

백작약으로부터 식품부패 미생물에 대한 항균성 물질의 분리 및 동정

황재선 · 전희정 · 한영실
숙명여자대학교 식품영양학과

Isolation and Identification of Antimicrobial Compound from Jakyak (*Paeonia japonica* var. *pilosa* N_{AKAI})

Jae-Sun Hwang, Hui-Jung Chun and Young-Sil Han

Department of Food and Nutrition, Sookmyung women's University

Abstract

Antimicrobial activity of Jakyak(*Paeonia japonica* var. *pilosa* N_{AKAI}) was investigated. Methanol extract of dried Jakyak was fractionated to hexane, chloroform, ethylacetate, butanol and aqueous fraction. Ethylacetate fraction among these fractions showed the highest inhibitory effect on the microorganisms such as *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, and *V. parahaemolyticus* at 500 µg/disc. Ethylacetate fraction was further fractionated into 11 fractions by silica gel column and thin layer chromatography(TLC). The results showed that ethylacetate fractions No. 3, 4 and 5 had the highest antimicrobial activity. They were mixed again, re-separated, and 5 fractions were obtained. Among them, the highest inhibitory effect was obtained in No. 3 fraction, which was identified as cetyl alcohol by HPLC and GC-MS.

Key words: antimicrobial activity, Jakyak(*Paeonia japonica* var. *pilosa* N_{AKAI}), ethylacetate fraction, cetyl alcohol

I. 서 론

최근 식품 소비 패턴의 변화와 외식산업의 발달로 생활의 고급, 편리화 추구에 따라 가공식품과 인스턴트 식품 소비가 증가하고 있다¹⁾.

이에 따라 식품의 부패와 변질을 방지하고 장기간 보존을 위해 식품보존제의 사용이 증가하고 있다. 그러나 대부분의 식품 보존제는 화학합성품으로 체내 축적시 위장장애나 발암 및 돌연변이 유발과 같은 부작용에 대한 우려로 인체에 무해한 대체 보존제에 대해 관심이 기울여지고 있다. 식용식물 및 생약 등의 천연물로부터 특정 성분을 추출하여 천연식품보존제를 개발하려는 연구가 이루어져^{2,3)} 쪽, 민들레, 질경이, 두릅수피, 상백피 등의 항균 효과등이 보고되고 있다^{4,7)}.

쪽의 coumarin, 산초의 hexadecanoic acid, 민들레의 benzoic acid, 질경이의 hexadecanoic acid 등 성분의 식품부패 미생물에 대한 항균성이 보고되었다^{4,5)}.

백작약(*Paeonia iaponica* var. *pilosa* N_{AKAI})은 미나리아재비과에 속하는 여러해살이풀로서 길고 살찐 뿌리를 가지고 있으며 줄기는 곧게 서고 60 cm 안팎의 높이로 한방에서 진통, 해열, 조혈, 지한등의 효능을 가지고 있

는 것으로 알려져 있다⁸⁾. 본 연구에서는 천연식품보존제 개발의 일환으로 예로부터 구황식물이자 약용식물로 이용되어 온 백작약을 메탄올로 추출하여 항균성을 살펴보고, 항균성을 나타내는 물질을 분리, 동정하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 백작약(*Paeonia iaponica* var. *pilosa* N_{AKAI})은 1997년 경상북도 의성에서 채취하여 건조시킨 것을 서울 경동시장에서 구입하여 분쇄한 후 실험에 사용하였다.

2. 백작약 추출물의 항균성 검색

분말화한 백작약을 Fig. 1과 같이 80°C에서 3시간 동안 메탄올로 3회 반복 추출하여 여과, 농축후 메탄올 추출물을 얻었다. 메탄올 추출물의 항균성 검색은 Fig. 2와 같은 방법으로 균주를 24시간 37°C incubator에 배양시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하여 실시하였다. 사용한 균주는 자연계에 널리 분포하여 식품을 변질시키는 *Bacillus subtilis* KCTC 1021, 저온에서도 생육하여 냉

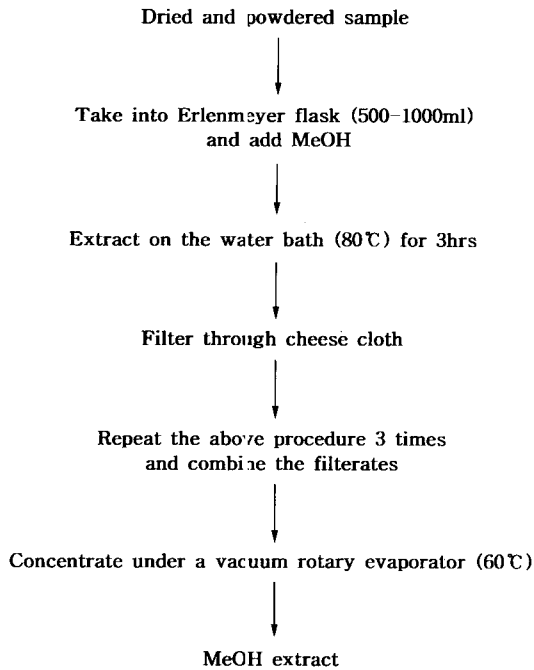


Fig. 1. Extraction procedure of MeOH extract.

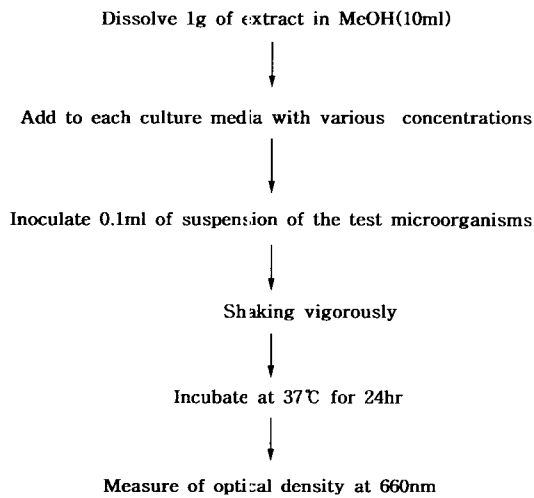


Fig. 2. Antimicrobial activity assay.

등, 냉장 식품에서 오염의 원인이 되는 *Listeria monocytogenes* KCCM 40307, gram 양성균으로서 enterotoxin을 생성하여 식중독의 원인이 되는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, gram 양성균으로 오염의 지표균이면서 부패세균인 *Escherichia coli* KCTC 2441, 그리고 호열성 균으로 장염의 원인균이며 식중독을 일으키는 *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471을 사용하였다. 배지는 *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* 그리고

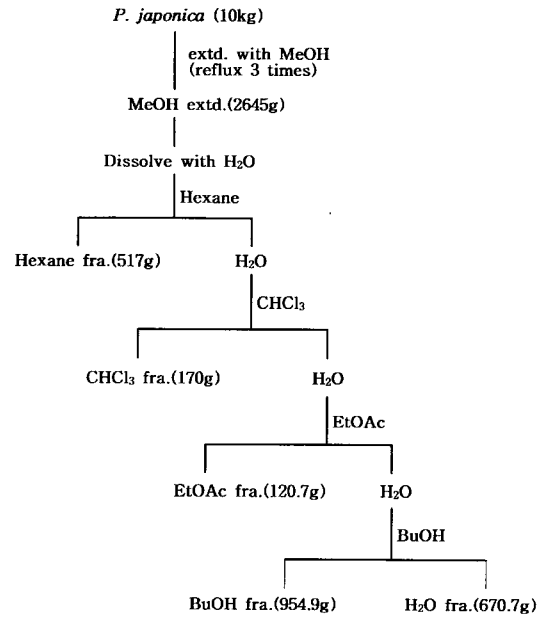


Fig. 3. Fractionation procedure of the methanol extract from *P. japonica*.

*E. coli*는 tryptic soy broth(Difco)와 nutrient agar(Difco)를 사용하였고 *V. parahaemolyticus*는 위와 같은 배지에 NaCl을 3%첨가하여 사용하였다.

3. 시 약

추출과 silica gel column chromatography용 용매는 시약용 1급을 사용하였고 TLC plate는 Merck사의 1.05715, 25 DC-platten kiesel gel 60을 구입하여 사용하였다.

4. 백작약 추출물의 분획

시료 10 kg으로부터 얻은 메탄올 추출물을 증류수에 현탁한 후 Fig. 3과 같이 *n*-hexane을 가하여 분획한 후 여과 감압 농축하여 분획물 517 g을 얻었다. 이와같은 방법으로 chloroform, ethylacetate, *n*-butanol 및 물로 극성이 낮은 용매에서 극성이 높은 용매로 순차적으로 계통 분획하여 chloroform 분획물 170 g, ethylacetate 분획물 120.7 g, butanol 분획물 954.9 g 그리고 물 분획물 670.7 g을 얻었다.

5. 백작약 추출물의 용매 분획별 항균성 검색

계통분획물의 항균성 검색은 paper disc법⁹⁾으로 하였으며 시험용 평판 배지는 nutrient agar를 멸균 후 직경 9 cm인 petridish에 15 ml씩 분주하여 clean bench에서 하룻밤 건조시키고 그 위에 각 균주의 배양액 100 μ l를

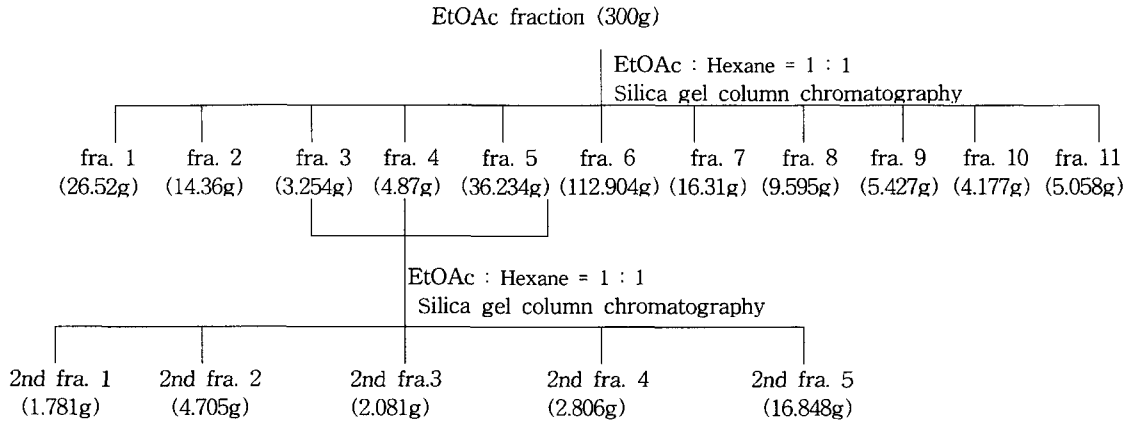


Fig. 4. Fractionation of ethylacetate extract from *P. japonica* by passing through a silica gel column.

구부린 막대로 도말하였다. 각 용매분획별 분획물의 농도를 500-2000 µg/disc로 하였다. 이를 멸균된 disc(직경 8 mm, Toyo Seisakusho Co.)에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate 표면에 올려놓은 후 37°C의 incubator에서 24시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로 항균활성을 측정하였다.

6. 항균성 물질의 분리

백작약의 ethylacetate fraction을 Fig. 4와 같이 silica gel chromatography(7 cm×120 cm)를 이용하여 (EtOAc:Hexane = 1:1)-MeOH 용매계로 methanol 농도를 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 100%까지 step-wise 방법으로 용출분획하고 TLC로 각 분획물을 전개시켜 11개의 fraction을 얻었다. 11개의 fraction을 다시 5개의 시험관주를 이용하여 항균성이 높게 나타난 3, 4, 5번째 fraction을 합쳐서 다시 silica gel column chromatography(5 cm×75 cm)와 TLC로 분리하여 5개의 fraction을 얻었고 이 중에서 항균력이 가장 우수한 3번째를 얻었다.

7. 항균성 물질의 동정

1) HPLC

백작약의 ethylacetate의 3번째 2rd fraction을 단일분리하기 위하여 Table 1의 조건으로 HPLC분석을 실시하였다.

2) GC-MSD

Mass spectrum(MS)은 Hewlett-Packard 6890 Gas Chromatography와 연결된 Hewlett-Packard 5973 MSD를 사용하였다. 분석조건은 Table 2와 같다. Column은 HP-5SM column(30 m×0.25 mm×0.25 µm)이었으며 column 온도는 40°C에서 3분 유지시킨후 10°C/min으로 승온하여

Table 1. Operating conditions of HPLC for analysis of antimicrobial compounds from *P. japonica*

Requester	Condition
Instrument	Waters Associates
Column	µ-C18 bondapak
Eluent	Water
	Water : Acetonitrile (8:2)
Wave length	254 nm
Detector	Waters 441
Injection volume	25 µl

Table 2. Operating conditions of GC/MS for analysis of antimicrobial compounds from *P. japonica*

Requester	Condition
Instrument	Hewlett-Packard 6890 GC Hewlett-Packard 5973 MSD
EI condition	Electron energy : 70 eV Source Temperature : 230°C Trap Current : 300 µA
Column	HP-5SM (30 m×0.25 mm×0.25 µm)
Interface Temp.	280°C
Injector Temp.	250°C
Column Temp.	10°C/min 40°C (3 min)→320°C (1 min)
Carrier Gas	He (1.0 ml/min)

320°C, 1 min 조건으로 분석하였다. Interface 온도는 280°C였고, injector 온도는 250°C였으며 ion source temperature는 230°C였으며 electron energy는 70 eV였다. Carrier gas는 He(1.0 ml/min)을 사용하였다.

III. 실험결과 및 고찰

1. 백작약 추출물의 항균성

백작약을 건조시켜 분쇄한 후 methanol로 추출한 것을 10%농도로 희석하여 500, 1,000, 1,500, 2,000 µg/

ml씩 첨가하여 식품 부패 미생물의 증식 억제 효과를 검색한 결과는 Table 3과 같다. 백작약의 methanol 추출물은 1500 µg/ml 농도에서 *B. subtilis*, *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*의 증식을 100% 억제하였으며 *L. monocytogenes*와 *E. coli*도 같은 농도에서 각각 65.93%와 83.27%의 억제 효과를 보였다. 또한 2000 µg/ml 농도에서 *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*의 증식을 100% 억제하였으며 *L. monocytogenes*도 같은 농도에서 73.39%의 억제 효과를 보였다.

일반적으로 G(-) bacteria보다 G(+) bacteria에 대하여 정유 성분들이 민감하게 반응하여 항균력이 훨씬 높다고 보고^{10,11)} 되었으나 본 실험에서는 G(-) 균주인 *V. parahaemolyticus* 균주의 증식에도 추출물이 민감하게 반응하는 경향을 보여주었다. 따라서 김⁴⁾의 연구에 의하

던 산초의 methanol 추출물이 G(+) 균주보다 G(-) 균주인 *E. coli*가 민감하게 반응하였다고 보고하였고, Kim 등¹²⁾의 연구를 보면 carvacrol을 비롯한 8종의 정유 성분들은 G(-) 균주인 *Vibrio vulnificus*에 가장 민감한 효과를 보인 반면, G(+) 균주인 *L. monocytogenes*에 대하여 가장 큰 저항성을 보여 균주의 증식 억제 효과는 균주의 형태에 의해 영향을 받는다고 확인하기는 어렵다고 하겠다. 또한 어성초를 대상으로 항균력을 측정 한 김 등¹³⁾의 연구에서는 8 mm paper disc로 clear zone의 직경을 측정하였는데 대부분의 공시균주에 대하여 0.25~0.75 g/ml의 MIC를 보여 본 실험의 백작약이 더 높은 항균력을 나타내었다. 김⁵⁾의 민들레와 질경이의 methanol 추출물에 대한 연구에서 나타난 항균효과보다 더 큰 clear zone을 나타내었다. 본 실험의 백작약이더

Table 3. Antimicrobial activity of methanol extract from *P. japonica* against of food spoilage microorganisms

sample name	Conc. (µg/ml)	Antimicrobial activity(%)				
		<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>E. coli</i>
<i>P. japonica</i>	500	59.52	43.75	-	27.26	19.47
	1000	100.00	51.13	98.10	97.05	41.68
	1500	100.00	65.93	100.00	100.00	83.27
	2000	100.00	73.39	100.00	100.00	100.00

Table 4. Antimicrobial activity of various solvent fractions from methanol extract of *P. japonica* on the growth of various microorganisms

Solvent Fractions	Conc. (µg/disc)	Clear zone(mm)				
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
Methanol	500	9	- ¹⁾	-	9	-
	1000	11	10	10	10	10
	1500	12	11	11	11	12
	2000	13	12	12	13	15
Hexane	500	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-
	1500	-	-	-	-	-
	2000	-	-	-	-	-
Chloroform	500	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-
	1500	8.5	-	-	-	-
	2000	9	-	-	-	-
Ethylacetate	500	9	8.5	-	12	10
	1000	10	10	11	13	11
	1500	11	11	12	14	12
	2000	12	12	13	15	13
Butanol	500	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-
	1500	-	-	-	-	-
	2000	-	-	-	-	-
Water	500	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-
	1500	-	-	-	-	-
	2000	-	-	-	-	-

1) -: not detected.

낮은 농도에서 항균 효과를 보여 주었다고 하였다.

2. 백작약 추출물의 분획별 항균성

5종의 공시균주에 대하여 항균성을 나타낸 백작약 methanol 추출물은 항균성 물질을 분리할 목적으로 n-hexane, chloroform, ethylacetate, n-butanol 및 물 순으로 점차 극성을 높여서 분획하여 항균성을 검색한 결과

를 Table 4에 나타내었다. 백작약의 ethylacetate 분획 추출물은 낮은 농도인 1000 µg/disc의 농도에서 식품 부패 미생물 5종 모두에 대하여 clear zone을 형성하여 항균력을 나타내었다. 특히 *S. aureus*, *B. subtilis*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli*균에 대해서는 가장 낮은 농도인 500 µg/disc에서 clear zone을 나타내었으며 또한 2,000 µg/disc 농도에서 *L. monocytogenes*, *E. coli* 및

Table 5. Antimicrobial activity of the first ethylacetate fractions from methanol extract of *P. japonica* on the growth of various microorganisms

Fraction No.	Conc. (µg/disc)	Clear zone(mm)				
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>E. coli</i>
1	250	- ¹⁾	-	-	8.5	-
	500	-	-	-	9	-
	750	-	-	-	9.5	-
	1000	-	-	-	10	8.5
2	250	8.5	-	13	13	10
	500	9.5	-	15	16	12
	750	10	-	18	18	13
	1000	10.5	-	23	20	14
3	250	10	8.5	13	12	11
	500	12	10	18	15	13
	750	13	11	22	20	15
	1000	14	12	28	22	16
4	250	8.5	8.5	10	10	8.5
	500	9	9	12	11.5	10
	750	9.5	9.5	18	12	11
	1000	10	10	27	14	12
5	250	12	11	8.5	12	11
	500	12.5	11.5	9	13	11.5
	750	13	12	11	14	12
	1000	13.5	13	13	15	12.5
6	250	10	-	8.5	12	10.5
	500	12	-	11.5	13	11
	750	14	-	12	14	12
	1000	14.5	-	14	15	12.5
7	250	-	-	8.5	9	9
	500	8.5	8.5	10	10.5	10
	750	9	9	10.5	11	10.5
	1000	10	10	11	12	11
8	250	9	8.5	-	10	10.5
	500	10	11.5	9	11	11
	750	11	12	11	11.5	12
	1000	12	15	12.5	12	13
9	250	8	-	11.5	9	-
	500	8.5	-	13	10	8.5
	750	9	8.5	15	10.5	9
	1000	10	9	16	11	10
10	250	8.5	9	-	9	9.5
	500	9.5	10	9	9.5	11
	750	10	10.5	9.5	10	11.5
	1000	10.5	11	10	12	12
11	250	8.5	-	9	-	-
	500	11	-	10	-	-
	750	11.5	-	13	8.5	-
	1000	12	8.5	14	9	8.5

1)-: not detected.

*V. parahaemolyticus*는 각각 13, 15, 13 mm의 clear zone을 형성하였다. 또한, chloroform 분획도 *B. subtilis* 균에 대해서는 1500 µg/disc농도에서 clear zone을 형성하였다. 그러므로 백작약의 항균 효과를 추출 용매별로 살펴보면 ethylacetate 층이 가장 우수하고 그 다음이 chloroform 층의 순으로 나타났다. 남 등¹⁴⁾은 산국의 chloroform 분획물이 *B. subtilis*와 *V. parahaemolyticus*에 대하여 항균 효과를 갖는다고 하였고, 김과 한¹⁵⁾은 산초의 methanol 추출물은 *B. subtilis*, *S. aureus*와 *E. coli*에 대하여 1,000 µg/ml 농도에서 완전히 증식을 억제하였고, 이와 신¹⁶⁾은 느릅 뿌리의 chloroform 분획에서 항균 효과를 보였다고 하였다.

따라서, 백작약도 ethylacetate 분획에서는 높은 항균성을 보였고 chloroform 분획에도 약간의 항균성을 보이는 것으로 보아 각 용매 분획시 용매에 따라 항균성 물질이 용해되어 나타나는 것으로 생각되어 항균 물질은 단일 성분이기보다 여러 성분이 혼합되어 있는 것으로 생각된다.

3. Ethylacetate 분획물의 항균성

Ethylacetate 추출물을 silica gel column chromatography (7 cm×1.2 cm)한 후 thin layer chromatography(TLC)를 실시하여 Fig. 4와 같이 11개의 분획을 얻었고 그에 대한 항균성은 Table 5와 같다. 각 fraction의 농도가 1000 µg/

disc가 되도록 paper disc에 첨가한 후 5종의 공시균주를 대상으로 항균력을 검색하였다. 11개의 fraction 중 fra. 3, fra. 4 및 fra. 5이 모든 공시균주에 대하여 clear zone을 10~28 mm을 형성하여 항균성이 우수하게 나타났다. 1000 µg/disc 농도에서 *B. subtilis*의 경우 fra. 3, fra. 4 및 fra. 5가 각각 14, 10, 13.5 mm의 clear zone을 형성하였고, *L. monocytogenes*의 경우 fra. 3과 fra. 4에서 28, 27 mm의 clear zone을 형성하여 강한 항균력을 보였고, *S. aureus* 경우도 같은 농도에서 fra. 3과 fra. 5가 각각 12, 13 mm의 clear zone을 나타내었다. 또한 *E. coli*는 fra. 3이 16 mm의 clear zone을 보였고, *V. parahaemolyticus*는 fra. 3과 fra. 5가 각각 22, 15 mm 크기의 clear zone을 보였다. 따라서 어떤 fraction 보다 높은 항균력을 보인 fra. 3, fra. 4 및 fra. 5을 합쳐서 다시 silica gel column chromatography(5 cm×75 cm)와 TLC plate를 이용하여 5개의 분획을 얻어내었다. 5개의 분획에 대한 항균성 실험을 한 결과는 Table 6과 같다. *B. subtilis*의 경우 1000 µg/disc 농도에서 2nd fra. 2, 3 및 2nd fra. 4가 각각 18, 17, 16 mm 크기의 clear zone을 형성하였고, *L. monocytogenes*는 250 µg/disc 농도에서 2nd fra. 3이 21 mm를, *S. aureus*는 2nd fra. 3이 13 mm의 clear zone을 형성하였고, *V. parahaemolyticus* 균주는 2nd fra. 4가 14 mm로 가장 큰 clear zone을 보였다.

G(-) 균주인 *E. coli*의 경우 clear zone의 크기가 2nd

Table 6. Antimicrobial activity of the second ethylacetate fractions from methanol extract of *P. japonica* on the growth of various microorganisms

Fraction No.	Conc. (µg/disc)	Clear zone(mm)				
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>E. coli</i>
1	250	- ¹⁾	-	-	9.0	-
	500	-	8.5	-	10.0	9.5
	750	11.0	10.0	8.5	11.5	10.0
	1000	12.0	11.0	9.0	13.0	11.0
2	250	11.0	11.0	16.0	11.0	9.0
	500	12.0	13.0	20.5	16.0	12.0
	750	14.0	17.5	29.0	17.0	16.0
	1000	18.0	26.0	31.0	19.0	18.0
3	250	10.5	13.0	21.0	13.0	8.5
	500	11.0	15.0	28.0	15.0	12.0
	750	15.0	20.0	30.0	18.0	16.0
	1000	17.0	23.0	35.0	21.0	8.0
4	250	-	10.0	17.0	14.0	11.0
	500	13.0	14.0	18.0	17.5	14.0
	750	15.5	18.0	25.0	18.0	15.0
	1000	16.0	19.0	29.0	20.0	21.0
5	250	10.0	10.5	12.0	11.0	11.0
	500	11.0	11.0	16.0	12.0	12.0
	750	12.0	12.0	17.0	14.0	13.0
	1000	13.0	12.5	18.0	16.0	14.0

1)-: not detected.

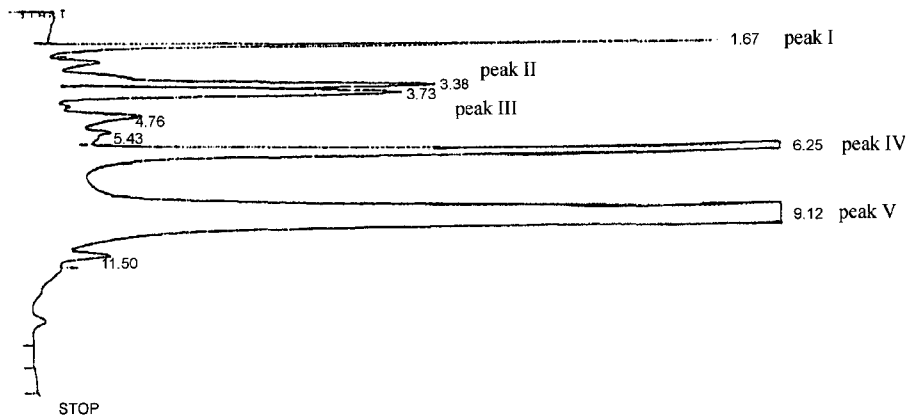


Fig. 5. HPLC spectrum of 2nd fra.3 of ethylacetate fraction from *P. japonica*.

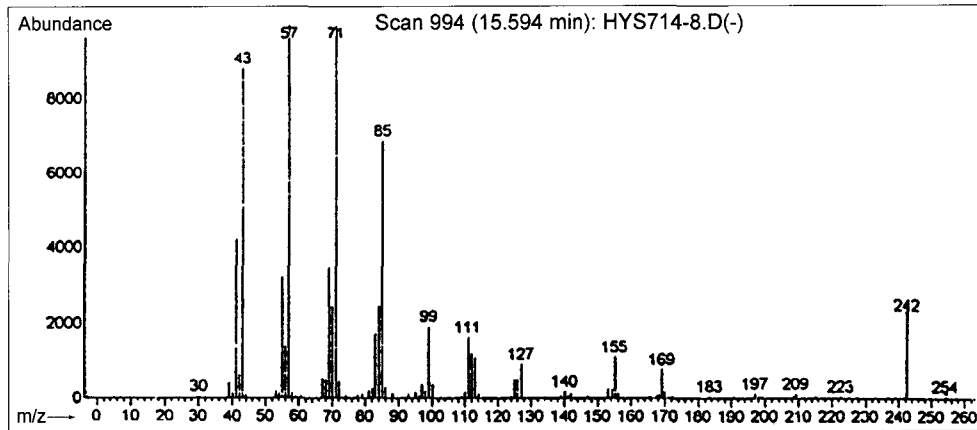


Fig. 6. GC-MS spectrum of antimicrobial compound in peak III from *P. japonica*.

fra. 4가 11 mm로 나타났고, 2nd fra. 1은 250 µg/disc 농도에서는 *V. parahaemolyticus*를 제외한 모든 균주에서는 항균 활성이 나타나지 않았다.

이상의 결과를 볼 때 백작약 ethylacetate 추출물은 *B. subtilis*, *S. aureus*와 *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes*에 대하여 항균 활성이 뛰어난 것을 볼 수 있었으며 1차 분획 추출물이나 2차 분획 추출물들이 clear zone을 형성하는데 큰 차이가 없는 것으로 미루어 항균성에 관여하는 물질은 단일 성분의 물질이라기 보다 여러 성분들이 혼합된 복합 물질로 존재하는 것으로 생각된다.

4. 분리된 활성 성분의 구조 결정

백작약의 methanol 추출물로부터 각 용매별로 계통 분획하여 분리한 ethylacetate 분획으로부터 silica gel column chromatography와 TLC를 하여 항균성을 보인

2rd fra. 3의 성분을 알아보기 위하여 HPLC로 Fig. 5와 같이 분리하여 peak I, II, III, IV, V에 대한 compound를 GC-MS로 분석하였다. GC-MSD(m/z)를 분석한 결과 다른 peak에서는 항균성과 관련된 물질은 없었고 Fig. 6과 같이 peak III에서 molecular ion(m⁺)이 242로 관찰되어 peak III에서는 Cetyl alcohol이 있는 것으로 추정되었다.

지금까지 연구된 바에 의하면 탄소수가 12-18개의 중급지방산들이 항균효과가 있다고 하였다.^{17,18)} 또한 김⁴⁾은 산초의 hexadecanoic acid를 항균물질로 보고하였고 송 등¹⁹⁾은 청미래덩굴의 항균력과 관련된 물질은 페놀성 화합물의 일종이라고 보고하였다.

IV. 요약

우리나라 야산에서 손쉽게 구할 수 있는 구황식물인

백작약을 건조시켜 분쇄한 후 methanol과 여러용매로 추출하여 식품 부패 미생들의 증식 억제 효과를 검색하고 그 항균물질을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 백작약의 methanol 추출물은 1500 µg/ml 농도에서 *B. subtilis*, *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*의 증식을 100% 억제하였으며 *L. monocytogenes*와 *E. coli*도 같은 농도에서 각각 65.93%와 33.27%의 억제 효과를 보였다. 백작약의 ethylacetate 분획 추출물은 낮은 농도인 1000 µg/disc의 농도에서 식품 부패 미생물 5종 모두에 대하여 clear zone을 형성하여 항균력을 나타내었다. 특히 *S. aureus*, *B. subtilis*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli*균에 대해서는 낮은 농도인 500 µg/disc에서 clear zone을 나타내었으며 또한 2,000 µg/disc 농도에서 *L. monocytogenes*, *E. coli* 및 *V. parahaemolyticus*는 각각 13, 15, 13 mm의 clear zone을 형성하였다. 백작약의 Ethylacetate 추출물을 silica gel column chromatography (7 cm×1.2 cm)한 후 thin layer chromatography(TLC)를 실시하여 항균성 실험을 한 결과 *B. subtilis*의 경우 1000 µg/disc 농도에서 2nd fra. 3이 17 mm, *L. monocytogenes*는 250 µg/disc 농도에서 21 mm를, *S. aureus*는 13 mm의 clear zone을 형성하여 백작약의 methanol 추출물로부터 각 용매별로 계통 분획하여 분리한 ethylacetate 분획으로부터 silica gel column chromatography와 TLC를 하여 항균성을 보인 2rd fra. 3의 성분을 알아보기 위하여 HPLC로 단일분리하여 얻은 peak III에 대한 compound를 GC-MS로 분석한 결과 peak III에서는 Cetyl alcohol이 있는 것으로 추정되었다.

감사의 글

본 연구는 농림부의 농림기술개발 연구과제로 수행된 연구의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 안은영, 신동화, 백남인, 오진아 : 감초로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조분석. *Korean sci. Technol.*, **30**(3): 680, 1998
- 한국식품영양학회편. 식품위생관계법규(제4개정판) : 문운당, 2000
- 신동화 : 천연 항균성 물질의 연구 현황과 식품가공에의 이용. *식품과학과 산업*, **23**(4):68, 1997
- 김순임 : 야생 식물의 첨가가 빵과 떡의 저장성 향상에 미치는 영향. 부경대학교 박사학위논문, 34, 1997
- 김건희 : 민들레와 질경이로부터 항균물질의 분리, 동정 및 식품에의 첨가효과. 숙명여자대학교 박사학위논문, 20, 1999
- 마승진, 고병섭, 박근형 : 두릅수피에서 항미생물 활성을 갖는 3,4-dihydroxybenzoic acid의 분리. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**(5):807, 1995
- 박옥연, 김신희, 김지희, 김용관, 장동석 : 상백피 추출물로부터 항균성 물질의 분리, 정제, *J. Fd Hyg. Safety*, **10**(4):225, 1995
- 최영진 : 산나물 재배와 이용법. 오성출판사, p252, 1991
- Davidson, P. M. and Parish, M. E. : Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.*, January, 148, 1989
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewidi, F. M. and El-Baroty, G.S.A. : Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.*, **52**:665, 1989
- Lemos, T. L. G., Matos, F. J. A., Alencar, J. W., Craveiro, A. A., Clark, A. M. and McChesney, J. D. : Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytother. Res.*, **4**(2):82, 1990
- Kim, J. M., Marshall M. R. and Wei, C. I. : Antibacterial activity of some essential oil componets against five foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **43**:2839, 1995
- 김근영, 정동욱, 정희종 : 어성초의 화학성분 및 항미생물 활성. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**(3):400, 1997
- 남상해, 양민석 : 산국추출물의 항균력. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, **13**(1):56, 1997
- 김순임, 한영실 : 산초로부터 항균성 화합물의 분리 및 동정. *Korean J. Soc. Food Sci.*, **13**(1):56, 1997
- 이병완, 신동화 : 식품부패미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균특성. *Korean J. Food Sci. Tech.*, **23**(2):205, 1991
- Kubo, I., Hisae, M. and Kubo, A. : Antibacteria activity of long-chainalcohols against *Streptococcus mutans*. *J. Agric. Food Chem.*, **41**:2447, 1993
- Jay, J. M. : Food preservation with chemicals. In "Modern Food Microbiology", 3rd ed., Van Nostrand Reinhold Co., New York, 257, 1986
- 송중호, 권혁동, 이원구, 박인호 : 청미래덩굴 뿌리에서 추출한 순차 분획물의 항균 활성과 성분 분석. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**(4):574, 1998

(2000년 9월 27일 접수)