



Note: Food Science

Nitrite scavenging and lipid peroxidation inhibitory effects of solvent fractions from *Phragmites communis* rhizome extract

Man-Jin In¹ · Nam-Soon Oh² · Dong Chung Kim¹

갈대(*Phragmites communis*) 뿌리 추출물로부터 얻어진 용매 분획물의 아질산염 소거 및 지질과산화 억제 효과

인만진¹ · 오남순² · 김동청¹

Received: 23 November 2022 / Accepted: 13 December 2022 / Published Online: 31 December 2022
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

Abstract *Phragmites communis* rhizome (*Phragmites rhizoma*) was extracted with 70% ethanol, and then the extract was fractionated sequentially using n-hexane, chloroform, and ethyl acetate as solvents. Among the solvent fractions of *Phragmites rhizoma* extract, the polyphenol content in ethyl acetate fraction was the highest. The chloroform and ethyl acetate fractions possessed a good nitrite scavenging activity. In addition, each solvent fraction showed an effective lipid peroxidation inhibitory ability at a concentration of 10 mg/mL.

Keywords Lipid peroxidation inhibitory · Nitrite scavenging · *Phragmites communis* rhizome · Polyphenol · Solvent fractions

서 론

갈대(*Phragmites communis*)는 우리나라를 비롯한 동아시아의 온대 지역의 습지에서 잘 자라는 수변 식물로 예부터 갈대 뿌리는 민간에서 발열과 구토 완화 및 이뇨 촉진에 사용되어왔다[1]. 갈대 뿌리의 물 추출물은 유전독성이 없고 돌연변이를 유발하지 않는 것으로 나타나[2], 안전한 식품 소재로의 활용가능성이 있는 것으로 알려져 있다[3]. 갈대 뿌리 추출물은 항염증, 항균 및 간세포 보호 효과를 가진 것으로 보고되었고[4-6], 갈대 뿌리의 다당체는 동물실험에서 아토피성 피부염을 완화시켰다[7]. 갈대 뿌리의 생리활성 물질 중 stigmasta-3,5-dien-7-one은 항염증 효과를 나타내는 성분이었고[5], β -sitosterol과 *p*-coumaric acid는 동물실험에서 혈중 중성지방의 농도를 낮춤으로써 고지혈증 완화에 효과적인 것으로 알려져 있다[8]. 또한 갈대 뿌리에 들어있는 coisol과 비타민 C는 자외선 차단작용과 피부미백 효과를 가진 것으로 보고되었다[9,10].

갈대 뿌리 추출물의 항산화 효과로는 DPPH 유리라디칼 소거, 과산화수소 소거 및 tyrosinase 저해활성이 보고된 바 있다[10-12]. 본 연구에서는 갈대뿌리를 70% 에탄올 수용액으로 추출하고 극성이 다른 용매를 이용하여 분획한 후 아질산염 소거능과 지질과산화 억제능을 확인함으로써 갈대뿌리 추출물을 다양한 항산화 소재로서의 활용가능성을 모색하고자 하였다.

재료 및 방법

갈대 뿌리의 추출 및 용매 분획

갈대 뿌리는 전라남도 순천시 순천만에서 채집한 것을 갈대나라(Suncheon, Republic of Korea)에서 제공받았다. 갈대 뿌리는

Dong Chung Kim (✉)
E-mail: kimdc@chungwoon.ac.kr

¹Department of Chemical Engineering, Chungwoon University, Incheon 22100, Republic of Korea

²Department of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan 32439, Republic of Korea

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.

건조한 후 분쇄하여 200 mesh 체로 걸러 사용하였다. 100 g의 갈대 뿌리 분말에 500 mL의 70% (v/v) 에탄올 수용액을 넣고 실온에서 12시간 추출한 다음 원심분리(3,000×g, 10분)로 상등액을 얻어 동결건조하였다. 갈대 뿌리 동결건조물은 200 mL 증류수에 녹인 후 n-hexane을 600 mL 가하고 잘 흔들어서 섞어 주었다. 층 분리가 일어나면 n-hexane 층을 회수하고 물 층에 chloroform 600 mL을 가하여 동일한 방법으로 chloroform 층을 회수하였다. 남아있는 물 층에 ethyl acetate 600 mL을 가하여 같은 방법으로 ethyl acetate 층을 회수하였다. 각 용매 분획은 진공농축과 동결건조한 후 수율을 구하였고 농도별로 용해하여 사용하였다.

폴리페놀 함량

갈대 뿌리 추출물과 분획물의 폴리페놀 함량은 Singleton과 Rossi의 방법을 이용하여 측정하였다[13]. 희석한 추출물 또는 분획물 시료 1 mL과 2배 희석한 Folin-Ciocalteu 시약 1 mL을 혼합하여 실온에서 10분 동안 반응시키고, 1 mL의 6% sodium carbonate 용액을 첨가하여 1시간 정치시킨 후 725 nm의 흡광도를 측정하여 폴리페놀 함량을 mL당 µg gallic acid 당량 (GAE)으로 나타내었다.

아질산염 소거능 및 지질과산화 억제능

갈대 뿌리 추출분획물의 아질산염 소거 활성은 Gray와 Dugan의 방법을 사용하여 측정하였다[14]. 1 mM sodium nitrite 용액 1 mL과 갈대 뿌리 추출분획물 1 mL을 pH 1.2의 0.2 M 구연산 완충용액 8 mL에 첨가하고 37 °C에서 1시간 동안 정치시킨 후, 2% 아세트산 용액 3 mL과 Griess 시약 0.5 mL을 넣어 실온에서 1시간 반응시킨 다음 520 nm의 흡광도를 측정하여 소거능을 계산하였고 양성대조군인 L-ascorbic acid와 비교하였다.

갈대 뿌리 추출분획물의 지질과산화 억제활성은 Kubo 등의 방법을 적용하여 측정하였다[15]. 농도를 10 mg/mL로 맞춘 각 갈대 뿌리 추출분획물 1 mL과 2.5 mg/mL 농도의 linoleic acid를 50 mM 인산 완충용액(pH 7.0)에 넣고 40 °C에서 48시간 정치시키면서 매 12시간마다 시료를 0.2 mL씩 채취하였다. 시료 0.2 mL을 9.4 mL의 75% 에탄올 용액과 혼합한 후 0.2 mL의 30% ammonium thiocyanate 용액을 가하고 실온에서 5분간 정치시켰다. 이후 0.2 mL의 20 mM ferrous chloride 용액을 가한 후 500 nm의 흡광도를 측정하여 지질과산화 억제활성을 계산하였다.

아질산염 소거와 지질과산화 억제 효과의 데이터는 평균±표준편차로 나타내었고, Excel 2010 (Microsoft Co., Redmond, WA, USA) 프로그램의 t-test를 통해 통계적 유의성을 검정하였다(p < 0.05).

결과 및 고찰

갈대 뿌리의 70% 에탄올 추출물의 수율은 2.11±0.14%이었고, 폴리페놀 함량은 349.3±22.2 µg GAE/mL로 나타났다. 갈대 뿌리 추출물을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate 분획 및 잔여물 층으로 나누어 수율과 폴리페놀 함량을 확인하였다. 갈대 뿌리 100 g을 기준으로 하였을 때 용매 분획하고 남은 물 층에

Table 1 Yield and polyphenol content of solvent fractions from *Phragmites communis* rhizome extract

Fractions	Yield ¹⁾ (mg/100 g)	polyphenol content ¹⁾ (µg GAE/mL)
n-Hexane	149.0±9.6	11.8±0.6
Chloroform	617.3±52.1	80.5±1.2
Ethyl acetate	220.7±41.6	139.2±3.4
Residual	676.7±57.0	107.6±1.4

¹⁾Data represented means and SD of triplicate measurements

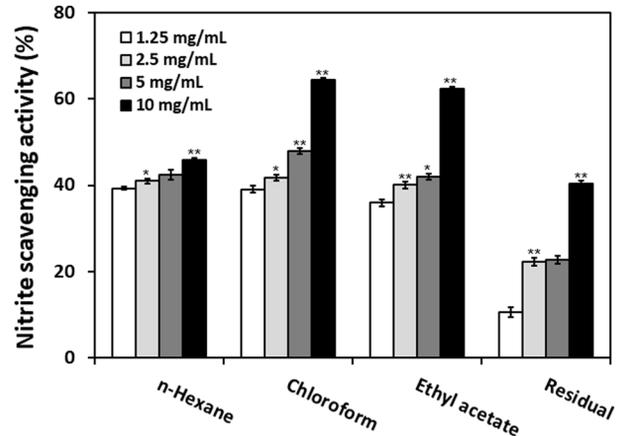


Fig. 1 Nitrite scavenging activities of n-hexane, chloroform, ethyl acetate and residual fractions of 70% ethanolic extract from *Phragmites communis* rhizome as a function of concentration. Data were means and SD of triplicate measurements. Significantly different from the value of previous group (*p < 0.05; **p < 0.01)

676.7±57.0 mg으로 고형분이 가장 많았고, chloroform 분획이 617.3±52.1 mg으로 그 다음 높았다(Table 1). 폴리페놀 함량은 ethyl acetate > chloroform > n-hexane 분획 순으로 높았고(Table 1), 각 분획의 폴리페놀 함량은 용매의 극성 및 유전 상수와 상관관계를 보였다. 그러나 갈대 뿌리 에탄올 추출물의 폴리페놀 중 상당량은 여전히 물 층에 잔류하고 있음을 확인할 수 있었다(Table 1). 폴리페놀은 ethyl acetate 분획에서 139.2±3.4 µg GAE/mL로 chloroform 분획 보다 1.73배 높았다. 이러한 결과는 순무(*Brassica rapa* L.) 뿌리와 망고(*Mangifera indica*) 잎 추출물에서도 ethyl acetate 분획이 가장 높은 폴리페놀 함량을 갖는다는 보고와 일치하였다[16,17]. 극단적인 비극성 용매는 식물의 페놀성 화합물을 추출하는데 적합하지 않고 ethyl acetate와 같이 극성과 비극성의 성질을 동시에 갖는 용매가 폴리페놀의 추출에 효과적이라고 알려져 있다[18,19].

갈대 뿌리 에탄올 추출물의 각 분획물은 농도의존적으로 발암성 nitrosamine의 원인 물질인 아질산염을 소거하였다(Fig. 1). 아질산염 소거능은 chloroform 분획과 ethyl acetate 분획에서 비슷한 수준으로 우수하게 나타났고, n-hexane 분획과 잔류물 층에서는 낮게 나타났다. 아질산염을 50% 소거하는 농도인 IC₅₀ 값은 chloroform 분획에서 5.28 mg/mL 및 ethyl acetate 분획에서 6.34 mg/mL이었다. 양성대조군인 L-ascorbic acid의 IC₅₀ 값이 540 µg/mL인 것으로 보아 chloroform과 ethyl acetate 분획물의

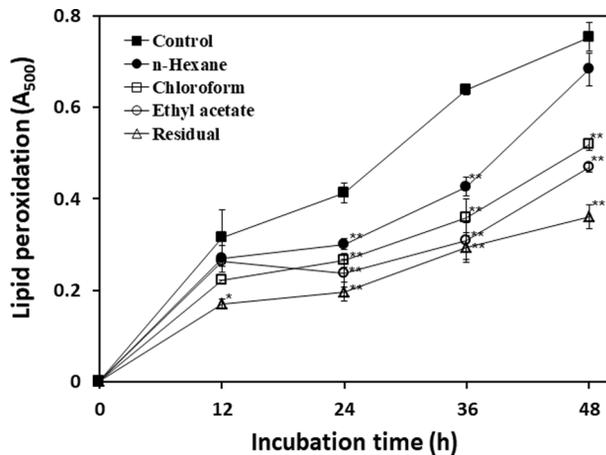


Fig. 2 Lipid peroxidation inhibitory abilities of n-hexane, chloroform, ethyl acetate and residual fractions of 70% ethanolic extract from *Phragmites communis* rhizome as a function of incubation time. Each fraction was used at a concentration of 10 mg/mL. The control group was subjected to lipid peroxidation reaction without the addition of the extract fractions. Data were means and SD of triplicate measurements. Significantly different from the value of control group (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

아질산염 소거 활성은 L-ascorbic acid보다 낮은 것으로 나타났다. 식용 또는 약용으로 사용되는 다른 식물의 뿌리 추출물과 비교하였을 때, 아질산염 소거에 대한 IC₅₀값은 인삼(*Panax ginseng*) 추출물이 4.78 mg/mL [20], 전칠삼(*Panax notoginseng*) 추출물이 3.52 mg/mL [20], 삼채(*Allium hookeri*) 뿌리 추출물이 4.27 mg/mL [21]로 나타나 본 연구의 갈대 뿌리 chloroform 분획물의 아질산염 소거능과 비슷한 수준이었다. 일반적으로 식물 추출물의 아질산염 소거능은 폴리페놀 화합물의 함량에 비례한다[22]. 식물의 폴리페놀 함량은 부위에 따라서 차이가 있는데 잎에 가장 많고 뿌리에 낮은 것으로 알려져 있어[20,23], 뿌리 추출물의 아질산염 소거활성이 잎 추출물보다는 낮게 나타난다.

갈대 뿌리 에탄올 추출물의 각 용매 분획을 10 mg/mL의 농도로 지질 산화 반응에 첨가한 결과, 대조군의 지질과산화는 시간에 따라 크게 증가한 반면 각 분획물을 첨가한 실험군에서는 유의하게 억제되었다(Fig. 2). 지질과산화 억제 활성은 반응 48 시간에서 ethyl acetate > chloroform > n-hexane 분획 순으로 높았다(Fig. 2). Ethyl acetate 분획물은 지질과산화를 37.8%, chloroform 분획물은 31.2% 억제하였다($p < 0.01$). 그러나 남은 물 층에 지질과산화를 억제하는 생리활성 물질이 여전히 상당량 잔류하고 있어 52.2%의 지질과산화 억제능을 보여주었다($p < 0.01$). 각 용매 분획물들의 지질과산화 억제 활성은 폴리페놀 함량과 양의 상관관계를 보였다. 순무(*Brassica rapa* L.) 뿌리의 70% 에탄올 추출물을 용매 분획하였을 때도 지질과산화 억제능이 ethyl acetate > chloroform > n-hexane 분획 순이어서 본 연구와 동일한 결과를 보여주었다[16]. 불포화 지방산과 활성 산소종의 반응에 의해 지질과산화가 유도되고 결국 세포막에 손상을 주는 지질 라디칼과 과산화 지질을 형성하는데[17], 항산화 물질은 유리라디칼을 제거하고 촉매 금속을 킬레이트화함으로써 지질과산화를 억제한다[24].

이상의 결과에서 갈대 뿌리의 70% 에탄올 추출물의 용매 분획물은 용매의 극성에 따라 폴리페놀 함량에 차이가 있었고, ethyl acetate와 chloroform 분획물에서 아질산염 소거능과 지질과산화 억제활성이 우수한 것으로 나타났다. 따라서 갈대 뿌리 추출물은 항산화 생리활성 소재로의 활용가능성을 보여주었다.

초 록

갈대(*Phragmites communis*) 뿌리를 70% 에탄올 수용액으로 추출한 후 n-hexane, chloroform 및 ethyl acetate를 사용하여 순차적으로 분획하였다. 갈대 뿌리 에탄올 추출물의 분획물 중 ethyl acetate 분획의 폴리페놀 함량이 가장 높았다. 갈대 뿌리 추출물의 chloroform과 ethyl acetate 분획물은 우수한 아질산염 소거 능력을 나타내었다. 또한 각 용매 분획물은 10 mg/mL 농도에서 효과적인 지질과산화 억제능을 보여주었다.

Keywords 갈대(*Phragmites communis*) 뿌리 · 아질산염 소거 · 용매 분획 · 지질과산화 억제 · 폴리페놀

References

- Park JC, Choi G (2016) Review on herbal medicinal materials in the Korean pharmacopoeia and the Korean herbal pharmacopoeia. Korean Herb Med Inf 4: 9–35
- Kim NS, Shin S, Shin GG, Bang OS (2019) Genotoxicity evaluation of a *Phragmites* rhizoma extract using a standard battery of *in vitro* and *in vivo* assays. J Ethnopharmacol 241: 112025. doi: 10.1016/j.jep.2019.112025
- Derouiche S, Azzi M, Hamida A (2017) Effect of extracts aqueous of *Phragmites australis* on carbohydrate metabolism, some enzyme activities and pancreatic islet tissue in alloxan-induced diabetic rats. Int J Pharm Pharm Sci 9: 54–58. doi: 10.22159/ijpps.2017v9i6.17321
- Mo JH, Oh SJ (2011) A study on P. Rhizoma extract's anti-microbial activity and cytotoxicity. Asian J Beauty Cosmetol 9: 1–12
- Park SJ, Kim YW, Park MK, Byun SH, Kim SC, Lee JR (2016) Anti-inflammatory steroid from *Phragmites* rhizoma modulates LPS-mediated signaling through inhibition of NF- κ B pathway. Inflammation 39: 727–734. doi: 10.1007/s10753-015-0299-6
- Chen S, Ju M, Luo Y, Chen Z, Zhao C, Zhou Y, Fu J (2013) Hepatoprotective and antioxidant activities of the aqueous extract from the rhizome of *Phragmites australis*. Z Naturforsch 68: 439–444. doi: 10.1515/znc-2013-11-1202
- Nam Y, Chung TH, Chu LY, Lee HS, Park ES, Hwang KW, Kim DS, Kim HD, Je HD, Shin YK, Jeong JH (2013) Inhibitory effects of polysaccharide-rich extract of *Phragmites* rhizoma on atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. Life Sci 92: 866–872. doi: 10.1016/j.lfs.2013.03.001
- Choi JS, Lee JH, Young HS (1995) Anti-hyperlipidemic effect of *Phragmites communis* and its active principles. J Korean Soc Food Nutr 24: 523–529
- Mo JH, Oh SJ, Kim KR (2013) Comparison on the antioxidative activity of ethanol and hot water extracts of *Phragmites* rhizoma. J Korean Soc Cosmetology 19: 809–814
- Ha CW, Kim SH, Lee SR, Jang S, Namkoong S, Hong S, Lim H, Kim YK, Sohn EH (2020) Anti-skin aging potential of alcoholic extract of *Phragmites communis* rhizome. Korean J Plant Res 33: 604–614. doi: 10.7732/kjpr.2020.33.6.604

11. Choi SE, Yoon JH, Park KH, Kim KY, Song YJ, Jin HY, Lee MW (2014) Whitening activity of phenolic compounds from rhizome of *Phragmites communis*. *Nat Prod Sci* 20: 269–273
12. Koo HJ, Ha CW, Kim SH, Jang SH, Lim HS, Kim YK, Sohn EH (2021) Evaluation of whitening, anti-wrinkle, and moisturizing effects of *Phragmites rhizoma*. *JKAIS* 22: 277–286. doi: 10.5762/KAIS.2021.22.11.277
13. Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144–158
14. Gray JI, Dugan Jr LR (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981–985. doi: 10.1111/j.1365-2621.1975.tb02248.x
15. Kubo I, Masuoka N, Xiao P, Haraguchi H (2002) Antioxidant activity of dodecyl gallate. *J Agric Food Chem* 50: 3533–3539. doi: 10.1021/jf011250h
16. Ryu JP, Kim DC, In MJ, Chae HJ, Lee SD (2012) Antioxidant potential of ethanol extract of *Brassica rapa* L. root. *J Med Plant Res* 6: 1581–1584. doi: 10.5897/JMPR11.1068
17. Badmus JA, Adedosu TO, Fatoki JO, Adegbite VA, Adaramoye OA, Odunola OA (2011) Lipid peroxidation inhibition and antiradical activities of some leaf fractions of *Mangifera indica*. *Acta Pol Pharm Drug Res* 68: 23–29
18. Benerjee SK, Bonde CG (2011) Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Bridelia retusa* Spreng bark: impact of dielectric constant and geographical location. *J Med Plant Res* 5: 817–822. doi: 10.5897/JMPR.9001249
19. Pérez MB, Calderón NL, Croci CA (2007) Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chem* 104: 585–592. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.12.009
20. In MJ, Kim DC (2021) Antioxidant potential of root extracts of *Panax ginseng* and *Panax notoginseng*. *J Appl Biol Chem* 64: 407–411. doi: 10.3839/jabc.2021.055
21. Zhang C, Tong T, Kim CK, Liu Y, Seo HJ, Kim BS, Kang SG (2015) Antioxidant and anti-inflammatory properties of extracts from *Allium hookeri* root. *Korean J Food Preserv* 22: 867–877. doi: 10.11002/kjfp.2015.22.6.867
22. Sun J, He XM, Zhao MM, Li L, Li CB, Dong Y (2014) Antioxidant and nitrite-scavenging capacities of phenolic compounds from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) tops. *Molecules* 19: 13147–13160. doi: 10.3390/molecules190913147
23. Lee SJ, Song EJ, Lee SY, Kim KBWR, Kim SJ, Yoon SY, Lee CJ, Ahn DH (2009) Antioxidant activity of leaf, stem and root extracts from *Orostachys japonicus* and their heat and pH stabilities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1571–1579. doi: 10.3746/jkfn.2009.38.11.1571
24. Shyamala gowri S, Vasantha K (2010). Free radical scavenging and antioxidant activity of leaves from agathi (*Sesbania grandiflora*) (L.). *Pers. Am-Euras J Sci Res* 5: 114–119