

## 자몽 종자 추출물의 항균성

† 박 헌 국 · 김 상 범\*

동남보건대학 식품영양과, 농촌자원개발연구소 농산물가공이용과\*

### Antimicrobial Activity of Grapefruit Seed Extract

† Heon-Kuk Park and Sang-Bum Kim\*

Department of Food and Nutrition, Dongnam Health College  
Agriproduct Processing Division, Rural Resources Development Institute\*

#### Abstract

Minimum inhibition concentration(MIC), growth inhibition activity, and colony forming inhibitory activity of grapefruit seed extract against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* and *Serratia marcescens* were tested. MIC of grapefruit seed extract against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* and *Serratia marcescens* was 12.5, 12.5, 12.5, 50, 50, 100ppm, respectively. Growth inhibition concentration of grapefruit seed extract against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* and *Serratia marcescens* was below 1.0, 6.25, below 1.0, 6.25, 25, 25ppm, respectively. Colony forming inhibitory activity of grapefruit seed extract against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* and *Serratia marcescens* was 93.9, 94.0, 99.9, 4.4, 82.7, 86.4%, respectively. Colony forming inhibitory activities of grapefruit seed extract against Gram positive bacteria were higher than that against Gram negative bacteria.

Key words : grapefruit seed extract, antimicrobial activity

#### 서 론

국민 생활 수준의 향상과 이로 인한 식생활의 개선으로 인하여 식품의 대량 생산이 시작되면서 식품의 보존방법에 대한 소비자의 관심이 높아지고 있다.

식품을 보존하기 위한 방법으로는 살균, 건조, 저온처리, 화학 첨가물 투여 등을 비롯하여 각종 저장 조건을 변화시키는 방법이 사용되고 있는데, 특히 가공식품의 경우에는 보존료를 첨가하는 방법이 널리 사용되고 있다. 그런데 현재 사용되고 있는 보존료는 대부분 화학적 합성품으로 그 안전성에 대한 논란이 많

다. 따라서 안전성이 높은 천연 보존료를 찾아내려고 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 천연의 보존료로 개발될 가능성이 있는 것으로는 향신료, 그들의 정유 성분, 고분자 화합물, 식물의 추출물 등이 있다.

현재 연구되고 있는 천연의 향균 물질로는 마늘<sup>1,2)</sup>, 양파<sup>3)</sup>, 쑥<sup>4~6)</sup>, 오미자<sup>7)</sup>, 솔잎<sup>8)</sup>, 자초<sup>9)</sup>, 감초<sup>10)</sup> 등을 비롯하여 다양한 약용 식물의 추출물<sup>11)</sup>과 향신료의 정유 성분, 키토산<sup>12)</sup>, 키토산 올리고당<sup>13)</sup> 등과 같은 물질이 있다.

자몽 종자 추출물은 항균성이 있는 것으로 알려져 많은 제품이 개발되어 시중에 유통되고 있으나, 그 향

† Corresponding author : Heon-Kuk Park, Department of Food and Nutrition, Dongnam Health College, 937 Jeongja-dong, Jangan-ku, Suwon-si, Gyeonggi-do 440-714, Korea.

Tel : +82-31-249-6423, Fax : +82-31-249-6420, E-mail : foodopia@dongnam.ac.kr

균성에 대한 연구 결과는 극히 미미한 실정이다. 최 등<sup>14)</sup>은 자몽 종자 추출물을 제조하여 공시균에 대한 항균력 실험을 실시하였으며, 물김치에 대한 적용 실험을 실시한 결과 자몽 종자 추출물은 항균성이 우수한 물질이며 50 ppm의 첨가로 물김치의 저장 기간을 연장할 수 있었다고 보고하였다. 이<sup>15)</sup>는 자몽 종자 추출물 성분 중 ascorbic acid, ascorbyl palmitate 및 토코페롤 등이 부패성 및 병원성 미생물의 세포벽 및 세포막의 기능을 약화시키고 효소 활성을 저해한다고 하였다. 또한 Aquiar<sup>16)</sup>은 세균과 곰팡이에 대하여 세포 증식 기작을 방해하여 살균 효과를 나타낸다고 하였으며, 조<sup>17)</sup> 등은 곰팡이의 생육 및 독소 합성에 저해 효과를 보인다고 보고하였다. 또한 자몽 종자 추출물을 사용한 예로는 Moreira 등<sup>18)</sup>이 낙농 기계 및 설비를 중성 세제로 세척한 후 자몽 종자 추출물을 처리하여 살균력이 있음을 확인하였고, Carson<sup>19)</sup>은 가정이나 공장에서 유출되는 폐수의 살균 소독제로 이용이 가능하다는 사실을 밝혔으며, Guillermo<sup>20)</sup>는 병원에서 환자의 의류, 방, 마루 및 화장실의 살균 소독제로서 효과가 있다고 보고한 바 있다.

이상에서와 같이 자몽 종자 추출물은 부패성 및 병원성 미생물에 대한 살균 효과를 나타내는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라<sup>15)</sup> 다량의 토코페롤을 함유하고 있고 은은한 향기를 가지고 있으며 강한 방취력이 있어서 악취와 부패취를 없애는 데에도 유용한 물질로 잘 알려져 있다. 더욱이 독성 실험을 실시한 결과 LD<sub>50</sub> 값이 2,900 mg/kg 체중으로 밝혀져 독성이 거의 없는 천연 살균 소독제라고 할 수 있으며, 현재 보존료로 사용되고 있는 안식향산나트륨 및 소르빈산칼륨보다 안전한 물질로 판명되어 있다<sup>21)</sup>. 따라서 자몽 종자 추출물은 안전성이 높은 천연의 살균제 혹은 보존료로의 개발이 가능할 것으로 판단되므로 그 기초 자료로서 항균성에 대한 연구가 절실하게 요구된다.

따라서 본 연구에서는 식품의 보존 기간을 연장하고 안전성을 확보하기 위하여 부패 및 식중독을 야기할 수 있는 각종 세균에 대한 항균성을 조사하였기에 보고하는 바이다.

## 실험 방법

### 1. 자몽 종자 추출물과 배지

자몽 종자 추출물은 (주)에프에이뱅크에서 제공받

아서 사용하였으며, Tryptic Soy Broth와 Tryptic Soy Agar 배지는 Difco사의 제품을 사용하였다.

### 2. 실험 균주

그람 양성균으로는 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*를, 그람 음성균으로는 *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*를 사용하였으며 Tryptic Soy Agar 배지에 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

### 3. 최소 저해 농도(MIC; Minimum Inhibition Concentration)

자몽 종자 추출물을 각 농도별로 첨가한 Tryptic Soy Broth 5 ml에 10  $\mu$ l의 균주 현탁액을 접종하고 37°C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양액을 취하여 분광 광도계(Shimadzu UV mini 1240, Japan)로 580 nm에서의 흡광도를 측정하여 각 균주의 증식 여부를 확인함으로써 최소 저해 농도(MIC)를 측정하였다.

### 4. 생육 저해 활성(Growth Inhibition Activity)

자몽 종자 추출물을 각 농도별로 첨가한 Tryptic Soy Broth 100 ml에 50  $\mu$ l의 균주 현탁액을 접종하고 37°C에서 배양하였다. 이 때 일정 간격으로 시료를 채취하여 분광 광도계로 540 nm에서의 흡광도를 측정하여 미생물 생육 곡선을 작성하였다.

### 5. 콜로니 형성 저해 활성(Colony Forming Inhibitory Activity)

100 ppm 자몽 종자 추출물 0.5 ml에 균주 현탁액 0.5 ml를 가하고 37°C에서 30분 동안 처리하였다. 처리된 균주는 적당 배수로 희석하고 Tryptic Soy Agar 배지에 도말 평판법으로 도말한 다음 37°C에서 12~48시간 동안 배양하였다. 자몽 종자 추출물 처리구의 콜로니 수를 자몽 종자 추출물 처리하지 않은 미처리구의 콜로니 수와 비교하여 콜로니 형성 저해 활성을 측정하였다.

## 결 과

### 1. 최소 저해 농도

각 미생물에 대한 자몽 종자 추출물의 최소 저해 농도는 Table 1과 같았다. 그람 양성균인 *Bacillus cereus*,

Table 1. Minimum inhibition concentration(MIC) of grapefruit seed extract against various microorganisms

Strains	MIC(ppm)	Strains	MIC(ppm)
<i>Bacillus cereus</i>	12.5	<i>Escherichia coli</i>	50
<i>Bacillus subtilis</i>	12.5	<i>Salmonella enteritidis</i>	50
<i>Listeria monocytogenes</i>	12.5	<i>Serratia marcescens</i>	100

*Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*의 최소 저해 농도는 모두 12.5 ppm으로 매우 낮은 농도에서도 생육이 저해되었으며, 그람 음성균인 *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*의 최소 저해 농도는 각각 50 ppm, 50 ppm, 100 ppm으로 상대적으로 높은 농도에서 생육이 저해되었다. 이는 다른 항균성 물질<sup>11,12)</sup>과 마찬가지로 그람 음성균보다 그람 양성균에 대하여 높은 항균성의 결과와 유사한 경향을 나타냈으며 최 등<sup>13)</sup>의 결과와는 상반된 결과를 나타냈다.

## 2. 생육 저해 활성

각 미생물의 증식에 대한 자몽 종자 추출물의 생육 저해 활성을 조사한 결과를 Fig. 1에서 Fig. 6에 나타내었다. 그람 양성균인 *Bacillus cereus*는 1 ppm 이하의 농도에서부터 균의 생육이 저해받기 시작하여 12.5 ppm 이상에서는 생육이 완전히 억제되었고, *Bacillus subtilis*는 6.25 ppm에서 균의 생육이 저해받기 시작하여 12.5 ppm 이상에서는 생육이 완전히 억제되었으며, *Listeria monocytogenes*는 1 ppm 이하의 농도에서부터 균의 생육이 저해받기 시작하여 12.5 ppm 이상에서는 생육이 완전히 억제되었다. 그람 음성균인 *Escherichia coli*는 6.25 ppm에서 균의 생육이 저해받기 시작하여 50 ppm 이상에서는 생육이 완전히 억제되었고, *Salmonella enteritidis*는 25 ppm에서 균의 생육이 저해받기 시작하여 50 ppm 이상에서는 생육이 완전히 억제되었으며, *Serratia marcescens*는 25 ppm에서 균의 생육이 저해받기 시작하여 100 ppm 이상에서는 생육이 완전히 억제되었다.

## 3. 콜로니 형성 저해 활성

각 미생물의 콜로니 형성능에 대한 자몽 종자 추출물의 저해 활성을 조사한 결과는 Table 2와 같았다. 그람 양성균의 콜로니 형성 저해 활성은 *Bacillus cereus*는 93.9%, *Bacillus subtilis*는 94.0%, *Listeria monocytogenes*는 99.9%였으며, 그람 음성균의 콜로니 형성 저해 활성은 *Escherichia coli*는 4.4%, *Salmonella enteritidis*는 82.7%, *Serratia marcescens*는 86.4%였다. 콜로니 형성 저해 활성은 최소 저해 농도와 마찬가지로 그람 양성균에 대해서는 높은 저해 활성을 보였으며, 그람 음성균에 대해서는 상대적으로 낮은 저해 활성을 보였다.

## 고 찰

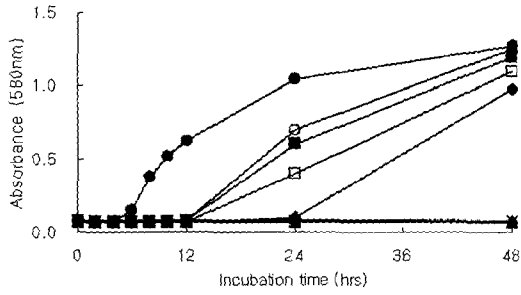
자몽 종자 추출물의 항균성을 조사하기 위하여 그람 양성균인 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*와 그람 음성균인 *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*를 대상으로 하여 최소 저해 농도, 생육 저해 활성, 콜로니 형성 저해 활성을 실험하였다.

자몽 종자 추출물의 최소 저해 농도를 측정된 결과, 다른 항균성 물질<sup>11,12)</sup>과 마찬가지로 그람 음성균보다 그람 양성균에 대하여 높은 항균성을 보였다. 이렇게 그람 염색성에 따라서 항균성이 달라지는 것은 항균성 성분의 세포내로의 투과성 또는 세포벽 합성에 대한 저해 때문으로 판단되나 보다 자세한 실험이 필요할 것으로 생각된다.

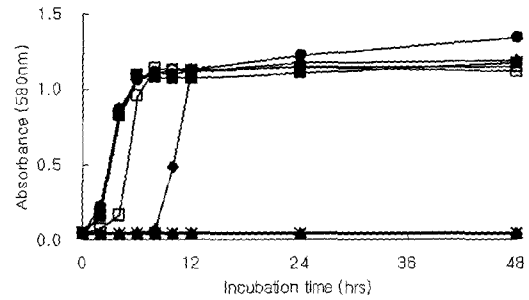
자몽 종자 추출물은 100 ppm 이하의 낮은 농도에서도 각종 미생물의 생육을 완전히 억제하므로 기존에 사용하고 있는 보존료에 비하여 훨씬 높은 항균성을

Table 2. Colony forming inhibitory activity(CFIA) of grapefruit seed extract against various microorganisms

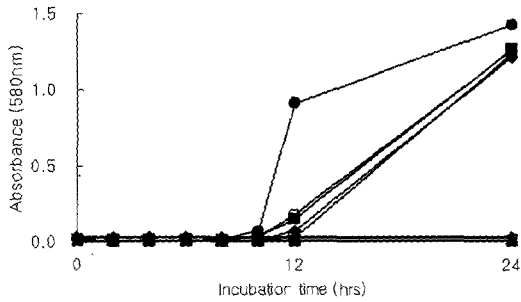
Strains	CFIA(%)	Strains	CFIA(%)
<i>Bacillus cereus</i>	93.9	<i>Escherichia coli</i>	4.4
<i>Bacillus subtilis</i>	94.0	<i>Salmonella enteritidis</i>	82.7
<i>Listeria monocytogenes</i>	99.9	<i>Serratia marcescens</i>	86.4



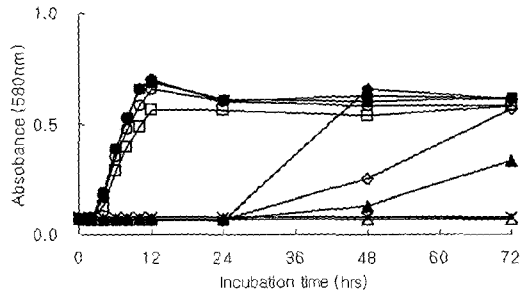
**Fig. 1.** Effect of Grapefruit seed extract on the growth of *Bacillus cereus* in tryptic soy broth. ●—● : 0 ppm, ○—○ : 0.78125 ppm, ■—■ : 1.5625 ppm, □—□ : 3.125 ppm, ◆—◆ : 6.25 ppm, ◇—◇ : 12.5 ppm, ▲—▲ : 25 ppm, △—△ : 50 ppm, ×—× : 100 ppm.



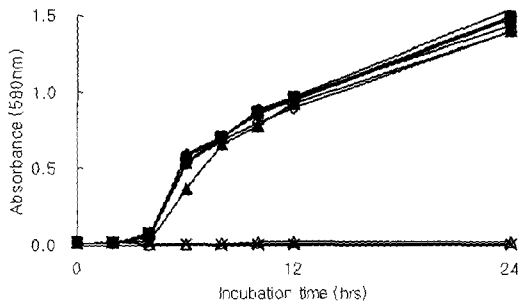
**Fig. 2.** Effect of Grapefruit seed extract on the growth of *Bacillus subtilis* in tryptic soy broth. ●—● : 0 ppm, ○—○ : 0.78125 ppm, ■—■ : 1.5625 ppm, □—□ : 3.125 ppm, ◆—◆ : 6.25 ppm, ◇—◇ : 12.5 ppm, ▲—▲ : 25 ppm, △—△ : 50 ppm, ×—× : 100 ppm.



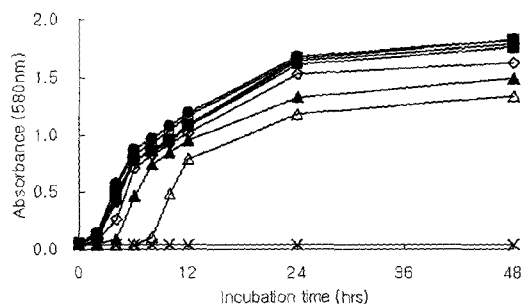
**Fig. 3.** Effect of Grapefruit seed extract on the growth of *Listeria monocytogenes* in tryptic soy broth. ●—● : 0 ppm, ○—○ : 0.78125 ppm, ■—■ : 1.5625 ppm, □—□ : 3.125 ppm, ◆—◆ : 6.25 ppm, ◇—◇ : 12.5 ppm, ▲—▲ : 25 ppm, △—△ : 50 ppm, ×—× : 100 ppm.



**Fig. 4.** Effect of Grapefruit seed extract on the growth of *Escherichia coli* in tryptic soy broth. ●—● : 0 ppm, ○—○ : 0.78125 ppm, ■—■ : 1.5625 ppm, □—□ : 3.125 ppm, ◆—◆ : 6.25 ppm, ◇—◇ : 12.5 ppm, ▲—▲ : 25 ppm, △—△ : 50 ppm, ×—× : 100 ppm.



**Fig. 5.** Effect of Grapefruit seed extract on the growth of *Salmonella enteritidis* in tryptic soy broth. ●—● : 0 ppm, ○—○ : 0.78125 ppm, ■—■ : 1.5625 ppm, □—□ : 3.125 ppm, ◆—◆ : 6.25 ppm, ◇—◇ : 12.5 ppm, ▲—▲ : 25 ppm, △—△ : 50 ppm, ×—× : 100 ppm.



**Fig. 6.** Effect of Grapefruit seed extract on the growth of *Serratia marcescens* in tryptic soy broth. ●—● : 0 ppm, ○—○ : 0.78125 ppm, ■—■ : 1.5625 ppm, □—□ : 3.125 ppm, ◆—◆ : 6.25 ppm, ◇—◇ : 12.5 ppm, ▲—▲ : 25 ppm, △—△ : 50 ppm, ×—× : 100 ppm.

보였다. 또한 자몽 종자 추출물은 LD<sub>50</sub>가 2,900 mg/kg 체중으로 거의 무독한 물질로 알려져 있기 때문에<sup>21)</sup> 안전성이 매우 높은 천연의 보존료로 이용이 가능할 전망이다.

더욱이 콜로니 형성 저해 활성이 높게 나타남으로써 식품 및 식품 접촉 표면을 살균하는 살균제로 사용하여도 우수한 효과를 나타낼 것으로 판단된다. 따라서 기존의 식품 선도보지제를 대체하는 우수한 제형을 만들어낼 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

자몽 종자 추출물의 항균성을 조사하기 위하여 그람 양성균인 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*와 그람 음성균인 *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*를 대상으로 하여 최소 저해 농도, 생육 저해 활성, 콜로니 형성 저해 활성을 실험하였다. 그람 양성균에 대한 자몽 종자 추출물의 최소 저해 농도는 12.5 ppm 정도로 상대적으로 낮았으며, 그람 음성균의 최소 저해 농도는 50 ppm 이상으로 상대적으로 높았다. 균주의 증식에 대한 생육 저해 활성을 조사한 결과 *Bacillus cereus*는 1 ppm 이하, *Bacillus subtilis*는 6.25 ppm, *Listeria monocytogenes*는 1 ppm 이하, *Escherichia coli*는 6.25 ppm, *Salmonella enteritidis*는 25 ppm, *Serratia marcescens*는 25 ppm부터 생육이 저해되었다. 그람 양성균의 콜로니 형성 저해 활성은 *Bacillus cereus*는 93.9%, *Bacillus subtilis*는 94.0%, *Listeria monocytogenes*는 99.9%, 그람 음성균의 콜로니 형성 저해 활성은 *Escherichia coli*는 4.4%, *Salmonella enteritidis*는 82.7%, *Serratia marcescens*는 86.4%로, 그람 양성균에 대해서는 높은 저해 활성을 보였으며, 그람 음성균에 대해서는 비교적 낮은 저해 활성을 보였다.

## 감사의 글

본 연구는 2004년도 동남보건대학 교내 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

## 참고문헌

- Jung, KS, Kang, SY and Kim, JY. The antibacterial activity of garlic juice against pathogenic bacteria and lactic acid bacteria. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 31:32-35. 2003
- Tansey, MR and Appleton, JA. Inhibition of fungal growth by garlic extract. *Mycologia* 70:397. 1978
- Zaika, L and Kissinger, JC. Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*. *J. Food Sci.* 46:1205. 1981
- Kim, YS, Kim, MN, Kim, JO and Lee, JH. The effect of hot water-extract and flavor compounds of mugwort on microbial growth. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 23:994-1000. 1994
- Park, SK and Park, JC. Antimicrobial activity of extracts and coumaric acid isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 9:506-511. 1994
- Jung, BS, Lee, BK, Shim, ST and Lee, JK. Effect of the volatile constituents of Mugwort seed extract on the growth of microorganism. *Korean J. Dietary Culture* 4:417-424. 1989
- Lee, SH and Rhim, YS. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract against *Listeria monocytogenes*. *Korean J. of Microbiol. Biotechnol.* 25: 442-447. 1997
- Choi, MY, Choi, EJ, Lee E, Rhim, TJ, Cha, BC and Park, HJ. Antimicrobial activities of pine needle (*Pinus densiflora* Seib et Zucc.) extract. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 25:293-297. 1997
- Park, WY, Jang, DS and Cho, HR. Antimicrobial activity of *Lithospermum erythrorhizon* extract. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 21:97-100. 1992
- Shin, DH, Han, JS and Kim, MS. Antimicrobial effect of ethanol extracts of *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils and *Glycyrrhiza glabra* L. var. *glandulifera* Regel et Zucc. on *Listeria monocytogenes*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26:627-632. 1994
- Shin, DH, Kim, MS and Han, JS. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29:808-816. 1997

1. Jung, KS, Kang, SY and Kim, JY. The antibacterial

12. Park, HK. A study on the antimicrobial effect of Chitosan. *Bulletin of Dongnam Health College* 15:43-52. 1997
13. Park, HK. Antimicrobial activity of Chitooligosaccharide. *Korean J. Food Nutr.* 14:579-584. 2001
14. Choi, JD, Seo, IW and Cho, SH. Studies on the antimicrobial activity of grapefruit seed extract. *Bull. Korean Fish. Soc.* 23:297-302. 1990
15. Lee, TE. Efficacy report of DF-100. Conference of genetics & cell biology. University of Malaya, Kuala Lumpur. 1987
16. Aquiar, LAB. Inhibition of *Aspergillus flavus* production of aflatoxin with DF-100. Latin American Microbiological Congress, San Paulo, Brazil. 1983
17. Cho, SH, Seo, IW, Choi, JD and Joo IS. Inhibitory effects of grapefruit seed extract (DF-100) on growth and toxin production of *Penicillium islandicum*. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 33:169-173. 1990
18. Moreira, R and Quintero, W. The grapefruit seed extract "DF-100" in dairy industries sanitization and its uses in cheeses and yogurts manufacturing processes. *Chemie. Brasileira Industria Co.*, Research paper. 1987
19. Carson, JR. DF-100 as a domestic wastewater disinfectant. Analytical data in water & wastewater operations, Armadillo environmental services, Florida, USA. 1985
20. Guillermo, FG. Evaluation of the effectiveness of DF-100 in the control of the intrahospital infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* and other agents in the center for clinical research of the nutrition and food technology research institute, University of Chile. Reports of Associate Institution of the United Nations University. 1982
21. Harich, J. DF-100. US Patent 1,354,818. 1980

---

(2006년 11월 20일 접수; 2006년 12월 15일 채택)