

## 두릅수피에서 항미생물활성을 갖는 3,4-dihydroxybenzoic acid의 분리

마승진 · 고병섭\* · 박근형

전남대학교 식품공학과, \*한국한의약연구소

### Isolation of 3,4-Dihydroxybenzoic Acid with Antimicrobial Activity from Bark of *Aralia elata*

Seung-Jin Ma, Byoung-Seub Ko\* and Keun-Hyung Park

Department of Food Science and Technology, Chonnam National University

\*Korea Institute of Oriental Medicine

#### Abstract

The methanol extracts of *Aralia elata* bark showed antimicrobial activities against bacteria, yeast, fungi. The solvent fractionated acidic fraction that showed the activity was then successively purified with silica gel adsorption column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel partition column chromatography, HPLC and TLC. The isolated major active substance was identified as 3,4-dihydroxybenzoic acid by MS, GC-MS, IR, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR. The content of 3,4-dihydroxybenzoic acid was 0.869 mg/g in dried bark of *Aralia elata*.

Key words: *Aralia elata* bark, antimicrobial activity, 3,4-dihydroxybenzoic acid

#### 서 론

부패 및 병원성 미생물에 의한 피해는 식품산업 뿐만 아니라 의약, 농업, 저장 유통산업 등 광범위한 영역에서 직면하고 있는 심각한 문제이다. 따라서, 유해 미생물에 대한 강력한 항균제가 요구되고 있다. 하지만 이런 용도로 개발된 항균제는 대부분 인공합성품으로 그 안정성이 문제로 제기되고 있다<sup>(1,2)</sup>. 최근 건강에 대한 욕구가 증대됨에 따라 인공합성품의 기피현상 또한 두드러지고 있어 안전성에 문제가 없는 항균성 물질의 개발에 관심이 집중되고 있다<sup>(3)</sup>.

이러한 취지에서 개발되고 있는 천연항균제로는 식물 추출물, 특정 단백질 및 효소류, 유기산류, bacteriocin 등이 있는데 이들은 식물이나 동물의 구성성분으로 존재하거나 대사과정 중에 또는 외부의 자극에 의해서 만들어지기도 한다<sup>(2)</sup>.

특히 식물은 매우 다양한 유용성분을 함유하고 있으며 이러한 식물자원에서 항미생물 활성물질을 찾으려는 시도가 계속되어 왔으나 우리나라에서 자생하고 있는 식물들을 대상으로 한 연구는 빈약한 실정이다.

한편, 두릅나무(*Aralia elata* SEEMANN)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 낙엽관목으로 전국 산지에 자생

하며 민가에서는 4월에 새순을 채취하여 나물로 식용하고, 한방에서는 뿌리, 과실, 수피 등을 당뇨병, 신장병, 급성간염, 류마치스성 관절염, 위암, 위장장애 등에 사용한다<sup>(4,5)</sup>.

두릅나무에 관한 연구는 주로 약리학적 측면에서 수행되어 이 등<sup>(6)</sup>은 두릅나무 근피추출물이 위염 및 위궤양에 효과가 있음을, Cheryn 등<sup>(7)</sup>은 두릅나무 추출물의 첨가에 의해 누에의 성장과 저장력이 증가됨을, Samochowiec 등<sup>(8)</sup>은 두릅나무의 saponoside가 쥐의 total lipid, cholesterol, triglyceride의 함량을 감소시킴을 보고한 바 있으며, 또한 Seifulla 등<sup>(9)</sup>과 이 등<sup>(10)</sup>은 두릅나무 추출물이 당뇨병에 효과가 있음을, 김 등<sup>(11)</sup>은 두릅나무 근피의 ethyl acetate추출물에서 혈당을 강하시키는 화합물로 oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranoside를 보고한 바 있다.

이와같이 두릅나무는 옛부터 나물로 식용되어 왔기에 안전성에 문제가 없을 것으로 예상되며 한약재로 이용되어 왔던 식물이므로 항미생물 활성을 갖는 성분의 존재 가능성이 시사되나 일부 약리학적 측면에 대해 연구가 진행되어 있을 뿐 항미생물 물질에 대한 연구는 없는 상태이다.

여기에 본 연구는 우리나라 자생식물에 함유된 항미생물 활성물질의 식품보존제 및 유용항균제로서의 이용 연구의 일환으로 두릅나무껍질에 항미생물활성 물질의 존재를 확인하고, 이 활성물질의 본체구명을 시도하였다.

Corresponding author: Keun-Hyung Park, Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, 300 Yongbong-Dong, Kwangju 500-757, Korea

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용된 두릅나무(*Aralia elata* SEMMANN)의 껍질은 전라남도 장성군 북하면 입암산에서 자라고 있는 2~5년생 두릅나무에서 3월 하순에 채취하여 실온에서 건조한 후 사용하였다.

### 추출 및 용매분획

두릅나무의 껍질 294g을 MeOH 3l에 24시간 침지시킨 후 과량의 MeOH과 함께 3회 반복하여 homogenizer (NISSEI AM-7 homogenizer)로 마쇄하면서 추출하였다. 이 추출물을 G3 Glass filter로 여과하여 얻어진 여액을 cooling aspirator(EYELA COOL ACE CA-111)가 장치된 vacuum evaporator(EYELA TYPE N-N)를 사용하여 37℃에서 감압농축하여 MeOH를 제거한 뒤 EtOAc와 buffer용액(0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-0.2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.5)으로 수상(buffer fraction)과 중성구(EtOAc-soluble neutral fraction)로 분배하였다. 수상을 0.1 M HCl을 이용하여 pH 3.0으로 조절한 뒤 다시 EtOAc로 분배하여 산성구(EtOAc-soluble acidic fraction)와 수용액구(Aqueous fraction)로 분획하고 이들 중성구, 산성구, 수용액구에 대하여 항미생물 활성을 검정하였다.

### Silica gel adsorption column chromatography

시료의 약 10배량에 상당하는 silica gel(45g, 70~230 mesh, column chromatography용, Merk사)을 CHCl<sub>3</sub>으로 slurry를 만들어 column(2.9×45 cm)에 충전시킨 후, MeOH-CHCl<sub>3</sub> 용매계로 MeOH 농도를 5%에서 10, 15, 20, 50, 100%까지 단계적으로 증가시킨 step-wise 용출 방법으로 용출분획하여 활성을 검정하였다<sup>(12)</sup>.

### Sephadex LH-20 column chromatography

Sephadex LH-20(25~100 mesh, Pharmacia사)을 MeOH-CHCl<sub>3</sub>(4:1, v/v) 용매계<sup>(13)</sup>로 하루밤 팽윤시킨 후, column(2×95 cm, bed volume 250 ml)에 충전하고 동용매계를 사용하여 용출분획하여 활성을 검정하였다.

### Silica gel partition column chromatography

Silica gel(25g, 70~230 mesh, column chromatography용, Merk사)에 16 ml의 glycine buffer(0.2 M-glycine 0.2 M HCl, pH 3)를 가하여 coating<sup>(14)</sup>시키고 *n*-hexane으로 slurry를 만들어 column(1.8×26 cm)에 충전시킨 후, *n*-hexane-EtOAc 용매계로 EtOAc농도를 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 100%까지 step-wise 용출방법으로 용출 분획하여 활성을 검정하였다.

### HPLC

시료를 박 등<sup>(15)</sup>의 방법에 따라 Sep-pak(C<sub>18</sub> type)으로 전처리하고 filter(GELMAN Acrodisc LC 13 PVDF, 0.2

μm)로 여과한 후, 100% MeOH 용매계를 이용한 Radial-Pak C<sub>18</sub>(0.8×10.0 cm)과 Delta-Pak C<sub>18</sub>(1.9×30.0 cm)을 사용하여 각각 분당 1 ml와 9 ml로 용출분획하였다.

### Thin layer chromatography(TLC)

시료를 MeOH로 녹여 TLC plate(Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 20×20 cm, 0.2 mm, Merk사)에 bending 하였다. *n*-hexane-EtOAc(1:1, v/v) 용매계와 *n*-hexane-EtOAc-AcOH(1:1:0.01, v/v) 용매계로 전개시키고 *p*-anisaldehyde를 분무하여 발색시키거나 UV(254 nm)를 이용하여 검출한 후 분리양상에 따라 분취하여 EtOAc로 용출하였다.

### MS, GC-MS

활성물질용 직접주입장치(Direct injection port, DIP)와 GC(Hewlett packard 5890 Serise II Gas chromatograph)를 장치한 Jeol JMS-AX 505 WA mass spectrometer를 사용하였으며, 이온화 EI(70 eV), source temperature 200℃, column DB-1(30 m×0.25 mm), injection temp. 220℃, column temp. 50℃에서 250℃까지 7℃/min 속도로 상승, carrier gas He(1 ml/min)의 조건에서 분석하였다. methylation 유도제화는 diazomethane으로 실시하였다.

### IR

KBr법<sup>(16)</sup>에 의하여 분석하였고 기기는 Nicolet 205 FT-IR을 사용하였다.

### <sup>1</sup>H-NMR

Varian Gemini 2000(300 MHz) <sup>1</sup>H-NMR 기기를 사용하여 분석하였고 용매는 d-DMSO를 단일 또는 D<sub>2</sub>O와 혼합하여 사용하였다.

### <sup>13</sup>C-NMR

Varian Gemini 2000(300 MHz) <sup>13</sup>C-NMR 기기를 사용하였고 용매는 d-DMSO를 사용하여 분석하였다.

### 사용 미생물

두릅나무껍질 추출물의 항미생물 활성 검색을 위해 사용된 미생물은 Gram 양성세균 6종(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100), Gram 음성세균 4종(*Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella typhimurium* ATCC 19430, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1628, *Vibrio vulnificus* CDC C7184), 효모 2종(*Candida albicans* ATCC 10231, *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1850), 곰팡이 1종(*Aspergillus flavus* KCTC 1375) 등 총 13종을 사용하였다.

**사용배지**

세균의 경우, *Vibrio vulnificus*는 LB배지(Difco), 젖산균은 Lactobacilli MRS 배지(Difco), 그 밖의 세균은 Nutrient 배지(Difco)를 사용하였고, 효모의 경우는 YM배지(Difco), 곰팡이의 경우는 Potato dextrose 배지(Difco)를 사용하였다.

**항미생물 활성 측정**

각각의 배지를 이용하여 세균은 37°C 또는 30°C에서 24시간 동안, 효모는 30°C에서 24시간 그리고 곰팡이는 30°C에서 48시간 동안 3회 반복하여 전배양을 행한 후 접종균주로 사용하였다.

항미생물활성의 검정은 paper disc(φ 8 mm, Whatman) 방법<sup>(17)</sup>으로 측정하였다. 먼저 pour-plate method<sup>(18)</sup>에 의해 45°C로 조절된 멸균배지 20 ml에 전배양액 0.1 ml를 micro pipette을 이용하여 무균적으로 옮겨 잘 혼합시킨 후 지름이 9.0 cm인 petri dish에 넣고 굳혔다. 여기에 시료의 일정 상당량을 적하하여 용매를 제거한 paper disc를 올린 뒤 0.85% 식염수(75 μl)로 확산시켜 세균은 37°C 또는 30°C에서 16시간, 효모는 30°C에서 16시간 그리고 곰팡이는 30°C에서 48시간 배양하여 paper disc 주위의 clear zone의 크기(mm)로 활성의 정도를 측정하였다. 대조구로서는 식품보존제로 광범위하게 이용되고 있는 benzoic acid를 사용하여 항미생물활성을 비교하였다.

**결과 및 고찰**

**MeOH추출물의 항미생물 활성**

건조 두릅나무껍질(수분함량 8.2%)을 MeOH로 추출

하여 두릅나무껍질 0.5g과 1.0g에 상당하는 MeOH추출물로 항미생물 활성을 검정하였다. 그 결과 Table 1에 나타난 바와 같이 젖산균을 제외한 대부분의 세균과 효모 그리고 곰팡이에 대해 활성을 보였다.

특히, Gram양성 세균중에서 *Staphylococcus aureus*와 *Staphylococcus epidermidis* 등에서 Gram음성 세균중에는 *Escherichia coli*와 *Pseudomonas aeruginosa* 등에서 또한 곰팡이인 *Aspergillus flavus*에 대해서도 비교적 강한 항미생물 활성을 나타냈다.

**Table 1. Antimicrobial activities of MeOH extracts from bark of *Aralia elata* against various microorganisms**

Microorganism	Clear zone(mm)		
	0.5g <sup>1)</sup>	1.0g <sup>1)</sup>	B.A. <sup>2)</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 5638)	16	19	14
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	15	17	11
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	11	16	12
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	12	14	12
<i>Lactobacillus plantarum</i> (KCTC 3104)	-	-	10
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (KCTC 3100)	-	-	10
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	13	16	11
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 19430)	12	15	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1628)	17	20	12
<i>Vibrio vulnificus</i> (CDC C7184)	13	15	11
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-	13	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (IFO 1850)	-	13	12
<i>Aspergillus flavus</i> (KCTC 1375)	13	18	16

<sup>1)</sup>: *Aralia elata* bark extract of g eq./disc.

<sup>2)</sup>: Benzoic Acid of 0.5 mg/disc.

-: No inhibition.

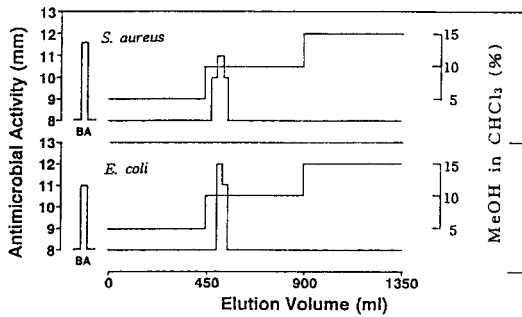
**Table 2. Antimicrobial activities of solvent fractionated fractions from bark of *Aralia elata* against various microorganisms**

Microorganism	Clear zone(mm)			
	Aqueous fr. <sup>1)</sup>	neutral fr. <sup>1)</sup>	acidic fr. <sup>1)</sup>	B.A. <sup>2)</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 5638)	-	14	20	12
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	-	14	18	17
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	-	-	19	13
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	-	12	17	13
<i>Lactobacillus plantarum</i> (KCTC 3104)	-	-	-	10
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (KCTC 3100)	-	-	-	10
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	-	-	16	12
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 19430)	-	-	15	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1628)	-	-	16	12
<i>Vibrio vulnificus</i> (CDC C1628)	-	-	15	12
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-	-	13	13
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (IFO 1850)	-	-	13	12
<i>Aspergillus flavus</i> (KCTC 1375)	-	-	22	15

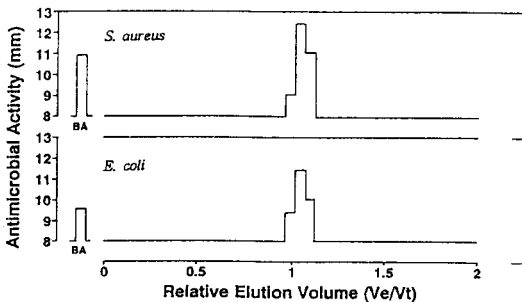
<sup>1)</sup>: The extract of *Aralia elata* bark 0.5g eq./disc.

<sup>2)</sup>: Benzoic Acid of 0.5 mg/disc.

-: No inhibition.



**Fig. 1. Distribution of antimicrobial activities after silica gel adsorption column chromatography of the EtOAc soluble acidic fraction from *Aralia elata***  
BA: Benzoic acid(0.5 mg)



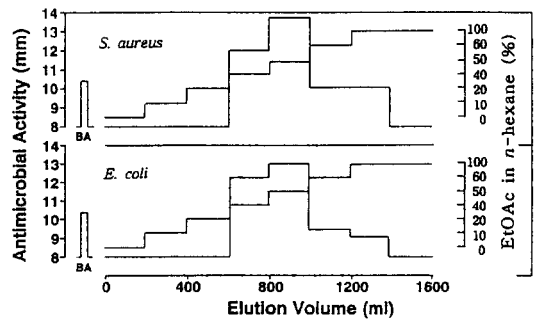
**Fig. 2. Distribution of antimicrobial activities after Sephadex LH-20 column chromatography of the active fraction from *Aralia elata***  
BA: Benzoic acid(0.5 mg)

**활성성분의 정제와 얻어진 획분의 활성**

두릅나무껍질(294g, 수분함량 8.2%)의 MeOH추출물(42.87g)을 용매분획하여 수용액구, 중성구(5.89g), 산성구(4.54g)를 얻었다. 이들 분획에 대하여 항미생물 활성을 검정한 결과(Table 2), 대부분의 활성이 산성구에서 인정되었다.

활성이 인정된 산성구(4.54g)를 MeOH-CHCl<sub>3</sub>계의 silica gel adsorption column chromatography로 분획하고 *S. aureus*와 *E. coli*를 대상으로 항미생물 활성을 검정하였다. 그 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 두 균주 모두 10% MeOH 용출획분(0.62g, 250g eq.)에서 활성이 인정되었다.

Silica gel adsorption column chromatography의 활성획분(0.62g)을 MeOH-CHCl<sub>3</sub>(4 : 1) 용매계의 Sephadex LH-20 column chromatography에 의해 분획하고, *S. aureus*와 *E. coli*를 대상으로 항미생물 활성을 검정하였다. 그 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 bed volume에 대한 elution volume의 비(Ve/Vt)가 0.96~1.15의 용출획분(0.425g, 241g eq.)에서 두 균주 모두 활성이 인정되었으며 활성분체는 용출위치로 보아 비교적 저분자 물질임이



**Fig. 3. Distribution of antimicrobial activities after silica gel partition column chromatography of the active fraction from *Aralia elata***  
BA: Benzoic acid(0.5 mg)

시사되었다.

Sephadex LH-20 column chromatography 활성획분(0.425g)에 대하여 EtOAc과 n-hexan용매계를 이용한 silica gel partition column chromatography에 의해 분획하고, *S. aureus*와 *E. coli*를 대상으로 항미생물 활성을 검정하였다. 그 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 n-hexan에 대한 EtOAc의 농도가 40%~50%의 용출획분(0.199g, 185g eq.)에서 활성의 집중이 인정되었으며, 또 이들은 결정상과 같은 모습으로 분리되었다.

Silica gel partition column chromatography에서 분리된 활성물질의 순도 및 성질을 확인하고자 MeOH용매계를 이용하여 reverse phase column(Radial-Pak C<sub>18</sub>, Delta-Pak C<sub>18</sub>)의 HPLC를 실시하였다. 그 결과 각각 retention time(t<sub>R</sub>) 3.85분과 6.85분에 모두 single에 가까운 peak를 나타내 활성물질이 대단히 정제되어 있으며, silica gel partition column chromatography의 40~50% 용출 활성획분이 동일물질인 것으로 판명되었다.

HPLC에 의해 정제된 활성물질은 n-hexane-EtOAc(1 : 1, v/v) 용매계로 TLC한 결과, R<sub>f</sub> 0.12 위치에 단일 spot를 나타냈으나 전개용매를 보다 극성을 띤 용매계(n-hexane-EtOAc-AcOH, 1 : 1 : 0.01, v/v)로 바꾸어 3번 반복하여 전개한 결과, R<sub>f</sub> 0.24 위치에 대부분의 물질이 존재하였고 R<sub>f</sub> 0.28 위치에 미량성분의 존재가 인정되었다.

**활성물질의 구조확인**

TLC에서 분리된 활성분체(R<sub>f</sub> 0.24)를 직접도입방식의 Electron impact(EI) mass분석을 한 결과 Fig. 4와 같이 molecular ion이 m/z 154에 base peak로 나타났으며, 특징적인 fragment ion이 m/z 137(M-OH), 109(M-COOH)에 나타났다. 이 spectrum으로 NIST library 검색을 실시한 결과, 3,4-dihydroxybenzoic acid의 가능성(NIST entry No. 8982)이 시사되었다.

또한 CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>로 methylation 유도체로 만든 후 EI-GC-MS 분석을 시도한 결과, retention time(t<sub>R</sub>) 16.26분에

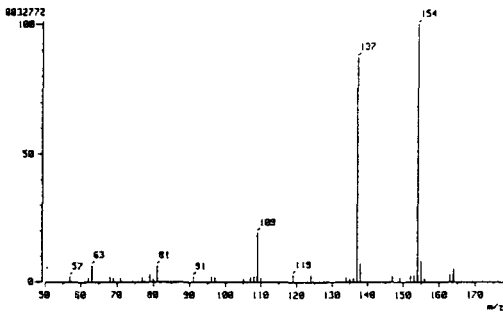


Fig. 4. Direct-EI-mass spectrum of the active substance from *Aralia elata*

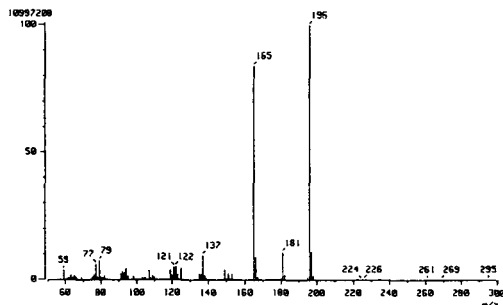


Fig. 5. EI-GC-MS spectrum of methylated active substance( $t_R$  16.26 min)

peak를 보였다. 이 peak의 mass spectrum은 Fig.5에 나타낸 바와 같이 molecular ion( $M^+$ )이  $m/z$  196(base peak)에 그리고,  $CH_3$ 가 떨어져나간  $m/z$  181과  $O-CH_3$ 가 떨어져나간  $m/z$  165에 fragment ion이 관찰되었다. 이 spectrum으로 NIST library 검색을 실시한 결과, OH기와 COOH기가 methylation된 3,4-dihydroxybenzoic acid (NIST entry No. 17780)인 것으로 판명되어 활성물질을 methylation하여 EI-GC-MS 분석을 시도한 결과 역시 이 물질이 3,4-dihydroxybenzoic acid임을 확인하여 주었다.

KBr법<sup>(16)</sup>에 의하여 IR분석을 행한 결과, 3400~3600  $cm^{-1}$  사이에서 OH기 stretching에 기인하는 흡수를 나타냈으며, 1692  $cm^{-1}$ 에서 benzyl의 C=O기 stretching에 기인하는 흡수가 그리고 1620, 1600, 1540  $cm^{-1}$  등에서 aromatic의 이중결합에 기인하는 흡수가 관찰되어 benzoic acid에 -OH가 결합되어 있는 물질임을 시사하였다.

d-DMSO를 용매로 사용하여  $^1H$ -NMR을 측정한 결과,  $\delta$ : 6.78(1H, d,  $J=8.36$  Hz), 7.27(1H, dd,  $J=6.22$  and 1.92 Hz), 7.33(1H, d,  $J=1.92$  Hz), 9.24(1H, br s), 9.62(1H, br s)에서 proton이 관찰되었으며  $D_2O$ -d-DMSO를 용매

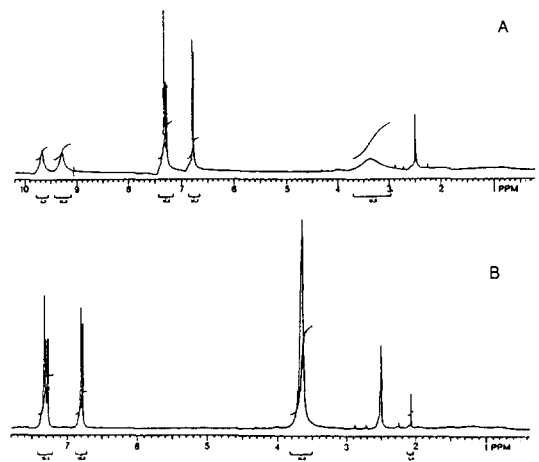


Fig. 6.  $^1H$ -NMR spectra of the active substance from *Aralia elata*

A: used in d-DMSO as solvent  
B: used in d-DMSO- $D_2O$  as solvent

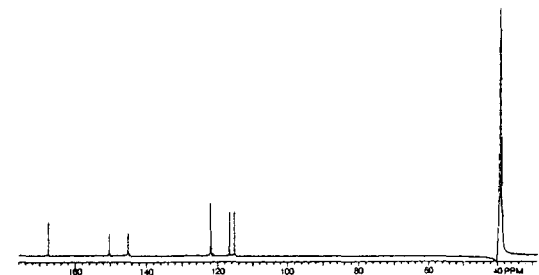


Fig. 7.  $^{13}C$ -NMR spectrum of the active substance from *Aralia elata*

ring proton( $\delta$ : 6.78, 7.27, 7.33)과 2개의 hydroxyl기의 proton( $\delta$ : 9.24, 9.62)이 인정되었다(Fig. 6).

또한 d-DMSO 용매를 사용하여  $^{13}C$ -NMR을 측정한 결과(Fig. 7)  $\delta$ : 167.49에서 C=O의 carbon으로 인정되는 peak가 관찰되었으며  $\delta$ : 150.15, 145.00, 121.92, 126.66, 116.55, 115.16의 위치에서 aromatic carbon을 확인하였다. 그리고 이들 spectra는 3,4-dihydroxybenzoic acid의 Aldrich library spectra(2, 1116 B)와 일치하였다.

이상의 IR,  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR의 분석에서 얻어진 spectra 또한 3,4-dihydroxybenzoic acid의 구조를 갖고 있는 것으로 나타내, 두릅나무 껍질로부터 항미생물 활성물질로 분리된 활성분체는 3,4-dihydroxybenzoic acid로 동정되었다.

3,4-dihydroxybenzoic acid는 *Alnus* spp.(오리나무 속) 등에서 존재가 확인된 물질<sup>(19)</sup>로, 항산화 활성<sup>(20)</sup> 등이

것도 처음으로 생각된다.

특히 3,4-dihydroxybenzoic acid는 건조 두릅껍질 g당 0.869 mg이나 함유되어 있어, 이 물질의 생합성 경로 및 두릅배양세포를 이용한 물질생산연구의 좋은 재료가 될 것으로 기대된다.

## 요 약

두릅나무(*Aralia elata* SIEBEMANN) 껍질의 MeOH추출물이 세균과 효모, 곰팡이에 대해 항미생물 활성을 보여 solvent fractionation, silica gel adsorption chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel partition chromatography, HPLC, TLC 등의 기법으로 주 활성본체를 분리하였다. MS, GC-MS, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 등의 기기분석을 통해 항미생물 활성의 본체구명을 시도한 결과 3,4-dihydroxybenzoic acid로 동정되었다. 3,4-dihydroxybenzoic acid가 항미생물 활성본체로서 분리된 것은 처음으로 생각되며 두릅에서 이 물질이 분리, 동정된 것도 처음으로 생각된다. 건조 두릅껍질 g당 3,4-dihydroxybenzoic acid의 함량은 0.869 mg 정도이었다.

## 감사의 말

본 연구는 농업생물신소재연구센터의 지원으로 수행된 연구결과의 일부이며 이에 연구센터와 과학재단당국에 감사드립니다.

## 문 헌

1. 조순영, 유병진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이응호: 수산 미이용자원 중에 존재하는 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, **26**, 261 (1994)
2. 신동화: 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업, **23**, 68 (1990)
3. 김선재, 박근형: 식물성 김치재료 추출물의 항미생물 효과. 한국식품과학회지, **27**, 216 (1995)

4. 육창수: 한국약품식물자원도감. 진명출판사, p.272 (1981)
5. 이창복: 대한식물보감. 향문사, p.575 (1985)
6. 이은방, 정춘식: 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구. 약학회지, **37**, 581 (1993)
7. Cheryn, S.I. and Iukhtanov, V.A.: Control of the stability and productivity of the *Mulberry Silkworm* using steroids compounds.
8. Samochowiec, L.: Pharmacological study of the saponosides from *Aralia mandshurica* Rupr. et maxim. and *Calendula officinalis*. *L. Herba Pol.*, **29**, 151 (1983)
9. Seifulla, H.I.: Lekarstvennie sredstva iz rasteniy. *Medgiz Mosco*, 278 (1962)
10. 이명렬, 이장순, 서화중: 두릅나무 추출물이 Alloxan으로 유발된 가토의 고혈당에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, **17**, 57 (1988)
11. 김옥경, 이은방: 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구. 생약학회지, **24**, 213 (1993)
12. 박근형, 김선재, 박종대, 이관숙, 현규환: 벼종자의 brassinosteroid 활성물질. 한국농화학회지, **36**, 376 (1993)
13. 박근형, 김선재, 현규환: 결명자의 brassinosteroid 활성물질. 한국농화학회지, **36**, 99 (1993)
14. Park, K.H., Sakurai, A. and Takahashi, N.: Gibberellin production in cultured cells of *Nicotiana tabacum*. *Plant and Cell physiol.*, **24**, 1241 (1983)
15. 박근형, 김선재, 현규환: 옥수수 종실의 brassinosteroid 활성물질탐색. 한국생물공학회지, **8**, 300 (1993)
16. Douglas, A.S. and Donald M.W.: Principles of Instrumental Analysis. 2ng. ed., p.209 (1980)
17. Zaika, L.L.: Spices and herbs. Thier antimicrobial activity and it's determination. *J. Food Safety*, **9**, 97 (1988)
18. Harrigan, W.F. and Margaret E.M.: Laboratory methods in food and dairy. *Microbiology*, Academic Press, p.25 (1976)
19. Djerassi, C., Connolly, J.D. and Faulkner, D.J.: *Dictionary of natural products*. volume 3, Chapman & Hall chemical database, p.1557 (1994)
20. 김정숙, 이기동, 권중호, 윤형식: 산사 향산화성 물질의 분리 및 동정. 한국농화학회지, **36**, 154 (1993)

(1995년 8월 11일 접수)