

## 질경이(*Plantago asiatica* L.) 추출물의 항균성검색

전영옥\* · 김건희 · 김순임 · 한영실

숙명여자대학교 식품영양학과, \*승의여자대학 식품영양과

### Screening of Antimicrobial activity of the Plantain (*Plantago asiatica* L.) extract

Young-Ok Jeon\*, Keun-Hee Kim, Soon-Im Kim and Young-Sil Han

Department Food and Nutrition, Sookmyoung Women's University Seoul,  
140-742, Korea

\*Food and Nutrition, Soongeui Women's College Seoul, 100-751, Korea

#### Abstract

In order to develop a natural food preservative, freeze dried plantain (*Plantago asiatica* L.) was extracted with several solvents, and the antimicrobial activity was investigated. The methanol extract exhibited antimicrobial activities against five strains of bacteria such as *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Vibrio parahaemolyticus*. The methanol extract at the concentration of 1.0 mg/ml completely inhibited the growth of *B. subtilis* and *V. parahaemolyticus*. Antimicrobial activity of the ethylacetate fraction from the methanol extract was the strongest compared with those of other solvent fractions such as *n*-hexane, chloroform, *n*-butanol and water. The ethylacetate fraction showed the inhibitory effect at the concentration of 0.5 mg/disc on the growth of *B. subtilis* and *V. parahaemolyticus*.

Key words: natural preservative, plantain extract, antimicrobial effect, food spoilage microorganisms, ethylacetate fraction

## I. 서 론

최근 식생활의 다양화, 고급화 및 편의화의 추구에 따라 가공식품의 개발과 인스턴트 식품의 소비가 증가하고 있다<sup>1)</sup>. 특히, 식품의 부패 및 변질을 방지하고 식품의 저장기간을 연장하기 위하여 식품보존제의 사용이 증가되고 있으나 대부분의 보존제가 인공합성품으로 그 안정성이 문제시 되어 인체에 무해한 대체 보존료가 필요하게 되었다. 따라서 화학적 합성품이 아닌 식용식물과 생약 등의 천연물로부터 천연식품 보존제를 개발하려는 연구가 이루어지고 있다<sup>2-4)</sup>. 이에 음식에 맛과 향을 더해주기 위하여 사용되는 향신료의 정유성분이 미생물 증식을 억제하는 것으로 보고되었고<sup>5-7)</sup> 녹차<sup>8)</sup>의 항균효과와 젖산균이 생성하는 bacteriocin<sup>9-11)</sup>에 대한 항균성도 보고되었다. 최근에는 우리나라에서도 천연물에서 얻는 특정성분에 대한 관심이 고조되어 자초, 꾸지뽕나무, 감초 등의 한약재와 약용식물 등 산야에 널리 자생하고 있는 야생식물 추출물의 항균성이 보고되고 있다<sup>12-15)</sup>.

질경이는 배부장이, 차전자, 마전초로 불리우는 야생식물로서 봄부터 초여름까지 잎과 뿌리를 나뭇 또는 국거리로 해서 먹으며 생잎을 씹으로 해 먹기도 한다. 또한 데쳐서 말려 두었다가 겨울에 먹는 일도 많다<sup>16)</sup>. 질경이의 잎과 씨는 이뇨, 해열, 거담, 진해의 효능을 가진 약용식물이라고 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 천연식품보존제 개발의 일환으로 예로부터 손쉽게 구하여 민간에서 구황식물 및 민간의 약재로 사용하였던 질경이를 메탄올 및 여러 용매로 추출하여 식품부패미생물에 대한 항균력을 검색하여 천연식품보존제로서의 이용 가능성을 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 사용된 질경이(*Plantago asiatica* L.)는 강원도 홍천에서 채취하여 자연건조시킨 것을 구입하여 blender로 마쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

**2. 사용균주 및 배지**

실험에 사용한 균주는 식품의 변질 및 부패에 관계하는 것으로 G(+)*균인 Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* KCCM 40307 등 3종을, G(-)*균으로는 Escherichia coli* ATCC 11229와 *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471 등 2종을 유전공학 생명과학연구소에서 분양받아 사용하였다.

배지는 모든 균주를 Tryptic soy broth(TSB)와 Nutrient agar(NA)를 사용하였으며, 호염균인 *Vibrio parahaemolyticus*는 TSB와 NA에 3%의 NaCl을 첨가하여 사용하였다.

**3. 추출방법 및 추출물의 분획**

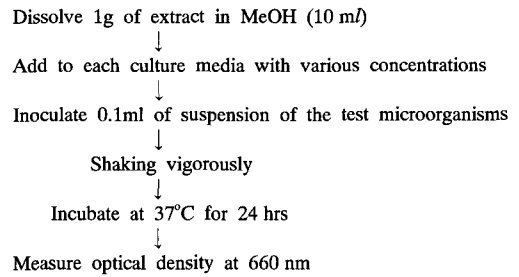
마쇄한 시료는 Fig. 1과 같이 삼각플라스크에 환류냉각관을 부착한 장치를 이용하여 95% 메탄올로 80°C에서 환류냉각 시키면서 3시간씩 3회 반복 추출하여 여과한 후 감압농축하여 메탄올추출물을 얻은 후 증류수에 현탁하여 *n*-hexane을 첨가하여 분획시킨 후 여과 감압농축하여 hexan 추출물을 얻었다. 이와 같은 방법으로 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 극성이 낮은 용매에서 극성이 높은 용매로 순차적으로 계통 분획한 후 농축하여 각 용매의 분획물을 얻었다.

**4. 인공합성보존제의 항균성**

인공합성보존제로 우리나라에서 빵과 생과자류의 실제 방부제로 사용이 허가되어 있는 Sodium propionate를 1, 2, 3, 5%의 농도로 첨가하여 각 시험균주에 대한 항균성을 검색하였다.

**5. 항균성 검색**

항균성검색은 Fig. 2와 같이 사면배지에 배양한 균주를 1백금이 취해 10 ml의 TS broth에 접종하여



**Fig. 2. Antimicrobial activity assay.**

37°C에서 8시간 배양시킨 후 10<sup>8</sup> colony forming unit (CFU)/ml로 10배 희석법으로 희석하여 추출물을 1000과 2000 µg/ml의 농도로 첨가한 배지에 0.1 ml/씩 접종하여 37°C에서 24시간 배양시킨 후 660 nm에서 탁도를 측정하여 항균력을 다음 식<sup>17)</sup>에 의해 산출하여 비교하였다. 이 때 blank는 각 시료를 농도별로 첨가한 것으로 하였다.

$$\% \text{ inhibitory effect} = \frac{(\text{control} - \text{control blank}) - (\text{treatment} - \text{treatment blank})}{(\text{control} - \text{control blank})} \times 100$$

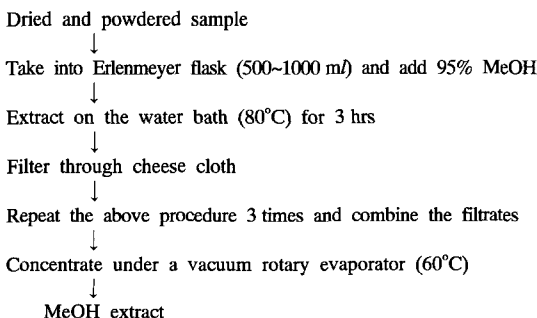
**6. MeOH 추출물의 용매 분획별 항균성**

항균성을 나타내는 MeOH 추출물을 각 용매별로 분획 후 얻은 분획물의 항균성 실험은 paper disc법으로 측정하였다. 항균성 시험용 평판배지는 nutrient agar를 사용하여 멸균 후 petridish에 15 ml/씩 분주하여 clean bench에 하룻밤 건조시키고, 그 위에 각 균주 배양액 0.1 ml/를 구부린 유리막대로 도말하였다. 각 분획별 추출물의 농도는 250, 500, 1000, 1500, 2000 µg/disc로 멸균된 disc(8 mm, Toyo Seisakusho Co.)에 흡수, 건조시켜 plate 표면에 올려놓은 후 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로 항균활성을 측정하였다.

**III. 결과 및 고찰**

**1. MeOH 추출물의 항균성 검색**

5종의 식품부패미생물에 대한 질경이 MeOH 추출물의 항균효과는 Table 1과 같다. 질경이 메탄올추출물은 G(-)인 *V. parahaemolyticus*는 1000 µg/ml의 농도에서, 성장을 완전히 저해하였으며, *E. coli*는 2000 µg/ml의 농도에서 성장을 90.5% 저해하였다. G(+)*인 B. subtilis*는 1500 µg/ml의 농도에서, *L. monocytogenes*와 *S. aureus*는 2000 µg/ml의 농도에서 완전히 저해되었다. 일반적으로 정유성분은 G(-) bacteria 보다 G(+)



**Fig. 1. Preparation procedure of MeOH extract from the Plantain (*Plantago asiatica* L.).**

**Table 1. Antimicrobial activity of methanol extract of Plantain (*Plantago asiatica* L.) against food spoilage microorganisms**

Conc. (µg/ml)	Antimicrobial activity (%)				
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
500	88.13	33.84	85.63	20.00	88.06
1000	91.14	89.48	90.36	35.60	100
1500	100	93.38	92.80	68.30	100
2000	100	100	100	90.50	100

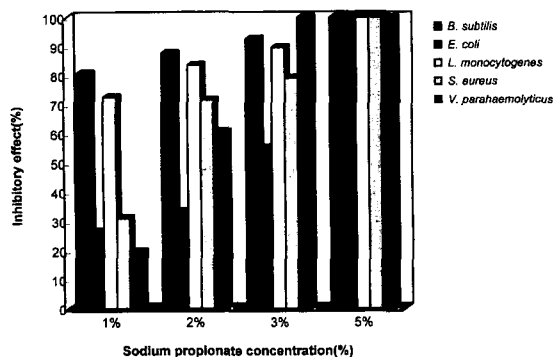
bacteria에 대한 항균력이 훨씬 더 높다고 하였다. 하지만 본 연구에서는 G(-)인 *V. parahaemolyticus*가 G(+)인 *B. subtilis*, *S. aureus*, 그리고 *L. monocytogenes* 보다 더 민감하게 반응하였다. 따라서 세균성장 저해의 경향은 균주의 형태에 의해 영향을 받는다고 확인하기는 어렵다. 이상에서 볼 때 질경이메탄올추출물은 2000 µg/ml의 농도에서 5종의 식품부패미생물에 대하여 강력한 성장저해효과를 나타낸다고 볼 수 있다.

## 2. 인공합성 식품보존료의 항균성

인공합성식품보존제로 사용되고 있는 sodium propionate를 1, 2, 3, 5%의 농도로 TSB 배지에 첨가하여 5종의 시험균주에 대한 항균성을 Fig. 3에 나타내었다. Sodium propionate 1% 첨가에서 *B. subtilis*는 80.97%, *E. coli*는 26.57%, *S. aureus*는 31.28%, *L. monocytogenes*는 72.71%, *V. parahaemolyticus*는 19.75% 저해되었으며 5% 농도에서는 5균주 모두 완전히 저해되었다.

이상의 결과로 볼 때 질경이의 메탄올추출물이 sodium propionate 보다 10배 낮은 저 농도에서 식품부패미생물의 성장을 완전히 저해하는 것으로 나타났다.

## 3. 추출물 용매분획별 항균성



**Fig. 3. Antimicrobial activity of sodium propionate on the growth of food spoilage microorganisms.**

질경이의 MeOH 추출물을 1차적으로 *n*-hexane, chloroform, ethylacetate, *n*-butanol 및 물 순으로 용매 분획하여 항균성을 검색하였다. 순차적으로 질경이 MeOH 추출물을 계통분획 후 항균성을 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 5종의 용매 분획 중 ethylacetate 분획추출물이 5종의 시험균주에 대하여 1 mg/disc의 농도에서 광범위한 항균력을 나타내었다. G(-)인 *V. parahaemolyticus*와 *E. coli*의 성장을 강력하게 저해하였는데, clear zone 직경이 11.5와 11 mm로 나타났다. 2 mg/disc의 농도에서는 clear zone 직경이 *V. parahaemolyticus*와 *E. coli*의 경우 13과 14 mm로 나타나 아주 강력한 항균력을 보임을 알 수 있었다. 또한 chloroform 추출물도 비교적 활성이 우수하여 1 mg/disc의 농도에서 *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus*의 성장을 억제하는 효과를 보였다. 특히 *S. aureus*에 대하여는 0.25 mg/disc의 농도에서 clear zone 직경이 10 mm로 나타나 chloroform에 추출된 물질은 저농도에서 항균력을 지니고 있음을 알 수 있었다. 질경이의

**Table 2. Antimicrobial activity of solvent fractions from methanol extract of Plantain (*Plantago asiatica* L.) on the growth of various microorganisms**

Solvent fraction	Conc. (µg/disc)	Clear zone (mm) <sup>1)</sup>				
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
Hexane	250	- <sup>2)</sup>	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	9
	1000	-	-	-	-	10
	1500	-	-	-	-	10.5
	2000	-	-	-	-	11
Chloroform	250	-	10	-	-	-
	500	-	10.2	9.5	9.5	-
	1000	-	12	10.5	10.5	10
	1500	-	13	11.5	11	12
	2000	-	13	12	11.5	13
Ethylacetate	250	-	-	-	-	-
	500	8.5	-	-	9	8.5
	1000	9.2	8.5	9	11.5	11
	1500	10.5	10	9.5	12	12.5
	2000	11.5	10.5	10.5	13	14
Butanol	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-
	1500	-	-	-	-	-
	2000	-	-	-	9	w
Water	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-
	1500	-	-	-	-	-
	2000	-	-	-	-	-

<sup>1)</sup>Clear zone diameter.

<sup>2)</sup>No inhibition.

hexane 추출물도 특정 균주에 대하여 항균력을 보였는데, *V. parahaemolyticus*에 대하여 0.5 mg/disc의 농도에서 clear zone 직경이 9 mm로 나타났다. G(-)인 *V. parahaemolyticus*와 *E. coli*가 질경이의 ethylacetate, chloroform 그리고 hexane 추출물에 대해 G(+ )인 *B. subtilis*, *S. aureus*, 그리고 *L. monocytogenes* 보다 더 민감하게 반응하였다. 이러한 경향은 김 등<sup>18)</sup>의 연구에서 볼 수 있는데 김은 carvacrol을 비롯한 8종의 정유성분의 병원성 미생물에 대한 항균성 검색에서 G(-)인 *Vibrio vulnificus*가 이들 정유성분에 대하여 가장 민감한 반응을 보인 반면, G(+ )인 *Listeria monocytogenes*가 가장 큰 저항성을 보였다고 하였다. Kubo 등<sup>19)</sup>도 올리브오일의 휘발성분중  $\alpha, \beta$ -unsaturated aldehyde가 G(-) 세균의 경우 MIC가 12.5~200  $\mu\text{g/ml}$ 에 비해 G(+ ) 세균은 6.25~800  $\mu\text{g/ml}$ 의 MIC를 보여 G(+ ) 세균의 저항성이 더 높게 나타났다고 하였다.

이상의 결과로 볼때 질경이는 부패 및 병원성 세균인 *V. parahaemolyticus* 뿐만 아니라 *S. aureus*를 비롯한 식품부패 관련 미생물에 대하여 0.25~1.0 mg/ml의 농도에서 항균성을 나타내어 천연식품항균제로서의 개발 가능성이 높은 것으로 사료된다.

#### IV. 요 약

천연식품보존제의 개발을 위해 우리나라 전지역에서 쉽게 구할 수 있고 산나물로 많이 이용되어온 질경이를 대상으로 식품부패미생물에 대한 항균효과를 검색하였다.

질경이 메탄올 추출물은 1.5 mg/ml의 농도에서 곡류의 부패를 일으키는 *B. subtilis*와 호염균으로 식중독의 원인이 되는 *V. parahaemolyticus*의 성장을 완전히 억제하였다. 인공합성보존제인 Sodium propionate는 1%의 농도에서 *B. subtilis*는 80.97%, *E. coli*는 26.57%, *S. aureus*는 31.28%, *L. monocytogenes*는 72.71% 그리고 *V. parahaemolyticus*는 19.75% 저해되었으며 5% 농도에서는 5균주 모두 완전히 저해되었다.

이상의 결과로 볼 때 질경이의 메탄올추출물이 sodium propionate 보다 10배 낮은 저 농도에서 식품부패 미생물의 성장을 완전히 저해하는 것으로 나타났다.

또한 각 용매별로 분획하여 항균성을 살펴본 결과 ethylacetate 분획물이 다른 분획보다 높은 항균력을 보였는데 *B. subtilis*, *E. coli*와 *V. parahaemolyticus*는 1.0 mg/ml의 농도에서 성장이 저해되었다. 특히 chloroform 분획물은 *S. aureus*에 대하여 250  $\mu\text{g/disc}$ 의 농도에서 강한 저해력을 보였다.

#### 감사의 글

본 연구는 농림부의 농림수산특정과정 연구비의 지원에 의하여 이루어진 내용의 일부로서 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

1. 안은숙, 김문숙, 신동화: 식용식물로부터 얻은 추출물의 두부, 어묵, 막걸리 변질균에 대한 항균성 검색. 한국식품과학회지, **26**(6): 733 (1994).
2. Bass, G.K.: Methods of testing disinfectants. In *Disinfection, sterilization 2nd (ed.)*, Block, S.S., ed., Lea and Febiger, Philadelphia. p. 49. (1977).
3. 이병완, 신동화: 식품부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, **23**(2): 200 (1991).
4. 이병완, 신동화: 식품부패미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균특성. 한국식품과학회지, **23**(2): 205 (1991).
5. 정병선, 이병구, 심선택, 이정로: 썩씨 중의 정유성분이 미생물의 생육에 미치는 영향. 한국식품화학회지, **4**: 417 (1989).
6. Conner, D.E. and Beuchat, L.R.: Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. *J. Food Sci.*, **49**: 429 (1990).
7. 장현숙: 몇 가지 향신료의 항균작용. 경북대학교 석사학위논문 (1980).
8. 노현정, 신용서, 이갑상, 신미경: 녹차 물추출물이 쌀밥의 품질 및 저장성 향상에 미치는 효과. 한국식품과학회지, **28**(3): 417 (1996).
9. 박연희, 송현주: 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* Lp2의 항균작용. 산업미생물학회지, **19**(6): 637 (1991).
10. 김상교, 이상준, 백영진, 박연희: Bacteriocin을 생산하는 *Lactococcus* sp. 449의 분리와 항균 특성. 산업미생물학회지, **22**(3): 259 (1994).
11. 김상교, 이상준, 백영진, 박연희: *Lactococcus* sp. ] 449가 생산하는 Bacteriocin의 *Lactobacillus fermentum* IFO 3023에 대한 억제작용. 산업미생물학회지, **22**(3): 266 (1994).
12. 신동화, 김문숙, 한지숙: 국내산 약용식물 추출물에 대한 항균성 검색과 농도별 및 분획별 항균특성. 한국식품과학회지, **29**(4): 808 (1997).
13. 박유연, 장동석, 조학래: 자초 추출물의 항균특성. 한국영양식품학회지, **21**(1): 97 (1992).
14. 김성환, 김남재, 최재수, 박종철: 꾸지뽕나무 잎의 생리활성 및 HPLC에 의한 성분의 정량. 한국영양식품학회지, **22**(1): 68 (1993).
15. 신동화, 한지숙, 김문숙: 방기 및 감초의 에탄올 추출물이 *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제에 미치는

- 영향. 한국식품과학회지, **26**(5): 627 (1994).
16. 장준근: 건강한 장수비결 몸에 좋은 산야초. 넥서스 출판사, 327 (1996).
17. Klindworth, K.J., Davidson, D.M., Brekke, C.J., Brekke, A.L. and Branen, A.L.: Inhibition of *Clostridium perfringens* by Butylated Hydroxy Anisole. *J. Food Sci.*, **44**(2): 564 (1979).
18. Kim, J. M., Marashall, M.R. and Wei, C.I.: Anti-bacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2839-2845 (1995).
19. Kubo, A., Christopher, S.L. and Kubo, I.: Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1629-1633 (1995).
- 
- (1998년 10월 7일 접수)