

식중독 미생물에 대한 큰까치수영(*Lysimachia clethroides* Duby)의 항균활성

한지숙 · 신동화*

전북대학교 응용생물공학부(식품공학 전공) 및 농업과학기술연구소

Antimicrobial Activity of *Lysimachia clethroides* Duby Extracts on Food-borne Microorganisms

Ji-Sook Han and Dong-Hwa Shin*

Faculty of Biotechnology(Food Science & Technology Major), Chonbuk National University

The ethanol extract of 77 species of edible and medicinal plants were examined antimicrobial activity against 5 strains of *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, ATCC 19112, ATCC 19113, ATCC 19114 and ATCC 15313 by optical density using Bioscreen C. The ethanol extract of *Siegesbeckia glabrescens* Makino, *Jeffersonia dubia* Benth, *Aquilaria agallocha* Roxburgh, *Lysimachia clethroides* Duby and *Nardostachys chinensis* Batal. exhibited comparatively strong growth inhibition effect on 5 strains of *L. monocytogenes* at 1000 ppm level in broth. The minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanol extract of *Lysimachia clethroides* Duby was 100~500 ppm on 5 strains of *L. monocytogenes*. The MIC of the n-hexane and chloroform fraction of the extract were same concentration as 50~100 ppm. The n-hexane fraction of *Lysimachia clethroides* Duby showed strong growth inhibition at 25 ppm on *Vibrio parahaemolyticus* for 72 hr at 30°C and at 50 ppm on *Bacillus cereus* and at 500 ppm on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Key words: *Lysimachia clethroides* Duby, food-borne microorganisms, antimicrobial activity

서 론

천연 항균성 물질로는 고대부터 이용되어 왔던 향신료⁽¹⁾와 생약제^(2,3), 주로 달걀, 우유 등에 포함되어 있는 여러 단백질과 효소류⁽⁴⁾, 유기산^(4,5), 식물의 정유 성분^(6,7), 미생물에서 생산되는 bacteriocin^(8,9) 등을 들 수 있다.

이 중 식물류와 생약제에 의한 항균성 연구가 활발히 이루어지고 있는데 최근에 수행된 연구결과에 의하면 정향의 항균활성 물질로 알려진 eugenol은 aflatoxin의 생성억제⁽¹⁰⁾, *Listeria monocytogenes*와 *Aeromonas hydrophila*의 증식을 억제⁽¹¹⁾하였다. 또한, *Candida albicans*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* 등의 균에 광범위한 항균 스펙트럼을 가진 물질이라는 것이 보고되었다⁽¹²⁾.

또한, *Chrysanthemum*속 식물이 *Bacillus subtilis*와 *Vibrio parahaemolyticus*균에 대해서 항균효과가 있었으며⁽¹³⁾, 부추의 메탄올 추출물은 *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimu-*

rium, *Escherichia coli* 등의 식중독균의 증식을 억제하였으며⁽¹⁴⁾, 어성초의 추출물은 *P. aeruginosa*, *B. subtilis*에 대하여 특히 높은 활성을 보였으며⁽¹⁵⁾, 유자 종자 추출물은 *B. cereus*, *S. epidermis* 및 *S. faecalis* 등에 항균효과가 있고⁽¹⁶⁾, 녹차 물 추출물은 *B. cereus*, *B. subtilis* 및 *S. aureus*에 대하여 항균 효과가 우수한 것으로 보고⁽¹⁷⁾ 되고 있다. 또한 *L. monocytogenes*에 대하여 고삼에서 분리한 Kushenol F⁽¹⁸⁾와 감초에서 분리한 liquiritigenin⁽¹⁹⁾, 섬바디에서 분리한 faltarindiol⁽²⁰⁾, 예덕나무에서 분리한 linolenic acid⁽²¹⁾도 항균효과가 우수한 것으로 보고되고 있다.

본 실험에서는 *L. monocytogenes*의 증식을 효율적으로 억제하고 인공 합성 보존제에 대한 소비자의 기피현상을 감안하여 안전성이 입증된 새로운 식품첨가물을 찾고자 하는 노력의 일환으로 77 종의 식물을 채취 또는 구입하여 75% 에탄올로 추출하여 항균활성을 검색하였다. 이 중 감송향, 진득찰, 천황련, 침향 등은 1000 ppm 첨가 수준에서 *L. monocytogenes*의 증식을 효과적으로 억제할 수 있었으나, 이보다 더 항균활성이 뛰어난 식물은 큰까치수영(*Lysimachia clethroides* Duby)이었다. 큰까치수영은 영초과에 속하는 다년초로 뿌리 또는 전초를 진주채(珍珠菜)라고 하며, 4월 중순경에 어린 순을 나물로 먹기도 하는데 신맛과 짠맛이 강하므로 데친 후 물로 잘 우려낸 다음 나물로 먹는다⁽²²⁾. 활혈조경(活血調經), 이수소종(利水消腫)의 효능이 있고, 월경불순(月經不

*Corresponding author : Dong-Hwa Shin, Faculty of Biotechnology(Food Science & Technology Major), Chonbuk National University, Dukjin-Dong, Chonju, Chonbuk 561-756, Korea
Tel: 82-63-270-2570
Fax: 82-63-270-2572
E-mail: dhshin@moak.chonbuk.ac.kr

順), 대하(帶下), 유통(乳痛), 인후동통을 치료하고, 민간에서는 살충제로도 쓰인다⁽²³⁾.

큰까치수영은 뿌리에 primulagenin, saponin, primverase 등을 함유하고 있다고 알려져 있다⁽²²⁾. 본 실험에서는 *L. monocytogenes* 뿐만 아니라 그 외 6종의 식중독균(*Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*)에 대해서도 큰까치수영의 항균 spectrum을 관찰하였고, 큰까치수영이 광범위한 식중독 미생물에 대한 제어제임을 확인하였기에 보고한다.

재료 및 방법

추출용 시료

임상본초학⁽²⁴⁾과 약용식물도감⁽²⁵⁾을 참고하여 선별된 미검색 한약재와 기존 실험결과 그 검색 결과가 확실치 않아 재검색이 필요한 77종의 식물과 한약재를 식품의약품안전청 육천 약용식물재배시험장, 도로공사 전주수목원 및 전주시내 소재 한약방에서 수집하였다. 생체로 수집한 식물은 수세한 후 부위별로 분류하여 40°C에서 건조, 분쇄한 후 75% 에탄올로 추출하여 얻은 추출물로 항균활성 실험을 하였다. 실험

Table 1. List of plants used for antimicrobial experiment

Botanical name (abbreviation)	Korean name	Part used
<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux (AC)	부자(附子)	root
<i>Aconitum koreanum</i> Raymond (AK)	백부자(白附子)	root
<i>Albizia coreana</i> Nakai (ACN)	왕자귀나무	stem
<i>Allium monanthum</i> Maximowicz (AM)	달래	whole
<i>Amomum xanthioides</i> Wallich (AX)	사인(砂仁)	fruit
<i>Aquilaria agallocha</i> Roxburgh (AA)	침향(沈香)	resin
<i>Areca catechu</i> Linne (ACL)	빈랑자(檳榔子)	seed
<i>Astilbe chinensis</i> Var. <i>dauidii</i> Fr (ACVF)	노루오줌풀	root
<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi (AJ)	백출(白朮)	tuber
<i>Betula platyphylla</i> Suk var. <i>japonica</i> Hara (BP)	화피(樺皮)	bark
<i>Boehmeria spicata</i> Thunberg (BS)	좁개잎나무	leaves, seed
<i>Broussonetia kazinoki</i> Siebold (BK)	닥나무	bark, leaves
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (Linne) Medicus (CB)	냉이	whole
<i>Cinnamomum cassia</i> Blume (CC)	계피(桂皮)	bark
<i>Clematis mandshurica</i> Maximowicz (CMM)	으아리	whole
<i>Cocculus trilobus</i> (Thunb.) DC.(CT)	댕댕이덩굴	stem
<i>Codonopsis pilosula</i> Nannfeldt (CPN)	만삼(蔓蔘)	root
<i>Colocasia antiquorum</i> var. <i>esulenta</i> Engl. (CA)	토란	leaves, tuber
<i>Convallaria keiskei</i> MIQ (CK)	은방울꽃	root
<i>Cordyceps sinensis</i> Sacc (CS)	동충하초(冬蟲夏草)	whole
<i>Corydalis ternata</i> Nakai (CTN)	현호색(玄胡索)	tuber
<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge var. <i>typica</i> Schneider (CP)	산사자(山査子)	fruit
<i>Croton tiglium</i> Linne (GT)	파두(巴豆)	seed
<i>Curcuma longa</i> Linne (CL)	울금(鬱金)	root
<i>Daemonorps draco</i> Blume (DD)	혈갈(血竭)	resin
<i>Dioscorea batatas</i> Decaisne (DB)	참마	tuber
<i>Diospyros kaki</i> Thunb (DK)	감나무	bark
<i>Diospyros kaki</i> Thunberg (DKT)	시체(柿蒂)	calyx
<i>Ephedra sinica</i> Stapf (ES)	마황(麻黃)	aerial root
<i>Equisetum hiemale</i> Linne (EH)	목적(木賊)	caulis
<i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance (FR)	물푸레나무	bark
<i>Gastrodia elata</i> Blume (GE)	천마(天麻)	rhizoma
<i>Gleditsia japonica</i> Miquel var. <i>Koraiensis</i> Nakai (GJ)	조각자(皂角刺)	thorn, seed
<i>Gossypium indicum</i> Lam. (GI)	목화(木花)	seed
<i>Helianthus annuus</i> L. (HAL)	해바라기	seed
<i>Helianthus tuberosus</i> L. (HT)	돼지감자	tuber
<i>Host aplantaginea</i> Aschers (HAA)	옥잠화	leaves, root
<i>Humulus lupulus</i> Linne (HL)	호프(忍布)	fruit
<i>Illicium verum</i> Hook (IV)	대회향(大茴香)	seed
<i>Impatiens balsamina</i> L. (IB)	봉숭아	whole
<i>Jeffersonia dubia</i> Benth (JD)	천황련	root
<i>Kalopanax pictus</i> (Thunb.) Nakai (KP)	업나무	stem, leaves

Table 1. Continued.

Botanical name (abbreviation)	Korean name	Part used
<i>Kerria japonica</i> (L.) DC. (KJ)	황매	caulis
<i>Ligustrum lucidum</i> Aiton (LL)	여정실(女貞實)	fruit
<i>Lithospermum erythrorhizon</i> S. et Z. (LE)	자초(紫草)	root
<i>Loranthus parasiticus</i> Merr. (LP)	상기생(桑寄生)	whole
<i>Lufa cylindrica</i> ROEM (LCR)	수세미	seed
<i>Lygodium japonicum</i> (Thunb.) Sw. (LJ)	해금사(海金沙)	seed
<i>Lysimachia clethroides</i> Duby (LC)	큰까치수영	root
<i>Malva verticillata</i> Linne (MV)	동규자(冬葵子)	seed
<i>Menispermum dauricum</i> DC. (MD)	새모래덩굴	root
<i>Morinda officinalis</i> How (MO)	과극천(巴戟天)	root
<i>Nardostachys chinensis</i> Batal (NC)	감송향(甘松香)	root
<i>Paeonia moutan</i> Sims (PM)	목단피(牡丹皮)	radix
<i>Peucedanum terebinthaceum</i> Fisch (PT)	기름나물	root
<i>Pharbitis nil</i> (L.) Choisy (PN)	나팔꽃	seed
<i>Pinellia ternata</i> Breitenbach (PTB)	반하(半夏)	rhizoma
<i>Plantago asiatica</i> Linne (PAL)	차전자(車前子)	seed
<i>Populus alba</i> Linne (PA)	은백양나무	bark
<i>Potentilla fragarioides</i> var. major Max. (PF)	양지꽃	whole
<i>Prunus padus</i> Linnaeus (PP)	귀룽나무	leaves, stem
<i>Rheum coreanum</i> Nakai (RCN)	대황(大黃)	root
<i>Ricinus communis</i> Linne (RC)	피마자(蓖麻子)	seed
<i>Salix babylonica</i> L. (SB)	유근피(柳根皮)	radix
<i>Salvia multiorrhiza</i> Bunge (SM)	단삼(丹參)	root
<i>Sanguisorba officinalis</i> Linne (SO)	오이풀	root
<i>Saururus loureiri</i> Decais (SLD)	삼백초(三白草)	leaves, root
<i>Saussurea lappa</i> Clarke (SL)	목향(木香)	root
<i>Scilla scilloides</i> (Lindl.) Druce (SS)	무릇	root
<i>Siegesbeckia glabrescens</i> Makino (SG)	진득찰	caulis
<i>Sinomenium acutum</i> Rehder et Wilson (SA)	방기(防己)	root
<i>Smilax china</i> Linne (SCH)	명감나무	root
<i>Sorbus commixta</i> Hedlund (SCH)	마가목	bark
<i>Styrax japonica</i> S. et Z. (SJ)	매죽나무	fruit, bark, leaves
<i>Vitex rotundifolia</i> Linne fil. (VR)	만형자(蔓荊子)	seed
<i>Vitex rotundifolia</i> Linne fil. (VRL)	순비기나무	stem, leaves
<i>Zea mays</i> Linne (ZM)	옥미수(玉米鬚)	tassel

Table 2. List of strains and media used for antimicrobial experiment

Microorganism tested	Media used	Temp. (°C)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC19111	TSB&TSA ¹⁾	32
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC19112	TSB&TSA	32
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC19113	TSB&TSA	32
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC19114	TSB&TSA	32
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC15313	TSB&TSA	32
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	NB&NA2)	30
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	NB&NA	30
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 33844	TSB&TSA+3%NaCl	30
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 ATCC 43894	TSB&TSA	37
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	TSB&TSA	37
<i>Salmonella enteritidis</i> KCCM 12021	NB&NA	37

¹⁾TSB & TSA: Tryptic soy broth & Tryptic soy agar (Difco).²⁾NB & NA: Nutrient broth & Nutrient agar (Oxoid).

Table 3. Growth inhibition rate of the ethanol extract from various plants on *Listeria monocytogenes*

Botanical name ¹⁾	Part used	<i>L. monocytogenes</i>				
		ATCC 19111	ATCC 19112	ATCC 19113	ATCC 19114	ATCC 15313
AA	resin	81.3 ²⁾	90.0	100.0	92.4	88.9
AC	root	1.0	2.1	2.5	0.2	1.0
ACL	seed	5.9	5.6	7.2	9.0	2.2
ACN	stem	13.2	6.7	10.0	17.2	8.5
ACVF	root	38.4	32.4	33.7	33.5	38.3
AJ	tuber	13.9	12.1	10.3	9.8	11.7
AK	root	3.4	4.8	5.4	10.9	12.4
AM	whole	2.8	1.1	1.9	2.9	1.4
AX	fruit	67.3	60.3	75.6	69.6	51.1
BK	bark	8.8	67.0	30.0	29.6	20.2
BK	leaves	17.4	2.9	5.8	6.0	27.2
BP	bark	25.2	20.4	22.4	21.4	19.8
BS	seed	32.5	29.5	32.3	34.2	27.9
BS	leaves	38.4	22.2	30.3	25.5	29.8
CA	leaves	11.2	19.9	16.2	11.3	30.3
CA	tuber	10.0	15.0	19.2	20.2	17.3
CB	whole	2.5	1.0	2.5	1.0	3.1
CC	bark	32.6	32.1	30.5	31.9	32.0
CK	root	8.9	2.0	0.5	8.8	1.3
CL	root	19.6	12.0	11.2	17.4	20.9
CMM	whole	18.2	31.3	36.0	26.0	29.9
CP	fruit	7.9	5.7	5.7	3.6	2.7
CPN	root	2.6	8.6	2.0	0.5	3.5
CS	whole	12.5	12.7	9.3	9.5	11.5
CT	stem	1.0	1.2	5.5	7.5	3.8
CTN	tuber	2.4	5.1	1.5	6.3	4.1
DB	tuber	18.7	22.6	27.8	23.5	29.7
DD	resin	27.0	22.7	23.7	30.4	31.0
DK	bark	0.7	3.7	3.4	0.1	4.7
DKT	calyx	12.3	19.1	19.3	13.2	12.1
EH	caulis	1.1	2.2	3.2	1.8	1.2
ES	aerial root	7.0	5.2	5.5	3.7	0.4
FR	bark	11.0	14.8	18.0	12.2	14.0
GE	stem	22.4	22.6	27.2	23.7	27.4
GI	seed	21.8	25.6	33.9	21.3	28.5
GJ	seed	33.1	31.5	21.0	37.1	28.5
GJ	thorn	5.5	1.5	2.5	0.8	2.0
GT	seed	20.2	23.2	19.1	13.8	27.3
HAA	root	20.9	7.3	4.7	6.5	5.2
HAA	leaves	17.4	35.3	11.9	14.4	22.6
HAL	seed	2.4	3.6	3.7	1.7	0.3
HL	fruit	99.3	100.0	99.5	100.0	99.8
HT	tuber	12.3	36.4	2.6	4.7	14.5
IB	whole	5.9	2.5	1.2	3.8	2.0
IV	seed	3.8	4.4	3.4	3.9	3.6
JD	root	75.5	99.7	97.9	95.8	95.3
KJ	caulis	4.3	7.7	2.0	1.1	3.6
KP	stem	18.2	13.8	15.6	22.2	28.1
KP	leaves	3.5	4.9	36.5	16.4	28.2
LC	root	96.7	100.0	99.0	100.0	97.2
LCR	seed	26.4	21.2	4.0	10.2	1.8
LE	root	0.4	9.2	8.4	9.2	11.1
LJ	seed	11.3	16.1	16.9	12.5	13.2

Table 3. Continued.

Botanical name ¹⁾	Part used	<i>L. monocytogenes</i>				
		ATCC 19111	ATCC 19112	ATCC 19113	ATCC 19114	ATCC 15313
LL	fruit	11.8	29.5	35.0	32.5	13.6
LP	whole	20.3	13.5	5.0	10.0	13.3
MD	root	14.8	26.6	14.7	10.9	15.0
MO	root	1.9	2.9	2.4	6.8	0.7
MV	seed	20.0	25.6	40.4	50.9	37.8
NC	root	95.8	96.5	95.9	96.0	95.5
PA	bark	18.1	15.2	16.0	11.9	13.6
PAL	seed	0.2	2.5	3.9	2.9	6.5
PF	whole	26.5	11.6	12.1	12.0	29.3
PM	radix	5.7	5.8	4.5	2.3	2.8
PN	seed	12.9	10.0	3.0	11.4	14.0
PP	leaves	13.2	13.0	28.6	23.1	23.6
PP	stem	13.5	16.0	3.7	32.4	15.9
PT	root	6.1	17.8	14.8	4.3	18.5
PTB	rhizoma	8.2	9.1	12.2	15.0	11.4
RC	seed	43.1	44.0	41.9	40.3	40.0
RCN	root	3.7	0.7	4.3	7.3	6.7
SA	root	10.5	22.5	21.0	12.3	20.3
SB	radix	23.0	22.8	23.7	28.6	21.7
SC	root	10.0	5.5	9.5	11.6	26.0
SCH	bark	0.7	1.7	0.5	0.4	0.5
SG	caulis	92.8	93.2	92.7	90.0	92.5
SJ	fruit	18.0	12.0	31.0	10.2	22.6
SJ	bark	17.1	21.2	24.3	27.6	20.6
SJ	leaves	15.0	12.5	15.8	1.5	4.8
SL	root	12.2	38.8	38.9	18.6	10.7
SLD	leaves	30.6	7.2	18.2	18.1	13.0
SLD	root	14.7	7.8	15.3	21.5	26.9
SM	root	40.0	53.7	53.8	52.6	44.7
SO	root	6.7	11.9	6.8	8.1	16.3
SS	root	15.0	16.4	10.4	15.3	10.4
VR	seed	7.0	48.4	40.7	2.0	19.7
VRL	leaves	13.5	13.7	21.2	15.3	17.2
VRL	stem	2.7	3.3	3.0	2.8	2.4
ZM	tassel	4.7	2.0	3.2	3.4	1.0

¹⁾See Table 1.²⁾Growth inhibition rate(%) = 100 - (B/A × 100)

A; Total area of growth curve of control by Bioscreen C for 72 hr incubation.

B; Total area of growth curve of treatment by Bioscreen C for 72 hr incubation.

Table 4. Minimum inhibitory concentration of ethanol extract of *Siegesbeckia glabrescens* Makino(SG), *Jeffersonia dubia* Benth(JD), *Aquilaria agallocha* Roxburgh(AA), and *Diospyros kaki* Thunb(NC) on *Listeria monocytogenes*

<i>L. monocytogenes</i>	Minimum inhibitory concentration (M, ppm)			
	SG	JD	AA	NC
ATCC 19111	100<M<500	1000	1000<	500<M<1000
ATCC 19112	100<M<500	1000	1000<	1000
ATCC 19113	100<M<500	1000	1000	500<M<1000
ATCC 19114	100<M<500	500<M<1000	1000<	1000
ATCC 15313	100<M<500	1000	1000<	500<M<1000

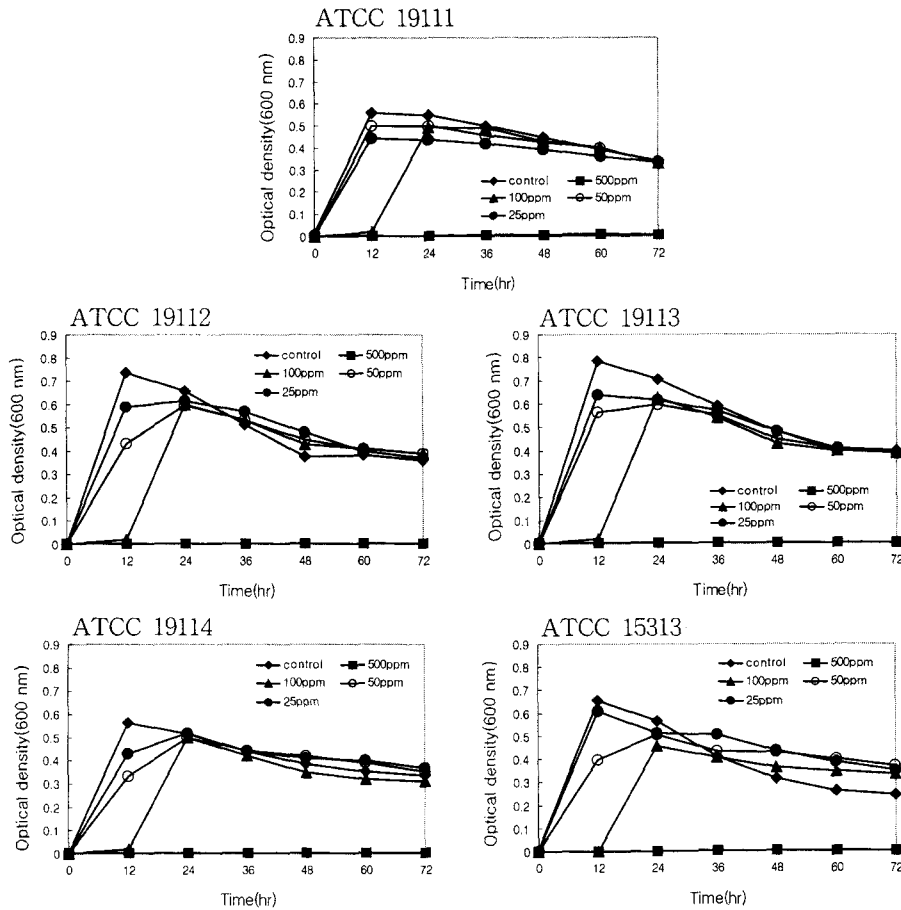


Fig. 1. Growth inhibition by ethanol extract of *Lysimachia clethroides* Duby on *Listeria monocytogenes* for 72 hr at 32°C.

에 사용한 식물과 사용부위는 Table 1과 같다.

사용균주 및 배지

식물 에탄올 추출물에 대한 항균활성을 *L. monocytogenes* 5 균주를 대상으로 검색하였고, 큰까치수염의 항균 스펙트럼을 확인하기 위해 식중독 미생물 6종을 대상으로 항균효과를 확인하였다. 이때 사용한 균주와 배지는 Table 2와 같다.

큰까치수염의 순차 용매 분획

큰까치수염 에탄올 추출물을 농축하여 물중만 남긴 후 분별깔때기를 이용하여 약 4배의 헥산을 가하여 헥산 분획물을 2회 반복하여 얻고, 동일한 방법으로 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올을 순차로 가하여 각각의 순차 용매 분획물을 얻었다. 각 분획물은 회전식 진공농축기(EYELA,

Japan)와 진공건조기(New Power Engineering Co., Korea)로 용매를 완전히 제거한 후, 고형분 함량을 구한 다음 원하는 농도만큼 에탄올로 녹여 0.2 μm membrane filter로 제균하여 항균효과 실험에 사용하였다.

식물 에탄올 추출물의 1차 항균효과

*L. monocytogenes*를 배양한 사면배지에서 1백금이를 취해 10 mL 액체배지에 접종하여 32°C에서 24시간 배양한 후 이 배양액 0.1 mL를 다시 10 mL 액체배지에 접종하여 32°C에서 24시간 배양한 후 균체 배양액을 만들었다. 에탄올로 추출한 항균성 시료는 75% 에탄올로 완전히 용해시키거나 필요에 따라 희석한 후, membrane filter(0.2 μm)로 제균하여 액체배지 9.8 mL에 첨가량이 1000 ppm이 되게 항균활성이 확인된 각 추출물 시료를 첨가(0.1 mL)하였다. 이 배지에 균체 배양

Table 5. Minimum inhibitory concentration of ethanol extract and solvent fractions of *Lysimachia clethroides* Duby on *Listeria monocytogenes*

<i>L. monocytogenes</i>	Minimum inhibitory concentration (M, ppm)				
	EtOH extract	Hexane fraction	CHCl ₃ fraction	EtOAc fraction	BuOH fraction
ATCC 19111	100<M<500	50<M<100	50<M<100	500<	500<
ATCC 19112	100<M<500	50<M<100	50	500<	500<
ATCC 19113	100<M<500	50<M<100	50<M<100	500<	500<
ATCC 19114	100<M<500	50<M<100	50<M<100	500<	500<
ATCC 15313	100<M<500	50<M<100	50<M<100	500<	500<

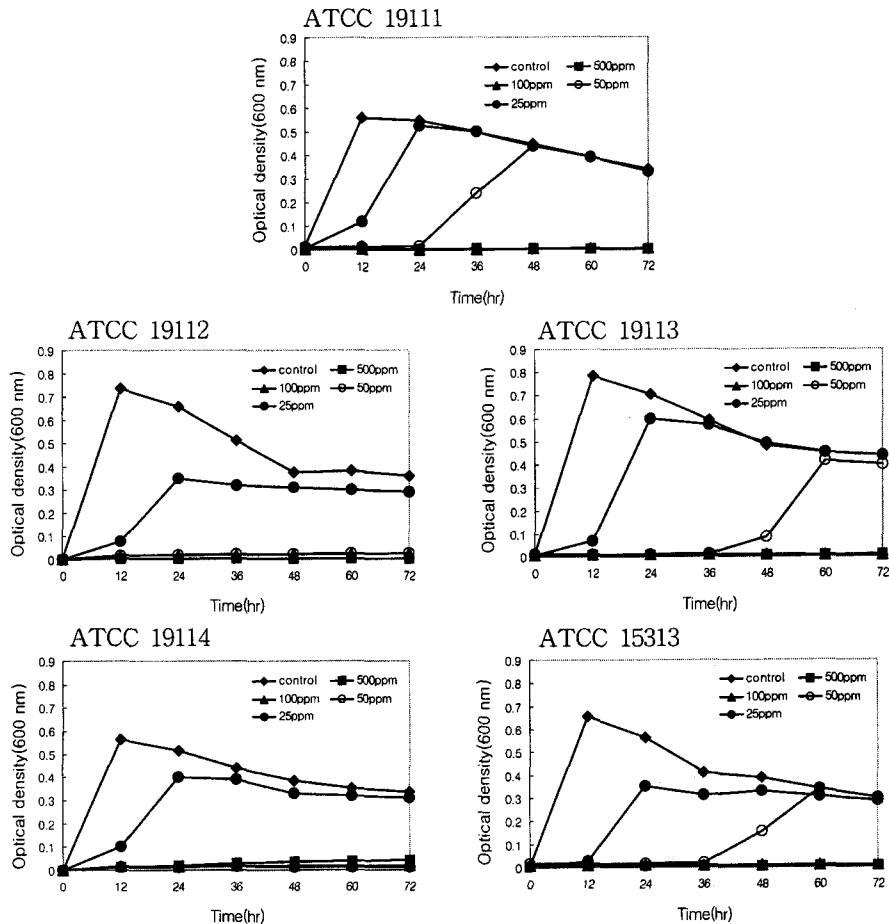


Fig. 2. Growth inhibition by n-hexane fraction of *Lysimachia clethroides* Duby on *Listeria monocytogenes* for 72 hr at 32°C.

액 0.1 mL를 접종한 후 32°C에서 72시간 동안 배양하면서 12시간 간격으로 600 nm에서 Bioscreen C(Labsystem, Helsinki, Finland)를 이용하여 optical density(O.D.)를 측정하여 증식억제 효과를 측정하였다. 이때 에탄올로 추출한 시료를 용해시키는데 사용한 에탄올량(0.075 mL) 만큼을 대조구에 첨가하여 에탄올 자체의 항균력이 감소 되도록 하였다.

큰까치수염 용매 분획물의 농도별 항균효과

큰까치수염 에탄올 추출물을 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올로 순차 분획하여 분획물을 얻었다. 이 순차 분획물 역시 같은 방법으로 *L. monocytogenes*에 대한 각 순차 분획물별 최소증식저해농도(MIC)를 조사하였다. 또한 항균효과가 인정된 순차 용매 분획물의 *V. parahaemolyticus*의 5 종의 식중독 미생물에 대한 항균 스펙트럼도 역시 Bioscreen C를 이용하여 MIC를 조사하였다.

결과 및 고찰

식물 에탄올 추출물의 항균효과 검색

식용 혹은 한약재로 사용하는 77종의 식물로부터 얻은 에탄올 추출물을 tryptic soy broth에 1,000 ppm씩 첨가하여 32°C에서 72시간 동안 배양하면서 균증식 억제 양상을 Bioscreen C를 이용하여 관찰하였다.

L. monocytogenes 5 균주에 대한 항균효과는 에탄올 추출물을 첨가한 처리구의 균 증식곡선의 면적에 대한 에탄올 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 균 증식곡선과의 면적비 (growth inhibition rate)에 의해 나타내었으며, 그 결과는 Table 3과 같다

Table 3에서 보는 바와 같이 실험대상 식물 중에서 growth inhibition rate가 50% 이상인 식물은 감송향, 사인, 진득찰, 천황련, 침향, 큰까치수염, 호프 등이었다. 이들 중 진득찰, 천황련, 침향, 감송향 에탄올 추출물을 *L. monocytogenes*를 대상으로 50, 100, 500, 1,000 ppm 농도로 tryptic soy broth에 첨가하여 항균효과를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 이 중 진득찰(SG: *Siegesbeckia glabrescens* Makino)은 에탄올 추출물을 500 ppm 첨가시 *L. monocytogenes* 5 균주 모두에 대하여 72시간까지 균증식을 억제하였고, 100 ppm 첨가수준에서는 12시간까지 균증식 억제 현상을 보이다가 그 이후 균이 증식하는 것을 관찰할 수 있었다. 천황련(JD: *Jeffersonia dubia* Benth)의 경우 1,000 ppm 첨가시 *L. monocytogenes* 5 균주 모두 72시간까지 균증식이 완전억제 되었으나, 500 ppm 첨가 수준에서는 *L. monocytogenes* ATCC 19114에 대해서 12시간까지 균증식이 억제되는 것을 관찰할 수 있었고, 그 외 4종의 *L. monocytogenes*에 대해서는 항균효과가 없었다. 침향(AA: *Aquilaria agallocha* Roxburgh)의 경우는 *L. monocytogenes* ATCC 19113 균에 대해서 1,000 ppm 첨가시 72시

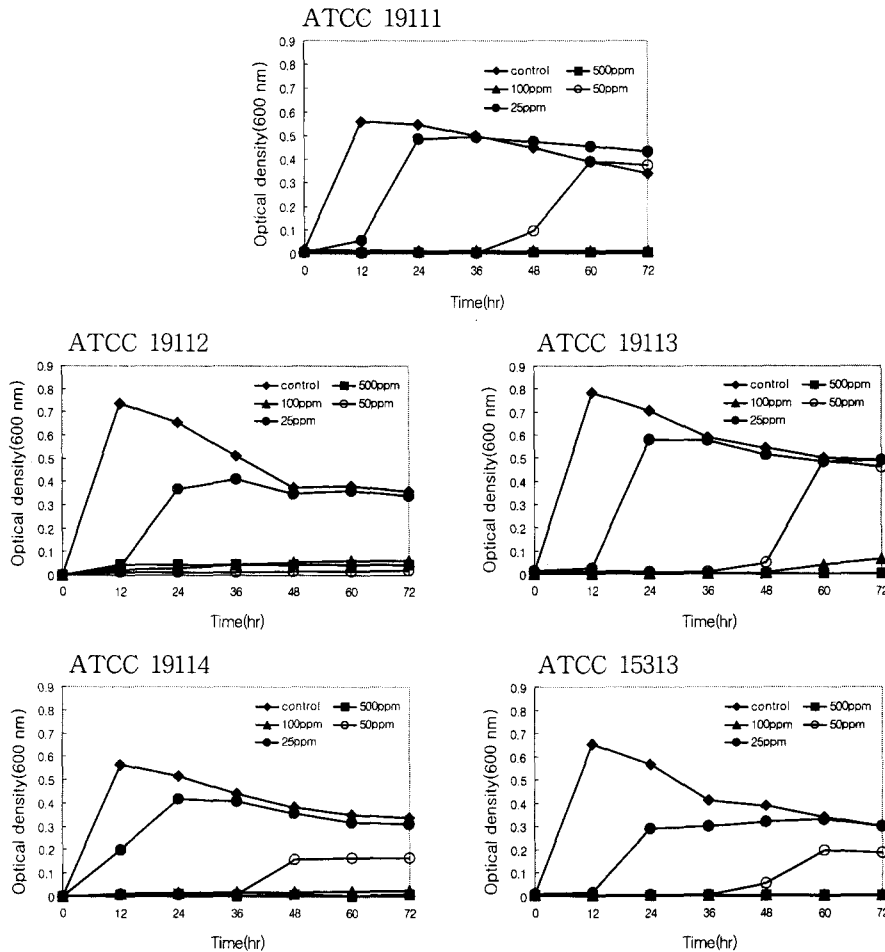


Fig. 3. Growth inhibition by chloroform fraction of *Lysimachia clethroides* Duby on *Listeria monocytogenes* for 72 hr at 32°C.

간까지 균증식을 완전히 억제하였고, *L. monocytogenes* ATCC 19111, ATCC 15313 균에 대해서는 1,000 ppm 첨가시 48시간까지, *L. monocytogenes* ATCC 19112와 ATCC 19114 균에 대해서는 60시간까지 균증식을 억제하였다. 또한 침향 500 ppm 첨가수준에서는 *L. monocytogenes* ATCC 19111, ATCC 19113 및 ATCC 15313에 대해서 12시간까지 균증식 억제 현상을 관찰할 수 있었다.

감송향(NC: *Nardostachys chinensis* Batal)은 1,000 ppm 수준에서 *L. monocytogenes* 5 균주 모두에 대하여 72시간까지 균증식을 억제하였고, 500 ppm 첨가시 *L. monocytogenes* ATCC 19111, ATCC 19113 및 ATCC 15313에 대해서 36시간까지 균증식 억제 현상을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과에서 진득찰, 천황련, 침향, 감송향의 에탄올 추출물은 500~1,000 ppm 첨가 수준에서 *L. monocytogenes*를 효과적으로 억제할 수 있었는데, 이는 보존제로 사용되고 있는 안식향산나트륨의 경우 pH 5.6에서는 1,500~3,000 ppm 수준에서 *L. monocytogenes*를 정균 혹은 살균이 가능한 것으로 보고⁽²⁶⁾되고 있고, 프로피온산나트륨은 1,500~11,000 ppm⁽²⁷⁾, 솔빈산칼륨은 3,000 ppm⁽²⁸⁾에서 증식억제 효과가 있다는 결과와 비교해 보면 이 4가지 식물 추출물의 항균효과가 기존 보존제에 비하여 우수함을 알 수 있었다.

큰까치수영 에탄올 추출물 및 순차 용매 분획물의 항균효과

큰까치수영 에탄올 추출물의 항균활성을 알아보기 위해 에탄올 추출물을 각각 25, 50, 100, 500 ppm을 액체배지에 첨가한 후 *L. monocytogenes* 5 균주를 접종하여 액체배양 하면서 Bioscreen C를 이용하여 O.D.를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다.

이들 결과에서 보면 5 균주 모두 큰까치수영 에탄올 추출물 500 ppm 첨가시 72시간 동안 균증식이 완전히 억제되는 것을 볼 수 있으며, 100 ppm 첨가시 12시간까지는 균증식이 억제되나 12시간 이후 균이 증식되는 것을 볼 수 있었다. 그러나 에탄올 추출물 첨가시 균종에 따른 항균효과의 차이는 관찰할 수 없었다.

큰까치수영의 용매 분획물 중 헥산과 클로로포름의 항균활성은 Table 5에서 보는 바와 같이 비슷한 경향이였다.

큰까치수영 헥산 분획물의 항균효과(Fig. 2)를 보면 *L. monocytogenes* ATCC 19112와 ATCC 19114에 대해서 50 ppm 이상 첨가시 72시간까지 균증식이 완전 억제되는 것을 볼 수가 있었으며, *L. monocytogenes* ATCC 19113와 ATCC 15313에 대해서는 50 ppm 첨가시 36시간까지 균증식이 억제되었으나 그 이후 균이 증식되는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 *L. monocytogenes* ATCC 15313에 대해서는 25 ppm 첨가

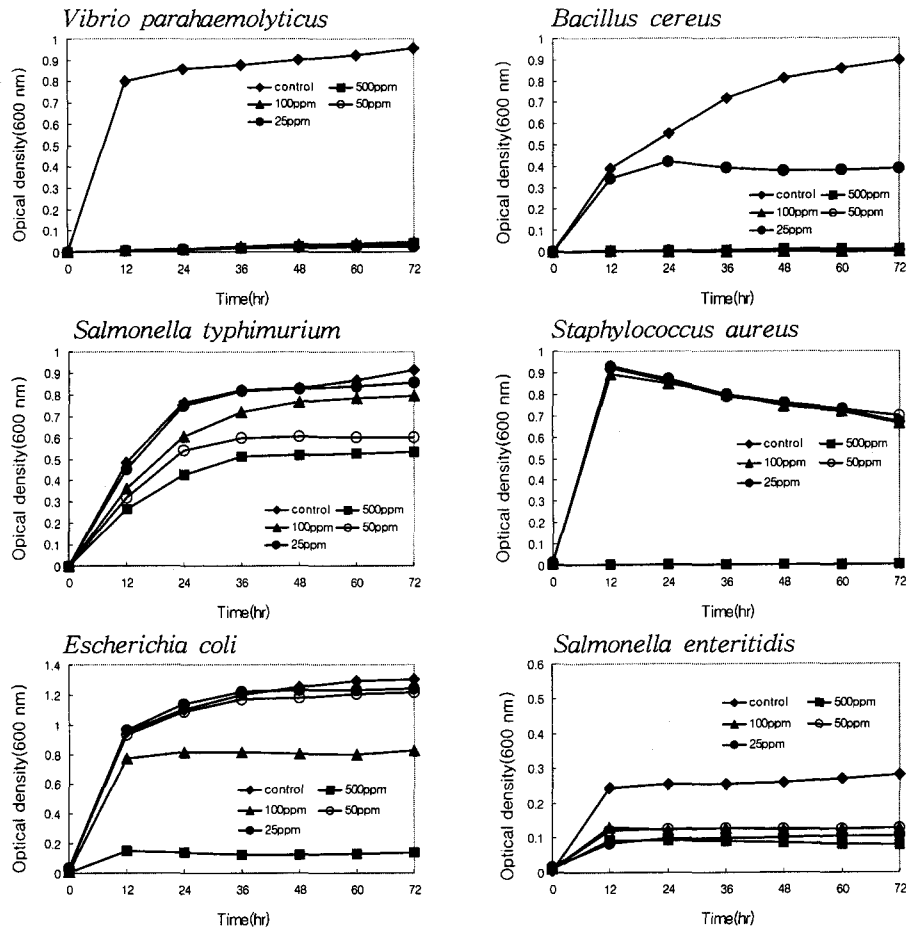


Fig. 4. Growth inhibition by n-hexane fraction of *Lysimachia clethroides* Duby on several food-borne microorganisms for 72 hr.

시 12시간까지 균증식이 억제되는 것을 관찰할 수 있었다. *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대해서는 50 ppm 첨가시 24시간까지 균증식이 억제되는 것을 관찰할 수 있었다.

큰까치수영 클로로포름 분획물의 항균효과(Fig. 3)를 살펴 보면 *L. monocytogenes* ATCC 19112에 대해서 50 ppm 이상 첨가시 72시간까지 균증식이 완전 억제되는 것을 볼 수가 있었으며, *L. monocytogenes* ATCC 19111, ATCC 19113, ATCC 19114 및 ATCC 15313에 대해서는 50 ppm 첨가시 36시간까지 균증식이 억제되었으나 그 이후 균이 증식되는 것을 관찰할 수 있었고, 25 ppm 첨가시에도 *L. monocytogenes* ATCC 19112, ATCC 19113 및 ATCC 15313에 대해서 12시간까지 균증식이 억제되는 것을 관찰할 수 있었다.

큰까치수영의 항균 스펙트럼

큰까치수영 hexan 분획물을 식중독균인 *V. parahaemolyticus* 등 6종을 대상으로 항균 스펙트럼을 실험한 결과는 Fig. 4와 같다.

큰까치수영 hexan 분획물을 tryptic soy broth에 각각 25, 50, 100, 500 ppm 첨가하여 항균효과를 Bioscreen C를 이용해서 O.D.로 나타내었을 때 *V. parahaemolyticus*에 대해서는 실험 최저 농도인 25 ppm에서도 72시간까지 완전 증식억제 효과를 나타내었으며, *B. cereus*에 대해서는 50 ppm 이상 첨가시 72시간까지 완전 증식 억제효과를 나타내었다. *S. aureus*에

대해서는 500 ppm 첨가시 72시간까지 완전 증식억제 효과를 나타내었으며, *S. typhimurium*와 *S. enteritidis*의 경우 대조구에 비하여 균증식이 억제되었으나 농도별 균증식 억제 정도는 큰 차이가 없었다.

또한, *E. coli*의 경우 500 ppm 첨가시 12시간까지 증식한 균이 더 이상 증식하지 않고 72시간까지 그 수준을 유지하는 것으로 보아 큰까치수영 hexan 분획물은 *E. coli*에 대해서는 정균효과를 나타낸다고 볼 수 있었다.

이와 같은 결과는 황련 에탄올 추출물이 *S. aureus*에 대해서 MIC가 90 ppm⁽²⁹⁾이었고, 자초 에탄올 추출물은 1,000~1,500 ppm의 농도로 *S. aureus*와 *B. cereus*를 저해한다는 결과⁽³⁾보다 큰까치수영의 항균효과가 뛰어나다는 것을 알 수 있었다.

요 약

식중독 미생물의 효과적인 제어를 위해 인공합성 보존제보다 더 우수한 대체물을 천연 식물체에서 찾고, 이러한 물질들을 효과적으로 이용할 수 있는 방안을 마련하기 위해 식용 혹은 한약재로 이용하는 식물 77 종을 수집하여 부위 별로 75% 에탄올로 추출하여 그 추출물에 대한 항균활성을 실험하였다. 실험한 결과 1,000 ppm 수준에서 *Listeria monocytogenes* 5 균주 모두에 대하여 증식억제효과를 보인 식물은

감송향, 사인, 진득찰, 천황련, 침향, 큰까치수영, 호프 등이었다. 큰까치수영 에탄올 추출물의 *L. monocytogenes* 5 균주에 대한 최소증식저해농도는 100~500 ppm이었다. 순차 용매 분획물의 항균활성은 hexan 분획물과 클로로포름 분획물의 최소증식저해농도가 50~100 ppm으로 같았으며, 큰까치수영의 항균물질은 극성이 비교적 낮은 물질임을 알 수 있었다. 큰까치수영의 식중독 미생물에 대한 항균 스펙트럼을 살펴보면 *V. parahaemolyticus*에 대해서는 실험최저 농도인 25 ppm에서도 72시간까지 완전 증식억제 효과를 나타내었으며, *B. cereus*에 대해서는 50 ppm, *S. aureus*에 대해서는 500 ppm 첨가시 72시간까지 완전 증식억제 효과를 나타내었고, *S. typhimurium*와 *S. enteritidis*의 경우 대조구에 비하여 균증식이 억제되었으나 농도별 균증식 억제 정도는 큰 차이가 없었다. *E. coli*의 경우 500 ppm 첨가시 12시간까지 증식한 균이 더 이상 증식하지 않고 72시간까지 그 수준을 유지하는 것으로 보아 큰까치수영 hexan 분획물은 *E. coli*에 대해서는 정균효과를 나타내는 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 보건의료기술 연구개발사업(관리번호: HMP-99-F06-0001, 식품중 각종 위해요인의 위해성 평가와 관리방안 수립에 관한 연구)의 연구비 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사하는 바입니다.

문헌

1. Beuchat, L.R. and Golden, D.A. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.* 43: 134-142 (1989)
2. Park, S.W. and Kim, C.J. Studies on the food preservation by antimicrobial action of medicinal herbs. *J. Agric. Food Chem.* 22: 91-96 (1979)
3. Pack, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. Screening of antimicrobial activity for medical herb extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 91-96 (1992)
4. Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, J.P. and Begin, A. Inhibitory effect of organic acids upon meat spoilage bacteria. *J. Food Prot.* 60: 246-253 (1997)
5. Ahn, Y.S. and Shin, D.H. Antimicrobial effect of organic acid and ethanol on several foodborne microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1315-1323 (1999)
6. Kim, J., Marshall, M.R. and Wei, C.I. Antibacterial activity of some essence oil component against five foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2841-2845 (1995)
7. Conner, D.E. and Beuchat, L.R. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. *J. Food Sci.* 49: 429-434 (1984)
8. Arihara, K., Ota, H., Itoh, M., Kondo, Y., Sameshima, T., Yamanaka, H., Akimoto, M., Kanai, S. and Miki, T. *Lactobacillus acidophilus* group lactic acid bacteria applied to meat fermentation. *J. Food Sci.* 63: 544-547 (1998)
9. Janes, M.E., Nannapaneni, R. and Johnson, M.G. Identification and characterization of two bacteriocin-producing bacteria isolated from garlic and ginger root. *J. Food Prot.* 62: 899-904 (1999)
10. Karapinar, M. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *Int. J. Food Microbiol.* 10: 193-197 (1990)
11. Hao, Y.Y., Brackett, R.E. and Doyle, M.P. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated cooked beef. *J. Food Prot.* 61: 307-312 (1998)
12. Briozzo, J., Nunez, L., Chirife, J., Herszage, L. and D'Aquino, M. Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 69-74 (1989)
13. Jang, D.S., Nam, S.H., Choi, S.U. and Yang, M.S. Antibacterial activity of some *Chrysanthemum spp.* *J. Agric. Food Chem.* 39: 315-319 (1996)
14. Kim, S.J. and Park, K.H. Antimicrobial substance in Leek (*Allium tuberosum*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 604-608 (1996)
15. Kim, K.Y., Chung, D.O. and Chung, H.J. Chemical composition and antimicrobial activities of *Houttuynia cordata* Thunb. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 400-406 (1997)
16. Cho, S.H., Lee, S.Y., Kim, J.W., Ko, G.H. and Seo, I.W. Antimicrobial activities of grapefruit seed extract. *J. Food Hyg. Safety.* 10: 33-37 (1995)
17. Roh, H.J., Shin, Y.S., Lee, K.S. and Shin, M.K. Antimicrobial activity of water extract of green tea against cooked rice putrefactive microorganism. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 66-71 (1996)
18. Ahn, E.Y., Shin, D.H., Baek, N.I. and Oh, J.A. Isolation & identification of antimicrobial active substance from *Sophora flavescens* Ait. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 672-679 (1998)
19. Ahn, E.Y., Shin, D.H., Baek, N.I. and Oh, J.A. Isolation & identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 680-687 (1998)
20. Oh, J.A., Shin, D.H. and Baek, N.I. Isolation & identification of growth inhibition substance on *L. monocytogenes* from *Dystaenia takesimana* Kitagawa. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 984-993 (1999)
21. Ahn, Y.S. Isolation and identification of antimicrobial substance from *Ruta graveolens* Linne and *Mallotus japonicus* Muell on *Listeria monocytogenes*. M.S. Thesis, Chonbuk National University, Chonju, Korea (2000)
22. The Illustrated Book of Hardy Plants, National Honam Agricultural Experiment Station, RDA, Korea (1997)
23. Bae, K.H. The Medicinal Plants of Korea. pp391. Kyo Hak Pub. Co., Ltd. Seoul, Korea (1998)
24. Shin, M.K. Clinical Phytology. Namsandang, Seoul, Korea (1998)
25. Pack, J.H. and Lee, J.G. Encyclopedia of Medicinal Plant. Shinil-sangsa, Seoul, Korea (1998)
26. El-Shenawy, M.A. and Marth, E.H. Inhibition or inactivation of *Listeria monocytogenes* by sodium benzoate together with some organic acid. *J. Food Prot.* 52: 771-776 (1989)
27. El-Shenawy, M.A. and Marth, E.H. Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence of sodium propionate. *Int. J. Food Microbiol.* 8: 85-89 (1989)
28. El-Shenawy, M.A. and Marth, E.H. Inhibition or inactivation of *Listeria monocytogenes* by sorbic acid. *J. Food Prot.* 51: 842-847 (1988)
29. Oh, D.H., Ham, S.S., Park, B.G., Ahn, C. and Yu, J.Y. Antimicrobial activity of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 957-963 (1998)

(2001년 6월 15일 수리)