

식중독균에 대한 신갈나무 잎 추출물과 유기산의 항균효과

공영준 · 박부길* · 오덕환*
강원도 농업기술원, *강원대학교 식품생명공학부

Antimicrobial Activity of *Quercus mongolica* Leaf Ethanol Extract and Organic Acids against Food-borne microorganisms

Young-Jun Kong, Boo-Kil Park and Deog-Hwan Oh*
Laboratory Agriculture products processing Regional Crop Experiment Station,
Kangwon-Do Research and Extension Services
*Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University

This study was conducted to determine the optimal extraction condition of temperatures and kinds of extraction solvent, and antimicrobial activity of ethanol extract of *Quercus mongolica* leaf and organic acid against food-borne microorganisms. The antimicrobial activity of ethanol extract at 60°C for 6 hour against foodborne microorganisms was stronger than those at 30°C and 90°C. Also, the ethanol extract showed stronger antimicrobial activity than those of water and methanol extract. The minimal inhibitory concentrations of the ethanol extract of *Quercus mongolica* leaf against *B. cereus* and *L. monocytogenes*, was 62.5~125 µg/mL but, the minimal inhibitory concentration was 250 µg/mL against *S. typhimurium* and *P. aeruginosa* and over 500 µg/mL against *E. coli* O157:H7, respectively. The minimal inhibitory concentrations of the lactic, citric, acetic acid and the ethanol extract of *Quercus mongolica* leaf against *B. cereus* and *L. monocytogenes* was 2500, 5000, 1250 and 125 µg/mL, respectively. The combined effect of each organic acid and the ethanol extract against *B. cereus* was not observed but, synergistic effect was observed against *L. monocytogenes*. In the meantime, when the ethanol extract was combined with each organic acid at sub-lethal concentration, the combination did not increase the inhibitory effect of the most active single compound alone against *E. coli* O157:H7, respectively.

Key words : Antimicrobial activity, minimal inhibitory concentration, *Quercus mongolica* leaf, organic acid

서 론

최근 들어 커다란 사회문제로 대두되고 있는 식품의 유해 미생물에 의해 야기되는 식중독은 다양한 식품에서 발생되고 있으며, 특히 콜드체인 시스템의 발달로 인한 냉장 및 냉동식품의 소비확대는 유통 및 소비단계에서 부적절한 처리에서 오는 저온성세균의 증식으로 인한 부패 및 변질로 인해 심각한 식중독 발생의 우려를 낳고 있다^(1,2). 따라서 최근에는 사람들이 오랫동안 식용으로 이용해 왔거나 독성의 염려가 없고 항균력이 있는 천연물을 추출하여 보존제로 이용하려는 연구가 많이 보고되고 있다⁽³⁾.

참나무류는 세계적으로 6속, 600종이 있는데 그 중 우리나라에는 4속, 15종이 분포하고 있으며, 대표적인 것이 신갈,

갈참, 졸참, 떡갈, 굴참, 상수리나무이다⁽⁴⁾. 참나무는 다양하고 폭넓은 용도로 사용되고 있으나 주로 목재로서의 이용과 종실용 도토리의 가공특성에 관한 연구로 국한되어 수행되어 왔을 뿐이며 생리활성이나 성분분석에 관한 과학적인 연구보고는 거의 전무하며, 최근 들어 일부에서 몇 개의 참나무 수종을 대상으로 한 기초적인 성분분석과 생리활성에 관한 screen연구가 이루어지고 있는 실정이다.

유기산은 식품의 원료에 천연적으로 혹은 발효산물로 존재하거나 인공적으로 첨가하는 경우가 있는데 항진균성과 항균성을 갖고 있다고 알려졌다⁽⁵⁾. 항균작용은 비해리된 분자가 이온화되면서 세포내 pH를 변화시키거나 세포막의 투과성을 변경시켜 기질이동을 방해하고, NADH 산화를 막아 전자 전달 체계에 이상을 준다고 알려져 있다⁽⁶⁾.

본 연구자들은 우리나라 전국 산림의 27%를 점유⁽⁷⁾하고 있는 신갈, 갈참, 졸참 및 떡갈나무등과 같은 참나무의 항균력을 조사한 결과 신갈나무 잎 추출물이 가장 강한 항균력을 나타냄을 보고⁽⁸⁾하였기에 본 논문에서는 신갈나무 잎 추출물의 천연보존제의 개발 가능성을 탐색하기 위하여 신갈나무 잎의 추출용매별 항균력 및 수율효과를 조사하고 기존

Corresponding author : Deog-hwan Oh, Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
Tel : 82-33-250-6457
Fax : 82-33-250-6457
E-mail : deoghwa@kangwon.ac.kr

에 천연항균제로 많이 이용되고 있는 유기산과의 병용처리 시 항균특성에 대해 조사하였다.

재료 및 방법

시료준비

강원도 지역에서 1998년 5월부터 9월에 채취한 신갈나무 잎 시료는 먼지 등을 제거하기 위해 깨끗한 물로 수세한 후 원적외선건조기(Dry of far infrared ray, KFD-101B)로 60°C에서 12시간 건조한 후, 건식분쇄기(삼성전기, CR-581W)로 분쇄하고, 표준체 150 mesh(Standard testing sieve, ITOH Co., Tokyo)로 체를 친 다음 균질한 분말시료를 추출용 시료로 사용하였다.

신갈나무 잎의 추출

신갈나무 잎의 추출은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 flask내에 분말시료를 넣고 시료중량의 10배량의 증류수, 75% 에탄올 및 메탄올을 추출용매로 사용하여 추출온도를 30, 60, 90°C로 6시간 2회 추출한 후 감압여과장치로 여과하였다. 여액을 rotary vacuum evaporator(EYELA N-N-SERIES, japan)를 사용하여 농축하고 이를 동결건조한 후 밀봉하여 4°C의 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 추출 수율은 감압여과한 후 농축하여 증발 잔사의 양을 시료 건물량에 대한 백분율로 나타내었다.

사용균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 *Bacillus subtilis* ATCC 6633,

Bacillus cereus ATCC 9634, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Listeria monocytogenes* ATCC 43256, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Listeria monocytogenes* ELM, *Listeria monocytogenes* F5027, *Listeria monocytogenes* F5069, *Listeria monocytogenes* TY16, *Listeria monocytogenes* Scott A, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* O157:H7 0019, *Escherichia coli* O157:H7 933, *Escherichia coli* O157:H7 932, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 균이다. 각 균주는 tryptic soy agar(Difco, USA) slant에 계대배양하여 보관하였으며, 필요시 tryptic soy broth(Difco, USA)에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하면서 활성화시켜 사용하였다.

항균력 검색 및 MIC의 측정

항균시험은 멸균된 TSB 배지를 petridish에 15 mL씩 분주하여 응고시키고, 증충용 배지를 각각 5 mL씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 50°C 수욕상에 보관하면서 전배양한 각종 시험균액을 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후 기충용 배지 위에 분주하여 2종의 평판배지를 만들었다. 신갈나무 잎 추출물을 멸균된 paper disk에 일정량씩 흡수시킨 후 시험용 평판배지 표면에 올려놓은 다음 35°C incubator에서 24-48시간 동안 배양한 다음 disk 주변의 clear zone(mm)을 측정하여 항균력을 검색하였다. 한편, minimal inhibitory concentrations (MIC) 측정은 동결건조한 각 추출물을 dimethylsulfoxide (DMSO)로 녹인 후 0.45 µm membrane filter(Nalgene Co., USA)로 제균시킨 다음 전 배양한 배양액으로부터 3 mL의 TSB 배지를 함유하는 Bioscreen C 시험관에 10⁵ CFU/mL의

Table 1. Antimicrobial activity and extraction yield of solvent extracts from *Quercus mongolica* on the various temperatures

Solvent	Clear zone on plate(mm) ²⁾								
	water			Ethanol			Methanol		
Temperature	30°C	60°C	90°C	30°C	60°C	90°C	30°C	60°C	90°C
Extraction yiled %(w/w)	6	8	4	8	12	10	11	13	13
Microorganisms ¹⁾									
<i>Bacillub subtilis</i> ATCC 6633	15	17	15	18	18	17	17	17	16
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	11	14	10	17	16	16	14	13	13
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	18	18	17	18	18	18	17	18	16
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	19	20	17	19	21	18	19	18	17
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 43256	19	17	17	19	20	19	17	15	18
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	19	19	18	18	20	19	17	17	17
<i>Listeria monocytogenes</i> ELM	18	19	18	18	19	16	18	19	19
<i>Listeria monocytogenes</i> F5027	16	20	15	20	20	19	17	19	16
<i>Listeria monocytogenes</i> F5069	16	19	15	19	20	16	18	18	16
<i>Listeria monocytogenes</i> TY4	15	13	17	18	17	16	17	15	16
<i>Listeria monocytogenes</i> TY16	15	16	17	18	18	18	16	16	17
<i>Listeria monocytogenes</i> scott A	18	17	18	20	20	18	18	18	18
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	13	14	12	15	17	14	14	17	12
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 0019	16	16	15	15	15	16	16	15	15
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 933	10	13	13	14	13	12	11	12	12
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 932	11	13	12	11	13	13	13	13	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	13	16	14	16	15	13	16	16	13

¹⁾Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10⁵ CFU/mL

²⁾Two thousand µg of extract was absorbed into paper disc(8 mm, diameter) and the diameter(mm) of clear zone was measured

Table 2. Antimicrobial activity of water extract from *Quercus mongolica* on the various food-borne disease microorganisms

Microorganisms ¹⁾	MIC($\mu\text{g/mL}$) ²⁾				
	31.25	62.5	125	250	500
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	+ ³⁾	+	+	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	- ⁴⁾	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	+	+	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 43256	+	+	+	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ELM	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> F5027	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> F5060	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> TY4	+	+	+	+	-
<i>Listeria monocytogenes</i> TY16	+	+	+	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> Scott A	+	+	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	+	+	+	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 0019	+	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 933	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 932	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	-	-

¹⁾Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10^5 CFU/mL

²⁾The MIC represents the concentration of minimal inhibition that showed no growth after 24hr incubation

³⁾+: Growth

⁴⁾-: No growth

농도로 분주하였고 각기 적당량 농도의 항균제를 넣은 후 Bioscreen C(Labsystems, FP-1100-C. Finland)를 사용하여 35°C에서 24시간 배양하여 탁도를 나타내지 않는 최소농도로 나타내었다.

신갈나무 잎 에탄올 추출물과 유기산과의 병용효과

신갈나무 잎 에탄올 추출물과 유기산인 젖산, 구연산 및 초산을 각각 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 하여 membrane filter(Whatman No. 2, 0.45 μm , pore size)로 계균시켰다. 이를 TSB배지에 유기산과 신갈나무 추출물을 혼합 처리하여 첨가하고, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 및 *Escherichia coli* O157:H7 0019균의 농도를 10^5 CFU/mL로 접종하여 MIC 및 생육저해효과를 측정하였다.

결과 및 고찰

신갈나무 잎의 추출방법에 의한 수율 및 항균력

신갈나무 잎을 물, 에탄올 및 메탄올을 사용하여 각각의 온도별로 6시간동안 2회 추출하여 얻은 추출물의 수율 및 *B. subtilis*의 17종의 피검균에 대하여 항균력을 검색한 결과는 Table 1과 같다. 물을 용매로 하여 추출온도를 달리하여 추출 수율을 조사한 결과, 추출온도가 30°C와 90°C에서 보다는 60°C에서 2~4%의 높은 수율을 얻었다. 또한, 물 추출의 경우 추출온도가 낮을 때는 식물체 안에 들어 있는 성분들의 용출 시간이 길어지는 반면에, 추출온도가 높을 때에는 신갈나무 잎 성분 중 점액질이 다량 용출되어 여과되지 않아 추출 수율이 낮았다. 에탄올을 용매로 하여 추출한 경우는 물 추출보다 수율이 2~4% 정도로 높았으나 온도변화에

따른 추출 수율은 물 추출과 같이 60°C에서 가장 높았다. 메탄올 추출물의 경우, 추출온도가 60°C 이상에서 수율이 13%로 가장 높았으며 물과 에탄올 추출물과는 달리 90°C에서도 수율이 감소하거나 증가하지 않았다.

추출용매 및 온도에 따른 항균력은 피검균에 따라 다소 차이는 있지만, 추출 온도별로는 60°C에서 추출시 30°C와 90°C보다 항균력이 높게 나타나 추출 수율이 높을수록 항균 활성 또한 증가되는 경향을 나타내었다. 추출 용매별로는 에탄올 추출이 물 추출물이나 메탄올 추출보다 대체로 높은 항균활성을 나타내었으며 신갈나무 잎 에탄올 추출물은 60°C에서 추출한 경우 그람양성 세균에 대해 16~21 mm의 생육저해환을 나타내었고 그람음성 세균에 대해서는 13~17 mm의 생육저해환을 나타내었다.

신갈나무 잎 추출물의 MIC

여러 종류의 식중독균에 대하여 신갈나무 잎 물 추출물의 최소저해농도(MIC) Table 2와 같다. 신갈나무 잎 물추출물은 다른 세균에 비하여 *L. monocytogenes*균에 특히 강한 항균력을 나타내었으며 같은 균이라도 균종에 따라 항균력의 차이가 있다. 특히, *E. coli* O157:H7균은 다른균에 비하여 현저하게 신갈나무 잎 물 추출물에 저항성을 나타내었으며 500 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 농도에서도 항균력이 없었다. 반면에, *S. aureus*균은 125 $\mu\text{g/mL}$, *B. cereus*, *S. typhimurium* 및 *P. aeruginosa*균은 250 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 MIC를 나타내었다. 따라서, 신갈나무 잎 물 추출물은 그람음성균에 비해 그람양성균에 보다 강한 항균력 나타내었다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물에서는 물추출물에 비하여 *B. cereus*와 *L. monocytogenes*균같은 그람양성균에 더 강한 항균력을 나타냈으나 *E. coli* O157:H7균에 대하여는 물 추출물과 마찬가지로 항균력

Table 3. Antimicrobial activity of ethanol extract from *Quercus mongolica* on the various food-borne disease microorganisms

Microorganisms ¹⁾	MIC($\mu\text{g/mL}$) ²⁾				
	31.25	62.5	125	250	500
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	+ ³⁾	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	- ⁴⁾	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 43256	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ELM	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> F5027	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> F5060	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> TY4	+	+	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> TY16	+	+	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> Scott A	+	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	+	+	+	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 0019	+	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 933	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 932	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	-	-

¹⁾Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10^5 CFU/mL

²⁾The MIC represents the concentration of minimal inhibition that showed no growth after 24 hs incubation

³⁾+: Growth

⁴⁾-: No growth

Table 4. Antimicrobial activity of methanol extract from *Quercus mongolica* on the various food-borne disease microorganisms

Microorganisms ¹⁾	MIC($\mu\text{g/mL}$) ²⁾				
	31.25	62.5	125	250	500
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	+ ³⁾	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	- ⁴⁾	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 43256	+	+	+	+	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	+	+	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ELM	+	+	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> F5027	+	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> F5060	+	+	+	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> TY4	+	+	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> TY16	+	+	+	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> Scott A	+	+	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	+	+	+	-	-
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 0019	+	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 933	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 932	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	-	-

¹⁾Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10^5 CFU/m

²⁾The MIC represents the concentration of minimal inhibition that showed no growth after 24hr incubaton at 35°C

³⁾+: Growth

⁴⁾-: No growth

이 현저하게 떨어졌다(Table 3). *B. cereus* 및 *S. aureus*균에 대한 메탄올 추출물에 대한 MIC는 각각 500 및 125 $\mu\text{g/mL}$ 를 나타냈고 *L. monocytogenes*균에 대해서는 ATCC 19111 및 F5027 균에서만 62.5 $\mu\text{g/mL}$ 의 MIC를 나타내었으며 *L. monocytogenes* ATCC 43256균에 대해서는 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 MIC를 나타내어 물과 에탄올 추출물에 비하여 항균력이 다소 떨어짐을 보였다(Table 4). 그러나 *S. typhimurium*, *P.*

aeruginosa 및 *E. coli* O157 : H7균 같은 그람음성균에 대해서는 물 또는 에탄올 추출물과 같은 결과를 나타내었다. 이상의 결과로 보아 신갈나무의 추출용매에 따른 최소저해농도는 에탄올 추출물이 물과 메탄올 추출물보다 다양한 균종에 대해 더 강한 항균력을 나타내었으며, 특히 *L. monocytogenes*균에 대해서는 62.5~125 $\mu\text{g/mL}$ 의 낮은 농도에서 최소저해농도를 나타내어 신갈나무 에탄올 추출물은 *L. monocyto-*

Table 5. Minimal inhibitory concentrations of organic acids and ethanol extract of *Quercus mongolica* on the harmful microorganisms

Microorganisms	MIC ¹⁾ (µg/mL)			
	Lactic acid	Citric acid	Acetic acid	<i>Q. mongolica</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2500	5000	1250	125
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	2500	5000	1250	125
<i>Escherichia coli</i> O157 : H7 0019	2500	5000	1250	500

¹⁾The MIC represents the lowest concentration of antimicrobials activities that showed no growth after 24 hrs incubation at 35°C

Table 6. Minimal inhibitory concentrations of organic acids and ethanol extract of *Quercus mongolica* either alone or in combination against *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Quercus mongolica extract(µg/mL)	MICa (µg/mL)											
	Lactic acid				Citric acid				Acetic acid			
	625	1250	2500	5000	625	1250	2500	5000	625	1250	2500	5000
31.25	+	+ ^b	- ^c	-	+	+	+	-	+	-	-	-
62.5	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^{a)}The MIC represents the lowest concentration of antimicrobials activities that showed no growth after 24 hrs incubation at 35°C

^{b)}+: Growth

^{c)}-: No growth

Table 7. Minimal inhibitory concentrations of organic acids and ethanol extract of *Quercus mongolica* either alone or in combination on against *Listeria monocytogenes* ATCC 19111

Quercus mongolica extract (µg/mL)	MICa (µg/mL)											
	Lactic acid				Citric acid				Acetic acid			
	625	1250	2500	5000	625	1250	2500	5000	625	1250	2500	5000
31.25	+	+ ^b	- ^c	-	+	+	+	-	+	-	-	-
62.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^{a)}The MIC represents the lowest concentration of antimicrobials activities that showed no growth after 24 hrs incubation at 35°C

^{b)}+: Growth

^{c)}-: No growth

*genes*균과 같은 세균성 식중독균에 대하여 매우 강한 항균력이 있음을 알 수 있었다. *L. monocytogenes*균은 심각한 listeriosis 문제를 일으키며, 임신부나 유아 및 면역력이 약한 사람에게는 뇌막염 또는 폐혈증을 일으키며 치사율이 매우 높은 식중독균으로 알려져 있다. 또한, 열 저항성과 산성에 대한 내성이 있으며 저온에서도 생육이 가능한 저온성세균으로 냉장식품에서 많은 문제가 되고 있다⁹⁾. 본 연구 결과에 의하면 신갈나무 잎의 에탄올 추출물이 모든 균종에 대하여 폭넓은 항균활성을 나타내고 있어 천연 항균물질로서의 이용 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.

신갈나무 잎 에탄올 추출물과 유기산의 병용 효과

일반적으로 보존제는 식품에 첨가시 식품성분과의 상호작용에 의하여 단독으로 처리시 길항되는 경향이 있기 때문에 이러한 단점을 극복하기 위하여 다른 물질과 병용처리를 하기도 한다. Verhaegh¹⁰⁾등은 *Listeria monocytogenes*균에 오염된 가재고기와 배양배지에서 모노로린 단독으로 사용하였을 때보다 젖산을 혼합사용 하였을때 매우 증가된 항균작용을

나타냄을 보고하였다. Table 5는 *B. subtilis* ATCC 6633, *L. monocytogenes* ATCC 19111 및 *E. coli* O157:H7 0019 에 대한 신갈나무 잎 에탄올 추출물과 유기산과의 병용처리시 최소저해농도를 검색한 결과이다. *B. subtilis* ATCC 6633, *L. monocytogenes* ATCC 19111 및 *E. coli* O157:H7 0019균에 대한 젖산, 구연산 및 초산의 최소저해농도는 모든균에 대하여 각각 2500, 5000 및 1250 µg/mL이었고 신갈나무 잎 에탄올 추출물은 *B. subtilis* ATCC 6633와 *L. monocytogenes* ATCC 19111균에는 125 µg/mL, *E. coli* O157:H7 0019균에는 500 µg/mL의 MIC를 나타내었다. Sorrells¹¹⁾ 등은 동일한 pH하에서 *L. monocytogenes*에 대한 유기산의 항균활성은 모든 배양시간과 배양온도에서 AA>LA>CA≥MA>HCl의 순이고, 같은 물농도를 기준으로 할 때의 항균활성은 35°C와 25°C에서는 CA≥MA>LA≥AA>HCl 순이고 10°C에서는 MA>CA>AA≥LA>HCl 순이라고 보고하였다. 유기산의 항균활성은 비해리된 유기산의 작용 때문이며, 비해리된 유기산은 세포 내부로 수송되어 세포의 pH를 변화시켜 세포내 효소의 변성을 초래한다고 알려져 있다¹²⁾. 신갈나무 잎 에탄올 추출물은

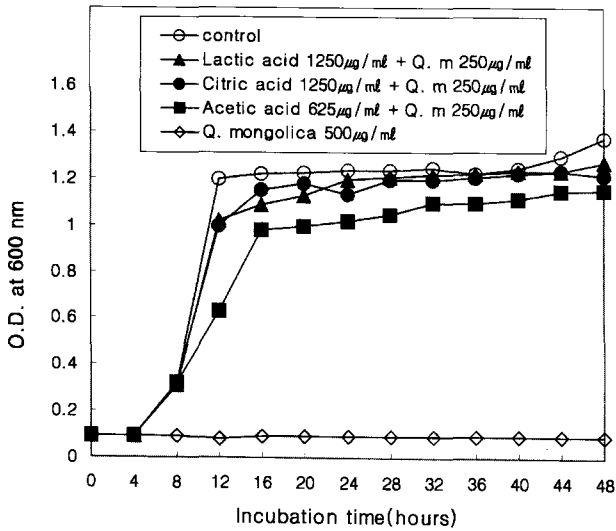


Fig. 1. Growth inhibition of organic acids and ethanol extract from *Quercus mongolica* either alone or in combination against *E. coli* O157 : H7 0019

B. subtilis ATCC 6633 및 *L. monocytogenes* ATCC 19111 균에 대해 125 µg/mL의 최소저해농도를 나타내었으나, *E. coli* O157:H7 0019 균에 대하여는 500 µg/mL의 최소저해농도를 나타내었다.

유기산과 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 병용처리시 *B. subtilis* ATCC 6633과 *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대한 최소저해농도를 조사한 결과는 Table 6 및 7과 같다. *B. subtilis* ATCC 6633에 대한 각각의 유기산과 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 병용처리는 각각의 단독처리와 비교하여 최소저해농도의 차이가 없었으나 *L. monocytogenes* ATCC 19111균에 대하여는 3종류의 유기산 모두 단독처리시 신갈나무 잎 에탄올 추출물과 병용처리시 현저한 상승효과가 나타났다. 한편, 이러한 병용처리효과의 MIC농도를 기준으로 하여 *E. coli* O157:H7 0019 균에 대한 유기산과 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 생육저해효과를 Fig. 1에 나타내었다. 각 유기산과 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 sub-lethal 농도에서 병용처리한 결과 이들의 병용처리는 *E. coli* O157:H7 0019균의 생육억제에 항균효과가 없는 것으로 나타났으며 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 최소저해농도인 500 µg/mL의 농도에서 48시간동안 배양시 생육이 완전히 저해되었다. 따라서 본 연구결과, 신갈나무 잎 에탄올 추출물과 유기산의 병용처리효과는 *B. subtilis* ATCC 6633과 *E. coli* O157:H7 0019균에는 없었으나 *L. monocytogenes* ATCC 19111에는 상승효과를 나타냄으로써 균종에 따라 차이가 있음을 알 수 있다.

요 약

신갈나무 잎 추출물의 항균력은 추출 온도별로는 60°C에

서 추출시 30°C와 90°C에 추출하는 것보다 약간 더 높은 활성을 나타내었으며 추출 용매별로는 에탄올로 추출한 경우가 물 또는 메탄올 추출물보다 대체로 높은 항균활성을 나타내었다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물은 그람양성균인 *B. cereus*, *S. aureus* 그리고 *L. monocytogenes*균에 대하여 62.5~125 µg/mL 범위에서 최소저해농도를 나타내었으나 그람음성균인 *S. typhimurium*과 *P. aeruginosa* 균은 250 µg/mL, *E. coli* O157:H7 균에 대하여는 500 µg/mL 이상에서 최소저해농도를 나타내었다. *B. subtilis* ATCC 6633균과 *L. monocytogenes* ATCC 19111균에 대한 젖산, 구연산, 초산 및 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 최소저해농도는 두균모두 각각 2,500, 5,000, 1,250 및 125 µg/mL이었으며 이들의 병용처리시 *B. subtilis* ATCC 6633균에는 효과가 없었으나 *L. monocytogenes* ATCC 19111균에 대하여는 상승항균효과를 나타내었다. 한편, 각각의 sub-lethal 농도에서 *E. coli* O157:H7 0019균에 대한 신갈나무 잎 에탄올 추출물과 유기산들과의 병용처리시 두 물질간에는 상승효과는 없는 것으로 나타났다.

문 헌

1. Scott, V.N. Safety considerations for new generation refrigerated foods. Dairy Food Environ. Sanitation 8: 5-8 (1988)
2. Kornacki, J. and Gabis, D.A. Microorganisms and refrigeration temperatures. Dairy Food Environ, Sanitation 10: 192-195 (1990)
3. Bass, G.K. Methods of testing disinfectants. Disinfection, Sterilization. Block., S. S. (Ed.), Philadelphia, p. 4 (1977)
4. 윤종하 . 임학개론 , 강원대학교출판부 , pp. 29-30 (1994)
5. Beuchat, L.R. and Golden, D.A. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technol. 43: 134-142 (1989)
6. Freese, E., Sheu, C.W. and Galliers, E. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. Nature 241: 321-325 (1973)
7. 산림청 임업연구원 . 참나무 자원의 종합이용 개발에 관한 연구 . 과학기술처 3: 213-215 (1988)
8. Kong, Y.J., Park, B.K. and Oh, D.H. Antimicrobial activities of *Quercus* spp. leaf ethanol extract against foodborne disease microorganism. J. of the Korean Soc. of Food Sci. and Nutri., (In press) (2001)
9. Farber, J.M. and Peterkin, P.I. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. Microbiol. Rev. 55: 476-511 (1991)
10. Verhaegh, Els G.A. Marshall D.L. and Oh, D.H. Effect of monolaurin and lactic acid on *Listeria monocytogenes* attached to catfish fillets. Int. J. Food Microbiol. 29: 403-410 (1996)
11. Sorrells, K.M., Enigl, D.C. and Hatfield, J.R. Effect of pH, acidulant, time, and temperature on growth and survival of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 52: 571-573 (1989)
12. Conner, D.E., Scott, V.N. and Bernard, D.T. Growth, inhibition, and survival of *Listeria monocytogenes* as affected by acidic conditions. J. Food Prot. 53: 652-655 (1990)

(2001년 1월 19일 접수)