

식품부패세균에 대한 가자(*Terminalia chebula* Retz.) 추출물의 항균활성

김기주 · 도정룡^{1,*} · 조진호¹ · 김영명¹ · 김병삼¹ · 임상동¹ · 강석남²

전라북도생물산업진흥원, ¹한국식품연구원, ²천안연암대학

Antibacterial Activity of *Terminalia chebula* Retz. Extract Against Food Spoilage Microorganisms

Ki-Ju Kim, Jeong-Ryong Do^{1,*}, Jin-Ho Jo¹, Young-Myoung Kim¹,
Byeong-Sam Kim¹, Sang-Dong Lim¹, and Suk-Nam Kang²

Jeonbuk Bioindustry Development Institute

¹Korea Food Research Institute

²Cheonan Yonam College

Antibacterial activities of water and 70% ethanol extracts of *Terminalia chebula* Retz were investigated. Fractions were prepared by step-wise fractionation of water and 70% ethanol extracts using acetone, hexane, chloroform and butanol. Butanol fraction showed best antibacterial activities. Water and 70% ethanol extracts of *T. chebula* Retz. had significantly high pyrogallol content among 13 phenolic compound analysed by HPLC, and pyrogallol (standard) showed highest activities against several food spoilage microorganism.

Key words: *Terminalia chebula* Retz, antibacterial effect, polyphenolic compound, HPLC

서 론

근래의 식품은 빠르게 변화하는 생활방식에 따라 쉽게 먹을 수 있는 가공식품이 증가하고 있는 추세이다. 이러한 식품들은 가열 등의 물리적인 방법으로 식품의 저장성을 높이고 있는데, 이는 식품의 영양성분의 파괴 및 품질저하 등을 초래할 수 있다는 단점을 갖고 있다. 이에 우리나라는 14가지 합성보존료를 식품위생법에 따라 사용을 허가하고 있지만 합성보존료의 지속적인 사용이 인체에 부작용을 일으킬 수 있는 안전성문제가 제시되고 있다(1,2). 이러한 문제점을 해결하고 식품의 안전성과 보존성을 확보하기 위해 천연물질로부터 항균제 개발연구가 활발히 진행되고 있는데 Baratta 등(3)에 따르면 독성이 적고 항균활성이 뛰어난 천연항균물질이 식품 부패의 원인인 미생물의 증식을 억제하여 식품의 저장기간 및 신선도를 유지시킴으로 산업적 이용이 활발히 진행되고 있다고 한다. 이러한 미생물 증식억제 물질들은 생약재 등의 천연물에 존재하고 있는데 succinic, malic, tartaric, benzoic acid 등의 유기산류와 flavonoids, catechin류 등의 천연생리활성물질 등이 이에 속한다(4-8). 실험에 사용된 가자(*Terminalia chebula* Retz.)는 사군자과 (*Cambretaceae*)에 속하는 가자나무의 성숙과실을 건조한 것으로

로 chebulic, chebulin 및 tannin이 주성분으로 그 중 tannin은 20-40% 정도로 많은 양이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있으며, 항균활성에 뛰어난 생약재로 알려져 있다(9). 본 실험은 가자 물, 70% 에탄올추출물을 HPLC분석 및 분획하여 항균활성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료 추출 및 분획

본 실험에 사용한 가자(*Terminalia chebula* Retz.)는 2003년 5월 건조된 상태로 금산약초시장(Geumsan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 가자를 분쇄하여 10배량의 증류수와 70% 에탄올을 가하여 2시간 동안 환류추출, 여과하여(Whatman No 2), Evaporator(Heidolph 4000, Germany)로 감압 농축한 후, 동결건조하여 실험에 사용하였다. 가자 물 추출물과 에탄올추출물 50 g을 각각 1 L의 증류수에 넣어 녹인 후, acetone, hexane, chloroform, butanol의 극성도차를 이용하여 순차적으로 분획, 시료를 제조하였다(Fig. 1).

사용균주 및 배지

항균실험에 사용한 균주는 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15522, *Bacillus subtilis* ATCC 14593, *Staphylococcus aureus* ATCC 12692, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111의 6가지 균주를 한국식품연구원(KFRI, Seongnam, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 사용한 배지는 BHI와 Tryptic soy(Difco,

*Corresponding author: Jeong-Ryong Do, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyonggi-do 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9240
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: jrdo@kfra.re.kr

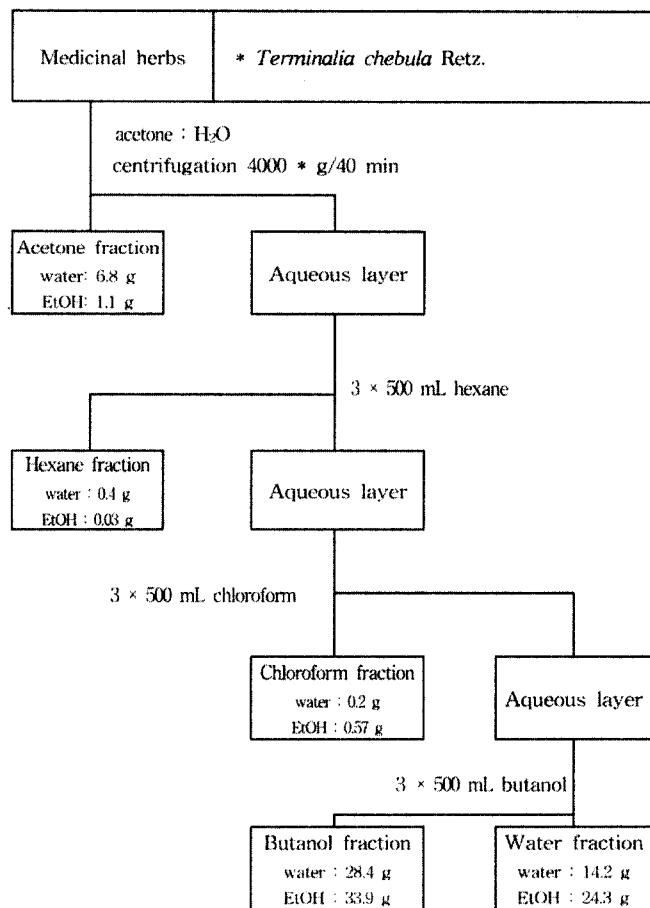


Fig. 1. The procedure for the solvent fraction of water and ethanol extract from the *Terminalia chebula* Retz.

MD, USA)를 사용하였다.

항균활성 측정

항균 활성 실험에 사용한 균주는 slant 배지에서 배양한 균주 1 백금이를 취하여 각각의 10 mL의 broth 배지에 접종하고, 37°C의 incubator에서 18-24시간 동안 배양하여 사용하였다. 항균 활성 시험 평판배지의 조제는 각각의 생육배지를 멸균하여 기층용 배지(agar 1.5%)를 petridish에 옹고시킨 후, 각 균주를 1% 접종하여 혼합한 중층용 배지(agar 0.75%)를 이에 분주하여 제조하였다. 가자 용매 분획물을 30 mg/mL 농도로 제조하여, paper disc(Φ 8 mm, Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd, Tokyo, Japan)에 20 μL 첨가하고, 37°C incubator에 18-24시간 동안 배양한 후, 억제환(mm) 직경으로 항균활성을 측정하였다 (10,11). polyphenol의 항균활성 실험은 phloroglucinol, pyrogallol, sinapic acid, vanillic acid, *trans*-4-hydroxy-3-methoxy-cinnamic acid를 10, 5, 2.5, 1 mg/mL의 농도로 제조하여 실험하였다. 가자 HPLC(ÄKTA) 분획물의 항균활성 실험은 액체배지 희석법으로 spectrophotometer(Jasco, Tokyo, Japan)를 사용하여 650 nm에서 확인하였다.

HPLC 분석

가자 물, 70% 에탄올 추출물의 polyphenol 분석은 각 표준곡선의 calibration curve를 정한 후, 시료의 면적을 환산하여 정

Table 1. Operate condition of HPLC

Requester	Condition	
Instrument	pump detector column oven	Jasco model PU-980 Jasco UV-975 UV/VIS Jasco model CO-965
Column		Nova pack C18 UG120 (Shiseido Co., Ltd., Tokyo, Japan)
Guard column	10 × 4.0 mm i.d	
Flow rate	0.5 mL/min	
Mobile phase	A: 7% Methanol and 50 mM sodium phosphate (pH 3.3-HCl) in water B: 100% methanol	

량 분석하였다. 가자 동결건조물을 1 mg/mL로 제조한 후, 0.45 μm membrane filter(Sartorius AG, Germany)로 여과하여 분석하였다. 분석에 사용된 polyphenol 표준시약들은 phloroglucinol, pyrogallol, protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, catechin, vanillic acid, syringic acid, 4-methylcatechol, p-coumarilic acid, *trans*-4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid, sinapic acid, 3,4-dimethoxybenzoic acid 및 p-anisic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다. HPLC분석 장비는 Jasco system을 사용하였으며, 분석에 사용된 gradient는 A 용액이 초기에 100%에서 시작하여 40 min에 25%가 되도록 linear program을 사용하였으며, 45 min에 0%, 50 min에 50%, 60 min에 100%로 하였다. 이때 injection volume은 20 μL 이었다(Table 1).

HPLC(ÄKTA) 분획

가자 물 추출물의 butanol획분 분획은 ÄKTA explorer system (Amersham Pharmacia, Uppsala, Sweden)을 사용하였으며, column은 Vydac 218(Hesperia, USA)을 사용하였다. 분획 용매와 조건은 A 용액, 7% methanol이 함유된 50 mM sodium phosphate(pH 3.3-HCl) in water였으며, B 용액은 100% methanol을 사용하였으며, 유속은 2 mL/min, 온도는 40°C이었다. Gradient는 B 용액이 초기에 0%에서 시작하여 80 min에 75%가 되도록 linear program을 사용하였으며, UV 280 nm에서 확인하였다. 이때 injection volume은 10%농도로 제조한 시료 500 μL를 injection하였다.

결과 및 고찰

가자 추출물의 용매분획 및 수율

가자 열매를 blender로 마쇄한 후, 물 과 70% 에탄올을 사용하여 비등점에서 2시간 동안 추출한 결과, 32.38 g 과 39.56 g 을 얻었다. 물 50 g과 70% 에탄올 추출물 60 g을 acetone, hexane, chloroform, butanol으로 극성 분획한 결과, 물 추출물의 경우 acetone 6.8 g, hexane 0.4 g, chloroform 0.2 g, butanol 28.4 g, 물 14.2 g으로 butanol과 물 분획물이 대부분을 차지하였으며, 70% 에탄올 추출물의 경우 acetone 1.1 g, hexane 0.03 g, chloroform 0.57 g, butanol 33.9 g, 물 24.3 g으로 물 추출물과 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 1). 이는 가자 70% methanol 추출물 30 g을 가지고 n-hexane, chloroform, butanol으로 구성 분획하여 n-hexane 0.32 g, chloroform 0.41 g, butanol 17.6 g, water 9.98 g의 결과와 유사한 결과를 나타내었다(12).

Table 2. Antibacterial effects of each fraction from the *Terminalia chebula* Retz.

(Unit: mm)

Extract condition	Separate condition	Microorganism Strains					
		E.c	B.s	P.a	S.a	S.t	L.m
water extract	Water	- ¹⁾	-	-	9	15	-
	Acetone	-	10	11	10	12	10
	Hexane	-	-	12	-	15	10
	Butanol	25	21	26	25	28	23
	Chloroform	-	-	10	13	18	-
	Control	-	-	-	-	-	-
70% ethanol extract	Water	15	9	14	16	16	11
	Acetone	9	-	-	-	9	-
	Hexane	14	20	17	11	16	15
	Butanol	23	20	23	25	26	24
	Chloroform	13	-	9	9	14	9
	Control	-	-	-	-	-	-

E.c: *Escherichia coli*, B.s: *Bacillus subtilis*, P.a: *Pseudomonas aeruginosa*, S.a: *Staphylococcus aureus*, S.t: *Salmonella typhimurium*, L.m: *Listeria monocytogenes*.

¹⁾Not detected.

Table 3. Antibacterial effects of butanol fraction from *Terminalia chebula* Retz.

(Unit: mm)

Sample	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Microorganism Strains					
		E.c	B.s	P.a	S.a	S.t	L.m
water extract	5,000	15	15	16	15	15	15
	3,000	14	14	14	14	13	14
	1,000	10	9	13	13	11	12
	500	9	- ¹⁾	10	9	-	10
	100	-	-	9	9	-	9
<i>Terminalia chebula</i>	5,000	14	14	14	14	16	14
	3,000	14	13	13	13	14	13
	1,000	12	12	10	10	12	10
	500	9	9	9	9	9	9
	100	9	9	9	9	9	9
	Penicillin ²⁾	10,000 unit/mL	27	27	41	67	30

E.c: *Escherichia coli*, B.s: *Bacillus subtilis*, P.a: *Pseudomonas aeruginosa*, S.a: *Staphylococcus aureus*, S.t: *Salmonella typhimurium*, L.m: *Listeria monocytogenes*.

¹⁾Not detected.

²⁾Prepared with 10,000 unit/ml penicillin G sodium and 10,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ streptomycin sulfate in 0.85% saline.

가자 용매 분획물의 항균 활성

가자 물 추출물 50 g과 70% 에탄올추출물 60 g을 1 L의 중류수에 녹인 후, acetone, hexane, chloroform, butanol의 용매를 순차적으로 분획하여 30 mg/mL의 농도로 제조한 뒤, 20 μL 첨가하여, 36-48시간 동안 6종의 미생물에 대해 항균활성을 실험하였다. 그 결과 butanol분획물이 가장 뛰어난 항균활성을 나타내었다. 즉, 물 추출물의 경우 *E. coli*(25 mm), *S. typhimurium* (28 mm), *P. aeruginosa*(26 mm), *B. subtilis*(21 mm), *S. aureus* (25 mm), *L. monocytogenes*(23 mm)의 항균활성을 나타내었으며, 70% ethanol 추출물, *E. coli*(23 mm), *S. typhimurium*(26 mm), *P. aeruginosa*(23 mm), *B. subtilis*(20 mm), *S. aureus*(25 mm), *L. monocytogenes*(24 mm)로 물 추출물의 항균활성과 유사한 활성을 나타내었다(Table 2). 또한 butanol분획물을 농도별로 제조, 20 μL 첨가하여, 항균활성을 살펴본 결과, 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 대부분 15 mm 이상의 항균활성을 나타내었으며, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 70% ethanol추출물의 butanol분획물이 6종

의 미생물에 대해 9 mm 이상의 항균활성을 나타내었다(Table 3). Lee 등(9)의 연구 결과에 따르면, 가자 methanol추출물을 *n*-hexane, ethylether, ethyl acetate로 분획하여 항균활성 실험을 실시한 결과, 100-2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 제조된 가자 methanol추출물이 *Bacteroides fragilis*, *Salmonella typhimurium*, *Eubacterium limosum*, *Clostridium perfringens*의 균주의 생육을 억제시켰으며, 용매 분획물에 있어서는 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Eubacterium limosum*, *Bacteroides fragilis*, *Salmonella typhimurium*의 균주에 대해서 용매분획물간의 유의적인 차이를 보이지 않았다고 보고하였다. 이러한 결과는 가자를 용매별로 분획하여 항균활성을 검토해본 결과, 항균 spectrum¹⁰⁾ 광범위한 것으로 나타났으며, 생약자원으로부터 *Clostridium perfringens*의 생육 억제를 검색한 결과, 물, acetone, ethyl acetate 및 butanol 추출물이 모두 항균활성을 나타내었다. 또한 식물체내에 존재하는 항균성 물질들은 대부분 단일 물질이 아니기 때문에 여러 종류의 유기용매에 의해서 추출된다고 보고하

Table 4. Antibacterial effect of various standard polyphenol

(Unit: mm)

Samples	Concentration (mg/mL)	Microorganism Strains					
		E.c	B.s	P.a	S.a	L.m	S.t
Pyrogallol	10	25	30	30	28	25	15
	5	20	23	25	22	22	12
	2.5	18	19	18	20	17	10
	1	- ¹⁾	-	10	-	-	-
Phloroglucinol	10	-	9	10	9	10	10
	5	-	9	9	9	10	9
	2.5	-	9	9	-	9	9
	1	-	9	-	-	9	9
<i>Trans</i> -4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid	10	-	-	-	-	-	10
	5	-	-	-	-	-	10
	2.5	-	-	-	-	-	10
	1	-	-	-	-	-	9
Sinapic acid	10	-	9	9	9	9	10
	5	-	9	9	9	9	10
	2.5	-	9	-	9	9	10
	1	-	9	-	-	-	10
Vanillic acid	10	-	-	9	10	-	10
	5	-	-	9	10	-	10
	2.5	-	-	-	9	-	10
	1	-	-	-	-	-	9

E.c: *Escherichia coli*, B.s: *Bacillus subtilis*, P.a: *Pseudomonas aeruginosa*, S.a: *Staphylococcus aureus*, S.t: *Salmonella typhimurium*, L.m: *Listeria monocytogenes*.

¹⁾Not detected.

였으며, 본 연구에서도 유사한 연구결과를 나타내었다(13-15).

Polyphenol의 항균 활성

폴리페놀의 항균활성실험에 사용한 표준품은 phloroglucinol, pyrogallol, sinapic acid, vanillic acid, *trans*-4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid로, 50% 에탄올을 사용하여 10, 5, 2.5, 1 mg/mL의 농도로 제조하여 항균활성 실험을 실시하였다. 그 결과, pyrogallol이 10 mg/mL의 농도에서 *S. typhimurium*의 균주를 제외한 5종의 균주에서 25 mm 이상의 억제환을 나타내어 다른 폴리페놀과 비해 상당히 좋은 활성을 나타내었다(Table 4). 가자를 methanol과 acetone으로 추출하여 MS와 NMR분석을 실시한 결과, caffeic acid, vanillic acid, *p*-coumaric acid, phloroglucinol 및 pyrogallol이 확인되었으며, flavonoids와 catechin 등의 polyphenol 종류들이 항균후용에 탁월한 효과를 보고하고 있다(16). Do 등(17)에 따르면 총 페놀화합물과 5종의 미생물(*E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *L. plantarum*) 간의 항균활성에 대한 상관관계가 각각 0.89, 0.79, 0.85, 0.78 및 0.85($p < 0.05$)의 R값으로 페놀화합물과 항균활성간의 밀접한 상관관계가 있음을 보고하고 있다.

가자 물, 70% ethanol 추출물의 HPLC 분석

실험에 사용한 polyphenol 표준시약들을 HPLC 분석한 결과, phloroglucinol(2.89), pyrogallol(3.75), protocatechuic acid(7.52), *p*-hydroxybenzoic acid(10.93), catechin(11.65), vanillic acid(13.35), syringic acid(15.03), 4-methylcatechol(15.58), *p*-coumaric acid(17.70), *trans*-4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid(19.42), sinapic acid(19.82), 3,4-dimethoxybenzoic acid(19.96)

Table 5. The retention time of polyphenol standards

No.	Polyphenol standard	Retention time (min)
1	phloroglucinol	2.89
2	pyrogallol	3.75
3	protocatechuic acid	7.52
4	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	10.93
5	catechin	11.65
6	vanillic acid	13.35
7	syringic acid	15.03
8	4-methylcatechol	15.58
9	<i>p</i> -coumaric acid	17.70
10	<i>trans</i> -4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid	19.42
11	sinapic acid	19.82
12	3,4-dimethoxybenzoic acid	19.96
13	<i>p</i> -anisic acid	23.46

및 *p*-anisic acid(23.46)의 retention time을 나타내었다(Table 5). 가자 물 추출물과 에탄올추출물을 HPLC 분석한 결과, 총 peak 면적 중에서 13개의 polyphenol으로 정량할 수 있는 비율은 물 추출물이 27.53%, 70% 에탄올추출물이 27.47%를 나타내었으며, 그 주요성분으로는 phloroglucinol, pyrogallol, protocatechuic acid, catechin, vanillic acid, 4-methylcatechol, *trans*-4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid 및 sinapic acid로 나타났다. 가자의 물 추출물의 경우 총 peak(27.53%)의 9%를 차지하는 pyrogallol이 36,735 mg%로 가장 높게 나타났고, *trans*-4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid(14,509 mg%), vanillic acid(7,428 mg%), protoate-

Table 6. Polyphenols contents of *Terminalia chebula* Retz. extracts using HPLC
(unit: mg%)

Polyphenol	Polyphenol content	
	Water extract	Ethanol extract
phloroglucinol	5,270 ± 16	2,149 ± 89
pyrogallol	36,735 ± 13	28,971 ± 13
protocatechol	6,667 ± 17	1,600 ± 14
p-hydroxybenzoic acid	547 ± 35	885 ± 22
catechine	2,011 ± 47	5,814 ± 10
vanillic acid	7,478 ± 30	3,076 ± 35
syringic acid	908 ± 10	826 ± 36
4-methylcatechol	1,028 ± 37	754 ± 65
p-comarilic acid	429 ± 26	891 ± 83
trans-4-hydroxy-3-methoxy-cinnamic acid	14,509 ± 19	24,340 ± 83
siniapic acid	3,782 ± 13	2,896 ± 52
3,4-dimethoxybenzoic acid	210 ± 21	26 ± 70
p-anisic acid	844 ± 87	328 ± 20

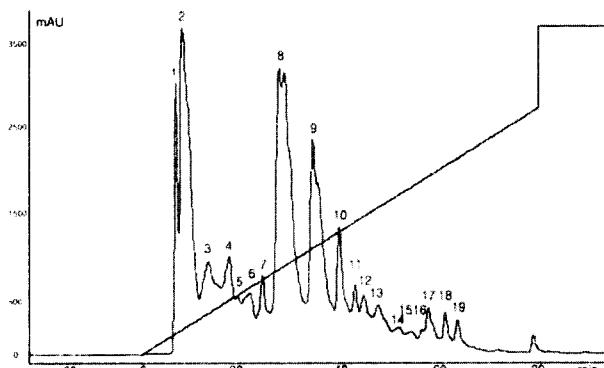


Fig. 2. HPLC (ÄKTA explorer system) chromatogram of butanol fraction from *Terminalia chebula* Retz. water extracts.

chole(6,667 mg%), phloroglucinol(5,270 mg%)으로 나타났으며, 가자 물 추출물의 총 peak(27.47%)에서 pyrogallol이 가장 높은 28,971 mg%였으며, T-4-hydroxy-3-methoxy cinnamon(24,340 mg%), catechin(5,814 mg%)으로 나타났다(Table 6). Nepka 등 (18)의 연구에 따르면 가자 열매를 HPLC와 LC-MS로 분석한 결과 가자 추출물의 주성분은 tannin 성분으로서 chebulinic acid가 butanol 분획에서 확인되었음을 보고하였고, tannin 이외에 6 가지 종류의 polyphenol 성분을 확인하였다. 또한 가자의 탈지 분말을 MS와 NMR 분석을 실시한 결과, free phenolic acid에는 caffeic acid, vanillic acid 및 p-coumaric acid가 분석되었고, 불용성 phenolic acid에는 caffeic acid, phloroglucinol 및 pyrogallol이 확인되었다(19).

HPLC 분획물의 항균활성

가자 물 추출물의 butanol 분획물을 10%농도로 제조한 후, 500 μL를 ÄKTA explorer system(Amersham Pharmacia, Uppsala, Sweden)에 주입 하여 Vydac 218(Hesperia, USA) column으로 분획하였다. 가자 butanol 분획의 chromatogram 양상은 3000 mAU 이상의 peak를 포함하여 19개의 peak를 나타내었으며, 8번째 peak에서 Rt. 28.68 min, area값, 12,004.0310 mAU로 가장 높게 나타났다(Fig. 2). 이를 fraction 1(peak 1,2), fraction

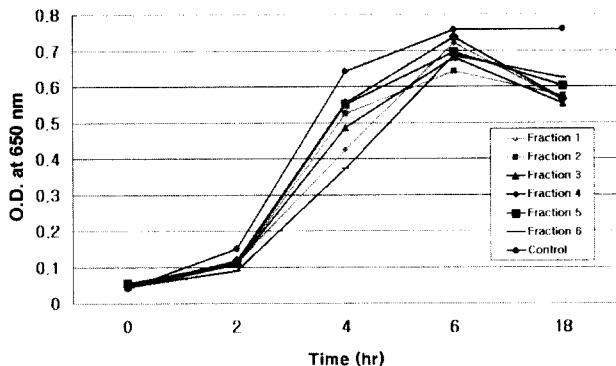


Fig. 3. Inhibition effect of HPLC (ÄKTA explorer system) separate of butanol fraction from *Terminalia chebula* Retz. water extract on growth of *Listeria monocytogenes*.

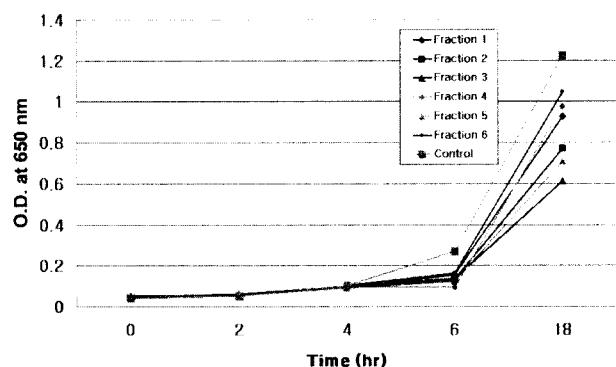


Fig. 4. Inhibition effect of HPLC (ÄKTA explorer system) separate of butanol fraction from *Terminalia chebula* Retz. water extract on growth of *Escherichia coli*.

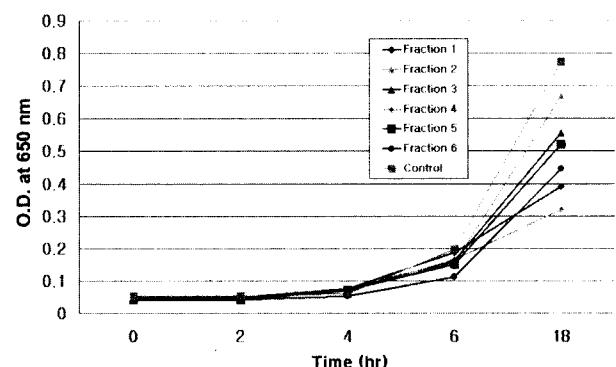


Fig. 5. Inhibition effect of HPLC (ÄKTA explorer system) separate of butanol fraction from *Terminalia chebula* Retz. water extract on growth of *Staphylococcus aureus*.

2(peak 3,4,5,6,7), fraction 3(peak 8), fraction 4(peak 9), fraction 5(peak 10,11,12,13,14,15), fraction 6(peak 16,17,18,19)의 6 개 구간으로 분취하여 10 mL로 농축한 뒤, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*를 대상으로 18시간 동안 액체배지 희석법으로 항균활성을 확인하였다. 그 결과, *L. monocytogenes* 균주는 6시간동안 배양했을 때 흡광도 값이 0.6-0.8을 나타내었으며, 18시간에는 대조구를 제외한 모든 fraction에서 흡광도 0.6의 근사한 값으로 생육이 억제되었으며, fraction 간의 큰 차이는 보이지 않았다. *E. coli* 균주는 6시간 동안 배양한 결과, 대조구

를 제외한 fraction에서 0.2 이하의 흡광도 값을 나타내었으며, 18시간에서는 fraction 3 > 5 > 2 > 1 > 4 > 6 > control 순으로 생육 억제를 나타내었다. 또한, *S. aureus*균주의 결과는 *E. coli* 균주와 유사한 양상을 보였으며, 18시간 배양결과 fraction 4 > 1 > 6 > 5 > 3 > 2 > control 순의 생육억제 양상을 나타내었다(Fig. 3, 4, 5). 이와 같은 결과는 각각의 peak에 함유되어 있는 polyphenol이 항균활성에 관여하여 각 병원성 미생물에 대한 항균활성이 나타나는 것으로 사료된다. Ammar 등(12)의 연구 보고에 따르면, 가자 70% methanol 추출물을 *n*-hexane, chloroform, butanol을 이용하여 순차적으로 분획한 뒤, sephadex LH-20 column으로 부분 정제한 결과, 최종의 물 혼분에서 ellagic acid (120 mg)를 얻을 수 있었으며, butanol 분획에서 chebulinic acid (141 mg), 2,4-Chebuloyl- β -D-glucopyranose(85 mg)를 얻을 수 있음을 보고하고 있으며, 가자의 butanol 혼분의 tannin성분은 chebulinic acid가 주된 성분과 다른 폴리페놀 성분들이 다양 함유되어 있다고 보고하고 있다(18). 또한 이러한 폴리페놀은 병원성 미생물의 항균후작용과 유의성 있는 상관관계를 나타낸다(17).

요 약

가자 물 추출물과 70% 에탄올 추출물을 acetone, hexane, chloroform, butanol의 용매로 순차 분획하였다. 용매 순차 분획 물 중 butanol 분획물이 *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*균종에 대해 가장 좋은 항균활성과 추출수율을 나타내었다. 또한 polyphenol 표준물질 중 pyrogallol이 항균활성 실험결과 가장 좋은 활성을 나타내었다. 가자의 물 추출물과 에탄올 추출물을 13가지 표준품을 사용하여 HPLC 분석한 결과, pyrogallol의 수치가 가장 높게 나타났다.

문 헌

- Lee SH, Lim YS. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenic microorganism. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 239-243 (1998)
- Kim MS, Lee DC, Hong JE, Chang KS, Cho HY, Kwon YK, Kim HY. Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 949-958 (2000)
- Baratta MT, Dorman HJD, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG, Ruberto G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour Fragr. J. 13: 235-244 (1998)
- Golovinsky EV, Maneva LS, Angelov I I, Veljanova KD, Sniker DJ, Stankevich EK. Antibacterial and antitumor activity of some derivatives of ureidosuccinic acid. Neoplasma 23: 43-46(1976)
- Orrjala J, Erdelmeier CA, Wright AD, Rali T, Sticher O. Five new prenylated *p*-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. Planta Med. 59: 546-551 (1993)
- Ayres HM, Payne DN, Furr JR, Russell AD. Use of Malthus-AT system to assess the efficacy of permeabilizing agents on the activity of antibacterial agents *Pseudomonas aeruginosa*. Lett. Appl. Microbiol. 26: 422-426 (1998)
- Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiol. Res. 152: 239-245 (1997)
- Oguni I, Yamada M. Protection against cancer risk by green tea and antibacterial activity of tea catechin against *Helicobacter pylori*. September 3, Lotte Hotel, Seoul, Korea. 4th Intl. Symposium on green tea, Seoul, Korea. The Korean Society of Food Science and Technology, Seoul, Korea (1997)
- Lee KS, Kim SH, Sim KC, Park CS, Shin YS. Antimicrobial activity of *Terminalia chebula* retz. extract against intestinal pathogens. Korean J. Food Nutr. 10: 559-563 (1997)
- Conner DE, Beuchat LR. Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. J. Food Sci. 49: 429-437 (1984)
- Branen AL, Go HC, Genske RP. Purification and properties of antimicrobial substances produced by *Streptococcus diacetilactis* and *Luconostoc citrovorum*. J. Food Sci. 40: 446-453 (1975)
- Ammar S, Michael H, Pirkko H, Kalevi P. Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula* retz. fruit. J. Ethnopharmacol. 81: 327-336 (2002)
- Mori A, Nishino C, Enoki N, Tawata S. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Plotugus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. Phytochem. 26: 2231-2240 (1987)
- Ravn H, Brimer I. Structure and antibacterial activity of plantamajoside, a caffeic acid sugar ester from *Plantago major* subsp. major. Phytochem. 27: 3433-3441 (1988)
- Tomas-Barberan FA, Msomthi JD, Hostettmann K. Antifungal epicuticular methylated flavonoids from *Helichrysum intens.* Phytochem. 27: 753-760 (1988)
- Ikigai H, Nakae T, Hara Y, Shimamura T. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochim. Biophys. Acta 1147: 132-136 (1993)
- Do JR, Kang SN, Kim KJ, Jo JH, Lee SW. Antimicrobial, antioxidant activity and phenolic compounds in the medical plant water extracts. Food Sci. Biotechnol. 13: 640-645 (2004)
- Nepka C, Sivridis E, Antonoglou O, Kortsaris A, Georgellis A, Taitzoglou I, Hytoroglou P, Papadimitriou C, Zintzaras I, Kouretas D. Chemopreventive activity of very low dose dietary tannic acid administration in hepatoma bearing C3H male mice. Cancer Letters 141: 57-62 (1999)
- Kim JS, Lee GD, Kwon JH, Yoon HS. Identification of phenolic antioxidative components in *Terminalia Chebula* Retz. J. Korean Agric. Chem. Soc. 36: 239-243 (1993)

(2005년 3월 3일 접수; 2005년 4월 29일 채택)