허브추출물의 항균 작용

유미영 2 · 정윤주 1 · 양지영 1†

¹부경대학교 수산과학대학 식품생명공학부 ²한국화학연구원 생명의약연구부

Antimicrobial Activity of Herb Extracts

Mi-Young Yoo², Yoon-Ju Jung¹ and Ji-Young Yang^{1†}

¹Dept. Food Science and Biotechnology, College of Fishery Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea ²Medicinal Science Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

Abstract

The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of four herb extracts from lavender, patchouli, rosemary and eucalyptus possibly used as food preservatives. Minimum inhibitory concentration of France rosemary extracts was 29.1 mg/mL against *C. albicans* ATCC 10231 and 14.5 mg/mL against *B. subtilis* ATCC 6613 and *E. coli* ATCC 25922. Both of France rosemary and American lavender herbal extracts were thermally stable between 40°C and 121°C and were stable at only neutral pH. Microbial growth was repressed by adding 2.9 mg of a commercial herbal extracts in 20 mL liquid medium with France rosemary extracts and American lavender extracts.

Key words: antibacterial activity, herb, rosemary, lavender

서 론

인간은 역사 이래 오래 전부터 우리 주변의 식물을 채취하여 수천 년에 걸쳐 식용과 약용으로 사용하였고 그 중 약초, 향신료로 이용되는 식물을 총칭하여 허브라고 한다. 허브는라틴어의 허바(herba)에서 비롯된 '풀'이라는 뜻이지만 현대에 와서는 줄기, 잎, 꽃, 뿌리 등의 부위를 인간에게 유용하게 사용할 수 있는 식물의 총칭으로 사용되고 있다(1). 예로부터 허브는 서양요리에서 맛과 향을 증가시키고 불쾌한 냄새를 없애기 위한 향신료로 각종 식품에 첨가되었다(2,3). 우리나라에서도 파, 마늘, 고추 등이 천연향신료로 사용되거나 쑥, 익모초, 결명자 그리고 창포 등이 민간요법으로 이용되었다.

허브는 이미 널리 알려진 식욕증진 효과 및 생약재로서의역할 이외에도 그 향기나 풍미가 독특하여 식품재료로 선별되어 사용되어지고 있다(4). 일반적으로 많이 알려진 허브로서지중해 연안이 원산지인 로즈마리(rosemary)나 세이지(sage)등을 들 수 있으며 이들은 향기가 탁월하고 항산화력이 강하여 각종 요리나 소스 및 유지식품에 사용되고 있다(5). 이외에도 많은 허브류 식물들로부터 제조한 정유물질은 향수,화장, 세정 등의 목적으로 이용될 뿐만 아니라(6) 피로회복,

안면, 진정 등의 스트레스 해소와 더불어 방부, 항균작용, 노화방지 등과 같은 다양한 생리적 기능이 있는 것으로 보고되고 있다(5-10). 따라서 허브식물의 천연정유는 스트레스 해소 내지는 기분안정 등 정신적 심리치료나 건강과 미를 증진시키는 아로마테라피 요법의 중요한 소재로 이용되기도 하는데(1), 이러한 작용를 하는 화학성분(11)으로는 특수성분인 사포닌, 탄닌, 알칼로이드, 정유(essential oil), 배당체, 테르펜과 같은 수지성분 등이 알려져 있다.

일반적으로 식품첨가물로 사용하는 향신료는 식품의 기호성을 높이는 역할 이외에도 산화적 품질저하와 미생물에 의한 변패를 억제하는데 효과가 있는 것으로 알려지고 있다(12). 또한 향신료에 속하는 많은 허브류 식물들이 다양한 향미를 가지고 있어 식품의 기호성을 증진시키는 작용이 경험적으로 인정되면서 건강식품으로서 많은 관심을 받고 있다(3).

식품의 부패와 변질의 원인은 주로 미생물의 작용에 의해 일어나는 경우가 많은데, 이를 방지하기 위해 가열처리, 냉장, 냉동, 방사선조사, dehydroacetic acid, sorbic acid, benzoic acid와 이들의 염, p-oxybenzoic acid ester 등의 식품 보존 료가 사용되어져 왔다(13). 그러나 가열처리나 냉장 및 냉동 방법은 제품의 품질 저하나 저장비용의 증가를 가져올 수 있으며, 합성 보존료의 경우는 그 안전성에 대해 우려를 갖고 있어 근래에는 건강에 대한 요구가 증가함에 따라 점차 사용 량을 제한하려는 추세이다. 이러한 상황들을 극복하기 위한 방법의 하나로 천연 항균성 물질을 검색하고 이것을 식품에 첨가하여 보존료로 사용함으로 저장성과 안전성을 동시에 만족시키고자 하는 연구들이 많이 진행되고 있다(14,15).

따라서, 본 연구에서는 식품보전의 효과를 알아보기 위하여 여러 허브추출물의 항균작용을 조사하였다. 대표적인 식품향료이며 아로마테라피에도 널리 이용되는 허브식물인 라벤더(lavender), 패츌리(patchouli), 로즈마리(rosemary) 그리고 유칼립투스(eucalyptus) 등의 허브오일을 이용하여 항균활성을 알아보고 그 특성에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 라벤더, 패츌리, 로즈마리 그리고 유칼리투스 등의 허브는 (주)썬힐코퍼레이션으로부터 제공받아 사용하였다. 라벤더는 미국과 영국의 원료, 로즈마리는 미국과프랑스의 원료, 그리고 패츌리와 유칼립투스는 미국의 원료를 구하여 사용하였다. 허브추출액은 본 실험실에서 수증기증류법에 의해 추출하여 제조하였다.

공시균 및 배지

항균활성측정을 위해 사용한 균주는 그람 양성세균 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, 그람 음성세균 *Escherichia coli* ATCC 25922 그리고 효모 *Candida albicans* ATCC 10231을 사용하였고, 생육 배지로서 세균은 nutrient broth와 nutrient agar, 효모는 YM broth와 YM agar를 각각 사용하였다. 사용한 배지는 Difco Co.(Sparks, USA)의 제품을 사용하였다.

허브추출액의 항균력 측정

허브 추출액의 항균성 검색에 사용한 균주는 사면배지에 배양한 후 균주 1백금이를 취하여 E. coli ATCC 25922와 B. subtilis ATCC 6633는 20 mL nutrient broth 배지에 접종하 였고 C. albicans ATCC 10231는 20 mL YM broth 배지에 접종하여 E. coli ATCC 25922와 B. subtilis ATCC 6633는 37°C에서 C. albicans ATCC 10231는 28°C에서 24시간 배양 하여 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지는 각각의 생육배 지를 멸균된 기층용 배지로서 petri dish에 15 mL씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 10 mL씩을 시험관에 분주 하여 멸균한 후, 각종 시험균액을 1 mL씩 첨가하여 잘 혼합 한 후, 기층용 배지 위에 고르게 퍼지도록 도포한 뒤 응고시 켜 이중의 균 접종 평판배지를 만들어 사용하였다. 시료의 항균력 검색은 한천배지확산법(disk plate method)으로 측 정하였다. 즉 각각의 시료용액을 지름 8 mm의 멸균된 filter paper disc에 20 µL씩을 흡수시킨 후, 시험용 평판배지위에 밀착시키고 각 생육온도에서 B. subtilis ATCC 6633와 E. coli ATCC 25922는 24시간, 그리고 C. albicans ATCC 10231 는 48시간 배양한 후 filter paper disk 주변에 발생되는 clear zone의 직경을 측정하였다. 이때 사용한 시료원액의 농도는 58.1 mg/mL이었다.

허브 추출물의 최소 저해 농도(minimum inhibitory concentration, MIC)

허브 추출물에 대한 최소 저해농도 측정은 한천배지 확산 평판법(agar diffusion method)으로 측정하였다. 지름 8 mm 의 멸균된 filter paper disc에 항균력이 우수한 프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액을 적절히 희석하여 흡수시켰다. 이를 피검균의 각 생육온도에서 B. subtilis ATCC 6633와 E. coli ATCC 25922는 24시간, 그리고 C. albicans ATCC 10231는 48시간 배양한 후 filter paper disk 주변에 발생되는 clear zone의 직경을 측정하여 최소저해농도로 결정하였다. 이때 사용한 시료액의 농도는 58.1, 43.6, 29.1, 14.5, 5.8 mg/mL이었다.

열 및 pH 안전성 검사

허브추출물의 열 안전성 실험은 그람음성, 그람양성 및 효모에 향균활성이 뛰어난 프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액을 취하여 40, 60, 80, 100, 121℃에서 각각 20분 동안열처리한 후 대조구와 같이 한천배지 확산법으로 생육저해환을 측정하여 비교하였다. pH의 안정성 실험은 pH 1, 3, 5, 7, 11, 13으로 조정한 후 실온에서 1시간 방치한 후, pH 5로중화시켜 대조구와 같이 한천배지확산법으로 생육저해환을 측정하여 비교하였다.

액체배지에서의 생육저해

B. subtilis ATCC 6633와 E. coli ATCC 25922는 20 mL nutrient broth 생육배지에 1 mL을 접종하고, C. albicans ATCC 10231은 20 mL YM broth 생육배지에 1 mL을 접종한 후 프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액을 각각 0, 5, 20, 50 μL씩 첨가하여 액체배양하면서 일정시간 간격으로 시료를 채취하여 580 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 사용한 시료의 농도는 58.1 mg/mL이었다.

결과 및 고찰

허브추출물의 항균 효과

허브추출액인 프랑스산 로즈마리액, 미국산 로즈마리액, 미국산 라벤더액, 영국산 라벤더액, 미국산 패츌리액, 미국산 유카립투스액에 대한 *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 및 *C. albicans* ATCC 10231의 항균효과를 측정한 결과는 Table 1에 나타내었다.

미국산 로즈마리액, 프랑스산 로즈마리액, 미국산 유카립투스액은 *B. subtilis* ATCC 6633에 대해 항균력이 좋았으며특히 프랑스산 로즈마리액은 *B. subtilis* ATCC 6633에 대해 25.10 mm의 clear zone을 형성하여 높은 항균력을 나타내었다. 또한, 미국산 라벤더액은 *E. coli* ATCC 25922에 대해

Table 1. Antimio	crobial a	cuvities	OT.	various	nerb	extracts
------------------	-----------	----------	-----	---------	------	----------

Source of herb extracts	Strains	Size of clear zone (mm)
	E. coli ATCC 25922	14.65
Rosemary (USA)	B. subtilis ATCC 6633	20.60
	C. albicans ATCC 10231	15.30
	E. coli ATCC 25922	17.45
Rosemary (France)	B. subtilis ATCC 6633	25.10
	C. albicans ATCC 10231	14.00
Lavender (USA)	E. coli ATCC 25922	28.40
	B. subtilis ATCC 6633	19.40
	C. albicans ATCC 10231	23.00
	E. coli ATCC 25922	20.20
Lavender (UK)	B. subtilis ATCC 6633	20.30
	C. albicans ATCC 10231	24.55
	E. coli ATCC 25922	_
Patchouli (USA)	B. subtilis ATCC 6633	15.25
	C. albicans ATCC 10231	
	E. coli ATCC 25922	15.90
Eucalyptus (USA)	B. subtilis ATCC 6633	20.60
	C. albicans ATCC 10231	13.65

28.40 mm의 clear zone을 형성하였으며, 영국산 라벤더액은 다른 허브추출액에 비해 24.55 mm의 clear zone을 형성하여 *C. albicans* ATCC 10231에 항균력이 좋았다. 미국산 패츌리액은 *B. subtilis* ATCC 6633에만 항균력을 나타내었다.

Cho 등(16)은 국내산 자생허브의 정유성분을 시료로 항균실험을 행한 결과 사자발쑥과 인진쑥은 *C. albicans*에 층이꼴은 *Staphylococcus aureus*에 참나물은 *Pseudomonas aeruginosa*에 효과가 있었다고 보고하고 있다. 또한, Offord 등(17)은 로즈마리 추출물이 항균효과가 있다고 보고하여

본 실험의 결과와 유사한 경향을 보여주고 있다. 그러나 Sagdie와 Ozen(18)은 로즈마리 추출물이 항균효과가 없다고 보고하고 있다.

허브추출물의 최소저해 농도(minimum inhibitory concentration, MIC)

항균력 검색에서 항균력이 좋은 프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액의 최소저해 농도를 측정한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 58.1, 43.6, 29.1, 14.5, 5.8 mg/mL로 희석한 프랑

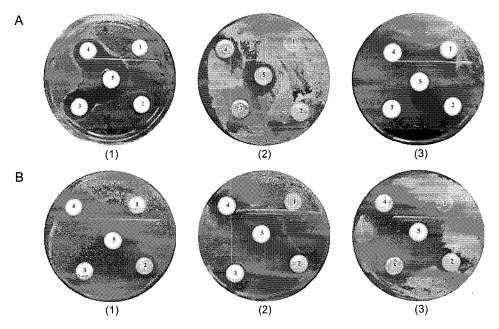


Fig. 1. Antimicrobial activities of France rosemary and American lavender extracts against *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 and *C. albicans* ATCC 10231.

A: France rosemary, B: American lavender. (1) *E. coli* ATCC 25922, (2) *B. subtilis* ATCC 6633, (3) *C. albicans* ATCC 10231. 1: 5.8 mg/mL, 2: 14.5 mg/mL, 3: 29.1 mg/mL, 4: 43.6 mg/mL, 5: 58.1 mg/mL.

스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액을 시료로 하여 *B. subtilis* ATCC 6633와 *E. coli* ATCC 25922에 대한 MIC를 구한 결과 14.5 mg/mL로 항균력이 우수한 것으로 나타났으며, 프랑스산 로즈마리액의 *C. albicans* ATCC 10231에 대한 MIC는 29.1 mg/mL로 미국산 라벤더액의 MIC보다 항균력이 낮은 것으로 나타났다.

식품 보존료인 파라옥시안식향산 에틸의 경우 *B. subtilis* 에 대한 MIC는 100 ppm이라고 보고하고 있으며(13), Seo 등 (19)은 겨자 가수분해물의 MIC가 70 µL/mL이었으며 Kang 등(20)은 갓 에탄올 추출물의 MIC가 10,000 µL/mL으로 나타났다고 보고하고 있다. *E. coli*에 대한 MIC 연구보고로는 Chung 등(21)이 초피추출물을 사용하여 MIC가 1,000 ppm 이라고 보고하고 있다.

열 및 pH 안정성

프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액의 열에 대한 안 정성을 살펴본 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 프랑스산 로즈 마리액과 미국산 라벤더액을 40,60,80,100,121°C에서 각각 20분간 열처리하여 시료로 사용한 경우의 항균력은 열처리 하지 않은 대조구의 항균력에 비해 항균력이 감소하지 않은 결과로 나타나 매우 안정한 열안정성을 나타내었다.

프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액의 pH에 대한 안정성을 측정한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액을 pH 1, 3, 5, 7, 11, 13으로 조정한후 실온에서 1시간 방치하고 다시 pH 5로 중화시켜 항균력을 살펴본 결과 약산성 또는 중성으로 처리 시에는 활성을 잃어버리지 않았으나 산성이나 알칼리성으로 처리 시에는 항균활성이 실활되는 현상을 나타내었다.

Lee 등(22)의 보고에 의하면 천년초 선인장의 에틸아세테이드 추출물을 110°C에서 1시간 처리하여도 그 안정성이 변화가 없었다고 하였으며, Choi 등(23)은 발효정도에 따른 한국산 및 중국산 녹차의 추출물을 50°C에서 121°C의 범위로열처리하여도 안정하였다고 보고한 바, 본 실험의 결과와도유사한 경향을 보여 항균활성을 나타내는 물질이 열에 안정한 물질임을 알 수 있었다. 또한 Choi 등(23)은 한국산 및 중국

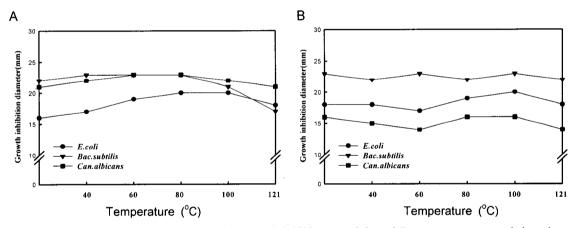


Fig. 2. Effect of heat treatment on stability of the growth inhibitory activity of France rosemary and American lavender extract for *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 and *C. albicans* ATTCC 10231.

A: France rosemary, B: American lavender.

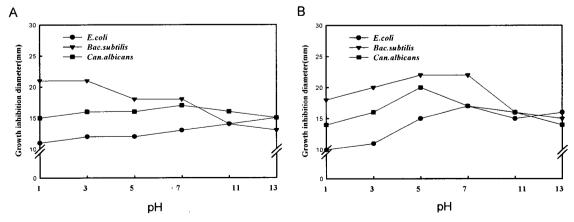


Fig. 3. Effect of pH on stability of the growth inhibitory activity of France rosemary and American lavender extract for *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 and *C. albicans* ATTCC 10231.

A: France rosemary, B: American lavender.

산 녹차의 추출물이 pH 3~11의 범위에서 항균활성을 그대 로 유지한다고 보고하고 있다.

미생물의 생육저해 곡선

항균력 시험에서 항균력이 입증된 프랑스산 로즈마리액과 미국산 라벤더액의 추출액이 B. subtilis ATCC 6633, E. coli ATCC 25922 그리고 C. albicans ATCC 10231의 액체배양 시 생육특성에 미치는 영향을 Fig. 4와 5에 나타내었다. 한천 배지 확산평판법으로 항균력이 입증된 허브 추출액을 액체 배양에 첨가한 경우에도 생육억제효과를 나타내었으며, 첨

가된 허브추출물의 첨가량에 비례적으로 생육저해를 나타 내었다. 액체배지 20 mL에 프랑스산 로즈마리추출물 50 µL 를 첨가한 경우 생육억제현상을 나타내었으며, 이때 배지 중 로즈마리추출물의 최종농도는 2.9 mg/20 mL 배지이었다. 실 험한 세 개의 피검균에 대해 배양 초기에는 모두 강한 생육억 제효과를 나타내었으나 E. coli ATCC 25922는 14시간이후 에 B. subtilis ATCC 6633는 24시간 이후에 생육하기 시작 하였으며 C. albicans ATCC 1023의 경우에는 48시간 동안 계속 저해되었다. 미국산 라벤다 추출물은 프랑스산 로즈마 리추출물보다 생육억제 효과가 크게 나타났으며 액체배지 20

24

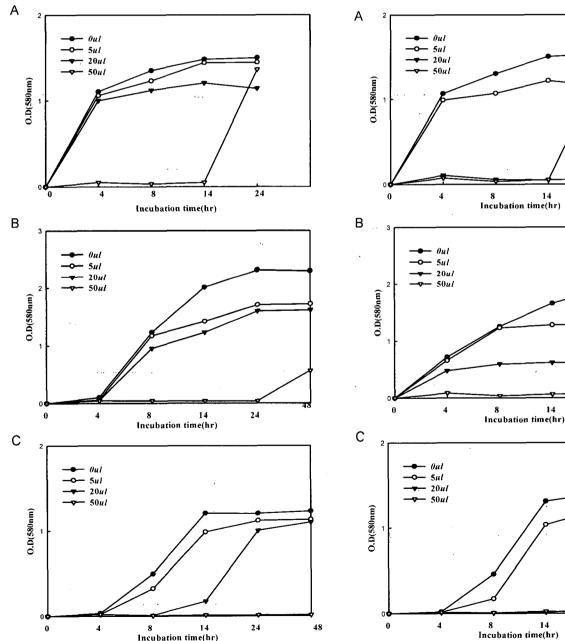
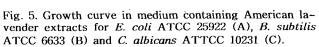


Fig. 4. Growth curve in medium containing France rosemary extracts for E. coli ATCC 25922 (A), B. subtilis ATCC 6633 (B) and C. albicans ATTCC 10231 (C).



14

mL에 미국산 라벤다 추출물 20 μL를 첨가한 경우에 생육억 제효과를 나타내었다. 이때 배지에 대한 미국산 라벤더추출물의 농도는 1.5 mg/20mL 배지이었다. E. coli ATCC 25922는 배양 14시간 이후 C. albicans ATCC 1023의 경우에는 배양 24시간 이후에 생육하기 시작하였으며 B. subtilis ATCC 6633는 액체배지 20 mL에 미국산 라벤더추출물 50 μL를 첨가한 경우에 생육억제효과를 나타내었으며 배양 24시간 이후에 생육하기 시작하였다.

Table 1과는 다른 양상으로 항균력이 나타나는 것은 Tabak 등(24)과 Han(25)의 결과와 유사한 것으로서 항균력 실험에 있어 고체배양법과 액체배양법에 있어 추출액의 확산 정도의 차이에 의한 것으로 사료된다

요 약

아로마테라피에도 널리 이용되는 라벤더, 패츌리, 로즈마리, 유칼립투스 등의 허브를 이용하여 식품의 천연보존제로서의 항균활성의 특성에 대하여 알아보았다. 프랑스산 로즈마리추출물의 경우 *C. albicans* ATCC 10231에 대한 MIC는 29.1 mg/mL로 나타났으며 *B. subtilis* ATCC 6613과 *E. coli* ATCC 25922에 대한 MIC는 14.5 mg/mL로 나타났다. 프랑스산 로즈마리와 미국산 라벤더의 추출물은 40에서 121℃ 범위에서 열 안정성을 나타냈으며 pH 안정성 실험에서는 중성에 좋은 안정성을 나타내었다. 액체 배양시 프랑스산 로즈마리와 미국산 라벤더의 추출액을 첨가하여 피검균의 생육억제 실험을 행한 결과 액체배지 20 mL에 대해 2.9 mg의 허브추출물를 첨가한 경우에 생육억제효과를 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 2003학년도 부경대학교 기성회 학술연구비에 의하여 연구되었으며, 일부 연구원의 지원금으로 BB21 장학 금이 지원되었음.

문 헌

- 1. Lee KH, Lee SS. 1998. *The Illustrated Book of New Vegeta-ble*. 1st ed. Herbworld Press, Seoul. p 239–258.
- 2. Circle study of cooking in Korea. 1997. *Herb and salad.* 1st ed. Hyungseol Publisher Co, Seoul. p 12-21.
- 3. Cho TD. 1998. *Herb*. 1st ed. Deawon Publishing Co, Seoul. p 62-65.
- Chung HY. 1997. Screening of herb extracts containing the scavenging activity of superoxide anion produced by xanthine oxidase. *PhD Dissertation*. Hankyong National University,

- Ansung. p 123-127.
- Boxer A, Back P. 1980. The herb book. 1st ed. Chancellor Press, London. p 57–68.
- Clevaly A, Richmond K. 1995. The complete book of herbs. 2nd ed. Smithmark Publishing Inc, New York. p 1-52.
- 7. Bremness L. 1988. The complete book of herbs. A practical guide to growing and using herbs. 1st ed. Viking Studio Book, New York. p 238–242.
- 8. Chapman A. 1992. *Country kitchen herbs*. 1st ed. Weldon Publishing Inc, Willoughby. p 6-7.
- Ody P. 1995. Home herbal. 1st ed. Dorling Kindersley Publishing Inc, New York. p 29-47.
- Choi YJ. 2000. Herb life. 1st ed. Yega Publishering Co, Seoul. p. 177-204.
- Bouseta A, Scheirman V, Collin S. 1996. Flavor and free amino acid composition of lavender and eucalyptus honey. I Food Sci 61: 683-694.
- Amr A. 1995. Antioxidative role of some aromatic herbs in refrigerated ground beef patties. *Pure Applied Sci* 22: 1475–1487.
- Jung DH. 2001. Control of food microorganism. 1st ed. Daekwang Publishering Co, Seoul. p 35–312.
- Editors of food and development publisher. 2005. Trends in the market for preservatives. Food and Development 40: 51-56
- McSwane D, Rue N, Linton R. 2000. Essential of food safety and sanitation. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ. p 45-76
- Cho YH, Park HS, Choi MK, Chiang MH. 2001. Anti-microbial activities of Korean herb plants. Kor J Hort Sci & Supplement 19: 80.
- Offord EA, Mace K, Avanti OM, Pfeifer AMA. 1997. Mechanisms involved in the chemoprotective effects of rosemary extract studied in human liver and bronchial cells. *Cancer Letters* 114: 275–281.
- 18. Sagdie O, Ozen M. 2003. Antibacterial acitity of Turkish spice hydrosols. *Food Control* 14: 141-143.
- Seo KI, Park SK, Park JR, Kim HC, Choi JS, Shim KH. 1996. Changes in antimicrobial activity of hydrolyzate from mustard seed (*Brassica juncea*). J Korean Soc Food Nutr 25: 129–134.
- Kang SK, Sung NK, Kim YD, Shin SC, Seo JS, Choi KS, Park SK. 1994. Screening of antimicrobial activity of leaf mustard (*Brassica juncea*) extract. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 1008–1013.
- 21. Chung SK, Jung JD, Cho SH. 1999. Antimicrobial activities of chopi (*Zanthoxylum piperitum DC.*) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 371–377.
- Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2004. Antimicrobial effect of the extracts of cactus *Chounnyouncho* (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1268–1272.
- 23. Choi OJ, Rhee HJ, Choi KH. 2005. Antimicrobial activity of Korean wild tea extract according to the degree of fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 148–157.
- Tabak M, Armom R, Potasman I, Neeman I. 1996. In vitro inhibition of Helicobacter pylori by extracts of thyme. J Appl Bacteriol 80: 667–672.
- Han YS. 2005. Antimicrobial effects of *Camellia japonica* L. leaves extract on food-borne pathogenic microorganisms.
 Korean J Food Sci Technol 37: 113-121.

(2005년 6월 30일 접수; 2005년 9월 21일 채택)