

울릉미역취 에탄올추출물의 항산화 활성

지윤선[#], 이남선, 길기정, 유지현^{*}

중부대학교 한방보건제약학전공

Antioxidant Activities of Ethanol Extracts from *Solidago virga-aurea* var. *gigantea*

Yoon-Sun Ji[#], Nam-Sun Lee, Ki-Jung Kil, Ji-Hyun Yoo^{*}

Department of Herbal Health & Pharmacy, Joongbu University, Geumsan 312-702, Korea

ABSTRACT

Objectives : This study aimed to analyze contents of chlorogenic acid among major ingredients and determine the optimal solvent for the antioxidant activity from *Solidago virga-aurea* var. *gigantea*(SV) aerial part.

Methods : Mature aerial part of extracted SV at the first crop on June 2018 was used, SV was mixed with each at the ethanol concentrate rates of water, 10, 30, 50, 70, and 100% and extracted them for three times for eight hours at 70°C. The contents of chlorogenic acid and seven kinds of antioxidant activities were measured in SV extracts.

Results : The highest the contents of chlorogenic acid was from 10% ethanol extracts showed. Total polyphenol and flavonoids of SV extracts were 126.16 mg/g and 105.84 mg/g, respectively. Scavenging activities of DPPH, ABTS, and hydroxyl radical significantly increased in a dose-dependent in SV extracts, while it was almost similar with control at the concentration of 500 µg/mL. Fe²⁺ chelating activity significantly increase in a dose-dependent in SV extract, it was lower than control.

Nitrite scavenging activity increased, dose-dependent in the sequence of pH 1.2 > pH 3.0 > pH 6.0 in SV extracts, while it was almost similar with control at the concentration of 500 µg/mL, pH 1.2, and pH 3.0.

Conclusions : Thus, this study found that higher contents of chlorogenic acid and excellent antioxidant activity were contained in 10% ethanol extracts in mature aerial part of SV. It is expected to be used as basic data as natural antioxidant materials.

Key words :

Key words : *Solidago virgaurea*, Antioxidant, Ethanol Extracts, Chlorogenic acid, Aerial part

I. 서 론

생활수준의 향상과 서구화된 식생활로 인해 당뇨병, 비만, 고혈압 및 동맥경화증 등 각종 성인병이 급증으로 인하여 건강 증진 또는 질병의 예방 및 치료를 위한 다양한 기능성 물질이 식품 및 의약품 소재로서 주목받고 있다. 기능성 소재로서는 독성을 가져 부작용을 유발하는 화학적 합성품보다는 안전

한 천연물 유래의 기능성 물질이 소비자들에게 높은 선호도를 보이고 있다¹⁾. 일반적으로 활성산소를 억제시키는 항산화제는 catalase, superoxide dismutase 및 glutathione reductase 등의 효소계열의 항산화제와 페놀성 화합물, ascorbic acid, carotenoids, flavone 유도체 및 glutathione 등의 천연 항산화제, 대표적인 합성 항산화제 BHA, BHT 및 PG 등으로 널리 알려져 있다²⁾. 그러나 합성 항산화제 BHA와 BHT의 경

*Corresponding author : Ji-Hyun Yoo, Department of Herbal Health & Pharmacy, Joongbu University, Geumsan 312-702

· Tel : +82-41-750-6962 · E-mail : jhyoo@joongbu.ac.kr

#First author : Yoon-Sun Ji, Department of Herbal Health & Pharmacy, Joongbu University, Geumsan 312-702

· Tel : +82-41-750-6962 · E-mail : jidaeng85@naver.com

· Received : 17 December 2018 · Revised : 09 January 2019 · Accepted : 25 January 2019

우 저렴한 가격으로 널리 사용되고 있지만, 일정 수준 이상 섭취 시 노화, 암, 염증, 뇌졸중, 심혈관 질환 등을 유발하는 것으로 알려져 안전성의 문제가 제기되면서 규제가 강화되고 있다³⁾. 최근 들어 인체 내에서 염증, 퇴행성질환, 동맥경화증 및 암을 예방하거나 노화를 억제시켜 천연 항산화제가 매우 효과적인 것으로 보고되어 있어 한약재, 천연물 또는 약용식물로부터 항산화 작용에 관한 연구 등이 많이 이루어지고 있다⁴⁾. 울릉미역취(*Solidago virga-aurea* var. *gigantea*)는 국화과(compositae)에 속하는 다년생 초본으로 미역취(*Solidago virgaurea* L.)의 변종으로, 한약재명은 일지황화로 약용부위로는 지상부를 사용하며, 성질은 차고, 맛은 맵고 쓰다⁵⁾. 한방에서는 감기, 진통, 방광염, 폐렴, 해열, 인후종통, 백일해, 소아경풍, 황달, 간염, 피부염, 위장, 건위, 이노제 및 신장질환 등에 효능이 있다^{6, 7)}. 민간요법으로는 건위 및 이노제로도 활용되어 왔다^{6, 7)}. 미역취의 주요성분은 chlorogenic acid, 정유, caffeic acid, rutin, astragaloside, quercetin, tannin, saponin, flavonoid 등의 성분이 함유되어 있다⁸⁾. 현재 국내의 미역취 주요 재배지로는 울릉도와 전남 고흥이 국내 유통되는 대부분을 생산하는 생산지이며, 그 중에서도 울릉도가 70 ha 면적에서 연평균 200 M/T정도로 전남고흥에 비하여 월등하게 많이 재배되는 것으로 알려져 있다^{9, 10)}.

미역취의 생리활성 연구로는 뿌리에서 조골세포 기능 저하로 인한 골대사 조절에 관한 연구¹¹⁾, 지상부에서 동시 연속 수증기 증류추출장치의 개량형인 SDE 방법으로 추출하였을 때 정유에서 테르펜 탄화수소류의 산화된 형태가 많이 추출되었다는 연구¹²⁾와 지상부에서는 지방산, 유기산 및 유리 아미노산 함량이 높다고 하였다¹³⁾.

항산화 연구로는 미역취의 휘발성 성분에서는 항산화성이 합성항산화제 BHT와 α -tocopherol에 비해 높으며¹⁴⁾, 울릉미역취의 종자와 뿌리¹⁵⁾, 울릉미역취 70% 에탄올 추출물¹⁶⁾, 가압·열처리한 울릉미역취 어린 잎¹⁷⁾, Burs-Uludağ Kaplıcakaya 주변에서 10월 수확한 어린잎¹⁸⁾ 및 고지방과 고당질 식이 섭취 마우스에 미역취를 포함한 산채나물에서¹⁹⁾ 우수한 항산화 효과를 연구한 보고들이 있다.

이와 같이 항산화 효능을 지니고 있는 미역취에 대하여 다수의 연구결과가 보고되었으나, 성숙된 지상부(잎, 줄기 혼합물)에 대한 연구로는 아직 미흡하였다. 따라서 본 연구에서는 주요 재배지인 울릉도에서 재배되는 울릉미역취 지상부를 사용하여 주요 성분인 chlorogenic acid의 함량 조사하여 최적의 추출용매를 설정한 후 항산화 효과를 알아보고, 기능성 생리활성물질 및 천연항산화 소재로서의 활용 가능성을 타진하고자 본 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 울릉미역취는 경상북도 울릉도군에서 2018년도 6월에 첫 수확으로 성숙된 지상부(잎, 줄기 혼합물)를 채취한 것을 울릉도원(Ulleung, Korea)에서 구입하여 불순물을 제거한 후 분쇄하여 중부대학교 한방보건제약학전공

본초학 교실에서 감정하여 사용하였다.

2. 추출조건

항산화 활성 검증을 위한 최적 추출 용매의 농도를 설정하기 위해 울릉미역취 분말 20 g을 증류수 및 에탄올 10%, 30%, 50%, 70%, 100% 농도로 각각 300 mL씩 첨가한 후 70°C에서 8시간 3회 반복 추출하였다. 추출 후 여과지(Whatman NO. 2)를 사용하여 여과한 후 회전진공증발기에서 감압 농축하여 동결건조 하였다. 이 때 동결건조 분말 시료는 증류수 및 에탄올 10%, 30%, 50%, 70%, 100% 농도에서 각각 25.84%, 23.01%, 20.04%, 18.84%, 18.05%, 15.74%로 수득되었다.

3. Chlorogenic acid 함량 분석

울릉미역취의 추출 용매 농도를 설정하기 위해서 chlorogenic acid 함량 분석하였다. HPLC 시스템은 Agilent 1200 HPLC ChemStation™ (Agilent, USA)를 사용하였다. 분석 컬럼은 eclipse XDB-C18(4.6 × 12.5 mm, 5 μ m, Agilent, USA)을 사용하였고, column oven의 온도는 30°C로 설정하였으며, UV 검출기는 254 nm로 측정하고, 최종 시료주입량은 10 μ L로 주입하였다. 2가지 분석용매 및 gradient 분석 조건으로는 0.1% trifluoroacetic acid(TFA, A), methanol(B)을 사용하였고, B용매를 0~15분 동안 5~40%, 15~30분 동안 20%, 30~40분 동안 60~100%로 하여 0.7 mL/min 속도로 흘려주었다.

4. 항산화 활성 측정

1) 총 폴리페놀 함량 분석

미역취 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis법²⁰⁾을 응용하였다. 시료 추출물 100 μ L에 0.1N Folin-Ciocalteu's phenol reagent 400 μ L를 혼합하여 실온에서 1분간 반응시킨 후 1 M Na₂CO₃을 500 μ L를 첨가하였다. 실온에서 2시간 반응시킨 후 UV spectrophotometer를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 gallic acid를 사용하여 표준 검량선을 작성한 후 폴리페놀 함량을 구하였다.

2) 총 플라보노이드 함량 분석

미역취 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Zhishen법²¹⁾을 응용하여 측정하였다. 증류수 1 mL에 시료 추출물 100 μ L를 혼합한 후 5% NaNO₂ 30 μ L와 10% AlCl₃를 가하여 혼합한 후 실온에서 5분간 반응시킨다. 반응액에 1M NaOH 200 μ L를 가하고 증류수 1 mL를 가한 후 UV spectrophotometer를 사용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 quercetin을 사용하여 위와 같은 방법으로 표준 검량선을 작성한 후 플라보노이드 함량을 구하였다.

3) DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois의 방법²²⁾에 따라서 측정

하였다. 시료 추출물 100 μ L와 DPPH 용액을 100 μ L 넣고 혼합한 후 실온에서 15분간 반응시켰다. 이 반응액을 UV spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 소거활성을 계산하여 산출하였다.

4) ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS 라디칼 소거 활성은 Re등 방법²³⁾을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.4 mM potassium persulfate용액을 혼합하여 24시간 동안 차광하여 반응시킨 후, 734 nm에서 에탄올을 이용하여 희석하여 흡광도 0.8±0.02로 보정하였다. 시료 추출물 20 μ L를 희석한 ABTS 용액 980 μ L에 첨가하여 차광하여 30분간 반응시킨 후 UV spectrophotometer를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 소거활성을 계산하여 산출하였다.

5) Hydroxyl 라디칼 소거활성 측정

Hydroxyl 라디칼 소거활성은 Smirnof and Cumbes 방법²⁴⁾에 따라 변형하여 측정하였다. 1.5 mM FeSO₄와 6 mM H₂O₂를 5 : 3.5 비율로 희석하였다. 희석한 용액 760 μ L, 시료 추출물 40 μ L 및 200 mM sodium salicylate를 200 μ L 첨가하여 혼합시킨 후 37°C 배양기에서 30분간 반응하였다. UV spectrophotometer를 사용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 소거활성을 계산하여 산출하였다.

6) Fe²⁺ 킬레이팅 활성 측정

Iron-chelating 활성은 Hus의 방법²⁵⁾에 따라 변형하여 측정하였다. 시료 추출물 150 μ L 2 mM FeCl₂ 15 μ L를 가하고 증류수 605 μ L를 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨다. 반응 용액에 5 mM ferrozine 30 μ L을 혼합한 후 Fe²⁺-ferrozine complex를 유도하고 10분 동안 실온에서 반응시킨 후 UV spectrophotometer를 사용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하여 킬레이팅 활성을 계산하여 산출하였다.

7) 아질산염 소거활성 측정

아질산염 소거활성은 Gray와 Dugan²⁶⁾에 따라 변형하여 측정하였다. 시료 추출물 40 μ L에 1 mM NaNO₂ 20 μ L를 첨가하고 0.2 M Citrate buffer (pH 1.2, 3.0 및 6.0) 140 μ L를 가하여 37°C 배양기에서 1시간 동안 반응하였다. 반응한 용액에 2% acetic acid를 1 mL와 griess 용액 80 μ L을 혼합한 후 차광하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 UV spectrophotometer를 사용하여 520nm에서 흡광도를 측정하여 소거활성을 계산하여 산출하였다.

3. 통계처리

모든 실험의 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차 (mean±SD)로 나타냈으며, 모든 실험의 분석결과의 통계분석은 SPSS(Version 22.0, IBM, Armonk, NY, USA)을 프로그램을 이용하여 일원배치분산분석법을 실시하였으며, 각 처리구 간의 유의성은 Duncan의 다중범위 시험방법으로 p<0.05 수준에서 유의성 차이를 검증하였다.

III. 결 과

1. Chlorogenic acid 함량 분석

울릉미역취 에탄올 추출용매의 농도조건을 설정하기 위하여 주요성분 중 chlorogenic acid 함량을 분석하였다. 에탄올 농도가 10% > 30% > 50% > 70% > 0% > 100% 순으로, 10% 에탄올에서 chlorogenic acid 함량이 가장 높게 나타났다 (Table 1). Chlorogenic acid 함량이 가장 높은 10% 에탄올 추출물을 선정하여 항산화 활성을 측정하였다.

Table 1. Chlorogenic acid contents of SV by extract condition

Extract condition	Chlorogenic acid contents (%)
0%	10.05
10%	13.55
30%	12.49
50%	12.15
70%	11.89
100%	0.12

2. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

울릉미역취 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 총 폴리페놀함량은 126.16 ± 0.15 mg/g GAE로 나타났고, 총 플라보노이드 함량은 105.84 ± 1.90 mg/g QE로 나타났다 (Table 1).

Table 2. Total polyphenol and total flavonoid contents of SV extract

Total polyphenol content (mg/g GAE) ¹⁾	Total flavonoid content (mg/g QE) ²⁾
126.16 ± 0.15	105.84 ± 1.90

The data were expressed as the mean ± SD (n=3)

1) Garlic acid equivalents, 2) Quercetin equivalents.

3. DPPH 라디칼 소거활성

울릉미역취 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결

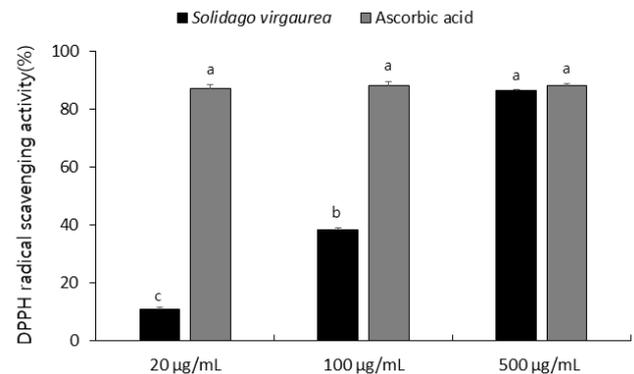


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity from SV extract. The data were expressed as the mean ± SD (n=3) deviation of triplicate tests. Means with the different letters are (a-c) significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

과 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며, 20 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL의 농도에서 각각 10.91%, 38.45%, 86.46%로 나타내었다. 한편 500 µg/mL의 농도에서 87% 이상 저해 활성을 나타낸 대조구인 ascorbic acid와 유사한 소거 활성을 보였다(Fig. 1.).

4. ABTS 라디칼 소거활성

울릉미역취 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성을 측정한 결과 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며, 20 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL의 농도에서 각각 23.15%, 79.08%, 95.18%로 나타내었다. 한편 500 µg/mL의 농도에서 95.62%의 저해 활성을 나타낸 대조구인 ascorbic acid와 유사한 소거 활성을 보였다(Fig. 2.).

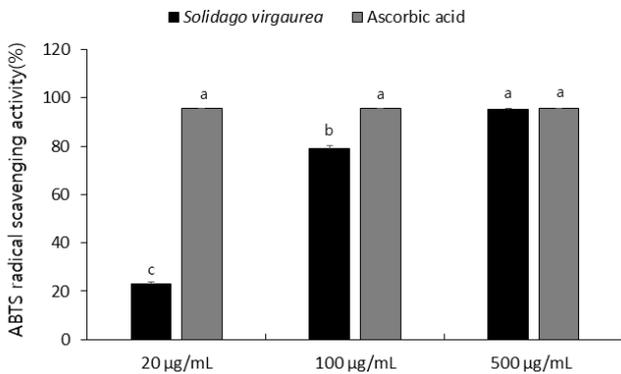


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity from SV extract. The data were expressed as the mean ± SD (n=3) deviation of triplicate tests. Means with the different letters are (a–c) significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

5. Fe²⁺ chelating 활성

울릉미역취 추출물의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성을 측정한 결과, 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며, 20 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL의 농도에서 각각 12.3%, 18.53%, 47.75%로 나타내었다. 대조구로 사용한 deferoxamine 100, 500 µg/mL의 농도에서 73.52% 이상의 킬레이팅 활성을 보였고, 울릉미역취 추출물에 비해 높았으며, 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(Fig. 3.).

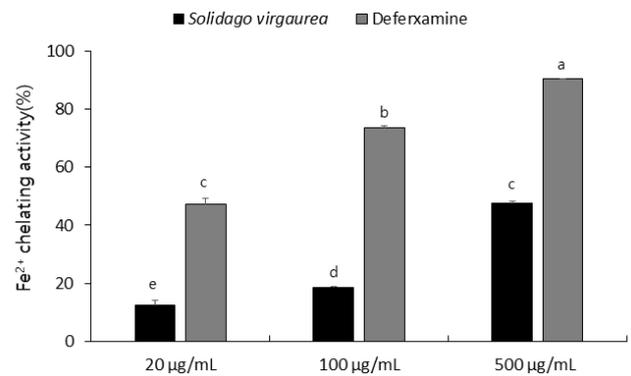


Fig. 3. Fe²⁺ chelating activity from SV extract. DFXM : deferoxamine. The values are expressed as mean ± SD deviation of triplicate tests. Means with the different letters are (a–e) significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

100 µg/mL, 500 µg/mL의 농도에서 각각 16.62%, 25.94%, 44.59%로 나타내었다. 울릉미역취 500 µg/mL의 농도에서 대조구 ascorbic acid와 유사한 활성을 나타내었다(Fig. 4.).

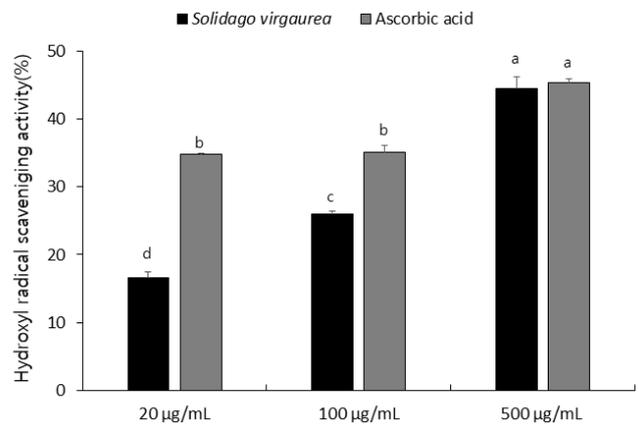


Fig. 4. Hydroxyl radical scavenging activity from SV extract. The data were expressed as the mean ± SD (n=3) deviation of triplicate tests. Means with the different letters are (a–d) significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

7. 아질산염 소거활성

울릉미역취 추출물의 아질산염 소거활성은 pH 1.2, pH 3.0 및 pH 6.0에서 측정한 결과는 Table 2와 같다. pH 1.2, pH 3.0 및 pH 6.0에서 울릉미역취 추출물 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거활성이 증가하였다. pH 1.2의 경우에는 울릉미역취 추출물 100 및 500 µg/mL의 농도에서 각각 56.85%, 82.88%로 대조구인 BHT와 유사한 아질산염 소거

Table 2. Nitrite scavenging activity of SV extract

Conc. (µg/mL)	pH 1.2		pH 3.0		pH 6.0	
	SV	BHT	SV	BHT	SV	BHT
20	32.19 ± 1.85 ^d	49.39 ± 4.53 ^c	27.85 ± 3.13 ^d	41.32 ± 3.84 ^c	14.80 ± 1.65 ^d	25.87 ± 0.88 ^c
100	56.85 ± 4.65 ^{bc}	59.98 ± 3.70 ^b	43.05 ± 1.49 ^c	57.38 ± 2.50 ^b	15.64 ± 0.55 ^d	33.14 ± 1.10 ^b
500	82.88 ± 0.93 ^a	85.51 ± 0.68 ^a	71.39 ± 0.42 ^a	75.14 ± 1.23 ^a	25.10 ± 1.16 ^c	41.14 ± 0.44 ^a

The data were expressed as the mean ± SD (n=3) deviation of triplicate tests. Means with the different letters are (a–d) significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

활성을 보였다. pH 3.0의 경우에는 울릉미역취 추출물은 500 µg/mL의 농도에서 71.39%로 대조구는 75.14%로 유사한 활성을 보였다. pH 6.0의 경우에는 울릉미역취 추출물은 대조구 보다 다소 낮은 활성을 보였다.

IV. 고 찰

생체는 체내 및 체외의 자극에 대해서 자신을 보호 및 방어하기 위하여 면역세포의 증식 또는 활성화에 의해 항원이나 활성산소종으로부터 숙주를 보호하는 방어체계를 가지고 있다^{27, 28)}. 활성산소종의 생성과 방어 시스템 사이의 불균형으로 인하여 생체 내 분자들의 산화를 초래하여 단백질 및 지질 과산화, DNA, 세포막, 효소와 T세포 등 면역계 인자의 손상을 초래하여 노화를 비롯한 각종 성인병을 유발한다²⁹⁾.

이를 토대로 활성산소종으로부터 인체를 보호할 수 있는 항산화제에 대한 연구가 활발히 진행되었으나, 합성항산화제인 butylated hydroxyanisole(BHA)와 butylated hydroxytoluene(BHT)는 가격이 저렴하고 항산화력은 강하지만 열에 대한 안정성이 낮고 변이성과 독성이 있다. 과량 섭취 시 인체에 대한 암 등의 다양한 부작용 및 독성 등 안정성 측면에서 문제가 대두 되고 있다^{30, 31)}. 최근에는 인체에 안전하고 항산화 활성이 우수한 물질을 개발하기 위해 한약재 및 천연물 유래로부터 활성 물질에 대한 연구와 의약품 또는 식품의 기능성 소재로서의 활용 가능성에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다^{32, 33)}.

Chlorogenic acid는 폴리페놀 화합물의 일종이며, 커피콩 특유의 착색 원인 물질로 감자, 고구마의 껍질에도 많이 함유되어 있다. 생체 내에서 과산화 지질의 생성 억제효과, 콜레스테롤 생합성 억제, 항암 및 항산화 작용을 한다고 알려져 있다^{34, 35)}.

추출용매농도를 설정하기 위해 울릉미역취 주요 성분 중 하나인 chlorogenic acid를 분석한 결과 10% 에탄올에서 가장 높게 나타났다. 따라서 chlorogenic acid 함량이 가장 높은 10% 에탄올 추출물을 선정하여 항산화 활성을 측정하였다.

페놀성 화합물은 다양한 구조와 분자량을 가지며 페놀성 화합물의 phenol hydroxyl 기를 통해 항균, 항산화 및 항암 등의 생리활성을 나타내거나, 식물체에 널리 분포되어 물질로 리그닌 및 세포벽 다당류 등과 에스테르 결합을 하는 것으로 알려져 있다³²⁾. 플라보노이드는 적자색 또는 노란색을 띠는 색소 화합물로 C6-C3-C6의 벤조피론 기본골격을 지니고 있으며, 식물 중에는 대부분 당과 결합된 배당체 형태로 존재하며 식물에 다량 존재하며, 페놀성 화합물에 속하는 것으로 알려져 있다³⁶⁾.

본 실험에서 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정 한 결과 총 폴리페놀 함량이 126.16 mg/g, 총 플라보노이드 함량이 105.84 mg/g으로 높게 나타났다.

즉, Woo 등¹⁷⁾은 4월 초 수확한 울릉미역취 어린잎의 80% 에탄올 추출물을 동결건조한 후에 가압열처리시보다 높은 55.82 mg/g의 총 페놀함량을 보였고, 총 플라보노이드 함량도 24.25 mg/g로 높게 나왔다고 보고 하였는데, 본 연구결과와 비교하면 울릉미역취 지상부에서 2배 이상의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높았다. 이는 항산화 물질 중

울릉미역취의 주요성분인 폴리페놀계의 chlorogenic acid로 인한 것으로 생각되나, 추가적인 실험이 진행되어야 한다고 사료된다.

DPPH 라디칼 반응은 안정한 자유 라디칼로서 글루타치온, 시스테인과 같은 황 함유 아미노산과 ascorbic acid 및 아민 화합물 등에 의해 환원되어 탈색되므로 비교적 간편하고 비용이 저렴한 실험방법 중 하나로 다양한 천연소재로부터 항산화 성분을 검색하는데 많이 이용되고 있다³⁷⁾. 본 실험에서 울릉미역취 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성은 농도 의존적으로 유의하게 증가함을 보였고, 500 µg/mL의 농도에서는 대조구 ascorbic acid와 유의하게 유사한 활성을 나타냈다.

미역취의 DPPH 소거활성에 관한 이전 연구에서 배 등¹⁶⁾은 울릉미역취 70% 에탄올 추출물 100 µg/mL 농도에서 50.73%의 소거활성을 보고하였으며, Hülya Demir 등¹⁸⁾은 Burs-Uludağ Kaplıcakaya 주변에서 10월 수확한 미역취 어린잎의 100 µg/mL 농도에서 열수 추출물(30.67%) 보다 메탄올 추출물(64.26%)에서 높은 소거활성을 보인다고 하였다. 본 연구결과와 비교해 보면 동일한 농도에서 열수 추출물 보다는 높은 소거 활성을 보였지만, 70% 에탄올 및 메탄올 추출물에서 다소 낮은 활성 차이를 보였다. 이는 시료의 채취시기, 재배지, 식용작물의 기원, 부위, 추출용매 및 방법 등에 따른 유효성분의 차이에 기인한 것으로 사료된다.

ABTS는 645, 734, 815 nm의 파장에서 최대의 흡광도를 가지므로 추출물 고유의 색소에 의한 영향이 최소화되어 DPPH에서 보다 정확한 항산화제의 유무를 확인하는 방법이다³⁸⁾. 울릉미역취 추출물에서 ABTS 라디칼 소거활성이 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며, 500 µg/mL의 농도에서는 대조구인 ascorbic acid와 유사한 소거 활성을 보였다. Lee 등¹⁵⁾의 연구에서 울릉미역취 뿌리 및 씨 80% 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성을 확인한 결과 100 µg/mL 농도에서 97.42%, 98.59%으로 보고하였다. 본 연구에 500 µg/mL 농도에서 95.18%로 유사한 소거활성을 나타내었다. 이러한 소거 활성 차이를 보이는 이유는 채취시기, 재배지, 식용작물의 기원, 부위, 추출용매 및 방법 등의 차이로 인하여 라디칼 소거능이 크게 저하되거나, 생리활성물질의 결합 정도에 따른 차이인 것으로 생각된다.

Ferrozine은 Fe²⁺와 복합체를 형성하여 보라색을 나타내는데, 시료 중의 킬레이팅 효과를 가진 물질이 Fe²⁺이온을 제거하여 Fe²⁺-ferrozine 복합체의 형성을 방해하여 발색을 감소시킨다. 한편 흡광도로 측정된 보라색의 정도는 금속 이온 봉쇄력을 나타낸다³⁹⁾. 울릉미역취 추출물의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 농도 의존적으로 증가하였고, 대조구 20 µg/mL 처리구는 울릉미역취 추출물 500 µg/mL 처리구와 유사한 활성을 나타내었다. 본 연구결과는 울릉미역취 어린잎의 항산화 연구결과¹⁷⁾와 유사한 킬레이팅 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 울릉미역취는 지상부에 존재하는 폴리페놀계의 chlorogenic acid의 물질이 금속 이온 봉쇄 효과를 가지는 것으로 사료되지만 향후 물질분리와 같은 자세한 연구가 필요할 것으로 여겨진다.

Hydroxyl 라디칼(\cdot OH)은 활성산소 중 반응성이 매우 강하여 생체 산화에 중요한 역할을 하며, DNA의 핵산과 결합하면 손상을 일으켜 돌연변이, 세포독성 및 발암성을 유발하게 된

다⁴⁰⁾. 울릉미역취 추출물의 hydroxyl 라디칼 소거활성은 농도 의존적으로 유의하게 증가함을 보였으나, 울릉미역취 추출물은 대조구 보다는 다소 낮은 활성을 보였다. Park 등⁴¹⁾은 마치현 에탄올 추출물 20~500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 hydroxyl 라디칼 소거활성이 2.44~38.74%로 나타낸 결과와 비교해 보면 울릉미역취 추출물에서 16.62~44.59%로 보다 높은 활성을 확인할 수 있었다. Hydroxyl 라디칼 소거활성은 페놀성 화합물 함량과 정의 상관관계가 있다고 보고⁴²⁾된 바 있는데, 울릉미역취 추출물에 함유되어 있는 페놀성 화합물로 인해 hydroxyl 라디칼 소거활성을 높인 것으로 보여진다.

울릉미역취 추출물의 아질산염 소거활성은 pH 1.2 > pH 3.0 > pH 6.0의 순으로 농도 의존적으로 증가하였다. 또한 울릉미역취 추출물 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 pH와 상관없이 모두 대조구 BHT와 거의 유사한 아질산염 소거활성을 나타내었다. Yoon 등⁴³⁾의 연구에서 이팝나무 과육추출물은 pH 1.2의 경우 1 mg/mL 농도에서 59.32~66.16%의 소거활성의 연구결과와 비교해 볼 때, 울릉미역취 추출물 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 83% 이상의 높은 아질산염 소거활성을 확인할 수 있었다. Kytopoulos⁴⁴⁾는 pH에 매우 의존적이며 pH가 높을수록 아질산염 소거능이 감소된다고 하였고, Kim 등⁴⁵⁾은 아질산염은 낮은 pH에서 아민류와 반응하여 니트로화 반응을 통해 쉽게 니트로사민을 형성하고, 인체의 위에서와 같이 산성 영역에서 발생하여 암을 유발하는 것으로 보고하였다. 본 연구결과에서 울릉미역취 추출물은 pH가 높을수록 낮은 아질산염 소거활성을 보였고, pH 1.2에서 인체의 위에서 아질산염의 분해활성으로 니트로사민의 생성을 효과적으로 억제시킨 것으로 판단된다.

이상의 결과를 미루어 볼 때 울릉미역취 지상부 10% 에탄올 추출물에 다량의 chlorogenic acid가 함유되어 있으며, 우수한 항산화 활성이 있음을 확인하였다. 따라서 본 연구 결과는 천연항산화제 연구의 기초 자료로 활용되기를 기대하며, 후속 연구로 울릉미역취의 채취시기, 재배산지, 식용작물의 기원, 부위, 추출용매 및 방법 등에 따른 chlorogenic acid 함량의 변화 및 항산화 활성과의 상관관계에 대한 추가적인 연구가 뒷받침 되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 경상북도 울릉도에서 재배되는 울릉미역취 성숙된 지상부(잎, 줄기 혼합)를 사용하여 주요 성분인 chlorogenic acid의 함량을 조사하고, 항산화 활성을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 울릉미역취 추출용매 농도 조건 설정으로 주요 성분인 chlorogenic acid를 분석한 결과, 10% 에탄올 추출물에서 chlorogenic acid 함량이 가장 높게 나타났다.
2. 울릉미역취 추출물의 총 폴리페놀 함량은 126.16 mg/g로, 총 플라보노이드 함량은 105.84 mg/g로 나타났다.
2. 울릉미역취 추출물의 DPPH, ABTS 및 hydroxyl 라디칼 소거 활성은 농도 의존적으로 유의하게 증가하였고, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 합성항산화제인 ascorbic acid와 유사

한 활성을 보였다.

3. 울릉미역취 추출물의 Fe^{2+} 킬레이팅 활성은 농도 의존적으로 유의하게 증가하였지만, 대조구인 deferoxamine에 비해 다소 낮은 활성을 나타내었다.
4. 울릉미역취 추출물의 아질산염 소거활성은 pH 1.2 > pH 3.0 > pH 6.0 순서로 농도 의존적으로 증가하였고, 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 pH 1.2 및 pH 3.0에서 대조구인 BHT와 유사한 소거 활성을 나타내었다.

이상의 결과에서 울릉미역취 지상부의 10% 에탄올 추출물에서 chlorogenic acid 함량이 높았으며, 항산화 활성도 뛰어난 것을 확인하였다. 따라서 울릉미역취는 천연 항산화 소재 또는 항산화 관련 기능성 생리활성 물질로 활용될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2018년도 중부대학교 학술연구비 지원에 의하여 이루어진 것임.

References

1. Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Back NI. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *Appl Biol Chem*. 2004 ; 47 : 135-40.
2. Shin YS, Lee JE, Yeon IK, Do HW, Cheung JD, Kang CK, Choi SY, Youn SJ, Cho JG, and Kwoen DJ. Antioxidant and antimicrobial effect with water and ethanol of oriental melon (*Cucumis melo* L. vrmakuwa Makino). *Appl Biol Chem*. 2008 ; 51 : 194-9.
3. Williams GM, Iatropoulos MJ, Whysner J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food Chem Toxicol*. 1999 ; 37 : 1027-38.
4. Kim KH, Kim NY, Kim SH, Han IA, Yook HS. Study on Antioxidant Effects of Fractional Extracts from *Ligularia stenocephala* Leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012 ; 41 : 1220-5.
5. Lee CB. *Iiustrated Flora of Korea*. Seoul : Hyangmoonsa. 1979 : 735.
6. Kim TJ. *Wilds Flowers and Resources Plants in Korea*. Seoul : Seoul National University Publisher. 2009 : 30.
7. Park JH, Lee JW, Kim HJ, Lee IS. Effects of *Solidago virga-aurea* var. *gigantea* Miq. root extracts on the activity and differentiation of MC3T3-E1 osteoblastic cell. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2006 ; 34 : 929-36.

8. Kim TJ. Flower growing in the wild flower of Korean. Seoul : Kunkil media, 1997 : 38.
9. Ulleung-gun agriculture technology center, [http : //www.ula.go.kr/new/](http://www.ula.go.kr/new/)
10. Goheung agriculture technology & extension center, [http : //farm.goheung.go.kr/farm/](http://farm.goheung.go.kr/farm/)
11. Lee JW, Park JH, Lee HJ, Lee IS. The Effects of *Solidago virga-aurea* var. *gigantea* Miq. Root Extract on Bone Metabolism in Growth Period Rats, *Journal of life science*, 2005 ; 15 : 236-41.
12. Choi HS. Analysis of Essential Oil Composition of *Solidago virga-aurea* var. *asiatica* Nakai with Different Extraction Methods, *Korean J. Food Nutr.* 2016 : 29 ; 153-61.
13. Choi MG, Chung HS, Moon KD. Chemical components of *Solidago virgaurea* spp. *gigantea*, *Aster glehni* var. *hondoensis* and *Aruncus dioicus* var. *kamtsc-haticus* grown on Ulleung Island, Korea. *Kor. J. Food Preserv.* 2008 ; 15 : 576-81.
14. Kim HS. Studies on the antimicrobial and antioxidant activity of *Solidago vitga-aurea* Linne var. *asiatica* Nakai, Pusan National Universtity, 1996 : 24-5.
15. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and actioxidant activities of metanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Kor. J. Food Sci. Thechnol.* 2005 ; 37 : 233-40.
16. Bae HB, Kim JC, Lee JT. Cosmeceutical effect from native medicinal plants of blue belt Ulleung islands, *Kor. J. Herbology.* 2011 ; 26 : 67-73.
17. Woo JH, Shin SL, Jeong HS, Lee CH. Influence of Applied Pressure and Heat Treatment on Antioxidant Activities of Young Leaves from *Achillea alpina* and *Solidago virgaurea* subsp. *gigantea*, *Korean J. Plant Res.* 2010 ; 23 : 123-30.
18. Hülya Demir, Leyla Ac i k, E. Burcu Bali, L. Yasemin Koç, Gönül Kaynak. Antioxidant and antimicrobial activities of *Solidago virgaurea* extracts, *Afr. J. Biotechnol.* 2009 ; 8 : 274-9.
19. Choi HN, Kang SJ, Choe EO, Chung LN, Kim JI. Antioxidant effects of Sanchae-namul in mice fed high-fat and hig-sucrose diet, *Korean J. Food Cook Sci.* 2014. 30 : 369-77.
20. Folin O, Denis W. A colorimetric method for determination of phenols(phenol cerivatives) in urine. *J. Biol. Chem.* 1915 ; 22 : 305-8.
21. Zhishen J, Mengcheng T, Jianmaing W. The determination of Flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chem.* 1999 ; 64 : 555-9.
22. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958 ; 181 : 1199-200.
23. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med.* 1999 ; 26 : 1231-7.
24. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry.* 1989 ; 28 : 1057-60.
25. Hus B, Coupár IM, NG K. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene the baica*. *Food Chem.* 2006 ; 98 : 317-28.
26. Gray JI, Dugan JR. Inhibition of n-nitros-amine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 1975 ; 40 : 981-4.
27. Kang WS, Park EJ, Yoon KR. Antioxidant property of turmeric (*Curcumae rhizoma*) ethanol extract, *Korean J Food Sci Technol.* 1998 ; 30 : 266-71.
28. Rim YS, Park YM, Park MS, Kim KY, Kim MJ, Choi YH. Screening of antioxidants and antimicrobial activity in native plants. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 2000 ; 8 : 342-50.
29. Shin YJ. Antioxidant and anti-inflammatory effects of fractions from Dandelion (*Taraxacum officinale*) leaf and root, Seoul National University, 2007.
30. Hwang JY, Lee HS, Han JS. Protective effect of *Sasa borealis* leaf extract on AAPH-induced oxidative stress in LLC-PK1 cells. *J Food Sce Nutr.* 2011 ; 16 : 12-7.
31. Warnholtz A, Münzel T. Why do antioxidants fail to provide clinical benefit? *Curr Control Trials Cardiovasc Med.* 2000 ; 1 : 38-40.
32. Mitscher LA, Park YH, Clark D, Beal JL. Anti-microbial agents from higher plants, antimicrobial isoflavonoids and related substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var. *typica*, *J Nat Prod.* 1980 ; 43 : 259-327.
33. Jeong SJ, Lee JH, Song NH, Seong SN, Lee SE, Baeg NI. Natural products, organic chemistry: Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts, *J Kor Soc App Biol Chem.* 2004 ; 27 : 135-40.
34. Frank J, Kamal-Eldin A, Razdan a, Lundh T, Vessby B. The dietary hydroxycinnamate caffeic acid and its conjugate chlorogenic acid increase vitamin E and cholesterol concentrations in Sprague-Dawley rat. *J Afric Food chem.* 2003 ; 51 : 2526-31.
35. Park SH, Han SB, Kim YS. Physiological Activity of Polyphenol and Chlorogenic Acid, *J Biomed Res.* 2011 ; 12 : 61-9.
36. Hertog MGL, Hollman PCH, Venema DP. Optimi-

- zation of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J Agric Food Chem*, 1992 ; 40 : 1591–8.
37. Véronique del Marmol, Friedrich Beermann. Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation. *FEBS Lett*, 1996 ; 381 : 165–8.
 38. Kwon YR, Youn KS. Antioxidant and physiological activities of *Hijikia fusiforme* by extraction methods. *Korean J Food Preserv*, 2017 ; 24 : 631–7.
 39. Gulcin I, Berashvili D, Gepdiremen A. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *J. Ethnopharmacol*, 2005 ; 101 : 287–93.
 40. Chung SK. Hydroxy radical scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard. *Biosci Biotech Biochem*, 1997 ; 61 : 118–23.
 41. Park SR, Han JW, Kang JY, Kil KJ, Yoo JH. Antioxidant activities of hot Water and ethanol extracts from portulacae herba. *Kor. J. Herbol*, 2017 ; 32 : 39–46.
 42. Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Anti-oxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem*, 1998 ; 46 : 4113–7.
 43. Choi HS, Lee YS, Seo SJ, Kim NW. Antioxidant and anti-aging activities of water extracts from *Chionanthus retusus* flesh according to different extraction temperatures. *Korean J. Food Preserv*, 2017 ; 24 : 1129–37.
 44. Kytopoulos SA. Ascorbic acid and the formation of N-nitroso compounds: possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am J Clin Nutr*, 1987 ; 45 : 1344–50.
 45. Kim SB, Lee DH, Yeom DM, Park JW, Do JR, Park YH. Nitrite Scavenging Effect of Maillard Reaction Products Derived from Glucose–Amino Acids. *Korean J. Food Sci Technol*, 1988 ; 20 : 453–8.