

## 은행잎 추출물 중 식물활성물질의 쇠고기내 세균에 대한 항균작용 연구

이인화, 심 윤 , 김은조

조선대학교 환경공학부

전화 062) 230-7874 FAX 062) 234-6627

### Abstract

The antimicrobial effect of the *Ginkgo biloba* leaves extracts, Wood flavor and 1% sorbic for the total microorganics in beef examined by serial dilution method. As a result of using GLEA(T20), GLW80, Wood flavor and 1% sorbic acid by serial dilution method, it was revealed that wood flavor is most antibiotic. The decreased of wood flavor 82.80%, GLEA(T20) 73.44%, sorbic acid 66.33%, GLW80 64.36%, was compared with not treated.

### 서 론

최근 수년 동안에 천연물의 항균 및 살균작용에 관한 관심이 날로 증가되고 있다. 항균 및 살균성이 밝혀진 물질로는 고추냉이 추출물, 택사, 갓(*Brassica juncea*), 오배자와 적포도 파괴 폴리페놀분획물등 다양한 분야에서 연구되어 지고 있다. 일반적으로 향생물질이라 하면 의약용으로만 인식하고 있으나 향생물질의 용도는 매우 다양하여 살균제, 살충제, 제초제, 동물 성장촉진제, 구충제 등과 같이 농업용으로도 이용되고<sup>1)</sup>, 근래에 들어서는 생활 수준의 향상과 식생활 양식의 변화로 가공식품의 수요가 크게 증가함에 따라 식품 첨가물 사용이 보다 다양해지고 있다. 특히 식품 첨가물의 연구 개발 및 식품 가공 기술의 진보로 편리하고 간편한 식생활의 영위가 가능하게 되었다. 식품첨가물 가운데 가공식품에 첨가되어 식품의 보존기간을 높여주는 식품 보존제는 가공 유통 중이거나 저장중의 식품이 산소나 미생물 등의 침해로 식품의 품질이 저하되는 것을 억제시켜주는 것으로서 항미생물제, 항곰팡이제, 항살충제, 노화 억제제, 항산화제, 보존제 등이있다. 그러나 합성 방부제는 장기간 섭취하면 인체에 만성 해독 작용이 유발될 위험성을 완전히 배제할 수 없을 뿐 아니라 oncogene을 활성화시키는 carcinogen이라는 보고도 있어 이를 점차 기피하는 경향이 있으며, 보건 당국도 식품 첨가물로서의 사용에 엄격한 제한을 두고 있다. 따라서 식품의 안

정성 및 식품 첨가물에 대한 인식이 날로 높아지는 가운데, 인체에 해가 없는 천연자 원으로부터 신규 천연 보존제의 개발 및 사용에 많은 관심이 집중되고 있다.<sup>2)</sup> 본 실험에서는 은행잎 추출물에 의한 쇠고기내 세균에 대한 항균성을 검색하고 식품 보존제로서의 가능성을 탐색하였다.

## 재료 및 방법

### 1)재료

추출재료로서의 은행잎은 2002년 10월 중순에 도심 외곽에서 채취하여 증류수로 수세한 후 음지에서 1주일 이상 풍건하여 300 $\mu$ m이하로 분말화 하여 사용하였으며, 항균실험용 재료로는 식육점에서 냉동되지 않은 쇠고기를 필요한 크기 (0.3cm  $\times$  0.5 cm, 약 100g)로 절단하여 구입 후 Clean bench 안에서 시료별로 무균적으로 포장하여 실험 조건별로 처리하면서 사용하였다.

### 2)실험기기

본 실험에 사용된 기기는 clean bench, colony counter, icubator, vortex(mixer, GW-92VM) GC-FID 분석기기는 Hewlett-Packard사의 Gas chromatograph로써 HP 7694 headspace sampler, HP 6890 series GC system, HP 3395 integrator가 부착된 것을 사용하였다.

### 3)실험 배지 및 희석액

실험 균주 배양용 배지로는 Beef extract 와 peptone 이 함유된 nutrient agar를 사용하였으며 희석액으로는 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>와 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>가 함유된 phosphate buffer를 autoclave를 이용하여 고압 멸균한 후 사용하였다.

### 4)항균활성 검색용 시료제조

#### 증류수 추출물(GLW)

은행잎 분말 100g을 증류수 1ℓ에 가하고 실온, 50, 60, 80, 100℃로 2시간 동안 중탕하여 추출하여 여과한 후 시료로 사용하였다.

#### 에틸아세테이트 추출물(GLEAT)

은행잎 분말 100g을 에틸아세테이트 1ℓ에 가하고 일주일 동안 담근 후 evaporator를 이용하여 얻어진 5.698g을 1% tween20 50ml에 용해시킨 후 시료로 사용하였다.

#### 목초액

목초액은 evaporator를 이용하여 얻어진 증류액을 시료로 사용하였다.

### 5)생균수의 계수

본실험에 사용한 쇠고기는 시중에 판매되고있는 냉동되지 않은 것으로 필요한 크

기 (0.3cm × 0.5cm, 약 100g)로 절단하여 구입 후 ice box에 넣어 20분 이내에 실험실로 운반직후 생균수를 측정하였다. 이후 멸균된 petri dish에 쇠고기 30g씩 옮긴 후 은행잎 추출물(GLEA(T20), GLW80), 목초액, 1% sorbic acid를 각각 3ml씩 처리한 후 멸균된 glove를 이용하여 충분히 혼합한 후 수분증발을 억제하기 위하여 밀봉한 후 22~24℃에서 보관하였고, 4, 8, 12, 16, 20, 24 시간에 각각 쇠고기 2g씩을 15ml coming tube에 덜어내어 phosphate buffer 4배를 첨가한 후 vortex (mixer, GW-92VM)를 이용하여 충분히 혼합한 후 serial dilution method에 따라 검사하였다. 총균수는 표준평판법 (SPC agar)으로 35~37℃에서 24~48시간 배양한 후 colony를 계수하였다.

### 결과 및 고찰

은행잎 증류수 추출물(GLW80) 에틸아세테이트 추출물(GLEA(T20), 목초액, sorbic acid를 이용하여 항균실험을 한 결과 모든 시료에서 항균성을 나타냈으며, 증류수 추출물의 경우에는 80℃에서 추출한 시료가 가장 큰 활성을 나타내었다. 쇠고기내 총세균수에 대한 항균실험을 한 결과 무처리군에 비하여 목초액 82.80%, GLEA(T20) 73.44%, 1% sorbic acid 66.33%, GLW80 64.36% 감소하였으며 결과는 Fig. 1.에 나타내었다.

은행잎 증류수 추출물(GLW80) 에틸아세테이트 추출물(GLEA(T20), 목초액, sorbic acid를 이용하여 항균실험을 한 결과 모든 시료에서 항균성을 나타냈으며, 증류수 추출물의 경우에는 80℃에서 추출한 시료가 가장 큰 활성을 나타냈고 목초액을 제외한 시료 중에서는 에틸아세테이트 추출물이 가장 큰 활성을 나타내었다. 은행잎 추출물 중 항균작용을 타나내는 성분 중 이미 밝혀진 물질로는 bilobalide, ginkgolide A, ginkgolide B, ginkgolide C, 등이 있으며 본 실험실에서는 아래의 Fig. 2. 와 같이 표준검량선은 은행잎으로부터 분리, 구조가 확정된 Bilobalide 표준품을 Sigma사로부터 구입하여 EtOAc용매를 가하여 0.01M과 0.02M이 되게 조제한 후 각각 1 $\mu$ l씩 injection하여 chromatogram을 얻고 각각의 평균 peak area로부터 검량선을 작성하였다. 이러한 검량선을 이용하여 은행잎 추출물 중의 bilobalide의 성분을 정량하여 일정한 농도 이상을 유지하는데 활용한다. 향후 본 실험실에서는 HPLC를 통하여 항균성분을 분리, 정제하고, 다양한 기기를 통한 화학적 구조를 분석하고자 한다

### 참고문헌

1. Bauer, A. W. Kibby, M. M., Sherris, J. C. and Turck, M. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method." (1966) Am. J. Clin. Pathol., 45, 493

2. Lee BW, Shin DH. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms, Korean J Food Sci Technol 23(2) : 200-204, 1991
3. 정효동 편저, 식품 미생물 제어론, 대광서림
4. Choi, W.K, Noh, YC, and Hwang, S.Y. "Antimicrobial activity of grapefruit seed extracts and polylysine mixture against food-borne pathogens" 9, 12, 1991

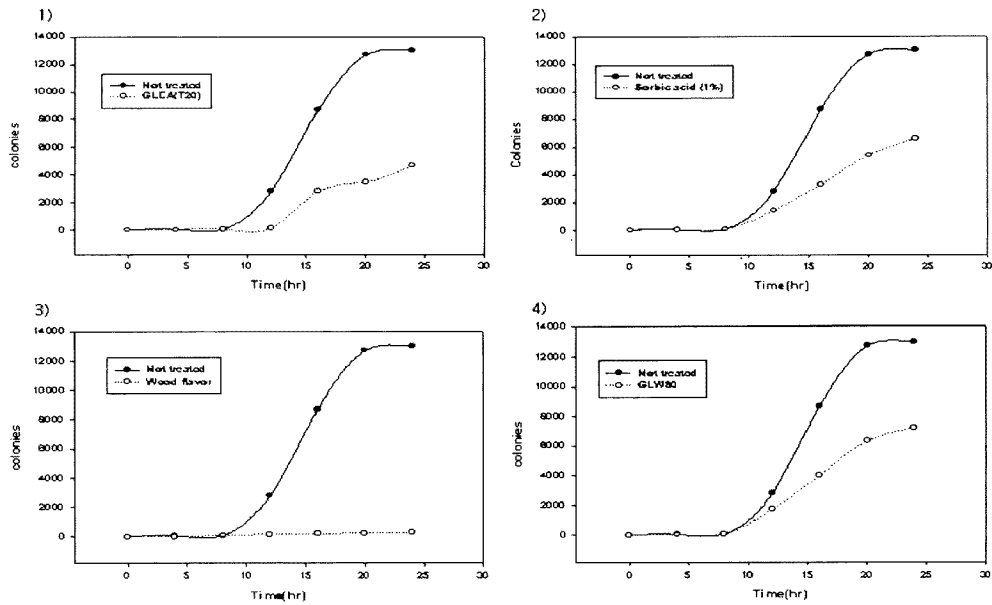


Fig. 1. The antimicrobial effect of *Ginkgo biloba* leaves extracts [GLEA(T20), GLW80,] , Wood flavor and 1% Sorbic acid for the total microorganics examined by serial dilution method. 1). GLEA(T20) 2). 1% Sorbic acid 3). Wood flavor 4). GLW80(The decreased of wood flavor 82.80%, GLEA(T20) 73.44%, 1% sorbic acid 66.33%, GLW80 64.36%, was compared with not treated)

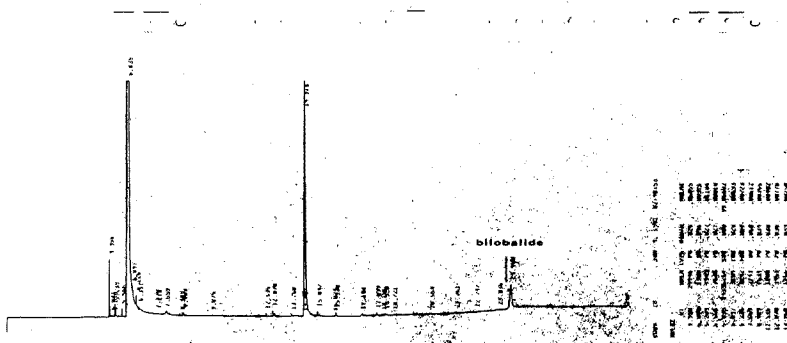


Fig. 2. GC-FID profile of bilobalide(0.01M) standard.