

메추리알 장조림에서 녹차 Epigallocatechin gallate (EGCG)의 *Salmonella* Enteritidis에 대한 저장 온도에 따른 항미생물 활성

김광엽 · 김영지 · 김홍석 · 송광영 · 김동현 · 이미영¹ · 김의수² · 정현상³ · 서건호*
건국대학교 수의과대학 식품안전건강연구소, ¹식품의약품안전처 식품영양안전국 영양안전정책과
²한국식품산업협회, ³충북대학교 식품공학과

Antimicrobial activity of epigallocatechin gallate from green tea (*Camellia sinensis*) on pathogenic *Salmonella* Enteritidis in braised quail eggs

Kwang-Yeop Kim, Young-Ji Kim, Hong-Seok Kim, Kwang-Young Song, Dong-Hyeon Kim,
Mi-Young Lee¹, Eui-Su Kim², Heon-Sang Jeong³, and Kun-Ho Seo*

Center for One Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University

¹Division of Nutrition Safety Policy, Ministry of Food and Drug Safety

²Korea Food Industry Association

³Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

Abstract The inhibitory effect of epigallocatechin gallate (EGCG), one of the antioxidants in green tea (*Camellia sinensis*), against *Salmonella* Enteritidis was evaluated in commercial braised quail eggs at two temperatures (4 and 25°C). Although *S. Enteritidis* was dose-dependently suppressed by EGCG in pure culture at 25°C, it was not inhibited in the sauce or eggs at this temperature. At low temperature (4°C), *S. Enteritidis* was inhibited in both the sauce and eggs by 400 µg/mL EGCG. Thus, EGCG at an appropriate concentration could be a useful food additive for inhibiting *S. Enteritidis* in braised quail eggs at low temperatures.

Keywords: *Camellia sinensis*, epigallocatechin gallate, *Salmonella* Enteritidis, antibacterial agents

서 론

최근 축산가공식품 중 알가공품의 소비가 증가하고 있으며, 다양한 제품들이 개발, 판매되고 있다(1). 농림축산식품부에서 발간되는 주요 통계자료에 의하면, 한국 국민 1인당 계란 소비량은 2013년 245개로 해마다 증가하고 있는 추세를 보이고 있다(2). 특히 알가공품은 고단백질, 고영양원으로, 다른 가공식품들보다 유통과정의 안전 관리가 더욱 중요하게 요구되고 있는데, 이것은 생산으로부터 유통, 판매 등 모든 과정 중 부패와 변질이 되기 쉽기 때문이다(1).

외국에서는, 오래 전부터 알가공품의 병원성 대장균, 살모넬라, 바실루스 세레우스와 같은 유해 미생물들에 의한 식품 중독사고가 보고되어왔다(3). 이 중, *Salmonella* Enteritidis는 가장 치명적인 식품중독 세균 중 하나로, 인체 감염 시에 심한 복통과 설사, 구토, 오한 등을 유발할 수 있어, 이들의 식품 오염을 차단하거나 증식을 억제하는 것이 매우 중요한 과제이다(4).

메추리알은 한국과 일본에서 주로 섭취가 되는 식품으로, 메추리알 제품 중 삶아서 간 상태로 판매되는 제품은 알가열성형제품 중에 하나로 삶는 과정과 껍질을 제거하는 과정을 생략한 제품으로 편리성을 추구하는 현대사회에 적합한 가공식품으로 소비가 증가하고 있는 실정이다(1). 그 중에서도 메추리알 장조림은 한국의 전통 음식이자 대표적인 알가공품 중 하나이다. 메추리알 장조림은 그 제조 공정상에 삶는 과정이 포함되어 있으나 가열 후 오염이 되는 경우가 있다(1). 하지만 이와 같은 축산 가공식품의 경우에는 소비까지 이루어지는 과정에서 주로 냉장 또는 냉동 보관을 통해 이루어지는데, 냉장식품은 0-10°C, 냉동 식품은 -18°C 이하에서 유지되도록 엄격히 법적 관리되고 있지만(5), 저장 유통 중 온도 관리가 부적절하게 이루어질 경우 부패균 및 식품중독균 증식이 문제가 될 수 있다. 최근 Rustia와 Azanza(2005)의 연구에 따르면 메추리알에서 열에 저항성을 가진 *S. Enteritidis*가 보고된 바 있는 만큼(6), 열처리 이외에 별도의 제어 방법이 반드시 필요하다고 생각된다.

병원성 미생물 및 부패 미생물을 관리하기 위하여 다양한 종류의 합성 보존료가 사용되어 왔다(1,7). 그러나, 최근 이러한 인공합성물질들의 체내 축적은 알레르기과 천식, 설사 증상, 심하면 암과 같은 질병을 유발할 수 있다는 보고에 따라(8), 소비자들의 기피대상이 되고 있으며, 식품산업 현장에서도 이 같은 사실을 인지하여 화학적 합성보존제의 사용을 제한하려는 추세이다(7).

차나무(*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze)의 생잎 중에는 약 75-80%가 수분이고 나머지가 고형물인데, 이 고형물의 40%는 물에

*Corresponding author: Kun-Ho Seo, 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: bracstu3@konkuk.ac.kr

Received May 10, 2016; revised June 24, 2016;

accepted June 24, 2016

녹차는 수용성 성분이고 나머지는 불용성 성분이다(9). 녹차의 주요성분은 녹차의 종류나 산지, 품종, 계절, 재배조건, 기후, 채엽 부위 등 여러 가지 요인에 의해 그 함량이 달라지게 된다. 녹차 잎의 중요한 성분 중의 하나는 폴리페놀이다. 이것은 녹차의 맛, 향기와 색에 깊이 관여하며 온화한 삼미와 고미를 나타낸다(9,10). 녹차의 폴리페놀 함량은 6종의 카테킨과 그 유도체로 구성된다. 이들 7종의 카테킨 중에서는 (-)-EGCG, (-)-EGC, (-)-ECG, (-)-EC의 순으로 함유되어 있으며 (+)-GC, (+)-C는 극소량이 함유되어 있다. 유리형 카테킨(EC, EGC)은 온화한 쓴맛으로 떫은맛은 없으나 에스터형 카테킨(ECG, EGCG)은 강한 쓴맛과 떫은 맛을 가지고 화학적으로 수용성 단백질과 결합하여 불용성의 복합체를 형성한다(9). 녹차의 폴리페놀에 관한 연구는 항암 작용, 산화 방지 작용, 고혈압의 억제작용, 지방질 과산화에 대한 억제작용, 동맥경화 억제작용 등 많은 연구 분야에서 활발히 진행되고 있다(9).

그중에서도 에피갈로카테킨 갈레이트(epigallocatechin gallate, EGCG)는 병원성 미생물의 세포막에 존재하는 인지질 이중층을 파괴하여 강력한 항균작용을 나타내는 것으로 잘 알려져 있다(10). 또한, 천연적으로 추출된 물질인 만큼 인체에 무해하기 때문에 식품첨가물로서 적합하다고 할 수 있다(10,11). 따라서, 녹차추출물을 식품에 적용하여 식중독 세균을 제어하는 다양한 연구가 진행되어왔지만, 메추리알 장조림과 같은 알가공품과 관련된 더 많은 연구가 절실히 요구되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는, *Salmonella* Enteritidis의 인위적접종실험을 통해 저장 온도에 따른 순수배양액, 간장소스, 메추리알 장조림 완제품에 대한 다양한 EGCG의 농도에 따른 *S. Enteritidis* 항미생물 활성을 평가하여, 식품첨가제로서의 EGCG의 활용 가능성을 분석하였다.

재료 및 방법

사용 균주

본 실험에 사용된 병원성 대장균 *S. Enteritidis*는 미국식품의약청(US FDA, College Park, MD, USA)에서 제공받았다. 해당 균주는 -70°C에서 보관하였으며 사용 전에 nutrient agar (Oxoid, Hampshire, UK)에 희석도말(streaking)하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 잘 자란 콜로니를 살균 상태의 tryptic soy broth (TSB; Oxoid)에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 실험하였다. VITEK2 (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France)로 *Salmonella* Enteritidis임을 재확인하였다.

EGCG

녹차추출물은 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 구입하여 다양한 농도로 희석하여 항미생물 활성 분석에 사용하였다.

식품시료와 전처리과정

본 실험에서 사용된 메추리알 장조림은 (주)조인(Yongin, Korea)에서 제공받았다. 해당 시료 총 무게는 340±10 g이고 pH는 6.8±0.08이며 구성성분으로는 메추리알, 파리고추(*Capsicum annuum*), 마늘, 장조림용 간장소스로 되어있다(Table 1).

*S. Enteritidis*를 시료에 접종하기 전에 미국 환경보호청(US Environmental Protection Agency)의 자외선 조사(UV irradiation) 방법에 따라, 시료에 자외선(Ultraviolet-C)을 조사하여 정상적으로 존재할 수 있는 세균총(background flora)을 사멸한 후 실험을 진행하였다(12). 요약하면, 무균실험대(BF-150BSC, Biofree, Seoul,

Table 1. The composition of braised quail eggs

Contents	Percentage (%) ¹⁾
Quail eggs	55.0±5.0
Garlic	7.5±2.5
Shishito peppers	7.5±2.5
Soy sauce	35.0±5.0
NaCl	0.01±0.00
Total weights (g)	340.0±10.0
pH	6.8±0.1

¹⁾Values are expressed as mean±SD.

Korea) 기기 내부에 시료를 위치시킨 후 세균의 흠까지 99.99% 사멸시킬 수 있는 UV dose/자외선 선량(10 mJ/cm²)을 조사한 후 세균총의 사멸 여부를 확인하기 위하여 3M™ Petrifilm™ aerobic count plate (3M Corporation, St. Paul, MN, USA)에 배양하였다(13).

순수배양액에서의 EGCG의 항미생물 활성 검증

항미생물 활성 실험은 Kim 등(2004)의 방법에 따라 진행하였다(14). TSB에서 배양한 *S. Enteritidis*의 전 증균액 1 mL씩을 1.5 mL 시험관에 분주하였다. McFarland 탁도계(Grant-Bio, Shepreth, UK)를 사용하여 탁도를 0.5±0.01로 맞추고, 인산완충식염수(phosphate buffered saline, Sigma-Aldrich)를 이용하여 각각의 균액을 3 log CFU/mL 수준으로 10진 희석한 후, 5,000 rpm에서 10분간 원심분리(Mikro 200, BioFree, Bucheon, Korea)하고 상층액을 제거하였다. 다양한 농도의 EGCG (0, 200, 400, 600, 800 µg/mL)가 함유된 TSB 1 mL을 각각의 세균 pellet만 남은 시험관에 첨가한 후 vortexing하여 4°C에서 16일, 그리고 25°C에서 6일간 저장하며 세균수를 측정하였다. EGCG의 첨가용량은 선행연구에 근거하여 결정하였으며(10), 세균수 측정 기간은 예비실험에서 얻어진 결과를 근거로 설정하였다(data not shown). 4°C 저장기간 동안 1, 2, 4, 8, 12, 16일 경과할 때마다 균수를 측정하였으며, 25°C에서는 1, 2, 3, 4, 5, 6일 경과할 때 마다 측정하였다. 균수는 먼저 균액을 10진 희석법으로 희석하고, 각 희석액을 xylose lysine deoxycholate agar, Oxoid에 평판도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 콜로니를 측정하는 방식으로 측정하였다. 콜로니의 개수는 각각 3반복 실험하여 평균값으로 결정하였고 검출한계는 1 log CFU/mL로 설정하였다. 그리고 분리된 콜로니가 *Salmonella* Enteritidis임을 확인하기 위하여 real-time PCR과 VITEK2으로 재검정 하였다.

간장소스에서의 녹차추출물의 항미생물 활성 검증

본 실험에서 사용된 메추리알 장조림에 첨가되는, 간장소스를 다양한 농도의 EGCG (0, 200, 400, 600, 800 µg/mL)가 함유된 간장 소스 1 mL에 *Salmonella* Enteritidis를 3 log CFU/mL 수준으로 인위적접종 하였다. 균수의 측정은 순수배양액에서의 방법과 동일한 방법으로 4°C에서 16일, 25°C에서 6일간 저장하면서 균수를 측정하였다.

메추리알 장조림 완제품에서 EGCG의 항미생물 활성 검증

순수배양액과 간장소스에서의 가장 좋은 항미생물 활성을 보인 농도를 근거로 하여 EGCG의 항미생물 활성 검증이 진행되었다. *S. Enteritidis*를 3 log CFU/mL 수준으로 메추리알 장조림 완제품에 인위적접종 하였다. EGCG 400 µg/mL이 첨가된 샘플은

4°C에서 16일간 저장하고, EGCG 800 µg/mL이 첨가된 샘플은 25°C에서 6일간 저장하면서 항미생물 활성을 검증하였다. 균의 집중과 균수의 측정은 위에 서술된 것과 같은 방식으로 진행하였다.

통계분석

모든 실험은 통계 프로그램(GraphPad Prism® 5.0, Graphpad Software, San Diego, CA, USA)을 이용하여 분석하였다. 각각의 시료 그룹들 간의 유의적인 차이는 일원배치 분산분석(one way ANOVA)과 티검정(t-test)을 이용하여 분석하였으며, 각 시료간의 유의적인 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 던컨시험(Duncan's multiple range test)을 이용하여 시료간의 유의적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

저장온도 4°C에서 EGCG의 항미생물 활성평가

실제 식품시료에서의 적합한 EGCG 농도를 파악하기 위해, 순수배양액에서의 EGCG의 농도에 따른 *S. Enteritidis*의 항미생물 활성 효능을 4°C에서 평가하여 Fig. 1(a)에 나타내었다. 4°C에서 대조군(0 µg/mL)은 16일간 3 log CFU/mL 정도의 오염 수준을 지속적으로 나타낸 반면, EGCG의 농도가 400 µg/mL과 600 µg/mL 일 때는 6일 그리고 800 µg/mL일 때는 5일이 경과하였을 때 *S. Enteritidis*의 오염수준이 검출 한계인 1 log CFU/mL 이하로 감소함이 관찰되었다.

그 다음으로, 순수배양액 상에서 나타난 효능과의 동등성을 평가하기 위해서 메추리알 장조림에 사용되는 간장 소스에서 *S. Enteritidis*에 대한 EGCG의 항미생물 활성이 4°C에서 평가되었고 Fig. 1(b)에 나타내었다. 간장소스에서의 EGCG의 항미생물 활성의 양상은 순수배양액에서의 결과와 조금 다른 경향을 보여주었는데 먼저 4°C에서 대조군(0 µg/mL)은 순수배양액에서의 실험결과와 마찬가지로 16일간 3 log CFU/mL 정도의 오염 수준을 지속적으로 나타내었다 EGCG 첨가군에서 200 µg/mL 농도일 때는 대조군과 거의 차이가 없는 결과를 보여주었으며, 400, 600 및 800 µg/mL의 농도에서는 저장 16일 경과 시에 *S. Enteritidis*의 오염수준이 검출 한계 이하로 감소함이 관찰되었다.

위의 4°C 실험결과에서 EGCG 농도가 400 µg/mL 이상일 때 *S. Enteritidis*에 대한 항미생물 활성이 나타났으므로 메추리알 장조림 완제품에서는 400 µg/mL의 EGCG를 첨가하여 4°C에서 *S. Enteritidis*에 대한 항미생물 활성을 관찰하였다(Fig. 1(c)). 실험결과 4°C 저장 시 간장소스에서의 결과와 마찬가지로 저장 16일이 경과하였을 때 *S. Enteritidis*이 검출한계 이하로 감소하였다.

저장온도 25°C에서 EGCG의 항미생물 활성평가

25°C에서 실제 식품시료에서의 적합한 EGCG 농도를 파악하기 위해, 순수배양액에서의 EGCG의 농도에 따른 *S. Enteritidis*의 항균활성효능을 Fig. 2(a)에 나타내었다. 25°C에서 EGCG 첨가량이 0 µg/mL인 대조군은 2일이 경과하였을 때 *S. Enteritidis*이 9 log CFU/mL 이상으로 증식한 반면, 첨가된 EGCG의 농도가 200 µg/mL일 때는 6일, 400 µg/mL일 때는 5일, 600 µg/mL과 800 µg/mL일 때는 2일이 경과하였을 때 *S. Enteritidis*의 오염수준이 검출 한계인 1 log CFU/mL 이하로 감소하였다. 이는 순수배양액의 경우, EGCG의 첨가량이 200-800 µg/mL일 때 *S. Enteritidis*의 억제 가능성이 보여주는 것이다.

순수배양액 상에서 나타난 효능과의 동등성을 평가하기 위해 메추리알 장조림에 사용되는 간장 소스에서 *S. Enteritidis*에 대한

25°C에서 EGCG의 항미생물 활성을 평가하였는데(Fig. 2(b)), 간장소스에서의 EGCG의 항균활성효능 양상은 순수배양액에서의 결과와 전혀 다르게 나타났다. 25°C 저장 시 200 µg/mL에서 800 µg/mL까지의 EGCG의 첨가 농도에 관계없이 *S. Enteritidis*는 1일부터 9 log CFU/mL 수준으로 증식하였다. 다시 말해서, 간장소스에서는 EGCG에 의해 *S. Enteritidis*가 억제되지 않는 것으로 확인되었다.

25°C에서의 실험결과를 근거하여 메추리알 장조림 완제품에서 EGCG 농도가 800 µg/mL일 때 *S. Enteritidis*에 대한 항미생물 활성을 Fig. 2(c)에 나타내었다. 25°C 저장한 메추리알 장조림 완제품도 간장소스의 결과와 동일하게 EGCG의 *S. Enteritidis*에 대한 항미생물 활성이 나타나지 않았다.

4°C 저장의 경우, 25°C 저장에 비해 세균의 증식이 불리한 조건임에도 불구하고 *S. Enteritidis*의 균수가 검출한계 이하로 억제되는데 더 많은 시간이 소요되었다. 이는 저온에서 세균의 세포막 유체성(fluidity) 저하로 인한 EGCG의 항미생물 활성 효능 저하에 따른 결과로 사료된다(15). 녹차(*Camellia sinensis* L.)에서 추출한 차 폴리페놀(tea polyphenols, TPPs)에 노출된 *Salmonella typhimurium*의 여러 가지 세포반응을 조사하였는데, TPPs는 *S. typhimurium*에 대하여 투여량에 비례한 살균효과를 보여주었다(16). 4°C 저장 간장소스에서 EGCG의 항미생물 활성 효능이 저하되었으나, 저장 12일 경과 이후부터 *S. Enteritidis* 균이 검출한계 이하로 억제되는 결과를 보여주었다. 이것은 저온에서 세균발육이 억제된다는 요소가 EGCG의 항미생물 활성 효과와 함께 *S. Enteritidis*균의 생장에 다중허들(multiple hurdle)로 작용한 결과로 사료된다. 실제로, 이와 같은 저온저장과 항균물질의 다중허들효과(multiple hurdle effect)에 의한 항균효과는 많은 연구들에서 보고된 바 있다(10,17).

허들기술(hurdle technology)은 개발도상국뿐만 아니라 산업화된 국가에서도 사용되는 사용이 편리하고 효과적인 식품 보존 기술로 알려져 있다. 사실 지금까지 이용되고 있는 보존 기술들의 허들기술에 대한 근본적인 원리의 충분한 이해 없이 단지 경험에 의하여 사용되어왔다. 하지만 최근 20년 동안 식품의 보관에 영향을 많이 주는 온도, pH, aw (수분활성도), Eh (산화환원전위), 경쟁 미생물총들에 대한 지식과 이들 요소들간의 상호작용에 대한 이해도가 많이 높아졌다. 최근에는 미생물들이 나타내는 항상성, 대사 소모성, 스트레스 반응 등을 이용하여 식품 보존 방법으로 다양하게 이용되고 있지만, 새로운 다양한 허들기술에 대한 연구가 또한 요구되고 있는 것도 사실이다(14,18).

4°C 저장에서의 실험결과를 종합해 볼 때, 천연 녹차추출물인 EGCG는 순수배양액에서는 냉장온도보다 상온에서 높은 항미생물 활성을 보이지만(Fig. 1(a) and 2(a)), 저온 상태에서의 균 성장 지연효과와 함께 허들효과(hurdle effect)로 작용하여 메추리알 장조림 완제품에서는 *S. Enteritidis*를 효과적으로 억제하는 것으로 생각된다. 따라서, 메추리알 장조림 제조시의 EGCG첨가와 저온유통체계(cold chain system)로 유통이 된다면 보다 안전성에 기여할 수 있을 것으로 보이며, 사멸기간의 단축을 위해 알가공품에 대한 다양한 천연항균물질의 단일 및 복합 사용을 통한 추가적인 식중독 세균의 억제 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

25°C 저장의 경우, 본 실험에서 EGCG 농도를 800 µg/mL까지 설정하였는데 이는 EGCG가 강력한 항산화물질로서 식품에 첨가되면 식품의 갈변화를 유도하기에 식품 기호도 등을 고려하여 EGCG의 첨가량이 최대 800 µg/mL가 되게 설정하여 실험을 하였다(10).

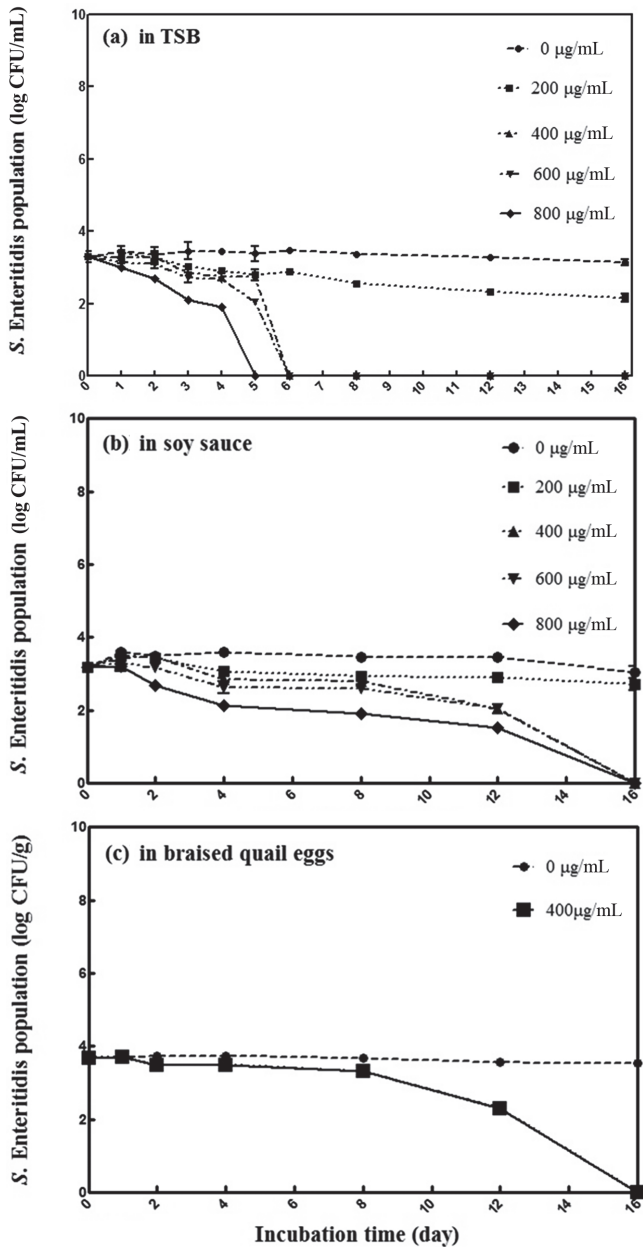


Fig. 1. Inhibitory effect of epigallocatechin gallate against *Salmonella Enteritidis* at 4°C.

일반적으로 EGCG와 같이 세포막을 억제하는 항균물질은 세균의 생육이 활발할수록 저해 효과가 높다(19). 하지만 본 연구의 결과는 순수배양액에서는 생육이 활발한 25°C에서 항균활성효능이 강하게 나타났으나 식품에서의 항균활성효능은 오히려 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 이는 간장 소스에 존재하는 성분 또는 간장 소스로 인해 발생한 이화학적 변화가 첨가된 EGCG의 항미생물 활성 효능을 저해하기 때문으로 생각된다(11). 따라서 이와 관련한 추가적인 연구가 필요하다.

또한 간장소스에 함유된 고추, 마늘 성분과 간장소스에 함유된 염분은 식품중독 세균에 대한 억제 작용을 나타내는 것으로 알려져 있지만(20,21), 본 연구에서는 이로 인한 억제 작용이 나타나지 않았다(Fig. 2). 이는 메추리알 장조림의 제조 과정 중 삶는 과정에 따라 마늘, 고추 유래의 항균활성물질이 불활성화 된 결

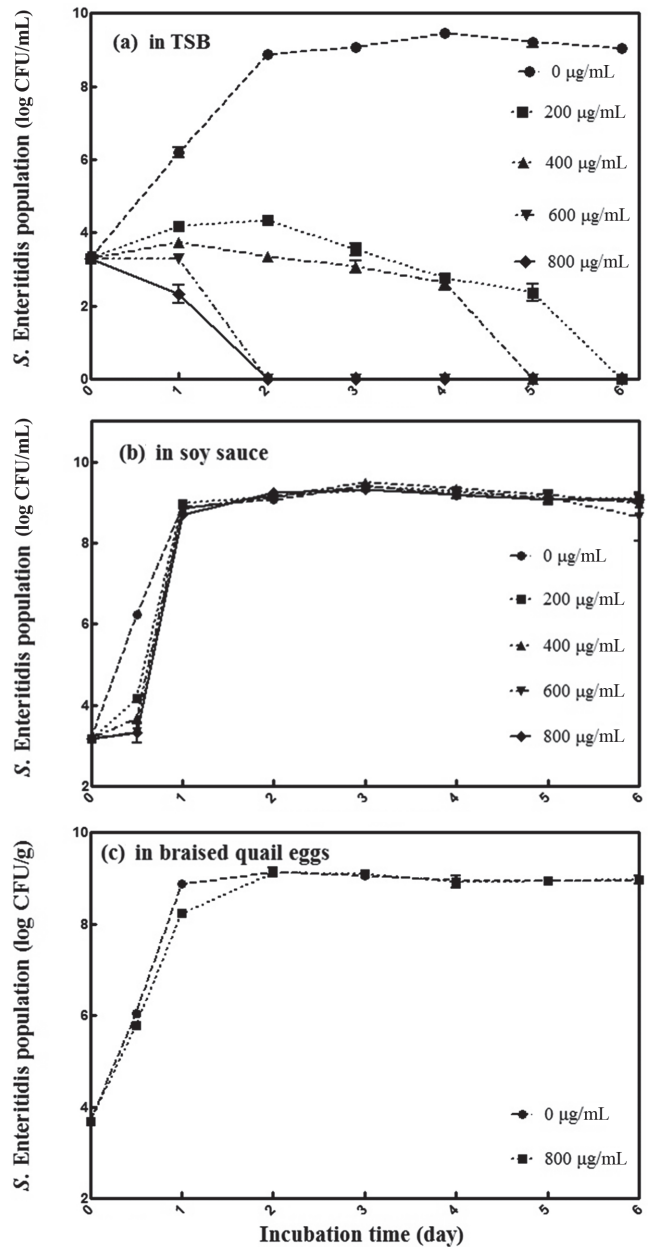


Fig. 2. Inhibitory effect of epigallocatechin gallate against *Salmonella Enteritidis* at 25°C.

과로 보이며(22), 그에 따라 EGCG와의 항균활성 상승작용 또한 나타나지 않은 것으로 판단된다.

Theivendran 등(2006) 및 Kim 등(2004)의 연구에서는 각각 *Listeria monocytogenes*와 *S. Enteritidis*에 대한 녹차추출물의 항미생물 활성효능을 순수배양액과 고기제품에서 평가하였는데, 본 연구의 결과와 마찬가지로 순수배양액에서는 항균활성효능이 비교적 강하게 나타났으나, 식품에서의 항균활성효능은 오히려 감소하는 것으로 보고하였다(14,23). 또한 본 실험의 결과는 Kim 등(2004)에서 연구보고와 유사하였다(14). 녹차, 자스민차, 홍차, 둥글레차, 우롱차의 수용성 추출물을 첨가하여 식품매개성 병원체인 *Escherichia coli* O157:H7, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* 그리고 *Staphylococcus aureus*에 대한 항미생물 활성을 평가하였는데, 온도와 식품(ground beef)사이에서 효과가 유의적으로 차이

를 보였다. 예를 들면, 4가지 미생물의 혼합 배양액을 6 log CFU/mL 수준으로 BHI 배지에 첨가한 후 35°C에서 5일간 배양하였다. 녹차, 자스민차, 홍차는 *S. aureus*를 1일에서 5일까지 거의 5.0 log CFU/mL 억제하였으며, 녹차와 자스민차는 5일에 *L. monocytogenes*도 거의 3.0 log CFU/mL 억제하였다. 하지만 실제 식품인 다진 쇠고기(ground beef)에서 *L. monocytogenes*와 *S. aureus*에 대한 녹차와 자스민차의 항미생물 활성을 조사하기 위해서 7°C에 7일간 배양하였지만 통계적으로 유의차가 있는 결과를 나타내지 않았다. 다시 말해서, 순수배양액에서는 온도가 높을수록 천연첨가물의 항미생물 활성이 높은 것으로 나타났지만 실제 식품 샘플에서는 식품 매트릭스(food matrix)와 인위적첨가된 균의 성장 속도와의 관계에서 천연첨가물의 항미생물 활성을 나타내지 못하는 것으로 보고되었다.

따라서 본 실험의 결과에서도 동일하게 저장온도에 따른 녹차 추출물인 EGCG의 항미생물 효과의 차이는 기본적으로 간장이 함유한 성분과 염농도, 마늘, 고추 등의 food matrix에 의한 영향으로 사료되지만, 여기에 대한 추가적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

향후의 연구는 녹차추출물 구성성분이 가지는 항균활성에 대한 연구를 통하여 단일 천연 파이토케미컬(phytochemical)의 항균 활성을 비교평가하고, 그 메커니즘을 밝히는 방향으로 추진되어야 할 것이다. 또한 *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* 그리고 *S. aureus* 등의 다른 식품매개성 병원체들에 대한 항미생물 활성 평가에 대해서도 추가적인 연구가 필요하다.

요 약

천연 녹차추출물인 epigallocatechin gallate (EGCG)의 메추리알 장조림에서 천연식품첨가제로서의 적용 가능성을 탐색하고자 *S. Enteritidis*에 대한 항미생물 활성을 냉장온도(4°C)와 일반실내온도(25°C)에서 평가하였다. 순수배양액에서의 실험결과 첨가된 EGCG의 농도(200-800 µg/mL)에 따라 4°C에서 5일에서 16일 사이에서 그리고 25°C에서 1일부터 6일 사이에서 *S. Enteritidis*균이 검출한계 이하로 억제되는 것이 관찰되었다. 이와 대조적으로 간장소스에서의 실험에서는 25°C에서 첨가된 EGCG의 농도와 관계없이 *S. Enteritidis*균이 억제되지 않았으며, 4°C에서는 400 µg/mL 이상의 농도일 때 16일에 *S. Enteritidis*균이 검출한계 이하로 억제되는 것이 관찰되었다. 메추리알 장조림의 경우, 25°C에서 간장소스의 결과와 동일하게 어떠한 EGCG의 항미생물 활성이 나타나지 않았지만, 4°C에서 400 µg/mL의 EGCG 농도 첨가 시 16일에 *S. Enteritidis* 균이 검출한계 이하로 억제되는 것이 확인되었다. 따라서, 메추리알 장조림 완제품에서 EGCG는 4°C 이하의 저온 유통체계(cold chain system)하에서 *S. Enteritidis*과 같은 식중독세균을 제어할 수 있는 적합한 천연 식품첨가제로서 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구결과는 2015년 가공식품의 나트륨 저감화 가이드라인 설정 과제(00168173500) 결과의 일부이며, 연구비를 지원해주신 식품의약품안전처에 감사드립니다. 또한 농림축산식품부 농림수산식품기술기획평가원 수출전략기술개발사업(313010-3)의 연구비를 받았습니니다.

References

- Ko YM, Hong SH, Park GC, Na YJ, Moon JS, Yoon KS. 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 (2014)
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. MAFRA statistics. Available from: <http://lib.mafra.go.kr>. Accessed Sep. 15, 2015.
- Amiali M, Ngadi MO, Smith PJ, Raghavan GSV. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enteritidis* in liquid egg white using pulsed electric field. *J. Food Sci.* 71: M88-M94 (2006)
- Song YJ, Cho YS, Oh KH. Antibacterial activity against *Salmonella enteritidis* JK-15 and LPS changes caused by rose flower extracts. *Korean J. Microbiol.* 45: 318-323 (2009)
- Ministry of Food and Drug Safety. Korean Food Standards Codex. Available from: http://www.foodsafetykorea.go.kr/food-code/menu_01_01.jsp#. Accessed Dec. 23, 2015.
- Rustia AS, Azanza PV. Heat resistance characteristics of *Salmonella enteritidis* in liquid quail egg. *Food Sci. Technol. Res.* 11: 151-156 (2005)
- Jeong EJ, Park LY, Park HJ, Lee SH. Antibacterial effect of chitosan and grape seeds extracts *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J. Chitin Chitosan* 16: 27-32 (2011)
- Jung KH. Research directions for food additives safety. *J. Fd. Hyg. Safety* 24: 398-407 (2009)
- Hamilton-Miller JMT. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.). *Antimicrob. Agents Ch.* 39: 2375-2377 (1995)
- Perumalla AVS, Hettiarachchy NS. Green tea and grape seed extracts-Potential applications in food safety and quality. *Food Res. Int.* 44: 827-839 (2011)
- Kim DW, Kim JH, Kang GH, Kang HK, Park SB, Park JH, Bang HT, Kim MJ, Na JC, Chae HS, Choi HC, Suh OS, Kim SH, Kang CW. Studies for antibiotic free chicken production using water extracts from *Artemisia capillaris* and *Camellia sinensis*. *Korean J. Food Sci. An.* 30: 975-988 (2010)
- EPA. Ultraviolet disinfection guidance manual for the final long term 2 enhanced surface water treatment rule. Environmental Protection Agency, Washington D.C., USA (2006)
- Schraft H, Watterworth LA. Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: Comparison of 3M™ Petrifilm™ plates with standard plating procedures. *J. Microbiol. Meth.* 60: 335-342 (2005)
- Kim S, Ruengwilysup C, Fung DYC. Antibacterial effect of water-soluble tea extracts on foodborne pathogens in laboratory medium and in a food model. *J. Food Protect.* 11: 2608-2612 (2004)
- Ulrih NP, Ota A, Sentjurs M, Kure S, Abram V. Flavonoids and cell membrane fluidity. *Food Chem.* 121: 78-84 (2010)
- Choi HK, Oh KH. Cellular responses of *Salmonella typhimurium* exposed to green tea polyphenols. *Korean J. Microbiol.* 48: 87-92 (2012)
- Gálvez A, Abriouel H, Lpez RL, Omar NB. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.* 120: 51-70 (2007)
- Leistner L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *Int. J. Food Microbiol.* 55: 181-186 (2000)
- Brown MR, Collier PJ, Gilbert P. Influence of growth rate on susceptibility to antimicrobial agents: Modification of the cell envelope and batch and continuous culture studies. *Antimicrob. Agents Ch.* 34: 1623-1628 (1990)
- Gibson AM, Bratchell N, Roberts TA. Predicting microbial growth: Growth responses of salmonellae in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *Int. J. Food Microbiol.* 6: 155-178 (1988)
- Shelef LA. Antimicrobial effects of spices. *J. Food Safety* 6: 29-44 (1983)
- Kim YD, Kim KM, Hur CK, Kim ES, Cho IK, Kim KJ. Antimi-

- crobial activity of garlic extracts according to diferent cooking methods. Korean J. Food Pres. 11: 400-404 (2004)
23. Theivendran S, Hettiarachchy SH, Johnson MG. 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 (2006)