식품유해세균에 대한 식초의 항균효과

우승미[1] · 장세영[1] · 김옥미[2] · 윤광섭[3] · 정용진[1†]
[1]계명대학교 식품가공학과, [2]대경대학 호텔조리계열, [3]대구가톨릭대학교 식품공학과

Antimicrobial Effects of Vinegar on the Harmful Food-Born Organisms

Seung-Mi Woo[1], Se-Young Jang[1] Ok-Mi Kim[2], Kwang-Sup Youn[3] and Yong-Jin Jeong[1†]
[1]*Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 702-701, Korea*
[2]*Dept. of Hotel Culinary Arts, Taekyeung College, Kyoungsan 712-850, Korea*
[3]*Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea*

Abstract

We investigated antimicrobial effects of commercial vinegar on the harmful food-born organisms. As a result, antimicrobial effects of brown rice vinegar showed stronger than persimmon and artificial vinegar. In 10 μL/mL concentration of brown rice vinegar was completely inhibited about 5 strains except for *V. parahaemolyticus*, it was inhibited 15 μL/mL concentration. Therefore vinegars were effective for inhibition acitivity against foodborne organisms. *S. aureus* and *E. coli* treated with 25 μL/mL concentration brown rice vinegar was observed by scanning electron micrographs(SEM). The cells were expanded and a part of cell wall was completely destructed by brown rice vinegar.

Key words : vinegar, brown rice, persimmon, antimicrobial effects, food-born organisms

서 론

과거 식품저장에 있어 가장 큰 목적은 식품이 생산된 이후 소비되기까지 부패, 손실되는 부분을 막아 간접적인 증산효과를 거두자는데 있었으나 오늘날에는 식품의 부패, 손실을 막는 것은 물론 어떻게 하면 식품의 신선도를 최대한 유지시키면서 식품의 안전성과 기호적 가치를 높이느냐에 집중되고 있다(1,2). 식품의 저장기간동안의 부패 및 변질은 빛, 온도 등의 생리적 요인과 산소, 수분 등의 화학적 요인, 식품자체의 효소작용 혹은 이상에서 언급한 여러 가지 요인의 복합작용에 의해 일어난다(3). 이러한 변질을 막기 위해 이용된 수분활성도의 관리와 고염, 고당, 발효, 가열 등의 방법들은 적용 범위가 한정되는 단점이 있어 각종 인공합성 보존료를 사용하여 저장성을 높이고 있다(5). 현재 우리나라 식품위생법에는 데히드로초산류, 소르빈산류, 안식향산류, 파라옥시안식향산에스테르류, 프로피온산류 등 여러 종류의 화학합성품이 보존료로 허가되어 각각 사용기준이 설정되어 있으나, 안전한 첨가량 농도 범위 내에서는 항균효과가 낮아서 실제로 이들 보존료들의 사용기준이 제대로 지켜지지 않는 경우가 많다. 이들 보존료들은 지속적으로 체내에 축척되면 발암성, 돌연변이 유발, 만성독성 등 안전성에 심각한 영향을 나타내게 된다(5,6). 최근 식생활 수준의 향상과 다양화로 식품의 안전성 및 식품첨가물에 대한 소비자 인식이 크게 높아짐에 따라 천연재료에 존재하는 성분들을 식품의 보존에 이용하고자 하는 연구가 계속 되고 있다(7-9). 천연보존료 개발에 관한 연구로는 한약재(6), 향신료(8), 차류(9) 등 각종 천연물을 대상으로 활발히 이루어지고 있는데 식초의 항균활성에 대한 체계적 연구는 미흡한 실정이다.

식초는 술과 함께 인류의 식생활사에서 가장 오랜 역사를 갖는 발효식품 중의 하나이다. 식초는 동서양을 막론하고 옛날부터 소금과 같이 음식을 조리할 때 산미를 갖게 하는 조미료로 쓰이는 것은 물론이고 민간의약으로도 널리 사용되었다(10). 식초는 동맥경화, 고혈압 등의 성인병 예방 효과, 콜레스테롤 저하 효과, 체지방 감소, 피로회복에 효과적이며, 의약품, 미용제로도 이용되고 있다(11). 특히 식품의 부패 방지에 방부제로서 뛰어난 역할을 하며 이는 초산이 세균 특히 부패균의 생육을 억제하기 때문으로 보고되고 있다(12,13). 또한 초절임 식품인 겉절이, 피클, 장아찌 등에 사용되는 식초의 양은 2~10% 내외로 알려져 있으나 이 농도에서의 항균력에 관한 보고는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 일상생활에서 널리 이용되고 있는

†Corresponding author. E-mail : yjjeong@kmu.ac.kr,
phone : 82-53-580-5557, Fax : 82-53-580-5164

식초의 종류 및 농도에 따른 식품유해균에 미치는 항균효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 식초는 2003년도에 생산된 합성식초(총산 5.01)와 시판 감식초(총산 4.61), 현미식초(총산 5.10)를 구입하여 실온에 보관하면서 각각 시료로 사용하였다.

공시균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 Table 1과 같이 식품의 부패에 관계하는 세균과 식중독 원인균으로 알려진 그람양성 세균 3종, 그람음성 세균 3종을 사용하였다. 미생물에 대한 항균력 시험용 배지는 Nutrient broth(Difco)와 Nutrient agar(Difco)를 사용하였으며, 호염성 세균인 *Vibrio parahaemolyticus*는 3% NaCl을 배지에 첨가하여 사용하였다.

Table 1. List of microorganisms used for antibacterial activity

Strains
Gram positive bacteria (+)
Bacillus subtilis (KCTC[1] 1021)
Staphylococcus aureus (KCTC 1916)
Micrococcus luteus (ATCC[2] 9341)
Gram negative bacteria (-)
Salmonella enteritidis (ATCC 13076)
Escherichia coli (ATCC 11105)
Vibrio parahaemolyticus (ATCC 17802)

[1] KCTC : Korean Collection for Type Cultures.
[2] ATCC : American Type Culture Collection.

항균력 검사

감식초, 현미식초 및 합성식초의 식품유해균에 대한 항균력을 측정하기 위해 paper disc(ϕ8 mm, Toyo Roshi Kaisha, Ltd.)를 이용한 agar diffusion법(14,15)으로 측정하였다. 각각의 균주는 계대배양한 후 1백금이 취해 10 mL nutrient broth에 접종하고 30℃에서 24시간 배양하여 활성 시킨 후 사용하였다. 항균력 시험용 평판배지는 nutrient agar로서 기층용배지(2% agar)를 멸균된 petri dish에 약 15 mL씩 분주하여 응고시킨다. 중층용배지(agar 1%)를 각각 10 mL씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 45℃ 수욕상에 보관하면서 각 시험균액 0.1 mL를 접종한 후, 기층용배지 위에 고르게 펴지도록 부어 응고시켰다. 그 다음 멸균된 paper disc를 평판배지 표면에 밀착시킨 후 식초를 60 μL을 첨가하여 30℃에서 19시간 배양하여 paper disc 주변에 생성된 저해환(mm)의 직경을 3회 반복한 평균값을 항균력으로 나타내었다.

식초 농도에 따른 항균 활성

식초 농도에 따른 세균의 증식억제 작용은 액체배지 희석법(16)을 이용하여 측정하였다. 멸균된 nutrient broth 50 mL에 대수기까지 배양된 각각의 균주 배양액 0.5%를 접종한 후, 식초를 5, 10, 15, 20, 25 μL/mL로 각각 첨가하여 30℃, 100 rpm에서 60시간 동안 배양하면서 6시간 간격으로 UV-visible spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

미생물의 형태 관찰

식초 첨가에 의한 세균 세포의 손상여부를 관찰하기 위하여 Nutrient broth에 그람양성 세균인 *S. aureus*와 그람음성 세균인 *E. coli*를 각각 접종하여 30℃, 100 rpm에서 대수기까지 배양하였다. 배양액 50 mL에 25 μL/mL 농도로 식초를 각각 첨가하여 30℃에서 100 rpm으로 1시간 진탕배양하였다. 배양액을 4℃, 10,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 배지성분을 제거하고 균체를 집균하여 2.5% glutaldehyde를 함유한 0.2M cacodylate buffer로 전고정 시킨 후 0.2M phosphate buffer로 3-4회 세척하였다. 이것을 1% OsO_4를 함유한 0.2M cacodylate buffer로 4℃에서 2시간 후고정 시킨 후 0.2M phosphate buffer로 3-4회 세척하여 고정된 균체를 alcohol로 탈수시킨 다음 임계점 건조 과정을 거쳐 균체를 분말 상태로 모은 후 금속 코팅하여 주사식전자현미경(SEM, HITACHI S-4100, JAPAN)으로 세포의 손상여부를 관찰하였다.

결과 및 고찰

식초의 항균력

6종의 식품유해 세균에 대한 식초의 항균 활성을 검색하기 위하여 paper disc를 이용한 agar diffusion법에 의해 생육저해환을 측정한 결과를 Table 2와 Fig. 1에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와 같이 감식초는 *B. Subtilis, S. aureus, M. luteus, S. enteritidis*와 *E. coli*에서 각각 28, 32, 31, 31, 31 mm로 높은 항균력을 보였으나, *V. parahaemolyticus*에서 17 mm로 가장 낮은 항균력을 보였다. 현미식초는 *B. subtilis, S. aureus, M. luteus, S. enteritidis*와 *E. coli*에서 31, 32, 33, 33, 31 mm로 높은 항균력을 보였고, *V. parahaemolyticus*에서는 17 mm로 가장 낮은 항균력을 보였다. 감식초와 현미식초의 그람양성 및 음성세균에 대한 항균성은 큰 차이가 없었으나 현미감초가 감식초보다 항균력이 조금 더 높은 것으로 나타

났으며, 두 식초 모두 *V. parahaemolyticus*에 대해서는 유독 낮은 항균성을 나타내었다. 현미식초는 합성식초에 비해 전반적으로 더 높은 항균력을 보여 현미식초에 존재하는 성분 중 초산 이외의 다른 성분들이 초산과 함께 항균효과를 나타낸 것으로 생각된다. 남 등(14)의 연구에 의하면 산국 추출물은 *S. aureus*와 *E. coli*에서 항균력이 거의 나타나지 않았으나 본 연구에서는 비교적 강하게 나타나는 것으로 미루어볼 때 식초에는 *S. aureus*와 *E. coli*에 대하여 강한 항균력을 가지는 물질들이 포함되어 있는 것으로 생각된다.

Table 2. Antibacterial effects of vinegar against microorganisms

Strains	Clear zone on plate(mm)			
	Distilled water	Persimmon vinegar	Brown rice vinegar	Artificial vinegar
Gram positive bacteria (+)				
Bacillus subtilis	8	28	31	25
Staphylococcus aureus	8	32	32	25
Micrococcus luteus	8	31	33	23
Gram negative bacteria (-)				
Salmonella enteritidis	8	31	33	28
Escherichia coli	8	31	31	25
Vibrio parahaemolyticus	8	17	17	15

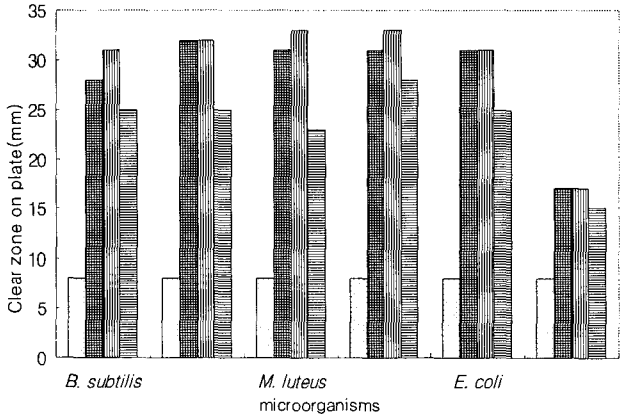

Fig. 1. Antibacterial effects of vinegars against microorganisms.
Distilled water, Persimmon vinegar,
Brown rice vinegar, Artificial vinegar.

식초 농도에 따른 항균 활성

6종의 균주에 대해 항균력이 높은 현미식초를 사용하여 각각의 농도에 따른 세균 증식억제 효과를 살펴보았다. 그 결과 Fig. 2에 보는 바와 같이 그람양성 세균인 *B. subtilis, S. aureus*는 배양 18시간까지, *M. luteus*는 배양 36시간까지 5 μL/mL 첨가구에서 균증식이 억제되다가 이후 서서히 증가하여 무첨가구 보다 더 증식하는 경향을 보였으나, 10 μL/mL이상 첨가구에서는 배양초기부터 균 증식이 완전히 억제되어 생육이 되지 않았다. 그람음성 세균인 *S. enteritidis, E. coli*는 5 μL/mL에서 각각 배양 12시간, 30시간까지 균증식이 억제되다가 30시간, 42시간 이후 증가하였으며, 10 μL/mL이상의 농도에서는 균 증식이 완전히 억제되었다. *V. parahaemolyticus*는 10 μL/mL에서 배양 30시간까지 균증식이 억제되다가 그 후 서서히 증가하였다. 식초 농도에 따른 그람양성 세균 및 그람음성 세균에 대한 생육 억제 효과는 큰 차이가 나타나지 않았으며, *V. parahaemolyticus*를 제외한 그람양성 세균 및 음성 세균 모두 10 μL/mL 이상의 농도에서 생육이 거의 억제되는 것을 관찰할 수 있었으며 5 μL/mL농도에서 초기 균증식이 억제되다가 서서히 증가하여 무첨가구보다 더 증식하는 결과를 나타내었다. 이와 같이 낮은 식초 농도에서 배양후기 세균증식이 무첨가구에 비해서 증가한 이유는 식초의 일부 성분들이 배양후기 세균들의 영양원으로 이용되어 생육을 촉진하는 것으로 생각되지만 정확한 원인에 대해서는 좀 더 구체적인 연구를 해볼 필요성이 있을 것으로 생각된다.

미생물의 형태변화

식초 처리에 의한 미생물의 형태변화를 관찰하기 위하여 그람양성 세균인 *S. aureus*와 그람음성 세균인 *E. coli*를 대수기 중기까지 배양하여 25 μL/mL의 농도로 식초를 처리한 것과 무처리한 대조구를 전자현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 3과 4에 나타내었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 *S. aureus*의 경우 식초를 처리한 구는 대조구에 비해 세포가 팽윤되었고 일부 세포벽이 완전히 파괴된 것을 관찰 할 수 있었다. 이와 같은 현상은 그람 음성 세균인 *E. coli*에서도 찾아 볼 수 있어 두 균주 모두 세포표면에 심한 손상을 받았음을 보여주고 있다. 따라서 식초 처리에 의해 균체 세포벽 및 세포막은 손상을 입고 이로 인해 균체 세포내 성분의 세포외 유출이 촉진되어 균주의 생육을 억제하는 것으로 생각된다. 이러한 실험 결과는 강 등(16)이 갓 에탄올 추출물을 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주에 처리하면 세포벽 및 세포막의 기능이 파괴됨으로 인해 균체 성분이 세포외로 누출되었다는 보고와 일치하였다. 또한 김 등(17)이 *Lac. plantarum*과 *Leu. mesenteroides*에 향신료 추출물을 처리하면 균체 세포벽 및 세포막을 약화시키고 이로 인해 균체 세포의 내용물을 세포외로 유출시킴으로서 성장을 억제시킨다고 보고한 것과 황 등(18)이 키토산 처리로 인해 *S. mutans*의 세포벽 안정성이 급격히 저하되었다는 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

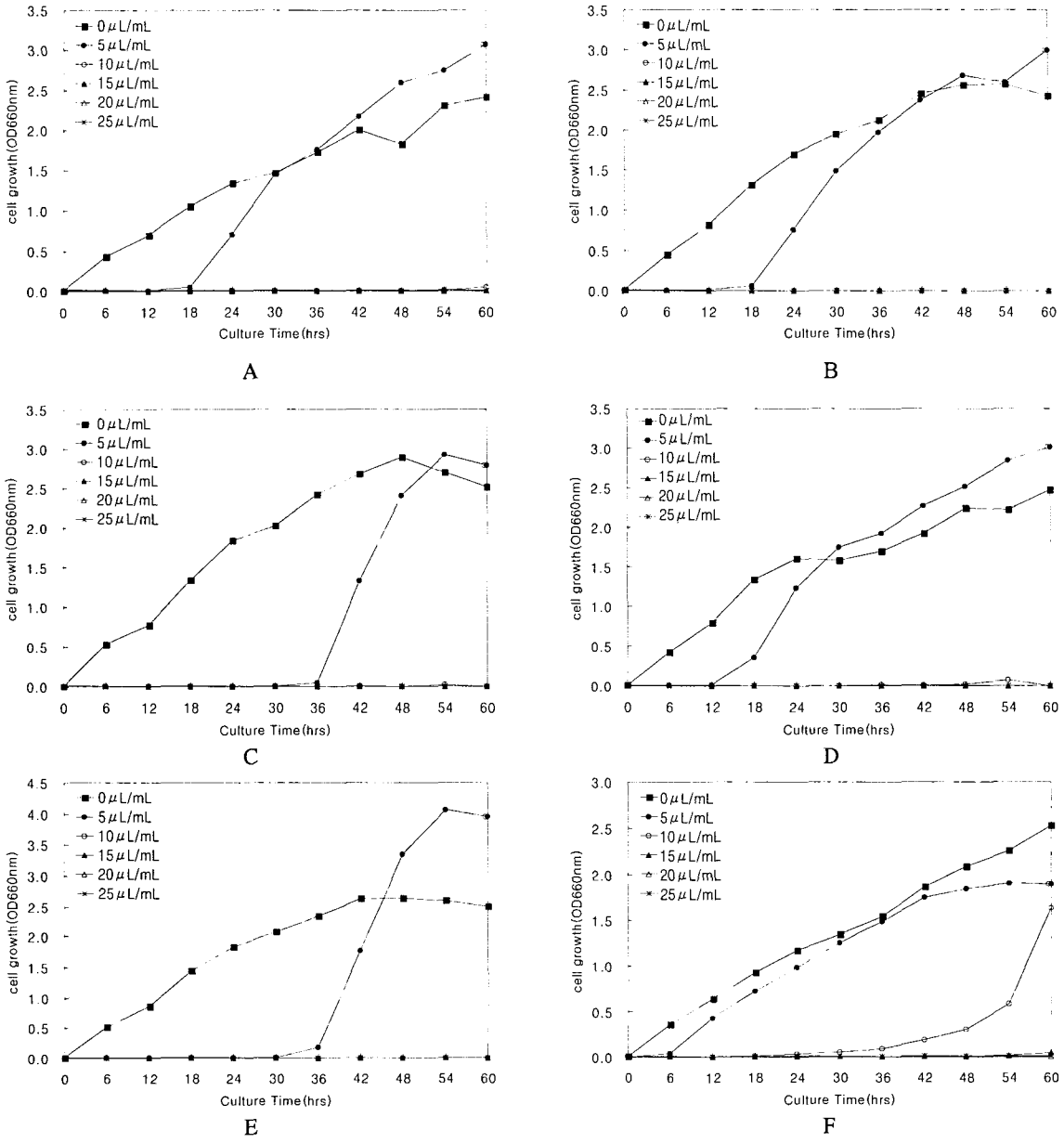

Fig. 2. Effect of cell growth inhibition by brown rice vinegar.

A : *Bacillus subtilis*, B : *Staphylococcus aureus*, C : *Micrococcus luteus*, D : *Salmonella enteritidis*, E : *Escherichia coli*, F : *Vibrio parahaemolyticus*.

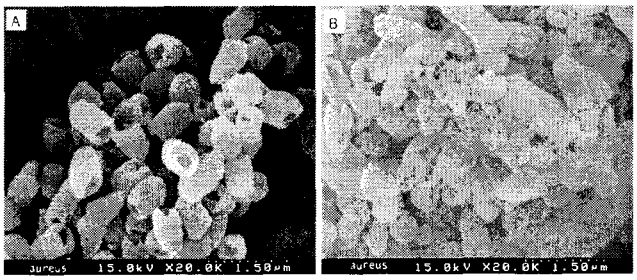

Fig. 3. Scanning electron micrographs of *Staphylococcus aureus* KCTC 1916.

A: Control, B: Treated with brown rice vinegar.

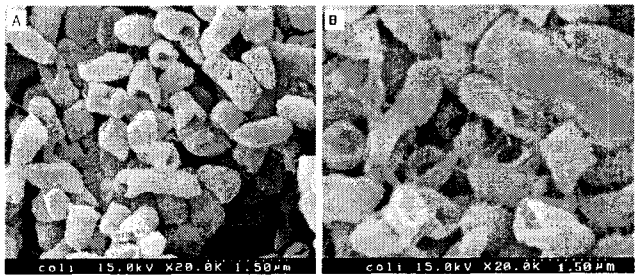

Fig. 4. Scanning electron micrographs of *Escherichia coli* ATCC 11105.

A: Control, B: Treated with brown rice vinegar.

요 약

본 연구에서는 시판되고 있는 식초를 이용하여 6종의 식품 유해세균에 대한 항균력을 비교하였다. 그 결과, 감식초와 현미식초는 합성식초에 비해 *S. aureus, M. luteus, S. enteritidis* 및 *E. coli*에서 항균 활성이 높게 나타났으며, 현미식초가 감식초에 비해 식품유해세균에 대한 항균활성이 비교적 더 높게 나타났다. 현미식초의 농도에 따른 항균활성을 조사한 결과 5종의 그람양성 세균 및 음성 세균 모두 10 μm/mL 이상의 농도에서 생육이 거의 억제되었으나, *V. parahaemolyticus*는 15 μL/mL농도에서 생육이 거의 정지되어, 현미식초는 식품 부패균과 대장균 생육억제에 우수한 것으로 나타났다. 식초처리에 의한 미생물의 형태 변화를 전자현미경으로 관찰한 결과 *S. aureus, E. coli* 모두 세포가 팽윤되고 일부 세포벽이 완전히 파괴된 형태를 관찰할 수 있어 식초처리로 인해 세균의 생육이 억제되는 것을 알 수 있었다.

참고문헌

1. 野崎一彦 (1986) 天然物による食品の現狀と效果. 月刊フードケミカル, 2, 45
2. 김병묵 (2002) 식품저장학. 진로연구사, 서울, p.53-75
3. Lee, B.W. and Shin, D.H. (1991) Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol., 23, 200-204
4. 노현정 (1995) 녹차 물추출물의 쌀밥 부패미생물에 대한 항균활성, 품질 및 저장성 향상에 미치는 효과. 원광대학교 대학원 석사학위논문
5. Oh, D.H., Lee, M.K. and Park, B.K. (1999) Antimicrobial activities of commercially available tea on the harmful foodborne organisms. J. Korean Soc. Food Sci. Nut., 28, 100-106
6. Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. (1992) Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. J. Korean Soc. Food Nut., 21, 91-96
7. Kim, M.J., Byun, M.W. and Jang, M.S. (1996) Physiological and antibacterial activity of bamboo leaves. J. Korean Soc. Food Nutr., 25, 135-142
8. 지원대, 정민선, 최웅규, 최동환, 정영건 (1998) 마늘즙의 미생물증식 억제효과. Agric. Che. Biotechnol.
9. Yeo, S.G., Ahn, C.W., Kim, I.S., Park, Y.B., Park, Y.H. and Kim, S.B. (1995) Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. J. Korean Soc. Food Nutr., 24, 293-298
10. Ha, Y.D. and Kim, K.S. (2000) Civilization history of vinegar. Food Industry and Nutrition, 5, 1-6
11. Jeong, Y.J., Seo, J.H., Jung, S.H., Shin, S.R. and Kim, K.S. (1998) The quality comparison of uncleaned rice vinegar by two stages fermentation with commercial uncleaned rice vinegar. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 5, 374-379
12. 윤광섭, 김순동, 정호덕, 최용희 (2000) 한외여과를 이용한 사과식초의 청징화와 투과특성. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 43, 24-28
13. Yang, H.C. and Choi, D.S. (1979) Physiological characteristics of acetic acid bacteria isolated from clover flower vinegar. J. Korean Agric. Chem. Soc. 22, 150-159
14. 남상해, 양민석 (1995) 산국 추출물의 항균력. 한국농화학회지, 38, 269-272
15. Choi, S.C. and Jung, J.S. (1997) Studies of antimicrobial from extracts of Impatiens Balsamina(I). J. Korean Fiber Soc., 34, 393-399
16. Kand, S.K., Sung, N.K., Kim, Y.D., Lee, J.K., Song, B.H., Kim, Y.W. and Park, S.K. (1994) Effects of ethanol extract of leaf Mustard on the growth of microorganisms. J. Korean Soc. Food Nutr., 23, 1014-1019
17. Kim, M.O., Kim, M.K., Lee, K.R. and Kim, S.D. (1998) Selective antimicrobial effects of spice extracts against *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 26, 373-378
18. Hwang, J.K., Kim, H.J., Shim, J.S. and Pyun, Y.R. (1999) Bactericidal activity of chitosan on *Streptococcus mutans*. Korean J. Food Sci. Technol., 31, 522-526

(접수 2003년 10월 5일, 채택 2003년 11월 30일)