



충청갈고리둥굴레 (*Polygonatum sibiricum* Redoute) 뿌리줄기와 잎의 증숙 시간과 증숙 온도에 따른 생리활성 변이 연구

오영선¹ · 최재후² · 김철중³ · 성은수⁴ · 김명조⁵ · 유창연⁶ · 이재근^{7†}

Changes of Biological Activities of Rhizome and Leaves of *Polygonatum sibiricum* Redoute according to Steaming Time and Temperature

Yeong Seon Oh¹, Jae Hoo Choi², Chul Joong Kim³, Eun Soo Seong⁴,
Myong Jo Kim⁵, Chang Yeon Yu⁶ and Jae Geun Lee^{7†}

ABSTRACT

Received: 2020 June 30
1st Revised: 2020 July 20
2nd Revised: 2020 August 18
3rd Revised: 2020 September 2
Accepted: 2020 September 2

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background: The aim of this study was to analyze the total phenol and total flavonoid contents and antioxidant activity of steam-treated leaves and rhizomes of *Polygonatum sibiricum* Redoute. In addition, we aimed to confirm their potential use as cosmetic materials by investigating their anti-aging and skin-whitening activity.

Methods and Results: The leaves and rhizomes of *P. sibiricum* were treated with steam at different temperatures for different durations, and the antioxidant activity (DPPH and ABTS radical scavenging activity) and total phenol and total flavonoid contents of each sample were tested. The steam temperature and treatment duration significantly affected the antioxidant activity and, total phenol and total flavonoid content of the leaves and rhizome of *P. sibiricum*. Treating the *P. sibiricum* samples with steam at 120 °C for 12 h, yielded higher total phenol and total flavonoid contents. Comparatively, the samples treated with steam at 120 °C for 12 to 24 h showed significantly higher antioxidant activity. Further, the steamed samples of *P. sibiricum* demonstrated collagenase and tyrosinase inhibition activity, which indicated their anti-aging and skin-whitening properties. The samples steamed at 120 °C for 12 h, exhibited higher collagenase and tyrosinase inhibition activity.

Conclusions: Leaves and rhizomes of *P. sibiricum* steamed at 120 °C for 12 h, showed highest antioxidant activity and, total phenol and total flavonoid contents than all other samples. Our results indicate the potential of using *P. sibiricum* as a cosmetic material by confirming its excellent anti-aging and whitening activity.

Key Words: *Polygonatum sibiricum* Redoute, Steam Processing, Antioxidant, Collagenase Inhibition Activity, Tyrosinase Inhibition Activity

서 언

충청갈고리둥굴레 (*Polygonatum sibiricum* Redoute)는 백합과 (Liliaceae) 둥굴레속 (*Polygonatum*)에 속하는 다년생 초본으로서 한방에서는 이 식물의 뿌리줄기를 쥌 것이 “황정 (黃

精, *Polygonatum* Rhizome)”이라는 한약재로 사용되고 있다. 황정의 기원식물은 충청갈고리둥굴레 (*Polygonatum sibiricum* Redoute)뿐만 아니고, 전황정 (*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsley), 진황정 (*Polygonatum falcatum* A. Gray)과 다화황정 (*Polygonatum cyrtoneuma* Hua)의 뿌리줄기를 쥌 것도

†Corresponding author: (Phone) +82-33-258-6801 (E-mail) leejekun@hanmail.net

¹㈜화진바이오코스메틱 과장 / Manager, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

²㈜화진바이오코스메틱 연구원 / Researcher, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

³㈜화진바이오코스메틱 과장 / Manager, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

⁴수원여자대학교 약용식물과 교수 / Professor, Department of Medicinal Plant, Suwon Women's University, Suwon 16632, Korea.

⁵강원대학교 생물자원과학과 교수 / Professor, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

⁶강원대학교 생물자원과학과 교수 / Professor, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

⁷㈜화진바이오코스메틱 소장 / Director, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

모두 황정의 원료로 사용된다. 국내에서 둥굴레속 식물로 보고된 식물들은 둥굴레, 종둥굴레, 층층갈고리둥굴레, 진황정 등 18 종이 있는데, 그 중에서 한약재명이 ‘옥죽’ 또는 ‘위유’인 생약재의 기원식물인 둥굴레 (*Polygonatum odoratum* Druce var. *pluriflorum* Ohwi)는 층층갈고리둥굴레와 다른 종의 식물이다.

층층갈고리둥굴레 뿌리줄기 (rhizome)와 어린 잎은 봄철에 식용으로 사용하며, 한방에서는 뿌리줄기를 자양강장으로 병 후쇠약에 사용된다고 알려져 있다 (Chang and Lee, 2007). 층층갈고리둥굴레의 주요성분은 mannose, galactose, glucose와 xylose로 구성된 polysaccharide이며, alkaloid, steroidal saponin, flavonoid, 그리고 lignin과 같이 다양한 생리활성 성분도 풍부하다 (Zhao *et al.*, 2018; Zhai *et al.*, 2019). 특히 polysaccharide 성분은 장티푸스균, 포도상구균, 결핵균 등 여러 가지 균에 대한 억제 작용을 가지고 있으며 (Zeng *et al.*, 2011), 생리활성 성분과 노화 방지, 피부 미백 및 보습 효과를 이용하여 천연 성분을 함유한 천연 화장품에 대한 가능성이 보고되었다 (Xiao *et al.*, 2019). 또한 황정의 기원식물에 포함되는 다황정의 증숙 횡수가 증가함에 따라 항산화 활성과 항염에 영향을 주는 mannose와 galactose 성분을 증가시킨다고 보고되고 있다 (Hameed *et al.*, 2014; Fan *et al.*, 2020).

층층갈고리둥굴레는 증숙 가공처리 횡수가 증가할수록 외관의 형상, 항산화 활성, 총 페놀 및 플라보노이드 등의 생리활성 성분에 영향을 준다는 연구 결과가 있다 (Debnath *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2016; Kang *et al.*, 2017; Cui *et al.*, 2018). 또한 구근류와 같이 단단한 천연물을 증숙가공 공정 및 초고압 공정으로 추출 시 생리활성 성분 추출 수율을 높이고, 항장 활성의 증진을 위한 전처리 및 추출공정으로 많이 사용하는 것으로 보고하였다 (Kim *et al.*, 2013).

본 연구에서는 층층갈고리둥굴레 (*P. sibiricum* Redoute) 잎과 뿌리줄기의 증숙처리 온도와 시간에 따른 생리활성 변화를 확인하고, 이를 바탕으로 항노화, 미백 활성 등의 피부미용에 관한 기능성 연구를 진행하였으며 증숙처리 조건에 따른 층층갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기 추출물의 화장품 기능성 소재로서의 활용 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 증숙 및 시료 추출

층층갈고리둥굴레 (*Polygonatum sibiricum* Redoute) 잎과 뿌리줄기는 강원대학교 (Chuncheon, Korea) 농장에서 채취하여 실험에 사용하였다. 층층갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기를 세척 후 습윤고압 증숙기 (HK-AC200, Hankuk S&I Co., Hwaseong, Korea)에서 60°C, 80°C, 100°C, 120°C 온도 조건으로 1, 3, 6, 12, 24 시간 증숙 후, 건조기 (LBI-500E,

Labtech Co., Ltd., Namyangju, Korea)에서 3 일간 건조시켰다.

건조한 시료를 분쇄기 (FM 909T, Hanil Electric Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 분쇄한 파우더상 시료 30 g을 취하여 정제수 300 g을 투입하여 1 시간 초음파 (Power sonic 505, Hwashin Tech Co., Ltd., Seoul, Korea) 추출한 후 필터 페이퍼 (No.20, Hyundai micro Co., Ltd., Seoul, Korea)로 여과하고, 여액을 회전 감압농축기 (Evaporator N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하여 시료로 사용하였다.

2. DPPH radical 소거 활성

증숙처리 조건에 따른 층층갈고리둥굴레의 DPPH radical 소거 활성 측정은 Blois (1958)의 방법을 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 0.15 mM DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액 100 μ l에 농도별 시료 100 μ l을 첨가한 후 상온에서 30 분간 반응 후, UV/Vis Spectrophotometer (VersaMax, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 DPPH radical 소거 활성은 RC₅₀ (reducing concentration of 50%) 값으로 나타내었다. 양성 대조군으로 L-ascorbic acid를 사용하였다.

3. ABTS radical 소거 활성

증숙처리 조건에 따른 층층갈고리둥굴레의 ABTS radical 소거 활성 측정은 Re 등 (1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7.4 mM ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt]와 2.6 mM potassium persulfate (K₂S₂O₈)를 섞어 실온 (25°C)의 암조건에서 15 시간 동안 반응시킨 뒤, UV/Vis Spectrophotometer (VersaMax, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 이용하여 734 nm에서 0.70 ± 0.05의 흡광도가 나오도록 희석하여 반응 시약을 이용하였다.

96 well plate에 ABTS 용액 90 μ l에 농도별 시료 10 μ l을 첨가한 후 상온에서 10 분간 반응 후, UV/Vis Spectrophotometer (VersaMax, Molecular Device, CA, USA)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 ABTS radical 소거활성은 RC₅₀ (reducing concentration of 50%)값으로 나타내었다. 양성 대조군으로 L-ascorbic acid를 사용하였다.

4. 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin & Ciocalteu가 고안한 방법을 변형한 Taga 등 (1984)의 방법을 변형하여 측정하였다. 1 mg/ml 농도의 시료 100 μ l을 가지고, Folin & Ciocalteu's phenol reagent 50 μ l를 첨가한 후 3 분 - 5 분간 상온에서 반응시킨 후 300 μ l의 증류수로 희석한 20% sodium carbonate

(Na₂CO₃)를 첨가하고 15 분간 반응시킨다. 반응 후 증류수를 1 ml 넣고 상온에서 2 분간 원심분리하고, 상층액을 96 well plate에 200 μ l 에 넣고 UV/Vis Spectrophotometer (VersaMax, Molecular Device, CA, USA)를 이용하여 740 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 페놀 함량은 표준물질로 gallic acid를 0.00, 0.05, 0.10, 0.20 mg/ml 로 희석하여 검량선을 작성하고, gallic acid equivalent (mg·GAE/g)로 나타내었다.

5. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등 (2000)의 방법을 변형하여 측정하였다. 10% aluminum nitrate 100 μ l 와 1 M potassium acetate 100 μ l 를 넣어 혼합 후 1 mg/ml 농도의 시료 500 μ l 를 첨가한 후 40 분간 반응시킨다. 96 well plate 에 150 μ l 에 넣고 UV-Vis Spectrophotometer (VersaMax, Molecular Device, CA, USA)를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 플라보노이드 함량은 표준물질 quercetin을 0.00, 0.05, 0.10, 0.20 mg/ml 로 희석하여 검량선을 작성하고, quercetin equivalent (mg·QE/g)로 나타내었다.

6. 콜라게나아제 저해 활성

콜라게나아제 (collagenase) 저해효과는 Wünsch and Heidrich (1963)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM CaCl₂와 4-phenylazobenzyloxy carbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (0.3 mg/ml)를 녹인 기질액 250 μ l 및 시료 100 μ l, collagenase from clostridium (0.2 mg/ml) 150 μ l을 첨가하여 상온에서 20 분간 반응 시킨다. 6% citric acid를 500 μ l 넣고 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 ml 을 첨가하여 상등액을 UV/Vis Spectrophotometer (Optizen Pop, Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 320 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

콜라게나아제 저해효과는 IC₅₀ (inhibitory concentration of 50%) 값으로 나타내었다. 양성 대조군은 epigallocatechin gallate (EGCG)를 사용하였다.

7. 티로시나아제 저해 활성

티로시나아제 (tyrosinase) 저해효과는 Piao 등 (2002)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96 well plate에 시료 21 μ l 에 10 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) 49 μ l 를 첨가한 후 L-tyrosine (0.1 mg/ml) 70 μ l, 희석한 tyrosinase from mushroom (200 unit/ml) 70 μ l 를 첨가하여 37°C, 암실 조건에서 20 분간 반응 후, UV/Vis Spectrophotometer (VersaMax, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

티로시나아제 저해효과는 IC₅₀ (inhibitory concentration of 50%) 값으로 나타내었다. 양성 대조군은 arbutin를 사용하였다.

8. 통계처리

증숙처리 조건에 따른 층층갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기의 항산화 효과와 총페놀 및 총플라보노이드 함량, 콜라게나아제 및 티로시나아제 저해효과를 확인하기 위하여 Two-way ANOVA 분석을 실시하였다. 모든 실험의 데이터는 최소 3 반복 수행하여 평균 (means)± 표준편차 (standard deviation, SD)로 나타내었다. 통계처리는 종합 소프트웨어 IBM SPSS Statistics v24 (SPSS, Chicago, IL, USA)를 사용하여 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 유의성을 검증하고, 통계적 유의성을 5% 에서 분석하였다 ($p < 0.05$).

결과 및 고찰

1. 항산화 활성 분석

1.1 DPPH radical 소거 활성

층층갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기의 항산화 활성은 증숙조건에 따라 활성 변화를 확인할 수 있었다 (Table 1). 증숙처리를 하지 않은 대조구의 DPPH radical 소거 활성 (RC₅₀ 값)은 잎 부분이 뿌리줄기보다 높은 활성을 보였다. 층층갈고리둥굴레 잎의 radical 소거 활성은 증숙처리구에서 대조구 대비 약 1.7 배 - 3.0 배 높은 활성을 확인하였다. 층층갈고리둥굴레 뿌리줄기의 radical 소거 활성은 60°C, 80°C, 100°C 조건에서 1 시간, 3 시간 증숙한 처리구는 대조구보다 낮은 활성을 보였으나, 6 시간 이상 증숙처리하면 radical 소거 활성이 높아졌다. 120°C 조건에서는 증숙 1 시간 부터 radical 소거 활성이 상승하였으며, 특히 24 시간 이상 처리 시 RC₅₀값이 0.29 ± 0.00 mg/ml 으로 높은 항산화 활성을 보였다.

증숙 층층갈고리둥굴레의 DPPH radical 소거 활성에 대한 이전 연구 결과에서도 유사한 결과를 확인할 수 있었다. Kim 등 (2016) 연구에서 증숙 횟수가 증가함에 따라 radical 소거능 활성이 증가하였으며, 9 회 증숙 시료는 약 32%의 소거 활성을 보였고, Kang 등 (2017) 연구에서도 증숙 횟수의 증가로 DPPH radical 소거 활성이 높아짐을 확인하였다.

1.2 ABTS radical 소거 활성

층층갈고리둥굴레의 증숙처리 조건에 따른 ABTS radical 소거 활성은 DPPH radical 소거 활성과 유사한 결과를 보여주었다 (Table 1). 층층갈고리둥굴레 잎의 radical 소거활성은 대조구보다 증숙처리구의 radical 소거 활성이 높은 결과를 보였으며, 120°C 조건의 24 시간 증숙처리구 RC₅₀값이 0.14 ±

Table 1. Antioxidant activities of *P. sibiricum* by different steamed treatments.

Treatment		Leaf		Rhizome	
Temp. (°C)	Time (hr)	DPPH radical scavenging activities RC ₅₀ (mg/ml)	ABTS radical scavenging activities RC ₅₀ (mg/ml)	DPPH radical scavenging activities RC ₅₀ (mg/ml)	ABTS radical scavenging activities RC ₅₀ (mg/ml)
Non-steamed		0.80±0.08 ^d	0.96±0.03 ^d	7.34±0.13 ^{cd}	2.98±0.19 ^d
60	1	0.26±0.00 ^b	0.30±0.02 ^c	11.25±1.80 ^d	3.72±0.19 ^d
	3	0.32±0.00 ^b	0.31±0.02 ^c	8.94±1.31 ^{cd}	3.43±0.35 ^d
	6	0.41±0.04 ^c	0.32±0.01 ^c	4.13±0.13 ^c	2.16±0.13 ^{cd}
	12	0.40±0.01 ^c	0.28±0.01 ^b	3.54±0.12 ^{bc}	1.88±0.16 ^c
	24	0.39±0.01 ^b	0.29±0.02 ^b	3.45±0.20 ^{bc}	1.67±0.06 ^c
80	1	0.31±0.02 ^b	0.25±0.04 ^b	12.98±1.89 ^d	2.72±0.18 ^{cd}
	3	0.33±0.01 ^b	0.29±0.01 ^b	6.49±0.88 ^c	2.56±0.02 ^{cd}
	6	0.36±0.04 ^b	0.28±0.01 ^b	5.69±0.50 ^c	1.71±0.22 ^c
	12	0.38±0.00 ^b	0.27±0.01 ^b	4.56±0.18 ^c	1.62±0.02 ^c
	24	0.37±0.02 ^b	0.25±0.01 ^b	4.09±0.13 ^c	1.48±0.05 ^c
100	1	0.34±0.01 ^b	0.28±0.01 ^b	9.34±0.34 ^{cd}	3.36±0.19 ^d
	3	0.38±0.03 ^b	0.26±0.01 ^b	8.70±0.03 ^{cd}	2.78±0.04 ^{cd}
	6	0.47±0.04 ^c	0.31±0.02 ^c	6.53±0.27 ^c	2.53±0.28 ^{cd}
	12	0.25±0.02 ^b	0.26±0.01 ^b	3.58±0.38 ^{bc}	1.98±0.22 ^c
	24	0.30±0.03 ^b	0.26±0.00 ^b	1.69±0.10 ^b	1.43±0.02 ^c
120	1	0.43±0.02 ^c	0.33±0.01 ^c	5.85±0.73 ^c	2.16±0.12 ^c
	3	0.32±0.02 ^b	0.25±0.01 ^b	4.26±0.16 ^c	2.35±0.01 ^c
	6	0.39±0.02 ^b	0.18±0.01 ^b	1.53±0.17 ^b	0.71±0.01 ^b
	12	0.29±0.02 ^b	0.15±0.01 ^b	0.33±0.01 ^b	0.42±0.01 ^b
	24	0.29±0.01 ^b	0.14±0.00 ^b	0.29±0.00 ^b	0.42±0.00 ^b
L-ascorbic acid		0.003±0.000 ^a	0.004±0.000 ^a	0.003±0.000 ^a	0.004±0.000 ^a

¹RC₅₀: The concentration required for 50% inhibition was determined. *Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown (n = 3). Means within a row followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT, p < 0.05).

0.00 mg/ml 으로 높은 항산화 활성을 확인하였다. 증충갈고리둥굴레 뿌리줄기의 증숙처리구의 항산화 활성은 60°C, 80°C, 100°C 조건에서 1 시간, 3 시간 증숙처리구는 대조구의 radical 소거 활성보다 낮았으나, 6 시간 이상 증숙처리구에서 소거 활성이 상승됨을 확인 하였다. 잎과 유사하게 고온인 120°C 조건에서 12 시간 증숙 처리 시 RC₅₀값이 0.42±0.00 mg/ml 으로 가장 높은 radical 소거능을 확인할 수 있었다.

증숙의 영향으로 DPPH radical 소거와 ABTS radical 소거 활성이 증가되는 결과는 열처리에 의한 세포벽의 조직 확장 과 수축의 반복으로 세포벽 구조가 변경되어 불용성 페놀 성분의 용출을 촉진하고 (Ramos, 2003; Kurosumi *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2012), 항산화 활성이 우수한 물질로 변경 및 함량 증가를 초래한다고 보고한 결과에 기인한다고 생각된다 (Liu *et al.*, 2016).

2. 총 페놀 및 플라보노이드 함량

2.1 총 페놀 함량

증숙처리 조건에 따른 증충갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기의 총 페놀 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 60°C와 80°C 조건으로 증숙처리한 증충갈고리둥굴레 잎의 총 페놀 함량은 시간의 변화에 따른 페놀 함량 측정시 유의한 차이를 볼 수 없었다. 100°C, 12 시간 증숙조건부터 총 페놀 함량이 크게 증가하여 21.84±0.65 mg·GAE/g 로 측정되었으며, 증숙처리를 하지 않은 대조군 대비하여 약 1.5 배 높은 함량을 보였다. 특히 120°C, 12 시간 증숙조건에서 33.23±0.97 mg·GAE/g으로 대조군 총 페놀 함량보다 2.2 배 높은 결과를 보였다. 이러한 결과는 Yu 등 (2019) 연구에서 인삼을 80°C 증숙조건에서 시간에 따른 총 페놀 함량의 변화가 크지 않았으며, 90°C - 110°C 조건에서 증숙시간이 증가함에 따라 총 페놀의 함량이 증가된다는 결과와 유사하였다.

증숙 시간과 증숙 온도에 따른 층층갈고리둥굴레 생리활성 변이

Table 2. Total phenol and flavonoid contents in leaf and rhizome of *P. sibiricum* by different steamed treatments.

Treatment		Leaf		Rhizome	
Temperature (°C)	Time (hour)	Total phenol contents (mg·GAE/g)	Total flavonoid contents (mg·QE/g)	Total phenol contents (mg·GAE/g)	Total flavonoid contents (mg·QE/g)
Non-steamed		14.82±1.24 ^{d*}	11.01±0.16 ^{d*}	ND	ND
60	1	12.54±0.27 ^d	10.45±0.40 ^d	ND	ND
	3	13.90±0.27 ^d	11.05±0.40 ^d	ND	ND
	6	16.12±1.78 ^c	14.24±0.28 ^c	ND	ND
	12	16.28±0.28 ^c	14.39±0.27 ^c	ND	ND
	24	16.52±0.28 ^c	14.60±0.27 ^c	ND	ND
80	1	16.97±0.61 ^c	14.11±0.07 ^c	ND	ND
	3	16.88±0.73 ^c	14.09±0.15 ^c	ND	ND
	6	16.92±0.50 ^c	14.76±1.27 ^c	ND	ND
	12	16.75±0.28 ^c	14.17±0.27 ^c	ND	ND
	24	16.42±0.28 ^c	12.75±0.27 ^c	ND	ND
100	1	14.54±0.84 ^d	12.83±0.84 ^c	ND	ND
	3	16.92±0.13 ^c	15.48±1.58 ^b	ND	ND
	6	14.75±0.36 ^d	13.36±0.40 ^c	ND	ND
	12	21.84±0.65 ^b	17.44±1.35 ^a	0.47±0.50 ^{d*}	ND
	24	22.99±0.64 ^b	16.81±0.26 ^a	2.62±0.47 ^c	ND
120	1	20.81±1.27 ^b	12.69±1.13 ^c	0.36±0.41 ^d	ND
	3	20.01±0.29 ^b	13.54±0.32 ^c	0.77±0.39 ^d	ND
	6	26.82±0.04 ^a	15.36±0.29 ^b	7.30±0.75 ^b	2.24±0.12 ^{b*}
	12	33.23±0.97 ^a	18.76±0.38 ^a	15.78±0.79 ^a	7.20±0.04 ^a
	24	29.20±0.63 ^a	15.08±0.27 ^b	15.77±0.56 ^a	6.89±0.07 ^a

ND; not detected. *Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown (n = 3). Means within a row followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT, p < 0.05).

층층갈고리둥굴레 뿌리줄기의 총 페놀 함량은 100°C, 12 시간 증숙조건부터 측정되었으며, 120°C, 12 시간 증숙조건에서 15.78 ± 0.79 mg·GAE/g으로 가장 높은 페놀 함량을 확인하였다. 증숙처리하지 않은 대조구와 60°C와 80°C 및 100°C의 6 시간 증숙조건까지는 페놀 함량이 측정되지 않았으며, 이러한 결과는 Kim 등 (2016) 연구에서 층층갈고리둥굴레의 활성 비교 연구에서 증숙 전과 증숙 1 회 처리한 시료에서 페놀이 측정되지 않고, 3 회 증숙조건부터 페놀 확인 및 함량 증가하는 결과와 유사하였다.

2.2 총 플라보노이드 함량

층층갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기 증숙처리 조건에 따른 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 총 페놀 함량 변화와 유사한 결과를 보였다 (Table 2). 잎의 증숙 전 대조구와 60°C, 80°C 증숙처리구에서 플라보노이드 함량은 유의한 차이가 없었으나, 100°C, 120°C 조건에서 12 시간 증숙처리구부터 함량이 증가됨을 확인할 수 있었다. 층층갈고리둥굴레 뿌리줄기의

플라보노이드 함량 변화는 120°C 조건의 6 시간 증숙처리구부터 검출되기 시작하였으며, 120°C 조건 12 시간 증숙처리구에서 7.20±0.04 mg·QE/g 으로 가장 높은 플라보노이드 함량이 측정되었고, 이전 증숙처리구와 증숙처리를 하지 않은 대조구에서는 플라보노이드 성분이 검출되지 않았다. 이러한 결과는 Kim 등 (2016) 연구에서 층층갈고리둥굴레 증숙 전과 증숙 1 회 처리한 시료의 플라보노이드 함량은 1% 미만으로 소량 검출되고, 증숙횟수가 증가함에 따라 플라보노이드 함량이 증가되는 결과와 유사함을 확인할 수 있었다. 이 또한 증숙에 의한 가열처리로 식물체내 폴리페놀 성분의 결합 및 분자구조 변화가 페놀 화합물의 일부인 플라보노이드에도 영향을 미치므로 총 플라보노이드 함량이 증가되었을 것으로 사료된다.

증숙처리에 따른 층층갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기의 생리활성은 120°C 조건의 12 시간 증숙처리한 시료부터 총 페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화 활성이 높은 결과를 확인되었다. 화장품 소재로 활용 가능성을 확인하기 위해 층층갈고리둥

굴레 잎과 뿌리줄기의 증숙처리를 하지 않은 대조구와 120°C 조건의 12 시간 증숙처리구의 항노화 및 미백 활성에 관한 연구를 진행하였다.

3. 콜라게나아제 저해 활성

콜라겐 (collagen)은 피부 상피세포의 70% - 80%를 차지하며, 세포의 기질의 구조 및 탄력유지 등 피부 노화와 밀접한 관련이 있는 성분이다. 콜라겐은 콜라게나아제 (Collagenase)에 의해 분해되는 것으로 알려져 있으며, 결합조직의 탄력저하와 주름생성 등에 직접적인 영향을 미치므로 콜라게나아제 저해 활성은 피부 탄력에 중요한 부분이다 (Brenneisen *et al.*, 2002; Youn *et al.*, 2012).

충충갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기의 증숙처리구에서 콜라게나아제 저해 활성 (IC₅₀)값이 2.11 ± 0.01 mg/ml, 2.92 ± 0.01 mg/ml로 증숙 처리 전 대조구보다 콜라게나아제 저해 활성이 높게 관찰되었다 (Table 3). 충충갈고리둥굴레 주요성분인 polysaccharide는 자유 라디칼 활성을 감소시키고, SOD (superoxide dismutase) 및 GSH-Px (glutathione peroxidase)의 활성 향상 및 Na⁺-K⁺-ATP와 Ca²⁺-ATP활성 되어 신체의 손상 방지 및 노화 방지 효과를 향상시킨다는 연구 보고가 있다 (Lu *et al.*, 2013).

수삼을 증숙처리하면 이차적 성분 변화를 초래하여 본래 존재하지 않는 인삼만의 특유성분인 ginsenoside Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 등 사포닌 성분이 새로이 생성되어 생리 활성 증가에 영향을 준다는 보고가 있다 (Joo *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2008). 또한 Kim 등 (2012)은 수삼을 증숙 가공 후 항노화와 관련된 연구에서 주름개선에 대한 활성이 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서도 증숙 등 열처리에 의한 성분 변화는 충충갈고리둥굴레의 본래 성분의 변화 또는 새로운 성분의 생성으로 콜라게나아제 저해 등 항노화 활성이 증가 되었을 것으로 사료된다.

4. 티로시나아제 저해 활성

티로시나아제 (tyrosinase)는 피부 표피의 기저층에 존재하는 멜라노사이트 (melanocyte)에서 티로신 (tyrosine)을 산화 분해하여 멜라닌 (melanine) 생성을 촉진시키는 효소이며, 티로시나아제 활성을 억제하는 피부 미백에 중요하다 (Cha *et al.*, 2017).

충충갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기 증숙처리구의 IC₅₀ 값이 각각 2.25 ± 0.37 mg/ml, 2.67 ± 0.11 mg/ml로 증숙처리를 하지 않은 대조구보다 티로시나아제 저해 활성이 높게 관찰되었다 (Table 4). 증숙에 의한 티로시나아제 저해 활성이 증가되는 결과는 Park 등 (2019)이 증숙횟수가 증가할수록 도라지의 미백활성이 증가한다는 연구결과와 유사하였으며 이러한 결과는 증숙의 과정에서 발생하는 열에 대한 노출이 성분들의 다양한

Table 3. Inhibitory effect of leaf and rhizome in *P. sibiricum* extract against collagenase activity.

Treatment	Leaf	Rhizome
	IC ₅₀ (mg/ml) ¹⁾	
Non-steamed	4.27 ± 0.02 ^c	6.00 ± 0.09 ^c
Steam treatment ²⁾	2.11 ± 0.01 ^b	2.92 ± 0.01 ^b
EGCG ³⁾	0.14 ± 0.00 ^a	

¹⁾IC₅₀; concentration required for 50% inhibition was determined. ²⁾Steam treatment; treatment of steam processing by 120°C and 12 h. ³⁾EGCG; epigallocatechin gallate (positive control). *Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown (n = 3). Means within a row followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT, p < 0.05).

Table 4. Inhibitory effect of leaf and rhizome in *P. sibiricum* extract against tyrosinase activity.

Treatment	Leaf	Rhizome
	IC ₅₀ (mg/ml) ¹⁾	
Non-steamed	3.34 ± 0.31 ^c	16.24 ± 1.01 ^c
Steam treatment ²⁾	2.25 ± 0.37 ^b	2.67 ± 0.11 ^b
Arbutin ³⁾	0.14 ± 0.00 ^a	

¹⁾IC₅₀; concentration required for 50% inhibition was determined. ²⁾Steam treatment; treatment of steam processing by 120°C and 12 h. ³⁾Arbutin; positive control. *Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown (n = 3). Means within a row followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT, p < 0.05).

화학적 변화를 유도하여 생리활성물질의 함량을 증가시키거나 (Song *et al.*, 2018), 증숙으로 인한 추출효율의 증가와 이에 따른 조사포닌 등의 유효 성분이 증가로 인한 결과라고 유추할 수 있다 (Lee *et al.*, 2013).

본 연구에서의 충충갈고리둥굴레의 미백 활성 결과도 이와 유사한 이유로 증숙횟수의 증가에 따른 미백 활성이 증가되었을 것으로 사료된다. 위 결과를 통해 충충갈고리둥굴레 잎과 뿌리줄기는 증숙처리 온도와 시간에 의해 항산화와 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 증가되었고 항노화와 미백 활성 효과가 증대됨을 확인하였으며, 이러한 결과는 최적조건으로 증숙된 충충갈고리둥굴레의 피부 미용 기능성 화장품 원료로 사용하기 위한 기초 자료로 사용될 수 있을 것이라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 강원대학교 한방바이오연구소의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a

- stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.
- Brenneisen P, Sies H and Scharffetter-Kochanek K.** (2002). Ultraviolet-B irradiation and matrix metalloproteinases: From induction via signaling to initial events. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 973:31-43.
- Cha YG, Cho HD, Cho WG and Byun SY.** (2017). Studies on skin whitening effects of resorcinol dipentyl ether. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*. 43:115-124.
- Chang YD and Lee CH.** (2007). Effect of storage duration, temperature and priming treatment on seed germination of *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum*. *Korean Journal of Plant Resources*. 20:481-489.
- Cui X, Wang S, Cao H, Guo H, Li Y, Xu F, Zheng M Xi X and Han C.** (2018). A review: The bioactivities and pharmacological applications of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides. *Molecules*. 23:1170. <https://doi.org/10.3390/molecules23051170> (cited by 2020 May 5).
- Debnath T, Park SR, Kim DH, Jo JE and Lim BO.** (2013). Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Polygonatum sibiricum* rhizome extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 3:308-313
- Fan B, Wei G, Gan X, Li T, Qu Z, Xu S, Liu C and Qian C.** (2020). Study on the varied content of *Polygonatum cyrtoneuma* polysaccharides in the processing of steaming and shining for nine times based on HPLC-MS/MS and chemometrics. *Microchemical Journal*. 159:105352. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105352> (cited by 2020 May 20).
- Hameed A, Iqbal N and Malik SA.** (2014). Effect of D-mannose on antioxidant defense and oxidative processes in etiolated wheat coleoptiles. *Acta Physiologiae Plantarum*. 36:161-167.
- Joo IW, Sung KH, Park JM, Lew JH and Oh HJ.** (2008). Effect of Korean red ginseng on blood pressure and aortic vascular(endothelial) histological changes in rats. *Journal of Ginseng Research*. 32:324-331.
- Kang MW, Jang JB, Do ES, Gil KJ and Yoo JH.** (2017). Antioxidant activities of water extracts from steamed *Polygonati rhizoma*. *Korea Journal of Herbology*. 32:33-40.
- Kim JS, Choi WS, Chung JY, Chung HC and Lee HY.** (2013). Enhancement of cosmeceutical activity from *Codonopsis lanceolata* extracts by stepwise steaming process. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 21:204-212.
- Kim JS, Lee AR, Rho SS, Kwon OJ and Seo YB.** (2016). Antioxidant and anti-physical fatigue effects of *Polygonati rhizoma* and steamed *Polygonati Rhizoma*. *Korea Journal of Herbology*. 31:49-57.
- Kim MJ, Gwon RH, Jang MW and Ha BJ.** (2012). Antioxidant and anti-wrinkle effects of steamed three ginseng extracts. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*. 38:155-162.
- Kurosumi A, Sasaki C, Kumada K, Kobayashi F, Mtui G and Nakamura Y.** (2007). Novel extraction method of antioxidant compounds from *Sasa palmata*(Bean) Nakai using steam explosion. *Process Biochemistry*. 42:1449-1453.
- Lee SH, Kang JI and Lee SY.** (2008). Saponin composition and physico-chemical properties of Korean red ginseng extract as affected by extracting conditions. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 37:256-260.
- Lee SJ, Bang WS, Hong JY, Gwon OJ, Shin SR and Yoon GY.** (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of black Doraji (*Platycodon grandiflorum*). *Korean Journal of Food Preservation*. 20:510-517.
- Liu L, Zhao M, Liu X, Zhong K, Tong L, Zhou X and Zhou S.** (2016). Effect of steam explosion-assisted extraction on phenolic acid profiles and antioxidant properties of wheat bran. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96:3484-3491.
- Lu J, Zhang J and Zhang Y.** (2013). The functional activities and application of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides. *Journal of Food Safety and Food Quality*. 4:273-278.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR and Vattuone MA.** (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*. 71:109-114.
- Park JY, Lee JY, Lee DY, Kim HD, Kim GS, Lee SE and Seo KH.** (2019). Melanogenesis inhibitory effect of steamed *Platycodon grandiflorum* on B16F10 cells. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*. 17:37-46.
- Piao L, Park HR, Park YK, Lee SK, Park JH and Park MK.** (2002). Mushroom tyrosinase inhibition activity of some chromones. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 50:309-311.
- Ramos LP.** (2003). The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Quimica Nova*. 26:863-871.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26:1231-1237.
- Song MS, Kim MY, Jang GY, Lee YJ, Meishan L, Oh HA, Lee JS and Jeong HS.** (2018). Changes in quality characteristics in the normal and etteum Doraji(*Platycodon grandiflorum*) by heat treatment. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 47:462-467.
- Taga MS, Miller EE and Pratt DE.** (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 61:928-931.
- Wünsch E and Heidrich HG.** (1963). Zur quantitativen bestimmung der kollagenase. *Biological Chemistry*. 333:149-151.
- Xiao C, Wei W, Hong G, Hui C, Xiao Z, Hao W, Yu W, Xu Z and Chun H.** (2019). Review of *Polygonatum sibiricum*: A new natural cosmetic ingredient. *An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 74:513-519.
- Youn JS, Shin SY, Wu Y, Hwang JY, Cho JH, Ha YG, Kim JK, Park MJ, Lee SH, Kim TH and Kim TW.** (2012). Antioxidant and anti-wrinkling effects of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extract. *Korean Journal of Food Preservation*. 19:393-399.
- Yu J, Jang IB, Moon JW, Jang IB, Lee SW and Seo SJ.** (2019). Physicochemical characteristics of a 4-year-old ginseng based on steaming temperatures and times. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:86-95.
- Yu Z, Zhang B, Yu F, Xu G and Song A.** (2012). A real explosion: The requirement of steam explosion pretreatment. *Bioresource Technology*. 121:335-341.
- Zeng G, Zhang Z, Li L, Xiao D, Xiong C, Zhao Y and Zong S.** (2011). Protective effects of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide on ovariectomy-induced bone loss in rats. *Journal of*

Ethnopharmacology. 136:224-229.

Zhai Z, Li Z, Ji Z and Lu X. (2019). Protective effect of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides on apoptosis, inflammation, and oxidative stress in nucleus pulposus cells of rats with the degeneration of the Intervertebral disc. International Journal of Polymer Science. 2019:8925807. [https://doi.org/10.1155/2019/](https://doi.org/10.1155/2019/8925807)

8925807 (cited by 2020 May 8).

Zhao P, Zhao C, Li X, Gao Q, Huang L, Xiao P and Gao W. (2018). The genus *Polygonatum*: A review of ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 214:274-291.