

## 오미자(*Schizandra chinensis*) 추출물의 항균물질 분리

이상호 · 이영춘<sup>1,\*</sup> · 윤석권<sup>2</sup>

한국식품정보원, <sup>1</sup>중앙대학교 식품공학과, <sup>2</sup>동덕여자대학교 식품영양학과

### Isolation of the Antimicrobial Compounds from Omija (*Schizandra chinensis*) Extract

Sang-Ho Lee, Young-Chun Lee<sup>1,\*</sup> and Suk-Kwon Yoon<sup>2</sup>

Korea Food Information Center

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University

The antimicrobial activity of the omija extract shown at pH 6.5, which was observed in the previous research, suggested that there could be active substances other than citric acid and malic acid in the Omija extract. Therefore, attempts were made to identify antimicrobial compounds in the essential oils extracted from Omija. The results of silica gel column chromatography and GC-MS revealed that terpineol and citronellol in the essential oil were the active compounds.

**Key words:** antimicrobial compound, separation, identification, omija essential oil, omija extract

## 서 론

일반적으로 식품중에는 미생물로부터 자신을 보호하기 위하여 항균성분을 가지고 있으며 이들을 살펴보면 conalbumin, avidin, lactoferrin과 같은 단백질류, lysozyme, lactoperoxidase와 같은 효소류, citric acid, succinic acid, malic acid와 같은 유기산류, 중쇄지방산, polyhydric alcohol, 식물의 정유성분, 식물의 색소성분, humulone과 같은 resin류 등 매우 다양하다. 오미자에는 다량의 유기산이 존재하며 이들은 오미자의 독특한 맛과 향을 결정할 뿐만 아니라 오미자의 보존성에도 기여할 것으로 생각된다. 이러한 결과는 오미자 추출물중의 유기산이 배지의 pH를 저하시켜 미생물의 생육이 억제된다고 보고한 박 등<sup>(1)</sup>의 결과와, 오미자 추출물을 배지에 첨가한 후 0.1 N HCl을 이용하여 유산균의 생육에 미치는 오미자 추출물의 생육억제효과를 측정하고 오미자 추출물 중의 fumaric acid, citric acid, malic acid, itaconic acid를 배지에 첨가하여 대조구와의 생육억제능력을 비교하여 보고한 이와 임 등<sup>(2)</sup>의 보고와도 일치하는 것이었다. 따라서 오미자의 항균활성은 오미자 추출물 중에 존재하는 유기산에 의해 크게

좌우되는 것으로 생각된다.

본 연구에서는 오미자 추출물 중에 존재하는 유기산 외에 pH 6.5부근에서 항균성<sup>(3)</sup>을 나타내는 항균물질이 무엇인지를 확인하기 위하여 오미자 essential oil 추출물의 silica gel column chromatography 및 GC-MS를 통하여 essential oil 중에 존재하는 유효 항균물질을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

오미자는 경남 함양군 마천면 삼정리에서 1999년 9월에 구입하여 분쇄기를 이용하여 분쇄한 후 시료로 사용하였다.

### 오미자 정유성분의 항균활성

**오미자 정유성분의 추출:** 오미자 정유성분은 오미자를 분쇄한 후 1 L 등근바닥 플라스크에 100 g을 취한 다음 증류수 500 g을 가하고 이것을 water distillation장치를 이용하여 8시간 동안 가열하면서 추출하였다.

**오미자 정유성분의 항균활성 측정:** 오미자 정유성분의 항균활성을 측정하기 위하여 paper disc method를 이용하여 세균 6종, 곰팡이 4종 그리고 효모 2종에 대한 항균활성을 측정하였다. 이때 정유성분을 녹이기 위하여 ether로 10%용액으로 하였으며 paper disc에 10% 정유성분 ether 용액 50 µL를 loading한 후 paper disc의 ether를 제거하기 위하여 37°C 배양기에서 30분 동안 방치하여 ether를 완전히 제거한 후

\*Corresponding author : Young-Chun Lee, Department of Food Science and Technology, Chungang University, Naeri 40-1, Daedukmyun, Ansong, Gyunggi-do 456-756, Korea  
Tel: 82-31-676-2451  
Fax: 82-31-675-4853  
E-mail: leeyc@post.cau.ac.kr

사용하였다. 또한 농도에 따른 생육억제 정도를 확인하기 위하여 물 증류법에 의하여 얻어진 오미자의 정유를 0~500 ppm의 범위에서 첨가한 후 배양시간에 따른 세균의 OD값을 측정하였다<sup>(4,6)</sup>.

**오미자 정유성분 중의 항균활성 물질 분리와 확인:** 오미자 정유성분 중의 항균활성 물질을 확인하기 위하여 정유성분을 먼저 silica gel column chromatograph를 이용하여 1차 정제하였다. 즉, 활성화 된 silica gel(70~230 mesh, Merck, USA)을 n-hexane으로 slurry를 만들어 glass column(φ5 cm×50 cm)에 부은 후 오미자의 정유를 loading하였다. 사용된 용매계는 hexane : ether를 이용하였으며, ether의 농도를 0, 5, 10, 15, 20, 100%로 양을 늘려가면서 정유성분을 각 단계별로 분리 용출시켰다. 이렇게 하여 얻어진 각 획분을 농축한 후 *S. aureus*를 대상으로 하여 항균활성을 측정하였다. 각 획분의 항균활성 측정은 각 획분을 ether로 10% 용액으로 희석한 다음 paper disc에 loading 후 앞에서와 같은 방법으로 ether를 제거한 다음 시료로 사용하였다. 시험균주인 *S. aureus*에 대하여 항균활성이 가장 크게 나타난 획분을 선택하여 GC-MS 분석을 실시하였다. GC-MS 분석은 HP 5890(Hewlett Packard, USA)에 Innowax capillary column(cross linked polyethylene glycol, Hewlett Packard, USA)을 장착하여 사용하였다. Oven 온도는 80°C에서 5분간 유지한 후 분당 5°C의 속도로 증가시켰으며, 250°C에서 20분간 유지하였다. Injection temperature는 250°C이었으며, carrier gas는 helium을 사용하였다.

Mass spectrum은 VG Mass Lab. 회사의 Lab-base system을 사용하여 분석하였다. MS 분석을 통하여 확인된 각각의 물질에 대한 항균활성의 측정은 각 물질의 표준품을 구입한 후 이들을 이용하여 물질의 paper disc법으로 항균활성 능력을 비교·시험하였다.

## 결과 및 고찰

### 오미자 정유성분의 항균활성 측정

오미자의 정유성분을 얻기 위하여 water distillation장치를 사용하여 오미자 정유성분을 추출하였다. 이 정유성분을 paper

**Table 1. Antimicrobial activity of the omija essential oil on bacteria**

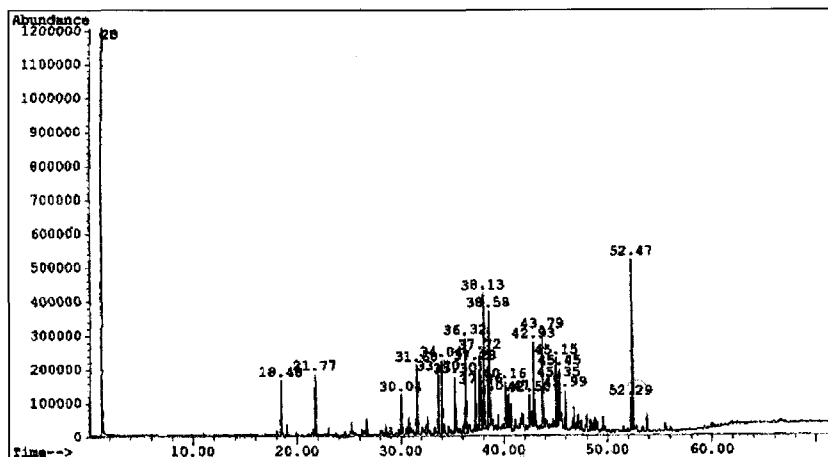
Microorganisms	Clear zone (mm)
G(+) bacteria	
<i>Bacillus subtilis</i>	14
<i>Staphylococcus aureus</i>	12
G(-) bacteria	
<i>Escherichia coli</i>	NI <sup>1)</sup>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NI
<i>Salmonella typhimurium</i>	NI

<sup>1)</sup>NI: No inhibition.

disc method를 사용하여 미생물에 대한 항균활성을 측정한 결과는 Table 1과 같았다. 오미자 정유성분은 효모와 곰팡이에 대한 항균활성은 없었으며, 세균 중에서는 Gram양성 세균에 대해서만 활성이 나타났다. 이는 오미자 추출물의 항미생물 활성이 효모와 곰팡이에 대하여 나타나지 않았다는 정등<sup>(3)</sup>의 결과와 일치하였다. 또 오미자 ethanol 추출물의 경우 Gram음성 세균에 대해서도 항균활성을 보여 주었지만 오미자 정유의 경우 Gram음성 세균에 대하여 항균활성이 나타나지 않는 것은 오미자 ethanol 추출물중에 존재하는 유기산의 존재 유무의 차이로 인한 것으로 생각되었다.

### 오미자 정유성분 중의 항균활성 물질 분리

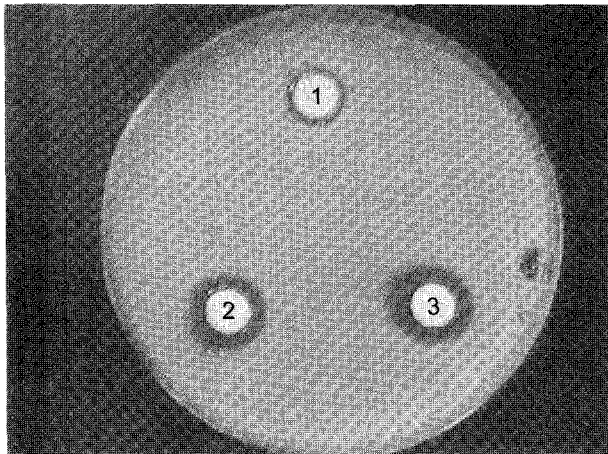
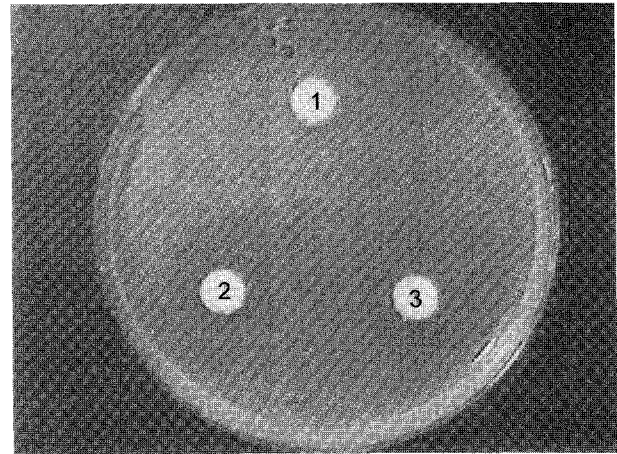
오미자 정유성분 중 항균활성을 나타내는 물질을 분리하기 위하여 hexane-ether 용매계를 이용하여 silica gel column chromatography를 실시하였으며, 모두 6개의 획분을 얻었다. 분획을 통하여 얻어진 6개의 획분 중 가장 많은 양이 얻어진 획분은 n-hexane 획분으로 61.69%의 양을 차지하였으며, 그 다음 5% ether획분이 18.77%, 10% ether획분은 5.87%, 15% ether획분은 3.81%, 20% ether획분은 2.07%, 100% ether획분은 4.91%이었다. 이렇게 하여 얻어진 6개의 획분에 대하여 *S. aureus*를 지표균으로 하여 항균활성을 측정된 결과 hexane획분과 100% ether획분을 제외한 모든 획분에서 항균활성이 나타났다. 항균활성이 나타난 4개의 획분에 대하여



**Fig. 1. GC chromatogram of 20% ether fraction from the essential oil of omija.**

**Table 2. Compounds identified from the essential oil (20%-ether fraction) of the omija by GC-MS**

Retention time (min)	Compound name	Peak area (%)	Similarity (%)
18.48	1- $\alpha$ -Terpineol	1.98	85.0
21.77	$\beta$ -Citronellol	2.55	95.0
30.04	2(3H)-Furanone, dihydro-5-pentyl-	1.74	80.0
35.30	$\gamma$ -Muurolol	2.37	78.0
38.13	Ledane	6.25	92.0
40.47	1H-Indole, 1,2-dimethyl-	1.23	85.0
42.50	cis- $\alpha$ -Copaene-8-ol	1.36	78.0
42.93	Acridine, 9-methyl-	3.60	90.0
45.99	1H-Pyrazole, 3-methyl-5-phenyl-	1.54	86.0

**Fig. 2. Antimicrobial effect of essential oil of Omija against *Staphylococcus aureus*: 1) essential oil, 2) citronellol, 3) terpineol.****Fig. 3. Antimicrobial effect of essential oil of Omija against *Escherichia coli*: 1) essential oil, 2) citronellol, 3) terpineol.**

paper disc법을 이용하여 항균활성을 비교한 결과 20% ether획분에서 가장 큰 활성을 나타내었다.

4개의 획분 중 가장 큰 활성을 보여준 20% ether 획분 중에 존재하는 항균활성 물질을 규명하기 위하여 GC-MS 분석을 실시하였다. 20% ether 획분을 이용하여 GC분석을 실시한 결과는 Fig. 1과 같았으며, GC-MS를 통하여 이들 물질의 종류를 확인한 결과는 Table 2와 같았다. 20% ether 획분 중 가장 많은 구성비를 차지하는 것은 ledane이었으며, 그 다음으로 acridine, citronellol, muurolol, terpineol의 순이었다. Table 2에 나타낸 물질 이외의 물질들은 용매 등에서 유래한 불순물인 것으로 생각되었다. 이들 중 항미생물 활성이 있는 것으로 알려진 citronellol과 terpineol 두 가지 물질의 GC-MS data를 Wiley/NBS library로 동정한 결과 각각 95.0 및 85.0%의 similarity를 보였다(Table 2).

이들 2가지 물질과 오미자 정유성분의 항균활성을 *S. aureus*와 *E. coli*에 대하여 paper disc법으로 측정된 결과는 Fig. 2와 3에 나타내었다. 그림에서 볼 수 있듯이 *E. coli*보다는 *S. aureus*에 대한 항균력이 더 큰 것으로 나타났으며, 두 물질 중 terpineol의 항균력이 citronellol의 항균력보다는 좀 더 크게 나타났다. 한편 오미자 정유를 농도별로 첨가한 첨가한 배지중에서 *S. aureus*와 *E. coli*의 생육정도를 시간에 따라 측정된 결과를 Fig. 4와 5에 나타내었다. *S. aureus*의 경우 오

미자 정유의 첨가군이 6~10시간까지 생육이 억제되는 것을 보여주었지만 *E. coli*의 경우에는 생육이 억제되는 현상을 거의 관찰할 수 없었다. 따라서 이 두 물질이 오미자 정유성분 중에 존재하는 주 항균물질임을 확인할 수 있었다.

오미자의 휘발성 성분을 분석한 김 등<sup>(7)</sup>의 연구에 따르면 모두 47개의 오미자 향기성분을 확인 하였으며 terpene계 화합물인  $\alpha$ -pinene, camphene, limonene,  $\gamma$ -terpinene,  $p$ -cymene,  $\alpha$ -ylangene,  $\beta$ -elemene 등이 많이 함유되어 있다고 하였다. 본 연구에서는 이들 주 성분의 항균활성을 확인하고자 이들의 표준품을 구하여 세균에 대한 항균활성을 확인하여 보았으나 이들의 항균활성은 나타나지 않거나 미약하였다.

일반적으로 정유성분이 세포막에 손상을 주는 것은 그들의 친유성 성질 때문인 것으로 알려져 있으며<sup>(8,9)</sup> 이외에도 분자내의 functional group에 의해서도 손상효과가 나타난다고 알려져 있다. Terpenoid중에는 phenolic alcohol과 nonphenolic alcohol이 가장 강한 활성을 나타내며 그 다음으로 aldehyde와 ketone의 활성이 강하다고 알려졌다. 반면 hydrocarbon의 활성은 그리 강하지 못한 것으로 알려져 있다. 이들 정유성분의 항미생물 활성은 이들 분자내의 기능성기가 막에 결합되어 있는 효소에 작용하여 활성을 나타낸다고 보고되었다<sup>(9)</sup>. 또 유산균에 대한 eugenol의 영향을 조사한 Blank 등<sup>(10)</sup>의 보고에 따르면 eugenol이 유산균의 지방산 조성에 영향을 준다고 보고하였다.

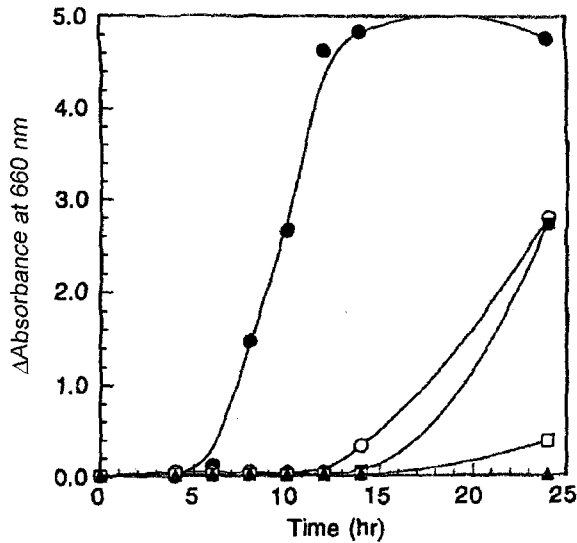


Fig. 4. Effect of the essential oil of Omija on the growth of *Staphylococcus aureus*.

●-●: control, ○-○: 62.5 ppm, ■-■: 125 ppm, □-□: 200 ppm, ▲-▲: 500 ppm.

Jay와 Rivers<sup>(11)</sup>은 식품에 사용되고 있는 21종의 향료성분을 대상으로 하여 이들의 향미생물 활성을 검색하여 본 결과 diacetyl, ethyl vanillin, eugenol, maltol, mentol, phenylacetic acid, phenylacetaldehyde, 2,3-pentanedione, vanillin, d-carvone, l-carvone의 11종이 향균활성이 있으며 이들중 diacetyl과 phenylacetic acid가 가장 우수한 향균활성을 나타내었다고 보고하였다. 또한 이들의 향미생물 활성은 pH 8보다는 pH 6에서 더 효과적이라고 하였다. 이외에 Kurita와 Koike<sup>(12-14)</sup>는 정유성분의 향미생물 활성에 미치는 여러 종류의 첨가제의 영향을 보고 하였는데 이들은 cinnamaldehyde, perillaldehyde, cuminaldehyde, citronellol, eugenol, citral, geraniol, perillalcohol, d-carvone, citronellal 등을 acetic acid, NaCl, ethanol과 함께 첨가하였을 때 향미생물활성에 미치는 효과를 시험하였다. 이들의 보고에 따르면 0.1%의 acetic acid와 3%의 NaCl을 첨가한 배지에 citronellol, perillaldehyde, citral, geraniol, perillalcohol, cuminaldehyde를 처리할 경우 0.5 mM의 농도에서 균의 생육을 억제하였으며  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, camphene,  $\beta$ -myrcene 등의 물질은 상승작용을 나타내지 않는다고 보고 하였다.

Diacetyl의 향균력에 미치는 pH의 영향을 보고한 Jay<sup>(15)</sup>에 의하면 pH 5-8사이에서 diacetyl의 pH에 따른 향균력은 pH 5에서 가장 큰 향균력을 나타낸다고 보고하였다. 이처럼 산성조건에서 좀 더 향균력이 크게 나타나는 것은 혐기성 조건에서 보다 산성조건에서 정유성분의 용해도가 증가하기 때문이라고 설명하였다. 또 eugenol이 유산균의 지방산 조성에 미치는 영향을 보고한 Blank 등<sup>(16)</sup>에 따르면 eugenol의 향균활성은 pH의 저하에 의해 커진다고 보고하였다.

이들의 연구 결과를 살펴볼 때 오미자의 향균력은 주로 오미자 ethanol 추출물의 유기산 자체와 이들로 인한 pH 저하로 인하여 향균활성이 나타나기는 하지만 pH 저하로 인하여 terpineol과 citronellol 같은 정유성분의 향미생물 작용이 한층

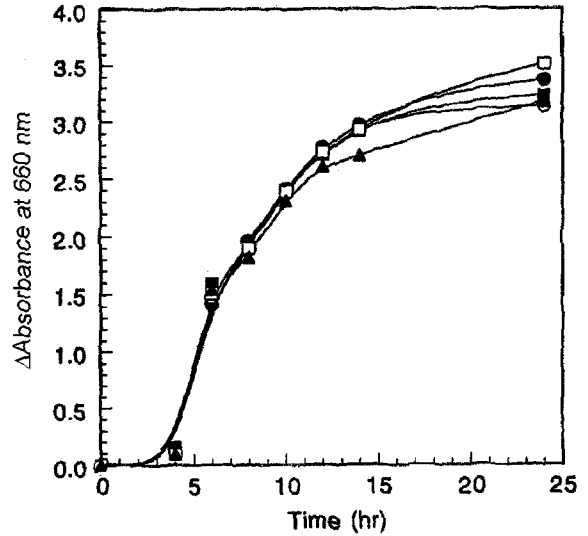


Fig. 5. Effect of the essential oil of Omija on the growth of *Escherichia coli*.

●-●: control, ○-○: 62.5 ppm, ■-■: 125 ppm, □-□: 200 ppm, ▲-▲: 500 ppm.

강화되어 나타나는 것으로 생각되었다. 정유성분의 향미생물 활성에 대하여 보고한 Knobloch 등<sup>(9)</sup>에 따르면 정유성분의 물에 대한 용해도는 미생물의 세포벽에 침투하는 능력과 직접적으로 관련이 있다고 하였으며, 정유성분의 향미생물 활성은 세포막의 phospholipids bilayer에 대한 용해도에 의하여 결정된다고 하였다. 따라서 오미자중에 존재하는 유기산의 존재는 그 자체의 향균력도 중요하지만 오미자 정유성분의 향균력 발현에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 생각되었다.

## 요 약

오미자 essential oil에 존재하는 향미생물 활성물질을 분리하기 위하여 hexane-ether 용매계를 이용하여 silica gel column chromatograph를 실시하였다. 여기서 얻은 6개획분의 *S. aureus*에 대한 향미생물성을 조사하였고, 향미생물성이 큰 획분의 GC-MS를 통하여 9개의 성분을 동정하였다. 한편 오미자 정유, citronellol 및 terpineol을 첨가한 배지에서 *S. aureus*와 *E. coli*의 생육억제 효과를 관찰한 결과 *E. coli* 보다는 *S. aureus*에 대한 향균력이 큰 것으로 나타났다. 그리고 오미자 정유를 농도별로 첨가한 배지중에서 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 경시적 생육억제 효과를 조사한 결과 *S. aureus*의 경우 오미자 정유 첨가군에서 6-12시간까지 생육이 억제되었으나 *E. coli*의 경우에는 생육억제 효과가 거의 없었다. 따라서 citronellol과 terpineol이 오미자 정유성분 중에 존재하는 중요 향균물질임을 확인하였다.

## 문 헌

1. Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. J. Korean Soc. of Food Sci. Nutr. 21: 91-95 (1994)
2. Lee, S.H. and Im, Y.S. Effects of omija (*Schizandra chinensis*)

- extract on the growth of lactic acid bacteria isolated from kimchi. Korean J. Appl. Microb. Biotechnol. 25: 224-228 (1997)
3. Chung, K.H., Lee, S.H., Lee, Y.C. and Kim, J.T. Antimicrobial activity of Omija (*Schizandra chinensis*) extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 1127-132 (2001)
  4. Lee, B.W. and Shin, D.W. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganism. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 200-204 (1991)
  5. Inukai, S., Kikuchi, J. and Watanabe, T. Effect of sodium salts of some organic acids on the germination and thermal resistance of genus *Bacillus* spores. J. Food Hyg. 25: 125-130 (1984)
  6. Beuchat, L.R. and Goiden, D.A. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technol. 43: 134-142 (1989)
  7. Kim, O.C. and Jang, H.J. Volatile components of *Schizandra chinensis* baillon. Agri. Chem. Biotechnol. 37: 30-36 (1994)
  8. Lattanzio, V., De Cicco, V., Di Venere, D., Lima, G. and Salerno, M. Antifungal activity of phenolics against fungi commonly encountered during storage. Ital. J. Food Sci. 1: 23-30 (1994)
  9. Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H. and Weis, N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J. Ess. Oil Res. 1: 119-128 (1989)
  10. Blank, G., Adejumo, A.A. and Zawistowski, J. Eugenol induced changes in the fatty acid content of two *Lactobacillus* species. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 24: 231-235 (1991)
  11. Jay, M.J. and Rivers G.M. Antimicrobial activity of some food flavoring compounds. J. Food Saf. 6: 129-139 (1984)
  12. Kurita, N. and Koike, S. Synergistic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oil components. Agri. Biol. Chem. 46: 159-165 (1982)
  13. Kurita, N. and Koike, S. Synergistic antimicrobial effect of acetic acid, sodium chloride and essential oil components. Agri. Biol. Chem. 46: 1655-1660 (1982)
  14. Kurita, N. and Koike, S. Synergistic antimicrobial effect of ethanol, sodium chloride, acetic acid and essential oil components. Agri. Biol. Chem. 47: 67-75 (1983)
  15. Jay, M.J. Effect of diacetyl on foodborne microorganisms. J. Food Sci. 47: 1829-1831 (1982)

---

(2002년 10월 1일 접수; 2003년 6월 18일 채택)