

마치현 열수 및 에탄올 추출물의 항산화 활성

박소라[#], 한지우, 강지영, 길기정, 유지현^{*}

중부대학교 한방제약과학과

Antioxidant Activities of Hot Water and Ethanol Extracts from Portulacae Herba

So-Ra Park[#], Ji-Woo Han, Ji-Young Kang, Ki-Jung Kil, Ji-Hyun Yoo^{*}

Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702, Korea

ABSTRACT

Objectives : This study aims to provide basic data about Portulacae Herba (PH) extracts as natural antioxidants by considering diverse antioxidant activities of PH depending on solvents.

Methods : The samples of PH were pulverized, and A hot water and a 70% EtOH were stir-extracted for two hours three times repeatedly in a water bath with a temperature of 95 degrees and at room temperature respectively to measure 7 kinds of antioxidant activities.

Results : There were significant differences in total phenol content, because the total phenol content of the 70% EtOH extract was higher than the hot water extract's, and the total flavonoid content of the 70% EtOH extract(4.40 $\mu\text{g}/\text{mg}$) was nearly 3.8 times higher than the hot water extract's(1.16 $\mu\text{g}/\text{mg}$).

DPPH and ABTS radical scavenging activities were 70% EtOH extract showed a little higher activity than the hot water extract, and at a concentration of 500 $\mu\text{g}/\text{mg}$, the highest scavenging activity was found in the 70% EtOH extract, not in the control group. Hydroxyl radical and Fe^{2+} chelating activities were slightly higher in hot water extract than in 70% EtOH extract, and increased in a dose-dependent manner. Nitrite scavenging activities increased dose-dependently in the hot water and the 70% EtOH extract, regardless of the pH level, and scavenging activity of the 70% EtOH extract was higher at pH 1.2 than at pH 3.0.

Conclusions : In conclusion, it is thought that PH hot water and 70% EtOH extract have antioxidant activities, and can be used as natural antioxidants in future.

Key words : Portulacae Herba, Antioxidant, Hot-Water Extract, Ethanol Extracts

I. 서 론

마치현(Portulacae Herba)은 쇠비름(*Portulaca oleracea* Linné(쇠비름과 Portulacaceae)의 전초로서 그대로 또는 찌서 말린 것^{1,2)}으로 『대한민국약전외한약(생약)규격집』²⁾, 『中華人民共和國藥典』³⁾, 『북한약전』⁴⁾에도 동일하게 수재되어 있다. 마치현은 다섯 가지 색을 가지고 있어 五行草라고 불리고, 오래 먹으면 장수 한다는 의미로 長命草, 잎의 모양이 말의 이를 닮아 馬齒草 등으로 불리기도 하며^{5,6)},性は寒하고味는

酸하며, 肝·大腸에 歸經한다^{7,8)}. 한의학적 효능으로는 淸熱解毒, 涼血止血하여 便血, 濕疹, 丹毒, 熱毒血痢, 崩漏下血 등을 다양한 치료 약으로 사용되었다^{7,8)}. 또한 민간에서는 봄에서 여름까지 연한 순을 데쳐서 나물로 먹거나 약재로 활용되어 왔으며, 주로 사독이나 충독 등의 해독제로 사용되었다⁹⁾. 마치현의 주요성분으로는 coumarin, flavonoids, glutamic acid, noradrenalin, succinic acid 등이 알려져 있으며¹⁰⁾, 잎, 줄기 및 전초에는 γ -linolenic acid와 같은 ω -3계 지방산의 높은 함량과^{11,12)}, 비타민 B1, B2 및 malic acid¹³⁾ 등의 영양

*Corresponding author : Ji-Hyun Yoo, Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702
· Tel : +82-41-750-6962 · E-mail : jhyoo@joongbu.ac.kr

#First author : So-Ra Park, Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702
· Tel : +82-41-750-6394 · E-mail : forever10215@naver.com

· Received : 12 June 2017 · Revised : 27 June 2017 · Accepted : 15 July 2017

성분도 함유되어 있다고 보고되었다.

최근 대장균, 티푸스균, 이질간균, 포도상균 등에서 현저한 억제작용으로 새롭게 보고되어 급만성 장염의 높은 완치율로 천연항생제라고 평가되기도 하였다¹⁴⁻¹⁸. 선행연구로는 항소양 효과¹⁹, 지방분해 효과⁵, 항염증 효과^{20,21}, 자궁경부암에 대한 치료 효과²², 항산화 효과²³⁻²⁶ 등 보고되었다. 환류냉각, 가압 가열 및 저온고압 추출법을 이용²³하거나 다양한 유기용매의 극성에 따라 분리한 항산화 연구²⁵로 주로 보고되었으나, 생리 활성 물질의 생리활성 효과는 시료의 종류, 전처리 방법뿐만 아니라, 추출용매에 따라서도 영향을 받는다고 보고된바 있는데²⁷, 일상생활에서 효율적인 추출용매 선별에 대한 비교 연구 및 다양한 항산화능의 평가방법에 대한 연구는 미비하였다. 따라서 본 연구에서는 알려진 연구가 미비한 마치현의 적합한 추출용매를 선정 후 다양한 항산화 활성을 검증하여 천연항산화제 소재로서의 기초자료로 제공하여 마치현의 이용가치를 증대시키고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 마치현(*Portulacae Herba*)은 경북 영천 지역에서 생산된 것을 (주)백제허브(대전, 한국)로부터 구입하여, 불순물을 제거한 후 분쇄하여 추출물 시료로 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 추출

동결 건조 후 분쇄한 마치현 5 g을 삼각플라스크에 넣은 후 70% 에탄올 100 ml을 첨가하여 실온에서 2시간씩 3회 반복 교반 추출하고, 같은 비율로 증류수를 첨가하여 95℃ 수욕조에서 2시간씩 3회 반복 교반 추출한다. 추출물은 Whatman filter paper로 여과하여 50℃ 수욕 상에서 감압농축한 후 동결 건조 한 후 분말화 하여 4℃에서 냉장 보관하여 사용하였다.

2) 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법²⁸을 응용하였다. 시료 추출물 100 μ l에 0.1N Folin-Ciocalteu 400 μ l를 첨가 후 1 M Na₂CO₃ 500 μ l를 첨가하여 혼합하여 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 garilc acid를 이용하여 위와 같은 방법으로 작성하였다.

3) 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Zhishen법²⁹을 응용하였다. 시료 추출물 100 μ l에 증류수 1 ml을 가한 후 5% NaNO₂ 30 μ l와 10% AlCl₃를 가하여 혼합한 후 실온에서 5분간 반응시킨다. 반응액에 1M NaOH 200 μ l를 가하고 증류수 1 ml를 가한 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 510 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준곡선은 Quercetin을 이용하여 위와 같은 방법으로 작성하였다.

4) 1,1-diphenyl-2-picryl ghdrazy(DPPH)

라디칼 소거능

DPPH는 항산화 활성이 있는 물질과 결합하면 전자를 내어 주면서 radical이 소거되는 원리로 Blois의 방법³⁰에 따라서 항산화 실험을 하였다. 시료 추출물 100 μ l에 95% 에탄올에 용해한 DPPH 100 μ l를 가하여 15분간 반응시킨다. UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식에 따라 계산하였다.

소거활성(%)

$$= [1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})] \times 100$$

5) ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 Re등 방법³¹을 변형하여 측정하였다. 7 mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diam-monium salt와 2.4 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 24시간 동안 방치하여 ABTS⁺를 형성시킨 후 이용액을 734 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값이 0.8~1.0이 되도록 증류수로 희석하여 사용한다. 시료 추출물 20 μ l에 희석한 ABTS 용액 980 μ l를 첨가하여 빛을 차단하여 30분간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정한다. ABTS 라디칼 소거능은 아래의 식에 따라 계산하였다.

소거활성(%)

$$= [1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})] \times 100$$

6) Hydroxyl 라디칼 소거능

Hydroxyl 라디칼 소거능은 Smirnoff and Cumbes 방법³²에 따라 측정하였다. 1.5 mM FeSO₄와 6 mM Hydrogen Peroxide(H₂O₂)를 5:3.5 비율로 희석된 시약 760 μ l를 시료 추출물 40 μ l에 가하여 200 mM sodium salicylate를 200 μ l 첨가하여 37℃ 인큐베이터에서 30분간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 562 nm에서 흡광도를 측정한다. Hydroxyl 라디칼 소거능은 아래의 식에 따라 계산하였다.

소거활성(%)

$$= [1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})] \times 100$$

7) Fe²⁺ 킬레이팅 활성

Iron-chelating 활성은 Hus의 방법³³에 의해 측정 하였다. 시료 추출물 150 μ l에 2 mM FeCl₂ 15 μ l를 가하고 증류수 605 μ l를 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨다. 반응용액에 5 mM ferrozine 30 μ l를 가하여 Fe²⁺-ferrozine complex를 유도하고 5~10분 동안 실온에서 반응시킨 후 UV/Visible

spectrophotometer을 사용하여 562 nm에서 흡광도를 측정한다. Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 아래의 식에 따라 계산하였다.

소거활성(%)

$$= [1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가군의 흡광도})] \times 100$$

8) 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 잔존하는 아질산의 함량을 구하는 것으로 Gray와 Dugan³⁴⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 추출물 40 μ l에 1 mM NaNO₂ 20 μ l를 첨가하고 0.2 M Citrate buffer (pH 1.2, 3.0) 140 μ l를 가하여 37°C 인큐베이터에서 1시간 동안 반응시킨 후 2% acetic acid를 1 ml 첨가하고 griess 시약 80 μ l를 첨가하여 혼합 후 빛을 차단하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer을 사용하여 520nm에서 흡광도를 측정한다.

소거활성(%)

$$= [1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가군의 흡광도})] \times 100$$

3. 통계처리

모든 실험의 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차 (mean \pm SD)로 나타냈으며 실험군 간의 유의성은 window용 SPSS 프로그램(Statistical package for social science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 통계처리는 Student T-test는 $p < 0.05$ 인 경우 유의성이 있는 것으로 인정하였고, ANOVA test(Tukey's multiple range test)를 통하여 $p < 0.05$ 수준에서 평균치를 비교하였다.

III. 결 과

1. 추출 수율, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

마치현의 열수추출물 및 70% 에탄올 추출물 제조 수율 및 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 추출 수율은 열수추출물(16.01%)이 70% 에탄올 추출물(17.14%) 보다 약간 낮았으나 거의 차이가 없었다. 총 폴리페놀함량은 추출용매에 따라 70% 에탄올 추출물(34.14 \pm 0.28 μ g/mg)에서 약간 높은 함량으로 유의적인 차이를 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 70% 에탄올 추출물(4.40 \pm 0.22 μ g/mg)에서 열수 추출물(1.16 \pm 0.12 μ g/mg) 보다 약 3.8배 이상 높은 함량을 확인하였다(Table 1).

Table 1. Extract yields, total polyphenol and flavonoid contents hot-water and 70% EtOH extracts from PH.

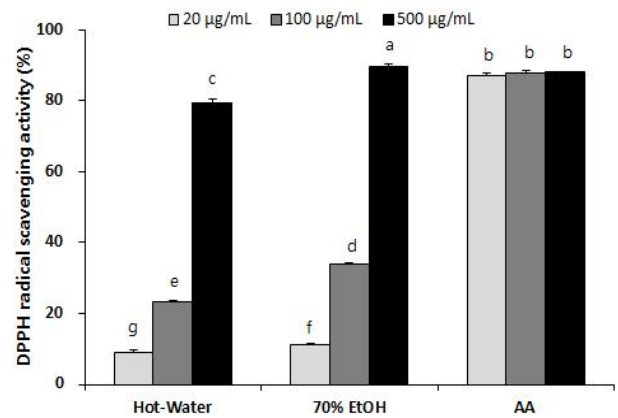
Extraction solvent	Yield (%)	Total polyphenol content (μ g/mg)	Total flavonoid content (μ g/mg)
Hot-Water	16.01	22.14 \pm 0.12	1.16 \pm 0.12
70% EtOH	17.14	34.14 \pm 0.28*	4.40 \pm 0.22*

The values are expressed as means \pm SD of triplicate measurements.
* : Statistically significant value compared to water by Student's t-test ($p < 0.05$).

2. DPPH 와 ABTS 라디칼 소거 활성

마치현의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Fig. 1A에 나타내었다. 마치현의 DPPH 라디칼 소거 활성은 농도에 따라 증가하였으며, 20~500 μ g/ml의 농도에서 70% 에탄올 추출물(11.28~89.79%)이 열수 추출물(8.85~79.54%)보다 높은 활성을 보였다. 또한 500 μ g/ml의 농도에서는 대조구인 ascorbic acid(87.00 \pm 0.82%)보다 70% 에탄올 추출물(89.79 \pm 0.81%)에서 약간 높은 활성을 확인하였다. 마치현의 추출용매에 따른 ABTS 라디칼 소거 활성은 Fig. 1B와 같다. 마치현의 열수 및 70% 에탄올 추출물에서 모두 농도 의존적이었으며, 열수 추출물(15.05~96.51%)보다 70% 에탄올 추출물(18.74~99.92%)에서 높은 활성을 나타내었다. 또한 500 μ g/ml의 농도에서는 열수 추출물(96.51 \pm 0.29%)은 대조구인 ascorbic acid(95.65 \pm 0.12%)와 유의적인 활성을 보였으며, 70% 에탄올 추출물(99.92 \pm 0.18%)에서 가장 높은 소거활성을 나타내었다(Fig. 1B.).

(A)



(B)

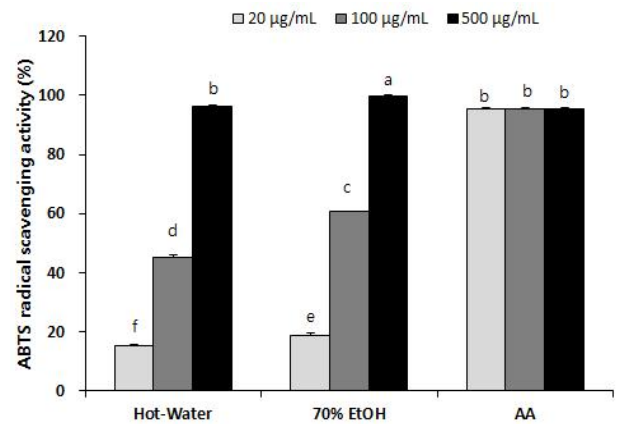


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities (A) and ABTS radical scavenging activities (B) of hot-water and 70% EtOH extracts from PH.

AA : ascorbic acid. The values are expressed as mean \pm SD deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-g) are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's multiple range test.

3. Hydroxyl 라디칼 소거 활성

마치현의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 Hydroxyl 라디칼 소거 활성은 Fig. 2와 같다. 마치현의 Hydroxyl 라디칼 소거 활성은 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 20~500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 열수 추출물은 8.11~44.02%의 범위로 70% 에탄올 추출물 2.44~38.74%의 범위 보다 높은 활성을 보였다. 특히 저농도(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 열수 추출물이 70% 에탄올 추출물보다 3배 이상의 높은 소거활성을 보였고, 대조구인 ascorbic acid(1.51~18.75%)은 열수 및 70% 에탄올 추출물 보다 낮은 소거활성을 보였다(Fig. 2.).

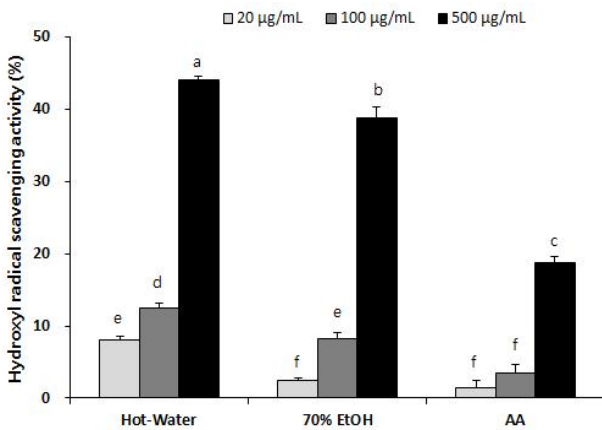


Fig. 2. Hydroxyl radical scavenging activity of hot-water and 70% EtOH extracts from PH. AA : ascorbic acid. The values are expressed as mean \pm SD deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-f) are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's multiple range test.

4. Fe²⁺ 킬레이팅 활성

마치현의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 철 킬레이팅 활성을 측정한 결과 추출물의 농도가 높을수록 활성이 증가하였다.

열수추출물(5.87~57.44%)이 70% 에탄올 추출물(3.67~44.55%) 보다 높은 활성을 나타내었지만, 대조구인 deferoxamine은 40.79~90.43%의 범위로 열수 및 70% 에탄올 추출물보다 높은 값을 나타내었다(Fig. 3.)

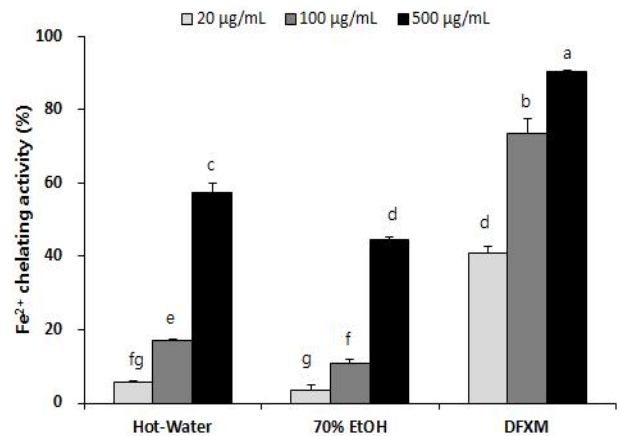


Fig. 3. Fe²⁺ chelating activity of hot-water and 70% EtOH extracts from PH. DFXM : deferoxamine. The values are expressed as mean \pm SD deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-g) are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's multiple range test.

5. 아질산염 소거 활성

마치현 열수 및 70% 에탄올 추출물의 아질산염 소거활성 pH 1.2와 3.0에서 측정한 결과 Fig. 4와 같다. pH와 상관없이 농도 의존적으로 소거활성이 증가하였으며, pH 1.2에서 pH 3.0의 보다 70% 에탄올 추출물이 열수 추출물 비해 모든 농도에서 가장 높은 소거활성을 보였다. 또한 pH 1.2의 경우에는 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 70% 에탄올 추출물(88.43 \pm 0.56%) 이 대조구인 BHT(81.26 \pm 1.21%) 보다 약간 높은 소거 활성을 나타내었다(Fig. 4.)

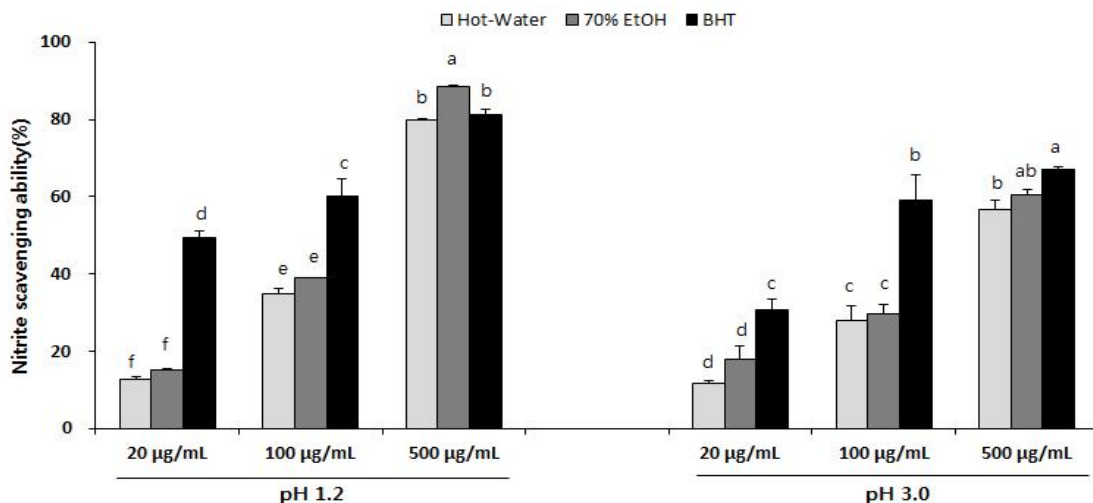


Fig. 4. Nitrite scavenging ability of hot-water and 70% EtOH extracts from PH. BHT : dibutyl hydroxy toluene. The values are expressed as mean \pm SD deviation of triplicate tests. Means with a difference letters(a-g) are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's multiple range test.

IV. 고 찰

최근 환경오염, 미세먼지, 약물, 음주, 흡연, 자외선 등의 의하여 산소가 인체 내에서 에너지대사 과정 중에 활성 산소종을 발생시켜 질병을 일으키며, 활성 산소종은 유해산소라고 불리기도 한다³⁵⁾. 세포 내 대사하는 과정 중 생성되는 산소로 세포막을 파괴하기도 하고, 인체 내의 유전정보를 가지고 있는 DNA를 변형시켜 돌연변이를 일으켜 단백질을 변성시키고 신호전달 체계를 무너뜨리는 등 각종 질환의 원인이 될 수 있다고 보고된 바 있다³⁵⁾. 산화로 인한 인체의 노화자연과 성인병 예방을 위해 항산화제를 통해 건강기능을 향상시키고, 질병과 노화의 예방을 위해 인체 내 항산화 시스템을 정상적으로 유지하는 것 또한 중요하다³⁶⁾. 이러한 항산화 작용을 하는 물질로는 플라보노이드류, 이소플라본류, 카로테노이드류, 미네랄 비타민 등 여러 가지들이 있다³⁷⁾. 합성 항산화제와 천연 항산화제의 대부분이 페놀성 화합물이라고 알려져 있다. 또한 페놀성 화합물은 hydroperoxide 등 지방산 산화의 초기 생성물질이 기타 반응 물질과 반응하여 산화를 억제 시키는 것으로, 식물계 널리 분포되어 있는 페놀성 화합물은 특히 2차 대사산물로 다양한 구조와 생리 활성을 나타낸다는 보고도 있다³⁸⁾. 이에 본 연구에서는 마치현의 추출용매에 따른 다양한 항산화성을 확인하여 천연항산화제의 이용가치를 높이고자 하였다. 본 실험에서는 총 폴리페놀의 총 함량은 galic acid를 기준물질로, 총 플라보노이드 함량은 quercetin으로 기준물질로 정하고 표준곡선을 이용하여 측정하였다. 마치현의 추출용매별 총 폴리페놀 함량의 결과 70% 에탄올 추출물은 34.14 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 열수 추출물에서 22.14 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 함량으로 열수 추출물 보다 70% 에탄올 추출물에서 높은 페놀함량을 나타내었다. Kim 등³⁹⁾의 쇠비름 추출물의 페놀성 화합물 함량에서 물 추출물보다 에탄올 추출물에서 유의적으로 높게 나타난 연구결과로 본 연구와 상응하였다(Table 1). 또한 플라보노이드 함량의 결과에서는 70% 에탄올 추출물은 4.40 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 열수 추출물에서 1.16 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 의 함량으로 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물에서 3배 이상의 높은 플라보노이드 함량을 나타내었다(Table 1).

DPPH 라디칼은 비교적 안정한 화합물로 짙은 자색을 띠는 DPPH가 항산화제나 방향족 아민류 등의 의하여 환원되어 보라색의 강도가 감소하는 성질을 이용한 방법으로 생체 내에 존재하진 않지만 그 자체가 흡수 전자를 갖고 있어 517 nm에서 강한 흡광도를 띤다. 따라서 항산화 물질과 반응하게 되면 완전한 형태로 돌아가면서 흡광도 값이 감소하게 된다⁴⁰⁾. DPPH 라디칼 소거 활성법은 측정 방법이 간단하면서도 대량으로 측정이 가능하여 다양한 천연식물 소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용된다⁴¹⁾. 본 연구 결과에서는 마치현의 추출용매별 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물에서 소거 활성이 높게 나타났으며, 농도 의존적으로 소거 활성이 높게 나타난 것을 확인 할 수 있다(Table 2). Park 등²⁴⁾은 쇠비름을 용매별로 분획하여 전자 공여능을 확인한 결과 ethyl acetate > methanol > 약탕기 > 증류수 추출물 순으로 높은 활성을 보인다고 보고한 바 있다. 이는 식물체에서 DPPH 라디칼 소거에 의한 전자공여능이 페놀류 또는 플라보노이드 물질에 기인하여 항산화 활성을 나타내는 것으로 볼 때⁴²⁾ 마치현의 70% 에탄올 추출물에서 전자공여능이

높은 활성을 보인 것은 이에 함유된 총 페놀 및 플라보노이드 함량에 기인한 것으로 추측된다.

추출물들의 상대적인 항산화 측정은 chain breaking antioxidant와 hydrogen-donating antioxidant을 모두 측정할 수 있으며, 또한 aqueous phase와 organic phase 모두에 적용이 가능하며, 이에 표준물질의 사용으로 추출물의 상대 비교가 가능하도록 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS⁺ free radical이 추출물속의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한다⁴⁰⁾. 이러한 원리로 ABTS를 측정한 결과 열수 추출물보다 70% 에탄올 추출물에서 높은 소거활성을 보였으며, 대조구인 ascorbic acid 보다 다소 높은 소거활성을 나타냈다(Table 2). 이는 마치현 추출물이 친수성 물질에 대한 항산화 활성이 우수한 것으로 판단된다. 또한 Oh⁴³⁾는 정향의 열수 및 70% 에탄올 추출물에서도 농도가 증가함에 따라 ABTS와 DPPH 라디칼 소거능이 열수 추출물 보다 70% 에탄올 추출물에서 높은 활성을 보인 연구결과를 보고한 바, 본 연구의 추출 시료는 다르지만, 같은 추출용매로 보았을 때 본 연구에서 DPPH 및 ABTS 라디칼 활성능은 Oh⁴³⁾의 연구결과와 유사하였다. 이는 ABTS 라디칼이 DPPH 라디칼 보다 좀 더 강력한 산화물질로 인한 것으로 사료된다⁴⁴⁾.

Hydroxyl 라디칼(OH)은 활성산소 중에서 가장 강한 독성을 가지며 반응성이 매우 크며 반응속도가 빠르며, 세포독성, 지질 산화, 돌연변이 유발 및 DNA 손상 등^{45,46)} 다양한 질환에도 관여하며, 인체 산화에 좋지 않은 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁴⁴⁾. 마치현의 추출 용매별 hydroxyl 라디칼 소거활성을 측정한 결과 열수 및 70% 에탄올 추출물에서는 농도 의존적으로 소거활성이 증가하였으며, 70% 에탄올 추출물보다 열수 추출물에서 소거활성이 높게 나타났다.(Table 3). 이는 페놀성 화합물 함량과 정의 상관관계에 대한 보고⁴⁷⁾된 바 있는데 본 연구결과와 상이한 결과로 라디칼의 종류에 따라 차이가 있다고 사료되며, 약용식물 중에서 존재하는 항산화 물질의 종류, 함량, 추출방법 및 용매 등의 차이에 기인하는 것으로 생각되지만, 추후 더 자세한 연구가 필요할 것으로 판단되어진다.

Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 ferrozine을 이용하여 Fe²⁺이온과 복합체를 형성하여 붉은색을 나타내지만, 킬레이팅 효과를 가지는 물질에 의해 붉은색이 탈색되는 정도를 측정하는 것으로 알려져 있다⁴⁸⁾. 마치현의 추출 용매별 철 킬레이팅 활성 결과 추출물의 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 열수 추출물이 70% 에탄올 추출물 보다 높은 활성을 보였다(Fig. 3.). Woo 등⁴⁹⁾이 보고한 국화, 마가렛 및 낙동구절초 추출물에서 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 높았으며, 시료 중의 총 페놀 함량과 비례적이었으나, 이들 시료는 모두 철 킬레이팅 활성이 낮은 것으로 보고된 바 있다^{49,50)}. 이처럼 라디칼 소거 활성과 철 킬레이팅 활성은 서로 상반된 결과를 나타내기도 하는데, 이러한 현상은 식물류의 성분 중 금속이온의 제거와 라디칼 소거에 관여하는 물질의 종류가 상이하거나⁵¹⁾, 시료 중 금속이온을 포함할 수 있는 물질의 함량이 낮기 때문이라고 추정되고 있다고 보고되었다⁴⁹⁾. 따라서 본 연구에서는 철 킬레이팅 활성과 라디칼 소거활성에서 관여하는 다른 식물 화학 물질의 존재를 짐작케 하는 결과로써 이에 대한 어떠한 성분에 의해 마치현 열수 추출물에서 킬레이팅 효과가 증가되었는지

추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

아질산염을 함유한 식품을 다량 섭취하게 되면 메트헤모글로빈증 등과 같은 중독증상이 발병되고, 발암물질인 니트로소아민을 생성하기 때문에 아질산염을 소거하여 질병을 억제할 수 있는 천연물에 대한 검색에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다⁵²⁻⁵⁴. 마치현 열수 및 70% 에탄올 추출물에서 니트로사민의 생성 전구물질인 아질산염을 분해하는 효과를 측정한 결과 (Fig. 4.) pH 1.2와 pH 3.0에서 모두 열수 추출물 보다 70% 에탄올 추출물에서 높은 활성을 나타내었고, pH 3.0 보다 pH 1.2의 반응 조건에서 더 우수한 결과를 보여, 인체의 위내 pH 조건인 1.2에서 마치현 추출물이 니트로소아민의 생성억제에 효과가 있을 것이라 생각된다.

이는 아질산염은 폐놀성 물질에 의해 분해되어 nitroso화 반응이 억제된다고 보고⁵⁵와 폴리페놀과 플라보노이드 화합물은 종류에 따라 차이가 있으나 아질산염을 효과적으로 분해하여 니트로소아민의 생성을 억제한다고 보고되었다⁵⁶. Fig. 4의 결과에서 열수 추출물 보다 70% 에탄올 추출물이 높은 소거능으로 마치현에 함유되어 있는 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높아 높은 아질산염 소거능을 보인 것으로 추측되며, 따라서 마치현 에탄올 추출물을 육제품이나 단백질이 다량 함유된 가공식품의 식품 첨가물로 사용한 경우 니트로소아민 생성을 억제하여 천연 첨가물로서의 이용 가능성이 있다고 생각되며, 이에 대한 활용성 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 마치현의 열수 및 70% 에탄올 추출물에 대한 다양한 항산화 활성을 검토하여 천연항산화제 소재로서의 활용 가능성을 높이고자 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 총 페놀 함량은 열수 추출물 보다 70% 에탄올 추출물에서 높은 함량으로 유의적인 차이를 보였고, 총 플라보노이드 함량은 70% 에탄올 추출물(4.40 $\mu\text{g}/\text{mg}$)에서 열수 추출물(1.16 $\mu\text{g}/\text{mg}$) 보다 약 3.8배 이상 높은 함량을 확인하였다.
2. DPPH 와 ABTS 라디칼 소거 활성에서는 농도 의존적으로 70% 에탄올 추출물은 열수 추출물 보다 다소 높은 활성을 보였고, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 대조구보다 70% 에탄올 추출물에서 가장 높은 소거활성을 보였다.
3. Hydroxyl 라디칼 소거 활성은 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 20~500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 열수 추출물(8.11~44.02%)은 70% 에탄올 추출물(2.44~38.74%) 보다 높은 활성을 보였다. 반면에 대조구인 ascorbic acid(1.51~18.75%)은 열수 및 70% 에탄올 추출물 보다 낮은 소거활성을 보였다
4. Fe^{2+} 킬레이팅 활성은 열수 추출물(5.87~57.44%)이 70% 에탄올 추출물(3.67~44.55%)보다 높은 활성을

나타내었지만, 대조구인 deferoxamine (40.79~90.43%)은 열수 및 70% 에탄올 추출물 보다 높은 활성을 보였다.

5. 아질산염 소거능은 열수 및 70% 에탄올 추출물에서 pH와 상관없이 농도 의존적으로 소거활성이 증가하였으며, pH 1.2에서 pH 3.0 보다 70% 에탄올 추출물은 열수 추출물에 비해 높은 소거활성을 보였다. pH 1.2의 경우에는 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 70% 에탄올 추출물(88.43%)은 대조구인 BHT(81.26%) 보다 약간 높은 소거 활성을 나타내었다.

결론적으로 마치현 열수 및 70% 에탄올 추출물은 항산화 활성 효과가 있다고 보여지며, 천연항산화 소재로서 응용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

References

1. Korea Food and Drug Administration, Emerg Infect Dis [serial online] 2017 Jan-Mar[cited 2017 Mar 21]. Available from : URL : https://www.mfds.go.kr/files/upload/herbmed/photo_data/KHP095.pdf
2. Korea Food and Drug Administration, The Korean Herbal Pharmacopoeia IV, Korea Food and Drug Administration, 2012 : 110.
3. The Chinese Pharmacopoeia Commission, Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2010, Beijing : China Medical Science and Technology Press, 2010 : 46.
4. Pharmacopoeia Commission of the Democratic People's Republic of Korea Ministry of Health, Democratic People's Republic of Korea Pharmacopoeia 5th edition, Pyongyang : Medical Science Publishers, 1996 : 232-3.
5. Lee MS, Kim CT, Kim CJ, Cho YJ, Kim YH, Effects of Portulaca Oleracea L. extract on lipolysis and hormone sensitive lipase (HSL) gene expression in 3T3-L1 adipocytes, The Korean journal of nutrition, 2006 ; 39 : 742-7.
6. Youk CS, Coloured Medicinal Plants of Korea, Korea : Academic Press, 1989 : 164.
7. Barter PJ, Rye KA, Cardioprotective properties of fibrates: which fibrate, which patients, what mechanism? Circulation, 2006 ; 113 : 1553-5.
8. Carlson LA, Nicotinic acid: The broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review, J Intern Med, 2005 ; 258 : 94-114.
9. Jeong MA, Kim WW, Jin CW, Cho DH, Total polyphenol and flavonoid contents of Portulaca oleracea L. fractions, Spring Meeting of Korean Medicinal Crop Science, 2012 ; 3 : 243-4.
10. Rocha MJ, Fulgencio SF, Rabetti AC, Nicolau M,

- Poli A, Simoes CM, Ribeiro-do-Valle RM. Effects of hydroalcoholic extracts of *Portulaca pilosa* and *Achyrocline satureioides* on urinary sodium and potassium excretion. *J. Ethnopharmacol.* 1994 ; 43 : 179-83.
11. Liu L, Howe P, Zhou YF, Xu ZQ, Hocart C, Zhan R. Fatty acids and β -carotene in Australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties. *J. Chromatogr.* 2000 ; 893 : 207-13.
 12. Omara-Alwala TR, Mebrahtu T, Prior DE, Ezekwe MO. Omega-three fatty acids in Purslane(*Portulaca oleracea*) tissues. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1991 ; 68 : 198-9.
 13. Xing J, Yang Z, Lv B, Xiang L. Rapid screening for cyclo-dopa and diketopiperazine alkaloids in crude extracts of *Portulaca oleracea* L. using liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2008 ; 22 : 1415-22.
 14. Yang Z, Liu C, Xiang L, Zheng Y. Phenolic alkaloids as a new class of antioxidants in *Portulaca oleracea*. *Phytother Res.* 2009 ; 23 : 1032-5.
 15. Yang ZJ, Zheng YN, Xiang L. Study on chemical constituents of *Portulaca oleracea*. *Zhong Yao Cai.* 2007 ; 30 : 1248-50.
 16. Kim KW, Park JS. Identification of physiologically active compounds from purslane (*Portulaca oleracea* L.). *J. Weed Sci.* 1998 ; 8 : 169-75.
 17. Elkhayat ES, Ibrahim SR, Aziz MA. Portulene, a new diterpene from *portulaca oleracea* L. *JANPR.* 2008 ; 10 : 1039-43.
 18. Rasheda AN, Afifi FU, Disib AM. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. *J. Ethnopharmacol.* 2003 ; 88 : 131-6.
 19. Lim YY, Kim HM, Park WS, Kim JH, Shin HJ, Kim MN, Kim BJ. Anti-inflammatory and Anti-pruritic Effects of *Portulaca oleracea* L. Extract Using In Vitro and In Vivo Inflammation Model: LPS-treated Raw264.7 Cells, Keratinocytes, NC/Nga Mice and Hairless SKH-1 Mice. *Allergy Asthma Respir Dis.* 2011 ; 31 : 199-206.
 20. Joo JK, Han HS, Lee YJ. Anti-inflammatory Effect of *Portulacae* Herba Water Extract on Lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 Macrophages. *Kor. J. Herbol.* 2016 ; 31 : 61-7.
 21. Kim CH, Park PB, Choe SR, Kim TH, Jeong JK, Lee KG, Lee CH, Jeong HS. Anti-oxidative and Anti-inflammatory Effects of *Protulaca Oleracea* on the LPS-stimulated AGS Cells. *Korean Journal of Oriental Physiology and Pathology.* 2009 ; 23 : 488-93.
 22. Eum JO, Kang BH, Kim YH, Yoo SK. Herba *Portulacae* induced Apoptosis in Human Cervical Carcinoma HeLa Cells. *The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology.* 2005 ; 18 : 29-44.
 23. Kwon YR, Cho SM, Hwang SP, Kwon GM, Kim JW, Youn KS. Antioxidant, Physiological Activities, and Acetylcholinesterase Inhibitory activity of *Portulaca oleracea* extracts with different extraction methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2014 ; 43 : 389-96.
 24. Park SH, Kim DW, Bae JH. The antioxidant effect of *Portulaca oleracea* extracts and its antimicrobial activity on *Helicobacter pylori*. *Korean J. Food & Nutr.* 2011 ; 24 : 306-11.
 25. Lee YJ, Shin DH, Chang YS, Shin JI. Antioxidative effect of some edible plant solvent extracts with various synergists. *Korean J. Food SCI. Technol.* 1993 ; 25 : 683-8.
 26. Lee HJ, Lee BJ, Lee DS, Seo YW. DPPH radical scavenging effect and in vitro lipid peroxidation inhibition by *Portulaca oleracea*. *Korean J. Biothchnol. Bioeng.* 2003 ; 18 : 165-9.
 27. Yang YR, Park YK. Comparison of antioxidant activities of black onion extracts. *Korean J Food Preserv.* 2011 ; 18 : 954-60.
 28. Folin O, Denis W. A colorimetric method for determination of phenols(phenol cerivatives) in urine. *J. Biol. Chem.* 1915 ; 22 : 305-8.
 29. Zhishen J, Mengcheng T, Jianmaing W. The determination of Flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 1999 ; 64 : 555-9.
 30. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958 ; 181 : 1199-200.
 31. 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 Biol Med.* 1999 ; 26 : 1231-7.
 32. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry.* 1989 ; 28 : 1057-60.
 33. Hus B, Coupar IM, NG K. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm. *Hyphaene the baica.* *Food Chem.* 2006 ; 98 : 317-28.
 34. Gray JI, Dugan JR. Inhibition of n-nitros-amine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 1975 ; 40 : 981-4.
 35. Heo ML. Antioxidant Activities of Bilberry(*Vaccinium myrtillus*) and Blueberry (*Vaccinium corymbosum*). *Seoul National University of Science and Technology.* 2012 ; 8, 83-4.
 36. Janh YA. A verification of cosmetic effect about anti-oxidant and anti-wrinkle of 11 native plants. *Journal of life science.* 2016 ; 26 : 782-8.

37. Dillard CJ, German JB. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *J Sci Food Agric*. 2000 ; 80 : 1744–56.
38. Lee JC. Effect of antioxidant of extracts prepared from defatted perilla dreg. Hoseo University. 2004 ; 2, 84–6.
39. Kim MJ, Lee SJ, Kim RJ, Jeong BY, Sung NJ. Mineral content and antioxidants activity of *Portulaca oleracea*. *Journal of Life Science* 2011 ; 2 : 1393–400.
40. Kim TH. Pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activities of *Polygonum aviculare* extract. *Korean journal of food preservation*. 2011 ; 18 : 250–5.
41. Lee SE, Seong NS, Bang JK, Park CG, Park JS, Sung J. Antioxidative activities of Korea medicinal plants. *Korea J Medicinal Crop Sci*. 2003 ; 11 : 127–34.
42. Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol*. 1996 ; 28 : 624–30.
43. Oh HK. Antioxidant and Anti-inflammatory activities of extracts from *Eugenia caryophyllata* Thunb. *J. Korean Soc. Food Cult*. 2016 ; 31 : 481–8.
44. Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS, Kim MH. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr*. 2003 ; 32 : 723–7.
45. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems, *FEBS Lett*, 1991 ; 281 : 9–19.
46. Min OJ, Kim MS, Kwak BH, Rhyu DY. Peroxynitrite and hydroxy radical scavenging activity of medicinal plants. *Korean J. Plant Res*. 2008 ; 21 : 254–9.
47. Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Anti-oxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998 ; 46 : 4113–7.
48. Park JY, Yoon KY. Evaluation of antioxidant, α -glucosidase inhibition and acetylcholinesterase inhibition activities of *Allium hookeri* root grown in Korea and Myanmar. *Korean J. Food Preserv*. 2016 ; 23 : 239–45.
49. Woo JH, Shin SL, Jeong HS, Lee CH. 2010. Antioxidant effect of extracts obtained from three *Chrysanthemum* species. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2010 ; 39 : 631–6.
50. Ryu JH, Lee SJ, Kim MJ, Shin JH, Kang SK, Cho KM, Sung NJ. Antioxidant and anticancer activities of *Artemisia annua* L. and determination of functional compounds. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2011 ; 40 : 509–16.
51. Seo SJ, Choi YM, Lee SM, Kong SH, Lee JS. Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2008 ; 37 : 129–35.
52. Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol*. 1996 ; 28 : 232–9.
53. Chung SY, Kim NK, Yoon S. Nitrite scavenging effect of methanol fraction obtained from green yellow vegetable juices. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 1999 ; 28 : 342–7.
54. Kim SM, Cho YS, Sung SK. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J. Food Sci. Technol*. 2001 ; 33 : 626–32.
55. Lim JA, Yun BW, Baek SH. Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Salvia plebeia* R. Br. *Korean J Medicinal Crop Sci*. 2007 ; 15 : 183–8.
56. Swann PF. The toxicology of nitrite, nitrate, and N-nitroso compounds. *J Sci Food Agric*. 1975 ; 26 : 1761–4.