

## *In vitro* 및 *In vivo*에서 인진쑥 추출물이 장내미생물에 미치는 영향

오미현 · 김광엽<sup>†</sup>  
충북대학교 식품공학과

### Effects of *Artemisia capillaris* Extracts on Intestinal Microflora *In vitro* and *In vivo*

Mi Hyun Oh and Kwang Yup Kim<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

#### Abstract

This study was designed to investigate the effect of *Artemisia capillaris* extracts on the intestinal microflora. In agar diffusion method, the solvent fractions of *Artemisia capillaris* showed growth inhibition against the intestinal microflora. In particular, the chloroform fraction of *Artemisia capillaris* had strong antibacterial activity against *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Eubacterium limosum*, and *Bacteroides fragilis*, but did not show antibacterial activity against *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. Most chloroform fraction of *Artemisia capillaris* inhibitory activities were not reduced by heat treatment or pH variation against *C. perfringens*, *C. difficile*, *E. limosum*, and *B. fragilis*. MICs of the chloroform fraction were 1.25 mg/mL against *C. perfringens*, *E. limosum* and *B. fragilis* and 2.5 mg/mL against *C. difficile*. MBCs of chloroform fraction were 5 mg/mL against *C. perfringens*, *E. limosum* and 2.5 mg/mL against *C. difficile*, *B. fragilis*. The ethyl acetate fraction of *Artemisia capillaris* showed 3.08±0.03 mg/10 mg total polyphenol and 1.91±0.03 mg/10 mg total flavonoid contents. *In vivo* tests were performed to investigate the influence of *Artemisia capillaris* extract on the intestinal microflora in rats. The results showed the possibilities of utilizing *Artemisia capillaris* extracts as a functional food component to control intestinal microflora.

**Key words:** intestinal microflora, antibacterial activity, antioxidant, *in vivo* test, *Artemisia capillaris*

#### 서 론

인진쑥(*Artemisia capillaris*)은 우리나라 냇가나 강가의 모래땅에서 자라는 국화과에 속하는 다년생 초본으로서 높이가 약 30~100 cm 정도로 곧게 자라고 겨울철에도 죽지 않고 이듬해 줄기에서 다시 싹이 나온다하여 사철쑥 또는 애당쑥이라 불리며 생약명으로는 인진, 인진호 또는 추호라 불린다(1). 인진쑥의 주요 성분으로는 수분 81.4%, 단백질 5.2%, 지질 0.8%, 당질 4.0%, 섬유질 3.7%, 회분 2.7%와 특수 성분으로 정유 성분 등이 있으며(2) caffeic acid, 방향족 oxycarbonic 및 각종 무기질과 비타민을 함유하고 있고(3), 또한 녹엽단백질원으로서 필수지방산을 많이 함유하고 있어서, 영양학적으로 매우 우수하며 무기질 중 칼슘과 칼륨의 함량이 높아 알칼리성 식품으로, vitamin A와 C의 함량은 일반 야채류를 포함한 산야채류 중에서 가장 높은 것으로 알려져 있다(4).

인진쑥에 대한 연구로는 오래 전부터 간질병 개선을 목적으로 간 보호 효과(5,6), 항균작용(7-9), 항암 효과(10,11), 항산화 효과(12), 항돌연변이 효과(13), 과산화지질에 대한 효

과(14,15), 혈압강화작용, 당뇨 증상 완화 및 고혈당증의 치료 효과(16) 등이 보고되어 있다.

인체의 대장 내용물과 분변 중에는 1 g당  $10^{11}$ ~ $10^{12}$  CFU (colony forming unit) 이상의 세균이 존재하며 이는 고형성분의 30~50%에 해당한다(17). 그 종류는 약 350~500여종에 달하고, 이들 세균의 90% 이상은 혐기성 균주인 *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Bacteroides*로 이들은  $10^{9-11}$  CFU/g 정도를 차지한다(18). *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Veillonella* 등은  $10^{5-8}$  CFU/g 정도이며 *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus*, *Proteus* 및 *Pseudomonas* 등 병원성 및 유해 미생물은  $10^4$  CFU/g 이하로 존재한다. 이들 미생물은 상호 공생이나 길항작용을 하며 균형을 이루고 장내 균총을 형성하고 있다(19). 장내 균총은 여러 요인의 영향을 받고 있는데(20) 그 요인에는 노화, 스트레스, 건강상태, 심리 상태 등 숙주의 생리적 변화와 식이 상태, 세균감염, 약 복용 등의 환경적 요인 등이 있다. 이러한 요인들에 의해 장내 유익균인 Bifidobacteria는 감소하고 *E. coli*, *Streptococci*, *Enterobacteriaceae* 등의 유해균은 증가하게 된다(21). 인간이 건강하게 장수하려면 *Bifidobacterium* 등

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: kimky@chungbuk.ac.kr  
Phone: 82-43-261-2568, Fax: 82-43-271-4412

의 유익균이 많아야 하는 반면 *C. perfringens* 등의 유해균이 적은 상태로 장내 균총을 유지시켜야 한다(22).

따라서 본 연구에서는 장내 미생물 균총 구성을 바람직한 방향으로 개선하기 위하여 인진쑥 추출물이 장내 유해균의 생육을 억제시키면서 장내 유익균의 생육을 증진시키는 효과를 *in vitro* 상에서 알아보고, 이를 *in vivo* 상에 적용하여 장내 미생물의 구성을 바람직한 방향으로 개선시키는 효과를 확인하고자 하였다. 더불어 인진쑥을 기능성식품 소재로 활용하기 위하여 기능성 물질 함량을 측정하고 상기 결과를 종합하여 기능성식품 소재로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 인진쑥(*Artemisia capillaris*)은 국내산으로 청주 이마트에서 구입하여 사용하였고, 분쇄기(HR-2870, Philips, Amsterdam, Netherlands)로 분쇄하여 실험에 사용하였다.

### 사용 균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 한국생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 분양받은 장내 유해균인 *Clostridium perfringens* KCTC 5101, *Clostridium difficile* KCTC 5009, *Eubacterium limosum* KCTC 3266, *Bacteroides fragilis* KCTC 3688와 장내 유익균인 *Bifidobacterium bifidum* KCTC 3472, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164를 사용하였다. 전배양 및 본배양을 위한 생육배지로 장내 유해균들은 Reinforced Clostridial Medium(RCM) broth(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였으며, 장내 유익균들은 Lactobacilli MRS broth(Difco)를 사용하였다. 이들 균주는 50%글리세롤이 포함된 배지에 넣어 -80°C에 보관하였으며, 사용하기 전 3회 이상 계대하여 활성화시킨 후 사용하였다.

### 에탄올 추출 및 용매 분획

인진쑥 10 g에 20배의 에탄올을 가하여 교반 추출기(VS-8480, Vision Scientific Co., Ltd., Seoul, Korea)에서 상온으로 24시간 동안 200 rpm으로 추출하여 여과지(ADVANTEC No.2, TOYO ROSHI Kashia, Ltd, Tokyo, Japan)로 여과한 다음 회전진공농축기(EYELA CCA-1110, Tokyo, Japan)를 이용하여 40°C에서 용매를 완전히 제거한 뒤 에탄올 추출물로 사용하였고, 제조된 인진쑥의 에탄올 추출물을 50 mL로 정용하여 분획깔때기에 넣고 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올을 150 mL씩 3회 순차적으로 가하여 분획한 뒤 각각의 용매 분획물을 얻은 다음 최종 남은 용액을 물 분획물로 하였다. 각각의 용매 분획물들은 질소농축 및 감압농축 한 다음 실험에 사용하였다.

### 인진쑥 용매 분획물의 항균활성

**Disc plate method:** 항균활성 검색은 paper disc agar diffusion법(23)을 응용하였다.  $10^{4.5}$  CFU/mL로 배양된 시험 균주들을 멸균된 각각의 agar 배지에 2~3% 접종하여 배지를 조성하였다. 여기에 paper disc(ADVANTEC 8 mm, TOYO ROSHI Kashia, Ltd.)를 배지 위에 떨어지지 않도록 부착시킨 다음, 농도가 50 mg/mL인 인진쑥의 용매 분획물들을 30  $\mu$ L 주입하여 혐기배양 장치(MART Microbiology, ANOXOMAT WS80, Lichtenvoorde, Netherlands)에 넣고 37°C에서 24시간 배양한 후 생육 저해 환 생성유무를 확인하였다. 분획물을 녹인 용매에 대한 영향을 알아보기 위해 대조군으로는 30% DMSO(dimethyl sulfoxide, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

### 96 well plate를 이용한 생육 억제를 측정

인진쑥의 클로로포름 분획물에 대한 장내미생물의 생육 억제율은 broth microdilution method(24,25)를 변형하여 측정하였다. 24시간 배양한 세균 배양액을 650 nm에서 흡광도가  $0.3(10^5$  CFU/mL)이 되게 조절한 후 96 well plate(3077 MICROTTEST™ U-Bottom, FALCON, Franklin Lakes, NJ, USA)에 시험균 배양액을 접종하고, 여기에 농도 50 mg/mL인 인진쑥 클로로포름 분획물을 처리한 뒤 37°C incubator에서 24시간 혐기배양 하여 ELISA Leader(Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, Vermont, USA)를 이용하여 650 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조군으로는 시료 대신 30% DMSO를 사용하였다. 항균활성은 각 균주에 대한 시료의 억제효율(inhibition, %)로 나타내었다.

$$\text{Inhibitory effect (\%)} = \{1 - (\Delta \text{Artemisia capillaris chloroform fraction O.D.} / \Delta \text{control O.D.})\} \times 100$$

### 열 및 pH 안정성

인진쑥 클로로포름 분획물의 항균활성 물질에 대한 열 안정성 측정은 시료를 60, 80, 100°C에서는 30분 동안 열처리하고, 121°C에서는 15분 동안 열처리한 후 대조구와 같이 paper disc agar diffusion법으로 생육억제환의 지름을 측정하여 비교하였고, 대조구로는 열처리하지 않은 인진쑥의 클로로포름 분획물을 사용하였다. 인진쑥 클로로포름 분획물의 항균활성 물질에 대한 pH 안정성은 pH meter(Orion 4 star, Thermo Scientific, Beverly, MA, USA)를 사용하여 시료를 0.1 N HCl과 0.1 N NaOH로 pH 2, 4, 8로 조절 후 대조구와 같이 paper disc agar diffusion법으로 생육억제환의 지름을 측정하여 비교하였고, 대조구로는 0.1 N HCl과 0.1 N NaOH를 사용하였다.

### 최소저해농도와 최소살균농도 측정

미생물의 최소저해농도((Minimum Inhibitory Concentration, MIC)는 broth microdilution method (24)를 응용하여 다음과 같이 측정하였다. 18~24시간 배양된 세균 배양액을 650 nm에서 흡광도가  $0.3(10^5$  CFU/mL)이 되게 조절한

후 96 well plate에 각 시험군 배양액을 100  $\mu$ L씩 분주하고, 인진쑥 클로로포름 분획물을 최고농도 20 mg/mL에서부터 2배씩 희석하여 최저농도 0.15625 mg/mL로 100  $\mu$ L씩 처리하여 24시간 배양한 후 인진쑥 클로로포름 분획물이 세균의 증식에 미치는 영향을 650 nm에서 ELISA Leader를 통해 측정하여 비교 분석하였다. 미생물의 최소살균농도(Minimum Bactericidal Concentration, MBC)는 최소저해농도로 판별된 시료의 농도로부터 그이상의 농도에 해당하는 well의 배양액 100  $\mu$ L씩을 RCM평판배지에 도말한 후 혐기배양 장치에 넣고 37°C에서 24시간 배양한 후 plate 상에 육안으로 관찰되는 colony 수를 직접계수한 후 확인되어지는 colony 수가 액체배양액으로부터 접종한 초기 균수의 99.9%를 사멸시키는 효과를 나타내는 것으로 확인되어진 경우, 이때의 시료 처리농도를 최소살균농도로 정하였다(26,27).

#### 유익균의 생육에 미치는 영향

인체 장내 유익균의 생육에 미치는 영향은 broth microdilution method(24)을 응용하여 측정하였다. 멸균된 8.5 mL MRS broth에 시험균액(멸균식염수로 균 현탁액을 만들어 균 농도를 650 nm에서 흡광도가 0.4가 되게 한 시험균액) 0.5 mL를 접종한 후 시료의 농도가 50 mg/mL인 인진쑥 클로로포름 분획물을 1 mL 가하여 37°C에서 24시간 동안 배양하면서 경시적으로 균 증식도를 spectrophotometer(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 650 nm에서 흡광도를 측정(4시간마다 측정, 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24시간)하였다. 대조군은 시료 대신 1 mL의 30% DMSO를 가하여 동일하게 측정하였다.

#### 인진쑥 추출물과 분획물의 기능성 분석

**총 폴리페놀 함량 분석:** 총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등(28)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. 시료로 인진쑥 에탄올 추출물과 인진쑥 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물을 사용하였다. 추출물 100  $\mu$ L에 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  용액 2 mL를 가한 후 3분간 방치한 다음 50% Folin-Ciocalteu reagent 100  $\mu$ L를 가한 후 30분 반응시켜 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma Chemical Co.)를 사용하였고 검량선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량은 시료 100 g 중의 mg gallic acid로 나타내었다. 모든 실험은 3회 반복 측정하였다.

**총 플라보노이드 함량 분석:** 총 플라보노이드 함량은 Dewanto 등(28)과 Choi 등(29)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료로 인진쑥 에탄올 추출물과 인진쑥 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물을 사용하였다. 시료 250  $\mu$ L에 증류수 1 mL와 5%  $\text{NaNO}_2$  75  $\mu$ L를 가하여 5분 반응 후 10%  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  150  $\mu$ L를 가하여 6분 방치한 다음 1 N NaOH 500  $\mu$ L를 가해 11분 반응시킨 후 반응액의

흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 (+)-catechin hydrate(Sigma Chemical Co.)를 사용하였고 검량선을 작성하였다. 모든 실험은 3회 반복 측정하였다.

#### 동물실험

(주)중앙실험동물에서 분양받은 체중 95~150 g 내외의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 항온 항습장치가 부착된 사육장에서 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 1주일 이상 적응시킨 후 6주 동안 실험을 진행하였고 각 군당 8마리씩 하여 실험군은 총 4군으로 control 1군(일반식이와 증류수), control 2군(고지방식이와 증류수) 및 시험 1군으로 일반식이와 인진쑥 에탄올 추출물 급여군과 시험 2군으로 고지방식이와 인진쑥 에탄올 추출물 급여군으로 나누어 시험물질을 100 mg/kg/mouse/day당 10 mL로 1일 1회 경구투여 하여 실험을 진행하였고, 모든 군의 식이와 물은 자유섭취하게 하였다. 6주간 사육한 흰쥐를 실험 종료일로부터 12시간 절식시키고 ethyl ether로 마취하여 개복한 후 맹장을 분리하여 이를 0.85% NaCl 희석액에 넣고 균질화하여 Mitsuoka의 방법(30)에 따라 배양하였다. 배지에 나타난 집락들에 대하여 Mitsuoka의 방법에 따라 집락모양과 균의 형태 등을 조사함으로써 속(genus)을 동정하였고 균수를 측정하여 장내 균총 변화를 확인하였다.

#### 통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리간의 차이 유무를 one-way ANOVA(Analysis of variation)로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다( $p=0.05$ ).

## 결과 및 고찰

#### 인진쑥 용매 분획물의 항균활성

인진쑥의 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물들을 50 mg/mL의 농도로 하여 paper disc agar diffusion법으로 항균활성을 검색한 결과, 장내유해균인 *Clostridium perfringens*는 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트 층에서, *Clostridium difficile*은 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 층에서, *Eubacterium limosum*은 클로로포름 층에서, *Bacteroides fragilis*는 핵산, 클로로포름 층에서 생육 억제환이 생성되어 항균활성을 나타내었다. 장내유익균인 *Bifidobacterium bifidum*과 *Lactobacillus acidophilus*에 대해서는 억제환이 생성되지 않아 항균활성을 나타내지 않았다(Table 1, Fig. 1). 일반적으로 식물의 에틸아세테이트 추출 층에서는 사포닌 성분, 유기산류, 탄닌당, 배당체 및 기타 알칼로이드류가 주로 용출되는 것으로 알려져 있고, 페놀류 및 플라보노이드 등의 성분이 용출되는

Table 1. Antimicrobial activity of *Artemisia capillaris* ethanol extract and solvent fractions by the paper disc method<sup>1)</sup>  
(concentration: 50 mg/mL)

Strains	<i>Artemisia capillaris</i> ethanol extract and solvent fractions					
	Ethanol extract	Hexane fraction	Cloroform fraction	Ethyl acetate fraction	Butanol fraction	Water fraction
<i>Clostridium perfringens</i> KCTC 5101	— <sup>2)</sup>	++	++++	++	—	—
<i>Clostridium difficile</i> KCTC 5009	—	++	++++	++	+	+
<i>Eubacterium limosum</i> KCTC 3266	—	—	++	—	—	—
<i>Bacteroides fragilis</i> KCTC 3688	—	++	+++	+	—	—
<i>Bifidobacterium bifidum</i> KCTC 3472	—	—	—	—	—	—
<i>Lactobacillus acidophilus</i> KCTC 3164	—	—	—	—	—	—

<sup>1)</sup>50 mg/mL of extract and solvent fractions were absorbed into paper disc (Ø8 mm) and diameter of clear zone was measured.

<sup>2)</sup>Growth inhibition size of clear zone: —, not detected; +, smaller than 10~12 mm; ++, 13~15 mm; +++, 16~18 mm; +++++, large than 19 mm.

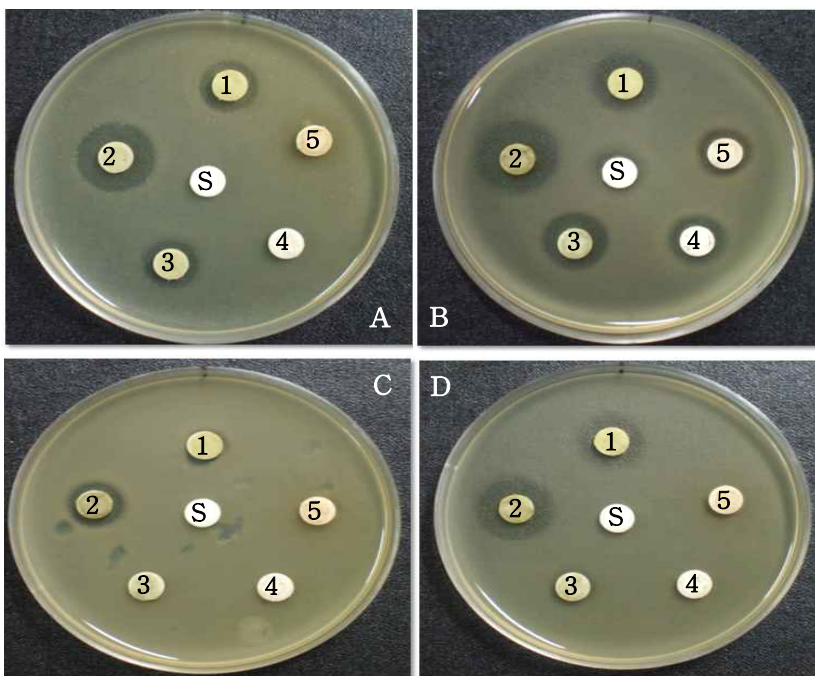


Fig. 1. Antimicrobial activity of *Artemisia capillaris* solvents fraction on *Clostridium perfringens* KCTC 5101 (A), *Clostridium difficile* KCTC 5009 (B), *Eubacterium limosum* KCTC 3266 (C), *Bacteroides fragilis* KCTC 3688 (D). S: 30% DMSO, 1: hexane fraction on *Artemisia capillaris*, 2: chloroform fraction on *Artemisia capillaris*, 3: ethyl acetate fraction on *Artemisia capillaris*, 4: butanol fraction on *Artemisia capillaris*, 5: water fraction on *Artemisia capillaris*.

클로로포름 추출물에도 상당한 항균력이 확인되었다고 하였다(31). 인진쑥의 다른 유해균들에 대한 항균성 연구결과를 보면 Bae(31)의 연구 결과에서는 인진쑥의 에틸아세테이트 추출 층에서 식중독 유발세균인 *Salmonella* Typhimurium과 *Staphylococcus aureus*에 대하여 가장 강한 항균력을 보여 주었고 그 다음으로 인진쑥의 클로로포름 추출 층에서 강한 항균력을 보여주었다. 본 연구 결과에서는 *Clostridium* spp., *E. limosum*과 *B. fragilis*에 대하여 인진쑥의 클로로포름 분획물 층에서 가장 강한 항균활성을 나타내었고, 다음으로 에틸아세테이트 분획물 층에서 강한 항균활성을 나타낸 바, 항균성 물질은 추출조건과 용매에 따라 어떠한 특정 용매에만 용출되는 것이 아니라 여러 가지 성분이 복합적으로 작용하여 여러 용매에 용출되어 항균작용을 할 수 있음을 보여 주었고, 균종에 따라서도 조금씩 다른 차이의 항균활성을 나타냄을 보여주었다. 한천배지확산법을 통한 항균활성 검색 결과, 인진쑥의 클로로포름 분획물이

장내유해균에 대하여 억제환 생성이 가장 크고, 다른 용매 분획물들에 비해 항균 효과가 뛰어나 다음부터 진행되는 실험들은 인진쑥의 클로로포름 분획물을 이용하여 진행하였다. 인진쑥의 클로로포름 분획물을 가지고 96 well plate법을 이용하여 장내유해균과 장내유익균의 생육에 미치는 영향을 알아본 결과는 Fig. 2와 같다. 생육 억제율 측정 결과, 장내유해균인 *C. perfringens*는 86%, *C. difficile*은 99%, *E. limosum*은 71%, *B. fragilis*는 88%의 억제율을 나타냈으며, 장내유익균인 *B. bifidum*은 44%의 억제율을, *L. acidophilus*는 -14%의 억제율을 보여 *L. acidophilus*를 증진시키는 결과를 나타내었다. 최소저해농도(MIC)와 최소살균농도(MBC)에 대한 결과는, *C. perfringens*, *E. limosum* 및 *B. fragilis*에 대한 최소저해농도는 1.25 mg/mL이었고 *C. difficile*에 대한 최소저해농도는 2.5 mg/mL이었다(Table 2). 인진쑥의 클로로포름 분획물에 대한 최소살균농도의 결과(Table 2), *C. perfringens*, *E. limosum*에 대한 최소살균농

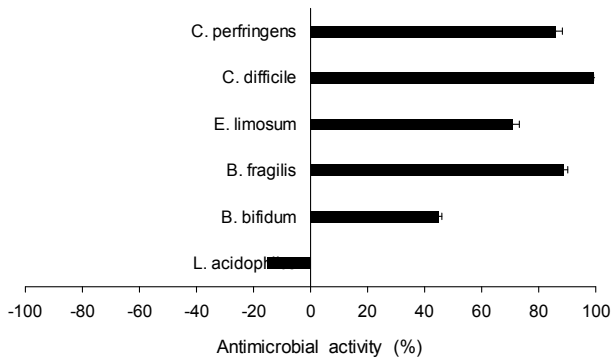


Fig. 2. Antimicrobial activity of *Artemisia capillaris* chloroform fraction against intestinal microorganisms.

도는 5 mg/mL이었고 *C. difficile*, *B. fragilis*에 대한 최소살균농도는 2.5 mg/mL이었다. Park 등(32)의 연구 결과에 따르면, 추출물의 *Staphylococcus aureus*에 대한 최소살균농도는 복분자 추출물 10 mg/mL에서 세균이 사멸되었고, Yeo 등(33)은 한약재 물 추출물의 항균효과에 있어서 시료에 따라 10배 이상의 차이를 나타낸다고 보고하였는데 본 실험의 결과, 사용하는 균주와 시료에 따라서 항균활성의 차이가 크게 나타나는 것을 알 수 있었다. 인진쑥 클로로포름 분획물이 paper disc agar diffusion법을 통한 항균효과에서 장내 유해균들을 50 mg/mL의 농도에서 효과적으로 억제하는 효과를 나타내었기에 이에 대하여 장내 유익균인 *B. bifidum*과 *L. acidophilus*의 생육에 미치는 영향을 알아본 결과(Fig. 3), *B. bifidum*는 대조군과 비교하였을 때 대수기에 도달하는 시간이 대조구에 비해 다소 늦었지만 생육에는 별 다른 영향

을 미치지 않는 결과를 나타내었고, *L. acidophilus*는 대조군과 비교하였을 때 비슷하게 대수기에 도달하였고 대조구보다 약간 높은 흡광도를 나타내어 생육을 증진시키는 결과를 나타내었다.

열 및 pH 안정성

인진쑥 클로로포름 분획물을 가지고 열 안정성을 측정한 결과, 항균력은 *C. perfringens*, *E. limosum* 및 *B. fragilis*의 경우 60, 80, 100°C에서는 열처리하지 않은 대조구와 비슷하게 억제환을 생성하였으나 121°C에서는 항균활성이 다른 열처리구에 비하여 덜 억제되는 결과를 보여주었다. *C. difficile*은 열처리하지 않은 대조구에 비하여 열처리한 80, 100, 121°C구간에서 항균활성이 더 커지는 효과를 나타내었다 (Table 3). 인진쑥 클로로포름 분획물을 가지고 pH 안정성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 시료를 pH 2, 4, 8로 조정 한 후 항균력을 살펴본 결과, 대조구인 0.1 N HCl과 0.1 N NaOH에 대해서는 영향을 받지 않아 환이 생성되지 않았고 시료의 pH가 알칼리성으로 변함에 따라 항균활성이 더 커지는 효과를 나타내었다. 인진쑥 클로로포름 분획물의 항균성 물질은 열에 대체로 안정하고, pH의 변화에도 안정한 결과를 보여주었다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

인진쑥의 용매 분획물별 항균성물질에 대해 기능성 성분과의 상관관계정도를 알아보고자 인진쑥의 에탄올 추출물과 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물들에 대한 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량을 알아

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimum bactericidal concentration (MBC) of chloroform fraction from ethanol extract of *Artemisia capillaris* on intestinal bacteria

Strain	Growth of various concentration(mg/mL)									MIC (mg/mL)	Growth of various concentration(mg/mL)									MBC (mg/mL)
	10.00	5.00	2.50	1.25	0.62	0.31	0.16	0	10.00		5.00	2.50	1.25	0.62	0.31	0.16	0			
<i>C. perfringens</i>	-	-	-	- <sup>1)</sup>	+ <sup>2)</sup>	+	+	+	1.25	-	- <sup>1)</sup>	+ <sup>2)</sup>	+	+	+	+	+	5.00		
<i>C. difficile</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	2.50	-	-	-	+	+	+	+	+	2.50		
<i>E. limosum</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	1.25	-	-	+	+	+	+	+	+	5.00		
<i>B. fragilis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	1.25	-	-	-	+	+	+	+	+	2.50		

<sup>1)</sup>No growth. <sup>2)</sup>Growth.

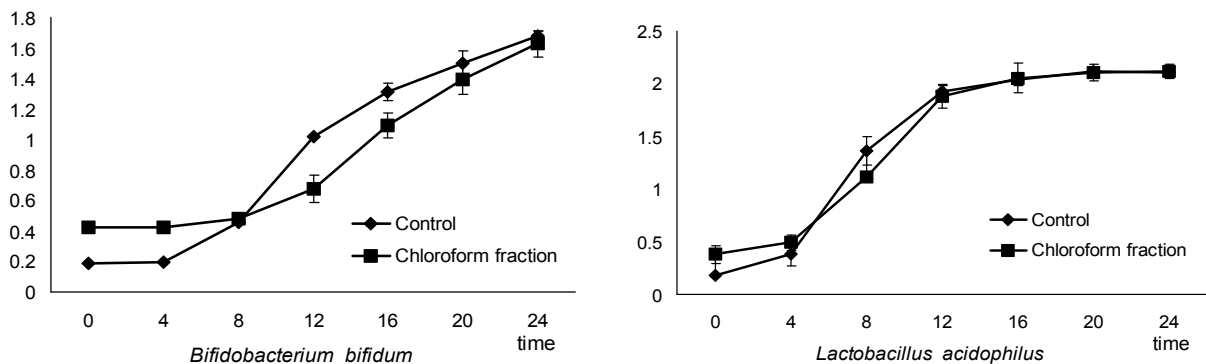


Fig. 3. Effects of *Artemisia capillaris* chloroform fraction on the growth of *B. bifidum* KCTC 3472 and *L. acidophilus* KCTC 3164.

Table 3. Heated stability and pH stability of chloroform fraction of *Artemisia capillaris* by paper disc method

Strains	<i>Artemisia capillaris</i> chloroform fraction			
	<i>C. perfingens</i>	<i>C. difficile</i>	<i>E. limosum</i>	<i>B. fragilis</i>
60°C	++ <sup>1)</sup>	+	+++	++
80°C	++	++++	+++	+++
100°C	++	++++	++	+++
121°C	+	++++	++	++
Control	++	+++	+++	+++
pH 2	++	++	++	+
pH 4	+++	++	+++	++
pH 8	+++	++	+++	++
Control	-	-	-	-

<sup>1)</sup>Growth inhibition size of clear zone: -, not detected; +, smaller than 10~12 mm; ++, 13~15 mm; +++, 16~18 mm; +++++, large than 19 mm.

본 결과(Table 4), 인진쑥의 총 폴리페놀 함량은 에틸아세테이트 분획물에서  $3.08 \pm 0.03$  mg/10 mg으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 항균활성이 가장 크게 나타난 클로로포름 분획물에서는  $0.74 \pm 0.03$  mg/10 mg의 함량을 나타내었다. 에탄올 추출물에서는  $1.85 \pm 0.03$  mg/10 mg, 헥산 분획물에서는  $0.14 \pm 0.01$  mg/10 mg, 부탄올 분획물에서는  $0.63 \pm 0.02$  mg/10 mg, 물 분획물에서는  $0.24 \pm 0.01$  mg/10 mg의 폴리페놀 함량을 나타내었다. 인진쑥의 총 플라보노이드 함량은 폴리페놀 함량과 마찬가지로 에틸아세테이트 분획물에서  $1.91 \pm 0.03$  mg/10 mg으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 항균활성이 가장 크게 나타난 클로로포름 분획물에서는  $0.28 \pm 0.002$  mg/10 mg의 함량을 나타내었다. 에탄올 추출물에서는  $1.20 \pm 0.02$  mg/10 mg, 헥산 분획물에서는  $0.12 \pm 0.004$  mg/10 mg, 부탄올 분획물에서는  $0.34 \pm 0.01$  mg/10 mg, 물 분획물에서는  $0.14 \pm 0.07$  mg/10 mg의 플라보노이드 함량을 나타내었다. 위의 인진쑥 용매 분획물의 항균활성 부분에서

도 언급한 것과 같이 에틸아세테이트층과 클로로포름층에서 상당한 항균력이 확인되었다고 하였는데, 이번 실험결과 인진쑥의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보놀 함량은 에틸아세테이트 분획물에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 항균활성이 가장 크게 나타난 클로로포름 분획물에서도 그 다음 순으로 폴리페놀의 함량을 갖고 있어 항균성 물질은 어떠한 특정 용매에만 용출되는 것이 아니라 여러 가지 성분 복합적으로 작용하여 여러 용매에 용출되어 항균작용을 할 수 있음을 다시 한 번 보여 주었다.

#### 동물 실험

인진쑥 추출물이 흰쥐의 장내균총 구성에 미치는 영향(Table 5)을 보면, control 1군과 시험 1군을 비교해 보았을 때, *Enterobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*와 *Eubacterium*는 미비하게 감소하였고, *Bifidobacterium*은 미비하게 증가하는 경향을 나타내었으며, control 2군과 시험 2군을 비교해 보았을 때, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*와 *Eubacterium*은 시험 1군에 비하여 더 감소하였고, 장내 유익균인 *Bifidobacterium*은 더 증진되는 결과를 보여주었다. 이를 통하여 보면, 인진쑥 추출물은 일반식이에 비하여 고지방식을 먹인 시험군에서 장내 유해균을 더 억제하고 장내 유익균을 약간 더 증진시키는 결과를 보여주었다. 6주간 각 군별로 급여한 결과 실험동물의 체중증가량(Table 6)은 시험 1군은 무게가 증가되었으나, 시험 2군은 무게가 감소하는 경향을 보여주었고, 혈청 지질의 농도(Table 7)는 전체적으로 고지방식을 먹인 군보다 일반식을 먹인 군의 혈청 지질의 농도가 높았고, 시험 1군은 control 1군에 비하여 혈청의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, TG의 농도가 증가하는 결과를 보여주었다. 동물실험의 결과를 종합해본 결과, 인진쑥을 먹이지 않은 일반식이군보

Table 4. Total polyphenol compound and total flavonoid compound of *Artemisia capillaris* ethanol extract and solvent fractions (concentration: mg/10 mg)

	Sample					
	Ethanol extract	n-Hexane fraction	Chloroform fraction	Ethyl acetate fraction	Butanol fraction	Water fraction
Total polyphenol compound	$1.85 \pm 0.03$ <sup>1)</sup>	$0.14 \pm 0.010$	$0.74 \pm 0.030$	$3.08 \pm 0.03$	$0.63 \pm 0.02$	$0.24 \pm 0.01$
Total flavonoid compound	$1.20 \pm 0.02$	$0.12 \pm 0.004$	$0.28 \pm 0.002$	$1.91 \pm 0.03$	$0.34 \pm 0.01$	$0.14 \pm 0.08$

<sup>1)</sup>Values are expressed as mean  $\pm$  SD.

Table 5. Analysis of intestinal microflora in the rats fed with the *Artemisia capillaris* ethanol extract by Mitsuoka method

Microorganisms	Group <sup>1)</sup> (CFU/mL)			
	Control 1	ND+AE	Control 2	HD+AE
<i>Clostridium</i>	$1.37 \times 10^7$	$1.60 \times 10^8$	$1.34 \times 10^7$	$6.87 \times 10^6$
<i>Staphylococcus</i>	$7.24 \times 10^5$	$2.46 \times 10^6$	$6.05 \times 10^4$	$1.64 \times 10^5$
<i>Enterobacteriaceae</i>	$5.25 \times 10^6$	$2.14 \times 10^6$	$1.26 \times 10^7$	$3.15 \times 10^6$
<i>Eubacterium</i>	$2.45 \times 10^6$	$1.96 \times 10^6$	$7.63 \times 10^6$	$1.28 \times 10^6$
<i>Bacteroidaceae</i>	$4.68 \times 10^6$	$3.56 \times 10^6$	$5.47 \times 10^7$	$8.84 \times 10^6$
<i>Bifidobacterium</i>	$1.07 \times 10^7$	$5.85 \times 10^7$	$1.88 \times 10^7$	$2.43 \times 10^8$

<sup>1)</sup>Control 1: normal diet group, ND+AE: normal diet + *Artemisia capillaris* ethanol extract group, Control 2: high fat diet group, HD+AE: high fat diet + *Artemisia capillaris* ethanol extract group.

Table 6. The body weight gain and food intake of the rats fed with *Artemisia capillaris* ethanol extract during six weeks

Group <sup>1)</sup>	Weight gains (g)		
	Initial	Final	Gains
Control 1	209.70±3.01 <sup>2)NS3)</sup>	363.60±12.95 <sup>NS</sup>	153.90±12.40 <sup>NS</sup>
ND+AE	216.52±3.58	370.56±8.92	154.05±7.66
Control 2	216.81±10.80	401.62±8.55	184.81±15.05
HD+AE	214.49±6.68	382.57±16.02	168.08±12.32

<sup>1)</sup>Control 1: normal diet group, ND+AE: normal diet + *Artemisia capillaris* ethanol extract group, Control 2: high fat diet group, HD+AE: high fat diet + *Artemisia capillaris* ethanol extract group.

<sup>2)</sup>All values are mean±SD.

<sup>3)</sup>Not significant.

Table 7. The serum cholesterol concentrations of the rats fed with *Artemisia capillaris* ethanol extract for six weeks

Groups <sup>1)</sup>	Serum (mg/dL)			
	HDL-C	LDL-C	T-CHO	TG
Control 1	27.00±3.28 <sup>b2)</sup>	16.61±3.76 <sup>a</sup>	93.36±9.80 <sup>NS3)</sup>	52.14±13.50 <sup>a</sup>
ND+AE	30.30±2.72 <sup>a</sup>	16.96±3.56 <sup>a</sup>	99.94±11.14	53.79±17.16 <sup>a</sup>
Control 2	24.23±2.30 <sup>c</sup>	11.84±2.60 <sup>b</sup>	92.83±7.47	33.73±6.96 <sup>b</sup>
HD+AE	25.09±1.96 <sup>bc</sup>	11.21±3.31 <sup>b</sup>	100.37±10.36	35.09±7.74 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Control 1: normal diet group, ND+AE: normal diet + *Artemisia capillaris* ethanol extract group, Control 2: high fat diet group, HD+AE: high fat diet + *Artemisia capillaris* ethanol extract group.

<sup>2)</sup>All values are mean±SD. Values within a column with different letters are significantly different by Duncan's multiple test (p<0.05).

<sup>3)</sup>Not significant.

다 인진쑥을 먹인 고지방식이군에서 인진쑥의 장내균총 개선 효과가 더 좋았으며, 일반식이군보다는 고지방식이를 먹인 군에서 무게감소 및 혈청지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, TG의 농도가 감소되는 효과를 보여 주어 인진쑥은 고지방식이를 하는 비만군에서 장내균총 개선 및 다이어트에 더 좋은 효과가 나타날 것으로 기대된다.

고, 장내 유익균은 증식시키거나 별다른 영향을 주지 않는 결과, 인체 장내 균총 조성을 바람직한 방향으로 개선시켜 장내 기능을 향상시킬 수 있을 것으로 기대되고 인진쑥 추출물의 장내유해세균에 대한 항균효과를 확인함으로써 장내 균총 개선을 위한 기능성식품으로 활용할 가치가 있는 것으로 사료된다.

요 약

문 헌

본 실험은 인진쑥의 용매 분획물에 대하여 항균활성을 검색하였다. 이에 따라 가장 항균활성이 좋은 인진쑥의 클로로포름 분획물을 가지고 항균활성실험을 진행하였고, 기능성 물질인 페놀류의 함량 정도에 따라 항균활성을 보여주는 지에 대하여 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 분석하였고, in vivo 실험을 통하여 장내미생물 균총의 변화를 확인하였다. 인진쑥 에탄올 추출물을 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올로 분획하여 용매 분획물을 가지고 항균활성을 검색한 결과, paper disc agar diffusion법에서 장내유해균인 *C. perfringens*, *C. difficile*, *E. limosum* 및 *B. fragilis* 모두가 다른 용매 분획물들에 비해 클로로포름 분획물에서 생육 억제환의 크기가 가장 크게 생성되었다. 장내유익균인 *B. bifidum*, *L. acidophilus*는 인진쑥의 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물에서 억제환이 생성되지 않은 결과를 보여주었다. 동물실험 결과, 인진쑥 추출물은 일반식이군에 비하여 비만식이군에서 장내유해균을 억제하고 장내 유익균을 증진시키는 결과를 보여주었다. 상기 결과들을 종합해 볼 때, 인진쑥 추출물은 장내 유해균은 억제시키

- Kim TJ, Jang JS. 1996. *Korean Resources Plants VI*. Seoul National University Publishing Department Corp., Seoul, Korea. p 259.
- Lee SG. 2005. The therapeutic effect of *Artemisia capillaris* extract on hepatic damage induced by carbon tetrachloride in rats. *J Vet Clin* 22: 206-213.
- Park SH, Kwak JS, Park SJ, Han JH. 2004. Effects of beverage including extracts of *Artemisia capillaris* on fatigue-recovery materials, heart rate and serum lipids in university male athletes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 839-846.
- Kim HT, Kim JW, Lim MK, Yeo SG, Jang KH, Oh TH, Lee KW. 2007. Antimicrobial effects of *Artemisia capillaris* extracts on the pathogenic bacteria in vitro. *J Vet Clin* 24: 130-136.
- Han EK, Jin YX, Yoo YS, Jung EJ, Lee JY, Chung CK. 2009. Effect of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the reduction of hepatotoxicity and lipid metabolism induced by ethanol. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1016-1023.
- Lim SS, Kim MH, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *Cirsium japonicum* var *ussuriense* on liver function, body lipid, and bile acid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 30: 797-802.
- Cho HY, Yoon SY, Park JJ, Yun KW, Park JM. 2006.

- Antimicrobial activity of water-soluble extract from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 129-132.
8. Kim HC, Gil BS, Lee YH. 2001. The antifungal activity of chemical substances from *Artemisia annua*. *Korean J Ecol* 24: 137-140.
  9. Chae GC, Auh QS, Chun YH, Hong JP. 2009. Antibacterial activity of *Artemisia capillaris* THUNB on oral bacteria. *Korean J Oral Med* 34: 169-177.
  10. Hwang YK, Kim DC, Hwang WI, Han YB. 1998. Inhibitory effect of *Artemisia princeps* Pampan extract on growth of cancer cell lines. *Korean J Nutr* 31: 799-808.
  11. Lee MK, Choi GP, Ryu LH, Lee GY, Yu CY, Lee HY. 2004. Enhanced immune activity and cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. extracts against human cell lines. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 36-42.
  12. Lee GD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. 1992. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood (*Artemisia montana* Pampan). *J Korean Soc Food Nutr* 21: 17-22.
  13. Kim JO, Kim YS, Lee JH, Kim NN, Lee SH, Moon SH, Park GY. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 308-313.
  14. Lim SS, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *Cirsium japonicum* var *ussuriense* on serum lipid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 30: 12-18.
  15. Cheong JY, Oh TY, Lee KM, Kim DH, Ahn BO, Kim WB, Kim YB, Yoo BM, Hahm KB, Kim JH, Cho SW. 2002. Suppressive effects of antioxidant DA-9601 on hepatic fibrosis in rats. *Korean J Hepatol* 8: 436-444.
  16. Twaij HA, Al-Badr AA. 1988. Hypoglycemic activity of *Artemisia herba alba*. *J Ethnopharmacol* 24: 123-126.
  17. Cummings JH, Macfarlane GT. 1991. The control and the consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J Appl Bacteriol* 70: 443-459.
  18. Mitsuoka T. 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol* 6: 263-268.
  19. Isolauri E, Salminen S, Ouwehand AC. 2004. Probiotics. *Best Pract Res Clin Haematol* 18: 299-313.
  20. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JH. 1998. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol* 41: 85-101.
  21. Mitsuoka T. 1992. Intestinal flora and aging. *Nutr Rev* 50: 438-446.
  22. Cho IS, Han YH, Lee GY, Park KY. 2007. Search for medicinal plants on improvable effect of intestinal microflora. *Korean J Medicinal Crop Sci* 15: 26-29.
  23. Ha MH, Park WP, Lee SH, Heo HJ, Cho SH. 2007. Antimicrobial characteristic of methanolic extracts from *Prunus mune* byproduct against food spoilage microorganism. *Korean J Food Preserv* 14: 183-187.
  24. Moon YG, Song CY, Yeo IK, Kim GY, Heo MS. 2008. Antibacterial activities of *Suaeda maritima* extract. *J Life Sci* 18: 776-781.
  25. Jung SM, Choi SI, Park SM, Heo TR. 2007. Antimicrobial effect of *Achyranthes japonica* Nakai extracts against *Clostridium difficile*. *Korean J Food Sci Technol* 39: 564-568.
  26. Lee SY, Kim JG, Baik BJ, Yang YM, Lee KY, Lee YH, Kim MA. 2009. Antimicrobial effect of essential oils on oral bacteria. *J Korean Acad Pediatr Dent* 36: 1-11.
  27. Lofland D, Difuntorum S, Waller A, Clements JM, Weaver MK, Karlowksy JA, Johnson K. 2004. *In vitro* antibacterial activity of the peptide deformylase inhibitor BB-83698. *J Antimicrob Chemother* 53: 664-668.
  28. Dewanto V, Xianzhong W, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
  29. Choi Y, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee J. 2003. The antioxidant activities of the some commercial test. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
  30. Mitsuoka T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 1: 3-24.
  31. Bae JH. 2003. Effect of *Artemisia capillaris* extract on the growth of food-borne pathogens. *Korean J Nutr* 36: 147-153.
  32. Park CG, Bang KH, Lee SE, Cha MS, Sung JS, Park HW, Seong NS. 2001. Antibacterial activity from medicinal plant extracts on the *Staphylococcus aureus*. *Korean J Medicinal Crop Sci* 9: 251-258.
  33. Yeo SG, Ahn CW, Kim IS, Park YB, Park YH, Kim SB. 1995. Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 293-298.

(2010년 3월 15일 접수; 2010년 10월 21일 채택)