

식용가능한 약용식물 추출물의 항균 특성

이영철* · 오세욱 · 홍희도
한국식품개발연구원

Antimicrobial Characteristics of Edible Medicinal Herbs Extracts

Young-Chul Lee*, Se-Wook Oh and Hee-Do Hong
Korea Food Research Institute

To develop a natural food preservatives from medicinal herbs (62 species), antimicrobial test was performed with hot water and ethanol extracts against *Escherchia coli*, *Listeria monocytogens* and *Candida albicans* by paper disk method. And its result as a first screening test, 7 kinds of medicinal herbs were selected, and more precise analysis was conducted at last 3 kinds of medicinal herbs was finally selected. *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* has a broad antimicrobial spectrums and has a low MIC values. In growth inhibition test, they showed a very strong antimicrobial activity against *Listeria monocytogens*. If there has a elaborate approaches in its characteristics and properties, some good result must followed in making a powerful natural antimicrobial preservatives.

Key words: medicinal herb, antimicrobial activity, natural preservatives

서 론

식품을 장기 보존하기 위한 방법들로 이전에는 주로 염장이나 발효, 훈연, 건조 등의 방법이 널리 사용되었으며 현재에는 가열처리나 레토르트 등의 살균기술을 이용하거나 일부 합성보존료를 사용하는 방법이 이용되고 있다⁽¹⁾. 기존에 사용되던 고전적 방법으로 다양한 식품들을 보존하기에는 다소 어려움이 있으며 가열 등의 물리적 처리시에는 영양성분의 파괴, 품질저하 등의 요인이 있어 이러한 문제점을 해결하면서도 보다 식품의 안정성과 보존성을 확보하기 위해 다양한 소재로부터 천연보존제를 탐색하고 이를 실용화하려는 노력이 있어 왔다^(2,4). 이러한 천연소재 보존제의 경우 전통적으로 사용해 온 설탕, 소금, 식초 등의 일반 식품소재 뿐만 아니라 프로타민, lysozyme 같은 단백질류⁽⁵⁾, lactoferrin과 같은 철 결합성 단백질⁽⁶⁾, 차의 탄닌과 같은 polyphenol 물질⁽⁷⁻⁹⁾, 키토산 또는 그 유도체 등⁽¹⁰⁾ 다양한 천연보존제와 nisin, kojic acid, polylysine 등의 미생물 유래 천연보존 물질⁽¹¹⁻¹³⁾이 있다. 그러나, 이들 천연보존제의 경우 일부 미생물 유래 천연보존제를 제외하고 대부분이 그 항균효과를 검

정하는 데 그치고 있으며 실제 실생활에 응용되어 상품화 된 것은 그리 많지 않다. 이는 일부 물질의 경우 인체의 대한 안정성을 확보해야 되는 문제점이 있을 수 있겠으며 그 유효 물질을 추출정제하는 과정에 많은 시간과 노력을 필요로 하기 때문인 것으로 생각되어진다. 한편, 다양한 천연보존제 중에서도 식물체, 특히 식용으로 이용되어 온 생약류의 경우 항균효과 뿐만 다양한 생리활성을 가지고 있어 이를 굳이 정제하거나 순수분리하는 과정을 거치지 않고도 식품에 직접 첨가가 가능할 것으로 생각되며 그 경우 식품의 보존성 향상 뿐만 아니라 인체에 유용한 다양한 생리활성을 동시에 섭취하는 효과를 얻을 수 있을 것으로 생각되어진다.

생약류 중, 황백의 경우 그 추출물을 두부, 어묵, 막걸리, 간장 등에 첨가시 항균효과가 확인된 바 있으며⁽¹⁴⁾ 도꼬마리⁽¹⁵⁾, 구상나무⁽¹⁶⁾, 고삼⁽¹⁷⁾, 상백피⁽¹⁸⁾ 등 도 이들 식품에 첨가시에 항균활성이 있는 것으로 보고 되어 있다. 느릅나무 뿌리나 질경이, 민들레 등의 경우에도 *B. cereus* 등의 미생물에 항균활성이 있음이 보고되어 있으며⁽¹⁹⁾, 자초 에탄올 추출물의 경우 식중독의 원인균과 식품부패 원인균에 대한 항균효과가 있는 것으로 알려져 있다⁽²⁰⁾. 오미자⁽²¹⁻²³⁾, 솔잎⁽²⁴⁾, 구기자⁽²⁵⁾ 등의 특용작물도 세균의 번식을 억제하는 효과가 있는 것으로 알려져 있고 그 밖에도 환삼덩굴⁽²⁶⁾, 어성초⁽²⁷⁾, 유백피⁽²⁸⁾, 단삼⁽²⁹⁾, 감초⁽³⁰⁾, 방기⁽³¹⁾, 산국⁽³²⁾, 초피나무⁽³³⁾ 등 다양한 생약류에 대한 항균활성이 보고되어 있다.

본 연구에서는 생약류중 식품원료로 사용할 수 있는 원료만을 대상으로 하여 항균활성을 정밀 고찰하여 천연항균성 제제 개발에 관한 기초연구를 수행하고자 하였다.

*Corresponding author : Young-Chul Lee, Korea Food Research Institute, 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Kyunggi-do 463-420, Korea
Tel: 82-31-780-9071
Fax: 82-31-780-9234
E-mail: ycllee@kfri.re.kr

Table 1. Medicinal herbs used in this study

Remark	Medicinal herbs
Can be used in food processing	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. var, <i>Cassia tora</i> , <i>Cinnamomum cassia</i> , <i>Commiphora molmol</i> , <i>Schizandra chinensis</i> , <i>Myristica fragrans</i> Houtt, <i>Eugenia caryophyllata</i> , <i>Phyllostachys nigra</i> , <i>Alpinia katsumadai</i> H, <i>Polygonatum sibirium</i> Redout, <i>Chrysanthemum indicum</i> , <i>Lycium chinense</i> , <i>Angelica gigas</i> , <i>Mentha arvensis</i> , <i>Acanthopanax sessiliflorum</i>
Permitted by KFDA	<i>Citrus unshiu</i> Marc, <i>Salvia miltiorrhiza</i> , <i>Cornus officinalis</i> , <i>Cinnamomum cassia</i> , <i>Imperate cylindrica</i> var <i>kaengii</i> (Retz), <i>Zizyphus vulgaris</i> , <i>Hovenia dulcis</i> , <i>Carthamus tinctorius</i> , <i>Astragalus membranaceus</i>
Can be used in limited dosage	<i>Rubus coreanus</i> miquel, <i>Crataegus pinnatifida</i> , <i>Acorus gramineus</i> Soland, <i>Houttuynia cordata</i> , <i>Amomum xanthioides</i> , <i>Polygala tenuifolia</i> , <i>Cnidium officinale</i> , <i>Biota orientalis</i> , <i>Cuscuta chinensis</i> , <i>Polygonum multiflorum</i>
Can be used in specific food processing	<i>Plantago asiatica</i>
Never used in food processing	<i>Sophora flavescens</i> , <i>Saussurea lappa</i> , <i>Cyperus rotundus</i> , <i>Prunus persica</i> , <i>Gastrodia elata</i> , <i>Prunus armeniaca</i>
Prohibited by KFDA	<i>Chelidonium majus</i> L., <i>Ephedra sinica</i> , <i>Medicata fermentata</i> , <i>Hovenia dulcis</i>)
No commented	<i>Terminalia Chebula</i> Retz, <i>Davallia mariesii</i> Moore, <i>Chrysanthemum zawadskii</i> , <i>Rosa laevaigate</i> Michx, <i>Paeonia suffruticosa</i> , <i>Sinomenium acutum</i> Thunb., <i>Belamcanda chinensis</i> , <i>Sophora subprostrata</i> , <i>Dendrobium moni</i> , <i>Asiasarum sieboldii</i> Miq. var. <i>seoulense</i> Maeka, <i>Caesalpinia sappan</i> L., <i>Perilla sikokiana</i> , <i>Forsythia suspensa</i> , <i>Prunus mume</i> , <i>Rhus javanica</i> , <i>Evodia officinalis</i> , <i>Ulmus pumila</i> L., <i>Lithospermum erythrorhizon</i> , <i>Paronia lactiflora</i> , <i>Zanthoxylum piperitum</i> DC, <i>Gardenia jasminoides</i> , <i>Polygonum aviculare</i> L., <i>Lscholtzia patini</i> Garck, <i>Picprrhiza kurroo</i> Royle ex Benth, <i>Coptis japonica</i> , <i>Phellodendron amurense</i> , <i>Siegesbeckia orientalis</i> L. var.

재료 및 방법

생약류

천연항균성 물질 추출을 위한 재료로는 Table 1과 같이 ① 현재 식품공정상 식품원료로 등재되어 있거나 식품의약품안전청장이 안정하다고 확정한 생약류 중 최소량 사용가능한 생약류 중 항균활성이 보고된 생약류(감초 등 18종) ② 현재 식품공정상 식품원료로 등재되어 있거나 식품의약품안전청장이 안정하다고 확정한 생약류중 최소량 사용가능한 생약류 중에서 항균활성이 연구되지 않은 생약류 (감국 등 17종) ③ 위의 항목에는 포함되어 있지 않지만 식품으로 사용불가된 품목도 아닌 생약류 중에서 항균활성이 보고된 생약류 27종을 검토하였다.

공시 균주

실험에 공시된 균주는 Table 2에 나타내었다. 균주는 분양 후 각 균주의 특성에 맞는 성장 최적 조건 및 배지에서 배양하여 실험에 사용하였다.

물추출물 제조

시료 5 g을 정확히 칭량하여 추출용기에 옮기고 100 mL의 증류수를 첨가한 후 환류냉각장치를 이용하여 끓는 물에서 180분 동안 추출하였다. 추출 후 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 얻고 이를 100 mL로 정용하여 물 추출물을 제조하였다.

에탄올 추출물 제조

시료 5 g을 정확히 칭량하여 추출용기에 옮기고 80% 에탄올 100 mL를 첨가한 후 환류냉각장치를 이용하여 80°C에서 180분 동안 추출하였다. 추출물은 여과지(whatman #2)상에서

여과한 후 감압농축하여 에탄올을 제거하고 증류수로 25 mL 이 되게 정용하여 에탄올 추출물을 제조하였다.

항균측정용 시료의 조제

동결건조된 물 및 에탄올 추출물을 100 mg씩 정확히 칭량한 후 1 mL의 증류수로 녹이고 10,000×g에서 5분간 원심분리한 후 0.22 μm 막필터를 이용하여 제균하고 이를 항균력 측정을 위한 시료로 사용하였다.

Paper disk method

사면배지에서 배양된 각 균주 1 백급이를 취해 액체 배지로 옮겨 균주의 최적 성장 온도에서 전배양한 후 이를 50 mL의 본배양 배지에 접종하여 균주를 배양하면서 균주의 성장기 중 early log phase 상태에 도달한 균을 이용하여 항균활성을 측정하였다. 배양된 균주를 petri상의 고체배지에 접종하여 골고루 퍼지게 한 후 추출물을 8 mm filter paper disk

Table 2. Microorganism used in determination of antimicrobial spectrum

Microorganism	Culture collection
<i>Escherchia coli</i>	KCTC 2571
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 12692
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 14593
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778
<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC 8014
<i>Leuconostoc mesentroides</i>	ATCC 10830
<i>Candida albicans</i>	KCTC 7965
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763
<i>Listeria monocytogens</i>	KCTC 3569
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	ATCC 21541

(Whatman No. 2)에 흡수시켜 고체배지 표면 위에 놓아 대상 균주의 최적 성장온도에서 48시간 배양한 후 disk 주위의 clear zone의 직경(mm)으로서 비교하였으며 disk에 흡수된 추출물의 고형분 함량은 별도로 측정하였다⁽³⁴⁾.

MIC(minimal inhibitory concentration) 측정

최소성장저해 농도의 측정은 특용작물 추출물을 0.22 µm filter를 이용하여 제균한 후 여러 단계별로 이를 희석한 후 각 균주의 최적 성장 배지에 넣고 이후 균주를 접종하여 균주의 최적성장 온도에서 24시간 배양한 후 탁도를 나타내지 않는 최소의 농도를 MIC로 하였다⁽³⁴⁾.

Liquid culture에서의 생육저해 효과 측정

각 추출물을 membrane filter(0.22 µm)로 제균시키고, 액체 배지 10 mL에 각 추출물의 soluble solid를 ppm 단위로 첨가한 후 각 대상균주의 slant에서 배양된 균주 1 백균이를 취해 접종하여 균주의 성장 최적온도에서 배양시키면서 시간에 따라 흡광도의 변화를 spectrophotometer로 측정하였다. 추출물만을 넣은 액체배지를 대조군으로 사용하였다.

결과 및 고찰

Paper disk method에 의한 항균력 측정

문헌정보를 통하여 선별된 62종의 특용작물에서 물추출물 및 80% 에탄올 추출물을 제조하여 *Escherichia coli*, *Listeria monocytogens* 및 *Candida albicans*에 대하여 1차적으로 항균 활성을 측정하여 그 결과를 Table 3에 나타내었다.

선별된 특용작물에 대하여 열수추출하여 제조한 추출물을 3종류의 미생물에 대하여 항균실험을 실시한 결과 육두구, 복분자, 산사자, 가자육, 오배자 등에서 비교적 높은 항균활성이 있는 것으로 나타났으며 이들 중 복분자, 가자육 및 오배자가 다른 특용작물에 비하여 높은 항균활성을 가지는 것으로 측정되었다. 한편, 이 등⁽³⁵⁾은 장내 유해세균에 대한 가자육추출물의 항균활성이 우수하였다고 보고하였으며 신 등⁽³⁶⁾도 국내산 약용식물 추출물에 대한 항균효과 검토 결과 가자육에서 높은 항균활성이 측정되었다고 보고하여 본 실험의 결과와 일부 일치하는 것으로 판단되었다.

열수추출과는 다른 조건인 80% 에탄올 추출물을 이용하여 대상 미생물인 3종의 균주에 대하여 항균활성을 측정하

Table 3. Antimicrobial test against 3 kinds of microorganism using paper disk method

Medicinal Herbs	Water			80% EtOH		
	A	B	C	A	B	C
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. var	-	1 ¹⁾	-	-	-	-
<i>Cassia tora</i>	-	-	-	-	± ²⁾	3 ³⁾
<i>Cinnamomum cassia</i>	-	±	-	-	-	-
<i>Commiphora molmol</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Schizandra chinensis</i>	1	-	-	1	-	-
<i>Myristica fragrans</i> Houtt	-	2	-	-	2	-
<i>Eugenia caryophyllata</i>	±	±	-	±	7	-
<i>Phyllostachys nigra</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Alpinia katsumadai</i> H.	1	±	-	±	5	-
<i>Polygonatum sibirium</i> Redout	-	±	-	-	-	-
<i>Chrysanthemum indicum</i>	-	-	-	5	-	-
<i>Lycium chinense</i>	-	±	-	5	-	-
<i>Angelica gigas</i>	-	±	-	-	±	-
<i>Mentha arvensis</i>	-	±	-	-	±	-
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	-	-	-	-	±	-
<i>Citrus unshiu</i> Marc	-	±	-	4	-	-
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	-	±	-	-	-	-
<i>Cornus officinalis</i>	-	±	-	1	-	±
<i>Cinnamomum cassia</i>	-	1	-	-	-	-
<i>Imperata cylindrica</i> var <i>kaengii</i>	-	-	-	4	-	-
<i>Zizyphus vulgaris</i>	-	±	-	-	-	-
<i>Hovenia dulcis</i>	-	±	-	-	-	-
<i>Carthamus tinctorius</i>	±	-	-	-	-	-
<i>Astragalus membranaceus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Rubus coreanus</i> miquel	5	±	4	7	6	3
<i>Crataegus pinnatifida</i>	2	3	-	1	2	-
<i>Acorus gramineus</i> Soland	-	-	-	4	-	-
<i>Houttuynia cordata</i>	±	±	-	-	-	-
<i>Amomum xanthioides</i>	±	±	-	±	2	-
<i>Polygala tenuifolia</i>	-	-	-	±	-	-
<i>Cnidium officinale</i>	-	-	-	-	-	-

Table 3. Continued

Medicinal Herbs	Water			80% EtOH		
	A	B	C	A	B	C
<i>Biota orientalis</i>	±	±	-	-	-	-
<i>Cuscuta chinensis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Polygonum multiflorum</i>	-	-	-	±	±	-
<i>Plantago asiatica</i>	-	-	-	±	1	-
<i>Terminalia Chebula Retz</i>	6	6	5	2	10	4
<i>Davallia mariesii</i> Moore	-	±	-	±	±	-
<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	-	±	-	±	1	-
<i>Rosa laevaigate</i> Michx	1	±	-	±	5	-
<i>Paeonia suffruticosa</i>	2	±	-	±	1	-
<i>Sinomenium acutum</i> Thunb.	-	±	-	±	1	-
<i>Belamcanda chinensis</i>	-	±	-	±	±	-
<i>Sophora subprostrata</i>	-	±	-	±	±	±
<i>Dendrobium moni</i>	-	-	-	±	±	-
<i>Asiasarum sieboldii</i> var.	-	±	-	±	±	-
<i>Caesalpinia sappan</i> L.	±	±	-	±	±	-
<i>Perilla sikokiana</i>	-	±	-	±	±	-
<i>Forsythia suspensa</i>	-	1	-	±	±	-
<i>Prunus mume</i>	1	±	1	±	±	±
<i>Rhus javanica</i>	5	±	-	±	4	-
<i>Evodia officinalis</i>	-	-	-	±	1	-
<i>Ulmus pumila</i> L.	-	±	-	-	±	-
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	-	±	-	-	±	-
<i>Paronia lactiflora</i>	1	±	-	-	4	-
<i>Zanthoxylum piperitum</i> DC.	-	±	-	-	±	-
<i>Gardenia jasminoides</i>	-	±	±	-	-	-
<i>Polygonum aviculare</i> L.	-	±	-	-	-	-
<i>Lscholtzia patrini</i> Garck	-	-	-	-	±	-
<i>Picrprrhiza kurrooa</i> Royle	-	-	-	-	±	-
<i>Coptis japonica</i>	±	-	-	±	5	±
<i>Phellodendron amurense</i>	-	-	-	±	2	±
<i>Siegesbeckia orientalis</i> L. var	-	-	-	±	-	-

A: *Escherichia coli*, B: *Listeria monocytogens*, C: *Candida albicans*.

¹⁾(diameter of clear zone - diameter of paper disk)/2.

²⁾very weak activity.

³⁾no activity.

여 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 정향피, 초두구, 감국, 구기자, 굴피, 백모초, 복분자, 산사자, 석창포, 가자육, 금앵자, 오배자, 적자약 및 황련에서 비교적 강한 항균활성이 나타나 열수추출물에 비하여 항균활성이 높게 나타난 생약류의 수가 많았으며 같은 종류의 특용작물이라도 항균활성이 높게 나타나 항균물질이 열수 보다는 80% 에탄올에서 보다 원활하게 추출되는 것으로 판단되었다. 항균활성이 비교적 높게 나타난 생약류 중 복분자는 *E. coli*, *L. monocytogens* 및 *C. albicans*의 3종에 대하여 모두 항균활성이 높은 것으로 나타났으며 가자육의 경우도 *E. coli*에 대해서는 2 mm로 나타났으며 *C. albicans*에 대해서는 4 mm로 나타났다. 특히, *L. monocytogens*에 대해서는 가장 강한 활성을 나타내어 10 mm에 달하였다.

항균 spectrum 측정

62종의 특용작물을 대상으로 1차 선발실험을 실시한 결과

정향피, 초두구, 복분자, 산사, 가자육, 금앵자, 오배자 7종의 *E. coli*, *L. monocytogens*, *C. albicans*에 대한 항균활성이 비교적 우수한 것으로 나타나 천연식품보존제 개발 가능성이 있는 것으로 판단되어 이를 1차 선발하였으며 항균활성 측정 대상 미생물의 수를 확대, 항균 spectrum을 작성하여 항균특성을 고찰하고자 하였다. 1차 선발된 특용작물 7종에 대하여 열수추출물을 제조하여 이를 1차 선발시 대상균주 이었던 *E. coli*, *L. monocytogens*, *C. candida* 3종의 균주 및 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesentroides*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas fluorescense*의 7종 등 총 10종의 미생물에 대하여 항균활성을 측정하여 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 복분자, 가자육, 금앵자 및 오배자 추출물이 비교적 높은 항균활성을 나타내었다. 복분자 추출물의 경우 *E. coli*, *L. plantarum*, *C. albicans* 및 *L. monocytogens*에 대하여 항균활성이 있는 것으로 나타났으며 가자육 추출물의 경

Table 4. Antimicrobial activity of selected medicinal herbs against 10 kinds of microorganism (water extract)

M/O	Extracts	Water extracts						80% ethanol extracts						
		A	B	C	D	E	F	G	A	B	C	D	E	F
<i>E. coli</i>	- ¹⁾	-	5 ²⁾	-	6	-	6	-	-	7	-	8	-	6
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	8	-	5	-	-	-	-	7	-	5
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	5	-	6	-	4	-	-	5	-	5
<i>L. plantarum</i>	4	-	6	-	7	4	-	-	-	5	-	6	-	-
<i>L. mesentroides</i>	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	5	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	1	-	7	-	1	-	-	6	-	7	4	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	7	7	-	-	-	-	8	-	4
<i>L. monocytogens</i>	-	-	7	-	8	-	-	-	-	6	-	11	-	1
<i>P. fluorescence</i>	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	4

A: *Eugenia caryophyllata*, B: *Alpinia katsumadai* H., C: *Rubus coreanus miquel*, D: *Crataegus pinnatifida*, E: *Terminalia Chebula* Retz, F: *Rosa laevaigate* Michx, G: *Rhus javanica*.

¹⁾no activity.

²⁾(diameter of clear zone - diameter of paper disk)/2.

Table 5. Minimal inhibition concentrations of water and ethanol extract against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogens* and *Candida albicans*

Microorganisms	Extract	Medicinal herbs	MIC(%)
<i>Escherichia coli</i>	Water	<i>Rubus coreanus miquel</i>	0.05
		<i>Therminalia chebula</i> Retz	0.0125
		<i>Rhus javanica</i>	0.0125
	80% Ethanol	<i>Rubus coreanus miquel</i>	0.0125
		<i>Therminalia chebula</i> Retz	0.0125
		<i>Rhus javanica</i>	0.0125
<i>Listeria monocytogens</i>	Water	<i>Rubus coreanus miquel</i>	0.05
		<i>Therminalia chebula</i> Retz	0.01 <
		<i>Rhus javanica</i>	0.0125
	80% Ethanol	<i>Rubus coreanus miquel</i>	0.0125
		<i>Therminalia chebula</i> Retz	0.01 <
		<i>Rhus javanica</i>	0.0125
<i>Candida albicans</i>	Water	<i>Rubus coreanus miquel</i>	0.05
		<i>Therminalia chebula</i> Retz	0.025
		<i>Rhus javanica</i>	0.0125
	80% Ethanol	<i>Rubus coreanus miquel</i>	0.0125
		<i>Therminalia chebula</i> Retz	0.025
		<i>Rhus javanica</i>	0.0125

우 *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. plantarum*, *L. mesentroides*, *C. albicans*, *L. monocytogens*에 대하여 항균활성이 있는 것으로 나타났다. 금앵자 추출물의 경우 *L. plantarum* 및 *S. cerevisiae*에 대하여 항균활성이 있는 것으로 나타났다. 오배자의 경우 *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *C. albicans*, *S. cerevisiae*, *P. fluorescence*에 대하여 항균활성을 나타내는 것으로 나타났다. 이 등⁽³⁷⁾은 *P. fluorescence*를 대상균주로 하여 paper disk method로 실험하였을 때 황백과 오배자가 가장 높은 항균활성을 나타내었다고 보고하여 본 실험의 결과와 일부 일치하는 것으로 나타났다.

10종의 균주에 대하여 80% 에탄올 추출물의 항균활성을 측정 한 결과(Table 4), 물추출물과 유사하게 복분자, 가자육, 오배자 추출물이 비교적 강한 항균활성을 나타내었다. 초두

구 추출물의 경우 *B. cereus*에 대하여 항균활성을 나타내었 으며 복분자 추출물은 *L. plantarum*, *C. albicans*, *L. monocytogens*에 대하여 항균활성을 나타내었으며 가자육은 *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. plantarum*, *L. mesentroids*, *C. albicans*, *S. cerevisiae*, *L. monocytogens*에 대하여 항균활성을 나타내어 가장 폭 넓은 항균 spectrum을 가지는 것으로 나타났다. 오배자 추출물의 경우도 비교적 넓은 항균 spectrum을 나타내었는데 *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. cerevisiae*, *L. monocytogens*, *P. fluorescence*에 대하여 항균활 성을 나타내었다. 물 추출물과 80% 에탄올 추출물의 항균활 성을 종합해 보면 복분자, 가자육, 오배자 추출물이 비교적 광범위하면서도 높은 항균활성을 가지고 있는 것으로 판단 되어 2차로 이들 3종의 생약제를 선발하였다.

MIC(minimal inhibitory concentration)의 측정

1차 및 2차 항균실험을 통하여 선발된 복분자, 가자육, 오배자 3종의 물추출물 및 에탄올 추출물의 *E. coli*, *L. monocytogens* 및 *C. albicans*에 대한 최소생육저해농도(MIC, minimal inhibitory concentration)를 구하여 그 결과를 Table 5에 나타내었다. 먼저, *E. coli*에 대한 최소생육저해 농도는 물추출물의 경우 복분자가 0.05%로 나타났으며 가자육 및 오배자는 0.0125%로 나타나 가자육과 오배자가 복분자에 비하여 낮은 농도에서 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다. 그러나 에탄올 추출물일 경우 복분자, 가자육, 오배자 3종 모두 0.0125%의 최소생육저해농도를 나타내었으며 따라서 복분자의 경우 물추출물 보다는 에탄올 추출물이 *E. coli*에 대한 항균력이 우수함을 알 수 있었다.

*Listeria monocytogens*에 대한 최소생육저해 농도는 물추출물 및 에탄올 추출물에서 가자육이 가장 낮은 농도를 가지고 있는 것으로 추정되었다.

*Candida albicans*에 대한 최소생육저해농도는 물추출물의 경우 복분자가 0.05%, 가자육이 0.025%를 나타낸 반면 오배자가 0.0125%를 나타내어 가장 낮은 MIC를 가지고 있었으며 따라서 가장 효율적으로 *C. albicans*의 생육을 저해하는 것으로 판단되었다. 에탄올 추출물의 경우 복분자와 오배자가 0.0125%를 나타내었으며 가자육이 0.025%의 최소저해농도를 가지고 있어 오배자 추출물이 *C. albicans*의 생육을 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

선발된 3종의 특용작물에 대한 최소생육저해 농도 측정 결과 가자육과 오배자가 효율적으로 실험대상 미생물의 생육을 억제하는 것으로 나타났다. 이 등(28)은 오배자의 메탄올 추출물이 *E. coli*에 대한 최소생육저해 농도가 3.0 mg/mL이라고 하여 본 실험의 결과 보다 높다고 보고 하였는데 이는 추출용매 및 대상균주가 서로 상이하였기 때문이라고 사료되었다. 실험대상 미생물 측면에서 고찰하면 *E. coli*와 *C. albicans*에 비하여 *L. monocytogens*에 대하여 효율적인 생육저해를 유발하는 것으로 판단되었다. 따라서 실험에 공시된 복분자, 가자육 및 오배자 모두 *Listeria*에 의한 식중독 예방 등에 효율적으로 사용될 수 있음을 알 수 있었다.

Liquid culture에서의 생육저해 효과 측정

*Escherichia coli*를 nutrient broth를 이용하여 전배양하였으며 0.2%(v/v)를 본배양 플라스크에 접종한 후 일정시간에 따른 흡광도 증가를 측정하였다. 본배양 플라스크에 추출물을 10, 50, 100, 200 ppm의 농도로 첨가하였다. 추출물은 0.22 µm filter를 이용하여 제균하여 실험에 공시하였다. 물추출물의 경우 복분자 추출물을 첨가한 처리구는 무첨가구에 비하여 유의적인 항균특성을 나타내지 않아 무첨가구와 비슷한 양상의 흡광도를 나타내었다(Fig. 1). 가자육 추출물의 경우도 복분자 추출물과 마찬가지로 뚜렷한 항균효과가 나타나지 않는 것으로 측정되었다. 오배자 추출물의 경우 위에서 서술한 복분자, 가자육과 유사한 경향을 나타내었다. 에탄올 추출물의 경우 복분자 추출물을 첨가한 처리구는 배양 10시간 이내의 log phase를 거쳤으며 이후 stationary phase에 도달하였다. Log phase에서의 *E. coli*에 대한 항균효과는 매우 미약하게 나타났지만 배양 10시간 이후에 복분자 추출물을

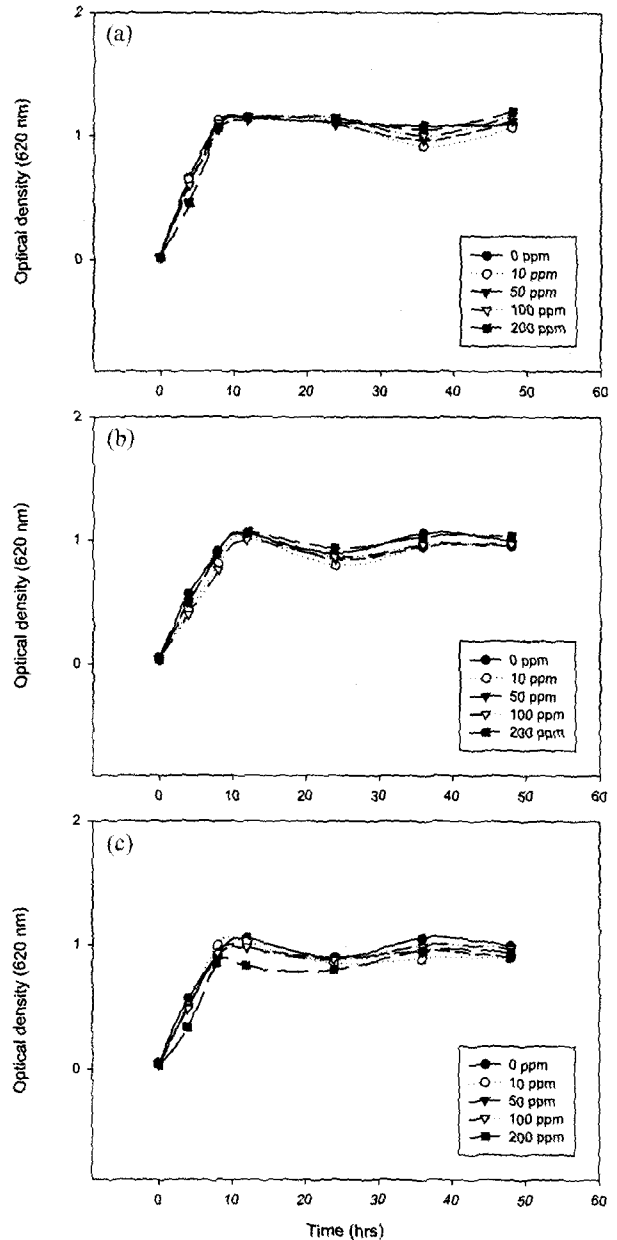


Fig. 1. Growth inhibition of water extract of *Rubus coreanus miquel*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* on *Escherchia coli*.

(a) *Rubus coreanus miquel*, (b) *Therminalia chebula Retz*, (c) *Rhus javanica*.

첨가한 것에 따라 무첨가구인 대조구에 비하여 약간의 흡광도 차이를 나타내었다(Fig. 2). 다른 2종의 특용작물인 가자육, 오배자에서도 이와 유사한 경향을 나타내었으며 결론적으로 3종의 추출물 모두 *E. coli*에 대한 효율적인 항균활성은 없는 것으로 판단되었다.

*Listeria monocytogens*는 Brain heart infusion broth를 이용하여 배양하였으며 이를 여러 가지 농도로 조정된 배지에 접종하여 배양시간에 따른 균주 성장 특성을 측정하여 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 복분자의 물추출물을 첨가한 처리구의 경우 모든 처리구가 배양 10시간 만에 stationary phase에 도달하였으나 200 ppm으로 조정된 처리구의 경우 대

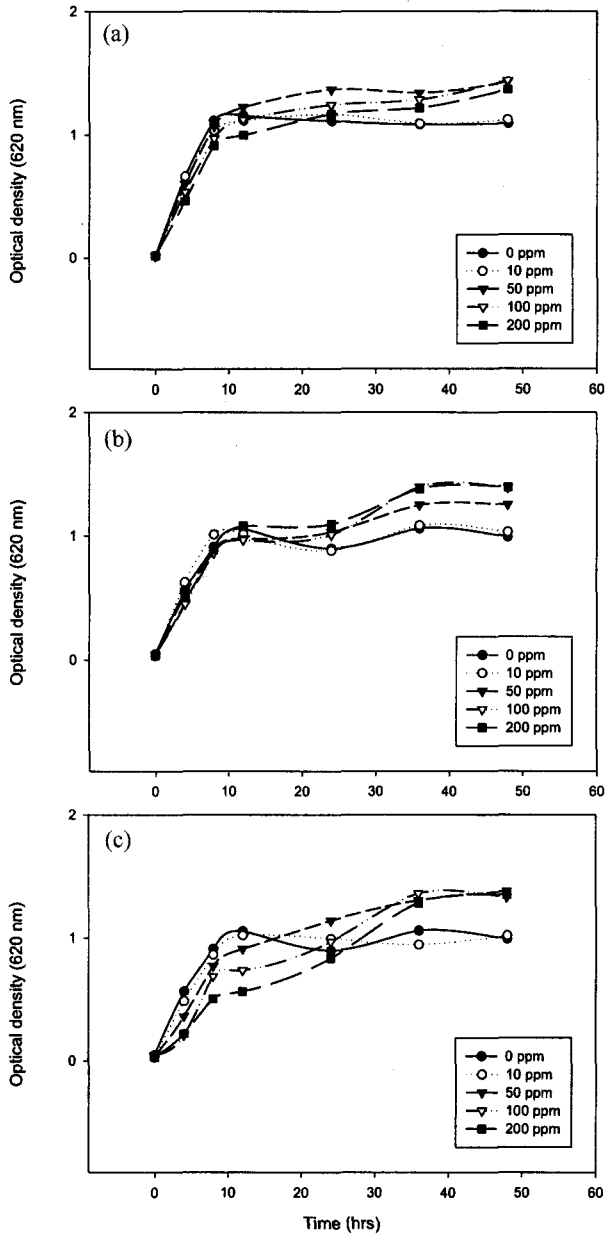


Fig. 2. Growth inhibition of 80% ethanol extract of *Rubus coreanus miquel*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* on *Escherichia coli*.

(a) *Rubus coreanus miquel*, (b) *Therminalia chebula Retz*, (c) *Rhus javanica*.

조구 및 기타 저농도의 첨가구에 비하여 월등히 낮은 흡광도를 나타내어 비교적 대상 미생물의 생육을 억제하는 효과가 우수한 것으로 나타났다. 가자육의 물추출물을 첨가한 처리구의 경우 균주의 성장 억제효과가 복분자에 비하여 훨씬 우수한 것으로 나타났는데 50 ppm 이상의 농도에서 흡광도 1 이하의 수치를 나타내었으며 급격한 균의 증가도 일어나지 않는 것으로 나타났다. 그러나 10 ppm의 농도에서는 무첨가구인 대조구와 거의 유사한 growth curve를 보여주었다. 오배자를 물로 추출하여 첨가한 처리구의 경우, 가자육 물추출물을 첨가하였을 경우와 유사한 양상을 나타내었지만 균 성장 억제 농도가 100 ppm 이상인 것으로 나타났다. 따라서

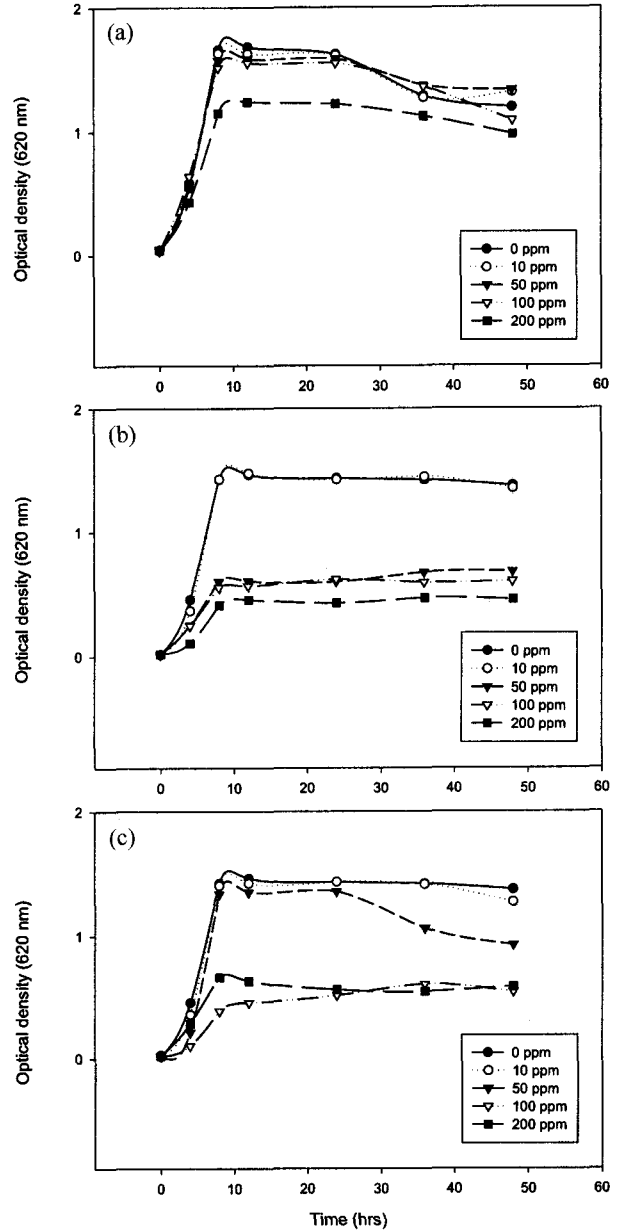


Fig. 3. Growth inhibition of water extract of *Rubus coreanus miquel*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* on *Listeria monocytogenes*.

(a) *Rubus coreanus miquel*, (b) *Therminalia chebula Retz*, (c) *Rhus javanica*.

가자육과 오배자의 물추출물이 비교적 저농도인 50~100 ppm 이상에서 *L. monocytogenes*의 성장을 효율적으로 억제하는 것으로 나타나 이를 이용한 천연 보존제의 개발이 가능성이 있음을 알 수 있었다. 복분자의 에탄올 추출물을 첨가하였을 경우, 무첨가구인 대조구에 비하여 뚜렷한 생육저해 특성이 관찰되지 않아 효율적인 항균활성이 발현되지 않음을 알 수 있었다. 가자육의 에탄올 추출물을 첨가하였을 경우, 가자육의 물추출물을 첨가하였을 경우와 마찬가지로 50 ppm 이상에서 확실한 균주 성장 억제 특성이 나타남을 알 수 있었다. 대조구와 10 ppm 농도로 첨가된 처리구가 배양 10시간 이내에 급격한 흡광도 증가가 발생하는 것과는 달리 50 ppm 이

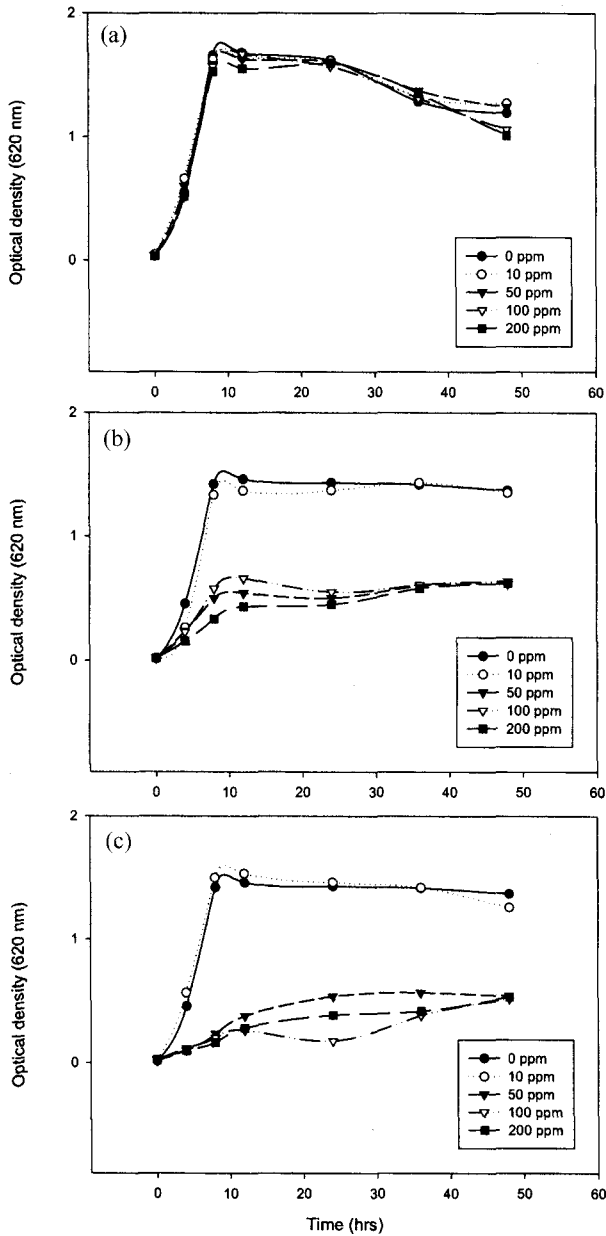


Fig. 4. Growth inhibition of 80% ethanol extract of *Rubus coreanus miquel* on *Listeria monocytogens*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* on *Listeria monocytogens*. (a) *Rubus coreanus miquel*, (b) *Therminalia chebula Retz*, (c) *Rhus javanica*.

상의 농도에서는 매우 완만하게 흡광도가 증가하였으며 배양 50시간 경에도 대조구가 1.5 정도의 흡광도를 나타낸 반면 0.5 정도의 흡광도를 나타내어 생육저해 활성이 우수함을 알 수 있었다. 오배자 에탄올추출물을 첨가하였을 경우, 가자육과 유사한 경향을 나타내어 50 ppm 이상의 농도에서 매우 효율적으로 균증식을 억제하는 특성이 있음을 알 수 있었다. 따라서, 오배자의 경우, 물추출물 보다는 에탄올 추출물이 효율적인 항균활성을 나타내는 것으로 생각되었다. 가자육과 오배자 추출물은 효과적으로 *L. monocytogens*의 성장을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었으며 따라서 향후 정밀 실험을 통하여 식품저장중 *Listeria* 균에 의한 식중독 예

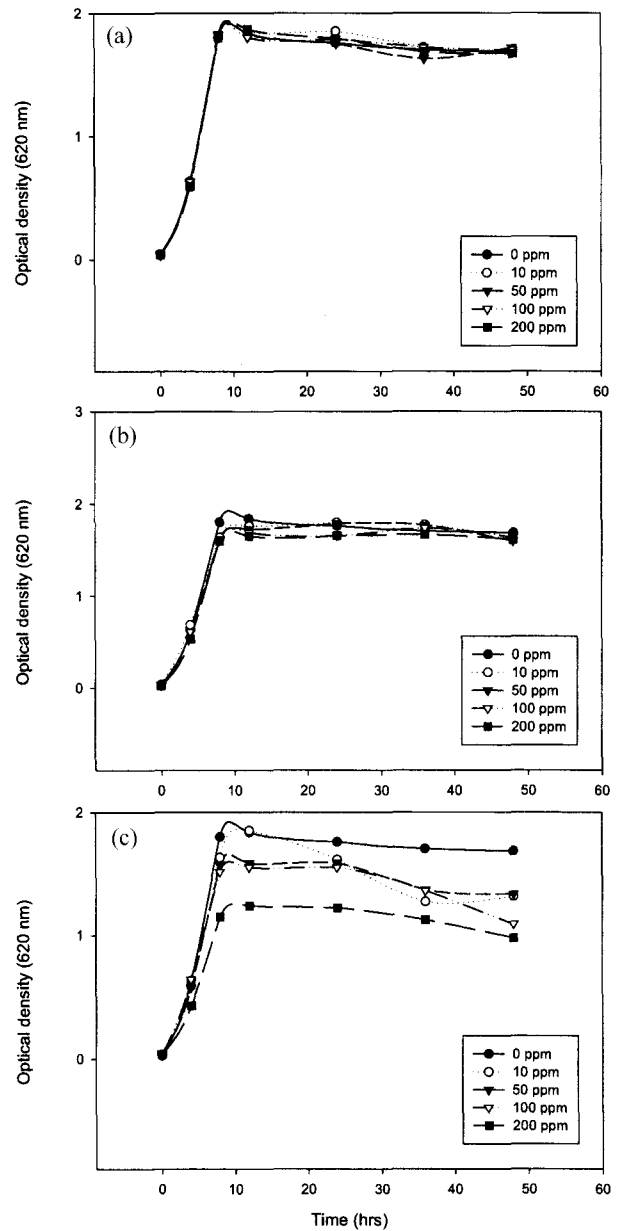


Fig. 5. Growth inhibition of water extract of *Rubus coreanus miquel*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* on *Candida albicans*. (a) *Rubus coreanus miquel*, (b) *Therminalia chebula Retz*, (c) *Rhus javanica*.

상이나 품질 저하 현상을 방지할 수 있는 천연항균제로 개발 할 수 있음을 알 수 있었다.

*Candida albicans*의 액체 배양중 복분자, 가자육, 오배자 추출물이 균체의 성장 억제에 미치는 영향을 조사하여 그 결과를 Fig. 5, 6에 나타내었다. 복분자의 물추출물이나 가자육의 물추출물의 경우 균주의 성장 억제에 미치는 영향이 매우 미약한 것으로 나타나 대조구에 비하여 거의 같은 수치를 나타내었다. 오배자 물추출물의 경우는 추출물의 농도가 증가할수록 대상미생물의 성장이 억제되는 것으로 나타났으며 200 ppm 농도에서의 경우 대조구에 비하여 흡광도가 1.0 정도 낮게 측정되었다. 에탄올 추출물의 경우도 물추출물과

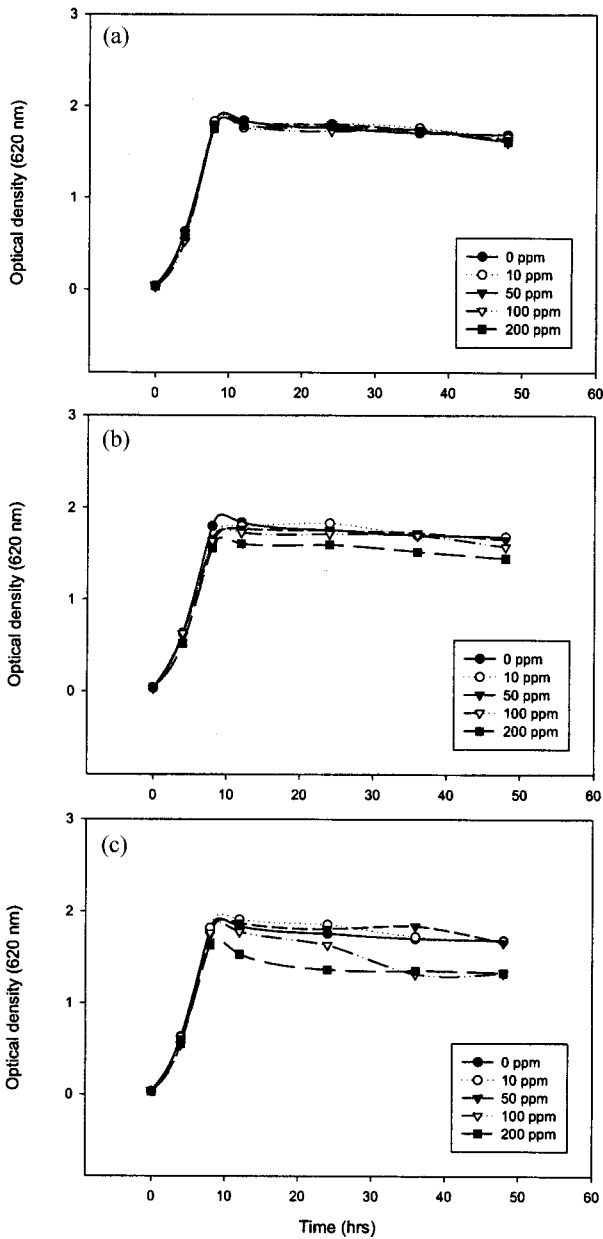


Fig. 6. Growth inhibition of 80% ethanol extract of *Rubus coreanus miquel*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* on *Candida albicans*.

(a) *Rubus coreanus miquel*, (b) *Therminalia chebula Retz*, (c) *Rhus javanica*.

유사한 경향을 나타내어 복분자와 가자육의 경우 대조구와 거의 유사한 경향을 나타내었지만 오배자의 경우 물추출물에 비하여 미약하지만 어느 정도의 성장저해 특성이 있음을 알 수 있었다. 오배자의 에탄올 추출물의 경우 100 ppm 이상의 농도에서 대조구와 확연하게 흡광도가 다르게 측정되었지만 *Candida albicans*의 경우 *Listeria monocytogens*에 비하여 성장 저해 활성이 크지 않은 것으로 판단되었다.

요 약

식품에 사용가능한 천연식품보존제를 개발하기 위하여 총

62종의 특용작물을 대상으로 실험하였다. 공시된 62종의 특용작물에 대한 물추출물 및 80% 에탄올 추출물을 제조하였으며 *Escherchia coli*, *Listeria monocytogens* 및 *Candida albicans*의 3종의 미생물을 대상균주로 하여 paper disk method에 의해 항균력을 측정하였으며 그 결과 7종의 특용작물을 1차로 선발하였고 이후 정밀실험을 통하여 복분자 (*Rubus coreanus miquel*), 가자육(*Therminalia chebula Retz*), 오배자(*Rhus javanica*) 3종의 특용작물을 최종 선발하였다. 선발된 3종의 특용작물에 대한 항균 spectrum 측정 결과 가자육과 오배자 추출물이 비교적 넓은 항균 spectrum을 가지고 있었다. 최소성장억제농도인 MIC(minimal inhibition concentration)를 측정한 결과 가자육과 오배자 추출물이 낮은 수치의 MIC를 가지고 있는 것으로 나타났다. 액체배양시 균주의 성장억제에 미치는 영향을 측정한 결과 *Listeria monocytogens*에 대한 생육억제 활성이 매우 우수한 것으로 나타나 천연식품보존제로서의 가능성이 있음을 알 수 있었다.

문 헌

1. Kim, H.Y., Lee, Y.J., Hong, K.H., Kwon, Y.K., Lee, J.Y. and Kim, S.H. Studies on the development of natural preservatives from natural products. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 1667-1678 (1999)
2. Oh, D.H., Ham, S.S., Park, B.K., Ahn, C. and Yu, J.Y. Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 957-963 (1998)
3. Lee, B.W. and Shin, D.H. Antimicrobial effect of some plant extracts and their fractionates for food spoilage microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 205-211 (1991)
4. Shin, D.H., Kim, M.S. and Han, J.S. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 808-816 (1997)
5. Hughey, V.L. and Johnson, E.A. Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and foodborne disease. Appl. Environ. Microbiol. 53: 2165-2170 (1987)
6. Orman, J.D. and Reiter, B. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. Biochem. Biophys. Acta 170: 351-354 (1968)
7. Sakanara, S., Aizawa, M., Kim, M. and Yamamoto, T. Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Prophyromonas gingivalis*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 60: 745-749 (1996)
8. Muroi, H. and Kubo, I. Combination effects of antimicrobial compounds in green tea flavor against *Streptococcus mutans*. J. Agric. Food Chem. 41: 1102-1105 (1993)
9. Sakanara, S., Kim, M., Taniguchi, M. and Yamamoto, T. Antimicrobial extracts against *Streptococcus mutans*, a carcinogenic bacterium. Agric. Biol. Chem. 53: 2307-2311 (1989)
10. Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. and You, J.J. Food applications of chitin and chitosans. Trends Food Sci. Technol. 10: 37-51 (1999)
11. DeVuyst, L. and Vandamme, E.J. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. In: Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria; Microbiology, Genetics and Applications. DeVuyst, L. and E.J. Vandamme (eds). Blackie Academic & Professional, London, UK (1994)
12. FDA. Nisin preparation: Affirmation of GRAS status as a direct human food ingredients. Food & Drug Admin., Fed. Reg. 53: 11247 (1988)
13. Jung, D.S., Lee, Y.K. and Lim, K.W. Characteristics of fermented fruit and vegetable mixed broth using by bacteriocin-producing lactic acid bacteria and yeast. Korean J. Food Sci. Technol. 32:

- 1358-1364 (2000)
14. Ahn, E.S., Kim, M.S. and Shin, D.H. Screening of natural antimicrobial edible plant extract for dooboo, fish paste, makkoli spoilage microorganism. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 733-739 (1994)
 15. Kim, H.S. and Shin, J.W. Isolation and antimicrobial activity of *Xanthium strumarium* L. extract. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25: 183-188 (1997)
 16. Kim, Y.G., Jo, J.S. and Moon, C.K. Antimicrobial activities of the lignans from *Abies koreana* Wilson. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 260-262 (1999)
 17. Han, J.S. and Shin, D.H. Antimicrobial effect of each solvent fraction of *Morus alba* Linne, *Sophora flavescens* AITON on *Listeria monocytogenes*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 539-544 (1994)
 18. An, E.Y., Han, J.S. and Shin, D.H. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by pure compound isolated from extract of *Morus alba* Linne bark. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 1236-1240 (1997)
 19. Jeon, Y.O., Kim, K.H., Kim, S.I. and Han, Y.S. Screening of antimicrobial activity of the *Plantago asiatica* L. extract. *Korean J. Soc. Food Sci.* 14: 498-502 (1998)
 20. Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. Antimicrobial effects of *Lithospermi radix* (*Lithospermum erythrorhizon*) extract. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 97-100 (1992)
 21. Lee, S.H., Choi, W.J. and Lim, Y.S. Effects of *Schizandra chinensis* extracts on the fermentation of Kimchi. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25: 229-234 (1997)
 22. Lee, S.H. and Lim, Y.S. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extracts against *Listeria monocytogenes*. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25: 442-447 (1997)
 23. Lee, S.H. and Lim, S.Y. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenic microorganism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 239-243 (1998)
 24. Kuk, J.H., Ma, S.J. and Park, K.H. Isolation and characterization of cinnamic acid with antimicrobial activity from needle of *Pinus densiflora*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 823-826 (1997)
 25. Joo, I.S., Sung, C.K., Oh, M.J. and Kim, C.J. The influence of *Lycii fructus* extracts on the growth and physiology of microorganism. *J. Korean Soc. Sci. Nutr.* 26: 625-631 (1997)
 26. Park, S.W., Woo, C.J., Chung, S.K. and Chung, K.T. Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fraction from *Humulus japonicus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 465-470 (1994)
 27. Kang, J.M., Cha, I.H., Lee, Y.K. and Ryu, H.S. Identification of volatile essential oil, and flavor characterization and antimicrobial effect of fractions from *Houttuynia cordata* thunb. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 209-213 (1997)
 28. Lee, H.Y., Kim, C.K., Sung, T.K., Mun, T.K. and Lim, C.J. Antimicrobial activity of *Ulmus pumila* L. extract. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 20: 1-5 (1992)
 29. Lee, S.H., Cho, O.K. and Park N.Y. The mixed effect of *Salvia miltiorrhiza* and *Glycyrrhiza uralensis* on the shelf-life of kimchi. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 858-863 (1998)
 30. Ahn, E.Y., Shin, D.H., Baek N.I. and Oh, J.A. Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis* FISCH. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 680-687 (1998)
 31. Shin, O.H., Yoo, S.S., Lee, W.K. and Shin, H.K. Effect of the water-extract of *Sinomenium acutum* on the growth of some intestinal microorganism. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 20: 491-497 (1992)
 32. Nam, S.H. and Yang, M.S. Antimicrobial activity of *Chrysanthemum boreale* M. extract. *Agric. Chem. Biotechnol.* 38: 269-272 (1995)
 33. Chung, S.K., Jung, J.D. and Cho, S.H. Antimicrobial activities of *Chopi* (*Zanthoxylum piperitum* DC.) extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 371-377 (1999)
 34. Zaika, L.L. Spice and herbs; Their antimicrobial activity and its determination. *L. Food Safety* 9: 97-100 (1988)
 35. Lee, K.S., Kim, S.H., Sim, K.C., Park, C.S. and Shin, Y.S. Antimicrobial activity of *Terminalia chebula* Retz. extract of against intestinal pathogens. *Korean J. Food Nutr.* 10: 559-563 (1997)
 36. Shin, D.H., Kim, M.S. and Han, J.S. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractions against food-born bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 808-816 (1997)
 37. Lee, B.W. and Shin, D.H. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* 23: 200-204 (1991)
 38. Lee, M.J., Kim, G.P., Kim, S.H., Choung, N.H. and Yim, M.H. Antimicrobial activity of extracts from gall-nut and red-grape husk. *Korean J. Food Nutr.* 10: 174-179 (1997)

(2002년 2월 7일 접수; 2002년 8월 7일 채택)