

## Ethanol과 NaCl에 의한 *Bacillus cereus* 생육저해 영향

장지현 · 장정순 · 이상윤<sup>1</sup> · 김현수<sup>1</sup> · 강상모<sup>2</sup> · 박종현\*  
 경원대학교 식품생물공학과, <sup>1</sup>풀무원기능성연구소, <sup>2</sup>건국대학교

### Growth Inhibition Effects of Ethanol and Sodium Chloride on *Bacillus cereus*

Ji-Hyun Jang, Jung-Soon Jang, Sang-Yun Lee<sup>1</sup>, Hyun-Su Kim<sup>1</sup>,  
 Sang-Mo Kang<sup>2</sup> and Jong-Hyun Park\*

Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University  
<sup>1</sup>R & D Center for Functional Foods, Pulmuone Co. Ltd.  
<sup>2</sup>Konkuk University

Agricultural foodstuffs, usually consumed without sterilization, are frequently contaminated with foodborne pathogen *B. cereus*. Ethanol and sodium chloride were used to inhibit this pathogen for its effective control. Though five minutes of exposure to 20% ethanol did not inhibit the growth of *B. cereus*, inhibition was detected to 30% ethanol solution. As exposed longer, *B. cereus* was more effectively inhibited than *E. coli* and *S. typhimurium*. *B. cereus*, *E. coli* and *S. typhimurium* were not inhibited when exposed in a 10% sodium chloride solution for five minutes. However, these bacteria were inhibited with a combination of 10% sodium chloride and 20% ethanol solution for five minutes. Much synergistic growth inhibition on *B. cereus* was found at the treatment. Its viable count was reduced from 10<sup>8</sup> cfu/ml to 10<sup>2</sup> cfu/ml after five minutes and showed no count after ten minutes. This trend was also confirmed for the wild types of *B. cereus*. This method may be applied for the effective pre-treatment of many agricultural foodstuffs, especially uncooked foodstuffs, without the hazards that accompany special sanitizers and the nutritional loss from harsh sterilization.

**Key words:** ethanol, NaCl, *Bacillus cereus*, inhibition effect

### 서 론

최근 토양, 물 등 환경오염 증가로 우리 농산 식품소재에 세균오염도가 많이 높아지고 있는 것으로 보인다. 그러나 생활의 변화에 따라 이러한 농산 식품소재를 특별한 살균처리 없이 생식으로 하는 경향이 높아지고 있다.

한국인의 주식인 쌀에도 많은 세균오염을 보이며 특히 취반과정 중에서도 *Bacillus*, *Clostridium* 등의 포자 생성균은 살아남게 된다. 이렇게 하여 세균성 식중독균인 *B. cereus*는 식품의 부패를 일으키거나 구토형 및 설사형의 식중독에 관여되어 있는 것으로 알려지고 있다<sup>(1)</sup>.

이들 식중독 원인균의 증식억제를 위한 화학적인 방법으로 차아염소산, hydrogen peroxide, potassium sorbate<sup>(2)</sup>, ben-

zoic acid<sup>(3)</sup>, propionic acid, citric acid, acetic acid, lactic acid 등 유기산<sup>(4,7)</sup>과 NaCl<sup>(8)</sup> 및 기타 보존제를 단독으로 또는 병용한 실험결과가 많이 보고되고 있다. Fischer 등<sup>(9)</sup>은 구연산이 삶은 달걀에 세균번식을 제어하는데 효과적임을 보고하였고, 또한 젓산은 육류의 부패 미생물에 대해서 뛰어난 살균능력을 가지고 있다고 알려져 왔다<sup>(10-11)</sup>. 현재 국내에서 무균 포장밥 등에 사용되고 있는 유기산류를 비롯한 화합물 등에 의한 연구<sup>(12)</sup>는 어느 정도 이루어졌지만 이들은 관능적으로 나쁜 영향을 주고 밥맛을 떨어뜨려서 쌀밥품질의 저하 요인으로 작용하고 있다. 또한 현재 사용하고 있는 식품 보존제(potassium sorbate, butylated hydroxyanisole 등)에 의한 미생물의 생육을 제어하는 방법이 보고 되었지만 직접 식용하는 쌀밥에는 적용하기가 어려울 것으로 보인다. 쌀밥 부패 미생물의 생육억제를 위하여 녹차의 물 추출물을 사용한 연구<sup>(13)</sup>와 국내산 약용추출물을 사용하여 이들 *Bacillus* 미생물의 생육억제를 하기 위한 연구<sup>(14)</sup>가 있지만 아직 초보적인 탐색단계이고 관능적으로 받아들여지면서 산업적으로 활용 가능한 물질을 제시하지 못해 보다 적극적인 연구가 요망된다.

Ethanol의 항균작용 효과는 옛날부터 알려져 있었으나 식

\*Corresponding author : Jong-Hyun Park, Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University, Sujeong-Gu, Seongnam-Si, Kyunggi-Do 461-701, Korea  
 Tel: 82-31-750-5500  
 Fax: 82-31-750-5273  
 E-mail: p5062@kyungwon.ac.kr

품종의 미생물을 억제할 목적으로 적극적으로 이용한 것은 1970년대부터이다. 순수 ethanol은 식품의 살포제로서 사용은 불충분하지만 70% ethanol은 표면살균제로 이용되었고, 과일, 와인, 쌀로 만든 주류와 증류주는 식품 조리 시 사용되어 왔으며, 이런 ethanol은 열에 증발되어, 식품을 조리 할 때 쉽게 제거되는 장점을 가지고 있다. 식염은 첨가제로서 식품의 저장성을 향상시키기 위하여 사용되어 왔으며, 식품의 풍미를 증진시키고 많은 발효식품에서 선택적인 미생물의 번식을 유도하여 젖산발효가 잘 이루어지도록 한다. 식염의 미생물에 대한 번식저해 또는 사멸작용은 탈수작용, 불가역적인 원형질의 분리, 효소활성저해, Cl ion의 독작용, 산소용해도 감소 및 CO<sub>2</sub>에 대한 감수성을 높이기 때문인 것으로 알려져 있다. 식염의 보존료로서의 작용은 potassium sorbate와 sodium benzoate와 함께 2%를 첨가하였을 때 *E. coli*와 *S. typhimurium*에 생육저해작용이 있음이 보고 되었다. 0.3% potassium sorbate와 3% NaCl의 병용처리구가 대조구에 비해 유도기가 12시간 연장되었고, 생균수도 감소되었다고 보고하였다<sup>45)</sup>.

이런 특징을 가진 ethanol은 NaCl이 첨가되었을 때 효소억제와 미생물의 생육억제효과가 증대되므로 NaCl이 첨가된 ethanol은 부패를 방지하고 나아가 식품을 보존하는 다양한 기능을 수행 할 수 있으며 이러한 처리제는 목적세균의 생육을 저해 할 수 있다.

따라서 본 연구는 식용으로 가능한 ethanol과 NaCl를 조합하여 최근에 오염도가 높아 식품안전에 문제가 되고 있는 *B. cereus*의 생육을 제어할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 시약

본 실험에 사용된 균주는 *B. cereus* ATCC 14579, *E. coli* O157:H7 932, *S. typhimurium* ATCC 12023을 사용하였고, *Bacillus* wild type은 당 연구실에서 분리된 균으로 *hbl* gene을 이용하여 PCR을 통해 확인된 diarral enterotoxin을 가진 균주와 MTT assay에 의해 분리된 emetic toxin을 가진 *B. cereus* wild type 균주를 사용하였다.

Ethanol(Mallinckrodt Baker B.V, Holland)과 NaCl(Duksan, Kyunggido, Korea)의 GR급 시약을 1차 증류수로 희석한 후 0.22 µm filter unit membrane(Millipore, MILLER-GV, France)으로 제균 여과한 후 사용하였다. 그 외의 시약은 GR급의 시약을 사용하였다.

### 균주의 배양

공시균주인 *B. cereus* ATCC 14579, emetic *B. cereus* wild type 8번(WT-8)과 diarrhea wild type 13 번(WT-13), *E. coli* O157:H7 932, *S. typhimurium* ATCC 12023을 -70°C에서 보관하면서 사용하였다. 배양 시에는 Brain Heart Infusion broth(Difco, Detroit, USA)의 10 mL에 전 배양액 1% 접종하여 37°C에서 24시간씩 3번 연속 배양하였다. 미생물의 회수는 7,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 멸균생리 식염수로 1회 세척하여 사용하였다.

### 세균생육에의 영향평가

Ethanol은 각각 10%(V/V), 20%, 30%, 40%, 50%로 희석하여 사용하였고 회수한 세균에 5분, 10분, 15분, 30분, 60분 동안 노출처리한 후 세척하여 Brain Heart Infusion agar에서 37°C로 24~48시간 배양하여 생존여부를 확인하였다.

NaCl은 각각 3%(W/V), 5, 7, 10%를 세균에 5분간 단독 처리하였고, 또한 20% ethanol과 10% NaCl을 각각 단독으로 사용 후 Brain Heart Infusion agar(Difco, Detroit, USA)에서 24~48시간 배양하여 생존여부를 확인하였다. 또 20% ethanol과 10% NaCl을 혼합하여 같은 조건에서 증식저해 효과를 확인하였다.

## 결과 및 고찰

### Ethanol에 의한 *B. cereus*의 생육영향

Ethanol을 각각 0%(V/V), 10, 20, 30, 40, 50%농도로 조제한 후 이 용액에 *B. cereus*와 *E. coli*, *S. typhimurium*를 20°C에서 5분간 노출하여 생균수를 비교 분석한 결과는 Table 1과 같다.

30% ethanol 용액에서 살균효과가 나타났기 시작하였으나 20% 이하의 농도에서는 5분간 처리했을 때 전혀 생육에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 이때 *B. cereus*와 *S. typhimurium*의 세균사멸이 *E. coli*보다 더 큰 것으로 나타났다.

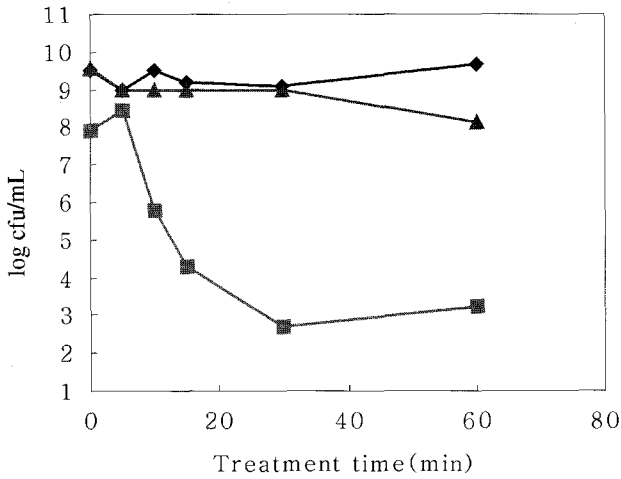
노출처리시간을 60분까지 다르게 하여 10% ethanol용액에서 생균수를 측정된 결과 시간별 처리에 따른 사멸효과는 나타나지 않았다(결과 미제시).

20% ethanol용액으로 5, 10, 15, 30, 60분간 이들 세균을 처리한 결과는 Fig. 1과 같다. 20% ethanol용액에서 60분간 처리하였을 때 *E. coli*, *S. typhimurium*는 10<sup>9</sup> cfu/mL 수준으로 시간경과에 따른 살균효과가 나타나지 않았지만 *B. cereus*

**Table 1. Growth inhibition effects on *B. cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* by exposure at each ethanol solutions for five minutes**

Ethanol Content <sup>1)</sup> (V/V%)	Viable bacteria (cfu/mL)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhimurium</i>
0	>10 <sup>9</sup>	>10 <sup>8</sup>	>10 <sup>9</sup>
10	>10 <sup>9</sup>	>10 <sup>8</sup>	>10 <sup>9</sup>
20	>10 <sup>9</sup>	>10 <sup>8</sup>	>10 <sup>9</sup>
30	4.0×10 <sup>5</sup>	8.7×10 <sup>2</sup>	1.1×10 <sup>3</sup>
40	7.0×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>
50	2.2×10 <sup>3</sup>	9.1×10 <sup>2</sup>	2.4×10 <sup>3</sup>

<sup>1)</sup>Each of the pathogens was exposed for five minutes at room temperature in the ethanol solutions.



**Fig. 1. Growth inhibition effects on *B. cereus*, *E. coli* and *S. typhimurium* by exposure at 20% ethanol solution for 5, 10, 15, 30, and 60 min.**  
 -◆-, *E. coli*; -■-, *B. cereus*; -▲-, *S. typhimurium*.

는 10분간 처리하였을 때 10<sup>5</sup> cfu/mL 수준으로 감소하였으며, 15분간 처리 시 10<sup>4</sup> cfu/mL 수준으로 감소하여 시간이 경과함에 따라 처리효과가 우수한 것으로 나타났다. 30분간 처리 시 10<sup>2</sup> cfu/mL 수준으로 20% ethanol의 시간별 처리 시 효과 중에서 가장 좋은 것으로 나타났지만 60분간 처리하였을 경우는 그 사멸효과가 더 이상 나타나지 않았다.

이러한 ethanol의 정균 및 살균 원인으로 Ingram<sup>(16)</sup>은 *E. coli*의 분해 기작 연구에서 ethanol이 peptidoglycan 가교결합의 조합을 저해한다고 보고하였으며 저해농도에 대한 다른 연구결과<sup>(17)</sup>에서는 저농도 ethanol에서의 최소 발육농도는 대체로 8%에서 12% 수준이었다. 이 작용은 최초 발육저지 농도를 비교한 것으로 같은 농도 수분활성의 식염과 설탕에서는 세균의 생육에 영향을 미치지 않았으나 ethanol용액에서는 저지되는 결과가 보고 되었다. *E. coli*의 살균과 ethanol용액 농도와와의 관계에서 50%에서 10분간 처리하였을 때 모두 사멸되었고 60% ethanol에서 5분간 처리하였을 때 모두 사멸된 결과가 보고 된 바 있다<sup>(17)</sup>.

**NaCl에 의한 *B. cereus*의 생육영향**

NaCl를 단독으로 3%(W/V), 5%, 7%, 10%의 농도로 제조하여 식중독 세균을 5분간 처리하여 생육영향을 평가하였다. *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhimurium* 등 모든 처리 세균에 대

하여 3, 5, 7, 10% NaCl용액으로 노출처리 하였지만 특별한 생육저해 효과를 관찰할 수가 없었다(결과 미제시).

**Ethanol과 NaCl 혼합물의 처리에 의한 생육영향**

본 실험에서는 단독 처리 시 생육저해를 보이지 않는 20% ethanol용액과 8~10%의 염류가 존재하면 ethanol 농도 20%에서 현저하게 살균이 일어난다는 보고에 따라<sup>(17)</sup> 3, 5, 7, 10%의 NaCl용액 중 10% NaCl용액을 조합하여 이를 *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. cereus*에 노출 처리하였고, Table 2에서와 같은 결과를 얻었다.

10% NaCl용액 단독 사용 시 10분간 처리하였을 때 *E. coli*, *S. typhimurium*는 거의 저해되지 않았으나, *B. cereus*의 경우 10<sup>8</sup> cfu/mL에서 10<sup>7</sup> cfu/mL수준으로 약간 감소하였다.

20% ethanol용액으로 단독 처리할 때 5분간 처리한 경우는 NaCl과 같이 *E. coli*, *S. typhimurium*는 거의 저해되지 않았고, *B. cereus*의 경우 10<sup>8</sup> cfu/mL 수준에서 10<sup>7</sup> cfu/mL 수준으로 약간만 감소하는 경향을 보여주었다. *E. coli*, *S. typhimurium*를 제외한 *B. cereus*의 경우 20% ethanol의 단독 처리 10분에서 10<sup>4</sup> cfu/mL로 감소한 것으로 나타났다.

20% ethanol과 10% NaCl 혼합물로 10분간 동시 처리할 때에는 *E. coli*의 경우 10<sup>9</sup> cfu/mL에서 10<sup>6</sup> cfu/mL 수준으로 약간의 생육저해 효과가 나타났으며 Table 2에서의 *S. typhimurium*도 10<sup>4</sup>~10<sup>5</sup> cfu/mL수준으로 감소하였다. 그러나 *B. cereus*는 *E. coli*, *S. typhimurium*과 달리 5분 처리 시 10<sup>8</sup>에서 10<sup>2</sup> cfu/mL 수준으로 감소하여 생육저해효과가 뛰어난 것으로 나타났으며, 특히 10분간 처리하였을 경우 완전히 생육이 저해되는 것을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 각각의 위생 처리제를 별도로 처리했을 때보다 더 큰 세균생육저해 synergy 효과를 나타내는 것으로 보인다.

NaCl은 그 자체의 수분활성 저하작용으로 어느 농도 이상으로 되면 미생물의 작용은 저해되지만 ethanol이 첨가되면 보통 세균이 발육하는 농도의 식염에서도 발육을 저지할 수가 있다고 보고 되어 있다<sup>(16,17)</sup>.

또한 ethanol의 살균작용은 ethanol과 각종 물질을 조합함으로써 강하게 된다고 알려져 있으며 무엇을 조합하면 어느 정도 강하게 되는 것에 관한 문제는 조건이 여러 가지로 관계하기 때문에 정량적으로 나타내기는 어렵다. Akabe<sup>(17)</sup>는 *E. coli*를 20°C, 5분간 살균되는 조건에서 각종 유기산과 ethanol의 조합효과를 조사하였다. 그 결과 ethanol 단독에서는 50% 이상의 농도가 필요한데 대하여 유기산을 1~2% 병용하면 대부분의 유기산의 경우 20% ethanol 농도에서 5분 이내로 살

**Table 2. Growth inhibition effects on *B. cereus*, *E. coli* and *S. typhimurium* by exposure at 20% ethanol solutions single or combination with 10% NaCl for five and ten minutes (cfu/mL)**

Treatments <sup>1)</sup>	<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>		<i>S. typhimurium</i>	
	5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min
control		1.8×10 <sup>9</sup>		2.4×10 <sup>8</sup>		2.7×10 <sup>9</sup>
20% EtOH	1.5×10 <sup>9</sup>	1.3×10 <sup>9</sup>	2.0×10 <sup>7</sup>	1.6×10 <sup>4</sup>	1.8×10 <sup>9</sup>	3.5×10 <sup>8</sup>
10% NaCl	1.5×10 <sup>9</sup>	1.2×10 <sup>9</sup>	1.7×10 <sup>7</sup>	1.7×10 <sup>7</sup>	1.1×10 <sup>9</sup>	1.2×10 <sup>9</sup>
20% EtOH + 10% NaCl	5.0×10 <sup>6</sup>	2.7×10 <sup>6</sup>	1.5×10 <sup>2</sup>	NG <sup>2)</sup>	1.1×10 <sup>5</sup>	3.2×10 <sup>4</sup>

<sup>1)</sup>EtOH: Ethanol.

<sup>2)</sup>NG: Non Growth.

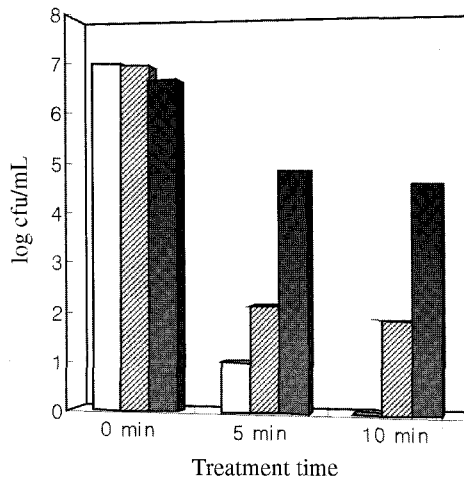


Fig. 2. Comparison of viable cells of *Bacillus cereus* ATCC 14579 and *B. cereus* wild types after treatment with ethanol and NaCl.

□, *Bacillus cereus* ATCC 14579; ■, emetic *B. cereus* WT-8; ▨, diarrheal *B. cereus* WT-13.

균되는 효과가 인정된 것으로 알려졌다. Bepp<sup>(17)</sup> 등은 *E. coli*에 대한 ethanol과 염류의 병용효과를 보고하였는데 *E. coli*를 ethanol 혹은 염류를 용해한 ethanol 용액과 1분간 접촉시켜 바로 배양하여 생존 균수의 변화를 측정하였다. Ethanol만 처리한 조건 하에서 50%이상의 농도가 살균에 필요하였으나 8~10%의 염류가 존재하면 ethanol 농도 20%에서 현저하게 살균이 일어났고 10%에서도 상당히 균수가 감소하였다.

이러한 연구는 주로 Gram(-)인 세균을 중심으로 이루어져 농산 식품소재에서 주로 문제가 되고 있는 *Bacillus* 등의 Gram(+) 세균에의 연구결과는 거의 없는 실정이다. 그러나 흥미롭게도 상기의 연구는 Gram(+)균인 *B. cereus*에도 ethanol이 생육을 저해하며 non-ionic ethanol과 ionic NaCl를 조합 처리하였을 때 그 생육저해 효과가 크다는 본 연구결과는 이 세균의 제어에 유용한 정보가 되리라 생각된다. 이러한 조합 처리는 hurdle technology의 multitarget preservation의 전략<sup>(18)</sup>으로써 생육제어의 synergy효과를 높이기 위하여 앞으로 많이 활용되어야 할 기법으로 보인다.

#### 야생형 *B. cereus*에의 Ethanol과 NaCl의 혼합물처리 효과

*B. cereus* wild type의 경우 20% ethanol과 10% NaCl 조합처리한 결과 wild type의 경우 균마다 약간 다른 저해효과를 나타내었다. Emetic toxin을 가진 *B. cereus* WT-8균은 5분 처리 시  $10^6$  cfu/mL에서  $10^4$  cfu/mL 수준으로 감소하였지만, 10분간 처리한 경우  $10^4$  cfu/mL수준으로 시간이 경과함에 따른 비교적 낮은 생육저해현상을 보여 주었다. 그러나 diarrheal enterotoxin을 가진 *B. cereus* WT-13균은 5분 처리 시  $10^7$  cfu/mL에서  $10^2$  cfu/mL 수준으로 감소하였고, 10분간 처리하였을 경우  $10^1$  cfu/mL 수준으로 생육이 저해되는 것을 보여 *B. cereus* 표준 균주와 유사한 결과를 보였다(Fig. 2).

이로써 20% ethanol과 10% NaCl을 조합처리에 의하여 야생형의 *B. cereus*의 오염을 저감화 할 수 있다는 것을 확인하였다. Ethanol과 NaCl은 식품첨가물 혹은 가공 처리 중에

사용되는 유독성이 없는 sanitizing agent이므로 이러한 결과는 주로 농산 식품소재에 많이 감염되어 있는 식중독 유발 *B. cereus*의 제어에 유용하게 활용될 수 있는 것으로 보인다.

## 요 약

비살균 처리 농산식품에 오염되어 있는 세균성 식중독균인 *B. cereus*의 저감화 할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. *B. cereus*를 20% ethanol농도에서 5분간 처리 시에는 생육에 영향이 없었으나 30% ethanol에서 5분간 처리하였을 경우 생육저해효과를 보였다. 또한 처리시간이 경과함에 따라 뚜렷한 증식저해 효과를 나타냈으며 *E. coli*, *S. typhimurium*보다 더 많은 생육저해 현상을 보였다. 10% NaCl에서 5분간 처리한 경우 모든 균주에서 효과가 없는 것으로 나타났지만 10% NaCl과 20% ethanol을 조합하여 5분, 10분간 처리한 경우 모든 균에서 생육이 저해되었다. 특히 *B. cereus*의 경우는 5분 처리 후에  $10^8$  cfu/mL수준에서  $10^2$  cfu/mL로 감소하였으며 10분간 처리 시 모두 사멸되는 synergy효과를 보였고 야생형의 *B. cereus*에서도 비슷한 경향을 보였다. 이러한 결과는 특별한 살균처리 없이 식용되는 여러 농산 식품소재의 전처리에 적용함으로써 식중독 유발균의 오염을 저감화 하는데 활용될 수 있으리라 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 (주)풀무원테크의 연구비 지원으로 수행된 연구 결과로써 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Ghelardi, E., Celandrono, F., Salvetti, S., Barsotti, C., Baggiani, A. and Senesi, S. Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolate responsible for two food-poisoning outbreaks. *FEMS Microbiol. Lett.* 208: 129-134 (2002)
- 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)
- 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 Hyg. Saf.* 12: 200-204 (1997)
- 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)
- 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)
- Yong, K.M. and Foegding, P.M. Acetic, lactic, citric acid and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on intracellular pH. *J. Appl. Bacteriol.* 74: 515-520 (1993)
- Fernandes, C.F., Flick, G.J., Cohen, J. and Thomas, T.B. Role of organic acids during processing to improve quality of channel catfish filets. *J. Food Prot.* 61: 495-498 (1998)
- Masuda, S., Hara-Kudo, Y. and Kuagai, S. Reduction *Escherichia coli* O157:H7 population in soy sauce, a fermented seasoning. *J. Food Prot.* 61: 657-661 (1998)
- Fischer, R., Fletcher, L., Cox, N.A. and Bailey, J.S. Microbiological properties of hard-cooked eggs in a citric acid based preservative solution. *J. Food Prot.* 48: 252-256 (1985)

10. 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.* 217-221 (1987)
11. Ahn, Y.S. and Shin, D.H. Antimicrobial effects of organic acids and ethanol on several foodborne microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1315-1323 (1999)
12. Asplund, K., Nurmi, E., Hilli, P. and Hion, J. The inhibition of growth of *Bacillus cereus* in liver sausage. *Int. J. Food. Microbiol.* 7:349-352 (1988)
13. Jeong, J.H., Han, S.J., Cho, W.D. and Hwang, H.J. Identification of spoilage bacteria isolated from aseptic packaged cooked rice and application of acidic electrolyzed saline solution as water-for-cooked rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 788-793 (1999)
14. Shin, D.H., Kim, M.S. and Han, J.S. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 808-816 (1997)
15. Kang, Y.M., Kyung, K.H., Park, S.W., Yoo, Y.J. and Kim, Y.S. Death of non-growing Microbial Cells in Saline. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 660-664 (1999)
16. Lang, H.S., Weng, Y. and Robin, Y.C. Survival of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as affected by ethanol and NaCl. *J. Food Prot.* 64: 546-550 (2001)
17. Jung, D.H. Control of Food-borne Microorganism, pp. 296-304. Daekwang Book, Seoul, Korea (2001)
18. Leister, L. Principle and applications of hurdle technology, pp. 1-21. In: *New Methods of Food Preservation*. Gould, G.W. (ed.). Blackie Academic & Professional, London, UK (1995)

---

(2003년 3월 13일 접수; 2003년 8월 12일 채택)