

## 참나무 목초액의 항균효과

서권일 · 하기정\* · 배영일\* · 장진규\*\* · 심기환\*

순천대학교 식품영양학과, \*경상대학교 식품공학과, \*\*한국인삼연초연구원

## Antimicrobial Activities of Oak Smoke Flavoring

Kwon-Il Seo, Ki-Jeong Ha\*, Young-Il Bae\*, Jin-Kyu Jang\*\* and Ki-Hwan Shim\*

Department of Food and Nutrition, Suncheon National University

\*Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University

\*\*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon

### Abstract

Antimicrobial activities of oak smoke flavoring against saprogenous and food poisoning microbes were studied. When tested on a paper disc, antimicrobial activities were observed in all microbial species at a dose of as low as 20  $\mu$ l, and microbial growth was completely suppressed with 70  $\mu$ l/5 ml during 3 days of incubation at 30°C. Growth of *Vibrio parahaemolyticus* was completely inhibited when incubated for 24 hours at 30°C with 8 times diluted oak smoke flavoring. When 50 ml of distilled water and distilled water containing 500  $\mu$ l of oak smoke flavoring, which were added with small amount of dilute *E. coli*, were incubated for 10 days at 20°C,  $3 \times 10^3$  CFU/ml of *E. coli* and  $1.9 \times 10^4$  CFU/ml of total bacteria was counted in distilled water, while  $2.0 \times 10$  CFU/ml of *E. coli* and  $7 \times 10^2$  CFU/ml of total bacteria was counted in distilled water containing oak smoke flavoring.

**Key words** : oak smoke flavoring, antimicrobial activity, *V. parahaemolyticus*, *E. coli* O-157

### 서론

목초(木醋)란 나무로 만든초로란 뜻으로 우리나라에서는 오래전부터 집에서 목초를 만들어 빨래를 하기도 하고, 뽕나무로 만든초는 약으로 쓰기도 하였다. 중국에서는 대나무로 만든 죽력(竹瀝)이라는 물질로 한약을 만들어 썼는데 이것이 목초의 일종이며, 일본에서는 1920년경 이것을 식품으로 사용한 기록이 있다(1). 목초액(Smoke Flavouring)은 나무를 숯가마에 넣고 500~700°C로 탄화시킬 때 발생하는 연기와 수증기를 냉각, 응축시켜 만든것인데, 이것을 다시 30일 이상을 상

온에 방치하면 상층부에는 경유질과 물, 하층부에는 타르와 이물질등이 퇴적되고, 목초액은 중간층부분에 모이게 된다. 이와 같이 제조된 목초액은 살균효과가 뛰어나 옛부터 천연농약으로도 많이 사용되어왔다(1,2). 목초액의 주성분은 초산을 비롯한 유기산이며, 칼슘, 칼륨, 마그네슘, 나트륨 등의 무기질과 비타민 B1, B2 등 200여가지의 유기물로 구성되어 있는데, pH 3~4정도가 좋은 것으로 알려져 있다(2,3). 특히 참나무 목초액은 식품첨가물로 이용할 수 있어 식품의 보존제 및 주방용품의 천연살균제 등 여러방법으로 이용이 가능하리라 생각되나 이에 대한 과학적인 연구결과는 거의 전무한 실정에 있다.

따라서, 본 연구에서는 참나무 목초액을 항균제 및 주방기구 세척시 소독제로 활용하기 위하여 식품부패균 및 식중독균에 대한 항균효과를 조사하였다.

Corresponding author : Kwon-Il Seo, Department of Food Science and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea  
E-mail : seoki@suncheon.ac.kr

## 재료 및 방법

### 재료

참나무 목초액은 참나무를 숯가마에 넣고 500~700°C로 탄화시킨 때 발생하는 연기와 수증기를 냉각 응축시킨 것을 시료로 사용하였다.

### 공시균주

본 실험에 사용한 균주는 gram 양성균 *Streptococcus mutans* 1종과 gram 음성균 *E. coli*의 4종을 한국중균협회에서 분양받아 공시균주로 사용하였으며, 균의 생육 배지는 Tryptic soy broth agar(TSA, Difco, USA)를 사용하였고, *Vibrio parahaemolyticus*균은 여기에 3%의 NaCl을 첨가하여 사용하였다.

### 항균활성

항균활성은 paper disc( $\phi$  8mm)를 이용한 agar diffusion 법(4)으로 확인하였다. 즉, 각 균주용 agar배지를 petri dish에 분주하여 평판 고형화시키고, 24시간 배양한 균 100  $\mu$ l를 멸균봉으로 도말한 후 목초액을 각 농도별로 흡수·건조시킨 paper disc를 평판배지위에 올려놓고 각 균주의 배양조건에 따라 배양하여 disc주위의 clear zone 직경으로 측정하였다.

### 미생물의 생육도 측정

생육저해 실험을 위하여 보존균주의 사면배지로 부터 1 백금이를 Tryptic soy broth(TSB, Difco, USA) 5 ml에 접종한 후 35°C에서 24시간씩 2회 계대배양하였다. 배양액의 초기 생균수가  $10^5$  CFU/ml 정도 되도록 배지농도를 희석하여 균을 접종한 다음 membrane filter(0.2 $\mu$ m)로 제균한 목초액을 각 농도별(10~90 $\mu$ l)로 첨가하여 72시간동안 배양하였다. 목초액의 첨가농도별 항균효과는 배양미생물의 생육정도를 660nm에서 흡광도를 측정하고 목초액을 넣지 않은 TSB를 blank로 하여 비교·측정하였다.

### 미생물 균수 측정

총균수는 희석시킨 시료를 plate count agar 배지위에 접종하여 32°C에서 48시간 배양하여 측정하였고, 대장균수는 Deoxycholate agar 배지를 사용하여 측정하였다.

### 목초액의 분무 처리

*Vibrio parahaemolyticus*균과 *E. coli* O-157균을 고체배지에 도말한 후 목초액을 농도별(0~10배)로 희석하여

spray로 분무한 후 30°C에서 24시간 배양하여 미생물의 저해효과를 비교·검토하였다.

## 결과 및 고찰

### 항균활성

참나무 목초액을 10~50 $\mu$ l까지의 농도로 식품부패균 및 식중독균을 대상으로 미리 제조한 항균시험용 test plate에 점적한 후 항균활성을 조사한 결과는 Table 1과 같이 모든 균종에 대하여 모든 농도에서 농도 의존적으로 항균활성이 크게 나타났다. 특히, 그람 양성균인 *Streptococcus mutans*의 경우 목초액을 10~50 $\mu$ l 첨가시 clear zone이 8.5~14.2mm정도의 항균력이 확인되었고, 그람음성균의 경우 *Salmonella typhimurium*과 *Vibrio parahaemolyticus*균에서 clear zone이 각각 10~14.8mm, 10~18mm정도로 높은 항균력을 나타내었다.

Table 1. Antimicrobial activities of oak smoke flavoring

Strains	Concentration( $\mu$ l)				
	10	20	30	40	50
<i>Streptococcus mutans</i>	8.5	11.0	12.5	14.0	14.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.0	10.5	12.0	13.0	13.1
<i>E. coli</i>	10.0	13.0	14.0	14.0	15.0
<i>Salmonella typhimurium</i>	10.0	11.5	13.5	14.0	14.8
<i>E. coli</i> O-157	8.5	10.0	11.5	12.0	13.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10.0	13.0	15.5	17.0	18.0

한편, 정 등(5)은 산국과 소국의 에탄올 추출물의 항균성 검색에서 *Streptococcus mutans*과 *Salmonella typhimurium*균에 대하여 clear zone이 각각 13, 22mm로 항균력이 있다고 보고하였고, 강 등(6)은 갯 추출물에서 *E. coli*와 *Salmonella typhimurium*균에 대하여 clear zone이 각각 14mm로 나타났다고 보고하였는데, 이들 결과는 본 결과의 목초액 50 $\mu$ l 첨가시와 비슷한 정도의 항균력이었다.

### 미생물의 생육저해 효과

*Vibrio parahaemolyticus* 및 *E. coli* O-157균주가 각각 접종된 액체배지에 참나무 목초액을 농도별(0~90 $\mu$ l)로 첨가한 후 이들의 생육저해 효과를 조사한 결과는 Fig. 1 및 2와 같다. 즉, 목초액의 농도가 증가할수록 세균의 생육이 억제되었으며, 특히, 목초액을 10~30 $\mu$ l 첨가시 *Vibrio parahaemolyticus*균의 생육정도는 목초액을 넣지 않은 대조구에 비해 증식저해정도가 다소 높았으나 70 $\mu$ l이상 첨가시 30°C에서 3일간의 배양기간에도 균의 생육이 완전히 억제되었다. *E. coli* O-157균의 경

우 *Vibrio parahaemolyticus*균에 비해 생육저해효과는 다소 낮았지만 목초액 90 $\mu$ l 이상 첨가시 균의 생육이 완전히 억제되었다.

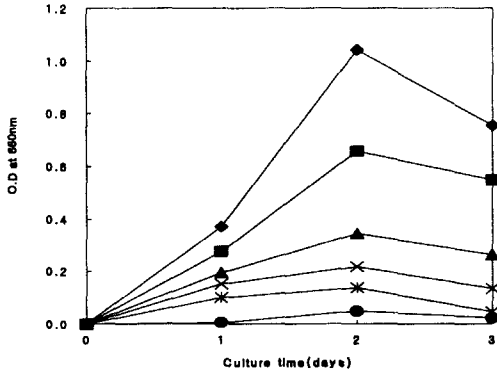


Fig. 1. Inhibitory effect of oak smoke flavoring on the growth of *Vibrio parahaemolyticus*.  
 ◆ : Control, ■ : 10 $\mu$ l/5ml, ▲ : 30 $\mu$ l/5ml, × : 50 $\mu$ l/5ml, \* : 70 $\mu$ l/5ml, ● : 90 $\mu$ l/5ml

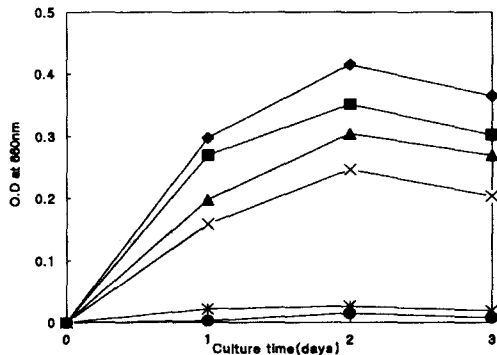


Fig. 2. Inhibitory effect of oak smoke flavoring on the growth of *E. coli* O-157.  
 Refer to foodnote in Fig. 1.

한편 이 등(7)은 밤꽃의 에칠아세테이트 추출물 200ppm 첨가시 배양 39시간이후까지 균의 증식이 억제하였다고 보고하였고, 김 등(8)은 천연자원에서 추출한 키토산을 *E. coli*균에 300ppm 첨가시 4일간의 배양 기간에도 균의 생육이 완전히 억제하였다고 보고하였다. 따라서 본 연구결과를 기초로 하여 목초액을 대상으로 종합적인 연구가 추진될 경우 현재 사용되고 있는 항균제보다 우수한 효과가 있는 것으로 기대된다.

저장중 생균수 및 대장균수의 변화

참나무 목초액을 주방살균제로 이용하기 위한 항균 효과를 시험하기 위한 모델로서 참나무 목초액의 농도

별 희석액(0~500배)에 미량의 대장균을 첨가하여 20 $^{\circ}$ C에서 12일간 저장하면서 생균수 및 대장균수를 측정 한 결과는 Table 2 및 3과 같다. 대장균이 접종된 목초액이 전혀 첨가되지 않은 물(대조구)의 생균수는 처음에 1.3 x 10<sup>3</sup>CFU/ml이었던 것이 저장기간이 지남에 따라 점차 증가하여 저장 12일째에는 1.9 x 10<sup>4</sup>CFU/ml로 증가하였다. 반면 목초액을 500배로 희석한 것에서는 저장 6일째까지 균이 검출되지 않았으며, 저장 9일째에 2.0 x 10<sup>2</sup>CFU/ml, 저장 12일째에 7.0 x 10<sup>2</sup>CFU/ml로 나타났으며, 300배 및 100배 희석액에는 9일째까지 균이 검출되지 않았고, 50배 희석액 및 원액에는 12일째까지 균이 검출되지 않아 500배 희석액 정도에서도 상당한 항균효과가 있는 것으로 나타났다.

Table 2. Changes in number of bacteria during the storage of diluted oak smoke flavoring at 20 $^{\circ}$ C (CFU/ml)

Storage time (days)	Dilution					
	Control	500	300	100	50	0
0	1.3x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-
3	1.9x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-
6	2.0x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-
9	6.5x10 <sup>3</sup>	2x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
12	1.9x10 <sup>4</sup>	7x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>	3x10 <sup>2</sup>	-	-

Table 3. Changes in number of *E. coli* during the storage of diluted oak smoke flavoring at 20 $^{\circ}$ C (CFU/ml)

Storage time (days)	Dilution					
	Control	500	300	100	50	0
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	2.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
9	5.0x10 <sup>2</sup>	1.3x10 <sup>2</sup>	0.2x10 <sup>2</sup>	-	-	-
12	3.0x10 <sup>3</sup>	2.0x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup>	0.1x10 <sup>2</sup>	-	-

대장균의 경우는 대조구에서 저장 3일까지는 검출되지 않았으나 저장 6일째에는 2.0x10<sup>2</sup> CFU/ml이었고, 저장기간이 지남에 따라 점차 증가하여 9일 및 12일째에는 5.0x10<sup>2</sup> 및 3.0x10<sup>3</sup> CFU/ml이었다. 반면 500배 및 300배 희석액에서는 저장 6일째까지 대장균이 검출되지 않았고, 저장 9일째부터는 검출되었으나 대조구에 비하여 그 수가 훨씬 적었다. 또한 50배 희석액 및 원액에서는 저장 12일째까지 대장균이 전혀 검출되지 않았다.

이와 같은 결과로 볼 때 목초액을 주방살균용 등의 용도로 이용시 500배 정도의 희석 목초액으로도 상당한 살균 및 정균효과를 볼 수 있을것으로 기대된다.

## 미생물 성장억제에 대한 목초액의 분무 효과

*Vibrio parahaemolyticus* 및 *E. coli* O-157균주가 도말된 고체배지에 농도별 희석한 목초액(0~10배)을 분무한 후 30℃에서 24시간 배양하여 미생물의 생육저해효과를 조사한 결과는 Fig. 3 및 4와 같다. 목초액을 분무하지 않은 고체배지에서는 *Vibrio parahaemolyticus*와 *E. coli* O-157균주의 생육이 왕성하게 나타났으나, 4 및 6배로 희석한 목초액을 분무한 배지에서는 균이 전혀 생육하지 않았으며, 다만 10배 희석 목초액 분무 배지에서는 균이 약간 생육하는 것을 볼 수 있었다.

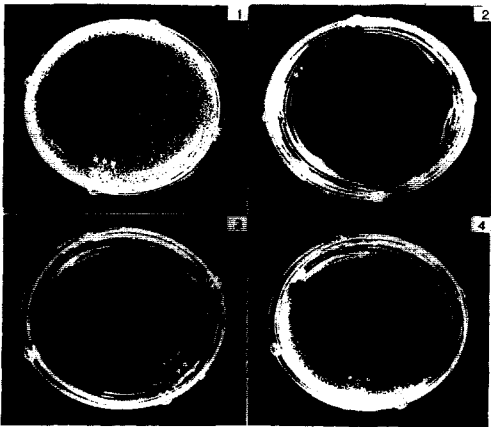


Fig. 3. Inhibitory effect of sprayed oak smoke flavoring on the growth of *V. parahaemolyticus*.  
1. Control, 2. Dilution( $\times 4$ ), 3. Dilution( $\times 6$ ), 4. Dilution( $\times 10$ )

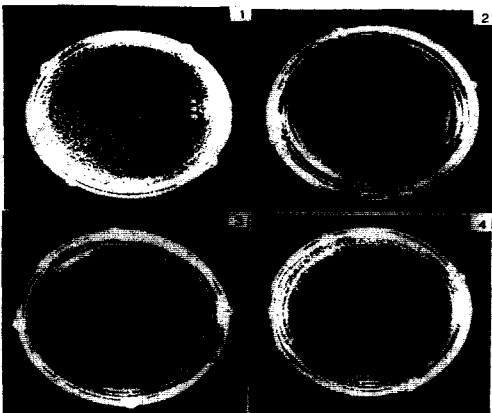


Fig. 4. Inhibitory effect of sprayed oak smoke flavoring on the growth of *E. coli* O-157.  
Refer to foodnote in Fig. 3.

이와 같은 결과로 볼 때 목초액의 분무시 최적 생육 조건의 배지에서도 강한 항균력 및 생육억제능을 갖는

것으로 보아 칼도마 및 주방용품 등의 살균시에는 훨씬 더 좋은 살균력이 기대된다.

## 요 약

천연보존제인 참나무 목초액을 항균제 및 주방기구 세척시 소독제로 활용하기 위하여 식품부패균 및 식중독균에 대한 항균효과를 조사하였다. Paper disc법에 의한 시험결과 모든 시험균주에 대하여 20 $\mu$ l 첨가시 항균효과를 나타내었으며, 미생물이 첨가된 배지에 참나무 목초액을 70 $\mu$ l 첨가한 후 30℃에서 3일간의 배양동안 모든 시험균주의 성장이 완전히 억제되었다. 증류수로 희석한 목초액 50ml에 대수증기까지 배양하여 멸균수로 희석한 대장균을 미량 첨가하여 20℃에서 10일간 방치한 후 생균수 및 대장균수를 측정된 결과, 대조구에는 그 생균수가 약  $3 \times 10^3$  CFU/ml였으나, 목초액을 500배로 희석한 것에는 대장균이  $2.0 \times 10$  CFU/ml으로 나타났으며, 일반세균은 10일 경과시 대조구에서는 그 수가  $1.9 \times 10^4$  CFU/ml이었으나, 목초액을 500배로 희석한 증류수에서는  $7 \times 10^2$  CFU/ml으로 나타났다. 장염 비브리오균주가 도말된 test plate에 목초액을 분사한후 30℃에서 24시간 배양한 결과, 8배 희석한 목초액 분사구에서는 균의 성장이 완전 억제되었고, 10배 희석한 목초액 분사구에서는 다소 균의 성장이 확인됨을 알 수 있었다.

## 참고문헌

1. 성도제 (1998) 기적의 숲 건강법, 중앙 M and B, 서울
2. 등록특허공보 (1999) 기초목초액에 함유된 유해성분 제거방법, 대한민국특허청
3. 박상범 (1999) 대나무숯·죽초액의 제조법과 이용법, 한림저널, 서울
4. Farag, R.S. (1989) Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. J. Food Prot. 52, 665-670
5. 정용진, 이명희, 이기동, 박난영, 권중호 (1998) 미생물의 생육억제에 대한 국화 에탄올 추출물의 영향. 한국농산물저장유통학회지, 5(3), 299-304
6. 강성구, 성낙계, 김용두, 신수철, 서재신, 최갑성, 박석규 (1994) 갯 추출물의 항균활성 검색. 한국식품영양학회지, 23(6), 1008-1013
7. 이용수, 서권일, 심기환 (1999) 밤꽃 추출물의 항균

- 성. 한국농산물저장유통학회지, 6(1), 104-109
8. 김기은, 조문구 (1994) 천연자원에서 추출한 키틴 한량과 키토산의 항균활성. 한국산업미생물학회지, 22(6), 643-645
9. 박옥연, 장동석, 조학래 (1992) 한약재 추출물의 항균효과 검색. 한국식품영양학회지, 21(1), 91-96
10. 양의주, 한정, 이인선 (1999) 약용식물 추출물이 저온식품의 미생물에 대한 항균효과. 한국농산물저장유통학회지, 6(1), 110-114
- 
- (접수 2000년 6월 10일)