Korean J. Food & Nutr. Vol. 22. No. 3, 367～376 (2009)

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

황금(*Scutellaria baicalensis*)의 에틸 아세테이트 추출물의 항산화 및 항균 활성

김용현 · 백종윤 · 권현정 · 이재우* · 윤옥현* · †한만덕
순천향대학교 생명과학과, *김천대학 식품영양조리과

Antioxidant and Antibacterial Activities of Ethyl Acetate Extract from *Scutellaria baicalensis*

Yong-Hyun Kim, Jong-Yoon Paek, Hyun-Jung Kwon, Jae-Woo Lee*
Ok-Hyun Yoon* and †Man-Deuk Han
Dept. of Biology, College of Natural Science, Soonchunhyang University, Chungnam 336-745, Korea
**Dept. of Food Nutrition, Gimcheon College, Kyungbuk 740-704, Korea*

Abstract

This study aimed to determine the antioxidant and antibacterial effects of solvent extracts from *Scutellaria baicalensis*. The *S. baicalensis* was successively extracted with 5 kinds of solvents. The obtained samples were as follows; hexan fraction (IPK-1), chloroform fraction(IPK-2), ethyl acetate fraction(IPK-3), butanol fraction(IPK-4), and water fraction(IPK-5). These extracts were determined to process antibacterial effects using a paper disc method against 18 species of human pathogenic bacteria, antioxidant activity using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) method and inhibiting ability of linoleic acid autoxidation. Extracts of *S. baicalensis* has shown selective antibacterial effects on various strains of bacteria. Ethyl acetate fraction(IPK-3) showed the highest antimicrobial activity against selective bacteria, such as *Staphylococcus aureus* 285, *S. aureus* 503. In antioxidant activity test, free radical scavenger activity of IPK-3 fraction was 92% compared with BHA at the same concentration, while lipid peroxidation inhibition was 48%. These results suggest that IPK-3 fraction of *S. baicalensis* could be suitable in development of antimicrobial and antioxidant agents.

Key words: *Scutellaria baicalensis*, antioxidant activity, antibacterial activity, ethyl acetate extract.

서 론

황금(黃芩, *Scutellaria baicalensis*)은 한국, 중국, 몽골 및 시베리아 동부지역에 분포하며, 쌍떡잎식물 통화식물목 꿀풀과에 속하는 여러해살이풀로 높이는 20～60 ㎝에 달하고, 뿌리는 약용으로 이용되어 왔다(Choi 등 2007). 중국에서는 고열, 마른 기침, 토혈, 변비, 태아를 안정시킬 때에 사용되었으며(Kim & Park 2006), 뿌리에는 baicalein, baicalin, wohonin, wogonoside, neobaicalein이 함유되어 있으며, sitosterol 등도 포함되어 있다(Rhee 등 1997). 황금의 약리작용으로 간기능 보호 효과(Yoon 등 1997), 심근허혈재 관류 손상 억제 효과(Kim 등 2004), 접촉성 과민반응 억제(Choi 등 2001), 항산화 효과(Kim 등 1997; Park 등 1997; Kim 등 2006), 항균작용(Yang & Kim 1998; Bae 등 2005), 항고지혈 효과(Ro 등 1996; Jung 등 2001), 항 불안 효과(Jung 등 2004), 항암 작용, 항염증 효과, 항히스타민 효과 등이 알려져 있다(Woo 등 2007). 국내에서 황금의 항균 활성과 관련된 연구로 Cho & Kim(2001)은 황금 추출물이 공시균주에 항균력이 있음을 보고하였고, Moon 등

† Corresponding author: Man-Deuk Han, Dept. of Biology, College of Natural Science, Soonchunhyang University, Chungnam 336-745, Korea. Tel: +82-41-530-4702, Fax: +82-41-530-1256, E-mail: mdhan@sch.ac.kr

(1997)은 치아우식증의 원인균 중 하나인 *Streptococcus mutans* OMZ176에 대해 황금 추출물이 항균력이 있다고 보고하였다. 그리고 Lee & Seo(2005)는 황금 추출물이 *Staphylococcus aureus*와 *Bacillus cereus*에 대해, Choi 등(2002)은 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 항균력이 있다고 보고하였다.

체내에서 발생된 활성산소는 지질의 과산화, 단백질 변성, DNA 손상 및 면역계 교란 등으로 인해 성인병 및 노화, 암 등의 원인이 될 수도 있다(Chi 등 2005; Jeon 등 2008). 이 활성산소들로 인하여 세포들은 적혈구의 용혈 및 변형을 초래하고, 각 조직의 장해와 염증반응, 류마티스, 동맥경화, 알츠하이머, 심혈관 질환, 신경학적 질환 등을 비롯한 각종 장해들이 야기된다. 또한, 신체의 면역체계를 공격하여 아토피성 피부염, 천식, 알레르기성 질환, 생활습관병과 관련된 갖가지 질환의 유발과도 깊은 관련이 있다(Halliwell & Gutteridge 1984). 뇌혈관 및 심혈관계 질환과 노화 및 암 등의 질환의 원인이 free radical 생성과 관련이 있다는 사실이 밝혀지면서 항산화 효과를 가지는 식품의 섭취를 통해 이러한 질병을 예방하고 노화를 지연시키며 치료하고자 하는 노력이 증가하고 있다(Lee 등 2008). 대표적인 항산화제로는 1954년과 1956년에 개발된 butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene (BHT)와 같은 합성 항산화제와 토코페롤과 같은 천연 항산화제가 있다. 토코페롤은 천연 항산화제이지만 가격이 높고, BHA와 BHT는 우수한 항산화 능력을 보이고 있지만 과량으로 섭취할 경우 암 유발 가능성 등의 안정성이 논란이 되고 있다(Maeura 등 1984). 따라서 천연 물질로부터 안정성과 효과가 뛰어난 항산화력이 우수한 물질을 탐색하는 노력과 천연 항산화제 개발을 위한 연구가 활발히 행해지고 있다(Kumaran & Karunakaran 2006).

황금 추출물의 항균 및 항산화에 대한 선행 연구는 있었으나 대부분 열수 추출물에 대한 연구결과였다. 따라서 본 연구에서 유기용매의 추출 방법에 따라 얻은 다양한 추출물에 대한 항균 및 항산화 효과를 알아보았다. 특히 황금 뿌리의 유기 용매 분획 추출물들 중 가장 우수한 항균 효과를 보인 ethyl acetate 분획물에 대한 항산화 및 항균 효과를 검색하여 천연 항산화제 및 항균제로서의 이용 가능성을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시료의 추출

한약재인 황금은 서울 경동시장에서 건조 상태의 것을 구입하여 사용하였으며, 여러 유기용매를 활용하여 추출하였다. 구입한 황금은 건조하여 분쇄 후, 3배량의 methanol을 첨가하여 72시간 냉침시켰으며, methanol 추출물을 aspirator(EYELA, A-3S, Tokyo Rikakikai Co.)를 사용하여 filter paper(Whatman No. 2)로 감압 여과하였다. 여과된 methanol 추출물은 회전 감압농축기(Rotavapor, Büchi RE-111, Switzerland)를 사용해 80℃ 항온수조(Oilbath, Büchi B-485, Switzerland)에서 감압 농축시켰다. Methanol 추출물을 40 ㎖로 농축한 후 분액깔때기를 이용해 hexane(IPK-1), chloroform(IPK-2), ethyl acetate(IPK-3), n-butanol(IPK-4), water(IPK-5) 순으로 용매의 극성을 이용한 순차적 추출법을 사용하여 시료를 얻었다(Fig. 1). 농축된 추출물들은 4℃에 보관하면서 본 연구에 사용하였다.

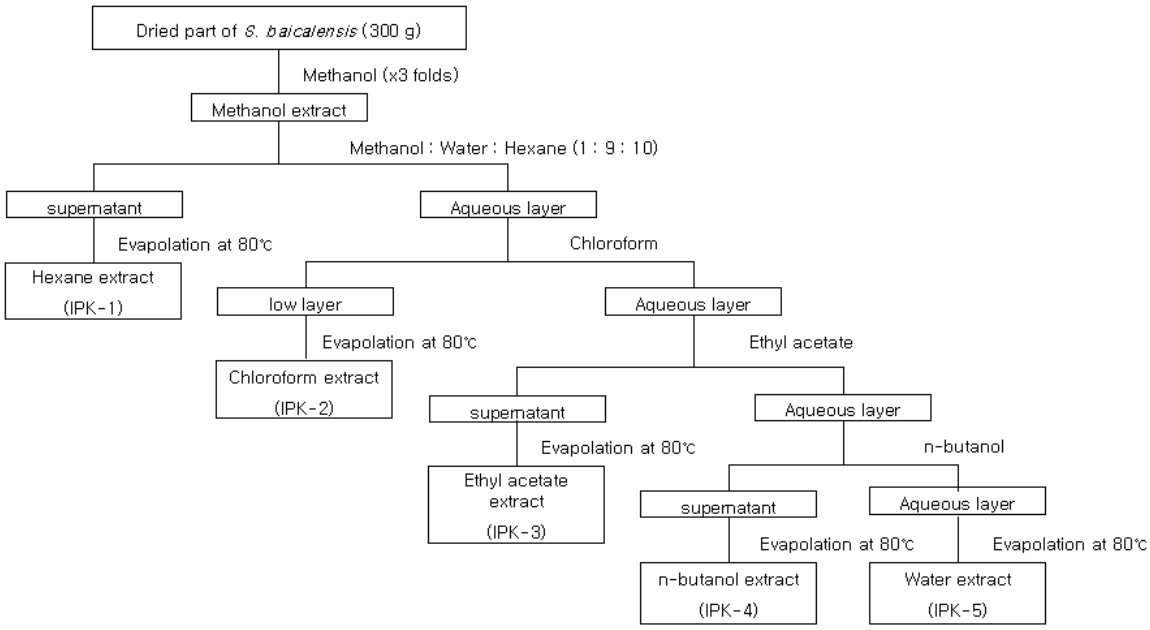

Fig. 1. Extraction procedure of extract from *S. baicalensis* radix using organic solvents.

2. 사용 균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 Table 1에 나타낸 바와 같이 MIC 공시균주 18종을 한국미생물보존센터(KTCC)에서 분양 받아 사용하였다. 배지는 nutrient broth(NB), Müller hinton agar (MHA)는 Difco(USA)사에서 구입하여 사용하였다. 또한 DPPH (1,1-dipheyl-2-picyl-hydrazyl) 등 그 밖의 시약들은 Sigma Chemical Co.(USA)에서 구입하여 사용하였으며, 추출용매 및 시약은 일급 또는 특급 시약을 사용하였다.

3. 항균 활성 측정

1) 1차 검색

황금 유기용매 분획 추출물의 항균 활성 1차 검색은 paper disc 방법을 사용하였다. 간략하면 보관된 MIC 공시균주 18종을 NB 배지에 접종하여 15～18시간 활성화 시켜 항균성 실험용 MHA 고체배지에 균주를 50 ㎕씩 도말하였다. 도말된 배지에 멸균된 filter paper disc(8 ㎜ : 1.5 ㎜, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)를 밀착시킨 후, 황금 분획 추출물을 농도별로 적용하였다. 황금 추출물을 초기 농도의 10배가 희석되도록 연속적으로 3회 희석하여 최종 1,000 ㎎/㎖, 100 ㎎/㎖, 10 ㎎/㎖ 농도가 되도록 조제하였으며, disc당 50 ㎕씩 흡수시켰다. Disc에 추출물을 흡수시킨 배지는 실온에서 10분간 방치시켜 건조시킨 후, 37℃ incubator에서 24시간 동안 배양시켰다. 배양 후에는 disc 주변에 생성된 생육저해환(inhibitor zone, ㎜)의 크기를 vernier caliper(Mitutoyo Co., Japan)로 측정하여 각 용매 분획별 추출물의 항균 활성 정도를 비교 분석하였다.

Table 1. List of strains used for antibacterial activity test

Strains	Gram stain
Streptococcus faecium MD8b	+
Staphylococcus aureus SG511	+
Staphylococcus aureus 285	+
Staphylococcus aureus 503	+
Escherichia coli O 78	-
Escherichia coli DC 0	-
Escherichia coli DC 2	-
Escherichia coli TEM	-
Escherichia coli 1507E	-
Pseudomonas aeruginosa 9027	-
Pseudomonas aeruginosa 1592E	-
Pseudomonas aeruginosa 1771	-
Pseudomonas aeruginosa 1771M	-
Salmonella typhimurium	-
Klebsiella oxytoca 1082E	-
Klebsiella aerogenes 1522E	-
Enterobacter cloacae P99	-
Enterobacter cloacae 1321E	-

* The bacterial stains are cultured in Müller hinton agar (MHA, Difo, USA).

2) 2차 검색

황금 유기 용매 분획별 추출물 중 가장 좋은 항균 활성을 나타낸 분획물을 사용하여 최초 농도를 1,000 ㎎/㎖로 하여 1/2씩 4단계로 희석하여 paper disc 법으로 inhibitor zone을 확인하였다.

3) 최소저해농도 측정

최소저해농도(MIC; minimum inhibitory concentration)는 액체배지 희석법으로 황금 ethyl acetate(IPK-3) 분획물의 최초농도를 100 ㎎/㎖로 하여 1/2씩 17단계까지 희석하여 MHA 배지에 넣어 각 농도별 plate를 만들었다. 여기에 MIC 공시균주를 18균주를 replicator(Cathra System, OXOID)를 이용하여 각 농도별로 조성한 MHA 배지에 일정량을 접종하였다. 접종된 배지를 37℃에서 24시간 동안 배양한 후 균이 증식하지 않은 농도를 육안으로 확인하였다.

4. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 이용한 Free Radical 소거 효과

황금의 용매 분획별 추출물 중 항균 효과가 가장 좋은 ethyl acetate 분획물의 전자공여능은 Blois MS(1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 1,1-dipheyl-2-picyl-hydrazyl(DPPH, Sigma Chemical Co. USA)을 메탄올에 0.2 ㎜ 농도로 녹이고 시료를 0.1, 0.05, 0.01 ㎎/㎖ 농도로 메탄올에 용해시켰다. 0.2 mM DPPH 용액 0.8 ㎖에 농도별 시료 조제액 0.2 ㎖를 혼합하여 실온에서 10분간 방치 후 517 ㎚에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로는 Sigma사의 butylated hydroxyanisole(BHA)을 사용하였다. DPPH radical scavenger activity(%)는 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 차를 백분율로 표시하였다.

$$\text{DPPH radical scavenger activity}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 517 ㎚에서의 시료첨가구의 흡광도

B: 517 ㎚에서의 무첨가구의 흡광도

5. Ferric Thiocyanate(TCA) 법에 의한 리놀레산의 자동산화 방지 효과

황금의 용매 분획별 추출물이 생체막 지질의 과산화물 생성 억제 효과를 측정하기 위하여 리놀레산을 사용하여 실험

하였다. Osawa & Namiki(1987)의 방법에 따라 혼합 용액은 ethyl acetate의 추출 시료액 0.2 ㎖, 99.9% 에탄올에 녹인 2.5% 리놀레산 0.2 ㎖, 0.2 M 인산완충액(pH 7.0) 0.4 ㎖, 증류수 0.2 ㎖를 가하여 반응 혼합물을 만든 후 밀봉을 하여 40℃ 암소에 보관하면서 반응 후 7일까지 측정하였다. 이 반응 혼합물 0.1 ㎖를 취하여 시험관에 넣고 70% 에탄올 3 ㎖, 암모늄 티오시안산염(0.3 g/㎖ in H_2O) 용액 0.1 ㎖, 염화제1철(2.45 ㎎/㎖ in 3.5% HCl) 용액 0.1 ㎖를 가하여 혼합한 후 정확히 3분 후에 500 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 증류수를 사용하고 활성 비교를 위해 합성 항산화제인 BHA를 0.05 ㎎/㎖ 농도로 사용하여 비교하였다. 실험 측정은 세 번 반복 실험하여 평균치를 사용하였다. 각 추출물별 항산화성에 대한 차별성을 보기 위해서 40℃에서 반응 7일 후의 과산화물 생성 억제능(%, lipid peroxidation inhibition)을 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{Lipid peroxidation inhibition}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 500 ㎚에서의 시료첨가구의 흡광도

B: 500 ㎚에서의 무첨가구의 흡광도

결 과

1. 황금의 유기용매 추출물의 수율

황금을 hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol의 유기용매로 분획 추출한 결과, Table 2와 같이 butanol(IPK-4) 분획물은 4.15%, ethyl acetate(IPK-3) 분획물은 1.19%, hexane(IPK-1) 0.65%, chloroform(IPK-2) 0.39% 순으로 추출물 수율을 얻었다. 추출 최종단계인 water(IPK-5) 분획물은 가장 높은 수율인 4.45%이었다.

2. 황금 분획 추출물들의 항균 활성

황금 유기용매 분획 추출물이 균주에 가지는 항균 활성 능

Table 2. Average yields of organic solvent fractions extracted from *S. baicalensis* radix

Dried herbal weight (g)	Solvent fractions	Yield (%)[1)] ± S.D
100	IPK-1	0.65±0.54
	IPK-2	0.39±0.22
	IPK-3	1.19±0.45
	IPK-4	4.15±0.75
	IPK-5	4.45±0.79

[1)] $\text{Yield}(\%) = \dfrac{\text{Dried weight of extract fraction(g)}}{\text{Dried weight of } S.\ baicalensis\text{(g)}} \times 100$

Table 3. Antibacterial effects of organic solvent fractions from *S. baicalensis* radix on pathogenic bacteria

Strains	Extracts of *S. baicalensis* (1,000 ㎎/㎖)[1)]				
	IPK-1[2)]	IPK-2	IPK-3	IPK-4	IPK-5
Streptococcus faecium MD8b	+	+	++	+	-
Staphylococcus aureus SG511	+	+	+++	+	-
Staphylococcus aureus 285	+	+	+++	+	-
Staphylococcus aureus 503	+	+	+++	+	-
Escherichia coli O 78	+	+	+++	+	-
Escherichia coli DC 0	+	+	++	-	-
Escherichia coli DC 2	+	+	++	+	-
Escherichia coli TEM	-	+	+	-	-
Escherichia coli 1507E	+	+	+	-	-
Pseudomonas aeruginosa 9027	-	+	+	+	-
Pseudomonas aeruginosa 1592E	+	+	+	+	-
Pseudomonas aeruginosa 1771	+	+	+	+	-
Pseudomonas aeruginosa 1771M	+	+	+	+	-
Salmonella typhimurium	+	+	+	+	-
Klebsiella oxytoca 1082E	+	+	+	+	-
Klebsiella aerogenes 1522E	-	+	+	-	-
Enterobacter cloacae P99	-	+	+	-	-
Enterobacter cloacae 1321E	-	+	+	+	-

[1)] Concentration of organic solvent extract from *S. baicalensis*,

[2)] Fractionated procedure of organic solvent from *S. baicalensis* : IPK-1(hexane extract), IPK-2(chloroform extract), IPK-3(ethyl acetate extract), IPK-4(n-butanol extract), IPK-5(water extract).

Table 3. Continued

Strains	Extracts of *S. baicalensis* (100 ㎎/㎖)				
	IPK-1	IPK-2	IPK-3	IPK-4	IPK-5
Streptococcus faecium MD8b	-	-	+	-	-
Staphylococcus aureus SG511	-	+	+	-	-
Staphylococcus aureus 285	+	+	+	-	-
Staphylococcus aureus 503	+	+	+	-	-
Escherichia coli O 78	-	+	+	-	-
Escherichia coli DC 0	-	-	-	-	-
Escherichia coli DC 2	-	-	+	-	-
Escherichia coli TEM	-	-	-	-	-
Escherichia coli 1507E	-	-	+	-	-
Pseudomonas aeruginosa 9027	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa 1592E	-	-	+	-	-
Pseudomonas aeruginosa 1771	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa 1771M	-	-	-	-	-
Salmonella typhimurium	-	-	+	-	-
Klebsiella oxytoca 1082E	-	-	-	-	-
Klebsiella aerogenes 1522E	-	-	-	-	-
Enterobacter cloacae P99	-	-	+	-	-
Enterobacter cloacae 1321E	-	-	+	-	-
Strains	Extracts of *S. baicalensis* (10 ㎎/㎖)				
	IPK-1	IPK-2	IPK-3	IPK-4	IPK-5
Streptococcus faecium MD8b	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus SG511	-	-	+	-	-
Staphylococcus aureus 285	-	-	+	-	-
Staphylococcus aureus 503	-	-	+	-	-
Escherichia coli O 78	-	-	-	-	-
Escherichia coli DC 0	-	-	-	-	-
Escherichia coli DC 2	-	-	-	-	-
Escherichia coli TEM	-	-	-	-	-
Escherichia coli 1507E	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa 9027	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa 1592E	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa 1771	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa 1771M	-	-	-	-	-
Salmonella typhimurium	-	-	-	-	-
Klebsiella oxytoca 1082E	-	-	-	-	-
Klebsiella aerogenes 1522E	-	-	-	-	-
Enterobacter cloacae P99	-	-	-	-	-
Enterobacter cloacae 1321E	-	-	-	-	-

력을 보기 위하여 MHA 배지에 균을 도말하고 paper disc에 추출물을 1,000 ㎎/㎖, 100 ㎎/㎖, 10 ㎎/㎖ 농도별로 첨가해 37℃ incubator에서 배양하여 생육억제대를 관찰하였다. Table 3과 같이 유기용매 추출물은 1,000 ㎎/㎖의 농도에서

대부분은 항균 활성을 나타냈다. 특히, ethyl acetate(IPK-3) 추출물의 항균 활성이 가장 크게 나타났으며, chloroform(IPK-2) 추출물은 항균 활성이 낮게 나타났다. 또한 hexane(IPK-1) 추출물은 *E. coli* TEM, *P. aeruginosa* 902, *K. aerogenes* 1522, *E. cloacae* P99, *E. cloacae* 1321E 균주에서, butanol(IPK-4) 추출물은 *E. coli* DC 0, *E. coli* TEM, *E. coli* 1507E, *K. aerogenes* 1522E, *E. cloacae* P99에서 낮은 항균 활성이 나타났다. 특히, IPK-3 추출물은 다른 유기용매 분획물들과 비교하여 100 ㎎/㎖ 농도에서도 역시 11개 균주에서 항균 활성을 나타내었으며, 10 ㎎/㎖ 농도에서는 *S. aureus* SG511 외 2개 균주에서 항균 활성을 나타내었다(Table 3).

IPK-3 분획물은 거의 대부분의 균주에서 항균 효과를 보였다. IPK-3은 125 ㎎/㎖ 농도에서 *E. coli* DC 0, *E. coli* 1507E, *P. aeruginosa* 1592E, *P. aeruginosa* 1771, *P. aeruginosa* 1771M, *S. typhimurium*, *K. oxytoca* 1082E, *K. aerogenes* 1522E, *E. cloacae* P99, *E. cloacae* 1321E 균주들에서는 평균 10 ㎜의 생육 억제를 보였고, *E. coli* O 78, *E. coli* DC 2, *E. coli* TEM 균주에서 15 ㎜ 이하의 생육 증식 억제를 보였다(Table 4). 특히, 황금 IPK-3의 농도가 125 ㎎/㎖에서 *S. faecium* MD8b, *S. aureus* SG511, *S. aureus* 285, *S. aureus* 503 균들에서 17～22 ㎜ 정도의 높은 생육 억제를 나타내었다(Table 4, Fig. 2～5).

IPK-3의 최소저해농도(MIC)를 살펴본 결과 *S. aureus* SG511, *S. aureus* 285 균주에서 3.1 ㎎/㎖, *S. aureus* 503 균주에서 6.3 ㎎/㎖로 가장 낮은 농도에서 항균 활성을 나타내었으며, *P. aeruginosa* 9027 균주를 제외한 대부분의 균주에서 12.5～50 ㎎/㎖의 최소저해농도가 확인되었다(Table 5).

3. 황금 추출물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)를 이용한 Free Radical 소거 효과

DPPH는 짙은 자주색을 나타내며 그 자체가 질소 중심의 라디칼로서, 라디칼 전자의 비편재화에 의해 안정화된 상태로 존재한다. 메탄올에 용해된 DPPH는 517 ㎚에서 최대 흡광도를 나타내며 시료의 환원력에 의해서 흡광도가 감소한다. IPK-3 분획물을 0.1, 0.05, 0.01 ㎎/㎖ 농도로 메탄올에 녹여 free radical 소거능을 살펴 본 결과는 Fig. 6과 같다. 합성 항산화제인 BHA와 비교하여 황금은 0.1, 0.05 ㎎/㎖를 같은 농도로 처리하였을 때 각각 92.32, 92.03%로 같은 농도의 합성 항산화제인 BHA와 차이가 없이 높은 free radical 소거능을 보였다.

Table 4. Antibacterial effects of ethyl acetate extract (IPK-3) from *Scutellaria baicalensis* on pathogenic bacteria

Strains	Ethyl acetate extract(IPK-3), zone diameter(㎜)[1]			
	1,000 ㎎/㎖	500 ㎎/㎖	250 ㎎/㎖	125 ㎎/㎖
Streptococcus faecium MD8b	17	12	13	NA[2]
Staphylococcus aureus SG511	22	20	21	21
Staphylococcus aureus 285	18	20	22	21
Staphylococcus aureus 503	19	21	22	22
Escherichia coli O 78	13	12	13	13
Escherichia coli DC 0	10	10	10	10
Escherichia coli DC 2	14	15	14	13
Escherichia coli TEM	13	11	11	10
Escherichia coli 1507E	11	13	13	13
Pseudomonas aeruginosa 9027	14	13	13	NA
Pseudomonas aeruginosa 1592E	10	10	10	10
Pseudomonas aeruginosa 1771	10	10	10	10
Pseudomonas aeruginosa 1771M	10	10	10	10
Salmonella typhimurium	10	10	12	13
Klebsiella oxytoca 1082E	10	10	11	11
Klebsiella aerogenes 1522E	10	10	11	11
Enterobacter cloacae P99	10	10	12	13
Enterobacter cloacae 1321E	10	14	15	15

[1] Disc diameter (8 ㎜) was included, [2] no activity.

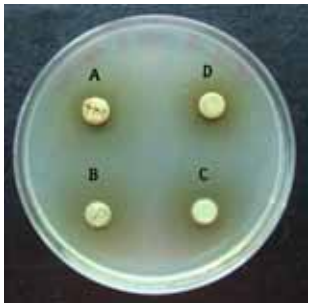

Fig. 2. Antibacterial activity by paper disc method of ethyl acetate extract (IPK-3) from *S. baicalensis* on *S. faecium* MD8b. Concentration of IPK-3; A) 1,000 ㎎/㎖, B) 500 ㎎/㎖, C) 250 ㎎/㎖, D) 125 ㎎/㎖.

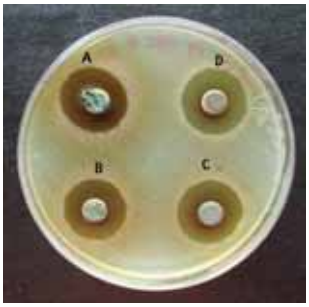

Fig. 3. Antibacterial activity by paper disc method of ethyl acetate extract (IPK-3) from *S. baicalensis* on *S. aureus* SG511. Concentration of IPK-3; A) 1,000 ㎎/㎖, B) 500 ㎎/㎖, C) 250 ㎎/㎖, D) 125 ㎎/㎖.

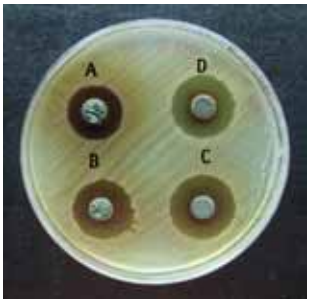

Fig. 4. Antibacterial activity by paper disc method of ethyl acetate extract (IPK-3) from *S. baicalensis* on *S. aureus* 285. Concentration of IPK-3; A) 1,000 ㎎/㎖, B) 500 ㎎/㎖, C) 250 ㎎/㎖, D) 125 ㎎/㎖.

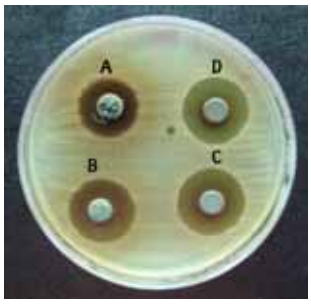

Fig. 5. Antibacterial activity by paper disc method of ethyl acetate extract (IPK-3) from *S. baicalensis* on *S. aureus* 503. Concentration of IPK-3; A) 1,000 ㎎/㎖, B) 500 ㎎/㎖, C) 250 ㎎/㎖, D) 125 ㎎/㎖.

Table 5. Minimum inhibitor concentration (MIC) of ethyl acetate extract (IPK-3) from *S. baicalensis* on pathogenic bacteria

No.	Strains	IPK-3 Minimum inhibitor concentration (㎎/㎖)
1	*S. feacium* MD8b	25.0
2	*S. aureus* SG511	3.1
3	*S. aureus* 285	3.1
4	*S. aureus* 503	6.3
5	*E. coli* O 78	12.5
6	*E. coli* DC 0	12.5
7	*E. coli* DC 2	12.5
8	*E. coli* TEM	25.0
9	*E. coli* 1507E	25.0
10	*P. aeruginosa* 9027	>100.0
11	*P. aeruginosa* 1592E	50.0
12	*P. aeruginosa* 1771	12.5
13	*P. aeruginosa* 1771M	12.5
14	*S. typhimurium*	12.5
15	*K. oxytoca* 1082E	12.5
16	*K. aerogenes* 1522E	12.5
17	*E. cloacea* P99	12.5
18	*E. cloacea* 1321E	25.0

그러나 0.01 ㎎/㎖의 농도에서는 BHA 보다 약 27% 정도 낮은 라디칼 소거능을 보였다.

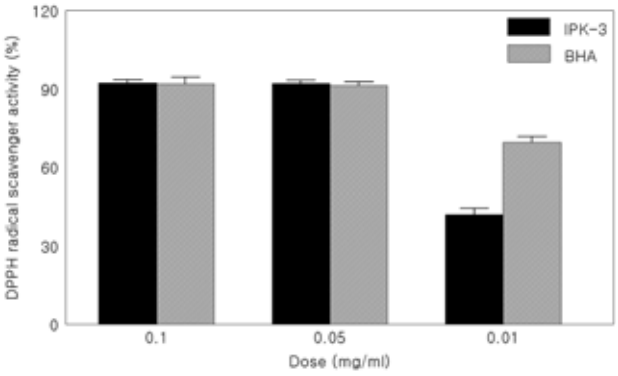

Fig. 6. DPPH radical scavenger activity of ethyl acetate extract (IPK-3) from *S. baicalensis*.

4. 황금 추출물의 Ferric Thiocyanate(TCA) 법에 의한 리놀레산의 자동산화 방지 효과

황금의 ethyl acetate 추출물의 지질과산화 억제 능력을 확인한 결과는 Fig. 7과 같다. 합성 항산화제인 BHA는 0.05 ㎎/㎖로 처리하였을 때, 2일차부터 과산화 생성 억제를 보여 6일차에 53%의 과산화 생성을 억제하였으나, 황금 ethyl acetate 추출물은 0.1, 0.05 ㎎/㎖로 처리한 실험군에서 반응 1일차 부터 서서히 증가하기 시작하여 3일차에 최대 48% 과산화 생성 억제를 보이며 7일차까지 비슷한 수준의 과산화 생성 억제가 유지되었다.

결 론

본 연구는 황금의 천연 항균제 및 항산화제로서의 개발 가

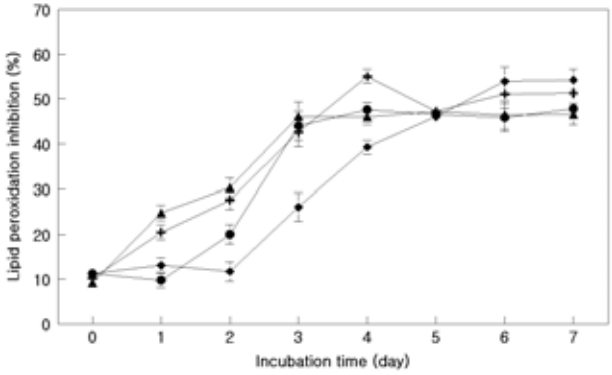

Fig. 7. Lipid peroxidation inhibition of ethyl acetate extract (IPK-3) from *S. baicalensis* and BHA in linoleic acid system measured by the thiocyanate method. —+—: IPK-3 (0.1 ㎎/㎖), —▲—: IPK-3 (0.05 ㎎/㎖), —●—: IPK-3 (0.01 ㎎/㎖), —◆—: BHA (0.05 ㎎/㎖).

능성을 알아보기 위하여 한약재 중 하나인 황금을 이용하여 유기용매 분획 추출물들의 항균 및 항산화 활성을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 황금을 hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol의 유기용매로 분획 추출한 결과 butanol(IPK-4) 분획물은 4.15%, ethyl acetate(IPK-3) 분획물은 1.19%, hexane(IPK-1) 0.65%, chloroform(IPK-2) 0.39% 순으로 추출물 수율을 얻었다. 추출 최종단계인 water(IPK-5) 분획물은 가장 높은 수율인 4.45%로 나타났다.
2. 18종의 병원성 세균에 대한 황금의 유기용매 추출물 중 ethyl acetate(IPK-3) 추출물이 가장 뛰어난 항균 활성 효과를 보였으며, 125 ㎎/㎖ 농도에서 *S. aureus* SG511, *S. aureus* 285, *S. aureus* 503 균주에서 18～22 ㎜의 생육 억제를 보여 가장 높은 항균 활성을 보였다.
3. 황금 ethyl acetate(IPK-3)의 최소저해농도(MIC)를 확인한 결과, *S. aureus* SG511, *S. aureus* 285 균주에서 3.1 ㎎/㎖, *S. aureus* 503 균주에서 6.3 ㎎/㎖로 가장 낮은 농도에서 항균 활성을 나타내었으며, 대부분의 균주에서 12.5～ 50 ㎎/㎖의 최소저해농도가 확인되었다.
4. 황금의 ethyl acetate 분획물의 항산화 효과를 알아보기 위하여 DPPH를 이용한 free radical 소거 효과를 측정한 결과 0.1, 0.05 ㎎/㎖의 농도에서 92.32, 92.03%로 합성항산화제인 BHA와 비교하여 비슷한 라디칼 소거능을 나타내었다.
5. 황금의 ethyl acetate 추출물의 지질 과산화 효과를 측정한 결과, ethyl acetate 추출물을 0.1, 0.05, 0.01 ㎎/㎖ 농도로 처리한 모든 군에서 반응 5일 차에 표준 항산화제인 BHA와 비슷한 지질과산화물 생성 억제를 보였다.

고 찰

본 연구는 약용식물로서 천연 항균제 및 항산화제로써의 개발 가능성을 알아보기 위하여 한약재 중 하나인 황금을 이용한 유기용매 추출물 중 ethyl acetate 분획물의 항균 및 항산화 활성을 조사하였다. Bae 등(2005)의 연구 보고에서 황금의 유기용매 분획물중 ethyl acetate 분획층이 2,000 ppm 농도에서 *E. coli*는 13 ㎜, *P. areuginoa*는 9 ㎜, *S. typhimurium*는 13 ㎜, 그리고 *S. flexneri*에서 21 ㎜의 항균력이 있다고 보고하였다. 본 연구에 사용된 황금 IPK-3은 125 ㎎/㎖ 농도에서 *S. aureus* 503 균주에서 22 ㎜의 높은 생육 증식 억제를 보였으며, *E. coli* DC2, *E. coli* 1507E에서는 13 ㎜, *P. aeruginosa* 1592E, *P. aeruginosa* 1771, *P. aeruginosa* 1771M에서는 10 ㎜, *S. typhimurium*은 13 ㎜, *K. oxytoca* 1082E, *K. aerogenes* 1522E은 11 ㎜, 그리고 *E. cloacae* 1321E 균주에서는 15 ㎜의 생육 증식 억제를 보였으며, 최소저해농도(MIC)는 *P. aeruginosa* 9027균주를 제외한 모든 균주에서 3.1～50 ㎎/㎖의 농도에서 억제 효과를 보여 Bae 등(2005)이 보고한 황금의 ethyl acetate 추출물이 Gram 양성균과 Gram 음성균에 대하여 폭넓은 항균활성을 가지고 있다고 보고한 것과 유사하다. 황금 ethyl acetate (IPK-3) 추출물의 MIC를 살펴본 결과, *S. aureus* SG511, *S. aureus* 285 균주에서 3.1 ㎎/㎖, *S. aureus* 503 균주에서 6.3 ㎎/㎖로 가장 낮은 농도에서 황균활성이 확인되었다. Lee & Seo(2005)는 황금 열수 추출물의 최소저해농도는 *S. aureus*에서 20 ㎎/㎖라 한 결과보다는 낮은 억제농도를 보였으며, Yang & Kim(1998)이 연구한 보고에서는 황금 추출물의 최소저해농도가 *S. aureus*에서 0.062 ㎎/㎖라고 보고한 것보다는 높은 농도를 나타내었는데, 이는 본 연구에서 사용된 황금의 양의 차이와 추출용매와 방법의 차이에 기인한 것으로 생각된다. 또한, IPK-3의 항산화 능력을 살펴보기 위하여 DPPH를 이용한 free radical 소거능에서는 IPK-3을 0.1, 0.05 ㎎/㎖로 처리한 군에서 같은 농도의 합성항산화제인 BHA를 처리한 군과 거의 같은 라디칼 소거능을 보였다. Choi(Choi 등 2007) 등은 황금의 열처리에 의한 추출물에서 5 ㎎/㎖로 처리하였을 시 라디칼 소거능은 11.6%라 하였으며, 이는 표준 물질 보다 매우 낮은 라디칼 소거능이며, 본 연구에서 사용된 황금의 IPK-3의 라디칼 소거능은 0.05 ㎎/㎖ 농도에서 약 92%의 라디칼 소거능을 보인 것과는 많은 차이가 있다.

지질의 산화는 주로 free radical에 의한 연쇄반응으로 생성되는 과산화물의 생성이며, 이러한 과산화물은 식품과 생체 내에서 품질과 안전성에 큰 문제가 된다. 황금의 ethyl acetate 추출물은 반응 5일차에 합성항산화제인 BHA와 비슷한 과

산화물 생성 억제를 보여, 항산화 효과에 매우 좋은 것으로 나타났다. 황금의 유기용매 분획물 중 IPK-3은 항균력이 우수하며, free radical 소거능 및 지질 과산화 억제능이 우수하여 천연 항균제 및 항산화제로서 이용이 가능하다고 판단되며, 향후 ethyl acetate 추출물에 대한 구조적 연구가 요구된다.

참고문헌

Bae JH, Lee MJ, Lee SM. 2005. Antimicrobial effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi extracts on food-borne pathogens. *J Kor Microbiol Biotechnol* 33:35-40

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26:1199-1200

Chi HY, Kim KH, Kong WS, Kim SL, Kim JA, Chung IM, Kim JT. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of *P. eryngii* spp. extracts. *Kor J Crop Sci* 50:216-219

Cho SH, Kim YR. 2001. Antimicrobial characteristics of *Scutellariae* Radix extract. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 30:964-968

Choi EM, Lee BK, Koo SJ. 2001. Inhibitory effect on delayed-type hypersensitive by the hot water extracts from medicinal herbs. *Kor J Food Sci Technol* 33:146-148

Choi MR, Lee JS, Lim HS. 2007. Changes in physiological activities of *Scutellariae baicalensis* by heating. *J Life Sci* 17:1381-1386

Choi OK, Kim YS, Cho GS, Sung CK. 2002. Screening for antimicrobial activity from Korean plants. *Kor J Food Nutr* 25:300-306

Halliwell B, Gutteridge JMC. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Eur J Biochem* 219: 1-14

Jeon YH, Kim MH, Kim MR. 2008. Antioxidative, antimutagenic, and cytotoxic activities of ethanol extracts from *Cornus officianalis*. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 37:1-7

Jung EA, Kim NJ, Kim YG, Kim DH, Lee SI. 2001. Studies on the development of antihyperlipidemic drugs from oriental herbal medicines(III)-Antihyperlipidemic effects of Gamigwaruhaebaekwhanggum-Tang and its constituent herbal medicines *in vitro*. *Kor J Pharmacogn* 32:22-30

Jung JW, Ahn NY, Park SH, Oh JG, Oh HR, Lee BG, Om AS, Kim BS, Kim DH, Ryu JH. 2004. The anxiolytic-like effects of *Scutellaria baicalensis* using elevated plus-maze in rats. *Kor J Pharm* 35:22-27

Kim CH, Jia H, Kim SH, Moon HJ, Lee JS. 2004. The protective effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi on ischemia-reperfusion injuries of rat hearts. *Kor J Lab Ani Sci* 20: 357-362

Kim SC, Ahn KS, Park CK, Jeon BS, Lee JT, Park WJ. 2006. Isolation of antioxidative compound from *Scutellaria baicalensis* G. *J Kor Medicinal Crop Sci* 14:212-216

Kim YE, Lee YC, Kim HG, Kim CJ. 1997. Antioxidative effect of ethanol fraction for several Korean medicinal plant hot water extracts. *Kor J Food & Nutr* 10:141-144

Kim YH, Park YS. 2006. Effect of *Scutellaria baicalensis* water extract on antioxidative activity and epidermal thickness in DNCB-induced allergic contact dermatitis animal model. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 35:543-548

Kumaran A, Karunakaran RJ. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry* 97:109-114

Lee CK, Seo JJ. 2005. Antimicrobial activity of Whangkumtang extract and *Scutellariae* Radix extract on the food-borne pathogens. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 34:1606-1610

Lee OH, Kim KY, Jang MK, Yu KH, Yoo BH, Kim SG, Kim MH, Lee SH. 2008. Establishment of the extraction process by evaluation of proanthocyanidin contents and antioxidative activities of pine(*Pinus densiflora*) needle extracts. *J Life Sci* 18:992-998

Maeura Y, Weisburger JH, Williams G. 1984. Dose-dependent reduction of N-2-fluorenylacetamide-induced liver cancer and enhancement of bladder cancer in rats by butylated hydroxytoluene. *Cancer Res* 44:1604-1610

Moon YH, Lee YH, Min BS, Bae KH. 1997. Antibacterial constituents from *Scutellariae* Radix against *Streptococcous mutans* OMZ176. *J Kor Pharmacogn* 28:99-103

Osawa T. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *Eucalypyus* leaves. *Agric Biol Chem* 45:735-739

Park SN, Hong JH, Park MG. 1997. Biological protective effect of component from *Scutellaria baicalensis* Georgi against active oxygen induced-tissue damage(V). *Research Bulletin of Seoul-Agriculture University* 45:189-199

Rhee JS, Woo ER, Kim NH, Lee EJ, An DK, Lee JH, Park SK, Park HK. 1997. A study on qualitative and quantitative analysis of major ingredients in *Scutellariae* radix. *Anal Sci Technol* 10:91-104

Ro HS, Ko WG, Kim OJ, Park KK, Cho YW, Park HS. 1996. Antihyperlipidemic activity of *Scutellaric baicalensis* Georgi,

Coptidis japonica Makino and *Rhei koreanum* Nakai on exterimental hyperlipidemic in rats. *J Kor Pharm* 26:215-219

Woo IT, Park KN, Lee SH. 2007. Antimicrobial activities of *Scutellaria baicalensis* Georgi against various pathogens and spoilage bacterial isolated from Tofu. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 36:470-475

Yang JH, Kim YI. 1998. Preparation and antibacterial effects of *Scutellariae* Radix extract emulsion containing baicalin. *J Kor Pharm Sci* 28:159-164

Yoon SH, Oh KH, Ha H. 1997. Protective effect of *Bupleuri* Radix and *Sutellariae* Radix in chemically induced liver injury. *Research Bulletin of Catholic University of Daegu* 56:255-262

(2009년 7월 13일 접수; 2009년 8월 13일 채택)