pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 27, No. 2, pp. 109~116 (2012)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

초임계유체 추출에 의한 생강(*Zingiber officinale* Roscoe) Oleoresin의 항균활성

이명희 · 이경혜[1]* · 김경탁 · 김성수
한국식품연구원 공정기술연구단, [1]동남보건대학교 식품생명과학과

Antimicrobial Activity of Ginger(*Zingiber officinale* Roscoe) Oleoresin by Supercritical Fluid Extraction

Myung-Hee Lee, Kyoung-Hae Lee[1]*, Kyung-Tack Kim, and Sung-Soo Kim
Processing Technology Research Group, Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea
**Dept. of Food Science & Biotechnology, Dongnam Health College, Gyeonggi 440-714, Korea*
(Received April 16, 2012/Revised April 29, 2012/Accepted May 8, 2012)

ABSTRACT - The study indicated that antimicrobial activity about gram positive and gram negative bacteria of ginger-oleoresin(GO) extract with the condition of ethanol and supercritical fluid extractions. As the concentration of extraction increases, the clear zone of GO ethanol extract also increased dependently. This led the antimicrobial activity of gram positive bacteria to take bigger place than gram negative bacteria especially in *Listeria monocytogenes*. There was a high antimicrobial activity in E-III treatment where the ratio of the ginger powder extract to ethanol extraction was 1:6. It was quite effective to treat the antimicrobial activity of GO ethanol extract under 80°C and there was not big difference in the intervals which were the extraction time - 1 to 7 hours. The antimicrobial activity of supercritical fluid extract seemed to take the biggest place in *Listeria monocytogenes*. From the supercritical fluid extract, it was shown the strong ability of antimicrobial activity in the condition with 100 bar 35°C, 250 bar 35°C and 250 bar 65°C. Furthermore, according to the case of solvent extract, there was not any significant difference in the antimicrobial activity with condition of extraction. However, there was significant antimicrobial activity in E-III treatment of 100 bar and 500 bar of extraction pressure, and 35°C and 65°C of extraction temperature.

Key words: ginger oleoresin(GO), antimicrobial activity, supercritical fluid extraction

서 론

최근 식중독 발생은 학교급식 의무화로 단체급식 확대와 지구온난화에 따른 환경변화로 증가하였으며, 이에 따른 의료비용, 생산성 손실비용 등 사회적 손실비용으로 경제적 손실을 초래하였다[1]. 식중독 발생 원인은 식품위해미생물에 의한 것이 대부분을 차지하고 있다[2].

일반적으로 식품위해미생물 증식제어에 사용되는 nitrite 등의 합성보존료를 장기간 사용할 경우 돌연변이 및 만성독성 유발 등으로 안전성이 논란되고 있다[3,4]. 따라서 향신료와 같은 천연물질로부터 얻은 특정성분을 이용한 식품보존제에 대한 연구가 진행되고 있다.

생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 초본식물로 특유의 맛과 향을 함유하여 광범위하게 사용되고 있다[5]. 생강은 마늘과 함께 김치의 부원료로 사용되며, 김치섭취로 인한 세균 식중독 발생은 보고된 사례가 없다[6]. 생강은 생생강, 생강페이스트, 건생강, 생강분, 정유(essential oil)를 많이 함유한 oleoresin 등의 형태로 식품과 한약재 분야에서 사용되고 있다[7,8]. 생강 특유의 맛을 나타내는 oleoresin에는 gingerol 등이 여러 동족체의 혼합물로 존재하며. 이 중 6-gingerol은 특유의 매운맛 성분으로 식품에서 향신료로 이용되고 있다[9]. 그 외 항산화와 항염증 작용을 갖고 있어 해열제, 진통제 등으로 이용되어 왔다[10,11]. Ziauddin 등[12]은 생강과 같은 향신료 추출물이 육류에 대한 세균증식 억제효과를 보고한 바 있다.

천연식품을 이용한 항균활성에 관한 국내외 연구는 마늘[13-16], 양파[17], 상백피[18], 울금[19], 오미자[20], 생마[21], 모자반[22], 겨자[23], 고추즙[15], 박하[24], 대나무기름[25], 감초[26], *Lamiaceae* 향신료 정유의 휘발성분[27], 로즈마리와 allspice[4] 등이 있다.

향신료 중 생강의 표적물질 추출에 용매추출법이 많이

*Correspondence to: Kyoung Hae Lee, Dept. of Food Science & Biotechnology, Dongnam Health College, Suwon 440-714, Korea
Tel: 82-31-249-6433, Fax: 82-31-249-6430
E-mail: khlee@dongnam.ac.kr

사용되고 있지만, 추출 후 가열처리로 용매를 분리 회수하여 열에 민감한 성분과 향 손실이 야기되고, 추출물에 용매가 잔존할 가능성이 있다[28,29]. 그 외 유효성분 추출에 초임계유체 추출(supercritical fluid extraction)공정이 사용되고 있다[30-32]. 이는 물질의 임계점 이상 압력과 온도를 설정하여서 액체상의 용해력과 기체상의 확산계수와 점도 특성을 지니게 하여, 신속하면서 선택 추출이 가능한 방법이다[33,34]. 특히 초임계유체 추출에 다용되는 용매인 이산화탄소는 비용이 저렴하며, 무독성이고 불연성 등의 특성이 있어 식품산업체에서 친환경적 추출용매로 적용가능성이 제시되고 있다[35,36].

이에 본 연구에서는 생강의 유효한 성분인 oleoresin 추출에 용매추출법과 초임계유체 추출법을 적용하여 추출물의 농도와 추출조건을 달리하여 식중독균과 식품부패의 원인균에 대한 항균활성을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 생강분말은 완주봉상생강조합에서 구입하여 수세, 박피의 전처리를 한 후 슬라이스 형태로 절단하여 열풍건조한 생강분말을 공시재료로 사용하였다.

에탄올추출

생강분말 10 g에 99.5% 에탄올을 첨가하여 교반추출기에서 상온으로 추출하여 여과한 후 회전식 진공농축기(EYELA CCA-1110, Tolyo, Japan)를 사용하여 40°C의 조건에서 에탄올을 증발시켜 제거한 후 남은 것을 에탄올 추출물로 사용하였다.

초임계이산화탄소 추출

생강 oleoresin(GO) 추출은 초임계이산화탄소 추출장치(Greentek21 Co. Ltd., Anyang, Korea)를 사용하였다. 생강분말 200 g을 500 mL 용량의 추출조에 주입하여 밀봉하였다. 초임계유체로 이산화탄소를 사용하였으며, 이산화탄소 cylinder에서 나온 가스는 응축기에서 액화된 후 압축되어 추출조로 투입된다. 추출조에서 나온 추출물과 이산화탄소는 압력이 상압으로 저하되어 가스는 날아가고 수액기에 모인 추출물을 초임계이산화탄소 추출물로 사용하였다. GO 추출은 추출압력(100 bar, 250 bar, 500 bar)과 추출온도(35°C, 50°C, 65°C)를 각각 달리하여 시행하였다.

사용균주 및 배지

항균활성 실험에 사용된 균주는 Gram 양성균으로 *Staphylococcus aureus* KCTC 1621, *Bacillus subtilis* KCTC 1022, *Listeria monocytogenes* KCTC 3569를 Gram 음성균으로 *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2004과 *Escherichia coli* KCTC 1039를 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받아 3회 계대배양하여 사용하였다. 시험균주와 사용배지는 Table 1에 나타내었다.

시료 전처리

에탄올추출과 초임계유체 추출(supercritical fluid extraction)을 한 각 생강 oleresin(GO) 추출물 시료를 DMSO(dimethyl sulfoxide, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에 0.1%, 1%, 5% 농도로 처리하여 사용하였다. 대조구는 GO 추출물 대신 증류수를 대체하여 처리한 것을 사용하였다.

생강추출물의 항균력 시험 방법

생강추출물의 항균력 시험은 paper disc agar diffusion법[37]에 따라 진행하였다. −70°C에 보관중인 실험용 균주 stock을 각 균주에 맞는 Nutrient(Difco, USA), Brain Heart Infusion(BHI: Difco, USA) 생육배지에 접종하여 24시간 배양하였다. 균주가 배양된 생육배지를 Nutrient agar, Brain Heart Infusion agar에 100 µl씩 분주하고 spreading하여 균주를 배지에 흡수시킨 후 멸균된 8 mm paper disc(Tokyo Roshi Kaisha)를 올려 배지에 밀착시키고 각각의 생강추출물 용액을 35 µl씩 흡수시켰다. 각 균주에 맞는 배양온도에서 24시간 배양시킨 후 disc 주위의 생육저해환 크기를 측정하여 항균력을 확인하였다.

결과 및 고찰

에탄올 추출비율에 따른 생강 oleoresin 항균성

생강에서 추출한 각 처리구 별 oleoresin의 항균활성 검증을 위해 사용된 균주는 Gram 양성균으로 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*와 Gram 음성균으로 *Escherichia coli* O157와 *Pseudomanas aeruginosa*

Table 1. Strains and culture medium used for antimicrobial activity of ginger extract

Bacteria	Strains	Culture medium	Cultivation temp.
Gram(+)	*Bacillus subtilis* KCTC 1022	Nutrient agar	30°C
	Staphylococcus aureus KCTC 1621	Nutrient agar	37°C
	Listeria monocytogenes KCTC 3569	Brain Heart Infusion agar	37°C
Gram(-)	*Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2004	Nutrient agar	37°C
	Escherichia coli KCTC 1039	Nutrient agar	

Table 2. Antimicrobial activity of ginger extract by ethanol extraction against gram-positive bacteria

(Clear zone mm on plate)

Gram-positive bacteria	DMSO%[1)]	E-0	E-I	E-II	E-III	E-IV
Bacillus subtilis	0.1	ND	9.0	9.0	9.0	9.0
	1	ND	11.0	12.0	12.0	10.0
	5	ND	12.0	11.0	13.0	13.0
Staphylococcus aureus	0.1	ND	++[2)]	++	++	++
	1	ND	10.0	10.0	10.0	10.0
	5	ND	11	11.0	12.0	11.0
Listeria monocytogenes	0.1	ND	12.0	11.0	11.5	11.5
	1	ND	12.5	14.0	12.5	13.0
	5	ND	15.5	15.0	16.5	16.0

[1)]Concentration diluted of DMSO (dimethyl sulfoxide)
[2)]Less than 8 mm
E-0 : Control (DMSO + distilled water)
E-I: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:2)
E-II: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:4)
E-III: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:6)
E-IV: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:8)
ND : Not detected

를 사용하였다. 부패원인균으로는 동물성 식품의 부패 원인이 되는 *Pseudomanas aeruginosa*와 내열성 포자를 형성하며 Gram 양성 호기성세균으로 식품발효에 이용되지만 부패균인 *Bacillus subtilis*를 사용하였다. 위생상태 지표인 식중독 원인균으로 통성혐기성간균이며, 냉장온도에서 잘 자라는 폐혈증 및 유산을 유발시키는 *Listeria monocytogenes*, 통성혐기성 포도상구균으로 열에 안정하며 독소형 식중독의 원인균인 *Staphylococcus aureus*, 감염시 출혈성 신증후군 및 출혈성 장염 등의 증상을 유발하는 *Escherichia coli* O157을 사용하여 각 균주에 대한 생강 추출물의 항균활성을 살펴보았다.

생강 oleoresin(GO)의 에탄올추출은 생강분말과 에탄올의 비율을 1:2, 1:4, 1:6, 1:8로 처리하였으며, 각 추출물을 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 0.1%, 1%, 5% 농도로 추출비율에 따라 1:2 처리구는 E-I, 1:4 처리구는 E-II, 1:6 처리구는 E-III, 1:8 처리구는 E-IV로 하였으며, 대조구 E-0는 DMSO에 추출액을 증류수로 대체 처리하여 0.1%, 1%, 5%로 사용하였다.

GO 에탄올추출물에 대한 Gram 양성균에 대한 항균활성은 Table 2와 같다. 추출물 농도에 따른 항균활성 결과, 처리농도가 증가할수록 항균활성을 나타내는 clear zone 크기가 비례적으로 증가하였다. *Staphylococcus aureus*의 경우 0.1% 농도에서 clear zone이 전혀 나타나지 않았으며, *Listeria monocytogenes*은 0.1%, 1%, 5% 처리구에서 clear zone이 크고 뚜렷하여 다른 균주들보다 강한 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다. GO 추출물 5% 처리구의 경우 E-I, E-II, E-III, E-IV 전 처리구에서 *Listeria monocytogenes*의 항균활성이 가장 높게 나타났으며, 추출시료 중 생강분말과 에탄올 추출비율이 1:6 농도로 추출 처리한 E-III 처리구의 clear zone이 16.5 mm로 다른 처리구에 비해 가장 강한 항균성을 나타냈다. *Bacillus licheniformis*도 E-III 처리구의 항균활성이 다른 추출조건에 비하여 높게 나타났으나, *Listeria monocytogenes*만큼 강하지 않았다. 이러한 결과는 Ji 등[38]에 의한 생강 에테르 추출물에서도 *Bacillus licheniformis* ATCC 21415와 같은 Gram 양성균에 대한 억제효과가 보고된 바 있다.

Gram 음성균에 대한 GO 에탄올추출물의 항균활성은 Table 3과 같다. 생강추출물 희석농도 1% 처리구의 경우, *Pseudomanas aeruginosa*에 대한 clear zone이 *Escherichia coli* O157보다 더 크고 뚜렷하게 나타나 강한 항균활성을 보였고, Gram 양성균인 *Listeria monocytogenes*에서도 유사한 강한 항균활성을 보였다. *Pseudomanas aeruginosa*의 경우 추출조건에 따라 큰 차이 없이 항균력이 비슷하게 나타났고, 이는 Gram 양성균 중 *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*에서도 유사한 결과를 보였다. 주요 식중독 원인균인 병원성 대장균에 의한 위험성이 광범위하게 알려져 있는 *Escherichia coli* O157의 경우[1)], 추출조건이나 추출물의 농도와 관계없이 항균활성에 큰 차이를 보이지 않았다.

또한 GO 에탄올추출물은 Gram 음성균보다 Gram 양성균에 항균효과가 더 크다는 것을 알 수 있었다. 이는 정 등[39)]에 의한 clove, nutmeg와 같은 향신료 정유성분의 항균성에 대한 결과와 동일한 경향을 보였다.

따라서 GO 에탄올추출은 생강분말과 에탄올의 비율이 1:6인 E-III 처리구가 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*같은 Gram 양성균과 Gram 음성균으로 *Escherichia coli* O157와 *Pseudomanas aeruginosa*에 가

Table 3. Antimicrobial activity of ginger extract by ethanol extraction against gram-negative bacteria

(Clear zone mm on plate)

Gram-negative bacteria	DMSO%[1)]	E-0	E-I	E-II	E-III	E-IV
Escherichia coli	0.1	ND	9.0	8.0	8.0	8.0
	1	ND	9.0	9.0	9.0	8.0
	5	ND	9.0	9.0	9.0	8.0
Pseudomonas aeruginosa	0.1	+[2)]	14.0	12.5	12.0	11.5
	1	+	++[3)]	12.5	12.0	11.5
	5	+	++	++	11.5	12.0

[1)]Concentration diluted of DMSO (dimethyl sulfoxide)
[2)]Slight growth
[3)]Less than 8 mm
E-0 : Control (DMSO + distilled water)
E-I: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:2)
E-II: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:4)
E-III: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:6)
E-IV: DMSO + ethanol extract (ratio of ginger powder and ethanol-1:8)
ND : Not detected

장 효과적인 항균활성을 보임을 알 수 있었다.

Hargreaves 등[40)]에 의하면 향신료의 유효 항균성분은 알코올에 대한 용해성이 크다 하였다. 따라서 GO 추출에 사용한 에탄올 비율이 높은 경우, 항균력이 다른 처리구에 비하여 큰 것으로 판단되며, 생강분말과 에탄올의 추출비율이 1:6과 1:8인 처리구 간에는 차이가 적어 1:6의 추출비율이 적합하다고 판단되었다.

온도에 따른 에탄올추출 생강 oleoresin의 항균성

생강 oleoresin(GO)의 에탄올추출은 생강분말과 에탄올 비율의 최적조건은 Table 2와 Table 3의 결과에 따라 1:6으로 결정하여 온도 별로 처리하여 30ºC 처리구는 T-I, 50ºC는 T-II, 65ºC는 T-III, 80ºC 처리구는 T-IV로 하였으며, 대조구 T-0은 DMSO(dimethyl sulfoxide) 용액(농도 0.1%, 1%, 5%)에 에탄올추출물로 처리하지 않은 것으로 하였다. 온도에 따른 에탄올추출 GO의 Gram 양성균에 대한 항균활성은 Fig. 1과 같고 Gram 음성균에 대한 항균활성은 Fig. 2와 같다.

GO 에탄올추출물 농도가 증가할수록, 그리고 추출온도가 증가할수록 Gram 양성균 중 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*의 항균성은 증가한 반면, *Escherichia coli* O157은 전처리구 간에 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. Gram 음성균 중 *Pseudomanas aeruginosa*가 *Escherichia coli* O157보다 항균력이 높았다. 따라서 GO 에탄올추출의 항균성은 생강분말과 에탄올 비율이 1:6이고 80ºC 조건에서 추출한 T-IV처리구가 효과적임을 알 수 있었다.

Kim 등[37)]에 의하면 마늘을 60ºC 조건에서 에탄올추출 처

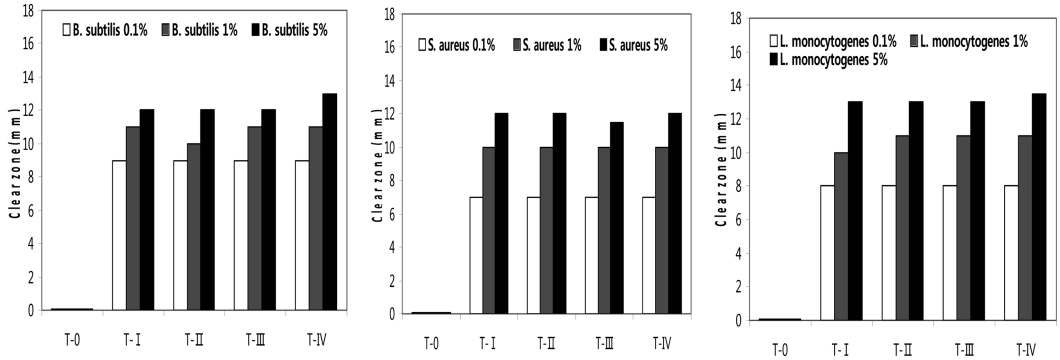


Fig. 1. Antimicrobial activity of ginger extract by ethanol extraction(1:6) against gram-positive bacteria to the temperature.
T-0 : Control
T-I: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 35ºC
T-II: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 50ºC
T-III: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 65ºC
T-IV: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80ºC

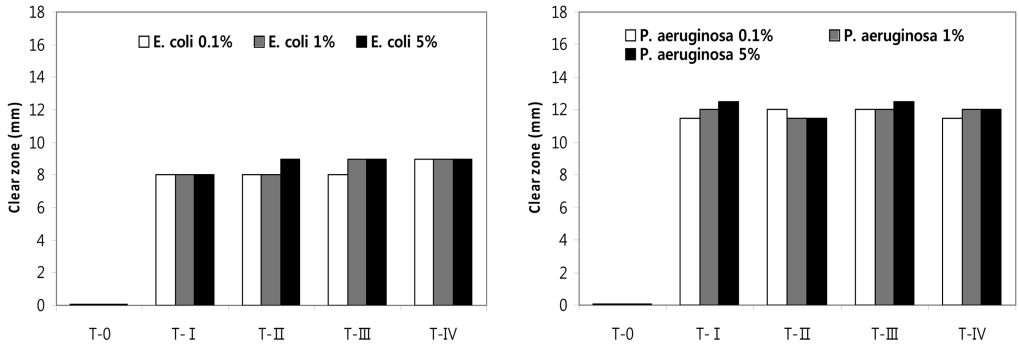


Fig. 2. Antimicrobial activity of ginger extract by ethanol extraction (1:6) against gram-negative bacteria to the temperature.
T-0 : Control
T-I: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 35°C
T-II: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 50°C
T-III: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 65°C
T-IV: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C

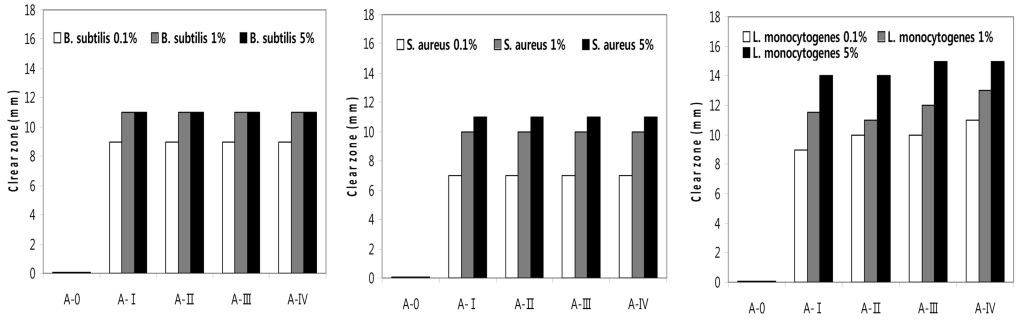


Fig. 3. Antimicrobial activity of ginger extract by ethanol extraction against gram-positive bacteria to the extraction time at the 80°C.
A-0 : Control
A-I: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 1hr
A-II: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 3hrs
A-III: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 5hrs
A-IV: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 7hrs

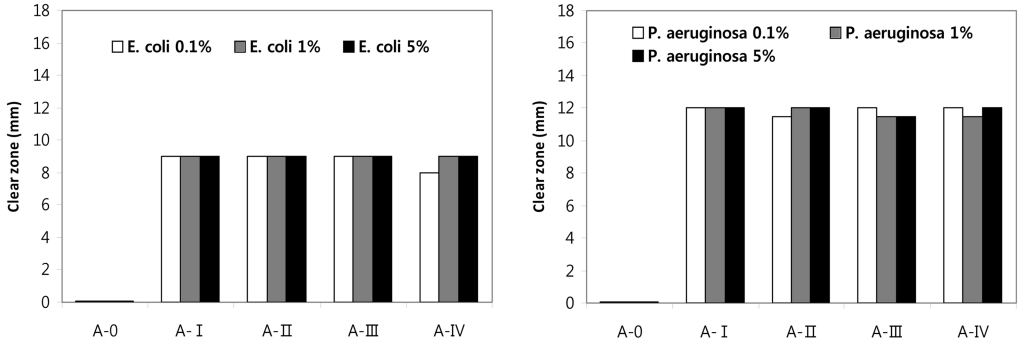


Fig. 4. Antimicrobial activity of ginger extract by ethanol extraction against gram-negative bacteria to the extraction time at the 80°C.
A-0 : Control
A-I: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 1hr
A-II: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 3hrs
A-III: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 5hrs
A-IV: DMSO + ethanol extract (ratio of 1:6) at 80°C for 7hrs

리한 경우, *Escherichia col* O157과 *Staphylococcus aureus*의 증식을 저해함을 보고한 바 있으며, Yoon 등[22]은 모자반 에탄올추출에서 *Listeria monocytogenes*의 항균활성이 121.1°C에서 15분간 처리에 안정하다고 보고한 바 있다.

추출시간에 따른 에탄올추출 생강 oleoresin의 항균성

에탄올추출은 생강분말과 에탄올 비율을 1:6으로 하고 80°C의 추출온도에서 시간에 따른 처리구 A-I(1시간 추출), A-II(3시간 추출), A-III(5시간 추출), A-IV(7시간 추출)로 하였으며, 대조구 A-0은 DMSO(dimethyl sulfoxide)용액에 에탄올추출물 대신 증류수로 처리하여 사용하였다. 에탄올 추출시간에 따른 생강 oleoresin(GO)의 Gram 양성균에 대한 항균활성은 Fig. 3과 Gram 음성균에 대한 항균활성은 Fig. 4와 같다.

GO 에탄올추출물 농도가 증가할수록, 그리고 추출시간이 증가할수록 Gram 양성균 중 *Listeria monocytogenes*의 항균성은 증가하였으며, *Bacillus subtilis*는 GO 에탄올추출물의 0.1% 농도에서는 1~7시간으로 추출처리한 처리구 A-I, A-II, A-III와 A-IV의 항균성은 거의 동일한 결과를 보였다. Gram 음성균 중 *Escherichia coli* O157은 GO 에탄올추출물 농도가 증가할수록 1시간, 3시간, 5시간 추출처리한 A-I, A-II, A-III 처리구는 항균력이 거의 동일하였다. 따라서 GO 에탄올추출의 항균성은 생강분말과 에탄올 비율이 1:6이고 80°C 조건에서 1~7시간 추출한 처리구간에는 뚜렷한 차이가 없었다.

초임계이산화탄소 추출에 의한 생강 oleoresin의 항균성

초임계이산화탄소 추출에 의한 생강 oleoresin(GO) 추출은 100 bar, 250 bar, 500 bar 각각의 압력에서 35°C, 50°C, 65°C 조건으로 추출하여 얻은 9개 추출물을 각각 0.1%, 1%, 5% 농도로 DMSO에 희석한 각 처리구에 대하여 항균활성을 살펴본 결과는 각각 Table 4 및 Table 5와 같다.

DMSO에 GO를 5% 첨가 처리구의 경우, *Listeria monocytogenes*에서 가장 높은 항균활성을 보였으며, 특히 100 bar 35°C 추출물에 대한 clear zone은 20 mm이고 250 bar 65°C 조건에서 5% 처리구의 clear zone은 23 mm로 다른 추출물과 비교하여 강한 항균력을 나타냈다(Fig. 6). *Bacillus subtilis*의 경우 GO 초임계이산화탄소 추출물 5%농도로 처리한 결과, 100 bar 35°C 조건에서 clear zone이 14 mm, 500 bar 65°C 추출조건에서 16.5 mm로 크게 나타나 다른 추출조건보다 높은 항균활성을 나타내었다. *Escherichia coli*에서는 추출압력 100 bar 조건에서 처리한 경우, 다른 압력조건에서의 추출물보다 강한 항균활성을 나타내었고, *Pseudomanas aeruginosa*와 *Staphylococcus aureus* 균주는 다른 균주와 비교하여 낮은 항균활성을 보였다. 생강 각 추출물의 항균활성을 살펴보면 *Listeria monocytogenes* 균

Table 5. Antimicrobial activity of ginger extract by supercritical fluid extraction against gram-negative bacteria

(Clear zone mm on plate)

Gram-negative bacteria	*Escherichia coli*			*Pseudomonas aeruginosa*		
DMSO%[1]	0.1	1	5	0.1	1	5
Control	ND	ND	ND	+[2]	+	+
100/35[3]	++[4]	++	13.0	10.0	11.0	11.0
100/50	++	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0
100/65	++	11.0	12.0	10.5	11.5	11.0
250/35	++	++	11.0	10.0	10.0	10.0
250/50	++	++	10.0	11.0	11.0	11.0
250/65	++	++	11.0	10.0	11.0	11.0
500/35	++	++	9.0	10.0	10.0	10.0
500/50	++	++	10.0	10.0	11.0	11.0
500/65	++	++	10.0	11.0	11.0	11.0

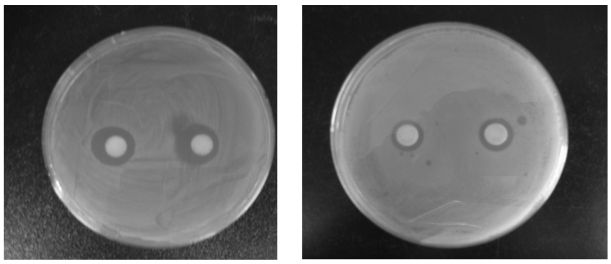
[1]Concentration diluted of DMSO (dimethyl sulfoxide)
[2]Slight growth
[3]100 bar/35°C
[4]Less than 8 mm
ND : Not detected

Table 4. Antimicrobial activity of ginger extract by supercritical fluid extraction against gram-positive bacteria

(Clear zone mm on plate)

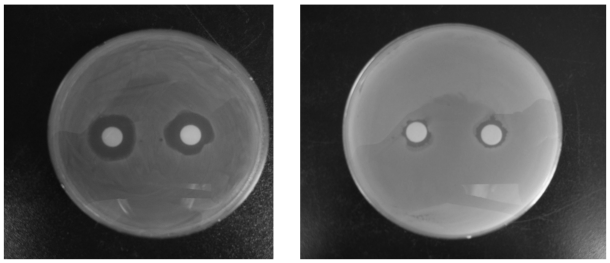
Gram-positive bacteria	*Bacillus subtilis*			*Staphylococcus aureus*			*Listeria monocytogenes*		
DMSO%[1]	0.1	1	5	0.1	1	5	0.1	1	5
Control	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
100/35[2]	9.0	11.0	14.0	++[3]	11.0	12.0	12.0	11.5	20.0
100/50	9.0	10.5	11.0	++	11.0	12.0	12.0	16.5	17.0
100/65	8.0	9.0	10.0	++	8.0	10.0	16.0	15.0	16.0
250/35	9.0	9.0	13.0	++	++	10.0	11.5	15.0	22.0
250/50	8.0	9.0	12.0	++	11.0	11.5	12.5	15.0	18.0
250/65	9.0	10.0	12.0	++	11.0	11.0	12.0	15.0	23.0
500/35	8.0	9.0	11.0	++	10.0	10.0	11.0	11.0	16.5
500/50	8.0	10.0	15.0	++	10.0	10.0	12.5	15.0	16.5
500/65	10.0	10.0	16.5	++	10.0	11.0	11.5	15.0	17.0

[1]Concentration diluted of DMSO (dimethyl sulfoxide)
[2]100 bar/35°C
[3]Less than 8 mm
ND : Not detected



(Ⅰ) (Ⅱ)

Fig. 5. Antimicrobial activity of ginger extract by ethanol extraction against *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis.*
(I) : *Listeria monocytogenes* (concentration of extraction 1:6, ethanol extract 5%)
(II) : *Bacillus subtilis* (concentration of extraction 1:8, ethanol extract 5%)



(Ⅰ) (Ⅱ)

Fig. 6. Antimicrobial evaluation of ginger extract by supercritical fluid extraction against *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*.
(I) : *Listeria monocytogenes* (at 100 bar and 35°C, 5% extract)
(II) : *Bacillus subtilis* (at 250 bar and 65°C, 5% extract)

주에 대한 추출물의 항균력이 가장 크게 나타났다.

이상의 결과로 초임계 추출물의 경우 추출압력 100 bar, 500 bar 처리구와 추출온도 35°C, 65°C에서 처리한 처리구에서 항균활성이 크게 나타났다.

Kim 등[41]은 향신료 중 생강분말이 마늘, 계피, 정향보다 식중독균인 *Staphylococcus aureus*와 *Escherichia coli*에 대한 증식 억제율이 높았다고 하였으며, 이러한 항균작용은 세균의 원형질막과 세포벽 용해를 촉진시켜 식중독세균 세포가 사멸된 것이라 하였다. Yoo 등[23]은 생강에 함유된 0.8~4.4%의 정유(essential oil)성분이 주요한 품질지표물질이라 하였고, 생강, 마늘, 겨자 및 정향 등의 휘발성 정유물질이 Vibrio균에 대한 항균활성을 보고한 바 있다.

요 약

본 연구에서는 에탄올추출과 초임계추출(SFE) 조건에 따른 생강 oleresin(GO) 추출물의 Gram양성균(*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*)과 Gram음성균(*Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli*)에 대한 항균활성을 살펴보았다. GO 에탄올추출은 추출물의 농도가 증가할수록 clear zone이 비례적으로 증가하였다. 이의 항균성은 Gram 양성균이 Gram 음성균보다 크게 나타났으며, 특히 *Listeria monocytogenes*에서 항균활성이 크게 나타났다. 생강분말과 에탄올의 추출비율이 1:6인 E-III 처리구가 항균활성이 높았다. GO 에탄올추출물의 항균성은 80°C 조건에서 처리하는 것이 효과적이었고, 추출시간(1시간~7시간)은 처리구 간에 큰 차이가 없었다. 초임계추출물에 대한 항균성은 *Listeria monocytogenes*에서 가장 크게 나타났다. 초임계추출물에서는 100 bar 35°C, 250 bar 35°C, 250 bar 65°C 조건에서 강한 항균력을 보였다. 그리고 용매추출물의 경우 추출조건에 따라서 항균활성에 큰 차이를 나타내지 않았으나, 초임계추출물의 경우 추출압력 100 bar, 500 bar 처리구와 추출온도 35°C, 65°C 처리구에서 항균활성이 크게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2011년도 동남보건대학교 학술연구소 지원에 의하여 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Koo, M.S. and Kim, H.J.: Shiga toxin producing *Escherichia coli* and foodborne disease. *Safe Food*, **6**(4), 23-28 (2011).
2. Kim, W.I., Jung, H.M., Kim, S.R., Park, K.H., Kim, B.S, Yun, H.J., Yun, J.C. and Ryu, K.Y.: Growth potential of *Escherichia coli* O157:H7 in lettuce leaf extract and on lettuce leaf surface. *J. Food Hyd. Safety*, **26**, 296-301 (2011).
3. Branen, A.L.: Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. JAPCS, **52**(1), 59-63 (1975).
4. Brewer, M.S., Sprouls, G.K., Russon, C.: Consumer attitutes toward food safety issues. *J. Food Safety*, **6**, 29-34 (1983).
5. Kim, D.H. and Lee, Y.C.: Quality changes in minced ginger prepared with frozen ginger during storage. *Korean J. Food Sci. Technol*., **36**, 943-951 (2004).
6. Sheo, H.J.: The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **28**, 94-99 (1999).
7. Kim, J.S., Koh, M.S., Kim, Y.H., Kim, M.K. and Hong, J.S.: Volatile flavor component of korean ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). *Korean J. Food Sci. Technol*., **23**, 141-149 (1991).
8. Lee, J.Y. and Ahn, M.S.: Changes of antioxidative properties according to the heat- treatment of ginger extracts. *Korean J. Soc. Food Sci*., **10**, 63-70 (1994).
9. Connell, D.W.: The chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger. *The flavor industry*, **1**, 677-693 (1970).
10. Bhattarai, S., Tran, V.H., Duke, C.C.: The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions. *J. Pharm. Sci*., **90**, 1658-1664 (2001).

11. Alfaro, M.J., Bëlanger, J.M.R., Padilla, F.C., Parë, J.R.J.: Influence of solvent matrix dielectric properties and applied power on the liquid-phase microwave-assisted processes(MAP^{TM})[1] extraction of ginger. *Food Res. Int*., **36**, 499-504 (2003).
12. Ziauddin, K.S., Rao, H.S. and Fairoze, N.: Effect of organic acids and spices on quality and self-life of meats at ambient temperature. *J. Food Sci. Technol*., **33**, 255-258 (1996).
13. Tansey, M.R. and Appleton, J.A.: Inhibition of fungal growth by garlic extract. *Mycologia*, **7**, 397-401 (1978).
14. Tammura, M.: Extraction of antimicrobial compounds from *Allium sativum*. *Japan Patent* 94 192 116 (1994).
15. Sheo, H.J.: The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **28**, 94-99 (1999).
16. Kim, K.J., Do, J.R. and Kim, H.K.: Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of garlic extracts. *Korean J. Food Sci. Technol*., **37**, 228-232 (2005).
17. Kim, J.H.: Anti-bacterial action of onion (*Allium cepa* L.) extracts against oral pathogenic bacteria. *J. Nippon Univ. Sch. Dent*., **39**, 136-141 (1997).
18. An, E.Y., Han, J.S. and Shin, D.W.: Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by pure compound isolated from extract of *Morus alba* Linne bark. *Korean J. Food Sci. Technol*., **29**, 1236-1240 (1997).
19. Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R.: Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*., **21**, 91-96 (1992).
20. Kee, J.Y., Min, Y.K. and Kim, H.Y.: Isolation of antimicrobial substance from *Schizandra chinensis* Baillon and antimicrobial effect. *Korean J. Food Sci. Technol*., **33**, 389-394 (2001).
21. Ryu, H.Y., Bae, K.H., Kum, E.J., Park, S.J., Lee, B.H. and Sohn, H.Y.: Evaluation for antimicrobial, antioxidants activity of natural spices for fresh-cut yam. *J. Life Sci*., **17**, 652-657 (2007).
22. Yoon, S.Y., Lee, S.Y., Kim, K.B.W.R., Song, E.J., Leem S.J., Lee, C.J., Park, N.B., Jung, J.Y., Kwak, J.H., Nam, K.W. and Ahnm D.H.: Antimicrobial activity of the *Sargassum fulvellum* ethanol extract and the effect of temperature and pH on their activity. *Korean J. Food Sci. Technol*., **42**, 155-159 (2010).
23. Yoo, M.J., Kim, Y.S. and Shin, D.H.: Antibacterial effects of natural essential oils from various spices against Vibrio spices and their volatile constituents. *Korean J. Food Sci. Technol*., **38**, 438-443 (2006).
24. Lee, S.E., Park, C.G., Cha, M.S., Kim, J.K., Seong, N.S., Bang, K.H. and Bang, J.K.: Antimicrobial activity of essential oils from *Mentha arvensis* L. var. *piperascens Malivaud* and *Agastache rugosa* O. Kuntze on *Escherichia coli* and *Samonella typhimurium*. *Korean J. Medicinal Crop. Sci*., **10**, 206-211 (2002).
25. Lee, S.K.: Antimicrobial activity of Bamboo (*Phyllostachys bambusoides*) essential oil. *J. Food Hyg. Safety*, **15**, 55-50 (2000).
26. Kim, S.J., Shin, J.Y., Park, Y.M., Chung, K.M., Lee, J.H. and Kweon, D.H.: Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of Licorice root (Glycyrrhiza glabra). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 241-248 (2006).
27. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N. and Anackov, G.: Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 1822-1828 (2006).
28. McHugh, M.A. and Krukonis, V.J.: Supercritical fluid extraction, principle and practice. Butterworths Publishers, London, UK, pp. 181-195 (1986).
29. Dzievak, J.D.: Innovative separation process finding it's way into the food industry. *Food Technol.*, **40**, 66-69 (1986).
30. Brunner, G.: Gas extraction. Steinkopff Darmstadt Springer. New York. USA, pp 179-192 (1994).
31. Lee, S.H., Cheon, J.K. and Ju, C.S.: Lipid extraction of sea tangle with supercritical carbon dioxide. *Korean J. Food Eng. Prog*., **4**, 19-24 (2000).
32. Lee, M.H., Lee, K.H. and Kim, K.T.: Quality Characteristics of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Oleoresin by Supercritical Fluid Extraction. *J. Food Hyg. Safety*, **26**, 36-42 (2011).
33. Jung, S.H., Chang, K.S. and Ko, K.H.: Physiological effects of curcumin extracted by supercritical fluid from turmeric (*Curcuma longa* L.). *Korean J. Food Sci. Technol*., **36**, 317-320 (2004).
34. Reverchon, E.: Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *J. Supercritical Fluids*, **10**, 1-37 (1997).
35. Woo, G.Y., Kim, K.H., Lee, M.J., Lee, Y.B. and Yoon, J.R.: A comparison of volatile compounds in pine extracts obtained by supercritical fluid extraction with those by simultaneous steam distillation and solvent extraction. *Korean J. Food Sci. Technol*., **31**, 1268-1274 (1999).
36. Lee, H.C., Seo, H.Y,, Shin, D.B., Park, Y.K., Kim, Y.S., Ji, J.R.. and Choi, H.D.: Supercritical fluid extracted of volatile components from strawberry. *Korean J. Food Sci. Technol*., **41**, 615-621 (2009).
37. Kim, M.L., Choi, K.H. and Park, C.S.: Growth inhibition of food-borne bacteria by juice and extract of ginger and garlic. *J. East Asian Soc. Dietary Life*, **10**, 160-169 (2000).
38. Ji, W.D., Jeong, M.S., Chung, H.C., Lee, S.J. and Chung Y.G.: Antimicrobial activity of distilled components of garlic (*Allium sativum* L.) and Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Agric. Chem. Biotechnol*., **40**, 514-518 (1997).
39. Chung, C.K., Park, O.K., Yoo, I.J., Park, K.M. and Choi, C.U.: Antimicrobial activity of essential oils of curry spices. *Korean J. Food Sci. Technol*., **22**, 716-719 (1990).
40. Hargreaves, L.L., Jarvis, B., Rawlinson, A.P. and Wood, J.M.: The british food manufacturing industries research association scientific and technical survey. pp. 88-91 (1975).
41. Kim, M.L., Choi, K.G. and Park, C.S.: Antibacterial activity of powdered spice against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Korean J. Postharvest Sci. Technol*., **7**, 124-131 (2000).