

신갈나무 잎 에탄올 추출물의 식품보존제 효과

공영준 · 오덕환*†

강원도 농업기술원

*강원대학교 식품생명공학부

Effect of Ethanol Extract of *Quercus mongolica* Leaf as Natural Food Preservative

Young-Jun Kong and Deog-Hwan Oh*†

Kangwon-Do Agriculture Research and Extension Services, Chuncheon 200-820, Korea

*Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract

This study was investigated to determine the antimicrobial effect of the ethanol extract of *Quercus mongolica* leaf on microbial growth. The ethanol extract at the concentration of 250 µg/mL and 500 µg/mL inhibited the growth of gram positive and gram negative food-borne disease bacteria for 40 hours in tryptic soy broth, respectively. Antimicrobial activity of the ethanol extract from *Quercus mongolica* leaf was not affected by pH and heat treatment. The comparison between ethanol extract and commercially available preservatives on antimicrobial activity in food system was conducted. When the 0.1% ethanol extract of *Quercus mongolica* leaf was added to pine needle drink and carrot juice, antimicrobial activity was similar to those of containing 0.05% benzoic acid and 0.5% grapefruit seed extract. Also addition of 2~3% ethanol extract to the soybean paste inhibited the microbial growth up to 7 week, comparable to the inhibition of 2% ethanol. Thus, this results indicate that the ethanol extract of *Quercus mongolica* leaf may be useful as natural antimicrobial agents.

Key words: natural antimicrobial extracts, preservative effect, minimal inhibitory concentrations. *Quercus mongolica* leaf

서 론

일반적으로 식품의 소비패턴은 그 나라 국민들의 사회발전 및 소비자의 경제적 여건과 밀접한 관계가 있다. 따라서 근래 우리의 생활여건이 좋아지면서 소비자가 원하는 가공식품도 크게 변하여 안정성과 신선함을 유지시키며 건강 지향적인 천연식품의 소비패턴이 두드러지고 있다. 이와 같이 급속히 변화하는 시점에서 식품 가공은 어떤 형태가 되는 소비자의 욕구만족과 가공식품의 당연한 문제인 보존성 향상을 동시에 만족시켜야 하는 어려움에 직면하고 있다.

식품보존제는 그 성질에 따라 무기화합물, 유기 화합물 및 천연보존제로 크게 나눌 수 있다. 무기화합물은 과산화수소, 아황산, 염화나트륨 등이 사용되고 있으며, 유기화합물 계통은 데히드로초산(DHA), 안식향산 및 에틸알콜 등이 사용되고 있지만, 근래에 와서 일부 품목에 대한 유해성과 안정성이 문제시되고 있다(1,2). 따라서 최근에는 식품의 원료나 부재료로 사용되고 있는 것들 중에서 독성의 염려가 없고 항균력이 있는 천연물에 대한 연구가 많이 보고되고 있다. 미국의 경우, 사람들이 오랫동안 식용으로 이용해 왔거나 천연물을

추출하여 보존제로 이용하는 경우 이들의 사용량이나 대상 식품들은 인공합성보존제와는 달리 규제하고 있지 않으며, 이를 Generally Recognized As Safe(GRAS)로 분류하고 있다. 또한 이들 천연보존제의 개발과 식품에의 적용은 인공합성보존제의 대체라는 의미와 식품의 안전성 및 각종 가공식품의 저장성 향상이라는 전지에서 그 중요성이 크다 하겠다. 현재까지 연구된 대부분의 항균성을 나타내는 물질로는 식물체 추출물, 단백질 및 특정효소, 유기산, bacteriocin 등이 알려져 있다(3). 천연 식물성 항균제로는 마늘(4), 갖(5), 클로버(6) 등과 같은 향신료의 정유성분들과 황련(7), 오미자(8), 자몽추출물(9) 등의 다양한 생약재들이 항균성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다.

참나무류는 세계적으로 6속 600종이 있는데 그 중 우리나라에는 4속 15종이 분포하고 있으며, 대표적인 것이 신갈, 갈참, 졸참, 떡갈, 굴참, 상수리나무 등이 있다. 신갈나무(*Quercus mongolica* Fischer)는 키가 20 m에 이르고 낙엽교목으로 열매가 거의 없고 잎의 뒷면에 털이 거의 없는 것이 특징이다(10). 신갈나무의 잎과 껍질에는 flavonoid, tannin질과 수지 등이 함유되어 있으며, 예로부터 지혈제, 증기 등에 민간 치

†Corresponding author. E-mail deoghwa@kangwon.ac.kr
Phone: 82-33-250-6457, Fax: 82-33-250-6457

료제로 사용하여 왔으나(11) 이에 대한 생리활성이나 성분분석에 관한 과학적인 연구보고는 거의 전무하며, 최근 들어 일부에서 몇 개의 참나무 수종을 대상으로 한 기초적인 성분분석과 생리활성에 관한 screen연구가 이루어지고 있는 실정이다. 지금까지 참나무 추출물에 대한 생리활성에 관한 연구로, 굴참나무와 갈참나무 잎의 물 및 에탄올 추출물이 *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus plantarum* 및 *Leuconostoc mesenteroides*에 대하여 각각 항균력이 있음이 보고되었다(12). 또한 Mallea 등(13)은 evergreen oak 잎으로부터 얻은 추출물이 *Trichophyton mentagrophytes* 및 *Staphylococcus aureus*에 항균활성을 나타낸다고 보고하였다. Ohara와 Hemingway(14)는 red oak의 수피 추출물의 성분을 조사하였는데, 주요성분은 quercetin이고, 소량의 catechin과 미량의 epicatechin, gallocatechin 및 procyanidin 화합물도 존재한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 합성보존제의 식품첨가에 따른 안전성에 대한 문제 해결과 식품의 저장기간 및 상품성을 동시에 확보할 수 있는 천연식품보존제의 개발을 위하여 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 식품에 적용하여 천연식품보존제로서의 가능성을 검토하고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

시료준비

신갈나무를 깨끗한 물로 수세한 후 원적외선건조기(Dry of far infrared ray, KFD-101B)로 60°C에서 12시간 건조한 후, 건식분쇄기(삼정전기, CR-581W)로 분쇄하고, 표준체 150 mesh(Standard testing sieve, ITOH Co., Japan)로 체를 친 다음 균질한 분말시료를 추출용 시료로 사용하였다.

추출물의 조제

식물체의 추출은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 flask 내에 분말시료를 넣고 시료중량의 10 배량의 75% 에탄올을 가하여 60°C의 수욕상에서 6시간동안 2회 반복 추출한 후 감압여과장치로 여과하였다. 여액을 rotary vacuum evaporator(Rikakikai Co., Japan)를 사용하여 농축하고 이를 동결건조기(Taitec Co., Japan)를 사용하여 건조한 후 밀봉하여 4°C의 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

일반성분분석

신갈나무 잎 건조분말 시료의 일반성분 및 무기성분은 AOAC 법(15)에 준하여 다음과 같이 측정하였다. 수분 함량은 105°C 상압건조법, 회분은 550°C의 직접회화법(16), 조단백 함량은 Kjeldahl 분해 장치로 분해하여 질소자동분석기(Kjeltec Auto 1035 Sampler System, Tecator, Sweden)로 정량하였으며, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법(17), 조섬유는 Fibertec system(M 1020, Hot Extractor Foss, Sweden)으로 측정하였다. 무기성분은 시료에 식물체 분해액(HClO₄:H₂SO₄:H₂O₂ = 9:2

:5)을 가하여 hot plate에서 무색으로 변할 때까지 분해한 후, ICP(Inductivity Coupled Plasma, Dandenong Victoria 3175, Australia)로 분석하였다.

생육저해효과

실험에 사용한 세균(Table 1)의 배양은 보관 중인 균주를 1백금이 취해 10 mL의 tryptic soy broth에 접종한 후 30~37°C에서 24시간 배양한 다음, 이를 공시 피검균으로 사용하였다. 동결건조한 에탄올 추출물은 dimethylsulfoxide(DMSO)로 녹인 후 0.45 µm-membrane filter(Nalgene Co., USA)로 제균하고 농도별(31.2, 62.5, 125, 250 및 500 µg)로 멸균한 broth에 첨가하여 혼합하였다. 사용 균주는 각 균의 농도를 10⁵ CFU/mL 되도록 접종하여 Bioscreen C(Labsystems, FP-1100-C, Finland)로 35°C에서 24시간 배양하면서 피검균의 생육을 O.D. 값으로 측정하였다.

신갈나무 잎 추출물의 열 및 pH 안정성 검색

열 안정성 : 신갈나무 잎 추출물의 열 안정성을 조사하기 위하여 동결건조한 에탄올 추출물 시료를 100°C에서 30분과 60분, 120°C에서 15분 동안 가열처리하였다. 열처리된 시료는 즉시 ice box에서 냉각시키고 2,000 µg 농도로 paper disc에 흡수시킨 다음 *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* 및 *Escherichia coli* O157:H7균을 공시 시험균으로 사용하여 paper disc method를 이용하여 clear zone을 측정하였다. 즉, 멸균된 tryptic soy agar배지에 피검균 전배양액 0.1 mL를 평판배지에 주입하여 균일하게 도포한 후, 각 추출물 시료를 흡수시킨 paper disc(Ø 8 mm, Whatman No. 2)를 TSA 평판배지에 올려놓고 난 다음, 30°C의 incubator에서 24~48시간 배양하여 clear zone을 측정하였다.

추출물의 pH 안정성 : 배지의 pH 변화에 따른 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 항균력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 pH를 4에서 8까지 조정된 tryptic soy broth(TSB)배지(Difco)를 250 mL 삼각플라스크에 각각 50 mL씩 분주하여 121°C에서 15분 동안 살균하였다. 공시 피검균의 최종농도가 10⁵ CFU/mL이 되게 무균적으로 접종하였고 membrane filter

Table 1. List of test microorganisms and media used for antimicrobial experiment

Microorganisms	Media
Gram positive bacteria	Tryptic soy agar/broth
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13720	(Difco, USA)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 43256	
<i>Listeria monocytogenes</i> F5027	
<i>Listeria monocytogenes</i> Scott A	
Gram negative bacteria	Tryptic soy agar/broth
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	(Difco, USA)
<i>Escherichia coli</i> O157 H7 0019	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	

(Whatman No. 2, 0.45 μm, pore size)로 제공한 추출물을 31, 62.5, 125, 250, 500 μg/mL의 농도로 첨가한 다음 35°C에서 24시간 배양하면서 추출물의 최소저해농도(MIC)를 측정하였다.

신갈나무 잎 에탄올 추출물의 식품보존제 효과 실험

술잎 음료 및 주스의 첨가 : 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 식품첨가에 따른 영향을 알아보기 위해 신갈나무 잎 에탄올 추출물과 합성보존제로 사용되는 안식향산 및 천연보존제인 자몽종자추출물을 이용하여 이를 술잎 음료 및 주스에 첨가하여 저장기간에 따른 미생물의 생육변화를 조사하였다. 대상 식품으로는 시판 술잎음료와 당근주스로 하였으며 이 상품들은 구입 후 개봉하여 상온에서 1일 방치하여 공기중의 미생물을 자연 접종시킨 후 신갈나무 추출물 및 보존제를 첨가하였다. 보존제로서의 첨가량은 신갈나무 잎 에탄올 추출물은 0.05, 0.1, 0.5%로 각각 처리하였고, 안식향산과 자몽종자추출물은 식품첨가 허용기준인 0.05% 및 0.04%로 조절하여 첨가하였으며, 음료 및 주스에 첨가한 후 마개를 닫아 35°C에서 저장하며 저장기간에 따라 일반세균, 효모 및 곰팡이 수를 조사하였다. 이때, 일반세균수는 식품공전상 미생물시험법에서 전체에 존재하는 세균 중 표준한천배지내에서 발육할 수 있는 중은균 수를 측정하는 표준평판법을 사용하여 검체 1 mL를 plate count agar에 도말하여 35°C에서 24~48시간 배양하였으며, 효모 및 곰팡이는 일반세균수 측정방법에 준하여 배지는 potato dextrose agar(Difco)를 사용하여 25°C에서 48시간 배양한 후 발생한 집락수를 계산하였으며 그 평균 집락수에 희석 배수를 곱하여 효모와 곰팡이수로 산출하였다

된장 첨가

실험에 사용한 된장은 흥천군 서석 소재의 특산단지인 장류공장에서 보존제를 처리하지 않은 된장을 구입하여 실험하였다. 실험방법으로는 된장 60 g을 폴리에틸렌 필름에 넣은 후 탈기 포장하여 30°C에서 11주간 저장하면서 2주 간격으로 포장지의 팽창율을 관찰하였다. 이때 보존제로는 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 시료중량대비 1%, 2%, 3%로 하여 처리하였으며, 에틸알콜은 松本 등(18)의 고추냉이와 비교한 된장 첨가의 미생물 억제 실험에서와 같이 2% 수준으로 처리하였다.

막걸리 첨가

신갈나무 잎으로부터 얻은 추출물의 첨가에 의한 막걸리의 보존성 향상 효과를 조사하기 위해 식품식물로부터 얻은 부패균의 항균력 검색방법(19)을 응용하여 시판 살균 찹막걸리(T 제조창)를 구입하여 1일간 방치한 후 본 실험에 사용하였다. 실험방법으로는 gas collector(Fig. 1)를 이용하여 삼각

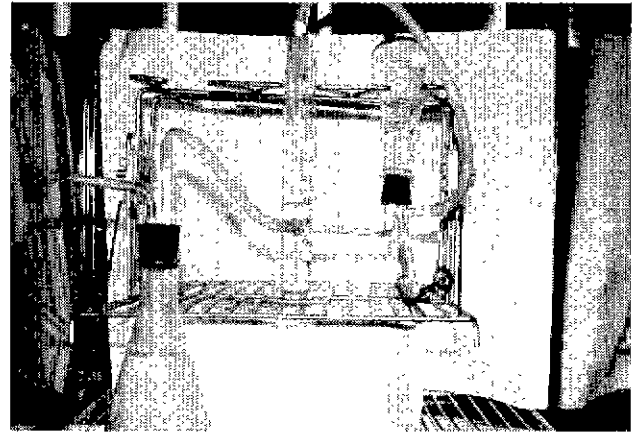


Fig. 1. Schematic diagram of gas collector equipments using the flask and rubber stopper.

플라스크 안에 막걸리 100 mL와 보존제를 첨가한 후 실리콘 마개에 가스 배출호스를 설치하여 거꾸로 1/2정도 물을 담은 후 플라스크에 용기를 연결하였다. 미생물의 생육으로 가스가 발생하면 가스는 거꾸로 만든 용기로 옮겨져 생성된 가스량 만큼 물이 밖으로 유출되는 원리를 이용하여 막걸리에 대한 첨가효과를 조사하였다. 이때 신갈나무 추출물은 0.05, 0.1, 0.5%로 각각 처리하였으며, 대조구로는 식품에서 널리 이용되고 있는 합성보존제인 안식향산을 0.04%로 첨가하여 미생물의 생육여부를 조사하였다

결과 및 고찰

신갈나무 잎 에탄올 추출물의 생육저해효과

그람양성 및 그람음성균에 대한 에탄올 추출물의 생육저해 효과를 Fig. 2에 나타냈다. 그람양성 세균은 에탄올 추출물 250 μg/mL 첨가시 40시간까지 균의 생육이 억제되었으며 이후부터 균의 생육이 증가하는 경향을 보였다. 그람음성 세균은 500 μg/mL농도에서 40시간까지 균의 생육이 억제되었다. 신갈나무 에탄올 추출물은 그람음성균에 비해 그람양성균에 보다 강한 항균력 나타내었으며, 특히 *L. monocytogenes* 균에 매우 강한 항균활성을 나타내었다.

일반성분 분석

신갈나무 잎 시료의 일반성분을 측정된 결과는 Table 2과 같이 신갈나무잎의 일반성분 함량은 수분 7.92%, 조단백질 13.91%, 조섬유 17.53%, 조지방 2.77%, 조회분 4.41%이었으며 미네랄 함량은 Ca가 4.14 mg/100 g으로 가장 높았고, K를 제외한 그밖의 나머지 성분들은 극미량이 함유되어 있는

Table 2. Proximate composition and mineral contents of *Quercus mongolica* leaves (dry base)

Proximate composition (%)					Mineral contents (mg/100g)					
Moisture	Crude ash	Crude protein	Crude Fiber	Crude fat	Ca	Zn	Fe	K	Mg	Na
7.92	4.41	13.91	17.53	2.77	4.14	0.23	0.07	2.87	0.79	0.23

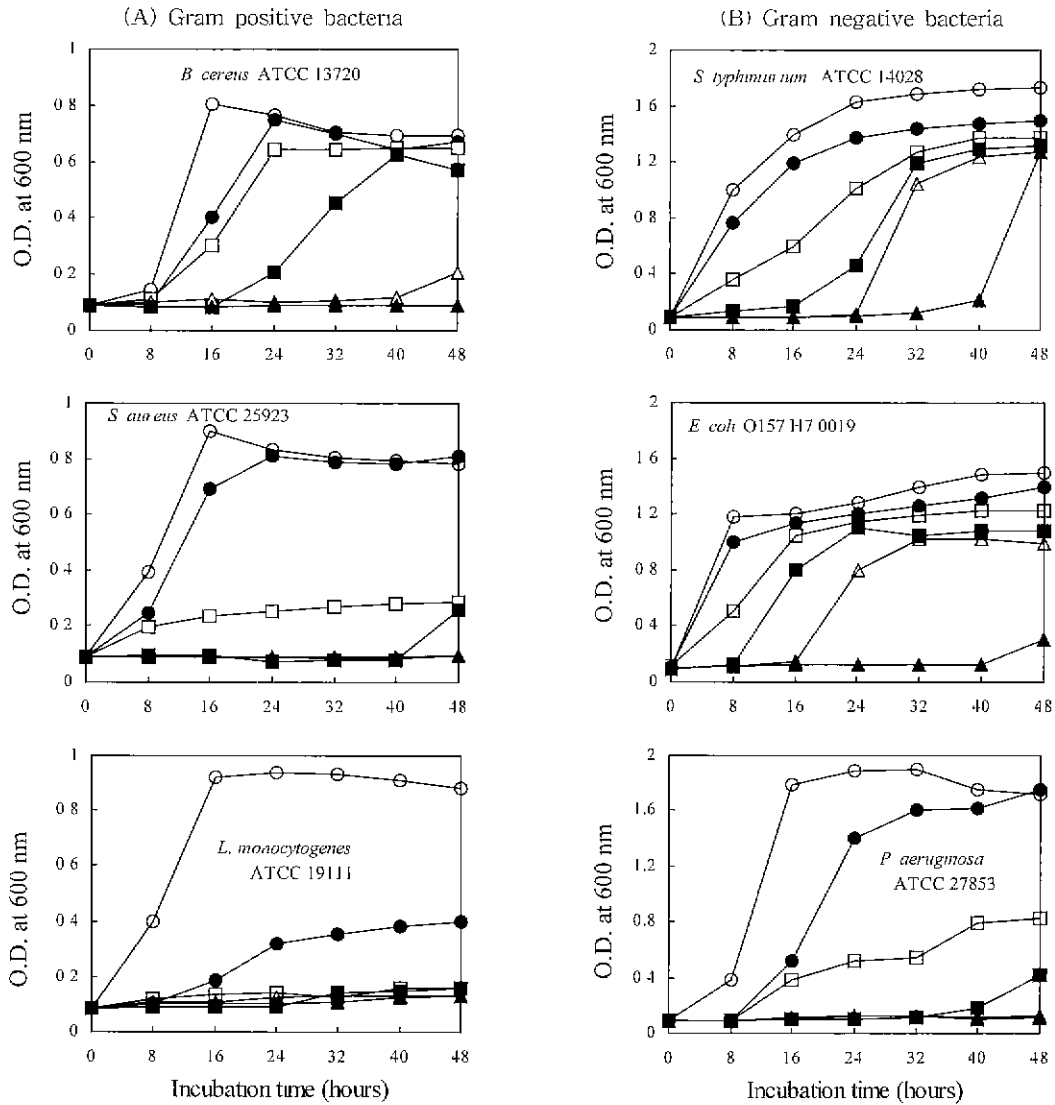


Fig. 2. Antimicrobial activity of the ethanol extracts from *Quercus mongolica* leaves on the growth of various pathogenic bacteria. ○ Control, ● 31.25 µg/mL, ◻ 62.5 µg/mL, ◼ 125 µg/mL, ◻ 250 µg/mL, ▲ 500 µg/mL.

것으로 나타났다. 한편, 신갈나무의 일반성분을 분석한 국내의 연구결과는 없으며 다만, 조희분의 경우 산림청 임업연구원(20)에서 신갈나무 목질부분의 조희분을 분석한 결과 0.58%로 보고한 것과 비교하여 잎과 목질 부분의 함량은 차이가 많은 것으로 나타났다.

신갈나무 잎 에탄올 추출물의 열 및 pH 안정성 검색
 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 열 안정성을 조사하기 위하여 100°C에서 30분 및 60분, 121°C에서 15분간 열처리한 후 *L. monocytogenes* 및 *E. coli* O157:H7 0019균에 대한 생육저해환을 측정한 결과 모든 열처리 시료의 피검균에 대한 생육저해환의 크기가 대조구인 비열처리 시료와 비교하여 볼 때 생육저해환의 크기 변화가 거의 없는 것으로 보아 신갈나무 에탄올 추출물의 항균활성은 열에 매우 안정함을 알 수 있었다(Table 3). 한편, pH의 변화가 신갈나무 잎 에탄올 추출

Table 3. Heat stability of the ethanol extract of *Quercus mongolica* leaf on the food poisoning microorganisms

Microorganisms ¹⁾	Inhibition zone (mm) ²⁾			
	No heat	100°C for 30 min	100°C for 60 min	121°C for 15 min
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111	21	21	21	20
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 43256	20	20	20	20
<i>L. monocytogenes</i> F 5027	20	19	19	19
<i>L. monocytogenes</i> Scott A	20	20	20	20
<i>E. coli</i> O157:H7 0019	15	15	15	15

¹⁾ Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10^5 CFU/mL

²⁾ Two thousand µg of ethanol extract was absorbed into paper disc (Ø8 mm) and the diameter (mm) of clear zone was measured

물의 항균활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 배지의 pH를 4~8까지 조정하여 다음 각 식중독균에 신갈나무 잎 에탄올 추

출물의 MIC를 측정한 결과 산성, 중성 및 알칼리성 모두에서 균종에 관계없이 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 항균활성은 pH에 매우 안정함을 알 수 있었다(Table 4).

신갈나무 잎 추출물의 식품첨가 효과

술잎 음료 첨가효과 : 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 시판 술잎음료에 0.05, 0.1, 0.5% 첨가한 것과 합성보존제인 안식향산과 자몽종자 추출물을 각각 0.05%, 0.04% 첨가하여 35°C에서 5주간 저장하며 미생물의 생육변화를 관찰한 결과는 Table 5와 같다. 술잎음료를 인위적으로 미생물을 발생시키기 위해 상온에서 1일간 방치한 후, 미생물의 생육을 관찰한 결과, 총균수는 저장 1주일부터 무첨가군의 경우 일반세균이

생육하기 시작하였으며 합성보존제 첨가구에서는 2주까지 일반세균이 생육하지 않았다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물 첨가구의 경우, 0.05% 첨가구에서는 2주 후에 총균수가 1.4×10^1 CFU/mL이었으나 그 이상의 첨가농도에서는 관찰되지 않았고 저장 3주째에는 합성보존제 첨가구에서는 총균수가 100 CFU/mL를 넘지 않은 반면, 신갈나무 잎 추출물 0.05% 첨가구에서는 2.1×10^2 CFU/mL의 총균수로 나타나 음용이 불가능한 상태이었지만 0.1%이상 첨가구에서는 합성보존제보다는 약하지만 무첨가군에 비해서는 일반세균의 생육이 현저히 억제되었다. 한편 효모와 곰팡이의 경우도 세균에서의 결과와 비슷한 양상을 보였다(Table 5).

당근 주스 첨가효과 : 시판 당근 주스에 신갈나무 추출물 0.05, 0.1, 0.5%를 첨가한 것과 합성보존제인 안식향산과 자몽종자 추출물을 각각 0.05%, 0.04%로 첨가하여 35°C에서 5주간 저장하며 미생물의 생육변화를 관찰한 결과는 Table 6에 나타내었다. 당근 주스의 경우도 술잎음료 처리와 비슷한 양상을 보였으며, 총균수의 경우 신갈나무 잎 에탄올추출물 0.05% 첨가구의 경우는 저장 3주째 총균수가 4.0×10^2 CFU/mL로 저장 2주째 1.0×10^2 CFU/mL에 비해 균의 생육이 급격히 증가하였고, 0.1% 첨가시에는 저장 3주까지 일반세균의 생육이 억제되는 경향을 보였다. 따라서 신갈나무 잎 에탄올 추출물은 합성보존제와 비슷한 보존력이 있는 것으로 나타났다. 또, 효모와 곰팡이에 대하여는 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 0.5%까지 첨가했을 경우 합성보존제인 자몽종자추출물 및 안식향산과 비슷한 생육억제 효과를 나타내어 일반세균에 비해 보존효과가 다소 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 4. Effect of pH on the minimal inhibition concentrations (MICs) of ethanol extracts from *Quercus mongolica* leaf

Microorganisms ¹⁾	MIC ²⁾ (μg/mL)					
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
<i>B. cereus</i> ATCC 13720	125	125	125	125	125	125
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 43256	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5
<i>L. monocytogenes</i> F 5027	125	125	125	125	125	125
<i>L. monocytogenes</i> Scott A	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5
<i>E. coli</i> O157:H7 0019	500	500	500	500	500	500

¹⁾Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10^5 CFU/mL.

²⁾The MICs represents the concentration of minimal inhibition that showed no growth after 24 hrs incubation.

Table 5. Changes of microbial growth in the pine needle drink on the different additives

Sample	Concentration (%)	Storage time (weeks)											
		Bacterial cells (CFU/mL)					Yeast and mold (CFU/mL)						
		0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Control	0	0	1.2×10^1	1.0×10^2	3.8×10^3	3.5×10^4	4.5×10^5	0	0	2.1×10^1	1.2×10^2	1.0×10^3	1.3×10^4
Benzoic acid	0.05	0	0	0	1.3×10^1	1.0×10^2	1.2×10^3	0	0	0	0	1.0×10^1	1.2×10^2
DF-100 ¹⁾	0.04	0	0	0	1.2×10^1	1.3×10^2	1.0×10^3	0	0	0	0	1.0×10^3	4.1×10^2
Ethanol extract of <i>Q. mongolica</i> leaf	0.05	0	0	1.4×10^1	2.1×10^2	2.2×10^3	1.5×10^4	0	0	1.1×10^1	1.5×10^2	1.0×10^3	1.2×10^4
	0.1	0	0	0	3.4×10^1	4.8×10^2	1.3×10^3	0	0	0	2.6×10^1	3.2×10^2	4.0×10^3
	0.5	0	0	0	2.0×10^1	3.0×10^2	1.0×10^3	0	0	0	1.0×10^1	1.2×10^2	1.5×10^3

¹⁾Grapefruit seed extract

Table 6. Changes of microbial growth in the carrot juice on the different additives

Sample	Concentration (%)	Storage time (weeks)											
		Bacterial cells (CFU/mL)					Yeast and mold (CFU/mL)						
		0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Control	0	0	1.2×10^1	1.5×10^2	3.2×10^3	2.5×10^4	4.3×10^5	0	0	1.2×10^1	1.0×10^2	1.6×10^3	2.5×10^4
Benzoic acid	0.05	0	0	0	1.2×10^1	4.2×10^2	2.1×10^3	0	0	0	0	1.0×10^1	1.3×10^2
DF-100 ¹⁾	0.04	0	0	0	1.4×10^1	3.0×10^2	2.5×10^3	0	0	0	0	1.2×10^1	1.5×10^2
<i>Q. mongolica</i> extract	0.05	0	0	1.0×10^1	4.0×10^2	3.7×10^3	3.7×10^3	0	0	0	2.2×10^1	4.0×10^2	3.1×10^3
	0.1	0	0	0	3.1×10^1	4.5×10^2	2.3×10^3	0	0	0	1.4×10^1	1.2×10^2	1.5×10^3
	0.5	0	0	0	1.1×10^1	1.2×10^2	1.2×10^3	0	0	0	0	1.0×10^1	1.7×10^2

¹⁾Grapefruit seed extract

Table 7. Expansion repressive effect of food additives on the packing soybean paste during storage

Samples	Concentration (%)	Storage time (weeks)					
		1	3	5	7	9	11
Control	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	1	+	+	++	+++	+++	+++
	2	±	±	+	+	++	+++
	3	-	±	+	+	++	+++
Ethylalcohol	2	-	-	-	±	±	±

-: No expansion, ± Gas production, - A little expansion, ++: Two fold expansion, +++ Remarkable expansion.

된장 첨가 효과: 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 된장에 첨가하여 포장한 후 저장하면서 된장 내 미생물이 생육함에 따라 발생하는 gas의 정도를 포장지가 팽창하는 정도로써 조사한 결과를 Table 7과 Fig. 3에 나타내었다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물이나 에틸알콜을 첨가하지 않은 대조구(control)에서는 저장 1주일에 된장 포장지가 완전히 팽창하여 미생물이 왕성하게 생육함을 알 수 있었으나 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 첨가한 경우에는 된장의 포장지가 완전하게 팽창되는 시점을 기준으로 보면 1% 첨가는 7주, 2%와 3% 첨가는 11째 주가

되어서 포장지가 팽창하였다 반면에 에틸알콜 처리구에서는 11주가 되어도 소량의 gas 발생만 관찰되어 미생물이 거의 생육하지 못하는 것으로 나타났다. 이런 결과는 松本 등(18)의 와사비를 첨가한 된장 포장지의 실험 결과와 유사하게 나타나 신갈나무의 적정 첨가로 장류의 보존성을 향상시킬 수 있어 천연보존제로서의 가능성이 있음을 알 수 있었다.

막걸리 첨가 효과: 신갈나무 잎으로부터 얻은 에탄올 추출물의 첨가에 의한 막걸리의 보존성 향상 효과를 조사하기 위해 시판 살균 찹막걸리(T 제조장)를 구입하여 1일간 방치한 후, gas collector에 넣은 후 저장기간 중 미생물 발생상황을 조사한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 0.05~0.5% 첨가한 결과, 시간 경과에 따라 0.05% 저 농도 첨가구에서는 5시간 이후부터 gas의 생성이 증가하였으며, 그 이상의 첨가농도에서는 gas의 생성이 거의 없었다 따라서 0.5% 이상의 신갈나무 잎 에탄올 추출물의 첨가시 합성보존제인 안식향산과 동일한 생육억제효과를 나타내었다. 그러나 막걸리의 경우, 신갈나무 잎 에탄올 추출물 첨가에 따른 막걸리의 고유한 맛이 약간 저하되는 경향이 나타나 이에 대한 이화학적인 연구가 추후 보완되어야 하겠다. 본 연구실에서는 현재 이를 추진 중에 있으며 이 결과로 미루어 볼 때 신갈나무 잎 에탄올 추출물은 국내 전통양조류의 보존기간을 향상시킬 수 있는 새로운 천연보존제로서 효용가치가 매우

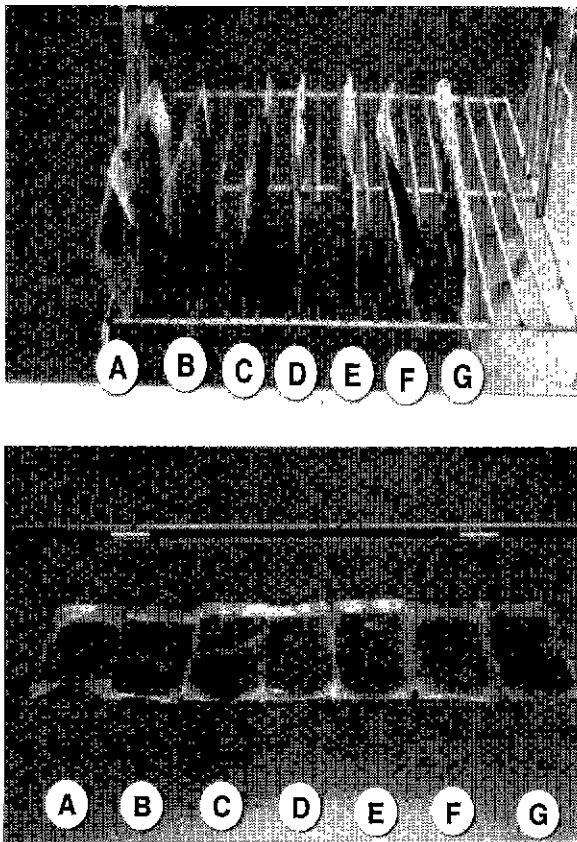


Fig. 3. Effect of additive concentration of ethanol extracts from Quercus mongolica leaf on the expansion of soybean paste pack.

A: Control, B: Quercus mongolica 1%, C: Quercus mongolica 2%, D: Quercus mongolica 3%, E: Quercus mongolica 4%, F: Ethylalcohol 2%, G: Ethylalcohol 3% each sample added in soybean paste.

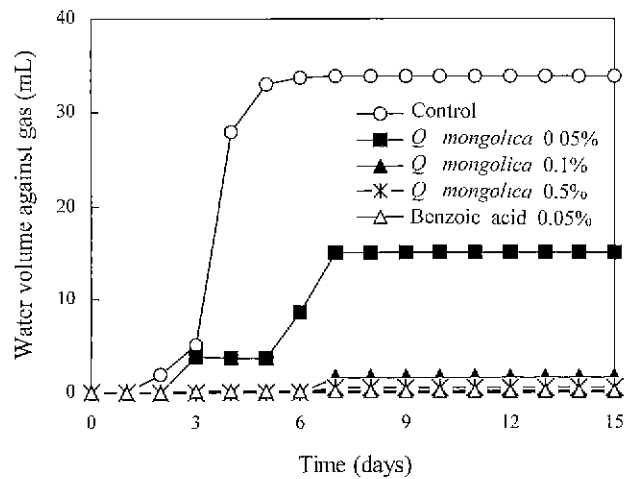


Fig. 4. Growth inhibition of antimicrobial agents in raw rice wine (makkoli) during fermentation.

클 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 독성과 안전성의 문제가 없는 천연식품 보존제의 개발을 위하여 신갈나무 잎 추출물을 이용하여 천연보존제로서의 특성 및 가능성을 조사하였다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물은 그람양성균에 대해서 250 µg/mL, 그람음성균에 대해서는 500 µg/mL 농도에서 40시간 동안 식중독균의 증식을 억제하였다. 신갈나무 잎 추출물의 항균활성 물질은 pH와 열에 매우 안정하였다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물과 합성보존제가 술잎 음료, 당근 주스, 된장 및 막걸리의 보존성에 미치는 영향을 비교한 결과, 술잎 음료 및 당근 주스의 경우 0.1% 첨가시 합성보존제와 유사한 미생물 생육억제 효과를 나타내었고, 된장은 추출물을 2~3% 첨가하였을 경우 7주까지는 미생물 증식이 억제되어 에틸알코올과 비슷한 보존효과를 보였다. 막걸리의 경우는 추출물 0.5% 이상 첨가시 합성보존제인 안식향산과 유사한 미생물 생육 억제효과를 나타내었다. 따라서 이와같은 결과로 미루어보아 신갈나무 잎은 향후 천연보존제의 원료로서 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

문 헌

- 1 Lee, J.H. and Kim, I.H. : Antimicrobial activity and stability of tetrasodium pyrophosphate peroxidate. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1040-1044 (1998)
- 2 지성규 : 미래에 있어서의 보존료의 위치 *식품기술*, **9**, 108-114 (1996)
- 3 Beuchar, L.R. and Golden, D.A. : Antimicrobials occurring naturally in foods *Food Technol.*, **43**, 134-138 (1989)
- 4 Lim, S.W. and Kim, T.H. : Physiological activity of alliin and ethanol extract from Korean garlic (*Allium sativum* L.). *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **29**, 348-354 (1997)
- 5 Kang, S.K., Sung, N.K., Kim, Y.D., Lee, J.K., Song, B.H., Kim, Y.W. and Park, S.K. : Effects of ethanol extract of leaf mustard (*Brassica juncea*) on the growth of microorganisms. *J.*

- Kor. Soc. Food Nutr.*, **23**, 1014-1019 (1993)
- 6 Park, C.S. : Antibacterial activity of edible plant against pathogenic bacteria I Antibacterial activity of clove against *Staphylococcus aureus* *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.*, **5**, 89-96 (1998)
- 7 Chung, S.K., Lee, S.J., Chung, Y.J., Park, W.P., Lee, D.S. and Cho, S.H. : Antimicrobial activities of Korean medicinal herb extracts for preserving greenhouse fresh produce. *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.*, **5**, 13-21 (1998)
- 8 Lee, S.H. and Lim, Y.S. : Antimicrobial effect of *Schizandra chinensis* extracts against *Listeria monocytogenes*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 442-447 (1997)
- 9 Kim, Y.R. and Cho, S.H. : Antimicrobial activities and effect of grapefruit seed extract on the physiological function of microorganism. *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.*, **9**, 187-193 (1996)
- 10 이창복 *대한식물도감, 향문사, 서울*, p.990 (1979)
- 11 일월서각 : 약초의 성분과 이용. *과학백과사전출판사, 서울*, p.140-142 (1991)
- 12 Lee, B.W. and Shin, D.H. : Antimicrobial effect of some plant extracts and their fractionates for food spoilage microorganisms. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **23**, 205-211 (1991)
- 13 Mallea, M., Pesando, D., Bernard, P. and Khoulalene, B. : Comparison between antifungal and antibacterial activities of several strains of *Epicoccum purpurascens* from Mediterranean area. *Mycopathologia*, **115**, 83-88 (1991)
- 14 Ohara, S. and Hemingway, R.W. : The phenolic extractions in southern red oak (*Quercus falcata* Michx. var. *falcata*) bark. *Holz fors chung*, **43**, 149-154 (1989)
- 15 AOAC : *Official Method of Analysis*. 13th ed, Association of official analytical chemists, Washington, D.C., p.746 (1980)
- 16 주현규, 조광연, 박충균, 조규성, 채주규, 마상조. *식품분석법* 유림문화사, 서울, p.258-259 (1995)
- 17 박동기 : *식품종합실험* 유림문화사, 서울, p.69-71 (1987)
- 18 松木通夫, 松田弘毅, 山下昭道, 有福一郎. 薬ワサビ. 實サシヨウの抗菌作用と地域特産食品への添加による保存性向上. 鳥取縣食品加工研究所, **31**, 32-37 (1995)
- 19 Ahn, E.S., Kim, M.S. and Shin, D.H. : Screening of natural antimicrobial edible plant extract for *dooboo*, fish paste, *makkoh* spoilage microorganism. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **26**, 733-739 (1994)
- 20 Korea Forest Research Institute : Studies on the development and utilization of Korea oak resources. *Ministry of Science and Technology*, **3**, 213-215 (1998)

(2001년 1월 12일 접수)