Korean J. Plant Res. 25(5):543-549(2012)
http://dx.doi.org/10.7732/kjpr.2012.25.5.543

Original Research Article

대청 추출물의 항산화 효소 활성 및 항균 효과

허북구*, 박윤점[1], 이승진, 김관수[2], 조자용[3], 부희옥[4]

(재)나주시천연염색문화재단, [1]원광대학교 원예학과, [2]목포대학교 자연과학대학 한약자원학과,
[3]전남도립대학 약선식품가공과, [4](주)파이토M&F

Antioxidant Enzyme Activity and Antimicrobial Activity of *Isatis tinctoria* Extract

Buk-Gu Heo*, Yun-Jum Park[1], Seung-Jin Lee, Kwan-Su Kim[2], Ja-Yong Cho[3] and Hee-Ock Boo[4]

Naju Foundation of Natural Dyeing Culture, Naju 520-931, Korea
[1]Department of Horticulture, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea
[2]Department of Oriental Medicine Resources, Mokpo National University, Muan 534-729, Korea
[3]Dept. of Medicated Diet & Food Technology, Namdo Provincial College of Jeonnam, Damyang 517-802, Korea
[4]PHYTO M&F Co. Ltd., BI Center, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract - To gather the basic data for increasing the utilization of *Isatis tinctoria*, we examined the effects of both antioxidative enzyme activity and antimicrobial activity from the extract of *Isatis tinctoria*. Ascorbate Peroxidase activities reveal that there is an decrease in order; ethanol extract from its stem (1601.7 Unit/ mg protein), methanol extract from its leaf (1133.7 Unit/ mg protein) and distilled water extract from its leaf (524.3 Unit/ mg protein). Catalase activities reveal that there is an decrease in order; ethanol extract from its flower petal (177.1 Unit/ mg protein), methanol extract from its leaf (120.8 Unit/ mg protein) and distilled water extract from its flower petal (55.4 Unit/ mg protein). Peroxidase activities reveal that there is an decrease in order; ethanol extract from its flower petal (27.1 Unit/ mg protein), methanol extract from its flower petal (14.6 Unit/ mg protein) and distilled water extract from its stem (10.4 Unit/ mg protein). Superoxide dismutase activities reveal that there is an increase in order; distilled water extract from its root (90.8%), methanol extract from its flower petal (80.1%) and ethanol extract from its root (75.5%). Its flower extract showed a antimicrobial activity only against *Vibrio parahaemolyticus*, its root extract had only against *Staphylococcus aureus*, and its stem extract had against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, regardless of solvents. Especially, distilled water extract from its leaf showed a high antimicrobial activity against both *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* and inhibition diameters against those were 30.0 and 24.0 mm, respectively.

Key words - Antioxidative enzyme, Ascorbate peroxidase, Indigo plant, Superoxide dismutase, Woad

서 언

대청(*Isatis indigotica L.*)은 십자화과 2년 생 초본으로 숭람(崧藍)으로도 불리는 염료식물이며, 우리나라 함경남도 원산, 함경북도 성진과 일본 등지에도 자생하나 유럽에서 청색 염료로 많이 이용되기 때문에 유럽 쪽(藍)으로도 불린다(Heo *et al.*, 2011). 대청은 염료식물뿐만 아니라 약용식물로도 알려져 있는데, 대청에서 분리한 alkaloid C-glycoside는 백혈병과 인간 간암세포에 효과가 있다(Wu *et al.*, 2001)고 보고되었다. 대청 잎 추출물은 뇌염 바이러스, 홍역 바이러스 및 인플루엔자 바이러스 등에 대하여 억제 작용이 있고, 관절염에 대한 항염증 효과가 있다(Hamburger, 2003). 대청의 뿌리 추출물은 방사선에 의한 점막 손상을 감소시키는 항염증 효과를 가지고 있으며, 인디루빈(indirubin) 성분이 방사능 점막증과 식욕 부진증의 향상에 도움을 줄 수 있는 약물학적인 역할을 한다(You *et al.*, 2009). 또한 대청은 중국의 전통적인 약용식물로서 항균, 항바이러스, 항내독소, 해열, 면역조절 및 항종양 작용이 있다(Heo *et*

*교신저자(E-mail) : bukgu@naver.com

ⓒ 본 학회지의 저작권은 (사)한국자원식물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.

al., 2011). 이와 같이 대청의 약리적 효능에 대해서는 많은 연구가 이루어졌지만, 세포내 지질의 과산화 및 DNA와 단백질의 산화에 영향을 미치는 항산화 효과(Matthew and Gri, 2004; Vergani *et al.*, 2004)에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 한편, 대부분의 호기성 생물은 각종 스트레스를 받으면 산소분자의 감소는 superoxide anion radicals, singlet oxygen, hydrogen peroxide, hydroxyl peroxide, hydroxyl radical과 같은 독성이 높은 활성산소종(reactive oxigen species, ROS)을 생성시키며(Allen, 1995), 생물들은 이런 독성으로부터 자신을 보호하기 위하여 방어물질인 ascorbate peroxidase(APX), superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), peroxidase(POD) 등의 항산화 효소와 ascorbic acid, glut achion, caroteno id 등의 항산화 물질을 생성시킨다(Jeong, 2001; Yang *et al.*, 2011). 이러한 항산화 효소들은 세포막의 지질 과산화 손상, sulfhydryl-함유 효소의 불활성화, 구성 단백질의 교차결합 등을 일으키는 활성산소종을 불활성화 시키거나 제거함으로서 항산화 작용을 하게 된다(Bradford, 1976). 따라서 본 연구는 유용한 자생식물이면서 약용식물인 대청의 항산화효소 활성과 항균 활성 등의 생리 기능적 효능을 검증함으로서 향후 그 이용성을 확대하고자 하는 목적에서 수행하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험의 시료인 대청(*Isatis tinctoria*)은 종자를 2010년 8월 20일 전남 나주시 회진리에 파종하여 재배한 후 2011년 5월 20일에 수확하여 사용하였다. 수확한 시료는 2시간 이내에 부위별로 2 cm 미만 크기로 잘게 자른 다음 용매별로 추출하였다. 에탄올 및 메탄올 추출은 각각 시료 500 g에 대해 예비 실험에서 효과가 높은 농도인 메탄올 99.5% 및 에탄올 99.5% 액 3 L를 첨가하여 상온에서 24시간 동안 추출하였다. 증류수 3 L에 잘게 조제한 대청 부위별로 500 g을 넣은 다음 100℃에서 30분간 추출하였다. 추출물은 60℃에서 3시간 동안 환류냉각 추출을 3회 반복하여 냉각한 다음 매회 여과한 여액을 혼합하고 회전진공농축기로 농축한 것을 동결건조(Freeze dryer, Samwon Co. Korea) 후 분말화하여 시료로 사용하였다. 이러한 분말시료 추출액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 후 1,000 mg/L 농도로 희석하여 항산화효소 활성 및 항균성 검정에 사용하였다.

항산화 효소 활성

효소액 조제

농축액을 0100 mM K-PO_4 buffer(pH 7.5)에 2 mM EDTA, 1% PVP, 1 mM PMSF가 포함되도록 만든 용액으로 균질화하여, 4℃에서 15,000 g의 속도로 20분간 원심분리한 다음 취한 상징액을 대상으로 항산화효소의 활성을 측정하였다. APX(Ascorbate peroxidase)의 경우 extraction buffer에 위의 조성액에 10 mM를 첨가하여 사용하였다. 단백질 정량은 BSA를 표준물질로 사용하여 Bradford(1976) 방법에 따라 측정하였다.

Ascorbate peroxidase(APX)

APX 활성은 Mittler and Zilinskas(1993) 방법을 응용하여 실시하였다. 즉, 100 mM K-PO_4 buffer(pH 7.5), 0.5 mM ascorbate, 0.2 mM H_2O_2 가 되도록 Assay mixture를 만든 후 시료와 H_2O_2을 혼합하여 5분간 반응시킨 다음 spectrophotometer를 이용해서 290 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 1분간 산화된 1 μmole의 ascorbate를 1 unit로 하여 단백질 1 mg당 Unit로 표시하였다(Unit/mg protein).

Catalase(CAT)

CAT 활성은 Aebi(1974)의 방법을 응용하여 측정하였다. 최종농도가 50 mM K-PO_4 buffer(pH 7.0), 11 mM H_2O_2가 되도록 Assay mixture를 만든 후 시료와 H_2O_2을 혼합하고, 240 nm 흡광도에서 1분간 소거된 1 μmole의 H_2O_2를 1 unit로 하여 단백질 1 mg당 Unit로 표시하였다(Unit/mg protein).

Peroxidase(POD)

POD 활성은 Putter(1974) 방법을 응용하여 측정하였다. 최종농도가 40 mM K-PO_4 buffer(pH 6.9), 1.5 mM guaiacol, 6.5 mM H_2 O_2가 되도록 Assay mixture를 만든 후 시료와 H_2O_2를 혼합하여 1분간 반응시킨 다음 spectrophotometer를 이용해서 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 1 μmole의 tetraguiacol 형성을 1 unit로 하여 단백질 1 mg당 Unit로 표시 하였다(Unit/mg protein).

Superoxide dismutase(SOD)

SOD 활성은 분석용 Kit(SOD Assay Kit-WST, Sigma-Aldrich, Switzerland)를 사용하여 측정 하였다. 즉, SOD의 효소활성이 NBT(Nitroblue tetrazolium) 환원을 저해하는 능력을 검정하는 photochemical NBT method를 사용하였다. 반응액은 50 mM carbonic buffer(pH 10.2)(Boo *et al.*, 2011), 0.1 mM EDA 0.1 mM Xanthin, 0.025 mM NBT로 하였으며, NBT 환원 저해율을 흡광도 450 nm에서 측정하였고, 다음 계산식에 의해 환산하였다. SOD활성(NBT 환원 저해율, %) = $[(A_{blank1}-A_{blank3})-(A_{s\ ample}-A_{blank2})]$ / $(A_{blank\ 1}-A_{blank3})$x100

항균활성

공시균주 및 균 배양

균주는 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Vibrio parahaemolyticus*을 사용하였다. 각 균주 배양은 공시균주의 활성화를 위하여 nutrient broth(NB)에 1 백금이씩 접종한 후 35℃에서 24시간 배양하였다.

항균활성 검정

항균활성은 균액을 4-5 mm 두께가 되도록 분주한 nutrient agar(NA) 평판배지에 0.1 mL씩 주입하여 균일하게 도말하고, 멸균 paper disk(∅8 mm, Toyo Roshi Kaisha)에 추출액을 1,000 mg/L 액이 되도록 만든 용액을 50 ㎕/disk를 흡수시킨 다음 35℃에서 24시간 동안 배양한 후 paper disk 주위의 clear zone의 전체 직경 [(mm)-paper disk (∅8 mm)]을 측정하였다.

통계처리

각 조사항목 분석은 3-5반복으로 하였으며, 통계처리는 SAS 프로그램의 분산분석(ANOVA)을 실시하여 Duncan's multiple range test로 5% 유의 수준에서 시료간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

항산화 효소 활성

대청의 부위별 추출물의 APX 활성을 검정한 결과 메탄올 용매에서는 잎 추출물이 1133.7(Unit/mg protein)로, 에탄올과 증류수 용매에서는 줄기 추출물에서 각각 1601.7 및 524.3으로 가장 높았다(Table 1). 용매별로 보면, 잎의 메탄올 추출물을 제외하고는 에탄올 추출물에서 상대적으로 APX 활성이 높았으며, 다음으로 메탄올 추출물, 증류수 추출물 순으로 나타났다. 또한 부위별 결과를 보면, 꽃에서는 에탄올 추출물이 1049.8(Unit/mg protein)로 가장 높았고, 잎에서는 메탄올 추출물이 1133.7로, 줄기에서는 에탄올 추출물이 1601.7로, 그리고 뿌리에서는 에탄올 추출물이 627.5로 가장 높은 활성을 보였다. 이와 같이 대청의 APX 활성은 추출용매 종류 및 부위에 따라 각각 다른 결과를 나타냈다. APX는 엽록체, 미토콘드리아, 세포질 및 세포벽에 존재하고, ascorbate를 산화시킴으로써 H_2O_2를 불활성화시키고(Kang *et al.*, 2003), 생체 내에서 활성 산소로부터 생체를 보호하는 작용을 함으로써 각종 성인병 예방 및 항암, 항노화 기능을 수행하므로(Boo *et al.*, 2011) 활성이 높을수록 좋다. 이러한 측면에서 본 연구에서 나타난 대청 추출물물의 APX 활성은 뽕잎, 오디, 파프리카 등을 소재로 한 다른 연구결과(Boo *et al.*, 2011)와 비교해 볼 때 매우 높은 것으로 판단되며, 향후 이를 이용한 고부가가치 향장제품 및 기능성 식품 개발의 첨가 소재로서 유용하게 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

대청 부위별 추출물의 CAT 활성을 검정한 결과 메탄올

Table 1. APX (ascorbate peroxidase) activity of *Isatis tinctoria* extract

Plant parts	APX activity (Unit/ mg protein)		
	Methanol	Ethanol	Distilled water
Flower	458.6 ± 125.0 b[z]	1,049.8 ± 155.3 a	243.8 ± 40.8 c
Leaves	1,133.7 ± 157.6 a	816.4 ± 97.2 b	247.4 ± 97.7 c
Stem	515.7 ± 46.7 b	1,601.7 ± 127.6 a	524.3 ± 108.1 b
Root	278.8 ± 66.3 c	627.5 ± 129.6 a	403.9 ± 30.9 b

[z]Mean separation within rows by Duncan's multiple range test at 5% level.

용매에서는 잎 추출물에서 120.8(Unit/mg protein)로, 에탄올과 증류수 용매에서는 꽃 추출물에서 각각 177.1 및 55.4로 가장 높았다(Table 2). 각 부위별로 보면 꽃은 에탄올 추출물에서 177.1(Unit/mg protein)로, 잎은 메탄올 추출물에서 120.8로, 줄기는 메탄올 추출물에서 120.5로, 그리고 뿌리는 에탄올 추출물에서 41.1로 가장 높게 나타났다. 또한 용매별로 보면 부위별로 다소 차이는 있지만 증류수 추출물보다는 메탄올과 에탄올 추출물에서 상대적으로 높은 CAT 활성을 보였다. 즉, CAT는 생체내의 유해 산소들을 신속히 처리하여 세포를 보호하는 항산화계 효소로 APX와 함께 H_2O_2를 분해 소거하는 대표적인 효소인데 (Ryu and Kwon, 2008), 본 연구 결과에서는 꽃, 잎, 줄기의 메탄올과 에탄올 추출물에서 높은 경향을 나타내었으며, 활성이 가장 낮은 뿌리 증류수 추출물의 활성은 20.0 (Unit/mg protein)이었는데, 이는 다양한 식물유래 천연색소의 CAT 활성 분석에서 뽕잎이 17.7(Unit/mg protein)로 가장 높았다는 연구 결과(Boo *et al.*, 2011)와 비교해 볼 때 대청의 CAT 활성은 매우 높음을 알 수 있다.

대청 부위별 추출물의 POD(Ascorbate Peroxidase) 활성을 검정한 결과 메탄올 용매에서는 꽃 추출물이 14.6 (Unit/mg protein)으로, 에탄올 용매에서는 꽃 추출물에서 27.1로, 증류수 용매에서는 줄기 추출물에서 10.4로 가장 높았다(Table 3). 부위별로는 꽃의 경우 에탄올 추출물에서 27.1로, 잎은 메탄올 추출물에서 13.3으로, 줄기는 에탄올 추출물에서 11.5로, 뿌리는 메탄올 추출물에서 9.7로 가장 높게 나타났다. 따라서 SOD에 의해 생성된 H_2O_2를

Table 2. CAT (catalase) activity of *Isatis tinctoria* extract

Plant parts	CAT activity (Unit/mg protein)		
	Methanol	Ethanol	Distilled water
Flower	84.4 ± 10.8 b[z]	177.1 ± 4.2 a	55.4 ± 10.3 c
Leaves	120.8 ± 8.5 a	116.6 ± 8.8 a	49.3 ± 10.2 b
Stem	120.5 ± 22.1 a	48.2 ± 4.2 b	51.1 ± 11.3 b
Root	37.2 ± 7.9 a	41.1 ± 5.7 a	20.0 ± 7.6 b

[z]Mean separation within rows by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 3. POD (ascorbate peroxidase) activity of *Isatis tinctoria* extract

Plant parts	POX activity (Unit/mg protein)		
	Methanol	Ethanol	Distilled water
Flower	14.6 ± 2.3 b[z]	27.1 ± 3.2 a	2.2 ± 0.0 c
Leaves	13.3 ± 0.3 a	5.9 ± 0.1 b	3.6 ± 0.9 c
Stem	9.6 ± 0.2 c	11.5 ± 0.4 a	10.4 ± 0.2 b
Root	9.7 ± 1.9 a	6.5 ± 2.3 b	8.9 ± 0.8 a

[z]Mean separation within rows by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 4. SOD activity of *Isatis tinctoria* extract

Plant parts	SOD activity (inhibition rate %)		
	Methanol	Ethanol	Distilled water
Flower	80.1 ± 16.5 a[z]	30.9 ± 9.7 c	55.0 ± 10.8 b
Leaves	7.0 ± 1.6 b	8.8 ± 1.2 b	12.3 ± 1.9 a
Stem	44.6 ± 10.7 a	58.8 ± 8.6 a	58.0 ± 13.8 a
Root	69.3 ± 9.9 c	75.5 ± 7.5 b	90.8 ± 2.6 a

[z]Mean separation within rows by Duncan's multiple range test at 5% level.

기질로 이용하여 O_2와 H_2O로 대사시키는 효소 중의 하나인 POD(Jeong *et al.*, 2001)의 이용성 측면에서 볼 때 각 부위별로 추출용매를 달리한 최적의 추출조건을 확립하여 소재의 효용성을 높이는 것이 좋을 것으로 사료된다.

대청의 부위별 추출물의 SOD 활성을 검정한 결과 메탄올 용매에서는 꽃 추출물에서 80.1%로, 에탄올 용매에서는 뿌리 추출물에서는 75.5%로, 증류수 용매에서는 뿌리 추출물에서 90.8%로 가장 높았다(Table 4). 부위별로는 꽃의 경우 에탄올 추출물에서 80.1%로, 잎은 증류수 추출물에서 12.3%로, 줄기는 에탄올 추출물에서 58.8%로, 뿌리는 메탄올 추출물에서 90.8%로 가장 높게 나타났다. 이 중 뿌리의 증류수 추출물(90.8%)과 꽃의 메탄올 추출물(80.1%)은 식물유래 천연색소의 SOD 활성을 분석한 결과(Boo *et al.*, 2011)에서 활성이 높게 나타난 여주(87.8%), 흑미(87.0%), 포도과피(83.2%)와 유사한 결과를 나타냈다. SOD는 세포 내 호흡작용의 부산물로써 생성되는 sup eroxide anion을 과산화수소로 전환시키며(Fridovich, 1989), 이렇게 생성된 H_2O_2를 CAT와 peroxidase가 물로 전환되어 독성을 상실하게 된다(Yu *et al.*, 2005)는 점에서 증류수 추출만으로도 SOD 활성이 높게 나타난 대청 뿌리는 향후 노화의 예방 및 억제 측면에서 유용하게 활용할 소재가 될 수 있을 것으로 생각된다.

항균효과

메탄올, 에탄올 및 증류수를 용매로 한 대청의 각 부위별(꽃, 잎, 줄기 및 뿌리) 추출물의 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균활성을 조사한 결과, 꽃 추출물은 용매 종류에 관계없이 *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서만 항균 활성을 보였으며, 그 저

Table 5. Effect of 1,000 mg/L *Isatis tinctoria* extract on the antimicrobial activity

Plant parts	Strains	Inhibition dia. (mm)		
		Methanol	Ethanol	Distilled water
Flower	*Bacillus subtilis*	-	-	-
	Escherichia coli	-	-	-
	Staphylococcus aureus	-	-	-
	Salmonella enterica	-	-	-
	Vibrio parahaemolyticus	4.5 ± 0.9 b[z]	7.0 ± 1.0 a	7.0 ± 0.3 a
Leaves	*Bacillus subtilis*	3.0 ± 0.7 b	2.5 ± 0.2 b	30.0 ± 2.1 a
	Escherichia coli	12.0 ± 1.3 b	11.0 ± 1.2 b	24.0 ± 2.2 a
	Staphylococcus aureus	15.0 ± 1.9 a	8.5 ± 0.2 c	11.5 ± 1.1 b
	Salmonella enterica	2.5 ± 0.2	-	-
	Vibrio parahaemolyticus	-	-	-
Stem	*Bacillus subtilis*	-	-	-
	Escherichia coli	8.0 ± 1.0	-	-
	Staphylococcus aureus	7.5 ± 0.4 a	-	5.0 ± 0.2 b
	Salmonella enterica	-	-	-
	Vibrio parahaemolyticus	-	-	-
Root	*Bacillus subtilis*	3.5 ± 0.2 a	2.5 ± 0.2 b	-
	Escherichia coli	3.5 ± 0.2	-	-
	Staphylococcus aureus	9.0 ± 0.6 a	3.5 ± 0.1 c	7.0 ± 0.3 b
	Salmonella enterica	-	-	-
	Vibrio parahaemolyticus	-	-	-

[z]Mean separation within rows by Duncan's multiple range test at 5% level.

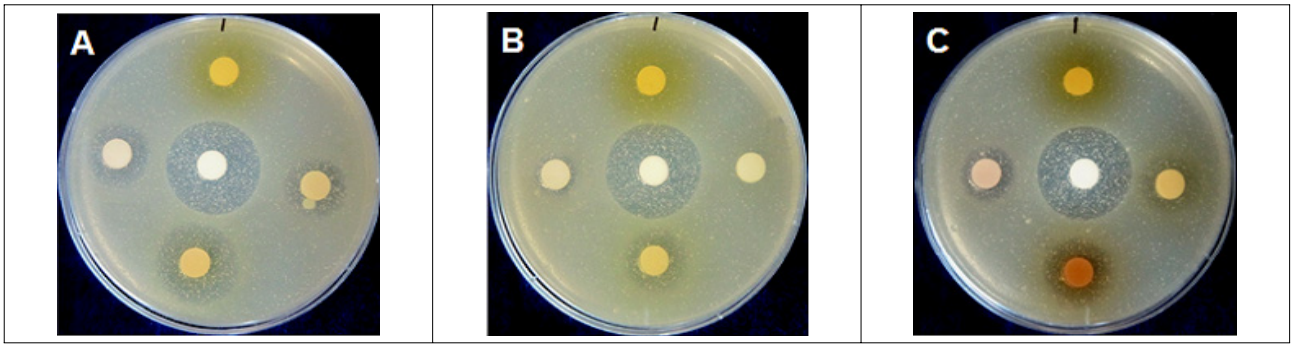

Fig. 1. Antimicrobial activity, inhibition diameter of *Isatis tinctoria* extract against *Staphylococcus aureus* (from the top right-handed; flower, stem, leaves and root).

해환 직경은 4.5-7.0 mm를 나타냈다(Table 5). 잎 추출물에서는 모든 추출용매에서 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 균에 대해 모두 항균 활성을 나타냈으며, 특히 증류수 추출물은 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*에 대해 저해환 직경이 각각 30.0 mm, 24.0 mm로 높은 항균성을 나타냈다. 또한 메탄올 추출물은 *Salmonella enterica*에 대해 활성억제 효과를 나타냈지만 저해환 직경은 2.5 mm에 불과하였다. 그리고 줄기에서는 메탄올을 용매로 한 추출물의 경우 *Escherichia coli*와 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해환 직경이 각각 8.0, 7.5 mm로 나타났으며, 증류수 추출물은 *Staphylococcus aureus*에 대해 5.0mm의 저해환 직경을 나타냈다. 뿌리 추출물의 경우 *Staphylococcus aureus* 균에서는 모든 추출용매에서 저해환 직경이 3.5-9.0 mm로 나타냈으며, *Bacillus subtilis* 균은 메탄올과 에탄올추출물 모두에서 3.5mm 이하, 그리고 *Escherichia coli* 균도 메탄올 추출물에서 저해환 직경이 3.5 mm 이하의 항균활성을 보였다. 한편, 항산화 효과는 항균활성과 밀접한 관련이 있다(Cha and Cho, 2001)는 보고가 있으나 본 연구에서는 특정의 부위 및 용매에 따른 항산화 효소활성과 항균성과의 상관성은 명확하지가 않았다.

적 요

대청의 이용성 향상을 위한 자료 확보 측면에서 식물체 부위 및 추출 용매별에 따른 항산화 효소 활성 및 항균효과를 조사하였다. APX(Ascorbate Peroxidase) 활성은 줄기의 에탄올 추출물, 잎의 메탄올 추출물, 잎의 증류수의 추출물 순으로 높아 각각 1601.7, 1133.7 및 524.3(Unit/mg protein)을 나타냈다. CAT(Catalase) 활성은 꽃의 에탄올 추출물, 잎의 메탄올 추출물, 꽃의 증류수 추출물 순으로 높았는데, 각각 177.1, 120.8 및 55.4(Unit/mg protein)를 나타냈다. POD(Ascorbate Peroxidase) 활성은 꽃의 에탄올 추출물, 꽃의 메탄올 추출물, 줄기의 증류수 추출물 순으로 높았으며, 각각 27.1, 14.6 및 10.4(Unit/mg protein)를 나타냈다. SOD(superoxide dismutase) 활성은 뿌리의 증류수 추출물, 꽃의 메탄올 추출물, 뿌리의 에탄올 추출물 순으로 높았으며, 각각 90.8, 80.1, 75.5%를 나타냈다. 대청의 꽃 추출물은 *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서만, 뿌리는 *Staphy lococcus aureus*에 대해서만, 줄기 추출물은 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphy lococcus aureus*에 대해서만 용매에 관계없이 항균활성을 나타냈다. 특히 대청 잎의 증류수 추출물은 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*에 대해 높은 항균활성을 나타내어 저해환 직경이 각각 30.0 및 24.0 mm이었다. 이와 같은 결과는 약용식물로서 대청의 가치가 높음을 시사해 주었다.

사 사

이 논문은 농림수산식품부 농림수산식품기술기획평가원의 기술사업화지원사업(810003-03-SB110) 지원에 의해 연구된 것입니다.

인용문헌

Aebi, H.E. 1974. Catalase. *In* Bergmeyer, H.U. (ed.), Methods of

Enzymatic Analysis, Vol. 2, Academic Press, NY, USA. pp. 673-684.

Allen, R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol. 107:1049-1054.

Boo, H.O., S.J. Hwang, C.S. Bae, S.H. Park and W.S. Song. 2011. Antioxidant activity according to each kind of natural plant pigments. Korean J. Plant Res. 24:134-141 (in Korean).

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.

Cha, J.Y. and Y.S. Cho. 2001. Biofunctional activities of citrus flavonoids. J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 44:122-128 (in Korean).

Fridovich, I. 1989. Superoxide dismutase. J. Biol. Chem. 264:7761-7764.

Hamburger, M. 2003. Isatis tinctoria-from the rediscovery of an anccient medicinal plant towards a novel anti-inflammatory phytophar maceutical. Phytochem. Rev. 1:333-344.

Heo, B.G., H.G. Jang, D.Y. Rhyu and J.H. Kim. 2011. Function and Utilization of Indigo Plant. Pubuplan Co., Seoul, Korea. pp. 35-40 (in Korean).

Jeong, H.J., E.H. Kim, K.J. Lee, G.Y. Chung, J.K. Lim, J.M. Yoo, Y.E. Shim and J.H. Park. 2001. Evaluation of the antioxidant potential and enzyme activities in species of *Rhus*. Korean J. Plant Res. 14(3):220-228 (in Korean).

Kang, N.J., J.K. Kwon, H.C. Lee, H.B. Jeong and H.T. Kim. 2003. Antioxidant enzymes as defense mechanism against oxidative stress induced by chilling in *Cucurbita ficifolia* leaves. J. Kor. Hort. Sci. 44(5):605-610.

Matthew, B. and S. Gri. 2004. Reactive oxygen species in immune responses. Free Radic Biol. Med. 36(12):1479-1480.

Mittler, R. and B.A. Zilinskas. 1993. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium. Anal. Biochem. 112:540-546.

Putter, J. 1974. Peroxidase: *In* Bergmeyer, H.U. (ed.), Methods of Enzymatic Analysis, Vol. 2, Academic Press, NY, USA. pp. 685-690.

Ryu, T.S. and S.T. Kwon. 2008. Cell viability and antioxidant enzyme activity in the cell of ginseng treated with soil extracts. Korean J. Plant Res. 21:324-328 (in Korean).

Vergani, L., M. Floreani, A. Russell, M. Ceccon, E. Napoli, A. Cabrelle, L. Valente, F. Bragantini, B. Leger and F. Dabbeni-Sala. 2004. Antioxidant defences and homeostasis of reactive oxygen species in different human mitochondrial DNA-depleted cell lines. Eur. J. Biochem. 271(18):3646-3656.

Wu, Y., ZX. Zhang, H. Hu, D. Li, G. Qiu, X. Hu and X. He. 2011. Novel indole C-glycosides from Isatis indigotica and their potential cytotoxic activity. Fitoterapia 82(2):288-292.

Yang, Y.J., H.J. Kim, S.H. Kang and S.C. Kang. 2011. Screening of natural herb resources for anti-oxidative effects in Korea. Korean J. Plant Res. 24(1):1-9 (in Korean).

You, W.C., C.C. Hsieh and J.T. Huang. 2009. Effect of extracts from indigowood root (*Isatis indigotica* Fort.) on immune responses in radiation-induced mucositis. J. Altern. Complement Med. 15(7):771-778.

Yu, H.H., Y.H. Kim, S.Y. Jung, M.K. Shin, R.K. Park, H.S. So, B.H. Jeong and Y.O. You. 2005. Effect of the ethanol extract from steamed roots of *Rehmannia glutinosa* on the antioxidant enzyme activities in HEI-OC1 auditory cells. Kor. J. Oriental Physiology & Pathology 19(6):1557-1562.

(Received 19 May 2012 ; Revised 23 July 2012 ; Accepted 21 August 2012)