

녹용 절편의 미생물 억제를 위한 수치방법 연구

양웅모¹, 김홍렬², 장문석¹, 박성규^{1*}

1: 경희대학교 한의과대학 처방제형학교실, 2: 경희대학교 한의과대학 생화학교실

New Method for The Prevention of Microbial Contamination in Deer Antler Manufacturing Process

Woong-Mo Yang¹, Hong-Yeoul Kim², Mun-Seog Chang¹, Seong-Kyu Park^{1*}

1: Dept. of Prescriptionology, 2: Dept. of Biochemistry,
College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea

ABSTRACT

Objectives : This study was conducted to control microorganisms of deer antler products with ethanol and heat process.

Methods : The deer antler of *Cervus elaphus* was used for this study. The sliced deer antler of market condition were processed with 70% ethanol only (酒洗) and 70% ethanol with heat (酒炙). The microorganisms were isolated and incubated on Luria broth (LB) plates at 37°C for 24 h.

Results : The number of isolated microorganism colony were 201.1, 33.5 and 2.0 ea from each sliced deer antler of market condition, 70% ethanol only and 70% ethanol with heat process, respectively.

Conclusions : These results suggested that 70% ethanol with heat processing is effective for reducing microbial contamination of deer antler products.

Key words : deer antler, ethanol and heat process (酒炙法), *Cervus elaphus*, microbial contamination

#*제1저자, 교신저자 :박성규, 서울시 동대문구 화기동 1번지 경희대학교 한의과대학 처방제형학교실 130-701
· Tel : 02-961-0330 · Fax : 02-961-0536, · E-mail : comskp@khu.ac.kr
· 접수 : 2007년 11월 9일 · 수정 : 2007년 12월 10일 · 채택 : 2007년 12월 21일

서 론

녹용은 사슴과에 속한 마록 *Cervus elaphus* Linne 또는 대록 *C. canadensis* Erxleben, 매화록 *C. nippon* Temminck의 솟사슴의 골질화되지 않았거나 약간 골질화된 어린뿔을 자른다음 말린 것이다¹⁾. 마록은 중국의 동북 및 서북지역과 내몽고에 분포되어 있으며, 유사한 종으로 와피티 *Cervus canadensis* 가 북아메리카 북서부와 아시아 중동부에 분포하여 마록의 아종으로 취급되기도 한다²⁾.

마록 녹용의 성상은 원주상으로 분지되어 길이는 40-70 cm, 지름 4-6 cm이다. 바깥면은 회록색의 바탕에 회색 또는 회흑색의 털이 밀생하고 있다. 절단면은 많은 구멍이 있어 해면상을 이루고 세로로 자른 면을 보면 윗부분은 얇은 황색 혹은 자작색(紫赤色)이며 아랫부분은 회백색이며, 질은 가볍고 딱딱하다¹⁾.

녹용 절편은 녹용을 적당한 방법으로 털을 제거한 다음 얇게 썬 것이다. 녹용을 약재로 사용할 때에는 건조한 녹용의 표면에 있는 털을 제거하여야 하는데, 유리칼로 털을 제거하거나 혹은 불에 그을려서 살짝 태운 후 검댕을 유리칼로 긁어낸다. 적당한 크기로 잘라서 황주를 뺏어서 놓아두거나 술을 약간 부어 담아둔다. 살짝 찐 후 얇게 잘라 건조시키며 녹용 절편이라 부른다¹⁾. 녹용 절편의 성상은 두께가 1-3mm 정도로 얇게 썰어 건조한 타원형 절편으로 절단면 바깥면은 황갈색~흑갈색을 띤다. 절단면 안쪽은 얇은 황색~적갈색 또는 회백색~적갈색을 띠고 부서지기 쉬우며 질은 가볍고 비교적 딱딱하며 많은 미세한 구멍들이 있어 해면상을 이루며, 특이한 냄새가 있다³⁾.

녹용에는 여러 종류의 아미노산이 함유되어 있는데, 그중에서 proline, lysine, serine의 함량이 가장 높다. 녹용의 상대 부위에는 amine류가 다량 함유되어 있는데, 그중에서 spermine, spermidine, putrescine이 풍부하다. 이외에도 collagen, estrone, proteolipid 등이 함유되어 있다⁴⁾.

녹용의 가공방법에 따라 『本草衍義』에서 녹용의 털을 제거한 것을 鹿茸이라 하였으며, 『雷公炮炙論』에서는 녹용을 분말로 가공한 鹿茸粉, 『證治準繩』에서는 우유즙에 가공한 乳制鹿茸, 『博濟方』에서 술을 이용하여 가공한 酒鹿茸 등이 기록되어 있다³⁾.

녹용의 절단면은 사슴의 혈액이 해면상의 구멍에

다량 함유되어 있어 영양분이 풍부하므로 다양한 미생물의 번식 가능성이 상존하고 있다. 이에 시중에 판매되고 있는 녹용 절편의 미생물 오염 여부를 측정하고, 이에 대한 미생물 오염을 억제할 수 있는 수치 방법을 연구하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

1) 약재

본 실험에서 사용된 녹용은 *Cervus elaphus* Linne 러시아산 녹용 (원산지: 러시아, 등급: 상대, 제조번호: WN 061124, 유효기간: 2009년 12월 13일, 검사일자: 2006년 12월 14일, 검사기관: 한국 의약품시험연구소)을 사용하였으며 서울특별시 동대문구 제기동 경동약령시장을 통하여 구입하여, 경희대학교 처방제형학교실에서 외부 형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였으며, 일부는 경희대학교 한의과대학 처방제형학교실에 냉장 보관하였다.

2) 사용배지

본 연구에서 사용한 배지는 고체 배지로는 sodium chloride, amresco, tryptone BD, yeast extract BD, agar BD 등으로 조성된 Luria broth (LB) Agar 배지 (Difco, U.S.A.)를 멸균시켜 굳힌 후 사용하였다.

2. 방법

1) 시료의 준비

구입한 녹용을 약 1.0 g씩 전자식 저울 (BJ120S, Sartorius, USA)를 사용하여 측정하였으며, 측정한 녹용은 멸균된 50 ml polypropylene conical tube (Falcon, USA)에 보관하였다.

2) 녹용 절편의 수치 방법

녹용 절편의 수치 방법은 3가지 방법으로 처리하였다. 기존의 녹용 절편 제조 방법으로 가공한 시판 녹용, 70% 에탄올 가공 처리한 녹용, 70% 에탄올 및 가열 가공 처리한 녹용으로 분류할 수 있다.

(1) 시판 녹용의 제조

러시아산 녹용 절편은 산지에서 채취하여 건조 상태로 가공된 것으로, 통상적으로 절편가공을 위하여 건조된 녹용의 표면을 불에 그을려 표면의 털을

제거한다. 털이 제거된 건조 녹용을 소주 등의 에탄올 (약 19~50%) 용액에 담궈 녹용의 내부까지 용액이 스며들어 조직이 부드러운 상태가 되면 절단기를 이용하여 절편상으로 절단한다. 절단된 녹용의 수분이 완전히 제거될 때 까지 건조하여 포장한다.

위의 과정을 통하여 포장 판매되는 녹용 절편을 멸균장갑을 이용하여 멸균 처리된 50 ml polypropylene conical tube에 녹용 절편 1.0 g을 정확하게 칭량하여 넣는다.

(2) 70% 에탄올 수치 녹용의 제조

러시아산 시판 녹용을 절편상으로 절단한 후 완전히 건조된 녹용절편을 에탄올을 사용하여 처리한다. 녹용 절편을 멸균된 용기에 넣고 70% 에탄올을 분무하여 녹용의 표면이 충분히 적셔지게 한다. 70% 에탄올로 가공 처리된 녹용 절편을 오염되지 않도록 멸균된 32°C Incubator (MIR-262, Sanyo, Japan) 넣고 하루 동안 완전히 건조시킨다.

위의 과정을 통하여 건조된 70% 에탄올 가공 처리 녹용 절편을 멸균장갑을 이용하여 멸균 처리된 50 ml polypropylene conical tube에 녹용 절편 1.0 g을 정확하게 칭량하여 넣는다.

(3) 70% 에탄올 및 가열 수치 녹용의 제조

러시아산 시판 녹용을 절편상으로 절단한 후 완전히 건조된 녹용절편을 에탄올을 사용하여 처리한다. 녹용 절편을 멸균된 용기에 넣고 70% 에탄올을 분무하여 녹용의 표면이 충분히 적셔지게 한다. 70% 에탄올에 젖어 있는 녹용 절편을 가열 처리된 철판위에 놓고 녹용 절편의 앞뒷면을 골고루 가열한다. 70% 에탄올이 완전히 제거되도록 가열 건조한다 (Fig. 1).

위의 과정을 통하여 건조된 70% 에탄올 및 가열 수치 방법으로 처리된 녹용 절편을 멸균장갑을 이용하여 멸균 처리된 50 ml polypropylene conical tube에 녹용 절편 1.0 g을 정확하게 칭량하여 넣는다.



Fig. 1. A schematic diagram of 70% ethanol with heat process for deer antler.

3) 미생물

(1) 검출 방법

각각의 가공 처리된 녹용 절편 1.0 g씩을 넣은 polypropylene conical tube에 멸균 3차 증류수 50 ml를 넣어 vortex (Ikaworks, Germany)를 사용하여 진탕하였다.

기존의 녹용 절편 제조 방법으로 가공한 시판 녹용의 진탕액을 NDR이라하고, 70% 에탄올 수치 가공한 녹용의 진탕액을 NAR이라 하며, 70% 에탄올 및 가열 수치 방법으로 처리한 녹용의 진탕액을 NHR이라 하였다.

Microcentrifuge tube (1.5 ml)에 pipet (Gilson, France)을 사용하여 멸균 3차 증류수 900 μl를 넣고, 진탕시킨 녹용 원액 100 μl을 넣어 10-1부터 10-7 까지 희석한다. 진탕 녹용 원액과 10-3, 10-5, 10-7 으로 희석한 것을 100 μl 씩 취하여 LB plate에 직접 도말하고, 37°C incubator에 넣어 24시간 배양한다. 24시간 경과 후 미생물 검출을 확인하고 형성된 colony의 수를 측정한다⁵⁾.

결과

1. 녹용의 수치 가공 방법에 따른 미생물 검출 결과

기존의 녹용 절편 제조 방법으로 가공한 시판 녹용과 멸균 효과가 가장 우수한 70% 에탄올 용액으로 수치 처리한 녹용, 70% 에탄올 용액 및 가열 수치 방법을 동시에 사용하여 가공된 녹용으로부터 미생물 오염 정도를 측정한 결과 아래와 같이 나타났다.

세 가지 방법에 의해 가공 처리된 각각의 녹용에 멸균 3차 증류수를 넣고 진탕시킨 녹용 원액과 10-3, 10-5, 10-7 으로 희석한 용액을 LB 고체배지에 도말하여 관찰한 결과 10-3, 10-5, 10-7 으로 희석한 용액에서는 미생물이 검출되지 않았으며, 녹용 원액에서만 미생물이 검출 되었다 (Fig. 2).

각각 3종류의 녹용 원액으로부터 검출된 미생물의 colony를 측정하여 비교한 결과, 기존의 녹용 절편 제조 방법으로 가공한 시판 녹용에서 201.1 개의 colony가 형성되어 가장 많은 수의 미생물이 검출되었다. 70% 에탄올 수치 처리한 녹용에서 33.5 개의 colony가 형성되어 많은 수의 미생물이 검출 되었다. 70% 에탄올 및 가열 수치 처리한 녹용에서 2.0 개의 colony가 형성되어 가장 적은 수의 미생물

이 검출 되었다 (Table 1, Fig. 2).

위와 같은 실험을 반복 수행하여 관찰한 결과, 기존의 녹용 절편 제조 방법으로 가공한 시판 녹용에서 201.1 개의 colony가 형성된 것에 비하여, 70% 에탄올 수치 처리한 녹용에서 평균 33.5 개의 colony가 관찰되어 83.3%의 우수한 미생물 억제 효과가 나타났다. 기존의 녹용 절편 제조 방법으로 가공한 시판 녹용에 비하여, 70% 에탄올 및 가열 수치 처리한 녹용에서 평균 2.0 개의 colony가 관찰되어 99%의 탁월한 미생물 억제 효과가 나타났다.

따라서 녹용 절편의 가공 방법으로 70% 에탄올 및 가열 수치 처리한 녹용에서 가장 좋은 미생물 억제 효과가 있음이 확인되었다 (Fig. 3).

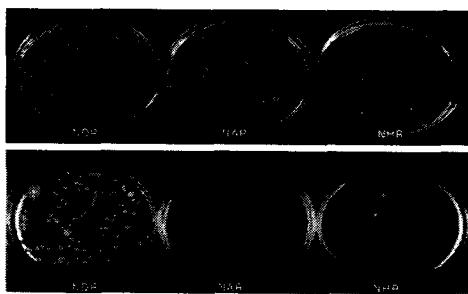


Fig. 2. The isolated microorganism colony from the sliced deer antler of market condition (NDR), 70% ethanol only (NAR), and 70% ethanol with heat processed (NHR).

Table 1. The isolated microorganism colony and microbial contamination inhibitory rate from the sliced deer antler of market condition (NDR), 70% ethanol only (NAR), and 70% ethanol with heat processed (NHR). Inhibition rate (%) = 100 - ((NAR or NHR)/NDR*100)

Sample	Test 1st colony count	Test 2nd colony count	Mean	Inhibition rate
NDR	256	146	201.1	0%
NAR	18	49	33.5	83.3%
NHR	2	2	2.0	99%

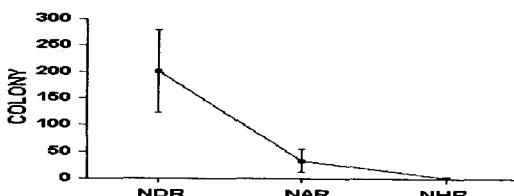


Fig. 3. The number of microbial contamination colony from the sliced deer antler of market condition (NDR), 70% ethanol only

(NAR), and 70% ethanol with heat processed (NHR).

고 칠

녹용의 효능에 대하여 최근 연구로서 생식세포에 대한 항산화효과를 보이고⁶⁾, 정자생성에 중요한 역할을 하는 단백질인 cAMP-Responsive Element Modulator (CREM)의 rat testes 내의 발현을 증가⁷⁾시키는 것으로 보고되었으며, 녹용 절단면들로부터 지연발광(DM)되어 나타나는 biophoton 방출에 유의한 차이가 있음이 보고되었으나⁹⁾, 녹용의 미생물 오염을 막을 수 있는 수치 방법에 대한 연구는 보고되지 않았다.

녹용의 수치 방법은 『聖惠方』에서 텔을 제거하는 방법이 기록된 아래¹⁰⁾, 『本草衍義』에서 텔을 제거하기 위하여 소나 양의 젖으로 만든 술을 표면에 바르고 불꽃으로 급속하게 불사르는 방법으로 녹용의 내부가 손상되지 않도록 가공하였다¹¹⁾. 『全生指述方』에서는 텔을 제거한 녹용을 편상(片狀)으로 절단하여 녹용 절편으로 가공하는 방법이 기술되어 있다.

『雷公炮炙論』에서는 녹용을 약한 불에 달구어 부드러워지면 절구에 빻아 분말로 가공한 鹿茸粉이 기록되어 있으며¹²⁾, 『本草蒙筌』에서는 약에 넣을 때 곱게 갈아서 鹿茸粉으로 사용하도록 기록되어 있다¹³⁾.

한편 『證治準繩』에서는 녹용 절편을 우유즙에 담근 후 가공한 乳制鹿茸이 기록되어 있다¹⁴⁾.

『博濟方』에서 녹용의 부드러운 부분을 술에 넣고 삶아 껌질을 제거한 후 건조하여 사용하는 酒鹿茸이 기록되어 있으며¹⁵⁾, 『聖濟總錄』과 『校注婦人良方』 및 『醫宗金鑑』에도 “酒浸, 炙去毛”, “酒浸炒”, “白酒炙” 등의 수치법이 기록되어 있지만 구체적인 방법에 대하여 기술이 미흡한 실정이다^{16,17,18)}.

녹용은 사슴의 골질화 되지 않았거나 약간 골질화된 어린뿔을 건조한 약재로서, 내부 절단면에는 혈관 조직과 다량의 혈액이 함유되어 있는 상태에서 건조 가공된 것이다. 녹용 조직에는 가공 조건에 따라 혈액에 다양한 미생물의 번식 가능성이 상존하고 있다. 이에 시중에 유통되는 녹용 절편에 대한 미생물 오염을 측정하고, 미생물의 오염을 억제할 수 있는 수치 방법의 개발이 필요하다.

녹용의 수치 방법은 시중에 유통되는 건조 녹용 절편을 대조군으로 설정하였으며, 실험군으로 각각 70% 에탄올 수치 녹용과 70% 에탄올 및 가열 수치 녹용을 제조하여 비교하였다.

70% 에탄올을 수치 녹용은 건조 녹용 절편의 내부가 충분히 젖을 정도로 에탄올 용액을 분무하고 멸균된 조건에서 완전히 건조하여 사용하였다. 녹용의 수치 과정에서 보편적으로 술이 사용되는 점에 차안하여 에탄올을 살균 용액으로 선정하였으며, 에탄올의 농도는 살균 효과가 가장 우수한 70% 용액으로 결정하였다. 70% 에탄올 수치 녹용은 현재 녹용 절편의 가공 과정에서 통상적으로 酒浸의 과정이 사용되므로 술에 의한 미생물의 억제 여부를 평가하려는 데에 목적이 있다.

문현에 근거하며 새로운 수치방법으로 개발한 70% 에탄올 및 가열 수치 녹용은 녹용 절편에 에탄올 용액을 충분히 분무하여 1차 살균을 시행한 후, 즉시 약 100°C 이상 가열된 절편위에서 1~3초 정도 녹용 절편의 앞뒷면을 건조하여 고온으로 2차 살균을 시행하였다.

대조군과 2종 실험군의 수치 녹용에 각각 멸균 3차 중류수를 넣고 진탕시킨 녹용 원액과 10-3, 10-5, 10-7 으로 희석한 용액을 LB 고체배지에 도말하여 관찰한 결과 10-3, 10-5, 10-7 으로 희석한 용액에서는 미생물이 검출되지 않았으며, 녹용 원액에서만 미생물이 검출 되었다. 수치 방법에 관계없이 3종의 녹용 희석액에서 미생물이 검출 되지 않고 녹용 원액에서만 미생물이 검출된 것은 녹용의 미생물 오염이 1,000개 이하로 존재하는 것이다.

각각 3종류의 녹용 원액 중 대조군인 시판 녹용 절편에서 201.1 개의 colony가 형성되어 가장 많은 수의 미생물이 검출되었다. 이는 녹용 절편의 제조 과정에서 사용되는 술 또는 다양한 농도의 에탄올이 미생물 살균 효과로서 미흡하며, 텔을 태우는 과정에서 가해지는 직화의 화염도 녹용 내부의 미생물 살균에는 영향을 미치지 못함을 의미하는 것이다. 또는 녹용의 절단, 압착 및 건조 과정에서 미생물이 오염되었을 가능성도 배제할 수 없다. 따라서 녹용 절편의 제조 과정에는 별도의 미생물 오염을 방지할 수 있는 수치 방법이 요구된다.

녹용의 수치 방법으로 70% 에탄올 수치한 녹용에서 33.5 개의 colony가 형성되어, 대조군에 비하여 83.3%의 우수한 미생물 억제 효과가 나타났으나 여전히 많은 수의 미생물이 검출 되었다. 70% 에탄올은 가장 강력한 살균 효과가 있는 농도로 알려져 있으나 녹용 절편 내부의 미생물 오염을 억제하는 수치 방법으로 사용되기에 적합하지 않았다.

녹용의 개선된 수치 방법으로 70% 에탄올 및 가열 수치 처리한 녹용에서 2.0 개의 colony가 형성되

어 가장 적은 수의 미생물이 검출되었으며, 대조군에 비하여 99%의 탁월한 미생물 억제 효과가 나타났다.

이상의 결과에서 녹용 절편의 가공 방법으로 70% 에탄올 및 가열 수치 처리한 녹용에서 가장 좋은 미생물 억제 효과가 있음이 확인되었으며, 향후 녹용에서 검출된 미생물의 동정에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사려된다.

결 론

녹용의 미생물 오염을 억제하기 위한 수치 방법을 개발하기 위하여 시판 녹용 절편, 70% 에탄올 수치 녹용, 70% 에탄올 및 가열 수치 녹용의 미생물 생성을 비교하여 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. 시판 녹용에서 201.1 개의 colony가 형성되어 가장 많은 수의 미생물이 검출 되었다.
2. 70% 에탄올 수치 처리한 녹용에서 33.5 개의 colony가 형성되어 많은 수의 미생물이 검출 되었다.
3. 70% 에탄올 및 가열 수치 처리한 녹용에서 2.0 개의 colony가 형성되어 가장 적은 수의 미생물이 검출 되었다.

이상의 결과 녹용 절편에 대하여 70% 에탄올 및 가열 수치 방법이 녹용의 미생물 오염을 억제하는 효과적인 수치 방법으로 확인 되었다.

참고문헌

1. 한의과대학 본초학 편찬위원회. 본초학, 서울: 영립사. 2004:591-593
2. Drew ML, Waldrup K, Kreeger T, Craigmill AL, Wetzlich SE, Mackintosh C, Pharmacokinetics of ceftiofur in red deer (*Cervus elaphus*). *J. vet. Pharmacol. Therap.* 2004;27:7-11
3. 國家中醫藥管理局 <中華本草> 編委會. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1996;(9):647-653
4. 김호철. 한약약리학, 서울:집문당. 2001:441-443
5. 신동엽, 박용일, 김홍렬, 안덕균, 박성규. 무주 지역에서 채취한 산삼 생육 토양미생물에 대한 동정 연구. 대한본초학회지, 2002;17(2):71-83
6. 박정렬. 鹿茸의 GC-1 spg Cell에 대한 항산화 효과. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2006.
7. Park WS, Shin DY, Kim DR, Yang WM, Chang MS, Park SK. Korean ginseng induces spermatogenesis in rats through the activation of

cAMP-responsive element modulator (CREM).
Fertility and Sterility. 2007;88(4):1000-1002

8. 권오선. Effects of Cervi Parvum Cornu on Serum Testosterone and on cAMP-Responsive Element Modulator (CREM) Expression in Rat Testes. 경희대학교 대학원 박사 학위논문. 2006.

9. 박완수, 이창훈, 소광섭, 최호영, 김호철, 박성규. 녹용(鹿茸)의 Biophoton(생체광자) 방출 특성 연구. 대한본초학회지, 2006;21(2):175-180

10. 吳謙. 醫宗金鑒. 서울:一中社. 1991:1458

11. 宋·太宗 命撰. 太平聖惠方. 서울:翰成社. 1979:2187

12. 陳嘉謨. 中國醫學大成續集 五券 - '本草蒙筌'券六. 上海: 상해과학기술출판사. 2000:565-572

14. 寇宗奭. 本草衍義. 북경:인민위생출판사. 1990;(16):105-106

15. 雷敷. 雷公炮炙論. 서울:一中社. 1991:80

16. 陳自明. 「婦人良方」校註補遺. 上海:상해과학기술출판사. 1991:46, 265-267, 284, 411

17. 王肯堂. 證治準繩(精華本). 북경:북경과학출판사. 1998:253

18. 王袞. 歷代中醫珍珠集成 九券 - '博濟方'券一. 上海:상해중의학원 중의문화연구소. 1990:11-12

19. 程林. 經濟總錄纂要. 합비:안휘과학기술출판사. 1992:325, 351