

삼백초(*Saururus chinensis* Baill) 추출물의 항균활성

고 무 석

전남대학교 사범대학 가정교육과

Antimicrobial Activity of *Saururus chinensis* Baill Extract

Koh Mu Seok

Dept. Home Economics Education, Chonnam University, Gwangju 500-757, Korea

Abstract

In order to develop natural food preservatives, the ethanol and water extracts of the *Saururus chinensis* Baill were prepared. Antimicrobial activity was examined against 10 kinds of harmful microorganisms. The ethanol and water extracts showed the most active antimicrobial activity against *B. subtilis* and *E. coli*. The ethanol extract showed stronger antimicrobial activity than that of the water extract. However, the extracts did not show any antimicrobial activity against lactic acid bacteria and yeast. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of ethanol extracts against *B. subtilis* and *E. coli* were 5 to 10 mg/mL, respectively. Antimicrobial activity of the ethanol extract was not destroyed at 40~120°C and pH 3~11. The ethanol extract was fractionated in the order of hexane, diethyl ether, ethyl acetate, and water fractions. The highest antimicrobial activity was found in the diethyl ether fraction.

Key words: *Saururus chinensis* Baill extract, antimicrobial activity, minimum inhibitory concentration (MIC)

서 론

삼백초(三白草, *Saururus chinensis* Baill)는 습지에서 잘 자라는 다년초로서 냄새를 가지고 있으며 잎의 모양이 난상 타원형이다. 삼백초는 잎, 꽃, 뿌리 3부분이 흰색 또는 윗부분의 2~3장의 잎이 흰색이라고 하여 삼백초라고 부른다(1-4). 삼백초는 주로 약용으로 이용되고 있으나 식재료로서 이용 가능성이 크며 중국에서는 어성초와 같이 차나 나물로 이용되고 있다. 삼백초의 주요 정유성분은 methyl-n-nonyl-ketone이며, 잎에는 quercetin, quercetrin, isoquercetrin, avicularin, rutin 등이 함유되어 있고, 뿌리에는 아미노산, 유기산, 당류 및 hydrolyzable tannin이 함유되어 있다. 잎과 줄기는 소종해독(消腫解毒), 청열이수(淸熱利水) 및 항암에 효과가 있고, 뿌리는 화농성 유선염, 옹(癰), 방뇨 후의 요도통, 성인병, 고혈압 등에 효과가 있다고 알려져 있다(1-6). 삼백초과에 속하는 어성초(*Houttuynia cordata* Thunberg)는 약모밀, 즙채, 종약 등의 여러 가지 명칭으로 불리우고 있으며, 잎의 모양이 심장모양으로 끝이 뾰족하여 삼백초와 차이가 있다(1-4). 효능면에서는 삼백초와 어성초가 비슷하나, 삼백초는 게르마늄을 비롯한 플라본계 탄닌과 아미노산 등을 함유하고 있으며 각종 난치병 치료제로 사용하고 있다. 또한 어성초에 없는 소담(消痰), 파벽(破癖), 제적취(除積聚)의 작용이 있다(3,4). 최근 천연자원 이용개발의 측면에서 어성초

를 비롯하여 과거 민간요법으로 사용했던 여러 가지 식물들의 항균활성 및 생리활성 물질에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(7-20). 이들의 특수 성분들은 가공식품의 보존과 유통기간을 연장하고, 상품적인 가치를 높이기 위하여 미생물의 증식억제 또는 살균을 위한 식품첨가물로서 뿐만 아니라 건강식품 및 기능성 식품의 재료로 이용되고 있다. 그동안 삼백초에 관한 연구로는 항산화 활성(21), 간세포 보호활성(22), 복강 대식세포의 형태변화 및 유리기전에 관한 연구(23,24), 약물학적 연구(25), 항균성 및 진통성분(5,26,27), 중근부위와 마디수가 삼백초의 생육 및 수량에 미치는 영향(28) 등에 관한 연구가 있으나, 삼백초의 항균활성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 식품의 저장성 및 기능성을 위한 연구의 일환으로 삼백초 잎과 줄기의 추출물과 그의 분획물을 일반세균, 젖산균 및 효모 총 10균주에 대한 항균활성을 검색하고, 항균활성 물질의 미생물에 대한 최소저해농도와 증식에 미치는 영향 및 열과 pH에 대한 안정성을 측정하였으며, 에탄올 추출물을 용매분획하여 각 분획별 항균활성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

삼백초의 잎과 줄기는 2002년 5월 전남 보성군 근교에서

제배된 것을 채취하여 수세한 후 잎과 줄기로 분리하여 시료로 사용하였다.

사용균주 및 배지

사용한 균주는 Table 1에 나타낸 바와 같이 일반세균 6종(그람양성균 3종과 그람음성균 3종)과 젖산균 2종 및 효모 2종을 선정하였다. 균 생육배지로 일반세균은 Nutrient broth(Difco Laboratories Detroit Co., Michigan, USA)와 agar, 젖산균은 lactobacillus MRS broth(Difco Laboratories Detroit Co., Michigan, USA)와 agar, 효모는 YM broth(Difco Laboratories Detroit Co., Michigan, USA)와 agar 배지를 각각 사용하였다.

물 추출물과 에탄올 추출물의 제조

삼백초의 잎과 줄기의 물 추출물은 시료 1 kg에 3 L의 증류수 각각 가하여 homogenizer로 5분 마쇄한 다음, 상온에서 24시간 동안 교반, 침출시켜 1차 추출하고, 다시 증류수 3 L를 가하여 동일한 방법으로 2차 추출한 후 추출액 모두 여지(Whatman No.2)로 여과하였다. 이 여액을 rotary vacuum evaporator(Buchi RE 121, Switzerland)로 50°C 수욕상에서 회전감압 농축하여 얻은 점조성의 추출물을 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 삼백초의 잎과 줄기의 에탄올 추출물은 시료 1 kg에 에탄올(주정 96%) 3 L를 가하여 물추출물과 동일한 방법으로 1차, 2차 추출하여 여과한 다음 여액을 50°C 수욕상에서 약 100 mL로 회전감압 농축한 후 증류수 1 L를 가하여 잘 혼합하고, 4°C 냉장실에서 24시간 방치한 다음 13,000×g으로 30분 원심분리(24 M, Rotor type A8, MSE Scientific Co., Sussex, UK)하여 침전된 수지성분을 2회 반복하여 제거하였다. 다시 수용액을 회전감압 농축하여 얻은 최종 에탄올 추출물을 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

항균력 측정

Slant에 배양된 각각의 균주 1백금이를 취해 10 mL broth의 균생육 액체배지에 접종하고 각각 균주의 생육적온에서 18~24시간씩 3회 계대배양한 후 항균활성 시험균주로 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지는 각각의 생육배지로 멸균된 기층용 배지를 petri dish에 15 mL씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5 mL씩 시험관에 분주하여 멸균한

후 45°C 수욕상에서 보관하면서 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균농도를 660 nm에서 흡광도가 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.1 mL를 무균적으로 가하여 잘 혼합한 후 기층용 배지위에 분주한 뒤 고르게 응고시켜 2중의 균점중 평판 배지를 만들어 사용하였다. 삼백초 잎과 줄기 추출물의 항균활성 검색은 한천배지 확산법(disc plate method)으로 측정하였다(29,30). 즉, 잎과 줄기의 추출물을 0.45 µm membrane filter(Millipore Co., USA)로 여과하고 제균한 다음 멸균된 filter paper disc(8 mm, Toyo Seisakusho, Japan)에 일정량씩 흡수시킨 후, 추출 용매를 완전히 증발시키고 시험용 평판 배지 표면에 놓아 밀착시키고 4°C 냉장실에서 1시간 동안 방치하였다. 항균활성은 각각의 균 생육적온 즉, 일반세균은 37°C에서 젖산균과 효모는 30°C에서 24시간 동안 배양한 다음 paper disc(8 mm, Toyo Seisakusho, Japan) 주변의 clear zone 직경을 측정하여 검색하였다. 추출물의 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 액체배지희석법(broth dilution method)으로 추출물의 고형분 함량이 고체배지와 동일농도 구간으로 조절한 액체배지를 준비하여 균현탁액을 0.1 mL씩 접종하고 각각의 균 최적 생육적온에서 48시간 배양한 다음 Spectrophotometer(Shimadzu UV-160, Kyoto, Japan)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 균증식이 나타나지 않은 농도로 결정하였다(31,32).

에탄올 추출물의 농도에 따른 미생물의 증식과 대수증식기에 미치는 영향

삼백초 잎의 에탄올 추출물의 농도별 항균활성 검색은 액체배지 희석법을 이용하여 측정하였다. 즉, 각각의 균 생육배지인 멸균된 8.5 mL broth 배지에 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균농도를 660 nm에서 흡광도가 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.5 mL를 접종하고 삼백초 에탄올 추출물을 membrane filter로 여과하고 제균하여 고형분의 함량이 각각 1.5, 2.5, 5, 10과 20 mg/mL의 농도가 되도록 조절한 에탄올 추출물을 1 mL 가하여 각각의 균 최적 생육적온에서 48시간 동안 배양하면서 경시적으로 균 증식도를 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 에탄올 추출물이 대수증식기에 미치는 영향은 균 생육배지인 멸균된 8.5 mL broth에 시험균액 0.5 mL를 가하여 각각의 균 최적 생육적온에서 8시간 배양하여 대수증식기에 도달시킨 다음, 농도에 따른 미생물의 항균활성 측정과 동일하게 측정하였다.

항균성 물질의 열 및 pH 안정성 측정

삼백초의 추출물 중 항균활성물질의 열 안정성은 삼백초 잎의 에탄올 추출물을 40~100°C까지는 10°C간격으로 각각 1시간 동안 열처리하고, 120°C에서는 15분 동안 열처리한 후 대조구와 같이 한천배지 확산법으로 생육환의 지름을 측정하여 비교하였다. 또한 pH 안정성은 삼백초 에탄올 추출물을 염산과 수산화나트륨으로 pH 3~11까지 조절한 후 상온에서 1시간 방치한 다음, 각 균주 최적 pH로 중화시켜서 열 안정성

Table 1. Microorganisms used for antimicrobial activity test

Gram positive bacteria	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 27348
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9372
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 13301
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> ATCC 15489
	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 11250
Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> IFO 12060
Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1950
	<i>Hansenula anomala</i> KCCM 11473

과 동일한 방법으로 생육환의 지름을 측정하여 비교하였다.

에탄올 추출물의 용매 분획

삼백초의 잎과 줄기 1 kg을 상기방법으로 에탄올 추출물을 얻은 후, Fig. 1과 같이 용매분획하였다. 즉, n-hexane : ethanol : H₂O(10 : 1 : 9, v/v/v) 1 L씩 3회 추출 후, 농축하여 헥산 분획물을 얻었다. 계속 같은 방법으로 수층을 diethyl ether와 ethylacetate로 순차적으로 용매분획한 다음 50°C 수욕상에서 회전감압 농축하여 각각의 분획물을 얻었으며, 최종적으로 물 분획물을 얻어 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

결과 및 고찰

삼백초 부위별 추출물의 항균성 검색

용매에 따른 항균활성물질의 추출능을 확인하기 위하여 삼백초의 물과 에탄올 추출물에 대한 항균활성을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 에탄올 추출물에서는 항균성 검색에 사용된 총 10균주 중 젖산균과 효모를 제외한 대부분의 세균들에 대하여 항균활성을 보였다. 삼백초 에탄올 추출물에서 항균활성이 가장 높게 나타난 것은 그람양성균인 *B. subtilis*와 그람음성균인 *E. coli*이었다. 삼백초 잎과 줄기의 항균활성은 균주에 따라 약간의 차이가 있었으나, 줄기와 잎의 항균활성의 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았다. 그러나 Park(7)이 보고한 삼백초과에 속하는 어성초에서는 줄기보다 잎의

Table 2. Antimicrobial activities of ethanol and water extracts of *Saururus chinensis* Baill against harmful microorganisms

Strain	Clear zone on plate (mm)			
	Ethanol extract (4.3 mg/disc)		Water extract (4.3 mg/disc)	
	Leaf	Stem	Leaf	Stem
<i>B. cereus</i>	13	13	11	11
<i>B. subtilis</i>	14	13	12	13
<i>S. aureus</i>	12	12	10	10
<i>E. coli</i>	13	14	14	13
<i>S. Typhimurium</i>	11	12	11	12
<i>P. fluorescens</i>	12	12	9	10
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
<i>L. mesenteroides</i>	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-
<i>H. anomala</i>	-	-	-	-

항균활성이 더 높다고 하였다. Kim 등(9)은 어성초 메탄올 추출물 중 중성분획물 중에서 그람양성균에서는 *B. subtilis*와 *M. luteus*의 항균활성이 높았고, 효모의 활성은 낮았다고 하여 본 실험 결과인 삼백초와 유사한 경향이였다. 물 추출물의 경우에는 에탄올 추출물보다 항균활성은 모든 균주에서 대부분 더 낮게 나타났는데, 신갈나무 잎(10) 외 몇몇의 항균성물질을 함유한 식물의 경우에도 에탄올 추출물이 물 추출물에 비하여 활성이 높았다고 하였다(7,11,12). 삼백초 물 추출물은 젖산균과 효모에서는 에탄올 추출물에서와 마찬가지로 항균활성이 나타나지 않았으며, 참나무과 식물(13)

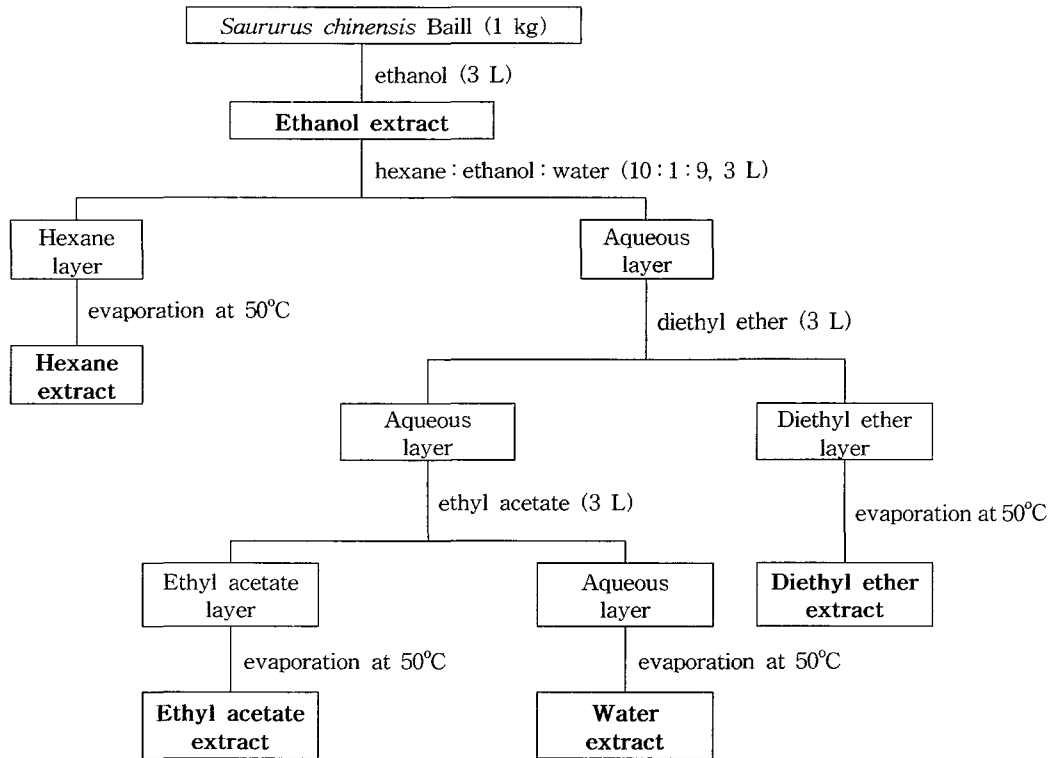


Fig. 1. Fractionation of ethanol extracts from *Saururus chinensis* Baill.

과 동일한 방법으로 생육환의 지름을 측정하여 비교하였다.

에탄올 추출물의 용매 분획

삼백초의 잎과 줄기 1 kg을 상기방법으로 에탄올 추출물을 얻은 후, Fig. 1과 같이 용매분획하였다. 즉, n-hexane : ethanol : H₂O(10 : 1 : 9, v/v/v) 1 L씩 3회 추출 후, 농축하여 헥산 분획물을 얻었다. 계속 같은 방법으로 수층을 diethyl ether와 ethylacetate로 순차적으로 용매분획한 다음 50°C 수욕상에서 회전감압 농축하여 각각의 분획물을 얻었으며, 최종적으로 물 분획물을 얻어 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

결과 및 고찰

삼백초 부위별 추출물의 항균성 검색

용매에 따른 항균활성물질의 추출능을 확인하기 위하여 삼백초의 물과 에탄올 추출물에 대한 항균활성을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 에탄올 추출물에서는 항균성 검색에 사용된 총 10균주 중 젖산균과 효모를 제외한 대부분의 세균들에 대하여 항균활성을 보였다. 삼백초 에탄올 추출물에서 항균활성이 가장 높게 나타난 것은 그람양성균인 *B. subtilis*와 그람음성균인 *E. coli*이었다. 삼백초 잎과 줄기의 항균활성은 균주에 따라 약간의 차이가 있었으나, 줄기와 잎의 항균활성의 차이는 뚜렷하게 나타나지 않았다. 그러나 Park(7)이 보고한 삼백초과에 속하는 어성초에서는 줄기보다 잎의

Table 2. Antimicrobial activities of ethanol and water extracts of *Saururus chinensis* Baill against harmful microorganisms

Strain	Clear zone on plate (mm)			
	Ethanol extract (4.3 mg/disc)		Water extract (4.3 mg/disc)	
	Leaf	Stem	Leaf	Stem
<i>B. cereus</i>	13	13	11	11
<i>B. subtilis</i>	14	13	12	13
<i>S. aureus</i>	12	12	10	10
<i>E. coli</i>	13	14	14	13
<i>S. Typhimurium</i>	11	12	11	12
<i>P. fluorescens</i>	12	12	9	10
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
<i>L. mesenteroides</i>	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-
<i>H. anomala</i>	-	-	-	-

항균활성이 더 높다고 하였다. Kim 등(9)은 어성초 메탄올 추출물 중 중성분획물 중에서 그람양성균에서는 *B. subtilis*와 *M. luteus*의 항균활성이 높았고, 효모의 활성은 낮았다고 하여 본 실험 결과인 삼백초와 유사한 경향이였다. 물 추출물의 경우에는 에탄올 추출물보다 항균활성은 모든 균주에서 대부분 더 낮게 나타났는데, 신갈나무 잎(10)의 몇몇의 항균성물질을 함유한 식물의 경우에도 에탄올 추출물이 물 추출물에 비하여 활성이 높았다고 하였다(7,11,12). 삼백초 물 추출물은 젖산균과 효모에서는 에탄올 추출물에서와 마찬가지로 항균활성이 나타나지 않았으며, 참나무과 식물(13)

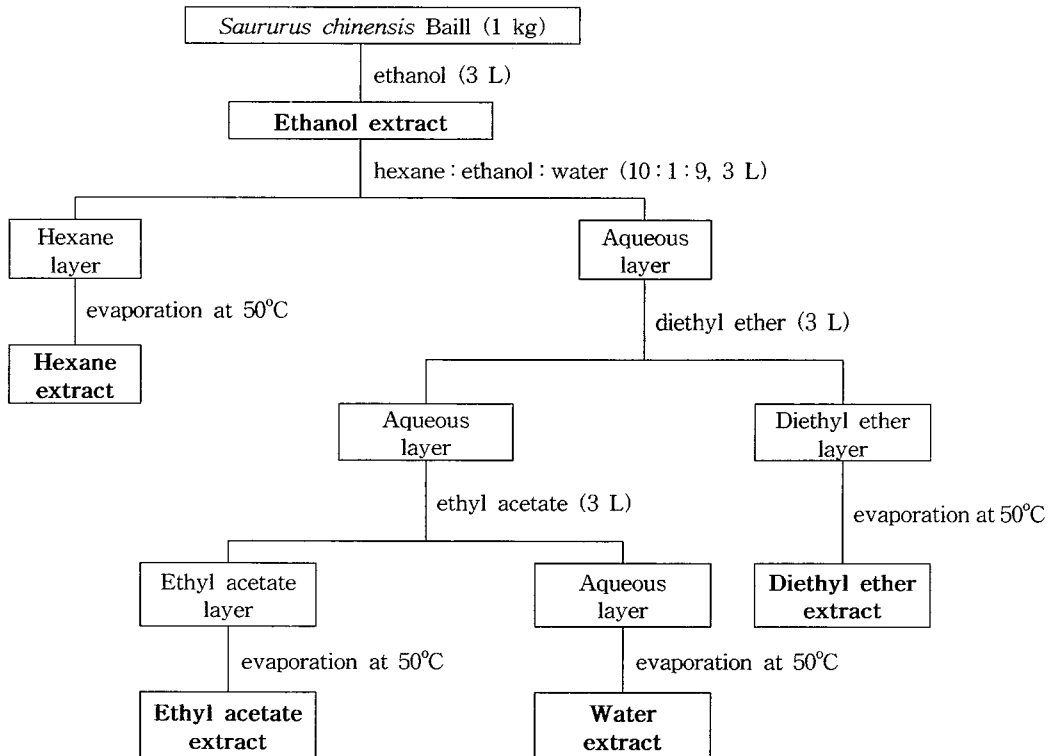


Fig. 1. Fractionation of ethanol extracts from *Saururus chinensis* Baill.

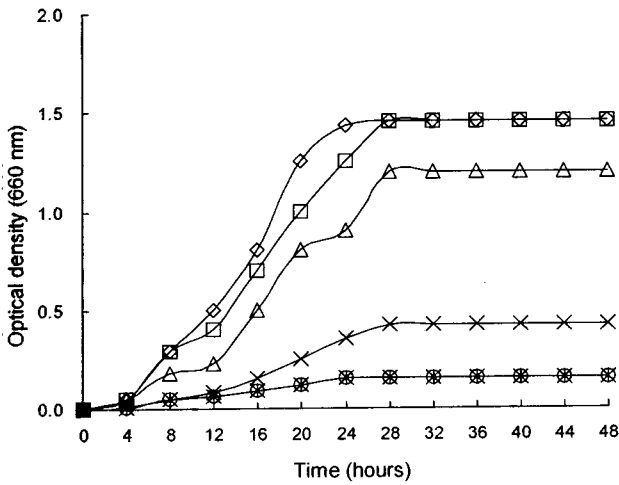


Fig. 3. Effect of ethanol extract from *Saururus chinensis* Baill on the growth of *Escherichia coli* ATCC 15489 at 37°C. Symbols shown in Fig. 2.

glycan을 보호하는 작용을 하기 때문이라고 생각된다. Fig. 4에서 삼백초 에탄올 추출물에 대한 젖산균인 *L. mesenteroides*의 경우에는 1.5 mg/mL 농도에서는 8시간째까지 억제되다가 그 후 시간이 경과함에 따라 균의 증식이 급격하게 증가하여 대조구와 거의 차이가 없었다. 2.5 mg/mL 농도와 5 mg/mL 농도에서는 12시간째에 균의 증식이 증가하기 시작하여 36시간에 최고의 증식현상을 나타냈다. 10 mg/mL, 20 mg/mL 농도에서는 16시간째부터 증가하기 시작하였다. Fig. 5에서 효모균인 *S. cerevisiae*의 경우에는 젖산균과 거의 비슷한 경향으로 변화하였고 삼백초 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 비례적으로 균의 증식이 억제되었다. 큰까치수영 에탄올 추출물은 *L. monocytogenes* 5가지 균주 모두 0.5 mg/mL 첨가시 72시간 균이 완전히 억제되었고(16), 산수유 에탄올추출물은 *B. subtilis*의 경우 1 mg/mL, *E. coli*의

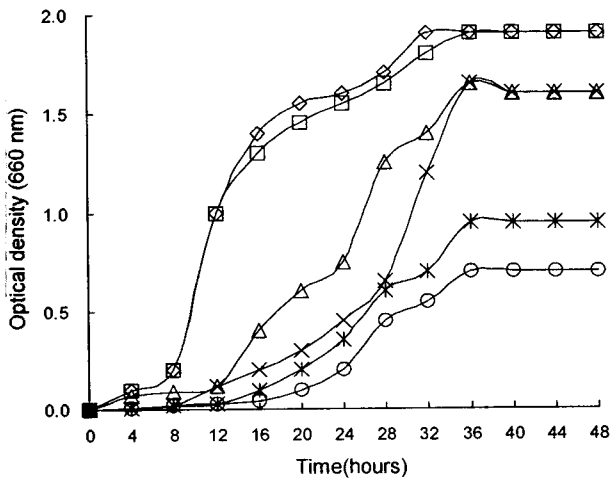


Fig. 4. Effect of ethanol extract from *Saururus chinensis* Baill on the growth of *Leuconostoc mesenteroides* IFO 12060 at 30°C. Symbols shown in Fig. 2.

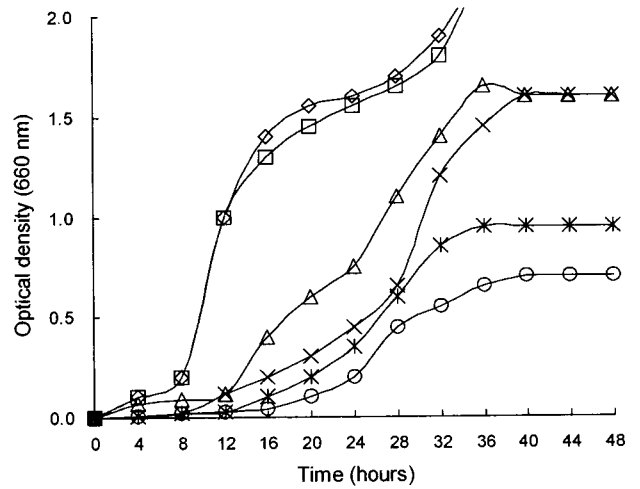


Fig. 5. Effect of ethanol extract from *Saururus chinensis* Baill on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1950 at 30°C. Symbols shown in Fig. 2.

경우 2 mg/mL에서 균 증식이 완전하게 억제되었다고 하였다(17). 표고버섯 에탄올추출물은 *B. cereus*, *E. coli* 균 증식이 25 mg/mL 농도에서 48시간 동안 억제되었다(18)는 보고와 비교하면 삼백초 에탄올추출물의 항균활성은 큰까치수영, 산수유와 같은 한약재보다는 낮았지만, 식품으로 이용되는 표고버섯과는 유사한 경향을 나타냈다.

삼백초의 에탄올 추출물이 대수 증식기에 미치는 영향 삼백초 잎 에탄올 추출물이 대수 증식기의 균증식에 미치는 영향을 측정하기 위해서 37°C에서 8시간 배양한 후 삼백초에탄올 추출물을 농도별로 주입하여 측정한 결과는 Fig. 6 및 Fig. 7과 같다. Fig. 6의 그람양성균인 *S. aureus* 경우 각 농도에서 증식 4시간에서 8시간까지 급상승하였고, 그 이후는 완만하게 증식되었다. 8시간 째에 2.5 mg/mL~20 mg/

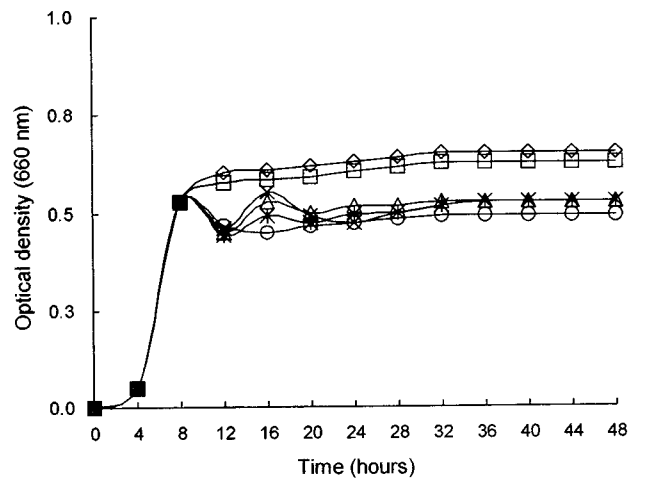


Fig. 6. Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* ATCC 13301 by the ethanol extract on logarithmic growth phase at 37°C. Symbols shown in Fig. 2.

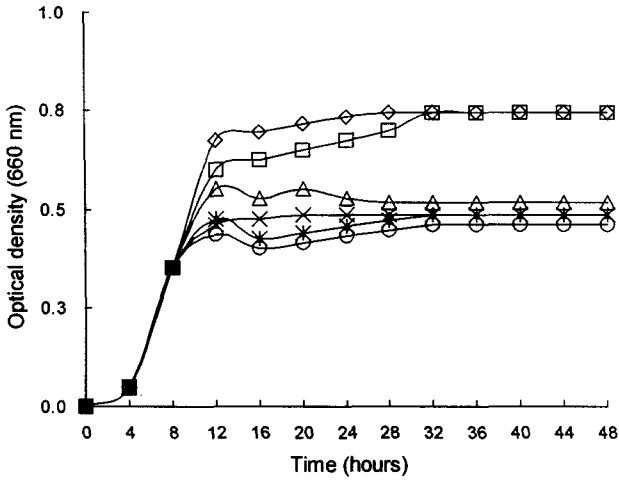


Fig. 7. Growth inhibition of *Escherichia coli* ATCC 15489 by the ethanol extract to logarithmic growth phase at 37°C. Symbols shown in Fig. 2.

mL 농도의 삼백초 에탄올 추출물을 주입하였을 때 대조구에 비하여 균증식이 억제되었으며, 2.5 mg/mL 이상의 농도에서는 농도에 따른 차이는 거의 없었다. Fig. 7의 그람음성균인 *E. coli*의 경우 삼백초 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 비례적으로 균증식이 억제되는 현상을 보였다. 이와같이 두 균주 모두 일정농도 이상에서 균증식 억제 현상이 나타난 것으로 보아 삼백초 에탄올 추출물에 함유된 항균성 물질에 의하여 생육저해를 받고 있음을 알 수 있다. 초피과피의 에탄올

추출물은 12시간 증식시킨 *B. cereus*균에 대하여 0.5 mg/mL 첨가시에 균체가 서서히 억제되기 시작하여 6시간 이후에는 초기균체량보다 낮았다고 하였는데(11), 항신료류는 삼백초보다 대수증식기에 미치는 영향이 더 큰 경향으로 나타났다.

삼백초 에탄올 추출물의 열 안정성

삼백초의 잎과 줄기 에탄올 추출물의 열 안정성을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 100°C에서 1시간 열처리에 의해서 그람양성균인 *B. cereus*는 삼백초 잎과 줄기의 추출물에서 생육환의 지름 길이가 13.0 mm로 대조구와 같았고, 그람음성균인 *E. coli*의 잎과 줄기의 추출물에서는 생육환의 지름이 각각 13.0 mm, 13.5 mm로 대조구와 비슷하였다. 이상과 같이 두 균주의 생육환의 크기가 대조구와 큰 차이가 없으므로 미루어 삼백초의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질은 열에 매우 안정한 것으로 생각된다.

삼백초 에탄올 추출물의 pH 안정성

삼백초의 잎과 줄기의 에탄올 추출물에 함유된 항균활성 물질의 pH 안정성을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 그람양성균인 *B. cereus*는 잎과 줄기 에탄올 추출물에서 pH 3~11 까지 잎, 줄기에서 12.5 mm~13.0 mm로 대조구와 유사하였다. 또 그람음성균인 *E. coli*의 경우도 그람양성균인 *B. cereus*와 같은 경향이었다. pH 3~11까지에서 두 균주의 생육환의 지름이 대조구와 비슷하게 나타난 것은 삼백초 에탄올

Table 4. Effect of temperature treatment on antimicrobial activities of ethanol extract against *B.cereus* and *E. coli*

Strain		Clear zone on plate (mm) ¹⁾					
		Control	Temperature (°C) (4.3 mg/disc)				
			40	60	80	100	120
<i>B. cereus</i>	L ²⁾	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	12.5
	S ³⁾	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0
<i>E. coli</i>	L	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0
	S	14.0	14.0	14.0	14.0	13.5	13.5

¹⁾in diameter (mm).

²⁾L: leaves of *Saururus chinensis* Baill.

³⁾S: stems of *Saururus chinensis* Baill.

Ethanol extract was heated for 60 min at 40~100°C and heated for 15 min at 120°C.

Table 5. Effect of pH treatment on antimicrobial activities of ethanol extract against *B.cereus* and *E. coli*

Strain		Clear zone on plate (mm) ¹⁾					
		Control	pH (4.3 mg/disc)				
			3	5	7	9	11
<i>B. cereus</i>	L ²⁾	13.0	12.5	13.0	13.0	13.0	13.0
	S ³⁾	13.0	12.5	13.0	13.0	13.0	13.0
<i>E. coli</i>	L	13.0	13.0	12.5	13.0	13.0	13.0
	S	14.0	13.5	14.0	14.0	14.0	13.5

¹⁾in diameter (mm).

²⁾L: leaves of *Saururus chinensis* Baill.

³⁾S: stems of *Saururus chinensis* Baill.

The ethanol extract was adjusted to pH 3~11 for 60 min at room temperature.

Table 6. Antimicrobial activity of solvent fractions of ethanol extracts from *Saururus chinensis* Baill against harmful microorganisms

Strain	Clear zone on plate (mm) ¹⁾ (4.3 mg/disc)							
	n-Hexane		Diethyl ether		Ethyl acetate		Water	
	L ²⁾	S ³⁾	L	S	L	S	L	S
<i>B. cereus</i>	11	11	17	16	10	10	11	11
<i>B. subtilis</i>	11	11	11	11	9	9	10	10
<i>S. aureus</i>	10	10	12	11	9	9	10	10
<i>E. coli</i>	10	11	18	18	11	11	11	12
<i>S. Typhimurium</i>	11	10	10	10	9	9	9	9
<i>P. fluorescens</i>	10	10	9	9	9	9	10	10
<i>L. plantarum</i>	- ⁴⁾	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. mesenteroides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	9	9	9	10	9	9	9	9
<i>H. anomala</i>	9	9	10	10	9	9	9	9

1) in diameter (mm).

2) L: leaves of *Saururus chinensis* Baill.

3) S: stems of *Saururus chinensis* Baill.

4) clear zone.

추출물에 함유된 항균활성이 강산과 강알칼리 조건에서도 지속적으로 유지되는 것으로 생각된다. 이는 삼백초과에 속하는 어성초(7) 및 향신료인 초피(11), 고수(12)에 함유된 항균성물질이 열 및 pH에 안정한 것과 유사한 결과이다.

삼백초 에탄올 추출물의 분획물 항균효과

삼백초의 잎과 줄기의 에탄올 추출물을 극성에 따라 용매 분획한 분획물의 항균활성을 검색한 결과는 Table 6과 같다. hexan 분획물의 항균활성 중 잎과 줄기에서 추출한 분획물에서는 그람양성균과 그람음성균 생육환의 지름이 10~11 mm로 나타났고, 젖산균에서는 항균활성이 나타나지 않았으며 효모에서는 9 mm로 나타났다. 에테르 분획물에서는 생육환의 지름은 *B. cereus*가 16~17 mm, *E. coli*가 18 mm로 분획물 중 생육억제효과가 가장 높게 나타났다. 에틸아세테이트 분획물에서는 그람음성균인 *E. coli*의 지름이 11 mm로 항균활성이 가장 높았고, hexan, 에테르, 물 분획물보다는 전체적으로 생육환의 크기가 작아 항균활성은 가장 낮았다. 물 분획물에서는 젖산균을 제외한 그람양성균, 그람음성균과 효모의 지름이 9~11 mm로 나타났다. 오미자추출물의 경우 에틸아세테이트 분획물에서 항균활성이 가장 높게 나타났고, hexan, 물 분획물에서는 항균력이 나타나지 않았으며(19), 신갈나무에서는 hexan분획물에서 항균활성이 가장 높았고, 클로로포름 분획물에서는 일부 미생물에서만 항균활성이 나타났으며, 에틸아세테이트, 물분획물에서는 항균활성이 나타나지 않았고 하였다(20). 그러나 삼백초 에탄올 추출물에 함유된 항균활성 물질은 특정 용매에만 용해되지 않고 일부 다른 용매에 용해되는 성분으로 복합적인 특성을 갖는 것으로 생각된다.

요 약

삼백초 잎과 줄기의 에탄올 추출물과 그의 분획물을 일반 세균, 젖산균 및 효모 총 10 균주에 대한 항균활성을 검색하

고, 항균활성 물질의 미생물에 대한 최소저해농도와 증식에 미치는 영향 및 열과 pH에 대한 안정성, 용매분획 후 각 분획별 항균활성을 조사한 결과는 다음과 같다. 삼백초 에탄올 추출물과 물 추출물에서 항균활성이 가장 높게 나타난 것은 그람양성균인 *B. subtilis*와 그람음성균인 *E. coli*이었으며, 에탄올추출물의 경우에는 물추출물보다 항균활성은 모든 균주에서 대부분 더 높게 나타났다. 삼백초 에탄올 추출물에 대한 그람양성균과 그람음성균의 최소저해농도는 5~10 mg/mL으로 나타났으며, 젖산균과 효모는 20 mg/mL 이하의 농도에서는 항균활성이 나타나지 않았다. 에탄올 추출물이 미생물 증식에 미치는 영향은 *B. subtilis*와 *E. coli*의 경우 5 mg/mL 이상의 농도에서 균증식이 현저하게 억제되었다. 젖산균과 효모는 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라 항균활성이 증가하였으나, 1.5 mg/mL 이하의 저농도에서는 균증식이 8시간까지 억제되다가 그 후 시간이 경과함에 따라 현저하게 균증식이 증가하였다. 에탄올 추출물이 대수 증식기에 미치는 영향은 *S. aureus*, *E. coli*의 경우 대조구에 비하여 균증식이 억제되었으며 2.5 mg/mL 이상의 농도에서는 농도에 따른 차이는 거의 나타나지 않았다. 항균활성 물질의 열 및 pH 안정성은 40~120°C 및 pH 3~11까지 모든 균주의 생육환의 크기가 대조구와 비슷하게 나타나 열과 pH에 안정한 것으로 확인되었다. 에탄올 추출물을 용매 분획한 결과 에테르 분획물의 항균활성이 가장 높았고, 그람양성균과 그람음성균의 항균활성은 젖산균과 효모보다 더 높게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2002 학년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. 박종희, 이정규. 2000. 상용약용식물도감. 도서출판 신일상사,

- 서울. p 202-203.
2. Lee YN. 2002. *Flora of Korea*. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul. p 218-219.
 3. 권설안. 1999. 속 삼백초와 어성초에 대하여. *대한한약* 2: 18-20.
 4. 권설안. 1999. 속 삼백초와 어성초에 대하여. *대한한약* 3: 28-31.
 5. Choe KH. 1999. A study on chemical composition and antimicrobial activity of Saururaceae growing in Korea. *PhD Dissertation*. Kyung Hee University, Korea.
 6. 한국약용식물학 연구회. 2001. *중합약용식물학*. 학창사, 서울. p 176.
 7. Park HK. 2002. A study on the antimicrobial activity of *Houttuynia cordata* Thunb. *MS Thesis*. Sunchon National University, Korea.
 8. Choi YH, Kim EY, Park KY, Rhee SH, Lee WH. 1994. Antimutagenic effects of the juice and boiling water extract of *Houttuynia cordata* thunb. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 916-921.
 9. Kim KY, Chung DO, Chung HJ. 1997. Chemical composition and antimicrobial activities of *Houttuynia cordata* thunb. *Korean J Food Sci Technol* 29: 400-406.
 10. Kong YJ, Park BK, Oh DH. 2001. Antimicrobial activity of *Quercus mongolica* leaf ethanol extract and organic acids against food-borne microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 33: 178-183.
 11. Kim YD, Kang SK, Choi OJ, Lee HC, Jang MJ, Shin SC. 2000. Screening of antimicrobial activity of *Chopi* (*Zanthoxylum piperitum* A.P. DC.) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1116-1122.
 12. Kim YD, Kang SK, Choi OJ. 2001. Antimicrobial activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 692-696.
 13. Kong YJ, Jong GP, Kwon HJ, Hong JK, Park BK, Oh DH. 2001. Antimicrobial activities of *Quercus* spp. leaf ethanol extract against foodborne disease microorganism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 415-420.
 14. Oh DH, Lee MK, Park BK. 1999. Antimicrobial activities of commercially available tea on the harmful foodborne organism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 100-106.
 15. Lee HY, Kim CK, Sung TK, Mun TK, Lim CJ. 1992. Antimicrobial activity of *Ulmus pumila* L. extract. *Korean J Appl Microbial Biotechnol* 20: 1-5.
 16. Han JS, Shin DH. 2001. Antimicrobial activity of *Lysimachia clethroides* Duby extracts on food-borne microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 33: 774-783.
 17. Kim YD, Kim HK, Kim KJ. 2003. Antimicrobial activity of solvent fraction from *Cornus officinalis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 829-832.
 18. Cho DB. 2001. A study on the constituents and antimicrobial substance during the growth stage of *Lentinus edodes* sing. *PhD Dissertation*. Sunchon Nation University, Korea.
 19. Lee JY, Min YK, Kim HY. 2001. Isolation of antimicrobial substance from *Schizandra chinensis* Baillon and antimicrobial effect. *Korean J Food Sci Technol* 33: 389-394.
 20. Kong YJ, Kang TS, Lee MK, Park BK, Oh DH. 2001. Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fractions of *Quercus mongolica* leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 338-343.
 21. Shin GJ. 1999. Synergistic effect of *Panax ginseng* C.A. Meyer, *Saururus Chinensis* (Lour.) Baill and *Rubus coreanus* Miq. extracts on antioxidative activity in rats. *MS Thesis*. Kangwon National University, Korea.
 22. Seong SH. 1998. Hepatoprotective lignans of *Saururus Chinensis*. *PhD Dissertation*. Seoul National University, Korea.
 23. Jin SW. 1998. *Rhizoma Saururi* (RS) induced the morphological change of the peritoneal macrophages through nitric oxide (NO). *MS Thesis*. Wonkwang University, Korea.
 24. Jeon GH. 1998. Studies on the mechanism of nitric oxide (NO) induction in the peritoneal macrophages by *Herba Saurui* (HS). *PhD Dissertation*. Wonkwang University, Korea.
 25. Kwak JW, Kwon CH. 1988. Pharmacological studies on *Saururus chinensis* Baill. *Kyung Hee University Bulletin of Kyung Hee Pharmaceutical Science* 16: 137-154.
 26. Kim BH, Song WS. 2000. The dyeability and antimicrobial activity of *Saururus chinensis* (L). *J Korean Home Economics Assoc* 38: 1-9.
 27. Park SK, Oh GJ, Kim HT, Kim HJ, Chung SG, Cho EH. 1998. Analgesic constituent from the herba of *Saururus chinensis* (Lour.) Baill. *Yakhak Hoeji* 42: 238-239.
 28. Park JH. 1998. Effects of seed tuber position and number of nodes on growth and yield of *Saururus Chinensis* Baill. *MS Thesis*. Chungbuk National University, Korea.
 29. Bauer AW, Kibby MM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *AM J Clin Pathol* 45: 493-496.
 30. Piddock LJV. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol* 68: 307-318.
 31. Branch A, Starkey DH, Power EE. 1965. Diversifications in the tube dilution test for antibiotic sensitivity of microorganisms. *Appl Microbiol* 13: 469-472.
 32. MacLowry JD, Jaqua MJ. 1970. Detailed methodology and implementation semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Microbiol* 20: 46-53.
 33. EI-Shenawy MA, Marth EH. 1989. Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence of sodium propionate. *J Food Microbiol* 8: 85-89.
 34. Nakamura S, Kato Am, Kobayashi K. 1991. New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J Agric Food chem* 39: 647-650.

(2004년 3월 16일 접수; 2004년 8월 6일 채택)