

국내 및 인도네시아산 식물의 에탄올 추출물의 항균효과

김무성 · 이동철 · 홍종언 · 장이섭 · 조홍연* · 권용관** · 김희연**
(주)태평양기술연구원, *고려대학교생명공학원, **식품의약품안전청 천연첨가물과

Antimicrobial Effects of Ethanol Extracts from Korean and Indonesian Plants

Moo-Sung Kim, Dong-Cheol Lee, Jong-Eun Hong, Ih-Seop Chang,
Hong-Yon Cho*, Yong-Kwan Kwon** and Hee-Yun Kim**

Pacific R&D Center, *Graduate School of Biotechnology, Korea University,
**Division of Natural Additives, Korea Food and Drug Administration

Abstract

Antimicrobial effects of 150 kinds of Korean and 82 kinds of Indonesian plants were investigated to develop natural food preservatives. Extracts of the plants with 70% ethanol were tested their antimicrobial effects against several food spoilage microorganisms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. Seventeen kinds of Korean and eighteen kinds of Indonesian plants were found relatively effective, of which *Myristica fragrans* and *Melaleuca leucadendra* were the most effective, respectively. The major fractions of the two plant extracts showing antimicrobial activity were further purified by solvent fractionation, silicagel column chromatography and preparative HPLC. The purified substances were identified as limonene and caprylic acid in *M. fragrans*, and α -terpineol in *M. leucadendra*, respectively.

Key words : antimicrobial activity, Korean and Indonesian plants, *Myristica fragrans*, *Melaleuca leucadendra*

서 론

식품의 부패와 변질은 주로 미생물의 오염작용에 의해 일어나며, 이를 방지하기 위해 각종 항균성 보존료를 사용하여 식품의 가공, 저장시의 효율성을 증가시키는 방법이 개발되어 왔다. 그러나 대부분의 보존료는 화학적 합성품으로서 최근 안전성에 대한 문제가 제기되고 있어 그 사용을 가능한한 제한하려는 추세이며, 합성 보존료를 대체할 수 있는 천연 항균성 물질의 검색과 식품에의 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다^(1,2). 천연물에 함유된 succinic, malic, tartaric, benzoic acid 등의 유기산류의 미생물 증식억제작용⁽³⁻⁵⁾과 flavonoids, catechin 류의 항균효과^(6,7)가 연구되었으며, 동식물의 조직에 함유된 탄소수 12-18개

의 지방산이 효과적인 항균성 물질로 보고되었고⁽⁸⁻¹⁰⁾, 계란에 함유된 lysozyme, transferrin^(11,12)과 우유에 함유된 lactoferrin⁽¹³⁾, 젖산균이 생성하는 nisin⁽¹⁴⁾ 등의 단백질성 물질이 알려져 있다. 또 우리나라에서 많이 사용되는 향신료인 마늘⁽¹⁵⁾과 양파⁽¹⁶⁾의 성분에 의한 항균 작용이 연구되었으며, 국내의 다양한 생약재 또는 식물성분에 의한 항균성에 대한 연구가 진행되어, 오 등⁽¹⁷⁾은 산사, 황련, 측백, 창출, 석창포의 ethanol 추출물이 그람양성 및 음성세균 모두에 대하여 강한 항균성을 가졌다고 보고하였으며, 안 등⁽¹⁸⁾은 상백피 추출물이 *Listeria monocytogenes* 증식을 저해하는 것으로 보고하였고, 박 등⁽¹⁹⁾은 한약재인 오미자, 울금, 자초, 고삼, 감초 등이 항균활성이 있다고 보고하였다. 그러나 효과적인 식품보존료 개발을 위해서는 국내외의 이용 가능한 천연물에 대한 보다 광범위한 검색과 연구가 필요한 실정이며, 본 연구에서는 국내 식물 뿐 아니라 많은 천연식물의 대량 재배가 가능한 인도네시아의 식물을 중심으로 항균효과를 갖는 종을 탐색하고, 우수한 항균활성을 갖는 성분을 확인하여 천연보존료로서

Corresponding author : Moo-Sung Kim, Biotechnology Part,
Pacific R&D Center, 314-1, Bora-ri. Kiheung-eup, Yongin-si,
Kyunggi-do, 449-900, Korea.
Tel : 031-281-8340
Fax : 031-281-8397
E-mail : mosukim@hanmir.com

Table 1. Antimicrobial effects of extracts from domestic plants

Local Name	Scientific Name	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
갈참나무	<i>Quercus aliena</i>	++ ¹⁾	+	+++	+	+
감국	<i>Chrysanthemum boreale</i>	+	+++	++	++	+++
감다	<i>Hydrangea macrophylla</i>	++	+++	++	++	+
감초	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	++++	+++	+++	++++	++
갯	<i>Brassica juncea</i>	+++	+	+	++	+
강진향	<i>Dalbergia odorifera</i>	++	+	++	++	+
강활	<i>Ostericum koreanum</i>	+++	++	++	+	+
강황	<i>Curcuma aromatica</i>	+++	++++	++	+++	+++
개박하	<i>Nepeta cataria</i>	+	++++	+	+	++
전강	<i>Zinbiber officinale</i>	++	++	+	++	+
겨자	<i>Brassica cernua</i>	+	+++	++	+	++
견우자	<i>Pharbitis nil</i>	++	+	++	+	++
경명자	<i>Cassia tora</i>	+++	++	+	++	++
고삼	<i>Sophora angustifolia</i>	++	+	++	+	+
구기자	<i>Lycium chinense</i>	+	+++	++	+++	+
금은화	<i>Lonicera japonica</i>	++	++	+	++	++
길경	<i>Platycodon grandiflorum</i>	+++	+	+	++	+
남독	<i>Euphorbia fischeriana</i>	++	+++	+++	++	+
냉이	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	+++	++	+	++	++
느릅접질	<i>Ulmus davidiana</i>	++	+	++	++	+++
단삼	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	+	++	+++	+	+++
달개비	<i>Commelina communis</i>	+++	+++	++++	+++	++++
당귀	<i>Angelica gigas Nakai</i>	+	+++	+	++	+++
대마	<i>Connabis sativa</i>	+	++	++	+	+++
땃잎	<i>Bambusaceae</i>	+++	++	+	+	+
도꼬마리	<i>Xanthium strumarium</i>	+	+++	+	++	+
독활	<i>Aralia continentalis</i>	+++	++	+	+++	++
돌콩	<i>Glycine soja</i>	++	+++	++	++	+
두충	<i>Eucommia ulmoides Oliver</i>	+	+++	++	+	+++
들국화	<i>Chrysanthemum indicum</i>	++	+	+	+++	++
들깨묵	<i>Perilla frutescens</i>	+++	++	++	+	++
땅빈대	<i>Euphorbia jumifusa</i>	++	++	+++	++	+
리기다	<i>Pinus rigida</i>	+++	++	+++	+	+
마가목	<i>Sorbus commixta</i>	+	++	++	+++	++
마늘	<i>Allium satium</i>	+++	+	+	++	+
만삼	<i>Codonopsis pilosulae</i>	+++	++	+	++	++
맥문동	<i>Liriope platyphylla wang</i>	++	+	++	+	++
목단	<i>Paeonia moutan atton</i>	+++	++	++	+	+
목별자	<i>Momordia cochinsinensis</i>	+	++	+	+++	+
목향	<i>Inula helenium</i>	++	+++	++	++	+
목화	<i>Gossypium indiaum</i>	+	+++	+	++	+++
미나리	<i>Oenanthe japonica</i>	+	+++	+	++	+++
바위솔	<i>Orostachys japonicus</i>	+++	++	+	++	++
박하	<i>Pinellia terfnate</i>	+	++	++	+++	++
방기	<i>Stephania Tetranda</i>	+	+	+	++	+++
방풍	<i>Phellopterus littoralis</i>	++	+	++	+++	++
백강잠	<i>Musoa domestica</i>	+	++	+++	+	+++
백급	<i>Bletilla striata</i>	+++	++	+++	+	++
백련	<i>Ampelopsis japonica</i>	++	+++	++	++	+
백리향	<i>Thymus vulgaris</i>	+++	++	+++	+	++

의 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

국내식물 150 종(Table 1) 및 인도네시아의 생약시장을 중심으로 입수한 식물 82 종(Table 2)을 자연 건조한 후 세절하거나 잘게 부수어 70 % (v/v) 에탄올 용액에 7 일간 상온에서 침적시켜 추출하였다. 추출 후 여과지(Watman No. 2)로 여과한 다음 여액을 감압농

Table 1. Continued

Local Name	Scientific Name	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
백선	<i>Dictamnus dasycarpus</i>	+	+	+++	++	+++
백지	<i>Angelica dahyrica</i>	++	++	+	+++	++
백질여	<i>Tribulus terrestris linne</i>	+	++	+++	+++	+
뱀딸기	<i>Duchesnea chrysantha</i>	++	+++	++	+++	+
범의귀	<i>Saxifraga stolonifera</i>	+++	++	+	+++	++
부평	<i>Spirodela polyhiza</i>	+++	++	+	+	+++
분디나무	<i>Celastrus flagellaris</i>	++	+++	+	+++	++
뽕나무	<i>Morus alba</i>	+	+	++	++	++
사삼	<i>Codonopsis lanceolata</i>	+	+++	++	+++	+
사상자	<i>Torilis japonica</i>	+++	+	++	+	++
산두근	<i>Lespedeza tomentosa</i>	++	++	++	+	+
산사자	<i>Crataegus spp</i>	++	+++	+	++	+++
산수유	<i>Cornus officinalis</i>	++	+++	++	+++	+
산약	<i>Dioscorea batatas</i>	+	+++	++	+++	++
산자고	<i>Amana edulis</i>	+++	+++	++	+	++
산초	<i>Zanthoxylum piperitum</i>	+	++	+	+++	+++
삼백초	<i>Saururus chinensis</i>	+++	++	+	+	+++
삼지구엽초	<i>Epimedium koreanum</i>	+++	+++	++	++	+
석곡	<i>Dendrobium moniliforme</i>	++++	++++	+++	++++	+++
소루쟁이	<i>Rumex japonica</i>	+++	+	+	++	++
소목	<i>Caesalpinia sappan</i>	++	+++	++++	+	++++
속수자	<i>Euphorbia lathyris</i>	+++	+	+++	+	++
솔잎	<i>Pinus densiflora</i>	+++	++	+	+++	+
쇠뜨기	<i>Equisetum arvense</i>	+++	+	+	++	+++
쇠무릅	<i>Achyranthes japonica</i>	+++	+	+++	++	+
쇠비름	<i>Portulaca oleracea</i>	+	+	+	++	+++
승마	<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	++	+	++	++	+++
시호	<i>Bupleurum falcatum</i>	+++	++	+	+++	++
쑥	<i>Artemisia montana</i>	++	++	+++	++	+
쑥바귀	<i>Ixeris dentata</i>	++	+	++	+++	++
알로에	<i>Aloe arborescens</i>	+++	++	++	++	+
애엽	<i>Artemisia asiatica</i>	++++	++	++	++++	++++
양강	<i>Alpinia officinarum</i>	+++	++	+++	++	+
어성초	<i>Hautuymia cordata</i>	+	+++	++	++	+++
엄나무잎	<i>Kalopanax pictum</i>	+++	+	+	++	+++
엉겅퀴	<i>Cirsium japonicum</i>	+++	++	++	+++	+
영지	<i>Ganoderma lucidum</i>	++	+++	++	++	+
오약	<i>Lindera aggregata</i>	+	++++	++++	+++	++++
오갈피	<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	+++	++	+++	+	++
오동잎	<i>Paulownia corena</i>	+	+++	+++	+	+
오미자	<i>Schizandra chinensis</i>	++	+++	++	+++	++
오배자	<i>Rhus javanica</i>	++	+++	++	++	+
오수유	<i>Evodia officinale</i>	+++	++	++++	++++	+++
용담초	<i>Gentiana soabra</i>	+++	++	+	++	++
우엉	<i>Arctium lappa</i>	+++	++	+++	+	++
울금	<i>Curcuma longa</i>	++	+++	++	+++	+
원추리	<i>Hemerocallis fulva</i>	+++	++	+	+++	+
유자씨	<i>Citrus junos</i>	++	++	+	++	+++
육두구	<i>Myristica fragrans</i>	++++	++++	+++	+++	++++
으름덩굴	<i>Akebia quinata</i>	++	+++	+	++	+++
은행	<i>Ginkgo biloba</i>	+++	++	+	+	+++
의이인	<i>Coix lachryma-jobi</i>	+	+++	+	+++	++

측기를 사용하여 40°C에서 농축하고 동결건조하여 보관하면서 사용하였다.

사용균주 및 배지

항균효과를 검토하기 위한 시험균주로 *Escherichia coli* ATCC 9637, *Staphylococcus aureus* IFO 3060, *Pseudomonas aeruginosa* PAO 303, *Candida albicans* KCTC 1940, *Aspergillus niger* KCTC 2119을 사용하

Table 1. Continued

Local Name	Scientific Name	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
이질풀	<i>Geranium thunbergii</i>	++	+	+	+++	+++
익지인	<i>Alpinia oxyphylla</i>	+++	+++	++++	+++	++
작약	<i>Paeonia japonica</i>	+++	++	++	++	+
저령	<i>Polyporus umbellatus</i>	++	+++	+	+++	++
적작약	<i>Paeonia lactiflora</i>	++	++	+++	++	+
정력자	<i>Stachys sieboldii</i>	+	+++	++	+	+++
정향	<i>Eugenia caryophyllus</i>	++	++	+++	++	++
제비꽃	<i>Viola mandshurica</i>	++	+	+	++	+++
조각자	<i>Gleditsia sinensis</i>	+	+++	++	++	+++
졸참나무	<i>Quercus serrata</i>	++	+++	+	+++	+
죽엽	<i>Phyllostachys nigra</i>	+++	++	+++	++	+++++
취송이풀	<i>Geranium sibiricum</i>	+++	+	+	+++	++
지모	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	++	+++	+	++	+++
지우초	<i>Sanguisorba officinalis</i>	++	++	++	+++	++
지치	<i>Lithospermum erythozon</i>	+	+++	+++	++	++
지황	<i>Rehmannia glutinosa</i>	+++	+	+	++	++
진피	<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	+++++	+++	+++	++++	+++
질경이	<i>Plantago asiatica</i>	++	+++	++	+++	+
참깨묵	<i>Seamum indicum</i>	+	+++	++	+	++
참빗	<i>Euonymus sieboldianus</i>	++	++	+	+++	+++
천궁	<i>Cnidium officinale</i>	++	++++	++++	++++	+++
천화분	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	+	+++	++	++	+++
청피	<i>Poncirus trifoliata</i>	++	+++	+	++	+++
초두구	<i>Alpinia katsumadai</i>	++++	++++	++	+++	+++
초오	<i>Aconitum pulcherrimum</i>	+	+++	++	+++	++
측백나무	<i>Thuja orientalis</i>	++	++	+++	++	+
택란엽	<i>Lycopus lucidus</i>	+	+++	+	+++	++
택사	<i>Alisma canaliculatum</i>	++	++	+	+++	++
털진득찰	<i>Siegesbeckia pubescens</i>	+++	+	++	+	+++
토사자	<i>Cuscuta japonica chois</i>	++	+++	++	++	++
파고지	<i>Psoralea corylifolia</i>	+++	++++	+++	+++	++++
팔각향	<i>Illicium verum</i>	+	+	++	++	+++
패모	<i>Fritillaria ussuriensis</i>	+++	++	++	+++	+
포공영	<i>Taraxacum platycarpum</i>	+++	+	++	+++	+
표고버섯	<i>Xortinellus shiitake</i>	+	++	+++	+	+++
필발	<i>Piper longum</i>	++	++++	++++	++	++++
하고초	<i>Prunella vulgaris</i>	+	+++	+++	+	++
하수오	<i>Cynanchum wilfordii</i>	++	++	+	+++	++
학슬	<i>Carpesium rosulatum</i>	+++	++	+	+	++
할미꽃	<i>Pulsatilla koreana</i>	++	+	++	++	++
현삼	<i>Scrophularia buergeriana</i>	++	+++	++	+++	+
혈갈	<i>Daemonorops draco</i>	+++	+	+	++	++
호장근	<i>Polygonum aviculare</i>	+++	+++	++	+++	++++
환삼덩굴	<i>Humulus japonicus</i>	+++	+	++	+++	++
황금	<i>Scutellariae baicalensis</i>	++	+	+	++	++
황기	<i>Astragalus membranaceus</i>	+	+++	++	++	+++
황백	<i>Phellodendron amurense</i>	++	+	++	+++	++
회향	<i>Anthum graveolens</i>	+++	++	+++	+	++

¹⁾Size of clear zone (+; 8-12 mm, ++; 12-16 mm, +++; 16-20 mm, ++++; >20 mm)

였다. 세균류인 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*는 Mueller Hinton 배지(Difco Co.)에서 37°C에, 효모균인 *C. albicans*는 yeast malt extract 배지(Difco Co.)에서 30°C에, 그리고 사상균인 *A. niger*는 potato dextrose broth(Difco Co.)에서 30°C에 배양하였으며, 각각의 평판배지에는 agar를 1.5%(w/v) 되게 첨가하여 사용하였

다. 한편 인도네시아로부터 입수한 시료들은 앞의 5종의 균주를 이용한 검색과는 별도로 *Salmonella typhimurium* ATCC 14208, *Salmonella enteritidis* JCM 1891, *Vibrio parahaemolyticus* IFO 13275를 이용하여 문제가 되고 있는 병원성 세균에 대한 항균력을 시험하였다. 병원성 세균은 Mueller Hinton 배지에

Table 2. Antimicrobial effects of extracts from Indonesian plants

Local Name	Scientific Name	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Adas	<i>Foeniculum vulgare</i>	+ ¹⁾	+	+++	++	++
Akar wangi	<i>Andropogon zizanicides</i>	+++	++	+	+++	++
Arbei	<i>Fragaria vesca</i>	++	++	+	++	+++
Asam	<i>Tamarindis indica</i>	+++	++++	+++	++	+++
Bawang merah	<i>Allium cepa</i>	++	+++	+	+++	++
Bidara upas	<i>Merremia mammosa</i>	++	++	+	++	+
Bolong-bolong	<i>Melaleuca leucadendra</i>	++	++	++++	++++	+++
Brotowali	<i>Tinospora crispa</i>	+	++	++	++	++
Buah makassar	<i>Brucea javanica</i>	++	+++	++	+++	+
Bunga raya	<i>Hibiscus rosasinensis</i>	++	+	++	+++	++
Ceplukan	<i>Passiflora fuetida</i>	+	+++	++	+	+++
Clove	<i>Eugenia aromatica</i>	++++	+++	++	++++	++
Cumari	<i>Capsicum cumarim</i>	++	+	+	++	+
Daruzu	<i>Acanthus ilicifolius</i>	+++	+	+	++	++
Daun mangko	<i>Nothopanax scutellarius</i>	+++	++	++	+	++
Daun ungu	<i>Graptophyllum pictum</i>	+	+++	++	+	++
Dringo	<i>Acorus calamus</i>	++	+	+++	+	+
Eagle wood	<i>Aquilaria agallocha</i>	+	+++	+++	++	+
Fruto de lobo	<i>Solanum lycocarpum</i>	+	++	+	++	++
Gambir	<i>Uncaria gambir</i>	+++	++++	+++	++	+++
Gendis	<i>Clinacanthus nutans</i>	++	+	+	++	+++
Ilalang	<i>Setaria faberii</i>	+++	++	++	+++	+
Inggü	<i>Ferula assafoetida</i>	+++	+++	++++	+++	++
Jaat	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	++	+++	++	+	++
Jahe	<i>Zingiber officinalis</i>	+	++	+	+++	+
Jarak keliki	<i>Ricinus communis</i>	++	++++	++	++++	+++
Jati belanda	<i>Guazuma ulmifolia</i>	+++	+++	++	++	+
Jeruk purut	<i>Citrus hystrix</i>	+	+++	++	++	+
Jinten hitam	<i>Nigella sativa</i>	+	++	+++	++	++
Jokeling	<i>Terminia citrina</i>	+++	++	+	++	++
Kacang hijau	<i>Vigna radiatus</i>	++	+++	++	+++	+
Kamala kian	<i>Croton tiglium</i>	+	+	++	+++	++
Kangkung	<i>Ipomoea reptans</i>	+	++	++	+++	++
Kapol gede	<i>Amomum compactatum</i>	++	+++	++	+	++
Kayu angin	<i>Casuarina equisetifolia</i>	+	++	++	+++	++
Kayu putih	<i>Eucalyptus alba</i>	++	++	++++	++++	++++
Kedawung	<i>Parkia roxburghii</i>	+++	++	++	+	+
Kemiri	<i>Aleurites moluccana</i>	++	+++	++	++	+
Kemuning	<i>Murraya paniculata</i>	+++	++	++	+	+++
Kencur	<i>Daemeferia galanga</i>	++	+	++	+++	++
Kirapet	<i>Parameria barbata</i>	+++	+++	++++	+++	++++
Klabet	<i>Trigonella foenumgraecum</i>	+++	+	+	++	++
Klembak	<i>Panicum chamearaphoides</i>	++	+++	++++	++++	++
Kras tulang	<i>Chloranthus officinalis</i>	++	++++	++++	++++	+++
Kuma kuma	<i>Cucumis sativus</i>	++	++	+	++	+
Kumis kucing	<i>Orthosiphon aristatus</i>	+++	++	++	+	+++
Kunyit	<i>Curcuma domestica</i>	+	+++	++	+	+++
Lampuyang	<i>Zingiber americanus</i>	+	++	+++	+	+++
Lerak	<i>Sapindus rarak</i>	++	++	+++	++	+
Mamangkakan	<i>Micromelum pubescens</i>	++	+	++	++	+++

서 37°C에 배양하여 사용하였다.

추출물의 항균력 및 저해농도 검색

각 시험균주를 해당 액체배지에서 18-24시간 전배양한 후 배양액을 평판배지에 골고루 도말하고 말린

후, 각 시료 용액(1% solid, 20 µL)을 접종한 paper disc(φ 8 mm, Advantec, Toyo Roshi Co.)를 평판배지의 중앙에 올리고, 미생물의 종류에 따라 적정 온도에서 24시간 배양한 후 형성된 저해부위(clear zone)의 크기를 측정하였다. 항균력은 저해부위의 크기를 5종

Table 2. Continued

Local Name	Scientific Name	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Mampu	<i>Homolomena sagittifolia</i>	+++	+++	++++	+++	++++
Mandioquinha	<i>Didymopanax acrocarpum</i>	+++	++	+++	+	++
Merang	<i>Oryzae sativa</i>	+	++	++	+++	++
Mesui	<i>Massoia</i>	++	+++	+	+++	++
Mulungu	<i>Erythrina corallodendron</i>	+++	+++	+++	++++	+++
Musi	<i>Carum copticum</i>	+	+++	++	+++	+
Pandan wangi	<i>Pandanus odorus</i>	++	++	+	++	+++
Pasak bumi	<i>Eurycoma longifolia</i>	++++	++	++++	++++	+++
Pau-d' arco	<i>Tabebuia avellaneda</i>	++	+	++	++	+++
Pecah beling	<i>Strobilanthes crispus</i>	++	+++	++	+	+
Pegagan	<i>Centella asiatica</i>	+	+++	+	++	+
Picisan	<i>Drymoglossum piloselloides</i>	++++	++	++++	++	+++
Pinang	<i>Areca catechu</i>	+++	++++	+++	++++	+++
Pulosari	<i>Alyxia reinwardtii</i>	+++	++	++	+++	+
Rane	<i>Selaginella willdenowii</i>	++	+	++	+	++
Saga cay	<i>Abrus precatorius</i>	+++	+	+	++	+
Sambiloto	<i>Andrographis paniculata</i>	+++	++	+	+++	++
Sandal wood	<i>Santalum album</i>	+	++	+++	+	++
Semanggi gucing	<i>Hydrocotyle sibthorpioides</i>	+++	+	+	++	+
Sembung	<i>Blumea balsamifera</i>	++	++++	++++	+++	++++
Sereh	<i>Cymbopogon citratus</i>	++	+	+++	++	+++
Sintok	<i>Cinnamomum sp.</i>	+++	++++	+++	+++	+++
Sirih	<i>Piper betle</i>	++	++	++	+	+++
Sosor bebek	<i>Kalanchoe pinnata</i>	+++	++	+	+++	+
Tempuyung	<i>Sonchus arvensis</i>	++	+	+	++	++
Temu giring	<i>Curcuma heyneana</i>	+	+	+	++	+++
Temu hitam	<i>Curcuma aeruginosa</i>	+++	+	++	+	+++
Temu kunci	<i>Bousenbergia pandurata</i>	+++	++	+++	+	++
Temu lawak	<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	+++	++	++	+	+
Temu mannga	<i>Curcuma mangga</i>	++	++++	++++	+++	++++
Tipi	<i>Petiveria alliacea</i>	+	+++	++	+++	++
Urang aring	<i>Eclipta prostrata</i>	++	+	+	++	+++

¹⁾Size of clear zone (+; 8-12 mm, ++; 12-16 mm, +++; 16-20 mm, ++++; >20 mm)

으로 분류하여, 평원반의 크기를 포함하여 직경이 8 mm 이하인 것은 항균력이 없는 것으로, 8-12 mm의 것은 항균력이 약한 것으로, 12-16 mm의 것은 항균력이 중간인 것으로, 16-20 mm의 것은 항균력이 강한 것으로, 20 mm 이상인 것은 항균력이 매우 강한 것으로 판단하였다. 추출물의 최소저해농도(minimum inhibitory concentration; MIC)는 해당 액체배지에서 전배양된 균을 10^4 cells/mL로 희석하여 각 배지에 0.1 mL씩 첨가하고, 제균여과(0.2 μ m, pore size)된 시료를 농도별로 0.1 mL씩 분주한 후 24시간 배양한 뒤 spectrophotometer(Hitachi, U-3210)로 540 nm에서 흡광도를 비교하여 측정하였다.

항균성분의 분리정제

육두구(*Myristica fragrans*)와 bolong-bolong(*Melaleuca leucadendra*)의 에탄올 추출물은 다시 ether로 분획추출한 후 고속 silica gel chromatography(Biotage, Flash

40 System) 상에서 chloroform, 60% methanol을 이용하여 분획하였다. 육두구의 분획중 항균활성이 큰 분획 I은 분취용 HPLC column(Waters, Nova-Pak C₁₈)을 사용하여 acetonitrile : 0.05 M ammonium acetate buffer(pH 5.0) = 36 : 64(v/v)의 조성인 용매상에서 분리하였으며, 분획 II는 Spherisorb amino column(Regis Chemical)을 사용하여 용매 A(hexane : 2-propanol : methanol : water = 5.5 : 8 : 1.5 : 1)과 용매 B(25 mM ammonium acetate)를 농도구배하여 분리하였다. Bolong-bolong의 분획중 큰 항균활성을 보이는 분획은 상기 육두구의 분획 I과 같은 방법으로 분리하였다.

사용기기

HPLC는 Waters사의 HPLC System(M-510 Solvent Delivery System, M-486 Tunable Absorbance Detector, M-746 Data Module)을 사용하였으며, 항균성분의 분석을 위한 적외선 흡광기(IR)는 Biorad, FT-

Table 3. Minimum inhibitory concentration of selected plant extracts showing strong antimicrobial effects

Local Name	Scientific Name	MIC (/mL)				
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
감초	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	- ¹⁾	250	100	-	250
강황	<i>Curcuma aromatica</i>	50	25	100	50	-
달개비	<i>Commelina communis</i>	-	250	-	-	-
석곡	<i>Dendrobium moniliforme</i>	50	-	250	100	250
소목	<i>Caesalpinia sappan</i>	25	50	50	100	50
애엽	<i>Artemisia asiatica</i>	250	100	250	50	250
오약	<i>Lindera aggregata</i>	50	250	100	-	250
오수유	<i>Evodia officinale</i>	-	-	250	250	-
육두구	<i>Myristica fragrans</i>	50	100	25	50	25
익지인	<i>Alpinia oxyphylla</i>	100	50	100	250	250
죽엽	<i>Phyllostachys nigra</i>	100	50	25	50	100
진피	<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	-	100	50	250	100
천궁	<i>Cnidium officinale</i>	250	-	100	250	250
초두구	<i>Alpinia katsumadai</i>	25	50	250	50	100
파고지	<i>Psoralea corylifolia</i>	250	250	100	100	250
필발	<i>Piper longum</i>	-	100	250	250	50
호장근	<i>Polygonum aviculare</i>	100	100	250	250	250
Asam	<i>Tamarindis indica</i>	50	100	250	50	100
Bolong-bolong	<i>Melaleuca leucadendra</i>	50	100	50	25	25
Clove	<i>Eugenia aromatica</i>	50	50	100	100	50
Gambir	<i>Uncaria gambir</i>	100	100	100	250	100
Inggü	<i>Ferula assafoetida</i>	-	250	100	-	250
Jarak keliki	<i>Ricinus communis</i>	250	-	100	250	250
Kayu putih	<i>Eucalyptus alba</i>	100	250	250	100	250
Kirapet	<i>Parameria barbata</i>	100	250	100	250	100
Klembak	<i>Panicum chamearaphoides</i>	50	50	100	250	50
Kras tulang	<i>Chloranthus officinalis</i>	250	-	250	-	-
Mampu	<i>Homolomena sagittifolia</i>	-	250	250	100	-
Mulungu	<i>Erythrina corallodendron</i>	-	-	250	-	250
Pasak bumi	<i>Eurycomma longifolia</i>	100	100	50	250	100
Picisan	<i>Drymoglossum piloselloides</i>	250	-	250	-	-
Pinang	<i>Areca catechu</i>	100	100	250	50	100
Sembung	<i>Blumea balsamifera</i>	50	250	250	100	-
Sintok	<i>Cinnamomum sp.</i>	100	250	-	250	250
Temu mannga	<i>Curcuma mangga</i>	-	250	-	250	-

¹⁾no inhibition

IR(FTS-40)을 사용하였고, 핵자기공명 분광기(NMR)는 Varian, Gemini 2000(300 MHz) spectrometer를 사용하였으며, 질량분석은 Joel, JMS-AX 505WA mass spectrometer를 사용하여 FAB mode에서 얻었다.

결과 및 고찰

항균력 검색

다수의 시료를 효율적으로 검색하기 위하여 agar diffusion에 의한 방법으로 총 232 종 시료의 1차 항균력을 측정하였다. 국내산 150 종의 시료중에서는 감초, 강황, 달개비, 석곡, 소목, 애엽, 오약, 오수유, 육두구, 익지인, 죽엽, 진피, 천궁, 초두구, 파고지, 필발, 호장근 등의 17 종이 항균력이 좋았고(Table 1), 인도

네시아산 82 종의 시료중에서는 asam, bolong-bolong, clove, gambir, inggu, jarak keliki, kayu putih, kirapet, klembak, kras tulang, mampu, mulungu, pasak bumi, picisan, pinang, sembung, sintok, temu mannga 등 18종이 비교적 좋은 항균력을 나타내었다(Table 2). 선정된 국내산과 인도네시아산의 총 35종 시료에 대해 각각 균주에 대한 MIC 값을 측정하였으며, 이 중 국내산 식물로는 강황, 소목, 육두구, 익지인, 죽엽, 초두구 등이 비교적 항균력이 좋았고, 인도네시아산으로는 asam, bolong-bolong, clove, gambir, klembak, pasak bumi 등이 우수한 항균력을 나타내었다(Table 3). 국내산 중 가장 항균력이 우수한 것으로 나타난 육두구(*Myristica fragrans*)는 nutmeg라는 일반명으로 향신료로서 광범위하게 사용되는 식물로, 신

Table 4. Selected Indonesian plants showing antimicrobial activities against pathogenic bacteria

Local Name	Scientific Name	Clear zone		
		<i>S.t.</i> ¹⁾	<i>S.e.</i> ²⁾	<i>V.p.</i> ³⁾
Pinang	<i>Areca catechu</i>	++++ ⁴⁾	+++	++++
Sintok	<i>Cinnamomum sp.</i>	+++	++++	++
Bolong-bolong	<i>Melaleuca leucadendra</i>	++	+++	+++
Klembak	<i>Panicum chamearaphoides</i>	+++	++	++
Kirapet	<i>Parameria barbata</i>	++	+++	++
Gambir	<i>Uncaria gambir</i>	+++	+	+

¹⁾*S.t.*: *Salmonella typhimurium* ATCC 14208

²⁾*S.e.*: *Salmonella enteritidis* JCM 1891

³⁾*V.p.*: *Vibrio parahaemolyticus* IFO 13275

⁴⁾Size of clear zone (+; 8-12 mm, ++; 12-16 mm, +++; 16-20 mm, ++++; >20 mm)

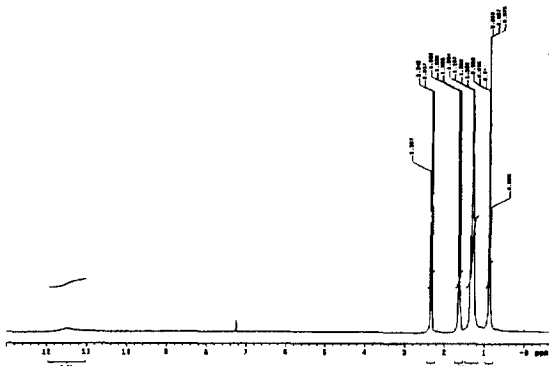


Figure 1. ¹H-NMR spectrum of purified antimicrobial substance I of *Myristica fragrans*

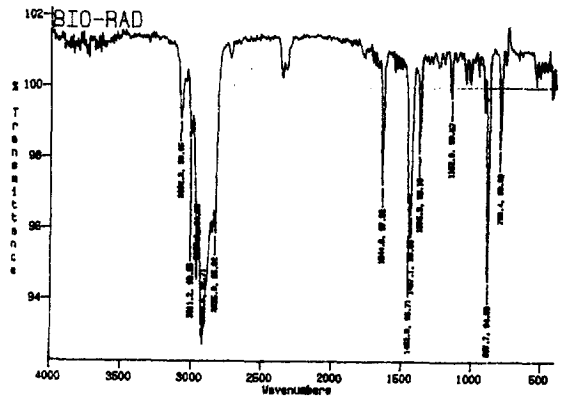


Figure 2. IR spectrum of purified antimicrobial substance I of *Myristica fragrans*

등⁽²⁰⁾의 보고에 의하면 균 종류에 따라 항균력이 있다고 하였으나 본 실험에서는 전반적으로 항균력이 있는 것으로 나타났다. 인도네시아산 식물중 가장 항균력이 우수한 것으로 나타난 bolong-bolong(*Melaleuca leucadendra*)은 tea-tree oil 류의 정유를 생산하는 향료 식물로서 알려져 있어 정유성분에 의한 항균작용이 클 것으로 추정되었다.

병원성 세균에 대한 항균력

입수한 인도네시아산 식물 82종은 아열대지역에 속하는 지방으로부터 입수한 것으로서, 식품에서 식중독으로 문제가 되고 있는 병원성 세균 3종(*Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Vibrio parahaemolyticus*)에 대하여 항균력을 시험하였다. 시험 결과 6종의 시료가 우수한 효과를 보였고(Table 4) 특히 pinang(*Areca catechu*), sintok(*Cinnamomum sp.*), bolong-bolong(*Melaleuca leucadendra*)의 3종이 이들 병원성 세균에 대해 강한 항균작용을 나타내었다.

항균활성성분의 규명

항균력 검색에서 우수한 항균활성을 가진 것으로 판단되는 국내산의 육두구(*Myristica fragrans*)와 인도네시아산의 bolong-bolong(*Melaleuca leucadendra*)에 대하여 용매 분획과 silica gel column chromatography, 분취용 HPLC를 이용하여 가장 활성이 높은 분획을 분리정제하였다. 육두구의 경우 용매분획시 ether에서 가장 활성성분의 추출이 좋았으며, silica gel column chromatography 상에서 두 개의 분획이 상대적으로 강한 활성을 보여 각각을 분리하여 정제하였다. 분획 I 으로부터 정제된 물질은 분석 결과, M+ : 136.2(m/z); IR(cm⁻¹): =C-H(3082), C=C(1644); NMR(300 MHz, CDCl₃, ppm): 1.5(-CH-, m), 1.65(CH₃-, s), 1.73(CH₃-, s), 4.7(CH₂ =, s), 5.4(CH =, br s)인 것으로 나타났고, 분획 II로부터 정제된 물질은 M+ : 144.1(m/z); IR(cm⁻¹): O-H(3400-2400, very broad), C=O(1710), C-O(1260), O-H(oop, 930); NMR(300 MHz, CDCl₃, ppm): 0.8(CH₃-, t), 1.2(-(CH₂)₄-, br m), 1.6

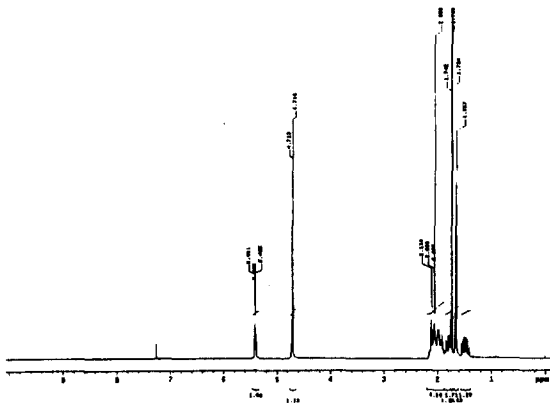


Figure 3. ¹H-NMR spectrum of purified antimicrobial substance II of *Myristica fragrans*

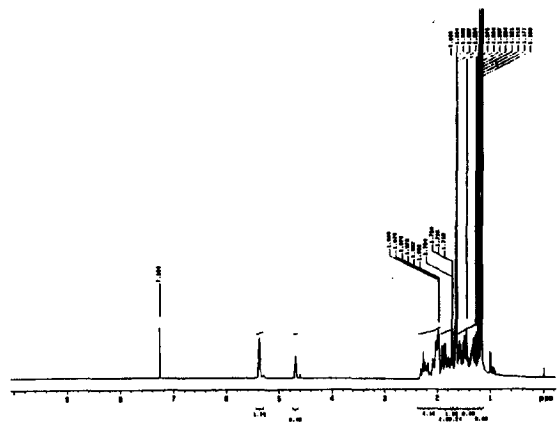


Figure 5. ¹H-NMR spectrum of purified antimicrobial substance of *Melaleuca leucadendra*

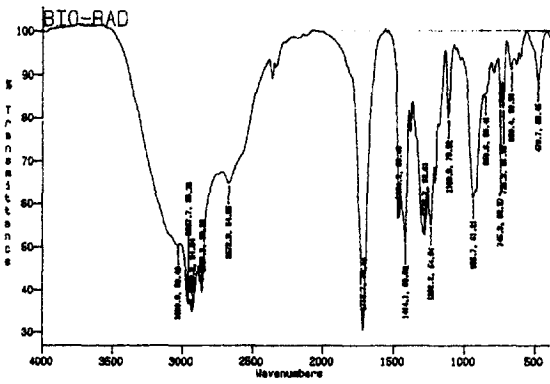


Figure 4. IR spectrum of purified antimicrobial substance II of *Myristica fragrans*

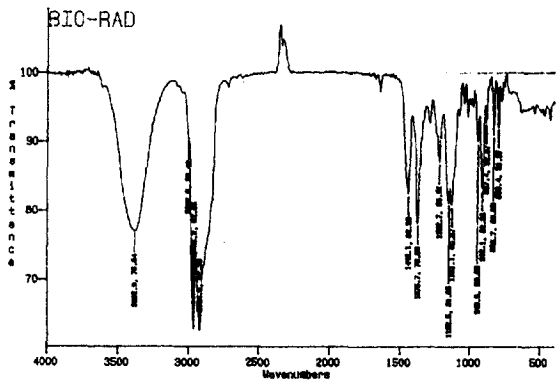


Figure 6. IR spectrum of purified antimicrobial substance of *Melaleuca leucadendra*

(-CH₂-, m), 2.3(-CH₂-, t), 11.2(-OH, br s)인 것으로 나타났으며, 검색 결과 분획 I는 limonene으로, 분획 II는 caprylic acid로 판명되었다. 활성 분획 I의 ¹H-NMR과 IR spectrum은 각각 Fig. 1과 2에 나타내었으며, 활성 분획 II의 ¹H-NMR과 IR spectrum은 각각 Fig. 3과 4에 나타내었다. Bolong-bolong의 경우도 용매분획시 ether에서 가장 활성성분의 추출이 좋았으며, silica gel column chromatography 상에서 한 개의 분획이 상대적으로 강한 활성을 보여 이를 분리하여 정제하였다. 활성 분획으로부터 정제된 물질은 분석 결과, M⁺: 154.1 (m/z); IR(cm⁻¹): O-H(3400), =C-H(3000), C-O(1100); NMR(300MHz, CDCl₃, ppm): 1.7((CH₃)₂-, d), 1.6(CH₃-, s), 5.4(CH, br s)인 것으로 나타났으며 검색결과 α-terpineol로 확인되었다. 활성분획의 ¹H-NMR과 IR spectrum은 각각 Fig. 5와 6에 나타내었다.

이들 단일 성분은 부분적으로 항균활성이 알려져 있

는 성분으로서⁽²¹⁻²³⁾, 본 연구와 같이 옥두구와 bolong-bolong에서 전반적인 항균활성이 나타난 것은 항균활성성분을 정제할수록 활성이 다소 저하된다는 오등⁽¹⁷⁾의 연구에서의와 같이 다른 구성 성분들의 항균작용이 관여할 것으로 판단되며, 또한 식물의 성장 상태, 기원, 추출조건 등에 따라 성분이 차이날 수 있기 때문일 것으로 사료된다.

요 약

국내 식물 150종과 인도네시아 식물 82종의 항균활성을 검색하였다. 각 시료의 70% ethanol 추출물을 사용하여, 세균류인 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* 및 효모인 *Candida albicans*, 사상균인 *Aspergillus niger*를 대상으로 측정하였다. 검색 결과, 국내산 17종과 인도네시아산 18종

이 비교적 항균활성이 좋았으며, 이중 강황, 소목, 육두구, 익지인, 죽엽, 초두구 등과 asam, bolong-bolong, clove, gambir, klembak, pasak bumi 등이 우수한 항균력을 나타내었다. 가장 항균력이 우수한 육두구 (*Myristica fragrans*)와 bolong-bolong(*Melaleuca leucadendra*)의 주 활성 분획을 분석한 결과, 육두구의 주 항균성분은 limonene과 caprylic acid로, Bolong-bolong의 주 항균성분은 α -terpineol로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 1997-1999년도 보건의료기술연구개발사업 연구비(HMP-97-F-5-0028)에 의해 수행된 연구과제의 결과의 일부로서 이에 감사를 드립니다.

문헌

1. Sofos, J.N., Beuchat, L.R., Davidson, P.M. and Johnson, E.A. Naturally occurring antimicrobials in foods. Regul. Toxicol. Pharmacol. 28: 71-72 (1998)
2. Matsuda, T. Biopreservation of foods. J. Antibact. Antifung. Agents 23: 241-250 (1995)
3. Golovinsky, E.V., Maneva, L.S., Angelov, I.I., Veljanova, K.D., Sniker, D.J. and Stankevich, E.K. Antibacterial and antitumor activity of some derivatives of ureidosuccinic acid. Neoplasma. 23: 43-46 (1976)
4. Ayres, H.M., Payne, D.N., Furr, J.R. and Russell, A.D. Use of Malthus-AT system to assess the efficacy of permeabilizing agents on the activity of antibacterial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. Lett. Appl. Microbiol. 26: 422-426 (1998)
5. Orrjala, J., Erdelmeier, C.A., Wright, A.D., Rali, T. and Sticher, O. Five new prenylated p-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. Planta Med. 59: 546-551 (1993)
6. Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N. and Calder, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiol. Res. 152: 239-246 (1997)
7. Oguni, I. and Yamada, M. Protection against cancer risk by green tea and antimicrobial activity of tea catechin against *Helicobacter pylori*. Paper presented at 4th Int. Symposium on Green Tea, Seoul, Korea (1997)
8. Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J. and Begin, A. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. Int. J. Food Microbiol. 37: 155-162 (1997)
9. Hogan, J.S., Pankey, J.W. and Duthie, A.H. Growth inhibition of mastitis pathogens by long-chain fatty acids. J. Dairy Sci. 70: 927-934 (1987)
10. Galbraith, H., Miller, T.B., Panton, A.M. and Thompson, J.K. Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, ergocalciferol and cholesterol. J. Appl. Bacteriol. 34: 803-813 (1971)
11. Hughey, V.L. and Johnson, E.A. Antibacterial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. Appl. Environ. Microbiol. 53: 2165-2170 (1987)
12. Valenti, P., Antonini, G., Hunolstein, C., Visca, P., Orsi, N. and Antonini, E. Studies of the antimicrobial activity of ovotransferrin. Int. J. Tissue React. 5: 97-105 (1983)
13. Orman, J.D. and Reiter, B. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. Biochem. Biophys. Acta. 170: 351-354 (1968)
14. Hansen J.N. Nisin as a model food preservative. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 34: 69-93 (1994)
15. Tansey, M.R. and Appleton, J.A. Inhibition of fungal growth by garlic extract. Mycologia 70: 397-401 (1978)
16. Kim, J.H. Anti-bacterial action of onion(*Allium cepa* L.) extracts against oral pathogenic bacteria. J. Nippon Univ. Sch. Dent. 39: 136-141 (1997)
17. Oh, D.H., Ham, S.S., Park, B.K., Ahn C. and Yu, J.Y. Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 957-963 (1998)
18. An, E.Y., Han, J.S. and Shin, D.W. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by pure compound isolated from extract of *Morus alba* Linne bark. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1236-1240 (1997)
19. Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 21: 91-96 (1992)
20. Shin, D.H., Kim, M.S. and Han, J.S. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-borne bacteria. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 808-816 (1997)
21. Dabbah, R., Edward, V.M. and Moats, W.A. Antimicrobial action of some citrus oils on selected food-borne bacteria. Appl. Microbiol. 19: 27-31 (1970)
22. Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Karlsson, S.M., Steingrimsdottir, O. and Thormar, H. In Vitro Inactivation of *Chlamydia trachomatis* by Fatty Acids and Monoglycerides. Antimicrob. Agents Chemother. 42: 2290-2294 (1998)
23. Carson, C.F. and Riley, T.V. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Appl. Bacteriol. 78: 264-269 (1995)