

## 미생물의 생육억제에 대한 국화 에탄올 추출물의 영향

정용진, 이명희, 이기동, 박난영\*, 권중호\*  
경북과학대학 전통발효식품과, \*경북대학교 식품공학과

### Effects of Ethanol Extracts from *Chrysanthemum* Petals on the Growth Inhibition of Microorganisms

Yong-Jin Jeong, Myung-Hee Lee, Gee-Dong Lee, Nan-Young Park\* and Joong-Ho Kwon\*

Department of Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science

\*Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

#### Abstract

Screening for antibacterial activities with microorganisms related to the food putrefaction by ethanol extract from *Chrysanthemum* petals widely used for the traditional wine production, and antibacterial activities of each concentration and minimum inhibitory concentration(MIC) from the ethanol extract were researched. Antibacterial activity of ethanol extract for *B. subtilis* was higher in *C. boreale* than in *C. Morifolium*, but that of *E. coli* was higher in *C. molifolium* than in *C. boreale*. *C. boreale* was higher than *C. morifolium* in the antibacterial activity of ethanol extract and MIC of ethanol extract from *C. boreale* was 60~70 $\mu$ l/ml. Ethanol extract from *C. boreale* was higher Gram(-) than Gram(+) in the antibacterial activities, but Gram(-), Gram(+) were greatly inhibited on growth in 100 $\mu$ l concentration.

Key words : *Chrysanthemum* petals, antibacterial activities, minimum inhibitory concentration

#### 서론

국화(菊花)는 중국이 원산지로서 우리나라 중부 이남 지역의 산간지에 널리 자생되며 크게 산국(山菊)과 소국(小菊)으로 대별되어 전통식품의 천연향 및 천연색소 소재로서 널리 사용되어 왔다(1). 본초강목(本草綱目)에서는 오랫동안 국화를 복용하면 위장, 감기, 두통, 현기증 등에 효과가 있다고 하였으며(2), 치풍제로 이용되거나 고혈압 환자에게 이용되기도 하였다(3). 최근 한방에서도 산국의 꽃잎은 중추신경 진정 작용, 혈압강하작용, 결핵균 및 각종 바이러스에 대한 억제 효과 등이 보고되고 있으며(4,5), 주요 약리성분으로 chrysanthemine, camphor 등이 있다(2). 최근 들어 식생활이 향상되면서 안전성에 문제가 있는 합성첨가물에 대하여 기피하고 있으며, 옛부터 일상생

활에서 많이 섭취해온 마늘, 파, 잣, 향신료 등의 식품재료에서 항균성 물질을 개발하는데 많은 관심을 가지고 있다(6~11). 국화의 항균성에 관한 연구로는 남과 양(12)의 산국 메탄올추출물의 항균력에 관하여 보고하였고 남 등(13)은 산국 메탄올추출물의 항암 활성에 대하여 보고하기도 하였다. 옛부터 우리나라에서는 가양주를 제조하는 과정에서 국화를 널리 이용하여 왔으며, 신라중엽 성덕왕때부터 하향주 제조에 국화꽃잎을 사용하였다고 유래되어 왔다(14). 그리고 최근까지 전래되고 있는 한산 소곡주, 계룡 백일주, 안동 송화주, 김천 과하주, 함양 국화주, 경주 황금주 등의 전통주(傳統酒)에도 국화를 이용하고 있으나(15), 국화가 이러한 전통주의 부패와 관련하여 부패 미생물의 생육에 미치는 영향에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 민속주의 저장 및 유통 중 부패와 관련하여 야생국인 산국과 재배국인 소국에 탄올추출물이 식품의 부패 및 식중독 관련 미생물의 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

Corresponding author : Young-Jin Jeong, Dept. Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science, Chilkok 718-701, Kyungbuk, Korea

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 국화는 경북 영천시 근교 야산에서 채취한 산국(*Chrysanthemum boreale* M.)과 경북대학교 시험농장에서 재배한 소국(*Chrysanthemum morifolium* R.)을 채취하여 꽃받침을 제거하여 통풍이 잘되는 그늘에서 2주일간 건조시킨 후  $-60^{\circ}\text{C}$  보관하면서 사용하였다.

### 사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 Table 1과 같이 그람양성균 4종 및 그람음성균 4종을 사용하였으며, 미생물의 배양에 사용된 배지는 nutrient broth 및 agar(Difco)를 사용하였다(16).

Table 1. Antibacterial activities of ethanol extract from *Chrysanthemum* petals against microorganisms

Gram positive bacteria(+)		Gram negative bacteria(-)	
<i>Bacillus subtilis</i> (KCTC 1021)		<i>Escherichia coli</i> (ATCC 11105)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1916)		<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 27607)	
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)		<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 13076)	
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 27348)		<i>Pseudomonas fluorescens</i> (KCTC 1645)	

### 에탄올 추출물

국화의 에탄올 추출물은 박 등(17,18)의 방법으로 추출하여 사용하였다. 즉, 산국의 경우는 용매비 109 (mL/g), 에탄올농도 65%로, 소국은 용매비 106(mL/g), 에탄올농도 66%로  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 16시간씩 각각 추출하여 시료로 사용하였다. 이때 추출물의 고형분 함량 및 총 페놀 함량은 박 등(17)의 방법으로 측정하였다.

### 추출물의 항균력 측정

국화 에탄올 추출물의 항균성 검색에 사용한 균주는 사면배지에서 배양된 각각의 균주 1백금니를 취해 10mL nutrient broth의 배지에 접종하여  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 간격으로 3회 계대 배양하여 사용하였다. 항균력 시험용 평판배지는 nutrient agar를 petri dish에 10mL씩 분주하여 응고시켰으며, 대수기까지 증식된 시험균주 배양액 40 $\mu\text{L}$ 씩을 평판배지에 각각 도말 한 후 멸균된 filter paper disc(Toyo seisakusho, 8mm)에 국화추출물 40 $\mu\text{L}$ 를 흡수시켜 평판배지 표면에 밀착시킨 다음  $30^{\circ}\text{C}$  incubator에서 48시간 배양하여 disc 주변 생성된 저해환의 크기를 측정하여 항균력을 나타내었다.

### 최소저해 농도

최소저해 농도 (minimum inhibitory concentration :

MIC) 측정은 액체배지 희석법으로 측정하였다. 즉 시험관에 배지 10 mL를 넣고 대수기까지 배양된 균체 배양액 1mL를 접종한 후 각 농도의 국화추출물을 가하여  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 배양하였으며, 최소저해농도로 배양액의 흡광도를 660 nm에서 측정하여 균의 증식이 완전히 억제된 농도로 나타내었다.

### 에탄올 추출물의 농도에 따른 항균활성

에탄올추출물의 농도별 항균효과는 액체배지 희석법(16)을 이용하여 측정하였다. 즉, 멸균된 배지 10mL에 각각의 균주 배양액 1mL를 접종한 후 산국 에탄올추출물 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{L}$ 를 각각 가하여  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 동안 배양하면서 12시간 간격으로 660nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 국화에탄올 추출물의 항균성 검색

국화 에탄올추출물의 항균활성을 검색하기 위하여 대수기까지 증식된 *B. subtilis* 및 *E. coli* 배양액 40  $\mu\text{L}$ 씩을 시험용 평판배지에 각각 도말하고 고형분 함량이 각각 0.41, 0.36 (mg%), 총페놀함량의 O.D 값은 0.46, 0.71의 국화추출물(40 $\mu\text{L}$ /disc)을 가하여 항균활성을 검색한 결과, Fig. 1과 같이 나타났다. 산국의 항균활성은 *B. subtilis*에서 높게 나타났으며, 소국과 산국의 항균활성은 *E. coli*에서는 비슷한 경향을 나타내었다. 식품부패와 관련된 8종의 세균에 대하여 산국과 소국의 항균활성을 검색한 결과는 Table 2에 나타내었다. 그 결과, 산국추출물은 소국추출물에 비하여 항균력이 매우 높게 나타났다. 그러나 산국 및 소국이 그람 음성 및 양성세균에 따른 항균성에는 별다른 차이를 나타내지 않았다.

이와 같은 결과는 남 등(12)의 산국 메탄올추출물의 항균력과 비슷하게 나타나 민속주제조를 고려한 국화추출용매로 에탄올의 사용이 적절한 것으로 생각된다. 한편 남 등(12)의 국화 용매 분획물은 *E. coli*와 *S. aureus* 대해서 항균활성이 나타나지 않았다고 하였으나 본 연구에서는 *E. coli*와 *S. aureus*세균에 대해서도 항균활성이 나타나 추출방법에 따라 국화 항균성분의 추출이 다른 것으로 생각된다. 박 등(17,18)은 산국과 소국을 에탄올로 추출시 추출조건을 모니터링하고 추출물의 고형분 함량과 페놀성 화합물의 비교치를 연구한 결과 에탄올의 농도 및 국화와 용매의 비에 따라 추출 수율이 다르다고 하였으며, 추출시간에 따라서도 추출 수율의 차이가 난다고 하였

다. 그리고 국화 추출물의 고형분 함량과 페놀성 화합물의 비교치가 높게 나타나는 최적조건으로 추출한 국화 추출물은 *E. coli*와 *S. aureus*에서도 항균활성을 나타내는 것으로 알 수 있었다.

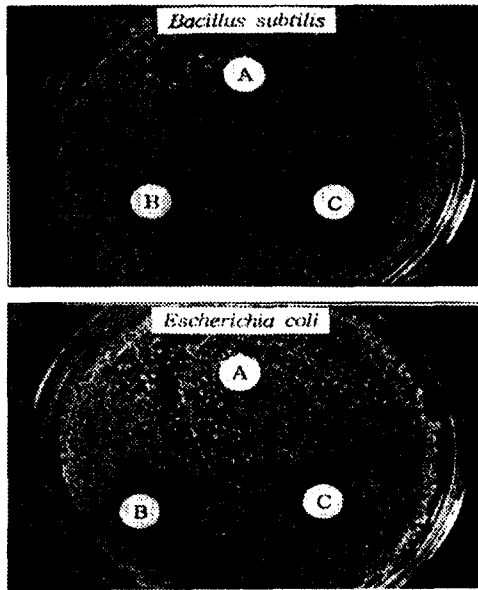


Fig. 1. Antibacterial activities of ethanol extract of *Chrysanthemum* petals against.

A : ethanol control, B : *C. morifolium*, C : *C. boreale*.

Table 2. Atimicrobial activities of ethanol extracts from *Chrysanthemum* petals

Strains	Clear zone on plate(mm)		
	A	B	C
Gram(+) bacteria			
<i>Bacillus subtilis</i>	8	13	21
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	12	23
<i>Micrococcus luteus</i>	8	12	20
<i>Bacillus cereus</i>	8	12	22
Gram(-) bacteria			
<i>Escherichia coli</i>	8	14	20
<i>Streptococcus mutans</i>	8	13	20
<i>Salmonella typhimurium</i>	8	12	22
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	8	13	20

A : ethanol control B : *C. morifolium* C : *C. boreale*.

산국 에탄올 추출물의 최소저해 농도

산국과 소국 중 항균활성이 높은 산국 에탄올추출물을 사용하여 액체배지에서 최소저해농도를 측정한 결과는 Table 2와 같았다. 산국 에탄올추출물은 세균

에 대한 항균활성에 있어서 농도에 따른 큰 차이는 없었으나, *B. subtilis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *S. mutans* 및 *S. typhimurium*의 생육에서 산국 에탄올 추출물의 최소저해농도는 60 $\mu$ l에서 나타났으며, 다른 시험균주는 70 $\mu$ l에서 최소저해되었다. 따라서 산국 에탄올추출물의 세균에 대한 최소저해농도는 60~70 $\mu$ l 정도로 나타나, 강 등(11)의 갖 추출물의 항균활성 검색에서 나타난 갖 에탄올 추출물의 최소저해농도 보다는 항균활성이 낮았으며, 갖의 물 추출물과는 비슷한 항균효과를 나타내었다.

Table 3. Minimum inhibitory concentrations(MIC) of ethanol extracts from *C. boreale* against microorganisms

Strains	MIC( $\mu$ l/ml)
Gram(+)bacteria	
<i>Bacillus subtilis</i>	60
<i>Staphylococcus aureus</i>	60
<i>Micrococcus luteus</i>	70
<i>Bacillus cereus</i>	60
Gram(-)bacteria	
<i>Escherichia coli</i>	70
<i>Streptococcus mutans</i>	60
<i>Salmonella typhimurium</i>	60
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	70

산국 에탄올추출물의 농도에 따른 항균활성

산국 에탄올추출물을 20, 40, 60, 80, 100 $\mu$ l까지 각각의 농도별로 첨가한 배지에서 균의 증식에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 2, 3과 같이 나타내었다. 그람 음성 및 양성세균 모두가 국화 추출물의 농도가 증가할수록 세균의 생육이 억제되는 효과를 나타내었다. *B. subtilis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus* 등은 산국 에탄올추출물에 대하여 배양 후 12시간 정도에서 균의 생육이 억제되었으며, 60 $\mu$ l 이상의 농도에서는 12시간 후 증식이 정지되었다. *E. coli*, *S. mutans*, *S. typhmrium*, *P. fluorescens* 등의 그람 음성세균은 배양 후 12시간부터 생육이 억제되기 시작하였으며, 80 $\mu$ l 이상의 농도에서는 *E. coli*가 24시간부터, *S. mutans*, *S. typhmrium*, *P. fluorescens* 등이 36시간부터 생육이 억제되었다. 80 $\mu$ l 농도에서는 그람 음성균주의 증식이 급격하게 저해되었으며 산국 에탄올추출물은 그람 양성세균 보다는 그람 음성세균에 대한 생육 억제 효과가 다소 높은 것으로 나타났으나, 그람 양성 및 음성 세균 모두 80 $\mu$ l 농도에서는 생육이 거의 저해됨을 볼 수 있었다. 이상의 결과는 강 등(16)의 갖 에탄올추출물의 항균활성과 유사한 경향이였다.

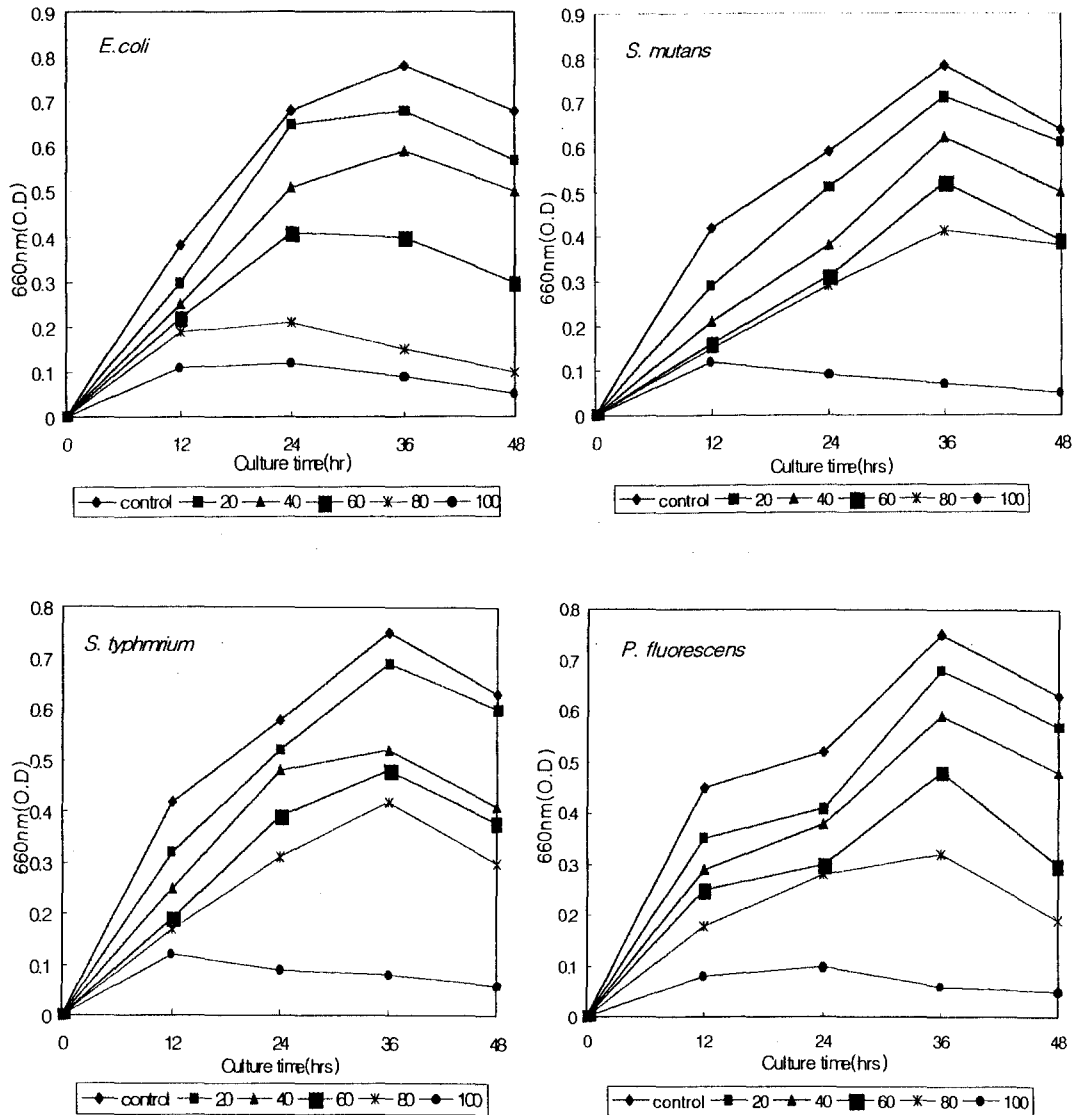


Fig. 2. Effect of on the ethanol extract from *Chrysanthemum boreale* growth inhibition of microorganisms.

따라서 국화는 식품부패관련 세균에 대한 항균성이 있는 것으로 나타났으며 민속주의 발효과정에 미치는 영향과 국화에탄올 추출물의 항균성 물질의 분획 정제에 관한 연구가 되어야 할 것으로 사료된다.

### 요 약

전통민속주 제조에 널리 사용되어온 국화꽃잎에서 에탄올을 추출하여 식품부패에 관련된 미생물을 대상

으로 항균활성을 검색하고 에탄올 추출물의 농도별 항균활성과 최저 생육저해 농도를 조사하였다. 국화 에탄올 추출물의 항균활성은 산국이 *B. subtilis*에 대해 항균활성이 높게 나타난 반면, 소국은 *E. coli*에 대한 항균활성이 산국보다 다소 높게 나타났다. 8종의 부패균에 대한 에탄올 추출물의 항균활성은 산국이 소국에 비하여 높게 나타났으며, 산국 에탄올추출물의 최소저해농도는 60~70  $\mu\text{l/ml}$ 로 나타났다. 산국 에탄올추출물은 그람양성세균에서 보다 그람음성세

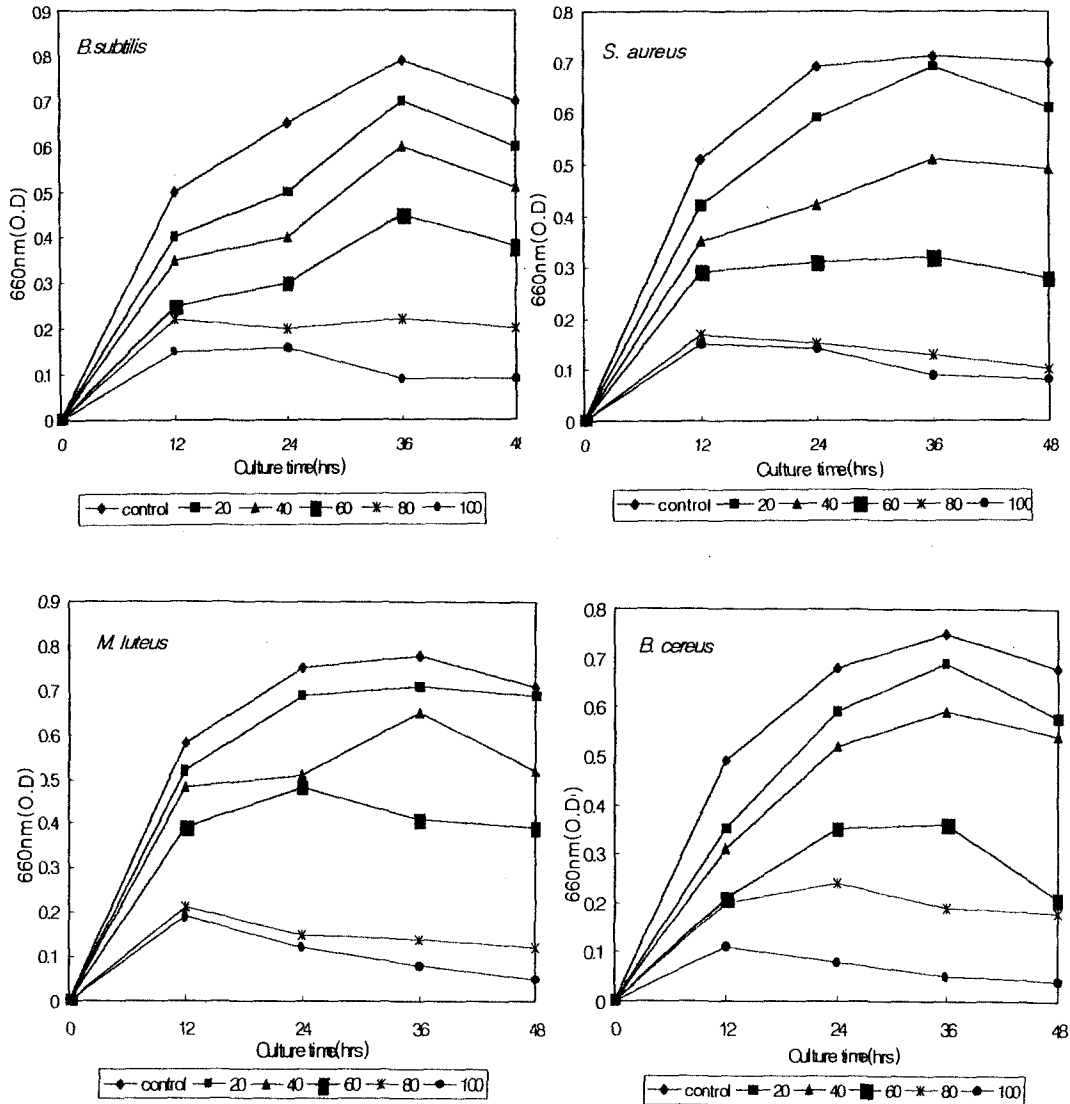


Fig. 3. Effect of on the ethanol extract from *Chrysanthemum boreale* growth inhibition of microorganisms.

균에 대한 항균활성이 다소 높았으나, 100 $\mu$ l 농도에서는 그람음성 및 양성 세균 모두 생육이 크게 저해되었다. 따라서 전통민속주의 보존효과 측면에서 산국 에탄올추출물이 우수한 것으로 나타났다.

참고 문헌

1. M. Hanafusa (1991) Fragrance materials of the cosmetics. *Chrysanthemum*, 177(3), 107-110
2. 송주택 (1980) 한국자원식물, 미도출판사. pp 1048
3. 송재인 (1982) 한방의약대사전(중국약학대전), pp 88
4. 최영전 (1992) 한국민속식물, 아카데미서적. pp 53
5. Danbensky, R. and Andrew, G. (1986) In Chinese herbal medicine, Eastland Press, Seattle. pp 59
6. 김나미, 성현순, 김우정 (1993) 용매와 추출조건이 계피추출액의 항산화성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 25(3), 204-209
7. 여생규, 안철우, 김인수, 박영범, 박영호, 김선봉 (1995) 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항균효과. 한국영양식품학회지, 24(2), 293-298

8. 여생규, 김인수, 안철우, 김선봉, 박영호 (1995) 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 돌연변이원성 억제 작용. 한국영양식량학회지, 24(1), 160~168
9. 김영숙, 김무남, 김정옥, 이종호(1994) 쑥의 열수추출물과 주요 향기성분이 세균의 생육에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 23(6), 994-1000
10. 목종수, 박옥연, 김영목, 장동석(1994) 용매와 추출 조건에 따른 단삼(*Salvia miltiorrhiza*) 추출물의 항균력. 한국영양식량학회지, 23(6), 1001-1007
11. 강성구, 성낙계, 김용두, 신수철, 서재신, 최갑성, 박석규 (1994) 갓(*Brassica juncea*) 추출물의 항균 활성 검색. 한국영양식량학회지, 23(6), 1008-1013
12. 남상해, 양민석(1995) 산국 추출물의 항균력. 한국농화학회지, 38(3), 269-272
13. 남상해, 최상욱, 장대식, 양민석(1995) 산국으로부터 항암활성 성분의 분리. 한국농화학회지, 38(3), 273-277
14. 홍권삼(1998) 중앙일보
15. 박록담(1997) 한국의 전통민속주, 효일문화사 pp 54
16. 강성구, 성낙계, 김용두, 이재근, 송보현, 김영환, 박석규 (1994) 갓(*Brassica juncea*)의 에탄올추출물이 미생물 생육에 미치는 영향. 23(6), 1014-1010
17. 박난영, 이기동, 정용진, 김현구, 권중호 (1998) 전자공여작용과 관능적 특성을 고려한 산국 에탄올 추출물의 제조조건 최적화, 한국식품과학회지, 30(3), pp 523-528
18. 박난영, 이기동, 정용진, 권중호 (1998) 산국 에탄올 추출물의 이화학적 특성에 대한 추출조건의 최적화, 한국식품영양과학회지. 27(4), 585-590

---

(1998년 7월 10일 접수)