

*Listeria monocytogenes*에 대한 길경의 물 및 에탄올 추출물의 항균효과

김복자
우송정보대학 식품영양과

Antimicrobial Activities of the extracts of *Platycodon glandiflorum* A. De. *candolle* on the growth of *Listeria monocytogenes*

Bok-Ja Kim

Department of Food and Nutrition, Woosong Communication University

Abstract

Antimicrobial activity to the extracts of *Platycodon glandiflorum* A. De. *candolle* was investigated against various food poisoning microorganisms (*Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Staphylococcus aureus* 196E ATCC 13565, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 and *Yersinia enterocolitica*). The water and 70% ethanol extracts of *Platycodon glandiflorum* A. De. *candolle* showed the strongest antimicrobial activities against *Listeria monocytogenes* in concentration of 500~1000 µg/ml into culture broth (TSB) and was very stable over heat at 121°C for 15 min.

Key words: *Platycodon glandiflorum* A. De. *candolle*, antimicrobial activity, *Listeria monocytogenes*

I. 서 론

길경(*Platycodon glandiflorum* A. De. *candolle*)은 우리나라 대부분의 지역에서 자생하며 지리적으로 중국, 일본 등에서도 분포되어 재배가 가능한 다년생 초본으로서 초롱꽃과(Campanulaceae)에 속하는 작물이다¹⁾. 길경의 뿌리에는 주요 성분으로 platycodion A, -C, -D₁, -D₂, 와 polygalacin D₁, -D₂를 포함한 10여종의 saponin과 glicocodin, glucoside, spinasterol, inulin, betulin 및 전분이 들어 있어 용혈, 진해, 거담, 배농 및 해열 등의 약리작용이 있는 것으로 오랫동안 식용 및 약용으로 이용되어져 오고 있으며²⁾ 현재 주요성분을 이용하여 장생도라지로부터 각종 건강식품 및 제품들이 생산되고 있다. 한편 김 등³⁾은 국내식물 150종과 인도네시아 식물 82종을 입수하여 에탄올 추출 후 항균효과를 검색한 결과 길경이 *E. coli*속균에 항균효과가 어느 정도 있음을 보고하여 길경 추출물이 항균성이 있음을 시사하였고 또 이 등⁴⁾은 길경을 이용한 호상요쿠르트 제조특성을 연구, 건강식품 개발을 위한 작물로 길경을 이용한 바도 있다.

최근 식생활의 간편화 추세에 힘입어 각종 가공식품, 냉동 및 냉장식품들의 수요가 증가함에 따라 소비자들은

저장 및 유통 중 식품의 안전성에 관심을 두고 있다. 따라서 식품의 저장기간 연장을 위하여 각종 보존제를 사용하고 있지만 안전성을 고려할 경우 합성방부제보다는 천연물에 있는 방부성물질의 사용을 희망하고 있는 실정 이므로 이에 식용 및 약용으로 이용되고 있는 천연물을 이용하여 천연보존제 개발에 대한 많은 연구들이 이루어져 오고 있다⁵⁻¹⁹⁾.

따라서 본 연구는 천연보존제 개발을 위한 연구의 일환으로 길경을 이용하여 몇 종의 식중독세균에 대한 항균성을 살펴본 결과 *Listeria*속균에 대한 특이적인 항균작용이 있어 천연보존제로서의 이용 가능성을 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 조제

본 실험에 사용된 길경은 대전근교에서 직접 재배한 것을 1999년도에 뿌리 부위만 수확 채취하여 수세 건조한 후 사용하였다.

2. 추출물의 조제

건조한 길경의 추출은 환류냉각관을 부착시킨 flask에

물 및 70%에탄올을 시료의 10배량을 가하여 45°C의 수욕상에서 24시간 동안 추출한 후 여과하여 감압농축기로 농축한 다음 냉동건조기로 건조하여 1°C 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

3. 사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 식중독 세균으로 Gram(+)균인 *Listeria monocytogenes*(ATCC 15313)와 *Staphylococcus aureus* 196E(ATCC 13565), Gram(-)균으로는 *Escherichia coli* O157:H7(ATCC 43895), *Salmonella typhimurium*(ATCC 13311) 및 *Yersinia enterocolitica*를 사용하여 항균력을 검색하였고 이 중 증식억제효과가 우수하였던 대상균인 *Listeria monocytogenes*균에 대하여 몇 종(ATCC 19111, 19115 및 15313)을 분양받아 배양한 후 *Listeria monocytogenes*에 대한 항균력을 검토하였다. 이 때 전배양 및 본 배양에 사용한 배지로는 tryptic soy agar 및 tryptic soy broth(Difco)를 사용하였다.

4. 추출물의 항균력 및 MIC 검색

항균성 시험은 보존균주의 사면배지로부터 1백금이를 TSB 10 ml에 접종한 후 30°C에서 24시간씩 2회 계대 배양하였다. 이 배양액 0.1 ml를 실온에서 하룻밤 건조한 TBA plate에 떨어뜨린 후 균일하게 도포하였다. 각 시험균이 접종된 plate 위에 추출물을 흡수시킨 지름 8.0 mm filter paper(whatman No. 2)를 놓고 30°C에서 24시간 배양하여 disc 주위에 나타난 clear zone의 직경으로 항균성을 검색하였다.

세균에 대한 Minimal Inhibitory Concentration(MIC) 측정은 에탄올 추출물을 0.45 µm membrane filter로 제균시킨 후 전 배양한 배양액으로부터 10 ml의 TSB배지를 함유하는 시험관에 10⁵ CFU/ml의 농도로 분주하였고 각각 적당량 농도의 길경 추출물을 넣은 후 30°C에서 24시간 배양하여 탁도를 나타내지 않는 최소저해농도를 MIC로 나타내었다.

5. 열처리에 따른 길경의 물 및 에탄올 추출물의 *Listeria monocytogenes*균에 대한 항균활성검색

길경의 물 및 에탄올 추출물을 100°C에서 1시간, 121°C에서 15분간 열처리한 후 paper disc에 흡수시킨 후 공시균에 대한 생육저해력을 측정하여 열 안정성을 검토하였다.

6. 길경의 물 및 에탄올 추출물의 첨가농도에 따른 *Listeria monocytogenes*균의 증식억제효과

길경의 물 및 에탄올 추출물의 첨가농도별에 따른 생

육저해효과는 오 등³⁾의 방법에 준하여 행하였다. 즉, 일정량의 TSB배지에 길경의 물 및 에탄올 추출물을 적당한 농도씩 첨가한 후 121°C에서 15분간 살균한 다음 전배양한 식중독균 배양액을 각각 최종농도가 10³ CFU/ml가 되게 무균적으로 접종하였다. 각 시료를 30°C에서 48시간 배양하는 동안 시간별로 spectrophotometer를 사용하여 650 nm에서 흡광도를 측정하였고, 추출물이 함유된 무균 액체배지를 blank로 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 길경의 물 및 에탄올 추출물의 항균력 검색

길경에 물과 에탄올을 각각 가하여 45°C에서 24시간 동안 추출한 물질의 항균력을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 물 추출물 및 에탄올 추출물 모두 paper disc (ø8 mm)에 1 mg을 흡수시킨 뒤 각종 식중독균에 대한 항균력을 살펴본 결과 Gram양성세균인 *Listeria monocytogenes*균에 항균력이 극히 우수한 것으로 나타났으며 Gram음성세균인 *Yersinia enterocolitica* 균에서도 약간의 항균력이 있는 것으로 나타났다.

2. 길경 물 및 에탄올 추출물의 MIC

Table 1. Antimicrobial activities of extracts of *Platycodon glandiflorum* A. De. candolle against microbial growth

Microorganisms	Inhibition zone(mm) ¹⁾	
	Water extract	Ethanol extract
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	16	16
<i>Staphylococcus aureus</i> 196E ATCC 13565	N.D.	9
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43895	12	13
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	N.D.	10
<i>Yersinia enterocolitica</i>	12	13

¹⁾One mg of extracts was adsorbed into paper disk (ø8 mm) diameter (mm) of clear zone was confirmed around the colony.

Table 2. Minimum inhibitory concentration of water and ethanol extract of *Platycodon glandiflorum* A. De. candolle against microbial growth

Microorganisms ¹⁾	MIC(µg/ml)	
	water extract	ethanol extract
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	60	60
<i>Staphylococcus aureus</i> 196E ATCC 13565	360	450
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43895	220	200
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	370	420
<i>Yersinia enterocolitica</i>	160	140

¹⁾Final cell concentration for each microbe was approximately 1 × 10³ CFU/ml.

길경의 물 및 에탄올 추출물을 최근 천연 농산물 및 한약제로부터 항균력이 우수하다고 보고된 것³⁾들과 비교해볼 때 적은 농도에서도 몇 종의 식중독균에 대하여 강한 항균력을 보였다. Table 2는 몇 종의 미생물에 대한 길경 물 및 에탄올 추출물의 MIC를 나타낸 것으로 물과 에탄올추출물 모두 *L. monocytogenes*균에 대한 MIC가 60 µg/ml로 강한 항균력을 나타내었으며 *E. coli* 및 *Y. enterocolitica* 같은 식중독세균에서도 약간의 항균력이 있는 것으로 나타났다. 이는 김 등³⁾이 보고한 자료와 비교해 볼 때 *L. monocytogenes*균에 대한 실험결과는 없었지만 *E. coli* 균에 대한 실험결과와 비교해 볼 때는 어느 정도의 항균력이 있다고 보고한 바와 일치함을 보여 주었다. 길경은 본 실험결과에 의하면 *L. monocytogenes*균에 매우 강한 항균효과를 나타내었고 그 외 *E. coli* 및 *Y. enterocolitica*균에 항균활성을 나타내므로써 천연 항균물질로서의 가능성을 보여주고 있다.

3. 열처리에 따른 길경의 물 및 에탄올 추출물의 *L. monocytogenes*균에 대한 항균활성

또한 길경의 물 및 에탄올 추출물의 항균활성 물질의 이용도를 넓힐 수 있는 가능성을 조사하기 위하여 몇 종의 *L. monocytogenes*균에 대한 길경의 물 및 에탄올 추출물의 열 안정성을 조사하였다. 길경의 물 및 에탄올 추출물을 100°C에서 1시간, 121°C에서 15분간 열처리한 후 공기균에 대한 생육저해환을 측정한 결과 Table 3에서 나타낸 바와 같이 열처리를 하지 않은 대조구와 비교해볼 때 큰 차이가 없는 것으로 보아 길경의 물 및 에탄올추출물의 항균성 물질은 열에 매우 안정한 것으로 볼 수 있었으며 그 중에서 *L. monocytogenes* ATCC 15313균에 대한 것이 19111이나 19113보다 더 안정된 항균효과를 보여주었다. *L. monocytogenes*균은 열 저항성과 산성 저항성이 있고 특히 냉장식품에서 문제가 되고 있어 식중독균 중에서 가장 치사율이 높은 균으로서^{7,8)}

국내외적으로 이 균에 대한 항균성 물질의 검색이 많이 이루어져 오고 있는데 최근 오 등⁸⁾은 황련에탄올 추출물에서, 안 등¹²⁾은 상백피 추출물에서, 한 등¹³⁾은 식용가능한 식물추출물 검색 중 뽕나무, 털진득찰, 고삼, 회향 및 꿀풀에서 항균력이 있다고 보고되는 등 천연물로부터 *L. monocytogenes*균의 생육억제에 관한 연구가 많이 보고되었다.

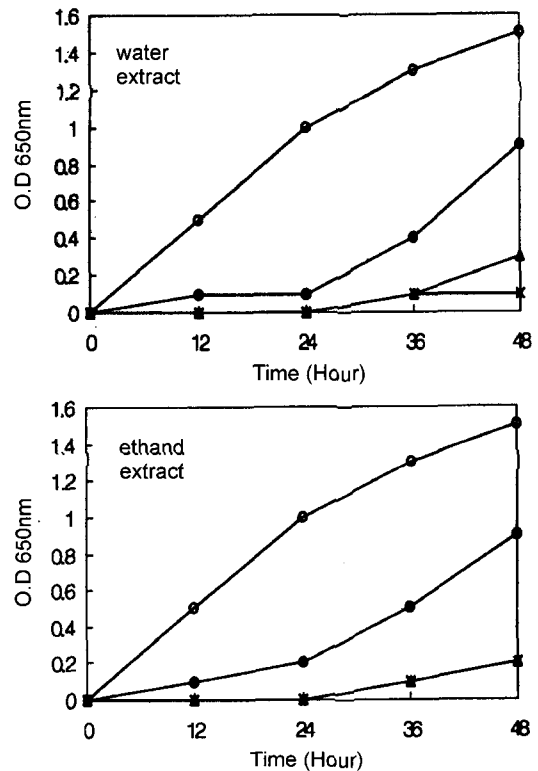


Fig. 1. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 by water and ethanol extract of *Platycodon glandiform* A. De. andolle
 ○—○ : 0 µg/ml ●—● : 100 µg/ml
 ▲—▲ : 500 µg/ml ×—× : 1000 µg/ml

Table 3. Heat stability of antimicrobial activities water and ethanol extracts of *Platycodon glandiform* A. De. candolle against *Listeria monocytogenes*

Microorganism ¹⁾	Inhibition zone(mm) ²⁾					
	No heat		60 min at 100°C		15 min at 121°C	
	water extract	ethanol extract	water extract	ethanol extract	water extract	ethanol extract
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	16±0.1	16±0.2	16±0.2	16±0.3	16±0.3	16±0.3
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	16±0.2	16±0.3	16±0.2	16±0.3	16±0.3	16±0.4
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19113	16±0.2	16±0.3	16±0.2	16±0.3	16±0.3	16±0.4

¹⁾ Finally cell concentration for each microbe was approximately 1×10^5 CFU/ml

²⁾ One mg of water and ethanol extract was adsorbed into paper disk (8 mm, diameter) and the diameter (mm) of clear zone was confirmed around the colony.

4. 추출물첨가 농도별 증식억제 효과

길경의 물 및 에탄올 추출물의 항균물질은 Table 3에서 나타난 바와 같이 열에 안정한 것으로 나타났으므로 길경 추출물을 일정량씩 첨가한 TSB배지와 첨가하지 않은 TSB배지에다 공시균을 최종농도가 10⁵ CFU/ml이 되게 무균적으로 접종한 후 30°C에서 48시간 동안 배양하면서 생육의 억제현상을 살펴본 바 Fig. 1, 2 및 3과 같았다.

Fig. 1은 *L. monocytogenes* ATCC 15313균에 대한 길경 추출물의 생육억제효과를 나타낸 것이다. TSB배지에 길경의 물 및 에탄올 추출물을 100, 500 및 1000 µg/ml을 각각 첨가하여 10⁵ CFU/ml인 대조구와 식중독균의 생육현상을 비교한 결과 추출물 100 µg/ml의 첨가구는 *L. monocytogenes*균의 생육저해에 대하여 배양 24시간까지는 생육을 많이 억제하였으나 그 이후는 생육이 서서히 증가하는 것을 볼 수 있었으나 500 µg/ml와 1000 µg/ml 첨가구는 48시간까지 균의 생육이 거의 억제됨을 볼 수 있었다. *L. monocytogenes*에 대한 천연식물의 항

균성의 조사 보고들이 많이 있는데 오 등¹¹⁾은 황련에탄올 추출물에서, 안 등¹²⁾은 상백피추출물에서, 한 등¹³⁾은 뽕나무껍질에서, 박¹⁴⁾은 녹차물추출물에서 이 균에 대한 강한 항균효과를 가지고 있다고 보고하였다. 이와 같이 *L. monocytogenes*에 대한 항균효과가 나타나는 식물에는 여러 종류에 산재되어 있고 또한 식물부위도 각기 다르며 추출용매의 종류도 다름을 보아 항균물질은 각기 다른 방향의 차원에서 항균효과를 나타내는 것으로 추정된다.

Fig. 2는 *L. monocytogenes* ATCC 19111균에 대한 생육억제효과를 나타낸 것이다. 길경 추출물을 첨가하지 않은 대조구에 비해 100 µg/ml 첨가구는 생육이 급격히 증가하지는 않았으나 *L. monocytogenes* ATCC 15313보다는 생육증가를 억제하지 못하는 것으로 나타났고 1000 µg/ml 첨가구는 48시간까지 생육이 거의 억제됨을 볼 수 있었으며 500 µg/ml 첨가구는 배양 36시간 이후에 서서히 증가함을 볼 수 있었다. Fig. 3은 *L. monocytogenes* ATCC 19113 균에 대한 생육억제효과를 나타낸 것이다. 결과에

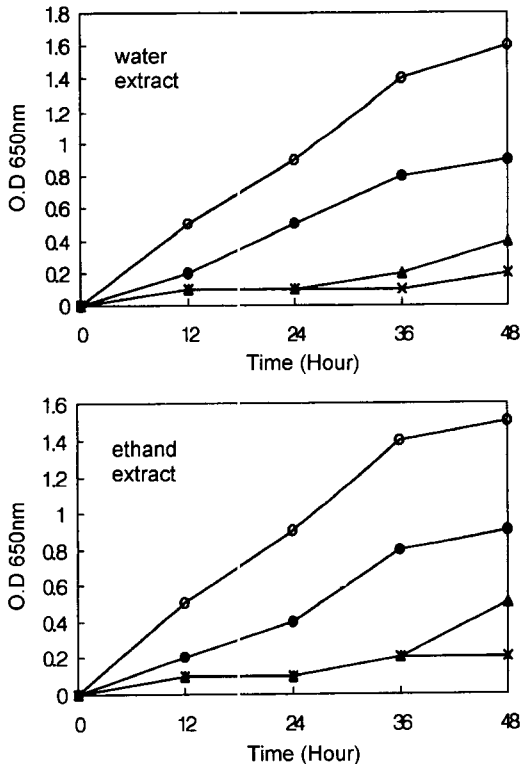


Fig. 2. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 by water and ethanol extract of *Platycodon glandiform* A. De. andolle.
 —○— : 0 µg/ml —●— : 100 µg/ml
 —▲— : 500 µg/ml —×— : 1000 µg/ml

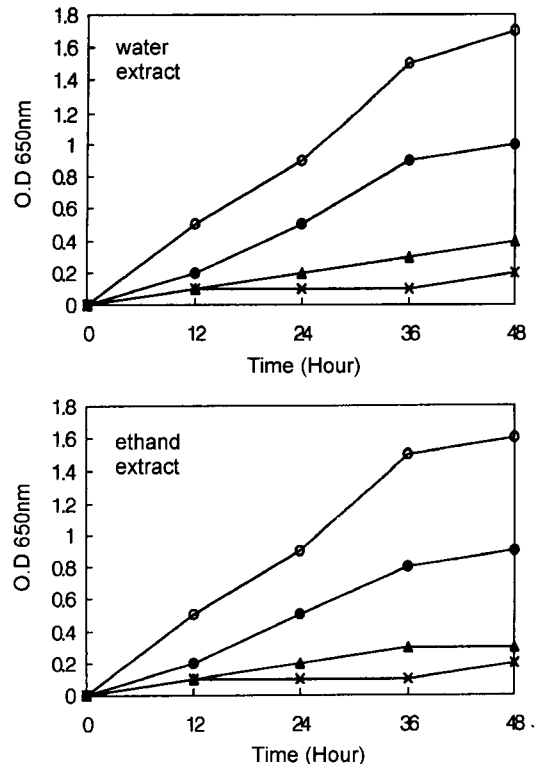


Fig. 3. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* ATCC 19113 by water and ethanol extract of *Platycodon glandiform* A. De. andolle.
 —○— : 0 µg/ml —●— : 100 µg/ml
 —▲— : 500 µg/ml —×— : 1000 µg/ml

나타난 바와 같이 *L. monocytogenes* ATCC 19111 균과 비슷한 양상을 보여주어 100 µg/ml 첨가구는 대조구보다는 약간 균 증식이 낮아 생육억제효과가 미비하였으나 500 및 1000 µg/ml의 첨가구는 첨가농도에 따라 생육증식의 억제가 현저하게 나타남을 볼 수 있었다. 이상의 결과를 보면 *L. monocytogenes* 균에 대한 길경 추출물의 항균효과는 추출물 500 µg/ml 농도의 첨가로 상당한 억제효과를 볼 수 있었다.

이상과 같이 5종류의 식중독세균에 대한 항균효과를 검색해 본 결과 길경 추출물은 Gram 양성균인 *L. monocytogenes* 균에 대해 증식억제효과가 컸으며 Gram 음성균인 *E. coli* 균에서는 증식억제효과가 비교적 낮게 나타나 *L. monocytogenes* 균에 대해서 상당히 큰 항균작용이 있었음을 알 수 있었고 *L. monocytogenes* 균 중에서도 ATCC 19111나 19113 균보다는 15313 균에 더욱 더 큰 항균효과가 있는 것으로 나타났다. 이는 천연보존제 개발을 위한 연구보고들 중에서 박¹⁴⁾, Shelef 등¹⁸⁾, 박¹⁹⁾ 등의 보고에서 천연물질이 Gram 음성균보다 Gram 양성균에 대해 더 항균효과가 컸다는 보고와 어느 정도 일치함을 볼 수 있었다. 그러나 김 등³⁾은 항균효과가 우수한 성분이 limonene, caprylic acid 및 α-terpineol로 동정하였고 민²⁰⁾은 항균성물질이 alkaloid 물질이라고 하는 등 각종 세균에 대한 항균효과를 나타내는 성분은 그 물질이 가진 성분의 종류에 따라 다름을 알 수 있어 이에 길경의 주요 약리성분이 여러 종류가 있으므로 앞으로 길경 추출물이 *L. monocytogenes* 균에 대하여 특이적으로 항균효과가 높은 것에 대하여 항균성 물질의 검색 연구가 요구되었다.

IV. 요약

길경중 물과 에탄올을 이용하여 얻은 추출물을 5종의 식중독세균(*Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Staphylococcus aureus* 196E ATCC 13565, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Yersinia enterocolitica*)에 대하여 항균효과를 검색한 결과 Gram 양성균인 *L. monocytogenes*에 대하여 물 및 에탄올 추출물 모두 MIC가 60 µg/ml로 극히 우수한 항균효과를 보여주었으며 항균효과가 높은 추출물의 열 안정성을 살펴보기 위하여 *Listeria monocytogenes* 균 ATCC 15313, 19111 및 19113 등 3종에 대하여 실험한 결과 길경 내 항균성물질은 121°C에서 15분간 처리 시에도 항균효과가 나타남을 보아 열 안정성이 있는 것으로 나타났다. 또한 길경 추출물의 농도에 따른 항균효과를 실험한 결과 추출물의 농

도가 500 µg/ml일 때 *Listeria monocytogenes* 균 ATCC 15313, 19111 및 19113 균 모두에 거의 안정된 항균효과를 가지고 있었으며 특히 *Listeria monocytogenes* ATCC 15313에 대하여 더욱 강한 항균효과를 보여주었다.

참고문헌

1. 육창수 : 원색한국약용식물도감. 아카데미서적, 1990
2. 농촌진흥청 : 약초재배. 표준영농교본-7, 168, 1994
3. 김부성, 이동철, 홍종연, 장이섭, 조홍연, 권용관, 김희연 : 국내 및 인도네시아산 식물의 에탄올 추출물의 항균효과. 한국식품과학회지, 32(4):949, 2000
4. 이성태, 김만배, 김동길, 유재선, 이종재, 허중수 : 길경을 이용한 호상요쿠르트 제조. 한국약용작물학회지, 6(4):265, 1998
5. Divison, P. M. and Post, L. S. : Naturally occurring and miscellaneous food antimicrobials. In Antimicrobials in foods, Branen, A.L. and Davidson, P.M., (ed), Marcel Dekker, Inc. New York p371, 1983
6. Divison, P. M. and Parish, M. E. : Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.*, 43:148, 1989
7. 마승진, 고병섭, 박근형 : 두릅수피에서 항미생물활성을 갖는 3,4-dihydroxybenzoic acid의 분리. 한국식품학회지, 27:807, 1995
8. 오덕환, 함승시, 박부길, 안 철, 유진영 : 식품부패 및 병원미생물에 대한 천연약용식물 추출물의 항균효과. 한국식품과학회지, 30(4):957, 1998
9. Lovett, J : *Listeria monocytogenes* in foodborne bacterial pathogens., Doyle M. P.(Ed.). Marcel Dekker Inc., New York. p. 284, 1989
10. Gray, M. L. and Killinger, A. H. : *Listeria monocytogenes* and listeria infections. *Bacterial. Rev.*, 3:309, 1966
11. Oh, D. H. and Marshall, D. L. : Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acids. *J. Food Sci.*, 59:1258, 1994
12. 안은영, 한지숙, 신동화 : 상백피추출물중 *Listeria monocytogenes* 증식억제 물질의 분리 및 효과. 한국식품과학회지, 29(6):1236, 1997
13. 한지숙, 신동화, 윤세익, 김문숙 : *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용가능한 식물추출물의 검색. 한국식품과학회지, 26(5):545, 1994
14. 박찬성 : 식중독세균에 대한 녹차물추출물의 항균작용. 한국농산물저장유통학회지, 5(3):286, 1998
15. 김선희, 전희정, 한영실 : 민들레(*Taraxacum platycarpum*) 추출물의 항균성검색. 한국조리학회지, 14(1):114, 1998
16. 박옥연, 장동식, 조학태 : 자초(*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물의 항균특성. 한국영양식량학회지, 21(1):97, 1992

17. 이만중, 김관필, 김성호, 정낙현, 임무현 : 오배자와 포도 껍질 추출물의 항균활성에 관한 연구. 식품영양학회지, **10**(2):174, 1997
 18. Shelef, L. A., Naglik, O. A. and Bogen, D. W. : Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and allspice. *J. Food Sci.*, **45**: 1042, 1980
 19. 박찬성 : 향신료가 식중독세균의 증식에 미치는 영향. 한국조리과학회지, **13**(3):330, 1997
 20. 민경희 : 산초나무 추출물의 피부사상균에 대한 항균활성과 그 성분. 목재공학회지, **26**(4):78, 1998
-

(2000년 7월 28일 접수)