

FOOD&CHEMISTRY

# Antioxidant activity of *Opuntia robusta* and its total polyphenol and flavonoid contents

Jin Su Park, Seok Hee Han, Hyun Young Kim, Ji Hyun Kim, Ah Young Lee\*, Jine Shang Choi\*

Department of Food Science, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Korea

\*Corresponding author: aylee@gnu.ac.kr, choijs@gnu.ac.kr

## Abstract

The aim of this study was to investigate the antioxidant effects of *O. robusta* stem extract (ORE) and to determine the total polyphenol and flavonoid contents. Free radical scavenging properties were evaluated using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), and  $\cdot\text{OH}$  (hydroxyl radical) scavenging assays. Total polyphenol and flavonoid contents were measured using Folin-Ciocalteu reagent and aluminum chloride colorimetric methods, respectively. Active compounds of ORE were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). The results of the study showed that ORE exhibited DPPH, ABTS, and  $\cdot\text{OH}$  radical scavenging activities in a dose-dependent manner. Especially, 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of ORE showed the strongest radical scavenging properties against DPPH, ABTS, and  $\cdot\text{OH}$ . ORE contained total polyphenol content of 57.4 mg GAE/g and total flavonoid content of 5.4 mg QE/g, which may contribute to their antioxidant effects. As a result of HPLC, the contents of active compounds in ORE, dihydrokaempferol (0.65  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), and 3-O-methylquercetin (1.10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) were confirmed. In conclusion, ORE may be useful as a functional material with antioxidant properties.



## OPEN ACCESS

**Citation:** Park JS, Han SH, Kim HY, Kim JH, Lee AY, Choi JS. Antioxidant activity of *Opuntia robusta* and its total polyphenol and flavonoid contents. Korean Journal of Agricultural Science 50:527-538. <https://doi.org/10.7744/kjoas.500321>

**Received:** June 12, 2023

**Revised:** August 12, 2023

**Accepted:** August 31, 2023

**Copyright:** © 2023 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Key words:** antioxidant, flavonoid, *Opuntia robusta*, polyphenol, radical scavenging

## Introduction

산소는 신체의 에너지 대사를 위해 필수적으로 사용되는 물질로, 몸속에 흡수된 산소는 대부분 에너지 대사과정에서 전자적 결합을 통하여 물로 환원된다(Reuter et al., 2010). 그러나 미량의 산소는 불완전한 전자의 환원으로 인해 분자의 구조가 매우 불안정한 상태로 변화하여 hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), superoxide anion ( $\text{O}_2^-$ ), hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) 등의 형태로 존재한다(Cao et al., 1993). 이와 같은 불완전한 구조의 산소 유리기를 활성 산소라고 명명하며 활성 산소는 신체 대사에 필요한 유용 성분의 분자와 세포막을 구성하고 있는 조직에서 전자를 무차별적으로 흡수하여 구조를 파괴하는 산화적 공격을 가한다(Halliwell and Gutteridge, 2015). 산화적 공격에 의한 조직의 손상은 DNA 구조의 변성을 가져올 수 있으며, 세포 파괴를 유발하고 암, 관절염, 파킨슨병 등 여러 질환의 원인이 될 수 있다고 보고 되어있다(James, 1993). 체내에서 생성된 활성산소는 catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, superoxide dismutase 등의 항산화 효소의 환원 작용으로 인해 대부분 제거된다. 그러나 체내에서 생성된

항산화 효소가 제거할 수 있는 활성 산소의 양보다 더 많은 양의 활성 산소가 체내에 존재할 때 신체 내부에서의 산화적 스트레스가 유발되고 이는 신체의 노화를 촉진시킨다(Hassan, 1988; Ray et al., 2012). 현대인들은 과거와는 달라진 식습관과 생활 방식, 부족한 운동량 등 환경의 변화로 인하여 쉽게 과도한 산화적 스트레스에 노출될 수 있다. 이를 극복하기 위하여 활성 산소를 환원시켜 신체의 손상, 염증 등을 예방하고 현상을 개선할 수 있는 기능성 식품에 대한 관심이 꾸준히 증가하고 있으며 이에 따라 항산화 활성을 보이는 식품 소재를 발굴하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(Ko et al., 2019; Kim et al., 2023; Lee et al., 2023).

*Opuntia robusta* (OR)는 *Opuntia*속에 속하는 선인장과 식물로 줄기가 넓적하며 크고 둥글기 때문에 바퀴선인장 (wheel cactus)이라는 별명을 가지고 있으며, 국내에서는 대환분 선인장으로 알려져 있다. 주로 미국 남부에서부터 멕시코 중부지역에 걸쳐 자생하며, 해발고도 1,500 - 3,000 m 사이의 관목 지대에서 주로 발견된다. OR은 성장 과정에서 상단부의 무게를 견디지 못하여 줄기가 부러지기 때문에 1 m 이내의 높이를 보이지만 지지대를 사용하면 3 m 이상 자랄 수 있다. 줄기는 짙은 녹색이며 납작하고 둥근 줄기가 층을 쌓아 올라간다. 각 줄기의 직경은 30 cm 내외이며 매우 길고 뾰족한 가시와 그 주위의 먼지 같은 가시로 둘러싸여 있다. 줄기의 위쪽 가장자리 부분에서 노란색의 꽃이 피기도 하며 꽃이 지면 *Opuntia pear* 또는 *prickly pear*라고 불리는 원통형의 열매를 맺는 것으로 알려져 있다(Parsons and Cuthbertson, 2001). *Opuntia*속 선인장은 주로 줄기와 열매를 식용으로 이용하고 있으며, 예로부터 당뇨 및 고콜레스테롤혈증을 치료하기 위한 약재로 사용되어져 왔을 뿐만 아니라 최근에는 차, 잼, 주스 등의 다양한 형태로 소비되고 있다(Feugang et al., 2006; Aruwa et al., 2018). 또한, 열매와 줄기를 공복에 갈아마시면 장운동을 촉진시켜 변비 개선 및 식욕증진의 효능을 가지고 있다고 보고한 바 있으며, 종자의 기름 또한 식품 및 화장품 소재로 사용되고 있다(El-Mostafa et al., 2014). 국내에서 잘 알려진 *Opuntia*속의 또 다른 식물로는 백년초(*Opuntia ficus-indica*)와 천년초(*Opuntia humifusa*)가 있다. 백년초는 종기, 화상 등 각종 질환을 치료하기 위해 민간에서 널리 사용되었으며 항산화, 항당뇨, 항균 활성 등의 기능을 가진 것으로 알려져 있다(Kwon et al., 2017). 더불어 우수한 식품 원료로서 가치를 인정받아 백년초 추출물을 첨가한 초콜릿 제품 등이 출시되어 제주도의 특산품으로 자리매김하기도 하였다(Choi et al., 2014). 천년초의 생리활성에 관한 연구로는 항산화 효과, 암세포 성장 억제 효과 등이 보고된 바 있으며, 플라보노이드인 toxifolin의 강한 항산화 성분을 함유하고 있다고 알려져 있다(Lee et al., 2005; Yoon et al., 2009). OR의 열매는 고지혈증, 당뇨, 또는 산화적 손상에 대한 보호 효과가 우수하다고 알려져 있으나(Budinsky et al., 2001; Wolfram et al., 2002), OR의 다육질 줄기에 대한 생리활성 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 OR 추출물(*O. robusta* stem ethanol extract, ORE)의 *in vitro* radical 소거 실험과 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정을 통하여 항산화 효과를 확인하고자 하였으며, 천연 항산화제로서의 ORE의 가능성을 평가하였다.

## Materials and Methods

### 재료 및 시약

경상남도 산청군 정곡리에서 재배된 OR의 줄기를 제공받아 본 연구에 사용하였다(Fig. 1). 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)는 Alfa aesar (USA)에서, Potassium persulfate와 Iron (II) sulfate heptahydrate는 Daejung (Korea)에서 구입하였다. 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 2-deoxy-D-ribose, hydrogen peroxide solution, 2-thiobarbituric acid, dihydrokaempferol (DHK), 그리고 3-O-methylquercetin (3-MeQ)는 Sigma-Aldrich (USA)사에서 구입하여 사용하였다. Trichloroacetic acid, sodium carbonate, sodium nitrite, aluminium chloride는 Samchun

(Korea)에서, Follin-Ciocalteu's reagent는 Junsei (Japan), gallic acid는 Kanto (Japan)에서 각각 구매하여 사용하였다. Sodium hydroxide는 Duksan (Korea), quercetin dihydrate는 Wako (Japan)에서 구입하여 사용하였다.



**Fig. 1.** *Opuntia robusta* (OR) grown in Sancheong.

## ORE 제조

OR은 성장 과정에서 식물의 하단부가 원통형으로 굽어지며 다육질이었던 줄기가 목질화되는 특성을 보인다. 목질화가 진행된 줄기는 조직이 매우 튼튼하여 섭취하거나 가공하는데 어려움이 있을 수 있어 식물 상단부의 목질화되지 않은 부드러운 줄기를 선별하여 본 연구에 사용하였다. OR의 가시를 제거한 후 동결건조하여 분말의 형태로 정제하였고, 생성된 분말 80 g을 80% 농도로 희석된 에탄올 800 mL와 혼합하여 8시간 교반하였다. 그 후 4°C에서 18시간 침지한 뒤 KFP filter paper No.2 (Korea filter paper, Korea)를 사용하여 불용성 성분을 여과하였다. 여과액은 회전 감압 농축기(N-1300, Sunileyla, Korea)를 사용하여 용매를 제거한 뒤 동결건조기(PVTFD-1, Ilshinbiobase, Korea)를 사용하여 -80°C에서 96시간 동결건조하였다. 획득한 ORE 시료는 총 6.42 g이며 8.03%의 수율을 나타내었다. 분말화 된 ORE는 -20°C에 보관하여 사용하였으며, DMSO (dimethyl sulfoxide)에 1 g/mL 농도로 stock 용액을 만들어 실험 직전에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

## DPPH radical 소거 활성 측정

DPPH radical 소거 활성 실험은 Hatano 등(1989)의 방법을 따라 진행하였다. 증류수에 각 농도별로(100, 250, 500, 1,000 µg/mL)희석된 ORE와 60 µM의 농도로 에탄올에 희석된 DPPH 시약을 96 well-plate에 각각 100 µL씩 분주하여 혼합하였다. 이후 차광하여 실온에서 30분간 incubation 한 후, 분광광도계(Multiskan skyhigh microplate spectrophotometer, Thermo Fisher, USA)를 사용하여 560 nm에서 흡광값을 측정하였다. 측정된 흡광값에 따른 DPPH radical 소거능은 다음의 방법을 따라 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = 100 - [(A_s - A_B) \times 100 / A_c] \quad (1)$$

$A_s$ 는 농도별 시료를 첨가한 실험군,  $A_B$ 는 blank를 첨가한 대조군,  $A_c$ 는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도 값을 뜻한다.

### ABTS radical 소거 활성 측정

ABTS radical 소거능 실험은 Re 등(1999)의 방법을 일부 변형하여 실험을 진행하였다. 증류수에 녹인 7.4 mM의 ABTS 시약과 2.4 mM potassium persulfate 시약을 혼합한 뒤 24시간 암소에서 incubation하여 radical이 생성되도록 유도하였다. 이후 20  $\mu$ L의 증류수와 180  $\mu$ L의 ABTS 용액을 96 well-plate에서 혼합하여 10분간 방치한 뒤 600 nm에서 흡광도를 측정하였을 때 흡광값이 1.0에 수렴하도록 ABTS 용액을 증류수에 희석하여 ABTS working solution을 제조하였다. 각 농도별(100, 250, 500, 1,000  $\mu$ g/mL) 희석된 ORE 20  $\mu$ L와 ABTS working solution 180  $\mu$ L를 96-well plate에 각각 분주하고 차광한 상태로 실온에서 10분동안 radical 소거 반응을 유도하였다. 이후 분광광도계를 사용하여 600 nm에서 흡광값을 측정하였다. 측정된 흡광값에 따른 ABTS radical 소거능은 다음의 방법으로 계산하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = 100 - [(A_s - A_B) \times 100/A_c] \quad (2)$$

$A_s$ 는 농도별 시료를 첨가한 실험군,  $A_B$ 는 blank를 첨가한 대조군,  $A_c$ 는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도 값을 뜻한다.

### Hydroxyl ( $\cdot$ OH) radical 소거 활성 측정

$\cdot$ OH radical 소거능 실험은 Kim과 Minamikawa (1997)의 방법을 일부 변형하여 실험을 진행하였다. 10 mM Iron(II) sulfate heptahydrate 200  $\mu$ L와 10 mM 2-deoxy-D-ribose 200  $\mu$ L, 증류수에 각 농도별(100, 250, 500, 1,000  $\mu$ g/mL) 희석된 ORE 1,400  $\mu$ L, 10 mM hydrogen peroxide 200  $\mu$ L를 순서대로 혼합한 뒤 차광하여 37°C에서 4시간동안 incubation 하였다. 이후 Fenton 반응을 정지시키기 위하여 1% 2-thiobarbituric acid 용액과 2.8% trichloroacetic acid 용액을 각각 1 mL씩 첨가하였다. 혼합된 용액을 100°C에서 20분간 끓여준 뒤 충분히 냉각하였다. 이후 분광광도계를 사용하여 490 nm에서 흡광값을 측정하였다. 흡광값에 따른  $\cdot$ OH radical 소거능은 다음의 방법을 따라 계산하였다.

$$\cdot\text{OH radical scavenging activity (\%)} = 100 - [(A_s - A_B) \times 100/A_c] \quad (3)$$

$A_s$ 는 농도별 시료를 첨가한 실험군,  $A_B$ 는 blank를 첨가한 대조군,  $A_c$ 는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도 값을 뜻한다.

### 총 폴리페놀 함량 측정

ORE의 총 폴리페놀 함량 측정을 위하여 Denis와 Denis (1912)의 방법을 일부 변형하여 실험을 진행하였다. 증류수에 희석된 ORE 50  $\mu$ L와 10% Follin-Ciocalteu's reagent 100  $\mu$ L, 700 mM sodium carbonate 350  $\mu$ L를 혼합하여 40분간 incubation 하였다. 이후 96 well-plate에 분주한 뒤 분광광도계를 사용하여 600 nm에서 흡광값을 측정하였다. 이후 각 농도별(6.25, 12.5, 25, 50, 100  $\mu$ g/mL) 희석된 gallic acid를 사용하여 동일한 실험을 진행하였고, 분광광도계를 사용하여 600 nm에서 측정된 흡광값을 바탕으로 표준곡선을 작성하였다. 이에 ORE로 측정하였을 때의 흡광값을 대입하여 총 폴리페놀 함량을 산출하였다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

ORE의 총 플라보노이드 함량 측정을 위하여 Moreno 등(2000)의 방법을 따라 실험을 진행하였다. 증류수에 희석된 시료 125  $\mu$ L와 5% sodium nitrite 75  $\mu$ L를 혼합하여 6분간 실온에서 incubation 하였다. 이후 10% aluminum chloride 150  $\mu$ L를 첨가한 후 5분간 반응시켰고 1 N sodium hydroxide 750  $\mu$ L를 첨가하여 15분간 incubation한 후 96 well-plate에 분주하였고 분광광도계를 사용하여 492 nm에서 흡광값을 측정하였다. Quercetin dihydrate를 각 농도별(6.25, 12.5, 25, 50, 100  $\mu$ g/mL) 희석하여 동일한 실험을 진행하였고, 측정된 각 농도별 quercetin의 흡광값에 따라

표준 곡선을 작성하였으며 이에 ORE를 사용한 실험에서 측정된 흡광값을 대입하여 총 플라보노이드의 함량을 산출하였다.

## High performance liquid chromatography (HPLC) 분석을 통한 유효 성분 분석

HPLC 측정 조건은 Park 등(2017)의 방법을 일부 변형하여 사용하였다. DGU-20A (Shimadzu, Japan) HPLC 측정 기기를 사용하였고 역상 칼럼은 C<sub>18</sub> column (250 × 4.6 mm, 5 μm) 칼럼을 사용하였다. 이동상 용매로는 1% formic acid와 acetonitrile을 사용하였으며 1 mL/min의 유속으로 용매를 주입하였다. 분석에 사용된 조건 및 시간에 따른 이동상 용매의 비율은 Table 1과 같다. DHK가 peak를 나타내는 280 nm와 3-MeQ가 peak를 나타내는 320 nm에서 피크 면적을 각각 측정하였다. 분석을 위해 DHK와 3-MeQ 각 농도별로(62.5, 125, 250, 500 μg/mL) 희석하여 측정하였으며 검출된 peak의 면적으로 표준 곡선을 작성하여 유효 물질의 함량을 측정하였다.

**Table 1.** HPLC (High-performance liquid chromatography) experimental conditions.

Parameters	Conditions		
Sample injection volume	20 μL		
Column temperature	30°C		
Flow rate	1.0 mL/min		
Wavelength	280, 360 nm		
Mobile phase condition	Time (min)	1% formic acid (%)	Acetonitrile (%)
	0	90	10
	40	60	40
	60	0	100
	70	90	100

## 통계분석

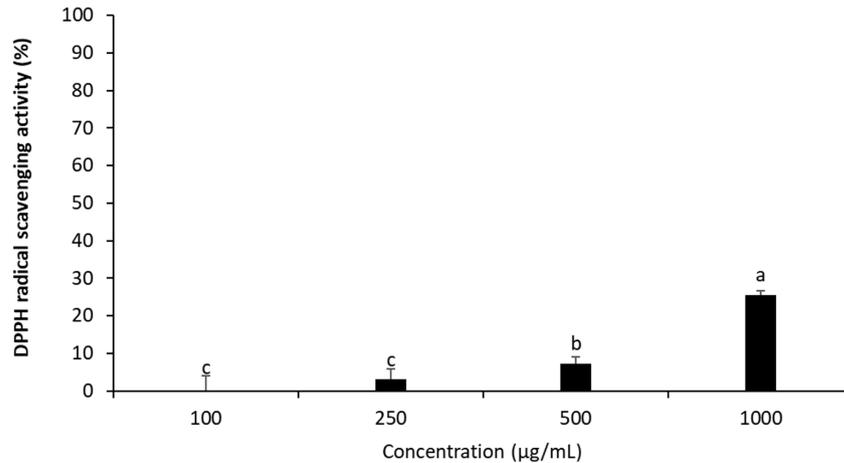
대조군과 각 시료들로부터 얻은 실험 결과들은 평균 ± 표준편차로 나타내었고, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, IBM Co., USA)를 이용하여 ANOVA (analysis of variance)를 구한 후 Duncan's multiple test ( $p < 0.05$ )를 이용하여 각 군의 평균 간의 유의성을 검정하였다.

## Results and Discussion

### DPPH radical 소거 활성 효과

DPPH radical 소거 활성 실험은 식품 소재의 항산화 활성을 평가하기 위해 보편적으로 많이 사용하는 실험 방법 중 하나이다. DPPH가 항산화 물질에 함유되어 있는 수소 원자에 의해 전자를 공여하면서 항산화 반응이 일어나게 되며(Blois, 1958), 그 과정에서 고유의 청남색이 떨어져 무색을 띠는 특성을 보인다. 실험 결과 ORE의 농도가 증가함에 따라 DPPH radical 소거 활성이 증가하는 농도 의존적인 경향이 나타났으며(Fig. 2), 특히 1,000 μg/mL의 농도에서 25.59%로 가장 높은 radical 소거 활성이 확인되었다. 이전 연구에서 제주 손바닥 선인장 엽상경 추출물은 DPPH radical 소거능이(IC<sub>50</sub>) > 1,000 μg/mL로 나타났으며(Hwang et al., 2015), 천년초 줄기의 추출물 1,000 μg/mL의 농도에서는 20%보다 낮은 DPPH radical 소거 활성을 나타내었다(Lee et al., 2014). 백년초와 천년초의 열매 추출

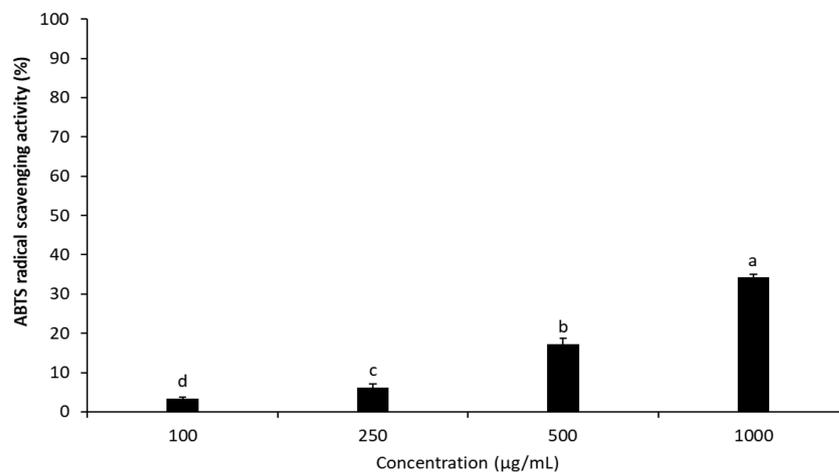
물의 DPPH radical 소거능 또한 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 36.62%과 21.20%를 나타낸다고 보고된 바 있다(Kim et al., 2018).



**Fig. 2.** DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of ORE (*Opuntia robusta* extract). Values are mean  $\pm$  SD (standard deviation). a - c: Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

### ABTS radical 소거 활성 효과

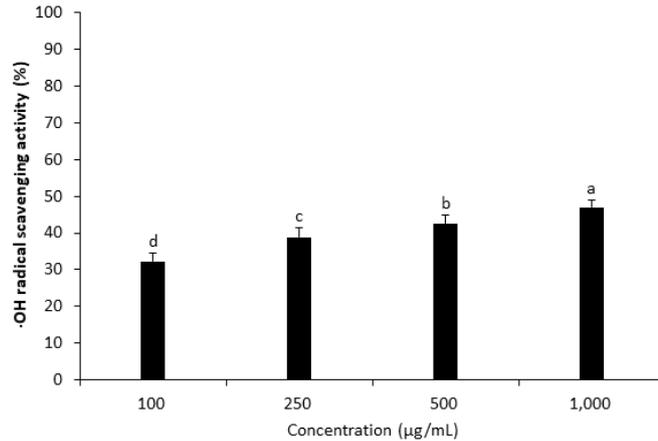
ABTS 시약과 potassium persulfate가 혼합하여 반응하면 ABTS 양이온의 구조를 가진 free radical이 형성되며, 이는 전자 공여능을 가진 항산화 물질로부터 전자를 받아 환원될 때 ABTS가 가지고 있던 고유한 청록색이 열리는 특성이 있다(Re et al., 1999). 해당 과정에서 색이 열리는 정도를 흡광도로 측정함으로써 radical 소거 활성 수준을 확인할 수 있다. 실험 결과 DPPH radical 소거 활성과 유사하게 ORE를 처리한 농도가 증가함에 따라 ABTS radical 소거 활성이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 군에서 34.21%로 가장 높은 radical 소거 활성을 나타내었다(Fig. 3).



**Fig. 3.** ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical scavenging activity of ORE (*Opuntia robusta* extract). Values are mean  $\pm$  SD. a - d: Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

## ·OH radical 소거 활성 효과

·OH radical은 활성산소 중에서 가장 강한 반응성을 가지고 있는 radical로 알려져 있으며, 인접한 분자의 전자를 흡수하면서 산화시켜 조직에 심각한 손상을 가할 수 있다(Sies, 1993). ORE를 처리한 결과 모든 농도(100, 250, 500, 1,000 µg/mL)에서 30% 이상의 radical 소거 활성이 확인되었고, 특히 1,000 µg/mL의 농도에서 46.99%로 가장 높은 ·OH radical 소거 활성이 확인되었다(Fig. 4).



**Fig. 4.** ·OH (hydroxyl radical) radical scavenging activity of ORE (*Opuntia robusta* extract). Values are mean  $\pm$  SD. a - d: Means with the different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

## 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

폴리페놀은 페놀 구조의 분자가 함유되어 있는 화학물질을 말하며 플라보노이드, 리그닌 등이 이에 포함된다. 페놀 분자 구조의 벤젠 고리와 여러 개의 수산기(hydroxyl, -OH)는 활성산소를 제거하여 항산화 작용을 할 수 있으며, 최근 여러가지 폴리페놀 화합물로부터 치매, 심근경색, 노인성 질환 등에 개선 효과가 있다는 연구가 보고되어 있다(Cazarolli et al., 2008; Molino et al., 2016). 플라보노이드는 거의 모든 천연 식물에서 쉽게 발견될 수 있으며 인간이 가장 많이 섭취하게 되는 폴리페놀의 종류로 알려져 있으며(Spencer, 2008), 체내 세포 및 조직에서 활성산소로부터 산화반응을 억제시킴으로써 항산화 효능을 가지고 있다고 보고되었다(Cotelle, 2001). 그러나 OR 줄기에 대한 폴리페놀과 플라보노이드의 함량에 대한 연구는 보고된 바 없으며, 이에 따라 Folin-Denis 방법 및 aluminum chloride 비색법을 이용하여 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량 측정을 진행하였다. 그 결과, ORE의 총 폴리페놀 함량은 57.4 mg GAE/g, 총 플라보노이드 함량은 5.4 mg QE/g으로 확인되었다(Table 2). Kim과 Lim (2019)의 연구에서는 제주 손바닥선인장 줄기에서 8 mg GAE/g의 총 폴리페놀 함량이 확인되었고, 총 플라보노이드 함량은 0.18 mg (+)-catechin/g (mg CE/g)으로 보고하였다. Jeong 등(2017)의 연구에서는 재배지역에 따라 선인장의 줄기 추출물에서 1.49 - 1.81 mg의 총 폴리페놀 함량이 확인된 바 있다. 또한 Jeong 등(2016)의 연구에서는 보검선인장 줄기에서 1.29 mg/g의 총 플라보노이드가 함유되어 있다고 보고하였다. 이를 통해 *Opuntia* 속의 식물들은 재배 환경, 품종 등 다양한 요인에 의해 총 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량 차이가 나는 것으로 사료된다.

**Table 2.** Total polyphenol and flavonoid contents in ORE.

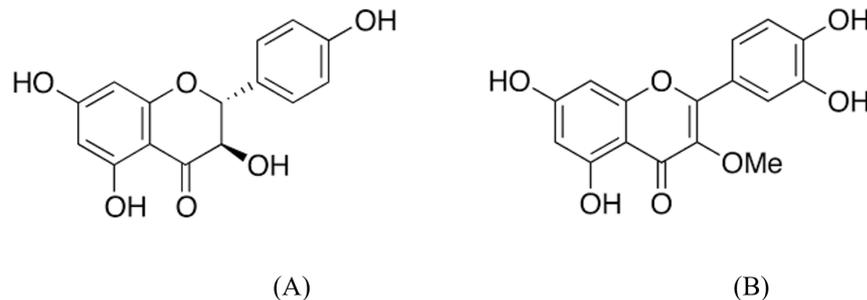
TPC	TFC
57.4 ± 0.41 mg GAE/g	5.4 ± 0.03 mg QE/g

Values are mean ± SD.

TPC, total polyphenol content; TFC, total flavonoid content; ORE, *Opuntia robusta* extract; mg GAE/g, mg of gallic acid equivalents in 1 g of extract; mg QE/g, mg of quercetin equivalents in 1 g of extract.

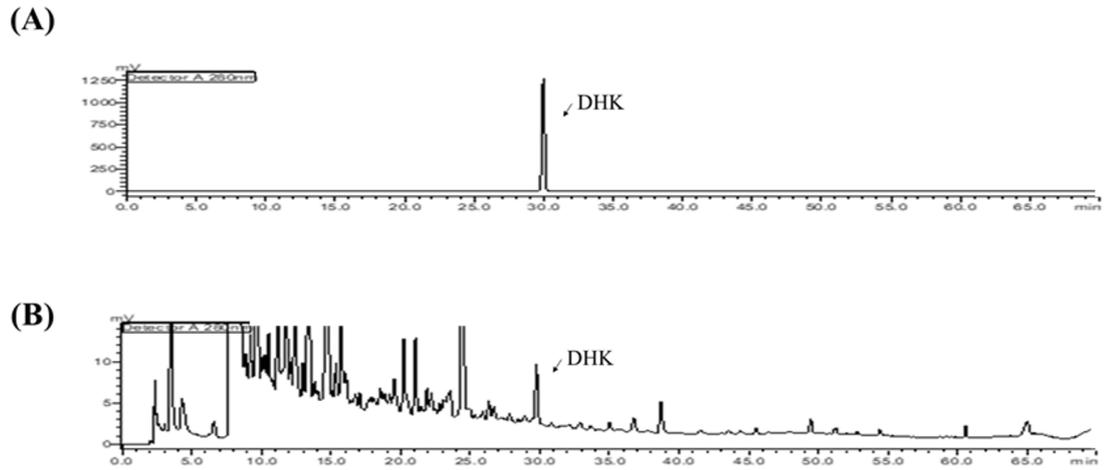
### HPLC 분석을 통한 유효성분 확인

DHK는 식물에서 자주 발견되는 플라보노이드의 일종으로 신체에서 NADPH 및 H<sup>+</sup>를 생성하여 산화 환원 반응에 관여함으로써 항산화 활성을 보이는 것으로 알려져 있다(Lutskii et al., 1971). 또한 3-MeQ는 항균, 항산화, 항염증 활성 등을 가진 천연 물질로(Céspedes et al., 2006; Angeloni et al., 2007) xanthine oxidase 저해 활성 및 superoxide anion radical 소거 활성을 가지고 있다고 보고된 바 있다(Cimanga et al., 2001). DHK와 3-MeQ 모두 백년초 등을 비롯한 선인장 종에 주로 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며(Park et al., 2017) 각 성분의 분자 구조는 Fig. 5와 같다.

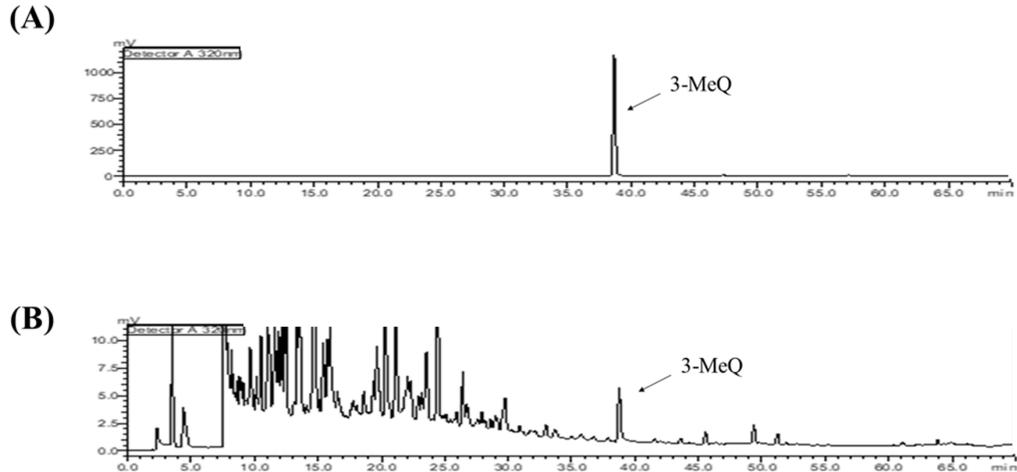


**Fig. 5.** Molecular structure of (A) DHK and (B) 3-MeQ. DHK, dihydrokaempferol; 3-MeQ, 3-O-Methylquercetin.

ORE에 포함된 DHK와 3-MeQ의 함량을 파악하기 위하여 HPLC 실험을 진행하였다. 각각 280, 320 nm의 파장에서 spectrum를 측정하였으며, 동일한 시간에서 peak가 나타난 것을 확인하였다. 각 시료들의 파장대별 이동상 spectrum을 비교한 결과 동일한 성분임을 확인할 수 있었다(Fig. 6 and 7). 농도별로 측정된 DHK와 3-MeQ의 peak 면적을 측정한 후 작성된 표준 곡선에 대입하여 계산한 각 성분 함유량은 각각 0.65 µg/mL과 1.10 µg/mL을 나타내었다(Table 3). 이전 연구에서 제주 손바닥선인장 추출물은 0.12 mg/g의 DHK와 0.14 mg/g의 3-MeQ를 함유하고 있다고 보고하였다(Shin et al., 2018). 또한 Park 등(2017)은 온도 및 에탄올 추출 용매의 농도에 따라 다소 차이는 있으나 DHK가 18.87-27.56 mg/100 g, 3-MeQ가 2.71-3.88 mg/100 g을 함유하고 있는 것으로 보고하였으며, 두 종의 지표 성분 함량이 증가할수록 DPPH radical 소거 효능 및 지질과산화 억제 효능이 높아진 것으로 보아 본 연구결과에서 ORE 역시 DHK와 3-MeQ를 함유함으로써 항산화 효능에 기여했을 것으로 생각된다. 이전 연구에 따르면 *Opuntia* 속 선인장의 줄기에는 칼슘, 비타민C, 비타민 E, 및 식이섬유를 다량 함유하고 있을 뿐만 아니라, 폴리페놀 성분인 quercetin, isorhamnetin, kaempferol 계열의 아글리콘 및 배당체들이 함유되어 있어 항산화 및 항염증 효능을 나타낸다고 보고되어 있다(Lee et al., 2003; Santos-Zea et al., 2011; De Wit et al., 2019). 본 연구에서 비록 항산화 효능이 알려진 지표성분 DHK와 3-MeQ가 함유되어 있음이 확인되었으나, 그 외 피크에서 나타난 여러가지 화합물에 대한 추가적인 분석이 필요하다고 생각된다.



**Fig. 6.** HPLC (high-performance liquid chromatography) chromatograms of (A) DHK and (B) ORE. DHK, dihydrokaempferol; ORE, *Opuntia robusta* extract.



**Fig. 7.** HPLC (high-performance liquid chromatography) chromatograms of (A) 3-MeQ and (B) ORE. 3-MeQ, 3-O-Methylquercetin; ORE, *Opuntia robusta* extract.

**Table 3.** Dihydrokaempferol and 3-O-methylquercetin contents in ORE by HPLC.

DHK	3-MeQ
0.65 ± 0.02 µg/mL	1.10 ± 0.05 µg/mL

Values are mean ± SD.

DHK, Dihydrokaempferol; 3-MeQ, 3-O-Methylquercetin; ORE, *Opuntia robusta* extract.

## Conclusion

본 연구는 ORE의 항산화 활성을 알아보기 위하여 radical 소거능 및 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량을 측정하였다. DPPH, ABTS, ·OH radical 소거 활성을 알아본 결과, 농도가 증가할수록 radical 소거 활성이 증가하는 것을 확인하였으며, 특히 1,000 µg/mL의 가장 높은 radical 소거 활성을 나타내었다. ORE의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 57.4 mg GAE/g와 5.4 mg QE/g을 함유하고 있는 것을 확인하였으며, HPLC 분석을 통해 ORE에 포함

되어 있는 유효성분인 DHK와 3-MeQ가 각각 0.65, 1.10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 만큼 함유되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 ORE는 항산화 효능을 가지고 있으며, 이러한 효능은 ORE가 가지고 있는 폴리페놀과 플라보노이드에 의해 기인한 것이라 생각되며, 항산화 효능이 있다고 알려진 지표성분 DHK와 3-MeQ의 존재하는 것이 확인되어 천연 항산화제 및 기능성 식품 제조를 위한 유용한 소재로 이용될 수 있음을 시사한다.

## Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## Authors Information

Jin Su Park, <https://orcid.org/0009-0009-3833-1888>  
 Seok Hee Han, <https://orcid.org/0000-0003-4853-0337>  
 Hyun Young Kim, <https://orcid.org/0000-0003-2241-2877>  
 Ji Hyun Kim, <https://orcid.org/0000-0001-6617-2129>  
 Ah Young Lee, <https://orcid.org/0000-0002-3489-7798>  
 Jine Shang Choi, <https://orcid.org/0000-0003-1528-0423>

## References

- Angeloni C, Spencer JPE, Leoncini E, Biagi PL, Hrelia S. 2007. Role of quercetin and its in vivo metabolites in protecting H9c2 cells against oxidative stress. *Biochimie* 89:73-82.
- Aruwa CE, Amoo SO, Kudanga T. 2018. *Opuntia* (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects—a comprehensive review. *Food Research International* 112:328-344.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Budinsky A, Wolfram R, Oguogho A, Efthimiou Y, Stamatopoulos Y, Sinzinger H. 2001. Regular ingestion of *Opuntia robusta* lowers oxidation injury. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 65:45-50.
- Cao G, Alessio HM, Cutler RG. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 14:303-311.
- Cazarolli LH, Zanatta L, Alberton EH, Figueiredo MSRB, Folador P, Damazio RG, Pizzolatti MG, Silva FRMB. 2008. Flavonoids: Prospective drug candidates. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 8:1429-1440.
- Céspedes CL, Avila JG, Martínez A, Serrato B, Calderón-Mugica JC, Salgado-Garciglia R. 2006. Antifungal and antibacterial activities of Mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:3521-3527.
- Choi GP, Chae DJ, Ryu JE. 2014. Trends of chocolate industry in Korea. *Food Industry and Nutrition* 19:14-18.
- Cimanga K, Ying L, De Bruyne T, Apers S, Cos P, Hermans N, Bakana P, Tona L, Kambu K, Kalenda DT, et al. Radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity of phenolic compounds from *Bridelia ferrugineastem* bark. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 53:583-768.
- Cotelle N. 2001. Role of flavonoids in oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1:569-590.
- Denis O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *Journal of Biological Chemistry* 12:239-249.

- De Wit M, Du Toit A, Osthoff G, Hugo A. 2019. Cactus pear antioxidants: a comparison between fruit pulp, fruit peel, fruit seeds and cladodes of eight different cactus pear cultivars (*Opuntia ficus-indica* and *Opuntia robusta*). *Journal of Food Measurement and Characterization* 13:2347-2356.
- El-Mostafa K, El Kharrassi Y, Badreddine A, Andreoletti P, Vamecq J, El Kebbj MS, Latruffe N, Lizard G, Nasser B, Cherkaoui-Malki M. 2014. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules* 19:14879-14901.
- Feugang JM, Konarski P, Zou D, Stintzing FC, Zou C. 2006. Nutritional and medicinal use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience-Landmark* 11:2574-2589.
- Halliwell B, Gutteridge JM. 2015. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Hassan HM. 1988. Biosynthesis and regulation of superoxide dismutases. *Free Radical Biology and Medicine* 5:377-385.
- Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Okuda T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI.: Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 37:2016-2021.
- Hwang JH, Yi MR, Kim JW, Bu HJ, Kang CH, Lim SB. 2015. Quality characteristics and antioxidant activity of prickly pear cactus cladodes. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 44:356-362. [in Korean]
- James PK. 1993. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology* 23:21-48.
- Jeong YS, Hwang BS, Cho SM, Hwang KA, Hwang IG. 2017. Antioxidant and anti-diabetic, anti-Alzheimer activities of stem from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* cultivated in Jeju at harvest time. *The Korean Journal of Food and Nutrition* 30:1332-1340. [in Korean]
- Jeong YS, Lee SH, Song J, Hwang KA, Noh GM, Jang DE, Hwang IG. 2016. Phytochemical contents and antioxidant activities of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *The Korean Journal of Food and Nutrition* 29:767-776. [in Korean]
- Kim DG, Shin JH, Kang MJ. 2018. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia humifusa* fruits ethanol extracts. *Korean Journal of Food Preservation* 25:586-594. [in Korean]
- Kim JW, Minamikawa T. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 61:118-123.
- Kim JY, Lim MK. 2019. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* alone or combined with vitamin C. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 48:613-621. [in Korean]
- Kim Y, Kim SW, Lee HJ, Lee KH, Cho JY, Moon JH. 2023. Selection of material with excellent antioxidant activity from plants of warm temperate forests in Korea. *Journal of The Korea Tea* 29:63-71. [in Korean]
- Ko HM, Eom TK, Kim JS. 2019. Antioxidant activity and phenolic acid content of *Gynostemma pentaphyllum* leaves according to extraction conditions. *Korean Journal of Agricultural Science* 46:85-92. [in Korean]
- Kwon JH, Kim TY, Kim JK, Kim JY. 2017. Characteristics of *Opuntia monacantha* Haw. for the functional raw material production. *Applied Chemistry for Engineering* 28:252-256. [in Korean]
- Lee EH, Kim HJ, Song YS, Jin C, Lee KT, Cho J, Lee YS. 2003. Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Archives of Pharmacal Research* 26:1018-1023.
- Lee J, Son D, Surh J. 2023. Antioxidant activities of 16 natural materials: Effect of the extraction solvent and analytical method applied during the measurement. *Korean Journal of Food and Cookery Science* 39:14-21. [in Korean]
- Lee JN, Kim HE, Kim YS. 2014. Anti-diabetic and anti-oxidative effects of *Opuntia humifusa* cladodes. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 43:661-667. [in Korean]
- Lee KS, Oh CS, Lee KY. 2005. Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean Journal of Food Science and Technology* 37:474-478. [in Korean]
- Lutskii VI, Gromova AS, Tyukavkina NA. 1971. Aromadendrin, apigenin, and kaempferol from the wood of *Pinus sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds* 7:197-198.
- Molino S, Dossena M, Buonocore D, Ferrari F, Venturini L, Ricevuti G, Verri M. 2016. Polyphenols in dementia: From molecular basis to clinical trials. *Life Sciences* 161:69-77.

- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 71:109-114.
- Park S, Kang DH, Jin C, Kim HJ. 2017. Identification of flavonoids from extracts of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* and content determination of marker components using HPLC-PDA. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 46: 210-219. [in Korean]
- Parsons WT, Cuthbertson EG. 2001. Noxious weeds of Australia. pp. 362-363. CSIRO publishing, Clayton, Australia.
- Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. 2012. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling* 24:981-990.
- 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 Radical Biology and Medicine* 26:1231-1237.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine* 49:1603-1616.
- Santos-Zea L, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldivar SO. 2011. Comparative analyses of total phenols, antioxidant activity, and flavonol glycoside profile of cladode flours from different varieties of *Opuntia* spp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:7054-7061.
- Sies H. 1993. Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry* 215:213-219.
- Shin DW, Lee SH, Lee S, Han EH. 2018. Analysis of marker components of fermented *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* stem extracts. *Analytical Science and Technology* 31:219-224. [in Korean]
- Spencer JP. 2008. Flavonoids: Modulators of brain function? *British Journal of Nutrition* 99:ES60-ES77.
- Wolfram RM, Kritiz H, Efthimiou Y, Stomatopoulos J, Sinzinger H. 2002. Effect of prickly pear (*Opuntia robusta*) on glucose-and lipid-metabolism in non-diabetics with hyperlipidemia-a pilot study. *Wiener Klinische Wochenschrift* 114:840-846.
- Yoon JA, Hahm SW, Son YS. 2009. Nutrients contents in different parts of prickly pear (*Opuntia humifusa*) and possible anti-breast cancer effect. *The Korean Journal of Food and Nutrition* 22:485-491. [in Korean]