

속새(*Equisetum hyemale*) 추출물의 항산화 및 Elastase 저해 효과

송진화 · 송현숙 · 이거룡*

선문대학교 통합의학대학원 자연치유학과

Antioxidant and Elastase Inhibitory Effects of *Equisetum hyemale* Extract

Jin Hwa Song · Hyun Sook Song · Geo Lyong Lee*

Dept. of Naturopathy, Graduate School of Integrative Medicine, Sun Moon University, Asan, 31460, Korea

(Received June 2, 2021 / Revised August 24, 2021 / Accepted September 5, 2021)

Abstract Background: The presence of antioxidants was not confirmed in the medicinal plant *Equisetum hyemale* grass. **Purposes:** This study was to determine the antioxidant and elastase inhibition effects of extracts of *E. hyemale*. **Methods:** Antioxidant functions of *E. hyemale* stems and roots were measured and extracted with hot water (HW) and ethyl alcohol (70EOH, 100EOH). **Results:** The extraction yield of stems was higher in HW extraction than in ethyl alcohol extraction. The polyphenol content was significantly higher in the root extract than in the stem. Total flavonoid content of 70EOH extract was significantly higher in root extract than in stem. The elastase inhibitory function of the extract was 46% in the root and 49% in the stem at 100 ppm of the extract. The ABTS free radical scavenging function was in the order of HW<70EOH<100EOH<vitamin E (99.7%) at 50 ppm of the extract. And the order of DPPH free radical scavenging activity was HW<100EOH<70EOH<vitamin E (96.2%) when the extract concentration was 100 ppm. The removal rate of vitamin E, a positive control, was faster and higher than that of other extracts. **Conclusion:** *E. hyemale* grass extract had many antioxidants and showed an increased elastase inhibitory effect. Therefore, it is judged that the plant is one of the essential functional plants.

Key words *Equisetum hyemale*, Antioxidant, Elastase, Heat extract, DPPH

초록 배경: 약용식물 속새 풀에서 항산화물질의 존재는 확인되지 않았다. **목적:** 본 연구는 속새 풀의 추출물의 항산화와 elastase inhibition 효과를 조사하는 것이었다. **방법:** 속새의 줄기와 뿌리 부분을 채집하여 열수(HW) 및 에틸알코올(70EOH, 100EOH)로 추출한 물질들의 항산화 기능을 측정하였다. **결과:** 줄기의 추출 수율은 HW추출에서 에틸알코올 추출보다 높았다. 폴리페놀 함유량은 줄기보다 뿌리 추출물에서는 유의하게 높았다. 70EOH 추출물의 총 플라보노이드 함량은 줄기 보다는 뿌리 추출물에서 유의하게 높았다. 뿌리 추출액의 elastase 저해 기능은 추출액 100 ppm에서는 46%의 효과가 있었고, 줄기에서는 49%의 효과가 있었다. ABTS 유리기 소거 기능 순서는 추출액 50 ppm 농도에서는 HW<70EOH<100EOH<비타민E(99.7%)의 비율로 제거되었다. DPPH 유리기 소거능의 순서는 추출물 농도가 100 ppm일 때에 HW<100EOH<70EOH<비타민E(96.2%)로 나타났다. 양성 대조군인 비타민E의 제거율은 다른 추출물보다도 신속하고도 높게 진행되었다. **결론:** 속새 풀 추출물에는 다량의 항산화물질이 존재하며 엘라스타제 저해 기능 효과도 높게 나타났다. 그러므로 속새 풀은 중요한 기능성 식물 중의 하나라고 판단한다.

주제어 *Equisetum hyemale*, 항산화물질, Elastase, 열수 추출, DPPH

서 론

인체의 노화는 나이가 증가하면서 자연적으로 발생하며, 노화의 현상으로는 피부가 건조해지며 늘어지고 주름이 생기고, 진피 세포가 감소하며 자외선 방어기능이 저하되기도 한다(Kim, 2009). 세포에서 대사 과정에서 활성 산소를 생

성하게 되고, 이 활성 산소는 정상적인 세포를 파괴하거나 콜라겐과 엘라스틴 등 단백질을 감소시켜 주름 및 피부 노화를 일으킨다(Scharffetter-Kochanek, 1997; Fang *et al.*, 2002; Lee & Min, 2006; Valko *et al.*, 2007).

인체에는 활성 산소를 제거하는 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-

Authors positions – J.H. Song(Doctorate), H.S. Song(Prof.), G.R. Lee(Prof.)

*Corresponding author E-mail:leeashram@naver.com

* 선문대학교 석사학위 논문을 발취하여 게재함.

transferase, catalase 등의 항산화 효소를 가지고 있다(Borrello *et al.*, 1984). 그러나 다양한 환경오염 물질, 흡연, 스트레스 등에 의해 인체 내의 항산화계의 방어체계를 넘어가서 단백질 분해, DNA 손상 등을 유발하게 된다(Aischer & Hess, 1993). 항산화제로 butylated hydroxyanisole (BHA)과 butylated hydroxytoluene(BHT)와 같은 합성물질들이 개발되어 사용하나 다량을 섭취로 여러 가지 부작용이 나타날 수 있으므로 천연으로부터 안전하고 활용성이 높은 항산화물질을 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다(Kim *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2016; Choi & Lee, 2017; Choi *et al.*, 2021).

동물과 식물계에 널리 분포된 항산화물질은 피부 노화를 억제하는 기능이 있다. 과일과 채소에 많은 페놀성 화합물, 토코페롤, 아스코르브산, flavone유도체, 셀레늄과 같은 항산화물질은 지방의 산화를 방지하거나 지연시켜 노화 방지에도 중요한 역할을 한다(Block & Langseth, 1994).

식물계에 존재하는 천연 항산화물질의 연구는 많이 진행되고 있다. Lee *et al.*,(2015)는 *Aralia continentalis* kita(독활)의 에틸알코올 추출물에서 항산화 및 항염증 활성물질이 있는 것을 발견하였다. Lee *et al.*,(2016)은 *Fagopyrum tataricum* (흑메밀)의 에틸알코올 추출물에서 항산화 및 항염증 활성물질이 있는 것을 발견하였다. Choi & Lee(2016)는 운지버섯 자실체의 열수 추출물과 메탄올 추출물 연구에서 열수 추출물의 총 polyphenol 및 flavonoid 함량은 메탄올 함량보다 추출이 더 높았다고 하였다. Choi & Lee, (2017)는 *Cariolus versicolor* fruit body(구름송편버섯 자실체)의 열수와 methanol 추출물에서 아미노산의 성분을 분석하기도 하였다. 또한 Choi *et al.*,(2021)은 인도네시아 약초 중에서도 열수 추출물에 항산화 기능이 있음을 보고하였다.

천연물에서 항산화 활성을 측정하는 방법으로 DPPH 및 ABTS 자유기 소거 활성(Lee *et al.*, 2015, 2016; Choi & Lee, 2017, 2021), 총 페놀성 화합물의 양 측정, aldehyde의 산화억제 효과, 환원력 측정 등의 여러 가지가 보고되어 있다(Ha, 2005; Lee *et al.*, 2015, 2016; Choi & Lee, 2017, 2021).

우리나라의 산에 자생하는 여러 종류의 약용식물들이 많이 있다. 그중에서 속새(*Equisetum hyemale*) 풀은 지혈 및 간의 해독에 효과가 있다고 알려져 있다((Kor. Ass. for the Prevention of Geriatric Diseases, 2007). 그 외에도 여러 가지 질병에 효과가 있다는 보고가 있어서 속새 풀에 대하여 관심을 가지고 연구를 해 보고자 하였다.

속새는 속새과의 여러해살이풀로 깊은 산 응달진 습지에서 무리를 지어 자란다. 꽃과 열매 없이 포자낭으로 번식하는 식물이다(Solmoi, 2008). 한국(강원이북 및 제주), 일본, 중국 동북부, 시베리아, 캅카스, 투르키스탄, 유럽 및 북아메리카, 히말라야에 주로 분포하는 식물이다(Seung & Lee, 2014). 속새는 양치식물의 일종으로 성숙한 고사리 잎과 거의 같은 성질의 식물이다. 꽃이 피지 않고 작은 홀씨(포자)로 번식하는 식물의 양치식물은 관다발을 가지고 있고, 잎의 모양이 마치 양의 이빨처럼 생겼다고 양치식물이라고 부른다(Lee, 1999).

속새의 뿌리는 짧고 옆으로 뻗어있으며 지면 근처에서 여러 개로 갈라져 나온다(Seung & Lee, 2014). 속새의 줄기는 가늘고 긴 기둥 모양으로 가지가 없고, 많은 마디와 마디사이에는 10~18사이의 세로 방향으로 패인 가느다란 능선이 있다(Park, 2015). 줄기에 구산염이 축적되어 딱딱하고 까칠까칠하여서 나무를 가는 데 사용했다고 해서 목적(木賊)이라고도 불린다. 줄기 속은 비어있고, 맛을 보면, 달고 약간 쓰다(Park, 2015). 약초로써 활용이 되고 있다(Kor. Ass. for the Prevention of Geriatric Diseases, 2007).

속새 추출물의 피부 항산화 및 피부주름 개선에 관여하는 물질의 발견은 다양한 분야로 활용성을 높이는 효과가 있을 것으로 생각하였다.

본 연구에서는 속새 풀을 열수와 에틸알코올로 추출하여 항산화성의 확인과 elastase의 활성 저해력을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 속새(*Equisetum hyemale*)는 오대산 700 m 산지에서 2015년 8-9월에 채취한 재료를 식물의 지상부와 지하부로 나누고, 세척 후, 그늘에서 말린 것을 사용하였다.

시약 및 기기

본 실험에 사용된 모든 시약과 용매는 Sigma-Aldrich, Inc. (St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구매하여 사용하였다. 돼지 췌장에서 추출한 elastase를 활용하였고, 기질로는 Succ-Ala-Ala-p-nitroanilide (Sigma-Aldrich Inc., USA)을 이용하였다. 본 연구에서 사용한 분석용 기기들은 한국과학기술 연구원 (KIST) 천연물연구소(강원도 강릉시 사임당로 679)에 설치되어 있는 것을 이용하였다.

열수 추출

줄기 또는 뿌리 부위 100 g을 1L의 열수에서 추출하여 세척하여 건조한 다음에 환류 냉각관이 부착된 둥근 플라스크에 시교당 10배에 해당하는 증류수를 넣고 가열하며, 2시간 동안 추출한 뒤 이를 여과지로 여과하여 열수 추출액을 제조하였다. 열수 추출액을 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

줄기 부위의 에탄올 추출

줄기 또는 뿌리 100 g을 물로 세척 후에 건조한 다음에 실온에서 각각 100%-에탄올(100-EOH)과 70%-에탄올(70-EOH)에 2시간 초음파처리 후에 침전을 시킨 다음에 상층의 추출액을 여과(0.45 nm)하여 100%-EOH과 70%-EOH 추출액을 제조하였다. 각 추출액을 회전 진공 농축기(R-3000, Bushi, Switzerland)로 농축한 것을 동결건조기로 동결건조하여 각각 에탄올 추출물 시료로 사용하였다.

폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀(polyphenol) 함량은 Folin-Denis법(1912)에 의해 측정하였다. 각 추출물 동결 시료 10 mg를 증류수에 10 ml에 희석하였다. 희석한 각 시료 20 µl를 96-웰 플레이트에 넣고 다시 60 µl 증류수를 넣어 80 µl가 되도록 희석하였다. 여기에 Folin-Ciocalten 시약을 20 µl를 첨가하여 5분 동안 반응시킨 후, Na₂CO₃ 100 µl를 첨가하였다. 용액을 30분 후에 730 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량분석용 표준곡선은 갈릴산(gallic acid)과 탄닌산(tannic acid)으로 작성하였다. 이 표준곡선에서 Gallic acid equivalent mg/g, tannic acid equivalent mg/g 추출물로 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

플라보노이드 함량 측정

폴리페놀(Flavonoid) 분획물의 총 플라보노이드 함량은 Moreno *et al.*,(2000)의 방법을 수정하여 측정하였다. 각 동결 시료 10 mg를 증류수로 10 ml에 희석하여 20 µl를 96-웰 플레이트에 넣고 여기에 80 µl의 증류수를 넣어 100 µl로 한 다음, 여기에 100 µl의 AlCl₃·6H₂O를 첨가하여 5분 동안 반응시켰다. 이 반응물을 430 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질로 quercetin을 이용하여 표준곡선을 작성하였다. 이 표준곡선에서 총 플라보노이드 함량을 quercetin equivalent mg/g으로 구하였다.

엘라스타제 활성 저해 분석

속새의 줄기와 뿌리 부위의 추출물을 시험군으로 사용하였다. 기존에 주름억제 소재로 활용되고 있는 빈랑나무의 빈랑열매 추출물(대한민국 특허 10-1997-0078817)을 대조군 시료로써 이용하였다. 엘라스타제 활성 저해 작용을 시험하여 위하여 농도를 10, 20, 50, 100 ppm를 튜브에 넣어서 준비하였다. 먼저, 완충용액(0.267 M Tris 용액을 0.267 M 염산 용액으로 pH8.0이 되도록 조정) 1.0 ml에 엘라스타아제 기질 Succ-Ala-Ala-p-nitroanilide (Sigma-Aldrich, USA)을 4 mg 넣어 섞어서 8.8 mM 기질용액을 만들었다. 다음에 효소 엘라스타아제 10 µg/ml을 완충용액에 희석하였다. 이렇게 준비된 기질 용액과 각각의 시료를 섞은 후, 효소 용액을 첨가하여 25°C에서 15분간 반응시켰다. 반응 후, 405 nm에서 흡광도를 분광광도계로 측정하였다. 이때 대조군은 시료 대신 완충용액을 사용하였고, 블랭크(blank)는 완충용액과와 표본을 녹인 용매만을 사용하였다. 엘라스타아제 활성 억제율은 아래의 공식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Elastase 활성 억제율(\%)} = \frac{(\text{대조군의 흡광도} - \text{blank 흡광도}) - (\text{시험군 시료의 흡광도} - \text{blank 흡광도})}{\text{대조군의 흡광도} - \text{blank 흡광도}} \times 100$$

DPPH 자유기 소거 기능 측정

속새 추출물의 자유기를 소거 활성은 DPPH(1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl)의 유리기의 소거능에 대한 항산화 측정은 Blois(1958)의 방법을 수정하여 사용하였다. 각 시료를 70%

에탄올에 녹이어 희석하여 10~500 ppm의 시료 용액을 제조하였다. 비교 시료로 trolox를 같은 방법으로 용액을 제조하였다. 각각 희석한 시료와 에탄올을 96-웰에 넣은 후 DPPH 유리기를 첨가하여 30-60분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 비타민E를 이용하였다. Choi *et al.*,(2021)의 방법을 응용하여 계산하였다. DPPH 자유기 소거능(%)은 아래의 식을 통하여 산출하였다.

$$\text{DPPH 라디칼소거효과(\%)} = \frac{(\text{대조군의 흡광도} - \text{blank 흡광도}) - (\text{시험군 시료의 흡광도} - \text{blank 흡광도})}{\text{대조군의 흡광도} - \text{blank 흡광도}} \times 100$$

ABTS 자유기 소거능 측정

ABTS[2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 자유기 소거 활성은 Re *et al.*,(1999)의 방법을 수정하여 사용하였다. ABTS를 7 mM과 potassium persulfate 2.4 mM을 증류수에 용해하여 16시간 동안 암실에 방치하여 ABTS 자유기(ABTS^{•+})를 형성한 후 이 용액을 30배 희석했다. 그 후, ABTS 100 µl를 농도 별로 희석한 속새 추출물 시료 100 µl를 넣고 암실에서 10분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 비타민E를 이용하였다. 다음의 공식을 이용하여 ABTS 자유기 소거능(%)을 산출하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = [1 - (\frac{\text{sample} - \text{sample BLK}}{\text{sample} - \text{sample BLK}})] \times 100$$

결과 및 고찰

속새 추출물의 수율

오대산 지역 700 m 고지에서 자생하는 속새를 채취하여, 줄기 부위와 뿌리 부위로 나누고 그늘에서 건조한 것을, 건조 중량 100 g씩을 1.0 리터 플라스크에 넣고 열수, 70%, 100% 에탄올에서 추출한 후 여과한 것을 추출 농축하여 속새 추출물로 하였다.

속새 줄기 부위의 추출 방법에 따른 추출 수율을 비교한 결과는 Table 1에 제시하였다. 시료의 건조 중량에 대한 추출 수율은 열수 추출물(hot water extract)이 24.1%로 제일 높았고, 70% 에탄올 추출물이 17.4 %, 100% 에탄올 추출물이 10.7%로 나타났다. 열수 추출물에 가장 높게 나타났다.

뿌리와 줄기 부위의 총 폴리페놀 함량

속새 추출물의 항산화도를 시험하기 위하여 각 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. Table 2에

Table 1. Extraction yields of the stem parts of *E. hyemale*

Extract samples	Total yield (w/w, %)
Hot water	24.1
70% Ethanol	17.4
100% Ethanol	10.7

Table 2. Total polyphenol contents of the 70% ethanol extracts of the stem and root parts of *E. hyemale*

Extract samples	Total polyphenol contents(mg/g) in the extracts	
	Gallic acid equivalent	Tannic acid equivalent
Root	28.61 ± 1.4	54.56 ± 2.4
Stem	13.29 ± 0.1	28.05 ± 0.1

제시하였다. 총 폴리페놀 함량은 표준물질인 갈릴산과 탄닌산의 표준곡선에 대입하여 구하였다.

속새의 뿌리 추출물에서는 28.61 mg/g, 줄기에서는 13.29 mg/g의 폴리페놀 함량을 측정하였다. 폴리페놀성 화합물은 뿌리 부위가 줄기 부위 보다 2.2배 이상으로 유의하게 높은 함량을 보였다.

폴리페놀 함량을 탄닌산으로 환산 시에는 뿌리에는 54.56 mg/g, 줄기 부위에는 28.05 mg/g을 함유하고 있어서 뿌리에 줄기보다 2배 정도가 높았다. 약용식물 등에서 폴리페놀의 함유에 관한 연구는 여러 개 보고되었다.

Lee *et al.*, (2015)은 독활의 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀 함량은 12.88 mg/g의 함량으로 측정되었다. Lee *et al.*,(2016)는 흑메밀의 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀 함량은 152.72 µg/mg의 함량으로 측정되었다.

Choi & Lee. (2016)는 운지버섯 자실체의 열수 추출물과 메탄올 추출물 연구에서 열수에서는 총 polyphenol 함량은 129.60 mg/dl, 메틸알코올 추출물에서는 43.80 mg/dl로 보고하였다. 열수에서 추출이 85.8 mg/dl가 더 높았으며 높았다. 속새 추출물이 운지버섯 추출물보다 더 낮게 나타났다.

Choi *et al.*,(2021)은 인도네시아 식물 3종인 히비스커스 꽃잎, 모링가 겉씨와 해죽순을 열수 추출물에서 폴리페놀 함유량은 히비스커스 꽃잎에서는 13 mg/g, 모링가 겉씨에서는 19 mg/g 그리고 해죽순에서는 109 mg/g인 것을 보고하였다.

식물의 종류에 따라서 다양한 항산화물질이 존재하는 것을 알 수가 있었다. 본 연구의 속새 풀에서도 항산화물질인 폴리페놀과 플라보노이드가 다량 함유된 것을 확인하였다.

총 플라보노이드 함량

뿌리와 줄기의 추출물에서 총 플라보노이드 함량을 quercetin으로 표준곡선을 만들어서 측정한 결과는 Table 3에 제시하였다.

속새 뿌리를 70% 에틸알코올 추출물의 총 플라보노이드 함량은 6.38 mg/g, 줄기에서는 0.63 mg/g이 측정되었다.

식물에 항산화물질을 분석한 보고가 여러 개가 있다. Lee *et al.*, (2015)은 독활의 에탄올 추출물에서 총 플라보노이드 함량은 4.54 mg/g으로 높게 측정되었다. Lee *et al.*,(2016)은 흑메밀의 에탄올 추출물에서 총 플라보노이드 함량은 139.78 µg/mg인 것을 보고하였다. Choi & Lee(2016)는 운지버섯 자실체의 열수 추출물과 메탄올 추출물 연구에서 열수의 총 flavonoid 함량은 30.50 mg/dl, 메틸알코올 추출물에는 20.90 mg/dl이 들어 있었다, 열수 추출에서 더 높았다. 본 연구에서는 측정 단위가

Table 3. Total flavonoids contents of the 70% ethanol extracts of the stem and root parts of *E. hyemale*

Extract samples	Total flavonoid content (mg/g): quercetin equivalent
Root	6.38 ± 0.6
Stem	0.63 ± 0.3

gam 단위로 총 플라보노이드의 추출 수율이 더 높게 나타났다. Choi *et al.*,(2021)은 인도네시아 식물 3종인 히비스커스 꽃잎, 모링가 겉씨와 해죽순을 열수 추출물에서 플라보노이드 함유량은 해죽순에서는 13.40 mg/g을 확인하였으나, 히비스커스 꽃잎과 모링가 겉씨에서는 확인이 안 되었다고 보고하였다.

이와 다양한 약용식물에는 플라보노이드가 많이 함유된 것을 알 수가 있다. 본 속새 풀에서도 다량의 플라보노이드가 존재하는 것을 확인하였다.

엘라스타제 기능억제

속새 추출물의 elastase 억제 효과를 측정하여 Fig. 1에 제시하였다. 뿌리추출액 10 ppm에서는 10%, 20 ppm은 28%, 50 ppm에서는 32%, 그리고 100 ppm에서는 46%의 elastase 억제 효과가 있었다.

줄기 추출액에서는 10 ppm에서는 28%, 20 ppm은 31%, 50 ppm에서는 33%, 그리고 100 ppm에서는 49%의 elastase 억제가 있었다.

대조군인 빈랑나무 열매 추출액에서는 10 ppm에서는 24%, 20 ppm에서는 34%, 50 ppm에서는 33%, 그리고 100 ppm에서는 50%의 elastase 억제가 있었다.

결론적으로 보면 대조군인 빈랑나무 추출액보다는 약간 높은 억제력을 보였으나 그 차이는 크지가 아니하였다.

유사한 연구들로는 Choi & Lee (2016)는 운지버섯 자실체 열수 추출물(1, 2, 3 mg/ml)의 elastase 저해 활성은 각각 13.81, 14.24, 16.93으로 처리 농도에 따라 약간씩 증가하는 경향이 있으며, 이는 유의성이 인정되었다($p < .005$). 또한 메탄올 추출물에서는 11.40, 22.58, 32.93%로 처리 농도에 비례하여

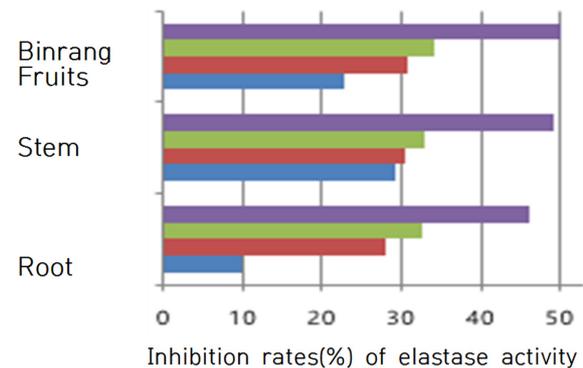


Fig. 1. The effects of elastase inhibition of the ethanol extracts of the stem and root parts of *E. hyemale*. Sample concentrations(ppm) used: blue indicates ten, red is 20, green is 50, and purple is 100.

Table 4. ABTS radical scavenging activity of the stem parts extracts of *E. Hyemale*

Extracts	Scavenging activity(%) in the concentrations of extracts(ppm)					
	10	20	50	100	200	500
HW	0.909	2.315	7.327	19.637	39.068	77.667
70EOH	1.612	3.283	11.284	22.714	41.178	77.227
100EOH	0.205	4.601	13.570	23.417	39.771	74.502
vit E	28.370	54.924	99.707	99.648		

Abbreviations: HW: Crude extract of the hot water, 70EOH: Crude extract of the 70% ethanol, 100EOH: Crude extract of the 100% ethanol, and Vit E: vitamin E. Values with different letters are significantly different ($p < .05$).

증가하는 경향이 있었다($p < .001$). 열수 추출물이 메탄올 추출물에서 매우 높게 나타났다. 본인 연구와 비교하여 볼 때에 단위가 ppm로 나타내서 결국은 환산하면 속새 추출물에서 더 높은 추출 효과가 있었고, 추출물의 농도에 비례하여 저해 기능이 높아지는 것은 유사하였다.

속새 추출물의 항산화 효과 : 유리기 소거능 측정

제조한 속새 줄기 부위의 열수 추출물(HW), 100%-알코올 추출물(100EOH), 70%-알코올 추출물(70EOH)에 대한 항산화 효과를 ABTS와 DPPH 유리기 소거능으로 측정하였다. ABTS 유리기 소거능 측정 결과는 Fig. 2와 Table 4에 제시하였다. DPPH 유리기 소거능 측정 결과는 Fig. 3~4, Tables 5~6에 제시하였다.

ABTS 유리기 소거는 매우 빠른 반응으로 대부분의 반응이 5분 이내에 종료되었다. 본 시험에서는 반응 후 10시에 소거능을 측정하였는데 소거반응이 대부분 완료된 시점이었다. 10 ppm 추출물에서 열수는 0.909%, SS70M은 1.6%, SSM은 0.205%, 비타민E는 28.37%의 비율로 제거되었다. 그러나 500 ppm농도에서는 제거율이 77.66%, 77.227%, 74.5%로

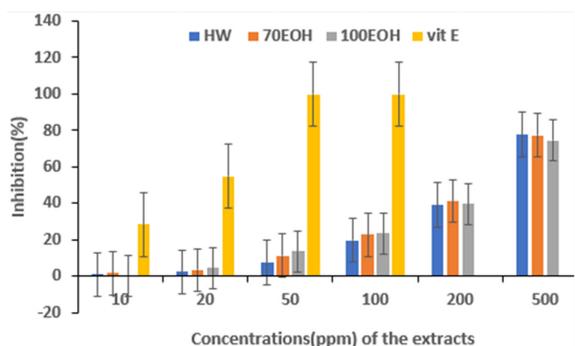


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of the stem parts extracts of *E. hyemale*. Abbreviations: HW: Crude extract of the hot water, 70EOH: Crude extract of the 70% ethanol, 100EOH: Crude extract of the 100% ethanol, and Vit E: vitamin E. Values with different letters are significantly different ($p < .05$). Column symbols (extracts): blue: HW, indian red: 70EOH, light purple: 100EOH, and yellow: vitamin E.

나타났다.

비타민E는 100 ppm에서 99.688%의 제거율을 나타내었다. 양성 대조군인 비타민E의 저해 활성은 여타 추출물보다도 매우 신속하게 진행되었다(Table 4).

DPPH 유리기 소거능을 반응 후 30분과 60분에 각각 측정하여 비교하였다. 그 결과 모든 추출물들이 10~50 ppm 저농도에서 시간이 지나감에 따라 유리기 소거능이 30분에 비해 60분이 2~4배 증가하였음을 알 수 있었다. 추출물 10 ppm에서 열수에서는 5.5%, 70EOH는 6.6%, 100EOH는 5.9%, 비타민E는 19.4%로 나타났다. 100 추출농도 100 ppm에서는 8.5, 12.8, 11.0 그리고 96.2%로 제거율이 나타났다. 비타민E가 단연 최고 높게 제거되었다. 농도의 증가에 따라서 제거율은 높아지는 경향을 나타내었다. 양성 대조군인 비타민E의 저해 활성은 다른 추출물 보다도 매우 신속하게 진행되었다 (Table 5).

유사한 연구 등이 보고되어 있다. Lee *et al.*,(2015)은 독활 에탄올 추출물은 DPPH 유리기를 10, 50, 100 µg/ml의 농도에서 각각 3.16, 20.53, 63.16%의 저해 활성을 보였고, RC₅₀ 값은 83.96 µg/ml로 우수한 DPPH 유리기 소거능을 보였다. 양성 대조군으로 사용된 ascorbic acid는 0.5, 1 µg/ml의 농도에서 각각 16.84, 57.89%의 저해 활성을 보였고, RC₅₀ 값은 0.90 µg/ml로 낮게 측정되었다. 농도에 비례적으로 저해 활성을 보고하였다. Lee *et al.*,(2016)은 흑메밀의 DPPH 유리기 소거능은 70% 에틸알코올 추출물 50µl에서 80%의 소거능을 나타내었다.

Choi & Lee(2016)는 운지버섯 자실체의 열수 추출물과 메탄올 추출물 연구에서 DPPH의 소거 활성은 열수 추출물 1 mg/ml에 비해서 3 mg/ml에서는 41.03%가, methanol 1 mg/ml에 비해서 3 mg/ml에서는 16.36%로 더 높았다. Choi *et al.*, (2021)은 인도네시아 식물 3종인 히비스쿠스 꽃잎, 모링가 겉씨와 해죽순을 열수 추출물의 항산화 활성 측정하기 위하여 DPPH 농도를 100 g/ml과 250 g/ml을 이용하였다. 히비스쿠스 꽃잎에서는 75.95~95.47%의 저해율이 나타났고, 모링가 겉씨에서는 20.91~74.76%, 해죽순에서는 96.86%와 98.43%의 저해율을 보여 주어서 DPPH의 소거활성이 높았다. ABTS 화합물의 소거 기능은 시료 100 µg/ml에서 히비

Table 5. DPPH radical scavenging activity of the stem parts extracts for 30 min reaction of *E. Hyemale*

Extracts	Scavenging activity(%) in the concentrations of extracts(ppm)					
	10	20	50	100	200	500
HW	2.306	2.350	3.725	6.475	9.534	21.774
70EOH	2.129	6.430	3.370	7.627	22.927	33.570
100EOH	1.330	1.064	3.947	10.776	7.805	18.670
vit E	17.029	35.166	83.947	96.275		

Abbreviations: HW: Crude extract of the hot water, 70EOH: Crude extract of the 70% ethanol, 100EOH: Crude extract of the 100% ethanol, and Vit E: vitamin E. Values with different letters are significantly different ($p < .05$).

Table 6. DPPH radical scavenging activity of the stem parts extracts for 60 min reaction of *E. hyemale*

Extracts	Scavenging activity(%) in the concentrations of extracts(ppm)					
	10	20	50	100	200	500
HW	5.565	7.739	4.696	8.522	14.174	29.783
70EOH	6.609	9.870	8.304	12.826	23.174	41.304
100EOH	5.957	6.522	6.783	11.043	12.522	26.087
vit E	19.435	34.522	85.217	96.217		

스커스 꽃잎에서는 91.96%의 저해율이 나타났고, 모링가 겉씨에서는 82.54%, 해죽순에서는 92.61%의 저해율을 보여 주어서 ABTS의 소거 활성이 높았다. 본 연구의 속새 추출물에서 높은 소거 기능을 나타냈다고 판단된다. 농도에 비례하여 증가하는 경향은 본 연구의 추출물은 폴리페놀 및 플라보노이드 함량의 결과와 비례적으로 일치하는 것으로 나타났다.

결 론

새로운 약용식물에서 항산화물질의 존재가 확인되면 이용성이 높다.

본 연구는 속새 풀의 추출물의 항산화에 효과를 확인하는 것이 목적이었다. 속새 풀의 줄기와 뿌리 부분을 채집하여 열수, 70% 에틸알코올과 100% 알코올에서 추출한 물질들의 항산화 기능을 분광광도계로 측정하였다.

1. 속새 줄기 부위의 추출 수율은 열수 추출물이 24.1%, 70% 에탄올이 17.4%, 100% 에탄올이 10.7%로 나타났다. 열수 추출물이 가장 높게 나타났다.

2. 폴리페놀 함유량은 뿌리에서는 28.61 mg/g, 줄기에서는 13.29 mg/g로 뿌리 부위가 2.2배 이상으로 유의하게 높은 함량을 보였다. 탄닌산 기준으로 환산에서는 뿌리에는 54.56 mg/g, 줄기에는 28.05 mg/g를 함유하고 있어서 뿌리에는 줄기보다 2배 정도가 유의하게 높았다.

3. 총 플라보노이드 함량은 뿌리의 70% 에틸알코올 추출물에는 6.38 mg/g, 줄기에는 0.63 mg/g이 측정되었다.

4. 뿌리 추출액의 elastase 저해 기능은 추출액 10 ppm에서는 10%, 20 ppm은 28%, 50 ppm에서는 32%, 그리고 100 ppm에서는 46%의 억제 효과가 있었다.

5. 줄기 추출액의 elastase 저해 기능은 추출액 10 ppm에서는 28%, 20 ppm은 31%, 50 ppm에서는 33%, 그리고 100 ppm에서는 49%의 억제 효과가 있었다.

6. 대조군인 빈랑나무 열매 추출액의 elastase 저해능은 추출액 10 ppm에서는 24%, 20 ppm에서는 34%, 50 ppm에서는 33%, 그리고 100 ppm에서는 50%의 억제가 있었다.

7. ABTS 유리기 소거 기능은 열수 추출액 10 ppm에서는 0.909%, 70% 알코올은 1.6%, 100% 알코올은 0.205%, 비타민 E는 28.37%의 비율로 제거되었다. 그러나 추출액 500

ppm농도에서는 제거율이 77.66%, 77.227%, 74.5%로 나타났다. 비타민E는 100 ppm에서 99.688%의 제거율을 나타내었다. 양성 대조군인 비타민E의 저해 활성은 여타 추출물보다도 매우 신속하게 진행되었다

8. DPPH 유리기 소거능을 반응 추출물 10 ppm에서 열수 추출물은 5.5%, 70% 에틸알코올은 6.6%, 100% 에틸알코올은 5.9%, 비타민E는 19.4%로 나타났다. 100 ppm 추출농도에서는 8.5, 12.8, 11.0% 그리고 비타민E는 96.2%로 제거율이 나타났다. 비타민E가 단연 최고 높게 제거되었다.

결론적으로 보면 속새 풀 추출물에는 다량의 항산화물질이 존재하며 엘라스타제 저해 기능 효과도 높게 나타났다.

References

Aischer, R.G. and J.L. Hess. 1993. Antioxidants in higher plants. CRC Press, Boca Raton, pp.1-17.

Block, G. and L. Langseth. 1994. Antioxidant vitamins and disease prevention. Food Techn. 48(1): 80-85.

Borrello, S., A. Seccia, T. Galleotti, G.M. Bartoli, E. Farallo, and F. Serri. 1984. Protective enzymes in human epidermal carcinomas and psoriasis. Arch. Dermatol. Res. 276(5): 338-340. doi: 10.1007/BF00404630.

Choi, J.H., J.W. Hwang, S.G. Lee, S.H. Heo, and H. Kang. 2021. Antioxidant effect of hot water extract from 3 types Indonesia plants(*H. petal*, *M. oleifera*, and *N. fruticans*). J. Naturopathy 10(1): 42-47. doi:10.33562/JN.2021.10.1.6

Choi, B.Y. and H.H. Lee. 2016. Antioxidant and physiological activities of *Coriolus versicolor* fruit body crude extracts. J. Kor. Acad. Indust. Co. Soc. 17(8): 415-422.

Choi, B.Y. and H.H. Lee. 2017. Amino acids in hot and methanol extracts of *Cariolus versicolor* fruit body. J. Naturopathy 6(1,2): 16-22.

Fang, Y. Z., S. Yang, and G. Wu. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutr. 18: 872-879.

Folin, O. and W. Denis. 1912. On phosphotunstic-phosphomolybdc compounds as color reagents. J. Biol. Chem. 12(2): 239-249.

Ha, D.S. 2005. Studies on the effects of antioxidants and genotoxicity of traditional medicinal plants. Kyeongsang University Master's thesis.

Kim, S.M., Y.S. Cho, E.J. Kim, M.J. Bae, J.P. Han, S.H. Lee, and S.K. Sung. 1988. Effect of water extracts of *Salvia miltorrhiza* Bge., *Prunus persica* Stokes, *Angelica gigas* Nakai and *Pinus strobus* on lipid oxidation. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 27: 339-405.

Kim, Y.H. 2009. Skin whitening and anti-wrinkle activities of *Vaccinium uliginosm* L. and its action mechanism. Kyunghee University Doctoral Dissertation.

Korean Association for the Prevention of Geriatric Diseases. 2007. Encyclopedia of herbal medicine. Itembooks Pub., Seoul, p.457.

- Lee, C.H. 1999. Characters and mass propagation of *Pteridophyta* native to Korea. Kor. Soc. Plant Resour. 1999(1): 1-10.
- Lee, J.H., and D.B. Min. 2006. Nutraceuticals, aging, and food oxidation. Handbook of Functional Lipids. Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, USA. pp. 325-350.
- Lee, S.G., D.J. Jo, H.J. Chang, and H. Kang. 2015. Antioxidant and anti-inflammaory activities of ethanol extracts from *Aralia continentalis* Kitagawa. J. Naturopathy 4(1 & 2): 10-14.
- Lee, S.G., S.Y. Park, I.C Hwang, and H. Kang. 2016. Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extract from *Fagopyum tataricum*. J. Naturopathy 5(1 & 2): 9-14.
- Moreno, M.I.N., M.I. Isla, A.R. Sampietro, and M.A. Vattuone. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharm. 71(1): 109- 114.
- Park, J.C. 2015. Herbal medicine great encyclopedia. Paju, Kyunggido.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. RiceEvans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biol. Med. 26(9): 1231-1237.
- Scharffetter-Kochanek, K. 1997. Photoaging of the connective tissue of skin: its prevention and therapy, antioxidants in disease mechanism and therapy. Adv. Pharmacol. 38(1996): 639-55. doi:10.1016/s1054-3589(08)61003-0.
- Sol Moi. 2008. Plants that are good for the body recognized by the power of mountains. Donghaksa Pub., Paju, Kyunggido.
- Seung, H.G. and Y.H. Lee. 2014. New herbal medicine Donguibogam. Blue-Happy Pub., Goyang, Kyungkido.
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M.T.D. Cronin, M. Mazur, and J. Telser. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell B. 39(1): 44-84.