



다양한 유제품에 이용될 수 있는 녹차(*Camellia sinensis*)에서 추출한 EGCG(Epigallocatechin gallate)의 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.에 대한 항미생물 활성 효과에 관한 연구: 예비실험연구

†김광엽¹ · †김영지¹ · †천정환^{1,2} · †김현숙³ · †김동현¹ · 이수경¹ · 김홍석¹ · 임진혁¹ · 송광영^{*} · 강일병¹ · 정다나¹ · 박진형¹ · 장호석¹ · †서건호¹

¹건국대학교 수의과대학 식품안전건강연구소, ²미국식품의약품안전청 국립독성연구센터, ³한양대학교 생활과학대학 식품영양학과

Antimicrobial Activity of Epigallocatechin Gallate (EGCG) extracted from Green Tea (*Camellia sinensis*) against *Cronobacter* spp. and *Salmonella* spp. in Various Dairy Products: A Preliminary Study

†Kwang-Yeop Kim¹, †Young-Ji Kim¹, †Jung-Whan Chon^{1,2}, †Hyunsook Kim³, †Dong-Hyeon Kim¹, Soo-Kyung Lee¹, Hong-Seok Kim¹, Jin-Hyuk Yim¹, Kwang-Young Song^{1*}, Il-Byung Kang¹, Dana Jeong¹, Jin-Hyeong Park¹, Ho-Seok Jang¹ and †Kun-Ho Seo¹

¹Center for One Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 05029, Korea

²National Center for Toxicological Research, US Food and Drug Administration, Jefferson, AR 72079, USA

³Dept. of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Hanyang University, Seoul 04763, Korea

Abstract

The main constituent of tea catechins, EGCG [(-)-Epigallocatechin-3-gallate], could inhibit the growth of various microorganisms and differently affect gram-positive and gram-negative bacteria. Antimicrobial activity of EGCG, a compound from green tea (*Camellia sinensis*) extract, against *Cronobacter* spp. and *Salmonella* spp. was studied to evaluate the possibility of using EGCG as a natural food additive in various dairy products. In pure TSB culture, the growth of *Cronobacter* spp. was suppressed below the detection limit (1 log CFU/mL) depending on EGCG concentration (600~800 µg/mL), after 5~16 days at 4°C. Similarly, the growth of *Salmonella* spp. was suppressed below the detection limit (1 log CFU/mL) depending on EGCG concentration (400~800 µg/mL), after 5~16 days at 4°C. Therefore, these results suggest that EGCG could be used as an effective additive to inhibit the growth of *Cronobacter* spp. and *Salmonella* spp. in various dairy products, such as yoghurt, cheese, dried infant powder, and so on.

Keywords: (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), green tea (*Camellia sinensis*) extract, *Cronobacter* spp., *Salmonella* spp., various dairy products, antimicrobial activity

† These authors contributed equally to this study.

* Corresponding author: Kwang-Young Song, Center for One Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 05029, Korea. Tel: +82-2-450-4121, Fax: +82-2-3436-4128, E-mail: drkysong@gmail.com

서론

지금까지 다양한 병원성 미생물 및 부패 미생물을 관리하기 위하여 다양한 종류의 합성 보존료가 사용되어왔다(Jung,

2009; Ko *et al.*, 2014). 하지만, 최근 이러한 인공합성 물질들의 체내 축적은 천식 및 알레르기, 설사 증상, 더 나아가서 암과 같은 질병을 유발할 수 있다는 다양한 보고가 있었기에, 소비자들의 기피대상이 되고 있다(Jung, 2009). 특히 식품산업 현장에서도 이 같은 사실을 인지하여 화학적 합성보존제의 사용을 최대한으로 줄이려고 노력하고 있는 실정이다(Jeong *et al.*, 2011). 따라서 인공합성 보존제의 사용을 대체하기 위해서 다양한 연구 등이 있었으며, 그 중에서 녹차 추출물에 대한 연구가 현재까지도 활발하게 진행되고 있다. 일반적으로 녹차(*Camellia sinensis*(L.) O. Kuntze)의 생 잎 중에는 약 75~80%가 수분이고, 나머지가 고형분인데, 이 고형분의 40%는 물에 녹는 수용성 성분이고, 나머지는 불용성 성분이다(Hamilton-Miller, 1995). 녹차의 주요성분은 녹차의 종류나 산지, 품종, 계절, 재배조건, 기후, 채엽부위 등 여러 가지 요인에 의해 그 함량이 달라지게 된다. 녹차 잎의 중요한 성분중의 하나는 폴리페놀인데, 이것은 녹차의 맛, 향기 및 색에 깊이 관여하며, 온화한 삼미와 고미를 나타낸다(Perumalla and Hettiarachchy, 2011). 녹차의 폴리페놀 함량은 6종의 카테킨과 그 유도체로 구성되며, 카테킨 중에서는 (-)-EGCG, (-)-EGC, (-)-ECG, (-)-EC의 순으로 함유되어 있으며, (+)-GC, (+)-C는 소량으로 함유되어 있다. 유리형 카테킨(EC, EGC)은 온화한 쓴맛으로 짙은 맛은 없으나, 에스테르형 카테킨(ECG, EGCG)은 강한 쓴맛과 짙은 맛을 가지고 화학적으로 수용성 단백질과 결합하여 불용성의 복합체를 형성한다(Hamilton-Miller, 1995). 녹차의 폴리페놀에 관한 연구는 항암 작용, 항산화 작용, 고혈압의 억제작용, 지질과 산화에 대한 저해작용, 동맥경화 저해작용 등 많은 연구분야에서 활발히 진행되고 있다(Hamilton-Miller, 1995). 이런 다양한 건강 기능성효과 때문에 녹차성분은 아이스크림이나 제과류 등 다양한 식품의 보조 원료나 첨가제로 활용되어 왔으나, 요구르트, 치즈, 분유 등 다양한 낙농유제품에 대한 연구는 극히 드물게 진행된 것이 사실이다. 그 중에서도 Epigallocatechin gallate(EGCG)은 병원성 미생물의 세포막에 존재하는 인지질 이중층을 파괴하여 강력한 항균작용을 나타내는 것으로 잘 알려져 있다(Perumalla and Hettiarachchy, 2011). 또한, 천연적으로 추출된 물질인 만큼 인체에 무해하기 때문에 식품첨가물로서 적합하다고 할 수 있다(Kim *et al.*, 2010; Perumalla and Hettiarachchy, 2011). 녹차 추출물을 식품에 적용하여 식중독 세균을 제어하는 다양한 연구가 진행되어 왔으며, 요구르트, 치즈, 유아용 분유제품 등 다양한 낙농유제품에서 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.를 동시에 제어할 수 있는 보고는 현재까지 없다.

Cronobacter spp.는 1958년 영국에서 영·유아의 뇌막염을 일으키는 원인균으로 보고되었으며(Joker *et al.*, 1965), 지금까지 총 120건 이상의 *Cronobacter* spp. 감염으로 인한 식중독

사고가 보고되었다. 지난 10년 전부터 세계보건기구(WHO)에서는 *Cronobacter* spp.가 분유제품과 연관이 있으며, 특히 영·유아에게 치명적이라는 사실이 알려지면서 많은 관심을 갖게 되었다(Iversen and Forsythe, 2008). 그래서 세계보건기구(WHO) 및 세계식량농업기구(FAO)에서는 *Cronobacter* spp.는 *Salmonella* spp.와 함께 조제분유에서 발견되는 미생물 중 위험도가 가장 높은 Category A로 분류하였다(FAO/WHO, 2004). 그리고 *Salmonella* spp.(*S. Enteritidis*)는 가장 치명적인 식중독 세균 중 하나로, 인체 감염시에 심한 복통과 설사, 구토, 오한 등을 유발할 수 있어, 이들의 다양한 유제품 오염을 차단하거나 증식을 억제하는 것이 매우 중요한 과제이기도 하다(Song *et al.*, 2009).

따라서 본 연구에서는 다양한 유제품에 첨가제로 이용될 수 있는 녹차에서 추출한 EGCG(Epigallocatechin gallate)의 다양한 농도로 인위적 실험을 통해서 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.의 항미생물 활성을 평가하여, 향후 다양한 유제품 및 영·유아용 분유제품 등에 식품첨가제로서의 EGCG의 활용 가능성 및 안정성 확보에 관한 기초자료를 확보하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

1. 본 실험에 사용된 미생물 균주

본 실험에 사용된 병원성 대장균 *Cronobacter* spp.(*C. sakazakii*)와 *Salmonella* spp.(*S. Enteritidis*)는 미국식품의약청(USFDA, College Park, MD, USA)에서 제공받았다. 해당균주는 -70℃에서 보관하였으며, 사용 전에 nutrient agar(Oxoid, Hampshire, U.K.)에 획선도말(streaking)하여 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 잘 자란 집락을 멸균상태의 tryptic soy broth(TSB; Oxoid, Hampshire, U.K.)에 접종하여 37℃에서 24시간 동안 배양한 후 실험하였다. DFI agar(Oxoid CM1055; Oxoid, Hampshire, United Kingdom), VITEK2와 Real-Time PCR로 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.임을 재확인하였다.

2. 녹차에서 추출한 EGCG

녹차 추출물인 Epigallocatechin gallate(EGCG)는 Sigma(St Louis, MS, USA)에서 구입하여 다양한 농도로 희석하여 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.에 대한 항미생물 활성 분석에 사용하였다.

3. 순수 배양액인 TSB에서 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.에 대한 녹차 추출물의 항미생물 활성 검증

항미생물 활성 실험은 Kim *et al.*(2004)의 방법에 따라 진행하였다. TSB에서 배양한 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.

의 전증균액 1 mL씩을 1.5 mL tube에 분주하였다. McFarland 탁도계(Grant-Bio, USA)를 사용하여 탁도를 0.5 ± 0.01 로 맞추고, Phosphated buffered saline(Sigma)을 이용하여 각각의 균액을 3 log CFU/mL 수준으로 10진 희석한 후, 5,000 rpm에서 10분간 원심분리(Mikro 200, Bio-Free, Korea)하고, 상층액을 제거하였다. 다양한 농도의 EGCG(0, 200, 400, 600, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 가 함유된 TSB 1 mL를 각각의 세균 pellet만 남은 tube에 첨가한 후 vortexing하여 4°C에서 16일간 저장하면서 1, 2, 4, 8, 12, 16일 경과할 때마다 세균수를 측정하였다. 녹차 추출물의 첨가용량은 선행연구에 근거하여 결정하였으며(Perumalla and Hettiarachy, 2011), 세균수 측정기간은 예비실험에서 얻어진 결과를 근거로 설정하였다(data not shown).

Cronobacter spp.와 *Salmonella* spp.의 균수는 먼저 균액을 10진 희석법으로 희석하고, 각 희석액을 Nutrient agar와 xylose lysine deoxycholate agar(Oxoid)에 각각 평판도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 집락을 측정하는 방식으로 측정하였다. 집락의 개수는 각각 3반복 실험하여 평균값으로 결정하였다. 그리고 분리된 집락이 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.임을 확인하기 위하여 real-time PCR과 VITEK2 및 DFI agar(Oxoid)로 재검정하였다.

4. 통계분석

모든 실험은 통계 프로그램(GraphPad Prism® 5.0)을 이용하여 분석하였다. 각각의 시료 그룹들 간의 유의적인 차이는 one way ANOVA와 *t*-test를 이용하여 분석하였으며, 각 시료 간의 유의적인 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 시료간의 유의적인 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 실제 다양한 유제품에 적합한 EGCG 농도를 파악하기 위해서 순수배양액(TSB)에서 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.의 인위적증실험을 하였으며, 4°C에서 16일간 배양하면서 다양한 EGCG의 농도에 따른 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.의 항미생물 활성 평가를 분석하였으며, 실험결과는 Fig. 1과 2에 나타나 있다.

1. *Cronobacter* spp.에 대한 EGCG의 항미생물 활성 평가

4°C에서 대조군(0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)은 16일간 3 log CFU/mL 정도의 생존수준을 지속적으로 나타낸 반면, EGCG의 농도가 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 일 때는 5일 그리고 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 일 때는 7일이 경과하였을 때 *Cronobacter* spp.의 생존수준이 검출한계인 1 log CFU/mL 이하로 감소함이 관찰되었지만, 400, 200, 0(대조군) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 일 때는 16일까지 *Cronobacter* spp.를 제어하지 못하는 것으로

나타났다(Fig. 1).

2. *Salmonella* spp.에 대한 EGCG의 항미생물 활성 평가

4°C에서 대조군(0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)은 16일간 3 log CFU/mL 정도의 생존수준을 지속적으로 나타낸 반면, EGCG의 농도가 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 일 때는 5일, 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 일 때는 6일이 경과하였을 때 *Salmonella* spp.의 생존수준이 검출한계인 1 log CFU/mL 이하로 감소함이 관찰되었지만, 200, 0(대조군) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 일 때는 16일까지 *Salmonella* spp.를 제어하지 못하는 것으로 나타났다(Fig. 2).

일반적으로 녹차에서 추출물을 추출할 때 사용되는 용매에는 수용액(H₂O)과 유기용매(메탄올)가 많이 사용되고 있다. Farooqui *et al.*(2015)은 추출 용매에 따라서 분리된 녹차 추출물이 다양한 병원성 미생물에 대한 항미생물 활성의 차이를 보였다고 보고하였으며, 유기용매보다는 수용액으로 추출하였을 때가 유기용매보다는 높은 항미생물 활성을 보였다(Table 1). 특히 녹차 추출물은 gram-negative와 gram-positive 균들 모두에서 효과적으로 저해되는 것으로 나타났다. 따라서 추출용매와 병원성 미생물들 간의 상호작용에 대한 연구도 함

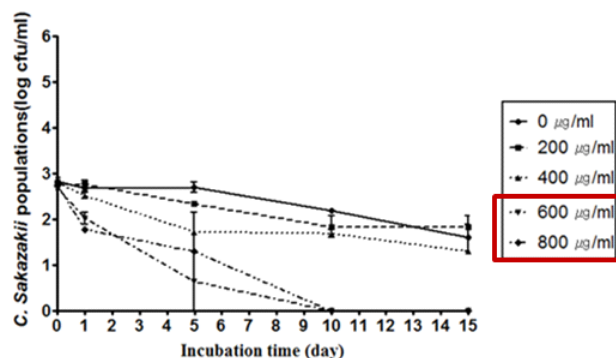


Fig. 1. Inhibitory effect of EGCG against *Cronobacter* spp. in TSB at 4°C.

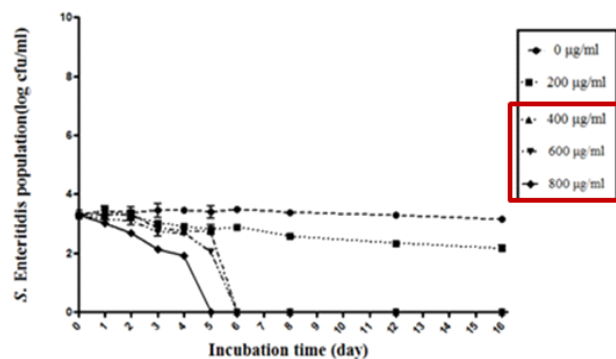


Fig. 2. Inhibitory effect of EGCG against *Salmonella* spp. in TSB at 4°C.

Table 1. The antimicrobial activity of green tea (*Camellia sinensis*) against various pathogenic bacteria (Farooqui *et al.*, 2015)

| Strains | Green tea (<i>Camellia sinensis</i>) | |
|--|--|----------------------------------|
| | Methanolic MIC ($\mu\text{g/mL}$) | Aqueous MIC ($\mu\text{g/mL}$) |
| <i>Acinetobacter buamanni</i> | >5,000 | >5,000 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 780 | 780 |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | >5,000 | >5,000 |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 5,000 | 3,120 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 5,000 | 3,120 |
| <i>Escherichia coli</i> | 5,000 | 3,120 |
| <i>Helicobacter pylori</i> | 2,500 | >5,000 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5,000 | 3,120 |
| <i>Micrococcus</i> | 390 | 780 |
| <i>Salmonella enteric</i> serovar. Typhi | 2,500 | 3,120 |
| <i>Salmonella Paratyphi A</i> | 1,250 | 1,560 |
| <i>Shigella flexneri</i> | 2,500 | >5,000 |
| <i>Shigella species</i> | ND | 3,120 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 390 | 780 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 780 | 1,560 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | ND | 780 |

게 진행되어야 할 것으로 사료된다.

지금까지 알려진 바에 의하면, 녹차 추출물은 일정한 농도 이상에서는 다양한 종류의 병원성 세균에 대하여 시험관(*in vitro*) 또는 생체 내(*in vivo*)에서 강력한 항균효과가 있다는 것이 보고되었다(Yang and Landau, 2000).

특히, 4°C 저장의 경우, 다른 저장온도에 비하여 세균의 증식이 불리한 조건임에도 불구하고, *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.의 균수가 검출 한계 이하로 억제되는데 더 많은 시간이 소요되었다. 이것은 저온에서의 EGCG의 항미생물 활성 효능저하에 따른 결과로 사료된다(Ulrich *et al.*, 2010).

선행연구를 검토해 보면, 녹차(*Camellia sinensis* L.)에서 추출한 차 폴리페놀(tea polyphenols, TPPs)에 노출된 *Salmonella* Typhimurium의 여러 가지 세포반응을 조사하였는데, TPPs는 *S. Typhimurium*에 대하여 투여량에 비례한 살균효과를 보여주었다(Choi and Oh, 2012). Park and Park(2007)은 *S. Typhimurium*이 접종된 mayonnaise에 녹차 추출물을 첨가하여 온도별(5, 15, 25°C)로 사멸률을 측정하였는데, 온도별 D-value가 5°C에서 약 0.58일, 15°C에서 약 0.53일, 25°C에서 약 0.5일로 측정되었다고 보고하였다(Galvez *et al.*, 2007). 이것은 저온에서 세균발육이 억제된다는 요소가 EGCG의 항미생물 활성 효과와 함께 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.균의 성장에 다중허들(multiple hurdle)로 작용한 결과로 사료된다. 실

제로, 이와 같은 저온저장과 항균물질의 다중허들효과(multiple hurdle effect)에 의한 항균효과는 많은 연구들에서 보고된 바 있다(Galvez *et al.*, 2007; Perumalla and Hettiarachchy, 2011).

최근 20년 동안 식품의 보관에 영향을 많이 주는 온도, pH, aw(수분활성도), Eh(산화환원전위), 경쟁 미생물총들에 대한 지식과 이들 요소들 간의 상호작용에 대한 이해도가 많이 높아졌다. 최근에는 미생물들이 나타내는 항상성, 대사 소모성, 스트레스 반응 등을 이용하여 식품 보존 방법으로 다양하게 이용되고 있지만, 새로운 다양한 허들기술(hurdle technology)에 대한 연구 또한 요구되고 있는 것도 사실이다(Leistner, 2000; Kim *et al.*, 2004).

본 실험에서 진행된 4°C에서 16일간의 저장실험 결과를 종합해 볼 때, 천연녹차 추출물인 EGCG는 저온상태일 때 균성장 지연효과와 함께 허들효과(hurdle effect)로 작용하여 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.를 효과적으로 억제하는 것으로 사료된다(Fig. 1, 2). 하지만 여기에 대한 추가적인 식중독 세균들의 다양한 억제연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

*Listeria monocytogenes*와 *S. Enteritidis*에 대한 녹차 추출물의 항미생물 활성 효능을 순수배양액과 육제품에서 평가하였는데, 순수배양액에서는 항균활성효능이 비교적 강하게 나타났으나, 식품에서의 항균활성효능은 오히려 감소하는 것으로 보고하였다(Kim *et al.*, 2004; Theivendran *et al.*, 2006). 녹차 추출물의 구성성분인 EGCG가 화학항생제인 imipenem 내성 *Klebsiella pneumoniae*에 대한 탁월한 항균효과가 있음이 입증된 바 있다(Cho *et al.*, 2011). 홍차, 자스민차, 우롱차, 둥글레차, 녹차의 수용성 추출물을 첨가하여 식품매개성 병원체인 *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* serovar. Enteritidis, 그리고 *Escherichia coli* O157:H7에 대한 항미생물 활성을 평가하였는데, 온도와 식품(ground beef) 사이에서 효과가 유의적으로 차이를 보였는데, 자세하게 살펴보면 4가지 미생물의 혼합 배양액을 6 log CFU/mL 수준으로 brain heart infusion broth에 첨가한 후 35°C에서 5일간 배양하였다. 녹차, 자스민차, 홍차는 *S. aureus*를 1일에서 5일까지 거의 5.0 log 억제하였으며, 녹차와 자스민차는 5일에 *L. monocytogenes*도 거의 3.0 log CFU/mL 억제하였다. 하지만 실제 식품인 ground beef에서 *L. monocytogenes*와 *S. aureus*에 대한 녹차와 자스민차의 항미생물 활성을 조사하기 위해서 7°C에 7일간 배양하였지만, 통계적으로 유의차가 있는 결과를 나타내지는 않았다. 다시 말해서, 일반적으로 순수배양액에서는 온도가 높을수록 천연첨가물의 항미생물 활성이 높은 것으로 나타났지만, 실제 샘플에서는 다양한 요인 중에서도 food matrix와 인위 접종된 균의 성장속도와 관계에서 천연 첨가물의 항미생물 활성을 나타내지 못하는 것으로 사료되는데, 이것은 EGCG의 살균 효과는 세포막 혼란(membrane

perturbation)과 연관이 있기에 세균 수와 밀접한 관계가 있을 것으로 보고되었기 때문이다(Perumalla and Hettiarachy, 2011).

따라서 본 실험의 결과에 근거하여 실제 다양한 유제품에 첨가된 제품에서도 동일하게 저장온도에 따른 녹차 추출물인 EGCG의 차이는 food matrix에 의한 영향을 직접적으로 받을 것으로 사료되지만, 자세한 결과를 얻기 위해서는 추가적인 연구가 반드시 진행되어야 할 것이다.

결론적으로 천연 녹차 추출물인 Epigallocatechin gallate (EGCG)의 다양한 유제품에 천연식품 첨가제로서의 적용가능성을 파악하고자, *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.에 대한 항미생물 활성을 냉장온도(4°C)에서 저장하면서 분석하였다. 우선, 순수배양액(TSB)에서의 실험결과, 첨가된 EGCG의 농도(400~800 µg/mL)에 따라 4°C에서 5일에서 16일 사이에서 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.균이 검출한계 이하로 억제되는 것이 관찰되었다. 따라서 *Cronobacter* spp.와 *Salmonella* spp.과 같은 식중독 세균을 예방할 수 있는 적합한 천연식품 첨가제로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 향후의 연구는 다양한 낙농유제품에 첨가된 녹차 추출물의 항미생물 활성 효과를 분석하고, 더 나아가서 항미생물 활성 효과를 극대화시킬 수 있는 다양한 허들기술(hurdle technology)의 이용 및 상관관계 기작을 밝히는 방향으로 추진되어야 할 것이다.

감사의 글

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIP) (No. 2015R1A2A2A05001288).

Disclaimer: The views expressed herein do not necessarily reflect those of the US Food and Drug Administration or the US Department of Health and Human Services.

참고문헌

1. Cho, Y. S., Oh, J. J. and Oh, K. H. 2011. Synergistic antibacterial and proteomic effects of epigallocatechin gallate on clinical isolates of imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Phytomedicine* 18:941-946.
2. Choi, H. K. and Oh, K. H. 2012. Cellular responses of *Salmonella typhimurium* exposed to green tea polyphenols. *Korean J. Microbiol.* 48:87-92.
3. Farooqui, A., Khan, A., Borghetto, I., Kazmi, S. U., Rubino, S. and Paglietti, B. 2015. Synergistic antimicrobial activity of *Camellia sinensis* and *Juglans regia* against Multidrug-resistant bacteria. *PLoS ONE* 10:e0118431.
4. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. 2004. Joint FAO/WHO workshop on *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula. Available from: <http://www.who.int/foodsafety/publications/feb.2004/en/print.html>. Accessed April 19, 2016.
5. Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L. and Omar, N. B. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food. Microbiol.* 120:51-70.
6. Hamilton-Miller, J. M. T. 1995. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.). *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:2375-2377.
7. Iversen, C., Mullane, N., McCardell, B., Tall, B. D., Lehner, A., Fanning, S., Stephan, R. and Joosten, H. 2008. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the bio-groups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter* genomospecies 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. *Int. J. System Evol. Microbiol.* 58:1442-1447.
8. Jeong, E. J., Park, L. Y., Park, H. J. and Lee, S. H. 2011. Antibacterial effect of chitosan and grape seeds extracts *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. Chitin Chitosan.* 16:27-32.
9. Joker, R. N., Norholm, T. and Siboni, K. E. 1965. A case of neonatal meningitis caused by a yellow *Enterobacter*. *Danish Med. Bull.* 12:128-130.
10. Jung, K. H. 2009. Research directions for food additives safety. *J. Fd Hyg. Safety* 24:398-407.
11. Kim, D. W., Kim, J. H., Kang, G. H., Kang, H. K., Park, S. B., Park, J. H., Bang, H. T., Kim, M. J., Na, J. C., Chae, H. S., Choi, H. C., Suh, O. S., Kim, S. H. and Kang, C. W. 2010. Studies for antibiotic free chicken production using water extracts from *Artemisia capillaris* and *Camellia sinensis*. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 30:975-988.
12. Kim, S., Ruengwilysup, C. and Fung, D. Y. 2004. Antibacterial effect of water-soluble tea extracts on food-borne pathogens in laboratory medium and in a food model. *J. Food Protect.* 11:2608-2612.
13. Ko, Y. M., Hong, S. H., Park, G. C., Na, Y. J., Moon, J. S. and Yoon, K. S. 2014. Effect of Fat content and storage

- temperature on the growth and survival kinetics of pathogenic microorganisms in milk and ready to eat (RTE) quail eggs. Korean J. Food Cook. Sci. 30:603-612.
14. Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. Int. J. Food Microbiol. 55:181-186.
15. Park, C. S. and Park, G. S. 2002. Effect of green tea on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in mayonnaise. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 18:57-62.
16. Perumalla, A. V. S. and Hettiarachchy, N. S. 2011. Green tea and grape seed extracts-Potential applications in food safety and quality. Food Res. Int. 44:827-839.
17. Song, Y. J., Cho, Y. S. and Oh, K. H. 2009. Antibacterial activity against *Salmonella enteritidis* JK-15 and LPS changes caused by rose flower extracts. Kor. J. Microbiol. 45:318-323.
18. Theivendran, S., Hettiarachchy, S. H. and Johnson, G. M. 2006. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin combined with grape seed extract or green tea extract in soy protein film coated on turkey frankfurters. J. Food Sci. 71:M39-M44.
19. Ulrich, N. P., Ota, A., Sentjerc, M. and Abram, V. 2010. Flavonoids and cell membrane fluidity. Food Chem. 121:78-84.
20. Yang, C. S. and Landau, J. M. 2000. Effects of tea consumption on nutrition and health. J. Nutr. 130:2409-2412.

Received April 30, 2016

Revised May 18, 2016

Accepted June 1, 2016