

한약재추출물의 항균활성

장형수¹ · 최 일^{2*}

¹상지대학교 식품영양학과
²상지대학교 생명자원과학대학

Antimicrobial Activities of Medicinal Herb Extracts

Hyung Soo Chang¹ and Il Choi^{2*}

¹Dept. of Food and Nutrition and ²College of Life Science and Natural Resources,
Sangji University, Gangwon 220-702, Korea

Abstract

In this study, 18 kinds of Korean medicinal herb extracts were examined for anti-microbial activities against pathogenic microorganisms. The methanol (MeOH) extracts from *Schizandra chinensis*, *Rhus javanica* and *Caesalpinia sappan* exhibited antimicrobial activities against most pathogenic microorganisms at concentrations of 5 mg/mL, whereas the other 15 extracts exhibited anti-microbial activities at concentrations of 30 mg/mL. The minimum concentration at which *Schizandra chinensis* extracts inhibited for *S. epidermidis* and *Bor. bronchiseptica* was 0.6 mg/mL. The MeOH extracts from *Schizandra chinensis*, *Caesalpinia sappan*, *Rhus javanica* and *Seutellaria baicalensis* which had higher anti-microbial activities were subsequently fractionated using 5 different solvents, and further screened for anti-microbial activities. The inhibitory effects of ethyl acetate (EtOAc) extracts on microbial growth were greater compared to any other solvent extracts. In order to investigate the inhibitory effect of Korean medicinal herbs with high anti-microbial activities on microbial proliferation, the MeOH extracts at concentrations of 0, 100, 300 and 500 ppm were added to the media. No addition of extracts caused rapid growth of microbes after 12 hours incubation. As the concentration of extracts from *Rhus javanica* and *Caesalpinia sappan* increased, the growth-inhibiting effect on gram-positive bacteria including *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *L. monocytogenes* was prominent. *Rhus javanica* extracts exhibited growth-inhibiting activity for gram-negative bacteria including *Sal. Pullorum* and *Sal. Choleraesuis*. The low concentration of extracts from *Rhus javanica* and *Caesalpinia sappan* exhibited the growth of *Bor. bronchiseptica* and *E. coli* serotype O₈. However, the higher concentration of extracts from *Rhus javanica* and *Caesalpinia sappan* exhibited a strong inhibitory effect on microbial proliferation.

Key words: antimicrobial effects, medicinal herb, pathogenic microorganism

서 론

A. Fleming이 페니실린을 발견한 이후 미생물의 발육을 억제하는 물질인 항생물질은 현재에 이르기까지 치료용 의약품으로 대량 소비되고 있는 실정이며 근래에 와서 항생물질의 장기간 투여로 인한 내성균으로 여러 가지 부작용이 나타나 매우 심각한 문제점으로 대두되고 있다(1). 즉 서양 의학의 경우 질병발생의 원인을 세균과 바이러스에 의한 것으로 인식하고 항생물질의 개발로 이를 제거하거나 증식을 억제할 수 있다고 생각했으나 우수한 항생제도 생체에 대한 독성과 내성으로 인하여 치료 효과의 감소가 단점으로 지적된다. 이에 따라 최근까지도 미생물을 이용한 내성이 적은 항생제를 개발(2)하고 있으나 근래의 일부 학자들에 의해 한약재와 같은 천연 약물의 이용에 관심을 두게 되어 이를

이용한 항균활성물질의 개발을 추진하고 있다(3,4).

Jung(5)은 한약재의 약리작용에 대한 여러 문헌(6-9)을 조사하여 동양 여러 나라에서 이용되는 상용 한약 400여종을 처방빈도가 높은 순으로 하여 이들의 항균효과를 조사한 결과 오배자는 녹농균과 포도상구균, 포공영은 백선균, 창출은 포도상구균과 대장균, 지실은 연쇄상 구균과 대장균, 시호는 인플루엔자 바이러스와 천연두바이러스, 황금은 이질균과 폐렴쌍구균등 총 112종에서 다양한 항균효과가 있는 것으로 보고하였으며 최근에는 이들 중 항균성이 있는 한약재에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다(10-17).

Shin 등(18)은 화농성 질환 치료에 쓰이는 50여종의 한약재로부터 에탄올 추출물을 얻은 뒤 10종의 균주에서 항균성을 조사한바 굴피, 연교, 우방자, 진교, 호황련 및 회침 등은 몇 균주에 대하여 항균효과를 보인 반면 가자육, 금앵자, 소

*Corresponding author. E-mail: ichoi@sangji.ac.kr
Phone: 82-33-730-0553, Fax: 82-33-730-0503

목 그리고 육두구는 모든 균주에서 뚜렷한 증식억제효과가 있다고 하였다. 식물 추출물의 항균성은 추출용매나 시료의 종류에 따라 균 증식 억제력의 차이가 있는데 일반적으로 에탄올 추출물이 물 추출물보다 증식 억제효과(3)가 높은 반면, 항 중앙성 실험(19)에서는 물 추출물이 효과가 있다고 하였다.

그러나 현재 연구되고 있는 항균효과는 주로 식품의 보존성을 높이기 위한 유해균에 대한 항균력에 집중되어 있고 질병에 대한 항균력 측정은 미미한 상태이다. 따라서 본 논문은 한약재를 이용하여 자주 발병하는 병원성 균주에 대한 항균력 검사를 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 항균활성 실험에 사용한 한약재는 방약합편(9), 식물도감(7)에서 항균, 항진균 작용을 가지고 있는 것으로 예상되는 약재를 참고하여 선정하였고, 실험에 사용한 약재는 건조

상태가 좋은 것을 구입하여(강원도 원주시 천일건재상) 상지대학교 생약학실에서 분류한 후 건냉한 장소에 보관하여 사용하였다. 약재명과 사용부위는 Table 1과 같다.

사용균주 및 배지

항균활성 측정에 사용한 Gram positive bacteria 4종, Gram negative bacteria 7종, mold 1종 및 yeast 1종은 국립보건원, 국립수의과학검역원으로부터 분양받은 균주이며 균의 증식과 항균활성 측정을 위해 사용한 배지는 Table 2와 같다.

항균력 검색을 위한 MeOH 추출물의 조제

시료 추출물의 조제는 각 한약재의 특정 부위를 대상으로 약재 300 g을 세절하거나 잘게 부수어 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 round flask에 시료의 5배 정도의 MeOH(w/v)를 각각 첨가한 후, 80°C에서 5시간 동안 3회 환류 추출하였다. 추출액은 Whatman No.2 여과지로 2회 여과한 후 rotary vacuum evaporator로 감압 농축하였으며 최종적으로 각각의 농축물은 멸균한 DMSO(dimethylsulfoxide)용액을

Table 1. List of medicinal herbs used for antimicrobial experiments

Family name	Scientific name	Part of used	Korean name
Myristicaceae	<i>Myristica fragrans</i> HOUTT.	Seeds	육두구
Magnoliaceae	<i>Schizandra chinensis</i> BAILL.	Seeds	오미자
Zingiberaceae	<i>Alpinia katsumadai</i> HAYATA.	Seeds	초두구
Meliaceae	<i>Melia azedarach</i> LINNÉ.	Fruit	천연자
Rutaceae	<i>Poncirus trifoliata</i> RAFIN.	Fruit	지실
Caprifoliaceae	<i>Lonicera japonica</i> THUNB.	Flower	금은화
Labiatae	<i>Prunella vulgaris</i> LINNÉ var. asiatica HARA.	Bud	하고초
Rubiaceae	<i>Hedyotis diffusa</i> WILLD.	Bud	백화사설초
Leguminosae	<i>Caesalpinia sappan</i> LINNÉ.	Stem	소목
Anacardiaceae	<i>Rhus javanica</i> LINNÉ.	Leaves	오배자
Gramineae	<i>Phyllostachys nigra</i> MUNRO var. HENONIS STAPF.	Leaves	죽염
Ranunculaceae	<i>Paeonia suffruticosa</i> ANDR.	Bark	목단피
Compositae	<i>Siegesbeckia orientalis</i> LINNÉ.	Whole	회령
Labiatae	<i>Elsholtzia ciliata</i> (THUNB.) HYLANDER.	Whole	향유
Labiatae	<i>Seutellaria baicalensis</i> GEORGE.	Root	황금
Araceae	<i>Acorus gramineus</i> SOLAND.	Root	석창포
Compositae	<i>Atractylodes japonica</i> KOIDZ.	Root	창출
Lauraceae	<i>Lindera strychnifolia</i> F. VILL.	Root	오약

Table 2. List of strains and media used for antimicrobial experiments

	Strain	Media	Temp.
Gram (+) bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Nutrient broth & agar	37°C
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Nutrient broth & agar	37°C
	<i>Clostridium perfringens</i> Type C	LB broth, Miller broth & agar	39°C
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	Tryptic soy broth & agar	35°C
Gram (-) bacteria	<i>Salmonella</i> Pullorum ATCC 9120	Nutrient broth & agar	37°C
	<i>Salmonella</i> Gallinarum ATCC 9184	Nutrient broth & agar	
	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 13311	Nutrient broth & agar	
	<i>Salmonella</i> Choleraesuis ATCC 10708	Nutrient broth & agar	
	<i>Escherichia coli</i> serotype O ₈	LB broth, Miller broth & agar	
	<i>Escherichia coli</i> serotype O ₇₈	LB broth, Miller broth & agar	
	<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 4617	Smith-Baskerville medium	
Mold	<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 10894	Potato dextrose broth & agar	37°C
Yeast	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	YPD broth & agar	37°C

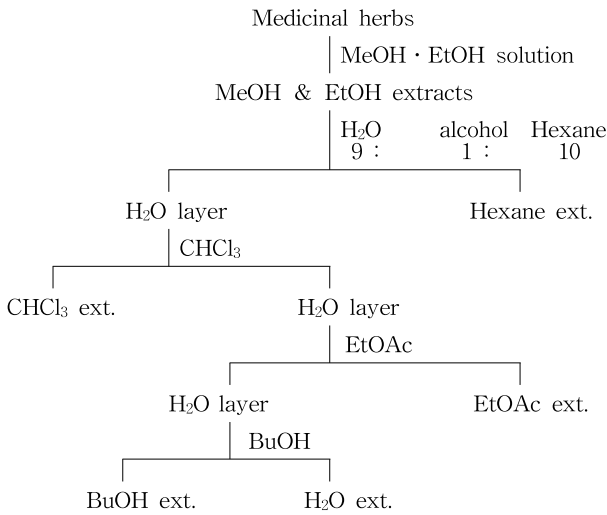


Fig. 1. Extraction and fractionation of medicinal herbs.

용매로 하여 5 mg/mL, 10 mg/mL, 30 mg/mL 및 50 mg/mL로 희석하여 사용하였다.

분획 용매별 시료의 조제

우수한 항균활성을 나타내는 한약재를 대상으로 MeOH 추출물을 얻은 후 Fig. 1과 같이 용매로 분획하였다. 즉, 각각의 추출물을 분획여두에서 극성을 달리하는 용매[n-hexane, CHCl₃, EtOAc, n-butanol(BuOH), water]로 순차적으로 분획한 후 이 분획물을 45°C 수욕 상에서 rotatory vacuum evaporator로 농축, 용매를 완전히 제거하였다. 각 용매별 농축물은 멸균한 DMSO용액을 용매로 하여 농도를 일정하게 조절하여 각 균주별 항균활성을 측정하였다.

Soluble solid 함량 측정

Soluble solid 함량은 감압 농축된 추출물 1 g를 취하여 105°C에서 건조한 후 증발 잔사의 무게를 측정하여 첨가량으로 나타내었다.

추출물의 항균력 검색

항균력 검색에 사용한 균주는 평판배지에 배양된 균주 2~3 백균이를 취해 10 mL nutrient broth의 균 생육 액체배지에 접종하고 37°C에서 24시간 배양하여 활성화시킨 후 시험균액 0.2 mL를 무균적으로 첨가하여 기층용 배지위에 고르게 퍼지도록 멸균된 유리막대로 도포한 뒤 Piddok(20)의 paper disc에 의한 한천배지 확산법(disc plate method)으로 측정하였다.

최소저해농도(minimum inhibitory concentration: MIC) 측정

항균활성이 나타난 한약제의 최소 저해농도 측정은 한천배지 확산법(paper disc agar diffusion)을 이용하였고, 측정 농축물을 membrane filter(0.45 µm)로 제균 시키고, plate에 활성화된 배양액 0.2 mL를 접종하여 soluble solid 함량을

기준으로 하여 0.2 mg/mL 간격으로 0.2 mg/mL에서 50 mg/mL까지의 범위 내에서 plate에 접종하여 각 균주의 적정온도에서 24시간 배양한 후 육안으로 관찰하여 미생물이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다.

추출용매별 항균력 측정

우수한 항균활성을 나타내는 한약재를 대상으로 용매 분획한 후 soluble solid 함량을 적용하여 각 분획물을 3% 농도로 조정 후 각 균주별로 한천배지 확산법으로 측정하여 항균활성을 측정하였다.

미생물의 증식억제효과 측정

우수한 항균활성을 나타내는 한약재를 대상으로 각각의 추출물을 0.45 µm membrane filter로 여과한 다음 10 mL의 생육액체배지에 추출물의 soluble solid를 기준으로 하여 0, 100, 300 및 500 ppm 농도별로 첨가한 후 slant에서 배양된 각 균주 1백균이를 취해 50 mL 생육액체배지에 접종하여 적정온도에서 24시간 동안 배양하였다. 배양액 2.5 mL을 취해 다시 50 mL 액체배지에 접종하여 배양한 후 활성화된 배양액 0.15 mL씩을 접종하여 각 균주의 생육적정온도에서 72시간까지 배양하면서 미생물의 생육정도를 12시간마다 UV spectrophotometer를 사용하여 660 nm에서 측정하였다. 흡광도 측정 시 각 생육액체배지를 blank로 사용하였다.

결과 및 고찰

추출물의 항균성 검색

한약재 18종에 대한 MeOH추출물의 균별 항균력을 조사하기 위해 각각의 추출물을 5 mg/mL, 10 mg/mL, 30 mg/mL 및 50 mg/mL로 희석하여 paper disc agar diffusion 법으로 clear zone을 확인하였고, 그 결과는 Table 3과 같다. 오배자 추출물은 Gram positive bacteria 3종, Gram negative bacteria 7종의 대부분 균주에 대해 5 mg/mL 수준에서 모두 항균활성을 나타내었고 특히 *S. epidermidis*와 *L. monocytogenes*의 경우 5 mg/mL 수준에서 비교해 볼 때 17 mm와 18 mm로 가장 큰 clear zone을 나타냈다. 오미자와 소목 추출물이 많은 균주에서 5 mg/mL 수준에서 항균성을 나타냈으며 13여 종의 한약재들이 30 mg/mL 수준에서 항균성을 보여주고 있다. Lee 등(21)은 오배자 등 민간 생약재와 포도과피 추출물의 항균활성에 대하여 조사한 결과 MeOH추출물은 *B. subtilis*와 *E. coli* 균주에 대해서 강한 항균활성을 나타내었고, 특히 그람양성 세균에 대해 모두 우수한 항균력을 나타내었다고 보고하였다. An(22)은 오배자, 적포도 과피 분획물인 폴리페놀균물은 *E. coli* C 600과 *B. subtilis* MI 등 그람 음성과 양성균에 대하여 우수한 항균효과가 있다고 보고하였다. Lee와 Lim(23)은 오미자의 EtOH추출물과 분획물이 *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*에 대해서 성장 저해 효과가 나타났다고 보고하였고, Jung 등

Table 3. Growth inhibiting activities of medicinal herbs for microbial strains

Strains/Scientific name	Clear zone diameter (mm)			
	MeOH ext.			
	0.5%	1%	3%	5%
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Schizandra chinensis</i>	—	—	8	9.5
<i>Alpinia katsumadai</i>	—	—	10	11
<i>Melia azedarach</i>	—	—	9	13
<i>Poncirus trifoliata</i>	—	9.5	12	14
<i>Lonicera japonica</i>	—	8	10	12
<i>Prunella vulgaris</i>	9	10.5	11	12
<i>Hedyotis diffusa</i>	—	9	13	12
<i>Caesalpinia sappan</i>	10	14	19	21
<i>Rhus javanica</i>	12	15	17	21
<i>Phyllostachys nigra</i>	—	—	9	10
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	—	—	7	8
<i>Elsholtzia ciliata</i>	8	9.5	10	12
<i>Seutellaria baicalensis</i>	—	9	12	16
<i>Lindera strychnifolia</i>	—	—	—	8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>				
<i>Schizandra chinensis</i>	9	13	19	21
<i>Prunella vulgaris</i>	—	—	11	13
<i>Caesalpinia sappan</i>	18	22	27	30
<i>Rhus javanica</i>	17	18	20	22
<i>Paeonia suffruticosa</i>	13	15	17	19
<i>Seutellaria baicalensis</i>	—	10	14	19
<i>Salmonella</i> Typhimurium				
<i>Rhus javanica</i>	—	—	10	12
<i>Schizandra chinensis</i>	—	—	8	8.5
<i>Caesalpinia sappan</i>	—	—	7	9
<i>Salmonella</i> Choleraesuis				
<i>Rhus javanica</i>	—	—	9	12
<i>Schizandra chinensis</i>	—	—	9	12
<i>Salmonella</i> Pullorum				
<i>Rhus javanica</i>	7	9	13	17
<i>Schizandra chinensis</i>	—	—	8	9
<i>Salmonella</i> Gallinarum				
<i>Rhus javanica</i>	—	11	14	20
<i>Schizandra chinensis</i>	—	—	9	11
<i>E. coli</i> serotype O ₇₈				
<i>Rhus javanica</i>	13	15	17	19
<i>Caesalpinia sappan</i>	8	9	11	18
<i>Seutellaria baicalensis</i>	—	8	9	12
<i>Paeonia suffruticosa</i>	8	12	15	17
<i>E. coli</i> serotype O ₈				
<i>Rhus javanica</i>	14	16	17	18
<i>Caesalpinia sappan</i>	10	15	20	21
<i>Seutellaria baicalensis</i>	—	10	11	13
<i>Paeonia suffruticosa</i>	—	—	10	16
<i>Bordetella bronchiseptica</i>				
<i>Rhus javanica</i>	15	18	22	25
<i>Caesalpinia sappan</i>	8	12	17	19
<i>Seutellaria baicalensis</i>	7.5	10	14	16
<i>Schizandra chinensis</i>	—	11	16	18
<i>Listeria monocytogenes</i>				
<i>Rhus javanica</i>	18	19	23	24
<i>Caesalpinia sappan</i>	13	15	18	20
<i>Seutellaria baicalensis</i>	—	—	8	9
<i>Schizandra chinensis</i>	—	—	—	9
<i>C. perfringens</i> type C				
<i>Caesalpinia sappan</i>	9	15	18	22
<i>Seutellaria baicalensis</i>	—	—	—	10
<i>Myristica fragrans</i>	—	—	—	9
<i>Schizandra chinensis</i>	—	—	—	12
<i>Candida albicans</i>				
<i>Seutellaria baicalensis</i>	—	—	10	13

(24)은 오미자 종자 추출용매별 항균효과는 *L. plantarum*, *B. subtilis*, *E. coli* 및 *P. citrinum*에 대하여 MeOH추출물이 가장 항균활성이 크다고 보고하였다.

*C. albicans*에 있어서 다른 균에서 뛰어난 항균활성을 나타낸 한약재에 대해서는 생육 저해환이 나타나지 않았지만 황금추출물의 30 mg/mL와 50 mg/mL 수준에서 뚜렷한 생육 저해환을 나타내었다. Cho와 Kim(25)은 황금 추출물 0, 500, 1000 및 5000 ppm의 농도로 paper disc법으로 측정된 결과 500 ppm 이상에서 *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* 및 *V. parahaemolyticus*에 대하여 모두 증식억제로 인한 clear zone이 관찰되어 우수한 항균활성이 인정되었음을 보고하였다.

최소저해농도

여러 종류의 병원성 균주에 대하여 농도별 항균활성이 나타난 각 한약재의 MeOH추출물의 최소저해농도(MIC)를 추출물의 항균성 검색과 동일한 방법(paper disc agar diffusion)으로 측정하였고, 그 결과는 Table 4와 같다. *S. aureus*에서 오약추출물이 34 mg/mL, *Sal. Gallinarum*에서 오미자 22 mg/mL, *Bor. bronchiseptica*에서 황금 4.8 mg/mL, *C. perfringens* type C에서 육두구 48 mg/mL, 황금 46 mg/mL, *C. albicans*에서 황금 26 mg/mL를 나타냈다. 오배자의 경우 농도별 항균활성을 측정한 결과 *S. epidermidis*와 *L. monocytogenes*에서 MeOH추출물이 5 mg/mL 수준에서 17 mm와 18 mm로 가장 큰 clear zone을 나타냈지만, 최소저해농도는 *S. epidermidis*와 *Bor. bronchiseptica*가 0.6 mg/mL로 특히 강한 MIC가 나타났다. 이는 MeOH추출물이 균주에 따라 MIC 농도의 차이가 나타남을 보여주고 있다. Lee 등(21)은 오배자의 MeOH추출물이 *B. subtilis*와 *E. coli*에 대한 최소저해 농도가 각각 1.0 mg/mL과 3.0 mg/mL과 비교해 볼 때 본 실험에 있어서 오배자의 MIC가 더 우수한 것으로 나타났다.

추출물의 유기용매 분획별 수율

각 균주별 우수한 항균력을 가진 오배자, 소목, 오미자, 황금의 MeOH추출물의 활성성분에 대한 특성을 검토하고자 극성이 다른 유기용매인 *n*-hexane, CHCl₃, EtOAc, *n*-BuOH, water를 순차적으로 분획하여 추출하였으며, 그 수율 측정 결과는 Table 5와 같다.

오배자, 소목의 경우 MeOH추출물에서 EtOAc에 의한 추출수율이 71.9%와 62.0%로 가장 높았으며, 오미자의 경우 water층, 황금의 경우 *n*-hexane층과 *n*-BuOH층에서 가장 높게 나타났다. 반면에 CHCl₃에 의한 추출수율이 4종의 한약재에 대해 가장 낮은 추출수율로 나타났다.

분획물의 항균성 검색

본 실험에서 우수한 항균활성이 확인된 오배자, 소목, 오미자, 황금을 대상으로 극성이 다른 5가지 용매로 순차 분획하여 항균활성을 검토한 결과는 Table 6과 같다.

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) of medicinal herbs for microorganisms

Strains/Scientific name	Minimum inhibitory concentration (mg/mL)											
	SA	SE	ST	SC	SP	SG	EO ₇₈	EO ₈	BP	LM	CP	CA
	MeOH ext.											
<i>Myristica fragrans</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	48	—
<i>Schizandra chinensis</i>	20	4.6	14	12	16	22	—	—	6	40	32	—
<i>Alpinia katsumadai</i>	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Melia azedarach</i>	18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Poncirus trifoliata</i>	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Lonicera japonica</i>	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Prunella vulgaris</i>	3.2	16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Hedyotis diffusa</i>	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Caesalpinia sappan</i>	1	0.8	16	—	—	—	4.6	1.4	4.6	16	2.6	—
<i>Rhus javanica</i>	1.2	0.6	12	12	4.8	8	6	8	0.6	10	—	—
<i>Paeonia suffruticosa</i>	—	2.2	—	—	—	—	4.6	12	—	—	—	—
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Elsholtzia ciliata</i>	4.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Seutellaria baicalensis</i>	6	6	—	—	—	—	8	8	4.8	26	46	26
<i>Phyllostachys nigra</i>	26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Lindera strychnifolia</i>	34	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

SA: *Staphylococcus aureus*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, LM: *Listeria monocytogenes*, SP: *Salmonella Pullorum*, SG: *Salmonella Gallinarum*, ST: *Salmonella Typhimurium*, SC: *Salmonella Choleraesuis*, EO₈: *E. coli* serotype O₈, EO₇₈: *E. coli* serotype O₇₈, BP: *Bordetella bronchiseptica*, CA: *Candida albicans*.

Table 5. The fraction yields of solvent fractions extracted from extracts of medicinal herbs

Solvents	Yield (% , w/w)			
	<i>Rhus javanica</i>	<i>Caesalpinia sappan</i>	<i>Schizandra chinensis</i>	<i>Seutellaria baicalensis</i>
	MeOH ext.			
Hexane	6.30	1.10	7.04	44.40
CHCl ₃	2.52	1.50	2.18	2.00
EtOAc	71.86	62.04	3.00	0.26
BuOH	12.67	23.00	18.08	1.76
Water	6.50	3.40	40.06	2.94
Total	99.85	91.04	70.36	51.36

오배자의 경우 5가지 용매 분획물 중 *n*-hexane을 제외한 다른 용매에 대하여 대부분 항균활성이 나타났으며, MeOH 추출물의 EtOAc층이 *Bor. bronchiseptica*에서 23.7 mm로 가장 높았으며, 대부분의 균주에서 EtOAc층이 다른 분획층에 비해 성장억제효과가 높게 나타났다. 소목의 경우 *C. albicans*과 *Salmonella* sp. 중 *Sal. Pullorum*, *Sal. Gallinarum* 및 *Sal. Choleraesuis*를 제외한 균주에서 각 분획물에 대한 항균성이 나타났으며, *S. aureus*와 *S. epidermidis*에서 MeOH추출물의 모든 분획층에서 활성을 나타냈고, EtOAc층이 가장 높은 활성을 나타냈다.

오미자와 황금의 경우도 마찬가지로 항균활성이 나타난 균주에 대해서는 5가지 용매 분획층 중에서 EtOAc층이 가장 높은 항균활성이 나타났다. Jung 등(24)은 오미자 종자 추출 용매별 항균효과에서 모든 시험 균에 전반적으로 강한 항균활성을 나타내는 MeOH추출물을 이용하여 분획한 결과 물 분획물에서 대체적으로 항균활성이 낮았으며 *S. aureus*와 *Sal. Typhimurium*은 전혀 항균활성이 나타나지 않았고, *n*-BuOH 분획의 경우 *L. plantarum*, *B. subtilis*, *S. aureus*,

Sal. Typhimurium 및 *E. coli*에서의 clear zone의 직경이 각각 13.1 mm, 14.2 mm, 12.4 mm, 12.4 mm 및 13.0 mm로 나타났다 하였고, Lee 등(26)은 오미자 열매로부터 항균활성을 분리하기 위하여 MeOH추출물의 분획물의 항균활성을 측정 한 결과 EtOAc층에서 가장 활성이 높게 나타났다고 보고하였다. Kweon 등(27)은 목단피의 MeOH추출물과 각 용매분획의 항균활성을 측정 한 결과 EtOAc층은 모든 시험균주에 대해 항균작용을 나타내었고, *n*-BuOH 분획은 그람 양성균 일부에 대하여 항균작용을 나타내었다고 보고하였다.

첨가 농도별 생육저해효과

본 실험에 사용된 한약재 중에서 5 mg/mL 수준까지 항균활성이 나타난 MeOH추출물을 대상으로 병원성 미생물에 대해 12시간마다 농도별 즉, 0 ppm(control), 100 ppm, 300 ppm 및 500 ppm에 활성화된 균액을 첨가하여 미생물의 생육상태를 측정하였고, 그 결과는 Fig. 2부터 Fig. 7과 같다. 즉, 각 균주에 대해 한약재 추출물을 첨가하지 않은 대조구에서는 12시간 이후 급격한 균의 성장을 나타내고 있으나 그람 양성균에 있어서 *S. aureus*의 경우 오배자, 소목 및 황금추출물에서 첨가 농도가 높을수록 뚜렷한 억제효과를 보였으며, *S. epidermidis*의 경우 오배자와 소목, *L. monocytogenes*에서 오배자, 소목에서 생육억제효과를 나타냈다.

그람음성균인 *Sal. Pullorum*과 *Sal. Choleraesuis*는 오배자추출물에서 성장저해효과가 나타났고 *Bor. bronchiseptica*, *E. coli* serotype O₈은 오배자와 소목에서 낮은 농도의 추출물에서도 다소 생육이 저해되었음을 보여주었고, 농도가 높을수록 균의 성장이 강하게 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

Lee 등(21)은 오배자 추출물을 0.1, 0.5, 1.0% 첨가하여 660

Table 6. Antimicrobial activities of solvent fraction on medicinal herbs

Strains/Scientific name	Clear zone diameter (mm)				
	Hexane	CHCl ₃	EtOAc	BuOH	Water
<i>Rhus javanica</i>			MeOH ext.		
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	10.00	10.00	11.00	—
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7.67	9.67	12.67	11.33	8.67
<i>Salmonella</i> Typhimurium	—	8.33	22.67	13.33	—
<i>Salmonella</i> Choleraesuis	—	11.33	21.67	14.00	12.33
<i>Salmonella</i> Pullorum	—	8.00	20.33	19.67	—
<i>Salmonella</i> Gallinarum	—	8.00	15.67	12.67	—
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	—	8.67	23.67	18.33	9.33
<i>Listeria monocytogenes</i>	—	14.00	22.00	9.33	—
<i>Escherichia coli</i> serotype O ₈	—	—	14.67	14.67	8.67
<i>Escherichia coli</i> serotype O ₇₈	—	8.67	12.33	18.00	9.00
<i>Caesalpinia sappans</i>					
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.00	13.33	19.67	13.00	10.33
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9.33	16.67	23.67	23.33	18.67
<i>Salmonella</i> Typhimurium	—	—	9.17	8.00	—
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	—	12.67	19.33	13.67	8.33
<i>Listeria monocytogenes</i>	—	9.67	11.67	12.33	—
<i>Clostridium perfringens</i>	—	9.00	14.67	13.33	9.33
<i>Escherichia coli</i> serotype O ₈	8.67	12.33	19.67	18.00	11.33
<i>Escherichia coli</i> serotype O ₇₈	—	14.67	20.67	18.33	13.33
<i>Schizandra chinensis</i>					
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	—	9.67	10.67	10.00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	—	—	14.00	12.67	10.33
<i>Salmonella</i> Typhimurium	—	—	8.67	8.67	8.33
<i>Salmonella</i> Choleraesuis	—	—	12.00	11.17	10.33
<i>Salmonella</i> Pullorum	—	—	10.00	8.17	8.00
<i>Salmonella</i> Gallinarum	—	—	10.00	8.67	8.00
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	—	9.00	19.67	18.00	17.33
<i>Listeria monocytogenes</i>	—	8.00	9.67	—	—
<i>Seutellaria baicalensis</i>					
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.00	10.00	11.00	—	—
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9.00	11.67	12.67	7.33	—
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	—	8.67	13.33	8.00	—
<i>Listeria monocytogenes</i>	—	10.33	10.33	8.00	—
<i>Escherichia coli</i> serotype O ₈	—	8.33	9.33	—	—
<i>Escherichia coli</i> serotype O ₇₈	—	10.00	10.67	—	—
<i>Candida albicans</i>	—	9.67	11.33	—	—

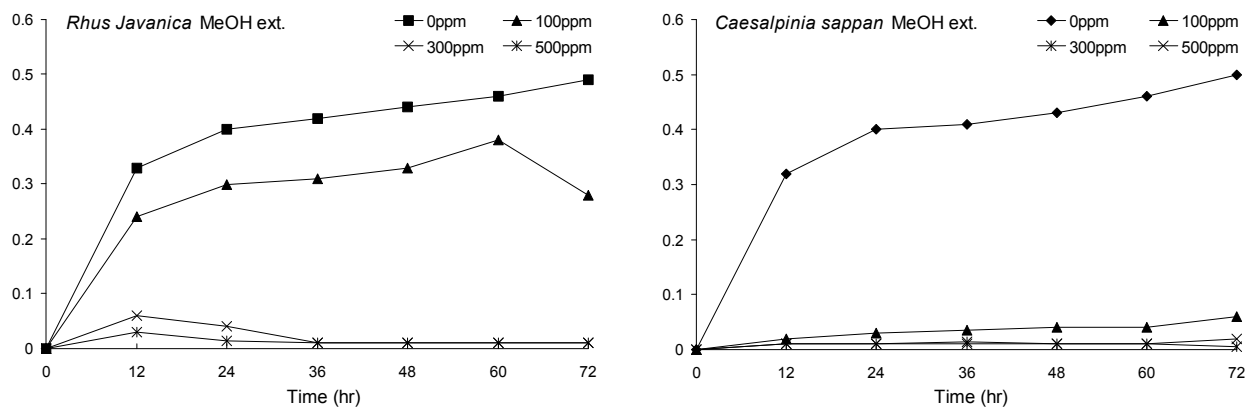


Fig. 2. Effect of concentrations of medicinal herbs on growth inhibiting activity of *Staphylococcus aureus*.

nm에서 혼탁도를 측정함으로써 생육저해능력을 검정한 결과 오메자 추출물에 있어서 대조구와 비교 시 배양 16시간째

0.5% 농도에서 *E. coli*는 22%, *B. subtilis*는 50% 정도의 생육 저해도를 나타내었다. Chung 등(28)은 *B. subtilis*의 경우

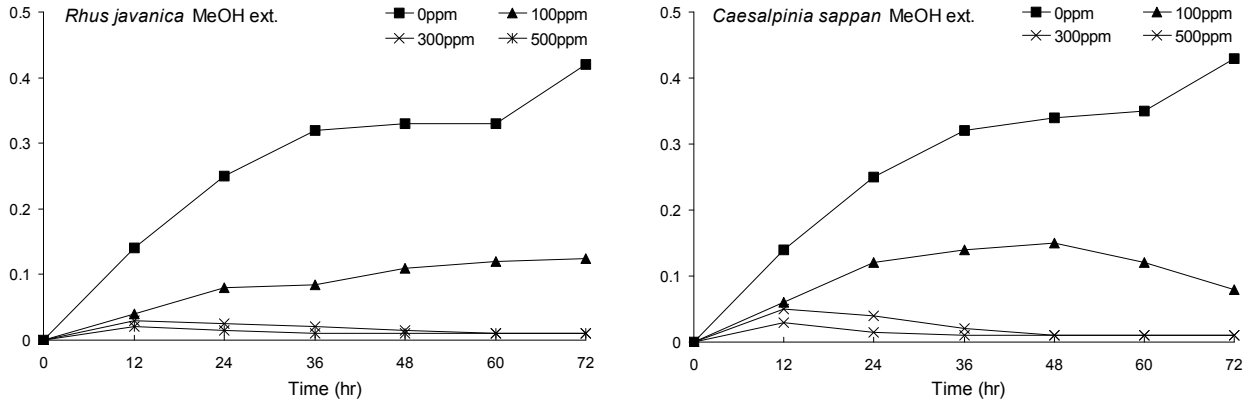


Fig. 3. Effect of concentrations of medicinal herbs on growth inhibiting activity of *Staphylococcus epidermidis*.

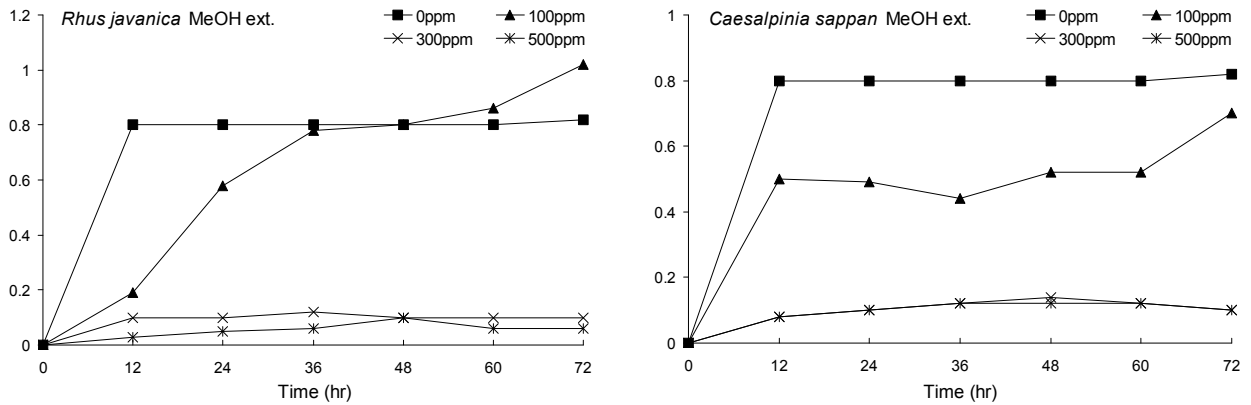


Fig. 4. Effect of concentrations of medicinal herbs on growth inhibiting activity of *Listeria monocytogenes*.

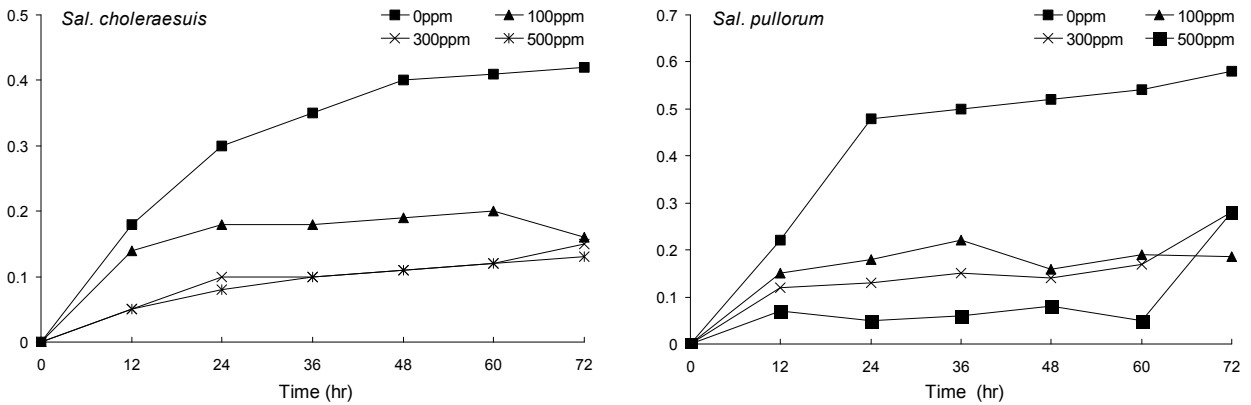


Fig. 5. Effect of concentrations of *Rhus javanica* on growth inhibiting activity of *Salmonella* sp.

오미자 추출물 900 ppm 이상 첨가 시 10시간까지는 증식이 억제되었고 그 이후 균의 증식이 활발했으며, *S. aureus*의 경우에도 오미자 추출물이 300 ppm의 경우에 균의 증식이 억제되었으며 900 ppm 이상의 농도에서는 생육기간인 24시간 동안 완전하게 균의 증식이 억제되었다고 보고하였으며, 또한 그람 음성세균인 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Sal. Typhymurium*의 4가지 균주는 모두 비슷한 생육 억제효과를 보였다고 하였다. Cho와 Kim(25)은 공시 균주인 *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* 및 *V. parphaeo-*

*lyticus*는 모두 황금추출물의 500 ppm 이상의 농도에서 생육이 억제되는 것을 볼 수 있었고, 특히 *E. coli*에 있어서는 5,000 ppm에서 생육이 완전히 억제된다고 보고하였다.

요 약

본 연구에서 18종의 한약재추출물을 제조하여 병원성세균에 대한 한약재의 항균활성을 측정하였다. 오미자, 오미자 및 소목 메탄을 추출물은 대부분 균주에 대해 5 mg/mL 수준

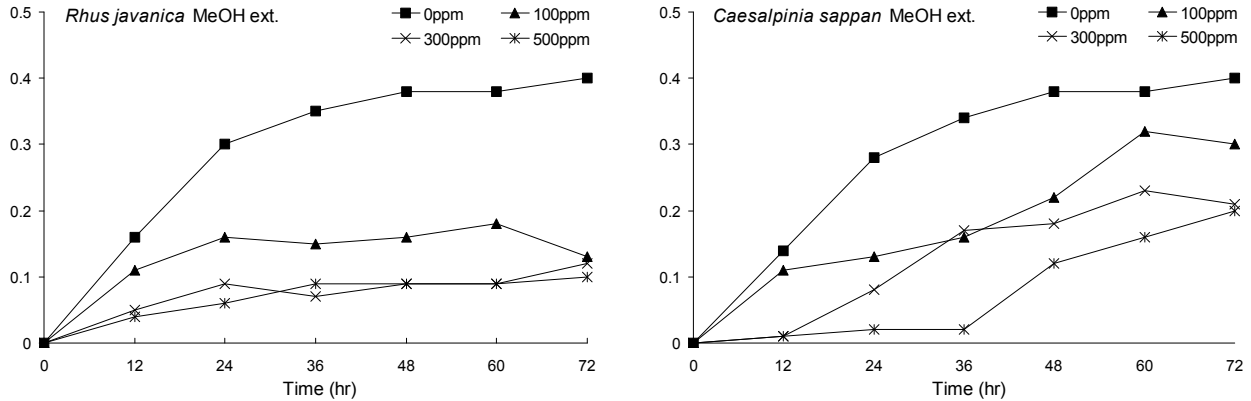


Fig. 6. Effect of concentrations of medicinal herbs on growth inhibiting activity of *Bordetella bronchiseptica*.

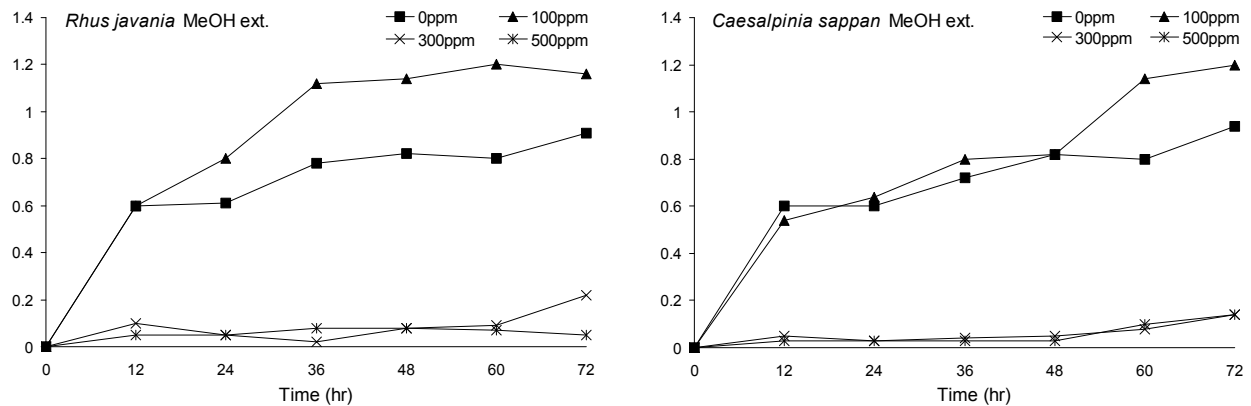


Fig. 7. Effect of concentrations of medicinal herbs on growth inhibiting activity of *Escherichia coli* serotype O₈.

에서 항균활성을 나타냈으나 15여 종의 한약재추출물들은 30 mg/mL 수준에서 항균활성을 나타냈다. 오배자의 *S. epidermidis*와 *Bor. bronchiseptica*에 대한 최소저해농도는 0.6 mg/mL로 나타났다. 우수한 항균활성이 확인된 오배자, 소목, 오미자, 황금을 대상으로 극성이 다른 5가지 용매로 순차 분획하여 항균활성을 검토한 결과 대부분의 균주에서 EtOAc층이 다른 분획층에 비해 성장억제효과가 높게 나타났다. 항균력이 우수한 한약재추출물의 미생물 증식억제 효과를 조사하기 위해 증식배지에 0, 100, 300 및 500 ppm의 메탄올 추출물을 첨가하였다. 한약재 추출물을 첨가하지 않은 대조구에서는 12시간 이후 급격한 균의 성장을 나타내고 있으나 오배자와 소목추출물의 첨가 농도가 높을수록 그람 양성균인 *S. aureus*, *S. epidermidis* 및 *L. monocytogenes*는 뚜렷한 억제효과를 나타냈다. 오배자추출물은 그람 음성균인 *Sal. Pullorum*과 *Sal. Choleraesuis*의 성장을 저해하였고 *Bor. bronchiseptica*, *E. coli* serotype O₈은 오배자와 소목추출물은 낮은 농도에서 성장이 다소 저해되었음을 보여주었고, 추출물의 농도가 높을수록 균의 성장이 강하게 억제되었다.

감사의 글

본 연구는 2010학년도 상지대학교 학술연구비 지원에 의

하여 수행되었음.

문헌

1. Stuart BL. 1992. *The antibiotic paradox: How miracle drugs are destroying the miracle*. Plenum publishing Co., New York, NY, USA. p 114-129.
2. Brumfitt W, Hamilton-Miller J. 1989. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 320: 1188-1193.
3. Lee BW, Shin DH. 1991. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganism. *Korean J Food Sci Technol* 23: 200-204.
4. Beuchat IR, Galden DA. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol* 43: 134-137.
5. Jung SR. 1993. Antimicrobial activity of commercial medicinal herbs. *J Kor Phar Assoc* 4: 78-81.
6. Shin MG. 1986. *Clinical herbal medicine*. Younglimsa, Seoul, Korea. p 190-235.
7. Jin JI. 1982. *Herbal medicine dictionary: Chinese pharmacology dictionary*. Kangnamsa, Seoul, Korea. p 235-278.
8. Hong MW. 1972. Statistical studies on the formularies of oriental medicine (I): prescription frequency and their origin distribution of herb drugs. *Kor J Pharmacog* 3: 57-64.
9. Hwang DY. 1987. *Bangyaeghabpeun*. Namsandang, Seoul, Korea. p 62-79.
10. Kim MS, Lee DC, Hong HE, Chang IS, Che HY, Kwon YK, Kim HY. 2000. Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. *Korean J Food Sci Technol* 32: 949-958.

11. Park UY, Chang DS, Cho HR. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herbs extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 91-96.
12. Chang HS, Choi I. 2007. Antimicrobial activity of extracts from medicinal herbs against *Escherichia coli*. *Korean J Community Living Sciencs* 18: 293-300.
13. Choi I, Cho JY, Lim SC. 2006. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Staphylococcus aureus*. *Korean J Plant Res* 19: 491-496.
14. Ha JY, Kim TH. 1996. Antibacterial effect of extract from Korean medical plants. *Korean J Oriental Medical Pathology* 10: 99-104.
15. Schwob I, Bessiere JM, Dherbomez M, Viano J. 2002. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hypericum coris*. *Fitoterapia* 73: 511-513.
16. Talla E, Djamen D, Djoulde R, Tatsadjeu L, Tantoh D, Mbafor JT, Fomum ZT. 2002. Antimicrobial activity of *Bri-delia ferruginea* leaves extracts. *Fitoterapia* 73: 343-345.
17. Masika PJ, Afolayan AJ. 2002. Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of livestock disease in the Eastern Cape, South Africa. *J Ethnopharmacol* 83: 129-134.
18. Shin DH, Kim MS, Han JS. 1997. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractions against food-born bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 29: 808-816.
19. Itokawa H, Hirayama F, Tsuruoka S. 1990. Screening test for antitumor activity of crude Indonesia medicinal plants. *Shoyakugaku Zasshi* 44: 58-63.
20. Piddok LJV. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol* 68: 307-318.
21. Lee MC, Kim GP, Kim SH, Chung NH, Yim MH. 1997. Antimicrobial activity of extract from gall-nut and red-grape husk. *Korean J Food & Nutr* 10: 174-179.
22. An BJ. 2001. Effect of inhibition on glucosyltransferase and antimicrobial activity of polyphenol fraction of gallnut and red grape husk. *Kor J Postharvest Sci Technol* 8: 217-223.
23. Lee SH, Lim YS. 1997. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extracts against *Listeria monocytogens*. *Korean J Appl Microbial Biotechnol* 25: 229-234.
24. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. 2000. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT (Omija) seed. *Korean J Food Sci Technol* 32: 928-935.
25. Cho SH, Kim YR. 2001. Antimicrobial characteristics of *Scutellariae Radix* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 964-968.
26. 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.
27. Kweon OG, Son JC, Kim SC, Chung SK, Park SW. 1998. Antimicrobial and antioxidative activities from moutan cortex extract. *Kor J Postharvest Sci Technol* 5: 281-285.
28. Chung KH, Lee SH, Lee YC, Kim JT. 2001. Antimicrobial activity of *Omija* (*Schizandra chinensis*) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 127-132.

(2011년 10월 20일 접수; 2011년 11월 18일 채택)