

계피추출물의 부패미생물에 대한 항균특성과 식품보존효과

정은탁* · 박미연 · 이은우 · 박육연** · 장동석†

부경대학교 식품공학과
*(주) 동원산업 식품연구소
**강원전문대학 수산가공과

Antimicrobial Characteristics Against Spoilage Microorganisms and Food Preservative Effect of Cinnamon (*Cinnamomum cassia* Blume) Bark Extract

Eun-Tak Jeong*, Mi-Yeon Park, Eun-Woo Lee, Uk-Yeon Park,** and Dong-Suck Chang†

Department of Food Science and Technology, Pukyung National University, Pusan 608-737, Korea
*Research Center, Dongwon Industries Co., Ltd, 517-10, Dokokdong, Kangnamku, Seoul 135-270, Korea
**Department of Sea Food Processing, Kangwon Provincial College, Kangwon-do 210-800, Korea

Abstract

The development of natural food preservatives instead of chemical synthetic food preservatives is world wide interest. Authors already investigated that cinnamon bark extract revealed antimicrobial activity against general spoilage microorganisms of food especially its activity was stronger against molds than against bacteria.

In this paper, authors examined the microbial flora from the spoiled fish meat paste products and also checked the possibility of cinnamon bark extract food preservative for prolong the shelf life of the fish paste product and breads.

The predominant bacteria was *Bacillus* sp. as about 98% of the total microorganisms isolated from unpacked or packed spoiled fish meat paste products. While molds and yeast are not detected from the vacuum packed products. The MIC(minimum inhibitory concentration) of cinnamon bark extract against the isolated spoilage bacteria and molds was 160~640 μ g/ml and 40~80 μ g/ml, respectively.

When the diluted cinnamon bark extract (the extract : ethanol=1:3) was sprayed on the surface of fried fish meat paste product, molds growth was delayed by 2 days at room temperature. The shelf lifes of sandwich and glutinous-rice bread which surface sprayed with the diluted extract(1:1) was extended by 5 and 7 days, respectively.

Key words : Antimicrobial activity, Cinnamon bark extract, Food preservative

서 론

합성보존료의 잔류독성, 돌연변이 유발성, 발암성 등의

안전성 문제로 인해 천연보존료에 대한 소비자의 요구가 점점 더 높아짐에 따라서 각종 식품소재¹⁻⁶⁾, 미생물대사산 물⁷⁾, 각종 향신료의 추출성분⁸⁻¹⁰⁾, 페틴분해물¹¹⁻¹²⁾, 유기산

† Corresponding author

¹³⁻¹⁴⁾, 지방산¹⁵⁻¹⁶⁾, 각종 한약재¹⁷⁻¹⁹⁾ 등 천연소재를 보존료로 이용하고자 하는 연구가 국내외에서 활발히 진행되고 있다.

전보에서 저자 등은 계피의 *n*-hexan추출물이 미생물증식 억제능을 가지며, 특히 곰팡이류의 증식을 효과적으로 억제한다는 것을 보고하였다²⁰⁾.

본 연구에서는 곰팡이에 의한 피해가 큰 식품중의 하나인 어육연제품으로부터 부패미생물을 분리하고, 이들 미생물에 대한 계피추출물의 항균력을 재검토함과 동시에 실제로 어육연제품과 빵 등 곰팡이에 의한 피해가 큰 식품의 제조시 계피의 핵산추출물을 첨가하여 천연보존료로서의 이용 가능성을 검토한 결과를 보고한다.

자료 및 방법

부패어육연제품으로부터 미생물의 분리

시판되고 있는 어육연제품을 수집하여 30°C에서 7일간 방치하여 부패를 유도한 후 세균류 및 균류를 분리하였다²¹⁾. 미생물의 배양에 사용된 배지는 모두 Difco사(U.S.A) 제품을 사용하였으며 세균은 nutrient broth를 효모와 곰팡이는 YM broth 및 potato dextrose agar를 각각 사용하였다.

부패미생물에 대한 최소증식억제농도(Minimum Inhibitory Concentration)의 측정

부패미생물에 대한 계피추출물의 최소증식억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)의 측정은 Lorian의 방법²²⁾에 따라 액체배지 희석법(Broth dilution method)으로 측정하였다. 즉, Mueller Hinton broth 및 YM broth 9.8ml에 고형분 함량이 일정한 농도가 되도록 조제한 계피추출물의 회석액 0.1ml와 균배양액 0.1ml($10^5/\text{ml}$)씩을 접종하고 세균은 35°C에서 48시간, 효모는 30°C에서 48시간 배양한 후 흡광도(600nm)로 측정하므로써 증식억제에 필요한 최소증식억제농도를 구하였다.

포장 및 비포장 어육연제품에서의 보존효과 시험

실험에 사용된 흰살어묵의 조성을 Table 1에 나타내었다. 재료배합시에 계피추출물을 일정량 첨가하여 고기갈이, 성형, 포장, 가열, 냉각공정을 거쳐 시제품과 동일하게 제조

Table 1. Composition ratio of the fish meat paste products used in shelf life extretnion study

Frozen Alaska pollack meat paste	38.4%
Starch	15.2%
Sodium choride	1.4%
Egg white	4.7%
Soy protein	1.2%
Food additives, liquid	2.1%
Food additives, powder	1.6%
Water	35.4%

하였으며 계피추출물을 첨가하지 않은 대조구와 함께 25°C에서 저장하면서 생균수와 pH의 변화를 조사하였다.

한편, 포장직전의 판어묵을 구입하여 분무기를 이용하여 계피추출물을 어묵의 표면에 일정량 분사시킨 후 wrap으로 덮고 곰팡이 발육이 가장 잘 되는 25°C에 저장하면서 곰팡이 집락의 생성유무를 관찰하였다. 보존효과는 전체 시료처리제품에 대한 곰팡이 집락이 생성된 제품의 비로 나타내었다.

빵류에서의 보존효과 시험

식빵, 참쌀떡 등의 빵류의 제조시 1차발효시킨 밀가루 반죽에 계피추출물을 일정량 첨가하여 만든 것과 제품완성 후 포장직전의 제품에 계피추출물을 일정량 분사시킨 것의 2종류를 시료로하여 기존제품과 함께 25°C에 저장하면서 대조구(기존제품)와 비교하여 보존효과를 검토하였다.

결과 및 고찰

부패세균 및 균류에 대한 증식억제효과

시중으로부터 구입한 비포장어묵제품과 포장계맞살제품을 37°C에서 1주일이상 방치하여 완전부패시킨 후 세균 및 효모, 곰팡이를 분리·동정하였다(Table 2A, 2B). 두 시료 모두에서 *Bacillus* 속을 비롯한 세균이 약 98%로 가장 많이 검출되었다. 포장제품에서는 곰팡이가 검출되지 않았으나 비포장제품에서는 곰팡이류가 약 0.1% 검출이 되어 비포장제품에서는 곰팡이에 의한 부패도 상당히 있을 수 있음을 알 수 있었다.

Table 2A. Microbial distribution of spoiled fried fish meat paste(unpacked)

Microorganisms	Distribution (%)	Supposed genus
Bacteria		
Gram-positive cocci	27.7	<i>Streptococcus</i> sp.
rods	40.0	<i>Bacillus</i> sp.
Gram-negative cocci	—	
rods	30.7	<i>Enterobacter</i> sp.
Fungi		
Molds	0.07	<i>Aspergillus</i> sp.
		<i>Penicillium</i> sp.
Yeast	0.03	<i>Trichoderma</i> sp.
Non-identified microorganisms	1.5	

—, not detected

Table 2B. Microbial distribution of spoiled imitation crab meat(packed)

Microorganisms	Distribution (%)	Supposed genus
Bacteria		
Gram-positive cocci	—	
rods	6.4	<i>Corynebacterium</i> sp.
	72.7	<i>Bacillus</i> sp.
Gram-negative cocci	—	
rods	19.1	<i>Acinetobacter</i> sp.
Fungi		
Molds	—	
Yeast	—	
Non-identified microorganisms	1.8	

—, not detected

부패세균에 대한 계피추출물의 항균작용

부패된 어묵에서 분리된 세균과 곰팡이류를 대상으로 계피추출물의 최저증식억제농도(MIC)를 조사하였다(Table 3).

Table 3. Minimum inhibitory concentration(MIC) of cinnamon bark extract on the growth of various microorganisms isolated from spoiled fish meat paste

	Tested organisms	MIC(µg/disk)
Bacteria	<i>Bacillus</i> sp. B9	320
	<i>Bacillus</i> sp. B26	160
	<i>Bacillus</i> sp. B41	160
	<i>Corynebacterium</i> sp. B15	160
	<i>Acinetobacter</i> sp. B47	320
Molds	<i>Penicillium</i> sp. M1	80
	<i>Aspergillus</i> sp. M5	40
	<i>Penicillium</i> sp. M14	40
	<i>Aspergillus</i> sp. M15	80
	<i>Penicillium</i> sp. M16	40
	<i>Aspergillus</i> sp. M21	40

Antimicrobial activities were measured as broth dilution method.

B and M mean bacteria and molds isolated from spoiled fish meat paste, respectively.

세균류에 대한 최저증식억제농도는 160~640µg/ml으로 균종에 따라 차이가 있었으며, 곰팡이류에 대하여는 40~80µg/ml로 나타났다. 이와 같은 결과는 표준균주를 공시 균으로 사용한 저자 등(Jeong 등, 1998)의 결과, 즉 세균에 대하여는 320~640µg/ml, 그리고 *Aspergillus oryzae* ATCC 11489와 *Penicillium funiculosum* ATCC 9644에 대하여는 40µg/ml의 농도로 증식이 억제되었다는 결과와 거의 일치하였다. 따라서 계피추출물은 곰팡이에 의한 부패가 문제시되는 식품에 아주 효과적일 것이라는 사실을 확인할 수 있었다.

포장흰살어묵제품과 비포장튀김어묵의 보존기간 연장 효과

어묵제품은 제품의 탄력특성을 유지하기 위하여 100°C 이상의 가열은 어려운 실정이므로 본 계피추출물을 원료배합시 또는 제품표면에 분무하는 방법으로 보존기간을 연장하기 위한 시도를 하였다.

흰살어묵제품의 원료배합시 계피추출물을 전체중량에 대하여 0.5% 첨가한 것과 무첨가구(대조구)를 25°C에 2주간

저장하면서 생균수의 변화를 조사하였다(Fig. 1). 어묵에서 생균수가 약 10^5 /mg이상 나타날 때를 초기부패로 보았을 때 대조구는 저장 4일째 초기부패가 시작되었으며, 계피추출물을 0.5% 첨가한 실험구에서는 저장 6일째 초기부패가 시작되어 보존기간이 대조구에 비해 2일 정도 연장되었다.

그러나 계피특유의 향과 뛰은 맛이 감지되어, 어묵에 산업적으로 이용하기 위해서는 이와 같은 문제점을 해결해야 할 것으로 생각되었다.

한편, 어묵제조공정 중에 첨가하지 않고 포장직전의 완제품에 무수 ethanol과 계피추출물을 1:1, 1:3, 1:5의 비율로 혼합하여 만든 제품 그리고 무수 ethanol만을 분무처리한 제품과 아무런 분무처리를 하지 않은 2종류의 대조구를 만들어 25°C에 저장하면서 제품 표면의 곰팡이 증식 유무를 육안으로 조사하였다(Table 4).

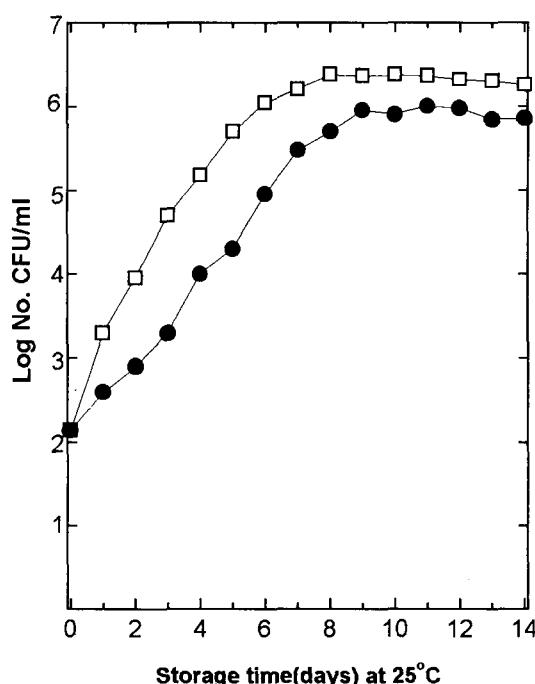


Fig. 1. Change of the viable cell counts of imitation crab meat containing cinnamon bark extract during the storage period at 25°C.

□ : control, ● : added 0.5% cinnamon bark extract

아무런 분무처리를 하지 않은 경우는 저장 2일째에 곰팡이의 집락이 관찰되었으며 무수 ethanol을 처리한 제품은 하루가 더 연장된 3일째에 관찰되었다. 그러나 계피추출물(1:3)을 분무처리한 제품은 분무처리를 하지 않은 것에 비해 보존기간이 2일 더 연장되었다.

이상의 결과로 볼 때 계피추출물을 어묵제품의 표면에 분사하므로써 곰팡이의 증식을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

빵의 보존기간 연장효과

일반 시중에서 판매되고 있는 식빵, 합쌀떡 등의 제빵류는 합성보존료를 처리하지 않는 것이 관례화되어 있어 유통기간이 상당히 짧다. 따라서 단 하루라도 보존기간을 연장하게 되면 경제적으로 큰 이익을 가져올 수 있다.

1차발효가 끝난 반죽에 계피추출물을 혼합반죽하여 만든 제품과 첨가하지 않은 대조구를 25°C에서 저장하면서 균의 증식유무를 조사한 결과 대조구에 비해서 보존기간이 5일 이상 연장되었으나 효모의 증식 자체도 억제되어 빵의 크기가 대조구에 비해 약 1/3정도로 감소하여 빵의 texture에 좋지 못한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다(data is not

Table 4. Comparison of spoilage pattern of fried fish meat paste sprayed with different concentration of cinnamon bark extract during the storage period at 25°C

Treatment	days	Spoilage ratio					
		0	1	2	3	4	5
A	0 ^{a)} /10 ^{b)}	0/10	0/10	2/10	2/10	5/10	6/10
B	0/10	0/10	0/10	0/10	2/10	4/10	6/10
C	0/10	0/10	0/10	3/10	4/10	5/10	8/10
D	0/10	0/10	0/10	2/10	4/10	7/10	9/10
E	0/10	0/10	3/10	6/10	8/10	10/10	10/10

^{a)}No. of molded samples

^{b)}No. of tested samples

A, Cinnamon extract : 95% Ethanol=1:1

B, Cinnamon extract : 95% Ethanol=1:3

C, Cinnamon extract : 95% Ethanol=1:5

D, 95% Ethanol

E, No spray

Each additive was sprayed on the surface of the fried fish meat paste.

shown).

그래서 샌드위치와 참쌀떡에 대해 토김어묵의 경우와 마찬가지로 포장직전의 제품에 계피추출물과 무수 ethanol을 1:1로 혼합한 것을 분무처리하여 25°C에 저장하면서 전체시료갯수에 대해 곰팡이의 증식이 일어난 시료갯수(곰팡이가 증식한 시료의 수/전체시료의 수)로 부패정도를 표시하였다. 샌드위치는 대조구에 비해 보존기간이 5일이상 연장되었으며 참쌀떡 제품은 7일 이상 연장되어 어묵보다 빵류에 대한 보존효과가 큰 것으로 나타났다(Table 5, 6).

특히, 계피고유의 색깔은 갈색화반응의 대표적인 식품인 빵류에서는 문제가 되지 않았으며 어묵에서와 마찬가지로 계피향은 여전히 포장제품안에서 느낄 수 있었으나 오히려 빵류에 신선함을 더해 주어 관능적 첨가물로서의 효과도 얻을 수 있었다.

이상의 결과로 볼 때 계피추출물의 곰팡이증식억제효과는 제조공정시 첨가하면 제품의 성상에 영향을 주지만 포장직전의 제품에 분무처리하므로서 호기성세균과 곰팡이

의 증식을 효과적으로 억제할 수 있어 산업적으로 아주 유용할 것으로 사료된다.

요 약

- 포장 또는 비포장의 부패된 어육연제품에서 분리된 미생물의 대부분(약 98%)은 *Bacillus*속을 비롯한 세균류였다. 특히 비포장어묵제품에서는 곰팡이도 약 0.1% 검출되었다. 이를 부패미생물에 대한 계피추출물의 최저증식억제농도는 세균과 곰팡이에 대하여 각각 160~640µg/ml과 40~80µg/ml로 나타났다.

- 흰살어묵의 원료 배합시 계피추출물을 0.5% 첨가하면 첨가하지 않은 것에 비하여 25°C에서 보존기간이 2일 연장되었다. 또한, 계피추출물과 ethanol을 1:3으로 혼합한 액을 토김어묵표면에 분무한 것은 ethanol만 분무한 대조구에 비하여 곰팡이 발육이 2일간 지연되었다.

- 샌드위치와 참쌀떡의 표면에 계피추출물과 ethanol을

Table 5. Comparison of spoilage pattern of sandwich sprayed with cinnamon bark extract during the storage period at 25°C

storage time(days)	Spoilage ratio									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sprayed	-	-	-	-	-	-	-	1 ^{a)} /5 ^{b)}	3/5	3/5
Control	-	-	3/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

The n-bexane fraction was sprayed on the surface of the sandwich.

n-hexane fraction : 95% ethanol=1:1

^{a)}No. of molded samples

^{b)}No. of tested samples

-, No growth

Table 6. Comparison of spoilage pattern of Glutinous-rice bread sprayed with cinnamon bark extract during the storage period at 25°C

storage time(days)	Spoilage ratio									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sprayed	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3 ^{a)} /5 ^{b)}
Control	-	-	3/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

The n-bexane fraction was sprayed on the surface of the Glutinous-rice bread.

n-hexane fraction : 95% ethanol=1:1

^{a)}No. of molded samples

^{b)}No. of tested samples

-, No growth

1 : 1 비율로 혼합한 액을 분무하여 25°C에서 저장하면 곰팡이 발육이 대조구에 비하여 보존기간이 각각 5일과 7일 정도 연장되었다.

참 고 문 헌

- Hughey, V. and Johanson, E. A. : Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53d(9), 2165–2170(1987)
- 能勢征子, 平田一郎, 新井揮義, 西島基弘, 坂井千三, 宮崎利夫 : 民間傳承薬梅肉エキスの腸炎ビブリオに對する抗菌作用及びその有機酸組成, 食衛誌, 29(6), 402–407(1988)
- Beuchat, L. R. and Golden, D. A. : Antimicrobials occurring naturally in foods, *Food Technol.*, 43, 134–142(1989)
- Denis, F. and Ramet, J. P. : Antibacterial activity of the lactoperoxidase system on *Listeria monocytogenes* in trypticase soy broth, UHT milk and french soft cheese, *J. Food Protect.*, 52(10), 706–711(1989)
- 신현경, 신옥호, 구영조 : 감자 단백질이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 영향, 한국산업미생물 학회지, 20(3), 249–256(1992)
- Kyung, K. H. and Fleming, H. P. : Antibacterial activity of cabbage juice against lactic acid bacteria, *J. Food Sci.*, 59(1), 125–129(1994)
- Ralph, W. J., Tagg, J. R. and Ray, B. : Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria, *Microbiol. Rev.*, 59(2), 171–200(1995)
- Yoshida, S., Kasuga, S., Hayashi, N., Ushiroguchi, T., Matusuura, H. and Nakagawa, S. : Antimicrobial activity of ajoene derived from garlic, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(3), 615–617(1987)
- Karapinar, M. : Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*, *International J. Food Microbiol.*, 10, 193–200(1990).
- 佐藤昭子, 寺尾通徳, 石橋美也子 : 魚肉中の腸炎に及ぼすニンニク抽出液の抗菌作用, 食衛誌, 34, 63–67(1993)
- 草地道一 and Petit R. : ベクチンの加工食品への應用, *New Food Industry*, 28(4), 27–36(1986)
- 박미연, 최승태, 장동석 : 페틴분해물의 항균특성과 식품보존효과, 한국식품위생안전성학회지, 13(2), 99–105(1998)
- 渡邊昭宣 : 米飯の腐敗および食中毒防止対策とそれ有機酸の効果, *New Food Industry*, 35(1), 65–78(1993)
- Bizri, J. N. and Wahem, I. A. : Citric acid and antimicrobials affect microbiological stability and quality of tomato juice, *J. Food Sci.*, 59(1), 130–134(1994)
- Wang, L. L. and Johnson, E. A. : Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(2), 624–629(1992)
- Wang, L. L., Yong, B. K., Parkin, K. L. and Johnson, E. A. : Inhibition of *Listeria monocytogenes* by monoacyl-glycerols synthesized from coconut oil and milkfat by lipase-catalyzed glycerolysis, *J. Agric. Food Chem.*, 41(6), 1000–1005(1993)
- 이병환, 신동화 : 식품부패미생물의 증식을 억제하는 천연항균성물질의 검색, 한국식품과학학회지, 23(2), 200–204(1991)
- 박옥연, 장동석, 조학래 : 한약재추출물의 항균효과 검색, 한국영양식량학회지, 21(1), 91–96(1992)
- 박옥연, 김신희, 김지희, 김용관, 장동석 : 상백피 추출물로부터 항균성 물질의 분리 정제, 한국식품위생·안전성학회지, 10(4), 225–230(1995)
- 정은탁, 박미연, 이종갑, 장동석 : 계피추출물의 항균작용과 항돌연변이원성, 한국식품위생안전성학회지, 투고 중
- Food and Drug Administration : Bacteriological analytical manual, 7th ed. AOAC Arington, VA. U.S.A. (1992)
- Lorian, V. : Antibiotics in laboratory medicine, pp. 53-100, Williams & Wilkins, U.S.A.(1991)