

Anti-bacterial and Anti-oxidant Activities of Solvent Fractions of *Arecae pericarpium* Extracts

Seon-Young Song¹, Hyun-Hwa Lee^{2*}

¹Department of Skin Care and Beauty, Gwangju Health University, Gwangju, Korea

²Department of Biology, Chosun University, Gwangju, Korea

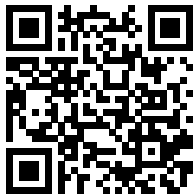
*Corresponding author: Hyun-Hwa Lee,
Department of Biology, Chosun University,
309 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwangju
61452, Korea
Tel.: +82 62 230 6653
Fax: +82 62 230 6653
Email: hpapaya@hanmail.net

Received May 10, 2016

Revised September 15, 2016

Accepted September 29, 2016

Published December 30, 2016



Abstract

Purpose: This present study was performed to investigate anti-oxidant and anti-bacterial activities of *Arecae pericarpium* MeOH extracts and its solvent fractions. **Methods:** *Arecae pericarpium* was extracted by 80% MeOH and fractionated by n-hexane, ethyl acetate (EtOAc), n-butanol, and H₂O. Free radical scavenging activities on 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts and its fractions were evaluated by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Anti-oxidant effects were confirmed by catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities. Anti-bacterial activity was evaluated by the paper disk diffusion method. **Results:** Extraction yields of 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts and its fractions such as n-hexane, EtOAc, n-butanol, and H₂O, were 19.04, 14.33, 12.07, 22.53, and 50.97%, respectively. The 80% MeOH extracts got the highest value (16.6 mg/g) in total polyphenol contents. In the case of DPPH free radical scavenging activity, the n-hexane fraction was 102.9 mg/mL. It was similar to the value of positive control, vitamin C and butylated hydroxytoluene (BHT). The highest values of SOD and CAT activities were confirmed at the EtOAc fraction (38.73 U mg protein⁻¹) and the n-butanol fraction (2.75 U mg protein⁻¹ min⁻¹), respectively. In the results of anti-bacterial activity, 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts had anti-bacterial effects on all eight microorganisms. The n-hexane fraction had the anti-bacterial effects on only *Listeria monocytogenes*. There are no anti-bacterial effects on the other fractions such as EtOAc, n-butanol, and H₂O. **Conclusion:** It is considered that these results imply the 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts can be used as not only natural antioxidants but also natural antibacterials.

Keywords: *Arecae pericarpium*, Solvent fractions, Anti-oxidant activity, Anti-bacterial activity, Polyphenol

Introduction

최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 다양한 합성 의약품 연구와 함께 천연 항균 및 천연 항산화제 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 오랫동안 전 세계적으로 사용되어 온 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole (BHA)과 butylated hydroxytoluene (BHT)은 효력이 우수하여 많이 사용되었으나, 화학적 합성품이 가지고 있는 생체효소의 활성 억제, 발암성 위험, 강한 독성이 보고되고 있어 사용규제를 받고 있다(Joung *et al.*, 2007; Heo & Wang, 2008). 이에 반해 인체에 독성 및 위해성이 적은 대표적인 천연 항산화제인 vitamin E (α -tocopherol)와 vitamin C (L-ascorbic

acid) 등은 합성 항산화제에 비해 항산화 효과가 낮고 가격이 상대적으로 비싼 단점이 있다. 따라서, 최근에는 항산화 효과가 크고 가격 경쟁력을 갖춘 다양한 천연물을 이용하여 천연 항산화제 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다.

식물은 다양한 형태의 항산화 물질을 함유하고 있으며, 특히 항산화 효소의 발현은 우리 인체에서 중요한 역할을 한다(Heath, 1987; Kang *et al.*, 2003). 항산화 효소 중 superoxide dismutase (SOD)는 식물이 성장하는 동안 다양한 환경스트레스에 반응하며, 주로 peroxisome에 존재하는 catalase (CAT)는 H₂O₂를 물과 산소로 분해한다. CAT와 더불어 H₂O₂를 제거하는 중요한 효소로 작용하는 ascorbate peroxidase (APX)는 엽록체, 미토콘드리아, 세포

질 및 세포벽에 존재하며, ascorbate를 산화시킴으로써 H₂O₂를 불활성화시킨다(Kang *et al.*, 2003). 이러한 식물체 특성으로 인하여 식물기원의 생약 및 천연약물은 항산화능이 우수하고 인체에 무해하면서 경제적인 가치가 높아 관련 연구가 활발히 진행되고 있다. 식물계 항산화제는 식품, 의약품, 화장품 등에 널리 이용되는데 식물계에 존재하는 천연 항산화제의 대부분은 페놀성 물질로 항산화, 항암 및 항염 효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다(Cha *et al.*, 1999; Lu & Foo, 2000). 최근에는 생약, 식용 식물추출물 등에서 보다 안전하고 항산화 효과가 뛰어난 천연 항산화제 개발을 위한 연구가 활발히 이루어지고 있으며(Lim *et al.*, 1996), 항산화 효과가 높게 나타난 물질들은 항균 작용도 뛰어난 것으로 알려져 있다(Lin & Lin, 1997; Lee *et al.*, 2009).

대복피(大腹皮, *Arecae pericarpium*)는 빈랑[檳榔, *Areca catechu* Linné (야자과 Palmae)]의 열매껍질로 열매를 삶은 다음 벗겨낸 것으로서 덜 익은 열매에서 얻은 것을 말하고, 잘 익은 열매에서 얻은 것을 대복모(大腹毛)라 한다. 대복피의 외형은 속이 비어 있는 방추형 또는 긴 타원체로 길이 3-6 cm, 지름 25-40 mm, 두께 2-8 mm로 바깥 면은 옅거나 어두운 갈색이고 세로 주름이 있고 영성한 섬유층으로 덮여 있으며 안쪽 면은 황색으로 광택이 나며 가는 세로 주름이 있다(Kim *et al.*, 2003). 한의학에서 항바이러스, 항진균, 구충, 권위 등의 약리효과가 알려져 있는 빈랑은 주성분이 tannin, chebulic acid 등의 phenolic 화합물과 arecolidine, arecoline 등과 같은 alkaloid류로 장내 유해세균에 대한 항균활성(Lee *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2014)과 항염증 및 멜라닌 억제효과(Lee & Choi, 1999)가 보고되고 있다. 대복피는 빈랑과 비교하여 항산화능(Lim *et al.*, 1996)과 pancreatic lipase의 저해활성도(Kim *et al.*, 2006)가 높게 보고되었으며, α -naphthylisothiocyanate에 의한 쥐의 간 손상회복(Ohta *et al.*, 1993)에 대한 활성도 조사되었다. 또한 대복피 메탄올 추출물은 진피섬유모세포에서 세포외기질 합성촉진효과(Lee *et al.*, 2013)가 있어 피부의 상처치유에 도움을 주는 우수한 기능성 화장품 소재로서의 가능성도 나타내었다. 그러

나 빈랑의 다양한 생리활성 연구에 비교하여 대복피의 효능 및 활용분야 연구는 매우 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 대복피 메탄올 추출물을 극성에 따라 용매 분획하여 각 분획추출물의 항균 및 항산화 활성을 검정하여 천연 항균 및 항산화 소재로서의 가치를 검토하고 향후 대복피의 천연 의약품과 다양한 화장품 소재로서의 활용에 기초자료를 제시하고자 한다.

Methods

1. 재료 및 시료의 추출

본 실험에 사용된 대복피는 중국산으로 전라남도 화순군에 소재한 전남생약농업협동조합(Korea)에서 구입하여 사용하였다. 대복피 시료 50 g에 80% 메탄올(methanol, MeOH) 1 L를 가하고 40°C 항온수조에서 6 h, 2회 반복 추출한 다음 회전식진공농축기(EYELA A-1000s; Tokyo Rikakikai, Japan)로 감압농축시킨 후 동결건조하여 MeOH 추출물을 얻었다. 80% MeOH 추출물을 분액 깔대기에 의한 용매별 분획으로 n-hexane, ethyl acetate (EtOAc), n-butanol, H₂O로 연속 추출한 후 각 분획물을 회전식진공농축기로 감압농축 및 동결건조시켜 -20°C의 냉동고에 보관하여 각종 항산화 및 생리활성 분석을 실시하였다.

2. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin & Denis (1915) 방법을 응용하여 측정하였다. 시료를 1 mg/mL 농도로 MeOH에 용해시키고 Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich, USA) 0.2 mL를 첨가하여 27°C에서 혼합하였다. 5 min 경과 후 10% sodium carbonate (Na₂CO₃) 포화용액 3 mL를 혼합하고 암실에서 1 h 동안 방치하였으며 UV/VIS spectrophotometer (Cary 500; Varian, USA)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid

Table 1. List of strains and cultivation conditions used for screening of anti-bacterial activity test

| Strains | Cultivation conditions |
|--|----------------------------------|
| Gram positive bacteria | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (KCCM 11764) | 37 °C, Nutrition agar |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> (KCCM 35494) | 37 °C, Nutrition agar |
| <i>Enterococcus hirae</i> (ATCC 10541) | 37 °C, Heart infusion agar |
| <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 15313) | 37 °C, Brain heart infusion agar |
| Gram negative bacteria | |
| <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) | 37 °C, Trypticase soy agar |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 39324) | 37 °C, Nutrition agar |
| <i>Salmonella typhimurium</i> (KCCM 40253) | 37 °C, Nutrition agar |
| <i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 7002) | 37 °C, Nutrition agar |

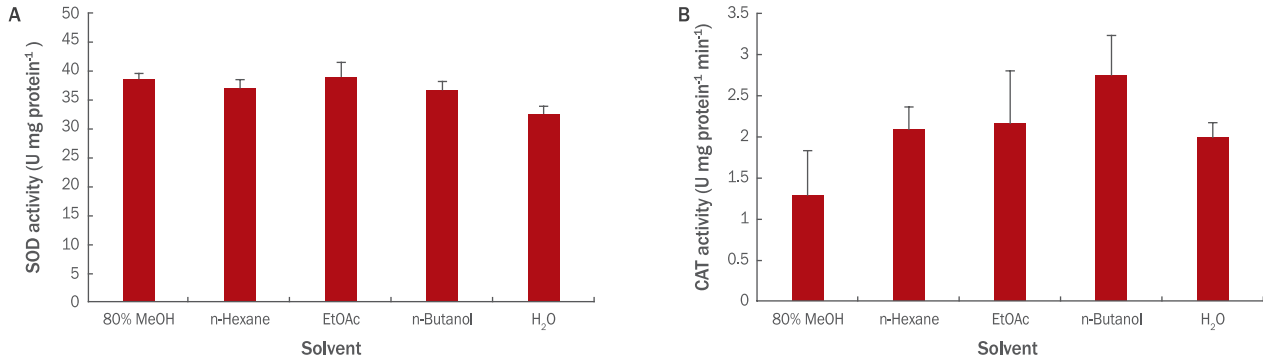


Figure 1. Changes in the anti-oxidative enzyme activities of various solvent fractions from 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts.

The anti-oxidant effects of 80% MeOH extracts from *Arecae pericarpium* and its solvent fractions were measured by SOD and CAT assay. In the SOD activity, the EtOAc fraction got the highest value (A). In contrast, the highest value of CAT activity was significantly confirmed at the n-butanol fraction compared with EtOAc fraction (B). Data were given as mean±standard deviation for each group.

(Sigma-Aldrich, USA)를 이용하여 표준곡선은 최종농도가 0, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL가 되도록 작성하여 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

3. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical 소거활성측정

DPPH free radical 소거능은 Que *et al.* (2006)의 방법에 따라 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 0.1 mM의 농도로 용해한 DPPH 용액 900 µL와 시료 100 µL를 혼합하여 교반하였다. 이 혼합시료를 암소에서 30 min 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH free radical 소거능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조군에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$A_n (\%) = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

A_n: DPPH free radical 소거능에 대한 항산화 활성(%)

A₀: 시료가 첨가되지 않은 DPPH 용액의 흡광도

A: 반응용액 중 DPPH와 시료의 반응 흡광도

4. 항산화 활성측정

대복피 추출물을 extraction buffer (50 mM phosphate buffer, pH 7.0; 1% Triton X-100; 1% PVP-400)에 1:4의 비율로 혼합한 후 균질화하고 12,000 rpm, 20 min 동안 원심분리한 다음 항산화 활성 측정에 사용하였다. 단백질 정량은 bovine serum albumin (BSA)을 표준물질로 사용하여 Bradford (1976) 방법에 따라 측정하였다.

1) Superoxide dismutase (SOD) 활성측정

SOD 활성은 Beauchamp & Fridovich (1971)의 방법에 따라 50

mM carbonic buffer (pH 10.2), 0.1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 0.1 mM xanthine, 0.025 mM nitroblue tetrazolium (NBT) 그리고 추출액이 포함된 용액을 25°C에서 10 min 동안 반응시킨 후 xanthine oxidase (3.3×10⁻⁶ mM)를 첨가하고 550 nm에서 NBT의 광환원 정도를 측정하였다.

2) Catalase (CAT) 활성측정

CAT 활성은 Aebi (1984) 방법에 따라 50 mM potassium phosphate (pH 7.0)에 10 mM H₂O₂와 추출액을 가한 후 240 nm에서 2 min 동안 흡광도 변화를 관찰하였다. 1 min 동안에 H₂O₂를 분해하는 효소의 양을 1 unit (U)으로 하였다.

5. 항균활성

1) 사용균주

대복피 80% MeOH 추출물의 항균활성을 조사하기 위해 본 실험에 사용된 균주는 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM; Korea)에서 그람양성균 4종과 그람 음성균 4종으로 총 8종을 분양 받아 사용하였다(Table 1).

2) 항균활성측정

대복피 80% MeOH 추출물에 대한 항균활성 실험은 디스크 확산법(paper disk diffusion method)을 이용하여 측정하였다. 항균 활성 측정에 사용한 균주는 2번 계대배양하여 활성화시킨 후 1.5% bacto agar를 포함한 nutrient 기층배지를 만들고, 각 균에 해당하는 배지에 0.8% bacto agar를 첨가시켜 중층배지를 만든다. 15 mL conical tube에 중층배지 4 mL를 부어 굳지 않게 식혀준 후 균을 1 mL (1.5×10⁸ CFU/mL) 분주하여 잘 섞어준다. 이것을 기층 배지에 붓고 그 위에 paper disc (8 mm; Advantec, Japan)를 시료

수에 맞게 올리고 밀착시켰다. 양성대조군으로는 kanamycin (10 mg/mL)을 20 µL씩 분주하고, 대복피 MeOH 추출물을 10, 20, 40 mg/mL로 조절하여 20 µL씩 흡수 건조시켜 4°C에 1 h 동안 두었다가 각 시험군의 최적배양온도에서 24 h 배양 후 disc 주변에 생성된 생육저해환(clear zone)을 측정하여 추출물의 효과를 양성대조군과 비교 분석하였다.

6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복 측정 후 mean ± standard deviation으로 나타냈으며 각 그룹간의 통계처리는 ANOVA를 실시한 후 사후검정으로 Duncan's multiple range test에 의하여 p < .05 수준에서 유의성을 검정하였다.

Results and Discussion

1. 대복피 추출물 및 용매별 분획물 수율

대복피의 항산화 효과와 항균활성을 검토하기 위해 시료를 80% MeOH로 추출하여 감압농축한 결과, 80% MeOH 추출물 수율은 19.04 ± 0.27%로 나타났다. 대복피 80% MeOH 추출물을 용매의 극성도 차이를 이용하여 용매별로 분획한 후 추출 수율을 측정한 결과 H₂O (50.97 ± 0.47%), n-butanol (22.53 ± 0.65%), n-hexane (14.33 ± 0.60%), EtOAc (12.07 ± 0.69%) 순으로 나타났다(Table 2).

2. 총 폴리페놀 함량

기능성 물질의 대표적인 성분중의 하나인 폴리페놀계 물질들은 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl (-OH)기를 가진 방향족화합물로서 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 충치예방, 고혈압 억제, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다(Lee et al., 2005; Yu et al., 2006). 대복피 추출물의 항산화력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 80% MeOH로 추출한 후 각 분획별 총 폴리페놀 함량을 분석하여 Table 3에 나타내었다. 실험결과, 대복피 80% MeOH 추출물의 총 폴리페놀 함량은 16.6 ± 0.35 mg/g로 측정되었으며, n-butanol, EtOAc, n-hexane, H₂O의 순으로 측정되었고, 그 함량은 각각 15.4 ± 0.26 mg/g, 14.1 ± 0.69 mg/g, 12.5 ± 0.46 mg/g, 11.9 ± 0.43 mg/g으로 측정되었다. 이러한 페놀화합물은 활성산소의 소거나 하이드록시 라디칼(hydroxyl radical)의 소거작용을 한다고 보고되었다(Choe et al., 2008). 본 연구에서도 각각의 추출물의 총 폴리페놀 함량을 알 수 있었으며, 폴리페놀류에 의한 항산화 활성을 기대할 수 있음을 확인하였다.

3. DPPH free radical 소거활성

DPPH free radical 소거활성 검증은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 탐색하기 위해 많이 이용되고 있으며, 짧은 시간 내에 항산화능을 측정할 수 있어 널리 이용되고 있다(Que et al., 2006). DPPH free radical의 초기농도를 50%로 감소시키는데 필요한 추출물의 농도를 IC₅₀ 값으로 산출한 결과를 Table 4에 나타내었다. 양성대조군인 vitamin C와 BHT는 각각 94.7 ± 0.75 mg/mL, 98.6

Table 2. Yield of extracts and fractions from *Arecae pericarpium*

| | <i>Arecae pericarpium</i> | Yield (% w/w) |
|-------------------------|---------------------------|------------------------------|
| Extracts ¹⁾ | 80% MeOH | 19.04 ± 0.27 ³⁾ |
| | n-Hexane | 14.33 ± 0.60 ^{b,4)} |
| Fractions ²⁾ | EtOAc | 12.07 ± 0.69 ^a |
| | n-Butanol | 22.53 ± 0.65 ^c |
| | H ₂ O | 50.97 ± 0.47 ^d |

¹⁾ Yield (%) = weight of solid extracts / weight of dry sample × 100

²⁾ Yield (%) = weight of solid fraction / weight of 80% MeOH extracts × 100

³⁾ All values are mean ± standard deviation of triplicate experiments.

⁴⁾ Values with different lowercase superscripts among the four fractions are significantly different at p < .05 by Duncan's multiple range test.

Table 3. Total polyphenol contents of various solvent fractions from 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts

| | <i>Arecae pericarpium</i> | Total polyphenol contents (mg/g GAE) |
|-----------|---------------------------|--------------------------------------|
| Extracts | 80% MeOH | 16.6 ± 0.35 ^{1),d,2)} |
| | n-Hexane | 12.5 ± 0.46 ^a |
| Fractions | EtOAc | 14.1 ± 0.69 ^b |
| | n-Butanol | 15.4 ± 0.26 ^c |
| | H ₂ O | 11.9 ± 0.43 ^a |

¹⁾ All values are mean ± standard deviation of triplicate experiments.

²⁾ Values with different lowercase superscripts are significantly different at p < .05 by Duncan's multiple range test.

±0.45 mg/mL로 측정되었고, n-hexane, 80% MeOH, EtOAc, H₂O, n-butanol 순으로 각각 102.9±0.81 mg/mL, 109.1±0.25 mg/mL, 116.1±0.20 mg/mL, 122.2±0.56 mg/mL, 139.7±0.78 mg/mL으로 측정되었다. n-Hexane 분획물에서 양성대조군인 vitamin C 및 BHT와 비슷한 소거능을 나타내어 항산화 효과가 우수한 것으로 확인되었으며, 이를 통해 80% MeOH 추출물이 항산화 활성 효과를 위한 가장 좋은 추출방법임을 알 수 있었다. 총 폴리페놀 함량이 높게 측정된 80% MeOH 추출물에서 DPPH free

radical 소거활성 또한 높게 측정되어, 총 페놀화합물의 함량이 증가하면 항산화 활성도 증가한다는 Seo *et al.* (1999)와 Lee *et al.* (2004)의 보고와 유사하였다. 따라서 DPPH free radical 소거활성은 페놀성 화합물과 서로 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

4. SOD와 CAT 활성

대복피 80% MeOH 추출물과 각 분획별 추출물의 SOD와 CAT 활성을 측정한 결과는 Figure 1에 나타내었다. 각 분획별 SOD 활

Table 4. DPPH radical scavenging activity of various solvent fractions from 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts

| <i>Arecae pericarpium</i> | | IC ₅₀ (mg/mL) |
|---------------------------|-------------------|-------------------------------|
| Extracts | 80% MeOH | 109.1±0.25 ^{2),d,3)} |
| | n-Hexane | 102.9±0.81 ^c |
| Fractions | EtOAc | 116.1±0.20 ^e |
| | n-Butanol | 139.7±0.78 ^e |
| | H ₂ O | 122.2±0.56 ^f |
| | BHT ¹⁾ | 98.6±0.45 ^b |
| Vitamin C ¹⁾ | | 94.7±0.75 ^a |

¹⁾ Positive control
²⁾ All values are mean±standard deviation of triplicate experiments.
³⁾ Values with different lowercase superscripts are significantly different at *p*<.05 by Duncan's multiple range test.

Table 5. Anti-bacterial activity of various solvent fractions from 80% MeOH *Arecae pericarpium* extracts (Unit: mm)

| Extracts | Concentration (mg/mL) | Gram positive bacteria | | | | Gram negative bacteria | | | |
|-------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| | | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermidis</i> | <i>E. hirae</i> | <i>L. monocytogenes</i> | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>S. typhimurium</i> | <i>P. mirabilis</i> |
| 80% MeOH | 10 | - ³⁾ | - | - | 12.6±0.75 ⁴⁾ | - | - | - | - |
| | 20 | 11.8±0.37 ^{a,5)} | 18.8±0.66 ^c | 14.0±0.45 ^b | 18.0±0.59 ^c | 12.2±0.58 ^a | 18.2±0.37 ^c | 14.6±0.51 ^b | 11.8±0.37 ^a |
| | 40 | 18.4±0.75 ^{a,b} | 22.6±0.51 ^c | 19.6±0.40 ^b | 22.8±0.37 ^c | 17.2±0.59 ^a | 23.8±0.58 ^c | 23.8±0.97 ^c | 20.2±0.58 ^b |
| n-Hexane | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 20 | - | - | - | 22.6±0.51 | - | - | - | - |
| | 40 | - | - | - | 27.6±0.60 | - | - | - | - |
| EtOAc | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 40 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| n-Butanol | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 40 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| H ₂ O | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 40 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| SDW ¹⁾ | | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Kanamycin ²⁾ | | 21.4±0.51 ^{ab} | 22.6±0.40 ^{bc} | 22.4±0.25 ^{bc} | 23.2±0.21 ^{cd} | 24.4±0.24 ^d | 23.6±0.51 ^{cd} | 22.8±0.66 ^c | 21.0±0.46 ^a |

¹⁾ Sterile distilled water (SDW) was used as a negative control.
²⁾ Kanamycin (10 mg/mL) was used as a positive control.
³⁾ Not detected.
⁴⁾ All values are mean±standard deviation of triplicate experiments.
⁵⁾ Values with different lowercase superscripts in the same row are significantly different at *p*<.05 by Duncan's multiple range test.

성은 EtOAc, 80% MeOH, n-hexane, n-butanol, H₂O의 순으로 각각 38.73, 38.32, 36.75, 36.43, 32.37 U mg protein⁻¹으로 나타났다. CAT 활성은 n-butanol, EtOAc, n-hexane, H₂O, 80% MeOH의 순으로 각각 2.75, 2.16, 2.09, 1.99, 1.29 U mg protein⁻¹ min⁻¹으로 나타났다. 이는 항산화 활성의 정도는 식물의 종류 및 이들에 함유되어 있는 항산화 유효성분의 종류와 추출방법에 따라 현저한 차이가 나며(Kim *et al.*, 2003), 폴리페놀 화합물 중 특정 성분이 항산화 활성에 기인하기 때문인 것으로 보고 되고 있다.

5. 항균활성

대복피 80% MeOH 추출물과 용매 분획물의 항균활성을 측정하기 위하여 4종의 그람양성균과 4종의 그람음성균으로 구성된 총 8종의 세균에 대하여 디스크 확산법을 실시하였고, Lee *et al.* (2013)의 연구에서 대복피 에탄올 추출물의 50 mg/mL까지 세포독성을 보이지 않았다는 연구결과를 바탕으로 추출물과 각 용매 분획물의 농도를 10, 20, 40 mg/mL로 처리하여 Table 5와 같이 항균활성을 나타내었다. 대복피 80% MeOH 추출물은 시험한 8종의 균주 모두에 대해 첨가농도가 증가할수록 양성대조균인 kanamycin과 비슷한 우수한 항균활성을 나타내었다. 특히, 대복피 80% MeOH 추출물 40 mg/mL 농도에서 피부염증을 유발하는 피부 상재균의 하나인 *S. epidermidis* 균주에 대해서는 22.6 mm의 clear zone을 형성하여 염증을 수반하는 여드름 피부의 화장품 소재로서 활용 가치가 높다고 판단된다. 한편, n-hexane 분획물은 *L. monocytogenes* 균주에 대해서는 27.6 mm의 clear zone을 형성하여 다른 분획물 가운데 첨가농도가 증가할수록 가장 강한 활성을 나타내었으나 다른 균주에 대해서는 항균활성을 보이지 않았다. EtOAc, n-butanol, H₂O의 분획물에서는 모든 균에 대해 항균활성을 보이지 않았다. 이상의 연구결과와 같이 대복피 80% MeOH 추출물은 항균활성이 뛰어나 천연항균제로서 가치가 있음을 시사한다. 그러나 가장 효과적인 대복피 추출물의 첨가농도 및 천연물의 정확한 성분분석 등 대복피 추출물과 관련된 심도 있는 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Conclusion

본 연구에서는 대복피의 천연 항균 및 항산화 소재로서의 가치를 검토하고자 대복피 80% MeOH 추출물과 순차적 분획물인 n-hexane, EtOAc, n-butanol, H₂O에 대하여 총 폴리페놀 함량, DPPH free radical 소거활성, SOD와 CAT 활성 및 항균활성을 검정하였다. 대복피의 80% MeOH 추출물의 수율은 19.04%로 나타났으며 용매별 분획물 수율은 H₂O, n-butanol, n-hexane, EtOAc 순으로 각각 50.97%, 22.53%, 14.33%, 12.07%로 나타났다. 총 폴리페놀 함량은 80% MeOH 추출물에서 16.6 mg/g으로 가

장 높게 측정되었다. DPPH free radical 소거능은 n-hexane 분획물에서 102.9 mg/mL로 양성대조균인 vitamin C 및 BHT와 비슷한 우수한 항산화 활성을 나타내었다. SOD 활성은 EtOAc 분획물에서 38.73 U mg protein⁻¹으로 가장 높게 나타났으며 CAT 활성은 n-butanol 분획물에서 2.75 U mg protein⁻¹ min⁻¹로 가장 높게 나타났다. 항균활성을 측정한 결과, 80% MeOH 추출물은 8종의 균주 모두에 대해 농도가 증가할수록 대조균인 kanamycin과 비슷한 우수한 항균활성을 나타내었고 특히, *S. epidermidis* 균주에 대해서는 22.6 mm의 clear zone을 형성하여 강한 활성을 나타냈다. n-Hexane 분획물은 *L. monocytogenes* 균에 대해서만 20, 40 mg/mL에서 22.6, 27.6 mm의 clear zone을 형성하여 다른 분획물 중 첨가농도가 증가할수록 가장 강한 활성을 나타내었으나 다른 균에 대해서는 항균활성을 보이지 않았다. EtOAc, n-butanol, H₂O은 모든 균에 대해 항균활성을 보이지 않았다. 이상의 결과에서 대복피 80% MeOH 추출물은 다량의 폴리페놀을 함유하며 항산화와 항균효과를 가지고 있어 건강기능식품, 가공식품, 화장품에서 천연 항균 및 항산화 소재로서 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgements

이 논문은 2015년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 수행되었음.

References

- Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126, 1984.
- Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44: 276-287, 1971.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254, 1976.
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 28: 1310-1315, 1999.
- Choe JH, Jang A, Lee BD, Liu XD, Song HP, Jo C. Antioxidant and antimicrobial effects of medicinal herb extract mix in pork patties during cold storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 28: 122-129, 2008.

- Folin O, Denis W. A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *The Journal of Biological Chemistry*, 22: 305–308, 1915.
- Heath RL. The biochemistry of ozone attack on the plasma membrane of plant cells. In: Phytochemical effects of environmental compounds. Saunders JA, Kosak-Channing L, Conn EE (ed.), Plenum Press, New York, pp29–54, 1987.
- Heo SI, Wang MH. Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 39: 255–259, 2008.
- Joung YM, Park SJ, Lee KY, Lee JY, Suh JK, Hwang SY, Park KE, Kang MH. Antioxidative and antimicrobial activities of *Lilium* species extracts prepared from different aerial parts. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 39: 452–457, 2007.
- Kang NJ, Kwon JK, Rhee HC, Jeong HB, Kim HT. Antioxidant enzymes as defense mechanism against oxidative stress induced by chilling in *Cucurbita ficifolia* leaves. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 44: 605–610, 2003.
- Kim JG, Kang YM, Eum GS, Ko YM, Kim TY. Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (*Akebia quinata* Decaisn, *Scirus fluviatilis* A. Gray, *Gardenia jasminoides* for. *grandiflora* Makino). *Journal of Agriculture & Life Sciences*, 37: 69–75, 2003.
- Kim YJ, Kim BH, Lee SY, Kim MS, Park CS, Rhee MS, Lee KH, Kim DS. Screening of medicinal plants for development of functional food ingredients with anti-obesity. *Applied Biological Chemistry*, 49: 221–226, 2006.
- Lee D, Boo KH, Kim YC, Lee JM, Kang S, Lee WS, Riu KZ, Lee DS. The antiviral effects of *Areca catechu* L. extract. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 46: 245–248, 2014.
- Lee KK, Choi JD. The effects of *Areca catechu* L extract on anti-inflammation and anti-melanogenesis. *International Journal of Cosmetic Science*, 21: 275–284, 1999.
- Lee KM, Nam SH, Song HS, Yeo JH, Lee KG, Bae YH. Total phenol contents and DPPH radical scavenging activity of entomopathogenic fungi. *Korean Journal of Applied Entomology*, 48: 377–383, 2009.
- Lee KS, Kim SH, Chun SH, Park SS, Park CS, Shin YS. Antimicrobial activity of *Areca catechu* L. extract of against intestinal pathogens. *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 11: 36–40, 1998.
- Lee MH, Kim HJ, Jung HA, Lee YK. Stimulation of the extracellular matrix production in dermal fibroblasts by *Areca catechu* extract. *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 14: 1857–1862, 2013.
- Lee SE, Kim YS, Kim JE, Bang JK, Seong NS. Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. *japonica* N. and *Hemiptelea davidii* P. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 12: 321–327, 2004.
- Lee YS, Joo EY, Kim NW. Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean Journal of Food Preservation*, 12: 75–79, 2005.
- Lim DK, Choi U, Shin DH. Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 28: 83–89, 1996.
- Lin YL, Lin JK. (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks the induction of nitric oxide synthase by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of transcription factor nuclear factor-kappaB. *Molecular Pharmacology*, 52: 465–472, 1997.
- Lu Y, Foo LY. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, 68: 81–85, 2000.
- Ohta S, Sato N, Tu SH, Shinoda M. Protective effects of Taiwan crude drugs on experimental liver injuries. *Yakugaku Zasshi*, 113: 870–880, 1993.
- Que F, Mao L, Zhu C, Xie G. Antioxidant properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles. *LWT-Food Science and Technology*, 39: 111–117, 2006.
- Seo YH, Kim IJ, Yie AS, Min HK. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoids in waxy corn (*Zea mays* L.). *Korean Journal of Food Science and Technology*, 31: 581–585, 1999.
- Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 38: 128–134, 2006.

국문초록

대복피 추출물의 분획별 항균 및 항산화 활성

송선영¹, 이현화^{2*}¹광주보건대학교 피부미용과, 광주, 한국²조선대학교 생물학과, 광주, 한국

목적: 본 연구는 대복피 메탄올(methanol, MeOH) 추출물 및 용매 분획물의 항산화 및 항균활성을 확인하고자 수행되었다. **방법:** 대복피를 80% MeOH로 추출하고, n-hexane, ethyl acetate (EtOAc), n-butanol, H₂O로 분획하였다. 추출물과 분획물의 추출 수율, 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 대복피의 80% MeOH 추출물과 용매 분획물의 free radical 소거능은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 방법에 의해 평가하였다. 항산화 활성은 superoxide dismutase (SOD) 및 catalase (CAT) 활성으로 평가하였다. 항균활성은 디스크 확산법에 의해 평가하였다. **결과:** 대복피 80% MeOH 추출물 및 n-hexane, EtOAc, n-butanol, H₂O 용매 분획물의 추출 수율의 결과, 각각 19.04, 14.33, 12.07, 22.53, 50.97%로 측정되었다. 총 폴리페놀 함량은 80% MeOH 추출물에서 16.6 mg/g으로 가장 높게 측정되었다. DPPH free radical 소거능은 n-hexane 분획물에서 102.9 mg/mL로 양성대조군인 vitamin C 및 butylated hydroxytoluene (BHT)와 비슷한 우수한 항산화 활성을 나타내었다. SOD 활성은 EtOAc 분획물에서 가장 높은 값(38.73 U mg protein⁻¹)을 나타내었다. CAT 활성은 n-butanol 분획물에서 가장 높은 값(2.75 U mg protein⁻¹ min⁻¹)을 나타내었다. 항균활성의 결과에서, 대복피 80% MeOH 추출물은 8종의 균주에 대해 항균활성을 나타냈다. n-Hexane 분획물은 오직 *Listeria monocytogenes*에 대해서만 항균활성을 나타냈다. EtOAc, n-butanol, H₂O 분획물에서는 8종 균주에 대하여 항균활성을 나타내지 않았다. **결론:** 이상의 결과에서 대복피 80% MeOH 추출물은 천연 항산화 및 항균 소재로서의 활용이 가능할 것으로 기대된다.

핵심어: 대복피, 용매 분획물, 항산화, 항균력, 폴리페놀

이 논문은 2015년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

- 김정균, 강영미, 엄광식, 고영민, 김태영. 천연한약재(목통, 삼릉, 치자) 추출물의 항산화효과 및 항균활성효과. *농업생명과학연구*, 37: 69-75, 2003.
- 서영호, 김인종, 이안수, 민황기. 찹옥수수의 전자공여작용과 페놀성화합물, Tocopherols 및 Carotenoids의 함량. *한국식품과학회지*, 31: 581-585, 1999.
- 유미희, 임효권, 이효정, 지영주, 이인선. 생대추(뽕대추) 과육 및 씨 추출물의 항산화 효과 및 항산화 성분. *한국식품과학회지*, 38: 128-134, 2006.
- 이갑상, 김성호, 전승호, 박성수, 박정순, 신용서. 장내 유해세균에 대한 빈랑 추출물의 항균 활성. *한국식품영양학회지*, 11: 36-40, 1998.
- 이기만, 남성희, 송하석, 여주홍, 이광길, 배운환. 곤충병원성진균의 총 페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능. *한국응용곤충학회지*, 48: 377-383, 2009.
- 이도승, 부경환, 김영천, 이진만, 강승태, 이왕식, 류기중, 이동선. 빈랑 추출물의 새로운 항바이러스 활성. *한국식품과학회지*, 46: 245-248, 2014.
- 이민호, 김형진, 정현아, 이영근. 진피섬유모세포에서 대복피추출물의 세포외기질 합성 촉진 효과. *한국산화기술학회논문지*, 14: 1857-1862, 2013.

- 이승은, 김윤상, 김지은, 방진기, 성낙술. 느릅나무와 시무나무의 항산화 활성. *한국약용작물학회지*, 12: 321-327, 2004.
- 이양숙, 주은영, 김남우. 싸리(*Lespedeza bicolor*) 추출물의 항산화성에 관한 연구. *한국식품저장유통학회지*, 12: 75-79, 2005.
- 임대관, 최웅, 신동화. 국내산 약용식물 추출물의 항산화 효과 검색과 용매 분획물의 비교. *한국식품과학회지*, 28: 83-89, 1996.
- 정용면, 박수진, 이기영, 이지용, 서정근, 황성연, 박경은, 강명화. 부위별 식용백합 추출물의 항산화 및 항균효과. *한국식품과학회지*, 39: 452-457, 2007.
- 차재영, 김현정, 정정한, 조영수. 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)의 폴리페놀 화합물 함량과 항산화 활성. *한국식품영양과학회지*, 28: 1310-1315, 1999.
- 최준호, 장애라, 이봉덕, 류현덕, 송현파, 조철훈. 복합 한약재 추출물 첨가가 든육 패티의 저온저장 중 항산화 및 항균성에 미치는 영향. *한국축산식품학회지*, 28: 122-129, 2008.
- 허성일, 왕명현. 민들레 추출물의 항산화 활성 및 세포독성 효과. *생약학회지*, 39: 255-259, 2008.

中文摘要

檳榔陈皮提取物的抗菌及抗氧化性能研究

宋善英¹, 李賢花^{2*}

¹光州保健大學校 皮肤美容科, 光州, 韩国

²朝鮮大學校 生物學科, 光州, 韩国

目的: 探索檳榔陈皮甲醇提取物和不同溶剂萃取物的抗氧化及抗菌活性研究。**方法:** 檳榔陈皮用80% MeOH提取, 并分别用不同溶剂萃取相, 即, n-hexane、ethyl acetate (EtOAc)、n-butanol、H₂O依次萃取。测定甲醇提取率和不同溶剂萃取率, 并测定总多酚含量。檳榔陈皮甲醇提取物和溶剂萃取物的自由基清除能力用1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)方法来评价。抗氧化活性用superoxide dismutase (SOD)和catalase (CAT)来评价。抗菌活性用纸片扩散法 (paper disk diffusion method)来评价。**结果:** 80% MeOH提取率为19.04%, 不同溶剂萃取率, 即, n-hexane、EtOAc、n-butanol、H₂O溶剂的萃取率分别为14.33, 12.07, 22.53, 50.97%。总多酚含量在80% MeOH提取物中, 以16.6 mg/g显示最高值。DPPH 自由基清除能力在 n-hexane溶剂萃取物中, 以102.9 mg/mL与良性对照群vitamin C和butylated hydroxytoluene (BHT) 有相似的抗氧化活性。SOD活性在EtOAc溶剂萃取物中, 以38.73 U mg protein⁻¹显示最高值。CAT活性在 n-butanol溶剂萃取物中以2.75 U mg protein⁻¹ min⁻¹ 显示最高值。在抗菌活性评价结果中, 80%甲醇提取物对8种微生物具有抗菌活性, 但是n-hexane萃取物只有对*Listeria monocytogenes*菌具有抗菌活性, 其他EtOAc、n-butanol、H₂O溶剂萃取物对8种微生物都不具有抗菌活性。**结论:** 从以上的结果中得出, 80%甲醇提取物可以充分利用于天然抗氧化及抗菌活性原料。

关键词: 檳榔陈皮, 溶剂萃取物, 抗氧化, 抗菌, 多酚