

원저

발효 금은화 및 황련의 유해균 억제 효과

이신지 · 이명종 · 정지은 · 김호준 · Shambhunath Bose

동국대학교 한의과대학 한방재활의학과교실

Antimicrobial Effects of Fermented *Coptidis rhizoma* and *Lonicerae Flos* against pathogen

Sin Ji Lee, O.M.D, Myeong-Jong Lee O.M.D, Ji Eun Jung, Ho-Jun Kim O.M.D, Shambhunath Bose PH.D

Dept of Oriental Rehabilitation Medicine, Dongguk University, Seoul, Republic of Korea

Objectives

This study was designed to examine antimicrobial effects of Fermented *Coptidis rhizoma* and *Lonicerae Flos* against pathogens.

Methods

Lactobacilli MRS broth was added to 200mL glass bottle containing 20% herb powder(w/v) followed by 30 minute sonication and then shaking at 70 rpm in 70 ° c water bath for 3 hours in order to extract fermented herb. Fermented herb extract was autoclaved at 121 ° for 15minutes. 2×10^7 CFU/mL subcultured bacteria was inoculated and cultured for 24 hours and centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes. After transferring to 15 mL conical tube, the viable cells were counted.

Results and Conclusion

Fermented *Coptidis rhizoma* and *Lonicerae Flos* both showed antimicrobial effect on pathogens especially when Fermented *Coptidis rhizoma* was experimented against *Staphylococcus aureus*.

Key Words : Fermented Herbal extracts, *Coptidis rhizoma*, *Lonicerae Flos*, Pathogens, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*

- 교신저자 : 김호준, 경기도 고양시 일산동구 식사동 동국대학교 일산한방병원 한방재활의학과
Tel.: (031)961-9111, fax: (031)961-9009, e-mail: kimklar@dongguk.ac.kr
- 접수: 2011년 06월 16일 수정:2011년 06월 25일 채택:2011년 06월 27일

I. 서론

장내에는 숙주의 면역능력을 자극하거나 감염을 방어하고 건강 유지에 기여하는 유익균과 장내 부패를 일으키거나 독소, 발암물질 등을 생성해서 숙주의 노화 촉진 및 발암 등에 관여하는 유해균이 같이 존재하는데, 이들의 균형에 의해 건강 상태가 조절된다^{1,2)}. 장내 환경을 건강하게 유지시키기 위해서는 유익균의 장내 증식을 촉진시키고 유해균을 억제하는 것이 중요하다. 성인에서 장관 내 정상적으로 존재하는 미생물들은 장내 독성 물질의 제거, 장내면역 기능을 자극하는 역할에 관여하기 때문에³⁾ 장내 미생물 균총의 변화는 알러지와 같은 다양한 염증성 질환을 유발시킬 수 있다⁴⁾.

최근 경구로 투여되는 한약의 특성으로 인하여 장내 세균총이 한약 제제의 대사와 흡수에 영향을 미치며 이에 따른 약효의 발현과 상관성에 관한 연구들이 제시되고 있다⁵⁾. 일반적으로 경구 투여되는 물질은 장관을 통과하면서 장내세균의 동화 및 이화작용을 거치게 되는데 한약 구성성분의 상당수는 인체 내에서 소화 흡수되지 않지만 장내세균에 의해 대사되어 활성물질로 변화된 후 약효를 발현하기도 하며, 이에 따라 같은 한약을 복용함에도 사람마다 그 효과가 다른 것이 장내 미생물 균총의 구성이 다른 것과 관련되어 있다는 주장이 제기되고 있다⁶⁾. 따라서 경구 투여된 한약이 장내 미생물 균총에 영향을 미쳐 유해균의 증식을 억제시키면서 생체의 항상성을 유지하는데 밀접히 연관되는 것으로 보인다⁷⁾. 이와 관련하여 한약 제제의 다양성에 대한 연구 개발이 시급해지고 있으며, 그 중 발효 한약의 장점이 많이 부각되고 있는 실정이다.

발효 한약이란 한약재를 우수한 종균으로 발효시켜 원래 한약이 가지는 약효를 증가시키거나 새

로운 기능을 추가한 약재를 말한다⁸⁾. 한약재를 발효시키기 위해서는 약물을 일정한 처리를 거친 후 일정 온도와 습도의 조건하에서 곰팡이와 효소의 촉매 분해 작용에 의해 약물을 발효시키는 방법으로, 한약에 따라 일정한 방법을 채용한 후 온도와 습도가 적합한 환경 중 발효를 진행하게 된다¹⁾. 장내 세균에 의한 발효 과정을 거치면서 발효인삼이 기존의 인삼류에 비해 대사 및 흡수에 유리해질 것으로 기대된다는 연구가 입증해주는 것 처럼⁹⁾ 일반한약에 비해 발효 한약이 약효가 빠르고 소화흡수율이 뛰어나며 항산화 효과 및 농약, 중금속으로부터 상대적으로 안전하다는 장점¹⁰⁾이 있다는 것이 보고된 바 있다.

비만치료영역에서 장내미생물 균총의 역할과 발효 한약의 활용에 대한 연구가 진행되면서 발효한약이 장내 미생물 균형유지에 효과적이라는 결과가 보고되고 있다¹⁾. 장내 미생물균총의 기능을 회복시키는데 유산균을 이용한 발효음식과 한약재를 장내 미생물이 잘 이용할 수 있게 수리한 발효 한약이 약효성분의 체내흡수율과 생체 이용률을 극대화시킬 수 있어 비만치료에 있어 중요한 역할을 한다는 연구가 보고되면서¹¹⁾ 발효 한약의 임상적용범위가 더욱 확장될 수 있는 계기가 마련되었다.

발효 한약재의 효과에 대한 선행연구에서는 전통발효 공정으로 생성된 오미자 성분의 활성으로 세포독성이 감소하고 세포활성이 증가하여 면역실험에서 유효활성 증진을 나타내는 것을 확인할 수 있었다¹²⁾. 유산균을 이용한 발효인삼 제조에 대한 연구도 시행되었는데, *Lactobacilli* 및 *Bifidobacterium*과 같은 유산균은 당류를 발효하여 젖산(lactic acid)을 생성하는 세균으로서 사람의 장내에서 우세균으로 분포하고 체내 유익균의 성장을 촉진하는 생균 활성제(probiotic)로서 위장기능을 개선하고 면역조절을 담당하는 등 다양한 생리 조절 작용을 하는 것으로 보고되었다¹³⁻¹⁴⁾. 반면에 유산균

을 이용한 인삼 발효물을 제조하였을 때 기대할 수 있는 면역 활성 및 장내 미생물 조절 효과에 대한 연구는 아직 세부적으로 진행되지 않았다.

황련(*Coptidis rhizoma*) 및 금은화(*Lonicerae Flos*)는 폴리페놀을 비롯한 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있어 항산화와 항균효과가 뛰어나 예전부터 그 효과를 위해 널리 사용되어 왔다. 선행연구에서 황련과 금은화를 식중독 유발세균에 처리하였을 때 우수한 항균 효과가 있었다고 보고되고 있으며¹⁵⁻¹⁶, 황련 추출물의 생리 활성 실험에서 황련의 우수한 항산화 효과가 나타났다고 보고하고 있다¹⁷. 그러나 황련과 금은화를 발효하였을 때 나타나는 유해균에 대한 효과는 아직 연구가 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 항염작용이 있다고 알려져 있는 대표적인 한약재인 황련과 금은화를 선택하여 실험을 진행함으로써 발효 한약재 활용이 유해균 억제에 유효하다는 사실을 입증하고, 임상에서의 활용 가능성에 대해 고찰해 보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 실험재료

황련 (*Coptidis rhizoma*), 금은화 (*Lonicerae Flos*) 분말은 동국대학교 일산병원으로부터 제공받아 밀봉한 후 暗所에서 보관하여 사용하였다.

2. 방법

1) Starter 제조

발효에 사용된 균주는 한국미생물 보존센터로부터 분양받은 *Lactobacillus brevis* (KCCM 40399), 셀바이오텍에서 분양받은 *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*를 이용하였다. 스타터 배양액은 autoclave를 이용하여 121℃에서 15분간 멸균한 액체배지(Lactobacilli MRS broth, Difco)에 Lactobacilli MRS agar plate에서 균주에 따라 최적의 조건에서 배양한 균주를 1회 접종한 뒤 최적 조건에서 배양하여 스타터로 사용하였다. 균주에 따른 최적의 조건은 Table 1에 제시하였다.

2) 추출물 및 발효물 제조

본 실험에서는 황련, 금은화 추출물, 2가지 한약재를 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* 각각의 균주로 발효한 발효추출물을 시료로 이용하여 총 8개의 시료로 실험하였다. 한약재의 추출은 250mL 비커에 한약재 분말 30g에 Lactobacilli MRS broth 150mL을 첨가하여 실온 (15~20℃)에서 30분간 sonication한 뒤, shaking water bath를 이용하여 70℃, 70 rpm의 조건에서 3시간 동안 열수 추출하였다. 시료의 추출물은 auto-clave를 이용하여 121℃에서 15분간 멸균 시킨 후 실온에서 충분히 식히고 각 시료에 각각의 균주 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*를 2×10^7 CFU/mL이 되도록

Table 1. Culture media and cultural conditions

Strain	Culture medium	Cultural conditions
<i>Lactobacillus brevis</i>	Lactobacilli MRS broth/agar	30℃, 24hr
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lactobacilli MRS broth/agar	37℃, 24hr
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Lactobacilli MRS broth/agar	26℃, 24hr
<i>Salmonella spp.</i>	Nutrient broth/agar	37℃, 24hr
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nutrient broth/agar	37℃, 24hr

록 접종하여 Table 1에 제시한 조건에서 24시간 동안 발효한 뒤 autoclave를 이용하여 121℃에서 15분간 멸균 시킨 후 3000rpm에서 5분 동안 원심 분리하여 얻은 상층액을 실험에 이용하였다.

3) 유해균의 생육 저해 효과

한약재 및 발효 한약재가 유해균 억제에 미치는 영향을 살펴보기 위해 본 실험에서는 *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* 2종을 셀바이오텍에서 분양 받아 사용하였다. 각 균주는 2회 계대배양 후 사용하였다. 20% 시료 추출물을 각 균주의 액체배지와 1:1로 혼합하여 최종 농도가 10%가 되도록 한 후 각 균주를 2×10^7 CFU/mL이 되도록 접종하여 24시간 배양한 뒤 각 균주의 적합 agar plate에 도말하여 24시간 후에 확인하여 유해균 저해효과를 생균수 측정을 통하여 확인하였다. 유해균 생육 저해율은 다음과 같이 계산되었다.

$$\begin{aligned} & \text{유해균 생육 저해율(\%)} \\ & = [1 - (\text{시험군 처리 후 생균수} / \text{대조군 생균수})] \\ & \quad \times 100 \end{aligned}$$

4) 생균수 측정

항균작용이 우수하다고 알려져 있는 황련과 금은화의 유해균 억제 효과를 확인하기 위하여 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*로 발효한 발효추출물을 유해균 배지에 접종하여 24시간 동안 배양하였고 agar plate에 배양액을 도말하여 24시간 후에 생균수를 측정하였다. 각각의 균주로 발효한 한약추출물 100 μ l의 sample을 Neutrient broth 900 μ l에 넣고 10배수로 연속 희석한 뒤 결과의 유의성을 높이기 위해 집락수가 500미만으로 확인되는 희석 배수에서 배지당 2회씩 집락수를 측정하였다. 본

실험에서는 10^6 , 10^7 의 배수에서 집락수를 측정하였고 두 개 배수의 산술 평균을 구하여 원래 용액에 함유된 세균수를 산출하였다. 각각의 plate에 배양액 0.2ml만 도말하여 집락수를 측정하였기 때문에 생균수를 CFU/mL로 환산하려면 1mL 기준이 되어야 하기에 생균수는 집락수 측정값에 5배에 해당하는 값으로 환산되었다. 대조군에서는 유해균만을 배양시킨 배지의 생균수를 측정하였고, 시료 및 스타터 첨가를 제외한 모든 조건은 실험군과 동일하게 하여 실험하였다.

5) 통계처리

본 연구의 실험결과는 실험군당(n=4) 평균(mean)과 표준편차(SD)로 나타내었다.

III. 결과

1. 황련의 유해균 생육 억제 효과

황련의 유해균 생육 저해효과를 확인하기 위하여 각각의 균주로 발효된 한약재 추출물을 유해균 배지에 배양한 후 생균수를 측정된 결과는 Table 2~3과 같다. 대조군에서는 유해균만을 배양시킨 배지의 생균수를 측정하였고, x는 발효과정을 거치지 않은 한약재를 첨가한 배지의 생균수이며 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* 각각의 균주로 발효시킨 발효추출물을 배양하여 각각의 생균수를 측정하였다. 발효 황련은 *Staphylococcus aureus*에 대해 특히 더 강한 항균작용이 나타난다는 것을 확인할 수 있었다. 두 가지 유해균을 비교했을 때 나타나는 유해균 저해효과의 차이는 Figure 1에 표기하였다.

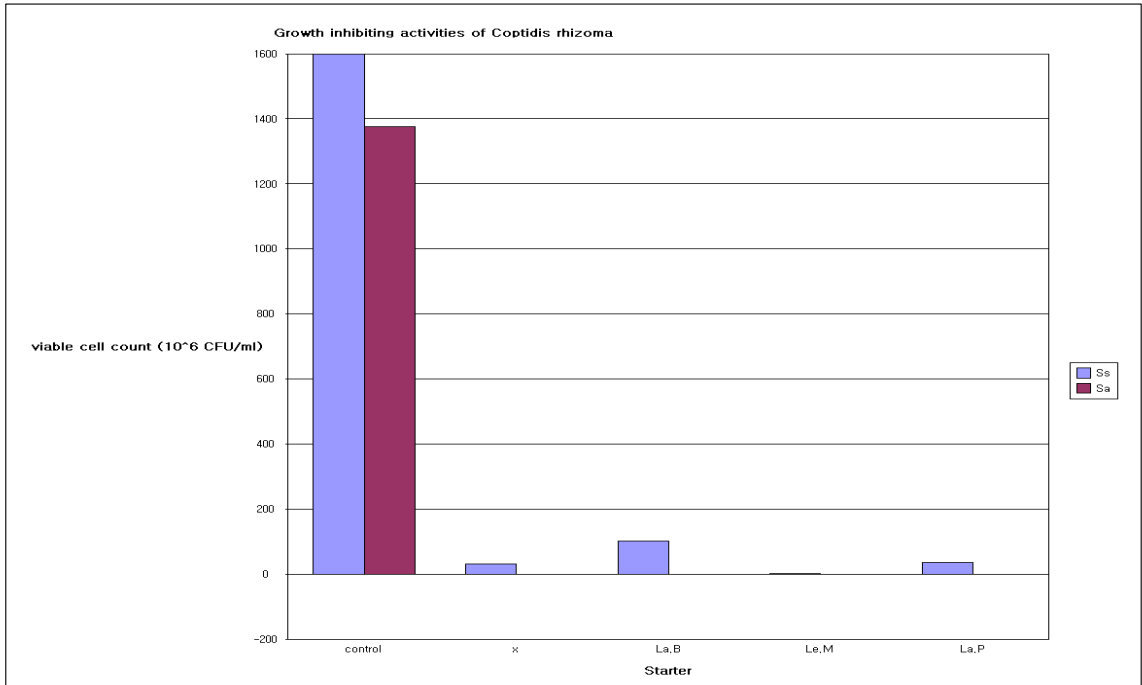


Fig. 1. Comparison of growth inhibition effect of Coptidis rhizoma against two different microorganisms. Ss: *Salmonella spp.*, Sa: *Staphylococcus aureus*, La.b: *Lactobacillus brevis*, Le.M: *Leuconostoc mesenteroides*, La.P: *Lactobacillus plantarum*

Table 2. Growth inhibiting activities of Coptidis rhizoma for *Salmonella spp.*

	CFU(x10 ⁶)				mean	viable cell no. (x10 ⁶ CFU/ml)	SD
control	227.0	271.0	520.0	290.0	327	1635.0	131.3
x	7.0	15.0	1.5	2.1	6.4	32.0	6.2
La.B	14.0	8.0	10.0	50.0	20.5	102.5	19.8
Le.M	0.3	0	-	-	0.2	0.8	0.2
La.P	13.0	5.8	2.4	-	7	35.3	5.4

La.M: *Lactobacillus brevis*, Le.M: *Leuconostoc mesenteroides*, La.P: *Lactobacillus plantarum*

1) *Salmonella spp.*에 대한 생육 억제 효과

Salmonella spp. 균주에 대한 황련의 항균력을 알아보기 위한 실험의 결과는 Table 2와 같다. 대조군에서 확인되는 생균수와 비교했을 때 x군의 균 생육 저해율은 98.04%로 발효과정을 거치지 않은 황련추출물 자체만으로도 유해균 생육 억제 효과가 우수하다는 것을 알 수 있으며 균 생육 저해율을 비교해 보았을 때 *Lactobacillus brevis* (94%),

Lactobacillus plantarum (97.9%)을 이용한 발효추출물과 배양한 균주보다 오히려 더 큰 유해균 억제 효과가 발현될 수 있다는 것을 알 수 있다. 또한 *Leuconostoc mesenteroides* (99.96%)로 발효했을 때 특히 강한 항균 효과가 나타났다는 것도 관찰되었다.

2) *Staphylococcus aureus*에 대한 생육 억제 효과

Staphylococcus aureus 균주에 대한 황련의 항균력을 알아보기 위한 실험의 결과는 Table 3과 같다. 균 생육 저해율은 모든 군에서 100%로 확인되었으며 황련 추출물을 포함하여 3가지 발효추출물과 배양된 균주 전체에 대하여 완전한 억제반응을 관찰할 수 있었다.

2. 금은화의 장내 유해균 생육 억제 효과

금은화의 장내 유해균 생육 저해효과를 확인하기 위하여 황련과 동일한 방법으로 실험이 진행되었으며 각각의 균주로 발효된 한약재 추출물을 유해균 배지에 배양한 후 생균수를 측정된 결과는 Table 4~5와 같다. 금은화의 경우 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*와 발효했을 때 *Lactobacillus brevis*를 사용하였을 때에 비해 유해균 억제 효과가 훨씬 강하게 나타나는 것을 관찰할 수 있었다. 두 가지 유해균을 비교했을 때

Table 3. Growth inhibiting activities of *Coptidis rhizoma* for *Staphylococcus aureus*

	CFU(x10 ⁶)				mean	viable cell no. (x10 ⁶ CFU/ml)	SD
control	290.0	211.0	270.0	330.0	275.3	1376.3	131.3
x	0	0	-	-	0	0	71.3
La.B	0	0	-	-	0	0	37.9
Le.M	0	0	-	-	0	0	0.3
La.P	0	0	-	-	0	0	0

La.b: *Lactobacillus brevis*, Le.M: *Leuconostoc mesenteroides*, La.P: *Lactobacillus plantarum*

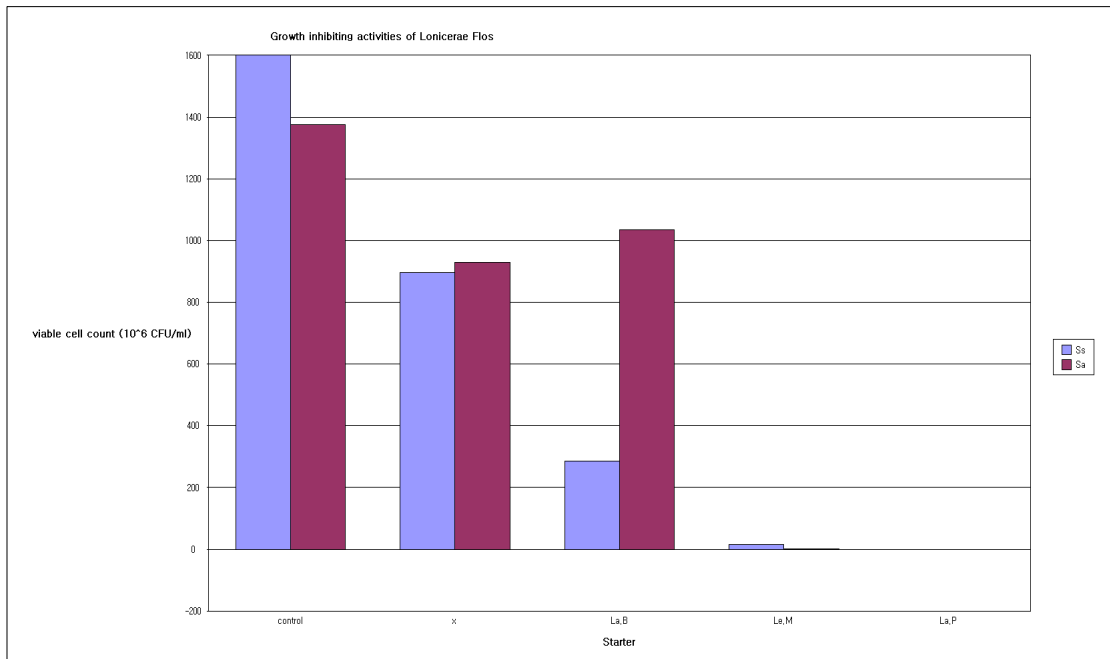


Fig. 2. Comparison of growth inhibition effect of Lonicerae Flos against two different microorganisms. Ss: *Salmonella spp.*, Sa: *Staphylococcus aureus*, La.b: *Lactobacillus brevis*, Le.M: *Leuconostoc mesenteroides*, La.P: *Lactobacillus plantarum*

Table 4. Growth inhibiting activities of Lonicerae Flos for *Salmonella spp.*

	CFU(x10 ⁶)				mean	viable cell no. (x10 ⁶ CFU/ml)	SD
control	227.0	271.0	520.0	290.0	327.0	1635.0	131.3
x	105.0	133.0	250.0	230.0	179.5	897.5	71.3
La.B	52.0	4.7	110.0	20.0	57.3	286.3	37.9
Le.M	3.0	3.0	3.6	2.9	3.1	15.6	0.3
La.P	0	0	0	0	0	0	0

La.M: *Lactobacillus brevis*, Le.M: *Leuconostoc mesenteroides*, La.P: *Lactobacillus plantarum*

Table 5. Growth inhibiting activities of Lonicerae Flos for *Staphylococcus aureus*

	CFU(x10 ⁶)				mean	viable cell no. (x10 ⁶ CFU/ml)	SD
control	290.0	211.0	270.0	330.0	275.3	1376.3	49.6
x	215.0	119.0	290.0	120.0	186.0	930.0	82.7
La.B	187.0	261.0	100.0	280.0	207.0	1035.0	81.8
Le.M	0	0	-	-	0	0.2	0
La.P	0	0	-	-	0	0	0

La.M: *Lactobacillus brevis*, Le.M: *Leuconostoc mesenteroides*, La.P: *Lactobacillus plantarum*

나타나는 유해균 저해효과의 차이를 Figure 2에 표기하였다.

1) *Salmonella spp.*에 대한 생육 억제 효과

Salmonella spp. 균주에 대한 금은화의 항균력을 알아보기 위한 실험의 결과는 Table 5와 같다. 균 생육 저해율이 98.04%로 확인되었던 황련과는 대조적으로 발효과정을 거치지 않은 금은화 추출물의 균 생육 저해율은 45.1%로 나타났으며 발효추출물로 배양한 균주의 균 생육 저해율을 비교했을 때 *Lactobacillus brevis* (82.5%)보다 *Lactobacillus plantarum* (100%), *Leuconostoc mesenteroides* (99.04%)의 유해균 생육 억제 효과가 우수하게 나타났으며 *Lactobacillus plantarum*으로 발효했을 때 생균수가 전혀 관찰되지 않아 특히 강한 항균 효과가 발현될 수 있다는 것도 확인 할 수 있었다.

2) *Staphylococcus aureus*에 대한 생육 억제 효과

Staphylococcus aureus 균주에 대한 황련의 항균력

을 알아보기 위한 실험의 결과는 Table 6과 같다. 금은화 추출물을 *Salmonella spp.* 균주와 배양한 결과와 마찬가지로 유해균 억제 효과가 유효했으나 균 생육 저해율이 32.43%로 확인되어 *Salmonella spp.*에 대한 항균 효과(45.1%)보다 미약한 것으로 확인되었다. 반면, *Lactobacillus plantarum* (100%), *Leuconostoc mesenteroides* (99.99%)를 사용한 발효추출물을 배양한 배지에서 균의 증식이 거의 나타나지 않았기에 유해균 억제 효과가 매우 강력할 수 있을 것으로 확인 되었으나 *Lactobacillus brevis* (24.78%)와 배양된 금은화 추출물은 발효되지 않은 상태의 금은화보다 오히려 낮은 유해균 증식 억제 효과가 관찰되었다.

3. *Salmonella spp.*에 대한 유해균 증식 억제 효과 비교

*Salmonella spp.*에 대하여 3종류의 유산균과 발효한 한약재의 생육 저해 효과는 금은화, 황련 각각의 균주에서 모두 유효한 것으로 나타났으며 금은화의 경

우 *Lactobacillus plantarum*이 금은화와 배양되었을 때 균의 성장이 가장 강하게 억제되는 경향을 나타내었다. 황련의 경우 *Leuconostoc mesenteroides*가 황련과 배양되었을 때 균의 성장이 가장 강하게 억제되는 경향을 나타내었다.

4. *Staphylococcus aureus*에 대한 유해균 증식 억제 효과 비교

*Staphylococcus aureus*에 대한 생육억제 작용도 금은화, 황련 각각의 균주에서 유효한 것으로 나타났으며 금은화의 경우 *Lactobacillus plantarum*이 금은화와 배양되었을 때 균의 성장이 가장 강하게 억제되는 경향을 나타내었다. 황련의 경우 3종류의 균주 전체에서 균의 성장이 완전히 억제되었다. 특히 대조군에서도 균수가 전혀 관찰되지 않아 황련이 *Staphylococcus aureus*에 대하여 특히 강력한 생육 저해효과를 나타낸다는 사실을 확인 할 수 있었다.

IV. 고찰

이번 연구에서는 항염작용이 우수하다고 알려져 있는 대표적인 한약재인 금은화, 황련을 발효하여 유해균 억제 효과에 대한 실험을 진행하면서 발효 한약의 임상적 효과에 대하여 입증하고자 하였다.

장내 미생물 균총은 장내 방어막이나 면역의 발달 및 영양소의 이용에 대한 효과를 통해 인간의 건강에 영향을 미치고 있다¹⁸⁾. 장내 미생물 균총의 편차는 아토피성 및 설사질환¹⁹⁾ 그리고 비만²⁰⁾의 위험을 증진시키는 것과는 관련이 있다고 밝혀지면서 한방치료 영역에서도 유해균에 대한 효과를 입증할 수 있는 치료방법을 모색하는 것이 중요하다.

유산균은 장내 유해균의 억제작용 및 정장작용, 혈중 콜레스테롤 감소기능, 면역 증강 작용, 영양

학적 가치 증진, 간경화 개선 작용, 항암 작용, 노화억제 작용, 피부 미용효과, 유당 불내증 격감 작용 등을 가지고 있어 인간의 건강과 아주 밀접해 있다²¹⁾. 한약재를 유산균으로 발효시켰을 때 유해균 억제효과가 증대된다는 것은 효소 작용에 의해 발효균이 생성시킨 생물전환효과를 한약재의 기존 항염 작용에 도입하는 새로운 방법적인 시도라고 볼 수 있고, 이것은 한약치료에 새로운 패러다임을 제시해줄 수 있는 획기적인 연구 바탕이 될 수 있다.

황련(*Coptidis rhizoma*)은 미나리아재비과에 속한 다년생 본초인 황련과 동속식물의 뿌리줄기를 말린 것으로, 성질은 寒하고 味는 苦하며 주로 淸熱燥濕, 淸心除煩, 瀉火解毒의 효능을 가지고 있다²²⁾. 황련의 임상작용을 살펴보면 장이나 위에 쌓여서 일어나는 설사나 위열로 인한 구토에 유효하며 해열과 해독 작용이 뛰어난 것으로 알려져 있다. 강한 항균작용을 하는 것으로 알려진 성분은 berberine인데 이는 위장내의 세균과 진균 및 대장내의 감염에 대하여 항균력이 강하여 위염과 위장 및 대장 내 발효를 개선하고 소화관에 정체된 내용물에 대장균이 작용하여 gas를 생성하는 것을 방지하는 것으로 알려져 있다²³⁾. 특히 해독의 효능이 부각되어 최근 이를 바탕으로 황련의 항염증 효과에 대한 연구가 지속적으로 보고되고 있는데²⁴⁾, 황련이 *Staphylococcus aureus*에 미치는 항균효과에 대한 연구가 다양하게 진행된 바 있으며 식중독 유발세균의 증식에 미치는 황련 추출물의 효과에 대한 연구에서는 methanol을 이용한 황련추출물의 9종의 식중독 유발세균에 대한 항균조사를 하였는데 *staphylococcus aureus*가 가장 *E.coli*와 더불어 가장 민감하게 반응하였으며 황련의 methanol 추출물이 *staphylococcus aureus*와 *E.coli*에 대해 가장 큰 세균 성장 억제 효과를 가진다는 것을 알 수 있었다¹⁶⁾.

금은화(Lonicerae Flos)는 인동덩굴(능박나무, *Lonicera japonica* Thumb)의 개화된 꽃을 채취하여 건조한 것으로, 除熱, 解毒, 養血, 療風, 除痢의 효과가 있으며²⁵⁻²⁶⁾ Luteolin, Inositol, Inesite, Tannin, Saponin 등이 함유되어 있고, 해독, 항염 효과가 실험적으로 밝혀져 있다. 금은화는 급성 위염, 급만성 장염 및 과민성 장질환의 치료 처방인 보장건비탕에 포함된 약재이며 이는 설사와 관련하여 정장 효과에 대한 연구가 진행된 바 있다²⁷⁾. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 금은화 추출물의 항균효과에 대한 연구에서도 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성은 금은화의 chloroform 추출물과 methanol 추출물에 유효하다는 결과가 보고되었다¹⁵⁾. 금은화의 약리작용에 관한 선행연구로는 금은화의 성분 중 tannin이 급성장염 및 해독효과를 나타내는 유효성분으로 밝혀져 있고²⁸⁾해열탕의 항염증 작용에 대한 연구에서 LPS로 유도된 NO의 생성, iNOS, COX-2 및 cytokine에 미치는 영향에서 항염작용의 유의성을 보고한 바 있다²⁹⁾. 발효 금은화에 대한 연구로는 자연 발효 금은화를 이용한 금은화 전탕 숙성도에 따른 억균 효과에 따른 실험보고가 있었다³⁰⁾. 또 최근에는 발효 금은화의 인플루엔자 바이러스 A형에 대한 저해효과가 있다는 연구도 진행되었다³¹⁾.

이번 연구에서는 유해균의 종류에 따라 한약재 발효추출물이 다른 억제 효과를 나타내고 있다는 것을 살펴볼 수 있는데, 살모넬라는 세계적으로 가장 중요한 식중독 원인균으로 여겨지고 있으며 가장 대표적인 장내세균 중의 하나이다. 살모넬라 오염을 방지하고 치료하기 위하여 항생제를 주로 사용하고 있으며 이로 인해 항생제 내성 병원균이 증가하고 있다. 항생제 대체 약품의 개발이 시급해짐에 따라 항균효과가 있는 한약재를 이용한 연구들이 다양하게 이루어지고 있는 실정이다. 또한 *Staphylococcus aureus*는 0.25% 한방사료첨가제

(OHMF)에 의해서 증식이 억제 되었으며 *Salmonella spp.* 및 *E.coli*는 2% 이상에서 억제되었다고 보고하였다³²⁾.

한약재 발효에 사용된 유산균 중 *Lactobacillus plantarum*은 청국장 제조에 활용된 바 있으며 *B. subtilis*균주와 혼합 배양되었을 때 유익균의 생육이 성공적으로 유도되었다는 연구결과가 있다³³⁾. *Lactobacillus plantarum*은 김치류로부터 가수분해성 탄닌을 분해하는 *Lactobacillus*속 유산균을 분리하여 동정되는 probiotic으로³⁴⁾ Probiotic *lactobacillus*균과 *Bifidobacterium*균의 항산화 작용을 확인하기 위한 연구에서 염증성 장점막의 항산화 작용을 호전시켰으며 살모넬라균 감염성을 억제시키며 *Lactobacillus plantarum*을 포함한 5가지 균주가 *Salmonella enterica ssp.*에 대하여 가장 효과적으로 항균작용이 있다는 결과가 있었다³⁵⁾. 본 연구의 발효에 사용된 또 다른 유산균인 *Leuconostoc mesenteroides*균들 역시 한국인에게 있어서 매우 중요한 발효 식품인 김치 등에서 흔히 발견되는 것으로 이 균들의 존재 때문에 식품의 보전성 향상, 영양 증진 및 건강효과를 기대할 수 있다고 보고되었다³⁶⁻³⁷⁾.

기존에 한약재제의 장내 유해균 억제효과에 대한 연구가 진행된 바 있으나 발효 한약재의 유효성에 대한 연구는 미미하였으며 특정 유해균에 대한 생균 억제 효과가 한약성분과 유산균 특성에 따라 달라질 수 있기에 유산균 발효 기전이 한약성분에 어떠한 약리학적 기전 변화를 야기시키는 지에 대한 연구가 추후 필요할 것으로 사료된다. 또한 probiotic의 다양성을 만족시키는 표준화된 발효 과정에 대한 후속연구도 필요하다고 본다.

V. 결론

발효 금은화 황련의 유해균 억제 효과를 확인하

기 위하여 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*로 발효한 한약재 추출물을 시료로 이용하여 유해균 생육 저해 효과에 대해 실험하였고 생균수를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 황련의 *Salmonella spp.*에 대한 균 생육 저해율은 98.04%로 발효과정을 거치지 않은 황련추출물 자체 만으로도 유해균 생육 억제 효과가 우수할 수 있다는 것을 알 수 있으며 발효했을 때 균 생육 저해율이 *Lactobacillus brevis*에서 94%, *Lactobacillus plantarum*에서 97.9%, *Leuconostoc mesenteroides*에서 99.96%로 확인되어 발효 황련의 유해균 억제 효과의 유효성을 확인할 수 있었다.
2. 황련의 *Staphylococcus aureus*에 대한 균 생육 저해율은 황련 추출물을 포함하여 3가지 발효추출물 전부 100%로 확인 되었으며 균주에 대하여 완전한 억제반응이 나타났다는 것을 확인할 수 있었다.
3. 금은화의 *Salmonella spp.*에 대한 균 생육 저해율은 45.1%로 나타났으며 발효추출물로 배양한 균주의 균 생육 저해율을 비교했을 때 *Lactobacillus brevis*에서 82.5%, *Lactobacillus plantarum*에서 100%, *Leuconostoc mesenteroides*에서 99.04%로 확인 되었으며 *Lactobacillus plantarum*으로 발효했을 때 생균수가 전혀 관찰되지 않아 항균 효과가 우수할 수 있다는 것도 확인 할 수 있었다.
4. 금은화의 *Staphylococcus aureus*에 대한 균 생육 억제율은 32.43%로 확인되었으며 본 실험에서는 *Salmonella spp.*에 대한 항균 효과(45.1%)보다 미약한 것으로 확인되었다. 반면, *Lactobacillus plantarum*에서 100%, *Leuconostoc mesenteroides*에서 99.99%가 확인되었고 *Lactobacillus brevis*에서 24.78%가 확

인되어 발효 금은화의 유해균 억제 효과는 균주의 종류에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과로 발효 금은화 황련이 활용이 유해균 억제에 유효하다는 사실을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임(2010-0024412).

참고문헌

1. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 1995;125:1401-12.
2. Mistuoka T. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora.* 1982;1:3-24.
3. Marik PE, Iglesias J. Intestinal mucosal permeability: mechanism and implications for treatment. *Crit Care.* 1999;27(8):1650-1.
4. 박정현, 김호준, 이명종. 비만에서 장내 미생물 균총의 역할과 발효 한약의 활용. *한방비만학회지.* 2009;9(1):1-14.
5. 임장신. 수중 한약의 체질별 장내세균대사 활성과 생리활성에 관한 연구. *경희대학교 대학원 한의학 과 박사논문.* 2003.
6. 김동현. *한방미생물학* 개정판. 서울:도서출판 효일. 2002:130-2,142-5.
7. Kim, So-Yeon;Ryu, Bong-Ha;Park, Jae-Woo. Effects of Samiunkyungtang on inflammation and fecal enzymes in ulcerative colitis animal model. *J*

- Korean Oriental Med. 2008;29(3):50-62.
8. 김기영, 송호준 편저. 한약포제학. 서울:신일상사. 2002:547.
 9. Bae EA, Hyun YJ, Choo MK, Oh JK, Ryu JH, Kim DH. Protective effect of fermented red ginseng on a transient focal ischemic rats. Arch Pharm Res. 2004;27(11):1136-40.
 10. 김영미. 발효한약의 연구동향 연구. 경원대학교 일반대학원 한의학과. 2009.
 11. 정용준, 한동오, 최보희, 박철, 이해정, 김성훈, 함대현. 발효한약추출물 HP-1이 알코올을 투여한 쥐의 알코올 대사에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2007;21(2):387-91.
 12. 김철희, 권민철, 김효성, 안주희, 최근표, 최영범, 고정립, 이현용, 오미자의 전통발효에 의한 면역활성 증진. 2007;15(3):162-9.
 13. Goldin BR. Health benefits of probiotics, Br. J. Nutr. 1998;80:203-7.
 14. Fuller R. Probiotics in man and animals. J. Applied Bacteriology. 1989;66:365-78.
 15. 배지현, 김미순, 강은혜. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 금은화 추출물의 항균효과. 한국식품과학회지. 2005;37(4):642-7.
 16. 배지현. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 황련 추출물의 효과. 한국식품과학회지. 2005;18(1):81-7.
 17. 이진태, 이창언, 김준홍, 손준호, 박재훈, 이진영, 박태순, 배호정, 장민정, 조철훈, 안봉진. 황련(黃連)의 생리활성검증 및 화장품 소재로서의 이용 가능성. 대한본초학회. 2005;20(3):83-92.
 18. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. Science, 2001;292:1115-8.
 19. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants developing atopy. J.Allergy Clin. Immunol. 2001;107:129-34.
 20. Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. Am. J. Clin. Nutr. 2008;87:534-8.
 21. 정후길. 프로바이오틱 유산균의 선발 기준 및 산업적 응용. 생물산업. 2001;14:39-48
 22. 전국한외과대학 본초학 교수. 본초학. 서울;영림사. 1998:180-1.
 23. 이재성, 박호균, 우은란, 이은주, 안덕균, 윤원식, 신광호. 황련 중 berberine의 추출효율에 관한 연구. 분석과학. 1997;10(2):83-90.
 24. 김희경. 황련의 NO 생성억제를 통한 항염증효과가 화상의 조직손상에 미치는 영향. 동국대학교 대학원. 2009.
 16. 배지현. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 황련 추출물의 효과. 한국식품과학회지. 2005;18(1):81-7.
 25. 이상인, 본초학, 서울:의학사. 1975:308-14.
 26. 이용성, 경약분류전, 서울:정담. 200:22.
 27. 노우성, 류봉하, 김진성, 윤상협, 백편두, 가자 및 보장건비탕의 항사작용에 대한 연구. 대한한방내과학회지. 2006;27(2):358-66.
 15. 배지현, 김미순, 강은혜. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 금은화 추출물의 항균효과. 한국식품과학회지. 2005;37(4):642-7.
 28. World health Organization. Lead Environmental health criteria 3. Geneva, WHO. 1997;160.
 29. 곡정강, 김진주, 노영래, 이성현, 정승연, 정희재, 정승기. 해열탕의 항염증 항산화 항노화 작용에 대한 실험적 연구. 대한한방내과학회지. 2007;28(4): 671-80.
 30. 신재용. 금은화 전탕 숙성도에 따른 억균작용에 관한 실험연구. 대한한의학회지. 1983;4(2):32-8
 31. 서성숙, 정승기. 발효 금은화의 인플루엔자 바이러스 A형에 대한 저해효과. 대한한방내과학회지. 2009;30(3):465-80.

32. 강호조, 김용환, 이후장, 김종수, 김종섭, 김도경, 김은희, 박미림, 김근섭. 한방사료첨가제를 이용한 육계의 *Salmonella* 방제효과: 항균성 및 장관정착 억제. 대한수의학회지. 2003;43(1):41-7.
33. 주경은, 오남순. *Bacillus subtilis*와 *Lactobacillus plantarum*의 혼합배양이 청국장 품질에 미치는 영향. 한국식품과학회지. 2009;41(4):399-404.
34. 정재형, 배운숙, 김연주, 이종훈. 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* 균주가 생산하는 박테리 오신의 특성. 산업미생물학회지. 2010;38(4):481-5.
35. Hutt P, Shchepetova J, Loivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. Probiotic lactobacilli enhance eradication on *Salmonella* Typhimurium in animal model. *Journal of Applied Microbiology*. 2006;100(6):1324-32.
36. 권오식. 김치에서 분리한 *Leuconostoc* 균주의 당 발효능에 대한 연구. 자연과학연구논집. 2008;26:63-71.
37. 권오식, 김선지, 진준엽. 주요 식품에서 발견되는 *Leuconostoc*종의 대사 특성에 대한 연구. 자연과학연구논집. 2008;26:73-81.