

봉선화 추출물의 항균성에 관한 연구(I)

-추출용매에 따른 항균성 검색-

최석철 · 정진순

부산대학교 가정대학 의류학과

Studies on Antimicrobial of Impatiens balsamina extract (I)

-Screening of Antimicrobial on extract solvent-

Suk Chul Choi · Jin Soon Jung

Department of Clothing and Textiles, Pusan National University

Abstract: To study antimicrobial activities of Impatiens balsamina, its leaf and stem was extracted by methanol and water. The extracts were tested their microbial inhibition activities against several microorganisms, staphylococcus aureus KCTC 1928, Escherichia coli KCTC 1116, Klebsiella pneumoniae KCTC 2690, Trichophyton mentagrophytes KCTC 6316. The methanol extract and water extract of the leaf and stem didn't show the inhibition effect on E. coli but showed the inhibition effect against the other 3 species of the microorganisms tested. The extract of leaf showed higher inhibition than the extract of stem. And the methanol extract showed higher inhibition than the water extract.

1. 서론

인류는 고대로부터 질병의 치료와 건강증진을 위하여 장구한 경험을 통하여 식물류와 동물계 및 광물계의 자연산물에서 약용자원을 탐구 이용하여 왔다.¹⁾

우리나라에서도 생약은 고대로부터 의약품으로써 국민보건상 크게 공헌하여 왔으며 현대의약이 고도로 발달된 금일에 있어서도 한약제로서는 물론 양약의 원료로서 막대한 양이 소비되고 있다. 우리나라에서 많이 활용하고 있는 한약재 중에는 항균성 물질을 함유하고 있는 것들이 많다.^{2, 3)} 1929년 페니실린이 발견된 이래 항균물질에 관한 연구가 활발히 진행되어 현재 무수히 많은 항균성물질이 개발되고 있다. 한약의 白檀 등은 오래전부터 살균제로 사용⁴⁾되어 왔으나 우리나라에서 많이 사용되는 한약 및 민간약의 항균작용에 대한 연구는 아직 많은 과학적 연구 과제가 남아 있다. 許⁵⁾은 蘇木, 大黃, 甘草, 牡丹皮, 玄草, 金銀花, 黃連, 苦薈, 紫胡, 川弓, 烏角刺, 蒲公英 등의 시판 생약에 대한 항균성을 연구 보고한 바 있으며, 李⁴⁾도 여러가지 한약의 항균성을 조사연구한 바 있다. 鄭⁶⁾은 영지에 함유된 항균성물질을 검색·보고하였다. 豊⁷⁾은 大根에 함유되어 있는 항균물질을 손쉽게 검정하는 방법을 검토하고 대근과 같이 휘발성의 항균성물질을 포함할 경우에는 평판한천배지 보다도 증층법이 적합하다고 보고하였다. 또한 천연물중에 존재하는 인체에 해가 없는 천연항균물질을 식품에 이용하고자 하는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 우리나라에서 많이 사용하는 향신료들도 상당수가 여러 균에 대한 항균작용이 알려져 있는데 항균작용은 대부분 정유에 함유된 성분으로 가장 많이 알려진 것은 마늘과 양파이다.^{8, 9)} 鄭¹⁰⁾은 카레 제조시, 원료로 사용되는 13종의 향신료에서 정유를 분

리하여 그람양성균, 그람음성균, 유산균, 효모, 곰팡이에 대한 항균력을 조사한 결과 clove, cumin, nutmeg, oregano, rosemary와 같은 향신료 정유성분은 매우 낮은 농도에서도 좋은 항균효과를 나타내었다고 보고하였다.李동^{9), 11)}은 약용식물학 등에서 방부 또는 살균효과가 있어 예로부터 민간의 식품에 이용되어 그 안전성이 확보된 생약재 및 식물을 대상으로 대표적인 식품부패 미생물에 대한 항균성을 검색하여 천연식품보존료로서의 가능성을 검토하였다.朴동^{12), 13)}은 질병의 치료용 약재로 이용되는 목단피, 황백, 연교, 오미자, 자초, 길경 등의 한약초 20종을 대상으로 물과 에탄올로 항균성물질을 추출하여 식품부패미생물에 대한 항균작용 및 식품보호효과에 관해 보고하였다.

이외에도 천연항균성 물질에 관한 연구가 다수 보고되어 있다.

이상과 같이 지금까지 보고되어 있는 천연항균물질에 관한 국내외의 많은 연구들은 주로 의학·약학 분야 및 식품학 분야에서 실시되어 왔고 의류학 분야에서는 거의 연구가 되어 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 기존에 식품학이나 약학 분야에서 많이 다루어져 왔던 천연물에서 벗어나 아직 천연염색이나 천연물의약품으로 거의 사용되지 않은 봉선화를 활용하고자 한다.

본 실험에서는 봉선화를 잎, 줄기별로 나누고 각각을 물과 메탄올로 추출한 후, 각 추출물에 대한 항균성을 검토하였다.

2. 재료 및 실험방법

2-1. 실험재료

본 실험에 사용한 봉선화는 1995년 8월에 부산대학교 가정관에서 재배한 봉선화를 잎, 줄기별로 채취하고 이를 동결건조하여 시료로 사용하였다.

2-2. 실험방법

2-2-1. 봉선화 추출물의 항균성 측정

(1) 추출

1) 메탄올 추출

동결건조한 봉선화의 잎, 줄기 각 시료를 분쇄기로 분쇄하고 20배량의 메탄올로 상온에서 24시간 2회 반복 추출, 여과하였다. 여과 후 추출액을 30℃에서 감압농축하여 메탄올을 제거하고 농도별 메탄올 추출물의 항균활성을 측정하였다.

2) 물 추출

동결건조한 봉선화의 잎, 줄기 각 시료를 분쇄기로 분쇄하고 20배량의 증류수로 50℃에서 1시간 2회 반복 추출, 여과하였다. 여과 후 추출액을 48℃에서 감압농축하여 물을 제거하고 농도별 물 추출물의 항균활성을 측정하였다.

(2) 봉선화 추출물의 항균성 측정

1) 시험균

본 실험은 봉선화추출물염색포의 항균활성을 검토하기 위한 선행단계이므로, 본 실험에 사용되는 시험균도 그에 적합한 것이어야 한다. 섬유제품에 기생 또는 부착하는 미생물의 종류는 대단히 많다. 그러나 항균방취가공을 목적으로 했을 경우 그 목적에 적합한 시험균을 선택할 필요가 있다. 따라서 세균류는 피부습진 또는 내의의 악취의 원인균인 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928과 乳幼兒의 피부의 보호와 악취의 원인균인 *Escherichia coli* KCTC 1116, 폐렴간균인 *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2690, 사상균은 양말등에 있어서 무좀의 원인균인 *Trichophyton mentagrophytes* KCTC 6316의 Table 1에 나타낸 4종의 시험균을 이용하였다.

이하 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928를 *St. aureus*, *Escherichia coli* KCTC 1116을 *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2690을 *Kleb. pneu.*, *Trichophyton mentagrophytes* KCTC 6316을 *Tri. menta*로 각각 약술한다. 이들 시험균은 한국과학기술연구원 유전공학 연구소 유전자은행의 보존균주로 부터 분양을 받아 배양한 것이다.

Table 1. Microorganism for antimicrobial activity

	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928
Bacteria	<i>Escherichia coli</i> KCTC 1116 <i>Klebsiella pneumoniae</i> KCTC 2690
Mold	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> KCTC 6316

2) 배지

항균력시험용의 배지는 Table 2, 3에 나타냈듯이 세균류에 대해서는 AATCC Agar, 사상균에 대해서는 Sabouraud Agar이다.

이들 배지의 조성내용을 Table 2, 3에 나타냈다.

Table 2. Stock culture medium for antimicrobial activity

Bacteria	Mold
AATCC Agar	Sabouraud Agar
Pepton 10g	Pepton 10g
Beef Extract 5g	Glucose 40g
Sodium chloride 5g	
Agar 20g	Agar 20g
Distilled Water 1 ℓ	Distilled Water 1 ℓ

Table 3. Liquid medium for antimicrobial activity

Bacteria	Mold
AATCC Agar	Sabouraud Agar
Pepton 10g	Pepton 10g
Beef Extract 5g	Glucose 40g
Sodium chloride 5g	
Distilled Water 1 l	Distilled Water 1 l

3) 시험균액의 조정

Table 3에 나타난 AATCC Agar와 Sabouraud Agar 액체 배지 10ml를 tube에 넣고 1기압, 120℃의 조건하에서 20분간 멸균하고 45℃로 냉각 후, 이 멸균된 액체배지 10ml에 공시균 1백금이씩을 접종하여 세균은 37℃에서 24시간, 곰팡이는 30℃에서 1주일간 배양시켰다. 각 배양액을 600nm에서 흡광도가 0.1될 때까지 희석하였다.

4) 항균력 시험법

항균력 시험은 paper-disc에 의한 한천확산법에 의해 측정하였다.

우선 Table 2에 나타난 AATCC Agar와 Sabouraud Agar를 1기압, 120℃의 조건하에서 20분간 멸균하고 45℃로 냉각 후, 멸균된 paper-disc에 15ml씩 부어 면을 고르게 고화(기층배지)시켰다. 위의 시험균액을 멸균된 top agar 2ml가 든 시험관에 0.1ml씩 멸균 주사하여 고르게 섞은 후 기층배지 위에 부어 고화시켰다. 세균류에 대해서 paper-disc(직경 8mm)위에 시료액 25 μ l를 떨어뜨렸고, 사상균에 대해서는 paper-disc위에 시료액 40 μ l를 떨어뜨렸다. control은 용매만을 떨어뜨렸다. 용매를 건조제거한 후 disc를 agar plate 위에 올려 놓았다. 세균류는 37℃에서 1일간, 사상균은 30℃에서 1주일간 배양한 후 생긴 저지대의 폭을 측정해서 항균활성을 나타냈다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 봉선화 부위별 추출물의 항균활성

3-1-1. 메탄올 추출물의 항균활성

봉선화 잎, 줄기 각각을 100% 메탄올로 추출하여 얻은 추출물로 세균 3종과 곰팡이 1종에 대하여 항균성을 검토한 결과를 Table 5에 나타냈다. Table 5에서도 알 수 있듯이 E. coli에 대해서는 봉선화 잎, 줄기 모두 항균성이 인정되지 않았지만 St. aureus에 대해서는 강한 활성을 나타냈다. 잎의 경우는 농도 1/4부터 저지대가 형성되었고 1/1의 농도에서는 저지대가 5mm로 우수한 항균효과를 나타냈다. 줄기의 경우는 1/2의 농도에서부터 3mm의 저지대가 나타났고 1/1에서는 저지대가 3.5mm로서 다소 강한 항균효과를 나타냈다.

Kleb. pneu에 대해서는 저지대내에 적은 수의 colony가 나타났는데 잎의 경우는 1/4의 농도부터, 줄기는 1/2의 농도부터 나타났다.

무좀균의 일종인 Tri. menta에 대해서는 잎의 경우 1/1의 농도에서 저지대가 4.3mm로 강한 항균활성을 나타냈으며 줄기는 2.0mm로 약한 항균 효과를 나타냈다.

Table 5. Antimicrobial Activity of MeOH Extract of Impatiens balsamina

microorganism	sample con.	stem					leaf				
		1/1 ^{a)}	1/2	1/4	1/8	1/16	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16
Staphylococcus aureus		3.5 ^{b)}	3.0	n.d. ^{d)}	n.d	n.d	5.0	4.0	1.5	n.d	n.d
Klebsiella pneumonia		(4.8) ^{c)}	(3.8)	n.d	n.d	n.d	(5.0)	(3.8)	(1.5)	n.d	n.d
Escherichia coli		n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Trichophyton mentagrophytes		2.0	1.0	n.d	n.d	n.d	4.3	1.5	n.d	n.d	n.d

a) concentration of 1/1 is mg of extract/ml.

b) antibacterial activity (mm) = a diameter of clear zone (mm)
 - a diameter of paper disc (mm)

c) A small number of colony of the test organism was present in the inhibitory zone.

d) Not done

3-1-2. 물추출물의 항균활성

봉선화 잎, 줄기 각각을 물로 추출하여 얻은 추출물로 세균 3종과 곰팡이 1종에 대해서 항균성을 검토한 결과를 Table 6에 나타냈다. Table 6에서 알 수 있듯이 메탄올 추출물의 항균효과에서와 같이 봉선화 잎, 줄기의 물추출물도 E.coli에 대해서는 항균성이 인정되지 않았다. St.aureus에 대해서는 잎의 경우 1/4의 농도에서는 1.0mm, 1/2의 농도에서는 2.0mm, 1/1의 농도에서는 3.5mm의 저지대를 형성하였다. 줄기의 경우는 잎에 비해 항균효과가 떨어졌는데 1/4의 농도에서는 저지대가 형성되지 않았고 1/2의 농도에서 1.5mm, 1/1의 농도에서 3.0mm의 저지대를 형성하였다. Klebsiella pneumoniae에서는 메탄올 추출물에서와 같이 저지대 폭내에 적은 수의 colony가 나타났는데 잎의 경우는 1/4의 농도에서부터 줄기의 경우는 1/2의 농도부터 효과가 나타났다.

Trichophyton mentagrophytes에서는 잎의 경우 1/1의 농도에서 2.8mm, 줄기의 경우는 1/1의 농도에서 저지대폭이 2.0mm로 나타났다.

Table 6. Antimicrobial Activity of H₂O Extract of Impatiens balsamina

microorganism	sample con.	stem					leaf				
		1/1 ^{a)}	1/2	1/4	1/8	1/16	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16
St. aureus		3.0 ^{b)}	1.5	n.d. ^{d)}	n.d	n.d	3.5	2.0	1.0	n.d	n.d
Klebsiella pneumoniae		(4.0) ^{c)}	(2.0)	n.d	n.d	n.d	(3.0)	(2.5)	(1.0)	n.d	n.d
Escherichia coli		n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Trichophyton mentagrophytes		2.0	n.d	n.d	n.d	n.d	2.8	n.d	n.d	n.d	n.d

a) concentration of 1/1 is mg of extract/ml.

b) antibacterial activity (mm) = a diameter of clear zone (mm)
 - a diameter of paper disc (mm)

c) A small number of colony of the test organism was present in the inhibitory zone.

d) Not done

4. 결론

봉선화를 잎, 줄기별로 나누고 각각을 물과 메탄올로 추출한 후 각 추출물에 대해 항균방취가공을 목적으로 할 경우 그 목적에 적합한 시험균 4종-Staphylococcus aureus KCTC 1928, Escherichia coli KCTC 1116, Klebsiella pneumoniae KCTC 2690, Trichophyton mentagrophytes KCTC 6316을 선택하여 항균성을 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 메탄올 추출물에 있어서 잎, 줄기 모두 E.coli에서는 항균효과가 나타나지 않았다.
잎의 경우, St. aureus에서는 농도 1/4부터 저지대가 형성되었고 1/1의 농도에서는 저지대의 폭이 5mm로 우수한 항균효과를 나타냈다. Kleb. pneu에서는 저지대폭내에 적은 수의 colony가 나타났으며 농도 1/4에서는 그 폭이 (1.5)mm, 농도 1/2에서는 (3.8)mm, 농도 1/1에서는 (5.0)mm이었다. Tri. menta에서는 1/1의 농도에서 저지대의 폭이 4.3mm로 강한 항균효과를 나타냈다.
줄기의 경우, St. aureus에서는 농도 1/2부터 저지대가 형성되었고 1/1의 농도에서는 저지대의 폭이 3.5mm로서 잎보다는 활성이 떨어지지만 다소 높은 항균활성을 나타냈다.
Kleb. pneu에서는 잎과 마찬가지로 저지대폭내에 적은 수의 colony가 나타났으며 농도 1/2에서는 그 폭이 (3.8)mm, 농도 1/1에서는 (4.8)mm이었다. Tri. menta에서는 1/1의 농도에서 저지대의 폭이 2.0mm를 나타냈다.
2. 물추출물에 있어서도 잎, 줄기 모두 E.coli에서는 항균효과가 나타나지 않았다.
잎의 경우, St. aureus에서는 농도 1/4부터 저지대가 형성되었고 1/1의 농도에서는 3.5mm이었다. Kleb. pneu에서는 메탄올 추출물에서와 마찬가지로 저지대의 폭내에 적은 수의 colony가 나타났는데 농도 1/4에서는 그 폭이 (1.0)mm, 1/2에서는 (2.5)mm, 1/1에서는 (3.0)mm이었다.
Tri. menta에서는 1/1의 농도에서 저지대의 폭이 2.8mm이었다.
줄기의 경우, St. aureus에서는 농도 1/2부터 저지대가 형성되었고 1/1의 농도에서는 저지대의 폭이 3.0mm이었다.
Kleb. pneu에서는 잎과 마찬가지로 저지대의 폭내에 적은 수의 colony가 나타났는데 농도 1/2에서는 그 폭이 (2.0)mm, 1/1에서는 (4.0)mm이었다.
Tri. menta에서는 1/1의 농도에서 저지대의 폭이 2.0mm이었다.
3. 봉선화 잎, 줄기 모두 물추출물보다 메탄올 추출물의 항균효과가 크게 나타났다.
4. 메탄올 추출물과 물 추출물 모두 잎의 경우가 줄기보다 항균효과가 크게 나타났다.

참고문헌

1. 生田安喜良 外 7名, 天然物醫藥品學, 朝倉書店, p.181(1987)
2. 朴鍾先, 紅花의 植物學的 特性에 關한 研究, 상지대 논문집 제5집 pp.227~235(1984)
3. 李鍾根·洪貞姬, 植物性 生藥抽出液이 酵母의 醱酵作用에 미치는 영향, 부산대학교 논문집, 제23권 자연과학 편, pp.37~46(1977)
4. 李鍾根, 藥藥과 微生物의 關係에 關한 研究 (第1報), 부산대학교 논문집 第14輯 自然科學篇, pp.161~165(1972)
5. 許瑾·張憶奎, 植物生藥의 抗菌作用에 對한 研究, 영남대학교 논문집(第二輯), pp.629~638
6. 정동욱·정지훈, 영지의 항균성 물질에 관한 연구, 한국식물학회지 제24권 제6호, pp.552~557(1992)
7. 豊後孝江·能美良作, 大根의 抗菌性物質의 定量法의 改良, 日本家政學會誌, Vol.44, No.9, pp.741~746(1993)
8. 이병완·신동화, 식품 부패 미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색, 한국식품과학회지, 제23권 제2호, pp.200~204(1991)
9. 千郁夫, 數種真菌에 對한 마늘 抽出液의 抗真菌作用에 關한 研究, 부산의대잡지 제22권 제1호, pp.155~163(1982)
10. 정창기·박완규 외 3명, 카레 향신료 정유성분의 항균성, 한국식품과학회지, 제22권 제6호, pp.716~719(1990)
11. 이병완·신동화, 식품 부패 미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균 특성, 한국식품과학회지, 제23권 제2호, pp.205~211(1991)
12. 박옥연·장동석·조학래, 자초 추출물의 항균특성, 한국영양식향학회지, 제21권 제1호, pp.97~100(1992)
13. 박옥연·장동석·조학래, 한약재 추출물의 항균효과 검색, 한국영양학회지, 제21권 제1호, pp.91~96(1992)