

김치 발효미생물에 대한 대나무잎 추출물의 항균력

정대균 · 유리나*

울산대학교 미생물학과, *울산대학교 식품영양학과

Antimicrobial Activity of Bamboo Leaves Extract on Microorganisms Related to Kimchi Fermentation

Dae Kyun Chung and Rina Yu*

Department of Microbiology, *Department of Food and Nutrition, University of Ulsan

Abstract

Antimicrobial activity of bamboo leaves extract on microorganisms related to kimchi fermentation was investigated. Bamboo leaves were extracted with several organic solvents such as methanol, acetone, ethyl ether, and ethyl acetate. The bamboo extract with ethyl acetate showed the strongest antimicrobial activity among them. Strong antimicrobial activities of the extract against microorganisms related to kimchi fermentation and food spoilage indicated that the extract had a wide range of antimicrobial spectrum. The antimicrobial activity was especially strong against *Brettanomyces custersii*, *Klebsiella oxytoca*, *Pichia membranaefaciens* which cause kimchi softening. In addition, the antimicrobial activity of bamboo leaves extract was higher than that of 0.5% and 1.0% sorbic acid, and moreover it was stronger in pH 5 compared to pH 7.

Key words: kimchi, bamboo leaves extract, antimicrobial activity

서 론

우리나라 고유의 우수한 발효식품인 김치의 상품화 및 국제화가 급격히 추진됨에 따라 국내외의 김치시장 규모는 증가일로에 있다. 김치산업의 활성화를 위해서는 유통과정중 과잉 발효로 인한 품질저하 방지를 위해 숙성기간 연장 방법의 개발 등 김치의 보존성 증대를 위한 방법의 개발이 선행되어야 할 것이다. 김치에 존재하는 각종 미생물의 활발한 증식은 가스 발생 과다, 산미 과다, 그리고 연부 현상의 주 원인으로 작용하며, 결과적으로 김치의 품질 저하를 초래한다. 이러한 김치의 산패 및 연부현상은 김치중의 *Bacillus*, *Flabobacterium*, *Pseudomonas*속 등의 호기성 세균과 *Penicillium* 등의 곰팡이류, *Pichia membranaefaciens*와 같은 산막효모 및 *Lactobacillus plantarum* 등의 젖산균이 관여하는 것으로 알려져 있다⁽¹⁻³⁾.

일반적으로, 김치의 보존성 증대 또는 향미기간 연장을 위해서는 sorbic acid 또는 benzoic acid 등의 합성 보존제가 사용되고 있으나, 이들 화학물질의 안전성 등에 대한 우려등으로 인해 그 사용이 제한된다. 한편, 식품의 보존성 증대를 위한 천연항균제는 대부분이 저급지방산 에스테르, 유기산, 글리신, 에틸알콜 등을 중심으로한

혼합물이며⁽⁶⁻¹¹⁾ 합성보존료에 비해 그 효과가 떨어진다. 또한 생약제 성분, 향신료 정유 및 식용 식물체 추출물은 김치 맛 자체에 영향을 주거나, 항균활성이 미약하기때문에 실용화가 어려운 실정으로, 김치의 보존성 증대를 위한 천연보존제의 개발은 여전히 해결되어야 할 과제로 남아있다.

대나무는 화본과 식물로 세계적으로 약 280여종이 알려져 있으며, 우리나라에 분포하는 대표적인 대나무로는 조릿대(*Sasamorpha pupurascens* Nakai var. borealis Nakai), 참대(왕대, *Phyllostachys reticulata koch*) 등을 들 수 있다. 대나무는 예로부터 고혈압, 발한, 중풍등의 치료를 위한 민간약으로 활용이 되어 왔다^(12,13). 한편, 대나무는 방부작용을 하는 것으로도 구전되고 있는데, 예를들면 김치를 담근후 대나무잎으로 덮거나, 동치미의 경우 대나무잎을 띄워서 보관 했다고 한다.

일본에서는 천연 식품 보존제의 개발 연구의 일환으로, 동백죽인 kumazasa(*Sasa albo-marginata* Makino et Shibata) 잎 추출물의 항균성이 보고된 바 있으며⁽¹⁴⁾, 맹종죽(*Phyllostachys edulis* A. et C. Riv)에서 분리 정제한 천연 보존제도 개발 시판되고 있다. 한편, 전술한 바와 같이, 예로부터 김치의 저장성을 높이기위해 대나무를 활용해 왔음에도 불구하고, 대나무(竹) 성분의 항균성에 대한 국내연구는 거의 찾아보기 어렵다. 대나무 성분이 민간 약제 및 건강음료로도 사용되고 있는 점을 고려할때, 천연 식품 보존제로서의 개발 가능성이 높은것으로 기

Corresponding author: Dae Kyun Chung, Department of Microbiology, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

대된다. 따라서, 본 연구에서는 새로운 천연 보존제 개발의 일환으로서, 김치의 효과적인 선도 유지를 위한 천연 항균성 물질 검색을 위해 대나무잎을 여러가지 용매로 추출한후 김치 발효 미생물에 대한 항균력을 조사하였다.

재료 및 실험 방법

재료

본 실험에 사용된 대나무잎은 자연산 조릿대(*Sasa borealis*)의 잎으로서 1995년 5월과 9월에 경남 울산시 두서면 외와리에서 채취하여 사용하였다.

사용 균주 및 배지

본 실험에 사용된 각각의 균주를 액체 배지(*L. plantarum*, *L. mesenteroides*: MRS media, *B. custersii*: GPYA+CaCO₃ media, *P. membranaefaciens*: YPD media, *E. coli*: LB media, *K. oxytoca*, *B. subtilis*, *S. aureus*: NA media)에 접종하여 적정온도에서 12시간 배양하였으며, 50% glycerol을 1:1로 혼합하여 -80℃에 보관하면서 사용하였다. 사용한 배지 조성은 다음과 같다. MRS media: *Lactobacilli* MRS(Difco) 5.5%; GPYA+CaCO₃ media: Glucose 4%, Peptone 0.5%, Yeast extract 0.5%, CaCO₃ 1%; NA media: Beef extract 0.3%, Peptone 0.5%, NaCl 0.8%; YPD media: Peptone 2%, Dextrose 2%, Yeast extract 1%; LB media: Tryptone 1%, Yeast extract 0.5%, NaCl 1%.

추출방법

신선한 대나무잎을 잘게 잘라 methanol, acetate, ethyl ether, ethyl acetate 각각의 유기 용매에 3일간 침지하고, 그로부터 얻어진 여액에서 진공농축기(Rotavapor RE 111, BÜCHI)로 45℃에서 용매를 제거한 후, 최소량의 용매로 각각 다시 녹여 항균력을 측정하였다.

항균력 측정

항균력은 paper disc법으로 측정하였다. 액체 배지(5 ml)에 12시간 배양한 균주를 Top agar(0.75% agar)에 2% 접종하여 agar plate 위에 덮고, 추출물을 묻힌 paper disc(8 mm, Whatman)를 올려놓은 다음 0.85% 식염수(75 μ)로 확산시켰다. 그리고 12시간 배양하여 disc 주위의 저해환(mm)의 크기로 항균력을 측정하였다.

균주마다 배지의 pH를 중성(pH 7)과 산성(pH 5)으로 조절하여 pH에 따른 추출물의 항균활성을 비교하였으며, 대나무잎 추출물에 대한 대조구로는 식품 첨가제로 사용되고 있는 0.5% 및 1% sorbic acid 150 μ를 사용하였다.

결과 및 고찰

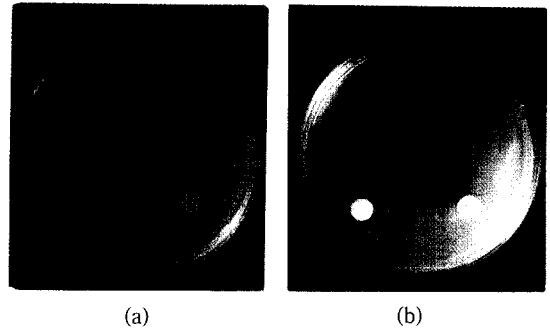


Fig. 1. Antimicrobial activities of bamboo leaves extract against microorganism causing Kimchi softening. a) *Pichia membranaefaciens* b) *Klebsiella oxytoca*. (1: bamboo extract, 2: 1% sorbic acid, 3: 0.5% sorbic acid)

Table 1. Antimicrobial activities of bamboo leaves extract by various solvents

Microorganisms	Solvent			
	methanol	acetone	ethyl ether	ethyl acetate
<i>L. plantarum</i>	- ¹⁾	-	±	++
<i>L. mesenteroides</i>	-	-	±	+
<i>B. custersii</i>	-	-	+++	+++
<i>K. oxytoca</i>	-	-	+	+

¹⁾ +++: very strong, +: weak, -: no activity, ++: strong, ±: very weak

김치의 발효 및 연부, 부패에 관여하는 미생물에 대한 대나무 추출액의 항균성을 측정하기 위하여 김치 초기 숙성균인 *Leuconostoc mesenteroides*⁽¹⁾, 김치의 산패에 관여하는 *Lactobacillus plantarum*⁽²⁾, 김치 연부에 관여하는 것으로 알려진 *Brettanomyces custersii*, *Klebsiella oxytoca*, *Pichia membranaefaciens*^(15, 17) 등을 사용하여 항균효과를 측정한 결과, Table 1에 나타난 바와 같이 ethyl acetate로 추출한 추출물에서 가장 강력한 항균성이 나타났다.

한편, Table 2에 나타난 바와 같이, 이 추출물은 특히, 김치의 연부에 관여하는 *Brettanomyces custersii*, *Klebsiella oxytoca*, *Pichia membranaefaciens*에 대하여 강한 항균력을 보였으며, 일반 식품 오염 미생물인 *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* 등에 대해서도 광범위한 항균 spectrum을 나타냈다. 또한, 대조구로 사용한 0.5%와 1% sorbic acid보다도 더 높은 항균력을 보여 주었고, 이 항균력은 미생물의 생육 pH 7일때보다 pH 5일때 높은 것으로 나타났다.

숙성김치의 보존성 향상을 위해서는 산성영역에서 항균성이 유지되어야 한다. 현재, 합성보존료인 sorbic acid가 낮은 pH에서의 항균력이 가장 우수한 것으로 있어 김치의 보존을 위해 널리 사용되고 있다⁽¹⁸⁾. 전술한

Table 2. Comparison of antimicrobial activities of bamboo leaves extract with that of sorbic acid

Sample		Diameter of inhibitory zones on plates (mm)							
pH of the Medium	Additive	<i>L. plantarum</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>B. custersii</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>P. membranaefaciens</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
pH 5	bamboo extract ¹⁾	18	21	26	34	35	34	42	44
	0.5% sorbic acid	0	0	0	11	13	15	16	18
	1.0% sorbic acid	0	11	9	13	16	18	19	20
pH 7	bamboo extract ¹⁾	11	15	13	28	32	30	35	42
	0.5% sorbic acid	0	0	0	10	9	9	12	13
	1.0% sorbic acid	0	11	0	11	13	11	14	17

¹⁾bamboo extract of 0.67g fresh wt eq./disc

바와 같이, 합성 보존제의 경우 안전성이 문제가 되므로, 최근, 천연추출물을 이용하여 김치의 보존성을 높이고자 하는 연구가 이루어지고 있다^(3,4). 그러나, 대부분의 경우 중성영역에서의 항균성을 검토하고 있으며, 김치의 숙성에 따른 pH의 변화를 고려한 연구는 부족한 실정이다. 본 연구에서 사용한 대나무잎 추출액의 항균력은 pH 5와 같은 산성 영역에서 오히려 우수한 점으로 보아, 이 추출물은 특히 김치 보존제로서 사용하기에 적합하며, 따라서 향후 천연 김치보존제로서의 실용화 가능성이 높을 것으로 기대된다. 또한, 중성 pH 및 일반 식품오염 미생물에 대해서도 높은 항균활성을 나타낸 점으로 보아 김치에서 뿐만 아니라 일반적인 가공식품을 위한 보존제로서의 활용성도 높을 것으로 사료된다.

한편, 대나무잎 추출물은 김치의 초기 숙성균인 *L. mesenteroides*, 김치의 산패에 관여하는 *L. plantarum*에 대해서 모두 항균성을 나타냈으며(Table 2), 이것은 본 추출물이 김치의 숙성기간의 연장 즉 향미기간의 연장에 직접적으로 기여할 수 있음을 시사하는 것으로 사료된다. 김치의 보존성 향상에 기여하는 것으로 알려져 있는 겨자유의 경우와 같이⁽¹⁹⁾, 본 추출물을 실제로 김치 보존제로서 활용하는 경우에는 김치를 숙성시킨 직후 *L. plantarum*이 나타나기 전에 첨가함으로써 김치의 보존성을 높일 것으로 기대된다.

동백죽인 Kumazasa 잎의 추출물의 경우, 항균성을 나타내는 주성분은 acetic, benzoic, phenylacetic, salicylic, 3-hydrobenzoic, guaiacol, phenol, 4-vinylphenol 등의 유기산과 페놀성분으로 밝혀져 있다⁽¹⁴⁾. 또한, 이 잎 중에는 항암성을 나타내는 bamfolin에 대해서도 보고되어 있다⁽²⁰⁾. 한편, 일본에서는 맹종죽 잎의 추출물을 분리 정제한 천연식품 보존제 및, 이 추출물을 함유한 건강 보조식품들이 개발되어 시판되고 있으며, 따라서, 우리나라의 대나무 잎의 유효성분 분석 및 이를 이용한 식품보존제의 개발은 큰 의미를 갖는다고 할 수 있다. 현재, 본 실험에서 사용한 대나무잎 추출성분 중 항균성을 나타내는 물질의 규명과, 추출물의 항암성등에 대해서도

연구해 나갈 예정으로 있다. 본 연구는, 김치를 담근후 대나무잎을 덮어서 김치의 저장성을 높이고자 했던 우리 선조들의 지혜를 과학적인 방법으로 입증하는 중요한 의미를 갖고 있다고 하겠다.

요 약

김치의 발효 및 연부, 부패에 관여하는 미생물에 대한 대나무 추출액의 항균성을 측정하기 위하여 김치 초기 숙성균인 *Leuconostoc mesenteroides*, 김치의 산패에 관여하는 *Lactobacillus plantarum*, 김치 연부에 관여하는 것으로 알려진 *Brettanomyces custersii*, *Klebsiella oxytoca*, *Pichia membranaefaciens* 등을 사용하여 항균효과를 측정하였다. 먼저, 추출용매의 종류에 따른 대나무잎 추출물의 항균성을 조사하기 위하여, methanol, diethyl ether, acetone, ethyl acetate를 용매로 대나무잎을 추출하였다. 대나무잎 30g을 잘게 잘라서 각각의 용매에 3일간 침지한 후, 농축하여 얻은 추출물을 이용하여 김치발효 미생물에 대한 항균성을 조사하였다. 그 결과, ethyl acetate추출물의 항균활성이 가장 뛰어났으며, 특히, 김치의 연부에 관여하는 *Brettanomyces custersii*, *Klebsiella oxytoca*, *Pichia membranaefaciens*에 대하여 강한 항균력을 보였고, 이 항균력은 미생물의 생육 pH가 7일때보다 pH 5일 때 높은 것으로 나타났다. 또한, 대조구로 사용한 0.5%와 1% sorbic acid보다도 더 높은 항균력을 보여 주었으며, 일반 식품 오염 미생물인 *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* 등에 대해서도 높은 항균력을 보여주어 광범위한 항균 spectrum을 나타냈다.

감사의 말

본 연구를 위해 따뜻한 조언을 아끼지 않으신 일본 여자대학교의 Nguyen Van Chuyen 교수님과 일본오차노미즈여자대학 Kurata Tadao 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고, 본 실험을 도와준 울산대학교 미생물

학과 신지원양에게 감사드립니다.

문 헌

1. 한홍의: 김치의 유산균 생태. 미생물과 산업, 17, 68 (1991)
2. 민태익, 권태완: 김치 발효에 미치는 온도 및 식염 농도의 영향. 한국식품과학회지, 16, 443 (1984)
3. 김선재, 박근형: 식물성 김치 재료 추출물의 항미생물 활성. 한국식품과학회지, 27, 216 (1995)
4. 문광덕, 변정아, 김석중, 한대석: 김치의 선도유지를 위한 천연보존제의 탐색. 한국 식품과학회지, 27, 257 (1995)
5. 김순동: 김치산업의 연구개발 현황과 전망. 생물산업, 8, 2 (1995)
6. 윤석인: 김치보존성 연구, 상온보존을 중심으로. 한국식품공업협회, 식품연구소, p.77 (1987)
7. Batt, C., Solberg, M. and Ceponis, M.: Effect of volatile components of carrot seed oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *J. Food Sci.*, 48, 762 (1983)
8. 이성기, 김인호, 유익중: Lysozyme과 glycine, lysine 및 EDTA의 첨가가 *Lactobacillus plantarum*의 성장에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 24, 11 (1992)
9. Huhtanen, C.N.: Inhibition of *Clostridium botulinum* by spice extracts and aliphatic alcohols. *J. Food Sci.*, 43, 195 (1980)
10. Marwan, A.G. and Nagel, C.W.: Microbial inhibitors in cranberries. *J. Food Sci.*, 51, 1009 (1986)
11. Marwan, A.G. and Nagel, C.W.: Characterization of cranberry benzoates and their antimicrobial properties. *J. Food Sci.*, 51, 1069 (1986)
12. 허 준: 동의보감. 박인규, 김봉제 감수, 국일문학사, 서울, p.242 (1991)
13. 윤국병, 장준근: 몸에 좋은 산야초. 석오출판사, 서울, p.527 (1989)
14. Chuyen N.V., Kurata T., Kato H. and Fujimaki, M.: Antimicrobial activity of Kumazasa (*Sasa albo-marginata*). *Agric. Biol. Chem.*, 46, 971 (1982)
15. 한홍의, 임종락, 박현근, 문상식, 박영신, 주홍택: 김치 부패시 *Brettanomyces custersii*와 *Klebsiella oxytoca*의 편리공생. 인하대학교 기초과학 연구소 논문집, 11, 171 (1990)
16. 김재욱, 이계호, 전재근, 박관화, 이형주, 안종건: 농산물가공이용학. 한국방송통신대학출판부, 서울, p.429 (1991)
17. 신동화: 공장김치의 발효온도 및 포장방법별 성분과 미생물의 변화. 김치의 과학 심포지움발표논문집. p.82. 한국식품과학회 (1994)
18. 하덕모: 김치의 발효경과 및 산패억제. 김치의 과학 심포지움발표논문집. p.43. 한국식품과학회 (1994)
19. 홍완수, 윤 선: 열처리 및 겨자유의 첨가가 김치 발효에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 21, 331 (1989)
20. Chuyen, N.V., Kurata, T., Kato, H. and Fujimaki, M.: Antimicrobial activity of Kumazasa. *J. Antibact. Antifug. Agents*, 11, 69 (1983)

(1995년 10월 31일 접수)