

산림자원 추출물에 의한 항균효과

이명구 · 유재국 · 송한규 · 권오윤*

강원대학교 제지공학과

1. 서 론

항균지 제조에 사용되는 항균물질로는 무기계, 유기계, 천연계 항균물질이 있으며 현재 유기계 항균물질이 주로 사용되고 있다. 그러나 유기계 항균물질의 경우 화학약품을 사용하기 때문에 안전성의 문제가 제기되어 사용에 제한을 받고 있으며, 무기계 항균물질은 고가이므로 유기계 항균물질에 비해 가격 경쟁력이 떨어지는 문제점을 가지고 있다. 이러한 문제점을 극복할 수 있는 방법으로 최근들어 안전성이 보장되고 환경친화적인 천연계 항균물질 개발에 대한 연구가 이루어지고 있다.

본 논문은 참나무 6종(갈참, 신갈, 졸참, 상수리, 굴참, 줄참)의 목질부, 수피, 잎 부위를 에탄올 추출하고 수종별·부위별 항균력을 검색하여 가장 항균활성이 우수한 수종과 부위를 선정하고 이를 분획하여 항균성을 검색하였으며 이러한 참나무 추출물을 이용한 항균지 제조 가능성에 대해 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

2.1.1 참나무 시료

참나무 6종(갈참, 신갈, 떡갈, 졸참, 상수리, 굴참)을 목질부, 잎, 수피부로 선별한 후 willey mill을 이용하여 각 부위를 분쇄하고 150 mesh를 통과한 분말을 추출용 시료로 사용하였다.

2.1.2 원지

평량 75g/m²의 원지를 사용하였다.

2.1.3 공시균

그람음성균인 *Escherchia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, 그람양성균으로 *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*를 사용하였다.

2.2 실험방법

2.2.1 에탄올 추출물의 제조

참나무 6종의 에탄올 추출은 수직 환류관을 부착시킨 flask에 100g의 시료를 75% 에탄올 400ml에 첨가하여 3시간 2회 반복 추출한 후 감압 여과 장치를 이용하여 여과하였다. 여액을 evaporator로 농축시키고 진공 건조기에서 건조시켜 항균력을 검색하였다.

2.2.2 에탄올 추출물의 유기 용매별 분획

에탄올 추출물을 극성이 다른 용매를 이용하여 단계적으로 분획하였다. chloroform, ethylacetate, butanol을 이용하여 분획하고 분획물의 항균 활성을 검색하였다.

2.2.3 항균지 제조

참나무 6종의 추출물을 polypropylene으로 용해시켜 5%, 8%의 용액을 제조하고 원지를 함침시킨 후 사이즈 프레스를 통과시켜 항균 물질이 균일하게 흡착될 수 있게 하였다.

2.2.4 항균실험

2.2.4.1 Halo test

Tryptic soy agar와 tryptic soy broth를 1:2의 비율로 혼합하여 120℃ autoclave에서 습윤 살균하였다. 공시균을 petri dish에 분주하고 살균한 tryptic soy agar와 tryptic soy broth 혼합액을 부어 배지를 제조하였다. 항균 샘플을 배지에 접종하고 37℃ 인큐베이터에서 24시간 배양한 후 생성된 균저지대(clear zone)의 크기를 측정하여 항균 활성 유무를 검색하였다.

2.2.4.2 JIS L 1902법

시험 균주를 $1-2 \times 10^4$ cfu/ml가 되도록 희석하고 참나무 항균지 0.4g에 0.2ml의 희석균을 접종한 후 인큐베이터에서 18시간 배양시켰다. 18시간 배양한 참나무 항균지에 생리식염수 20ml를 첨가하여 희석하고 다시 여러번의 희석단계를 거쳐 배양하였을 때 나타난 colony 수를 측정하여 살균감소율과 정균 감소율을 계산하였다.

$$\text{살균 감소율} = (M_a - M_b)/M_a \times 100$$

$$\text{정균 감소율} = (M_b - M_c)/M_b \times 100$$

M_a : 무처리 샘플의 접종 직후의 균수

M_b : 무처리 샘플의 18시간 배양후의 균수

M_c : 항균 처리 샘플의 18시간 배양후의 균수

3. 결과 및 고찰

3.1 항균력 검색

3.1.1 참나무 6종의 수종별·부위별 항균력 검색

Table 1. Antimicrobial spectrum of treatment solution

Botanical names Test organism	Inhibition zone(mm) ⁽¹⁾																	
	Quercus. aliena			Quercus. variebilis			Quercus. dentata			Quercus. serrata			Quercus. mongolica			Quercus. acutissia		
	2B	2X	2L	2B	2X	2L	2B	2X	2L	2B	2X	2L	2B	2X	2L	2B	2X	2L
<i>Escherichia coli</i>	13	11	10	9	9	9	13	11	16	9	9	9	15	11	11	9	9	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	12	13	9	10	12	15	11	12	9	9	9	16	14	15	12	11	13
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	13	20	14	10	13	18	12	15	17	9	10	16	13	13	13	10	12
<i>Bacillus subtilis</i>	20	15	19	13	9	13	16	13	14	14	11	12	15	16	14	15	12	12
<i>Listeria monocytogenes</i>	19	15	17	11	9	10	16	14	16	13	10	11	17	16	14	14	10	14

Size of test sample : 8mm ¹⁾ Size of clear zone

2B : 2% Quercus bark extractive, 2X : 2% Quercus xylem extractive,

2L : 2% Quercus leaves extractive

Table 1은 참나무 수종 및 부위별 에탄올 추출물을 2% 농도로 제조한 후 paper disk에 접종하였을 때 나타난 항균활성 검색 결과이다. 수종별 검색에서 갈참나무가 가장 높은 항균 활성을 나타냈으며 부위별 항균 활성은 잎이 가장 높게 나타났다.

3.1.2 갈참나무의 잎 분획물의 항균력 검색

Table. 2 Antimicrobial activities of different fractions on test organism

test organism \ solvent	Inhibition zone(mm) ¹⁾			
	Chloroform	Ethylacetate	Butanol	Water
<i>Escherichia coli</i>	ND	11	11	ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ND	11	11	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	ND	12	11	ND
<i>Bacillus subtilis</i>	ND	13	12	ND
<i>Listeria monocytogenes</i>	ND	13	ND	ND

Size of test sample : 8mm

¹⁾ Size of clear zone

²⁾ ND : not detected

Table 2는 Table.1의 결과를 바탕으로 항균 활성이 가장 높게 나타난 갈참나무 잎의 에탄올 추출물을 극성이 다른 용매로 분획하여 항균 활성을 검토한 결과이다. Ethylacetate와 butanol 분획물에서 항균활성이 나타났다.

3.2 Halo test

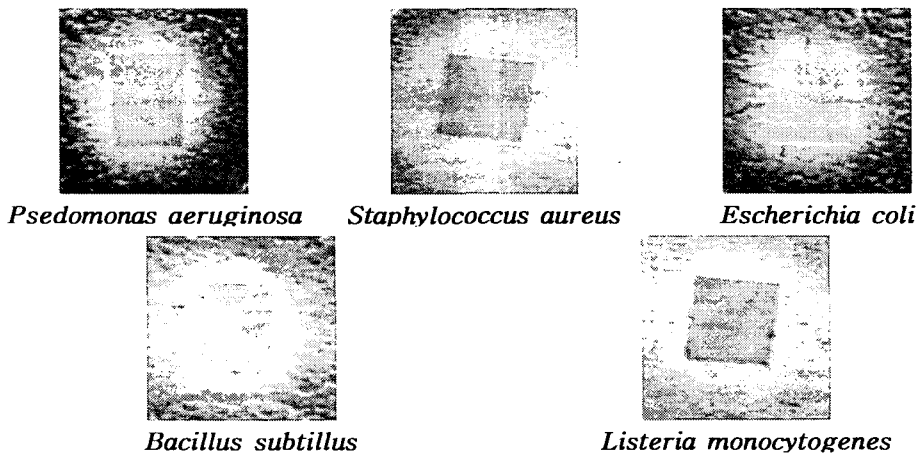
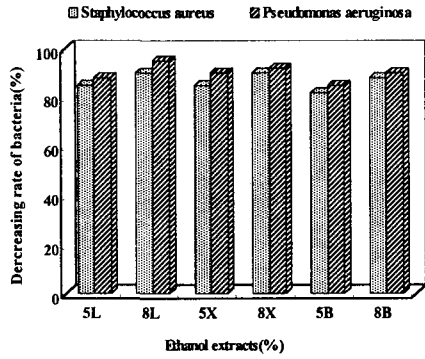
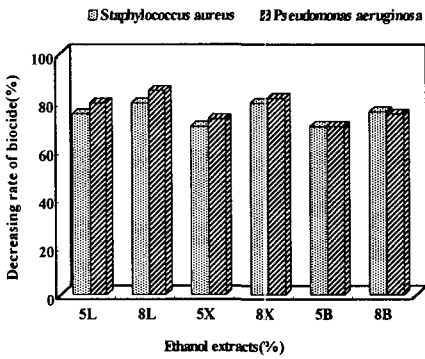


Fig. 1 Halo test of leave ethanol-extractive

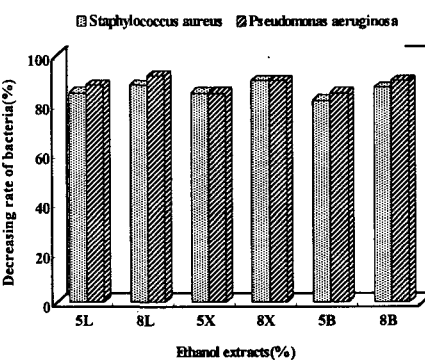
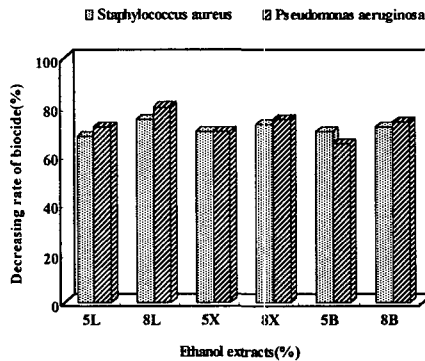
Fig 1은 갈참나무 잎의 에탄올 추출물을 이용하여 제조한 항균지의 halo test 측정 결과이다. 원지에 갈참나무 잎 추출액 5%를 적용하였을 때 균저지대가 형성되는 점을 미루어 보아 항균활성이 있음을 알 수 있다.

3.3 JIS L 1902 법



5, 8 : Concentration of ethanol extractive
L : leaves B : bark X : xylem

Fig. 2 Decreasing rate of biocide in different treatment solution



Figs. 2와 3, Figs. 4와 5는 참나무 6종 중 항균활성이 우수하게 나타난 갈참나무와 떡갈나무의 부위별 살균 감소율과 정균 감소율을 나타낸 그래프이다. 갈참나무와 떡갈나무 앞에서 가장 높은 살균 감소율과 정균감소율을 나타냈고, 농도가 증가함에 따라 항균 활성이 증가하는 경향을 보였으며 떡갈나무보다 갈참나무에서 항균활성이 더 높게 나타났다.

4. 결 론

- 1) 참나무 6종의 수종별 부위별 항균 활성은 갈참나무의 앞에서 가장 높은 항균 활성을 나타내었다.
- 2) 갈참나무 앞의 에탄올 추출물과 분획물의 항균 실험결과 에탄올 추출물에서 가장 좋은 항균 활성을 나타냈다.
- 3) 참나무 추출물의 살균감소율과 정균 감소율은 처리농도가 증가할수록 증가하였다.

원지에 참나무 추출물을 고농도로 처리하였을 때 항균활성이 발현되는 것으로 나타나 이를 이용한 항균지의 제조가 가능하다고 생각된다.

인용문헌

1. 이명구, 이상명, "Antimicrobial Paper by using Monolaurin and Chitosan.", 한국 펄프종이공학회 춘계학술발표대회요지집., p.41-42 (1999)
2. 이명구, 이상명, "키토산을 이용한 항균지 제조", 제지기술, 13호 p.57-63 (1999)
3. 여생규, 안철우, 김인수, 박영범, 박영호, 김선봉, "녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항균효과", 한국영양식량학회지, 24(2), p.293-298 (1995)
4. 박수웅, 김찬조: 생약재에 의한 식품보존에 관한 연구 (제 1보). 몇 가지 생약재의 간장 방부효과. 한국농화학회지, 22, 91(1979)
5. Beuchat, L.R., and Golden, D.A.: Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technol., 43, 134(1989)