

# 은행외종피 추출물의 병원성미생물에 대한 항균효과

오테석\*, 김창호\*\*, 정남수\*\*, 윤혜려\*\*, 김영운\*\*, 이준원\*\*\*

## 요약

본 연구에서는 은행외종피 추출물이 병원성미생물에 대한 항균력에 대하여 실험하였는데 은행외종피 추출물은 (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, *Shigella sonnei*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* 실험재료로 쓰인 7종의 병원성미생물에 대하여 항균력을 나타내고 있으며 은행외종피에서 glucose를 기반으로 하는 polysaccharides를 분리하여 항균력을 확인한 결과 은행외종피추출물보다 높은 항균력을 확인할수 있었다. 상기와 같은 실험결과로 미루어볼 때 은행외종피추출물은 높은 항균력을 지니고 있으며 소독제 및 살균제로써 활용가능성이 높다고 판단된다.

## The antibacterial effect of the Ginkgo biloba Outer Seedcoat extract against the pathogenic microorganism

Tae-Seok Oh\*, Chang-Ho Kim\*\*, Nam-su Jung\*\*, Hei-Ryeo Yoon\*\*,  
Yeong-Wun Kim\*\*, Jun-Won Lee\*\*\*

### ABSTRACT

This study was conducted to experiment the antibacterial activity of the extract of Ginkgo biloba Outer Seedcoat against pathogenic microorganism. The extracts effect on antibacterial power against seven species of pathogenic microorganism using experimental materials(*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, *Shigella sonnei*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*). The results of antibacterial activity of polysaccharides as glucose separation in the Ginkgo biloba Outer Seedcoat, showed that the antibacterial activity of polysaccharides were higher than the extract of Ginkgo biloba Outer Seedcoats. Thus, the extract of Ginkgo biloba Outer Seedcoat has antibacterial activity, could be further developed into a antiseptic and disinfectants.

Key Words : Antimicrobial activity, Ginkgo biloba L, Ginkgo seedcoat, Pathogenic microorganism, extract

---

\*태성테크 (✉taeseok777@gmail.com)

\*\*공주대학교

\*\*\*배재대학교

· 제1저자(First Author) : 오테석 · 교신저자(Correspondent Author) : 김창호

· 접수일(2013년 12월 4일), 수정일(1차 : 2013년 12월 10일), 게재확정일(2013년 12월 12일)

## I. 서 론

생활수준이 향상과 더불어 화학살균제 사용에 따른 환경문제로 인하여 근래에는 천연물을 이용한 살균제 등이 개발되고 있으며 수요가 증가하고 있다[1][2]. 세균 및 곰팡이 등을 제거하기 위한 항생물질의 개발은 kasugamycin, polyoxin, validamycin, nikkomycin 물질들이 개발되어서 유기합성화학물질을 대체하고 있으며 특히 식물과 인체에 대한 약해가 적고 속효성 효과를 가지고 있으며 이들의 유도체화를 통한 새로운 살균제 개발 등이 진행되고 있다[3][4].

천연물에서 각종 병원성미생물과 식물병유발균에 항균력을 보이는 물질을 이용하는 친환경적인 살균제의 생산과 소비가 지속적으로 증가하고 있는데 일반적으로 식물체 및 한약재 중에는 미생물로부터 자신을 보호하기 위하여 항균성분을 함유하고 있으며 주로 유기산, 지방산, flavonoid 등의 페놀성 물질 및 배당체등에 기인한다고 한다. 이러한 이유로 식품, 의약 및 생물공학산업 등의 분야에서 항균성 소재의 연구를 위한 천연물의 추출성분에 관한 연구가 진행되고 있으며 항균력이 뛰어나고 안정성이 확인된 항균 물질을 분리하여 응용하는 연구가 활발하게 진행되고 있다[5][6].

은행나무는 우리나라에 조경수 및 가로수로 그동안 많이 식재되어 있으며 매년 은행열매를 생산하고 있는데 은행을 감싸고 있는 외종피는 약취가 발생하여 문제가 되어 현재까지는 전량 폐기된다. 그러나 은행 외종피에는 강한 살충 및 항균력이 있는 것으로 최근에는 보고되고 있는데 박 등[7]은 은행외종피 메탄올 추출물의 chloroform분획물에서 우수한 항균효과를 나타냈다고 보고하였다.

이에 본 연구는 폐기물로써 환경문제 등을 유발하는 은행외종피를 이용하여 실생활에 문제가 되는 각종 병원성미생물의 방제를 위한 천연살균제를 개발하기 위하여 진행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 2.1 항균물질 추출

본 실험에 사용한 은행외종피는 2011년 10월에 충남 예산군 예산읍 대회리에 위치한 공주대학교 산업과학대학내에 있는 조경수에 은행을 채취한 은행외종피를 분리하여 60℃에서 4일간 열풍건조한 후에 분쇄기 (HMF-34 0, Hanil, Korea)로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다. 추출용매는 Ethanol(HPLC grade, Burdick & Jackson, USA)을 사용하였고 은행외종피 분말시료와 Ethanol을 1:5(w/v)의 비율로 혼합하여 상온에서 24시간동안 교반추출 후에 여과지 (Whatman, No.2)로 여과한 후 회전 진공증발기 (Rotary evaporator N-1000, Eyela, Japan)로 45℃ 수욕상에서 감압 농축 하여 은행외종피 농축물 51g을 얻은 후에 polysaccharide를 분리하기 위해 HP 20 column chromatography를 100%, H<sub>2</sub>O부터 100% MeOH까지 column chromatography를 실시하여 8개의 소분획을 얻었다. 각각의 소분획에 대한 활성검색 결과 강한 활성을 나타내는 Fr. 3 을 이동상 MeOH-H<sub>2</sub>O(0:100)로 C18 column chromatography를 실시하여 다시 2개의 분획으로 나누었다. 그 중 강한 활성을 나타내어 Fr. 3-2의 당구성을 1H-NMR을 통해 확인한 결과 anomeric signal들이 4.0 - 5.0 mg L<sup>-1</sup>에서 관찰되었고, sugar backbone에서 기인하는 oxymethine과 oxymethylene이 관찰되었고 Bio-LC ICS-5000시스템에서 Detection: ICS-5000과 Column: CarboPacPA10(4.5×250mm, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) with CarboPac PA10 cartridge (4.5×50mm)을 이용하여 환류액 NaOH로 Flowrate 1.0ml/min조건으로 분석한 결과 polysaccharide임을 확인할 수 있었다.

## 2.2 은행외종피 추출물 및 Polysaccharide의 항균력 검정

본 실험에 이용된 병원성미생물은 한국생명공학 연구소에서 분양받았으며 항균력 검정에 이용된 병원성미생물은 총 7종으로 KCTC 1039 *Escherichia coli*, KCTC 5327 *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, KCTC 7965 *Candida albicans*, KCTC 1636 *Pseudomonas aeruginosa*, KCTC 1012 *Bacillus cereus*, KCTC 2009 *Shigella sonnei*를 이용하였다.

Disk Paper Method. 전배양된 병원성미생물 7종을 Spread stick 을 이용하여 배지에 도말하여 준비하였고 은행외종피 추출물을 62.5, 125, 250, 500mg·L<sup>-1</sup>로 제조한 다음에 8mm disk paper에 흡수시켜 완전히 건조시킨 후에 건조된 disk를 병원균이 도말된 평판 배지 위에 완전히 밀착 시킨 상태로 30°C incubator에서 배양 후 disk 주변에 생성된 clear zone을 측정하여 농도별 항균효과를 비교하였다.

chloroform - ethyl acetate - n-butanol - water 순으로 분획한 분획물에 대한 항균력 검정은 같은 방법으로 진행하였으며 농도는 250mg·L<sup>-1</sup>수준에서 진행하였으며 polysaccharide의 항균력 검정은 31.25, 62.5, 125, 250mg·L<sup>-1</sup> 4가지 처리수준에서 상기와 같은 방법으로 항균력 검정을 진행하였다.

모든 통계분석은 Duncan검정을 실시하였으며, Duncan 검정은 SAS 8.0(Statistical Analysis System)를 이용하여 실시하였다.

### III. 결과 및 고찰

현대사회는 각종 오염원에 쉽게 노출될 수가 있으며 이중에서도 의료기관 및 오염된 환경에서 각종 병원성 미생물에 쉽게 노출될 수 있다. 병원성

미생물은 각종 질병을 유발하여 인간의 건강에 해를 끼치며 이로 인한 노동력 상실과 같은 경제적 손실을 유발하고 있다. 이러한 병원성미생물을 예방하기 위하여 항균력이 있는 합성화학물질이나 알콜류 등으로 소독하고 있으나 합성화학물질의 사용은 병원성미생물을 제거하는 효과는 있으나 사용으로 인하여 환경오염 및 자원낭비라는 문제를 동시에 지니고 있다.

이러한 문제로 인하여 근래에는 천연물 및 한약 제등에서 항균력이 존재하는 물질을 추출하여 친환경적인 항균제등을 개발하고 있으며 본 연구에서는 우리나라에 많이 식재되어 있는 은행나무의 외종피를 이용하여 각종 병원성미생물에 대하여 항균력을 조사하였고 그 결과는 아래 <Table 1>과 같다.

Table 1. 은행외종피 추출물의 항균력  
Table 1. The antibacterial activity of Ginkgo seedcoat extracts against the pathogenic microorganism

Treatment	Pse	Esc	Bac	Cam	Shi	Can	Tre
	Clear Zone(mm)						
62.5mg·L <sup>-1</sup>	9 c*	-	10 b	-	10 a	9 c	-
125mg·L <sup>-1</sup>	11 b	10 b	10 b	9 b	-	10 b	11 b
250mg·L <sup>-1</sup>	12 a	12 a	10 b	10 a	10 a	12 a	10 b
500mg·L <sup>-1</sup>	13 a	11 ab	13 a	11 a	12 a	11 b	12 a

\*means followed by the same letter in the same columns are not significantly different.(p<0.05)

- Pse : *Pseudomonas aeruginosa*, Esc : *Escherichia coli*, Bac : *Bacillus subtilis*, Cam : *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, Shi : *Shigella sonnei*, Can : *Candida albicans*, Tre : *Streptococcus mutans*

은행외종피 추출물은 병원성 세균 7종에 대하여 항균력을 나타내고 있다. 병원균 중에서도

*Pseudomonas aeruginosa*와 *Bacillus subtilis*이 500mg·L<sup>-1</sup> 농도이상의 수준에서 12mm이상의 높은 항균력을 나타내고 있으며 250mg·L<sup>-1</sup> 이상의 농도에서는 모든 병원성미생물에 대하여 항균력을 나타내고 있다.

이번 실험의 결과 은행외종피추출물은 병원성미생물에 대하여 항균효과를 나타내고 있는 것으로 확인되었고 박 등[7]의 연구에서도 은행잎 및 은행외종피 추출물은 *Bacillus subtilis* 및 기타 병원성미생물에 대하여 10mm이상의 Clear Zone이 형성되는 항균력이 존재하고 있다는 선행연구결과 본 실험은 일치하고 있으며 이러한 결과를 볼 때 은행외종피에는 병원성미생물에 대하여 항균력이 존재하는 물질이 포함되어 있다고 판단할 수 있어 은행외종피 추출물에 대하여 chloroform - ethyl acetate - n-butanol - water 순서로 분획하여 항균력이 존재하는 물질의 분획층을 확인하였고 그 결과는 <Table 2>와 같다.

Table 2. 은행외종피 분획물의 세균에 대한 항균력  
Table 2. The antibacterial effect of the fraction of the Ginkgo seedcoat extract against the pathogenic microorganism.

Treatment	Pse	Esc	Bac	Cam	Shi	Can	Tre
	Clear Zone(mm)						
chloroform	12 b	14 a	12 a	14 a	12 b	14 a	11 b
ethyl acetate	14 a	15 a	13 a	14 a	14 a	14 a	13 a
butanol	-	10 b	-	-	10 c	-	-
water	9	-	-	10 b	10 c	9 b	-

chloroform과 ethyl acetate분획물에서 높은 항균력을 나타내고 있으며 butanol과 water분획물에서는 항균력이 미비한 것으로 확인되었다.

chloroform과 ethyl acetate분획물의 경우에는 모든 병원성미생물에 대하여 높은 항균력을 나타내

고 있으며 chloroform분획물에서는 *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni subsp. jejuni*와 *Candida albicans*가 14mm로써 높은 항균력을 나타내고 있으며 ethyl acetate분획물에서는 모든 병원성미생물에 대하여 13mm이상의 높은 항균력을 나타내고 있으며 *Escherichia coli*은 15mm의 가장 높은 항균력을 나타내고 있다.

은행외종피는 긴고리산(ginkgolic acid)을 함유하고 있어 결핵균에 대한 항균 활성을 가진 것으로 알려져 있으며 최근에 이러한 항균력을 이용하여 항균력 연구가 진행중에 있으며 곰팡이계열의 식물병에 대한 항균력이 알려지기 시작하였고 박 등 [6]의 연구에서는 은행외종피 메탄올 추출물의 chloroform용매 분획물을 세균에 대하여 분무하였을 경우에 대조구에 비하여 세포의 수가 감소하고, 세포가 팽윤하거나 일부 세포의 세포벽이 파괴되어 원형질체가 유출되어 세포의 생육이 억제되었다는 보고가 있었으며 최 등[8]의 보고에서는 은행외종피 발효추출물은 각종 식물병을 유발하는 곰팡이균에 대하여 높은 항균력을 지니고 있다고 보고하였다. 상기와 같은 선행연구결과로 미루어보아 은행외종피 추출물은 세균 및 곰팡이들의 생육을 억제하는 항균물질을 지니고 있다고 추정할 수 있었으며 이를 근거로 하여 은행외종피 추출물에서 polysaccharide를 분리하여 항균력을 확인하였다.

polysaccharides는 항암[9], 항바이러스[10], 항산화[11][12] 등의 biological activity들이 밝혀지면서 항균력과 의학분야에서 주목을 받고 있으며, 여러 다방면에서 이용되고 있다.

Zhu *et al.*, [13]의 보고에서는 버섯으로부터 분리되어진 polysaccharides가 세균에서의 항균효과가 있다고 보고되었는데. 항균효과를 갖는 polysaccharide의 당 구성은 glucose, rhamnose, mannose 또는 mannose, glucose, galactose으로 밝혀졌으며, 이번 실험에서 은행외종피에서 분리한

polysaccharide의 구성 또한 <Table 3>과 같이 glucose을 기본으로 구성되어있는 것으로 확인되었다.

Table 3. 은행 외과피의 Polysaccharide에 대한 당분석  
Table 3. Sugar analysis of Ginkgo seedcoat

sugars/sample	sample(ng)	sample(g/100g)	sample(%)
fucose	0	0	0
galactosamine	0.06	0	0
glucosamine	1.68	0.08	0.08
galactose	34.82	1.74	1.74
glucose	489.54	24.48	24.48
mannose	11.81	0.59	0.59

polysaccharides는 은행외종피 추출물 및 분획물에 비하여 높은 항균력을 나타내고 있으며 그 결과는 <Table 4>와 같다.

Table 4. 은행외종피에서 분리한 polysaccharides의 항균력

Table 4. pathogenic microorganism on the antibacterial activity of polysaccharides

Treat ment	Pse	Esc	Bac	Cam	Shi	Can	Tre
	Clear Zone(mm)						
31.25mg·L <sup>-1</sup>	14 bc	16 ab	15 a	16 b	13 a	-	15 a
62.5mg·L <sup>-1</sup>	17 a	16 ab	16 a	16 b	13 a	13 a	13 b
125mg·L <sup>-1</sup>	15 b	14 b	15 a	18 a	13 a	13 a	16 a
250mg·L <sup>-1</sup>	17 a	17 a	15 a	17 a	13 a	12 a	16 a

은행외종피 추출물의 항균력은 *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*의 Clear Zone이 13mm가 가장 높았으며 분획물에서도 *Escherichia coli*의 항균력이

15mm로 가장 높은 Clear Zone으로 확인되었으나 polysaccharides의 경우에는 *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*는 각각 17mm과 16mm의 Clear Zone이 확인되었고 *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*의 경우에는 14mm이었으나 polysaccharides로 확인한 Clear Zone은 18mm로써 실험에 사용된 병원성미생물에서 은행외종피 추출물 및 분획물보다 항균력이 높게 나타나고 있다.

이러한 결과로 미루어볼 때 은행외종피가 가지고 있는 polysaccharides는 병원성미생물에 대하여 높은 항균력을 지니고 있는 것이 확인되었고 은행외종피에 존재하고 있는 polysaccharides를 분리하면 일반 가정이나 의료기관에서 사용할수 있는 천연소독제 및 소독용연고등의 재료로써 활용이 가능할것으로 판단된다.

#### IV. 결 론

본 연구에서는 은행외종피 추출물이 병원성미생물에 대한 항균력에 대하여 실험하였는데 은행외종피 추출물은 *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, *Shigella sonnei*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* 실험재료로 쓰인 7종의 병원성미생물에 대하여 항균력을 나타내고 있으며 은행외종피에서 glucose를 기반으로 하는 polysaccharides를 분리하여 항균력을 확인한 결과 은행외종피추출물보다 높은 항균력을 확인할수 있었다. 상기와 같은 실험결과로 미루어볼 때 은행외종피추출물은 높은 항균력을 지니고 있으며 소독제 및 살균제로써 활용가능성이 높다고 판단된다.

## REFERENCES

- [1] Burpee, L. L. and Goult, L. G. Evaluations of fungicides for control of pink and gray snow mold on creeping bentgrass. pp.6-7, In; Turfgrass Research Annual Report, R. W. Sheard(ed). Univ. of Guelph, Ontario. 38, 1984.
- [2] Yoshie, Y. Katsushige, I. Yoshihisa, U. Atsuko, O., Kazutoh, T. and Hiroshin, N. Isolation, structures, and antifungal activities of new Aureobasidins. *J. Antibiotics*. No.46, pp.1347-1354, 1993.
- [3] Kim, J. S. Development of biopesticide using higher plant-derived natural products. *Korea Research Institute of Chemical Technology*. Vol.1, No.1, pp.75-97, 2003.
- [4] Kim, J. B. Pathogen, insect and weed control effects of secondary metabolites from plants. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*. Vol. 48, pp.1-15, 2005.
- [5] Han, W. S. Isolation of Antimicrobial Compounds from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Korea J. Medicinal Crop Sci*. Vol.12, No.3, pp.179-182, 2004.
- [6] Park C .G, Bang K. H, Lee S .E, Cha M.S, Sung J. S, Park H. W and Seong N. S. Antibacterial activity from medicinal plant extracts on the *Staphylococcus aureus*. *Korea J. Medicinal Crop Sci*. Vol.9, No.4, pp.251-258, 2001.
- [7] Park, S. b, Cho, G. S. Antimicrobial Activity of Extracts and Fractions of *Ginkgo biloba* Leaves, Seed and Outer Seedcoat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* Vol.40, pp.7-13, 2011.
- [8] Choi J. K. Potent activities of insecticidal components isolated from *Ginkgo biloba* (L.) leaves and outer seedcoats against *aedes togoi* larvae. MS Thesis. Chonbuk National University, Jeonju, Korea. pp.24-27, 2013.
- [9] Tong, H. B. Xia, F .G. Feng. K. Sun, G. G. Gao, X. X.. and Sun, L. W. structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *pleurotus ostreatus*. *Bioresource Technology*. Vol.100, No.4. pp.1682-1686, 2009.
- [10] Yim, J. H, Kim, S. J, Ahn, S. H. Lee, C.K., Phie, K.T., & Lee, H.K.. Antiviral Effects of Sulfated Exopolysaccharide from the Marine Microalga *Gyrodinium impudicum* Strain KG03. *Marine Biotechnology*, Vol.6.No.4 pp.17-25, 2004.
- [11] Rout, S. Banerjee, R. Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*. *Bioresource Technology*, Vol.98, No.16, pp.3159-3163, 2007.
- [12] Tsai, M.C., Song, T.Y., Shih, P.H., & Yen, G.C. (2007). Antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from *Antrodia cinnamomea* in submerged culture. *Food Chemistry*, Vol.104. No.3, pp.1115-1122.
- [13] Zhu, H. Sheng, K. Yan, E. Extraction, purification and antibacterial activities of a polysaccharide from spent mushroom substrate. *international journal of biological macromolecules* Vol.50, No.3, pp.840 - 843, 2012.

## ACKNOWLEDGMENTS

본 연구는 농림축산식품부의 향토산업육성사업의 일환인 2013 예산은행자원녹색산업화사업단으로부터 연구비를 지원받아 수행한 연구자료입니다.

## 저자소개



오태석(Tae-Seok Oh)

2005년 공주대학교 식물자원학과(농학석사)

2009년 공주대학교 식물자원학과(농학박사)

20011년~현재 태성테크 대표

※ 관심분야 : 병원성미생물, 중금속



김창호(Chang-Ho Kim)

2009년 공주대학교 산업과학대학 학장  
2011년 공주대학교 교무처장

1992년~현재 공주대학교 식물자원학과 교수  
※ 관심분야: 식물생리, 사료작물



이준원(Junwon Lee)

2001년 연세대학교 생명공학과(공학박사)  
2006년 전남대학교 의과대학 연구교수

2008년~현재 배재대학교 바이오·의생명공학과 조교수  
※ 관심분야: 생리활성대사산물, 골 질병 약제 개발



정남수(Nam-su Jung)

2003년 서울대학교 조경·지역시스템공학부(공학박사)  
2005년 농촌진흥청 농촌자원개발연구소(농업연구사)

2006년~현재 공주대학교 지역건설공학과 부교수  
※ 관심분야: 농촌계획, 정보공학



윤혜려(Hei-Ryeo Yoon)

1993년 University of Illinois, Chicago, Medical Dietetics(이학석사)  
1997년 Texas Woman's University, Nutrition & Food Sciences (Foodservice Management), Ph. D

2006년~현재 공주대학교 식품과학부 외식상품학전공 부교수  
※ 관심분야: 기능성물질, 식품과학



김영운(Yeong-Wun Kim)

2013년 공주대학교 식물자원학과(농학 박사 취득예정)

2008년~현재 공주대학교 식물자원학과 대학원 재학중  
※ 관심분야: 미생물, 원예작물