

국외 수집 홍화 유전자원의 항산화 활성 및 세로토닌 유도체 함량 분석

정이진¹, 아와리스 아세파², 이재은³, 이호선⁴, 이주희⁴, 성정숙^{5*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터, 연구원, ²박사후연구원, ³농업연구사, ⁴농업연구관, ⁵농촌진흥청 국립식량과학원 남부작물부 밭작물개발과, 농업연구관

Analysis of Antioxidant Activity and Serotonin Derivatives in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Germplasm Collected from Five Countries

Yi Jin Jung¹, Awaris Derbie Assefa², Jae Eun Lee³, Ho Sun Lee⁴, Ju Hee Rhee⁴ and Jung Sook Sung^{5*}

¹Research Assistant, ²Post-doc, ³Researcher and ⁴Senior Researcher, National Agrobiodiversity Center, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Jeonju 54874, Korea

⁵Senior Researcher, Upland Crop Breeding, Research Division Department of Southern Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Miryang 50424, Korea

Abstract - In order to select potential plant resources as functional materials and natural antioxidants, we evaluated antioxidant activity and serotonin derivatives of safflower germplasm collected from five countries. *N*-(*p*-Coumaroyl) serotonin (CS) and *N*-feruloylserotonin (FS) were analyzed by using Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC). Total polyphenol content (TPC) was determined by Folin-Ciocalteu method and antioxidant activities were estimated by 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS), Ferric reducing antioxidant power (FRAP) and Reducing power (RP) assays. The TPC showed a range of 28.25 to 90.53 μ g gallic acid equivalent (GAE)/mg dried extract (DE). DPPH, ABTS, FRAP and RP assay were in the range of 18.76 to 93.98, 48.91 to 163.73, 3.80 to 132.29 and 26.32 to 80.08 μ g ascorbic acid equivalent (ASCE)/mg DE, respectively. Among the five countries, safflower seed collected from Iran had the highest levels of serotonin derivatives and antioxidant activities than other countries ($p < 0.05$). CS showed high correlation with TPC, ABTS and DPPH ($r = 0.673, 0.727, 0.820$), and FS showed high correlation with DPPH ($r = 0.740$). Accessions IT321214 and IT321215 could be useful for development of new functional materials and could be used as a source of valuable natural antioxidant materials.

Key words - Antioxidants, Correlation, *N*-feruloylserotonin, *N*-(*p*-Coumaroyl) serotonin, Safflower seed

서 언

급속한 산업화로 인한 환경오염과 생활환경에 따른 식생활 패턴의 변화 등으로 현대인들은 직·간접적으로 산화적 스트레스에 노출되어 있다. 이로 인해 노화, 염증질환, 심장질환, 암 등을 포함하는 다양한 질환이 발생되고 있으며, 인체의 건강한 생리기능을 위해서는 활성산소와 항산화제 간의 균형이 필요하다. 활성산소는 체내에 들어온 산소가 완전히 산화하지 못하고 유리라디칼이

라고 하는 불안정한 전자를 생성하게 되며 이들 전자는 다른 원소들과 쉽게 결합할 수 있다(Cheeseman, 1993). 유리라디칼이 인체의 조절하는 능력을 벗어나게 되면 산화스트레스로 알려진 상태를 유지하게 되고, 지질과 단백질 및 DNA의 변화 또는 손상을 일으켜 여러 가지 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다(Lobo *et al.*, 2010). 항산화제의 공급은 이러한 산화스트레스에 대처할 수 있다. 과거에는 경제성과 항산화제로서 탁월한 효과의 이유로 합성 항산화제인 BHA (butylated hydroxyanisole)와 BHT (butylated hydroxytoluene)의 사용이 일반적이었으나 과다 사용시 독성을 나타내는 등 안정성의 문제로 현재는 사용량이 법적으로 규제되

*교신저자: E-mail sjs31@korea.kr

Tel. +82-55-350-1223

© 본 학회지의 저작권은 (사)한국자원식물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.

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.

어 있는 실정이다(Branen, 1975; Ito *et al.*, 1983). 이에 반해, 천연항산화제는 tocopherol, phenol 화합물 등의 천연물질로 이루어져 있으며, 기존의 합성항산화제가 지니는 안정성에 있어서는 뛰어나지만, 가격이 비싸고 항산화 효능이 비교적 낮다는 단점이 있다(Perron and Brumaghim, 2009). 따라서 뛰어난 안정성과 항산화 효능을 지닌 천연항산화제의 소재 발굴에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Jang *et al.*, 2016; Nho *et al.*, 2018; Yu and Moon, 2018). 홍화는 잇꽃이라고 불리며, 국화과에 속하는 일년생 초본으로 이집트 및 아프가니스탄, 이란 이라크 등 중동지역이 원산지인 것으로 알려져 있다. 다목적 작물인 홍화는 오랜 재배 역사를 가진 작물 중 하나이며, 식품의 착색염료 등 천연 염료와 혈액과 심장, 자궁, 비뇨기 등 약재로 사용되고, 다량의 지방을 함유하고 있어 식용유 및 산업용 오일로 이용된다(Choi *et al.*, 2011). 홍화의 대표적인 성분으로는 색소성분인 Carthamin과 Safflor Yellow, 기름성분인 Fatty acid (oleic acid, linoleic acid)이 대표적이다. 그리고 세로토닌 유도체는 탈지된 홍화 종자의 주된 성분이며, 독특한 페놀성분으로 확인되었고, N-feruloylserotonin (FS)는 강력한 항산화 활성을 가지는 것으로 보고되었다(Baek *et al.*, 1999; Sakamura *et al.*, 1978; Song *et al.*, 2000). 이러한 생리활성물질들은 항산화 활성과 항염증 효과, 암 예방 및 항암 효과를 가지는 것을 보고되었다(Bae *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2014a). 또한, 전뇌허혈에 대한 신경보호 효과(Wei *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2014), α -glucosidase 억제제 통한 항당뇨 효과(Takahashi and Miyazawa, 2012), 지방세포분화 억제 효과(Yu *et al.*, 2013), 항불안성과 항우울성 효과(Qazi *et al.*, 2015), 알츠하이머병 치료를 위한 acetylcholinesterase 억제 효과(Peng *et al.*, 2017) 등의 연구가 이루어져 있다. 홍화는 전세계적으로 널리 분포하고 있으나, 국가 또는 지역 간의 항산화 활성과 성분의 함량을 비교할 수 있는 기초연구자료는 미흡하였다. 본 연구에 사용된 아프가니스탄, 이란, 이라크, 이스라엘, 요르단은 홍화의 기원 및 원산지이다. 따라서 5 개국의 홍화 종자를 대상으로 항산화 활성 및 세로토닌 유도체 함량을 비교하여 국가별 차이를 알아보고, 항산화능이 높은 자원을 선별하여, 새로운 천연항산화제 개발을 위한 식물 소재와 유용정보를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

시약

항산화 실험에 사용된 시약과 표준물질은 Folin-Ciocalteu reagent, 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazil(DPPH), 2,2'-azino-bis

(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS), sodium acetate, acetic acid, 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ), HCl, iron(III) chloride hexahydrate, potassium hexacyanoferrate(III), trichloroacetic acid (TCA), sodium phosphate dibasic, sodium phosphate monobasic monohydrate, L-ascorbic acid, gallic acid이며, 모든 시약은 analytic grade로 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 세로토닌 유도체 정량분석에 사용된 표준물질은 N-(*p*-Coumaroyl) serotonin과 N-feruloyl-serotonin이며, Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였다.

실험재료 및 시료준비

본 연구에 사용된 홍화 종자는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터에 분양 받아 이용하였다. 분양 받은 자원은 2017년 전라북도 전주 시험포장에서 재배하여 실험재료로 활용하였다. 항산화 활성 실험과 CS의 \rightarrow FS함량분석에 사용된 시료는 거칠게 분쇄한 종자에 헥산을 가해 유분을 제거하고 건조시킨 후, 7 g을 고속용매추출장치 ASE 200 (Dionex, Sunnyvale, California, USA)를 이용하여 추출하였으며, 추출조건은 질소 가스 1,200 psi, 70°C이며, 용매는 75% 에탄올을 사용하였다. 추출된 시료는 진공원심농축기 HT-4 (Genevac, Ipswich, Suffolk IP1, 5AP, UK)를 이용하여 40°C에서 10시간 동안 농축하였다. 농축된 시료는 항산화 실험에 사용하기 위해 0.1 mg/mL로 희석하였고, 성분분석을 위한 시료는 0.5 mg/mL로 희석하여 0.45 μ m 실린지 필터로 여과하여 준비하였다.

총 폴리페놀 함량(Total polyphenol contents, TPC)

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법을 참고하여 측정하였다(Waterhouse, 2002). 96well plate 에 시료 100 μ L 에 1N Folin & Ciocalteu phenol 100 μ L 를 첨가하여 호일을 덮고 3분간 실온에서 보관하였다. 이후 2% sodium carbonate (Na₂CO₃) 100 μ L 를 첨가한 뒤 호일을 덮고 30분간 실온에서 반응 후 마이크로플레이트 분광광도계(Eon, Bio-tek, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 gallic acid 를 사용하여 측정된 값을 환산하여 비교하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 의한 유리라디칼 소거능은 수소 공여능을 측정할 수 있는 Piao *et al.* (2013)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96well plate 에 시료 100 μ L 에 150 μ M DPPH 용액 150 μ L 를 첨가하여

호일로 빛을 차단 후, 30 분간 실온에 반응시킨 뒤 마이크로플레이트 분광광도계(Eon, Bio-tek, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 ascorbic acid 를 사용하였고, DPPH 라디칼 소거능은 다음식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity} = 1 - (\text{A sample} - \text{A sample blank}) / (\text{A control} - \text{A control blank})$$

ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Re *et al.* (1999)의 방법을 응용하여 평가하였다. ABTS 용액 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulphate를 각각 제조하여 섞어 12시간 이상 빛을 차단하여 냉장 보관하였다. 양이온(ABTS⁺)을 생성시킨 후, 734 nm에서 흡광도 값의 범위가 0.70±0.02가 되게 희석하였다. 96well plate에 시료 10 µL에 준비된 ABTS 용액 190 µL를 첨가하여 호일로 빛을 차단 후, 30분 실온에서 반응시킨 뒤 마이크로플레이트 분광광도계 (Eon, Bio-tek, USA)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 ascorbic acid를 사용하였고, ABTS 라디칼 소거능은 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity} = 1 - (\text{A sample} - \text{A sample blank}) / (\text{A control} - \text{A control blank})$$

Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) 측정

산화 및 환원 반응을 측정하는 FRAP 활성은 Benzie and Strain (1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. FRAP 용액은 0.1M acetate buffer (pH 3.6), 10mM TPTZ/40mM HCl, 20mM Ferric chloride solution (FeCl₃ · 6H₂O)을 10:1:1의 비율로 각

각 제조하여 혼합하고 37°C에 보관하였다. 96well plate에 시료 10 µL과 준비된 FRAP용액 300 µL를 혼합한 후, 호일로 빛을 차단하였다. 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 마이크로플레이트 분광광도계(Eon, Bio-tek, USA)를 이용하여 593 nm로 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 ascorbic acid을 사용하였고, 측정값은 ascorbic acid equivalent 농도로 환산하여 비교하였다.

환원력 (Reducing power, RP) 측정

RP는 Yen and Chen (1995)의 방법을 참고하여 측정하였다. 시료 60 µL과 0.2M phosphate buffer (pH 6.6) 150 µL과 1% K₃Fe(CN)₆ 150 µL를 혼합하여, 50°C에서 20분 동안 반응시킨 뒤, 10% Trichloroacetic acid 150 µL를 첨가하여 13000 rpm으로 10분 동안 원심분리 하였다. 96well plate에 상등액 100 µL, 3차 증류수 100 µL, 0.1% Ferric chloride 20 µL를 분주한 후, 호일로 빛을 차단하여, 상온에서 10분간 반응 후 마이크로플레이트 분광광도계(Eon, Bio-tek, USA)를 이용하여 700 nm로 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 ascorbic acid을 사용하였고, 측정값은 ascorbic acid equivalent 농도로 환산하여 비교하였다.

N-(p-Coumaroyl) serotonin(CS)과 N-feruloylserotonin(FS) 함량 측정

시료의CS과FS의 함량은 Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC, Agilent 1290 Infinity II, USA)를 이용하여 측정하였으며, 분석조건은 다음과 같다(Table 1).

통계분석

모든 실험은 한 시료당 3 반복 분석하였으며, 결과는 R Project (www.r-project.org, R i386 3.5.2, Vienna, Austria)를 이용하

Table 1. Conditions of UHPLC for identification and determination of CS and FS

Instrument	Agilent Technongies 1290 series	
Column	Eclipse plus C18 (1.8 um, 2.1 x 50 mm)	
Buffer A	0.1 % formic acid in water	
Buffer B	0.1 % formic acid in acetonitrile	
Flow	0.4 mL/min	
Injection	2 µL	
Wavelength	324 nm	
Time (min)	A (%)	B (%)
0	85	15
6	60	40
15	20	80

여 통계분석 하였고, 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 의 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량 및 항산화 활성 평가

이란 등 5개국에서 수집한 홍화 유전자원을 대상으로 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성을 측정하는 결과는 Table 2와 Table 3에 나타내었다. Phenolic hydroxyl을 가지는 페놀성 화합물은 2차 대사산물의 하나로 단백질 및 기타 거대분자들과 쉽게 결합하며, 항산화 효과와 같은 생리활성은 질병의 예방과 회복에 도움을 주는 역할을 한다(Kumar *et al.*, 2006). TPC 분석 결과, 28.25에서 90.53 $\mu\text{g gallic acid equivalent (GAE)}/\text{mg dried extract (DE)}$ 의 함량으로 넓은 범위로 분포하였으며, 평균 55.08 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$ 의 값으로 나타났다. 국가별 TPC의 평균은 이란이 61.69 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$ 로 가장 높았고, 아프가니스탄 54.91 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$, 이스라엘 51.14 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$, 요르단 46.81 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$, 이라크 35.24 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$ 의 순으로 나타났다. 대조품종으로 사용된 의산홍화와 청수홍화의 값은 61.90와 54.45 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$ 로 측정되었다. 국가 간의 TPC를 비교해보면, 아프가니스탄과 이란은 이라크와 이스라엘, 요르단과 유의한 차이가 나타났다($p < 0.05$). Sung *et al.* (2018)의 연구에 따르면, 중국과 일본, 한국, 북한에서 수집한 홍화 유전자원의 TPC는 68, 58, 62 및 70 $\mu\text{g GAE}/\text{mg}$ 로 조사되었고, 본 연구에 사용된 지역과 비교하였을 때, 동아시아 지역의 홍화 유전자원에서 페놀함량이 높게 나타났다. 실험방법이 같은 본 연구와 선행연구의 지역간 TPC 차이는 홍화 유전자원이 지닌 유전자형에서 영향을 받았을 것이라 생각한다. 또한 Mujic *et al.* (2011)는 두 지역에서 수집된 콩에서 TPC가 지역 간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다고 보고하였다.

항산화 활성 평가를 위해 다양한 *in vitro* 항산화 실험을 수행하였다. 일반적으로 가장 많이 이용되는 DPPH assay와 ABTS assay는 색소화합물인 DPPH 라디칼과 ABTS+을 이용한 유리 라디칼 소거능을 측정하는 것이며(Arnao, 2000), FRAP assay와 RP assay는 산화 및 환원반응을 측정하는 방법으로, 시료의 환원능을 평가하는 것이다. 이란 등 5개국에서 수집한 홍화 유전자원의 DPPH 라디칼 소거능은 18.76에서 93.98 $\mu\text{g ascorbic acid equivalent (ASCE)}/\text{mg dried extract (DE)}$ 의 범위였으며, 국가별 평균값은 이란이 57.56 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 로 가장 높은 값을 가졌고, 아프가니스탄 51.84 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이스라엘

38.06 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 요르단 35.81 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이라크 18.76 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 순으로 나타났다. 대조로 사용된 의산홍화와 청수홍화는 59.05 및 52.81 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 값을 나타내었으며, 요르단과 이스라엘, 이라크와 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). ABTS는 Potassium persulfate와의 반응에 의해 생성되는 ABTS 유리라디칼이 시료의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색상이 탈색되는 것을 측정하는 것으로 DPPH assay와 라디칼 소거능을 측정하는 점은 같으나 다른 점은 화학 반응을 통해 발생된 유리라디칼 용액에 시료를 넣어 항산화능을 측정한다는 점이다(Yoo *et al.*, 2007). 국가별 ABTS 라디칼 소거능의 결과는 48.91 ~ 163.73 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 범위이며, 국가별 평균값은 이란이 113.75 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 로 가장 높은 값을 나타냈고, 아프가니스탄 102.59 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이스라엘 72.95 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 요르단 69.67 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이라크 61.43 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 값을 가졌다. 대조로 사용된 의산홍화와 청수홍화는 131.46 및 138.74 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 값으로 측정되었고, 국가 간의 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). 동아시아 잇꽃 유전자원의 항산화 분석 결과에 따르면, DPPH와 ABTS의 평균값은 4.6 $\mu\text{g ASC}/\text{mg}$ 와 72.2 $\mu\text{g ASC}/\text{mg}$ 로 보고되었는데(Sung *et al.*, 2018), 본 연구대상자원의 DPPH 및 ABTS 평균값이 훨씬 높았다. 특히 DPPH 평균값이 10배 이상 높게 나타났다. FRAP 활성은 pH 3.6의 조건에서 시료의 항산화제로부터 ferric tripyridyltriazine 복합체가 ferrous tripyridyltriazine으로 환원되는 것을 측정하는 것이다(Benzie and Strain, 1996). 측정된 FRAP 값은 3.80 ~ 132.29 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 로 다소 넓은 범위를 보였다. 국가별 평균값은 이란이 80.40 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 로 높았고, 요르단 69.90 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이스라엘 57.72 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 아프가니스탄 40.14 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이라크 34.03 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 순으로 측정되었다. 대조품종인 의산홍화와 청수홍화는 124.96과 128.96 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 로 측정값이 가장 높은 이란보다 높게 측정되어 차이를 보였다($p < 0.05$). 홍화 유전자원의 RP 측정 결과, 26.32 ~ 80.08 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 분포를 보였으며, 대조품종인 의산홍화는 65.88 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 와 청수홍화는 59.44 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 로 측정되었다. 이란 평균값은 53.30 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 로 가장 높았고, 아프가니스탄 51.19 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이스라엘 45.93 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 요르단 43.83 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$, 이라크 38.80 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 순으로 나타났다. 국가간 유의한 차이는 없었다($p < 0.05$). 4종류의 항산화 활성의 결과는 같은 농도의 시료로 측정했음에도 불구하고 실험마다 측정값의 범위가 달랐다. 이러한 결과는 각 항산화

Table 2. Antioxidant activity, total phenolic contents, and contents of selected individual CS and FS of safflower germplasm collected from 5 countries in south asia

No.	Accession No.	Origin ^z	CS ^y	FS ^x	TPC ^w	ABTS ^v	DPPH ^u	FRAP ^t	RP ^s
1	IT321096	AFG	23.64±3.36	26.34±3.99	52.22±0.23	117.17±8.25	49.76±0.94	67.82±4.16	65.88±4.88
2	K184774	IRN	27.85±1.31	30.12±1.51	57.45±0.32	110.14±1.28	49.76±0.43	57.37±0.77	59.44±4.18
3	K184775	IRN	17.01±0.66	11.57±0.55	52.06±0.17	83.09±2.96	31.43±0.69	65.82±2.66	52.09±2.51
4	K184776	IRN	19.82±2.21	17.39±2.09	66.20±0.08	109.47±0.74	43.78±2.41	83.38±4.28	49.67±0.69
5	K184777	IRN	11.46±3.26	10.99±3.63	38.97±0.08	71.09±6.59	32.13±0.69	89.16±5.77	32.76±1.39
6	IT322853	IRN	33.50±0.97	33.57±0.97	43.83±0.32	73.10±6.79	37.05±1.45	98.28±3.15	42.42±0.69
7	K184779	IRN	26.84±2.97	23.06±2.63	54.44±0.31	115.49±10.80	50.91±0.29	116.73±0.38	30.34±2.51
8	IT321224	JOR	8.69±0.43	12.03±0.51	43.78±0.08	62.84±1.99	32.93±2.17	111.62±2.03	33.96±2.79
9	IT321225	JOR	12.28±0.23	12.98±0.27	39.54±0.15	60.88±5.40	29.10±1.44	27.14±2.00	46.45±1.20
10	IT321226	JOR	10.93±0.07	14.88±0.12	60.29±0.17	77.18±3.27	39.96±3.55	43.37±1.01	34.37±2.09
11	IT321227	JOR	3.28±0.08	1.92±0.05	32.65±0.23	60.99±3.27	21.14±2.01	61.60±1.01	59.74±2.41
12	IT321228	JOR	22.71±0.43	25.16±0.49	60.45±0.32	97.43±0.75	58.93±1.87	84.50±5.03	53.29±1.84
13	IT321229	JOR	4.52±0.07	3.06±0.07	44.14±0.39	58.72±0.75	32.80±0.74	91.16±3.71	35.17±1.39
14	K184932	IRN	64.74±5.90	19.62±1.91	71.22±0.15	147.74±2.25	72.37±1.41	132.29±2.69	53.70±1.20
15	IT321219	ISR	8.95±0.26	14.20±0.50	48.34±0.58	55.35±5.32	37.95±1.54	111.17±1.33	44.43±1.84
16	IT321220	ISR	12.25±0.40	11.60±0.46	43.52±0.35	77.45±5.30	37.27±0.22	113.62±1.92	67.39±0.69
17	IT321221	ISR	17.20±0.39	19.43±0.44	54.81±0.17	78.46±1.51	43.43±1.11	28.03±1.38	42.42±2.79
18	IT321222	ISR	22.65±1.14	20.57±1.07	57.14±0.35	87.94±2.73	45.28±0.41	34.70±2.03	41.21±2.51
19	IT322854	ISR	6.67±0.51	6.45±0.67	49.16±0.26	63.57±3.47	32.33±1.05	40.26±1.54	46.05±3.88
20	IT321223	ISR	12.86±0.35	11.57±0.42	65.37±0.79	65.88±2.74	37.27±0.80	33.14±0.66	44.84±2.79
21	IT322855	ISR	12.49±0.85	10.71±0.84	39.64±0.47	81.97±1.31	32.89±0.74	43.15±1.76	35.17±2.79
22	IT321218	IRQ	2.56±0.12	2.01±0.05	35.24±0.47	61.43±2.70	18.76±0.45	34.03±2.69	38.80±1.84
23	K185030	AFG	33.48±1.53	26.58±1.29	64.69±0.15	124.11±3.95	67.20±1.11	86.05±3.42	37.59±1.39
24	K185031	AFG	21.57±0.45	22.38±0.52	63.45±0.26	115.44±1.50	56.66±1.91	27.36±0.77	26.31±1.84
25	K185032	AFG	19.44±4.24	19.36±4.54	42.43±0.44	68.98±1.98	35.88±1.02	4.02±0.38	65.38±1.39
26	K185033	AFG	20.22±0.57	25.45±0.75	39.69±0.00	84.98±2.59	39.50±1.12	3.80±1.15	65.98±2.51
27	K185034	AFG	11.63±0.20	13.48±0.27	42.64±0.15	95.36±1.29	42.93±2.26	26.92±1.67	48.26±2.09
28	K185035	AFG	16.72±1.49	16.27±1.63	44.61±0.44	93.19±3.96	38.75±1.02	20.03±1.01	49.87±0.69
29	K185036	AFG	43.27±1.82	27.42±1.15	63.92±0.31	117.69±5.46	64.56±2.21	52.48±4.66	44.23±0.69
30	K185037	AFG	32.42±0.53	33.91±0.68	77.74±0.15	125.12±5.71	71.06±1.63	69.60±1.92	39.80±0.00
31	K185038	AFG	26.15±0.35	25.11±0.43	49.94±1.07	75.42±4.20	41.66±2.38	56.71±1.54	61.15±0.69
32	IT321097	AFG	46.81±1.56	31.92±1.11	72.93±0.41	126.65±6.03	71.87±0.89	55.60±2.03	67.59±2.09
33	K185136	AFG	19.81±0.88	29.74±1.42	44.61±0.44	86.91±4.53	42.20±1.86	11.36±1.01	42.22±1.20
34	IT321212	IRN	45.75±0.92	49.64±0.96	63.09±0.44	121.41±2.72	70.90±2.43	38.92±1.01	62.76±2.09
35	IT321213	IRN	45.92±1.80	46.82±1.85	83.49±1.42	140.48±0.76	81.44±1.31	67.82±6.43	47.86±0.69
36	IT321214	IRN	64.99±1.25	65.36±1.41	86.80±1.10	163.73±1.50	93.98±0.90	88.50±4.05	59.54±1.39
37	K185249	IRN	41.04±3.62	50.02±4.58	66.82±0.44	122.42±6.67	70.70±1.02	65.60±5.00	67.99±1.84
38	IT321215	IRN	49.43±1.86	50.86±2.09	90.53±1.01	154.16±2.71	87.61±2.22	97.17±3.52	76.85±1.39
39	K185251	IRN	46.08±1.48	52.91±9.97	28.25±0.35	48.91±3.98	27.93±1.25	96.06±6.19	55.11±0.69
40	IT321216	IRN	38.23±0.70	21.97±0.42	68.99±0.54	123.29±5.20	57.42±0.63	73.16±0.00	80.07±1.39

Table 2. Countiued

No.	Accession No.	Origin ^z	CS ^y	FS ^x	TPC ^w	ABTS ^v	DPPH ^u	FRAP ^t	RP ^s
41	IT321217	IRN	32.27±1.31	29.75±1.44	53.15±0.08	121.76±7.17	55.95±1.13	35.81±0.00	28.93±1.20
42	IT221709	KOR	21.43±1.65	19.50±1.73	61.90±0.15	131.46±3.23	59.04±0.33	124.96±3.28	54.30±1.20
43	IT252154	KOR	14.11±1.66	16.98±2.29	54.44±0.15	138.73±3.23	52.81±1.32	128.96±1.01	59.13±0.00

^zOrigin : AFG : Afghanistan, IRN : Iran, IRQ : Iraq, ISR : Israel, JOR : Jordan, KOR : Korea.

^yCS : N-(*p*-Coumaroyl) serotonin, mg/g DE, ^xFS : N-feruloylserotonin, mg/g DE, ^wTPC : total polyphenol content, μg GAE/mg DE,

^vABTS : ABTS radical scavenging activity, μg ASCE/mg DE, ^uDPPH : DPPH radical scavenging activity, μg ASCE/mg DE, ^tFRAP : ferric reducing antioxidant power, μg ASCE/mg DE, ^sRP : reducing power, μg ASCE/mg DE,

The component and antioxidant activity values were expressed as the mean and standard deviation of three replicates.

Table 3. ANOVA on serotonin derivatives and antioxidant activity between collection sites

Origin	N	CS	FS	TPC	DPPH	ABTS	FRAP	RP
AFG	12	26.26±10.70ab ^z	24.83±6.08ab	54.91±13.06a	51.84±13.65abc	102.59±20.71bc	40.14±27.96c	51.19±13.73ab
IRN	15	37.66±15.86a	34.24±17.11a	61.69±17.56a	57.56±21.20ab	113.75±32.66ab	80.40±26.58b	53.30±15.49ab
IRQ	1	2.56±0.00c	2.01±0.00c	35.24±0.00b	18.76±0.00d	61.43±0.00d	34.03±0.00c	38.80±0.00b
ISR	7	13.30±5.28bc	13.50±5.00bc	51.14±8.69ab	38.06±4.86bcd	72.95±11.57cd	57.72±37.67bc	45.93±10.11ab
JOR	6	10.40±6.97bc	11.67±8.52bc	46.81±11.29ab	35.81±12.87cd	69.67±15.13d	69.90±31.64bc	43.83±11.05ab
KOR (Uisan)	1	21.43±1.65b	19.50±1.73ab	61.90±0.15a	59.04±0.33a	131.46±3.23ab	124.96±3.28a	54.30±1.20ab
KOR (Cheongsu)	1	14.11±1.66bc	16.98±2.29bc	54.44±0.15a	52.81±1.32abc	138.73±3.23a	128.96±1.01a	59.13±0.00a

^zValue are Mean ± Standard deviation. Same letter between rows are not significantly different by Duncan's multiple range test (*p*<0.05).

실험방법에서의 차이로, 반응원리가 다르기 때문으로 생각된다. Lee *et al.* (2014b)와 Ou *et al.* (2002)의 보고에 따르면, 항산화 활성 실험마다 반응 메커니즘이 다르고, 시료가 가지는 특정 성분에 대하여 반응 정도가 다르기 때문으로 보고하였고, 이러한 이유로 항산화 활성을 평가할 경우 다양한 실험방법을 권장하고 있다.

N-(*p*-Coumaroyl) serotonin과 N-feruloylserotonin 함량

이란 등 5 개국의 홍화 유전자원을 대상으로 CS와 FS를 측정 한 결과는 다음과 같다(Table 2). UHPLC를 이용하여 분석한 결과, CS와 FS는 각 4.06분과 4.25분에서 검출되었다(Fig. 1). CS 함량의 범위는 2.56 ~ 64.99 mg/g DE로 측정되었고, 평균함량은 24.94 mg/g DE이었다. 국가별 함량은 이란 37.66 mg/g DE, 아프가니스탄 26.26 mg/g DE, 이스라엘 13.30 mg/g DE, 요르단 10.40 mg/g DE 및 이라크 2.56 mg/g DE로 나타났다. 의산홍화와 청수홍화는 21.43, 14.11 mg/g DE로 측정되었다. FS 함량 평균은 23.37 mg/g DE이고, 1.92 ~ 65.36 mg/g DE의 범위를 보였다. 대조품종으로 사용된 의산홍화와 청수홍화의 FS 함량은 각각 19.50 및 16.98 mg/g DE이었다. 세로토닌

유도체 함량은 이란이 가장 높았고, 아프가니스탄, 이스라엘, 요르단, 이라크 순이었으며, 국가간 함량의 유의한 차이가 있었으며, 이스라엘과 요르단은 함량의 차이가 없었다(*p*<0.05). 이는 각 홍화 유전자원의 유전자형과 수집지의 토양, 기온 등의 차이가 페놀화합물을 생성하는데 영향을 미쳤을 것이라 생각된다. Kim *et al.* (2008)에 의하면 홍화종자의 페놀화합물 함량의 차이는 품종, 재배 및 수확시기에 따라 달라질 수 있으며, 발아 함에 따라 세로토닌 유도체 함량은 감소한다고 보고하였다.

항산화 활성과 세로토닌 유도체의 상관관계 분석

이란 등 5 개국에서 수집한 홍화 유전자원의 항산화 활성과 세로토닌 유도체 함량 간의 상관관계는 Table 4와 같다. CS와 FS는 FRAP를 제외한 항산화 활성과 상관성이 나타났다. CS는 TPC와 ABTS, DPPH와 높은 상관성을 보였다(*r*=0.673, 0.727, 0.820), FS는 DPPH와 높은 상관성을 보였다(*r*=0.740). 본 연구에서는 2 가지 성분과 항산화 활성 사이의 상관관계를 분석하였다. CS와 FS 사이에서는 높은 양의 상관관계를 확인하였고(*r*=0.838), TPC는 DPPH, ABTS와 양의 상관관계를 보였으나(*r*=0.821, 0.903), FRAP와 RP와는 유의한 상관관계는

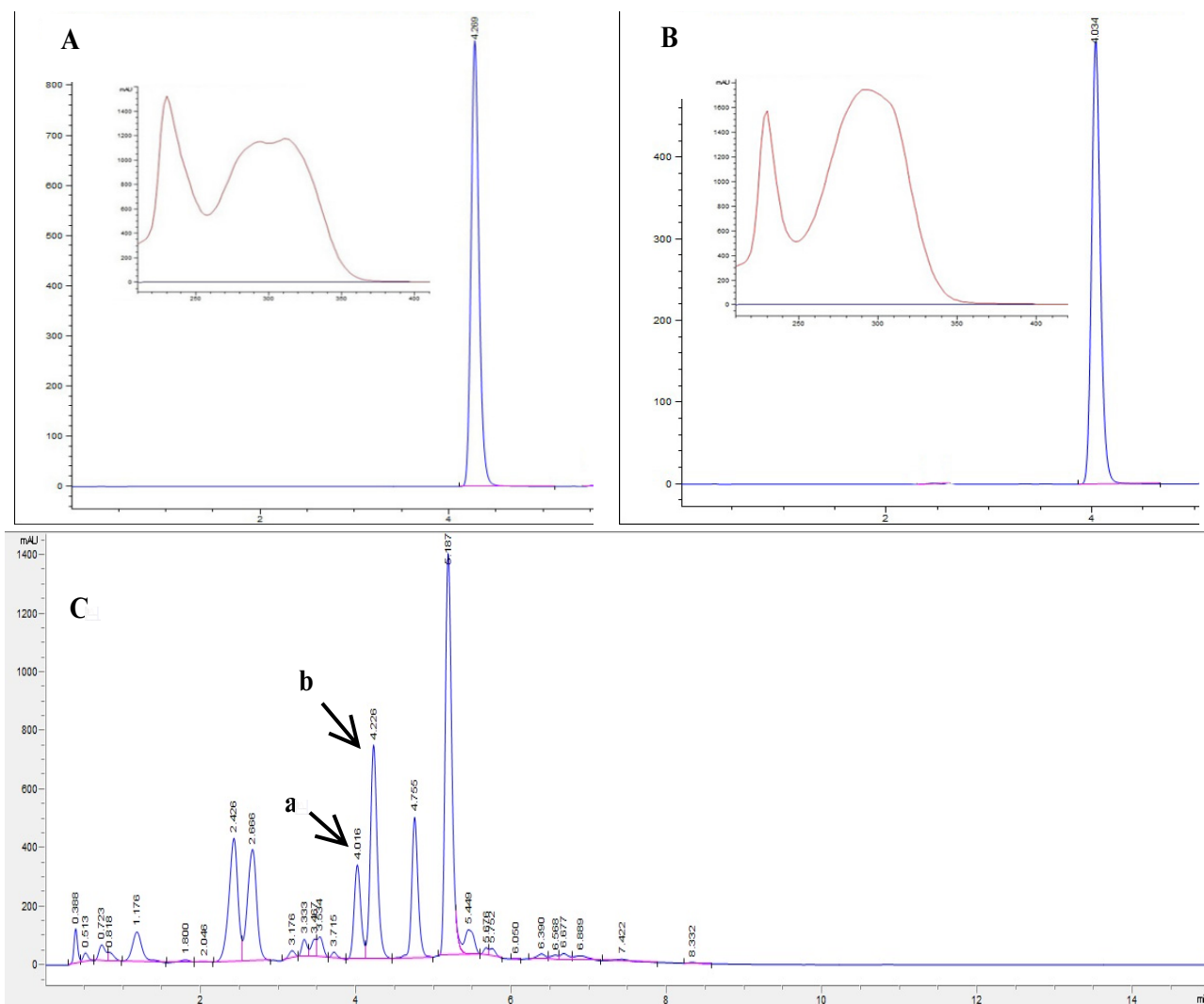


Fig. 1. UPLC chromatograms of the two target compounds (A: *N*-(*p*-Coumaroyl) serotonin and B: *N*-feruloylserotonin) and the ethanol extracts sample(C). UHPLC chromatograms of ethanol extracts in safflower seeds recorded at 324 nm and peak of *N*-(*p*-Coumaroyl) serotonin(a) and *N*-feruloylserotonin(b).

Table 4. Pearson correlation coefficients for ingredients of serotonin derivatives and antioxidant activity

	CS	FS	TPC	ABTS	DPPH	FRAP	RP
CS							
FS	0.838**						
TPC	0.673**	0.562**					
ABTS	0.727**	0.589**	0.821**				
DPPH	0.820**	0.740**	0.903**	0.915**			
FRAP	0.235	0.094	0.213	0.272	0.238		
RP	0.371*	0.356*	0.238	0.297	0.298	0.079	

‘**’ and ‘*’ Correlation are significant at $P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively. Pearson’s correlation analysis was done using average values of each variable(n=43).

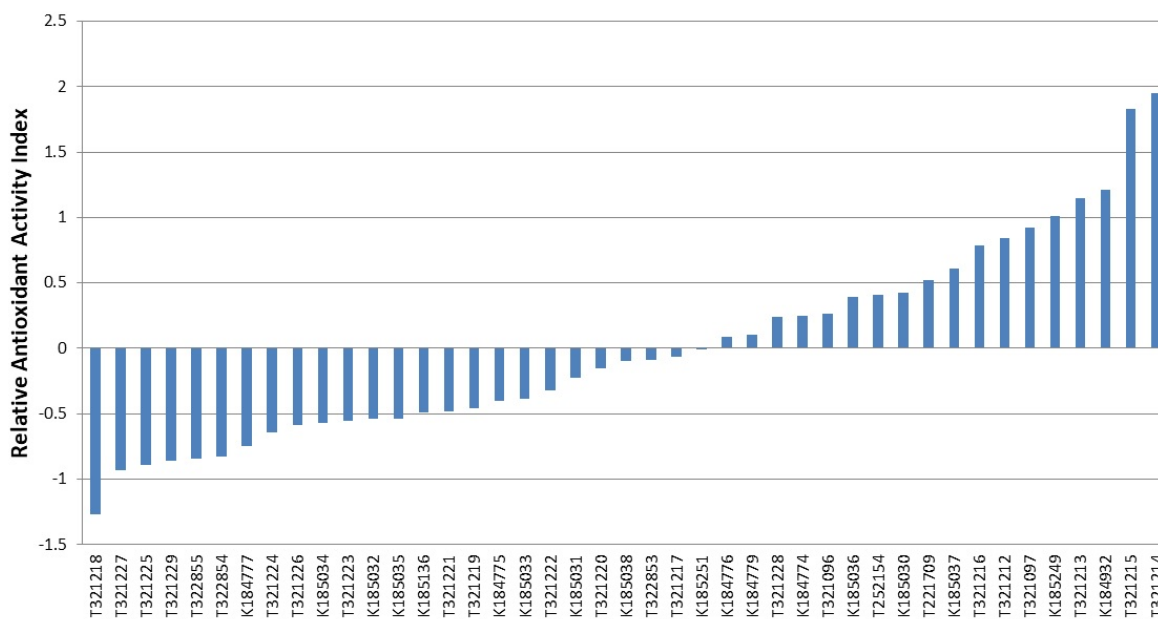


Fig. 2. Relative antioxidant capacity of safflower germplasm collected from five countries.

없었다. 세로토닌 유도체는 홍화 종자의 성분 중에서 독특한 페놀 성분으로 indole hydroxycinnamic acid amides 그룹에 포함된다. 세로토닌 유도체는 자유 라디칼 생성 시스템에 의해 유도된 LDL 산화를 억제한다고 보고하였으며(Cho *et al.*, 2006; Koyama *et al.*, 2006), 홍화에서 분리된 세로토닌 유도체의 항산화 효과는 NO와 관련 있는 허혈-재관류 심장에서 중요한 역할을 한다는 것을 보고하였다(Hotta *et al.*, 2002). Zhang *et al.* (1997)는 홍화 유박에서 세로토닌 유도체를 분리하여 DPPH 라디칼 소거능을 통하여, 세로토닌 유도체가 비교적 강한 항산화 활성을 갖는 것으로 보고하였고, 또한 세로토닌 유도체와 항산화 활성 관계에서 유리 5-OH를 갖는 세로토닌 부분이 주로 기여한다고 보고하였다. 이처럼 항산화 활성과 세로토닌 유도체는 강한 상관관계가 있음을 확인할 수 있으며, 나아가 홍화 종자의 세로토닌 유도체를 활용한 기능성 소재로서 정보를 제공할 수 있을 것이다.

상대적항산화능지수(RACI)

상대적항산화능지수(Relative antioxidant capacity index, RACI)는 상대 지수이며, 여러 가지의 화학적 방법으로 얻은 항산화능을 비교할 수 있다(Sun and Tanumihardjo, 2007). 이란 등 5개국에서 수집한 홍화 유전자원의 세로토닌 유도체 함량과 항산화 활성 평가로 얻은 결과를 통합하여 RACI를 계산한 결과는 Fig. 2와 같다. RACI가 가장 높은 자원은 IT321214(1.95)과

IT321215(1.83)이며, IT321218(-1.26)과 IT321227(-0.93)은 가장 낮은 RACI 값을 나타내었다. 대조품종으로 사용된 의산홍화와 청수홍화는 각 0.52와 0.41의 값을 나타내었다. 홍화 유전자원으로 세로토닌 유도체 함량과 5가지 항산화 활성을 평가하여 RACI를 분석한 결과, 항산화 활성이 높은 IT321214과 IT321215 자원은 천연항산화제 소재 탐색 및 개발에 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 이란 등 5개국에서 수집한 홍화자원을 대상으로 하여 천연항산화제로써 홍화종자의 항산화 활성을 평가하고, 세로토닌 유도체인 *N*-(*p*-Coumaroyl) serotonin과 *N*-feruloyl-serotonin의 함량을 측정하여 항산화 활성과의 상관관계를 조사하였다. 총폴리페놀함량은 28.25 ~ 90.53 $\mu\text{g GAE}/\text{mg DE}$ 의 범위를 나타내었고, 색소화합물인 DPPH 라디칼과 ABTS⁺을 이용한 유리라디칼소거능을 측정하는 DPPH assay와 ABTS assay의 값은 18.76 ~ 93.98 및 48.91 ~ 163.73 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 범위를 나타내었다. 시료의 환원능을 측정하는 방법인 FRAP assay과 RP assay는 3.80 ~ 132.29 및 26.32 ~ 80.08 $\mu\text{g ASCE}/\text{mg DE}$ 의 범위로 나타내었다. UHPLC를 이용하여 CS와 FS를 분석한 결과, CS 함량은 2.56 ~ 64.99 $\text{mg}/\text{g DE}$ 이고, FS 함량값은 1.92 ~ 65.36 $\text{mg}/\text{g DE}$ 이었다. 5개국 중 이란 원산종

은 다른 나라에 비해 세로토닌 유도체 함량과 항산화 활성의 평균값이 높게 측정되었다. 항산화 활성과 세로토닌 유도체 함량 간의 상관관계 분석 결과, CS 는 TPC 와 ABTS, DPPH 와 높은 상관성을 보였고($r = 0.673, 0.727, 0.820$), FS 는 DPPH 와 높은 상관성을 보였다($r = 0.740$). RACI 를 통하여 선발된 IT321214 과 IT321215 는 항산화 활성이 높은 자원으로 천연항산화제 소재 탐색 및 개발에 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술연구개발(과제번호 : PJ01249302)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

References

- Arnao, M.B. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A Practical Case. *J. Trends Food Sci. Technol.* 11:419-421.
- Bae, S.J., S.M. Shim, Y.J. Park, J.Y. Lee, E.J. Chang and S.W. Choi. 2002. Cytotoxicity of phenolic compounds isolated from seeds of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) on cancer cell lines. *J. Food Sci. Biotechnol.* 11:140-146 (in Korean).
- Baek, N.I., M.H. Bang, J.C. Song, S.Y. Lee and N.K. Park. 1999. N-feruloylserotonin, antioxidative component from the seed of *Carthamus tinctorius* L. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 42:366-368 (in Korean).
- Benzie, I.F. and J.J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The Frap Assay. *J. Anal. Biochem.* 239:70-76.
- Branen, A.L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. American Oil Chem. Soc.* 52:59-63.
- Cheeseman, K.H. and T.F. Slater. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 49(3):48-493.
- Cho, S.H., Y.Y. Park, J.Y. Yoon, S.W. Choi and T.Y. Ha. 2006. The effect of polyphenols from safflower seed on HMG-CoA reductase (HMGR) activity, LDL oxidation and apo A1 secretion. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 38:279-283 (in Korean).
- Choi, C.H., H.D. Kim, and E.B. Im. 2011. Reviews of research trends on safflower seed (*Carthamus tinctorius* L.). *J. KMC.* 24:63-90 (in Korean).
- Hotta, Y., A. Nagatsu, W. Liu, T. Muto, C. Narumiya, X. Lu, M. Yajima, N. Ishikawa, K. Miyazeki and N. Kawai. 2002. Protective effects of antioxidative serotonin derivatives isolated from safflower against postischemic myocardial dysfunction. *J. Mol. Cell. Biochem.* 238:151-162.
- Ito, N., S. Fukushima, A. Haqlwara, M. Shibata and T. Ogiso. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 70:343-352.
- Jang, T.W., S.H. Nam and J.H. Park. 2016. Antioxidant activity and inhibitory effect on oxidative DNA damage of ethyl acetate fractions extracted from cone of red pine (*Pinus densiflora*). *Korean J. Plant Res.* 29:163-170 (in Korean).
- Kim, D.H., E.Y. Hwang and J.H. Son. 2013. Antiinflammatory activity of *carthamus tinctorious* seed extracts in raw 264.7 cells. *J. Life Sci.* 23:55-62 (in Korean).
- Kim, E.O., K.T. Lee and S.W. Choi. 2008. Chemical comparison of germinated and ungerminated safflower (*Carthamus tinctorius*) seeds. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 37:1162-1167 (in Korean).
- Kim, J.H., J.K. Kim, W.W. Kang, Y.S. Ha, S.W. Choi and K.D. Moon. 2003. Chemical compositions and dpph radical scavenger activity in different sections of safflower. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 32:733-738 (in Korean).
- Kim, Y.O., S.W. Lee, S.O. Yang, S.W. Na, S.K. Kim and J.H. Chung. 2014. Neuroprotective effects of the extracts from the aerial parts of *Carthamus tinctorius* L. on transient cerebral global ischemia in rats. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 22(1):46-52 (in Korean).
- Koyama, N., K. Kuribayashi, T. Seki, K. Kobayashi, Y. Furuhashi, K. Suzuki, H. Arisaka, T. Nakano, Y. Amino and K. Ishii. 2006. Serotonin derivatives, major safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed antioxidants, inhibit low density lipoprotein (LDL) oxidation and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Aric. Food Chem.* 54:4970-4976.
- Kumar, A., P. Pant, S. Basu, G. Rao and H. Khanna. 2006. Oxidative stress in neonatal hyperbilirubinemia. *J. Trop. Pediatr.* 53:69-71.
- Lee, M.K., J.S. Park, H.J. Song and S.U. Chon. 2014a. Effects of polyphenol and catechin levels on antioxidant activity of several edible flower extracts. *Korean J. Plant Res.* 27(2): 111-118 (in Korean).
- Lee, Y.J., J.H. Kim, J.W. Oh, G.H. Shin, J.S. Lee, J.H. Cho, J.J. Park, J.H. Lim and O.H. Lee. 2014b. Antioxidant and

- anti-adipogenic effects of kohlrabi and radish sprout extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 46:531-537 (in Korean).
- Lobo, V., A. Patil, A. Phatak and N. Chandra. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on Human Health. *J Pharmacogn. Rev.* 4:118.
- Mujic, I., E. Sertovic, S. Jokic, Z. Saric, V. Alibabic, S. Vidovic and J. Zivkovic. 2011. Isoflavone content and antioxidant properties of soybean seeds. *Croatian J. Food Sci. Technol.* 3:16-20.
- Nho, J.H., M.O. Sim, H.K. Jung, M.J. Lee, J.H. Jang, D.E. Jung, T.K. Sung, B.K. An and H.W. Cho. 2018. Anti-colorectal cancer and anti-oxidant activities of *Rubiae radix* ethanol extract *in vitro*. *Korean J. Plant Res.* 31(2):102-108 (in Korean).
- Ou, B., D. Huang, M. Hampsch-Woodill, J.A. Flanagan and E.K. Deemer. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A Comparative Study. *J. Agric. Food Chem.* 50:3122-3128.
- Peng, X.R., X. Wang, J.R. Dong, X.J. Qin, Z.R. Li, H. Yang, L. Zhou and M.H. Qiu. 2017. Rare hybrid dimers with anti-acetylcholinesterase activities from a safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed oil cake. *J. Agric. Food Chem.* 65(43): 9453-9459.
- Perron, N.R. and J.L. Brumaghim. 2009. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell. Biochem. Biophys.* 53:75-100.
- Piao, X.M., E.K. Jang, J.W. Chung, G.A. Lee, H.S. Lee, J.S. Sung, Y.A. Jeon, J.R. Lee, Y.G. Kim and S.Y. Lee. 2013. Variation in antioxidant activity and polyphenol content in tomato stems and leaves. *Plant Breed. Biotech.* 1:366-373 (in Korean).
- Qazi, N., R.A. Khan and G.H. Rizwani. 2015. Evaluation of antianxiety and antidepressant properties of *Carthamus tinctorius* L. (safflower) petal extract. *Pak J Pharm Sci.* 28.3: 991-5.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26:1231-1237.
- Sakamura, S., Y. Terayama, S. Kawakatsu, A. Ichihara and H. Saito. 1978. Conjugated serotonin related to cathartic activity in safflower seeds (*Carthamus tinctorius* L.). *Agric Biol. Chem.* 42:1805-1806.
- Song, J.C., N.K. Park, H.S. Hur, M.H. Bang and N.I. Baek. 2000. Examination and isolation of natural antioxidants from Korean medicinal plants. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 8:94-101 (in Korean).
- Sun, T. and S. Tanumihardjo. 2007. An integrated approach to evaluate food antioxidant capacity. *J. Food Sci.* 72:159-165.
- Sung, J.S., Y.J. Jeong, D.J. Kim, A.D. Assefa, Y.A. Jeon, O.S. Hur, N.Y. Ro, H.C. Ko, H.C. Ok, J.H. Rhee, M.C. Lee and H.J. Baek. 2018. Oil compositions and antioxidant properties of safflower germplasm collected from east asia. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 26:32-41 (in Korean).
- Takahashi, T. and M. Miyazawa. 2012. Potent α -glucosidase inhibitors from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Phytotherapy Research* 26(5):722-726.
- Waterhouse, A.L. 2002. Determination of total phenolics: Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
- Wei, X., H. Liu, X. Sun, F. Fu, X. Zhang, J. Wang, J. An and H. Ding. 2005. Hydroxysafflor yellow A protects rat brains against ischemia-reperfusion injury by antioxidant action. *Neurosci. Lett.* 386:58-62.
- Yen, G.C. and H.Y. Chen. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43:27-32.
- Yoo, K.M., D.O. Kim and C.Y. Lee. 2007. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci. Biotechnol.* 16:7-11 (in Korean).
- Yu, J.M. and H.I. Moon. 2018. Antioxidants and acetylcholinesterase inhibitory activity of solvent fractions extracts from *Dendropanax morbiferus*. *Korean J. Plant Res.* 31(1): 10-15 (in Korean).
- Yu, S.Y., Y.J. Lee, J.D. Kim, S.N. Kang, S.K. Lee, J.Y. Jang, H.K. Lee, J.H. Lim and O.H. Lee. 2013. Phenolic composition, antioxidant activity and anti-adipogenic effect of hot water extract from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Nutrients* 5(12):4894-4907.
- Zhang, H.L. A. Nagatsu, T. Watanabe, J. Sakakibara and H. Okuyama. 1997. Antioxidative compounds isolated from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil cake. *Chem. Pharm. Bull.* 45:1910-1914.

(Received 23 May 2019 ; Revised 8 August 2019 ; Accepted 17 October 2019)