

## 몇 가지 천연 향신료 정유의 *Vibrio*속 균주들에 대한 항균효과 및 그 휘발성 성분

유미지 · 김용석<sup>1</sup> · 신동화\*

전북대학교 응용생물공학부 식품공학 전공,  
<sup>1</sup>전북대학교 바이오식품 소재 개발 및 산업화 연구센터

### Antibacterial Effects of Natural Essential Oils from Various Spices against *Vibrio* Species and Their Volatile Constituents

Mi-Ji Yoo, Yong-Suk Kim<sup>1</sup>, and Dong-Hwa Shin\*

Food Science & Technology Major, Faculty of Biotechnology, Chonbuk National University

<sup>1</sup>Research Center for Industrial Development of BioFood Materials, Chonbuk National University

**Abstract** Antibacterial effects of six volatile essential oils against *Vibrio* sp. were evaluated. Volatile components of essential oil were analyzed by gas chromatography and gas chromatography mass spectrometry. Ginger oil treatment inhibited growth of *V. parahaemolyticus* by 22.5-85.7%. Main volatile compounds of ginger oil were  $\beta$ -bisabolene (35.19%, peak area) and  $\beta$ -sesquiphellandrene (12.22%). *V. parahaemolyticus* was completely inhibited at 1,000 ppm by treatment with mustard oil. Tolerances of *V. vulnificus* 01 and 02 were twice higher than that of *V. parahaemolyticus*. Main volatile compound of mustard oil was allyl isothiocyanate (92.55%). Garlic oil treatment of 1,000 ppm inhibited growths of *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 01, and *V. vulnificus* 02 by 22.8, 14.6, and 32.9%, respectively. Main volatile compounds of garlic oil were dimethyl sulfide (49.39%) and methyl 2-propenyl disulfide (10.09%). Growth of *V. vulnificus* 02 was inhibited by 60.6-80.3% via treatment with bud, leaf, and whole oil of clove. Antibacterial activity of whole clove oil on *V. vulnificus* 02 was stronger than those of ginger, mustard, and garlic oil. Main volatile compounds were eugenol (83.33%) and  $\beta$ -caryophyllene (7.47%) in clove bud, eugenol (87.46%) and  $\beta$ -caryophyllene (10.03%) in clove leaf, and eugenol (86.04%) and  $\beta$ -caryophyllene (9.71%) in whole clove. These results revealed essential oils from spices could be used as potential agents to inhibit *Vibrio* sp.

**Key words:** essential oil, ginger, mustard, garlic, clove, *Vibrio* sp.

## 서 론

*Vibrio*균은 여름 장마철에 해수의 온도가 20°C 이상으로 상승했을 때 급격히 증식하며, 이들의 최적 성장 온도 범위는 25-37°C로 이들로 오염된 수산 식품을 실온에 방치시키면 급속하게 증식할 수 있으며, 또한 어패류나 기타 수산 식품을 냉장이나 냉동 조건에서 저장할 때에도 휴면 상태로 존재하는 등 쉽게 사멸되지 않는다(1). 그러므로 어패류를 날것으로 즐기는 우리나라, 일본, 동남아시아 등에서는 *Vibrio*균에 의한 식중독이 많이 발생하고, 특히 우리나라에서는 여름철에 어패류의 생식에 의한 *Vibrio*균 식중독도 빈번히 발생하여 식품 위생상 심각한 문제로 되고 있다. 현재 *Vibrio*균은 약 40여종 이상이 알려져 있으며, 사람에게 병원성이 있거나 임상 가검물에서 분리된 균은 대표적으로 *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*를 비롯하여 15여종이 있다(2).

*V. parahaemolyticus*는 장염 및 설사를 일으키는 장염 *Vibrio* 식중독의 원인균으로 주로 해산물이나 어류의 생식, 식품의 가공 및 저장 중에 증식하여 식중독을 발생시키고, 심한 설사, 복통, 구토 증상을 일으킨다. *V. vulnificus*는 바다에 서식하는 호염성 세균으로서 패혈증과 창상 감염을 일으키는 그람 음성 간균이다. 패혈증은 원발성 패혈증과 창상 감염 후의 속발성 패혈증으로 분류되는데, 원발성 패혈증은 주로 만성 간 질환을 가지고 있거나 습관성 과음 등으로 간 기능이 저하되어 있는 환자들 또는 당뇨병 등으로 면역기능이 저하되어 있는 환자들이 *V. vulnificus*로 오염된 해산물을 생식할 경우에 발생한다(2).

식중독 세균들의 증식을 억제시키기 위한 방법으로 합성보존료를 사용하고 있으나(3,4) 많은 소비자들은 화학적합성품의 안전성에 의문을 제기하고 있으며(5), 식품의 구매 시 식품의 안전성을 가장 중요하게 생각하는 경향이 있다. 식품 제조업자와 소비자 모두 안전한 천연물의 사용을 희망하고 있는데, 최근에는 천연물로서 지금까지 섭취해온 식품을 이용하는 것이 안전성 면에서 바람직한 것으로 생각되고 있어 천연물인 각종 유기산(6,7), 향신료(8-10) 등에 의한 식중독 세균의 증식억제 작용이 보고되어 있다.

향신료는 천연 식물성 물질로서 향미와 항균작용 등의 효과 때문에 식품 가공업자들이 가장 많은 양을 사용하고 있으며, 향신

\*Corresponding author: Dong-Hwa Shin, Food Science & Technology Major, Faculty of Biotechnology, Chonbuk National University, Dukjin-dong, Jeonju, Chonbuk 561-756, Republic of Korea  
Tel: 82-63-270-2570,  
Fax: 82-63-270-2572  
E-mail: dhshin@chonbuk.ac.kr  
Received January 3, 2006; accepted March 31, 2006

료의 식중독 세균에 대한 항균작용이 많이 보고되고 있다(9-11). 식품 및 화장품업계에서는 천연향신료, 천연방부제 및 감미료가 갖는 항균작용과 항산화 활성에 관한 연구에 집중되면서 다양한 균주에 광범위하게 효과를 나타내는 천연항균제와 항산화제로서 식물성 정유를 이용하려는 시도가 이루어지고 있어(12) 식물성 천연 정유는 본래 향미 기능 외에 부가가치가 상승되고 있다. 그러나 여름철 식중독의 주 원인균인 *Vibrio*속 균주에 대한 향신료 정유의 항균활성에 대한 연구는 매우 적으며, 정유의 항균활성에 대한 연구의 대부분은 고체배지에서 disc-diffusion method에 의해, 또는 액체배지에서 수행되었다(8,9).

따라서 본 실험에서는 여러 가지 향신료에서 추출한 정유를 여러 종류의 *Vibrio*균에 기체상 접촉에 의하여 항균활성을 측정함으로써 부패성 및 식중독 미생물에 대한 증식억제 가능성을 시험하였다.

## 재료 및 방법

### 향신료 정유

수증기증류용매동시추출법(SDE)(13)에 의해 얻은 생강, 겨자, 마늘의 천연 정유와 정향의 싹, 잎 및 전체의 천연 정유를 (주)향원 스파이스(성남, 경기)에서 제공받아 항균활성 및 휘발성 성분 시험에 사용하였다.

### 실험균주 및 배지

항균활성을 측정하기 위하여 식중독이 발병한 환자로부터 분리한 *Vibrio vulnificus* 01 및 02와 표준균주인 *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802를 사용하였다. *V. parahaemolyticus*는 30°C에서, *V. vulnificus* 01과 02는 37°C에서 배양하였으며, 배지는 모두 brain heart infusion(BHI) agar와 BHI broth(Difco, Detroit, USA)를 사용하였다. 이들 균주는 50% glycerol stock으로 -60°C 냉동고 및 사면배지 상태로 4°C 냉장고에서 보관하면서 사용하였다. 실험 전에 균주가 접종된 사면배지에서 1 백금이를 취해 같은 액체배지 10 mL에 접종하여 24시간 배양시키고, 이 배양액 0.1 mL를 새로운 배지 10 mL에 접종하여 18시간 동안 2차 배양하여 활성화 시킨 후 실험에 사용하였다.

### 항균효과 측정

향신료 정유의 항균효과는 한천배지 접촉보다 효과가 큰 기체상 접촉(14,15)에 의해 측정하였다. 즉 건조 후 두께가 4.5 mm인 BHI agar 배지에 각 균주 배양액 0.1 mL씩을 접종한 후 배지 표면에 도말하고, 각 향신료의 정유를 petri dish 뚜껑의 안쪽에 놓인 거름종이에 각 농도별(200, 500, 1,000 ppm)로 흡착시킨 후 즉시 뚜껑을 덮고 para film으로 밀봉하였다. 각 배지는 적정 온도에서 48시간 배양한 후 생균수를 측정하였고, 이때 정유를 넣지 않은 것을 대조구로 하였다.

### 휘발성 성분의 분석

정유의 휘발성 성분 분석은 gas chromatography(GC)(Agilent 6890N, Palo Alto, USA)와 GC-Mass spectrometry(Agilent 5973MS, Palo Alto, USA)를 사용하였으며, GC-Mass에 의해 분리된 peak의 성분은 mass spectrum library(Wiley 275 L)에 근거하여 동정하였다.

휘발성 성분의 분석을 위한 GC와 GC-Mass의 작동 조건은 다음과 같다. GC는 Supelcowax 10TM(0.25 mm×60 m, film thickness 0.25 µm) column이 장착된 Agilent 6890N(USA)을 사용하였으며,

주입기와 검출기 온도는 각각 250과 260°C이었다. 오븐의 온도는 50°C에서 시작하여 2°C/min의 속도로 승온하여 230°C에서 5분간 유지시켰다. Carrier gas로는 질소(N<sub>2</sub>)를 1 mL/min의 흐름속도로 사용하였고, 시료 0.5 µL를 주입하여 split ratio 60:1에서 분석하였다. GC-Mass는 Supelcowax 10<sup>TM</sup>(0.25 mm×60 m, film thickness 0.25 µm) column이 장착된 Agilent 5973MS(USA)를 사용하였으며, 주입기와 ion source 온도는 각각 250과 260°C이었다. EI ionization voltage는 70 eV이었으며, carrier gas는 헬륨(He)을 21.3 psi에서 사용하였으며, 시료는 1 µL를 주입하였다.

### 통계처리

통계처리는 SAS(statistical analysis system) 통계 package(16)를 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였으며, ANOVA분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 생강 정유의 항균효과와 휘발성 성분

*Vibrio*속 균주에 대한 생강 정유의 항균활성을 기체상 접촉에 의하여 비교한 결과는 Table 1과 같다.

*V. parahaemolyticus* ATCC 17802에 대해 생강 정유의 첨가 농도를 다르게 한 경우 정유의 농도가 높아질수록 항균효과가 증가하였다. 생강 정유를 200 ppm 처리 시 증식억제율이 22.5%이었으나, 1,000 ppm 처리 시 85.7%로 높아졌고, *V. vulnificus* 02의 경우에도 증식억제율이 200 ppm 처리 시 15.6%에서 1,000 ppm 처리 시 43.3%로 높아졌다. 그러나 *V. vulnificus* 01의 경우에는 200 ppm을 적용하였을 때 19.0%를 나타내었으나 1,000 ppm 처리 시에도 증식억제율이 28.6%에 불과하였다.

Sheo(17)는 생강즙을 0.5-2.5% 처리 시 *Salmonella enteritidis*에 대해 42.2-54.9%, *V. parahaemolyticus*에 대해서는 35.0-50.5%의 증식억제 효과를 나타내었다고 보고하였다. 생강이 항균력을 갖는 것은 생강 성분 중 페놀성화합물인 shogaol, zingerone에 의한 것으로 알려져 있다(18,19).

생강 중에는 정유가 0.8-4.4% 함유되어 있는 것으로 알려져 있는데 정유의 조성은 생강 제품의 품질 평가에 중요한 지표가 되고 있다. 이러한 생강 정유의 휘발성 성분들을 GC와 GC-Mass에 의해 분리 확인한 결과는 Table 2와 같다.

생강 정유의 주요 휘발성 성분들은 β-bisabolene(35.19%, peak area), β-sesquiphellandrene(12.22%), geraniol(8.87%), ar-curcumene(7.06%), α-farnesene(5.64%), sabinene(4.55%), camphene(4.40%), zingiberene(1.42%), α-pinene(1.37%) 등으로 분석되었다. 생강 중의 향기 성분은 거의 대부분이 monoterpene, sesquiterpene, oxygenated monoterpene 및 oxygenated sesquiterpene 등과 같은 ter-

**Table 1. Growth inhibition rate (%) of natural ginger essential oil against *Vibrio* species on BHI agar**

Concentration	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i> 01	<i>V. vulnificus</i> 02
200 ppm	22.5 ± 3.9 <sup>a,1)</sup>	19.0 ± 0.0 <sup>b</sup>	15.6 ± 8.7 <sup>a</sup>
500 ppm	79.3 ± 1.0 <sup>b</sup>	19.0 ± 0.0 <sup>b</sup>	42.2 ± 13.4 <sup>a</sup>
1,000 ppm	85.7 ± 0.8 <sup>a</sup>	28.6 ± 2.4 <sup>a</sup>	43.3 ± 12.3 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Inhibition rate %: (number of colony on control - number of colony on treated sample with essential oil)/number of colony on control × 100.

<sup>a, b</sup>Means with the same letter in each column are not significantly different.

Means ± S.D. (n=3).

**Table 2. Volatile compounds of natural ginger essential oil**

Peak No.	RT (min) <sup>1)</sup>	Compounds	Peak area (%) <sup>2)</sup>
1	13.368	$\alpha$ -pinene	1.37
2	15.568	camphene	4.40
3	21.183	$\beta$ -thujene	0.75
4	22.459	limonene	0.08
5	23.366	$\beta$ -phellandrene	0.97
6	24.011	sabinene	4.55
7	31.113	2-heptanol	0.30
8	32.594	6-methyl-5-hepten-2-one	0.49
9	35.862	2-nonanone	0.29
10	41.626	cycloisosalivene	0.35
11	42.260	$\alpha$ -copaene	0.49
12	43.864	2-nonanol	0.28
13	45.693	$\alpha$ -terpinolene	0.80
14	46.212	$\alpha$ -zingiberene	0.30
15	47.977	$\alpha$ -bergamotene	0.15
16	48.341	$\beta$ -elemene	0.78
17	48.850	2-undecanone	0.96
18	49.789	aromadendrene	0.10
19	51.163	$\beta$ -farnesene	0.14
20	51.627	<i>trans</i> - $\beta$ -farnesene	0.34
21	52.419	<i>z</i> -citral	0.42
22	52.703	$\alpha$ -amorphene	0.45
23	53.359	$\delta$ -elemene	0.21
24	53.866	borneol L	0.30
25	54.108	germacrene D	0.46
26	54.912	$\alpha$ -amorphene	0.98
27	55.337	zingiberene	1.42
28	56.076	$\beta$ -bisabolene	35.19
29	56.336	geraniol	8.87
30	56.749	1H-3a, 7-methanoazulene	0.51
31	57.473	<i>e.e</i> - $\alpha$ -farnesene	5.64
32	57.957	$\delta$ -cadinene	0.80
33	58.147	7-epi- $\alpha$ -selinene	0.06
34	58.401	citronellol	0.51
35	58.749	$\beta$ -sesquiphellandrene	12.22
36	58.980	ar-curcumene	7.06
37	61.977	germacrene B	0.41
38	72.496	d-nerolidol	0.69
39	74.538	1H-3a, 7-methanoazulene	0.35
40	75.451	elemol	0.16
41	75.808	sesquisabinene hydrate	0.10
42	76.058	zingiberenol	0.39
43	81.617	$\beta$ -eudesmol	0.39
44	83.726	italicene	0.22
45	87.329	farnesol	0.52
Total			96.22

<sup>1)</sup>Retention time (min) based on the peak of GC chromatogram.<sup>2)</sup>Peak area on the GC chromatogram.

pen류에 기인하는 것으로 알려져 있고(20), 생강 특유의 자극성 맛 성분인 gingerol, shogaol, zingerone 등이 함유되어 있다(21).

Lawrence(22)는 생강에서 115종의 휘발성 향기 성분들을 분리 확인하였고, MacLeod 등(23)은 neral, geraniol, bornyl acetate,  $\beta$ -zingiberene,  $\beta$ -eudesmol, *trans*- $\beta$ -sesquiphellandrol 등이 주요 성분이

**Table 3. Growth inhibition rate (%) of natural mustard essential oil against *Vibrio* species on BHI agar**

Concentration	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i> 01	<i>V. vulnificus</i> 02
200 ppm	42.2 ± 0.0 <sup>e-1)</sup>	10.7 ± 1.2 <sup>c</sup>	32.2 ± 14.5 <sup>b</sup>
500 ppm	81.4 ± 1.2 <sup>b</sup>	17.9 ± 3.6 <sup>b</sup>	51.1 ± 2.2 <sup>a</sup>
1000 ppm	100 ± 0.0 <sup>a</sup>	36.9 ± 3.6 <sup>a</sup>	54.4 ± 1.2 <sup>a</sup>

<sup>1),a-c)</sup>See footnote on Table 1.

Means ± S.D. (n = 3).

**Table 4. Volatile compounds of natural mustard essential oil**

Peak No.	RT (min) <sup>1)</sup>	Compounds	Peak area (%) <sup>2)</sup>
1	33.334	allyl isothiocyanate	92.55
2	39.268	unknown	1.06
3	39.429	4-isothiocyanato-1-butene	0.53
Total			94.14

<sup>1,2)</sup>See footnote on Table 2.

라고 보고하였다. Kim 등(24)은 생강 저장 중의 향기 성분의 변화를 조사한 연구에서 zingiberene, citronellol,  $\beta$ -sesquiphellandrene,  $\beta$ -phellandrene, camphene, geraniol,  $\gamma$ -bisabolene, ar-curcumene, geranyl acetate,  $\beta$ -pinene,  $\beta$ -gurjunene, limonene, neral 등이 주요 향기 성분이라고 보고하였다. 생강에 특징적인 향기를 부여하는데 중요한 성분들로 알려진 11개의 성분 중에서도 특히 citral은 생강 냄새에 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서는 citral의 함량이 0.42%로 낮게 검출되었다.

#### 겨자 정유의 항균효과와 휘발성 성분

*V. parahaemolyticus*의 경우 처리 농도가 높아짐에 따라 항균효과는 높아지는 현상을 보였으며, 겨자 정유를 1,000 ppm 처리하였을 때 100% 증식억제 효과를 나타내었다(Table 3). 또한, *V. parahaemolyticus*에 겨자 정유 200 ppm 처리시에도 40% 이상의 증식억제를 보여 낮은 농도에서도 항균효과를 나타낼 수 있었다.

*V. vulnificus* 01 및 02 모두 겨자 정유에 대해 증식억제율이 *V. parahaemolyticus* 보다 50% 정도 낮게 나타나므로 *V. vulnificus*가 *V. parahaemolyticus* 보다 겨자의 정유에 대한 내성이 강한 것으로 나타났다.

겨자는 배당체인 sinigrin이 myrosinase에 의하여 가수분해되어 매우 자극적인 방향과 강하게 톡 쏘는 맛을 가지고 있는 allyl isothiocyanate와 glucose 및 potassium hydrogen sulfate를 생성하는데, 이들 isothiocyanate는 강한 항균활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(25). Shim 등(26)은 SDE 장치를 이용하여 겨자 불추출물과 메탄올추출물의 항균성을 조사한 결과 *Bacillus subtilis*에 대하여 생육 저해환이 아주 크게 나타나 항균성이 매우 강하였다고 보고하였고, Tokuoka 등(27)도 5종의 곰팡이에 대하여 겨자 휘발성 추출물이 실험균주 모두에서 항균활성을 나타내었다고 보고하였다. 본 실험에서는 겨자 정유가 시험한 *Vibrio*속 식중독 미생물에 대해 높은 항균활성을 나타내었다.

겨자의 isothiocyanate 외의 성분들을 분석하고자 겨자 정유의 휘발성 향기 성분들을 GC와 GC-Mass에 의해 분리 확인한 결과는 Table 4와 같다. 겨자 정유의 주요 휘발성 성분들은 allyl isothiocyanate(92.55%)와 4-isothiocyanato-1-butene(0.53%)으로 분석되었다.

Shim 등(26)은 SDE법에 의한 겨자의 증류성분으로 겨자의 주요 향균 물질로 알려져 있는 3-isothiocyanato-1-propene을 비롯하

**Table 5. Growth inhibition rate (%) of natural garlic essential oil against *Vibrio* species on BHI agar**

Concentration	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i> 01	<i>V. vulnificus</i> 02
200 ppm	16.4 ± 10.9 <sup>a,1)</sup>	3.6 ± 0.0 <sup>b</sup>	15.4 ± 1.5 <sup>b</sup>
500 ppm	18.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	13.9 ± 0.0 <sup>a</sup>	18.2 ± 0.0 <sup>ab</sup>
1,000 ppm	22.8 ± 17.3 <sup>a</sup>	14.6 ± 3.7 <sup>a</sup>	32.9 ± 13.2 <sup>a</sup>

<sup>1),a-c)</sup>See footnote on Table 1.  
Means ± S.D. (n = 3).

여 4-isothiocyanato-1-butene 및 2-isothiocyanatoethyl benzene의 3종류 isothiocyanate와 2종류의 nitrile류, 6종류의 산류 및 3종류의 aldehyde류를 비롯한 30여종의 화합물이 분석되었다고 보고하였고, Kojima 등(28)은 GC-Mass를 이용하여 겨자(*Brassica juncea*)에서 allyl-, 3-butenyl- 및 β-phenylethyl isothiocyanate 등의 휘발성 성분을 동정하였다고 보고하였다. 또한, Cho 등(29)은 돌산갓에서 allyl-, 3-butenyl-, n-hexyl- 및 β-phenylethyl isothiocyanate가 주요 휘발성 물질이라고 보고하였고, Maeda 등(30)은 갓(*Brassica juncea*)에서 11가지 휘발성 물질을 분리 동정하였는데, 그 중 allyl-, pentenyl- 및 3-methylthiopropyl isothiocyanate가 주요 화학 성분이라고 보고하였다.

**마늘 정유의 항균효과와 휘발성 성분**

*Vibrio*군에 대해 마늘 정유를 처리하였을 경우(Table 5) 정유의 농도가 높아질수록 증식억제율은 증가하였다. 마늘 정유를 1,000 ppm 처리 시 증식억제율은 *V. parahaemolyticus* 22.8%, *V. vulnificus* 01 14.6%, *V. vulnificus* 02 32.9%로 생강(Table 1)과 겨자 정유(Table 3) 보다 낮은 항균활성을 나타내었다. 또한, 마늘 정유 처리구에서는 생강과 겨자 정유 처리구와는 달리 *V. parahaemolyticus* 보다 *V. vulnificus* 02에 대한 증식억제율이 높았다.

Sung(31)은 마늘추출물의 미생물에 대한 최소저해농도 800 ppm 이상에서 항균효과가 있는 것으로 보고하였고, Akiko 등(32)은 *V. parahaemolyticus*에 대해 조사한 결과 마늘 추출물 5% 처리 시 최고 93%의 증식억제율을 보였다고 보고하였다.

또한, Choi(33)는 마늘의 농도가 높아질수록 *Escherichia coli*에 대한 마늘의 항균활성이 강해짐을 보고한 바 있고, Sheo(17)는 *V. parahaemolyticus*에 대해서 보통 양념으로 사용하는 마늘 농도인 0.5-1%에서 36.7-100%의 집락 감소를 보여 항균력이 우수하였고, 마늘 농도가 증가함에 따라 증식억제율이 증가하는 경향을 보였다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 기존의 보고와는 다르게 증식억제율이 50% 이하로서 상당한 차이를 보였다.

**Table 6. Volatile compounds of natural garlic essential oil**

Peak No.	RT (min) <sup>1)</sup>	Compounds	Peak area (%) <sup>2)</sup>
1	8.543	thiirane	4.04
2	10.544	methylidene methyl amine	2.56
3	15.631	dimethyl disulfide	0.43
4	19.693	1-propene	8.49
5	28.159	methyl 2-propenyl disulfide	10.09
6	34.648	dimethyl trisulfide	2.52
7	37.710	disulfide di-2-propeny	10.34
8	40.992	dimethyl sulfide	49.39
9	42.530	3,3-D2-heptane	1.41
10	56.399	di-2-propenyl trisulfide	1.05
11	59.003	methanethioamide	10.53
12	69.652	1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane	0.56
Total			91.41

<sup>1),2)</sup>See footnote on Table 2.

마늘의 유효성분은 alliin, 즉 결정성 아미노산인 S-allyl-L-cysteine sulfoxide라고 알려져 있으며(34), 마늘 특유의 휘발성 향기 성분은 마늘 조직이 파괴될 때 자체효소인 alliinase에 의하여 alliin이 분해되어 생성된 allicin(diallyl thiosulfinate)이 다시 diallyl disulfide 및 저급의 sulfide류로 분해되어 발생된다(35,36).

이러한 마늘 정유의 휘발성 성분들을 GC와 GC-Mass에 의해 분리 확인하였으며, 그 결과는 Table 6과 같다. 천연 마늘 정유의 주요 휘발성 성분은 dimethyl sulfide(49.39%), methanethioamide (10.53%), methyl 2-propenyl disulfide(10.09%), 1-propene(8.49%), thiirane(4.04%), methylidene methyl amine(2.56%), dimethyl trisulfide(2.52%) 등으로 분석되었다.

Yu 등(37)은 수증기 증류한 마늘의 향기성분으로 methyl allyl disulfide, methyl allyl trisulfide, diallyl disulfide 및 diallyl trisulfide 등을 분리하였고, Lee 등(38)은 SDE장치로 마늘에서 추출한 향기성분 21종을 확인하였으며, 주요 성분은 diallyl disulfide 44.41%, diallyl trisulfide 30.17%, methyl allyl disulfide 3.83% 및 allyl thiol 3.61% 등이라고 보고하였다. 또한 Jo 등(39)은 마늘의 휘발성 물질로 dimethyl sulfide, diallyl sulfide, methyl-1-propenyl disulfide, diallyl disulfide, allyl methyl sulfide, diallyl trisulfide 등 6종류이고, 이 중에서 diallyl trisulfide, diallyl disulfide, allyl methyl sulfide 등 3종이 마늘 정유물의 주요한 휘발성 성분이었다고 보고하였다.

**Table 7. Growth inhibition rate (%) of clove essential oil against *Vibrio* species on BHI agar**

Part used	Concentration (ppm)	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i> 01	<i>V. vulnificus</i> 02
Bud	200	14.5 ± 0.0 <sup>b,1)</sup>	10.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	19.0 ± 13.9 <sup>b</sup>
	500	22.8 ± 6.4 <sup>a</sup>	16.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	24.1 ± 0.0 <sup>b</sup>
	1,000	14.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	5.1 ± 0.0 <sup>c</sup>	60.6 ± 7.3 <sup>a</sup>
Leaf	200	12.7 ± 1.8 <sup>c,1)</sup>	7.3 ± 2.2 <sup>c</sup>	0 ± 0.0 <sup>b</sup>
	500	47.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	31.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	75.2 ± 0.0 <sup>a</sup>
	1,000	21.8 ± 7.3 <sup>b</sup>	11.7 ± 0.8 <sup>b</sup>	80.3 ± 5.1 <sup>a</sup>
Whole	200	3.6 ± 0.0 <sup>b,1)</sup>	5.1 ± 0.0 <sup>c</sup>	6.6 ± 3.0 <sup>b</sup>
	500	13.7 ± 13.7 <sup>ab</sup>	10.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	10.3 ± 3.7 <sup>b</sup>
	1,000	26.4 ± 10.0 <sup>a</sup>	22.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	35.0 ± 12.4 <sup>a</sup>

<sup>1),a-c)</sup>See footnote on Table 1.  
Means ± S.D. (n = 3).

Table 8. Volatile compounds of clove bud essential oil

Peak No.	RT (min) <sup>1)</sup>	Compounds	Part used (% Peak area) <sup>2)</sup>		
			Bud	Leaf	Whole
1	47.870	$\beta$ -caryophyllene	7.47	10.03	9.71
2	52.117	$\alpha$ -humulene	0.88	2.10	1.47
3	69.036	caryophyllene oxide	-	0.41	-
4	77.970	eugenol	83.33	87.46	86.04
5	82.058	acetyl eugenol	4.46	-	2.12
Total			96.14	100.00	99.34

<sup>1,2)</sup>See footnote on Table 2.

### 정향 정유의 항균효과와 휘발성 성분

정향의 싹, 잎 및 전체에서 얻은 천연 정유의 항균활성을 비교한 결과는 Table 7과 같다. *V. parahaemolyticus*와 *V. vulnificus* 01의 경우 정향 싹의 정유를 처리하였을 때, *V. parahaemolyticus*에 200 ppm 처리 시 증식억제율은 14.5%, 500 ppm 처리 시 22.8%로 항균활성은 증가하였으나 1,000 ppm 처리시 14.5%로 감소하였고, *V. vulnificus* 01의 경우에도 200 ppm 처리 시 10.9%, 500 ppm 처리 시에는 16.8%로 증식억제율이 상승하였으나, 1,000 ppm 처리 시 효과가 오히려 감소하였다. 또한 정향 잎의 정유를 처리시에도 같은 경향을 나타내었다. 생강, 겨자, 마늘의 정유에 대한 내성이 다소 강했던 *V. vulnificus* 02의 경우 증식억제율이 60.6-80.3%로 높은 항균활성을 나타내 생강, 겨자, 마늘 정유(Table 1, 3, 5)보다 정향의 싹 및 잎 정유에서 증식억제 작용이 있음을 확인하였다. *Vibrio*군에 대해 천연 정향 정유의 첨가 농도를 다르게 한 경우 정유의 농도가 높아질수록 증식억제율이 증가하였고, 천연 정향 정유 또한 정향의 싹 및 잎 정유와 같이 *V. vulnificus* 02에서 1,000 ppm 처리 시 증식억제율이 35%로 가장 높았다.

Park과 Choi(40)는 *Listeria monocytogenes*에 대해 저농도의 정향 첨가로서 우수한 항균활성을 나타내었다고 보고하였는데, 본 실험에서도 다른 정유와는 다르게 높은 농도(1,000 ppm) 보다 낮은 농도(500 ppm)에서 증식억제 효과를 나타내었다. Park(41)은 냉장한 *E. coli*의 생존에 대한 정향의 영향은 저장초기에 비하여 저장중기 이후부터 뚜렷해졌으며 특히 0.1%와 0.2%의 차이가 두드러지게 커져 32일간 저장하는 동안 생균수의 감소정도는 약 2배의 차이를 나타내었다고 보고하였다.

정향의 싹 및 잎에서 얻은 것과 전체 천연 정유의 휘발성 향기 성분들을 GC와 GC-Mass에 의해 분리 확인한 결과는 Table 8과 같다. 정향 싹 정유의 주요 휘발성 성분은 eugenol(83.33%),  $\beta$ -caryophyllene(7.47%), acetyl eugenol(4.46%),  $\alpha$ -humulene(0.88%)으로 분석되었고, 정향 잎은 eugenol(87.46%),  $\beta$ -caryophyllene(10.03%),  $\alpha$ -humulene(2.10%), caryophyllene oxide(0.41%)로 분석되었다. 또한, 정향 전체의 정유의 주요 휘발성 성분으로 eugenol(86.04%),  $\beta$ -caryophyllene(9.71%), acetyl eugenol(2.12%),  $\alpha$ -humulene(1.47%)으로 분석되었다.

### 요 약

여름철 식중독의 원인균인 *Vibrio*속 균주를 효과적으로 제어하고자 휘발성과 항균활성이 있는 생강 등 6종의 정유에 대해 항균효과를 비교하였다. 또한 정유의 휘발성 성분을 GC와 GC-Mass를 이용하여 분석하였다. *Vibrio*군에 대해 천연 생강 정유를 처리하였을 경우 *V. parahaemolyticus*에 대하여 22.5-85.7%의 증식억제율을 나타내었고, 주요 휘발성 성분은  $\beta$ -bisabolene(35.19%, peak

area)와  $\beta$ -sesquiphellandrene(12.22%) 등으로 확인되었다. *Vibrio*군에 대해 겨자의 정유를 처리하였을 경우 *V. parahaemolyticus*에 1,000 ppm 처리 시 100% 증식억제율을 나타내었고, *V. vulnificus*는 증식억제율이 *V. parahaemolyticus* 보다 50% 정도 낮게 나타나므로 *V. vulnificus*가 *V. parahaemolyticus* 보다 내성이 강한 것으로 나타났다. 겨자의 주요 휘발성 성분은 allyl isothiocyanate(92.55%)와 4-isothiocyanato-1-butene(0.53%)으로 확인되었다. *Vibrio*군에 대해 마늘 정유를 1,000 ppm 처리하였을 때 증식억제율은 *V. parahaemolyticus* 22.8%, *V. vulnificus* 01 14.6%, *V. vulnificus* 02 32.9%로 나타났고, 주요 휘발성 성분으로 dimethyl sulfide(49.39%)와 methyl 2-propenyl sulfide(10.09%) 등으로 확인되었다. *Vibrio*군에 대해 정향의 싹과 잎 및 전체의 천연 정유를 처리하였을 경우 *V. vulnificus* 02에 처리 시 증식억제율이 60.6-80.3%로서 높은 항균활성을 나타내 생강, 겨자, 마늘 정유에 대하여 내성이 다소 강했던 *V. vulnificus* 02에는 정향의 싹 및 잎 정유가 증식억제 작용이 있음을 확인하였다. 주요 휘발성 성분으로 정향 싹의 정유는 eugenol(83.33%)와  $\beta$ -caryophyllene(7.47%), 정향 잎의 정유는 eugenol(87.46%)과  $\beta$ -caryophyllene(10.03%), 정향 전체의 정유는 eugenol(86.04%)과  $\beta$ -caryophyllene(9.71%) 등으로 확인되었다. 이상의 결과로부터 생강, 겨자, 마늘 및 정향 등의 휘발성 정유는 *Vibrio*속 균주에 대해 항균효과가 우수한 것으로 나타났다.

### 문 헌

- Kim SM, Park UY, Park MY, Kim YM, Chang DS. Physiological and ecological characteristics of hemolytic *Vibrios* and development of sanitary countermeasure of raw fisheries foods. 2. Physiological and psychrotrophic characteristics of *Vibrio mimicus* SM-9 isolated from sea water. J. Food Hyg. Safety 12: 9-14 (1997)
- Chang DS, Shin DH, Chung DH, Kim CM, Lee IS. Food Hygiene. Jungmunkag. Seoul, Korea. pp. 76-83 (2002)
- Miller LG, Kaspar CW. *Escherichia coli* O157:H7 acid tolerance and survival in apple cider. J. Food Prot. 57: 460-464 (1994)
- Unda JR, Molins RA, Walker HW. Microbiological and some physical and chemical changes in vacuum-packaged beef steaks treated with combinations of potassium sorbate, phosphate, sodium chloride and sodium acetate. J. Food Sci. 55: 323-326 (1990)
- Brewer MS, Sprouls GK, Russon C. Consumer attitudes toward food safety issues. J. Food Safety 6: 29-34 (1983)
- Tamblyn KC, Conner DE. Bactericidal activity of organic acids against *Salmonella typhimurium* attached to broiler chicken. J. Food Prot. 60: 629-633 (1997)
- Zaika LL, Scullen OJ, Fanelli JS. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by sodium polyphosphate as affected by polyvalent metal ions. J. Food Sci. 62: 867-872 (1997)
- Zaika LL. Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. J. Food Safety 9: 97-118 (1988)

9. Shelef LA, Naglik OA, Bogen DW. Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. *J. Food Sci.* 45: 1042-1044 (1980)
10. Shelef LA. Antimicrobial effects of spices. *J. Food Safety* 6: 29-44 (1983)
11. Giese J. Spices and seasoning blends: A taste for all seasons. *Food Technol.* 48: 88-98 (1994)
12. Deans SG, Waterman PG. Biological activity of volatile oils. pp. 97-111. In: *Volatile Oil Crops: Their Biology, Biochemistry, and Production*. Hay RKM, Waterman PG (eds). John Wiley & Sons, New Jersey, USA (1993)
13. Parliment TH. Solvent extraction and distillation techniques. pp. 1-26. In: *Techniques for Analyzing Food Aroma*. Marsili R (ed). Marcel Dekker, Inc., New York, USA (1997)
14. Isshiki K, Tokuoka K, Mori R, Chiba S. Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 1476-1477 (1992)
15. Kim YS, Oh BC, Shin DH. The extension of the shelf life of cooked rice by the treatment with the plant extracts and their volatile constituents. *Food Sci. Biotechnol.* 13: 519-522 (2004)
16. SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1990)
17. Sheo HJ. The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 94-99 (1999)
18. Chung DH. Natural Food Preservatives. Daekwang Serim. Seoul, Korea. pp. 1-54 (1998)
19. Kim WJ, Choi HS. Natural Spices. Hyoilbooks Co., Seoul, Korea. pp. 53-70 (1998)
20. Chen CC, Ho CT. Gas chromatographic analysis of volatile components of ginger oil (*Zingiber officinale* Roscoe) extracted with liquid carbon dioxide. *J. Agric. Food Chem.* 36: 322-328 (1988)
21. Kim MK, Na MS, Hong JS, Jung ST. Volatile flavor components of Korean ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracted with liquid carbon dioxide. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 35: 55-63 (1992)
22. Lawrence BM. Progress in essential oils: Ginger oil. *Perfum. Flavor.* 25: 55-58 (2000)
23. MacLeod AJ, Pieris NM. Volatile aroma constituents of Sri Lankan ginger. *Phytochemistry* 23: 353-359 (1984)
24. Kim MK, Lee BE, Yun SE, Hong JS, Kim YH, Kim YK. Changes in volatile constituents of *Zingiber officinale* Roscoe rhizomes during storage. *Agr. Biol. Chem. Tokyo* 37: 1-8 (1994)
25. MacLeod AJ. Volatile flavor compounds of the Cruciferae. pp. 307-330. In: *The Biology and Chemistry for the Cruciferae*. Vaughan JG (ed). Academic Press, London, England (1976)
26. Shim KH, Seo KI, Kang KS, Moon JS, Kim HC. Antimicrobial substances of distilled components from mustard seed. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24: 948-955 (1995)
27. Tokuoka K, Mori R, Isshiki K. Inhibitory effects of volatile mustard extract on the growth of yeasts. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 39: 68-73 (1992)
28. Kojima M, Uchida M, Akahori Y. Studies on volatile components of *Wasabia japonica*, *Brassica juncea* and *Cochleria armoracia* by gas chromatography-mass spectrometry. I. Determination of low mass volatile components. *Yakugaku Zasshi* 93: 453-459 (1973)
29. Jo YS, Park SK, Chun SS, Park JR. Analysis of isothiocyanates in *Dolsan* leaf mustard (*Brassica juncea*). *Korean J. Diet. Cult.* 8: 147-151 (1993)
30. Maeda Y, Ozawa Y, Uda Y. Steam volatile isothiocyanates of raw and salted Cruciferous vegetables. *Nippon Nogeikagaku Kaishi.* 53: 261-268 (1979)
31. Sung KC. A study on the antimicrobial effect of garlic extract using super-critical carbon dioxide. *J. Korean Oil Chem. Soc.* 20: 51-56 (2002)
32. Akiko S, Michinori T, Miyako I. Antibacterial effect of garlic extract on *Vibrio parahaemolyticus* in fish meat. *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 34: 63-67 (1993)
33. Choi HK. A study on antibacterial activity of garlic against *Escherichia coli* O157. *J. Korean Practical Arts Edu.* 14: 159-167 (2001)
34. Chung KS, Kang SY, Kim JY. The antibacterial activity of garlic juice against pathogenic bacteria and lactic acid bacteria. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 31: 32-35 (2003)
35. Mazelis M, Crews L. Purification of the alliinylase of garlic, *Allium sativum* L. *J. Biol. Chem.* 108: 725-727 (1968)
36. Stoll A, Seebeck E. Über den enzymatischen abbau des alliiins und die eigenschaften der alliinase. *Helv. Chim. Acta.* 32: 197-199 (1949)
37. Yu TH, Wu CM, Liou YC. Volatile compounds from garlic. *J. Agric. Food Chem.* 37: 725-730 (1989)
38. Lee JW, Lee JG, Do JH, Sung HS. Comparison of volatile flavor components between fresh and odorless garlic. *Agric. Chem. Biotechnol.* 40: 451-454 (1997)
39. Jo KS, Kim HK, Ha JH, Park MH, Shin HS. Flavor compounds and storage stability of essential oil from garlic distillation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 840-845 (1990)
40. Park CS, Choi MA. Effect of clove (*Eugenia caryophyllata* Thumb) on the survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* during cold storage. *Korean J. Soc. Food Sci.* 13: 602-608 (1997)
41. Park CS. Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by clove (*Eugenia caryophyllata* Thumb). *Korean J. Soc. Food Sci.* 14: 9-15 (1998)