

곰취차로부터 라디칼 소거능을 갖는 Caffeoylquinic Acid류 화합물의 추출조건

김상민 · 강석우 · 엄병헌[†]

한국과학기술연구원 강릉분원 천연물연구센터

Extraction Conditions of Radical Scavenging Caffeoylquinic Acids from Gomchui (*Ligularia fischeri*) Tea

Sang-Min Kim, Suk-Woo Kang, and Byung-Hun Um[†]

Natural Product Research Center, KIST Gangneung Institute, Gangwon 210-340, Korea

Abstract

After Gomchui tea was prepared from leaves of *Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcz by blanching method, the antioxidant activity of major compounds in Gomchui tea was assessed. On-line HPLC-ABTS analysis revealed that caffeoylquinic acids (chlorogenic acids), such as 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQA), 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,4-DCQA), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,5-DCQA) and 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (4,5-DCQA), were the major antioxidant compounds in Gomchui tea. The extraction efficiency of these compounds were examined in the various conditions such as extraction temperature, time and solvent. The results demonstrated that the extraction amount with water increased in proportion to extraction time (1~10 min) and temperature (8~80°C). These active compounds were also extracted with water even at 8°C (60% of 80°C), indicating that water is very good extraction solvent for extraction of these antioxidant constituents. However, the extraction efficiency of these compounds decreased when ethanol percentage in water increased. The extraction efficiency between Gomchui powder (no blanching) and tea was significantly different, and 60% of total antioxidant compounds in tea was removed from fresh leaves into water in blanching process, especially 3,5-DCQA (over 90%). Meanwhile, the sonication method didn't affect the extraction of these compounds in all solvents. These results suggest that Gomchui tea can be a good candidate for the tea beneficial to human health.

Key words: antioxidant compounds, caffeoylquinic acids, *Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcz., tea

서 론

곰취는 국화과(compositae)의 여러해살이식물로서 대한민국의 각지 및 일본, 중국, 동부 시베리아 등지에서 자생한다. 우리나라에서는 주로 전국의 깊은 산 고원지대에서 자생하고 있으며 최근에는 강원도 지역 위주로 인공재배가 이루어지고 있다. 곰취는 어린잎이 식용으로 사용되어 나물 무침이나 쌈, 혹은 녹즙의 형태로 광범위하게 섭취되고 있다. 곰취는 각종 비타민과 미네랄을 함유하고 있어서, 다른 채소류에 비해 비교적 높은 영양소 함량을 보인다(1). 약리학적 측면에서 살펴보면 곰취는 예로부터 기침, 가래, 다리 아픔, 요통, 두통, 백일해, 천식에 효험을 나타내며, 혈액순환을 활발하게 한다고 알려져 있다. 민간에서는 황달, 고혈압, 간장병에 사용했으며, 다치고 헌데에 균이 들어간 전염성피부(단독)병과 고름집에 잎을 찢어 붙이곤 했다. 중국에서는 곰취의 뿌리와 근경을 호로칠이라 불렀으며, 타박상, 요통, 진해, 거담 및 각혈 등의 치료에 이용하기도 한다(2).

현재까지 곰취에 관한 대부분의 연구는 추출물을 활용한

생리활성 및 효과에 치우쳐 있다. Bae 등(2)과 Ham 등(3)은 곰취 추출물의 암세포에 대한 증식억제효과에 대해 확인하였고, 항돌연변이성 및 유전독성억제 효과 등을 규명하였다. Na 등(4)은 곰취 추출물로부터 항산화, 지질과산화 억제 및 자외선 조사에 의해 유도된 MMP-1 발현에 대한 영향을 사람 섬유아세포를 이용하여 확인하였다. 특히 항산화 효과와 관련하여서는 다양한 방법을 통하여 곰취 추출물의 항산화 효과가 입증되었고, 이를 통하여 곰취에는 다량의 항산화 성분이 포함되어 있음을 유추할 수 있다(5-10).

이러한 곰취 추출물의 다양한 효능에도 불구하고 아직까지 곰취의 화학적 성분의 분석은 많이 이루어져 있지 않다. 지금까지 곰취에서는 terpene 계열의 화합물들이 주로 분리되었다. 곰취 잎으로부터는 Park 등(11)과 Hwang 등(12)이 eremophilanolid, intermedeol 등의 sesquiterpene을 분리, 보고하였으며, Lee 등(13)도 세 종류의 terpenoid(Spiciformisins a, b, monocyclosqualene)를 분리하였고, 이 화합물들에 대한 세포 독성을 확인하였다. 곰취 뿌리에서는 Zhang 등(14)에 의해 4개의 새로운 구조의 norsesquiterpene이 분

[†]Corresponding author. E-mail: albertum@kist.re.kr
Phone: 82-33-650-7201, Fax: 82-33-650-7299

리되었다. 페놀 성분의 화합물로는 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid(3,4-DCQA)가 곰취 잎으로부터 분리되었고, 간 지질과 산화를 억제한다고 보고되었다(15).

본 연구에서는 산채류 중에서 일반적으로 널리 이용되고 있을 뿐만 아니라 재배 농가가 늘어가고 있는 곰취에 대해서 곰취의 활용 가치를 좀 더 확장하고, 곰취의 소비를 증대시키기 위한 일환으로서, 곰취 잎을 활용하여 블렌칭 과정을 거쳐 곰취차를 제조하였다. 또한 온라인 항산화 장치를 통하여 곰취차의 항산화 활성과 항산화 성분을 규명하였다. 뿐만 아니라 추출 온도, 용매, 시간 등에 따른 곰취차로부터 각 항산화 성분의 추출율을 조사하여 곰취 잎이 차로서 사용되기 위한 기초 자료로 활용될 수 있도록 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 연구에 사용된 곰취(*Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcz.)는 2009년 7월에 강원도 강릉시에서 채취하여 맑은 물로 세척하여 곰취차 제조를 위한 시료로 사용하였다. 곰취차에 사용된 재료는 곰취 생체를 100°C 물에서 20초간 데치는 블렌칭(blanching) 과정을 거친 후 3~5 cm 크기로 절단하고 그늘에서 수분함량이 12~15% 될 때까지 건조시킨 후 분쇄기를 이용하여 분쇄하였다. 본 연구에서는 생시료를 세척 후 바로 그늘에서 말린 후 분쇄한 곰취분말과 블렌칭 과정을 거친 후 분쇄한 곰취차를 구별하여 사용하였다. 실험시 사용된 ABTS(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 시약과 5-CQA는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 모든 DCQA 화합물은 본 연구실에서 곰취잎으로부터 분리정제 한 것을 사용하였다. 추출용매인 에탄올과 HPLC용매인 acetonitrile는 Fisher Scientific사(Montreal, Quebec, Canada)의 것을 구입하여 사용하였다.

ABTS 라디칼 소거능 검사

곰취차 시료 1 g을 100% 에탄올 10 mL를 사용하여 상온에서 한 시간 동안 추출한 다음 감압여과 후 온라인 HPLC-ABTS 분석 장치를 사용하여 추출 용액으로부터 ABTS 라디칼 소거능을 가진 화합물을 탐색하였다. 분석 방법은 Kim 등(16)에 의해 사용된 방법을 사용하였다. 온라인 HPLC-ABTS 분석에는 Agilent 1200 HPLC system(Agilent 1200 series, Agilent, Palo Alto, CA, USA)이 사용되었다. 구체적

인 방법은 Table 1에 기술하였다. ABTS 라디칼은 3.5 mM potassium sulfate가 포함된 2 mM ABTS stock solution을 만든 후 30배 희석 후 상온, 암소에서 12시간 동안 보관 반응 시켜서 안정화된 라디칼을 사용하였다.

곰취차의 항산화 성분 추출을 분석

추출을 분석에는 곰취차 시료 0.2 g을 10 mL의 추출용매로 추출하였다. 추출 온도는 가정에서 일반적으로 사용되는 정수기의 온도를 기준으로 찬 온도(8°C), 상온(23°C), 뜨거운 온도(80°C)를 사용되었다. 추출시간은 1분, 5분, 10분으로 정하였고, 추출용매로는 물, 50% 에탄올, 100% 에탄올을 사용하였다. 또한 조음과 추출은 상온, 5분의 추출 조건에서 수행되었다. 추출액은 바로 0.45 µm filter로 여과한 후 HPLC 분석에 사용되었다. 모든 실험은 3번 반복하여 평균값을 사용하였다.

HPLC 분석 및 정량

HPLC 분석에는 Agilent 1200 HPLC system과 Prevail C₁₈ 역상 칼럼이 사용되었다. 용매 및 이동상은 앞에서 언급한 조건과 동일하게 사용되었다. 정량을 위한 검량선을 작성하기 위해서 5-CQA와 모든 DCQA 화합물에 대해서 0.25~2 µg 범위에서 5개 농도의 표준용액을 만들었고, HPLC를 통하여 분석된 후 피크 면적을 기준으로 검량선을 작성하여 산출하였다.

결과 및 고찰

온라인 항산화 장치를 통한 항산화 성분 검색

항산화물질은 체내에서 생성되는 유리 라디칼을 중화시켜, 체세포의 파괴를 방지하는 역할을 하는 물질로서, 노화 방지 물질로 새로이 각광을 받고 있다(17). 항산화물질은 동·식물체 및 미생물에 이르기까지 자연계에 널리 분포되어 있고, 그 구조 또한 매우 다양하다. 화합물들의 항산화능 측정에는 화합물 수준, 유전자 수준, 단백질 수준에서 다양한 방법이 사용되고 있지만, 가장 손쉽게 활용되고 있는 항산화능 측정 방법에는 인위적으로 안정화된 라디칼을 제작하고 그 라디칼을 소거시키는 능력을 UV를 통해 측정하는 ABTS 라디칼 소거 활성이나 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거 활성을 측정하는 방법이 있다(18). 그 원리를 간단히 살펴보면, 항산화물질을 포함하는 시료를 인위적으로 만든 ABTS 라디칼 용액이나 DPPH 라디칼 용

Table 1. The operating conditions of on-line HPLC-ABTS system

Items	Conditions
Column	Prevail C ₁₈ (250×4.6 mm, 5 µ particle size)
Mobile phase	Acetonitrile (A) and 0.1% TFA (trifluoroacetic acid) (B)
Flow rate	1 mL/min for solvent, 0.5 mL/min ABTS radical solution
Gradient condition	0~3 min: 15% A, 3~28 min: 15~40% A, 28~33 min: 40~90% A, 33~35 min: 90% A
Detection	280, 330 nm for compounds, 734 nm for ABTS radical
Temperature	40°C for column and reaction coil

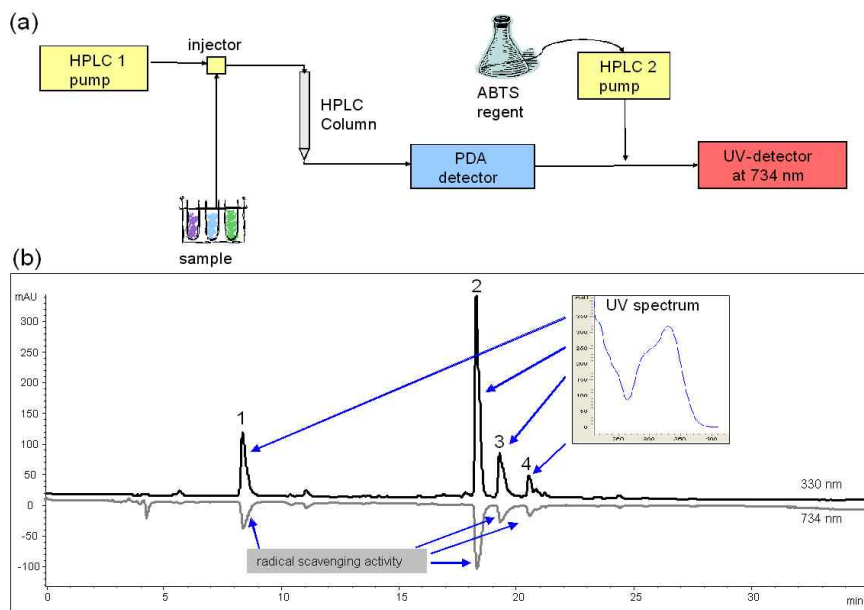
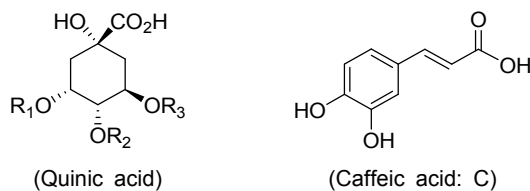


Fig. 1. Schematic diagram of on-line HPLC-ABTS analysis system (a) and HPLC chromatogram of Gomchui tea extract solution (b).

액과 반응시켜, 분석시약의 색깔 변화를 통해 육안이나 분광광도계(spectrophotometer)를 통해 라디칼의 감소량을 이용하여 항산화능을 측정한다. 하지만 종래의 이와 같은 방법은 시료를 먼저 HPLC나 기존의 여러 크로마토그래피 방법을 통하여 분리한 후 각각의 항산화도를 개별적으로 측정해야 하는 번거로움이 있었다. 온라인 항산화 장치는 이러한 불편을 해결하기 위하여 화합물의 분리와 동시에 각 화합물의 라디칼 소거능을 측정할 수 있는 장치이다(19). 온라인 항산화 장치에서는 화합물 분리에 가장 일반적으로 사용되어지는 HPLC를 두 대 사용하여 HPLC-1을 통하여 화합물을 분리한 후에 HPLC-2를 통하여 라디칼 용액을 공급시켜 분리된 화합물과 반응시킨 후 라디칼의 감소량을 측정한다(Fig. 1a). 여기서, 라디칼이 항산화물질로부터 전자를 받아서 라디칼이 소멸되는데 걸리는 반응시간이 필요하게 되는데, ABTS의 경우는 대부분의 물질이 10초 이내에 반응이 완료되는 반면에, DPPH의 경우는 30분이 지나도 반응이 완료되지 않는 항산화 물질들이 많다. 따라서 본 온라인 항산화 장치에서는 ABTS 라디칼을 반응시약으로 사용하였고, HPLC-1에서 나온 항산화 물질과 HPLC-2에서 나온 ABTS 라디칼의 반응이 충분히 일어날 수 있도록, 반응코일을 만들어 주었다.

본 실험에서는 곰취차 에탄올 추출용액으로부터 온라인 항산화 장치를 통하여 ABTS 라디칼 소거능을 가지는 화합물을 탐색하였다. Fig. 1b에서 보는 것처럼 곰취 추출물에서는 라디칼 소거능을 가지는 여러 개의 화합물이 보였다. 이 중 항산화능이 가장 큰 4개의 화합물(peak 1~4)에 대해서 UV 스펙트럼을 살펴 본 결과, 이들 화합물은 모두 210, 245, 330 nm에서 λ_{max} 값을 가지는 caffeoylquinic acid류의 화합물이 보이는 특이적인 패턴을 보였다. 본 그룹에서는 곰취

추출물로부터 NMR을 통하여 주요 화합물이 5-O-caffeoylquinic acid(5-CQA), 3,4-di-O-caffeoylquinic acid(3,4-DCQA), 3,5-di-O-caffeoylquinic acid(3,5-DCQA), 4,5-di-O-caffeoylquinic acid(4,5-DCQA)임을 보인 바 있으며(unpublished), 온라인 항산화 장치를 통한 분석 결과 항산화능을 보이는 화합물은 이들 주요 화합물과 일치하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1b). 따라서 이들 caffeoylquinic acid류의 화합물이 곰취의 주요 항산화 성분인 것을 확인할 수 있었다. Fig. 2에 각 화합물의 구조를 표시하였다. Caffeoylquinic acid류의 화합물은 커피, 녹차를 비롯한 다양한 녹색식물에서 자주 발견되는 cinnamates로서 지금까지 많은 생리활성이 알려져 있다(20). 커피의 경우 다량의 caffeoylquinic acid 유도체들이 존재하는데, 커피의 혈당 저하, 콜레스테롤 저하 등의 효과가 이들 성분에 의한 것이라는 많은 보고가



Name and abbreviation	R ¹	R ²	R ³
5-O-caffeoylquinic acid (5-CQA)	H	H	C
3,4-di-O-caffeoylquinic acid (3,4-DCQA)	C	C	H
3,5-di-O-caffeoylquinic acid (3,5-DCQA)	C	H	C
4,5-di-O-caffeoylquinic acid (4,5-DCQA)	H	C	C

Fig. 2. Chemical structures of each peak in Fig. 1. Peak 1, 5-O-caffeoylquinic acid (5-CQA); Peak 2, 3,4-di-O-caffeoylquinic acid (3,4-DCQA); Peak 3, 3,5-di-O-caffeoylquinic acid (3,5-DCQA); Peak 4, 4,5-di-O-caffeoylquinic acid (4,5-DCQA).

있다(21,22). 서론에서 이미 살펴 본 바와 같이 지금까지 알려진 곱취 추출물의 주요 효과는 항산화능이었다. 하지만 지금까지는 주로 terpene류의 화합물만이 곱취로부터 보고되었고, caffeoylquinic acid류의 화합물로는 3,4-DCQA만이 곱취에서 분리가 되었다고 보고되어 있다(11-15). 하지만 본 연구를 통하여, 곱취와 곱취차의 항산화 효과는 한 종의 CQA 화합물과 3종의 DCQA 화합물에 의한 것임을 알 수 있었다. 이러한 항산화 성분들은 커피, 녹차의 폴리페놀성분으로 알려져 있는데, 곱취는 이러한 caffeoylquinic acid류의 항산화 성분들을 다량 포함하고 있기에, 많은 생리활성을 기대할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 곱취에는 카페인류의 알칼로이드 성분은 들어있지 않으므로 카페인으로 인한 걱정 없이, 폴리페놀의 유익성을 취할 수 있으리라 기대된다.

곱취차로부터 항산화 성분의 추출을 조사

곱취로부터 확인된 네 가지 항산화 성분에 대해서 다양한 조건에서 곱취차로부터 추출율을 조사하였다. 추출시간은 일반적으로 차를 마실 때 차를 우려내는 시간인 10분 이내로 정하였다. 추출 용매로는 물과 50% 에탄올, 100% 에탄올을 사용하였고, 추출 온도는 가정용 정수기에서 일반적으로 사용하는 물의 온도인 8°C, 23°C, 80°C를 사용하였다. 또한 곱취차와 비교군으로 곱취분말에 대해서도 추출율을 비교하였다. 마지막으로 초음파 추출 방법을 일반 추출 방법과 비교 분석하였다.

Fig. 3은 우리가 일반적으로 차를 이용하는 조건으로 추출 용매가 물인 경우 각 온도별 유효성분의 추출율을 나타내었

다. 네 가지의 유효 성분 중 가장 많이 추출되는 성분은 3,4-DCQA이었고, 5-CQA, 3,5-DCQA, 4,5-DCQA가 그 뒤를 이었다. 모든 온도 조건에서 10분 동안의 추출시간 동안 총 추출량은 계속 증가하였지만, 1분 추출에서도 10분 추출량의 50% 이상이 추출되었다. 이는 물의 온도가 높을수록 더욱 뚜렷하였는데, 80°C에서 1분 동안 총 추출량은 10분 동안 추출량의 76%나 되었다. 8°C와 80°C의 10분 동안 추출량은 80°C에서 244 µg/mL이었고, 8°C에서 141 µg/mL이었는데, 차가운 물을 추출용매로 사용한 경우에도 80°C의 약 60% 정도가 추출되는 것을 알 수 있었다. 차로서 이용되기 위해서는 유효성분이 잘 우리나라야 하는데, 곱취차는 유효성분이 매우 빨리 우리나라오고, 또한 찬물에서도 잘 우리나라오기 때문에 차로서 매우 좋은 조건을 갖추었음을 알 수 있었다.

Fig. 4는 23°C에서 곱취차를 물과 50% 에탄올, 100% 에탄올로 사용하여 추출하였을 때 추출수율을 나타낸 결과이다. 10분 동안 물과 50% 에탄올에서 총 추출량은 거의 비슷하였으나 1분에서의 추출량은 물에서는 116 µg/mL인데 반해 50% 에탄올에서는 72 µg/mL로서 물을 추출용매로 사용하였을 때가 유효성분이 빠르게 우리나라오는 것을 알 수 있었다. 또한, 100% 에탄올에서는 추출율이 현저하게 감소되는 것을 관찰하였는데, 10분 동안의 총 추출량이 11 µg/mL로서 물에서의 총 추출량의 6%정도 밖에 추출되지 않았다. 이는 곱취차의 추출에는 에탄올보다는 물이 훨씬 효과적이라는 것을 보여주고 있다. 특이적인 것은 100% 에탄올을 사용하였을 경우에는 4가지의 유효 성분 중에 가장 많이 추출되는

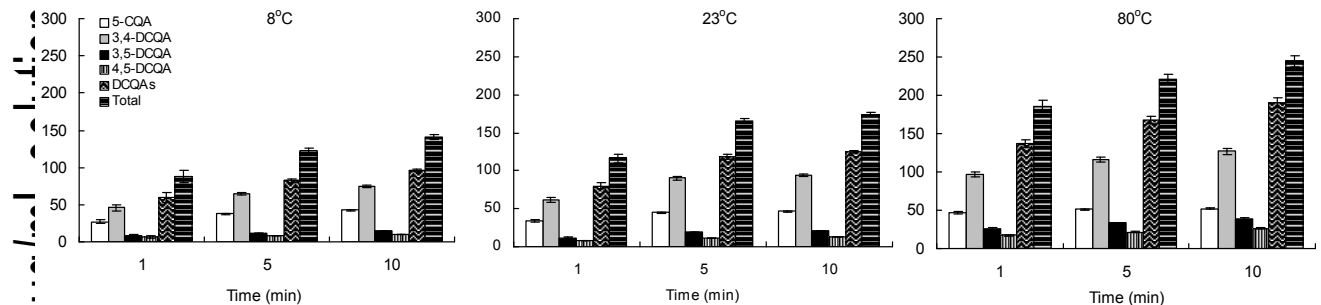


Fig. 3. Effect of time and temperature in the extraction of antioxidant compounds from Gomchui tea. Gomchui tea was extracted with water. Total means the sum of all antioxidant compounds.

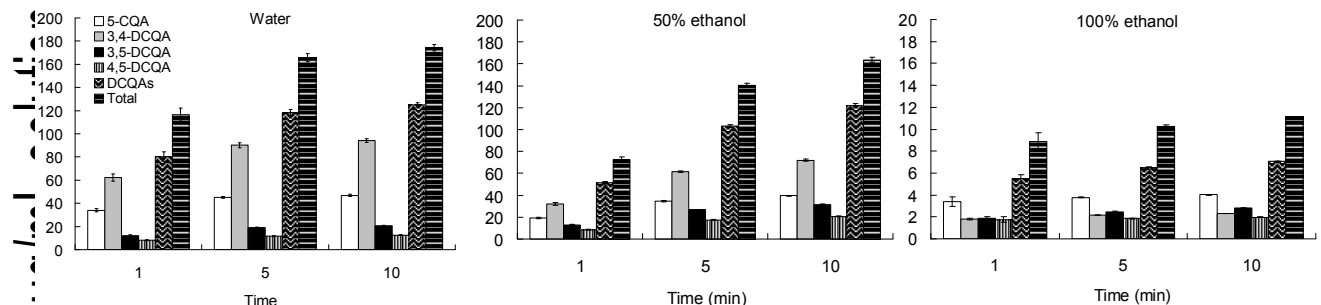


Fig. 4. Effect of time and solvent in the extraction of antioxidant compounds from Gomchui tea. Gomchui tea was extracted with different solvents at 23°C. Total means the sum of all antioxidant compounds.

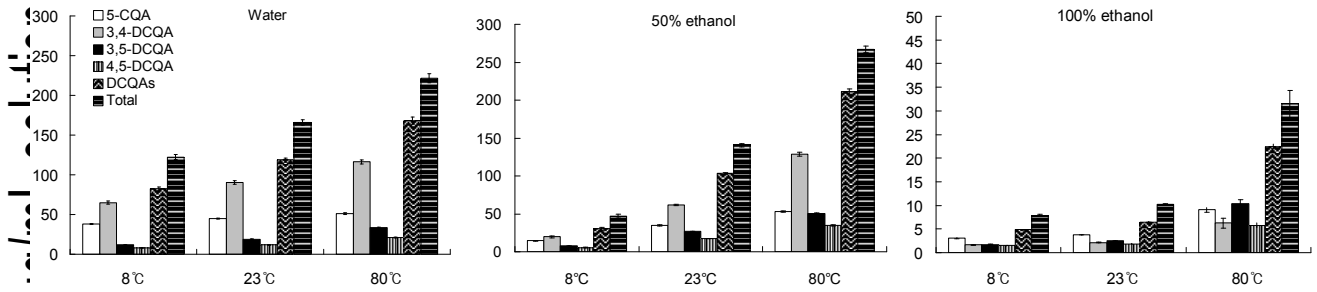


Fig. 5. Effect of solvent and temperature in the extraction of antioxidant compounds from Gomchui tea. Gomchui tea was extracted with different temperatures and solvents for 5 min. Total means the sum of all antioxidant compounds.

성분이 5-CQA이었고, 그 다음으로 3,5-DCQA, 3,4-DCQA, 4,5-DCQA 순서이었다. 50% 에탄올이나 물에서의 추출에서는 3,4-DCQA가 가장 많이 추출되는 성분인데 반해 100% 에탄올에서는 5-CQA가 가장 많이 추출되었다는 사실은 추출 용매로서의 물이 각 성분의 추출 비율을 결정하는데 중요한 영향을 줄 수 있다는 것을 추측할 수 있었다.

각 용매 조건에서 온도를 달리 하였을 경우에는 50% 에탄올의 경우가 가장 큰 변화폭을 보였다(Fig. 5). 물에서는 1분 동안 추출량이 10분 동안 추출량의 54%에 해당하였지만, 100% 에탄올의 경우는 1분 동안 추출량이 10분 동안 추출량의 25%, 50% 에탄올의 경우에는 17%에 해당하였다. 5분의 추출시간 동안 상온에서는 물이 가장 좋은 추출율을 보여주었지만, 뜨거운 물의 경우에는 50% 에탄올이 물보다 약간 더 좋은 추출율을 보여주었다.

지금까지 많은 그룹에서 차로부터 유용성분의 추출율에 관한 연구를 수행하였다(23,24). 대부분의 연구는 차의 음용 조건에 맞추기 위해서 주로 60°C 이상의 물과 용매는 끓은 점의 온도가 사용되었다. Turkmen 등(24)에 의한 결과에 의하면 홍차와 마테차로부터 폴리페놀의 추출율은 에탄올의 함량이 증가함에 따라 감소하였고, 특히 100% 에탄올의 경우 추출율이 2.1~5.9 mg/g(dry base, DB) 이하로 50% 에탄올의 추출율[74~121 mg/g(DB)]에 비해서 현저하게 떨어지는 것을 관찰할 수 있었다. 하지만 물과 50% 에탄올의 추출율을 비교하였을 경우, 홍차와 마테차 모두 50% 에탄올의 추출율이 물로만 추출할 경우[30~65 mg/g(DB)]보다 좋았다. 이는 곰취차와 비슷한 결과로 곰취차에서도 낮은 온도

(8, 23°C)에서 추출하였을 때는 물에서 추출율이 우수하였지만 80°C에서 추출할 경우 50% 에탄올에서 더 추출율이 높았다. 이러한 현상은 추출 용매로 에탄올뿐만 아니라 아세톤, 메탄올 등을 사용하여도 비슷한 결과가 얻어지는데(23), 이는 차의 추출에 있어 온도와 물의 함량이 매우 중요함을 알 수 있게 해준다.

본 연구에서 곰취잎으로부터 곰취차를 만들기 위해서 블렌칭 과정을 거쳤다. 일반적으로 블렌칭을 하는 목적은 생체 중의 산화 효소를 파괴시켜 가공조작 중에 변질을 방지하며, 이물질이나 떫은맛을 제거하여 품질을 높이기 위해서이다. 블렌칭 과정 전후에 곰취차의 유효성분의 추출이 어떻게 달라지는지 조사하기 위하여 각 용매별로 곰취차와 블렌칭 과정을 거치지 않고 바로 건조하여 분쇄한 곰취분말을 대상으로 추출율을 비교 분석한 결과가 Fig. 6과 같다. 23°C에서 5분간 각 용매별로 추출한 결과 가장 눈에 띄는 차이는 곰취분말에 비해 곰취차의 유효성분 추출량이 현저하게 감소한다는 점이다. 물로 추출하였을 경우 곰취분말의 경우 403 µg/mL이었던 총 추출량이 곰취차로 만들어졌을 경우에 165 µg/mL로 약 60% 정도가 감소하였다. 이는 곰취의 경우 유효성분의 추출율이 매우 뛰어나기 때문에 블렌칭 과정을 거치는 동안 유효성분이 물로 우러나오기 때문일 것으로 보인다. 물이 추출용매일 경우에 곰취분말에서는 3,5-DCQA의 추출량이 219 µg/mL이었으나 곰취차에서는 18 µg/mL로 감소하여 가장 많은 감소폭을 보였다. 반면, 3,4-DCQA의 경우는 거의 변화를 보이지 않았다. 이 결과를 보면 블렌칭 과정을 하는 동안 이들 네 가지 항산화 성분 중 특이하게 3,5-

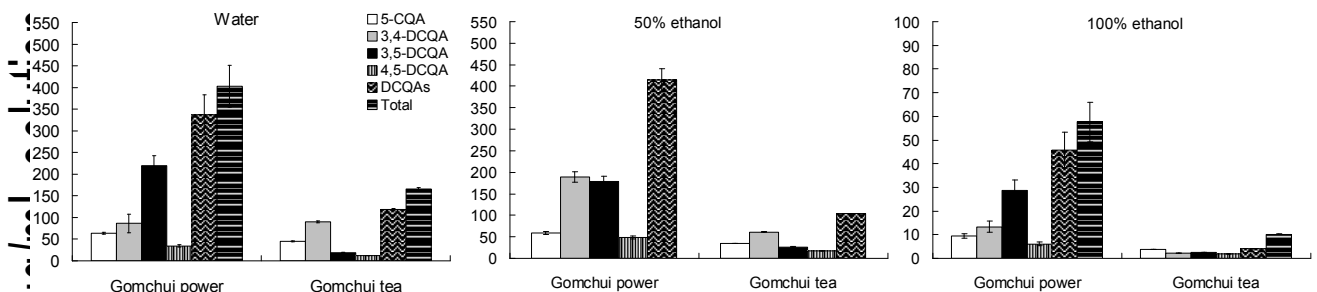


Fig. 6. Comparison of contents of antioxidant compounds from Gomchui powder and Gomchui tea on extraction solvents. The samples were extracted at 23°C for 5 min. Total means the sum of all antioxidant compounds.

DCQA가 유독 많이 감소하는 것은 이들 항산화 성분의 물에 대한 용해도가 다르기 때문일 것으로 추정할 수 있다. 하지만 이들 항산화 성분의 구조는 서로 비슷하여 물에 대한 용해도가 많이 다르지는 않을 것으로 추정되는데, 이 문제에 관해서는 좀 더 연구가 필요할 것으로 보인다. 반면 50% 에탄올로 추출할 경우에 곱취분말로부터 3,4-DCQA가 물에서보다 2배 이상 많이 추출된 반면 곱취차로부터는 물에서보다 적게 추출되었다. 100% 에탄올로 추출할 경우에는 유효성분의 총 추출량이 물로 추출할 경우의 14% 정도밖에 되지 않지만 곱취분말과 곱취차 간의 차이는 물에서의 추출과 비슷한 양상을 보였다.

4개의 유효성분 중 각 유효성분이 차지하는 상대적 비율을 살펴보면(Fig. 7), 곱취분말의 경우에는 3,5-DCQA가 차지하는 비율이 모든 추출용매에서 상대적으로 높았으며(38~54%), 3,4-DCQA의 경우는 50% 에탄올에서 다른 용매에 비해 상대적으로 높은 추출율(40%)을 보였다. 그 외 5-CQA나 4,5-DCQA의 경우는 일정한 비율을 유지하였다. 반면, 곱취차의 경우는 용매에 따라 일정한 상대적 추출율의

변화를 보여주었다. 물로 추출할 경우에는 3,4-DCQA의 추출율이 가장 높았고(54%), 에탄올의 함량이 높아질수록 추출율이 감소하였다. 하지만 그 외 다른 성분들은 에탄올의 함량이 높아질수록 상대적 추출율이 증가하는 경향을 보였다. 이들 결과를 종합하여 보면 곱취차의 제조 과정에서 블렌칭 과정을 거치는 동안 블렌칭 과정을 거치지 않고 건조 분쇄시킨 곱취분말과는 곱취 잎의 물성이 달라져 추출 용매에 따른 각 성분의 추출율에 많은 변화가 생기는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과를 토대로, 블렌칭 과정 후에 그냥 버리기 쉬운 물도 상당한 양의 항산화 성분이 포함되어 있기 때문에 이를 사용하여 액상차를 제조하는 것도 제조 공정 부산물을 활용하는 좋은 방법이라 할 수 있겠다.

곱취차와 곱취분말로부터 유효성분의 추출율을 늘리기 위해서 초음파 추출 방법을 적용하여 보았다. 하지만, Fig. 8에서 보이는 것처럼 상온에서 5분 동안 곱취차와 곱취분말의 추출에 초음파 추출을 적용하였을 경우에는 일반 추출 방법과 총 추출율이나 상대적 추출율에서 큰 차이를 보이지는 않았다.

요 약

본 연구에서는 항산화 기능이 잘 알려진 곱취로부터 곱취의 소비 및 활용도 향상을 위하여 곱취차를 제조한 후 주요 항산화물질을 탐색하고, 이들 성분의 추출율 변화를 분석하였다. 우선 온라인 항산화 장치를 통하여 곱취 추출물의 주요 항산화 성분이 5-CQA, 3,4-DCQA, 3,5-DCQA 및 4,5-DCQA로 구성된 caffeoylquinic acid류의 화합물임을 확인할 수 있었다. 곱취차에서 이들 성분의 추출율 변화를 추출 온도, 시간, 용매 및 추출 방법 등에 따라 비교 분석하였는데, 물에서의 추출율은 어느 온도에서든지 10분의 분석시간 동안 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 8°C에서의 추출율도 매우 우수하였는데, 80°C 추출율의 약 60%의 유효성분이 10분 동안 추출되는 것을 확인할 수 있었다. 에탄올 함량에 따른 곱취차의 추출율에서도 추출시간에 따라 추출율이 증가하였지만, 에탄올의 함량이 많아질수록 추출율은 감소하였는데, 특히 100% 에탄올 조건에서는 추출율이 현저히

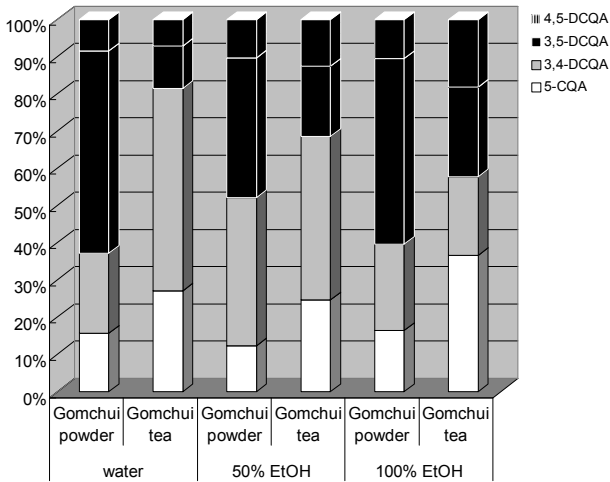


Fig. 7. Relative percentage of each antioxidant compound from Gomchui powder and Gomchui tea on extraction solvent. The relative percentage of each compound was calculated by dividing amount of antioxidant compound with amount of total antioxidant compounds.

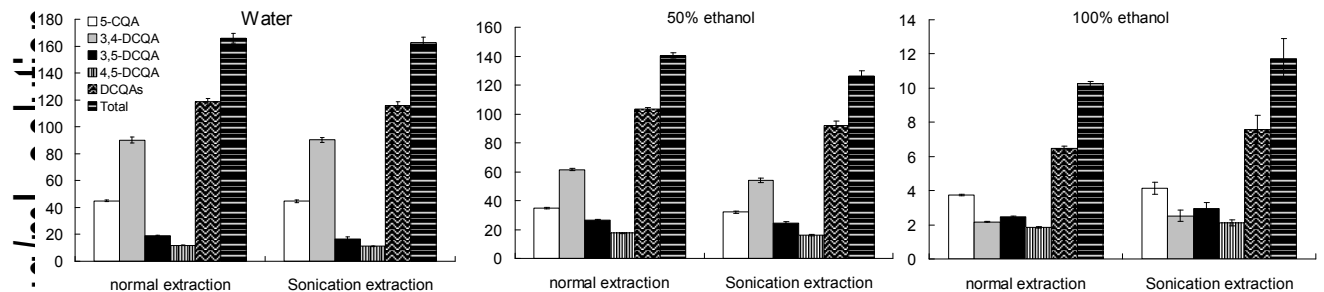


Fig. 8. Effect of solvent and sonication in the extraction of antioxidant compounds from Gomchui tea. Gomchui tea was extracted at 23°C for 5 min. Total means the sum of all antioxidant compounds.

감소하였다. 곰취차의 제조 과정 중 블렌칭 단계에서는 곰취분말로부터 약 60% 이상의 항산화성분이 물로 유출되는 것이 확인되었다. 3,5-DCQA의 경우에는 90% 이상의 손실을 나타내어, 곰취분말에서는 3,5-DCQA가 가장 많이 추출되는 반면 곰취차에서는 3,4-DCQA가 가장 추출율이 높은 항산화성분이었다. 한편 초음파 추출법은 일반 추출법에 비해 항산화 성분의 추출율에는 큰 영향을 주지 않았다. 본 연구를 통해서 곰취가 차로 만들어졌을 경우에 항산화 성분을 다량 함유하고 있고, 찬물에서도 쉽게 이용할 수 있는 건강기능차로서 그 효용성과 편리성이 매우 좋을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신사업(RT105-01-02) 지원으로 수행되었음.

문헌

1. Cho SD, Kim SD. 2005. Food product development and quality characterization of *Ligularia fischeri* for food resources. *Kor J Food Preserv* 12: 43-47.
2. Bae JH, Yu SO, Kim YM, Chon SU, Kim BW, Heo BG. 2009. Physiological activity of methanol extracts from *Ligularia fischeri* and their hyperplasia inhibition activity of cancer cell. *J Bio-Environ Control* 18: 67-73.
3. Ham SS, Lee SY, Oh DH, Jung SW, Kim SH, Jeong CH, Kang IJ. 1998. Cytotoxicity of *Ligularia fischeri* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 987-992.
4. Na Y, Kim JH, Sim GS, Lee BC, Pyo HB. 2006. Effect of antioxidation and inhibition of matrix metalloproteinase-1 from *Ligularia fischeri*. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 32: 129-134.
5. Ham SS, Lee SY, Oh DH, Jung SW, Kim SH, Chung CK, Kang IJ. 1998. Antimutagenic and antigenotoxic effects of *Ligularia fischeri* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 745-750.
6. Choi EM. 2007. *Ligularia fischeri* leaf extract prevents the oxidative stress in DBA/1J mice with type II collagen-induced arthritis. *J Appl Toxicol* 27: 176-182.
7. Jeong SW, Kim EJ, Hwangbo HJ, Ham SS. 1998. Effects of *Ligularia fischeri* extracts on oxidation of low density lipoprotein. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1214-1221.
8. Choi EM, Ding Y, Nguyen HT, Park SH, Kim YH. 2007. Antioxidant activity of Gomchi (*Ligularia fischeri*) leaves. *Food Sci Biotechnol* 16: 710-714.
9. Choi EM, Kim YH. 2008. A preliminary study of the effects of an extract of *Ligularia fischeri* leaves on type II collagen-induced arthritis in DBA/1J mice. *Food Chem Toxicol* 46: 375-379.
10. Choi EM, Suh KS. 2009. *Ligularia fischeri* leaf extract suppresses proinflammatory mediators in SW982 human syno-

- vial cells. *Phytother Res* 23: 1575-1580.
11. Park HJ, Kwon SH, Yoo KO, Sohn IC, Lee KT, Lee HK. 2000. Sesquiterpenes from the leaves of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis*. *Planta Med* 66: 783-784.
12. Hwang BY, Lee JH, Koo TH, Kim HS, Hong YS, Ro JS, Lee KS, Lee JJ. 2002. Furanoligularenon, an eremophilane from *Ligularia fischeri*, inhibits the LPS-induced production of nitric oxide and prostaglandin E₂ in macrophage RAW264.7 cells. *Planta Med* 68: 101-105.
13. Lee KT, Koo SJ, Jung SH, Choi JW, Jung HJ, Park HJ. 2002. Structure of three new terpenoids, spiciformisins *a* and *b*, and monocyclosqualene, isolated from the herbs of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* and cytotoxicity. *Arch Pharm Res* 25: 820-823.
14. Zhang WJ, Qi HY, Shi YP. 2010. Norsesquiterpene derivatives from the roots of *Ligularia fischeri*. *Planta Med* 76: 159-164.
15. Choi JW, Park JK, Lee KT, Park KK, Kim WB, Lee JH, Jung HJ, Park HJ. 2005. *In vivo* antihepatotoxic effects of *Ligularia fischeri* var. *spiciformis* and the identification of the active component, 3,4-dicaffeoylquinic acid. *J Med Food* 8: 348-352.
16. Kim CY, Lee HJ, Lee EH, Jung SH, Lee DU, Kang SW, Hong SJ, Um BH. 2008. Rapid identification of radical scavenging compounds in blueberry extract by HPLC coupled to an on-line ABTS based assay and HPLC-ESI/MS. *Food Sci Biotechnol* 17: 846-849.
17. Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M. 2008. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* 2: 377-387.
18. Ozgen M, Reese RN, Tulio AZ Jr, Scheerens JC, Miller AR. 2006. Modified 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J Agric Food Chem* 54: 1151-1157.
19. Niederländer HA, van Beek TA, Bartasiute A, Koleva II. 2008. Antioxidant activity assays on-line with liquid chromatography. *J Chromatogr A* 1210: 121-134.
20. Cliffoed MN. 1999. Chlorogenic acid and other cinnamates-nature, occurrence, and dietary burden. *J Sci Food Agric* 79: 362-372.
21. Bonita JS, Mandarano M, Shuta D, Vinson J. 2007. Coffee and cardiovascular disease: *in vitro*, cellular, animal, and human studies. *Pharmacol Res* 55: 187-198.
22. Moon JK, Yoo HS, Shibamoto T. 2009. Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. *J Agric Food Chem* 57: 5365-5369.
23. Perva-Uzunalić A, Škerget M, Knez Ž, Weinreich B, Otto F, Grüner S. 2006. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chem* 96: 597-605.
24. Turkmen N, Sari F, Velioglu S. 2006. Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chem* 99: 835-841.

(2009년 12월 24일 접수; 2010년 1월 14일 채택)