

떡갈나무 추출물의 항균활성 및 항산화활성*1

김민영*2 · 김윤근*3 · 김태홍*2 · 조종수*4 · 양재경*2

Antimicrobial Activity and Antioxidative Activity in the Extractives of *Quercus dentata* Thunberg*1

Min-Young Kim*2 · Yun-Geun Kim*3 · Tae-Hong Kim*2 ·
Jong-Soo Jo*4 · Jae-Kyung Yang*2

요약

떡갈나무의 부위별 추출물에 대한 항균활성 및 항산화활성을 시험하였다. 항균활성은 paper disk법과 bioautography법으로 시험하였다. 잎으로부터 추출된 ethyl acetate 가용부는 *Klebsiella pneumoniae* 균에 대해서 가장 강한 항균력을 나타냈다. 수피로부터 추출된 ethyl acetate 가용부는 *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* 균에 대해 항균효과가 우수하였다. 목질부의 에탄올 추출물은 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Vibrio parahaemolyticus* 균에 대해서 저해효과가 가장 높게 나타났다. 떡갈나무 에탄올 추출물의 항균활성은 잎, 수피, 목질부의 순으로 높게 나타났다. Bioautography법에 의한 항균활성은 목질부 에탄올 추출물에 있어서 Rf치 0.41~0.63 영역의 물질이 가장 강한 저해를 나타냈다.

떡갈나무의 부위별 추출물에 대한 항산화활성 시험 결과, 잎 추출물에서는 petroleum ether 가용부가 매우 낮은 항산화활성을 나타냈으나, ethyl acetate 불용부에서는 높은 항산화활성을 나타냈다. 수피와 목질부의 추출물에 있어서, petroleum ether 가용부를 제외한 나머지 분획물의 항산화활성은 BHT의 항산화성보다 약 2배 정도 높은 수치를 보였다.

ABSTRACT

Antimicrobial activity and antioxidative activity of the organosoluble extractives from the leaves, bark and xylem of *Quercus dentata* were investigated. Antimicrobial activity was tested by paper disk method and bioautography methods. The most pronounced antimicrobial activities of leaves parts were ethyl acetate solubles fraction against

*1 접수 1999년 12월 17일, 채택 2000년 9월 7일

*2 경상대학교 산림과학부 Faculty of Forest Science, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

*3 경상대학교 농업자원이용연구소 Institute of Agricultural Resource and Utilization, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

*4 진주산업대학교 임산공학과 Department of Forest Products and Technology, Chinju National University, Chinju 660-758, Korea

the *Klebsiella pneumoniae* by the paper disk method. The strongest activities of bark parts were ethyl acetate solubles fraction against *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*. Ethanol extractives from xylem parts showed high activities against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Vibrio parahaemolyticus*. These antimicrobial activities of ethanol extractives from *Quercus dentata* were in order to xylem > bark > leaves. The strong inhibition zones of the ethanol extractives and its fractions of xylem showed Rf values in 0.41~0.63.

In leaves extractives, the petroleum ether solubles showed lower antioxidative activity and ethyl acetate insolubles showed higher antioxidative activity of 70% compared with the EC₅₀ values of the control. Antioxidative activity of bark and xylem extractives showed higher approximately 2 times than the control except the petroleum ether solubles.

Keywords : *Quercus dentata*, antimicrobial activity, antioxidative activity, paper disk method, bioautography method

1. 서론

분석기술이 급속하게 발달된 현재에는 수목으로부터 새로운 약리성분과 효능이 계속 발견되면서, 이를 기초로 합성의약품 개발을 위한 기능성 성분 모색 및 효능 검증에 관한 연구가 활발히 추진되고 있다.

수목 조성분 중 추출성분은 의약, 향료, 염료 및 공업원료 등으로 이용되어 왔고, 인류의 생활과 밀접한 관계를 가지고 있다. 수목의 추출성분은 세포벽 구성성분인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌처럼 대량으로 존재하지 않고, 가지, 잎, 뿌리, 꽃 및 종자 등 특정한 부위에 소량 존재하며, 물 또는 유기 용매에 유출되는 성분으로(Kang, 1994), 테르펜류, 페놀류, 알칼로이드류, 저분자 탄수화물, 무기염류 등으로 구분하고 있다(Sasaya *et al.*, 1997).

최근에는 수목 추출성분이 갖는 여러 기능 중 약리 및 생리활성에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다(Sasaya *et al.*, 1997; Kang, 1994; Kim, 1998). 이들은 항생물질, 살균·살충물질, 효소, 비타민, 각종 호르몬물질로 이용 가능하다(Kang, 1994; Fleming *et al.*, 1969; Morita *et al.*, 1991; Yatagai *et al.*, 1991; Yatagai and Nakatani, 1994). 특히 천연물로부터 항균물질 및 항산화물질의 탐색 및 이용에 관한 연구는 관심의 대상이 되고 있다. 식료 및 식품 저장유통산업의 심각한 문제는 병원성 미생물에 의한 피해이고, 유해미생물에 대한 강력한 항균제가 요구되나 이러한

용도로 개발된 대부분의 항균제는 유기 합성품으로 안전성의 문제가 제기되고 있다(조 등, 1994; 신, 1990).

본 연구에서 사용한 떡갈나무(*Quercus dentata*)는 낙엽 교목으로 수피는 회갈색이고, 한방에서는 가을에 열매를 따서 햇볕에 말리어 껍질을 벗기고 알맹이를 가루로 만들어서 위장병, 특히 지사제(止瀉劑)에 사용하였고, 민간에서는 잎을 찢어 짜낸 즙을 여러 가지 종기 치료에 사용하였으며, 수피는 수렴(收斂)·종독(腫毒)·하혈(下血)·강장(強壯) 등에 효능이 있다고 알려져 있다. 본 연구는 떡갈나무에 함유된 항균활성 및 항산화활성을 수목의 부위별로 구분하여 검정함으로써, 유용 항균제 및 식품보존제로서의 이용가능성을 탐색하는 데 그 목적이 있다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시목

본 연구에 사용한 시료는 1997년 8월 경남 진주 소재의 월아산에서 수령 30년생 된 떡갈나무(*Quercus dentata* Thunberg)를 채취하여 공시 재료로 사용하였다.

2.2 시료의 조제

시료는 잎, 수피, 목질부별로 선별 정선한 후, 음건(陰乾)하였다. 음건 후 각 부위 분쇄기로 분쇄하여 40mesh 통과된 시료만을 사용하였다.

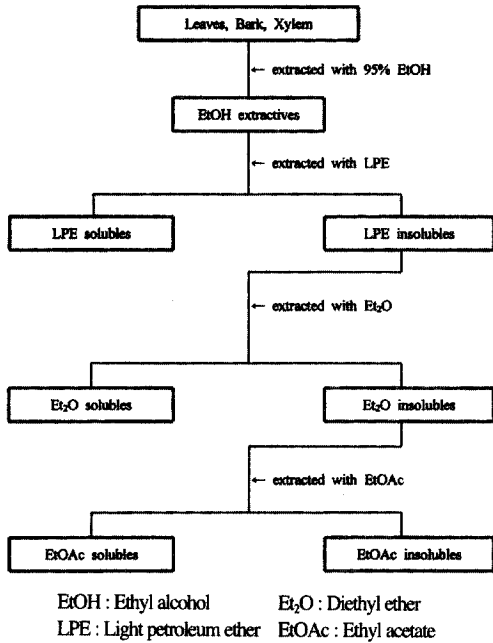


Fig. 1. The separation scheme.

2.3 용매추출 및 분획 방법

떡갈나무 각 부위의 조제 시료는 95% 에탄올에 72시간 실온에서 침지시켜 추출하였으며, 3회 반복 추출하였다. 각 추출물은 여과지 Whatman No. 2로 여과한 다음, 40℃에서 감압농축시킨 후, petroleum ether(LPE), diethyl ether(Et₂O), ethyl acetate(EtOAc)로 순차로 연속 추출하여 Fig. 1과 같이 분획하였다(Kim, 1998; Moon *et al.*, 1997).

떡갈나무 에탄올 추출물 및 분별물의 항균시험을

위하여 100,000ppm 농도로 조제하였고, 대조구인 streptomycin도 100,000ppm으로 조제하여 사용하였다.

2.4 Paper disk법에 의한 항균성 검정

2.4.1 공시균

식품유해 세균에 대한 항균활성 검정을 위한 공시균은 Table 1과 같다.

2.4.2 접종 및 배양

각 부위별 에탄올 추출물 및 분획물의 각 균에 대한 생육저해활성은 agar plate를 사용한 증식저해 시험으로서 paper disk법에 따라 관찰하였다. 농도 10⁵ppm으로 조제한 각 시료를 clean bench 내에서 멸균된 paper disk(직경 8mm, 두께 1.3mm : Advantec사)에 50μl씩 흡수시킨 후, 용매를 완전히 제거하였다(Moon *et al.*, 1997; Park *et al.*, 1994). 배지는 DIFCO pH 6.8±0.2인 한천배지를 사용하였다. 단, 비브리오균은 30g/l의 NaCl를 첨가하여 멸균시켜 46℃의 incubator에 정치(定置)하였다. 한천배지는 각 균과 진탕교반 시킨 후, petri dish에 피펫을 사용하여 15ml 분주하여 수평으로 굳혔다. 이 시험용 평판배지 표면에 시료를 침적시킨 paper disk를 밀착시켜 28℃의 incubator에서 24~48시간 배양하였다.

2.4.3 항균성 판정

한천평판상에서 시료를 함침시킨 paper disk로부터 화합물의 성분에 의해 균이 성장저해를 나타내는 clear zone의 직경을 측정한 후, 다음의 식으로 계산치를 구하여 대조구와 비교하였다(Kim *et al.*, 1997). 이때 대조구로는 streptomycin sul-

Table 1. The list of bacteria used for antimicrobial activity.

Gram's stain	Bacteria	Address
Gram(+) bacteria	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9372
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 13301
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10490
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883
Gram(-) bacteria	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 15489
	<i>Salmonella trphymurium</i>	ATCC 14028
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 33844

fate를 사용하였다.

$$\text{생육저해활성(mm)} = (\text{저해부위의 직경} - \text{여지의 직경}) / 2$$

2.5 Bioautography법에 의한 항균성 검정

2.5.1 공시균

Paper disk법에 의한 항균시험 결과, 항균활성이 비교적 높게 나타나는 3종의 균을 선택하여 공시균으로 하였다.

2.5.2 점종방법

항균활성에 관여하는 물질의 확인법으로 TLC(thin layer chromatography)를 이용한 Bioautography법을 이용하였다(池川 등, 1989). TLC plate(Silica gel 60F₂₅₄, thickness 0.25mm : Merck사)에 10⁵ppm으로 조제한 각 부위의 분획물을 spot한 다음, cyclohexane : ethyl acetate(7:3, v/v) 전개용매에 넣어 20분간 전개시켰다. TLC plate를 건조시켜 전개용매를 완전히 제거한 후, clean bench 안에 넣어 UV(ultraviolet)하에서 2시간 동안 TLC plate의 전개면이 닳도록 밀착시키고, 2~3시간 방치하는 동안 전개된 분획물이 한천배지 중에 확산되도록 하였다. TLC plate를 제거한 후, 한천평판을 28℃ incubator에서 24~48시간 배양하였다.

2.5.3 활성부위 검정

Incubator에서 배양시킨 다음 전개된 분획물이 한천배지의 확산된 부위에 항균활성에 의한 clear zone이 형성되는지를 확인하였다. 항균활성을 나타낸 clear zone의 Rf(Rate of flow)치를 계산하였다.

2.6 활성분획물질의 성분 분석

2.6.1 정색반응

발색시약으로서 페놀성 물질의 확인에는 DSA(diazotized sulfanilic acid)를 사용하였으며, 이때 각 부위의 분획물 농도는 10⁵ppm으로 조제하였고, 전개용매는 cyclohexane : ethyl acetate (7:3, v/v)를 사용하였다.

2.6.2 활성부위와 표준물질과의 성분 비교

유기화합물 및 활성물질의 확인에는 TLC를 사용하였다. TLC plate에 농도 10⁵ppm의 분획물과 표준물질 12종을 spot하여 cyclohexane : ethyl

acetate(7:3, v/v) 전개용매에서 20분간 전개시켰다. 용매를 제거한 다음 검정용 UV 245mm로 물질 확인 후, 50% 황산을 분무하여 105℃ 건조기에 10분간 방치하여 발색시켰다. Bioautography에서 항균활성을 보인 Rf치와 동일선상에 표준물질이 위치하는가를 관찰하였다. 성분 비교에 사용된 표준물질로서 flavonoid류는 7종으로 (+)-catechin, (±)-taxifolin, rutin, (+)-catechin hydrate, flavone, flavonone, quercetin dihydrate이었고, lignan류는 5종으로 pinoresinol, syringaresinol, todolactol C, lariciresinol p-coumarate, α-intermedianol를 사용하였다.

2.7 항산화활성 시험

항산화활성을 조사하기 위하여 각 부위별 에탄올 추출물 및 분획물을 2ppm에서부터 100ppm까지 10단계의 농도로 조제하였다. 항산화활성은 DPPH 법(Yoshida *et al.*, 1989)으로 측정하였다. DPPH와의 반응성을 BHT(butylated hydroxy toluene)를 대조군으로 하여 비교 검토하였다. BHT의 각 농도에 있어서 DPPH의 radical 포착성능을 분광광도계 518nm에서 흡광도 감소를 측정하여 항산화활성의 기준치로 하였다. 각 시료농도의 메탄올 용액 4ml에 0.5mM DPPH 용액 1ml를 첨가하여 총 5ml가 되도록 하고, 용액들이 잘 혼합될 수 있도록 vortex로 약 30초간 교반시킨 후에 UV분광계를 사용하여 518nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. blank에서는 메탄올 4ml에 0.5mM DPPH용액 1ml를 혼합시킨 것과 DPPH 용액을 공제(扣除)한 메탄올을 사용하였다. 항산화성 판정을 위하여 항산화 효과는 0.5mM DPPH 용액에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(EC₅₀)로 표시하였다(Yoshida *et al.*, 1989).

3. 결과 및 고찰

3.1 Paper disk법에 의한 항균성 검정

3.1.1 잎 추출물의 항균활성

잎의 에탄올 추출물 및 각 분획물의 각종 균에 대한 성장저해시험 결과는 Table 2와 같다. 잎의 에탄올추출물과 분획물은 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Salmonella*

*typhymurium*균을 제외한 나머지 4종의 균에 대해 활성을 나타내었다. *Vibrio parahaemolyticus*균에 대해서는 petroleum ether 가용부, diethyl ether 가용부와 ethyl acetate 가용부에서만 항균활성을 보였다.

분획물 중 각 균에 대해 저해활성을 크게 나타낸 분획물은 ethyl acetate 불용부였으며, 저해활성은 *Klebsiella pneumoniae*균에 대해서 가장 크게 나타났고, 저해반경이 2.14mm로서 대조구인 streptomycin 7.32mm에 비해 약 29%의 저해효과를 나타냈다.

3.1.2 수피 추출물의 항균활성

수피 에탄올 추출물 및 각 분획물의 균에 대한

성장저해실험 결과는 Table 2와 같다. 에탄올 추출물과 분획물은 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Vibrio parahaemolyticus*균에 대해 항균활성이 나타났는데, petroleum ether 가용부에서는 항균활성이 나타나지 않았다. *Salmonella typhymurium*균에 대해서는 diethyl ether 가용부에서만 낮은 활성을 보였으며, 그외 나머지 분획물에서는 활성이 나타나지 않았다. 분획물 중 각 균에 대해 저해활성이 가장 큰 것은 ethyl acetate 가용부였고, 대조구와 비교하여 *Klebsiella pneumoniae*균에서는 저해반경이 4.56mm로 대조구 7.32mm에 비해 약 63%의 활성 저해가 나타났

Table 2. The antimicrobial activities of ethanolic extracts from *Quercus dentata* leaves, bark and xylm.

Bacteria	EtOH extractives*1	LPE solubles	Et ₂ O solubles	EtoaC solubles	EtOAc insolubles	Streptomycin*2
<i>Bacillus subtilis</i>	0.75	0.17	0.94	0.93	1.45*3	8.34
	3.40	-	1.97	4.67	4.23*4	
	4.68	2.58	3.82	4.29	4.56*5	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.64	0.23	0.74	0.40	0.76	7.41
	2.19	-	2.13	2.38	2.16	
	5.17	1.98	4.68	4.82	4.74	
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	6.92
	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.66	0.30	1.52	1.53	2.14	7.32
	3.66	-	2.32	4.56	2.96	
	4.06	2.38	3.93	4.03	4.18	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	12.20
	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella typhymurium</i>	-	-	-	-	-	7.49
	-	-	0.33	-	-	
	-	-	-	-	-	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	0.38	0.25	0.25	-	6.64
	0.86	-	1.14	1.76	0.79	
	2.43	0.43	1.02	1.44	1.72	

*1 : The concentration of the control and each extractive fraction : 10⁵ ppm, Growth inhibitory unit : mm

*2 : Control *3 : Leaves *4 : Bark *5 : Xylem

며, *Bacillus subtilis*균에서는 저해반경이 4.67mm로 대조구 8.34mm에 대해 60%의 저해활성 효과가 나타났다.

3.1.3 목질부 추출물의 항균활성

목질부 에탄올 추출물과 분별물의 각종 균에 대한 성장저해시험 결과는 Table 2와 같다. 목질부 에탄올 추출물은 이미 언급한 잎 추출물과 수피 추출물에 비해 높은 항균활성을 나타냈다. 에탄올 추출물과 분별물 모두 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Vibrio parahaemolyticus*균에 대해 강한 활성이 나타났다. 에탄올 추출물이 가장 높은 저해활성을 보였으며, 그 다음으로 ethyl acetate 불용부와 가용부였다. 에탄올 추출물은 *Staphylococcus aureus*균에서 저해활성 반경이 5.17mm로 대조구 7.41mm에 비해 70%로 가장 높은 저해활성을 보였으며, *Bacillus subtilis*균에서는 저해반경이 4.68mm로 대조구 8.34mm에 비해 56%의 저해활성을 나타냈다. Ethyl acetate 불용부는 *Klebsiella pneumoniae*균에서 저해반경 4.18mm로 대조구 7.32mm에 대해 57%의 저해활성 효과를 보였으며, *Vibrio parahaemolyticus*균에 대해서도 저해활성이 나타났다.

Paper disk법에 의한 항균활성 결과를 보면, 부위별의 에탄올 추출물과 분획물은 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Vibrio parahaemolyticus*균에 대해 강한 항균활성을 보였으며, 항균력은 목질부>수피>잎 순서로 나타났다.

3.2 Bioautography법에 의한 항균성 검정

3.2.1 잎 추출물

잎의 에탄올 추출물과 분획물은 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*균의 3종균에 대해 활성을 보였다. 에탄올 추출물의 Rf치 0.48, petroleum ether 가용부에서 Rf치 0.44, diethyl ether 가용부 Rf치 0.46, ethyl acetate 가용부에서 Rf치 0.48, ethyl acetate 불용부 Rf치 0.48 위치에서 강한 항균활성을 보였다.

*Staphylococcus aureus*과 *Klebsiella pneumoniae*균에서는 에탄올 추출물, petroleum ether 가용부와 diethyl ether 가용부의 Rf치 0.34~0.35 위치에서 약간의 항균성이 나타났다.

3.2.2 수피 추출물

수피의 에탄올 추출물과 분획물은 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*균의 3종균에 대해 저해활성을 보였다. 에탄올 추출물, petroleum ether 가용부와 diethyl ether 가용부, ethyl acetate 가용부 및 불용부의 Rf치 0.51에서 강한 활성을 보였지만, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*균에서는 petroleum ether 가용부와 diethyl ether 가용부에서는 저해활성이 나타나지 않았다. *Staphylococcus aureus*균에서는 에탄올 추출물과 petroleum ether 가용부의 Rf치 0.34에서 저해활성이 약하게 나타났다.

3.2.3 목질부 추출물

목질부 에탄올 추출물과 분획물은 *Bacillus*

Table 3. The antifungal activity in the ethanolic of xylem to *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*.

Rf ¹	Inhibition*2				
	EtOH extractives	LPE soluble	Et ₂ O soluble	EtOAc soluble	EtOAc insoluble
0.41-0.63	+++	+++	+++	+++	+++
0.26-0.27	ND	+	+	+	ND
0.11-0.12	ND	ND	++	++	ND

*1. Solvent : Cyclohexane / Ethyl acetate (7/3)

*2. Inhibition : +++ Strong inhibition zones
 ++ Medium inhibition zones
 + Weak inhibition zones
 ND Not detected

subtilis, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* 3종의 균에 대하여 강한 항균활성을 보였다. 목질부의 에탄올 추출물과 각 분별물의 Rf 치 0.41~0.63을 중심으로 clear zone이 크게 나

타났다. petroleum ether 가용부와 diethyl ether 가용부 및 ethyl acetate 가용부의 Rf치 0.26~0.27에서도 항균활성이 약하게 나타났으며, diethyl ether 가용부와 ethyl acetate 가용부의

Table 4. The antioxidative activities of each extractives fraction from *Quercus dentata* leaves, bark and xylem.

ppm	EtOH extracts	LPE solubles	ET2O solubles	EtOAC solubles	EtOAC insoluble	BHT*1
2	-0.060	+0.060	-0.036	-0.008	-0.031	-0.126*2
	-0.120	+0.008	-0.104	-0.175	-0.178	-0.126*3
	-0.189	-0.045	-0.119	-0.171	-0.222	-0.126*4
4	-0.109	-0.076	-0.070	-0.075	-0.058	-0.135
	-0.308	-0.015	-0.220	-0.312	-0.324	-0.135
	-0.300	-0.092	-0.190	-0.262	-0.301	-0.135
6	-0.136	-0.083	-0.108	-0.103	-0.123	-0.220
	-0.413	-0.047	-0.323	-0.499	-0.499	-0.220
	-0.436	-0.141	-0.305	-0.393	-0.462	-0.220
8	-0.164	-0.129	-0.166	-0.197	-0.153	-0.290
	-0.571	-0.053	-0.459	-0.607	-0.607	-0.290
	-0.586	-0.191	-0.431	-0.536	-0.610	-0.290
10	-0.222	-0.130	-0.244	-0.204	-0.216	-0.365
	-0.793	-0.067	-0.616	-0.714	-0.805	-0.365
	-0.637	-0.207	-0.501	-0.662	-0.788	-0.365
20	-0.330	-0.280	-0.346	-0.325	-0.423	-0.578
	-0.824	-0.119	-0.885	-0.880	-0.880	-0.578
	-0.881	-0.515	-0.848	-0.881	-0.867	-0.578
40	-0.582	-0.472	-0.613	-0.599	-0.742	-0.752
	-0.885	-0.225	-0.882	-0.885	-0.875	-0.752
	-0.844	-0.701	-0.880	-0.885	-0.889	-0.752
60	-0.755	-0.545	-0.683	-0.677	-0.743	-0.790
	-0.883	-0.311	-0.857	-0.884	-0.822	-0.790
	-0.885	-0.763	-0.886	-0.884	-0.875	-0.790
80	-0.809	-0.635	-0.770	-0.807	-0.798	-0.829
	-0.843	-0.449	-0.889	-0.858	-0.852	-0.829
	-0.883	-0.804	-0.886	-0.888	-0.887	-0.829
100	-0.805	-0.808	0.782	-0.818	-0.826	-0.854
	-0.852	-0.570	-0.866	-0.860	-0.862	-0.854
	-0.887	-0.815	-0.887	-0.887	-0.885	-0.854

*1 : Control *2 : Leaves *3 : Bark *4 : Xylem

(-) : Degree of discoloration

Table 5. Scavenging effects of EtOH extractives and fraction from *Quercus dentata* leaves, bark and xylem on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical.

Sample	EC ₅₀ (μ g)* ¹
EtOH extractives	33* ²
	7* ³
	7* ⁴
LPE solubles	48
	88
	19
Et ₂ O solubles	30
	9
	10
EtOAc solubles	32
	6
	8
EtOAc insolubles	23
	6
	7
BHT	16* ⁵

*1 : The indicative values of 50% decrease of DPPH radical

*2 : Leaves

*3 : Bark

*4 : Xylem

*5 : Concentration : μ g/ml

Rf치 0.11~0.12에서도 저해활성이 나타났다. 목질부 에탄올 추출물의 분별물 중 diethyl ether 가용부와 ethyl acetate 가용부에서 항균활성이 크게 나타났음을 확인할 수 있었다.

3.2.4 활성부위와 표준물질과의 성분 비교

Paper disk법으로 잎, 수피, 목질부위에 대하여 활성을 확인한 결과, 목질부에서 가장 항균활성이 뛰어나므로 목질부에 대하여 표준물질과의 비교분석을 TLC분석법으로 행하였다.

Table 3에서 보는 바와 같이 분별물의 Rf 0.41~0.63 영역에서 넓은 clear zone을 형성하고 있었는데, 표준물질의 Rf치와 비교한 결과, flavonoid의 flavone과 동일선상에 위치하였다. 그리고 저해활성영역 Rf치 0.11~0.12에 보이는 물질은 flavonoid인 quercetin dihydrate와

lignan인 pinoresinol, syringaresinol이었다. 따라서 표준물질과의 Rf치 비교에서 활성영역과 일치하는 물질은 flavonoid와 lignan등을 포함한 페놀성 물질이 관여할 가능성이 높은 것으로 추정되었다.

Kim 등(1999)은 구상나무 목부에서 단리된 리그난 중 todolactol C가 *Vibrio parahaemolyticus*균에 대해 10⁴ppm 농도의 처리에서 streptomycin보다 약 1.7배의 활성을 보였으며, 화합물 α -intermedianol은 *K. pneumoniae* 및 *S. aureus* 두 균에 대하여 streptomycin의 약 36%와 37%의 저해활성을 보였다고 하였는데, 이들 화합물들은 모두 페놀성 화합물 수산기로 치환되어 있는 공통점을 지니고 있다. Lee 등(1991)은 생약재와 식물 추출물에서 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질이 존재한다는 것을 확인하였으며, 줄참나무와 갈참나무의 잎 추출물에서 항균성이 나타났다고 보고한 바 있다.

Moon 등(1997)은 무화과나무의 잎, 수피, 목질부에 대한 각종 유기용매 추출물의 항균활성을 조사한 결과, 디에틸에테르 가용부와 초산에틸 가용부에서 항균활성이 나타났다고 보고한 바 있다.

3.3 항산화활성 검정

3.3.1 잎 추출물의 항산화활성

잎의 에탄올 추출물과 분획물의 petroleum ether 가용부, diethyl ether 가용부, ethyl acetate 가용부 및 불용부 분획물에 대한 DPPH의 radical 포착성능(捕捉性能)을 Table 4에 나타내었다. petroleum ether 가용부에서는 항산화성이 극히 낮게 나타난 반면, ethyl acetate 불용부에서는 항산화능이 가장 높게 나타났다. Ethyl acetate 불용부 분획물에 항산화능을 높게 발휘할 수 있는 것은 구성성분 중에 전자공여체가 다량 존재하기 때문으로 생각된다.

Table 5는 에탄올 추출물 및 각 분획물의 DPPH radical에 대한 항산화능을 EC₅₀(μ g)으로 활성을 검토한 결과이다. Ethyl acetate 불용부는 23 μ g/ml로서 타 분획물에 비하여 높은 항산화능을 보였다. 이 수치는 대조구인 BHT 16 μ g/ml에 비하여 약 70%의 활성을 나타내었다. 그리고 에탄올 추출물, diethyl ether 가용부 및 ethyl

acetate 가용부는 각각 대조구의 약 48%, 53% 그리고 50%였다.

3.3.2 수피 추출물의 항산화활성

수피의 에탄올 추출물, 분획물인 petroleum ether 가용부, diethyl ether 가용부, ethyl acetate 가용부 및 불용부의 DPPH radical 포착 성능은 Table 4에 나타내었다. 수피도 잎 추출물의 항산화활성과 마찬가지로 petroleum ether 가용부에서의 항산화능이 낮게 나타났다. Table 5에서 수피 에탄올 추출물, diethyl ether 가용부와 ethyl acetate 가용부 및 불용부의 EC₅₀값이 대조구인 BHT(16µg/ml)보다 각각 2.3배, 1.8배, 2.7배, 2.7배의 높은 항산화성을 보였다.

3.3.3 목질부 추출물의 항산화활성

목질부의 에탄올 추출물 및 분획물인 petroleum ether 가용부, diethyl ether 가용부, ethyl acetate 가용부 및 잔사의 DPPH radical 포착 성능은 Table 4에 나타내었다.

목질부와 에탄올 추출물 및 각 분획물의 DPPH radical에 대한 항산화능을 EC₅₀으로 활성을 검토한 결과는 Table 5에서 보는 바와 같다. 목질부와 수피의 에탄올 추출물과 각 분획물에서의 항산화능을 비교해 볼 때, 거의 비슷한 수치를 나타내고 있지만, 전체적으로 수피 부위보다는 항산화능이 낮게 나타났다. 대조구 BHT의 EC₅₀값보다 에탄올 추출물, diethyl ether, ethyl acetate 가용부 및 불용부의 EC₅₀값이 2.3배, 1.6배, 2.0배, 2.3배로 높게 나타났다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 떡갈나무의 부위별 추출물 및 분획물의 항산화활성은 잎, 수피 및 목질부 부위의 petroleum ether 가용부에서 가장 낮은 활성을 보였고, 이를 제외한 나머지 분획물에서는 대조구인 BHT보다 더 높은 항산화활성을 보였다.

Kim(1995)은 목련(*Magnolia kobus* D.C. var. *borealis* Sarg.) 추출물의 항산화 물질은 ethyl acetate 가용부 및 ethyl acetate 불용부에 집중되어 있었다고 보고하였다. Moon 등(1997)이 무화과나무의 잎, 수피, 목질부에 대한 각종 유기용매 추출물의 항산화성 및 항균활성을 조사한 결과, 항산화성은 잎 추출물의 초산에틸 가용부 분획물에서 항산화활성이 높게 나타났다고 보고

하였다. Kang 등(1994)은 솔잎(Pine Needle) 열수 추출물의 대두유의 산화 안정성에 기여한 것은 구성성분 중 ethyl acetate 가용분 분획 중의 polyphenol 성분이 관계한다고 보고하였으며, Kim 등(1995)은 식물체에는 일반적으로 여러 종류의 flavonoid 화합물이 함유되어 있는데, 이들의 항산화활성은 초산에틸 가용부 및 불용부에 함유되어 있다고 보고한 바 있다. 본 실험의 결과에서도 부위별로 항산화성 물질의 분포는 대체로 초산에틸 가용부 및 불용부에 집중되어 있다는 결과를 얻을 수 있었다.

4. 결론

떡갈나무의 잎, 수피, 목질부에 대한 에탄올 추출물과 분획물의 항균활성 및 항산화활성 연구에 대한 결론은 다음과 같다.

목질부 추출물은 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*균에 대해 항균활성이 높게 나타났다. 특히 에탄올 추출물이 가장 큰 저해활성을 보였으며, 그 다음으로 ethyl acetate 가용부와 불용부였다. 에탄올 추출물은 *Staphylococcus aureus*균에서 저해활성 반경이 5.17mm로 대조구 7.41mm에 비해 약 70%로 가장 큰 저해활성을 보였다. 떡갈나무의 잎, 수피, 목질부의 에탄올 추출물에 있어서 부위별 항균활성은 목질부>수피>잎의 순서로 나타났다. Bioautography법에 의한 항균활성에서는 목질부 에탄올 추출물과 분획물의 Rf치 0.41~0.63 영역에서 넓은 clear zone을 형성하였다. 활성부위와 표준물질의 Rf치를 비교한 결과, Rf치 0.41~0.63 영역에 표준물질의 flavonoid류인 flavone의 Rf치가 0.46으로 나타났다. 활성부위와 표준물질과의 성분 비교 결과, 활성에 관계하는 물질은 flavonoid와 lignan등을 포함한 페놀성 물질인 것으로 추정되었다.

목질부는 수피 추출물의 항산화성과 비슷한 EC₅₀값을 나타냈다. 항산화활성은 에탄올 추출물과 ethyl acetate 불용부에 대체로 집중되어 있었으며 대조구 BHT보다 2배 정도 높게 나타났다. 수피와 목질부의 추출물에서 petroleum ether 가용부를 제외한 나머지 분획물에서의 항산화활성은 가

장 널리 이용되고 있는 항산화제인 인공합성품 BHT의 항산화성보다 대략 2배 정도 높은 항산화성 수치를 보였다.

참 고 문 헌

1. 신동화. 1990. 천연항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업 23 : 68.
2. 조순영, 유병진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이용호. 1994. 수산 미이용자원 중에 존재하는 항균성 물질의 검색, 한국식품과학회지 26 : 262.
3. 池川信夫, 九茂晋吾, 星元記. 1989. 生物活性物質의 Bioassay. 講談社 : 17~36.
4. Fleming, H. P., W. M. Walter, JR., and J. L. Etechells. 1969. Isolation of a Bacterial Inhibitor from Green Olives. Applied Microbiology 18(5) : 856~860.
5. Kang, H. Y. 1994. The Biochemical Role of Tree Extractives. Mokchae Konghak 22(1) : 5~11.
6. Kim, J. S. 1995. Antioxidant Components from *Aralia continentalis*. Dept. of Food Science, Seoul Woman's Univ. A Thesis for the Degree of Doctor.
7. Kim, K. Y., D. O. Chung and H. J. Chung. 1997. Chemical Composition and Antimicrobial activities of *Houttuynia cordata* Thunb. Korean J. Food Sci. Technol. 29(3) : 400~406.
8. Kim, Y. G. 1998. The Bioactivities of the Extractives from *Abies koreana* Wilson. Dept. of Forest Products, Gyeongsang Nat' l Univ. A Thesis for the Degree of Doctor.
9. Kim Yun-Geun, Jong-Soo Jo and Chang-Kuck Moon. 1999. Antimicrobial activities of the lignans from *Abies koreana* Wilson. Korean Food Sci. Technol 31(1) : 260~262.
10. Lee, B. W. and D. H. Shin. 1991. Screening of Natural Antimicrobial Plant Extract on Food Spoilage Microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 23(2) : 200~204.
11. Moon, C. K., Y. G. Kim and M. Y. Kim. 1997. Studies on the Bioactivities of Extractives from *Ficus carica*. J. Inst. Agric. Res. Utili., Gyeongsang Nat' l Univ. 31 : 69~79.
12. Morita, S., M. Yatagai and T. Ohira. 1991. Antimite and Antifungal Activities of the Hexane Extractives from Yakusugi Bogwood. Mokkuzai Gakkaishi 37(4) : 352~357.
13. Park, S. W., C. J. Woo, S. K. Chung and K. T. Chung. 1994. Antimicrobial and Antioxidative Activities of Solvent Fraction from *Humulus japonicus*. Korean J. Food Sci. Technol. 26(4) : 464~470.
14. Sasaya, T., Y. G. Kim and C. K. Moon. 1997. On the Recent Investigation of the Wood Extractives. Res. Bull. of Experiment Forests, Gyeongsang Nat' l Univ. 7 : 39~51.
15. Yatagai, M. and N. Nakatani. 1994. Antimite, Antifly, Antioxidative, and Antibacterial Activities of Pisiferic Acid and Its Congeners. Mokuzak Gakkaishi 40(12) : 1355~1362.
16. Yatagai, M., Y. Miyazaki and S. I. Morita. 1991. Extractives from Yakusugi Bogwood and Their Termiticidal Activity and Growth Regulation Effects on Plant Seeds. Mokkuzai Gakkaishi 37(4) : 345~351.
17. Yoshida, T., et al. 1989. Studies on Inhibition Mechanism of Autoxidation by Tannins and Flavonoids. V. Radical-Scavenging Effects of Tannins of Related Polyphenols on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. Chem. Pharm. Bull 37(7) : 1919~1921.