

황벽염색처리가 한지의 항균성 및 광 변색 특성에 미치는 영향

- 황벽 추출물의 항균성

박수안 · 조병묵
강원대학교 제지공학과

Coloring Effect of Phellodenron amurense Bark Extract on the Antibiosis and Light Discoloration Characterstics of Hanji

- Antibiosis of Phellodenron amurense Bark Extract

Soo-Ahn Park and Byoung-muk Jo
Department of Paper Science and engineering, Kangwon National University

1. 서론

지류는 여러 요인에 의하여 물리적인 손상 또는 열화에 의한 손상을 받고 있다. 이중 미생물의 오염에 의한 지류의 열화는 직접적으로 종이의 지질을 붕괴시켜 보관상 많은 문제를 야기 시킨다. 현재 우리나라에서는 이러한 문제점에 따른 해결방안으로 보수·보존 시 다양한 인공화합물로 조합된 보존 처리제를 사용하고 있으나 지속적인 효과를 위한 지나친 인공적인 약품 과용에 따른 독성여부가 새로운 문제점으로 대두되고 있다. 따라서 최근에는 인체에 해가 전혀 없는 천연추출물로 보수·보존에 이용하고자 하는 연구가 관심을 끌고 있다.

본 연구에서는 황벽추출물을 이용하여 지류의 미생물 열화에 대응할 수 있는 천연염료로서 기작을 확인하고자 하였다. 황벽추출물에 대한 연구는 몇몇의 연구자에 의해 항균성을 나타내는 Ferulic acid를 포함하고 있다고 보고되었으나 보다 정확한 항균성 연구는 이루어지지 않았다. 따라서, 본 실험에서는 정확한 항균활성을 비교하기 위하여 미생물에 대한 항균활성을 조사하고, 최적의 농도를 탐색하여, 최적의 미생물 생장 억제율을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

본 실험에서 사용된(*Phellodendron amurense Ruprecht*) 수피는 강원도에서 채취한 것을

구입하여 사용하였다. 황벽은 acetone: H₂O(아세톤과 증류수의 비율은 7:3(v/v))로 3회 반복 추출하였다. 다시 황벽추출물은 클로로포름·에틸아세테이트·수용성 물질로 분리하여 동결 건조한 뒤, 동결한 분획별 추출물로 1%의 stock solution을 조제하여 사용하였다.

2.2. 공시균주 및 배지 조성

항균활성 검정에 사용된 균주는 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받은 *Paecilomyces variotii*, *Chaetomium globosum*, *Tritirachium oryzae*를 사용하였다. 항균활성 검정에 사용된 배지는 difco사에서 제조된 PDA배지(Diced potatoes 300.0 g, Glucose 20.0 g, Agar 15.0 g, Distilled water 1.0 L)이며, 121°C, 1.2 kg/cm²로 고정된 auto clave에서 60분간 멸균하여 사용하였다. 또한, 각 분획별 황벽 추출물을 0.45 µm membrane filter로 여과한 다음 PDA배지에 표준용액을 각각 100, 300, 500, 700, 1000 ppm 농도별로 첨가하여 배지조성 하였다.

2.3. 황벽추출물의 항균활성 측정

균성장 억제효과를 측정하기 위하여 한천 배지 확산법을 사용하였으며, 비교구 배지는 실험조건을 동일하게 유지하기 위해 에탄올을 첨가하여 분주한 것을 사용하였다. 항균활성을 측정하기 위한 균의 채취는 코르크 볼러(5호: 8 mm)로 하였다. 공시균인 *Paecilomyces variotii*, *Chaetomium globosum*, *Tritirachium oryzae*를 각 조건에 의해 제조된 고체평판 배지 위에 접종한 다음, 24°C incubator에서 15일간 배양하여 균사의 직경(mm)을 측정하여 아래 식에 대입하여 균사성장 억제율(%)을 구하였다.

$$\text{균사성장억제율(\%)} = \left[\frac{(Gc) - (Gt)}{(Gc)} \right] \times 100$$

Gc : 무첨가 배지상의 균사직경

Gt : 첨가 배지상의 균사직경

3. 결과 및 고찰

3.1. 황벽추출물의 항균력

Paecilomyces variotii, *Chaetomium globosum*, *Tritirachium oryzae*의 3균류에 대하여 황벽추출물을 각 분획별·농도별로 처리한 후의 항균활성 측정 결과는 Table 1~2와 같다.

농도에 따른 항균력 시험의 경우 *Paecilomyces variotii*, *Tritirachium oryzae*는 500

ppm 이상의 농도에서, *Chaetomium globosum*은 100 ppm의 농도 이상에서 균 성장 억제 효과를 보였다. 500 ppm의 농도에서 *Paecilomyces variotii*는 클로로포름성 물질이 보다 우수한 항균활성을 보였으며, *Tritirachium oryzae*는 수용성 물질이 보다 우수한 항균활성을 보였다. 또한, 공시균 3종 중 *Chaetomium globosum*은 황벽추출물의 영향을 가장 많이 받는 것으로 나타났다.

Table 1에서의 각 분획에 따른 항균력 시험의 경우 클로로포름성 및 에틸아세테이트성 물질에서는 *Paecilomyces variotii*가 각각 10.50 mm, 11.38 mm로 *Tritirachium oryzae*의 12.38 mm, 18.63 mm보다 항균활성이 좋았으며, 수용성 물질에서는 거의 비슷한 항균활성을 보였다. *Chaetomium globosum* 경우 수용성 물질을 제외한 비교구, 클로로포름성 및 에틸아세테이트성 물질에서는 거의 차이를 보이지 않았다.

한편, 균사생장 억제율을 나타낸 Table 2를 보면, *Paecilomyces variotii*의 경우 클로로포름성 물질이 15.19%로 12.12%인 수용성 화합물보다 약간 높은 결과를 보였다. 또한 *Tritirachium oryzae*의 경우도 클로로포름성 화합물은 수용성 물질보다는 낮지만 균사생장 억제율이 에틸아세테이트성 물질의 경우 보다 우수함을 알 수 있었다. 그러나 각 균별 항균활성으로 보았을 때 수용성 물질이 대체적으로 다른 분획보다 높은 항균활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

3.2. 분획별 항균활성

Fig. 1은 무처리 PDA배지에 공시균을 접종했을 때, 성장을 변화를 나타낸 것이다.

Table 1. Growth inhibiting activities of *Phellodendron amurense* Ruprecht for microorganisms

Sample	Diameter (mm)											
	<i>Paecilomyces variotii</i>				<i>Chaetomium globosum</i>				<i>Tritirachium oryzae</i>			
	100 ppm	500 ppm	700 ppm	1000 ppm	100 ppm	300 ppm	500 ppm	1000 ppm	100 ppm	500 ppm	700 ppm	1000 ppm
Control	-	12.38	-	-	11.42	-	-	-	-	21.88	-	-
CH ₂ Cl ₂ soluble fraction	-	10.50	-	-	11.18	-	-	-	-	12.38	-	-
EtOAC soluble fraction	-	11.38	-	-	11.11	-	-	-	-	18.63	-	-
H ₂ O soluble fraction	-	10.88	-	-	9.96	-	-	-	-	11.13	-	-

Table 2. Inhibitory effect of hyphae by extracts of *Phellodendron amurense Ruprecht*

Sample	Growth inhibition rate (%)											
	<i>Paecilomyces variotii</i>				<i>Chaetomium globosum</i>				<i>Tritirachium oryzae</i>			
	100 ppm	500 ppm	700 ppm	1000 ppm	100 ppm	300 ppm	500 ppm	1000 ppm	100 ppm	500 ppm	700 ppm	1000 ppm
Control	-	0	+	+	0	+	+	+	-	0	+	+
CH ₂ Cl ₂ soluble fraction	-	15.19	+	+	2.10	+	+	+	-	43.42	+	+
EtOAc soluble fraction	-	8.08	+	+	2.72	+	+	+	-	14.85	+	+
H ₂ O soluble fraction	-	12.12	+	+	12.79	+	+	+	-	49.13	+	+

- : No Inhibitory effect , + : Inhibitory effect.

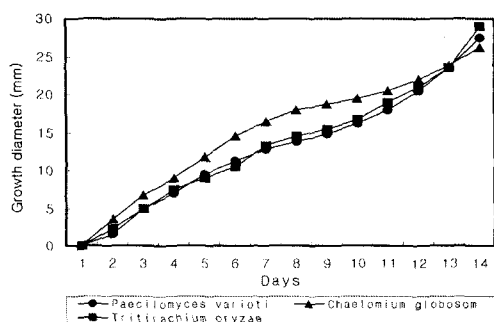


Fig. 1. Variation of growth diameter on the species of fungus.

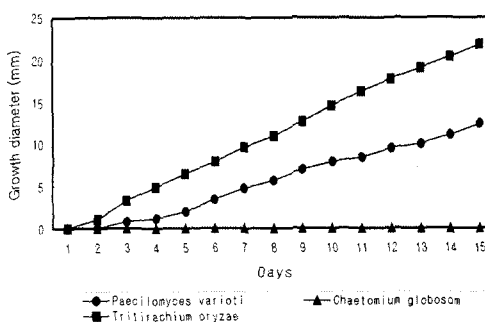


Fig. 2. Inhibitory effect of growth diameter on the species of fungus from control (500 ppm).

Paecilomyces variotii, *Chaetomium globosum*, *Tritirachium oryzae*의 성장직경은 각각 27.5 mm, 26.25 mm, 29 mm이었다.

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 *Paecilomyces variotii*, *Tritirachium oryzae*는 비례적인 성장곡선을 보였으며, *Chaetomium globosum*은 완만한 역S자형인 성장곡선을 보였다. 또한 *Tritirachium oryzae*는 배양 7일 이후에 *Paecilomyces variotii* 보다 성장이 빨라짐을 알 수 있었다. *Chaetomium globosum*은 *Aecilomyces variotii*, *Tritirachium oryzae*와는 달리 배양 13일 이후 다소 성장속도가 늦어지는 것을 알 수 있었다.

Fig. 2는 비교구 조건하에서 각 분획별 추출물을 500 ppm 첨가한 경우의 생육 저지환

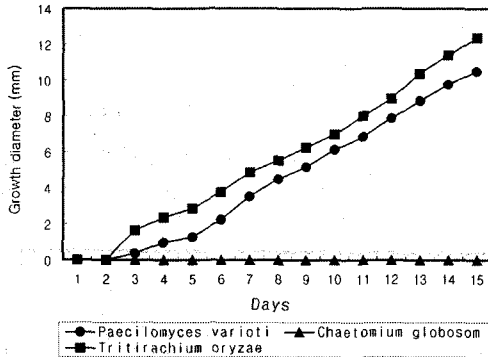


Fig. 3. Inhibitory effect of growth diameter on the species of fungus from CH₂Cl₂ (500 ppm).

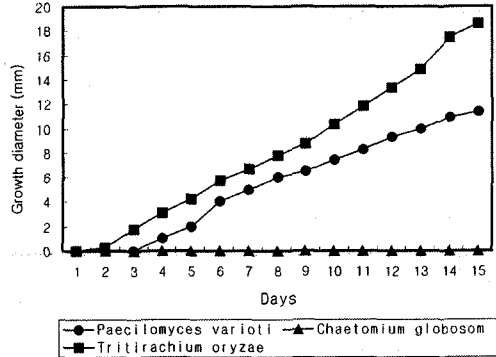


Fig. 4. Inhibitory effect of growth diameter on the species of fungus from EtOAc (500 ppm).

직경변화를 나타낸 것이다. 무 처리 PDA배지를 사용한 Fig. 1과는 달리, 이때에는 각 분획별 화합물의 용해에 사용된 에탄올을 각 조건에 맞춰 배지를 조성하여 성장률 억제 실험의 비교구로 사용하였다. Fig. 1과 비교했을 때, *Paecilomyces variotii*, *Tritirachium oryzae*는 유사한 경향으로서 비례적인 성장곡선을 보였으나, *Chaetomium globosum*의 경우는 성장이 전혀 나타내지 않았다. 이는 각 분획별 화합물 용해시 사용한 500 ppm 에탄올의 첨가결과로 사료된다.

Fig. 3은 클로로포름성 물질의 500 ppm 처리시 균종별 생육직경변화를 나타낸 것으로 비교구의 경우와 마찬가지로 *Chaetomium globosum*은 성장을 보이지 않았으며, *Paecilomyces variotii*, *Tritirachium oryzae*는 비례적인 증가경향을 보였다. Fig. 4는 에틸아세테이트성 물질의 500 ppm 처리시 균종별 생육직경변화를 나타낸 것으로 클로로포름성 물질의 생육직경변화와 비교했을 때 *Paecilomyces variotii*는 배양 3일부터 생육을 보였으며 배양 8일 이후로 성장이 다소 느려지고 있음을 알 수 있다. *Tritirachium oryzae*는 클로로포름성 물질에 비해 배양 13일 이후 성장하고 있음을 알 수 있었다. *Chaetomium globosum*의 경우는 성장을 보이지 않았다.

Fig. 5는 수용성 물질의 500 ppm 처리시 균종별 생육직경변화를 나타낸 것이다. 비교구, 클로로포름성 및 에틸아세테이트성 물질과 거의 비슷한 양상을 나타냈으나, 배양 13일 이후 *Paecilomyces variotii*, *Tritirachium oryzae*는 거의 같은 데이터 값을 나타내어 15일을 기준으로 배양기간을 연장한다면 *Tritirachium oryzae*와 *Paecilomyces variotii*의 성장속도의 차이 때문에 *Paecilomyces variotii*의 성장이 빠를 것으로 예상된다.

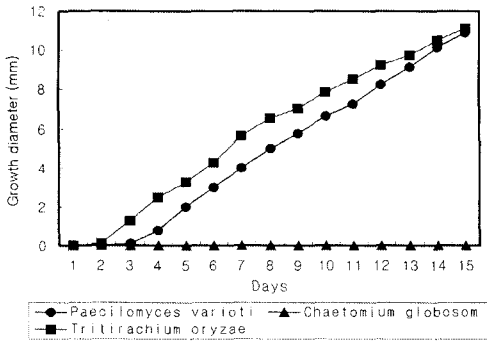


Fig. 5. Inhibitory effect of growth diameter on the species of fungus from water-solubility confound (500 ppm).

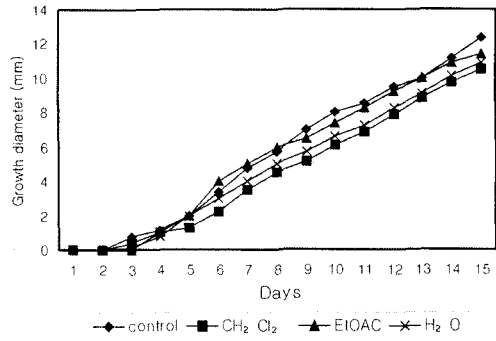


Fig. 6. Inhibitory effect of growth in *Paecilomyces variotii* (500 ppm).

3.3. 균종별 항균활성

Fig. 6은 *Paecilomyces variotii*에서의 각 분획별 생육저지환 직경 변화를 나타낸 것이다. 100~1000 ppm의 항균활성 측정 결과로 볼 때, 500 ppm의 농도 이상의 황벽추출물을 배지에 첨가했을 경우 항균활성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 먼저 비교구와 클로로포름, 에틸아세테이트 및 수용성 물질은 전반적으로 직선 형태를 띤 비례곡선을 나타냈다. 대체적으로 그래프상의 비교구와 클로로포름, 에틸아세테이트 및 수용성 물질의 전반적인 성장은 비슷한 경향을 보였으나 15일 이후 성장에 있어서 비교구를 제외한 나머지 3가지 물질에서 항균활성의 효과를 기대할 수 있었다.

Fig. 7은 *Tritirachium oryzae*에서의 각 분획별 생육저지환 직경 변화를 나타낸 것이다. 첨가추출물의 농도는 500 ppm인 배지에 접종한 것으로 항균활성을 측정하는 것이다. 비교구는 *Paecilomyces variotii*에서와 마찬가지로의 양상을 띠고 있었으며, 수용성·클로로포름 및 에틸

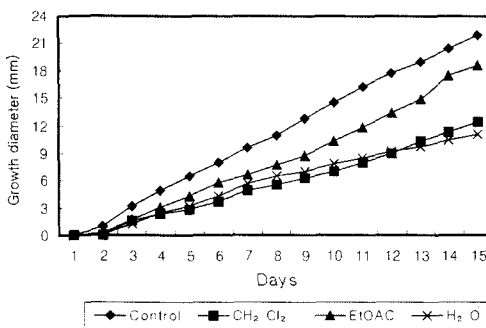


Fig. 7. Inhibitory effect of growth in *Tritirachium oryzae* (500 ppm).

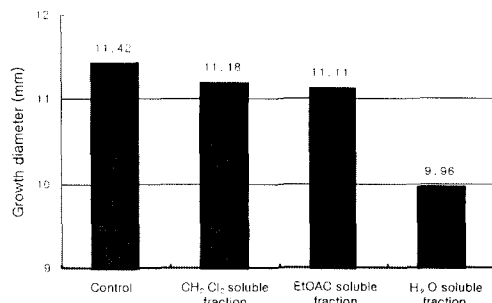


Fig. 8. Inhibitory effect of growth in *Chaetomium globosum* (500 ppm).

아세테이트성 물질 순으로 항균활성효과를 나타냈다. 특히 수용성 물질은 배양 12일 전후로 클로로포름성 물질과의 성장 억제 효과가 뚜렷하게 구별되었다. 다른 공시균인 *Paecilomyces variotii*, *Tritirachium oryzae*와는 달리 *Chaetomium globosum*는 황벽추출물의 영향을 가장 많이 받았는데, 100 ppm 이상 첨가시 항균활성이 뛰어난 것으로 나타났다. 또한 Fig. 8에 나타난 바와 같이 수용성 물질에 있어서 성장 직경이 9.96 mm로 클로로포름 및 에틸아세테이트성 물질에 비해 항균활성이 우수하였다.

4. 결론

최근 세계적으로 천연염색에 많은 관심이 집중되고 있다. 그 이유는 산업사회가 발달함에 따라 사용되고 있는 화학염료에 의해 염색된 제품들이 발암성 물질 배출로 인체에 대한 유해성과 생활 환경 파괴의 주 요인으로 여러 문제점을 나타내고 있기 때문이다.

특히 의복이나 염색지에 있어서의 소취성이나 항균성과 자연스러운 색감 등의 전반적인 부분에서 만족시킬 수 있는 물질이 필요하다. 이 때문에 기능성이 우수한 천연염색이 주목을 받고 있다. 본 실험에서는 황벽추출물로 만든 염색지의 항균성을 알아보기 위하여 황벽추출물을 각 분획별로 분리한 다음 공시균 3종으로 농도별 실험을 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

분획별로 추출한 황벽의 항균활성을 실험한 결과, 대체적으로 수용성 물질의 항균활성이 우수한 것으로 나타났다. 특히 *Chaetomium globosum* 균종에 대하여는 수용성 물질의 항균활성효과가 높았다. *Chaetomium globosum*에 100 ppm의 황벽추출물을 첨가했을 경우 항균활성이 가장 높았으며, 각 분획별 추출물에 대해서도 항균활성이 대체로 비슷하게 나타났다. *Chaetomium globosum*, *Tritirachium oryzae*, *Paecilomyces variotii*의 순으로 항균활성을 보이고 있음을 알 수 있었다. 그러므로 적절한 황벽추출물을 사용한다면 미생물에 대한 지류의 보존효과를 향상시킬 수 있을 것이라고 사료된다.

참고문헌

1. 김민영 외, 떡갈나무 추출물의 항균활성 및 항산화활성, 목재공학 28(3) : 42-51 (2000).
2. 김홍기, 미생물실험, 세문사, p.17-28, 34-39, 341-364 (1995).
3. 이성숙 외, 수목의科別에 따른 항균 및 항산화 활성, '02 추계 학술발표논문집, 한국목재공학회, p.269-272 (2002).
4. 이신호 외, 오미자추출물의 *Listeria monocytogenes*에 대한 항균효과, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 25(5), p.442-447 (1997).
5. 최돈하 외, 느티나무 심재의 항균 및 항산화 효능물질에 관한 연구, 한국 목재공학회, 1998 춘계 학술발표논문집, p.205-209 (1998).
6. 한국미생물학회 편, 미생물학 실험서, 을유문화사 (1987).