

## 두부 부패 미생물과 병원성 미생물에 대한 황금의 항균효과

우인택 · 박경남 · 이신호<sup>†</sup>

대구가톨릭대학교 식품외식산업학부

### Antimicrobial Activities of *Scutellaria baicalensis* Georgi Against Various Pathogens and Spoilage Bacteria Isolated from Tofu

In-Taeck Woo, Kyung-Nam Park and Shin-Ho Lee<sup>†</sup>

Faculty of Food Technology and Service, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 713-702, Korea

#### Abstract

Antibacterial activities of *Scutellaria baicalensis* Georgi (SBG) extract were examined against spoilage bacteria isolated from commercial tofu and various pathogens such as *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 21541, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737, *Salmonella* Typhimurium ATCC 11806, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, and *Aeromonas hydrophila* KCTC 2358. Four kinds of spore forming organisms were isolated from commercial tofu and identified as *Bacillus* sp. KN-4, *Bacillus* sp. KN-6, *Bacillus* sp. KN-10 and *Bacillus* sp. KN-20 using API CHB kit. The SBG extract showed high antibacterial activities and significantly inhibited the growth of the isolated spoilage bacteria and pathogens. The inhibitory effects against the organisms increased as the concentration of the SBG extract increased. The antimicrobial activities of the SBG extract were maintained markedly after heat treatments (80°C/30 min, 100°C/30 min and 121°C/15 min). The minimum inhibitory concentrations (MIC) of the SBG extract against the organisms ranged from 1,000 ppm to 5,000 ppm.

**Key words:** *Scutellaria baicalensis* Georgi, antimicrobial activity, pathogens, spoilage bacteria, tofu

#### 서 론

황금은 꿀풀과에 속하는 다년생초로 한국에는 10여종이 자생하고 있으며, 약리작용으로는 항 histamine 효과(1), 항 간장독(2), 항균작용(3), 항암작용(4), 항박테리아 활성(5), 항염증 효과(6,7) 등이 알려져 있다. 황금은 식품의 저장성을 증대시키기 위한 포장 부재료(8), 김치 저장성의 증대를 위한 첨가제(9) 등 천연항균제로서의 이용 가능성과 피부염 치료(10), 신장에 대한 항산화능(11), 항종양 작용(12), 면역 증진 효과(13) 등 다양한 생리활성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

두부는 식물성 단백질인 대두를 주원료로 칼슘과 무기질을 이용하여 응고시킨 전통식품으로 영양가와 소화율이 높고 가격이 비교적 저렴하여 곡물로부터 단백질을 섭취해야 할 사람들에게는 양질의 단백질 공급원으로서 널리 애용되고 있는 식품이다(14). 근래에 와서는 식물성 단백질 공급원 으로서는 물론 건강식품으로서 세계인의 관심이 집중되는 식품으로 급부상하고 있는 실정이다. 그러나 높은 수분함량으로 인해 보존성이 매우 낮은 문제점을 내포하고 있다. 대부분의 두부는 생산된 즉시 비포장 상태로 판 두부로 유통되

고, 또한 유통 과정 중 식중독을 일으키는 병원성 균의 오염으로 특히, 하절기에 상온에서 쉽게 변질되어 생산, 유통, 소비단계에서 위생적으로 많은 문제점을 초래하고 있다. 이러한 문제점을 개선하기 위해서는 두부 부패에 관련된 미생물과 식품가공 중 오염될 수 있는 식중독 원인균의 성장 억제 방안을 강구하여 위생적인 두부 유통을 위한 근본적인 방안 수립이 시급한 실정이다. 본 연구는 두부의 저장성 증진 방안을 모색하고자 항균활성이 있는 황금을 이용하여 천연 항균성 첨가제로서의 이용 가능성 여부를 알아보기 위해 시판 두부에서 분리한 부패 관련 미생물과 식중독 원인균에 대한 황금의 항균활성을 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 추출물의 제조

황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)은 대구시 약전골목에서 구입한 국내산을 사용하였고, 황금 추출물은 황금과 에탄올(SK chemical, 95%)을 1:5로 혼합한 후 진탕기(HANBAK Scientific Co., Korea)를 이용하여 상온에서 150 rpm으로 24시간 동안 진탕시키면서 2회 반복 추출하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: leesh@cu.ac.kr  
Phone: 82-53-850-3217, Fax: 82-53-850-3217

추출액을 회수하여 40°C에서 감압농축기(BÜCHI Rotavapor R-114, Switzerland)를 사용·농축하였으며, 농축된 추출물을 동결 건조(Ilshin lab. PVTFD20R, Korea)하여 냉동보관하며 사용하였다.

#### 공시 병원성 균주

공시 병원성 미생물은 *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 21541, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737, *Salmonella* Typhimurium ATCC 11806, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Aeromonas hydrophila* KCTC 2358를 사용하였으며, 성장 배지는 tryptic soy broth(TSB, Difco, USA), 생균수 측정 및 보관용 배지로는 tryptic soy agar(TSA, Difco, USA)를 사용하였다.

#### 두부 부패균의 분리 및 동정

시중에서 구입한 포장 두부 8종류를 37°C incubator에서 2일 보관하여 그 침지액을 분리원으로 사용하여, nutrient agar(NA, Difco, USA)에 각각 0.1 mL씩 도말하여 37°C incubator에서 24시간 배양한 후 각각의 colony 형태 및 색깔 등으로 분류하여 16종의 균주를 분리하였다. 분리균주는 spore 염색 및 gram 염색을 하여 현미경(LR 66238C, Zeiss, Germany)으로 형태학적 특성은 관찰하였고, 생화학적 특성은 Api CHB kit(Biometruix, France)를 사용하였으며, Api CHB V4.0 system을 이용하여 동정하였다.

#### 항균활성 및 농도별 성장 억제 효과

공시균주에 대한 황금의 항균활성은 paper disc 방법을 이용하여 측정하였으며, 10% 황금 에탄올 추출물 40 µL를 paper disc에 분주하여 4°C에 24시간 방치한 후 37°C에서 24시간 배양하여 clear zone의 생성 유무를 확인하였다. 황금의 성장억제효과 측정은 추출물의 최종농도가 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2% 되도록 조절한 tryptic soy broth와 nutrient broth(Difco, USA)에 병원성 균과 선발 두부 부패 미생물을 각각 one loop씩 접종하여 37°C incubator에서 24시간 동안 배양하면서 12시간 간격으로 생균수를 측정하였다.

#### 열안정성 측정

황금 에탄올 추출물의 열안정성을 측정하기 위해 추출물을 80°C에서 30 min, 100°C에서 30 min, 121°C에서 15 min 동안 각각 열처리한 후 paper disc method로 공시균주에 대한 clear zone의 직경을 측정하여 대조군과 비교하였다(15).

#### 최소저해농도

분리 균주에 대한 성장최소저해농도는 Farag 등의 방법(16)에 따라 실시하였다. 황금 에탄올 추출물의 최종농도가 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5%가 되도록 조절한 배지에 분리 균주를 각각 접종하여 72시간 동안 배양하면서 성장현상을 나타내지 않은 농도를 최소저해농도(minimum inhibitory concentration; MIC)로 하였다.

#### 통계분석

통계분석은 SPSS software package(ver. 12.0)를 사용하였으며, 각 처리구간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test를 이용하여 측정하였다( $p < 0.05$ ).

## 결과 및 고찰

#### 두부 부패균의 분리 동정

시판 두부 10종을 구입하여 25°C에서 부패를 유도하여 이를 시료로 하여 부패균을 분리하고 각기 다른 두부에서 16균주의 부패균을 분리하였다. 분리 균주 중 nutrient broth에서 성장이 비교적 양호하고, 포자를 생성하는 분리원이 서로 다른 KN-4, KN-6, KN-10, KN-20의 4균주를 선발하여 Api kit를 이용하여 당 발효능을 조사하여 Api data base 상의 균들과 비교한 결과 Table 1에서 보는 바와 같이 4균주 공히 gram 양성 간균으로 포자를 형성하였으며, 동정한 결과 KN-4, KN-6, KN-10, KN-20 공히 *Bacillus* sp.로 동정되었다.

#### 황금 에탄올 추출물의 항균활성

부패 두부에서 분리한 KN-4 균주에 대한 황금 에탄올 추출물은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 뚜렷한 성장 억제환을 생성하였으며, 항균활성을 나타낸 모든 공시균주에 대한 성장 억제환은 Fig. 1과 유사하였다. 병원성 미생물과 시판 두부에서 분리한 16균주의 부패균에 대한 황금 에탄올 추출물의 항균활성을 측정한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 분리균주와 병원성 미생물 *L. monocytogenes*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *Sal. Typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*에 대해 황금 에탄올 추출물은 10 mm 이상의 clear zone을 형성하여 강한 항균활성을 나타내었으며, 분리한 부패균 16균주 중 KN-8, KN-9, KN-14에 대해서는 clear zone을 형성하지 않았다. Yang 등(17)은 *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 황금 물 추출물의 항균활성을 측정한 결과 우수한 항균력을 나타내었다고 보고하였다.

#### 농도별 분리균주의 성장 억제 효과

분리균주 *Bacillus* sp. KN-4, KN-6, KN-10과 KN-20에 대한 황금 에탄올 추출물의 농도별 항균활성은 Table 3에서 보는 바와 같다. *Bacillus* sp. KN-4는 배양 24시간째 생균수  $10^1$  CFU/mL 이하를 나타내었고, *Bacillus* sp. KN-6은 황금 에탄올 추출물 0.25% 이상의 농도에서 성장이 억제되어 배양 24시간째에는 성장이 관찰되지 않았다. *Bacillus* sp. KN-10과 *Bacillus* sp. KN-20은 황금 에탄올 추출물 0.05% 농도에서도 배양 12시간 이후부터 성장이 관찰되지 않아, 분리한 두부 부패 미생물에 대한 황금 에탄올 추출물의 성장 억제 효과는 매우 강한 경향을 나타내었다.

Table 4는 병원성 미생물에 대한 황금 에탄올 추출물의

**Table 1. Identification of selected strains isolated from tofu**

Api CHB assay	Strain KN-No.				Api CHB assay	Strain KN-No.				Api CHB assay	Strain KN-No.			
	4	6	10	20		4	6	10	20		4	6	10	20
Glycerol	+	+	+	-	Inositol	-	-	+	-	Inuline	-	-	+	-
Erythritol	-	-	-	-	Mannitol	+	+	+	-	Melezitose	-	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-	-	Sorbitol	+	+	+	-	D-Raffinose	-	+	+	-
L-Arabinose	+	+	+	-	α Methyl-D-Mannoside	-	-	-	-	Amidon	-	+	-	+
Ribose	+	+	+	+	α Methyl-D-glucoside	+	-	+	-	Glycogene	-	+	+	+
D-xylose	+	+	+	-	N Acethyl glucosamine	+	+	-	+	Xylitol	-	-	-	-
L-Xylose	-	-	-	-	Amygdaline	-	-	+	-	B gentibiose	+	+	-	-
Adonitol	-	-	-	-	Arbutine	+	+	+	-	D-Turanose	-	-	+	-
B methyl-xyloside	-	-	-	-	Esculine	+	+	+	+	D-Lyxose	-	-	-	-
Galatose	+	+	+	-	Salicine	+	+	-	+	D-Tagatose	-	-	+	-
D-glucose	+	+	+	+	Cellobiose	+	+	+	-	D-Fucose	-	-	-	-
D-fructose	+	+	+	+	Maltose	+	+	+	+	L-Fucose	-	-	-	-
d-Mannose	+	+	+	+	Lactose	+	+	+	-	D-Arabitol	-	-	-	-
L-Sorbose	-	-	-	-	Mellibiose	+	+	+	-	L-Arabitol	-	-	-	-
Rhamnose	+	+	-	-	Saccharose	+	+	+	+	Gluconate	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	Trehalose	+	+	+	+	2 ceto-gluconate	-	-	-	-

Identification	Strain No.			
	KN-4	KN-6	KN-10	KN-20
Shape	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram staining	+	+	+	+
Spore staining	+	+	+	+
Tentative identification	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.



**Fig. 1. Antimicrobial activity of *Scutellaria baicalensis* Georgi ethanol extract against KN-4 isolated from tofu.**

농도별 항균활성을 나타낸 결과이다. 황금 에탄올 추출물 0.05~0.2%의 농도에서 병원성 미생물에 대해 성장 저해 현상을 나타내었다. 대조구는 12시간 배양 후 10<sup>8</sup> CFU/mL를 나타내었으나, *L. monocytogenes*, *S. aureus* 그리고 *P. fluorescens*는 황금 에탄올 추출물 0.05% 이상의 농도에서 성장억제 효과를 나타내었고, *Sal. Typhimurium*은 0.1% 이상, *V. parahaemolyticus*, *A. hydrophila*는 0.15% 이상의 농도에서 성장이 억제되었으며, 0.2% 농도에서는 *V. parahaemolyticus*, *A. hydrophila*, *S. aureus*에 대한 사멸 효과가 관찰되었다. Shin 등(18)은 황금 증류수 추출액이 *Escherichia coli* ATCC 19215, *Cryptococcus neoformans* 184A, *Candida albicans* B311 등의 병원성 미생물의 성장을 억제시켰으며, 그 억제 정도는 추출물의 첨가 농도에 따라 다르다고 보고하였고, Kim과 Cho(19)는 황금 물추출물 0.1% 이

**Table 2. Antimicrobial activities of *Scutellaria baicalensis* Georgi ethanol extract against various pathogens and spoilage bacteria isolated from tofu**

	Strains	Clear zone	Strains	Clear zone	
Spoilage bacteria	KN-4	+	KN-12	+	
	KN-5	+	KN-13	+	
	KN-6	+	KN-14	-	
	KN-7	+	KN-15	+	
	KN-8	-	KN-17	+	
	KN-9	-	KN-18	+	
	KN-10	+	KN-19	+	
	KN-11	+	KN-20	+	
	Pathogens	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	+		
		<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 21541	+		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29737		+			
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 11806		+			
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802		+			
	<i>Aeromonas hydrophila</i> KCTC 2358	+			

+: clear zone diameter>10 mm.

상에서 *V. parahaemolyticus*의 성장이 억제되었으며, 투과 전자현미경(TEM)으로 관찰한 결과 세포막이 파괴되어 세포내용물들이 용출되어 항균효과가 나타난 것이라고 보고하였다.

**추출물의 열안정성**

황금 에탄올 추출물을 열처리 식품의 천연항균소재로 활용 가능성을 알아보기 위해, 황금 에탄올 추출물의 열안정성을 조사하였다. 황금 에탄올 추출물을 80°C와 100°C에서 각각 30 min 그리고 121°C에서 15 min 열처리한 다음, 분리한 두부 부패 미생물과 병원성 미생물에 대한 clear zone 생성

**Table 3. Growth of *Bacillus* sp. isolated from spoilage tofu in nutrient broth containing various concentrations of *Scutellaria baicalensis* Georgi extract at 37°C** (log No. CFU/mL)

Strain No.	Concentration (%)	Incubation time (hours)		
		0	12	24
KN-4	0.00	4.43 ± 0.04 <sup>1)2)</sup>	8.41 ± 0.03 <sup>c</sup>	8.24 ± 0.04 <sup>e</sup>
	0.05	4.30 ± 0.04 <sup>bc</sup>	6.68 ± 0.02 <sup>d</sup>	7.95 ± 0.01 <sup>d</sup>
	0.10	4.25 ± 0.04 <sup>ab</sup>	5.43 ± 0.01 <sup>c</sup>	6.71 ± 0.03 <sup>c</sup>
	0.15	4.35 ± 0.04 <sup>c</sup>	5.10 ± 0.01 <sup>b</sup>	6.60 ± 0.04 <sup>b</sup>
	0.20	4.20 ± 0.04 <sup>a</sup>	4.95 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.08 ± 0.01 <sup>a</sup>
KN-6	0.00	4.43 ± 0.03 <sup>a</sup>	7.76 ± 0.03 <sup>e</sup>	8.46 ± 0.02 <sup>d</sup>
	0.05	4.41 ± 0.03 <sup>a</sup>	7.13 ± 0.02 <sup>d</sup>	8.24 ± 0.02 <sup>c</sup>
	0.10	4.60 ± 0.03 <sup>b</sup>	5.89 ± 0.01 <sup>c</sup>	7.59 ± 0.04 <sup>b</sup>
	0.15	4.59 ± 0.03 <sup>b</sup>	5.60 ± 0.03 <sup>b</sup>	7.59 ± 0.02 <sup>b</sup>
	0.20	4.46 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.69 ± 0.03 <sup>a</sup>	7.41 ± 0.01 <sup>a</sup>
KN-10	0.00	3.75 ± 0.03 <sup>e</sup>	7.23 ± 0.03	7.37 ± 0.04
	0.05	3.69 ± 0.03 <sup>d</sup>	ND <sup>3)</sup>	ND
	0.10	3.59 ± 0.03 <sup>c</sup>	ND	ND
	0.15	3.43 ± 0.03 <sup>b</sup>	ND	ND
	0.20	3.24 ± 0.03 <sup>a</sup>	ND	ND
KN-20	0.00	3.41 ± 0.03 <sup>b</sup>	7.35 ± 0.03	7.15 ± 0.02
	0.05	3.35 ± 0.03 <sup>a</sup>	ND	ND
	0.10	3.43 ± 0.03 <sup>b</sup>	ND	ND
	0.15	3.60 ± 0.03 <sup>c</sup>	ND	ND
	0.20	3.41 ± 0.03 <sup>b</sup>	ND	ND

<sup>1)</sup>Mean ± SD (n=3). <sup>2)</sup>Mean within each column with no common superscripts are significantly different (p<0.05).

<sup>3)</sup>ND: not detected.

**Table 4. Growth of various pathogens in tryptic soy broth containing various concentrations of *Scutellaria baicalensis* Georgi extract at 37°C** (log No. CFU/mL)

Strain No.	Concentration (%)	Incubation time (hours)		
		0	12	24
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	0.00	5.61 ± 0.01 <sup>1)</sup>	8.89 ± 0.01 <sup>2)</sup>	8.67 ± 0.01 <sup>d</sup>
	0.05	5.61 ± 0.01	8.56 ± 0.02 <sup>d</sup>	8.68 ± 0.01 <sup>d</sup>
	0.10	5.61 ± 0.01	7.37 ± 0.01 <sup>c</sup>	8.13 ± 0.11 <sup>c</sup>
	0.15	5.61 ± 0.01	7.04 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.25 ± 0.09 <sup>b</sup>
	0.20	5.61 ± 0.01	5.63 ± 0.14 <sup>a</sup>	6.53 ± 0.13 <sup>a</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 21541	0.00	5.26 ± 0.06	8.74 ± 0.22 <sup>d</sup>	8.46 ± 0.19 <sup>d</sup>
	0.05	5.26 ± 0.06	8.24 ± 0.02 <sup>c</sup>	8.31 ± 0.10 <sup>d</sup>
	0.10	5.26 ± 0.06	7.17 ± 0.10 <sup>b</sup>	7.05 ± 0.03 <sup>c</sup>
	0.15	5.26 ± 0.06	7.29 ± 0.18 <sup>b</sup>	6.67 ± 0.20 <sup>b</sup>
	0.20	5.26 ± 0.06	6.06 ± 0.02 <sup>a</sup>	5.43 ± 0.20 <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29737	0.00	5.75 ± 0.08	8.95 ± 0.07 <sup>e</sup>	9.09 ± 0.11 <sup>e</sup>
	0.05	5.75 ± 0.08	8.37 ± 0.08 <sup>d</sup>	8.45 ± 0.13 <sup>d</sup>
	0.10	5.75 ± 0.08	7.70 ± 0.05 <sup>c</sup>	7.96 ± 0.12 <sup>c</sup>
	0.15	5.75 ± 0.08	6.37 ± 0.07 <sup>b</sup>	6.36 ± 0.09 <sup>b</sup>
	0.20	5.75 ± 0.08	7.06 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.49 ± 0.32 <sup>a</sup>
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 11806	0.00	5.17 ± 0.01	8.62 ± 0.22 <sup>d</sup>	9.03 ± 0.02 <sup>e</sup>
	0.05	5.17 ± 0.01	8.54 ± 0.04 <sup>d</sup>	8.63 ± 0.06 <sup>d</sup>
	0.10	5.17 ± 0.01	7.28 ± 0.03 <sup>c</sup>	8.04 ± 0.04 <sup>c</sup>
	0.15	5.17 ± 0.01	7.05 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.57 ± 0.17 <sup>b</sup>
	0.20	5.17 ± 0.01	6.14 ± 0.08 <sup>a</sup>	6.52 ± 0.18 <sup>a</sup>
<i>Aeromonas hydrophila</i> KCTC 2358	0.00	4.71 ± 0.18	8.51 ± 0.13 <sup>c</sup>	8.40 ± 0.05 <sup>c</sup>
	0.05	4.71 ± 0.18	8.56 ± 0.06 <sup>c</sup>	8.26 ± 0.07 <sup>c</sup>
	0.10	4.71 ± 0.18	8.31 ± 0.13 <sup>c</sup>	8.30 ± 0.10 <sup>c</sup>
	0.15	4.71 ± 0.18	4.40 ± 0.36 <sup>b</sup>	4.28 ± 0.06 <sup>b</sup>
	0.20	4.71 ± 0.18	3.57 ± 0.31 <sup>a</sup>	3.24 ± 0.24 <sup>a</sup>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	0.00	4.64 ± 0.11	8.51 ± 0.13 <sup>d</sup>	8.12 ± 0.07 <sup>d</sup>
	0.05	4.64 ± 0.11	8.12 ± 0.04 <sup>c</sup>	8.01 ± 0.23 <sup>d</sup>
	0.10	4.64 ± 0.11	8.08 ± 0.09 <sup>c</sup>	7.47 ± 0.03 <sup>c</sup>
	0.15	4.64 ± 0.11	4.22 ± 0.06 <sup>b</sup>	4.69 ± 0.20 <sup>b</sup>
	0.20	4.64 ± 0.11	3.29 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.30 ± 0.15 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean ± SD (n=3). <sup>2)</sup>Means within each column with no common superscripts are significantly different (p<0.05).

**Table 5. Effects of heat treatments on antimicrobial activities of *Scutellaria baicalensis* Georgi ethanol extract against *Bacillus* sp. isolated from commercial tofu and various pathogens**

	Strains	Clear zone diameter (mm)			
		A	B	C	D
Spoilage bacteria	<i>Bacillus</i> sp. KN-4	15	10	9	11
	<i>Bacillus</i> sp. KN-6	19	10	9	9
	<i>Bacillus</i> sp. KN-10	9	10	11	10
	<i>Bacillus</i> sp. KN-20	14	11	13	12
Pathogens	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	17	12	10	11
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 21541	25	19	10	11
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29737	27	20	11	15
	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 11806	18	14	12	12
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	26	21	14	15
	<i>Aeromonas hydrophila</i> KCTC 2358	25	22	17	18

A: Control, B: 80°C for 30 min, C: 100°C for 30 min, D: 121°C for 15 min.

유무를 측정된 결과 Table 5에서 보는 바와 같다. 두부 부패 미생물과 병원성 미생물에 대한 황금의 항균활성은 열처리 정도에 따라 대조구에 비해서 점차 감소하였으나, 높은 항균 활성을 유지하였다. 열처리한 황금 에탄올 추출물은 분리한 두부 부패 미생물 중 *Bacillus* sp. KN-20에 대해 가장 높은 항균활성을 나타내었다. 열처리 후의 황금 에탄올 추출물은 *S. aureus*, *P. fluorescens*, *A. hydrophila*, *L. monocytogenes*, *P. fluorescens*, *Sal. Typhimurium*에서도 뚜렷한 clear zone을 형성하여 추출물의 열안정성이 비교적 우수한 것으로 나타났으며, *Salmonella* Typhimurium과 *Aeromonas hydrophila*에 대해 비교적 높은 항균활성을 유지하였다. 이러한 결과로 미루어 보아 황금 에탄올 추출물은 열처리 식품의 천연항균소재로 사용이 가능한 것으로 판단되었다. Choi 등(20)은 솔잎 에탄올 추출물은 100°C 이상의 고온에서 항균 활성이 저하된다고 보고하였으며, Seong 등(21)은 80°C 열처리한 오미자 추출물의 경우에는 거의 변화가 없었으나, 100°C 열처리한 오미자 추출물의 경우에는 다소 감소하는 양상을 나타내었으며, Park 등(22)은 용아초 에탄올 추출물의 열처리 후 병원성 미생물에 대한 항균활성이 최소 61.1%에서 최대 93.8% 유지한다고 보고하였다.

#### 최소저해농도

두부 부패 미생물과 병원성 미생물에 대한 황금 에탄올 추출물의 최소저해농도(MIC)는 Table 6에 보는 바와 같다. 두부 부패 미생물인 *Bacillus* sp. KN-4, *Bacillus* sp. KN-6, *Bacillus* sp. KN-10 그리고 *Bacillus* sp. KN-20의 MIC는 0.1%이었으며, 병원성 미생물에 대한 MIC는 균종에 따라 다소 차이가 있었으나, 황금 에탄올 추출물 최종농도가 0.5% 전후로 나타났다. *S. aureus*, *A. hydrophila*에 대한 MIC는 0.5%, *L. monocytogenes*, *P. fluorescens*; *Sal. Typhimurium*, *V. parahaemolyticus*는 0.5% 이상에서 아주 미약한 colony가 관찰되어, 이들 균주에 대한 황금 에탄올 추출물의 MIC는 0.5% 이상일 것으로 판단된다. 본 실험의 MIC 결과는 농도별 항균활성의 결과에 비해 다소 높은 경향

**Table 6. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of *Scutellaria baicalensis* Georgi ethanol extract for *Bacillus* sp. isolated from tofu and various pathogens**

	Strains	MIC (%)
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. KN-4	0.1
	<i>Bacillus</i> sp. KN-6	0.1
	<i>Bacillus</i> sp. KN-10	0.1
	<i>Bacillus</i> sp. KN-20	0.1
Pathogens	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	>0.5
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 21541	>0.5
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29737	0.5
	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 11806	>0.5
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	>0.5
	<i>Aeromonas hydrophila</i> KCTC 2358	0.5

을 나타내며, 이는 Park 등(22)과 Lee 등(23)의 식물성 추출물의 항균활성을 나타내는 농도가 액체배지보다 고체 배지에서 높게 나타났다고 보고한 결과와 유사하였다.

황금 에탄올 추출물은 분리한 두부 부패 미생물과 병원성 미생물에 대해 뚜렷한 성장억제효과를 나타내었으며, 추출물의 열안정성 또한 높게 나타나 천연 식품보존제로 사용 가능성이 높을 것으로 판단되었다. 특히 황금 에탄올 추출물이 수분함량이 높고 영양가가 높아 하절기에 쉽게 부패하고, 식중독균의 오염 가능성이 높은 두부의 위생적인 측면을 개선할 수 있는 첨가물로서의 이용가치가 높을 것으로 사료되며, 이를 산업적으로 활용하기 위해서는 두부의 보존성 증진에 관한 연구가 선행되어야 할 것으로 판단된다.

#### 요약

두부에서 분리한 부패 미생물 16균주와 6종류의 병원성 미생물에 대한 황금 에탄올 추출물의 항균활성을 조사한 결과 분리 13균주와 병원성 미생물에 대해서 항균활성을 나타내었으며, 두부 부패 미생물인 KN-4, KN-6, KN-10, KN-20에 대하여 황금 에탄올 추출물 0.05% 이상의 농도에서 성장억제 현상을 나타내었다. 선발균주를 동정한 결과, KN-4, KN-6, KN-10과 KN-20 공히 *Bacillus* sp.로 동정되었다.

황금 에탄올 추출물은 *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 21541, *Staphylococcus aureus* ATCC 29273, *Salmonella* Typhimurium ATCC 21541, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Aeromonas hydrophila* KCTC 2358에 대해 항균활성을 나타내었으며, 0.5% 이상 농도에서 성장이 억제되었다. 황금 에탄올 추출물은 80°C에서 30 min, 100°C에서 30 min, 121°C에서 15 min 열처리에 의해, 공시균주에 대한 항균활성이 다소 감소하는 현상을 나타내었으나 열처리 후에도 두부 부패미생물과 공시 병원성 미생물에 대한 항균활성은 뚜렷하게 유지되었다. 두부 부패 미생물과 병원성 미생물에 대한 황금 에탄올 추출물의 최소저해농도는 각각 0.1%와 0.5%이었다.

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지역혁신 인력양성사업의 연구결과로 수행되었음.

### 문헌

- Middleton E Jr, Drzewiecki V. 1985. Naturally occurring flavonoids and human basophil histamine release. *Int Arch Allergy Appl Immun* 77: 155-157.
- Wagner H. 1986. Antihepatotoxic flavonoids. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationships*. Cody V, Middleton E Jr, Harborne JB, eds. Alan R Liss, New York. p 545-558.
- Bae JH, Lee MJ, Lee SM. 2005. Antimicrobial effect of *Scutellaria baicalensis* George extracts on food-borne pathogens. *Kor J Microbiol Biotechnol* 33: 35-40.
- Fujiki H, Horiuchi T, Yamashita K. 1986. Inhibition of tumor promotion by flavonoids. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological, Structure Activity Relationship*. Cody V, Middleton E Jr, Harborne JB, eds. Alan R Liss, New York. p 429-440.
- Kubo M, Kimura Y, Odani T, Tani T, Namba K. 1981. Studies on *Scutellaria radix*. II: The antibacterial substance. *Planta Med* 43: 194-201.
- Kubo M, Batsuda H, Tanaka M, Kimura Y, Okuda H, Higashino M, Tani T, Namba K. 1984. Studies on *Scutellaria radix*. VII. Anti-arthritic and anti-inflammatory actions of methanolic extract and flavonoid components from *Scutellaria radix*. *Chem Pharm Bull* 32: 2724-2729.
- Yun HS, Yoo KS, Chung SH, Yang HS, Choi JJ, Kim YJ. 1992. Flavonoids with bradykinin antagonistic effects from *Scutellaria radix*. *Kor J Pharmacogn* 23: 234-239.
- Chung SK, Cho SH. 2002. Preservation of strawberries and cucumbers packaged by low density polyethylene film impregnated with antimicrobial agent, *Scutellariae baicalensis* extract. *Korean J Food Preserv* 9: 271-276.
- Cho SH, Lee SC, Park WS. 2005. Effect of botanical antimicrobial agent-citrus products on the quality characteristics during *Kimchi* fermentation. *Korean J Food Preserv* 12: 8-16.
- Yang JH, Kim DK, Yun MY, Ahn JK. 2006. Antioxidative activity and therapeutic effect of the hydrogen preparations of *Scutellariae Radix* and *Zingiberis Rhizoma* on dermatitis. *J Korean Pharm Sci* 36: 253-262.
- Cho SI, Oh WW. 2005. Anti-oxidative effects of *Scutellariae Radix*. *Korean J Herbology* 20: 67-74.
- Shin SJ, Lee JH. 2004. Antitumor effects of SKT (Skullcap-Knope sedge-Trametes) mixture extract. *Korean J Pharmacogn* 35: 324-329.
- Lee SH, Lim BO, Choue RW. 2004. Immunoregulatory effects of water extracts of *Scutellariae Radix* in DSS-induced inflammatory bowel disease animal model. *Korean J Nutr* 37: 431-439.
- Hwang TI, Kim SK, Park YS, Byoun KE. 2001. Studies on the storage of functional red soybean curd. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1115-1119.
- Park NY, Park KN, Lee SH. 2004. Antimicrobial activities and food preservative effects of *Agrimoniae Herba*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 244-248.
- Farag RS, Daw ZY, Heweai FM, El-Bbaroty GSA. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J Food Prot* 52: 665-667.
- Yang JH, Kim DS, Yoo HD, Lee NH. 1996. Preparation and bioavailability of Oriental medicine containing baicalin (II): Gastro-intestinal absorption and antibacterial effect of coprecipitated product of *Scutellariae Radix* and *Coptidis Rhizoma*. *Korean J Pharm Sci* 26: 91-98.
- Shin SJ, Moon Y, Lee JH. 1998. Effect of *Scutellaria baicalensis* extract on the immune functions, microbial growth and mutagenicity. *Korean J Immunol* 20: 343-348.
- Kim YR, Cho SH. 2002. Anticicrobial activities of *Scutellariae Radix* extract against *Vibrio parahaemolyticus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 534-538.
- Choi MY, Choi EJ, Lee E, Rhim RJ, Cha BC, Park HJ. 1997. Antimicrobial activity of pine needle (*Pinus densiflora* Sieb et Zucc.) extract. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 293-297.
- Seong JM, Park NY, Lee SH. 2003. Effect of *Schizandra chinensis* and pine needle on growth of pathogens related to acne. *Korean J Microbiol Biotechnol* 31: 69-74.
- Park LY, Park KN, Lee SH. 2003. Antimicrobial activity of *Scutellaria baicalensis* Georgi ethanol extract against food-borne microorganisms. *J Food Sci Technol* 11: 59-64.
- Lee HY, Kim CY, Sung TK. 1992. Antibacterial activity of *Ulmus pumila* L. extract. *Korean J Microbiol Biotechnol* 20: 1-5.

(2007년 1월 16일 접수; 2007년 3월 30일 채택)