

갓 정유의 조성 및 항진균작용에 관한 연구

신승원* · 강찬아

덕성여자대학교 약학대학

Studies on Compositions and Antifungal Activities of Essential Oils from Cultivars of *Brassica juncea* L.

Seung-Won Shin* and Chan-Ah Kang

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract – The composition of essential oils in the leaves of three cultivars (Ban-Chung-Gat, Chung-Gat and Dolsan-Gat) of *Brassica juncea* L. were analyzed and their antifungal activity were investigated in this study. Allyl isothiocyanate, 2-phenyl ethyl isothiocyanate, 4-isothiocyanato-1-butene, 5-methyl isothiazole, benzene acetaldehyde, benzene propane nitrile and beta-ionone have been identified in all of the experimented oils. The main component of the oils from Ban-Chung-Gat and Chung-Gat was 2-phenyl ethyl isothiocyanate while allyl isothiocyanate was the representing compound in the oil of Dolsan-Gat. The antifungal activities of the oils were tested by micro broth dilution method and disc diffusion method. As the result the oils exhibited significant inhibiting activities against *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Trichoderma viride*, *Candida albicans*, *C. utilis*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon mucoides*, *Trichophyton tonsurans* and *Geotrichum capitatum*.

Key words – *Brassica juncea*, essential oil, antifungal activity.

갓(*Brassica juncea* L.)은 십자화과에 속하는 일년생 초본으로 우리나라 각지에서 재배되며 잎 또는 지상부 전체를 채소로 식용하며, 씨는 우리나라에서 식용되는 주요 향신료 중의 하나이며, 한편으로는 피부인적약으로 기관지염, 폐렴, 신경통 등에 약용되기도 한다.^{1,2)}

우리나라에서 주로 다량 재배되는 갓에는 흥갓, 청갓, 반청갓, 돌산갓과, 그 외 겨자채 등 다수재배품종이 있으며, 품종에 따라 형태 또는 색깔 뿐만 아니라 향과 맛에 있어서도 현저한 차이를 나타낸다.³⁻⁵⁾ 향의 차이는 정유조성이 다름을 의미하며 정유는 대부분의 식물의 중요한 약효성분으로 이 조성의 차이는 갓의 품종에 따른 항균활성 등의 생리활성의 종류 및 활성강도의 차이의 주요 요인이 될 수 있다. 저자 등은

전보에서 돌산갓, 겨자채 등 수종 갓의 정유를 분석 비교하여 보고한 바 있다.⁶⁾

갓의 생리활성 성분으로 대표적인 것은 십자화과 식물 특유의 isothiocyanate인데, 주성분인 allyl isothiocyanate 뿐만 아니라, 2-phenyl ethyl isothiocyanate, 5-methyl thiopentyl isothiocyanate, benzyl isothiocyanate 등의 유도체에도 강력한 항균작용이 있음을 확인하였고, isothiocyanate 종류에 따라 항균 spectrum 항균활성등에 있어서 차이를 나타낸다고 보고되어 있다.⁷⁻¹¹⁾

그러나 한편 갓에는 isothiocyanate 이외의 항균성분도 확인되고 있는데, 강 등¹²⁾은 갓의 추출물 중 항균작용이 가장 강한 fraction에서 flavonoid인 isorhamnetin-3-O- β -glucopyranoside을 분리하여 항균활성을 확인하였고, 그 외 휘발성 성분 분석이 수종 갓에 대해 항균작용을 나타냄을 보고하였다. 특히 정유는 식

*교신저자 : Fax : 02-901-8386

물의 대표적인 항균성분임을 고려할 때, 갖에 있어서 정유의 조성은 품미 뿐만 아니라 항균력의 차이를 결정하는데 중요한 요인이 될 것이 예상된다.^{13,14)}

일반적으로 세균성 질환에 비해 진균성질환은 항진균제 사용시에도 단시일 내에 치료되지 않아, 장기간 약을 투여해야 하는 경우가 많기 때문에 부작용, 독성의 문제가 타 약품에 비해 가중되어 부각되고 있으므로, 이미 수 천년 식용 및 약용되어온, 독성의 우려가 비교적 천연물로부터 항진균제를 개발하려는 목적으로, 본 연구에서는 갖의 재배품종인 청갯, 반청갯, 돌산갯으로부터 정유를 추출하여 GC-MS로 분석, 비교하였으며, 또한 액체배지 희석법과 디스크법으로 추출정유의 *Candida albicans* 등 10종의 진균류에 대한 항진균력을 측정하였다.

재료 및 방법

정유추출 및 분획 - 반청갯은 경기도 일산에서 재배한 것을, 돌산갯은 전남 여천군에서 재배한 것을 구입하여 신선한 상태로 약 800 g 씩 SDE(simultaneous steam distillation-extraction)장치에서 ether를 추출 용매로 하여 5시간 동안 수증기 증류하여 ether층을 분리하고 수층은 ether로 다시 2회 추출하여 앞의 ether층과 합하여 무수 $MgSO_4$ 로 탈수한 후, 증발 농축하고, 다시 ether를 용매로 하여 각 정유의 1%용액을 만들어 GC-MS의 sample로 사용하였다.

정유의 조성분석 - 위의 3종 갖의 정유를 Hewlett-Packard 6890 GC와 Hewlett-Packard 5973 MSD 분석기기에 1 μ l씩을 주입하여 아래와 같은 조건에서 측정하였다. 측정된 각 peak의 mass spectrum은 computer에 저장된 Mass data(PBM Search of Library file: Data: Wiley L.)와 비교하여 구조를 동정하였다. carrier gas: He(1 ml/min), column: HP-5(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m) capillary column, temperature: 50 $^{\circ}$ C (5 min., 5 $^{\circ}$ C/min)-(240 $^{\circ}$ C, 3 $^{\circ}$ C/min, 10 min)-(270 $^{\circ}$ C, 5 $^{\circ}$ C/min, 15 min), split(10:1).

사용균주 및 배양 - 본 실험에 사용한 10종의 진균은 모두 한국미생물보존센터에서 분양받은 것이며, *Aspergillus niger* KCCM 11239, *A. flavus* KCCM 11453, *Trichoderma viride* KCCM 11246은 malt extract agar(Blakeslee's Formula) 배지에, *Candida albicans* KCCM 11282, *C. utilis* KCCM 11356, *C. tropicalis* KCCM 12578, *Cryptococcus neoformans*

KCCM 50564, *Trichosporon mucoides* KCCM 50570, *Trichophyton tonsurans* KCCM 11866, *Geotrichum capitatum* KCCM 50270은 YM agar(Difco 0712)배지에 이식하여 24~27 $^{\circ}$ C에서 배양한 후, 각각의 액체 배지에 다시 분주하여 3일간 배양하여, McFarland 0.5 standard와 같은 탁도로 조정된 균액을 배지로 다시 100배 희석하여 균의 농도가 약 1×10^4 CFU/ml가 되게 만들어서 액체배지 희석법과 디스크법에 의한 항균력 실험에 사용하였다.

액체배지 희석법에 의한 MIC측정 - 위의 갖 3종의 정유를 10% DMSO(dimethyl sulfoxide) 생리식염수와 소량의 Tween 80을 가하여 현탁시킨 후 무균여과하여, 최고농도 2,500 μ g/ml에서 최저농도가 39.0 μ g/ml에 이르도록 단계적으로 희석하였다. 비교물질로 사용한 ketoconazol (Sigma)도 같은 방법으로 희석하여 시료를 96 well plate에 가로 방향으로 한 줄에 각각 한 농도의 sample을 각 well 마다 100 μ l씩 주입한 다음 세로 방향으로 한 줄씩 10종의 균 희석액 100 μ l씩을 주입하고, 25 $^{\circ}$ C에서 3-7일간 배양한 후, 육안으로 관찰하여 균의 성장이 억제된 최저농도를 판별하였다. 사용한 용매와 Tween 80이 시료의 항균력에 영향을 미치지 않았음을 대조실험을 통해 확인하였다.

디스크법에 의한 항진균력 측정 - 실험에 사용한 3종 갖의 정유를 위의 실험에서와 같은 방법으로 용매에 현탁시켜 50 mg/ml 용액으로 제조한 후, 무균여과하여 각 시료마다 50 μ l씩을 취하여 8 mm 항생물질 측정용 paper disc(Advantec, Toyo Rochi Kaisha)에 흡수시켜서 위에서 제조한 배지 위에 부착시키고, 25 $^{\circ}$ C에서 3-5일간 배양한 후 disc 주변의 투명한 영역의 직경(mm)을 측정하여 비교하였다. 대조물질로는 eugenol 2% 액을 시료와 같은 방법으로 만들어서, 50 μ l씩을 여지에 흡수시켜 실험하였다.

결과 및 고찰

GC-MS의 결과 190개의 성분이 갖의 정유에서 확인되었는데, 그중 항균력이 예상되는 수증 성분을 발취하여 Table I에 정리하여 비교하였다. 실험에 사용된 3종 정유는 각기 다른 조성을 나타냈는데, 특히 경엽의 색을 제외하고는 외형의 차이가 적은 청갯과 반청갯도 정유의 조성에 있어서 현저한 차이점을 나타냈다. 그러나 이 두 종류의 갖은 공통적으로 2-phenyl ethyl isothiocyanate를 주성분으로 다량 함유

Table I. Major compounds identified by GC-Mass in essential oils from various cultivars of leaf mustards (*Brassica juncea* L.)

Identified fragrant compounds	Contents (%)		
	BCG	CG	DSG
cis-3-hexenol	2.50	-	1.84
allyl isothiocyanate	18.55	3.12	38.11
methyl 2-prophenyl disulfide	0.08	-	0.18
butyl isothiocyanate	2.05	-	-
dimethyl trisulfide	0.12	0.33	-
4-isothiocyanato-1-butene	1.02	0.20	12.37
5-methyl isothiazole	0.12	0.38	0.20
3-hexene-1-ol	0.23	-	0.43
benzene acetaldehyde	2.06	0.49	6.02
2H-imidazole-2-thione	0.33	-	-
benzene ethanol	0.64	-	0.56
benzen propane nitrile	5.32	13.70	15.37
2-phenyl ethyl isothiocyanate	20.03	18.40	5.64
beta-ionone	0.55	0.23	0.25
2,4-bis(1,1-dimethyl ethyl)-phenol	1.81	-	-
2,6-bis(1,1-dimethyl ethyl)-phenol	1.81	-	1.33
isothiazole	-	0.31	-
methional	-	0.10	0.13
naphthalene	-	0.52	-
1,4-dimethyl tetrasulfide	-	0.09	-
3H-1,2-dithiol-3-one	-	0.14	-
4-vinyl-2-methoxy-phenol	-	-	1.01
3H-1,2,4-triazole-3-thione	-	-	1.42
beta-cyclocitral	-	-	0.20

BCG: Ban-Chung-Gat, CG: Chung-Gat, DSG: Dol-San-Gat

하고 있었고, 함량도 반청갓에 20.03%, 청갓에 18.40%로 큰 차이가 없었다. 돌산갓의 정유에는 주성분으로 allyl isothiocyanate가 38.11% 함유되어 있어서 다른 2종 갓과는 현저한 차이를 나타내었다. 그 외 allyl isothiocyanate, 2-phenyl ethyl isothiocyanate, 4-isothio-cyanato-1-butene, 5-methyl isothiazole, benzene acetaldehyde, benzene propane nitrile, beta-ionone은 반청갓, 청갓, 돌산갓 정유에 공통적으로 함유되어 있었으나 함유비율에 있어서는 큰 차이가 있었다. 또한 반청갓 정유에는 2,4-bis-(1,1-dimethylethyl)-phenol 등 다수의 phenol 화합물이 함유된 것이 특징이었고, 돌산갓 정유에서는 특유의 방향이

강한 beta-cyclocitral이 확인되었다.

이상의 결과를 종합하여 전보에 이어서 갓의 정유 조성 및 함량에 있어서 재배품종 사이에 뚜렷이 구분될 수 있는 차이가 있었으며, 외부로 나타난 형태의 차이가 클수록 정유의 차이도 현저히 다르다는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 아직까지 분류학적 위치가 확립되지 않은 갓의 재배품종 구별 및 확인에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

또한 정유는 식물의 대표적인 항균성분이며, 특히 isothiocyanate 등 갓의 주성분이 이미 강력한 항균 작용이 있음이 입증되었고, 또한 isothiocyanate 종류에 따라 항균 spectrum, 항균활성 등에 있어서 차이를 나타낸다는 이미 보고된 사실 등을 종합한 결과, 갓에 있어서 정유의 조성은 품미뿐만 아니라 항균력의 차이를 결정하는데 중요한 요인이 될 것이 예상되므로 항균성분의 차이는 갓의 품종에 따른 항진균 spectrum 및 강도의 차이를 결정할 것으로 예측되었다.

3종 갓으로부터 증류한 정유의 항진균 활성을 측정 한 결과는 Table II와 Table III에 나타나 있다. 액체 배지 희석법으로 MIC를 측정했을 때 비교물질로 사용한 ketoconazole은 본 실험에서 사용한 최저농도인 19.5 µg/ml에서도 사용한 모든 10개의 진균에 대해 억제작용을 나타내었다. 반청갓, 청갓, 돌산갓의 정유는 *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Trichosporon mucoides*에 대해서 모두 78.1 µg/ml의 MIC를 나타내었고, *Trichoderma viride*에 대한 MIC는 156.1 µg/ml로 *Aspergillus*속 균들에 대해서 보다 낮은 억제효과를 보였다. 그 외 *Candida albicans*, *C. utilis*, *C. tropicalis*의 3종 *Candida* 균에 대한 MIC는 갓 종류에 따른 차이를 나타냈다. 특히 청갓의 정유는 다른 2종의 정유에 비해 MIC가 높았고 *Candida utilis*에서는 MIC가 1,250 µg/ml이상이었다(Table II).

Disc 확산법으로 갓 정유의 진균 억제력을 실험한 결과, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Trichosporon tonsurans*에서 억제반경이 가장 컸고, 전반적으로 반청갓과 돌산갓의 정유에 의한 억제효과가 청갓의 정유에 비해 전반적으로 높게 나타났(Table III). 이 결과는 위에서 실험한 액체배지 희석법에서의 결과와 상통한다. 본 실험에서 갓의 정유는 모든 경우에 비교물질로 사용한 eugenol에 비해서는 낮은 효과를 나타내었으나, eugenol은 전체 정유성분 중 대표적인 강력한 항균성분이므로 eugenol 보다 항진균력이 약하

Table II. Minimal inhibitory concentration (MIC: $\mu\text{g/ml}$) of essential oils from Chung-Gat and Ban-Chung-Gat

Strain	Sample	ketoconazole	EO-BCG	EO-CG	EO-DCG
<i>Aspergillus niger</i>		<19.5	78.1	78.1	78.1
<i>A. flavus</i>		<19.5	78.1	78.1	78.1
<i>Trichoderma viride</i>		<19.5	156.1	156.1	156.1
<i>Candida albicans</i>		<19.5	78.1	312.2	78.1
<i>C. utilis</i>		<19.5	78.1	>1,250	>1,250
<i>C. tropicalis</i>		<19.5	78.1	312.2	78.1
<i>Cryptococcus neoformans</i>		<19.5	78.1	312.2	78.1
<i>Trichosporon mucoides</i>		<19.5	78.1	78.1	78.1
<i>Trichophyton tonsurans</i>		<19.5	78.1	156.1	78.1
<i>Geotrichum capitatum</i>		<19.5	312.2	>1,250	>1,250

EO-BCG: essential oil from Ban-Chung-Gat, EO-CG: essential oil from Chung-Gat, EO-DCG: essential oil from Dol-San-Gat

Table III. Antifungal activities determined by disc diffusion method

Strains	Diameter of inhibited zone (mm)			
	EO-BCG	EO-CG	EO-DCG	eugenol
<i>Aspergillus niger</i>	21	18	18	38
<i>A. flavus</i>	17	15	18	33
<i>Trichoderma viride</i>	15	12	16	16
<i>Candida albicans</i>	15	14	15	32
<i>C. utilis</i>	12	10	11	30
<i>C. tropicalis</i>	15	12	18	25
<i>Cryptococcus neoformans</i>	13	11	18	25
<i>Trichosporon mucoides</i>	12	11	13	19
<i>Trichophyton tonsurans</i>	21	18	19	41
<i>Geotrichum capitatum</i>	18	15	15	32

EO-BCG: essential oil from Ban-Chung-Gat, EO-CG: essential oil from Chung-Gat

다는 것으로, 갖정유의 항진균제로서의 가치가 부정될 수 없으며, 또한 두 성분의 물리화학적 특성이 다르므로, 이후의 개발 방법 및 방향에 따라, 갖 정유로부터 진균성 질환 치료 및 식품방부제 등으로 활용될 수 안전성 높은 천연 항진균제 개발의 가능성을 나타낸 결과로 생각된다.¹⁵⁾

갖 정유는 MIC를 ketoconazole과 비교했을 때 진균 억제력이 4배 이하였고, disc법에 있어서도 균 억제 반경이 10-21 mm로 기존의 항진균제보다 약한 것으로 나타났으나, 항진균력이 기존 항진균제의 부작용을 감안할 때, 우리가 일상적으로 식용하는 식물에서 이 정도의 항진균력이 있는 성분을 확인한 것은 새로운 우수한 항진균제 개발의 측면에서 의미있는 결과인 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2000년도 덕성여자대학교 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

1. 송주택 (1989) 한국식물대보감(상), 330, 제일출판사, 서울.
2. 이춘영, 김우정 (1987) 천연항진균제와 식용색소, 15, 향문사, 서울.
3. Kameoka, H. and Hashimoto, S. (1980) Constituents of steam volatile oils from seeds of various varieties of Brassicaceae of various districts. *Nippon Nohgaku Kaishi* 54(7): 535-539.

4. Freeman, G. G. and Mossadeghi, N. (1972) Studies on sulphur nutrition, flavour and allyl isothiocyanate formation in *Brassica juncea* (L.) Coss. and Czern. (brown mustard). *J. Sci. Food Agr.* 23(11): 1335-1345.
5. Cho, Y. S. and Park, S. K. (1990) Studies on the chemical components of Korean *Brassica juncea* Cosson. *Thesis of Sunchon Natl. Univ.* 9: 167-175.
6. Shin, S. W. (2000) Analysis of essential oils from several cultivars of *Brassica juncea* L. *Duksung Pharm. Bull.* 11: 17-22.
7. Dorman, H. J., Deans, S. G. (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88(2): 308-316.
8. Garg, S. C. and Siddiqui, N. (1992) Antifungal activity of some essential oil isolates. *Pharmazie* 47: 467-468.
9. Zsolnai, T. (1971) Antimicrobial effects of thiocyanates, isothiocyanates and potential isothiocyanate forming substances. *Arzneimittelforschung* 21: 121-7.
10. Zolnai, T. (1968) Antimicrobial effect of potential isothiocyanate components. 4. *Arzneimittelforschung* 18: 1319-24.
11. Zolnai, T. (1968) Antimicrobial effect of potential isothiocyanate components. 3. *Arzneimittelforschung* 18: 1169-76.
12. Kang, S. K. (1995) Structural analysis of major antimicrobial substance obtained from leaf mustard (*Brassica juncea*). *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24(5): 695-702.
13. Olivier, C., Vaughn, S. F., Mizubuti, E. S. G. and Loria, R. (1999) Variation in allyl isothiocyanate production within *Brassica* species and correlation with fungicidal activity. *J. Chem. Ecol.* 25(12): 2687-2702.
14. Mayton, H. S., Olivier, C., Vaughn, S. F. and Loria, R. (1996) Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology* 86(3): 267-271.
15. Nielsen, P.V. and Rios, R. (2000) Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.* 60: 219-29.

(2001년 5월 25일 접수)