

## 헛개나무 열수추출물로부터 항산화 및 항미생물 활성을 갖는 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid와 3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid의 분리 및 동정

조정용 · 문재학\* · 박근형  
전남대학교 식품공학과, \*日本 徳島大學 醫學部 營養學科

### Isolation and Identification of 3-Methoxy-4-hydroxybenzoic Acid and 3-Methoxy-4-hydroxycinnamic Acid from Hot Water Extracts of *Hovenia dulcis* Thunb and Confirmation of Their Antioxidative and Antimicrobial Activity

Jeong-Yong Cho, Jae-Hak Moon\* and Keun-Hyung Park  
Department of Food Science and Technology, Chonnam National University  
\*Department of Nutrition, University of Tokushima, Japan

#### Abstract

The methanol soluble fraction of the hot water extracts from *Hovenia dulcis* Thunb showed antioxidative and antimicrobial activity. The methanol fraction was successively purified with solvent fractionation, silica gel adsorption column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, and octadecylsilane column chromatography. The purified active substances were isolated by high performance liquid chromatography. The isolated substances were identified as 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid (vanillic acid) and 3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid (ferulic acid) by LC-MS and GC-MS. Vanillic acid and ferulic acid showed antimicrobial activity against Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and yeast. The DPPH-radical scavenging activity of ferulic acid appeared more active than that of vanillic acid. DPPH-radical scavenging concentration of ferulic acid and vanillic acid were 14 µg/mL (SC<sub>50</sub>), 100 µg/mL (SC<sub>10</sub>), respectively.

Key words : *Hovenia dulcis*, antioxidative activity, antimicrobial activity, 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid, 3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid

#### 서 론

식품이 갖는 3차 기능은 인체의 생리 기능 조절이나 항산화 유지에 관련하는 기능으로 최근 건강에 대한 욕구의 증가와 함께 이에 관한 관심이 증대되고 있다. 기능성을 갖는 식품은 질병의 예방이나 노화억제 등 건강 유지에 주요한 역할을 하는데 이러한 조절 능력이 있는 성분이 함유된 식품은 예로부터 기능성 식품소재로 이용되어 왔다.

식품의 산패 및 체내에서의 산화는 식품 품질과 영

양가를 저하시키는 원인이 될 뿐만 아니라 각종 질병 및 노화의 원인이 되기도 하며, 유해미생물에 의한 피해는 식품산업 뿐만 아니라 의약, 농업, 저장, 유통산업 등 광범위한 영역에서 직면하고 있는 심각한 문제 이어서, 보다 안정성이 확보 가능한 천연의 항산화 및 항균활성을 갖는 기능성 물질 개발이 요구되고 있다<sup>(1-5)</sup>.

한편, 헛개나무는 우리 나라의 산야에 자생 또는 재배되고 있는 식물로 숙취 해소 및 건강 목적으로 물로 달여 음용하며<sup>(6)</sup>, 헛개나무 잎에 함유된 간독소 해독물질로 ampelopsin<sup>(7)</sup>이, antisweet 물질로 hodulose, jujuboside 등<sup>(8)</sup>이 보고된 바 있다. 그러나, 헛개나무에서 항산화 및 항미생물 기능을 갖는 기능성 물질에 관한 정보가 빈약하여 이에 관한 연구가 요구되고 있다.

이러한 배경에서, 헛개나무의 기능성 해명고 헛개나무에서 유용 기능성 성분을 찾으려는 시도로 헛개나

Corresponding author : Keun-Hyung Park, Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, 500-757 Kwangju, Korea  
Tel : 82-62-530-2143  
Fax : 82-62-530-2149  
E-mail : khpark@chonnam.ac.kr

무 물추출물에 함유된 항미생물 및 항산화 활성 물질을 분리하여 활성 본체를 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용한 헛개나무(*Hovenia dulcis* Thunb)는 전라남도 보성군에서 재배된 식물로, 6월에 어린 줄기를 포함한 잎을 채취하여 음건한 후, homogenizer (BM-2 Nissei bio-mixer, Nihonseiki Kaiseiki LTD, Tokyo, Japan)로 분쇄하여 시료로 사용하였다.

### 활성물질의 추출, 정제 및 분리

활성물질의 추출은 헛개나무의 어린 줄기가 포함된 잎(3.8 kg)을 위 등<sup>(9)</sup>의 방법에 따라 열수추출(95°C, 15 분)하여 원심분리(959×g, 15 min; VS-3000MT, Vision, Seoul, Korea)한 후, 얻어진 상등액을 동결건조(FDU-500, Eyela, Tokyo, Japan)하여 분말화된 물추출물을 얻었다. 이를 methanol(MeOH, 12 L)로 추출하여 여액을 cooling aspirator가 장착된 vacuum evaporator (N-2N, Eyela, Tokyo, Japan)로 38°C에서 감압농축하여 MeOH 추출물을 얻었다.

MeOH 추출물은 ethyl acetate(EtOAc)와 buffer 용액(0.2 M glycine-0.2 M HCl, pH 3)으로 수상 획분과 EtOAc 가용 산성·중성 획분(EtOAc-soluble acidic·neutral fraction)으로 분획하였다. EtOAc 가용 산성·중성 획분을 buffer 용액(0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-0.2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 8)으로 분배하여 EtOAc 가용 중성 획분(EtOAc-soluble neutral fraction)과 수상 획분으로 분획하였고, 얻어진 수상 획분에 0.1 M HCl을 가하여 pH 3.0으로 조절한 후 EtOAc로 분배하여 EtOAc 가용 산성 획분(EtOAc-soluble acidic fraction)과 수상획분으로 분획하였다.

Silica gel adsorption column chromatography는 Cho 등<sup>(10)</sup>의 방법으로 silica gel(86 g, 70~230 mesh, column chromatography용, Merck사, Darmstadt, Germany)을 EtOAc로 slurry를 만들어 column(2.8×33 cm)에 충전시킨 후, EtOAc-MeOH 용매계를 이동상으로 하여 MeOH 농도를 0, 10, 20, 30, 40, 50%(단계별 860 mL씩)까지 증가시키면서 step-wise 방법으로 용출하였다.

Sephadex LH-20 column chromatography는 Park 등<sup>(11)</sup>의 방법으로 Sephadex LH-20(70~230 mesh, Pharmacia, Uppsala, Sweden)을 MeOH-CHCl<sub>3</sub>(4:1, v/v) 용매계로 상온에서 24시간 팽윤시킨 다음, column

(2×86 cm, bed volume 250 mL와 1.6×60 cm, bed volume 125 mL)에 충전하여 동 용매계로 용출분획하였다.

Octadecylsilane(ODS) column chromatography는 임 등<sup>(12)</sup>의 방법으로 ODS(20 g, 70~230 mesh, YMC, Kyoto, Japan)을 H<sub>2</sub>O:MeOH(3:7, v/v)로 slurry를 만들어 column에 충전시킨 후, H<sub>2</sub>O-MeOH 용매계의 MeOH농도를 10%씩(각 단계별 40 mL) 증가시켜 용출분획하였다.

High performance liquid chromatography(HPLC)는 Senshu pak ODS column(0.8×25 cm, Senshu pak, Tokyo, Japan)을 이용하여 50% MeOH, 1.5 mL/min (Model 510 solvent delivery system, Waters, USA)로 용출분획하였으며, 검출기는 UV detector (290 nm, Model 486 tunable absorbance detector, Waters, USA)를 사용하였다.

### 활성물질의 구조확인

Liquid chromatograph-mass spectrometry(LC-MS) 분석은 LC-MS(Waters Intergri<sup>TM</sup> system)에 LC (Waters 2690 Separations Module Alliance, Nova-pak C<sub>18</sub> column, 2×150 mm, Millipore, MA, USA)을 장착하고 50% MeOH로 분당 0.25 mL로 용출하였으며 Waters 996 photodiode array detector로 검출하였고 ionizing voltage는 70 eV로, ion source temperature는 200°C에서 실시하였다.

Gas chromatograph-mass spectrometry(GC-MS) 분석은 GC-MS(Varian SATURN 4D, Walnut Creek, CA, USA)에 GC(Varian STAR 3400CX, Walnut Creek, CA, USA)에 Rtx-1 capillary column(0.32 mm×30 m, Varian Instruments 2700, Walnut Creek, CA, USA)을 장착하고, ion source temperature 200°C, He의 유속 1 mL/min, ionizing voltage 70 eV 조건으로 분석하였다. Trimethylsilyl(TMS) 유도체화는 Park 등<sup>(11)</sup>의 방법에 의해 시료 10 µg에 시약(pyridine:N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide:trimethylchlorosilane, 10:5:1, v/v) 20 µL을 가하여 vortex mixer로 혼합 후 60°C에서 30분 동안 반응시켰다.

GC-MS 분석용 표준 시약으로 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid(Sigma, Louis, MO, USA)와 trans 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid(Tokyo Kasei, Tokyo, Japan)를 사용하였다.

### 항미생물 활성 측정

항미생물 활성 측정을 위해 사용한 미생물은 10종

의 Gram 양성 세균(*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* KCTC 3195, *Lactobacillus brevis* KCTC 3102, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Pediococcus damnosus* KCTC 1628, *Staphylococcus aureus* KCTC 1927, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pyogenes* KCTC 3096)과 3종의 Gram 음성 세균(*Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella typhi* ATCC 19214) 그리고 2종의 효모(*Saccharomyces cerevisiae* IFO 1850, *Candida albicans* ATCC 10231)을 사용하였다.

배지는 젖산균은 Lactobacilli MRS 배지(Merck, Darmstadt, Germany)와 *E. faecalis*, *S. pyogenes*, *S. mutans*는 Brain Heart Infusion 배지(Difco, Detroit, MI, USA), 그 밖의 세균은 Nutrient 배지(Merck), 효모는 YM배지(Difco)를 사용하였다. 배양온도는 세균의 경우 37°C 또는 30°C에서 16시간, 효모는 30°C에서 16시간 동안 3회 반복하여 전배양을 행한 후 접종균주로 사용하였다.

항미생물 활성의 검정은 Zaika의 paper disc(φ 6 mm, Advantec, Tokyo, Japan)방법<sup>(13)</sup>으로 측정하였다. Davidson과 Parish의 방법<sup>(14)</sup>에 의해 45°C로 조절된 멸균 배지 20 mL에 전 배양액 0.1 mL를 무균적으로 옮겨 잘 혼합한 후 petri dish에 넣고 굳혔다. 여기에 용매에 용해시킨 시료를 적하하여 용매를 제거한 paper disc를 올린 뒤 0.85%의 식염수로 확산시켜 각 균주의 적절 온도에서 12시간 배양하여 paper disc 주위의 clear zone의 크기(mm)로 활성의 정도를 측정하였으며 비교구로 benzoic acid(Hayashi Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)를 사용하였다. 정제과정에서는 항미생물 활성 검정균으로 *S. aureus*와 *E. coli*를 사용하였다.

**항산화 활성 측정**

항산화 활성 검정은 Sakata의 방법<sup>(15)</sup>으로 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼에 대한 소거능으로 나타냈다. 즉, DPPH(Sigma, MO, USA)를 ethanol(EtOH)에 용해하여 제조한 용액(100 μM, 44 mg/L) 900 μL와 시료용액 100 μL을 test tube에 넣고 vortex에서 혼합한 다음 암소에서 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 비교구로 α-tocopherol(Sigma, MO, USA)를 사용하였으며, SC

(DPPH-radical scavenging concentration)값은 Sábchez-Moreno의 방법<sup>(16)</sup>으로 구하였다. 또한, 정제과정에서 항산화 활성 검정은 시료를 TLC(Merck, silica gel, 0.2 mm, Germany)로 전개(1-butanol-acetone-water, 91 : 7 : 2, v/v)한 다음, 200 μM DPPH 용액을 spray하여 탈색이 되면 양성으로 판정하였다.

**결과 및 고찰**

**헛개나무 추출물의 항미생물 및 항산화 활성**

헛개나무 잎과 줄기 3,800 g에서 얻어진 분말상의 열수추출물(494 g)을 MeOH로 용해하여 MeOH 가용획분과 불용획분으로 분획하였다. 이들 획분을 *E. coli*와 *S. aureus*를 대상으로 항미생물 활성을 검정한 결과, MeOH 가용획분에 항미생물 활성이 집중되었다. 또한, DPPH 용액에 의한 라디칼 소거능을 검정한 결과, 헛개나무 잎과 줄기의 MeOH 가용획분에 활성을 나타내 헛개나무 물추출물의 MeOH 가용획분은 항미생물 및 항산화 활성물질을 함유하고 있었다.

이어, MeOH 가용획분을 용매분획하여 얻어진 EtOAc 가용 산성 획분, EtOAc 가용 중성 획분, 0.2 M glycine buffer 획분(수상 획분)을 대상으로 *E. coli*와 *S. aureus*에 대한 항미생물 활성을 검정한 결과, EtOAc 가용 산성 획분에 활성이 집중되었다. 또한, 이들 획분을 대상으로 DPPH 자유라디칼 소거능을 검정한 결과, 50%의 DPPH 자유라디칼 소거능(SC<sub>50</sub>)은 EtOAc 가용 산성 획분이 93 μg/mL, EtOAc 가용 중성 획분이 86 μg/mL, 수상 획분이 546 μg/mL으로 나타나 항산화 활성물질은 EtOAc 가용 획분에 집중되었다.

따라서, EtOAc 가용 산성 획분은 항미생물 및 항산화 활성이 모두 나타나 이 획분에 함유된 활성 본체의 단리를 우선 시도하였다.

**활성물질의 분리**

항미생물 및 항산화 활성을 갖는 EtOAc 가용 산성 획분(5.69 g)을 EtOAc-MeOH 용매계의 silica gel adsorption column chromatography로 용출분획한 결과, 항산화 및 항미생물 활성은 100% EtOAc 용출획분에서 활성이 나타났다. 이어 이 활성획분(3.15 g)을 Sephadex LH-20 column chromatography(bed volume, 250 mL)로 분리한 결과, 항미생물 및 항산화 활성은 Ve/Vt(elution volume/bed volume) 0.96-1.06의 위치에서 용출된 획분에 활성을 나타냈다.

이 활성획분(226.7 mg)을 ODS column chromatography를 이용하여 MeOH-H<sub>2</sub>O의 용매계로 용출획분한

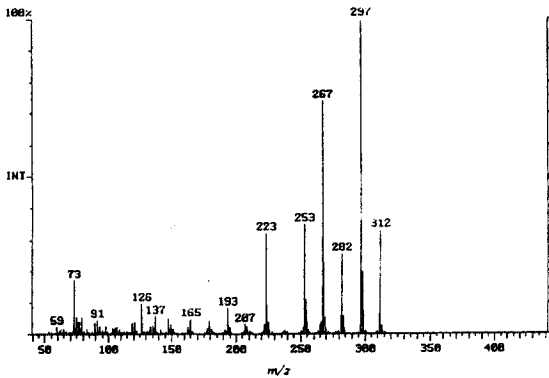


Fig. 1. GC-MS spectrum of the trimethylsilylated active substance 1 from water extracts of *Hovenia dulcis* Thunb.

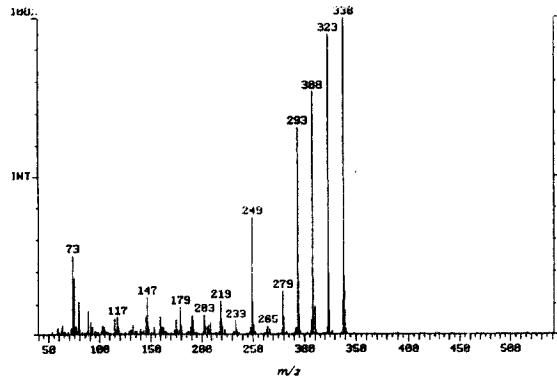


Fig. 2. GC-MS spectrum of the trimethylsilylated active substance 2 from water extracts of *Hovenia dulcis* Thunb.

결과, 50% MeOH 용출획분(79.7 mg, 활성물질 1로 명명)과 60% MeOH 용출획분(61.5 mg, 활성물질 2로 명명)에 활성을 나타내 활성물질이 분리되었다.

두 활성획분을 Sephadex LH-20 column chromatography (bed volume, 125 mL)로 재정제한 다음, 활성물질 1은 Senshu pak ODS column(50% MeOH)을 탑재한 HPLC에 의하여 retention time( $t_R$ ) 7.35분에서 백색 분말형태로 73 mg이 단리되었으며, 활성물질 2는 동일한 HPLC 조건에서  $t_R$  8.37분에서 백색 분말형태로 55 mg이 단리되었다.

분리된 활성물질의 구조확인

분리된 활성물질 1의 물질규명을 위해, LC-MS에 의해 측정된 EI-MS 분석 결과,  $M^+$ 이온이 base peak로서 168에 관찰되었으며, 특이적인 fragment ion으로  $m/z$  153, 138, 125, 108, 97에 이온이 관측되어,  $C_8H_8O_4$ 의 분자식을 갖는 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (vanillic acid)의 EI-MS 스펙트럼과 일치하였다. 이를 확인하고자, 활성물질 1의 일부를 TMS유도체로 만든 다음, GC-MS에 의해 EI-MS 분석 결과(Fig. 1),  $M^+$ 가 312에 그리고 fragment ion이  $m/z$  297(base peak), 282, 267, 253, 223에 나타나, vanillic acid의 COOH기와 OH기에 TMS가 도입된 TMS ester TMS ether 구조( $C_{14}H_{24}O_4Si_2$ ,  $M^+$  312)로 관측될 뿐만 아니라 GC의  $t_R$ (11.58분) 또한 표준의  $t_R$ 과 일치하여 활성물질 1의 구조가 vanillic acid임이 재확인되었다.

이어, 활성물질 2의 LC-MS에 의해 측정된 EI-MS 분석치는,  $M^+$  이온이  $m/z$  194에 그리고 base peak로서 관찰되었으며, fragment ion으로  $m/z$  179, 133, 123, 107, 89에 이온이 관측되어,  $C_{10}H_{10}O_4$ 의 분자식을 갖는 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid(ferulic acid)의

EI-MS spectra와 일치하였다. 이를 확인하고자, 활성물질 2의 일부를 상기의 방법으로 TMS유도체로 만들고 GC-MS분석하여 얻어진 EI-MS spectrum(Fig. 2)은  $M^+$  이온이  $m/z$  338에 base peak로 관측되었으며, fragment ion이  $m/z$  323, 308, 293, 249에 이온을 나타내 ferulic acid의 COOH기와 OH기에 TMS가 도입된 TMS ester와 TMS ether 구조( $C_{16}H_{26}O_4Si_2$ ,  $M^+$  338)로 관측될 뿐만 아니라, GC의  $t_R$ (14.61분) 또한 표준의  $t_R$ 과 일치하여 활성물질 2의 구조가 ferulic acid임이 재확인되었다.

이상의 LC-MS, GC-MS분석에 의해 헛개나무 잎과 줄기의 물추출물로부터 향미생물 및 항산화 활성 물질로 분리된 활성물질 1과 활성물질 2는 각각 vanillic acid와 ferulic acid로 동정되었다.

헛개나무 잎과 줄기에 함유된 향미생물 및 항산화 활성물질로 vanillic acid와 ferulic acid가 분리·동정된 것은 처음으로 사료된다. 헛개나무 잎과 줄기의 물추출물에서 단리된 vanillic acid와 ferulic acid는 각각 19.2 mg/kg, 14.5 mg/kg이나, 분리과정에서의 유실 등을 고려한다면, 헛개나무 잎과 어린 줄기에 함유된 두 물질의 함량은 이보다 더 높은 수준일 것으로 사료된다. Ferulic acid는 인삼<sup>(17)</sup>, 귀리<sup>(18)</sup>, 보리<sup>(19)</sup> 등에서 항산화 활성물질로, 백두옹<sup>(20)</sup>에서 향미생물 활성물질로 동정된 바 있으며, vanillic acid는 인삼<sup>(17)</sup>, 귀리<sup>(18)</sup>, 보리<sup>(19)</sup> 등에서 항산화 활성물질로 동정된 바 있다. 또한, 식물에서 ferulic acid의 생합성 경로는 tyrosine 혹은 phenylalanine이 탈아미노화, 산화, 메틸화 과정을 거쳐 생성되어지며 ferulic acid는 생합성상 vanillic acid의 전구물질로 보고된 바 있다<sup>(21)</sup>.

단리된 물질의 향미생물 활성

헛개나무 잎과 줄기로부터 단리된 vanillic acid와

**Table 1. Antimicrobial activity of the isolated vanillic acid and ferulic acid from water extracts of *Hovenia dulcis* Thunb against various microorganisms**

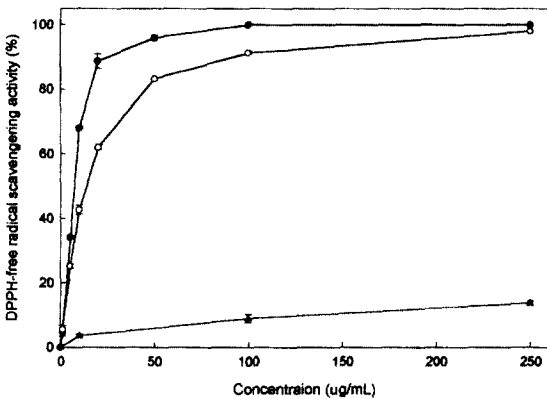
Microorganisms	Inhibition (Clear zone, mm) <sup>1)</sup>		
	Vanillic acid <sup>2)</sup>	Ferulic acid <sup>2)</sup>	Benzoic acid <sup>2)</sup>
	500 µg	500 µg	250 µg
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1927	11.2 ± 0.57	10.1 ± 0.56	10.9 ± 0.40
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	11.3 ± 0.80	9.0 ± 0.81	11.9 ± 0.81
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10.1 ± 0.82	9.1 ± 0.46	12.0 ± 0.36
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	9.0 ± 0.44	-	9.8 ± 0.38
<i>Enterococcus faecalis</i> KCTC 3195	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	7.1 ± 0.25	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> KCTC 3096	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> KCTC 3104	7.1 ± 0.36	-	8.8 ± 0.32
<i>Lactobacillus brevis</i> KCTC 3102	8.1 ± 0.61	7.2 ± 0.44	7.8 ± 0.58
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> KCTC 3100	9.9 ± 0.83	11.3 ± 0.44	11.0 ± 0.71
<i>Pediococcus damnosus</i> KCTC 1628	13.0 ± 0.65	12.2 ± 0.12	12.7 ± 0.55
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	7.9 ± 0.68	7.2 ± 0.67	8.9 ± 0.53
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	8.0 ± 0.40	-	9.1 ± 0.49
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 19214	9.1 ± 0.56	8.2 ± 0.31	10.9 ± 0.44
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1850	-	-	8.0 ± 0.44
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	11.1 ± 0.57	12.1 ± 0.55	12.9 ± 0.38

<sup>1)</sup>Data are shown as the mean ± S.D.(n=3)

<sup>2)</sup>µg of each samples/6 mm paper disc.

-No inhibition.

Benzoic acid was used as a reference compound.



**Fig. 3. Antioxidative activity of the isolated active substances from water extracts of *Hovenia dulcis* Thunb. α-Tocopherol was used as a reference compound. ●-●: α-tocopherol, ○-○: ferulic acid, ▲-▲: vanillic acid**

ferulic acid의 항균활성을 14종의 세균과 2종의 효모에 대하여 paper disc method 방법으로 측정하였다. 두 활성물질은 500 µg 농도에서 대부분의 미생물에 생육을 저해하였으나 그람 음성 세균보다 그람 양성 세균에 더 강한 활성을 보였다. Vanillic acid는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. damnosus* 등의 그람양성세균, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi* 등의 그람 음성 세균에 ferulic acid보다 강한 활성을 보였고,

ferulic acid는 *L. mesenteroides*의 젖산균과 *C. albicans*의 효모에 vanillic acid보다 더 강한 활성을 보였다. 그러나, 두 활성물질은 500 µg 농도에서 *E. faecalis*와 *S. pyogenes*를 저해하지 못하였다(Table 1).

**단리된 물질의 항산화 활성**

헛개나무 잎과 줄기에서 얻어진 vanillic acid와 ferulic acid를 DPPH 자유라디칼 소거능으로 나타낸 항산화 활성을 검정한 결과, 50%의 DPPH 자유라디칼 소거능(SC<sub>50</sub>)은 ferulic acid가 14 µg/mL, α-tocopherol이 8 µg/mL로 측정되었으나 vanillic acid는 100 µg/mL에서 SC<sub>10</sub> 정도의 활성을 나타내, ferulic acid는 vanillic acid보다 강한 항산화 활성을 나타냈으며 α-tocopherol보다는 약간 낮은 항산화 활성을 나타냈다(Fig. 3).

**요 약**

헛개나무 어린 줄기와 잎의 열수추출물에서 얻어진 MeOH 가용획분에 항미생물 및 항산화 활성을 보여, 이들 활성 본체를 규명하고자 활성물질을 solvent fractionation, silica gel adsorption column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, ODS column chromatography로 순차정제하고, HPLC

등에 의해 두 종의 활성물질을 분리하여 LC-MS, GC-MS 분석에 의해 vanillic acid와 ferulic acid로 각각 동정하였다. 두 활성물질은 그람 양성 세균 및 그람 음성 세균 그리고 효모 등의 미생물에 항균 활성을 보였다. 또한, vanillic acid와 ferulic acid의 항산화 활성은 vanillic acid보다 ferulic acid가 강한 활성을 나타내, DPPH 자유라디칼 소거능을 나타내는 농도는 ferulic acid가 14  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( $\text{SC}_{50}$ )을, 그리고 vanillic acid가 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( $\text{SC}_{10}$ )이었다.

### 감사의 글

이 연구는 목포대학교 식품산업연구센터 지원에 의하여 수행된 결과로서 이에 감사드립니다.

### 문헌

- Friedman, M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1523-1540 (1997)
- Middleton, E. Biological properties of plant flavonoids: An overview. *Int. J. Pharmacognosy* 34: 344-348 (1996)
- Schmid, M.K. Medical foods. *Food Technology* 46: 87-96 (1992)
- Caragy, A.B. Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technology* 46: 65-68 (1992)
- Cho, S.Y., You, B.J., Chang, M.H., Lee, S.J., Sung, N.J. and Lee, E.H. Screening for antimicrobial compounds in unused marine resources by the paper disk method. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 261-265 (1994)
- Kim, T.J. Korean resources plants. p. 72. Seoul National University Press, Seoul, Korea (1996)
- Hase, K. and Ohsugi, M. Hepatoprotective effect of *Hovenia dulcis* Thunb on experimental liver injuries induced by carbon-tetrachloride or D-galactosamine/lipopolysaccharide. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 41: 381-385 (1997)
- Yoshikawa, M, Tumura, S., Yamada, K. and Arihara, T. Antisweet natural products. 7. Hodulosides I, II, III, IV, and V from the leaves of *Hovenia dulcis* Thunb. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 40: 2287-2291 (1992)
- Wee, J.H. and Park, K.H. Retardation of Kimchi fermentation and growth of related microorganisms by tea catechins. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 1275-1081 (1997)
- Cho, J.Y., Moon, J.H., Seong, K.Y. and Park, K.H. Antimicrobial activity of 4-hydroxybenzoic acid and *trans* 4-hydroxycinnamic acid isolated and identified from rice hull. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 2273-2276 (1998)
- Park, K.H., Park, J.D., Hyun, K.H., Nakakyama, M. and Yokota, T. Brassinosteroids and monoglycerides with brassinosteroid-like activity in immature seeds of *Oryza sativa* and *Perilla frutescena* and in cultured cells of *Nicotiana tabacum*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 2241-2243 (1994)
- Yim, C.K., Moon, J.H. and Park, K.H. Isolation of 3,4-dihydroxybenzoic acid, which exhibits antimicrobial activity, from fruits of *Gardenia jasminoides*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1386-1392 (1999)
- Zaika, L.L. Their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety* 9: 97-118 (1988)
- Davidson, P.M. and Parish, M.E. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *J. Food Technology* 43: 148-155 (1989)
- Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A. and Sakata, K. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 1780-1783 (1994)
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saá-calixto, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* 76: 270-276 (1998)
- Wee, J.J. Isolation and identification of constituents from antioxidant and hematopoietic fractions of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Ph. D. Thesis*, Seoul National University, Korea, (1988)
- Xing, Y.M. and White, P.J. Identification and function of antioxidants from oat groats and Hulls. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 303-307 (1997)
- Maillard, N.M. and Berset, C. Evolution of antioxidant activity during kilning: Role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1789-1793 (1995)
- Lee, H.H., Ma, S.J., Moon, J.K. and Park, K.H. Isolation and characterization of 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid and 3,4-dihydroxycinnamic acid with antimicrobial activity from root of *Pulsatilla koreana*. *Agri. Chem. Biotechnol.* 42: 191-196 (1998)
- Haslam, E. The shikimate pathway in higher plants: Phenylpropanoid compounds and their derivatives, pp. 186-240. In: *The shikimate pathway*. London Butterworths & Co Ltd, London, UK (1974)

(2000년 6월 13일 접수)