

오미자추출물의 *Listeria monocytogenes*에 대한 항균효과

이신호 · 임용숙
대구효성가톨릭대학교 식품공학과

Antimicrobial Effects of *Schizandra chinensis* Extract against *Listeria monocytogenes*. Shin Ho Lee and Yong Suuk Lim. Department of Food Science and Technology, Catholic University of Taegu-Hyosung, Hayang 713-702, Korea - To development food preservative, antimicrobial activities of *Schizandra chinensis* (SC) against *Listeria monocytogenes* Scott A, *L. monocytogenes* Brie I and *L. monocytogenes* ATCC 19111 were investigated. The growth of *L. monocytogenes* Scott A, *L. monocytogenes* Brie I and *L. monocytogenes* ATCC 19111 was inhibited apparently in Tryptic Soy Broth (TSB) containing 1% SC at 35°C and it was found that these had antibacterial effects against a broad spectrum of pathogenic bacteria such as *S. aureus* ATCC 29737, *B. subtilis* KCTC 1021, *E. coli* ATCC 11775. The growth of *L. monocytogenes* was also inhibited about 3 to 5 log₁₀ cycle by 0.1% of three fractions of the alcohol extract such as ether, ethyl acetate and butanol. Acidic, weakly acid and neutral fraction of ether fraction showed inhibitory properties against *L. monocytogenes*.

1980년대에 들어와 전세계에 걸쳐 집단 식중독을 일으키고 있는 *Listeria monocytogenes*는 특히, 식품의 가공 및 저장 중에 생존, 성장하여 식중독의 발생에 관여하므로 중요한 문제점이 되고 있다. *L. monocytogenes*는 그람 양성 간균으로서 통성혐기성균이며 편모를 가지고 있어서 운동성이 활발하며 토양, 물, 사료 또는 동물의 분변 등 자연 환경에 널리 분포되어 있어 특히, 우유 관련 제품과 함께 육류, 생선, 야채, 각종 가공 식품에 오염되어 사람과 동물에게 유산, 패혈증, 또는 화농성 뇌막염 등 Listeriosis를 유발시키는 치명적인 병원성 세균으로 알려져 있다(1, 2). 또한 저온에서 성장이 가능하며 열처리 공정에서 생존할 수 있어 식품 위생학적인 측면에서 관심이 집중되고 있는 것이다. 미생물의 증식을 억제하는 보존제로 인공 합성품이 상업적으로 사용되고 있으나 근래 소비자의 건강 지향적 욕구의 증대와 안정성의 문제로 인해 인공 합성 보존제의 기피 현상이 두드러지고 있다. 이러한 문제점에 대처하기 위해서 안정성에 문제가 되지 않는 천연의 항미생물 활성 물질의 개발에 관심이 집중되고 있으며, 근래에 들어서 우리나라에서 많이 활용되고 있는 한약재중 항세균 효과를 갖는 성분에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(3-10). 오미자(*Schizandra chinensis*)는 목련과의 낙엽 덩굴로 우리나라에서는 산골짜기에서 자라고 일본, 만주, 중국 등에 분포 하는 것으로 그 열매가 신맛이 강하고 약용으로 쓰여지고 있으며 한국산이 약용으로 가장 좋다고 한다. 따라서 본 연구

에서는 식품 및 식품제조 환경에서 문제가 되고있는 *L. monocytogenes*의 성장 억제 방안을 모색코져 한의학 서적 및 과학문헌에서 그 약효가 인정되어 질병의 치료용 약재로 이용되는 오미자(11, 12)의 추출물을 이용하여 식품 부패 미생물인 *L. monocytogenes*에 대한 항균력을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

시험균주로서는 *L. monocytogenes* Scott A, *L. monocytogenes* Brie I 그리고 *L. monocytogenes* ATCC 19111를 Tryptic Soy Agar(TSA, Difco) Slant에 접종하여 35°C, 24시간 2회 계대배양하여 사용하였다.

에탄올 추출

사용된 재료는 대구시 약전 골목에서 구입한 오미자를 정선, 세척, 분쇄하여 사용하였다. 오미자 에탄올 추출은 냉각 응축기가 설치된 삼각 플라스크에 시료와 에탄올을 1:9의 비율로 넣고 상온에서 24시간 동안 추출한 다음, 여과시켜 얻은 액을 회전 진공 증발기(Heidolph WB 2000)로 최초량의 1/9로 농축하여 추출 원액으로 사용하였으며 추출액은 membrane filter(0.45 µm)로 멸균 처리하여 사용하였다.

추출물의 분획

에탄올로 추출한 오미자 농축물을 methanol과 H₂O를 5:1(v/v)로 녹인 후 ether, ethyl acetate, butanol을 사용하여 Fig. 1과 같은 방법으로 용매 분획을 실시하였으

*Corresponding author

Tel. 82-53-850-3217, Fax. 82-53-850-3217

E-mail: leesh@cuth.cataegu.ac.kr

Key words: *Listeria monocytogenes*, Antimicrobial effects, Ethanol extract of *Schizandra chinensis*(SC)

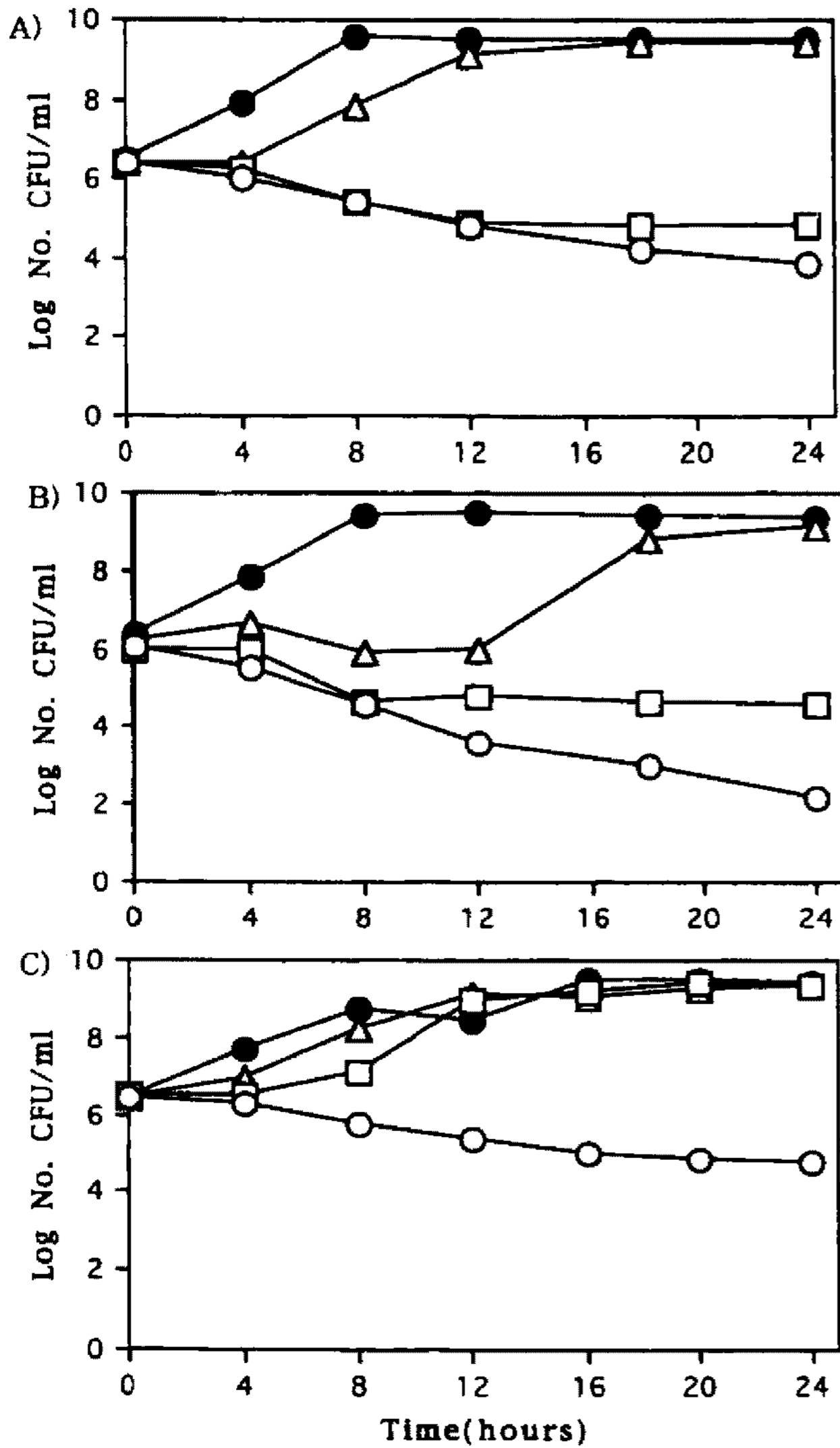


Fig. 4. Growth of *Listeria monocytogenes* in TSB containing various concentrations of *Schizandra chinensis* at 35 °C. A: Scott A, B: Brie I, C: ATCC 19111. —●— 0%, —△— 0.1%, —□— 0.5%, —○— 1%.

%)에 따른 항균효과는 *L. monocytogenes* Scott A와 *L. monocytogenes* Brie I에 대해서 0.1% 첨가시 유도기에서 약간의 증식 저지 경향을 나타내었으나 대수기 이후부터는 대조구와 비슷한 경향을 나타내었다. 0.5%와 1% 첨가구의 경우 뚜렷한 증식 억제 효과를 보였다. 그러나 시험 균주 *L. monocytogenes* ATCC 19111은 0.1%와 0.5%첨가시 대조구와 비슷한 경향을 나타내었으며 1%에서는 뚜렷한 증식 저지 효과를 보였다. 에탄올이 *L. monocytogenes*의 성장에 미치는 효과를 검토하기 위하여 생균수 측정 결과(Fig. 5) 오미자 추출액 1% 첨가구의 경우 3 균주 공히 뚜렷한 억제 현상을 나타내었으며 에탄올 1% 첨가구의 경우 대조구와 유사한 경향을 나타내어 오미자 추출물에 의한 *L. monocytogenes*의 성장 억제 현상은 추출 용매에 기인한 것이 아니라 추출액에 함유되어 있는 항균성 물질에 기인된 것으로 판단되었다. 한 등(15)은 식용 식물 추출물중 증식 저해의 정도는 각각 차이가 있으나 *L.*

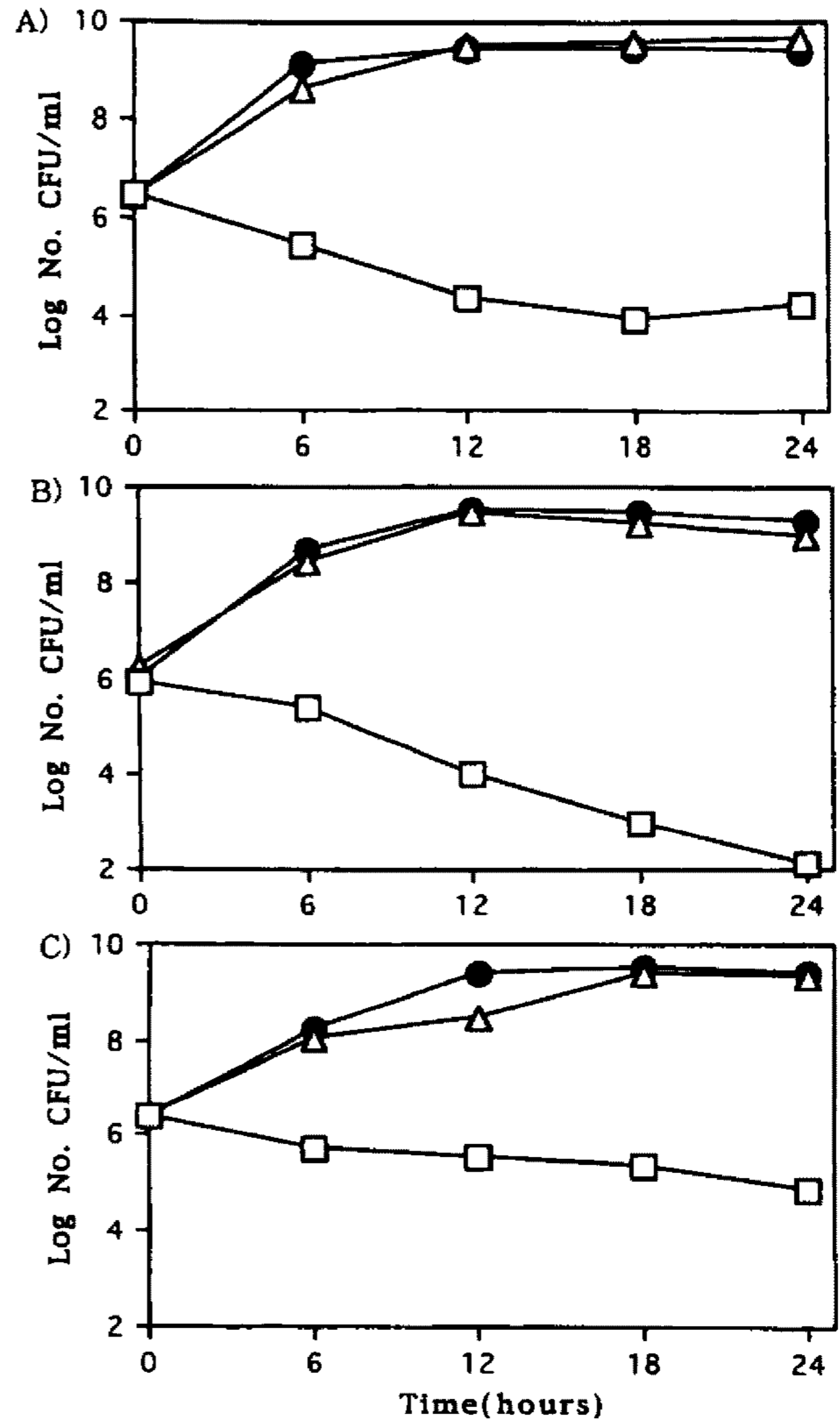


Fig. 5. Effects of ethanol on growth of *Listeria monocytogenes* at 35 °C. A: Scott A, B: Brie I, C: ATCC 19111. —●— 0%, —△— ethanol 1%, —□— omija extract 1%.

*monocytogenes*에 대해 고삼 및 꿀풀 추출물 2000 ppm 첨가구가 초기 12시간 까지 상당한 증식 저해 현상을 보였고, 뽕나무 추출물은 100 ppm에서 12시간까지 증식 억제가 뚜렷하였으며 500 ppm 이상에서는 완전한 증식 억제 현상을 나타냈다고 보고하였다. 한 등(16)은 뽕나무와 고삼 에탄올 추출물 500~1000ppm이 *L. monocytogenes*의 생육을 억제하였다고 보고하였다. 이는 시험 균주와 추출 방법, 그리고 각 식물 추출물 등의 차이로 인해 증식 저해 정도가 각각 차이를 나타낸 것이라 사료되었다. 오미자의 구성 유기산의 농도 0.1% 첨가구와 오미자 1% 첨가구의 pH는 5.81로 거의 유사하였으나 *L. monocytogenes*의 성장은 상이한 결과를 나타내어 오미자 주요 구성 유기산으로 오미자 추출액 1% 첨가구와 동일한 pH로 조절하여 *L. monocytogenes* 3시험 균주의 성장을 비교 검토한 결과(Fig. 6) malic acid, citric acid, succinic acid, fumaric acid, itaconic acid 첨가구의 경우 각 유기산별 정도의 차

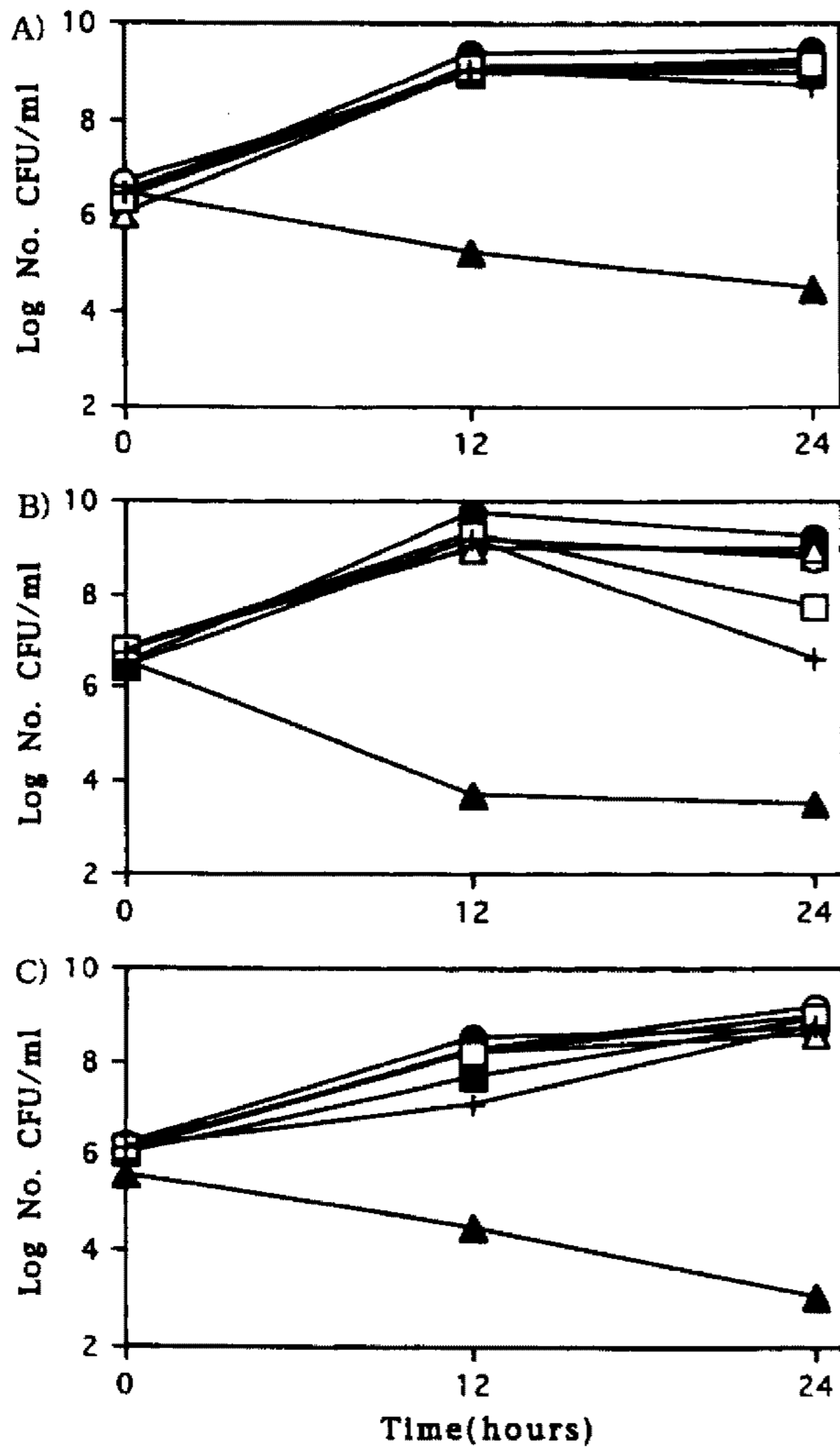


Fig. 6. Growth of *Listeria monocytogenes* in TSB containing various organic acids or *Schizandra chinensis* at 35°C. A: Scott A, B: Brie I, C: ATCC 19111. —●— control, —▲— omija extract 1%, —■— fumaric acid, —○— malic acid, —△— citric acid, —□— succinic acid, —+— itaconic acid.

이는 있었으나 대조구와 뚜렷한 차이를 관찰할 수 없었다. 반면 오미자 추출액 1% 첨가구의 경우 배양 초기부터 *L. monocytogenes* 3 균주 모두 서서히 감소하는 경향을 나타내어 유기산으로 pH를 조절한 처리구에 비해 뚜렷한 성장 억제 효과를 나타내었다. 이상의 결과로 보아 *L. monocytogenes*에 대한 오미자의 항균력은 오미자 구성 유기산에 의해서도 일부 기인된다고 볼 수 있으나 오미자에 함유되어 있는 다른 성분의 효과가 더욱 클 것으로 판단되었으며 이에 관한 연구는 더 진행되어야 할 것으로 사료되었다. Kent 등은(17) 온도에 관계없이 *L. monocytogenes*의 성장 억제 최대 pH는 citric acid가 4.4이하였다고 보고하였으며, 특히 Conner 등(18)은 cabbage juice를 pH 5.6으로 조정하여 *L. monocytogenes*를 10⁸ CFU/ml 접종하여 배양한 결과 pH 4.8의 범위에서 생존하였다고 보고하였고, Polla 등은(19) *L. monocytogenes* Scott A가 pH 3.5에서 생존한다고 보고하였음에도 불구하고

Table 1. Logarithmic viable cell count of *Listeria monocytogenes* in TSB containing various alcohol fractions after incubation for 12 hours at 35°C (log No. CFU/ml)

	Incubation time (hrs)	Control	Scott A	Brie I	ATCC 1911
Ether	0	6.39±0.21*	6.46±0.23	6.41±0.12	6.39±0.13
	12	9.52±0.20	4.12±0.08 (5.40)	5.13±0.08 (4.39)	3.87±0.24 (5.65)
Acetate	0	6.13±0.15	6.41±0.09	6.42±0.07	6.42±0.20
	12	9.17±0.17	6.22±0.14 (2.95)	5.92±0.03 (3.25)	4.95±0.12 (4.22)
Butanol	0	6.46±0.15	6.21±0.12	6.07±0.17	6.02±0.07
	12	9.37±0.12	6.07±0.04 (3.30)	5.70±0.19 (3.67)	5.60±0.15 (3.77)

() log reduction. *Mean ± Standard deviation (n=3).

본 실험에서는 오미자 1% 첨가구의 pH가 5.8임에도 뚜렷한 성장 억제 효과를 보여 *L. monocytogenes*에 대한 오미자의 균 저해 효과는 지금까지 보고된 대로 오미자의 산에 의한 pH 저하의 효과 때문이 아니라 산 이외의 다른 성분이 있을 것으로 추측되었다.

여러 분획물의 항균효과

생육 저해환을 나타낸(Fig. 3) ether, ethyl acetate, butanol 분획물을 TSB에 1% 농도로 첨가하고 3 균주의 *L. monocytogenes*를 35°C에서 12시간 배양한 후 생균수 측정으로 비교한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 ether, ethyl acetate, butanol 분획물 모두 *L. monocytogenes* 3시험 균주에 대해 뚜렷한 성장 억제 현상을 나타내었다. 균주에 따라, 분획물의 종류에 따라 항균력은 상이하였으나 대부분 3~5 log cycle만큼 *L. monocytogenes*의 성장을 억제하였다. 특히 ether 분획물이 ethyl acetate나 butanol 분획물에 비해 뚜렷한 억제 현상을 나타내었다. Ether 분획물의 각 균주에 따른 log reduction은 *L. monocytogenes* Scott A에 대해 5.4, *L. monocytogenes* Brie I에 대해서는 4.39, 그리고 *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대해서는 5.65를 나타내어 다른 분획물에 비해 각각 1~2 log cycle 정도 더 억제하는 경향을 나타내었다. 오미자의 *L. monocytogenes*에 대한 항균력을 나타내는 물질은 여러 가지 물질의 복합적인 작용에 기인된다고 추정되나 특히 ether 층에 함유되어 있는 물질이 항균력이 강한 것으로 판단되었다. 일반적으로 ether에는 lipids, essential oil, 색소 등과 같은 성분이 추출된다. 그러나 추출 성분이 어느 획분에 완전 분리되는 것이 아니라 그 양은 다르지만 수개 획분에 걸쳐서 나타나기 때문에 정확히 어떠한 성분이 *L. monocytogenes*에 대하여 강한 항균력을 나타내는지 알 수 없었다. 한지숙 등(16)은 뽕나무 추출물의 chloroform 및 ethyl acetate 분획들은 실험 균주 *L. monocytogenes* 모두에 대해 뚜렷한 증식 억

Table 2. Logarithmic viable cell count of *Listeria monocytogenes* in TSB containing ether fractions after incubation for 12 hours at 35 °C (log No. CFU/ml)

Ether fraction	Incubation time (hrs)	Control	Scott A	Brie I	ATCC 1911
Ether acidic fraction	0	6.22±0.08*	6.03±0.24	6.23±0.21	6.26±0.08
	12	9.44±0.21	9.28±0.02 (0.16)	9.16±0.13 (0.28)	8.39±0.20 (1.05)
Ether weakly acidic fraction	0	6.27±0.14	6.02±0.03	6.30±0.21	6.27±0.26
	12	9.44±0.21	4.52±0.11 (4.92)	5.76±0.21 (3.68)	2.68±0.03 (6.76)
Ether neutral fraction	0	6.24±0.04	6.30±0.21	6.26±0.11	6.41±0.10
	12	9.44±0.16	9.13±0.10 (0.24)	9.13±0.08 (0.24)	7.74±0.11 (1.63)

() log reduction. *Mean±Standard deviation (n=3).

제 효과를 보였고 고삼은 *L. monocytogenes* ATCC 19113 균주에 대하여 chloroform 분획물이 비교적 높은 항균성을 보였다고 보고하였다. 알코올 분획 중 항균력이 가장 높게 나타난 ether 분획물을 다시 3 fraction(acidic, weakly acidic, neutral fraction)으로 나누어 TSB에 각 1% 농도로 첨가하여 *L. monocytogenes* 3시험균주를 35 °C에서 12시간 배양한 후 생균수의 변화를 조사한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 ether acidic, ether weakly acidic, neutral fraction 모두 3 균주에 대해 성장 억제 현상을 나타내었다. 각 분획물의 각 시험 균주에 따른 log reduction은 ether acidic 분획물의 경우 *L. monocytogenes* Scott A에 대해 0.16, *L. monocytogenes* Brie I에 대해서는 0.28, 그리고 *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대해서는 1.05을 나타내었으며, neutral 분획물은 *L. monocytogenes* Scott A에 대해 0.24, *L. monocytogenes* Brie I에 대해 0.24, *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대해서는 1.63을 나타내었다. 특히 ether weakly acidic 분획물은 *L. monocytogenes* Scott A에 대해 4.92, *L. monocytogenes* Brie I에 대해 3.68, *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대해서는 6.76의 log reduction을 나타내어 다른 분획물에 비해 3~6 log cycle 이상의 뚜렷한 항균효과를 나타내었다. Ether acidic 분획물에는 schizandrin, ether weakly acidic 분획물에는 정유, neutral 분획물에는 지방산과 같은 성분이 추출되어 나올 수 있다. 그러나 추출 성분이 어느 획분에 완전 분리되는 것이 아니기 때문에 정확히 어떠한 성분이 특별히 *L. monocytogenes*에 항균력을 나타내는지에 대해서는 좀 더 심도있는 연구가 진행되어야 할 것이다.

요 약

오미자 중의 항균성 물질을 검색할 목적으로 에탄올 추출물이 *L. monocytogenes*의 상이한 3균주의 증식에 미치는 영향을 살펴보았다. 오미자 에탄올 추출물은 *L. monocytogenes* 3시험 균주의 성장에 대해 뚜렷한 항균 활성을 나타내었다. 기타 다른 병원성 미생물 *S. aureus* ATCC 29737, *B. subtilis* KCTC 1021, *E. coli* ATCC

11775에 대해서도 성장 저해를 나타내었다. 오미자 추출물의 ether, ethyl acetate, butanol 분획물 0.1% 첨가에 의해 *L. monocytogenes*의 성장은 약 3~5 log cycle 억제되었다. 항균력이 가장 높게 나타난 ether 분획물의 acidic, weakly acid, neutral fraction 모두 *L. monocytogenes*의 성장을 억제하였으며 특히 weakly acid fraction의 항균효과가 더욱 뚜렷하였다.

참고문헌

1. Faber, J. W. and Johnston, M. A. 1989. A survey of various food for the presence of *Listeria species*. *J. Food Prot.* **52**: 456.
2. Watkins, J. and Sleath, K. P. 1981. Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sewage, sewage sludge and river water. *J. Appl. Bacteriol.* **50**: 1.
3. 광이성, 양재원, 이광승. 1993. 일부 병원성 미생물에 대해 항균활성을 보이는 생약의 탐색. *식품위생학회지* **8**: 141-145.
4. 박수웅, 김연작. 1979. 생약재에 의한 식품보존에 관한 연구. *한국농화학 회지* **22**: 91-96.
5. 이병환, 신동화. 1991. 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색. *한국식품과학회지* **23**: 200-204.
6. 이병환, 신동화. 1991. 식품 부패미생물에 대한 천연 항균성물질의 농도 별 및 분획별 항균 특성. *한국식품과학회지* **23**: 205-211.
7. 이인란, 박홍순. 1987. 황금탕의 항균작용. *생약회지* **18**: 249-253.
8. 이홍용, 김치경, 성태경, 문택규, 임치주. 1992. 유백피 추출물의 항세균 작용. *산업미생물학회지* **20**: 1-5.
9. 박옥연, 장동석, 조학래. 1992. 한약재 추출물의 항균효과 검색. *한국영양 식량학회지* **21**: 91-96.
10. 박옥연, 장동석, 조학래. 1992. 자초(*Lithospermum erythrorhizon*)추출 물의 항균 특성. *한국영양식량학회지* **21**: 97-100.
11. 김경임, 남주형, 권태완. 1973. 오미자의 일반성분, 유기산 및 Anthocyanin 색소에 관하여. *한국식품과학회지* **5**: 178-182.
12. 오상룡, 김성수, 민병용, 정동효. 1990. 구기자(*Lycium chinensis* Miller), 당귀(*Angelica acutiloba* Kitag), 오미자(*Schizandra chinensis* Bailon), 오갈피(*Acanthopanax ses-*

- siliiflorum* Seeman) 추출물의 유리당, 유리아 미노산, 유기산 및 탄닌의 조성. 한국식품과학회지 **22**: 76-81.
13. 신현경, 신옥호, 구영조. 1992. 감자 단백질이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 영향. 산업미생물학회지 **20**: 249-256.
 14. Carl Vanderzant and Don F. Splittstoesse. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, third edition, 80.
 15. 한지숙, 신동화, 윤세억, 김문숙. 1994. *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용가능한 식물 추출물의 검색. 한국식품과학회지 **26**: 545-551.
 16. 한지숙, 신동화. 1994. *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 뽕나무 및 고삼 에탄올 추출물의 분획별 효과. 한국식품과학회지 **26**: 539-544.
 17. Kent, M. Sorrells, Davin, C, Enigl and John, R. Hatfield. 1989. Effect of pH, acidulent, time, and temperature on the growth and survival of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* **52**: 771-776.
 18. Conner D. E., Brackett L. R. 1986. Effect of temperature, sodium chloride and pH on the growth of *Listeria monocytogenes* in cabbage juice. *J. Applied and Environmental Microbiology.* **52**: 59-63.
 19. Polla, S, Ita and Robert, W. Hutking. 1991. Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth containing acetic, lactic, citric, and hydrochloric acids. *J. Food Prot.* **54**: 15-19.

(Received 18 February 1997)