

추출방법에 따른 참취(*Aster scaber* Thunb.)의 페놀화합물 함량과 생리활성 및 소화효소 저해 효과

김재원 · 윤광섭

대구가톨릭대학교 식품공학전공

Polyphenolic Compounds, Physiological Activities, and Digestive Enzyme Inhibitory Effect of *Aster scaber* Thunb. Extracts According to Different Extraction Processes

Jae-Won Kim and Kwang-Sup Youn

Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu

ABSTRACT Phenolic compounds, physiological properties, and digestive enzyme inhibitory effect of 70% ethanol extracts from *Aster scaber* with different extraction methods (stirrer extraction, SE; reflux extraction, RE; autoclave extraction, AE; low temperature high pressure extraction, LTPE; ultrasonification extraction, USE) were investigated. Total polyphenols and flavonoids contents in LTPE were significantly higher than those of other extracts. The amount of substances related to cynarin (1,3-*O*-dicaffeoylquinic acid) was highest in USE (34.34 mg/g), followed by LTPE (33.83 mg/g), RE (32.27 mg/g), AE (25.40 mg/g), and SE (18.17 mg/g). Chlorogenic acid (5-*O*-caffeoylquinic acid) and astragalol (kaempferol-3-*O*-glucopyranoside) were highest in AE and LTPE, respectively. Xanthine oxidase, angiotensin-I converting enzyme, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and acetylcholin esterase inhibitory activities of LTPE and USE at a concentration of 50 mg% (w/v) were somewhat higher than those of other extracts. The α -amylase, α -glucosidase, trypsin and lipase activities showed the same tendency as physiological properties (concentration of 500 mg%, w/v). Additionally, there was significantly higher or slightly lower inhibitory activity compared to the control group. These results suggest that extracts from *Aster scaber* have potential to act as functional materials, and LTPE and USE are superior for the enhancement of biological activity.

Key words: *Aster scaber* Thunb., polyphenolic compounds, physicochemical properties, digestive enzyme inhibitory activity

서 론

최근 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 고부가가치의 기능성 소재로 사용될 수 있는 약용식물이 주목을 받고 있으며, 성인병의 주된 원인인 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 억제시킬 수 있는 생리활성물질(bioactive components)을 발굴하고자 하는 노력이 경주되고 있다. 우리나라에 서식하고 있는 자생식물 4,500여 종 중 480여 종이 식용이 가능한 식물로 분류되고 있는데 대부분 독특한 맛과 풍미를 가지고 있어 식용으로 활용되고 있다(1). 최근에는 자연식품을 선호하는 식품 소비패턴의 변화와 더불어 기능적 특성 또한 우수한 것으로 알려지면서 식물자원에 대한 질병 예방, 치료기능과 경제적 효용가치를 평가하여

보다 다양한 식물종의 확보에 주력하고 있다.

참취(*Aster scaber* Thunb.)는 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 식물로서 전국의 산지와 초생지에 자라는 취의 일종으로 동의학사전에서는 혈액순환 촉진, 해독제거, 진통작용, 황달, 간염, 해소, 소화장애, 타박상, 장염으로 인한 복통, 풍채거, 골절의 동통치료에 효능이 있는 것으로 알려져 왔다(2). 약용성분으로 caffeoylquinic acid류 화합물, 플라보노이드계 및 terpenoid계 성분에 대해 알려지고 있다(3). 또한 일에서는 다양한 caffeoylquinic acid의 페놀 성분 화합물이 분리되었는데 (-)-3,5-dicaffeoyl-*muco*-quinic acid의 경우 tyrosine kinase 신호전달 관여에 따른 암 및 신경변성질환의 치료 효과(4)와 인체면역결핍바이러스(Human Immunodeficiency Virus; HIV-1)가 증식하는 데 필요한 효소를 방해하는 인터그라제(integrase) 억제제로서의 효능을 나타낸다고 보고된 바 있다(5). 이외에도 참취의 기능성에 관한 연구로 유전독성 억제 효과(6), 항산화능 및 중금속 제독 효과(7), 항암 효과(8), 항염증 효과(9), 항콜레스테롤 및 지질대사 개선(10) 등이 보고되면서 고부가가치의

Received 16 July 2014; Accepted 27 August 2014

Corresponding author: Kwang-Sup Youn, Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea
E-mail: ksyoun@cu.ac.kr, Phone: +82-53-850-3209

기능성식품과 의약품 개발을 위한 자원으로 우수성이 밝혀지고 있다.

Caffeoylquinic acid류는 caffeic acid와 quinic acid가 결합한 화합물로 결합하는 caffeic acid의 수에 따라 mono-caffeoylquinic acid류, dicaffeoylquinic acid류 및 tricaffeoylquinic acid류로 분류되며, 생리활성으로는 진통작용, 소염 효과, 항바이러스 효과, 간 보호 효과, 항산화 효과, 혈소판응집억제 효과 등이 보고되었다(11). 한편 플라보노이드 계열 화합물 중 astagalin은 kaempferol의 3번 위치에 glucose가 하나 결합되어 있는 배당체로서 엽채류 식물에 일부 함유되어 있으며, 항소양 효과(12), 당화반응(glycation)에 대한 억제 효능(13) 및 항알레르기 효능(14)이 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 이러한 각각의 물질은 천연에 극미량만 존재하기 때문에 고유 성분을 효과적으로 추출할 수 있는 공정에 대한 연구와 효능에 대한 평가가 요구되며, 참취의 추출방법에 따른 페놀화합물의 함량과 기능 특성에 관한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 추출방법에 따른 참취의 chlorogenic acid(5-O-caffeoylquinic acid), cynarin (1,3-O-dicaffeoylquinic acid) 및 astragalinal(kaempferol-3-O-glucopyranoside)의 함량 분석과 생리활성 및 소화효소 저해 효과를 비교함으로써 효과적인 추출방법을 제시하고, 산업화에 적용할 방법 모색 및 기능성 소재로서의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 참취는 2013년 6월 중순에 재배된 두벌재를 사용하였으며, 구입 후 이물질을 제거하고 세척한 후 동결건조(Freeze dryer, FD SFDSM12, Samwon, Seoul, Korea)한 다음 분쇄기(IKA A11 basic, IKA-Werke GmbH, Staufen, Germany)를 사용하여 40 mesh로 분쇄한 분말을 -50°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 수율 측정

참취의 추출방법은 분쇄시료 50 g에 15배의 70% 에탄올을 가한 후 상온교반추출(stirrer extraction, SE), 환류냉각추출(reflux extraction, RE), 가압가열추출(autoclave extraction, AE), 저온고압추출(low temperature high pressure extraction, LTPE), 초음파추출(ultrasonification extraction, USE) 방법으로 추출물을 제조하였다. 상온교반추출은 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 실온에서 교반기(Wise Stir SMHS-3, DAIHAN Scientific Co., Seoul, Korea)를 이용하여 250 rpm으로 24시간 3회 반복 추출하였고, 환류냉각추출은 분쇄시료와 용매를 넣은 용기에 냉각관을 부착하여 70°C 의 조건에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 가압가열추출은 autoclave(DF-100A, DOORI Scientific Co., Gyeonggi,

Korea)를 이용하여 121°C 에서 15분 동안 추출하였으며, 저온고압추출은 rapid extractor(FT110, Benchtop rapid extractor, ARMFIELD, Hampshire, England)를 이용하여 실온에서 2시간 동안 8.0 bar의 압력 하에서 2회 반복 추출하였다. 초음파 추출은 40 kHz의 초음파 수조(NXPC-4020P, KODO, Hwaseong, Korea)에서 2시간 동안 추출하였다. 각각의 추출물은 Whatman No. 1 여과지(Toyo Ltd., Tokyo, Japan)로 여과한 다음 rotary vacuum evaporator(rotary vacuum evaporator N-N series, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압농축한 후에 동결 건조(Freeze dryer, FD SFDSM12, Samwon)하여 분말 시료를 제조하였으며 -50°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. 각각의 수율은 추출액을 동결 건조시켜 건물 중량을 구한 다음 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 나타내었다.

폴리페놀 및 플라보노이드 함량

폴리페놀 함량은 Dewanto 등(15)의 방법에 따라 시료 100 μL 에 2% sodium carbonate 2 mL와 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μL 를 가한 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였으며 gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량은 Saleh와 Hameed(16)의 방법에 따라 시료 100 mL에 5% sodium nitrite 0.15 mL를 가한 후 25°C 에서 6분간 방치한 다음 10% aluminium chloride 0.3 mL를 가하여 25°C 에서 5분간 방치하였다. 다음 1 N NaOH 1 mL를 가하고 vortex 상에서 가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 rutin hydrate(Sigma-Aldrich Co.)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

Cynarin, chlorogenic acid 및 astragalinal 함량

추출방법에 따른 참취의 cynarin, chlorogenic acid 및 astragalinal 함량은 Lee와 Choi의 방법(17)을 기본으로 하여 Waters e2690/5 HPLC system(Waters, Milford, MA, USA)으로 순차적으로 행하였으며, 표준품 chlorogenic acid, cynarin 및 astragalinal(Sigma-Aldrich Co.)은 70% 에탄올을 이용하여 1 mg/mL 농도로 용해시킨 뒤 membrane filter(0.45 μm , 13 mm, pall Gelman Lab, Ann Arbor, MI, USA)를 통과시킨 후 사용하였다. 이때 각각의 물질은 retention time을 비교하여 확인하였으며, photodiode array detector를 사용하여 310 nm(chlorogenic acid, cynarin) 및 370 nm(astragalinal)에서 최대흡수스펙트럼을 측정된 후 각 화합물의 calibration curve를 작성한 다음 회귀분석그래프를 작성하여 각각의 페놀화합물의 함량을 측정하였다.

Xanthine oxidase(XO) 저해활성

Stirpe와 Corte Della의 방법(18)에 따라 추출물 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 2 mM xanthine 기질액 0.2 mL를 첨가하고 xanthine oxi-

dase(0.2 unit/mL) 0.1 mL를 가하였다. 다음 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종결시킨 후, 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, xanthine oxidase inhibitory activity(%)=100-[(O.D of sample/O.D of control)×100]에 의하여 산출하였다.

Angiotensin-I converting enzyme(ACE) 저해활성

ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung의 방법(19)을 변형하여 측정하였으며, 조효소액은 rabbit lung acetone powder(Sigma-Aldrich Co.)를 1 g/10 mL(w/v)의 농도로 4°C에서 24시간 추출한 후, 원심분리(4°C, 4,000 rpm, 40 min) 하여 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 기질은 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 HLL(hippuryl-histidyl-leucine)을 5 mg/mL(w/v)의 농도로 녹인 후 기질로 사용하였다. ACE 저해활성은 시료 50 µL에 ACE 조효소액 50 µL를 가한 다음 37°C에서 5분간 예비 반응을 시킨 후, 기질 50 µL를 가하고 다시 37°C에서 1시간 반응시켰다. 다음 1 N HCl 150 µL를 가하여 반응을 정지시키고 750 µL의 ethyl acetate를 가한 후, 1분간 교반하고 원심분리(4°C, 5,000 rpm, 10 min) 한 다음 500 µL의 상등액을 얻었다. 이 상등액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시켜 2 mL의 methanol을 넣은 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 추출용매 50 µL를 가하여 측정하였으며, 저해활성은 계산식, ACE inhibitory activity(%)=[1-{(C_{Abs}-S_{Abs})/(C_{Abs}-B_{Abs})}]×100; “C_{Abs}: 대조구 흡광도, S_{Abs}: 시료 흡광도, B_{Abs}: 시료 무첨가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A(HMG CoA) reductase 저해활성

HMG CoA reductase 저해활성은 Kleinsek 등의 방법(20)을 변형하여 측정하였다. 추출물 40 µL, dimethyl sulfoxide 40 µL와 0.5 µM phosphate buffer(pH 7.0) 200 µL에 20 mM dithiothreitol 200 µL, 0.3 mM β-NADPH 200 µL를 넣고 혼합하였다. 다음 37°C에서 3분간 preincubation을 한 후 0.3 mM HMG CoA 200 µL를 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도 변화를 측정하였으며, 저해활성은 계산식, HMG CoA reductase inhibitory activity(%)=[1-{(C_{Abs}-S_{Abs})/(C_{Abs}-B_{Abs})}]×100; “C_{Abs}: 대조구 흡광도, S_{Abs}: 시료 흡광도, B_{Abs}: 시료 무첨가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

Acetylcholine esterase(AChE) 저해활성

AChE 저해활성은 Ellman 등의 방법(21)과 Sandahl과 Jenkins 방법(22)을 변형하여 측정하였다. Acetylcholinesterase(AChE)와 acetylthocholine iodine(ATC)은 100 mM phosphate buffer(pH 8.0)에 녹여 각각 0.25 U/mL와

75 mM을 제조하였으며, 발색시약은 39.6 mg의 DTNB [5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)]와 15 mg의 sodium bicarbonate를 100 mM phosphate buffer(pH 8.0) 10 mL에 녹여 제조하였다. 추출물 30 µL에 phosphate buffer(100 mM, pH 8.0) 2.8 mL, AChE(0.25 U/mL) 30 µL, DTNB 100 µL를 넣고 혼합한 후, 37°C에서 10분간 preincubation을 한 다음 기질 ATC 30 µL를 첨가하여 37°C에서 3분간 반응시킨 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 추출물 대신 100 mM phosphate buffer(pH 8.0) 30 µL를 가하여 측정하였으며, 저해활성은 계산식, acetylcholinesterase inhibitory activity(%)=[1-{(C_{Abs}-S_{Abs})/(C_{Abs}-B_{Abs})}]×100; “C_{Abs}: 대조구 흡광도, S_{Abs}: 시료 흡광도, B_{Abs}: 시료 무첨가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

α-Amylase 저해활성

α-Amylase 저해활성은 Lim 등(23)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 20 µL에 1 unit/mL porcine pancreas 기원의 α-amylase 5 µL와 50 mM potassium phosphate buffer(pH 6.9) 25 µL 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응액에 48 mM 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS) 발색시약을 100 µL 넣고 100°C에서 10분간 반응시켜 발색시킨 다음 냉각시켰다. 이 반응액에 1 mL 증류수를 가하고 잘 교반한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 저해활성은 α-amylase inhibition(%)=[1-{(C_{Abs}-S_{Abs})/(C_{Abs}-B_{Abs})}]×100; “C_{Abs}: 대조구 흡광도, S_{Abs}: 시료 흡광도, B_{Abs}: 시료 무첨가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

α-Glucosidase 저해활성

α-Glucosidase 저해활성은 Kim 등(24)의 방법에 따라 시료 50 µL, 1 unit/mL α-glucosidase 50 µL와 200 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 50 µL를 잘 혼합하여 37°C에서 10분간 전 처리하였다. 다음에 3 mM pNPG(p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside) 50 µL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.1 M Na₂CO₃ 750 µL로 반응을 정지시켜 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 저해활성은 α-glucosidase inhibitory activity(%)=[1-{(C_{Abs}-S_{Abs})/(C_{Abs}-B_{Abs})}]×100; “C_{Abs}: 대조구 흡광도, S_{Abs}: 시료 흡광도, B_{Abs}: 시료 무첨가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

Trypsin 저해활성

Trypsin 저해활성은 0.01%가 되도록 10 mM sodium acetate buffer(pH 7.5)에 용해한 trypsin 15 µL에 추출물 185 µL를 혼합하여 37°C에서 10분간 전 처리한 다음 3% 농도가 되도록 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해한 azocasein 0.8 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 뒤 110 mM trichloroacetic acid(TCA) 1.0 mL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 상온에서 15분간 반응

액을 정치하여 단백질을 침전시키고 10,000×g에서 20분간 원심분리 한 다음 상등액 1.2 mL에 1 N NaOH 1.4 mL를 혼합하여 440 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 저해활성은 trypsin inhibitory activity(%)=[1-{(C_{Abs}-S_{Abs})/(C_{Abs}-B_{Abs})}]×100; “C_{Abs}: 대조구 흡광도, S_{Abs}: 시료 흡광도, B_{Abs}: 시료 무침가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

Lipase 저해활성

Lipase 저해활성은 Saisuburamaniyan 등(25)의 방법을 변형하여 측정하였으며, 추출물 0.25 mL, 800 unit/mL lipase 0.5 mL와 0.05 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) 0.5 mL를 혼합하여 37°C에서 15분간 전 처리한 후 10%로 isooctane에 용해시킨 olive oil 1.25 mL를 첨가하여 37°C에서 20분간 진탕배양 하였다. 다음 acetone 5 mL로 반응을 정지시킨 후 5% cupric acetate 1 mL를 첨가하여 혼합한 뒤 상온에서 정치하여 상등액을 720 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 저해활성은 lipase inhibitory activity(%)=[1-{(C_{Abs}-S_{Abs})/(C_{Abs}-B_{Abs})}]×100; “C_{Abs}: 대조구 흡광도, S_{Abs}: 시료 흡광도, B_{Abs}: 시료 무침가구의 흡광도”에 의하여 산출하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 행하여 평균치와 표준편차로 나타내었고, 유의성 검증은 SPSS(12, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였으며, 항산화물질 및 생리활성 간의 상관관계는 Pearson's correlation analysis를 통하여 분석하였다.

결과 및 고찰

수율 및 페놀화합물 함량

추출방법을 달리한 참취 에탄올 추출물의 수율 및 폴리페놀, 플라보노이드, chlorogenic acid, cynarin 및 astragalinal 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 추출수율은 상온교반추출(SE, stirrer extraction), 환류냉각추출(RE, reflux extraction), 가압가열추출(AE, autoclave extraction), 저온고압추출(LTPE, low temperature high pressure ex-

traction), 초음파추출(USE, ultrasonification extraction)에서 각각 28.33%, 31.80%, 28.38%, 21.38% 및 31.19%로 추출방법에 따라 유의적인 차이를 나타내었으며, 환류냉각추출, 초음파추출, 가압가열추출, 상온교반추출, 저온고압추출 순으로 높았다. 본 연구에서 환류냉각추출, 가압가열추출 및 초음파추출에서 높은 수율을 나타내는 것은 열과 압력, 초음파 에너지에 의하여 불용성 성분들이 가용성화됨에 따라 용출이 용이하게 된 결과(26)라 판단되며, 가압가열추출 및 초음파추출에서 추출시간 대비 높은 수율을 나타내는 점으로 볼 때 적정 고온의 온도처리와 압력, 초음파에 의한 추출법이 산업적 적용에 경제적인 것으로 판단된다. 상온교반, 환류냉각, 가압가열, 저온고압 및 초음파추출의 폴리페놀 함량은 g당 각각 57.68 mg, 155.13 mg, 155.10 mg, 170.22 mg 및 153.54 mg으로 저온고압추출에서 가장 높은 함량이 검출되었고 상온교반추출 및 가압가열추출에서는 대등한 함량을 나타내었으며, 상온교반추출의 경우에는 가장 낮은 함량이 검출되었고 플라보노이드 함량 또한 유사한 경향을 나타내었다. Cynarin 함량은 환류냉각, 저온고압 및 초음파 추출에서 각각 32.27 mg/g, 33.83 mg/g 및 34.34 mg/g으로 대등한 함량을 나타내었는데 이는 고압하에서 막 투과성이 높아짐에 따라 폴리페놀 화합물의 용출이 용이해짐에 따른 결과로 사료된다. 열처리의 경우 결합형 페놀화합물을 유리형으로 전환시켜 용출을 쉽게 하거나 고분자 페놀화합물을 저분자로 분해해 시료에서 추출되는 페놀성 물질의 함량을 증가(27)시키는 것으로 보고된 바 있으나, 열처리에 따른 유용성분과 항산화 활성은 식물체의 종류나 결합구조, 소재에 따른 성분의 변화 모두에 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다(28). 한편 고온고압추출에서는 25.40 mg/g으로 상온추출을 제외한 다른 추출물에 비해 낮은 함량이 검출되었는데, 이는 열과 압력에 의하여 식물체의 세포벽이 파괴되어 불용성 성분으로부터 폴리페놀 성분이 유리되는 정도는 증가(29)하는 것으로 간주되나 고온에 의한 cynarin 성분의 손실이 있는 것으로 판단된다. Chlorogenic acid 함량에서는 각각 4.10 mg/g, 5.11 mg/g, 5.50 mg/g, 5.07 mg/g 및 5.12 mg/g으로 가압가열에서 높은 함량을 나타내었고, 환류냉각, 저온고압, 초음파 추출의 경우는 유사한 수준의 함량(5.07~5.12 mg/g)을 나타내었다.

Table 1. Yields, total polyphenol, flavonoid, cynarin, chlorogenic acid, and astragalinal contents of *Aster scaber* extracts with different extraction methods (mg/g, dry basis)

Samples ¹⁾	Yields (%)	Polyphenols	Flavonoids	Cynarin	Chlorogenic acid	Astragalinal
SE	28.33±0.68 ^{b2)3)}	57.68±0.44 ^c	14.45±0.23 ^c	18.17±0.10 ^d	4.10±0.02 ^c	3.84±0.02 ^b
RE	31.80±0.58 ^a	155.13±0.85 ^b	49.47±0.53 ^b	32.27±0.25 ^b	5.11±0.05 ^b	3.26±0.07 ^d
AE	28.38±0.53 ^b	155.10±1.21 ^b	46.43±0.20 ^d	25.40±0.30 ^c	5.50±0.05 ^a	3.58±0.06 ^c
LTPE	21.38±0.43 ^c	170.22±0.73 ^a	52.44±0.46 ^a	33.83±0.25 ^a	5.07±0.05 ^b	6.96±0.06 ^a
USE	31.19±1.20 ^a	153.54±2.04 ^b	47.77±0.27 ^c	34.34±0.49 ^a	5.12±0.05 ^b	3.12±0.03 ^c

¹⁾SE, stirrer extraction; RE, reflux extraction; AE, autoclave extraction; LTPE, low temperature high pressure extraction; USE, ultrasonification extraction.

²⁾Values are mean±standard deviation of triplicate determinations.

³⁾Different superscripts within a column indicate significant differences ($P<0.05$).

Astragalalin 함량의 경우는 저온고압추출(6.96 mg/g)이 다른 추출군에 비해 81.25~123.08% 높은 함량이 검출되었다. 이상의 결과 유용성분의 추출 수율을 높이기 위한 적정 추출 조건이 요구되었으며, 참취의 경우 생리활성을 나타내는 유효성분을 다량 함유하고 있어 적정 추출 조건의 확립을 통하여 천연항산화제 및 기능성 증진을 위한 소재로서 이용 가능할 것으로 판단된다.

XO, ACE, HMG CoA 및 AChE 저해활성

추출방법을 달리한 참취 추출물(50 mg%)의 xanthine oxidase(XO), angiotensin-I converting enzyme(ACE), 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A(HMG-CoA) reductase 및 acetylcholine esterase(AChE) 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 상온교반, 환류냉각, 가압가열, 저온고압 및 초음파 추출물의 XO 저해활성은 각각 34.25%, 42.86%, 47.55%, 88.85% 및 79.26%를 나타내었으며 저온고압추출에서 가장 높은 저해활성을 보였다. 모든 추출물의 경우 합성 산화방지제인 BHT(butylated hydroxytoluene)에 비하여 유의적으로 높은 저해활성을 나타내었으며, 특히 저온고압추출 및 초음파추출의 경우 양성대조군인 ascorbic acid(63.60%)에 비해 높은 저해활성을 나타내었다. ACE 저해활성에서는 각각 30.08%, 34.02%, 26.76%, 46.21% 및 35.00%로 저온고압추출에서 가장 높

은 반면 고온고압추출의 경우에는 낮은 저해활성을 나타내었다. 항고혈압활성의 차이는 식물자원에 함유된 다양한 페놀화합물의 작용에 의한 가능성이 높다는 보고(30)와 식물체 내에서 분리한 페놀성 물질 중 플라보노이드 성분이 ACE 저해활성을 높인다는 보고(31)로 볼 때 활성의 차이는 추출방법에 따라 함유되는 페놀화합물에 기인한 것으로 추측되며, 향후 체계적인 분석이 필요할 것으로 사료된다. 한편 참취 추출물의 경우 대표 저해인자로 알려진 활성물질인 catechin(64.76%)의 수준에는 미치지 못하나 높은 활성을 나타내어 천연 항고혈압 소재로써의 이용 가능성을 예견케 하였으며, 특히 저온고압추출 시 우수한 활성을 나타내어 산업적 활용에 기여할 수 있으리라 사료된다. 동맥경화 치료에 사용되는 대부분의 statin 계열의 약은 HMG-CoA reductase의 저해제로 작용하는데, 고단가인 단점과 장기 복용 시 일부 부작용이 있다고 알려지고 있어 독성이 없고 안전한 식품소재를 대상으로 HMG-CoA reductase 활성 저해제 조성물 개발에 대한 의의가 크다고 할 수 있다. HMG-CoA reductase 저해활성에서는 저온고압추출 및 초음파추출에서 유의적으로 높은 저해활성을 보였으며, 특히 초음파추출의 경우는 콜레스테롤 저하 등의 다양한 생리활성이 알려지고 있는 caffeoylquinic acid류의 chlorogenic acid 및 cynarin과 대등한 활성을 나타내었다(32). 이와 같은 결과는 참취에 함유되어 있는 다양한 유효성분이 콜레스테롤 저

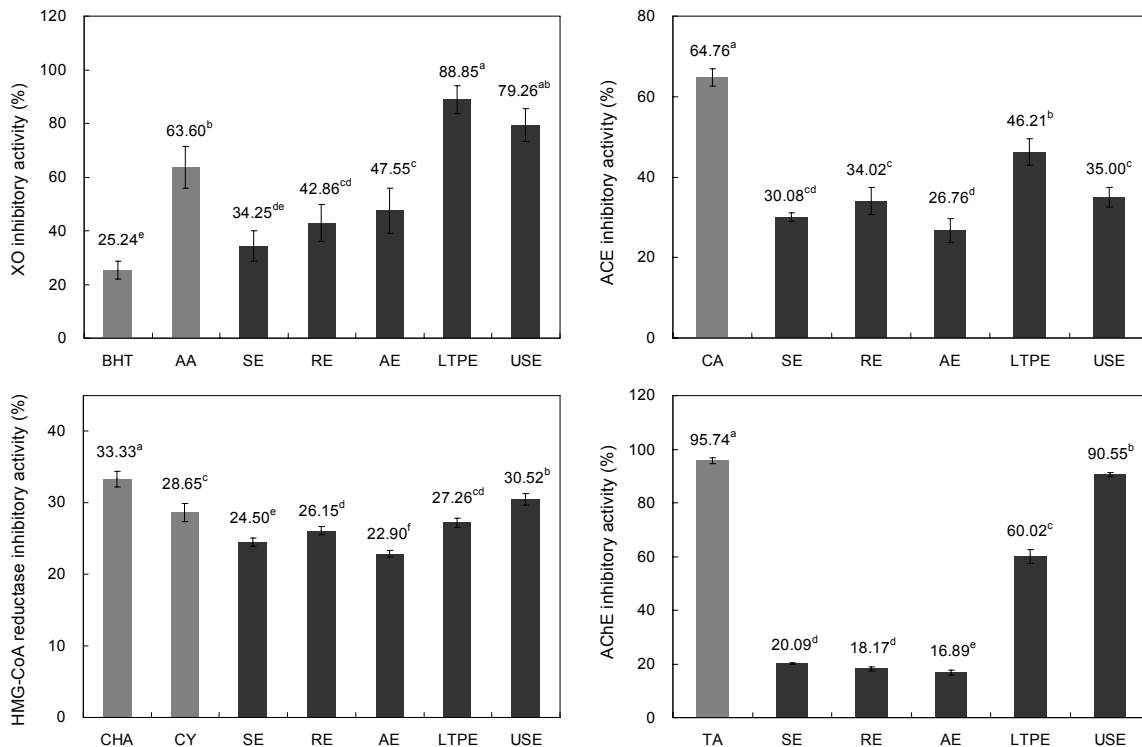


Fig. 1. Xanthine oxidase (XO), angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitory activity, acetylcholine esterase (AChE) inhibitory activity of *Aster scaber* extracts with different extraction methods (50 mg%, dry basis). Values are means of triplicate determinations. Values with different letters (a-f) are significantly different ($P < 0.05$). Samples are the same as in Table 1. The concentrations of positive control (BHT, butylated hydroxytoluene; CA, catechin; CHA, chlorogenic acid; CY, cynarin; TA, tacrine) solutions were measured at 50 mg%.

하에 많은 기여를 하고 있음을 시사한다. 상온교반, 환류냉각, 가압가열, 저온고압 및 초음파 추출물의 AChE 저해활성은 각각 20.09%, 18.17%, 16.89%, 60.02% 및 90.55%로 저온고압추출 및 초음파추출에서 유의적으로 높은 활성을 나타내었으며, 특히 초음파추출의 경우 치매 저해제인 tacrine(95.74%)에 근접하는 저해활성을 나타내었다. 이는 단일 성분이 아닌 추출물인 점으로 볼 때 참취 초음파 추출물의 경우 치매 예방 및 개선제로서의 가능성도 기대된다.

이상의 결과 XO, ACE, HMG CoA 및 AChE 저해활성 모두 저온고압추출 및 초음파추출에서 우수한 저해활성을 나타내었는데, 이는 저온고압 하에서 세포막이 비가역적으로 분해되거나 막 투과성이 증가됨에 따라 물질 이동이 용이하게 되어 보다 많은 성분이 세포 밖으로 쉽게 용출되어 나옴과 동시에 약용식물의 주요 유용성분을 불순물 없이 높은 순도로 추출할 수 있는 공정(33)과 낮은 온도 하에서 열적 손실이 적음에 따라 기능 특이성을 나타내는 것으로 추정된다. 더불어 초음파 에너지에 의하여 불용성 성분들이 가용성화 됨에 따라 용출이 용이하게 된 현상과도 관련이 있는 것으로 여겨지며, 페놀화합물 함량과의 상호관계를 나타내는 것으로 판단된다.

α -Amylase, α -glucosidase, trypsin, lipase 저해활성

추출방법을 달리한 참취 추출물(50 mg%)의 α -amylase,

α -glucosidase, trypsin, lipase 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 상온교반, 환류냉각, 가압가열, 저온고압 및 초음파 추출물의 α -amylase 저해활성은 각각 60.00%, 71.49%, 62.99%, 82.76% 및 78.39%로 저온고압추출 및 초음파추출에서 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. 특히 저온고압추출 및 초음파추출의 경우 양성대조군인 catechin(78.39%)에 비해 대등하거나 높은 활성을 나타내는 것으로 확인됨에 따라 과잉으로 섭취된 체내의 탄수화물의 분해 및 흡수율을 줄여줌으로써 비만 예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다. α -Glucosidase 저해활성에서는 상온교반추출에서 가장 높은 반면 가압가열추출에서는 낮은 활성을 보였으며, 상온교반추출의 경우 양성 대조군인 acarbose(28.65%)에 비해 상당히 높은 저해활성을 나타내는 것으로 보아 혈당의 급격한 증가를 예방할 수 있는 기능성 소재로서 개발 가능성이 높을 것으로 기대되며, 저온고압추출의 경우 혈당조절능이 보고된 바 있는 chlorogenic acid(24.09%)와 대등한 저해활성을 나타내어 소재활용 가치가 높은 것으로 여겨진다(32). 한편 상온교반, 환류냉각, 가압가열, 저온고압 및 초음파 추출물의 trypsin 저해활성의 경우는 각각 49.74%, 74.96%, 69.78%, 70.64% 및 81.35%로 초음파추출에서 유의적으로 높은 저해활성을 나타내었다. 특히 상온교반추출을 제외한 모든 추출물의 경우 양성대조군인 catechin(67.53%)에 비해 높은 저해활성을 나타내었으며 참취

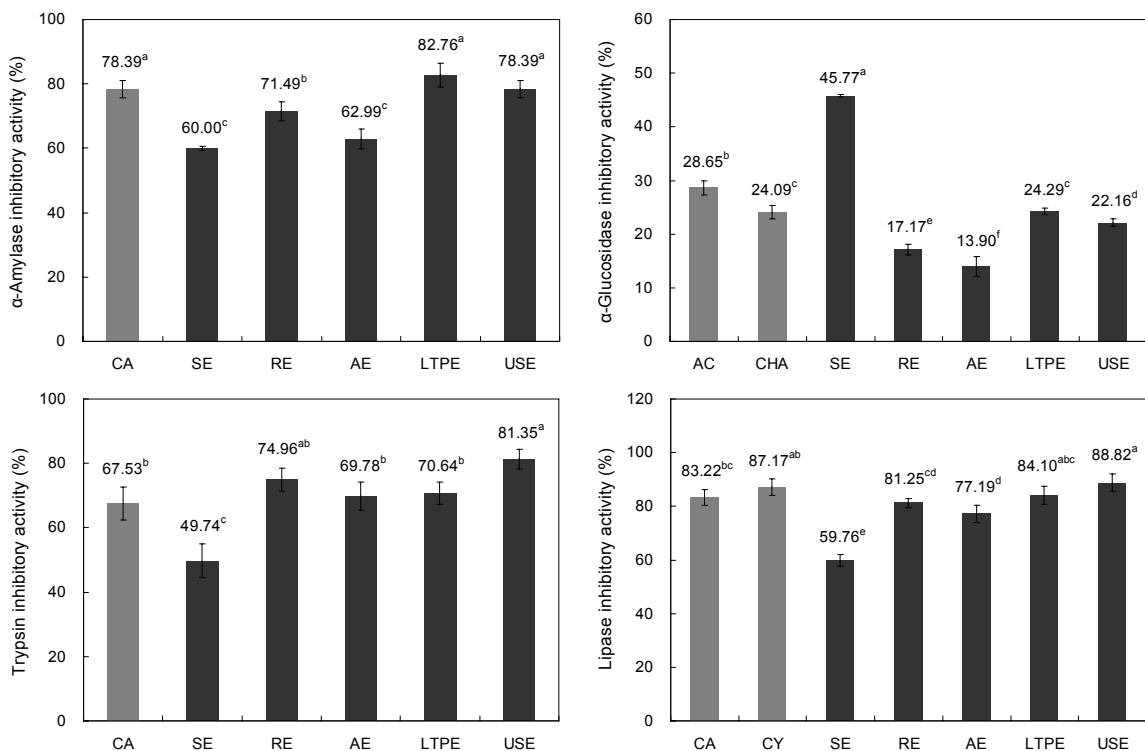


Fig. 2. Digestive enzyme inhibitory activity of *Aster scaber* extracts with different extraction methods (50 mg%, dry basis). Values are means of triplicate determinations. Values with different letters (a-f) are significantly different ($P < 0.05$). Samples are the same as in Table 1. The concentrations of positive control (CA, catechin; AC, acarbose; CHA, chlorogenic acid; CY, cynarin) solutions were measured at 50 mg%.

Table 2. Correlation coefficients among phenolic compounds, physiological properties and digestive enzyme inhibitory activity of *Aster scaber* extracts with different extraction methods

Factor ¹⁾	CY	CHA	AS	XO	ACE	HMG CoA	AChE	α -Amylase	α -Glucosidase	Trypsin	Lipase
CY	1.000	0.628**	0.245	0.753**	0.626*	0.723**	0.664**	0.868**	-0.647**	0.868**	0.937**
CHA		1.000	-0.015	0.384	0.054	0.085	0.176	0.359	-0.976**	0.772**	0.753**
AS			1.000	0.582*	0.774**	0.050	0.206	0.520*	0.096	-0.093	0.126
XO				1.000	0.757**	0.672**	0.840**	0.830**	-0.283	0.560*	0.695**
ACE					1.000	0.546*	0.527*	0.831**	-0.021	0.251	0.458
HMG-CoA						1.000	0.899**	0.751**	-0.067	0.540*	0.657**
AChE							1.000	0.728**	-0.086	0.549*	0.643**
α -Amylase								1.000	-0.333	0.585*	0.808**
α -Glucosidase									1.000	-0.796**	-0.744**
Trypsin										1.000	0.852**
Lipase											1.000

¹⁾CY, cynarin; CHA, chlorogenic acid; AS, astragal; XO, xanthin oxidase inhibitory activity; ACE, angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity; HMG-CoA, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitory activity; AChE, acetylcholine esterase inhibitory activity; α -amylase, α -amylase inhibitory activity; α -glucosidase, α -glucosidase inhibitory activity; trypsin, trypsin inhibitory activity; lipase, lipase inhibitory activity. * P <0.05, ** P <0.01.

추출물의 경우 과잉으로 흡수되는 단백질의 양을 제한함으로써 체중조절 및 비만 방지에 영향을 줄 것으로 판단된다. Lipase 저해활성은 저온고압 및 초음파 추출에서 유의적으로 높은 저해활성을 나타내었으며, 특히 초음파추출(88.82%)의 경우 양성대조군인 catechin(83.22%) 및 cynarin(87.17%)에 비해 높은 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 일반적으로 천연 식물추출물의 경우 순수하게 정제된 후에는 활성이 더욱 높아지는 경향을 보이므로 적정 추출방법 및 효능물질의 분리에 따라 더욱 효과적으로 lipase 저해를 할 수 있을 것으로 사료된다. 아울러 기존의 비만 치료제로부터 발생되었던 부작용을 대체할 수 있는 천연의 항비만 소재로서의 이용 가능성을 예견케 하였으며, 비만과 기타 성인병 등을 예방 또는 치료할 수 있는 경쟁력을 확보할 수 있을 것으로 기대된다.

페놀화합물과 생리활성 및 소화효소 저해활성 간의 상관관계

추출방법을 달리한 참취 추출물의 페놀화합물과 생리활성 및 소화효소 저해활성 간의 상관관계를 분석한 결과는 Table 2와 같다. Cynarin의 함량이 높을수록 XO, HMG CoA, α -amylase, trypsin 및 lipase 저해활성이 높았으며, 상관계수는 각각 0.753, 0.723, 0.868, 0.868, 0.937로 양의 상관관계를 보였다(P <0.01). Chlorogenic acid의 함량이 높을수록 trypsin과 lipase 저해활성은 각각 0.772 및 0.753으로 양의 상관관계를 나타내었으며(P <0.01), astragal 함량 또한 ACE 저해활성($r=0.774$, P <0.01)에서 양의 상관관계를 나타내었다. 본 연구에서 cynarin 및 chlorogenic acid의 경우 그 함량이 높을수록 소화효소 활성을 유의적으로 저해시키는 것으로 관찰되었는데 이는 식물체 페놀계 화합물(quinic acid, ferulic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, gallic acid, p-benzoquinone)의 함량이 높을수록 α -amylase, trypsin 및 α -chymotrypsin의 활성

을 저하시킨다는 보고(34)와 일치하는 결과이다. 한편 식물로부터 추출된 페놀 부류의 화합물은 항산화능을 포함한 다양한 생리적 효능을 나타내며, 함량 대비 활성이 증가하는 상관관계를 나타내는 것으로 보고된 바 있다(35). 우수한 활성을 나타내는 저온고압 및 초음파 추출물의 경우 참취에 함유되어 있는 caffeoylquinic acid류 이외의 페놀화합물의 추출수율을 증대시킴에 따라 다양한 생리활성을 부여하는 소재로 활용하는 데 좋은 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

참취의 활용 및 생리활성을 증가시킬 수 있는 적정 추출방법을 알아보려고 상온교반, 환류냉각, 가압가열, 저온고압 및 초음파 추출법을 이용하여 추출한 두벌 재 수확 참취 추출물의 생리활성을 비교하였다. 추출 수율은 환류냉각추출, 초음파추출, 가압가열추출, 상온추출, 저온고압추출 순으로 높았다. 폴리페놀, 플라보노이드 함량은 저온고압추출에서 유의적으로 높았고, 상압가열, 고온고압, 초음파추출에서는 대등한 함량을 나타내었다. 페놀화합물 정량의 경우 chlorogenic acid 함량은 가압가열추출에서 유의적으로 높았으며 cynarin 함량의 경우 환류냉각, 저온고압 및 초음파 추출에서 유의적으로 높았고, astragal 함량의 경우 저온고압추출에서 높은 함량이 검출되었다. Xanthine oxidase(XO), angiotensin I-converting enzyme(ACE), HMG-CoA reductase 저해활성의 경우 저온고압추출 및 초음파 추출물에서 우수한 활성을 나타내었으며, 소화효소 저해활성(α -amylase, trypsin, lipase)에서도 유사한 경향을 나타내었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때 저온고압 및 초음파 추출물에서 소재 활용가치가 높을 것으로 사료되며 천연 항산화제 및 기능성 증진을 위한 소재로 이용 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부에서 시행한 지역산업기술개발사업(과제번호: R0000780)의 지원을 받아 수행된 연구로 감사드립니다.

REFERENCES

- Kim WB. 2009. Industrial use of wild edible plants. Wild edible plants for the development of medicare industry at Yanggu-gun. Seminar of Yanggu-gun. Yanggu, Korea. p 39-66.
- Kim TJ. 1996. *Korea resources plants IV*. Seoul National University Press, Seoul, Korea. p 230.
- Jung CM, Kwon HC, Seo JJ, Ohizumi Y, Matsunaga K, Saito S, Lee KR. 2001. Two new monoterpene peroxide glycosides from *Aster scaber*. *Chem Pharm Bull* 49: 912-914.
- Hur JY, Lee P, Kim H, Kang I, Lee KR, Kim SY. 2004. (-)-3,5-Dicaffeoyl-muco-quinic acid isolated from *Aster scaber* contributes to the differentiation of PC12 cells: through tyrosine kinase cascade signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 313: 948-953.
- Kwon HC, Jung CM, Shin CG, Lee JK, Choi SU, Kim SY, Lee KR. 2000. A new caffeoyl quinic acid from *Aster scaber* and its inhibitory activity against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) integrase. *Chem Pharm Bull* 48: 1796-1798.
- Ham SS, Hwangbo HJ, Cui CB, Lee EY, Cho MA, Lee DS. 2001. Suppressive effects of ethanol extract of *Aster scaber* root on genotoxicity. *J East Asian Soc Dietary Life* 11: 446-471.
- Park JA, Kim MK. 1999. Effect of Korean native plant diet on lipid metabolism, antioxidative capacity and cadmium detoxification in rats. *Korean J Nutr* 32: 353-368.
- Chon SU, Kim TS, Boo HO. 2008. *In vitro* assessment on biological activities of methanol extracts from several compositae edible plants. *Korean J Plant Res* 21: 196-203.
- Lee SE, Lee JH, Kim JK, Kim GS, Kim YO, Soe JS, Choi JH, Lee ES, Noh HJ, Kim SY. 2011. Anti-inflammatory activity of medicinal plant extracts. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19: 217-226.
- Lee HJ, Han DS, Kim MK. 2001. Effect of dried powder and juice of *Aster scaber* on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 34: 375-383.
- Zhao Y, Zhao J. 2006. Advances incaffeoylquinic acid research. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 31: 869-874.
- Ishiguro K, Oku H. 1997. Antipruritic effect of flavonol and 1,4-naphthoquinone derivatives from *Impatiens balsamina* L. *Phytother Res* 11: 343-347.
- Kim HY, Moon BH, Lee HJ, Choi DH. 2004. Flavonoids glycosides from the leaves of *Eucommia ulmoides* with glycation inhibitory activity. *J Ethnopharmacol* 93: 227-230.
- Kotani M, Matsumoto M, Fujita A, Higa S, Wang W, Suemura M, Kishimoto T, Tanaka T. 2000. Persimmon leaf extract and astragalol inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice. *J Allergy Clin Immunol* 106: 159-166.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
- Saleh ES, Hameed A. 2008. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem* 114: 1271-1277.
- Lee WJ, Choi SW. 2012. Quantitative changes of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves in relation to varieties, harvest period, and heat processing. *Prev Nutr Food Sci* 17: 280-285.
- Stirpe F, Corte Della E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
- Kleinsek DA, Ranganathan S, Porter JW. 1977. Purification of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from rat liver. *Proc Natl Acad Sci* 74: 1401-1435.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95.
- Sandahl JF, Jenkins JJ. 2002. Pacific steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to chlorpyrifos: benchmark concentration estimates for acetylcholinesterase inhibition. *Environ Toxicol Chem* 21: 2452-2458.
- Lim CS, Li CY, Kim YM, Lee WY, Rhee HI. 2005. The inhibitory effect of *Cornus walteri* extract against α -amylase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 103-108.
- Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. 2008. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry* 69: 2820-2825.
- Saisubramanian N, Krithika L, Dileena KP, Sivasubramanian S, Puvanakrishnan R. 2004. Lipase assay in soils by copper soap colorimetry. *Anal Biochem* 330: 70-73.
- Kim JW, Kim JK, Song IS, Kwon ES, Youn KS. 2013. Comparison of antioxidant and physiological properties of Jerusalem artichoke leaves with different extraction processes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 68-75.
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. 2005. The effects of cooking methods total phenolic and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem* 93: 713-718.
- Jiratanan T, Liu RH. 2004. Antioxidant activity of processed table beets (*Beta vulgaris* var *conditiva*) and green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem* 52: 2659-2670.
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99: 381-387.
- Kim KM, Suh HJ, Hung SH, Cho WD, Ma SJ. 1999. Chemical structure of angiotensin converting enzyme inhibitor isolated from onion flesh. *Food Sci Biotechnol* 8: 329-332.
- Kameda K, Takaku T, Okyada H, Kimyra H. 1987. Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J Nat Prod* 50: 680-689.
- Clifford MN. 1999. Chlorogenic acid and other cinnamates - nature, occurrence, and dietary burden. *J Sci Food Agric* 79: 362-372.
- Shouqin Z, Junjie Z, Changzhen W. 2004. Novel high pressure extraction technology. *Int J Pharm* 278: 471-474.
- Rohn S, Rawel HM, Kroll J. 2002. Influence of plant phenols on the activity of enzymes. *Food Sci Biotechnol* 11: 4-9.
- Osawa T. 1994. Novel natural antioxidant for utilization in food and biological system. In *Postharvest Biochemistry of Plant Food Material in the Tropics*. Uritani I, Garcia VV, Mendoza EM, eds. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan. p 241-251.