

영귤(*Citrus sudachi*) 과즙과 과피 용매 추출물의 항균 효과

김영동 · 김유진 · 오세욱 · 강영주* · 이영철
한국식품개발연구원, *제주대학교 식품공학과

Antimicrobial Activities of Solvent Extracts from *Citrus sudachi* Juice and Peel

Young-Dong Kim, Yoo-Jin Kim, Se-Wook Oh, Yeung-Joo Kang* and Young-Chul Lee
Korea Food Research Institute *Department of Food Science and Technology, Cheju University

Abstract

Extracts of *Citrus sudachi* juice and peel were obtained by several organic solvents such as hexane, acetone, ethyl acetate and methanol. Their antimicrobial spectrum were determined against 14 strains of gram positive and 4 strains of gram negative bacteria by paper disk method and minimal inhibitory concentration (MIC) was also obtained. Antimicrobial activities of solvent extracts from *Citrus sudachi* juice showed stronger than those of solvent extracts from peel. Acetone extract from juice showed the strongest antimicrobial activity among extracts, but the hexane extract did not show antimicrobial activities on tested target strains. The MIC was different among tested strains; i.e. 0.5% (v/v) to *Bacillus subtilis*, 1% to *Pseudomonas fragi*, 1.5% to *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7, 2% to *Propionibacterium acnes* and *Salmonella typhimurium*, and 2.5% to *Staphylococcus aureus*.

Key words : antimicrobial activity, *citrus sudachi*

서 론

식품의 원료, 가공, 저장·유통 과정 중 부패 및 병원성 미생물에 의해 야기되는 식중독 사건 등으로 식품위생에 대한 중요성이 증가하고 있다. 특히, *Escherichia coli* O157:H7 균에 의한 식중독 사건 등으로 유해 미생물의 생육을 억제할 수 있는 항균제에 대한 관심이 높아지고 있다. 그러나, 인공 합성 보존제를 첨가했을 경우 잔류 독성의 존재와 돌연변이 유발 가능성으로 인해 그 사용이 점차 줄고 있는 실정이다. 이에따라 식품 위생학적으로 안전성에 문제가 없는 천연 항균제의 개발이 활발히 진행되고 있다. 현재 알려져 있는 천연 항균물질은 식물이나 동물의 구성 성분으로 존재하는 것으로 달걀에 함유된 conalbumin, avidin, lysozyme⁽¹⁾과 우유의 lactoferrin 등의 단백질 성분⁽²⁾, citric acid, benzoic acid, malic acid 등의 유기산⁽³⁾, flavonol 류와 proanthocyanin (tannin) 등의 색소 성분⁽⁴⁾, 생물체 조직에 소량 함유된 탄소수 12~18개의

지방산^(5,6) 등이 보고되어 있으며, 그 밖에도 caffeine⁽⁷⁾, theophylline과 theobromine^(8,9), phytoalexine⁽¹⁰⁾ 등과 젖산균에서 분리된 bacteriocin 중 nisin, diplococcin, acidophilin, colicin 등⁽¹¹⁾이 보고되어 있다.

영귤(*Citrus sudachi* Hort. ex Shirai)은 운향과(芸香科), 감귤속, 후생감귤아속(後生柑橘亞屬)에 속하는 귤의 일종으로 제주 지역에 도입된 역사가 오래되지 않아 최근에야 영귤이라 명명되었다⁽¹²⁾. 영귤은 구연산 함량이 3~5% 정도로 산 함량이 높아 신맛이 강하므로 생식용으로 소비하기에는 적합하지 않고 신맛을 이용한 가공식품, 향신료 및 양념류에 이용되고 있다. 우리나라에서 영귤에 대하여 연구된 문헌은 거의 없는 실정으로 주로 일본에서 영귤의 향기성분^(13,14)과 플라보노이드^(15,16), 이화학적 특성⁽¹⁷⁾ 및 가공과 저장^(18,19)에 관한 것들이 보고되어 있지만, 생리활성 및 기능성에 관한 연구로는 혈압강하⁽²⁰⁾에 관한 보고 뿐 항균 활성을 대한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식품부패 미생물 및 병원성 미생물에 대한 영귤의 항균활성을 검색하여 영귤가공부산물의 천연 항균제 및 가공식품으로서의 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

Corresponding author: Young-Dong Kim, Korea Food Research Institute, Mt. 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-ku, Songnam-city, Kyonggi-do 463-420, Korea

재료 및 방법

실험재료

영귤을 여과포에 넣어 수직형 압착식 착즙기로 600 kg/cm²에서 껍질째 착즙하여 착즙한 액을 가압형 여과기(SEITZ-FILTER-WERKE, Germany)로 여과한 후 동결 건조한 분말(20 mesh 이하)을 과즙시료로 사용하였다. 착즙 후의 부산물인 과피(씨 포함)도 동결 건조하여 분쇄한 분말(20 mesh 이하)을 과피시료로 사용하였다.

용매추출

영귤 과즙 및 과피 분말 50 g에 각각 hexane, acetone, ethyl acetate와 methanol을 넣고 24시간 상온에서 추출하였다. 추출은 분말에 대하여 10배 량의 용매로 3회 반복 추출하였으며 각 추출물을 Whatman No. 2로 여과하여 얻어진 여액을 모아 진공농축기(Rotavapor R-114, BUCHI)를 이용하여 40°C에서 감압하여 농축하면서 추출물의 농도가 400 mg/mL이 되도록 조정하여 항균력을 측정하였다. 영귤과즙 유래의 용매추출물은 각각 juice-hexane(J-H), juice-acetone(J-A), juice-ethylacetate (J-E)와 juice-methanol(J-M)로, 영귤과피 유래의 용매추출물은 각각 peel-hexane(P-H), peel-acetone(P-A), peel-ethylacetate(P-E)와 peel-methanol(P-M)로 표기하였다.

사용균주

본 실험에는 그램 양성 세균 14종과 그램 음성 세균 4종을 사용하였다. 균주들은 각각의 최적성장 배지

Table 1. Indicator strains and growth condition

Indicator strains	Media	Temp. (°C)
<i>Streptococcus mutans</i> KCTC 3298	BHI	37
<i>Enterococcus faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i> KFRI 675	MRS	37
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 144458	TSB	37
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 14598	NA	30
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	BHI	37
Gram Pediococcus cerevisiae KCTC 1628	MRS	37
(+) <i>Lactobacillus plantarum</i> NCDO 955	MRS	37
<i>L. reuteri</i> NCFB 2589	MRS	37
<i>L. delbrueckii</i> KCTC 9649	MRS	37
<i>L. fermentum</i> KFRI 164	MRS	37
<i>L. bulgaricus</i> ATCC 33409	MRS	37
<i>L. casei</i> ATCC 393	MRS	37
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919	YGB	30
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	NA	37
Gram <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43894	TSB	37
(-) <i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925 <i>Pseudomonas fragi</i> ATCC 27362	NA TSB	37 30

에 접종하여 적정 온도에서 2회 반복하여 전배양을 행한 후 사용하였다. 사용한 균주와 배지 및 배양온도는 Table 1에 나타내었다.

항균력 측정

용매 추출물의 항균력을 paper disk법⁽²¹⁾으로 측정하였다. 균주배양액을 top agar(0.75%)에 0.1% 접종하여 agar plate 위에 덮고 paper disk(8 mm, Whatman)를 올려놓은 다음 추출물을 30 µL씩 spotting한 후 24시간 배양하여 균주의 성장억제에 의해 paper disk 주위에 나타나는 clear zone의 크기로 항균력을 측정하였다. 또한 추출 용매가 사용균주에 미치는 효과를 검토하기 위하여 각각의 용매 30 µL 처리구를 대조구하여 동일한 방법으로 항균력을 측정하였다. Citric acid의 항균력은 citric acid 1~5%(w/v) 및 10%(w/v) 용액을 만든 후 상기한 방법과 동일하게 측정하였다.

영귤 J-A 추출물의 MIC(Minimal inhibitory concentration) 측정

24시간 배양한 각각의 균주를 영귤 J-A 추출물(400 mg/mL)을 0%(w/v), 0.3%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5% 함유한 각각의 배지에 접종하여 72시간 동안 배양하면서 640 nm에서 흡광도를 측정하여 균주의 성장여부에 따라 MIC를 결정하였다.

유기산 함량의 측정

시료 10 mL를 methanol로 활성화 시킨 sep-pak C18(Waters, USA)에 통과시킨 액을 membrane filter(Millex GV 0.22 µm, Waters)로 여과한 다음 고속 액체크로마토그래피법을 이용하여 분석하였다. 사용된 기기는 Gilson HPLC(805 manomeric module, 305 pump), column은 Aminex HPX-87H(7.8 × 300 mm, Biorad)이었으며 mobile phase로는 4 mM sulfuric acid를 사용하여 분석하였다. 검출은 UV detector(115 detector, Gilson, USA)를 사용하여 210 nm에서 실시하였다.

결과 및 고찰

영귤 추출물의 항균력 측정

영귤에 존재하는 항균성 물질을 검색하기 위하여 영귤 과즙 및 과피를 hexane, acetone, ethyl acetate와 methanol의 4종 용매로 추출하여 paper disk 방법에 의해 항균력을 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 과즙 추출물이 과피 추출물보다 항균 효과가 우수한 것

Table 2. Antimicrobial activities of solvent extracts from *Citrus sudachi* against various microorganisms

	Indicator strains	Sudachi extracts							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Gram (+)	<i>Streptococcus mutans</i> KCTC 3298	±	13 ^a	-	-	9	12	11	15
	<i>Enterococcus faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i> KFRI 675	-	±	-	-	-	-	-	12
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 144458	12	18	-	-	13	15	16	20
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 14598	14	14	-	-	15	16	21	28
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	12	20	-	-	13	15	19	26
	<i>Pediococcus cerevisiae</i> KCTC 1628	-	-	-	-	-	-	±	
	<i>Lactobacillus plantarum</i> NCDO 955	-	±	-	-	-	-	±	
	<i>L. reuteri</i> NCFB 2589	-	±	-	-	-	-	±	
	<i>L. delbrueckii</i> KCTC 9649	-	13	-	-	-	-	-	12
	<i>L. fermentum</i> KFRI 164	-	±	-	-	-	-	±	
	<i>L. sake</i> KFRI 816	-	±	-	-	-	-	±	
	<i>L. bulgaricus</i> ATCC 33409	-	±	-	-	-	-	±	
Gram (-)	<i>L. casei</i> ATCC 393	-	±	-	-	-	-	±	
	<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919	18	23	-	-	16	20	19	25
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	17	25	-	-	12	22	19	26
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43894	16	22	-	-	18	22	21	26
	<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925	12	19	-	-	13	15	19	22
	<i>Pseudomonas fragi</i> ATCC 27362	±	12	-	-	10	12	16	21

1 : Sudachi peel-methanol(P-M) extract

5 : Sudachi peel-ethyl acetate(P-E) extract

2 : Sudachi juice-methanol(J-M) extract

6 : Sudachi juice-ethyl acetate(J-E) extract

3 : Sudachi peel-hexane(P-H) extract

7 : Sudachi peel-acetone(P-A) extract

4 : Sudachi juice-hexane(J-H) extract

8 : Sudachi juice-acetone(J-A) extract

±: weak activity —: no activity a: diameter(mm) of clear zone

으로 나타났으며, 그 중 J-A 추출물이 가장 강한 항균력을 가지는 것으로 측정되었으며, 특히 *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *P. acnes*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7에 대하여 강한 항균력을 나타내었다. 영귤 과즙 및 과피 용매 추출물은 그램 양성균보다 그램 음성균에 대하여 항균력이 우수하였다. 본 실험에 사용된 그램 음성균인 *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium* 및 *P. fragi*에 대해서는 hexane 추출물을 제외하고는 모두 항균력이 있는 것으로 판단되었다. 그램 양성균은 *B. subtilis*에 가장 효과적인 것으로 판단되었으며, *S. mutans*와 *S. aureus*와 *L. monocytogenes*에 대해서도 항

균력을 나타내었으나, 젖산균류에는 J-A 추출물과 J-M 추출물에서만 약간의 항균력을 나타내었고 나머지 추출물에서는 항균력이 매우 미약한 것으로 판단되었다. 한편, 이⁽²²⁾ 등은 황백을 용매의 극성에 따라 순차적인 추출한 경우, ethyl acetate와 butanol 추출물에서 가장 강한 항균력을 나타내었다고 하여, 천연물의 항균력은 항균물질의 극성특성에 따라 추출되는 정도가 다르며, 영귤의 경우 비극성 용매인 hexane과 ethyl acetate 보다 acetone과 methanol에 항균물질이 가장 원활히 추출됨을 알 수 있었다.

Table 3. Antimicrobial activities of *Citrus sudachi* juice-acetone extract and citric acid solutions

Indicator strains	Citric acid (%)						<i>Sudachi</i> juice-acetone extract
	1	2	3	4	5	10	
<i>Streptococcus mutans</i> KCTC 3298	-	-	-	±	±	9	15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 144458	-	-	-	9 ^a	10	11	20
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 14598	10	12	14	15	18	22	28
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	-	-	±	12	14	16	26
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919	-	-	11	12	14	17	25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	13	15	16	17	20	26
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43894	-	-	11	12	14	18	26
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925	-	±	12	14	15	21	22
<i>Pseudomonas fragi</i> ATCC 27362	-	-	-	±	11	13	21

±: weak activity —: no activity a: diameter(mm) of clear zone

Table 4. Organic acids content of solvent extracts from *Citrus sudachi*

Sample	Solvent	Citric acid(%)	Malic acid(%)	Succinic acid(%)
Juice	Hexane	-	-	-
	Acetone	3.73	0.90	0.42
	Ethyl acetate	1.08	0.94	0.22
	Methanol	3.83	1.10	0.52
Peel	Hexane	0.06	0.02	0.04
	Acetone	3.19	0.80	1.52
	Ethyl acetate	0.92	0.22	0.24
	Methanol	3.47	0.08	0.98

Column : Aminex HPX-87H(300 mm × 7.8 mm)

Mobile phase : 4 mM sulfuric acid

영귤 J-A 추출물과 citric acid의 항균활성 비교

영귤은 다른 감귤류에 비하여 citric acid가 과즙의 경우 3~5%에 달하며, 과피의 경우 1% 정도 내외에 달한다고 보고되어 있다⁽¹²⁾.

Citric acid는 천연적으로 존재하는 항균물질로 Matsuda 등⁽²³⁾은 일반 부폐 미생물에 대하여 항균력을 나타내지만 젖산균에 대하여 보다 강한 항균력을 나타낸다고 보고한 바 있다. 따라서 영귤의 용매추출물에서 나타나는 항균력은 영귤에 존재하는 citric acid에 의한 것으로 생각되어 항균활성이 가장 강하게 나타난 J-A 추출물과 여러 농도의 citric acid 용액을 이용하여 9종의 미생물에 대한 항균활성을 비교한 결과를 Table 3에 나타내었다. 1, 2, 3, 4, 5와 10%(w/v) 농도로 조정한 citric acid 용액의 경우 citric acid의 농도가 증가함에 따라 항균력도 전반적으로 증가하였으나 영귤에 존재한다고 알려져 있는 3~4%(w/v) 농도에서는 5~7종의 미생물에 대한 항균력만 보였으며, clear zone 도 J-A 추출물에 비하여 1/2 정도의 크기를 나타내어 항균력의 차이가 있음을 알 수 있었다.

과즙 및 과피 용매추출물의 유기산 함량

과즙 및 과피의 용매추출시 유기산이 농축되어 강한 항균활성을 나타낼 가능성이 있다고 생각되어 여러 가지 용매 추출물의 유기산 함량을 분석한 결과를 Table 4에 나타내었다. 사용한 용매중 hexane을 사용하였을 경우 가장 낮은 유기산 함량을 나타내었으며 methanol과 acetone을 사용하여 추출하였을 경우 비교적 높은 유기산 함량을 나타내었다. J-M 추출물의 경우 citric acid의 함량이 3.83%, J-A 추출물의 경우 3.73%의 함량을 나타내어 용매 추출물들 간에 유기산 함량은 차이를 보였다.

한편, 영귤의 용매 추출물중 citric acid를 각각 3.83

Fig. 1. Antimicrobial activities of solvent extracts from *Citrus sudachi* against various microorganisms

- A : *Staphylococcus aureus* ATCC 144458
- B : *Bacillus subtilis* ATCC 14598
- C : *Listeria monocytogenes* ATCC 19111
- D : *Propionobacterium acnes* ATCC 6919
- E : *Escherichia coli* ATCC 25922
- F : *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43894
- G : *Salmonella typhimurium* KCTC 1925
- 1 : Sudachi peel-methanol(P-M) extract
- 2 : Sudachi juice-methanol(J-M) extract
- 3 : Sudachi peel-ethyl acetate(P-E) extract
- 4 : Sudachi juice-ethyl acetate(J-E) extract
- 5 : Sudachi peel-acetone(P-A) extract
- 6 : Sudachi juice-acetone(J-A) extract

과 3.73% 함유한 J-M과 J-A 추출물에서는 clear zone 이 명확히 나타났으며, citric acid를 1.0% 함유한 J-E 추출물에서는 clear zone의 크기가 비교적 작게 나타나(Fig. 1), 영귤 용매추출물의 항균력은 영귤에 존재하는 유기산에서 일부 기인하였다고 할 수 있었다.

그러나, 용매추출물 중 citric acid가 3.73%로 존재하는 J-A 추출물의 항균력에 비하여 citric acid의 농도를 1~10%로 사용하였을 경우 1/2 이하의 항균력을 나타내는 점과 Matsuda 등⁽²³⁾이 citric acid는 일반 미생물 보다는 젖산균에 대해 비교적 강한 항균력을 가진다고 보고한 반면, 본 실험에서 4종의 용매로 추출한 추

Table 5. Growth of target microorganisms in media containing *Citrus sudachi* juice-acetone extracts

Indicator strains	Citrus sudachi juice-acetone extract concentration(%)							MIC (%)
	0	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 144458	+	+	+	+	+	±	-	2.5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 14593	+	±	-	-	-	-	-	0.5
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	+	+	+	±	-	-	-	1.5
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919	+	+	+	+	±	-	-	2.0
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43894	+	+	+	±	-	-	-	1.5
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925	+	+	+	+	±	-	-	2.0
<i>Pseudomonas fragi</i> ATCC 27362	+	+	±	-	-	-	-	1.0

+ : growth ± : weak growth - : no growth

출물을 7종의 젖산균에 대하여 항균력을 측정한 결과 (Table 2), *L. delbrueckii*에 대한 J-M, J-A 추출물을 제외하고는 다른 모든 처리구에서 clear zone이 나타나지 않아 다소 상반된 결과를 나타내었다. 따라서 영귤 J-A 추출물의 항균효과는 단지 citric acid에 의한 것만이 아니며, 영귤에 존재하는 미지의 천연항균물질과 citric acid의 "synergic effect"에 기인한다고 판단되어 이에 대한 계속적인 연구를 진행중이다.

영귤 J-A 추출물의 MIC(minimal inhibitory concentration) 측정

영귤 J-A 추출물의 첨가 농도(0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5%)에 따른 항균 효과를 Table 5에 나타내었다. *B. subtilis*가 0.5%(v/v)에서 성장이 저해되어 가장 낮은 농도에서 성장이 저해되었으며, *P. fragi*는 1%, *L. monocytogenes*와 *E. coli* O157:H7은 1.5%, *P. acnes*와 *S. typhimurium*은 2%, *S. aureus*는 2.5% 첨가 농도에서 생육이 정지된 것으로 측정되었다.

요 약

영귤(*Citrus sudachi*) 중의 항균성 물질을 검색하기 위하여 영귤 과즙 및 과피를 hexane, acetone, ethyl acetate과 methanol로 추출하여 그램 양성 세균 14종과 그램 음성 세균 4종을 사용하여 항균 효과를 측정한 결과 영귤 과즙 추출물은 과피 추출물보다 항균 효과가 우수하였으며, 그 중 영귤 J-A 추출물이 가장 강한 항균 활성을 나타내었다. 특히 *B. subtilis*, *E. coli* O157:H7에 대하여 강한 항균력을 나타내었다. 영귤 J-A 추출물의 첨가 농도(0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5%)에 따른 항균 효과를 조사한 결과, 모든 실험군이 1%(v/v) 첨가 농도 미만에서 생육이 저연되었으며, *B. subtilis*는 0.5%, *P. fragi*는 1%, *L. monocytogenes*와 *E. coli* O157:H7은 1.5%, *P. acnes*와 *S. typhimurium*은 2%, *S. aureus*는 2.5% 첨가 농도에서 생육이 정지되었다.

영귤 J-A 추출물의 항균력은 동정되지 않은 천연항균물질과 citric acid의 상승효과에 기인하는 것으로 판단되었다.

문 헌

- Board, R.G. The microbiology of hen's egg. In: Advances in Applied Microbiology, Vol. II, Perlman, D.(ed.), AP, New York, USA (1969)
- Orman, J.D. and Reiter, B. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. Biochem. Biophys. Acta. 170: 351-354 (1968)
- Brackett, R.E. Effect of various acids on growth and survival of *Yersinia enterocolitica*. J. Food Prot. 50: 598-602 (1987)
- Johnson, M.G. and Vaughn, R.H. Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. Appl. Microbiol. 17: 903-910 (1969)
- Jay, J.M. Food preservation with chemicals. 3rd ed., p. 257. In: Modern Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold Co., New York, USA (1986)
- Kabara, J.J. Medium-chain fatty acids and esters. p. 109. In: Antimicrobial in Foods. Branen, A.L. and Davidson, P.M. (eds.). Marcel Dekker Inc., New York, USA (1983)
- Buchanan, R.L., Tice, G. and Marino, D. Caffeine inhibition of achratoxin A production. J. Food Sci. 47: 319-321 (1981)
- Kawamura, J. and Takeo, T. Antibacterial activity of tea catechin to *Streptococcus mutans*. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 36: 463-467 (1989)
- Venos, V., Hofstaetter, S. and Cox, L. The microbiology of instant tea. Food Microbiol. 4: 19-22 (1987)
- Weinstein, L.I. and Albershein, P. Host pathogen interactions. X X III . The mechanism of antibacterial action of glycinol, a plerocarpen phytoalexin synthesized by soybeans. Plant Physiol. 72: 557-562 (1983)
- Montville, T.J. and Chen, Y. Mechanistic action of pediocin and nisin: recent progress and unresolved questions. Appl. Microbiol. Biochem. 50: 511-519 (1998)
- Lee, K.M. Quality characteristics of Korean *Citrus Sudachi* influenced by harvest time. Ph D thesis, Duk-

- sung Women's Univ., Seoul, Korea (1999)
13. Tamura, H., Watanabe, M. and Sugisawa, H. Analysis of volatile compounds in the citrus peel using six semiconductor gas sensors. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 41: 341-346 (1994)
 14. Yang, R., Sugigawa, H. and Nakatani, H. Comparison of odor quality in peel oils of acid citrus. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 39: 16-24 (1992)
 15. Nakanishi, T., Inado, A., Kazuko, K. and Yoneda, K. Flavonoid glycosides of the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. Phytochem. 24: 339-341 (1985)
 16. Hashinaga, F., Fong, C.H. and Hasegawa, S. Biosynthesis of limonoids in *Citrus Sudachi*. Agric. Biol. Chem. 54: 3019-3020 (1990)
 17. Sawabe, A., Obata, T. and Minematsu, T. Terpenoid glycosides in Amanatsu(*citrus natsudaidai*) and Sudachi(*C. sudachi*) peels. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 70: 37-42 (1996)
 18. Tanusi, S. Influence of gas and temperature for storage of *Citrus sudachi*. Eiyo to Shokuryo 31: 27-32 (1978)
 19. Tajiri, T. Physical properties of tofu produced using citrus fresh fruit juice and Ume-ze as coagulation agent. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 40: 814-823 (1993)
 20. Kumamoto, H., Matsubara, Y. and Yokoi, K. Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in Sudachi peelings II. Agric. Biol. Chem. 49: 2797-2798 (1985)
 21. Zaika, L.L. Spice and herbs; Their antimicrobial activity and its determination. J. Food Safety 9: 97-100 (1988)
 22. Lee, B.Y. and Shin, D.H. Antimicrobial effect of some plant extracts and their fractionates for food spoilage microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 205-211 (1991)
 23. Matsuda, T., Yano, T., Maruyama, A. and Kumagai, H. Antimicrobial activities of organic acids determined by minimum inhibitory concentrations at different pH ranged from 4.0 to 7.0. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 41: 687-702 (1994)

(1999년 7월 22일 접수)