

## 비단풀 추출물의 식중독세균에 대한 항균활성

최 무 영  
상지대학교 식품영양학과

### Antibacterial Activity of *Euphorbia humifusa* Extracts on Food-Borne Pathogenic Bacteria

Choi, Moo Young  
Dept. of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju, Korea

#### ABSTRACT

This study was performed to investigate the antimicrobial effects of *Euphorbia humifusa* ethanol-extract against food-borne pathogens. The growth inhibitory effects of the extract at a concentration of 250, 500, 1,000 or 2,000 mg/L on food poisoning microorganism were determined against *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*. The microorganisms growth was not affected by the extract at the concentration up to 250 mg/L, but was significantly ( $p < 0.05$ ) inhibited by the extract at a concentration higher than 1,000 mg/L. The extract of *Euphorbia humifusa* had strong antimicrobial activity against all test strains at a concentration of 2,000 mg/L. The results in the present study demonstrate antimicrobial effects of *Euphorbia humifusa* ethanol-extract against food-borne pathogens, suggesting that *Euphorbia humifusa* could be an effective natural antibacterial agent in food.

Key words: antimicrobial activity, *Euphorbia humifusa* extract, food-borne pathogens

#### I. 서론

최근 식품산업의 발달과 위생관리기술의 향상 등에도 불구하고 핵가족화, 맞벌이 가정의 증가 추세로 식생활의 서구화나 다양화와 더불어 단체 급식이나 외식의 기회가 증대되며, 또 식생활 패턴의 변화와 지구 온난화 현상 및 실내온도 상승 등 환경변화로 인하여 국내·외 가공식품과 즉석 식품에서 다양한 식중독세균이 검출되어 식중독

발생이 증가하고 규모면에서도 집단화·대형화 하고 있는 실정이다.

식품의 부패 및 변질을 방지할 목적으로 사용되는 합성보존료는 지속적으로 체내에 축적되면 만성독성, 발암성, 돌연변이 등의 문제가 제기되고 있다(Brane 1975). 근래에는 소비자의 건강 지향적 요구가 증대되어 인공합성보존제의 기피현상이 사회전반에서 일어나고 있으며, 또 안정성이 문제시되는 인공합성보존제 대신에 천연소제

이 논문은 2009년도 상지대학교 교수 연구년제 지원을 받아 수행한 논문임.

접수일: 2009년 12월 22일 채택일: 2010년 2월 3일

Corresponding Author: Choi, Moo Young Tel: 82-33-730-0497

e-mail: mychoi@sangji.ac.kr

로부터 얻은 천연성분을 이용하여 식품저장 중 일어나는 식품의 변질을 방지하여 식품의 신선함과 안정성을 동시에 만족시키려는 노력이 수반되고 있다. 따라서 한약제와 같은 천연식물 중에서도 상당한 항균성물질이 존재한다고 알려져 이들 성분의 약리작용 및 항균성 효과에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(오덕환 등 1999; 김용두 등 2000; 정해정·노경림 2000; 배지현 등 2005; 최무영·임태진 2008).

대극속(*Euphorbia* L.)은 주로 열대 및 아열대 지역에 분포하는 식물로서, 전 세계에 2000여종이 분포하고 있는 피자식물에서 가장 큰 속이며(Webster 1994), 우리나라에는 약 20종이 생육하고 있는 것으로 알려져 있다(정규영 등 2003). 대극속(*Euphorbia* L.)에 속하는 비단풀(*Euphorbia humifusa*)은 1년생 초본으로 전국의 전야나 노변에 야생하며 백색의 유액을 함유하고 있고, 줄기는 보통 뿌리의 상단에서 2가지로 갈려져 지면을 따라 옆으로 뻗으며 붉은 빛을 나타내는 식물로서 잎은 길이 5~10밀리미터, 넓이 4~6밀리미터의 긴 타원형이고 황달, 설사, 적리, 외상출혈, 모유부족 등의 한방치료에서도 이용되고 있다(중약대사전 1999; Lee 2003). 주요성분은 플라보노이드(Fang et al. 1993), 탄닌 및 페놀성물질(Agata et al. 1991), 그리고 terpenoids(정보성·김하균 1985) 등을 함유하고 있으며, 약리현상으로는 발병성구균과 나선균에 대한 항균활성과 포도상구균, 디프테리아균 등에 대해 살균작용을 나타내며, 사람의 뇌 암세포인 U-373 MG astrocytoma 및 SK-N-MC neuroblastoma 세포주에 대해 농도의존적인 세포독성이 보고되었으나(차배천 등 1996; 허성일 등 2008), 비단풀의 식중독 유발세균에 대한 항균활성에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 독성의 염려가 없고 오래 전부터 널리 한약 재료로 사용 되어온 비단풀 추출물을 사용하여 국내·외 가공식품과 즉석식품에서 문제를 야기시키는 식중독 유발 세균에 대한 성장억제효과를 검색하였기에 보고하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 사용한 비단풀(*Euphorbia humifusa*)는 한국산으로 제주도의 비단풀 재배농가에서 건조된 것을 구입하여 미세하게 마쇄한 후 추출용 시료로 사용하였다.

### 2. 사용균주 및 배지

비단풀(*Euphorbia humifusa*)추출물의 항균실험에 사용한 균주는 최근에 문제가 되고 있는 식중독균인 그람양성세균인 *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 및 *Staphylococcus aureus* KCTC 1928 2종과 그람음성세균 *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica* ATCC 23715, *Salmonella typhimurium* KCTC 2491 3종으로 총 5종을 사용하였다. 균의 생육배지로는 모든 균주에 대하여 Tryptic soy broth(Difco, U.S.A)를 사용하여 30℃, incubator에서 18~24시간 배양하였다. 항균성 실험에 사용한 고체배지는 Tryptic soy agar(Difco, U.S.A)였다.

### 3. 항균성물질의 추출

건조된 비단풀 500 g을 마쇄하여 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 round flask에 넣어 에탄올을 첨가하여 혼합한 후 heating mantle(E105, Minsung Scientific Co., Korea)로 4시간 가하여 추출하였다. 이 과정을 3회 반복하여 얻은 추출액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과하여 불순물을 제거하였다. 여과된 용액은 감압농축기(Eyela N-1 NW, Tokyo Rikakikal Co., Japan)를 사용하여 45℃에서 감압, 농축하였다. 이 농축물을 동결건조 시킨 후 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

### 4. 미생물의 생육곡선 측정

비단풀 추출물을 membrane filter(0.2 μm, pore size, Toyoroshi Kaisha, Ltd, Japan)로 제균시키고, 각 추출물을 TSB배지에 250, 500, 1,000, 2,000 mg/L 농도별로 첨가하였다. 각 시험 균주는 사면배지에서 배양된 것을 1 백급이를 취하여 10 mL의 TSB배지에 접종한 후 30℃ shaking incubator

에서 24시간 배양하였다. 배양한 배양액을 각 100 µL씩 접종하고( $10^6$  cells/mL) 30°C에서 72시간 배양하면서 6시간 마다 spectrophotometer 660 nm에서 흡광도를 측정하였고, 추출물을 넣은 broth를 blank로 사용하였다.

5. 통계 처리

본 실험의 통계분석은 SPSS package를 이용하여 ANOVA검정을 행하였으며, 유의성이 발견된 경우 유의성 비교는 Duncan의 다중비교검정( $p<0.05$ )을 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

식중독 유발세균 성장에 미치는 영향

비단풀 추출물이 식중독 유발세균의 생육저해에 미치는 영향을 측정한 결과는 Fig. 1~Fig. 5와 같다. Fig. 1의 그람 음성균인 *Salmonella typhimurium*에서는 비단풀 추출물이 포함되어 있지 않는 대조군에서는 배양 후 12시간에 O.D<sub>660</sub>값이 0.9445± 0.0134이고 48시간에 O.D<sub>660</sub>값이 1.6515±0.00185로 최대의 성장을 보였으나, 그 이후로는 OD값의 유의적( $p>0.05$ ) 변화가 관찰되지 않았다. 비단풀 추출물의 첨가가 250 mg/L 농도 이상에서는 추출물의 첨가량이 많을수록 O.D<sub>660</sub>값이 떨어져 농도의존적인 균의 성장 저해효과를 보였으며, 특히 2,000

mg/L농도를 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 이루어져 균의 성장이 24시간까지 유의적으로( $p<0.05$ ) 억제됨을 관찰하였으며, 배양 후 72시간에는 O.D<sub>660</sub>값이 0.8515± 0.0740으로 나타내어 대조군과 비교하면 47% 정도의 증식이 유의적으로( $p<0.05$ ) 억제되었다. 공영준 등(2001)은 신갈나무 잎의 물 추출물이 *S. typhimurium*에 대하여 250 µg/ml의 농도에서 증식이 지연되었다고 보고한 바 있으며, 배지현(2005)은 백화사설초의 메탄올 추출물이 *S. typhimurium*에 대해 1,000 mg/L이상 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 증식억제가 관찰되었다는 보고와 같이 본 실험에서도 비단풀 에탄올 추출물이 *S. typhimurium*에 대해 강한 항균효과를 나타내었다.

Fig. 2의 그람양성인 *Listeria monocytogenes*에서는 배양 6시간 후 비단풀 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 O.D<sub>660</sub>값이 급격히 증가하여 0.8383± 0.0068이었으며, 24시간 이후부터는 유의적으로( $p<0.05$ ) 증가하여 배양 60시간에서는 1.6047± 0.0112로 가장 높은 수치를 보였다. 또 비단풀 추출물의 농도가 250, 500 mg/L을 첨가하여 72시간 배양 후 O.D<sub>660</sub>값은 1.2200±0.0194, 1.1450±0.0511을 나타내어 성장억제효과가 관찰되지 않았으나( $p>0.05$ ) 1,000 mg/L과 2,000 mg/L에서는 O.D<sub>660</sub>값이 0.8320±0.0222, 0.7115±0.0245를 나타내어 성장이 유의적으로( $p<0.05$ ) 각각 48%, 58% 억제 되

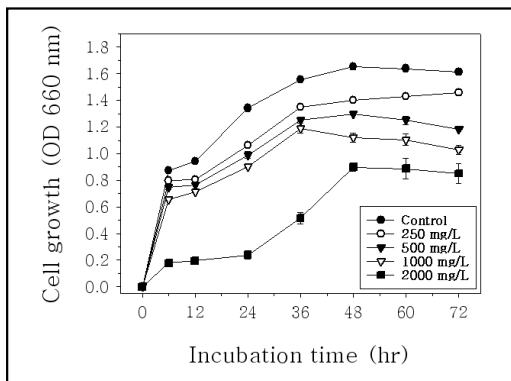


Fig. 1. Effects of ethanol extracts of *Euphorbia humifusa* on the growth of *Salmonella typhimurium*. The values are Means±SE of triplicate determinations.

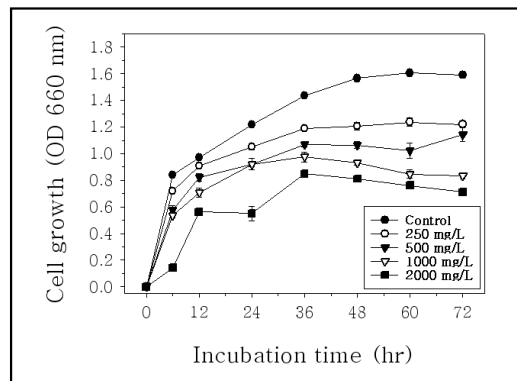


Fig. 2. Effects of ethanol extracts of *Euphorbia humifusa* on the growth of *Listeria monocytogenes*. The values are Means±SE of triplicate determinations.

었다. 정미란 등(2005)은 국내산 무화과 추출물을 25 mg/mL 이상의 농도에서부터 저해활성을 보인다고 하였으나, 한지숙 등(1994)은 삼백초, 삼지 구엽초의 에탄올 추출물을 *L. monocytogenes* 에 대해 증식저해 정도를 disc method로 검색하였을 때 증식을 억제하지 못하였다는 보고와는 차이를 나타내었다.

비단풀의 에탄올 추출물을 농도별로(0, 250, 500, 1,000, 2,000 mg/L) TSB배지에 *Yersinia enterocolitica* 를 접종시켜 72시간 배양하면서 일정시간 간격으로 균주의 성장 정도를 측정된 결과 Fig. 3과 같은 증식곡선을 얻을 수 있었다. 냉장저장식품에서의 문제가 되고 있는 *Y. enterocolitica*의 경우 비단풀 추출물을 250 mg/L까지 첨가한 배지에서의 성장효과는 대조구 배지에서 배양했을 때와 비슷하게 6시간까지 급격한 증가를 보였으나 그 이후에는 유의적인( $p>0.05$ ) 성장이 관찰되지 않았다. 그러나 2,000 mg/L 첨가구는 다른 첨가구보다 현저히 낮은 성장효과를 보여 72시간 배양 후 O.D<sub>660</sub>값이 1.0118±0.0369를 나타내어 대조구에 비해 유의적으로( $p<0.05$ ) 약 36%의 성장억제효과를 나타내었다. 정미란 등(2005)은 무화과 추출물의 농도가 50 mg/mL까지 *Y. enterocolitica* 균의 성장 저해 활성이 미약하다고 한 보고와는 달리 본 실험에서는 강한 증식억제효과를 나타내었다. 이와 같이 천연물에서 분리되는 각종 항균성

물질을 잘 활용하면 식품을 부패, 변질을 시키는 균의 성장을 효율적으로 억제할 수 있을 것으로 판단된다.

비단풀 추출물의 에탄올 추출물이 *Staphylococcus aureus*에 대해 미치는 생육저해 정도를 동일한 방법으로 72시간동안 살펴본 바 Fig. 4와 같은 결과를 얻었다. 비단풀의 에탄올 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 경우 첨가한 구보다 배양 후 6시간부터 급속한 균의 증식을 보여 72시간에는 O.D<sub>660</sub>값이 최대인 1.8150±0.0273을 나타내었고, 추출물의 첨가량이 많을수록 유의적인( $p<0.05$ ) 성장억제를 보였다. 2,000 mg/L을 첨가한 구는 배양 12시간에 O.D<sub>660</sub>값이 0.6630±0.0452을 나타내었고, 배양 48시간에 최대의 성장을 보였다가 다시 서서히 감소하여 배양 72시간에는 O.D<sub>660</sub>값이 0.6918±0.0205을 나타내어 대조구와 비교하면 62%의 성장억제효과를 나타내었다. 따라서 비단풀 추출물의 첨가량이 많을수록 *Staphy. aureus*균의 성장을 효율적으로 억제시킬 수 있는 것으로 판단되었다. 강성구(1995)은 갖의 에탄올 추출물이 *Staphy. aureus*생육 억제 효과가 있음을 보고한 바 있고, 김혜영·정성미(2005)는 녹차추출물이 *Staphy. aureus*의 성장을 억제한다고 보고한 바 있다. 한편 정(2000)은 *Staphy. aureus*에 대해 손바닥 선인장 에탄올 추출물이 3.0 mg/mL 이상에서 증식이 지연되었다고 보고한 바 있으며, 전영옥

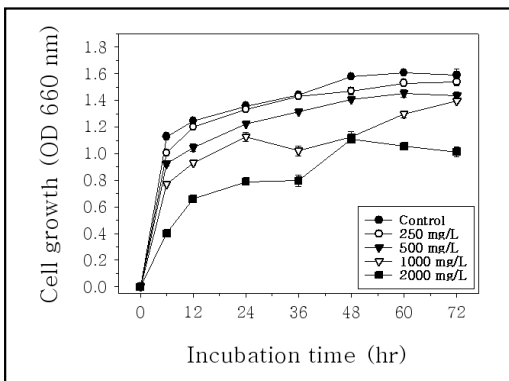


Fig. 3. Effects of ethanol extracts of *Euphorbia humifusa* on the growth of *Yersinia enterocolitica*. The values are Means±SE of triplicate determinations.

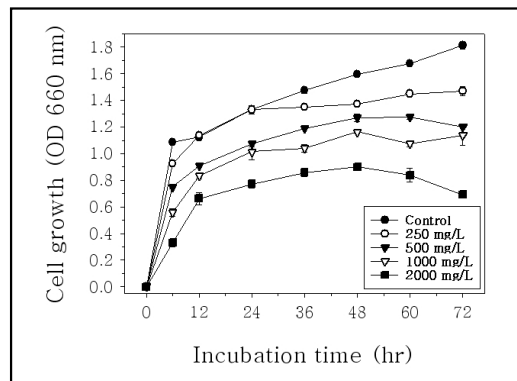


Fig. 4. Effects of ethanol extracts of *Euphorbia humifusa* on the growth of *Staphylococcus aureus*. The values are Means±SE of triplicate determinations.

등(1998)은 질경이의 메탄올 추출물이 *Staphy. aureus*의 성장을 억제한다고 보고 한 바 있는데, 본 실험에서는 이러한 추출물보다도 강한 증식억제효과를 보였다. 본 연구의 경우 특정 식중독 세균만을 대상으로 한 실험 결과로 추후 좀 더 광범위한 식중독 유발 세균에 대한 항균성 검색이 필요하리라 사료된다.

비단풀의 추출물이 식중독세균의 생육저해에 미치는 영향을 알아보기 위하여 *Escherichia coli* O157:H7균을 이용하여 세균수를 나타내는 O.D값을 통해 성장곡선을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 배양시간별 비단풀 추출물 500 mg/L 첨가구의 O.D<sub>660</sub>값은 대조구의 O.D값과 유의적인(p>0.05) 차이가 관찰되지 않았다. 2,000 mg/L의 농도에서는 배양 12시간의 O.D<sub>660</sub>값이 0.4810± 0.0111로 현저히(p<0.05) 증가하였으나, 배양시간의 증가에 따른 O.D값의 증가는(p>0.05) 관찰되지 않았다. 비단풀 추출물 2,000 mg/L 첨가구의 배양 72시간의 O.D<sub>660</sub>값이 0.5330±0.0227로 나타나 대조구에 비해 유의적으로(p<0.05) 약 60%정도의 억제효과를 나타내었다. 김명희 등(2003)은 *E. coli* O157:H7에 대해 마늘즙이 5%이상에서 증식이 지연되었다고 보고 하였고, 박찬성(1997)은 향신료로 이용되고 있는 오레가노의 농도가 0.5%이상에서는 생균수가 감소한다고 보고한 바 있다. 그러나 김선희·박찬성(2001)은 버섯의 용매별 분획물의

항균성에 대해서는 10%에서도 *E. coli* O157:H7에 대해 항균효과를 나타내지 않았다는 보고와는 달리 비단풀의 에탄올 추출물을 첨가하였을 경우 균의 증식이 지연되어 *E. coli* O157:H7균의 성장을 효율적으로 억제시킬 수 있는 것으로 판단되었다.

#### IV. 요약 및 결론

본 연구는 천연 식품보존료 개발의 일환으로 한약 재료로 이용되고 있는 비단풀을 에탄올로 추출하여 식중독에 관련이 있는 세균에 대한 성장억제효과를 조사하였다. 비단풀 에탄올 추출물이 식중독 유발세균의 성장에 미치는 효과를 검정하기 위해 *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*균들의 배양액에 비단풀 에탄올 추출물의 농도를 250, 500, 1,000, 2,000 mg/L 각 농도별로 첨가하여 생육을 조사한 결과 250 mg/L까지는 대조군과 별 차이를 보이지 않았으나 1,000 mg/L 이상에서는 유의적인(p<0.05) 감소를 관찰할 수 있었다. 본 연구결과는 비단풀 에탄올 추출물이 식중독을 유발시키는 세균에 대하여 우수한 항균작용을 나타내고 있으며, 따라서 비단풀이 효과적인 천연보존료로서 이용될 수 있음을 시사하고 있다.

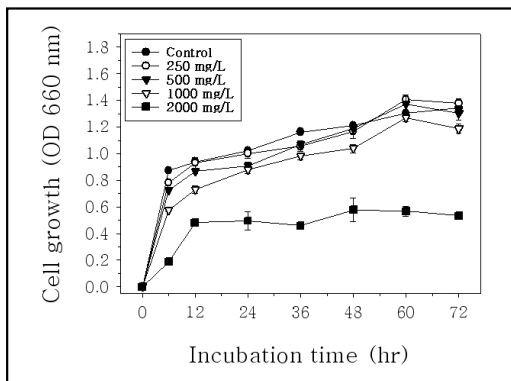


Fig. 5. Effects of ethanol extracts of *Euphorbia humifusa* on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. The values are Means±SE of triplicate determinations.

#### 참고문헌

강성구(1995) 갯(*Brassica juncea*)의 항균물질의 분리 및 항균성. 한국식품과학회지 24(6), 697-698.  
 공영준·박부길·오덕환(2001) 식중독균에 대한 신갈나무 잎 추출물과 유기산의 항균효과. 한국식품과학회지 33(2), 178-183.  
 김명희·김소영·신원선·이준수(2003) 마늘즙의 *Escherichia coli* O157:H7에 대한 항균작용. 한국식품과학회지 35(4), 752-755.  
 김선희·박찬성(2001) 담자균 추출물의 항균작용 및 항산화작용. 한국식품저장유통학회 8(1), 118-124.  
 김용두·강성구·최옥자·이홍철·장미정·신수철(2000) 초피(*Zanthoxylum piperitum* A.P. DC.)추출물의 항균활성. 한국식품영양과학회지 29(6), 1116-1122.  
 김혜영·정성미(2005) Cook-Chill System을 위한 생

- 산품의 냉장저장 중 녹차 추출물의 첨가에 따른 일부식중독균의 증식저해효과. 한국조리과학회지 21(1), 47-52.
- 박찬성(1997) 향신료가 식중독세균의 증식에 미치는 영향. 한국조리과학회지 13(3), 330-337.
- 배지현(2005) 식중독유발 세균의 증식에 미치는 백화사실초 추출물의 영향. 한국식품영양 과학회지 34(1), 107-112.
- 배지현 · 김미순 · 강은혜(2005) 식중독 유발세균의 증식에 미치는 금은화 추출물의 항균 효과. 한국식품과학회지 37(4), 642-647.
- 오덕환 · 이미경 · 박부길(1999) 식품유해균에 대한 차류 추출물의 항균효과. 한국식품영양 과학회지 28(1), 100-106.
- 전영옥 · 김진희 · 김순임 · 한영실(1998) 질경이(*Plantago asiatica* L.)추출물의 항균성검색. 한국조리과학회지 14(5), 498-502.
- 정규영 · 오병윤 · 박기룡 · 김주환 · 김미숙 · 장창기(2003) 엽맥상에 의한 한국산 대극속 (*Euphorbia* L., Euphorbiaceae)의 분류학적 연구. 한국식물분류학회지 33(2), 135-149.
- 정미란 · 차정단 · 이영은(2005) 국내산 무화과의 식중독균에 대한 항균활성. 한국조리과학회지 21(1), 84-93.
- 정보성 · 김하균(1985) 애기땅빈대의 Terpenoid 성분에 관한 연구. 생약학회지 16(3), 155-159.
- 정해성(2000) 손바닥 선인장의 항산화 및 항균특성. 한국조리과학회지 16(2), 160-166.
- 정해정 · 노경림(2000) Herb추출물의 전자공여능, 항균활성 및 아질산염 소거능 검색. 한국조리과학회지 16(3), 372-377.
- 중약대사전 편찬위원회 (1999) 중약대사전 4, 1500-1501.
- 차배천 · 김정애 · 이용수(1996) 인삼비당부와 땅빈대의 뇌암세포 독성작용. 생약학회지 27(4), 350-353.
- 최무영 · 임태진(2008) 오레가노 추출물이 식중독세균에 대한 항균효과. 한국자원식물학회지 21(5), 352-356.
- 한지숙 · 신동화 · 윤세익 · 김문숙(1994) *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용 가능한 식물 추출물의 검색. 한국식품과학회지 26(5), 545-551.
- 허성일 · 호위성 · 한웅 · 왕명현(2008) 땅빈대 추출물의 항산화 활성 및 세포독성 효과. 생약학회지 39(4), 295-299.
- Agata I, Hatano T, Nishibe Y, Sugaya T, Nishibe S, Yoshida T, Okuda T(1991) Tannin and related polyphenols of Euphorbiaceae. Chem Pharm Bull 39, 630-638.
- Brane AL(1975) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. JAOCS 52, 59-63.
- Fang Z, Zeng X, Zhang Y, Zhou G(1993) Chemical constituents of spotted leaf euphorbia. Zhongcaoyao 24, 230-233.
- Lee TB (2003) Coloured Flora of Korea(1). Hyang Moon Sa: Seoul, 677.
- Webster GL(1994) Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae Ann Missouri Bot Gard 81, 33-144.