

추출 조건에 따른 고춧잎 추출물의 항산화 활성 및 α -Glucosidase 억제 활성

서예슬 · 김숙정 · 김태한¹ · 이수홍¹ · 양은주*
(재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터, ¹자연미담

Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities of *Capsicum Annuum* L. Leaf Extract by Extraction Conditions

Ye-Seul Seo, Suk Jung Kim, Tae Han Kim¹, Soo Hong Lee¹, and Eun Ju Yang*

Food Research Center, Jeonnam Bioindustry Foundation
¹JAYEONMIDAM

Abstract

This study investigated optimal extraction conditions for applying *Capsicum annuum* L. leaf as a functional food resource. *Capsicum annuum* L. leaf was extracted at different extraction solvents (water and 95% ethanol), extraction temperatures (80°C and 100°C), and extraction times (30, 60, and 90 min), and the extracts were evaluated for extraction yield, luteolin content as a major flavonoid component, antioxidant activity, and α -glucosidase inhibitory activity. The extraction yield, luteolin content, DPPH and ABTS radical scavenging activities, and α -glucosidase inhibitory activity of the hot water extract were higher than those of the ethanol extract. In evaluating the extraction temperature of *Capsicum annuum* L. leaf, the antioxidant activities were similar, but the extraction yields, luteolin contents, and α -glucosidase inhibitory activities were higher at 100°C extraction. In evaluating the extraction time of *Capsicum annuum* L. leaf, extraction yield increased as the extraction time increased, but antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory activity were the highest at 60 min of extraction. These results suggest that the optimum extraction conditions of *Capsicum annuum* L. leaf are hot water for 60 min at 100°C, and the extracts can be used as a functional food resource.

Keywords: *Capsicum annuum* L., extraction condition, antioxidant, α -glucosidase inhibitory activity

서 론

현대인의 질병 예방에 대한 관심 및 항노화 산업의 발전에 따라 만성질환을 예방하고 치료할 수 있는 천연 소재에 대한 요구가 증가하고 있다. 생체 대사과정에서 끊임없이 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 정상적인 경우 생체 내의 항산화계에 의해 제거되어 항산화 방어계의 균형을 이루지만, 생체가 과도한 스트레스를 받거나 과음, 흡연, 환경오염, 질병 상태에서는 활성산소의 과잉으로 건강한 세포에 산화적 손상을 유발하여 암, 심혈관 질환, 당뇨 등과 같은 다양한 질병을 유발하고 노화를 촉진한다(Reuter et al., 2010; Alfadda & Sallam, 2012).

활성산소종을 제거하기 위해 사용되는 합성 항산화제의 경우 세포 내 독성이 보고됨에 따라 안전하고 효과적인 천연 항산화제를 개발하기 위한 연구가 이루어지고 있다(Kim et al., 2008; Kim et al., 2015).

현대인의 만성질환 중 하나인 당뇨병은 전 세계적으로 유병율이 증가하는 추세로서, 우리나라도 식습관의 변화로 인해 당뇨병 환자의 수가 빠르게 증가하고 있다. 당뇨병은 췌장에 있는 β -세포에서 분비되는 인슐린의 절대적 또는 상대적 분비 부족으로 혈당의 농도가 급격하게 상승하여 체내에 비정상적인 당질 대사를 초래하는 질병이다(Beckman et al., 2002). 대부분의 당뇨병은 인슐린이 분비되지 않아 발생하는 제1형보다는 비만이나 유전적인 문제로 발생하는 제2형에 속한다(Salimifar et al., 2013). 당뇨병은 심혈관계 질환, 신장 질환, 망막 및 구강질환 등의 합병증을 유발하므로 적절한 치료와 예방이 필요하며, 특히 식후 혈당을 조절하는 것이 매우 중요하다(Tai et al., 2000; Yoo et al., 2002). α -Glucosidase는 소장에 존재하는 소화 효소로서 다당류를 단당류로 가수분해시켜 혈당을 급

*Corresponding author: Eun Ju Yang, Food Research Center, Jeonnam Bioindustry Foundation, Naju, Jeonnam 58275, Korea
Tel: +82-61-339-1251
E-mail: rootage@hanmail.net
Received March 26, 2022; revised May 16, 2022; accepted May 17, 2022

격히 상승시키므로, 혈당 조절을 위한 α -glucosidase 저해제가 당뇨병 치료제로 이용되어 왔다(Lebovitz, 1998). 그러나 α -glucosidase를 억제하는 약물의 장기 투여를 통해 복부팽만, 설사 등 부작용이 보고되면서 인체 내 부작용을 줄이고 항당뇨 효과를 나타내는 천연물 치료제 개발에 대한 연구가 증가하고 있다(Dileep et al., 2018; Ji et al., 2020).

고추(*Capsicum annuum* L.)는 가지과(Solanaceae)에 속하는 초본식물로 한국인의 식생활에서 매운맛을 내는 필수적인 향신료로 자리 잡고 있다(Kim et al., 2020). 고추 열매는 phenolic acid, flavonoids, 비타민 C, E가 풍부하며, 매운맛 성분인 capsaicin은 당뇨병성 신경성증, 관절염, 대상포진 후 신경통, 피부건선 등의 치료 효과와 항암 활성에 대한 연구가 보고되고 있다(Zhang & Po, 1994; Howard et al., 2000; Mori et al., 2006). 그러나 고추의 식용 및 생리활성에 관한 연구는 고추 열매에 집중되어 있으며, 식용이 가능한 고춧잎에 대한 생리활성 연구는 소수에 불과하다. Kim et al. (2003)은 고춧잎 용매 분획물의 항산화, 항균 및 tyrosinase 저해활성을 보고하였으며, Jeon et al. (2008)은 고춧잎 추출물의 항산화 활성과 암세포 증식 억제 효과를 보고하였다. Ku & Kang (2010)은 고추 기관별 항산화 활성과 quinone reductase 유도 활성을 비교한 결과 고춧잎이 다른 기관에 비해 더 높은 활성을 나타내었다. 또한 Kim et al. (2021)은 고춧잎 에탄올 추출물로부터 α -glucosidase 저해 활성을 나타내는 화합물을 탐색하여 luteolin과 apigenin 배당체를 확인하였다. 이들 연구를 통해 고춧잎은 기능성 천연 소재로서 개발 가능성이 높을 것으로 기대되며 산업화를 위해 다양한 연구가 필요한 실정이다.

본 연구에서는 산화 스트레스의 예방 및 혈당을 조절할 수 있는 천연 소재로서 고춧잎의 산업적 이용 증대를 위한 기초 자료를 제시하기 위해 고춧잎의 추출 조건에 따른 항산화 및 α -glucosidase 저해 활성과 주요 플라보노이드 성분으로 luteolin 함량을 분석하였다.

재료 및 방법

재료 및 추출물 제조

본 실험에 사용된 고춧잎은 살리초 품종으로 2021년 수확하여 건조된 원료를 (주)노블젠(Suwon, Korea)에서 구입하여 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. 추출 용매에 따른 고춧잎의 추출은 고춧잎 50 g에 1,450 mL의 물 또는 95% 에탄올을 가하여 열수 추출은 100°C 에서 1시간, 에탄올 추출은 실온(25°C)에서 24시간 동안 추출한 후 감압 농축기를 이용하여 용매를 휘발시켰다. 추출 온도에 따른 고춧잎의 열수 추출은 고춧잎을 80°C 와 100°C 에서 1시간 동안 추출하였으며, 추출 시간에 따른 고춧잎의 열수 추출은 고춧잎을 100°C 에서 각각 30분, 60분, 90분 동안 추출하였

다. 추출 조건에 따른 고춧잎 추출액은 $55\ \mu\text{m}$ bag filter로 여과한 후 동결건조(PVTFD 10R, IIShin Lab Co., Ltd., Dongducheon, Korea)하여 추출 수율을 측정하고 본 실험의 평가 시료로 사용하였다. 추출 수율은 동결 건조된 분말 중량을 추출에 사용한 고춧잎 원료의 중량으로 나누어 백분율(%)로 나타내었다.

고춧잎 추출물의 HPLC 분석

고춧잎 추출물의 주요 플라보노이드 성분을 분석하기 위하여 열수 추출 분말 100 mg에 2.5 N HCl과 70% methanol 혼합 용액 5 mL를 가하여 75°C 에서 2시간 동안 산 가수분해를 진행하였다. 가수분해한 시료를 10 mL로 정용한 후 $0.45\ \mu\text{m}$ syringe filter (Advantec Toyo Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)로 여과하여 high-performance liquid chromatography (HPLC) 분석에 사용하였다. HPLC 분석기는 Agilent 1100 series (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)를 사용하였으며, column은 Sunfire C_{18} ($4.6 \times 250\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$, Waters Co., Milford, MA, USA)을 사용하였고, 검출 파장은 350 nm에서 분석하였다. 이동상 A는 2% acetic acid를 함유한 deionized water, 이동상 B는 2% acetic acid를 함유한 50% acetonitrile을 사용하였다. 용매 B는 0%로 시작하여 40분에 100%로 증가시킨 후 50분까지 유지하였으며, flow rate는 $0.8\ \text{mL}/\text{min}$, injection volume은 $20\ \mu\text{L}$ 로 분석하였다. 주요 플라보노이드 성분의 확인을 위한 luteolin과 apigenin 표준품은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 추출 조건에 따른 고춧잎 추출물의 luteolin 함량은 동일한 조건으로 HPLC 분석을 수행한 후 표준 검량 곡선을 통해 계산하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

고춧잎 추출물 $10\ \mu\text{L}$ 에 $0.1\ \text{mM}$ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan) $190\ \mu\text{L}$ 를 혼합하여 상온에서 30분간 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 $517\ \text{nm}$ 에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS 라디칼 소거능 측정

$7\ \text{mM}$ ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), Wako Pure Chemical Industries)와 $2.45\ \text{mM}$ potassium persulfate를 암소에서 16시간 동안 반응시켜 ABTS 양이온을 형성시킨 후 사용 직전 $734\ \text{nm}$ 에서 흡광도가 0.80 ± 0.02

가 되도록 조정하였다. 고춧잎 추출물 10 µL에 ABTS 용액 190 µL를 혼합하여 실온에서 10분 동안 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 ABTS 라디칼 소거능은 아래의 식으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} \\ = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

α-Glucosidase 저해 활성 측정

고춧잎 추출물의 α-glucosidase 저해 활성은 α-Glucosidase Inhibitor Screening Kit (Biovision, Milpitas, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 고춧잎 추출물 10 µL에 α-glucosidase 10 µL와 α-glucosidase assay buffer 60 µL를 가하여 실온에서 20분간 반응시킨 후 20 µL의 α-glucosidase 기질 혼합물을 각 well에 첨가하고, 410 nm에서 30분 동안 흡광도를 측정하였다. 시료 무처리구는 negative control로 사용하였고, acarbose (Sigma-Aldrich Co.)를 positive control로 사용하였으며, 아래의 식으로 계산하여 저해율을 나타내었다.

$$\alpha\text{-Glucosidase 저해 활성(\%)} \\ = \frac{\text{무처리구의 흡광도} - \text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}} \times 100$$

통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 수행하였으며, 실험의 결과는 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었다. 통계는 SPSS 프로그램(Statistical Package for Social Science, version 17, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였으며, 고춧잎 추출 용매(물, 95% 에탄올)와 추출 온도(80°C, 100°C) 간 유의적 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 Student's t-test로 검증하였으며, 추출 시간별 유의적 차이는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 검증하였다.

결과 및 고찰

고춧잎 추출물의 플라보노이드 성분 분석

식물성 유용성분 중 하나인 플라보노이드는 식물의 2차 대사산물로서 식물체 보호 기능뿐만 아니라 항산화, 항염증, 항균, 항바이러스, 항암 활성 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Havsteen, 1983; Wang et al., 2018). 고춧잎의 주요 플라보노이드 성분은 apigenin과 luteolin이 보고되고 있으며(Kang et al., 2021; Kim et al.,

2021), apigenin은 파슬리, 박하, 레몬, 들깨, 딸기 및 다양한 과일에 함유되어 있고(Park et al., 2015), luteolin은 당근, 브로콜리, 샐러리 등 녹황색 채소류와 과일에 풍부한 성분으로 알려져 있다(Tuorkey, 2016). Apigenin은 항산화 활성이 높은 성분으로 알려져 있으며, 그 외에도 항염증, 항고혈압, 항암 활성 등의 다양한 생리활성이 보고되고 있다(Salehi et al., 2019). Luteolin은 항산화, 항암, 항염증, 항알레르기 활성 및 신경세포 보호 활성 등이 알려져 있다(Woo et al., 2016; Woo et al., 2021). 고춧잎 추출물의 주요 플라보노이드 성분의 함량을 비교하기 위하여 열수 추출물에 대한 HPLC를 시행한 결과 luteolin (RT 31.7 min)의 함량은 4.44 mg/g, apigenin (RT 35.5 min)의 함량은 0.35 mg/g으로 분석되어 apigenin에 비해 luteolin의 함량이 10배 이상 높은 것으로 확인되었다(Fig. 1).

추출 용매에 따른 고춧잎 추출물의 추출 수율, luteolin 함량, 항산화 활성 및 α-glucosidase 저해 활성

고춧잎에 물을 첨가하여 100°C에서 1시간 동안 추출한 열수 추출물과 95% 에탄올을 첨가하여 상온(25°C)에서 24시간 동안 추출한 에탄올 추출물의 추출 수율 및 luteolin 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 추출 수율은 열수 추출 조건에서 23.08%로 측정된 반면, 에탄올 추출에서 1.64%로 낮은 수율을 나타내었으며, luteolin 함량은 열수 추출 분말의 4.44 mg/g과 에탄올 추출 분말의 2.61 mg/g으로 큰 차이를 나타내었다.

추출 용매에 따른 고춧잎 추출물의 항산화 활성과 α-glucosidase 저해 활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 용매별 추출 시료의 DPPH 라디칼 소거능(100 µg/mL)과 ABTS 라디칼 소거능(100 µg/mL)을 비교한 결과 열수 추출물은 각각 46.22%와 60.90%의 소거능을 나타내며 에탄올 추출물(26.72%, 30.85%)에 비해 더 높은 항산화 활성을 나타내었다. Jeon et al. (2008)은 고춧잎을 상온에서 물과 메탄올로 추출한 시료의 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능을 비교한 결과 메탄올 추출물이 더 높은 항산화 활성을 나타내었으나, 본 연구와 달리 물 추출에서 열처리를 하지 않아 항산화 성분의 추출 효율이 낮았기 때문으로 생각된다. 또한 Ku et al. (2009)의 연구에서 13개 품종의 고춧잎을 메탄올로 추출하여 항산화 활성을 비교한 결과 DPPH 라디칼 소거능은 200 µg/mL 농도에서 품종에 따라 1.8-40.7%의 범위로 큰 차이를 나타내었으며, 본 연구의 항산화 활성(100 µg/mL, 46.22%)과 비교하였을 때 원료로 사용한 살리초 품종은 항산화 활성이 우수한 품종으로 생각된다. α-Glucosidase는 식이 중에 함유된 탄수화물을 포도당으로 전환시키는 효소로서, α-glucosidase 저해제는 탄수화물의 흡수를 지연시키는 역할을 하여 식후 혈당 상승을 완만하게 하므로 인슐린 비의존성 당뇨병 환자에게 효과적이다(Park et al., 2020; Lee, 2021). 고춧잎의 용매별 추출

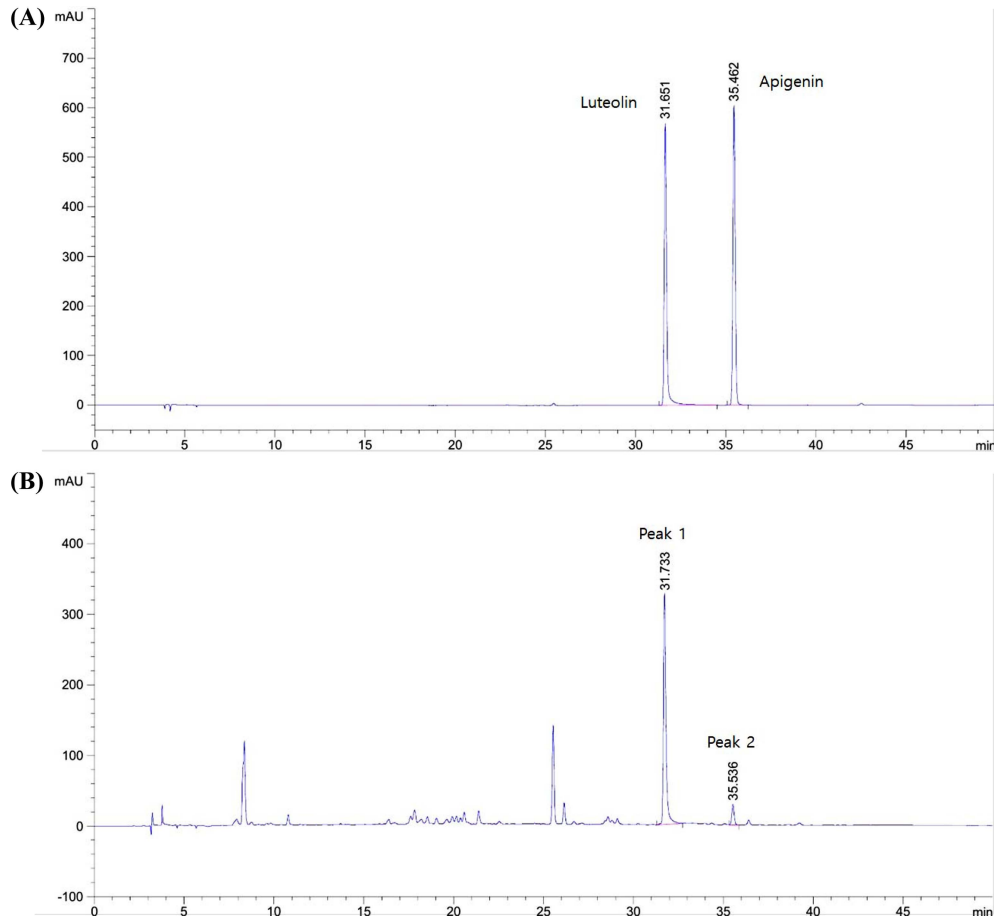


Fig. 1. HPLC chromatogram of standard flavonoid compounds (A) and hot water extract from *Capsicum annuum* L. leaf (B).

Table 1. Extraction yield and luteolin content of *Capsicum annuum* L. leaf extract with different extraction solvent

Extraction solvent	Extraction yield (%)	Luteolin content (mg/g)
Water ¹⁾	23.08±0.20 ³⁾	4.44±0.14*
95% Ethanol ²⁾	1.64±0.08	2.61±0.09

¹⁾Water extraction temperature and time: 100°C, 1 h

²⁾Ethanol extraction temperature and time: room temperature, 24 h

³⁾Values are expressed as the mean±SD (n=3).

*Significantly different by *t*-test ($p<0.05$).

시료(0.5 mg/mL)에 대한 α -glucosidase 저해 활성을 비교한 결과 열수 추출물은 47.77%, 에탄올 추출물은 39.63%를 나타내어 열수 추출물의 저해 활성이 더 높은 결과를 보였다. 고춧잎 에탄올 추출물로부터 α -glucosidase 저해 활성을 나타내는 화합물을 탐색하여 보고한 연구는 있으나(Kim et al., 2021), 고춧잎의 추출 조건에 따른 α -glucosidase 저해 활성을 비교한 연구는 전무하다. 본 연구에서 산업적으로 활용할 수 있는 식품 등급의 추출 용매로서 열수와 에탄올 추출물의 추출 수율, luteolin 함량, 항산화 활성 및 α -glucosidase 저해 활성을 비교한 결과 모든 평가 항목에서 열수 추출물이 유의적으로 우수한 결과를 나타내어 고춧잎

Table 2. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of *Capsicum annuum* L. leaf extract with different extraction solvent

Extraction solvent	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	α -Glucosidase inhibitory activity (%)
Water ¹⁾	46.22±0.93 ³⁾	60.90±0.42*	47.77±0.08*
95% Ethanol ²⁾	26.72±1.54	30.85±0.69	39.63±1.05

¹⁾Water extraction temperature and time: 100°C, 1 h

²⁾Ethanol extraction temperature and time: room temperature, 24 h

³⁾Values are expressed as the mean±SD (n=3).

*Significantly different by *t*-test ($p<0.05$).

의 추출 용매를 물로 선정 후 추출 온도에 따른 열수 추출물의 평가를 진행하였다.

추출 온도에 따른 고춧잎 열수 추출물의 추출 수율, luteolin 함량, 항산화 활성 및 α -glucosidase 저해 활성

고춧잎의 열수 추출 온도를 선정하기 위해 80°C와 100°C에서 각각 1시간 동안 열수 추출한 고춧잎 추출물의 추출 수율 및 luteolin 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 추출 수율은 80°C 추출에서 18.67%, 100°C 추출에서

Table 3. Extraction yield and luteolin content of *Capsicum annuum* L. leaf extract with different extraction temperature

Extraction temperature ¹⁾	Extraction yield (%)	Luteolin content (mg/g)
80°C	18.67±0.53 ²⁾	2.88±0.07
100°C	22.93±0.03*	4.48±0.09*

¹⁾Extraction time: 1 h²⁾Values are expressed as the mean±SD (n=3).*Significantly different by *t*-test ($p<0.05$).**Table 4. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of *Capsicum annuum* L. leaf extract with different extraction temperature**

Extraction temperature ¹⁾	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	α -Glucosidase inhibitory activity (%)
80°C	46.81±0.69 ²⁾	60.58±0.40	42.51±0.57
100°C	48.12±0.23	61.21±0.16	47.67±0.14*

¹⁾Extraction time: 1 h²⁾Values are expressed as the mean±SD (n=3).*Significantly different by *t*-test ($p<0.05$).

22.93%로 측정되었으며, luteolin 함량은 80°C 추출에서 2.88 mg/g, 100°C 추출에서 4.48 mg/g을 나타내어 추출 온도에 따른 수율 및 luteolin 함량은 100°C 추출에서 유의적으로 높은 결과를 확인하였다. 그러나 추출 온도에 따른 고춧잎 열수 추출물의 항산화 활성을 비교하기 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과 추출 온도에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Table 4). Yun & Jeong (2012)의 연구에서 소리쟁이 뿌리를 온도별로 추출하여 분석한 결과 추출 온도와 비례하여 추출 수율은 증가하였으나 DPPH 라디칼 소거능은 50°C 추출에서 74.6%, 75°C 추출에서 76.8%로 근소한 차이를 나타내었다. 천연 소재의 온도에 따른 추출물에서 항산화 활성이 유사한 결과는 높은 추출 온도에서 항산화 성분의 추출 수율은 증가하는 반면 일부 항산화 성분이 고온에서 불안정한 특성을 나타내어 항산화 성분의 총 함량이 유사하기 때문으로 추정된다. 추출 온도에 따른 고춧잎 열수 추출물의 α -glucosidase 저해 활성을 비교한 결과 80°C 추출에서 42.51%, 100°C 추출에서 47.67%의 저해율을 보이며 100°C 추출물이 유의적으로 더 높은 활성을 나타내었다(Table 4). 추출 온도에 따른 고춧잎 열수 추출물의 분석 결과 100°C 조건의 추출 수율이 80°C 추출에 비해 1.3배 높은 결과를 나타내며, α -glucosidase 저해능에서 좀 더 높은 활성을 나타내므로 고춧잎의 열수 추출 온도를 100°C로 선정 후 추출 시간에 따른 열수 추출물의 평가를 진행하였다.

추출 시간에 따른 고춧잎 열수 추출물의 추출 수율, luteolin 함량, 항산화 활성 및 α -glucosidase 저해 활성

고춧잎을 100°C에서 각각 30분, 60분, 90분 동안 열수

Table 5. Extraction yield and luteolin content of *Capsicum annuum* L. leaf extract with different extraction time

Extraction time ¹⁾	Extraction yield (%)	Luteolin content (mg/g)
30 min	19.72±0.38 ^{b2,3)}	3.77±0.11 ^b
60 min	22.84±0.23 ^a	4.66±0.02 ^a
90 min	23.10±0.04 ^a	4.60±0.04 ^a

¹⁾Extraction temperature: 100°C²⁾Values are expressed as the mean±SD (n=3).³⁾Significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).**Table 6. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of *Capsicum annuum* L. leaf extract with different extraction time**

Extraction time ¹⁾	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	α -Glucosidase inhibitory activity (%)
30 min	42.71±0.11 ^{c2,3)}	59.32±0.25 ^c	45.08±0.71 ^b
60 min	47.81±0.45 ^a	61.35±0.33 ^a	47.59±0.28 ^a
90 min	45.06±0.55 ^b	60.13±0.08 ^b	46.08±1.28 ^{ab}

¹⁾Extraction temperature: 100°C²⁾Values are expressed as the mean±SD (n=3).³⁾Significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

추출한 후 추출물의 추출 수율 및 luteolin 함량을 측정 한 결과는 Table 5와 같다. 추출 수율은 30분 추출에서 19.72%로 가장 낮은 결과를 보였으며, 60분 추출에서 22.84%로 증가하였으나 90분 추출(23.10%)과 유의적인 차이는 보이지 않았다. 추출 시간에 따른 luteolin 함량은 30분 추출의 3.77 mg/g의 함량에서 60분 추출 시 4.66 mg/g으로 증가하였으나 90분 추출에서 4.60 mg/g의 함량을 나타내며 60분 추출과 유사한 수준으로 확인되었다. 추출 시간에 따른 고춧잎 열수 추출물의 추출 수율과 luteolin은 비례적으로 증가함을 알 수 있었다. 추출 시간에 따른 고춧잎 열수 추출물의 항산화 활성을 비교하기 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과 60분 추출물에서 각각 47.81%와 61.35%의 소거능을 나타내며 30분과 90분 추출물에 비해 좀 더 높은 항산화 활성을 나타내었다(Table 6). Kim et al. (2006)은 감초의 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 추출 시간에 따라 비교한 결과 6시간과 12시간 추출물에 비해 18시간 이상의 추출물에서 활성이 더 높았으나 24시간 추출물과 유의적 차이는 없는 결과를 보였다. 그러나 Chung et al. (2006)의 동백나무 잎을 이용한 열수 추출 조건 연구에서 추출 시간에 따른 열수 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 비교한 결과 10분과 30분 추출물에 비해 60분과 120분 추출물에서 뚜렷하게 낮은 활성을 보였으며, 30분 이상의 추출 시 동백잎의 항산화 화합물이 급격히 감소 또는 분해되는 결과로 보고하였다. 고춧잎의 열수 추출에서도 60분 이상의 추출에서 항산화 성분의 안정성이 낮아지는 것으로 생각된다. 추출 시간에 따른 고춧잎 열수 추출물의 α -glucosidase 저해 활성

을 비교한 결과 항산화 활성 평가 결과와 유사하게 60분 추출물의 활성이 가장 높았으며, 90분 추출물에서 근소하게 낮아지는 결과를 보였다(Table 6). Shin et al. (2015)은 잣버섯 에탄올 추출물의 추출 시간에 따른 α -glucosidase 저해 활성을 비교한 결과 추출 시간에 따라 활성이 증가하는 결과를 보였다. Park et al. (2009)은 반응표면분석법을 통해 추출 조건에 따른 메밀 새싹 추출물의 α -glucosidase 저해 활성을 분석한 결과 추출 시간에는 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이들 연구를 통해 천연 소재의 특성 및 생리활성 성분의 화학적 특성에 따라 추출 조건이 검토되어야 할 것으로 판단된다. 본 연구에서 고춧잎의 추출 조건에 따른 추출 수율, luteolin 함량, 항산화 활성 및 α -glucosidase 저해 활성을 평가한 결과 에탄올보다는 물을 추출 용매로 하여 100°C, 60분 추출 조건에서 가장 우수한 결과를 나타내었으며, 향후 고춧잎 열수 추출물은 다양한 후속 실험을 통해 산업적 경제성이 우수한 천연 항산화 및 항당뇨 소재로서 개발이 기대된다.

요 약

본 연구에서는 고춧잎의 기능성 식품 소재화를 위한 기초 연구로 추출 조건에 따른 고춧잎 추출물의 추출 수율, luteolin 함량, 항산화 및 α -glucosidase 저해 활성을 조사하였다. 고춧잎 열수 추출물의 주요 플라보노이드 성분을 HPLC 분석을 통해 비교한 결과 apigenin (0.35 mg/g)에 비해 luteolin (4.44 mg/g)이 10배 이상 높은 함량을 나타내었다. 고춧잎을 열수와 에탄올로 각각 추출한 후 추출물의 추출 수율, luteolin 함량, 항산화 및 α -glucosidase 저해 활성을 비교한 결과 모든 항목에서 열수 추출물이 유의적으로 높은 결과를 나타내었다. 추출 용매를 열수 조건으로 선정하여 80°C와 100°C의 온도에서 추출한 열수 추출물을 분석한 결과 항산화 활성은 유사하였으나, 추출 수율, luteolin 함량 및 α -glucosidase 저해 활성은 100°C 추출에서 더 높은 결과를 나타내었다. 추출 온도를 100°C로 선정한 다음 추출 시간을 선정하기 위해 고춧잎을 각각 30분, 60분, 90분 동안 추출한 열수 추출물을 분석하였다. 추출 수율은 30분 추출의 19.72%에 비해 60분과 90분 추출에서 22.84%와 23.10%로 증가하였으며, luteolin 함량도 30분 추출물의 3.77 mg/g에서 60분과 90분 추출물은 각각 4.66 mg/g과 4.60 mg/g의 수준으로 증가하였다. 추출 시간에 따른 고춧잎 열수 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과 60분 추출물에서 각각 47.81%와 61.35%의 소거능을 나타내며 30분과 90분 추출물에 비해 좀 더 높은 항산화 활성을 나타내었다. 추출 시간에 따른 고춧잎 열수 추출물의 α -glucosidase 저해 활성을 비교한 결과 항산화 활성 평가 결과와 유사하게 60분 추출물의 활성이 유의적으로 높은 결과를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 전남테크노파크 지역수요맞춤형 연구개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

References

- Alfadda AA, Sallam RM. 2012. Reactive oxygen species in health and disease. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012: 936486.
- Beckman JA, Creager MA, Libby P. 2002. Diabetes and atherosclerosis: Epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA* 287: 2570-2581.
- Chung JH, Lee HJ, Lee SY, Kim KS, Rim YS, Shin SC, Jung KH, Park KH, Moon JH. 2006. Establishment of conditions for hot water extraction of *Camellia japonica* leaves. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 823-828.
- Dileep KV, Nithyanandan K, Remya C. 2018. Binding of acarbose, an anti-diabetic drug to lysozyme: a combined structural and thermodynamic study. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 36: 3354-3361.
- Havsteen B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* 32: 1141-1148.
- Howard LR, Talcott ST, Brenes CH, Villalon B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum species*) as influenced by maturity. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1713-1720.
- Jeon GU, Han JY, Choi YM, Lee SM, Kim HT, Lee JS. 2008. Antioxidant and antiproliferative activity of pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1079-1083.
- Ji YJ, Lee EY, Lee JY, Seo KH, Kim DH, Park CG, Kim HD. 2020. Antioxidant and anti-diabetic effects of *Ixeris strigosa* extract. *J. Nutr. Health* 53: 244-254.
- Kang KJ, Kim BH, Kim DH, Yun HJ, Cho YS, Han NE, Choi JC, Lee SN, Choi OK. 2021. Determination of the contents of apigenin and luteolin in vegetables. *Korean J. Food Nutr.* 34: 233-241.
- Kim JH, Jeong CH, Shim KH. 2003. Biological activities of solvent fractions of *Capsicum annuum* leaves. *Korean J. Food Preserv.* 10: 540-546.
- Kim JM, Cho ML, Seo KE, Kim YS, Jung TD, Kim YH, Kim DB, Shin GH, Oh JW, Lee JS, Lee JH, Kim JY, Lee DW, Lee OH. 2015. Effect of extraction conditions on *in vitro* antioxidant activities of root bark extract from *Ulmus pumila* L. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 44: 1172-1179.
- Kim MS, Jin JB, Lee JH, An HS, Pan CH, Park JS. 2021. Rapid separation of *Capsicum annuum* L. leaf extract using automated HPLC/SPE/HPLC coupling system (Sepbox system) and identification of α -glucosidase inhibitory active substances. *J. Appl. Biol. Chem.* 64: 25-32.
- Kim MY, Yi JH, Hwang YY, Song KS, Jun MR. 2008. Isolation and identification of antioxidant substances from the stems of butterbur (*Petasites japonicus*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 979-984.
- Kim SJ, Kweon DH, Lee JH. 2006. Investigation of antioxidative activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrr-*

- rhiza glabra*). Korean J. Food Sci. Technol. 38: 584-588.
- Kim TW, Jeon BG, Lee SH. 2020. Analysis of physiological activity and cytotoxicity of residue extracts after pepper harvest. J. Life Sci. 30: 1085-1091.
- Ku KM, Kang YH. 2010. Antioxidant and quinone reductase inductive activities of various organs of pepper. J. Appl. Biol. Chem. 53: 31-36.
- Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH. 2009. Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. J. Appl. Biol. Chem. 52: 70-76.
- Lebovitz HE. 1998. α -Glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. Diabetes Rev. 6: 132-145.
- Lee YR. 2021. Antioxidative and α -glucosidase inhibition activity of extracts fraction from *Saururus chinensis* Baill. Korean J. Food Nutr. 34: 289-294.
- Mori A, Lehmann S, O'Kelly J, Kumagai T, Desmond JC, Pervan M, McBride WH, Kizaki M, Koeffler HP. 2006. Capsaicin, a component of red peppers, inhibits the growth of androgen-independent, p53 mutant prostate cancer cells. Cancer Res. 66: 3222-3229.
- Park JN, Byun EB, Kim JJ, Jang BS, Park SH. 2015. Induction of apoptosis by gamma-irradiated apigenin in H1975 human non-small lung cells. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 816-822.
- Park KJ, Lim JH, Kim BK, Jeong JW, Kim JC, Lee MH, Cho YS, Jung HY. 2009. Optimization of extraction conditions to obtain functional components from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprouts, using response surface methodology. Korean J. Food Preserv. 16: 734-741.
- Park SI, Sohn HY, Lee CI, Hwang HY, Park SW, Kim JS. 2020. Functional chemical components and their biological activities of *Houttuynia cordata* and *Lespedeza cuneata*. J. Life Sci. 30: 169-177.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. Free Radic. Biol. Med. 49: 1603-1616.
- Salehi B, Venditti A, Sharifi-Rad M, Kregiel D, Sharifi-Rad J, Durazzo A, Lucarini M, Santini A, Souto EB, Novellino E, Antolak H, Azzini E, Setzer WN, Martins N. 2019. The therapeutic potential of apigenin. Int. J. Mol. Sci. 20: 1305.
- Salimifar M, Fatehi-Hassanabad Z, Fatehi M. 2013. A review on natural products for controlling type 2 diabetes with an emphasis on their mechanisms of actions. Curr. Diabetes Rev. 9: 402-411.
- Shin JW, Bae SM, Han SM, Lee YH, Kim JH, Ji JH, Lee JS. 2015. Antihyperglycemic α -glucosidase inhibitory activity of ethanol extract from *Neolentimus lepideus*. Kor. J. Mycol. 43: 174-179.
- Tai ES, Lim SC, Tan BY, Chew SK, Heng D, Tan CE. 2000. Screening for diabetes mellitus: a two-step approach in individuals with impaired fasting glucose improves detection of those at risk of complications. Diabet. Med. 17: 771-775.
- Tuorkey MJ. 2016. Molecular targets of luteolin in cancer. Eur. J. Cancer Prev. 25: 65-76.
- Wang TY, Li Q, Bi KS. 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. Asian J. Pharm. Sci. 13: 12-23.
- Woo JH, Jang DS, Choi JH. 2021. Luteolin promotes apoptosis of endometriotic cells and inhibits the alternative activation of endometriosis-associated macrophages. Biomol. Ther. 29: 678-684.
- Woo KW, Sim MO, Kim AH, Kang BM, Jung HK, An BK, Cho JH, Cho HW. 2016. Quantitative analysis of luteolin 5-glucoside in *Ajuga spectabilis* and their neuroprotective effects. Korean J. Pharmacogn. 47: 211-216.
- Yoo SK, Kim MJ, Kim JW, Rhee SJ. 2002. Effect of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activities of small intestine and blood glucose-lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 1071-1077.
- Yun YS, Jeong KS. 2012. Polyphenol contents of *Rumex crispus* root extract with hot water and its antioxidative effect. J. Environ. Sci. Int. 21: 1265-1274.
- Zhang WY, Po ALW. 1994. The effectiveness of topically applied capsaicin. A meta-analysis. Eur. J. Clin. Pharmacol. 46: 517-522.

Author Information

- 서예슬: (재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터 연구원
- 김숙정: (재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터 연구원
- 김태한: 자연미담 팀장
- 이수홍: 자연미담 대표
- 양은주: (재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터 연구개발팀장