

구실잣밤나무 추출물의 항산화 및 항균 활성

김지영, 윤원종, 임은영, 박수영, 김영주, 송관필*

(재)제주테크노파크 제주생물종다양성연구소

Antioxidative and Antimicrobial Activities of
Castanopsis cuspidata var. *sieboldii* ExtractsJi-Young Kim, Weon-Jung Yoon, Eun-Young Yim, Soo-Yeong Park,
Young-Ju Kim and Gwanpil Song*

Jeju Biodiversity Research Institute, Jeju Technopark, Jeju 699-943, Korea

Abstract - This study was designed to investigate the possible utilization of *Castanopsis cuspidata* as a source of antiseptic agents. The leaves of *C. cuspidata*, extracted by 80% ethanol, were sequentially fractionated with n-hexane, dichloromethane, ethylacetate, and n-butanol. In order to effectively screen for a natural preservative agent, we first investigated the antioxidant activities such as DPPH radical scavenging capacity, superoxide radical scavenging capacity, and xanthine oxidase inhibitory activity of the *C. cuspidata* ethanol extracts and fraction. Using a screening system, we found that the ethylacetate fraction had the strongest antioxidant activity, which followed a dose-dependent manner. The antimicrobial activities were shown in the ethylacetate fraction of *C. cuspidata*. Among the five fractions, the ethylacetate fraction showed the highest antimicrobial activities against microorganisms tested, which were *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. In addition, leaf extracts of *C. cuspidata* could be suitable for the development of food preservatives.

Key words - *Castanopsis cuspidata*, Natural preservatives, Antioxidants, Antimicrobials

서 언

지구온난화 등 기후 변화와 집단급식의 확대, 외식 기회의 증가 등 생활패턴의 변화로 매년 식중독 발생이 증가하고 있으며, 이러한 식중독은 인체에 유해한 미생물 또는 이들이 생산하는 감염성 또는 독소형 질환으로 통조림, 육류, 훈제어류 등의 다양한 식품에서 발생되고 있다(Greig and Ravel, 2009). 이러한 식품은 저장이나 유통과정 중 미생물의 오염에 의하여 부패나 변질을 일으킬 수 있으므로 식품 보존제를 첨가하여 저장성을 높이고 있다(Beuchat and Golden, 1989). 식품 보존제로는 인공 합성품이 많이 사용되고 있으나 이러한 화학약품으로 인하여 부작용이 많이 생겨나고 있다. 이러한 상황을 해결하고자 천연물에 존재하는 항균성 물질에 대한 연구들이 이루어지고 있다(Kim

et al., 2006; Kim *et al.*, 1999; Choi and Rhim, 2008; Choi *et al.*, 2006). 즉, 천연물에 존재하는 항균성 물질을 이용함으로써 식품의 신선함과 안정성을 만족하려는 연구들이 이루어지고 있다(Cho, 2005; Topisirovic *et al.*, 2006). 항균성 물질에 대한 연구는 민간요법에서 이용하는 식물이나 한약재로 우리가 흔히 보는 식물들이 대부분이다(Park and Park, 1994; Maregesi *et al.*, 2008). 특히 참나무과는 우리나라의 수목에 약 27%를 차지하고 있으며, 열매는 식용으로 사용하였고, 민간요법에서는 잎과 껍질을 설사, 진통, 지혈등에 사용해 왔다(Yoon, 1994; Kim, 1996). 참나무과에 대한 생리활성평가는 항산화, 항염증, 항암, 항균에 대한 연구들이 많이 이루어지고 있으며, 항균에서는 참나무과의 잎 추출물이 식품유해미생물에 대한 높은 항균 활성이 있다고 보고되어져 있다(Lee and Shin, 1991; Kong *et al.*, 2001; Yun *et al.*, 2004).

참나무과 식물인 구실잣밤나무(*Castanopsis cuspidata*

*교신저자(E-mail) : selfpoet@jejuhidi.or.kr

var. *sieboldii*)는 상록 활엽 교목으로 지리적으로 일본, 중국, 타이완 등에 분포하며, 우리나라에서는 제주도, 완도 등 남해안인남 지역에 분포한다(Lee, 1998). 주로 제주에서는 하천을 따라 많이 분포하며 열매는 날로 먹거나 구워서 먹고, 떡이나 목에 넣어서 먹기도 한다. 최근에는 열매의 영양성분 분석이나 식의약품 소재의 활용도에 연구들이 이루어졌으나 잎과 줄기 등을 이용한 여러 연구들은 미흡한 실정이다(Kang *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2010). 본 연구에서는 자원식물로서 활용가치가 높은 구실잣밤나무의 잎을 이용하여 에탄올 추출물 및 순차적 용매분획물의 항산화성 및 항균효과를 검색하고, 식품 저장성이나 안전성을 향상하기 위한 식품첨가제나 보존제로서의 개발 가능성을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 구실잣밤나무(*Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* Nakai) 잎은 한라산 해발 200 m지점의 수림 내에서 2007년 11월경에 채집하고 대한식물도감을 이용하여 제주테크노파크 생물종다양성연구소 송관필 박사가 동정하였다(Lee, 1979). 채집된 식물의 일부는 식물표본(표본번호: JBRI-20071102001)을 제작하여 제주테크노파크 생물종다양성연구소의 표본관에 보관하였다. 채집된 잎은 7일간 음건한 후 마쇄기로 분쇄하여 분말을 만들어 사용하였다.

사용균주 및 시약

본 실험에 사용한 균주는 그람양성균 3종, 그람음성균 3종 등 총 6종을 선정하여 사용하였고(Table 1), 배지는 Tryptic soy agar(TSA), Brain heart infusion(BHI)는 Difco(USA)사에서 구입하여 사용하였다. 또한, DPPH(1,1-

diphenyl-2-picrylhydrazyl), NBT(nitroblue tetrazolium), xanthine oxidase 등 그 밖의 시약들은 Sigma Chemical Co.(USA)로부터 구입하여 사용하였고, 추출용매 및 시약은 일급 또는 특급시약을 사용하였다.

시료의 추출

구실잣밤나무 잎 분말은 80% 에탄올 침출시켜 추출물을 제작하였고, 확보된 추출물은 물과 분획용 헥산(*n*-hexane), 디클로로메탄(CH₂Cl₂), 에틸아세테이트(EtOAc), 부탄올(BuOH)을 동량 사용하여 순차적으로 분획하였다. 침출 또는 분획된 시료는 감압 농축하여 동결건조기로 건조시켰다. 각 시료 분획물은 해당 용매로 용해시켜 0.2 μm membrane filter(Advantec MFS Inc. USA)로 제균하여 4°C에 보관하면서 항균 활성과 항산화 활성에 이용하였다.

Total Phenolic compound 함량 측정

Phenolic compound 함량은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis 방법을 이용하였다(Singleton *et al.*, 1999). 각 시료에 Folin-ciocalteu's phenol reagent(Sigma, USA)를 혼합하여 3분간 반응시켰다. 반응액에 2 M sodium carbonate을 혼합하여 실온에서 1시간 동안 반응한 후, 725 nm에서 Microplate reader(Powerwave XS, BioTek)로 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 tannic acid(Sigma, USA)를 이용하였고 표준곡선을 작성한 후 시료의 총 폴리페놀 함량은 g/mg tannic acid로 나타내었다.

Total Flavonoid 함량 측정

Total Flavonoid 화합물의 함량은 발색 방법을 이용하여 측정하였다(Choi *et al.*, 2006). 각 시료에 5% NaNO₂를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시킨 후, 10% AlCl₃를 첨가하여 혼합하고 실온에서 5분간 반응시켰다. 1 M NaOH

Table 1. List of microorganisms and media used for antimicrobial experiment

	Strains	Media	Temp.(°C)
Gram positive bacteria	<i>Bacillus subtilis</i> (KCTC 2213)	TSA/TSB	37
	<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19115)	BHI	37
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	TSA/TSB	37
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	TSA/TSB	37
	<i>Salmonella enteritidis</i> (KCCM 12021)	TSA/TSB	37
	<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 14028)	TSA/TSB	37

용액을 혼합하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후, 510 nm에서 Microplate reader(Powerwave XS, BioTek)로 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 rutin(Sigma, USA)를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 총 플라보노이드 함량을 g/mg rutin으로 나타내었다.

DPPH radical 소거활성 측정

항산화활성은 DPPH를 이용하여 시료의 radical 소거능을 측정하였다(Nara *et al.*, 2006). 추출물과 분획물을 methanol에 농도별로 용해시킨 시료액을 20 mM DPPH를 혼합하여 15분간 암실에서 반응시킨 후 517 nm에서 Microplate reader(Powerwave XS, BioTek)로 흡광도를 측정하였다. DPPH radical을 소거능은 시료 첨가군과 비첨가군을 비교하여 IC₅₀는 50% 소거능을 나타내는 농도로 나타내었다. 대조군으로는 Sigma사의 butylated hydroxy anisole(BHA), ascorbic acid, trolox를 사용하였다.

Xanthine oxidase 억제 및 Superoxide 소거활성 측정

Xanthine/xanthine oxidase(Valentová K, 2005)에 의한 uric acid 생성은 290 nm에서 증가된 흡광도를 측정하였고, 대조군으로는 allopurinol(Sigma)를 사용하였다. Superoxide의 양은 nitroblue tetrazolium(NBT) 환원방법으로 560 nm의 흡광도로 측정하였다(Silva *et al.*, 2007). 반응액은 각 시료와 0.5 mM xanthine, 1 mM EDTA를 200 mM phosphate buffer(pH 7.5) 100 µL에서 준비하였고 50 mU/mL xanthine oxidase를 첨가하여 uric acid의 생성을 유도하였다. Superoxide 소거활성은 위 반응액에 0.5 mM NBT를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. Xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거 활성은 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도(IC₅₀)로 표시하였으며, 각 시료는 3회 반복하여 실험을 실시하여 평균값을 구하였다.

항균력 측정

항균력 측정은 Disc diffusion assay 방법을 사용하였다(Hayes and Markovic, 2002; Mothana and Lindequist, 2005). 각 균주는 10 mL의 액체배지에 접종하고 37°C에서 18시간씩 3회 계대 배양하여 항균활성 시험균주로 사용하였으며, 각각의 시험균 농도를 0.5 McFarland으로 10⁶-10⁸ CFU/mL 되게 한 후 pour-plate 방법에 균집중 평판배지

를 만들어 사용하였다. 각각의 시료는 50 mg/ml 농도로 조제하여 농도별로 paper disc(Whatman No.5, 8 mm)에 천천히 흡수시킨 후, 용매를 완전히 증발시킨다. 시험용 평판배지 표면에 disc를 밀착시키고 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 생육저해환(clear zone, mm)의 크기를 측정하여 항균활성을 비교하였다.

최소저해농도(Minimum inhibitory concentration, MIC) 및 생육저해율 측정

최소저해농도(MIC)는 Micro-well dilution assay 방법(Amster, 1996; Al-Bayati, 2009)에 따라 측정하였다. 각각의 균 농도를 0.5 McFarland으로 10⁶-10⁸ CFU/mL가 되게 한 후 96 well plate에 분주하고, 각 시료를 농도별로 10 µL씩 처리하여 24시간 배양하였다. 세균 배양액의 증식 정도를 Microplate reader(Powerwave XS, BioTek)로 650 nm에서 측정하였다. 생육저해율은 위와 같은 방법으로 각각의 시료를 1 mg/mL 농도로 처리하여 배양하였다. 균의 정지기인 24시간에서 흡광도 값을 측정하고 다음과 같은 식을 이용하여 생육저해율을 구하였다.

$$\% \text{ inhibitory effect} = \frac{(\text{control} - \text{control blank}) - (\text{treatment} - \text{treatment blank})}{(\text{control} - \text{control blank})} \times 100$$

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복으로 이루어졌으며, 실험결과는 각 항목에 따라 평균치 ± 표준편차를 구하여 신뢰수준 95%(p<0.05)에서 통계적 유의차를 평가하였다.

결과 및 고찰

에탄올 추출물 및 순차분획물의 수율

구실잣밤나무의 잎 건조분말 시료(524 g)를 80% 에탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하고 에탄올 추출물 135 g을 얻었다. 그리고 에탄올 추출물을 10 배량의 증류수로 현탁시킨 후에 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 그리고 부탄올 등으로 순차적으로 분획하여 헥산 층에서 1.31 g, 디클로로메탄 층에서 1.35 g, 에틸아세테이트 층에서 4.26 g 및 부탄올 층에서 4.9 g 그리고 잔사인 물 층에서 7.09 g의 분획물을 얻었다. 구실잣밤나무 잎의 에탄올 추출물 수율은 약 25.69%이고, 에탄올 추출물에

대한 각 순차분획물 중 핵산 6.28%, 디클로로메탄 6.44%, 에틸아세테이트 20.2%, 부탄올 23.33% 그리고 수용성 분획물이 33.78%로 가장 높은 수율을 보였다.

Total phenolic compound 및 Flavonoid 함량

페놀성 물질은 식물의 2차 대사산물로 널리 분포되어 있고 phenolic hydroxyl 그룹 때문에 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있다. 또한 단백질과 결합하는 성질은 미생물 세포와 작용하여 성장저해를 유발시킴으로써 항균효과 등의 생리활성 기능을 가진다(Liu, 2004; Ryu *et al.*, 2006). 구실잣밤나무 잎의 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 총 폴리페놀화합물과 플라보노이드의 함량을 측정하였다(Table 2). 총 폴리페놀 함량은 에탄올 추출물에서 404.07 mg/g, 핵산에서 79.43 mg/g, 디클로로메탄에서 307.29 mg/g, 에틸아세테이트에서 925.14 mg/g, 부탄올에서 344.79 mg/g, 그리고 수용성 분획물에서 95.86 mg/g로 에틸아세테이트 분획물이 함량이 가장 높다. 구실잣밤

나무의 열매의 총폴리페놀 함량에 비해 상대적으로 매우 높았으며, 특히 에틸아세테이트 분획물은 에탄올 추출물에 비해 약 2.5 배 가량 증가되는 경향을 보였다(Lee *et al.*, 2010). 플라보노이드는 페놀성 화합물의 일종이므로 각 시료의 총 플라보노이드 함량은 총 페놀성 화합물과 동일한 경향을 보였다. 총 플라보노이드 함량은 에탄올 추출물에서 68.65 mg/g, 핵산에서 85.37 mg/g, 디클로로메탄에서 87.04 mg/g, 에틸아세테이트에서 148.89 mg/g, 부탄올에서 70.88 mg/g, 그리고 수용성 분획물에서 7.91 mg/g로 나타내었다.

항산화 활성

항산화 물질의 가장 특징적인 기작은 유리기와 반응하는 것으로 유리기 소거 작용은 활성라디칼(free radical)에 전자를 공여하여 식물 중의 항산화 효과나 인체에서 노화를 억제하는 척도로 사용된다(Ak and Gülçin, 2008). 구실잣밤나무 잎의 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 항산화 활

Table 2. Total polyphenol and flavonoid contents in ethanol extracts its each solvent fraction from *C. cuspidata*

Extracts/ Fractions(fr.)	Content(mg/g)	
	Total polyphenol	Total flavonoid
80% EtOH extracts	404.07 ± 6.57	68.65 ± 1.58
<i>n</i> -hexane fr.	79.43 ± 2.02	85.37 ± 1.58
CH ₂ Cl ₂ fr.	307.29 ± 8.08	87.04 ± 2.36
EtOAc fr.	925.14 ± 20.20	148.89 ± 1.58
BuOH fr.	344.79 ± 7.58	70.88 ± 1.58
Water fr.	95.89 ± 1.01	7.91 ± 0.79

The data represent the mean ± SD of triplicate experiments.

Table 3. Comparison of antioxidant potential by the ethanol extracts and its various fractions of *C. cuspidata*

Treatment	IC ₅₀ (µg/mL) ¹⁾		
	DPPH radical scavenging activity	Xanthine oxidase inhibitory activity	Superoxide radical scavenging activity
80% EtOH	16.26 ± 0.92	371.31 ± 13.85	81.08 ± 2.50
<i>n</i> -hexane	114.50 ± 1.49	> 1000	424.34 ± 6.63
CH ₂ Cl ₂	22.66 ± 0.03	NA	81.61 ± 2.57
EtOAc	11.99 ± 0.02	152.47 ± 10.09	25.80 ± 1.23
BuOH	19.74 ± 0.59	399.20 ± 5.95	64.28 ± 19.63
Water	172.42 ± 10.02	> 1000	637.37 ± 85.82
BHA ²⁾	22.70 ± 0.61	NA	NA
Ascorbic acid	3.90 ± 3.22	NA	NA
Trolox	8.62 ± 2.20	288.60 ± 4.4	189.9 ± 2.03
Allopurinol	NA ³⁾	3.12 ± 0.17	22.65 ± 0.35

¹⁾IC₅₀ values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments, ²⁾Butylated hydroxy anisole,

³⁾NA: not available method.

성에 대한 결과를 Table 3에 나타내었다. DPPH의 free radical 소거활성은 에탄올 추출물, 에틸아세테이트와 부탄올 분획물은 대조군인 BHA 등의 항산화제와 비교하여도 전혀 뒤떨어지지 않는 활성을 갖고 있으며, IC₅₀값은 각각 16.26 µg/mL, 11.99 µg/mL과 19.74 µg/mL로 나타났다. 구실잣밤나무 열매의 에틸아세테이트 분획물에서는 74.88 µg/mL로 잎이 열매에 비해서 DPPH free radical 소거활성 더 높게 나타났다(Lee *et al.*, 2010).

Xanthine oxidase는 hypoxanthine을 산화시켜 최종적으로 uric acid와 산소를 생성하며 산소유리기와 수소과산화기가 산소로부터 발생하게 되고 생성된 산소유리기는 세포의 손상을 초래한다(Silva *et al.*, 2007). 또한 superoxide radical는 세포에 유해한 산소유리기로 Xanthine oxidase와 마찬가지로 세포의 손상을 일으키므로 이로써 이를 소거하는 항산화 활성을 가진 물질은 매우 중요하다(Ak and Gülçin, 2008). Xanthine oxidase 저해 활성과 superoxide

radical 소거활성을 xanthine/xanthine oxidase system으로 측정하였다. 그 결과, xanthine oxidase 저해 활성은 에탄올 추출물, 에틸아세테이트와 부탄올 분획물에서 IC₅₀값이 373.31 µg/mL, 152.47 µg/mL과 399.20 µg/mL을 나타내었고 그 외 나머지 분획물에서는 활성을 띠지 않았다. 또 superoxide radical 소거 활성은 에탄올 추출물 및 순차적 분획물 모든 처리군에서 활성이 있으며, 특히 에틸아세테이트 분획물인 경우 IC₅₀값이 25.80 µg/mL로 대조군로 사용한 Allopurinol과 같은 수준의 superoxide radical 소거 활성을 나타내었다. 따라서 구실잣밤나무의 잎은 우수한 항산화 소재로 개발 할 수 있을 것으로 사료된다.

항균 활성

구실잣밤나무 잎의 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 항균활성은 Disc diffusion assay 방법으로 처리농도에 따른 항균활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 에탄올 추출물

Table 4. Antimicrobial activities of ethanol extracts its each solvent fraction from *C. cuspidata* against microorganisms

Strains	conc.(ug/ml)	Clear zone on plate(mm) ¹⁾					
		EtOH	<i>n</i> -hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	Water
<i>B. subtilis</i>	100	— ²⁾	—	—	10	—	—
	250	9	—	10	12	—	—
	500	10	—	12	14	9	—
	1000	11	—	14	18	10	—
<i>L. monocytogenes</i>	100	—	—	—	—	—	—
	250	—	—	—	9	—	—
	500	—	—	—	11	—	—
	1000	9	—	10	12	—	—
<i>S. aureus</i>	100	—	—	—	9	—	—
	250	—	—	—	12	—	—
	500	9	—	9	12	—	—
	1000	11	—	11	14	9	—
<i>E. coli</i>	100	—	—	—	10	—	—
	250	—	—	10	12	—	—
	500	9	—	11	13	—	—
	1000	11	—	13	16	9	—
<i>S. enteritidis</i>	100	9	—	—	10	—	—
	250	—	—	9	11	—	—
	500	—	—	12	13	11	—
	1000	9	—	13	16	9	—
<i>S. typhimurium</i>	100	—	—	—	9	—	—
	250	—	—	—	10	—	—
	500	9	—	9	11	—	—
	1000	11	—	9	12	9	—

¹⁾Diameter, ²⁾No inhibition zone was formed.

Table 5. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the ethylacetate fraction from ethanol extracts of *C. cuspidata* against microorganisms

Strains	Growth at various concentration(μg/mL)						MIC(μg/mL)
	0	31.25	62.5	125.0	250.0	500.0	
<i>B. Subtilis</i>	+ ¹⁾	+	- ²⁾	-	-	-	62.5
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	+	-	-	250.0
<i>S. aureus</i>	+	+	-	-	-	-	62.5
<i>E. coli</i>	+	+	+	-	-	-	125.0
<i>S. enteritidis</i>	+	+	+	-	-	-	125.0
<i>S. typhimurium</i>	+	+	-	-	-	-	62.5

¹⁾Growth, ²⁾No growth.

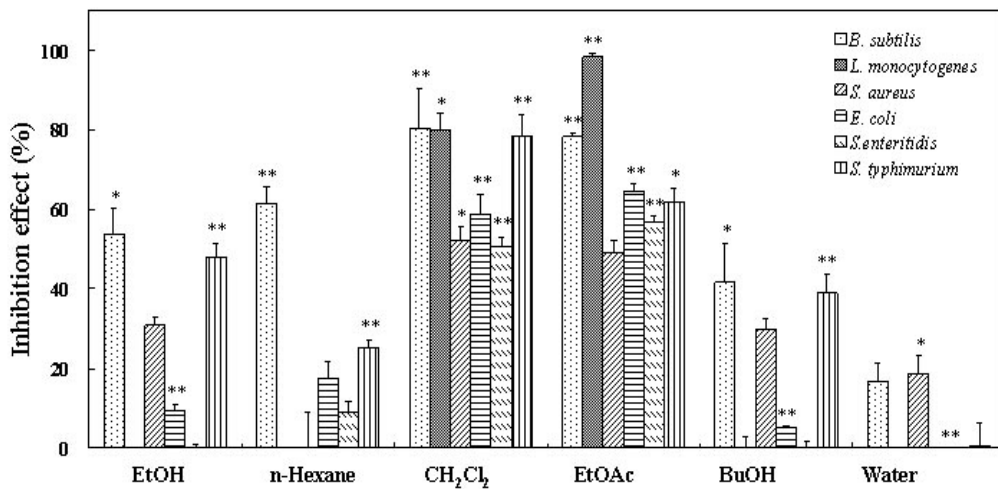


Fig. 1. Growth inhibitory rate of *C. cuspidata* ethanol extracts its each solvent fraction against microorganisms. The data given are means ± S.D. of triplicate measurements(*: P<0.05, **: P<0.01).

과 순차적 분획물 중에서 에탄올 추출물, 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물은 처리농도가 증가할수록 항균활성을 나타내는 생육저해환 크기가 비례적으로 크게 증가하였다. 그람 양성균인 *B. subtilis*와 그람 음성균인 *E. coli*, *P. aeruginosa*에서 생육저해환이 각각 18 mm와 16 mm의 clear zone으로 항균 활성이 높게 나타났다. 순차적 분획물 중에서 항균력이 가장 높게 나타난 에틸아세테이트 분획물의 최소저해농도를 측정된 결과를 *B. subtilis*, *S. aureus*와 *S. typhimurium*에서 62.5 μg/mL로 가장 낮은 농도에서 생육이 저해되었다(Table 5). 또한 구실잣밤나무 잎의 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 농도를 1 mg/mL으로 미생물에 대한 생육저해율을 측정하였다(Fig. 1). 그 결과 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물이 6종의 균에 대해서 높은 생육저해율을 나타내었다. 그 중 디클로로메탄

분획물은 *B. subtilis*, *L. monocytogenes*과 *S. typhimurium*에 대해 80% 정도로 높은 저해율을 나타내었고, 에틸아세테이트 분획물에서는 *L. monocytogenes*에 98%의 가장 높은 생육저해율을 나타내었다. 즉, 구실잣밤나무 에탄올 추출물과 분획물의 항균활성은 그람양성균과 그람음성균 모두에 활성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과를 볼 때, 구실잣밤나무 잎의 에탄올 추출물과 분획물은 항산화와 항균활성이 비례함을 볼 수 있으며, 에틸아세테이트 분획물에서는 항산화와 항균 활성의 결과가 모두 우수하게 나타났다. 그리고 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량에 따른 항산화 활성 및 항균활성의 차이가 다르게 나타남을 확인할 수 있었다. 이로써 구실잣밤나무는 식품 저장성이나 안전성을 향상하기 위한 식품첨가제나 보존제로서의 개발 가능성을 있다고 사료 된다.

적 요

본 연구는 구실잣밤나무를 식품 저장성이나 안전성을 향상하기 위한 식품 보존제로서의 개발 가능성을 알아보고자 하였다. 구실잣밤나무의 잎을 에탄올로 추출하고 핵산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올로 순차적으로 용매분획하였다. 먼저, 항산화활성으로 DPPH 소거활성, superoxide radical 소거 활성 그리고 xanthine oxidase 억제 활성을 측정하였다. 그 결과, 에틸아세테이트 분획물에서 농도 의존적으로 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다. 항균활성은 에탄올 추출물과 용매분획물을 농도별로 조사한 결과 다른 분획물에 비해 *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* 그리고 *Salmonella typhimurium*에서 에틸아세테이트 분획물에 높은 활성을 띠었다. 이상의 결과를 볼 때, 구실잣밤나무 잎 추출물은 식품 보존제의 개발에 적합할 수 있다고 사료 된다.

감사의 글

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업(과제번호: 052-091-075)의 지원을 받아 수행하였습니다.

인용문헌

Ak, T. and I. Gülçin. 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem. Biol. Interact.* 174:27-37.

Al-Bayati, F.A. 2009. Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 8:20.

Amster, D. 1996. Susceptibility testing of antimicrobial in liquid media, antibiotics in laboratory medicine. 4th ed. Williams and Wilkins, MD, USA. pp. 52-111.

Beuchat, L.R., and D.A. Golden. 1989. Antimicrobials occurring naturally in food. *Food. Technol.* 43:134-139.

Cho, M.H., E.K. Bae, S.D. Ha and J.Y. Park. 2005. Application of natural antimicrobials to food industry. *Food. Sci. Ins.* 38:36-45 (in Korean).

Choi, I., J.Y. Cho and S.C. Lim. 2006. Antimicrobial Activity of Medicinal Herbs against *Staphylococcus aureus*. *Kor. J.*

Plant Res. 19:491-496 (in Korean).

Choi, M.Y. and T.J. Rhim. 2008. Antimicrobial effect of Oregano (*Origanum majorana* L.) extract on food-bone pathogens. *Kor. J. Plant Res.* 21:352-356 (in Korean).

Choi, Y., S.M. Lee, J. Chun, H.B. Lee and J. Lee. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food. Chem.* 99:381-387 (in Korean).

Greig, J.D. and A. Ravel. 2009. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. *Int. J. Food. Microbiol.* 130:77-87.

Hayes, A.J. and B. Markovic. 2002. Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 11. Antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity. *Food. Chem. Toxicol.* 40:535-543.

Kang, J.T., N.C. Park and Y.G. Chung. 2002. Effects of the soil properties on growth of *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* and *Dendropanax morbifera* stands in warm temperate forest zone. *J. Kor. For. Soc.* 91:679-689 (in Korean).

Kang, Y.J., G.P. Hong, H.J. Kwon, J.K. Hong, B.K. Park and D.H. Oh. 2001. Antimicrobial activities of *Quercus* spp. leaf ethanol extracts against foodborne disease microorganisms. *J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr.* 30:415-420 (in Korean).

Kim, H.Y., Y.J. Lee, S.H. Kim, K.H. Hong, Y.K. Kwon, J.Y. Lee, S.C. Ha, H.Y. Cho, I.S. Chang, C.W. Lee and K.S. Kim. 1999. Studies on the development of natural preservatives from natural products. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 31:1667-1678 (in Korean).

Kim, J.Y., J.A. Lee, W.J. Yoon, D.J. Oh, Y.H. Jung, W.J. Lee and S.Y. Park. 2006. Antioxidative and antimicrobial activities of *Euphorbia jolkini* extracts. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 38:699-706 (in Korean).

Kim, T.U. 1996. The forest of Korea. 1st ed. Kyohak Press Inc, Seoul, Korea. p. 20 (in Korean).

Lee, B.W. and D.H. Shin. 1991. Antimicrobial effect of some plant extracts and their fractionates for food spoilage microorganisms. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 23:205-211 (in Korean).

Lee, S.J., K.W. An, T.S. Choi, H.S. Jung, J.H. Moon and

- K.H. Park. 2010. Component analysis and antioxidative activity of *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* nut. Kor. J. Food. Preserv. 17:139-144 (in Korean).
- Lee, T.B. 1979. Illustrated Flora of Korea. Hyangmoon Publishing Co., Seoul, Korea. p. 511 (in Korean).
- Lee, Y.N. 1998. *Flora of Korea*. 3th ed. Kyohak Publishing Co., Ltd., Seoul, Korea. p. 72 (in Korean).
- Liu, R.H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J. Nutr. 134:3479-3485.
- Maregesi, S.M, L. Pieters, O.D. Ngassapa, S. Apers, R. Vingerhoets, P. Cos, D.A. Berghe and A.J. Vlietinck. 2008. Screening of some Tanzanian medicinal plants from Bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. J. Ethnopharmacol. 119:58-66.
- Mothana, R.A. and U. Lindequist. 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. J. Ethno-Pharmacol. 96:177-181.
- Nara, K., T. Miyoshi, T. Honma and H. Koga. 2006. Antioxidative activity of bound-form phenolics in potato peel. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70:1489-1491.
- Park, S.K. and J.C. Park. 1994. Antimicrobial activity of extracts and coumaric acid isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. Kor. J. Biotechnol. Bioeng. 9:506-511 (in Korean).
- Ryu, S.W., C.W. Jin, H.S. Lee, J.Y. Lee, K. Sapkota, B.G. Lee, C.Y. Yu, M.K. Lee, M.J. Kim and D.H. Cho. 2006. Changes in total polyphenol, total flavonoid contents and antioxidant activities of *Hibiscus cannabinus* L. Kor. J. Med. Crop. Sci. 14:307-310.
- Silva, E.G., G.A. Behr, A. Zanotto-Filho, R. Lorenzi, M.A. Pasquali, L.G. Ravazolo, C.L. Bordignon, F.A. Silva, A.L. Aboy, V.L. Bassani, A.T. Henriques, F.H. Reginatto, F. Dal-Pizzol and J.C. Moreira. 2007. Antioxidant activities and free radical scavenging potential of *Bauhinia microstachya* (RADDI) MACBR. (Caesalpinaceae) extracts linked to their polyphenol content. Biol. Pharm. Bull. 30:1488-1496.
- Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenolic and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 299:152-178.
- Topisirovic, L., M. Kojic, D. Fira, N. Golic, I. Strahinic and J. Lozo. 2006. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. Int. J. Food. Microbiol. 112:230-235.
- Valentová, K., F. Sersen and J. Ulrichová. 2005. Radical scavenging and anti-lipoperoxidative activities of *Smilax sonchifolius* leaf extracts. J. Agric. Food. Chem. 53:1577-1582.
- Yoon, J.H. 1994. Introduction of Forestry. 1st ed. Kangwon National University Academic Press Inc, Chunchon, Korea. p. 29 (in Korean).
- Yun, J.W., M.Y. Yoo, B.K. Park, M.K. Lee and D.H. Oh, 2004. Antimicrobial effect of ethanol extracts of *Quercus* spp. leaf against foodborne pathogens. J. Kor. Soc. Food. Sci. Nutr. 33:463-468 (in Korean).

(접수일 2010.11.8; 수락일 2011.2.18)