

## 동백나무 잎과 꽃 추출물의 항미생물 활성 및 항산화 효과

이숙영\*† · 황은주\*\* · 김지혜\*\* · 최영복\*\*\* · 임채영\* · 김선민\*\*\*\*

\*동신대학교 생물자원산업화지원센터, \*\*동신대학교 식품생물공학과,  
\*\*\*조선대학교 생물학과, \*\*\*\*동신대학교 한약재산업학과

### Antifungal and Antioxidant Activities of Extracts from Leaves and Flowers of *Camellia japonica* L.

Sook Young Lee\*†, Eun Ju Hwang\*\*, Gi Hae Kim\*\*, Young Bok Choi\*\*\*, Chae Young Lim\*, and Sun Min Kim\*\*\*\*

\*Biotechnology Industrialization Center, Dongshin Univ., Naju 520-811, Korea.

\*\*Department of Food Biotechnology, Dongshin Univ., Naju 520-714, Korea.

\*\*\*Department of Biology, Chosun Univ., Gwangju 501-759, Korea.

\*\*\*\*Department of Oriental Medicine Material, Naju 520-811, Korea.

**ABSTRACT :** This research was performed to investigate the possibilities of industrial usage of camellia (*Camellia japonica* L.) by examining the antioxidant and antimicrobial effects of methanol extract with different sections. Content of total phenolics, DPPH radical scavenging activities and antibacterial activity of young leaf, mature leaf, flower bud, flower, bark, and seed of camellia were compared *in vitro* experimental models. Total phenolics was contained the higher in young leaf (74.62 mg), flower bud (65.02 mg) and flower (62.42 mg) but less than 20.95 mg per 100 g of dry weight in other parts of *Camellia japonica* L. And effects of antioxidant measured by DPPH radical scavenger activity (RC<sub>50</sub>, reduce concentration 50%), was shown higher 7.16~18.14 µg/ml in methanol extract of young leaf, flower bud and flower than 61.23 µg/ml of BHT as a chemical oxidant. Also, the antimicrobial activity of *Camellia japonica* L. extracts determined using a paper disc method against food-borne pathogen and food spoilage bacteria, the young leaves extracts showed the most active antimicrobial activity against 7 kinds of harmful microorganisms. Flower bud extracts showed the highest antibacterial activity against *P. aeruginosa* and *Enterobacter* spp. C1036. In addition, the minimum inhibitory concentration (MIC) of young leaf extract against *B. subtilis*, *S. fradiae*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp. C1036, and *S. typhimurium* were revealed 1 to 15 µg/ml. As a result, antimicrobial activity of camellia extracts was shown higher gram positive bacteria than gram negative bacteria.

**Key words :** *Camellia japonica*, phenolic compound, DPPH radical, antibacterial activity, MIC

## 서 언

최근 약용식물 및 생약 등으로부터 특정성분이나 천연물이 가지는 2차 대사산물인 생리활성 물질에 대한 관심이 증대되고 있다. 생리활성을 나타내는 물질 중 식품의 기능 강화를 위해 주로 활용되고 있는 것은 방향성 및 항산화 활성 관련 물질이며, 식품의 부패와 변질을 유발하는 미생물에 대하여 항균활성을 나타내는 물질은 alkaloid, terpenoid, phenol 및 정유성분과 같은 이차대사산물이거나 그 유도체들로 알려져 있다 (Tabance *et al.*, 2001). 그 중 식물체내의 페놀성 화합물의 hydroxy group은 free radical에게 수소원자나 전자를 공여

하는 강력한 환원력을 가지고 있어, 이런 종류의 화합물이 세포를 산화적 손상으로부터 보호하여 심장병이나 암과 같은 질병의 진전을 저해하는 것으로 알려져 있다 (Scott, 1997).

동백나무 (*Camellia japonica*)는 동백나무과 (Theaceae), 동백속 (Camelliae)에 속하는 상록교목으로 주로 남해안과 도서지역과 서쪽으로는 대청도와 동쪽으로는 울릉도까지 분포하며, 특히 전남지역이 전국 식재 면적의 67%를 차지하고 있다.

예로부터 동백나무는 주로 원예자원으로 이용되어 왔고, 동백종실은 올레인산 85.6~89.4%, 포화산이 9.1~11.5%, 리놀산 1.3~2.9%로서 올레인산 함유량이 많은 글리세라이드로 황색의 맑은 불건성유이며 응고점은 -25℃로 낮다. 따라서 과거의 연

†Corresponding author: (Phone) +82-61-336-1875 (E-mail) sylee@dsu.ac.kr  
Received January 27, 2005 / Accepted March 31, 2005

구는 다양한 유지가공 및 일부 식품개발을 위한 기초연구분야에 주력해 왔으며 (허 등, 1983; 이 등, 1996), 머릿기름, 정밀기계유, 식용유 등으로 사용하였고 (Lee et al., 1990), 최근에는 식품가공기술의 발달로 식용동백유 생산을 위한 정제공정의 개발, 마요네즈 제조, 셀러드 드레싱의 배합제로의 활용과 동백유박 내에 함유된 식이섬유를 이용한 고식이섬유 빵과 상업용 유지로서 경화유, 스테아릴 알콜, 마아가린 유지자원 왁스 첨가제로의 활용성도 연구된 바 있다.

일본에서는 건조시킨 동백 꽃봉오리 (山茶花: 본초명)를 민간에서 토혈증 (吐血症), 장풍하혈 (腸風下血)의 지혈제로서 붉은 꽃을 분말로 해서 동뇨 (童尿), 생강의 즙 및 술과 함께 복용하였으며 (Itokawa et al., 1981), 항원충작용 및 진경작용, 치석형성 억제효과 (Namda et al., 1984), 알콜 흡수억제 (Yoshikawa et al., 1994), 피부 미백 작용 (Mori & Nishimiya, 1988) 등의 생리활성이 보고되고 있다. 성분연구로서는 주로 일본에서 이루어지고 있는데 동백나무의 약효 성분들은 잎, 종자 및 꽃으로부터 camellin, pipelicolic acid, eugenol, camelliagenin A, B, tubakisaponin, triterpene, tannin, benzenoid, steroid, flavonoid, phenyl propanoid 등의 많은 화합물이 존재함이 보고되었으며 (Fujita et al., 1973; Sakata et al., 1981), Yoshikawa 등 (1994)은 동백종실로부터 camelliasaponins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>를 분리한 바 있다.

최근에 국내에서도 동백속의 성분분석 및 활용화에 관한 연구가 활발한데, 동백종자를 이용한 식용유지 생산을 비롯하여 동백유와 유박의 아미노산 함량이 결정되었으며, 급성테스트를 통해 안전성을 확인하고 유박에 함유된 성분이 알콜흡수저해효과가 있다고 보고한 바 있으며, 동백종실의 함유 지방산은 stearic, palmitic, linoleic 및 oleic acid 등으로 구성되어 있다고 보고하였다 (정과 이, 1975; 허 등, 1983; 이 등, 1990; 윤 등, 1991; 성 등, 1996). 또한, 종실에서 분리된 hyperoside는 AIDS유발과 관련된 HIV-1 protease의 억제효과를 나타내었고, 씨와 과피의 추출물도 항염증 및 소염활성을 보였으나 동백의 종실에 대한 연구는 검토한 바 있으나, 동백의 부위별 성분분석이나 생리활성에 대한 연구는 거의 전무한 실정이다. 본 연구에서는 전라남도에서 분포된 동백나무를 부위별로 메탄올 추출하여 항산화 및 항미생물 활성을 살펴 보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 실험에 사용된 동백나무의 부위별 재료는 전남 장흥군 천관산의 동백자생 군락지에 있는 야생 동백나무로부터 꽃은 2-3월에, 어린잎은 4-5월에, 성숙한 잎과 수피는 6-8월에, 그리고 종자는 10-11월에 각각 채취하여 동결건조하여 마쇄한 후, 각각 10 g을 5배의 메탄올로 상온에서 24시간 3회 추출하

였다. 추출액은 감압농축하여 1/10로 농축한 다음 동결건조로 분말화하여 실험 재료로 사용하였다.

### 가. 시약 및 배지

총 페놀 함량 분석을 위한 Folin-Denis' solution은 Fluka, (±) catechin과 항산화 활성에 사용된 DPPH, Vit. C (ascorbic acid), BHT는 Sigma, Vit. E (dL- $\alpha$ -Tocopherol)는 Kanto 제품을 사용하였다. 또한 항미생물 활성측정에 사용된 배지로써 LB, NB, TSB, Bacto™ peptone 및 Bacto™ agar는 BD 제품을 사용하였다.

### 나. 미생물 균주

항미생물 활성에 사용된 균은 그람양성균으로 *Bacillus subtilis*, *Streptomyces fradiae* 및 *Staphylococcus aureus*를 사용하였고, 그람음성균으로 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. C1036 및 *Salmonella typhimurium*을 각각 사용하였다.

## 2. 총페놀 화합물 함량

시료의 총페놀 함량은 페놀성물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis법으로 측정하였다. 즉, 건조시료 1 g에 80% 에탄올용액 100 ml를 가하여 80°C에서 2시간 반복추출 후 여과하였다. 여과액은 헥산으로 지질을 제거한 다음 그중 50 ml를 취하여 40°C에서 농축, 건조 후 50% 에탄올 5 ml로 녹이고 물을 가하여 정확히 100 ml로 정용하였다. 이 정용액 0.5 ml를 6.5 ml의 증류수에 희석하고, Folin-Denis'solution 0.5 ml를 첨가하여, 실온에서 3분간 방치한 다음, sodium carbonate 포화용액 0.5 ml를 첨가하여 반응을 정지시키고 전체를 10 ml로 정용하여 실온에서 1시간 방치 후, 725 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 표준물질로 (±)-catechin을 0, 28, 42, 67, 78  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 조제하여  $y = 12.47 - 0.176x$  ( $R^2 = 0.98522$ )에서 작성하여 검량하였다. 모든 처리는 3회 반복하여 평균값으로 환산하였다.

## 3. 항산화 활성 측정

항산화 활성은 DPPH법 (Brand-Williams et al., 1995)을 이용하여 시료의 free radical 소거능을 측정하였다. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl)는 짙은 자주색을 나타내며 그 자체가 질소 중심의 radical로서, radical 전자의 비 편재화에 의해 안정화된 상태로 존재한다. 에탄올에 용해시킨 100  $\mu\text{M}$  DPPH 용액을 180  $\mu\text{l}$ 씩 96 well plate에 분주하고, 여기에 1, 10, 50, 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 시료를 20  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 최종 반응용액이 200  $\mu\text{l}$ 가 되도록 하였다. 일정시간 동안 반응시킨 후 ELISA reader (Bio-Tek, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도 감소를 조사하였

고, 무치리구와 처리구와의 값을 비교하여 free radical 소거활성을 결정하였다. Free radical 소거활성을 공존시킨 DPPH의 50%를 환원시키는데 필요한 시료의 양 ( $\mu\text{g}$ )을  $\text{RC}_{50}$ 으로 나타냈으며, 기존의 항산화제인 Vit. C, Vit. E 및 BHT를 표준시료로 하여 동백나무 부위별 시료의 항산화 활성을 비교하였다.

#### 4. 항미생물 활성측정

##### 가. 항미생물 활성측정

순수 분리된 각 균주의 단일집락을 취해 10 ml의 균 생육 액체배지에 접종하여 각각 균주의 생육적온에서 18-24 시간씩 3회 배양한 후 항균활성 시험균주로 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 15%의 한천이 첨가된 생육배지를 멸균하여 petridish에 15 ml씩 분주하여 기층용 배지를 응고시키고, 0.7% 한천이 첨가된 증층용 배지를 각각 5 ml씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 각종 시험균액 (멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균 농도를 660 nm에서 흡광도 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.1 ml를 무균적으로 가하여 잘 혼합한 다음 기층용 배지 위에 분주한 다음 고르게 응고시켜 2종의 균집중 증층배지를 만들어 사용하였다. 동백나무 부위별 추출물의 항균활성 검색은 한천배지 확산법 (disc plate method)으로 측정하였다 (Piddocket, 1990; Bauer *et al.*, 1996). 즉, 1, 5, 10, 15 mg/ml 농도의 부위별 동백나무 메탄올 추출물을 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과하여 제공한 다음 멸균된 filter paper disc (8 mm)에 50  $\mu\text{l}$ 씩 흡수시킨 후, 추출용매를 무균적으로 풍건하여 완전히 날려 보내고 각각 균의 생육적온에서 24-48 시간 동안 배양한 다음 paper disc 주변에 형성된 clear zone의 직경을 측정하여 항균활성을 비교하였다. 이때 각 시료를 녹이기 위해 사용한 용매 및 계면활성제에 대한 공실험을 실시하였다.

##### 나. 최소성장 저해농도 (MIC) 측정

동백나무 부위별 메탄올 추출물의 항균효과는 액체배지 희석법 (Victor-Lorian, 1991; Koneman *et al.*, 1992)을 약간 변형하여 박테리아의 성장 저해효과 (MIC) 측정하였다. 즉, 고체배지에서 자란 각 균주의 단일집락을 10 ml의 액체배지에 접종하여 각각 균의 최적생육온도에서 12시간씩 액체배지에서 2회 계대배양하였다. 각각의 시험균은 대수 증식기 중기 (2-6 시간 배양 후)에 도달하였을 때 배양액을 생균수가  $2 \times 10^6$  CFU/ml가 되도록 적절하게 희석한 다음 각각을 96 well microplate에 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하고, 여기에 동백나무의 부위별 추출물의 고형물 함량이 1, 5, 10, 15 mg/ml의 농도로 well당 100  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하였고, 시료 혹은 접종균주를 제외시켜 대조구로 하여 균 생육적온에서 24시간 동안 배양하였다. MIC의 판정은 육안으로 검사하여 혼탁물이 관찰되지 않은 well의 해당 시료농도를 측정하거나 또는 균이 자라지 않는 well의 시료액을 50  $\mu\text{l}$ 씩 취하여 평판배지에 도달한 후 배양하여 집락형성 유무로 결정하였다.

##### 다. 생균수 측정

생균수의 측정은 A.O.A.C 방법 (1984)에 따라 측정하였다. 시험균주들을 액체배지 10 ml에 접종하여 각각 균의 최적 생육온도에서 12-18시간씩 2회 배양한 후 각각의 시험균이 대수증식기 중기 (2-6시간 배양 후)에 도달하였을 때 배양액을 0.1% bacto peptone 용액으로  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ 농도로 단계 희석하여 고체 평판배지에 0.1 ml씩 분주한 후 도달하여 생육적온에서 24시간 배양한 다음 형성된 집락을 계수하여 배양액 또는 그 희석액의 ml 당의 CFU (Colony forming unit)로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 총페놀 화합물의 함량과 항산화 활성측정

##### 가. 총페놀 화합물의 함량

페놀성 물질은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능도 가진다 (Kim *et al.*, 2000; Whang *et al.*, 2001). 일반적으로 항산화 활성은 페놀성 화합물이 원인물질로 관련되어 있는 것이 알려져 있어 동백나무의 각 부위에 함유된 페놀성 화합물의 함량을 조사하였다. 동백나무의 어린잎, 성숙한 잎, 꽃봉오리, 꽃, 수피, 가지 및 종자로부터 hexan을 처리하여 지용성 성분을 제거하고 수용성의 성분만을 추출하여 ( $\pm$ )-catechin 표준 곡선을 이용하여 총 폴리페놀 화합물의 함량을 측정하였다 (Fig. 1). 총페놀 화합물의 함량은 어린잎에서는 161.77 mg으로 성숙한 잎보다는 약 4배 많은 페놀을 함유하고 있고, 꽃봉오리에서는 124.33 mg, 꽃에서는 103.07 mg으로 동백나무 잎과 꽃의 수용성 추출물은 성숙할수록 총페놀 함량이 감소하는

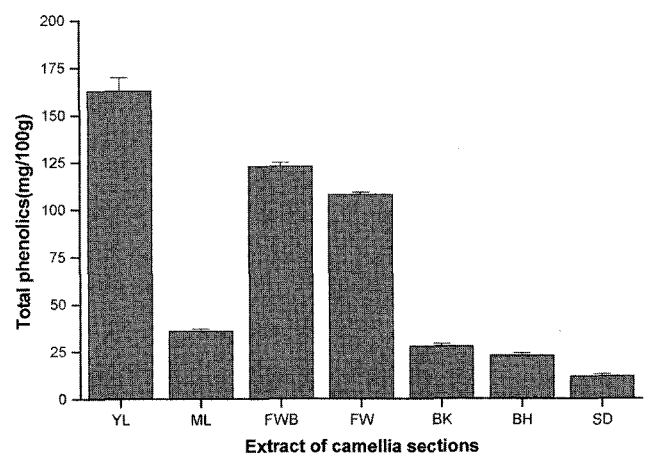


Fig. 1. Content of total phenolics in different sections of *Camellia japonica*. Each value was expressed as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ). Abbreviations: YL, young leaf; ML, mature leaf; FWB, flower bud; FW, flower; BK, bark; BH, branch; SD, seed.

**Table 1.** DPPH free radical scavenging activity of the methanol extract from different sections of *Camellia japonica*

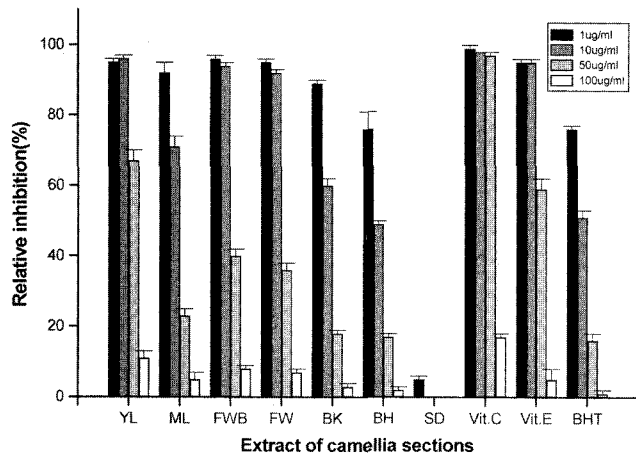
Extracts	Free radical Scavenging activity <sup>1)</sup> (% inhibition 100 mg/ml)	RC <sub>50</sub> <sup>2)</sup> (mg/ml)
YL	92.19 ± 0.32	7.16 ± 0.00
ML	89.22 ± 0.83	28.40 ± 0.41
FWB	93.54 ± 0.12	14.45 ± 0.01
FW	93.00 ± 0.11	18.40 ± 0.28
BK	88.18 ± 0.11	42.68 ± 0.05
BH	72.26 ± 2.96	60.44 ± 0.92
SD	72.26 ± 2.96	- <sup>3)</sup>
Vit. C	96.36 ± 0.37	3.70 ± 0.04
Vit. E	94.00 ± 0.10	9.07 ± 0.20
BHT	70.54 ± 0.56	61.23 ± 0.36

<sup>1)</sup>Free radical scavenging activity of each sample was determined relative to DMS-treated control groups. Each value was expressed as mean ± standard deviation (n = 3)

<sup>2)</sup>Amount required for 50% reduction of DPPH after 30 min

<sup>3)</sup>Not detected

Abbreviations: YL, young leaf; ML, mature leaf; FWB, flower bud; FW, flower; BK, bark; BH, branch; SD, seed; Vit. C, ascorbic acid; Vit. E, DL-α-tocopherol; BHT, butylated hydroxytoluene



**Fig. 2.** Effect of methanol extract of different sections from *Camellia japonica* on DPPH free radical scavenging activity. Extracts were incubated with DPPH ethanolic solution (100 µM) at 37°C for 30 min. Activity was determined by measurement of absorbance at 517 nm. Free radical scavenging activity of each sample was determined relative to DMS-treated control groups. Each value was expressed as mean ± standard deviation (n = 3). Abbreviations: YL, young leaf; ML, mature leaf; FWB, flower bud; FW, flower; BK, bark; BH, branch; SD, seed.

경향을 보였다. 그리고 수피, 가지 및 종자의 총페놀 함량은 각각 28.37 mg, 20.68 mg 그리고 8.84 mg으로 페놀 화합물의 함량이 상대적으로 낮게 나타났다. Moo 등 (2004)은 몇가지 약용식물을 부분별로 추출하여 조사하였는데 뿌리와 씨에서 보다 잎이나 껍질에서 페놀 화합물의 함량이 높게 측정되었고 보고하였는데 본 연구에서도 동백나무의 종자보다 어린잎에서 약 30배 정도 많은 양의 페놀 화합물을 함유하여 이들

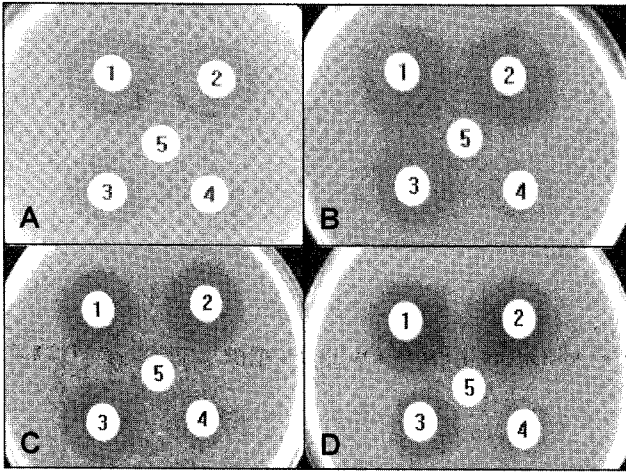
결과와 유사하게 나타났다. 이상의 결과로 보아 어린잎, 꽃봉오리 및 꽃의 추출물은 항산화 활성 및 항균활성 등의 생리활성이 높을 것으로 생각된다.

나. 항산화 활성

DPPH는 자신이 가지고 있는 홀수의 전자 때문에 517 nm에서 강한 흡수 스펙트럼을 보이나 페놀성 화합물과 같이 수소에 전자를 제공해 주는 전자공여체와 반응하게 되면 전자 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 되며, 흡수 band도 사라지게 되고 안정한 분자가 된다. 또한 공여된 전자는 비가역적으로 결합하며 그 수에 비례하여 진보라색의 DPPH의 색깔은 점점 얼어지게 된다. 따라서 동백나무의 부위별 추출물을 농도별로 100 µM DPPH 용액에 첨가하여 free radical을 소거하는 능력을 측정된 결과를 Table 1과 Fig. 2에 나타내었다. 동백나무의 각 부위별 추출물들은 최고농도 100 µg/ml에서 어린잎은 92.19%, 성숙한 잎은 89.22%, 꽃봉오리는 93.54%, 꽃은 93.00%, 수피는 88.18%, 가지는 76.26%, 종자도 76.26%로 동백나무의 항산화 효과가 70~90% 이상으로 동일농도에서 합성산화제인 Vit. C, Vit. E 및 BHT와 유사한 free radical 소거능을 보였다. 이 중 가장 효과가 뛰어난 어린 잎 추출물의 DPPH free radical 소거 효과는 1, 10, 50, 100 µg/ml의 추출물 농도에서 각각 8.52%, 64.77%, 92.97%, 그리고 92.19%로 나타나 낮은 농도에서도 항산화 활성이 높게 나타났으며, 꽃봉오리 추출물에서도 어린잎과 같은 농도에서 각각 5.34%, 38.97%, 92.28%, 93.54%로 비교적 강한 항산화 활성을 보였다.

각 부위별 추출물들의 RC<sub>50</sub>은 어린잎이 7.16 µg/ml, 꽃봉오리는 14.45 µg/ml, 꽃은 18.40 µg/ml으로 페놀 화합물의 함량에 비례하여 항산화 활성이 높게 나타났으며, 성숙한 잎은 28.40 µg/ml, 수피는 42.68 µg/ml, 가지는 60.44 µg/ml의 순으로 항산화 효과를 보였다. 그러나 종자에서는 DPPH를 50% 환원시키는데 필요한 시료의 양을 측정할 수 없었다.

천연항산화제인 Vit. E의 RC<sub>50</sub>은 9.07 µg/ml로 어린잎과 유사한 항산화 작용을 보였고, BHT의 RC<sub>50</sub>은 61.23 µg/ml로 동백나무의 어린잎이 약 8배 이상의 높은 항산화 활성을 나타내었다. Park과 Choi (1996)는 동백나무의 종자와 줄기 추출물의 5 mg/ml 농도에서 각각 40%와 30%의 지질산화를 억제한다고 보고하였으나 본 실험에서는 최대농도 100 µg/ml의 농도에서 종자와 줄기의 추출물보다 어린잎, 꽃봉오리와 꽃에서 보다 높은 항산화 활성을 보였다. 천연 항산화제는 대부분 식물 기원의 항산화성 화합물로서 나무, 수피, 줄기, 잎, 과일, 뿌리, 꽃 열매, 씨앗 등의 모든 부분에 존재하고 있으며, 이들은 주로 페놀 화합물로서 지질의 자동산화 조건에 의해 생성된 유리라디칼의 생성을 지연시키거나 활성을 저해하여 항산화 물질로서의 역할을 한다 (Lee et al., 1996; Cha & Cho, 1999). 또한 동일한 동백속에 속하는 차나무 (*Camellia*



**Fig. 3.** Antibacterial activities of different concentrations of the methanol extract from young leaf of *Camellia japonica*. A, *B. subtilis*; B, *E. coli*; C, *Enterobacter* spp.; D, *P. aeruginosa*. Concentrations of methanol extract per disc, 1, 15 mg/ml; 2, 10 mg/ml; 3, 5 mg/ml; 4, 1 mg/ml; 5, methanol only as a negative control.

*sinensis*) 잎 중에 존재하는 폴리페놀성 화합물의 강한 항산화 활성도 보고되어 있다 (Matsuzaki & Hara, 1985).

이상의 결과로 동백나무도 어린잎, 꽃봉오리와 꽃 추출물 중에서 보다 강력한 항산화 활성을 나타내는 polyphenol성 화합물 등의 항산화물질을 함유하고 있으리라 생각되며, 예로부터 동백의 어린잎을 차의 재료로 사용하였다는 기록과 사찰에서 화전으로 식용하였다는 것으로 보아 동백의 잎이나 꽃은 식용이 가능하며, 이를 이용한 천연항산화제의 개발가능성도 높다고 생각된다 (Hwang *et al.*, 2004).

**2. 항미생물 활성 측정**

최근에 천연물로부터 생리활성 성분을 추출하여 미생물의 증식억제 및 살균을 목적으로 항미생물 효과가 있는 물질을 탐색하는 연구가 증가하고 있다 (Bullerman *et al.*, 1997). 또한 식품의 원료나 부재료 등에 항미생물이 존재함이 계속적으로 밝혀지고 있고 식품에의 응용에 관한 연구가 진행되고 있다 (Conner & Beuchat, 1981). 동백의 경우 천연 식품보존제

**Table 2.** Antibacterial activities of methanol extracts in different sections of *Camellia japonica*.

Microorganisms	Conc. (mg/ml)	Size of inhibition zone (mm) <sup>1)</sup>						
		YL	ML	FWB	FW	BK	BH	SD
<i>Bacillus subtilis</i>	1	2 <sup>2)</sup>	-	-	-	-	-	-
	5	9	-	-	-	-	-	
	10	11	-	-	-	-	-	
	15	13	-	-	-	-	-	
G(+) <i>Streptomyces fradiae</i>	1	-	-	-	-	-	-	
	5	7	6	5	-	-	-	
	10	12	8	7	-	-	-	
	15	13	10	8	-	-	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	-	-	-	-	-	-	
	5	10	-	6	-	-	-	
	10	11	-	8	-	-	-	
	15	12	-	9	-	-	-	
<i>Escherichia coli</i>	1	-	-	-	-	-	-	
	5	10	-	-	-	-	-	
	10	11	-	-	-	-	-	
	15	12	-	-	-	-	-	
G(-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	-	-	-	-	-	-	
	5	9	-	-	-	-	-	
	10	11	-	-	-	-	-	
	15	13	-	-	-	-	-	
<i>Enterobacter</i> spp. C1036	1	-	-	-	-	-	-	
	5	8	-	-	-	-	-	
	10	10	-	-	-	-	-	
	15	12	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella typhimurium</i>	1	-	-	-	-	-	-	
	5	-	-	-	-	-	-	
	10	8	-	-	-	-	-	
	15	9	-	-	-	-	-	

<sup>1)</sup>In diameter (mm), <sup>2)</sup>Not detected.

Abbreviations: YL, young leaf; ML, mature leaf; FWB, flower bud; FW, flower; BK, bark; BH, brench; SD, seed.

개발의 일환으로 유박 추출물의 항균활성에 관한 연구 (Kang *et al.*, 1998)가 보고되어 있으나 그 외에 수행된 연구는 아주 미미한 실정이므로 동백나무의 각 부위별로 항미생물 활성을 측정하였다.

가. 동백나무 부위별 메탄올 추출물의 항미생물 활성

Paper disc 방법으로 동백나무의 부위별 메탄올 추출물을 각종 식품부패균 및 식중독균에 적용시켜 그람양성균 3종과 그람음성균 4종에 대해 항균활성을 측정한 결과를 Fig. 3 및 Table 2에 나타내었다. 그 결과 disc에 점적한 각 부위별 추출물의 농도가 증가할수록 항균활성이 크게 나타났다. 즉 농도가 증가할수록 항균 활성을 나타내는 inhibition zone의 크기가 증가하여 어린잎 추출물의 경우 *B. subtilis*, *S. fradiae*, *P. aeruginosa*, 및 *S. typhimurium*에 대해 15 mg/ml 농도에서 13 mm의 억제환으로 강력한 활성을 나타내었다. 따라서 동백나무에서도 어린잎 부위의 추출물은 그람양성균과 그람음성균에 대해 넓은 항균력을 지니고 있음을 확인할 수 있었다. 이 중에서 *S. aureus*와 *E. coli*에서 가장 민감하게 반응하여 어린잎 추출물 5 mg/ml 농도를 투여하였을 때 10 mm의 억제효과를 나타내었다. 이에 반해 성숙한 잎 추출물은 *P. aeruginosa*에 대해서만 15 mg/ml 농도에서 6~10 mm의 항균활성을 보였고, 꽃 봉오리 추출물은 *P. aeruginosa*와 *Enterobacter spp.* C1036균주에 15 mg/ml 농도로 첨가하였을 때 각각 8 mm, 9 mm의 억제효과를 나타내었다. 한편 본 실험에 사용한 동백나무의 부위별 추출물의 농도가 1 mg/ml 이하인 경우에는 항균 효과를 검증할 수 없었고, 동백나무의 꽃, 수피, 가지 및 종자 부위의 추출물의 경우도 모든 균주에 대해 항균활성을 나타내지 않았다.

Tanaka 등 (1997)은 동일한 동백속에 속하는 차나무 (*Camellia sinensis*) 잎에 존재하는 폴리페놀성 화합물이 항균 작용을 나타낸다고 보고한 바 있으며, 페놀성 물질은 산화-환원 반응시 기질로 작용하며, 미생물의 공격을 막아 식물자체를 보호하는 동시에, 짙은 맛, 쓴맛과 같은 식물성 식품의 고

유한 맛에 관계한다고 보고 (Lee *et al.*, 1994) 하였으며, Song 등 (1998)은 청미래 덩굴 뿌리를 메탄올로 추출하여 *Agrobacterium rhizogenes*, *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* 및 *B. subtilis*에 대한 항균성을 검색하고 페놀성 화합물이 항균활성에 관여한다고 보고하였다. 그리고 Kim과 Han (1997)은 산초의 항균성 화합물이 hexadecanoic acid라고 보고하였다. 또한 Clark 등 (1981)은 식물체에 함유된 페놀성 물질이 항균활성을 나타낸다고 보고하였는데 본 연구에서도 동백나무의 부위별 메탄올 추출물에 함유된 페놀성 물질의 함량에 따라서 항균활성의 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이상과 같은 결과로 보아 동백나무의 어린잎 추출물의 항균활성은 페놀성 물질의 함량에 따라서 차이가 나타났으며, 페놀성 물질의 함량이 높을수록 항균활성이 높아 천연항균제로서의 사용 가능성이 높은 것으로 생각된다.

나. 동백나무 부위별 메탄올 추출물의 최소성장 저해농도 (MIC)

항균활성이 높게 나타난 동백나무의 어린잎의 메탄올 추출물의 시험균에 대한 최소발육 저해농도를 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 어린잎 추출물에 대한 그람양성균과 그람음성균의 최소저해농도는 *B. subtilis*와 *S. fradiae*에서는 1 mg/ml로 비교적 낮은 농도에서 생육이 억제되었으나 *S. aureus*, *P. aeruginosa* 및 *S. typhimurium*에서는 10 mg/ml로 나타났고, *Enterobacter spp.*의 경우 15 mg/ml로 가장 고농도로 나타났으며, *E. coli*에서는 항균활성을 보이지 않았다. 이와 같이 그람양성균이 그람음성균보다 각각의 농도에서 최소저해농도의 효과가 더 높은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 Nakamura 등 (1991)이 보고한 바와 같이 그람양성균의 세포벽은 peptidoglycan 층이 표면에 노출되어 항균활성 물질의 공격을 받기 쉽지만 그람음성균은 lipopolysaccharide를 주성분으로 하는 외막이 peptidoglycan 층을 보호하는 역할을 하기 때문이라고 생각된다.

천연식물의 항균작용에 대해서는 오래 전부터 천연보존제에

**Table 3.** Minimum inhibitory concentration (MIC) of methanol extracts in different sections of *Camellia japonica* against several microorganisms.

	Microorganisms <sup>†</sup>	Growth at concentration (mg/ml)					MIC (mg/ml)
		0	1	5	10	15	
G(+)	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	-	-	-	1
	<i>Streptomyces fradiae</i>	+	-	-	-	-	1
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	-	-	10
G(-)	<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	±	±	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	±	-	-	10
	<i>Enterobacter spp.</i> C1036	+	+	+	±	-	15
	<i>Salmonella typhimurium</i>	+	+	±	-	-	10

<sup>†</sup> Final cell concentration for each bacteria was approximately 2×10<sup>6</sup> CFU/ml.

+: Growth, ±: Uncertain in growth, -: No growth.

사 사

본 연구는 산업자원부의 지역혁신 인력양성사업의 연구결과로 수행되었음.

LITERATURE CITED

A.O.A.C (1984) Official Methods of Analysis. 14th ed., Association of official analytical chemists, Washington D.C.

Bauer AW, Kibby MM, Sherris JC, Turck ML (1996) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc metho AM. J. Clin Pathol. 45:493-496.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Technology 28:25-30.

Bullerman LB, Lieu FY, Seier SA (1977) Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol., J. Food Sci. 42:1107.

Cha JY, Cho YS (1999) Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28:1131-1139.

Chuyen NV, Kurata T, Kato H, Fujimaki M (1982) Antimicrobial activity of kumazasa (*Susa albomarginata*). Agric. Biol. Chem. 46:971-978.

Clark AM, El-Ferally FS, Li WS (1981) Antimicrobial activity of phenolic constituents of *Magnolia grandiflora* L. J. Pharm. Sci., 70:951-952.

Conner, DE Beuchat, LR (1981) Effects of essential oils from plants on food spoilage yeasts. J. Food Sci. 49, 429.

Fujita Y, Fujita S, Yoshikawa H (1973) Comparative biochemical and chemotaxonomical studies of the plants of Theaceae (I). Essential oils of *Camellia sasanqua* Thunb., *C. japonica* Linn., and *Thea sinensis* Linn. Osaka Kogyo Gijutsu Shidensho Kigo 25:198.

Hwang EJ, Cha YJ, Park MH, Lee JW, Lee SY (2004) Cytotoxicity and chemosensitizing effect of camellia (*Camellia japonica*) tea extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33(3):487-493.

Itokawa H, Nakajima H, Ikuta A, Iitaka Y (1981) Two terpenes from the flowers of *Camellia japonica*. Phytochemistry 20:2539.

Kang SG (2004) Antimicrobial effect of methanol extracts from some medicinal herbs and the content of phenolic compounds. Korean J. Food Preservation 11(2):207-213.

Kang SK, Kim YK, Choi OJ (1998) Antimicrobial activity of defatted camellia (*Camellia japonica* L.) seeds extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27(2):232-238.

Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS (2000) Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29(6):1127-1132.

Kim SI, Han YS (1997) Isolation and identification of antimicrobial compound from sancho (*Zanthoxylum schimifolium*). Kor. J. Soc. Food Sci., 13:56-63.

Koh MS (2004) Antimicrobial activity of *Saururus chinensis* Bail extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33(7):1098-1105.

대한 많은 연구가 이루어져왔으며, 특히 식중독과 관련된 항균효과에 대한 연구결과에 의하면 천연식품을 섭취함으로써 식품중에 함유되어 있는 페놀성 화합물과 유기산이 항균작용에 관여한다고 보고하였다 (Chuyen *et al.*, 1982). 동백나무 어린잎의 추출물의 최소저해농도는 0.25~1 mg/ml의 추출물 (Oh *et al.*, 1999) 보다는 항균활성이 낮았으나, 2.5~30 mg/ml의 유백피 추출물 (Lee *et al.*, 1992)과 5~10 mg/ml의 삼백초 추출물 (Koh, 2004) 보다는 높게 나타났다. 또한 보존제로 사용되고 있는 프로피온산 나트륨의 경우 1.5~11 mg/ml에서 미생물 증식 억제효과가 있었다는 보고 (El-Shenawy & Marth, 1989)와 비교할 때 동백나무 어린잎의 추출물은 천연보존제로서 사용 가능성이 매우 높은 것으로 사료된다.

적 요

천연물은 예로부터 건강의 증진 및 질병의 치료를 위하여 다양하게 이용되어 왔다. 특히 천연물 및 식품류에 포함되어 있는 폴리페놀성 화합물들은 항산화, 암세포 성장억제, 항돌연변이 등 다양한 생리활성을 나타내어 심혈관계 질환 및 암의 치료와 예방제로서의 활용 가능성을 검토하는 많은 연구가 이루어지고 있다. 따라서 본 연구에서는 동백나무의 기능성 물질 확보와 가공을 통한 고부가가치 창출을 목표로 국내에서 자생하는 동백나무를 부위별로 추출물을 제조하여 항산화 및 항미생물 활성을 평가하고자 하였다.

항산화효과는 항산화력 성분인 총페놀 화합물의 함량과 DPPH radical 소거법을 이용하여 항산화 활성을 측정하였는데 총페놀 화합물의 함량은 동백나무 부위별 추출물의 건조중량 100 g에 대하여 어린잎, 꽃봉오리 및 꽃 추출물에 각각 74.24 mg, 65.02 mg, 그리고 62.42 mg로 나타났다.

Free radical 소거활성을 공존시킨 DPPH의 50%를 환원시키는 데 필요한 시료의 양 (RC<sub>50</sub>)은 어린잎, 꽃봉오리 그리고 꽃의 추출물에서 각각 7.16 µg/ml, 14.45 µg/ml 및 18.4 µg/ml의 낮은 농도로 활성을 나타내어 기존의 합성 항산화제인 BHT의 61.23 µg/ml 보다 높은 항산화 효과를 나타내어 천연 항산화제로서 이용 가능성을 보여주었다.

또한 *B. subtilis*, *S. fradiae*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp. C1036 및 *S. typhimurium* 7종의 시험균을 사용하여 동백나무 부위별 추출물의 항균활성을 측정하였는데 어린잎의 경우 15 mg/ml의 농도에서 9~13 mm의 투명환을 보여 비교적 높은 항미생물 활성을 나타내었고, 꽃봉오리 추출물을 첨가하였을 때 *P. aeruginosa*와 *Enterobacter* spp. C1036 균주에서 가장 강한 억제활성을 나타내었다.

7종의 시험균에 대한 항균력이 가장 높았던 어린잎 추출물의 최소저해농도 (MIC)는 1~15 mg/ml로 나타났으며, 그람 양성균이 그람 음성균보다 각 농도에서 최소저해농도의 효과가 더 높은 것으로 나타났다.

- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC** (1992) Diagnostic Microbiol, 4th ed, Lippincott Co. Press, Philadelphia, 659-660.
- Lee HY, Kim CK, Sung TK, Mun TK, Lim CJ** (1992) Antimicrobial activity of *Ulmus pumila* L. extract. Korean J Appl. Microbial Biotechnol. 20:1-5.
- Lee JO, Kim MC, Kim MH, Park JS, Kim JW, Song KH, Shin DW, Lee SH, Kim SK** (1992) Natural distribution and characteristics of populations of *Camellia japonica* in Korea. J Kor. Soc. Hort. Sci. 33(2):196-208.
- Matsuzaki T, Hara Y** (1985) Antioxidative activity of tea leaf catechins. Nippon Nogeikagaku Kaishi 59:129-134.
- Moo JS, Kim SJ, Park YM, Hwang IS, Kim EH, Park JW, Park IB, Kim SW, Kang SG** (2004) Antimicrobial effect of methanol extracts from some medicinal herbs and the content of phenolic compounds. Korean J. Food Preservation 11(2):207-213.
- Mori, Nishimiya** (1988) 美自化粧料, 日本公開特許公報, 63-303910.
- Nakamura S, Kato AM, Kobayashi K** (1991) New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. J Agric Food Chem. 39:647-650.
- Namba T, Tsunozuka M, Takehana Y, Nunome S, Takeda K, Shu YW, Kakiuchi N, Takigi S, Hattori M** (1984) Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicines. IV. Screening of crude drugs for anti-plaque action and effects of *Artemisia capillaris* spikes on adgerence of *Streptococcus mutans* to smooth surface and synthesis of glucan. Shoyakugaku Zasshi 38(3):263-264.
- Oh DH, Lee MK, Park BK** (1999) Antimicrobial activities of commercially available tea on the harmful foodborne organism. J. Korean Soc. Food Sci Nutr. 28:100-106.
- Piddocket LJV** (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. J. Appl. Bacteriol. 68:307-318.
- Sakata Y, Nagayoshi S, Arisumi KI** (1981) Studies on the flower colours in the *Camellia*. Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ. 17:79-94.
- Scott G** (1997) Antioxidants in science, technology, Medicine and nutrition, Albion, Chichester. UK.
- Song JH, Kwon HK, Lee WK, Park IH** (1998) Antimicrobial activity and composition of extract from *Smilax china* root. J. Kor. Soc. Food Nutr. 27:574-584.
- Tabance N, Kirimer N, Demirci B, Demirci F, Baser KHC** (2001) Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and enantiomeric distribution of borneol. J. Agric. Food Chem. 49:4300-4303
- Victor-Lorian MDC** (1991) Antibiotics in Lab. Med, 3rd ed, Williams & Wilkins Press, Baltimore, 54-100.
- Whang HJ, Han WS, Yoon KR** (2001) Quantitative analysis of total phenolic content in apple. Analytical Science & Techninology 14(5):377-383.
- Yoshikawa M, Harada E, Murakami T, Matsuda H, Yamahara J, Murakami N** (1994). *Camellia* saponins B1, B2, C1 and C2, new type inhibitors of ethanol absorption in rats from the seeds of *Camellia japonica* L. Chem Pharm Bull. 42:742.
- 박종철, 최명락** (1996) 동백나무의 부위별 활성검색 및 활성화합물의 분리. 고유농수산물품 세계화 대상품목의 연구조사. 전라남도. 205-238.
- 성충기, 유경수, 이익수** (1996) 동백나무의 성분연구. 고유농수산물품 세계화 대상품목의 연구조사, 전라남도, 177-199.
- 윤태현, 이상무, 임경자** (1991) 한국산 야생 및 재배동백 종자의 지방산 조성. 한림대학교 논문집. 9집, 299.
- 이종욱, 은종방, 윤석후** (1996) 동백기름을 이용한 다양한 유지가 공식품 개발에 관한 연구. 고유농수산물품세계화 대상품목의 연구조사. 전라남도. 239-327.
- 이창우, 최경, 박남창, 팍무탁** (1990) 동백나무를 활용한 식용유지 생산에 관한 연구. 임업연구원 남부임업시험장 보고서.
- 정병재, 이은철** (1975) 임산유지 및 단백질 자원개발에 관한 연구. 전남대학교논문집. 22권, 159.
- 허우덕, 황경주, 남영중, 민병용** (1983) 식물성 유지자원 개발연구 1. 동백류의 지방질조성에 관한 연구. 농어촌개발공사 식품연구소 식품연구사업보고. 10:15.