

에센셜 오일이 항균 활성에 미치는 효과

박상남¹, 강윤정^{2*}

¹경동대학교 임상병리학과 교수, ²상지대학교 임상병리학과 교수

The Effect of Essential Oils on Antimicrobial Activity

Sang-Nam Park¹, Yun-Jung Kang^{2*}

¹Professor, Division of Clinical Laboratory Science, Kyungdong University

²Professor, Division of Clinical Laboratory Science, Sang-ji University

요약 본 연구는 식물에서 항생제로 알려진 11 가지 에센셜 오일(피톤치드)을 선별 한 후 혼합한 정유를 사용하여 최고의 항생제를 조사하였다. 최소억제농도 (MIC)와 최소사멸농도 (MBC) 측정 결과 Essential Oil B와 E가 목적 균의 억제효과가 높았다. 이 실험에 사용 된 *S. aureus*를 함유하는 모든 그람 양성 박테리아는 높은 항생제 활성을 나타냈다. 그리고 그람 양성 박테리아에서 *A. baumannii*와 곰팡이에서 *C. albicans*만이 높은 항생제 활동을 보였다. 우리의 실험에 사용 된 에센셜 오일은 항생제 활성이 뛰어난 천연 항생제 및 자연 의학의 에센셜 오일을 사용한 주요 연구와 비교할 때 더 우수한 항생제 활성을 보였다. 시험에 사용한 공시물질인 Essential Oil이 어떤 항균활성의 기전을 가지는지 알 수 없으나 다른 선행 연구결과와 비교해 볼 때 세포벽의 합성저해기전으로 해석하고 있다. 이러한 결과로부터, 항생제 활성을 갖는 일부 물질 또는 기능성 제품이 개발 될 것으로 예상된다.

주제어 : 에센셜 오일(피톤치드), 항생제, *A. baumannii*, *S. aureus*, *C. albicans*

Abstract We investigated the best antibiotics using blending oils after screening 11 kinds of essential oil known as antibiotics from plants. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum killing concentration (MBC) were found to be essential for essential oils B and E to inhibit target bacteria. All gram-positive bacteria containing *S. aureus* used in this experiment were shown highly antibiotic activity. And only *A. baumannii* in gram-positive bacteria and *C. albicans* in fungi were shown highly antibiotic activity. The essential oils used in our experiments showed better antibiotic activity compared to major studies using natural antibiotics with excellent antibiotic activity and essential oils from natural medicine. It is not known what mechanism of antimicrobial activity the essential oil used in the test has, but it is interpreted as a synthetic inhibitory mechanism of cell wall compared with other previous studies. From these results, it is expected that some substances or functional products with antibiotic activity will be developed.

Key Words : Essential Oils (phytoncide), Antibiotics, *A. baumannii*, *S. aureus*, *C. albicans*

1. 서론

최근에는 생활수준의 향상으로 안정적이고 다목적인 실용성 때문에 천연 제품인 에센셜 오일 (essential Oil)

에 대한 선호 경향이 높아지고 있다[1]. 또한 기존 약물 중 부작용 및 항생제의 내성에 대한 문제점이 심각함에 따라 새로운 항생소재로서 천연항균물질에 대한 필요

*Corresponding Author : Yun-Jung Kang(lvpig@naver.com)

성이 더욱 고조되고 있다[2]. 선행 연구에 의하면 식중독 및 각종 염증성 질환을 일으키는 황색포도알균 (Staphylococcus aureus)과 MRSA(메티실린 내성 황색포도알균 감염), 그리고 여성의 가려움증과 질염 등을 일으키는 진균의 일종인 칸디다균에 대해서도 높은 항균력을 나타냈으며, 이외에도 에센셜 오일이 다양한 종류의 진균류와 그람음성 장내세균인 대장균 및 녹농균과 다양한 종류의 진균류에 대해서도 항진균 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다. 그 중 MRSA(methicillin resistant staphylococcus aureus)는 대표적인 항생제 내성균으로 원내감염의 주요 원인균이다[3-5]. 외에도 자폐증세를 보이는 어린이나 우울증 증상이 있는 노인들에게 자신감과 스트레스 완화효과를 갖게 해주는 것으로 보고되고 있다[2,6]. 더욱 중요한 것은 이처럼 에센셜 오일이 강력한 항균작용을 가지면서도 기존의 항생제의 큰 문제점인 내성이 없다는 것이다[6]. 이는 항생제 남용의 심각성을 고려할 때 에센셜 오일을 통한 자연치유적 효과는 시사하는 바가 크다고 할 수 있다.

본 연구 이전의 예비연구에서 혼합한 정유의 효과성이 입증되었기 때문에 11종의 정유를 먼저 screening 한 후 선택된 물질을 대상으로 다시 혼합하여 가장 효능이 탁월한 조성을 도출하는 데에 목적이 있다. 이로 인해 보다 항균능을 높일 수 있는 방안을 제시하고, 나아가 천연물질을 이용하여 다양한 기능성 소재로의 활용과 임상실험을 위한 기본적인 결과물을 제공하기 위함이다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 실험대상 물질

연구에 사용된 실험물질에 대해서는 Table 1과 같이 에센셜 오일 A를 포함하여 11종을 대상으로 시행하였다. 혼합을 위한 실험은 항균효과를 혼합 기준으로 하였다. 각각의 조성에 대해서는 Table 2에서 레몬 오일 (Limonene)을 base로 하여 #1에서는 라벤더 오일 (Lavender Oil)을, #2에서는 페파민트 오일 (Mint Oil)을, #3에서는 유칼립투스 오일 (Eucalyptus Oil)을, #4에서는 티트리 오일 (Tea tree)을 각각 30%의 농도로 혼합 하였다.

Table 1. Essential Oils List

	Oil Name	Supplier	Remarks	date
1	Essential Oil A	Charabot	Cyoress Oil	2012. 11. 05
2	Essential Oil B	Charabot	Eucalyptus Oil	2012. 10. 23
3	Essential Oil C	Charabot	Lavender Oil	2012. 10. 23
4	Essential Oil D	Charabot	Mint Oil	2012. 10. 23
5	Essential Oil E	FKA	Tea tree Oil	2012. 10. 31
6	Pine Oil	Charabot	Pine Siberian	2012. 10. 23
7	Pine Oil	Seoul incense burner	Pine Sylvestris	2012. 10. 16
8	Korean pine Oil	Solgo	Korean pine Oil	2012. 10. 16
9	Japanese hinoki Oil	Kiso	Hinoki Oil	2012. 10. 16
10	Limonene	Florida chemical	Limonene	2012. 10. 16
11	Korean hinoki Oil	GnG	Hinoki Oil	2012. 10. 16

Table 2. Blending Oil List

Essential Oil	Blending Ratio (%)			
	#1	#2	#3	#4
Limonene Oil	40	40	40	40
Lavender Oil	30	10	10	10
Papper Mint Oil	10	30	10	10
Eucalyptus Oil	10	10	30	10
Tea Tree Oil	10	10	10	30
Total	100	100	100	100

2.2 공시균주

항균력의 평가를 위해 사용된 균주로는 Table 3에서 그람양성균 7종과 그람 음성균 5종 그리고 1종의 진균을 포함하여 총13종의 공시균주를 사용하였다.

Table 3. 13 test strains used in the experiment

Gram positive bacteria	ATCC [®] number
Staphylococcus aureus	25923
Stapylococcus epidermidis	14990
Streptococcus pneumoniae	49619
Bacillus cereus	14579
MRSA	33591
Enterococcus faecalis	29212
Enterococcus faecium	29212
Gram negative bacteria	ATCC [®] number
Escherichia coli	25922
Enterobacter cloacae	700323
Klebsiella pneumoniae	13883
Pseudomonas aeruginosa	27853
Acinetobacter baumannii	15150

Fungus	ATCC® number
Candida albicans	10231

a) American Type Culture Collection

2.3 Paper disk 확산법 (Disk diffusion)

에센셜 오일에 대한 항균활성은 paper disc 법을 이용하여 측정하였다[7]. 각 균들을 항생제 감수성 검사 배지에 도말 접종한 후, 직경 8mm의 멸균된 paper disk (Advantec Filter Paper, Toyo Roshi Kaisha Ltd, Japan)에 원액을 비롯한 5단계 희석한 시료 (원액, 80%, 70%, 50%, 30%)와 음성대조군은 0.85% 생리식염수를 각 15 μ L씩 흡수하게 하고 용매를 휘발 시킨 후 평판배지 표면에 밀착시켜 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양하여 나타난 clear zone의 크기를 측정 하였다.

2.4 최소억제농도 (MIC, Minimal Inhibitory Concentration)와 최소사멸농도 (MBC, Minimum Bactericidal Concentration)

에센셜 오일에 대하여 목적 균주에 대한 최소억제농도 분석은 Broth Dilution Method를 사용하여 수행한다[7]. 정유, 지표물질, 향생물질을 99% 알코올로 0~20 μ g/mL 농도로 희석하였다. 각각의 균주의 농도는 탁도계를 사용하여 조절한 뒤 100배 희석하여 본 실험에 사용하였다. 멸균된 Kahn tube에 MHB (Muller Hinton broth) 500 μ L 에 Oil 500 μ L을 연속적으로 희석시킨 뒤 균 희석액 500 μ L를 순차적으로 첨가한 뒤 18~22시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 배양하였다. 그 후 육안상으로 탁도를 관찰한 후 음성, 양성 대조군과 비교한 뒤 균의 생육 곡선 상에서 균의 생장이 검출되지 않는 최소 농도를 MIC로 설정하였다.

최소사멸농도는 MIC의 결정을 위한 각 시간대 별 배양 시료 100 μ L를 취해 각 균의 기초선택배지에 도말하여 24~48시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 배양한 후, 생성되는 colony 수를 관찰하였을 때 목적 균을 완전하게 사멸 (99%)시키는 최소 농도를 MBC로 설정하였다. 모든 실험의 결과는 3개의 독립적인 실험을 수행한 뒤 결과를 종합하였다.

2.5 통계처리

수집된 데이터의 분석을 위해 통계 분석 프로그램 Minitab 19.2(USA, Minitab Inc.)를 이용하였다. 그

룹간의 항균 활성정도를 비교하기 위하여 분산분석 (ANOVA, Analysis of variance)을 이용하여 통계처리 하였으며, 검정의 판정 기준인 유의수준 α 는 모두 0.05로 설정하여 분석을 수행하였다.

3. 결과

3.1 12 균종별 11종의 에센셜 오일에 대한 paper disk diffusion 결과

11종의 에센셜 오일에 대한 disc diffusion을 이원 배치 분산분석으로 확인한 결과 Table 5와 같이 Oil의 비율(P-값=0.000)과 Oil의 종류(P-값=0.000)의 P-값이 모두 유의수준 0.05보다 작기 때문에 통계적으로 각 그룹 간의 평균 차이가 있다는 것을 확인할 수 있다. Disc diffusion실험에서 Oil 원액에 대해서는 clear zone 직경이 Essential Oil C(Mean=25.9)와 E(Mean=31.2)가 가장 넓게 나타났으므로 억제효과가 다른 Oil보다 뛰어나다고 할 수 있다. 80%에서는 Essential Oil D와 E의 억제효과가 높았고 70%에서도 역시 80%에서의 결과와 같았으며 50%와 30%에서도 결과는 Fig 1과 같았다. 여러 가지 농도의 Oil로 disc diffusion실험을 한 결과 Essential Oil E의 70% 농도에서 가장 넓은 clear zone의 직경을 얻을 수 있었으므로 가장 효과가 있다고 볼 수 있다. 항균활성이 높은 Essential Oil으로는 A, C, D, E Oil에서 가장 높은 활성이 관찰되었다. Table 4의 결과와 같이 그람양성은 공식균주인 대부분에서 높은 항균활성을 보였으며, 그람음성균종에 비해서 그람양성 균종에서 효과가 뚜렷하였다. 반면, 그람음성은 A. baumannii에서만 높은 활성을 보였고 그 외 균종에서는 유의한 활성이 관찰되지 않았다. Fungus인 C. albicans에서는 모든 실험물질에서 높은 항균 활성을 보였다. 현재 그람양성세균 중에서 원내감염으로 많은 문제를 일으키고 있는 세균들에서 높은 항균 활성을 보였다.

3.2 최소억제농도 (MIC)와 최소사멸농도 (MBC) 측정 결과

MIC 실험에서의 이원배치 분산분석 결과는 Table 8과 같다. Species(P-값=0.000)과 Oil의 종류(P-값=0.002)의 P값이 모두 유의 수준 0.05보다 작기 때문에 통계적으로 각 그룹 간의 평균 차이가 있다는 것을

확인할 수 있다. Essential Oil B와 E가 낮은 농도에서도 억제제가 비교적 일어났으며, MBC실험에서 역시 MIC실험과 같은 결과는 Fig. 2, 3과 같이 나타내었다.

이를 종합하여 Table 7, 9와 같이 Essential Oil B와 E가 다른 Oil보다 목적 균의 억제효과가 높았다는 것을 알 수 있었다.

Table 4. Disk diffusion results of 11 essential oils against 12 species

Oil Name	Disc diffusion(mm)						MIC ^{a)} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MBC ^{b)} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	Oil stock solution	80%	70%	50%	30%	M		
Essential Oil A (A)	25.3	17.6	20.2	16.8	10.3	18.1	1.6	1.0
Essential Oil B (B)	21.1	17.2	18.9	16.4	12.8	17.3	0.2	0.3
Essential Oil C (C)	25.9	20.5	21.7	18.0	13.5	19.9	0.4	1.1
Essential Oil D (D)	25.7	23.8	26.3	22.0	14.6	22.5	4.2	3.2
Essential Oil E (E)	31.2	27.7	28.8	23.4	16.2	25.4	0.1	0.2
Pine Oil-charabot (F)	16.0	14.3	15.4	11.0	9.3	13.2	2.2	2.4
Pine oi-Seoul incense burner (G)	20.3	15.5	16.3	13.4	11.8	15.5	0.4	0.7
Korean pine Oil (H)	20.0	17.8	17.5	8.6	10.7	14.9	2.0	2.0
Japanese hinoki Oil (I)	17.5	12.5	13.3	10.2	9.8	12.7	2.2	3.8
Limonene (J)	20.4	20.0	21.1	14.9	13.8	18.1	0.5	1.0
Korean hinoki Oil (K)	15.2	11.0	16.2	12.2	11.3	13.2	1.8	2.5
M	21.7	18.0	19.6	15.2	12.2		1.4	1.3
SD	4.9	4.9	4.7	4.7	2.2		1.7	1.2

a) MIC: minimum inhibitory concentration, b) MBC: minimum bactericidal concentration

Table 5. ANOVA Table of Oil Name, Content Oi

	DF ^{a)}	SS ^{b)}	MS ^{c)}	F-value	P-value
Oil Name	10	9993.1	99.931	36.00	0.000
Content Oil	5	612.8	122.57	44.43	0.000
Error	50	137.9	2.76		
Total	65	1743.9			

a) DF : Degree of Freedom, b) SS : Sum of Squares, c) MS : Mean Sum of Squares

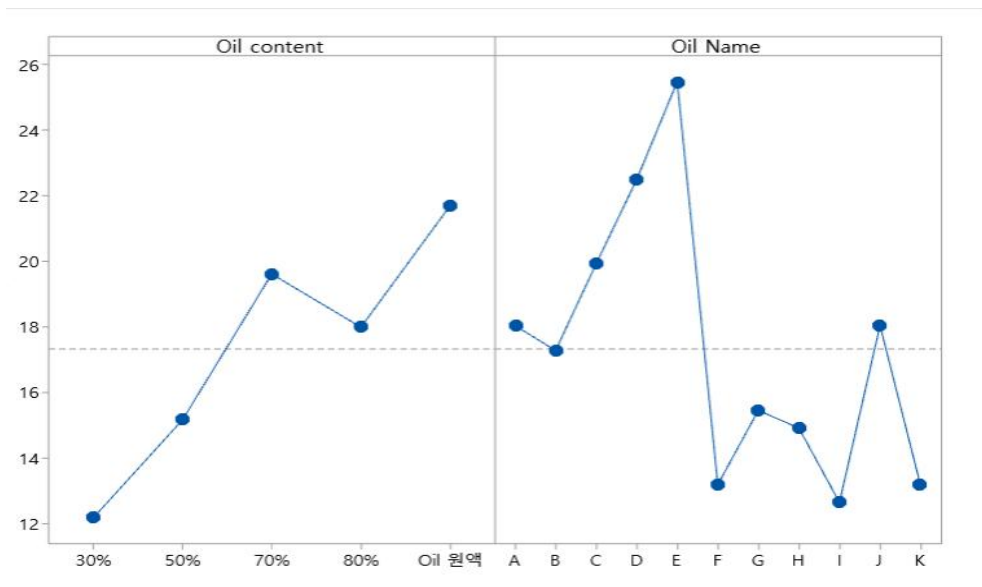


Fig. 1. Average of Disk diffusion graph for Content Oil and Oil Name

Table 6. Average Disk diffusion of essential oil type and oil content sorted in descending order

Oil Name	N	M	Oil Content	N	M
Essential Oil E	5	25.46	Oil 원액	11	21.70
Essential Oil D	5	22.48	70%	11	19.61
Essential Oil C	5	19.92	80%	11	18.00
Limonene	5	18.04	50%	11	15.17
Essential Oil A	5	18.04	30%	11	12.19
Essential Oil B	5	17.28			
Pine Oil-Seoul incense burner	5	15.46			
Korea pine Oil	5	14.92			
Pine Oil-chararobot	5	13.20			
Korean hiniki Oil	5	13.18			
Japanese hinoki Oil	5	12.66			

Table 7. MIC Results of 11 Essential Oils for 12 Species (Unit $\mu\text{g/mL}$)

Species	Oil	Essential Oil A	Essential Oil B	Essential Oil C	Essential Oil D	Essential Oil E	Pine Oil chararobot	Pine Oil-Seoul incense burner	Korean pine Oil	Japanese hinoki Oil	Limonene	Korean hinoki Oil
S. aureus		0.0625	0.25	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.25	0.25	0.0625	0.125	0.25
S.epidermidis		8.0	0.125	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.125	0.125	0.0625	0.125	0.0625
MRSA		0.0625	0.25	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	1.0	0.5	0.0625	0.0625	0.0625
B. cereus		0.0625	0.125	0.0625	16.0	0.0625	0.0625	0.125	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625
E. faecalis		0.25	0.25	0.0625	0.0625	0.0625	0.125	0.25	0.25	-	0.125	0.0625
E. faecium		0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.25	-	0.125	0.0625
E. coli		0.125	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.125	0.25	0.0625	1.0	0.0625	0.5
E. cloacae		4	0.25	0.5	8	0.125	8	0.5	8	-	1	4
K.Pneumoniae		4.0	0.25	2.0	8.0	0.0625	8.0	0.25	8.0	8.0	0.125	4.0
P.aeruginosa		2.0	0.5	1.0	16.0	1.0	2.0	1.0	2.0	4.0	4.0	8.0
A. baumannii		0.5	0.125	0.25	2	0.0625	8	1	4	-	0.5	4
C. albicans		0.25	0.5	0.0625	0.0625	0.0625	0.25	0.5	0.250	4.0	0.0625	0.0625
M		1.6	0.2	0.4	4.2	0.1	2.2	0.4	2.0	2.2	0.5	1.8
SD		2.5	0.1	0.6	6.3	0.3	3.5	0.4	3.0	2.9	1.1	2.6

Table 8. ANOVA table of MIC, MBC Results of 11 Essential Oils for 12 Species (Unit $\mu\text{g/mL}$)

		DF ^{a)}	SS ^{b)}	MS ^{c)}	F-value	P-value
MIC	Species	11	269.1	24.47	4.15	0.000
	Oil Name	10	182.2	18.22	3.09	0.002
	Error	106	625.0	5.90		
	Total	127	1076.0			
MBC	Species	11	582.3	52.94	10.33	0.000
	Oil Name	10	147.5	14.75	2.88	0.003
	Error	105	537.8	5.12		
	Total	126	1271.6			

a) DF : Degree of Freedom, b) SS : Sum of Squares, c) MS : Mean Sum of Squares

Table 9. MBC Results of 11 Essential Oils for 12 Species (Unit $\mu\text{g/mL}$)

Species	Essential Oil A	Essential Oil B	Essential Oil C	Essential Oil D	Essential Oil E	Pine Oil charabot	Pine Oil-Seoul incense burner	Korean pine Oil	Japanese hinoki Oil	Limonene	Korean hinoki Oil
S. aureus	0.0625	0.25	1.0	0.0625	0.0625	0.0625	0.25	0.25	1.0	0.25	0.125
S.epidermidis	0.25	0.25	0.125	0.0625	0.0625	0.125	0.25	0.25	0.0625	0.25	0.0625
MRSA	0.5	0.25	0.0625	0.0625	0.25	0.5	4.0	0.5	1.0	0.25	0.5
B. cereus	0.0625	0.125	0.125	4.0	0.125	0.0625	0.25	0.125	0.0625	0.0625	0.0625
E. faecalis	0.25	0.5	0.0625	0.0625	0.0625	0.125	0.5	0.5	-	0.25	0.0625
E. faecium	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.25	-	0.5	0.0625
E. coli	0.125	0.0625	0.0625	0.0625	0.0625	0.125	0.25	0.0625	0.5	0.0625	0.5
E. cloacae	4	0.25	0.5	8	0.125	8	0.5	8	-	1	4
K.Pneumoniae	2.0	0.25	2.0	8.0	0.0625	4.0	0.25	2.0	8.0	0.125	4.0
P.aeruginosa	4.0	0.5	8.0	16.0	1.0	8.0	1.0	4.0	16.0	8.0	16.0
A. baumannii	0.5	0.125	0.5	2	0.0625	8	1	8	-	1	4
C. albicans	0.25	0.5	0.125	0.0625	0.125	0.25	0.5	0.25	-	0.0625	0.125
M	1.0	0.3	1.1	3.2	0.2	2.4	0.7	2.0	3.8	1.0	2.5
SD	1.5	0.2	2.3	5.1	0.3	3.5	1.1	3.0	6.1	2.2	4.6

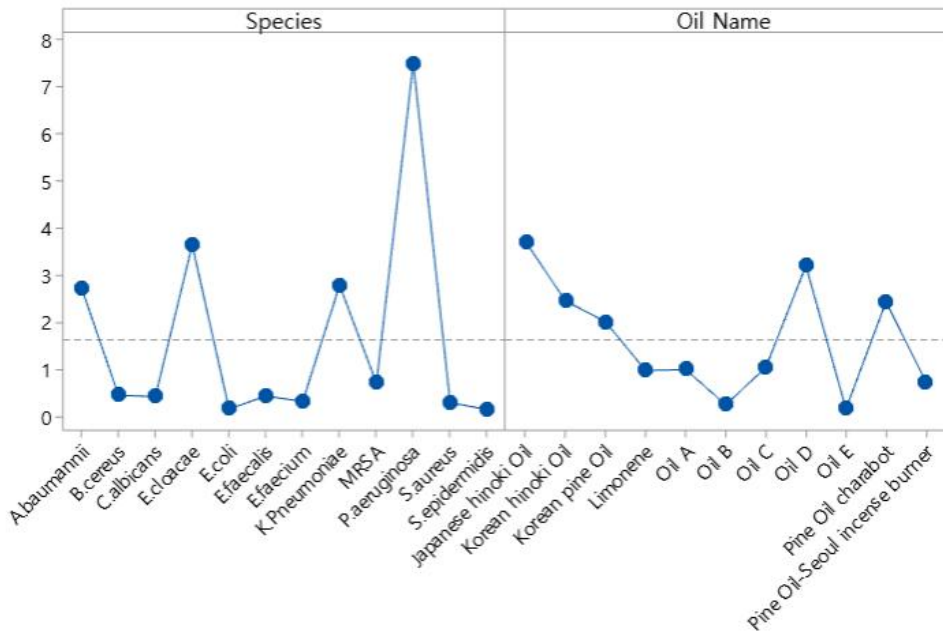


Fig. 2. Average of Disk diffusion graph for MIC results

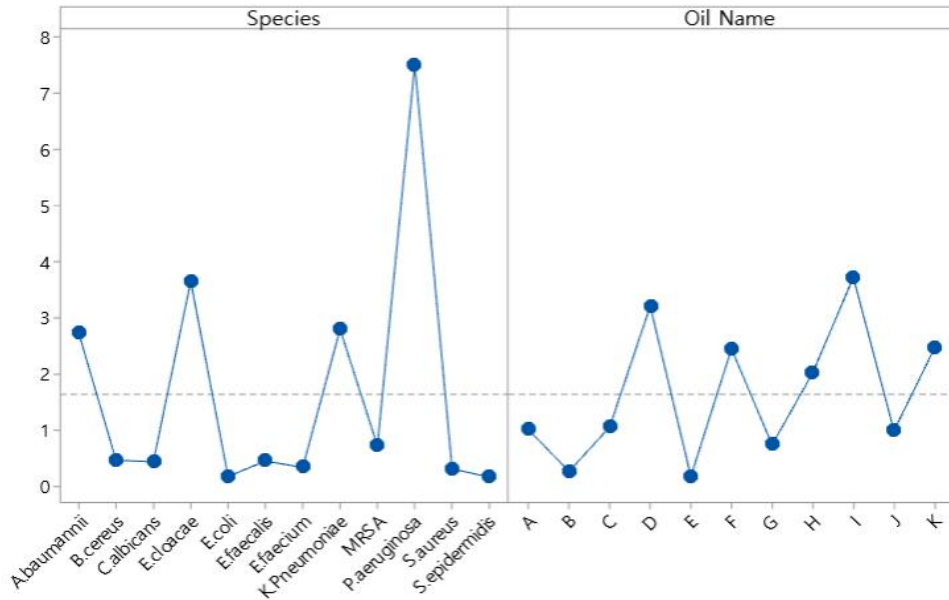


Fig. 3. Average of Disk diffusion graph for MBC results

3.3 Blending 후 Oil 4종의 항균 실험 결과

Blending한 Oil 4종으로 다시 Disc diffusion, MIC, MBC 실험을 한 결과에 있어서 먼저 Disk diffusion 실험에서 Table 11과 같이 이원배치 분산분석 결과, Species(P -값=0.029)과 Oil의 종류(P -값=0.000)의 P 값이 모두 유의 수준 0.05보다 작기 때문에 통계적으로 각 그룹 간의 평균 차이가 있다는 것을 확인할 수 있다. Oil 원액에 대해서는 clear zone 직경이 적은 차이로 Blending Oil #4가 가장 넓었으며 80%에서는 Blending Oil #2와 Blending Oil #4가 가장 넓었다. 70%에서는 Blending Oil #4가 가장 넓었고 50%와 30%에서는 Blending Oil #2가 가장 높

은 결과를 보였으나, 농도보다 낮게 나타났다는 결과는 Table 10에서 확인할 수 있다. 이 결과는 Fig. 4를 보면 30%는 상대적으로 억제효과가 떨어짐을 보여주고 있다. 여러 가지 농도의 Oil로 disc diffusion 실험을 한 결과 원액과 70% 농도에서 넓은 clear zone의 직경을 얻을 수 있었다. Table 9과 같이 MIC 실험에서는 Blending Oil #4가 낮은 농도에서도 비교적 잘 억제가 일어났으며 MBC 실험에서는 Blending Oil #2가 Blending Oil #4보다 더 낮은 농도에서도 억제시키는 것으로 나타났다.

Table 10. Disk diffusion results of four essential oils for 12 species after blending

Species	Oil	Disc diffusion(mm)					MIC ^{a)} (μ g/ml)	MBC ^{b)} (μ g/ml)	
		Oil stock solution	Oil 80%	Oil 70%	Oil 50%	Oil 30%			M
Blending Oil #1		23.8	19.4	20.9	20.5	15.3	20.0	1.09	1.24
Blending Oil #2		24.9	20.9	22.8	22.8	15.8	21.5	0.70	0.70
Blending Oil #3		24.5	19.5	18.2	20.9	14.7	19.6	0.70	0.78
Blending Oil #4		25.2	20.9	24.8	21.6	15.5	21.6	0.64	1.02

a) MIC: minimum inhibitory concentration, b) MBC: minimum bactericidal concentration

Table 11. ANOVA Table for Species, Oil Name

	DF ^{a)}	SS ^{b)}	MS ^{c)}	F-value	P-value
Species	3	15.82	5.27	4.28	0.029
Oil Name	4	183.50	45.387	37.21	0.000
Error	12	14.79	1.23		
Total	19	214.11			

a) DF : Degree of Freedom, b) SS : Sum of Squares, c) MS : Mean Sum of Squares

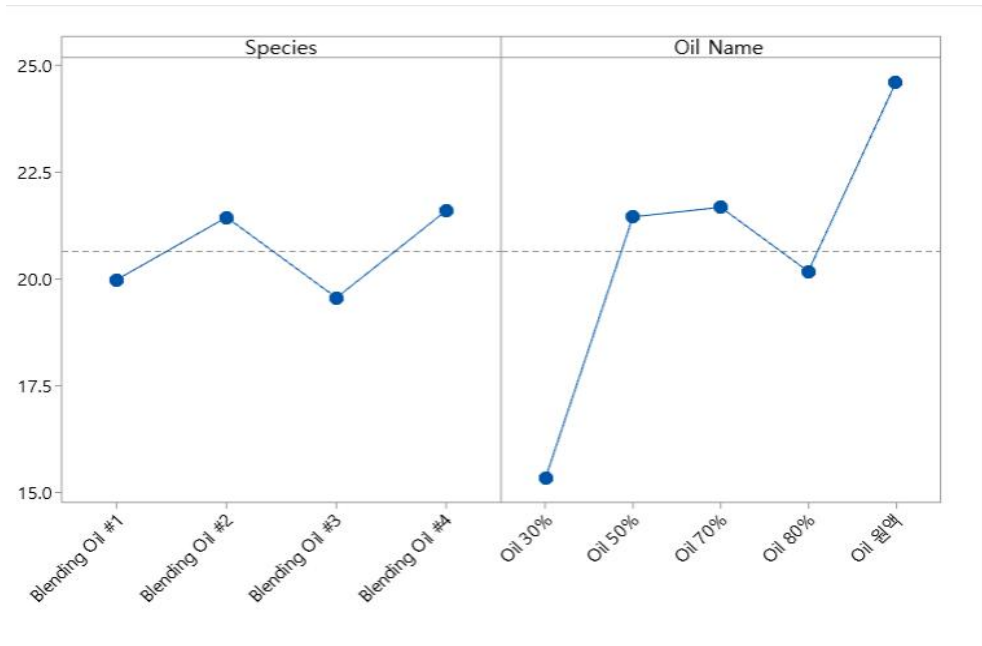


Fig. 4. Average of 4 kinds of oil antibacterial test result graph after Blending

4. 논의 및 결론

피톤치드(phytoncide)는 식물이 자신의 생존을 위협하는 박테리아, 곰팡이, 해충을 퇴치하기 위해 생산하는 살생 효능을 가진 유기 화합물질이며, 항균, 방충, 탈취, 소취 등 다양한 기능을 가지고 있는 천연물질이다[6]. 산림치유 (forest healing), 산림 테라피 (forest therapy) 혹은 산림요법은 자연환경 중에서 숲이 가지고 있는 다양한 물리적 환경요소를 이용하여 인간의 심신을 건강하게 만들어 주는 자연요법의 한 분야라고 하겠다[8].

수목이 피톤치드를 생산하는 이유는 다른 식물에 대한 생성저해작용, 곤충이나 동물로부터 줄기나 잎을 보호하기 위하여 기피, 유인, 살충 및 살균작용을 통하여

나무 스스로 자신을 지키기 위해서 발사하는 일종의 항생물질이다. 이 항생물질은 특정한 균을 선택적으로 죽일 수 있고 인간의 신체에는 무리 없이 부드럽게 흡수된다고 하였으며, 이는 방부작용 및 항균작용에 큰 효과가 있다고 보고되고 있다[9-11].

본 실험결과에서도 11종의 Essential Oil에 대하여 13종의 그람양성균과 그람 음성균 그리고 진균인 C. albicans에 있어서 농도에 있어서 디스크 확산법에서 Oil 원액 (Oil 100%, 15 μ l 분주)에서 가장 높은 활성을 보였다. 즉 높은 활성을 보이는 30 mm 이상의 활성을 보이는 그람 양성세균에서 Essential Oil A, C, D 와 E에서 높은 활성을 보였다. 이 중에서 Essential Oil E (Tea Tree Oil)에서 가장 높은 활성을 보였다. 그 외의 Pine Oil과 잣솔방울, 일본산 편백오일, Limonene

과 한국산의 편백오일에서 항균활성이 다소 낮은 결과를 보였다. 그람양성세균에서는 *A. baumannii*에서만 앞선 그람양성세균에서와 같은 결과를 보였고 *C. albicans*에서는 모든 오일에서 높은 활성을 보였다. 이러한 결과들은 80%의 농도에서는 Essential Oil D와 E에서 가장 높은 활성을 보였다. 그 다음으로는 Essential Oil C에서 활성을 보였으며, 대부분이 그람양성세균과 *C. albicans*에서만 활성을 보였다. 70%의 농도 역시 Essential Oil D와 E에서 높은 활성을 보였고 활성이 높은 균종으로는 MRSA와 *B. cereus*에서 가장 큰 활성을 보였다. 그 외 50%의 농도에서는 *B. cereus*에만 활성을 보였고 30%의 농도에서는 30 mm 이상의 활성을 보이는 오일은 관찰되지 않았다. 따라서 현재의 결과로 볼 때 Essential Oil의 원액 (100%)과 70%의 농도에서 가장 유용한 활성을 보였다. 한편 가장 활성이 높은 Essential Oil은 A, C, D 그리고 E에서 가장 큰 활성을 보였다.

미생물의 최소억제농도인 MIC에서도 디스크 확산법에서의 결과와 동일한 결과를 보였다. 즉, 미생물의 최소억제농도를 0.0625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도를 유의한 억제농도로 판단했을 때 공시균종과 공시한 Essential Oil에서 디스크확산법과 동일한 결과로 해석되어 디스크확산법의 결과를 뒷받침한다고 하겠다. 이는 미생물의 최소살해농도 또한 같은 결과로 해석된다고 하겠다.

Blending Oil 4종에 대하여 13종의 공시균종에 대한 디스크 확산법에 대한 결과에서 30 mm 이상의 높은 활성을 기준으로 볼 때 blending Oil 전에서와 같이 원액의 농도에서 그람양성세균에서 BO2, BO3, BO4에서 높은 활성을 보였다. BO2, BO3, BO4 중에서는 BO2과 BO4에서 가장 높은 활성을 보였다. 이러한 결과는 80%, 70% 그리고 50%의 농도에서도 BO2과 BO4에서 같은 활성을 보였다. Blending Oil에서는 BO1을 제외하고는 나머지의 blending Oil에서 높은 항균 활성을 보여 blending에 의한 상승효과에 기인한 것이라고 하겠다. 또한 Oil의 농도 또한 50%의 농도에서도 일부 균종에서 항균활성을 보여 이러한 결과를 뒷받침한다고 하겠다. 현재의 결과로 볼 때 그람양성세균에서 *S. aureus*, *S. epidermidis*, MRSA, *E. fecalis* 등에서 높은 활성을 보여 상기한 균종들은 우리 생활환경 중에 널리 분포되어져 있는 세균과 원내 감염균으로 널리 알려져 있는 CNS (Coagulase negative

staphylococcus), MRSA 등에 있어서 30 mm 이상의 항균 활성을 보여 원내감염지표로서도 매우 의미 있는 결과로 생각된다. *S. aureus*, *B. cereus*의 경우 감염된 음식을 섭취했을 때 식중독을 유발함은 물론 이들 세균이 생성하는 장독소에 의하여 장염은 물론 다른 질환에 원인이 될 수도 있다. 그람 음성세균에 있어서는 *A. baumannii*에서만 높은 활성을 보인 반면 다른 균종에 있어서는 약간의 활성을 보이나 30 mm 이상의 활성을 보이는 것은 *A. baumannii*에서만 관찰되었다. 진균인 *C. albicans*에서는 모든 Oil에서 높은 항진균의 활성을 보였다. 따라서 향후 최근 super bacteria로 알려져 있는 vancomycin에 대한 저항성을 가지는 *Enterococcus* 또는 *S. aureus*인 VRE (Vancomycin Resistance *Enterococcus*), VRSA (Vancomycin Resistance *Staphylococcus aureus*) 등에 대한 항균활성에 대한 연구가 필요하다고 사료된다. 그람 음성세균은 오염의 지표로 많이 활용되고 있는 대장균과 장내세균과 원내 감염균의 대표적인 녹농균 등에 대한 항균 활성과 진균인 *Aspergillus*, *Penicillium* 등에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다. 작용기전으로는 세포벽합성저해, 세포막의 기능저해, 단백질의 합성저해, 핵산합성의 저해 그리고 경쟁적 대사길항으로 나눌 수 있다. 첫째로 세포벽의 합성 저해제의 기전은 다음과 같다. 미생물의 세포는 포유동물의 세포와는 달리 세포벽을 가지고 있고 내부는 높은 삼투압을 나타내며 견고한 세포벽으로 세포의 골격을 유지하고 있다. 만약 세포벽의 합성이 차단되면 높은 삼투압으로 구조를 지탱함에 있어 결함이 생겨 세균 형질의 팽창과 동시에 용해된다. 세균의 세포벽의 주성분은 murein (peptidoglycan)이다. 세포벽의 합성을 억제하는 대표적인 약물로는 페네실린과 세팔로스포린이 대표적인 물질이다. 둘째로 세포막의 기능저해로는 다음과 같은 기전에 기인한다. 세포막은 세포의 생명유지에 중요한 역할을 한다. 세포막은 세포질 내 삼투압과 세포가 처한 환경의 삼투압 간 차이에 의한 세포손상 보호뿐만 아니라 세포에 필요한 영양물질의 흡수, 호흡효소, 대사산물의 조절 및 생합성의 장소로 작용한다. 화학 요법제에서 가장 대표적인 세포막의 기능저해제로는 amphotericin B, nystatin, miconazole 등이 있다. 특히 Polymyxin B의 경우 진균에도 큰 효과가 있는 항진균제로 널리 알려져 있다. 세 번째로 단백질 합성에 억제작용에 대한 기전으로 가장

대표적인 항생물질로는 tetracycline, chloramphenicol, erythromycin, aminoglycoside 계열의 항생제가 여기에 속한다. 이들 항생제는 단백질의 합성을 억제하는데, 균체 단백질 합성 과정 중 m-RNA가 Ribosome에 결합하는 것을 방해하여 단백질의 합성을 억제한다. Tetracycline이나 aminoglycoside계 등은 30s Ribosome에 작용하며 기타 약물들은 50s Ribosome에 작용해서 아미노산이 이곳에 결합하는 것을 방해하여 새로운 단백질의 합성을 억제하고 있다. 그러나 포유동물세포에서는 40s Ribosome이 형성되므로 상기한 항생물질에는 영향을 받지 않는다. 네 번째로 핵산 합성 억제에 대한 작용기전은 핵산의 기능이나 구조를 변화시켜 미생물의 증식을 억제하는데, 이러한 항생물질은 숙주세포에서도 독성을 나타내어 임상적 이용에는 제한이 따른다. 대표적인 항생물질로는 Mitomycin은 DNA와 결합하여 DNA 의존 RNA 합성을 저지하는 작용이 있고 Actinomycin의 경우 중합된 DNA를 해리시켜 단백질의 합성을 억제하여 항암작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. 마지막으로 경쟁적 대사 길항제의 경우로 대사과정에 관여하는 효소들은 그 기질과 유사한 구조를 가진 물질에 의하여 효소의 작용이 저지되는데, 이러한 저지물질은 효소와 결합하여 정상적인 효소기질 반응이 저지되고 따라서 다음의 촉매반응이 일어나지 못하여 대사과정이 중단되므로 항균과 항암작용을 나타낸다. 여기에 가장 대표적인 물질로는 Sulfonamides, Trimethoprim, Methotrexate (MTX), Purine 등이 여기에 속한다. 미생물이 어떤 약제에 대하여 반응을 나타내는 것을 감수성 (Susceptibility)이라고 한다. 반면 화학요법제가 병원균에 대하여 감수성이 매우 낮아 저항성이 강한 것을 내성 (Resistance)이라 하며 임상적으로 효과가 없는 균을 내성균이라고 한다. 약물의 내성기전은 몇 가지로 생각할 수 있다. 약물이 미생물체 내로 침투하는 것을 억제하는 것으로 즉, 미생물의 세포질막 투과성을 억제하여 일어난다. 약제를 보호하는 효소 생산으로 Penicillin 분해효소인 Penicillinase (β -lactamase)가 생산되어 내성이 생긴다. 또한 경쟁적 길항 물질의 생산과 약물 작용점의 구조변화로 인해 내성이 생기는 것으로 보고되고 있다. 교차내성 (Cross Resistance)이란 미생물이 어떤 특정 약물에 대해서 내성이 나타날 때 그 약물과 화학적 구조나 작용기전이 유사한 다른 약물에 대해서도 내성을 나타내는 경우를

말한다. 예를 들면 Sulfa제, Tetracycline, Penicillin, Cephalosporin 상호간의 예를 들 수 있다.

우리의 실험에 사용된 에센셜 오일은 항생제 활성이 뛰어난 천연 항생제 및 자연 의학의 에센셜 오일을 사용한 주요 연구와 비교할 때 더 우수한 항생제 활성을 보였다. 시험에 사용한 공시물질인 Essential Oil이 어떤 항균활성의 기전을 가지는지 알 수 없으나 다른 선행 연구결과와 비교해 볼 때 세포벽의 합성저해기전으로 해석하고 있다. 이러한 결과로부터, 항생제 활성을 갖는 일부 물질 또는 기능성 제품이 개발될 것으로 예상된다.

References

- [1] J. Y. Ahn, S. S. Lee & H. Y. Kang. (2004). Biological Activities of Essential Oil from *Chamaecyparis obtusa*. *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 30(4), 503-507.
- [2] M. J. Kim, T. G. Jeong, I. K. Hong, K. S. Yoon. (2006). Comparison of Anti-microbial Oils as Natural Preservatives. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 32(2), 99-103.
- [3] S. K. Kang, Q. S. Auh, Y. H. Chun & J. P. Hong. (2010). Effect of *Chamaecyparis obtusa* tree Phytoncide on *Candida albicans*. *Journal of Oral Medicine and Pain*, 35(1), 19-29.
- [4] S. Y. Lee, J. G. Kim, B. J. Baik, Y. M. Yang, K. Y. Lee, Y. H. Lee, M. A. Kim. (2009). Antimicrobial effect of essential oils on oral bacteria. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 36(1), 1-11.
- [5] Y. T. Jung, I. S. Lee, K. Whang & M. H. Yu (2012). Antioxidant Effects of *Picrasma quassioides* and *Chamaecyparis obtusa* (S. et Z.) ENDL Extracts. *Journal of Life Science*, 22(3), 354-359.
- [6] H. Muller-Dietz. (1956). Phytoncides and phytoncide therapy. *Dtsch Med Wochenschr*, 81(24), 983-984.
- [7] C. M. Mann & J. L. MarkhamA. (1998) . A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential Oils.

Journal of Applied Microbiology, 84(4), 538-544.

DOI : 10.1046/j.1365-2672.1998.00379.x

- [8] J. H Lee, W. S Shin, P. S Yeoun & R. H Yoo. (2009). The Influence of Forest Scenes on Psychophysiological Responses. *Journal of Korean forestry society*, 98(1), 88-93.
- [9] S. Inouye, T. Takizawa & H. Yamaguchi. (2001). Antibacterial activity of essential Oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(5), 565-573.
DOI : 10.1093/jac/47.5.565
- [10] K. Hamden, H. Keskes, S. Belhaj, K Mnafigui, A. Feki & N. Alloche. (2011). Inhibitory potential of omega-3 fatty and fenugreek essential Oil on key enzymes of carbohydrate-digestion and hypertension in diabetes rats. *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 226.
DOI : 10.1186/1476-511X-10-226
- [11] A. E. Sadlon & D. W. Lamson. (2010). Immune-Modifying and Antimicrobial Effects of Eucalyptus Oil and Simple Inhalation Devices. *Altern Med Rev*, 15(1), 33-47.

박 상 남(Nam-Sang Park)

[정회원]



- 2016년 8월 : 대전대학교 미생물 학과 (이학박사)
- 2015년 3월 : 경운대학교 임상 병리학과 조교수
- 2016년 3월~현재 : 경동대학교 임상병리학과 조교수

- 관심분야 : 임상생리학, 미생물학, 천연오일, 통계
- E-Mail : snpark@kduniv.ac.kr

강 윤 정(Yun-Jung Kang)

[정회원]



- 2015년 8월 : 단국대학교 보건학과 (보건학박사)
- 2016년 2월 : 경운대학교 임상병학과 조교수
- 2019년 2월~현재 : 상지대학교 임상병리학과 조교수

- 관심분야 : 임상생리학, 혈액학, 통계
- E-Mail : lvpig@naver.com