

## 오염된 음료에서 분리된 세균에 대한 한약재의 항균성

유영은<sup>1</sup> · 김옥아<sup>1</sup> · 김상찬<sup>1,2</sup> · 박성민<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>대구한의대학교 한방생명자원연구센터, <sup>2</sup>대구한의대학교 한의학과

## The Antibacterial Effects of Oriental Medicinal Herbs on Bacteria Isolated from Contaminated Beverages

Young Eun Yu<sup>2</sup>, Ok Ah Kim<sup>2</sup>, Sang Chan Kim<sup>1,2</sup>, and Sung Min Park<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Oriental medicine, <sup>2</sup>The Research Center for Biomedical Resources of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Daegu 706-828, Republic of Korea

(Received August 25, 2011 / Accepted September 28, 2011)

The use of synthetic additives for preservation and enhancement of the market quality of food products has been emerging as a societal issue in terms of safety as well as changes in consumption patterns. Various research related to natural additives is being conducted to address these issues. This study examined the antibacterial effects of 79 types of medicinal herbs used as oriental remedies on bacteria isolated from beverages of damaged marketable quality. The antibacterial effects of methanol extracts on 13 *Bacillus* sp. and three *Paenibacillus* sp. were evaluated. We found that 43 of the herbal medicines analyzed had antibacterial effects on the isolated bacteria. Of those, eight were selected, and their antibacterial effects were further examined using water, ethanol, methanol, and ethyl acetate as solvents. The results revealed that *Prunus mume*, *Rhus javanica*, and *Coptis japonica* had excellent antibacterial effects against the isolated bacteria. In particular, they exerted greater antibacterial effects when water and ethanol were used as solvents. This result indicates the possibility of developing natural additives using these substances. Since *P. mume* in particular, has not been sufficiently studied compared to other herbal medicines, it presents an opportunity for additional investigation and the possibility for development as a new product in the future.

**Keywords:** antibacterial effect, natural additives, oriental medicinal herb

최근 식품 산업의 추세는 식생활의 간편화와 세대 구성원의 소수화로 각종 가공식품이나 인스턴트식품의 섭취가 늘어나고 있으며 각종 식품제조업체에서는 다양한 가공식품의 제조에 있어 식품의 가치를 상승시키고 소비자의 구매 욕구를 충족시키기 위하여 다양한 첨가제를 사용하고 있다(5, 18).

식품제조업체에서 더욱 더 다양한 가공식품을 제조함에 따라 제조과정 중 품질보존, 영양향상 및 관능적 가치 증진 등을 목적으로 사용하는 각종 식품첨가물의 소비량도 증가하고 있는 추세이며, 이에 각종 가공식품에서 다양한 목적으로 사용되고 있는 식품첨가물의 섭취도 불가피하게 되어 소비자가 알지 못하는 사이에 매일 여러 종류의 식품첨가물을 섭취하고 있으며, 식품 첨가물의 안전성 평가와 섭취량에 대한 관심도 증가하고 있다.

이 중 식품 보존제는 가공식품의 저장기간의 연장을 목적으로 대부분의 가공식품에 사용할 수 밖에 없으나 사용되고 있는 합성 식품보존제의 경우 인체의 안전성에 대한 문제가 사회적으로 쟁점화 되고 있으며 이에 대한 소비자들의 소비습관에도 많은 영향을 주고 있다(18).

이러한 소비자들의 소비습관에 맞추어 많은 연구자들과 기업에서 제품의 보존을 위한 소재를 천연물로부터 연구하고 있으나 관련 시장에서는 보다 많은 제품과 다양한 천연물에 대한 연구가 절실한 상황이다.

우리나라의 경우 전통 의학인 한의학과 민간 요법에서 주로 많이 사용되는 한약재와 식물 등의 천연물을 대상으로 미생물에 대한 항균 효능 연구가 많이 진행되고 있으며 최근의 연구를 살펴보면 단삼(1), 매실(3, 11), 인진쑥 및 녹차 추출물(4), 홍국(5), 양파껍질(6), 울금, 강황 및 보라울금(7), 자몽종지추출물(8, 21), 천연 폴리페놀계 물질을 이용한 연구(9), 목초액(12), 작약 추출물(16), 용아초 추출물(17), 산사자(20), 다

\* For correspondence. E-mail: minshell@dhu.ac.kr; Tel.: +82-53-770-2332; Fax: +82-53-770-2335

수의 한약재(2, 21, 24)와 천연물(22), 프로폴리스(23) 등을 이용한 연구가 보고되어 있으며 xylan과 chitosan을 이용한 보존제의 개발(13)과 오존수를 이용한 식품 보존 방법의 개발(15) 등 많은 연구가 진행되고 있다.

이에 본 연구자들은 천연 보존제로 사용이 가능한 후보 소재를 발굴하기 위하여 오염된 식품으로부터 분리한 세균을 대상으로 항균성을 조사하였으며 그 결과를 공유하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 미생물의 분리 및 선별

오염된 시료는 경상북도 영천시 소재 음료전문기업에서 제품의 제조 후 보관, 유통 과정에서 용기의 형태 변화나 침전물

의 발생 등이 야기되어 회수한 인삼 추출물 관련 제품을 사용하였다.

제품의 제조 전, 후에 80°C에서 용기 살균 과정을 거치는 것을 감안하여 시료를 Purifier<sup>®</sup> Biological Safety Cabinet (Labconco<sup>®</sup>, USA)에서 멸균된 용기에 넣어 끓는 물에서 30분간 중탕하고 실온에서 식힌 후 Nutrient medium (0.3% beef extract, 0.5% peptone, pH 6.8, Becton, Dickinson and Company, USA)에 단계 희석 도말하고 30, 37°C에서 48시간 배양하여 분리하였다.

### 염기서열 분석 및 동정

SolGent<sup>™</sup> Genomic DNA Prep Kit (SolGent, Korea)을 이용하여 분리 균주의 chromosomal DNA를 분리하여 sequencing

**Table 1.** List of oriental medicine herbs for this study

Oriental Medicine	Korean Name	Use Part	Oriental Medicine	Korean Name	Use Part
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	Ogapi	Root, Stem, Bark	<i>Lindera strichnifolia</i>	O-yag	Root
<i>Agastache rugosa</i>	Gwaghyang	Aerial part	<i>Lonicera japonica</i>	Geum-eunhwa	Flower bud
<i>Ailanthus altissima</i>	Jeobaegpi	Bark	<i>Lycium chinense</i>	Gugija	Fruit
<i>Alpinia officinarum</i>	Golyanggang	Rhizome	<i>Lycopus coreanus</i>	Taeglan	Aerial part
<i>Amomum cadamomum</i>	Baegdugu	Fruit	<i>Magnolia denudata</i>	Sin-ihwa	Flower bud
<i>Amomum villosum</i>	Sa-in	Fruit	<i>Melia japonica</i>	Golyeonpi	Bark
<i>Aralia continentalis</i>	Doghwal	Root	<i>Mentha piperascens</i>	Bagha	Aerial part
<i>Areca catechu</i>	Daebogpi	Pericarp	<i>Morus alba</i>	Sangbaegpi	Bark
<i>Arisaema amurense</i>	Cheonnamseong	Tuberous root	<i>Morus alba</i>	Sang-yeob	Leaf
<i>Artemisia argyi</i>	Ae-yeob	Leaf, Stem	<i>Nelumbo nucifera</i>	Yeonja-yug	Seed
<i>Asiasarum mandshuricum</i>	Sesin	Root, Rhizome	<i>Oldenlandia diffusa</i>	Baeghwasaseolcho	All
<i>Brassica juncea</i>	Baeggaeja	Seed	<i>Paeonia suffruticosa</i>	Mogdanpi	Bark
<i>Bupleurum falcatum</i>	Siho	Root	<i>Persicaria tinctoria</i>	Cheongdae	Leaf
<i>Carpesium abrotanoides</i>	Hagseul	Fruit	<i>Phellodendron amurense</i>	Hwangbaeg	Bark
<i>Cassia tora</i>	Gyeolmyeongja	Seed	<i>Polygala tenuifolia</i>	Wonji	Root
<i>Chelidonium majus</i>	Baeggulchae	Aerial part	<i>Polygonum aviculare</i>	Pyeonchug	All
<i>Cibotium barometz</i>	Gucheog	Rhizome	<i>Poncirus trifoliata</i>	Jisil	Fruit
<i>Cinnamomum cassia</i>	Gyeji	Branch	<i>Prunus mume</i>	Omae	Fruit
<i>Citrus unshiu</i>	Jinpi	Bark	<i>Pulsatilla koreana</i>	Baegdu-ong	Root
<i>Clematis mandshurica</i>	Wilyeongseon	Root	<i>Pyrrrosia lingua</i>	Seog-wi	Leaf
<i>Cnidium officinale</i>	Cheongung	Rhizome	<i>Rehmannia purpurea</i>	Saengjihwang	Root
<i>Codonopsis pilosula</i>	Mansam	Root	<i>Rhus javanica</i>	Obaeja	Cocoon
<i>Coptis japonica</i>	Hwanglyeon	Rhizome	<i>Rosa rugosa</i>	Maegoehwa	Flower bud
<i>Corydalis ternata</i>	Hyeonhosaeg	Tuber	<i>Salvia multiorrhiza</i>	Dansam	Root
<i>Curcuma longa</i>	Ganghwang	Root	<i>Saposhnikovia divaricata</i>	Bangpung	Root, Rhizome
<i>Curcuma zedoaria</i>	Achul	Rhizome	<i>Saururus chinensis</i>	Sambaegcho	Aerial part
<i>Cynanchum atratum</i>	Baegmi	Root	<i>Schizonepeta tenuifolia</i>	Hyeonggae	Flower stalk
<i>Cyperus rotundus</i>	Hyangbuja	Rhizome	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Hwanggeum	Root
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	Baegseonpi	Bark	<i>Smilax china</i>	Toboglyeong	Root
<i>Drynaria fortunei</i>	Golswaebo	Rhizome	<i>Sophora japonica</i>	Goehwa	Flower bud
<i>Eclipta prostrata</i>	Hanlyeoncho	All	<i>Spatholobus suberectus</i>	Gyehyeoldeung	Stem
<i>Equisetum hyemale</i>	Mogjeog	Aerial part	<i>Stemona japonica</i>	Baegbugeum	Tuberous root
<i>Foeniculum vulgare</i>	Hoehyang	Fruit	<i>Tamarix juniperina</i>	Jeonglyu	Branch, Leaf
<i>Ganoderma lucidum</i>	Yeongji	Fruit body	<i>Thuja orientalis</i>	Baegja-in	Seed
<i>Gentiana macrophylla</i>	Jingyo	Root	<i>Tribulus terrestris</i>	Jillyeoja	Fruit
<i>Gingko biloba</i>	Baeggwa	Seed	<i>Uncaria sinensis</i>	Jogudeung	Branch
<i>Glycine max</i>	Daeduhwanggwon	Germination	<i>Vitex rotundifolia</i>	Manhyeongja	Fruit
<i>Isatis indigotica</i>	Daechyeong-yeob	Leaf	<i>Xanthium strumarium</i>	Chang-ija	Fruit
<i>Juncus effusus</i>	Deungsimcho	Stem	<i>Zingiber officinale</i>	Saenggang	Rhizome
<i>Leonurus sibiricus</i>	Chung-wija	Fruit			

에 사용하였다. Initial denaturation 94°C, 3분, denaturation 94°C, 1분, annealing 55°C, 1분, extension 72°C, 3분의 조건으로 32 cycle을 실시한 후, final extension을 72°C에서 5분간 유지하여 증폭을 종결하였다. 16S rRNA의 증폭을 위하여 *E. coli* 16S rRNA 부분의 conserved sequence를 기초로 하여 합성된 universal primer인 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGGT CAG-3')와 1492R (5'-GGATACCTTGTTACGACTT-3')를 primer로 사용하였다.

16S rRNA의 PCR 산물은 SolGent™ PCR Purification Kit (SolGent, Korea)로 정제하였고 정제된 PCR 산물은 ABI PRISM 3700 DNA Analyzer를 이용하여 염기서열을 분석한 후, BLASTN 프로그램을 이용하여 GenBank의 ribosomal RNA sequence와 비교하여 동정하였으며 대전광역시에 위치한 (주)솔젠트에 의뢰하여 분석하였다(19).

G+C 함량 등 보다 구체적인 동정 과정을 진행하지 않았기에 16S rRNA의 분석 결과는 대략적인 균주를 파악하기 위해서만 사용하였다.

### 한약재의 선별

오염된 식품으로부터 분리한 세균에 대한 항균성을 나타내는 한약재를 조사하기 위하여 본초학을 바탕으로 문헌조사를 하였으며 이를 바탕으로 한약재를 선별하여 수성구 상동 소재의 대원약업사에서 생약제제로 포장되어 판매하는 제품을 구입하여 사용하였다(Table 1).

### 추출물의 제조

분리 세균에 대한 항균성을 조사하기 위하여 한약재 79종을 선별하였으며 일차 조사는 메탄올을 추출 용매로 사용하고, 이차 조사는 물, 에탄올, 메탄올 및 에틸아세테이트를 사용하여 추출물을 제조하여 사용하였다.

추출물의 제조에 있어 에탄올, 메탄올 및 에틸아세테이트를 사용한 경우 한약재에 10배량의 추출용매를 가지고 상온에서 150 rpm, 24시간 동안 진탕하고 여과(Filter paper No. 2, Whatman, Japan)한 후 대형회전농축기(Rotary evaporator, Switzerland)로 감압 농축하고 각각의 추출 용매로 다시 현탁한 후 0.2 µm filter (Minisart RC 25, Sartorius, Germany)로 제균하여 사용하였다.

열수 추출물의 경우에는 10배량의 1차 정제수를 가하여 약탕기로 96°C에서 2시간 정도 끓여 추출하였으며 다른 추출물과 동일한 방법으로 준비하여 사용하였다.

### 추출물의 항균성 조사

항균성을 조사하기 위하여 분리한 세균을 24시간 배양한 후 원심분리(13,000 rpm, 2 min)하고 멸균수로 현탁 시키는 과정을 3번 반복하여 준비하였으며  $1.5 \pm 0.5 \times 10^8$  cells/ml로 균수를 조정하여 사용하였다.

선별한 79종의 한약재 중 항균성을 나타내는 한약재를 선별하기 위하여 먼저 메탄올 추출물을 이용하였으며 그 결과를 바탕으로 한약재를 선별한 후 용매별 항균성을 조사하였다.

추출물의 농도는 회수율을 적용하였으며 한약재의 추출에 사용한 용매로 각각의 추출물을 녹여 사용하였다. 즉 오매 메탄올 추출물의 경우 22.1%의 회수율을 나타내어 0.221 g의 추출물을 1 ml의 메탄올에 녹여 샘플을 제조하였다.

두 번의 조사는 추출물을 6 mm paper disc (Advantec, Japan)를 사용한 한천평판확산법(Agar diffusion method)을 이용하였으며 한약재의 추출에 사용한 용매로 각각의 추출물을 녹여 사용하였다.

분리 세균의 생육이 억제되면서 형성되는 생육저지환(Clear zone)의 크기로 항균성의 유·무와 정도를 확인하였으며 3번 반복실험을 한 후 평균값과 표준편차를 구하였으며 편차의 정도가 미비하여 평균값만을 표기하였다.

## 결과 및 고찰

### 분리세균의 동정 및 선별 한약재의 회수율

오염된 음료로부터 분리된 세균은 Table 2와 같이 13종의 *Bacillus* sp.와 3종의 *Paenibacillus* sp.로 판명되었고 상동성도 높게 조사되었으나 앞서 언급한 것처럼 명확한 동정을 진행하지 않아 속명에 번호를 붙여 사용하였다. 분리세균들은 고체배지와 액체배지의 배양을 통하여 37°C에서 양호하게 생육하는 것을 확인하였으며 배양 조건을 37°C로 통일하여 적용하였다(결과 미제시).

추출 용매로 메탄올을 사용한 경우의 회수율은 백부근이 59.6%로 가장 높게 나타났으며 백두옹 외 6종이 20% 이상 30% 미만, 금은화 외 30종이 10% 이상 20% 미만, 박하 외 37종이 1% 이상 10% 미만을 나타내었으며 청대와 결명자의 경우 0.1%의 매우 낮은 회수율을 나타내는 것으로 조사되었으며 선별한 한약재의 50% 정도가 10% 미만의 낮은 회수율을 나타내었다. 나 등(14)이 결명자를 물로 추출하였을 때 20% 이상의 회수율을 나타낸 결과와 비교할 때 본 연구자들

**Table 2.** Isolated bacteria from contaminated drink

No.	Genus	Species	Max identity (%)
1	<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>	98
2	<i>Bacillus</i>	<i>subtilis</i>	98
3	<i>Paenibacillus</i>	<i>chibensis</i>	98
4	<i>Bacillus</i>	<i>circulans</i>	95
5	<i>Paenibacillus</i>	<i>solii</i>	99
6	<i>Bacillus</i>	<i>circulans</i>	98
7	<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>	99
8	<i>Bacillus</i>	<i>circulans</i>	99
9	<i>Bacillus</i>	<i>ginsengihumi</i>	99
10	<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>	99
11	<i>Paenibacillus</i>	<i>chibensis</i>	98
12	<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>	98
13	<i>Bacillus</i>	<i>mojavensis</i>	98
14	<i>Bacillus</i>	<i>ginsengihumi</i>	99
15	<i>Bacillus</i>	<i>circulans</i>	98
16	<i>Bacillus</i>	<i>benzoevorans</i>	97

이 확인한 회수율 0.1%와는 많은 차이를 나타내었으며 이는 결명자의 경우 추출 용매에 대한 영향을 많이 받는 것을 확인할 수 있었다.

추출물의 회수율은 회수된 추출물의 중량을 추출 시 사용한 한약재의 중량으로 나눈 후 백분율로 계산하였으며 소수점 첫째 자리까지 기록하였다.

### 한약재 메탄올 추출물의 항균성

항균성을 조사하기 위하여 미리 배양해 둔 분리세균의 수를  $1.5 \pm 0.5 \times 10^8$  cells/ml로 조정된 후 100  $\mu$ l를 첨가하여 고체 배지를 제조한 후 각각의 메탄올 추출물 20  $\mu$ l를 paper disc에 점적하여 상온에서 건조시키고 배지에 얹어 37°C에서 24시간 배양하여 조사한 항균효과의 결과는 Table 3과 같이 조사되었다.

선발한 79종의 한약재 중 진피, 황련, 등심초, 목단피, 청대, 오매, 오배자, 매괴화, 단삼과 괴화의 메탄올 추출물은 모든 공시균주에 대하여 항균성을 나타내는 것으로 조사되었으며 고량강, 학슬, 상백피, 황백, 황금과 질려자의 경우에도 15종에 대하여 항균성을 나타내는 것으로 조사되었다. 그러나 대복피, 백개자, 결명자, 골쇄보, 연자육과 생지황의 경우 공시균주에 대한 항균성을 전혀 나타내지 않는 것으로 조사되었다.

각각의 공시균주에 대한 메탄올 추출물의 항균성은 *Bacillus* sp. CBB1과 *Bacillus* sp. CBB2의 경우 오매 추출물이 각각 19와 20 mm로 가장 우수하였으며 *Paenibacillus* sp. CBB3의 경우에도 오매 추출물이 25 mm로 가장 우수하였고 세신, 황련과 오배자 추출물도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였다.

*Bacillus* sp. CBB4의 경우 애엽과 오매 추출물이 가장 우수하였고(23 mm) 황련, 오배자와 질려자 추출물도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였다.

*Paenibacillus* sp. CBB5의 경우 오배자 추출물이 25 mm로 가장 우수하였으며 세신, 학슬, 계지, 회향, 등심초, 택란과 오매 추출물도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였다.

*Bacillus* sp. CBB6의 경우 오매 추출물이 22 mm로 가장 우수하였으며 오배자 추출물도 21 mm의 생육저지환을 형성하였다.

*Bacillus* sp. CBB7의 경우 황련 추출물이 22mm로 가장 우수하였으며 황백 추출물은 21 mm, 지실 추출물은 20 mm의 생육저지환을 형성하였고 *Bacillus* sp. CBB8의 경우 오매 추출물만 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였다.

*Bacillus* sp. CBB9의 경우 애엽, 황련과 회향 추출물이 22 mm로 가장 우수하였으며 황백, 지실과 질려자 추출물도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였다.

*Bacillus* sp. CBB10의 경우 오매 추출물이 15 mm로 가장 우수하였으나 공시균주 중 추출물에 의한 생육의 저해가 미비한 것으로 나타났으며 *Paenibacillus* sp. CBB11의 경우 오매 추출물이 23 mm로 가장 우수하였으며 황련과 계혈등 추출물에서도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였다.

*Bacillus* sp. CBB12와 CBB13의 경우 오매와 오배자 추출

물이 15 mm로 가장 우수한 생육저지환을 생성하였으나 *Bacillus* sp. CBB10의 경우처럼 항균성은 다른 한약재 추출물과 비교할 때 낮은 것으로 조사되었다.

*Bacillus* sp. CBB14의 경우 황련 추출물이 26 mm로 가장 우수하였으며 오가피, 애엽, 학슬, 향부자, 회향, 택란, 상엽, 황백, 석위, 오배자와 괴화 추출물에서도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하여 조사한 결과 중 가장 많은 한약재에 의하여 생육의 저해를 받는 것으로 나타났다.

*Bacillus* sp. CBB15의 경우 황련 추출물이 23 mm로 가장 우수한 것으로 조사되었으며 애엽, 목적, 지실과 석위 추출물에서도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였으며 *Bacillus* sp. CBB16의 경우 황련 추출물이 22 mm로 가장 우수하였고 오배자 추출물도 20 mm 이상의 생육저지환을 형성하였다.

선발한 한약재 중 43종이 50% 이상의 공시균주에 대한 항균성을 나타내는 것으로 조사되어 한약재의 선발을 위한 문헌적 조사 결과가 어느 정도 양호하였음을 확인할 수 있었다.

### 용매에 따른 추출물의 항균성

메탄올 추출물에 의한 항균성을 바탕으로 공시균주에 대하여 넓은 항균 스펙트럼과 상대적으로 우수한 항균성을 가지는 한약재 8종을 선별하고 물, 에탄올, 메탄올과 에틸아세테이트를 추출용매로 하여 각각의 추출물을 제조한 후 항균성을 조사하였다(Table 4.).

한약재의 회수율의 경우 우선 물을 추출 용매로 사용한 열수 추출의 경우 오배자가 71.2%로 가장 높은 회수율을 나타내었으며 청대가 1.3%로 가장 낮은 회수율을 나타내었다. 에탄올을 사용한 경우에는 오매가 24.8%로 가장 높은 회수율을 나타내었으며 청대가 0.7%로 가장 낮았고, 메탄올을 사용한 경우 오매가 28.9%로 가장 높은 회수율을 나타내었으며 청대가 1.0%로 가장 낮았으며 에틸아세테이트의 경우 오배자가 13.0%로 가장 높은 회수율을 나타내었으며 황련이 0.2%로 가장 낮은 회수율을 나타내었다.

열수 추출물의 경우 오매, 오배자와 황련의 경우에만 공시균주에 대하여 전반적인 항균성을 나타내었으며 오매가 가장 양호한 항균성을 나타내는 것으로 조사되었다. 나머지 5종의 한약재의 경우 항균성이 미비하거나 항균성을 나타내지 못하였으며 특히 등심초와 지실의 경우 모든 공시균주에 대하여 항균성을 나타내지 않았다.

에탄올 추출물의 경우 괴화, 단삼, 오매와 오배자의 경우에 모든 공시균주에 대한 항균성을 나타내었으며 오매가 가장 양호한 항균성을 나타내는 것으로 판단되었다.

메탄올 추출물의 경우 8종의 한약재가 대부분의 공시균주에 대하여 항균성을 가지는 것으로 조사되었으며 앞선 조사의 회수율과 생육저지환의 크기에서 약간의 차이는 발생하였으나 이는 추출물을 준비하는 과정에서 발생할 수 있는 것이라 판단되었다.

에틸아세테이트 추출물의 경우 괴화에서 대부분의 공시균주에 대한 항균성이 조사되었으나 다른 추출물과 비교할 때 항균성은 상대적으로 미비한 것으로 판단하였다. 그러나 낮은

**Table 3.** Antibacterial activity of oriental medicine herbs extracted with methanol

No.	Name	Recovery rate (%)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	<i>A. sessiliflorum</i>	8.8	-	-	++	++	++	++	++	+	++	-	-	-	-	+++	++	+
2	<i>A. rugosa</i>	7.0	-	-	+	++	++	++	+	-	++	-	-	-	-	++	-	++
3	<i>A. altissima</i>	7.9	-	-	-	++	++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
4	<i>A. officinarum</i>	14.3	+	-	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	+	++	++	++
5	<i>A. cadamomum</i>	6.4	-	-	-	-	++	-	-	-	++	-	++	-	-	++	-	+
6	<i>A. villosum</i>	4.4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	+
7	<i>A. continentalis</i>	12.3	+	-	++	++	++	++	-	+	+	+	++	+	-	-	++	++
8	<i>A. catechu</i>	4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	<i>A. amurense</i>	3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10	<i>A. argyi</i>	5.9	+	-	-	+++	++	++	++	++	+++	+	++	+	+	+++	+++	++
11	<i>A. mandshuricum</i>	6.8	-	-	+++	++	+++	++	++	+	++	+	++	++	-	++	++	++
12	<i>B. juncea</i>	12.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	<i>B. falcatum</i>	13.0	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
14	<i>C. abrotanoides</i>	13.7	++	-	++	++	+++	++	++	++	++	+	++	+	+	+++	++	++
15	<i>C. tora</i>	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	<i>C. majus</i>	6.4	-	-	+	-	++	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
17	<i>C. barometz</i>	5.9	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
18	<i>C. cassia</i>	2.8	-	-	-	+	+++	++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	++
19	<i>C. unshiu</i>	15.5	++	+	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++	+	++	++	++
20	<i>C. mandshurica</i>	12.6	-	-	++	++	++	++	-	+	-	-	++	+	+	-	++	++
21	<i>C. officinale</i>	15.4	-	-	++	-	++	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
22	<i>C. pilosula</i>	20.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
23	<i>C. japonica</i>	18.4	++	++	+++	+++	++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	+++
24	<i>C. ternata</i>	2.7	-	-	++	-	-	+	++	-	++	-	++	-	+	++	++	+
25	<i>C. longa</i>	12.8	+	-	+	+	++	++	-	-	-	+	++	-	+	-	+	+
26	<i>C. zedoaria</i>	5.8	-	-	++	++	++	++	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
27	<i>C. atratum</i>	22.3	-	-	+	++	++	++	-	+	-	-	+	-	-	-	+	++
28	<i>C. rotundus</i>	12.5	-	-	-	++	++	+	-	-	-	-	+	-	-	+++	-	+
29	<i>D. dasycarpus</i>	6.2	-	-	-	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
30	<i>D. fortunei</i>	2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	<i>E. prostrata</i>	12.1	-	-	++	++	++	-	++	+	++	-	+	-	-	-	++	+
32	<i>E. hyemale</i>	3.5	+	-	++	++	++	++	++	++	++	-	++	-	-	++	+++	++
33	<i>F. vulgare</i>	4.2	-	-	++	++	+++	++	++	++	+++	+	++	-	-	+++	++	++
34	<i>G. lucidum</i>	2.9	-	-	-	++	++	++	-	+	-	-	-	-	+	-	-	++
35	<i>G. macrophylla</i>	24.9	++	++	++	++	++	++	-	++	-	-	++	-	+	++	++	++
36	<i>G. biloba</i>	5.5	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	++	-	+
37	<i>G. max</i>	13.1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
38	<i>I. indigotica</i>	9.2	-	-	-	++	++	++	-	+	-	+	-	+	+	-	-	++
39	<i>J. effusus</i>	2.1	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
40	<i>L. sibiricus</i>	5.8	-	-	+	++	++	+	++	-	++	-	++	-	-	++	++	+
41	<i>L. strichnijfolia</i>	6.2	-	-	-	+	++	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	++
42	<i>L. japonica</i>	19.1	-	-	+	++	++	++	+	+	++	-	++	-	+	++	++	++
43	<i>L. chinense</i>	10.1	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++
44	<i>L. coreanus</i>	11.1	-	-	++	++	+++	++	++	+	++	+	++	+	+	+++	++	++
45	<i>M. denudata</i>	18.6	-	-	+	-	++	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+
46	<i>M. japonica</i>	5.1	-	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
47	<i>M. piperascens</i>	9.3	+	-	+	+	++	-	++	-	++	-	++	-	-	++	+	++
48	<i>M. alba</i>	12.7	++	-	++	++	++	++	+	+	++	+	++	+	+	++	+	++
49	<i>M. alba</i>	10.2	-	-	++	++	++	+	++	+	++	-	+	-	-	+++	++	+
50	<i>N. nucifera</i>	7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	<i>O. diffusa</i>	9.3	-	-	++	++	++	++	++	+	++	-	++	-	-	++	++	++
52	<i>P. suffruticosa</i>	10.3	++	+	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++	+	++	+	++
53	<i>P. tinctoria</i>	0.1	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+
54	<i>P. amurense</i>	13.5	+	-	++	++	++	++	+++	++	+++	++	++	++	++	+++	++	++

Table 3. Continued

No.	Name	Recovery rate (%)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
55	<i>P. tenuifolia</i>	21.4	-	-	-	++	++	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+
56	<i>P. aviculare</i>	6.2	-	-	++	++	++	+	++	-	++	-	+	-	-	++	++	++
57	<i>P. trifoliata</i>	11.4	-	-	++	++	++	++	+++	++	+++	+	++	-	-	++	+++	++
58	<i>P. mume</i>	22.1	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+++	++	++	++	++	++
59	<i>P. koreana</i>	28.2	-	+	-	++	++	++	-	-	-	-	+	-	-	-	++	++
60	<i>P. lingua</i>	10.4	-	-	++	++	++	++	++	+	++	-	++	-	-	+++	+++	++
61	<i>R. purpurea</i>	16.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	<i>R. javanica</i>	21.0	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	+++	++	+++
63	<i>R. rugosa</i>	18.9	++	++	++	++	++	++	+	++	++	+	++	+	+	++	++	++
64	<i>S. miltiorrhiza</i>	4.6	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
65	<i>S. divaricata</i>	16.1	+	-	+	-	++	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
66	<i>S. chinensis</i>	15.0	-	-	++	++	++	++	++	+	++	+	++	+	+	++	+	++
67	<i>S. tenuifolia</i>	7.0	-	-	++	-	++	-	++	-	++	-	++	-	-	++	++	+
68	<i>S. baicalensis</i>	8.0	++	-	++	++	++	++	+	+	+	+	++	+	+	++	+	++
69	<i>S. china</i>	14.6	-	-	-	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	+	++
70	<i>S. japonica</i>	12.0	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	+	+++	++	++
71	<i>S. suberectus</i>	7.7	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	+++	-	-	++	++	++
72	<i>S. japonica</i>	59.6	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
73	<i>T. juniperina</i>	12.6	-	-	++	++	++	++	-	+	+	-	++	+	+	++	+	++
74	<i>T. orientalis</i>	14.5	-	-	-	-	++	-	+	-	++	-	-	-	-	++	-	+
75	<i>T. terrestris</i>	4.6	+	-	++	+++	++	++	++	++	+++	+	++	+	+	++	++	++
76	<i>U. sinensis</i>	4.2	-	-	-	-	++	+	+	-	++	-	-	-	-	++	+	+
77	<i>V. rotundifolia</i>	2.4	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
78	<i>X. strumarium</i>	4.7	-	-	-	-	-	-	+	-	++	-	-	-	-	++	++	-
79	<i>Z. officinale</i>	1.6	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+

+ : < 10 mm, ++ : < 20 mm, +++ : < 30 mm

1. *Bacillus* sp. CBB1, 2. *Bacillus* sp. CBB2, 3. *Paenibacillus* sp. CBB3, 4. *Bacillus* sp. CBB4, 5. *Paenibacillus* sp. CBB5, 6. *Bacillus* sp. CBB6, 7. *Bacillus* sp. CBB7, 8. *Bacillus* sp. CBB8, 9. *Bacillus* sp. CBB9, 10. *Bacillus* sp. CBB10, 11. *Paenibacillus* sp. CBB11, 12. *Bacillus* sp. CBB12, 13. *Bacillus* sp. CBB13, 14. *Bacillus* sp. CBB14, 15. *Bacillus* sp. CBB15, 16. *Bacillus* sp. CBB16.

회수율에도 불구하고 다른 추출물과 유사한 정도의 항균성을 나타내는 경우도 있음으로 볼 때 추출물의 회수율과 기대한 항균성과의 상관관계는 미비한 것으로 판단되었다.

황련의 경우 이 등(10)도 식품부패균에 대한 항균성을 보고 하였으며 오배자의 경우에도 어병 세균에 대하여 가장 우수한 항균성을 나타내었다고 보고 되어 있어 다른 연구자들의 연구 결과와 본 연구의 결과를 바탕으로 오매, 오배자와 황련은 음료의 보존을 위한 소재로 사용할 수 있을 것으로 판단하였다.

특히 오매의 경우 다른 한약재와 비교할 때 미생물에 대한 항균성 연구가 미진한 것으로 판단되었으며 천연 식품보존제 개발을 위한 소재로서 기존에 알려진 오배자와 황련보다 다양한 적용이 가능할 것으로 판단하였다.

향후 본 연구자들은 다양한 식품 오염 미생물을 대상으로 연구를 진행하여 한약재를 기반으로 한 천연 식품보존제의 개발 가능성을 조사하고자 한다.

적요

식품의 상품성과 보존을 위하여 사용하는 합성 첨가물이 소비자들의 소비 습관의 변화와 첨가물의 안전성에 대한 사회적 쟁점으로 천연의 소재를 활용한 다양한 연구와 조사가 진

행되고 있다. 본 연구에서도 천연물 중 한의학의 소재로 사용되는 생약제제 79종을 사용하여 식품 중 상품성이 훼손된 음료에서 분리한 세균에 대한 항균성을 조사하였다.

13종의 *Bacillus* sp.와 3종의 *Paenibacillus* sp.에 대한 메탄올 추출물의 항균성을 조사한 결과 43종의 생약제제가 분리한 세균에 대한 항균성을 나타내었다. 이 중 8종의 한약재를 선별하고 이들을 대상으로 물, 에탄올, 메탄올과 에틸아세테이트를 추출 용매로 하여 항균성을 조사한 결과 오매, 오배자와 황련이 분리된 세균에 대한 항균성이 우수한 것으로 조사되었으며 특히 물과 에탄올을 사용한 경우에 우수한 항균성을 나타내어 이 결과를 바탕으로 이들 소재를 활용한 천연보존료의 개발 가능성을 확인할 수 있었다. 특히 다른 생약제제와 비교할 때 오매에 대한 연구가 상대적으로 미진한 것으로 판단되어 향후 지속적인 연구를 통한 제품의 개발도 가능할 것으로 판단하였다.

감사의 말

본 연구는 지식경제부의 지역혁신센터사업을 수행하고 있는 대구한의대학교 한방생명자원연구센터(B0009008)의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사 드립니다.

**Table 4.** Antibacterial activity of selected oriental medicine herbs extracted with 4 solvents

No.	Name	Solvents	Recovery rate (%)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	<i>C. japonica</i>	Water	17.9	12	12	20	16	17	19	13	13	27	16	20	11	13	24	21	22
		EtOH	4.3	7	7	12	-	8	10	-	-	20	9	-	-	-	17	-	14
		MeOH	17.3	16	11	22	20	15	22	18	13	24	12	18	13	14	26	20	20
		Ethylacetate	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	7	-	-
2	<i>J. effusus</i>	Water	3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		EtOH	2.3	11	10	14	10	-	13	13	13	13	15	15	13	10	19	11	-
		MeOH	2.3	17	12	10	10	20	11	12	10	12	13	12	12	11	15	12	12
		Ethylacetate	1.0	9	8	10	-	-	-	-	8	12	8	11	10	9	17	-	-
3	<i>P. tinctoria</i>	Water	1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	8	-	-
		EtOH	0.7	-	-	-	19	-	7	-	9	17	-	12	-	-	17	8	-
		MeOH	1.0	13	15	11	13	12	9	14	10	10	10	12	10	15	11	12	12
		Ethylacetate	0.7	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	13	-	-
4	<i>P. trifoliata</i>	Water	9.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		EtOH	9.3	-	12	10	-	-	17	12	17	21	10	15	11	12	23	18	-
		MeOH	17.2	10	11	15	19	18	16	22	15	21	8	12	-	11	21	21	10
		Ethylacetate	7.5	10	10	10	17	-	13	-	14	21	7	12	-	10	22	16	-
5	<i>P. mume</i>	Water	26.7	15	24	24	30	23	27	23	29	21	20	29	21	25	13	32	23
		EtOH	24.8	13	22	21	28	22	28	20	24	17	16	24	18	22	11	28	27
		MeOH	28.9	20	23	21	29	25	30	20	25	18	16	24	20	23	19	29	22
		Ethylacetate	3.5	-	10	-	9	-	14	-	9	-	-	-	-	-	9	10	-
6	<i>R. javanica</i>	Water	71.2	15	19	20	20	21	20	21	19	20	21	23	21	19	21	21	20
		EtOH	19.0	12	13	19	30	22	16	13	15	13	13	12	15	14	16	16	13
		MeOH	22.1	14	15	19	19	25	19	13	17	15	14	15	15	15	17	14	23
		Ethylacetate	13.0	10	8	13	16	14	14	-	14	8	7	12	9	11	11	9	-
7	<i>S. miltiorrhiza</i>	Water	29.1	-	7	7	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	12	11	14
		EtOH	2.8	9	14	12	16	13	14	9	15	17	12	18	11	10	11	17	12
		MeOH	12.2	14	12	15	20	22	11	10	14	15	15	16	10	12	9	19	14
		Ethylacetate	0.6	10	14	12	18	-	13	8	16	16	11	17	12	10	-	16	-
8	<i>S. japonica</i>	Water	23.5	-	-	-	-	10	-	-	-	-	10	-	-	-	13	11	
		EtOH	11.9	7	11	11	16	14	14	7	14	20	12	14	10	7	20	19	13
		MeOH	18.1	11	11	16	13	17	10	15	10	16	10	18	14	9	24	17	14
		Ethylacetate	2.5	9	11	15	19	8	16	11	15	20	12	18	9	8	22	22	-

**참고문헌**

- Choi, H.Y. 2009. Antimicrobial activity of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extract and Its effects on quality characteristics in sulgidduk. *Korean J. Food & Nutr.* 22, 321-331.
- Choi, H.S., Y.C. Kim, J.S. Lee, M.R. Jo, C.H. Seo, and S.I. Park. 2004. Antibacterial activity of hot-water and ethyl alcohol extracts of medicinal herbs on fish pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.* 17, 39-55.
- Ha, M.H. and S.H. Cho. 2005. Preservative effect of agricultural and marine products treated with *Prunus mume* extract. *J. Agriculture & Life Sciences* 39, 55-60.
- Kim, D.W., J.H. Kim, G.H. Kang, H.K. Kang, S.B. Park, J.H. Park, H.T. Bang, M.J. Kim, J.C. Na, H.S. Chae, and et al. 2010. Studies for antibiotics free chicken production using water extracts from *Artemisia capillaries* and *Camellia sinensis*. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 30, 975-988.
- Kim, E.Y. and M.R. Rhyu. 2008. Antimicrobial activities of *Monascus koji* extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40, 76-81.
- Kim, J.E., A.R. Kim, M.J. Kim, and S.N. Park. 2011. Antibacterial, antioxidative and antiaging effects of *Allium cepa* peel extracts. *Appl. Chem. Eng.* 22, 178-184.
- Kim, H.J., J.W. Lee, and Y.D. Kim. 2011. Antimicrobial activity and antioxidant effect of *Curcuma longa*, *Curcuma aromatic* and *Curcuma zedoaria*. *Korean J. Food Preserv.* 18, 219-225.
- Kim, H.S., J.W. Park, I.B. Park, Y.J. Lee, J.M. Kim, and Y.C. Jo. 2009. Optimization of antimicrobial activity against food-borne pathogens in grapefruit seed extract and a lactic acid mixture. *Korean J. Food Preserv.* 16, 472-481.
- Kim, T.K., H.E. Shin, and Y.H. Lee. 2003. Stabilization of polyphenolic antioxidants using inclusion complexation with cyclodextrin and their utilization as the fresh-food preservative. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35, 266-271.
- Lee, G.H., E.S. Doh, J.P. Chang, and G.J. Kil. 2010. Antibacterial activity of *Caesalpinia sappan* and *Coptis chinensis* extracts against *Bacillus cereus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Kor. J. Herbology* 25, 111-116.
- Lee, H.A., E.S. Nam, and H.I. Park. 2003. Antimicrobial activity of Maesil (*Prunus mume*) juice against selected pathogenic microorganisms. *Korean J. Food & Nutr.* 16, 29-34.
- Lee, S.S., B.J. Ahn, and S.T. Cho. 2010. Antimicrobial activities of wood vinegar and application as natural fungicides and food preservatives. *Mokchae Konghak* 38, 341-348.
- Li, X., X. Shi, M. Wang, and Y. Du. 2011. Xylan chitosan conjugate – A potential food preservative. *Food Chemistry* 126, 520-525.

14. Na, G.M., H.S. Han, S.H. Ye, and H.K. Kim. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Cassia tora* L. extracts. *Korean J. Food Culture* 19, 499-505.
15. Park, J.M. and H.S. Shin. 2010. Influence of ozonated water and washing method using ozonated water for controlling food-borne disease bacteria. *Food Engineering Progress* 14, 316-321.
16. Park, K.D. and S.H. Cho. 2010. Antimicrobial characteristics of *Paeonia lactiflora* Pall. extract tested against food-putrefactive microorganisms. *Korean J. Food Preserv.* 17, 706-711.
17. Park, N.Y., K.N. Park, and S.H. Lee. 2004. Antimicrobial activities and food preservative effects of *Agrimoniae herba*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33, 244-248.
18. Park, S.K., E.S. Lee, and S.K. Park. 2005. Estimation of daily dietary intake of food red colors – food red No. 2, No. 3 and No. 40 – *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34, 75-80.
19. Park, S.M., J.S. Lee, C.D. Park, J.H. Lee, H.J. Jung, and T.S. Yu. 2006. Selection and antifungal activity of antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* KMU-13 against cucumber scab, *Cladosporium cucumerinum* KACC 40576. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 21, 42-48.
20. Ryu, H.Y., S.M. Ahn, J.S. Kim, I.C. Jung, and H.Y. Sohn. 2010. Antimicrobial activity of fruit of *Crataegus pinnatifida* Bunge against multidrug resistant pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* sp. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 38, 77-83.
21. Ryu, H.Y., S.M. Ahn, Y.K. Shin, and H.Y. Sohn. 2010. Antimicrobial and hemolytic activity of oriental medicinal herbs. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 38, 190-197.
22. Tak, S.B., D.H. Kim, S.K. Yoon, and Y.C. Lee. 2005. Effects of natural preservatives and storage temperatures on quality and shelf-life of fresh pork meat. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37, 557-561.
23. Tosi, E.A., E. Re, M.E. Ortega, and A.F. Cazzoli. 2007. Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food Chemistry* 104, 1025-1029.
24. Yu, Y.E., E.Y. Park, D.H. Jung, S.H. Byun, S.C. Kim, and S.M. Park. 2010. Antibacterial effect of oriental herbs on dental pathogens. *Kor. J. Microbiol.* 46, 200-206.