

화분발효물을 함유한 *Gelidium corneum* - 젤라틴 혼합필름의 항균활성과 돈육의 포장재 적용

홍윤희 · 임금옥 · 송경빈*
충남대학교 식품공학과

Antimicrobial Activity of a *Gelidium corneum* - Gelatin Blend Film Containing Fermented Pollen Extract and Its Application in the Packaging of Pork Loins

Yun-Hee Hong, Geum-Ok Lim, and Kyung Bin Song*

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

Gelidium corneum - gelatin (GCG) blend films containing fermented pollen extract (FPE) were prepared and used as a packaging material of pork loins. Water vapor permeability (WVP) of the film containing FPE was better than the control film, and the film's antimicrobial activity against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* increased with increasing FPE concentration. Addition of 0.15% FPE decreased the populations of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* by 2.98 and 3.68 Log CFU/g, respectively, compared to the control. Pork loin samples were inoculated with *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* and packed with the film. The samples packed with the GCG film containing 0.15% FPE had a decrease in the populations of *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* by 1.49 and 1.01 Log CFU/g after 4 d of storage, respectively, compared to the control. The results suggested that shelf life of the pork loins could be extended by packaging with the GCG film containing 0.15% FPE.

Key words : *Gelidium corneum*, gelatin, fermented pollen extract, pork loins

서 론

생분해성 고분자 물질을 이용하여 제조한 환경 친화적인 가식성 필름은 항균제, 항산화제, 영양성분, 색소와 같은 첨가물에 의한 기능성 부여가 용이하기에 그와 관련된 연구가 활발히 진행되고 있다(Ou *et al.*, 2005). 특히, 냉장식품과 신선편의 식품에서 식중독 발생이 증가함에 따라 항균 식품 포장재의 관심이 증대되고 있다(Gemili *et al.*, 2009). 가식성 필름에 사용되는 항균제는 유기산, 박테리오신, 향신료 추출물, 카테킨, 자몽종자추출물 등이 있다(Ku *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2006).

화분은 단백질, 탄수화물, 지방, 비타민, 무기질 등이 풍부하고 영양, 생리적 기능이 뛰어난 물질로써 예로부터 식품이나 의약품의 소재로써 사용되었고, 그 항균효과도 보

고되었다(Basim *et al.*, 2006; Choi and Jeong, 2004; Choi *et al.*, 2007). Noh 등(1997)은 화분으로부터 유산균에 의해 특수한 항균물질을 생성하여 부패균 및 병원성균의 성장을 억제하는 화분발효물에 대해 보고하였고, 또한 Choi 등(2007)은 식품 유해균에 대한 화분발아액의 항균활성을 측정하였는데, 발아에 의한 항균물질을 보고함으로써 천연항균제의 활용 가능성을 보였다.

*Gelidium corneum*은 복합다당류인 agar를 함유하고 있는데, agar는 풍부한 식이섬유원과 칼슘 및 철분이 풍부해 다이어트 소재로 많이 사용되고 있으나 가식성 필름에 관한 연구가 미비하기에 필름 제조 최적조건 설정과 식품적 용에 관한 연구가 필요하다(Ku *et al.*, 2007). 또한, 젤라틴은 가격이 저렴하고 뛰어난 기능성과 필름 형성능을 갖고 있어 생분해성 가식성 필름의 원료로 많이 사용되고 있다(Thomazine *et al.*, 2005).

육제품은 저장 기간 동안 이화학적 변화에 의해 부패하기 쉬운 식품으로 특히, 미생물에 의한 오염은 육제품의 부패를 촉진시켜 저장 유통 기한을 단축시킨다(Lee *et al.*,

*Corresponding author : Kyung Bin Song, Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea. Tel: 82-42-821-6723, Fax: 82-42-825-2664, E-mail: kbsong@cnu.ac.kr

2003). *E. coli* O157:H7와 *L. monocytogenes*는 심각한 질병을 유발하는 주요 병원성균이며, *L. monocytogenes*는 열저항성이 강하고 저온에서도 증식하는 능력을 가지므로 육제품의 미생물학적 안전성 확보가 필요함을 시사한다 (Stopforth *et al.*, 2007; Trivedi *et al.*, 2008).

따라서 본 연구에서는 항균제인 화분발효물이 첨가된 *Gelidium corneum*-젤라틴 혼합필름을 제조하여 필름의 투습계수(WVP)와 항균활성 측정 및 저장 중 가식성 필름포장이 돈육의 *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes*에 대해 미치는 영향을 연구하여 이에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험 재료

*Gelidium corneum*은 제주도 산으로 모래와 이물질 등을 제거하기 위해 세척하여 오존 가스를 8.5 g/h 발생하여 1차 표백을 한 후, 5% 이산화염소를 사용하여 60°C에서 90분간 표백하였다. 표백된 *Gelidium corneum*은 건조하여 믹서기를 이용하여 일정 사이즈로 절단하여 200 mesh 크기의 분말을 제조한 후 사용하였다. 젤라틴(gelatin)과 가스제인 글리세롤은 Aldrich사(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였고, 화분발효물(Phyollen-G)은 (주)에스엔텍(Sungnam, Korea)의 제품을 사용하였다. 돈육(등심)은 대전 소재 H마트에서 시판되고 있는 제품을 구입하였고, 구입 즉시 실험하였다.

필름 용액의 제조

필름 용액은 증류수 100 mL에 0.75%의 *Gelidium corneum* 분말과 5%의 젤라틴을 넣고, 가스제인 글리세롤을 2.5% 첨가하여 충분히 혼합한 후 90°C에서 30분간 처리 하였다. 처리 후, 화분발효물 0, 0.05, 0.10, 0.15%을 첨가하여 혼합시켰다.

필름 제조 및 건조

Gelidium corneum -젤라틴 혼합 필름(GCG 필름) 용액을 cheese cloth를 이용하여 거른 뒤 Teflon 필름으로 코팅한 수평의 유리판(24 cm×30 cm)에 두께가 균일하게 GCG 필름 용액 80 mL을 부은 후 실온에서 48시간 건조 시켰다. 건조된 필름은 2 cm×2 cm 크기로 절단 하였다.

필름의 두께

절단한 필름 조각은 25°C, 50%의 상대 습도로 조절된 항온 항습기에서 2일간 저장하여 수분 함량을 조절 한 뒤 사용하였다. 각 필름 시료의 두께는 micrometer(Mitutoyo, Model No. 2046-08, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 시료는 중심부와 4개 주위 부분의 두께를 측정하여 그 평균값을 사용하여 투습계수의 계산에 사용하였다.

투습계수

필름의 투습계수(Water vapor permeability, WVP)는 ASTM E 96-95 방법(1983)에 따라 polymethylacrylate 컵을 사용하여 수분투과도를 측정하였다(Ku *et al.*, 2008). 25°C, 50%의 상대 습도로 조절된 항온 항습기에 보관하며 필름 층을 통한 컵의 수분 이동에 따른 매 시간마다 컵의 무게 감소를 측정하여 무게 감소율을 계산하였다. 수분 투과율(Water vapor transmission rate, WVTR)과 투습계수(WVP)는 다음 식에 의해 계산하였다.

$$WVTR = \text{Slope}/\text{Film Area}$$

$$WVP = (WVTR \times L)/\Delta p$$

이 때, slope는 시간에 따른 컵의 무게 감소율, film area는 수분 이동이 일어나고 있는 필름의 넓이, L은 필름의 평균 두께, Δp 는 필름을 사이에 둔 컵 내부와 외부 수증기 부분압의 차이이다.

병원성 미생물 배양

Escherichia coli O157:H7(NCTC 12079)는 25 mL Luria-Bertani broth(Difco Co., Detroit, MI, USA)에서 37°C, 24시간 동안 배양하였고, *Listeria monocytogene*(KCTC 3710)는 25 mL *Listeria* enrichment broth(Oxoid, Basingstoke, U.K)에서 37°C, 24시간 동안 배양하였다.

병원성 미생물에 대한 항균활성 측정

GCG 필름의 항균성은 Ku 등(2008)의 방법에 의하여 측정하였다. *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes*는 Luria-Bertani broth와 *Listeria* enrichment broth에서 37°C에서 24시간 동안 10^8 - 10^9 CFU/mL이 될 때 까지 배양하였다. GCG 필름을 0.02 g으로 자른 film disc에 배양액의 15 μ L를 분주하여 실온에서 60분 동안 방치한 후, 준비된 멸균 펩톤수 0.98 mL에 film discs(0.02 g)을 넣어 3분 동안 균질화 시켰다. *E. coli* O157:H7는 Chromogenic *E. coli* coliform medium(Oxoid)에서 37°C에서 24시간 동안 배양하였고, *L. monocytogenes*는 *Listeria* selective agar(Oxoid)에서 37°C에서 48시간 배양하여 형성된 colony를 계수하여 Log colony forming unit(CFU)/g으로 나타내었으며, 세 번 반복 측정하였다.

병원성 미생물 접종 및 가식성 필름의 포장

돈육을 10 g으로 자른 후 70% 알코올 세척과 자외선에서 30분 동안 처리하여 초기미생물을 제거 하였다. *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes*는 Luria-Bertani broth와 *Listeria* enrichment broth에서 37°C에서 24시간 동안 10^7 CFU/mL이 될 때까지 배양하였다. *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes* 배양액 500 μ L를 돈육 표면 위에 접종하고 10분 동안 균

이 잘 부착될 수 있도록 방지하였으며, 돈육의 다른 부분도 동일하게 처리하였다. 접종된 *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes*의 초기 균수는 4.53과 5.98 Log CFU/g이었다. 접종된 돈육은 화분발효물(0.15%)을 첨가한 GCG 필름으로 포장하였고, 화분발효물(0.15%)을 첨가하지 않은 GCG 필름으로 포장한 돈육을 대조구로 사용하였다. 포장된 돈육은 4°C에서 10일 동안 저장하였다.

미생물 측정

E. coli O157:H7과 *L. monocytogenes*로 접종한 돈육을 멸균된 scalpel을 이용하여 시료 5 g을 채취하였다. 채취한 시료와 0.1% 멸균 펩톤수 45 mL를 멸균백에 넣고 3분 동안 stomacher를 이용하여 균질화하였다. 균질화된 시료는 cheese cloth를 이용하여 거르고 0.1% 멸균 펩톤수를 이용하여 희석한 후, *E. coli*는 Chromogenic *E. coli* coliform medium(Oxoid)에 분주하여 37°C에서 24시간 동안 배양하여 colony를 계수하였고, *Listeria monocytogenes*는 *Listeria* selective agar(Oxoid)에 분주하여 37°C에서 48시간 동안 배양하여 colony를 계수하여 colony forming unit(CFU)로 표기하였다.

통계 분석

필름 처리구에 따른 유의차 검정은 SAS program(1999)을 이용하여 분산분석 후 Duncan's multiple range test로 통계 처리하였다.

결과 및 고찰

Gelidium corneum - 젤라틴 혼합 필름(GCG 필름)은 물리적 특성이 우수한 젤라틴과의 혼합을 통해 *Gelidium corneum* 필름의 물성이 향상되었음을 이전의 연구에서 보고한 바 있다(Hong *et al.*, 2009). 따라서 본 연구에서는 GCG 필름에 항균제인 화분발효물 첨가 농도를 달리하여 필름의 투습계수와 항균활성을 측정하고 또한, 최적농도를 첨가한 필름을 돈육의 포장재로 적용하여 병원성 미생물의 변화를 측정하였다.

가식성 필름의 투습계수는 식품 유통기한의 증대에 중요한 역할을 하는 인자로 식품포장재 선택 시 중요한 요소이다. 화분발효물의 첨가량에 따른 GCG 필름의 투습계수를 측정한 결과, 0.1% 첨가까지는 대조구의 4.09 ng m/m²s Pa와 유사한 값을 보였으나, 0.15%의 화분발효물 첨가한 경우 3.55 ng m/m²s Pa로 대조구 보다 투습계수를 0.54 ng m/m²s Pa감소시켜 물성을 개선시켰다(Table 1). Li 등(2006)은 konjac-glucomannan 가식성 필름에 항균제인 키토산을 첨가했을 경우 필름의 투습계수가 대조구에 비해 감소함을 보고하였고, Ku 등(2008)은 *Gelidium corneum* 필름의 투습계수는 대조구가 2.49 ng m/m²s Pa인 반면, 카

Table 1. Water vapor permeability (WVP) of the *Gelidium corneum* - gelatin blend film containing fermented pollen extract

Concentration (%)	Water vapor permeability (ng m/m ² sPa)
0	4.09±0.03
0.05	4.09±0.16
0.10	4.06±0.29
0.15	3.55±0.75

Table 2. Antimicrobial activity of the GCG film containing fermented pollen extract against major pathogenic bacteria

Concentration (%)	Pathogenic bacteria (Log CFU/g)	
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>L. monocytogenes</i>
0	7.73±0.12 ^a	7.53±0.10 ^a
0.05	7.60±0.21 ^a	7.47±0.08 ^a
0.10	6.62±0.11 ^b	6.71±0.01 ^b
0.15	4.75±0.18 ^c	3.85±0.21 ^c

^{a-c}Any means in the same column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$).

테킨 150 mg/100 mL을 첨가한 경우 2.08 ng m/m²s Pa로 투습계수를 감소시킴을 보고하여 본 연구의 결과를 뒷받침해준다.

화분발효물을 첨가한 GCG 필름의 *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes*에 대한 항균활성 측정 결과는 Table 2와 같다. *E. coli* O157:H7의 경우 대조구는 7.73 Log CFU/g, 화분발효물 0.05, 0.10, 0.15% 첨가 했을 때 7.60, 6.62, 4.75 Log CFU/g로 나타났으며 화분발효물의 농도가 증가함에 따라 미생물수가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. *L. monocytogenes*의 경우 대조구는 7.53 Log CFU/g, 화분발효물 0.05, 0.10, 0.15% 첨가 했을 때 7.47, 6.71, 3.85 Log CFU/g로 측정되어 화분발효물은 *E. coli* O157:H7과 *L. monocytogenes*에서 모두 항균활성을 나타냈다. Eswaranandam 등(2004)은 2.6% 말산을 첨가한 SPI film의 경우 *L. monocytogenes*, *S. gaminara*, *E. coli* O157:H7의 생육을 저해시킨다고 보고하였고, Ko 등(2001) 또한 WPI 필름, SPI 필름, egg albumen 필름, wheat gluten 필름에 나이신을 첨가하여 *L. monocytogenes*에 대한 항균활성을 측정한 결과 필름의 종류에 상관없이 나이신 첨가농도가 증가할수록 *L. monocytogenes*수가 감소한다고 보고하여 본 연구 결과와 일치함을 보였다. 화분발효물을 첨가한 가식성 필름의 투습계수와 항균활성을 측정한 결과, 화분발효물의 최적 첨가량을 0.15%로 결정하여 돈육 포장에 적용하였다.

E. coli O157:H7를 접종한 돈육은 저장 기간 중 화분발효물을 첨가한 GCG 필름으로 포장한 돈육이 대조구에 비해 미생물 수가 감소함을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 대조구로

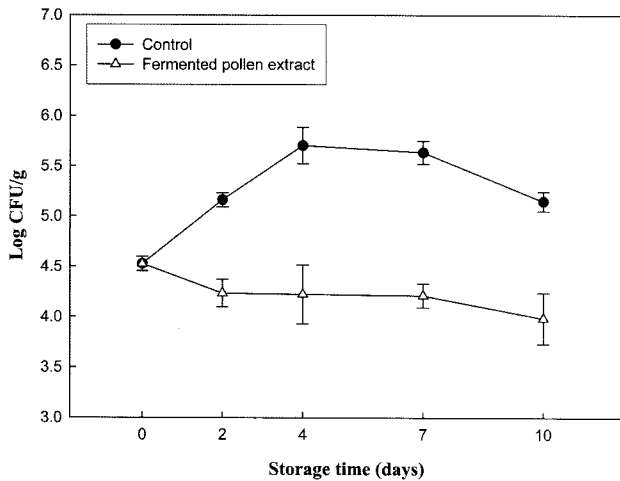


Fig. 1. Change in the population of *E. coli* O157:H7 inoculated on pork loin during storage.

포장한 돈육의 *E. coli* O157:H7은 4일째까지 증가하다 감소하는 경향을 보였는데, 화분발효물을 첨가한 GCG 필름으로 포장한 돈육의 경우 저장 4일째 대조구와 비교했을 경우 1.49 Log CFU/g 감소하였고, 저장 10일 후에도 1.17 Log CFU/g 감소함을 확인 할 수 있었다. *L. monocytogenes*를 접종한 돈육의 경우도 *E. coli* O157:H7과 유사한 결과를 보였으며, *L. monocytogenes*에 대한 생육 변화에 대한 결과는 Fig. 2와 같다. 저장 4일째 대조구는 6.31 Log CFU/g, 화분발효물을 첨가한 GCG 필름으로 포장한 돈육의 경우 5.30 Log CFU/g으로 1.01 Log CFU/g 더 감소한 것을 확인 할 수 있었고, 저장 10일 후에도 미생물의 감균효과를 나타냈다. Santiago-Silva 등(2009)은 슬라이스 햄에 접종된 *L. innocua*에 50% pediocin을 첨가한 항균성 필름으로 포장한 경우, 저장 15일째 대조구에 비해 미생물이 2 Log CFU/g 감소함을 보고하였다. Oussalah 등(2007) 또한,

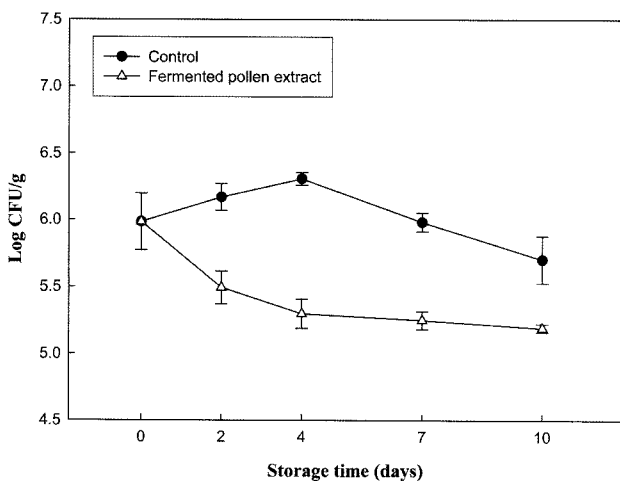


Fig. 2. Change in the population of *L. monocytogenes* inoculated on pork loin during storage.

*L. monocytogenes*가 접종된 햄을 oregano oil, cinnamon oil, winter savory oil을 첨가한 20% 염화칼슘 함유 알긴산 가식성필름으로 포장한 경우 저장 5일째 대조구에 비해 미생물이 0.31, 0.92, 0.24 Log CFU/cm² 감소함을 보고하여 본 연구결과와 일치함을 보고하였다.

따라서, GCG 필름에 화분발효물 첨가 시 필름의 투습계수 개선과 항균활성을 부여하여 돈육 포장재로 사용할 경우 돈육의 미생물학적 안전성을 확보하여 저장수명 증대에 효과적이라고 판단된다.

요 약

화분발효물(FPE)을 함유하는 *Gelidium corneum*-젤라틴(GCG) 필름을 제조하여 돈육의 포장재로 사용하였다. FPE를 첨가한 GCG필름의 투습계수는 대조구 필름 보다 향상되었고 FPE 첨가 농도가 증가함에 따라 *Escherichia coli* O157:H7와 *Listeria monocytogenes*에 대한 항균효과는 증가하였다. 특히, 0.15% FPE 첨가는 *E. coli* O157:H7와 *L. monocytogenes*에 대해 대조구 대비 각각 2.98 and 3.68 Log CFU/g 감소시켰다. 또한 돈육 시료를 *E. coli* O157:H7와 *L. monocytogenes*로 접종시킨 후 GCG 필름으로 포장한 후 저장 중 미생물 수의 변화를 측정된 결과, 0.15% 화분발효물이 첨가한 GCG 필름으로 포장 시 *E. coli* O157:H7와 *L. monocytogenes* 숫자가 저장 4일 후 대조구 대비 각각 1.49, 1.01 Log CFU/g 더 감소시켰다. 이러한 연구 결과는 0.15% 화분발효물이 첨가한 GCG 필름으로 포장한 돈육의 유통기한이 증대될 수 있음을 시사한다.

참고문헌

1. ASTM (1983) Standard test methods for water vapor transmission of materials. E 96-80, Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, PA, USA. pp. 761-770.
2. Basim, E., Basim, H., and Özcan, M. (2006) Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *J. Food Eng.* **77**, 992-996.
3. Choi, J. H., Yim, G. Y., Jang, S. Y., and Jeong, Y. J. (2007) Inhibition effect of the harmful food-born microorganisms on germination condition of acorn pollen. *Korean J. Food Preserv.* **14**, 89-93.
4. Choi, S. J. and Jeong, Y. H. (2004) Effect of proteases on the extraction of crude protein and reducing sugar in pollen. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1353-1358.
5. Eswaranandam, S., Hettiarachchyn, S., and Johnson, M. G. (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**, FMS79-FMS87.
6. Gemili, S., Yemeniciođlu, A., and Altýnkaya, S. A. (2009) Development of cellulose acetate based antimicrobial food

- packaging materials for controlled release of lysozyme. *J. Food Eng.* **90**, 453-462.
7. Hong, Y. H., Lim, G. O., and Song, K. B. (2009) Physical properties of *Gelidium corneum* - gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. *J. Food Sci.* **74**, C6-C10.
 8. Ku, K. J., Hong, Y. H., and Song, K. B. (2007) Physical properties of *Gelidium corneum* films treated with cinnamaldehyde. *J. Food Sci. Nutr.* **12**, 122-125.
 9. Ku, K. J., Hong, Y. H., and Song, K. B. (2008) Mechanical properties of a *Gelidium corneum* edible film containing catechin and its application in sausages. *J. Food Sci.* **73**, C217-C221.
 10. Ko, S., Janes, M. E., Hettiarachchy, N. S., and Johnson, M. G. (2001) Physical and chemical properties of edible films containing nisin and their action against *Listeria Monocytogenes*. *J. Food Sci.* **66**, 1006-1011.
 11. Lee, K. T., Choi, W. S., and Yoon, C. S. (2003) Effects of micro-perforated film on the quality and shelf life improvements of pork loins during chilled storage. *Meat Sci.* **66**, 77-82.
 12. Li, B., Peng, J., Yie, X., and Xie, B. (2006) Enhancing physical properties and antimicrobial activity of konjac glucomannan edible films by incorporating chitosan and nisin. *J. Food Sci.* **71**, C174-C178.
 13. Noh, K. H., Choi, S. H., Park, S. K., and Kim, D. S. (1997) Studies on the microbiological safety of fermented pollen using *Lactobacillus acidophilus* CH-2. *Korean J. Dairy Sci.* **19**, 239-248.
 14. Ou, S., Wang, Y., Tang, S., Huang, C., and Jackson, G. (2005) Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *J. Food Eng.* **70**, 205-210.
 15. Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., and Lacroix, M. (2007) Antimicrobial effects of alginate-based films containing essential oils on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* present in bologna and ham. *J. Food Prot.* **70**, 901-908.
 16. Santiago-Silva, P., Soares, N. F. F., Nóbrega, J. E., Júnior, M. A. W., Barbosa, K. B. F., Volp, A. C. P., Zerdas, E. R. M. A., and Würllitzer, N. J. (2009) Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA® 2351) on preservation of sliced ham. *Food Control* **20**, 85-89.
 17. Stopforth, J. D., Skandamis, P. N., Geornaras, I., and Sofos, J. N. (2007) Acid tolerance of acid-adapted and nonacid-adapted *Escherichia coli* O157:H7 strains in beef decontamination runoff fluids or on beef tissue. *Food Microbiol.* **24**, 530-538.
 18. Thomazine, M., Carvalho, R. A., and Sobral, P. J. A. (2005) Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. *J. Food Sci.* **70**, E172-E176.
 19. Trivedi, S., Reynolds, A. E., and Chen, J. E. (2008) Effectiveness of commercial household steam cleaning systems in reducing the populations of *Listeria monocytogenes* and spoilage bacteria on inoculated pork skin surfaces. *Lebensmitt Wiss Technol.* **41**, 295-302.

(Received 2009.4.9/Revised 1st 2009.6.15, 2nd 2009.6.17/
Accepted 2009.6.17)