

## 녹차추출물과 보존료의 식중독세균에 대한 항균활성 비교

박 찬 성 · 차 문 석

경산대학교 생명자원공학부

### Comparison of Antibacterial Activities of Green Tea Extracts and Preservatives to the Pathogenic Bacteria

Chan-Sung Park and Moon-Seok Cha

Faculty of Life Resources Engineering, Kyungsan University, Kyungsan, Kyungbuk, 712-240, Korea

#### Abstract

Survival of pathogenic bacteria (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *S. typhimurium*) in tryptic soy broth containing green tea water extract (GTW), green tea ethanol extract (GTE), potassium sorbate (PS) and sodium benzoate (SB) stored at various pH was evaluated. Tryptic soy broth (TSB) containing 0~2% (w/v) of green tea extracts and preservatives adjusted to pH 5.5, 6.0, 6.5 and 7.0 was inoculated approximately  $10^5$  CFU/ml of pathogenic bacteria and incubated at 35°C for 24~48 hours. Survival of bacteria was determined by viable cell counts of bacterial culture at each pH. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of green tea extracts and preservatives against pathogenic bacteria were derived from survival curves of each bacteria. Antibacterial activities of green tea extracts increased with increasing pH but those of preservatives decreased with increasing pH. *S. aureus* was the most sensitive strain to GTW and GTE but the most resistant to PS and SB. The MICs of green tea extracts to *S. aureus* were 0.25~0.35% and MBCs of the extracts were 1.0~2.0% at pH 5.5~7.0. The MICs of PS and SB to *S. aureus* were 0.52~0.98% at pH 5.5~6.0 and non inhibitory at pH 7.0. *S. typhimurium* was the most resistant to green tea extracts while the most sensitive to SB. The MICs of green tea extracts to *S. typhimurium* were 0.46~1.62% at pH 6.5~7.0 and non inhibitory at pH 5.5. The MICs of PS and SB to *S. typhimurium* were 0.30~1.30% at pH 5.5~6.0 and 2% of PS was bactericidal at pH 5.5. 1.0~2.0% of GTW and GTE were bactericidal to all strains tested except *L. monocytogenes* at pH 7.0. GTE was most efficient at inactivating pathogenic bacteria, generally followed by GTW, PS and SB.

Key words : antibacterial activity, pathogenic bacteria, green tea extracts, potassium sorbate, sodium benzoate.

#### 서 론

우리 나라에서 발생한 식중독사고는 1995년에 55건, 환자수가 1,584명이었으나 1998년에는 119건에 환자수는 4,577명으로 크게 증가하였으며<sup>1)</sup>, 영국에서도 1995년에 발생한 식중독사고가 82,041건으로 놀랄만 큼 증가한 것으로 보고되고 있다<sup>2)</sup>. 미국의 질병통제 센터는 매년 20,000명 정도의 사람들이 *E. coli* O157:

H7에 감염되는 것으로 추정하고 있다<sup>3)</sup>.

이러한 식중독사고의 원인식품은 주로 육류, 가공류가 원인이 되었으나<sup>4,5)</sup> 생야채<sup>6,7)</sup>, 과일음료<sup>8)</sup>, 우유와 치즈<sup>9)</sup>에서도 식중독세균이 분리되고 있다. 1997~1998년 Belgium에서 판매되는 가공류의 772 sample 중 36.5%가 *Salmonella*에 감염되어 있었으며 38.2%가 *L. monocytogenes*에 감염된 것으로 보고되고 있다<sup>4)</sup>. Monfort 등<sup>10)</sup>은 살아있는 갑각류의 120 sample

\* Corresponding author : Chan-Sung Park

중 55%에서 *L. monocytogenes*가 분리되었는데 그 원인은 환경오염과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고하였다.

식중독세균과 부패세균의 증식을 억제할 목적으로 많은 종류의 보존료가 사용되고 있으나 이들 화학합성 보존료가 지속적으로 체내에 축적될 경우에는 만성독성, 발암성, 돌연변이 유발성 등의 문제가 제기되고 있다<sup>11)</sup>. 식품제조업자와 소비자 모두 안전한 천연물의 사용을 희망하고 있어 인체에 무해한 보존료의 개발이 시급한 실정이며 천연물에서 항균성 물질을 추출하여 식품에 이용하려는 연구가 많이 수행되어 왔다<sup>12,13)</sup>. 최근에는 향신료<sup>14,15)</sup>, 식물의 정유성분<sup>16)</sup>, 생약제<sup>17)</sup> 및 우리 나라에서 많이 응용되는 녹차 추출물의 항균성에 관한 연구<sup>18)</sup>가 활발히 이루어지고 있다. 본 연구는 천연물 중에서 강한 항균활성과 높은 안전성을 가진 물질을 탐색할 목적으로 옛부터 우리 조상들이 대대로 응용하였으며, 생리적 유용성이 있는 녹차를 이용하여 식중독세균에 대한 항균성 조사로서 녹차추출물과 합성보존료의 생균수와 최소억제농도 및 최소사멸농도, 생육 저해환의 크기를 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료의 추출

본 실험에 사용한 녹차는 테평양화학의 뒤음 차로서, 20배 중량의 물 혹은 70% 에탄올로서 70°C에서 중탕으로 2분간 3회 반복해서 추출하여 농축시킨 후 동결건조하여 사용하였다.

### 2. 공시균주

본 실험에 사용한 공시균주는 Gram 양성균인 *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 13565, Gram 음성균인 *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella typhimurium* ATCC 7988을 계대배양해서 사용하였다.

### 3. 사용배지

전배양 및 본배양을 위한 액체배지는 tryptic soy broth(TSB, Difco)에 0~2%(w/v)의 녹차추출물 혹은 보존료(potassium sorbate, sodium benzoate)를 첨가한 후 lactic acid로서 pH를 5.5~7.0으로 조정하여 사용하였다. 생균수 측정을 위한 고체배지는 tryptic soy agar(TSA, Difco)를, 균액의 희석액으로는 0.1% peptone수를 사용하였다.

### 4. 녹차 추출물과 보존료의 항균활성 비교

항균활성은 녹차 추출물과 보존료가 첨가된 배지에서 각 세균의 생균수의 변화를 조사하였다. 보존균주를 1백금이량 취해서 TSB배지 10ml에서 약 18~24시간 전배양시킨 후 다시 TSB배지 10ml에 균액을 0.1ml 접종하여 18~24시간 배양한 전배양액을 녹차추출물 혹은 보존료(potassium sorbate, sodium benzoate)가 첨가된 TSB배지에 약  $10^5$  cells/ml되게 접종하여 24시간 배양한 후 배양액의 생균수를 colony forming unit(Log CFU/ml)로 나타내었다.

### 5. 최소저해 농도(MIC)와 최소사멸 농도(MBC) 측정

식중독세균에 대한 녹차추출물과 보존료의 최소저해 농도(MIC, minimum inhibitory concentration)와 최소사멸 농도(MBC, minimum bactericidal concentration)는 Mann과 Markham의 방법<sup>19)</sup>에 따라 녹차추출물과 보존료의 항균실험에서 나타난 생균수 측정 결과, 증식이 나타나지 않은 최저 농도를 MIC, 세균이 사멸한 최저농도를 MBC로 하였다.

### 6. 녹차추출물과 보존료에 의한 생육 저해환 비교

생육저해환 측정은 전배양액 0.1ml를 TSB배지에 접종하여 각 세균의 대수증식기에 도달할 때까지(3~6시간) 본배양한 후 미리 만들어둔 TSA평판배지에 균액을 약  $10^7$ cells되게 접종하여 멸균 면봉으로 균일하게 도말하였다. 배지의 표면에 8mm 멸균 paper disc(Whatman)를 올려놓은 다음 3%, 5%의 녹차추출물 혹은 보존료를 50 $\mu$ l씩 흡수시킨 후 35°C incubator에서 48시간 배양시킨 후 paper disc 주위의 inhibition zone의 직경(mm)을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 녹차추출물과 보존료가 세균의 생존에 미치는 영향

녹차추출물과 보존료의 항균활성을 비교하기 위해서 0~2.0%(w/v)의 녹차추출물 혹은 보존료를 첨가한 pH 5.5~7.0의 TSB에 각 식중독세균의 전배양액을 약  $10^5$  CFU/ml가 되게 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 TSA 평판배지로서 생균수를 측정한 결과는 다음과 같다.

#### 1) *L. monocytogenes*의 생존에 미치는 영향

Fig. 1은 보존료와 녹차추출물 첨가에 의한 *L.*

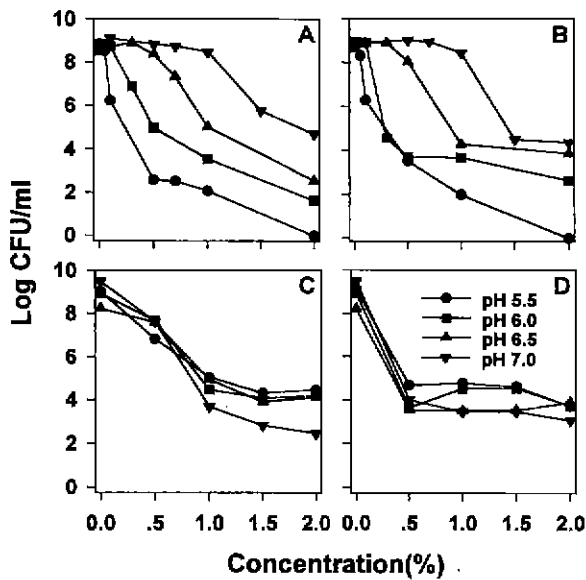


Fig. 1. Comparison of inhibitory effects of green tea extracts and preservatives on the survival of *Listeria monocytogenes* at various pH. A : potassium sorbate; B : sodium benzoate; C : green tea water extract; D : green tea ethanol extract.

*monocytogenes*의 생균수 변화를 나타낸 그림이다. Sodium benzoate와 potassium sorbate는 pH 6.5와 7.0에서 1%이상의 농도에서, pH 5.5와 6.0에서는 0.5%이상의 농도에서 증식이 억제되었으며, pH 5.5에서는 2.0%에서 세균이 사멸되어 두 보존료간에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 보존료에서는 pH가 낮을수록 *L. monocytogenes*에 대한 항균활성이 컸으며 저농도에서 세균의 증식이 억제되었는데 이러한 결과는 McMahon 등<sup>20)</sup>이 *L. monocytogenes*에 대하여 2.4, 4.8%의 sodium lactate로서 pH 5.7과 7.2에서 가열했을 때, pH가 낮은 경우에만 D-value에 유의적인 차이를 나타낸 것으로 보고하여 합성보존료의 강한 pH 의존성에 따른 결과로 추정된다.

녹차추출물의 경우 물추출물은 모든 시험 pH구가 농도 0.8% 이상에서 균의 증식이 억제되었으며, 그 이상의 농도에서 항균력의 증가는 미미하였다. 에탄올추출물은 모든 시험 pH구가 농도 0.5% 이하에서 균의 증식이 억제되었으며 그 이상의 농도에서 뚜렷한 항균력의 증가는 없었으며 pH에 차이에 의한 항균활성의 차이는 거의 나타나지 않았다. 녹차추출물은 pH 6.5와 7.0에서 보존료보다 낮은 농도에서 세균의 증식이 억제되었으나 세균이 사멸되지는 않았다.

2) *S. aureus*의 생존에 미치는 영향

Fig. 2는 보존료와 녹차추출물에 의한 *S. aureus*의 생균수 변화이다. Sodium benzoate의 경우 pH 6.5와 7.0은 저농도에서는 균의 증식억제 효과가 크지 않았으며 pH 6.0과 5.5에서는 0.5~1.0%에서 세균의 증식이 억제되었으나 그 이상의 농도에서도 생균수에 큰 변화없이 강한 내성을 나타내었다. Potassium sorbate의 경우 pH 7.0에서는 증식억제 효과가 없었고, pH 6.5에서는 2.0%이상의 농도에서 균의 증식억제 효과가 나타났으며 pH 5.5와 6.0에서는 계속 *S. aureus*의 증식이 억제되어 pH 5.5에서는 2.0% 농도에서 세균이 사멸되었다. Giannuzzi 등<sup>21)</sup>은 *S. aureus*에 대하여 potassium sorbate의 pH를 5.0, 5.4, 5.8로 조정하여 실험했을 때, pH 5.8에서는 potassium sorbate의 농도가 증가되어도 증식이 거의 억제되지 않는 내산성을 보고하였는데, 본 실험에서도 pH 5.5에서 증식이 억제되었으나 pH 6.0에서는 1.0%이상의 농도가 증가되어도 증식의 억제 정도는 차이를 나타내지 않았다.

녹차추출물의 경우, 물추출물과 에탄올추출물은 모든 시험 pH구에서 0.3% 이내의 저농도에서 급격히 *S. aureus*의 증식이 억제되어서 pH 5.5에서는 1.5~2.0%의 농도에서 균이 사멸되었으며, pH 6.0~7.0에서는 모두 1.0%에서 균이 사멸되었다. 녹차추출물은 모든 시험 pH에서 보존료보다 낮은 농도에서 균의 증식이 억제되어 사멸되었다. *S. aureus*에 대한 증식억제 효

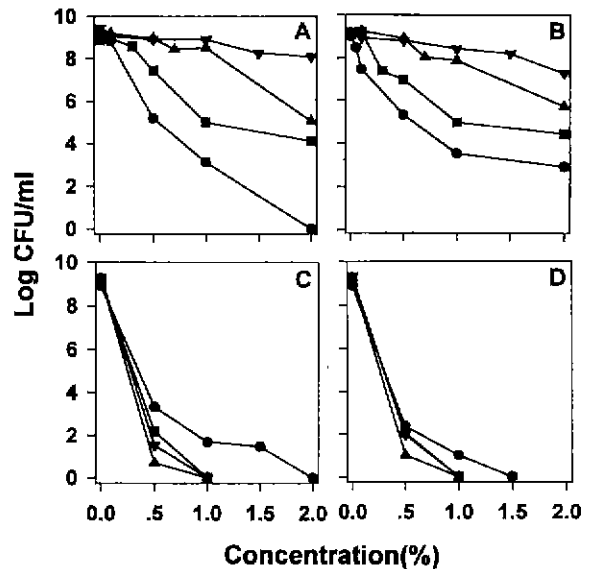


Fig. 2. Comparison of inhibitory effects of green tea extracts and preservatives on the survival of *Staphylococcus aureus* at various pH. A, B, C and D : See the legend of Fig. 1. Symbols shown in Fig. 1.

과는 녹차추출물이 보존료에 비하여 월등히 큰 효과를 나타내었다. *S. aureus*에 대하여 향신료<sup>22)</sup>, 녹차<sup>23)</sup>, 갖<sup>24)</sup>, 솔잎<sup>25)</sup> 등을 이용한 타 연구자들의 실험에서도 이 세균이 다른 세균보다 천연물에 의해 쉽게 억제되었다는 보고로 미루어 다양한 천연물이 이 세균의 억제에 유용하게 활용될 것으로 생각된다.

3) *E. coli*의 생존에 미치는 영향

Fig. 3은 *E. coli*에 대한 보존료 및 녹차추출물 첨가에 의한 생균수의 변화를 나타낸 것이다. Sodium benzoate의 경우 pH 7.0에서 대조구보다 약간 증식이 억제되었으며, pH 6.0에서는 약 1.0%의 농도에서도 균의 증식이 억제되었으나 이후 항균력의 증가는 없었으며, pH 5.5에서는 1.0%에서 균의 증식이 억제되었고 농도 2.0%에서는 세균이 사멸되었다. Potassium sorbate의 경우 모든 시험 pH구가 0.5~1.0%에서 증식이 억제되었으며 pH 5.5와 6.0에서는 각각 1.0%, 2.0%에서 세균이 사멸되었다.

녹차추출물에서 *E. coli*의 생존은 물추출물의 경우, 모든 시험 pH구가 농도 1.0% 범위 내에서는 균의 증식이 억제효과가 거의 없었으나 농도 1.0%부터 급격히 생균수가 감소하여서 pH 6.5와 7.0에서 농도 2.0%에서 균이 사멸되었다. 녹차 에탄올추출물에서는 모든 시험 pH구가 물추출물보다 저농도에서 균의 증식이 억제되어서 pH 6.0에서는 농도 2.0%에서 pH 6.5와

7.0에서는 농도 1.5%에서 *E. coli*는 사멸되었다. 앞에서 본 *L. monocytogenes*, *S. aureus*와 마찬가지로 보존료에서는 pH가 낮을수록 저농도에서 균의 증식이 억제되었으나 녹차 추출물에서는 pH가 높을수록 저농도에서 세균의 증식이 억제되었다.

1997년, 살균하지 않은 사과주스 등의 과일음료를 마신 60여명의 환자중 1명이 *E. coli* O157:H7로 인하여 사망하였으며<sup>6)</sup>, 특히 apple cider의 품질관리에서 *E. coli* O157:H7의 억제되기 어려운 점은 이 세균이 산, 저온 등의 환경에 대하여 강한 내성을 가졌기 때문인 것으로 보고되고 있다<sup>26-28)</sup>. 본 실험의 결과에서 potassium sorbate는 pH가 낮을수록 높은 항균활성을 나타낸 점은 apple cider와 같은 강한 산성식품에서 효율적인 항균활성을 나타낼 것으로 추정된다.

4) *S. typhimurium*의 생존에 미치는 영향

Fig. 4는 보존료와 녹차추출물 첨가에 의한 *S. typhimurium*의 생균수변화를 나타내었다. Sodium benzoate와 potassium sorbate에서 pH 5.5~6.5에서는 0.3~1.0% 내에서, pH 7.0에서는 농도 1.0%이상에서 균이 억제되었으며 pH 5.5에서는 sodium benzoate가 1.0%, potassium sorbate가 2.0%에서 세균이 사멸되었다. Potassium sorbate의 경우에도 sodium benzoate에서와 같이 모든 시험 pH에서 농도 1.0% 이내에서 균의 증식억제 효과가 나타났으며, pH 5.5와 6.0에서

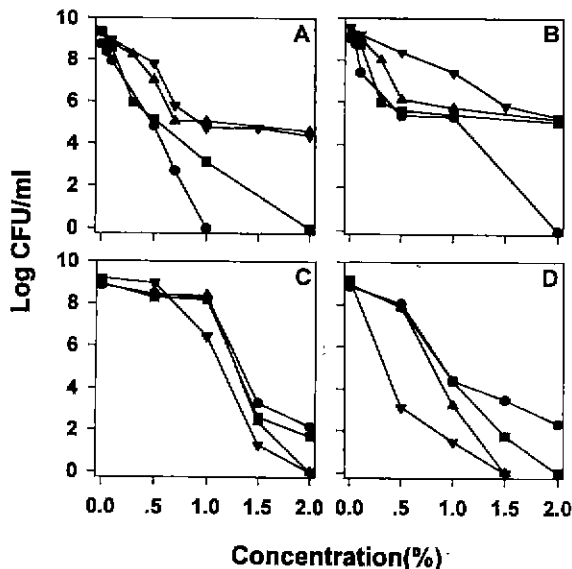


Fig. 3. Comparison of inhibitory effects of green tea extracts and preservatives on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 at various pH. A, B, C and D : See the legend of Fig. 1. Symbols shown in Fig. 1.

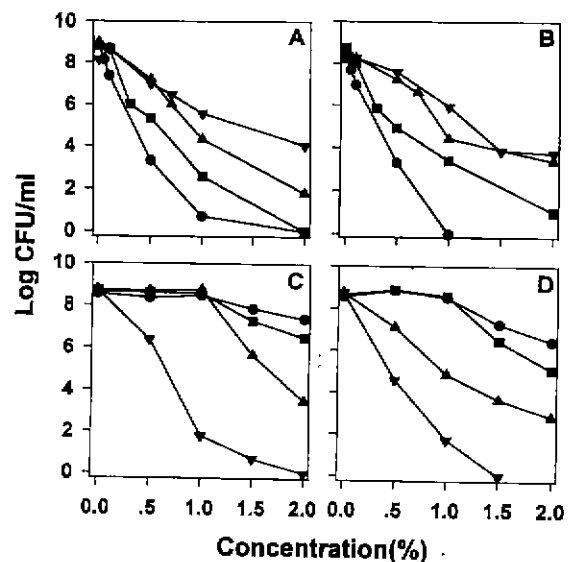


Fig. 4. Comparison of inhibitory effects of green tea extracts and preservatives on the survival of *Salmonella typhimurium* at various pH. A, B, C and D : See the legend of Fig. 1. Symbols shown in Fig. 1.

는 농도 2.0%에서 *S. typhimurium*이 사멸되었다. 보존료에 의한 세균의 사멸효과는 앞의 *E. coli* O157:H7(Fig. 3)과 비슷한 경향으로서 Gram 양성균 보다는 음성균에서 효율적이었다.

녹차추출물의 경우 물추출물과 에탄올 추출물 모두 pH 5.5와 6.0에서는 증식억제 효과가 대단히 작았으며, pH 7.0에서는 0.5% 정도의 농도에서 증식이 억제되었다. pH 7.0에서 물추출물은 2.0%, 에탄올추출물은 1.5%에서 균이 사멸되었으나 비교한 두 종류의 보존료에 비해 항균 활성이 낮은 편이었다. 녹차 추출물의 *S. typhimurium*에 대한 항균활성은 앞의 3균주(Fig. 1~Fig.3)에 비하여 대단히 약한편으로서 이 균주는 녹차추출물에 대하여 타 균주에 비하여 강한 내성을 나타내었다. 이러한 결과는 *S. typhimurium*이 식물의 정유성분<sup>16)</sup>, 녹차 추출물<sup>29)</sup>에 대하여 강한 내성을 나타낸 보고와 비슷한 경향이었다. 그러나 정 등<sup>13)</sup>은 영지 추출물에서 *S. typhimurium*에 대하여 특이적인 항균 활성을 갖는 물질을 보고하여 천연물에서 분리되는 다양한 종류의 항균성 물질을 활용하면 식중독세균을 효율적으로 억제할 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 결과에서 4종류의 식중독세균에 대한 보존료와 녹차추출물의 항균활성을 요약해보면, 보존료의 경우는 pH가 낮을수록 식중독세균의 증식이 억제되어 보존료는 pH 의존성이 강한 것으로 나타났으며 Gram 음성균을 억제하는데 효율적이었다. 녹차추출물의 경우는 pH가 낮을수록 항균활성이 감소하는 특이한 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 자연계의 많은 세균들이 산성조건, 염분, 등의 나쁜 환경에 놓여지게 되면 자연적으로 이들 환경에 적응하여 생존하며. *A. hydrophila*<sup>30)</sup>, *E. coli*<sup>31~33)</sup>, *L. monocytogenes*<sup>34)</sup>, *S. typhimurium*<sup>35~37)</sup> 등의 많은 세균들이 치명적인 산성 조건하에서 내성을 획득하여 내산성을 나타낸다는 보고와 일치하는 결과로 생각된다. Wanf와 Doyle<sup>38)</sup>은 가열처리나 산성 pH에서는 세균이 산에 대한 적응력을 갖게하는 효소와 단백질을 합성함으로써 세균의 내성을 증가시킨다고 보고하여 세균의 내성이 증가하는 원인을 규명하였다. 이러한 점으로 미루어 볼 때, 식품중의 산성 환경에서도 식중독사과의 가능성은 있으나 본 실험에서 사용한 녹차 추출물이 보존료에 비하여 식중독세균에 대하여 대단히 우수한 항균활성을 나타낸 점은 아주 다행한 결과로 생각된다.

## 2. 녹차추출물과 보존료의 최소저해농도와 최소사멸농도 비교

녹차추출물과 보존료에 의한 식중독세균의 생존곡선(Fig. 1~Fig. 4)으로부터 최소저해농도(MIC)와 최소사멸농도(MBC)를 구한 결과는 Table 1과 같다.

*L. monocytogenes*의 경우 pH 5.5에서 MIC는 sodium benzoate가 0.28%, potassium sorbate가 0.23%로 나타나 가장 낮은 농도에서 증식이 억제되었으나 pH 7.0에서는 각각 1.42, 1.82%로서 pH에 따라 큰 차이를 나타내었다. 녹차추출물에서는 pH 5.5~7.0에서 MIC는 물추출물이 0.72~1.0%, 녹차 에탄올추출물이 0.33~0.45%로서 pH변화에 따른 차이가 작은편이었다. 여 등<sup>23)</sup>은 여러 가지 차에서 추출한 crude catechin의 *L. monocytogenes*에 대한 MIC가 증제차는 300  $\mu$ g/ml, 볶음차 400  $\mu$ g/ml, 오롱차 400  $\mu$ g/ml, 홍차 600  $\mu$ g/ml로 보고하였다. 이 농도는 본 실험의 경우보다 월등히 낮은 농도에서 균의 증식이 억제된 결과로서 본실험에 사용된 녹차추출물 중에서 특히 catechin 성분이 강한 항균활성을 가진 것으로 생각된다.

*S. aureus*에 대한 sodium benzoate와 potassium sorbate의 MIC는 pH 5.5에서 0.56, 0.52%, pH 6.0에서는 0.98였으나 pH 7.0의 경우에는 세균의 증식이 억제되지 않았다. 녹차 추출물에서는 MIC가 물추출물과 에탄올추출물 모두 pH 5.5~7.0에서 0.25~0.35%로서 모든 pH에서 보존료보다 월등히 낮은 농도에서 세균의 증식이 억제되었다.

*E. coli*의 경우 pH 5.5에서 보존료의 MIC는 sodium benzoate가 1.06%, potassium sorbate가 0.48%였으며, pH 6.5와 7.0에서는 sodium benzoate에 의해서는 증식이 억제되지 않고 potassium sorbate에서 각각 0.7, 0.90%에서 억제되었다. 녹차추출물의 경우는 pH가 증가할수록 MIC가 낮아졌으며 pH 5.5~7.0에서 물추출물의 MIC는 1.12~1.32%, 에탄올추출물이 0.35~0.90%로 나타나 에탄올추출물이 물추출물보다 월등히 큰 항균활성을 나타내었다.

*S. typhimurium*에 대한 sodium benzoate와 potassium sorbate의 MIC는 pH 5.5에서 각각 0.30%, 0.32%였으며, pH 7.0에서는 각각 1.20%, 1.30%로서 보존료 간에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 녹차추출물에서는 pH 5.5에서 세균의 증식이 억제되지 않았으나 pH 7.0에서 MIC는 물추출물이 0.65%, 에탄올추출물이 0.46%로서 에탄올추출물의 항균활성이 물추출물보다 큰 편이었다.

한편, MBC는 *L. monocytogenes*의 경우 pH 5.5에서 sodium benzoate와 potassium sorbate가 2.0%였으나 pH 6.0 이상에서는 2% 이내의 보존료에 의해서 사멸되지 아니하였으며 녹차추출물에서는 모든 시험

**Table 1. Minimum inhibitory concentration(MIC) and minimum bactericidal concentration(MBC) of green tea extracts and preservatives on the pathogenic bacteria at various pH**

Strains	pH	MIC				MBC			
		SB	PS	GTW	GTE	SB	PS	GTW	GTE
LM	5.5	0.28	0.23	1.00	0.45	2.00	2.00	-	-
	6.0	0.29	0.50	0.95	0.40	-	-	-	-
	6.5	0.99	1.00	0.80	0.37	-	-	-	-
	7.0	1.42	1.82	0.72	0.33	-	-	-	-
SA	5.5	0.56	0.52	0.35	0.29	-	2.00	2.00	1.50
	6.0	0.98	0.98	0.30	0.29	-	-	1.00	1.00
	6.5	-	2.00	0.28	0.29	-	-	1.00	1.00
	7.0	-	-	0.25	0.25	-	-	1.00	1.00
EC	5.5	1.06	0.48	1.32	0.90	2.00	2.00	-	-
	6.0	2.00	0.52	1.29	0.90	-	2.00	-	2.00
	6.5	-	0.70	1.28	0.80	-	-	2.00	1.50
	7.0	-	0.90	1.12	0.35	-	-	2.00	1.50
ST	5.5	0.30	0.32	-	-	1.00	2.00	-	-
	6.0	0.48	0.63	-	2.00	-	2.00	-	-
	6.5	0.85	0.76	1.62	0.97	-	-	-	-
	7.0	1.20	1.30	0.65	0.46	-	-	2.00	1.50

\* LM : *L. monocytogenes*; SA: *S. aureus*; EC: *E. coli*; ST: *S. typhimurium*.

\* PS : potassium sorbate; SB : sodium benzoate; GTW : green tea water extract; GTE : green tea ethanol extract.

\* - : Non inhibitory or non bactericidal.

pH구에서 사멸되지 아니하였다. *S. aureus*는 보존료 중 potassium sorbate만이 pH 5.5, 2.0%에서 세균을 사멸시켰으며, 녹차추출물에서는 pH 6.0 이상부터 물추출물과 에탄올추출물이 모두 1.0%에서 균이 사멸되었다. *E. coli*의 경우 보존료에서 pH 6.5 이상에서는 세균이 사멸되지 않았으나 녹차추출물에서의 MBC는 pH 6.0에서 에탄올추출물이 2.0%, pH 6.5 이상에서 물추출물과 에탄올추출물이 각각 2.0%, 1.5%로 나타났다. *S. typhimurium*에 대한 보존료의 MBC는 pH 5.5에서 sodium benzoate와 potassium sorbate가 각각 1.0%, 2.0%였으며, pH 6.5 이상에서는 세균이 사멸되지 않았다. 녹차추출물의 *S. typhimurium*에 대한 MBC는 pH 7.0에서 물추출물과 에탄올추출물이 각각 2.0%, 1.50%였으나 다른 pH구에서는 균이 사멸되지 않았다. *L. monocytogenes*를 제외한 모든 균주가 pH 7.0일 때 녹차추출물에서는 균이 사멸되었으나 보존료에서는 모든 균주들이 사멸되지 않았다.

본 실험에서 나타난 MIC와 MBC의 측정결과에서 *S. aureus*가 타 균주에 비해 보존료에 대하여 특히 강한 내성을 나타내었으나 녹차추출물에서는 가장 큰 감수성을 나타내어 MIC와 MBC가 타 균주에 비해 가장 낮았다. 반면에 *S. typhimurium*은 타 균주보다 보

존료에 대해서 높은 감수성을 나타내었으나 녹차추출물에 대하여 강한 내성을 나타내었다.

### 3. 녹차추출물과 보존료의 생육 저해환(clear zone) 비교

Table 2는 4종류의 식중독세균에 대하여 3%와 5%의 녹차추출물과 보존료로서 생육 저해환의 크기를 비교한 결과이다.

보존료 중 sodium benzoate는 모든 균에 대하여 5%에서도 생육저해환을 형성하지 않았으며 potassium sorbate는 *L. monocytogenes*에 대하여 3%에서, *E. coli*, *S. typhimurium*에 대하여 5%에서 생육저해환을 형성하였으나 *S. aureus*에서는 생육저해환을 형성하지 않았다. 녹차추출물은 Gram 양성균에 대하여는 물추출물과 에탄올추출물 모두 3%에서, Gram 음성균에 대하여는 두 추출물 모두 5%에서 생육저해환을 형성하였다. 전체적으로 녹차추출물은 보존료보다 큰 생육저해환을 형성하여 항균활성이 컸으며 Gram 음성균보다 양성균에 대하여 더 큰 생육저해환을 형성하였고 그 크기는 에탄올추출물이 물추출물보다 10~20% 큰 편이었다.

실험에 사용한 4종류의 식중독세균에 대한 생육저

Table 2. Inhibition zone of green tea extracts and preservatives on pathogenic bacteria diameter (mm)

Strains	PS(%)		SB(%)		GTW(%)		GTE(%)	
	3	5	3	5	3	5	3	5
LM	9.5	11.7	-	-	10.1	14.5	15.3	17.2
SA	-	-	-	-	17.2	18.1	19.6	20.3
EC	-	13.4	-	-	-	15.3	-	16.8
ST	-	-	-	-	-	13.0	-	15.5

\* LM, SA, EC, St, PS, SB, GTW and GTE : See the legend of Table 1.

\* - : No clear zone.

해환의 크기는 녹차 에탄올추출물, 녹차 물추출물, potassium sorbate, sodium benzoate의 순이었으며 이 결과는 앞에서 살펴본 생존곡선(Fig. 1~Fig. 4)에서 나타난 결과와 다소의 차이를 나타내고 있는데, 그 원인은 추출물의 농도와 pH의 차이에 따른 것으로 사료된다. 천연물의 추출 용매에 따른 항균활성의 차이는 오 등<sup>39)</sup>이 차류추출물로서 식품 유해세균에 대한 생육 저해환을 측정된 결과에서도 에탄올추출물이 물추출물보다 강한 항균활성을 나타내었다. 이외에도 박 등<sup>40)</sup>이 한약재의 추출물을 이용한 항균실험에서 에탄올추출물은 물추출물에 비하여 2~100배 강한 항균활성이 있다고 보고하여 본 실험 결과와 일치하였다.

## 요 약

본 연구에서 녹차의 물추출물과 에탄올추출물, 합성보존료인 potassium sorbate와 sodium benzoate의 식중독세균(*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*)에 대한 항균활성을 비교하였다. 녹차추출물과 보존료를 0~2%(w/v) 첨가한 tryptic soy broth(TSB)에 균액을 약 105 CFU/ml가 되게 집중하여 35°C에서 24~48시간 배양하여 생균수를 측정한 후 세균의 생존곡선으로부터 최소저해농도(MIC)와 최소사멸농도(MBC)를 구하였다. 식중독세균에 대한 녹차추출물의 항균활성은 pH가 높을수록 컸으나 보존료의 항균활성은 pH가 낮을수록 증가하였다. *S. aureus*는 녹차추출물에 의하여 가장 쉽게 사멸되었으나 보존료에 대하여는 강한 내성을 나타내었다. pH 5.5~7.0에서 녹차추출물들의 *S. aureus*에 대한 MIC는 0.25~0.35%, MBC는 1.0~2.0%였다. Potassium sorbate와 sodium benzoate의 *S. aureus*에 대한 MIC는 pH 5.5~6.0에서 0.52~0.98%였으나 pH 7.0에서는 세균의 증식이 억제되지 않았다. pH 6.5~7.0에서 녹차추출물들의 *S.*

*typhimurium*에 대한 MIC는 0.46~1.62%였으나 pH 5.5에서는 세균 증식이 억제되지 않았다. *S. typhimurium*에 대한 보존료의 MIC는 pH 5.5~6.0에서 0.30~1.30%였으며 pH 5.5, potassium sorbate 2.0% 농도에서 이 세균은 사멸되었다. *L. monocytogenes*를 제외한 모든 시험균주는 pH 7.0에서 1.0~2.0%의 녹차 물추출물과 에탄올추출물에 의해 사멸되었다.

## 참고문헌

1. 이승용, 장영수, 최희진 : 우리나라의 HACCP제도의 실태 현황 및 추진전망. *식품산업과 영양*, 4, 14~16 (1999).
2. Monitor : Population and health, National statistics, Government statistical service, London : Office for National Statistics, (1996).
3. Silk, T. M., and Donnelly, C. W. : Increased detection of acid-injured *Escherichia coli* O157:H7 in autoclaved apple cider by using nonselective repair on trypticase soy agar. *J. Food Prot.*, 60, 1483~1486 (1997).
4. Uyttendaele, M., De Troy, P. and Debevere, J. : Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J. Food Prot.*, 62, 735~740 (1999).
5. Doyle, M. P., and Schoeni, J. L. : Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 2394~2396 (1987).
6. 오덕환 : 새로운 식중독세균 *Escherichia coli* O157:H7의 검출 및 억제. *식품과학과 산업*, 30, 143~156 (1997).
7. Ho, J. L., Shands, K. N., Freidland, P. and Fraser, D. W. : An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospital. *Archives Internal*, 146, 520~524 (1986).
8. Miller, L. G. and Kaspar, C. W. : Acid tolerance and survival in apple cider. *J. Food Prot.*, 57, 460~464

- (1994).
9. Freitas, A. C., Nunes, M. P., Milhomem, A. M. and Richards, I. D. : Occurrence and characterization of *Aeromonas* spp. in pasteurized milk and white cheese in Rio De Janeiro, Brazil. *J. Food Prot.*, 56, 62~65 (1993).
  10. Monfort, P., Minet, J., Rocourt, J., Piclet, G. and Cormier, M. : Incidence of *Listeria* spp. in Breton live shellfish. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26, 205~208 (1998).
  11. Branen, A. L. : Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS*, 52, 59~63 (1975).
  12. 김희연, 이영자, 홍기형, 권용관, 이주연, 김소희, 하상철, 조홍연, 장이섭, 이철원, 김길생 : 전통식품 및 천연물에서 천연보존료 개발에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 31, 1667~1678 (1999).
  13. 정동욱, 정지훈 : 영지의 항균성 물질에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 24, 552~557 (1992).
  14. Shelef, L. A., Naglik, O. A. and Bogen, D. W. : Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. *J. Food Sci.*, 45, 1042~1044 (1980).
  15. Ziauddin, K. S., Rao, H. S. and Fairoze, N. : Effect of organic acids and spices on quality and self-life of meats at ambient temperature. *J. Food Sci. Technol.*, 33, 255~258 (1996).
  16. Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. : Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 26, 118~122 (1998).
  17. 김근영, 정동복, 정희종 : 어성초의 화학성분 및 항미생물 활성. *J. Food Sci. Technol.*, 29, 400~406 (1997).
  18. 여생규, 안철우, 김인수, 박영범, 박영호, 김선봉 : 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항균 효과. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24, 293~298 (1995).
  19. Mann, C. M. and Markham, J. L. : A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J. Appl. Microbiol.*, 84, 538~544 (1998).
  20. McMahon, C. M. M., Doherty, A. M., Sheridan, J. J., Blair, I. S., McDowell, D. A. and Hegarty, T. : Synergistic effect of heat and sodium lactate on the thermal resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in minced beef. *Lett. Appl. Microbiol.* 28, 340~344 (1999).
  21. Giannuzzi, Leda, Contreras, E. and Zaritzky, N. : Modeling the aerobic growth and decline of *Staphylococcus aureus* as affected by pH and potassium sorbate concentration. *J. Food Prot.*, 62, 356~362 (1999).
  22. 박찬성 : 향신료가 식중독세균의 생존에 미치는 영향. *한국조리과학회지*, 13, 330~337 (1997).
  23. 여생규, 안철우, 김인수, 박영범, 박영호, 김선봉 : 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항균 효과. *한국식품영양과학회지*, 24, 293~298 (1995).
  24. 강성규, 성낙계, 김용두, 이재근, 송보현, 김영환, 박석규 : 갓(*Brassica juncea*)의 에탄올 추출물이 미생물 생육에 미치는 영향. *한국영양과학회지*, 23, 1014~1019 (1994).
  25. 국주희, 마승진, 박근형 : 술원에서 항미생물 활성을 갖는 benzoic acid의 분리 및 동정. *한국식품과학회지*, 29, 204~210 (1997).
  26. Miller, L. G. and Kaspar, C. W. : *Escherichia coli* O157:H7 acid tolerance and survival in apple cider. *J. Food Protect.* 57, 460~464 (1994).
  27. Conner, D. E. and Hall, G. S. : Efficacy of selected media for recovery of *Escherichia coli* O157:H7 from Frozen chicken meat containing sodium chloride, sodium lactate or polyphosphate. *Food Microbiol.*, 11, 337~344 (1994).
  28. Conner, D. E. and Kotrola, J. S. : Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 under acidic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 382~385 (1995).
  29. 박찬성 : 식중독세균에 대한 녹차 물추출물의 항균작용. *농산물저장유통학회지*, 5(3), 286~291 (1998).
  30. Karem, K. L., Foster, J. W. and Bej, A. K. : Adaptive acid tolerance response(ART) in *Aeromonas hydrophila*. *Microbiol.*, 140, 1731~1736 (1994).
  31. Robert, L. B. and Sharon, G. E. : pH-dependent stationary-phase acid resistance response of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the presence of various acidulants. *J. Food Prot.*, 62, 211~218 (1999).
  32. Robert, L. B., Sharon, G. E. and Glenn, B. : Effect of pH and acid resistance on the radiation resistance of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J. Food Prot.*, 62, 219~228 (1999).
  33. Goodson, M. and Rowbury, R. J. : Habituation to normal lethal acidity by prior growth of *Escherichia coli* at a sublethal pH value. *Lett. Appl. Microbiol.*, 8, 77~79 (1989).
  34. O'Driscoll, B., Gahan, C. G. and Hill, C. : Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes* : isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Appl. Env. Microbiol.*, 62, 1693~1698 (1996).
  35. Thomas, P. O. : Response surface models for effects of temperature, pH, and previous growth pH on growth kinetics of *Salmonella typhimurium* in brain heart infusion broth. *J. Food Prot.*, 62, 106~111 (1999).
  36. Foster, J. W. and Hall, H. K. : Adaptive acidification tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *J.*



- Bacteriol.*, 172, 771~778 (1990).
37. Hone, D. M., Harris, A. M. and Levine, M. M. : Adaptive acid tolerance response by *Salmonella typhi* and candidate live oral typhoid vaccine strains. *Vaccine*, 12, 895~898 (1994).
38. Wanf, G and Doyle, M.P. : Heat shock response enhances acid tolerance of *Escherichia coli* O157:H7. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26, 31~34 (1998).
39. 오덕환, 이미경, 박부길 : 식품유해균에 대한 차류 추출물의 항균효과, *한국식품영양과학회지*, 28(1), 100~106 (1999).
40. 박옥연, 장동석, 조학래 : 한약재 추출물의 항균효과 검색. *한국영양식량학회지*, 21, 91~96 (1992).
- 
- (2000년 2월 14일 접수)