

칠면초 추출물의 항산화 효과

이경석¹ · 김재춘¹ · 손석민² · 이기영^{2*}

¹(주)한누리

²호서대학교 식품생물공학과

Antioxidative Effect of *Suaeda japonica* Ethanol Extract and Solvent Partitioned Fractions

Kyung-Seok Lee¹, Jae-Chun Gim¹, Seok-Min Son², and Ki-Young Lee^{2*}

¹Hannuri Co., Ltd., Chungnam 340-830, Korea

²Dept. of Food & Biotechnology, Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea

Abstract

We studied the antioxidant activity of *Suaedajaponica*, found in Korean mud flats. A 70% ethanol extraction yielded 9.74%. The 70% ethanol extract was further fractionated with hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, and water. The water fraction resulted in the highest extraction yields, but the ethyl acetate fraction resulted in the highest total phenol content and also total flavonoid content. The antioxidative activity of the fractions was evaluated using several methods and compared to commercial antioxidants. The scavenging activities of the hydroxyl radical, hydrogen radical, hydrogen peroxide, and xanthine oxidase of the ethyl acetate fraction were equivalent to that of BHA. The scavenging activities of the hydroxyl radical, hydrogen peroxide, and xanthine oxidase of the ethanol extracts were approximately 80~90% of that of BHA.

Key words: *Suaeda japonica*, antioxidant activity, total phenol, total flavonoid

서 론

최근 세계화에 따라 육류섭취가 증가하는 등 식생활의 다양한 변화와 더불어 늘어나는 각종 성인병 퇴치를 위한 자연 건강식의 개발과 기능성을 갖는 식품에 대한 요구가 커지고 있다. 특히 식료품으로부터 유래하는 생리활성을 나타내는 기능성식품에 대한 연구가 최대의 관심사가 되고 있다(1).

항산화제는 산소를 제거하거나 흡수하는 것이 아니라 free radical과 반응함으로써 특정 비타민류와 필수아미노산 등의 손실을 최소화하거나 유지 제품의 산패를 지연 또는 방지하는 목적으로 사용된다(2). 우리들이 일상적으로 섭취하고 있는 식용 식물에는 비타민, minerals, polyphenol류 등 건강 유지에 중요한 광합성 대사산물이 포함되어 있으며(3), 이러한 식용식물을 대상으로 주로 항산화 활성이 보고되고 있고(4,5), 천연식물에서부터 분리한 천연항산화제는 화장품과 의약품 등에 널리 이용되고 있어(6,7) 식용이나 약용식물 등의 천연생리활성물질에 대한 연구는 특히 기능성식품의 개발 측면에서 그 의미가 크다고 할 수 있다.

칠면초(*Suaeda japonica*)는 명아주과에 속하는 염생식물로 어릴 때 채취하여 나물로 사용하였다. 만조 때에 침수되는 낮은 지대부터 건조한 지역까지 그 생육지의 범위가 넓을

뿐만 아니라 내염성이 강하며 장기간의 침수상태에서도 생육할 수 있는 대표적인 호염성 식물이다. 현재 호염성 식물로 널리 알려진 함초에 관한 연구는 다양하게 진행되어져 있다(8,9). 하지만 함초에 비해 자생력이 더 강하고 단위면적당 생산성이 더 높으며, 더 넓은 지역에 분포하고 있는 칠면초에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 현재 칠면초에 관한 연구로는 생리적인 특성(10-12), 분포특성(13,14), 생육에 미치는 환경요인이나 지역에 따른 형태적 차이(15) 등이 있다. 하지만 아직 연구내용이 미미하고 그나마 대부분 생육에 관한 내용일 뿐 칠면초의 생리활성을 이용하여 식품소재로서 검토한 연구는 아주 빈약한 실정이다. 칠면초는 깃털이 발달한 우리나라에 무수히 자생하는 염생 식물로 손쉬운 재배가 가능하다. 이에 대한 생리활성 효과 등 식품으로서 효용성만 입증된다면 좋은 기능성식품 재료로 사용가능할 것으로 판단되며 본 연구는 이에 대한 기초 자료로 사용하기 위해 성분분석, 생리활성효과 등을 검증하였다.

재료 및 방법

재료

칠면초는 (주)한누리에서 재배한 것을 공급받아 건조하여

*Corresponding author. E-mail: kylee@office.hoseo.ac.kr
Phone: 82-41-540-5641, Fax: 82-41-532-5640

사용하였다. 일반분석에 사용한 ethyl ether 등의 용매들과 추출 용매로 사용한 ethanol 등은 1급으로 Duksan Pure Chemical Co.(Ansan, Korea)에서 구입, 사용하였고 그 밖에 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA), Shinyo Pure Chemicals Co.(Osaka, Japan) 등의 것을 구입, 사용하였다.

용매 추출

검색용 생리활성물질은 건조 시료 150 g당 10배의 70% ethanol을 첨가한 후 환류냉각관을 부착한 80°C의 Heating mantle(Mtops, Yangjusi, Korea)에서 3시간 추출시켜 여과(Whatman No.2)하여 얻었다. 이렇게 2, 3차 추출액을 얻어 모두 혼합한 후 rotatory vacuum evaporator(Buchi, Postfach, Switzerland)로 용매를 증발시킨 용액을 상압 가열 건조시켜 고형물 함량을 산출하였다(16).

70% ethanol 추출물의 분획

70% ethanol 추출물을 극성을 달리한 용매별로 분획하여 분획물을 얻었다. 농축한 추출물을 water에 희석한 후 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, water 순으로 각각 분액여두에서 3회 반복 추출한 다음 rotatory vacuum evaporator로 용액을 동결 건조시켜 고형물 함량을 산출하였다(17).

총 페놀, 총 플라보노이드 함량

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 AOAC법(18)에 의하여 측정하였다. 즉, 칠면초 분획물 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na₂CO₃ 용액 1 mL를 가하여 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 가하여 반응시켜 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선을 통해 계산하였다. 총 플라보노이드는 분획물 0.5mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 표준물질로 하여 작성한 표준곡선을 통해 계산하였다.

전자공여능(Electron donating ability: EDA) 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 사용한 항산화 활성 측정법으로 여러 농도의 시료를 4 mL의 methanol에 녹여 1.5×10⁻⁴ M DPPH methanol 용액 1 mL를 첨가한 후, 30분간 실온에 방치하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 양(μg)을 RC₅₀으로 나타냈으며, 기존 항산화제인 BHA와 비교하였다(18). 계산은 다음의 식과 같이 하였다.

$$R\% = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A: blank, B: sample

Hydroxyl radical 소거능 측정

Gutteridge(19)의 방법에 따라 시험관에 1 mM FeSO₄/EDTA 용액 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 시료 0.2 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL, 10 mM 및 H₂O₂ 0.2 mL를 차례로 가한 다음 37°C에서 1시간 반응시킨 후 2.8% TCA용액 1 mL를 가하고 95°C 수욕상에서 10분간 가열한 다음 급냉시킨 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Hydrogen peroxide 소거활성

Park 등의 방법(20)에 따라 96 well micro plate에 PBS 100 μL, 시료 20 μL을 넣고 1 mM H₂O₂를 가하여 5분 방치한 다음 1.25 mM ABTS 30 μL와 PBS에 녹인 1 unit/mL peroxidase 30 μL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Xanthine oxidase 저해활성

Stirpe와 Corte의 방법(21)에 준하여 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 3 mL에 효소액 0.1 mL와 추출용액 0.3 mL를 넣어 37°C에서 30분간 반응시키고 20% trichloroacetic acid 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 3,500 rpm에서 15분간 원심분리 하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

본 연구의 결과는 평균으로 나타내었고, 각 실험군 간의 비교분석은 SAS system을 이용하여 ANOVA 분석 후 p<0.05에서 Duncan's multiple range test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

70% ethanol 추출수율 및 용매별 분획물의 수율

칠면초의 항산화 효과를 검토하기 위해 자연 건조하여 마쇄한 시료를 70% ethanol로 추출하였다. 이것의 일부를 110°C에서 건조시킨 후 고형분 함량을 추출수율로 계산한 결과 추출수율은 9.74%로 측정되었다. 이를 용매별로 분획한 후 원물 대한 추출수율을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 70% ethanol 추출물의 용매별 분획물의 추출수율을 보면 water 분획이 89.7%로 대부분을 차지하였으며 이어서 butanol, ethyl acetate, chloroform, hexane 순이었다. 대체적으로 용매의 극성이 높아질수록 추출수율이 높은 것을 볼 수 있는데 이는 천년초(22), 거봉(23), 영경귀(24) 등의 용매별 분획물

Table 1. Fraction yield from 70% ethanol extract of *Suaeda japonica* by various solvents

Solvent	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Fraction yield (%)	0.24	0.14	0.14	0.49	8.73

Table 2. Total phenol, total flavonoid contents of fraction from 70% ethanol extract of *Suaeda japonica* by various solvents (mg/g)

Solvents used	Total phenol	Total flavonoid
Hexane	3.3±0.2 ^{1) b2)}	1.7±0.2 ^d
Chloroform	17.8±0.4 ^a	7.1±0.2 ^b
Ethyl acetate	22.5±0.4 ^a	10.9±0.2 ^a
Butanol	20.2±0.4 ^a	3.1±0.1 ^c
Water	14.5±0.2 ^a	4.9±0.1 ^c

¹⁾Mean±SD, n=12.

²⁾Means with different letters in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

의 수율 또한 용매의 극성이 높을수록 분획물의 수율이 높은 것과 일치하는 결과를 보여주고 있다. 비슷한 염생식물인 함초로 실험한 Kim(25) 또한 추출물 분획 시 water, butanol, ethyl acetate, chloroform, hexane 층으로 수율이 높다고 보고해 본 결과와 일치함을 알 수 있었다.

총 페놀과 총 플라보노이드 함량

칠면초 70% ethanol 추출물을 용매별로 분획한 후 총 페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. Ethyl acetate 분획물이 총 페놀함량과 총 플라보노이드 함량이 22.5 mg/g, 10.9 mg/g으로 가장 높았으며 chloroform은 비교적 총 플라보노이드 함량이 다음으로 높았으며 water, hexane 순으로 높은 함량을 보여주었다.

항산화 활성

70% ethanol 추출물을 유기용매별로 분획한 분획물의 DPPH법에 의한 전자공여능을 비교한 결과는 Table 3과 같다. DPPH를 50% 환원시키는데 필요한 분획물의 첨가 농도 (RC₅₀)를 보면 water 분획물과 ethyl acetate 분획물이 28.3 µg/mL, 28.4 µg/mL로 다른 분획물보다 우수한 효과를 보여주었다. 상업용인 BHA(4.3 µg/mL)와 비교하면 활성이 많이 못 미치지만 단일물질이 아니고 분획물 고유 색상에 의한 오차를 감안하면 유의적인 수준으로 판단되어진다. Chloroform, butanol 분획물은 이들에 다소 못 미치지는 활성을 보여주었고 총 페놀, 총 플라보노이드 함량이 가장 낮았던 hexane 층이 전자공여능 또한 가장 낮은 활성을 보여주었

다. Jeon 등(26)이 칠면초와 비슷한 염생식물인 함초와 나뭇재 ethanol 추출물의 에틸아세테이트 분획이 14~28 µg/mL의 RC₅₀값을 보여주어 본 결과와 비슷한 경향을 보여주었다.

Hydroxyl radical은 DNA의 핵산과 결합함으로써 손상을 일으켜 발암성, 돌연변이 및 세포독성을 유발하게 되며, 지질과산화 과정에서 빠른 개시제로서 작용하게 되는데 hydroxyl radical 소거활성은 지질과산화 과정의 진행을 직접적으로 방해하거나 활성화된 산소종을 소거함으로써 연쇄 반응을 저해하기 때문이라고 보고되어 있다(27). 칠면초 추출물의 분획물별로 실험한 결과 ethyl acetate 분획물과 water 분획물이 59.2%, 54%로 BHA보다는 다소 낮지만 분획물들 중 가장 우수한 활성을 보여주었다. Butanol, chloroform, hexane 분획물의 활성이 뒤를 이었고 이는 앞의 전자공여능 실험결과와 비슷함을 알 수 있었다.

Hydrogen peroxide는 과산화 지질의 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 과산화지질은 동맥경화, 뇌졸중 등과 같은 성인병의 원인이 되고, 간장의 세포막에 과산화지질을 증가시켜 세포의 기능이 저하되어 염증이 유발되며, 그 결과 간경화, 간염 등을 초래한다고 보고되고 있다(28). 칠면초 추출물의 분획물별로 실험한 결과 ethyl acetate 분획물과 water 분획물이 76.3%, 68.2%로 분획물들 중 가장 우수한 활성을 보여주었고 butanol, chloroform, hexane 분획물의 활성이 뒤를 이었다. 이 역시 앞의 실험결과들과 비슷한 경향을 보여주었다.

Xanthine oxidase는 퓨린대사에 관여하여 xanthine 또는 hypoxanthine을 산화하여 요산을 생성하게 하는 효소이다. 이들 xanthine oxidase와 xanthine과 같은 기질과의 반응은 일반적인 라디칼 형성반응으로 알려져 있다(29). 칠면초 추출물의 분획물별로 실험한 결과 ethyl acetate 분획물이 69.7%로 BHA와 견줄만한 활성을 보여주었고 이어서 butanol, chloroform, water, hexane 분획물 순으로 활성이 높았다. 앞의 실험결과들과 마찬가지로 ethyl acetate 분획물의 활성이 가장 좋았지만 water 분획물은 본 결과에서 상대적으로 낮은 활성을 보여주었다. 이는 각 분획물에 함유되어 있는 항산화 물질의 특성에 기인한 것으로 판단되어진다.

Table 3. DPPH free radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide, xanthine oxidase scavenging activity scavenging activities of different solvent fraction from 70% ethanol extract of *Suaeda japonica* and commercial antioxidants

Solvents used	DPPH ¹⁾ RC ₅₀ (µg/mL)	Hydroxyl ²⁾ (%)	Hydrogen ³⁾ (%)	Xanthine ⁴⁾ (%)
Hexane	76.6±2.6 ^{5) a6)}	11.2±2.9 ^d	36.9±3.6 ^b	10.6±3.1 ^c
Chloroform	35.0±2.5 ^b	19.9±3.1 ^{cd}	39.9±10.1 ^b	30.5±7.5 ^b
Ethyl acetate	28.4±2.6 ^b	59.2±8.3 ^b	76.3±4.3 ^a	69.7±2.9 ^a
Butanol	43.5±2.6 ^b	24.3±6.2 ^c	44.0±6.3 ^b	45.8±2.8 ^b
Water	28.3±2.5 ^b	54.0±9.4 ^b	68.2±4.7 ^a	27.9±3.3 ^b
BHA	3.1±0.57 ^c	73.5±10.7 ^a	88.3±8.7 ^a	76.1±5.3 ^a

¹⁾DPPH free radical scavenging activities.

²⁾Hydroxyl radical scavenging activity.

³⁾Hydrogen peroxide scavenging activity.

⁴⁾Xanthine oxidase scavenging activity.

⁵⁾Mean±SD, n=12.

⁶⁾Means with different letters in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

실험결과 ethyl acetate 분획물이 가장 우수한 항산화 활성을 나타냈는데 이는 각 분획별 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량 차이의 결과와도 비슷한 경향을 나타내었다. 즉 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량이 가장 높게 나타난 ethyl acetate 분획물에서 가장 좋은 활성을 보여주었고 가장 낮은 총 페놀, 총 플라보노이드 함량을 보여준 hexane 분획이 가장 낮은 활성을 보여주었다.

요 약

본 연구는 염생식물이라는 특성으로 인해 갯벌이 발달한 우리나라에서 쉽게 접할 수 있는 칠면초의 항산화활성을 검토하고자 이루어졌다. 70% ethanol로 추출한 추출수율은 9.74%였으며 이를 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, water로 순차 분획한 수율은 water 층이 원물대비 8.73%로 가장 높은 수율을 보였고 대체적으로 극성이 높을 수록 높은 분획 수율을 나타내었다. 하지만 분획물간 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 측정 결과 ethyl acetate 분획물의 예서 가장 높게 측정되었다. Ethyl acetate 분획물의 항산화력을 hydroxyl radical 소거능, hydrogen peroxide 소거능, xanthine oxidase 소거능 등을 측정하여 합성항산화제인 BHA와 비교한 결과 BHA의 80~90% 가량의 활성을 보여주었다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 호서대학교 학술연구구성비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Miquel J, Quintanilha AT, Weber H. 1989. *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA. Vol I, p 223-244.
2. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2005. Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J Food Preserv* 12: 75-79.
3. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extract. *Korean J Food Sci Technol* 27: 978-984.
4. Yoon JY, Song MR, Lee SR. 1990. Comparison of antithiamine activities of wild vegetables. *Korean J Food Sci Technol* 20: 808-811.
5. Lee YK, Lee HS. 1990. Effects of onion and ginger on the lipid peroxidation and fatty acid composition of mackerel during frozen storage. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 321-329.
6. Kim HK, Kim YE, DO JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
7. Choi U, Shin DH, Chang YS, Shin JL. 1992. Screening of natural antioxidant from plants and their antioxidative effect. *Korean J Food Sci Technol* 24: 142-148.
8. Han SK, Kim SM, Pyo BS. 2003. Antioxidative effect of

- glasswort (*Salicornia herbacea* L.) on the lipid oxidation of pork. *Korean J Food Sci Ani Resour* 23: 46-49.
9. Lee JT, An BJ. 2002. Detection of physical activity of *Salicornia herbacea*. *Kor J Herbology* 17: 61-69.
10. Ihm BS, Lee JS. 1985. The effect of salt on plant growth. *Bull Inst Litt Biota* 2: 33-40.
11. Ihm BS, Lee JS. 1986. Adjustment of *Salicornia herbacea* and *Suaeda japonica* for environment change in the salt marsh. *Bull Inst Litt Biota* 4: 15-25.
12. Ihm BS, Lee JS, Kim HS, Kwak AK, Ihm HB. 1995. Distribution of coastal plant communities at the salt marshes of Mankyung and Dongjin River estuary. *Bull Inst Litt Biota* 12: 11-28.
13. Ihm BS, Lee JS, Kim HS, Kwak AK, Ihm HB. 1995. Adjustment of three halophytes to changes of NaCl concentration. *Bull Inst Litt Biota* 12: 1-10.
14. Kin CM, Chang NK, Lee SK, Woo TK. 1975. A continuum of plant communities on the gradient of the tidal land in Namdong. Commemoration Papers Celebrating Sixtieth Birthday of Professor Choon Min Kim. p 150-157.
15. Lee KS, Oh KC. 1989. Differences of *Suaeda japonica* populations from two different habitats in Sorae, Incheon, Korea. *Korean J Ecol* 12: 133-144.
16. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. 2000. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT (Omija) seed. *Korean J Food Sci Technol* 32: 928-935.
17. AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 8-35.
18. Naik GH, Priyadarsini KI, Naik DB, Gangabhairathi R, Mohan H. 2004. Studies on the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector. *Phytomedicine* 20: 530-538.
19. Gutteridge JM. 1984. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *Biochem J* 224: 761-767.
20. Park SW, Chung SK, Park JC. 2000. Active oxygen scavenging activity of luteolin-7-O-β-D-glucoside isolated from *Humulus japonicus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127-1132.
21. Stripe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
22. Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2004. Antimicrobial effect of the extracts of cactus Chounnyouncho (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1268-1272.
23. Park SJ, Oh DH. 2003. Free radical scavenging effect of seed and skin extracts of black olympia grape (*Vitis labruscana* L.). *Korean J Food Sci Technol* 35: 121-124.
24. Lee HK, Kim JS, Kim NY, Kim MJ, Park SU, Yu CY. 2003. Antioxidant, antimutagenicity and anticancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* KITA-MURA. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 53-61.
25. Kim YH. 2002. A study on the antioxidant activity of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *MS Thesis*. Dongshin University, Jeonnam, Korea. p 24-25.
26. Jeon SM, Kim SI, Ahn JY, Park SN. 2007. Antioxidative properties of extract/fraction of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts (I). *J Soc Cosmet Scientists Korea* 33: 145-152.
27. Manian R, Anusuya N, Siddhyraju P, Manian S. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.)

- O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem* 107: 1000-1007.
28. Muscari C, Caldareo CM, Guarnieri C. 1990. Age dependent production of mitochondrial hydrogen peroxide, lipid peroxides and fluorescent pigments in the rat heart. *Basic Res Cardiol* 85: 172-178.
29. Hong TG, Lee YR, Yim MH, Choung NH. 2004. Physiological functionality and nitrite scavenging ability of fermentation extracts from pine needles. *Korean J Food Preserv* 11: 94-99.

(2011년 4월 13일 접수; 2011년 5월 13일 채택)