KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 31, No. 5, pp. 1315~1323(1999)

식중독 미생물에 대한 유기산 및 에탄올의 항균활성 비교연구

안용선 · 신동화
전북대학교 응용생물공학부(식품공학 전공, 농업과학기술연구소)

Antimicrobial Effects of Organic Acids and Ethanol on Several Foodborne Microorganisms

Yong-Seon Ahn and Dong-Hwa Shin
Faculty of Biotechnology (Food Science & Technology), Chonbuk National University

Abstract

The antimicrobial effects of ethanol and organic acids(acetic, citric, lactic, propionic, tartaric acid), either alone or in combination against four foodborne microorganisms (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7) in tryptic soy broth were determined. Area under the growth curve, minimum generation time, maximum growth rate, and detection time were measured by using automated turbidometer Bioscreen(Labsystem, Finland), for 24 hr at 30°C. All microorganisms were not grown at 7% ethanol in the media. The 0.1% propionic acid showed the strongest inhibitory effects against *S. aureus, L. monocytogenes* and E. coli O157 : H7 compared with other organic acids, whereas 0.01% organic acids did not show significant inhibitory effect against microorganisms tested ($p > 0.01$) except *S. aureus*. The combination of 1% ethanol and 0.01% organic acids were significantly more effective than alone on growth of *S. aureus* and *L. monocytogenes*($p < 0.01$).

Key words : ethanol, organic acid, foodborne microorganisms, inhibitory effect

서 론

전 세계적으로 경제 성장에 따른 소득수준의 향상으로 식생활 방식이 크게 바뀌어 다양한 형태의 가공식품이 출현하고 집단급식 및 외식 증가에 따라 식품으로 인한 식중독이 증가하는 추세이다. WHO에 따르면, 1990년 현재 전 세계적으로 전염병과 기생충질환이 전체사망의 35%를 차지하고 주로 개발 도상국에서 일어난다고 보고하였으며, 이들 질병은 설사, 말라리아, 결핵, 홍역 등이며, 설사의 70%이상이 식중독에 의한 것이라고 보고되고 있다[1]. 식중독을 일으키는 미생물 중 *Listeria monocytogenes*은 1980년대 유럽과 북아메리카 지역에서 집단으로 발생하여 주목받기 시작한 저온성 식중독균으로 패혈증, 뇌막염, 중추신경마비 등을 일으키고, 사망률도 30%이상으로[2], 우리 나라에서도 수입 식품의 증가로 인해 최근 수산물과 식육제품에서도 검출되고 있다[3]. 또한 *Escherichia coli* O157 : H7은 1982년 미국에서 식중독을 일으키는 인체 병원균으로 최초로 확인되었으며[4], 그 이후로 비 살균된 사과주스, 비 살균된 우유, 물, 감자, 마요네즈 등에서 발견되었다[5]. *Salmonella*에 의한 식중독은 매년 미국에서는 696,000~3,840,000건이 보고되고 있는데, 심한 복통, 설사, 구토, 발열과 오한 등의 증상을 나타내며, 유아, 노인 면역체제가 손상된 사람은 사망하는 경우도 있으며, 그 주된 원인 식품은 계란으로 알려지고 있다[6]. *Staphylococcus aureus*는 식품 중에 장내독소를 생성하여 식중독을 일으키는 독소형 식중독으로서, 건강한 젖소도 이 균을 보유하고 있어서, 우유에서 발생할 가능성이 있다[7].

이러한 식중독 원인균의 증식억제 방법으로 potassium sorbate[8], benzoic acid[9], propionic acid, citric acid, acetic acid, lactic acid등 유기산과[10-14], NaCl[15] 및 기타 보존제를 단독으로 또는 병용한 실험 등[16-18]이 많이 보고되고 있다. Fischer 등[19]은 구연산이 삶은 달걀에 세균번식을 억제하는데 효과적임을 보고하였고, 또한 젖산은 육류의 부패미생물에 대해서 뛰어난 살균능력을 가지고 있다고 알려져 왔다[20]. Ouattara 등[21]은

Corresponding author : Dong-Hwa Shin, Faculty of Biotechnology (Food Science & Technology), Chonbuk National University, Dukjin-Dong, Chonju, Chonbuk 560-756, Korea.

일반적인 육류 부패미생물의 성장 저해에 대한 초산, 구연산, 젖산, 프로피온산의 상대적인 능력은 중량 기준으로 볼 때, 초산이 최고의 저해제로 나타났으며, 반면에 비해리분자의 농도에 대해 상대적으로 평가하거나, 몰 기준으로 표현되었을 때는 구연산이 최고의 저해능력을 가졌다고 보고했다.

본 실험에서는 초산, 구연산, 젖산, 프로피온산, 주석산과 에탄올을 단독 또는 혼합처리하여 *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli* O157 : H7, *L. monocytogenes* 등 4종류의 식중독 미생물에 대한 성장억제 특성과 에탄올 및 유기산들의 최소억제농도를 조합하여 항균력의 증진여부를 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용된 균주는 *Listeria. monocytogenes* ATCC 19113, *Staphylococcus aureus* KCCM 11335, *Salmonella typhimurium* KCTC 1025 및 *Escherichia coli* O157 : H7 ATCC 43888을 사용하였다.

균주의 배양

공시균주를 tryptic soy agar(TSA, Difco)에 계대배양 후 이것을 tryptic soy broth(TSB, Difco) 10 mL에 1백금이 접종하여 30°C에서 12시간 진탕배양(100 rpm)한 후 이 균 현탁액 0.1 mL를 다시 새로운 액체배지(TSB) 10 mL에 접종하고 12시간 진탕배양시켜 *S. typhimurium*와 *S. aureus*는 10^7 CFU/mL, *L. monocytogenes*와 *E. coli* O157 : H7은 10^8 CFU/mL의 세포 현탁액을 얻었다.

시약

초산, 구연산, 프로피온산은 Yakuri Pure Chemicals Co., LTD(Japan), 주석산은 Deajung Chemical & Metals Co., LTD(Korea), 젖산은 Hayashi Pure Chemicals Industries LTD(Japan), 에탄올은 Duksan Pure Chemical Co., LTD(Korea)사에서 구입하였다. 모든 유기산과 에탄올은 원하는 농도에 맞게 3차 증류수로 희석한 후 0.2 μm membrane filter(Whatmann)로 제균여과하여 사용하였다.

항균력 측정

각각의 유기산과 에탄올을 살균된 TSB배지 10 mL에 첨가하여 유기산의 최종 농도가 0.1%, 0.05%, 0.01%(w/v), 에탄올은 1, 2, 3, 5, 7%(v/v)로 맞춘 후에, 배양된 각 균주 0.1 mL를 주입하여 *S. typhimurium*와 *S. aureus*는 10^6 CFU/mL, *L. monocytogenes*와 *E. coli* O157 : H7은 10^7 CFU/mL가 되도록 하였고, 표준구는 각각의 항균제 대신 살균된 액체배지를 사용하였으며 항균물질 첨가시 pH의 변화를 측정하였다. Automated turbidometer, Bioscreen analysing system (Labsysterm, Pulttitie 9-11, Helsinki, Finland)의 각각의 well에 준비된 시료 0.3 mL씩을 분주 후 흡광도 600 nm, 배양온도 30°C로 설정한 후 매 2시간마다 24시간동안 측정하였으며 Bioscreen analysing system에 의해서 측정된 미생물 증식곡선의 면적(AREA)과 최대 성장율(MGR)은 표준구에 비해 감소한 양을 증식저해 효과로 표시하였고, minimum generation time (MGT)과 detection time(DT)은 표준구에 비해 증가한 양을 증식 저해 효과로 표시했다.

통계분석

모든 실험은 5회 실시하였고, 유기산과 에탄올의 처리효과의 유의성 검정은 SAS프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시한 후에 유의성이 있는 경우 $\alpha = 0.01$수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 처리구간별 평균치간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

항균물질 첨가시 pH의 변화

항균물질 첨가시 배지의 pH변화를 비교 분석한 결과는 Table 1과 같다.

에탄올을 첨가한 모든 처리구는 표준구에 비해 pH가 상승했으며, 에탄올 농도가 높을수록 pH는 높아지는 경향이었다. 반면에 유기산을 첨가한 처리구는 표준구에 비해 pH가 낮아졌으며, 농도가 높을수록 pH가

Table 1. Change in pH of TSB adjusted with selected organic acids either alone or combined with ethanol

Treatments[1)]	pH[2)]	Treatment	pH
Control	7.48 ± 0.02	0.05% AA	6.67 ± 0.03
1% EtOH	7.49 ± 0.02	0.05% CA	6.82 ± 0.05
2% EtOH	7.50 ± 0.02	0.05% LA	7.05 ± 0.04
3% EtOH	7.51 ± 0.02	0.05% PA	6.90 ± 0.07
0.01% AA	7.32 ± 0.02	0.05% TA	6.92 ± 0.02
0.01% CA	7.35 ± 0.02	1%EtOH + 0.01%AA	7.38 ± 0.02
0.01% LA	7.40 ± 0.02	1%EtOH + 0.01%CA	7.40 ± 0.02
0.01% PA	7.36 ± 0.02	1%EtOH + 0.01%LA	7.46 ± 0.02
0.01% TA	7.37 ± 0.02	1%EtOH + 0.01%PA	7.40 ± 0.01
		1%EtOH + 0.01%TA	7.41 ± 0.01

[1)]EtOH(ethanol), AA(acetic acid), CA(citric acid), LA (lactic acid), PA(propionic acid), TA(tartaric acid).
[2)]Mean ± standard deviation of 5 measurements.

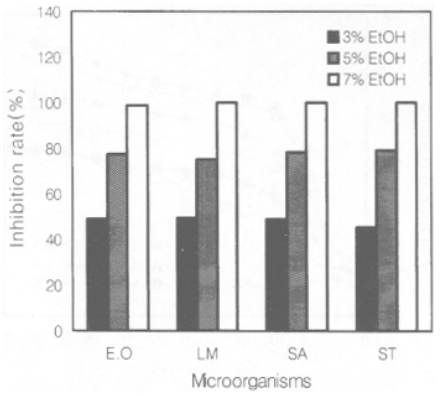

Fig. 1. Inhibitory effects of ethanol against foodborne microorganisms for 24 hr at 30°C.
EO : *Escherichia coli* O157 : H7, LM : *Listeria monocytogenes*, SA : *Staphylococcus aureus*, ST : *Salmonella typhimurium*

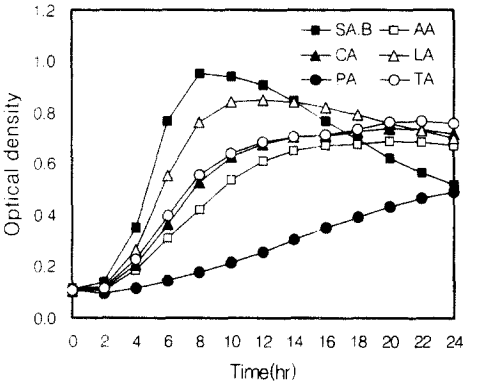

Fig. 2. Inhibitory effects of organic acids against *Staphylococcus aureus* KCCM 11335 for 24 hr at 30°C.
■ SA.B : control, □ AA : acetic acid 0.1%, ▲ CA : citric acid 0.1%, △ LA : lactic acid 0.1%, ● PA : propionic acid 0.1%, ○ TA : tartaric acid 0.1%

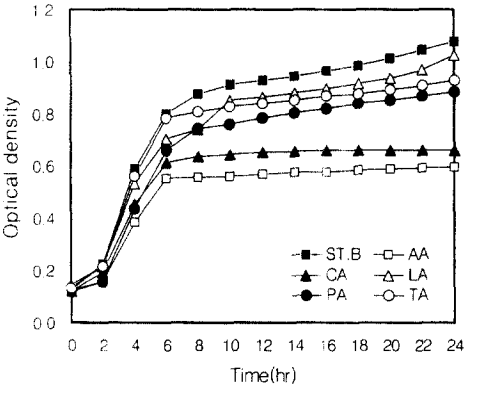

Fig. 3. Inhibitory effects of organic acids against *Salmonella typhimurium* KCTC 1025 for 24 hr at 30°C.
■ ST.B : control, □ AA : acetic acid 0.1%, ▲ CA : citric acid 0.1%, △ LA : lactic acid 0.1%, ● PA : propionic acid 0.1%, ○ TA : tartaric acid 0.1%

낮아지는 경향이었다. 또한 유기산처리구 중 초산을 첨가한 처리구의 pH가 가장 낮았으며, 그 다음으로 구연산 프로피온산 순 이었다. 이는 Ouattara 등[21]이 0.01% 유기산에서 실험한 결과와도 일치하였다. 0.01% 유기산과 1% 에탄올을 동시에 첨가한 처리구의 pH는 1% 에탄올만 첨가한 처리구 보다는 낮게, 0.01% 유기산만을 첨가한 처리구 보다는 높게 나타났다.

에탄올의 증식 저해 효과

최종 에탄올 농도가 3~7%되도록 첨가한 TSB 배지에 각 식중독 미생물을 접종하여 30°C에서 24 시간 배양한 다음, 에탄올을 첨가하지 않은 처리구의 증식곡선의 면적을 100으로 하여 증식저해 정도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 3%와 5% 에탄올 농도에서는 미생물의 종류에 상관없이 각각 50%~80%의 증식 저해를 보였으나, 7% 농도에서는 미생물의 종류와 관계없이 증식하지 못하였다. 이는 Ballesteros 등[22]이 *S. aureus*는 5% 에탄올 농도에서는 증식하였으나(37°C, 72 hr), 유도기가 연장되었으며, 6.5% 이상 농도에서는 균수가 감소했다고 보고한 내용과 유사한 결과였다. 이러한 에탄올의 정균 및 살균 원인으로 Ingram[23]은 *E. coli*의 분해기작의 연구에서 에탄올이 peptidoglycan의 가교결합의 조합을 저해한다고 보고했다. 본 실험결과에 의하면, 에탄올에 대한 균주별 감수성에는 차이가 없었으며, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli* O157 : H7 및 *L. monocytogenes*의 완전한 증식 저해를 위해서는 7% 이상의 에탄올 농도가 요구되는 것으로 나타났다.

각종 유기산의 증식 저해 효과

초산 등 5종의 유기산을 0.1% 농도로 TSB에 첨가한 후 각 식중독 미생물을 접종하여 30°C에서 24 시간 배양하면서 혼탁도를 Bioscreen을 이용하여 연속적으로 측정한 결과는 Fig. 2~5와 같다. Fig. 2에서 보면 첨가한 모든 유기산은 *S. aureus*에 대하여 증식 저해 현상을 보였고 특히 프로피온산의 경우 뚜렷한 증식 저해 효과를 나타내었으나, 젖산은 그 효과가 미미하였다. *S. typhimurium*의 경우(Fig. 3) 전체적으로 증식 저해 효과가 *S. aureus*보다 떨어지는 경향이었고, 초산이 비교적 높은 효과를 보였으나 주석산, 젖산, 프로피온산은 효과가 미미하였다. *L. monocytogenes*의 경우(Fig. 4) 프로피온산, 주석산 및 젖산이 뚜렷한 증식

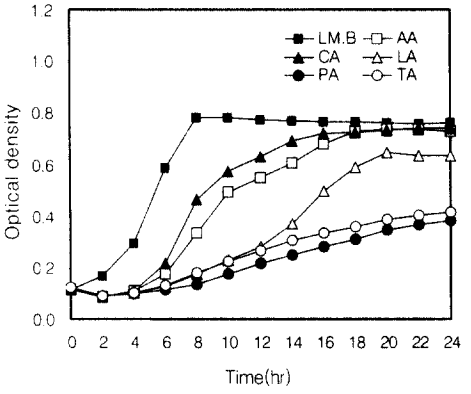

Fig. 4. Inhibitory effects of organic acids against *Listeria monocytogenes* ATCC 19113 for 24 hr at 30°C.
■ LM.B :control, □ AA : acetic acid 0.1%, ▲ CA : citric acid 0.1%, △ LA : lactic acid 0.1%, ● PA : propionic acid 0.1%, ○ TA : tartaric acid 0.1%

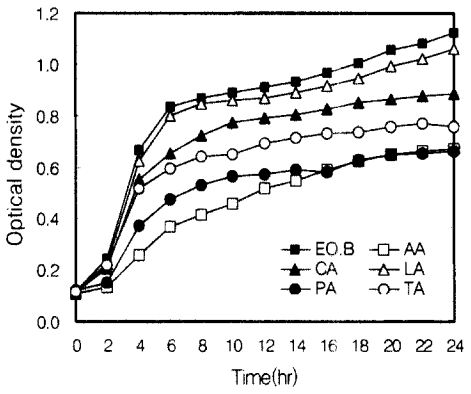

Fig. 5. Inhibitory effects of organic acids against *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43888 for 24 hr at 30°C.
■EO.B : control, □ AA : acetic acid 0.1%, ● PA : propionic acid 0.1%, ○ TA : tartaric acid 0.1%, ▲ CA : citric acid 0.1%, △ LA : lactic acid 0.1%

저해 효과를 보인 반면, 구연산, 초산은 비교적 효과가 낮았다. *E. coli* O157 : H7의 경우(Fig. 5) 초산과 프로피온산은 증식 저해 효과가 있었으나 젖산의 경우 거의 증식 저해 효과를 보이지 않았다. 이와 같은 결과를 종합하여 볼 때 유기산에 의한 식중독균의 증식 저해 양상은 균종에 따라 상당히 다름을 알 수 있다.

Anderson 등[24,25], Dickson 등[25,26]에 의하면, 초산은 특히 *S. typhimurium*, *E. coli* O157 : H7, *L. monocytogenes*에 효과적이라고 보고했으며, Chung 등[27]은 *Salmonella*의 증식 저해에 가장 효과적인 유기산은 초산과 프로피온산이라 보고했는데 이는 본 실험의 결과와 비슷한 경향을 보였다. 약산의 살균과 정균 작용은 세포 외부 환경에 존재하는 비해리된 유기산의 작용 때문이며, 이 유기산이 세포 내부로 수송되어 세포 내부에서 해리된다고 알려졌으며, 세포 내부에서 해리된 유기산은 세포의 pH를 변화시켜 다른 요소와 함께 효소의 변성을 초래한다[11,28,29]. Booth 등[29]에 의하면 산의 농도가 0.5% 이상에서는 대부분의 미생물이 증식에 저해를 받으며, 그 이유는 육류부패 미생물은 생육배지의 pH보다 내부의 pH를 다소 높게 유지해야만, 양성자가 membrane-bound ATPase를 통해서 흐르며, 이 과정에서 세포는 에너지를 생산한다. Neutrophilic bacteria는 계속적으로 그들의 cytoplasm으로부터 세포 내부와 외부의 vital proton을 유지하기 위해서 양성자를 제거하며, 이러한 과정은[21] 능동적이며 에너지를 소비한다. 세포 외부의 산도가 증가하게 되면 세포 내부로 들어오는 많은 양의 양성자를 제거하기 위해 더 많은 에너지를 소비하며 증식에 손실을 입는다. Young 등[12]은 구연산과 젖산은 세포 내부로 들어갈 수 있는 능력은 보잘 것 없지만, 세포 내부에서 해리되는 능력은 매우 뛰어나며, 그리하여 cytoplasm을 산성화한다고 했으며, Beuchat 등[30]은 citrate ion은 미생물 성장에 필수적인 polyvalent cation과 chelating을 한다고 보고했다. 본 실험에서는 대체적으로 초산과 프로피온산이 강한 활성을 나타냈으며, 젖산과 구연산은 상대적으로 활성이 낮게 나타났다. 이는 Young 등[12]이 보고한 바와 같이 유기산이 세포 내부로 들어갈 수 있는 능력의 차이로 판단된다.

에탄올과 유기산의 병용 효과

Table 2에서 보면 *S. typhimurium*은 1% 에탄올 농도에서는 AREA, MGR, MGT, DT에서 증식 저해를 받지 않았다. 0.05% 유기산 처리구에서는 초산(AREA, MGR), 젖산(AREA), 프로피온산(MGR, MGT)에서 증식 저해를 받았으며, 0.01% 초산, 구연산, 젖산, 프로피온산, 주석산과 0.05% 구연산, 주석산은 증식 저해 효과가 없었다. 1% 에탄올+0.01% 유기산은 AREA와 MGR에서 증식 저해 효과가 있었다. AREA만을 놓고 볼 때 2% 에탄올, 0.05% 초산, 1% 에탄올+0.01% 유기산은 *S. typhimurium*의 증식 저해에 비슷한 효과를 보였다.

Table 3에서 보면 MGT를 제외하고는 1% 에탄올은 *L. monocytogenes*에 대해서 저해 효과가 없었으나, 2% 에탄올은 증식 저해 효과가 있었다. 이는 Oh 등[31]이 배지에서 1.25% 에탄올은 *L. monocytogenes*의 증식억제에 효과가 없었다고 보고한 내용과 유사하였

Table 2. Inhibitory effects of organic acids and ethanol against *Salmonella typhimurium* KCTC 11362 for 12 hr at 30°C

Treatments[1)]	Inhibitory effects			
	AREA[2)]	MGR[3)]	MGT[4)]	DT[5)]
Control	412.06[a7)]	0.6654[a]	63.0[bcd]	132[b]
1% EtOH	367.4[abcd]	0.5886[abcd]	71.8[abcd]	150[ab]
2% EtOH	293.4[e]	0.4906[d]	85.0[a]	203[a]
0.01% AA	371.8[abc]	0.6480[abcd]	65.6[abcd]	144[ab]
0.01% CA	412.0[a]	0.6654[a]	63.0[bcd]	144[ab]
0.01% LA	411.6[a]	0.6276[abcd]	63.2[bcd]	144[ab]
0.01% PA	412.0[a]	0.6634[abc]	63.6[bcd]	144[ab]
0.01% TA	404.2[a]	0.6654[a]	63.0[bcd]	138[b]
0.05% AA	306.6[e]	0.5347[bcd]	78.6[abc]	162[ab]
0.05% CA	377.2[ab]	0.6654[a]	63.0[bcd]	144[ab]
0.05% LA	341.8[bcde]	0.6162[abcd]	67.6[abcd]	144[ab]
0.05% PA	331.8[bcde]	0.5072[cd]	82.4ab	168[ab]
0.05% TA	373.6[abc]	0.6278[abcd]	65.6[abcd]	135[b]
1% EtOH + 0.01% AA	311.2[e]	0.5858[abcd]	75.6[abcd]	186[ab]
1% EtOH + 0.01% CA	319.2[de]	0.6180[abcd]	67.6[abcd]	180[ab]
1% EtOH + 0.01% LA	312.6[e]	0.5620[bcd]	76.0[abcd]	180[ab]
1% EtOH + 0.01% PA	318.4[de]	0.5656[bcd]	75.4[abcd]	180[ab]
1% EtOH + 0.01% TA	324.6[cde]	0.5620[bcd]	74.6[abcd]	180[ab]
F-value	12.79***[8)]	3.33**	2.95**	2.28*

[1)]See footnote of Table 1.
[2)]The area under the growth curve during 12 hr at absorbance 600 nm.
[3)]Maximum growth rate(1/hr) at absorbance 600 nm.
[4)]Minimum generation time(min) at absorbance 600 nm.
[5)]Detection time(min) at O.D. value 0.2 at absorbance 600 nm.
[6)]Same superscript in same column are not significantly different by Duncan`s multiple comparison at $p<0.01$.
[7)]Means of 5 measurements.
[8)]*$p<0.01$, **$p<0.001$ and ***$p<0.0001$ in ANOVA test.

으나, Verhaegh 등[32]은 catfish fillets에 부착된 *L. monocytogenes* 균수를 감소시키는데 4% 에탄올도 효과적이지 못했다고 보고한 내용과는 상반된 결과였다. 이는 broth 상에서의 에탄올의 효과와 식품에 적용시의 효과가 다르기 때문이라고 생각된다.

일반적으로 *L. monocytogenes*는 다른 식중독균보다 산성조건에서 더욱 잘 견딘다고 알려져 있다[33,34]. 본 실험에서도, 유기산의 경우에는 0.05% 프로피온산의 경우에는 AREA에서만 저해 효과가 나타났으며, MGT, MGR, DT에서는 저해 효과가 나타나지 않았 다. 0.05% 초산, 구연산, 젖산, 주석산과 0.01% 초산, 구연산, 젖산, 프로피온산, 주석산은 표준구와 유의차가 없었다($p>0.01$). 1% 에탄올과 0.01% 유기산을 동시에 사용했을 때 증식 저해 효과를 비교해보면 AREA, MGR, MGT는 표준구와 유의적인 차이를 보였다 ($p<0.01$). 결국 유기산은 종류에 관계없이 최소한 0.05% 이하의 농도에서 *L. monocytogenes*에 대한 증식 저해 효과가 없으며, 오히려 1% 에탄올과 0.01% 유기산을 동시에 사용했을 때 증식 저해 효과가 나타났다.

*S. aureus*는 4 종류의 실험대상균 중에서 에탄올과 유기산에 대한 저항성이 가장 약한 것으로 나타났다. Fernandes 등[14]은 catfish fillet에서 미생물 증식 저해에 가장 효과적인 유기산은 프로피온산이었고 그 다음으로 초산, 젖산이었다고 보고했다. Table 4에서 보면 0.05% 프로피온산에서 심하게 증식 저해를 받았으며, 프로피온산에 대단히 민감한 것으로 나타났다. 특히 0.01% 프로피온산을 단독으로 사용한 경우에 MGT는 127%, DT는 77%정도 연장되어 0.01% 프로피온산과 1% 에탄올을 동시에 처리한 경우(MGT 81%, DT 48%)보다도 월등한 증식 저해 효과가 있었다. 에탄올은 상대적으로 프로피온산의 활성을 저해시키는 것으로 나타났는데, 이는 Tamblyn 등[18]은 어떤 경우에 있어서 2% 에탄올과 유기산을 동시에 사용시 유기산의 활성이 저하된다는 보고와 부분 일치했다. AREA 와 MGR에서 각 처리구별 저해 효과를 비교해보면, 2% 에탄올과 1% 에탄올+0.01% 유기산의 증식 저해 효과는 비슷했다.

Table 5에서 보면 *E. coli* O157 : H7은 AREA를 제외하고 MGR, MGT, DT에서는 유기산 및 에탄올에 증식 저해를 받지 않았다($P>0.01$). AREA경우에 2%에탄올에서 증식 저해를 받는 것으로 나타났으나, Masuda 등[15]이 보고한 내용과는 상반된 결과를 나타냈다. 또

Table 3. Inhibitory effects of organic acids and ethanol against *Listeria monocytogenes* ATCC 19113 for 12 hr at 30°C

Treatments[1)]	Inhibitory effects			
	AREA[2)]	MGR[3)]	MGT[4)]	DT[5)]
Control	235.26[a7)]	0.3726[abc]	118.2[f]	324[c]
1% EtOH	188.8[abcd]	0.2754[bcde]	160.4[abcd]	372[abc]
2% EtOH	129.8[e]	0.2290[de]	194.0[ab]	450[a]
0.01% AA	218.6[abc]	0.3848[ab]	118.2[f]	336[bc]
0.01% CA	210.4[abcd]	0.3332[bcd]	125.2[ef]	3423[abc]
0.01% LA	219.6[abc]	0.3316[bcd]	125.4[ef]	324[c]
0.01% PA	222.2[abc]	0.3126[bcde]	134.2[def]	330[bc]
0.01% TA	237.0[a]	0.4436[a]	118.2[f]	324[c]
0.05% AA	195.6[abcd]	0.3032[bcde]	139.0[def]	324[c]
0.05% CA	230.0[a]	0.3642[abc]	118.2[f]	324[c]
0.05% LA	208.2[abcd]	0.3762[abc]	118.2[f]	324[c]
0.05% PA	164.6[de]	0.2628[cde]	154.0[bcdef]	384[abc]
0.05% TA	226.4[ah]	0.3228[bcde]	142.6[cdef]	382[abc]
1% EtOH + 0.01% AA	175.0[bcde]	0.2334[de]	178.2[abcd]	408[abc]
1% EtOH + 0.01% CA	170.6[cde]	0.2136[e]	195.0[ab]	402[abc]
1% EtOH + 0.01% LA	158.2[de]	0.2078[e]	201.4[a]	420[ab]
1% EtOH + 0.01% PA	163.8[de]	0.2228[de]	186.4[abc]	402[abc]
1% EtOH + 0.01% TA	166.6[de]	0.2216[de]	187.8[ah]	390[abc]
F-value	6.93***[8)]	7.10***	10.09***	2.94**

[1)]See footnote of Table 1.
[2)-8)]See footnote of Table 2.

Table 4. Inhibitory effects of organic acids and ethanol against *Staphylococcus aureus* KCCM 11335 for 12 hr at 30°C

Treatments[1)]	Inhibitory effects			
	AREA[2)]	MGR[3)]	MGT[4)]	DT[5)]
Control	388.66[a7)]	0.5866[a]	71.2[e]	162[b]
1% EtOH	337.8[abc]	0.4430[bcde]	94.0[cde]	180[b]
2% EtOH	267.6[de]	0.3884[cdef]	108.0[cde]	222[b]
0.01% AA	345.6[abc]	0.5092[ab]	82.4[de]	180[b]
0.01% CA	333.2[abcd]	0.4584[bcde]	93.6c[de]	192[b]
0.01% LA	310.2[bcd]	0.4208[bcdef]	102.0[cde]	192[b]
0.01% PA	220.2[e]	0.2768[fgh]	161.8[b]	288[b]
0.01% TA	358.6[ah]	0.5072[ab]	81.8[de]	180[b]
0.05% AA	231.4[e]	0.2628[h]	158.8[b]	306[b]
0.05% CA	323.6[abcd]	0.4288[bcde]	98.6[cde]	198[b]
0.05% LA	338.4[abc]	0.4650[bcd]	90.6[cde]	186[b]
0.05% PA	69.6[f]	0.1566[i]	270.4[a]	648[a]
0.05% TA	355.8[ab]	0.4858[bc]	86.4[de]	180[b]
1% EtOH + 0.01% AA	316.8[bcd]	0.3840[cdef]	109.6[cde]	204[b]
1% EtOH + 0.01% CA	309.4[bcd]	0.3602[efg]	115.8[cd]	204[b]
1% EtOH + 0.01% LA	317.0[bcd]	0.3662[defg]	114.4[cd]	198[b]
1% EtOH + 0.01% PA	280.4[e]	0.3232[gh]	129.0[bc]	240[b]
1% EtOH + 0.01% TA	333.0[abcd]	0.3856[cdef]	108.6[cde]	210[b]
F-value	20.16***[8)]	18.32***	26.41***	7.12***

[1)]See footnote of Table 1.
[2)-8)]See footnote of Table 2.

한 *E. coli* O157 : H7은 0.05% 유기산 처리시 AREA에서만 증식이 저해 됐으며 프로피온산 보다는 초산이 더 저해 효과가 있었다. 0.05% 주석산과 0.01% 초산, 구연산, 젖산, 프로피온산, 주석산은 표준구와 유의차가 없었으며($p > 0.01$), 1% 에탄올과 0.01% 유기산을 동시에 사용했을 경우에 0.05% 유기산과 비슷한 증식 저해 효과를 나타냈다. 일반적으로 *E. coli* O157 : H7은 산성 조건하에서 강한 내성을 갖고 있다고 알려져 있으며[35,36], 식품에 오염된 균을 제거하기 위해서 초산, 구연산 및 젖산을 처리한 결과 효력이 거의

Table 5. Inhibitory effects of organic acids and ethanol against *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43888 for 12 hr at 30℃

Treatments[1)]	Inhibitory effects			
	AREA[2)]	MGR[3)]	MGT[4)]	DT[5)]
Control	3616[a7)]	0.5804	72.0	138
1% EtOH	288.6[d]	0.4628	90.2	168
2% EtOH	237.8[e]	0.4210	100.6	192
0.01% AA	356.2[ab]	0.5486	76.0	144
0.01% CA	358.2[ab]	0.5396	79.6	144
0.01% LA	360.2[ab]	0.5398	81.4	144
0.01% PA	360.0[ab]	0.4958	93.2	150
0.01% TA	370.6[a]	0.5984	70.4	144
0.05% AA	252.6[e]	0.4510	103.4	174
0.05% CA	309.4[cd]	0.5468	78.9	156
0.05% LA	323.2[cd]	0.5360	79.2	144
0.05% PA	290.4[d]	0.4716	97.2	162
0.05% TA	340.2[abc]	0.5302	79.6	142
1% EtOH + 0.01% AA	317.8[cd]	0.5010	86.4	180
1% EtOH + 0.01% CA	305.8[cd]	0.4602	94.0	186
1% EtOH + 0.01% LA	318.4[cd]	0.4656	94.6	180
1% EtOH + 0.01% PA	315.0[cd]	0.4562	96.8	186
1% EtOH + 0.01% TA	314.2[cd]	0.4462	94.4	186
F-value	16.63***[8)]	1.27	0.91	2.10

[1)]See footnote of Table 1.
[2)-8)]See footnote of Table 2.

없다고 보고되고 있다[37]. 또한 Podolak 등[13]은 퓨마린산이 초산, 구연산, 및 젖산보다 효과적이라고 보고했다. 이상의 결과로 볼 때 *E. coli* O157 : H7은 최소한 50% 이상 성장억제를 위해서는 유기산 보다는 3% 이상의 에탄올이 요구되며, 혹은 에탄올 또는 유기산과 다른 항균제를 같이 사용하는 방법을 채택해야 된다고 생각된다.

요 약

Automated turbidometer, Bioscreen(Labsystem)을 이용하여 tryptic soy broth에 에탄올(3%, 5%, 7%(v/v)) 및 유기산(초산, 구연산 ,젖산, 피로피온산 및 주석산 (w/v))을 단독으로 첨가하거나, 혼합하여 *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157 : H7, *Listeria monocytogenes*의 증식 곡선의 면적(AREA)과, 최대성장율(MGR), MGT(minimum generation time), DT(detection time)를 조사하였다. 모든 균주는 7% 에탄올에서 24 시간 동안 전혀 증식하지 못했으나 0.1% 유기산에서는 미생물의 종류와 유기산의 종류에 따라 다양한 양상을 보였다. *S. aureus*의 경우 프로피온산이 뚜렷한 증식 저해 효과를 나타내었으며, *S. typhimurium*의 경우 초산이 비교적 높은 효과를 보였다. *L. monocytogenes*에 대해서는 프로피온산, 주석산 및 젖산이 뚜렷한 증식 저해 효과를 보인 반면, *E. coli* O157 : H7의 경우에는 초산과 프로피온산이 효과가 있었다. 1% 에탄올과 0.01% 유기산을 병용했을 때 *S. typhimurium*은 AREA에서 2% 에탄올 및 0.05% 초산의 증식 저해율과 비슷한 효과를 보였으며, *L. monocytogenes*는 AREA에서 0.05% 프로피온산 및 MGR, MGT, DT에서 2% 에탄올과 비슷한 저해율을 보였다. *S. aureus*은 0.01% 프로피온산을 단독으로 사용했을 때가 오히려 0.01% 프로피온산과 1% 에탄올을 동시에 처리한 경우보다도 월등한 증식 저해 효과를 나타내었으며, *E. coli* O157 : H7은 1% 에탄올과 0.01% 유기산을 동시에 사용해도 AREA를 제외하고는 증식 저해를 받지 않았다.

문 헌

1. Yang, J.S. Food irradiation for safety of microbiological aspect(in Korean). Food Science and Industry. 30: 131-136 (1997)
2. Johnson, J.L., Doyle, M.P. and Cassens, R.G. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products. J. Food Prot. 53: 81-91 (1990)
3. Gu, D.W., Chung, C.I., Ieong, D.K., Nam, E.S. Contamination of *Listeria* spp. on market beef. J. Food Hygiene & Safety. 10: 85-95 (1995)
4. Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, D.D., Mcgee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargret, N.T., Blake, P.A. and Cohen, M.L. Hemorrhagic colitis associated with a

rare *Escherichia coli* serotype. N. Engl. J. Med. 308: 681-685 (1983)
5. Marks, S. and Roberts, T. *Escherichia coli* O157 : H7 ranks as the fourth most costly foodborne disease. Food Rev. 16: 51-59 (1993)
6. Lin, C.T., Morales, R.A. and Ralston, T. Raw and undercooked eggs: a danger of salmonellosis. Food Rev. 20: 27-32 (1997).
7. Bergdoll, M.S. In Foodborne Infections and Intoxication. 2nd ed. Bryan, F.L. (ed.). Academic Press, New York, USA (1979)
8. Rice, K.M. and Pierson, M.D. Inhibition of *Salmonella* by sodium nitrite and potassium sorbate in frankfurters. J. Food Sci. 47: 1615-1617 (1982)
9. Kim, D.J., Kwon, O.J. and Byun, M.W. Combination effects of benzoate, sorbate and pH for control of *Escherichia coli* O157:H7. J. Food Hygiene & Safety. 12: 200-204 (1997)
10. Oh, D.H. and Marshall, D.L. Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acids. J. Food Sci. 59: 1258-1261 (1994)
11. Ita, P.S. and Hutkins, R.W. Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in trypic soy broth containing acetic, lactic, citric, and hydrochloric acids. J. Food Prot. 54: 15-19 (1991)
12. Young, K.M. and Foegeding, P.M. Acetic, lactic, citric acids and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on intracellular pH. J. Appl. Bacteriol. 74: 515-520 (1993).
13. Podlak, R.K., Zayas, J.F., Kastner, C.L. and Fung, D.Y.C. Reduction of *Listeria monocytogens*, *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella typhimurium* during storage on beef sanitized with fumaric, acetic, and lactic acids. J. Food Safety. 15: 283-290 (1995)
14. Fernandes, C.F., Flick, G.J., Cohen, J. and Thomas, T.B. Role of oranic acids during processing to improve quality of channel catfish fillets. J. Food Prot. 61: 495-498 (1998)
15. Masuda, S., Hara-Kudo, Y. and Kumagai, S. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 population in soy sauce, a fermented seasoning. J. Food Prot. 61: 657-661 (1998)
16. Davidson, P.M., Brekke, C.J. and Branen, A.L. Animicrobial activity of butylated hydroxyanisole, tertiary butylhydroquinone, and potassium sorbate in combination. J. Food Sci. 46: 314-316 (1981)
17. Larocco, K.A. and Martin, S.E. Effects of potassium sorbate alone and in combination with sodium chloride on the growth of *Salmonella typhimurium* 7136. J. Food Sci. 46: 568-570 (1981)
18. Tamblyn, K.C. and Conner, D.E. Batericidal activity of organic acids in combination with transdermal compounds against *Salmonella typhimurium* attached to broiler skin. Food Microbiol. 14: 477-484 (1997)
19. Fischer, J.R., Fletcher, D.L., Cox, N.A. and Bailey, J.S. Microbiological properties of hard-cooked eggs in a citric acidbased preservative solution. J. Food Prot. 48: 252-256 (1985)
20. Acuff, G.R., Vanderzant, C., Savell, J.W., Jones, D.K., Griffin, D.B. and Ehlers, J.G. Effect of acid decontamination of beef subprimal cuts on the microbiological and sensory characteristic of steaks. Meat Sci. 19: 217-221 (1987)
21. Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, J.P. and Begin, A. Inhibition effect of organic acids upon meat spoilage bacteria. J. Food Prot. 60: 246-253 (1997)
22. Ballesteros, S.A., Chirife, J. and Bozzini, J.P. Antibacterial effects and cell morphological changes in *Staphylococcus aureus* subjected to low ethanol concentration. J. Food Sci. 58: 435-438 (1992).
23. Ingram, L.O. Mechanism of lysis of *Escherichia coli* by ethanol and other chaotpic agents. J. Bacteriol. 146: 331-336 (1981)
24. Anderson, M.E., Huff, H.E., Naumann, H.D., Damare, J.M., Johnson, R. and Marshall, R.T. Evaluation of an automated beef carcass washing and sanitizing system under production conditions. J. Food Prot. 50: 562-566 (1987)
25. Dickson, J.S. and Aderson, M.E. Control of *Salmonellae* on beef tissue surfaces in a model system by pre- and post-evisceration washing and sanitizing, with and without spray chilling. J. Food Prot. 54: 514-518 (1991)
26. Dickson, J.S. Attachment of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* to beef tissue : effect inoculum level, growth temperature and bacterial culture age. Food Microbiol. 8: 143-152 (1991)
27. Chung, K.C. and Goepfert, J.M. Growth of *Salmonella* at low pH. J. Food Sci. 35: 326-328 (1970)
28. Fernandes, C.F. and Shahani, K.M. Modulation of antibiosis by lactobacilli and other lactic cultures and fermented food. Microbiol. Aliment. Nutr. 42: 337-352 (1989)
29. Booth, I.R. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Microbiol. Rev. 49: 358-378 (1985)
30. Beuchat, L.R. and Golden, D.A. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technol. 43: 134-142 (1985)
31. Oh, D.H. and Marshall, D.L. Antimicrobial activity of ethanol, glycerol monolaurate or lactic acid against *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 20: 239-246 (1993)
32. Verhaegh, E.G.A., Marshall, D.L. and Oh, D.H. Effect of monolaurin and lactic acid on *Listeria monocytogenes* attached to catfish fillets. Int. J. Food Microbiol. 29: 403-410 (1996)
33. Conner, D.E., Scott, V.N. and Bernard, D.T. Growth, inhibition, and survival of *Listeria monocytogenes* as affected by acidic conditions. J. Food Prot. 53: 652-655 (1990)
34. Ita, P.S. and Hutkins, R.W. Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth containing acetic, lactic, citric, and hydrochloric acid. J. Food Prot. 54: 15-19 (1991)
35. Buchanan, R.L. and Doyle, M.P. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. Food Technol. 51: 69-76

(1997)
36. Zhao, T., Doyle, M.P. and Besser, R.E. Fate of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservation. Appl. Environ. Microbiol. 59: 2526-2530 (1993)
37. Brackett, R.E., Hao, Y.T. and Doyle, M.P. Ineffectiveness of hot acid sprays to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 on beef. J. Food Prot. 57: 198-203 (1994))

(1999년 3월 12일 접수)