

Total polyphenols and antioxidant activities of the extract from leaves of *Stachys sieboldii* MIQ.

Hong-Seuk Baek, Beung-Ho Ryu¹, and Seung Koo Song

Department of Chemical Engineering, Pusan National University, Busan 609-735 Korea

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

Tel.: +82-51-510-3082; fax: +82-51-512-8563

Abstracts

This study was proposed to measure total polyphenols and antioxidant activities from leaves of *Stachys sieboldii* MIQ. Solvents such as acetone 60%, petroleum ether, ethylacetate, and water were used for this purpose. The fraction by ethyl acetate fraction showed the strongest activity by DPPH method and contained much more polyphenols than those by other solvents.

서 론

활성산소종은 매우 큰 반응성을 나타내어 세포를 손상시켜 노화에 영향을 미치거나 면역 작용을 감소시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 활성 산소종을 조절할 수 있는 물질로 항산화제가 있으며 대표적인 예로 SOD 및 카탈라아제 등과 같은 체내 효소와 vitamin E, β -Carotene, 및 selenium 등이 있으며 식품 속에 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 그 중 polyphenol계 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 생체 내에서 노화 방지와 항산화, 항암, 항바이러스, 및 항염 같은 활성을 나타내는 것으로 보고 되어져 있다. 본 실험은 약용작물로서 식물의 동충하초라 불리우는 초석잠의 잎을 이용하여 polyphenols 함량과 항산화 활성을 조사하였다.

실험 및 방법

초석잠의 잎을 건조하여 acetone 60%로 추출하고 petroleum ether, ethylacetate, water 순으로 분획하였다. 각각의 분획물을 농축하여 이를 시료 건물량에 대한 백분율로 추출 수율을 계산하였다.

◆Total polyphenols 함량 측정

초석잠 잎의 Total polyphenols 함량을 Folin-Denis법으로 측정하였다. 메탄올 추출물에 Folin-Ciocalteu시약을 가하고 잘 섞어 3분간 실온에서 방치한 후, Na₂CO₃ 포화용액 0.2ml을 가하여 잘 섞고 증류수로 2ml가 되게 첨가하여 실온에서 1hr동안 방치하였다. 그후 3,000rpm에서 10분 동안 원심분리하고 그 상등액을 취하여 725nm에서 흡광도를 측정하였다. Caffeic acid의 농도가 0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100µg/ml이 되도록 하여 작성한 표준 곡선으로 측정된 흡광도를 농도로 환산하였다.

◆ DPPH에 의한 수소 공여능 측정

각 용매 별로 분획하여 추출한 시료를 각각 임의의 질량을 취해서 메탄올 4ml에 녹인 후 1.5*10⁻⁴ M DPPH에 methanol 용액 1ml를 첨가하였다. 그 후 대조군과 함께 30분간 실온에서 방치 한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

◆Colomn chromatography를 이용한 분획

활성이 가장 좋은 에틸아세테이트 추출물을 sephedex LH-20을 이용하여 분획하였다. 길이 55cm, 직경 3cm인 칼럼에 sephedex LH-20으로 충전 시킨 후, 메탄올과 물을 용매로 사용하였다. 분획물을 UV/VIS 분광광도계로 분석하였다.

결과 및 고찰

활성성분에 대한 특성을 검토하고자 극성이 다른 유기 용매인 acetone, petroleum ether, ethylacetate, 및 water로 순차적으로 분획하여 얻은 수율을 Fig. 1.에 나타내었으며 각 유기 용매 별 추출물의 total polyphenols 함량을 측정하여 Table 1.에 나타내었다.

Table 1. Amount of polyphenols extracted with methanol from leaves of *Stachys sieboldii* MIQ..

Solvent	Volumn(%)
Acetone 60%	15.18±0.2%
Ethylacetate	21.18±1.36%
Water	19.63±0.67%

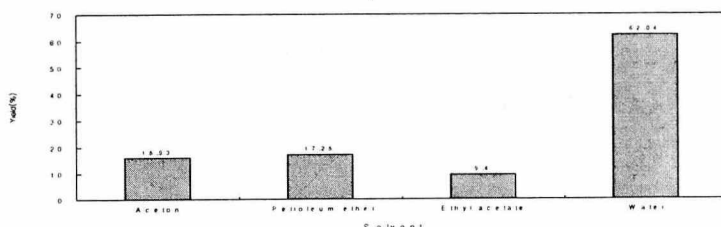


Fig. 1. Relative amount of the extracted fractions from leaves of *Stachys sieboldii* MIQ..

◆ DPPH에 의한 항산화 활성 측정

각 유기 용매층의 추출물을 DPPH법을 이용하여 항산화 활성 측정을 한 결과 Fig. 2.에서 보여지는 바와 같이 기존의 항산화제인 α -tocopherol, BHT, 및 BHA보다 높은 항산화력을 보였으며 특히 ethylacetate의 추출물에서 가장 높은 항산화력을 보였다.

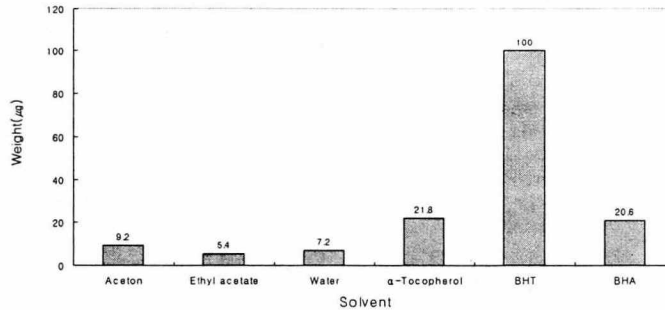


Fig. 2. Antioxidant activity of the fraction from leaves of *Stachys sieboldii* MIQ. by DPPHmethod.

◆ sephedex LH-20를 이용한 에틸 아세테이트 추출물의 분획

항산화 활성과 polyphenols 함량이 가장 많은 에틸 아세테이트 추출물을 sephedex LH-20을 통해 분획 하였으며 UV/VIS 분광광도계를 이용하여 총 5개의 분획으로 나누었다. 각각의 UV/VIS scan을 Fig. 3.에 나타내었으며 Table 2.에 보여지는 바와 같이 270nm ~ 430nm 사이에서 최대 흡광도를 나타내었다.

Table 2. UV/VIS spectral data for the fractions of ethyl acetate from leaves of *Stachys sieboldii* MIQ. by sephedex LH-20 column chromatography

Fraction	$\lambda_{max}(nm)$
SL-1	281
SL-2	281
SL-3	326,289
SL-4	275,326,409
Water	432,410

요 약

초석잠(*stachys sieboldii* MIQ)의 용매 추출물에서 측정한 total polyphenols 함유량

이 15~21%으로 나타나 일반적으로 알려져 있는 녹차의 함유량인 20~25%와 비슷하며 특히 에틸아세테이트 추출물에서 가장 높은 함유량을 나타내었다. DPPH 법에 의한 항산화 활성 측정에서도 기존의 항산화제인 α -topophenol, BHT 그리고 BHA에 비교해서 뛰어난 활성도를 나타내었고, total polyphenols 함유량이 많으면 높은 항산화 활성도를 보였다. 가장 좋은 활성도를 나타낸 에틸아세테이트 추출물을 sephedex LH-20 column을 통해 5개의 분획을 얻었고 각각의 분획물의 최대 흡광 범위는 일반적으로 알려져 있는 polyphenols 흡광범위인 200nm~400nm와 유사함을 나타내었다.

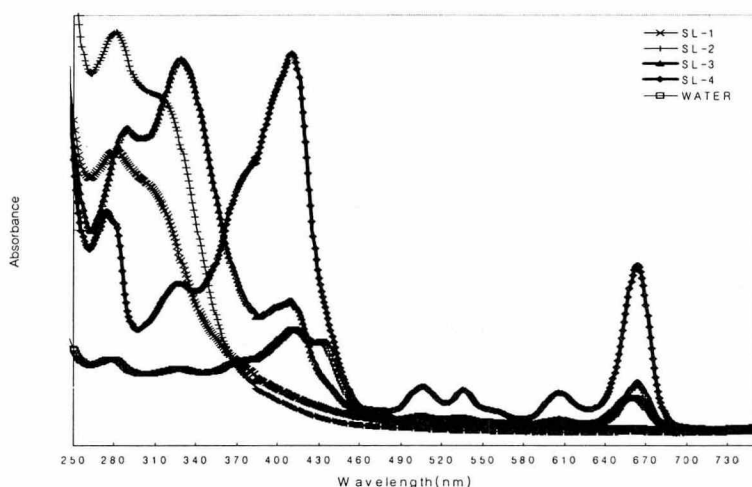


Fig. 3. UV / VIS spectral scans for the fractions of ethylacetate from *leaves of Stachys sieboldii* MIQ. by sephedex LH-20 column chromatography.

참고 문헌

1. Hertog, M. G. L. and P. C. H. Hollmam (1996), Potential health effects of the dietary flavonid quercetin, *Eur. J. Clin. Nutr.* **50**, 63-66.
2. Swain, T. and W. E. Hillis (1959), The phenolic constituents of prunus domesticus (L) The quantitative analysis of phenolic constituents, *J. Agric. Food Chem.* **10**, 63-68.
3. Blois, M. S. (1958), Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature* **26**, 1199-1200.