부아메라(*Pandanus conoideus*) 에탄올 추출물의 용매분획별 항산화 활성 및 항균 활성 평가

김민지¹ · 김경희¹ · 장 현² · 육홍선¹

¹충남대학교 식품영양학과

²리벤틱 주식회사

Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Buah Merah (*Pandanus conoideus*) by Solvent Fractionation

Min-Zy Kim¹, Kyoung-Hee Kim¹, Hyun Jang², and Hong-Sun Yook¹

¹Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

²Libentech

ABSTRACT Buah merah is a plant native to Papua, Indonesia, and is rich in antioxidants. In this study, the extraction method of the antioxidant content of the buah merah was optimized. The phenol content was found to be 0.6 to 2.0 GAE mg/g, and the activity was the highest in dichloromethane. Total flavonoid content was found to be 0.1 to 2.7 CE mg/g and showed the highest activity in dichloromethane. The ferric reducing ability of plasma, measurement was found to be 5.1 to 44.8 mM/g, and the highest value was seen in dichloromethane. ABTS radical scavenging activity showed an IC₅₀ value of 3.2~27.7 mg/mL, and the lowest value was 1.8 mg/mL in dichloromethane. DPPH radical scavenging activity showed an IC₅₀ value of 1.6~48.41 mg/mL, and the lowest value was 1.6 mg/mL in dichloromethane. It was found that each fraction showed antimicrobial activity in the experiment. The hexane fraction showed the highest antimicrobial activity against *E. cloacae* and *B. cereus*, and the dichloromethane fraction showed the highest antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli*. The butanol fraction showed the highest activity against *S. aureus*, *B. cereus*, and *S. enterica*, and the water fraction showed the highest activity against *S. enterica* and *S. aureus*. Based on all these results, it was found that the dichloromethane was the most active and effective fraction of buah merah.

Key words: Buah merah (*Pandanus conoideus*), antioxidant activity, solvent fraction, antimicrobial activity

서 론

부아메라(*Pandanus conoideus*)는 인도네시아의 파푸아 뉴기니 섬에서 자생하는 식물이며 붉은색을 띠는 과일이다. 이름은 인도네시아어로 열매를 뜻하는 buah와 빨강다는 뜻의 merah가 합쳐져서 만들어진 것이고, Murtiningrum 등 (2005)과 Surono 등(2008)은 인도네시아 외의 지방에서는 찾아볼 수 없는 식물이라고 보고하고 있다. 부아메라 식물은 강물 주변에서 그룹으로 자라며 pH 4.30~5.30의 산성 상태인 토양에 잘 적응하고, 부아메라에서 추출된 오일은 베타카로틴을 함유하고 있어 영양가가 높은 식품 향료로 사용되며, 증금속과 유해 미생물이 포함되지 않은 천연염료로도 사용

된다(Limbongan과 Malik, 2009). 부아메라는 인도네시아에서 색소를 공급하는데 주요하게 작용하며 파푸아의 전형적인 천연 제품으로 질병 치료제, 식품 보충제나 미용 피부 관리에 사용되는 고유 식물이다(Hyndman 등, 1984).

부아메라 열매는 수분 7.11%, 회분 2.41%, 식염 1.64%, 단백질 5.68%, 지방 13.83%로 구성되어 있고, 부아메라 오일에는 고농도의 항산화 비타민 E(α 와 γ -토코페롤)와 β -카로틴이 항산화 작용을 한다(Sugiritama 등, 2016). 크립토잔틴 성분들과 함께 불포화 지방산, 특히 올레산, 리놀레산, 리놀렌산 및 팔미톨레산과 같은 천연 항산화 성분이 포함되어 있어 지질과산화물을 예방할 수 있다(Sarungallo 등, 2016). 또한, 부아메라 오일은 암이나 당뇨병, 심장 질환, 류머티즘

Received 8 March 2021; Revised 1 April 2021; Accepted 3 April 2021

Corresponding author: Hong-Sun Yook, Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, 99, Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34134, Korea, E-mail: yhsuny@cnu.ac.kr

Author information: Min-Zy Kim (Graduate student), Kyoung-Hee Kim (Researcher), Hong-Sun Yook (Professor)

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

질환 및 신장 질환과 같은 많은 질병의 치료에도 사용된다(Xia 등, 2018).

부아메라는 불포화도가 높아 부패가 빨리 진행된다는 특성이 있어 오일 형태 혹은 캡슐 형태 등으로 많이 공급되고 있으며 부아메라 열매는 음식과 기름의 원천, 의식과 의약으로도 사용되고 있다(Sarungallo 등, 2015). Limbongan과 Malik(2009)는 부아메라 오일이 인도네시아 기준 국내외 소비자들에게 수요가 있고, 재배나 가공이 간단한 축에 속하기 때문에 붉은 과일 개발의 기회가 좋다고 보고하고 있다. 또한, 부아메라 오일 추출의 찌꺼기는 가금류의 사료 보충제로도 사용될 수 있다고도 보고하고 있다.

본 연구에서는 부아메라로부터 에탄올 추출물을 얻은 후, 용매 분획하여 항산화 활성을 검색하였다. 이를 토대로 부아메라 추출 방법을 최적화하고, 더 나아가 부아메라를 이용한 천연 기능성 식품 개발의 가능성을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

에탄올 추출물의 조제 및 용매 분획

부아메라는 2019년 인도네시아 파푸아 지역에서 생산된 시료를 사용하였으며, 추출은 100 g의 시료를 시료 중량의 10배만큼의 95% 에탄올을 가해 30°C의 수욕상에서 24시간 동안 3회 반복 추출한 후 감압여과 장치로 여과한 다음 감압 농축하였다. 농축액은 Fig. 1에 나타난 바와 같이 증류수에 녹인 후 헥산, 디클로로메탄, 부탄올을 사용하여 순차적으로 용매 분획을 실시하였다(Kong 등, 2001). 용매 분획한 시료는 Lee 등(2004)의 방법을 참고하여 여과와 농축 및 동결건조 후 4°C 이하로 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis의 방법(Folin과 Denis,

Fig. 1. Solvent fractionation chart of buah merah (*Pandanus conoideus*).

1912)을 이용하여 측정하였다. 0.5 mg/mL 농도의 시료 200 μ L와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 200 μ L를 혼합하여 3분간 실온에서 반응시킨 뒤, 10% Na_2CO_3 를 3 mL 혼합하여 암실에서 60분간 반응시킨 후, 765 nm에서 흡광도를 측정(xMark™ Microplate Absorbance Spectrophotometer, Bio-Rad Laboratories, Inc., San Francisco, CA, USA) 하였다. 그 결과는 gallic acid 표준곡선(Sigma-Aldrich Co.)을 작성한 후, 시료의 총 폴리페놀 함량(gallic acid equivalent, GAE)을 계산하여 mg GAE/g으로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)의 방법을 참고하여 측정하였다. 0.5 mg/mL 농도의 시료 400 μ L와 10% $\text{AlCl}_3(\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 400 μ L를 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 뒤, 510 nm에서 흡광도를 측정(Bio-Rad Laboratories, Inc.) 하였다. 총 플라보노이드 함량은 catechin hydrate(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 표준 검량선을 작성하고 g 중 mg catechin hydrate(CE, dry basis)로 나타내었다.

FRAP 측정

FRAP(ferric-reducing antioxidant potential) 활성은 Benzie와 Strain(1996)의 방법을 참고하여 측정하였다. 0.3 mM acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM의 HCl(Samchun Pure Chemical Co., Ltd., Pyeongtaek, Korea)에 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine(TPTZ) solution(Sigma-Aldrich Co.), 20 mM ferric chloride hexahydrate($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Samchun Pure Chemical Co.)를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 사용하였다. 제조된 FRAP reagent는 37°C의 인큐베이터에서 10분간 보관 후 사용하였다. 준비된 900 μ L FRAP reagent에 10 mg/mL의 농도로 용해시킨 시료 30 μ L와 증류수 90 μ L를 넣은 다음 37°C의 인큐베이터에서 다시 10분간 반응시킨 후, 593 nm에서 흡광도를 측정(Bio-Rad Laboratories, Inc.) 하였다. Ascorbic acid는 1 mg/mL 농도로 제조하여 대조군으로 사용하였고, FRAP 값은 표준물질을 iron sulfate hexahydrate($\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)로 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 mM의 농도를 반복해서 작성한 FeSO_4 의 검량선에 대입하여 계산하였다.

ABTS 라디칼 소거 활성 측정

ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 라디칼 소거 활성은 Fellegrini 등(1999)과 Kim 등(2012a)의 방법을 이용하여 측정하였다. ABTS(Sigma-Aldrich Co.) 7 mM과 potassium persulfate(Samchun Pure Chemical Co.) 140 mM을 14~16시간 암소에서 방치하여 ABTS 라디칼을 형성하고, 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 가 되도록 에탄올로 희석하였

다. 시료 50 μ L와 희석된 ABTS 라디칼 시약 1,000 μ L를 섞어 2.5분간 실온에서 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하여(UV-1800, Shimadzu, Kyoto, Japan) ABTS의 환원에 의한 흡광도 감소를 조사하였다. Blank는 시료 대신 추출용매를 넣어 진행하였다. 아래에 나타낸 식에 대입하여 각 시료의 농도별 자유라디칼 소거 활성 곡선을 그린 뒤, 50%의 라디칼 소거 활성(ABTS IC₅₀)을 나타내는 값을 산출하였으며, 아스코르브산(Samchun Pure Chemical Co.)을 대조구로 사용하여 비교, 분석하였다.

$$\text{ABTS scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of control}}\right) \times 100$$

DPPH 라디칼 소거 활성 측정

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거 활성은 60 μ m DPPH 용액 3.9 mL에 시료 100 μ L를 가하고 암실에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정(Bio-Rad Laboratories, Inc.)하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도 감소를 Blois(1958)와 Jeong 등(2015)의 방법을 참고하여 평가하였다. Blank는 시료 대신 추출용매를 넣어 진행하였다. 아래에 나타낸 식에 대입하여 각 시료의 농도별 자유라디칼 소거 활성 곡선을 그린 뒤, 50%의 DPPH 라디칼 소거 활성(DPPH IC₅₀)을 나타내는 값을 산출하였으며, 아스코르브산(Samchun Pure Chemical Co.)을 대조구로 사용하여 비교, 분석하였다.

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of control}}\right) \times 100$$

항균 활성 평가

항균 활성 평가에 사용된 균주로 그람양성균에는 *Bacillus cereus*(*B. cereus*) KCTC 1012, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) KCTC 3881, *Bacillus subtilis*(*B. subtilis*) KCTC 1022와 그람 음성균에는 *Escherichia coli*(*E. coli*) KTCT 2441, *Enterobacter cloacae*(*E. cloacae*) KTCT 1685, *Salmonella enterica*(*S. enterica*) KTCT 1925 총 6종을 생물자원센터(Korean Collection for Type Culture, Daejeon, Korea) 및 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, Seoul, Korea)에서 받아 사용

하였다. Kim 등(2012b)의 방법을 참고하여 배지는 동결상태의 균주들을 Table 1의 조건으로 생육 배양하였으며, 균주들을 nutrient broth(BD Diagnostic System, Spark, MD, USA)에 접종하여 30°C에서 24시간씩 3회 계대배양하여 600 nm에서 흡광도를 측정(UV-1800, Shimadzu)하였다. 흡광도 값은 0.4~0.6(1×10^5 CFU/mL) 범위 안에 들었을 때 항균 활성 평가를 위한 균주로 사용하였으며, 활성화한 균주를 nutrient agar 배지에 100 μ L씩 넣고 스프레더로 도말하였다. 시험 용액은 disc 당 5 mg이 되도록 하여 천천히 흡수시킨 뒤, 건조과정을 거쳐 평판 배지에 밀착된 상태가 되도록 하였다. 이 상태로 24시간 동안 30°C의 인큐베이터에서 배양한 다음 disc 주변으로 생성된 생육 저해환(clear zone)의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 평가하였으며, 이 과정은 3회 반복으로 진행하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 시행한 후 그 평균값으로 나타내었고, 통계분석은 SPSS 24.0(Statistical package for social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 실시하였다. 데이터 간의 유의성 검증은 One-way ANOVA (analysis of variance) 분석과 Duncan's multiple range test를 통해 $P < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

부아메라 에탄올 추출물의 유기용매 분획별 수율

부아메라 에탄올 추출물에 대한 성분을 평가하고자 극성이 다른 유기용매인 헥산, 디클로로메탄, 부탄올 및 물로 차례대로 분획하여 추출하였다(Choi 등, 2008). 천연 자연물의 추출 수율 증가는 경제적, 산업적 측면에서 매우 중요한 요소로 작용하는데(Jin, 2011), 추출에 대한 수율은 Table 2에 나타내었다. 부아메라를 에탄올에서 추출한 후 감압 농축하여 총 74 g의 분획물을 얻었고, 그 수율은 74%였다. 이를 헥산과 증류수를 1:1로 섞은 용액에 용해시킨 후 헥산, 디클로로메탄 및 부탄올, 물 순으로 분획하였다. 그 결과 헥산 분획물 63 g, 디클로로메탄 분획물 1.46 g, 부탄올 분획물 2.3 g, 물 분획물 2.74 g을 얻었다. 헥산에 의한 추출 수율이 85.14%로 가장 높았으며, 물층이 3.71%로 헥산층 다음으로 수율이 높았으며, 부탄올층의 경우 3.10% 정도였다. 디

Table 1. List of strains used for antimicrobial experiments

	Strains	Media ¹⁾	Temp. (°C)
Gram positive bacteria	<i>Bacillus cereus</i> KCTC 1012	NA/NB	30
	<i>Bacillus subtilis</i> KCTC 1022	NA/NB	30
	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 3881	NA/NB	30
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> KTCT 2441	NA/NB	30
	<i>Enterobacter cloacae</i> KTCT 1685	NA/NB	30
	<i>Salmonella enterica</i> KTCT 1925	NA/NB	30

¹⁾NA: Nutrient agar, NB: Nutrient broth.

Table 2. The fraction yields of solvent fractions extracted from ethanol extracts of buah merah (*Pandanus conoideus*)

Extraction solvents	Yield (% w/w)
n-Hexane	85.14
Dichloromethane	1.98
n-Butanol	3.10
Water	3.71

클로로메탄층의 수율은 1.98%로 가장 낮았다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

부아메라의 용매 분획물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Table 3에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량의 경우 0.6~2.0 mg/g GAE로 나타났는데, 디클로로메탄 분획물이 2.0 mg/g GAE로 가장 높았으며 그다음으로는 헥산 분획물이 높았다. 부탄올과 물 분획물에서는 가장 낮은 함량을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량의 경우 0.1~2.7 mg/g CE로 나타났는데, 디클로로메탄 분획물이 2.7 mg/g CE로 가장 높았으며 그다음으로는 헥산 분획물이 높았다. 부탄올과 물 분획물에서는 가장 낮은 함량을 나타냈으며, 두 분획물에서 유의적인 차이는 없었다. 또한, 디클로로메탄과 헥산 분획물도 유의적인 차이를 보이지 않았다. Han 등(2015)은 호두과피 추출물의 플라보노이드, 페놀 함량에서 부탄올 분획물과 물 분획물이 상대적으로 낮다고 보고했으며, Damayanti 등(2020)은 부아메라를 헥산, 에틸아세테이트, 메탄올 등으로 추출하여 항산화 실험을 진행했는데, 에틸아세테이트층에서 가장 좋은 활성을 나타내었다고 보고했고 부아메라에 플라보노이드, 알칼로이드 등이 포함되어 있음을 밝혀 부아메라 추출물이 새로운 생체 활성의 공급원으로 쓰일 수 있다고 보고하였다.

FRAP 활성

부아메라의 FRAP 측정 결과는 Table 4에 나타냈으며, 전체적으로 5.1~44.8 mM/g의 활성을 띠었다(양성 대조구인 아스코르브산은 0.1 mg/mL의 농도에서 47.23 mM의 활성을 나타냄). 디클로로메탄 분획물이 44.8 mM/g으로 가장 높았으며, 헥산 분획물이 다음으로 높았다. 부탄올과 물

Table 3. Total polyphenol contents and flavonoid contents on extraction solvents of buah merah (*Pandanus conoideus*)

Extraction solvents	Total polyphenol (mg/g GAE) ¹⁾	Total flavonoid (mg/g CE) ²⁾
n-Hexane	0.9±0.2 ^{b3)4)}	2.3±0.4 ^a
Dichloromethane	2.0±0.1 ^a	2.7±0.1 ^a
n-Butanol	0.6±0.2 ^b	0.1±0.0 ^b
Water	0.6±0.3 ^b	0.1±0.0 ^b

¹⁾GAE: gallic acid equivalents mg/g.

²⁾CE: catechin equivalent mg/g.

³⁾Values are mean±SD (n=3).

⁴⁾Different letters in the same column indicate a significant difference by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

Table 4. FRAP (ferric reducing antioxidant power) value on extraction solvents of buah merah (*Pandanus conoideus*)

Extraction solvents (10 mg/mL)	FRAP value (mM/g)
n-Hexane	14.5±2.0 ^{b1)2)}
Dichloromethane	44.8±0.2 ^a
n-Butanol	6.2±0.2 ^c
Water	5.1±0.3 ^c
Ascorbic acid	0.1±0.0 ^d

¹⁾Values are mean±SD (n=3).

²⁾Different letters in the same column indicate a significant difference by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

분획물은 유의적인 차이가 없었다. 가장 높은 디클로로메탄 분획물과 가장 낮은 물 분획물은 약 8.8배 차이가 났다. 또한, 디클로로메탄과 헥산 분획물은 유의적인 차이가 있는 것을 확인할 수 있었고, 두 번째로 높은 값을 띠는 헥산 분획물이 부탄올 분획물과도 유의적인 차이가 있다는 것을 확인했다. Bahorun 등(2004)은 페놀이나 FRAP와 같이 항산화 능력과 총 플라보노이드 수준 사이의 높은 관련성이 있다고 보고하고 있으며, Li 등(2008)은 천연 자연물에 존재하는 페놀성 화합물이 존재할 때 상당히 높은 FRAP를 보인다고 보고하였다. 또한, Wabula 등(2019)은 부아메라 열매를 이용한 FRAP 실험을 진행하였는데, 페놀 화합물, 플라보노이드, 탄닌에서 긍정적인 결과를 나타냈다고 보고하면서 이는 항산화 화합물에서 산화 반응을 억제하는 붉은 열매의 분자 구조에 페놀 그룹이 존재하기 때문이라고 보고한 바가 있다.

라디칼 소거 활성

부아메라 용매 분획별 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성, DPPH 라디칼 소거 활성은 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 시료 농도인 IC₅₀ 값으로 나타냈으며, 그 결과는 Table 5와 같다. DPPH 라디칼 소거 활성의 경우 IC₅₀ 값이 1.6~48.4 mg/mL로 나타났는데 디클로로메탄 분획물이 1.6 mg/mL로 가장 낮았으며, 두 번째로 부탄올 분획물이 낮았다. 그다음으로는 물과 헥산 분획물 순으로 나타났다. 디클로로메탄과 헥산 분획물은 유의적인 차이가 있는 것을 확인할

Table 5. ABTS and DPPH radical scavenging activity on extraction solvents of buah merah (*Pandanus conoideus*)

Extraction solvents	ABTS radical scavenging activity (IC ₅₀ , mg/mL) ¹⁾	DPPH radical scavenging activity (IC ₅₀ , mg/mL) ¹⁾
n-Hexane	27.7±1.6 ^{d2)3)}	48.41±2.2 ^d
Dichloromethane	1.8±0.5 ^c	1.6±0.3 ^c
n-Butanol	6.3±0.3 ^b	8.25±0.6 ^b
Water	3.2±0.5 ^c	10.68±1.1 ^b
Ascorbic acid	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a

¹⁾Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration inhibition curve.

²⁾Values are mean±SD (n=3).

³⁾Different letters in the same column indicate a significant difference by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

수 있었고, 부탄올과 물 분획물은 유의적인 차이가 없었다. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 성분이 많을수록 DPPH 라디칼 소거능도 높은 값을 보였는데, 이들이 항산화 활성과 관련이 있어 영향을 미친것으로 생각된다. Sandhiutami와 Indrayani(2012)는 부아메라를 클로로포름, 에틸아세테이트, 물로 분획하여 진행한 DPPH 실험에서 물 분획물이 높은 값을 나타내었으며 전체적으로 에틸아세테이트 분획물이 좋은 활성을 나타내었다고 보고하였다. ABTS 라디칼 소거 활성의 경우, IC₅₀ 값이 1.8~27.7 mg/mL로 나타났는데 디클로로메탄 분획물이 1.8 mg/mL로 가장 낮았으며, 두 번째로 물 분획물이 낮았다. 그다음으로는 부탄올과 헥산 분획물 순으로 나타났다. 디클로로메탄과 물 분획물은 유의적인 차이가 없었고, 디클로로메탄과 부탄올은 유의적인 차이가 있었다. ABTS 라디칼 소거 활성은 전자공여능과 상관관계가 높기 때문에 DPPH와 마찬가지로 총 페놀과 총 플라보노이드 성분이 많을수록 항산화 효과가 증가하는 것으로 생각된다(Fidrianny 등, 2014). DPPH, ABTS 라디칼 소거능 모두에서 대조구인 아스코르브산은 0.1 mg/mL의 활성을 나타내었는데, 단일물질이라는 것을 고려하면 디클로로메탄 분획물에서 높은 라디칼 소거능이 있다고 생각된다. DPPH 라디칼 소거능에서는 물 분획물이 부탄올 분획물보다 활성이 좋았으나 ABTS 라디칼 소거능에서는 부탄올 분획물이 물 분획물보다 활성이 좋았다는 점에서 두 실험은 차이를 보였지만, 공통적인 결과로는 디클로로메탄의 활성이 가장 좋은 것을 확인할 수 있었다.

항균 활성

부아메라의 항균 활성 측정 결과는 Table 6에 나타내었다. 5 mg/disc의 농도에서 *B. cereus* 균은 모든 부아메라 분획물에서 항균력이 나타났고, 디클로로메탄 분획물에서 9 mm로 가장 작은 저해환을, 물 분획물에서 16.7 mm로 가장 큰 저해환을 나타내었다. 이는 Indrawati(2016)의 연구에서 부아메라 물 분획물에서 *B. cereus* 균이 15.7 mm의 저해환을 나타내었다는 것과 비슷했다. 또한, 본 연구에서 헥산 분획물이 10.7 mm의 저해환을 나타낸 것과 Indrawati(2016)의 연구에서 헥산 분획물이 9.3 mm의 저해환을 나타내었다는 것이 비슷한 결과를 보인다.

B. subtilis 균은 물 분획물을 제외한 모든 분획물에서 항균력이 나타났고, 부탄올 분획물에서 9.3 mm로 가장 작은 저해환을, 디클로로메탄 분획물에서 16.5 mm로 가장 큰 저해환을 나타내었다. *S. aureus* 균은 모든 분획물에서 항균력이 나타났고, 디클로로메탄 분획물에서 26 mm로 가장 큰 저해환을, 헥산 분획물에서 9.7 mm로 가장 작은 저해환을 나타내었다. 부탄올 분획물에서는 16.3 mm의 저해환을 나타내었는데, 이는 Indrawati(2016)의 연구에서 부탄올 분획물이 14.39 mm의 저해환을 나타내었다는 것과 비슷했다. *E. coli* 균도 모든 분획물에서 항균력이 나타났고, 디클로로메탄 분획물에서 20.7 mm로 가장 큰 저해환을, 헥산에

Table 6. Antibacterial activities of buah merah (*Pandanus conoideus*) by various microorganism

Microorganism	Size of clear zone (mm)	
	Sample ¹⁾	Conc. (mg/disc)
		5.0
<i>B. cereus</i>	n-Hexane	10.7
	Dichloromethane	9
	n-Butanol	15.3
	Water	16.7
<i>B. subtilis</i>	n-Hexane	9.7
	Dichloromethane	16.5
	n-Butanol	9.3
	Water	ND ¹⁾
<i>S. aureus</i>	n-Hexane	9.7
	Dichloromethane	26
	n-Butanol	16.3
	Water	18.3
<i>E. coli</i>	n-Hexane	9
	Dichloromethane	20.7
	n-Butanol	10
	Water	18
<i>E. cloacae</i>	n-Hexane	12
	Dichloromethane	18.3
	n-Butanol	10
	Water	ND
<i>S. enterica</i>	n-Hexane	10
	Dichloromethane	19.3
	n-Butanol	15.3
	Water	23.7

¹⁾ND: Not detected.

서 9 mm로 가장 작은 저해환을 나타내었다. 이는 Indrawati(2016)의 연구에서 헥산 분획물이 8.94 mm의 저해환을 나타내었다는 것과 비슷했다. *E. cloacae* 균에서는 물 분획물을 제외한 모든 분획물에서 항균력이 나타났고, 디클로로메탄에서 18.3 mm로 가장 큰 저해환을, 부탄올 분획물에서 10 mm로 가장 작은 저해환을 나타내었다.

S. enterica 균은 모든 분획물에서 항균력이 나타났고, 디클로로메탄 분획물에서 19.3 mm로 가장 큰 저해환을, 헥산 분획물에서 가장 작은 저해환을 나타내었다. 또한, Herdiyati 등(2020)은 부아메라의 헥산, 에틸아세테이트, 메탄올 분획물에 대한 항균 활성을 평가했는데, 항균 플라보노이드가 화학적, 구조적인 측면에서 박테리아 분해와 같은 여러 메커니즘을 통한 항균 활성을 나타낸다고 보고하였다.

요 약

본 연구에서는 용매 분획한 부아메라 분획물의 항산화 효과에 대해 평가하였다. 수율은 1.98~85.14%로 헥산 분획물이 85.14%로 가장 높았고 두 번째로는 물 분획물, 그다음으로는 부탄올, 디클로로메탄 분획물 순이었다. 총 폴리페놀 함량은 0.6~2.0 mg/g GAE로 디클로로메탄 분획물이 2.0

mg/g GAE로 가장 높았고, 두 번째로는 헥산, 그다음으로는 부탄올과 물 분획물 순이었다. 총 플라보노이드 함량은 0.1~2.7 mg/g CE로 디클로로메탄 분획물이 2.7 mg/g CE로 가장 높았고, 두 번째로는 헥산, 그다음으로는 부탄올과 물 분획물 순이었다. FRAP 측정결과, 5.1~44.8 mM/g으로 디클로로메탄 분획물이 44.8 mM/g으로 가장 높았으며 두 번째로는 헥산, 그다음으로 부탄올과 물 분획물 순이었다. ABTS 라디칼 소거 활성능 측정결과, IC₅₀값이 1.8~27.7 mg/mL로 헥산 분획물이 27.7 mg/mL로 가장 높았고, 그다음으로 부탄올, 물, 디클로로메탄 분획물 순이었다. DPPH 라디칼 소거 활성능 측정결과 IC₅₀값이 1.5~48.4 mg/mL로 헥산 분획물이 48.48 mg/mL로 가장 높았고, 그다음으로 물, 부탄올, 디클로로메탄 분획물 순이었다. ABTS, DPPH 라디칼 소거 활성능에서 모두 디클로로메탄 분획물이 가장 낮은 값을 띠는 것을 확인할 수 있었다. 부아메라의 용매 분획에서 실험에 사용한 6가지 균주 모두에 항균 활성을 보이는 것으로 나타났다. 헥산 분획물의 경우 *E. cloacae*와 *B. cereus*에서 가장 높은 항균력을 나타내었고, 디클로로메탄 분획물의 경우 *S. aureus*와 *E. coli*에서 가장 높은 항균력을 나타내었다. 부탄올 분획물의 경우 *S. aureus*와 *B. cereus* 및 *S. enterica*에서 가장 높은 항균력을, 물 분획물에서는 *E. cloacae*와 *B. subtilis*를 제외하고 *S. enterica*와 *S. aureus*에서 가장 높은 항균력을 나타내었다. 본 연구에서는 부아메라 용매 분획 추출물들의 항산화 성분들이 어떠한 용매에 주로 포집되어 있는지 알아보기 위해 극성 용매부터 비극성 용매까지 차례대로 분획해보았다. 이를 통한 결과를 바탕으로 디클로로메탄 분획물의 활성이 가장 활발하다는 것을 알 수 있었다. 하지만 디클로로메탄층에서 수율이 가장 낮았기에 수율과 활성을 모두 고려하여 헥산층을 사용하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Bahorun T, Luximon-Ramma A, Crozier A, Aruoma OI. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J Sci Food Agric*. 2004. 84:1553-1561.
- Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996. 239:70-76.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958. 181:1199-1200.
- Choi N, Lee J, Shin HS. Antioxidant activity and nitrite scavenging ability of olive leaf (*Olea europaea* L.) fractions. *Korean J Food Sci*. 2008. 40:257-264.
- Damayanti L, Evaangelina IA, Laviana A, Herdiyati Y, Kurnia D. Antibacterial activity of buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) against bacterial oral pathogen of *Streptococcus sanguinis* ATCC10556, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212: An *in vitro* study. *Open Dent J*. 2020. 14:113-119.
- Fellegrini N, Ke R, Yang M, Rice-Evans C. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol*. 1999. 299:379-389.
- Fidrianny I, Sahar N, Ruslan K. Evaluation of antioxidant activities from various extracts of dragon fruit peels using DPPH, ABTS assays and correlation with phenolic, flavonoid, carotenoid content. *Int J Res Pharm Sci*. 2014. 5:104-111.
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*. 1912. 12:239-243.
- Han KI, Kim M, Jo BK, Kim MJ, Kang MJ, Park K, et al. Antimicrobial and antioxidative activities of the extracts from walnut (*Juglans regia* L.) green husk. *J Life Sci*. 2015. 25: 433-440.
- Herdiyati Y, Atmaja HE, Satari MH, Kurnia D. Potential antibacterial flavonoid from buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) against pathogenic oral bacteria of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Open Dent J*. 2020. 14:433-439.
- Hyndman DC. Ethnobotany of wopkaimin *Pandanus* significant Papua New Guinea plant resource. *Econ Bot*. 1984. 38:287-303.
- Indrawati I. Sensitivity of pathogenic bacteria to buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.). *Proceeding of AIP Conference*. 2016. <https://doi.org/10.1063/1.4953502>
- Jeong SJ, Kim KH, Yook HS. Whitening and antioxidant activities of solvent extracts from hot-air dried *Allium hookeri*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2015. 44:832-839.
- Jin SY. Antioxidant activities of solvent extracts from pomegranate endocarp. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2011. 40: 1635-1641.
- Kim KH, Kim HJ, Byun MW, Yook HS. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract from six vegetables containing different sulfur compounds. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012a. 41:577-583.
- Kim KH, Yun YS, Chun SY, Yook HS. Antioxidant and antibacterial activities of grape pomace fermented by various microorganisms. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2012b. 41:1049-1056.
- Kong YJ, Kang TS, Lee MK, Park BK, Oh DH. Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fractions of *Quercus mongolica* leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2001. 30:338-343.
- Lee OH, Lee HB, Son JY. Antimicrobial activities and nitrite-scavenging ability of olive leaf fractions. *Korean J Soc Food Cook Sci*. 2004. 20:204-210.
- Li HB, Wong CC, Cheng KW, Chen F. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT—Food Sci Technol*. 2008. 41:385-390.
- Limbongan J, Malik A. Peluang pengembangan buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) di provinsi Papua. *Jurnal Litbang Pertanian*. 2009. 28:134-141.
- Murtiningrum, Ketaren S, dan Kaseno S. Ekstraksi minyak dengan metode wet rendering dari buah pandan (*Pandanus conoideus* L.). *J Tek Ind Pert*. 2005. 15:28-33.
- Sandhiutami NMD, Indrayani AAW. Antioxidant activity test and determination of phenolic and flavonoid contents from *Pandanus conoideus* Lam.. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2012. 10:13-19.
- Sarungallo ZL, Hariyadi P, Andarwulan N, Purnomo EH, Wada M. Analysis of α -cryptoxanthin, β -cryptoxanthin, α -carotene, and β -carotene of pandanus conoideus oil by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Procedia Food Sci*. 2015. 3:231-243.
- Sarungallo ZL, Murtiningrum, Santoso B, Roreng MK, Latumahina RMM. Nutrient content of three clones of red fruit

- (*Pandanus conoideus*) during the maturity development. Int Food Res J. 2016. 23:1217-1225.
- Sugiritama IW, Ratnayanti IGAD, Wiryawan IGNS, Wahyuniari IAI, Linawati NM, Arijana IGKN. Effect of red fruit oil (*Pandanus conoideus* Lam) on animal model of preeclampsia. Int J Sci Res. 2016. 5:1770-1773.
- Surono IS, Nishigaki T, Endaryanto A, Waspodo P. Indonesian biodiversities, from microbes to herbal plants as potential functional foods. J Fac Agric Shinshu Univ. 2008. 44:23-27.
- Wabula RA, Seniwati, Widiastuti H. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dengan metode ferric reducing antioxidant power (FRAP). Window of Health: Jurnal Kesehatan. 2019. 2:329-337.
- Xia N, Schirra C, Hasselwander S, Forestermann U, Li H. Red fruit (*Pandanus conoideus* Lam) oil stimulates nitric oxide production and reduces oxidative stress in endothelial cells. J Func Foods. 2018. 51:65-74.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 1999. 64:555-559.