

향신료 에탄올 추출물이 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum*과 *Leuconostoc mesenteroides*의 항균성에 미치는 영향

김옥미 · 김미경 · 이승연* · 이갑랑* · 김순동[†]

대구효성가톨릭대학교 식품공학과

*영남대학교 식품영양학과

Antimicrobial Effect of Ethanol Extracts from Spices against *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* Isolated from *Kimchi*

Ok-Mi Kim, Mee-Kyung Kim, Sung-On Lee*, Kap-Rang Lee* and Soon-Dong Kim[†]

Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungsan 713-702, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University Kyungsan 712-749, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate antimicrobial activities of ethanol extracts from 12 kinds of spices against *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* related to *kimchi* fermentation. Lactic acid bacteria were isolated from fermenting *kimchi*, which were identified as *Leu. mesenteroides*, *Lac. sake*, *Lac. plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*. The ethanol extracts of cardamon, thyme and cumin among 12 spices showed antimicrobial activities against *Lac. plantarum*, while they did not showed the activities against *Leu. mesenteroides* through paper disc method. In addition, the growth of *Lac. plantarum* was inhibited in MRS broth containing each of cardamon(>4%), thyme(>4%) and cumin(>1%).

Key words: *kimchi*, antimicrobial effect, spices

서 론

김치는 우리나라 고유의 젖산 발효식품으로서 독특한 맛과 영양이 우수하여 세계적 식품으로 각광받고 있다. 그러나 유통 중에도 숙성이 계속되어 가식기간이 짧은 문제점이 있어 이에 대한 연구가 우선적으로 필요한 실정이다. 김치 초기 숙성균으로는 주로 산 생성이 적은 *Leuconostoc mesenteroides* 등이 관여하고 김치의 산패현상은 산에 저항성이 높고 산 생성량이 많은 *Lactobacillus plantarum* 등의 젖산균이 관여하는 것으로 알려져 있다(1,2). 그러므로 김치가 젖산 발효를 일으키면서 가식기간을 늘이기 위해서는 가능한 산 생성량이 적은 젖산균의 번식에는 무관하면서 산 생성량이 많은 젖산균을 선택적으로 제어할 수 있는 항균제의 개발이 요구된다. 지금까지 김치의 보존성관련 미생물의 생육을 저해하는 일반적인 방법으로는 가열처리(3,4), 방사선조사(4,5), 방부제 첨가(6) 및 보존료 첨가(7) 등이 알

려져 있다. 그러나 이러한 방법들을 사용함으로써 발생하는 김치의 품질저하 및 경제성의 제한성 때문에 실용화되지 못하고 있는 실정이다. 대부분의 식품에는 보존성 증진 목적으로 화학합성품이 사용되고 있으나 소비자들의 건강에 대한 의식수준의 변화로 그 사용을 점차 기피하고 있는 추세이다. 최근 이러한 문제점을 해결하기 위하여 인체에 독성을 나타내지 않은 천연물질의 개발과 이용에 관한 연구(8-13)가 많이 보고되고 있으나 아직까지는 김치 고유의 품질과 맛을 유지하면서 저장성을 증진시킬 수 있는 실용적이고 무해한 기술이 개발되지 않고 있는 실정이다.

본 연구에서는 김치의 보존성 증진에 관한 연구의 일환으로서, 김치의 초기 숙성균인 *Leu. mesenteroides*의 생육에는 무관하면서 김치 산패의 주 원인균인 *Lac. plantarum*의 생육만을 선택적으로 저해시킬 수 있는 천연 항균성 물질 검색을 위해(14,15) 여러 종류의 향신료의 에탄올 추출물로부터 항균력을 조사하였다.

[†]To whom all correspondence should be addressed

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 향신료 출처는 Table 1과 같으며 10여종을 구입하여 사용하였다.

김치에서 젖산균의 분리 및 동정

젖산균의 분리는 가정에서 담근 김치 즙액을 분리원으로 사용하여 0.02% sodium azide를 함유한 MRS agar(1% pepton, 1% meat extract, 0.5% yeast extract, 2% glucose, 0.1% tween 80, 0.2% K₂HPO₄, 0.5% sodium acetate, 0.005% MnSO₄ · 4H₂O, 0.2% triammonium citrate, 1.5% agar)에 도말하여 37°C에 48시간 배양한 후 생성된 colony 중 특징적인 것을 선발하여 순수 분리하였다. 분리된 균주는 medical bacteria 동정을 위한 biochemical test(16,17)와 Bergey의 Systematic Bacteriology Manual(18)에 준하여 형태학적, 생리적 및 생화학적 특성을 조사하였다.

향신료 추출물 조제

항균력 측정을 위한 향신료의 추출(19,20)은 500ml 삼각플라스크에 100mesh 입도로 분말화한 각각의 향

신료 10g씩에 99.9% 에탄올 100ml를 넣고, 37°C shaking incubator에서 3일 동안 추출하였다. 추출액은 Whatman No. 50 여과지로 여과시킨 후 감압건조기를 사용하여 40°C에서 에탄올을 제거시켰으며 멸균증류수로 향신료의 최종농도를 40%되게 조절하여 사용하였다.

항균력 측정

항균력은 paper disc법(19-21)으로 측정하였다. 즉, MRS 액체배지에서 12시간 배양한 균주를 0.75% top agar에 2% 접종하여 MRS agar plate 위에 덮고, 추출물을 disc당 40% 향신료 추출액 5μl씩을 흡수시킨 후 건조시킨 paper disc(6mm)를 올려 놓은 다음 37°C에서 48시간 배양하였다. 항균력은 paper disc 주위에 inhibitory zone의 생성 유무와 크기로 측정하였다.

향신료 추출물의 농도별에 따른 항균검사

향신료 추출물의 농도별에 따른 젖산균의 생육에 미치는 효과를 측정하기 위하여 MRS 배지에 향신료 추출물을 각각 0, 1, 2 및 4% 되게 첨가하고 12시간 배양한 시험균을 접종하여 37°C에서 48시간 동안 배양하면서 6시간 간격으로 시료를 채취하였다. 경시적인 균의 생육은 600nm에서 흡광도로 측정하였다(20).

Table 1. List of spices used for antimicrobial experiment

Spices	Scientific name	Commercial name(Producing company)
Allspice	<i>Pimenta dioica</i> L. Merrill	Non-irradiated fresh flavor ground Allspice (Modern products, INC Milwaukee, WI 53209 USA)
Bay leaves	<i>Laurus nobilis</i> L	Whole Bay leaves(Naurel) (Ton's Des Moines, IA 50301 USA)
Cardamon	<i>Elettaria cardamomun</i> L. Maton	Non-irradiated fresh flavor Ground Cardamon (Modern products, INC Milwaukee, WI 53209 USA)
Cinnamon	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Nees	Ground Cinnamon (Ton's Des Moines, IA 50301 USA)
Cumin	<i>Cuminum cyminum</i> L.	Non-irradiated fresh flavor Whole cumin seed (Modern products, INC Milwaukee, WI 53209 USA)
Garlic	<i>Allium sativum</i> L.	Ground Garlic (Ton's Des Moines, IA 50301 USA)
Majoram	<i>Majoma hortensis</i> Moench	Non-irradiated fresh flavor Majoram (Modern products, INC Milwaukee, WI 53209 USA)
Mustard	<i>Brassica hirta</i> , Moensh	Non-irradiated fresh flavor Mustard (Modern products, INC Milwaukee, WI 53209 USA)
Onion	<i>Allium cepa</i> L.	Onion powder (Ton's Des Moines, IA 50301 USA)
Parsely	<i>Petroselinum crispum</i> Nym	Parsley Flakes (Ton's Des Moines, IA 50301 USA)
Tarragon	<i>Artemisia dracunculus</i> L.	Non-irradiated fresh flavor Tarragon (Modern products, INC Milwaukee, WI 53209 USA)
Thyme	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Non-irradiated fresh flavor Thyme (Modern products, INC Milwaukee, WI 53209 USA)

Table 2. Morphological and physiological characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi

Characteristics	Strain No.									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Morphology	Rod	Rod	Coccus	Rod	Coccus	Rod	Rod	Coccus	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
NH ₃ from arginine	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Growth at 15°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acid from										
Amygdalin	+	+	(+)	+	+	+	+	(+)	+	+
Arabinose	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gluconate	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	-	-	-	(+)	+	-
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	(+)	+	+	-	-	(+)	+	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	-	+	+	(+)	(+)	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Symbols: +, positive; (+), weakly positive; -, negative

결과 및 고찰

김치젖산균의 분리 및 동정

가정에서 담근 김치 즙액으로부터 분리한 젖산균 10 균주를 동정한 바 형태학적 및 생리학적 성질은 Table 2과 같고 이들은 각각 Table 3에서 보는 바와 같이 동정되었다. Strain No. 3, 8은 CO₂ gas와 dextran을 생성하고 arabinose를 이용하여 산을 생성하였으므로 *Leuconostoc*속 중 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *me-*

*senderoides*로 동정되었다.

Glucose로부터 CO₂ 가스를 생성하지 않고 arabinose, gluconate, melibiose로부터 산을 생성하는 균주 중 strain No. 1, 2, 4, 9는 mannitol과 sorbitol을 이용하여 산을 생성하였으므로 *Lactobacillus plantarum*으로, No. 6, 7, 10은 mannitol과 sorbitol를 이용하지 않았으므로 *Lactobacillus sake*로 각각 동정되었다. 또한 strain No. 5는 arginine으로부터 NH₃ 가스를 생성하고 당 이용성의 결과를 토대로 *Pediococcus pentosaceus*로 동정되었다. 항균력 시험에는 분리된 *Leu. mesenteroides* No. 3, 8과 *Lac. plantarum* No. 1, 9가 이용되었다.

Table 3. Identification of lactic acid bacteria isolated from kimchi

No.	Strain
1	<i>Lactobacillus plantarum</i>
2	<i>Lactobacillus plantarum</i>
3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
4	<i>Lactobacillus plantarum</i>
5	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
6	<i>Lactobacillus sake</i>
7	<i>Lactobacillus sake</i>
8	<i>Leuconostoc msenteroides</i>
9	<i>Lactobacillus plantarum</i>
10	<i>Lactobacillus sake</i>

항신료 추출물의 항균활성

김치의 좋은 맛을 오랫동안 유지하면서 보존성을 증진시키는 방안의 일환으로 김치의 초기 숙성균인 *Leu. mesenteroides*의 생육에는 무관하면서 김치의 산패에 관여하는 *Lac. plantarum*을 선택적으로 저해할 수 있는 항균제를 탐색하기 위하여 10여종의 항신료로부터 얻은 에탄올추출물의 항균효과를 조사하였다. Table 4에서 보는 바와 같이 *Lac. plantarum*에 대하여는 tarra-

gon, *Leu. mesenteroides*에 대하여는 cardamon, thyme 및 cumin을 제외한 나머지 향신료 추출물이 비교적 우수한 항균 효과를 나타내었다. 특히 cardamon, thyme

및 cumin의 에탄올 추출물은 *Leu. mesenteroides*에는 항균력을 나타내지 않았으나 *Lac. plantarum*에는 강한 항균력을 나타내었다(Fig. 1, 2, 3). 그러므로 이들 향신

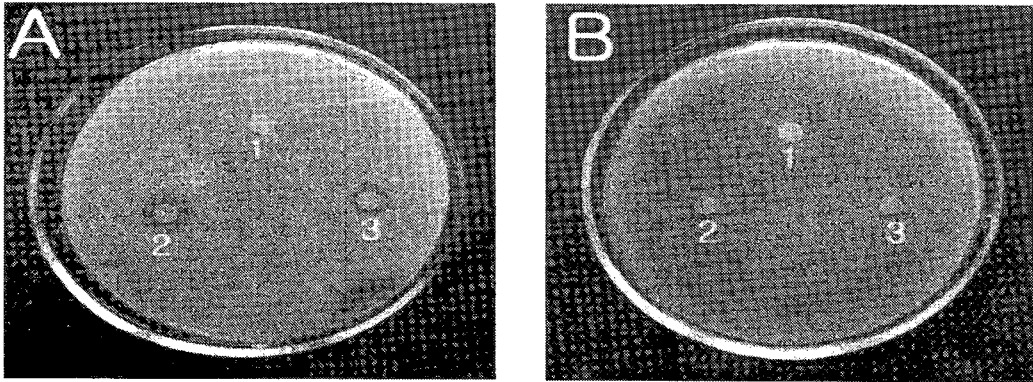


Fig. 1. Antimicrobial activities of cardamon extract against lactic acid bacteria isolated from *kimchi*. A: *Lac. plantarum*, B: *Leu. mesenteroides*. 1: control, 2 and 3: cardamon extract

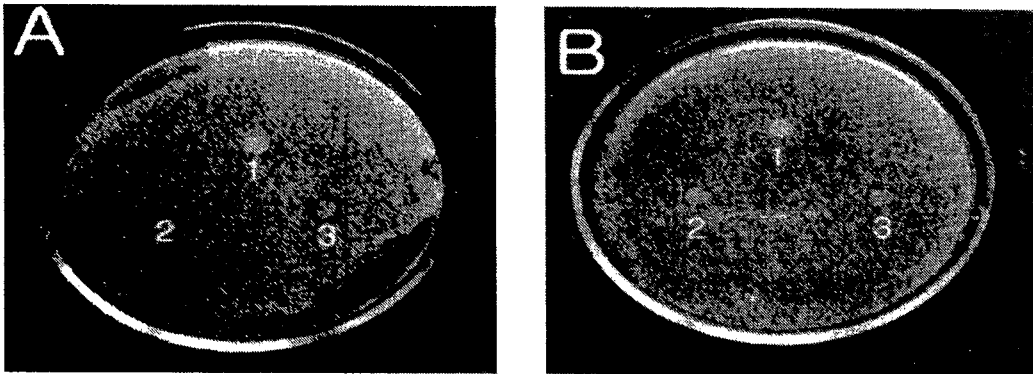


Fig. 2. Antimicrobial activities of thyme extract against lactic acid bacteria isolated from *kimchi*. A: *Lac. plantarum*, B: *Leu. mesenteroides*. 1: control, 2 and 3: thyme extract

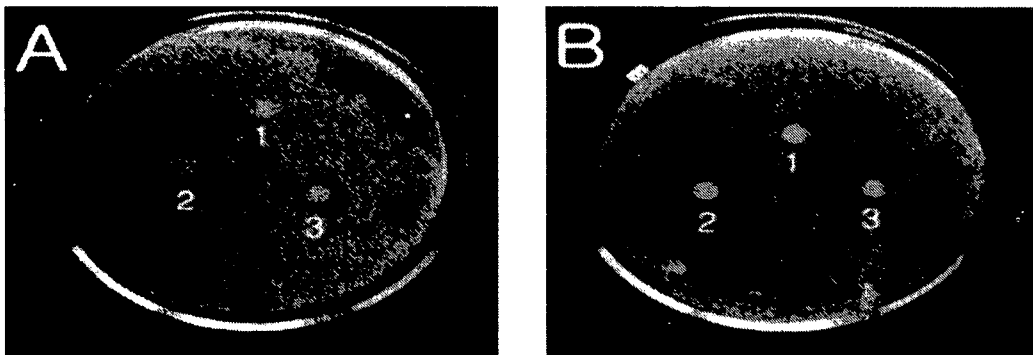


Fig. 3. Antimicrobial activities of cumin extract against lactic acid bacteria isolated from *kimchi*. A: *Lac. plantarum*, B: *Leu. mesenteroides*. 1: control, 2 and 3: cumin extract

Table 4. Antimicrobial effect of ethanol extracts of spices diameter of inhibitory zone(mm)

Spices	<i>Lac. plantarum</i>	<i>Leu. mesenteroides</i>
Allspice	9±0.41	8±0.32
Bay leaves	8±0.31	10±0.49
Cardamon	9±0.31	0
Cinnamon	12±0.57	9±0.42
Cumin	10±0.33	0
Garlic	10±0.44	11±0.58
Majorum	9±0.44	9±0.45
Mustard	7±0.28	8±0.33
Onion	9±0.36	9±0.41
Parsely	8±0.30	9±0.45
Tarragon	0	8±0.34
Thyme	8±0.50	0

Diameter of paper disc is 6mm.

료의 에탄올 추출물은 김치의 산패를 유도하는 원인균인 *Lac. plantarum*을 선택적으로 저해시키므로 김치의 보존성 증진을 위한 천연물질로서의 사용이 가능할 것으로 사료된다.

향신료 추출물의 농도별에 따른 항균효과

10여종의 향신료 에탄올 추출물 중에서 선별된 3가지 종류의 향신료, 즉 cardamon(CA), thyme(TH) 및 cumin(CU) 추출물의 농도별에 따른 항균활성을 조사하기 위하여 각각의 추출물을 0, 1, 2 및 4%되게 첨가한 MRS 배지에 12시간 배양한 *Lac. plantarum*(LP)과 *Leu. me-*

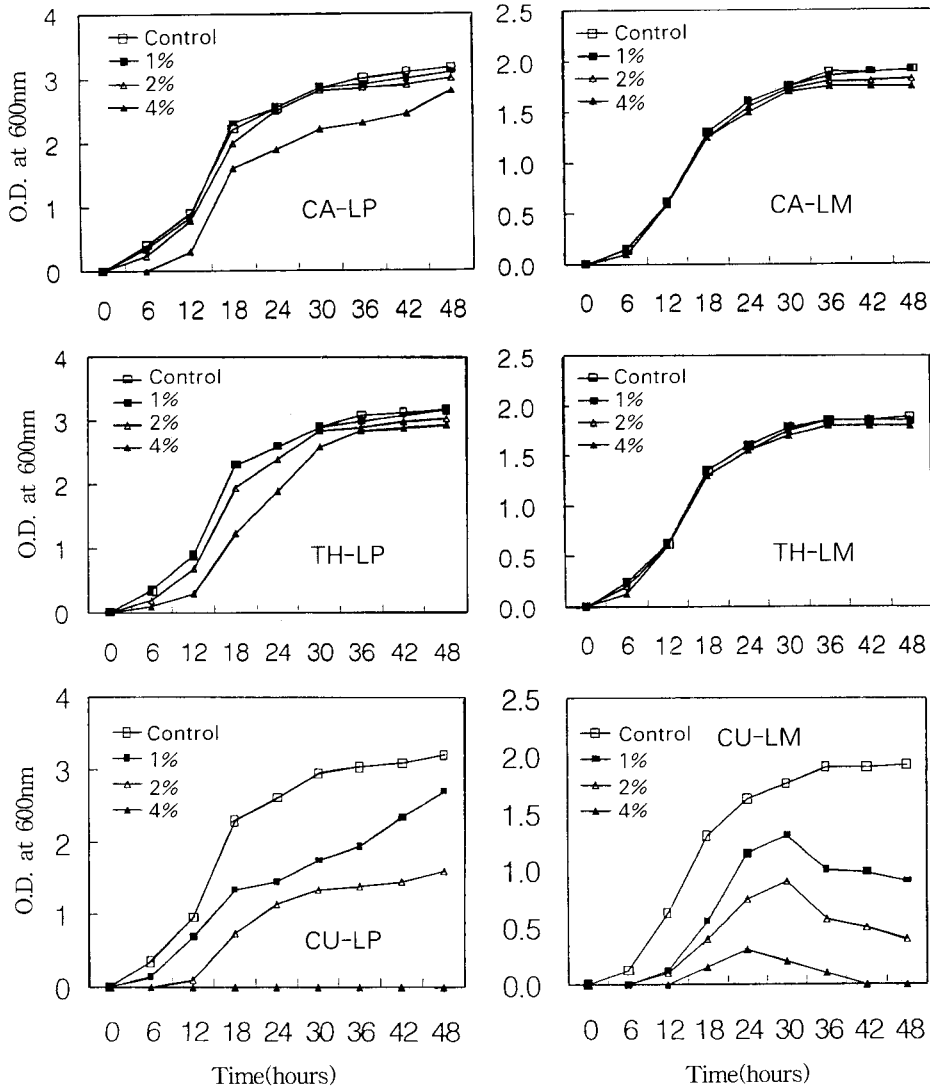


Fig. 4. Growth of *Lac. plantarum*(LA) and *Leu. mesenteroides*(LM) on MRS broth containing each of cardmon(CA), thyme(TH) and cumin(CU) ethanol extracts at 37°C.

senteroides(LM)를 각각 접종하여 균의 성장을 측정하였다(Fig. 4). Fig. 4의 CA-LP, CA-LM, TH-LP, TH-LM, CU-LP 및 CU-LM은 각각의 향신료 추출물의 농도별로 *Lac. plantarum*과 *Leu. mesenteroides*의 생육에 미치는 영향을 본 것으로 *Lac. plantarum*의 경우 cardamon과 thyme 추출물 각각을 1% 및 2% 첨가한 구에서는 균의 성장 억제현상이 거의 관찰되지 않았으나, 4% 첨가구에서는 뚜렷한 억제효과를 나타내었다.

그러나 *Leu. mesenteroides* 경우에는 4% 첨가구에서도 대조구와 비슷한 경향을 나타내었다. 이것은 cardamon 및 thyme 추출물이 4% 이상의 농도에서 김치 초기 숙성균인 *Leu. mesenteroides*에는 무관하면서 *Lac. plantarum*을 선택적으로 저해하는 때문으로 생각되며 이들 추출물은 김치 보존성에 실용적 가치가 있을 것으로 사료된다. 그러나 cumin 추출물에서는 1% 첨가구에서부터 *Leu. mesenteroides*와 *Lac. plantarum*에 대해 모두 강한 항균력을 나타내었으며, 특히 4% 첨가구에서는 *Lac. plantarum*의 성장을 완전히 억제하여 사멸현상을 초래하였다. 이것은 앞서 실험한 paper disc 법(19-21)에 의한 cumin 추출물의 항균력 측정의 결과와 상이하였다. 그러나 김치의 보존성 향상에 기여하는 것으로 알려져 있는 겨자유의 경우와 같이(22), 4% 이상의 cumin 추출물을 실제로 김치보존제로서 활용하는 경우에는 김치를 숙성시킨 직후 *Lac. plantarum*이 나타나기 전에 첨가함으로써 김치의 보존성을 높일 것으로 기대된다.

요 약

김치의 좋은 맛을 오랫동안 유지하면서 보존성을 증진시키는 방안의 일환으로 김치의 초기 숙성균인 *Leuconostoc mesenteroides*의 생육에는 무관하면서 김치의 산패에 관여하는 *Lactobacillus plantarum*을 선택적으로 저해할 수 있는 항균제를 탐색하기 위하여 김치로부터 젖산균을 분리, 동정하고 10여종의 향신료로부터 얻은 에탄올 추출물의 항균효과를 조사하였다. Paper disc법에 의한 향신료 추출물의 항균력을 측정한 결과 10여종의 향신료 추출물 중 cardamon, thyme 및 cumin의 에탄올 추출물이 김치 산패의 주 원인균인 *Lac. plantarum*을 선택적으로 저해시키는 항균효과를 나타내었다. 또한 cardamon, thyme 및 cumin 추출물의 농도별에 따른 항균활성을 조사한 결과 cardamon 및 thyme 추출물은 4% 이상의 농도에서, cumin 추출물은 1% 이상의 농도에서 항균효과를 나타내었으며, 이들의 추출물들은 김치보존성에 실용적인 가치가 있을 것으로 사료된다.

문 헌

1. 한홍의 : 김치의 유산균 형태. 미생물과 산업, 17, 68 (1991)
2. 민태익, 권태완 : 김치 발효에 미치는 온도 및 식염 농도의 영향. 한국식품과학회지, 16, 443(1984)
3. 강근옥, 구경형, 이형재, 김우정 : 효소 및 염의 첨가와 순간 열처리가 김치발효에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 23, 183(1991)
4. 변명우, 차보숙, 권중호, 조한옥, 김우정 : 김치의 숙성관련 주요 젖산균 살균에 대한 가열처리와 방사선조사의 병용효과. 한국식품과학회지, 21, 185(1989)
5. 차보숙, 김우정, 변명우, 권중호, 조한옥 : 김치의 저장성 연장을 위한 gamma선 조사. 한국식품과학회지, 21, 109 (1989)
6. 박경자, 우순자 : Na-acetate 및 K-sorbate가 김치 발효 중 pH, 산도 및 산미에 미치는 효과. 한국식품과학회지, 20, 40(1988)
7. 안숙자 : 김치에서 분리한 유산균의 생육에 미치는 식염과 식품보존료의 영향. 한국조리학회지, 4, 39(1988)
8. 김선재, 박근형 : 부추추출물의 김치발효 지연 및 관련 미생물의 증식억제. 한국식품과학회지, 27, 813(1995)
9. 정대균, 유리나 : 김치발효 미생물에 대한 대나무잎 추출물의 항균력. 한국식품과학회지, 27, 1035(1995)
10. 김선재, 박근형 : 식물성 김치재료 추출물의 항미생물 활성. 한국식품과학회지, 27, 216(1995)
11. 강성구, 성낙계, 김용두, 신수철, 서재신, 최갑성, 박석규 : 갓(*Brassica juncea*)추출물의 항균 활성 검색. 한국영양식량학회, 23, 1006(1994)
12. 윤석인, 박길동, 김영찬, 임영희, 이철 : 산초추출물과 겨자유를 첨가한 김치류의 보존 연장방법. 특허공보(B₁) 제1858호(1990)
13. 윤석인, 박길동, 김영찬, 임영희, 이철 : 계피유를 첨가한 김치류의 보존 연장방법. 특허공보(B₁) 제1766호(1990)
14. 신동화 : 천연 항균성 물질의 연구 현황과 식품 가공에의 이용. 식품과학과 산업, 23, 68(1995)
15. 신동화, 이병완 : 천연 식물성 항균성 물질의 검색과 그 특성에 관한 연구. 한국식품과학회지 제 45차 학술발표회 발표논문초록, p.25(1990)
16. Macfaddin, J. F. : *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. 2nd ed, Williams & Wilkins, USA, p.1105(1984)
17. Christine, L. C. and Johnson, T. R. : *Laboratory experiments in microbiology*. The Benjamin/Cummings publishing Company Inc., California, USA(1984)
18. Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holtt, J. G. : *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, Vol. 2(1986)
19. 이병완, 신동화 : 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, 23, 200(1991)
20. 이병완, 신동화 : 식품 부패미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균특성. 한국식품과학회지, 23, 205(1991)
21. Beuchat, L. R. and Brackett, R. E. : Inhibitory effects of raw carrots on *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 198(1990)
22. 홍완수, 윤선 : 열처리 및 겨자유의 첨가가 김치 발효에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 21, 331(1989)