

공학석사 학위논문

녹차추출물의 항균활성, 항산화력
및 그 활용에 관한 연구

지도교수 장 동 석

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함.



2004년 8월

부경대학교 산업대학원

식품산업공학과

서 은 경

서은경의 공학석사 학위논문을 인준함.

2004년 6 월 일

주 심 농 학 박 사 양 지 영



위 원 농 학 박 사 김 선 봉



위 원 이 학 박 사 장 동 석



〈목 차〉

Abstract 1

서 론 3

재료 및 방법 5

1. 시료 녹차 5

2. 공시균주 5

3. 배지 및 시약 5

4. 실험방법 5

4·1 녹차 추출액 제조 6

4·2 항균력 시험 6

4·2·1 각 용매별 녹차추출물의 항균활성 측정 6

4·2·2 녹차 추출물의 농도별 항균활성 측정 6

4·2·3 녹차 추출물 처리 후의 세포 관찰 8

4·2·4 항산화력 측정 8

4·2·5 녹차 추출물을 이용한 고등어의 보존 실험 9

결과 및 고찰 11

1. 녹차 추출물의 항균 효과 11

2. 녹차 추출물의 농도에 따른 항균활성 25

3. 녹차 추출물에 의한 세균 세포의 손상	28
4. 녹차 추출물의 항산화력	28
5. 녹차 추출물을 이용한 고등어의 보존효과	31
요 약	34
참 고 문 헌	36
감사의 글	42

Antibacterial Activity and Antioxidant Power of Green Tea Extract and its Utilization

Eun-Gyeong Seo

*Department of Food Science & Technology, Graduate School,
Pukyong National University*

Abstract

This study was conducted for evaluation of antioxidation activity and antibacterial activity of green tea extracts. Green tea extracts were prepared by extraction with ethanol, hot water and cold water. All the three extracts from green tea showed antibacterial activity against food poisoning bacteria, and then ethanol extract was more stronger than those of others.

The antibacterial properties of the extracts were different by the kind of bacteria. For example, the growth of *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella enteritidis* were fairly

inhibited by adding 2.5% of green tea extract to the tryptic soy agar plate medium, but *Escherichia coli* was not inhibited under the same condition.

The number of *B. cereus*, *Staph. aureus* and *L. monocytogenes* were reduced by 2 and 4 log cycles by treatment with ethanol extract for 3 and 6 hours, respectively.

It was observed by TEM that cell wall and cell membrane of *Bacillus cereus* were damaged by the treatment with 2.5% green tea extract for 3 hours.

The antioxidation activity of green tea extract with ethanol and hot water were 8,000 μM measured by FRAP (ferric reducing ability of plasma) method and those of both extracts were stronger than that of cold water extract by 2 times.

According to the experimental results, the quality of the mackerel treated in 8% brine containing 2.5% green tea extract for 60 days was better than that of control. It was cleared in case of comparison of acid value, volatile basic nitrogen, organoleptic test scores of TMA odor of the mackerel between treated one and untreated one, even though the bacterial counts were not significantly different between both samples.

서 론

세계적으로 발생하는 식중독 사고의 대부분은 세균에 의한 것이 주를 이루고 있으며 원인식품도 매우 다양하여 (Heintz and Johnson, 1998; Hardt-English et al., 1990; Korsak et al., 1998; Park et al., 2003; Park, 2004) 막대한 경제적 손실을 초래하고 있다 (Todd, 1989).

또한, 최근에는 식품가공 산업과 외식산업이 급격히 증가하고, 식품유통산업도 크게 발달함에 따라 식품의 유통 경로가 매우 복잡해졌다. 따라서, 식품의 대량 취급은 위생관리를 소홀히 하는 경우에 대형 식중독 사고를 일으킬 수 있다 (최 등, 2001; Maguire et al., 2000; 이 등, 2001; 서 등, 2000). 현대인의 생활환경은 과거에 비하여 위생상태가 개선되었음에도 불구하고 식중독사고는 감소하지 않고 있으며 식중독 사건 당 발생 환자 수는 오히려 크게 증가하는 추세라고 보고하고 있다 (우 등, 2002; 한국 식품의약품안전청, 2002). Park 등 (2003)과 Park (2004)의 보고에 의하면 우리나라 대형식품매장을 대상으로 1년간 위생검사를 실시한 결과, 가열하지 않고 바로 섭취하는 패스트푸드 7종으로부터 대장균의 평균 검출율은 22% (166/763)였으며, 김밥과 야채샐러드는 각각 38% (41/109)와 31% (34/109)로 평균 검출율 보다 훨씬 높았으며, 매장 및 식품의 종류에 따라 차이가 있었으며, 대부분 (89/100)의 식품접촉표면에서 세균학적 허용한계치인 $1.3 \log_{10} \text{cfu}/10\text{cm}^2$ (Solberg et al., 1990) 이상의 일반세균수가 검출되었다. 이와 같이 환경오염, 식품유통구조의 다양화 및 단체급식 등으로 인하여 병원성 세균에 의한 식중독사고의 위험성은 항상 존재한다.

미생물에 의한 식품의 부패와 변질을 방지하기 위하여 가공식품에는 합성보존료를 일반적으로 사용되어 왔으나, 식품의 안전성에 대한 소비자들의 관심이 높아지면서 합성첨가물을 기피하고 천연물의 선

호하는 경향이 뚜렷해지고 있다 (Brewer et al., 1994; Gould, 1996). 천연물의 항균작용에 대한 연구로는 솔잎 (국 등, 1997; 박과 이, 2003; 박, 2000), 쑥 (권 등, 1997), 녹차 (Senji et al., 1989; 박, 2000; 김 등, 2003), 한약재 (이와 최, 1998); 안 등, 1998), 마늘 (Kumar and Berwal, 1998; Yin and Cheng, 1998; 오 등, 2002, 성, 2002), 민들레 (김 등, 1998), 정향 (박과 최, 1997; 박, 1998) 등에 대한 많은 보고들이 있다. 이들 식용식물들은 항산화력을 가지는 건강식품으로서의 가치를 인정받고 있으며 (강 등, 1998; Dapkevicius et al., 1998) 오랜 사용 기간동안 안전성에 문제가 없는 것으로 인식되고 있다. 그 중에서도 녹차는 오랫동안 유용되어 왔고 차가 가지는 독특한 향기와 맛 그리고 그 효용을 극찬하는 말은 예를 들 수 없을 정도로 많으며 인류가 창출해낸 기호품 중에서 우수한 식품중의 하나라고 전해지고 있다. Hirasawa와 Takada (2004)는 녹차 카테킨의 항진균작용에 대하여 연구한 결과에서 카테킨의 항균력은 pH 의존성이며, pH 7.0에서 15.6-250 mg/L의 농도에서 *Candida albicans*의 증식을 90% 억제한다고 보고하였다. Amarowicz 등 (2000)은 녹차의 폴리페놀 성분이 *Escherichia coli* 에 대한 강한 항균력을 나타내었다고 보고하였으며, 그 외에도 녹차 추출물의 *E. coli* O157:H7과 *Salmonella typhimurium*에 대한 항균효과 (박과 박, 2002), 빵 부패 미생물에 대한 항균효과 (김 등, 2003)외에도 항산력 (김 등 2001; 박 등, 2001; 강 등, 2001)에 관한 보고들이 있다.

따라서, 본 연구에서는 천연물 중에서 강한 항균활성과 높은 안전성을 가진 물질을 탐색할 목적으로, 시판되고 있는 녹차를 구입하여 에탄올, 냉수 및 열수 등 각종 용매로 추출하고, 각 추출물의 항산화력을 평가하였으며, 각 추출물의 식중독 세균 (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, 및 *Vibrio parahaemolyticus*)에 대한 항균작용을 조사한 결과를 보고하고자 한다

재료 및 방법

1. 시료 녹차

항균성분 추출용 녹차는 시판되고 있는 태평양 화학(주)의 덩음차를 구입하여 사용하였다.

2. 공시균주

녹차의 항균력을 조사하기 위하여 본 실험에 사용된 공시균주는 Gram 양성균인 *Bacillus cereus* ATCC11778, *Listeria monocytogenes* KCTC3569, *Staphylococcus aureus* ATCC6538과 Gram 음성균인 *E. coli* ATCC11229, *Salmonella enteritidis* ATCC13076, *Vibrio parahaemolyticus* KCTC2471을 사용하였다.

3. 배지 및 시약

미생물 배지로는 Difco Co. (MD, USA)로부터 구입하여 사용하였다. *L. monocytogenes*의 증균용 배지는 *Listeria enrichment broth*, *Staphylococcus aureus*의 증균용 배지는 10% NaCl을 첨가한 tryptic soy broth (TSB)를, *Vibrio parahaemolyticu*의 증균용 배지는 peptone medium (1% peptone, 0.5% NaCl)을 사용하였으며 그 외 균들의 증균은 tryptic soy broth (TSB)를 사용하였다. 한천 평판상에서의 항균효과 측정용으로는 tryptic soy agar (TSA)를 사용하였다.

항산화력 측정용 시약 (tripyridyltrizine, ferric chloride 등) 및 그 외 시약은 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

4. 실험방법

4·1 녹차 추출액 제조

각종 용매에 의한 녹차 추출물의 제조방법을 Fig. 1에 나타내었다. 냉수 추출물의 경우에는 녹차 5 g을 냉수 200 mL에 첨가하고 실온에서 10분간 추출하였다. 열수 추출물은 녹차 5 g을 냉수 200 mL에 첨가하고 70°C water bath 상에서 10분간 추출하였다. 에탄올 추출물은 녹차 5 g을 70% 에탄올 200 mL에 첨가하고 70°C water bath 상에서 10분간 추출하여 진공농축기로 농축한 후, 멸균수로 200 mL로 정용하였다. 이와 같이 추출된 각 녹차 추출물은 최종적으로 0.45 μm millipore로 여과 멸균하여 4°C 냉장고에 보관하면서 사용하였다.

4·2 항균력 시험

4·2·1 각 용매별 녹차추출물의 항균활성 측정

계대 배양된 *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, 및 *Sal. typhimurium*를 TSB 10mL에 각각 접종하고 37°C에서 18시간 배양한 다음 이를 4°C에서 원심분리 (7000 \times g, 20분)하여 균체를 모은다. 이렇게 하여 얻어진 균체를 10 mL의 phosphate buffered saline (PSB)에 현탁하여 균액으로 사용한다. 균 현탁액 1 mL를 9 mL의 2.5% 녹차 추출물 (에탄올 추출물, 냉수 추출물 또는 열수 추출물)에 접종하고 상온에 방치하면서 3시간, 6시간, 12시간, 24시간 간격으로 잔존하는 균수를 pour plate method (식품공전, 2000) 및 도말법으로 측정하여 에탄올 추출물, 냉수 추출물 및 열수 추출물의 항균활성을 비교하였다. 단, *V. parahaemolyticus*의 경우에는 녹차 추출물에 NaCl을 1% 첨가하여 실시하였다.

4·2·2 녹차 추출물의 농도별 항균활성 측정

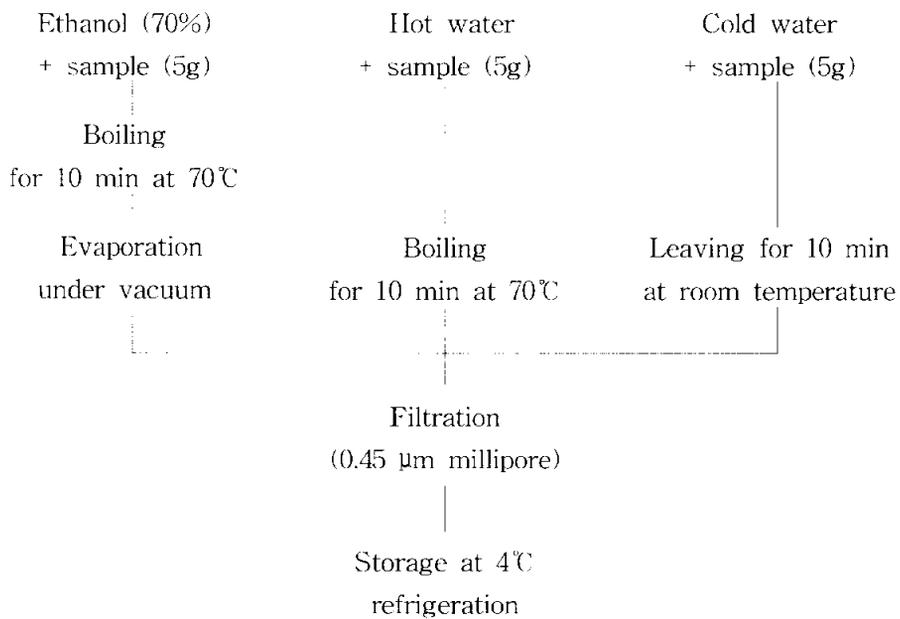


Fig. 1. Procedure for green extract

최종 농도가 0.5%, 1.0%, 2.5% 및 5.0%가 되도록 제조한 녹차 추출물 9 mL에 균 현탁액 1 mL를 접종하여 상온에서 3시간 방치 후, pour plate method로 잔존하는 생균수를 측정하므로써 농도별 항균력을 측정하였다.

4·2·3 녹차 추출물 처리 후의 세포 관찰

투과 전자 현미경(Transmission electron microscope)에 의한 균체의 관찰은 Wang (1992)의 방법에 준하였다. 녹차 추출물(2.5%)에 균체를 접종한 3시간 후에, 원심분리(3,000 ×g, 15분)하여 얻어진 균체의 전자현미경 촬영을 실시하였다. 대조구로서는 PSB에 동일하게 균체를 접종하여 실시하였다. 대조구와 녹차 추출물 처리구에서 얻어진 균체를 2.5% glutaraldehyde를 함유하는 0.1M phosphate buffer (pH 7.4)에 고정하였다. 단편의 내부를 1×1×3 mm의 크기로 slice한 다음 4℃에서 1시간 동안 재고정하고, 0.1M cacodylate buffer (pH 7.4)로 수세후 4℃에서 1% OsO₄에서 2시간 동안 고정하였다. 이들을 인산완충용액으로 씻어 methanol로 탈수시키고, polyethylene oxide로 30분간 치환시킨 후, polyethylene oxide와 Epon혼합물로 2시간 침투시켰다. 이것을 다시 Epon 812로 침투시켜 37℃에서 12시간, 45℃에서 12시간, 60℃에서 48시간 열 중합시킨 후, 0.5~1.0 μm 두께의 semithin section을 만들었다. 그 이후, LKB ultramicrotome (Nova Co., Sweden)으로 60-90 nm의 section을 제작하였으며, Uranyl acetate와 lead citrate로 double stain하여 투과전자현미경(JEM-1200 EXII, JEOL Co., Japan)으로 가속 전압 80 KV 하에서 관찰하였다.

4·2·4 항산화력 측정

항산화력 측정은 Benzie and Strain (1996)등의 방법에 준하여

실시하였다. 300 mM acetate buffer (pH 3.6)와 40 mM HCl과 10 mM TPTZ (2,4,6-tri-(2-pyridyl)-s-triazin)가 포함된 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 10:1:1의 비율로 혼합하여 FRAP (ferric reducing ability of plasma) 용액을 만든다. 이 FRAP 용액 2.9 mL와 시료액 0.1 mL를 혼합한 다음 이를 37°C water bath상에서 90분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, ascorbic acid를 사용한 표준검량곡선으로부터 항산화력을 계산하였다 (Fig. 2)

4·2·5 녹차 추출물을 이용한 고등어의 보존 실험

녹차의 냉수 추출물 (2.5%) 에 NaCl을 8%되도록 첨가한 용액에 고등어 (*Scomber japonicus*)를 하루 밤 침지처리한 후, -20°C에 저장하면서 생균수, volatile basic nitrogen (VBN), acid value (AV) 및 관능검사를 실시하여 보존효과를 검토하였다.

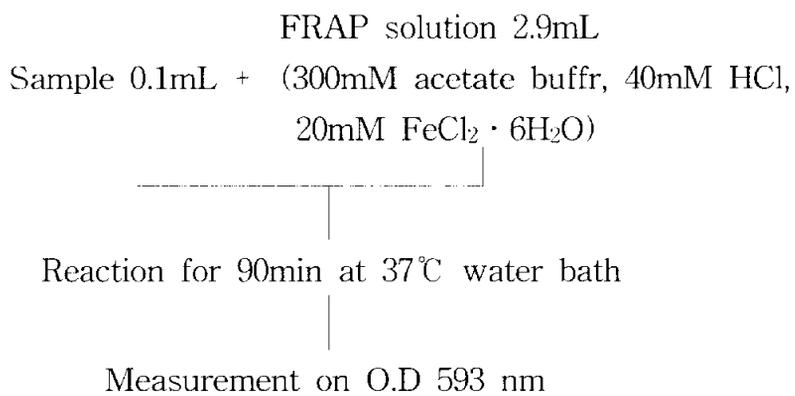


Fig. 2. Procedure for FRAP assay

결과 및 고찰

1. 녹차 추출물의 항균 효과

에탄올, 냉수 및 열수로 추출한 녹차 추출물의 *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Sta. aureus*, *Sal. enteritidis* 및 *V. parahaemolyticus*에 대한 항균작용을 조사하였다.

*B. cereus*에 대한 항균활성을 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. 녹차 추출물 (2.5%)에 *B. cereus*를 접종하고 실온에 방치하면서 시간별로 균수의 변화를 조사한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 초기균수가 $5.4 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ 이었던 것이 녹차 추출물에 방치한 3시간 만에 약 2 log cycle 감소하였으며, 그 후로 24시간 까지 균수 변화는 없었다 (Fig. 3). 대조구로서는 인산완충용액에 균을 현탁하여 시험구와 비교하였으나 24시간까지 균수의 감소 현상은 나타나지 않았다 (data not shown). 한편, 녹차 추출물을 최종 농도가 2.5% 되도록 첨가하여 제조한 TSA 평판배지에 *B. cereus*를 도말하여 배양한 후 증식 억제효과를 관찰한 것을 Fig. 4에 나타내었다. 녹차 추출물이 첨가된 평판 배지를 대조구와 비교해 보면 에탄올 추출물과 열수 추출물에서는 균이 검출되지 않았으나 냉수 추출물에서는 균이 다소 검출되었다. 김 등 (2003)은 녹차물 추출물 1-3%로 빵 부패 미생물인 *B. subtilis* ATCC6633, *B. pumilus* KCTC3348, *B. cereus* IFO12113 등이 효과적으로 억제되었다고 보고하였으며, Roh 등 (1996)도 녹차 추출물 500 ppm과 1000 ppm에서 *B. subtilis* ATCC6633의 생육이 억제되었다고 보고한 바 있어 본 연구의 결과와 일치한다.

*E. coli*에 대한 항균활성을 Fig. 5에 나타내었다. 초기균수가 $6.5 \log_{10} \text{ cfu/mL}$ 였으며, 3시간 후에 약 1 log cycle 감소하였고 이후로 24시간 까지 균수 변화는 거의 없어 미약한 항균활성을 나타내었다. 이 결과는 녹차 추출물 1% 농도에서 *E. coli*

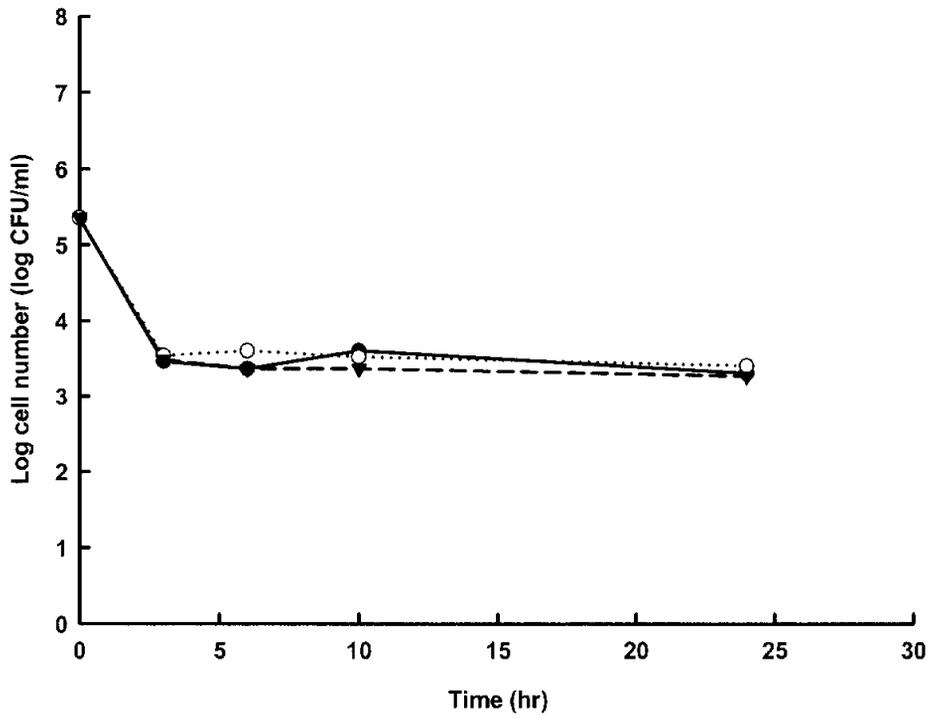


Fig.3. Antibacterial activity on *Bacillus cereus* (ATCC 11778) of green tea extracts.

-●- : ethanol extract, -○- : hot water extract, -▼- : cold water extract

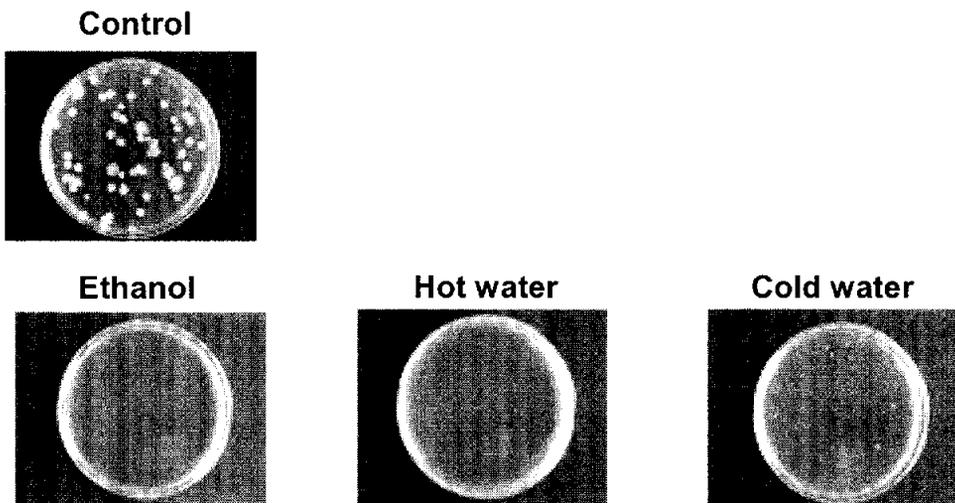


Fig. 4. Inhibitory effect of green tea extract on *Bacillus cereus* (ATCC 11778)

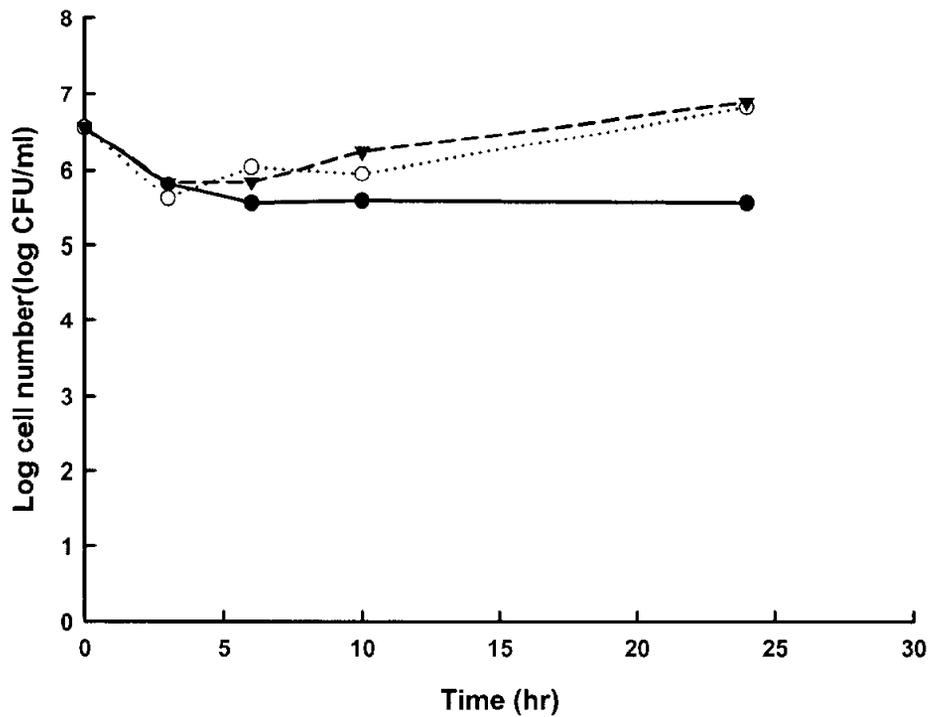


Fig. 5. Antibacterial activity on *E. coli* (ATCC 11229) of green tea extract.

-●- : ethanol extract, -○- : hot water extract, -▼- : cold water extract

O157:H7이 사멸되었다는 박 등 (1998)의 보고와 다소 차이가 있었다. *L. monocytogenes*에 대한 항균활성을 Fig. 6과 Fig. 7에 나타내었다. 초기 균수 $7.5 \log_{10}$ cfu/mL에서 시작하여 에탄올 추출물에서는 균수가 지속적으로 감소하여 24시간 쯤에 5 log cycles 감소하였다. 그리고 냉수 추출물에서 6시간 쯤에 약 3 log cycles 감소한 이후로 균수의 감소현상은 거의 없었으며, 열수 추출물의 경우에는 균의 감소현상은 아주 미약하게 나타났다 (Fig.6). 한편, 에탄올 추출물, 냉수 추출물 및 열수 추출물을 첨가한 모든 한천 평판배지에서 *L. monocytogenes*는 검출되지 않았다 (Fig. 7). 박 등 (2000)은 *L. monocytogenes*의 경우, 녹차 추출물 (물 추출물) 2% 농도에서 생균수는 감소하였으나 사멸하지 않은 것으로 보고한 바 있다. 또한, 박과 차 (2000)도 녹차 추출물과 에탄올 추출물 1-2% 농도에서 *L. monocytogenes*를 제외한 모든 식중독 세균이 사멸되었다고 보고한 바 있다. 이들의 결과는 본 논문의 결과와도 일치한다. 따라서, 녹차 추출물의 항균활성은 다른 식중독 세균에 비해 *L. monocytogenes*에 대해서는 미약함을 알 수 있었다.

*Staph. aureus*에 대한 항균활성을 Fig. 8와 Fig. 9에 나타내었다. 초기균수 $7.2 \log_{10}$ cfu/mL였던 것이 6시간 쯤에 에탄올 추출물에서는 5 log cycles, 냉수 추출물에서는 3 log cycles 감소하였으며 이후로는 균수의 감소현상은 없었으며, 열수 추출물에서는 균의 감소현상이 미약하였다 (Fig. 8). 한편, 에탄올 추출물, 냉수 추출물 및 열수 추출물을 첨가한 모든 한천평판에서 균의 증식이 완전히 억제되었다. 이와 같은 결과는 녹차 물 추출물 1% 농도에서 *S. aureus*에 대해 강한 생육 억제 현상을 나타내었다고 보고한 박 등 (2000)의 결과와 유사하였다.

*Sal. enteritidis*에 대한 항균활성을 Fig. 10과 Fig. 11에 나타내었다. 초기균수 $7.5 \log_{10}$ cfu/mL였던 것이 에탄올 추출물에서는

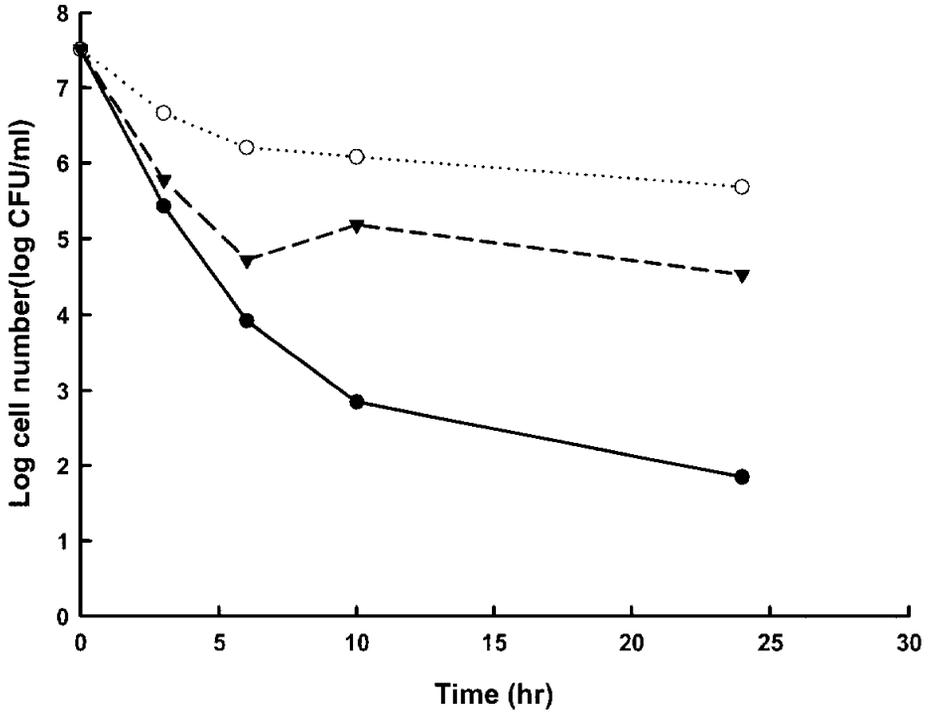


Fig. 6. Antibacterial activity on *Listeria monocytogenes* (KCTC 3569) of green tea extract.

-●- : ethanol extract, -○- : hot water extract, -▼- : cold water extract

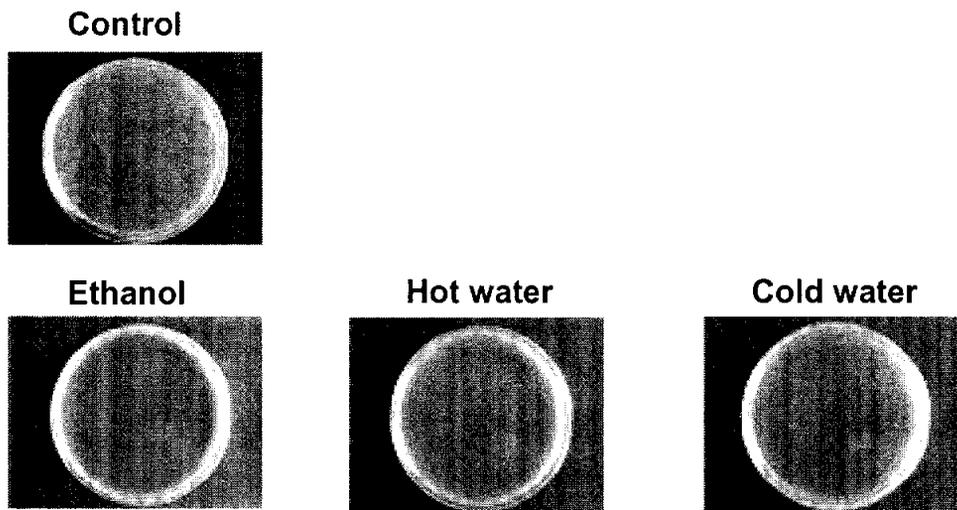


Fig. 7. Inhibitory effect of green tea extract on *Listeria monocytogenes* (KCTC 3569)

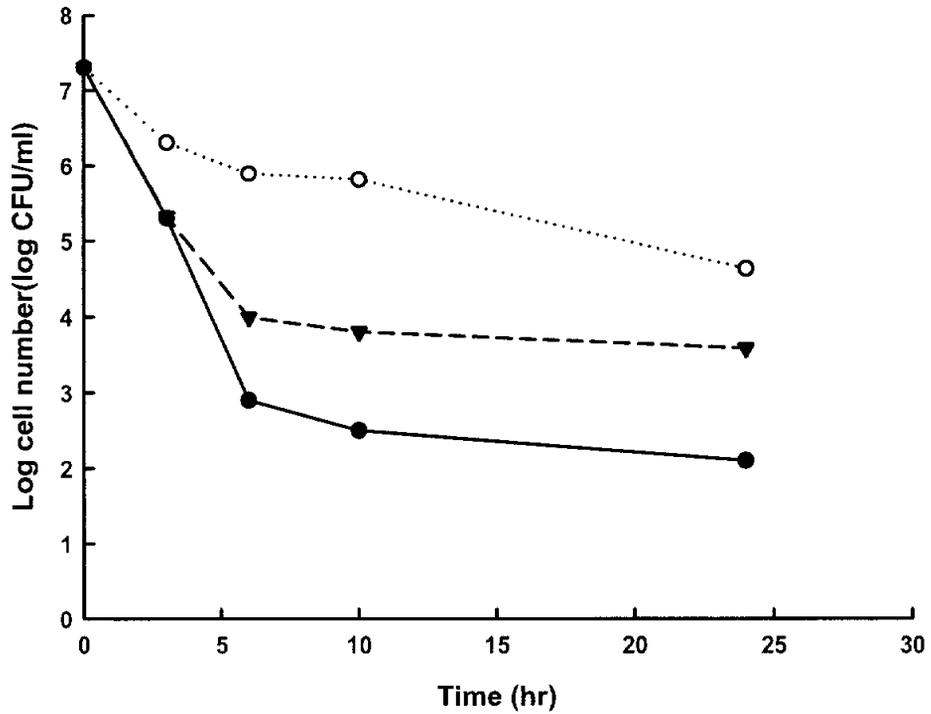


Fig. 8. Antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) of green tea extract.

-●- : ethanol extract, -○- : hot water extract, -▼- : cold water extract

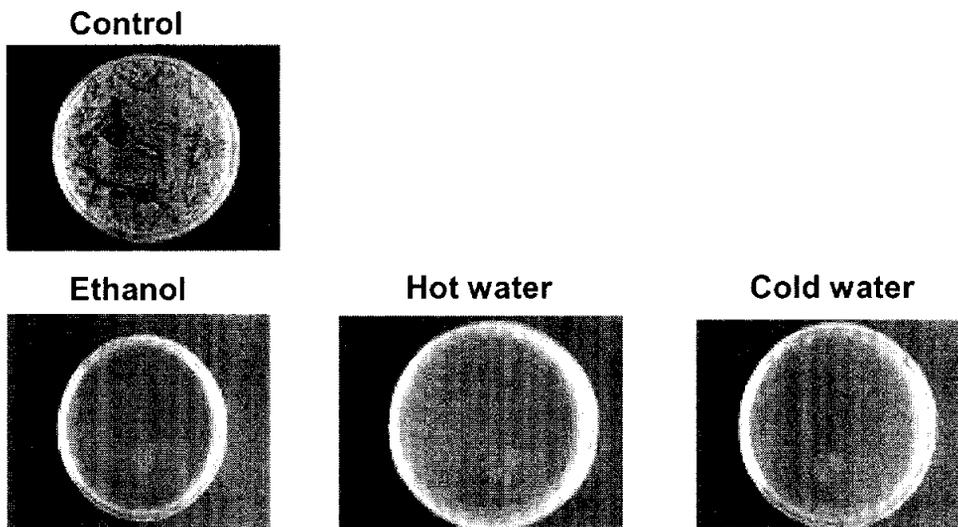


Fig. 9. Inhibitory effect of green tea extract on *Staphylococcus aureus* (ATCC 3569).

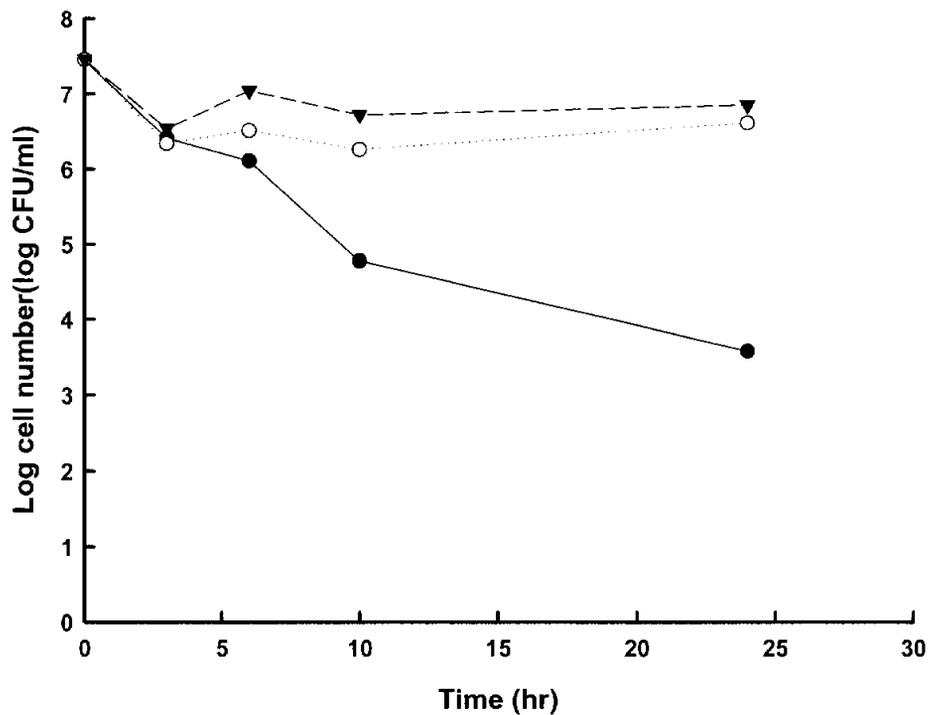


Fig. 10. Antibacterial activity on *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) of green tea extract.

-●- : ethanol extract, -○- : hot water extract, -▼- : cold water extract

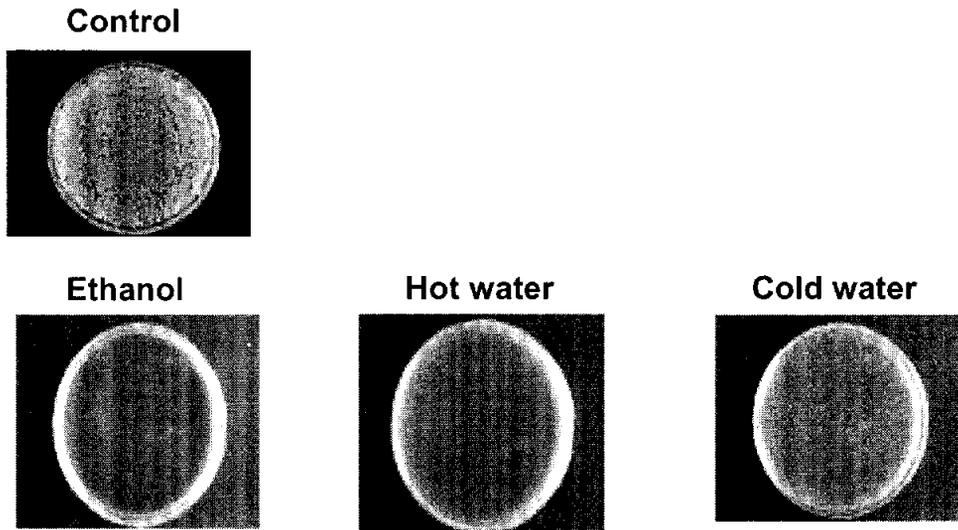


Fig. 11. Inhibitory effect of green tea extract on *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076).

-●- : ethanol extract, -○- : hot water extract, -▼- : cold water extract

지속적으로 서서히 균이 감소하여 24시간 쯤에 3 log cycles 감소하였다. 그러나 냉수 추출물과 열수 추출물에서는 균수의 감소현상은 없었다 (Fig. 10). 한편, 에탄올 추출물과 열수 추출물을 첨가한 한천평판상에서는 균의 증식이 완전히 억제되었으나, 냉수 추출물을 첨가한 한천배지에서는 균이 검출되었다 (Fig. 11). 한편, 박 등 (2000)도 녹차 추출물 3%에서 *Sal. typhimurium*의 생육이 억제되었다고 보고하고 있어 본 논문의 결과와 유사하였다.

*V. parahaemolyticus*에 대한 항균활성을 Fig. 12와 Fig. 13에 나타내었다. 초기균수가 8 log₁₀ cfu/mL이었던 것이 3시간 만에 모든 추출물에서 균수가 6 log cycles 감소하였는데, 특히, 에탄올 추출물에서는 1시간 만에 균수가 6 log cycles 감소하였다 (Fig. 12). 또한, 에탄올 추출물, 냉수 추출물 및 열수 추출물을 첨가한 모든 한천평판에서 균의 증식은 완전히 억제되었다. 박과 이 (2003)는 *V. parahaemolyticus* ATCC17802가 솔잎 에탄올 추출물 1% 농도에서 12시간 만에 2.6 log cycles 감소하였다고 보고하고 있다. 본 연구결과에서 녹차 추출물은 *V. parahaemolyticus*에 대하여 박과 이 (2003)가 보고한 솔잎 에탄올 추출물 보다도 훨씬 강한 항균활성을 나타내고 있다. 따라서, 여름철에 비브리오 식중독을 예방 하기 위한 첨가물 또는 후식으로서 아주 효과적일 것으로 생각된다.

한편, 박과 차 (2000)는 합성 보존료와 녹차 추출물의 항균활성을 비교한 논문에서, 산형 보존료인 소르빈산 칼륨과 안식향산 나트륨 등의 합성보존료는 산성 pH 영역에서는 항균활성이 우수하나 중성 pH에서는 항균활성이 감소하는 반면, 녹차 추출물은 중성 pH 영역에서 이들 합성보존료 보다 낮은 농도로도 식중독 세균을 효과적으로 억제하였다고 보고 하였다.

이상의 결과로부터, 녹차 추출물은 각종 식중독 세균에 대하여 강한 항균활성을 나타내었으며, 에탄올 추출물의 항균활성은 냉수

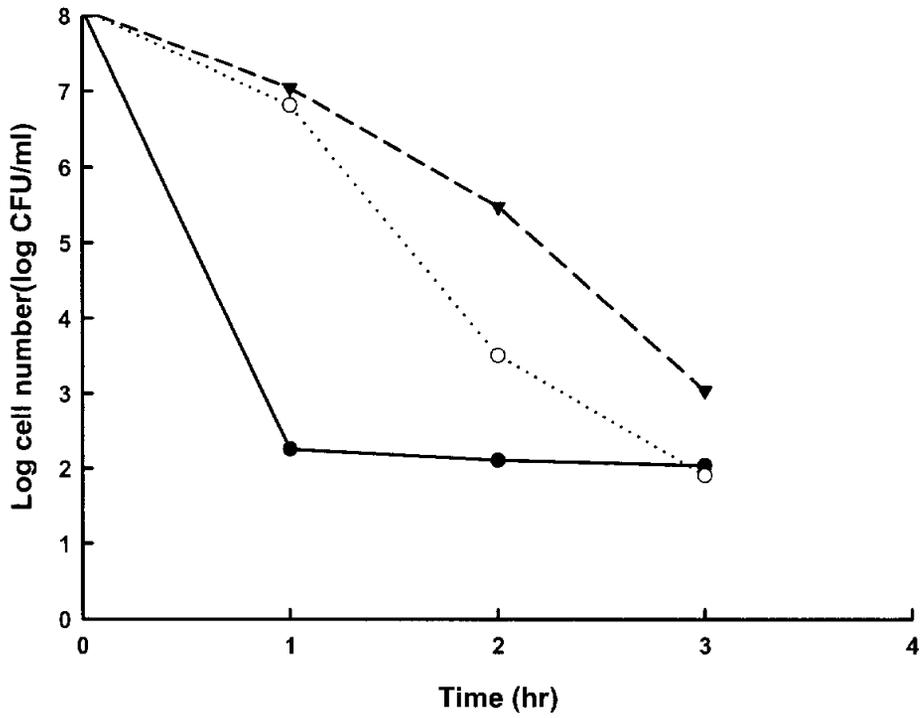


Fig. 12. Antibacterial activity on *Vibrio parahaemolyticus* (KCTC 2471) of green tea extract.

-●- : ethanol extract, -○- : hot water extract, -▼- : cold water extract

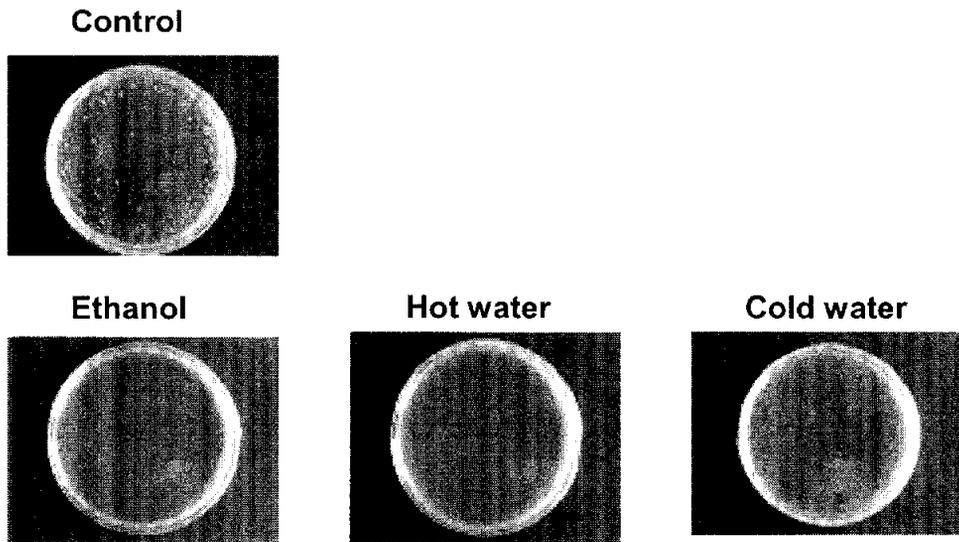


Fig. 13. Inhibitory effect of green tea extract on *Vibrio parahaemolyticus* (KCTC 2471).

추출물이나 열수 추출물에 비하여 강한 것으로 나타났다. 균종별로는 특히, *V. parahaemolyticus*에 대한 강한 항균활성을 나타내었다.

2. 녹차 추출물의 농도에 따른 항균활성

각종 식중독 세균을 배양한 후, 집균하여 PBS 10 mL에 다시 현탁한 균 현탁액 1 mL를 농도별 (0.5%, 1.0%, 2.5%, 5.0%)로 조절한 녹차 추출물 9 mL에 접종하고 상온에서 3시간 방치후 생균수를 측정하였다.

녹차추출물의 농도를 0, 0.5, 1, 2.5, 5%로 달리하여 *Bacillus cereus*의 항균활성을 조사한 것을 Fig. 14에 나타내었다.

*B. cereus*의 경우 대하여 에탄올 추출물, 냉수 추출물 및 열수 추출물 각각의 녹차 추출물 0.5% 농도에서 3시간 만에 균수를 약 2 log cycles 감소시켰으며, 0.5%, 1.0%, 2.5% 및 5.0% 모두에서 동일한 항균활성을 나타내어 0.5%와 5.0% 농도 범위내에서는 추출물의 농도에 따른 항균활성의 차이는 관찰되지 않았다.

*L. monocytogenes*에 대한 녹차 추출물의 농도별 항균활성의 차이를 조사한 결과를 Fig. 15에 나타내었다. *L. monocytogenes* 경우에는 녹차 추출물의 농도가 0.5%와 1.0% 일 때는 항균활성이 거의 없었으며, 2.5%와 5.0% 농도에서는 3시간 만에 3-4 log cycles 균 감소하여 농도에 따른 차이가 크게 나타났다. 이와 같은 결과는, 녹차 추출물을 0.5% 첨가한 시험구에서는 균의 억제 현상이 나타나지 않으나, 1.0% 이상 첨가하면 30시간 만에 약 2 log cycles 균수가 감소하였다고 보고한 박 (1998)의 보고 및 1.0-2.0% 농도에서 *L. monocytogenes*를 제외한 식중독 세균을 효과적으로 억제하였다고 보고한 박과 차 (2000) 등의 결과와 잘 일치하고 있다.

이상의 결과에서 에탄올 추출물이 열수 추출물이나 냉수 추출물

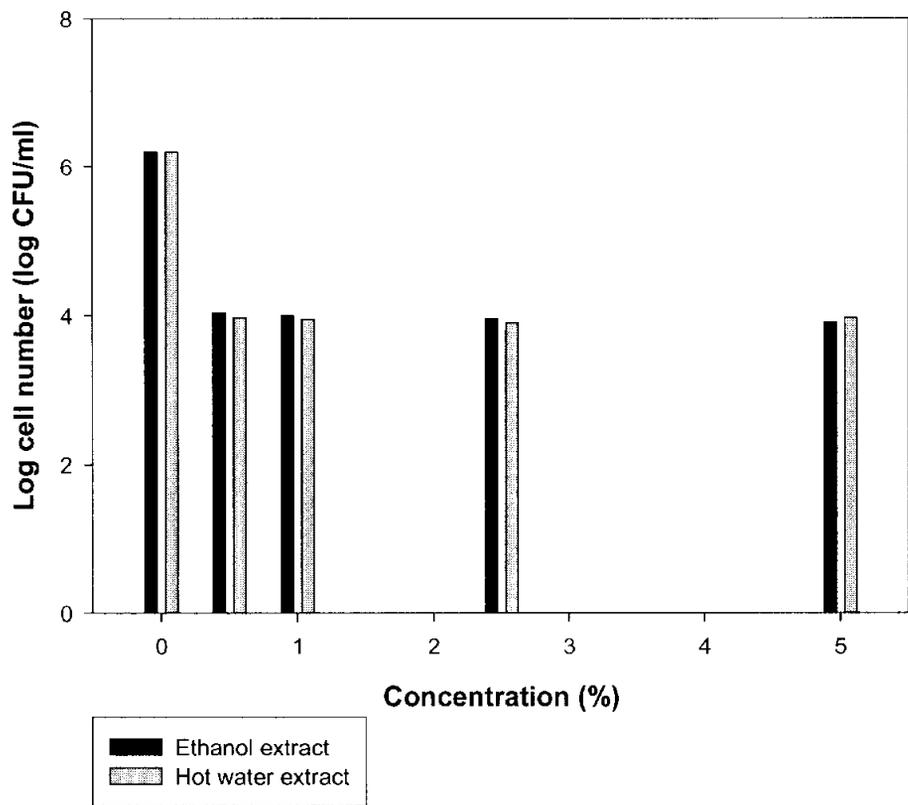


Fig. 14. Antibacterial activity on *Bacillus cereus* (ATCC 11778) of green tea extract.

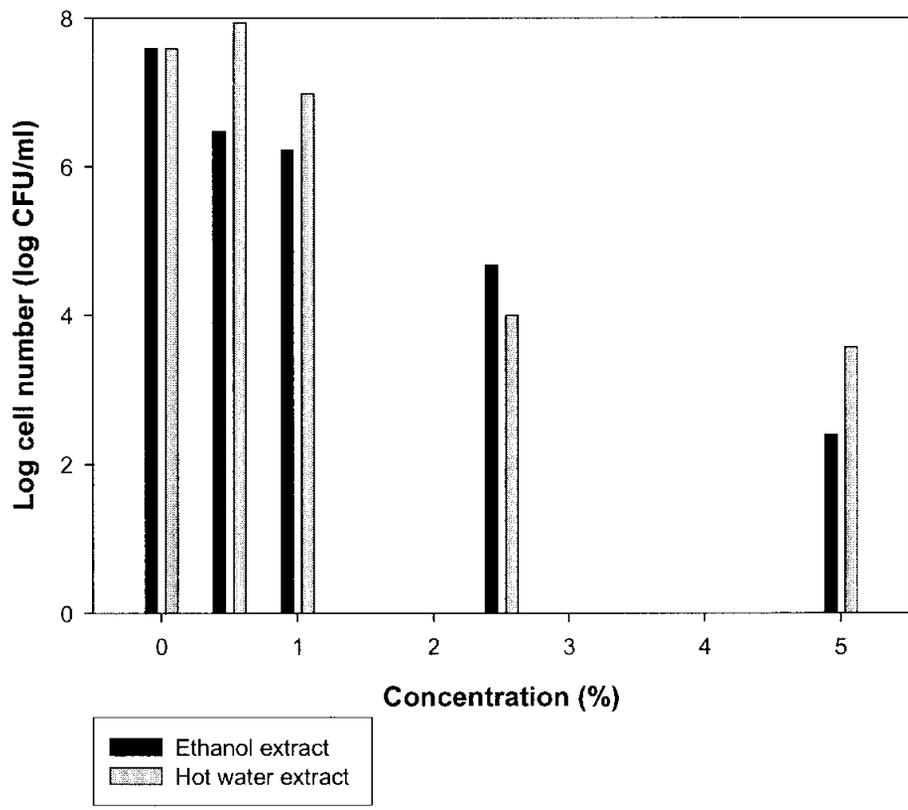


Fig. 15. Antibacterial activity on *Listeria monocytogenes* (KCTC 3569) of green tea extract.

보다 항균활성이 다소 우수하지만, 열수나 냉수 추출물의 경우에도 우수한 항균활성을 나타내었으므로 식품에 적용할 때, 식품의 안전성과 경제성이라는 측면을 고려하더라도 냉수 추출물과 열수 추출물을 활용하는 것이 매우 효과적일 것으로 사료된다.

3. 녹차 추출물에 의한 세균 세포의 손상

이상의 앞서의 결과로 부터 녹차 추출물의 항균활성이 확인되었으므로, 실제로 녹차 성분이 세균 세포를 손상시키는 것인지 확인하기 위하여 전자현미경 촬영을 시도한 결과를 Fig. 16에 나타내었다.

식중독 세균중에서도 포자를 형성하므로 저항성이 강한 세균인 *B. cereus*를 녹차추출물에 3시간 침지한 후 균체를 모아서 전자현미경으로 15,000배 확대 촬영한 결과, 대조구는 정상적인 균체를 나타낸 반면, 녹차 추출물에 처리된 균체는 세포벽과 세포막이 크게 손상된 모습을 나타내었다. 세포의 손상정도는 에탄올 추출물, 열수 추출물, 그리고 냉수 추출물의 순이었으며, 특히 에탄올 추출물의 경우에 손상 정도가 가장 심하여 세포의 형태를 관찰할 수 없는 정도였다.

4. 녹차 추출물의 항산화력

Table 1에 에탄올 추출물, 열수 추출물 및 냉수 추출물의 항산화력을 ascorbic acid를 표준물질로 하여 측정된 결과를 나타내었다. 에탄올 추출물과 열수 추출물의 항산화력은 각각 8,084 μM 과 7,932 μM 로 매우 높았으며, 냉수 추출물의 항산화력은 4,956 μM 로 에탄올 추출물과 열수 추출물에 비해 60%정도의 항산화력을 나타내었다. 이 결과는 녹차를 천연항산화물질로 사용하기 위해서는 냉수 추출 보다는 열수나 에탄올 추출이 더 효과적임을 알 수 있다. 강 등 (2001) 은 녹차잎을 에탄올 추출하여 제조한 녹차

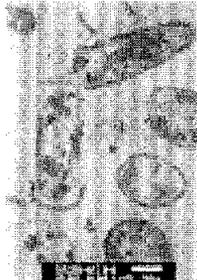
Control



Ethanol



Hot water



Cold water

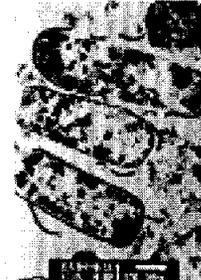


Fig. 16. Transmission electron microphotographs($\times 15,000$) of *Bacillus cereus* (ATCC 11778).

Table.1 Comparison of antioxidant power on various green tea extracts

Solvent	Antioxidant power (μM)
Ethanol	8084
Hot water	7932
Cold water	4956

카테킨의 항산화 작용을 연구한 결과, 녹차 카테킨이 *in vitro*와 *in vivo*에서 지질과산화물 효과적으로 억제하였다고 보고한 바 있으며, 김 등 (2001)도 녹차의 에탄올 추출물이 물 추출물 보다 노령쥐의 지방대사와 항산화능 촉진 효과가 우수하였다고 보고하였다. 이러한 결과는 에탄올 추출물의 항산화력이 가장 우수하였다는 본 연구 결과와 일치하고 있다.

5. 녹차추출물을 이용한 고등어의 보존효과

녹차 추출물의 항균활성과 항산화력이 본 연구의 결과로부터 확인되었으므로, 비교적 산패가 일어나기 쉬운 어종인 고등어의 보존에 활용하기 위한 검토를 하였다. 즉, 염도 8%와 녹차 추출물 2.5%의 용액에 고등어를 하루밤 침지하여 여분의 수분을 제거한 후 진공포장하여 -20°C 에 저장하면서 보존효과를 조사한 결과를 Table 2에 나타내었다. 보존 60일째 시험구와 대조구의 일반세균수는 각각 1.6×10^5 cfu/g과 5.4×10^4 cfu/g로 크게 차이가 없었다. 휘발성 염기질소와 산가는 대조구가 각각 6.7과 3.2였으며, 시험구는 각각 3.2와 2.0으로 대조구에 비해 매우 낮았다. 한편, 관능평가결과, 대조구에서는 심한 비린내가 감지되었으나, 시험구에서는 비린내가 전혀 감지되지 않았다. 이와 같은 결과는 고등어 보존에서는 녹차의 항균효과는 크게 없으나, 항산화력에 의한 보존효과를 얻을 수 있음을 보여주고 있다. 박 등 (2001)은 녹차의 수용성 추출물을 0.5%, 1.0% 및 5.0% 첨가하고 60°C 에 저장하면서, 산가, 과산화물가, TBA값을 측정한 결과, 대조구는 항산화까지의 유도기간이 204분이었으며, 0.5% 첨가군은 238분, 1D.0% 첨가군은 249분, 5% 첨가군은 285분으로 유도기간이 첨가 농도에 비례하여 연장되었다고 보고하였다. 이와 같은 결과로부터 녹차의 에탄올 추출물 뿐만 아니라, 열수 추출물과 냉수 추출물도 강한 항균력과 강한 항산화력을 가지며, 특히 지질의 산화가 변패의

Table 2. Quality evaluation of the brined mackerel with addition of 2.5% green tea extracts

	AVC (cfu/mL)	VBN (mg%)	AV	Sensory evaluation
Untreated	1.6×10^5	6.7	3.2	Strong fish smell
Treated with 2.5% green tea extracts	5.4×10^4	5.30	2.0	No smell

The quality of the brined mackerel was evaluated at the 60th day at -20°C
 AVC : aerobic viable cell, VBN : volatile basic nitrogen, AV : acid value

원인이 되는 식품의 보존제로 사용하면 매우 효과적일 것으로 사
료된다.

요 약

시판 녹차로부터 제조한 에탄올 추출물, 냉수 추출물 및 열수 추출물의 항산화력을 측정함과 동시에 각종 식중독 세균에 대한 항균력을 조사한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 녹차의 에탄올 추출물, 열수 추출물, 그리고 냉수 추출물 모두 세균 발육억제력은 있었으나 그람 양성균에 대하여 효과가 좋았으며, 특히 에탄올 추출물의 항균활성이 가장 강하였다.
2. 녹차 추출물을 2.5% 함유한 한천평판상에서 *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *Staph. aureus* 등의 그람양성균과 *V. parahaemolyticus*, *Sal. enteritidis* 등의 그람음성균 증식은 억제되었으며, 특히 에탄올 추출물과 열수 추출물을 첨가한 평판에서는 균의 증식이 완전히 억제되었다.
3. *B. cereus*는 에탄올 추출물과 열수추출물에서 침지 3시간 짜에 2 log cycles 감소하였다.
4. *Staph. aureus*는 에탄올 추출물에서 침지 3시간 짜에 2 log cycles, 6시간 짜에 4 log cycles 감소하였으며, 열수 추출물의 효과는 미약하였다.
5. *L. monocytogenes*는 에탄올 추출물에서 *Staph. aureus*의 경우와 마찬가지로 에탄올 추출물에 민감하여 침지 3시간 짜에 2 log cycles, 6시간 짜에 3.5 log cycles 감소하였으며, 열수 추출물의 효과는 미약하였다.

6. 에탄올 추출물과 열수 추출물은 *E. coli* 에 대한 항균활성은 나타내지 않았다.
7. *Sal. enteritidis*는 에탄올 추출물에서 12시간째에 3 log cycles 감소하였으나, 열수 추출물에서는 균의 감소현상은 나타나지 않았다.
8. 에탄올 추출물, 열수 추출물, 그리고 냉수 추출물에 *B. cereus* 균을 현탁시켜 3시간 짜에 전자현미경으로 관찰한 결과, 모든 추출물에서 균의 세포벽과 막의 손상이 확인되었으며, 에탄올 추출물에서의 손상 정도가 가장 크게 나타났다.
9. 에탄올 추출물과 열수 추출물의 항산화력은 FRAP (ferric reducing ability of plasma) 법으로 측정한 결과, 8,000 μM 이었는데, 이는 냉수 추출물보다 2배 높은 값이었다.
10. 고등어 염지 (8%)시에 녹차 추출물을 2.5% 첨가하여 처리하고 -20°C 에 보존한 결과, 보존 60일째에 시험구와 대조구에서의 일반세균수는 차이가 없었으나, 산가와 휘발성 염기질소의 함량은 시험구가 대조구에 비해 낮게 나타났다. 특히, 관능검사에서 대조구에서는 심한 비린내가 감지되었으나 시험구에서는 비린내가 감지되지 않아 녹차의 항산화력에 의한 보존효과임을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

Amaroxicz, R., R.B. Pegg and D.A. Bautista. 2000. Antibacterial activity of green tea polyphenols against *Escherichia coli* K 12. *Nahrung.*, 44: 60~62.

Benzie, I.F.F. and J.J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70-76.

Brewer, M.S., Sprouls, G.K. and Russon, C. 1994. Consumer attitudes toward food safety issues. *J. Food Safety*, 14, 63-76.

Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Beek, T. and Linssen, J. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J. Sci. Food Agric.*, 77, 140-146.

Gould, G.W. 1996. Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *J. Food Prot., Suppl.*, 82-86.

Hardt-english, P., York, G., Stier, R. and Cocotas, P. 1990. Staphylococcal food poisoning outbreaks caused by canned mushrooms from China. *Food Technol.*, 44, 74-76.

Heinz, M.L. and Johnson, J.M. 1998. The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked

fish and shellfish. J. Food Prot., 61, 318-323.

Korsak, N., Daube, G., Ghafir, Y., Chahed, A., Jolly, S., and Vindevogel, H. 1998. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. J. Food Prot., 61, 534-541.

Kumar, M. and Berwal, J.S. 1998. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). J. Appl. Bacteriol., 84, 213-215.

Maguire, H., P. Pharoah, B. Walsh, C. Davison, D. Barrie, E.J. Threlfall and S. Chambers. 2000. Hospital outbreak of *Salmonella virchow* possibly associated with a food handler. J. Hosp. Infect. 44, 261-266.

Masatomo Hirasawa and Kazuko Takada. 2004. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*., 53: 225~229.

Park, M.Y. 2004. Bacteriological survey for food/food contacting surfaces in large grocery stores in Korea. J. Fish. Sci. Technol., 7: 64~69.

Park, M.Y., M.H. Kim, S.T. Choi, Y.M. Kim, K.S. Kim and D.S. Chang. 2003. A survey of microbial levels for food in large markets of Busan. Food Sci. Biotechnol., 12: 274-277.

Roh, H.J. Shin, Y.S, Lee, K.S., Shin, M.K. 1996. Antimicrobial activity of water extract of green tea against cooked rice putrefactive microorganism. Korean J. Food Sci. Technol. 28, 66-71.

Senji, S., Kim, M., Taniguchi, M. and Yamamoto, T. 1989. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a carcinogenic bacterium. Agric. Biol. Chem. 53, 2307.

Solberg, M. J.J. Bucklalew, C.M. Chen, D.W. Schaffner, K. O'Neil, J. McDowell, L.S. Post, and M. Boderck. 1990. Microbiological safety assurance system for foodservice facilities. Food Technol. 44, 68-73.

Todd, E.C.D. 1989. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. J. Food Prot., 52, 595-601.

Wang, L.L. and E.A. Johnson. 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. Appl. Environ. Microbiol. 58, 624-629.

Yin, M.C. and Cheng, W.S. 1998. Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and spices. J. Food Prot., 61, 123-125.

강원식, 이윤희, 정현희, 강민경, 김택중, 홍진태, 윤여표. 2001. 녹차카테킨이 지질과산화 및 Superoxide Dismutase에 미치는 영향.

J. Food Hyg. Safety., 16, 41~47.

국주희, 마승진, 박근형. 1997. 솔잎에서 항미생물 활성을 갖는 benzoic acid의 분리 및 동정. 한국식품과학회지. 29, 204-210.

권동진, 박종현, 권민, 유진영, 구영조. 1997. 쑥의 *Clostridium perfringens*에 대한 생육 저해물질의 최적 추출조건. 한국농화학회지, 40, 267-270.

김건희, 전희정, 한영실. 1998. 민들레 (*Taraxacum platycarpum*) 추출물의 항균성 검색. 한국조리과학회지. 14, 114-118.

김성경, 이혜진, 김미경. 2001. 추출 조건을 달리한 감잎과 녹차의 물 및 에탄올 추출물이 노령쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향. 한국영양학회지, 34, 499~512.

김성경, 이혜진, 김미경. 2001. 추출조건을 달리한 감잎과 녹차의 물 및 에탄올 추출물이 노령쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향. 한국영양학회지, 34, 499-512.

김창순, 정순경, 오유경, 김래영. 2003. 빵 부패미생물에 대한 녹차의 항균작용. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 413~417.

박경남, 이신호. 2003. 솔잎 추출물과 고추냉이의 *Vibrio*에 대한 항균활성. 한국식품영양과학회지. 32, 185-190.

박복희, 최희경, 조희숙. 2001. 녹차 수용성 추출물의 대두유에 대한 항산화효과. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 30, 552~556.

박찬성. 1998. Clove (*Eugenia caryophyllata* Thumb.)에 의한 *Escherichia coli* O157:H7의 증식과 생존억제. 한국조리과학회지. 14, 9-15.

박찬성. 2000. 솔잎과 녹차 추출물이 식중독 세균의 생존에 미치는 영향. 한국조리과학회지. 16, 40-46.

박찬성, 박금순. 2002. 마요네즈에 첨가한 녹차가 *Escherichia coli* O157:H7과 *Salmonella typhimurium*의 생존에 미치는 영향. *Kor. J. Food Cookery Sc.*, 18. 57~62.

박찬성, 차문석. 2000. 녹차추출물과 보존료의 식중독세균에 대한 항균활성 비교. *Kor. J. Food & Nutr.*, 13. 36~44.

박찬성, 최미애. 1997. 저온저장중 Clove (*Eugenia caryophyllata* Thumb.)가 *Listeria monocytogenes*와 *Salmonella typhimurium*의 생존에 미치는 영향. 한국조리과학회지. 13, 602-608.

서정희, 이애리, 김말남. 2000. 고속도로 휴게소에서 판매되는 식품의 세균학적 품질. 한국식품위생안전성학회지, 15, 61-67.

성기천. 2002. 초임계 이산화탄소를 이용한 마늘 추출물의 항균효과에 관한 연구. 한국유화학회지. 20, 51-56.

식품의약품안전청. 2000. 식품공전 (별책). pp. 94-95.

안은영, 신동화, 백남인, 오진아, 1998. 감초로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조 동정. 한국식품과학회지. 30, 680-687.

오창용, 홍의봉, 윤광로, 이영춘, 김근성. 2002. 다양한 유기용매를 이용한 마늘추출물의 향미생물성 비교. 산업식품공학회지. 6, 248-255.

우건조, 이동하, 박종석, 강운숙, 김창민. 2002. 식중독 예방과 식품안전관리 방안. 식품산업과 영양. 7, 17-21.

이경혜, 류은순, 이경연. 2001. 창원시 식품접객업소의 위생실태에 관한 조사 연구. 한국식품영양과학회지. 30, 747-759.

이신호, 최우정. 1998. 한약재 추출물이 김치 관련 유산균의 성장과 김치의 숙성에 미치는 효과. 한국식품과학회지. 30, 624-629.

최미옥, 박은영, 김지영. 2001. 부산지역 사업체급식소 식품공급업자의 위생인식 조사. 대한영양사회 학술지, 7, 19-27.

한국식품의약품안전청. 2003. 식품의약품통계연감 4, pp. 90-92.

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 부족한 저를 변함없는 모습으로 아낌없는 지도와 조언을 해주신 장동석 교수님께 이 지면을 빌어 진심으로 감사의 인사를 올립니다.

아울러 부족한 논문 심사를 맡아 지도해 주신 김선봉 교수님, 양지영 교수님께 감사의 마음을 전합니다.

그리고 지금까지 많은 지도와 편달을 가르쳐 주신 이근태 교수님, 조영제 교수님, 안동현 교수님, 이양봉 교수님, 박미연 선생님께도 깊이 감사드립니다.

항상 자신의 일도 바쁘면서 저에게 많은 도움을 준 김성준, 박찬웅 그리고 이름을 다 열거할 순 없지만 묵묵히 도움을 주신 실험실 후배님들께도 고개 숙여 감사의 인사를 올립니다.

석사 2년 반 동안 항상 즐거움과 어려움을 함께한 김민지 선생님과 김명원 선생님, 그리고 같은 동기간 여러분께도 힘들 때 많이 도움을 주셔서 제가 이 자리에 서게 되었던 것 같습니다.

그대들이 있어 즐거웠습니다.

졸업을 앞두고 중간 중간 포기하고 싶을 때 힘이 되어준 우리 신랑 홍치성씨와 저를 이 세상에 있게 해주신 부모님과 동생들, 그리고 직장 선, 후배님들께도 감사드립니다

항상 제가 아는 모든 사람들의 앞날에 사랑과 행복만이 있기를 바라며 이 글을 마칩니다