 함량 분석 결과 평균 823.68 µg/g, 60.61~1,589.55 µg/g의 함량 범위로 나타났으며(Table 3), caffeic acid가 가장 높은 자원은 IT318022(1,589.55 µg/g), 가장 낮은 자원은 IT274644(60.61 µg/g)였다(Fig. 1). 이전 연구(Kim 등 2019)에서 잎들개 생리활성 물질을 분석한 결과 caffeic acid 함량이 540~1,090 µg/g 범위로 나타났고, 본 연구에서 분석한 잎들개와 자원 및 분석 방법과는 다르지만 유사한 결과로 나타났다. Rosmarinic acid 함량 분석 결과 평균 20,689.14 µg/g, 6,195.46~39,464.55 µg/g의 함량 범위로 나타났으며(Table 3), 고함량 자원은 IT117017 (39,464.55 µg/g)로 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 고함량 자원과 같은 자원으로 나타났다. Luteolin 함량 분석 결과 평균 27.31 µg/g, 0~65.92 µg/g의 함량 범위로 나타났으며(Table

Table 3. Summary of functional compounds and antioxidant activities

	Antioxidant compound content		Individual functional compound content (µg/g)				Antioxidant activity (mg TE/g)	
	TPC ¹⁾ (mg GAE/g)	TFC ²⁾ (mg CE/g)	Caffeic acid	Rosmarinic acid	Luteolin	Lutein	ABTS	DPPH
Average	26.55	31.12	823.68	20,689.14	27.31	433.09	47.67	22.73
Range	13.19~35.85	11.74~46.51	60.61~1,589.55	6,195.46~39,464.55	0~65.92	70.97~597.97	30.39~58.58	7.74~46.56
CV ³⁾ (%)	15.21	17.49	28.46	24.73	64.65	19.22	15.47	35.32

¹⁾ TPC: total polyphenol content.

²⁾ TFC: total flavonoid content.

³⁾ CV: coefficient of variation.

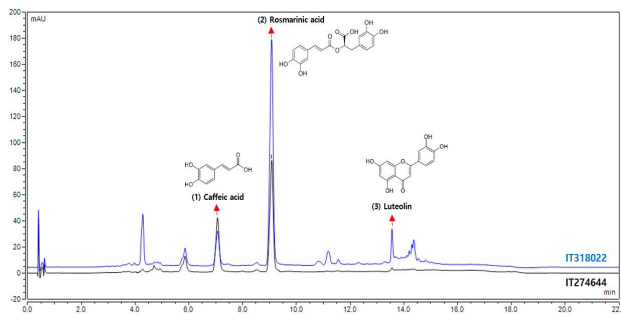


Fig. 1. HPLC chromatograms of phenolic compounds from high caffeic acid resource IT318022 and low caffeic acid resource IT274644: (1) caffeic acid, (2) rosmarinic acid and (3) luteolin.

3), luteolin이 가장 높은 자원은 IT304335(65.92 $\mu\text{g/g}$)였다. Lutein 함량 분석은 표준용액을 0.078125~60 $\mu\text{g/mL}$ 의 단계 희석하여 HPLC로 분석 후 검량선을 작성하였으며, 상관계수 0.9993 이상으로 높은 직선성을 보였다. 함량 분석 결과 평균 433.09 $\mu\text{g/g}$, 70.97~597.97 $\mu\text{g/g}$ 의 범위로 나타났으며(Table 3), lutein이 가장 높은 자원은 IT201780(597.97 $\mu\text{g/g}$), 가장 낮은 자원은 IT328843(70.97 $\mu\text{g/g}$)으로 나타났다.

4. 상관관계 분석

잎들깨 90자원에 대해 총 폴리페놀(TPC) 함량, 총 플라보노이드(TFC) 함량, 항산화 활성(ABTS, DPPH), phenolic compound 및 lutein 함량 분석을 하였고, 그 결과를 이용하여 상관관계를 분석하였다(Fig. 2). TPC와 TFC는 ABTS 및 DPPH radical 소거능과 높은 양의 상관관계를 보였는데, ABTS radical 소거능과 DPPH radical 소거능간의 상관성(0.918, $p < 0.001$), TFC와 DPPH radical 소거능간의 상관성(0.775, $p < 0.001$), TFC와 ABTS radical 소거능간의 상관성(0.773, $p < 0.001$), TPC와 ABTS radical 소거능간의 상관성(0.663, $p < 0.001$) TPC와 DPPH radical 소거능간의 상관성(0.652, $p < 0.001$) 순으로 모두 유의적인 양의 상관관계가 확인되었다. 이러한 결과는 잎들깨의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량이 항산화 활성과 높은 상관관계를 보였다는 선행 연구결과(Kim 등 2022)와 일치하였다. 이는 폴리페놀의 하이드록시기(-OH)가 자유라디칼에 전자를 공여함으로써 활성산소와 자유라디칼을 소거하는 항산화작용을 한 결과라고 생각된다. 특히, 구성 페놀화합물 중에서는 rosmarinic acid와 luteolin이 지용성 성분인 lutein에 비해 높은 상관관계를 보였다. Rosmarinic acid는 들깨와 잎들깨의 주요 구성 페놀산으로서, 들깨 부위별 페놀화합물과 생리활성의 관계에 대해 분석한 Lee & Cho(2021)의 연구에 따르면, 수산기그룹의 카테콜구조를 하고 있는 rosmarinic acid 함량이 라디칼소거능과 티로시네이즈 저해활

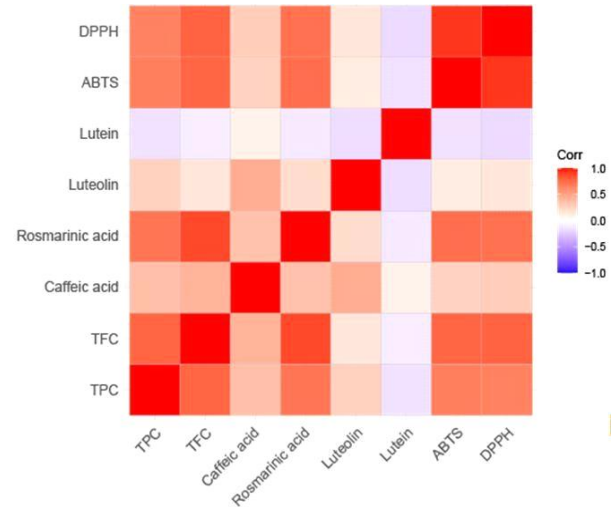


Fig. 2. Correlation analysis between functional compounds and antioxidant activities. Correlation analysis was performed based on Pearson's correlation coefficient. TPC: total polyphenol content, TFC: total flavonoid content.

성과 양의 상관관계를 보였다고 하여 본 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한, 다양한 플라보노이드의 항산화 및 항염증활성에 대한 Tian 등(2021)의 연구에서는 luteolin이 kaempferol, apigenin, quercetin 등의 플라보노이드에 비해 산화촉진의 가능성이 낮고, 우수한 라디칼 소거능을 나타내 천연 항산화제로서 역할을 한다고 보고한 바 있다. 하지만, lutein 함량은 모든 항산화 활성과 음의 상관관계를 나타내었는데, 이는 지용성 물질인 lutein은 플라보노이드 및 페놀산에 비해 상대적으로 라디칼 소거능에는 유의적인 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다.

5. 군집분석

잎들깨 유전자원 활성 및 함량 평가 결과를 바탕으로 군집(cluster) 분석을 수행하였다. 보다 가시화하기 위하여 군집분석을 포함하는 heatmap을 Fig. 3에 나타내었다. Lutein, ABTS, DPPH, rosmarinic acid, TPC, TFC caffeic acid, luteolin 총 8가지 변수를 이용하여 분석을 수행하였을 때 총 3개의 클러스터로 나뉘었으며, 그룹I은 23개 유전자원으로 전체의 26%를 차지하였고, 그룹II는 2개 자원으로 전체의 2%, 그룹III은 65개 자원이 포함되어 전체의 72%를 차지하였다. 그룹별 특성을 살펴보면, 그룹I은 항산화 활성과 항산화 성분 함량이 높은 편이었고 그룹II는 항산화 활성 및 성분 함량이 높으며 페놀산계열인 rosmarinic acid와 caffeic acid의 함량이 높은 특징을 보였다. 그룹III은 상대적으로 그룹I, II에 비해 항산화 활성 및 성분 함량이 낮은 편을 보였고, 잎들깨의 기능 성분인 lutein은 군집분석에 영향을 적게 미치는 것으로 보였다. 이

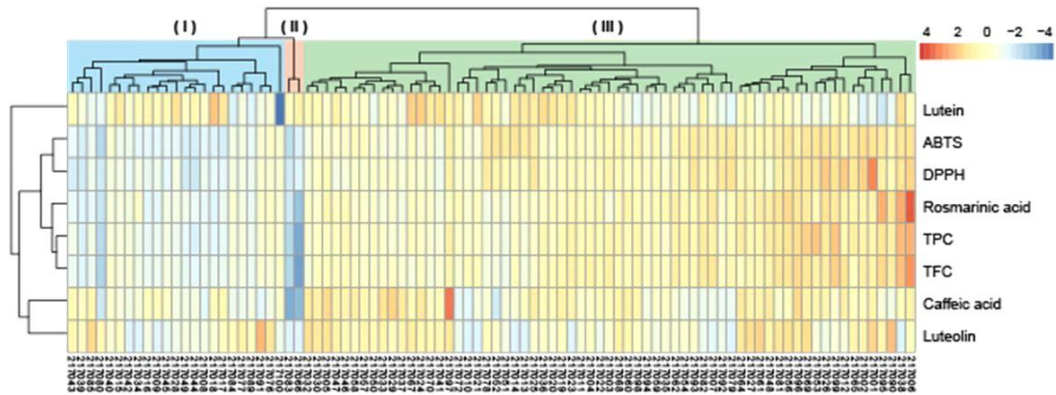


Fig. 3. Heatmap including cluster analysis according to functional compounds and antioxidant activities in the perilla leaves of genetic resources. A total of eight variables were used in the analysis, which were divided into three clusters. Each cluster is colored blue (I), red (II) and green (III). TPC: total polyphenol content, TFC: total flavonoid content.

와 같은 군집분석 결과를 바탕으로 앞들개 유전자원 90자원을 구분하는 가장 중요한 형질은 항산화 활성 및 성분인 ABTS, DPPH, TPC, TFC 인 것으로 생각된다.

6. 주성분 분석

앞들개 유전자원 상호간의 유사관계를 파악하고자 8개 양적형질에 대한 주성분 분석을 수행하였고, 고유값과 주성분의 기여도를 나타낸 결과는 Table 4와 같다. 제1주성분(PC1)은 고유치가 4.64로, 전체 분산 중 57.98%를 설명하였다. 제 2주성분(PC2)은 1.24에 15.47%, 제 3주성분(PC3)은 1.1에 13.73%, 제 4주성분(PC4)은 0.45에 5.58%, 제 5주성분(PC5)은 0.40에 4.99%, 제 6주성분(PC6)은 0.08에 0.99%, 제 7주성분(PC7)은 0.07에

0.92%, 제 8주성분(PC8)은 0.03에 0.33%를 설명하는 것으로 나타났다. 전체에 대한 각 주성분의 누적 기여율은 제 1주성분은 58.0%, 제 2주성분은 73.5%, 제 3주성분은 87.2%, 제 4주성분은 92.8%, 제 5주성분은 97.8% 제 8주성분은 100%로 나타났다. 주성분 분석으로 8개의 주성분이 생성되었고, 최종 주성분 수는 자료의 변이를 많이 설명하는 몇 개의 주성분만을 선택하는데, 고유값 1 이상 또는 누적분산비율이 80% 이상 조건에서 결정된다(Kim 등 2016). 본 연구에서는 고유값 1 이상을 기준으로 하여 제 3주성분까지 3개의 주성분으로 전체 변이의 87%를 설명할 수 있기 때문에 제 1~3주성분으로 앞들개 유전자원 90자원의 분류가 가능한 것으로 나타났다.

Table 4. Summary of principal component analysis (PCA) statics and eigenvalues for functional compounds and antioxidant activities

Principal component	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
TPC ¹⁾	-0.449	0.012	-0.057	0.071	-0.245	0.451	-0.333	0.645
TFC ²⁾	-0.441	0.064	-0.096	0.187	-0.314	-0.053	-0.468	-0.661
Caffeic acid	-0.224	-0.644	-0.216	0.586	0.340	-0.025	0.169	0.005
Rosmarinic acid	-0.428	0.090	-0.040	-0.001	-0.491	-0.352	0.658	0.095
Luteolin	-0.141	-0.690	0.388	-0.569	-0.138	-0.006	-0.071	-0.074
Lutein	0.074	-0.151	-0.887	-0.424	-0.053	-0.024	-0.038	-0.001
ABTS	-0.416	0.206	0.002	-0.267	0.441	0.548	0.366	-0.290
DPPH	-0.415	0.177	0.030	-0.206	0.518	-0.607	-0.262	0.220
Eigenvalue	4.639	1.237	1.099	0.447	0.399	0.079	0.074	0.026
Proportion (%)	57.98	15.47	13.73	5.58	4.99	0.99	0.92	0.33
Cumulative contribution (%)	57.98	73.45	87.19	92.77	97.76	98.75	99.67	100.00

¹⁾ TPC: total polyphenol content.

²⁾ TFC: total flavonoid content.

요약 및 결론

본 연구는 잎들깨 유전자원을 대상으로 항산화 및 기능성분을 구명하여 활성, 함량의 분포를 알아보았다. 총 폴리페놀 함량(TPC), 총 플라보노이드 함량(TFC), ABTS, DPPH radical 소거능, phenolic compounds 함량(IPC), lutein 활성 및 함량 분석을 실시하였다. 농업유전자원센터에서 분양 받은 시료 90자원에 대하여 경남 밀양 소재의 국립식량과학원 시험포장에서 재배 및 수확한 자원을 실험에 사용하였다. 함량 분석 결과 TPC 함량은 13.19~35.85 mg GE/g 범위를 나타냈고, TFC 함량은 11.74~46.51 mg CE/g으로 나타났다. Phenolic compounds 함량은 caffeic acid, rosmarinic acid, luteolin 함량에 대해 분석하였고, 총 IPC는 6,310.98~40,491.82 µg/g의 범위를 나타냈다. 잎들깨의 기능성분인 Lutein은 70.97~597.97 µg/g 함량 범위를 나타냈다. ABTS 및 DPPH 라디칼 소거 활성은 각각 30.39~58.58 mg trolox equivalent(TE)/g와 7.74~46.56 mg TE/g으로 나타났다. 상관관계 분석 결과 페놀산인 로즈마린산이 플라본의 일종인 루테올린에 비해 항산화 활성과 유의한 양의 상관관계를 보였다. 주성분 분석 결과로는 제 3주성분까지 3개의 주성분으로 전체 변이의 87%를 설명할 수 있기 때문에 제 1~3주성분으로 잎들깨 유전자원 90자원의 분류가 가능한 것으로 나타났다. 선행연구 및 본 연구의 결과를 볼 때 잎들깨 유전자원은 우수한 기능성 및 항산화물질을 가지는 것으로 나타났으며, 우수 자원을 선발 및 활용함으로써 잎들깨의 식품 소재 활용과 육종 등에 유용한 정보를 제공할 수 있을 것이라 생각된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(IRIS 과제번호: RS-2019-RD008643)의 지원으로 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

References

- Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:4959-4964
- Granado F, Olmedilla B, Blanco I. 2003. Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *Br J Nutr* 90:487-502
- Guo D, Xu L, Cao X, Guo Y, Ye Y, Chan CO, Mok DKW, Yu Z, Chen S. 2011. Anti-inflammatory activities and mechanisms of action of the petroleum ether fraction of *Rosa multiflora* Thunb. hips. *J Ethnopharmacol* 138:717-722
- Hyun KW, Kim JH, Song KJ, Lee JB, Jang JH, Kim YS, Lee JS. 2003. Physiological functionality in Geumsan perilla leaves from greenhouse and field cultivation. *Korean J Food Sci Technol* 35:975-979
- Izumi Y, Matsumura A, Wakita S, Akagi K, Fukuda H, Kume T, Irie K, Takada-Takatori Y, Sugimoto H, Hashimoto T, Akaike A. 2012. Isolation, identification, and biological evaluation of Nrf2-ARE activator from the leaves of green perilla (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*). *Free Radic Biol Med* 53:669-679
- Jennings PE, Barnett AH. 1988. New approaches to the pathogenesis and treatment of diabetic microangiopathy. *Diabet Med* 5:111-117
- Jeon IH, Kim HS, Kang HJ, Lee HS, Jeong SI, Kim SJ, Jang SI. 2014. Anti-inflammatory and antipruritic effects of luteolin from perilla (*P. frutescens* L.) leaves. *Molecules* 19:6941-6951
- Kim DJ, Assefa AD, Jeong YJ, Jeon YA, Lee JE, Lee MC, Lee HS, Rhee JH, Sung JS. 2019. Variation in fatty acid composition, caffeic and rosmarinic acid content, and antioxidant activity of Perilla accessions. *Korean J Med Crop Sci* 27:96-107
- Kim HY, Yang JY, Seo WD, Lee MJ, Song SY. 2022. Antioxidant activities of various cultivars of Korean perilla leaves (*Perilla frutescens*). In 2022 KFN International Symposium and Annual Meeting: New Frontiers for Green Biotechnology in Food Science and Nutrition. p.588. Korean Society of Food Science and Nutrition
- Kim JI, Lee MH, Kim SW, Oh KW, Park JE, Kim MY, Kim SU, Oh EY, Lee JE, Lee ES, Cho KS, Jung C. 2023. Comparison of growth characteristics and quality of soil-based and hydroponic cultured leaf Perilla leaves of different cultivars. *Korean J Med Crop Sci* 31:159-168
- Kim MS, Lee HJ, Yu DA, Song JY, Nino M, Nogoy F, Kim J, So YS, Cho YG. 2016. Classification of Korean rice varieties based on agro-morphological traits. *Korean J Breed Sci* 48:254-270
- Kwak JH, Yoon MK, Park S, Kim DY, Cheong SR, Shin HH, Lee SK, Lim YP. 2012. Survey on current status of vegetable seed markets of Guangdong and Yunnan provinces in China for the development of domestic vegetable seed industry. *Korean J Agric Sci* 39:491-496
- Kwak Y, Ki S, Noh EK, Shin HN, Han Y, Lee Y, Ju J. 2013. Comparison of antioxidant and anti-proliferative activities of perilla (*Perilla frutescens* Britton) and sesame (*Seasamum*

- indicum* L.) leaf extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 29:241-248
- Lee HS, Lee HA, Hong CO, Yang SY, Hong SY, Park SY, Lee HJ, Lee KW. 2009. Quantification of caffeic acid and rosmarinic acid and antioxidant activities of hot-water extracts from leaves of *Perilla frutescens*. *Korean J Food Sci Technol* 41:302-306
- Lee JH, Cho YS. 2021. Assessment of phenolic profiles from various organs in different species of perilla plant (*Perilla frutescens* (L.) Britt.) and their antioxidant and enzyme inhibitory potential. *Ind Crops Prod* 171:113914
- Li Y, Liu L, Yu X, Zhang Y, Yang J, Hu X, Zhang H. 2019. Transglycosylation improved caffeic acid phenethyl ester anti-inflammatory activity and water solubility by *Leuconostoc mesenteroides* dextransucrase. *J Agric Food Chem* 67:4505-4512
- Meng L, Lozano YF, Gaydou EM, Li B. 2009. Antioxidant activities of polyphenols extracted from *Perilla frutescens* varieties. *Molecules* 14:133-140
- Mercurio KC, Behm PA. 1981. Effects of fiber type and level on mineral excretion, transit time, and intestinal histology. *J Food Sci* 46:1462-1477
- Oh SI, Lee MS. 2003. Screening for antioxidative and antimutagenic capacities in 7 common vegetables taken by Korean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:1344-1350
- Oh Y. 2004. Reflections on international and domestic debates on the protection of genetic sources and associated traditional knowledge. *Intellect Prop* 86:3-28
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237
- Semba RD, Dagnelie G. 2003. Are lutein and zeaxanthin conditionally essential nutrients for eye health? *Med Hypotheses* 61:465-472
- Shin J. 2012. Global seed industry. *World Agric* 139:71-93
- Shin JH, Lee SJ, Seo JK, Cheon EW, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of hot-water extract from Yuza (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) peel. *J Life Sci* 18:1745-1751
- Tian C, Liu X, Chang Y, Wang R, Lv T, Cui C, Liu M. 2021. Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin. *S Afr J Bot* 137:257-264
- Um JN, Min JW, Joo KS, Kang HC. 2017. Antioxidant, anti-wrinkle activity and whitening effect of fermented mixture extracts of *Angelica gigas*, *Paeonia lactiflora*, *Rehmannia chinensis* and *Cnidium officinale*. *Korean J Med Crop Sci* 25:152-159
- Woo KS, Song SB, Ko JY, Seo MC, Lee JS, Kang JR, Oh BG, Nam MH, Jeong HS, Lee J. 2010. Antioxidant components and antioxidant activities of methanolic extract from adzuki beans (*Vigna angularis* var. *nipponensis*). *Korean J Food Sci Technol* 42:693-698
- Yamazaki M, Saito K. 2006. Isolation and characterization of anthocyanin 5-O-glucosyltransferase in *Perilla frutescens* var. *crispa* by differential display. In Liang P, Meade JD, Pardee AB (Eds.), *Differential Display Methods and Protocols*. pp.255-266. Humana Press
- Zhang R, Brennan ML, Shen Z, MacPherson JC, Schmitt D, Molenda CE, Hazen SL. 2002. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. *J Biol Chem* 277:46116-46122

Received 16 August, 2023
 Revised 19 September, 2023
 Accepted 25 September, 2023