

## *Listeria monocytogenes*에 대한 *Enterococcus faecalis* MJ-2130이 생산한 박테리오신과 유기산 혼합 처리의 항균활성

임성미

동명대학교 식품공학과

메주에서 분리된 *Enterococcus faecalis* MJ-213이 생산한 박테리오신 용액과 유기산의 혼합 처리에 의한 *Listeria monocytogenes* KCTC 3569의 항균효과를 조사하였다. 박테리오신 256 BU/ml 단독 처리에 의한 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 감소율은 약 32% 정도였으나, 박테리오신과 acetic acid 2.0%의 혼합 처리에 의해 약 80% 감소되었고, 혼합한 유기산 중에서 citric acid와 lactic acid 보다 acetic acid에 의해 더 높게 나타났다. 한편, acetic acid 1.5%와 박테리오신 128 BU/ml에 의해선 약 30% 정도 감소된 반면, 512 BU/ml와의 혼합 처리에 의해선 약 78% 정도 감소되었다. 또한 유기산과 박테리오신의 혼합처리시 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 초기 균수가 3 log CFU/ml인 경우 7 log CFU/ml일 때보다 감소율은 무려 2배 이상 증가되어 초기 균수가 적을수록 항균효과는 더 크게 나타났다. *L. monocytogenes* KCTC 3569의 증식과정 중 유독기에 acetic acid와 박테리오신을 혼합 처리한 경우 박테리오신 단독처리 때 보다 흡광도는 약 절반 정도에만 머물렀다. 시판 돈육 내에 존재하는 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 균수는 박테리오신 256 BU/ml 단독 처리한 경우 4°C에서 60시간 동안 약 1 log CFU/ml 감소되었으나, acetic acid와 혼합 처리에 의해선 약 2 log CFU/ml 감소되었다. 한편 가열 처리 전후 박테리오신 용액의 항균 활성에는 거의 변화가 없었다.

**Key words** □ bacteriocin, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, organic acid

야생동물의 장관 내와 토양 및 하수 등 다양한 자연 환경 내에 상재하고 있어 식품의 제조 가공 중에 오염될 기회가 많은 *Listeria monocytogenes*는 광범위한 온도 범위와 약산성 및 고농도의 식염 하에서 뿐만 아니라 항생물질에 대한 저항성이나 가열처리에도 생존율이 높다(10, 12). 숙주 세포 내로의 침투력과 증식력, 세포 표면 화합물이나 철화합물과 catalase 및 superoxide dismutase 등은 *L. monocytogenes*의 병원성에 영향을 주는 인자들로 알려져 있다(8). 또한 hemolysin을 생산하여 적혈구 세포를 파괴시키고 대식세포에 탐식된 후에도 생존하고 특히 T세포에 의한 면역력을 억제시킨다. 임산부, 신생아와 노인 및 약물중독자들에게 특히 위험하며 감염에 의해 패혈증과 뇌에 침투하여 뇌수막염을 유발하여 지각장애 및 보행 이상 등의 신경증상을 나타낸다(12). 연간 listeriosis 환자는 약 1,600명에 이르고 그 중 400~500명 정도가 사망하는 것으로 알려져 있어 치사율은 약 30%에 달한다(14).

*L. monocytogenes*의 제어를 위한 방법으로는 고압이나 가열처리, 수분활성도 조절, 방사선 조사 등의 물리적인 방법 이외에도 여러 가지 유기산(염)과 과산화수소 및 각종 유산균이 생산하는 박테리오신 처리에 의한 제균에 관한 연구가 많이 보고되고 있다(15, 20). 특히 *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus sake*, *Leuconostoc*

*mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus* 및 *P. acidilactici* 등의 균주가 생산하는 박테리오신은 효과적인 항리스테리아 활성을 나타내는 것으로 밝혀져 있다(16, 18, 28, 29). 박테리오신은 유산균이 생산하는 천연 단백질성 물질로서 광범위한 종류의 식중독균이나 부패균에 대한 항균작용이 알려지고 있어 발암이나 돌연변이 유발 가능성이 있는 화학합성품의 대체물질로 주목받고 있다. 박테리오신은 체내 단백질분해효소에 의해 쉽게 분해되므로 잔류성이 없고 GRAS (Generally Recognized As Safe) 물질로서 안전성이 입증되었으며 특히 가장 널리 알려진 nisin은 우리나라를 포함한 약 40여 개국에서 식품첨가물로서의 사용이 인정되어 있다. 최근에는 축산업계에서 축산물의 품질향상과 위해 미생물의 제어에 의한 안전성 확보를 위해서 그리고 생산 수율 향상을 위해 부분별하게 사용되어 온 항생제 남용에 의한 슈퍼박테리아 발생 등의 부작용에 대한 대체방안의 하나로 박테리오신의 산업적 이용 확대가 기대되고 있다(3). 하지만 박테리오신의 다량 생산 기술 개발이 미비한 실정이고 순수 분리 정제에 많은 비용이 소요되고 있으므로 산업적으로 적용하기에는 많은 문제점이 제기되고 있으므로 물리화학적 혼합처리에 의해 효과적인 유해균의 제어 방법을 모색하고자 한다.

본 연구에서는 활성이 높은 박테리오신 생산 균주를 검색하여 다른 항균물질과의 혼합처리에 의한 상승효과에 관한 연구 결과를 얻고자 전통 장류의 원료인 메주에서 분리된 *E. faecalis* MJ-213이 생산한 박테리오신 용액과 각종 유기산의 혼합 처리에 의한 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 항균효과를 조사하였다.

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 82-51-629-1714, Fax: 82-51-629-1709  
E-mail: limsm020@tu.ac.kr

## 재료 및 방법

### 박테리옌 제조 및 활성 측정

수집한 재래식 메주에서 분리된 유산균 중에서 형태학적, 생화학적 특성 및 API 50 CHL (BioMerieux, France)으로 당발효능을 조사하여 동정한 *E. faecalis* MJ-213 균주를 사용하였다. 사용균주는 MRS 액체배지에 접종하여 37°C에서 18시간 동안 배양하여 얻은 배양액을 원심분리(10,000×g, 20 min, 4°C)하여 회수한 상등액을 pH 6.5~7.0으로 조정된 후 황산암모늄(50%)을 첨가하였다. 원심분리하여 얻은 침전물에 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.0)를 첨가하여 spectra-por dialysis membrane (molecular weight cut-off, 1,000; Spectrum Medical Industries, Inc., CA, USA)으로 투석한 것을 박테리옌 용액으로 사용하였다. 한편, 박테리옌 용액에 protease (50 mM Tris-HCl, pH 7.5) 1 mg/ml를 첨가하고 37°C에서 2시간 반응시킨 후 박테리옌의 활성을 측정하여 박테리옌임을 확인하였다. 박테리옌의 항균 활성은 microtitre plate assay (17)로 측정하였다. 즉 24 well (BD Falcon, Franklin Lakes, NJ, USA)에 *L. monocytogenes* KCTC 3569 균주 배양액(약 10<sup>6</sup> CFU/ml)과 이진법으로 희석한 박테리옌 용액을 접종 배양 후 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) reader (Spectrocount, Packard Instruments, Meriden, CT, USA)로 660 nm에서 흡광도를 측정하여 대조구의 1/2에 해당하는 박테리옌 최대 희석배수의 역수를 bacteriocin unit (BU/ml)로 표시하였다.

### 박테리옌과 유기산의 혼합처리에 의한 항균효과

#### 박테리옌과 유기산 첨가량에 따른 *L. monocytogenes*의 균수 변화

*L. monocytogenes* KCTC 3569의 초기 균수를 약 5 log CFU/ml로 조정된 BHI broth (100 ml)에 박테리옌 용액의 최종 농도 256 BU/ml와 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid를 각각

0.5, 1.0 및 2.0%의 농도로 첨가하여 37°C에서 12시간 배양한 다음 Oxford agar 배지를 사용하여 표준천평판배양법으로 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 감균 효과를 조사하였다. 한편 유기산의 농도 1.5%와 박테리옌 용액의 최종 농도 128, 256 및 512 BU/ml의 처리에 의한 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 감소율을 조사하였다.

#### *L. monocytogenes*의 초기균수에 따른 균수 변화

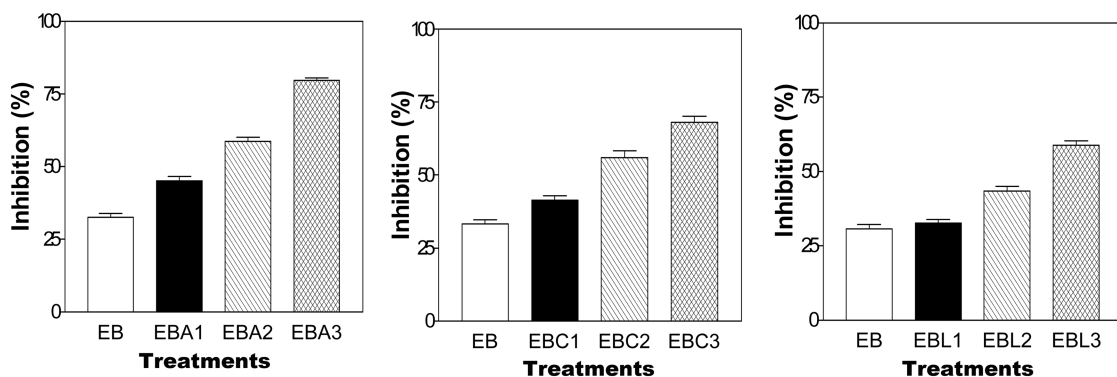
*L. monocytogenes* KCTC 3569의 초기 균수를 약 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0 log CFU/ml로 조정된 BHI broth에 박테리옌 용액의 최종 농도 256 BU/ml와 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid를 1.5%의 농도로 첨가한 다음 37°C에서 12시간 배양하여 생균수를 측정하여 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 균수를 대조구와 비교하여 감소율을 조사하였다.

#### 박테리옌 첨가시기에 따른 *L. monocytogenes*의 증식도 변화

*L. monocytogenes* KCTC 3569 전 배양액의 1% (vol/vol)를 BHI broth에 접종한 후 37°C에서 24시간 동안 배양하는 동안 3시간 간격으로 배양액의 흡광도를 660 nm에 측정하였고, 한편 유도기, 대수기 및 정지기에 도달했을 때 박테리옌 용액의 최종 농도 256 BU/ml와 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid를 1.5%의 농도로 첨가한 다음 흡광도의 변화를 조사하였다.

#### 시판 돈육에 적용한 항균효과

시판 돈육에 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 균수를 약 5 log CFU/ml를 접종한 후 박테리옌 용액의 최종 농도 256 BU/ml와 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid를 1.5%의 농도로 첨가한 후 4°C에서 60시간 저장하는 동안 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 균수 변화를 조사하였다. 또한 박테리옌 용액을 100°C에서 20분간 가열처리한 후 같은 조건으로 첨가하여 가열처리에 의한 박테리옌의 활성 변화를 조사하였다.



**Fig. 1.** The degree of growth inhibition of *L. monocytogenes* KCTC 3569 when cultured at 37°C for 12 h in BHI broth containing different levels of organic acid and the bacteriocin of *E. faecalis* MJ-213.

EB, 256 BU/ml bacteriocin; EBA1, EBA2, EBA3, contained 0.5, 1.0, and 2.0% acetic acid, respectively, and 256 BU/ml bacteriocin; EBC1, EBC2, EBC3, contained 0.5, 1.0, and 2.0% citric acid, respectively, and 256 BU/ml bacteriocin; EBL1, EBL2, EBL3, contained 0.5, 1.0, and 2.0% lactic acid, respectively, and 256 BU/ml bacteriocin.

**결과 및 고찰**

**박테리옌과 유기산 첨가량에 따른 *L. monocytogenes*의 균수 변화**

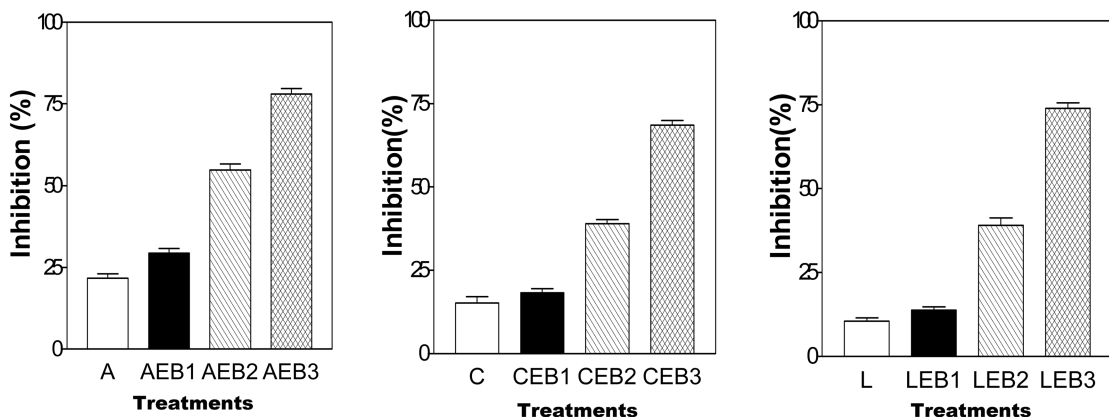
*E. faecalis* MJ-213가 생산하는 박테리옌 용액의 최종 농도 256 BU/ml와 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid를 각각 0.5, 1.0 및 2.0% 처리에 의한 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 균수 감소율을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 박테리옌 256 BU/ml 단독 처리에 의한 감소율은 약 32% 정도였으나, 박테리옌과 acetic acid 2.0%의 혼합 처리에 의해선 약 80%, citric acid 혹은 lactic acid 2.0%와의 혼합 처리에 의해선 각각 68%와 59% 감소 되었으므로 사용된 유기산 중에서 항균효과는 acetic acid가 가장 높게 나타났다. 물론 유기산의 농도가 증가될수록 균수 감소 효과도 비례적으로 증가되었다.

한편 유기산의 농도 1.5%와 박테리옌 용액의 최종 농도 128, 256 및 512 BU/ml의 처리에 의한 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 감소율을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. Acetic acid와 citric acid 및 lactic acid 각각의 단독처리에 의한 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 균수는 10~20% 정도로서 이 중에서 lactic acid에 의한 감소 효과가 가장 낮았고 acetic acid에 의한 효과가 가장 높게 나타났다. 그리고 acetic acid 1.5%와 박테리옌 128 BU/ml에 의해선 약 30% 정도 감소된 반면, 512 BU/ml의 혼합 처리에 의해선 약 78% 정도 감소되었다. Citric acid 1.5%와 박테리옌 256 BU/ml의 혼합 처리에 의해선 약 39% 감소되었고 박테리옌 512 BU/ml에 의해선 이보다 약 2 배 가량 증가된 항균 효과가 나타났다. 박테리옌 512 BU/ml와 lactic acid 1.5% 처리에 의한 항균 효과는 acetic acid 1.5%를 처리했을 때와 비슷한 수준으로 나타났다.

*L. monocytogenes* 제어를 위한 목적으로 흔히 사용되는 보존제로서 acetic acid, benzoic acid 및 lactic acid와 같은 각종 유

기산이나 sodium lactate, sodium diacetate, potassium benzoate 및 potassium sorbate 같은 유기산염이 알려져 있다(4, 30, 32, 33). 특히 항산화제, 산미부여 등의 효과가 있어 식품가공에 널리 사용되고 있는 유기산은 비해리된 분자가 이온화하면서 세포 내로 수송되어 세포의 pH를 변화시켜 세포 내 효소의 변성을 초래한다. 뿐만 아니라 세포막의 투과성을 변화시켜 기질이동을 방해하고, 양자운용력(proton motive force, pmf)의 감소와 미생물 성장에 필수적인 금속이온의 킬레이트화 및 NADH 산화를 막아 전자전달계를 변화시켜 항균효과를 나타내는데 이러한 항균력은 유기산의 분자구조, 크기, pKa 값 및 세균의 종류에 따라 다양하게 나타나는 것으로 알려져 있다(11, 13). Nikaido (21)은 그람 음성균의 세포벽은 단당류, 아미노산, 뉴클레오시드 및 알칼리이온과 같은 친수성 저분자물질의 유입을 방해하는 소수성의 외막 구조물로 이루어져 있으므로 유기산 분자가 통과하기 어렵다고 보고한 바 있다. 하지만 Raybaudi-Massilia *et al.* (26)의 연구에 의하면 그람양성균의 세포벽은 펩티도글리칸층만으로 되어 있으므로 *L. monocytogenes*는 *S. enteritidis*와 *E. coli* O157:H7 보다 malic acid에 대한 저항성이 약하다고 하였다. 공 등(1)에 의하면 *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대한 lactic acid, citric acid 및 acetic acid의 최소저해농도는 각각 2500, 5000 및 1250  $\mu$ g/ml였다고 보고한 반면 안과 신(2)에 따르면, *L. monocytogenes* ATCC 19113은 0.1% propionic acid, tartaric acid 및 lactic acid에 의해 뚜렷한 증식 저해 효과를 나타내었으나, 0.1% citric acid와 acetic acid는 비교적 효과가 적었다고 보고하여 본 연구결과와 다소 차이가 있었는데 이는 사용 균주와 사용한 유기산 농도의 차이에 기인하는 것으로 여겨진다.

한편 *L. plantarum*이 생산한 박테리옌 plantaricin L-1에 의해 *L. monocytogenes*의 세포 내 칼륨이온과 무기인산, 탈수소효소 및 ATP 유출로 인하여 막전위( $\Delta\Psi$ )와 pH 구배(pH) 및 pmf의 구성성분이 파괴된다고 보고되었다(7, 31). 또한 *P.*



**Fig. 2.** The degree of growth inhibition of *L. monocytogenes* KCTC 3569 when cultured at 37°C for 12 h in BHI broth containing different levels of the bacteriocin and organic acid of *E. faecalis* MJ-213.

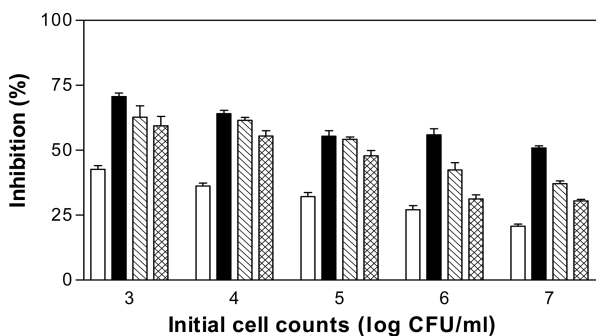
A, 1.5% acetic acid; AEB1, AEB2, AEB3, contained 128, 256, and 512 BU/ml bacteriocin, respectively, and 1.5% acetic acid; C, citric acid 1.5%; CEB1, CEB2, CEB3, contained 128, 256, and 512 BU/ml bacteriocin, respectively, and citric acid 1.5%; L, lactic acid 1.5%; LEB1, LEB2, LEB3, contained 128, 256, and 512 BU/ml bacteriocin, respectively, and lactic acid 1.5%.

*acidilactici*가 생산한 박테리오신에 의해서도 *L. monocytogenes*의 세포벽이 파괴되어 세포내용물이 유출되었다고 하였다(16).

박테리오신과 유기산(염)의 혼용 처리에 의한 상승효과로 인해 기존의 합성 보존료의 대체 가능성에 관해 많은 연구들이 진행되고 있다(6, 23). Olasupo *et al.* (24)에 따르면 nisin과 cinnamic acid의 혼합 처리에 의해 *L. innocua*와 *Bacillus subtilis*에 대한 상승효과가 나타났다고 보고하였다. Al-Holy *et al.* (5)은 citric acid 단독 처리에 의한 *L. innocua*의 증식 억제 효과는 한정적이었고 또한 nisin의 단독처리에 의해서 *L. innocua*의 균수가 초기에는 약 3 log CFU/ml 감소되는 경향을 보이다가 22에서 5일 후에는 대조구와 거의 비슷한 수준의 균수를 유지하였다. 그러나 nisin 500 IU/ml과 citric acid 0.2%의 혼합 처리에 의해서 *L. innocua*를 완전하게 사멸시켰다고 보고하였다. Pediocin K1을 citric acid와 혼합 처리한 경우에도 단독 처리에 비해 유도기가 연장되고 생균수도 서서히 감소되기 시작하여 배양 30시간 후 약 2 log CFU/ml 이상 감소되었다고 보고한 바 있다(19). 또한 유기산 단독처리 시에는 항균 효과가 낮은 *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*와 같은 그람음성균들도 lactic acid와 nisin의 혼합 처리에 의해 균 감소 효과가 뚜렷하게 나타났다고 알려졌다(22).

#### *L. monocytogenes*의 초기균수에 따른 항균 효과

서로 다른 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 초기 균수에 박테리오신 용액 256 BU/ml와 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid를 1.5%의 농도 처리했을 때 대조구와 비교하여 감소율을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. *L. monocytogenes* KCTC 3569의 초기 균수가 약 3 log CFU/ml인 경우 박테리오신 256 BU/ml 단독 처리했을 때 감소율은 약 43%에 이르렀고 초기 균수가 증가할수록 감소율은 감소되어 초기 균수가 약 7 log CFU/ml인 경우 감소율은 불과 20% 정도로만 나타났다. 또한 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid와 박테리오신의 혼합 처리에 의해서도 초기 균수 3 log CFU/ml인 경우가 7 log CFU/ml일 때보다 균수 감소율이 훨씬 더 높게 나타났다.



**Fig. 3.** Effect of initial cell counts of *L. monocytogenes* KCTC 3569 on antimicrobial activity of organic acid and/ or the bacteriocin produced by *E. faecalis* MJ-213.

(□), bacteriocin 256 BU/ml; (■), acetic acid 1.5% and bacteriocin 256 BU/ml; (▨), citric acid 1.5% and bacteriocin 256 BU/ml; (▩), lactic acid 1.5% and bacteriocin 256 BU/ml.

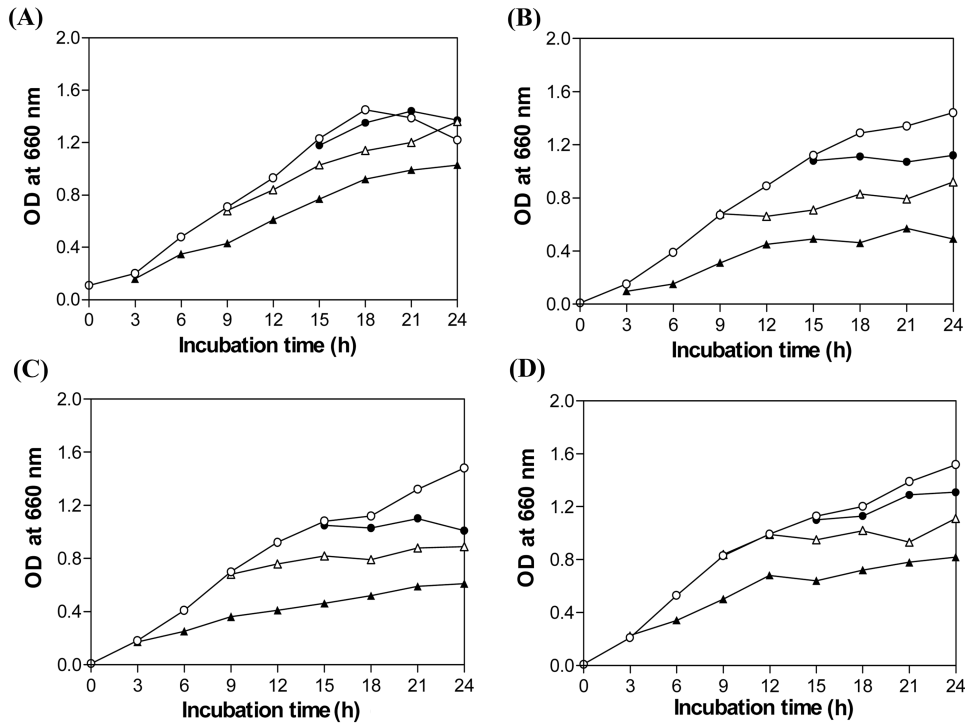
#### 박테리오신 첨가시기에 따른 *L. monocytogenes*의 증식도 변화

*L. monocytogenes* KCTC 3569의 유도기, 대수기 및 정지기 단계에 박테리오신 용액 256 BU/ml 및 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid 1.5%의 첨가에 의한 흡광도 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 박테리오신 256 BU/ml만을 *L. monocytogenes* KCTC 3569의 유도기에 첨가한 경우 대조구에 비해서 증식 속도는 다소 늦었으나, 배양시간이 경과함에 따라 균은 서서히 증가하여 24시간 후에 정지기에 도달하였다. 한편 대수기에 첨가한 경우에는 유도기에 첨가했을 때보다 더 빨리 정지기에 도달하였으며, 정지기에 첨가했을 때 대조구와 비슷한 흡광도를 나타내었다. 하지만 박테리오신과 유기산을 혼합 처리한 직후 배양시간 동안 흡광도의 증가 속도는 박테리오신 단독 처리에 비해 낮았고, 특히 유도기에 acetic acid와 혼합 처리한 경우 박테리오신 단독처리 때 보다 24시간 후 흡광도는 약 절반 정도에 머물렀다. 본 결과와 유사하게 *L. lactis* CNRZ481이 생산하는 lactacin 481도 대수증식기에 있는 지시균주의 증식은 강하게 억제하였지만, 정지기 이후에 있는 세포의 증식 억제효과는 약하게 나타났다고 하였는데 이는 정지기 상태에 있는 세포는 외부 자극에 대한 저항성이 강하기 때문이라고 보고하였다(25).

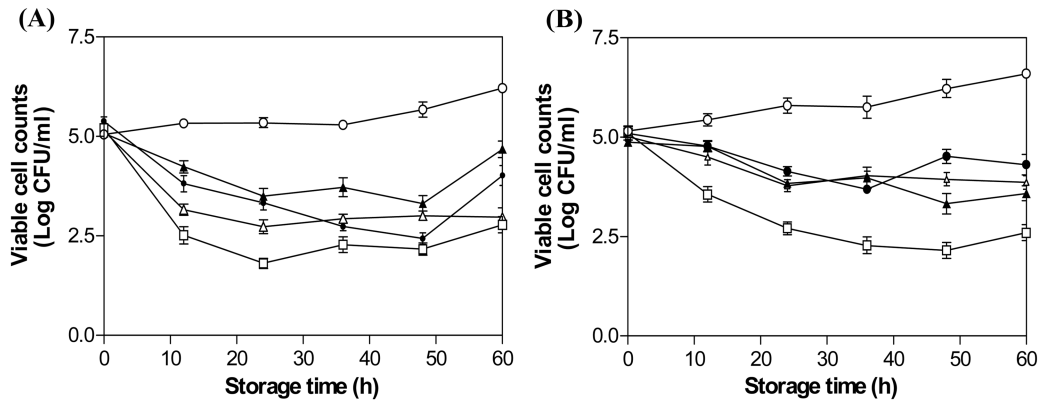
#### 시판 돈육에 적용한 항균효과

시판 돈육에 *L. monocytogenes* KCTC 3569를 접종한 후 박테리오신 용액 256 BU/ml와 acetic acid, citric acid 혹은 lactic acid를 1.5%의 농도로 첨가한 후 4°C에서 60시간 저장하는 동안 균수 변화를 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. 초기 균수가 약 5 log CFU/ml인 *L. monocytogenes* KCTC 3569를 4°C에서 60시간 저장하는 동안 약 1.5 log CFU/ml 증가되어 저온에서도 증식이 가능한 것으로 밝혀졌다. 그러나 박테리오신 256 BU/ml 단독 처리한 경우 약 1 log CFU/ml 정도 감소되었고, 유기산들과의 혼합 처리에 의해서 단독처리 보다 감소 효과가 증가되어 acetic acid와 혼합 처리에 의해서 60시간 후에 초기 균수보다 약 2 log CFU/ml 감소되었고, citric acid 및 lactic acid와의 혼합 처리에 의해서도 약 1 log CFU/ml 이상 감소 효과를 나타내었다. 한편 박테리오신 용액을 100°C에서 20분간 가열 처리한 후 박테리오신만을 단독 처리했을 때의 항균 효과는 가열 처리하지 않은 박테리오신의 활성과 거의 유사하게 나타났으므로 *E. faecalis* MJ-213이 생산하는 박테리오신은 *L. lactis* DPC 3147이 생산한 lactacin 3147처럼 열에 비교적 안정한 것으로 나타났다(27). 하지만 동일한 농도의 박테리오신 용액을 액체배지와 시판 돈육에 처리했을 때의 항균효과는 현저한 차이가 있었는데 시판 돈육에서의 항균활성은 액체배지 보다 훨씬 낮게 나타났다.

Bari *et al.* (6)에 의하면 양배추와 브로콜리 내에 존재하는 *L. monocytogenes* 균수는 nisin (50 µg/ml), pediocin (100 AU/ml) 및 phytic acid (0.02%)의 혼합 처리에 의해 효과적으로 감소되었다고 보고하고 있다. Scannell *et al.* (27)은 lactacin 3147이나 nisin과 유기산의 혼합 처리에 의해서 *Salmonella* Kentucky와 *L. innocua*에 대한 항균 활성이 강화되었고 돈육 소시지 내에 있는



**Fig. 4.** Growth curves of *L. monocytogenes* KCTC 3569 by addition of organic acid and/or the bacteriocin of *E. faecalis* MJ-213 to the growing cultures at different phase. (○), control; (●), (△), and (▲), are with addition of (A), 256 BU/ml bacteriocin; (B), 256 BU/ml bacteriocin and 1.5% acetic acid; (C), 256 BU/ml bacteriocin and 1.5% citric acid; (D), 256 BU/ml bacteriocin and 1.5% lactic acid, respectively.



**Fig. 5.** The inhibitory effect of the bacteriocin of *E. faecalis* MJ-213 and/or organic acid against *L. monocytogenes* KCTC 3569 in ground pork at refrigerated storage. (○), control; (▲), non-heated bacteriocin (A) or 256 BU/ml heated bacteriocin (B); (□), 256 BU/ml bacteriocin and 1.5% acetic acid; (●), 256 BU/ml bacteriocin and 1.5% citric acid; (-), 256 BU/ml bacteriocin and 1.5% lactic acid.

*Clostridium perfringens*의 사멸에도 효과적이어서 소시지 보존제인 sodium metabisulfite의 대체물질로서의 가능성에 대해 보고한 바 있다. 훈연 생선에 nisin과 sodium lactate를 혼합 처리한 경우 8°C에서 16일 후 균수는 3.26 log CFU/ml에서 1.80 CFU/ml로 감소되었으며 이때 이들 항균물질의 처리에 의한 훈연 생선의 풍미에는 아무런 영향을 미치지 않았다고 보고하였다(23). 한편, 돈육에 적용한 박테리옌의 항균 효과가 액체매지에서 보다 다소 감소하는 것은 식품 자체에 함유된 고분자 물질과 박테리

옌의 결합으로 인한 용해성 저하 혹은 단백질분해효소에 의한 박테리옌 분해 등으로 인해 항균 효과가 다소 감소하는 것으로 알려져 있다(9).

따라서 본 연구에서는 저온성 식중독균인 *L. monocytogenes*에 대한 항균활성을 나타내는 *E. faecalis* MJ-213이 생산하는 박테리옌과 유기산의 혼합 처리에 의한 상승효과를 확인한 결과, 박테리옌과 유기산의 혼합 처리에 의한 항균 활성은 첨가한 박테리옌과 유기산의 농도 및 *L. monocytogenes*의 초기 균수

및 식품 내에 존재하는 성분에 영향을 받는다는 것을 확인하였고, 이들 박테리오킨과 유기산의 혼합 처리는 식중독균이나 부패균의 생육 저해에 효과적인 혼합 보존제(hurdle technology)로서의 사용이 가능할 것으로 기대된다.

### 참고문헌

1. 공영준, 박부길, 오덕환. 2001. 식중독균에 대한 신갈나무 잎 추출물과 유기산의 항균효과. 한국식품과학회지 33, 178-183.
2. 안용선, 신동화. 1999. 식중독 미생물에 대한 유기산 및 에탄올의 항균활성 비교연구. 한국식품과학회지 31, 1315-1323.
3. 이나경, 이주연, 곽형근, 백현동. 2008. 축산업 분야에서의 박테리오킨의 산업적 이용 및 향후 전망. 한국축산식품학회지 28, 1-8.
4. Akbas, M.Y. and H. Olmez. 2007. Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* on iceberg lettuce by dip wash treatments with organic acids. *Lett. Appl. Microbiol.* 44, 619-624.
5. Al-Holy, M., H. Al-Qadiri, M. Lin, and B. Rasco. 2006. Inhibition of *Listeria innocua* in hummus by a combination of nisin and citric acid. *J. Food Prot.* 69, 1322-1327.
6. Bari, M.L., D.O. Ukuku, T. Kawasaki, Y. Inatsu, K. Isshiki, and S. Kawamoto. 2005. Combined efficacy of nisin and pediocin with sodium lactate, citric acid, phytic acid, and potassium sorbate and EDTA in reducing the *Listeria monocytogenes* population of inoculated fresh-cut produce. *J. Food Prot.* 68, 1381-1387.
7. Bruno, M.E.C. and T.J. Montville. 1993. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 3003-3010.
8. Charkraborty, T. and W. Goebel. 1988. Recent developments in the study of virulence in *Listeria monocytogenes*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 138, 41-48.
9. Degnan, A.J., N. Buyong, and J.B. Luchansky. 1993. Antilisterial activity of pediocin ACH in model food systems in the presence of an emulsifier or encapsulated within liposomes. *Int. J. Food Microbiol.* 18, 127-138.
10. Dieterich, G., U. Karst, E. Fischer, J. Wehland, and L. Jansch. 2006. LEGER: knowledge database and visualization tool for comparative genomics of pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. *Nucleic Acids Res.* 34, D402-D406.
11. Eswaranandam, S., N.S. Hettiarachchy, and M.G. Johnson. 2004. Antimicrobial activity of citric, lactic, malic, or tartaric acids and nisin-incorporated soy protein film against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella gaminara*. *J. Food Sci.* 69, 79-84.
12. Farber, J.M. and P.I. Peterkin. 1991. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.* 55, 476-511.
13. Freese, E., C.W. Sheu, and E. Galliers. 1973. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature* 241, 321-325.
14. Gellin, B.G. and C.V. Broome. 1989. *Listeriosis*. *JAMA.* 261, 1313-1320.
15. Gravesen, A., Z. Diau, J. Voss, B.B. Budde, and S. Knochel. 2004. Differential inactivation of *Listeria monocytogenes* by D- and L-lactic acid. *Lett. Appl. Microbiol.* 39, 528-532.
16. Heo, S., S.K. Lee, C.H. Lee, S.G. Min, J.S. Park, and H.Y. Kim. 2007. Morphological changes induced in *Listeria monocytogenes* V7 by a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17, 663-667.
17. Holo, H., O. Nilssen, and I.F. Nes. 1991. Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: isolation and characterization of the protein and its gene. *J. Bacteriol.* 173, 3879-3887.
18. Iseppi, R., F. Pilati, M. Marini, M. Toselli, De S. Niederhausern, F. Guerrieri, P. Messi, C. Sabia, G. Manicardi, I. Anacarso, and M. Bondi. 2008. Anti-listerial activity of a polymeric film coated with hybrid coatings doped with Enterocin 416K1 for use as bioactive food packaging. *Int. J. Food Microbiol.* 30, 281-287.
19. Kim, S.Y., Y.M. Lee, S.Y. Lee, Y.S. Lee, J.H. Kim, C. Ahn, B.C. Kang, and G.E. Ji. 2001. Synergistic effect of citric acid and pediocin K1, a bacteriocin produced by *Pediococcus* sp. K1, on inhibition of *Listeria monocytogenes*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 11, 831-837.
20. Lu, Z., J.G. Sebranek, J.S. Dickson, A.F. Mendonca, and T.B. Bailey. Application of predictive models to estimate *Listeria monocytogenes* growth on frankfurters treated with organic acid salts. *J. Food Prot.* 68, 2326-2332.
21. Nikaido, H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67, 593-656.
22. Nykanen, A., S. Vesanen, and H. Kallio. 1998. Synergistic antimicrobial effect of nisin whey permeate and lactic acid on microbes isolated from fish. *Lett. Appl. Microbiol.* 27, 345-348.
23. Nykanen, A., K. Weckman, and A. Lapvetelainen. 2000. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked rainbow trout by nisin and sodium lactate. *Int. J. Food Microbiol.* 61, 63-72.
24. Olasupo, N.A., D.J. Fitzgerald, A. Narbad, and M.J. Gasson. 2004. Inhibition of *Bacillus subtilis* and *Listeria innocua* by nisin in combination with some naturally occurring organic compounds. *J. Food Prot.* 67, 596-600.
25. Piard, J.C., F. Delorme, G. Giraffa, J. Commissaire, and M. Desmazeaud. 1990. Evidence for a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* CNRZ481. *Neth. Milk Dairy J.* 44, 143-158.
26. Raybaudi-Massilia, R.M., J. Mosqueda-Melgar, and O. Martin-Belloso. 2009. Antimicrobial activity of malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in apple, pear and melon juices. *Food Control* 20, 105-112.
27. Scannell, A.G., R.P. Ross, C. Hill, and E.K. Arendt. 2000. An effective lacticin biopreservative in fresh pork sausage. *J. Food Prot.* 63, 370-375.
28. Shin, M.S., S.K. Han, J.S. Ryu, K.S. Kim, and W.K. Lee. 2008. Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* K23-2 isolated from *Kimchi*. *J. Appl. Microbiol.* 105, 331-339.
29. Trias, R., E. Badosa, E. Montesinos, and L. Baneras. 2008. Bio-protective *Leuconostoc* strains against *Listeria monocytogenes* in fresh fruits and vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 127, 91-98.
30. Van Boeijen, I.K., R. Moezelaar, T. Abee, and M.H. Zwietering. 2008. Inactivation kinetics of three *Listeria monocytogenes* strains under high hydrostatic pressure. *J. Food Prot.* 71, 2007-2013.
31. Zhou, W., G.R. Liu, P.L. Li, Y.Q. Dai, and K. Zhou. 2007. Mode of action of plantaricin L-1, and antilisteria bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. *Wei. Sheng Wu. Xue Bao.* 47, 260-264.
32. Zhu, M.J., A. Mendonca, H.A. Ismail, and D.U. Ahn. 2008. Effects of irradiation on survival and growth of *Listeria monocytogenes* and natural microflora in vacuum-packaged turkey hams and breast rolls. *Poult Sci.* 87, 2140-2145.

33. Zuliani, V., I. Lebert, J.C. Augustin, P. Garry, J.L. Vendeuvre, and A. Lebert. 2007. Modelling the behaviour of *Listeria monocytogenes* in ground pork as a function of pH, water activity, nature and concentration of organic acid salts. *J. Appl. Microbiol.* 103, 536-

550.

(Received November 13, 2008/Accepted January 1, 2009)

---

**ABSTRACT : Combined Effects of Bacteriocin of *Enterococcus faecalis* MJ-213 and Organic Acid on *Listeria monocytogenes* Inactivation**

**Sung-Mee Lim** (Department of Food Science and Technology, Tongmyong University, Busan 608-735, Republic of Korea)

In this study, the effect of combining organic acid and bacteriocin of *E. faecalis* MJ-213 isolated from Meju against *L. monocytogenes* KCTC 3569 growth in BHI broth and ground pork was investigated. In combination, the effects of 256 BU/ml bacteriocin and 1.5% acetic acid, citric acid or lactic acid were synergistic and effective than those compounds alone in controlling the viable cell counts of *L. monocytogenes*. The addition of increasing concentrations of the bacteriocin or organic acids led to a marked decrease in the number of *L. monocytogenes*. The combining treatment of the bacteriocin (256 BU/ml) and organic acid (1.5%) in ground pork inoculated with *L. monocytogenes* (5 log CFU/ml) resulted in 1 to 2 log CFU/ml reduction of cell counts during storage at 4°C for 60 h. Also, the bacteriocin of *E. faecalis* MJ-213 was relatively stable at 100°C for 20 min.