

곰취 신품종의 고랭지재배시 수확시기별 생리활성 비교

서종택^{1†}, 최은영^{2†}, 유동림¹, 김기덕¹, 이종남¹, 홍수영¹, 김수정¹, 남정환¹, 한혜민², 김명조^{2*}

¹국립식량과학원 고령지농업연구소, ²강원대학교 식물자원응용과학전공

Comparative Study of Biological Activities at Different Harvesting Times and New Varieties for Highland Culture of Gom-chwi

Jong Taek Suh^{1†}, Eun Yeong Choi^{2†}, Dong Lim Yoo¹, Ki Deog Kim¹, Jong Nam Lee¹, Su Young Hong¹,
Su Jeong Kim¹, Jeong Hoan Nam¹, Hye Min Han² and Myong Jo Kim^{2*}

¹Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science, Pyeongchang 232-955, Korea

²Applied Plant Sciences Program, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract - There has been little research on the harvesting time-dependent changes in the antioxidant activities of new varieties of highland cultures of Gomchwi (*Ligularia fischeri*) crossed with Turcs (*Ligularia fischeri* (Ledeb.)) and Nakai (*Ligularia fischeri* var. *spiciformis*), namely Sammany (S), Gommany (G) and Damogy (D). This study was conducted to assess the effect of different harvesting times on nutritional and health-related properties such as total phenolic contents, flavonoids, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging activities and reducing power. From these harvests, extracts were prepared using methanol. Total phenolic content in Jul 14-G (Gommany harvested on July 14, 0.172 mg·GAE/ml) was higher than that in other products harvested after the same period (S, 0.154; D, 0.141 mg·GAE/ml). Flavonoid content was higher in Jul 3-G (0.114 mg·QE/ml), compared to Jul 3-S (0.113 mg·QE/ml) and Jul 14-D (0.089 mg·QE/ml). Antioxidant activities were higher in samples harvested after June 12 in all cases. On July 14, the highest DPPH free radical scavenging activities among all harvest dates were seen (92.875~94.595%). The reducing power was also dependent on harvest day (Abs 0.5~0.6 on July 14), showing a pattern similar to that of DPPH free radical-scavenging activities. Antioxidant activity and harvesting times seem to correlate with total polyphenol and flavonoid contents.

Key words - Total phenolic contents, Flavonoids, DPPH free radical scavenging activities, Reducing power, Antioxidant activity

서 언

전체면적의 82%가 산지로 구성되어 있는 강원도는 우리나라의 식물분포상 중부아구에 속하는 곳이고 만주요소의 북방계 식물과 난대요소들이 북상하는 중간위치로서 식물의 종류가 다양한 지역이다. 최근 농산물 수입개방에 대응하고자 고소득화 기술개발이 시급한 상황에서 강원도는 지역적 특색을 이용하여 산야에 자생하는 약초 및 산채류를 소득작목으로 개발하고자 많은 노력을 하고 있다(Park, 1997). 산채란 산야에서 자생하고 있는 식용 가능한 풀이나 나무의 싹 등을 총칭하는 것으로 그 동

안 영양적·기호적인 면에서 중요성이 인식되지 않았으나 다양한 연구를 통하여 산채의 향산화, 항암 및 항진균 활성 등의 가능성이 밝혀지고 있다(Kwon *et al.*, 2002). 또한, 최근 자연지형에 맞는 건강식품으로서 수요가 불어나고 있고 일부 산채류는 재배되어 판매되고 있으며, 그 중 대표적인 산채로 곰취에 대한 수요가 매우 높아지고 있다.

곰취(*Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcs.)는 쌍떡잎식물 초롱꽃목 국화과의 여러해살이식물로 한국, 일본, 중국, 사할린 섬, 동시베리아 등지에 분포하고 우리나라에서는 깊은 산속 서늘한 고산지대에 자생하며 어린잎을 생으로 먹을 수 있으며 독특한 향미를 가지고 있어 산나물로 식용되어 왔다. 또한, 곰취는 각종 미네랄과 비타민을 함유하고 있어 다른 채소류에 비해 높은 영양성분을 가진다고 알려지면서 최근에는 강원도 지역

*교신저자: kimmjo@kangwon.ac.kr

Tel. +82-33-250-6413

[†]The authors contributed equally to this work.

© 본 학회지의 저작권은 (사)한국자연식물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

위주로 인공재배가 이루어지고 있어 다양한 형태로 섭취되고 있다(Cho and Kim, 2005). 예로부터 중국은 가을에 곰취 뿌리줄기를 캐서 말린 것을 호로칠(葫蘆七)이라 하여 해수, 백일해, 천식, 요통, 관절통, 타박상 등에 처방하여 왔으며, 국내에서도 기침, 가래, 다리아픔, 두통, 혈액순환 등에 사용되어 왔다. 또한, 민간에서는 황달, 고혈압, 간장병 등에 이용하였고 전염성 피부염, 고름이 나는 곳에도 잎을 찢어 붙였다(Bae *et al.*, 2009).

최근 연구를 통하여 곰취는 염증억제, 활성산소 생성억제, 항고혈압 효능과 멜라닌 생합성 및 기미, 검버섯 등의 생성을 억제하는 미백 효과가 밝혀진바 있으며, 혈소판 응집억제 활성과 폐, 간 및 자궁암 세포의 증식억제 등에 효과가 있다고 알려져 있다(Yeon *et al.*, 2012; Ham *et al.*, 1998). 특히, 항산화 활성과 관련하여 곰취 추출물의 활성이 입증되었고, 다량의 항산화 성분이 포함되어 있다(Kim *et al.*, 2010). 그러나 아직까지 번식, 재배법, 품종의 개발이 미흡한 시점에서 야생 자원식물을 실용화하는 것은 쉽지 않다. 그 중 본 연구의 대상은 곰취와 한대리곰취의 교잡에 의해 선발 육성되어 현재 품종보호출원중인

Table 1. Yield of extract at different harvesting times and varieties of Gom-chwi

Sample	Harvesting Time	Weight (g)	Yield (%) ^z
Sammany	22-May	0.67	13.38
	2-Jun	0.61	12.10
	12-Jun	0.69	13.78
	23-Jun	0.64	12.88
	3-Jul	0.64	12.78
	14-Jul	0.64	12.76
Gommany	22-May	0.82	16.46
	2-Jun	0.69	13.86
	12-Jun	0.89	17.78
	23-Jun	0.79	15.88
	3-Jul	0.78	15.62
	14-Jul	0.88	17.50
Damogy	22-May	0.68	13.66
	2-Jun	0.60	12.04
	12-Jun	0.86	17.20
	23-Jun	0.74	14.88
	3-Jul	0.78	15.52
	14-Jul	0.83	16.62

^zyield (%): weight of dry soluble solid (g)/weight of sample (g) × 100.

신품종 3종으로 이에 대한 생리활성 차이를 구명하바 없으며 품종별 수확시기에 따른 항산화 활성차이 또한 확인하바 없다. 따라서 본 연구에서는 그 활용가치를 확장하고 소비를 확대시키기 위하여 곰취 신품종의 품종별 수확시기별 항산화 활성을 비교 분석하여 최적 수확시기를 선정하기 위한 참고자료로 이용하고자 수행 하였다.

재료 및 방법

추출물 제조

실험에 사용된 곰취는 국립식량과학원 고령지농업연구소 재배포장에서 시기별로 채취한 시료로 사용하였다. 품종명은 ‘삼마니(Sammany)’, ‘곰마니(Gommany)’, ‘다목이(Damogy)’로 2014년 5월부터 2014년 7월까지 10일 간격으로 6회에 걸쳐 수확하였다(Table 1). 수확은 크고 작은 것을 골고루 섞어서 수확하여 상온에서 음건하였다. 곰취 재배기간 동안의 기온변화는 Fig. 1과 같다. 각각의 시료는 음건 후 분쇄한 것을 사용하였으며, 분쇄된 시료는 1 g당 10 ml의 methanol (MeOH)을 혼합하여 실온에서 24시간 추출하였다. 각 추출액은 filter paper로 여과한 후 rotary vacuum evaporator를 이용하여 용매를 제거하였으며 농축물은 일정 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

총 폴리페놀 측정

곰취 추출물 내 총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법을 사용하였다(Dewanto *et al.*, 2002). 산화/환원 반응에 의한 색 변화를 분광기로 측정하는 것으로, 페놀의 양을 측정하는 방법이다. 1.0 mg/ml 농도의 시료용액 100 µl에 Folin-Ciocalteu's phenol 시약 50 µl를 첨가한 후 5분간 상온에서 반응시키고 혼합된 용액에 20% sodium carbonate 용액 300 µl 첨가하여 15분 동안 안정화 시킨 후 증류수를 1 ml 첨가 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선의 검량선은 gallic acid를 이용하여 작성하였으며, 총 페놀 함량은 gallic acid equivalents (mg-GAE/ml)로 나타내었다.

총 플라보노이드 측정

총 플라보노이드 측정은 Moreno *et al.* (2000)의 시험법을 변형하여 사용하였다. 총 플라보노이드 함량은 1.0 mg/ml 농도의 시료 150 µl에 10% aluminum nitrate 30 µl, 1 M potassium acetate 30 µl, 그리고 80% Ethanol (EtOH) 1,290 µl를 차례로 가하여 혼합하여 실온에서 40분간 안정화시킨 다음 415 nm에서

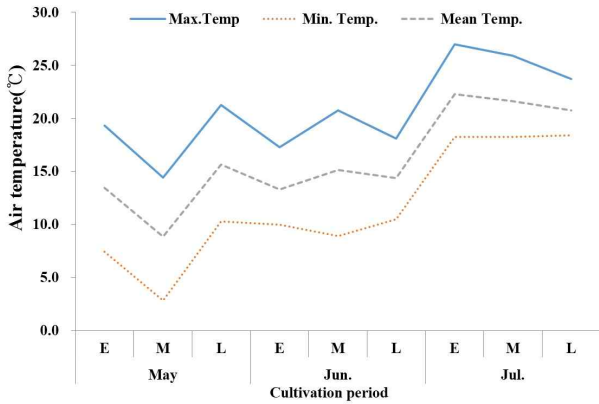


Fig. 1. Changes of air temperature in field during the cultivation of ‘Gom-chwi’ in highland (E: Early, M: Middle, L: Late).

흡광도를 측정하였다. 표준곡선의 검량선은 quercetin을 이용하여 작성하였으며, 총 플라보노이드 함량은 quercetin equivalents (mg·QE/ml)로 나타내었다.

DPPH radical 소거능 측정

곰취 추출물의 항산화 활성도 측정은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거능을 이용하여 확인하였다. 측정법은 Xiong *et al.* (1996)과 Choi *et al.* (1993)의 방법을 이용하여 측정하였다. 1.0 mg/ml 농도의 시료 100 µl 에 0.15 mM DPPH 100 µl를 혼합하여 실온에서 30분간 안정화시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 품종별 DPPH radical 소거능은 전자공여능(%)으로 다음과 같이 계산하였으며, 대조군으로는 BHA (butylated hydroxy anisole), BHT (butylated hydroxy toluene)를 사용하였다.

$$\text{Electron donation ability (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: 추출액 첨가구의 흡광도, B: 추출액 무첨가구의 흡광도

환원력 측정

환원력(Reducing power)은 Oyaisu (1986)의 방법을 이용하여 측정하였다. 농도 0.1 mg/ml 시료 100 µl에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 100 µl, 1% potassium ferricyanide 100 µl를 차례로 가하여 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 100 µl를 가하여 반응을 종결시킨 후 중류수 400 µl, 1% ferric chloride 50 µl를 차례로 가하여 혼합한 반응용액을 700 nm에서 측정하였다. 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었으며, 환원력 효과 비교를 위한 대조군

으로는 BHA (butylated hydroxy anisole), BHT (butylated hydroxy toluene)를 사용하였다.

Flavonoid 함량 측정

Flavonoid 함량 분석은 Hwang *et al.* (2010)이 분석한 방법을 변형하여 측정하였다. 곰취 3품종의 분말을 각각 0.5g을 취하여 MeOH을 첨가하여 5 ml로 정용하였다. Hexane 5 ml을 가하여 2회 층 분리하여 얻어진 상등액을 제거하고 상정액을 농축한 후 MeOH을 가하여 2 mg/ml의 농도를 만들어 실험에 사용하였다. UPLC 분석은 각각 시료를 0.2 µm membrane filter로 여과한 후 얻어진 상정액을 UPLC (ACQUITY™, Waters Co., USA)를 사용하여 분석하였다. UPLC 조건은 다음과 같다. Column은 BEH C18 (1.7 µm, 2.1 × 100 mm)을 사용하였고, 이동상은 1% Acetic acid/Acetonitrile, 유속은 0.12 ml/min, 검출과장은 275 nm에서 분석하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복 측정하여 평균값 ± S.D. (n=3)으로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan’s multiple range test로 유의성을 P<0.05 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

실험재료 추출 수율

곰취 3품종은 품종 및 시기별로 수확하여 건조 파쇄한 것을 추출하여 실험에 사용하였다. 여과한 추출액은 감압농축 후 추출물의 무게를 측정하였으며, 추출된 시료의 무게와 수율은 Table 1과 같다. 총 6회에 걸친 수확시기 중 품종별 추출물은 ‘다목이’의 경우 0.60~0.86 g으로 12.04~17.20%로 가장 높은 수율을 나타내었으며 ‘곰마니’는 0.70~0.89 g으로 13.86~17.78%, ‘쌈마니’는 0.60~0.69 g으로 12.10~13.78%의 수율을 나타내어 비교적 큰 차이를 나타내지는 않았으나 ‘쌈마니’가 가장 낮은 수율을 나타냄을 확인하였다. 수확기간 중에는 7월 2일에 수확하여 추출하였을 때 평균 12.67%로 가장 낮은 수율을 나타내었고 7월 12일에 수확하여 추출하였을 때 평균 16.25%로 가장 높은 수율을 나타내었다. Lee *et al.* (2014b)이 연구한 수확시기가 포도 과실 품질에 미치는 영향에서 폴리페놀 화합물인 에피카테킨, 카테킨, 레스베라트롤, 퀘세틴 등 활성물질이 품종별 수확

시기에 따라 그 함량차이를 보였으며, 이는 일조량 및 생육시기가 활성 물질 함량 정도에 영향을 주기 때문일 것으로 생각되며 품종별 차이 또한 품종이 가지는 함유물질 특성에 따라서도 많은 차이를 보이는 것으로 사료된다.

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

폴리페놀 화합물은 대표적인 항산화 물질로서 식물계에 다수 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이는 다양한 구조와 분자량을 가지고 있어 단백질 및 거대분자들과 결합이 용이하기 때문인 것으로 알려져 있다(Park and Lee, 2013). 이러한 결합은 폴리페놀 화합물이 가지는 phenolic hydroxyl기의 특징으로 항산화 및 항암 등 다양한 생리활성 기능을 가지게 된다(Kuhnau, 1976). 곰취 품종 및 시기별 총 페놀함량은 gallic acid를 검량선으로 하여 결과를 나타내었다. 측정결과는 Fig. 2와 같았으며, 수확시기에 따라 곰취 추출물의 총 페놀 함량은 많은 차이를 나타냄을 확인하였다. 싹마니는 5월 22일 수확 분에서 0.002 mg·GAE/ml로 가장 낮은 함량을 나타내었으나 6월 이후 수확한 경우 0.121~0.154 mg·GAE/ml로 약 76배의 함량 증가량을 보여 수확시기에 따른 가장 높은 증가 폭을 확인하였다. ‘곰마니’의 경우 0.012 mg·GAE/ml에서 0.172 mg·GAE/ml로 약 15배, ‘다목이’의 경우 0.010 mg·GAE/ml에서 0.141 mg·GAE/ml로 약 14배 증가량을 나타내어 수확시기에 따라 함량차이가 있

음을 확인하였다. 또한, 동일 시기에도 품종간 상이한 함량차이를 나타냄으로써 이용 목적에 따라 적정 수확시기 선정이 필요한 것으로 생각된다. 이는 Park *et al.* (2006)이 연구한 수확시기별 구기자의 페놀성 화합물 함량 측정 결과 또한 수확시기에 따라 큰 차이를 나타냄을 확인한바 있으며 시료 내부의 활성물질 함량 차이에 따라 품질이 향상된 것으로 추정된다.

식물에 널리 분포되어 있는 플라보노이드는 폴리페놀에 속하는 노란색계열의 물질로 항산화능을 비롯한 여러 생리활성 기능을 가진 물질이다(Sun *et al.*, 2002). 최근 많은 연구에서 플라보노이드는 항염증, 항알레르기 반응에 효과가 있고, 염증 반응시에 세포의 분비 과정과 효소의 활성억제 및 free radical 억제효과 등이 밝혀져 있다(Kawaguchi *et al.*, 1997). 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 기준물질로 하여 검량선을 작성한 후 그 함량을 확인하였다. 플라보노이드 함량은 전체적으로 모든 품종에서 6월 중순 이후로 분명한 함량변화를 나타내었으며, 7월 초까지 플라보노이드가 증가함을 확인하였다. ‘싹마니’는 5월 22일 수확분에서 0.034 mg·QE/ml의 함량을 나타내었으나 이후 7월 3일 수확분에서 0.113 mg·QE/ml을 나타내어 약 3배 정도 총 플라보노이드가 증가하였으며, ‘곰마니’의 경우 0.029 mg·QE/ml에서 0.114 mg·QE/ml로 약 4배의 함량 증가를 확인하였고 ‘다목이’의 경우 0.044 mg·QE/ml에서 0.089 mg·QE/ml의 비교적 낮은 증가량을 보였으나 이 또한 수확시기에 따라 약 2배의 함량차이를 나타내었다(Fig. 3). 품종별로 확인 한 결과 수확

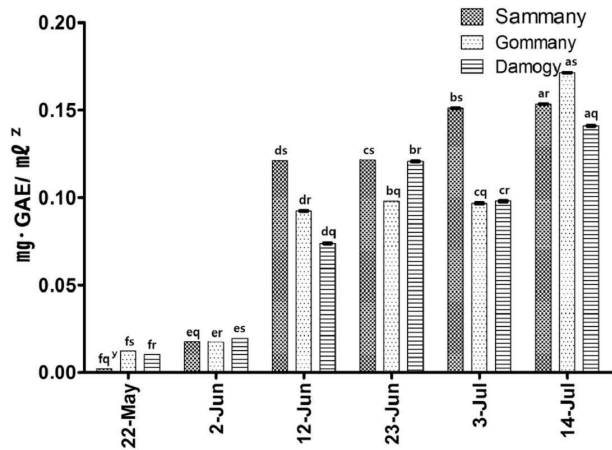


Fig. 2. Comparison of total phenolic contents of extract at different harvesting times and varieties of Gom-chwi.

^zGAE: gallic acid equivalent.

^yResults are means ± SD of three measurements. Values within harvesting time (a~f) and variety columns (q~s) with different superscripts letters are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

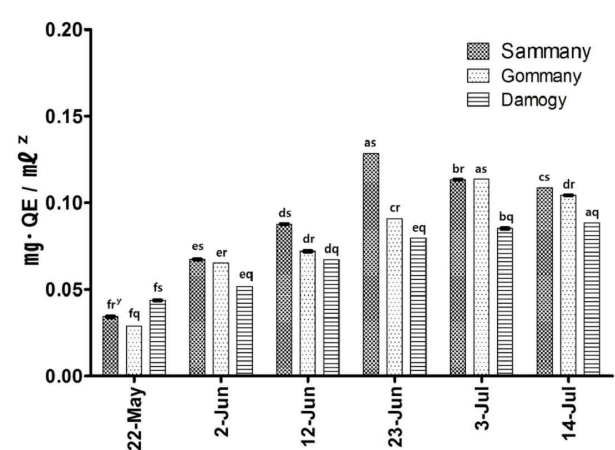


Fig. 3. Comparison of total flavonoid contents of extract at different harvesting times and varieties of Gom-chwi.

^zQE: quercetin equivalent.

^yResults are means ± SD of three measurements. Values within harvesting time (a~f) and variety columns (q~s) with different superscripts letters are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

초기에는 ‘다목이’가 0.044 mg-QE/ml로 품종 중 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타내었으나 생육기간이 길어짐에 따라 ‘곰마니’가 0.114 mg-QE/ml로 가장 높은 함량을 나타냄을 확인하였다. 이는 동일기간이라 할지라도 품종에 따라 활성물질 증가량의 차이를 확인하였으며 품종 및 수확시기 따라 나타내는 총 페놀 또는 총 플라보노이드와 같은 활성 물질의 함량차이가 앞으로 수행될 항산화 활성 검정에 있어 많은 영향을 줄 수 있을 것으로 생각되며 Woo와 Lee (2008)의 구절초와 남구절초를 이용한 연구결과에서도 확인한 바와 같이 동일한 식물체라 하더라도 생육시기에 따라 항산화 물질의 함량 차이를 분명하게 나타내었으며 활성 물질이 많이 함유된 시료를 얻기 위한 최적시기를 선정하는 것이 중요하다고 밝힌바 있다. 그러나, 앞서 구기자와 구절초를 이용한 연구에서는 수확시기가 늦어질수록 활성물질의 함량이 감소하였으나, 본 연구의 곰취의 경우 생육기간이 길어짐에 따라 활성물질 함량이 증가한다는 사실을 주목해야 할 필요성이 있다고 생각된다. Kim *et al.* (2012)이 연구한 자생식물과 생약자원 추출물의 폴리페놀과 플라보노이드 함량 차이에서도 측정된 모든 시료의 측정 값을 비교해 보았을 때 폴리페놀 함량이 플라보노이드 함량보다는 높았으나, 폴리페놀과 플라보노이드 간에 추이가 등비로 증가하거나 감소하지 않고 각각의 시료 특성에 따른 함량적 차이를 보임을 확인하였다. 이는 품종 및 생육특성에 따른 성분의 함량차이를 설명할 수 있는 내용으로 사료된다.

DPPH free radical 소거에 의한 항산화 활성 검정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrasyl)는 항산화 측정기에 대표적인 반응물질로 그 자체가 매우 안정한 자유 라디칼

(free radical)로서 517 nm에서 특징적인 광흡수를 나타내는 자색의 혼합물이며 일반적으로 노화방지제의 항산화 활성을 측정하기 위한 기질로 사용된다(Oyaisu, 1986). 이 radical은 alcohol 등의 유기용매에서 매우 안정하며, 특히 여러 가지 antioxidative mechanism 중 proton radical scavenger에 의하여 항산화제에 존재하는 hydrogen이 첨가되어 non-radical 형태가 되는 전자공여 작용인 환원 현상에 기초를 둔 것으로 추출물이 안정된 상태의 radical DPPH를 노란색의 diphenylpicrylhydrazine으로 환원시켜 활성 radical에 전자를 공여함으로써 식품 중의 지방산화를 억제시키는 척도로 사용된 뿐 아니라, 인체 내 활성 radical에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용되고 있다(Choi and Oh, 1985). DPPH를 이용한 항산화 활성을 시료 0.1 mg/ml의 농도로 희석하여 전자공여능(%)을 확인하였으며 측정된 결과는 Table 2에 나타내었다.

‘쌈마니’의 경우 5월 22일에 수확한 경우 9.33%의 전자공여능을 나타내었으나 6월 중순 이후 수확한 경우엔 92.50% 이상의 전자공여능을 나타냄으로써 약 10배의 가장 많은 증가율을 보였다. 또한, 5월 22일에 수확된 ‘곰마니’와 ‘다목이’는 각각 20.39%, 19.53%의 전자공여능을 나타내었으며 6월 12일 이후 수확된 시료에서는 두 종 모두 90.17% 이상의 전자공여능을 나타냄으로써 약 4.5배의 전자공여능 증가율이 확인됨으로써 수확시기에 따른 항산화력의 뚜렷한 차이를 확인하였다. 품종별로 비교해보면 ‘쌈마니’가 페놀, 플라보노이드 결과와 동일하게 6월 중순 이후 수확 분에서 가장 높은 92~95%의 억제률을 나타내었으며, 6월 12일 이후 수확 분부터는 품종에 관계없이 모두 90%이상의 항산화 활성을 나타내었다. Lee (2000)가 연구한 곰취 유기용매 추출물의 경우 0.1 mg/ml 농도에서 10% 이하의 소거

Table 2. Comparison of DPPH free radical scavenging activities at different harvesting times and varieties of Gom-chwi

Sample	DPPH ^z free radical Scavenging (100 µg/ml)						
	Harvesting time	22-May	02-Jun	12-Jun	23-Jun	03-Jul	14-Jul
Sammany		9.34 ± 0.74 ^{frw}	21.99 ± 0.77 ^{er}	92.51 ± 0.21 ^{ds}	93.00 ± 0.37 ^{cs}	93.74 ± 0.74 ^{br}	93.74 ± 0.37 ^{ar}
Gommany		20.39 ± 0.74 ^{es}	18.67 ± 0.56 ^{fr}	93.00 ± 1.69 ^{cs}	93.00 ± 0.37 ^{bs}	95.21 ± 0.98 ^{as}	92.88 ± 0.56 ^{dq}
Damogy		19.53 ± 1.40 ^{fs}	42.26 ± 2.72 ^{es}	90.17 ± 1.06 ^{dr}	92.03 ± 0.43 ^{cr}	93.24 ± 0.21 ^{br}	94.60 ± 0.21 ^{as}
BHA ^y		94.60 ± 0.56					
BHT ^x		40.17 ± 0.43					

^zDPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.

^yBHA (butylated hydroxy anisole).

^xBHT (butylated hydroxy toluene).

^wResults are means±SD of three measurements. Values within harvesting time (a-f) and variety columns (q-s) with different superscripts letters are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

능을 나타내어 동일 농도의 3종의 곰취 품종보다 낮은 활성을 가짐을 확인하였다. 수확시기에 따른 결과로 제주재래종 감귤의 수확시기별 전자공여능 측정결과에서 확인한 바에 의하면 감귤종의 착즙액에서도 플라보노이드와 총 폴리페놀 함량이 증가하는 시기에 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 이는 전자공여능이 phenolic acid, flavonoids 및 기타 페놀성 물질 등에 항산화 작용의 지표로서 환원력이 클수록 높은 전자공여능을 나타낸다고 보고된바 있다(Kang *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2009). 또한, Kang과 Shon (2007)의 국산 녹차 4종 채취시기에 따른 DPPH활성이 약 80~90% 정도로 차이를 가짐을 확인함으로써 결과적으로 곰취는 함유되어 있는 총 페놀 및 플라보노이드 함량차이가 항산화 활성에 영향을 미치는 것으로 판단되며, 품종에 상관없이 동일한 농도에서 수확시기별로 7월 중순을 기점으로 전자공여능의 급격한 증가를 확인함으로써 곰취가 가지는 항산화 활성을 이용할 경우 반드시 고려해야 할 내용으로 생각된다.

환원력(Reducing power) 측정 결과

환원력은 산화를 일으킨 후 반응을 정지시키고 FeCl₃를 첨가하여 ferric-ferricyanide (Fe³⁺)혼합물이 수소를 공여하여 유리라디칼을 안정화시켜 ferrous (Fe²⁺)로 전환하는 환원력을

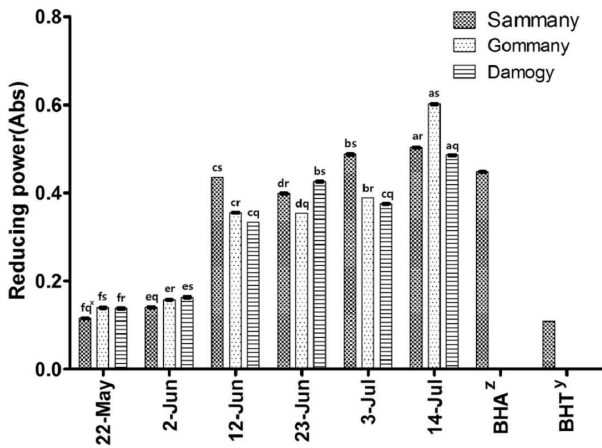


Fig. 4. Comparison of reducing power at different harvesting times and varieties of Gom-chwi.

^zBHA (butylated hydroxy anisole).

^yBHT (butylated hydroxy toluene).

^xResults are means ± SD of three measurements. Values within harvesting time (a~f) and variety columns (q~s) with different superscripts letters are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

700 nm에서 흡광도 값을 측정하여 나타내는 것이다(Sa *et al.*, 2010).

환원력을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 각각의 결과는 흡광도를 그래프로 나타내었으며 흡광도 측정값이 높을수록 높은 활성을 가짐을 확인 할 수 있다. 실험은 0.1 mg/ml의 농도로 수행하였으며, 측정결과 5월 22일과 6월 2일에 수확된 곰취에서는 Abs 0.20 이하의 낮은 흡광도 값을 나타내었으며 품종별로 눈에 띄는 차이를 확인 할 수 없었다. 그러나, 6월 12일 이후 수확된 곰취의 경우 Abs 0.5~0.6의 흡광도 값을 나타내서 6월 중순 이전에 수확된 시료와 비교하였을 때 약 4~6배 높은 환원력을 나타내었다. 7월 14일에 수확된 곰취와 대조군으로 사용된 동일 농도의 BHT와 BHA를 비교해 보았을 때 BHT보다는 약 5배 높은 환원력을 나타내었으며 BHA와는 동일한 수준의 환원력을 가지고 있음을 확인하였다. 품종별로는 '쌈마니'를 6월 중순 이후 수

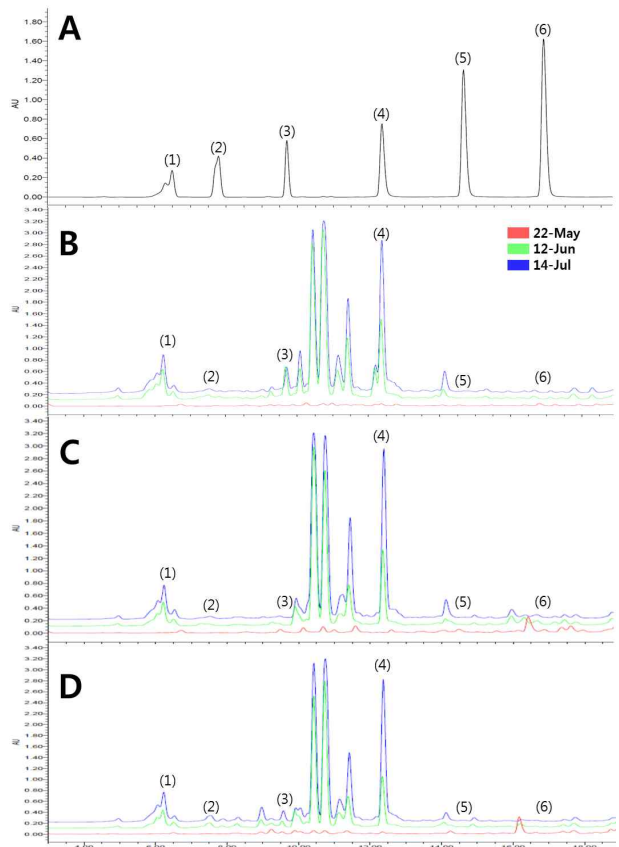


Fig. 5. UPLC chromatogram of flavonoids from different harvesting times and varieties of Gom-chwi. A, Standard compound (250 ppm); B, Sammany; C, Gommany; D, Damogy. (1): (+)-catechin, (2): (-)-epicatechin, (3): Rutin, (4): Fisetin, (5): Quercetin, (6): Kaempferol.

확한 경우 대부분 가장 높은 수치를 나타내어 가장 좋은 환원력을 가지고 있음을 확인하였으며, 6월 중순 이전과 마지막 수확 시기인 7월 14일 분에서는 ‘곰마니’가 가장 높은 흡광도 값을 나타내어 품종에 따라 수확 시기별로 환원력 차이를 나타냄을 확인하였다. 이는 DPPH를 이용한 항산화 활성과 유사한 결과값이며, 7월 수확 분의 경우 동일농도로 측정된 시판 항산화제로 사용되고 있는 BHA보다도 높은 환원력을 나타내서 천연 추출물로서는 눈에 띄는 항산화력을 가지고 있다고 판단된다. Duan *et al.* (2014)이 연구한 산사의 환원력을 0.2 mg/ml의 농도에서 측정하였을 때, 흡광도 값이 Abs 0.04~0.07로 확인되었으며, DPPH를 이용한 항산화 활성 측정에서도 낮은 항산화 활성을 확인하였다. 녹차의 환원력을 0.1mg/ml 농도에서 측정된 실험에서는 Abs 1.0 이상의 흡광도 값을 확인하였으며, DPPH 실험결과에서도 높은 항산화 활성을 가짐을 확인함으로써 항산화 활성과 환원력 간의 연관성을 확인하였다(Kang and Shon, 2007).

Flavonoid 함량 측정 결과

곰취 품종별로 함유되어 있는 flavonoid 함량을 확인하고자 UPLC를 이용하여 그 함량을 측정 비교하였다. Flavonoid는 Ahn (2015)이 곰취에서 분리하여 발표한 rutin을 비롯하여 (+)-catechin, (-)-epicatechin, fisetin, quercetin, kaempferol의 함량을 측정하였다(Fig. 5). 측정결과 6종의 flavonoid 중 quercetin, kaempferol를 제외하고 모든 품종에서 수확시기가 늦어질수록 함량이 Table 3과 같이 증가함을 확인하였다. 이 중 (+)-catechin과 fisetin의 경우 6월 12일을 기준으로 뚜렷한 함량증가를 나타내었다. Fisetin은 딸기와 사과 등 다양한 과일에 포함되어 있는 flavonoid로 높은 항산화 활성과 항암활성이 입증되었으며, catechin은 발암억제, 동맥경화, 혈전예방을 비롯한 다양한 항산화 활성이 밝혀진바 있다(Khan *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2014a). 이는 앞서 연구한 항산화 활성 결과와 비교하였을 때 flavonoid류가 증가하는 기간 중에 항산화 활성의 증가양상이 확인되었다는 점에서 주목할 만하다. 특히, 싹마니의 경우

Table 3. Flavonoid contents at different harvesting times and varieties of Gom-chwi

Compounds	Harvesting time Sample	Flavonoid contents (ppm in 2.0 mg/ml)					
		22-May	02-Jun	12-Jun	23-Jun	03-Jul	14-Jul
(+)-catechin	Sammany	7.80 ± 0.57 ^{dsz}	13.18 ± 1.35 ^{dr}	494.45 ± 24.21 ^{es}	438.18 ± 19.60 ^{cs}	784.03 ± 66.90 ^{as}	658.98 ± 48.48 ^{bs}
	Gommany	7.12 ± 1.87 ^{ds}	6.66 ± 3.99 ^{dr}	396.39 ± 8.10 ^{cr}	447.40 ± 8.46 ^{bs}	488.95 ± 41.57 ^{br}	548.52 ± 40.91 ^{as}
	Damogy	6.84 ± 2.12 ^{es}	22.37 ± 5.91 ^{es}	320.88 ± 23.38 ^{dq}	425.20 ± 33.74 ^{cs}	521.27 ± 70.32 ^{br}	629.42 ± 91.85 ^{as}
(-)-epicatechin	Sammany	7.69 ± 0.65 ^{dr}	10.75 ± 3.52 ^{dr}	78.58 ± 1.30 ^{abs}	80.76 ± 0.30 ^{ar}	71.05 ± 1.97 ^{cr}	73.90 ± 5.12 ^{bcr}
	Gommany	5.77 ± 0.10 ^{dq}	6.19 ± 0.51 ^{dq}	23.81 ± 5.65 ^{cr}	34.73 ± 6.54 ^{bq}	42.46 ± 7.49 ^{abq}	47.81 ± 0.96 ^{aq}
	Damogy	10.03 ± 0.22 ^{fs}	15.73 ± 0.20 ^{es}	73.28 ± 0.76 ^{ds}	103.38 ± 0.97 ^{as}	100.53 ± 1.12 ^{bs}	97.10 ± 1.57 ^{cs}
Rutin	Sammany	29.53 ± 0.54 ^{cq}	100.08 ± 1.61 ^{bs}	309.52 ± 2.87 ^{as}	323.24 ± 1.93 ^{as}	320.00 ± 1.73 ^{as}	302.41 ± 57.90 ^{as}
	Gommany	56.34 ± 0.20 ^{as}	25.56 ± 3.04 ^{cq}	25.17 ± 0.10 ^{cq}	43.75 ± 9.38 ^{bq}	48.61 ± 2.84 ^{abq}	54.60 ± 5.42 ^{aq}
	Damogy	38.97 ± 0.17 ^{fs}	59.04 ± 0.23 ^{es}	80.20 ± 0.93 ^{ds}	144.52 ± 1.25 ^{as}	128.91 ± 0.71 ^{bs}	121.88 ± 1.68 ^{cs}
Fisetin	Sammany	13.25 ± 1.95 ^{es}	18.21 ± 0.70 ^{er}	459.33 ± 2.06 ^{ds}	707.36 ± 23.68 ^{cs}	811.28 ± 9.89 ^{bs}	919.17 ± 77.83 ^{as}
	Gommany	6.06 ± 0.19 ^{dr}	18.05 ± 0.17 ^{dr}	371.09 ± 6.04 ^{cr}	527.26 ± 31.89 ^{br}	567.77 ± 11.95 ^{bq}	848.22 ± 47.35 ^{as}
	Damogy	13.63 ± 0.06 ^{fs}	38.33 ± 1.74 ^{es}	297.58 ± 2.17 ^{dq}	671.68 ± 9.10 ^{cs}	697.16 ± 13.61 ^{br}	838.66 ± 11.60 ^{as}
Quercetin	Sammany	5.21 ± 0.87 ^{bs}	4.00 ± 0.13 ^{bs}	5.21 ± 0.12 ^{bq}	6.19 ± 0.69 ^{bs}	6.51 ± 0.09 ^{br}	10.79 ± 3.53 ^{as}
	Gommany	4.19 ± 0.07 ^{bs}	3.66 ± 0.14 ^{br}	5.64 ± 0.19 ^{abr}	9.75 ± 5.69 ^{as}	6.34 ± 0.05 ^{abq}	7.63 ± 0.13 ^{abs}
	Damogy	3.64 ± 0.41 ^{dr}	4.26 ± 0.19 ^{cs}	6.45 ± 0.15 ^{bs}	8.81 ± 0.04 ^{as}	9.15 ± 0.05 ^{as}	8.79 ± 0.14 ^{as}
Kaemperol	Sammany	5.33 ± 0.38 ^{cr}	6.93 ± 0.06 ^{ar}	6.13 ± 0.11 ^{br}	7.12 ± 0.04 ^{ar}	5.90 ± 0.23 ^{br}	6.80 ± 0.22 ^{as}
	Gommany	11.64 ± 3.34 ^{abs}	13.18 ± 2.28 ^{as}	11.03 ± 0.16 ^{abs}	9.89 ± 0.32 ^{bcs}	8.55 ± 0.29 ^{bcs}	6.91 ± 0.17 ^{cs}
	Damogy	3.07 ± 0.23 ^{cr}	5.22 ± 0.07 ^{ar}	3.88 ± 0.10 ^{bq}	3.18 ± 0.02 ^{cq}	3.18 ± 0.02 ^{cq}	3.00 ± 0.04 ^{cr}

²Results are means ± SD of three measurements. Values within harvesting time (a-f) and variety columns (q-s) with different superscripts letters are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

fisetin은 6월 2일과 6월 12일을 기준으로 약 20배 이상 증가하였고 후에 수확된 부분에서도 꾸준한 증가 추이를 나타내었다. 또한, 동일 기간 중 (+)-catechin, (-)-epicatechin, rutin의 함량도 3~20배의 함량 증가가 확인되었다. 이는 곰마니와 다목이에서도 동일한 양상이 확인되었으며, 각각의 flavonoid의 함량 차이가 품종 및 시기별로 항산화 활성의 차이를 보이는 것으로 생각된다. 결과적으로 곰취의 생육기간 중 flavonoid 함량이 증가하는 시기는 6월 상순 이후이며, 그에 따라 뚜렷한 항산화 활성의 차이를 나타냄에 따라 품종별 수확시기 선정시 중요하게 고려해야 할 사항임을 확인한 연구다.

적 요

본 연구는 곰취와 한대리곰취의 고잡에 의해 선발 육종된 곰취 신품종 3종의 고령지 수확시기에 따른 항산화 활성 차이를 구명하고자 수행 하였다. 신품종 ‘쌈마니’, ‘곰마니’, ‘다목이’는 해발 800 m에 위치한 고령지농업연구소 시험포장에서 재배하였으며 수확은 5월 12일부터 10일 간격으로 7월 14일까지 6회 하였다. 수확시기별 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH free radical 소거능과 환원력을 분석하였다. 총 페놀 함량은 7월 14일 수확된 ‘곰마니’ 품종이 0.172 mgGAE/ml로 다른 품종(‘쌈마니’ 0.154; ‘다목이’ 0.141 mgGAE/ml)들보다 높게 나타났다. 그리고 플라보노이드 함량은 7월 3일 ‘곰마니’ 0.114 mgQE/ml, 7월 3일 ‘쌈마니’ 0.113 mgQE/ml, 7월 14일 ‘다목이’ 0.089 mgQE/ml 으로 비슷하였다. 항산화 활성은 3품종 모두 6월 12일 이후 수확 분에서부터 증가되었으며 DPPH free radical 소거능 또한 다른 수확기(92.875~94.595%)보다 높게 나타났다. 또한 환원력은 7월 14일 수확 분에서 높은 흡광도 값을 나타내었는데 이는 DPPH를 이용한 항산화 활성과 유사한 결과 값이며, 7월 수확 분의 경우 동일 농도로 측정된 시판 항산화제로 사용되고 있는 BHA보다도 높은 환원력을 나타내서 천연 추출물로서는 눈에 띄는 항산화력을 가지고 있다고 판단된다. 따라서 위 결과들을 고려해 볼 때, 고령지에서 항산화 활성이 높은 곰취를 수확하기 위해서는 6월 상순 이후에 수확하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 곰취류 고품질 내병 다수성 품종육성, 세부과제번호 PJ00868901)과 어젠다 연

구사업(세부과명: 발효유향 위 건강 관련 물질 분리, 세부과제번호 PJ00985901)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Ahn, M.J. 2015. Constituents and Their bioactivities of *Ligularia fischeri* Turcs leaves. Ph.D Thesis, Chung-Ang Univ., Korea.
- Bae, J.H., S.O. Yu, Y.M. Kim, S.U. Chon, B.W. Kim and B.G. Heo. 2009. Physiological activity of methanol extracts from *Ligularia fischeri* and their hyperplasia inhibition activity of cancer cell. J Bio-Environ Control. 18:67-73.
- Cho, S.D. and S.D. Kim. 2005. Food product development and quality characterisation of *Ligularia fischeri* for food resources. Korean J. Food Preserv. 12: 43-47 (in Korean).
- Choi, J.H. and S.K. Oh. 1985. Studies on the anti-aging action of Korean Ginseng. Korean J. Food sci. Technol. 17:506-515 (in Korean).
- Choi, J.S., J.H. Park, H.G. Kim, H.S. Young and S.I. Mun. 1993. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. Korean Journal of Pharmacology 24:299-303 (in Korean).
- Dewanto, V., W. Xianshong and R.H. Liu. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. J. Agric Food Chem. 50:4959-4964.
- Duan, Y., M.A. Kim, J.H. Seong, H.S. Chung and H.S. Kim. 2014. Antioxidative activities of various solvent extracts from haw (*Crataegus pinnatifida* Bunge). Korean J. Food Preserv. 21(2):246-253 (in Korean).
- Ham, S.S., S.Y. Lee, D.H. Oh, S.W. Jung, S.H. Kim, C.K. Jeong and I.J. Kang. 1998. Cytotoxicity of *Ligularia fischeri* extracts. J. Korean Soc Food Sci Nutr. 27:987-992 (in Korean).
- Hwang, I.W., J.E. Kim and S.K. Chung. 2010. Antioxidant capacities and flavonoid contents of Wild mulberry and Ginko eaves teas. Agric. Rex. Bull. Kyungpook Natl. Univ. 28:1-7 (in Korean).
- Kang, S.K. and M.Y. Shon. 2007. Changes of bioactive compounds and antioxidant activities in Korean Green Tea (*Camellia sinensis*) with different harvesting periods. Korean J. Food Preserv. 14(6):709-715 (in Korean).
- Kang, Y.H., Y.K. Park and G.D. Lee. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. J. Korean Food Sci. Technol. 28(2): 232-239 (in Korean).
- Kawaguchi, K., T. Misuno, K. Aida and K. Uchino. 1997. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas

- and pseudomonas. Biosci. Biotechnol. Biochem. 61:102-104.
- Khan, N., D.N. Syed, N. Ahmad and H. Mukhtar. 2013. Fisetin: A dietary antioxidant for health promotion. *Antioxidants & Redox Signaling* 19(2):151-162.
- Kim, E.J., J.Y. Choi, M.R. Yu, M.Y. Kim, S.H. Lee and B.H. Lee. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44(3):337-342 (in Korean).
- Kim, S.M., S.W. Kang and B.H. Um. 2010. Extraction conditions of radical scavenging Caffeoylquinic acids from Gomchui (*Ligularia fischeri*) Tea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39(3):399-405 (in Korean).
- Kim, Y.D., W.J. Ko, K.S. Koh, Y.J. Jeon and S.H. Kim. 2009. Composition of flavonoids and antioxidative activity from juice of Jeju native citrus fruits during maturation. *Korean J. Nutr.* 42(3):278-290 (in Korean).
- Kuhnau, J. 1976. The Flavonoids: a class of semiessential food components: their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* 24:117-120.
- Kwon, Y.J., K.H. Kim and H.K. Kim. 2002. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Ligularia fischeri* extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Korean J. Food Preserv.* 9(3):332-337 (in Korean).
- Lee, M.K., J.S. Park, H.J. Song and S.U. Chon. 2014a. Effects of polyphenol and catechin levels on antioxidant activity of several edible flower extracts. *Korean J. Plant Res.* 27(2): 111-118 (in Korean).
- Lee, S.H., S.H. Lee, S.K. Kim, E.Y. Hong, S.H. Chun, I.C. Son and D.I. Kim. 2014b. Effect of harvest time on the several phenolic compounds and fruit quality of grape cultivars. *Korean J. Plant Res.* 27(2):119-124 (in Korean).
- Lee, Y.S. 2000. Studies of *Ligularia fischeri*, *Perilla leave*, *Taraxacum platycarpum* and *Allium tuberosum Rottler* on the antioxidative activity. Graduate school, Hallym Univ., Korea.
- Moreno, M.I.N., M.I. Isla., A.R. Sampietro and M.A. Vattuone. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71:109-114.
- Oyaisu, M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Journal of Nutrition* 44:307-315.
- Park, C.H. 1997. Development of high income plant resources in Kangwon province. National Research Foundation of Korea. p. 4.
- Park, H.J. and K.Y. Lee. 2013. Evaluations on antioxidant effect of methanol extract from immature cotton boll. *Korean J. Plant Res.* 26(4):426-432 (in Korean).
- Park, S.J., W.J. Park, B.C. Lee, S.D. Kim and M.H. Kang. 2006. Antioxidative activity of different species *Lycium chinensis* Miller extracts by harvest time. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(9):1146-1150 (in Korean).
- Sa, Y.J., J.S. Kim, M.O. Kim, H.J. Jeong, C.Y. Yu, D.S. Park and M.J. Kim. 2010. Comparative study of electron donating ability, reducing power, antimicrobial activity and inhibition of α -glucosidase by sorghum bicolor extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42(5):598-604 (in Korean).
- Sun, J., Y.F. Chu, X. Wu and R.H. Liu. 2002. Antioxidant and anti-proliferative activities of common fruits. *J. Agr. Food Chem.* 50:7449-7454.
- Woo, J.H. and C.H. Lee. 2008. Effect of harvest date on antioxidant of *Dendranthema sawadskii* var. *latilobum* (Maxim.) Kitam and *D. sawadskii* var. *yeseonse* (Maek.) Y.M. Lee & H.J. Choi. *Korean J. Plant Res.* 21(2):128-133 (in Korean).
- Xiong, Q., S. Kadota, T. Tadota and T. Namba. 1996. Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 19:1580-1585.
- Yeon, B.R., H.M. Cho, M.S. Yun, J.W. Jhoo, J.W. Jung, Y.H. Park and S.M. Kim. 2012. Comparison of fragrance and chemical composition of essential oils in Gom-chewi (*Ligularia fischeri*) and Handaeri Gom-chewi (*Ligularia fischeri* var. *spicifoprmsis*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41(12):1758-1763 (in Korean).

(Received 17 December 2014 ; Revised 6 May 2015 ; Accepted 13 May 2015)