

우엉 뿌리 추출물의 항산화 활성 및 세포 독성 평가

문지선^a · 이진희^b · 유선희^{c†}

중원대학교 뷰티헬스학과^a, 동국대학교 문화서비스학과^b, 건국대학교 생물공학과^{c†}
(2017년 1월 31일 접수: 2017년 2월 27일 수정: 2017년 3월 6일 채택)

Antioxidant Activity and Cytotoxicity on cell of *Arctium lappa L.* root extract

Ji-sun Moon^a · Jin-Hee Lee^b · Seon-hee You^{c†}

^aDepartment of Beauty Health, Jungwon University, 85, Munmu-ro, Goesan-eup, Goesan-gun, Chungbuk, 28024, Korea

^bDepartment of Culture Service, Dongguk University, 30, Pildong-ro 1-gil, Jung-gu, Seoul, Korea

^cDepartment of Bioengineering, Konkuk University, 120, Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul, 05029, Korea

(Received January 31, 2017; Revised February 27, 2017; Accepted March 6, 2017)

요약 : 본 연구는 우엉 뿌리 추출물의 항산화 활성 및 피부에 대한 안전성을 평가하기 위하여 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거 활성을 통하여 항산화 활성을 살펴보고, B16F10 melanoma 세포에 대한 세포 독성 및 자외선 A에 대한 피부 세포 보호 효과를 확인하였다. 또한 화장품 소재로서의 활용을 검증하기 위하여 1차 피부 첩포 테스트를 실시하였다. 본 실험 결과 우엉 뿌리 추출물의 함량이 증가됨에 따라 높은 폴리페놀과 플라보노이드의 함량이 확인되었으며, DPPH radical 소거 활성을 확인하였다. B16F10세포에 대한 세포 독성을 확인한 결과 B16F10 melanoma 세포에 대해 독성이 낮고, 자외선 A에 대해 80% 이상의 세포 보호 효과를 확인하였다. 또한 1차 피부 첩포 테스트를 통해 우엉 뿌리 추출물이 피부에 자극이 거의 없음을 확인하였다. 이러한 결과를 통하여 우엉 뿌리 추출물이 항산화 활성과 자외선에 대한 피부 보호 효과가 뛰어나고 피부 세포에 대한 독성이 낮으며, 피부에 대한 안전성이 확인됨에 따라 화장품 소재로서의 가능성을 확인하였다.

주제어 : 우엉, 항산화, 화장품, 세포 독성, 피부 안전성

Abstract : In this study, to evaluate antioxidant activity and safety on skin of *Arctium lappa L.* root extract, antioxidant activity was understood through total content of polyphenol, total content of flavonoid and DPPH radical scavenging activity, and cytotoxicity for B16F10 melanoma and skin cell protection effect for ultraviolet rays A were confirmed. To verify the application as cosmetic material, the first skin patch test was performed. The result of this experiment showed that as the

[†]Corresponding author
(E-mail:

content of *Arctium lappa* L. root extract increased, the content of polyphenol and flavonoid increased, and DPPH radical scavenging activity was confirmed. The result of checking cytotoxicity for B16F10 melanoma cells showed that it had low toxicity, and over 80% cell protection effect for ultraviolet rays A was confirmed. In addition, through the first skin patch test, *Arctium lappa* L. root extract was confirmed to have almost no skin irritation. Through this result, *Arctium lappa* L. root extract is excellent in skin protection from ultraviolet rays, has low toxicity for skin cells and is safe on skin, so its possibility of being a cosmetic ingredient was verified.

Keywords : *Arctium lappa* L., Antioxidant, Cosmetics, Cytotoxicity, Skin safety

1. 서론

현대의학의 발달과 생활환경 개선으로 인하여 개인의 평균 수명이 점차 증가하고 있으며, 이에 따라 삶의 질적 향상과 건강에 대한 관심이 높아지고 있다. 우리의 몸에서는 에너지 생산을 위한 산화와 환원 과정 중에서 상당량의 활성산소들이 생성되게 된다. 이에 따라 건강을 유지하기 위한 방법 중의 하나로서 동맥경화, 심혈관의 기능장애, 염증유발, 암, 약물독성 등을 포함하는 다양한 병리학적 증상 유발에 관여하는 산화적 스트레스를 줄이는 것은 중요한 의미를 가지게 된다 [1]. 항산화 성분이 항산화 효소 활성 증가 등으로 체내 항산화 효능을 증진시키고, 누적되는 산화적 손상에 대항하기 위하여 매우 중요한 것으로 보고되고 있으며, 인체의 항산화 시스템을 향상시키는 것은 활성산소로부터 피부 질환 및 각종 질환을 예방하거나 지연시키는데 중요한 역할을 하게 된다. 더불어 부작용이 적고, 안전성이 검증된 항산화 물질을 함유한 천연 자원에 대한 관심도가 증가하고 있다 [2-4]. 이러한 추세에 따라 항산화제는 기능성 혹은 생리활성물질의 하나로서 식품의 변질을 예방하고, 생체 내에서 생성되는 활성산소 및 활성산소에 의해 유도되는 지질 과산화 반응을 억제하며 노화방지, 성인병 예방의 기능을 할 수 있는 물질로 알려짐에 따라 생활 필수품, 식품, 화장품 등이 다양하게 개발되고 있다 [5,6]. 천연물에 존재하는 대표적인 항산화 물질로는 phenolic compounds [7], ascorbic acid [8], tocopherol [9], carotenoids [10], flavonoids [11], lutein [12] 등이 알려져 있으나 극히 일부의 물질을 제외하고는 실용적으로 사용되는 경우는 별로 없기 때문에 효과적인 항산화제 개발을 위해서는 독성이 낮은 천연물에

대한 보다 광범위한 검색과 연구가 필요한 실정이다.

우영(*Arctium lappa* L.)은 쌍떡잎 식물 초롱꽃 목 국화과의 2년생 작물로서 지상부는 50~150 cm까지 자라며, 곧은 뿌리는 30~60 cm까지 자란다. 7월에 피는 꽃은 총상화(筒狀花)이며, 관모(冠毛)는 갈색이다 [13]. 우영의 원산지는 유럽이나 시베리아, 중국, 한국 등에서 널리 분포하며, 국내에서는 경상남도를 중심으로 대량 재배되고 있다 [14]. 우영은 오래 전부터 종자, 잎, 뿌리를 약재로 사용하였으며, 특히 뿌리는 특유의 향기와 씹는 맛이 좋아 오랫동안 식이로 사용되어 왔다. 또한 식이섬유가 풍부하고, 당질의 대부분이 이눌린의 형태이기 때문에 혈당을 안정시키는 데 도움이 되는 것으로 알려져 있다 [15]. 현재까지 우영의 효능을 검증하기 위한 기능성 연구로는 우영 추출물에서 항염증 효과 [16,17], 쥐 모델에서의 혈중 콜레스테롤, 중성지방, LDL 콜레스테롤 억제 효과 [18], 우영에서 추출한 사포닌의 항 돌연변이 작용 [19-21], 쥐 모델에서의 간 보호 효과 [22], 아토피성 피부염에서의 항알러지 효과 [23], 우영 추출물의 항균효과 [24], 항산화 효과 [25-28] 등의 효과가 보고되고 있다.

하지만 미용적인 측면에서의 연구는 아직까지 이루어지고 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 우영 뿌리 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거능을 통한 항산화 활성을 알아보고, 피부 세포에 대한 독성 평가와 Ultraviolet-A(UVA)에 대한 보호 효과를 살펴보고자 하였다. 또한 피부에 대한 1차적인 안전성 검증인 1차 철폐 테스트를 실시하여, 화장품 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

2.1.1. 시료 준비

본 실험에 사용된 우엉 뿌리는 건조하여 70% ethanol용액에 10배의 무게를 가한 후 37°C incubator 안에서 72 h 추출하였다. 추출액만을 분리하기 위하여 여과지(Whatman No.2)를 이용하여 여과한 후 감압 농축을 통해 ethanol을 제거한 뒤 최종 extract를 얻어 본 실험에 사용하였다.

2.1.2. 세포주 및 세포 배양

본 실험에 사용한 세포주인 B16F10 melanoma 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, High glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; Sigma-Aldrich, USA) 배지에 10% fetal bovine serum (FBS; Sigma-Aldrich, USA)과 1% penicillin (100 IU/mL, GE Healthcare Life Sciences, USA), 1% streptomycin (50 µg/mL, GE Healthcare Life Sciences)를 첨가하여 37°C로 유지되는 5% CO₂ 상대습도 100% 습윤 배양기에서 배양하였다.

2.1.3. 우엉 뿌리 추출물을 함유한 크림 제형

Table 1과 같이 우엉 뿌리 추출물을 함유한

크림을 제조하였다. 수상인 A상과 유상인 B상을 측량 후 70°C 이상으로 가온하여 모든 성분이 용해되게 한 후, A상에 B상을 넣고 5 min 동안 2,500 RPM, 70°C 조건에서 유회하였다. C상을 첨가하여 5 min 동안 2,500 RPM, 50°C 조건에서 유회하였으며, 이후 냉각하여 40°C에서 D상을 넣고 10 min 교반한 후 밀봉하여 24 h 숙성시킨 후 본 실험에 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량의 측정은 Folin-Denis 방법 [29]을 수정하여 비색 정량하였다. 우엉 뿌리 추출물을 각 농도별로 희석한 후 시료 400 µL와 Folin-Denis reagent (Sigma-Aldrich, USA) 400 µL를 혼합하여 3 min 실온에서 반응시켰다. 3 min 반응시킨 후 10% Na₂CO₃ (Samchun, Korea)를 400 µL를 혼합하여 암실에서 60 min 반응시킨 후 상등액 200 µL씩 96 well plate에 분주하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였으며, 표준물질 caffeic acid (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하여 표준 검량선을 구한 후, 시료 추출물의 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

Table 1. Formula of *Arctium lappa* L. root extract Cream

No.	Ingredients	Composition (%)
A	Distilled Water	61.6
	Glycerine	15
	EDTA 2Na	0.05
	Cyclomethicone (DC345)	2.3
B	Grape seed oil	1
	Cetearyl alcohol/Cetearyl glucoside	1
	Panthenol	1
	Glyceryl stearate/PEG 300 stearate	1
	Butyl Hydroxy Toluene	0.05
C	Butylene Glycol Dicaprylate	2
	<i>Arctium lappa</i> L. root extract	5
	sodium polyacrylate/ethylhexyl stearate/trideceth-6	10
	Total	100

2.2.2. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Moreno방법[30]을 이용하여 측정하였다. 우엉 뿌리 추출물을 각 농도별로 희석한 후 시료 100 μ L 와 10% aluminum nitrate (Sigma-Aldrich, USA) 20 μ L, 1M potassium acetate (Sigma-Aldrich, USA) 20 μ L, ethanol (Duksan, Korea) 860 μ L를 차례로 혼합하여 실온에서 40 min 방치 후 원심분리기로 부유물을 가라앉힌 후 96 well plate에 200 μ L씩 분주하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였으며, 표준물질 quercetin (Sigma-Aldrich, USA)을 사용하여 표준 검량선을 구한 후, 시료 추출물의 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

2.2.3. 전자공여능 (radical scavenging activity)

전자공여능은 blois의 방법[31]을 이용하여 측정하였다. 우엉 뿌리 추출물을 농도별로 희석한 후 96 well plate에 10 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, Sigma-Aldrich, USA)용액 180 μ L와 시료액 20 μ L를 혼합하여 차광 상태에서 37°C, 30 min 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였으며, 양성 대조군으로는 Ascorbic acid (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였다.

$$\text{DPPH radical 소거 활성(\%)} = 100 - \left\{ \frac{\text{첨가군 흡광도}}{\text{무첨가군 흡광도}} \times 100 \right\}$$

2.2.4. 세포 생존율 및 UVA 에 대한 피부 세포 보호 효과

neutral red (NR) assay를 이용하여 우엉 뿌리 추출물이 B16F10 melanoma 세포에 대한 세포 생존율과 UVA를 조사한 후 우엉 뿌리 추출물의 세포 보호 효과를 측정하였다. B16F10 세포를 96 well plate에 well 당 3×10^4 cells/well의 세포를 24 h 동안 배양기에서 부착 시킨 후, 24 h 후 우엉 뿌리 추출물을 농도별로 처리한 다음

UVA를 조사 후 37°C에서 CO₂ 배양기에서 48 h 동안 배양하였다. 48 h 후 NR solution (Sigma-Aldrich, USA)이 1% 포함된 무 혈청배지로 교환하여 3 h 동안 배양한 다음 세포 고정액으로 10% formaldehyde 용액이 첨가된 phosphate buffered saline (PBS)을 각 well에 100 mL로 20 min 처리하여 고정하였다. NR desorb solution (1% glacial acetic acid, 49% ethanol, 50% distilled water)을 각 well에 100 mL을 가하여 세포 내의 NR을 추출하고 microplate reader (Synergy HT; BioTek Instruments, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

2.2.5. 1차 첩포 테스트 시험 평가

본 실험에 참가하는 인원은 화장품 인체적용시험 및 효력시험 가이드라인[32]에 이거하여 20~30대 성인 남녀 10명을 대상으로 진행하였다. 임상 대상자의 상박 안쪽에 착색이나 피부 손상이 없는 부위에 24 h 동안 첩포하였다. 첩포 제거 후, 일상생활 24 h 경과 후의 피부 자극 정도를 연구자가 육안 평가를 실시하였으며, 홍반 반응을 10점 만점의 척도로 평가하였다. 평가 내용은 Table 2에 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 우엉 뿌리 추출물의 항산화 활성

3.1.1. 총 폴리페놀 함량

우엉 뿌리 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 본 실험 결과 우엉 뿌리 추출물은 농도가 증가할수록 폴리페놀 함량이 증가하였으며, 각 26.6, 70.1, 121.2, 185.9 mg/g의 높은 총 폴리페놀 함량을 확인하였다. Im & Lee (2014)는 우엉 뿌리 추출물을 용매 분획별 폴리페놀을 측정한 결과 ethyl

Table 2. Level of erythema and value

	No erythema	Very weak erythema	Weak erythema	Erythema	Strong erythema
Value	10	7	5	3	1

acetate 분획물에서 여러 생약재를 대상으로 한 기존 연구들의 폴리페놀 함량보다 월등히 높은 수준의 총 폴리페놀 함량을 확인되었으며[33], 이와 같은 결과는 본 연구에서도 우영 뿌리 추출물의 높은 총 폴리페놀 함량이 확인됨에 따라 본 연구와 비슷한 결과를 나타내었다.

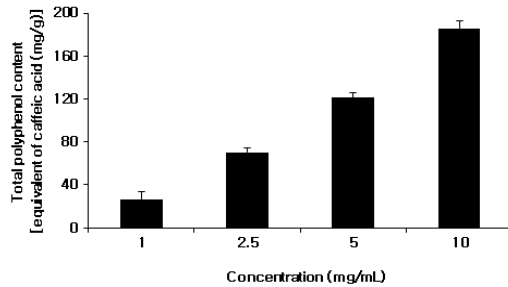


Fig. 1. Total polyphenol contents of *Arctium lappa L.* root extract. Values represent mean \pm standard deviation of three measurements.

3.1.2. 총 플라보노이드 함량

우영 뿌리 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 우영 뿌리 추출물은 농도가 증가할수록 폴리페놀 함량이 증가하는 것처럼 총 플라보노이드의 함량도 농도가 증가할수록 총 플라보노이드 함량이 증가하는 것이 확인되었다. 특히 10 mg/mL의 농도에서 81.2 mg/g의 높은 총 플라보노이드 함량을 확인하였다. 기존 연구에 의하면 플라보노이드 함량이 높을수록 항산화 활성이 높을 것으로 보고되어 있으며[34-36], Kim *et al.*, (2016)은 우영차에서 높은 플라보노이드 함량을 나타낸다고 보고하였다[37].

3.1.3. 전자 공여능 (radical scavenging activity)

우영 뿌리 추출물의 전자 공여능을 알아보고자 DPPH 용액을 이용하여 radical 소거 활성을 측정된 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 본 실험 결과 양성 대조군으로 사용한 ascorbic acid은 1 mg/mL 농도에서 95%의 높은 radical 소거 활성을 확인하였으며, 우영 뿌리 추출물을 농도 별로 처리 시 23%, 30.5%, 45.3%, 62%로 농도가 증가할수록 radical 소거 활성이 증가 되는 것을 확인하였다. Yamaguchi *et al.*, (2001)이 물 추출물을 이용하여 18가지 채소의 radical 소거 활성을

측정한 결과 우영이 가장 높은 radical 소거 활성을 확인하였으며[38], Chen *et al.*, (2004)과 Lee (2011)의 연구에서도 우영 추출물의 함량이 증가할수록 radical 소거 활성이 증가 되는 것이 확인되었다[39,40]. 본 연구와는 우영의 원산지나 추출 용매, 실험 농도의 차이는 있지만 선행 실험 모두 농도가 증가할수록 DPPH radical 소거 활성이 증가됨에 따라 우영 뿌리 추출물의 DPPH radical 소거활성을 확인하였다.

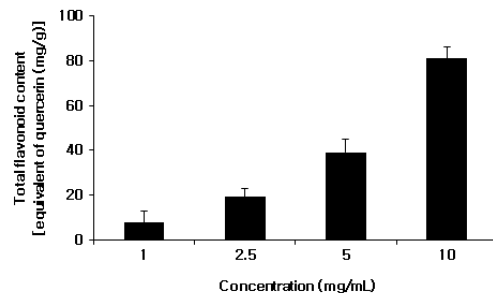


Fig. 2. Total flavonoid contents of *Arctium lappa L.* root extract. Values represent mean \pm standard deviation of three measurements.

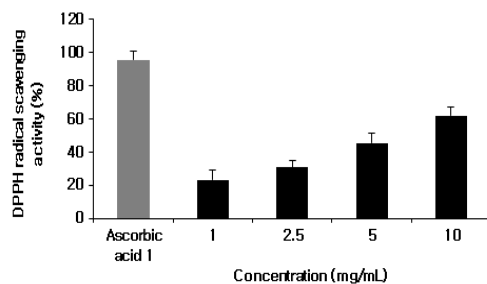


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of *Arctium lappa L.* root extract. Values represent mean \pm standard deviation of three measurements.

3.2. B16F10 melanoma 세포에 대한 세포 독성 평가

우영 뿌리 추출물의 독성을 평가하기 위하여 B16F10 melanoma 세포에 5, 10, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도별로 처리하여 세포 독성 평가를 실시하였다(Fig. 4). 본 연구 결과 98.2, 98.6, 98.8, 97.2, 96.9%의 세포 생존율을 확인하였으며, 모든 농도에서 90% 이상의 세포 생존율이

나타났으며, Jeon *et al.*, (2016)의 연구논문에서는 B16F10 melanoma 세포에서 95%의 생존율은 세포 독성이 크지 않은 것으로 보고하고 있으며, Lee *et al.*, (2016)의 연구에서도 B16F10 melanoma 세포에서 94.5% 세포 생존율은 세포 독성이 없는 것으로 보고되고 있다[41,42]. 이와 같은 결과를 통하여 우엉 뿌리 추출물이 B16F10 melanoma 세포에서 독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다.

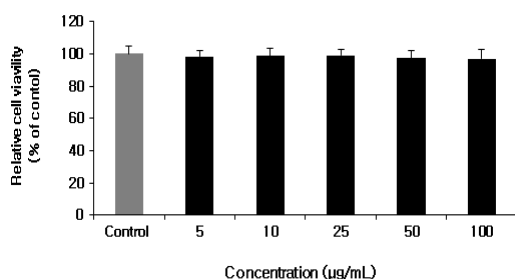


Fig. 4. Effect of *Arctium lappa L.* root extract on cell viability in B16F10 cells. Values represent mean \pm standard deviation of three measurements.

3.3. 자외선에 대한 B16F10 세포에서의 세포 보호 효과

우엉 뿌리 추출물이 UVA로 유도된 B16F10 melanoma 세포의 산화적 손상에 대한 세포 보호 효과가 있는지를 확인하였다(Fig 5). 본 실험 결과 B16F10 melanoma 세포에 UVA를 처리 하였을 때 71.4%의 세포 생존율이 나타났으며, 우엉 뿌리 추출물을 처리하였을 때 5, 10, 25, 50 μ g/mL의 농도에서 80% 이상의 높은 세포 보호 효과가 나타났다. 100 μ g/mL의 농도에서는 76.6 %의 세포 보호 효과가 나타났으나 이는 fig 4의 세포 독성 평가 결과와 관련이 있을 것으로 사료되어 진다. Gu *et al.*, (2015)은 HaCaT세포에서 UVA를 조사하였을 때 비 처리군 64.27%의 세포 보호 효과를 나타내었으며, 항산화 물질로 알려진 0.5 mM의 퀴세틴 76.53%의 세포 보호 효과를 나타내었다고 보고되고 있다[43]. 따라서 본 결과를 종합해 볼 때 우엉 뿌리 추출물을 처리하였을 때 B16F10 melanoma 세포에서 UVA에 의한 세포 손상을 억제하는 효과가 있는 것으로 확인되었다.

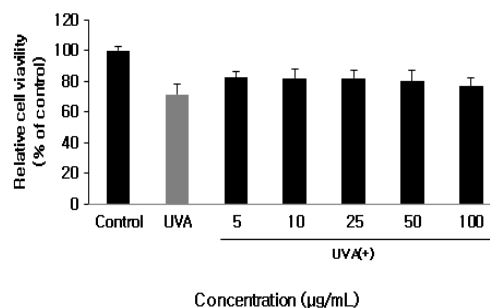


Fig. 5. Increment of cell viability by *Arctium lappa L.* root extract in UVA irradiated B16F10 melanoma cell.

3.4. 1차 첩포 테스트 시험 결과

우엉 뿌리 추출물을 함유한 크림의 피부 안전성을 평가하고자 1차 첩포 실험한 결과를 Table 3에 나타내었다. 본 실험 결과 A. 정제수, B. 글리세린 C. 우엉 뿌리 추출물을 함유하지 않은 크림 D. 우엉 뿌리 추출물을 함유한 크림에 대하여 24 h 동안 측정된 결과 모두 홍반 반응이 나타나지 않는 것을 확인하였다. 이후 첩포를 제거한 24 h 방치한 결과에서도 모든 항목에서 홍반 반응이 나타나지 않는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과는 1차 첩포 테스트를 통해 우엉 뿌리 추출물이 피부에서 비자극성으로 판단되었으며, 피부에 대한 안전성을 확인할 수 있었다.

4. 결론

본 연구는 우엉 뿌리 추출물의 항산화 활성과 화장품 소재로서의 안전성을 평가하기 위하여 항산화 작용 효과 검증의 지표라고 할 수 있는 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거 활성을 통하여 항산화 활성을 살펴보고, B16F10 melanoma 세포에서의 세포 독성, UVA에 대한 세포 보호 효과와 피부에 대한 1차 첩포 테스트를 통하여 안전성을 평가하였다. 본 실험 결과 우엉 뿌리 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드의 함량이 농도가 증가할수록 높은 함량을 확인하였으며, DPPH radical 소거 활성이 증가 되는 것이 확인됨에 따라 본 연구를 통하여 우엉 뿌리 추출물의 높은 항산화 활성을 확인하였다. 우엉 뿌리 추출물의 세포 독성 및 UVA에 대한 세포 보호 효과를 측정된 결과 우엉 뿌리

Table 3. Result of Patch test after 24 hours and 48 hours, A: water, B: glycerin, C: control cream, D: *Arctium lappa L.* root extract cream

No.	Time	A		B		C		D	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1		10	10	10	10	10	10	10	10
2		10	10	10	10	10	10	10	10
3		10	10	10	10	10	10	10	10
4		10	10	10	10	10	10	10	10
5		10	10	10	10	10	10	10	10
6		10	10	10	10	10	10	10	10
7		10	10	10	10	10	10	10	10
8		10	10	10	10	10	10	10	10
9		10	10	10	10	10	10	10	10
10		10	10	10	10	10	10	10	10
Total		100	100	100	100	100	100	100	100
Mean		10	10	10	10	10	10	10	10

추출물의 낮은 세포 독성과 저 농도에서도 UVA에 대한 80% 이상의 뛰어난 세포 보호효과가 확인되었다. 화장품 소재로서의 안정성을 평가하고자, 1차 피부자극평가 시험을 실시한 결과 우영 뿌리 추출물을 함유한 크림에 대하여 24 h, 첩포를 제거한 24 h 후에도 모든 항목에서 유의한 자극도가 나타나지 않아 1차적인 평가에서 피부 비자극성으로 판정되었다. 이상의 결과로부터 우영 뿌리 추출물의 뛰어난 항산화 활성과 UVA에 의한 세포 보호효과 및 피부에 대한 안전성이 높아 화장품 소재로서의 가능성을 확인하였다.

References

1. Aruoma OI, Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. A.O.C.S.* **75**, 199-212 (1998).
2. Chang SS, Ostric-Matijasevic B, Oliver AL, Huang CL. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* **42**, 1102-1106 (1977).
3. Jeong SJ, Lee H, Song NH, Lee SE, Baeg I. Natural products chemistry; screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 28-33 (2004).
4. Kim EJ, Ahn MS. Antioxidative effect of ginger extracts. *Korean J. Soc. Food Sci.* **9**, 37-42 (1993).
5. Farag RS, Badei AZMA, Hewedi FM, EI-Baroty GSA. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *JAOCs.* **66**, 792-799 (1989).
6. Frei B. Natural antioxidants in human health and disease. *Academic Press. San Diego.* 40-55 (1994).
7. Cha JY, Cho YS. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1131-1136 (1999).
8. Helmersson J, Arnlov J, Larsson A, Basu S. Low dietary intake of beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid is associated with increased inflammatory and oxidative stress status in a Swedish cohort. *Br. J. Nutr.* **15**, 1-8 (2008).
9. Koskas JP, Cillard J, Cillard P. Autoxidation of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides with and without tocopherols. *JAOCs.* **61**, 1467-1472 (1984).

10. Terao, J. Autoxidation activity of β -carotene-related carotenoids in solution. *Lipids*, **24**, 657-661 (1989).
11. Chen YT, Zheng RL, Jia ZJ, Ju J. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biol. Med.* **9**, 19-21 (1990).
12. Cha, JY, Park SH, Heo JS, Cho YS. Suppressive effect of administrated glutathione-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 on the oxidative stress in alcoholic fatty liver. *J. Life Sci.* **18**, 1053-1058 (2008).
13. Lee RJ. edical herbal of Josun. *Han Kook Munhwasa*, Seoul (1999).
14. Lee MS, Jeong JS, Park DY. The Effects of *Arctium lappa* L. Root Extracts on the Scalp and hair. *Asian Journal of Beauty & Cosmetology*. **13**, 43-48, (2015).
15. Jeong TS. Study on Microbiological Risk Assessment and Application of HACCP System to Burdock(*Arctium lappa* L.) Tea Production Process, Catholic university of DAEGU, *Doctorate thesis* (2016).
16. Lin CC, Lu JM, Yang JJ, Chuang SC, Ujiie T. Anti-inflammatory and radical scavenge effects of *Arctium lappa*. *American J Chin Med*, **24**, 127-137 (1996).
17. Kou XS, Dai QW, Luo L, Yin Z. Arctigenin inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS expression in RAW264.7 cells through suppressing JAK-STAT signal pathway. *Int Immunopharmacol*, **11**, 1095-1102 (2011).
18. Weidong. 牛蒡抗氧化. 降血脂的保健功能. *食品科学* **34**, 274 (2008).
19. Ryu BH, Lee BH, Ha MS, Kim DS, Sin DB, Nam KD. Desmutagenic effect of legumes and plants crude saponins in *Salmonella typhimurium* TA 98. *Korean J Food Sci Technol* **18**, 345-350 (1986).
20. Ohara A, Matsuhisa T. Anti-tumor promoting activities of edible plants against okadaic acid. *Food Sci Technol Res.* **8**, 158-161 (2002).
21. Morita KY, Y. Nishijima and T. Kada. Chemical nature of a desmutagenic factor from burdock (*Arctium lappa* L.). *Agric. Biol. Chem.* **49**, 925-932 (1985).
22. Lin, SC, Lin CH, Lin CC, Lin YH, Chen CF, Chen JC, Wang LY. Hepatoprotective effects of *Arctium lappa* L. on liver injuries induced by chronic ethanol consumption and potentiated by carbon tetrachloride tetrachloride. *J. Biomed. Sci.* **9**, 401-409 (2002).
23. Sohn EH, Jang SA, Joo H, Park S, Kang SC, Lee CH, Kim SY. Anti-allergic and anti-inflammatory effects of butanol extract from *Arctium Lappa* L. *Clin Mol Allergy*, **9**, 4-15 (2011).
24. Chow LW, Wang SJ, Duh PD. Antibacterial activity of burdock. *Food Science* **24**, 195-202 (1997).
25. Duh PD. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): Its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **75**, 455-461 (1998).
26. Maruta Y, Kawabata J, Nik R. Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock (*Arctium lappa* L.). *J. Agric. Food Chem.* **43**, 2592-2595 (1995).
27. Lee MY, Shin SL, Park SH, Kim NR, Chang YD, Lee CH. Development of optimal cultivation conditions and analysis of antioxidant activities of *Arctium lappa* sprout vegetables. *Korean. J. Plant. Res.*, **22**, 304-311 (2009).
28. Chen FA, Wu AB, Chen CY. The influence of different treatment on the free radical scavenging activity of burdock and variations of its active components. *Food. Chem*, **86**, 479-484 (2004).
29. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *The Journal of Biological Chemistry*, **12**, 239-243 (1912).
30. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis

- from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, **71**, 109–114 (2000).
31. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199–1200 (1958).
 32. Guidelines on in vivo tests and in vitro tests of cosmetic products, *Korea. food. and drug. adminstr ation*. (2011).
 33. Im DY, Lee KI. Antioxidative Activity and Tyrosinase Inhibitory Activity of the Extract and Fractions from *Arctium lappa* Roots and Analysis of Phenolic Compounds. *Kor. J. Pharmacogn.* **45**, 141–146 (2014).
 34. Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee BH. Total Polyphenols, Total Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of Korean Natural and Medicinal Plants. *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.* **44**, 337–342 (2012).
 35. Jia Z, Tang M, Wu J. The determination of flavonoid contents in mulberry and they scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* **64**, 555–559 (1999).
 36. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism, and structure activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* **13**, 572–584 (2002).
 37. Kim MG, Oh MS, Jeon JS, Kim HT, Yoon MH. A Study on Antioxidant Activity and Antioxidant Compound Content by the Types of Tea, *Journal of Food Hygiene and Safety.* **31**, 132–139 (2016).
 38. Yamaguchi T, Mizobuchi T, Kajikawa R, Kawashima H, Miyabe F, Terao J, Takamura H, Matoba T. Radical-scavenging scivity of vegetables and the effect of cooking on their activity. *Food. Sc.i Technol. Res.*, **7**, 250–257 (2001).
 39. Chen FA, Wu AB, Chen CY. The influence of different treatments on the free radical scavenging activity of burdock and variations of its active components. *Food Chem.* **86**, 479–484 (2004).
 40. Lee MS. Antioxidative and Antimutagenic Effects of *Arctium lappa* Ethanol Extract. *Korean J. Food & Nutr.* **24**, 713–719 (2011).
 41. Jeon SE, Hwang WJ, Hong YH, Kim MJ, Ahn ES, Park SY. Inhibitory Effects of *Hericium erinaceus* Extracts on Melanin Synthesis and Oxidative Stress. *Asian J Beauty Cosmetol.* **14**, 427–435 (2016).
 42. Lee AR, Roh SS, Lee ES, Min YH. Anti-oxidant and Anti-melanogenic Activity of the Methanol Extract of Pine Cone. *Asian J Beauty Cosmetol.* **14**, 301–308 (2016).
 43. Gu MA, Kim MJ, Kim HS, Ha JH, Yu ER, Park SN. Characteristics and Cellular Protective Effects against UVA of Cationic Liposome Loaded with Quercetin and Rutin. *Appl. Chem. Eng.*, **26**, 165–172 (2015).