

피부 상재균에 대한 니아울리 잎 추출물의 항균활성

장 하나·박수남[†]

서울과학기술대학교 정밀화학과, 화장품종합기술연구소
(2014년 8월 1일 접수, 2014년 8월 8일 수정, 2014년 8월 26일 채택)

Antimicrobial Activity of Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) Leaf Extracts against Skin Flora

Ha Na Jang and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, Cosmetic R&D Center, Seoul National University of Science and Technology,
232 Gongneung-ro, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea
(Received August 1, 2014; Revised August 8, 2014; Accepted August 26, 2014)

요약: 본 연구에서는 피부 상재균에 대한 니아울리 잎 추출물의 항균활성을 조사하였다. 실험에 사용한 피부 상재균의 종류는 그람 양성균인 *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)와 그람 음성균인 *Escherichia coli* (*E. coli*) 및 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), 효모균인 *Plasmodium ovale* (*P. ovale*)이다. 이들 피부 상재균에 대한 니아울리 잎 추출물 또는 분획의 항균활성은 disc diffusion assay 및 broth dilution assay 측정법으로 평가하였다. 실험결과 피부 상재균인 *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. acnes*, *E. coli* 및 *P. aeruginosa*에 대한 니아울리 잎 50% 에탄올 추출물의 최소성장억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 각각 0.25%, 0.50%, 1.00%, 0.13% 및 0.25%, 물 분획에서의 MIC는 0.25%, 0.25%, 4.00%, 0.25% 및 0.25%를 나타내었다. 하지만 *P. ovale*인 비듬균에 대해서는 항균활성을 나타내지 않았다. 비교 물질로 사용한 메틸 파라벤의 MIC는 각각 0.25%, 0.25%, 0.25%, 0.13% 및 0.50%를 나타내었다. 추출물의 상재균에 대한 최소사멸농도(minimum bactericidal concentration, MBC)는 50% 에탄올 추출물의 경우 각각 2.00%, 2.00%, 1.00%, 0.50% 및 2.00%였고, 물 분획에서는 0.50%, 0.25%, 4.00%, 0.50% 및 1.00%를 나타내었다. 비교 물질로 사용한 메틸 파라벤의 MBC는 각각 1.00%, 0.5%, 0.50%, 0.5% 및 1.00%로 추출물의 물 분획에서는 *P. acnes*를 제외한 피부 상재균에 대한 항균활성이 우수한 것으로 나타났고 50% 에탄올 추출물도 메틸 파라벤에 근접하는 항균활성을 나타내었다. 이러한 결과들은 니아울리 잎 50% 에탄올 추출물/분획은 피부 상재균에 대한 항균활성을 나타내는 천연 방부제로서 화장품에 응용 가능성을 시사한다.

Abstract: In this study, the antimicrobial activity of niaouli leaf extracts was evaluated against skin flora. The skin flora used for experiments were three gram-positive bacteria such as *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), and two gram-negative, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), and the yeast, *Plasmodium ovale* (*P. ovale*). The bioassay applied for determining the antimicrobial effects of niaouli leaf extracts or fraction included the disc diffusion assay and broth dilution assay. Minimum inhibitory concentration (MIC) values of 50% ethanol extract on *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. acnes*, *E. coli* and *P. aeruginosa* were 0.25%, 0.50%, 1.00%, 0.13% and 0.25% respectively and the MIC values of water fraction were 0.25%, 0.25%, 4.00%, 0.25% and 0.25%. *P. ovale* did not show antimicrobial activities. The MIC values of methyl paraben used as positive control indicated 0.25%, 0.25%, 0.25%, 0.13% and 0.50%. Also, Minimum bactericidal concentration (MBC) values

[†] 주 저자 (e-mail: snpark@seoultech.ac.kr)

of 50% ethanol extract were 2.00%, 2.00%, 1.00%, 0.50% and 2.00% individually and the MBC values of water fraction were 0.50%, 0.25%, 4.00%, 0.50% and 1.00%. The MBC values of methyl paraben indicated 1.00%, 0.500%, 0.50%, 0.50% and 1.00%. These results showed that water fraction was as good as methyl paraben except for *P. acnes*. The 50% ethanol extract also showed activity similar with it. Thus, it is concluded that the 50% ethanol extract/fraction of niaouli could be applicable to cosmetics as a natural preservatives effective in antimicrobial activity against skin flora.

Keywords: *Melaleuca quinquenervia*, niaouli, antimicrobial activity, skin flora

1. 서 론

최근 산업화로 인해 피부에 유해물질의 노출이 빈번해지고, 식습관과 생활 패턴의 변화로 아토피나 알러지 등을 수반하는 민감성 피부가 증가하는 추세에 있다. 피부는 태양 자외선에 노출되면 활성산소 생성을 경유하여 광산화적 손상이 일어나게 되고 결국 피부 노화가 가속화될 수 있다[1-4]. 또한 피부는 피부 상재균에 의해서도 각종 피부질환이 발생할 수 있다. 이러한 피부 상재균으로는 그람 양성균인 *B. subtilis*, *S. aureus* 및 *P. acnes*와 그람 음성균인 *E. coli* 및 *P. aeruginosa*가 있다. 그 외에 효모균인 *P. ovale*는 지루성 피부염과 비듬을 유발하는 것으로 알려져 있다. 피부에서 흔히 나타나는 여드름은 심리적, 내분비적 및 물리화학적 요인 등 다양한 원인이 복합적으로 작용하여 나타나는 피부 질환이다. 여드름 유발균인 *P. acnes*는 주로 모낭과 피지선이 많이 분포된 얼굴, 가슴 등에서 성장하며, 모낭의 피지선에 피지가 정체되면 모낭 입구는 막히게 되고 결국 모낭 내부에서 여드름균의 작용으로 여드름이 발생한다. 이와 같이 피부 상재균 및 기타 세균의 증식은 피부 질환을 유발시킬 뿐만 아니라 피부 세포나 장벽 기능에 손상을 야기시킬 수 있다.

화장품은 제품의 부적절한 방부 시스템 또는 사용시에 오염된 세균의 작용으로 향취이상, 색상변화, 점도변화 및 곰팡이 번식 등의 제품 안정성에 문제가 발생하여 품질의 저하를 초래할 수도 있고 안질환 등 인체에 유해한 질병이 나타날 수도 있다[5]. 그러므로 과잉의 피부 상재균이나 기타 세균으로부터 피부를 보호하고 화장품의 제형 안정성을 유지시키기 위해서는 적절한 항균작용을 나타내는 방부제의 사용은 필수적이다. 그러나 대표적으로 사용되는 합성 방부제인 파라벤류(메틸 파라벤 등)는 피부에 자극을 줄 수 있고

안전성에도 문제를 일으킬 수 있음이 보고되고 있다. 따라서 인체에 무해하며 유해한 세균으로부터 피부를 보호하고 각종 세균으로부터 화장품의 품질을 양호하게 유지시킬 수 있는 천연 항균제(또는 방부제) 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 따라서 저자들은 합성 방부제를 대체할 수 있는 국내 자생 식물 추출물로 천연 방부제 또는 항균제를 개발하고 이것이 화장품에 응용 가능한지를 탐색하는 연구들을 계속 수행해 오고 있다[6,7].

니아울리(Niaouli, *Melaleuca quinquenervia*)는 4 - 12 m의 높이로 자라는 키 큰 나무이며 뉴칼레도니아 지역 또는 오스트레일리아의 동부 해안 등에서 자생한다[8,9]. 니아울리 추출물 관련 주 연구로는 니아울리에센셜 오일에 있어서 *Candida albicans* (*C. albicans*), *E. coli*, *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) 및 *S. aureus* 등에 대한 항균활성이 일부 보고되고 있다[10-14]. 그러나 니아울리 오일이 아닌 잎 추출물 또는 분획의 피부 상재균에 대한 항균활성이나 항산화 활성 및 성분 분석에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다[15]. 따라서 본 연구에서는 니아울리 잎 추출물/분획에 대한 항균활성을 측정하였고, 니아울리 잎 추출물에 우수한 항균활성이 있음을 확인하였다. 이 연구를 통하여 니아울리 잎 추출물이 화장품 및 식품 산업에서 합성 방부제를 대체할 수 있는 천연 방부제로써 이용 가능성이 있는지를 검토하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료, 시약 및 기기

본 연구에서 실험 재료로 사용한 건조된 니아울리 잎과 잎에서 추출한 에센셜 오일은 코스메칼코리아에서 제공 받았다. 이 니아울리 잎은 뉴칼레도니아(New Caledonia)에서 자생하는 니아울리 잎을 채취하여 건

Table 1. List of Strains and Cultivation Condition Used for Antimicrobial Experiment

Strains	Media	Temperature(°C)	Time(h)
<i>S. aureus</i> ATCC6538	MH ¹⁾	37	24
<i>B. subtilis</i> ATCC19659	MH	37	24
<i>E. coli</i> ATCC23736	MH	37	24
<i>P. aeruginosa</i> ATCC29336	MH	37	24
<i>P. ovale</i> ATCC12078	Pityrosporum medium ²⁾	30	72
<i>P. acnes</i> ATCC6919	RC ³⁾	37 (CO ₂)	72

¹⁾ Mueller-Hinton medium

²⁾ Malt extract agar 6%, oxbile 2%, Tween 40 1%, glycerol monooleate 0.25%

³⁾ Reinforced clostridial medium

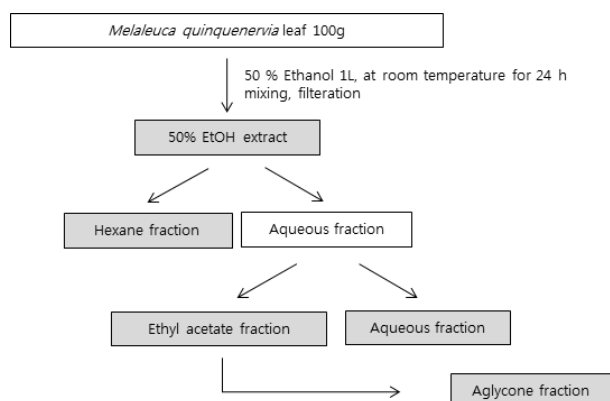


Figure 1. Preparation of extract and fraction from *Melaleuca quinquenervia* leaf.

조시킨 것이다. 에탄올, 에틸아세테이트, 헥산, dimethyl sulfoxide 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였고, 항균활성 비교물질로 사용한 화장품 방부제인 메틸 파라벤, 프로필 파라벤은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 니아울리의 추출 및 분획

건조된 니아울리 잎 100 g을 잘게 자른 후 50% 에탄올 1 L를 가하고 24 h 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액 일부를 감압 건조하여 50% 에탄올 추출물 파우더를 얻어 실험에 사용하였다. 나머지 50% 에탄올 추출물은 n-헥산으로 오일 및 클로로필을 완전히 제거하고, 이어서 에틸아세테이트, 물을 이용하여 에틸아세테이트 분획물을 얻었다. 이 분획물을 감압 농축하여 파우더를 얻고 이를 실험에 사용하였다.

에틸아세테이트 분획물로부터 아글리콘(aglycone) 제조 : 에틸아세테이트 파우더 일정량에 H₂SO₄ 및 아세톤 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류 냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5% KOH-methanol 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 에틸아세테이트로 추출하고 이를 감압 농축하여 아글리콘 분획을 얻어서 실험에 사용하였다.

2.3. 사용 균주 및 배양조건

본 연구에 사용된 균주는 피부 상재균으로써, 그람 양성균주 3종, 그람 음성균주 2종 및 효모균 1종으로 총 6종의 균주이다. 여드름 원인균인 혐기성 그람 양성 균주 *P. acnes* (ATCC 6919)와 비듬균인 *P. ovale* (ATCC12078), 호기성 그람 양성균주인 *S. aureus* (ATCC 6538), *B. subtilis* (ATCC19659), 호기성 그람 음성균주인 *E. coli* (ATCC 23736), *P. aeruginosa* (ATCC29336)를 한국 미생물 보존센터(KCCM)에서 분양 받아 사용하였다. 배양 조건은 Table 1에 나타내었다. *P. acnes*는 배양 배지에 접종 후 anaerobic jar에서 Gaspack system (Merck Anaerocult®Gaspacksystem, Germany)을 사용하여 밀봉하여 혐기성 정지 배양하였으며, *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* 및 *P. aeruginosa*와 효모균인 *P. ovale*은 진탕 배양하여 사용하였다.

2.4. Disc diffusion assay

니아울리 잎 추출물의 항균력 시험은 시험 균주를 대상으로 disc diffusion assay를 실시하였다. 대조균으로는 합성 방부제인 메틸 파라벤, 프로필 파라벤을 사

Table 2. Extraction Yields of *M. quinquenervia* Leaf Extracts

Solvent	Yield (% w/w) ¹⁾
50% Ethanol extract	30.91
Ethyl acetate fraction	2.47
n-Hexane fraction	1.08
Water fraction	9.35
Aglycone fraction	1.30

¹⁾Yield (% w/w) = (weight of dried extract / weight of dried raw material) × 100

용하였으며, 평판배지에 각각의 배양 균주를 접종하여 멸균 면봉을 이용하여 100 μ L씩 균일하게 도말하여 건조시켰다. 시료는 disc 당 0.5, 1.5, 2.5 mg/disc로 농도를 달리하여 추출물 분획 파우더는 DMSO에 에센셜 오일은 에탄올에 용해하였으며, 멸균 paper disc (diameter 8 mm, Roshi kaisha. Ltd., Tokyo, Japan)에 시료를 천천히 흡수시켜 도말한 평판배지 위에 밀착시킨 상태로 배양하였다. 24 - 48 h 배양 후 disc 주변에 생성된 저해환(clear zone, mm)의 직경을 측정하여 항균활성을 비교하였다.

2.5. 최소성장억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)와 최소살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC) 측정

MIC와 MBC 측정은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)에서 제시한 미세희석(micro-dilution)법을 이용하여 실시하였다. 시험 균주들은 2배 희석법을 이용하여 단계별로 희석된 시료(0.016 ~ 4%)를 함유한 각각의 배지에 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL가 되도록 희석하여 96-well plate에 접종한 후 30 ~ 37 °C의 배양기에서 배양하였다. 각각의 시료 농도로 처리된 세균 및 진균들을 시료가 없는 평판배지에 100 μ L씩 취하여 도말하여 배양 후 plate count method로 생성된 콜로니(colony)를 계수하여 육안으로 확인하였을 때 집락을 형성하지 않는 well의 농도 중 최소 농도를 MIC로 결정하였다. 위의 세균 배양액에서 10 μ L를 취하여 시료를 고농도로 2배 희석 후 배양하여 한천배지에 도말하였다. *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* 및 *P. aeruginosa*의 경우 37 °C에서 24 h, *P. acnes*는 48 h, 30 °C에서 *P. ovale*는 24 h 배양한 뒤 형성된 콜로니를 확인하여 평판배지 상에서 집락이 형성되지 않은 최소 농도를 MBC

로 결정하였다. 음성 대조군으로는 DMSO를, 양성 대조군으로는 메틸 파라벤과 프로필 파라벤을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 니아울리 잎의 분획별 추출 수득율

니아울리 잎의 용매별 분획물의 수득율은 Table 2와 같다. 니아울리 잎 100 g을 50% 에탄올 1 L에 24 h 동안 침적시킨 후 여과 및 감압하여 에탄올 추출물 파우더를 얻었고, 이때 50% 에탄올 추출물의 수득율은 30.91%이었다. 50% 에탄올로 추출한 것을 헥산으로 비극성 물질을 완전히 제거한 뒤 에틸아세테이트로 분획하여 추출하였으며, 수득률은 각각 에틸아세테이트분획 2.47%, 헥산 분획 1.08%, 물 분획 9.35%이었다. 에틸아세테이트 분획을 산가수분해 시켜서 당을 제거한 아글리콘의 수득률은 1.30%이었다.

3.2. 니아울리 잎 추출물의 항균활성 측정

3.2.1. 추출 분획의 종류에 따른 니아울리의 항균활성

극성도가 다른 추출 용매로 사용된 에탄올, 에틸아세테이트, 헥산, 물, 아글리콘 및 에센셜 오일에 대한 항균활성을 비교한 결과, 50% 에탄올 추출물과 물 분획에서 뚜렷한 항균력을 보였다. 니아울리의 에센셜 오일이 일부 항균활성을 나타낸다는 보고가 있지만, 본 연구에서 니아울리 잎 추출물/분획의 피부 상재균에 대한 항균 실험 결과, 추출물 중 헥산 분획 및 아글리콘 분획과 니아울리 에센셜 오일에서는 항균력을 보이지 않았다. 본 연구에 앞서 선행연구에서 85% 에탄올 추출물과 50% 에탄올 추출물을 disc diffusion assay로 비교했을 때 50% 에탄올 추출물에서 보다 더

Table 3. Antimicrobial Activity of *M. quinquenervia* Leaf Extracts against Various Microorganisms

Strains		Zone diameter (mm)					
		Gram positive bacteria			Gram negative bacteria		Yeast
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. acnes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. ovale</i>
Control	DMSO	¹⁾ -	-	-	-	-	-
Positive control	MP	11	12	14	18	18	24
	PP	15	12	17	8.5	9	18
Fractions	50% EtOH	14	17	10	14	16	-
	EtOAc	-	14	-	-	-	-
	Hexane	-	14	-	-	-	-
	Water	14	17	10	14	15	-
	Essential oil	-	-	-	-	-	-
	Aglycone	-	12	-	-	-	-

¹⁾No inhibition.

Concentration of fractions : 2.5 mg/disc

Table 4. Minimum Inhibitory Concentration (MIC, %) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC, %) of Extract and Fraction from *M. quinquenervia* Leaf against Various Bacteria

Strains	MIC (% w/v)				MBC (% w/v)			
	MP	PP	50% EtOH	Water	MP	PP	50% EtOH	Water
<i>B. subtilis</i>	0.25	0.06	0.25	0.25	1.00	0.13	2.00	0.50
<i>S. aureus</i>	0.25	0.06	0.50	0.25	0.50	0.13	2.00	0.25
<i>P. acnes</i>	0.25	0.06	1.00	4.00	0.50	0.13	1.00	4.00
<i>E. coli</i>	0.13	0.06	0.13	0.25	0.50	0.13	0.50	0.50
<i>P. aeruginosa</i>	0.50	1.00	0.25	0.25	1.00	2.00	2.00	1.00

우수한 효과를 나타냈다. 따라서 50% 에탄올 추출물에 대한 각 분획별 추출물/분획을 제조하고 항균활성을 측정 한 결과가 Table 3에 나타내었다.

3.2.2. Disc diffusion assay를 이용한 항균활성

추출/분획물에 대한 항균효과를 조사하기 위하여 니아올리 잎 50% 에탄올 추출물, 50% 에탄올 추출물로부터 에틸아세테이트, 헥산 및 물 분획을 얻고, 이들 추출/분획물들에 대한 항균활성을 paper disc method로 측정하였다. 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 니아올리의 에센셜 오일을 제외한 모든 추출물과 분획물들은 모두 황색포도상구균(*S. aureus*)에 대해서 대

조균인 메틸 파라벤과 프로필 파라벤과 비교할 때 큰 항균활성을 나타내었다. 효모균인 비듬균(*P. ovale*)에 대한 추출물과 분획의 항균활성은 실험한 농도에서 전혀 나타나지 않았다. 반면에 대조균인 메틸 파라벤과 프로필 파라벤은 *P. ovale*에 항균활성을 나타냈다. 추출물/분획 중에서 50% 에탄올 추출물과 물 분획만이 *P. ovale*을 제외한 모든 피부 상재균에서 큰 항균활성을 나타내었다. 하지만 실험한 농도에서 에틸아세테이트, 헥산, 아글리콘 분획은 *S. aureus*을 제외하고는 항균활성이 전혀 나타나지 않았다. 본 실험에서 니아올리 잎에서 추출한 에센셜 오일(코스메칼 코리아에서 제공받음)은 3, 6, 13, 25, 50% 농도에서 피부

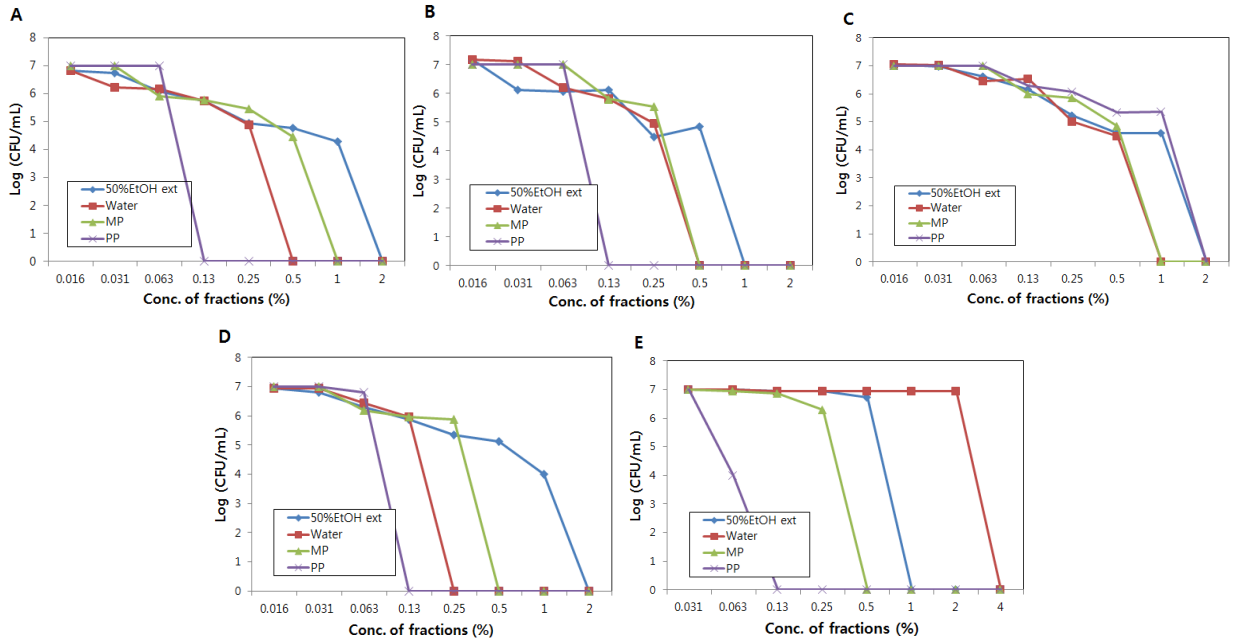


Figure 2. Antimicrobial effects of *M. quinquenervia* leaf extracts against bacteria in various concentration. (A : *B. subtilis*, B : *E. coli*, C : *P. aeruginosa*, D : *S. aureus*, E : *P. acnes*, MP : Methyl paraben, PP : Propyl paraben)

상재균에 대해 항균력을 나타내지 않았다. Wilkinson 등(2005)은 disc diffusion assay를 이용해서, 오스트레일리아에서 자생한 니아올리(*M. quinquenervia*)로부터 얻은 에센셜 오일의 항균활성을 보고하였다[12]. 이 논문에서 에센셜 오일의 농도가 100%일 때 *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* 및 *Alcaligenes faecalis* (*A. faecalis*)에 대해서 약간의 항균활성을 보였으며 10%의 농도에서는 이들 균에 대하여 항균활성을 거의 나타내지 않았음을 보고하였다. 저자들의 연구에서도 에센셜 오일은 피부 상재균에 대하여 항균활성을 보이지 않았다.

3.2.3. 최소성장억제농도와 최소살균농도 비교

Disc diffusion assay에서 가장 우수한 항균효과를 보였던 니아올리의 50% 에탄올 추출물과 물 분획(50% 에탄올 추출물로부터 분획함)에 대하여 성장 억제 경향성을 확인하기 위해 MIC와 MBC를 수행하였으며, 측정 결과는 Table 4와 같다. 에탄올 추출물과 물 분획의 농도가 증가함에 따라 콜로니가 농도 의존적으로 감소하는 것을 알 수 있었으며, 이로부터 세균의 최소살균농도인 MBC를 확인하였다. 피부 상재균을 50% 에탄올 추출물과 물 분획에 노출시킨 후 추출물

농도별 CFU의 변화를 Figure 2에 나타내었다. Figure 2에서와 같이, 비교물질로는 메틸 파라벤과 프로필 파라벤을 사용하였다. 프로필 파라벤의 경우 *P. aeruginosa*를 제외한 모든 피부 상재균에 대하여 메틸 파라벤 보다도 높은 항균력을 나타내었다. 이러한 결과는 일반적으로 프로필 파라벤이 메틸 파라벤보다 항균력이 높다는 보고와도 일치한다[16]. 50% 에탄올 추출물과 물 분획의 최소살균농도를 비교해보면, *P. acnes*을 제외한 모든 피부 상재균에서 물 분획이 50% 에탄올 추출물보다 항균활성이 높음을 보여주고 있다. 특히 *P. acnes*에 대하여 물 분획보다도 높은 항균활성을 보인 50% 에탄올 추출물에 대해서는 추가적인 성분 분석 연구가 필요한 것으로 보인다. 50% 에탄올 추출물 또는 그 활성 성분은 여드름 피부 트러블을 완화시키는 소재로서 응용 가능성이 있을 것으로 사료된다. 저자들은 비듬균(*P. ovale*)에 대한 50% 에탄올 추출물과 물 분획의 항균활성이 실험한 농도 범위에서 나타나지 않는 것을 확인하였다(Figure 2 및 Table 4에 표시하지 않았음). *S. aureus*에 대한 항균활성이 가장 큰 물 분획의 경우 최소살균농도(MBC)는 0.25%였으며, *S. aureus* 및 *B. subtilis*에 대한 니아올리 잎 추출물의 물 분획의 항균활성은 메틸 파라벤보다 2배 우수한 것으

로 나타났고, *E. coli*와 *P. aeruginosa*에 대한 최소살균농도(MBC)는 물 분획과 메틸 파라벤이 동일 하였다.

결과적으로 니아울리 잎 추출물의 피부 상재균에 대한 항균활성 실험 결과 물 분획에서 감수성이 뛰어난 것을 확인하였다. 또한 그람 양성균보다는 그람 음성균에 대한 MIC 값이 낮은 것으로 볼 때 이러한 감수성의 차이는 세균의 종류에 따른 니아울리 잎의 항균 성분에 대한 저항성에 차이일 것으로 사료된다. 그람 양성균과 그람 음성균은 세포벽의 구성 및 그 두께가 다르므로 감수성에도 차이가 발생할 것으로 추정되나, 니아울리 잎 추출물의 그 밖의 효능과 항균 작용 메커니즘을 밝히기 위해 항균 작용 성분을 규명하기 위한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 최근 천연물의 항균 활성에 관한 연구가 매우 활발히 이루어지고 있는데, 니아울리 잎 추출물이 현재 사용되고 있는 방부제와 동등 또는 그 이상의 활성을 나타내기 때문에 천연 방부제 및 항균제로서의 역할을 충분히 발휘할 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 니아울리 잎 추출물을 화장품의 소재로 이용할 목적으로, 항균활성이 높은 추출물을 얻기 위한 추출 분획 조건을 확립하였고 각각의 조건별 추출물에 대하여 추출 수율 및 항균활성을 측정하였다.

1) 니아울리 잎 추출물의 추출 분획별 추출 수율은 각각 50% 에탄올 추출물의 추출 수율 30.91%, 에틸아세테이트 분획 2.47%, 헥산 분획 1.08%, 물 분획 9.35%이었다. 또한 에틸아세테이트 분획을 산가수분해 시켜서 당을 제거한 아글리콘의 수득률은 1.30%이었다. 특히 50% 에탄올 추출물이 매우 높은 수율을 나타냈으며, 이어 물 분획에서 높은 수율을 나타내었다.

2) Disc diffusion assay에서 니아울리의 에센셜 오일을 제외한 모든 추출물과 분획물들은 모두 황색포도상구균(*S. aureus*)에 대해서 대조균인 메틸 파라벤과 프로필 파라벤과 비교할 때 큰 항균활성을 나타내었다. 추출물/분획 중에서 50% 에탄올 추출물과 물 분획만이 *P. ovale*을 제외한 모든 피부 상재균에서 큰 항균활성을 나타내었다.

3) Disc diffusion assay에서 가장 우수한 항균효과를

보였던 니아울리의 50% 에탄올 추출물과 물 분획에 대하여 성장 억제에 대한 경향성을 확인하기 위해 MIC와 MBC를 수행하였다. 에탄올 추출물과 물 분획은 농도 의존적으로 콜로니가 감소하였다. 50% 에탄올 추출물과 물 분획의 최소살균농도를 비교해보면, *P. acnes*을 제외한 모든 피부 상재균에서 물 분획이 50% 에탄올 추출물보다 항균활성이 높음을 보여주었다. *S. aureus*에 대한 항균활성이 가장 큰 물 분획의 경우 최소살균농도(MBC)는 0.25%였으며, *S. aureus* 및 *B. subtilis*에 대한 니아울리 잎 추출물의 물 분획의 항균활성은 메틸 파라벤보다 2배 우수한 것으로 나타났고, *E. coli*와 *P. aeruginosa*에 대한 최소살균농도(MBC)는 물 분획과 메틸 파라벤이 동일 하였다.

결론적으로 본 연구에서는 추출 용매별 니아울리 잎의 분획별 추출물을 제조하고 이들 추출물의 수율과 항균활성을 조사하였다. 이 중 가장 우수한 추출 분획은 50% 에탄올 추출물과 물 분획임을 확인하였다. 50% 에탄올 추출물과 물 분획물은 천연 방부제로서 화장품에서 파라벤류를 대체할 수 있는 가능성을 기대할 수 있을 것으로 보인다.

Acknowledgement

이 연구는 2014년 서울과학기술대학교 교내연구비의 지원으로 수행되었습니다.

Reference

1. C. H. Choi, D. H. Won, J. P. Hwang, and S. N. Park, Antioxidative effect of extracts from different parts of *Juncus effusus* L., *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **38**(3), 275 (2012).
2. N. R. Jo, S. A. Park, J. H. Ha, S. H. Jeon, and S. N. Park, Cellular protective effect and antioxidative activity of resveratrol, *Appl. Chem. Eng.*, **24**(5), 483 (2013).
3. G. N. Lim, M. A. Park, and S. N. Park, Antioxidative and antiaging effects of *Sorbus commixta* twig extracts, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **28**(4), 482 (2011).

4. E. H. Kim, J. E. Kim, and S. N. Park, Antioxidative and antiaging effects of *Persicaria hydropiper* L. extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **35**(4), 293 (2009).
5. H. J. Kim, J. Y. Bae, H. N. Jang, and S. N. Park, Comparative study on the antimicrobial activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* extracts with various countries of origin as natural antiseptics, *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **41**(3), 358 (2013).
6. H. G. Yang, H. J. Kim, H. S. Kim, and S. N. Park, Antioxidative and antibacterial activities of *Artemisia princeps* pampanini extracts, *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **40**(3), 250 (2012).
7. S. Y. Kim, M. H. Lee, N. R. Jo, and S. N. Park, Antibacterial activity and skin moisturizing effect of *Cedrela sinensis* A. juss shoots extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **36**(4), 315 (2010).
8. B. F. Ireland, D. B. Hibbert, R. J. Goldsack, J. C. Doran, and J. J. Brophy, Chemical variation in the leaf essential oil of *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake, *Biochem. Syst. Ecol.*, **30**(5), 457 (2002).
9. B. L. Trilles, I. Bombarda, S. Bouraïma-Madjebi, P. Raharivelomanana, J. P. Bianchini, and E. M. Gaydou, Occurrence of various chemotypes in niaouli [*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake] essential oil from New Caledonia, *Flavour Fragr. J.*, **21**(4), 677 (2006).
10. C. W. Lin, C. W. Yu, S. C. Wu, and K. H. Yih, DPPH free-radical scavenging activity, total phenolic contents and chemical composition analysis of forty-two kinds of essential oils, *J. Food Drug Anal.*, **17**(5), 386 (2009).
11. M. Oussalah, S. Caillet, L. Saucier, and M. Lacroix, Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat, *Meat Sci.*, **73**(2), 236 (2006).
12. J. M. Wilkinson and H. M. A. Cavanagh, Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants, *Phytotherapy Res.*, **19**(7), 643 (2005).
13. K. A. Hammer, C. F. Carson, and T. V. Riley, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *J. Appl. Microbiol.*, **86**(6), 985 (1999).
14. J. R. Hood, J. M. Wilkinson, and H. M. A. Cavanagh, Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research, *J. Essent. Oil Res.*, **15**(6), 428 (2003).
15. F. A. Moharram, M. S. Marzouk, S. A. A. El-Toumy, A. A. E. Ahmed, and E. A. Aboutabl, Polyphenols of *Melaleuca quinquenervia* leaves - pharmacological studies of grandinin, *Phytother. Res.*, **17**(7), 767 (2003).
16. M. G. Soni, G. A. Burdock, S. L. Taylor, and N. A. Greenberg, Safety assessment of propyl paraben : a review of the published literature, *Food Chem. Toxicol.*, **39**(6), 513 (2001).