

## 석류씨 추출물의 항산화 및 항균활성

고종호 · 황명오 · 문주수<sup>1</sup> · 황성연<sup>1</sup> · 손종연<sup>1</sup>  
(주) 한일양행, <sup>1</sup>한경대학교 식품생물공학과 식품생물산업연구소

### Antioxidative and Antimicrobial Activities of Pomegranate Seed Extracts

Jong-Ho Koh, Myeong-O Hwang, Joo-Soo Moon<sup>1</sup>, Seong-Yun Hwang<sup>1</sup>, Jong-Youn Son<sup>1</sup>  
*Hanilyanhhang Co. Ltd.*

<sup>1</sup>*Institute of Food Industry and Biotechnology, Department of Food and Biotechnology, Hankyong National University*

#### Abstract

This study was investigated on antioxidative and antimicrobial activities of PSW(pomegranate seed water extract), PSE(pomegranate seed ethanol extract) and PSO(pomegranate seed oil). The extraction yields of PSW, PSE and PSO were 28.9, 13.0 and 4.9%, respectively. Total phenol contents of PSW, PSE and PSO were 47, 78 mg/g(dry basis) and 40 mg/g, respectively. Electron donating abilities of PSW, PSE and PSO at 1,000 ppm were 18.8, 28.5 and 9.7%, respectively. Antioxidative activities in linoleic acid substrates at 500 ppm were in order of PSE >  $\alpha$ -tocopherol > PSW > PSO. Antioxidative activities in linoleic acid emulsion substrates at 200 ppm were in order of  $\alpha$ -tocopherol > PSE > PSW > PSO. In antimicrobial activity, PSO showed growth inhibition effect against *Micrococcus luteus*, *Salmonella enteritidis* and PSW showed growth inhibition effect against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*. Whereas antimicrobial activity of PSE was not observed. The nitrite-scavenging abilities of PSW, PSE and PSO at 2,000 ppm were 27.5, 23.7 and 39.6%, respectively. And the SOD-like activities of PSW, PSE and PSO at 1,000 ppm were 15.9, 34.9 and 0.10%, respectively.

Key words : pomegranate seed, antioxidative activity, antimicrobial activity

## 1. 서 론

석류(*Punica granatum Linne*)는 석류과(*Punicaceae*)에 속하는 낙엽활엽 교목으로 석류씨는 석류자(石榴子, Granati Semen), 석류가지, 줄기 및 뿌리는 석류피(石榴皮, Granati Cortex), 석류과실의 껍질은 석류과(石榴皮, Granati Pericarpium)라고 한다(한국 약용 식물학 연구회지 2001). 예로부터 한방에서 석류열매, 줄기껍질, 뿌리의 껍질을 건조하여 각종 기생충, 특히 촌충의 구제, 설사, 이질, 구내염, 장출혈

에 효과가 있어 한약재로 이용되어져 왔다(생약학 교재편찬위원회공저 2000). 탄닌이 많아 수렴성 건위약으로도 많이 사용되고 있다(한국생약학교수협의회지 2002).

최근 석류씨 중의 puniceic acid, estrogen, estradiol,  $\beta$ -sistosterol의 생리활성 및 섭취효과가 보고되면서, 석류씨에 대한 많은 연구들이 발표되고 있다(Junko MO 등 2004). 석류나 콩과류에서 발견되는 phytoestrogen의 주성분은 isoflavones와 lignans 등의 페놀성 화합물이며(Avram M과 Dornfeld L 2001), 이들 페놀성 화합물은 천연의 성호르몬과 공통성을 갖는 구조를 가지고 있어 암, 심장혈관질환, 골다공증 등의 만성질환에 대해서 예방효과가 있다고 보고되고 있다(Poyrazoglu E

Corresponding author: Jong-Youn Son, *Hankyong National University*, 67, Sukgung-dong, Ansung-si, Gyeonggi-do 456-749, Korea  
Tel : 82-31-670-5155  
Fax : 82-31-677-0990  
E-mail : nawin98@chol.com

등 2002, Goldfien A와 Monroe SE 1997).

식물계에 널리 분포되어 있는 이들 페놀성 물질은 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며(Husain SR 등 1987), 또한 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 항산화효과 등의 다양한 생리활성 기능도 갖고 있다(Takahara U. 1985). 또한 석류씨 기름 중에 다량 함유되어 있어 있는 punicic acid와 같은 conjugated fatty acid는 항암작용물질로 알려져 있으며(Longtin R. 2003), 이외에도 면역증진, 항산화작용, 체지방 감소 등에도 효과적임이 보고되면서(Nugteren DH와 Christ-Hazelhof E 1987), conjugated fatty acid를 다량 함유한 새로운 기능성 식품에 대한 지속적인 연구가 진행되고 있다(Suzuki R 등 2001, Schubert SY 1999).

일반적으로 식물성 천연물들의 항산화효과, 항균성 등은 추출방법, 추출조건 등에 따라 유효물질의 함량 및 함유패턴이 다르고, 생리적 활성도 다르게 나타나기 때문에 석류씨의 효율적인 이용을 위해서는 석류씨 추출물의 형태에 따른 체계적인 유효성분의 검증이 필요할 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 물추출물, 에탄올추출물 및 석류씨 기름에 대한 항균성, 항산화성, 아질산염 소거능 및 SOD 유사활성 등의 생리활성을 비교, 검토하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 사용된 석류씨는 이란산으로 (주)한일양행(안성, 한국)으로부터 제공받았으며, 석류씨 건조물을 약 20~30 mesh로 분쇄(IKA M20, IKA Co. LTD. Germany)하여 석류씨 추출물 제조에 사용하였다.

### 2. 석류씨 추출물의 제조 및 수율측정

석류씨의 추출물의 제조는 식용으로 사용가능한 용매인 물과 에탄올(80%)을 이용하여 제조하였다. 조분쇄된 석류씨 건조물 1 Kg에 대하여 물 및 80% 에탄올 각각 5 L씩 첨가한 후, 8시간동안 환류냉각하면서 추출하여 조여하였다. 조여과된 석류씨 추출물들을 24시간동안 4°C에서 정치, 10,000×g로 15분간 원심분리(CR 21, Hitachi, Japan)한 후 동결, 건조하여 석류씨 물 추출물 및 에탄올 추출물을 제조하였다. 석류씨 기름은 석류씨 건조물을

120°C에서 5분간 볶은 후 가열압출 방식의 착유기(NEW KJ 900, 이조기공, Korea)로 200°C에서 압착하였다. 압착된 기름은 다시 탈검, 탈산, 탈색, 탈취공정을 걸친 후 석류씨 기름을 제조하였다. 추출물은 추출전의 석류씨 건조물의 무게에 대한 추출물의 무게백분율로 계산하였으며 냉동 보관(-40°C)하면서 실험에 사용하였다.

### 3. 지방산 분석

석류씨 기름의 지방산조성을 분석하기 위한 전처리는 AOAC법(AOAC 1995)에 따라 행하였다. 즉, 시료를 250 mL 삼각플라스크에 0.15~0.2 g 정도 취한 다음 0.5 N NaOH/methanol을 4 mL 가한 후 환류, 냉각하면서 10분간 가열하였다. 다음으로 14% BF<sub>3</sub>/methanol 5 mL 가하고 2분간 반응시킨 다음 hexane 5 mL를 가하고 1분간 가열하였다. 반응 후 삼각플라스크를 분리 냉각시키고, 이를 test tube에 옮겨 포화 식염수를 가하고 hexane층을 분취하여 가스크로마토그래피(M600D, Youglin, Korea)에 주입하여 분석하였다. 사용한 칼럼은 SUPELCOWAX<sup>TM</sup>-10 (0.32 mm i.d. × 60 m × 0.25 μm film thickness, U.S.A), 검출기는 불꽃이온화 검출기(FID), 온도는 주입기 240°C, 검출기 250°C, 오븐 180°C/1 min-3°C/min-240°C/15 min, 운반기체는 헬륨, 주입량은 1 μL이었다.

### 4. 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

총페놀 함량은 Folin-Denis법(AOAC 1984)에 의하여 분석하였다. 즉, Folin-Denis시약은 sodium tungstate 10 g, phosphomolybdic 2 g, phosphoric acid 5 mL를 메스플라스크에 넣고 증류수로 정용한 후 삼각플라스크에 옮겨 2시간 동안 환류조작하여 사용하였다. 실험방법으로는 캡튜브에 증류수 7 mL씩 넣고 DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹인 시료를 1 mL씩 넣은 후 Folin-Dennis 시약을 0.5 mL를 첨가 후 정확히 3분 후에 sodium carbonate anhydrous 포화용액 1 mL, 증류수 0.5 mL를 넣은 후 725 nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액과 비교하여 총페놀 함량을 구하였다. 표준용액으로는 tannic acid(Sigma Co., St. Louis, USA)를 사용하였다.

총 flavonoid 함량(Teresa-Satue M 1995)은 석류추출물을 일정량 취한 후 50% methanol용액 5 mL로 정용한 시료 용액 1 mL과 diethylene glycol 10 mL를 혼합하고 여기에 1 N-NaOH용액 1 mL 가하여

잘 혼합한 후 37 에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 naringin (Sigma co., St. Louis, USA)을 이용하여 작성하였다.

## 5. 전자공여능(Electron donating ability, EDA)의 측정

석류씨 추출물들의 전자공여능은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)의 환원성을 이용하여 516 nm에서 UV/Visible spectrophotometer(TU-1800, Human Co. LTD, Korea)로 측정하였다(Blois MS 1958). 즉, 각각의 석류씨 추출물들 0.15 mL과 0.035% DPPH 용액( $6.25 \times 10^{-5}$  M) 3 mL를 시험관에 넣은 후 5초동안 vortex mixer로 혼합하여 30분간 반응시킨 후 대조구에 대한 흡광도의 감소비율로서 전자공여능을 나타내었다.

## 6. 리놀레인산 기질에서의 항산화효과 측정

석류씨 추출물들을 linoleic acid(Sigma Co., St. Louis, USA)에 각각 200 ppm 및 500 ppm의 농도로 첨가하였다. 또한 기존 항산화제 중  $\alpha$ -tocopherol(Sigma-Aldrich chemical Co., St. Louis, USA)도 위와 동일한 방법을 사용하여 비교, 조사하였다. 이와 같이 농도별로 첨가된 linoleic acid는 100 mL 비이커에 50 g씩 분취하여 40°C로 유지되는 항온기에 저장하면서 일정 저장기간 별로 과산화물가(AOAC 1990)를 측정하여 석류씨 추출물들의 항산화 효과를 비교, 조사하였다. 저장 중 과산화물가의 변화에 따른 유도기간 설정은 과산화물가가 50 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간으로 하였다.

## 7. 리놀레인산 에멀전 기질에서의 항산화효과 측정

리놀레인산 에멀전 기질에서의 항산화효과 측정은 리놀레인산 1.3 mL를 99.5% ethanol 100 mL에 용해시킨 후 10 mL씩 conical tube에 넣고 석류씨 추출물들 및 항산화제를 각각 200 ppm 농도가 되도록 첨가하였다. 그리고 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)를 10 mL 첨가한 뒤 증류수 4.5 mL 넣은 후 40±1°C 항온기에 저장하면서 하루 간격으로 과산화물 함량을 측정하여 항산화효과를 비교, 조사하였다. 과산화물 함량 측정은 thiocyanate method(JOCS 1984)를 사용하여 측정하였다. 즉 75% ethanol 4.7 mL에 각 시료 0.1 mL와 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL를 넣고, 정확히 3분 후 20 mM iron(II)chloride(in 3.5% HCl) 0.1 mL를 넣어

500 nm에서 UV/Visible spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 각 시료의 과산화물 함량의 지표로 삼았다.

## 8. Paper Disc법에 의한 항균활성 측정

석류 추출물의 항균효과 검색은 paper disc법(Kim MS 등 2000)으로 측정하였다. 각 시험균주를 해당 액체 배지에 24시간 전배양하였고, 평판배지의 조제는 각각의 생육배지로 멸균된 1.5% agar를 petridish에 20 mL씩 분주하여 응고시킨 후 각 시험균액을 0.1 mL씩 첨가하여 멸균된 유리봉으로 배지위에 고르게 퍼지도록 도포하여 사용하였다. 시료를 일정농도로 주입한 paper disc(8 mm, Toyo Roshi Kaicha, Ltd. Japan)를 평판배지 위에 흡착시켜 멸균수 30  $\mu$ L를 주입 후 37°C에서 24시간 배양하여 paper disc 주변의 inhibition clear zone의 직경(mm)을 측정하였다. 항균성 실험에 사용된 균주 및 배지는 Table 1과 같았다.

## 9. 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거작용은 Gray와 Dugan의 방법(Gray II와 Dugan JLR 1975)에 의하여 측정하였다. 즉 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 1 mL에 일정농도의 시료 1 mL를 가하고 0.1 N HCl로 반응용액의 pH를 1.2로 조정하여 다음 총량을 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응 액을 1 mL씩 취하여 2% 초산용액 5 mL과 Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid 와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용직전에 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합하였다. 이 혼합액을 실온에서 15분간 방치한 후 분광 520 nm에서 흡광도를 측정, 잔존하는 아질산염을 구하였다. 공 시험은 Griess시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율

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

Microorganisms tested	Media used	Temp (°C)
<i>Bacillus cereus</i>	KCCM 40935	NA*
<i>Escherichia coli</i>	KCCM 11234	MRS & NA**
<i>Salmonella enteritidis</i>	KCCM 12021	NA
<i>Micrococcus luteus</i>	KCCM 11326	MRS & NA

\* NA: Nutrient agar

\*\* MRS & NA : Lactobacilli broth & Nutrient agar

로써 나타내었다.

$$N(\%) = 1 - \frac{A - C}{B} \times 100$$

- N : nitrite scavenging ability
- A : absorbance of 1 mM NaNO<sub>2</sub> added sample after standing for 1 hour
- B : absorbance of 1 mM NaNO<sub>2</sub>
- C : absorbance of control

### 10. SOD 유사 활성

석류씨 추출물의 superoxide 라디칼 ( $\cdot O_2$ ) 소거활성은 Iio 등의 방법(Iio M 1985)에 따라 xanthine-xanthine oxidase cytochrome c 환원법으로 측정하였다. 즉, 시료 0.2 mL, 50 mM PBS 완충용액 (pH 7.8) 1.2 mL, 1 mM xanthine 0.2 mL와 0.05 mM cytochrome C 0.2 mL를 혼합하였다. 여기에 550 nm에서 분당 흡광도의 변화가 0.02가 되도록 희석한 xanthine oxidase 0.2 mL를 가하여 3분간의 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 superoxide anion의 소거능은 아래의 식으로부터 구하였다.

$$\text{Superoxide anion scavenging activity} = \left(1 - \frac{Abs}{Abc}\right) \times 100$$

- Abc : Absorbance of control at 550 nm
- Abs : Absorbance after sample treatment at 550 nm

## III. 결과 및 고찰

### 1. 석류씨 추출물들의 추출수율

석류씨의 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름의 추출수율은 각각 28.9, 13.0 및 4.9%로 석류씨 기름에서 가장 낮은 수율을 보였고, 물 추출물에서 가장 높은 추출 수율을 보였다. 물 추출물의 경우, 에탄올 추출물에 비해 약 2.2배, 석류씨 기름에 비해 약 5.9배의 추출수율을 나타냈다.

**Table 2. Total phenol, flavonoid content and electron donating ability of pomegranate seed extracts**

	Total phenol content (mg/g)	Total flavonoid content (mg/g)	Electron donating ability (%)
Water extract	47	3	18.8
Ethanol extract	78	16	28.5
Pomegranate seed oil	40	18	9.7

### 2. 석류씨 추출물들의 총 페놀, 총 플라보노이드 함량 및 전자공여능

석류씨 추출물들의 총페놀 함량을 측정한 결과 (Table 2), 석류씨 추출물들의 건조물에 대하여 물 추출물은 47 mg/g, 에탄올 추출물은 78 mg/g이었고 석류씨 기름은 40 mg/g로 모든 석류씨 추출물들에는 페놀성 화합물들이 존재하고 있었으며, 에탄올 추출물에서 가장 높은 함량을 보였다. 총 플라보노이드 함량은 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름에 대해 각각 3.0, 16 및 18 mg/g으로 석류씨 기름에서 가장 높게 나타났다. 이들 추출물들에 대한 전자공여능을 측정한 결과, 1,000 ppm의 농도에서 물 추출물의 전자공여능은 18.8%, 에탄올 추출물은 28.5%, 석류씨 기름은 9.7%로 총 페놀 함량이 가장 높게 나타난 에탄올 추출물에서 가장 강한 전자공여능을 보였다. 그러나 positive control로 사용한 BHT(36.9%)나  $\alpha$ -tocopherol (93.2%)에 비해서는 낮은 전자공여능을 보였다.

### 3. 석류씨 기름의 지방산 조성

석류씨 기름의 지방산 조성 Table 3과 같이 palmitic acid가 3.7%, stearic acid가 2.4%, oleic acid가 7.8%, linoleic acid 8.2%, linolenic acid 7.6%이었으며 일반적으로 종자유에서는 검출되지 않는 4개의 peak가 검출되었으며 이들의 함량은 65.0%에 달하였다. 최 등(최원균 등 2002)은 석류농축액의 지방산조성을 분석한 결과, myristic acid가 13.1%, palmitic acid가 8.3%, stearic acid가 69.4%, oleic acid가 6.8%라고 보고하여 석류과즙과 석류씨 기름의 지방산 조성이 크게 다른 것을 알 수 있었다. 반면,

**Table 3. The fatty acid compositions of the pomegranate seed oil**

Fatty acid	Soybean oil (%)	Pomegranate seed oil (%)
C <sub>16:0</sub>	11.4	3.7
C <sub>18:0</sub>	4.4	2.4
C <sub>18:1</sub>	25.2	7.8
C <sub>18:2</sub>	52.9	8.2
C <sub>18:3</sub>	6.1	7.6
Unknown	-	46.5
Unknown	-	9.8
Unknown	-	5.8
Unknown	-	3.2

Melgarejo 등(Melgarejo P 등 1995)에 의하면 석류씨 기름의 지방산 조성은 palmitic acid 2.5~4%, stearic acid 1.5~2.5%, oleic acid 4~5%, linoleic acid 5~8%이었고 석류씨 기름으로부터 conjugated octadecatrienoic acid를 분리·동정 및 punicic acid(9, 11, 13번 위치에 이중결합을 함유)의 함량이 65.3%에 이른다고 보고하여(Takagi T 1966) 본 실험의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다. 이들 conjugated octadecatrienoic acid는 linolenic acid탄소의 이중결합 위치가 다른 기하학적 이성질체로써 8번과 10번, 9번과 11번, 11번과 13번 탄소원자에 이중결합을 형성하고 cis와 trans형의 이성질체를 포함하여 많은 이성질체가 존재하며 이들 중에는 punicic acid(9-cis, 11-trans, 13-cis), alpha-eleostearic acid(9-cis, 11-trans, 13-tans), catalic acid(9-trans, 11-trans, 13-cis), trycosanic acid(9-cis, 11-cis, 13-trans)가 알려져 있다(Hopkins CY 와 Chrisholm MJ 1968).

따라서 석류씨 기름의 미지의 지방산은 다양한 생리활성을 나타내는 linoleic acid의 기하학적 이성질체로 사료되며 이들 conjugated octadecatrienoic acid는 항암

작용, 항산화작용, 항동맥경화증, 면역증진 효과에 효과가 있는 것으로 알려져 있어<sup>10-12)</sup> 석류씨 기름을 새로운 기능성 소재로써 이용할 수 있을 것으로 기대되었다.

#### 4. 리놀레인산 기질에서의 항산화효과

석류씨 추출물들을 리놀레인산 기질에 각각 200 ppm 농도로 첨가한 후 과산화물가의 변화를 측정된 결과(Fig. 1), 저장 6일째의 대조구, 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름을 첨가한 리놀레인산의 과산화물가는 각각 79.2, 76.5, 71.0 및 79.6 meq/kg oil로 나타나 에탄올 추출물에서 가장 좋은 항산화효과를 보인 반면 석류씨 기름에서는 그 효과가 보이지 않았다. 에탄올 추출물의 항산화효과는 α-tocopherol 첨가구(71.2 meq/kg oil)와 비슷한 것으로 나타났다. 한편 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름을 500 ppm 농도로 첨가한 리놀레인산 기질의 저장 6일째 과산화물가(Fig. 2)는 각각 69.0, 54.4 및 75.4 meq/kg oil로 모든 첨가구에서 대조구 보다 낮게 나타나 항산화효과를 보였다. 즉, 석류씨 추출물의 첨가농도를 200 ppm에서 500

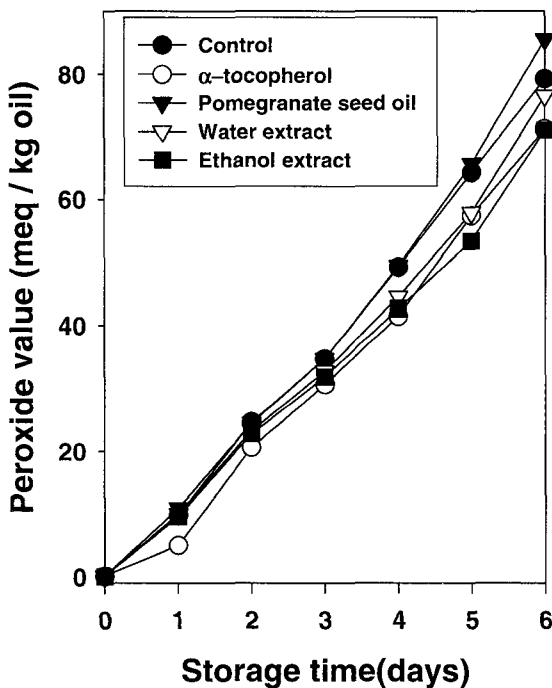


Fig. 1. Change of the peroxide values of the linoleic acid substrates containing pomegranate seed extracts at 200ppm.

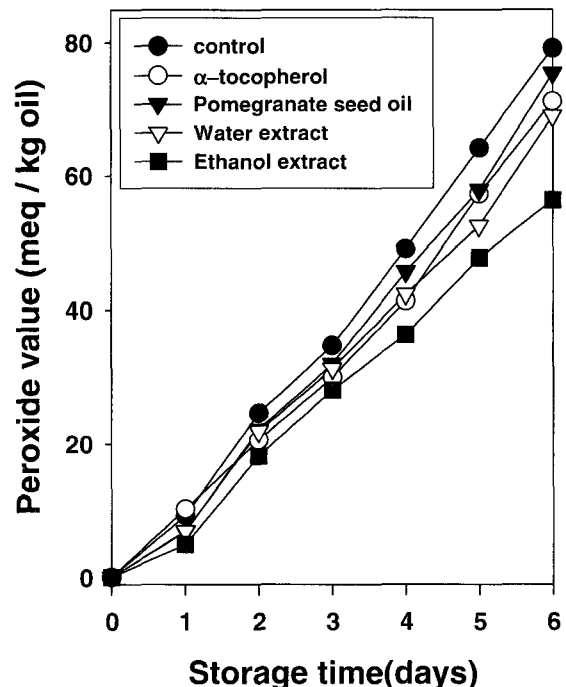


Fig. 2. Change of the peroxide values of the linoleic acid substrates containing pomegranate seed extracts at 500ppm.

ppm으로 증가시킴에 따라 항산화 효과는 증가하였으며 에탄올 추출물 첨가구(500 ppm)는  $\alpha$ -tocopherol 첨가구(200 ppm)보다 항산화효과가 우수한 것으로 나타났다.

저장중 과산화물가가 50 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간(일)으로 유도기간을 설정한 결과, 대조구의 유도기간은 4.1일인 반면 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름 첨가구의 유도기간은 각각 4.8일, 5.3일, 4.4일로 약 1.17배, 1.30배 1.07배의 연장효과를 보였다. 결론적으로 리놀레인산 기질에서의 항산화효과는 에탄올 추출물 >  $\alpha$ -tocopherol > 물 추출물 > 석류씨 기름의 순이었다.

**5. 리놀레인산 에멀전 기질에서의 항산화효과**

리놀레인산 에멀전 시스템 항산화 효과를 비교한 결과(Fig. 3), 석류씨 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름을 각각 200 ppm 첨가한 기질의 과산화물 함량은 저장 10일째에 1.149, 1.011 및 1.275로 나타나 대조구(2.525)에 비해 낮은 값을 나타내었다. 리놀레인산

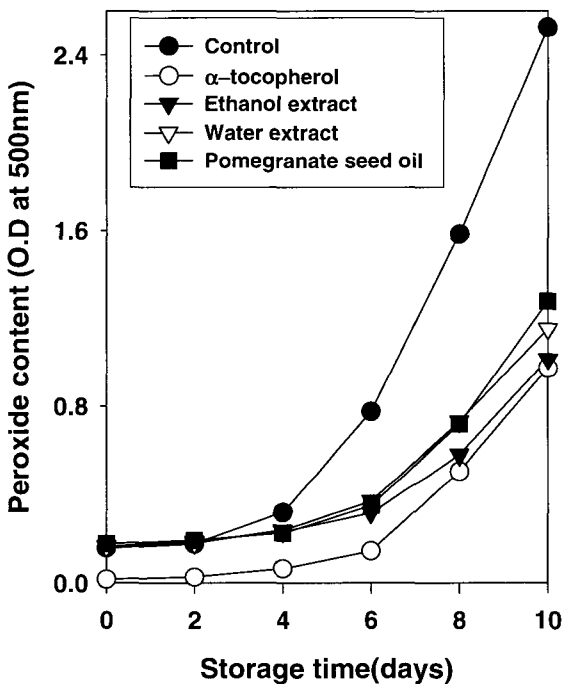


Fig. 3. Change of the peroxide content of the linoleic acid emulsion substrates containing pomegranate seed extracts at.

기질에서 항산화효과를 보이지 않았던 석류씨 기름의 경우, 리놀레인산 에멀전 기질에서는 항산화효과는 나타나어 리놀레인산 기질에서의 항산화효과의 경우와는 다른 경향을 보였다. 한편, positive control로 사용한  $\alpha$ -tocopherol의 경우, 저장 10일째의 과산화물 함량은 1.007로 석류씨 에탄올 추출물과 비슷한 정도의 항산화효과를 보였다. 즉, 리놀레인산 에멀전 기질에서의 항산화효과는  $\alpha$ -tocopherol  $\geq$  에탄올 추출물 > 물 추출물 > 석류씨 기름 순이었으며, 항산화효과의 차이는 크지 않았다.

**6. Paper Disc법에 항균효과**

석류씨 추출물들을 멸균된 paper disc (8mm 직경)에 각각 일정 농도로 흡착시켜 배지에 접촉, 미생물의 종류에 따라 적정온도에서 12~24시간 동안 배양 후 형성된 저해 부위의 크기를 측정하여 Table 4, 석류씨 기름의 경우, *Micrococcus luteus*, *Salmonella enteritidis*에서 항균력을 나타내었으며 추출물의 농도 (1,000~4,000  $\mu$ g/disc)가 증가함에 따라 항균효과(10~12 mm)도 증가하였다. 그러나 물 추출물의 경우, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*에 대해서만 항균효과를 보였고, 에탄올 추출물의 경우에는 모든 균에 대하여 항균효과를 보이지 않았다.

이상의 결과로 볼 때, 석류씨 추출물들의 항균효과

Table 4. Antimicrobial effect of pomegranate seed extracts

Microorganisms tested	Conc. ( $\mu$ g/disc)	Pomegranate seed oil (mm)	Water extract (mm)	Ethanol extract (mm)
<i>Bacillus cereus</i> KCCM 40935	4000	-	9	-
	2000	-	-	-
	1000	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> KCCM 11326	4000	12	-	-
	2000	11	-	-
	1000	10	-	-
<i>Escherichia coli</i> KCCM 11234	4000	-	11	-
	2000	-	-	-
	1000	-	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> KCCM 12021	4000	11	-	-
	2000	10	-	-
	1000	10	-	-
	500	-	-	-

는 총 페놀 함량이 가장 높은 에탄올 추출물에서 가장 강한 항균효과가 나타나리라는 예상과는 달리, 페놀성 화합물들의 함량이 가장 낮은 석류씨 기름에서 가장 강한 항균효과를 보였다. 이는 석류씨 기름에 존재하는 성분들 중 페놀성 화합물이외의 다른 지용성 물질들에 의한 복합적 효과로 항균효과가 나타난 것으로 사료되었다.

**7. 아질산염 소거능**

아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급 및 3급 amine과의 nitroso화 반응, 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나며 발암물질인 nitrosamine을 생성하여 체내에서 diazotalkane(C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub>N<sub>2</sub>)으로 변화, 핵산이나 단백질 또는 세포내의 성분을 alkyl화함으로써 암을 유발하고(Kato H 등 1987), 아질산염 자신이 독성을 갖고 있기 때문에 일정한 농도 이상 계속 섭취시 혈액 중의 헤모글로빈을 산화시켜 메트헤모글로빈증(methemoglobinemia)을 유발한다(Gray JJ 와 Dugan JLR 1975). 식품 중에서의 nitro화 반응은 ascorbic acid, phenolic guaiacol, resorbicicol 등의 phenol계 물질들에 의해 억제할 수 있다(Leaf CD 등 1987).

석류씨 추출물들의 아질산염 소거능을 측정한 결과 (Fig. 4), 100 ppm 농도에서는 매우 낮은 아질산염 소거능을 보였으나 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거능 또한 증가하는 경향을 보였다. 특히 석류씨 기름은 100 ppm 농도에서 가장 낮은 소거능을 보였으나 500 ppm 농도 이상에서는 아질산염 소거능이 크게 증가하는 경향을 보였다. 2,000 ppm 농도에서 물 추출물, 에

탄올 추출물 및 석류씨 기름의 아질산염 소거능은 각각 27.5, 23.7 및 39.6%로 석류씨 기름에서 가장 강한 소거능을 보였다.

일반적으로 전자공여능과 아질산염 소거능은 총 페놀 함량에 비례하는 것으로 알려져 있으나(이기동 등 1997), 본 실험에서는 총 페놀 함량이 가장 낮은 석류씨 기름에서 가장 강하게 나타났다. 한편 아질산염 소거능이 있는 것으로 알려져 있는 ascorbic acid 및 BHT의 아질산염 소거능은 각각 93.8 및 72.2%로 나타났다.

**8. SOD 유사활성**

생체내 항산화 효소중의 하나인 superoxide dismutase는 세포내 활성산소를 과산화수소로 전화시키는 반응을 촉매하는 효소이며 SOD에 의해 생성된 과산화수소는 catalase 또는 peroxidase에 의해 물분자와 산소 분자로 전환되는 중요한 효소중에 하나이다(2 O<sub>2</sub><sup>-</sup> + 2 H<sup>+</sup> → H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>). 이러한 SOD와 똑같지는 않지만 유사활성 측정 방법이 실험실에서 사용되고 있는데 즉, superoxide anion의 활성을 억제시키는 물질 즉, SOD 유사활성 측정방법이 널리 이용되고 있다. 석류씨 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름의 SOD 유사활성을 측정한 결과 (Fig. 5), 1,000 ppm의 농도에서 각각 15.9, 34.9 및 0.10%로 나타나 에탄올 추출물에서 가장 강함 SOD 유사활성을 보였고 석류씨 기름에서는 거의 활성을 보이지 않았다. 즉, 석류씨 에탄올 추출물의 경우 catechin의 SOD 유사활성에 약 60.3% 정도의 활성을 보인 것으로 나

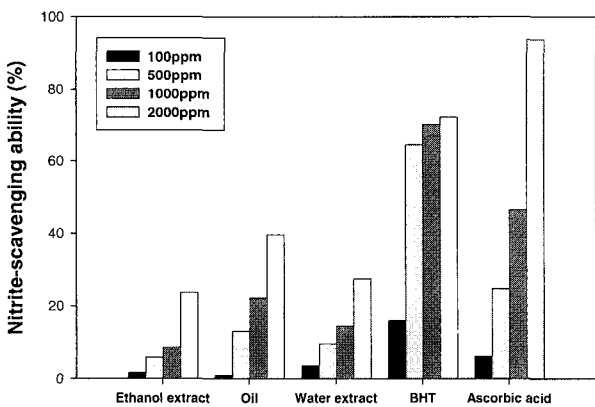


Fig. 4. Nitrite-scavenging abilities of pomegranate seed extracts.

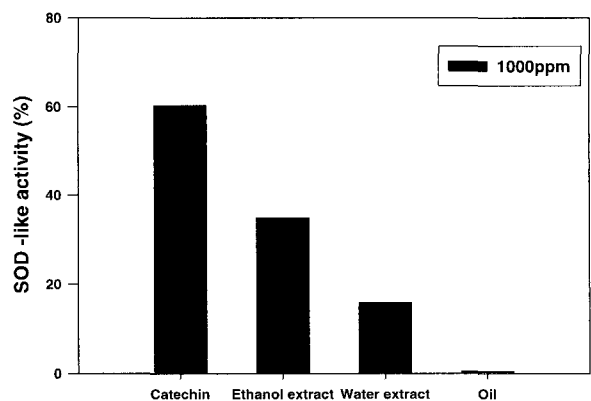


Fig. 5. SOD-like activities of pomegranate seed extracts.

타났다.

#### IV. 요약

본 연구에서는 석류씨의 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름의 항산화 및 항균효과에 대하여 비교, 조사하였다. 석류씨의 물 추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨 기름의 추출수율은 각각 28.9, 13.0 및 4.9%이었고 건조물에 대한 총 페놀 함량은 물 추출물은 47 mg/g, 에탄올 추출물은 78 mg/g, 석류씨 기름은 40 mg/g이었다. 1000 ppm에서 이들 추출물들의 전자공여능은 각각 18.8, 28.5 및 9.7%이었다. 리놀레인산 기질에서의 항산화효과는 에탄올 추출물 >  $\alpha$ -tocopherol > 물 추출물 > 석류씨 기름의 순이었고 리놀레인산 에멀전 기질에서의 항산화효과는  $\alpha$ -tocopherol  $\geq$  에탄올 추출물 > 물 추출물 > 석류씨 기름 순이었다. 항균효과의 경우, 석류씨 기름은 *Micrococcus luteus*, *Salmonella enteritidis*에 대해서, 물 추출물은 *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*에 대해서만 항균효과를 보였을 뿐, 에탄올 추출물의 경우에는 모든 균에 대하여 항균효과를 보이지 않았다. 아질산염 소거능은 2,000 ppm 농도에서 물 추출물 27.5%, 에탄올 추출물 23.7%, 석류씨 기름 39.6%이었고, SOD 유사활성은 1,000 ppm의 농도에서 물 추출물 15.9% 에탄올 추출물 34.9%, 석류씨 기름 0.10%이었다.

#### 참고문헌

- 생약학교재편찬위원회공저. 2000. 생약학. 동명사. pp. 261-262.  
한국생약학교수협의회지. 2000. 본초학. 아카데미서적. pp. 850-852  
한국 약용식물학 연구회지. 2001. 종합 약용식물학. 학창사. pp. 240-241  
AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists Washington, DC. U.S.A.  
AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis*. 14th ed. Method 9.110. Association of Official Analytical Communities Arlington, VA. U.S.A.  
AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of official analytical chemists. Washington, D.C., Cd 8-35  
Aviram M, Dornfeld L. 2001. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis*, 158(1) : 195-198  
Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26 : 1199-1200  
Choi OK, Chung KC, Cho GS, Hwang MO, Yoo YS. 2002. Proximate compositions and Selected Phytoestrogens of Iranian Black Pomegranate Extract and Its Products. *Korean J Food & Nutr.* 15 : 119-125  
Goldfien A, Monroe SE. 1997. In *Basic & clinical endocrinology*, 5th Ed.(Greenspan, F.S. and Strewler, G.J. eds) Appleton Lange Company, London, 474-477  
Gray JI, Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J. Food Sci.*, 40(4) : 981-985  
Gray JI, Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.*, 40 : 981-984  
Hopkins CY, Chrisholm MJ. 1968. Survey of the conjugated fatty acids of seed oils, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.*, 45 : 178  
Husain SR, Cillard J, Cillard P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids, *Phytochem.*, 26 : 2489-2491  
Iio M., Moriyama A, Matsumoto Y, Takai N, Fukumoto, M. 1985. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Agric. Biol. Chem.*, 49 : 2173-2182  
JOCS. 1984. Standard methods for the analysis of fats, oils and related materials. *Japan Oil Chemists' Society* 2.4.12-71  
Junko MO, Yoko OH, Hideyuki YH, Hiroyuki Y. 2004. Pomegranate extract improves a depressive state and bone properties in menopausal syndrome model ovariectomized mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 92(1) : 93-101  
Kato H, Lee IE, Chyune NY, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibitory of nitrosamine formation by nondilyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* 51(1) : 1333-1338  
Kim MS, Lee DC, Hong JE, Chang KS, Cho HY, Kwon YK, Kim HY. 2000. Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 32(5) : 949-958  
Leaf CD, Vecchio AJ, Roe DA, Hotchkiss JH. 1987. Influence of ascorbic acid dose on N-nitrosoproline formation in humans. *Carcinogenesis*, 8 : 791-795  
Lee GD, Chang HG, Kim HK. 1997. Antioxidative and Nitrite-scavenging Activities of Edible Mushrooms. *Korean J Food Sci Technol.* 29 : 432-436  
Longtin, R. 2003. The pomegranate : nature's power fruit ?. *J. Natl. Cancer Inst.*, 95 : 346-348  
Melgarejo P, Salazar DM, Amoros A. 1995. Total Lipids Content and Fatty Acid Composition of Seed Oils from Six Pomegranate Cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69(2) : 253-256  
Nugteren DH, Christ-Hazelhof E. 1987. Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *Prostaglandins*, 33 : 403- 417  
Poyrazoglu E, Gokmen V, Artik, N. 2002. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum L.*)



- grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(5) : 567-575
- Schubert SY, Lansky EP, Neeman I. 1999. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol*, 66 : 11-17
- Suzuki R, Noguchi R, Ota T, Abe M, Miyashita K, Kawada T. 2001. Cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on mouse tumor and human monocytic leukemia cells. *Lipids*, 36 : 477-482
- Takagi T. 1966. Stearic configurations of parinaric and punicic acid, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.*, 43 : 249
- Takahara U. 1985. Inhibition of lipoxygenase-dependent lipid peroxidation by quercetin. *Phytochemistry*, 24 : 1443-1446
- Teresa-Satue M, Huang SW, Frankel EN. 1995. Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached and deodorized olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72(4) : 1131-1137
- 
- (2005년 1월 4일 접수, 2005년 4월 19일 채택)