



Research Article

Changes in antioxidant activity and marker compounds in ethanolic extracts of butterbur (*Petasites japonicus*) depending on harvest time

수확시기별 머위 에탄올 추출물의 항산화 활성 및 지표 성분의 변화

So-Won Jang¹, Byung-Min Oh¹, Da Yeon Song^{1,2}, Mi Yeung Kim^{1,2}, Chan Gyu Park^{1,2}, Yong Kap Hur²,
Geun-Seoup Song^{1*}

장소원¹ · 오병민¹ · 송다연^{1,2} · 김미영^{1,2} · 박찬규^{1,2} · 허용갑² · 송근섭^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

²Unique Biotech, Iksan 54576, Korea

¹전북대학교 식품공학과, ²유니크바이오텍 기업부설연구소

Abstract This study investigated the content of marker compounds, antioxidant components, and antioxidant activities of butterbur (*Petasites japonicus*) extracts depending on harvest time. The marker compounds protocatechuic acid, caffeic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, and bakkenolide B were found to be most abundant in extracts obtained in July using 70% ethanol, with concentrations of 0.85, 1.89, 4.37, and 15.13 mg/g, respectively. Conversely, the content of these marker compounds in the extracts obtained with 95% ethanol was lower than that of the 70% ethanol extracts. In addition, the total polyphenol and total flavonoid contents were highest in the July extracts obtained with 70% ethanol, measuring 41.91 µg/mg and 23.73 µg/mg, respectively. The antioxidant activity revealed that the DPPH radical scavenging activity was highest in the May extracts obtained with 70% ethanol, exhibiting a value of 74.76% at a concentration of 5 mg/mL. In contrast, the ABTS radical scavenging activity was highest in the July extracts obtained with 70% ethanol, at 33.48% at the same concentration. These findings suggest that the extraction of butterbur harvested in July with 70% ethanol is the most effective condition for producing high-functional extracts.

Keywords butterbur, *Petasites japonicus*, antioxidant, marker compounds, bakkenolide B



OPEN ACCESS

Citation: Jang SW, Oh BM, Song DY, Kim MY, Park CG, Hur YK, Song GS. Changes in antioxidant activity and marker compounds in ethanolic extracts of butterbur (*Petasites japonicus*) depending on harvest time. Food Sci. Preserv., 32(4), 702-708 (2025)

Received: January 22, 2025

Revised: March 05, 2025

Accepted: March 06, 2025

*Corresponding author

Geun-Seoup Song
Tel: +82-63-270-2568
E-mail: songgs@jbnu.ac.kr

Copyright © 2025 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

흡연, 음주, 격렬한 운동, 스트레스, 다양한 환경 오염 물질 및 약물 등의 요인에 의해 활성 산소종이 과도하게 생성되기 쉬운 현대 사회에서는 산화적 스트레스를 완화할 수 있는 항산화제의 필요성이 증가하고 있어 이에 따라 최근 천연 자원에서 유래한 항산화 물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Kim 등, 2012).

머위(*Petasites japonicus*)는 일본, 중국, 제주도, 울릉도를 포함한 우리나라의 남부 및 중부 지역의 햇볕이 잘 드는 산비탈이나 계곡 주변 습지에서 자생하는 국화과 다년생 초본으로 지역에 따라 ‘머구’ 또는 ‘머우’라고 불리기도 한다. 머위 잎에서 추출한 폴리페놀 추출물은 뿌리와 줄기에 비해 항산화 활성이 우수하였고, 잎과 줄기의 폴리페놀 추출물이 염증 반응 억제에 효과적이었다(Choi 등, 2017). 머위 잎 에탄올 추출물의 항산화 활성이 물 추출물보다 더 우수하였으며(Seo 등, 2008), 머위를 급여한 마우스를 대상으로 항산화 효능을 평가한 연구에서 지질, 단백질 및 DNA의 산화적 손상도를 감소시켜 체내 산화 방어 능력 향상에 효과적임이 입증되었다(Oh 등, 2006). 식용으로 이용되

는 머위잎에는 항산화 활성 등이 보고되어 있지만, 수확시기에 따른 머위 잎의 생리활성 성분 변화에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 식물의 생리활성 성분은 생육 단계 및 환경 요인에 달라질 수 있으며, 이에 따라 항산화 활성이 시기별로 차이를 보일 가능성이 높다. 고려엉겅퀴, 참빗살나무 및 구기자 등을 이용한 선행 연구에서도 수확 시기에 따라 총페놀성 화합물 함량과 총플라보노이드 함량과 같은 기능성 성분과 지표 성분 변화가 항산화 활성에 영향이 있음이 보고되었다(Cho 등, 2017; Park 등, 2006; Park 등, 2019). 따라서, 머위의 기능성 소재로서의 활용 가능성을 높이기 위해서는 수확시기에 따른 생리활성 성분 변화에 대한 보다 상세한 연구가 필요한 것으로 판단된다.

한편, 천연물 추출은 사용하는 재료의 부위, 수분 함량 및 추출 대상 생리활성 물질의 종류에 따라 방법이 달라지며, 추출 시간에 따라 추출되는 생리활성 물질의 종류와 양도 달라질 수 있다. 특히, 추출 용매의 선정은 매우 중요한 요소로 에탄올과 물이 주로 사용되어 다양한 연구가 진행되고 있다(Cho 등, 2005; Oh, 2016). 열수 추출은 수용성 성분 중심으로 이루어지기 때문에 낮은 추출 수율, 높은 에너지 소비, 열에 의한 유효 성분 파괴 등의 단점이 있다(Shin과 Lee, 2011). 반면, 50% 이상의 에탄올 추출은 추출 시간을 단축시키고 유용 성분의 용출을 촉진하여 열수 추출보다 높은 효율을 보이는 것으로 보고되었다(Chung, 2001; Lee 등, 2019).

본 연구에서는 수확시기가 다른 머위 잎 시료로부터 에탄올 농도를 달리하여 얻어진 추출물의 주요 기능 성분의 함량과 항산화 활성을 평가함으로써 머위 잎을 기능성 식품 소재로 활용하기 위한 기초 자료를 확보하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 시약

본 실험에서 사용한 머위는 4월부터 7월까지 전북 진안에서 재배된 것을 구입하여, 흐르는 물에 세척한 후 열풍건조기(SH-IDF2250, Samheung Energy, Sejong, Korea)를 이용하여 55°C에서 3일간 건조하였다. 이후, 건조된 머위 잎은 CO-Mill(2017-001, J-Tech Co., Hwaseong, Korea)로 분쇄한 뒤 서늘한 장소에서 보관하였다. Folin-Ciocalteu reagent, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS), (±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid(Trolox), protocatechuic acid, caffeic acid 등은 Sigma(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였다. 3,5-Dicaffeoylquinic acid(3,5-DCQA)는 phytoLab(PhytoLab GmbH & Co. KG, Vestenbergsgreuth, Germany)에서 구매하였으며 bakkenolide B는 chemnorm(Chemnorm biotech Co., Ltd., Wuhan, China)에서 구매하여

사용하였다. 그 밖의 시약들은 analytical 및 HPLC grade를 사용하였다.

2.2. 수확시기별 에탄올 추출물 제조

분쇄된 머위 잎 25 g에 농도별 에탄올(70%, 95% v/v)을 475 mL씩 20배수로 첨가한 후 상온에서 8시간 교반한 뒤, 7일간 상온에서 방치한 후, 여과지(Advantech, No. 2)를 사용하여 여과하고 얻어진 여액을 분석 시료로 사용하였다.

2.3. 총폴리페놀 함량 분석

수확 시기별 머위 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량은 ISO 14502-1(2005)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 1 mL에 10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 5 mL를 첨가하고 3분간 반응시킨 후, 7.5% Na₂CO₃ 4 mL를 첨가하였다. 이 반응액을 암실에서 1시간 반응시킨 후 spectrometer(UV-1650PC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 총폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 하여 머위 mg당 µg gallic acid로 나타내었다.

2.4. 총플라보노이드 함량 분석

수확 시기별 머위 에탄올 추출물의 총플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 1 mL에 5% NaNO₂ 150 µL를 첨가하여 5분간 반응시킨 후 10% AlCl₃ 300 µL와 1 M NaOH 1 mL와 증류수 550 µL를 순차적으로 첨가한 후 spectrometer를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총플라보노이드 함량은 catechin을 표준물질로 하여 머위 mg당 µg catechin으로 나타내었다.

2.5. DPPH 라디칼 소거능 분석

수확 시기별 머위 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Magalhaes 등(2006)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 50 µL에 150 µM DPPH 라디칼 용액 200 µL를 첨가하고 암실에서 20분간 반응시킨 후 microplate reader(SILFA, BioTek Instruments Inc., Winooski, Vermont, USA)를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 trolox를 사용하였으며, 다음의 식을 이용하여 DPPH 라디칼 소거능을 산출하여 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \frac{[(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{control}}] \times 100}{}$$

2.6. ABTS 라디칼 소거능 분석

수확 시기별 머위 에탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은

Re 등(1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 30 μ L에 ABTS radical 용액 3 mL를 첨가하고 암실에서 6분간 반응시킨 후 spectrometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 trolox를 사용하였으며, 다음의 식을 이용하여 ABTS 라디칼 소거능을 산출하여 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거능(%)

$$= [(Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control}] \times 100$$

2.7. High performance liquid chromatography(HPLC) 분석

수확 시기별 머위 에탄올 추출물의 지표 성분을 분석하기 위해 머위는 에탄올 추출물을 3배 농축하였으며 메탄올을 이용해 재용해하여 사용하였다. 재용해된 머위는 0.45 μ m membrane filter를 활용하여 여과하였으며 분석 조건은 Table 1과 같다.

2.8. 검량선 작성 및 검출 한계, 정량 한계 측정

각 표준용액을 확립된 HPLC 분석 조건으로 5가지 농도로 시험을 실시하였으며 농도에 대한 면적값으로 검량선을 작성하고 작성한 검량선의 상관계수(R^2)값을 계산하였다. 검량선은 $y=ax+b$ [y: peak 면적, x: 머위 농도(μ g/mL)]의 형태로 작성하였다. 검출한계 및 정량한계는 직선성에 따른 검량선의 기울기

Table 1. Analytical conditions of HPLC for marker compounds

Parameters	Conditions																		
Instrument	HPLC (Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan)																		
Column	YMC-Triart C18 250×4.6 mm, 5 μm (YMC Co., Kyoto, Japan)																		
Detector	Diode array detector 5430 230 nm, 272 nm (Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan)																		
Flow rate	1 mL/min																		
Column temperature	40°C																		
Injection volume	10 μL																		
Mobile phase	A: 0.5% aqueous acetic acid B: methanol																		
Gradient	<table><tr><th>Time (min)</th><th>A (%)</th><th>B (%)</th></tr><tr><td>0</td><td>70</td><td>30</td></tr><tr><td>5</td><td>70</td><td>30</td></tr><tr><td>50</td><td>0</td><td>100</td></tr><tr><td>52</td><td>70</td><td>30</td></tr><tr><td>60</td><td>70</td><td>30</td></tr></table>	Time (min)	A (%)	B (%)	0	70	30	5	70	30	50	0	100	52	70	30	60	70	30
Time (min)	A (%)	B (%)																	
0	70	30																	
5	70	30																	
50	0	100																	
52	70	30																	
60	70	30																	

평균값과 y절편의 표준편차를 이용하는 방법을 사용하였으며, 아래와 같은 식에 대입하여 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantitation, LOQ)를 산출하였다.

$$\text{검출한계(LOD)} = 3.3 \times (\text{y절편의 표준편차} / \text{검량선 기울기의 평균값})$$

$$\text{정량한계(LOQ)} = 10 \times (\text{y절편의 표준편차} / \text{검량선 기울기의 평균값})$$

2.9. 통계처리

각 실험은 3회 반복하여 얻은 결과를 SPSS package program (Ver. 12.0K, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 머위 간의 유의성은 one-way ANOVA로 분산 분석한 후에 Duncan's multiple range test로 비교하였다($p<0.05$).

3. 결과 및 고찰

3.1. 지표성분의 검량선, 검출한계 및 정량한계 분석

Bakkenolide B는 세스퀴테르펜 락톤(sesquiterpene lactone) 계열의 화합물로 머위에서 발견되는 주요 지표성분 중 하나로 항염증과 항알레르기 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있으며(Lee 등, 2013) protocatechuic acid, caffeic acid, 3,5-DCQA는 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Hiemori-Kondo와 Nii, 2020). 따라서, 머위에 함유된 4가지 기능성 지표 물질의 정량 분석 조건을 설정하기 위하여 표준물질을 이용한 HPLC 분석을 수행하였다. 분석 결과, 검출 시간은 5.40분, 9.49분, 17.31분, 40.56분에서 각각 protocatechuic acid, caffeic acid, 3,5-DCQA, bakkenolide B가 검출되었는데, 이 중 bakkenolide B는 230 nm에서, 나머지 3종(protocatechuic acid, caffeic acid, 3,5-DCQA)은 272 nm에서 검출되었다. 표준물질의 농도를 달리하여 분석한 후 y축을 면적, x축을 농도(μ g/mL)로 하여 검량선 및 검출한계, 정량한계에 대한 결과는 Table 2와 같다. 검량선의 상관계수는 0.9979-0.9999로 높은 직선성을 보였으며, 이는 분석법이 신뢰할 수 있는 정량적 분석임을 의미한다. 또한, 검출한계(LOD)는 1.85-7.21 μ g/mL, 정량한계(LOQ)는 5.61-21.86 μ g/mL로 확인되었으며, 이러한 결과는 4가지 성분을 정량 분석하는데 적합한 분석조건을 확립하였다.

3.2. 머위의 에탄올 농도 및 수확시기별 지표성분 함량

머위의 수확 시기별 지표성분 함량 차이와 에탄올 농도별 (70%, 95%) 지표성분의 추출 정도를 분석하기 위해 앞에서 구한 회귀직선방정식을 사용하여 머위 추출물의 지표성분인

Table 2. Calibration curve characteristics and detection / quantification limits of marker compounds analyzed by HPLC

Peak No.	Standard	Retention time (min)		Linear range (μg/mL)	Calibration equation ¹⁾	Correlation coefficient (R ²)	LOD ²⁾ (μg/mL)	LOQ ³⁾ (μg/mL)
		230 nm	272 nm					
1	Protocatechuic acid	-	5.40	3.13-50	y=111,494x-65,851	0.9993	1.85	5.61
2	Caffeic acid	-	9.49	3.13-50	y=95,228x-129,560	0.9974	3.69	11.20
3	3,5-DCQA	-	17.31	3.13-50	y=61,873x-85,215	0.9979	3.32	10.06
4	Bakkenolide B	40.56	-	31.3-500	y=35,813x+1,664,650	0.9999	7.21	21.86

¹⁾y, peak area; x, standard concentration (μg/mL).²⁾LOD, limit of detection.³⁾LOQ, limit of quantification.

protocatechuic acid, caffeic acid, 3,5-DCQA, bakkenolide B의 함량을 정량하였다(Table 3). 70% 에탄올 추출물에서 protocatechuic acid는 4월 머위(0.87 mg/g)와 7월 머위(0.85 mg/g)에서 상대적으로 높은 값을 보였으며 6월 머위에서 가장 낮은 함량을 보였다. Caffeic acid, 3,5-DCQA, 및 bakkenolide B는 7월 머위(1.89 mg/g, 4.37 mg/g, 15.13 mg/g)에서 모두 가장 높은 값을 나타냈다. Meishan 등(2017)의 연구에 따르면, 에탄올 농도를 50-90%로 조절하여 추출한 고구마 잎의 총폴리페놀 함량이 에탄올 농도가 60-70%에서 가장 높았으며 이는 caffeic acid와 3,5-DCQA와 같은 페놀산 함량의 영향을 받은 것으로 보고되었고, 본 연구에서도 이와 같은 성분들이 항산화 성분 함량 및 항산화 활성에 영향을 끼칠 것으로 판단된다. 반면, 95% 에탄올을 추출물에서는 대부분 지표 성분의 함량이 70% 에탄올 추출물보다 낮게 나타났는데 protocatechuic acid, caffeic acid와 3,5-DCQA 함량은 70% 에탄올 추출물의 절반보다 낮아 상당한 감소를 보인 반면에 bakkenolide B는 70% 에탄올 추출물과 유사한 수준을 보였다. 이와 같은 결과를 종합할 때 4가지 지표

성분의 함량면에서 보면 머위 잎의 채취시기는 7월이, 추출에 사용되는 에탄올 농도는 70%가 적합할 것으로 판단된다.

3.3. 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량

수확 시기별 머위 에탄올 추출물의 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 Table 4와 같다. 70% 에탄올을 이용해 추출한 머위의 총폴리페놀 함량은 27.82-41.91 μg/mg으로 확인되었으며, 7월 머위에서 41.91 μg/mg으로 가장 높은 값을 나타낸 반면, 6월 머위는 27.82 μg/mg으로 가장 낮은 값을 보였다. 총플라보노이드 함량은 8.75-23.73 μg/mg으로 확인되었으며, 7월 머위가 23.73 μg/mg으로 가장 높은 함량을 보였다. 반면, 95% 에탄올을 이용해 추출한 머위에서는 총폴리페놀 함량이 16.20-21.15 μg/mg으로 나타나, 70% 에탄올 처리 머위보다 상대적으로 낮은 수치를 보였다. 이는 70% 에탄올이 95% 에탄올에 비해 극성 화합물인 폴리페놀 성분의 추출이 용이하여 70% 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량이 95% 에탄올 추출물보다 더 높은 것으로 판단된다. 이러한 결과는 모시풀잎을 에탄올 농도별로 추출

Table 3. Contents of marker compounds in *Petasites japonicus* extracts depending on ethanol concentration and harvest time (mg/g, d.b.¹⁾)

Ethanol content (%)	Harvest time	Protocatechuic acid	Caffeic acid	3,5-DCQA	Bakkenolide B	Total
70	Apr.	0.87±0.00 ²⁾⁽³⁾	1.01±0.01 ^c	1.57±0.01 ^c	11.39±0.13 ^c	14.85±0.14 ^c
	May	0.73±0.01 ^c	1.67±0.01 ^d	3.93±0.09 ^g	10.09±0.09 ^b	16.43±0.08 ^c
	Jun.	0.63±0.02 ^d	1.00±0.02 ^c	1.69±0.01 ^f	12.86±0.40 ^c	16.18±0.43 ^c
	Jul.	0.85±0.01 ^f	1.89±0.01 ^c	4.37±0.04 ^b	15.13±0.19 ^g	22.24±0.22 ^f
95	Apr.	0.35±0.00 ^c	0.34±0.00 ^a	0.81±0.04 ^b	12.37±0.10 ^d	13.87±0.14 ^b
	May	0.25±0.00 ^b	0.41±0.00 ^b	1.36±0.01 ^d	9.52±0.11 ^a	11.55±0.13 ^a
	Jun.	0.25±0.00 ^b	0.34±0.00 ^a	0.52±0.00 ^a	12.57±0.09 ^{de}	13.68±0.10 ^b
	Jul.	0.23±0.00 ^a	0.41±0.01 ^b	1.23±0.03 ^c	13.91±0.31 ^f	15.78±0.35 ^d

¹⁾Dry basis.²⁾All values are mean±SD (n=3).³⁾Different superscript letters (^{a-g}) in the same column indicate significant differences by Duncan's multiple range test (p<0.05).

Table 4. Contents of total phenolic and flavonoid contents in *Petasites japonicus* extracts at different ethanol concentrations and harvest times

Ethanol content (%)	Harvest time	Total phenolic contents ($\mu\text{g GAE/mg, d.b.}^1$)	Total flavonoid contents ($\mu\text{g catechin/mg, d.b.}$)
70	Apr.	30.56 $\pm$ 0.67 ^{2)c3)}	11.08 $\pm$ 0.20 ^c
	May	39.41 $\pm$ 0.67 ^f	21.06 $\pm$ 0.22 ^d
	Jun.	27.82 $\pm$ 0.71 ^d	8.75 $\pm$ 0.15 ^b
	Jul.	41.91 $\pm$ 0.77 ^g	23.73 $\pm$ 0.02 ^e
95	Apr.	18.32 $\pm$ 0.40 ^b	6.20 $\pm$ 0.17 ^a
	May	21.15 $\pm$ 1.58 ^c	9.10 $\pm$ 0.15 ^b
	Jun.	16.20 $\pm$ 0.03 ^a	5.66 $\pm$ 0.49 ^a
	Jul.	17.91 $\pm$ 0.37 ^{ab}	8.68 $\pm$ 0.25 ^b

¹⁾Dry basis.²⁾All values are mean $\pm$ SD (n=3).³⁾Different superscript letters (^{a-f}) in the same column indicate significant differences by Duncan's multiple range test (p<0.05).

했을 때, 70% 에탄올을 추출물이 100% 에탄올 추출물보다 총폴리페놀 함량이 1.04배 더 높다는 연구 결과와 일치하는 경향을 보였다(Kim 등, 2015). 70% 에탄올과 95% 에탄올 머위 추출

물을 비교한 결과, 에탄올 농도와 수확 시기가 총폴리페놀 함량과 총플라보노이드 함량에 유의미한 영향을 미치는 것으로 확인되었다(p<0.05). 따라서 머위를 천연 항산화 소재로 활용하기 위해서는 7월에 수확한 머위를 70% 에탄올을 이용해 추출하는 것이 합리적일 것으로 판단된다.

3.4. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

각 머위 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 농도별(2 mg/mL, 5 mg/mL)로 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능의 양성 대조구로 사용된 Trolox는 각각 44.8 $\mu\text{g/mL}$ 와 336.2 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 것으로 확인되었다. 70% 에탄올을 이용한 머위 추출물에서 2 mg/mL 농도의 DPPH 라디칼 소거능은 34.3-65.0%로 나타났으며, 5월과 7월 머위에서 약 64-65%로 높은 활성을 보인 반면에, 6월 머위에서는 34.3%로 가장 낮은 값을 보였다. ABTS 라디칼 소거능에서는 5.5-13.0% 범위에서 활성이 확인되었는데 7월 머위가 13.0%로 가장 높은 활성을 나타냈고, 6월 머위는 5.5%로 가장 낮았다. 반면, 95% 에탄올을 이용해 추출한 머위에서는 항산화 활성 수치가 70% 에탄올 추출에 비하여 상대적으로 낮게 나타났으며 DPPH 라디칼 소거능이 21.4-36.0%로 5월 머위에서 가장 높은 활성을 보였고, 6월

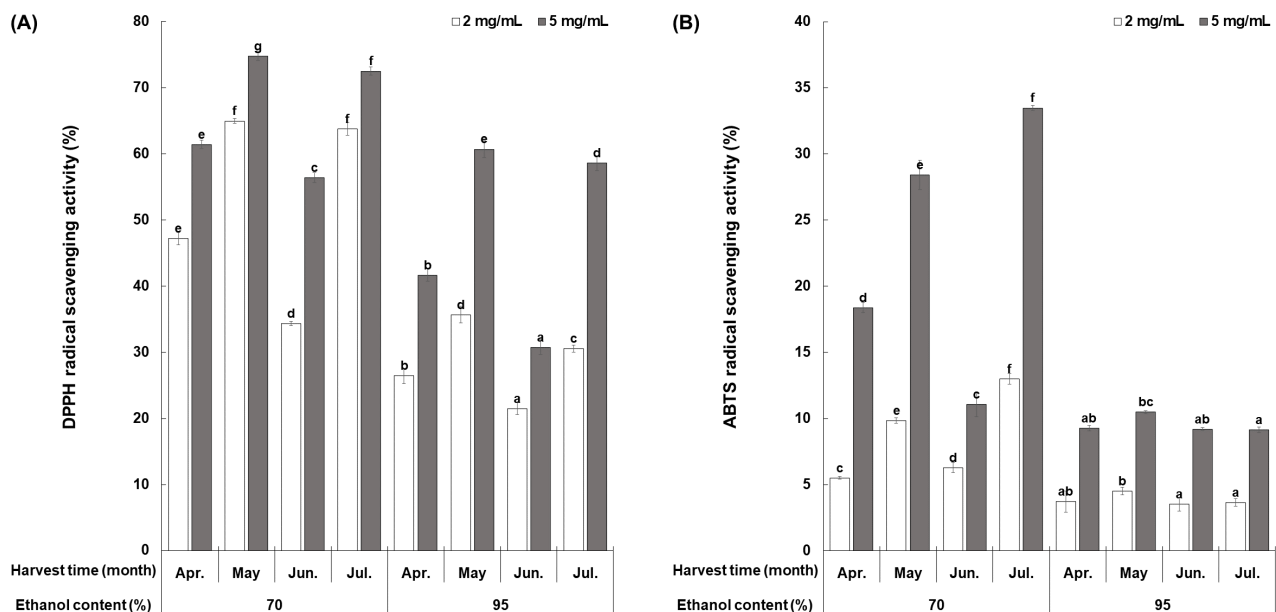


Fig. 1. Effect of harvest time and ethanol content on DPPH (A) and ABTS (B) radical scavenging activities of *Petasites japonicus* extracts. DPPH and ABTS radical scavenging activities were treated with the indicated extract concentration (mg/mL) of ethanol extracts (2 mg/mL, 5 mg/mL), respectively. All values are mean $\pm$ SD (n=3). Error bar indicates the standard deviation of mean and means with different superscript letters (^{a-f}) are significantly different between same concentration by Duncan's multiple range test (p<0.05). Trolox, used as a positive control for DPPH and ABTS radical scavenging activities, showed IC₅₀ values of 44.83 $\mu\text{g/mL}$ and 336.19 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

머위는 가장 낮았다. 또한, ABTS 라디칼 소거능은 3.5-4.5%로 5월 머위에서 가장 높았고 6월 머위에서 가장 낮은 활성이 나타남으로서 70% 에탄올을 처리 머위와 비교하였을 때, 상대적으로 낮은 값을 보였다. DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능은 총폴리페놀 함량 및 총플라보노이드 함량과의 상관계수가 0.970-0.990 이상으로 양의 상관관계를 보이며 항산화 활성의 주된 성분이 폴리페놀이라고 보고되었고(Choi 등, 2021; Gheldof와 Engeseth, 2002), 본 연구에서도 폴리페놀 함량이 높은 5월과 7월 머위 추출물에서 항산화 활성이 더 높게 나타난 것으로 판단된다. Eom 등(2021)의 연구에서 머위 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능이 70% 에탄올 추출물에서 더 높은 활성을 보였다. 이는 본 연구에서 모든 수확 시기 및 농도에서 70% 에탄올 처리 머위가 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능 두가지 모두에서 더 높은 수치를 보인 것과 일치하는 경향을 보였다. 따라서, 머위 잎의 경우에는 70% 에탄올이 폴리페놀과 같은 항산화 물질의 용해 및 추출에 더 적합한 용매인 것으로 판단된다.

4. 요약

본 연구는 시기별 4월부터 7월까지로 수확한 머위를 70%와 95% 에탄올로 추출하여 머위의 지표성분인 protocatechuic acid, caffeic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid와 bakkenolide B의 성분 함량, 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량, 그리고 항산화 활성(DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능)을 평가하였다. HPLC 분석 결과, 70% 에탄올 추출물에서는 지표성분 중에서 bakkenolide B가 수확시기에 상관없이 주성분인 것으로 나타났으며, 7월에 수확한 머위에서 15.13 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였으나 95% 에탄올 추출물에서는 모든 지표 성분의 함량이 70% 에탄올 추출물보다 낮았다. 총폴리페놀과 플라보노이드 함량도 70% 에탄올로 추출한 7월 머위에서 각각 41.91 µg/mg과 23.73 µg/mg으로 가장 높았다. 항산화 활성 평가 결과, 70% 에탄올 추출물에서 DPPH 라디칼 소거능은 5월과 7월 머위가, ABTS 라디칼 소거능은 7월 머위가 가장 높은 활성을 보였다. 결과적으로, 수확 시기와 추출 용매 농도가 머위 추출물의 항산화 활성 및 지표 성분 함량에 중요한 영향을 미친다는 사실을 확인하였으며, 특히 7월에 수확한 머위를 70% 에탄올로 추출하는 조건이 항산화 활성이 높은 추출물 생산에 적합할 것으로 판단된다. 본 연구 결과는 머위의 기능적 특성을 활용하기 위한 기능성 소재 생산과 이를 응용하는데 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Funding

None.

Acknowledgements

None.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Jang SW, Song DY, Kim MY, Song GS. Methodology: Jang SW, Oh BM, Song DY, Kim MY, Park CG, Hur YK. Formal analysis: Jang SW, Oh BM, Kim MY, Park CG. Validation: Jang SW, Oh BM, Song GS. Writing - original draft: Jang SW, Kim MY, Park CG, Song GS. Writing - review & editing: Jang SW, Song GS.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

So-Won Jang (First author)

<https://orcid.org/0000-0003-2820-5692>

Byung-Min Oh

<https://orcid.org/0009-0004-1126-8480>

Da Yeon Song

<https://orcid.org/0009-0005-7291-8480>

Mi Yeung Kim

<https://orcid.org/0009-0002-3475-6052>

Chan Gyu Park

<https://orcid.org/0009-0007-9661-681X>

Yong Kap Hur

<https://orcid.org/0000-0002-8681-4325>

Geun-Seoup Song (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0003-4035-691X>

References

- Cho BY, Lee JH, Choi SI, Jung TD, Choi SH, Ra MJ, Kim SY, Kang IJ, Han KC, Lee OH. Changes in antioxidant and antiobesity activities of *Cirsium setidens* Nakai ethanolic extract depending on different harvest time. J Food Hyg Saf, 32, 234-242 (2017)
- Cho YJ, Chun SS, Kwon HJ, Kim JH, Yoon SJ, Lee KH. Comparison of physiological activities between hot-water and ethanol extracts of Bokbunja (*Rubus coreanum* F.). J Korean Soc Food Sci Nutr, 34, 790-796 (2005)
- Choi GY, Kim MH, Han YS. Antioxidant activities and

- quality characteristic of *Jeung-Pyun* with the addition of loquat leaf powder. J Korean Soc Food Sci Nutr, 50, 1065-1073 (2021)
- Choi JY, Desta KT, Saralamma VVG, Lee SJ, Kim SM, Paramanantham A, Lee HJ, Kim YH, Shin HC, Shim JH, Warda M, Hacimuftuoglu A, Jeong JH, Shin SC, Kim GS, El-Aty AMA. LC-MS/MS characterization, anti-inflammatory effects and antioxidant activities of polyphenols from different tissues of Korean *Petasites japonicus* (Meowi). Biomed Chromatogr, 31, e4033 (2017)
- Chung HS. Isolation of new bioactive phytochemicals from natural products. Food Ind Nutr, 6, 53-59 (2001)
- Eom HJ, Shin HY, Jeong YY, Kwon NR, Kim KH, Kim IJ, Yu KW. Nutritional components and physiological activities of *Petasites japonicus* solvent extracts. Korean J Food Preserv, 28, 915-925 (2021)
- Gheldof N, Engeseth NJ. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro* lipoprotein oxidation in human serum samples. J Agric Food Chem, 50, 3050-3055 (2002)
- Hiemori-Kondo M, Nii M. *In vitro* and *in vivo* evaluation of antioxidant activity of *Petasites japonicus* Maxim. flower buds extracts. Biosci Biotechnol Biochem, 84, 621-632 (2020)
- ISO. Determination of substances characteristic of green and black tea-part 1: Content of total polyphenols in tea – Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. International Organization for Standardization. Geneva. Switzerland, p 1-8 (2005)
- Kim CK, In MJ, Kim DC. *In vitro* antioxidant activity of ethanol extract from *Boehmeria nivea* L. leaves. Food Eng Prog, 19, 76-81 (2015)
- Kim MJ, Chu WM, Park EJ. Antioxidant and antigenotoxic effects of Shiitake mushrooms affected by different drying methods. J Korean Soc Food Sci Nutr, 41, 1041-1048 (2012)
- Lee DY, Sim SH, Kim WS, Yi YW, Lee IH. Comparison between the antioxidant activity and the index content of ACTS002 according to the extraction solvent. J Int Korean Med, 40, 331-342 (2019)
- Lee KP, Kang SR, Park SJ, Choi YW, Lee YG. Anti-allergic and anti-inflammatory effects of bakkenolide B isolated from *Petasites japonicus* leaves. J Ethnopharmacol, 148, 890-894 (2013)
- Li M, Jang GY, Lee SH, Hwang SG, Sin HM, Kim HS, Lee JS, Jeong HS. Lutein, β -carotene, and polyphenol contents of sweet potato leaves under different extraction conditions. J Korean Soc Food Sci Nutr, 46, 1343-1349 (2017)
- Magalhaes LM, Segundo MA, Reis S, Lima JLFC. Automatic method for determination of total antioxidant capacity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay. Anal Chim Acta, 558, 310-318 (2006)
- Oh HK. Antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Eugenia caryophyllata* Thunb. J Korean Soc Food Cult, 31, 481-488 (2016)
- Oh SH, Yang YH, Kwon OY, Kim MR. Effects of diet with added butterbur (*Petasites japonicus* Maxim) on the plasma lipid profiles and antioxidant index of mice. J East Asian Soc Dietary Life, 16, 399-407 (2006)
- Park GH, Kim MY, Lee YJ, Shin CS, Lee JS, Jeong HS. Antioxidant components and activities of *Euonymus sieboldiana* leaves according to harvesting time and heating methods. J Korean Soc Food Sci Nutr, 48, 551-556 (2019)
- Park SJ, Park WJ, Lee BC, Kim SD, Kang MH. Antioxidative activity of different species *Lycium chinensis* Miller extracts by harvest time. J Korean Soc Food Sci Nutr, 35, 1146-1150 (2006)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio Med, 26, 1231-1237 (1999)
- Seo HS, Chung BH, Cho YG. The antioxidant and anticancer effects of butterbur (*Petasites japonicus*) extracts. Korean J Plant Res, 21, 265-269 (2008)
- Shin SL, Lee CH. Antioxidant activities of ostrich fern by different extraction methods and solvents. J Life Sci, 21, 56-61 (2011)
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem, 64, 555-559 (1999)