

대부도 서식 염생식물 추출물의 라디칼 소거활성 검색

서영완*, 이희정¹, 차효준, 김유아, 박기의

한국해양대학교 해양과학부
¹한국해양대학교 해양과학기술연구소

Screening on Radical Scavenging Activity of Salt Marsh plants collected from Daebudo

Youngwan Seo*, Hee Jung Lee¹, Hyo Jun Cha, You Ah Kim and Ki Eui Park

Devison of Ocean Science, Korea Maritime University, Busan, 606-791, Korea

¹Research Institute of Marine Science and Technology(RIMST), Korea Maritime University, Busan, 606-791, Korea

ABSTRACT

The antioxidant activity of methanol and dichloromethane extracts of salt marsh plants was tested by using 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH). Three salt marsh plants(*Erigeron annuus*, *Ixeris tamagawaensis kitamura*, *Portulaca oleracea*) were found to be significantly effective in DPPH radical scavenging activity. The combined crude extracts of *Portulaca oleracea* were sequentially partitioned with *n*-hexane, 15% aq. MeOH, EtOAc, *n*-BuOH and H₂O. The antioxidative activities of several fractions were determined by evaluation the DPPH radical scavenging effect and by measuring lipid peroxide using 2-thiobarbituric acid (TBA). Among them, remarkable antioxidative effects were observed in the fractions of EtOAc and *n*-BuOH. The DPPH radical scavenging effect (IC₅₀= 17.90 μ g/ml) of the *n*-BuOH soluble fraction was comparable with that of natural antioxidant, α -tocopherol(IC₅₀= 6.99 μ g/ml).

Key words: Salt marsh plants, DPPH radical scavenging activity, *Portulaca oleracea*

1. 서론

염생식물(halophyte)은 토양의 염분농도가 높아 일반 육상식물이 생육할 수 없는 지역에 생육하며, 바닷가와 내륙에서는 염분이 있는 호숫가와 암염(岩鹽)이 있는 지대에서 자라는 식물을 말한다. 생육하고 있는 지대의 수분 정도에 따라서 건염생식물(乾鹽生植物)과 습염생식물로 구분하지만, 모두 세포 안에 많은 소금기가 들어 있어

삼투압값이 높기 때문에 토양 용액의 침투가가 높을 때도 물을 빨아들일 수 있는 특색이 있다. 염생식물과 상대되는 식물을 중성식물(glycophyte)이라 하는데 전자에 대한 정의는 각 학자마다 다소 차이가 있다. 염생식물인지를 생리적으로 판정하는 데는 각 식물 종을 모두 생리학 적 생육실험을 거쳐야만 가능하다. 그러나 일반적으로 염분지역에 생육하는 식물을 광의의 염생식물로 지칭하며, 염분 생육지란 포화용수로 토양 이온을 추출하였을 때 NaCl의 농도가 최소 mEQ이며 pH 8.5이하인 곳을 의

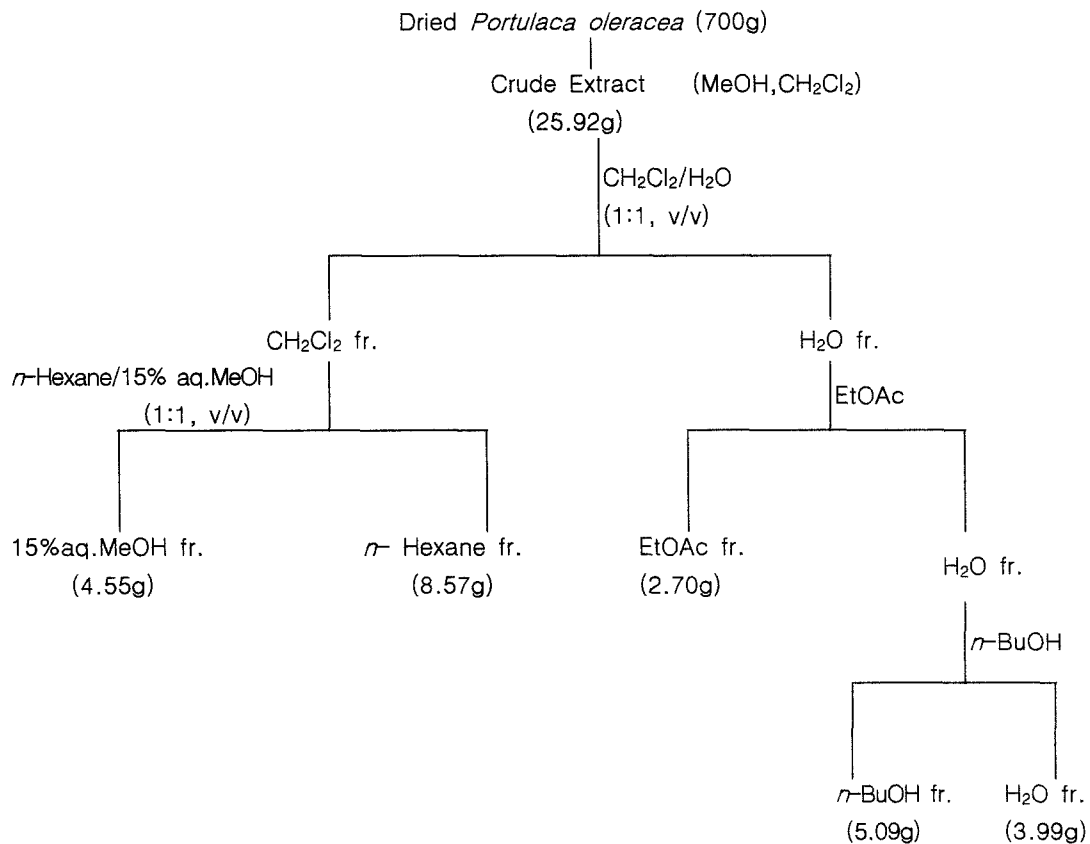
* Corresponding author: Youngwan Seo
Tel: 051-410-4328, Fax: 051-404-3538
E-mail: ywseo@hhu.ac.kr

미한다. 통통마디(*Salicornia herbacea*), 갯질경(*Limonium tetragonum*), 통보리사초(*Carex kobomugi*), 나문재(*Suaeda sparagoides*), 칠면초(*Suaeda japonica*), 해홍나물(*Suaeda maritima*) 등이 이에 속한다(1). 또한 쇠비름(*Portulaca oleracea* L.)은 중성식물로 분류되긴 하나 염생습지에도 발견되기도 하고, 등푸른 생선에 많이 함유되어 있는 ω-3지방산의 함량이 풍부한 것으로 알려져 있어 염생식물 시료에 포함시켜 본 실험의 재료로 사용하였다(2).

식용유지나 지방질 식품은 가공 및 저장 중에 여러 가지 원인에 의해 불쾌한 냄새나 맛을 내거나 또는 독성을

이 대두되어 이들에 대한 관심이 매우 높아지고 있다(3). 생체막 구성성분인 인지질의 불포화지방산은 활성산소종과 같은 free radical에 의해 과산화 반응이 개시되며 또한 연쇄적으로 진행된다. 그러므로 free radical에 의한 과산화반응은 세포막의 투과성을 항진시킬 뿐만 아니라 전반적인 세포독성을 초래하여 노화현상이나 이에 따른 여러 가지 질환의 병리현상을 유도하며 발암과정에도 관여한다(4, 5).

따라서 과일과 채소에 많은 phenol성 화합물, flavone 유도체, 토코페롤, 아스코르브산, 셀레늄과 같은 항산화 물질은 지방의 산화를 지연시키거나 방지하며 암, 심장



Scheme 1. Extraction and fractionation of *Portulaca oleracea*.

나타내기도 하는데 이런 유지의 변질은 주로 자동산화에 의해 일어나고 있다. 또한 생체내에서 산화와 관련된 현상으로 인식되고 있는 노화의 원인 중에 하나로 산소에서 유래되는 superoxide anion radical, hydroxyl radical, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등을 포함한 활성산소의 역할

혈관계 질환등을 예방 지연시킴으로써 노화방지에도 중요한 역할을 한다(6, 7). 유지 또는 유지 함유 식품의 산패는 주로 공기 중의 산소와 결합에 의해 일어나는데 이를 방지하기 위해 많은 합성 또는 천연항산화물질이 개발되어 왔으나 그 효과와 경제성 때문에 실제로 많이 사

용되고 있는 것은 합성 항산화제로서 BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole), PG(propylgallate)등이 있다(8, 9). 그러나 합성항산화제는 항산화력이 뛰어나 상업용 식품에 많이 사용되고 있지만 식품에 사용할 때 그 안전성에 대한 우려로 그 사용량이 법적으로 규제되어 있다. 토코페롤과 같은 천연물은 안전하기는 하나 단독으로는 산화 연쇄반응 저지능력이 낮고 가격이 비싼 단점이 있다. 따라서 최근에는 각종 생약과 식용 식물 추출물 등에서 보다 안전하고 항산화 효과가 뛰어난 천연항산화제를 개발하기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

을 실시하고 각 분획물에 대한 DPPH radical 소거능에 대해 살펴봄으로써 쇠비름의 항산화효과를 탐색하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 재료

본 실험에 사용한 염생 식물은 경기도 대부도에서 2002년 8~9월 중에 채집하였다.

2.2 시료 추출물 및 각 분획물 제조

채집한 염생식물은 37°C 건조기로 18시간 음건하였다.

Table 1. DPPH radical scavenging effects of Salt Marsh plants extracts at a 100 μ g/ml concentration.

Plants	MeOH ext. (EDA:%)	CH ₂ Cl ₂ ext. (EDA:%)
<i>Limonium tetragonum</i> (Thunberg) A.A. Bullock	16.79	16.16
<i>Salsola komarvii</i> Iijin	6.72	8.39
<i>Suaeda asparagoides</i> (Miquel) Makino	7.56	5.14
<i>Suaeda japonica</i> Makino	7.24	7.35
<i>Erigeron annuus</i>	78.49	29.59
<i>Ixeris tamagawaensis</i> Kitamura	69.99	9.76
<i>imperata cylindrica</i> var. <i>koenigii</i> (Retz.) Durand & Schinz	23.29	15.63
<i>Persicaria lapathifolia</i> S. F. Gray for <i>alba</i> Y. Lee, for. nov.	7.14	5.46
<i>Calystegia soldanella</i> R. Brown	9.02	11.54
<i>Portulaca oleracea</i>	85.31	28.88
L-ascorbic acid	96.64	
BHT	55.08	

해양생물은 현재까지 탐색된 생물의 수가 전체 해양생물의 10%에도 미치지 못하고 있고 해양이라는 특수 환경에 서식하기 때문에 육상생물과는 다른 대사물질을 만들 가능성이 높다. 특히 염생식물이 서식하는 염생 습지는 이러한 해양의 극한 환경 중에 하나이므로 생물학적 이용 가능성이 높은 2차 대사산물이 풍부할 것으로 기대된다. 또한 현재 이러한 염생 식물에 대한 연구가 국내에서는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 10여종의 염생식물의 조추출물에 대한 DPPH radical 소거능에 대한 검색을 실시한 후 우수한 radical 소거 효과가 나타난 쇠비름 추출물에 대한 분획

추출에 적합하도록 세절한 후 추출관에 넣고 48시간 동안 CH₂Cl₂와 MeOH로 각각 추출하였다. 그리고 쇠비름의 crude extract는 CH₂Cl₂와 MeOH로 각각 추출한 것을 혼합하였고 이것을 용매의 극성에 따라 순차적으로 분획하여 *n*-hexane fraction, 15% aq. MeOH fraction, EtOAc fraction, *n*-BuOH fraction, H₂O fraction으로 분획하였다(Scheme 1). 각 시료에 대한 용매 추출물은 회전 진공 농축기(EYELA, N-N series)로 감압 농축시켜 용매를 제거하고 각각의 농축물을 얻었다.

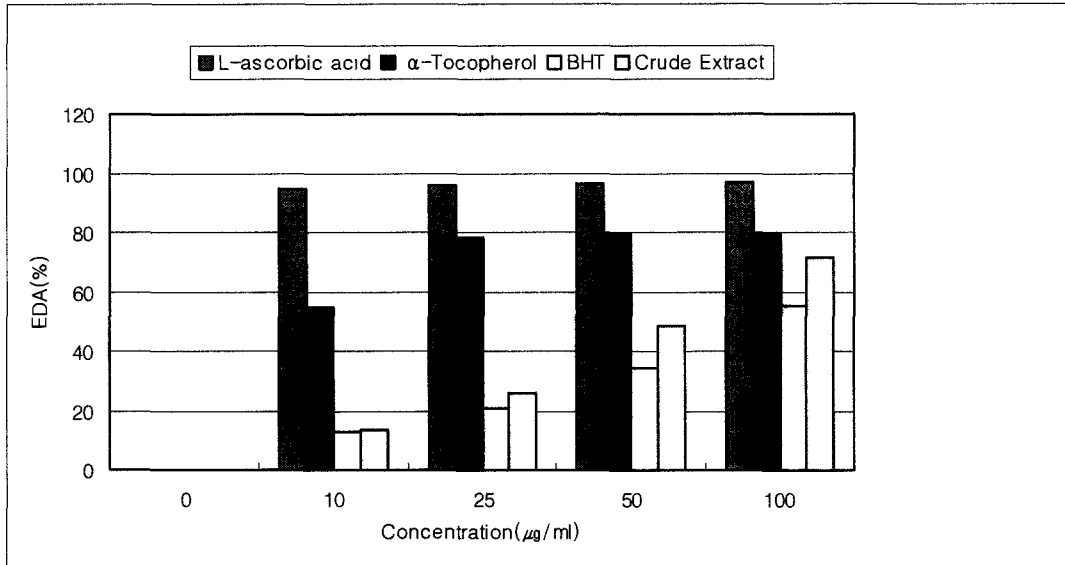


Fig.1. DPPH radical scavenging effect of the crude extract from *P. oleracea*.

2.3 DPPH(1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl)에 대한 radical scavenging effect 측정(10)

DPPH 시약 2mg을 정확히 칭량하여 EtOH 15ml에 녹인 용액 1.2ml에 다시 EtOH 3ml과 DMSO 0.5ml을 혼합한다. 그리고 각 농도별 시료(10µg/ml~100µg/ml) 50µl와 제조한 DPPH용액을 혼합하여 10분간 상온에서 반응시킨 후 518nm에서 흡광도를 측정한다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 유리 라디칼 소거활성을 백분율로 나타내었으며 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

$$\text{EDA(electron donating ability) (\%)} = \frac{(\text{대조구의 흡광도} - \text{실험구의 흡광도})}{(\text{대조구의 흡광도})} \times 100$$

3. 결과 및 고찰

3.1 염생식물의 DPPH를 이용한 free radical scavenging 효과

우리나라 서해안에서 자생하고 있는 10종의 염생식물을 채집하여 음건하고 먼저 CH₂Cl₂로 추출한 후 MeOH로 추출하여 각각의 시료 엑스를 얻었다. 이를 대상으로 100µg/ml(final conc.) 농도에서 DPPH(1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) free radical 소거활성을 검색하였다(Table 1). DPPH는 자신이 가지고 있는 홀수의 전자 때문에 518nm에서 강한 흡수 band를 보이거나 phenolic 화합물과 같이 수소에 전자를 제공해주

는 전자공여체와 반응을 하게 되면 전자나 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 된다. 따라서 흡수 band도 사라지게 되고 안정한 분자가 된다. 또한 공여된 전자는 비가역적으로 결합하며 그 수에 비례하여 진보라색의 DPPH의 색깔은 점점 열어지게 되고 흡광도도 감소하게 된다. 실험 결과는 3종의 시료에서 유의성 있는 라디칼 소거활성이 관찰되었다. 즉, *Erigeron annuus*(개망초), *Ixeris tamagawaensis* kitamura(넙쌈바귀), *Portulaca oleracea*(쇠비름)의 MeOH 추출물에서 50% 이상의 강한 radical 소거 활성을 나타내었다. 특히 개망초, 넙쌈바귀, 쇠비름의 MeOH 추출물은 각각 78.49%, 69.99%, 85.31%로써 합성항산화제로 널리 상용되고 있는 BHT(Butylated hydroxy toluene: 55.08%)보다는 훨씬 강력한 효과를 보였으며, 천연항산화제인 L-ascorbic acid(96.64%)와도 거의 필적할 만한 radical 소거 활성이 있음이 확인되었다. 그러나 개망초, 넙쌈바귀, 쇠비름의 CH₂Cl₂ 추출물은 거의 활성을 나타내지 않았다. 따라서 강한 라디칼 소거활성을 보인 3종의 시료 중 쇠비름(*portulaca oleracea*) 조추출물(crude extracts: MeOH + CH₂Cl₂ ext.)에 대해 순차적으로 *n*-hexane, 15% aq. MeOH, EtOAc, *n*-BuOH, H₂O로 용매분획하여 DPPH free radical 소거효과를 측정하였다.

3.2 쇠비름 분획물의 DPPH를 이용한 free radical scavenging 효과

쇠비름(*Portulaca oleracea* L. (family : Portulacaceae)은 1년생 식물로서 오행초(五行草), 장명

Table 2. The radical scavenging effect of various fractions from *P. oleracea* on DPPH radical

Fractions	IC ₅₀ (μ g/ml)*
<i>n</i> -Hexane fr.	> 100.00
15% aq. MeOH fr.	170.16
EtOAc fr.	57.30
<i>n</i> -BuOH fr.	17.90
H ₂ O fr.	> 100.00
BHT	87.84
α -Tocopherol	6.99
L-ascorbic acid	1.25

*Inhibition activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

채(長命采), 마치채(馬齒采)등으로 불리기도 한다. 주로 길가, 텃밭 등에서 자생하며 줄기의 높이가 약 15~30cm 내외로 털이 없으며 줄기의 직경은 2~3mm이고, 갈적색이며 가지가 많이 갈라져서 땅위로 비스듬히 퍼지면서 자란다(11). 쇠비름은 양념 등으로 버무려서 먹기도 하고 약재로도 활용되어 왔으며 과거 선조들의 민간요법에서는 충독, 사독 등의 해독제로도 사용되었고(11), 또한 아라비아 반도에서는 방부제, 항피혈병제제, 진경제, 이뇨제, 구충제, 피부진정제로도 사용되었다(12). 그 외 근육이완 활성과 항암효과에 대한 연구도 보고되고 있다(13-15).

쇠비름 추출물에 대한 항산화능을 DPPH에 대한 전자공여능(electron donating ability, EDA %)으로 측정하였고 각 분획물의 억제강도는 대조군에 비해 DPPH free radical을 50% 억제하는데 요구되는 농도(IC₅₀)로써 비교하였다.

쇠비름 조추출물(Crude extract)의 농도변화에 따른 전자공여능(EDA(%))을 그림 1에 나타내었다. 농도별로 (10 μ g/ml~100 μ g/ml) free radical 소거 활성을 측정된 결과 10 μ g/ml에서 13.43%의 소거율을 나타내었고 25 μ g/ml과 50 μ g/ml에서는 각각 25.91%, 48.47%, 그리고 100 μ g/ml 농도에서는 71.45%의 소거율을 보여 농도의존적인 효과가 있음을 알 수 있다.

천연항산화제로 널리 알려진 L-ascorbic acid와 α -tocopherol의 free radical 소거활성과 비교했을 때 쇠비름 조추출물의 free radical 소거활성은 비교적 약한 효과였다. 그러나 우수한 합성항산화제로서 많이 사용되고 있는 BHT(butylated hydroxy toluene)에 소거능에 비해서는 비교적 뛰어난 활성을 나타내었다.

쇠비름 각 분획물의 DPPH 라디칼 소거활성 결과를 Table 2에 나타내었다.

수층을 제외한 모든 층에서 농도 의존적으로 라디칼 소거활성이 나타났으며 특히, *n*-BuOH 분획물에서의 효과가 다른 분획들 보다 훨씬 높게 나타났다. 이들의 IC₅₀을 살펴보면 *n*-BuOH 분획물이 17.90 μ g/ml으로써 가장 농도가 낮았으며 다음으로는 EtOAc 분획물이 57.3 μ g/ml이었다. 이것은 L-ascorbic acid(1.25 μ g/ml)나 α -tocopherol(6.99 μ g/ml)의 free radical 소거효과와 거의 동등하였으며 BHT(87.84 μ g/ml)보다는 월등히 뛰어난 것으로 나타났다. 그리고 15% aq. MeOH 분획물은 비교적 낮은 활성(170.16 μ g/ml)을 보였으며 *n*-hexane 분획물과 수층은 DPPH free radical 100 μ g/ml이상의 높은 농도에서도 소거능이 거의 없는 것으로 나타났다.

따라서 쇠비름 조추출물의 DPPH free radical 소거활성은 EtOAc 분획물과 *n*-BuOH 분획물에 의한 것임을 알 수 있으며 그 활성성분들은 비교적 극성이 큰 화합물임을 추정할 수 있다.

4. 결론

우리나라 서해안에서 자생하고 있는 10종의 염생식물을 채집하고, 각각의 methanol 추출물과 dichloromethane 추출물에 대해 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH)를 이용한 free radical 소거활성을 검색하였다. 그 결과 3종의 염생식물(*Erigeron annuus*(개망초), *Ixeris tamagawaensis* kitamura(넙쌈바귀), *Portulaca oleracea*(쇠비름))에서 천연항산화제인 L-ascorbic acid와 합성항산화제(BHT)의 효과와 거의 대등한 라디칼 소거활성이 관찰되었다. 이 중 쇠비름(*Portulaca oleracea*)의 항산화효과를 탐색하기 위해 MeOH과 CH₂Cl₂ 추출물을 혼합하여 crude extract를 조제하였다. 그리고 이 조추출물(crude

extract)에 대해 *n*-hexane, 15% aq. MeOH, EtOAc, *n*-BuOH, H₂O로 순차적으로 용매분획하였다. 그리고는 쇠비름의 조추출물과 각 분획물들에 대해 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 그 결과 쇠비름 조추출물이 DPPH 라디칼에 대한 강한 소거작용이 있음이 확인되었다. 조추출물의 DPPH radical 소거효과에 대한 IC₅₀은 53.33 μ g/ml로 천연 항산화제인 L-ascorbic acid(1.25 μ g/ml)와 α -tocopherol(6.99 μ g/ml)보다는 약하지만, 합성항산화제로 널리 사용되고 있는 BHT(87.84 μ g/ml) 보다는 월등히 뛰어난 라디칼 소거능이 관찰되었다. 또한 각 분획물 중 EtOAc와 *n*-BuOH 분획물의 DPPH 라디칼 소거효과가 가장 우수하였다. 이것으로 쇠비름 조추출물이 항산화 활성은 극성이 비교적 큰 화합물들에 의한 것임을 추정할 수 있다. 현재 쇠비름 추출물로부터 항산화 활성성분을 분리하기 위한 연구가 진행 중이다.

감사의 글

본 논문은 2002년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2002-005-C00005).

참고문헌

- 민병미. 1998. 한국 서해안의 해안식생에 대하여. Ocean Research. 20 Special: 167-178.
- Thomas R, Omara-Alwala, Tadesse Mebrahtu, Debra E. Prior and Michael O. Ezekwe. 1991. Omega-Three Fatty Acids in Purslane(*Portulaca oleracea*) Tissues. JAOCS, 68(3): 198-199.
- Fridorich L. 1978. The biology of oxygen radicals. Science, 201: 875-881.
- Huang M.T., Osawa T, Ho C.T. and Rosen R.T. 1994. Food phytochemicals for cancer prevention I, 50, 57-57, 71-73. American Chemical Society, Washington.
- Ho C.T., Osawa T., Huang M.T. and Rosen R.T. 1994, Food phytochemicals for cancer prevention II, 20-31. 155, 183-186, American Chemical Society, Washington.
- Papadopoulos G and Boskou D. 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. J. Am. Oil. Chem. Soc, 68: 669-673.
- Yang P.F. and Pratt D.E. 1984. Antithiamin activity of polyphenolic antioxidants. J. Food Sci., 49: 489-492.
- Branen A.L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil. Chem. Soc. 55: 119-123.
- Deman J.M. 1990. Lipids in principles of Food Chemistry, 2nd edition, Marcel Dekker, Inc., New York, 57: 507-512.
- Blois M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26: 1199-1200.
- 이창복, 대한식물도감, 향문사 p324
- K.P. Choi, S.W. Jung, E.J. Kim and S.S. Ham. 1997. Journal of the East Asian of Dietary Life, 7, p527
- S. Habtemariam, A.L. Harvey and P.G. Waterman. 1993. Journal of Ethanopharmacology, 40, 195-200.
- O. Parry, J.A. Marks and F.K. Okwuasaba. 1993. Journal of Ethanopharmacology, 40, 187-194.
- J.W. Yoon, S.S. Ham and H.S. Jun. 1999. U. S. Pat. 5869060.