

NaCl 처리가 눈개승마 [*Aruncus dioicus* var.
kamtschaticus (Maxim.) H. Hara]의
생육과 생리활성에 미치는 영향

남현화* · 이주희* · 추병길**

Effect of NaCl Treatment on Growth and Physiological Activity of
Aruncus dioicus var. *kamtschaticus* (Maxim.) H. Hara

Nam, Hyeon-Hwa · Lee, Joo-Hee · Choo, Byung-Kil

This study was conducted to investigate the growth and physiological activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* (Maxim.) H. Hara under the NaCl treatment conditions (0, 100, 200, 300 mM). After 30 days treatment, the growth and physiological activities were investigated. In the growth of plants, the plant height, leaf width, leaf length and ion level were reduced at NaCl treatments of more than 100 mM. The total polyphenol content was decreased by NaCl in a concentration-dependent manner compared to the control group. The contents of total flavonoids did not show any difference at the concentration of 200 mM and 300 mM. However, the content of total flavonoid decreased compared with that of control. In antioxidant activity, the DPPH and ABTS radical scavenging activity and reducing power activity were decreased by NaCl concentration compared to the control. When changes in the content of NO production was monitored by ELISA, production inhibitory effect was 94.5%, 70%, 63%, 56.9% in NaCl concentration of 0, 100, 200, 300 mM, respectively. The growth, ion level, antioxidant and anti-inflammation activity of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* was reduced at NaCl treatments of more than 100 mM.

Key words : *anti-inflammatory*, *antioxidant*, *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*,
NaCl, *NO*

* First author, 전북대학교 농업생명과학대학 작물생명과학과

** Corresponding author, 전북대학교 농업생명과학대학 작물생명과학과(bkchoo@jbnu.ac.kr)

I. 서 론

토양 중에 Na^+ 과 Cl^- 가 고농도로 존재할 경우 식물은 염 스트레스를 받게 되며, 염 스트레스는 이온의 독성, 수분포텐셜의 저하, 이온의 흡수 및 수송을 억제하여 영양 및 삼투압 불균형을 초래한다(Munns and Termaat, 1986; Kim et al., 2010). 염 스트레스에 의한 이온농도의 불균형은 식물체내의 Na^+ 이온농도의 증가로 나타나는 현상으로 식물체내 영양결핍, 대사장애 등의 중요 원인으로 알려져 있으며(Singh and Prasad, 2009) 식물의 생장과 발육을 억제하게 된다. 또한, 한발, 건조, 고온, 저온, 강광, 고염 및 환경오염과 같은 환경 스트레스는 스트레스의 지속 시간이나 강도 및 식물의 연령 등에 따라 활성 산소를 증가시키는데 발생한 활성 산소는 세포 내 여러 소기관을 과산화 시켜 세포를 파괴시키고 특히, 막의 주요 구성성분인 불포화지질을 과산화지질로 바꾸며 세포에 손상을 주게 된다(Lee and Oh, 1994; Kim and Hyun, 2011).

최근 서해안 지역을 중심으로 28,300 ha가 넘는 대규모 간척용지가 조성되고 조성된 간척용지의 30% 정도인 8,570 ha가 첨단농업용지로 개발될 것이라는 계획이 새만금 토지이용 기본구상을 통하여 확정되었다. 우리나라 간척지는 최근까지 주로 쌀을 생산하기 위한 논으로 이용되어 왔으나 산업화의 진전으로 쌀 수요량 감소와 과잉 생산으로 인한 수급 불균형에 따른 대체 소득작물 개발이 요구되고 있으며, 간척지로의 도입을 위해서는 염에 대한 내성이 강하고 간척지의 열악한 환경에 적응할 수 있는 대상작물 선택이 중요하다(Kang et al., 2014; Choi et al., 2015). 약용작물 또는 기능성 작물은 다양한 약리 성분과 생리활성을 가지는 고소득 작물로서 대체 작물로의 도입을 위해 생육평가도 중요하지만, 염 환경에서의 생리활성 변화에 대한 검토가 필요하다.

눈개승마(*Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* (Maxim.) H. Hara)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 다년초로서 우리나라 고산 수림지대에 자생하고 있으며, 전체높이는 30~100 cm이고 잎은 2~3회 우상복엽이며 꽃은 2가화로써 6~8월에 황록색으로 핀다(Kim et al., 2011a; Lee, 2003). 눈개승마의 전초에는 사포닌, 살리실알데히드, 스파린, 인회분 지질, 비타민 A, 칼슘 등이 있으며, 기능성 물질인 flavonoid 및 polyphenol 등을 함유하고 있어 항산화, 항암, 면역증진, 간 기능 강화 등에 효과가 있고(Kim et al., 2011b). 삼나무이란 이름으로 널리 알려져 있으며 특유한 관능성과 다양한 약리활성으로 인해 고급 산채자원으로서 중요성이 부각되고 있는 식물이다(Kim and Sohn, 2014; Kim et al., 2011a). 최근 눈개승마에 대한 관심이 고조됨에 따라 눈개승마의 재배환경·생리 및 재배기술에 관한 연구(Kim et al., 2015; Kim et al., 1998; Jeon, 2013)가 이루어지고 있고, 눈개승마의 유용성분 및 생리활성에 대한 연구로는 추출물의 항산화 활성 및 항균활성(Kim et al., 2011a), 항산화 및 주름개선 효과(Youn et al., 2012), 지상부의 항혈전 활성(Kim and Sohn, 2014), 흰쥐의 당뇨증상과 산화적 스트레스에 미치는 영향(Shin et al., 2008) 등의 연구가 보고된 바 있다.

현재 눈개승마는 해양성 기후 조건인 울릉도에서 주로 재배되고 있는 소득 작물로서 열악한 환경과 염 환경에서 비교적 재배가 용이할 것으로 판단되어 염(NaCl)을 처리한 눈개승마의 생육조사 및 항산화 활성 분석을 통해 생리활성 변화에 대한 연구를 수행하였으며, 간척지나 염 농도가 높은 환경에서 약용작물 재배 시 기능성 및 약효의 변화에 대한 기초 자료를 얻고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출

본 실험에 사용한 눈개승마는 2016년 3월에 국립원예특작과학원에서 제공 받아 사용하였다. 눈개승마의 지상부를 80℃ 건조기에서 24시간 동안 건조하였으며, 분쇄기로 분쇄하여 균질한 분말로 만든 후 시료 0.5 g에 70% 에탄올 5 ml를 넣어 1시간 동안 초음파 분해를 하였고 Polyvinylidene fluoride (PVDF) Syringe filter (0.45 µM)로 원액 여과 후 사용하였다.

2. 세포 배양

마우스 대식 세포주인 Raw 264.7 cell을 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, USA)로부터 구입하여 배양하였다. Raw 264.7 cell은 Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) 배지에 10% Fetal Bovine Serum (FBS)을 첨가하여 37℃, CO₂ incubator에서 배양하였다.

3. NaCl 처리

각 식물들은 국립원예특작과학원의 유리온실에서 원예용 상토(바로커, Seoul Bio Co., Ltd., Seoul, Korea)로 채워진 윗지름 17 cm, 높이 15.5 cm, 밑지름 10 cm 화분에 2016년 3월에 정식하였다. 각 처리구는 식물별 3반복으로 완전임의 배치하여 조성하였으며, 염 농도는 0, 100, 200, 300 mM의 4단계로 30일 동안 NaCl을 일주일에 두 번, 포트당 100 ml씩 관수하였다. 실험 기간 중 유리온실 내부의 광 측정과 온도는 15분 간격으로 측정하였으며, 실험기간인 3월 평균 광은 220.7 µM/m²/s, 평균 온도는 23.3℃, 평균 습도는 50.9%였다.

4. 생육조사

생육조사를 위해 초장, 엽폭, 엽장, 엽록소 함량을 지표로 선정하였다. 정식 후 NaCl 처리 30일 뒤 각 조사항목을 3반복으로 측정하였다. 또한 생리장해 관찰을 실시하였으며 초장, 엽폭, 엽장은 캘리퍼스를 사용하여 측정하였고, 모든 조사는 농촌진흥청의 평가 조사기준(농촌진흥청, 2012)에 따라 실시하였다.

5. 식물체내 무기이온 함량 조사

식물체내 무기이온 함량 측정은 식물체의 지상부를 80°C 건조기에서 24시간 동안 건조하여 분석하였다. 건조된 식물체를 분쇄하여 균질한 분말로 만든 후 습식분해법의 H₂SO₄-HClO₄법에 따라 분쇄된 시료 0.5 g을 분해용 삼각플라스크에 칭량하여 conc. H₂SO₄ 1 ml와 50% HClO₄ 용액 10 ml를 가하였다. 그 후, 열판에 놓고 처음에는 낮은 온도에서 가열한 후 점차 온도를 높여 맑은 분해액을 얻어 냉각시키고 No. 6 여과지를 사용하여 100 ml 메스플라스크에 여과한 후, 분광광도계를 이용하여 Mg²⁺, Ca²⁺, Na⁺, K⁺의 함량을 측정하였다.

6. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(Velioglu et al., 1998)을 변형하여 측정하였다. 각 시료 25 µl (1 mg/ml)와 10% folin-Ciocalteau's phenol reagent 500 µl를 혼합하여 반응시킨 후 10% sodium carbonate 500 µl를 더하여 725 nm에서 흡광도(Multiscan spectrum, Thermo Scientific)를 측정하였다. 총 페놀 함량은 표준물질 gallic acid를 사용하여 측정한 후 작성된 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 총 플라보노이드 함량 측정은 Davis법을 변형한 방법(Chae et al., 2002)에 따라 측정하였다. 추출시료 300 µl와 diethylene glycol 600 µl를 잘 섞어준 후, 1N NaOH 6 µl를 가하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 표준물질 rutin을 이용하여 측정한 후 작성된 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

7. DPPH radical 소거활성

추출한 시료의 free radical 소거활성 측정을 위해 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)법(Blois, 1958)을 이용하였다. 각 시료 100 µl와 0.2 mM DPPH 용액 100 µl를 혼합하여 37°C에서 30분간 암소 상태에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH free radical 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구와 시료 첨가구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

$$\text{DPPH radical 소거능} = [(Ab-As)/Ab] \times 100$$

Ab : 대조구(시료 무첨가구), As : 시료첨가구의 흡광도

8. 환원력 측정

환원력(reducing power activity)은 Oyaizu (1986)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 100 μ l와 sodium phosphate buffer (200 mM, pH 6.6) 100 μ l를 혼합하여 반응시킨 후 1% potassium ferricyanid 100 μ l를 가하여 50°C에서 20분간 heating 하였다. 반응 후, 10% Trichloroacetic acid (TCA) 100 μ l를 넣고 12000 rpm, 20°C에서 10분 동안 원심분리하여 상등액 100 μ l와 증류수 100 μ l를 넣고 0.1% ferric chloride를 10 μ l씩 가하여 700 nm에서 측정하였다. 환원력 비교를 위해 표준물질로 rutin 1 mM을 사용하였다.

9. ABTS radical 소거활성

ABTS radical을 이용한 항산화력은 Re 등(1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 7 mM 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 용액과 2.4 mM의 potassium persulfate를 혼합하여 암소 상태에서 방치하여 ABTS+를 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70(\pm 0.02)이 되게 100% ethanol로 희석하였다. 희석된 용액 900 μ l에 시료 100 μ l를 가하여 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구와 시료 첨가구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

10. 세포 생존율

눈개승마의 세포독성을 측정하기 위해 Cell counting Kit-8 (CCK-8)을 이용하였다. 96 well plate에 세포를 seeding 한 후 Lipopolysaccharide (LPS)와 추출물을 각 농도별로 처리한 후, 24시간 동안 배양하여 CCK-8 용액을 이용해 측정하였으며 Elisa (Multiscan spectrum, Thermo Scientific, Waltham, USA)를 이용하여 분석하였다.

11. NO 생성 억제 활성

Raw 264.7 cell을 96 well plate에 2×10^5 cells/well 분주한 후 37°C, CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 세포에 LPS 1 μ g/ml를 분주하여 1시간 후, 각 농도별 추출물을 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 배지에서 분비된 Nitric Oxide (NO)는 Griess reaction (Green et al., 1982)에 기초한 NO colorimetric assay (R&D System Inc., Minneapolis, USA)로 분석하였고

Sodium Nitrate를 이용해 표준곡선을 작성한 후 NO 함량을 정량하였다.

12. 통계분석

측정된 데이터는 SPSS 12.0 프로그램을 이용하여 Analysis of variance (ANOVA) 분석 및 평균과 표준편차로 나타내었으며, 실험군 간의 차이는 Student's t-test를 실시하여 통계적으로 유의성을 나타내었고, $p < 0.05$ 값인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판단하여 결과분석하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 생육

염(NaCl) 처리가 눈개승마의 생육에 미치는 영향을 분석하기 위해서 염 농도 0, 100, 200, 300 mM의 4단계로 30일 동안 처리하였고, 처리 30일 후 눈개승마의 초장, 엽폭, 엽장을 측정하여 생육을 조사하였다. 대조구에서 초장 36.1 cm, 엽폭 8.8 cm, 엽장 13 cm로 나타났고, 100 mM의 농도에서는 초장 31.3 cm, 엽폭 4.2 cm, 엽장 8.6 cm, 200 mM의 농도에서는 초장 30.9 cm, 엽폭 4.1 cm, 엽장 9.6 cm로 나타났으며 300 mM의 농도에서는 초장 31.5 cm, 엽폭 4.9 cm, 엽장 9.9 cm로 대조구에 비해 생육이 저하되었다. 초장의 경우 대조구의 86~87%로 저하되었고 엽폭은 47~56%, 엽장은 66~76%의 수준으로 염 처리구에서 모두 생육이 저하되었으며 염 농도에 따른 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았다(Table 1).

Choi와 Jang (2015)의 연구에서는 민트류에 NaCl 처리에 따른 생육을 측정한 결과, 50 mM NaCl 처리구에서는 대조구의 77~78%의 감소율을 보였고 100 mM NaCl 처리구에서는 애플민트는 대조구의 72%, 페퍼민트 68%, 오데코롱민트 62%, 초코민트 59% 수준으로 감소하였으며 염 농도가 높아질수록 생육이 억제되었다. 또한 생채종의 경우 고농도인 200 mM NaCl 처리구에서는 감소하였으나 저농도인 50, 100 mM NaCl 처리구에서는 오히려 증가하였다고 보고하였다. 이탈리아 라이그라스의 경우, 저농도의 NaCl 처리구에서는 모든 품종에서 발아율의 차이가 1~3% 정도 감소하는 경향을 보였으며 250 mM 이상의 NaCl 처리구에서는 50% 이상의 발아율이 감소하였다(Lee et al., 2014). Kim과 Hyun (2011)은 50 mM NaCl 처리구에서는 양상추의 생육이 촉진되었으나 그 이상의 NaCl 농도는 생육 억제 효과를 보였다고 보고하였다. 이처럼 염류에 반응하여 생육에 미치는 영향은 식물에 따라 다르게 나타나지만 일반적으로 일정 농도 이상의 수준에서는 생육이 저하되었고 눈개승마의 경우에서도 염 농도 100 mM 이상에서는 생육이 저하됨을 알 수 있었다.

Table 1. The physiological disorder of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* treated with NaCl for a 30 days

NaCl (mM)	Plant height (cm)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)
0	36.1±2.80 ¹⁾	8.80±3.25	13.0±2.23
100	31.3±1.86	4.20±0.95	8.60±1.40
200	30.9±1.08	4.10±0.69	9.60±1.98
300	31.5±1.23	1.90±1.04	9.90±1.19

¹⁾ Mean ± SE (n=3).

2. 무기이온 함량

염(NaCl) 처리가 식물 내의 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 함량에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 염 처리를 할 경우 많은 식물에 Na^+ , Cl^- 의 함량을 증가시키고 K^+ 및 Ca^{2+} , Mg^{2+} 함량을 감소시킨다(Khan et al., 2000; Khan, 2001). Na^+ 의 함량은 염을 처리하지 않은 대조구에서 8.11 mg을 함유하고 있었으며 100 mM 처리 시 28.3 mg, 200 mM 처리 시 34.4 mg, 300 mM 처리 시 33.8 mg으로 대조구에 비해 3배 이상 증가하였다(Table 2). 풋고추 ‘녹광’, 피망 ‘뉴에이스’, 배추 및 양상추의 경우 염 농도가 증가할수록 Na^+ 이 증가하였으며(Park et al., 2006; Kim et al., 2010; Kim and Hyun, 2011), 눈개승마에서도 유사한 경향을 나타냈다.

K^+ 은 세포 내 팽압을 유지시키는 역할을 하기 때문에 양과 함께 조직 내 다른 무기이온과의 균형 정도가 팽압 유지 및 대사과정 조절에 중요한 역할을 한다(Lee et al., 1999). 그러나 고농도의 염 흡수는 다른 영양 이온의 흡수와 경합하여 K^+ 결핍을 유도한다(Fox and Guerinot, 1998). 눈개승마의 K^+ 함량은 대조구 18.2 mg에 비해 100 mM 이상의 농도에서 모두 감소하였고 K^+/Na^+ 비는 대조구 2.24에서 0.38까지 감소하였다. 이는 염을 처리하였을 때 식물 내의 Na^+ 이온으로 인해 K^+ 이온의 흡수 억제가 일어난 것으로 사료된다. Ca^{2+} 함량은 염 처리 시 대조구에 비해 증가하였고 Mg^{2+} 함량에서는 차이를 보이지 않았으나, Na^+ 이온 함량 증가로 인해 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ 비는 대조구 0.89에서 0.24까지 감소하였고 $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$ 비는 대조구 0.57에서 0.14까지 감소하는 경향을 보였다. 따라서 염 처리로 인해 100 mM 이상의 농도에서는 Na^+ 함량이 현저하게 증가됨에 따라 식물 생장에 불리한 K^+/Na^+ , $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$ 비를 초래하였다.

Table 2. The ion level of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* treated with NaCl for a 30 days

NaCl (mM)	Na	K	Ca	Mg	K/Na	Ca/Na	Mg/Na
	Dry weight (mg g ⁻¹)						
0	8.11±1.6 ¹⁾	18.2±0.6	7.2±0.3	4.6±0.3	2.24	0.89	0.57
100	28.3±0.2	12.5±0.9	10.6±0.9	5±1.0	0.44	0.37	0.18
200	34.4±2.1	13±1.1	10.6±0.0	4.8±1.7	0.38	0.31	0.14
300	33.8±1.0	13.4±0.8	8±0.7	4.6±0.8	0.40	0.24	0.14

¹⁾ Mean ± SE (n=3).

3. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

눈개승마의 염 농도별 처리에 따른 항산화 활성을 비교하기 위해 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 염을 처리하지 않은 대조구에서는 33.14 mg/g을 함유하고 있었으며, 염 농도 100 mM 처리구에서 15.25 mg/g, 200 mM 처리구에서 11.04 mg/g, 300 mM 처리구에서 9.08 mg/g으로 NaCl 농도 증가에 따라 폴리페놀 함량이 감소하는 경향을 보였다(Table 3).

삼나물의 폴리페놀 함량이 2.95 mg/g로 측정되었다는 연구(Kim and Lee, 2011)와 비교하였을 때 함량이 높게 나타났으나 눈개승마 잎의 폴리페놀 함량이 66.48 µg/mg으로 측정된 Lee 등(2005)의 연구 결과에 비해 낮은 함량을 나타냈다. 또한 Youn 등(2012)의 연구에서는 눈개승마 에탄올 추출물에서 122.60 mg/g으로 나타났고 Kim 등(2011a)은 에탄올 추출물에서 157.43 mg/g으로 폴리페놀 함량이 다량 존재함을 확인하였는데 이는 시료의 용매별 추출조건 및 추출방법에 따른 차이인 것으로 사료된다.

플라보노이드 함량은 대조구에서 8.33 mg/g으로 나타났으며 염 농도 100 mM 처리구에서 4.8 mg/g, 200 mM 처리구에서 3.41 mg/g, 300 mM 처리구에서 3.42 mg/g으로 나타났다(Table 3). 염 농도 200 mM 처리구와 300 mM 처리구간의 플라보노이드 함량은 비슷하였으나, 염 농도가 증가함에 따라 함량이 감소하는 경향을 보였다. Chio와 Jang (2015)의 연구에서는 플라보노이드 함량은 품종에 따라 염 처리에 의해 대조구보다 함량이 증가하기도 하고 감소되기도 하며, 저농도 염 스트레스 처리에서 오히려 플라보노이드 함량이 대조구보다 증가되었다고 보고하였다. 눈개승마는 100 mM 이상의 농도에서 염 스트레스로 인해 플라보노이드 함량이 감소된 것으로 생각된다.

Table 3. Total Polyphenol contents (TPC) and flavonoid contents (TFC) of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* treated with NaCl for a 30 days

	NaCl (mM)			
	0	100	200	300
TPC (ext. 1 mg/ml)	33.1 mg/g ^{**1)}	15.3 mg/g [*]	11.0 mg/g ^{**}	9.1 mg/g [*]
TFC (ext. 1 mg/ml)	8.3 mg/g [*]	4.8 mg/g ^{**}	3.4 mg/g ^{**}	3.4 mg/g ^{**}

¹⁾ Each value is mean S.D.; *p<0.05 compared with control, **p<0.01 compared with control.

4. DPPH radical 소거활성

염 처리에 의한 눈개승마의 항산화 활성 변화를 알아보기 위해 0, 100, 200, 300 mM의 농도로 염 처리 30일 후 DPPH radical 소거활성을 측정하였다. 대조구에서 62.02%의 radical 소거활성을 보였으며 100 mM의 농도에서 50.64%, 200 mM의 농도에서 38.24%, 300 mM의 농도에서 33.21%의 활성을 나타냈다(Fig. 1).

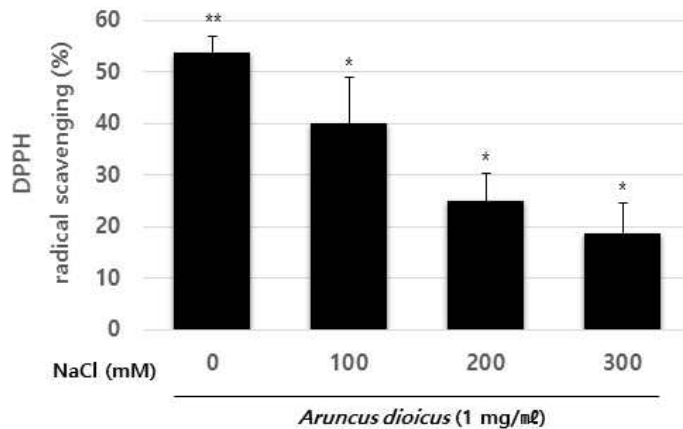


Fig. 1. The results of measuring DPPH radical scavenging activity after 30 days of NaCl concentration 0, 100, 200, 300 mM treatment on *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*. Each value is mean S.D.; *p < 0.05 compared with control, **p < 0.01 compared with control.

Choi와 Jang (2015)은 염 처리에 의한 민트류의 DPPH radical 소거활성 변화를 측정하였을 때 스피아민트의 경우 50 mM NaCl 처리구에서 항산화 활성이 가장 높았고 오테코롱민트, 페퍼민트, 애플민트의 경우 100 mM NaCl 처리구까지는 염 농도가 높아질수록 항산화

활성이 증가되었으나 고농도처리구인 200 mM NaCl 처리구에서는 다시 감소하였다고 보고하였다. 눈개승마의 경우, 대조구에 비해 염 처리구에서 활성이 감소하였고 염 농도가 증가할수록 DPPH radical 소거활성이 감소하는 경향을 보였다. 염 처리구 중에서는 100 mM의 농도에서 50.64%로 가장 높게 나타났으므로 100 mM 이하의 염 농도로 처리할 경우 항산화 활성 유지에 적합할 것으로 판단된다.

5. 환원력 측정

눈개승마의 NaCl 농도별 처리에 따른 환원력을 측정하기 위해 rutin 1 mM을 표준물질로 사용하여 분석한 결과, NaCl 농도 0 mM에서는 15.22%, 100 mM에서는 9.19%, 200 mM에서는 7.54%, 300 mM에서는 6.87%의 활성을 나타냈으며 DPPH radical 소거활성과 마찬가지로 NaCl 농도 증가에 따라 환원력이 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2).

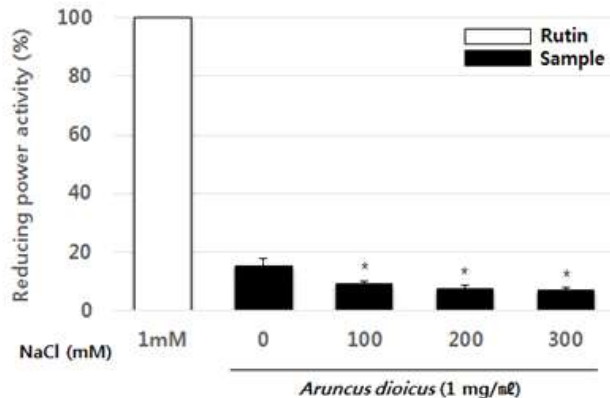


Fig. 2. The results of measuring Reducing power activity of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* treated with NaCl for a 30 days. Each value is mean S.D.; * $p < 0.05$ compared with control.

6. ABTS radical 소거활성

눈개승마의 염 농도별 처리에 따른 항산화 활성을 비교하기 위해 ABTS radical 소거활성을 측정한 결과, 염 처리를 하지 않은 대조구에서는 54.69%로 나타났으며 100 mM 처리수에서 34.67%, 200 mM 처리구에서 22.44%, 300 mM 처리구에서 18.65%로 NaCl 농도 증가에 따라 감소하였고 DPPH radical 소거활성과 환원력의 결과와 유사한 경향을 보였다(Fig. 3).

눈개승마 용매 추출물의 항산화 활성 연구에서 눈개승마 ethanol 추출물이 72.96%, 물 추출물에서는 17.20%의 소거활성을 나타냈다고 보고한 Kim 등(2011a)의 연구 결과 보다 비교

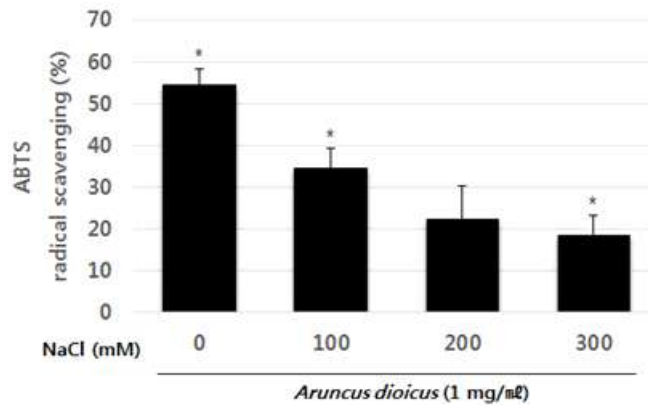


Fig. 3. The results of measuring ABTS radical scavenging activity of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* treated with NaCl for a 30 days. Each value is mean S.D.; * $p < 0.05$ compared with control.

적 낮은 활성을 보였다. 또한 Youn 등(2012)은 에탄올과 물 추출물의 RC_{50} 값이 각각 226.75 $\mu\text{g/ml}$, 366.15 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다고 보고하였으며 Lee 등(2005)의 연구에서는 RC_{50} 값이 40.65 $\mu\text{g/ml}$ 로 높게 나타났다. 추출 용매에 따른 차이가 있지만 눈개승마는 비교적 높은 수준의 항산화 활성을 보이거나 100 mM 이상의 염 농도에서는 활성이 감소됨을 확인하였다.

7. 세포 생존율

마우스 대식세포인 Raw 264.7 cell에 대한 눈개승마의 염 처리에 따른 세포독성 평가를 위하여 CCK assay를 통해 확인하였다. Kim 등(2011c)의 연구에서는 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서

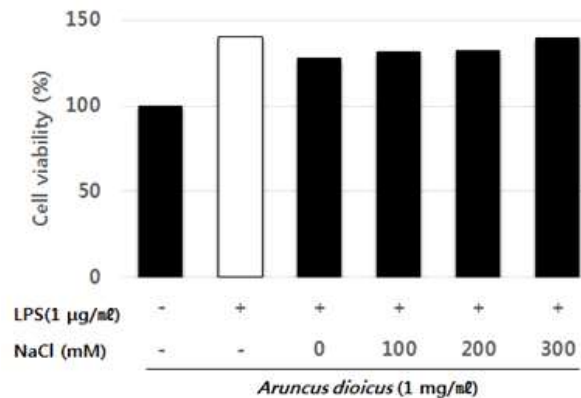


Fig. 4. Cell Cytotoxicity of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* treated with NaCl for a 30 days on Raw 264.7cell line.

세포 생존률이 20% 감소하였다고 하였는데 본 연구에서는 염 농도 0, 100, 200, 300 mM로 처리된 추출물 1000 µg/ml의 세포 생존율은 모두 100% 이상으로 세포에 대한 독성이 없음을 확인하였다(Fig. 4).

8. NO production

Nitric oxide (NO)는 면역반응, 세포독성, 신경전달계 및 혈관이완 등 여러 가지 생물학적인 과정에 관여하고 농도에 따라 세포 기능유지에 중요한 역할을 하며 세포독성을 일으키기도 한다고 알려져 있다(Moncada et al., 1991; Kim et al., 2011c). 염 처리에 의한 눈개승마의 항염증 효과에 미치는 영향을 알아보기 위해 LPS로 염증이 유도된 Raw 264.7 cell에서 염증 생성물질인 NO 생산량을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. 염 농도 0 mM인 대조구에서는 LPS에 비해 94.5%로 높은 수준의 생산량 억제 활성을 나타냈다. 그러나 염 처리를 하였을 때 NO 생산량 억제 활성은 100 mM 처리구에서 70%, 200 mM 처리구에서 63%, 300 mM 처리구에서 56.9%로 염 농도가 증가할수록 활성이 감소하는 경향을 보였다.

Kim 등(2011c)의 눈개승마의 항염증 효과에 대한 연구에서는 눈개승마 추출물 100 µg/ml에서 60% 이상의 NO 생성 억제 활성을 보였으며, 이 밖에 PGE₂와 염증 관련 cytokine 생산 억제 효과를 보여 염증성 질환의 치료에 유의할 것으로 판단하였다. 본 연구에서 수행한 눈개승마는 염 농도 100 mM 이상으로 처리하였을 때 염 스트레스로 인해 항염증 활성이 감소된 것으로 생각된다.

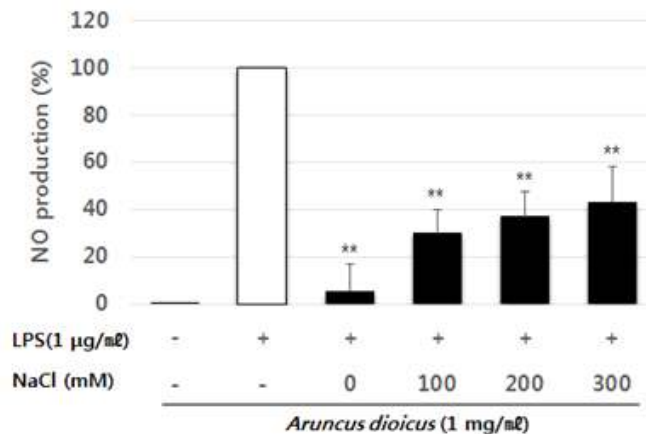


Fig. 5. NO production of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* treated with NaCl for a 30 days. Means different *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* at **p < 0.01

IV. 적 요

본 논문은 염(NaCl) 처리 시 눈개승마의 생육과 생리활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 0, 100, 200, 300 mM의 농도로 염 처리를 하였다. 처리 30일 후 초장, 엽폭, 엽장 및 무기이온 함량을 측정하여 생육에 미치는 영향을 조사하였고 생리활성에 미치는 영향을 확인하기 위해 항산화 활성 및 염증 생성 물질인 NO 생산량을 측정하였다. 그 결과, 염 처리 시 대조구에 비하여 생육 저하되었으며 염 농도 100, 200, 300 mM 처리구 간의 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았다. 무기이온 함량은 염 처리시 Na^+ 의 함량은 증가하였고 K^+ 의 함량은 감소하였으며 Ca^{2+} 함량은 염 처리 시 대조구에 비해 증가하였고 Mg^{2+} 함량에서는 차이를 보이지 않았으나, 100 mM 이상의 농도에서는 Na^+ 함량이 현저하게 증가됨에 따라 식물 생장에 불리한 K^+/Na^+ , $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$, $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$ 비를 초래하였다. 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량은 100 mM 이상의 염 농도에서 모두 감소하였으며 염 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. DPPH, ABTS radical 소거활성 및 환원력에서도 대조구에 비해 염 처리농도가 증가함에 따라 감소하였다. 염 처리 시 눈개승마의 마우스 대식세포 Raw 264.7 cell에서의 세포독성 및 항염증 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 CCK assay와 염증 생성 물질인 NO 생산량을 측정한 결과, 염 처리구에서 모두 100% 이상의 생존율을 보여 세포독성이 없음을 확인하였다. 또한, NO 생산량의 경우 항산화 활성의 경향과 마찬가지로 대조구에 비해 100 mM 이상의 염 처리구에서 NO 생산 억제 활성이 감소하는 경향을 보였다. 따라서, 염 처리시 100 mM 이상의 농도에서 눈개승마의 생육과 항산화, 항염증 활성이 저하됨을 확인하였으며, 이는 염 스트레스로 인해 성장과 생리활성 저하를 유발된 것으로 생각된다. 따라서, 눈개승마의 경우 100 mM 미만의 농도에서 생육 및 생리활성 유지에 적합한 조건을 확립하기 위한 추가 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

[Submitted, August. 25, 2017 ; Revised, October. 26, 2017 ; Accepted, October. 27, 2017]

References

1. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1198-1200.
2. Chae, S. K., G. S. Kang, S. J. Ma, K. W. Bang, M. W. Oh, and S. H. (2002). Standard food analysis. Paju, Korea. p.381-382.
3. Choi, W. Y., K. M. Cho, S. Kim, J. H. Jeong, S. H. Lee, K. B. Lee, G. H. Lee, and K.

- H. Park. 2015. Effect of PE Film Mulching and Irrigation Method on the Growth, Yield and Antioxidant Activity for Potatoes Grown in Winter Season at Saemangeum Reclaimed Land. Korean J. Crop Sci. 60(1): 63-69.
4. Choi, Y. and M. H. Jang. 2015. Effects of NaCl Treatment on Growth and Antioxidant Activity of Mints. J. People Plants Environ. 18(1): 53-60.
 5. Fox, T. C. and M. L. Guerinot. 1998. Molecular biology of cation transport in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 669-696.
 6. Green, L. C., D. A. Wagner, J. Glogowski, P. L. Skipper, J. S. Wishnok, and S. R. Tannenbaum. 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. Anal Biochem. 126(1): 131-138.
 7. Jeon, S. R. 2013. Studies on the Photosynthesis Responses and Water Relations Parameters of *Aruncus dioicus* var. *kamtschicus*. Department of Forestry Graduate School, Kangwon National University.
 8. Kang, C. H., W. Y. Choi, Y. J. Yoo, K. H. Choi, H. J. Kim, Y. J. Song, and C. K. Kim. 2014. The Growth Phase and Yield Difference of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) on Soil Salinity in Reclaimed Land. Korean J. Crop Sci. 59(4): 511-520.
 9. Khan, M. A. 2001. Experimental assessment of salinity tolerance of *Ceriops tagal* seedlings and saplings from the Indus delta, Pakistan. Aquatic Botany. 70(3): 259-268.
 10. Khan, M. A., I. A. Unjar, and A. M. Showalter. 2000. Effects of sodium chloride treatments of growth and ion accumulation of the halophyte *Haloxylon recurvum*. COMMUN. SOIL SCI. PLANT ANAL. 13: 2763-2774.
 11. Kim, D. H., B. J. An, S. G. Kim, T. S. Park, G. H. Park, and J. H. Son. 2011b. Antimelanogenic Effect of *Ligularia fischeri*, *Solidago virga-aurea*, *Aruncus dioicus* Extracts from Ullung Island in Murine Melanoma Cells. J. Life Science. 21(2): 297-285.
 12. Kim, D. H., B. J. An, S. G. Kim, T. S. Park, G. H. Park, and J. H. Son. 2011c. Anti-inflammatory Effect of *Ligularia fischeri*, *Solidago virga-aurea* and *Aruncus dioicus* Complex Extracts in Raw 264.7 Cells. J. Life Science. 21(5): 678-683.
 13. Kim, J. S. and T. K. Hyun. 2011. Effects of NaCl Stress on the Growth, Antioxidant Materials, and Inorganic Ion Content in Head Lettuce Seedlings. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 29(5): 433-440.
 14. Kim, J. S., I. S. Shim, and M. J. Kim. 2010. Physiological Response of Chinese Cabbage to Salt Stress. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28(3): 343-352.
 15. Kim, M. J. and Y. K. Lee. 2011. Antioxidative Ability of Some Produces in Ulleungdo and Quality Characteristics of the Taffy Made from the Produces. J East Asian Soc Dietary Life.

- 21(1): 60-67.
16. Kim, M. S. and H. Y. Sohn. 2014. Anti-thrombosis Activity of the Aerial Part of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*. J. Life Science. 24: 515-521.
 17. Kim, M. S., K. H. Kim, J. E. Jo, J. J. Choi, Y. J. Kim, J. H. Kim, S. A. Jang, and H. S. Yook. 2011a. Antioxidative and Antimicrobial Activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara Extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr. 40(1): 47-55.
 18. Kim, S. K., S. C. Lee, S. P. Lee, and B. S. Choi. 1998. Effects of Planting Date and Fertilization Amounts on Growth and Yield of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* HARA. Korean J. Plant. Res. 11(2): 142-145.
 19. Kim, S. W., Y. B. Kim, B. G. Choi, S. J. Lim, and D. K. Hong. 2015. Characteristics of farming and soil chemical properties on the fields of Goat beard (*Aruncus dioicus* Fern.). Korean J. Soil Sci. Fert. 2015(12): 93-94.
 20. Lee, B. M., S. I. Shm, S. G. Lee, B. H. Kang, I. M. Chung, and K. H. Kim. 1999. Physiological Response on Saline Tolerance between Halophytes and Glycophytes. Korean J Environ Agric. 18(1): 61-65.
 21. Lee, H. J. and S. E. Oh. 1994. Interrelationship between environmental stresses, reactive oxygen species and stress-ethylene. Korean J. Ecol. 17: 91-100.
 22. Lee, S. H., G. J. Choi, D. G. Lee, J. Y. Mun, K. Y. Kim, H. J. Ji, H. S. Park, and K. W. 2014. Effects of Sodium Chloride Treatment on Seed Germination and Seedling Growth of Italian Ryegrass Cultivars. J. Kor. Grassl. Forage Sci. 34(2): 108-113.
 23. Lee, S. O., H. J. Lee, M. H. Yu, H. G. Im, and I. S. Lee. 2005. Total Polyphenol Contents and Antioxidant Activities of Methanol Extracts from Vegetables produced in Ullung Island. KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. 37(2): 233-240.
 24. Lee, T. B. 2003. Coloured Flora of Korea (上). 郷文社, Korea. p.515.
 25. Moncada, S., R. M. Palmer, and E. A. Higgs. 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacological Reviews. 24: 109-142.
 26. Munns, R. and Termaat. 1986. Whole-plant responses to salinity. Australian Journal of Plant Physiology. 13: 143-160.
 27. Oyaizu, M. 1999. Studies on products of browning reaction: Antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Eiyogaku zasshi. 44(6): 307-315.
 28. Park, E. J., Y. G. Sohn, J. C. Park, and J. J. Lee. 2006. Effects of NaCl on the Growth and Inorganic Ion Contents of Green Pepper 'Nokwang' and Bell Pepper 'Newace'. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 24(1): 1-7.
 29. Park, H. C. 2012. 농업과학기술 연구조사분석 기준. Rural Development Administration,

- Korea. pp. 313-756.
30. 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 Biology & Medicine*. 26: 1231-1237.
 31. Shin, J. W., S. I. Lee, M. H. Woo, and S. D. Kim. 2008. Effect of Ethanol Extracts of Goat's Beard on Streptozotocin Induced Diabetic Symptoms and Oxidative Stress in Rats. *J East Asian Soc Dietary Life*. 18(6): 939-948.
 32. Singh, A. and R. Prasad. 2009. Salt stress effects growth and cell wall bound enzymes in *Arachis hypogaea* L. seedlings. *International Journal of Integrative Biology*. 7: 117-123.
 33. Velioglu, Y., G. Mazza, L. Gao, and B. Oomach. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem*. 46: 4113-4117.
 34. Youn, J. S., S. Y. Shin, Y. X. Wu, J. Y. Hwang, J. H. Cho, Y. G. Ha, J. K. Kim, M. J. Park, S. H. Lee, T. H. Kim, and T. W. Kim. 2012. Antioxidant and Anti-wrinkling Effects of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticuse* extract. *Korean J Food preserv*. 19(3): 393-399.