

어성초의 화학성분 및 항미생물 활성

김근영 · 정동옥* · 정희종

전남대학교 식품공학과, *초당산업대학교 환경공학과

Chemical Composition and Antimicrobial Activities of *Houttuynia cordata* Thunb.

Keun-Young Kim, Dong-Ok Chung* and Hee-Jong Chung

Department of Food Science and Technology, Chonnam National University

*Department of Environmental Engineering, Chodang University

Abstract

Chemical composition and antimicrobial activity of *Houttuynia cordata* Thunb. were investigated to develop a natural food preservative from it. Aspartic acid, glutamic acid, glycine and arginine were major amino acids of *Houttuynia cordata* Thunb., but were present in a trace amount. Free sugars were composed of glucose, fructose, sucrose and maltose and major fatty acids were linolenic acid, linoleic acid, oleic acid, and palmitic acid. Mineral elements were potassium, calcium, magnesium, iron, zinc, and copper. Antimicrobial activities were shown in acidic, neutral and phenolic fraction of *Houttuynia cordata* Thunb., but not in basic fraction. Among the four fractions, neutral fraction showed the strongest antimicrobial activities against microorganisms tested, such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MLC) of the neutral fraction varied according to microorganisms tested. The lowest values of MIC (0.0075 g eq./mL) and MLC (0.10 g eq./mL) were obtained from *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: chemical composition, antimicrobial activity, *Houttuynia cordata* Thunb., solvent fractionation

서 론

일반적으로 식품은 물리화학적 변화보다는 미생물의 작용에 의한 변화가 많기 때문에 많은 식품과학자들이 미생물에 의한 식품의 품질변화 또는 부패방지 방법에 대하여 많은 관심을 가져왔다⁽¹⁻³⁾. 특히 최근에는 식용 동·식물자원으로부터 특정성분을 추출하여 미생물의 증식억제 또는 살균에 이용하고자 하는 천연 항미생물 활성물질의 개발을 위한 연구가 진행되고 있다^(4,5).

천연 항미생물 물질은 식물이나 동물의 구성성분으로 존재하거나 외부의 자극에 의하여 생체내에서 대항 물질로 만들어지기도 하며⁽⁶⁾ 발효 과정에서 생성된 화학 물질이 다른 미생물의 생장을 저지하기도 한다. 대부분의 천연 항미생물 물질은 동·식물체내에 함유

된 단백질, 특정 효소, 유기산, 식물의 정유성분, 및 기타 특정 성분인데⁽⁷⁾ 식물 추출물이 항미생물 활성을 갖고 있다는 것은 오래전부터 알려져 왔고 그 대표적인 것이 향신료들이다⁽⁸⁻¹⁰⁾. 마늘의 allicin은 -SH group 효소의 저해인자로 작용하는 항미생물 활성물질이고⁽¹¹⁾ 양파 추출물은 aflatoxin생성균인 *Aspergillus flavus*와 *Asp. parasiticus*의 증식을 저해하며⁽¹²⁾ 정향은 *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* 등에 살균효과가 있는 것으로 밝혀졌다⁽¹³⁾. 몇가지 나무잎의 methanol과 benzene 추출물이 *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*에 대하여 항미생물 활성효과⁽¹⁴⁾를 보였고 약용식물로부터 작물의 작물병을 일으키는 *Pythium ultimum*에 대한 항미생물 활성을 측정할 결과 목탄, 자리공, 대황등 9개가 효과⁽¹⁵⁾가 있음이 보고된 바 있다.

한편 어성초(*Houttuynia cordata* Thunb.)는 삼백초과에 속하는 다년생 초본의 야생약초로서 이뇨작용, 진

Corresponding author: Hee-Jong Chung, Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Buk-gu, Kwangju 500-757, Korea

통작용, 지혈작용 등의 다양한 약리작용이 있는 것으로 알려지면서 오래전부터 생약제로 이용되어 왔을 뿐만 아니라⁽⁶⁾ 최근에는 예기스, 환, 건조분말 등 여러 가지 형태로 제품화되어 많은 사람들이 건강보조식품으로 이용하고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 이렇게 이용되고 있는 어성초의 화학조성을 분석하고 식품부패균 및 병원균에 대한 항미생물 활성을 검색하여 천연 식품보존제로의 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 어성초는 전남 나주시에 있는 집단재배지에서 1993년 6월 중순에 채취하여 polyethylene film으로 밀봉한 후 -20°C에서 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

어성초의 화학성분 분석

어성초의 일반성분은 AOAC방법⁽⁷⁾, 총 비타민 C 함량은 2,4-dinitrophenyl-hydrazine 비색법⁽⁸⁾, 수용성 탄닌함량은 차의 분석 시험법⁽⁹⁾에 따라 각각 정량하였으며 유리아미노산 함량은 박⁽²⁰⁾의 방법에 따라 HPLC를 사용하여 내부 표준법으로 정량하였다. 유리당 함량은 최 등⁽²¹⁾의 방법으로 유리당을 추출한 다음 HPLC로 분석하여 면적 백분율에 의한 내부 표준법으로 정량하였다. 지방산 조성의 분석은 Bligh와 Dyer법⁽²²⁾에 준하여 지질을 추출하고 n-heptan층을 무수 Na₂SO₄로 탈수한 다음 여과하여 GC로 분석하였다. 무기성분의 분석은 시료를 습식분해법⁽²³⁾으로 분해한 후 증류수로 정용하여 여과한 여액을 검액으로 사용하였고 각 무기성분의 정량은 원자흡광광도계(Varian Model Spectra A-300A)를 사용하였으며 인의 정량은 molybdenum blue 흡광도법⁽²⁴⁾으로 비색정량하였다.

어성초의 methanol추출물 조제

시료 4 kg을 blender (Matic 12, Osterizer Co., USA)로 분쇄하고 추출용매인 methanol과 혼합하여 균질기(Nisseiam-7 homogenizer)를 이용하여 균질화시킨 다음 약 10배량의 methanol을 3회로 나누어 12시간 동안 반복 추출하였다. Methanol 추출물은 여과지(Whatman No. 2)를 이용하여 여과하고 vacuum evaporator를 사용하여 45°C에서 농축하였다.

Methanol추출물의 용매분획

농축한 methanol추출물은 강⁽²⁵⁾의 방법에 따라 유기

용매로 ethylacetate를 사용하여 Fig. 1과 같이 용매분획하여 basic, acidic, phenlic, neutral fraction으로 나누어 각각의 fraction에 대하여 생체중량에 대한 1 g 상당량을 기준으로 항미생물활성을 검색하였다.

항미생물 활성 검색

실험균주의 생육배지는 젖산균의 경우 MRS 배지(Difco)를 사용하였으며 그 밖의 세균에 대하여는 beef, casamino acid, soluble starch를 함유한 Mueller Hinton agar 배지, 효모와 곰팡이에 대하여는 neopeptone, dextrose가 함유된 Sabouraud dextrose agar 배지(Difco)를 사용하였다. 항미생물활성 측정은 paper disc법⁽²⁶⁾으로 측정하였다. 즉, 3회 계대배양한 전배양액 0.1 mL를 무균 pipette으로 취하여 petri dish에 옮긴 후 45°C로 유지된 배지를 15 mL 가하고 배지가 굳기전에 잘 혼합하였다. 여기에 시료 1 g/mL 상당량의 어성초 추출물을 적하하여 건조시킨 paper disc (Φ 8 mm, Whatman)를 올려놓은 후 0.85% 식염수로 확산시켜 세균은 37°C에서 16~18시간, 효모는 30°C에서 16~18시간 그리고 곰팡이는 30°C에서 36시간 배양하여 paper disc 주위의 clear zone의 크기(mm)를 측정하여 항미생물 활성을 판정하였다.

최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

활성 fraction의 MIC 측정은 paper disc (Φ 8 mm, Whatman) 법에 따라 전배양한 균을 pour plate 방법에 의해 접종한 후 추출물을 0.001 g/mL 상당량에서 0.75 g/mL 상당량까지 11단계로 나누어 농도별로 적하하여 건조시킨 paper disc를 배지 표면에 올려놓고 0.85% 식염수로 확산시켜 세균은 37°C에서 16~18시간, 효모는 30°C에서 16~18시간 그리고 곰팡이는 30°C에서 36시간 배양하여 paper disc 주위에 clear zone이 생성되는 최소 농도를 MIC로 하였다.

최소치사농도(minimum lethal concentration, MLC) 측정

활성분획의 MLC 측정은 강⁽²⁵⁾의 방법에 의해 전배양액 0.1 mL를 취해 0.9 mL broth에 접종하고 시료 추출물을 0.01~3.0 g/mL 상당량 까지 단계별로 첨가하여 최적온도에서 세균과 효모는 16시간, 곰팡이는 36시간 배양하였다. 배양액 0.1 mL를 무균적으로 멸균된 petri dish에 취하여 45 로 유지된 고체배지를 넣고 잘 혼합한 후 전배양에서와 같은 조건으로 배양하여 colony가 형성되지 않은 농도를 MLC로 하였다.

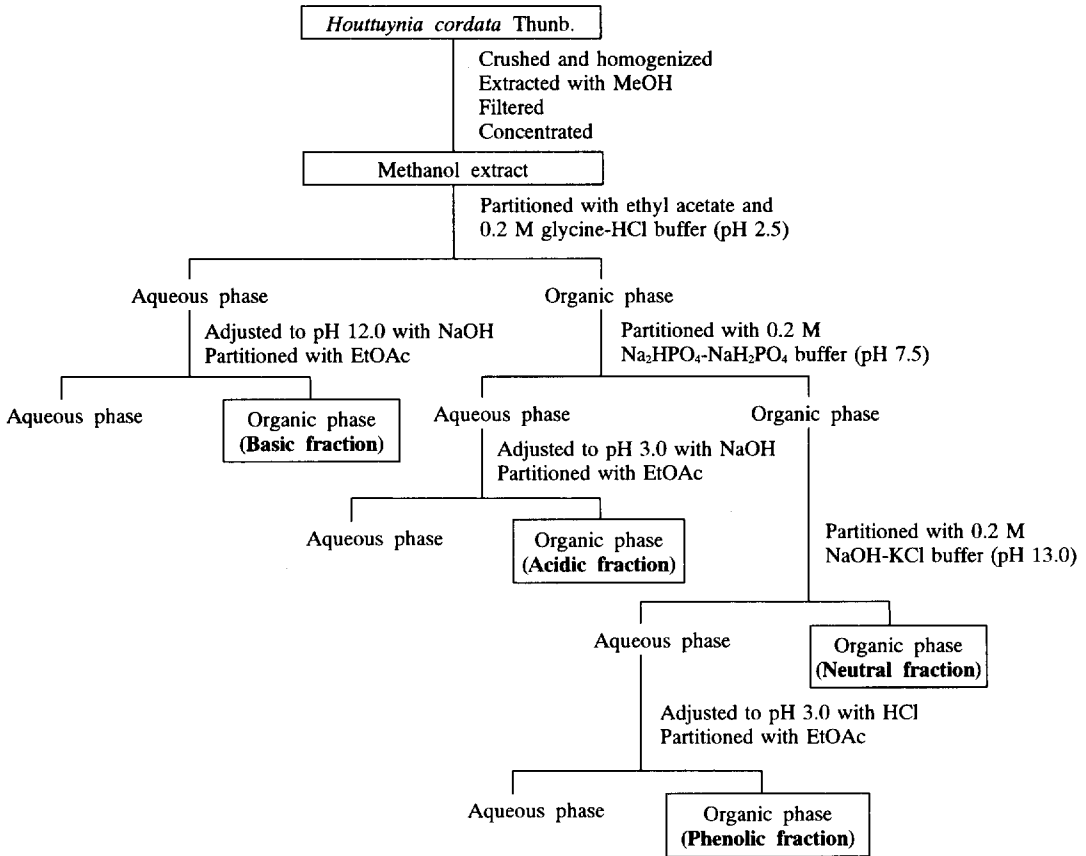


Fig. 1. Fractionation procedure for the methanol extract of *Houttuynia cordata* Thunb.

결과 및 고찰

일반성분

어성초의 화학성분을 분석한 결과는 Table 1과 같았다. 일반성분의 경우 조섬유를 제외하고는 줄기보다는 잎에서 더 높은 함량을 나타냈고 총 vitamin C 함량은 잎이 4.41 mg%, 줄기는 20.00 mg%로서 줄기가 더 높은 함량을 나타냈으며 탄닌함량은 잎이 0.15%, 줄기가 0.09%로서 잎에 약간 더 많이 함유된 것으로 분석되었다.

유리당 함량

어성초의 유리당 함량은 Table 2와 같이 glucose 0.22%, fructose 0.24%, sucrose 0.03%, maltose 0.01%로서 녹차잎⁽²⁷⁾에 비교하면 fructose와 glucose 함량은 유사하였으나 sucrose와 maltose 함량은 적었으며 감잎⁽²⁸⁾중의 유리당 함량에 비하면 전체적으로 낮은 경향

Table 1. Proximate composition of *Houttuynia cordata* Thunb. (% dry wt. basis)

Composition	Leaf	Stem
Moisture	78.92	78.04
Crude protein	2.37	1.91
Crude lipid	1.86	0.84
Crude ash	2.91	1.82
Crude fiber	3.72	8.63
Ascorbic acid (mg/100 g)	4.41	20.00
Tannin (mg/100 g)	0.15	0.09

을 보였다.

유리아미노산 함량

어성초의 유리아미노산 함량은 Table 3과 같이 잎의 경우 glutamic acid가 가장 높았고 arginine, alanine, aspartic acid의 순이었으며 줄기의 경우 함유량 아미노산인 cysteine 함량이 가장 높았고 alanine, glutamic acid, valine의 순이었다.

Table 2. Free sugar content of *Houttuynia cordata* Thunb. (% dry wt. basis)

Sugar	Leaf	Stem
Fructose	0.24	0.36
Glucose	0.22	0.94
Sucrose	0.03	0.06
Maltose	0.01	0.01

Table 3. Free amino acid content of *Houttuynia cordata* Thunb. (mg%)

Amino acid	Leaf		Stem	
	A ¹⁾	B ²⁾	A	B
Asp	1.40	16.92	0.34	3.80
Glu	1.76	21.18	0.98	10.98
Ser	ND	ND	ND	ND
Gly	0.52	6.25	0.12	1.36
His	ND	ND	ND	ND
Arg	1.41	17.04	ND	ND
Thr	ND	ND	ND	ND
Ala	1.41	17.01	0.99	11.17
Pro	0.95	11.42	0.65	7.35
Tyr	ND	ND	ND	ND
Val	0.03	0.37	0.85	9.52
Met	ND	ND	ND	ND
Cys	0.56	6.78	4.82	54.10
Ile	ND	ND	ND	ND
Leu	ND	ND	ND	ND
Phe	0.25	3.02	0.18	2.06
Lys	ND	ND	ND	ND
Total	8.29	99.99	8.90	100.34

¹⁾All values of A columns are shown at mg/100 g.

²⁾All values of B columns are shown at percent of total free amino acids.

ND: not detected.

지방산 조성

여성초의 잎과 줄기에 함유된 지방산의 조성은 Table 4와 같이 잎의 경우 포화지방산이 30.10%, 불포화지방산이 65.16%였고 줄기의 경우 포화지방산이 39.80%, 불포화지방산이 59.76%로 잎과 줄기 모두 포화지방산 함량보다 불포화지방산 함량이 2배정도 높게 나타났다. 주요 지방산으로는 필수지방산인 linolenic acid가 잎에서는 40.81%, 줄기에서는 26.43%로 가장 많았다. 그 다음으로 잎에서는 palmitic acid, linoleic acid, oleic acid순으로 많았고, 줄기에서는 linoleic acid, palmitic acid, oleic acid순이었다.

무기성분 함량

무기성분의 함량은 Table 5와 같이 잎과 줄기 모두 K 함량이 가장 많았고 그 다음으로 잎에서는 Ca, Mg, P, Fe, Zn, Cu 순으로 나타났으며, 줄기에서는 Ca, P,

Table 4. Fatty acid composition of total lipid in *Houttuynia cordata* Thunb.

Fatty acid	Leaf	Stem
Pelargonic	0.23	0.32
Capric	4.25	1.89
Lauric	0.05	0.45
Myristic	1.26	1.54
Pentadecyclic	1.01	0.91
Palmitic	17.25	21.91
Heptadecanoic	0.23	0.25
Stearic	1.31	1.67
Arachidic	1.39	0.44
Behenic	0.34	0.94
Tricosanoic	1.35	6.06
Lignoceric	1.42	3.45
Saturated	30.10	39.80
Myristoleic	0.27	0.30
Palmitoleic	4.30	1.31
Oleic	7.62	7.90
Linoleic	12.16	23.82
Linolenic	40.81	26.43
Unsaturated	65.16	59.76

Table 5. Mineral content of *Houttuynia cordata* Thunb. (mg%)

Mineral element	Leaf	Stem
K	766.36	863.55
Ca	275.63	87.16
Mg	71.90	55.90
P	63.46	0.50
Fe	4.85	3.39
Zn	0.40	0.50
Cu	0.07	0.10

Mg, Fe, Zn, Cu 순으로 나타났다. Ca, Mg, Fe 은 줄기 보다는 잎에서 함량이 많은 반면 K, P, Zn, Cu 는 잎 보다는 줄기에서 더 높은 함량을 나타냈다.

여성초 각 fraction의 항미생물 활성

여성초 추출물의 각 fraction에 대한 항미생물 활성은 Table 6과 같이 basic fraction의 경우 모든 대상 미생물에 대하여 활성이 나타나지 않았으나 acidic fraction의 경우 Gram 양성세균에 있어서 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Str. faecalis*에 대하여 활성을 보이지 않은 반면 *B. subtilis*, *M. luteus*에 대하여 상대적으로 높은 활성을 나타냈다. Gram 음성세균에 있어서는 *P. aeruginosa*에 대하여 강한 활성을 보인 반면에 *Proteus sp.*에 대해서는 가장 낮은 활성을 보였다. 곰팡이에 있어서는 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*에 대하여 상대적으로 높은 활성을 보였으나 효모에 대한 활성은 나타나지 않았다.

Table 6. Antimicrobial activities of each fraction of methanol extract from *Houttuynia cordata* Thunb. against various microorganisms

Microorganism	Clear zone on plate (mm)			
	Basic fr.	Acidic fr.	Phenolic fr.	Neutral fr.
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-- ¹⁾	13	10	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	--	--	--	11
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	--	--	--	12
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 10541	--	--	--	W
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	--	12	10	15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8736	--	--	--	--
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 19430	--	--	--	--
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	--	11	11	18
<i>Klebsiella aerogens</i>	--	10	10	10
<i>Proteus</i> spp. MB 838	--	W ²⁾	11	12
<i>Lactobacillus plantarum</i> KCTC 3104	--	--	--	--
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> KCTC 3100	--	--	--	--
<i>Pediococcus cerevisiae</i> KCTC 1628	--	--	--	--
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	--	--	--	11
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	--	--	--	12
<i>Aspergillus flavus</i> KCTC 1375	--	12	12	13
<i>Aspergillus parasiticus</i> KCTC 6170	--	15	13	16

¹⁾no inhibition.²⁾weak.

ATCC: American Type Culture Collection.

KCTC: Korean Collection for Type Culture.

Phenolic fraction의 경우 곰팡이에 있어서 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*에 대하여 높은 활성을 보였다. Gram 양성세균에 있어서 *B. subtilis*와 *M. luteus*에서만 낮은 활성을 보였고 Gram 음성세균에 있어서는 *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Proteus* sp.에 대해서만 낮은 활성을 나타냈으며 그 밖의 세균과 효모에 대해서는 활성을 나타내지 않았다.

Neutral fraction은 다른 fraction과 비교할 때 전체적으로 훨씬 높은 활성을 보였는데 특히 Gram 양성세균 중에서는 *B. subtilis*와 *M. luteus*, Gram 음성세균 중에서는 *P. aeruginosa*에 대하여 높은 활성을 보였고 효모에 대한 항미생물 활성은 비교적 낮은 반면에 곰팡이인 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*에 대해서는 비교적 높은 활성을 나타냈다.

이상의 실험결과 어성초추출물중 항미생물 활성을 갖는 분획은 acidic fraction, phenolic fraction 및 neutral fraction이고 그 중에서 neutral fraction에 가장 강한 항미생물 활성이 존재함을 알 수 있었다. 또한 이 같은 결과는 무화과잎 추출물의 phenolic fraction이 효모와 *S. aureus*, *B. subtilis*에 대하여 높은 활성을 나타내고 neutral fraction이 세균, 효모 및 곰팡이에 대해서 모두 항미생물 활성이 있다는 강⁽²⁵⁾의 연구결과와는 큰 차이가 있는 것으로 밝혀졌다.

Table 7. Minimum inhibitory concentrations (MIC) for each fraction from *Houttuynia cordata* Thunb. against various microorganisms

Microorganism	MIC (g eq./mL)		
	Acidic	Phenolic	Neutral
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.25	0.25	0.025
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.25	0.25	0.01
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0.25	0.25	0.0075
<i>Klebsiella aerogens</i>	0.75	0.75	0.75
<i>Proteus</i> spp. MB 838	0.50	0.75	0.05
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	-	-	0.75
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	0.25
<i>Aspergillus flavus</i> KCTC 1375	0.25	0.25	0.25
<i>Aspergillus parasiticus</i> KCTC 6170	0.25	0.25	0.10

활성 fraction의 MIC 측정

Neutral fraction 1 g/mL 상당량에 대하여 활성이 인정된 균주를 paper disc법으로 MIC를 측정한 결과 Table 7과 같이 *P. aeruginosa*가 0.0075 g/mL 상당량으로 가장 낮은 MIC 값을 보였고 *M. luteus*의 경우 0.01 g/mL 상당량으로 매우 낮은 MIC 값을 보였으며 *B. subtilis*와 *Proteus* sp.가 각각 0.025 g/mL, 0.05 g/mL 상당량의 MIC 값을 나타냈다. 그 밖의 세균의 경우 0.75~0.5 g/mL 상당량으로 상대적으로 높은 MIC 값을 보임으로써 0.75~0.01 g/mL 상당량의 MIC 값을

Table 8. Minimum lethal concentrations (MLC) for neutral fraction from *Houttuynia cordata* Thunb. against various microorganisms

Microorganism	MLC (g eq./mL)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	1.50
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 10541	1.50
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0.10
<i>Klebsiella aerogens</i>	1.50
<i>Proteus</i> spp. MB 838	1.00
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	1.75
<i>Candida albicans</i> ATCC1375	1.75
<i>Aspergillus flavus</i> KCTC 1375	2.00
<i>Aspergillus parasiticus</i> KCTC 6170	1.75

갖는 무화과잎에 비하여 훨씬 낮은 경향을 보였다. 효모와 곰팡이의 MIC 값은 0.10~0.25 g/mL 상당량으로 그들이 나타낸 항미생물 활성에 비하면 오히려 높은 MIC 값을 나타냈고 0.25 g/mL 상당량인 무화과잎의 MIC 값과는 거의 차이가 없었다.

Acidic fraction과 phenolic fraction의 경우 효모에 대한 MIC 값은 측정할 수 없었으나 세균과 곰팡이에 대한 MIC 값은 neutral fraction에 비하여 높은 값을 보여 대부분 균주에 대하여 0.25~0.75 g/mL 상당량의 MIC 값을 나타냈다. 하지만 0.01~0.005 g/mL 상당량인 무화과잎 추출물의 acidic fraction과 phenolic fraction에 비하면 높은 MIC 값을 나타냄으로써 무화과잎중의 항미생물 활성물질은 주로 phenolic fraction과 acidic fraction에 존재하는 것으로 나타났다. 이는 천연물중의 항미생물 활성물질은 천연물의 종류 및 같은 종류에서도 유기용매 분획에 따라 큰 차이가 있다는 것을 알 수 있었다.

활성 fraction의 MLC 측정

활성이 인정된 균주에 대하여 neutral fraction 1 g/mL 상당량에 대한 MLC를 측정한 결과 Table 8과 같았다. *P. aeruginosa*에 대한 MLC 값이 0.1 g/mL 상당량으로 가장 낮았으며 *B. subtilis*와 *M. luteus*가 0.25 g/mL 상당량으로 그 다음이었으며 그 밖의 균주에 대하여는 1.0~2.0 g/mL 상당량의 MLC 값을 나타냈다.

Acidic fraction과 phenolic fraction 1 g/mL 상당량에 대한 MLC를 측정한 결과 모든 대상 미생물에서 3.0 g/mL 상당량까지 치사활성을 나타내지 않았다.

요 약

어성초의 화학조성과 항미생물 활성을 검색하였다.

어성초의 화학조성을 분석한 결과 유리아미노산은 Asp, Glu, Gly, Arg, Ala, Pro, Val, Cys, Phe 등이 함유되었고 유리당은 fructose, glucose, sucrose 및 maltose가 함유되어 있었다. 지방산 조성은 주로 linolenic acid, linoleic acid, oleic acid, palmitic acid로 구성되었으며 무기성분중에서는 K 함량이 특히 높은 것으로 분석되었다. 어성초 추출물을 용매분획하여 각 fraction에 대한 항미생물 활성을 검색한 결과 basic fraction을 제외한 acidic, neutral, phenolic fraction에서 항미생물 활성이 인정되었으며 neutral fraction>acidic fraction>phenolic fraction 순으로 높은 활성을 나타냈다. 사용 미생물중 *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*에 특히 높은 활성을 보였으며 *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus*에도 비교적 높은 활성을 나타냈다. 활성이 인정된 각 fraction에 대한 MIC값은 neutral fraction의 경우 *Pseud. aeruginosa*가 0.0075 g/mL 상당량으로 가장 낮았으며 그 밖의 균주에 대하여는 0.025~0.75 g/mL 상당량의 다양한 MIC 값을 나타냈다. Acidic fraction과 phenolic fraction은 0.25~0.75 g/mL 상당량으로 neutral fraction에 비해 높은 MIC 값을 나타냈다. MLC값은 neutral fraction의 경우 *Pseud. aeruginosa*가 0.1 g/mL 상당량으로 가장 낮았고 그밖의 균주에 대하여는 0.25~2.0 g/mL 상당량의 MLC 값을 보였으며 acidic fraction과 phenolic fraction의 경우 사용 미생물에 대하여 3.0 g/mL 상당량까지 치사활성을 보이지 않았다.

감사의 글

본 연구는 1993년도 대산농촌문화재단 연구비 지원에 의하여 수행된 것이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Zaika, L.L. and Kissinger, J.C.: Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. *J. Food Sci.*, **46**, 1205 (1981)
2. Liewen, M.B. and Marth, E.H.: Growth and inhibition of microorganisms in the presence of sorbic acid. *J. Food Protect.*, **48**, 364 (1985)
3. Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M. and El-Baroty, G. S.A.: Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.*, **52**, 665 (1989)
4. Fleming, H.P., Walter, W.M., Jr. and Etchells, J.L.: Isolation of a bacterial inhibitor from green olives. *Appl. Microbiol.*, **18**, 856 (1969)
5. 白田 昭, 高橋辛吉: クワ科木本植物の枝木部における抗菌性物質の生成と蓄積. 日植病報, **45**, 156 (1979)

6. Ames, B.N., Magaw, R., and Gold, L.S.: Ranking possible carcinogenic hazard. *Science*, **236**, 271 (1987)
7. Beuchat, L.R. and Golden, D.A.: Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.*, **43**, 134 (1989)
8. 上田成子, 山下晴美, 中島眞理子, 桑原祥浩: 香辛料及び香料の抗微生物作用. *日食工誌*, **29**, 111 (1982)
9. Framtling, R.A. and Bulmer, G.S.: *In vitro* of aqueous extract of garlic (*Allium sativum*) on the growth and viability of *Cryptococcus neoformans*. *Mycologia*, **70**, 397 (1978)
10. Sharma, A., Tewari, G.M., Shrinkhande, A.J., Padwal-Desai, S.R. and Bandyopadyyay, C.: Inhibition of aflatoxin producing fungi by onion extracts. *J. Food Sci.*, **44**, 1545 (1979)
11. 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. Microbial.*, **17**, 903 (1969)
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 (1989)
13. 岡崎寛藏, 加藤宏, 苦田部武男: 生薬の抗菌性(第 2 報). *薬学雑誌*, **71**, 1 (1951)
14. Bae, K.H. and Byun, J.H.: Screening leaves of higher plants for antibacterial action. *Kor. J. Pharmacol.*, **18**, 1 (1987)
15. 백수봉, 오연선: 토양병원균 *Pythium ulimum* 방제를 위한 항균성 약용식물의 탐색. *한국균학회지*, **18**, 102 (1990)
16. 薬品植物學研究會: 薬品植物學 各論. 진명출판사, p.10 (1981)
17. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*. 15th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. (1990)
18. 주현규, 조현기, 박충균, 조규성, 채수규, 마상조: 식품 분석법, 유림문화사 (1991)
19. 杉浦午二: 茶の 公定分析法, 茶業試験場 研究報告 (제 6호), p.167 (1970)
20. 박수원: 고들빼기 성분 및 생물학적 활성에 관한 연구 (I). *한국생화학회지*, **10**, 241 (1977)
21. 최진호, 장진규, 박동길, 박영환, 오성기: HPLC에 의한 인삼 및 유리당의 정량, *한국 식품과학회지*, **13**, 107 (1981)
22. Bligh E.G. and Dyer W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *J. Bio. Physiol.* **37**, 911 (1959)
23. 禹順子, 柳詩生: 원자흡광분석을 위한 식품시료 전처리 방법. *한국식품과학회지*, **15**, 225 (1983)
24. Perkin-Elmer Corporation: *Analytical Methods for Atomic absorption Spectrometry*. Norwak Com. (1986)
25. 강성국: 무화과잎중의 항미생물 물질. 전남대학교 박사 학위논문 (1994)
26. Piddock, L.J.V.: Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, **68**, 307 (1990)
27. 김관: 차엽의 성분에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **9**, 1 (1977)
28. 심종택: 감잎차의 성분에 관한 연구. 고려대학교 석사 학위논문 (1986)

(1996년 12월 2일 접수)

가열시간과 저장온도가 가열팜유의 산화안정성에 미치는 영향

최은옥

인하대학교 가정대학 식품영양학과

Effects of Heating Time and Storage Temperature on the Oxidative Stability of Heated Palm Oil

Eunok Choe

Department of Food Science and Nutrition, The Inha University

Abstract

Effects of heating time and storage temperature on the oxidative stability of heated palm oil were studied. Palm oil was heated at 150°C for 0, 1, 10 or 20 min and stored at 4, 20 or 65°C. The oxidative stability of the sample was evaluated by determining peroxide value of the oil and measuring the volatiles in the head-space of the sample. Significant difference in the peroxide or volatile formation was observed ($p < 0.05$) in heated palm oils between samples stored at 4 or 20°C and those stored at 65°C. Pentane, hexanal, heptane and total volatiles increased with heating time, while storage temperature did not significantly affect their formation, indicating that heating time played more important role in volatile formation in the heated palm oil than storage temperature. However, adverse results were observed for the formation of peroxide. The interaction effect of heating time and storage temperature on the oxidative stability of heated palm oil was also observed.

Key words: heating, storage, oxidative stability, palm oil

서 론

사회가 복잡하고 다양해짐에 따라 편이식품 및 스낵식품에 대한 소비가 늘어나 식용유지의 소비 또한 증가되어 왔다. 식용유지나 유지제품은 가공, 조리 및 저장중에 일어나는 변화로 인하여 그 이용성이 제한되기도 한다. 그중 가열조작은 기름의 산화, 분해, 중합등의 반응을 일으켜 많은 변화를 야기시킨다⁽¹⁾. 특히 기름은 여러 지방산들의 glyceride 혼합체이므로 가열산화는 n-alkane, alkene, ketone, aldehyde 등을 생성하며⁽²⁾ 이들의 생성은 튀김유의 품질결정에 중요한 인자가 된다. 또한 튀김을 위해 가열된 기름은 대개 일정 시간 경과후 재가열과정을 거치는 일련의 cycle을 이루는데 가열조건과 냉각 또는 냉각후 방치되는 저장조건에 따라 기름의 산화정도는 차이가 나타날 수 있다. 그러나 튀김유에 대한 연구가 계속적으로 진행되었음에도 불구하고 대부분의 연구가 튀김과정중의 기

름의 물리화학적 변화⁽³⁻⁵⁾에 국한되었다. 이에 본 연구는 기름의 가열시간과 가열후 냉각되어 저장되는 동안 저장온도가 가열팜유의 산화안정성에 미치는 효과를 살펴보았다.

재료 및 방법

시료의 준비 및 저장조건

팜유는 산화방지제가 첨가되지 않은 제품으로 (주)농심으로부터 공급받아 사용하였다. 팜유는 1 kg씩 온도 조절기가 부착되고 teflon으로 coating된 fryer에서 150°C로 0, 1, 10 또는 20분동안 가열하였다. 가열된 기름은 30 mL씩 50 mL 시료병에 넣어져 teflon으로 coating된 septa와 aluminum cap을 사용하여 완전히 밀폐시켜 시료로 삼았다. 이때 동일한 조건에서 기름을 가열하여 시간과 시료준비를 위해 덜어낸 기름으로 인한 감소를 보충하였다. 준비된 시료는 4, 20, 또는 65°C항온기에서 각각 10일간 저장하였는데 이들에 한 번씩 취하여 산화안정성을 평가하였다. 모든 시료는 중복 실험을 할 수 있도록 준비하였다.

Corresponding author: Eunok Choe, Department of Food Science and Nutrition, The Inha University, 253 Yonghyundong, Nam-gu, Incheon 402-751, Korea

가열유의 산화 안정성 분석

가열유의 저장중 산화 안정성은 static headspace gas chromatography법에 의한 시료병의 headspace에서의 pentane, heptane, hexanal 및 total volatile 생성 및 튀김유의 과산화물가에 의해 평가되었다. 일정 기간이 경과한 시료는 2.5 mL gas tight syringe (Hamilton Co., Reno, U.S.A.)를 사용하여 headspace gas 2.5 mL를 정확히 취한 후 flame ionization detector를 내장한 Shimadzu GC R1A gas chromatograph (Shimadzu Co., Kyoto, Japan)에 주입시켰다. 이때 사용된 GC의 조건은 최 등의 방법⁽⁶⁾과 동일하였으며 기름에서의 volatile 생성 정도는 GC chromatogram의 각 봉우리 넓이를 GC에 연결된 적분기(Shimadzu RPR-G1 processor; Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용, electronic count로 나타내었다. 튀김유의 과산화물값은 AOCS법⁽⁷⁾에 의하여 결정하였다.

결과의 통계적 처리

얻어진 결과는 Duncan's multiple range test를 포함한 general linear models procedure를 이용하여 가열시간과 가열유의 저장온도가 가열된 팜유의 산화안정성에 미치는 개별 또는 상호 효과를 분석하였는데 이때 사용된 유의 수준은 5%이었다.

결과 및 고찰

가열시간이 저장중인 가열유의 산화안정성에 미치는 영향

0, 1, 10, 20분의 가열시간이 다른 팜유의 65°C 저장중 과산화물의 생성은 Fig. 1과 같다. 저장기간이 경과함에 따라 가열팜유의 과산화물 생성은 증가하였으며 저장 초기에 그 증가는 더욱 급격하였다. 또한 비가열 팜유는 가열팜유에 비해 과산화물생성이 적었으나 1, 10 또는 20분의 가열시간에 따른 과산화물의 생성은 큰 차이를 보이지 않았다. 저장 초기에 비가열팜유는 가열팜유에 비하여 과산화물 생성이 적은 경향을 보였으나 저장 후기로 갈수록 그 차이는 줄어들었다. 팜유의 이러한 경향은 가열된 우지가 비가열 우지에 비해 저장초기에 매우 안정하였으나 저장기간이 길어짐에 따라 그 차이가 줄어든 것과 매우 비슷하였다⁽⁶⁾.

한편 가열시간이 다른 팜유의 65°C 저장중 total volatile 생성은 Fig. 2와 같다. 비가열팜유에 비해서 가열 팜유가, 그리고 가열시간이 1분에서 10분, 다시 20분으로 증가할수록 total volatile의 생성이 많았다. 또한 가열시간이 증가할수록 저장중 volatile 생성의 변화가

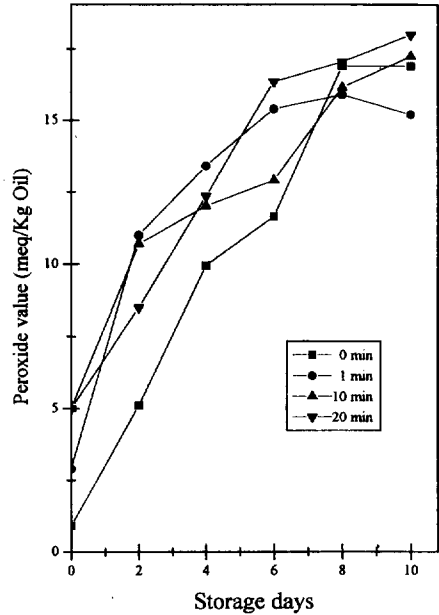


Fig. 1. Effects of heating time at 150°C on peroxide values of palm oil during storage at 65°C under dark.

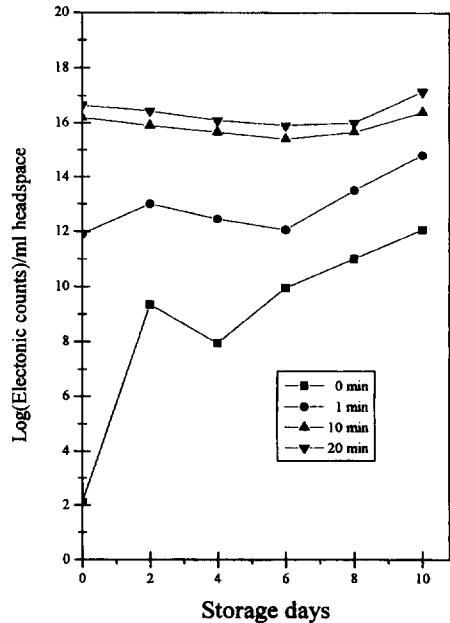


Fig. 2. Effects of heating time at 150°C on volatile formation in the headspace of palm oil during storage at 65°C under dark.

적었다. 4°C 또는 20°C에 저장되었던 팜유도 저장중 이와 동일한 경향을 보였으며 가열시간이 다른 팜유는 저장중 과산화물보다는 과산화물의 분해에서 유래

되는 volatile생성의 차이가 나타나 팜유의 경우 가열 과정중 과산화물의 생성속도에 비해 분해속도가 우세하다는 것을 암시한다.

저장온도가 저장중인 가열유의 산화안정성에 미치는 효과

150°C에서 10분간 가열한 팜유를 4, 20, 65°C로 저장하였을때 과산화물가의 변화는 Fig. 3과 같다. 65°C에 저장된 가열 팜유는 4°C 또는 20°C에 저장된 팜유에 비해 과산화물 생성이 많았으며 4°C 또는 20°C에 저장된 시료간에는 큰 차이를 찾을 수 없었다. 또한 동일한 시료의 저장중 total volatile 생성의 변화는 Fig. 4와 같다. 65°C에 저장한 시료에서의 total volatile의 생성은 4°C 또는 20°C 시료에 비해 많았으나 저장에 따라 total volatile의 생성도 감소하였다가 증가하는 경향을 보여주었다. 이것은 가열중 많이 생성되던 volatile이 낮은 온도에서 저장되는 동안 가열에 비해 과산화물의 분해 속도가 낮아지고 따라서 volatile의 양도 줄어든 것으로 보인다. 그러나 저장 4~6일을 지나면서 가열과정에서 기름에 생성된 고리화합물, 이합체 및 중합체 등의 2차 산화 및 분해에 의하여 저분자량의 volatile 생성^(%)이 다시 늘어난 것으로 생각된다. 이 경향은 1 또는 20분간 가열한 팜유에서도 비슷하였다.

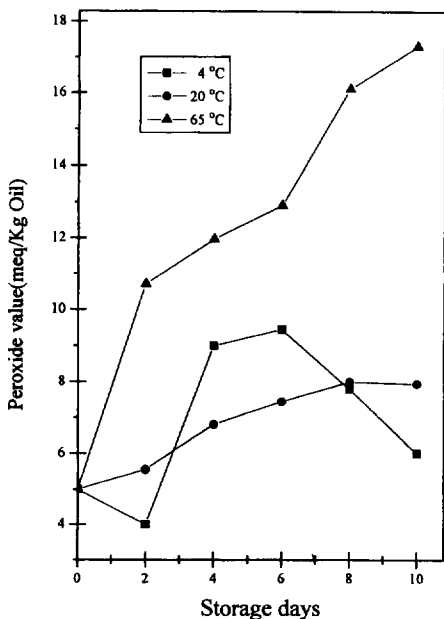


Fig. 3. Effects of storage temperature on peroxide values of palm oil heated at 150°C for 10 min.

가열시간 및 저장온도를 달리한 팜유의 저장중 과산화물 및 volatile 생성에 대한 평균값들을 Table 1에 나타내었다. 가열팜유와 비가열팜유사이의 과산화물의 생성은 사용된 3가지 저장온도에서 유의적인 차이를 나타내었으나(p<0.05) 가열시간에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다(p<0.05). 또한 동일한 열처리를 받은후 4 또는 20°C에 저장된 팜유는 과산화물 생성에 유의적인 차이를 보이지 않았으며 단지 65°C에 저장된 시료만이 유의적인 차이를 보였다. 특히 65°C에 저장된 가열팜유들은 이들보다 열처리 시간이 긴 4 또는 20°C에 저장된 시료보다 높은 과산화물 생성을 보여주고 있다.

Pentane, heptane, hexanal 및 total volatile의 생성은 모든 시료에서 매우 비슷한 양상을 보여 가열시간이 길수록 그 생성이 많았다. 또한 동일한 열처리를 받은 팜유는 4 또는 20°C에 저장되었을 때 volatile생성에 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 65°C에 저장되었을 때는 유의적으로 높은 값을 나타내었다(p<0.05). 이것은 저장중 가열팜유의 volatile 생성에 저장온도보다 가열시간이 더 큰 영향을 미치고 있음을 나타낸다.

위에서 보는 바와 같이 과산화물의 생성은 가열시간보다 저장온도에 따라, volatile 생성은 저장온도보다 가열시간에 따라 더욱 유의적으로 영향받고 있음

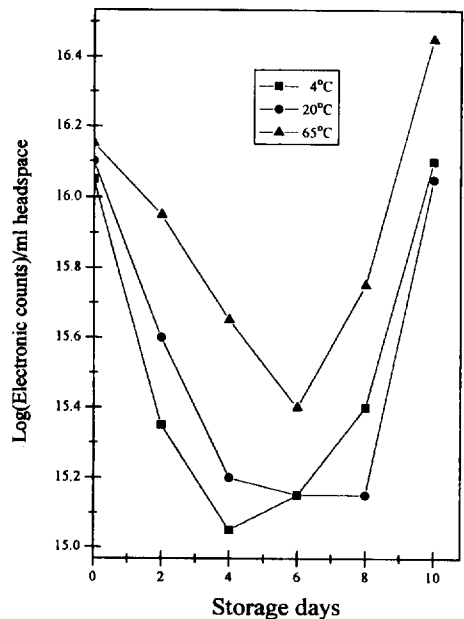


Fig. 4. Effects of storage temperature on volatile formation in the headspace of palm oil heated at 150°C for 10 min.

Table 1. Effects of heating time and storage temperature on the oxidative stabilities of headspace palm oil using Duncan's multiple range test

Heating Time (min.)	Storage Temp (°C)	Mean(electronic counts in GC chromatograms) ¹⁾				
		PV ²⁾	Pentane	Heptane	Hexanal	Total Volatiles
0	4	3.408 ^d	12756 ^c	4393 ^f	1167 ^g	20656 ^f
1	4	10.198 ^c	58041 ^d	13162 ^c	7589 ^f	81557 ^e
10	4	13.606 ^c	263037 ^c	21002 ^d	15070 ^f	291901 ^c
20	4	13.718 ^c	292586 ^b	30230 ^c	19201 ^{bcd}	343088 ^b
0	20	4.973 ^d	13568 ^c	5831 ^f	693 ^g	16611 ^f
1	20	13.769 ^c	56799 ^d	13765 ^c	8193 ^f	80449 ^e
10	20	13.547 ^c	256132 ^c	23308 ^d	15727 ^{de}	295627 ^c
20	20	14.394 ^c	294090 ^b	30600 ^c	19760 ^{bc}	345314 ^b
0	65	20.637 ^b	12110 ^f	13517 ^f	3998 ^g	36728 ^f
1	65	24.877 ^d	59324 ^d	31516 ^c	19005 ^{cd}	120118 ^d
10	65	24.656 ^d	269402 ^c	38076 ^b	22870 ^{ab}	352762 ^d
20	65	25.704 ^d	317908 ^d	45061 ^a	26151 ^a	396386 ^d

¹⁾Means with the same superscript letter are not significantly different ($p < 0.05$).

²⁾Peroxide value.

Table 2. Effects of heating time and storage temperature on the oxidative stabilities of heated palm oil by using General Linear Models Procedure

Source	Degree of Freedom	F-Values				
		PV ¹⁾	Pentane	Heptane	Hexanal	total volatiles
Heating time(H)	3	81.00***	5999.19***	406.75***	373.03***	3995.98***
Storage temp.(S)	2	410.48***	30.55***	262.34***	121.09***	101.87***
Days(D)	5	79.65***	87.75***	124.65***	59.61***	133.32***
H*S	6	4.47***	4.82***	3.84**	4.61***	3.98***
H*D	15	3.34***	30.01***	5.11***	4.46***	22.39***
S*D	10	27.74***	3.34***	41.52***	17.77***	7.89***
H*S*D	30	1.76*	1.06	1.22	1.27	1.43

¹⁾Peroxide value.

* $p < 0.05$.

** $p < 0.01$.

*** $p < 0.001$.

을 알 수 있다. 이것은 volatile이 기름의 산화과정중 생성된 과산화물의 분해에서 비롯됨을 고려할때 150°C에서 팜유를 가열하는 동안 과산화물의 분해가 생성에 비해 우세하며 가열후 저장하는 동안에는 그 반대현상이 일어남을 암시한다.

가열유의 저장중 산화 안정성에 미치는 가열시간과 저장온도의 상호효과

가열팜유의 과산화물 및 volatile생성에 미치는 가열 시간, 저장온도, 저장기간 및 이들의 상호효과는 Table 2에 나타나 있다. 가열시간, 저장온도 및 저장기간이 모두 가열팜유의 과산화물과 pentane, heptane, hexanal 및 total volatile 생성에 모두 유의적으로 영향

을 미치고 있음을 알 수 있다($p < 0.001$). 또한 과산화물 생성에는 저장온도가, volatile 생성에는 가열시간이 더욱 큰 영향을 주고 있음을 F값으로부터 보여주고 있으며 가열시간과 저장온도가 가열팜유에서의 과산화물과 volatile 생성에 유의적인 상호작용을 나타내고 있음을 보여주고 있다($p < 0.01$). 이것은 열처리를 받은 기름을 저장할 때 열처리 조건뿐 아니라 저장온도도 기름의 산화안정성을 결정하는 중요한 인자이며 튀김유의 저장성 산정에 두 인자를 모두 고려해야 함을 의미한다. 그러나 volatile 생성에 대한 가열시간, 저장온도와 저장기간의 3개 인자의 상호작용은 관찰되지 않았으며 단지 과산화물의 생성만 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

요 약

가열시간과 저장온도가 가열팜유의 산화안정성에 미치는 영향을 연구하였다. 팜유는 150°C에서 0, 1, 10 또는 20분동안 가열된 후 4, 20 또는 65°C에 넣어 저장하였다. 시료의 산화안정성은 저장중인 시료의 과산화물가와 시료의 headspace에서의 휘발성 물질의 양을 측정함으로써 평가되었다. 4 또는 20°C에 저장한 가열팜유와 65°C에 저장한 팜유는 과산화물과 휘발성 물질 생성에 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$). Pentane, hexanal, heptane과 total volatile은 가열시간이 증가함에 따라 많이 생성되었으나 저장온도는 유의적으로 그 생성에 영향을 미치지 못하였다. 이것은 가열팜유의 휘발성 물질의 생성에는 저장온도보다 가열시간이 더욱 중요한 역할을 수행함을 의미한다. 그러나 과산화물 생성에는 반대 결과가 관찰되었다. 또한 가열팜유의 산화안정성에 대한 가열시간과 저장온도의 상호효과도 관찰되었다.

감사의 글

본 연구는 1993년도 인하대학교 생활과학연구소 연구비 지급에 의해 수행된 연구 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Nawar, W.W.: Chemistry of thermal oxidation of lipids.

- In *Flavor Chemistry of Fats and Oils*. Min, D.B. and Smouse, T.H. (Ed.), American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, p.39 (1985)
2. Chang, S.S., Peterson, R.J. and Ho, C.-T.: Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **55**, 718 (1978)
 3. Yoon, S.H., Kim, S.K., Shin, M.G. and Kim, K.H.: Comparative study of physical methods for lipid oxidation measurement in oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **62**, 1487 (1985)
 4. 장영상, 이영수, 조경련, 이철원: 분광기를 이용한 가열 산화유지의 품질측정, *한국식품과학회지*, **26**, 655 (1994)
 5. Cuesta, C., Sanchez-Muniz, F.J., Garrido-Polonio, C. Lopez-Valera, S. and Arroyo, R.: Thermoxidative and hydrolytic changes in sunflower oil used in fryings with a fast turnover of fresh oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70**, 1069 (1993)
 6. 최은옥, 강우석, 장영상: 라면의 저장중 생성되는 Flavor 화합물의 종류 및 양적변화, *한국식품과학회지*, **25**, 52 (1993)
 7. AOCS: *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, 4th ed., American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, Cd 8-53 (1990)
 8. 최홍식, 권태완: 라면유지의 안정성에 관한 연구, 제2보 공장규모에서의 라면 frying유지의 성상변화, *한국식품과학회지*, **5**, 36 (1973)
 9. Nawar, W.W.: Chemistry of thermal oxidation of lipids. In *Flavor Chemistry of Fats and Oils*. Min, D.B. and Smouse, T.H. (Ed.), American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, p.56 (1985)

(1996년 12월 9일 접수)