

야생화를 이용한 살균제 개발 Development of Antibacterial Using Several Wild Flowers

정재한

J. H. Jung
비비플로라
천연물연구소¹

박노복*

N. B. Park
국립한국농수산대학
화훼학과²

Abstract

We have been experimenting for industrialize four kinds of wildflowers(*Smilax china*, *Saururus chinensis*, *Houttuynia cordata* and *Zizania caduciflora*) which are used for Korean medicinal plants for a long time as Korean resources plants. *Smilax china*, *Saururus chinensis*, *Houttuynia cordata* was used for roots and *Zizania caduciflora* used for leaves. Extraction was carried out in 50% ethyl alcohol, which was concentrated by freezing the material and then injected at a low concentration of 100ppm. The results of the study on the antibacterial potential activity and antifungal potential activity using the four wildflowers strains were as follows.

1. The results of the sterilization and antibacterial potential activity and antifungal potential activity were as follows.

Houttuynia cordata showed good inhibitory effect for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. The inhibitory power of *Zizania caduciflora* was proved to some extent. However, other cultivars showed little antibacterial and antifungal activity.

2. The antifungal potential activity against *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, and *Cryptococcus neoformans* was small but some inhibition against *Candida albicans* was confirmed. There was no inhibition of other fungi potential at all.

Key words : Antifungal potential, Antibacterial potential, Wild flowers

*교신저자: noubogpark@naver.com

¹ BiBi FLORA Natural Research and Development

² Department of Floriculture, Korea National College of Agriculture and Fisheries

I. 서론

인간은 나이가 들어감에 따라 피부 또한 자연스럽게 노화되어가며 신체의 기능적, 구조적으로 많이 변화되어 시각적으로 나타나게 된다. 특히 중년기에 접어들면 몸의 호르몬 분비가 감소하고, 면역세포 기능이 저하되면서 피부가 얇아지고 이로 인하여 피부탄력이 감소하고 주름이 생성되며, 피지생성 감소로 인하여 건성 피부화, 경피 수분 손실 증가뿐만 아니라 멜라닌 생성에 의한 얼굴의 밝기가 어두워지고 기미와 검버섯 등이 생성되는 등 여러 가지 현상이 나타난다^(5, 11). 피부는 항상 외부로 돌출되어 있어 산소와 접촉하며 자외선에 쉽게 노출되어 활성 산소 등에 의한 피부의 광산화적 손상과 햇빛에 의한 광노화 현상이 발생할 위험이 늘 존재한다. 피부가 자외선을 받으면 피부표면에 존재하는 지질이 노출된 피부표면에서 지질과산화물로 변화하여 산화하게 된다. 피부의 지질은 상피세포 증식조절, 세포 간 응집, 표피세포의 탈락에 관여하는 것으로 알려져 있다^(6, 8, 9, 21).

인간의 평균수명이 길어짐에 따라 삶의 질 개선 문제가 대두되고 이에 따라 노화 억제를 위한 연구 일환으로 피부노화 억제 및 개선을 위해 많은 연구가 진행되고 있다. 토복령은 청미래덩굴(*Smilax china L.*)의 뿌리줄기를 말린 것으로 예부터 한방에서는 해독작용이 강하여 관절질환에 주로 사용되었다^(11, 25). 또, 본초강목에는 강한 해독작용으로 만성피부질환, 매독성피부질환의 치료약으로 사용되어져 왔다고 기록하고 있다⁽⁵⁾. 청미래덩굴도 항균효과가 있으며 뿌리 추출물의 항산화 효과 및 세포독성에 대한 보호효과도 보고된 바가 있다⁽²¹⁾. 삼백초(*Saururus chinensis*)는 예로부터 다양한 피부질환에 잎을 달여 마시거나 즙을 내어 마시거나 병변에 도포하는 방법으로 피부질환 및 내과적 질환에 전통적인 민간요법으로 사용되어왔다^(13, 24). 약모밀(*Houttuynia cordata*)는 다년생

초본으로, 우리나라를 비롯하여 중국, 일본, 베트남 등에 자생하며 잎을 만졌을 때 생선 비린내가 난다고 하여 이름이 붙여졌다⁽⁴⁾. 예전부터 약재로 사용된 식물로 향산화, 항균, 항알러지, 면역력 증진 등의 효과가 보고된 바 있다^(12, 13, 14, 15, 20, 23).

따라서 본 실험은 이렇게 예부터 사용된 전통 약재로 사용된 야생화를 추출한 후 각 식물별 살균 효능을 살피기 위해 실험을 실시하였다.

II. 재료 및 방법

시험재료로 이용한 식물은 모두 4종으로 청미래덩굴, 삼백초, 약모밀, 줄풀이다(Table 1, Fig. 1). 4종 모두 국내산으로 대구약령시장에서 구입하였다. 구입 후 이들 약재는 이물질을 제거하기 위해 세척 후 45°C에서 건조시킨 후 40mesh로 분쇄하여 시료로 사용하였다. 재료는 에틸알코올 80% : D.W 20%를 넣고 추출하였다. 추출은 상온에서 진행하였으며 시간은 72시간으로 하였고, 12시간마다 한번씩 흔들어 주었다. 추출액은 whatman No.2 filter paper로 여과한 후 ethanol 추출물은 rotary vacuum evaporator (BUCHI R-250, Flawil, Switzerland)로 농축한 후 분말화하여 사용하였다(Fig. 2).

항균활성측정에 사용된 균주는 모두 7종으로 세균 3종, 진균 4종이다. 세균류는 E.coli (*Escherichia coli* ; 대장균), S. a(*Staphylococcus aureus* : 포도상구균), P. a(*Pseudomonas aeruginosa* : 녹농균)이고, 진균류는 C. a(*Candida albicans* ; 무좀균), A. n(*Aspergillus niger* : 흑국균), A. f(*Aspergillus fumigatus* : 피부국균증), C. n (*Cryptococcus neoformans*)로 4종을 사용하였다. 이들 균주는 생물자원센터 KCCM으로부터 구입하였으며 균의 생육 조건에 따라 24시간 종균 배양하여 활성화시켰다. 균주의 배양은 YM Medium과 Nutrient Medium을 사용하여 배양은 agar

plate상으로 37°C의 BOD incubator에서 24-48 시간 동안 실시하였다⁽¹⁹⁾.

Disc diffusion assay에 의한 항균활성 측정은 식물 추출물의 항균활성을 disc diffusion assay로 측정하였다. 배양된 균주는 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ CFU/mL로 맞추어 실험에 사용하였으며, 각 균주는 평판배지에 100 μ L씩 멸균 면봉을 사용하여 고루 퍼질 수 있도록 도말하였다. 시료는 disc 당

5mg이 되도록 paper disc (diameter 8mm, Roshi Kaisha., Tokyo, Japan)에 천천히 흡수시킨 뒤, 건조과정을 거쳐 용매를 휘발시켰다. 각 시료를 흡수시킨 paper disc를 균주를 도말한 평판 배지 위에 밀착시킨 후 배양시켜 disc 주변에 생성된 저해환(clear zone, mm)을 측정하여 항균활성을 비교하였다. 모든 실험은 3회 반복 측정하였다.

Table1. The composition of Herbal and Scientific Name samples, use part.

Herbal name	Scientific Name	Amount(g)/EtOH 80% 1L	Use part
1. 청미래덩굴	<i>Smilax china</i>	250	root
2. 삼백초	<i>Saururus chinensi</i>	250	root
3. 약모밀	<i>Houttuynia cordat</i>	200	root
4. 줄풀	<i>Zizania caduciflora</i>	200	leaf

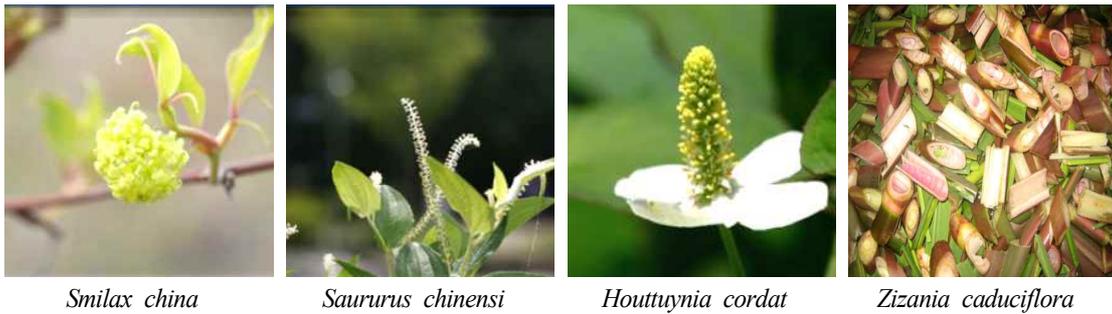


Fig. 1. Used in the experiment four wild flowers.

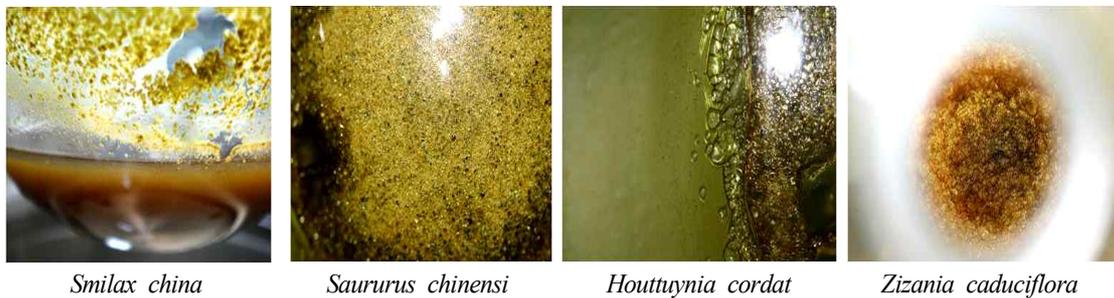


Fig. 2. Shaped after four kinds of wild flowers extracts for antibacterial and fungal experiments.

III. 결과 및 고찰

몇 종의 야생화를 이용하여 항균 및 항진균의 효과를 살펴본 결과는 다음과 같다(Table 2).

*E. coli*균에 대한 살균력은 대부분의 품종에서 저조하게 나타났다(Table 2, Fig. 3). 하지만 삼백초는 다른 식물들과 달리 disk에 뚜렷한 원형 띠를 보여 *E. coli*에 대한 항균력은 높은 것으로 조사되었다. 다른 식물들은 어느 정도의 항균력은 있으나 뚜렷하게 원형이 생기지 않았다. 모든 농도를 100ppm의 저농도로 주입해서 나타나는 현상인지, 추출시 알코올과 DW 비율에 대한 것인지는 정확하지 않다. 농도가 높으면 살균력은 좋지만 인체에 미치는 영향이 있어 저농도로 실험을 실시하였지만 살균력이 분명 있다는 것을 확

인한 것으로도 성과는 충분하다 할 수 있다. 농도에 따른 살균력의 차이는 쇠비름 추출물의 농도가 1% 정도부터 *Escherichia coli* KCTC 2441의 성장 억제 효과가 나타났지만 고농도인 7%일 때 균의 성장이 급속도로 억제되었다. 잎보다는 줄기 부분이 잎 중에서도 적자주색을 띠는 잎이 대장균 성장 억제 효과가 높았다⁽¹⁸⁾. 이는 식물의 종류와 재료로 사용된 부위에 따른 차이, 유기용매 종류에 따른 추출방법 차이, 농도에 따른 차이 등 많은 요소들이 있을 수 있다. 따라서 향후 산업화하기 전 4종의 식물에 대한 유기용매별, 추출 온도별, 부위별에 따른 보충 실험과 이런 조건이 피부나 다른 인체 부위에 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구가 필요하다.

Table 2. Antimicrobial activity and antifungal activity according to wild flowers.

Scientific Name	Antimicrobial activity			Antifungal activity			
	<i>E. coli</i>	<i>S. a</i>	<i>P. a</i>	<i>C. a</i>	<i>A. n</i>	<i>A. f</i>	<i>C. n</i>
<i>Smilax china</i>	+	+	+	x	x	x	x
<i>Saururus chinensi</i>	++	+	+	x	x	x	x
<i>Houttuynia cordata</i>	+	++	++	++	x	++	x
<i>Zizania caduciflora</i>	+	++	+	+	x	+	x

Legend ++ : good, + : little, x : nothing



Fig. 3. Antibacterial activity against *Escherichia coli* using several wild flowers

Staphylococcus aureus 살균력 test를 한 결과 대체로 항균력이 우수한 것으로 나타났다(Fig. 4). 약모밀과 줄풀에서 높은 억제력을 보였고, 청미래덩굴과 삼백초에서는 효과가 미미하였다. 특히 포도상구균은 다른 균보다 생활에 많은 피해를 주는 균이어서 억제력이 높은 것은 주목할 만한 부분이다. 약모밀은 50% 에탄올 추출물 및 에틸아세테이트 분획물을 항균활성 측정된 결과, *S.*

aureus, *B. subtilis*에 대한 에틸아세테이트 분획물에서 그람 양성균에 대하여 높은 활성을 보이는 것으로 나타났다고 보고⁽²²⁾한 내용과는 차이가 있는 부분이나 이는 추출 유기용매에 따른 차이에서 나타나는 것이고 보이고 항균 억제효과가 있다는 보고된 것이어서 추후 용매와 농도를 달리 한 실험이 필요한 부분이다.

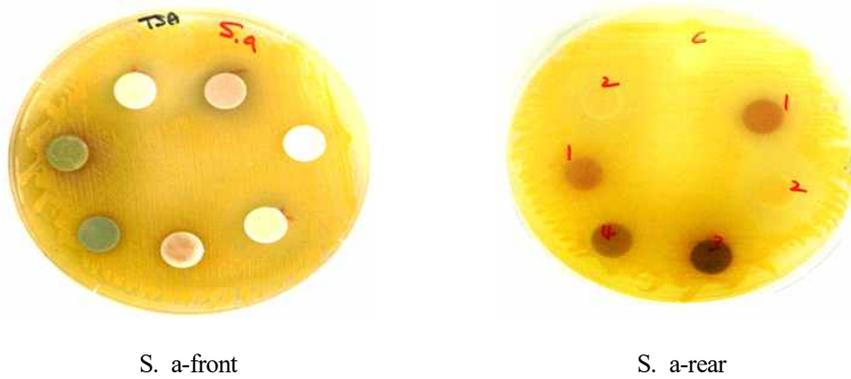


Fig. 4. Antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* using several wild flowers

*Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균실험 결과는 약모밀에서 억제력이 높은 것으로 나타났으며 다른 품종에서의 억제력은 저조하게 나타났다(Fig. 5). 녹농균은 생활 주변의 많은 곳에서 서식하는 균이어서 이를 억제하는 것은 매우 긍정적이라 할 수 있다. 다른 품종들과 달리 약모밀에서 큰 circle을 형성하여 항균 억제력이 매우 큰 것을 알 수 있다. 균에 대해 특정 식물만이 항균력이 높았고, 식물별로 혼합할 경우 어떤 효과를 나타낼 수 있는지에 대한 개연성이 많아 향후 각 식물간 혼합비율을 달리하여 실험해야 할 것으로 사료된다. 천연물에서 *P. aeruginosa*의 항균활성을 알아본 보고에서는 치자, 우방자, 진피 및 황백나

무 등의 에탄올추출물들이 *P. aeruginosa* ATCC 27853에 대해서 항균활성을 나타냈다. 이들중 치자의 에탄올추출물은 *P. aeruginosa*에 대해 강한 항균활성을 나타냈다. 하지만 삼백초와 토복령(청미래덩굴)에서도 효과는 나타나지 않은 것으로 나타났다⁽⁷⁾.

Candida albicans 억제력은 약모밀과 줄풀에서는 미미하지만 효과를 보였고 청미래덩굴과 삼백초에서는 억제력은 거의 나타나지 않았다(Fig. 6). 생활에서 많이 나타나 불편함을 주는 무좀균을 천연물로 억제할 수 있는 것은 좋은 결과이다. 정확히 어떤 물질이 어떻게 작용하여 진균류인 무좀균을 억제하였는지에 대한 구명은 없다. 감초를



Fig. 5. Antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* using several wild flowers

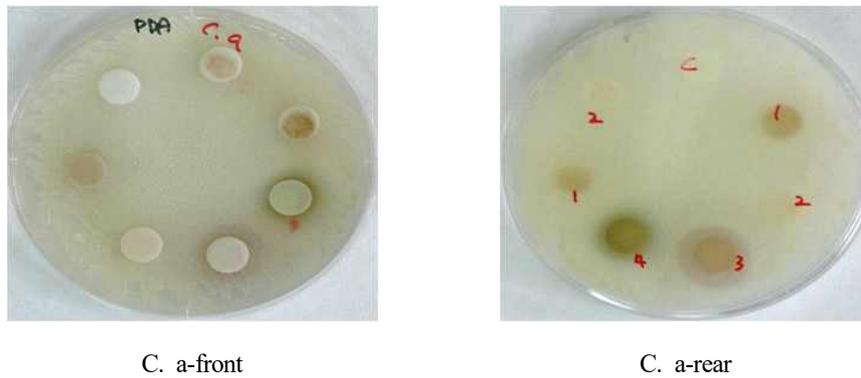


Fig. 6. Antifungal activity against *Candida albicans* using several wild flowers

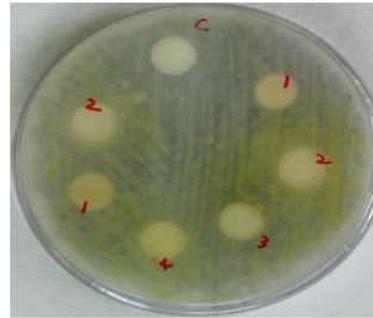
이용한 항진균 효과를 검증한 결과 농도 의존적으로 *C. albicans*의 두 균주(CA-1, A-9)에 대하여 항진균효과가 있으며, 최소 320 µg/ml 농도에서는 거의 100%에 가까운 항진균효과가 있었다⁽¹⁰⁾. 이는 현재 사용한 천연물의 농도가 감초보다 월등하게 낮은 농도로 실험을 실시하였으므로 향후 감초처럼 농도에 따른 실험도 병행되어야 할 것이며 EtOH추출뿐 아니라 추출 유기용매의 종류에 따른 실험이 보완되어야 할 것으로 생각된다.

*Aspergillus niger*에 대한 항진균력은 전혀 나타나지 않았다(Fig. 7). *Aspergillus niger* 균사 생

육저해 활성이 나타난 경우는 뽕나무의 ethyl-acete 분획, 참나무의 methylene chloride 분획 및 단삼 hexane 분획이었다. 참나무 메탄올 추출물 및 이의 hexane, ethylacetate, butanol 분획물 및 물 잔류물에서는 항균 활성이 나타나지 않았다고 보고한 내용⁽⁴⁾과 매우 유사하게 나타나 천연물은 유기용매 선택에 따라 활성도가 달라지는 것을 알 수 있었다. 아직 천연물을 이용한 방부제가 많이 개발되지 못하는 것도 살균력은 있지만 진균력이 현저히 저하되는 것이 이유가 아닌가 생각된다.



A. n-front

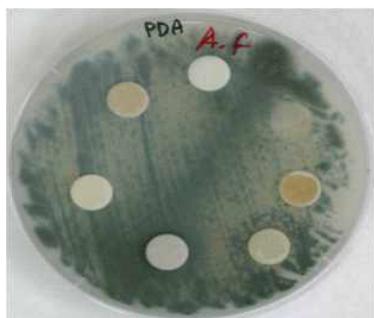


A. n-rear

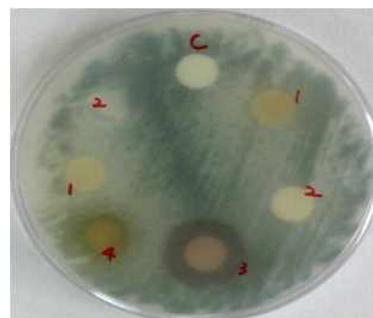
Fig. 7. Antifungal activity against *Aspergillus niger* using several wild flowers

*Aspergillus fumigatus*에 대한 항진균력은 삼백초에서는 뚜렷한 원이 형성되었고, 줄풀에서는 약하게 나타났으며 나머지 품종에서는 전혀 나타나지 않고 오히려 디스크에도 일부 곰팡이가 침입하여 항진균력은 없다고 판단된다(Fig. 8). *Cryptococcus neoformans*에 대한 항진균력도 전혀 나타나지 않았다(Fig. 9). 이렇게 억제력을 보이지 못하는 원

인으로서의 추출방법에서 유기용매를 에탄올에 국한하였고, 추출 온도조건을 상온에서 하였으며, 항진균 실험에 100 ppm의 저농도를 사용한 것도 한 원인으로 보인다. 따라서 향후 항진균에 관한 추가 실험에서는 다양한 유기용매, 저농도에서 고농도까지 다양한 농도 실험, 추출온도 다양화 등을 실시하여 보완해야 할 것으로 판단된다.

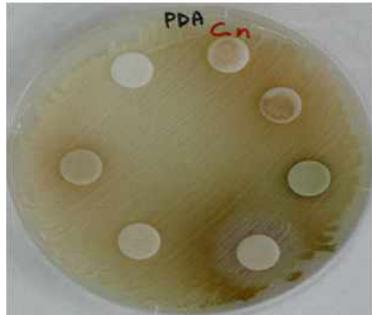


A. f-front

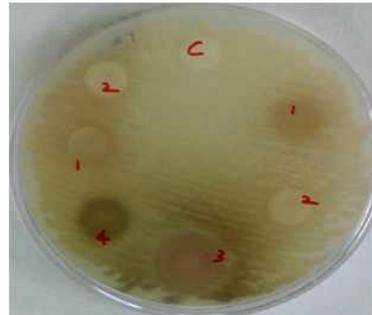


A. f-rear

Fig. 8. Antifungal activity against *Aspergillus fumigatus* using several wild flowers



C. n-front



C. n-rear

Fig. 9. Antifungal activity against *Cryptococcus neoformans* using several wild flowers

IV. 적요

우리나라 자원식물로 오랫동안 한약재로 이용하고 있는 청미래덩굴, 약모밀, 삼백초, 줄풀 총 4종의 야생화를 산업화하기 위해 실험을 하였다. 청미래덩굴, 약모밀, 삼백초는 뿌리를 사용하였고 줄풀은 잎을 사용하였다. 추출은 50% ethyl alcohol에서 하였고, 이를 농축하여 재료를 냉동보관 한 후 100 ppm의 저농도를 투입했다. 이상의 방법으로 4종의 야생화를 이용한 항균력과 항진균력을 살펴본 결과는 다음과 같다.

1. 청미래덩굴, 삼백초, 약모밀, 줄풀을 알코올로 추출 후 분말화하여 살균과 진균 test를 한 결과 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 억제력은 약모밀에서 가장 높게 나타났고 줄풀은 억제력은 어느 정도 입증되었다.
2. 진균 종류인 *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*에 대한 항진균 실험에서는 *Candida albicans*에 대한 억제력은 미미하였지만 일부 확인하였으며 다른 진균에 대한 억제력은 전혀 나타

나지 않았다.

V. 참고문헌

1. 권설안. (1999). 속 삼백초와 어성초에 대하여. 대한한약 2 : 18-20
2. 박종희, 이정규. (2000). 상용약용식물도감. 도서출판 신일상사, 서울. 202-203
3. 정연옥, 박노복, 곽준수, 정숙진. (2010). 야생화 백과사전(봄편). 푸른행복. 718-721
4. Ahn, S. M., T. H. Choi, I. S. Kwun, and H. Y. Sohn. (2011). Antifungal Activity of Methylene Chloride Fraction of *Pimpinella brachycarpa* Against *Aspergillus niger*, Korean J. Microbiol. Biotechnol. 39(2) : 168-74
5. Bernstein EF, Chen YQ, Tamai K, Shepley KJ, Resnik KS, Zhang H, Tuan R, Mauviel A, Uitto J. (1994). Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. J Invest Dermatol 103 : 1802-186

6. Blanken R, Van Vilsteren MJT, Tupker RA, Coenraads PJ. (1989) Effect of mineral oil and linoleic-acid-containing emulsions on the skin vapour loss of sodium-lauryl-sulphate-induced irritant skin reactions. *Contact Dermatitis* 20(2) : 93-97
7. Bown D. (1995). *Royal Horticultural Society Encyclopedia of Herbs and Their Uses*, p. 424, Dorling Kindersley, London, UK.
8. Elias PM. (1983). Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *J Invest Dermatol* 80 : 44-49
9. Elias PM, Menon GK. (1991). Structural and lipid biochemical correlates of the epidermal permeability barrier. *Adv Lipid Res* 24 : 1-26
10. Eum J. S. (2012). Activity of Nature Plants Extracts against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *한국정보통신학회논문지* 16(8) : 1799-1804
11. Gilchrist BA. (1989). Skin aging and photoaging: an overview. *J Am Acad Dermatol* 21 : 610-613
12. Jeong H. R., J. H. Kwak, J. H. Kim, G. N. Choi, C. H. Jeong, and H. J. Heo. (2010). Antioxidant and neuronal cell protective effects of an extract of *Houttuynia cordata* Thunb (a culinary herb), *Korean J. Food Preserv.*, 17(5) : 720-726
13. Kim G. S., D. H. Kim, J. J. Lim, J. J. Lee, D. Y. Han, W. M. Lee, W. C. Jung, W. G. Min, C. G. Won, M. H. Rhee, H. J. Lee, and S. Kim. (2008), Biological and antibacterial activities of the natural herb *Houttuynia cordata* water extract against the intracellular bacterial pathogen *Salmonella* within the RAW 264.7 macrophage, *Biol. Pharm. Bull.*, 31(11) : 2012-2017
14. Kim J., H. S. Ryu, J. H. Shin, and H. S. Kim. (2005). *In vitro* and *ex vivo* supplementation of *Houttuynia cordata* extract and immunomodulating effect in mice, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34 : 167-175
15. Kim K. Y., D. O. Chung, and H. J. Chung. (1997). Chemical composition and antimicrobial activities of *Houttuynia cordata* Thunb., *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29(3) : 400-406
16. Kwak J. W, C. H. Kwon. (1988). Pharmacological studies on *Saururus chinensis* baill. *Bull KH Pharma Sci* 16 : 137-154
17. Lee J. H., Y. M. Lee and Y. M. Han. (2011). Antifungal Activity of Glycycoumarin to *Candida albicans*, *Yakhak Hoeji*, 55(3) : 234-239
18. Lee, E. S., B. I. Seo. (2001). *Portulaca oleracea* L. 추출물에 의한 *Escherichia coli* KCTC 2441의 생육억제, *Herbal formula science*, 9(1) : 367-374
19. Lee J. T., Y. S. Jeong, B. J. An. (2002). Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. *Kor. J Herbology* 17 : 51-60
20. Song J. H., M. J. Kim, H. D. Kwon, and I. H. Park, (2003). Antimicrobial activity of fractional extracts from *Houttuynia cordata* root, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32 : 1053-1058
21. Scheuplein R. J., Blank IH. (1971). Permeability of the skin. *Physiol Rev* 51(4) :

야생화를 이용한 살균제 개발

702-747

22. Yun M. E., Y. S. Lee, Y. J. Lee, Y. M. Park,
and S. N. Park. (2018). Antimicrobial,

Antioxidant and Cellular Protective Effects
of *Houttuynia cordata* Extract and Fraction.
Appl. Chem. Eng., 29(4) : 452-460

논문접수일 : 2019년 3월 29일

논문수정일 : 2019년 5월 16일

게재확정일 : 2019년 5월 26일