

참취, 쯤개미취, 큰금계국 및 기생초 꽃의 추출방법에 따른 항산화 활성 비교

우정향, 신소림, 장영득, 이철희*
충북대학교 응용생명환경학부 원예과학과

Comparison of Antioxidant Effects by Different Extraction Methods in Flowers of *Aster scaber*, *Aster maackii*, *Coreopsis lanceolata* and *Coreopsis tinctoria*

Jeong Hyang Woo, So Lim Shin, Young Deug Chang and Cheol Hee Lee*
Dept. of Horticultural Science, Chungbuk Nat'l Univ., Cheongju 361-763, Korea

Abstract - Antioxidant substances were extracted from flowers of *Aster scaber*, *Aster maackii*, *Coreopsis lanceolata* and *Coreopsis tinctoria* using 2 types of extraction methods- ultrasonic wave and reflux, and antioxidant effects were compared. Higher yield of extract was obtained by ultrasonic wave method in all 4 species. Extraction time was different depending on species, but in all 4 species DPPH and ABTS free radical scavenging and ferrous ion chelating activity were higher or similar by ultrasonic wave than reflux method. Content of total polyphenol and flavonoid was mainly higher by ultrasonic wave than reflux method. Longer the treatment, the more the antioxidant activity and bioactive substances. Anti-lipid peroxidation of ultrasonic and reflux extracts obtained from flowers of *Aster scaber* and *Coreopsis lanceolata* were compared. Flower extract of *Aster scaber* obtained by reflux method showed the highest inhibition effect against peroxidation of linoleic acid, but extract of *Coreopsis lanceolata* obtained by 15-minute ultrasonic extract showed the highest effect. Ultrasonic wave extraction was more economical and efficient method than reflux extraction.

Key words - Lipid peroxidation, Phenolic compounds, Radical scavenging, Reflux, Ultrasound

서 언

식물의 생리활성을 조사하기 위한 추출방법은 냉각관이 부착된 water bath를 사용한 환류냉각추출법(열수추출법)이 일반적이다. 환류냉각추출법은 식물의 가용성 물질을 안정적으로 추출할 수 있는 방법이지만(Cho 등, 2005; Choi 등, 2005), 열로 인한 유용성분의 파괴, 가용성분 위주의 추출, 추출시간이 오래 걸리는 등의 단점이 있다. 반면 초음파 추출법은 낮은 온도에서 추출하여 유용성분의 파괴를 줄일 수 있고 짧은 시간에도 높은 추출수율과 생리활성 효과를 기대할 수 있는 추출방법이다(Park 등, 2004; Kim 등, 2006).

국화과 식물은 항산화, 항암 등 다양한 약리효과가 있는

것으로 알려져 있으나, 지금까지 연구되어 온 국화과 식물은 몇 가지 종에 집중되어 있고 대부분의 국화과 식물은 유용하지 않은 식물 또는 잡초 등으로 취급되어 소홀해진 경우가 많다. 식물은 진화를 거듭하면서 환경에 적응하기 위하여 다양한 기작을 발달시켜왔다. 국화과 식물은 현존하는 가장 진화된 식물로써, 다양한 2차 대사산물을 축적하고 있을 것으로 기대된다. 참취와 쯤개미취가 속한 *Aster* 속의 식물들은 항산화 활성(Woo 등, 2008), 항암활성(Chon 등, 2008)이 우수한 것으로 알려져 있다. 또한, 큰금계국 및 기생초가 속한 *Coreopsis*속 식물들은 세포손상 방어, 항균 및 항염증 등의 효과가 있는 phenylpropanoids가 함유되어 있으며(Reichling과 Thron, 1989), 혈당강하, 항산화, 항암 등의 효과가 있는 다양한 flavonoids가 함유되어 있다(Zhang 등, 2006).

*교신저자(E-mail) : leech@chungbuk.ac.kr

최근 건강하고 젊게 오래사는 것에 대한 관심이 증가하면서 다양한 항산화제 개발이 증가되고 있다. 특히 식물의 2차 대사산물을 이용한 다양한 천연 항산화제가 개발되고 있다. 일반적으로 항산화 활성이 우수한 식물 추출물 개발에 관한 연구가 집중되어 왔지만, 같은 식물도 추출방법 및 추출용매 등에 따라 생리활성물질의 종류와 함량 및 생리활성 정도가 달라질 수 있으므로 효율적인 추출방법을 개발할 필요가 있다.

본 연구는 천연 항산화제를 개발하기 위하여 항산화 가능성이 우수할 것으로 예상되는 국화과 참취, 쯤개미취, 큰금계국, 기생초 꽃의 항산화 활성을 분석하였다. 또한, 천연 항산화제의 생산 효율을 증가시키기 위하여 동일한 시료의 항산화 활성을 증가시킬 수 있는 추출방법을 개발하기 위하여 환류냉각추출과 초음파추출을 동시에 시행하여 각 추출물의 항산화 활성을 비교하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 연구에 사용된 참취, 큰금계국, 쯤개미취 및 기생초의 꽃은 충북 청원군의 실험포장에서 수확하여 사용하였다 (Table 1). 수확 직후 동결건조기(FD8512, IlShin Lab. Co. Ltd., Korea)를 이용하여 동결건조하였다. 건조 시료는 분쇄기(FM-681C, Hanil Electric., Korea)로 분쇄하여 -70°C 초저온 냉동고(SW-UF-200, Samwon Engineering Co., Korea)에 보관하여 실험에 사용하였다.

환류냉각추출

분쇄한 건조시료 1 g과 80% 에탄올 25 mL을 둥근바닥 플라스크에 넣어 혼합한 후, 냉각관이 부착된 환류추출장치(Chang Shin Co., Korea)의 water bath 온도를 60°C로 조절하여 6시간 동안 추출하였다. 각각의 추출액을 여과지(Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Japan) 2장을 사용하여 Vacuum Pump(GAST)로 감압여과 하였으며, 남은 잔사를 사용하여 같은 방법으로 총 3회 반복 추출하였다. 추출물은 용매를 이용하여 최종 볼륨을 50mL로 조절하여 질소를 충전한 후 -70±2°C의 저온저장고에 저장하여 실험에 사용하였다.

초음파추출

분쇄한 건조 시료 1 g과 80% 에탄올 25 mL을 삼각플라스크에 넣어 혼합한 다음, 42 kHz(±6%)의 초음파 수조에서 15, 30 및 45분씩 초음파 처리하여 추출하였다. 이 때, 삼각플라스크의 바닥면이 ultrasonic bath의 내부 바닥면에 닿지 않도록 아래에 stainless rack을 받친 다음 그 위에 삼각플라스크를 얹어 삼각플라스크 내의 추출물이 물에 완전히 잠기도록 하였으며, 삼각플라스크가 움직이지 않도록 고정시켰다. 추출 후 환류냉각추출법과 같은 방법으로 여과하였다. 초음파 추출한 추출물은 반복 추출하지 않고, 1회 추출 후 여과하여 실험에 사용하였다. 추출물은 용매를 이용하여 최종 볼륨을 50 mL로 조절하여 질소를 충전한 후 -70±2°C의 저온저장고에 저장하여 실험에 사용하였다.

추출수율

모든 추출물은 질소 충전하여 -70°C (SW-UF-200, Samwon Engineering Co., Korea)에 보관하면서 실험에 사용하였으며, 각각의 추출수율은 아래의 식에 의해 계산하였다(Woo와 Lee, 2008).

$$\text{Extraction yield (\%)} = (A \times B / C) \times 100$$

A : 가용성 고형분 농도 (mg·mL⁻¹), B : 총 추출용매의 양 (mL), C : 동결건조 시료 양 (mg)

항산화 물질 함량 및 항산화 활성

총 폴리페놀 함량은 tannic acid 를 표준물질로 하여 Velioglu 등(1998)의 방법으로 측정하였다. 추출물 0.1 mL, 2% Na₂CO₃ 2 mL를 혼합하여 3분 후 1N Folin & Ciocalteu's phenol reagent(F9252, Sigma, USA)를 0.1 mL 첨가하여 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 플라보노이드 함량은 naringin을 표준물질로 하여 NFRI(1990)의 방법으로 측정하였다. 추출물 0.2 mL, diethylene glycol(H26456, Sigma, USA) 2 mL, 1N NaOH 0.2 mL을 첨가하여 37°C의 항온수조(VS-190CS, Vision Sci., Korea)에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; D9132, Sigma, USA) radical 소거능은 희석배율을 달리한 각각의 추출물 0.2 mL와 0.15 mM DPPH 용액 0.8 mL을 혼합하여 실온

암상태에서 30분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 아래의 식에 의하여 소거활성을 구하였다 (Blois, 1958). 농도별 추출물의 소거활성을 단순회귀분석에 대입하여 추출물 무첨가구의 radical 활성을 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)를 RC_{50} 값으로 나타냈다. (+)control로는 BHT(2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol; B1378, Sigma, Germany)와 ascorbic acid(A5960, Sigma, China)를 사용하였다.

$$\text{Radical scavenging (\%)} = (1 - A / B) \times 100$$

A: 시료 첨가군의 흡광도, B: 대조군의 흡광도

ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical 소거능은 Re 등(1999)의 방법으로 측정하였다. 7.4 mM의 ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시킨 다음 ABTS 용액은 실험 직전에 732 nm에서 흡광도가 0.700 ± 0.030 (mean \pm SE)이 되도록 phosphate-buffered saline(pH 7.4)으로 희석하였다. 농도별 추출물 0.5 mL에 ABTS 용액 0.95 mL를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였으며, DPPH radical 소거능과 같은 방법으로 계산하여 ABTS radical 소거능을 구하였다.

Fe^{2+} ion chelating 효과는 농도별 추출물 1 mL, 80% 에탄올 0.8 mL, 2 mM $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (iron(II) chloride tetrahydrate; 220299, Sigma, USA) 용액 0.1 mL, 5 mM ferrozine [3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid; P5338, Sigma, USA] 용액 0.1 mL를 혼합하여 실온에서 10분 동안 반응시켰으며, 562 nm에서 흡광도를 측정하였다(Yen 등, 2002). 추출물의 chelating 효과는 아래의 수식에 따라 산출한 후 단순회귀분석을 이용하여 ferrous ion을 50% chelating 시키는데 필요한 시료의 농도(RC_{50})를 구하였으며, 대조구로는 대표적 chelating agenda인 EDTA를 사용하였다.

$$\text{Chelating activity (\%)} = (1 - A / B) \times 100$$

A: 시료 첨가군의 흡광도, B: 용매 첨가군의 흡광도

Linoleic acid에 대한 과산화 억제활성은 참취와 큰금계

국의 꽃 추출물을 대상으로 실험하였으며, Haraguchi 등 (1992)의 방법을 변형하여 수행하였다. $0.125 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 의 농도로 조절한 각각의 추출물 0.5 mL, 2.51% linoleic acid 0.5 mL, 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 1 mL와 증류수 0.5 mL를 혼합한 후 40°C의 암소에서 보관하면서 4일 간격으로 지질산패를 조절하였다. 4일 마다 미리 조성한 혼합물 0.1 mL, 75% 에탄올 2.7 mL, 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL, 20 mM ferrous chloride(iron(II) chloride tetrahydrate 0.1 mL를 반응시키고 3분 후 500 nm에서 흡광도를 조사하였다. 지질과산화 억제율은 아래의 식으로 구하였다.

$$\text{지질과산화 억제율 (\%)} = (1 - A / B) \times 100$$

A: 시료가 첨가된 반응물의 흡광도, B: 대조군의 흡광도

통계처리

모든 실험은 3반복을 1회로 하여 3회 반복 실험하였다. 통계처리는 SAS version 9.1(SAS institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 평균과 표준오차를 구하고, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range tset로 추출방법에 따른 항산화물질 함량 및 항산화활성을 비교하였다.

결과 및 고찰

추출수율

4종 모두 초음파 처리 시간이 길어질수록 시료의 추출수율 또한 높아지는 경향을 보였다(Table 1). 참취, 쯤개미취, 기생초 꽃의 경우 환류냉각추출물과 초음파 45분 추출물의 수율이 비슷하였으며, 큰금계국 꽃은 초음파 15분 처리구와 환류냉각추출물의 수율이 서로 비슷하였다. 추출하는데 소요되는 시간이 환류냉각추출물은 18시간(6시간 \times 3회), 초음파추출물은 15~30분이었던 것을 고려할 때, 초음파추출물이 환류냉각추출물보다 추출 수율 면에서 훨씬 경제적이고 효율적이었다. 이는 초음파 에너지로 인한 액체 간의 상호 탈기 작용으로 인하여 짧은 시간 동안에 건조 시료의 유용 물질이 빠르게 용출되었기 때문으로 생각된다(Park 등, 2004). 따라서 추출에 소요되는 시간과 추출수율을 고려할 때 초음파추출법이 환류냉각추출법 보다 효과적인 것으로 판단되었다.

Table 1. Extraction yield of ultrasonic wave extracts and reflux extracts obtained from samples

Scientific name	Extraction method	Extraction yield (dry basis, %)
<i>Aster scaber</i> (flowers)	UL-15 min. ^z	27.05
	UL-30 min.	30.00
	UL-45 min.	34.65
	RE-6 h. ×3	34.58
<i>Aster maackii</i> (flowers)	UL-15 min.	22.75
	UL-30 min.	25.42
	UL-45 min.	27.72
	RE-6 h. ×3	27.80
<i>Coreopsis lanceolata</i> (flowers)	UL-15 min.	37.35
	UL-30 min.	41.25
	UL-45 min.	42.10
	RE-6 h. ×3	37.75
<i>Coreopsis tinctoria</i> (flowers)	UL-15 min.	33.85
	UL-30 min.	35.42
	UL-45 min.	39.35
	RE-6 h. ×3	39.00

^zUL: ultrasonic wave extraction, RE: reflux extraction (3 times).

항산화 물질 함량

참취, 좁개미취, 큰금계국, 기생충 꽃 추출물의 총 폴리페놀 함량은 69.17~128.27 mg·g⁻¹, 총 플라보노이드 함량은 42.92~75.36 mg·g⁻¹으로 총 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량이 우수하였다. 특히 *Coreopsis*속 큰금계국과 기생충 꽃은 초음파추출로 건조시료 1 g에서 100 mg·g⁻¹ 이상의 총 폴리페놀이 추출되었으며, 환류냉각 추출한 참취 꽃은 건조시료 1 g 으로부터 75.36 mg·g⁻¹, 30분 초음파 추출한 큰금계국 꽃은 73.85 mg·g⁻¹의 총 플라보노이드가 추출되어 페놀성 물질의 추출수율이 매우 높은 것으로 나타났다(Table 2).

추출방법에 따른 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 큰금계국과 기생충의 꽃은 추출시간에 관계 없이 초음파 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 우수하였으나, 좁개미취 꽃 추출물은 초음파 15분 추출물은 환류냉각추출물보다 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 낮았으며, 30분 이상 초음파 추출해야 환류냉각추출물보다 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 추출수율이 높았다. 그러나 참취 꽃 추출물의 총 플라보노이드 함량은

Table 2. Total polyphenol and total flavonoid contents of ultrasonic wave extracts and reflux extracts obtained from samples

Scientific name	Extraction method	Total polyphenol (mg·g ⁻¹ DW)	Total flavonoid (mg·g ⁻¹ DW)
<i>Aster scaber</i> (flowers)	UL-15 min. ^z	75.76±0.93 c ^x	54.38±2.09 d
	UL-30 min.	80.78±3.54 b	61.02±1.15 c
	UL-45 min.	93.24±1.80 a	64.91±1.58 b
	RE-6 h. ×3	90.46±0.50 a	75.36±0.16 a
<i>Aster maackii</i> (flowers)	UL-15 min.	69.17±0.25 c	42.92±0.00 c
	UL-30 min.	83.66±3.56 b	60.67±1.85 b
	UL-45 min.	91.72±0.67 a	68.10±1.03 a
	RE-6 h. ×3	78.15±1.67 b	59.33±0.64 b
<i>Coreopsis lanceolata</i> (flowers)	UL-15 min.	100.22±1.38 b	63.92±0.79 c
	UL-30 min.	120.39±7.51 a	73.85±0.39 a
	UL-45 min.	128.27±0.57 a	67.82±0.81 b
	RE-6 h. ×3	83.14±0.86 c	55.96±0.02 d
<i>Coreopsis tinctoria</i> (flowers)	UL-15 min.	115.56±0.15 b	45.42±0.16 b
	UL-30 min.	120.73±1.06 a	52.68±2.11 a
	UL-45 min.	118.99±1.98 ab	58.35±0.58 a
	RE-6 h. ×3	97.70±0.21 c	54.40±0.64 a

^zUL: ultrasonic wave extraction, RE: reflux extraction (3 times).

^xMean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test, *p* < 0.05.

Duncan's test should be compared within each species.

환류냉각추출물에서 가장 우수하였으며, 총 폴리페놀의 함량 또한 45분 초음파 추출물과 환류냉각추출물 사이에 통계적 유의차가 없었다(Table 2). 4종 꽃 추출물은 초음파 추출시간이 증가할수록 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량이 증가하는 경향을 보였다. 그러나 큰금계국 꽃의 초음파 추출물은 30분까지는 추출시간 증가에 따라 총 플라보노이드 함량이 증가하였으나 45분 동안 추출했을 때에는 30분 추출했을 때 함량이 낮아졌으며, 기생초 꽃의 총 폴리페놀 함량 또한 45분 동안 초음파 추출했을 때 30분 초음파 추출했을 때 보다 함량이 낮아졌다.

연구의 결과, 초음파추출법은 대체로 환류냉각추출법 보다 추출물의 항산화물질 수율을 증가시키는 것으로 나타났으므로 초음파추출이 환류냉각추출 보다 효율적인 추출방법으로 판단되었다. 또한 초음파추출법은 환류냉각추출법 보다 훨씬 적은 시간을 들이고도 높은 추출수율을 얻을 수 있고, 별도의 장비를 구입할 필요 없이 일반 실험실에서 흔히 볼 수 있는 초음파 세척기로도 충분히 사용할 수 있으므로 매우 경제적이고 실용적인 추출방법이라 생각된다.

DPPH 및 ABTS radical 소거능

참취, 쯤개미취, 큰금계국 및 기생초 꽃의 DPPH radical 소거활성은 환류냉각 추출물에 비해 초음파 추출물이 더 높은 활성을 나타냈다(Table 3). 초음파 30분 처리한 추출물의 참취 꽃, 쯤개미취 꽃 및 기생초 꽃의 RC_{50} 값이 각각 0.141, 0.116 및 0.119 $mg \cdot mL^{-1}$ 로 나타나 초음파 30분 처리한 추출물의 활성이 가장 높았다. 그러나, 큰금계국 꽃은 초음파 처리 시간에 따른 유의차가 나타나지 않았다.

ABTS radical 소거활성은 시료에 따라 다소 상이한 결과를 보였다(Table 3). 참취 꽃은 환류냉각 추출물의 소거활성이 더 높았으며 초음파 30분 처리구($RC_{50}=0.177 mg \cdot mL^{-1}$)에 비해 초음파 45분 처리구($0.255 mg \cdot mL^{-1}$)에서 더 낮은 ABTS radical 소거활성을 보였다. 쯤개미취 꽃은 초음파 30분 처리구($0.160 mg \cdot mL^{-1}$)와 환류냉각추출물($0.158 mg \cdot mL^{-1}$)의 활성이 서로 비슷하였으며 초음파 45분 처리한 추출물의 radical 소거활성이 가장 높았다. 큰금계국 꽃 역시 초음파 30분 처리구($0.160 mg \cdot mL^{-1}$)와 환류냉각추출물($0.160 mg \cdot mL^{-1}$)의 활성이 서로 비슷하였다. 큰금계국 꽃의 추출물 중 초음파 15분 처리구($0.109 mg \cdot mL^{-1}$)에서 가장 높은 ABTS radical 소거활성을 보였으며, 초음파

처리 시간이 길어질수록 소거활성이 낮아지는 경향을 보였다. 기생초 꽃은 초음파 30분 처리구($0.103 mg \cdot mL^{-1}$)가 환류냉각추출물($0.140 mg \cdot mL^{-1}$)보다 높은 소거활성을 나타냈다.

연구의 결과, 초음파추출물이 환류냉각추출물보다 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드와 같은 항산화물질 함량이 높고 초음파 추출시간이 증가함에 따라 대체로 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 증가하는 경향을 보였다. 그러나 추출물의 DPPH radical 소거능은 초음파 30분 추출물에서 높았으며, ABTS radical 소거능은 추출방법 및 추출시간에 따른 일정한 경향을 보이지 않고 종에 따라 상이한 결과를 보였다. 참취와 기생초 꽃 초음파추출물의 ABTS radical 소거능은 초음파 추출시간이 증가할수록 감소되었다. 반면 쯤개미취 꽃은 15분 초음파추출 했을 때에는 환류냉각추출물보다 ABTS radical 소거능이 우수하였으나, 30분 추출했을 때에는 소거능이 낮아졌다가 45분 추출했을 때에는 소거능이 크게 증가하여 모든 추출물 중 ABTS radical 소거능이 가장 우수하였다. 기생초 꽃은 15분 보다 30분 초음파추출 했을 때 ABTS radical 소거능이 우수하였으나, 45분 초음파추출 했을 때에는 ABTS radical 소거능이 오히려 감소하였다.

초음파추출은 초음파가 용매를 통과하는 것으로 인한 공동현상(cavitation)으로 식물 시료의 세포벽이 쉽게 파열되고, 초음파의 기계적 효과로 인하여 용매가 세포로 침투하기 쉬워지는 원리로 식물의 추출효율을 증가시킨다(Paniwnyk 등, 2001; Park 등, 2004). 그러나 물을 용매로 할 때에는 초음파 추출 중 반응성이 높은 수산기 라디칼(hydroxyl radical)이 형성되며, 이는 과산화수소 형성과 결합하여 추출공정에 영향을 미친다(Paniwnyk 등, 2001). 그 예로, 일반적으로 초음파추출은 시료의 추출효율을 증가시키는 것으로 보고되어 있으나(Kim 등, 2006), *Sophora japonica*를 물을 용매로 하여 추출했을 때에는 추출 중 형성된 수산기라디칼과의 상호작용에 의하여 추출물의 루틴 함량이 오히려 감소되었다(Paniwnyk 등, 2001).

본 연구에서 초음파추출로 인한 항산화 물질 증가와 항산화 활성이 일정한 경향을 보이지 않는 이유는 식물로부터 추출된 일부 유기화합물이 수산기 라디칼과 반응하여 항산화활성을 상실하였기 때문으로 생각되며, 종에 따라 결과가 다른 원인은 식물 종에 따라 유기화합물의 종류 및 결합구조가 달라 추출 중 형성되는 수산기라디칼에 각기

다른 반응을 보였기 때문으로 생각된다. 특히 ABTS radical 소거능이 추출방법 및 시간에 의한 경향을 보이지 않고 연구 결과가 다르게 나타나는 원인은 ABTS radical이 DPPH radical과 달리 극성과 비극성 물질 모두와 반응하여 소거되므로(Re 등, 1999), 추출 중 형성된 수산기 라디칼과 반응한 식물 추출물의 다양한 유기화합물과의 반응성이 크기 때문으로 생각된다.

그러나, 추출 중 형성된 수산기 라디칼이 반드시 나쁜 영향만 주는 것은 아니므로(Paniwnyk 등, 2001) 차후 물 또는 물을 포함한 유기용매로 초음파추출할 때 수산기 라디칼이 형성되는 시기, 발생량, 수산기 라디칼과 반응성이 높은 유기화합물의 종류 및 수산기 라디칼이 미치는 영향 등에 관한 연구를 수행할 필요가 있는 것으로 생각된다.

Fe²⁺ chelating 효과

초음파추출물 및 환류냉각추출물의 ferrous ion chelating 효과를 비교한 결과, 추출물에 따라 다소 상이한 결과를 나

타냈다(Table 3). 참취 꽃, 쯤개미취 꽃 및 기생초 꽃은 초음파추출물보다 환류냉각추출물이 비교적 높은 효과를 나타냈다. 참취 꽃과 쯤개미취 꽃은 초음파 처리시간이 길어질수록 chelating 효과가 낮아졌고, 기생초 꽃은 초음파 15분, 45분 처리구의 효과가 가장 높게 나타났다. 큰금계국 꽃의 경우에는 환류냉각추출물(RC₅₀=1.620 mg·mL⁻¹)이 초음파 15분 처리구(2.217 mg·mL⁻¹)보다 높고, 초음파 30 및 45분 처리구 보다는 효과가 낮았다.

Linoleic acid에 대한 과산화 억제활성

참취와 큰금계국 꽃의 환류냉각추출물 및 초음파추출물의 지질과산화 억제활성을 4일 간격으로 32일 동안 조사하였다. 그 결과, 참취 꽃의 초음파추출물은 환류냉각추출물보다 과산화 억제 활성이 낮았으며 초음파추출물 중 15분 처리구는 조사 16일째에 억제활성을 나타내지 않았으나 30분(15.83%), 45분(20.21%) 처리구는 16일째에도 지질과산화 억제활성을 나타내었다(Fig. 1).

Table 3. DPPH, ABTS radical scavenging effect and ferrous ion chelating effect of ultrasonic wave extracts and reflux extracts obtained from samples

Scientific name	Extraction method	DPPH [·] scavenge RC ₅₀ (mg·mL ⁻¹)	ABTS ^{·+} scavenge RC ₅₀ (mg·mL ⁻¹)	Fe ²⁺ chelating RC ₅₀ (mg·mL ⁻¹)
<i>Aster scaber</i> (flowers)	UL-15 min. ^z	0.154±0.005 b ^y	0.160±0.021 a	1.376±0.071 a
	UL-30 min.	0.141±0.001 a	0.177±0.013 a	1.405±0.097 a
	UL-45 min.	0.167±0.004 c	0.255±0.006 b	1.753±0.069 b
	RE-6 h. ×3	0.181±0.005 d	0.156±0.006 a	2.771±0.219 c
<i>Aster maackii</i> (flowers)	UL-15 min.	0.130±0.005 b	0.143±0.004 b	0.853±0.057 a
	UL-30 min.	0.116±0.002 a	0.160±0.001 c	1.031±0.065 a
	UL-45 min.	0.119±0.002 ab	0.108±0.006 a	1.601±0.078 b
	RE-6 h. ×3	0.158±0.002 c	0.158±0.001 c	2.566±0.141 c
<i>Coreopsis lanceolata</i> (flowers)	UL-15 min.	0.145±0.013 a	0.109±0.014 a	2.217±0.106 c
	UL-30 min.	0.134±0.000 a	0.160±0.001 b	1.026±0.049 a
	UL-45 min.	0.142±0.003 a	0.196±0.005 c	1.079±0.034 a
	RE-6 h. ×3	0.202±0.002 b	0.160±0.001 b	1.620±0.236 b
<i>Coreopsis tinctoria</i> (flowers)	UL-15 min.	0.141±0.003 b	0.174±0.009 c	1.108±0.037 a
	UL-30 min.	0.119±0.002 a	0.103±0.000 a	1.601±0.078 b
	UL-45 min.	0.130±0.002 ab	0.171±0.004 c	1.264±0.040 a
	RE-6 h. ×3	0.194±0.004 c	0.140±0.002 b	3.490±0.028 c

^zUL: ultrasonic wave extraction, RE: reflux extraction(3 times).

^yMean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test, *p* < 0.05.

Duncan's test should be compared within each species.

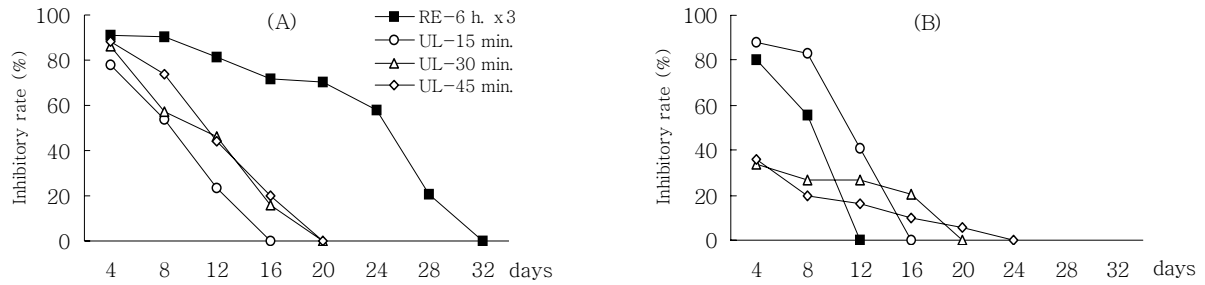


Fig. 1. Changes in inhibitory activity of various extracts obtained from samples against linoleic acid peroxidation by FTC method. A: *Aster scaber* (flowers), B: *Coreopsis lanceolata* (flowers)

큰금계국 꽃의 추출물은 경과 8일째에는 초음파 15분 (83.26%) 처리구의 억제활성이 환류냉각추출물(55.67%) 보다 높았으나 그 이후 지질과산화 억제활성이 급격히 감소하여 조사 16일째에는 초음파 15분 처리구에서 억제활성을 나타내지 않았다(Fig. 1). 환류냉각추출물은 초음파 15분 처리구 다음으로 우수한 지질과산화 억제활성을 보였으나, 12일 이후에는 지질과산화 억제활성을 보이지 않았다. 초음파 30분, 45분 처리구는 지질과산화 억제활성은 낮았으나, 각각 16일, 20일째까지 지질과산화 억제활성이 지속되어 억제활성이 낮지만 장기간 유지되는 것으로 나타났다.

이상으로, 동일한 시료도 환류냉각추출 또는 초음파추출 등 추출법과 추출시간에 따라 추출물의 항산화 물질 함량과 생리활성이 다르게 나타났다. 따라서 식물의 항산화효과가 추출조건에 따라 다르게 나타난다고 보고한 Kim 등(2004)의 결과와 같이 동일한 식물도 추출조건을 달리함으로써 생리활성물질 추출수율 및 생리활성 효과를 증가시킬 수 있는 것으로 판단되었다. 연구의 결과, 대체로 환류냉각추출물에 비해 초음파 처리한 추출물의 항산화 효과가 높았다. 이 결과는 열수추출물보다는 초음파를 병행한 추출물의 항산화활성이 더 높았다고 한 Park 등(2004)의 결과와, 생체 방어기능을 증진시키기 위한 추출공정으로는 초음파 무처리보다 초음파 처리를 병행하여 추출한 것이 더 적합한 방법이라고 한 Kim 등(2005)의 결과와 비슷하였다. Kim 등(2006)에 따르면 식물의 경우 적절한 세기의 초음파는 식물 세포벽을 파괴하여 생리활성물질의 용출을 증진시켜주며, 식물 세포내로 용출 용매의 물질 전달 효율을 향상시켜준다고 한다(Yasui 등, 2005). 따라서 초음파 추출 방법은 환류냉각추출방법(열수추출)에 비해 짧은 시간 동안 추출물의 생리활성을 높일 수 있는 효과적인 추출방법이라고 판단된다.

본 연구에서는 4종의 식물 모두가 초음파추출로 인하여 반드시 추출물의 항산화물질 및 항산화효과가 뚜렷하게 증가되지는 않았으나, 대부분 초음파추출을 통하여 항산화물질 함량과 항산화효과가 증가되거나 환류냉각추출과 유사한 결과를 보였다. 따라서 초음파추출은 짧은 추출시간으로도 장시간의 환류냉각추출과 유사한 효과를 볼 수 있는 추출방법으로 생각되며, 세척용 초음파 수조로도 충분한 효과를 볼 수 있으므로 차후 식물 추출물의 기능성 생리활성을 연구할 때 효율적인 추출방법으로 다양하게 활용 가능할 것으로 생각된다.

적 요

참취, 쯤개미취, 큰금계국, 기생초 꽃 추출물의 항산화 효과를 증가시킬 수 있는 적정 추출방법을 개발하기 위하여 환류냉각추출한 추출물과 15, 30, 45분 동안 초음파 추출한 추출물의 항산화 활성을 비교하였다. 추출수율은 모두 초음파 추출물에서 높게 나타났다. 종에 따라 적정 추출시간은 다르게 나타났으나, 4종 모두 초음파추출물이 환류냉각추출물 보다 DPPH와 ABTS radical 소거능 및 Ferrous ion chelating 활성이 우수하거나 유사하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량 또한 대체로 초음파추출물에서 높게 나타났으며, 4종 모두 추출시간이 길어질수록 항산화 물질 함량도 증가되는 경향을 보였다. 참취와 큰금계국 꽃 추출물의 지질과산화 억제활성을 비교한 결과, 참취 꽃은 환류냉각추출물, 큰금계국 꽃은 초음파 15분 처리구에서 지질과산화 억제활성이 우수하였다. 연구의 결과, 식물 종 및 목표로 하는 항산화 효과에 따라 추출시간에 차이는 있으나, 초음파추출이 환류냉각추출보다 추출시간이 짧고 항산화 효과를 증가시킬 수 있는 효과적인 추출방법임을 확

인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업 및 산업자원부 한국산업기술평가원 지원의 지역협력연구센터인 충북대학교 생물건강산업개발연구센터의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

인용문헌

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26:1198-1204.
- Cho, Y.H., B.C. Lee, J.H. Kim, J.H. Kim, H.B. Pyo, Y.H. Zhang, and H.D. Park. 2005. Effect of *Artemisia anomala* S. Moore on antioxidant activity and melanogenesis. *Kor. J. Pharmacogn.* 36:273-277. (in Korean)
- Choi, S.Y., S.H. Lim, J.S. Kim, T.Y. Ha, S.R. Kim, K.S. Kang, and I.K. Hwang. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37:549-556. (in Korean)
- Chon, S.U., T.S. Kim, and H.O. Boo. 2008. In vitro assessment on biological activities of methanol extracts from several Compositae edible plants. *Kor. J. Plant Res.* 21:196-203.
- Haraguchi H., K. Hashimoto, and A. Yagi. 1992. Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. *J. Agric. Food Chem.* 40:1349-1351.
- Kim, D.H., H.J. Kim, and B.W. Chung. 2006. Extraction of anti-oxidative substance from *Haematococcus pluvialis* using ultrasonification. *J. Eng. Res.* 37:79-86. (in Korean)
- Kim H.K., Y.J. Kwon, Y.E. Kim, and B. Nahmgung. 2004. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Aster scaber* Thunb extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Kor. J. Food Preserv.* 11:88-93. (in Korean)
- Kim, J.H., D.H. Kim, J.H. You, C.H. Kim, M.C. Kwon, N.S. Seong, S.E. Lee, and H.Y. Lee. 2005. Immune-regulatory activities of various fractions from *Ephedrae Sinica* Stapf, *Rubus Coreanus* Miq. and *Angelica gigas* Nakai extracts with ultrasonification. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 13: 161-170. (in Korean)
- NFRI. 1990. Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation(2). National Food Research Institute, Skuba.
- Paniwnyk, L., E. Beaufoy, J.P. Lorimer and T.J. Mason. 2001. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*. *Ultrasonics Sonochem.* 8:299-301.
- Park, J.H., H.S. Lee, H.C. Mun, D.H. Kim, N.S. Seong, H.G. Jung, J.K. Bang, and H.Y. Lee. 2004. Improvement of anticancer activation of ultrasonicated extracts from *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* Stapf, *Rubus coreanus* Miq. and *Artemisia capillaris* Thunb. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 12:273-278. (in Korean)
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26:1231-1237.
- Reichling, J. and U. Thron. Comparative study on the production and accumulation of unusual phenylpropanoids in plants and *in vitro* cultures of *Coreopsis tinctoria* and *C. lanceolata*. *Pharm. world Sci.* 11(3):83-86.
- Woo, J.H., H.S. Jeong, J.S. Yu, Y.D. Chang, and C.H. Lee. 2008. Antioxidant effect of extracts obtained from four *Aster* species native to Korea. *Kor. J. Plant Res.* 21:52-59. (in Korean)
- Woo, J.H. and C.H. Lee. 2008. Effect of harvest date on antioxidant of *Dendrothema zawaskii* var. *latilobum* (Maxim.) Kitam and *D. zawadskii* var. *yexoense* (Maek.) Y.M. Lee & H.J. Chol. *Kor. J. Plant Res.* 21:128-133. (in Korean)
- Yasui, K., T. Tuziuti, and Y. Iida. Dependence of the characteristics of bubbles on type of sonochemical reactors. *Ultrasonics Sonochem.* 12:347.
- Velioglu, Y.S., G. Mazza, L. Cao, and B.D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46:4113-4117.
- Yen, G.C., P.D. Duhb, and H.L. Tsaia. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and garlic acid. *Food Chem.* 79:307-313.
- Zhang, Y., S. Shi, M. Zhao, Y. Jiang, and P. Tu. 2006. A novel chalcone from *Coreopsis tinctoria* Nutt.. *Biochem. Systematics Ecol.* 34:766-769.

(접수일 2009.4.28; 수락일 2009.10.6)