韓 英 淑 敎授指導

碩士學位 請求論文

김치 재료 추출물이 식품유해 미생물에 미치는 항균효과

2005

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

辛 善 美

김치 재료 추출물이 식품유해 미생물에 미치는 항균효과

韓 英 淑 敎授指導

이 論文을 碩士學位 論文으로 提出함

2005年 5月

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

辛 善 美

認 准 書

辛善美의 碩士學位 論文을 認准함

審査委員 _____ 印

審査委員 _____ 印

審査委員 _____ 印

誠信女子大學校 大學院

감사의 글

항상 큰 격려와 배려로 소중한 가르침을 주신 한영숙 지도 교수님께 감사드립니다. 아울러 깊은 관심으로 지도해 주신 안명수 교수님, 김혜영 교수님, 조은자 교수님, 안홍석 교수님, 이명숙 교수님께 진심으로 감사의 말씀을 드립니다.

또한 지금까지 많은 조언과 도움을 주신 박주연 선생님과, 아영선배, 기옥선배, 은정이에게 감사드립니다. 그리고 현주를 비롯한 식품영양학과 선배님과 후배들에게도 고마움을 전합니다.

대학원 생활을 무사히 마칠 수 있도록 응원해준 숙원언니, 윤경언니, 미환언니와 사랑하는 친구들 영재, 점숙, 영희와 동생 인화, 수경이에게도 진심으로 감사의 마음을 전합니다.

끝으로 항상 사랑과 격려로 용기를 주셨던 지난해 고인이 되신 아버님과 존경하는 어머님, 계속 공부 할 수 있도록 지원해준 혜경언니, 미경언니, 상록언니를 비롯한 언니들에게 깊이 감사드리며 이 작은 결실을 바칩니다.

2005년 7월

신 선 미 올림

논 문 개 요

본 연구에서는 김치 재료가 풍미를 증진시키는 목적 외에 유해세균에 대한 항균효과가 있는지를 알아보기 위해 김치 재료인 고춧가루, 무, 생강, 양파, 마늘, 갓, 배추에 대해 식중독균인 *Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus*와 분변오염 지표균인 *Escherichia coli,* 진균류 *Aspergillus sp. Penicillium sp.*에 대한 항균활성을 살펴보았다. 김치재료를 *methanol*로 추출하여 그 추출물에 대해 항균활성을 *paper* d*isc agar* diff*usion*법으로 살펴보았으며, 각 추출물의 최소저해 농도(MIC : *minimum inhibitory concentration*)를 구하고 추출물들이 사용미생물균주에 어떤 영향을 주었나를 주사전자현미경(*SEM* : *scanning electron micoscope*)으로 확인하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 각 김치 재료의 *methanol*추출물의 수율은 고춧가루 추출물이 20.47%로서 가장 높은 수율을 나타내었고, 생강이 9.12%, 마늘과 갓이 각각 7.29%, 7.44%였으며 배추가 6.86%, 양파가 4.64%, 무가 3.15%의 수율을 나타내었다.

2. *Paper* d*isc agar* diff*usion*법을 사용하여 조사한 *methanol* 추출물의 항균효과는 김치 재료의 *methanol*추출물 모두에서 항균효과를 나타내었다. 특히 가장 우수한 항균성을 나타낸 것을 살펴보면 고춧가루, 무, 생강, 마늘, 갓 추출물이 *E. coli*에 대해 각각 22.20, 18.94, 10.13, 22.20, 21.11*mm*의 생육저지대를 보였고, 양파와 배추는 *L. monocytogenes*에 대하여 각각 13.81*mm*, 24.40*mm*의 생육저지대를 나타내어 우수한 항균성을 가진 것으로 검색되었다. 고춧가루와 무는 *L. monocytogenesis*에 대하여 11.38, 12.34*mm*의 저지대를 나타내었으며, 양파, 마늘, 갓, 배추는 *S. typhimurium*에 대하여 10.68, 17.63, 19.72, 18.73*mm*로 저지대를 나타내었고 생강은 *S. aureus*에 대해 9.80*mm*의

저지대를 나타내었다.

3. 김치 재료 *methanol* 추출물의 *Aspergillus sp.*과 *Penicililum sp.*의 곰팡이류에 대한 항균성을 검토한 결과는 마늘 추출물이 *Aspergillus sp.*에 대해 63.33%와 *Penicillium sp.*에 대해 49.27%의 저해를 나타내어 가장 우수하였다. *Aspergillus sp.*에 대해서는 생강 추출물이 57.69%, 무 추출물이 50.94%로 그 다음을 이었고 *Penicillium sp.*에 대해서도 역시 생강과 무 추출물이 각각 33.27%, 26.73%로 우수하였다.

4. 김치 재료 *methanol* 추출물을 0, 250, 500, 1000*ppm*으로 농도를 달리하여 유해미생물에 대한 생육저해곡선을 측정한 결과, *S. typhimurium*에 대해서는 고추, 무, 양파, 배추에서 농도별로 생육저해효과를 보였다. *L. monocytogenes*에 대해서는 고추, 양파 추출물이, *S. aureus*에 대해서는 농도와 관계없이 전체적으로 완만한 생육곡선을 보였으며, *E. coli*에 대해서는 모든 추출물이 농도별로 생육억제효과가 있음을 보여 주었다.

5. 김치재료 *methanol* 추출물을 1,000*ppm*으로 하여 생육저해율을 측정한 결과는 마늘 추출물이 *S. aureus*에 대하여 60%이상의 강력한 생육저해를 나타내었으며, 그 다음으로 양파 추출물이 *E. coli*에 대해 60%이상, *S. typhimurium*에 대하여 50%이상, 배추 추출물이 *E. coli*에 대하여 50%의 생육저해율을 나타내었다.

6. 유해균의 MIC를 측정한 결과, 고춧가루 추출물이 500 μg/*mL*로 *L. monocytogenes*에 대해 MIC를 나타내었고, *S. typhimurium*에 대해 무, 양파, 마늘, 갓, 배추 추출물이 1,000 μg/*mL*, *L. monocytogenes*에 대해 무, 양파, 배추 메탄올 추출물이 1,000 μg/*mL*, *E. coli*에 대해 고추, 무, 마늘, 갓 추출물이 1,000 μg/*mL*로 MIC를 나타내었다.

7. 김치 재료 *methanol* 추출물 중 가장 항균성이 뛰어난 갓과 마늘 추출물

의 농도를 1*mg*/d*isc*로 하여 40, 80, 100, 120℃에서 각각 1시간 동안 열처리한 후 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 생육정도를 측정한 결과, 갓 추출물은 모든 처리구에서 대조구와 차이가 크지 않은 항균활성을 보였으며 특히 120℃의 처리에 의해서도 항균활성이 있는 것으로 나타나 열에 매우 안정한 물질임을 알 수 있었으나, 마늘 추출물은 40℃를 제외한 모든 열처리구에서 항균활성이 낮아져 열처리에 약함을 알 수 있었다.

8. 갓과 마늘 추출물의 *p*H 안정성을 조사하고자 *methanol* 추출물의 농도를 1*mg*/d*isc*로 하여 *p*H를 2, 5, 7, 9, 11로 조절한 후 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 생육정도를 조사한 결과 갓 *methanol* 추출물은 모든 *p*H 조건에 대하여 대조구와 비교 시 항균활성에 있어 차이가 나타나지 않아 *p*H 안정성이 매우 우수함을 알 수 있었고, 마늘 추출물은 산성에 대해서는 안정한 반면, 알칼리쪽으로 갈수록 활성이 낮아지는 경향을 나타내었지만 활성을 완전히 잃지 않았다.

9. 갓과 마늘 추출물을 처리한 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 주사전자현미경(*SE*M)사진을 본 결과 비처리군은 표면이 매끄럽고, 오염이 없는 깨끗한 모습인 반면, *S. typhimurium*과 *E. coli*에서 갓과 마늘 추출물 처리군은 세포질막의 변형으로 인한 형태변화는 없었으나 끈끈한 물질이 균체내에서 유출되어 응집되는 현상이 관찰되었다.

이상의 결과로서 김치 재료 중 고춧가루, 무, 생강, 양파, 마늘, 갓, 배추 *methanol* 추출물은 항균활성물질을 갖고 있으며, 풍미를 증진시키는 목적 외에도 김치의 저장성 향상과 안전성 증대에 기여할 수 있음을 확인하였으며, 특히 갓 추출물은 열과 *p*H에 안정하여 다양한 가공적성에 이용될 수 있고, 더 나아가 항균 소재로서도 이용 가능성이 높음을 시사하였다.

목 차

논문개요

I. 서론 ····· 1

II. 재료 및 방법 ····· 5

1. 실험 재료 ····· 5

1) 재료 ····· 5

2) 시약 및 기구 ····· 5

3) 공시균주 및 배지 ····· 5

2. 실험 방법 ····· 8

1) 항균 검색용 추출물의 조제 ····· 8

2) 김치재료 *methanol* 추출물의 항균성 검색 ····· 8

3) 농도별 미생물 생육저해곡선 측정 ····· 9

4) 미생물의 성장 저해율 측정 ····· 9

5) 최소저해농도(MIC) 측정 ····· 9

6) 열 및 *p*H 안정성 측정 ····· 10

7) 주사전자현미경(*SE*M : *scanning electron micoscope*)에 의한 미생물의 세포형태 변화 측정 ····· 10

III. 결과 및 고찰 ····· 12
1. 김치 재료 *methanol* 추출물의 수율 ····· 12
2. 4종의 식품위해 b*acteria*에 대한 김치 재료 *methanol* 추출물의 항균력 ····· 12
3. 곰팡이에 대한 김치 재료 *methanol* 추출물의 항균력 ····· 13
4. 김치 재료 *methanol* 추출물의 식품위해 미생물에 대한 생육저해 17
4.1 생육저해곡선 ····· 17
1) *Salmonella typhimurium*에 대한 생육저해 ····· 17
2) *Listeria monocytogenes*에 대한 생육저해 ····· 17
3) *Staphylococcus aureus*에 대한 생육저해 ····· 18
4) *Esherichia coli*에 대한 생육저해 ····· 18
4.2 미생물의 생육 저해율 측정 ····· 24
5. 김치 재료 *methanol* 추출물의 최소저해농도(MIC) ····· 27
6. 김치 재료 *methanol* 추출물의 안정성 ····· 29
6.1 열 안정성 ····· 29
6.2 *p*H 안정성 ····· 29
7. 주사전자현미경(*Scanning electron microscope*)에 의한 세포조직 변화 ····· 33

IV. 결론 ····· 36

References

Abstract

List of Tables

Table 1. *List of microorganisms and media used for antibacterial activity tests* ····· 7

Table 2. *Yield ratios of extraction of Kimchi ingredients by methanol* ····· 14

Table 3. *Antibacterial activity of MeOH extract of Kimchi ingredients on several pathogenic microorganisms* ····· 15

Table 4. *Antifungal activity of MeOH extract of Kimchi ingredients on Aspergillus sp. and Penicillium sp.* ····· 16

Table 5. *Minimum inhibitory concentration of the MeOH extract of Kimchi ingredients on several pathogenic microorganisms* · 28

List of Figures

Fig. 1. *Procedure of Speciman preparation for SEM.* ····· 11
Fig. 2. *Growth curve of Salmonella typhimurium in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients* ····· 20
Fig. 3. *Growth curve of Listeria monocytogenes in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients* ····· 21
Fig. 4. *Growth curve of Staphylococcus aureus in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients* ····· 22
Fig. 5. *Growth curve of Esherichia coli in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients* ····· 23
Fig. 6. *Inhibitory effect of MeOH extract of Kimchi ingredients against microorganisms for 12 hr at 37°C.* ····· 26
Fig. 7. *Relative growth promoting activity of the MeOH extract of Leaf mustard and Garlic for Salmonella typhimurium treated with heat*(●:*Leafmustard* , ◆:*Garlic*) ····· 31
Fig. 8. *Relative growth promoting activity of the MeOH extract of Garlic and Leaf mustard for E.coli treated with heat* (●:*Leafmustard* , ◆:*Garlic*). ····· 31
Fig. 9. *Relative growth promoting activity of the MeOH extract of Leaf mustard and Garlic for Salmonella typhimurium treated with heat*(●:*Leafmustard* , ◆:*Garlic*) . ····· 32
Fig. 10. *Relative growth promoting activity of the MeOH extract*

*o*f G*arlic a*nd *Lea*f *mustar*d f*or E.coli treate*d w*ith heat* (●:*Lea*f*mustar*d , ◆:G*arlic*). ····· 32

F*ig*. 11. *Scanning electron micrographs o*f *Staphylococcus aureus.* (*A*: *not treate*d, B: *treate*d w*ith* M*e*OH *extract o*f *Lea*f *mustar*d, C: *treate*d w*ith* M*e*OH *extract o*f G*arlic*). ····· 34

F*ig*. 12. *Scanning electron micrographs o*f *E.coli*.(*A*: *not treate*d, B: *treate*d w*ith* M*e*OH *extract o*f *Lea*f *mustar*d, C: *treate*d w*ith* M*e*OH *extract o*f G*arlic*) ····· 35

I. 서 론

김치의 저장성을 향상시키는 방법으로 냉장 또는 냉동[1], 가열 살균방법[2], 방사선 처리법[3], 염 혼합물의 첨가[4,5], 보존료 첨가[6,7]등 여러 가지 방안이 제시되고 있으나 김치의 풍미저하가 유발되어 식기호도가 저하되며 또한 소비자의 기피현상 등으로 아직까지 상업적으로 널리 사용되지 못하고 있는 실정이다. 최근에는 천연물 중 항균력을 갖는 재료의 첨가로 저장성을 향상시키는 방법[8,9]이 선호되고 있다. 이러한 물질들은 김치발효 숙성 및 변패전 과정에 걸쳐 미생물 생육을 억제함으로써 김치의 선도를 유지할 수 있는 것으로 기대되고 있다.

동서고금을 통하여 음식의 양념으로 사용되는 마늘, 양파, 고추, 생강 등은 음식의 맛을 내는 향신료의 역할 뿐만 아니라 식품의 보존력(방부효과)이 있음이 알려져 왔다[10]. 그 중 마늘은 백합과에 속하는 다년생 채소로서 예로부터 우리의 식생활에 많이 이용되어 온 중요한 향신료로써 식품의 맛을 증진시킬 뿐만 아니라 식품의 보존 능력이 있으며, 식중독균과 같은 병원성 균의 증식을 억제하는 항균 작용이 있음이 보고된 바 있다[11-16]. 또한, 탄수화물과 아미노산의 일종인 *alliin*이 있어서 이것이 *alliinase*라는 효소의 작용에 의해 특유의 향을 내는 *allicin*으로 변하여 세균, 효모, 곰팡이 및 기생충 등의 체표면 단백질과 결합하여 단백질변성을 일으킴으로써 살균과 살충효과, 항바이러스 활성효과등 유익한 작용이 일어나게 된다[17]. 양파는 백합과에 속하는 다년생 식물로 독특한 향기와 풍미를 가지고 있어 주로 향신 조미료로서 널리 사용되고 있으며[18]. 민간요법에서 스테미너 식품으로 정력을 좋게 하고, 신진대사를 높여주며, 각종 균을 죽일 수 있고, 장에서 소화효소의 작용을 높여주며, 모세혈관을 보호하여 피의 흐름을 좋게 할 뿐 아니라 혈압이나 동맥경화증의 예방에 좋다고 하였고, 콩팥의 기능을 증진시킨다고 하였다. 또한 예로부터 이뇨제, 거담제로 애용되어 왔다.[19] 그리고 양파에는 항균 효과를 비롯

하여 중금속의 해독작용[20], 콜레스테롤의 감소 및 항동맥경화 효과가 있다고 보고되고 있으며[19], 양파에 함유되어 있는 f*lav*o*noi*d계 성분인 q*uercetin*, q*uercitrin* 및 *rutin* 등과 함황 화합물인 *allyl propyl* d*isulfide* 및 d*ially* d*isulfide* 등은 항산화작용을 나타내는 것으로 보고되어 있다[21]. 고추는 원래 남미원산으로 조선조 임진란 이후 우리나라에 도입된 것으로 최대 한방 고전인 조선조 허준의 동의보감이나 명대 이시진의 본초강목에는 수재되어 있지 않으나 우리나라 민간에서는 고추가 이질의 예방에 유효하다는 속설이 있다[22]. 고추의 항균 성분에 관해서는 매운맛 성분인 캡사이신에 항균성이 있다는 것이 G*al*[23]에 의해서 보고되고 있다. 생강은 아열대 및 열대성 다년생 식물로서 근경을 주로 식용하며, 그 특유한 향기와 매운맛으로 인하여 오랫동안 향신료로서 사용되어 왔으며, 또한 약리작용도 갖고 있어 한방에서 건위제 및 발한제로 사용되고 있다[24]. 생강의 풍미성분은 정유성분(*essential oil*)과 매운맛 성분을 함유하는 올레오레진(*oleresin*)으로 분류되며 특히 생강 특유의 향미성분으로 각종 *monoterpene*류와 *ses*q*uiterpene*류와 같은 방향성분과 생강 특유의 자극성 매운맛 성분인 *gingerol*, *ginerone* 및 *shogaol*등이 함유되어 있어 항산화효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[25,26]. 마늘의 항균효과를 보고한 이래 수많은 연구자들에 의해 마늘과 양파의 *antimicro*b*ial action*과 항암작용에 관한 보고들이 이어진다[27-29]. 생강의 성분 *gingerone*, *schogaol*, *zingerone*과 고추의 성분 *capsaicine*이 모두 *phenolic compoun*d임을 고려할 때 어느 정도의 항균작용이 예측된다[30,31]. 우리나라 고유 전통 음식인 김치의 필수적인 부재료인 이들 양념류로 인해 김치의 독특한 맛이 좌우되고 있다. 일반적으로 김치 섭취로 인해 세균성 식중독이 발생된 예는 거의 없다. 그 이유는 위와 같이 이들 양념들의 성분들이 대부분 유해한 미생물 성장에 대한 억제 작용과 함께 발효된 김치 내에 다량의 유산균이 특히 식중독균과 같은 유해한 미생물의 증식을 억제하는 협력 작용 때문이라 알려져 있다[32.33]. 김치 재료의 항균성과 관련하여 *Al*-D*elaimy*와 *Ali*[33]는 배추 자체가 약한 살균작용이 있다고 하였다. 십자화과 채소인 무는 국내 생산 과채류 중 배추와 더불어 총 생산량의 60%를 이상을 차지하고 있는 매우 중요하고 친숙한 작물로 민간요법과 고전문헌을 보면 내복근이라 하여 소화촉진과 어패

류 또는 면류의 중독해소에 효과가 있고, 그 종자를 내복자라 하여 기담, 혈담, 천식 및 늑간 신경통 등에 쓰인다고 한다. 무의 성분 중 d*iastase*는 과식, 소화불량, 숙취, 식중독 등에 효능이 있으며, *rapine*은 세균, 진균, 기생충 번식 억제 효능 등 항균 작용을 한다[34]. 이 외에도 이뇨작용, 정장작용, 진해.거담작용, 해열, 소염작용, 혈당저하, 니코틴 제거 작용, 담석증 치료 및 지혈작용 등과 같은 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다[34]. 갓은 십자화과에 속하는 엽경채소류 중의 하나로 중국이 원산지이지만 현재는 한국과 일본 등에서 널리 재배되고 있으며 주로 잎과 줄기를 식용으로 하고 종자는 겨자를 만드는 두해살이 식물이다[35]. 우리나라에서는 예부터 김치재료, 조미료 및 향신료 등으로 이용되고 있는데, 김치재료로 사용할 경우 다른 재료를 사용한 김치에 비해서 발효 속도가 늦어 저장성이 좋을 뿐만 아니라 독특한 신미성분이 풍부하여 건강식품으로 널리 이용되고 있다[36]. 갓의 조직이 절단 또는 상처를 받으면 조직 중에 존재하는 *myrosinase*가 다량 함유되어 있는 *sinigrin*에 작용하여 *glucose*, 함황성분과 그 관련 물질 등을 생성하게 되는데, 그 가운데 *allylisothiocyanate*(AIT)는 독특한 매운맛을 내는 주 성분으로 알려져 있고[37-39]. 이처럼 갓과 같은 십자화과 식물이 포함하고 있는 *sinigrin*은 살균작용을 가지고 있고, *sinal*b*in*도 *myrosinase*에 의하여 *phenol*성 화합물인 *oxybenzylisothiocyanater*와 *sinapine*을 생성하여 살균작용을 갖고 있다 하였다[40]. 항균성을 나타내는 천연물로는 *lysozyme*, *polylysine*, *protamine*, *canal*b*umin*, *avidin* 등의 단백질성 물질과 *acetic acid*, *malic acid*, *succinic acid* 등 유기산, 펙틴분해물, 갈변반응 물질, 저급지방산 *ester* 등 다양하게 알려져 있다[41-46].

한편, 식중독의 15~20%는 병인 물질이 불분명하지만 역학적인 면을 고려해 볼 때 대부분은 세균에 기인하는 것으로 생각되므로 식중독에 있어서 세균이 차지하는 비중은 대단히 크다[47]. 우리 나라의 경우 보건복지부의 통계에 따르면 세균성 식중독에 의한 환자수는 1990년에 618명에서 1994년에 1,746명과 1996년에 2,676명으로 집계되었으며, 1998년도에는 4,577명으로 계속적으로 증가하고 있다. 식중독의 원인균으로는 오랫동안 우리에게 병을 일으키는 것으로 알려져 온 *Salmonella typhimurium, Vibrio paraheamolyticus,*

*Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Bacillus cereus*등이 있으며, 최근 식생활의 변화와 검사방법의 발달로 증가되고 있는 식중독 미생물로서는 *Escherichia coli* O1570:H7, *Listeria monocytogenes, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica*등이 있다[47].

이러한 유해 미생물의 정균 및 살균방법으로 살균제인 *chlorinated water*[48], *acidified sodium chlorite*[49], *electrolyzed oxidizing water*[50], *hydrogen peroxide*[51], *chlorite dioxide*[52], *diacety*[53]과 보존제인 *sorbic acid*[54], *benzoic acid*[55], *lactobacillus* 대사산물[56], *bacteriocin*[57], *lysozyme*[58], 유기산[59] 등 천연 혹은 합성 항균제 처리와 함께 감마선 처리[60]에 의한 식중독 미생물의 증식저해 방법이 보고되어 왔다. 그러나 최근 소비자들은 건강지향적 욕구의 증대와 안전성에 대한 의식 고조로 합성 항균제에 대한 기피현상이 강하게 일고 있는 추세이다.

대부분 천연 항균 물질은 동.식물 내에 한 성분으로 함유된 경우가 많으며, 단백질, 특정 효소, 유기산, 식물정유, 식물의 특정 성분 등이 항균 효과를 나타내는 것으로 알려져 있고[61], 특히 식물에 존재하는 항균 물질은 그 대부분이 *alkaloid*류, *flavonoid*류, *terpenoid*류, *phenolic compound*류, *quinone*류 및 *volatile oil* 등의 이차대사 산물이거나 또는 그 유도체들로 알려져 있다[62-64].

따라서 본 연구에서는 김치 재료가 풍미를 증진시키는 목적 외에 안전성 증대에 기여하는지를 알아보기 위해 김치 재료인 고춧가루, 무, 생강, 양파, 마늘, 갓, 배추를 각각 *methanol*로 추출하고, 식중독균인 *Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus*와 오염 지표균인 *Escherichia coli,* 진균류 *Aspergillus sp. Penicillium sp.*에 대한 항균효과를 *paper disc agar diffusion*법 등을 이용하여 최소저해농도(MIC)를 측정하고, 생장 저해율과 생육저해곡선 등을 조사함으로써 항균력을 조사하였다. 또한 주사전자현미경(*SEM*)을 이용하여 추출물이 처리된 균체를 검경하여 세포형태를 관찰하여 이들 추출물이 세포에 어떠한 영향을 주었는지를 살펴보았기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 재료

본 실험에서 사용한 항균성 시험 대상 김치 재료는 고춧가루(종갓집), 무, 생강, 양파, 마늘, 갓, 배추로 실험 당일 백화점에서 유기농 제품으로 구입하였다. 갓과 배추는 증류수로 2~3회 수세한 뒤 물기를 제거한 후 7일간 음건하였고 분쇄기(HMF-340, Hanil, Korea)로 분쇄한 후 50mesh standard sieve를 통과시켜 추출용 시료로 사용하였고 무, 생강, 양파, 마늘은 증류수로 2~3회 수세한 뒤 음건하지 않고 그대로 분쇄하였으며 고춧가루는 전처리 없이 구입한 그대로를 시료로 사용하였다.

2) 시약 및 기구

실험 재료를 적절한 농도로 희석하는데 사용된 methanol은 Tedia(OH)사의 순도 99.9% 특급품을 사용하였고 paper disc는 Whatman(England)사의 제품으로 직경 6mm제품을, 96 well microplate는 Becton Dickinson(NJ) 사의 제품을 사용하였으며 membrane filter는 Advantec(U.S.A.)사의 제품을 사용하였다. 그리고 주사전자현미경(Scanning electron microscope)을 위해 사용한 각종 시약은 Electron microscopy sciences(U.S.A.)사의 제품을 사용하였다.

3) 공시균주 및 배지

배지 제조에 사용된 Tryptic Soybean Agar(TSA), Tryptic Soybean Broth(TSB), Malt Agar는 Difco(MD)사의 제품을 사용하였고, 사용된 균주

는 Gram음성균인 *E.coli*(ATCC 9637), *S.typhimurium*(ATCC 19115)과 Gram 양성균인 *S. aureus*(ATCC 25923), *L.monocytogenes*(ATCC 14028)를 한국생명공학연구원 유전자은행으로부터 분양받아 계대하여 37℃에서 24~48시간 배양하여 활성화시켜 사용하였다. 김치 발효 중 부패 및 품질 저하에 영향을 미치는 진균류 *Aspergillus sp.*(ATCC 20253) *Penicillium sp.*(KCTC 26191)는 한국종균협회에서 분양받아 배양온도 20℃에서 소정기간 배양한 후 사용하였다(Table 1).

Table 1. List of microorganisms and media used for antibacterial activity tests

	Microorganism tested		Media used	Cultivation temp.(℃)
Gram negative bacteria	*Escherichia coli*	ATCC 9637	TSA&TSB	37
	Salmonella typhimurium	ATCC 14028	TSA&TSB	37
Gram positive bacteria	*Staphylococcus aureus*	ATCC 25923	TSA&TSB	37
	Listeria monocytogenes	ATCC 19115	TSA&TSB	37
Fungi	*Aspergillus sp.*	ATCC20253	Malt Agar	20
	Penicillium sp.	KCTC26191	Malt Agar	20

2. 실험 방법

1) 항균 검색용 추출물의 조제

김치 재료 추출물 조제는 각각 준비된 시료와 *methanol*을 1:10(w/v)의 비율로 혼합하여 실온에서 6시간동안 3회 반복하여 교반 추출하였다. 이 추출액을 여과지(W*hatman* No.2)로 여과한 후 회전 진공 증발기(R*otary* ev*aporator*, *EYELA*, J*apan*)로 45 ℃의 수욕상에서 감압 농축하였으며 각 추출물은 0.45 μ*m* mem*brane* f*ilter* (*A*dv*antec* MFS, I*nc*., C*A*)로 제균한 후 4 ℃의 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 고형분의 함량은 농축된 고형물 1 *mL*을 취하여 105 ℃에서 건조 증발 후 잔사량을 계산하였다.

2) 김치재료 *methanol* 추출물의 항균성 검색

세균에 대한 항균성 측정은 *Paper* d*isc agar* diff*usion* 법[65]를 이용하였다. 즉, 각 균주 1 백금이를 취하여 10 *mL*의 b*roth*에 접종하고, 37 ℃에서 18시간 동안 배양하여 활성화시켰다. 이 활성액 0.1 *mL*을 두께가 4~5*mm*인 T*SA* 배지에 도말하고 멸균된 6.0 *mm* f*ilter paper* d*isc*(W*hatman AA* D*iscs*)를 1.0*mg*/d*isc*의 농도로 각 추출물을 흡수시켜 추출 용매를 휘발시키고 난 후 *plate* 표면 위에 놓아 37 ℃에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후 d*isc* 주위의 *clear zone*의 직경(*mm*)을 생육저해환으로서 비교하였다.

F*ungi*에 대한 항진균 활성 검정 방법으로는 배지점적법[66]을 이용하였다. M*alt agar*배지에 소정의 농도가 되도록 추출물을 혼합하여 만든 평판배지에 미리 배양해둔 각 공시균의 균사선단부를 직경 8*mm*의 *cor*k b*orer*로 떼어내어 접종하였다. 20℃에서 소정기간 배양한 후 자란 균사환의 직경을 측정하여 균사 생장 억제율 (*hyphal growth inhi*b*ition ratio*)로 항균활성을 다음과 같이 나타내었다.

$$\%\ hyphal\ growth\ inhibition\ ration = [\frac{(Gc) - (Gt)}{(Gc)}] \times 100$$

G*c*: 무첨가 배지상의 균사 직경
C*t*: 첨가 배지상의 균사 직경

3) 농도별 미생물 생육저해곡선 측정

김치재료 메탄올 추출물의 생육저해 농도는 T*urbidimetric assay*를 사용하였으며 b*acteria*에 대해서만 측정하였다. 4 종의 균이 활성화된 10 *mL*의 TSB배지에 추출물을 농도별로 첨가하고 37 ℃에서 배양하면서0, 4, 8, 12, 24 시간이 되는 때에 650*nm*에서 *microplate rea*d*er*(B*iolog* I*nc*., U*SA*)로 흡광도를 측정하였다.

4) 미생물의 성장 저해율 측정

김치 재료 *methanol* 추출물이 4종의 b*acteria*에 미치는 생육 저해율은 TSB 배지 10 *mL*에 각 재료의 추출물을 1,000*ppm* 농도로 주입하고, 각 균주의 활성액을 0.1*mL* 접종하여 37°C에서 12시간 배양하여 측정하였다. 배양 후 *microplate rea*d*er*(B*iolog* I*nc*. U.S.*A*.)를 이용하여 650*nm*에서 흡광도를 측정하고 다음 식으로 생육저해율(%)을 확인하였다[67]. 생육 저해율은 균의 대수증식기 중 생육이 가장 억제된 12시간에서 그 값을 측정하였다.

$$\%\ \textit{inhi}\text{b}\textit{itory}\ \textit{e}\text{ffe}\textit{ct}\ \textit{o}\text{f}\ \text{b}\textit{acteria} = \frac{(\textit{control}\text{-}\textit{control}\ \text{bl}\textit{an}\text{k})\text{-}(\textit{treatment}\text{-}\textit{treatment}\ \text{bl}\textit{an}\text{k})}{(\textit{control}\text{-}\textit{control}\ \text{bl}\textit{an}\text{k})} \times 100$$

5) 최소저해농도(M*inimum inhi*b*itory concentration*) 측정

4종의 b*acteria*에 대한 최소저해농도(MIC)는 b*roth micro*d*ilution metho*d[65]에 의해 다음과 같이 결정하였다. 즉, w*ell plate*에 TSB를 100 µ*L*씩 분주하고 추출물 100 µ*L*을 t*wo*-fo*l*d d*ilution*하여 농도를 조절한 후

균의 농도를 2×10^5 *c.f.u/mL*이 되도록 희석시켜 100 μ*L*씩 첨가하였다. 그 후 37 ℃에서 24시간 배양한 뒤 650*nm*에서 *microplate reader*(B*iolog* I*nc.* U.S.*A*)로 흡광도를 측정하였다. T*urbidity*가 0.00으로 표시되는 w*ell*의 해당 시료 농도를 MIC값으로 결정하였다.

6) 열 및 *p*H 안정성 측정

김치 재료 *methanol* 추출물 중 가장 항균성이 뛰어난 갓과 마늘 추출물의 열 안정성을 측정하기 위해 40, 80, 100, 120℃에서 1시간 동안 열처리한 후 처리 온도별로 *methanol* 추출물의 농도가 1 *mg/*d*isc*가 되도록 *paper* d*isc agar* d*iffusion*법으로 항균력 측정방법과 동일하게 측정하였다. *p*H 안정성은 *p*H에 따라 용매를 2, 5, 7, 9, 11로 조정한 후 시료를 가하고 37℃에서 1시간 동안 방치한 다음 *p*H 7로 중화시켜 열 안정성과 동일한 방법으로 측정, 비교하였다.

7) 주사전자현미경(*SE*M : *scanning electron micoscope*)에 의한 미생물의 세포 형태 변화 측정

김치 재료 *methanol* 추출물 중 가장 항균성이 뛰어난 갓과 마늘 추출물 항균효과에 대한 기작을 확인하고자 *methanol* 추출물에 대한 *S. typhimurium*과 *E.coli*의 항균 효과를 주사전자현미경(*SE*M: *Scanning electron microscope*)으로 확인하였다. 주사전자현미경의 조직 표면 제작의 전처리 과정은 *Speciman preparation* 방법[68]으로 시행하였다(F*ig.* 3). 즉, 활성화된 균체를 원심분리하여 집균하고, 고정 및 탈수 과정을 거친 후 탈수된 조직을 *Specimen* 건조법으로 건조하였다. 그 후 *sputter*를 이용하여 150 Å의 두께로 *gol*d 피막을 입힌 후 주사전자현미경(H*itach* M*odel S*-4200, N*issei Sangyo* C*o. Lt*d., J*apan*)으로 검경하였다.

***Primary* Fixation** : *at* 4℃ *for* 2~4 *hr*

Modified Karnovsky's fixative(2 % paraformaldehyde and 2 %

glutaaraldegyde *in* 0.05 M sodium cacodylate buffer(pH 7.2))

↓

Washing : *at* 4℃ *for* 10 *min*, *three times*

↓

***Post* Fixation** : *at* 4℃ *for* 2 *hr*

1 % *osmium tetroxide in* 0.05 M *sodium cacodylate* buffer(pH 7.2)

↓

Washing : *at room temperature two times* briefly

distilled water

↓

Dehydration : *at room temperature* for 10 *min each*

*Et*OH : 30, 50, 70, 80, 90, 100, 100, 100 %

↓

***Specimen* Drying** : *hexamethyldisilazane*(100 %, 15 *min two times*)

↓

Mounting : *on metal sputter*

↓

Coating : *gold*

↓

Observation : *SEM*(Hitach Model S-4200, Nissei Sangyo Co. Ltd, Japan)

Fig. 1. *Procedure of Speciman preparation for SEM.*

III. 결과 및 고찰

1. 김치 재료 *methanol*추출물의 수율

고춧가루, 무, 생강, 양파, 마늘, 갓, 배추 시료를 *methanol*로 실온에서 6시간 동안 3회 반복하여 교반 추출한 *methanol* 추출물의 수율은 T*able* 2와 같다. 즉 고춧가루 추출물이 20.47%로서 가장 높은 수율을 나타내었고, 그 뒤를 이어 생강이 9.12%, 마늘과 갓이 각각 7.29%, 7.44%였으며 배추가 6.86%, 양파가 4.64%, 무가 3.15%의 수율을 나타내었다.

2. 4종의 식품위해 세균에 대한 김치 재료 *methanol* 추출물의 항균력

김치 재료의 *methanol* 추출물의 항균효과를 *paper* d*isc agar* diff*usion metho*d로 조사한 결과는 T*able* 3과 같다. 각각 김치 재료의 *clear zone*을 살펴보면 고춧가루, 무, 생강, 마늘, 갓 추출물은 *E. coli*에 대해 21.13, 18.94, 10.13, 22.20, 21.22*mm*의 저지대를 보였고, 양파와 배추는 *L. monocytogenes*에 대하여 각각 13.81 *mm*, 24.40 *mm*의 *clear zone*을 나타내어 우수한 항균성을 가진 것으로 검색되었다. 고춧가루와 무는 *L. monocytogenesis*에 대하여 11.38, 12.34*mm*, 양파, 마늘, 갓, 배추는 *S. typhimurium*에 대하여 10.68, 17.63, 19.72, 18.73*mm*로 강한 항균성을 나타내었고 생강은 9.80*mm*로 *S. aureus*에 대한 항균성을 나타내었다.

이 결과에서 각 재료의 *methanol* 추출물들이 *E. coli*에 대해서 재료에 따라 약간의 차이는 있으나 약 20.00 *mm*에 가까운 항균성을 보이는 경향을 알 수

있었으며 생강과 양파는 다른 재료와 비교해볼 때 형성된 *clear zone*의 크기가 작은 경향을 확인할 수 있었다. 이는 마늘, 생강, 양파, 고추 즙의 항균효과를 보고한 서의 결과[10]와 대체로 일치하였다. 서[10]는 마늘의 경우 식중독 유발 미생물을 최저 70%에서 최고 100%까지 억제하였다고 보고하였으며 양파와 생강은 균에 따라 차이가 있으나 대체로 25~50% 정도의 억제율을 보인다고 설명하였다. 반면 서[10]는 고춧가루가 약 5~20% 정도의 억제율을 보인다고 설명하였으나 본 연구에서는 고춧가루가 오염지표균인 *E. coli*에 대하여 큰 항균성을 나타내는 것을 확인 할 수 있었다.

3. 곰팡이에 대한 김치 재료 *methanol* 추출물의 항균력

김치 재료 *methanol* 추출물의 *Aspergillus sp.*과 *Penicililum sp.*에 대한 항균성을 검토한 결과는 T*able* 4와 같다. 마늘 추출물이 *Aspergillus sp.*과 *Penicillium sp.*에 각각 63.33%, 49.27%의 저해를 나타내어 가장 우수하였다. *Aspergillus sp.*에 대해서는 생강 추출물이 57.69%, 무 추출물이 50.94%로 그 다음을 이었고 *Penicillium sp.*에 대해서도 역시 생강과 무 추출물이 각각 33.27%, 26.73%로 우수하였다. 마늘의 항진균작용에 대하여 *Singh* 등[69]은 마늘 성분 *ajoene*이 *Alternari solani*를 억제하고, G*arcia*[70]는 마늘즙 처리가 *Aspergillus flavus*의 *aflatoxin*독소 생성을 억제한다고 보고하였고, 지 등[71]은 곰팡이의 경우 *Aspergillus sp.*은 마늘 추출물에 의해 생육이 억제되고, *Aspergillus sojae*는 생강 추출물에 의해 생육이 억제되었다고 보고하였다. 또한, 신 등[72]은 D*isc* 확산법으로 갓의 진균 억제력을 실험한 결과에서 갓 추출물의 *Aspergillus niger*의 억제효과를 설명하였는데, 이는 위의 결과와 일치하는 것으로 식품방부제 등으로 활용될 수 있는 안전성 높은 천연 항진균제 개발의 가능성을 나타낸 결과로 생각된다[73]

Table 2. Yield ratios of extraction of Kimchi ingredients by methanol

Kimchi ingredients	Yield (%, w/w)[a]
Red pepper	20.50
Radish	3.15
Ginger	9.12
Onion	4.64
Garlic	7.29
Leaf mustard	7.44
Chinese Cabbage	6.86

[a] $\text{Extraction yield (\%)} = \frac{\text{solid in extract gr}}{\text{raw material gr(dry weight)}} \times 100$

Table 3. *Antibacterial activity of* MeOH *extract of* Kimchi *ingredients on several pathogenic microorganisms.*

Kimchi ingredients	Clear zone on plast (mm)[a]			
	S. typhimurium	*L. monocytogenes*	*S. aureus*	*E. coli*
Red pepper	9.36	11.38	9.71	22.20
Radish	10.50	12.34	8.39	18.94
Ginger	9.69	9.65	9.80	10.13
Onion	10.68	13.81	9.11	10.21
Garlic	17.63	9.21	9.13	22.20
Leaf mustard	19.72	9.75	9.10	21.11
Chinese Cabbage	18.73	24.40	9.22	10.65

[a] *Values are the diameter of inhibitory zone of including the disc(6mm).*

Table 4. *Antifungal activity of* MeOH *extract of* Kimchi *ingredient on* *Aspergillus sp.* and *Penicillium sp.*

Kimchi ingredients	Hyphal growth inhibition ratio(%)	
	Aspergillus sp.	*Penicillium sp.*
Red pepper	24.75	20.56
Radish	50.94	26.73
Ginger	57.69	33.27
Onion	46.11	14.60
Garlic	63.33	49.27
Leaf mustard	15.09	25.28
Chinese Cabbage	20.94	3.65

[a] *Values are the diameter of inhibitory zone of including the disc*(6*mm*).

4. 김치 재료 *methanol* 추출물의 식품위해 미생물에 대한 생육저해

4.1 생육저해곡선

1) *Salmonella typhimurium*에 대한 생육저해

실험에 사용된 추출물들이 *S. typhimurium*의 생육특성에 미치는 영향은 F*ig*. 2에 나타낸 바와 같다. *S. typhimurium*는 *paper* d*isc agar* diff*usion*법을 이용하여 생육 저해환을 조사한 결과(T*able* 3)에서 갓, 배추 추출물이 우수한 항균 활성을 보였는데 생육저해 곡선에서도 배추 추출물이 *S. typhimurium*에 대하여 농도별 저해 효과를 나타내었다. 뿐만 아니라 무, 양파 추출물도 균의 증식이 활발히 일어나는 대수증식기인 4~12시간 사이에 생육을 억제하는 것으로 나타났다. 이는 서 등[40]의 배추 김치즙의 *S. typhimurium*에 대한 생육억제 효과와 유사한 결과로 M*ichael*과 R*eese*[74]는 마늘과 양파의 *S. typhimurium*에 대한 강한 살균력을 보고하였다. 반면 *Paper* d*isc agar* diff*usion metho*d로는 큰 항균활성을 보이지 않았던 고춧가루 추출물도 1,000 *ppm*의 농도에서 *S. typhimurium*의 생육을 크게 억제하는 것으로 나타났다.

2) *Listeria monocytogenes*에 대한 생육저해

김치재료 *methanol*추출물의 *L. monocytogenes*의 생육 특성에 미치는 영향은 F*ig*. 3에서 보는 바와 같다. *S. typhimurium*에 대한 결과에서처럼 1,000 *ppm* 농도의 고춧가루 추출물은 *L. monocytogenes*의 생육을 크게 억제하는 것을 확인할 수 있었고 무, 양파, 배추 추출물이 대수증식기인 4~12시간 사이에 균의 생육을 억제하는 것으로 나타나 *paper* d*isc*로 조사한 생육 저해환의 결과와 일치하는 경향을 보였다. 이 등[75]은 김치에서 분리한

*Lactococcus lactis sub sp lactis*가 bacteriocin을 생성하여 *L. monocytogenes*를 억제한다고 보고하였으나 본 연구에서는 각각의 김치재료 추출물만으로도 생육을 억제하는 것으로 나타났다.

3) *Staphylococcus aureus*에 대한 생육저해

실험에 사용된 추출물들이 *S. aureus*의 생육특성에 미치는 영향은 Fig. 4에 나타낸 바와 같다. 전체적으로 추출물들은 *S. aureus* 생육 저해에 큰 영향을 주는 것을 알 수 있으며 역시 *paper* disc *agar* diffusion *metho*d의 생육 저해환 결과와 일치하는 경향이다. 그러나 특별히 1,000 *ppm* 농도의 마늘 추출물이 *S. aureus* 생육에 있어서 유도기를 8시간까지 상당히 연장시킨다는 것을 관찰할 수 있었다. *Al*-D*elaimy*와 *Ali*[27]는 마늘함량 1~4%인 시료액 처리로 *S. aureus*를 완전히 억제하였다고 보고하였는데 이는 마늘과 같은 양념성분들이 김치 발효중에 생성된 유산균들에 의해 생성된 b*acteriocin*과 같은 항균물질과 협력하여 더욱더 강한 항균효과를 보임으로써[40] 안전성 증대를 향상시킬 것으로 예상되어진다.

4) *Esherichia coli*에 대한 생육저해

실험에 사용된 추출물들이 *E. coli*의 생육특성에 미치는 영향은 Fig. 5에 나타낸 바와 같다. *Paper* disc *agar* diffusion 법으로 측정한 생육저해환의 결과에서 대부분의 김치 재료 *methanol* 추출물이 우수한 항균성을 나타낸 것과 같이 농도별 생육 곡선을 측정한 결과에서도 미약하지만 모든 추출물에서 생육 억제 효과를 나타내었다. 특히 고춧가루 추출물이 대수증식기와 정지기까지 농도에 따른 생육 억제 효과를 나타냈고 배추, 무, 양파 추출물은 1,000 *ppm*의 농도에서 대수증식기인 4~12시간에 상당한 억제 효과를 보여주었다. 김 등[16]이 *E. coli*가 다른 세균에 비해 마늘의 생육 저해 작용에 대한 감수성이 매우 높은 것으로 나타났다는 보고와는 일치하지 않은 결과로써 이는 김

[16]등의 마늘즙액의 농도가 높아질수록 사멸속도가 빨라졌으며, *p*H에 의한 사멸효과를 저해물질인 *allicin*이 알칼리 상태에서는 불안정하게 되어 *allyl* d*isulfide*와 *sulfur* d*ioxide*로 되면서 독성효과를 나타내는 -*S*(O)*S*-기가 없어진다는 해석에 따라 농도와 배지의 *p*H에 의한 영향으로 보인다. *Al*-D*elaimy*와 *Ali*[27]에 의하면 *green pepper*즙과 양파즙 4%는 *E. coli*를 생육 억제시킨다고 하였다

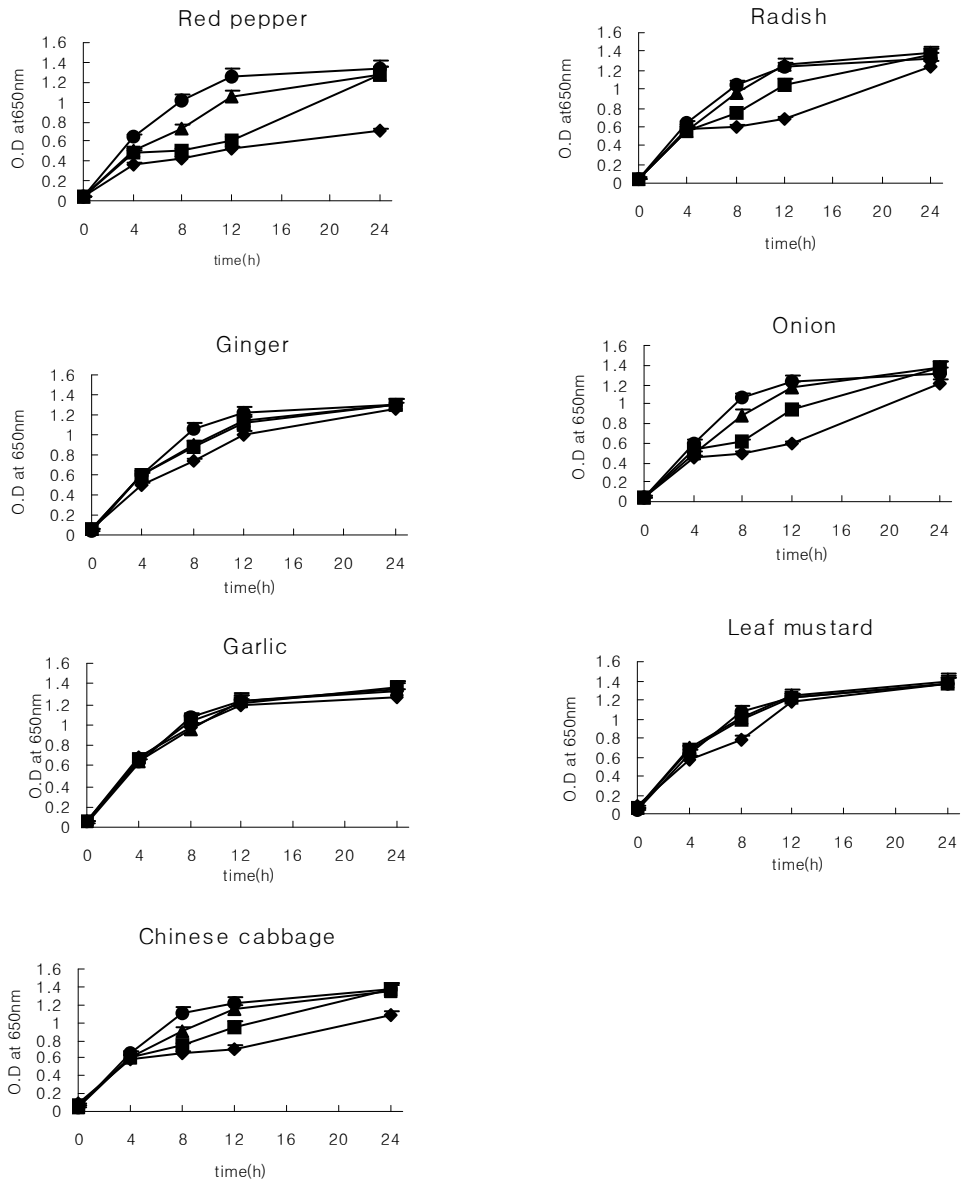


Fig. 2. Growth curve of *Salmonella typhimurium* in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients.

◆ : 1,000*ppm* ■ : 500*ppm* ▲ : 250*ppm* ● : 0*ppm*

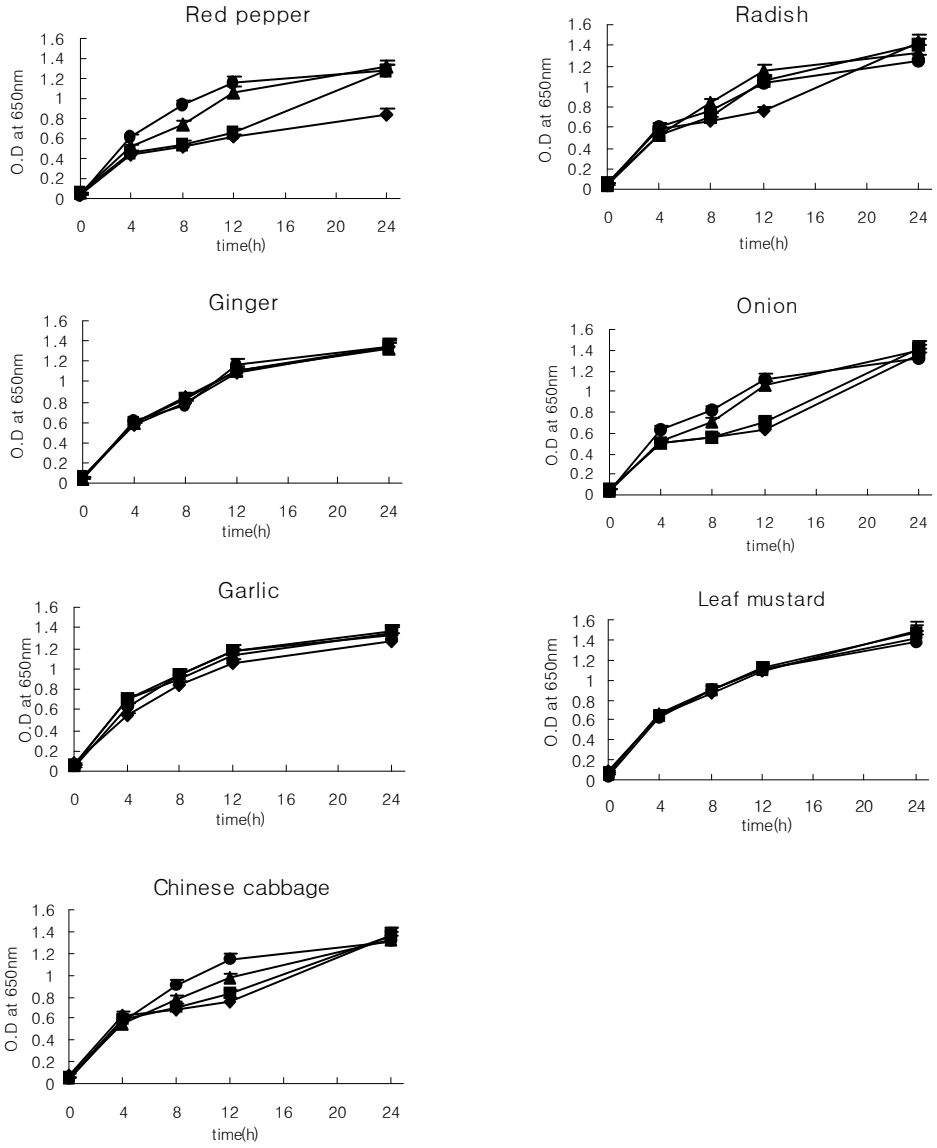


Fig. 3. Growth curve of *Listeria monocytogenes* in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients.

◆ : 1,000*ppm*　■ : 500*ppm*　▲ : 250*ppm*　● : 0*ppm*

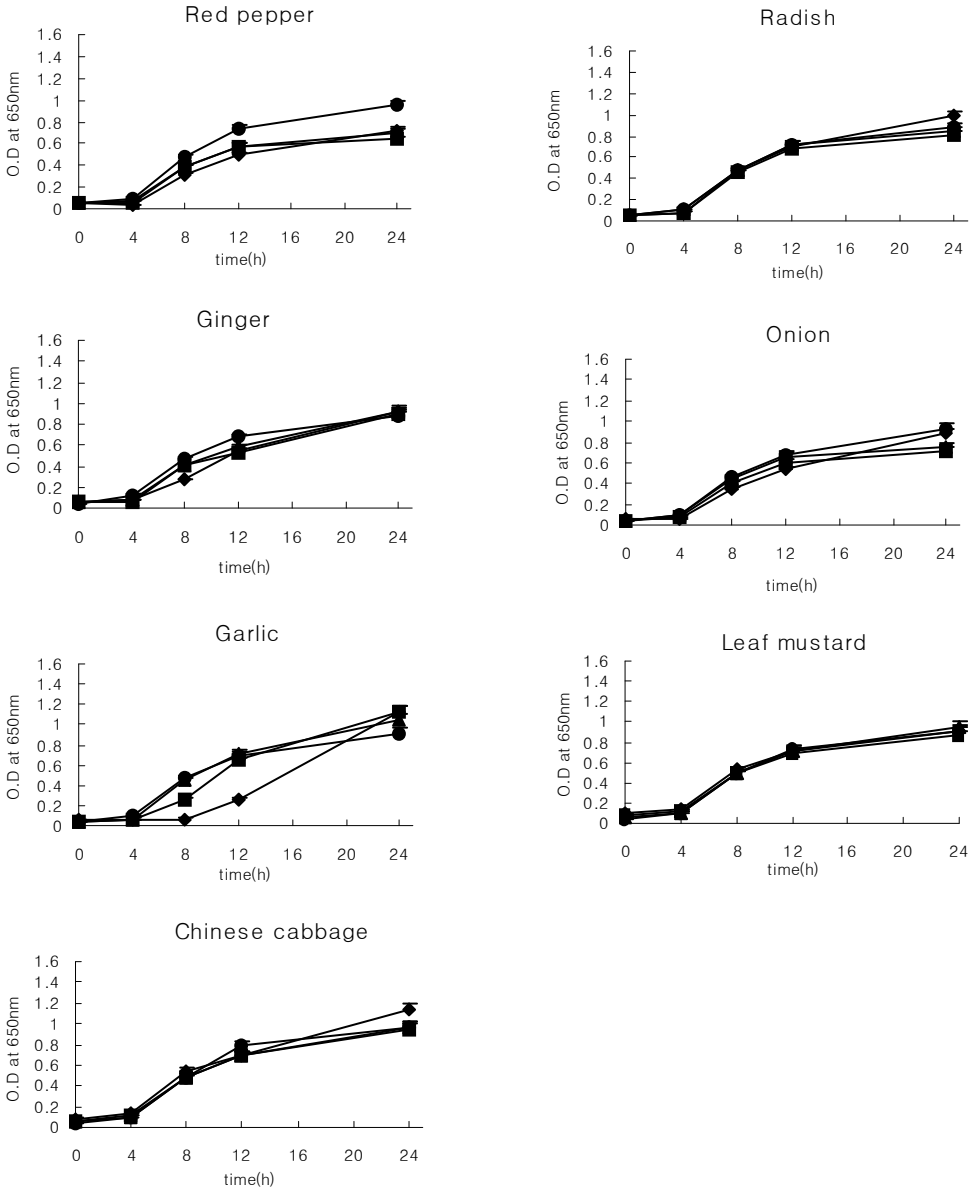


Fig. 4. Growth curve of *Staphylococcus aureus* in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients.

◆ : 1,000*ppm* ■ : 500*ppm* ▲ : 250*ppm* ● : 0*ppm*

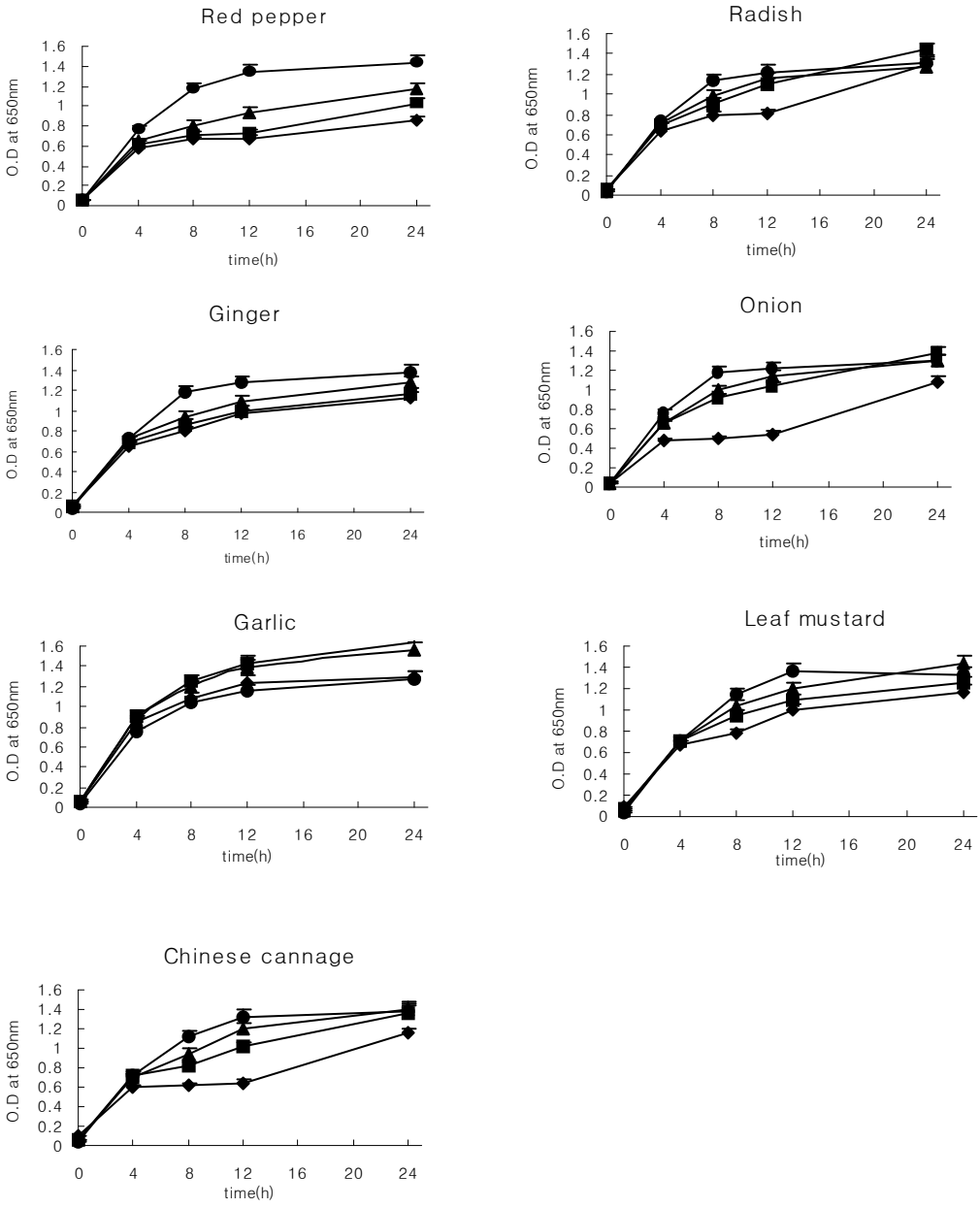


Fig. 5. Growth curve of *Escherichia coli* in the media adding the methanol extract of Kimchi ingredients.

◆ : 1,000*ppm* ■ : 500*ppm* ▲ : 250*ppm* ● : 0*ppm*

4.2 미생물의 생육 저해율 측정

김치 재료 *methanol* 추출물의 농도를 1000 *ppm*으로 하여 TSB 배지에 첨가한 후 미생물에 대한 생육저해를 알아보기 위하여 흡광도(*A*=650 *nm*)를 측정한 후 그 값으로 식[%*inhibitory effect of bacteria*=(*control-control blank*)-(*treatment-treatment blank*)/(*control-control blank*)×100]에 따라 저해율을 구하여 F*ig*. 6과 같이 나타내었다. 그 결과 고춧가루, 무 추출물이 *S. typhimurium*에 대해 40%, *E. coli*에 대해 30% 이상의 높은 생육저해 효과를 나타내었고, 생강 추출물은 *E. coli*에 대해 30%이상의 생육저해를 나타내었으며, 양파 추출물은 *S. typhimurium*에 대해 50%이상, *E. coli*에 대해서는 60% 이상의 가장 높은 저해율을 나타내었고, *L. monocytogenes*에 대해서는 40%이상, *S. aureus*에서 20%이상으로 모든 균에 대해서 생육 저해 효과를 나타내었다. 마늘 추출물은 *S. aureus*에 대해 60% 이상의 강력한 생육저해를 나타내었고, 갓 추출물은 *E. coli*에 대해서만 25%이상의 저해율을 나타내었으며, 배추 추출물은 *S. aureus*를 제외한 3종의 균에 대해서 30%이상의 높은 생육 저해 효과를 나타내었다. *Alliium*속 식물인 마늘과 양파가 공통적으로 *S. aureus*에 대해 항균력이 강한 것은 이들 식물에 함유된 유황화합물에 의한 것으로 생각된다.[30,31] 서[10]는 *S. aureus*가 마늘에 대한 감수성이 커서 강력한 생육저해를 나타냈다고 보고하였고, F*ocke* 등[76]은 마늘의 *allicin*이 C*oA-SH*를 선택적으로 억제하여 항균효과를 낸다고 하였으며, N*orbert*[77]등은 마늘의 항v*irus*효과의 연구에서 마늘의 항미생물 작용은 *alliin*자체가 아니고 *alliin*으로부터 생긴 *allicin*(*allyl 2-propenyl thio sulfenic acid*)과 *ajoene*(*sulfinate*류)이 강하다고 하였다. 생강이 어느 정도 항균력을 갖는 것은 생강 성분 중 *phenolic commpound*s인 *gingerone*, *schogaol*, *zingerone*에 의한 것으로 생각되며[30,31] 생강추출물은 G*ram* 양성균보다는 G*ram* 음성균이 내성이 약한 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 정 등[78]의 보고와는 상이한 것이었으며, 이는 추출에 사용된 용매나 추출방법에 다른 차이 때문이라 사료되

었다. 갓 추출물에서 1~3시간 사이의 항균활성은 갓에 함유되어 있는 *glucosinolate*류의 일종인 *sinigrin*이 자체의 *myrosinase* 작용에 의하여 가수분해되면서 휘발성 *A*IT가 많이 생성되어 추출액 중에 용존 하기 때문이지만 [79], 이것이 시간이 경과함에 따라 점진적으로 감소[79]하므로 생육저해효과가 낮게 나타난 것으로 생각된다.

Paper d*isc agar* d*iffusion* 법으로 측정한 생육저해환의 결과와 대부분 일치하는 경향이나 생육 저해환에서는 우수하게 나타나지 않았던 항균성이 액체 배양법에서 나타난 생육 저해에 대한 결과는 T*a*b*a*k[81]과 이[82] 등의 결과와 유사한 결과로 고체 배양법과 액체 배양법의 추출물의 확산 정도의 차이에 의한 것으로 생각된다.

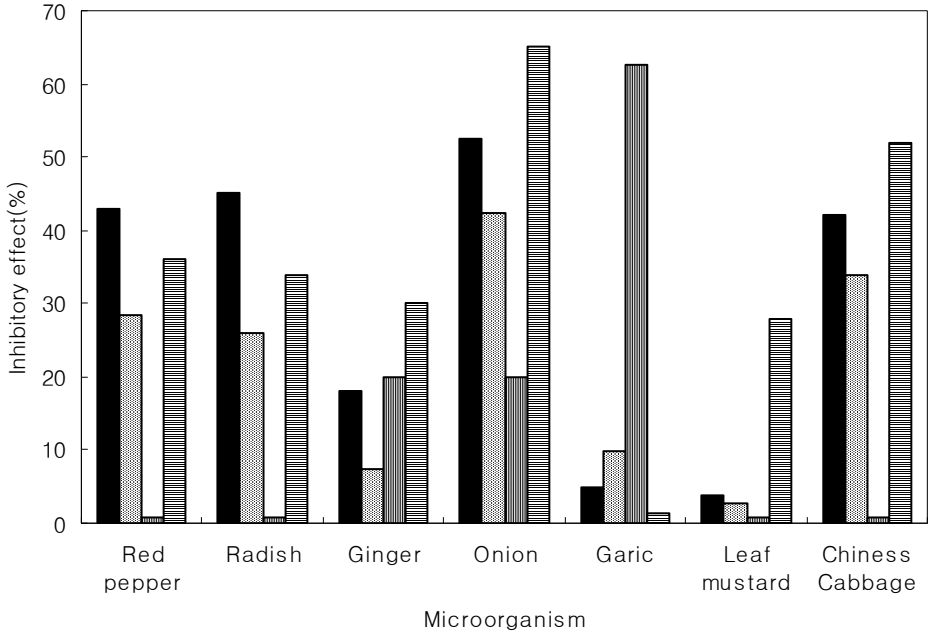


Fig. 6. Inhibitory effect of MeOH extract of Kimchi ingredients against microorganisms for 12hr at 37°C.

■ : *Salmonella typhimurium*

▨ : *Listeria monocytogenes*

▥ : *Staphylococcus aureus*

目 : *E. coli*

5. 김치 재료 *methanol* 추출물의 최소저해농도 (M*inimum inhi*b*itory concentration*)

각 추출물에 대하여 b*roth micro*d*ilution* 법을 시행하여 균의 최소저해 농도(MIC:M*inimum inhi*b*itory concentration*)를 측정한 결과는 T*able*.5 과 같았다. 즉, 무, 양파, 마늘, 갓, 배추 추출물의 *S. typhimurium*에 대한 최소 저해 농도는 1,000 μ*g*/*mL*, 고춧가루 추출물의 *L. monocytogenes*에 대한 최소 저해 농도는 500 μ*g*/*mL*, 무, 양파, 배추 추출물의 *L. monocytogenes*에 대한 최소 저해 농도는 1,000 μ*g*/*mL*로 나타났으며, 고춧가루, 무, 마늘, 갓 메탄올 추출물의 *E. coli*에 대한 최소 저해 농도도 1,000 μ*g*/*mL*로 나타났다.

항균제 감수성 검사법으로 MIC 값을 측정하는 것이 가장 정확한 방법으로 알려져 있는데[83], 시험관 희석법, 한천 희석법, 미량 희석법(*micro*d*ilution*) 등이 여기에 속한다. 특히 미량 희석법은 소량의 배지와 항균제를 사용하기 때문에 결과의 정확성에 문제점이 있을 수 있지만, 종래의 감수성 검사법보다 간편하고 경제적이며 신빙성이 있다는 보고[84~86]가 많이 나오고 있으며 실제 그 사용 빈도가 점점 증가하는 추세이다[87, 88]. 본 연구에서는 4종의 세균이 모두 빠른 시간의 생육도를 가지고 있다는 사실과 *optical* d*ensity*의 측정과 균의 발육 기준을 설정하여 MIC 값을 판정함으로써 미량희석법에 의한 오차를 줄이도록 하였다.

Table 5. Minimum inhibitory concentration of the MeOH extract of Kimchi ingredients on several pathogenic microorganisms

Kimchi ingredients	MIC (μg/mL)			
	S.typhimurium	*L.monocytogenes*	*S.aureus*	*E.coli*
Red pepper	-	500	-	1,000
Radish	1,000	1,000	-	1,000
Ginger	-	-	-	-
Onion	1,000	1,000	-	-
Garlic	1,000	-	-	1,000
Leaf mustard	1,000	-	-	1,000
Chinese Cabbage	1,000	1,000	-	-

[1)] - : *not detected*

6. 김치 재료 *methanol* 추출물의 안정성

6.1 열 안정성

김치 재료 *methanol* 추출물 중 가장 항균성이 뛰어난 갓과 마늘 추출물의 농도를 1 *mg*/d*isc*로 하여 40, 80, 100, 120℃에서 각각 1시간 동안 열처리 한 후 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 생육정도를 측정한 결과는 F*ig*. 7~8과 같다. 그 결과, 갓 추출물은 모든 처리구에서 대조구와 차이가 크지 않은 항균활성을 보였는데 특히 120℃의 처리에 의해서도 항균활성이 있는 것으로 나타나 열에 매우 안정한 물질로써 갓 메탄올추출물은 열에 의한 가공적성에서도 항균 활성이 실활 되지 않을 것으로 판단된다. 박 등[79]은 돌산 갓의 전처리 물 추출액 중의 항균활성 물질은 열에 매우 안정하다고 보고하였다. 마늘 추출물은 40℃를 제외한 모든 처리구에서 항균활성이 낮아지는 경향을 보였는데, 이는 김 등[89]이 세균과 효모 곰팡이에 대하여 열처리 마늘의 항균력을 조사한 연구에서 열처리 마늘을 *E. coli*와 *S. typhimurium*에 처리했을 때 항균력을 나타내지 못함을 보고한 것과 유사한 결과이다.

6.2 *p*H 안정성

김치 재료 *methanol* 추출물 중 가장 항균성이 뛰어난 갓과 마늘 추출물의 *p*H 변화에 대한 항균력을 조사하기 위하여 *methanol* 추출물의 농도를 1 *mg*/d*isc*로 하여 *p*H를 2, 5, 7, 9, 11로 조절한 후 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 생육정도를 조사한 결과 갓 *methanol* 추출물은 모든 *p*H 조건에 대하여 대조구와 비교시 항균활성에 있어 차이가 나타나지 않아 *p*H 안정성이 매우 우수함을 알 수 있었고, 이는 강 등[80]이 갓 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질의 *p*H 안정성을 조사한 결과, *p*H1~13까지에서도 항균활성

의 변화가 거의 없었다는 보고와 일치하는 결과이다. 마늘 추출물은 산성에 대해서는 안정한 반면, 강알칼리쪽으로 갈수록 활성이 낮아지는 경향을 나타내었지만 활성을 완전히 잃지 않고 비교적 높은 활성을 나타내었다. 일반적으로 세균은 *p*H 6~7 부근에서 최적 생육을 나타내므로, *p*H를 낮게 조절함으로써 세균의 생육을 억제할 수 있다. 식품에 첨가되는 항균 소재들은 대부분 산미제로, 식초가 대표적인 예이다[90]. 신[90]의 목본식물의 연구결과와 마찬가지로 갓 *methanol* 추출물은 넓은 *p*H *spectrum*을 보이는 것으로 나타나 본래 식품의 맛과 성상 등이 변화하지 않는다는 장점을 지니고 있어 김치의 안전성 증대 외에도 이용도가 넓을 것으로 예상된다.

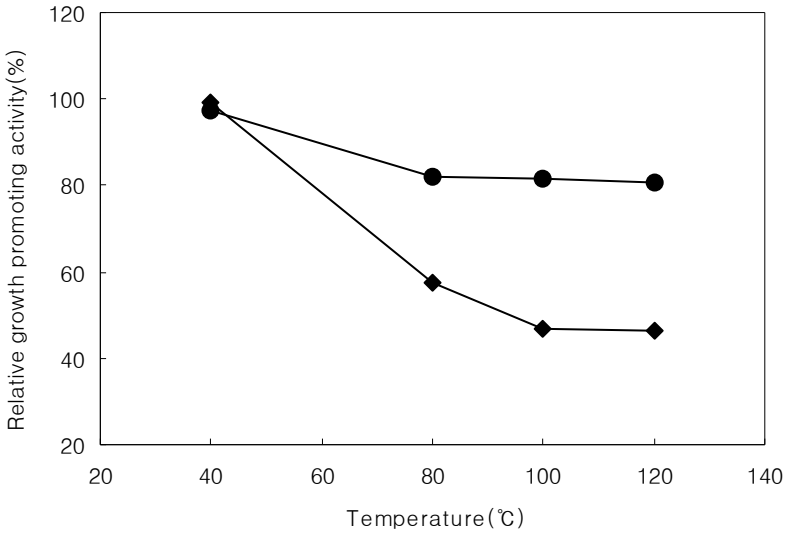


Fig. 7. Relative growth promoting activity of the MeOH extract of Leaf mustard and Garlic for *Salmonella typhimurium* treated with heat(●:Leaf mustard , ◆:Garlic) .

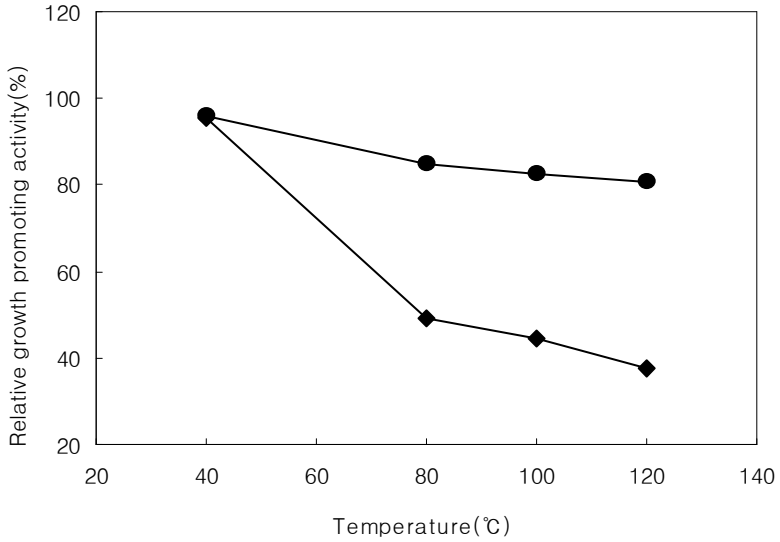


Fig. 8. Relative growth promoting activity of the MeOH extract of Garlic and Leaf mustard for *Escherichia coli* treated with heat (●:Leaf mustard , ◆:Garlic).

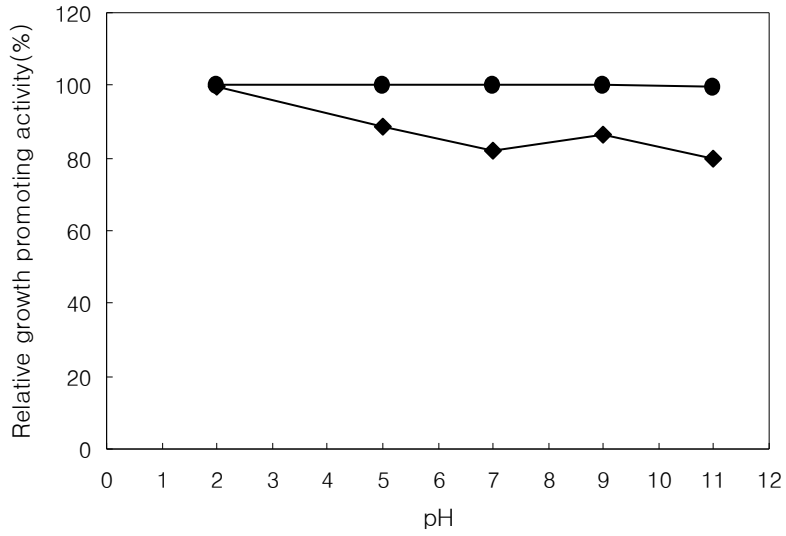


Fig. 9. Relative growth promoting activity of the MeOH extract of Leaf mustard and Garlic for *Salmonella typhimurium* treated with heat(●:Leaf mustard , ◆:Garlic) .

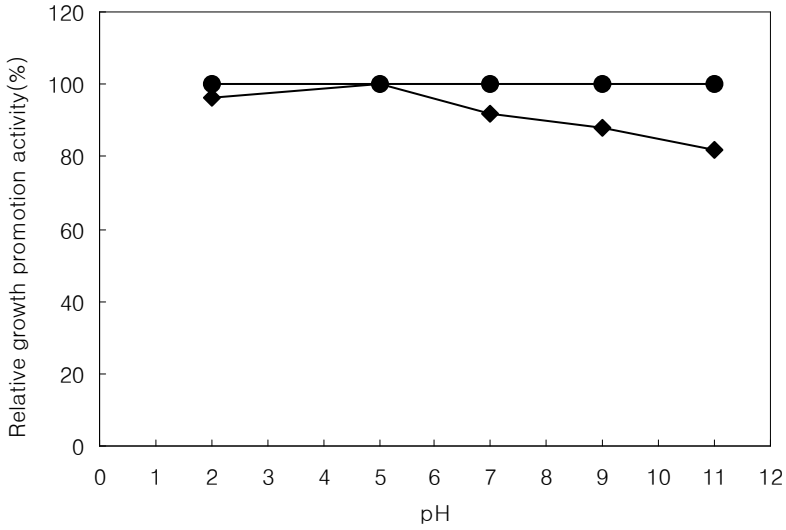
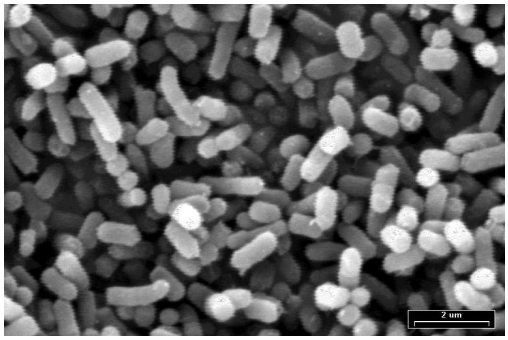


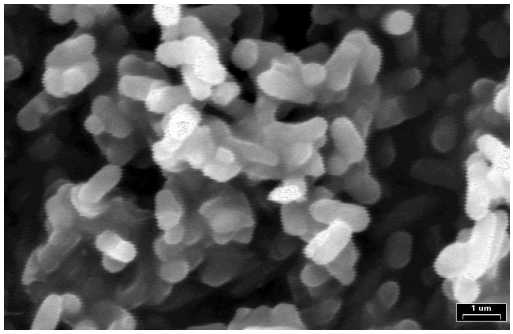
Fig. 10. Relative growth promoting activity of the MeOH extract of Garlic and Leaf mustard for *Escherichia coli* treated with heat (●:Leaf mustard , ◆:Garlic).

7. 주사전자현미경(*SE*M)에 의한 세포조직 변화

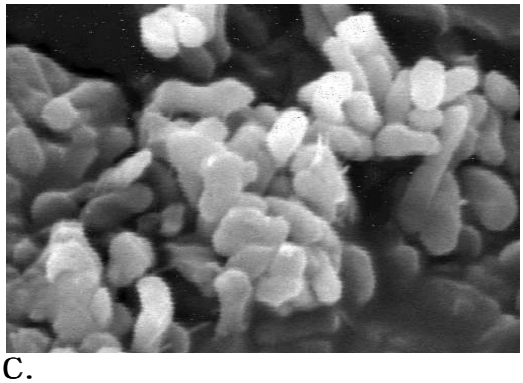
김치 재료 *methanol* 추출물 중 가장 항균성이 뛰어난 갓과 마늘 추출물의 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 항균효과에 대한 기작을 확인하고자 균체를 주사전자현미경(*SE*M; *Scanning electron microscope*)으로 검경한 결과는 F*ig.* 11～12와 같았다. 전반적으로 *S. typhimurium*과 *E. coli* 의 모습인 간균 형태를 확인할 수 있었으며 *S. typhimurium*과 *E. coli* 모두 대조군은 표면이 매끄럽고, 오염이 없는 깨끗한 모습이었다. *S. typhimurium*과 *E. coli*에서 갓과 마늘 추출물 처리군은 세포질막의 변형으로 인한 형태변화는 없었으나 끈끈한 물질이 균체내에서 유출되어 응집되는 현상을 관찰할 수 있었다. 권[91]이 관찰한 동백나무 잎 추출물의 *S. aureus*처리 시는 세포막이 파괴되어 형태가 없어졌으나 본 실험에서 사용된 추출물은 세포의 형태를 변화시키지는 않았으나 끈끈한 물질의 누설로 인한 응집현상이 일어나 갓과 마늘 추출물이 세포내 물질을 저분자화시켜 세포외로 유출시켜 그로 인하여 사멸되는 것으로 나타났다.



A.

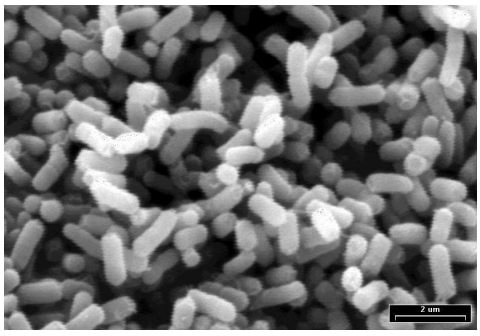


B.

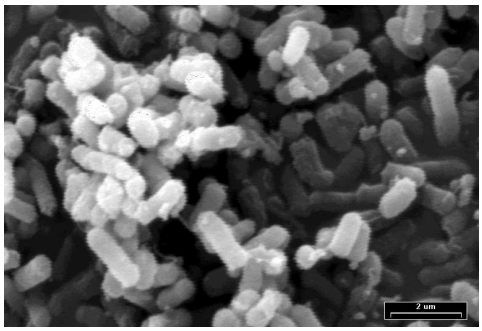


C.

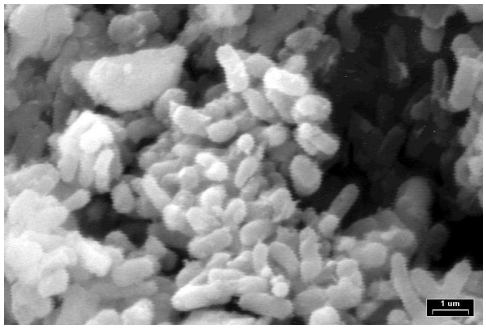
Fig. 11. *Scanning electron micrographs of Staphylococcus aureus.* (*A*: *not treated*, B: *treated with* MeOH *extract of Leaf mustard*, C: *treated with* MeOH *extract of* Garlic)



A.



B.



C.

Fig. 12. *Scanning electron micrographs of Escherichia coli.*(A: not treated, B: treated with MeOH extract of Leaf mustard, C: treated with MeOH extract of Garlic)

V. 결 론

본 연구에서는 김치 재료가 풍미를 증진시키는 목적 외에 유해세균에 대한 항균효과가 있는지를 알아보기 위해 김치 재료인 고춧가루, 무, 생강, 양파, 마늘, 갓, 배추에 대해 식중독균인 *Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus*와 분변오염 지표균인 *Escherichia coli,* 진균류 *Aspergillus sp. Penicillium sp.*에 대한 항균활성을 살펴보았다. 김치재료를 *methanol*로 추출하여 그 추출물에 대해 항균활성을 *paper* d*isc agar* diff*usion*법으로 살펴보았으며, 각 추출물의 최소저해 농도(MIC : *minimum inhibitory concentration*)를 구하고 추출물들이 사용미생물균주에 어떤 영향을 주었나를 주사전자현미경(*SEM* : *scanning electron micoscope*)으로 확인하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 각 김치 재료의 *methanol*추출물의 수율은 고춧가루 추출물이 20.47%로서 가장 높은 수율을 나타내었고, 생강이 9.12%, 마늘과 갓이 각각 7.29%, 7.44%였으며 배추가 6.86%, 양파가 4.64%, 무가 3.15%의 수율을 나타내었다.

2. *Paper* d*isc agar* diff*usion*법을 사용하여 조사한 *methanol* 추출물의 항균효과는 김치 재료의 *methanol*추출물 모두에서 항균효과를 나타내었다. 특히 가장 우수한 항균성을 나타낸 것을 살펴보면 고춧가루, 무, 생강, 마늘, 갓 추출물이 *E. coli*에 대해 각각 22.20, 18.94, 10.13, 22.20, 21.11*mm*의 생육저지대를 보였고, 양파와 배추는 *L. monocytogenes*에 대하여 각각 13.81*mm*, 24.40*mm*의 생육저지대를 나타내어 우수한 항균성을 가진 것으로 검색되었다. 고춧가루와 무는 *L. monocytogenesis*에 대하여 11.38, 12.34*mm*의 저지대를 나타내었으며, 양파, 마늘, 갓, 배추는 *S. typhimurium*에 대하여 10.68, 17.63,

19.72, 18.73*mm*로 저지대를 나타내었고 생강은 *S. aureus*에 대해 9.80*mm*의 저지대를 나타내었다.

3. 김치 재료 *methanol* 추출물의 *Aspergillus sp.*과 *Penicililum sp.*의 곰팡이류에 대한 항균성을 검토한 결과는 마늘 추출물이 *Aspergillus sp.*에 대해 63.33%와 *Penicillium sp.*에 대해 49.27%의 저해를 나타내어 가장 우수하였다. *Aspergillus sp.*에 대해서는 생강 추출물이 57.69%, 무 추출물이 50.94%로 그 다음을 이었고 *Penicillium sp.*에 대해서도 역시 생강과 무 추출물이 각각 33.27%, 26.73%로 우수하였다.

4. 김치 재료 *methanol* 추출물을 0, 250, 500, 1000*ppm*으로 농도를 달리하여 유해미생물에 대한 생육저해곡선을 측정한 결과, *S. typhimurium*에 대해서는 고추, 무, 양파, 배추에서 농도별로 생육저해효과를 보였다. *L. monocytogenes*에 대해서는 고추, 양파 추출물이, *S. aureus*에 대해서는 농도와 관계없이 전체적으로 완만한 생육곡선을 보였으며, *E. coli*에 대해서는 모든 추출물이 농도별로 생육억제효과가 있음을 보여 주었다.

5. 김치재료 *methanol* 추출물을 1,000*ppm*으로 하여 생육저해율을 측정한 결과는 마늘 추출물이 *S. aureus*에 대하여 60%이상의 강력한 생육저해를 나타내었으며, 그 다음으로 양파 추출물이 *E. coli*에 대해 60%이상, *S. typhimurium*에 대하여 50%이상, 배추 추출물이 *E. coli*에 대하여 50%의 생육저해율을 나타내었다.

6. 유해균의 MIC를 측정한 결과, 고춧가루 추출물이 500 μg/*mL*로 *L. monocytogenes*에 대해 MIC를 나타내었고, *S. typhimurium*에 대해 무, 양파, 마늘, 갓, 배추 추출물이 1,000 μg/*mL*, *L. monocytogenes*에 대해 무, 양파, 배추 메탄올 추출물이 1,000 μg/*mL*, *E. coli*에 대해 고추, 무, 마늘, 갓 추출물이 1,000 μg/*mL*로 MIC를 나타내었다.

7. 김치 재료 *methanol* 추출물 중 가장 항균성이 뛰어난 갓과 마늘 추출물의 농도를 1*mg*/d*isc*로 하여 40, 80, 100, 120℃에서 각각 1시간 동안 열처리한 후 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 생육정도를 측정한 결과, 갓 추출물은 모든 처리구에서 대조구와 차이가 크지 않은 항균활성을 보였으며 특히 120℃의 처리에 의해서도 항균활성이 있는 것으로 나타나 열에 매우 안정한 물질임을 알 수 있었으나, 마늘 추출물은 40℃를 제외한 모든 열처리구에서 항균활성이 낮아져 열처리에 약함을 알 수 있었다.

8. 갓과 마늘 추출물의 *p*H 안정성을 조사하고자 *methanol* 추출물의 농도를 1*mg*/d*isc*로 하여 *p*H를 2, 5, 7, 9, 11로 조절한 후 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 생육정도를 조사한 결과 갓 *methanol* 추출물은 모든 *p*H 조건에 대하여 대조구와 비교 시 항균활성에 있어 차이가 나타나지 않아 *p*H 안정성이 매우 우수함을 알 수 있었고, 마늘 추출물은 산성에 대해서는 안정한 반면, 알칼리쪽으로 갈수록 활성이 낮아지는 경향을 나타내었지만 활성을 완전히 잃지 않았다.

9. 갓과 마늘 추출물을 처리한 *S. typhimurium*과 *E. coli*의 주사전자현미경(*SE*M)사진을 본 결과 비처리군은 표면이 매끄럽고, 오염이 없는 깨끗한 모습인 반면, *S. typhimurium*과 *E. coli*에서 갓과 마늘 추출물 처리군은 세포질막의 변형으로 인한 형태변화는 없었으나 끈끈한 물질이 균체내에서 유출되어 응집되는 현상이 관찰되었다.

이상의 결과로서 김치 재료 중 고춧가루, 무, 생강, 양파, 마늘, 갓, 배추 *methanol* 추출물은 항균활성물질을 갖고 있으며, 풍미를 증진시키는 목적 외에도 김치의 저장성 향상과 안전성 증대에 기여할 수 있음을 확인하였으며, 특히 갓 추출물은 열과 *p*H에 안정하여 다양한 가공적성에 이용될 수 있고, 더 나아가 항균 소재로서도 이용 가능성이 높음을 시사하였다.

References

1. Yang JH, Park SH, Yoo JH, Lim HS, Jo JS, Hwang SJ, Effect of Freezing Methods for Kimchi Storage Stability on Physical Properties of Chinese Cabbage. Korean J. Food Culture. 18(2): 105, (2003)
2. Lee NJ, Jeon JG, Studies on the Kimchi Pasteurization -Part 2 Effects of Kimchi Pasteurization Conditions on the Shelf-life of Kimchi. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 25(4): 197, (1982)
3. Kang SS, Lim JM, Byun MW, Preservation of Kimchi by Ionizing Radiation. Kor. J. Food Hygiene. 3(4): 225, (1988)
4. Lee JS, Lee HJ, Effects of Chitosan and Organic Acid Salts on the Shelf - life and Pectin Fraction of Kimchi during Fermentation. Korean J. Food and Nutr. 13(4): 319, (2000)
5. Kim WJ, Kang KO, Hyung KH, Shin JI, Addition of Salts and Their Mixtures for Improvement of Storage Stability of Kimchi. Korean J. Food Sci. Technol. 23(2): 188, (1991)
6. Lee CH, Hwang SY, Hwang IJ, Yoon EH, Effects of K-Sorbate, Salt-Fermented Fish and $CaCl_2$ Addition on the Texture Changes of Chinese Cabbage During Kimchi Fermentation. Korean J. Food Culture. 3(3): 309, (1988)
7. Ahn SJ, The effect of Salt and Food Preservatives on the Growth of Lactic acid bacteria isolated from Kimchi. Korean J. Food Cookery Sci. 4(2): 39, (1988)
8. Na YA, Park JN, Effect of Dried Powders of Pine Needle, Pine Pollen, Green Tea and Horseradish on Preservation of Kimchi-yangnyum. Korean J. Food Cookery Sci. 9(4): 179, (2003)
9. Park UP, Jang DG, Kimchi Quality Affected by the Addition of

Grapefruit Seed Extract Powder. Korean J. Food Preservation. 10(3): 288, (2003)

10. Sheo HJ, The Antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28(1): 94, (1999)
11. Jeong KS, The Antibacterial Activity of Garlic Juice Against Pathogenic Bacteria and Lacit Acid Bacteria, Kor. J. Microbiol. Biotechno. Vol. 31, No.1, 32-35 (2003)
12. Kumar M, Berwal JS, Sensitivity of food pathogens to garlic(Allium sativum). J.Appl. Microbial. 84:213-215 (1998)
13. 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)
14. Sasaki J, Kita T, Ishita K, Uchisawa H, Matsue H, Antibacterial activity of garlic powder against Escherichia coli O157. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 45:785-790 (1999)
15. Choi HK, A study on the antibacterial activity of garlic against Escherichia coli. O157. J. Korean Practical Arts Edu. 14: 159-167 (2001)
16. Kim YS, Park KS, Kyung KH, Shim ST, Kim HK, Antibacterial activity of garlic extract against Escherichia coli. Korean J.Food Sci. Technol.28: 730-735 (1996)
17. Kun SC, Ji YK, Kim YM, Comparison of antibacterial activities of garlic juice and heat-treated garlic juice, Korean J. Food Sci, Vol. 35, Technol. No. 3. 540-543 (2003)
18. Kee HJ, Park YK, Preparation and quality properties of extruded snack using onion pomace and onion. Korean J Food Sci Technol 32: 578-583. (2002)
19. Woo HS, Aan BJ, Bae JH, Kim S, Choi HJ, Han HS, Choi C, Effect of biologically active fractions from onion on physiological activity and

lipid metabolism. J K*orean Sci* F*ood Sci* N*utr* 32: 199-123. (2003)
20. *Sheo* HJ, *Lim* HJ, J*ung* D*L*, *Effect of onion juice on toxicity of lead in rat*. J K*orean Soc* F*ood* N*utr* 22:138-143. (1993)
21. R*a* K*S*, *Suh* HJ, C*hung S*H, *Son* JY, *Antioxidant activity of solvent extract from onion skin*. K*orean* J F*ood Sci* T*echnol* 29: 349-345 (1997)
22. K*im* JK, *Encyclopedia of natural medicine*. N*amSandang*, *p*.470 (1989)
23. 岩井和夫, 渡辺達夫, 고추, 매운맛의 과학, 214, (주)식품저널, (2001)
24. B*eak SE*, *Antioxidant Activity of crude Gingerol*, J K*orea SOC* F*ood Sci* N*utr* 9(1), 33-34, (1993)
25. C*onnell* DW, T*he chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger*. F*lavour* Ind*ustry* 1: 677, (1970)
26. *Ashmore* CR, *Lee* YB, K*im* Y*S*, *Antioxidant to meat products*, J *of* F*ood Science* 51(1): 20-30, (1986)
27. *AL-Delaimy* K*S*, *Ali SH*, *Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria*, J. *Sci*. Fd. *Agric*., 21, 110 (1970)
28. B*lock E*, T*he organosulfur chemistry of genus Alliium implication for the organic chemistry of sulfur*, *Angewante*, C*hemie*, J. G*glschaft Deutscher Chemiker*, 31, 1135 (1992)
29. C*howdhury AK*, *Ahsan* M, *Ahmed* ZU, *Efficacy of aqueous extract of garlic and allicin in experimental shigellosis in rabbits*. I*ndian* J. M*ed*. R*es*., 93, 33 (1991)
30. J*eong* MH, C*himestry of pharmacognosy*. *Sam Seong Pub*. C*o*., *p*.98 (1980)
31. H*an* D*S*, *Pharmacognosy*. D*ong* M*yongsa*, *p*.180 (1994)
32. G*andhi* DN, G*hodekar* DR, *Antibacterial activity of garlic extract against lactic acid bacteria and contaminants of fermented milk*. I*ndian* J. D*airy Science*, 41(3): 511, (1988)
33. *Al-Delaimy* K*S and Ali SH*, *Antibacterial action of vegetable extracts*

on the growth of pathogenic bacteria. J. *Sci*. Fd *Agric*. 21: 110, (1970)
34. *Jung* DH, *In Biological Efficacy of Food*, *Seonjin Munwhasa*, *Seoul*, *pp*. 72-74 (1998)
35. 石井林寧, 최신원예대사전 제3권. 성문당신광사, 1307, (1968)
36. 김춘영, 김우정, 천연향신료와 식용색소, 향문사, 15, (1987)
37. 官本 悌次郎, ワサビ,シナモンの抗菌性とその利用, 月刊フードケミカル,2,30 (1988)
38. 官本 悌次郎, 香辛料の抗菌性と食品保藏への應用, 調理科學, 2-5,57 (1992)
39. 조영숙, 박석규, 돌산 갓김치 숙성 중의 맛 성분 및 미생물군의 변화, 한국음식문화연구논총, 5, 184 (1994)
40. *Sheo* HJ, *Seo* YS, *The Antibacterial Action of Chinese Cabbage Kimchi Juice on Staphylococcus* ワワサビ*aureus, Salmonella enteritidis, Vibrio parahaemolyticus and Enterobacter cloacae. J. Korean Soc. Food Sci Nutr* 32(8): 1351, (2003)
41. 編輯部, 抗菌性市場を深る,食品と開發,25,30 (1990)
42. D*eans S*G, R*itchie* G, *Antibacterial properties of plant essential oils*, I*nt*.J.F*oo*d M*icrobiol*., 3, 165 (1987)
43. 박석규, 박종철, 박미연, 식용식물추출물과 분획물의 항균활성, 순천대학교 기초과학연구지, 5, 111 (1994)
44. 박석규, 박종철, 쑥의 추출물 및 *coumaric acid*의 항균활성, 한국생물공학회지, 5, 506 (1994)
45. 이병완, 신동화, 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색, 한국식품과학회지, 23, 200 (1991)
46. 이병완, 신동화, 식품 부패미생물에 대한 천연 항균성물질의 농도별 및 분획별 항균 특성, 한국식품과학회지, 23, 205 (1991)
47. 장동석, 신동화, 정덕화, 김창민, 이인선, 자세히 쓴 식품위생학, 58, 정문각
48. 박희옥, 김창민, 우건조, 박선희, 이동화, 장은정, 박기환, 최근 한국에서 발생한 식중독 모니터링 및 추이 분석, J. Fd H*yg*. *Safety*, 16(4), 280-294

(2001)

49. Beuchat LR, Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovinefeces applied to lettuce and effectiveness of chlorinated water as disinfectant. J. Food *Prot.*, 62, 845-849 (1999)

50. Castillo A, Lucia LM, Kemp GK, Acuff GR, Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *salmonella typhimurium* on beef carcass surfaces using acidified sodium chlorite, J. Food *Prot.* 62, 580-584 (1999) *Listeria monocytogenes* on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water. J. Food *prot.*, 62, 580-584 (1999)

51. Venkitanarayanan KS, Ezeike GOI, Hung YC, Doyle MP, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and and *Listeria monocytogenes* on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water, J. Food *Prot.*, 62, 857-860 (1999)

52. Sapers GM, Miler RL, Mattazzo AM, Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in golden delicious apples. J. Food *Sci.*, 62, 734-737 (1999)

53. Taormina PJ, Beuchat LR, Behavior of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa sprouts during the sprouting process as influenced by treatments with various chemicals, J. Food *Prot.*, 62, 850-856 (1999)

54. Kang DH, Fung DYC, Effect of diacetyl controlling *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in the presence of starter culture in a laboratory medium and during meat fermentation, J. Food, *Prot.*, 62, 975-979 (1999)

55. Larocco KA, Martin SE, Effects of potassium sorbate alone and in combination with sodium chloride on the growth of *Salmonella*

typhimurium 7136, J. Food *Sci.*, 46, 568-570 (1981)

56. Yousef *AE*, *EL-Shenawy* MA, Marth *E*H, Inactivation and injury of *Listeria monocytogenes in a minimal medium as affected by benzoic acid and incubation temperature*, J. Food *Sci.*, 54, 650-652 (1989)

57. Juven BJ, Barefoot SF, *Pierson* MD, Maccaskill *L*H, *Smith* B, Growth and survival of *Listeria monocytogenes in* vacuum-packaged ground beef inoculated with *Lactobacillus alimentarius* Flora Cam *L*-2. J. Food *Prot.*, 61, 551-556 (1998)

58. *Schobitz* R, *Zaror* T, *Leon* O, Costa M, *A* bacteriocin from *Carnobacterium piscicola* for the control of *Listeria monocytogenes in* vacuum packaged *meat*, Food Microbiol., 16, 249-255 (1998)

59. *Smith* J.*L*, Marmer BS, Growth temperature and action of *lysozyme on Listeria monocytogenes*, J. Food *Sci.*, 56, 1101-1103 (1991)

60. *Stecchini* M*L*, *Luch* RD, Bortolussi G, Deltorre M, *Evaluation of lactic acid and monolaurin to control Listeria monocytogenes on stacchino cheese*, Food Microbiol., 13, 483-488 (1996)

61. 박욱연, 장동석, 조학래. 1992. 한약재 추출물의 항균효과 검색. 한국영양식량학회지 21(1): 91-96.

62. Beuchat *L*R, Golden D*A*, *Antimicrobials occurring naturally in* foods. Food T*echnol.*, 43, 134 (1989)

63. *Lee* KH, Ibuka T, Wu RY, Geissman T*A*, *Structure antimicrobial activity relationships among the sesquiterpene lactons and related compounds*, *Phytochemistry*, 16, 1177-1181 (1977)

64. Mitscher *LA*, Park YH, *Antimicrobial agents from higher plants*,

antimicrobial isoflavanoids and related substances from Glycyrrhiza glabra L. var Typica, J. Nat. Prod. 43, 259-269 (1980)

65. Conner DE, Beuchat LR, Effect of essential oils from plants on growth of spoilage yeast. J. Food Sci. 49: 429, (1984)
66. Lee SS, Choi DH, Lee HJ, Kang HY, Studies on biological activity of wood extractive - Antimicrobial and antioxidantive compound isolated from heartwood of Zelkova serrata -. Mokchae Konghak 28(2): 32, (2000)
67. Klindworth KJ, Davidson DM, Breke CJ, Brekke AL, Branen AL, Inhibition of *Clostridium perfringens* by Butylated Hydroxy Anisole. *J.Food Sci.* 44(2): 564, 1979
68. 투과전자현미경을 이용한 생물시료의 관찰, 농업생명과학대학 농업과학공동기기센터, 서울대학교 (1998)
69. Singh UP, Pandey VN, Wagner KG, Singh KP, Antifungal activity of ajoene, a constituent of garlic (Alliium sativum). Canadian Journal of Botany 68: 1354-1356 (1990)
70. Garcia RP, Garcia MI, Laboratory evaluation of plant extracts for the control of Aspergillus flavus growth and aflatoxin formation. *Proeedings of the Jpanese Asscoiation of Mycotoxicology Suppl* 1: 190-193 (1988)
71. 지원대, 정민선, 마늘과 생강의 항균성 및 증류성분, 한국농화학회지, Vol.40, No.6, 514-518 (1997)
72. Shin SW, Kang CA, Studies on Compositions and Antifungal activities of essential oils from cultivars of Brassica juncea L. Kor. J. Pharmacogn. 32(2): 140-144 (2001)
73. Nielsen PV, Rios R, Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in

active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. Int. J. Food Microbiol. 60: 219-29 (2000)

74. Michael GJ, Reese HV, Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. Applied Microbiology* 17: 930-905 (1969)

75. *Lee* HJ, Joo YJ, Park CS, *Purification and characterization of a bacteriocin produced by Lactococcus lactis subsp. lactis* H-559 *isolated from kimchi.* J Biosci Bioengin 88: 153-159. (1999)

76. Focke M, Feld *A*, *Lichtenthaler* K, *Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase.* FEBS *Letters*, 261,106 (1990)

77. Norbert DW, Douglas OA, James AN, Byron KM, *Larry* DL, Bronwyn GH, In vitro virucidal effects of *allium sativum*(garlic) extract and compounds. *Planta* Med., 58, 417 (1992)

78. 정창기, 박완규, 유익제, 박기문, 최춘언, 카레 향신료 정유성분의 항균성, 한국식품과학회지, 22, 716-179 (1990)

79. *Park SK, Park JR, Lee SW, Seo* KI, *Antimicrobial activity and heat stability of water-pretreated extract of leaf mustard dolsan*(Brassica *juncea*), J.Korean Soc. Food Nutr. 24(5), 707-712 (1995)

80. Kang SK, Sung NK, Kim YD, *Shin SC, Seo JS, Screening of antimicrobial activity of leaf mustard extract*, J. Korean Soc. Food Nutr. 23(6), 1008-1013 (1994)

81. Tabak M, *Armom* R, *Potasman* I, Neeman I, In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. J. *Appl.* Bacteriol. 80: 667, (1996)

82. *Lee* JJ, Kim SH, Chang BS, *Lee* Jb, Huh CS, Kim TJ, Bae YJ, The

Antimicrobial activity of medicinal plants extracts against Helicobacter pylori. Korean J. Food Sci. Technol. 31(5): 764, (1999)

83. Chitwood *LA*, Tube dilution *antimicrobial susceptibility testing* : *Efficacy of a microtechnique applicable to diagnostic laboratories*, *Appl.* Microbiol. 17, 707 (1969)

84. Jones RN, Barry *AL*, Bigelow J, Gavan TL, Thornsberry C, *Evaluation of the* MICUR *system for quantitative antimicrobial susceptibility testing* : *A multi phasic comparison with reference methods*, J. Clin., Microbiol., 16, 153 (1982)

85. Barry *AL*, Badal RE, Reliability *of the microdilution technique for detection of methicillin-resistant strains of Staphylococcus aureus*, *Am.* J. Clin. *Pathol.* 67, 489 (1977)

86. Boyce JM, *Lytle LS*, Walsh DA, Detection *of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by microdilution and* disk *elution susceptibility systems*, J. Clin. Microbiol., 20, 1068 (1984)

87. *Sutter* VL, *Emerman* J, Randall *E*, Zabrandky RJ, Birk RJ, *Establishment of* MICs *of moxalactam for control and reference anaerobic organisms in agar dilution and microdilution technique*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27, 42, (1985)

88. Gavan TL, Jones RN *and* Barry *AL*, *Evaluation of the sensititre system for quantitative antimicrobial drug susceptibility testing*, *A collaborative study*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 17, 464, (1980)

89. Kim JY, *Lee* YC, Kim KS, *Effect of heat treatment on the antimicrobial activities of garlic* (*Allium sativum*). J.Microbial Biotecno. 12: 331-335 (2002)

90. 신 김, 목본식물로부터 추출된 항균물질의 구조 및 특성, 박사학위논문,

산림자원학과, 고려대학교 (1998)

91. 권민경, 동백나무(*Camellia japonica L.*)잎 추출물의 항균효과에 관한 연구, 석사학위논문, 식품영양학과, 성신여자대학교 (2003)

Abstract

Antimicrobial effect of Kimchi ingredients of methanol extract on pathogenic microorganisms

Shin, Sun-Mi

Department of Food and Nutrition

Graduate school

Sungshin Women's University

This study was carried out to determine the inhibitory effect of methanol extracts from Kimchi ingredients against *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* which are pathogenic microorganisms and *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* Antimicrobial activity of methanol extracts was tested against bacteria by paper disc agar diffusion method and the MICs(Minimum Inhibitory Concentrations) of each methanol extract were obtained. A SEM(Scanning Electronic Microscope) was used to determine the antimicrobial action of the extracts on cells. results follow below:

1. The yield ratio of methanol extract from red pepper had the highest

percentage(20.47%) ; T*he methanol extract* f*rom ginger* w*as* 9.12%. T*he methanol extracts* f*rom garlic a*n*d le*af *mustar*d w*ere* 7.29%, 7.44%. *Also the methanol extract* f*rom chinese ca*bb*age* w*as* 6.86% *a*n*d the methanol extract* f*rom onion* w*as* 4.64%. H*owever the methanol extract* f*rom ra*d*ish* w*ere ta*k*en in the ratio o*f *aroun*d 3.15%.

2. U*sing the paper* d*isc metho*d, *the methanol extracts* f*rom* K*imchi ingre*d*ients sho*w*ed an antimicro*b*ial e*ff*ect against all microorganisms teste*d. *Especially*, *the methanol extracts* f*rom re*d *pepper*, *ra*d*ish*, *ginger*, *garlic*, *le*af *mustar*d *sho*w*ed a strong antimicro*b*ial e*ff*ect against Escherichia coli*. T*he methanol extracts* f*rom onion a*n*d* C*hinese ca*bb*age sho*w*ed an antimicro*b*ial e*ff*ect against Listeria monocytogenes*. T*he methanol extracts* f*rom onion*, *garlic*, *le*af *mustar*d, C*hinese ca*bb*age sho*w*ed an antimicro*b*ial e*ff*ect against Salmonella typhimurium a*n*d the methanol extract* f*rom ginger ha*d *an antimicro*b*ial e*ff*ect against Staphylococcus aureus*.

3. T*he antifungal activity o*f *the methanol extracts* f*rom ra*d*ish*, *ginger*, *a*n*d garlic* w*as e*ff*ective against Aspergillus sp. a*n*d Penicillium sp*. T*he methanol extracts* f*rom ginger* (57.69%), *ra*d*ish*(50.94%) *sho*w*ed antifungal activity against Aspergillus sp. Also*, *the methanol extracts* f*rom ginger* (33.27%), *ra*d*ish* (26.73%) *sho*w*ed the antifungal activity against Penicillium sp*.

4. G*rowth curve o*f *microorganisms* f*rom the methanol extracts* f*rom* K*imchi ingre*d*ients e*v*idence*d *the* f*ollowing*: T*he methanol extract* f*rom*

Chinese cabbage showed an antimicrobial effect against *Salmonella typhimurium*. Also, the methanol extract from red pepper inhibited greatly the growth of *Listerie monocytogenes*. The methanol extracts from radish, onion, Chinese cabbage were confirmed to inhibit the growth of microorganisms during the 4-12 hours of logarithm increase and this tendency matches the result of examination carried out by the paper disc agar diffusion method. The effect observed in *Escherichia coli* was of a very low degree, but showed inhibitory effect of growth in all the methanol extracts.

5. As to the results in identifying the antimicrobial inhibitory effect rate, the methanol extracts from red pepper and radish were more than 40% against *Salmonella typhimurium* and more than 30% against *Esherichia coli*. Also, the methanol extract from onion had a high inhibitory effect rate of more than 50% against *Salmonella typhimurium*. Garlic was more than 60% against *Staphylococcus aureus*.

6. MICs of microorganisms from extracts from Kimchi ingredients by the broth microdilution method evidenced the following: The methanol extract from radish against *Salmonella typhimurium* had concentrations of 1,000㎍/ml. The MICs of the methanol extract from red pepper were examined 500ug/ml against *Listeria monocytogenes*, the lowest values in MICs, which means that even a low level of these could show an antimicrobial activity.

7. Following heat treatment of the methanol extract from leaf mustard at

40, 80, 100 and 120℃ for an hour, the growth rate of *Salmonella typhimurium* and *Esherichia coli* was checked. According to the results of the growth rate, there were very small differences of antimicrobial activity between all of test and control items. Especially, the methanol extract from leaf mustard treated with heat at 120℃ had antimicrobial activity, which means that the methanol extract from garlic had lower activity except at 40℃.

8. Regarding the results of the growth of *Salmonella typhimurium* and *Esherichia .coli* in the medium adding the methanol extract from leaf mustard treated various pH conditions (2, 5, 7, 9 and 11), there was no difference of antimicrobial activity so its stability on pH was high quality. While the methanol extract from garlic was stable against acid, it demonstrated a trend that the more alkali side was of lower activity. At the same time, it was of fairly high quality in terms of activity, even though it was lower than the acid part.

9. SEM (Scanning Electronic Microscope) was used to observe the antimicrobial effect of the methanol extracts from leaf mustard and garlic against *Salmonella typhimurium* and *Esherichia .coli*. The control group showed clean surfaces without pollution, butthe experimental group treated with methanol extracts from leaf mustard and garlic it was observed that some gluey material leaked out from the bacterial cell and cohered though no transformation of cell membrane occurred.

In conclusion, the study determined that methanol extracts from Kimchi

ingredients have antimicrobial activity components. It was also confirmed that the methanol extracts help improve the savor of Kimchi and assist in its storage preservative qualities for long term safely. Also, the methanol extract from leaf mustard is stable against heat and pH, so it can be processed widely over a broad range and is invaluable for development as natural antimicrobial material.