

매실농축액의 항균성 검색

최무영·원향례·박희준*

상지대학교 식품영양학과·상지대학교 자원식물학과*

Antimicrobial Activities of Maesil(*Prunus mume*) Extract

Choi, Moo Young · Won, Hyang Rye · Park, Hee Juhn*

Dept. of Food Science and Nutrition, Sangji University, Wonju, Korea

*Dept. of Botanical Resources, Sangji University, Wonju, Korea

ABSTRACT

To develop natural food preservatives with Maesil (*prunus mume*), investigation of antimicrobial activities against food-related bacteria and yeast was conducted. Maesil (*prunus mume*) extract exhibited growth-inhibiting activities for most of the microorganisms tested. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of maesil extract for *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were as low as 0.1mg/ml. The antimicrobial activity of the maesil (*prunus mume*) extract was reduced by heating or alkali treatment. Moreover, growth of *Staphylococcus aureus* was completely inhibited within 24 hours by the addition of at least 100 ppm of maesil extract. These findings suggest that maesil extract may play a role in the development of natural food preservatives.

Key words: Maesil(*prunus mume*), antimicrobial activity, natural food preservative,

I. 서 론

최근 식생활의 다양화로 가공식품에 대한 수요가 크게 증가함에 따라 식품첨가물이 다양하고 광범위하게 사용되고 있으며, 이로 인해 식품의 안정성에 대한 관심도 더욱 높아지고 있다. 특히 식품의 저장성 연장을 위해서는 미생물의 생육을 억제시킬 수 있는 처리가 필요하다. 식품의 부패와 변질을 방지하고 식품의 저장과 유통기간을 연장하기 위하여 식품보존제의 사용이 증가하고 있으나 대부분의 보존제는 인공합성품으로 그 안정성이 문제가 되고 있다. 따라서 인공합성 보존

제 대신 천연물로부터 식품 보존제를 개발하려는 연구가 이루어지고 있다.(Park et al. 1992; Choi et al. 1994; Lee & Lim 1998;).

매화나무(*Prunus mume* Sieb. et Zucc)는 장미과에 속하는 식물로 주로 일본, 중국, 한국에 분포하고 있다. 매화나무의 열매인 매실은 알칼리성 식품으로 개발되어 왔으며 (Kang et al. 1999), 특히 한방에서 해독, 만성설사, 혈변, 치질 및 구충 등의 약제로 이용되고 있다(Kim & Xiao 1989). 매실은 식품부패균주에 대한 항균력을 나타내어 매실을 천연항균제(Lim & Lee 1999; Bae & Kim 1999; Bae & Lee 2003)로서의 이용가능성에 대한

관심이 높아지고 있다. 또한 매실은 피로회복 (Choi 1992), 간기능 회복(Seo et al. 1990), 당뇨 병 개선(Seo et al. 1987), 항암작용(Bae et al. 2000; Jung & Bae 2002), 혈압상승예방(Lim 1999) 등 다양한 생리 활성 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다,

따라서 본 연구에서 천연보존료 개발의 일환으로 항균활성이 있는 것으로 추정되는 매실농축액을 식품과 관련 있는 부폐미생물에 대한 항균력을 검색하여 식품보존료로서의 이용가능성을 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 매실농축액은 전라남도에 있는 청매실농원에서 시판되고 있는 제품을 사용하였다.

2. 사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Staphylococcus aureus* ATCC 14458, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* ATCC 9372를 사용하였다. 그리고 효모 *Candida albicans* ATCC 10231 1종을 사용하였으며 균 생육 및 보존배지는 세균의 경우 nutrient broth와 nutrient agar(Difco), 효모는 YM broth와 PDA(Difco)를 각각 사용하였다.

3. 항균력 검색

먼저 사면배지에 배양된 각 균주의 1백금이를 취해 10ml/nutrient broth에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양하여 활성화 시킨 후, 실온에서 건조한 두께 4-5mm인 plate에 균액 0.2ml를 주입하여 멸균된 면봉으로 균일하게 펼쳤다. 그리고 멸균된 8 mm paper disc(Toyo Roshi Kaisha)를 넣고 매실농축액의 함량이 50 μ g/disc가 되도록 흡수시킨 다음, 30°C에서 24-48시간 동안 배양한 후 disc주위의 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 비

교하였다(Conner & Beuchat 1984).

4. 최소저해농도 측정

최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 사면배지에서 배양된 각 균주의 1백금이를 취해 농축물을 함량을 0.05 mg/ml 간격으로 0.1에서 1.0mg/ml 범위 내에서 고체배지에 접종하여 30°C에서 48시간까지 배양한 후 육안으로 관찰하여 미생물이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다.

5. 열 및 pH 안정성 검색

매실농축액의 열 안정성을 알아보기 위하여 농축액을 중탕에서 녹인 후 0.2 μ membrane filter(Nalgene)로 여과한 다음, 80°C 100°C 및 120°C에서 각각 30분 동안 열처리한 후 한천배지 확산법(Board & Lovelock 1975)으로 생육 저해환을 측정하였다. 또한 pH 안정성은 농축액을 염산이나 수산화나트륨으로 pH를 3, 7 및 11로 조절하여 실온에서 1시간 방치한 후 다시 초기의 pH로 중화시킨 다음, 30°C에서 24-48시간 동안 배양하여 disc 주위의 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 비교 조사하였다.

6. 미생물의 증식억제 효과

매실농축액을 중탕에서 녹인 후 0.2 μ membrane filter(Nalgene)로 여과한 다음, nutrient broth에 추출물의 함량을 50, 100, 250 및 500ppm 농도별로 첨가한 후 slant에서 배양된 균주 1백금이를 취해 다시 10ml nutrient broth에 접종하여 30°C에서 24시간동안 배양시켰다. 배양액 0.1ml를 취해 다시 10ml nutrient broth에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양한 후, 배양액 0.05ml씩 접종하여 30°C에서 72시간 까지 배양하면서 미생물의 생육정도를 12시간마다 spectrophotometer (Beckman DU650)를 사용하여 620 nm에서 흡광도를 측정(Lim et al. 1987)하여 균의 증식정도를 비교하였다.

7. 통계처리

모든 실험자료의 통계분석은 SPCC package(○)

성근 등 1993)를 이용하여 one-way ANOVA 검정을 행하였으며, 처리효과의 유의성이 발견된 경우 처리구간 평균치의 유의성 비교는 Duncan의 다중비교검정($p<0.05$)을 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 매실농축액의 항균력

매실농축액의 항균력을 조사하기 위하여 농축액의 함량이 50 $\mu\text{g}/\text{disc}$ 가 되도록 조절하여 시험균주에 대한 생육저해환을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 시험균주에 대해 대체로 항균활성을 나타내었으며, 특히 *Staphylococcus aureus*와 *Bacillus cereus*에 대해서는 높은 항균효과를 나타내었다. 이와 같이 본 실험에 이용된 매실 농축물이 높은 항균력이 높게 관찰된 결과는 Lee 등(2003)이 발표한 매실 차즙액이 항균성과 생면의 저장성에 미치는 영향과 비슷하게 나타났다. 매실 농축액

Table 1. Growth inhibiting activities of *Prunus mume* extract for microorganisms¹⁾

Strains	Clear zone diameter (mm) ²⁾
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10.7± 0.27 ^a
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10.6± 0.38 ^a
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	12.8± 0.76 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	12.5± 0.50 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 14458	24.7± 1.53 ^c
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	25.0± 0.45 ^c
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9372	22.0± 1.31 ^b
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	12.5± 0.50 ^a

¹⁾Antimicrobial activity(growth inhibiting activity)was indicated as diameter of clear zone surrounding paper disc absorbing 50 μg of soluble of *Prunus mume* extract on nutrient agar plate inoculated with test microorganism.

²⁾Values are means ± S.E of triplication. ^{a,b,c} Values with different superscripts within the same row are significantly different($p<0.05$).

의 항균성물질이 대장균이나 식품의 부패를 일으키는 균에도 항균력이 나타나므로 부패 및 식중독 균의 생육억제에도 효과가 있을 것으로 생각된다.

2. 최소저해농도

매실농축액의 최소저해농도를 측정한 결과는 Table 2와 같다. *Bacillus subtilis*는 0.1 mg/ml, *Bacillus cereus*는 0.3mg/ml, *Staphylococcus aureus*는 0.1mg/ml 농도에서 최소저해농도를 나타내었으나 그 이외의 균들은 1.0mg/ml이하의 농도 범위에서 항균활성이 나타났다. 이와 같은 결과는 유백피의 추출물이 *B. subtilis* 등의 gram 양성균 5종과 *E. coli* 등 5종의 gram 음성균에 대한 최소저해농도가 2.5-3.0 mg/ml인 것(Lee et al. 1992)과 비교해 볼 때 매실농축액이 상당한 항균효과가 있음을 나타내 보이고 있다.

3. 매실농축액의 열 및 pH 안정성

매실농축액의 열 안정성을 조사하기 위해 농축물을 80°C, 100°C, 및 120°C에서 각각 30분 동안 열처리한 후 세균과 효모에 대한 생육 저해환을 측정하였다. Table 3에서와 같이 가열온도가 증가함에 시험균주들에 대한 매실농축물의 항균활성이 저하되었다. 강(Kang et al. 1994)등은 갓의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균물질이 60-120°C까지 안정하다고 보고하였으나, 매실농축액에 함유되어 있는 항균물질은 대체로 100°C 이상의 고온에서 항균활성이 저하됨을 알 수 있

Table 2. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of *Prunus mume* extract for microorganism

Strains	MIC(mg/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.95
<i>Escherichia coli</i>	0.95
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.80
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.90
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.10
<i>Bacillus cereus</i>	0.30
<i>Bacillus subtilis</i>	0.10
<i>Candida albicans</i>	0.85

Table 3. Effect of heat treatment on growth inhibiting activities of *Prunus mume* extract for microorganisms¹⁾

Strains	Clear zone diameter (mm) ²⁾		
	80°C	100°C	120°C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11.9± 0.57 ^{ab}	10.6± 0.32 ^{ab}	10.2± 0.10 ^a
<i>Escherichia coli</i>	10.2± 0.20 ^a	9.3± 0.27 ^a	10.2± 0.76 ^a
<i>Salmonella typhimurium</i>	12.8± 1.26 ^{ab}	11.3± 1.04 ^{ab}	10.2± 0.76 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	11.3± 0.58 ^{ab}	10.3± 0.58 ^a	9.1± 0.36 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	23.5± 0.92 ^c	23.2± 1.27 ^c	22.4± 0.96 ^d
<i>Bacillus cereus</i>	22.7± 0.29 ^c	22.0± 0.50 ^c	22.0± 0.36 ^{cd}
<i>Bacillus subtilis</i>	22.7± 0.29 ^c	21.3± 1.53 ^c	20.4± 0.85 ^c
<i>Candida albicans</i>	13.7± 1.94 ^b	12.8± 0.25 ^b	12.2± 0.44 ^b

¹⁾Antimicrobial activity(growth inhibiting activity) was indicated as diameter of clear zone surrounding paper disc absorbing 50µg of soluble of *Prunus mume* extract on nutrient agar plate inoculated with test microorganism.

²⁾Values are means ± S.E of triplication. ^{a, b, c, d} Values with different superscripts within the same row are significantly different(p<0.05).

었다. 또한 매실농축물의 pH 안정성을 조사하기 위하여 농축물을 pH 3, 7 및 11이 되도록 염산 또는 수산화나트륨으로 처리한 후 세균과 효모에 대한 생육저해환을 측정한 결과는 Table 4와 같다. pH가 높아질수록 *B. subtilis*, *Staphy. aureus*에 대한 항균활성이 저하되었다. 그러나 대부분의 시험균주에 대해 산성상태에서는 항균활성이 유지되었으나 알칼리로 변화되면서 항균활성이 서서히 감소하였다.

4. 미생물의 증식억제효과

매실농축액의 미생물 증식 억제효과를 조사하기 위하여 증식배지에 0, 50, 100 및 250 ppm의 매실농축액을 첨가하여 *Staphylococcus aureus*의 증식을 조사한 결과는 Fig.1과 같다. 농축액을 첨가하지 않은 구에서는 배양 후 60시간에 OD₆₂₀값이 0.90정도로 최고 증식을 보인 반면, 50 ppm 이상의 농축액 첨가 시 0.03-0.08정도로 균의 증식이 현저히 억제되었다. 이러한 농축액의 *Staphylococcus aureus* 증식 억제효과는 배양 기간 동안 관찰되었다. 신갈나무 잎에서 추출된 농축

Table 4. Effect of pH treatment on growth inhibiting activities of *Prunus mume* extract for microorganisms¹⁾

Strains	Clear zone diameter (mm) ²⁾		
	pH 3	pH 7	pH 11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11.4± 0.10 ^{ab}	10.6± 0.38 ^{ab}	9.8± 0.35 ^{ab}
<i>Escherichia coli</i>	10.7± 0.58 ^a	10.2± 0.10 ^a	9.3± 0.15 ^a
<i>Salmonella typhimurium</i>	11.2± 0.76 ^{ab}	10.3± 0.29 ^{ab}	10.0± 0.00 ^{ab}
<i>Listeria monocytogenes</i>	12.5± 0.50 ^b	10.8± 0.29 ^{ab}	10.6± 0.36 ^{bc}
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.1± 0.64 ^d	9.1± 0.04 ^d	9.15± 0.04 ^e
<i>Bacillus cereus</i>	23.3± 0.21 ^d	20.7± 0.59 ^d	19.2± 0.44 ^e
<i>Bacillus subtilis</i>	20.2± 0.42 ^c	18.8± 0.47 ^c	17.8± 0.47 ^d
<i>Candida albicans</i>	11.7± 0.58 ^{ab}	11.6± 0.12 ^b	11.0± 0.21 ^c

¹⁾Antimicrobial activity (growth inhibiting activity) was indicated as diameter of clear zone surrounding paper disc absorbing 50µg of soluble of *Prunus mume* extract on nutrient agar plate inoculated with test microorganism.

²⁾Values are means ± S.E of triplication. a, b, c, d, e Values with different superscripts within the same row are significantly different(p<0.05).

물의 농도가 400 ppm이상일 때 *Staphylococcus aureus*의 증식억제가 관찰되었다는 보고(Kong et al. 2001)와 비교해 볼 때 *Staphylococcus aureus*에

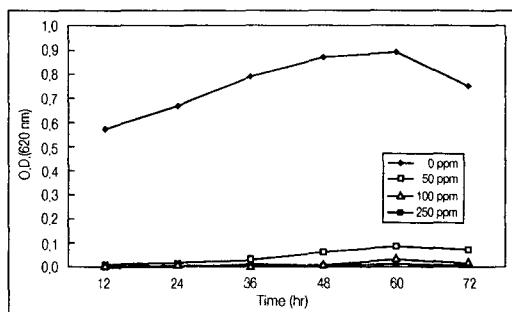


Fig. 1. Effect of concentrations of *prunus mume* extract on growth inhibiting activity of *Staphylococcus aureus*.

Growth activity was indicated by optical density at 620 nm after incubation of *Staphylococcus aureus* with 4 different concentrations of *prunus mume* extract for 72 hours at 30°C

대한 매실 농축액의 항균효과가 높음을 알 수 있었다.

IV. 요 약

본 연구는 천연 식품보존료 개발의 일환으로 옛날부터 약용이나 건강식품으로 널리 이용되고 있는 매실을 대상으로 식품과 관련이 있는 세균 및 효모에 대한 항균활성을 조사하였다. 매실농축액은 시험균주에 대해 대체로 항균활성을 나타내었다. 또한, 최소저해농도는 대부분의 시험균주에 대해 0.1 - 0.95mg/ml로 측정되었다. 이와 같이 매실농축액의 열 및 pH 변화에 따른 항균활성을 조사하였다. 가열 및 알칼리 처리에 의해 매실농축액의 항균활성은 서서히 감소하였다. 또한, 매실농축액의 미생물 증식 억제효과를 조사하기 위하여 증식배지에 0, 50, 100 및 250ppm의 매실농축액을 첨가하여 *Staphylococcus aureus*의 증식을 조사한 결과, 50pm 이상의 매실농축액 첨가 시 균의 증식 억제 효과를 관찰하였다. 이상의 본 연구결과는 높은 항균효과를 지닌 매실농축액이 앞으로 천연보존료로써 개발 이용

될 수 있음을 시사하고 있다.

감사의 글

본 연구는 상지대학교 2002년도 교내연구비에 의해서 수행되었으며 이에 대해 심심한 감사를 표하는 바이다.

참고문헌

- 이성근, 김범종, 채서일 (1993). SPSS/PC를 이용한 통계분석, 학연사 p101.
- Bae JH, Kim KJ(1999) Effect of *Prunus mume* extract containing beverages on the proliferation of food borne pathogen. J East Asian Dietary Life 9, 214-222.
- Bae JH, Lee SM(2003) Identification of antimicrobial substances from *Prunus mume* on the growth of food-borne pathogens. Food Sci Biotechnol 12, 128-132.
- Bae JH, Kim KJ, Kim SM, Lee WJ, Lee SJ(2000) Development of the functional beverage containing the *Prunus mume* extracts. Korean J Food Sci Technol 32, 713-719.
- Board RG, Lovelock DW(1975) Some method for Microbiology assay. Academic press, New York, p 91.
- Choi KW(1992) The effect of ume's extract on lactate recovery rate after aerobic exercise. Korean J Phys Edu 31, 327-333.
- Choi MY, Choi EJ, Lee E, Rhim TJ, Cha BC, Park HJ(1997) Antimicrobial activites of pine needle (*Pinus Densiflora Seib et Zucc*)extract. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 25, 293-297.
- Conner DE, Beuchat LR(1984) Effect of essential oil from plants on growth of food spoilage yeasts. J Food Sci 49, 429-434.
- Jung JH, Bae JH(2002) Inhibitory effect of *Prunus mume* extracts on the growth of cell lines SNU-16 and SNU-C2A. Food Sci Biotechnol 11, 268-273.
- Kang MY, Chung YM, Eun JB(1999) Manufacturing and physical and chemical characteristics of fruit leathers using flesh and pomace of japanese apricot(*Prunus mume* Sieb. et Zucc) Korean J Food Sci Technol 31, 1536-1541.
- Kang SK, Sung NK, Kim YD, Shin SC, Seo JS, Choi KS, Park SK(1994) Screening of antimicrobial activity of leaf mustard(*Brassica juncea*)extract. J Korean Soc Food Nutr 23, 1008-1013.
- Kong YJ, Kang TS, Lee MK, Park BK, Oh DH(2001) Antimicrobial and antioxidative activities of solvent

- fractions of *Quercus mongolica* leaf. J Korean Soc Food Sci 30, 338-343.
- Lee HY, Kim CK, Sung TK, Mum TK, Lim CJ(1992) Antibacterial activity of *Ulmus pumila* L. extract. Kor J Appl Microbial Biotechnol 20, 1-5.
- Lee SH, Lim YS(1998) Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenic microorganism. J Korean Soc Food Sci Nutr 27, 239-243.
- Lee HA, Nam ES, Park SI(2003) Effect of Maesil (*Prunus mume*) juice of antimicrobial activity and shelf-life of wet noodle. Korean J Food Culture 18, 428-436.
- Lim CM, Kyung KH, Yoo YJ(1987) Antimicrobial effect of butylated hydroxyanisole(BHA) and butylated hydroxytoluene(BHT) Korean J Food Sci Technol 19, 54-60.
- Lim J W(1999) Studies on the antibacterial and physiological activities of *Prunus mume*. Kyung Hee University Masters degree thesis.
- Lim JW, Lee GB(1999) Studies on the antimicrobial activities of *Prunus mume*. J East Asian Soc Dietary Life 9, 442-451.
- Park UY, Chang DS, Cho HR(1992) Screening of Antimicrobial activity for medicinal herb extract. J Korean Soc Food Nutr 21, 91-96.
- Sheo HJ, Ko EY, Lee MY(1987) Effect of *Prunus mume* extract experimentally alloxan induced diabetes in rabbits. J Korean Soc Food Nutr 16, 41-47.
- Sheo HJ, Lee MY, Chung DL(1990) Effect of *Prunus mume* extract on gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. J Korean Soc Food Nutr 19, 21-26.