

한약재에서의 세균과 진균 오염에 관한 연구

이진성^{1*}, 윤영식²

¹성균관대학교 유전공학과, ²원광대학교 한의학전문대학원

Studies on Bacterial and Fungal Contamination in the Herbal Medicines

Jin-Sung Lee^{1*} and Young Sik Yoon²

¹Department of Genetic Engineering, SungKyunKwan University

²Professional Graduate School of Oriental Medicine Wonkwang University

요 약 본 연구는 2010년 6월 1일부터 2010년 7월 30일까지 2개월간 서울에 위치한 3곳의 약업사에서 각각 13종의 한약재를 구입하여 이들에 대한 총 호기성 세균 및 진균에 대한 미생물 오염 실태를 분석하여 한약재에 대한 미생물 오염 검사기준을 위한 기초자료로 활용하고자 수행되었다. WHO의 총 호기성 세균 및 진균수 오염한도인 10^7 CFU/g 과 10^4 CFU/g과 비교하면, 총 호기성 균 오염(7.7%)보다는 진균의 오염(12.8%)이 더 높은 것으로 나타났다. 117개의 세균 집락을 대상으로 한 16S rRNA 유전자에 대한 DNA 상동성 분석은 내성 포자를 형성하는 *B. cereus*를 포함한 토양 유래 세균들이 약 96.6%를 차지하여 한약재의 채취와 보관 및 유통 과정에서의 미생물 오염 한도 기준 마련이 시급한 것으로 나타났다. 결론적으로 본 연구는 한약의 가공과정에 세균 및 진균의 혼입 가능성에 대한 시험조사와 함께 지속적인 한약재에 대한 미생물 오염실태 조사가 필요하다는 것을 시사하고 있다.

Abstract The study has been done for about two months through June 2 to July 30 of 2010. The study subjects are three herbal-pharmaceutical companies located in Seoul. Each of them purchased thirteen types of medicinal herbs, then the study did analysis for microbial contamination status of bacteria and fungi. Here, the study focuses on settling out fundamental data bases regarding the investigation standards of microbial contamination. As comparing the study results with contamination limits of bacteria and fungi which are represented by 10^7 CFU/g and 10^4 CFU/g in number respectively, the total percentage of fungi contamination which is 12.8% is higher than that of bacteria is only 7.7%. In the DNA homology analysis regarding 16S rRNA gene, 117 of colonization have been selected as study subjects. Including *B. cereus* composing of resistant spores, soil microbes account for approximately 96.6%. It indicates that it is important to establish collection and preservation systems in handling medicinal herbs. Also, it is critical to manage microbial contamination limits. In conclusion, the study proposes the needs to study on possible mingling of bacteria and fungi in manufacturing process, and microbial contamination status in medicinal herbs.

Key Words : Herbal Medicine, Contamination, Aerobic bacteria, fungus, 16S rRNA.

1. 서론

오염 수준과 주요 미생물의 모니터링 조사 연구는 한약재의 위생관리 및 오염관리에 있어서 중요하다[1-3]. 현재 유통되는 한약재의 대부분은 일정기간 동안 보관하였다가 공급되는 것으로 통상적으로 육안으로 확인할 수 있는 토양이나 곤충 및 기타 불순물은 제거되지만 미생물의 제어는 곤란한 실정이다[4,5,6]. 따라서 한약재의 생

자연에서 자라며 약리학적 효능이 있는 식물을 건조 또는 가공한 것을 한약재라고 하는데 일부 살균 효과가 있는 가열공정을 거친 것을 제외하고는 살균과정을 거친 것은 거의 드물다. 따라서 한약재에 존재하는 미생물의

*교신저자 : 이진성(jejis@daum.net)

접수일 10년 11월 16일

수정일 (1차 10년 12월 03일, 2차 10년 12월 13일)

게재확정일 10년 12월 17일

산, 가공, 유통 단계에서 적절한 보관과 관리가 시행되지 않으면 한약재가 미생물에 오염되었을 경우 미생물이 증식에 의한 한약재의 부패나 변질이 가속화되어 한약재의 품질 저하와 이에 따른 한약의 약효를 떨어뜨릴 수가 있다.

한편, 한약재에 대한 미생물 오염 허용한도에 관한 국가별 규격기준을 보면 최근에 유럽 및 독일 등에서는 호기성 세균의 미생물 오염한도를 10^7 CFU/g이하로 규정하고 있으며[7-10] 미국에서도 생약의 미생물 한도를 유럽과 같은 기준으로 규격을 설정하고 있다[11-13]. 특히 일본의 경우에는 세계적인 미생물학적 품질관리 실태조사를 통해서 유통 한약재는 저온에서 보관하도록 법제화하는 등 한약의 품질 유지를 위한 기준을 마련하고 있다 [14,15]. 하지만 우리나라에는 한약 추출물 및 제제에 한정하여 미생물 허용한도 및 시험방법에 대한 식품의약품안전청 고시 제2003-20호에 ‘생약추출물을 함유하는 고형제제는 세균의 오염한도를 10^5 CFU/g이하로 규격화하고는 있지만 원 생약분말을 한 개의 성분 이상 함유하는 고형제제는 세균 및 진균시험을, 생균제제는 세균 시험을 제외한다’라고 고시되어 있다[16]. 이처럼 우리나라의 한약재에 대한 미생물 한도 시험 설정이 일부분에서만 구비되어 있어 한약재를 구성하고 있는 원료 한약재에 대한 미생물의 허용한도 설정에 대한 기준은 마련되어 있지 않다.

이에 본 연구에서는 한약재의 미생물학적 안전성 확보를 위한 기초 자료로 활용하고자 서울 경동시장에 위치한 3곳의 약업사에서 임의로 13종의 한약재를 선정해서 이들에 대한 총 호기성 세균과 진균의 정량 평가 및 주요 오염 세균에 대한 분자적 확인을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 한약재 시료의 준비

본 연구에 사용한 한약재는 2010년 6월 1일부터 2010년 7월 30일까지 2개월간 서울 경동시장에 위치한 3곳의 약업사에서 13종을 구매하여 사용하였다. 각 시료는 감마선 조사로 멸균된 밀봉용기에 넣어 운반하였으며 시료의 개봉은 개봉 부위의 바깥쪽을 70% ethanol로 세척한 후에 멸균된 핀셋을 이용하여 약 10g의 시료를 채취하였다. 이 시료를 더욱 잘게 자른 후 멸균백에 넣고 90ml의 인산완충용액을 첨가한 다음 BagMixer 400 (Interscience, France)를 사용하여 시료를 균질화한 다음 총 호기성 세균 및 진균 검사를 위한 원액 시료로 사용하였다.

2.2 총 호기성 세균수 정량시험

총 호기성 세균 수를 위한 정량시험은 대한약전 제8개정 미생물한도시험법을 기준으로 수행하였다[16]. 원액시료 1 ml을 멸균한 9 ml의 인산완충용액에 넣고 잘 혼합한 다음 다시 1 ml을 취하는 단계별 희석으로 10^{-9} 까지 희석하였다. 각 단계별 희석액에서 1 ml을 취해서 petri dish에 넣고 45°C 이하로 미리 보온해 둔 멸균된 tryptic soy agar (Himedia, India) 배지를 15~20 ml 넣어 잘 혼합한 후 35°C에서 24시간 동안 배양하고 300개 이하의 집락을 보이는 평판배지를 대상으로 계수하였다. 진균의 증식을 억제하기 위해서 tryptic soy agar에 항진균제인 amphotericin B (Sigma, USA)를 최종농도가 100 ug/ml이 되도록 첨가하였다.

2.3 총 진균수 정량시험

원액시료 1 ml을 미리 멸균해 둔 9 ml의 인산완충액에 넣은 후 다시 1 ml을 취하는 방법으로 10^{-9} 까지 단계별 희석하였다. 각 단계별 희석액에서 1 ml을 취해서 petri dish에 넣고 45°C 이하로 미리 보온해 둔 멸균된 sabouraud dextrose agar (Himedia, India) 배지를 15~20 ml 넣어 잘 혼합한 후 20~25°C에서 5일 동안 배양하고 100개 이하의 집락을 보이는 평판배지를 대상으로 계수하였다. 세균의 증식을 억제하기 위해서 sabouraud dextrose agar에 항세균제인 chloramphenicol (Sigma, USA)을 최종농도가 10 ug/ml이 되도록 첨가하였다.

2.4 16S rRNA의 nucleotide sequencing

본 연구에 사용된 13종의 한약재로부터 분리된 총 호기성 세균들 중에서 임의로 각 3개씩의 집락을 선택하여 전체적으로 117개의 집락에 대한 16S rRNA 유전자의 염기서열을 분석하였다. 우선 집락을 이쑤시개를 사용해서 100 ul의 증류수가 첨가되어 있는 1.5 ml 튜브에 넣고 교반기(Vision, Korea)를 사용하여 잘 혼합한 다음, 95°C의 heating block (FinePCR, Korea)에서 5분간 끓이고 실온에서 천천히 식혔다. 이후 이 용액 1 ul를 premix Taq DNA polymerase (Bioneer, Korea)에 첨가한 다음, 16S forward primer (16S-F, 5-CGGAGAGTTGATCCTGG)와 reverse primer (16S-R, TACGGCTACCTTGTACGAC) (Bioneer, Korea)를 각각 1 ul (5 pmole/ul)씩 넣었다. 최종적으로 17 ul의 증류수를 첨가하여 혼합한 다음, PCR을 수행하였다. PCR은 GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, USA)을 사용하였다. PCR반응 조건은 94°C에서 5분간 변성과정을 거친 후, 94°C에서 30초, 55°C에서 40초, 72°C에서 1분을 1회로 하여 총 35회 반응한 다음, 72°C에서

10분간 최종 증폭(final amplification) 반응을 수행하였다. PCR 산물은 1.5%의 agarose gel을 사용하여 전기영동을 통해서 약 1.5 kb의 목적하는 16S rDNA 밴드를 확인하고 gel extractin kit (Qiagen, Korea)를 사용해서 목적 밴드를 분리하였다. DNA 염기서열은 16S forward primer 와 BigDye v3.1 kit (Applied Biosystems, USA)를 사용해서 direct sequencing 반응을 수행한 한 후, Genetic Analysis 3100 (Applied Biosystems, USA)으로 분석하였다. 염기서열을 이용한 미생물의 동정은 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 프로그램을 이용하여 수행하였다.

3. 결과

3.1 한약재별 총 호기성 세균수 평가

3곳의 약업사에서 한약재를 구입하여 총 호기성 세균수를 평가한 결과를 보면(표 1) B 약업사에서 구입한 한약재 중에서 석창포(*Acorusgramineus*)가 3.24×10^7 로 가장 오염도가 높았으며 C 약업사의 경우에는 우슬(*Acyranthesbidentata*)과 맥문동(*Liriopeplatyphylla*)이 각각 7.30×10^7 과 5.33×10^8 으로 높은 오염도를 보여 주었다.

[표 1] 13종의 한약재에 오염된 총 호기성 세균의 정량 평가

Abbreviation in this study	Scientific name of Herbal medicine	Total aerobic bacteria (CFU/g)		
		A	B	C
1	<i>Acorus gramineus</i>	1.80×10^4	3.24×10^7	1.24×10^5
2	<i>Angelica gigas</i>	7.83×10^2	5.71×10^4	3.51×10^2
3	<i>Cnidium officinale</i>	8.38×10^2	6.20×10^4	2.76×10^2
4	<i>Atractylodes macrocephala</i>	5.51×10^3	4.81×10^3	6.64×10^5
5	<i>Acyranthes bidentata</i>	3.12×10^3	4.83×10^3	7.30×10^7
6	<i>Liriope platyphylla</i>	1.16×10^4	2.15×10^3	5.33×10^8
7	<i>Ostericum Koreanum</i>	3.50×10^3	4.84×10^4	2.81×10^3
8	<i>Astragalus membranaceus</i>	7.0×10	3.64×10^2	5.10×10^3
9	<i>Ledebouriella seseloides</i>	7.20×10^2	6.40×10^2	3.23×10^2
10	<i>Eucommia ulmoides</i>	1.80×10^2	2.30×10^2	3.0×10
11	<i>Phlomis umbrosa</i>	2.22×10^2	3.11×10^4	5.75×10^3
12	<i>Polygonatum odoratum</i>	2.53×10^2	5.30×10^4	4.33×10^2

13	<i>Ziziphus jujuba</i>	4.60×10^2	4.10×10^2	2.55×10^2
	Contamination (%)	7.7(3/39)		

Bold letters indicate microbial limit over of 10^7 CFU/g according to WHO's microbial contamination limit category-1 standard. A, B and C are places to purchase herbal medicines at kyung-dong market in seoul.

WHO의 총 호기성 세균수에 대한 오염 한도치인 10^7 CFU/g를 기준[17,18]으로 각 약업사에서 샘플링 한 한약재를 비교해 보면 A 약업사의 13개 한약재에서만 모두 기준치 이하로 나타났다. 3곳의 약업사에서 구입한 13종의 한약재 별 총 호기성 세균수 오염 정도를 보면 황기(*Astragalusmembranaceus*), 방풍(*Ledebouriella seseloides*), 두충(*Eucommia ulmoides*), 산조인(*Ziziphus jujuba*)등은 대체적으로 총 세균수가 적게 나타난 반면에 상대적으로 총 세균수가 많은 한약재는 석창포(*Acorusgramineus*), 백출(*Atractylodes macrocephala*), 우슬(*Acyranthesbidentata*), 맥문동(*Liriopeplatyphylla*) 등 임을 알 수 있었다. 전체적으로 보면 A 약업사보다 B와 C 약업사가 총 호기성 세균수 오염이 심한 것으로 나타났다.

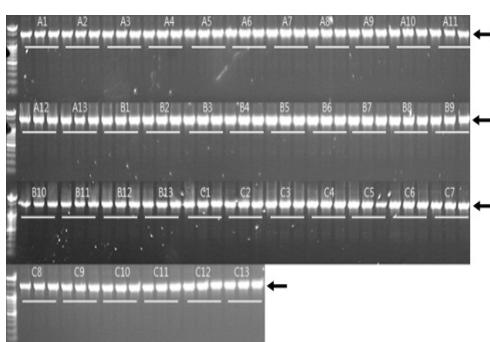
[표 2] 13종의 한약재에 오염된 진균의 정량 평가

No	Scientific name of Herbal medicine	Fungi(CFU/g)		
		A	B	C
1	<i>Angelica gigas</i>	4.30×10^2	2.39×10^4	2.88×10^2
2	<i>Cnidium officinale</i>	1.0×10^4	2.11×10^4	1.30×10^4
3	<i>Atractylodes macrocephala</i>	0	3.49×10^2	2.2×10
4	<i>Acyranthes bidentata</i>	6.0×10	5.23×10^3	3.44×10^2
5	<i>Liriope platyphylla</i>	3.0×10	2.17×10^3	5.23×10^4
6	<i>Ostericum Koreanum</i>	0	0	1.8×10
7	<i>Astragalus membranaceus</i>	2.0×10	3.74×10^3	$5.4 \times 10 \times 10^3$
8	<i>Ledebouriella seseloides</i>	1.0×10	3.56×10^3	6.23×10^3
9	<i>Eucommia ulmoides</i>	0	2.77×10^2	0
10	<i>Phlomis umbrosa</i>	0	0	0
11	<i>Polygonatum odoratum</i>	0	2.83×10	0
12	<i>Ziziphus jujuba</i>	0	7.10×10	6.2
13	Contamination(%)	0	0	3.7×10
				12.8(5/39)

Bold letters indicate fugal organisms limit over of 10^4 CFU/g accoding to WHO's microbial contamination limit category-1 standard. A, B and C are places to purchase herbal medicines at kyung-dong market in seoul.

3.2 한약재별 진균수 평가

WHO의 진균수에 대한 미생물 오염한도 기준(10^4 CFU/g)에서 보면(표 2) A 약업사의 천궁(*Cnidium officinale*), B 약업사의 당귀(*Angelica gigas*)와 천궁(*Cnidium officinale*), 그리고 C 약업사의 천궁(*Cnidium officinale*)과 맥문동(*Liriope platyphylla*)등 5개(7.7%)의 한약재가 기준 이상임을 알 수 있었다. 특히 천궁(*Cnidium officinale*)의 경우는 3곳의 약업사 모두에서 진균 오염이 심한 한약재로 나타나 한약재에 따라서 진균의 오염 정도가 다를 수 있음을 추정할 수 있었다. 한편, 속단(*Phlomis umbrosa*)은 3곳의 약업사 모두에서 진균이 검출되지 않은 유일한 한약재임을 알 수 있었다. 3곳의 약업사에 대한 진균 오염 결과를 종합해 보면 맥문동(*Liriope platyphylla*), 방풍(*Lebedourilla seseloides*), 두충(*Eucommia ulmoides*), 속단(*Phlomis umbrosa*), 황정(*Polygonatum odoratum*), 산조인(*Ziziphus jujuba*)등은 진균 오염이 적은 한약재로, 반면에 석창포(*Acorus gramineus*), 당귀(*Angelica gigas*), 백출(*Atractylodes macrocephala*), 우슬(*Acyranthes bidentata*)등은 진균 오염이 상대적으로 높은 한약재임을 추정할 수 있었다. 약업사 간 진균의 오염 정도는 총 호기성 세균수의 결과와 유사하게 A 약업사보다 B와 C 약업사의 한약재에서 진균의 오염 수준이 높은 것으로 나타났다.



[그림 1] 13종의 한약재로부터 세균 유래의 16S rRNA 유전자의 PCR 증폭물 확인
(A, B, and C indicate purchase site of herbal medicines and 1~12 mean sample no of herbal medicine showing in Table 1~3. Arrows indicate 16S rRNA genes of about 1.2 kb)

3.3 주요 오염 미생물의 분자 동정

3곳의 약업사에서 구입한 13종의 한약재에 오염된 총 호기성 세균 집락들 중에서 각각의 한약재 별로 임의로 3개씩의 집락을 선택하여 전체적으로는 117개의 집락을 대상으로 16S rRNA의 염기서열 분석을 통해서 세균의 분자 동정을 실시하였다. PCR방법을 통해서 117개의 집락에서 목적하는 1.5 kb의 16S rRNA 유전자를 확인(그

림 1)한 후 BLAST 상동성 분석을 수행하였다.

[표 3] 16S rRNA 염기서열을 이용한 한약재 오염 세균에 대한 분자 동정

Herbal medicine	A	B	C
<i>A. gigas</i>	<i>C. sakazaii</i>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Un. enterobacter</i>
<i>C. officinale</i>	<i>C. dublinensis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. sakazaii</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. sakazati</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>
<i>A. macrocephala</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
	<i>B. megaterium</i>	<i>Un. bacterium</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>
<i>A. bidentata</i>	<i>Un. bacillus</i>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. amy.</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. mycodes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. sakazaii</i>
<i>L. platyphylla</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. sakazaii</i>
	<i>B. subtilis</i>	<i>B. meg.</i>	<i>C. sakazati</i>
	<i>B. mycodes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>
<i>O. koreanaum</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. meg.</i>	<i>B. meg.</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. meg.</i>	<i>B. meg.</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. meg.</i>	<i>B. cereus</i>
<i>A. membranaceus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. mycodes</i>
	<i>B. pumilus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. mycodes</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. sonorensis</i>	<i>B. cereus</i>
<i>L. seseloides</i>	<i>B. meg.</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. pumilus</i>	<i>B. meg.</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. meg.</i>
<i>E. ulmoides</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. amy.</i>	<i>B. pumilus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. mycodes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>
<i>P. umbrosa</i>	<i>B. sonorensis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
	<i>B. B. amy.</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. mycodes</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. meg.</i>	<i>B. cereus</i>
<i>P. odoratum</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Un. bacterium</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. amy.</i>	<i>B. cereus</i>
<i>Z. jujuba</i>	<i>B. pseu.</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
	<i>B. sonorensis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. pumilus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. pumilus</i>
<i>Z. jujuba</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Un. bacterium</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>

결과적으로 전체 117개의 총 호기성 세균 중에서 *B. cereus*가 59개로 50.4%를 차지하였으며, *B. megaterium*이 12개(10.2%), *B. subtilis*가 11개(9.4%), *B. pumilus*가 7개(5.9%), *B. mycodes*와 *E. sakazaii*가 각각 6개(5.1%), *B. amyloliquefaciens*가 4개(3.4%), *B. sonorensis*가 3개(2.5%), *B. pseudomycodes*와 *C. dublinensis*가 각각 1개(0.8%)씩 동정되었다(표 3). 한편, 4개 집락은 uncultured enterobacter (1종), uncultured bacterium (2종), uncultured bacillus (1종)으로 동정되었다. 13종류의 한약재 별로 특이적인 세균의 오염은 확인되지 않았으나 일반적으로 한약재가 재배 혹은 채취되는 장소가 토양임을 감안할 때

토양 유래의 미생물이 주류를 차지하는 것으로 여겨진다. 하지만, 열 저항성 내생포자를 형성할 수 있는 병원성 세균인 *B. cereus*등을 포함하는 *Bacillus* 속 세균[19,20]의 오염과 장내 세균으로서 특히 유제품과 분유를 통해 신생아에게 식중독을 일으키는 *E. sakazakii* [21]가 한약재에서도 오염될 수 있음을 확인할 수 있었다.

4. 고찰

한약은 생산, 가공, 유통과정에서 적절한 보관 및 관리가 이뤄지지 않으면 미생물의 증식 가능성이 크며 이로 인한 부패나 변질이 우려된다[22]. 하지만 현재 우리나라에는 한약재와 한약품에 대한 미생물 허용기준을 준비하기 위한 한약재 별 미생물 오염 실태 조사가 거의 없는 실정이다. 본 연구는 2010년 6월 1일부터 2010년 7월 30일까지 2개월간 서울의 경동시장에 위치한 3곳의 약업사에서 임의로 13종의 한약재를 선정하여 이들에 대한 총 호기성 세균 및 진균에 대한 미생물 오염 실태를 분석한 것으로 한약재 생산지에 따른 미생물 오염 정도는 본 연구에서는 고려하지 않았다.

WHO의 세균 오염 한도인 10^7 CFU/g과 진균 오염 한도인 10^4 CFU/g을 기준[17, 18]으로 해서 보면 본 연구의 미생물 오염 실태 조사는 진균이 총 호기성 균보다 높은 오염율을 보였으며 약업사 A보다 B와 C의 약업사에 구입한 한약재의 미생물 오염도가 더 높음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 약업사의 보관 환경과 위생 수준의 차이 또는 한약재의 유통과정에서의 오염 등이 원인인 것으로 추정되지만 직접적인 오염 요인은 확인 할 수 없었다.

본 연구에 사용된 한약재에서 확인된 세균들은 전체적으로 10종으로 확인되었으며 대부분이 *B. cereus*를 포함한 토양에서 유래하는 *Bacillus* 속의 세균이었다. 그런데 이들 *Bacillus* 속 미생물은 대부분이 포자를 형성하는 세균으로 고온에서도 균이 사멸하지 않는 특성을 갖고 있어 한약의 가공과정에 흔입되어 되면 식중독 유발 가능성도 배제하기 어렵다. 따라서 한약재의 가공 전후의 품질관리에 대한 미생물의 한도 기준이 시급히 마련되어야 할 것으로 생각된다. 이러한 측면에서 최 등[5]은 현재의 법규상 규정되어 있는 검사항목은 아니지만 한약재에 대해서도 위생검사를 실시할 필요성을 제기하여 한약재의 청결 수준을 보증하는 검사로서 총 호기성 세균수 측정을, 그리고 한약재의 저장 품질을 위해서 총 진균수의 측정을 권고하였다. 또한, 불검출이 되어야 하는 주요 병원성 세균들은 그 종류를 규정하여 존재 여부를 확인하는 시험을 별도로 둘 것을 제안하기도 하였다. 한편, Brown

등[23-28]은 herbal product를 대상으로 한 항생제 저항성 세균의 오염 연구에서 생강, 로즈마리, 마늘, 겨자, 히드라스티스 등에서 ceftriaxone 저항성 세균의 오염을 확인하여 이를 한약재의 생산과 이용에 대한 폭넓은 평가의 필요성을 제기하기도 하였다. 따라서 향후 한약재의 미생물 오염 한도 기준을 마련하기 위해서는 항생제 내성 세균의 정성 평가 항목도 포함되어야 할 것으로 사료된다.

진균류 중에서 아플라톡신을 생산하는 *Aspergillus flavus*와 *A. parasiticus*는 한약재의 안전성에 있어서 중요한 독소물질이다. 이들은 곰팡이의 2차 대사물질로서 동물에 대해 발암성, 돌연변이성, 기형 발현성 등을 나타내며 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서 인체 발암성이 확실한 발암물질인 Group 1으로 분류하고 있다[29]. 아플라톡신은 완전히 건조되지 않는 생약 등이 환기가 잘 되지 않고 습도와 온도가 높은 장소에서 장기간 저장되거나 흥수, 우기에 수확 시기부터 건조시기까지 저장기간이 길고 환기가 잘 되지 않는 시기에 더욱 잘 생성될 수 있기 때문에 한약재에 대한 보관, 유통, 채취 조건에 관한 세밀한 평가가 필요하다 [24,29,30]. 본 연구에서는 진균류를 대상으로 정량적 평가만을 제시하기 때문에 이들 아플라톡신을 생성시키는 곰팡이의 존재 여부는 확인할 수 없었다. 하지만 WHO 기준과 비교해 볼 때 총 호기성 세균수보다 총 진균수의 오염 수준이 비교적 더 높은 것으로 나타나 진균의 오염 관리와 함께 아플라톡신 생성 균의 존재여부 그리고 아플라톡신의 함유 정도 등에 관한 세밀하고 추가적인 연구가 진행되어야 할 것으로 보인다.

한약재는 생약으로 일반적으로 환자 및 노약자가 다수 포함된 집단이 섭취하고 있어 안전성이 특히 고려되어야 한다. 최근 외국으로부터 생약의 수입량이 증가하면서 이에 대한 미생물학적 안전성에 대한 문제인식이 대두되고 있으나 이들 기준 마련을 위한 기초 연구자료 조차도 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서 임의로 선정한 13종의 한약재 별 미생물학적 오염도 평가는 한약재의 채취, 보관 그리고 유통과 관련한 미생물학적 오염 한도의 기준을 마련하는 데에 중요한 기초자료로 제공될 것으로 생각된다.

참고문헌

- [1] S. Kimura, et al., "Effects of steam sterilization on changes in the microbial counts, color and constituents of powered herbal drugs". Journal of Antibacterial and Antifungal Agents, Vol. 31, No. 12, pp. 751-758, 2003.

- [2] I. Kosalec, et al., "Contaminants of medicinal herbs and herbal products". *Arh Hig Rada Toksikol.*, Vol. 60, pp. 485-501, 2009.
- [3] H. M. Martins, et al., "Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions". *Int. J. Food Microbiol.*, Vol. 68, pp. 149-153, 2001.
- [4] T. E. Chang, et al., "Microflora of manufacturing process and final products of saengshik". *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 36, No. 3, pp. 501-506, 2004.
- [5] 최선미, 정희진, 윤유식, 이미영, 최환수, 성현제, "한약재 품질 관리에 관한 연구". *대한한의학회지*, 제21권 3호, pp. 99-112, 2000.
- [6] C. Wilson, et al., "Pathogen growth in herbal teas used in clinical settings: A possible source of nosocomial infection?". *Am. J. Infect. Control.*, Vol. 32, pp. 117-119, 2004.
- [7] EP. Biological Tests. Supplement 5.2. "Bacterial Endotoxins. In: European Pharmacopoeia (EP)". 5th eds., Strasbourg, France: Council of Europe -European Directorate for the Quality of Medicines, 2005.
- [8] EPA. "Good Laboratory Practice Standards: Toxic Substances Control Act". CFR. 792, 2003.
- [9] FDA. "General Biological Products Standards: General Provisions, Purity". CFR. 610.13, 2005.
- [10] T. Hauer, et. al., "Tea as a source of *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia?". *Infect Control. Hosp. Epidemiol.*, Vol. 20, pp. 594, 1999.
- [11] USP. "Bacterial Endotoxins Test". USP 30 NF25(85). Rockville, MD: The U.S. Pharmacopeial (USP) Convention, 2007a.
- [12] USP. "Pyrogen Test". USP30 NF25(151). Rockville, MD: The U.S. Pharmacopeial (USP) Convention, 2007b.
- [13] FDA. "Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies". CFR. 58, 2003.
- [14] Japanese Pharmacopeia B 14th eds., B, pp. 287-308, 1999.
- [15] Japanese Pharmacopeia B 14th eds., F, pp. 104-106, 1999.
- [16] Korean Pharmacopoeia 8th eds. pp. 1616-1632. 2008.
- [17] World Health Organization. "WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residue". Geneva, WHO, 2007.
- [18] World Health Organization. "Supplementary guidelines on good manufacturing practices for the manufacture of herbal medicines". Geneva, WHO, 2006.
- [19] D. J. Beecher, et al., "Identification and analysis of the antigens detected by two commercial *Bacillus cereus* diarrheal enterotoxin immuno assay kits". *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 60, pp. 4614-1651, 1994.
- [20] L. K. Nakamura, et. al., "*Bacillus pseudomycoides* novel species". *Int. J. Syst. Bacteriol.*, Vol. 48, pp. 1031-1035, 1998.
- [21] B. P. Simmons, et al., "*Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula". *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, Vol. 10, pp. 398-401, 1989.
- [22] E. Czech, et. al., "Microbiological status of commercially available medicinal herbal drugs". *Planta Med.*, Vol. 67, No. 3, pp. 263-269, 2001
- [23] J. C. Borwn, et. al., "Prevalence of antibiotic-resistant bacteria on herbal products". *J. Good Prot.*, Vol. 71, No. 7, pp. 1486-1490, 2008.
- [24] R. S. Farag, et. al., "Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils". *J. Food Prot.*, Vol. 52, pp. 665-667, 1989.
- [25] S., N. Kimura, et. al., "Effects of steam sterilization on changes in the microbial counts, color and constituents of powered herbal drugs". *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents*, Vol. 31, No. 12, pp. 751-758, 2003.
- [26] I. Kosalec, et. al., "Contaminants of medicinal herbs and herbal products". *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*, Vol. 60, pp. 485-501, 2009.
- [27] H. M. Martins, et. al., "Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions". *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 68, pp. 149-153, 2001.
- [28] J. Singh, et. al., "Antibacterial activity of yogurt starter in cow and buffalo milk". *J. Food Prot.*, Vol. 42, pp. 664-665, 1979.
- [29] H. D. Belitz, et. al., "Food Chemistry", Springer-Verlag, Berlin, 1987.
- [30] J. A. Morris, "Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol. 56, pp. 595-603, 1979.

이 진 성(Jin-Sung Lee)

[정회원]



- 1999년 8월 : 성균관대학교 일반대학원 생물학과 (이학박사)
- 2008년 9월 ~ 현재 : (주)나래바 이오테크 부설 미생물소재연구소 연구소장/기술개발담당이사
- 2006년 3월 ~ 2008년 8월 : 한서대학교 식품생물공학과 교수 (겸임)
- 2007년 10월 ~ 2009년 9월 : 농촌진흥청 전문위원
- 2007년 9월 ~ 2008년 8월 : (주)바이오닉스 상무이사
- 2009년 3월 ~ 현재 : 성균관대학교 유전공학과 교수 (겸임)
- 2009년 8월 ~ 현재 : 경기대학교 대체의학과 외래교수
- 2010년 11월 : 기술지도사 (분야-생명공학)

<관심분야>

영양분자생리학, 식품치료학, 분자진단학

윤 영 식(Young Sik Yoon)

[정회원]



- 2008년 3월 ~ 현재 : 호원대학교 외식산업학과 교수(겸임)
- 2009년 3월 ~ 현재 : 경기대학교 대체의학박사 과정 (현)4학기
- 2010년 3월 ~ 현재 : 원광대학교 한의학전문대학원 한의학박사 과정(현) 2학기
- 2009년 1월 ~ 현재 : (주)한국서비스경영교육개발협회 대표이사
- 2010년 3월 ~ 현재 : 고구려대학 외래교수

<관심분야>

보완대체의학, 한의학, 생명공학, 사회복지학