

식물 40종 고압용매 추출물의 통합적 항산화 능력 및 항균 활성

강미애¹ · 김미보¹ · 김지훈² · 고영환¹ · 임상빈^{1†}

¹제주대학교 식품생명공학과

²식물자원환경전공

Integral Antioxidative Capacity and Antimicrobial Activity of Pressurized Liquid Extracts from 40 Selected Plant Species

Mi-Ae Kang¹, Mi-Bo Kim¹, Ji-Hun Kim², Young-Hwan Ko¹, and Sang-Bin Lim^{1†}

¹Dept. of Food Bioengineering and ²Major of Plant Resources & Environment,
Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Abstract

Forty natural plants collected in Jeju, Jeonnam-Goheung, and Gyeongbuk-Ulleung were extracted using a pressurized liquid. Extraction yields of total soluble solids and total phenolics (TP), and integral antioxidative capacity (IAC) were measured, and antimicrobial activity was tested against *Streptococcus parauberis*, *Streptococcus iniae*, *Edwardsiella tarda*, and *Vibrio ordalii*. Jipsinnamul showed the highest content of TP (174.4 mg GAE/g), followed by Mulchamnamu (116.9), Seoeonamu (113.3), and Buknamu (108.2). Percent TP/TSS was high in Jipsinnamul (72.6%), Seoeonamu (47.3%), Mulchamnamu (46.4%), Jageumu (40.2%), and Baneulkkot (40.1%), respectively. Magamok, Nadosongipul, Buknamu, Mulchamnamu, and Seoeonamu showed 5.81, 3.96, 3.63, 3.63, and 3.34 mmol ascorbic acid equivalents/g of IAC of water-soluble substances, and Seoeonamu, Magamok, Seipijilpul, Mulchamnamu, Baneulkkot, and Seomgirincho showed 8.51, 6.57, 5.68, 3.85, 3.83, and 3.69 mmol Trolox equivalents/g of IAC of lipid-soluble substances, respectively. Only nine species such as Baneulkkot, Dokhwal, Jipsinnamul, Mulchamnamu, Nadosongipul, Seipijilpul, Seoeonamu, Seomgirincho, and Sumbadi of 40 selected plants showed the antimicrobial activity against four bacteria tested. Jipsinnamul showed the strong antimicrobial activity against *S. iniae*, while Dokhwal, Nadosongipul, and Sumbadi against *S. parauberis* and *S. iniae*, and Mulchamnamu, Seoeonamu, and Seipijilpul against *V. ordalii*.

Key words: natural plants, pressurized liquid extraction, integral antioxidative capacity, antimicrobial activity

서 론

식물의 2차 대사산물 중에서 특히 페놀 화합물은 여러 종류의 과실, 채소, 약초 등 천연물에 다량 분포되어 있는데, 이 화합물은 하나 또는 둘 이상의 수산기로 치환된 방향족환을 가지고 있으며 구조와 분자량이 다양하여 자연계에 대략 8,000여종이 존재한다(1). 지금까지 보고된 대부분의 천연 항산화제는 식물에서 유래된 폴리페놀 화합물인 것으로 알려져 있는데, 이들 화합물은 천연 황산화 활성을 나타낼 뿐만 아니라, 식물에 있어서 색깔, 수렴성, 쓴맛, 향 등 관능적 성질에도 중요한 역할을 한다(2).

최근에 식물로부터 천연 기능성 소재를 탐색하는 연구가 많이 이루어지고 있는데, 이는 식물 중에 함유되어 있는 페놀 화합물이 항염, 간독성 완화, 항종양, 동맥경화 방지, 항돌연변이, 관절예방, 항당뇨, 항암, 항혈전, 항균활성 등과 같이 건강에 유익한 여러 가지 작용을 하기 때문이다(3-7).

항산화제에는 superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase 등의 효소계열의 예방적 항산화제와 phenol성 화합물, flavone 유도체, tocopherol 류, ascorbic acid, carotenoids, glutathione, 아미노산 등의 천연 항산화제와 BHA (butylated hydroxy anisole), BHT(butylated hydroxytoluene), PG(propyl gallate) 등의 합성 항산화제가 있다(8). 그런데 합성 항산화제인 BHA와 BHT 등은 탁월한 항산화 효과와 경제성 때문에 지금까지 널리 사용되어 왔으나 안전성에 논란이 있어 허용대상 식품이나 사용량이 엄격히 규제되고 있다(9). 따라서 근래에는 인간이 오랫동안 안전하게 섭취하여 왔던 천연물로부터 인체에 안전하고 항산화력이 높은 물질을 분리 이용하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다.

천연 식물로부터 기능성 성분의 분리 및 동정에 있어서 추출은 매우 중요한 공정인데, 폴리페놀 화합물은 다양한 구조와 극성을 가지고 있고 빛과 산소에 민감하므로 추출하는데 어려움이 있다. 천연물로부터 페놀 화합물의 추출에는

†Corresponding author. E-mail: sblim@jejunu.ac.kr
Phone: 82-64-754-3617, Fax: 82-64-755-3601

주로 유기용매 추출법이 많이 이용되어 왔는데, 이 방법은 환경적으로 유해한 유기용매를 다량 사용하며, 추출시간도 많이 소요되는 문제점을 가지고 있다. 따라서 최근에는 이러한 단점을 보강하기 위하여 고압용매 추출법이 시도되고 있는데, 이 추출법에서는 높은 압력과 온도를 이용하는데, 높은 압력은 추출용매와 시료간의 접촉을 증가시키고 높은 온도는 시료의 phenolic-matrix 결합을 파괴시켜 목적성분의 추출을 용이하게 한다. 또한 이 방법은 소량의 유기용매를 사용하며 추출시간도 많이 단축할 수 있는 장점이 있다(10, 11). 한편 Kim 등(12)은 고압 유기용매를 이용하여 새우나뭇잎으로부터 폴리페놀 화합물의 추출조건을 최적화하는 연구를 수행하였다.

항산화 활성 측정방법에는 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TEAC(trolox equivalent antioxidant capacity), TRAP(total reactive antioxidant potential), ORAC(oxygen radical antioxidant capacity) 등 여러 가지 방법이 있으나, 각각 특정 시스템에 제한적으로 적용되고 있다. 따라서 항산화 능력을 측정하는데 유용한 방법은 수용성 그리고 지용성 시스템에서 통합적 항산화 능력을 측정하는 것인데, 광화학 발광법(photochemiluminescence, PCL)은 실제로 음식을 섭취하였을 때 혈액 중에서 항산화 능력을 발휘하는 정도를 간접적으로 측정하는 방법이라는 장점을 가지고 있다. PCL의 원리는 photosensitizer인 luminol에 자외선을 조사하면 자유라디칼이 광화학적으로 생성되는데, 이 라디칼은 항산화 물질에 의하여 부분적으로 제거되고 남아있는 라디칼은 검출기에서 화학물질과 반응하여 발광되는 정도로부터 검출된다(13-15).

한편 천연물 유래 폴리페놀 화합물은 항균 활성도 있는 것으로 알려져 있는데, 지금까지 천연물로부터 합성 항균제를 대체할 천연 항균제 개발에 대한 연구가 많이 이루어져 오고 있다(16).

따라서 본 연구는 제주, 전남 고흥, 경북 울릉도에 자생하는 식물자원 40종을 대상으로 고압용매 추출하여 통합적 항산화 능력과 항균 활성을 검증하여, 식품산업에 응용할 천연 소재를 탐색하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 자생식물은 Table 1과 같으며, 제주(16종), 전남 고흥(11종), 경북 울릉도(13종)에서 40종을 채취하여 세척·음건한 후 30 mesh를 통과하도록 분쇄기(Ika Work, Inc., Wilmington, NC, USA)로 분쇄하여 -20°C 냉동고에 보관하면서 추출용 재료로 사용하였다.

고압용매 추출

본 실험에 사용한 고압용매 추출장치(SFX 3560, Isco Inc.,

Lincoln, NE, USA)는 syringe pump, pump controller, sample cartridge가 장착된 고압 chamber, 유량 조절을 위한 restrictor 그리고 collection vial로 구성되어 있다. 추출시료는 추출용매의 흐름을 용이하게 하기 위하여 sample cartridge의 윗부분으로부터 sea sand(15~20 mesh, Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 2 g, 건조시료 1 g, 다시 sea sand 5.2 g를 순차적으로 충전하여 고압 chamber에 장착하였다. 추출용매(에탄올 40%)는 syringe pump에서 가압되었고 supply valve를 통하여 sample cartridge로 주입된 후 일정 온도(50°C)와 압력(13.6 MPa)에서 3분 동안 정치하였다. 그 후 고압용매는 시료가 충전된 cartridge를 통과하면서 10분 동안 1 mL/min의 유속으로 추출을 행하였고, 추출물은 restrictor를 통하여 collection vial에 포집하였다. 이것을 진공회전증발농축기로 농축한 후 추출용매로 10 mL 정용한 후 0.45 μm cellulose acetate filter(Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과하여 -20°C 에서 저장하면서 분석용 시료로 사용하였다. 추출방법은 Kim 등(12)이 최적화한 고압용매 추출조건에 따라 행하였다. 추출수율은 추출물 1 mL를 취하여 105°C 에서 향량이 될 때까지 건조하여 증발잔사의 양을 구한 후 건조 시료의 무게에 대한 가용성 고형분의 무게 비율로 나타내었다.

총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Peschel 등(17)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 고압용매 추출물 0.1 mL에 증류수 7.9 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol 시약(Fluka, Buchs, Switzerland) 0.5 mL를 가하였다. 2분 후 20% 탄산나트륨 용액 1.5 mL를 가하여 혼합하였고, 상온에서 2시간 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 표준품으로 200~1000 $\mu\text{g/L}$ 농도로 검량선을 작성한 후 gallic acid equivalents(mg GAE/g of dry sample)로 나타내었다.

통합적 항산화 능력(integral antioxidative capacity) 측정

항산화 활성은 Photochemiluminescence system(Berlin, Germany)으로 측정하였다(15). ACW(antioxidative capacity of water-soluble substances)와 ACL(antioxidative capacity of lipid-soluble substances) kits는 Analytik Jena AG(Jena, Germany)에서 구입하여 사용하였다. ACW kit에서 Reagent ①, ②, ③, ④는 각각 water, reaction buffer, luminol, ascorbic acid 용액이며, ACL kit에서 Reagent ①, ②, ③, ④는 각각 methanol, reaction buffer, luminol, trolox 용액이다.

수용성 통합적 항산화 능력(ACW protocol)은 다음과 같이 측정하였다. 즉, Reagent(R)③에 R②를 750 μL 가하여 R③ working solution(R③-WS)을 제조하였다. 490 μL R①과 10 μL H_2SO_4 를 R④가 들어 있는 바이알에 가한 후 20~30

Table 1. Scientific and traditional names, and plant parts used

Scientific name	Traditional name	Collected region	Parts used
<i>Adenophora erecta</i>	Seonmosidae	Ulleung	root, stem, leaves
<i>Adenophora remotiflora</i>	Mosidae	Jeju	root, stem, leaves
<i>Agrimonia pilosa</i>	Jipsinnamul	Goheung	stem, leaves
<i>Angelica decursiva</i>	Badinamul	Jeju	root, stem, leaves
<i>Aralia cordata</i>	Dokhwul	Ulleung	stem, leaves
<i>Ardisia japonica</i>	Jageumu	Ulleung	root, stem, leaves
<i>Astilbe rubra</i>	Noruojum	Jeju	stem, leaves
<i>Atriplex subcordata</i>	Gaknunjangi	Ulleung	stem, leaves
<i>Carpinus laxiflora</i>	Seoeonamu	Goheung	branch, leaves
<i>Cayratia japonica</i>	Geojideonggul	Jeju	stem, leaves
<i>Chrysosplenium grayanum</i>	Gwaenginun	Jeju	stem, leaves
<i>Davallia mariesii</i>	Neokjulgosari	Goheung	root, stem, leaves
<i>Dystaenia takesimana</i>	Sumbadi	Ulleung	stem, leaves
<i>Epilobium pyrricholophum</i>	Baneulkkot	Ulleung	stem, leaves
<i>Euphorbia sieboldiana</i>	Gaegamsu	Jeju	root, stem, leaves
<i>Fallopia sachalinensis</i>	Wanghojanggeun	Ulleung	stem, leaves
<i>Geranium wilfordii</i>	Seipjilpul	Ulleung	stem, leaves
<i>Hedera rhombea</i>	Songak	Goheung	branch, leaves
<i>Hepatica maxima</i>	Seomnorugwi	Ulleung	root, stem, leaves
<i>Hydrangea serrata</i>	Tamrasansuguk	Jeju	stem, leaves
<i>Isodon inflexus</i>	Sanbakha	Jeju	stem, leaves
<i>Lactuca indica</i>	Wanggodeulppaegi	Goheung	stem, leaves
<i>Lespedeza cyrtobotrya</i>	Chamssari	Jeju	stem, leaves
<i>Lycopodium serratum</i>	Baemtop	Jeju	root, stem, leaves
<i>Lysimachia clethroides</i>	Keunkkachisuyeom	Goheung	branch, leaves
<i>Melampyrum roseum</i>	Kkotmyeoneuribappul	Goheung	stem, leaves
<i>Patrinia scabiosaeifolia</i>	Matari	Goheung	stem, leaves
<i>Persicaria filiformis</i>	Isakyeokkwi	Jeju	stem, leaves
<i>Persicaria filiformis</i>	Isakyeokkwi	Ulleung	stem, leaves
<i>Phryma leptostachya</i>	Paripul	Goheung	stem, leaves
<i>Phtheirospermum japonicum</i>	Nadosongipul	Jeju	stem, leaves
<i>Pyrola japonica</i>	Norubal	Ulleung	root, stem, leaves
<i>Quercus mongolica</i>	Mulchamnamu	Jeju	branch, leaves
<i>Reynoutria japonica</i>	Hojanggeun	Jeju	stem, leaves
<i>Rhus javanica</i>	Buknamu	Goheung	branch, leaves
<i>Scrophularia takesimensis</i>	Seomhyeonsam	Ulleung	root, stem, leaves
<i>Sedum takesimense</i>	Seomgirincho	Ulleung	stem, leaves
<i>Selaginella tamariscina</i>	Bucheoson	Goheung	root, stem, leaves
<i>Sorbus commixta</i>	Magamok	Jeju	branch, leaves
<i>Viburnum dilatatum</i>	Gamaksalnamu	Jeju	branch, leaves

초간 vortex시켜 혼합하여 R④ stock solution을 제조하였고, 이 용액을 R①로 1:100으로 희석하여 R④ working solution(R④-WS)을 제조하였다. 이 용액 10 μ L에는 1 nmol의 ascorbic acid(표준용액)가 함유되어 있다. 수용성 통합적 항산화 능력은 3단계로 측정하였다. 1단계는 R① 1500 μ L과 R② 1000 μ L이 들어있는 sampling tube에 R③-WS 25 μ L을 가하여 blank를 측정하였다. 2단계는 R① 1500 μ L과 R② 1000 μ L이 들어있는 sampling tube에 R③-WS 25 μ L과 R④-WS을 10~50 μ L을 가하여 검량선을 작성하였다. 3단계 시료분석은 검량선 작성 시 R④-WS 대신 희석된 추출물 10 μ L을 가하여 3회 반복 측정하였다.

지용성 통합적 항산화 능력(ACL protocol)은 다음과 같이 측정하였다. 즉, R③에 R②를 750 μ L 가하여 R③-WS을 제조하였다. 500 μ L R①을 Trolox(R④)이 들어 있는 바이알에 가한 후 혼합하여 R④ stock solution을 제조하였고, 이 용액

을 R①로 1:100으로 희석하여 R④-WS을 제조하였다. 이 용액 10 μ L에는 1 nmol의 Trolox(표준용액)이 함유되어 있다. 지용성 통합적 항산화 능력 또한 3단계로 측정하였다. 1단계는 R① 2300 μ L과 R② 200 μ L이 들어있는 sampling tube에 R③-WS 25 μ L을 가하여 blank를 측정하였다. 2단계는 R① 2300 μ L과 R② 200 μ L이 들어있는 sampling tube에 R③-WS 25 μ L과 R④-WS을 10~50 μ L 가하여 검량선을 작성하였다. 3단계 시료분석은 검량선 작성 시 R④-WS 대신 희석된 추출물 10 μ L을 가하여 3회 반복 측정하였다.

실험 결과는 가용성 고형분 g당 mmol ascorbic acid 또는 Trolox equivalents로 나타내었다.

항균성 검정 균주

본 실험에서 사용한 균주는 양식넙치 질병 세균으로서 한국유전자은행인 KCTC(Korean Collection For Type Cul-

Table 2. Fish pathogenic bacteria and incubation condition

Gram	Strain	Incubation condition
(+) <i>Streptococcus parauberis</i> KCTC 3651	<i>Streptococcus iniae</i> KCTC 3657	37°C, 24 hr
		37°C, 24 hr
(-) <i>Edwardsiella tarda</i> KCTC 12267	<i>Vibrio ordalii</i> KCCM 41669	37°C, 24 hr
		26°C, 48 hr

ture)와 한국미생물보존센터인 KCCM(Korean Culture Center of Microorganisms)에서 그람 양성균 2종(*Streptococcus iniae* KCTC 3657, *Streptococcus parauberis* KCTC 3651)과 그람 음성균 2종(*Edwardsiella tarda* KCTC 12267, *Vibrio ordalii* KCCM 41669)을 분양 받아 사용하였으며, 사용배지는 BHIA(1.5% NaCl)이었으며, 각 균주의 배양조건은 Table 2와 같으며 3회 계대 배양하여 사용하였다.

항균활성의 측정

항균활성은 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)의 지침에 준하여 disk diffusion method로 측정하였다(18). 식물 추출물(10,000 ppm)의 항균성을 측정하기 위하여 미리 배양한 균 배양액 0.2 mL($10^7 \sim 10^8$ CFU/mL)를 각각의 고체배지 표면에 취하여 spreader로 균일하게 도말하였다. 여기에 멸균된 paper disc(직경 8 mm, Advantec, Toyo Roshi Co., Tokyo, Japan)를 올려놓아 밀착시킨 후, 추출물 20 μ L을 흡수시킨 다음 각 균주의 배양 조건에서 배양하여 생육 저지환(clear zone)의 크기(mm)를 측정하였다.

최소저해농도(minimal inhibitory concentration: MIC) 측정

추출물의 최소저해농도는 NCCLS의 지침(19)에 따라 agar dilution method로 측정하였다. 미리 배양한 균 배양액 0.2 mL($10^7 \sim 10^8$ CFU/mL)를 고체배지 표면에 취하여 spreader로 균일하게 도말한 다음 각각의 온도에서 24~48시간 배양한 후, 미생물의 생육이 관찰되지 않은 추출물의 최소농도를 확인하였다. 고체배지는 추출물을 진공회전증발농축기로 용매를 완전히 제거한 후 잔사를 5% DMSO에 용해하여 최종 농도가 1,000, 2,000, 3,000, 4,000, 5,000 ppm이 되도록 조제한 추출물 5 mL를 배지 15 mL와 혼합하여 제조하였다.

결과 및 고찰

총 고형분의 추출수율

제주, 전남 고흥, 경북 울릉도에서 채취한 자생식물 40종을 대상으로 고압용매 추출하여 가용성 고형분의 추출수율을 측정된 결과는 Table 3과 같았다. 고형분의 추출수율은 섬현삼, 팽이눈이 각각 39.7%, 39.0%로 40종 자생식물 중 가장 높았고, 넝쿨고사리, 섬모싯대, 섬기린초, 모싯대, 꽃머느리밥풀이 각각 34.1%, 32.1%, 31.5%, 30.6%, 30.1%로 높은

Table 3. Extraction yields of total soluble solids (TSS) and total phenolics (TP) of pressurized liquid extracts from 40 selected plant species in Korea

Plant species	TSS (%)	TP (mg GAE/g)	TP/TSS (%)
Badinamul	21.8±0.33	17.2±1.7	7.9
Baemtop	19.7±0.12	11.5±2.4	5.9
Baneullkot	19.6±0.33	78.7±2.1	40.1
Bucheoson	11.1±0.26	7.8±1.0	7
Buknamu	27.7±0.00	108.2±6.9	39.1
Chamssari	23.1±0.18	76.1±2.0	32.9
Dokhwal	11.7±0.26	5.5±1.2	4.7
Gaegamsu	26.0±0.00	43.4±1.9	16.7
Gaknunjangi	19.4±0.45	8.0±0.9	4.1
Gamaksalnamu	20.1±0.14	22.4±2.7	11.2
Geojideonggul	19.9±0.12	18.2±1.9	9.2
Gwaenginun	39.0±0.05	36.6±2.3	9.4
Hojanggeun	20.4±0.21	80.8±2.7	39.7
Isakyeokkwi (Ulleung)	15.6±0.09	47.0±0.5	30.1
Isakyeokkwi (Jeju)	10.5±0.18	32.1±0.7	30.5
Jageumu	23.6±0.33	95.0±2.5	40.2
Jipsinnamul	24.0±0.32	174.4±8.7	72.6
Keunkkachisuyeom	27.4±0.31	93.2±1.8	34.0
Kkotmyeoneuribappul	30.1±0.21	18.9±2.9	6.3
Magamok	27.7±0.14	92.5±2.2	33.4
Matari	17.3±0.42	18.7±1.7	10.8
Mosidae	30.6±0.21	8.9±0.9	2.9
Mulchamnamu	25.2±0.12	116.9±3.2	46.4
Nadosongipul	24.2±0.08	34.1±0.9	14.1
Neokjulgosari	34.1±1.04	96.9±3.9	28.4
Norubal	25.7±0.61	49.5±1.7	19.3
Noruojum	21.1±0.59	65.9±2.8	31.2
Paripul	19.0±0.39	29.5±1.7	15.6
Sanbakha	21.9±0.01	57.0±3.1	26.1
Seipijilpul	22.0±0.05	82.8±1.1	37.6
Seoeonamu	24.0±0.21	113.3±8.9	47.3
Seomgirincho	31.5±0.54	91.1±2.3	28.9
Seomhyeonsam	39.7±0.42	8.8±1.4	2.2
Seomnorugwi	27.7±0.05	14.8±2.2	5.3
Seonmosidae	32.1±0.07	8.2±0.8	2.6
Songak	21.3±0.09	14.7±2.2	6.9
Sumbadi	25.9±0.21	19.3±1.8	7.5
Tamrasansuguk	17.0±0.09	15.7±2.3	9.2
Wanggodeulppaegi	21.2±0.09	16.2±1.9	7.6
Wanghojanggeun	12.6±0.09	46.4±2.1	36.8

추출수율을 나타내었다. 그 외에 마가목, 붉나무, 섬노루귀, 큰까치수염, 개감수, 섬바디, 노루발, 물참나무가 25% 이상을, 나도송이풀, 짚신나물, 서어나무, 자금우, 참싸리, 세잎이질풀, 산박하, 바다나물, 송악, 왕고들빼기, 노루오줌, 호장근, 가막살이 20% 이상의 추출수율을 나타내었다.

Kim 등(20)도 고압용매 추출물의 추출수율은 이삭여귀, 사람주나무, 귀룽나무, 말오줌때가 각각 28.5%, 27.3%, 25.8%, 25.2%로 높았으며, 짚신나물, 사발오리나무, 백량금, 산딸나무, 새우나무, 딱지꽃, 붉나무, 팔배나무, 멀꿀이 20% 이상의 추출수율을 나타내었다고 보고하였다.

Hyun 등(21)은 제주 자생식물을 대상으로 상압유기용매 추출(70% 메탄올)하여 가용성 고형분의 추출수율을 측정된 결과 자금우가 16.8%, 산딸나무가 18.4%, 소귀나무가 18.6%,

붉나무가 19.9%로 본 연구결과와 비교하여 볼 때 낮은 경향을 보고하였는데, 고압용매 추출법은 상압유기용매 추출법보다 추출시간도 짧고 유기용매도 소량 소비된다는 장점을 가지고 있기 때문에 경제적이고 효율적인 것으로 추정된다.

총 페놀성 화합물 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가지며, phenolic hydroxyl이 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하여 항산화 및 항암 등의 다양한 생리활성을 나타낸다(22).

제주, 전남 고흥, 경북 울릉도에서 채취한 자생식물 40종을 대상으로 고압용매 추출하여 총 페놀성 화합물 함량을 측정하였다(Table 3). 총 페놀성 화합물 함량은 쑥신나물이 174.4 mg GAE/g로 자생식물 중 가장 높았고, 다음으로 물참나무, 서어나무, 붉나무가 각각 116.9, 113.3, 108.2 mg GAE/g로 높은 함량을 나타내었다. 그 외 너죽고사리, 자금우, 큰까치수염, 마가목, 섬기린초도 각각 96.9, 95.0, 93.2, 92.5, 91.1 mg GAE/g로 높은 함량을 나타내었고, 세잎이질풀, 호장근, 바늘꽃, 참싸리, 노루오줌, 산박하는 각각 82.8, 80.8, 78.7, 76.1, 65.9, 57.0 mg GAE/g 이상을 나타내었다. 그러나 노루발, 이삭여뀌(울릉), 왕호장근, 개감수, 팽이눈, 나도송이풀, 이삭여뀌(제주)는 30 mg GAE/g 정도의 낮은 함량을 나타내었다.

Kim 등(20)도 제주 자생식물 20종을 대상으로 고압용매 추출하여 총 페놀성 화합물 함량을 측정하였는데, 새우나무와 사람주나무가 각각 105.4, 105.1 mg GAE/g로 가장 높았고, 다음으로 이질풀, 쑥신나물, 석위, 귀룽나무가 각각 104.4, 92.2, 90.6, 90.5 mg GAE/g를 나타내었다고 보고하여, 본 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

한편 Hyun 등(21)은 제주 자생식물 54종을 대상으로 70% 메탄올로 추출하여 총 페놀성 화합물 함량을 측정한 결과 새우나무가 287.9 mg GAE/g로 가장 높았고, 이질풀, 아그베나무, 자금우, 쑥신나물, 사람주나무가 각각 281.8, 268.0, 261.6, 259.6, 245.6 mg GAE/g를 나타내었고, 딱지꽃, 석위, 붉가시나무, 소귀나무, 귀룽나무, 붉나무, 말오줌때 등도 200 mg GAE/g 이상의 높은 함량을 나타내었다고 보고하였는데, 본 연구 결과와 비교하여 볼 때 본 연구에서의 고압용매 추출물은 상압유기용매 추출물보다 총 페놀성 화합물 함량이 비교적 낮은 것으로 나타났다. 일반적으로 고압용매 추출법이 상압유기용매 추출법보다 총 페놀성 화합물 추출수율이 높을 것으로 예상하였으나 낮은 이유로는 시료가 동일하지 않으며 또한 폴리페놀 화합물이 빛, 산소, 온도에 민감하므로 고압용매 처리 시 손실에 의한 것으로 추정되었으나, 차후 동일 시료를 가지고 두 가지 추출방법에 대한 보다 깊은 연구가 필요하다(10,11).

한편 총고형분 함량에 대한 총 페놀성 화합물 함량의 비율(% TP/TSS)은 쑥신나물이 72.6%로 가장 높았고, 서어나무(47.3%), 물참나무(46.4%), 자금우(40.2%), 바늘꽃(40.1%)

순으로 높은 비율을 나타내었다. 그 외에 호장근(39.7%), 붉나무(39.1%), 세잎이질풀(37.6%), 왕호장근(36.8%), 큰까치수염(34.0%), 마가목(33.4%), 참싸리(32.9%), 노루오줌(31.2%), 이삭여뀌(제주, 30.5%)도 높은 함량을 나타내었다.

통합적 항산화 능력(integral antioxidative capacity)

자생식물 40종의 고압용매 추출물 중 가용성 고형분 함량에 대한 총 페놀성 화합물 함량의 비율이 높은 16종을 선정하여 수용성과 지용성 통합적 항산화 능력을 측정한 결과는 Table 4와 같았다. 수용성 항산화 능력은 마가목이 5.81 mmol ascorbic acid equivalents/g로 가장 높았고, 다음으로 나도송이풀, 붉나무, 물참나무, 서어나무가 각각 3.96, 3.63, 3.63, 3.34 mmol ascorbic acid equivalents/g를 나타내었으며, 호장근, 세잎이질풀, 쑥신나물, 노루오줌도 각각 2.87, 2.59, 2.53, 2.37 mmol ascorbic acid equivalents/g를 나타내었다. 지용성 항산화 능력은 서어나무가 8.51 mmol Trolox equivalents/g로 가장 높았고, 다음으로 마가목, 세잎이질풀, 물참나무, 바늘꽃, 섬기린초가 각각 6.57, 5.68, 3.85, 3.83, 3.69 mmol Trolox equivalents/g를 나타내었다.

마가목, 서어나무, 물참나무, 세잎이질풀은 수용성과 지용성 통합적 항산화 능력 모두 높았는데, 총 페놀성 화합물 함량도 각각 92.5, 113.3, 116.9, 82.8 mg GAE/g로 높아 이들 식물 추출물인 경우 항산화 능력과 총 페놀 함량 사이에는 서로 상관관계가 있었다. Lee 등(22)과 Ra 등(23)도 총 페놀성 화합물 함량에 비례하여 항산화 활성이 증가한다고 보고하였다. Kim 등(24)은 자생식물 추출물의 수용성 · 지용성 통합적 항산화 능력을 측정한 결과 수용성 항산화 능력은 이질풀이 5.98 mmol ascorbic acid equivalents/g로 가장 높았고, 다음으로 사람주나무, 산딸나무, 붉나무, 자금우, 말오

Table 4. Integral antioxidative capacity (IAC) of pressurized liquid extracts from 16 selected plant species in Korea

Plant species	IAC of water-soluble substances (ascorbic acid, mmol/g of soluble solid)	IAC of lipid-soluble substances (Trolox, mmol/g of soluble solid)
Baneulkkot	1.94±0.10	3.83±0.10
Buknamu	3.63±0.14	1.24±0.01
Chamssari	0.97±0.03	0.35±0.01
Hojanggeun	2.87±0.13	1.05±0.02
Jageumu	1.24±0.07	0.76±0.01
Jipsinnamul	2.53±0.04	1.27±0.05
Keunkkaxisuyeom	1.27±0.07	0.89±0.06
Magamok	5.81±0.34	6.57±0.31
Mulchamnamu	3.63±0.19	3.85±0.12
Nadosongipul	3.96±0.05	1.78±0.05
Neokjulgosari	1.00±0.06	0.82±0.05
Noruojum	2.37±0.17	0.58±0.02
Seipijilpul	2.59±0.03	5.68±0.09
Seoeonamu	3.34±0.14	8.51±0.03
Seomgirincho	0.86±0.07	3.69±0.19
Sumbadi	0.81±0.00	0.53±0.01

즙때가 각각 3.94, 2.93, 2.70, 2.46, 2.30 mmol ascorbic acid equivalents/g를 나타내었다. 지용성 항산화 능력은 백량금이 6.11 mmol Trolox equivalents/g로 가장 높았고, 다음으로 새우나무, 이질풀, 붉가시나무, 아그배나무, 사람주나무, 이삭여뀌, 귀룽나무, 산딸나무, 팔배나무, 붉나무, 석위가 각각 3.14, 2.96, 2.42, 2.31, 2.30, 2.27, 2.23, 2.19, 2.13, 2.08, 2.02 mmol Trolox equivalents/g를 나타내었다고 보고하였다.

항균활성

제주도에서 많이 양식하고 있는 넙치는 주로 병원성 세균에 의하여 각종 질병이 발생하여 경제적 피해를 주고 있는데, 국내산 양식 넙치에서 주로 발생하는 세균성 질병은 streptococcosis, edwardsiellosis, vibriosis에 의한 것으로 보고되고 있다. Streptococcosis의 원인 병원균으로는 *S. parauberis*와 *S. iniae*를, edwardsiellosis의 원인종은 *E. tarda*와 *Edwardsiella ictaluri*가 보고되고 있다. 한편 어류 vibriosis는 많은 종류의 *Vibrio*속 세균의 감염에 의하여 해수어 및 담수어 등 다양한 어류에서 발생하며, 특히 고밀도 양식, 고염분과 유기물 오염이 높은 경우에 그 발생빈도가 높은 것으로 알려져 있는데, 공통적인 vibriosis의 원인균으로는 *Vibrio anguillarum*이 보고되어 있으며, *V. ordalii*는 어류의 출혈성 패혈증 원인균으로 알려져 있다(25).

국내 자생식물 40종 추출물에 대하여 양식 넙치 질병 세균인 그람양성균 2종(*S. parauberis*, *S. iniae*)과 그람음성균 2종(*E. tarda*, *V. ordalii*)에 대한 항균활성을 paper disk법으로 측정하였다. 그 결과 식물 40종 추출물 중 9종 즉, 바늘꽃, 독활, 짚신나물, 물참나무, 나도송이풀, 세잎이질풀, 서어나무, 섬기린초, 섬바디 만이 4종의 양식 넙치 질병 세균에 대하여 항균활성을 나타내었다(Table 5).

*S. parauberis*에 대한 항균활성은 나도송이풀과 섬바디가 가장 높았고, 다음으로 바늘꽃, 독활, 물참나무, 세잎이질풀, 서어나무, 섬기린초는 비슷한 항균활성을 나타내었는데, 짚신나물은 항균활성을 나타내지 않았다. *S. iniae*에 대해서는 짚신나물과 섬바디가 가장 높은 활성을 나타내었고, 그 다음

으로 독활, 물참나무, 나도송이풀, 세잎이질풀, 서어나무가 비슷한 활성을 나타내었는데, 바늘꽃과 섬기린초는 활성을 나타내지 않았다. *E. tarda*에 대해서는 바늘꽃, 독활, 물참나무, 세잎이질풀, 서어나무, 섬기린초, 섬바디가 비슷한 항균활성을 나타내었으며 짚신나물과 나도송이풀은 항균활성을 가지고 있지 않았다. *V. ordalii*에 대해서는 식물 9종 중 짚신나물 이외에 8종의 추출물에서는 항균활성을 나타내었는데, 그중 세잎이질풀과 서어나무가 가장 높은 항균활성을 나타내었으며, 그 다음으로 바늘꽃, 독활, 물참나무, 나도송이풀, 섬기린초, 섬바디가 비슷한 활성을 나타내었다.

짚신나물, 나도송이풀, 섬바디는 그람양성균에 대하여 항균활성이 높았고, 세잎이질풀과 서어나무가 그람음성균에 대하여 항균활성이 높은 것으로 나타났다. 그람양성균과 그람음성균에 대하여 9종의 자생식물 추출물의 항균활성을 비교해 보았을 때 그람양성균인 *S. parauberis*, *S. iniae*에 대한 항균활성이 그람음성균인 *E. tarda*, *V. ordalii*보다 높았다.

특히 물참나무, 세잎이질풀, 서어나무는 총 페놀성 화합물 함량이 각각 116.9, 82.8, 113.3 mg GAE/g로 높았으며, 수용성과 지용성 통합적 항산화 능력도 모두 높았는데, 이들 식물 추출물은 그람양성균과 그람음성균 모두에 대하여 항균활성을 나타내는 것으로 보아, 이들 물질에 함유되어 있는 폴리페놀 성분이 항산화활성은 물론 항균성과도 밀접한 관련이 있을 것으로 추정되었으며, 이들 추출물은 건강한 넙치의 생산에 활용될 수 있을 것이다.

최소저해농도(minimal inhibitory concentration: MIC)

양식 넙치 질병 세균에 대하여 비교적 항균활성이 우수한 7종의 식물 추출물을 대상으로, 그람양성균에 대하여 항균활성이 높았던 독활, 짚신나물, 나도송이풀, 섬바디 추출물은 그람양성균에 대하여, 그람음성균에 대하여 항균활성이 높았던 물참나무, 서어나무, 세잎이질풀 추출물은 그람음성균에 대하여 최소저해농도를 측정할 결과는 Table 6과 같았다.

최소저해농도는 그람양성균인 *S. parauberis*인 경우에는 독활과 나도송이풀이 4,000 ppm, 짚신나물, 섬바디는 >5,000 ppm을 나타내었으며, *S. iniae*인 경우에는 짚신나물이 1,000 ppm으로 가장 낮았고, 독활과 섬바디는 3,000 ppm, 나도송이풀은 4,000 ppm을 나타내었다. 그람음성균인 *E. tarda*에

Table 5. Antimicrobial activities of pressurized liquid extracts from 40 selected plant species in Korea on the fish pathogenic bacteria

Plant species	<i>S. parauberis</i>	<i>S. iniae</i>	<i>E. tarda</i>	<i>V. ordalii</i>
Baneulkkot	+	-	+	+
Dokhwal	+	+	+	+
Jipsinnamul	-	++++	-	-
Mulchamnamu	+	+	+	+
Nadosongipul	++++	+	-	+
Seipijilpul	+	+	+	++
Seoeonamu	+	+	+	++
Seomgirincho	+	-	+	+
Sumbadi	++	+++	+	+
Others	-	-	-	-

Clear zone size (paper disc diameter: 8 mm): less than 9 mm, -; 9~14 mm, +; 14~19 mm, ++; 19~24 mm, +++; 24~29 mm, ++++; 29~34 mm, +++++.

Table 6. Minimum inhibitory concentration (MIC) of pressurized liquid extracts from 7 selected plant species in Korea on the fish pathogenic bacteria

Plant species	<i>S. parauberis</i>	<i>S. iniae</i>	<i>E. tarda</i>	<i>V. ordalii</i>
Dokhwal	4,000	3,000	-	-
Jipsinnamul	>5,000	1,000	-	-
Mulchamnamu	-	-	4,000	<1,000
Nadosongipul	4,000	4,000	-	-
Seipijilpul	-	-	>5,000	<1,000
Seoeonamu	-	-	5,000	<1,000
Sumbadi	>5,000	3,000	-	-

-: not measured.

대해서는 물참나무, 서어나무, 세잎이질풀이 각각 4,000, 5,000, >5,000 ppm을 나타내었으며, *V. ordalii*에 대해서는 물참나무, 세잎이질풀, 서어나무 모두 1,000 ppm 이하로 높은 항균활성을 나타내었다.

항균활성 실험결과 짚신나물은 *S. iniae*에 대하여 높은 항균활성을 나타내었으며, 독활, 나도송이풀, 섬바디는 *S. parauberis*과 *S. iniae* 모두에 대하여, 물참나무, 세잎이질풀, 서어나무는 *V. ordalii*에 대하여 높은 항균활성을 나타내었으므로, 이들 추출물은 양식넙치의 질병을 예방하기 위한 천연항균제로 활용할 가치가 높을 것으로 추정되었다.

요 약

제주, 전남 고흥, 경북 울릉도에 자생하는 식물자원 40종을 대상으로 고압용매 추출하여 항산화 활성과 항균활성을 측정하여, 식품산업에 응용할 천연소재를 탐색하였다. 총 페놀성 화합물 함량은 짚신나물이 174.4 mg GAE/g로 자생식물 중 가장 높았고, 다음으로 물참나무, 서어나무, 붉나무가 각각 116.9, 113.3, 108.2 mg GAE/g로 높은 함량을 나타내었다. 총고형분 함량에 대한 총 페놀 함량의 비율은 짚신나물이 72.6%로 가장 높았고, 서어나무(47.3%), 물참나무(46.4%), 자금우(40.2%), 바늘꽃(40.1%) 순으로 높은 비율을 나타내었다. 수용성 항산화 능력은 마가목이 5.81 mmol ascorbic acid equivalents/g로 가장 높았고, 다음으로 나도송이풀, 붉나무, 물참나무, 서어나무가 각각 3.96, 3.63, 3.63, 3.34 mmol ascorbic acid equivalents/g를 나타내었다. 지용성 항산화 능력은 서어나무가 8.51 mmol Trolox equivalents/g로 가장 높았고, 다음으로 마가목, 세잎이질풀, 물참나무, 바늘꽃, 섬기린초가 각각 6.57, 5.68, 3.85, 3.83, 3.69 mmol Trolox equivalents/g를 나타내었다. 국내 자생식물 40종 추출물에 대하여 4종의 양식 넙치 질병 세균에 대한 항균활성을 측정한 결과 9종 즉, 바늘꽃, 독활, 짚신나물, 물참나무, 나도송이풀, 세잎이질풀, 서어나무, 섬기린초, 섬바디 만이 항균활성을 나타내었다. 짚신나물은 *S. iniae*에 대하여 높은 항균활성을 나타내었으며, 독활, 나도송이풀, 섬바디는 *S. parauberis*과 *S. iniae*에 대하여, 물참나무, 세잎이질풀, 서어나무는 *V. ordalii*에 대하여 높은 항균활성을 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 2007년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단(중견연구자지원사업)의 지원을 받아 수행된 연구이며(No. R01-2007-000-20798-0), 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Huang MT, Ho CT, Lee C. 1992. *Phenolic Compounds in*

Food and their Effects on Health (II), Antioxidants and Cancer Prevention. ACS Symp Series 507. American Chemical Society, Washington, DC, USA. p 54-71.

2. Alonso-Salces RM, Korta E, Barranco A, Burrueita LA, Gallo B, Vicente F. 2001. Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple. *J Chromatogr A* 933: 37-43.

3. Cook NC, Samman S. 1996. Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem* 7: 66-76.

4. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trend Plant Sci* 2: 152-159.

5. Yoshimoto M, Okuno S, Yamaguchi M, Yamakawa O. 2001. Antimutagenicity of deacylated anthocyanins in purple sweet potato. *Biosci Biotechnol Biochem* 65: 1652-1655.

6. Proestos C, Boziaris IS, Nychas GJE, Komaitis M. 2004. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chem* 95: 664-671.

7. Tsao R, Deng Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J Chromatogr B* 812: 85-99.

8. Kim JP. 1998. A study on development of natural antioxidants. *Bioind News* 11: 6-14.

9. Song JW, Min KJ, Cha CG. 2008. Antioxidative and anti-tumor activity of extracts from *Saussurea lappa*. *J Env Hlth Sci* 34: 55-61.

10. Pêres VF, Saffi J, Melecchi MI, Abad FC, Martinez MM, Oliveira EC, Jacques RA, Caramao EB. 2006. Optimization of pressurized liquid extraction of *Pipergraudi chaudiandum* Kunch leaves. *J Chromatogr A* 1105: 148-153.

11. Howard L, Pandjaitan N. 2008. Pressurized liquid extraction of flavonoids from spinach. *J Food Sci* 73: 151-157.

12. Kim MB, Park JS, Lim SB. 2009. Optimization of extraction conditions for total phenolics from *Sapim japonicum* using a pressurized liquid extractor. *Food Sci Biotechnol* 18: 996-1000.

13. Popov I, Lewin G. 1996. Photochemiluminescent detection of antiradical activity; IV. testing of lipid-soluble antioxidants. *J Biochem Biophys Methods* 31: 1-8.

14. Schlesier K, Harwat M, Bohm V, Bitsch R. 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radic Res* 36: 177-187.

15. Besco E, Braccioli E, Vertuani S, Ziosi P, Brazzo F, Bruni R, Saccetti G, Manfredini S. 2007. The use of photochemiluminescence for the measurement of the integral antioxidant capacity of baobab products. *Food Chem* 102: 1352-1356.

16. Jung SH, Sohn YC, Kim YC. 2001. *In vitro* effect of water extract of medicinal herbs on antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria and superoxide production of kidney phagocytes in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J Fish Pathol* 14: 3-10.

17. Peschel W, Sanchez-Rabaneda F, Diekmann W, Plescher A, Gaetzia A, Gartzia I, Jimenez D, Lamuela-Raventos R, Buxaderas S, Codina C. 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chem* 97: 137-150.

18. NCCLS. 1997. Performance standard for antimicrobial disk susceptibility test, 6th ed. Approved Standards, NCCLS document M2-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA.

19. NCCLS. 1993. Methods for dilution antimicrobial disk susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 3rd ed.

- Approved Standards, NCCLS document M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA, USA.
20. Kim MB, Park JS, Lim SB. 2010. Antioxidant activity and cell toxicity of pressurized liquid extracts from 20 selected plant species in Jeju, Korea. *Food Chem* 122: 546-552.
 21. Hyun SH, Jung SK, Jwa MK, Song CK, Kim JH, Lim S. 2007. Screening of antioxidants and cosmeceuticals from natural plant resources in Jeju island. *J Korean Food Sci Technol* 39: 200-208.
 22. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.
 23. Ra KS, Suh HJ, Chung SH, Son JY. 1997. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *J Food Sci Technol* 29: 595-600.
 24. Kim MB, Hyun SH, Park JS, Kang MA, Ko YH, Lim S. 2008. Integral antioxidative capacity of extracts by pressurized organic solvent from natural plants in Jeju. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1491-1496.
 25. Kang BJ. 2003. A study on the characteristics of bacteria isolated from cultured flounders showing disease symptoms in Jeju area of Korea. *PhD Dissertation*. Jeju National University, Jeju, Korea.

(2010년 6월 16일 접수; 2010년 8월 3일 채택)