

식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성물질의 검색

이병완 · 신동화

전북대학교 식품공학과

Screening of Natural Antimicrobial Plant Extract on Food Spoilage Microorganisms

Byung-Wan Lee and Dong-Hwa Shin

Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

Abstract

Certain parts of 36 kinds of plant were extracted by 75% ethanol and water. The extracts were tested their microbial inhibition activities against several food spoilage microorganisms, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* and *Saccharomyces cerevisiae*. The ethanol extract of amur cork was shown inhibitory effect on all 6 species of the microorganisms tested. Chinese pepper, sesame cake, gromwell and oak were on 5 species except *S. cerevisiae* or *P. fluorescens* and bamboo leaves, lycopi herba, paulownia and rigida were on 4 species. In general amur cork exhibited the strongest inhibition with a few exceptions on certain species. By disc diffusion method, the ethanol extract of leaf mustard showed the highest inhibition effect on *B. subtilis*, amur cork on *L. plantarum*, *L. mesenteroides* and *B. cereus*, and amur cork and gallnut on *P. fluorescens*. Mostly the ethanol extracts in comparison with water extracts showed higher inhibition in most of plants but a few exhibited higher in water extracts.

Key words : natural antimicrobial, food spoilage microorganisms

서 론

식품의 부패 및 변질은 주로 미생물에 의해 일어나는데, 이를 방지하기 위해 각종 인공합성 보존료를 사용하여 저장기간의 연장을 시도하고 있으나, 대부분의 보존료는 화학적 합성품으로 그 안전성이 문제되고 있으며, 근래 소비자들의 건강욕구 증대에 따라 식품기업에서도 인공합성 첨가물의 사용을 될 수 있는 한 제한하려는 추세이다.

식품 보존료로는 인공합성품이 많이 알려져 있고, 주로 산업적으로 사용되고 있으나 천연물 중에도 상당한 항균성물질이 존재하며, 오래 전부터 이에 대한 연구가 수행되었고⁽¹⁾, 현재도 천연 항균성물질의 검색과 식품의 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다.^(2,3) 이러한 연구결과 천연 항균성물질과 그 기작이 서서히 밝혀지고 있으며, 단백질성분으로서 계란에 함유된 conalbumin, avidin, lysozyme⁽⁴⁻⁶⁾과 lactoferrin은 우유에 존재하는 단백질^(5,6)로서 항균성을 가지는 것으로 알려져 있다.

Succinic, malic, tartaric, benzoic acid는 천연물에 함유된 산으로 미생물이 특정 아미노산의 이용을 저지하

므로서 증식 억제효과⁽⁷⁻¹⁰⁾를 나타낸다. 소량으로 동물체의 조직에 함유된 탄수소가 12~18개의 지방산은 가장 효과적인 항균성물질로 알려졌다⁽¹¹⁻¹³⁾ 우리나라에서 많이 사용하는 향신료들도 상당수가 여러 균에 대한 항균작용이 알려져 있는데, 항균작용은 대부분 정유에 함유된 성분⁽¹⁴⁾으로, 가장 많이 알려진 것은 마늘⁽¹⁵⁾과 양파⁽¹⁶⁾이다. 또한, 최근의 연구로 쑥씨 중의 정유성분이 식품 부패미생물에 항균효과가 있음이 보고⁽¹⁷⁾된 바 있다. 생약재에 의한 항균성은 오래 전부터 알려져 왔으며^(18,19), 대부분이 인체에 발생하는 기생성 진균류의 억제 등⁽²⁰⁻²²⁾에 많은 연구가 수행되었다.

본 연구에서는 약용식물학 등^(23,24)에서 방부 또는 살균효과가 있어 예로부터 민간에서 식품에 사용되어 그 안전성이 확보된 생약재 및 식물체를 대상으로 대표적인 식품 부패미생물에 대한 항균성을 검색하여 천연식품 보존료로서의 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 항균성 시험대상 식물은 생약재^(23,24) 혹은 우리가 오랫동안 식용해왔던 식물 및 그 부산물로서 Table 1과 같은 부위를 사용하였다. 이들 시료를 건조하거나 생것을 그대로 미세하게 마쇄한 후

Corresponding author : Dong-Hwa Shin, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Dukjin-Dong, Chonju, Chonbuk 560-756, Korea

Table 1. List of plants used for antimicrobial experiments

Plant	Botanical source	Plant part
Amur cork	<i>Phellodendron amurense</i>	Bark
Bamboo	<i>Bambusaceae</i>	Leaves
Chestnut	<i>Castanea crenata</i>	Inner skin
Chinese pepper	<i>Zanthoxylum piperitum</i>	Seeds
Citron	<i>Citrus junos</i>	Seeds
Clove	<i>Eugenia oaryophyllus</i>	Seeds
Dandelion	<i>Taraxacum platyoarpum</i>	Leaves
Defatted Ricebran	<i>Oryza sativa</i>	Cake
Elm	<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i>	Bark & roots
Garlic	<i>Allium satium</i> var. <i>pekinense</i>	Bulb
Ginkgo	<i>Ginkgo biloba</i>	Leaves
Gromwell	<i>Lithospermum erythohzon</i>	Root
Gingili	<i>Seamun indicum</i>	Cake
Hedysarum	<i>Astragalus membranaceus</i>	Root
Kalopanax	<i>Kalopanax pictum</i> var. <i>typicum</i>	Bark & leaves
Korean Lettuce	<i>Ixeris Sonchifolia</i>	Leaves
Lettuce	<i>Ixeris dentata</i>	Leaves
Lycopi Herba	<i>Lycopus lucidus</i>	Leaves
Mustard	<i>Brassioa cernua</i>	Seeds & leaves
Oak	<i>Quercus serrata</i>	Leaves
Oak	<i>Quercus aliena</i>	Leaves
Paulownia	<i>Paulownia corena</i>	Leaves
Perilla	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>typica</i>	Cake
Persimmon Tree	<i>Diospyros kaki</i>	Leaves
Plantain	<i>Plantago asiatioa</i>	Root & leaves
Rice hull	<i>Oryza sativa</i>	Body
Rigida	<i>Pinus rigida</i>	Leaves
Shiitake	<i>Xortinellus shiitake</i>	Body
Shining Ganoderma	<i>Ganoderma lucidum</i>	Body
Spindle tree	<i>Euonymus sieboldianus</i>	Bark
Sumach	<i>Rhus javaniao</i> L.	Bark

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

Strain	Media
<i>Bacillus cereus</i> YUFE 2004	Nutrient agar(Difco) & tryptone soya broth(Oxoid)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Nutrient agar(Difco) & tryptone soya broth(Oxoid)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lactobacillus MRS broth & agar(Merck)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> KFCC 35471	Lactobacillus MRS broth & agar(Merck)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> KCTC 1645	Nutrient agar(Difco) & tryptone soya broth(Oxoid)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 0304	Malt agar & malt broth(Difco)

추출용 시료로 사용하였다.

추출방법 및 Soluble solid 함량측정

대상 시료의 추출은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 후라스크에 시료 5배 정도의 물 또는 75% 에탄올을 혼합하여 95℃와 85℃의 수욕상에서 3시간 동안 가열 후 여과하여 rotatory vaccum evaporator로 에탄올을 증발 시켰고^(25,26), soluble solid 함량은 증발된 추출물 1 ml를 취하여 105℃에서 건조 후 증발잔사의 양으로 하였다.

사용균주 및 배지

실험에 사용한 균주는 곡류식품, 야채류, 냉장 육류식품 및 발효식품의 변질에 관계 있는 것으로 증식 및 보존에 사용한 배지는 Table 3과 같다.

추출물의 항균성 검색

각 추출물의 항균성 검색은 slant에 배양된 각 균주 1백금이를 취해 10 ml broth에 접종하여 30℃, 24시간 동안 배양하여 활성화시킨 액 0.1 ml를 실온에서 하룻밤 건조한 두께가 4~5 mm인 plate에 주입한 후 구부린 유리막대로 균일하게 펼치고, 멸균된 0.65 mm filter paper disc(Whatman No.2)에 각 추출물을 흡수시켜 plate

Table 3. Growth inhibition demonstrated by ethanol extract on several microorganisms

Plant	Clear zone on plate (mm)						Soluble solid content (mg/disc)
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>B. cereus</i>	
Amur cork	18	27	20	25	16	20	1.5
Bamboo	0	10	12	12	0	10	1.3
Chestnut	0	15	0	0	0	0	1.6
Chinese pepper	10	9	9	10	0	10	0.8
Citron(seeds)	0	0	0	0	0	0	2.7
Citron(cake)	0	0	0	0	0	0	0.7
Clove	15	0	0	12	0	0	1.2
Dandelion	25	0	0	15	0	10	1.2
Defatted ricebran	0	0	0	0	0	0	2.0
Elm(bark)	14	12	0	0	0	0	1.6
Elm(root)	27	0	0	15	10	0	1.6
Gallnut	27	0	0	25	0	22	2.5
Garlic	10	11	0	0	11	0	1.2
Gingili	7	10	8	7	0	7	1.4
Ginkgo	13	0	0	0	0	14	2.7
Gromwell	15	10	10	10	0	10	1.6
Hedysarum	10	0	0	0	0	9	1.3
Kalopanax(bark)	10	0	0	0	0	0	0.7
Kalopanax(leaves)	0	0	0	0	0	0	1.5
Korean lettuce	0	0	0	0	0	0	1.4
Lettuce	10	9	0	0	0	0	1.5
Lycopi herba	10	0	8	10	0	10	1.4
Leaf mustard	31	0	0	0	0	0	3.0
Mustard	9	12	0	10	0	0	1.6
Oak	10	0	0	0	0	0	0.7
Oak	12	10	8	0	9	10	0.8
Paulownia	10	0	0	7	9	10	1.5
Persimmon	0	0	0	0	0	0	1.0
Perilla	10	0	10	10	0	0	1.0
Plantain	30	8	10	0	0	0	1.2
Rice hull	8	8	0	0	0	0	1.5
Rigida	12	10	11	0	11	0	1.4
Shiitake	8	7	0	0	15	0	1.5
Shining ganoderma	0	0	0	0	0	0	0.4
Spindle	9	0	0	0	0	0	0.6
Sumach	14	0	0	0	0	0	1.8

표면 위에 놓아 30°C, 24~48시간 동안 배양 후 disc 주위의 clear zone의 직경(mm)으로서 비교^(14,27-30)하였다.

결과 및 고찰

에탄올 추출물의 항균성 검색

31종의 식물을 필요 부위에 따라 구분, 75% 에탄올로 추출하여 얻은 추출물로 세균 5종과 효모 1종에 항균성을 검색한 결과는 Table 3과 같다. 즉, *B. subtilis*에서는 황백, 정향, 민들레, 느릅껍질, 느릅뿌리, 오배자, 지치, 질경이, 붉나무의 추출물이 우수한 항균성을 가진 것으로 검색되었고, *L. mesenteroides*에는 황백, 밤의 삽피, 느릅, 겨자 등의 추출물이, *L. plantarum*에는 황백, 댓잎, 리

기다 등의 추출물이, *P. fluorescens*에는 황백, 민들레, 느릅뿌리, 오배자 등의 추출물이, *S. cerevisiae*에는 황백, 리기다 등의 추출물이 그리고 *B. cereus*에는 황백, 오배자의 추출물이 항균성을 나타내었다.

물 추출물의 항균성 검색

31종의 식물을 필요 부위에 따라 구분, 물로 추출하여 얻은 추출물로 세균 5종과 효모 1종에 항균성을 검색한 결과는 Table 4와 같다. 즉 *B. subtilis*에는 황백, 정향, 민들레, 느릅, 오배자, 질경이 등의 추출물이 우수한 항균성을 나타내는 것으로 검색되었고, *L. mesenteroides*에는 황백, 댓잎, 마늘, 황기, 겨자 등의 추출물이, *L. plantarum*에는 댓잎, 느릅, 지치, 질경이 등의 추출물이 약간의 항균성물질이 존재함을 알 수 있었다. *P. fluorescens*에는

Table 4. Growth inhibition demonstrated by water extract on several microorganisms

Plant	Clear zone on plate (mm)						Soluble solid content (mg/disc)
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>B. cereus</i>	
Amur cork	22	15	0	12	0	0	1.4
Bamboo	12	11	11	0	11	0	1.6
Chestnut	0	0	0	0	0	0	1.5
Chinese pepper	8	8	0	0	0	0	0.8
Citron(seeds)	0	0	0	0	0	0	1.2
Citron(cake)	0	0	0	0	0	0	1.3
Clove	22	0	0	18	0	18	1.6
Dandelion	20	0	0	0	0	12	1.7
Defatted ricebran	0	10	0	0	0	0	1.6
Elm(bark)	15	10	10	0	0	0	1.5
Gallnut	25	0	0	24	0	20	2.5
Garlic	0	13	9	0	0	0	1.5
Gingili	10	10	10	0	0	0	1.6
Gingko	10	8	7	0	0	0	2.6
Gromwell	10	10	10	10	0	10	1.6
Hedysarum	0	12	0	0	0	0	1.7
Kalopanax(bark)	0	0	0	0	0	0	1.4
Kalopanax(leaves)	0	0	0	0	0	0	1.8
Lettuce	12	10	0	0	0	0	1.6
Lycopi herba	11	0	0	0	0	0	0.9
Leaf mustard	9	7	8	0	0	11	2.8
Mustard	10	11	0	10	0	0	2.0
Oak	10	0	0	0	0	0	0.5
Oak	12	10	8	0	0	10	0.7
Paulownia	10	9	10	10	0	0	1.6
Persimmon	0	0	0	0	0	0	0.6
Perilla	11	0	0	0	0	10	1.7
Plantain	15	10	10	0	0	0	1.5
Rice hull	0	0	0	0	0	0	1.4
Rigida	10	10	0	0	0	0	1.7
Shining ganoderma	0	0	0	0	0	0	0.4
Spindle	0	0	0	0	0	10	0.8
Sumach	13	0	0	0	0	0	2.0

정향, 오배자 등 추출물이, *S. cerevisiae*에는 댓잎 그리고 *B. cereus*에는 정향과 오배자 등의 추출물에서 항균성이 검색되었다.

75% 에탄올과 물 추출물에 대한 항균성 검색에서 75% 에탄올로 추출한 경우가 clear zone이 훨씬 크게 나타났는데, 이 결과는 유백피의 약효 연구⁽²⁹⁾, 항진균성 실험⁽³⁰⁾ 과도 비슷한 것으로 보아 이들 식물의 항균성 물질 추출에는 에탄올이 더 적절한 용매로 사료된다.

요 약

31종의 식물에서 필요 부위를 선정하여 75% 에탄올이나 물로 추출하여 얻은 추출물로서, 일반적으로 식품의 부패 혹은 변질에 관여한다고 알려진 *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* 등 5종의 세균

과 *Saccharomyces cerevisiae* 등 1종의 효모를 대상으로 항균성을 시험하였다. 실험대상 6종의 모든 미생물에 대하여 항균성을 나타낸 것은 황백의 에탄올 추출물이었으며 산초, 참깨묵, 지치, 졸참나무는 효모를 제외한 5종에 대하여 댓잎, 오동나무, 리기다는 *B. subtilis* 및 *S. cerevisiae* 혹은 *L. mesenteroides* 및 *S. cerevisiae* 또는 *L. mesenteroides* 및 *P. fluorescens*, *B. cereus*를 각각 제외한 4종에 대하여 항균성을 나타냈고, 균종에 따라 약간의 차이는 있었지만 황백이 가장 높은 항균성을 보였다. *B. subtilis*, *L. plantarum* 및 *L. mesenteroides*에는 황백이, *P. fluorescens*에는 황백과 오배자가 disc diffusion method에서 가장 높은 항균성을 보였다. 에탄올 추출물과 물 추출물을 비교한 결과 거의 대부분 에탄올 추출물의 항균성이 높았으나, 균종에 따라서는 일부 물 추출물에서 항균성을 따로 보이거나 더 높은 경향이 있기도 하였다. 이상과 같이 천연물 중에도 상당한 항

균성물질이 존재한다는 것이 확인되었다.

감사의 말

본 연구는 1990년도 한국과학재단 연구비(일반)에 의하여 이루어진 결과의 일부로서 저자들은 이에 심심한 감사를 드립니다.

문 헌

- Bass, G.K. : Methods of testing disinfectans. In *Disinfection, Sterilization* 2nd ed., S.S. Block(ed.), p.49, Lea and Febiger, Philadelphia (1977)
- Beuchat, L.R. and Golden, D.A. : Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.*, **43**, 134(1989)
- Davidson, 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 p.371(1983)
- Board, R.G. : The microbiology of Hen's egg. In *Advances in Applied Microbiology*, Vol.II, Perlman, D. (ed.), AP, New York(1969)
- Orman, J.D. and Reiter, B. : Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. *Biochem. Biophys. Acta*, **170**, 351(1968)
- Ashton, D.H. and Busta, F.F. : Milk components inhibitory to *Bacillus stearothermophilus* by iron, calcium, and magnesium. *Appl. Microbiol.*, **16**, 628(1968)
- Freese, E., Sheu, C.W. and Gallier, S.E. : Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature*, **241**, 321(1973)
- Fabian, F.W. and Graham, H.T. : Viability of thermophilic bacteria in the presence of varying concentrations of acids, sodium chloride and sugars. *Food Technol.*, **7**, 212(1953)
- Yamamoto, Y., Hiashi, K. and Yoshi, H. : Inhibitory activity of acetic acid on yeast. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **31**, 772(1984)
- Cox, N.A., Mercuri, A.J., Juven, B.J., Thomson, J.E. and Chew, V. : Evaluation of succinic acid and heat to improve the microbiological quality of poultry meat. *J. Food Sci.*, **39**, 985(1974)
- Neiman, C. : Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganism. *Bacteriol. Rev.*, **18**, 147(1985)
- Kabara, J.J. : Medium chain fatty acids and esters. A. L. Branen and Davison, P.M.(ed.), Marcel Dekker Inc., New York, p.109(1983)
- Shen, C.W. and Freese, E. : Effects of fatty acids on growth and envelope proteins of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **111**, 516(1973)
- Conner, D.E. and Beuchat, L.R. : Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. *J. Food Sci.*, **49**, 429(1984)
- Tansey, M.R. and Appleton, J.A. : Inhibition of fungal growth by garlic extract. *Mycologia*, **70**, 397(1978)
- Zaika, L. and Kissinger, J.C. : Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. *J. Food Sci.*, **46**, 1205(1981)
- 정병선, 이병구, 심선택, 이정근 : 쑥씨 중의 정유성분이 미생물의 생육에 미치는 영향. 한국식품화학회지, **4**, 417 (1989)
- 岡崎實藤, 加藤若田部武男 : 高等植物 抗菌性(第6報), 生薬類 抗菌性(第2報). 藥學雜誌, **71**, 1(1950)
- 岡崎實藏, 若田部武男 : 生薬 抗菌性(第4報). 藥學雜誌, **71**, 6(1950)
- 김홍식, 조광현 : 편측 추출물의 항진균 작용에 관한 연구. 한국군학회지, **8**, 1(1980)
- 조병헌 : Trithioformaldehyde, benzalaniline 및 초과나 무 alcohol 추출물의 항진균 작용. 카톨릭대학 의학부 논문집, **10**, 65(1966)
- 이규룡 : Trimethylenetrianiiline, benzoin 및 회향유의 항진균 작용. 카톨릭대학 의학부 논문집, **14**, 379(1968)
- 황도연, 김의건 : 원방 최신방약합편. 동양종합통신교육원(1989)
- 강삼식, 윤혜숙, 장일무 : 천연물과학. 서울대학교 출판부(1988)
- 박수웅, 김찬조 : 생약재에 의한 식품보존에 관한 연구. (제1보) 몇 가지 생약재의 간장 방부효과. 한국농화학회지, **22**, 91(1979)
- 강신주, 이혜성 : 식용 야채류의 항진균작용에 관한 연구. 경북 사범대학 교육연구집, **19**, 129(1977)
- Pulusani, S.R., Rao, D.R. and Sunki, G.R. : Antimicrobial activity of lactic cultures-Partial purification and characterization of antimicrobial compound(s) produced by *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci.*, **44**, 575 (1979)
- Branen, A.L., Go, H.C. and Genske, R.P. : Purification and properties of antimicrobial substances produced by *Streptococcus diacetiliactis* and *Luconostoc citrovorum*. *J. Food Sci.*, **40**, 446(1975)
- 홍남두, 노영두, 김남재, 김진식 : 유백피의 약효 연구. 생약학회지, **21**, 217(1990)
- 정호진, 김일혁 :小青龍湯의 미생물학적 연구. 생약학회지, **14**, 119(1983)

(1991년 1월 26일 접수)