

식물성 김치재료추출물의 항미생물활성

김선재 · 박근형

전남대학교 식품공학과

Antimicrobial Activities of the Extracts of Vegetable *Kimchi* Stuff

Seon-Jae Kim and Keun-Hyung Park

Department of Food Science and Technology, Chonnam National University

Abstract

In order to investigate the possible use of vegetable *kimchi* stuff as natural preservatives for *kimchi*, the methanol extracts of 15 kinds of vegetable *kimchi* stuff were solvent-fractionated and fractions were tested for antimicrobial activities against *Leuconostoc mesenteroids*, *Pediococcus cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*. The neutral fractions of the extracts of garlic and leek showed strong antimicrobial activities. The extract of leek showed particularly strong antimicrobial activities against *Ped. cerevisiae* and *L. plantarum* that were known to be main microorganism of fermentation and acidification of *kimchi*. The results suggest the possible use of the leek extract as natural preservatives for *kimchi*.

Key words: vegetable *kimchi* stuff, natural preservatives, antimicrobial activities

서 론

미생물의 증식을 억제하는 보존제로 인공합성품이 상업적으로 사용되고 있으나 그 안전성이 경우에 따라 문제로 제기되고 있다. 근래 소비자의 건강지향적 욕구가 증대됨에 따라 인공합성보존제의 기피현상이 두드러지고 있으며 이에따라 식품가공업계에서도 인공합성보존제의 사용이 될 수 있는 한 제한하려는 추세이다. 이러한 문제점에 대처하기 위해서 안전성에 문제가 없는 천연의 항미생물활성물질의 개발에 관심이 집중되고 있다.

식품의 원료 또는 부재료로 사용되는 것들 중에서 항미생물활성물질이 존재한다고 많은 연구자⁽¹⁻³⁾들에 의하여 보고된 바 있다. 미국의 경우 사람들이 오랫동안 식용으로 이용해왔던 천연물을 그대로 이용하거나 추출하여 이용하는 경우 이들의 사용량이나 대상식품들은 규제하지 않으며 이를 generally recognized as safe (GRAS)^(4,5)로 분류하고 있다.

식품에는 많은 종류의 천연항미생물활성물질이 존재하며, 현재까지 알려진 항미생물활성물질 중에는 계란에 함유된 conalbumin, avidin, lysozyme^(6,7)과 우유에 존재하는 lactoferrin⁽⁸⁾ 등의 단백질성분, citric acid, succinic acid, benzoic acid, lactic acid, propionic acid 등의 유기산⁽⁹⁻¹³⁾, 생물체 조직에 소량 함유된 탄소수 12~18개의

지방산^(14,15), thyme, oregano, cinamon, cloves 등의 정유성분⁽¹⁶⁻¹⁸⁾, flavonols와 proanthocyanins(tannins) 등의 색소관련성분⁽¹⁹⁾에 항미생물활성물질이 존재하며, 그 밖에도 humulone과 lupulone^(20,21), hydrocinnamic acid 유도체⁽²²⁾, caffeine⁽²³⁾, theophylline과 theobromine^(24,25) 그리고 phytoalexins⁽²⁶⁾ 등이 알려져 있다.

한편, 김치는 김치의 주재료에 따라 배추김치, 무우김치, 갓김치, 오이김치, 파김치 등으로 분류되는데, 이들 김치의 숙성속도는 김치의 식물성재료에 따라 다름을 경험적으로 알고 있다. 김치의 재료에 따른 김치의 숙성 및 산패정도의 차이는 이들 김치재료가 김치의 발효에 관여하는 미생물의 생육에 영향을 주고 있음을 시사하고 있다.

여기에 본 연구는 김치재료추출물이 김치의 천연보존제로서의 이용가능성을 검토하기 위하여 오랫동안 김치의 재료로 이용하여 온 식물성 김치재료추출물의 항미생물활성을 김치 주발효미생물을 대상으로 탐색한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 재료는 식물성 김치재료인 배추, 갓잎, 재래종 갓, 돌산갓, 열무, 미나리, 들미나리, 쪽갓, 당근, 파, 마늘, 고추, 부추, 양파, 생강 등을 생산농가 및 시장에서 구입하여 실험재료로 하였다.

Corresponding author: Keun-Hyung Park, Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, 300 Yongbong-Dong, Kwangju 500-757, Korea

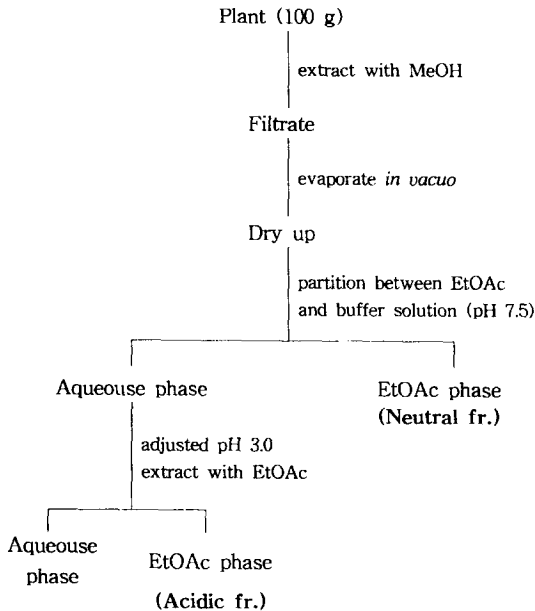


Fig. 1. Solvent fractionation procedure of plant extract

추출 및 용매분획

신선한 식물성 김치재료(고추는 고추가루) 각각 100 g을 과량의 MeOH과 함께 homogenizer(NISSEI AM-7)로 마쇄하면서 추출하고 G₃ Glass filter로 여과하여 얻어진 여액을 cooling aspirator(EYELA COOL ACE CA-111)가 장치된 진공농축기(EYELA TYPE N-N)로 감압농축하여 MeOH을 제거한 다음 EtOAc와 buffer용액(0.2 M Na₂HPO₄-NaH₂PO₄, pH 7.5)으로 수상(buffer층)과 중성구(EtOAc-soluble neutral fr.)로 분배하였다. 수상은 pH를 3.0으로 조절하여 다시 EtOAc로 분배한 후 산성구(EtOAc-soluble acidic fr.)를 얻었다(Fig. 1). 이렇게하여 얻어진 산성구, 중성구 그리고 수용액구의 0.3, 1.0, 3.0 g에 상당하는 각각의 추출물에 대해 김치 주발효미생물을 대상으로 paper disc법을 이용하여 항미생물활성을 측정하였다.

사용미생물

실험에 사용한 균주는 김치발효에 주로 관여하는^(27,28) 젖산균(*Leucomostoc mesenteroides* KCTC 3100, *Pediococcus cerevisiae* KCTC 1628, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104)과 효모(*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763) 등의 균주를 검정미생물로 사용하였다.

사용배지

김치재료추출물의 항미생물활성을 측정하기 위하여 사용된 배지는 젖산균에 대해서는 *Lactobacilli* MRS배지(Difco)를 사용하고 효모에 대해서는 YM배지(Difco)를

사용하였다.

배양방법

각각의 배지를 이용하여 젖산균 및 효모는 30°C에서 24시간 동안 3회 반복하여 전배양을 행한 후 접종균주로 사용하였다.

항미생물활성 측정방법

항미생물활성의 측정(본 배양)은 paper disc(8 mm, Whatman) 방법으로 측정하였다. 먼저 pour-plate method⁽²⁹⁾에 의해 45°C로 조절된 멸균배지 10 ml에 전배양액 0.1 ml를 micro pippet을 이용하여 무균적으로 옮겨 잘 혼합시킨 후 지름이 9.0 cm인 petri dish에 넣고 굳혔다. 여기에 추출물이 함유되어있는 건조된 paper disc를 올려 놓고 0.85% 식염수(75 µl)로 확산시켜 젖산균 및 효모를 30°C에서 16시간 배양하여 paper disc 주위의 저해환(mm)의 크기로 활성의 정도를 측정하였다. 대조구로서는 식품보존제로 광범위하게 이용되고 있는 benzoic acid를 사용하여 항미생물활성을 비교하였다.

결과 및 고찰

3종의 젖산균(*Leu. mesenteroides*, *Ped. cerevisiae*, *L. plantarum*)에 대한 15종의 김치재료추출물의 항미생물활성을 검정한 결과는 Table 1, 2, 3에 나타난 것과 같이 주로 중성구에서 활성을 보였으며 산성구와 수용액구에서의 활성은 미미하였다. 효모(*Sacch. cerevisiae*)에 대한 항미생물활성은 Table 4에 나타난 것과 같이 중성구에서 강한 활성이 나타났고, 산성구와 수용액구에서는 젖산균에 비해 활성의 정도가 높게 나타났다.

김치초기 숙성균인 *Leuc. mesenteroides*⁽³⁰⁾의 생육에 영향을 미치는 김치재료추출물은 깻잎, 갓, 미나리, 마늘, 부추, 양파, 생강이었으며 이 중 마늘추출물은 0.3 g에 상당하는 추출물에서의 활성이 benzoic acid 0.3 mg에 나타난 활성의 크기보다 높았고 그밖의 김치재료추출물의 항미생물활성은 거의 비슷하였다.

김치 중기숙성균인 *Ped. cerevisiae*^(31,32)는 0.3 g에 상당하는 부추추출물에 의해 나타난 활성이 benzoic acid 0.3 mg에서 나타난 활성의 크기와 같은 활성을 보여 부추추출물에 존재하는 항미생물활성이 *Ped. cerevisiae*에 대해 특이적으로 높음을 알 수 있었다.

김치의 숙성말기에 번식하고 김치 산패균으로 알려진 *L. plantarum*⁽³³⁾의 생육에 영향을 미치는 김치재료추출물은 마늘과 부추로서 이들의 항미생물활성은 마늘 1.0 g 그리고 부추 0.3 g에 상당하는 추출물이 benzoic acid 0.3 mg에 나타난 활성의 크기와 거의 같아 마늘에 비해 부추추출물의 항미생물활성이 높게 나타났다. 이 결과는 정⁽³⁴⁾이 *L. plantarum*을 포함한 젖산균의 생육에 부추추출물이 생육저해효과가 있음을 보고한 결과와 일치하였다.

Table 1. Growth inhibition demonstrated by plant extract on *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100

Plant	Clear zone on plate (mm)											
	Neutral fr.			Acidic fr.			Acqueouse fr.			BA		
	0.3	1.0	3.0 ¹⁾	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0 ²⁾	
Chinese cabbage	— ³⁾	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Perilla leaf	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf(Dolsan)	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leafy radish	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Watercress	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Small watercress	9	9	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Crown daisy	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Carrot	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Green onion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Garlic	15	19	23	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Red peper(powder)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leek	9	12	13	—	—	9	—	—	9	—	—	—
Onion	9	9	9	—	—	9	—	—	9	—	—	—
Ginger root	9	9	10	—	—	—	—	—	9	—	—	—
											10	13

BA: Benzoic acid

¹⁾: Extract of g fresh wt eq./disc²⁾: Benzoic acid mg/disc³⁾—: No inhibition**Table 2. Growth inhibition demonstrated by plant extract on *Pediococcus cerevisiae* KCTC 1628**

Plant	Clear zone on plate (mm)											
	Neutral fr.			Acidic fr.			Acqueouse fr.			BA		
	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	
Chinese cabbage	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Perilla leaf	—	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf	—	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf(Dolsan)	—	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leafy radish	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Watercress	—	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Small watercress	—	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Crown daisy	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Carrot	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Green onion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Garlic	—	9	9	—	9	9	—	9	9	—	—	—
Red peper(powder)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leek	14	18	20	—	—	9	—	—	9	—	—	—
Onion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ginger root	—	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
											14	18

김치의 숙성초기부터 말기까지 번식하며 김치의 향미에 관여하는 *Sacch. cerevisiae*⁽³⁵⁾의 생육에 영향을 미치는 김치재료추출물은 마늘, 부추, 생강이었으며 그 중 마늘과 부추추출물이 아주 강한 향미생물활성을 나타냈다.

15종의 식물성 김치재료추출물의 김치 주발효미생물 4종에 대한 향미생물활성은 현저한 차이를 나타냈다. 한편, 박⁽³⁶⁾은 김치재료중 고추가루, 마늘, 청과, 생강의

배합비에 따라 김치의 발효숙성에 영향이 있음을 실험적으로 보고한 바 있으며, 또 경험적으로 김치의 재료에 따라 김치의 숙성과 산패정도의 차이가 있음을 알고 있는데, 이러한 재료의 조합에 따른 숙성정도의 차이는 각각의 식물성재료가 갖고 있는 향미생물활성의 차이에 의해 영향을 받고 있다고 생각된다.

이상의 결과로 보아 김치재료추출물이 김치 주발효미

Table 3. Growth inhibition demonstrated by plant extract on *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104

Plant	Clear zone on plate (mm)											
	Neutral fr.			Acidic fr.			Acqueouse fr.			BA		
	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	
Chinese cabbage	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Perilla leaf	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf(Dolsan)	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leafy radish	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Watercress	9	9	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Small watercress	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Crown daisy	—	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Carrot	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Green onion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Garlic	9	11	14	—	—	9	—	—	9	—	—	—
Red peper(powder)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leek	10	15	20	—	—	9	—	—	9	—	—	—
Onion	9	9	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ginger root	9	9	9	—	9	9	—	—	9	—	—	—
											11	14

Table 4. Growth inhibition demonstrated by plant extract on *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763

Plant	Clear zone on plate (mm)											
	Neutral fr.			Acidic fr.			Acqueouse fr.			BA		
	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	3.0	0.3	1.0	
Chinese cabbage	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Perilla leaf	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf	—	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mustard leaf(Dolsan)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leafy radish	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Watercress	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Small watercress	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Crown daisy	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Carrot	—	—	—	—	—	9	9	9	9	—	—	—
Green onion	—	—	9	—	—	—	9	9	9	—	—	—
Garlic	21	22	25	9	12	12	9	12	12	—	—	—
Red peper(powder)	—	—	—	9	12	12	9	9	9	—	—	—
Leek	27	27	29	—	9	9	—	9	9	—	—	—
Onion	—	—	—	—	9	9	—	9	9	—	—	—
Ginger root	—	10	12	—	9	9	—	9	9	—	—	—
											13	19

생물에 대해 강한 항미생물효과를 나타낸 것은 부추와 마늘이었으며 특히 김치 중기숙성균인 *Ped. cerevisiae*와 김치 숙성말기에 번식하여 김치의 산패에 커다란 영향을 주는 미생물로 알려진 *L. plantarum*에 대해서는 부추추출물이 현저한 항미생물활성을 보였다. 따라서 김치의 천연보존제 및 산패억제제로서 부추추출물의 이용가능성이 시사되었다.

요 약

김치의 천연보존제로서의 이용가능성을 검토하기 위하여 15종의 식물성 김치재료를 MeOH로 추출, 용매분획하여 얻어진 산성구, 중성구 그리고 수용액구에 대해 김치 주발효미생물인 *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*과 *Saccharomyces cerevisiae*를 대상으로 항미생물활성을 검색한 결과, 마늘과 부추추출물의 중성구에서 뚜렷한 항미생물활성을 나타냈다. 특히 부추추출물은 김치의 숙성 및 산패원인 균으로 알려진 *Ped. cerevisiae*와 *L. plantarum*에 대해서

현저한 항미생물활성을 나타내, 김치의 천연보존제 및 산패억제제로서 부추추출물의 이용가능성이 시사되었다.

감사의 말

본 연구는 농업생물신소재연구센터의 지원으로 수행된 연구결과와 일부이며 이에 연구센터와 과학재단당국에 감사드립니다.

문 헌

- Batt, C., Solberg, M. and Ceponis, M.: Effect of volatile components of carrot seed oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *J. Food Sci.*, **48**, 762 (1983)
- Huhtanen, C.N.: Inhibition of *Clostridium botulinum* by spice extracts and aliphatic alcohols. *J. Food Sci.*, **43**, 195 (1980)
- Marwan, A.G. and Nagel, C.W.: Microbial inhibitors in cranberries. *J. Food Sci.*, **51**, 1009 (1986)
- FDA, Almanac, p.706 (1988)
- FDA, Part 182, Substances generally recognized as safe, 21 CFR Ch.1 (4-1 89 edition) (1989)
- Board, R.G.: The microbiology of the hen's egg. In "Advances in Applied Microbiology, Vol II," ed. D. Periman. Academic in press, New York. (1969)
- Reiter, B.: Review of the Progress of dairy science; Antimicrobial systems in milk. *J. Dairy Res.*, **45**, 31 (1978)
- Ashtin, D.H. and Busta, F.F.: Milk components inhibitory to *Bacillus stearothermophilus* by iron, calcium and magnesium. *Appl. Microbiol.*, **16**, 628 (1968)
- 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)
- 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)
- Marwan, A.G. and Nagel, C.W.: Characterization of cranberry benzoates and their antimicrobial properties. *J. Food Sci.*, **51**, 1069 (1986)
- Woolford, M.K.: Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 229 (1975)
- Ghosh, J. and Haggblom, P.: Effect of sublethal concentration of propionic and butyric acid growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *J. Food Microbiol.*, **2**, 323 (1985)
- Jay, J.M.: Food preservation with chemicals. In "Modern Food Microbiology". 3rd ed., p.257. Van Nostrand Reinhold Co., New York (1986)
- Kabara, J.J.: Medium-chain fatty acids and esters. In "Antimicrobial in Foods", ed. A.L. Branen and P.M. Davidson, P.109. Marcel Dekker Inc., New York (1983)
- Karapinar, M. and Aktug, S.E.: Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, mentol and anethol. *J. Food Microbiol.*, **4**, 161 (1987)
- Conner, D.E. and Beuchat, L.R.: Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J. Food Sci.*, **49**, 429 (1984)
- Deans, S.G. and Richie, G.: Antibacterial properties of plant essential oils. *J. Food Microbiol.*, **5**, 165 (1987)
- Johnson, M.G. and Vaughn, R.H.: Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. *Appl. Microbiol.*, **17**, 903 (1969)
- Palamand, S.R. and Aldenhoff, J.M.: Bitter tasting compounds of beer. Chemistry and taste properties of some hop resin compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 535 (1973)
- Macrae, R.M.: The development of resistance of hop resins by strains of *Lactobacilli*. *J. Inst. Brew.*, **70**, 484 (1964)
- Davidson, P.M. and Branen, A.L.: Antimicrobial activity of non-halogenated phenolic compounds. *J. Food Protect.*, **44**, 623 (1981)
- Buchanan, R.L., Tice, G. and Marino, D.: Caffeine inhibition of ochratoxin A production. *J. Food Sci.*, **47**, 319 (1981)
- 山村 淳, 竹尾忠一: *Streptococcus mutans*에對する茶葉 카テキンの抗菌作用について. 日本食品工業學會誌, **36** (6), 463 (1989)
- Venos, V., Hofstaetter, S. and Cox, L.: The microbiology of instant tea. *Food Microbiol.*, **4**, 19 (1987)
- Weinstein, L.I. and Albershein, P.: Host pathogen interactions. XXIII. The mechanism of antibacterial action of glycinol, a perocarpen phytoalexin synthesized by soybeans. *Plant Physiol.*, **72**, 557 (1983)
- 김호식, 전재근: 김치발효중의 세균의 동적변화에 관한 연구. 한국에너지연구소, **6**, 112 (1966)
- 최국지: 김치에서 분리한 효모에 관한 연구. 한국미생물학회, **16**(1), 1 (1978)
- Zaika, L.L.: Spices and herbs; Their antimicrobial activity and it's determination. *J. Food Safty.*, **9**, 97 (1988)
- 한홍의: 김치의 유산균 생태, 미생물과 산업, **68** (1991)
- 박연희, 조도현: 김치에서 분리한 젖산균의 미생물 생육저해. 한국농화학회지, **26**(1), 35 (1985)
- 박연희, 권정주, 조도현, 김수일: 김치에서 분리한 *Pediococcus*의 미생물 생육저해. 한국농화학회지, **29**(2), 207 (1986)
- 민태익, 권태환: 김치발효에 미치는 온도 및 식염농도의 영향. 한국식품과학회지, **16**(4), 443 (1984)
- 정성달: 부추추출물이 유산발효에 미치는 영향에 관한 연구. 대구대학교대학원 석사학위논문 (1989)
- 노완섭, 허운행, 오현근: 김치발효속성에 관여하는 미생물의 소장에 관한 연구. 서울보전논문집, **1**, 15 (1981)
- 박우포: 김치의 배합재료가 발효속성에 미치는 영향. 서울대학교대학원 박사학위논문 (1991)