

용매와 추출조건에 따른 단삼(*Salvia miltiorrhiza*) 추출물의 항균력

목종수 · 박육연 · 김영목 · 장동석[†]

부산수산대학교 식품공학과

Effects of Solvents and Extracting Condition on the Antimicrobial Activity of *Salviae miltiorrhizae Radix* (*Salvia miltiorrhiza*) Extract

Jong-Soo Mok, Uk-Yeon Park, Young-Mog Kim and Dong-Suck Chang[†]

Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608 - 737, Korea

Abstract

In order to develop a natural food preservative, dried *salviae miltiorrhizae radix* (*Salvia miltiorrhiza*) was extracted with several solvents, and then antimicrobial activity was investigated. The optimum extracting condition for the antimicrobial substance from the sample, minimal inhibitory concentration (MIC) of the extracted substance against microorganisms were also examined. Antimicrobial activity of the initial ethanol extract from the sample was the strongest compared to those of other solvent extracts such as *n*-hexane, acetone, butanol, methanol and water. The optimum extracting condition for antimicrobial substance from the sample was shaking extraction for 2 hours at room temperature in case that 10 volumes of absolute ethanol was added to crushed *Salvia miltiorrhiza*. The ethanol extract had strong growth inhibition activity against Gram-positive bacteria (MIC, 3.13~50µg / ml) such as *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Sc. mutans*. Among Gram-positive bacteria tested, *Bacillus* species was the most susceptible to the extracted substance. The antimicrobial activity of the ethanol extract from the sample was weak to Gram-negative bacteria and yeasts, for example MIC for Gram-negative bacteria and yeasts was 0.8mg / ml and 0.4~0.8mg / ml, respectively.

Key words : *Salvia miltiorrhiza*, antimicrobial activity, minimal inhibitory concentration (MIC)

서 론

현재 우리나라 식품보존료로는 소르브산(sorbic acid), 안식향산(benzoic acid), 파라옥시 안식향산 에스테르류(*p*-oxybenzoic acid esters) 등의 화학합성품이 많이 알려져 상업적으로 사용되고 있으나, 이들이 체내에 장기간 축적될 경우 돌연변이나 기형유발 등 안전성이 문제되기 때문에 천연물에 대한 소비자의 요구가 높아지고 있어, 천연물로부터 항균성물질의 개발은 천연식품보존료의 개발이라는 차원에서 그 의의가 크다고 하겠다.

따라서 최근에는 마늘, 파 등과 같은 향신료와 그 정유성분 그리고 한약재 등과 같은 천연식물 중에도 상당한 항균성물질이 존재하며, 이들 천연 항균성물질의

검색과 식품의 이용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다^{1~4)}. 그 중에서도 한약재의 항균성에 대해서는 우슬, 감초, 회향유의 추출물이나 쑥 등을 항진균작용이 있다고 알려져있으며^{5~7)}, 방기, 황백, 감초, 후박나무, 꾸지뽕나무잎 등에 관해서는 항균작용을 나타내는 물질의 분석과 항균기작이 보고되고 있다^{8~12)}.

단삼의 주요 화학구성성분은 phenanthrenequinone 구조를 가진 색소 성분으로 크게 tanshinone I 과 II, cyptotanshinone, tanshindiol 등과 같은 phenanthro[1, 2-b] furan-10,11-dione 유도체와 isotanshinones 등과 같은 phenanthro[3,2-b] furan-7,11-dione 유도체로 나눌 수 있으며^{13~15)}, 그리고 이를 tanshinone 관련 색소성 분들은 *Staphylococcus aureus*와 *Mycobacterium*속에 대하여 항균작용이 있다고 보고되고 있다¹⁶⁾.

[†]To whom all correspondence should be addressed

본 연구에서는 단삼에서의 유기용매 추출물의 천연 식품보존료로서의 이용 가능성을 타진하기 위해서 추출용매의 종류나 추출조건에 따른 항균력을 시험하고 각종 병원성 세균이나 부패 미생물에 대한 균종별 항균력을 비교 검토 하였다.

재료 및 방법

실험재료

단삼 (*Salvia miltiorrhiza*)은 중국 수입품을 시중의 한 약전재상에서 구입하여 20~30mesh의 분말로 분쇄하여 실험재료로 사용하였다. 이때 사용된 단삼원료의 수분, 조단백, 조지방, 환원당 및 회분은 각각 13.7%, 6.5%, 1.5%, 5.7%, 2.5%이었다.

사용균주

항균력 시험용으로 사용된 균주는 Table 1에 나타낸 바와 같이 수종류의 세균은 Gram 양성균과 음성균 중 식품의 부폐나 식중독 원인균으로 알려진 균의 일부를 사용하였고, 효모는 식품의 변폐나 병원성과 관계 있는 것을 사용하였다.

배지 및 시약

각종 미생물에 대한 항균력 시험용 배지는 Difco사 제품을 사용하였는데, 세균의 경우에는 Mueller Hinton broth를 사용하였으며 *Vibrio*속의 경우 식염을 3% 첨가하였다. 효모는 YM broth를 사용하였다.

추출용매로 사용된 *n*-hexane, acetone, butanol, ethanol, methanol 등의 유기용매는 1급 시약을 사용하였다.

Table 1. List of microorganisms submitted for antimicrobial activity test

Gram positive bacteria	
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 15313
Gram negative bacteria	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 1129
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 13048
Yeast	
<i>Candida albicans</i>	IPL 76
<i>Saccharomyces acidifaciens</i>	
<i>Saccharomyces diastaticus</i>	NCYC 361

추출액의 soluble solid 함량 및 일반성분

Soluble solid 함량은 추출액 일정량을 취하여 105°C 건조법으로 건조 후 증발잔사의 무게를 측정하였으며, 일반성분으로서 조단백질, 조지방 및 회분은 A.O.A.C. 방법¹⁷⁾에 따라 측정하였고, 환원당은 DNS법¹⁸⁾으로 분석하였다.

추출용매의 종류에 따른 항균성물질의 추출

추출용매에 따른 항균성물질의 추출효과를 비교하기 위하여 에탄올, 헥산 등과 같은 유기용매의 경우는 추출용매를 단삼 중량의 10배를 첨가하여 상온에서 24시간 진탕추출한 후 멸균된 여과지 (Toyo No. 5A)로 여과하여 얻은 추출액을 감압하에서 용매를 제거 후 100ml 무수에탄올로 재용해시킨 것을 검액으로 하였으며, 물의 경우는 에탄올 등과 같은 추출조건에서 80°C에서 6시간 동안 환류냉각 추출한 후 여과하여 얻은 액을 물로 100ml가 되도록 정용한 다음 membrane filter (Milli-pore, pore size; 0.45μm)로 여과여과한 것을 검액으로 항균력을 측정, 비교하였다.

추출조건에 따른 항균성물질의 추출

에탄올 추출시 추출조건이 항균성물질의 추출에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 에탄올 농도는 40%에서 무수에탄올에 이르기까지 10% 간격, 추출온도는 4, 20, 40, 60°C, 추출시간은 2, 4, 6, 12, 24시간, 에탄올의 첨가비율은 단삼 중량의 4, 8, 10, 12배 그리고 추출횟수는 1회 및 2회로 구분하여 진탕추출한 다음 멸균된 여과지 (Toyo, No. 5A)로 여과하여 얻은 여액을 감압하에서 용매를 제거한 다음 100ml 무수에탄올로 재용해시킨 것을 검액으로 하였다.

항균력 검사

항균력 검사는 Vitor의 방법¹⁹⁾에 따라 추출된 검액을 Mueller Hinton broth (10ml)에 농도별로 첨가한 다음 *B. subtilis*를 10⁴~10⁵/ml되게 접종하여 35°C에서 48시간 배양하면서 증식여부를 흡광도 (660nm)로 측정하여 항균력을 살펴보았다. 단, 첨가되는 용매 자체의 항균력을 배제하기 위하여 모든 실험구는 대조구를 만들어 같은 실험을 실시하였다.

균 최저 증식억제농도

균 최저 증식억제농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)는 Vitor의 방법¹⁹⁾에 따라 액체배지 회석법으로 측정하였는데, 첨가되는 추출물의 양은 105°C 건조법

으로 측정된 추출물의 고형분 함량으로 환산해서 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도가 되도록 첨가한 액체배지에 각 시험균을 10 s/ml 정도 접종하여 최적증식온도에서 48시간 배양 후 흡광도(660nm)를 측정하여 균 증식이 일어나지 않은 농도로 결정하였다. 단, 이때 사용한 단삼추출물은 최적추출조건으로 추출한 것이며, 원료단삼에 대한 가용성 고형분함량은 1.33%였다.

결과 및 고찰

추출용매의 종류에 따른 항균성물질의 추출효과

추출용매의 종류에 따른 항균성물질의 추출효과를 알아보기 위하여 물, 에탄올, 메탄올, 부탄올, 아세톤, 헥산 등 극성도가 다른 6가지의 용매를 사용하여 추출한 각 용매 추출구의 *B. subtilis*에 대하여 항균력을 비교한 결과는 Table 2와 같다. 물과 헥산 추출구는 0.5% 농도에서도 균의 증식이 일어났으나, 메탄올과 부탄올 추출구에서는 0.5% 농도로 48시간 까지 균의 증식을 억제하였으며, 에탄올 추출구는 0.3% 농도로 48시간 까지 균의 증식을 억제하여 에탄올이 항균성물질을 가장 잘 추출하는 용매로 선정되었다. 그러나 헥산 추출구는 추출용매로서는 효과가 없었지만 에탄올로 추출한 추출물을 분획하면 항균성물질이 쉽게 헥산으로 이동해가는 것을 볼 수 있었다(Data not shown). 이것은 항균성물질이 단삼에서 어떻게 존재하고 있는지에 관해서 더 연구해 볼 흥미있는 과제라 생각된다.

Table 2. Comparison of the antibacterial activity of *Salvia miltiorrhiza* extract^{a)} on *B. subtilis* growth by different extraction solvents

Solvent	Culture time (hr)					
	24			48		
	0.1 ^{b)}	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5
H ₂ O	+++ ³⁾	+++	+++	+++	+++	+++
Methanol	+++	-	-	+++	+++	-
Ethanol	+	-	-	+++	-	-
Butanol	+++	+++	-	+++	+++	-
Acetone	+++	++	-	+++	+++	+
n-Hexane	+++	+++	+++	+++	+++	+++

^{a)} 10g of crushed sample was extracted in 100ml of each solvent at room temperature for 24hr, filtered with filter paper (Toyo No.5A) and then filtrate was measured up to 100ml with the same solvent

^{b)} Percentage of the added extract to the Mueller Hinton Broth

³⁾ Growth patterns (O. D. value at 660nm); - : <0.01, + : 0.01~0.1, ++ : 0.1~0.5, +++ : >0.5

에탄올 농도가 추출물의 항균력 및 일반성분에 미치는 영향

단삼분말 10g씩을 삼각플라스크에 넣고 에탄올을 40%에서 무수에탄올에 까지 10% 간격으로 구분하여 단삼 시료의 10배량을 가하여 상온에서 24시간 동안 진탕추출한 단삼추출물의 항균력은 Table 3과 같이 나타났으며, 가용성 고형분 함량과 일반성분은 Table 4와 같이 나타났다. 에탄올 농도가 높을수록 가용성 고형분 함량은 감소하지만, 항균력은 증가하여 무수에탄올이 가장 높게 나타나 0.3% 척가로 48시간 까지 *B. subtilis*의 증식을 억제하였다.

조²⁰⁾의 보고에서 쌍화차는 에탄올 50% 농도까지 가용성 고형분 함량이 높아지다가 그 이상의 농도에서는 낮아졌다고 하였다. 그러나 오 등²¹⁾은 구기자, 당귀, 오

Table 3. Comparison of the antibacterial activity of *Salvia miltiorrhiza* extract^{a)} on *B. subtilis* growth by different concentration of ethanol

Ethanol Cone. (%)	Culture time (hr)					
	24			48		
	0.1 ^{b)}	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5
40	+++ ³⁾	+++	+++	+++	+++	+++
50	+++	+++	++	+++	+++	+++
60	+++	+++	-	+++	+++	-
70	+++	+++	-	+++	+++	-
80	+++	+++	-	+++	+++	-
90	+++	+++	-	+++	+++	-
99.9	+++	-	-	+++	-	-

^{a)} 10g of crushed sample was extracted in 100ml of each concentration of ethanol at room temperature for 24hr, filtered with filter paper (Toyo No.5A) and then filtrate was measured up to 100ml with ethanol

^{b)} Explanation is same as Table 2

³⁾ Symbols are same as Table 2

Table 4. Soluble solid and proximate composition^{a)} of *Salvia miltiorrhiza* extract by different concentration of ethanol

Ethanol Conc. (%)	Soluble solid (%)	Chemical composition (%)		
		Reducing sugar	Crude protein	Crude fat
40	39.64	0.828	3.727	0.365
50	39.72	0.963	3.133	0.220
60	38.36	0.845	2.211	0.665
70	31.05	0.721	1.174	0.780
80	21.95	0.735	1.188	0.770
90	5.55	0.485	0.523	1.080
99.9	1.52	0.205	0.140	1.160

^{a)} Percentages are calculated on the dry weight base of *Salvia miltiorrhiza*

갈피, 오미자와 같은 생약재는 에탄올 농도가 높을수록 추출물의 가용성 고형분 함량은 낮아졌다고 하여 본 결과와 유사하였다.

그리고 일반성분 중 조단백과 환원당은 에탄올 농도가 증가하면 감소하는 반면, 조지방은 항균력과 같은 경향으로 증가함을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합해 보면 단삼의 항균성 물질은 에탄올 농도가 높을수록 잘 추출되며 항균성 물질은 지방과 관련된 물질일 것으로 추정된다.

에탄올 추출시 추출온도 및 시간이 항균력에 미치는 영향

항균성 물질의 에탄올 추출시 온도의 영향을 살펴보기 위하여 무수에탄올을 단삼 중량의 10배를 가하여 4, 20, 40, 60°C로 각각 추출온도를 달리하여 24시간

Table 5. Comparison of the antibacterial activity of *Salvia miltiorrhiza* extract¹⁾ on *B. subtilis* growth by different extraction temperatures

Extraction Temp. (°C)	Culture time (hrs)					
	24		48			
	0.1 ²⁾	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5
4	+++ ³⁾	-	-	+++	-	-
20	+++	-	-	+++	-	-
40	+++	-	-	+++	-	-
60	+++	++	-	+++	+++	-

¹⁾ 10g of crushed sample was extracted in 100ml of absolute ethanol for 24hr, filtered with filter paper (Toyo No. 5A) and then filtrate was measured up to 100ml with ethanol

²⁾ Explanation is same as Table 2

³⁾ Symbols are same as Table 2

Table 6. Comparison of the antibacterial activity of *Salvia miltiorrhiza* extract¹⁾ on *B. subtilis* growth by different extraction times

Extraction Temp. (hrs)	Culture time (hrs)					
	24		48			
	0.1 ²⁾	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5
2	+++ ³⁾	-	-	+++	-	-
4	+++	-	-	+++	-	-
6	+++	-	-	+++	-	-
12	+++	-	-	+++	-	-
24	+++	-	-	+++	-	-

¹⁾ 10g of crushed sample was extracted in 100ml of absolute ethanol at room temperature, filtered with filter paper (Toyo No. 5A) and then filtrate was measured up to 100ml with ethanol

²⁾ Explanation is same as Table 2

³⁾ Symbols are same as Table 2

동안 진탕추출한 단삼 추출물의 항균력은 Table 5와 같다. 온도별 항균성 물질의 추출 경향은 4~40°C 까지는 추출물 0.3% 농도로 *B. subtilis*의 증식을 억제하였으나, 60°C 추출구는 0.5%를 첨가해야만 균의 증식이 억제되었다. 이 결과에서 알 수 있듯이 4, 20, 40°C에서 항균력이 비슷하였으므로 경제성을 고려할 때 상온에서 추출해도 무방할 것으로 여겨진다.

한편, 추출시간에 따른 영향을 살펴보기 위하여 위와 같은 조건에서 추출온도를 상온으로 고정하고 추출시간을 달리하면서 진탕추출한 단삼 추출물의 항균력은 Table 6과 같다. 상온에서 2시간 추출하였을 경우 0.1% 첨가하면 균의 증식이 일어났지만, 0.3%를 첨가하면 48시간 까지 균의 증식이 억제되었다. 그런데 추출시간을 4, 6, 12, 24시간 까지 연장하여도 농도별 균의 증식 억제효과가 같은 것으로 미루어보아 추출 2시간 만에 거의 모든 항균성 물질이 충분히 추출됨을 알 수 있었다.

그러므로 시간에 대한 경제적 측면을 고려할 때 2시간 동안 진탕추출하는 것이 가장 좋을 것으로 여겨진다.

에탄올 첨가량 및 추출횟수가 항균력에 미치는 영향

항균성 물질 추출시 첨가되는 에탄올 량의 영향을 살펴보기 위하여 무수에탄올을 단삼 중량의 4, 8, 10, 12 배씩 가하여 상온에서 2시간 진탕추출한 단삼 추출물의 항균력은 Table 7과 같다. 항균력은 10배 첨가구 까지는 증가하다가 그 이상의 에탄올 첨가로는 일정한 경향을 보여 단삼의 항균성 물질은 10배량의 에탄올 첨가로 충분히 용출되는 것을 알 수 있었다.

또한, 추출횟수의 영향을 살펴보기 위하여 무수에탄올을 단삼 중량의 10배를 가하여 상온에서 2시간 진탕추출한 1회째 추출물과 추출 후 남은 시료에 다시 10배의 무수에탄올을 가하여 진탕추출하여 얻은 2회째 추출물을 검액으로 항균력에 미치는 영향을 살펴 본 결과는 Table 8과 같이 나타났다. 1회째 추출물은 0.3% 첨가로 배양 48시간 까지 *B. subtilis*의 증식을 억제하였으나, 2회째 추출물은 0.5% 첨가로도 균의 증식을 억제하지 못하는 것으로 보아 항균성 물질은 1회 추출로 거의 모두 추출됨을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 단삼 추출물의 항균력을 기준으로 할 때 추출조건은 무수에탄올을 원료 단삼의 10배량을 가하여 상온에서 2시간 동안 진탕추출하는 것이 가장 적당하였다.

추출된 항균성물질의 균종에 따른 최저증식억제 농도

단삼 추출물의 각종 미생물에 대한 MIC는 Table 9와 같이 나타났다. Spore를 형성하는 그람양성 간균인 *B. cereus*에 대하여 단삼 추출물의 MIC는 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인데 반하여 丹野와 野野村²²⁾은 녹차의 물 추출물의 MIC는 4000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 보고하였으며, 박 등²³⁾은 자초의 에탄올 추출물은 0.15% (1500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 첨가로 48시간 까지 증식을 억제시켰다고 보고하였다. 이상에서 알 수 있듯이 단삼 추출물은 두 추출물에 비하여 500배 이상 항균력이 강한 것으로 확인되었다. 또한, 같은 속인 *B. subtilis*에 대한 단삼 추출물의 MIC도 *B. cereus*와 동일하였다. 이에 반해 이와 박²⁴⁾은 황금 물 추출물의 MIC는 10000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 안⁶⁾은 쑥의 정유는 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 보고하였다. 이상의 결과에서 알 수 있듯이 단삼 추출물은 *Bacillus*속에 대해서는 강한 항균효과가 있는 것으로 나

타났다.

Spore를 형성하지 않는 그람양성 간균인 *L. monocytogenes*에 대하여 단삼 추출물의 MIC는 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 였다. 이에 반해 Wang과 Johnson²⁵⁾은 monolaurin의 MIC는 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 보고하여, 단삼 추출물은 glycerol에 3개의 lauric acid가 결합된 monolaurin 보다는 다소 약한 항균효과를 보였다.

그람양성 구균인 *S. aureus*에 대하여 단삼 추출물의 MIC는 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인데 반하여 이와 박²⁴⁾은 황금의 물 추출물, 淺野²⁶⁾는 식품보존료인 파라옥시 안식향산 에스테르류의 MIC는 각각 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 125~4000ppm이라고 보고하였으며, 박 등²³⁾은 자초의 에탄올 추출물은 0.1% (1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 첨가로 48시간 까지 증식을 억제시켰다고 보고하였고, 박 등⁷⁾은 식품보존료인 sodium benzoate는 100mg/ml 첨가로는 균의 증식을 억제시키지 못했으나 200mg/ml 첨가로 억제시켰다고 보고하였다. 이상의 결과에서 알 수 있듯이 단삼 추출물은 sodium benzoate 보다 약 16000배 이상, 파라옥시안식향산 에스테르 보다는 20~600배 정도 항균력이 강한 것으로 나타났다.

그리고 이빨의 충치 원인균으로 알려진 *Sc. mutans*에 대한 단삼 추출물의 MIC는 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 였다. 이에 반하여 川村과 竹尾²⁷⁾는 입안의 균 억제제로 사용되고 있는 chlorohexidine gluconate, 식품보존료인 sodium benzoate, 녹차의 crude catechin fraction B의 MIC는 각각 1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하, 10000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 50~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 보고하였으며, 배 등²⁸⁾은 튜립나무에서 분리한 β -lirioiden-

Table 7. Comparison of the antibacterial activity of *Salvia miltiorrhiza* extract¹⁾ on *B. subtilis* growth by the ethanol ratio to the sample weight

Ethanol ratio ²⁾	Culture time (hrs)					
	24			48		
	0.1 ³⁾	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5
4	+++ ⁴⁾	+++	-	++	+++	++
8	+++	++	-	+++	+++	+
10	+++	+	-	+++	+++	-
12	+++	+	-	+++	+++	-

¹⁾10g of crushed sample was extracted in 100ml of absolute ethanol at room temperature for 2hr, filtered with filter paper (Toyo No. 5A) and then filtrate was measured up to 10ml with ethanol

²⁾Ethanol ratio was expressed as : ethanol volume/sample weight

³⁾Explanation is same as Table 2

⁴⁾Symbols are same as Table 2

Table 8. Comparison of the antibacterial activity of repeated extract¹⁾ of *Salvia miltiorrhiza* on *B. subtilis* growth

Extraction order	Culture time (hrs)					
	24			48		
	0.1 ²⁾	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5
1st	+	-	-	+++	-	-
2nd	+++	+++	+++	+++	+++	+++

¹⁾10g of crushed sample was extracted in 100ml of absolute ethanol at room temperature for 2hr, filtered with filter paper (Toyo No. 5A) and then filtrate was measured up to 100ml with ethanol

²⁾Explanation is same as Table 2

³⁾Symbols are same as Table 2

Table 9. Minimal inhibitory concentration (MIC)¹⁾ of *Salvia miltiorrhiza* extract against microorganisms by broth dilution method

Strains	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Bacteria	
<i>B. cereus</i>	3.13
<i>B. subtilis</i>	3.13
<i>S. aureus</i>	6.25
<i>Sc. mutans</i>	12.5
<i>L. monocytogenes</i>	50
<i>E. coli</i>	800
<i>E. aerogenes</i>	>800
<i>V. parahaemolyticus</i>	>800
Yeast	
<i>C. albicans</i>	800
<i>Sacch. acidifaciens</i>	800
<i>Sacch. diastaticus</i>	400

¹⁾MIC means no growth after 2 days culture at optimum condition

>means that microorganism wasn't inhibited by adding 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$

oxide 및 후박나무에서 분리한 magnolol의 MIC는 각각 100, 6.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이라고 보고하였다. 이상에서 알 수 있듯이 단삼 추출물의 MIC는 sodium benzoate 보다는 100 배, 녹차의 crude catechin fraction B 보다는 5~10배, β -liriodenolide 보다는 10배 정도 높았으나, chlorohexidine gluconate, magnolol 보다는 다소 낮은 것으로 나타났다.

위와 같이 그람 양성균에 대해서는 강한 항균효과를 나타낸 반면, 그람 음성균 및 효모에 대해서는 매우 약한 항균효과를 나타내었다. 즉, 그람 음성균인 *E. coli* 대한 단삼 추출물의 MIC는 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며, 효모에 대한 MIC는 400~800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다.

이상의 결과를 보아 단삼 추출물은 그람 양성균에 대하여 매우 강한 항균효과를 나타냈고, Tang과 Eisenbrand²⁹⁾에 의하면 실험용 쥐나 토키에 경구투여하여 실험한 결과 독성을 나타내지 않았다고 보고하였으므로, 식품에 단삼 추출물을 첨가하면 그람 양성균에 의한 세균성 식중독이나 식품의 부패를 방지할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

단삼에서 항균성 물질을 추출하여 천연식품보준료로서의 이용 가능성을 타진하기 위한 방법의 일환으로 추출용매의 종류나 추출조건에 따른 항균력을 시험하고 각종 병원성 세균이나 부패 미생물에 대한 균종별 항균력을 비교, 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 물, 부탄올, 에탄올, 메탄올, 아세톤, 헥산을 용매로 사용하여 단삼으로부터 추출한 결과, 에탄올로 추출한 것이 다른 용매 추출구 보다 1.5배 이상 항균력이 강하였다.
- 단삼으로부터 항균성 물질의 최적 추출조건으로는 무수에탄올을 단삼 중량의 10배를 첨가하여 상온에서 2시간 동안 진탕추출하는 것이 가장 적당하였다.
- 그람 양성균에 대한 단삼 추출물의 MIC는 3.13~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 우수한 항균효과 나타내었으며, 특히 *Bacillus*속에 대하여 MIC는 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 강한 항균 활성을 보였다.
- 단삼 추출물의 그람 음성균에 대한 MIC는 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 그 이상이었고, 효모에 대한 MIC는 400~800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 그람 양성균에 비하여 매우 약한 항균효과를 나타내었다.

문 헌

- 정창기, 박완규, 유익재, 박기문, 최춘언 : 카레향신

료 정유성분의 항균성. 한국식품과학회지, 22, 716 (1990)

- 배기환, 서원준, 임승희 : 4,4'-Biphenol 유도체의 합성 및 충치균 *Streptococcus mutans* OMZ 176에 대한 항균작용. 한국생약학회지, 36, 36(1992)
- 佐藤昭子, 寺尾通徳, 石橋美也子 : 魚肉中の腸炎に及ぼすニンニク抽出液の抗菌作用. 食衛誌, 34, 63 (1993)
- 박종현, 한남수, 유진영, 권동진, 신현경, 구영조 : *Bifidobacterium spp.*와 *Clostridium perfringens*의 생육에 영향을 주는 식품소재의 탐색. 한국식품과학회지, 25, 582(1993)
- 유승호, 서정식 : *Candida albicans*에 대한 생약의 항진균성에 관한 연구. 한국생약학회지, 5, 147(1974)
- 안병용 : 쪽으로부터 추출한 정유의 항균효과. 한국식품위생학회지, 7, 157(1992)
- 곽이성, 양재원, 이광승 : 일부 병원성 미생물에 대한 항균 활성을 보이는 생약의 탐색. 한국식품위생학회지, 8, 141(1993)
- Bae, K. W., Koo, S. H. and Seo, W. J. : Antimicrobial activities of hydroxybiphenyl derivatives. Kor. J. Pharmacogn., 17, 85(1986)
- 이병환, 신동화 : 식품 부폐미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균 특성. 한국식품과학회지, 23, 205(1991)
- 신현경, 신옥호, 구영조 : 감자 단백질이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내 미생물에 미치는 영향. 한국산업미생물학회지, 20, 249(1992)
- 김성한, 김남재, 최재수, 박종철 : 꾸지 뽕나무 잎의 생리활성 및 HPLC에 의한 성분의 정량. 한국영양식량학회지, 22, 68(1993)
- 유영선, 박기문, 김영배 : 생약재 및 향신료의 *Streptococcus mutans* 증식 억제 효과. 산업미생물학회지, 21, 187(1993)
- Chen, M. K., Young, P. T., Ku, W. H., Chen, Z. X., Chen, H. T. and Yeh, H. C. : Studies on the active principles of Dan-Shen. 1. The structure of sodium tanshinone I A sulfonate and methylene tanshinquinone. Acta. Chim. Sin., 36, 199(1978)
- Luo, H. W., Wu, B. J., Wu, M. Y., Yong, Z. G., Masatake, N. and Yoshimasa, H. : Pigments from *Salvia miltiorrhiza*. Phytochemistry, 24, 815(1985)
- Haro, G., Takenori, K., Midori, O. I., Hiroshi, K., Zhao, W., Chen, J. and Guan, Y. T. : Salviolone, a cytotoxic bisnordibenzene with a benzotropolone chromophore from a Chinese drug Dan-Shen (*Salvia miltiorrhiza*). Tetrahedron letters, 29, 4603(1988)
- Luo, H. W., Zheng, J. R., Jiang, B. L. and Xu, L. F. : Relation between the RM value and biological activity of tanshinones. J. Nanjing Coll. Pharm., 13, 42(1982)
- A.O.A.C. : Official Method of Analysis. 15th ed., Association of official analytical chemists, Washington, D. C., p.259(1980)
- Colowick, S. P. and Kaplan, N. O. : Methods in Enzymology. Academic Press Inc., New York, Vol.5, p.149(1955)
- Vitor, L. : Antibiotics in laboratory medicine. Williams and Wilkins, USA, p.53(1991)

20. 조광연 : 쌍화차의 추출조건에 관한 연구. 한국영양 식량학회지, **18**, 34(1989)
21. 오상룡, 김성수, 민병룡, 정동효 : 구기자, 당귀, 오미자, 오갈피 추출물의 유리당, 유리아미노산, 유기산 및 탄닌의 조성. 한국식품과학회지, **22**, 76(1993)
22. 丹野憲二, 野野村英夫 : 緑茶抽出液中の抗菌性物質. 日本食品工業學會誌, **21**, 445(1974)
23. 박옥연, 장동석, 조학래 : 자초(*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물의 항균 특성. 한국영양식량학회지, **21**, 97(1992)
24. 이인란, 박홍순 : 황금탕의 항균작용. 한국생약학회지, **18**, 249(1987)
25. Wang, L. L. and Johnson, E. A. : Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 624(1992)
26. 清野和男 : 食品保存使賢. クリエイティブジャパン, 東京, p.157(1992)
27. 川村 淳, 竹尾忠一 : *Streptococcus mutants*に対する 茶葉カテキンの抗菌作用について. 日本食品工業學會誌, **36**, 463(1989)
28. 배기환, 김봉희, 명편근, 변재화 : 충치균에 대한 생리활성 생약성분의 분리 및 약효평가(1). 한국생약학회지, **34**, 106(1990)
29. Tang, W. and Eisenbrand, G. : Chinese drugs of plant origin. Springer-Verlag, Berlin, p.891(1992)

(1994년 10월 4일 접수)