

산초와 초피 잎의 항균활성

김 정 · 조영수 · 서권일* · 주옥수** · 심기환

경상대학교 식품공학과, *순천대학교 식품영양학과, **진주산업대학교 식품가공학과

Antimicrobial Activities of *Zanthoxylum schinifolium* and *Zanthoxylum piperitum* Leaves

Jeong Kim, Young-Soo Cho, Kwon-Il Seo*, Ok-Soo Joo** and Ki-Hwan Shim

Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University

*Department of Food and Nutrition, Suncheon National University

**Department of Food Processing, Chinju National University

Abstract

Yields of various solvent extracts for *Zanthoxylum schinifolium* and *Z. piperitum* leaves were higher in ethanol extract layer. Ethanol extract in sancho and chopi leaves was fractionated with different solvents, such as hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water, yields of hexane fraction was higher. In the solvent extracts using methanol, ethanol, hexane, chloroform, and water, ethanol extract showed the most effective antimicrobial activities. Ehanol extract in sancho and chopi leaves was fractionated, the most antimicrobial activities of sancho leaf were ethyl acetate fraction, and chopi leaf were chloroform fraction.

Key words : *Zanthoxylum schinifolium*, *Zanthoxylum piperitum*, antimicrobial activities

서 론

산초나무와 초피나무는 우리 나라를 비롯하여 중국, 일본 등 동북아시아에 널리 자생하는 운향과(Rutaceae)의 산초나무(*Zanthoxylum*)에 속하는 낙엽관목으로 옛날에는 파초(芭椒), 천초(川椒), 남초(南椒), 점초(點椒), 당의 진초(秦椒), 한초(漢椒), 분디나무(분지나무) 또는 천초(天椒)라고도 불리어졌으며, 이들 수종에는 각종 신미, 정유성분 및 유기질이 함유되어 있어 옛부터 동북아시아에서 가장 오래된 전통적인 향신료, 약용, 제유용으로 널리 사용되어 왔다(1). 산초와 초피에는 limonene, citronellal, phellandrene, sanshool 및 flavonoid계 성분이

많이 함유되어 있어 방향성 건위, 소염, 이뇨, 구충제로서 사용되었으며, 위장을 자극하여 신진대사를 촉진시키고 위하수증, 위확장 등에 유용하다. 그 외에도 예로부터 해독살충약을 비롯한 식육증진, 치통, 신경통, 저혈압증, 냉증, 참석증, 요로결석, 지사제, 감기, 진해제, 중풍치료에 이르기까지 용도가 다양하여(2) 새로운 기능성 식품 소재로서 활용가능성이 있을 것으로 추측된다. 최근 물질 특허 도입에 따른 국가간의 마찰이 증가함으로 인하여 신물질 탐색 중에서 항균성 물질의 연구가 미생물과 식물분야에서 광범위하게 연구되고 있다. 미생물에서 유래된 대부분의 항생물질은 방선균에서 분리되었는데, 이들은 각종 병원성 세균과 진균류에 강한 항균력을 보여 치료제로 각광을 받아 왔으나 장기간 투여시 allergy에 의한 발적, 혈관성 부종, 골수억제, 빈혈, 위염, 퇴행성 뇌질환 등의 부작용이 보고(3)되어 이에 대한 대안으로 생약재나 전통 의약품

Corresponding author : Ki-Hwan Shim, Department of Food Science and Thechnology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea
E-mail : khshim@nongae.gsnu.ac.kr

은 독성과 활성 평가에 필요한 임상실험이 미생물보다 간단한 반면 부작용의 사례가 적기 때문에 산업화 측면에서 많은 연구가 진행중에 있다(4-6).

따라서 본 연구에서는 산초와 초피잎의 기능적 특성에 대한 연구의 일환으로 추출용매 및 추출방법을 달리 하여 산초와 초피잎의 항균활성에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 산초(*Zanthoxylum schinifolium*)와 초피(*Zanthoxylum piperitum*) 잎은 1998년 10월에 경남 진주 근교 야산에서 채취하여 냉동보관하면서 실험재료로 사용하였다.

사용균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 gram 양성균으로 *Bacillus subtilis* 외 5종과 gram 음성균으로는 *E. coli* 외 3종 등 총 10종을 공시균주로 사용하였으며, 균 생육 배지는 *Streptococcus mutans* 균은 brain heart infusion broth를 사용하였고, *Vibrio parahaemolyticus*의 생육을 위한 배지에는 nutrient broth agar에 3%의 NaCl을 첨가하여 사용하였으며, 그의 8종의 균에 대해서는 nutrient broth agar를 사용하였다.

추출물의 조제

용매별 추출은 각 시료 100 g을 물, 메탄올, hexan, 클로로포름 및 에탄올 300 ml로서 60℃에서 3시간 환류냉각 추출을 3회 반복하여 냉각한 다음 매회 여과한 여액을 혼합하고 rotary vaccum evaporator로 농축하여 냉장보관하면서 시료로 사용하였으며, 용매 분획별 시료는 시료 200 g을 에탄올 600 ml로 3회 추출한 후 조 등의 방법(7)으로 용매분획을 행한 후 시료를 조제하여 실험에 사용하였다.

가용성 고형물

용매별 및 각 분획별 가용성 고형분의 함량은 추출 시료를 정용한 후 정용액 1 ml를 취해 105℃에서 건조 후 증발 잔사량을 확인하여 시료에 대한 가용성 고형분 함량을 백분율로 나타내었다.

항균활성

항균활성은 paper disc(ϕ 10 mm)를 이용한 agar diffusion

법(8)을 이용하였다. 즉, 각 균주용 agar 배지를 petri dish에 분주하여 평판 고형화시키고, 1일간 배양한 균 100 μ l를 멸균봉으로 도말하여 각 추출물 5 mg을 흡수시킨 후 추출물의 용매를 증발시킨 paper disc를 평판 배지 위에 올려놓고 각 균주의 배양조건에 따라 배양하여 disc주위의 clear zone 직경을 측정하였다.

결과 및 고찰

용매별 추출수율

산초와 초피잎의 기능성에 적합한 용매를 선정하기 위하여 각 용매별로 추출수율을 확인한 결과는 Table 1과 같다. 즉, 4개의 시료 모두에서 에탄올 추출물이 대체적으로 높게 나타났으며, 그 다음으로 메탄올, 물, hexan 및 클로로포름 순으로 나타났다. 허 등(9)은 초피의 과피와 종실에 각종 용매를 사용하여 추출한 수율을 조사한 결과, 과피의 경우 methanol(8.9%), ethanol(5.8%)과 같은 극성용매에서 수율이 높았고, 종실의 경우는 acetone(11.5%)과 dichloromethane(11.3%)과 같은 비극성용매에서 수율이 높은 것으로 보고하였다.

Table 1. Yield of various solvents extracts from sancho and chopi leaves

		(Unit : %)				
Sample		Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Sancho	Male	10.38	10.84	1.34	0.66	7.52
	Female	10.88	10.45	1.03	0.77	7.21
Chopi	Male	10.19	10.74	1.69	0.74	7.97
	Female	10.42	10.78	1.70	0.88	7.07

에탄올 추출물의 계통분획별 추출수율

시료처리의 용이성과 추출수율이 높은 ethanol 추출물을 rotary vaccum evaporator로 농축한 후 비극성~극성 용매를 순차별로 계통분획하여 얻은 수율은 Table 2와 같다. 즉, 산초와 초피잎 모두 hexane 분획층에서 각각 5.76%, 5.86%, 6.30% 및 6.37%로 높게 나타난 반면 chloroform 분획층에서는 sample 모두 0.29%, 0.23%, 0.11% 및 0.17%로 수율이 낮게 나타났다. 문 등(10)은 산초의 종자를 메탄올(130 g)로 추출하여 각종 용매를 이용하여 계통분획한 결과 interphase(40 g) 층, 물(32.0 g)층, 클로로포름(30 g)층, 부탄올(14.7 g)층, hexan, 에틸 아세테이트(2.9 g)층 순으로 추출수율을 나타내었다고 보고하였다.

Table 2. Yields of fractions of ethanol extracts from sancho and chopi leaves

		(Unit : %)				
Sample		Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Sancho	Male	5.76	0.29	0.35	0.83	2.18
	Female	5.86	0.23	0.31	0.78	2.64
Chopi	Male	6.30	0.11	3.94	0.69	2.43
	Female	6.37	0.17	3.44	0.71	2.51

Table 3. Antimicrobial activities of various solvent extracts from sancho male leaves

		(Unit : mm)				
Strains ¹⁾		Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Gram(+) bacteria						
<i>Bacillus subtilis</i>		²⁾	14	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>		-	13	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>		-	11	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		-	12	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>		-	11	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>		-	12	-	-	-
Gram(-) bacteria						
<i>Escherichia coli</i>		-	12	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		-	12	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>		-	12	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		-	12	-	-	-

¹⁾Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾Not detected.

Table 4. Antimicrobial activities of various solvent extracts from sancho female leaves

		(Unit : mm)				
Strains ¹⁾		Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Gram(+) bacteria						
<i>Bacillus subtilis</i>		²⁾	12	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>		-	13	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>		-	12	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		-	12	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>		-	12	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>		-	11	-	-	-
Gram(-) bacteria						
<i>Escherichia coli</i>		-	12	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		-	12	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>		-	11	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		-	12	-	-	-

¹⁾Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾Not detected.

Table 5. Antimicrobial activities of various solvent extracts from chopi male leaves

		(Unit : mm)				
Strains ¹⁾		Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Gram(+) bacteria						
<i>Bacillus subtilis</i>		²⁾	15	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>		-	13	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>		-	12	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		-	12	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>		-	13	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>		-	11	-	-	-
Gram(-) bacteria						
<i>Escherichia coli</i>		-	12	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		-	11	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>		-	11	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		-	12	-	-	-

¹⁾Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾Not detected.

용매별 항균활성

천연 항균성 물질은 식물이나 동물의 구성성분으로 존재하거나 외부의 자극에 의하여 생체내에서 대항물 질로 만들어지기도 하며 발효과정 중 생성된 화학물질 이 다른 미생물의 생장을 저지하기도 한다. 대부분의 천연 항균성 물질은 동식물체 내에 한 성분으로 함유 된 경우가 많으며 단백질, 특정효소, 유기산, 식물의 정유 그리고 식물의 특정 성분 등이 항균성을 나타내 는 것으로 알려지고 있다(11). 산초와 초피잎을 각종 용매로 추출하여 항균효과를 조사한 결과는 Table 3, 4, 5 및 6과 같다. 즉, 산초와 초피잎의 용매별 추출물 중 ethanol 추출물에서만 clear zone이 9~11 mm로 나 타났으며, 다른 용매 추출물에서는 전혀 항균효과가 나타나지 않았다. 정 등(12)은 한국산 초피를 물로 추 출하여 동결건조한 후 시설택소산물의 저장 중 발생하 는 변패미생물에 대한 항균력을 측정한 결과 초피추출 물이 농도에 비례하는 항균력을 나타내었으며, 생육저 해곡선의 측정에서는 500 ppm이상에서 미생물의 생육 이 완전히 억제되었고, 열(40~180°C) 및 pH(4~10) 안 전성에서는 넓은 온도, pH 범위에서도 우수한 항균력 을 나타내었다고 보고하였다. 박(13)은 5종류의 식중독 세균에 대하여 술잎 ethanol 추출물의 항균작용을 조사 한 결과 gram 양성균인 *L. monocytogenes*, *S. aureus*와 gram 음성균인 *A. hydrophila*는 술잎 추출물에서는 0.5%이상의 농도에서 증식이 억제되어 술잎 ethanol 추 출물의 항균성이 우수하다고 보고하였다.

Table 6. Antimicrobial activities of various solvent extracts from chopi female leaves

Strains ¹⁾	(Unit : mm)				
	Methanol	Ethanol	Hexane	Chloroform	Water
Gram(+) bacteria					
<i>Bacillus subtilis</i>	. ²⁾	12	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	13	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	11	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	12	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	11	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>	-	12	-	-	-
Gram(-) bacteria					
<i>Escherichia coli</i>	-	11	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	12	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	12	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	12	-	-	-

¹⁾Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾Not detected.

에탄올 추출물의 계통분획별 항균활성

산초와 초피의 용매별 추출물 중 항균활성이 높은 에탄올 추출물을 비극성~극성 용매를 이용하여 순차적으로 분획한 후 항균활성을 확인한 결과는 Table 7, 8, 9 및 10과 같다. 즉, 산초 잎의 경우 ethyl acetate 및 chloroform 분획층에서 활성이 높게 나타났으며, 산초 잎의 경우도 역시 ethyl acetate 및 chloroform 분획층에서 활성이 높게 나타났다. 균주에 대한 clear zone의 직경을 확인한 결과 산초 잎의 ethyl acetate 분획층은 gram 양성균인 *Streptococcus mutans*와 gram 음성균인 *Salmonella typhimurium*에서 각각 24 mm와 20 mm로 항균활성이 높게 나타났으며, 산초 잎의 경우 gram 양성균인 *Bacillus subtilis*와 gram 음성균인 *Escherichia coli*에서 각각 21 mm와 17 mm로 항균활성이 높게 나타났다. 초피 잎에서는 chloroform 분획층에서 항균활성이 높게 나타났는데, 잎과 잎 모두 gram 양성균인 *Bacillus subtilis* 균에 대하여 각각 18 mm와 16 mm로 항균활성이 높게 나타났다. 민(14)은 산초나무 각 부위별 알코올추출물의 피부사상균에 대한 항균활성을 측정한 결과, 근피 추출물에서 가장 높은 활성을 나타내었다고 보고하였으며, 각 용매별 분획분의 항균활성은 근피부의 petroleum ether 분획에서 가장 높게 나타났다고 보고하였고, petroleum ether 분획분의 항균활성성분을 분리·동정한 결과 alkaloid화합물이었다고 보고하였다. 또한 이 등(15)은 자소잎의 물과 에탄올을 이용하여 얻은 추출물을 2종의 부패균

팡이 및 5종의 식중독세균에 대하여 항균효과를 조사한 결과 1000 µg/ml 농도 첨가구에서 gram 음성균보다 gram 양성균에서 증식억제효과가 높게 나타났으며, 농도가 증가함에 따라 생육증식이 비례적으로 억제되었다고 보고하였다.

Table 7. Antimicrobial activities of various solvent fractions of ethanol extract from sancho male leaves

Strains ¹⁾	(Unit : mm)				
	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Gram(+) bacteria					
<i>Bacillus subtilis</i>	11	19	21	. ²⁾	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	14	18	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	14	17	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	15	18	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	14	17	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>	-	20	24	12	-
Gram(-) bacteria					
<i>Escherichia coli</i>	-	14	17	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	15	17	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	14	20	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-

¹⁾Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾Not detected.

Table 8. Antimicrobial activities of various solvent fractions of ethanol extract from sancho female leaves

Strains ¹⁾	(Unit : mm)				
	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Gram(+) bacteria					
<i>Bacillus subtilis</i>	12	22	21	14	. ²⁾
<i>Bacillus cereus</i>	12	15	15	13	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	14	15	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	13	14	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	14	16	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>	-	13	15	-	-
Gram(-) bacteria					
<i>Escherichia coli</i>	-	14	17	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	15	16	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	15	17	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-

¹⁾Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾Not detected.

Table 9. Antimicrobial activities of various solvent fractions of ethanol extract from chopi male leaves

(Unit : mm)

Strains ¹⁾	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Gram(+) bacteria					
<i>Bacillus subtilis</i>	²⁾	18	16	14	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	12	14	13	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	13	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	11	14	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	12	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>	-	15	16	15	-
Gram(-) bacteria					
<i>Escherichia coli</i>	-	12	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	13	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	13	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-

¹⁾ Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾ Not detected.

Table 10. Antimicrobial activities of various solvent fractions of ethanol extract from chopi female leaves

(Unit : mm)

Strains ¹⁾	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
Gram(+) bacteria					
<i>Bacillus subtilis</i>	²⁾	16	14	15	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	13	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	13	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	12	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	13	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>	-	13	-	-	-
Gram(-) bacteria					
<i>Escherichia coli</i>	-	13	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	14	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	13	12	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	-

¹⁾ Strains were incubated on each medium at 37°C for 24 hr.

²⁾ Not detected.

요 약

산초와 초피잎의 용매별 추출수율을 측정한 결과 에탄올 추출물에서 높게 나타났으며, 에탄올 추출물을 핵

산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물과 같은 용매를 이용하여 계통분획하여 추출수율을 측정한 결과 핵산층에서 높게 나타내었다. 메탄올, 에탄올, 핵산, 클로로포름 및 물추출물을 이용하여 항균활성을 측정한 결과 에탄올 추출물에서 높은 활성을 나타내었다.

산초와 초피잎의 에탄올 추출물을 계통분획하여 항균활성을 측정한 결과 산초잎에서는 ethyl acetate 분획층, 초피잎의 경우 chloroform 분획층에서 활성이 높게 나타났다.

참고문헌

1. 최영전 (1992) 한국민속식물. 아카데미서적, p. 191-193.
2. 과학백과사전출판사 편. 1994. 약초의 성분과 이용. 일월서각, p. 371-372
3. Shadomy, S., Shadomy, H.T. and Wagmer, G.E. (1977) Antifungal compound. New York, 437-441
4. 이병완, 신동화 (1991) 식품 부패 미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, 23(2), 200-205
5. 박옥연, 장동석, 조학래 (1992) 한약재 추출물의 항균효과 검색. 한국영양식량학회지, 21(1), 91-97
6. 임상빈, 김수현, 고영환, 오창경, 오명철, 고용구, 박제석 (1995) 초임계이산화탄소에 의한 톨과 알로에 추출물의 수율 및 항균활성. 한국식품과학회지, 27(1), 68-73
7. 조영수, 서권일, 심기환 (2000) 한국산 작두콩 추출물의 항균활성. 한국농산물저장유통학회지, 7(1), 113-116
8. Farag, R.S. et al. (1989) Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. J. Food Prot., 52, 665-670
9. 허상선, 배동호, 김상욱, 최용희 (1998) 초피 Oleoresin 제조시 용매에 따른 추출물특성과 추출조건에 따른 휘발성 성분 변화. 한국식품영양과학회지, 27(3), 406-412
10. 문숙임, 류홍수, 이희정, 최재수 (1994) 식용식물의 항산화 효과 검색과 산초의 항산화 성분. 한국영양식량학회지, 23(3), 466-471
11. 신동화 (1990) 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업, 23(4), 68-77
12. 정순경, 정재두, 조성환 (1999) 초피추출물의 항균 특성. 한국식품영양과학회지, 28(2), 371-377
13. 박찬성 (1998) 식중독세균에 대한 솔잎 Ethanol 추

- 출물의 항균작용. 한국농산물저장유통학회지, **5(4)**, 380-385
- 병원성 미생물에 대한 자소잎 추출물의 항균효과. 한국농산물저장유통학회지, **6(2)**, 239-244
-
14. 민경희 (1998) 산초나무 추출물의 피부사상균에 대한 항균활성과 그 성분. 목재공학회지, **26(4)**, 78-85
15. 이가순, 이주찬, 한규홍, 오만진 (1999) 식품부패 및
- (접수 2000년 2월 25일)