

蘇木과 黃連 抽出物の *Bacillus cereus*와 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 抗細菌活性

이건희, 도은수, 장준복, 길기정*

중부대학교 한방 제약과학과

Antibacterial Activity of *Caesalpinia sappan* and *Coptis chinensis* Extracts against *Bacillus cereus* and *Vibrio parahaemolyticus*

Gun-Hee Lee, Eun-Soo Doh, Jun-Pok Chang, Gi-Jung Kil*

Dept. of Herbal Pharmaceutical Science, Joongbu University

ABSTRACT

Objectives : This experimental study was performed to investigate the antibacterial effect of *Caesalpinia sappan* and *Coptis chinensis* extract against *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*.

Methods : Methanol extracts of *C. sappan* and *C. chinensis* was tested against *B. cereus* and *V. parahaemolyticus* by paper disc method.

Results : The growth of *B. cereus* and *V. parahaemolyticus* was inhibited by *C. sappan* and *C. chinensis* extract among 6 kinds of medicinal plant extracts. The extract of *C. sappan* and *C. chinensis* extract inhibited the growth of *V. parahaemolyticus* and *B. cereus*, respectively.

The growth of *B. cereus* and *V. parahaemolyticus* had a tendency to increase depend on the concentration of the extract. EtOEt and EtOAc fractions and EtOEt and BuOH fractions of the *C. sappan* extract had a high antibacterial activity against *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*, respectively. And, BuOH and H₂O fractions of the *C. chinensis* extract showed antibacterial activity against *B. cereus* highly.

Conclusions : *C. sappan* and *C. chinensis* extract efficiently inhibited the growth of *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*.

Key words : *Caesalpinia sappan*, *Coptis chinensis*, Antibacterial activity

서론

식생활의 다양화로 가공식품의 소비가 증가함에 따라 저장 기간을 연장시키기 위하여 사용하는 sorbic acid, benzoic acid, propionic acid 등과 같은 식품 보존제는 화학합성 보존료로 사용이 허가되어 종류별로 사용기준이 설정되어 있으나, 실제로 이들 보존료의 사용기준이 제대로 지켜지지 않는 경우도 허다하다¹⁾. 소비자들의 건강욕구가 증대됨에 따라 안전성 제고가 사회적인 관심사로 합성보존료를 사용한 식품에 대한 소비자들의 기피현상이 두드러지고 있다. 이같은 추세에 따라 독성이 아주 낮거나 거의 없는 향미생물제 또는 식품보존제 개발의 필요성이 대두되고 있다²⁾.

또한 그간의 우수한 항생제의 계속적인 개발은 인류에게 커다란 혜택을 주게 되었지만 한편으로는 항생제의 오남용으로 숙주의 변화와 새로운 균주의 출현, 또한 균주의 항생제에 대한 내성 등으로 인해 또 다른 새로운 항생제의 출현을 요구하게 되었다³⁾.

이러한 연유로 인하여 현대에 이르러 천연물에 대한 소비자들의 욕구가 높아져 각 분야에 걸쳐 부작용이 적은 천연물의 이용이 증가하고 있으며, 특히 천연물을 이용한 항균성 및 항암성 물질의 개발 연구가 활성화되고 있으며^{4,5,6)}, 생약재와 식용식물, 향신료 등은 천연보존료를 개발하기 위한 좋은 소재가 되며 연구 또한 많이 진행되고 있다⁷⁾.

黃連은 다년초의 미나리아재비과 식물에 속하는 황련의 뿌리

*교신저자 : 길기정, 충남 금산군 추부면 대학로 101 중부대학교 한방 제약과학과.
· Tel : 041-750-6225. · E-mail : kildosa@joongbu.ac.kr
· 접수 : 2010년 8월 13일 · 수정 : 2010년 9월 4일 · 채택 : 2010년 9월 13일

줄기이다. 입동 이후 11월에 채집하며 줄기, 잎, 수염뿌리 및 흙을 제거하고 햇볕에 말리거나 불에 쪄서 말리고 코르크층을 문질러 제거한 후 사용한다. 황련의 주성분은 isoquinoline 계열 alkaloid인 berberine이며, 기타 coptisine, epiberberine, ferulic acid, magnoflorine, palmatine, worenine 등으로 알려져 있다⁸⁾. 황련의 주성분인 berberine은 용혈성 연쇄구균, 흉막염균, 폐렴쌍구균, 콜레라균, 탄저병균 및 황색포도상구균에 대해 강한 억제효과를 나타내며, 적리균, 디프테리아균, 고초균, 녹색연쇄구균에 대해서는 억제효과, 그리고 폐렴간균, 백일해병균, 페스트균, 브루셀라균, 파상풍균 및 결핵균에 대해서도 유효할 정도의 억제효과가 있는 것으로 알려져 있다. 황련은 화를 풀고 습(濕)을 제거하며 해독하고 기생충을 구제하며 유행성 열병, 장티푸스, 열이 나며煩悶하는 병, 痞滿嘔逆, 세균성 이질, 熱性 설사 및 복통, 폐결핵, 구토, 鼻出血, 하혈, 소갈증, 감각, 회충병, 백일해, 인후의 부종 및 동통, 火眼, 口瘡, 웅저 창독, 습진, 화상, 탕상 등의 치료에 사용된다⁹⁾.

蘇木은 콩과에 속하는 소목의 마른 심재를 말하며 중국 등지에 분포되어 있다. 1년 내내 수시로 채집하며 외피 및 변재를 제거하고 심재를 취하여 별에 말린 후 사용하며 혈을 순환시키고 어혈을 잘 없애주며 부은 것을 내리고 통증을 완화시키며 천식, 이질, 파상풍, 타박 충혈에 의한 통증 치료에 사용된다⁹⁾. 소목의 심재는 여러 가지 화학성분 즉, 페놀성 화합물, 정유, 배당체, 지방산, 에테르로 구성되어있다고 보고되어 있다¹⁰⁾. 소목의 주성분은 無色の 原色素인 brasilin으로 木部に 약 2% 함유되어 있다. 이 brasilin은 공기 중에 노출되면 산화하여 brasilein으로 된다. 이외에 sappanin을 포함하여 유기시약으로 알루미늄 이온을 검출할 수 있으며 α -L-phellandrene, Ocimene을 주성분으로 하는 精油와 tannin이 함유되어 있다^{9,11)}. 또한 국내에서 소목 연구로 항산화 효과¹²⁾, 항염 효과와 항균소취 가공 등에 관한 보고가 있으며¹³⁾ 소목의 주성분인 brazilin이 고혈압에 효과가 있음을 보고하였다¹⁴⁾.

본 연구에서는 문헌조사를 통해 항균성이 있다고 선별한 6종의 한약재 중 항균활성이 뚜렷하게 나타난 소목과 황련 추출물을 선별하여 gram positive균인 *Bacillus cereus*와 gram negative균인 *Vibrio parahaemolyticus* 2종의 식중독 유발 미생물에 대한 항세균활성을 조사하여 천연식품보존제로서의 활용 가능성을 검토하여 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

소목(*Caesalpinia sappan*), 황련(*Coptis chinensis*), 여정자(*Ligustrum lucidum*), 고삼(*Sophora flavescens*), 강활(*Ostericum koreanum*) 및 우슬(*Achyranthes bidentata*)은 건조된 상태의 것을 경남 의령에 있는 의령농산에서 여정자, 고삼, 강활, 우슬은 국내산으로 소목과 황련은 수입산으로 구입 후 중부대학교 한방제약과학과에서 감정하였다. 실험 약재는 이용하기 전에 불순물을 제거하고 분쇄하여 4℃에서 냉장

보관 후 추출용 시료로 사용하였다.

2) 시약 및 기기

(1) 시약

Ethanol, Methanol, n-hexane, ethyl ether, ethyl acetate, n-butanol은 Sam Chun Pure Chemical Co.(Korea)의 것을 사용하였다.

(2) 기기

Autoclave는 Dong Yang Scientific Co., water bath(B-480)와 rotary vacuum evaporator (R-114)는 Buchii(Swiss) Co., freeze dryer는 Ilshin Co., deep freezer는 Dairei Co.의 것을 사용하였다. 또한 incubator와 shaking incubator, Hot-Magnetic stirrer는 Jisco(J-MPI) Co.의 것을 사용하였다. 미생물 실험의 모든 조작은 SEO BO Co.의 clean bench 내에서 이루어졌다.

3) 사용균주 및 배지

(1) 균주

항균성 실험에 사용한 균주는 식품부패병균 중 Gram positive 균인 *Bacillus cereus* KCCM11204와 Gram negative균인 *Vibrio parahaemolyticus* KCCM11965는 한 국미생물 보존센터에서 분양받아 사용하였다.

(2) 배지

공시 균주의 생육배지로는 *B. cereus*는 Nutrient agar를 사용하였고, *V. parahaemolyticus*는 3% NaCl이 첨가된 Nutrient agar를 사용하였다.

2. 방법

1) 추출물 조제

소목, 황련, 여정자, 고삼, 강활 및 우슬을 분쇄한 다음 시료와 추출용매의 비율을 1:10(W/V)으로 하여 침지하였다. 추출용매는 MeOH와 H₂O의 비율을 0:100, 30:70, 50:50, 70:30, 100:0로 희석하여 사용하였다. H₂O를 추출용매로 한 경우는 10배량(W/V)의 H₂O를 가하여 120℃ 1.2기압의 autoclave에서 20분간 끓인 후 여과지(Whatman No. 2.)로 여과하였으며, MeOH와 H₂O를 일정비율로 희석한 용매를 사용한 경우는 시료에 10배량(W/V)의 용매를 가하여 상온에서 48시간 동안 방치한 후 여과지(Whatman No. 2.)로 여과한 후, 45℃ 수욕상에서 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축한 후, 이것을 -45℃ deep freezer에 12시간 두었다가 freeze dryer(Ilshin)에 넣고 동결건조 후 4±1℃에서 냉장 보관하여 사용하였다.

2) 추출물의 항세균활성 검색

각 추출물의 항균성 검색을 위해 slant에 배양된 각 균주 1 백금이를 취해 100 mL broth배지에 접종하여 24 시간 동안 활성화 시킨 후 사용하였다. 직경 9 cm인 petri dish에 15 mL의 배지를 분주한 평판배지 위에 각 균주의 활성화 된 배양액 0.1 mL를 처리한 다음 삼각 유리 막대로 배지 위에 골고루 퍼지도록 도말하였다. 동결 건조 후 보관 된 시료의

분말을 살균수로 희석하여 10%, 5%, 2% 및 1% 농도로 조제한 후 pore size 0.2 μm 인 membrane filter를 통과 시킨 다음 멸균된 paper disc에 흡수시켰다. 이것을 균주가 도말된 plate 표면에 올려놓은 후 *V. parahaemolyticus*는 37°C에서 그리고 *B. cereus*는 30°C incubator에서 48시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(cm)을 측정하여 항세균활성 정도를 조사하였다.

3) 추출물의 용매 분획별 항세균활성 검사

동결 건조시킨 분말 10 g을 H₂O 400 mL를 현탁 시킨 후 n-hexane, EtOEt(ethyl ether), EtOAc(ethyl acetate), n-BuOH(n-butanol) 및 H₂O로 극성이 낮은 용매에서 높은 용매로 순차적으로 계통 분획하였다(Fig. 1). 분리된 분획물을 모아 45°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였고, 이것을 -45°C deep freezer에 12시간 두었다가 freeze dryer(Ilshin)에 넣고 동결건조 후 paper disc법으로 항세균활성을 조사하였다.

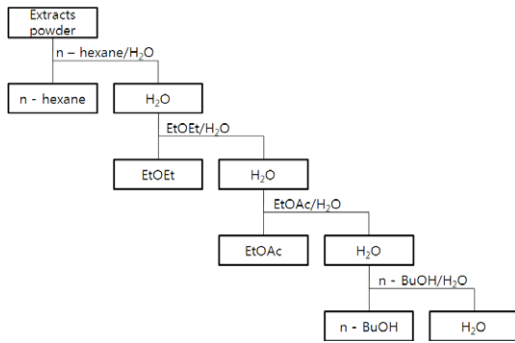


Fig. 1. Fractionation Procedure of Medicinal Plant Extracts Powder.

결과 및 고찰

1. 공시 한약재의 항세균활성

추출용매에 관계없이 소목 추출물과 황련 추출물이 나머지 공시 한약재 추출물보다 항세균활성이 강한 것으로 나타났다. 소목의 H₂O 추출물과 MeOH 추출물은 *B. cereus*에 대해서는 항세균활성이 비슷하였으나, *V. parahaemolyticus*에 대해서는 H₂O 추출물이 MeOH 추출물보다 2배 정도의 항세균활성이 더 강하게 나타났다. 반면에 황련 추출물은 *B. cereus* 및 *V. parahaemolyticus* 모두 MeOH 추출물이 H₂O 추출물 보다 항세균활성이 강한 것으로 나타났다(Table 1).

이와 같은 결과는 소목과 오배자의 MeOH 추출물과 EtOH 추출물이 *E. coli*에 대해 항세균활성을 나타내었다는 보고¹⁵⁾, 1%의 소목 추출물이 *E. coli*와 *S. aureus*에 성장 억제 효과가 있다는 보고¹⁶⁾, 여러 한약재를 이용한 *S. aureus*에 대한 항균성 검사에서 소목 24 mm, 초두구 13 mm, 향유 16 mm 및 희렴 16 mm로 소목이 가장 우수하게 나타내었다고 보고¹⁷⁾한 연구 결과 등과 비교하여 볼 때 본 실험에서도 소목의 MeOH 추출물뿐만 아니라 H₂O 추출물에서도 항세균활성이 있는 것으로 나타나 여러 연구자들의 소목이 항균성을 가진다는 결과와 일치하였다. 또한 항균성 물질을 추출할

때 추출온도, 용매농도 및 용매의 종류에 따라 항균력의 차이가 난다고 하였는데¹⁾, 본 실험에서도 H₂O 추출물과 MeOH 추출물의 공시균주에 대한 항균성이 다르게 나타났다.

Table 1. Antibacterial Activity of 6 Medicinal Plant Extracts against *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*.

Solvents	Medicinal Plants	Used Parts	Microorganisms	
			BC ¹⁾	VP
Water	<i>Caesalpinia sappan</i>	Lignum	++ ²⁾	+++
	<i>Coptis chinensis</i>	Rhizoma	+	+
	<i>Ligustrum lucidum</i>	Fructus	±	±
	<i>Ostericum koreanum</i>	Radix	±	±
	<i>Sophora flavescens</i>	Radix	±	±
	<i>Achyranthes bidentata</i>	Radix	±	±
MeOH	<i>Caesalpinia sappan</i>	Lignum	++	+
	<i>Coptis chinensis</i>	Rhizoma	++	+
	<i>Ligustrum lucidum</i>	Fructus	±	±
	<i>Ostericum koreanum</i>	Radix	±	±
	<i>Sophora flavescens</i>	Radix	±	±
	<i>Achyranthes bidentata</i>	Radix	±	±

1) BC : *B. cereus*, VP : *V. parahaemolyticus*

2) Inhibition degree; - : None, ± : <10.0, + : 10.1~20.0, ++ : 20.1~30.0, +++ : >30.0(mm)

2. H₂O와 MeOH의 희석비율에 따른 추출물의 항세균활성

H₂O와 MeOH의 희석비율을 달리한 용매로 추출하여 동결 건조한 소목과 황련 추출 분말을 10% 농도로 조제하여 항세균활성을 조사하여 용매의 어떤 희석 비율에서 항세균활성이 가장 우수한가를 조사한 결과는 Table 2와 같다.

소목 추출물의 경우 물의 비율이 높을수록 대체로 *B. cereus*와 *V. parahaemolyticus*에 대한 항세균활성이 높은 경향이였으나, 5% 이상에서는 차이가 없는 것으로 나타났고, *V. parahaemolyticus*에 대해서는 100% H₂O를 용매로 한 추출물이 MeOH가 30~70% 함유된 용매로 추출한 추출물 보다 항세균활성이 높은 것으로 나타났으며 나머지 용매의 희석 비율 간에는 뚜렷한 차이는 없는 것으로 나타났다. 그러나 황련 추출물의 경우는 소목 추출물의 경우와 달리 *B. cereus*와 *V. parahaemolyticus*에 대한 MeOH의 비율이 높을수록 항세균활성이 비교적 높으나 큰 차이는 없는 경향이였다. *B. cereus*에 대해서는 H₂O 추출물에 비하여 MeOH가 함유된 추출물이 항세균활성이 높게 나타났으나, *V. parahaemolyticus*에 대해서는 용매의 희석비율과는 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해 보면, 소목 추출물의 항세균활성은 전반적으로 용매의 H₂O 희석비율이 높을 때, 반대로 황련 추출물의 항세균활성은 용매의 MeOH 희석비율이 높을 때 약간 우수한 것으로 나타났다. 또한 소목 추출물의 경우 *B. cereus*에 대한 항세균활성보다는 *V. parahaemolyticus*에 대한 항세균활성이 우수한 것으로 나타났다. 그러나 황련 추출물의 경우에는 그 반대로 *V. parahaemolyticus* 보다는 *B. cereus*에 대한 항세균활성이 강한 것으로 나타났다.

山査, 黃連, 側柏, 蒼朮, 石菖蒲의 ethanol 추출물이 Gram positive 및 negative 세균에 대하여 항균성을 가지는

것으로 보고되었으며¹⁸⁾, 배¹⁹⁾는 한국산 황련의 methanol 추출물이 가장 큰 항균효과를 보였는데 *S. aureus*와 *E. coli*가 가장 민감하게 반응하며, ethyl acetate추출물은 *Bacillus cereus*에 대해 주된 항균활성을 나타내었다고 보고하여 본 연구의 결과와 상이하게 나타났는데 이는 사용한 황련의 기원이 중국산과 한국산으로 서로 다르기 때문인 것으로 사료된다. 한편 손 등²⁰⁾도 황백, 황련, 정향으로 항균실험을 한 결과 황련의 경우 *Escherchia coli*와 *Staphylococcus aureus*, *V. parahaemolyticus*에서 강한 항균력을 보여 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다. 에탄올 추출물은 기존에 보고된 많은 한약재의 에탄올 추출물과 비교하여 볼 때 적은 농도에서도 매우 다양하고 강한 항균력을 나타내었으며, 그람양성, 그람음성세균 모두 강한 항균력을 보였다고 하였다. 또한 橘皮, 連翹, 牛蒡子, 秦艽, 黃連, 稀薺 등의 ethanol 추출물에서 항균성이 증가하였다는 보고¹⁷⁾ 등을 볼 때에 추출물의 종류나 각각의 대상 균의 종류에 따라서 항균활성이 달라진다는 기존의 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

Table 2. Antibacterial Activity of *C. sappan* and *C. chinensis* Extracts against with a Dilution Degree of Solvents *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*.

Medicinal Plants	Solvents (H ₂ O:MeOH)	Microorganisms	
		BC ¹⁾	VP
<i>C. sappan</i>	0 : 100	+ ²⁾	++
	30 : 70	+	++
	50 : 50	++	++
	70 : 30	++	++
	100 : 0	++	+++
<i>C. chinensis</i>	0 : 100	++	+
	30 : 70	+	+
	50 : 50	+	+
	70 : 30	++	+
	100 : 0	+	+

1) BC : *B. cereus*, VP : *V. parahaemolyticus*
 2) Inhibition degree; - : None, ± : <10.0, + : 10.1~20.0, ++ : 20.1~30.0, +++ : >30.0(mm)

3. 추출물의 희석농도에 따른 항세균활성

H₂O와 MeOH의 희석비율을 달리한 용매로 추출한 소목과 황련 추출물의 농도별 항균효과를 검증한 결과는 Table 3과 같다.

*B. cereus*와 *V. parahaemolyticus*에 대한 항세균활성은 희석농도가 높아짐에 따라 농도 의존적으로 감소하는 경향이었으며, 10%와 5%의 농도에서는 어느 정도 항세균활성을 나타냈으나, 그 이하의 농도에서는 항세균활성이 약해지는 경향이 있었다.

황련 추출물의 경우에도 소목 추출물의 경우와 같이 희석농도가 높아짐에 따라 항세균활성은 농도 의존적으로 감소하는 경향이 있었다. 추출물의 10%와 5%의 농도에서는 어느 정도 항세균활성을 나타냈으나, 추출물의 농도가 낮아질수록 항세균활성이 약해지는 경향이 있었으며 1% 농도의 경우 *B. cereus* 및 *V. parahaemolyticus*에 대한 항세균활성이 거의 나타나지 않았다(Table 3).

Table 3. Antibacterial Activity of *C. sappan* and *C. chinensis* Extracts with a Dilution Degree against *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*.

Solvents (H ₂ O:MeOH)	Concn. (%)	<i>C. sappan</i>		<i>C. chinensis</i>	
		BC ¹⁾	VP	BC ¹⁾	VP
0 : 100	10	+ ²⁾	++	++ ²⁾	+
	5	+	+	++	+
	2	+	+	+	±
	1	+	+	+	-
30 : 70	10	+	++	+	+
	5	+	+	+	±
	2	+	+	+	-
	1	+	±	+	-
50 : 50	10	++	++	+	+
	5	+	+	+	±
	2	+	+	+	-
	1	±	+	-	-
70 : 30	10	++	++	++	+
	5	+	+	+	+
	2	+	+	+	-
	1	+	+	+	-
100 : 0	10	++	+++	+	+
	5	+	+++	+	±
	2	+	+	+	-
	1	+	+	±	-

1) BC : *B. cereus*, VP : *V. parahaemolyticus*
 2) Inhibition degree; - : None, ± : <10.0, + : 10.1~20.0, ++ : 20.1~30.0, +++ : >30.0(mm)

4. 추출 분획물의 항세균활성

소목 추출물과 황련 추출물을 각각 n-hexane, EtOEt (ethyl ether), EtOAc(ethyl acetate), n-BuOH(butanol)의 순으로 순차적으로 계통분획 후 각 분획물을 감압 농축하여 얻은 동결 건조한 분말을 10% 농도로 조제하여 항세균활성을 조사하였다. 그 결과 소목 추출물은 *B. cereus*에 대한 항세균활성은 EtOEt(ethyl ether)와 EtOAc(ethyl acetate)층의 분획물에서 가장 크게 나타났으며, n-hexane, n-BuOH 및 H₂O층의 분획물에서는 그보다 낮게 나타났으며 *V. parahaemolyticus*에 대해서는 EtOEt(ethyl ether)와 n-BuOH (butanol)층의 분획물에서는 항세균활성이 크게 나타났고, EtOAc (ethyl acetate)층의 분획물에서도 항세균활성이 비교적 강하게 나타났으나, H₂O층의 분획물에서는 비교적 항세균활성이 낮게 나타났다.

Table 5. Antibacterial Activity of *C. sappan* and *C. chinensis* Extract with a Various Solvent Fraction against *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*.

Solvents	<i>C. sappan</i>		<i>C. chinensis</i>	
	BC ¹⁾	VP	BC ¹⁾	VP
n-hexane	+ ²⁾	+	- ²⁾	-
EtOEt	++	+++	-	±
EtOAc	++	++	-	+
n-BuOH	+	+++	++	+
H ₂ O	+	+	++	+

1) BC : *B. cereus*, VP : *V. parahaemolyticus*
 2) Inhibition degree; - : None, ± : <10.0, + : 10.1~20.0, ++ : 20.1~30.0, +++ : >30.0(mm)

황련 추출물은 *B. cereus*에 대해서는 n-BuOH(butanol)층과 H₂O층의 분획물은 비교적 강하게 항세균활성이 있는 것으로 나타났으며 *V. parahaemolyticus*에 대해서는 EtOAc

(ethyl acetate), n-BuOH(butanol)층과 H₂O층의 분획물에서 약간 항세균활성이 있는 것으로 나타났으나, 그 외의 분획물에서는 항세균활성이 나타나지 않거나(n-hexane층) 매우 약하게(EtOEt층) 나타났다(Table 5). 결과적으로 *C. sappan*의 항세균활성과 관련된 물질은 EtOEt, EtOAc 및 n-BuOH층에 *C. chinensis*의 항세균활성과 관련된 물질은 n-BuOH 및 H₂O층에 있는 것으로 사료되나 좀 더 자세한 검토가 필요하다.

가지육, 금앵자, 소목 추출물을 chloroform, ethyl acetate, butanol로 분획하여 항균성을 검색한 결과¹⁷⁾ ethyl acetate 분획물에서 높은 항균성이 있다고 하며, 소목의 경우 핵산과 물층을 제외한 분획물에서 항균활성이 나타났다고 보고되었다¹⁹⁾. 본 연구에서도 소목 추출물을 분획하였을 때, *B. cereus*에 대해서는 EtOEt(ethyl ether)와 EtOAc(ethyl acetate)층의 분획물에서 강한 항세균활성을 보였으며, *V. parahaemolyticus*에 대해서는 EtOEt(ethyl ether)층과 n-BuOH(butanol)층의 분획물에서 항세균활성이 강하게 나타났는데 상지에서 언급한 연구 결과들과 비교해 볼 때 분획용매에 따라서 항균활성은 달리 나타날 수 있다는 결과와 유사하였다.

5. 추출 분획물의 농도별 항세균활성

소목의 추출물 분획 후 항세균활성이 비교적 높게 나타나는 EtOEt(ethyl ether), EtOAc(ethyl acetate)층을 농도별로 조정하여 *B. cereus* 와 *V. parahaemolyticus*에 대해 항세균활성을 조사한 결과, EtOEt(ethyl ether)층의 경우는 10%농도 일 때 보다 5%농도 일 때 *B. cereus* 와 *V. parahaemolyticus*에 대한 항세균활성이 감소되었으며, EtOAc(ethyl acetate)층에서는 5%농도 까지는 어느 정도 10%농도에서와 비슷하였으나 그 이하의 농도에서는 항세균활성이 감소하여 전반적으로 분획물의 희석농도가 높아질수록 농도 의존적으로 항세균활성도 낮아 졌다. 또한 황련 분획 후 비교적 항세균활성이 높은 것으로 나타난 n-BuOH(butanol)층을 농도별로 *B. cereus*와 *V. parahaemolyticus* 균에 대해 항세균활성을 조사한 결과 10% 농도에서 항세균활성이 가장 크게 나타났으며, 희석농도가 높아질수록 농도 의존적으로 항세균활성도 낮아졌다.(Table 6). 신 등¹⁷⁾은 소목의 조추출물 100ppm농도에서 대조구에 비해 *S. aureus*, *L. monocytogenes* 및 *B. cereus*에 대해 우수한 증식억제 효과가 있다고 하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타냈다.

Table 6. Antibacterial Activity of EtOEt and EtOAc Fractions with a Concentration of *C. sappan* and *C. chinensis* Extract against *B. cereus* and *V. parahaemolyticus*.

Medicinal Plants	Solvent	Concn.(%)	Microorganisms	
			BC ¹⁾	VP
<i>C. sappan</i>	EtOEt	10	++ ²⁾	+++
		5	+	++
		2	+	+
		1	+	+
	EtOAc	10	++	++
		5	++	++
		2	+	+
		1	+	+
<i>C. chinensis</i>	n-BuOH	10	++ ²⁾	+
		5	+	+
		2	±	+
		1	±	±

1) BC : *B. cereus*, VP : *V. parahaemolyticus*

2) Inhibition degree; - : None, ± : <10.0, + : 10.1~20.0, ++ : 20.1~30.0, +++ : >30.0(mm)

결론

천연식품 보존제 개발의 기초자료를 확보하고자 6종의 한약재 추출물을 공시하여 gram positive균인 *B. cereus*와 gram negative균인 *V. parahaemolyticus*에 대하여 항세균활성을 검정하고 뚜렷한 효과가 인정되는 소목과 황련 추출물에 대한 항세균활성을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 6종의 한약재 추출물 중 황련과 소목 추출물이 *V. parahaemolyticus*와 *B. cereus*에 대하여 항세균 활성이 우수하였고, 소목은 *V. parahaemolyticus*, 황련은 *B. cereus*의 생육을 강하게 억제하였으며, 항세균활성은 추출액의 희석농도에 의존하는 경향이였다.
2. 소목 추출물의 EtOEt와 EtOAc 분획층은 *B. cereus*에 대해, EtOEt와 n-BuOH 분획층은 *V. parahaemolyticus*에 대해서 항세균활성이 큰 것으로 나타났으며, 황련 추출물의 n-BuOH와 H₂O 분획층은 *B. cereus*에 대해서 강한 항세균활성이 나타났다.

결론적으로, 생약재료 또는 식품가공재료로서 사용되고 있는 소목과 황련추출물은 *V. parahaemolyticus*와 *B. cereus*에 대하여 우수한 항세균활성을 가지며, 본 연구 결과 황련 보다는 소목의 항균활성이 높아 향후 이를 이용한 천연식품 보존제 등의 신소재 물질의 기초 자료로 사용될 수 있을 것으로 판단되며 지속적인 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Park UY, Chang DS, Cho HR. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts, J. Korean Soc. Food Nutr. 1992 ; 21(1) : 91-6.
2. Ferrand C, Marc F, Fritsch P. Chemical and toxicological studies of products resulting from sorbic acid and methylamine interaction in food conditions. Amino acids, 2000 ; 18 (3) : 251-63.
3. Han WS. Isolation of antimicrobial compounds from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2004 ; 12(3) : 179-82.
4. Eun JS, Lim JP, Park YK, Choi DS, Ahn MS. Hepatoprotective activity of *Salviae Miltiorrhizae* Radix extract. Kor. J. Pharmacogn. 1991 ; 22(2) : 95-100.
5. Kim OH, Yang JS, Jung EJ. *In vitro* anticancer screening and evaluation of natural products in human tumor cell lines. Report; National Institute Safety Research 6, 1993 ; 201-7.
6. Mok JS, Park UY, Kim YM, Chang DS. Effects of solvents and extracting condition on the antimicrobial activity of *Salviae Miltiorrhizae* Radix(*Salvia miltiorrhiza*) Extract. J. Korean Soc. Food Nutr. 1994 ; 23(6) : 1001-7.

7. Nam SH, Kang MY. Screening of antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 2000 ; 43: 141-7.
8. 정보섭. 도해향약(생약)대사전(식물편). 서울 : 영림사. 1990 ; 490-3.
9. 소화관편. 중약대사전(제3권). 상해과학기술출판사. 1981 ; 158-63, 175-85, 1759-62.
10. Namokosi, M, Saitih, T. Homoisoflavoids and related compound IV. Absolute configurations of homoisoflavonoids from *Caesalpinia sappan* L. Chem. Pharm. Bull. 1987 ; 35 : 3579-602.
11. 강병수 등. 본초학. 서울 : 영림사. 2004 ; 220-3, 479-80.
12. Lim DK, Choi LU, Shin DH. Antioxidative activity of some solvent extract from *Caesalpinia sappan* L. Kor. J. Food Sci. Technol. 1996 ; 28(1) : 77-82.
13. Kim YS, Noh YK, Lee GI, Kim YK, Lee KS, Min KR. Inhibitory effects of herbal medicines on hyaluronidase activity. Kor. J. Pharmacogn. 1995 ; 26(3) : 265-72.
14. Moon CK, Park KS, Kim SG, Won HS, Chung JH. Brazilin protects cultured rat hepatocytes from BrCCl₃ induced toxicity. Drug Chem. Toxicol. 1992 ; 15(1) : 81-91.
15. Chang HS. C. II. Antimicrobial activity of extracts from medicinal herbs against *Escherichia coli*. Korean J. Community Living Science. 2007 ; 18(2) : 293-300.
16. Lee SH, Moon WS, Park KN. Antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* L. extracts and its effect on preservation of ground meats. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 2000 ; 28 : 100-6.
17. Shin, DH, Kim MS, Han JS. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-borne bacteria. Korean J. Food Sci. Technol. 1997 ; 29(4) : 808-16.
18. Oh DH, Ham SS, Park BK, Ahn C, Yu JY. Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 1998 ; 30(4) : 957-63.
19. Bae JH. Antimicrobial effect of *Plagiorhegama dubium* extracts on Food-borne pathogen. Korean J. Food & Nutr. 2005 ; 18(1) : 81-7.
20. Son DH, Lee SI, Chung YG. Antioxidative of medicinal plants on pathogenic bacteria. J. Korean Soc. Hygienic Sciences. 2001 ; 7(2) : 103-8.
21. Choi IJ, Cho Y, Lim SC. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Staphylococcus aureus*. Korean J. Plant Res. 2006 ; 19(4) : 491-6.