

추출조건에 따른 삼백초 추출물의 항산화 활성 및 성분의 변화

김숙경 · 반소연 · 김준성¹ · 정신교*

경북대학교 식품공학과, ¹삼부농산

Change of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds in *Saururus chinensis* by Extraction Conditions

Suk-Kyung Kim, So-Youn Ban, Jun-Sung Kim¹ and Shin-Kyo Chung*

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

¹Sambu-Farm, Gyeongsangnam-do Jeochang-gun 670-821

Received October 27, 2004; Accepted February 3, 2005

This study was conducted in order to establish the optimum extraction conditions in obtaining *Saururus chinensis* extracts. At the optimum extraction solvent (40% ethanol solvent), yield, DPPH, total phenolic compounds and total flavonoid in the extract of *Saururus chinensis* were 13.50%, 83.50%, 2.60 mg/ml and 2.09 mg/ml, respectively. At the optimum extraction time (4 hours), yield, DPPH, total phenolic compounds and total flavonoid in the extract of *Saururus chinensis* were 12.79%, 71.13%, 2.83 mg/ml and 2.16 mg/ml, respectively. At the optimum conditions (40% ethanol solvent and 4 hours), quercetrin and quercetin contents were 360.13 mg/100 g and 1379.54 mg/100 g, respectively. From the above results, we suggest that the optimum *Saururus chinensis* extract conditions are 40% ethanol solvent and 4 hours.

Key words: *Saururus chinensis*, extraction condition, antioxidant activity, quercetin

서 론

삼백초(*Saururus chinensis* Baill)는 삼백초과에 속하는 다년생 초본으로 꽃이 피는 7-8월에 3-4개의 잎이 백색을 띠므로 삼백초라 일컬어진다. 삼백초는 우리나라, 중국 및 일본 등지에 분포하며, 우리나라에서는 제주도과 남부지방에서 자생 및 재배되고 있다. 또한 삼백초는 예로부터 해독, 소종, 간염 및 황달 등의 치료에 이용되었다. 삼백초의 주성분은 quercetin, quercetrin, isoquercitrin, rutin 및 수용성 tannin 등으로 알려져 있으며, 이중 삼백초의 주성분인 quercetin, quercetrin은 flavonoid의 일종이다. Quercetin은 항균 및 항산화 효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 최근에서 항암성 및 모세혈관 강화작용 등의 효과들이 알려져 있다.¹⁻³ 식물계에 존재하는 천연 항산화제의 대부분은 flavonoid의 일종으로서, 이러한 flavonoid는 지방질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 함으로 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과를 나타내어 오늘날 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에서 활용되고 있다. 또한 최근 각종 천연물로부터 항산화성 생리활성 물질은 검색하고 분리하여 그 성분이 flavonoid

화합물임을 구명한 연구들이 각 분야에서 많이 보고 되어 있다.^{4,5} 식물체에 존재하는 Flavonoid는 항돌연변이 및 항암성을 갖는 것으로 나타났으며, 그 중 quercetin은 항돌연변이, 항암성 뿐만 아니라 동맥경화를 유발할 수 있는 인자인 LDL(Low Density Lipoprotein)의 산화와 cytotoxicity를 억제효과도 보고 되어 있다.⁶ 오늘날 많이 제조되고 있는 기능성 식품 또는 건강보조 식품은 현대인들이 쉽고 간편하게 섭취할 수 있는 액상 형태로 많이 제조되고 있다.⁷ 추출조건에 대한 연구로는 계피를 이용하여 추출조건의 설정, 산국의 에탄올 추출조건 최적화, 상백피의 추출조건 설정 등 다양한 천연물의 추출조건에 대한 연구들이 보고되어 있으나, 아직 삼백초를 이용한 추출조건에 대한 연구는 아직 이루어지지 않았다.^{7,9} 본 연구에서는 삼백초를 가지고 식품공전상 이용 가능한 불과 에탄올을 이용하여 항산화 효과를 최적화 할 수 있는 액상 추출조건을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

재료. 본 실험에 사용한 삼백초(지상부)는 삼부농산에서 2002년 5월에 생산된 것을 공급받아 사용하였다. quercetrin(Sigma Co., USA) 및 quercetin(Sigma Co., USA)을 표품으로 사용하였으며, 그 외 분석용으로 사용한 Methanol(J. T. Baker, USA) 및 Trifluoroacetic acid(ACROS, USA)은 특급을 사용하였다.

*Corresponding author

Phone: 82-53-950-5778; Fax: 82-53-950-6772

E-mail: kchung@knu.ac.kr

수율. 각 조건에서 얻어진 삼백초추출물의 총 추출수율은 추출액 10 ml를 취하여 105°C에서 증발 건조시켜 그 무게를 측정하여 추출수율을 나타내었다.¹⁰⁾

DPPH 라디칼 소거 활성(전자공여능) 측정. 삼백초 추출물의 DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 라디칼에 대한 소거활성은 에탄올 적정량에 시료 0.2 ml와 4×10^{-4} M DPPH용액 0.8 ml를 가하여 10초간 혼합하고 10분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 대조구와 비교하였고, DPPH 라디칼 소거능은 아래와 같이 계산하였다.¹¹⁾

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{A_{bs}}{A_{bc}}\right) \times 100(\%)$$

A_{bc} : Absorbance of DPPH solution without sample at 525 nm

A_{bs} : Absorbance of DPPH solution with sample at 525 nm

총페놀 함량. 총페놀 함량은 Prussian blue법¹²⁾으로 측정하였다. 추출한 삼백초 100 μ 에 증류수 3 ml, 0.016 M $K_3Fe(CN)_6$ 1 ml, 0.01 M $FeCl_3/0.1$ N HCl 1 ml를 혼합하여 강하게 진탕한 후 실온에서 15분간 방치하고, stabilizer(H_2O :1% gum arabic :85% phosphoric acid=3:1:1, v/v/v) 5 ml를 첨가한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 검량곡선을 작성하고 gallic acid에 대한 당량으로 환산하였다.

총플라보노이드 함량. 총플라보노이드 함량은 추출한 삼백초 1 ml에 diethylene glycol 10 ml, 1 N NaOH 1 ml를 넣고 강하게 진탕한 후 37°C 항온기에서 1시간 정치한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.¹³⁾ 총플라보노이드 함량은 naringin을 사용하여 검량곡선을 작성하고 naringin에 대한 당량으로 환산하였다.

삼백초의 quercetin, quercetrin 성분 정량. 삼백초 추출액의 quercetin, quercetrin 함량은 10 ml를 취하여 농축한 후 75% ethanol 50 ml를 첨가하여 실온에서 추출한 후, HCl로 2.5 N로 조절하여 80°C 항온수조에서 40분간 가수분해한 후 0.22 μ m membrane filter로 여과한 후 HPLC(LC-10A Shimadzu Co., Japan)로 분석하였으며, 사용한 column은 ODS-HG5(Shimadzu Co., Japan), 이동상은 60% Methanol/0.1% TFA (Trifluoroacetic acid), 분석속도 0.7 ml/min로 370 nm에서 분석하였다.^{2,14)}

결과 및 고찰

추출용매에 따른 이화학적 특성 변화. 삼백초 지상부의 추출 조건을 설정하기 위해 우선 추출용매에 따른 이화학적 특성을 실험한 결과 Fig. 1-2와 같았다. 각 조건별로 추출용매를 제조하여 환류냉각장치를 이용하여 수욕상의 온도를 90°C로 유지 하면서, 추출용매에 따른 추출물을 제조하였다. 수열에 있어서는 60% 에탄올 용매에서 가장 높은 함량을 나타내었으며 그 다음으로 40% 에탄올 농도에서 높은 총 추출수율을 나타내었다. 수열은 40-60% 에탄올 농도에서 높은 함량을 나타내었는데, 이는 결명자,¹⁵⁾ 당귀¹⁶⁾ 및 복분자¹⁷⁾를 이용하여 추출조건시 수열에 대한 결과와 유사하였다. 각 용매조건별로 추출한 삼백초 추출물에 대한 항산화 활성을 측정하기 위해 전자공여능을 실험한 결과 40% 에탄올 추출물과 60%에탄올 추출물에서 높

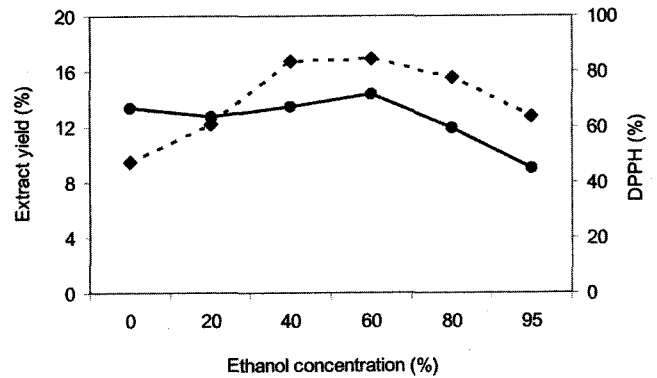


Fig. 1. Extract yield and DPPH radical scavenging activity of *Saururus chinensis* extracts prepared with different extract solvent. Extraction condition: 90°C, 1 hr, 10 times volume of solvent, —●—: Extract yield, —■—: DPPH.

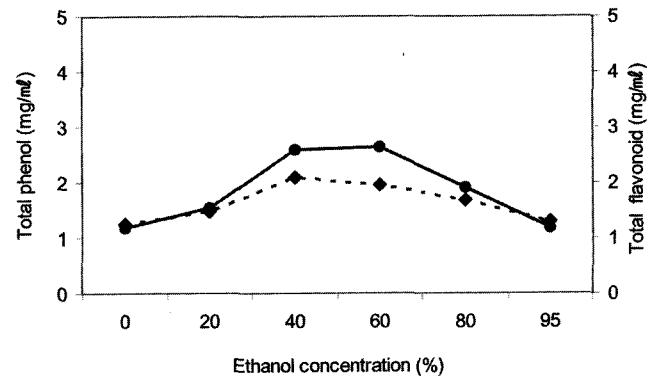


Fig. 2. Total phenol and total flavonoid of *Saururus chinensis* extracts prepared with different extract solvent. Extraction condition: 90°C, 1 hr, 10 times volume of solvent, —●—: Total phenol, —■—: Total flavonoid.

은 활성을 나타내었으며, 80% 에탄올, 100% 에탄올, 20% 에탄올 및 물추출물 순으로 활성이 낮아지는 경향을 나타내었다. 삼백초 지상부의 각 추출물의 총 페놀함량도 전자공여능 활성과 비례하는 경향을 나타내었다. 즉, 40% 에탄올 추출물과 60%에탄올 추출물에서 높은 페놀 화합물의 함량을 나타내었으며, 80% 에탄올, 100% 에탄올, 20% 에탄올 및 물추출물 순으로 총 페놀 화합물의 함량이 낮아지는 경향을 나타내었다. 항산화능을 나타내는 전자공여능의 활성과 총페놀 함량이 비례하는 경향을 나타내었는데, 이는 Chung의¹⁸⁾ 고추씨기름에 대한 다류 에탄올 추출물의 항산화효과 연구에서와 같이 일치하는 경향을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량에 있어서는 40% 에탄올이 2.09 mg/ml로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 60% 에탄올 추출물에서는 1.95 mg/ml의 함량을 나타내었다. 물추출물에서 1.25 mg/ml로 가장 낮은 함량을 나타내는 결과를 나타내었다. 각 추출용매의 조건에 따른 삼백초 추출물의 이화학적 활성을 살펴본 결과 40% 에탄올 추출물에서 추출하는 것이 항산화 활성을 높이면서, 총 플라보노이드 함량을 높일수 있는 추출용매조건임을 확인할 수 있었다.

추출시간에 따른 이화학적 특성 변화. 각 용매 조건별로 실험한 결과 40% 에탄올 추출물이 가장 활성이 높은 것으로 나

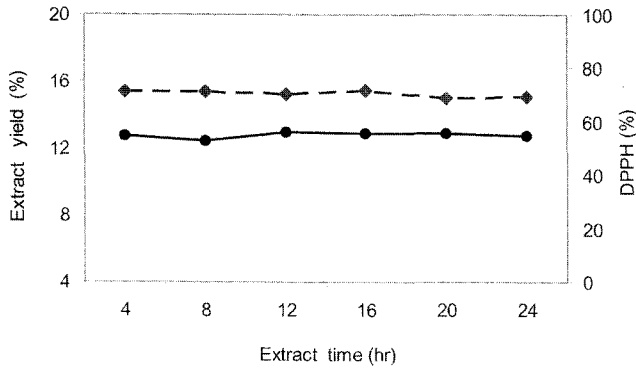


Fig. 3. Extract yield and DPPH radical scavenging activity of *Saururus chinensis* extracts prepared with different extract time. Extraction condition: 90°C, 40% ethanol solvent, 10 times volume of solvent, —●—: Extract yield, --■--: DPPH.

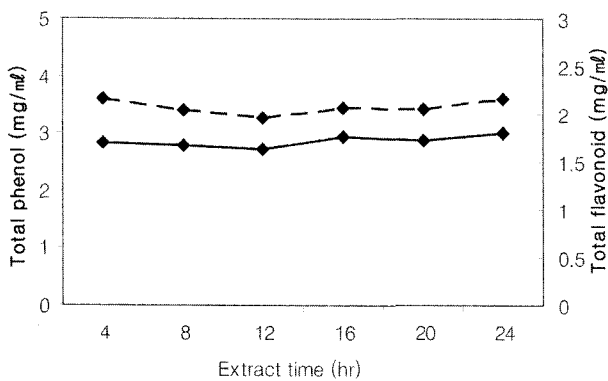


Fig. 4. Total phenol and total flavonoid of *Saururus chinensis* extracts prepared with different extract time. Extraction condition: 90°C, 40% ethanol solvent, 10 times volume of solvent, —●—: Total phenol, --■--: Total flavonoid.

타났으므로, 추출용매를 40%로 고정시킨 후에 추출시간에 따른 삼백초 추출물의 이화학적 특성을 살펴보았다(Fig. 3-4). 수율은 12시간 추출에서 가장 높은 총 추출수율을 나타내었으나 시간별에 따른 큰 차이는 나타내지 않았다. 이는 Yoon 등이¹⁷⁾ 복분자 추출조건에 따른 특성변화에서 총수율에 대한 최적예측 시간이 3.99시간 이었다는 보고와는 다른 경향을 나타내었다. 전자공여능 활성에 있어서는 4시간에서 16시간까지 활성의 감소가 거의 나타나지 않았으며, 20시간 추출시 전자공여능 활성이 감소하는 경향을 나타내었다. 총페놀 함량은 추출시간이 증가할수록 조금씩 증가하는 경향을 나타내었으며, Park 등의¹⁹⁾ 산국을 이용하여 에탄올 추출조건을 최적화한 연구에서 총페놀 함량이 15시간에서 최적화 된 결과와는 다소 다른 경향을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 4시간 추출시간에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 삼백초 지상부의 추출시간에 따른 이화학적 특성을 조사한 결과, 추출시간이 4시간 이상 증가할수록 항산화 활성, 수율 및 페놀 함량이 거의 증가하지 않는 것을 통해 삼백초 지상부를 추출할 때 4시간으로 추출하는 것이 가장 바람직함을 알 수 있었다.

삼백초의 quercetin, quercetrin 성분 변화. 삼백초 지상부 추출물의 quercetin 및 quercetrin성분의 변화를 알아보기 위해 4

Table 1. Content of quercetin and quercetrin in *Saururus chinensis* extracts prepared with different extraction solvent

| | Quercetrin | Quercetin |
|------------------|--------------|--------------|
| Water extract | 250.38±1.15 | 805.89±2.67 |
| 40% EtOH extract | 360.13±12.97 | 1379.54±2.05 |
| 80% EtOH extract | 249.67±5.67 | 1060.72±1.35 |

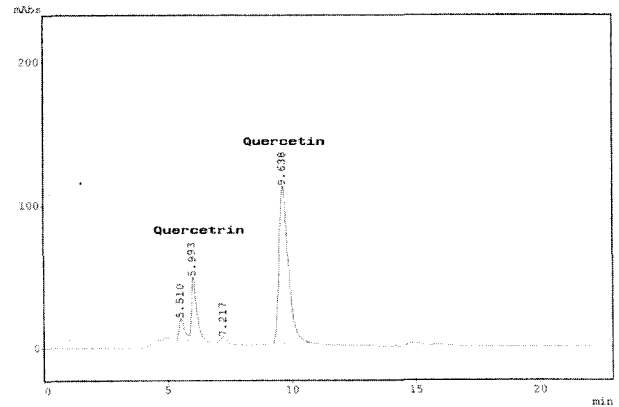


Fig. 5. HPLC chromatogram of quercetin and quercetrin of *Saururus chinensis*.

시간 추출한 물추출물, 40% 에탄올 추출물 및 80% 에탄올 추출물에 대해 HPLC를 이용하여 함량 분석을 하였다. 삼백초 지상부를 분석한 결과 Table 1과 같은 결과를 나타내었다. 삼백초 지상부 물추출물은 quercetrin함량이 250.38 mg/100 g을 나타내었으며, quercetin함량은 805.89 mg/100 g을 나타내었다. 삼백초 지상부 40% 에탄올 추출물은 quercetrin함량이 360.13 mg/100 g을 나타내었으며, quercetin함량은 1379.54 mg/100 g을 나타내었으며, 80% 에탄올 추출물은 quercetrin함량이 249.67 mg/100 g, quercetin 함량은 1060.72 mg/100 g을 나타내었다. 삼백초 지상부의 추출용매에 따른 quercetrin 및 quercetin함량을 분석한 결과 40% 에탄올 추출물에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 다음으로 80% 에탄올 추출물, 물추출물 순으로 나타났다. 삼백초 지상부의 추출조건을 설정하기 위해 추출용매 및 추출시간에 따른 이화학적 특성을 조사한 결과 40% 에탄올 추출물로 4시간 추출하는 것이 가장 적합한 것으로 나타났다.

초 록

삼백초 지상부의 추출조건을 설정하고자 추출용매 및 시간에 따른 이화학적 특성을 살펴보았다. 추출용매 조건은 40% 에탄올을 사용하여 추출할 때로 나타났으며, 이때, 총수율, 전자공여능, 총페놀함량, 총플라보노이드 함량은 각각 13.50%, 83.50%, 2.60 mg/ml 및 2.09 mg/ml로 나타났다. 최적의 추출시간은 4시간으로 나타났으며, 이때, 총수율, 전자공여능, 총페놀함량, 총플라보노이드 함량은 각각 12.79%, 71.13%, 2.83 mg/ml 및 2.16 mg/ml로 나타났다. 삼백초 지상부를 40% 에탄올 추출물로 4시간 추출하였을때, quercetrin함량은 360.13 mg/100 g으로 나타났으며, quercetin 함량은 1379.54 mg/100 g으로 나타났다. 삼백초 지상부를 이용하여 추출조건을 설정한 결과 40%

에탄올을 이용하여 4시간 추출하는 것이 가장 적합한 것으로 나타났다.

Key words: 삼백초, 추출조건, 항산화활성, quercetin

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 2002년도 농림 특정연구사업의 지원에 의한 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee, S.T., Lee, Y.H., Choi, Y.J., Lee, Y.H., Cho, J.S. and Heo, J.S. (2001) Yield and bioactive component on different compost amounts and cultural methods of *Saururus chinensis* Baill. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **9**, 220-224.
2. Lee, S.T., Park, J.M., Lee, H.K., Kim, M.B., Cho, J.S. and Heo, J.S. (2000) Component comparison in different growth stages and organs of *Saururus chinensis* Baill. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **8**, 312-318.
3. Kim, B.H. and Song, W.S. (2000) The dyeability and antimicrobial activity of *Saururus chinensis* (I). *J. Korean Home Economics* **38**, 1-9.
4. Lim, D.K., Choi, U. and Shin, D.H. (1996) Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 83-89.
5. Park, S.S., Yu, K.H. and Min, T.J. (1998) Antioxidant activities of extracts from fruiting bodies of mushrooms. *Korean J. Mycology* **26**, 69-77.
6. Lee, J.M., Son, E.S., Oh, S.S. and Han, D.S. (2001) Contents of total flavonoid and biological activities of edible plants. *Korean J. Diet. Cul.* **16**, 504-514.
7. Kim, N.M., Ko, S.R., Choi, K.J. and Kim, W.J. (1993) Effect of some factors on extraction of effectual components in cinnamon extract. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **36**, 17-22.
8. Park, N.Y., Lee, G.D., Jeong, Y.J. and Kwon, J.H. (1998) Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extract from *Chrysanthemum boreale*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 585-590.
9. Park, U.Y., Kim, Y.M., Kim, S.H. and Chang, D.S. (1995) Investigation of optimum extracting condition and antimicrobial activity of the extract from the root bark of *Morus alba*. *J. Fd. Hyg. Safety* **10**, 139-145.
10. Kwon, J.H., Belanger, J.M.R. and Pare, J.R.J. (2003) Optimization of microwave assisted extraction (MAP) for ginseng components by response surface methodology. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1807-1810.
11. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1201.
12. Graham, H.D. (1992) Modified prussian blue assay for total phenolic compound. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 801-807.
13. Kim, M.Y. (2000) Isolation and identification of antioxidative flavonol compounds from Korean garlic by-products. Ph. D. Thesis, Kyungpook National University, Dague.
14. Wang, S.P. and Huang, K.J. (2004) Determination of flavonoids by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.* **1032**, 273-279.
15. Kim, J.M., Kim, H.T. and Hwang, S.M. (1990) Instant tea preparation from *Cassia tora* seed. *Korean J. Food Sci. Technol.* **22**, 241-247.
16. Lee, S.Y., Shin, S.R., Kim, K.S. and Kwon, J.H. (2000) Establishment of extraction conditions for effective components from *Angelica giga* Nakai using microwave-assisted process. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 442-447.
17. Yoon, S.R., Jeong, Y.J., Lee, G.D. and Kwon, J.H. (2003) Changes in phenolic compounds properties of *Rubi fructus* extract depending on extraction conditions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 338-345.
18. Chung, H.J. (1999) Antioxidative effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1316-1320.
19. Park, N.Y., Lee, G.D., Jeong, Y.J. and Kwon, J.H. (1998) Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 585-590.