

Antioxidant Activity of Asteraceae Plant Seed Extracts

JunHyeok Kim, Da Hyun Lee, Mi Hyun Lee, Young Ho Jung, Cho Hee Park, Hee Ho Lee and Chae Sun Na*

Division of Wild Plant Seeds Research, Baekdudaegan National Arboretum, Bonghwa 36209, Korea

Received January 21, 2021 / Revised June 3, 2021 / Accepted June 9, 2021

Approximately 10% of all angiosperms belong to the Asteraceae family. Plant species belonging to this family have traditionally been used as medicinal plants in the Korean Peninsula. We investigated the antioxidant activity of seed extracts from 14 species belonging to the Asteraceae family. Seeds with $\geq 90\%$ percentage of filled seed and $\geq 50\%$ final germination were used. The total phenolic content was the highest in *Dendranthema zawadskii* var. *tenuisectum* (13.5 mg of gallic acid equivalents (GAEs)/g seeds), followed by *Dendranthema zawadskii* var. *latilobum* (11.8 mg of GAEs/g seeds), and *Callistephus chinensis* (11.0 mg of GAEs/g seeds). The total flavonoid content was highest in *C. chinensis* (9.8 mg of quercetin equivalents (QEs)/g seeds), followed by *D. zawadskii* var. *tenuisectum* (7.2 mg of QEs/g seeds) and *Taraxacum officinale* (6.3 mg of QEs/g seeds). Our results showed that 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) scavenging activity was highest in *D. zawadskii* var. *tenuisectum* (57.4 μ g/ml), followed by *T. officinale* (59.1 μ g/ml) and *D. zawadskii* var. *latilobum* (65.0 μ g/ml), with a half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of DPPH scavenging activity. Furthermore, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity was highest in *C. chinensis* (26.2 μ g/ml), followed by *D. zawadskii* var. *tenuisectum* (38.4 μ g/ml), *T. officinale* (40.2 μ g/ml), with a half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of ABTS scavenging activity. Based on a cluster analysis according to the antioxidant activity, the 14 species were classified into five groups, with group 4 having the highest antioxidant activity and group 0 having the lowest antioxidant activity. *D. zawadskii* var. *latilobum*, *D. zawadskii* var. *tenuisectum*, *T. officinale*, and *C. chinensis* belonging to groups 3 and 4, exhibited high phenolic content and antioxidant activity and can be considered potent plant-derived natural antioxidants.

Key words : Antioxidant, Asteraceae, conservation, germination, wild plant seed

서 론

전 세계적으로 자생식물을 대상으로 새로운 가치를 발견하기 위한 다양한 유용성 평가 연구가 진행되고 있으며, 이러한 연구를 통해 자생식물의 식물 자원 경쟁력이 확보되어 식물 종 보전 가능성을 높일 수 있다. 현재 국내에 자생하고 있는 식물들은 3,744종으로 알려져 있으나[21], 상업적, 농업적 목적의 사용은 일부 종에 국한되어 있어 자생식물 유전자원의 경쟁력 탐색이 더욱더 필요하다.

식물을 대상으로 유용성을 평가할 수 있는 방법에는 추출물 내 항산화, 항당뇨, 항균 등 다양한 활성을 탐색하는 방법이 있으며 이 중 항산화 능력은 가장 중요한 유용성 능력 중 하나로 평가받고 있다. 인체는 자유 라디칼 및 기타 산화제의 해로

운 효과에 대응하는 복잡한 시스템을 가지고 있으나[2], 병리학적 상태나 과도한 산화 스트레스에는 항산화 시스템이 압도될 수 있다[4, 5]. 이러한 상황에서 항산화 능력이 높은 식품을 섭취함으로써 혈액 내 항산화 상태를 유지시킬 수 있으며[26], 식물에 많이 함유되어있는 폐놀성 물질이 풍부한 식품을 장기간 섭취하면 암, 심혈관 질환, 당뇨병 등의 발병을 감소시킬 수 있어[3, 13], 항산화 능력에 대한 과학적 관심이 증가하고 있다.

국화과 식물은 현화식물 중 약 10%를 차지하며[12], 남극을 제외한 전 세계에 분포한다[11]. 우리나라에는 285종의 국화과 식물이 자생하는 것으로 알려져 있으며[21], 민속식물 1,095분류군 중 국화과가 137분류군으로 식용, 약용 등으로 한반도에서 가장 많이 이용되었다[20]. 최근에도 국화과 식물을 대상으로 항산화 능력을 포함하는 항염증, 항당뇨 등 다양한 활성을 조사되었다[15, 18, 22, 24, 28, 29]. 하지만 유용성에 대한 연구가 식물체, 꽃 등에 집중되어 있어 종자를 대상으로 한 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 14종 국화과 식물 종자 추출물을 대상으로 항산화 활성 평가 및 비교를 통해 기능성 식품 및 약품 소재로서의 활용에 있어 기초자료로 사용하며, 더 나아가 야생식물의 경쟁력을 높여 식물 다양성 보전에 기여하고자 하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-54-679-2769, Fax : +82-54-679-0630

E-mail : chaesun.na@kiam.or.kr

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.

재료 및 방법

실험 재료 및 활력 평가

본 실험은 국립백두대간수목원 종자은행에서 분양받은 종자를 사용하였다(Table 1). 추출을 진행하기 전 종자의 상태를 평가하기 위해 충실률 및 발아검사를 진행하였다. 충실률(Percent of filled seeds, PFS)은 X-ray (EMT-F70, Softex Co., LTD, Japan)를 이용하여 25립 4반복으로 조사하였다. 각 종들의 발아조건은 Seed Information Database와 국가생물종지식 정보시스템을 참고하여 설정하였다[17, 21]. 담배풀 종자의 경우, 열매로부터 분비되는 점액에 의해 종자끼리 분리가 어려워 충실률 조사에서 제외하고 발아검사를 진행하였다. 앞서 조사된 발아 조건에 따른 발아능력을 평가하기 위하여 종자를 25립 4반복으로 생장상(TGL-1S, ESPEC MIC Corp., Osaka, Japan)에서 최대 30일간 배양하였다. 발아율은 매일 24시간마다 유근이 종피를 뚫고 돌출된 종자를 기준으로 조사하였으며, 최종발아율(Percent of germination, %), T50 (Time to 50% germination, days), 평균발아소요일수(Mean germination time, days)를 계산하였다. T50과 평균발아소요일수는 Dezfuli의 방법을 참고하여 계산하였다[9].

추출물 제조

시료는 액체 질소와 Homogenizer (Bead Ruptor 24 Elite, Omni-International, Georgia, USA)를 이용하여 곱게 갈아 10 배의 75% methyl alcohol (MeOH, Macron Fine Chemicals, PA, USA)을 가하여 상온(25°C)의 shaking incubator (JSSI-100T, JS Resarch Inc., Gongju, Korea)에서 7일(168 hr)간 추출하였다. 제조된 추출물은 여과지(No.20, 110 mm, Hyundai Micro Co., Seoul, Korea)를 이용하여 여과한 후 EYELA evaporator (CVE-3110, Tokyo, Japan)로 감압 농축하여 용매를 완전히 제거한 후 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma Chemical

Co., St Louis, MO, USA)를 이용하여 10 mg/ml의 농도로 녹여 -20°C에 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

총 페놀성 화합물 함량 측정

총 페놀성 화합물 함량은 Ainsworth과 Gillespie의 방법에 따라 측정하였다[1]. 시료 20 µl에 40 µl의 중류수에 녹인 0.4 N Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)를 넣어준 후 5분간 방치한 후, 140 µl의 700 mM Na₂CO₃ (Daejung, Siheung-si, Korea)를 넣어주고 상온에서 2시간 반응 후 microplate reader (Multiskan go, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)를 이용하여 765 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)를 회석하여 검량선을 만들어, 추출물 내 총 페놀성 화합물 함량을 분석하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Chang의 방법에 따라 측정하였다[7]. 100 µl 시료에 300 µl ethyl alcohol (EtOH, Daejung, Siheung-si, Korea), 20 µl의 1 M potassium acetate (Junsei Chemical Co., Tykko, Japan), 20 µl의 10% aluminum chloride (AlCl₃, Junsei Chemical Co., Tykko, Japan), 560 µl의 중류수를 넣고 혼합한 후 상온에서 30분간 반응시킨 후 96-well plate에 분주 후 microplate reader (Multiskan go, Thermo Scientific, Vantaa, Finland)를 이용하여 415 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)을 회석하여 검량선을 만들어, 추출물 내 총 플라보노이드 함량을 분석하였다.

DPPH 라디칼 소거활성 평가

DPPH radical 소거활성은 Molyneux의 방법을 참고하여 평가하였다[23]. 시료 50 µl에 150 µl의 0.1 mM 1,1-diphenyl-2-

Table 1. Lists of 14 Asteraceae plant seeds used in this experiment

No.	Scientific name	Korean name	Collection time
1	<i>Aster ageratoides</i> Turcz.	Kka-sil-ssuk-bu-jaeng-i	18.10.30.
2	<i>Aster koraiensis</i> Nakai	Beol-gae-mi-chwi	17.10.27.
3	<i>Aster spathulifolius</i> Maxim.	Hae-guk	18.11.13.
4	<i>Bidens bipinnata</i> L.	Do-kkae-bi-ba-neul	18.10.19.
5	<i>Callistephus chinensis</i> (L.) Nees	Gwa-kkot	18.09.30.
6	<i>Carpesium abrotanoides</i> L.	Dam-bae-pul	17.10.27.
7	<i>Carpesium macrocephalum</i> Franch. & Sav.	Yeo-u-o-jum	18.10.10.
8	<i>Coreopsis drummondii</i> (D.Don) Torr. & A.Gray	Geum-gye-guk	17.10.16.
9	<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	Co-s-mo-s	18.10.17.
10	<i>Dendranthema zawadskii</i> var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitam.	Gu-jeol-cho	17.11.07.
11	<i>Dendranthema zawadskii</i> var. <i>tenuisectum</i> Kitag.	Po-cheon-gu-jeol-cho	17.11.07.
12	<i>Solidago virgaurea</i> subsp. <i>asiatica</i> Kitam. ex Hara	Mi-yeok-chwi	18.10.15.
13	<i>Solidago virgaurea</i> subsp. <i>gigantea</i> (Nakai) Kitam.	Ul-reung-mi-yeok-chwi	18.10.20.
14	<i>Taraxacum officinale</i> Weber	Seo-yang-min-deul-re	18.05.14.

picrylhydrazyl (DPPH, Alfa Aesar, MS, USA) radical 용액을 혼합하여 30분간 암소에서 반응시켰다. 그 후에 microplate reader (Multiskan go, Thermo scientific, Vantaa, Finland)를 이용하여 517 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 라디칼 소거활성은 50% 저해 농도(Inhibitory Concentration, IC₅₀)를 계산하였다. 양성대조군으로 ascorbic acid (Fujifilm Wako pure chemical co., Osaka, Japan)을 사용하였다.

ABTS 라디칼 소거활성 평가

ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical 소거활성은 Pellegrini의 방법을 변형하여 평가하였다 [25]. 중류수 5 ml에 140 mM potassium persulfate (K₂S₂O₈, Acros oragnics, Geel, Belgium) 88 μl를 가한 혼합 시약에 ABTS diammonium salt tablet (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 2알을 넣어 7 mM ABTS 수용액을 만들어 암실에 14-16시간 방치시킨 후, 이를 EtOH과 1:88의 비율로 섞어 734 nm에서 측정한 흡광도 값이 0.70±0.02가 되도록 조절한 ABTS solution을 시약으로 사용하였다. 시료 10 μl와 ABTS soultion 190 μl를 96-well plate에 분주한 후 2분 30초간 반응하여 microplate reader (Multiskan go, Thermo scientific, Vantaa, Finland)를 이용하여 734 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 라디칼 소거활성은 50% 저해 농도 (Inhibitory Concentration, IC₅₀)를 계산하였다. 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

통계분석

활력평가를 제외한 모든 실험은 3회 반복하였으며, 통계 분석은 SPSS v.23 (IBM, Armonk, NY, USA)을 이용하였다. 비슷

한 항산화능력을 갖는 종끼리 분류하고 비교하기 위해 항산화 능력 평가결과를 기반으로 계층적 군집분석을 실시하였다. 각 종별로 차이를 나타낸 항산화 지표인 총 폐놀성 화합물 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거활성(IC₅₀), ABTS 라디칼 소거활성(IC₅₀) 데이터를 Z-score로 표준화하여 제곱 유클리디안 거리를 이용한 Ward's method의 계층적 군집분석에 사용하였다.

결과 및 고찰

국화과 식물 종자들의 활력 평가 결과

국화과 식물 종자들의 활력을 평가하기 위해 충실틀과 최대 30일까지의 발아검정을 통해 최종 발아율, T50, 평균발아소요 일수를 계산하였다(Table 2). 충실틀의 경우, 담배풀 종자를 제외한 모든 종에서 90% 이상으로 충실했음을 확인할 수 있었다. 최종 발아율의 경우, 과꽃, 담배풀, 여우오줌, 금계국을 제외하면 80% 이상의 최종 발아율을 나타냈으며, 그 중 해국과 포천구절초가 97%의 가장 높은 발아율을 나타냈다. 도깨비 바늘과 코스모스의 경우, T50과 MGT가 모든 종 중 가장 낮아 가장 빠른 발아속도를 나타냈다. 반면에 담배풀의 경우, 50%의 가장 낮은 최종 발아율과 함께 T50 9.7일, MGT 11.2일로 가장 느린 발아속도를 나타냈다. 낮은 발아율을 나타낸 과꽃, 담배풀, 여우오줌, 금계국 중 과꽃의 경우, 종자 priming 처리를 통해 발아율 높일 수 있다는 연구결과가 있으며[27], 담배풀, 여우오줌, 금계국은 종자발아와 관련된 연구가 부족하여 발아율을 높일 수 있는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 본 실험은 최종 발아율이 50% 이상인 종들을 대상으로 항산화 능력 평가를 진행하였다.

Table 2. Percent of filled seeds (PFS), germination condition, percent of germination (PG), time to 50% germinations (T50) and mean germination time (MGT) of 14 Asteraceae plant seeds used

No.	Scientific name	PFS (%)	Condition (Day/Night)	PG (%)	T50 (day)	MGT (day)
1	<i>A. ageratoides</i>	99.0±1.0*	25°C, 12 hr/12 hr	95.0±2.5	2.9±0.1	4.5±0.1
2	<i>A. koraiensis</i>	97.0±1.9	25/15°C, 12 hr/12 hr	88.2±2.8	6.5±0.4	8.1±0.1
3	<i>A. spathulifolius</i>	100.0±0.0	20°C, 12 hr/12 hr	97.0±1.0	2.4±0.1	4.1±0.1
4	<i>B. bipinnata</i>	93.0±1.0	20°C, 12 hr/12 hr	90.1±3.0	0.3±0.0	1.9±0.1
5	<i>C. chinensis</i>	94.0±1.2	20°C, 12 hr/12 hr	55.3±6.3	1.4±0.2	3.6±0.0
6	<i>C. abrotanoides</i>	**	25/15°C, 12 hr/12 hr	50.0±5.3	9.7±0.4	11.2±0.4
7	<i>C. macrocephalum</i>	90.0±4.8	25/15°C, 12 hr/12 hr	68.6±4.6	5.6±0.1	7.0±0.1
8	<i>C. drummondii</i>	97.0±1.9	20°C, 12 hr/12 hr	73.8±2.8	4.3±0.2	6.8±0.3
9	<i>C. bipinnatus</i>	93.0±3.4	20°C, 12 hr/12 hr	91.7±2.2	0.5±0.1	2.0±0.1
10	<i>D. zawadskii</i> var. <i>latilobum</i>	95.0±3.0	20°C, 12 hr/12 hr	89.2±3.2	1.8±0.1	3.4±0.1
11	<i>D. zawadskii</i> var. <i>tenuisectum</i>	99.0±1.0	20°C, 12 hr/12 hr	97.0±1.0	1.5±0.0	3.0±0.1
12	<i>S. virgaurea</i> subsp. <i>Asiatica</i>	100.0±0.0	25/15°C, 12 hr/12 hr	83.0±3.0	5.2±0.2	6.8±0.2
13	<i>S. virgaurea</i> subsp. <i>Gigantean</i>	99.0±1.0	20°C, 12 hr/12 hr	96.0±3.3	4.8±0.1	6.5±0.1
14	<i>T. officinale</i>	93.0±3.0	25/15°C, 12 hr/12 hr	89.5±3.6	1.9±0.1	3.5±0.1

*Data represented the mean ± SE from four replicates.

**In case of *C. abrotanoides* seeds, PFS analysis is not possible due to the sticky liquid.

국화과 식물 종자들의 추출수율, 총 페놀성 화합물 함량 결과

국화과 식물 종자 14종의 75% MeOH 추출물을 대상으로 추출수율, 총 페놀성 화합물 함량 및 총 플라보노이드 함량을 측정하였다(Table 3). 추출수율은 4.8-22.5%로 다양하였으며, 그 중 금계국, 코스모스, 서양민들레가 각각 4.8, 8.6, 8.3%로 가장 낮게, 미역취, 율릉미역취가 22.5, 20.2%로 가장 높게 나타났다. 총 페놀성 화합물 함량의 경우, 1.5-13.5 mg GAEs/g seeds로 다양하였으며, 과꽃, 구절초, 포천구절초가 11.0, 11.8, 13.5 mg GAEs/g seeds로 가장 높게, 도깨비바늘, 금계국, 코스모스가 3.0, 1.5, 2.3 mg GAEs/g seeds로 가장 낮게 나타났

다. 총 플라보노이드 함량의 경우, 1.2-9.8 mg QEs/g seeds로 다양하였으며, 과꽃, 포천구절초, 서양민들레가 9.8, 7.2, 6.3 mg QEs/g seeds로 가장 높게, 해국, 금계국, 코스모스가 1.5, 1.2, 1.3 mg QEs/g seeds로 가장 낮게 나타났다. 현재 보고된 종자를 대상으로 한 총 페놀성 화합물 함량은 아마란스 종자의 추출물(4.23 mg GAEs/g), 석류 종자(11.84 mg GAEs/g), 쇠별꽃 종자의 추출물(27.30 mg GAEs/g), 주목 종자(57.51 mg TAEs/g) 등이 있으며, 본 실험의 결과와 마찬가지로 종에 따라 매우 다양하게 나타났다[8, 10, 15, 16].

Table 3. Extraction yield, total phenolic and flavonoid contents of 14 Asteraceae plant seed extracts as equivalent to gallic acid and quercetin

No.	Scientific name	Extraction yield (%)	Total phenolic content (mg GAEs/g seeds)	Total flavonoid content (mg QEs/g seeds)
1	<i>A. ageratoides</i>	13.3±0.0*	4.9±0.0	3.6±0.1
2	<i>A. koraiensis</i>	13.8±0.1	5.3±0.0	2.4±0.1
3	<i>A. spathulifolius</i>	11.6±0.2	4.3±0.0	1.5±0.0
4	<i>B. bipinnata</i>	14.4±0.1	3.0±0.0	2.8±0.1
5	<i>C. chinensis</i>	13.1±0.3	11.0±0.0	9.8±0.0
6	<i>C. abrotanoides</i>	15.1±0.2	8.9±0.1	2.9±0.2
7	<i>C. macrocephalum</i>	13.2±1.0	8.7±0.7	3.1±0.1
8	<i>C. drummondii</i>	4.8±0.1	1.5±0.0	1.2±0.1
9	<i>C. bipinnatus</i>	8.6±0.0	2.3±0.0	1.3±0.1
10	<i>D. zawadskii</i> var. <i>latilobum</i>	12.8±0.2	11.8±0.1	5.4±0.1
11	<i>D. zawadskii</i> var. <i>tenuisectum</i>	13.0±0.0	13.5±0.1	7.2±0.1
12	<i>S. virgaurea</i> subsp. <i>Asiatica</i>	22.5±0.3	7.4±0.0	3.9±0.5
13	<i>S. virgaurea</i> subsp. <i>Gigantean</i>	20.2±0.2	6.0±0.0	2.3±0.2
14	<i>T. officinale</i>	8.3±0.1	8.2±0.0	6.3±0.0

*Data represented the mean ± SE from three replicates.

Table 4. The IC₅₀ values for the DPPH and ABTS radical scavenging activities of 14 Asteraceae plant seed extracts

No.	Scientific name	DPPH radical scavenging IC ₅₀ (μg/ml)	ABTS radical scavenging IC ₅₀ (μg/ml)
1	<i>A. ageratoides</i>	197.6±2.8	94.1±2.2
2	<i>A. koraiensis</i>	208.3±10.4	80.1±1.8
3	<i>A. spathulifolius</i>	204.4±11.4	94.7±1.1
4	<i>B. bipinnata</i>	>250	78.1±0.8
5	<i>C. chinensis</i>	89.5±2.1	26.2±0.3
6	<i>C. abrotanoides</i>	146.0±8.7	61.1±2.1
7	<i>C. macrocephalum</i>	98.5±0.4	51.9±0.2
8	<i>C. drummondii</i>	194.9±8.0	75.8±1.4
9	<i>C. bipinnatus</i>	>250	77.7±1.5
10	<i>D. zawadskii</i> var. <i>latilobum</i>	65.0±1.0	42.1±1.2
11	<i>D. zawadskii</i> var. <i>tenuisectum</i>	57.4±1.1	38.4±0.7
12	<i>S. virgaurea</i> subsp. <i>Asiatica</i>	>250	70.8±1.0
13	<i>S. virgaurea</i> subsp. <i>Gigantean</i>	>250	74.2±0.5
14	<i>T. officinale</i>	59.1±1.0	40.2±1.0
Ascorbic acid*		7.6±0.2	4.7±0.5

*The positive control is ascorbic acid.

**Data represented the mean ± SE from three replicates.

국화과 식물 종자들의 DPPH 라디컬 소거활성 평가 결과

국화과 식물 종자들의 항산화 활성을 측정하기 위해 농도별 시료의 DPPH 라디컬 소거활성을 통해 소거활성이 50%일 때의 시료 농도(IC_{50})를 평가하였다(Table 4). 분석결과, IC_{50} 값은 57.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 >250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 다양하게 나타났다. 구절초,

포천구절초, 서양민들레가 65.0, 57.4, 59.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 반대로 도깨비바늘, 코스모스, 미역취, 울릉미역취가 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 초과로 가장 낮은 활성을 나타났다. 본 실험의 대조구인 ascorbic acid의 IC_{50} 값은 7.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 본 실험의 모든 종보다 높은 활성을 나타났다.

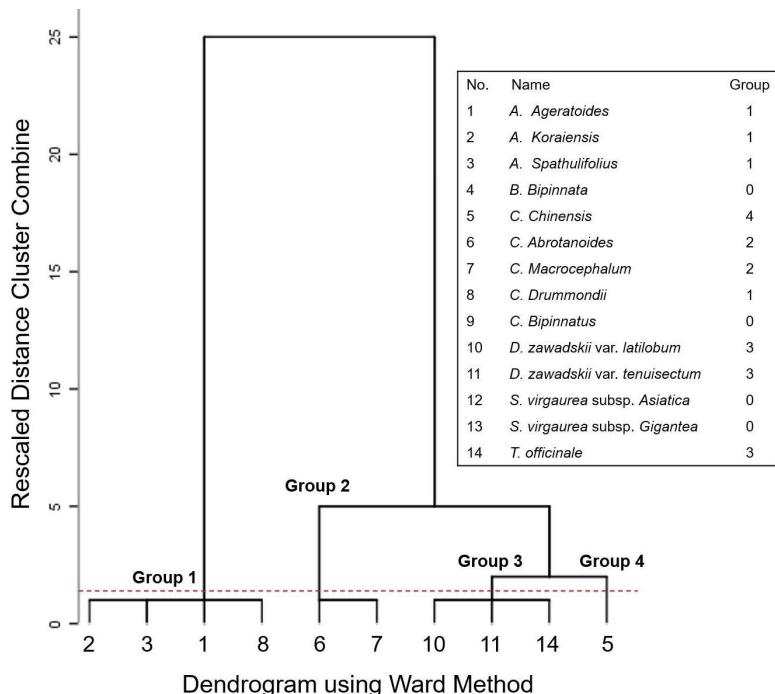


Fig. 1. Dendrogram showing classification of datasets by a hierarchical cluster analysis using ward's method. The datasets of total phenolic content, total flavonoid content, DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity. Group 0 means the species excluded from the cluster analysis due to very low DPPH activity. The red dotted line means selection criteria for four clusters.

Table 5. Comparison of antioxidant activity according to groups divided by hierarchical cluster analysis using total phenolic contents (TPC), total flavonoid content (TFC), DPPH·ABTS radical scavenging activity data in 14 Asteraceae plant seeds

Group	Scientific name	TPC (mg GAEs/g seeds)	TFC (mg QE/g seeds)	DPPH radical scavenging IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ABTS radical scavenging IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
0*	<i>B. bipinnata</i> <i>C. bipinnatus</i> <i>S. virgaurea</i> subsp. <i>asiatica</i> <i>S. virgaurea</i> subsp. <i>gigantea</i>	4.7±0.6**	2.6±0.3	>250	75.2±1.0
1	<i>A. ageratoides</i> . <i>A. koraiensis</i> <i>A. spathulifolius</i> <i>C. drummondii</i>	4.0±0.4	2.2±0.3	201.3±4.1	86.2±2.6
2	<i>C. abrotanoides</i> <i>C. macrocephalum</i>	8.8±0.3	3.0±0.1	122.3±11.3	56.5±2.3
3	<i>D. zawadskii</i> var. <i>latilobum</i> <i>D. zawadskii</i> var. <i>tenuisectum</i> . <i>T. officinale</i>	11.2±0.8	6.3±0.3	60.5±1.3	40.2±0.7
4	<i>C. chinensis</i>	11.0±0.0	9.8±0.0	89.5±2.1	26.2±0.3

*Group 0 means the species excluded from the cluster analysis due to very low DPPH activity.

**Data represented the mean ± SE of included data within a group.

국화과 식물 종자들의 ABTS 라디칼 소거활성 평가 결과

국화과 식물 종자들의 항산화 활성을 측정하기 위해 농도별 시료의 ABTS 라디칼 소거활성을 통해 소거활성이 50%일 때의 시료 농도(IC_{50})를 평가하였다(Table 4). 분석결과, IC_{50} 값은 26.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 94.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. DPPH 라디컬 소거 활성 결과와는 다르게 과꽃에서 26.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 높은 저해 활성을 나타났으며, 구절초, 포천구절초, 서양민들레가 42.1, 38.4, 40.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 높은 활성을 나타났다. 반대로, 까실쑥부쟁이와 해국에서 94.1, 94.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 낮은 활성을 나타났다. 본 실험의 대조구인 ascorbic acid의 IC_{50} 값은 4.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 본 실험의 모든 종보다 높은 활성을 나타났다.

국화과 식물 종자들의 계층적 군집분석 결과

국화과 14종을 종자의 항산화능력이 비슷한 종들끼리 분류하고 비교하기 위해 앞서 조사된 항산화능력을 기반으로 군집 분석을 수행하였다. 총 페놀성 화합물, 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디컬 소거활성(IC_{50}), ABTS 라디컬 소거활성(IC_{50}) 테이터를 이용하여 작성된 텐드로그램을 참고하여 4개의 그룹으로 분류하였으며(Fig. 1), IC_{50} 값이 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 초과로 낮은 DPPH 라디컬 소거활성을 나타낸 도깨비바늘, 코스모스, 미역취, 울릉미역취를 group 0으로 설정하여 총 5개의 그룹으로 분류하였다(Table 5). 분석 결과, 낮은 페놀성 화합물과 항산화 활성을 가지는 group 0에서부터 높은 페놀성 화합물과 항산화 활성을 갖는 group 3, 4로 분류되었다. 결과적으로 group 3, 4로 분류된 구절초, 포천구절초, 서양민들레, 과꽃 종자가 높은 페놀성 화합물과 항산화 활성을 가진 것으로 나타났다. 구절초의 경우, 식물체와 꽃의 항산화 능력이 보고되었으며[6, 19, 29], 서양민들레도 종자를 제외한 뿌리, 줄기, 잎, 꽃의 부위별 항산화 능력이 보고된 바 있다[14]. 이러한 결과를 토대로, 구절초, 포천구절초, 서양민들레, 과꽃 종자가 식물 소재의 천연 항산화제로써 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구는 야생식물 자원의 항산화 능력을 평가하여 보전 및 활용가능성을 높이기 위해 국화과 식물 14종의 종자를 대상으로 활력 및 항산화 능력을 평가하였다. 본 연구의 결과를 통해 국화과를 포함하는 야생식물자원에 대한 관심과 이용이 높아져 생물다양성의 보전을 촉진하길 기대한다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Ainsworth, E. A. and Gillespie, K. M. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin - Ciocalteu reagent. *Nat. Protoc.* **2**, 875-877.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. and Rafiquzzaman, M. 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm. J.* **21**, 143-152.
- Arts, I. C. and Hollman, P. C. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 317S-325S.
- Benz, C. C. and Yau, C. 2008. Ageing, oxidative stress and cancer: paradigms in parallax. *Nat. Rev. Cancer* **8**, 875-879.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. and Kalayci, O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J.* **5**, 9-19.
- Chae, I. G., Kim, H. J., Yu, M. H., Kim, H. I. and Lee, I. S. 2010. Antioxidant and antibacterial activity of commercially available herbs in Korean markets. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 1411-1417.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.* **10**, 178-182.
- Cho, H. D., Kang, W. S., Kim, D. H., Ku, J. J. and Seo, K. I. 2019. Comparison of biological activity between *Stellaria aquatica* seed extracts. *Kor. J. Food Preserv.* **26**, 228-237.
- Dezfouli, P. M., Sharif-Zadeh, F. and Janmohammadi, M. 2008. Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.). *Am. J. Agric. Biol. Sci.* **3**, 22-25.
- Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N. and Ferchichi, A. 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *J. Med. Plant Res.* **6**, 4724-4730.
- Funk, V. A., Bayer, R. J., Keeley, S., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer, B., Schilling, E., Panero, J. L., Baldwin, B. G., Garcia-Jacas, N., Susanna, A. and Jansen, R. K. 2005. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biol. Skr.* **55**, 343-374.
- Funk, V. A., Susanna, A., Steussy, T. F. and Robinson, H. E. 2009. Systematics, evolution, and biogeography of Compositae, pp. 171, International Association for Plant Taxonomy: Bratislava, Slovakia.
- Graf, B. A., Milbury, P. E. and Blumberg, J. B. 2005. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. *J. Med. Food* **8**, 281-290.
- Hudec, J., Burdová, M., Kobida, L. U., Komora, L., Macho, V., Kogan, G., Turianica, I., Kochanová, R., Ložek, O., Habán, M. and Chlebo, P. 2007. Antioxidant capacity changes and phenolic profile of *Echinacea purpurea*, nettle (*Urtica dioica* L.), and dandelion (*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 5689-5696.
- Jeong, J. A., Kwon, S. H., Kim, Y. J., Shin, C. S. and Lee, C. H. 2007. Investigation of antioxidative and tryosinase inhibitory activities of the seed extracts. *Kor. J. Plant Res.* **20**, 177-184.
- Jo, H. J., Chung, K. H., Yoon, J. A., Song, B. C. and An,

- J. H. 2014. Free radical scavenging activities of amaranth (*Amaranthus* spp. L.) seed extracts. *Food Eng. Prog.* **18**, 116-123.
17. Kew, R. B. G. 2017. Seed information database (SID), ver. 7.1.
18. Kim, S. Y., Lee, M. H. and Park, S. N. 2010. Evaluations of antioxidative activity and whitening effect of extracts from different parts of *Cosmos bipinnatus*. *J. Kor. Appl. Sci. Technol.* **27**, 559-567.
19. Kim, Y. J., Kim, S. E., Lee, H. S., Hong, S. Y., Kim, S. E., Kim, Y. J., Lee J. H., Park, S. J., Kim, J. H., Park, Y. J. and Kim, H. K. 2016. Comparison of linarin content and biological activity in ethanol extraction of *Chrysanthemum zawadskii*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **45**, 1414-1421.
20. Korean National Arboretum. 2017. Ethnobotany in Korea: The traditional knowledge and use of indigenous plants. pp. 7, Korean National Arboretum: Pocheon-si, Gyeonggi-do, Korea.
21. Korean National Arboretum. 2021. Korea Biodiversity Information System. <http://www.nature.go.kr>. Assessed 9 June 2021.
22. Lee, S. E., Sung, J. S., Jang, I. B., Kim, G. S., Ahn, T. J., Han, H. S., Kim, J. E., Kim, Y. O., Park, C. B., Cha, S. W., Ahn, Y. S., Park, H. K., Band, J. K. and Ahn, Y. S. 2008. Investigation on antioxidant activity in plant resources. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **16**, 356-370.
23. Molynex, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26**, 211-219.
24. Na, M. K., An, R. B., Jin, W. Y., Min, B. S., Yoo, J. K., Kim, Y. H. and Bae, K. H. 2003. Antioxidant effects of plant extracts on free radicals and lipid peroxidation. *Nat. Prod. Sci.* **9**, 226-231.
25. Pellegrini, N., Re, R., Yang R. M. and Rice-Evans, C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
26. Soccio, M., Laus, M. N., Alfarano, M., Dalfino, G., Panunzio, M. F. and Pastore, D. 2018. Antioxidant/Oxidant Balance as a novel approach to evaluate the effect on serum of long-term intake of plant antioxidant-rich foods. *J. Funct. Foods* **40**, 778-784.
27. Wani, M. A., Khan, F. U., Nazki, I. T., Din, A., Iqbal, S. and Qadri, Z. A. 2019. Influence of various treatments on pre and post germination properties of *Callistephus chinensis*(L.) NEES cv. *Powderpuff*. *Bangladesh J. Bot.* **48**, 449-455.
28. Woo, J. H., Shin, S. L. and Lee, C. H. 2010. Antioxidant effects of ethanol extracts from flower species of plant. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 159-164.
29. You, S. H. and Moon, J. S. 2016. A study on anti-oxidative, anti-inflammatory, and melanin inhibitory effects of *chrysanthemum sibiricum* extract. *J. Kor. Appl. Sci. Technol.* **33**, 762-770.

초록 : 14종 국화과(Asteraceae) 식물 종자 추출물의 항산화 활성

김준혁 · 이다현 · 이미현 · 정영호 · 박초희 · 이희호 · 나채선*

(국립백두대간수목원 야생식물종자연구실)

국화과 식물은 현화식물 중 약 10%를 차지하며, 한반도에서 전통적으로 약용 식물로 사용되었다. 본 연구는 14종 국화과 식물 종자 추출물의 항산화 활성 평가를 통해 식물의 다양성 보전에 기여하기 위해 진행되었다. 총 실률 90% 이상이고 빨아율이 50% 이상인 종자를 대상으로 실험을 진행하였다. 총 폐놀성 물질의 함량은 포천구절초(13.5 mg GAEs/g seeds), 구절초(11.8 mg GAEs/g seeds), 과꽃(11.0 mg GAEs/g seeds) 순으로 가장 높게 나타났다. 총 플라보노이드 함량은 과꽃(9.8 mg QEs/g seeds), 포천구절초(7.2 mg QEs/g seeds), 서양민들레(6.3 mg QEs/g seeds) 순으로 가장 높게 나타났다. DPPH 라디컬 소거활성을 종자 추출물의 종자 추출물의 IC₅₀ 값을 기준으로 포천구절초(57.4 µg/ml), 서양민들레(59.1 µg/ml), 구절초(65.0 µg/ml) 순으로 가장 높게 나타났다. ABTS 라디컬 소거활성을 종자 추출물의 IC₅₀ 값을 기준으로 과꽃(26.2 µg/ml), 포천구절초(38.4 µg/ml), 서양민들레(40.2 µg/ml) 순으로 가장 높게 나타났다. 항산화 활성을 기반으로 한 군집분석에 따라 14 종은 항산화 활성이 높은 group 4에서 항산화 활성이 낮은 group 0까지 5개의 group으로 분류되었다. 높은 폐놀성 함량과 항산화 활성을 갖는 group 3와 4에 속하는 구절초, 포천구절초, 서양민들레, 과꽃 종자는 식물 유래 천연 항산화제로써 유력하다.