

## 산초로부터 항균성 화합물의 분리 및 동정

김순임 · 한영실\*

부경대학교 식품생명과학과, \*숙명여자대학교 식품영양학과

## Isolation and Identification of Antimicrobial Compound from Sancho (*Zanthoxylum Schinifolium*)

Soon-Im Kim and Young-Sil Han\*

Dept. Food and Life Science, Pukyong National University Pusan, 608-737, Korea

\*Dept. Food and Life Science, Sookmyung Women's University Seoul, 140-742, Korea

### Abstract

Antimicrobial activity of Sancho (*Zanthoxylum schinifolium*) was investigated. Methanol extract of dried Sancho was fractionated to hexane, chloroform, ethylacetate, butanol, and aqueous fractions. Chloroform fraction among these fractions showed the highest inhibitory effect on the microorganisms such as *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus plantarum* at 1000 µg/ml. Chloroform fraction was further fractionated into 4 fractions by silica gel column and thin layer chromatography (TLC). The fraction 3 on TLC exhibited the highest antimicrobial activity. In the 2nd fractionation, subfraction 2 was identified as hexadecanoic acid by MS, <sup>1</sup>H-NMR and IR.

Key words: sancho, antimicrobial activity, chloroform fraction, hexadecanoic acid

### I. 서 론

식품산업의 급격한 발전과 식품의 가공식품화, 인스탄트화로 식품의 저장기간을 연장하고 상품가치를 높이기 위해 식품보존제의 사용이 증가하고 있으나 대부분의 보존제는 화학적 합성품으로 그 안전성이 문제가 되고 있다. 따라서 인공합성 보존료 대신 식용 식물 및 생약 등의 천연물로부터 특정성분을 추출하여 천연식품보존제를 개발하려는 시도가 이루어지고 있다<sup>[4]</sup>. 최근 우리나라에서도 천연물 성분연구에 대한 관심이 고조되어 일부 약용으로 이용되고 있는 자초, 황백, 유백피, 방기 등의 한약재 추출물에 대한 항균성이 많이 보고되고 있다<sup>[5-7]</sup>. 외국에서는 음식에 향을 내기 위해 사용하였던 향신료의 항균작용에 관한 연구가 많이 이루어져 왔는데<sup>[8-15]</sup>, 이들 향신료들의 항균작용은 향신료로부터 추출한 정유성분이 항균성을 나타내는 것으로 알려져 있다.

식품의 조리시 첨가하는 우리나라 전통 향신료 중 산초(*Zanthoxylum schinifolium*)는 향기성분을 많이 함유하고 있는 것으로 잎과 열매에 기름샘이 있어서 특이한 향기와 매운 맛이 난다<sup>[16]</sup>. 우리나라와 일본 및 중

국에서는 봄, 가을에 산초의 새잎을 채취하여 국에 넣어 먹고 종자는 가을에 채취하여 빵이나 민물고기국에 조미료로 넣어 사용하고 있을 뿐만 아니라, 한약재 등에 넣어 약용으로도 사용하고 있다<sup>[17]</sup>.

따라서 본 연구에서는 천연보존료 개발의 일환으로 우리나라 전통 향신료로 이용되어온 산초를 이용하여 식품부패미생물의 성장억제를 검토하고, 항균성을 나타내는 물질을 분리, 동정하였기에 그 결과를 보고한다.

### II. 재료 및 방법

#### 1. 재료

본 실험에 사용된 산초(*Zanthoxylum schinifolium*)는 경남 합천에서 1994년 9월에 채취한 것을 구입하여 전조시킨 후 잎과 열매를 blender로 마쇄하여 사용하였다. 인공합성 보존료로는 Sodium propionate(Yakuri Pure Chemicals Co./Japan)를 사용하였다.

#### 2. 사용균주 및 배지

본 연구에 사용한 균주는 gram 음성균으로 오염의 지표균인 동시에 부패세균인 *Escherichia coli* ATCC

11229, gram 양성균으로서 enterotoxin을 생성하여 식중독의 원인이 되는 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, 자연계에 널리 분포하여 식품의 변질과 관련이 있는 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 그리고 유산균으로 발효식품의 숙성보다는 산패를 일으켜 식품을 변질시키는데 관여하는 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108을 선정하여 사용하였다. 배지는 *E. coli*, *S. aureus* 그리고 *B. subtilis*는 tryptic soy broth(TSB)와 nutrient agar (NA)를 사용하였고, *L. plantarum*은 lactobacillus MRS broth와 agar를 사용하였다.

### 3. 시약

추출과 silicagel column chromatography용 용매는 시약용 1급을 사용하였고 Thin layer chromatography (TLC) plate는 Merck(Art. 5721, DC-Fiertig platten kieselgel 60)를 구입하여 사용하였다.

### 4. 추출방법 및 추출물의 분획

분말화한 시료를 MeOH로 환류냉각시키면서 80°C 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 MeOH extd.를 얻었다.

산초(9 kg)은 Fig. 1과 같이 MeOH로 추출하여 1.2 kg를 얻었다. 이 추출물을 중류수에 혼탁한 후 hexane을 가하여 분획한 후 여과 감압농축하여 추출물 375 g을 얻었다. 이와 같은 방법으로 chloroform, ethylacetate, butanol 및 물로 극성이 낮은 용매에서 극성이

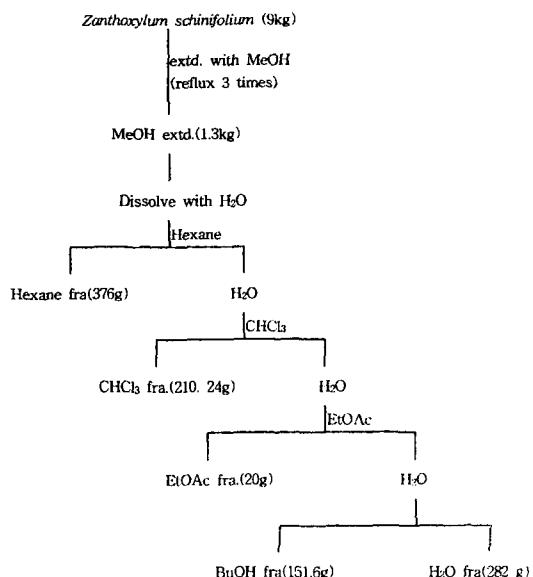


Fig. 1. Solvent fractions from methanol extract of Sancho (*Zanthoxylum schinifolium*).

높은 용매로 순차적으로 계통분획하여 chloroform 추출물 210 g, ethylacetate 추출물 20 g, butanol 추출물 151 g 그리고 물 추출물 282 g을 얻었다.

### 5. 항미생물 활성 측정

본 연구에 사용된 4종의 실험균주는 모두 사면배지에 계대배양하면서 사용하였다. *E. coli*, *S. aureus* 그리고 *B. subtilis*는 nutrient agar를 사용하였고, *L. plantarum*은 lactobacillus MRS broth와 agar를 사용하였다. 사면배지에 배양한 균주를 1백금이 취해 TSB와 MRS broth 10 ml가 든 시험판에 접종하여 37°C에서 8시간 배양하여 10<sup>5</sup> colony forming unit(CFU)/ml가 되도록 멸균 중류수로 10배 희석법으로 연속적으로 희석하여 조정한 후 0.1 ml씩 접종하였다.

배지에 첨가되는 각 분획 추출물의 최종농도가 500, 1000, 1250과 1500 µg/ml가 되도록 추출물을 첨가한 후 희석한 균주를 0.1 ml 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 분광광도계를 사용하여 660 nm에서 optical density(OD)를 측정하였다. 저해력은 다음 식에 의해 의해 산출하였다<sup>18)</sup>. 이때 blank는 각 시료를 농도별로 첨가한 것으로 하였다.

% inhibitory effect

$$= \frac{(\text{control}-\text{control blank}) - (\text{treatment}-\text{treatment blank})}{(\text{control}-\text{control blank})}$$

### 6. 항균성 물질의 분리

(1) Silica gel column chromatography와 Thin layer chromatography(TLC)

산초의 chloroform fraction을 Fig. 2와 같이 silicagel

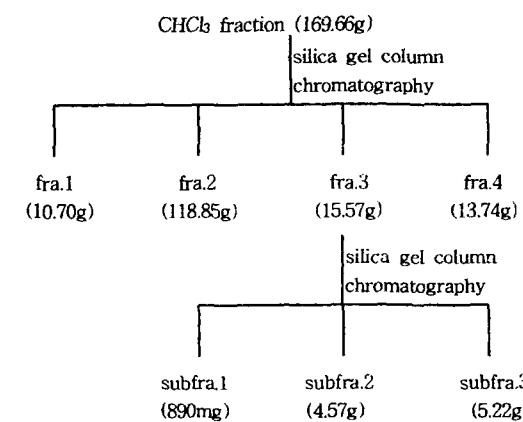


Fig. 2. Fractionation and isolation of chloroform extract of Sancho (*Zanthoxylum schinifolium*).

column chromatography( $10\text{ cm} \times 1\text{ m}$ )를 이용하여 분리하여 Thin layer chromatography(TLC)로 각 분획물을 전개시켜 4개의 fraction을 얻었다. TLC plate는 MeOH : CHCl<sub>3</sub> = 1 : 9의 전개용매로 전개시켰다. 4개의 fraction을 다시 4개의 시험균주를 이용하여 항균성이 높게 나타난 3번째 fraction을 silicagel column chromatography( $5\text{ cm} \times 75\text{ cm}$ )와 TLC를 이용하여 3개의 subfraction을 얻었다(Fig. 2).

### 7. Gas chromatography

3개의 subfractions은 Shimadzu GC-9A를 이용하여 분리하였다. preparative column은 SE-30 5% S 30-60, AW-DMCS( $10\phi \times 1\text{ m}$ )를 사용하였다. 분석시 carrier gas는 N<sub>2</sub>를  $25\text{ ml}/\text{min}$ 의 속도로 유출시켰으며, 온도는  $60^\circ\text{C}$ 에서 30분 유지후 다음과 같은 linear temperature programmer하에서  $250^\circ\text{C}$ 까지 승온시켰다(F. Temp  $100^\circ\text{C}$ ,  $250^\circ\text{C}$ , P. Rate  $5^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $2.5^\circ\text{C}/\text{min}$ , F. Time 10 min).

### 8. 항균성 물질 분석

FT-IR spectrum은 Bio-Rad사의 FTS-60을 사용하여 KBr pellet법으로 측정하였다.

Proton nuclear magnetic resonance spectrophotometer (<sup>1</sup>H-NMR) spectrum은 Bruker AMX-500 MHz NMR 을 사용하여 측정하였으며, 화학적 이동은 내부 표준 물질로 tetramethylsilane(TMS)를 사용하여 parts per million(ppm)단위로 측정하였다.

Mass spectrum(MS)은 Hewlett-Packard 5890 II Gas Chromatograph와 연결된 Hewlett-Packard 5988 MS를 사용하였다. column은 ultra-2 column( $50\text{ m} \times 0.2\text{ mm} \times 0.33\text{ }\mu\text{m}$ )을 사용하였으며, column 온도는  $40^\circ\text{C}$ 에서 4분 유지시킨 후  $200^\circ\text{C}$ 까지  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  승온시킨 다음  $320^\circ\text{C}$ 까지  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  속도로 승온시켰다. 주입온도는  $300^\circ\text{C}$ 였고 ion source temperature는  $200^\circ\text{C}$ 였으며 electron energy는  $70\text{ eV}$ 였다. 이동상은 Helium( $0.5\text{ ml}/\text{min}$ )을 사용하였다.

### 9. 상승효과

야생식물의 추출물을 식품보존제와 병용하였을 때 기대되는 상승효과를 측정하기 위하여 sodium propionate(Yakuri Pure Chemicals Co./Japan)의 최소농도보다 낮은 농도(3%)와 산초의 MeOH 분획을 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 씩 부가하여 각각 미생물을 접종한 후 배양하여 inhibitory effect를 측정하여 그 상승효과를 측정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 추출물의 분획별 항균성

전조시켜 분말화한 산초로부터 MeOH 추출물 1.2 kg을 얻었다. MeOH 추출물에 대한 농도별 항균효과를 Table 1에 나타내었다. G(+)인 *B. subtilis*와 *S. aureus*는 1500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 완전히 저해된 반면 G(-)인 *E. coli*는 1250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 완전히 저해되었으며 유산균인 *L. plantarum*은 1500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 첨가에서도 높은 저해효과를 보이지 않았다. 일반적으로 정유성분은 G(-) bacteria보다 G(+) bacteria에 대한 항균력이 훨씬 더 높다고 하였다<sup>19,21)</sup>. 하지만 본 연구에서는 G(-)인 *E. coli*가 MeOH 추출물에 대해 더 민감하게 반응하였으며 유산균이며 G(+)인 *L. plantarum*이 가장 저항성이 높게 나타났다. 따라서 세균성장 저해의 경향은 균주의 형태에 의해 영향을 받는다고 확인하기는 어렵다. 이러한 경향은 김 등의 연구<sup>22)</sup>에서 볼 수 있는데 김은 car-

Table 1. Antimicrobial activity of methanol extract and solvent fractions from methanol extract of Sancho on the growth of *B. subtilis*, *E. coli*, *L. plantarum* and *S. aureus*

Fraction No.	Conc. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Antimicrobial effect (%)			
		<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>S. aureus</i>
Methanol	1500	100	100	46.72	100
	1250	85.74	100	37.64	84.35
	1000	68.63	73.20	25.36	69.69
	500	63.67	40.20	11.04	53.48
Hexane	1500	72.72	74.18	38.31	81.84
	1250	71.96	72.00	32.73	74.72
	1000	71.20	67.91	33.06	69.10
	500	67.50	37.84	12.73	59.33
Chloroform	1500	100	100	61.75	100
	1250	100	100	35.45	100
	1000	100	100	38.30	100
	500	66.54	54.35	16.59	52.47
Ethyacetate	1500	100	100	50.37	100
	1250	100	100	32.30	100
	1000	100	100	23.54	95.03
	500	30.32	100	23.60	11.80
Butanol	1500	29.36	42.00	27.61	23.11
	1250	28.57	40.40	22.28	25.47
	1000	29.09	41.31	16.81	20.94
	500	25.52	34.07	14.53	19.51
Water	1500	17.29	22.86	20.53	31.24
	1250	12.06	20.98	24.00	31.18
	1000	6.03	19.00	19.36	31.09
	500	4.74	13.36	11.11	21.12

vacrol을 비롯한 8종의 정유성분의 병원성미생물에 대한 항균성 검색에서 G(-) *Vibrio vulnificus*가 이들 정유성분에 대하여 가장 민감한 반응을 보인 반면 G(+)인 *Listeria monocytogenes*가 가장 큰 저항성을 보였다고 하였다. Kubo 등<sup>23)</sup> 올리브오일의 휘발성분 중  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated aldehyde가 G(-)세균의 경우 MIC가 12.5~200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 비해 G(+) 세균은 6.25~800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 MIC를 보여 G(+) 세균의 저항성이 더 높게 나타났다고 하였다. 또한 유산균은 다른 G(+) bacteria 보다 항균성을 가진 향신료나 항균제에 대해 민감성이 적다고 하였는데 이는 유산균이 향신료나 정유성분의 항균효과에 대한 저항성을 가지고 있으며, 향신료가 유산균에 대해 자극적인 효과를 나타내어 성장을 억제시키거나 산을 생성시키는 결과를 나타내기 때문이라고 한다<sup>24,26)</sup>. 본 연구에서도 발효식품의 산폐를 일으키는 *L. plantarum* 이 *B. subtilis*와 *S. aureus*와 비교해 볼 때 산초의 MeOH 추출물에 대해 높은 저항성을 보였다.

실험군주에 대한 항균성을 보인 MeOH 추출물에서 항균성 물질을 분리할 목적으로 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 물 순으로 분획하여 그 항균성을 검색하였고 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 산초의 항균성 물질은 어느 특정 용매에만 한정되어 활성을 나타낸 것이 아니라 일부 다른 용매들에서 활성을 보였는데 실험 대상균에 대하여 chloroform과 ethylacetate 분획 추출물에서 비교적 높은 활성을 나타내었다. chloroform 추출물은 *B. subtilis*, *S. aureus*와 *E. coli*를 모두 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 완전히 성장을 억제하였고, *L. plantarum*에 대해서는 부분적인 저해효과를 보였는데 1500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 61.75%의 성장 저해효과를 보였다. 또한 ethylacetate 추출물도 4종의 실험대상균주

에 대해 높은 저해효과를 나타내었는데 *B. subtilis*에 대해서는 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서, *S. aureus*는 1250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 그리고 *E. coli*에 대해서는 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 3군주의 성장을 완전히 저해하였다. 하지만 *L. plantarum*에 대해서는 chloroform 추출물의 경우와 마찬가지로 1500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 첨가에서도 50.37% 정도의 저해효과만 나타내었다. 따라서 산초의 항균성을 추출용매별로 살펴보면 chloroform이 가장 높았고 그 다음이 ethylacetate이며 hexane, butanol 그리고 물 순으로 활성이 낮았다. 이 등<sup>27)</sup>은 31종의 식물을 에탄올과 물로 추출하여 얻은 추출물로 *B. subtilis*와 *L. plantarum* 등에 대한 항균성을 검색하였는데 거의 대부분 에탄올 추출물의 항균성이 물 추출물보다 항균성이 높았다고 하였다. 또한 Hong 등<sup>28)</sup>은 유백피의 butanol 분획에서 *B. subtilis*에 대한 강한 항균성이 있다고 보고하였으며, 이 등<sup>30)</sup>은 느릅뿌리의 chloroform 분획에서 항균효과를 보였다고 하였다. 본 연구에서는 산초의 chloroform 분획에서 항균효과를 보이고 있다. 따라서 일반적으로 극성보다는 비극성인 용매에 용해되는 성분이 높은 항균성을 보인다고 사료된다.

## 2. Chloroform 분획의 항균성

chloroform 추출물을 silicagel column chromatography (10 cm × 1 m)한 후 Thin layer chromatography(TLC)를 실시하여 분리한 4개의 fraction의 항균성은 Fig. 3, 4와 같다. 각 fraction은 최종농도가 250, 500, 750 그리고 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 배지에 첨가한 후 10<sup>5</sup>/mL의 4종의 군주를 0.1 mL씩 접종하였다. 4개의 fraction 중 fra.3이 가장 강력한 성장저해력을 보였다. *B. subtilis*는 500, 750, 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 각각 92.35%, 94.78%,

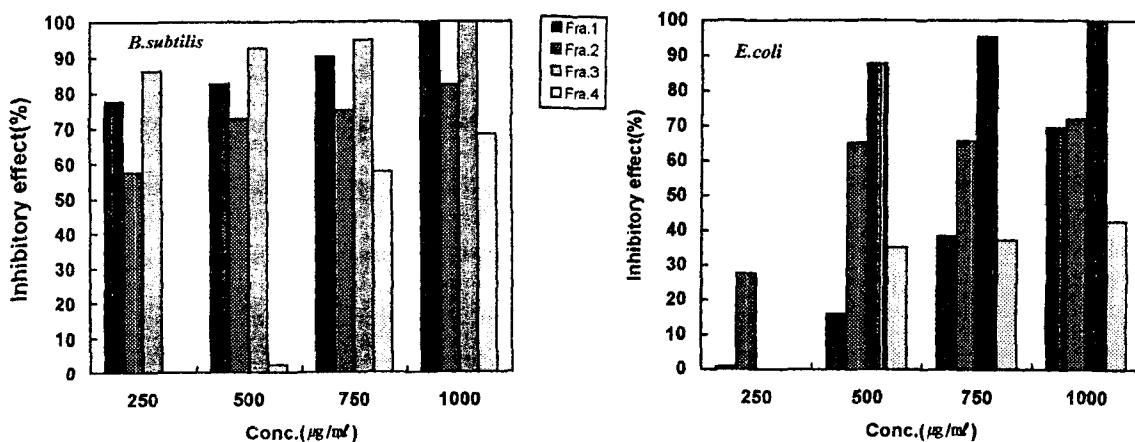


Fig. 3. Antimicrobial effect of chloroform in sancho on the growth of *B. subtilis* and *E. coli*.

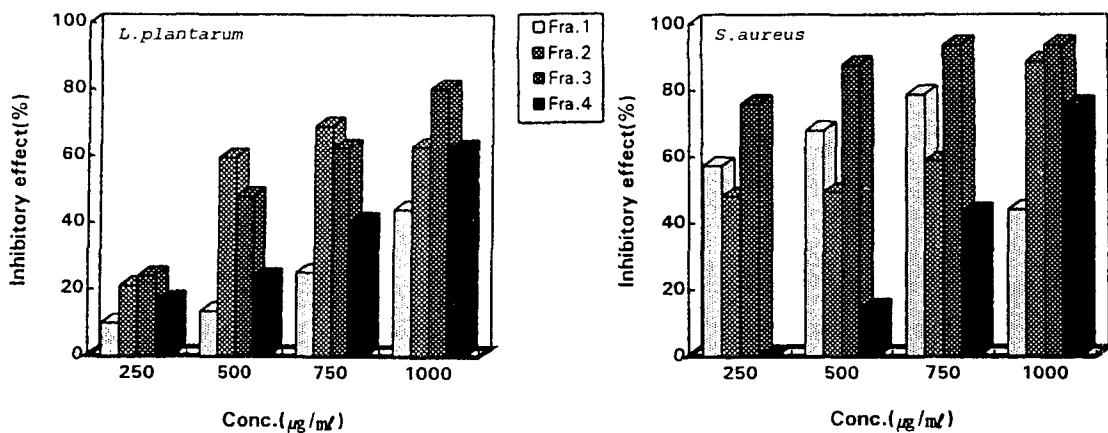


Fig. 4. Antimicrobial effect of chloroform fraction in sancho on the growth of *L. plantarum* and *S. aureus*.

Table 2. Antimicrobial activity of CHCl<sub>3</sub> subsfraction from methanol extract of Sancho on the growth of *B. subtilis*, *E. coli*, *L. plantarum* and *S. aureus*

Fraction No.	Conc. (μg/ml)	Antimicrobial effect (%)			
		<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>S. aureus</i>
subfra. 1	1000	68.94	72.40	75.39	65.74
	750	57.28	55.67	56.58	54.35
	500	42.33	33.20	47.74	39.69
	250	22.73	29.99	48.50	22.48
subfra. 2	1000	72.80	77.29	84.49	76.87
	750	59.73	64.67	66.53	31.89
	500	46.67	45.95	69.11	34.93
	250	27.76	34.86	35.53	26.56
subfra. 3	1000	48.77	65.67	61.95	88.19
	750	43.64	64.88	58.10	76.09
	500	33.95	59.00	51.04	75.40
	250	28.01	39.05	38.47	53.28

99.84% 저해되었으며, *E. coli*는 750 μg/ml에서는 95.37% 저해되었고, 1000 μg/ml에서는 성장이 완전히 저해되었으며, *S. aureus*는 750과 1000 μg/ml에서 93.75%와 93.76%로 비슷하게 저해되었다. 또한 *L. plantarum*도 전술한 용매별 추출물의 경우보다 성장이 더 억제되었는데 1000 μg/ml에서 80.44%로 억제되었다. 따라서 높은 항균력을 보인 fra.3을 다시 silicagel column chromatography(5 cm × 75 cm)와 TLC plate를 이용하여 3개의 분획을 얻어내었다. 얻어낸 3개의 분획을 4종의 미생물로 항균성을 살펴본 결과는 Table 2와 같다. subfra. 2는 1000 μg/ml의 농도에서 *E. coli*, *S. aureus* 그리고 *B. subtilis*에 대해 77.29%, 76.87% 그리고 72.80%의 저해력을 보임으로써 분획

한 fraction 중 가장 높은 항균력을 나타내었다. 이상의 결과에서 볼 때 *B. subtilis*, *S. aureus* 그리고 *E. coli*에 대하여 산초 chloroform 추출물이 높은 항균성을 보임을 알 수 있었으며, chloroform 1차 분획 추출물에 비해 2차 추출물들의 항균력이 저하하는 것으로 보아 항균성에 관여하는 물질은 단일 물질이라고 생각하기는 어렵다고 사료되며 이들 subfraction들을 조합하면 훨씬 더 높은 항균효과를 내리라고 생각된다.

### 3. 분리된 활성성분의 구조결정

산초의 메탄을 추출물로부터 용매분획한 chloroform 분획으로부터 항균성을 보인 subfra. 2의 성분은 FT-IR, NMR 그리고 GC-MS로 Hexadecanoic acid라는 화합물로 동정되었다. IR spectrum에서는 3431 cm<sup>-1</sup>에서 OH가 넓게 흡수되었으며, 1708 cm<sup>-1</sup>에서 ν(C=O)가 관찰되었으며, 2926 and 2854 cm<sup>-1</sup>에서 Aliphatic CH 흡수가 있었으며, 1458 cm<sup>-1</sup>에서 CH<sub>2</sub>, 그리고 Methyl absorption은 1377 cm<sup>-1</sup>에서 관찰되었다(Fig. 5). CDCl<sub>3</sub>를 용매로 사용하여 <sup>1</sup>H-NMR을 실시한 결과, δ3.48과 3.66에서 singlet의 proton<sup>1</sup>], δ2.34(2H, triplet, J=7.5 Hz), 그리고 δ1.23(3H, d, J=12.37 Hz)에서 proton<sup>1</sup> 관찰되었다(Fig. 6). GC-MS(m/z) 분석을 한 결과 Fig. 7과 같이 molecular ion(M<sup>+</sup>) m/z 256에 나타났다. 이상의 IR, <sup>1</sup>H-NMR, MS의 분석에서 얻어진 결과에서, 산초로부터 분리된 항균성 물질은 Hexadecanoic acid로 동정되었다. 일반적으로 탄소수 12-18의 중급 지방산들이 가장 효과적인 항균성을 보이며<sup>29</sup> 일부는 살균력이 있으나 대부분 정균작용이 있다고 알려지고 있다. 이들의 항균성은 지방산의 비해리분자가 세균의 세포내로 침투되어 물질이동과 oxidative phosphorylation system을 저해하기

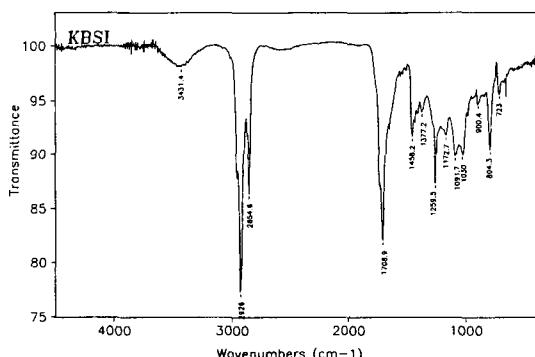


Fig. 5. IR spectrum of antimicrobial compound in sancho.



Fig. 6. NMR spectrum of antimicrobial compound in sancho.

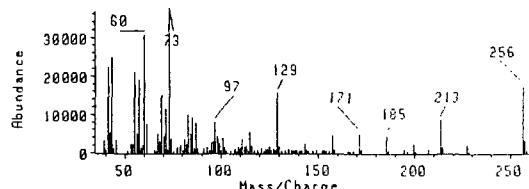


Fig. 7. GC/MS spectrum of antimicrobial compound in sancho.

때문이라고 한다<sup>30)</sup>.

#### 4. 인공합성 식품보존료의 항균성

인공합성식품보존제로 사용되고 있는 sodium propionate를 0.5, 1, 3, 5%의 농도로 TSB와 MRS배지에 첨가하여 4종의 시험균주에 대한 항균성을 Table 3에 나타내었다. *B. subtilis*, *E. coli* 그리고 *S. aureus*는 3%에서 68.83%, 71.19%, 91.32% 저해되었으며, 5% 농도에서는 3균주 모두 완전히 저해되었다. 이에 비해 *L. plantarum*은 5% 첨가군에서 50.87% 저해되었다.

#### 5. 상승효과

Table 3. Antibacterial activity of the sodium propionate and Sancho, and combination of sodium propionate and Sancho

Test chemical	con- cen- tra- tion	Antimicrobial effect (%)			
		<i>B.</i> <i>subtilis</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>L. plan-</i> <i>tarum</i>	<i>S.</i> <i>aureus</i>
Sodium propionate	0.5%	8.82	23.68	0.97	16.90
	1%	33.97	47.74	4.58	42.96
	3%	68.83	71.19	8.89	91.32
	5%	100	100	50.87	100
MeOH ext. of Sancho	1000 (μg/ml)	68.63	73.20	25.36	69.69
Combination sodium propionate (3%) + sancho (1000 μg/ml)		100	100	29.2	100

산초 1000 μg/ml와 sodium propionate 3%를 혼합하여 4종의 시험균주에 대한 항균성을 Table 3에 나타내었다. 산초와 sodium propionate 단독으로 사용하였을 때는 *L. plantarum*을 제외한 3균의 성장이 68.63, 73.20 69.69% 저해되었지만, 두 화합물의 조합으로 의해 이들 미생물들의 성장이 완전히 억제되었다. 이러한 상승효과는 인공합성보존제인 sodium chloride와 oregano와의 조합에서도 볼 수 있는데 Akgül 등<sup>31)</sup>의 보고에 의하면 sodium chloride는 *Aspergillus flavus*, *A. niger* 등의 곰팡이에 대한 항진균력에 있어서 5% 첨가와 oregano 2% 첨가에서도 저해력을 보이지 않았는데 sodium chloride 2%와 oregano 1.5%와의 조합으로 인해 30일 이상이나 이들 곰팡이의 성장이 전혀 나타나지 않았다고 하였으며, Kubo 등은<sup>32)</sup> 녹차에 많이 함유되어있는 linalool, δ-cadinene, geraniol, nerolidol과 indole과의 조합으로 *S. mutans*에 대한 MIC가 2-4배로 떨어졌다고 하였다. 그리고 R. L. Buchanan and A. J. Shepherd<sup>33)</sup>는 *A. niger*와 *R. stolonifer*에 대한 citral과 cinnamic aldehyde 및 menthol과의 조합에 의한 상승효과를 보고하였다.

#### IV. 요 약

천연물에 존재하는 항균성 물질을 이용하여 천연식품보존제를 개발하고자 한약재 및 민간요법으로 사용되어온 우리나라 전통 향신료인 산초의 항균성을 검색한 결과 클로로포름 분획에서 *B. subtilis*, *E. coli*, *L. plantarum* 및 *S. aureus* 등 4종의 균주에 대해 모두 1000 μg/ml에서 가장 큰 저해능을 보였으며, 에틸아세

테이트 분획 또한 *B. subtilis*와 *E. coli*에 대해서 각각 1000 µg/ml과 500 µg/ml에서 성장이 억제되었다. 가장 큰 활성을 보인 클로로포름층을 다시 분획하여 4그룹으로 나누어 항균성을 검색한 결과 3번 분획에서 4군 주에 대해 750 µg/ml에서 성장저해효과를 보였다. chloroform 2차 분획에서 활성이 높게 나타난 sub-fraction No. 2는 IR, NMR, 그리고 GC/MS를 이용하여 분석한 결과 hexadecanoic acid로 동정되었다.

### 감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지원 연구비로 수행된 1994 한·독 국제공동연구 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Beuchat, L.R. and Golden, D.A.: Antimicrobial occurring naturally in foods. *Food Technol.*, **43**: 134 (1989).
- 이병완, 신동화: 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성물질의 검색. *한국식품과학회지*, **23**: 200 (1991).
- 이병완, 신동화: 식품부패미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균 특성. *한국식품과학회지*, **23**: 205 (1991).
- 천화정: 세균의 증식과  $\alpha$ -amylase 활성을 미치는 방아 향기성분의 영향. 부산여자대학교 석사학위논문 (1994).
- 박옥연, 장동석, 조학래: 한약재 추출물의 항균효과 검색. *한국영양식량학회지*, **21**: 91 (1992).
- 박옥연, 장동석, 조학래: 자초(Lithospermum erythrorhizon) 추출물의 항균특성. *한국영양식량학회지*, **21**: 97 (1992).
- 이홍용, 김치경, 성태경, 문택규, 임치주: 유백피 추출물의 항세균 작용. *20*: 1 (1992).
- Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S. and Kurata, H.: Inhibitory effects of Spices on Growth and Toxin Production of Toxigenic Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, Apr. 818 (1980).
- Karapinar, M. and Aktug, S.E.: Inhibition of food-borne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. *International J. Food Microbiology*, **4**: 161 (1987).
- Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R. and Takahara, Y.: Antifungal Activity of Components of Essential Oils. *Agric. Biol. Chem.*, **45**: 945 (1981).
- Conner, D.E. and Beuchat, L.R.: Effects of Essential Oils from Plants on Growth of Spoilage Yeasts. *J. Food Sci.*, **49**: 429 (1984).
- Mabrouk, S.S and El-Shayeb, N.M.A.: Inhibition of Aflatoxin Formation by Some Spices. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **171**: 344 (1980).
- Llewellyn, G.C., Burkett, M.L. and Eadie, T.: Potential Mold Growth, Aflatoxin Production, and Antimycotic Activity fo Selected Natural Spices and Herbs. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**: 955 (1981).
- Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S. and Ueno, I.: Inhibitory Effects of Condiments and Herbal Drugs on the Growth and Toxin Production of Toxigenic Fungi. *Mycopathologia*, **66**: 161 (1978).
- Karapinar M.: Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *International J. Food Microbiology*, **10**: 193 (1990).
- 이덕봉: 한국동식물도감, 식물편(유용식물). 문교부, 368 (1961).
- 김정한, 이경석, 오원택, 김경례: 초피(*Zanthoxylum piperitum* DC)의 과피와 잎의 방향성분. *한국식품과학회지*, **21**: 562 (1989).
- K.J. Klindworth, D.M. Davidson, C.J. Brekke, A.L. Brekke and A.L. Branen: Inhibition of *Clostridium perfringens* by Butylated Hydroxyanisole. *J. Food Sci.*, **44**(2): 564 (1979).
- Maruzzella J.C. and Sicurella N.A.: Antibacterial activity of essential oil vapors. *J. Am. Pharm. ASSOC.*, **49**: 692 (1960).
- Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F. M. and El-Baroty, G. S. A.: Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.*, **52**: 665 (1989).
- Lemos, T.L.G., Matos, F.J.A., Alencar, J.W., Craveiro, A.A., Clark, A.M. and McCheesney, J.D.: Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytother. Res.*, **4**(2): 82 (1990).
- Jeong mok Kim, Maurice R. Marashall and Cheng-i Wei: Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **43**: 2839 (1995).
- Aya Kubo, Christopher S. Lunde, Isao Kubo: Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **43**: 1629 (1995).
- L.A. Shelef: Antimicrobial effects of spices. *J. Food Safety*, **6**: 28 (1983).
- Mark A. Daeschel: Antimicrobial substances from Lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol. Januuary*: 164 (1989).
- Laura L. Zaika, John C. Kissinger and Aron E. Wasserman: Inhibition of lactic acid bacteria by herbs. *J. Food Sci.*, **48**(6): 1455( 1983).
- 이병완, 신동화: 식품부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성물질의 검색, *Korean J. Food Sci. Food Technol.*, **13**: 1 (1991).

- Technol.*, **23**(2): 200-204 (1991).
28. 홍남두, 노영두, 김남재, 김진식: 유백피의 약효연구. *생약학회지*, **21**: 217 (1990).
29. Jay, J.M.: Food preservation with chemicals. In "Modern Food Microbiology," 3rd ed., p. 257. Van Nostrand Reinhold Co., New York (1986).
30. Freese, E., Sheu, C.W. and Gallier, S.E.: Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature*, **241**: 321 (1973).
31. A. Akgül and M. Kivan: Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *Intl. J. Food Microbiology*, **6**: 263 (1988).
32. Kubo I., Muroi H. and Himejima M.: Antimicrobial activity of green tea flavor compounds and their combination effects. *J. Agric. Food Chem.*, **40**: 245 (1992).
33. R.L. Buchanan, and A.J. Shepherd: Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *J. Food Sci.*, **46**: 976 (1981).

---

(1997년 1월 27일)