

# 病原性細菌에 대한 미나리 아재비科 植物의 抗菌성에 關한 研究

柳 泰 錫

金 容 煥

慶尙大學校 農科大學 獸醫學科

慶南看護專門大學

## 緒 論

現在 醫學界에서는 많은 種類의 消毒劑와 抗生物質이 開發되어 消毒과 治療目的으로 使用되고 있다. 그러나 消毒劑의 大部分은 人畜에 毒性과 副作用을 나타내는 것으로 알려져 있으며,<sup>2,3,4,6,7,9)</sup> 抗生物質의 남용으로 인한 藥劑耐性이 심각한 문제로 대두되고 있다.<sup>1,8,13,14)</sup>

Phenol은 組織의 蛋白質과 血液을 凝結시켜 壞死를 일으키고, 壞死組織이 薄膜을 形成하여 消毒劑의 作用으로부터 細菌을 保護하는 수도 있다고 한다. 또한 少量을 經口投與하였을 때에도 嘔吐, 癱瘓, 昏睡 등의 中毒症狀을 일으키며, 循環障導로 死亡하는 수도 있다고 한다.<sup>6,11)</sup>

Cresol은 經口로 8g 이상 投與될 때에는 死亡하는 수도 있으며, 慢性中毒될 때에는 消化障導, 神經障導를 일으키고, 皮膚의 發疹, 黃疸, 尿毒症의 症狀을 유발하며 原形質毒이 있다고 한다.<sup>4,11)</sup>

Mercuric chloride는 알려지지 않 皮膚炎을 일으키며, 長期間 使用할 때에는 皮膚와 眼瞼에 局所의 色素沈着이 있고, 投與될 때에는 唾液分泌過多, 嘔吐感, 胃痛, 下痢, 水銀性 流涎過多 등의 症狀을 나타낸다고 한다. 또한 組織의 蛋白質과 作用하여 不滲透性의 蛋白質化合物인 aluminates를 形成하며 表面性 壞死를 일으키기도 한다. 吸入될 때에는 粘膜을 刺戟하여 氣管支炎 또는 肺炎를 일으킬 수도 있다고 한다. 經口投與할 때에는 심한 腹痛, 血尿, 蛋白尿, 無尿, 酸症, 昏睡 등의 中毒症狀을 일으켜 死亡하는 수도 있다고 하였다.<sup>3,4,11)</sup>

그러므로 現在 널리 使用되고 있는 이러한 消毒劑로부터 人畜의 被害를 줄이기 위해서는 毒性, 副作用 및 腐蝕性이 없는 새로운 消毒劑의 開發이 必要하다.

自然界에 널리 分布되어 있는 植物의 一部는 抗菌作用을 갖고 있는 것으로 알려져 있다.<sup>5,10,21,22,24)</sup> Disalvo<sup>5)</sup>는 Batamote에 抗真菌作用이 있다고 하였으며, Lee<sup>10)</sup>는 *Polygonatum talcatum*에서 抽出한 成分에 抗真菌作用이 있다고 하였다.

柳 등<sup>25)</sup>은 미나리 아재비科 植物의 抽出液에도 抗菌作用이 있고, 各種機材에 對한 腐蝕性도 없으며,<sup>21)</sup> 組織에 對한 刺戟性도 弱하다고 하였다.<sup>18,23)</sup> 그러나 미나리 아재비科 植物의 汁液을 病原性細菌에 對하여 適用한 報告는 아직 없다.

本 實驗에서는 抗菌作用이 있고, 腐蝕性이 없으며 副作用이 적은 것으로 알려진 미나리 아재비科 植物汁液의 實用化 方案을 모색하기 위하여 몇종의 病原性細菌에 對한 最少發育阻止濃度를 定하고 消毒의 效果를 검토하였다.

## 材料 및 方法

試料의 採取: 1980年 3~10月 山野에 自生하는 *Ranunculus japonicus*를 採集하였다.

成分抽出方法: 抽出方法은 Timmins와 Court<sup>18)</sup>, Disalvo<sup>5)</sup>의 方法에 의하였다. 신선한 材料를 壓搾하고 試料 g當 Chloroform 4ml의 比率로 混合하여 30~60分間 震盪한 다음 12~15分間 靜置하였다. Chloroform層을 取하여 沸點 103°C가 될 때까지 加溫濃縮하여 油性 膠質液을 얻었다.

使用菌株: *E. coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*는 家畜衛生研究所에서, *S. typhi*, *S. choreraesuis*, *S. typhimurium*은 慶北大學校 獸醫學科에서 분양받아 使用하였다.

使用培地: 增殖用培地는 Difco 製品의 Nutrient broth, Brain heart infusion broth를, 平板培地로는 Difco 製品의 Nutrient agar와 Brain heart infusion agar를 使用하였다.

細菌接種: *E. coli*와 *Salmonella* 屬菌은 Nutrient agar에, *Staphylococcus*와 *Streptococcus*는 Brain heart infusion blood agar에 各各 接種하여 37°C에서 24時間 培養하였다. 各 細菌의 特徵의인 單一集落을 擇하여 *E. coli*와 *Salmonella* 屬菌은 Nutrient broth에, *Staphylococcus*와 *Streptococcus*는 Brain heart infusion broth에 接種하여 37°C에서 18時間 2回連續

培養한 것을 使用하였다.

### Ranunculus species 抽出液의 抗菌性 檢査

**最少發育阻止濃度測定:** 日本化學療法學會標準法<sup>27)</sup>에 準한 寒天平板稀釋法에 의하였다. Brain heart infusion agar에 Ranunculus japonicus 抽出液 (RS)을 0.5, 0.7, 1.0, 1.5% 各各 含有되게 添加하여 平板培地를 만들었다. Nutrient agar와 blood agar에 培養한 單一 集落을 Brain heart infusion agar에 接種하여 master plate를 만들어, RS添加培地에 轉高法으로 接種培養하여 最少發育阻止濃度を 觀察하였다. 對照로서는 Brain heart infusion agar에 같은 條件으로 培養하였다.

**消毒의 效果測定:** Nutrient broth와 Brain heart infusion broth에 RS를 0.5, 0.7, 1.0, 1.5% 各各 含有되게 添加한 培地를 만들었다. 各 培地 10ml에 18時間 培養한 細菌을 10倍階段稀釋하여 0.5ml씩을 接種하였다. 37°C(±0.2°C)의 恒溫水槽에서 培養하는 동안 0, 10, 20, 30, 40, 50 및 60분에 細菌의 數의 變化를 檢査하였다.

**菌數計算:** 培養된 菌液을 滅菌 생리식염수에 10倍階段稀釋하여 0.1ml씩을 表面이 잘 건조된 平板培地 3個에 떨어뜨려 37°C에서 24時間과 48時間 培養한 後 集落數를 計算하였다. 菌數의 計算은 標準寒天平板培養法<sup>15)</sup>에 의하였다. 즉 菌液 0.1ml로부터 培養된 集落數가 約 30~300個가 形成된 平板을 擇하여 平板 3個의 集落數를 산출 平均한 數에 稀釋倍數를 곱하여 計算하였다. 그러나 平板間의 集落數의 差가 2倍 이상일 境遇에는 少數의 集落이 形成된 것을 擇하여 計算하였다. 한개의 培養平板에서 30~300個의 集落이 形成된 것이 없을 境遇에는 低濃度稀釋에서 培養된 平板에서 集落數를 擇하여 菌數를 計算하였다.

## 結 果

本 實驗에서는 Ranunculus japonicus 抽出液(RS)의 病原性細菌에 對한 消毒의 效果와 使用可能濃度を 闡明하고자 하였다.

RS의 添加量을 달리한 培地에 細菌을 接種하여 最少發育阻止濃도와 消毒의 效果를 試驗한 成績은 다음과 같다.

**最少發育阻止濃度(MIC):** Brain heart infusion agar에 RS를 0.5, 0.7, 1.0%의 濃度別로 添加한 培地에 10株의 *E. coli*를 各各 接種하여 MIC를 比較한 成績은 表 1과 같다. *E. coli* 72를 제외한 9株의 *E. coli*는 RS를 0.7% 含有되게 添加한 培地에서 集落의 發育이 抑制되는 경향이 있고, 1.0% 含有되게 添加한 培地에서는 發育이 阻止되었다(表 1). *E. coli* 72는 0.5% 含有

되게 添加한 培地에서 集落의 發育이 抑制되는 경향이 있었고, 0.7% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되었다.

Brain heart infusion agar에 RS를 0.5, 0.7, 1.0%의 濃度別로 添加한 培地에 20株의 病原性 *E. coli*를 各各 接種하여 MIC를 比較한 成績은 表 2, 3과 같다. PE 95를 제외한 19株의 病原性 *E. coli*는 RS를 0.7% 含有되게 添加한 培地에서 集落의 發育이 抑制되는 경향이 있었고, 1.0% 添加培地에서 發育이 阻止되었다(표 2 및 3). PE 95는 0.5% 含有되게 添加한 培地에서 集落의 發育이 抑制되는 경향이 있었고, 0.7% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되었다.

Brain heart infusion agar에 RS를 0.5, 0.7, 1.0%의 濃度別로 添加한 培地에 *Salmonella*屬菌 6株를 各各 接種하여 MIC를 比較한 成績은 表 4에서 보는 바와 같다. 6株의 *Salmonella*屬菌은 모두 *E. coli*에서와 같이 RS를 0.7% 添加한 培地에서 集落의 發育이 抑制되는 경향이 있고, 1.0% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되었다.

Brain heart infusion blood agar에 RS를 0.7, 1.0, 1.5%의 濃度別로 添加한 培地에 *Staphylococcus* 5株, *Streptococcus* 2株를 各各 接種하여 MIC를 比較한 成績은 表 5에서 보는 바와 같다. *Staphylococcus*와 *Streptococcus*는 모두 RS를 1.0% 含有되게 添加한 培地에서 集落의 發育이 抑制되는 경향이 있고, 1.5% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되었다.

**RS의 消毒의 效果:** RS를 Nutrient broth에 最少發育阻止濃도가 含有되게 添加하고 約  $10^5$ 個의 各 細菌을 接種하여 37°C(±0.2°C)의 恒溫水槽에서 震盪培養하는 동안 0, 10, 20, 30, 40, 50 및 60분에서 RS의 殺菌力을 對照群과 比較한 成績은 그림 1에서 보는 바와 같다. RS를 1.0% 添加한 培地에 約  $1.5 \times 10^5$ 個의 *E. coli*를 接種하였을 경우에는 10分 後에는 約  $10^3$ 個의 수준으로 減少하여, 30分에는 細菌의 發育을 認定할 수 없었다(그림 1-A). 그러나 Nutrient broth에 *E. coli*를 接種하여 培養한 對照群에서는 60分 後에도 接種量의 수준을 유지하였다.

RS를 1.0% 添加한 培地에 約  $2.1 \times 10^5$ 個의 *S. typhi*를 接種하였을 경우에도 10分 後에는 約  $10^2$ 個의 수준으로 菌數가 減少하였고 30分에는 細菌의 發育을 認定할 수 없었다(그림 1-B). 그러나 Nutrient broth에 培養한 對照群에서는 60分 後에도 接種量의 수준을 유지하였다. RS를 1.5% 添加한 培地에 約  $3.5 \times 10^5$ 個의 *Staphylococcus aureus*를 接種하였을 경우에는 10分 後에는 約  $10^3$ 個의 수준으로 減少하여 40分 後에는 細菌의 發育을 認定할 수 없었다. 그러나 Nutrient broth

**Table 1. Sensitivity of *E. coli* on Ranunculus Species**

Strain										
	<i>E. coli</i> 64	<i>E. coli</i> 65	<i>E. coli</i> 66	<i>E. coli</i> 67	<i>E. coli</i> 68	<i>E. coli</i> 69	<i>E. coli</i> 70	<i>E. coli</i> 71	<i>E. coli</i> 72	<i>E. coli</i> 73
Concentration of RS										
Control	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
0.5%	++	++	++	+	++	++	++	++	+	++
0.7%	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
1.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Table 2. Sensitivity of Pathogenic *E. coli* on Ranunculus Species**

Strain										
	PE 94	PE 95	PE 96	PE 97	PE 98	PE 99	PE 100	PE 101	PE 102	PE 103
Concentration of RS										
Control	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
0.5%	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++
0.7%	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
1.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Table 3. Sensitivity of Pathogenic *E. coli* on Ranunculus Species**

Strain										
	PE 104	PE 105	PE 106	PE 107	PE 108	PE 109	PE 110	PE 111	PE 112	PE 113
Concentration of RS										
Control	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
0.5%	++	++	+	++	+	++	++	++	++	++
0.7%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PE: Pathogenic *E. coli***Table 4. Sensitivity of Salmonella on Ranunculus Species**

Strain								
	S. choleraesuis I	S. choleraesuis II	S. typhi I	S. typhi II	S. typhimurium I	S. typhimurium II	S. typhimurium III	S. typhimurium IV
Concentration of RS								
Control	++	++	++	++	++	++	++	++
0.5%	+	++	+	++	++	++	++	++
0.5%	+	+	+	+	+	+	+	+
1.0%	-	-	-	-	-	-	-	-

**Table 5. Sensitivity of Staphylococcus and Streptococcus on Ranunculus Species**

Strain							
	Sta. aureus 52	Sta. aureus 53	Sta. aureus 71	Sta. aureus 3A	Str. epidermidis	Str. epidemicus	Str. hHemolyticus
Concentration							
Control	++	++	++	++	++	++	++
0.7%	++	++	+	++	++	++	++
1.0%	+	+	+	+	+	+	+
1.5%	-	-	-	-	-	-	-

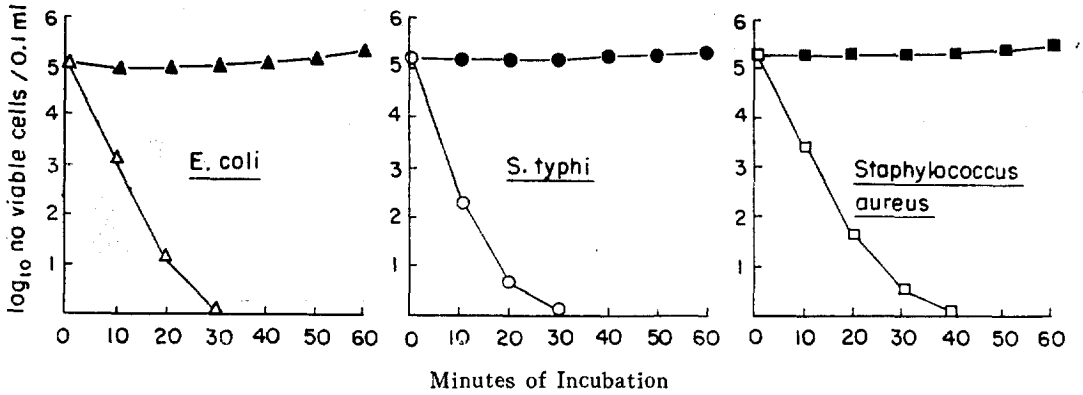


Fig. 1. Antimicrobial activity of *Ranunculus japonicus*: Antimicrobial activity in nutrient broth added *Ranunculus japonicus* was compared with the survival curve in nutrient broth at 37°C after incubation. ▲ ● ■ : Organism incubated in nutrient broth. △ ○ : Organism incubated in the medium in which 1% of *Ranunculus japonicus* added to nutrient broth. □ : Organism incubated in the medium in which 1.5% of *Ranunculus japonicus* added to nutrient broth.

에培養한對照群에서는60分後에도接種量의수준을 유지하였다.

### 考 察

山野에 널리 自生하고 있는 *Ranunculus japonicus*의 抽出液(RS)은 殺虫力과 抗菌作用이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>25)</sup> 柳 등<sup>26)</sup>은 RS는 金屬製品에 對하여 腐蝕作用을 나타내지 않는다고 하였으며, 鄭 등<sup>26)</sup>은 食品에 對한 防腐效果도 있다고 하였다.

本 實驗에서는 抗菌作用이 있으며, 比較的 副作用이 적은 것으로 알려진 RS의 임상면에서 實用化 方案을 모색하고자 하였다. RS의 添加濃度를 달리한 培地에 病原性細菌을 接種하여 最少發育阻止濃度를 定하고, 消毒의 效果를 試驗하였다.

RS의 細菌에 對한 最少發育阻止濃度를 比較觀察한 試驗에서 病原性 *E. coli*와 *Salmonella*屬菌은 모두 RS를 0.1%가 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되어 消毒劑로서 實用이 可能하다고 생각된다. 또한 이들 2種의 腸內細菌屬에 對한 RS의 殺菌效果는 차이가 없음을 나타내고 있다.

*Staphylococcus*와 *Streptococcus*는 모두 RS를 1.5% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되어 *E. coli*와 *Salmonella* 屬菌보다는 다소 抵抗性이 있음을 나타내고 있다.

RS의 消毒의 效果를 比較한 實驗에서 *E. coli*와 *S. typhi*는 RS를 1.0% 含有되게 添加한 培地에서 10分後부터 菌數가 급격히 減少하고, 30分後에는 細菌이 모두 死滅하여 消毒의 效果를 나타내었다. 이 結果로

미루어 보아 RS를 臨床면에서 消毒劑로서 사용할 수 있음을 알 수 있다.

*Staphylococcus aureus*는 RS를 1.5% 含有되게 添加한 培地에서 10分後에는 菌數가 심하게 減少하였고, 40分後에는 細菌이 모두 死滅하였다. 이 結果에서는 *Staphylococcus*에 對한 RS의 消毒의 效果를 기대할 수 있는 時間은 *E. coli*와 *S. typhi*에서 보다 다소 지연되는 것을 알 수 있다.

이상 3種의 病原性細菌에 對한 RS의 消毒의 效果를 比較觀察한 實驗의 結果에서 柳 등<sup>25)</sup>이 주장한 RS의 抗菌作用이 確認되었다. 또한 臨床면에서 RS를 消毒劑로서 使用할 수 있는 濃度는 1.5% 정도의 수준이라는 것이 밝혀졌으며, 消毒의 效果를 발휘하는데 소요되는 時間은 40分 이내라는 것을 알게 되었다.

### 結 論

미나리 아재비科 植物의 抽出液(RS)이 지니는 抗菌性의 實用化 方案을 모색하기 위하여 病原性細菌에 對한 最少發育阻止濃度와 消毒의 效果를 比較觀察한 成績은 다음과 같다.

1. *E. coli*는 RS를 1.0% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되었다.
2. *Salmonella* 屬菌은 RS를 1.0% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되었다
3. *Staphylococcus*와 *Streptococcus*는 RS를 1.5% 含有되게 添加한 培地에서 發育이 阻止되었다.
4. *E. coli*와 *S. typhi*는 RS를 1.0% 含有되게 添加한 培地에서 30分 이내에 消毒의 效果가 나타났다.

5. *Staphylococcus aureus*는 RS를 1.5% 함유되게 添加한 培地에서 40分 이내에 消毒의 效果가 나타났다.

### 參 考 文 獻

1. Beck, A. and Evans, I.L.: Resistance to the newer penicillins. Brit. Med. (1963) 1: 887.
2. Bert, W.B.: The effect of excessive formaldehyde fumigation on turkey poults. J.A.V.M.A. (1958) 132: 174.
3. Brown, J.B. and Kukarni, M.V.: Toxicity and metabolism of mercury-a review. Medical Serv. J. Canada, (1976) 23: 786.
4. Buck, W.B., Osweiler, G.D. and Gelder, G. A.: Clinical and diagnostic veterinary toxicology. 1th ed., Kendal-Hunt publishing Co. Iowa. (1973) 203.
5. Disalvo, A.F.: Antifungal activities of plant extract. 1. Source and spectrum of antimicrobial activity. Mycol. Appl. (1974) 54: 215.
6. Ernst, M.R., Klesmer, R., Huebner, R. A. and Martin, J. E.: Susceptibility of cats to phenol. J.A.V.M.A. (1961) 138: 197.
7. Goldwater, L.J.: Mercury in the environment. Sci Amer., (1971) 224: 15.
8. Harwood, J.H. and Smith, D.H.: Resistant factor mediated streptomycin resistant. J. Bacteriol. (1969) 97: 1262.
9. Kurland, L.T., Faro, S. N. and Siedler, H.: Minamata disease. World Neurology (1960) 1: 370.
10. Lee, J.H.: Studies on the yeast growth inhibiting substance isolated from *Polygonatum A* Gray. Doctorial thesis submitted to the committee of the Graduate School of Gyeongbuk National University. 1975.
11. Marta, W., Susan, B., Lorraine, Y.S. and Margaret, N.F.: The merck index. 9th ed., Merck Co., Inc. Rahway. N.J. (1976) 334.
12. Morikawa, N.: Pathological studies on organic mercury poisoning. Part II. Kumamoto Med., J. (1961) 14: 87.
13. Richmond, M.H.: Extrachromosomal elements and the spread of antibiotic resistance in bacteria. Biochem. J. (1969) 113: 225.
14. Stewart, G.T. and Holt, R.J.: Evolution of natural resistance to the new penicillins. Brit. Med. J. (1963) 1: 308.
15. Taylor, J.: The estimation of numbers of bacteria by tenfold dilution series. J. Appl. Bact. (1962) 25: 54.
16. Timmins, P. and Court, W.E.: Leaf alkaloids of *Rauwolfia. obscura*. Planta Med. (1975) 27: 105.
17. Weissmann, G. and Dietrichs, H.H.: Termiticidal activity of the extractives from callitris and their structural relation. Chemical Abstracts, Biochemical section. (1975) 83: 135.
18. 權海秉, 柳泰錫, 許麟洙, 梁日錫: *Ranunculus* sp.에 慢性中毒된 家兎의 臨床症狀 및 血液像. 大韓獸醫師會誌 (1976) 12: 167.
19. 金容煥, 柳泰錫, 許麟洙: 植物性 農藥開發에 關한 研究. 3. 여귀抽出液의 殺虫效果에 影響을 주는 要因에 關하여. 慶尙大學 論文輯 (1976) 15: 139.
20. 柳泰錫, 姜禧信, 金容煥: 미나리 아재비科 植物의 生態學的 條件에 따르는 量的形質이 藥效에 미치는 影響. 韓國酪農學會誌 (1978) 1: 45.
21. 柳泰錫, 姜禧信, 崔相龍, 金容煥: 酪農機材에 對한 미나리 아재비科 植物의 消毒의 效果에 關한 研究. 韓國酪農學會誌(1979)1: 51.
22. 柳泰錫, 崔相龍, 金容煥: 醫療器材에 對한 미나리 아재비科 植物汁液의 殺菌劑實用化에 關하여. 慶尙大學 論文集 (1979) 18: 105.
23. 柳泰錫, 許麟洙: 미나리 아재비科 植物에 中毒된 Guineapig, 家兎의 病理組織學的 所見. 농업자원이용연구소보(경상대부설). (1978) 12: 51.
24. 柳泰錫, 許麟洙: 植物性 農藥開發에 關한 研究. 1. *Polygonum* sp.의 殺虫效果에 關하여. 大韓獸醫師會誌 (1976) 12: 89.
25. 柳泰錫, 許麟洙, 朴武鉉: 미나리 아재비科 植物의 抗菌性 實驗. 大韓獸醫師會誌 (1977) 393.
26. 鄭順姬, 柳泰錫, 許麟洙: 植物性 農藥開發에 關한 研究. 4. *Ranunculus* species의 食品防腐效果. 大韓獸醫師會誌 (1976) 12: 15.
27. 石山, 上田, 桑原, 山酒井: Chemotherapy. (1968) 16: 98.

## Study on the Antimicrobial Effect of Ranunculus Species on Pathogenic Bacteria

Tae Suk Yoo, D.V.M., Ph. D.

*College of Agriculture, Gyeong Sang National University*

Yong Hwan Kim, D.V.M., M.S.

*Gyeong Nam Junior College of Nursing*

### Abstract

In order to observe the bactericidal effect of Ranunculus species on pathogenic bacteria, the minimal inhibitory concentration and bactericidal effect was tested

Throughout the studies, the following experimental results were obtained and summarized.

1. Minimal inhibitory concentration of Ranunculus species extracts on *E. coli* was observed in the medium in which 1% Ranunculus species extracts added to brain heart infusion agar.
2. Minimal inhibitory concentration of Ranunculus species extracts on Salmonella species observed in the medium in which 1% Ranunculus species extracts added to brain heart infusion agar.
3. Minimal inhibitory concentration of Ranunculus species extracts on Staphylococcus and Streptococcus was observed in the medium in which 1.5% Ranunculus species extracts added to brain heart infusion blood agar.
4. The Bactericidal effect of Ranunculus species extracts on *E. coli* and *S. typhi* was observed in 30 minutes.
5. The Bactericidal effect of Ranunculus species extracts on *staphylococcus aureus* was observed in 40 minutes.