J Korean Soc Food Sci Nutr
39(12), 1745~1752(2010)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2010.39.12.1745

조릿대 잎 분획 추출물의 식중독균에 대한 항균활성

박연옥[1] · 임현숙[2†]

[1]농촌진흥청 국립원예특작과학원 배시험장
[2]전남대학교 식품영양학과

Antimicrobial Activity of Bamboo (*Sasa borealis*) Leaves Fraction Extracts against Food Poisoning Bacteria

Yeon-Ok Park[1] and Hyeon-Sook Lim[2†]

[1]*Pear Experimental Station, NIHHS, RDA, Jeonnam 520-821, Korea*
[2]*Dept. of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea*

Abstract

This study was conducted to investigate the antimicrobial activity of 70% ethanol (EtOH) extract and the five fractions of the crude extract from *Sasa borealis* leaves against seven food poisoning bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Micrococus luteus*, *Listeria monocytogens*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, and *Pseudomonas aeruginosa*. The yield of 70% EtOH extract was 11.4% and those of n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol, and aqueous fractions were 3.0%, 1.1%, 0.6%, 1.3%, and 5.1%, respectively. The 70% EtOH extract and the four fractions except aqueous fraction demonstrated antimicrobial activity against all the seven food poisoning bacteria at a concentration of 0.5%, although it was less compared to benzoic acid. Minimal inhibitory concentration (MIC) of the 70% EtOH extract against all the food poisoning bacteria except *S. aureus* was 50 μL/disc. Moreover, chloroform fraction was 35 μL/disc against 3 food poisoning bacteria and 50 μL/disc against the other 4 food poisoning bacteria; ethyl acetate fraction was 50 μL/disc against all the food poisoning bacteria. In addition, n-butanol fraction was 50 μL/disc against all the food poisoning bacteria except *S. aureus*. Aqueous fraction, which did not show antimicrobial activity at 5%, was 200 μL/disc against only *S. aureus* and *L. monocytogen*. The 0.25%, and 0.5% of ethyl acetate fraction inhibited the growth of all the food poisoning bacteria 8 to 12 hours and 24 hours, respectively. These results indicate that the *Sasa borealis* leaves may be useful as a natural antimicrobial substance.

Key words: antimicrobial activity, bamboo (*Sasa borealis*), food poisoning bacteria, minimal inhibitory concentration

서 론

최근 생활수준의 향상과 소비자들의 건강에 대한 관심이 증가하면서 식품업계에서 합성 보존제보다 안전성이 우수한 천연 보존제를 선호하는 경향이 대두되어 천연식품에 대한 개발과 이용이 급증하게 되었으며(1,2), 감초(3), 생약재를 비롯해 선인장(4), 신갈나무(5), 쑥(6), 초피(7), 녹차(8) 등 다양한 식품의 연구가 이루어지고 있다. 현재 식품산업에서 사용하는 천연 항균제로는 lysozyme(9), lactoferrin(10), chitosan(11), polyphenol(12), 포도씨 추출물(13)처럼 천연 소재로부터 추출한 성분과 polylysin(14)이나 bacteriocin (15) 등과 같이 미생물을 소재로 한 종류가 있다.

조릿대는 우리나라 중부 이남에 걸쳐 산중턱 밑에 큰 나무 아래에 무리를 지어 자라는 상록 식물로 토종 약초로 분류되어 있다. 키는 1~2 m로 자라고 줄기의 지름은 6 mm쯤으로 대나무 가운데 가장 작은 종류이다. 산죽(山竹), 지죽(地竹), 조죽(鳥竹), 입죽(立竹) 등 다른 이름으로도 불리며 생약명으로는 담죽엽, 임하죽, 토맥동 등으로 불린다. 잎과 줄기와 뿌리 모두 약으로 쓰이며 꽃이 피지 않은 것은 언제든지 채취하여 사용할 수 있다. 조릿대의 성질은 차가우며 약간 단맛이 있고 알칼리성이고 독이 없다고 알려져 있으며, 한방에서는 해열, 소갈, 소담, 강정, 억균 및 항암 효과가 있어 민간요법으로 사용되어 왔다(16-18).

조릿대 잎에는 페놀성 물질과 플라본 배당체 성분이 함유되어 있음이 밝혀졌고(19-21), 조릿대 잎의 열수와 70% ethanol 조추출물이 항산화작용을 나타낸다는 점 또한 증명되었으며(22), 조릿대의 줄기와 잎의 ethanol 조추출물이 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas fluorescens* 등 식중독 및 부패 세균에 대해 우수한

†Corresponding author. E-mail: limhs@jnu.ac.kr
Phone: 82-62-530-1332, Fax: 82-62-530-1339

항균활성을 보인다는 점도 확인되었고(23), 이외에 조릿대 잎의 분획 추출물 중 ethyl acetate 분획이 김치 초기 숙성균, 산패 및 연부균 등에 대해 가장 강력한 항균력을 나타내었으며, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* 등에 대해서도 높은 항균작용을 한다는 점도 알려졌다(24). 또한 신의대 잎의 70% 에탄올추출물이 *V. parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* Typhymurium 및 *S. aureus*에 대해 항균 효과를 나타내었으며(25), 이대 잎의 70% 에탄올추출물은 동치미 젖산균에 대한 항균작용으로 동치미 위에 이대 잎을 덮는 경우 발효 숙성이 억제됨이 확인되었다(26).

이러한 선행연구들은 조릿대 잎이 항균 효과를 나타낸다는 점을 확인해주었다. 그러나 아직 조릿대 잎 추출물이 식중독균에 대해 갖는 항균력에 대한 자료는 천연 식품보존제로서의 개발 가능성을 검토하기에는 체계적이지 못하였다. 이에 본 연구에서는 조릿대 잎의 70% ethanol 추출물과 ethyl acetate 분획의 항균작용이 우수했다는 선행연구의 결과에 기초해 조릿대 잎의 70% ethanol 추출물과 이의 분획 추출물을 이용하여 식중독균에 대한 항균활성과 최소저해농도 및 생육억제효과를 분석하였다.

재료 및 방법

70% 에탄올추출물 제조

조릿대 잎 70% 에탄올추출물은 수직으로 환류냉각관을 부착한 1000 mL용 둥근 플라스크에 대나무 건잎 80 g를 담고 20배량의 70% 에탄올을 가하여 100°C의 수욕 상에서 20시간 동안 추출한 후 여지(Whatman No. 5)로 여과한 다음 감압농축 후 동결건조 하여 70% 에탄올추출물을 얻었다(Fig. 1).

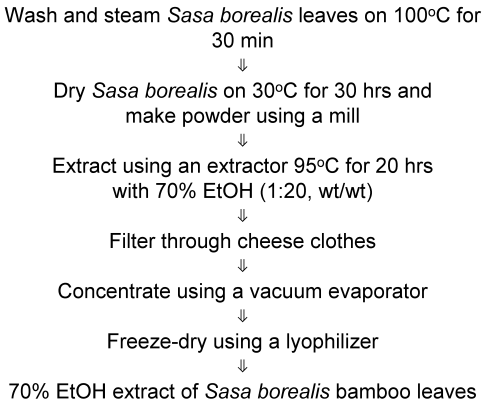

Fig. 1. Flow diagram of extraction procedures of *Sasa boreails* bamboo leaves with 70% EtOH.

70% 에탄올추출물을 이용한 획분 제조

조릿대 잎의 70% 에탄올 추출물의 각 획분의 분리는 천연재료의 용매별 항산화물질과 항암성분의 획분 방법에 관한 연구보고를 참조하여 Fig. 2와 같은 과정으로 용매의 극성차를 이용하여 비극성 용매 획분으로부터 극성 용매 획분으로 각각 분리하였다(25).

용매의 극성차를 이용한 획분 분리는 위의 70% 에탄올추출물을 물 200 mL에 용해시켜 분액깔대기에 넣고 n-hexane(200 mL씩 3회 반복)로 추출하여 n-hexane fraction

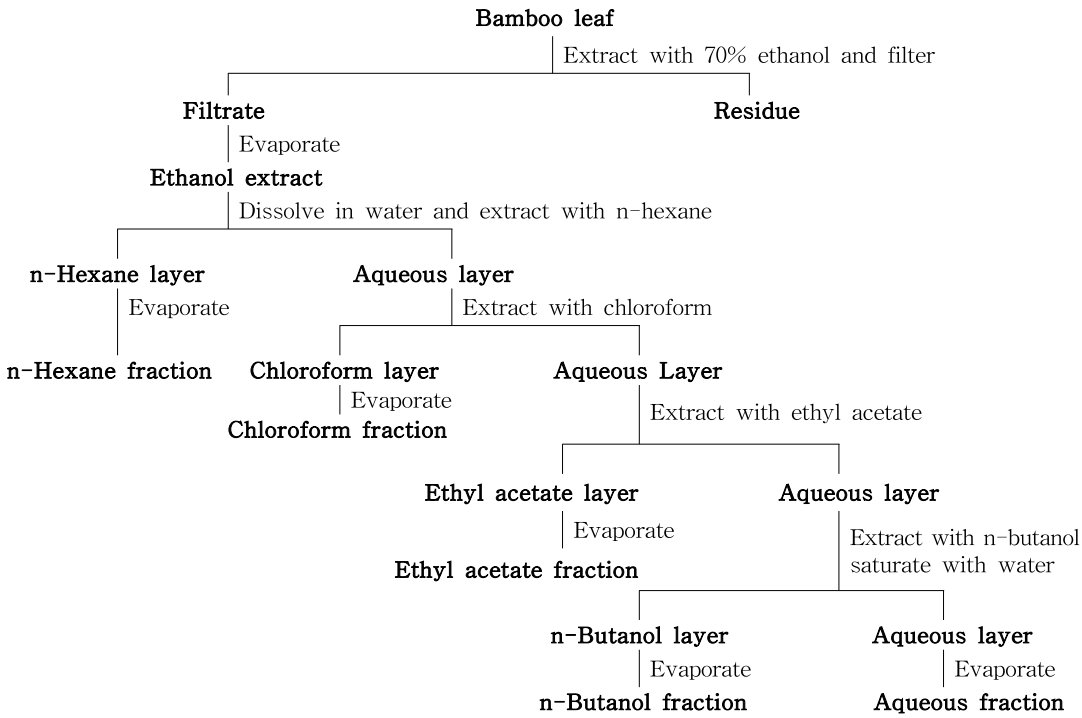

Fig. 2. Flow diagram for the extraction and fractionation of *Sasa borealis* leaves.

을 얻었다. 그 수층을 다시 분액깔대기에 넣고 위와 같은 방법으로 chloroform fraction, ethyl acetate fraction, n-butanol fraction 및 aqueous fraction으로 각각 획분 후 감압 농축 하여 중량법으로서 각 획분의 수율을 구하였다. 각각의 획분 추출물은 -70°C deep freezer에 보관하며 사용하였다.

70% 에탄올 추출물 및 각 분획 추출물 시료를 70% 에탄올에 1%(10 mg/mL)와 5%(50 mg/mL)로 각각 녹여 0.45 μm membrane filter에 여과하여 제균한 후 항균력 시험에 사용하였다. 대조군으로는 benzoic acid를 사용하였다.

균주 및 배양조건

항균활성 실험에 사용한 균주는 식중독균을 유발할 수 있는 대표적인 균주로 그람 양성균 4종과 그람 음성균 3종을 사용하였다. 이들을 한국과학기술연구원 생명공학연구소 또는 전남대학교 농과대학 식품공학과에서 분양받았다(Table 1). 이들 균주를 항균력 시험에 사용한 각각의 액체 배지에서 계대 배양하였으며, 멸균 식염수(0.85% NaCl)에 희석하여 균체의 농도를 1×10^6 cfu/mL으로 일정하게 하였다. 배지는 균주의 특성에 맞게 제조하여 121°C, 1.5기압 하에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 모든 시험은 3회 반복 수행하였다.

항균활성 측정

조릿대 잎 70% ethanol 추출물 및 5종 분획추출물의 항균활성은 paper disc를 이용한 disc 확산법으로 측정하였다(27). 즉 공시균주들을 액체 배지 5 mL에 한 백금이씩 접종한 후 일정 온도에서 24시간 배양하여 활성화시킨 후 3회 계대 배양하였다. 배양한 균액을 멸균 식염수(0.85% NaCl)를 이용해 1×10^6 cfu/mL 농도로 희석하였다. 이들 균액을 50~60°C로 식힌 멸균한 배지에 50 μL/80 mL을 넣어 평판 배지를 만들었다. 1%와 5% 농도로 희석한 각 추출물을 8 mm paper disc에 100 μL씩 흡수·건조시킨 후 평판 배지도면 위에 올려놓은 다음 paper disc가 잘 부착되도록 생리식염수를 55 μL씩을 흡수시킨 후 4°C의 냉장고에서 1시간 방치 후, 인큐베이터에서 24~48시간 배양한 다음 disc 주변의 clear zone의 직경을(mm) 측정하였으며 3회 실험 후 평균과 표준오차로 나타내었다.

최소저해농도 측정

조릿대 잎 70% ethanol 조추출물 및 5종 분획추출물의 최소저해농도(minimal inhibitory concentration, MIC)는 일정 온도에서 24시간 배양한 후 성장을 억제하는데 필요한 최소 농도로 정의하였으며, disc 확산법을 사용해 측정하였다. 즉 5% 농도의 각 추출물을 35, 50, 100 또는 200 μL씩 8 mm paper disc에 흡수시킨 후 건조하여 항균활성과 동일한 방법으로 측정하였다.

생육저해효과 측정

조릿대 잎 분획추출물의 항산화 활성 비교 결과(22) ethyl acetate 분획추출물의 항산화 활성이 가장 우수하였고, 항균활성과 최소저해농도 실험을 통해 ethyl acetate 분획추출물의 우수한 항균력을 확인하여 본 연구에서는 ethyl acetate 분획추출물만 생육억제효과를 7종 균주에 대해 농도별 broth 희석법으로 측정하였다. 즉 공시균주들을 액체 배지 5 mL에 한 백금이씩 접종한 후 일정 온도에서 24시간 배양하여 활성화 시켜 사용하였다. 동결 건조한 ethyl acetate 분획추출물을 증류수와 70% ethanol 혼합액(1:1)으로 녹이고 상동 방법으로 제균한 후에 액체 배지 10 mL에 0%, 0.1%(w/v), 0.25%(w/v) 및 0.5%(w/v) 농도별로 첨가하여 혼합하였다. 생육억제효과가 용매로 사용된 70% ethanol의 영향인 지를 확인하기 위해 0.5%(w/v) 농도 처리에 함유된 70% ethanol 시료를 또 다른 대조군으로 사용하였다. 각 균주는 균체의 농도가 O.D.값이 0.1이 되도록 접종하여 일정 온도의 shaking incubator에서 24시간 배양하면서 0, 4, 8, 12, 16, 20 및 24시간별로 각각의 균액을 0.5 mL씩 취한 후 spectrophotometer를 이용하여 600 nm에서 O.D.값을 측정하여 균의 생육도를 조사하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 3회 반복 측정 후 평균±표준오차로 나타내었으며, SPSS 17.0을 이용하여 70% 에탄올 추출물 및 분획추출물 시료군 간의 유의성은 ANOVA를 이용하여 검증한 후 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

Table 1. Strains and cultivation conditions used

Strain	KCTC No.	Cultivation condition
Gram (+) bacteria		
Bacillus subtilis	KCTC 2198	NB[1)], 30°C, aerobic
Listeria monocytogenes	KCTC 3710	NB, 37°C, facultative anaerobe
Staphylococcus aureus	KCTC 1928	NB, 37°C, facultative anaerobe
Micrococus luteus	KCTC 3523	NB, 30°C, aerobic
Gram (-) bacteria		
Escherichia coli	KCTC 2593	NB, 37°C, facultative anaerobe
Salmonella Typhimurium	KCTC 1925	NB, 37°C, facultative anaerobe
Pseudomonas aeruginosa	KCTC 2513	NB, 37°C, aerobic

[1)]Nutrient broth.

Table 2. Yield of 70% ethanol extract and five fractions extract from *Sasa borealis* leaves

Extract	Yield (%, w/w of 100 g dry sample)
70% EtOH	11.4±0.0[1)]
n-Hexane	3.0±0.3[b2)]
Chloroform	1.1±0.2[c]
Ethyl-acetate	0.6±0.1[c]
n-Butanol	1.3±0.2[c]
Aqueous	5.1±0.5[a]

[1)]The values represent means±SE of triplicate experiments.
[2)]Values with different lowercase superscripts among the five fractions are significantly different at $p<0.05$ by ANOVA with Duncan's multiple range test.

결과 및 고찰

수율

조릿대 잎 70% ethanol 추출물과 5종 분획추출물의 수율은 Table 2와 같았다. 70% ethanol 조추출물은 11.4%였으며, 70% ethanol 조추출물로부터 얻은 각 용매별 분획의 수율은 극성이 높은 aqueous 분획이 5.1%로 가장 높았고 n-butanol층이 1.3%였으나, 극성이 낮은 용매들에서는 n-hexane 분획, chloroform 분획 및 ethyl acetate 분획의 순으로 각각 3.0%, 1.1% 및 0.6%로 각각 나타내었다. 분획추출물의 이러한 수율은 신의대의 분획추출물의 수율과 유사하였으며(25), 이는 70% ethanol 추출물의 분획 시에 엽록소와 기타 지용성 성분 및 폴리페놀 성분이 극성이 낮은 용매에서 더 많이 용출되고 용출되지 않은 성분이 aqueous 분획에 남아있기 때문으로 판단되었다(25).

항균활성

조릿대 잎의 70% ethanol 조추출물 및 5종 분획추출물이 7종의 식중독균에 대해 나타낸 항균활성은 Table 3과 같았다. 이들 추출물은 모두 1% 농도에서는 거의 항균활성을 보이지 않아 Table 3에는 5% 농도에서 얻은 결과만 나타내었다. Aqueous 분획을 제외한 모든 추출물이, benzoic acid 보다는 낮았으나, 대부분의 균주에 대해 항균활성을 보였다. 70% ethanol 조추출물은 *S. aureus*, *M. luteus*, *L. monocytogens*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 및 *S.* Typhimurium의 7종 모든 균에 대해 항균활성을 보였으며 특히 *B. subtilis*에 대한 항균작용이 가장 강했다.

Ko(23)는 조릿대 잎의 ethanol 조추출물이 *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S.* Enteritidis, *V. parahaemolyticus* 및 *P. fluorescens*에 대해 높은 항균활성을 보인 반면에 *L. monocytogens*에 대해서는 항균작용을 발휘하지 않았다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 70% ethanol 조추출물 5%가 *L. monocytogens*에 대해서도 항균활성을 나타낸다는 점이 확인되었다. 한편 신의대 잎의 ethanol 조추출물은 *V. parahaemolyticus*, *P. aeruginosa*, *S.* Typhymurium 및 *S. aureus*에 대해 항균활성을 갖는다고 증명된 바 있으며(25), 왕대 줄기의 ethanol 조추출물은 *S. aureus*, *B. subtilis* 및 *S.* Typhymurium에 대해 높은 항균활성을 보였으나 *E. coli*에 대한 항균작용은 없었다고 하였다(28). *L. monocytogens*와 *E. coli*에 대해서도 항균활성을 보인 조릿대 잎의 ethanol 조추출물은, 이들 선행연구 결과와 비교해볼 때 식중독균에 보다 광범위하게 작용한다고 생각되었다.

5종의 분획추출물 중에서는 chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol 분획이 7종의 모든 균에 대해 항균활성을 보였으며, 특히 chloroform 분획은 5종의 균에 대해 그리고 ethyl acetate 분획 3종의 균에 대해 강한 항균활성을 나타냈다. n-Hexane 분획은 *M. luteus*와 *B. subtilis*에 대해서는 높은 항균활성을 보였지만 나머지 5종의 균에 대해서는 항균활성을 나타내지 않았으며, 앞서 언급한바 aqueous 분획은 7종의 모든 균에 대해 전혀 항균활성을 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 항균활성을 갖는 물질은 지용성 성분일 것이란 점과 식중독균의 종류에 따라 항균활성을 보이는 물질이 다르다는 점을 알려주었다. 또한 어떤 종류의 균을 저해하고자 하는가에 따라 각기 다양한 추출물을 활용할 수 있다는 점을 보여주었다.

이러한 본 연구결과는 조릿대 잎의 ethyl acetate 추출물이 5% 농도에서 *E. coli*, *B. subtilis* 및 *S. aureus*에 대해

Table 3. Antimicrobial activity of 70% ethanol extract and five fractions extract from *Sasa borealis* leaves

Extract[2)]	Gram (+) bacteria				Gram (−) bacteria		
	S. aureus KCTC 1928	*M. luteus* KCTC 3523	*L. monocytogens* KCTC 3710	*B. subtilis* KCTC 2189	*P. aeruginosa* KCTC 2513	*E. coli* KCTC 2593	*S.* Typhimurium KCTC 1925
70% ethanol	+[1)]	+	+	++	+	+	+
Hexane	−	++	−	++	−	−	−
Chloroform[3)]	+	++	++	++	+	++	++
Ethyl acetate	+	++	+	++	++	+	+
Butanol	+	+	+	+	+	+	+
Aqueous	−	−	−	−	−	−	−
Benzoic acid	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

[1)]Inhibition zone: −, none; +, 9~12 mm; ++, 12~15 mm; +++, >15 mm.
[2)]Concentration of test samples and benzoic acid was 5%.
[3)]Antimicrobial activity of the chloroform and ethyl acetate extract was very strong but aqueous extract was not antimicrobial activity.

가장 강력한 항균성을 보였다는 결과(24)와 일부 유사하였다. 또한 소재는 다르지만, 감초의 분획추출물 중에서 ethyl acetate와 ethanol 분획의 항균작용이 가장 높았다는 결과(1)와도 유사하였다.

항균활성에 관한 이러한 본 연구결과는 조릿대 잎의 경우 70% ethanol 조추출물과 함께 chloroform과 ethyl acetate 및 n-butanol 분획추출물의 항균활성이 식중독균에 보다 광범위하게 작용한다는 점을 시사하였다.

최소저해농도

조릿대 잎 70% ethanol 조추출물과 5종 분획추출물 5%의 최소저해농도는 Table 4와 같았다. 70% ethanol 조추출물은 *M. luteus*, *L. monocytogens*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 및 *S.* Typhimurium에 대해서는 50 μL/disc가 그리고 *S. aureus*에 대해서는 100 μL/disc가 최소저해농도이었다. n-Hexane 분획은 *M. luteus*와 *B. subtilis*에 대해서는 100 μL/disc가 최소저해농도이었고 나머지 5종의 균에 대해서는 200 μL/disc까지 항균작용이 없었다. Chloroform 분획은 *S. aureus*, *M. luteus*, *B. subtilis* 및 *P. aeruginosa*에 대해서는 35 μL/disc가 그리고 *L. monocytogens*, *E. coli* 및 S. Typhimurium에 대해서는 50 μL/disc가 최소저해농도이었다. 35 μL/disc 이하에서는 항균작용이 없어 표에 나타내지 않았다. Ethyl acetate 분획은 *S. aureus*, *M. luteus*, *L. monocytogens*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 및 S. Typhimurium 등 7종 모두에 대해 50 μL/disc가 최소저해농도이었다. n-Butanol 분획은 *S. aureus*에 대해서는 35 μL/disc가 그리고 *M. luteus*, *L. monocytogens*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 및 S. Typhimurium에 대해서는 50 μL/disc가 최소저해농도이었다. 한편 7종의 모든 균에 대해 항균활성을 보이지 않았던 aqueous 분획은 *S. aureus*와 *L. monocytogens*에 대해서만 200 μL/disc가 최소저해농도이었다.

이러한 본 연구결과를 *S. aureus*와 *L. monocytogens*에 대해 100 μL/disc가 최소저해농도이었다는 솜대 줄기의 열수추출물 3°Brix의 결과(29)와 비교하면, aqueous와 n-

Table 4. Minimum inhibitory concentrations of 70% ethanol extract and five fractions extract from *Sasa borealis* leaf

Extract	Concentration[2)] (μL/disc)	Gram (+) bacteria				Gram (−) bacteria		
		S. aureus KCTC 1928	*M. luteus* KCTC 3523	*L. monocytogens* KCTC 3710	*B. subtilis* KCTC 2189	*P. aeruginosa* KCTC 2513	*E. coli* KCTC 2593	*S.* Typhimurium KCTC 1925
70% EtOH	35	−[1)]	−	−	−	−	−	−
	50	−	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	++	+	+	+
	200	++	+	++	+	++	++	++
Hexane	35[3)]	−	−	−	−	−	−	−
	50	−	−	−	−	−	−	−
	100	−	++	−	++	−	−	−
	200	−	++	−	++	−	−	−
Chloroform	35	+	+	−	++	+	−	−
	50	+	+	+	+	+	+	+
	100	+	++	++	++	+	++	++
	200	++	++	++	++	++	++	++
Ethyl acetate	35	−	−	−	−	−	−	−
	50	+	+	+	+	+	+	+
	100	+	++	+	++	++	+	+
	200	++	+	++	++	++	++	++
Butanol	35	+	−	−	−	−	−	−
	50	+	+	++	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+	+	+
	200	++	+	+	+	+	+	++
Aqueous[4)]	35	−	−	−	−	−	−	−
	50	−	−	−	−	−	−	−
	100	−	−	−	−	−	−	−
	200	+	−	+	−	−	+	+
Benzoic acid	35	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	50	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	100	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	200	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

[1)]Inhibition zone: −, none; +, 9~12 mm; ++, 12~15 mm; +++, >15 mm.
[2)]1.75, 2.5, 5, or 10 mg eq. dry wt. of each extract from *Sasa borealis* leaves or benzoic acid was loaded on 8 mm paper disc.
[3)]Minimal inhibitory concentration (MIC) of the chloroform fraction was 35 μL/disc against 3 food poisoning bacteria and 50 μL/disc against the other 4 food poisoning bacteria. That of ethyl acetate and butanol fraction was 50 μL/disc against mostly the food poisoning bacteria.

hexane 분획을 제외한 70% ethanol 조추출물과 chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol 분획 모두 최소저해농도가 낮아 항균작용이 강하다고 판단되었다. 그러나 *S. aureus*에 대해 최소저해농도가 10 μL/disc이었다는 왕대 줄기의 70% 에탄올 추출물 3°Brix(28)보다는 높은 편이었다. 한편 맹종죽 잎의 열수 추출물 5%는 *S. aureus*에 대해 50 μL/disc가 최소저해농도이었다고 하여 본 연구 결과와 다소 차이를 보였으며(29), Baek 등(28)은 본 연구에서와 같이 추출물의 농도를 5%로 사용하였으나 Kim 등(29)은 3°Brix 농도를 사용했으므로 직접 비교하기에는 제한점이 있었다.

이러한 연구결과는 앞서 항균활성에서 언급한 바와 같이, 70% ethanol 추출물과 n-butanol 분획을 포함해 chloroform 및 ethyl acetate 분획의 항균작용이 비교적 우수하다는 점을 알려주었다. 특히 chloroform 추출물이 4종의 균에 대해 35 μL/disc의 가장 낮은 최소저해농도를 나타냈고 또한 ethyl acetate 분획이 7종의 모든 균에 대해 50 μL/disc의 최소저해농도를 보인 점은 chloroform과 ethyl acetate 분획 추출물에 조릿대 잎에 함유되어 있는 항균작용을 하는 유효성분이 더 많이 함유되어 있는 것이 아닌가 하는 점을 시사하였다.

생육저해효과

Ethyl acetate 분획추출물의 생육저해효과는 Fig. 3과 같았다. Ethyl acetate 분획추출물 0.1% 처리는 *L. monocytogenes*에 대해서는 8시간까지 그리고 *B. subtilis*에 대해서는 12시간까지 생육저해효과를 나타냈으나 나머지 5종의 *S. aureus*, *M. luteus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 및 S. Typhimurium에 대해서는 비처리구와 유사하여 생육저해효과가 없었다. Ethyl acetate 분획추출물 0.25% 처리는 *P. aeruginos*와 *E. coli*에 대해서는 8시간까지 생육을 저해하였고 나머지 5종의 균, 즉 *S. aureus*, *M. luteus*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis* 및 *S.* Typhimurium에 대한 생육저해효과는 12시간까지 지속되었다. 한편 ethyl acetate 분획추출물을 0.5% 처리한 경우는 7종의 모든 균에 대해 24시간까지 생육저해효과가 유지되었다. 본 연구에서 얻은 이와 같은 실험결과는 ethyl acetate 분획추출물을 이용해 식중독균의 생육을 저해하고자 할 때 균주에 따라 또는 억제시키고자 하는 시간에 따라 각기 다른 농도를 활용할 수 있다는 점을 시사하였다. 한편 ethyl acetate 분획추출물 0.5%에 함유된 동일한 양의 70% ethanol을 처리한 경우는 *M. luteus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 및 *S.* Typhimurium에 대해서는 8시간까지 그리

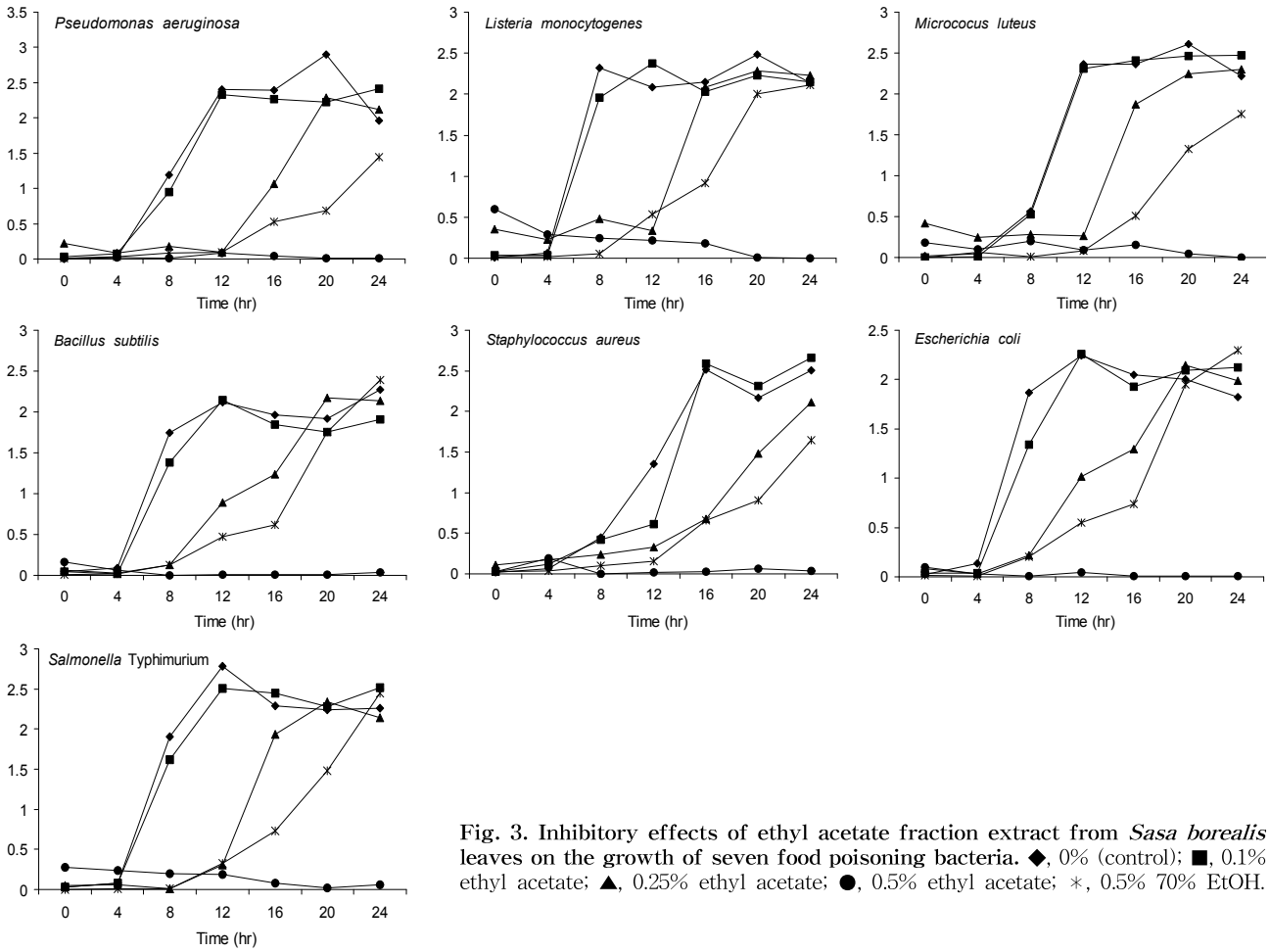

Fig. 3. Inhibitory effects of ethyl acetate fraction extract from *Sasa borealis* leaves on the growth of seven food poisoning bacteria. ◆, 0% (control); ■, 0.1% ethyl acetate; ▲, 0.25% ethyl acetate; ●, 0.5% ethyl acetate; ∗, 0.5% 70% EtOH.

고 *S. aureus*, *L. monocytogens* 및 *B. subtilis*에 대해서는 12시간까지 생육저해효과를 보였다. 이러한 생육저해효과는 ethyl acetate 분획추출물 0.5%를 처리한 경우와 비교해 생육저해 효과가 낮았다. 따라서 ethyl acetate 분획추출물 0.5% 처리가 7종의 식중독균에 나타낸 생육저해효과는 70% ethanol도 일부 기여했지만, ethyl acetate 분획추출물 자체의 작용이라고 결론지을 수 있었다. 이상의 결과로 조릿대 잎의 ethyl acetate 분획추출물의 처리 농도가 낮으면 생육저해효과가 짧았고 반대로 높은 경우 길게 나타난 점은 왕대줄기 70% ethanol 추출물을 낮은 농도를 처리했을 때 생육저해효과가 단시간에 그쳤다는 보고와 일치하였다(28). 이와 같은 선행연구의 결과와 비교할 때 조릿대 잎의 ethyl acetate 분획추출물의 항균작용은 상당히 우수하다고 판단되었으며 조릿대 잎이 천연 항균 소재로서의 활용 가능성이 있음을 확인해주었다.

요 약

본 연구에서는 조릿대 잎의 70% ethanol 조추출물과 이의 분획추출물 5종이 식품부패균과 식중독균 7종에 대해 나타내는 항균활성과 최소저해농도 및 생육억제효과를 수행하였다. 70% ethanol 조추출물과 분획추출물 모두 1% 농도에서는 항균활성을 보이지 않았으나 5% 농도에서는 aqueous 분획을 제외하고 대부분의 균주에 대해 항균활성이 나타났다. 즉 70% ethanol 추출물과 chloroform과 ethyl acetate 및 n-butanol 분획은 본 연구에서 실험한 7종의 모든 균에 대해 항균활성을 보였으며, 특히 chloroform 분획은 5종의 균에 대해, ethyl acetate 분획은 3종의 균에 대해 그리고 70% ethanol 추출물은 1종에 대해서 높은 항균활성을 보였다. 반면에 n-hexane 분획은 *M. luteus*와 *B. subtilis* 2종의 균에 대해서만 강한 항균활성을 나타냈다. 이들 조릿대 잎 추출물이 항균작용을 나타낸 최소저해농도는 70% ethanol 추출물은 *S. aureus*를 제외한 6종의 균에 대해 50 μL/disc이었고, n-hexane 분획은 항균활성을 나타낸 *M. luteus*와 *B. subtilis*에 대해서만 100 μL/disc의 최소저해농도를 보였으며, chloroform 분획은 3종의 균에 대해서는 35 μL/disc의 낮은 최소저해농도를 보였고 나머지 4종에 대해서는 50 μL/disc이었으며, ethyl acetate 분획은 7종 모든 균에 대해 50 μL/disc가 최소저해농도이었다. 한편 n-butanol 분획은 *S. aureus*에 대해서는 35 μL/disc가 그리고 나머지 6종에서는 50 μL/disc가 최소저해농도이었다. 항균활성이 보이지 않았던 aqueous 분획은 *S. aureus*와 *L. monocytogens*에 대해 200 μL/disc의 최소저해농도를 나타내었다. Ethyl acetate 분획의 생육저해효과는 0.1% 처리 시에는 2종의 균만 생육을 8시간 이상 저해하였고, 0.25% 처리는 2종에 대해서는 8시간까지 그리고 5종의 균에 대해서는 12시간까지 생육을 저해하였으며, 0.5% 처리는 7종 모든 균의 생육을 24시간까지 저해하였다. 이러한 생육저해효과는 용매로 사용된 70% ethanol의 기여도 있었지만 ethyl acetate 분획추출물에 함유된 항균물질의 작용임이 확인되었다. 결론적으로 본 연구 결과는 조릿대 잎이 천연 항균 소재로서의 활용 가능성이 있음을 확인해주었다.

문 헌

1. Ko EM, Kim BY. 2004. Antimicrobial activity of ε-polylysine mixtures against food-borne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 705-710.
2. Jung JH, Cho SH. 2003. Effect of steeping treatment in the natural antimicrobial agent solution on the quality control of processed tofu. *Korean J Food Preserv* 10: 41-46.
3. Kim SJ, Shin JY, Park YM, Chung KM, Lee JH, Kweon DH. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Korean J Food Sci Technol* 38: 241-248.
4. Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2004. Antimicrobial effect of the extracts of cactus *Chounnyouncho* (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1268-1272.
5. Kong YJ, Kang TS, Lee MK, Park BK, Oh DH. 2001. Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fractions of *Quercus mongolica* leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 338-343.
6. Kim HT, Kim JW, Lim MK, Yeo SG, Jang KH, Oh TH, Lee KW. 2007. Antimicrobial effects of *Artemisia capillaris* extracts on the pathogenic bacteria in vitro. *J Vet Clin* 24: 130-136.
7. Chung SK, Jung JD, Cho SH. 1999. Antimicrobial activities of *Chopi* (*Zanthoxylum piperitum* DC) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 371-377.
8. Cho SY, Choi JH, Ham SS, Oh DH. 2005. Antimicrobial activities of green tea extract and fractions on the *E. coli* O157:H7. *J Fd Hyg Safety* 20: 48-52.
9. Hughuey VL, Johnson EA. 1987. Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food borne disease. *Appl Environ Microbial* 53: 2165-2170.
10. Orman JD, Reiter B. 1968. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. *Biochem Biophys Acta* 170: 351-354.
11. Oh SW, Hong SP, Kim HJ, Choi YJ. 1999. Antimicrobial effects of chitosans on *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus* and *Candida albicans*. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1667-1678.
12. Sakanara S, Aizawa M, Kim M, Yamamoto T. 1996. Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Prophyromonas gingivalis*. *Biosci Biotechnol Biochem* 60: 745-749.
13. Tirillini B. 2000. Grapefruit: the last decade acquisitions. *Fitoterapia* 71: 29-37.
14. Shima S, Matsuoka H, Iwamoto T, Sakai H. 1984. Antimicrobial action of ε-poly-L-lysine. *J Antibiotics* 37: 1449-1455.
15. Jack RW, Wan J, Gorden J, Harmark K, Davidson BE, Hiller AJ, Wettenhall RE, Hickey MW, Conventry MJ. 1996. Characterization of the chemical and antimicrobial properties of pisciolin 126. a bacteriocin produced by *Carnobacterium piscicola* JG126. *Appl Environ Microbiol* 62: 2897-2903.
16. Her J. 2005. *Dongeuibogam*. 3 turn revision. Yeogang pub-

lisher, Seoul, Korea. p 3059-3061.
17. Choi JG. 2005. *Effect of wild grass*. The Korea Native Medicinal Herb Study of Society, Seoul, Korea. p 145-149.
18. Her CG. 2000. *North Dongeuibogam medicinal*. Creation culture, Seoul, Korea. p 288-291.
19. Jeong YH, Chung SY, Han AR, Sung MK, Jang DS, Lee J, Kwon YJ, Lee HJ, Seo EK. 2007. P-glycoprotein inhibitory activity of two phenolic compounds, (-)-syringaresinol and tricin from *Sasa borealis*. *Chem Biodivers* 4: 12-16.
20. Yoon KD, Kim CY, Huh H. 2000. The flavone glycosides of *Sasa borealis*. *Kor J Pharmacogn* 31: 224-227.
21. Park HS, Lim JH, Kim HJ, Choi HJ, Lee IS. 2007. Antioxidant flavone glycosides from the leaves of *Sasa borealis*. *Arch Pham Res* 30: 161-166.
22. Park YO, Lim HS. 2009. Antioxidant activities of bamboo (*Sasa borealis*) leaf extract according to extraction solvent. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1640-1648.
23. Ko MS. 2008. Chemical components in stalks and leaves of *Sasa borealis* makino and antioxidative and antimicrobial activities of extracts. *Korean J Food Preserv* 15: 125-132.
24. Chung DK, Yu R. 1995. Antimicrobial activity of bamboo leaves extract on microorganisms related to Kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27: 1035-1038.
25. Kim MJ, Byun MW, Jang MS. 1996. Physiological and antibacterial activity of bamboo (*Sasa coreana* Nakai) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 135-142.
26. Kim MJ, Kwon OJ, Jang MS. 1996. Antibacterial activity of the bamboo (*Pseudosasa japonica* Makino) leaves extracts lactic acid bacteria related to dongchimi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 741-746.
27. Bauer AW, Kibby MM, Sherria JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45: 493-496.
28. Baek JW, Chung SH, Moon GS. 2002. Antimicrobial activities of ethanol extracts from Korean bamboo culms and leaves. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1073-1078.
29. Kim NK, Cho SH, Lee SD, Ryu JS, Shim KH. 2001. Functional properties and antimicrobial activity of bamboo (*Phyllostachys* sp.) extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 8: 475-480.

(2010년 8월 27일 접수; 2010년 10월 13일 채택)