

## 소목(*Caesalpina sappan* L.)추출물의 항균성과 분쇄육의 저장에 미치는 영향

이신호<sup>†</sup> · 문원석 · 박경남

대구가톨릭대학교 식품공학과

### Antimicrobial Activity of *Caesalpina sappan* L. Extracts and Its Effect on Preservation of Ground Meats

Shin-Ho Lee<sup>†</sup>, Won-Suk Moon and Kyung-Nam Park

Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-720, Korea

#### Abstract

Antimicrobial activity of *Caesalpina sappan* L. extract (CS extract) against 6 kinds of food spoilage and pathogenic organisms was studied. The growth of *Listeria monocytogenes* Brie 1, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Staphylococcus aureus* ATCC 11775, and *Pseudomonas fluorescens* ATCC 11775 was inhibited about 4 to 5 log<sub>10</sub> cycle in Tryptic Soy Broth (TSB) containing 1% CS extract. *Bacillus subtilis* KCTC 102 and *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 did not show apparent growth in the same medium. Effect of CS extract on preservation of ground meat was also investigated. The range of pH change was 5.0~5.2 in CS extract added ground meat, 5.2~6.0 in CS extract not added ground meat (control) during storage at 4°C for 30 days. Number of total bacteria after 15 days storage was 10<sup>5</sup>/g in CS extract added ground meat, 10<sup>3</sup>/g in control. Redness of ground meats was improved significantly by addition of 1% CS extract during storage at 4°C for 30 days. The sensory quality of 1% CS extract added hamburger patty was similar to that of the control in taste, flavor, and overall acceptability.

Key word: *Caesalpina sappan* L., antimicrobial activity, ground meat, presevation, hamburger patty

#### 서 론

육은 풍부한 영양소와 수분을 함유하고 있어 저온 유통과정 중에도 부주의하게 취급할 경우 미생물 성장에 의해 부패가 쉽게 일어날 수 있다(1). 육의 부패를 자연시키기 위한 방법으로 소금이나 생강, 마늘, cinnamon 등의 각종 향신료들을 사용하여 왔으나, 최근에는 acetic acid, benzoic acid, sorbic acid 등의 보존제를 사용하거나, 방사선을 사용하고 있다(2). 최근에는 여러가지 육제품에서 식품 부패균과 식중독 원인균이 분리되고 있어, 미생물에 의한 오염현상은 식품위생상 세계적인 문제로 대두되고 있다(3). 최근 생활수준의 향상에 따라 인공합성 보존제를 기피하고, 새로운 천연 자원식품의 개발에 대한 요구가 점차 증가함에 따라 인체에 무해한 보존료 개발을 위해 천연물에서의 항균성 물질의 검색과 식품에의 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다(4,5). 소목(*Caesalpina sappan* L.)은 정유와 brazillin<sup>o</sup> 주요 성분이며(6) 부인과의 혈기병 폐경증 등과 중추신경 억제에 효능을 가지는 콩과에 속하는 목류 한약재이다(7). 본 연구는 천연물인 소목추출물을 이용하여 식품의 부패 및

식중독을 유발하는 미생물 6균주에 대한 항균활성을 검토한 다음 식품 보존제로서의 가능성을 검토하고자 최근 소비가 급증하는 패스트 푸드의 주원료인 분쇄육의 저장성에 미치는 효과를 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 공식 재료 및 추출

대구 약전 골목에서 구입한 건조상태의 소목(*Caesalpina sappan* L.)을 수세 후 건조시킨 다음 95%의 ethanol을 소목무게의 10배 첨가하여 24시간동안 상온에서 추출하였다. 추출 후 감압증발농축기(WB 2000, Heidolph, Germany)에서 1/10로 농축하여 membrane filter로 세균한 후 추출원액으로 사용하였다.

##### 사용균주 및 배지

소목추출물의 항균성을 측정하기 위하여 *Bacillus subtilis* KCTC1021, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Staphylococcus aureus*

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

ATCC 29737, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 21541, *Listeria monocytogenes* Brie I 등의 6 균주를 Tryptic Soy Agar(TSA; Difco Laboratories, Detroit, USA) slant에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 냉장 보관하면서 사용하였다.

#### 항균활성의 측정

Paper disc method(8)를 사용하여 소목 추출물의 공시 균주에 대한 항균활성 유무를 검사하였다. Clear zone을 형성한 균주에 대한 성장억제도는 소목 추출물을 0.5%, 1%를 각각 첨가한 Tryptic Soy Broth에 24시간 배양한 균주를 0.1%접종하여 37°C에서 12시간 배양한 후, 0.1% peptone 용액을 회석액으로 사용하여 적정 회석한 후 TSA에 접종하여 37°C에서 24시간 배양 후 나타난 colony수를 계측하여 대조구와 비교하였다.

#### 분쇄육 제조와 저장성 검사

돈육을 meat chopper(D5810, Scharfen, Germany)로 세절하여 소목 추출물 1%를 신선한 분쇄육과 혼합한 후 소시지 케이싱에 충진 후 4°C에 30일간 저장하면서 5일 간격으로 시료를 채취하여 이화학적, 미생물학적 검사를 실시하였다.

#### pH 측정

분쇄육 10g에 증류수 30mL를 가하여 Ace homogenizer(AM12, Nissei, Japan)로 9000 rpm에서 2분간 균질시킨 후 증류수를 가하여 100mL로 맞춘 용액을 pH meter (ion analyzer 150, Corning, USA)로 측정하였다.

#### 미생물 변화

시료 1g을 0.1% peptone 용액에 취하여 교반한 다음 적정 회석한 후 총균수는 plate count agar(Difco), 대장

균수는 violet red bile agar(Difco)에 접종하여 37°C에서 24시간동안 배양 후 나타난 colony수를 계측하여 대조구와 비교하였다.

#### 색상변화

분쇄육 표면을 색차계(CR 200, Minolta, Japan)로 3회 반복 측정하여 평균값을 구하였으며, 측정값은 lightness 와 redness로 나타내었고 이때의 표준판을 Y=94.5, a=0.3132, y=0.3203의 백색 calibration plate를 사용하였다.

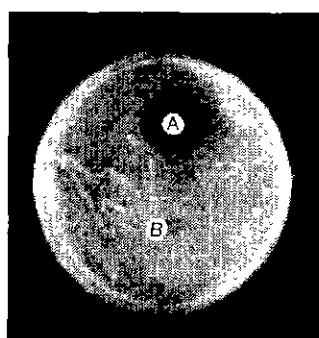
#### 기호성검사

돈육 분쇄육에 소목 추출물 1%, 3%를 각각 첨가하여 hamburger patly를 제조하여 조리 한 후 선발된 편능요원 10명을 대상으로 맛, 향, 종합적 기호도에 대해 5점 척도법으로 편능검사를 실시하여 대조구와 비교하였으며 Statistical Analysis System(SAS) Package(9)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 검정하였다.

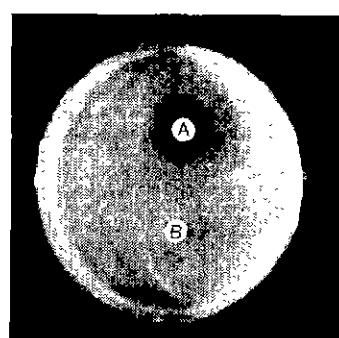
#### 결과 및 고찰

##### 소목의 항균활성 및 공시 균주의 성장에 미치는 효과

소목 추출물의 공시 균주에 대한 항균활성 검색을 clear zone 생성 유무로 판찰한 결과 공시 균주에 대해 뚜렷한 clear zone이 생성되어 항균활성이 있는 것으로 판단되었다(Fig. 1). 항균 활성이 확인된 소목 추출물의 공시 균주에 대한 성장 억제 효과를 검토하기 위하여 소목 추출물 첨가 농도에 따른 성장 억제도를 측정한 결과 소목 추출물 1% 첨가구의 경우 소목 추출물 0.5% 첨가구에 비해 다소 높은 성장 억제도를 나타내었다. 특히, *B. subtilis* KCTC 1021, *V. parahaemolyticus* ATCC 17802은 소목추출물 1% 첨가구의 경우 배양 12시간동안 성장을 거의 관



I



II

Fig. 1. Antimicrobial activity of *Caesalpina sappan* L. extracts against *Listeria monocytogenes* Brie I and *Staphylococcus aureus* ATCC 29737.

A : *Caesalpina sappan* L, B : Control (ethanol)

I . *L. monocytogenes* Brie I, II . *S. aureus* ATCC 29737

찰할 수 없었으며, 그외 *L. monocytogenes* Brie 1, *E. coli* ATCC 11775, *S. aureus* ATCC 11775, *P. fluorescens* ATCC 11775 등은 1% 소목추출물 첨가에 의해 4~5 log<sub>10</sub> cycle 성장 억제 현상을 나타내었다(Table 1). 이러한 결과는 shin 등(10)의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 소목 추출물이 *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. fluorescens*, *B. cereus*에 대해 성장억제효과가 있다는 보고(10)는 있으나 *E. coli*, *B. subtilis*, *V. parahaemolyticus*에 대한 연구는 보고된 바 없으며. 그외 김치 유산균에 대한 항균활성이 보고(11,12)된 바 있다. 본 실험에서 나타난 소목 추출물의 항균성으로 보아 식품의 보존제로서 사용이 가능할 것으로 판단되었다. 식품의 보존제는 사용하는 식품자체의 기호성 저하를 초래하지 않아야 하므로 신중하게 선택하여야 한다. 그러므로 소목 추출물을 마늘, 후추 등 다양한 향신료를 첨가하여 제조하는 분쇄육제품의 보존제로 사용가능성을 검토하기 위하여 제품의 원료로 사용되는 분쇄육의 저장성과에 미치는 효과를 검토하였다.

#### 소목추출물 첨가가 분쇄육의 저장성에 미치는 효과

##### pH의 변화

분쇄육에 소목 추출물 1%를 첨가하여 4°C에서 30일간 저장 중 분쇄육의 pH 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 저장기간 30일 동안 소목 추출물 첨가구의 경우 대조구에 비해 pH의 변화가 완만한 경향을 나타내었다. 대조구의 경우 저장기간 동안 pH 5.2에서 6.0으로 변화하였

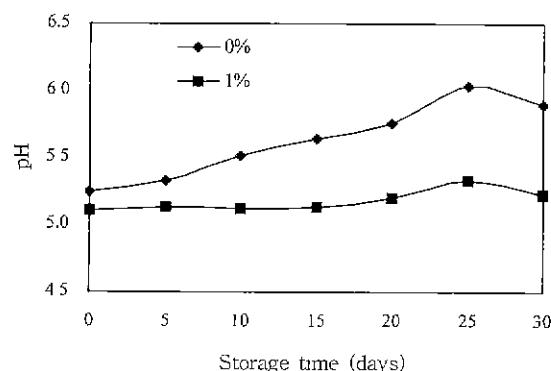


Fig. 2. Effect of *Caesalpina sappan* L. extracts on pH change of ground meats during storage at 4°C for 30 days.

으나, 소목 첨가구의 경우 pH 5.0~5.2의 범위를 유지하였다 육은 미생물의 성장에 따라 단백질의 분해가 일어나며. 단백질 분해시 생성되는 암모니아와 암모늄염 등에 의해 육의 pH는 높아지고 더욱 진행되면 이미와 이취도 발생하게 된다(13). 소목 추출물 1% 첨가구의 완만한 pH 변화는 소목 첨가에 의해 미생물의 성장이 억제되고, 그 결과 수반되는 단백질 분해의 지연에 따른 분해생성물이 생성되지 않은 현상에 기인된 것으로 사료되었다

##### 미생물의 변화

소목 추출물을 첨가한 분쇄육의 저장 중의 미생물의 변화는 Fig. 3, 4와 같다 일반적으로 호기적 상태로 저장하는 육의 경우 총균수가 10<sup>7</sup>/g에 도달하면 관능적으로

Table 1. Antimicrobial activity of *Caesalpina sappan* L. extract against various organisms in TSA at 37°C for 12 h

Strains	Incubation time (hrs)	<i>Caesalpina sappan</i> L. (%)		
		0	0.5	1
<i>L. monocytogenes</i> Brie I	0	4.47 <sup>1)</sup>	3.59	3.55
	12	9.45	4.11 (5.34) <sup>2)</sup>	3.60 (5.24)
<i>E. coli</i> ATCC 11775	0	4.13	4.00	3.84
	12	9.10	6.82 (2.28)	4.77 (4.33)
<i>S. aureus</i> ATCC 29737	0	4.92	3.90	4.39
	12	9.15	6.71 (2.44)	4.47 (4.68)
<i>P. fluorescens</i> ATCC 11775	0	4.49	3.89	3.85
	12	8.90	5.92 (2.98)	3.95 (4.95)
<i>V. parahaemolyticus</i> ATCC 17802	0	4.72	4.00	3.69
	12	8.34	5.26 (3.08)	<1 (8.34)
<i>B. subtilis</i> KCTC 1021	0	4.28	3.95	3.04
	12	8.19	5.17 (3.02)	<1 (8.19)

<sup>1)</sup>Log CFU/mL

<sup>2)</sup>( ): log reduction

구별할 수 있는 부패현상이 뚜렷하게 나타난다(14). 소목 1% 첨가구는 저장 초기부터 20일 까지 총균수의 변화를 거의 관찰할 수 없었으며(Fig. 3), 대조구의 경우 저장 15일 이 지나면서  $10^6/g$  이상을 나타내어 부패초기의 현상을 나타낸 반면 소목 첨가구의 경우 저장 25일째  $10^6/g$ 를 나타내었다. 오염 지표균으로 사용되는 coliform bacteria의 변화는(Fig. 4) 대조구의 경우 저장초기부터 완만한 성장이 이루어져 저장 30일 동안  $10^3/g$ 에서  $10^6/g$ 까지 증가하였으나, 소목 처리구의 경우 저장 20일째까지  $10^3/g$ 을 나타내어 뚜렷한 억제효과를 나타내었다. 소목 추출물 첨가에 의한 대장균군의 변화도 총균수의 변화와 유사한 경향을 나타내었다. 소목 추출물의 첨가에 의한 미생물의 억제는 소목추출물을 첨가하여도 분쇄육의 pH가 5.0수준을 유지하는 것으로 보아 pH의 변화에 의한 것이 아니라 추출물에 존재하는 미생물 성장 억제물질에 기인된 것으로 추정되었으며, 추출물의 첨가로 분쇄육의 냉장 저장 중 저장성을 증진시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

#### 색상의 변화

분쇄육 저장시 소목 추출물 1% 첨가구와 대조구의 색상 변화는 Table 2에서 보는 바와 같이 백색도(lightness)는 저장 중 대조구와 소목 추출물 1% 첨가구 간의 차이는 크게 나타나지 않았다. 적색도(redness)는 대조구의 경우 저장 초기부터 감소하여 저장 10일 이후 급격하게 감소하는 현상을 나타낸 반면, 소목 추출물 1% 첨가구는

저장 20일째까지 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았으나 저장 25일 이후 급격하게 감소하는 경향을 나타내었다. 대조구의 경우 저장 10일 이후 육안으로도 알 수 있을 정도로 육의 부패가 진행되어 적색도가 감소하였으며, 이러한 결과는 총균수의 변화와 일치하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과로 미루어 보아 소목 추출물의 첨가가 분쇄육의 저장성 증진은 물론 소목 추출물이 갖는 특유의 적색으로 인한 분쇄육제품의 색상 개선효과에도 있을 것으로 판단되었다.

소목추출물 첨가가 Hamburger patty의 기호성에 미치는 영향

소목 추출물 첨가에 의한 분쇄육 저장성 증진 효과는 인정되었으나, 분쇄육으로 제조하는 가공식품의 기호성에 미치는 효과를 검토하기 위해 hamburger patty를 제조한 다음 소목 추출물을 1%, 3%의 비율로 첨가하여 대조구와 기호성을 비교한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 대조구와 소목 추출물 1% 첨가구간의 기호성은 맛, 향, 종합적 기호도면에서 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다. 첨가농도가 증가함에 따라 기호성은 감소하였다. 소목 추출물의 첨가에 의한 hamburger patty의 기호성에 별 영향 미치지 않으므로 보존제로서 사용할 수 있을 것으로 판단되었다. 항균활성을 나타내는 한약재 추출물 중 황금은 황색, 자초는 검붉은색, 고삼은 쓴맛, 오미자는 이취와 강한 신맛, 감초는 단맛 등 특유의 색과 맛 그리고

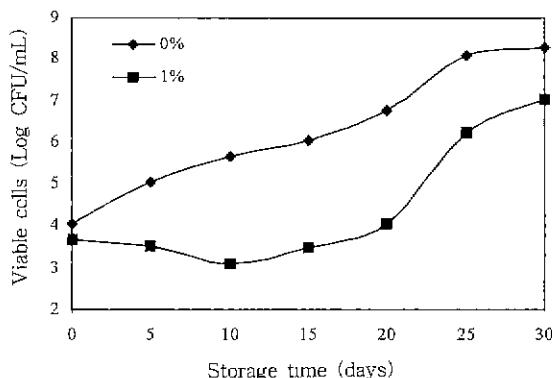


Fig. 3. Effect of *Caesalpina sappan* L. on changes of total bacteria in ground meats during storage at 4°C for 30 days.

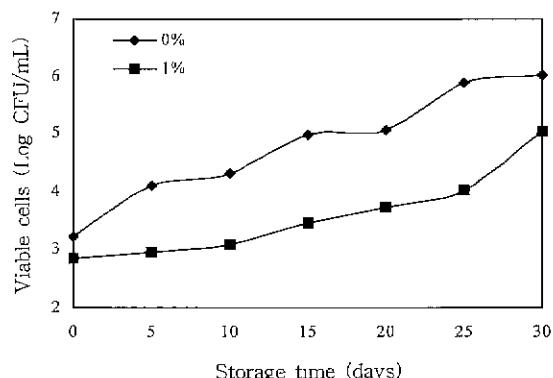


Fig. 4 Effect of *Caesalpina sappan* L. on change of coliform bacteria in ground meats during storage at 4°C for 30 days.

Table 2. Effect of *Caesalpina sappan* L. on color changes of ground meats during storage at 4°C for 30 days

Color value	CA (%)	Storage time (days)						
		0	5	10	15	20	25	30
Lightness (L)	0	65.34	63.12	58.25	52.78	48.48	59.31	60.94
	1	64.56	63.46	60.21	58.49	52.78	52.35	59.62
Redness (a)	0	7.22	6.08	5.76	4.82	3.91	1.17	2.02
	1	7.31	7.15	6.84	6.45	5.94	6.22	3.83

Table 3. Effect of *Caesalpina sappan* L. extract on sensory quality of hamburger patty

Concentration of CaL. (%)	Taste <sup>1)</sup>	Flavor	Overall acceptability
0	4.0 <sup>a2)</sup>	4.0 <sup>a</sup>	4.1 <sup>b</sup>
1	4.0 <sup>a</sup>	3.9 <sup>b</sup>	4.0 <sup>b</sup>
3	3.8 <sup>b</sup>	3.8 <sup>b</sup>	3.9 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> 1. very poor, 2. poor, 3: moderate, 4: good, 5: very good

<sup>2)</sup> Mean within each column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ )

향을 띠고 있어(15), 식품의 보존제로 사용하기 위해서는 추출물의 특성과 사용할 식품의 기호성에 미치는 효과를 충분히 검토한 후 선택하여야 한다. 소목 추출액은 주홍색에 가까운 적색을 띠고, 자체의 특이한 맛과 향을 내지 않으며, 항산화 효과(16)와 함께 항균활성이 있어 육제품의 보존제로서 사용가능성이 매우 높은 것으로 판단되며, 특히 신선육의 저장은 물론 각종 향신료 등을 첨가하는 hamburger patty 등과 같은 분쇄 육제품의 색상개선 및 보존제로서 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 판단되었다.

## 요 약

소목 추출물의 식품보존제로서의 사용 가능성을 검토하고자 추출물의 항미생물 활성을 조사한 결과 소목 추출물은 공시 균주에 대해 뚜렷한 clear zone<sup>a)</sup> 생성되어 항균활성을 나타내었으며, 추출물 1% 함유한 TSB에서 *B. subtilis* KCTC 1021, *V. parahaemolyticus* ATCC 17802는 배양 12시간동안 성장을 거의 관찰할 수 없었으며, 그외 *L. monocytogenes* Brie 1, *E. coli* ATCC 11775, *S. aureus* ATCC 11775, *P. fluorescens* ATCC 11775 등은 4~5 log<sub>10</sub> cycle 성장 억제 현상을 나타내었다. 추출물 1%를 첨가한 분쇄육의 4°C에서 30일간 저장 중 pH 변화는 대조구의 경우 저장기간 동안 pH 5.2에서 6.0으로 변화하였으나, 첨가구의 경우 pH 5.0~5.2의 범위를 유지하였다. 미생물의 변화는 대조구의 경우 저장 15일이 지나면서 10<sup>6</sup>/g 이상을 나타낸 반면 첨가구의 경우 저장 25일째 10<sup>6</sup>/g을 나타내었다. Coliform bacteria의 변화는 대조구는 저장 30일 동안 10<sup>3</sup>/g에서 10<sup>6</sup>/g까지 증가하였으나, 첨가구는 저장 20일째까지 10<sup>3</sup>/g을 나타내었다. 백색도(lightness)는 저장 중 대조구와 첨가구간의 차이는 나타나지 않았다. 적색도(redness)는 대조구의 경우 저장 10일 이후 급격하게 감소한 반면, 첨가구는 저장 20일째까지 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았으나 저장 25일 이후 급격하게 감소였다. Hamburger patty를 제조한 다음 소목 추출물을 1%, 3%의 비율로 첨가하여 대조구와 기호성을 비교한 결과는 대조구와 추출물 1% 첨가구간의 기호성은 맛, 향, 종합적 기호도면에서 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다.

## 문 헌

- Hao, Y.Y., Brackett, R. and Doyle, M.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated cooked beef. *J. Food Prot.*, **61**, 307-312 (1998)
- Lee, H.J.: Trends in development and research of natural food additives. *J. Food Hyg. Safety*, **9**, 17-22 (1994)
- Lee, B.W. and Shin, D.H.: Screening of natural antimicrobial plant extracts on food spoilage microorganisms *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**, 200-204 (1991)
- Lee, S.L.: Safety management of food additives and contaminants. *J. Food Hyg. Safety*, **9**, 7-15 (1994)
- Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R.: Screening of antimicrobial activity for medicinal herbs extracts *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 91-96 (1992)
- Jang, S.M. and Kim, D.W.: *The Chinese medicine resources plant botany*. Hag Moon Inc., Co, Seoul, p.438-439 (1996)
- The Life Medicine Study : *Hyun Dae Life Medicine*. Hag Ji Sa, Seoul, p.2827 (1993)
- David, D.M. and Parish, M.E.: Testing the efficacy of food antimicrobials. *J. Food Prot.*, **53**, 148-155 (1990)
- SAS : *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA (1985)
- Shin, D.H., Kim, M.S. and Han, J.S.: Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 808-816 (1997)
- Lee, S.H., Choi, W.J., Jo, O.K. and Son, S.J.: Antimicrobial activity of ethanol extracts of *Caesalpina sappan* L. and effect of the extracts on the fermentation of kimchi. *J. Food Sci. Technol. Catholic University of Taegu Hyosung*, **9**, 167-171 (1997)
- Lee, S.H., Park, K.N. and Lim, Y.S.: Effect of *Caesalpina sappan* L. and *Lithospermum erythrorhizon* extract mixture and crab shell on the fermentation of kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 404-409 (1999)
- Cho, Y.S.: Studies on developments of functional sausage and functional properties of national resources M.S Thesis, Kyungsan University (1999)
- Jay, M.J.: *Modern food microbiology* 5th ed.. Chapman & Hall, NY, USA, p.82 (1996)
- Lee, S.H., Cho, O.K., Choi, W.J. and Kim, S.D.: The effect of mixed medicinal herb extracts with antimicrobial activity on the shelf-life of kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1404-1408 (1998)
- Lim, D.K., Choi, U and Shin, D.H.: Antioxidative activity of some solvent extract from *Caesalpina sappan* L. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 77-82 (1996)