

Grapefruit Seed Extract 첨가가 간장과 고추장 양념액중의 식중독균에 대한 증식억제효과

이용욱 · 최재훈 · 윤원호¹ · 김창한*

건국대학교 축산대학 축산식품생물공학, ¹서일대학 식품가공과

서 론

최근에는 식품의 원료나 부재료로 사용되고 있는 것 중에서 독성의 염려가 없고 항균력이 있는 천연물에 대한 연구가 관심을 끌고 있다⁽¹⁻³⁾. Grapefruit seed extract(DF-100)는 미국 농무성(USDA), 미국식품의약품(FDA)의 사용 인가를 획득하였고 최근에 식약청으로부터 사용인가를 받아 천연 식물성 첨가물로서 미생물에 대한 강력한 살균력과 항산화력을 가진다고 알려져 있다(4). 따라서 본 연구에서는 간장과 고추장 양념액에 각각 grapefruit seed extract를 첨가하여 저장온도에 따라 저장기간별 식중독균의 증식 양상을 검토하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 간장과 고추장 양념액은 (주) H.J.F.에서 제공받아 사용하였으며, 천연 식물성 식품첨가물인 grapefruit seed extract(GSE; Biograse)는 (주) 씨트렉스에서 제공받아 사용하였다. 간장 및 고추장 양념액을 250 mL의 유리병에 주입하고 GSE를 500, 1000 ppm 농도로 유리병에 각각 첨가하였다. 비첨가 대조구와 함께 냉장(4℃) 및 실온(20℃) 상태로 14일간 저장하면서 2일 간격으로 실험하였다. pH 측정은 Kang 등(5)의 방법으로 pH meter(Corning 320, USA)를 사용하여 측정하였고 접종실험에 적용할 식중독균은 *Salmonella enteritidis* IFO 3313, *Staphylococcus aureus* IFO 12732, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43894를 사용하였다. Kim 등(6)의 방법에 따라 *Sal. enteritidis*는 Tryptic Soy Agar(Difco)에 접종하여 37℃에서 24시간 3회 계대배양한 후, 전형적인 집락을 Tryptic Soy Broth(Difco)에 접종하여 37℃서 24시간 배양하고 균액 농도는 약 10⁶CFU/g가 되도록 조절하여 2가지의 양념액에 접종하여 실온에서 1시간 반응시킨 후 4 및 20℃에 저장하면서 균수를 측정하였다. 균수 측정은 SS agar(Difco)에 도말하고 37℃에서 48시간 배양하여, 주변이 투명하고 중심부가 흑색인 집락을 계수하였다. *St. aureus*는 Mannitol Salt Egg Yolk agar(Difco)를 사용하여 황색집락, *L. monocytogenes*는 Oxford medium(Difco)를 사용하여 흑색집락, *E. coli*는

Sorbitol MacConkey agar(Difco)를 사용하여 무색집락을 계수 하였다. 검출된 미생물수는 colony forming unit(logCFU/g)으로 나타내었다. 한편, 식중독균 미접종 상태의 양념액에 대해서도 같은 방법으로 조사하였다.

결과 및 고찰

pH 변화

저장온도와 GSE의 농도를 달리한 간장과 고추장 양념액의 저장기간별 pH 변화를 Table 1, Table 2에 각각 나타내었다. 저장 초기 비첨가구 경우에 간장 양념액의 pH는 5.50, 고추장 양념액은 4.92 이었으며, GSE 첨가에 따른 양념액의 pH는 거의 변화가 없었다. 저장 기간에 따른 pH의 변화는 모든 시험구에서 점차 낮아지는 경향이었으나, 고추장 양념액 보다 간장 양념액에서의 pH 저하가 현저하였다. 간장 양념액의 경우는 4℃에서는 pH가 약간 변화하였으나 20℃에서 저장한 양념액은 비첨가구에서 pH가 5.50에서 3.39로 급격하게 낮아졌고 GSE 농도가 높을수록 pH의 저하가 작게 나타났다.

저장기간별 식중독균의 증식 변화

시판되는 간장과 고추장 양념액에서 식중독균인 *Sal. enteritidis*, *St. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*는 발견되지 않았다. Fig. 1(A)은 양념액에 인위적으로 *Sal. enteritidis*를 접종하고 4와 20℃에 저장하여 저장기간에 따른 식중독균 증식에 관한 것을 나타낸 것으로 간장 양념액은 GSE의 농도가 높을수록 효과가 현저하였지만 고추장 양념액은 모든 시험구에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 4℃의 간장 양념액은 GSE 비첨가구, 500 ppm과 1000 ppm 첨가구의 초기 균수는 각각 5.53 logCFU/g, 2.07 logCFU/g 그리고 검출되지 않았다. 20℃에서 4일간 저장한 2가지 양념액은 *Sal. enteritidis*가 검출되지 않았다. Fig. 1(B)는 양념액에 *St. aureus*를 접종하고 저장기간에 따른 변화를 나타낸 것이다. 4℃에 저장한 간장 양념액에서는 저장기간에 따른 생육변화가 나타나지 않았다. 4℃의 고추장 양념액에서 *St. aureus*는 GSE 비첨가구와 첨가구간에 차이가 없었으며, 저장 초기 6.5 logCFU/g에서 저장 14일째에 약 3.9 logCFU/g 수준까지 감소했다. 20℃의 간장 양념액에서 GSE 비첨가구는 저장 초기 5.80 logCFU/g에서 저장 10일째에는 균이 나타나지 않았다. GSE 500 ppm 첨가구는 저장 초기 4.36 logCFU/g 수준에서 저장 12일째에 균은 나타나지 않았다. GSE 1000 ppm 첨가구는 저장 초기 균수인 3.77 logCFU/g를 유지하였다. 그러나 20℃의 고추장 양념액에서 *St. aureus*의 생육은 GSE의 농도에 따른 차이가 나타나지 않았다. 4℃에 저장한 간장 양념액에서 *L. monocytogenes*는 저장 기간별로는 차이를 보이지 않았으나 GSE 농도별로는 차이가 있었다(Fig. 2(A)). 4℃에 저장한 고추장 양념액에서 저장기간이 경과하면서 균수는 완만한 감소를 보였으며, GSE 농도별로는 큰 차이를 보이지 않았다. 저장 초기는 간장 양념액에서와 같이 약 6.5 logCFU/g 수준에서 저장 14일째에 약 3.7 logCFU/g가 검출되었다. 20℃에 저장한 간장 양념액에서는 GSE의 농도별로

*L. monocytogenes*의 초기 균수 차이를 보였다. GSE 500 ppm과 1000 ppm 첨가구는 저장 초기 각각 4.99 logCFU/g, 3.12 logCFU/g에서 점차 감소하여 저장 14일째에 균이 검출되지 않았다. 20℃에 저장한 고추장 양념액에서도 간장에서와 마찬가지로 저장 8일째까지는 소폭 감소하는 경향을 보이다가, 급격히 감소하여 저장 10일째부터 균이 검출되지 않았다. 4℃에 저장한 간장 양념액에서 *E. coli* O157:H7의 증식을 Fig. 2(B)에 나타내었다. GSE 비첨가구와 GSE 1000 ppm 첨가구는 저장기간별로 균수변화가 나타나지 않았으나, GSE 500 ppm 첨가구는 저장기간이 경과함에 따라 균수가 줄어들었다. GSE 비첨가구에서 5.99 logCFU/g이었고, GSE 500 ppm 첨가구에서는 3.91 logCFU/g 수준을 유지하다가 저장 14일째에 균이 검출되지 않았다. GSE 1000 ppm 첨가구에서는 저장 초기부터 균이 검출되지 않았다. 4℃에 저장한 고추장 양념액에서는 다른 균들과 마찬가지로 GSE 농도별로는 큰 차이를 보이지 않았다. 저장 초기 약 6 logCFU/g에서 저장기간이 경과함에 따라 약 4 logCFU/g로 감소하였다. 20℃에 저장한 간장 양념액에서 *E. coli* O157:H7의 증식은 저장기간별로 많은 차이를 보였다. GSE 비첨가구에서는 저장 초기 5.99 logCFU/g에서 저장 10일째에는 균이 검출되지 않았다. GSE 500 ppm에서는 저장 4일째까지 약 3.8 logCFU/g 수준을 유지하다가 감소하였고, GSE 비첨가구에서는 4℃에서와 마찬가지로 처음부터 균이 검출되지 않았다. 본 연구자들은 GSE의 보존효과는 고추장 양념액 보다 간장 양념액에 대하여 직접적인 효과가 있음을 알 수 있었다. 저저장기간이 식중독균 증식에 큰 영향을 미치지 않은 이유는 양념액에서 유산균의 증식으로 인한 pH 저하와 유산균에 의해 생성된 항생물질 때문인 것으로 판단되어 앞으로 양념액으로부터 유산균의 분리와 동정이 필요하리라 생각된다.

Table 1. Change of pH in Kanjang paste during storage at 4 and 20℃ for 14 days

Storage temperature (℃)	Sample ¹⁾	Storage time (day)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
4℃	A	5.50	5.47	5.33	5.26	5.35	5.39	5.40	5.38
	B	5.49	5.51	5.48	5.45	5.49	5.47	5.47	5.47
	C	5.49	5.48	5.44	5.43	5.43	5.44	5.44	5.43
20℃	A	5.50	4.48	4.01	3.82	3.63	3.49	3.42	3.39
	B	5.52	5.47	5.27	4.44	4.11	3.79	3.68	3.60
	C	5.55	5.55	5.48	5.51	5.49	5.06	4.72	4.32

¹⁾ Kanjang paste added GSE; A: 0 ppm, B: 500 ppm, C: 1000 ppm.

Table 2. Change of pH in Kochujang paste during storage at 4 and 20°C for 14 days

Storage temperature (°C)	Sample ¹⁾	Storage time (day)							
		0	2	4	6	8	10	12	14
4°C	A	4.92	4.93	4.92	4.92	4.90	4.89	4.88	4.89
	B	4.93	4.92	4.91	4.91	4.89	4.88	4.89	4.90
	C	4.92	4.90	4.91	4.89	4.90	4.88	4.89	4.89
20°C	A	4.92	4.94	4.91	4.89	4.90	4.90	4.89	4.87
	B	4.93	4.92	4.92	4.91	4.92	4.92	4.90	4.88
	C	4.93	4.92	4.90	4.91	4.92	4.91	4.90	4.88

¹⁾ Kochujang paste added GSE; A: 0 ppm, B: 500 ppm, C: 1000 ppm.

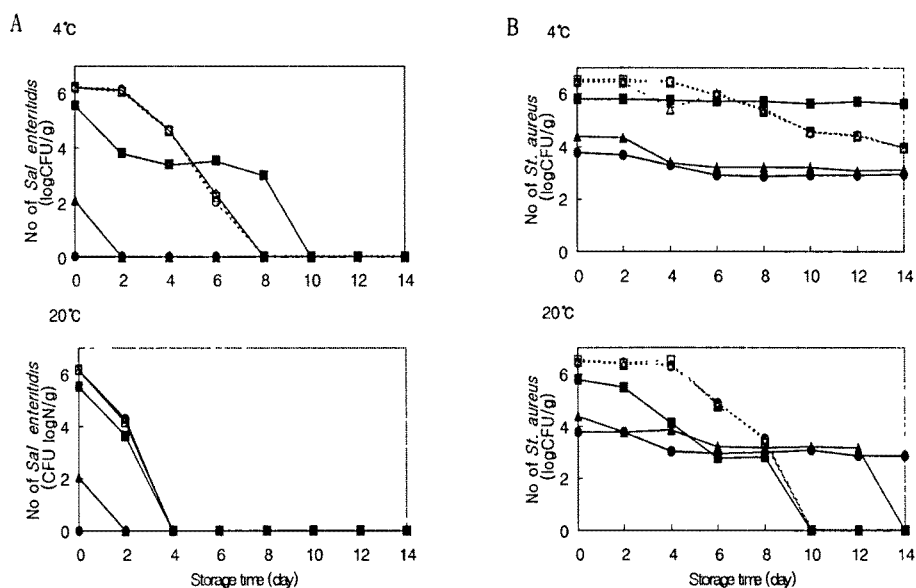


Fig. 1. Recovery of inoculated *Salmonella enteritidis* (A) and *Staphylococcus aureus* (B) in Kanjang paste and Kochujang paste by grapefruit seed extract during storage at 4 and 20°C.

■: *Kanjang* paste, ●: *Kanjang* paste added GSE 500 ppm, ▲: *Kanjang* paste added GSE 1000ppm, □: *Kochujang* paste, ○: *Kochujang* paste added GSE 500 ppm, △: *Kochujang* paste added GSE 1000 ppm.

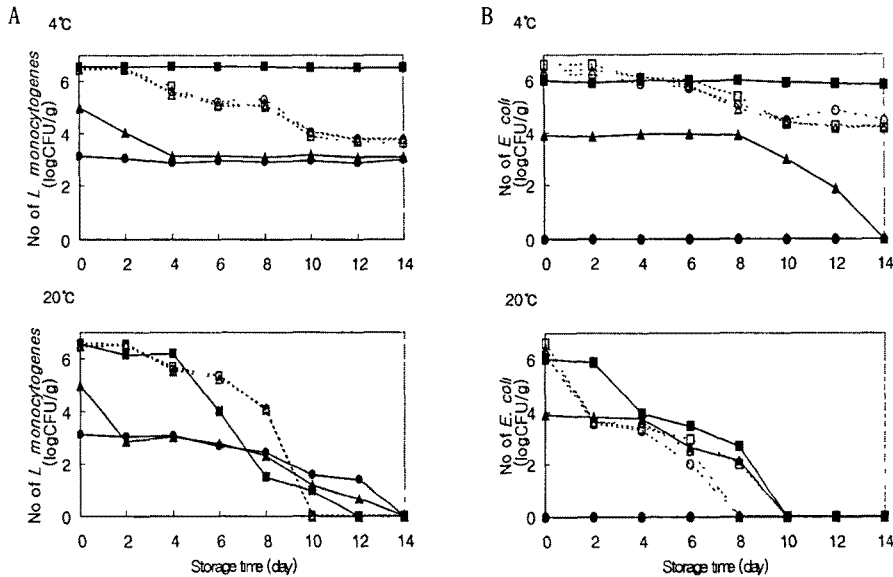


Fig. 2. Recovery of inoculated *Listeria monocytogenes* (A) and *Escherichia coli* O157:H7 (B) in Kanjang paste and Kochujang paste by grapefruit seed extract during storage at 4 and 20°C.

■: Kanjang paste, ▲: Kanjang paste added GSE 500 ppm, ●: Kanjang paste added GSE 1000ppm, □: Kochujang paste, △: Kochujang paste added GSE 500 ppm, ○: Kochujang paste added GSE 1000 ppm.

요 약

이 실험의 목적은 GSE 첨가가 간장과 고추장 양념액의 저장 조건에 따라 식중독균의 생육억제효과와 pH 변화를 조사하는데 있다. 저장 초기 비첨가구 경우에 간장 양념액의 pH는 5.50, 고추장 양념액은 4.92 이었으며, GSE 첨가에 따른 양념액의 pH는 거의 변화가 없었다. 저장기간에 따라 pH는 고추장 양념액 보다 간장 양념액에서 서서히 낮아졌다. 식중독균의 생육억제효과는 우선 20°C의 간장 양념액을 4°C와 비교해 볼 때 GSE 농도에 따라 균수가 변화하는 반면 4°C의 간장 양념액은 큰 변화가 없음을 알 수 있었다. 그러나 고추장 양념액의 경우는 온도와 GSE 농도에 따라 식중독균수의 차이가 나지 않았다.

참 고 문 헌

1. Jumaa M. et al. (2002) Euro. J. Pharm. Biopham., 53, 115-123.
2. Oh D.H. et al. (1999) J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 28, 100-106.
3. Shin D.H. et al. (1997) Kor. J. Food Sci. Technol., 29, 808-816
4. Kim C.H. et al. (1994) Kor. J. Food Sci. Resour., 14, 47-52
5. Kang H.J. et al. (2004) J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 33, 888-893
6. Kim H.Y. et al. (2003) Kor. J. Food Sci. Technol., 35, 429-435