

자초(*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물의 항균특성

박옥연[†] · 장동석 · 조학래*

부산수산대학교 식품공학과
*동의공업전문대학 식품공학과

Antimicrobial Effect of *Lithospermi radix* (*Lithospermum erythrorhizon*) Extract

Uk-Yeon Park[†], Dong-Suck Chang and Hak-Rae Cho*

Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

*Dept. of Food Technology, Donggeui Technical Junior College, Pusan 614-053, Korea

Abstract

The optimum condition for the extraction of antimicrobial substance from *Lithospermi radix* was investigated. For the purpose of obtaining basic data for the development of natural preservatives and for the prevention of food poisoning accidents, its antimicrobial activity was tested against several kinds of saprophytic microbes and food poisoning bacteria. The optimum condition for extraction of antimicrobial substance was to steep *Lithospermi radix* into 95% ethanol for 24 hours at room temperature. Antimicrobial activity was observed at the pH range 5.0~8.0, but its activity became stronger at acidic condition. The result of ion exchange chromatography was showed that the antimicrobial activity of anionic portion was more apparent than that of cationic portion. The antimicrobial activity against Gram positive bacteria was stronger than that of Gram negative bacteria and the growth of food poisoning bacteria such as *S. aureus* and *V. parahaemolyticus* was inhibited in the concentration of 0.1% for 48 hours. As for mold and yeast, the growth of some kinds of these organisms was inhibited in the concentration of 0.1% for 48 hours and the growth of nearly all the fungi was inhibited in the concentration of 0.15% for 96 hours.

Key words : antimicrobial effect, *Lithospermi radix*, food poisoning bacteria

서 론

우리나라에서 많이 활용되고 있는 한약재 중에서 항균성 물질을 함유하고 있는 한약재를 검색한 결과, 자초의 에탄올 추출물이 항균성이 제일 좋음을 알았다¹⁾. 뿐만 아니라 자초는 항종양작용, 강심작용 등 각종 생리작용에 대한 보고²⁻⁵⁾가 있으나 아직까지 식

품보존에 관련된 미생물에 대한 항균작용 및 식품보존효과에 관한 보고 예는 거의 없는 실정이다. 더구나 전보에서 자초에서 에탄올로 추출한 성분이 항균력도 좋았지만, 맛이나 냄새 등을 검토한 결과 천연 보존료로 사용할 수 있을 것으로 판정되어 이 성분의 항균특성 및 추출조건들을 검토할 필요를 느꼈다. 따라서 본 연구에서는 자초에서 항균성물질을 에탄올로 추출시 추출조건 규명, pH변화에 따른 항균력의 차이, 각종 식품부패미생물이나 식중독 원인세균 등에

[†]To whom all correspondence should be addressed

대한 균종별 항균력 비교, 추출물을 이온교환 chromatography를 통한 획분별 성질규명 등을 실험하였다.

재료 및 방법

추출방법

항균성물질을 에탄올로 추출하기 위하여 냉각용축기가 설치된 삼각플라스크에 분쇄한 시료와 9배량의 에탄올을 가하여 온도별로 추출하였다. 이때 사용된 에탄올의 농도는 25%, 50%, 75%, 95%였으며, 가열온도는 상온, 50℃, 70℃로 구분하여 에탄올 농도별 및 온도별로 24시간 추출한 다음, 멸균된 여과지(Toyo No. 5A)로 여과시켜 얻은 액을 회전진공 증발기로 최초량의 1/9로 농축하여 사용하였다.

균증식 억제력 측정

시료 추출물을 농도별로 가한 액체배지에 공시균의 대수증식 중기의 배양액을 배지 10ml당 1 drop의 비율로 접종하여 균의 생육최적온도에서 배양하면서 증식여부를 육안으로 판별하여 증식억제에 필요한 최소농도(minimum inhibitory concentration: MIC)를 구하였는데, 이는 추출물을 105℃에서 항량건조시킨 후 잔류물의 무게를 측정하여 배지에 대한 첨가비율(%)로 표기하였다.

pH에 따른 항균력

시료 추출물을 농도별로 가한 액체배지를 pH 5.0~8.0으로 조정하여 다음 균증식 억제력을 조사하였다.

추출액의 정제

시료 추출물은 이온교환 chromatography를 이용하여 분리·정제를 행하였는데, 음이온 획분은 Amberlite IR-120(H⁺ form) column(1.8×50cm)을, 양이온 획분은 Amberlite IRA-400(OH⁻ form) column(1.8×50cm)을 통과시켜 얻었다.

결과 및 고찰

추출온도 및 에탄올 농도의 영향

자초로부터 항균성물질의 에탄올추출시 가열온도의 영향을 조사한 결과는 Table 1과 같다.

상온에서 추출했을 때나 70℃에서 추출했을 때, 24시간까지는 모두 *S. aureus*의 증식이 억제되었으나

Table 1. Comparison of growth inhibition activity of extracted solution* of *Lithospermi radix* on *S. aureus* ATCC 6538 growth by the extracting temperature

Extracting temp.(℃)	Conc.** (%)	Culture time (hr)	
		24	48
Room temp.	0.15	-	-
	0.10	-	-
50	0.15	-	-
	0.10	-	++
70	0.15	-	+
	0.10	-	++

* 10g of sample was extracted in 90ml of 95% ethanol at various temperature for 24hr, then filtered and concentrated into 10ml

**The concentration(%) showed the dried residue of *Lithospermi radix* extract in the broth medium

- : No growth,

+ : Slight growth,

++ : Moderate growth,

+++ : Heavy growth

48시간이 경과하였을 때에는 가열온도에 따라 항균력에 차이가 있었다. 즉, 상온추출구는 0.10% 첨가로도 *S. aureus*의 증식을 48시간 이상 억제시킬 수 있었으나, 50℃에서의 추출구는 0.15% 첨가되어야 증식이 억제되었고, 70℃추출구에서는 0.15% 첨가로도 증식억제력은 나타나지 않아 가열추출보다는 상온에서 추출하는 것이 항균력이 우수하였다.

추출시의 에탄올 농도의 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 95%추출구는 0.10% 첨가로 48시간이 경과하여도 균의 증식이 일어나지 않았으나, 50%나 75%에탄올을 사용하였을 때에는 24시간 경과시까지는 균의 증식이 거의 없었으나 48시간후에는 균의 증식을 볼 수 있었고 50%나 75%에탄올 추출물의 경우, 0.15%를 가했을 때 95%에탄올 추출물의 0.10% 경우와 같은 경향을 나타내었으며, 25%의 경우는 0.15% 첨가하여도 24시간 경과시 *S. aureus*의 증식이 있었다.

이상의 결과에서 추출시 에탄올 농도가 높을수록 그리고 가열추출보다는 상온에서 추출한 것이 항균력이 높은 것으로 나타났으므로 자초로부터 항균성물질의 추출조건으로는 95% 에탄올로 상온에서 24시간 추출을 하는 것이 좋은 것을 알 수 있었다.

Table 2. Comparison of growth inhibition activity of extracted solution* of *Lithospermi radix* on *S. aureus* growth by the concentration of ethanol

Extracting conc.(%)	Conc.** (%)	Culture time (hr)	
		24	48
25	0.15	++	+++
50	0.15	-	-
	0.10	+	+++
75	0.15	-	-
	0.10	-	++
95	0.10	-	-
	0.03	-	++

* 10g of sample was extracted in 90ml of ethanol at room temp. for 24hr, then filtered and concentrated into 10ml

pH에 따른 항균력

자초 추출물의 항균력에 대한 pH의 영향을 pH 5.0~8.0의 범위에서 *S. aureus*를 대상으로 조사한 결과는 Table 3과 같다.

추출물 0.10% 첨가구에서는 전 pH영역에서 균의 증식이 일어나지 않았으며, 0.03% 첨가시 pH 5.0에서는 균의 증식이 억제되었으나, pH 6.0~8.0의 범위에서는 증식이 일어났으므로 중성영역보다는 산성 영역에서 증식 억제력이 다소 높게 나타났다.

Table 3. Comparison of growth inhibition activity of extracted solution* of *Lithospermi radix* on *S. aureus* growth by the different pH

pH	Culture time(hr)					
	24		48			
	0.015	0.03	0.10	0.015	0.03	0.10
5.0	-	-	-	+	+	-
6.0	-	-	-	+++	+++	-
7.0	-	-	-	+++	+++	-
8.0	-	-	-	+++	+++	-

* 10g of sample was extracted in 90ml of 95% ethanol at room temp. for 24hr, then filtered and concentrated into 10ml

균종에 따른 항균력

각종 미생물에 대한 자초 추출물의 항균력은 Table 4와 같다. 자초 추출물은 실험에 사용된 모든 세균류에 대하여 항균력을 나타내었는데 특히, *S. aureus* 와 *B. cereus*에 대해서는 0.03% 첨가로도 24시간까지 균의 증식을 억제할 수 있었으며 *S. aureus*는 0.1%, *B. cereus*는 0.15% 첨가로 균의 증식을 48시간 이상 억제시킬 수 있었다. 대표적인 식중독세균인 *S. aureus* 나 *V. parahaemolyticus*균은 0.1% 첨가로 증식이 억제되었는데 이는 여름철 식중독 예방대책을 위한 흥미 있는 자료로 사료된다. 또한 林은 자초 추출물이 항

Table 4. Inhibitory concentration of the extract* of *Lithospermi radix* for the growth of various microorganisms at optimum temperature

Strains	Culture time (hr)									
	24			48			96			
	0.03	0.10	0.15	0.03	0.10	0.15	0.03	0.10	0.15	
Bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	-	++	-	-			
	<i>Bacillus cereus</i> IAM 1110	-	-	-	+++	++	-			
	<i>Streptococcus faecalis</i>	++	+	-	+++	++	++			
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229		++	-		+++	++			
	<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048		++	-		+++	++			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	++	+	-	+++	++	-			
	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6059	+	+	-	++	++	-			
	<i>Salmonella typhimurium</i>		++	-		+++	++			
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+	-	-	+++	-	-			
	Fungi	<i>Candida albicans</i> IPL 76				++	++	-	+++	+++
<i>Saccharomyces acidifaciens</i>					++	++	-	+++	+++	-
<i>Saccharomyces diastaticus</i> NCYC 361					++	-	-	+++	-	-
<i>Kluyveromyces fragilis</i>					++	+	-	+++	++	++
<i>Aspergillus parasiticus</i> ATCC 20235					++	++	-	+++	+++	-
<i>Aspergillus versicolor</i> ATCC 26268					-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium funiculosum</i> ATCC 9644					++	++	-	+++	+++	-
<i>Helminthosporium</i> spp.					++	-	-	+++	-	-

*10g of sample was extracted in 90ml of 95% ethanol at room temp. for 24hr, then filtered and concentrated into 10ml

염중작용을 나타낸다고 보고²⁻⁴⁾한 바 있는데, 본 연구에서도 자초 추출물이 *S. aureus*에 대하여 항균력이 우수한 것으로 나타나 비슷한 결과를 나타내었다. 한편 자초 추출물의 항균력은 균종에 따라서 다소간의 차이가 있었는데 공시균 중 Gram 양성균인 *S. faecalis*와 Gram 음성균인 *E. coli*, *E. aerogenes*, *S. typhimurium* 등에 효과가 적어 추출물을 0.15% 첨가하였을 경우에 이들 균들은 24시간까지는 증식이 억제되었으나 48시간 경에는 증식이 일어났다. 그러나 대체적으로 보면 자초 추출물은 Gram음성균보다는 Gram양성균에 대하여 항균효과가 좋은 것으로 사료된다.

효모나 곰팡이에 대해서는 뚜렷한 항균력의 차이는 찾아 볼 수 없었으며, 0.1% 첨가시에는 48시간 경과 하였을 때 균종에 따라 항균력이 차이가 심하였으나, 0.15% 첨가하였을 경우에는 48시간까지는 모든 진균류의 증식이 억제되었다. 특히, 곰팡이 중에서는 *A. versicolor*에 대해서 좋은 항균효과를 나타내었으며, 효모류 중에서는 *Candida*나 *Saccharomyces*속에 항균효과를 나타내었다. 그리고 0.15% 첨가하였을 경우에는 거의 모든 균종에 대하여 96시간까지도 균의 증식이 억제되는 효과를 나타내어 진균류 발육억제제의 개발 가능성도 있었다.

추출물의 정제

자초 추출물에 대한 이온교환 chromatography를 행한 결과는 Table 5와 같다.

Amberlite IR-120 양이온 교환수지를 통과시킨 액은 0.10% 첨가로 균의 증식이 억제되었으나, Amberlite IRA-400 음이온 교환수지를 통과한 액은 0.15%의 첨가로도 균의 증식이 억제되지 않아 자초의 항균력의 주체는 음이온성 물질인 것으로 추정되었다. 그런데 양이온 교환수지의 통과액도 대조구에 비해 항균력이 다소 감소된 점을 감안한다면 자초의 항균성물질에는 양이온성의 물질도 다소 함유되어 있을 것으로 생각된다.

요 약

천연보존료의 개발과 식중독 예방에 활용할 기초자료를 얻기 위하여 에탄올을 추출용매로 하여 자초로부터 항균성 물질의 최적 추출조건을 검토하고, 각종

Table 5. Inhibitory concentration for the growth of *S. aureus* of *Lithospermi radix* extract* purified by ion exchange chromatography

Treat condition	Conc. (%)		
	0.03	0.10	0.15
Control	-	-	-
Cation exchanger	+	-	-
Anion exchanger	+	+	+

* 10g of sample was extracted in 90ml of 95% ethanol at room temp. for 24hr, then filtered and concentrated into 10ml

- : No growth, + : Growth

식품부패미생물이나 식중독 원인세균에 대한 항균력을 시험한 결과는 다음과 같다. 항균성 물질은 95% 에탄올로 상온에서 24시간 추출하는 것이 제일 양호하였다. 항균력은 pH 5.0~8.0의 범위에서 나타났으나 산성영역에서 다소 높게 나타났으며, 이온교환 chromatography결과, 음이온 확분이 양이온 확분보다 항균력이 높았다. Gram양성균에 대한 균증식 억제력이 Gram음성균에서 보다 양호하였으며, 식중독 원인세균인 *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* 등에 대하여는 0.1%의 첨가로도 48시간까지 균의 증식이 억제되었다. 곰팡이나 효모류에 대하여는 0.1% 첨가하였을 경우에는 균종에 따라 48시간 이내에 균의 증식이 나타났으나, 0.15% 첨가하였을 경우에는 거의 모든 진균류에서 96시간 까지 균의 증식이 억제되었다.

문 헌

1. 박옥연 : 한약초 추출물의 항균성에 관한 연구. 부산수산대학교 석사학위논문(1991)
2. 林元英 : 紫根および當歸の薬理学的研究(第1報) - エーテルならびに水抽出エキスの薬理作用. 日本薬理学雑誌, 73, 177(1977)
3. 林元英 : 紫根および當歸の薬理学的研究(第2報) - 色素成分shikoninならびにacetylshikoninの薬理作用. 日本薬理学雑誌, 73, 193(1977)
4. 林元英 : 紫根および當歸の薬理学的研究(第3報) - エキスおよび紫雲膏局所適用の炎症反応におよぼす影響. 日本薬理学雑誌, 73, 205(1977)
5. 日本公定書協會 : 日本薬局方解説書(下). 廣川書店, D-117(1986)

(1991년 11월 23일 접수)