

특집 : 식품 신소재의 최근 동향

식품 보존제로서 천연항균물질 소재

The Material of Natural Anti-Bacterial Agents for the Food Preservative

안봉전 (Bong-Jeon An)

경상대학교 생명자원공학부

서 론

지금까지 식품 보존료(일본기준)로는 소르빈산과 안식향산, 프로피온산 등 5종 14품목의 합성보존료가 허가되어 있는데, 요즘 들어 맛지향과 건강지향의 시대적 요구에 따라 식품의 다양화가 발달되어, 여러 가지 각양각색의 식품이 시장에 공급되어져 있고, 합성보존료에 정해진 사용기준의 적용을 받는 식품이 증가되었다. 또한, 소비자의 식도 합성보존료를 경시하고, 천연물에서 유래되는 물질을 좋아하는 경향이 있다. 항균제 시장에도 천연 항균물질을 원료로 사용한 여러 가지 상품이 개발되어져 있다.

이 보고서에서 언급할 천연항균물질은 1991년 7월부터 실시되어지고 있는 식품첨가물의 전면표시에 따른 표시 관계법규 개정 중에서, 화학적 합성품 이외의 첨가물을 해당되는 물질이며, 이외에는 식품에 해당하는 물질도 포함된다.

현재, 화학적 합성품 이외의 식품첨가물에 있어서, 보존료 및 보존향상제의 주제로 인정되고 있는 물질은 보존료에 8품목, 보존향상제(알콜제제를 포함)에 26품목이 있다. 표 1 및 표 2에 그 품목을 제시하였다.

그러나, 식품보존에 이용하는 식품첨가물 중에는 특유의 맛, 냄새를 갖는 것과 항균력이 약하고, 또는 항균 스펙트럼이 좁은 것 등의 문제를 갖는 물질도 많아, 전부가 실용화 될 수 있다고는 할 수 없다(1-5).

현재, 보존료 및 보존향상제의 소재로 잘 이용되는 것에는 白子단백(프로타민), ϵ -polylysine, lysozyme, 에탄올

표 1. 보존료의 소재라고 인정되고 있는 화학적 합성품 이외의 식품첨가물¹⁾

· 때죽나무(egonoki) 추출물	· 퀘틴 분해물
· 사철쑥(kawarayomogi) 추출물	· 노화나무추출물
· 白子단백	· ϵ -polylysine
· hinokitiol(추출물)	· 개나리 추출물

¹⁾화학적 합성품 이외의 식품 첨가물 list중, 보존료의 주제로 인정되고 있는 물질은 전부 보존료에 구분되어진다.

표 2. 보존향상제 제제의 소재로 인정되고 있는 화학적 합성품 이외의 식품첨가물¹⁾

· 무화과 葉추출물	· 맹종죽 추출물
· 오레가노 추출물	· 왕겨 추출물
· 감귤 종자 추출물	· lysozyme
· 뽕나무 추출물	· 에탄올
· 자소 추출물	· 마늘 추출물
· 신나문 추출물	* sage 추출물
· 생강 추출물	* pimenta 추출물
· (버들)여뀌 추출물	* pepper 추출물
· 茶 추출물	* rosemary 추출물
· 생대두 추출물	* clove 추출물
· 포도과피 추출물	* 감초 유성 추출물
· 홍국 분해물	* 프로폴리스 추출물
· grapefruit추출물	

¹⁾화학적 합성품 이외의 식품첨가물 list중 보존 향상제 제제의 주제로 인정되고 있는 물질은 제조 용제 또는 산화 방지제로 구분되고 있다. Grapefruit 추출물은 제조 용제로 구분되고 있고, 용도로는 보존 목적에 이용되며 본란에 기재했다.

(표중에 ·는 제조 용제에, *은 산화 방지제로 구분되고 있다.)

등이 있고, 이외에도 퀘틴 분해물, 죽순 추출물, grapefruit 추출물, 차추출물, hinokitiol, 그리고 증점 안정제로 분류되고 있는 키토산과 식품소재인 양조초 등이 있다.

천연 항균 물질의 항균성 및 특징

1. 白子단백(프로타민)

白子단백은 어류의 성숙정소로부터 추출되고, 염기성 아미노산을 다량 함유하며, 비교적 저분자의 단백질(분자량은 3,000~10,000)인데, 그 아미노산 조성에 차지하는 아르기닌 함량은 약 70%(몰%)이다.

白子단백의 종류로서는, 연어의 salmin, 청어의 clupeine, 용상어의 sturine, 고등어의 scombrine, 송어의 mugiline, 옥새송어의 iridine, 참정어리의 glymnosine 등이 있고, 현재 이용되고 있는 대부분은 연어 또는 청어로부터 추출되어진 것이다. 항균성이라는 것은 표 3, 표 4에 나타난 바와 같이 세균류 및 곰팡이, 효모 등의 진균류에도 유효하고,

표 3. 鮑白子단백질의 항균력시험

백자추출물농도 (ppm)	<i>B. subtilis</i> (고초균)	<i>E. coli</i> (대장균)	<i>Sal. typhirium</i> (salmonella균)	<i>Pichia farinosa</i> (산막효모)	<i>Strept. lactis</i> (유산균)
0	+	+	+	+	+
200	+	+	+	+	+
300	+	+	+	+	-
400	-	+	+	+	-
500	-	-	+	-	-
700	-	-	+	-	-
1000	-	-	-	-	-

-: 발육이 없다. +: 발육이 있다. 한천배지(pH 6.5), 30°C, 72hr

표 4. 프로타민의 곰팡이에 대한 MIC

Strain	MIC($\mu\text{g}/\text{ml}$)
	Salmine
<i>Aspergillus conicus</i>	500
<i>Epicoccum purpurascens</i>	1000
<i>Eurotium amstelodami</i>	600
<i>Eurotium repens</i>	250
<i>Mucor circinelloides f"</i>	500
<i>Circinelloides</i>	
<i>Mucor racemosus f" racemosus</i>	500
<i>Myceliphthora lutea</i>	250
<i>Rhizopus oryzae</i>	1000
<i>Rhizopus stolonifer</i>	500
<i>Penicillium digitatum</i>	600

Agar plate dilution method(Kamal, 1986).

매우 넓은 항균성을 가지고 있다.

특히, 고초균이나 유산균 등의 그람양성균에는 효과적인 작용을 한다. 白子단백의 항균작용기작은, 高 아르기닌 함량에 기초를 둔 polycation이 미생물의 세포막에 결합하여 막기능을 저해하는 것으로 관찰되었다(6-11).

1) 白子단백의 특징

- ① 중성부터 약 알칼리 영역에서 항균활성이 증대한다.
- ② 열안정성이 높다. 120°C, 30분의 가열에 있어서도 항균활성이 저하가 없다.
- ③ Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} 등의 금속이온, 축합인산염, 혼산계

조미료, 고농도의 단백질 아르간산등의 산성 다당류의 존재에 의하여 항균성이 저해된다. 프로타민의 항균성에 대한 무기염류의 영향은 표 5에 표시하였다.

④ 가열에 의해 항균효과가 상승한다(표 6).

이상과 같은 특징 때문에, 白子단백의 경우 비가열 식품에서부터 고온가열 식품까지 폭넓게 이용할 수 있는 잇점이 있는 반면, 高 단백식품이나 低 pH식품 등에 있어서는 보존 효과가 없는 경우도 발생한다.

白子단백의 이용법으로는 글리신 등의 아미노산, 초산나트륨, 에탄올, 소르빈산, 글리세린 지방산 에스테르 등과의 병용 효과가 보고되어 있으므로 일반적으로는 복수의 항균물질과 병용하여 사용하는 경우가 많다(12- 18).

2. ϵ -Polylysine

ϵ -Polylysine은 필수아미노산인 L-lysine이 직쇄상으로 결합된 염기성의 폴리펩타이드이고, 방선균의 일종인 *Streptomyces albulus*를 호기 배양함으로써 얻을 수 있다.

ϵ -Polylysine을 구조식으로 알아보면, 분자중에 메틸렌기를 중심으로 하는 소수성 영역과 아미노기, 카르복실기를 중심으로 하는 친수성 영역을 지니고 있어, 계면활성제와 같은 성질을 가지며, 수용액 중에는 아미노기가 +전하로써 카티온계 계면활성제로서의 성질에 의하여 +전하가 되어 ϵ -polylysine의 아미노기가 미생물의 세포벽에 흡착되어 증식을 저해한다고 알려져 있다. 항균성으로는

표 5. 프로타민의 항균성에 대한 무기염류의 영향

무기염류	물농도	% 생존률							
		0.005	0.01	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.60
NaCl	-	-	0.09	0.09	0.12	0.96	5.00	31.40	
KCl	-	-	0.13	0.15	0.19	1.21	6.28	34.20	
MgSO ₄	0.07	0.19	2.20	35.50	-	80.20	-	-	
MgCl ₂	0.16	0.86	4.05	37.50	-	84.00	-	-	
CaCl ₂	0.25	1.90	5.58	30.30	-	70.50	-	-	

初發농도: $2.0 \times 10^6 \text{ cells/ml}$, M/100 인산완충액(pH 7.0)

균종: *B. subtilis ruber* 프로타민과 균의 접촉시간, 온도: 60min, 37°C

프로타민: 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$

표 6. 프로타민의 가열에 의한 *B. subtilis*의 항균효과(0.5% glucose첨가 HIB배지)

가열시간(분) (95°C)	프로타민 농도(μg/ml)					
	0	40	80	120	160	200
0	1 ¹⁾	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1
15	1	1	1	-	-	-
	1	1	1	-	-	-
25	1	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-

¹⁾ 2개의 시험관을 37°C로 배양할 때, 균이 발육하는데 필요한 日數

표 7에 보는 바와같이 세균류등, 곰팡이, 효모등의 진균류에도 유효하고, 白子단백과 같이 매우 광범위한 항균 스펙트럼을 갖는다.

미생물에 대한 증식 억제 농도는 세균류에 1~100μg/ml, 진균류에 3~256μg/ml 이상이며, 세균류에 비해서 진균류에 대한 억제 효과가 약한 경향이 있다. 白子단백 이상의 저농도에서 미생물의 증식을 억제한다(19-25).

1) ε -Polylysine의 특징

① 산성부터 약 알칼리성의 비교적 넓은 pH영역에서 항균활성을 나타낸다. 표 8은 각 pH에서의 polylysine의 MIC를 보여준다. 이것은 pH가 5.5~9.0사이의 비교적 좁은 영역에서 실시한 것이며, 대체로 pH에 의한 MIC에의 영향은 그다지 크지 않다.

표 7. Polylysine의 미생물증식 억제효과

시험균	증식억제농도(μg/ml)
<i>Aspergillus niger</i>	>256
<i>Candida tropicalis</i>	128
<i>Candida utilis</i>	3
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	50
<i>Lactobacillus brevis</i>	13
<i>Streptococcus lactis</i>	100
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
<i>Aerobacter aerogenes</i>	8
<i>Bacillus subtilis</i>	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	4
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	32

표 8. Difco를 사용하는 경우, 각 pH에서 polylysine의 MIC (ppm)

供試菌株	pH					
	5.5	6.0	7.0	8.0	8.5	9.0
<i>B. subtilis</i>	2.0	3.9	7.8	7.8	3.9	<2.0
<i>B. cereus</i>	15.6	15.6	15.6	7.8	7.8	7.8
<i>E. coli</i>	15.6	15.6	7.8	31.3	15.6	15.6
<i>Pro. vulgaris</i>	3.9	7.8	3.9	7.8	7.8	15.6

② 열 안정성이 좋아서, 120°C, 20분의 가열에 있어서도 항균활성은 저하되지 않는다(표 9).

③ 산성 다당류와 인산염의 공존에 의하여 불용화되고, 항균활성이 저해된다.

이상과 같이 ε -polylysine은 몇 가지 점에서 白子단백과 유사한 특성을 가지고 있다. 그래서 식품에의 이용은 비가열 식품부터 고온 가열 식품까지 이용범위가 넓다. 단지 차이점은 항균성에 있어서, 白子단백은 중성부터 약 알칼리영역에서 최고로 유효하기 때문에, 주로 pH가 중성 식품에 적용하는 반면, ε -polylysine은 더욱 더 넓은 pH 영역에서 작용하기 때문에 소스류 등과 같은 pH가 산성인 식품으로부터 중화면 등과 약 알칼리 식품까지 더욱 더 용도가 넓다. ε -Polylysine 50% 분말의 식품에 대한 보존 효과는 표 10과 같다(26-28).

3. Lysozyme

난백을 수지정제하여 얻어질 수 있고 원료인 난백중에는 lysozyme이 0.15~0.25% 함유되어 있다. Lysozyme은 세균의 세포벽에 작용하여 용균현상을 일으키는 것 때문에 용균효소로 알려지고 있다.

분자량은 14,400정도의 염기성 단백질로서, 그 항균작용 기작은 세균의 세포벽 구성성분인 다당류 중 N-acetylmuramic acid와 N-acetylglucosamine과의 사이의 β(1-4) 결합을 가수분해하여 세포벽을 파괴한다. Lysozyme의 항균성으로는 표 11에서 보는 것과 같이, 특정 gram양성균에만 한하여 항균스펙트럼이 좁다. 특히, 호기성 아포균에는 효과적으로 작용하고, 같은 속에 있어서도 균종에 따라서 유효농도가 현저하게 차이가 있다.

표 9. ε -Polylysine열처리제품의 증식억제시험

시료	증식억제농도(μg/ml)
未가열품	50
80°C, 60분 가열품	50
100°C, 30분 가열품	50
120°C, 20분 가열품	50

표 10. 살라드중의 첨가균의 경시적 변화(1g당)

대상균	Polylysine powder 첨가량(%)	보존일수			
		1	2	3	4
세균	0 (对照)	5.3×10^6	1.3×10^9	-	-
	0.2	3.2×10^4	7.5×10^7	3.2×10^7	-
	1.0	90	1.0×10^2	80	65
효모	0 (对照)	4.4×10^4	2.8×10^6	5.3×10^6	-
	0.2	<10	1.0×10^2	7.0×10^2	2.6×10^4
	1.0	<10	<10	<10	<10

표 11. Lysozyme의 항균스펙트럼

균종	Lysozyme농도(r/ml)								
	62.5	31.3	15.6	7.8	3.9	1.95	0.98	0.49	对照
<i>Ps. saccharophila</i>	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠
<i>Ps. ovalis</i>	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠
<i>Ps. putrefaciens</i>	—	—	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠
<i>B. sphaericus</i>	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠
<i>B. cereus</i>	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠
<i>B. polymyxa</i>	—	—	—	—	—	—	±	—	≠
<i>B. subtilis</i>	—	—	—	—	—	—	±	±	≠
<i>B. megaterium</i>	—	—	—	—	—	—	—	±	≠
<i>L. acidophilus</i>	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠	≠

lysozyme: 10,000 u/mg, 한천평판화선법, 배지: nutrient agar, pH 7.5,

≠: 균의 발육양호, ±: 혼적, —: 발육저지

1) Lysozyme의 특징

- ① 물에 잘 녹고, 무미, 무취(엄밀하게는 약간의 감미를 가지고 있다)의 분말이기 때문에 식품에의 이용에 있어서 풍미에의 영향은 없으며, 식품 항균제로서 이상적인 조건을 갖추고 있다.
- ② 산성부터 약 알칼리의 넓은 pH영역(작용 pH는 약 3.5~9.0)에서 항균성을 보여준다(20).
- ③ 가열에 의해 활성을 잃어버리기 쉽다. Lysozyme의 열안정성을 높이는 물질로는 식염이나 자당 등이 있고, 또한 pH를 산성쪽으로 하면 lysozyme의 열안정성은 증대된다. 표 12에 식염의 영향, 표 13에 pH의 영향을 표시했다.
- ④ 아르간산이나 페틴 등의 산성다당류, 한천, 탄닌 등에 의하여 항균활성이 저해된다(표 14).

그러나, 탄닌 이외에는 식염의 첨가에 따라 거의 회복된다. Lysozyme은 이상과 같은 특징 때문에, 식품에의 이용에 있어서 효소 저해 물질은 적고, 오염균이 특정의 균종에만 제한되어, 비교적 가열 조건이 완만한 식품에 유효한 예가 많다.

또한, lysozyme 단독으로 사용하는 것은 식품에의 이용 범위가 한정되기 때문에 글리신이나 에탄올, 글리세린 지방산 에스테르 등의 상승효과가 있는 물질을 배합한 항균제

제제가 보급되고 있다. 식품에의 응용으로는 日高 등에 의해, 카스타드크림이나 생면 등에 대하여 lysozyme제제의 보존 효과가 보고되어 있다.

표 12. 식염용액에서 lysozyme의 안정성

가열온도	가열시간(분)	NaCl농도(%)				Lysozyme잔재율(%)			
		0.5	2	5	10	0.5	2	5	10
20°C	-	100	100	100	100	100	100	100	100
90°C	30	77	87	86	94	61	61	73	71
	60	61	61	73	71				
100°C	30	67	79	79	87	40	56	56	58
	60	40	56	56	58				

표 13. 卵白 lysozyme의 내열성(가열온도와 pH의 영향)

pH	온도(°C)	60	70	80	90	100
		3.1	98	99	92	92
5.0	100	100	99	79	82	68
7.0	96	91	68	32	5	
9.0	94	48	0	0	0	

Lysozyme농도 50ppm

가열하지 않는 경우의 활성: 100

가열은 각각 油溶중에서 30분간 행한다.

표 14. 卵白 lysozyme의 활성에 대한 다당류의 영향

다당류명	영향
CMC(carbon산기를 갖는)	-
아르긴산(")	-
펩틴(")	-
콘드로이틴유산(유산기를 갖는)	-
한천(")	-
탄닌(")	-
Corn starch(")	-
타마린드종자다당류	-
로커스트빈검	-
L.M.펩틴	-
구아검	-
트라간드검	-

- : 卵白 lysozyme(50ppm)의 활성을 크게 저하시킴

4. 에탄올

에탄올은 예전부터 살균 소독약으로 사용되어 왔고, 식품에 대해서도 보존성의 향상이나 향미의 개량에 다방면에 걸쳐 이용되고 있다.

그 항균작용 기작으로는 ① 단백변성(효소의 활성저해), ② 대사장해(필수대사계의 장해), ③ 세포 용해에 따른 물질도 고안되고 있다.

항균성으로는 표 15에서 보는 바와 같이 세균, 진균을 조회하기가 유효하며, 항균 스펙트럼이 넓다. 또한, 유효 저지 농도는 균종에 따라 차이가 있고, 8% 농도에 있어서 많은 미생물의 증식이 저해된다(29,30).

1) 에탄올의 특징

- ① 수용성 액체이기 때문에, 작업성이 좋고 사용이 간편하다. 또한 가격도 저렴하다.
- ② 항균 스펙트럼이 넓고, 모든 식품 변패균에 효과가 기대되나, 유효 저지 농도가 높기 때문에 식품에 이용하는 경우, 향기(ethanol취)나 식품의 변질 등의 문제가 발생하는 경우가 있다.

이상과 같은 특징 때문에, 에탄올은 단독으로 사용되는 것보다도 상승작용을 가지고 있는 유기산, 글리세린 지방산 에스테르, lysozyme 등과 병용하는 경우가 많고, 이것을 조합한 에탄올 제제가 보급되고 있다.

표 16에 유기산, 글리세린 지방산 에스테르 병용의 살균 효과를 표시했다. 또한, 식품에 대한 보존효과로 若林 등 植物에 대한 시험예를 표 17에 표시했다.

5. Pectin분해물

Pectin은 식물조직의 세포들을 서로 결착시키는 성분으로 레몬(lemone), 사과, 포도 등의 과실과 야채 등에 꽂혀

표 15. 에탄올에 의한 미생물의 증식저해

		알콜(%)		
		4	8	12
세	<i>Escherichia coli</i>	+	-	-
	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	-
	<i>Bacillus megaterium</i>	+	-	-
	<i>Bacillus natto</i>	+	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	-
	<i>Sarcina lutea</i>	+	-	-
	<i>Aerobacter aerogenes</i>	+	-	-
	<i>Serratia marcescens</i>	+	-	-
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	-
	<i>Salmonella typhimurium</i>	+	-	-
균	<i>Brevibact ammoniagenes</i>	+	-	-
	<i>Micrococcus epidermidis</i>	+	+	-
	<i>Streptococcus faecalis</i>	+	+	+
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	+	-
	<i>Lactobacillus sake</i>	+	+	+
효	<i>Torulopsis utilis</i>	+	-	-
	<i>Shizosaccharomyces pombe</i>	+	+	-
	<i>Canaida albicans</i>	+	-	-
	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	+	+	-
	<i>Mycotorula japonica</i>	+	-	-
모	<i>Endomycopsis fibuliger</i>	+	-	-
	<i>Endomyces selsii</i>	-	-	-
	<i>Pichia membranaefaciens</i>	+	-	-
	<i>Sacch rouxii</i>	+	+	-
	<i>Aspergillus awamori</i>	+	-	-
곰	<i>Aspergillus niger</i>	+	-	-
	<i>Aspergillus usami</i>	-	-	-
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	-	-	-
	<i>Penicillium notatum</i>	-	-	-
팡	<i>Rhizopus javanicus</i>	+	-	-
	<i>Mucor Plumbeus</i>	±	-	-
	<i>Monilia formosa</i>	+	-	-
	<i>Trichoderma viride</i>	-	-	-
이	<i>Dematiu Pullulans</i>	-	-	-
	<i>Streptomyces albus</i>	+	-	-
	<i>Streptomyces griseus</i>	-	-	-
	<i>Nocardia gardneri</i>	+	-	-

게 걸쳐 존재하는 것으로 알려져 있다.

화학적으로는 D-galacturonic acid가 직쇄상으로 $\alpha(1 \rightarrow 4)$ 결합으로 되어있는 고분자 물질로 galacturonic acid의 외에 galactose, arabinose, xylose, rhamnose 등의 중성당도 포함하고 있는 복합당류이다. 이러한 펩틴을 효소(pectinase)를 이용해 분해시킨 것이 pectin분해물로 이 분해물은 항균성을 갖고 있다.

항균성으로는 그람양성, 음성 어떠한 균에 대해서도 효과가 있는 것을 알려져 있으며, 그 항균작용 기작은 pectin분해물 중에 존재하는 수종의 중합도를 갖는 oligo-galacturonic acid 및 galacturonic acid의 非解離의 carboxyl

표 16. 유기산, 글리세린 지방산 에스테르등과의 조합에 의한 알콜의 살균효과

배합제처방	살균농도(%)	pH	(供試菌 : 대장균, 20°C, 5분간接触시험결과)									
			100	90	80	70	60	50	40	30	20	
알콜50% + 물50%	5.9	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
알콜50% + 물48% + 구연산2%	2.8	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
알콜50% + 물48% + 초산2%	3.3	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
알콜50% + 물48% + 유산2%	2.9	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
알콜50% + 물48% + 사과산2%	2.8	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
알콜50% + 물48% + 인산2%	2.3	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
알콜50% + 물46.4% + 구연산2% + 초산나트륨 1.5% + 카르린산모노글리세라이드0.2%	4.6	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	

-: 살균력있음, +: 살균력없음

표 17. 절임식품에 대한 에틸알콜의 살균효과

염화 나트륨 (%)	2				5				8				
	pH	4.0	4.5	5.0	5.5	4.0	4.5	5.0	5.5	4.0	4.5	5.0	5.5
에틸알콜 0%	≠	≠	≠	≠	-	=	≠	≠	-	-	-	±	≠
에틸알콜 1%	≠	≠	≠	≠	-	=	≠	≠	-	-	-	±	=
에틸알콜 2%	=	≠	≠	≠	-	=	≡	≠	-	-	-	±	=
에틸알콜 3%	=	≠	≠	≠	-	-	=	≠	-	-	-	-	-

-: 증식없음, ±: 매우조금증식, =: 조금증식, ≡: 증식, ≠: 현저히증식

기에 의한 살균 작용과 polygalacturonic acid에 의한 증식 억제(增殖抑制)작용에 의해 발생하는 것으로 추측되고 있다. *E. coli*, *Strept. lactis*, *B. subtilis*에 대한 펩틴 분해물의 증식 억제 효과가 나타나 있다.

1) Pectin분해물의 특징

- ① 酸味(galacturonic acid와 oligogalacturonic acid에 의함)를 갖고 있으나 구연산과 주석산 등의 유기산과 비교할 때 자극도 적고 약한 산미를 갖는다.
- ② Na, K 이온의 존재에 의해 어느 정도 완충 작용을 나타낸다. 이상과 같은 특징을 갖는 펩틴(pectin)분해물이 제조 판매되고 있으며, 식품에 대한 적용으로는 피클(pickle)과 오징어 것, 햄버그(hamburger) 등의 시험예가 보고되고 있다.

6. 孟宗竹 추출물

표 18, 19는 일본 국내에 많은 孟宗竹을 에탄올로 추출한 것으로 그 항균 성분은 퀴논(quinone)유도체이다. 표에서 나타낸 바와 같이 일반 세균류는 물론 곰팡이, 효모 등과 같은 진균류 등에도 효과가 있어 항균 스펙트럼(spectrum)이 매우 넓다.

1) 孟宗竹추출물의 특징

- ① 물에 녹기 어렵다. 그러나 유화제 글리세린(glycerine)

을 배합한 물에 可溶化形의 製劑가 판매되고 있다.

② 열 안정성이 좋다. 120°C에서 2시간 가열하여도 항균활성이 저하되지 않는다.

이상과 같은 특징으로부터 孟宗竹추출물은 白子단백과 ϵ -polylysine과 같이 비가열 식품부터 고온 가열 식품까지 폭넓게 이용가능하고, 현재 惣菜관련 식품을 중심으로 사용되고 있는 경우가 점수되고 있다.

표 18. 세균에 대한 孟宗竹추출물의 항균활성

균 종	최소발육 억제 농도
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA-209P	200(µg/ml)
<i>Bacillus subtilis</i> PCI-219	100
<i>Sarcina lutea</i> ATCC-1001	400
<i>Escherichia coli</i> O-80	400
<i>Salmonella typhi</i> H-901W	400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO-3080	400

한천배지, 37°C, 48시간

표 19. 진균에 대한 孟宗竹추출물의 항균활성

균 종	최소발육 억제 농도
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KF-25	100(µg/ml)
<i>Trichophyton interdigitale</i> KF-62	400
<i>Microsporium gypseum</i> KF-64	200

한천배지, 30°C, 96시간

7. Grapefruit 종자 추출물

Grapefruit 종자로부터 물, 에탄올 등의 용제로 추출한 것으로 성분은 지방산, flavonoid 등이 있다. Grapefruit 종자 추출물의 최소 발육 억제 농도를 표 20에 표시하였으며 세균류에 대해서는 6.25ppm이하, 곰팡이, 효모 등의 진균류에 대해서는 25~50ppm정도가 강력한 미생물 억제 효과가 있는 것으로 나타나있다.

Grapefruit 종자 추출물은 항균력이 강하기 때문에 추후 식품 항균제로써 유망하나 본품의 경우에는 성상으로 고미가 있다. 또한 물에 용해되기 어렵다는 점이 있어 식품에 이용하기 전에 먼저 해결해야 할 문제점을 갖고 있다.

그러나 최근 grapefruit 종자를 이용한 항균제로 에탄올 등을 배합한 제제가 판매되고 있으며, 거의 대부분은 米飯과 절단(cut)야채 등에 사용되고 있다.

8. 차 추출물

차는 예전부터 익숙한 마실 것으로, 차에는 항균성과 항산화성, 구취효과도 있다. 차 추출물은 이러한 것에 차안해서 차의 잎을 물, 에탄올 등을 이용, 추출하게 된다. 주요 성분은 식물성 polyphenol로 약 50%정도 함유되어 있으며, 주로 4종의 catechin, 즉 epicatechin galate, epigallocatechin, epigallocatechin galate로 구성되어 있다.

차 추출물의 항균성은 표 21에 나타낸 바와 같이 각종 세균에 대한 발육 억제 농도가 250~2,000ppm으로 비교적 저 농도에서도 효과를 보이고 있다. 그러나 표에는 나타나 있지 않으나 곰팡이, 효모 등의 진균류에 대해서는 효과가 강하지 않다.

1) 차 추출물의 특징

- ① 담화~갈색의 수용성 분말로 특유의 풍미를 갖고 있으며, 철 ion 등과 반응하여 착색되기 쉽다. 이렇게 때문에 식품의 풍미와 외관을 손상시키지 않고 차 추출물을 이용할 수 있는 첨가량은 100ppm정도이다.
- ② 산화 방지 효과와 구취 효과 및 식품의 탈색 방지, 비

표 20. Grapefruit 종자추출물의 최소발육 억제농도

공 시 균 주	최소발육 억제 농도(ppm)
<i>Bacillus subutilis</i>	6.25>
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.25>
<i>Escherichia coli</i>	6.25>
<i>Proteus vulgaris</i>	6.25>
<i>Hansenula anomala</i>	25
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
<i>Aspergillus niger</i>	50
<i>Penicillium citrinum</i>	50

표 21. 차추출물의 세균에 대한 항균성

사 용 균 주	최소발육 저지농도 (MIC, ppm)	최소 살균농도 (MBC, ppm)
<i>Staphylococcus aureus</i> 307	500	2000
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	500	2000
<i>S. aureus</i> 369	250	2000
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<250	2000
<i>S. epidermidis</i> 401	250	500
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2000	2000
<i>B. subtilis</i> IAM 1213	2000	2000
<i>B. cereus</i> ATCC 19637	<250	500
<i>E. coli</i> K12	1000	2000
<i>E. coli</i> NIHJ	1000	2000
<i>E. coli</i> U5/H41	1000	8000
<i>Proteus morganii</i> SANK 72062	<250	<250
<i>P. mirabilis</i> 1310	<500	8000
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P-2	1000	4000
<i>Alicaligenes faccalis</i>	250	500
<i>Serratia marcescens</i>	500	2000

타민의 안정화 등 여러 가지의 기능성을 갖고 있다. 이상과 같은 특징으로 차 추출물의 경우 식품의 보존 목적으로 이용하기에는 어느 정도 문제점을 갖고 있고, 현재 항균제로서보다는 산화 방지제로 이용이 추진되고 있다.

9. 히노키톨(Hinokitiol)

대만(臺灣) 노송나무, 靑林 노송나무 잎 등의 木, 根 부위에 함유되어 있으며, 청림 노송나무에 많은 양이 함유되어 있으므로 이것의 정유를 분리 정제하여 얻은 결정성 물질로 이것의 구성 성분으로는 tropolone의 유도체인 β -caprin이다.

Hinokitiol의 항균성은 세균류 뿐만 아니라 곰팡이, 효모 등의 진균류, 포자 세균과 같은 여러 종류의 미생물에 대해 약 100 μ l/ml 이하로 발육을 억제시키며 항균 스펙트럼 (spectrum)이 매우 넓다.

Hinokitiol의 항균작용의 정확한 기작은 아직 명확히 밝혀져 있지 않으나 hinokitiol이 금속 ion과 분자내 착염(錯鹽)을 형성하는 성질과 관련 있는 것으로 보며, 野口 등은 hinokitiol이 단백 분해효소에 대해 강력한 저해 작용을 한다고 보고하고 있다.

1) Hinokitiol의 특징

- ① 물에 잘 녹지 않으며 특유의 냄새를 갖는 휘발성의 물질이다.
- ② 금속 ion과 반응하여 错體를 형성하여 발색하며, 특히

척이온과의 반응이 현저하다.

이러한 hinokitiol의 특징은 식품의 풍미와 외관에 영향을 주기 쉬우므로 식품에의 이용은 현재 그리 많지 않다. 그러나 강력한 항균력과 다른 항균 물질에서 보기 힘든 매우 폭넓은 항균 스펙트럼을 갖고 있기 때문에 항균제의 소재로써 많은 흥미를 유발하고 있다. 식품에 대한 보존 효과에 대해서는 深近가 hinokitiol제제의 시험예를 보고 하고 있다.

10. Chitosan

Chitosan은 새우나 게 등의 갑각류 껌질에 많이 함유되어 있는 chitin(poly-N-acetyl-D-glucosamine)을 강알칼리로 탈 아세틸화시켜 얻는 D-glucosamine이 β -1,4 결합된 폴리다당류로 구조적으로는 셀룰로즈와 매우 유사하다.

Chitosan의 항균성은 표 22, 23, 24에서 나타낸 바와 같이 대체로 세균류에 대해서는 효과가 있으나 곰팡이, 효모 등의 臭菌類에 대해서는 *Fusarium solani* 등의 일부 균을 제외하고는 그다지 효과가 크지 않다. Chitosan의 항균 작용 기작으로는 미생물의 세포표층부에 작용하여 물질의 투과성에 영향을 미치는 것이라고 생각된다.

Chitosan의 경우, 항균성과 점성, 또 탈 acetyl化度간에 상화 관련성이 있다고 알려져 있다. 표에서 나타낸 바와 같이 점성이 낮을수록 탈 acetyl화 정도가 높을수록 항균성이 증가한다.

1) Chitosan의 특징

① 물에 불용성이며 용해시키는데 산(초산, 유산, 구연

표 22. Chitosan 및 chitosan水解物의 초소발육저지농도

미생물	Chitosan	Chitosan水解物
<i>E. Coli</i>	250ppm	250ppm
<i>B. subtilis</i>	500	200
<i>S. aureus</i>	500	250
<i>P. aeruginosa</i>	400	200
<i>F. solani</i>	700	350
<i>F. oxysporum</i>	900	500
<i>F. oxysporum cepae</i>	800	350

표 23. Chitosan의 점도와 *E.coli*에 대한 최소저지농도(MIC)

Chitosan의 점도(cps) (0.5%)	MIC(ppm) 2일후	MIC(ppm) 4일후
200	150	200
160	100	150
50	100	100
5	50	50

탈acetyl화도는 위로부터 각각 96, 100, 100, 85%

표 24. Chitosan의 탈acetyl화도와 항곰팡이 활성과의 관계

Chitosan의 탈acetyl화도	Chitosan첨가에 의한 증식의割合(%)		
	3일후	5일후	8일후
대조구	100	100	100
66%	82	88	93
79%	63	76	85
90%	50	70	81

곰팡이: *Fusarium solani*, chitosan농도: 0.05%

산, 사과산 등)을 필요로 하는 경우에는 산에 대한 용해성도 좋지 않으므로 용해시키는데 시간을 필요로 하며 작업성도 저하된다.

- ② 특징적인 맛을 갖고 있으며 쓴맛을 낸다.
- ③ 강한 단백질 응집성을 갖고 있다.

- ④ 점성을 갖고 있다.

이상과 같은 특징을 갖고 있으므로, 식품에 대한 이용에 있어 풍미와 품질에 미치는 영향, 작업성면에 있어서의 문제점이 있어 폭넓게 사용되고 있지는 않다. 그러나 천연 항균 물질로서는 비교적 가격이 싸고 식품에 대한 보존 효과도 좋기 때문에 최근 보존료 제조회사로부터 chitosan 제제가 시판되고 있고 이러한 상품중에는 chitosan의 문제점(맛, 단백질 응집성, 용해성)들이 상당히 개선되어진 것들도 눈에 띈다. 현재는 저단백질 식품에 적용되고 있으나 앞으로는 식품 용도가 넓어지리라 기대된다.

11. 양조초(釀造醋)

양조초는 쌀 등의 곡류와 과실을 효모나 초산균에 의해 발효를 통해 얻어지는 것으로 많은 식품에 이용되고 있다. 양조초의 항균력은 주요 성분인 초산에 의한 것으로 항균 기작은 유기산 같은 산의 非解離분자의 세포 투과성이 있다.

표 25에 양조초와 그 외의 유기산의 세균류에 대한 항균성을 비교하였다. 양조초는 각종 세균 어느 것에 대해서도 생육을 억제하였으며 유기산계 중에서도 최고치의 효과를 나타내었다. 또 표 26, 27, 28에서와 같이 효모, 곰팡이와 같은 진균류에 대해서도 유효하므로 상당히 항균 스펙트럼이 넓다고 하겠다.

1) 양조초의 특징

- ① 특유의 산미가 있으나 초산 이외의(아미노산류, 당류, ester류, mineral 등) 것들이 함유되어 있어 빙초산과 비교하여 볼 때 맛은 상당히 양호하다.
- ② 산도가 0.1% 이상이 되면 특유의 산취가 발생한다. 양조초는 가격이 싸며, 보존성을 이용함과 동시에 조미료로써 자주 사용되나 식품의 보존을 목적으로 사용하는

표 25. 양조초의 세균에 대한 항균효과(사면배양)

pH	산 도	0.1%							
		종류	대 조	釀造醋	乳 酸	구연산	호박산	사과산	주석산
7.00			5.35	5.34	5.34	5.26	5.17	5.17	4.84
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	■■	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Alcaligenes faecalis</i>	■■	—	—	—	+	—	—	—	—
<i>Zscherichia coli</i>	■■	—	■■	■■	■■	■■	■■	■■	■■
<i>Znterobacter aerogenes</i>	■■	—	■■	■■	■■	■■	■■	■■	■■
<i>Serratia marcescens</i>	■■	—	■■	■■	■■	■■	■■	■■	■■
<i>Proteus morganii</i>	■■	—	■■	■■	■■	■■	■■	■■	■■
<i>Staphylococcus aureus</i>	■■	—	■■	■■	■■	■■	■■	■■	■■
<i>Bacillus subtilis</i>	■■	—	■■	■■	■■	■■	■■	■■	■■
<i>Micrococcus inteus</i>	■■	—	+	+	+	+	+	+	—

■■: 1일이상에 集落의 형성, ■: 2일이내에 集落의 형성, □: 3일이내에 集落의 형성, +: 4일이내에 集落의 형성, —: 4일이내에 생육안됨

釀造醋: 10% white vinegar

경우 풍미에 대한 영향을 고려하여 사용량을 조절해야 한다. 그러기 위해 유기산, 에탄올, 글리세린 등을 같이 혼용하여 식초의 특성을 활용하면서 식품의 풍미에 영향을 적게 미치게 하는 방법도 있다(31).

표 29에는 식품에 관련된 천연보존제를 나타내고 있다.

결 론

최근 국민들 사이에 건강에 대한 관심이 높아져 식품에

관해서 저염, 저당도, 저지방화가 추진되고 있으며, 그 영향으로 식품의 보존성에 대해 문제가 생기고 있다. 그렇기 때문에 보존 대책의 일익을 담당하는 항균제의 역할 뿐만 아니라 중요성도 증가하고 있으며, 관심도 높아지고 있다.

본 지면에서는 항균제의 소재가 되는 항균물질 가운데 화학적 합성품 이외의 항균물질, 즉 일반적으로 천연 항균물질이라고 불리는 물질중 실용화되고 있는 것을 중심으로 그것들의 항균성과 특징에 대해 간단히 기술하였다.

이 제품들의 식품에 대한 사용으로는 그들의 독특성을

표 26. 양조초의 곰팡이에 대한 항균효과(사면배양)

산도(%)	pH	<i>Neorospora sitophila</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium expansum</i>
釀造醋	0.2	—	■	—
	0.4	—	—	—
	0.6	—	—	—
乳 酸	0.2	■■	■■	■■
	0.4	■■	■■	■■
	0.6	■■	■■	■■
구연산	0.2	■■	■■	■■
	0.4	■■	■■	■■
	0.6	■■	■■	■■
호박산	0.2	■■	■■	■■
	0.4	■■	■■	■■
	0.6	■■	■■	■■
DL사과초	0.2	■■	■■	■■
	0.4	■■	■■	■■
	0.6	■■	■■	■■
주석산	0.2	■■	■■	■■
	0.4	■■	■■	■■
	0.6	■■	■■	■■
對照	6.00	■■	■■	■■

■■: 1일이상에 集落의 형성, ■: 2일이내에 集落의 형성, □: 3일이내에 集落의 형성, +: 4일이내에 集落의 형성, —: 4일이내에 생육안됨

釀造醋: 10% white vinegar

표 27. 양조초의 효모에 대한 항균효과(액체진탕배양)

	산도(%)	pH	<i>Hansenula anomala</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>
醸造醋	0.2	4.13	≠	≠	—
	0.4	3.85	—	≠	—
	0.6	3.74	—	—	—
乳 酸	0.2	3.68	≠	≠	≠
	0.4	3.36	≠	≠	≠
	0.6	3.17	≠	≠	+
구연산	0.2	3.75	≠	≠	≠
	0.4	3.28	≠	≠	≠
	0.6	3.05	≠	≠	≠
호박산	0.2	4.07	≠	≠	≠
	0.4	3.76	≠	≠	≠
	0.6	3.59	≠	≠	≠
DL사과초	0.2	3.65	≠	≠	≠
	0.4	3.29	≠	≠	≠
	0.6	3.09	≠	≠	≠
주석산	0.2	3.45	≠	≠	≠
	0.4	3.04	≠	≠	≠
	0.6	2.89	≠	+	+
對照	6.00	≠	≠	≠	≠

≠: 1일이내에 생육있음, +: 2일이내에 생육있음, —: 2일이내에는 생육안됨

醸造醋: 10% white vinegar

표 28. 食醋첨가에 의한 감자 살라드(potato salad)의 보존성 향상

	식초첨가량(%)				
	0	0.2	0.4	0.6	1.0
생균수(/g)	1.2×10^6	2.0×10^6	8.8×10^5	1.4×10^5	8.0×10^4
대장균군	양성	음성	음성	음성	음성
부페취	有	無	無	無	無

30°C, 온도 80%에 18시간 방치, 초기균수: 생균수 3.2×10^4 , 대장균군양성

고려한 뒤에 사용해야만 충분히 효과를 얻을 수 있는 경우
가 많으며, 본 지면이 식품제조 및 연구에 많은 도움이
되었으면 좋겠다.

참 고 문 헌

1. 안봉전 : 산업 신생물 소재론(I). 도서출판 선명사, p.3431 (1999)
2. 기능성식품소재연구회 : 식품중의 생체기능조절물질연구법. 송현문화사, p.58(1996)
3. 김재길 : 원색천연약물대사전(下). 남산당, p.362(1992)
4. Piddok, L. J .V. : Technique used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, **68**, 307(1990)
5. Fredrick, J. F. : Glucosyltransferase isozymes forming storage glucan in *Prochloron*, A prokaryotic green alga. *Phytochemistry*, **20**, 2353(1981)
6. Yoshikawa, T., Naito, Y. and Kondo, M. : Antioxidants in the therapy and preventive medicine. Emeril, I. (ed.), Plenum Press, New York, p.171(1990)
7. Ito, A. Shinohara, K. and Kator, K. : Proceedings of the international symposium in tea science. The Organizaing Committee of ISTS, Shizuoka, p.381(1991)
8. Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N. and Stadtman, E. R. : Derwemiantion of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In "Methods in Enzymology" Levine, R. L. (ed.), Vol.186, p.464(1990)
9. Kameda, K., Imai, M. and Senjo, M. : The effect of vitamin E deficiency on some erythrocyte membrane properties. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **31**, 481-490(1985)
10. Kim, K. O. and Kang, H. J. : Physicochemical properties of chitosan produced from shrimp shell under the different conditions and their influences on the properties of *kakdugi* during storage (in Korean). *Korean J. Dietary Culture*, **9**, 71-77(1994)
11. Hackman, R. H. : Studies on chitin 1. Enzyme degradation of chitin and chitin esters. *Austr. J. Biol. Sci.*, **1**, 168(1954)
12. Zaika, L. L. : Spice and herbs : Their antimicrobial activity

표 29. 천연향균물질의 생리활성

한국명	영어명	생리활성
매죽나무 추출물	Japanese Styrax benzoin Extract	알레르기, 충치, 봉国民党, 복통, 이질, 중풍
사철쑥 추출물	Rumput Roman Extract, Capillin	스테미나, 요통, 발모, 현기증
이리(白子단백)	Milt Protein, Protamin	충치, 발모, 심폐기능촉진, 당뇨
노송나무 Oil	Hinokitiol Extract	관절유활작용
페틴 분해물	Pectin-lysate	고혈압, 심방강화작용
후박 추출물	Magnolia obovata Extract, Magnolol	항균작용
Polylysine	Polylysine	창상, 전립선염
連翹(이어리, 개나리과)추출물	Forsythia Extract, Phillyrin	설사, 식욕부진, 치질, 인후통
무화과 잎 추출물	Fig leaf Extract	소화촉진
오레가노 추출물	Oregano Extract	厚腸
감귤 종자 추출물	Tangerine semen Extract	혈압강하, 진해, 거담, 除胃熱
桑白皮(뽕나무)추출물	Mulberry bark Extract	魚독제거, 해열, 진정
자소 추출물	Purple perilla plant Extract	두통, 발한, 해열
계피 추출물	Cinnamon Extract	혈압강하, 감기, 기침
생강 추출물	Ginger Extract	비염, 신장, 야맹증
(버들)여뀌 추출물	Water-pepper Extract	정혈작용, 혈압강하, 구취제거
차 추출물	Tea Extract	健胃, 潤腸
생대두 추출물	Green Soybean Extract	(플라보노이드)항암, 고혈압, 정혈
포도 과피 추출물	Grape skin Extract	콜레스테롤제거, 혈액순환
홍국 분해물	Monascus Decomposite	제산작용, 숙취제거
Grapefruit 추출물	Grapefruit Extract	중금속제거, 당뇨, 해열
孟種竹 추출물	Mousouchiku Extract	식중독, 각기병, 설사, 해열
왕겨 추출물	Rice hulls Extract	용균작용, 호흡기질환, 비염
Lysozyme	Lysozyme	
에탄올	Ethanol	소화촉진, 고혈압, 동맥경화
마늘 추출물	Garlic Extract	소화촉진, 감기, 해열
Sage 추출물	Sage Extract	소화촉진, 소독작용
Pimenta 추출물	Pimenta Extract	위액분비촉진
Pepper 추출물	Pepper Extract	혈액순환촉진, 소화촉진
Rosemary 추출물	Rosemary Extract	두통, 치통
Clove 추출물	Clove Extract	해독작용, 健胃
감초 유성 추출물	Oil Licorice Extract	항균, 항암
프로폴리스 추출물	Propolis Extract	

- and its determination. *J. Food Safety*, **9**, 97-100(1998)
13. No, H. K., Kim, D. S. and Yu, T. J. : Studies on the production of elderberry wine (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **12**, 242-253(1980)
 14. Lee, S. K., Shin, M. S., Jeong, D. Y., Hong, Y. H. and Lim, H. S. : Changes of *kimchi* contained different garlic contents during fermentation (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**, 68-74(1984)
 15. Lee, S. H., Choi, W. J. and Im, Y. S. : Effect of *Schizandra chinensis* (Omija) extract on the fermentation of *kimchi* (in Korean). *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 229-234(1997)
 16. Gnanasekharn, V., Shewfelt, R. L. and Chinnan, M. S. : Detection of color changes in green vegetable. *J. Food Sci. Technol.*, **57**, 149-1454(1992)
 17. Vaughn, R. H. : The microbiology of dehydrated vegetables. *Food Res.*, **16**, 9-433(1951)
 18. Al-Delaimy, K. S. and Ali, S. H. : Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria.

J. Sci. Food Agric., **21**, 110-112(1970)

19. Beuchat, L. R. : Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. *J. Food Sci.*, **41**, 899-901(1998)
20. Shin, K. A., Ko, Y. S. and Lee, Y. C. : Antioxidative effects and characteristics of methanol extracts from Perilla oils roasted for different time. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1045-1050(1998)
21. Ikegawa, N., Marushige, S. and Hoshi, M. : *Bioassay for material of bioactivity*. Koudansya, Tokyo, pp.17-28(1989)
22. Namba, T., Hatori, M., Tsuneyzuka, M., Yamagishi, T. and Konish, K. : Studies on the dental caries prevention by traditional chinese medicines. part III. *In vitro* susceptibility of a variety of bacteria to magnolol and hinokiol, the components of magnolia cortex. *Shoyakugaku Zasshi*, **36**, 222-227(1982)
23. Shigeharu, I., Hitoshi, G., Keinosuke, M., Shigeru, M., Megumu, O. and Yozo, I. : Inhibitory effect of volatile constituents of plants on the proliferation of bacteria anti-bacterial activity of plant volatiles. *J. Antibact. Antifung.*

- Agents.*, **11**, 609-615(1983)
24. Hitoshi, G., Shigeharu, I. and Yozo, I. : Antifungal activity of powdery black mustard, powdery wasabi(Japanese horseradish), and allyl isothiocyanate by gaseous contact-antifungal activity of plant volatiles. *J. Antibact. Antifung. Agents.*, **13**, 199-204(1985)
25. Ogawa, T. and Isshiki, K. : Antimicrobial activity of volatiles from edible herbs. *J. Japanese Society of Food Science and Technology*, **3**, 535-540(1996)
26. Delaquis, P. J., Graham, H. S. and Mazza, G. : Antimicrobial properties of volatile horseradish distillates. *J. Food Protection*, **58**, 34-35(1995)
27. Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Pirtte, G. J. P. and Begin, A. : Inhibitory effect of organin acids upon meat spoilage bacteria. *J. Food Protection*, **60**, 246-253(1997)
28. Tamblyn, K. C. and Conner, D. E. : Bactericidal activity of organic acids against *Salmonella typhimurium* attached to broiler chicken shin. *J. Food Protection*, **60**, 629-633(1997)
29. Conner, D. E. and Beuchat, L. R. : Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J. Food Sci.*, **49**, 429-434(1984)
30. Delaquis, P. J. and Mazza, G. : Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation. *Food Technology*, **11**, 73-84(1995)
31. Kawakishi, S. and Namiki, M. : Decomposition of allyl isothiocyanate in aqueous in aqueous solution. *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 452-459(1969)