

ε-Polylysine 혼합제제들의 식품부패균에 대한 항균효과

고은미 · 김병용[†]

경희대학교 식품공학과

Antimicrobial Activity of ε-Polylysine Mixtures against Food-borne Pathogens

Eun-Mi Ko and Byung-Yong Kim[†]

Dept. of Food Engineering, Kyunghee University, Gyeonggi 449-701, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the difference of antimicrobial activity between ε-polylysine/grapefruit seed extract mixture and ε-polylysine/glyceride mixture against food-borne pathogens. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the ε-polylysine/grapefruit seed extract mixture was 100 times lower than that of the ε-polylysine/glyceride mixture. In case of the ε-polylysine/glyceride mixture, the MIC of *Bacillus cereus* (0.1 μL/mL) and *Pseudomonas aeruginosa* (0.1 μL/mL) were lower than that of *Escherichia coli* (15 μL/mL). When rices were cooked with the ε-polylysine/glyceride mixture, the number of total microbial cell was decreased during storage at 20°C as concentration of the ε-polylysine/glyceride mixture increased. The antimicrobial activity was the highest against *Escherichia coli* as the concentration of the ε-polylysine/glyceride mixture increased. Sensory terms such as taste, flavor and texture were not significantly different in cooked rices prepared with 0.5% ε-polylysine/glyceride mixture, but there was significantly different in cooked rices prepared with 1% ($p<0.05$) in the overall acceptability, indicating that the cooked rice with 0.5% ε-polylysine/glyceride mixture was recommended.

Key words: antimicrobial activity, ε-polylysine, grapefruit seed extract, glyceride

서 론

최근 식품의 변질로 인한 식중독이 사회의 커다란 문제로 대두됨에 따라 식품 안전성에 대한 관심이 증가하고 있다. 식품의 보존성을 높이는 방법으로는 냉동, 가열, 방사선 등 많은 방법이 있고, 가열이나 냉동에 의한 물리화학적 변화 없이 신선함을 유지하는 방법으로 식품첨가물과 같은 보존제를 사용하기도 한다. 근래에는 생활수준의 향상과 소비자들의 건강에 대한 관심이 고조됨에 따라 안전성이 문제가 있는 합성보존제(1,2)보다는 천연보존제를 선호하는 경향이 대두되어 천연보존제의 개발 및 이용이 급증하게 되었다. 현재 식품산업에서 사용되는 천연항균제로는 lysozyme(3), lactoferrin(4), chitosan(5,6), polyphenol(7), grapefruit seed extract(8), acetic acid(9) 같은 각종 동식물의 특정성분을 추출한 것과 polylysine(10), bacteriocin(11) 등 미생물을 소재로 한 것이 있다.

이 중, ε-poly-L-lysine은 *Streptomyces albulus*를 호기 배양한 다음 배양액을 분리·정제하여 얻는 물질로서, L-lysine monomer가 약 10~30개 정도 결합된 균질한 선형 고

분자 형태이며(12), pH나 온도에 대해 매우 안정하여 여러 식품에 폭넓게 이용 가능하다(10,13). Polylysine의 amino group들은 물에서 (+)전하를 나타내어서 cationic 계면활성제로서 작용하고, polylysine의 amino group이 미생물의 세포벽에 흡착되어 미생물의 증식을 억제한다(14). 또 다른 보존제로서 grapefruit seed extracts는 gram negative균과 gram positive균에 대하여 모두 항균활성을 나타내며 항돌연변이성, 항산화성 및 lactoperoxidase에 대한 저해작용도 보고된 바 있으며(8), glyceride는 glycerin의 지방산 에스테르화 물질로, 본래 식품유화제로서 사용해왔으나 최근 항균성이 있다는 것이 확인되어 식품의 보존제로서 이용되기 시작하였다. Lauric acid의 glycerol monoester(monolaurin)는 *Listeria monocytogenes*과 *Staphylococcus aureus*를 포함한 gram positive균에 대하여 뛰어난 활성을 갖고 있다(15,16).

일반적으로 보존제는 단독으로 식품에 첨가하기도 하지만, 다른 물질과 병용처리하여 그 상승효과를 이용하기도 하는데, monolaurin과 lactic acid, monoglyceride와 fatty acid, 신갈나무 잎 추출물과 acetic acid 등 혼합물질의 상승된 항균효과에 대한 연구가 보고된 바 있다(17-19).

[†]Corresponding author. E-mail: bykim@khu.ac.kr
Phone: 82-31-201-2627, Fax: 82-31-202-0540

본 연구에서는 각각 강력한 항균활성을 나타내는 ϵ -polylysine과 grapefruit seed extract의 혼합물 및 ϵ -polylysine과 glyceride 혼합물의 식품부패균에 대한 항균력을 검색하고, 포장쌀밥이나 김밥 등에 적용하고자 하는 목적으로 쌀밥에 응용하였을 때 처리농도에 따른 쌀밥의 관능적인 변화 및 항균활성을 대해 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 항균제는 ϵ -polylysine과 glyceride 혼합물 및 ϵ -polylysine과 grapefruit seed extract 혼합물((주)신승하이켐)을 구입하여 사용하였다. 항균활성의 적용을 위한 쌀은 일반미(충남 당진)를 사용하였고, 항균력 검색을 위해 paper disk(diameter: 6 mm, Whatman Co., England)를 이용하였다. 균주는 한국유전자은행에서 분양받은 것으로, *Bacillus cereus*(ATCC 21768), *Escherichia coli* DH5 α , *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 27853), *Staphylococcus gallinarum*(ATCC 35539), *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923), *Staphylococcus lentus*(ATCC 29070)를 대상으로 항균력 검색을 하였으며, 균체의 생육배지로는 nutrient broth(Difco Co., USA), tryptic soy broth(Difco Co., USA)와 LB broth(Difco Co., USA)를 각각 사용하였다. 또, 총균수 측정을 위해 사용한 배지는 plate count agar(Difco Co., USA)를 이용하였다.

항균력 검색 및 minimum inhibitory concentration(MIC)의 측정

Polylysine 혼합항균제의 항균활성시험은 paper disk method를 이용하여 6가지 균주를 대상으로 측정하였다(19). 전 배양한 배지 1 mL를 50°C로 냉각한 top agar 5 mL가 포함된 screw cap tube에 넣고 혼든 후 미리 제조된 hard agar에 분주하였다. 멀균된 펀셋으로 disk를 미리 만든 top agar에 올려놓고 대조구와 항균제를 5 μ L씩 접종한 후 37°C에서 24시간동안 배양한 다음 disk 주변의 clear zone(mm)을 측정하여 항균력을 검색하였다. 이 때 negative control로 멀균수를, positive control로 ampicillin을 5,000 ppm을 사용하였다. Minimum inhibitory concentrations(MIC) 측정(20)은 전배양한 균주를 10 mL의 액체배지를 함유하는 시험판에 10 3 CFU/mL의 농도로 분주한 후 두 종류의 항균제를 각각 적당한 농도로 첨가한 후 spectrophotometer(UV-1201, Shimadzu Co., Japan)를 사용하여 각 균의 최적 배양온도에서 24시간 배양하였을 때 탁도를 나타내지 않은 최소농도로 나타내었다. 이 때 대조군은 각 농도별 항균제를 함유하는 액체배지로 하였다.

쌀밥의 제조

쌀 250 g을 상온의 증류수로 5번 수세한 후 쌀 무게의 1.4배

(w/w)에 해당하는 물과 쌀 무게의 0.3, 0.5, 1%(w/w)의 비율로 항균제를 각각 넣고 30분간 침지시킨 다음 전기보온밥솥(LG Co., Korea)으로 30분간 취반하였다. 이렇게 취반된 밥은 상온에서 냉각시킨 후 일정크기의 용기에 20 g씩 분할하여 넣고 10°C와 20°C에 보관하였다.

항균제 농도에 따른 총균수 측정과 *E.coli*의 생육억제효과

10°C와 20°C에서 저장된 시료에 180 g의 멀균수를 넣고 2분간 잘 혼합한 다음 상등액 100 μ L를 plate count agar에 도말하여 30°C에서 48시간동안 배양한 후 총균수를 측정하였다. *E. coli*에 대한 생육억제효과를 측정하기 위해 0.3, 0.5 1%(w/w) 농도의 항균제가 포함된 쌀밥의 냉각과정에서 전 배양한 *E. coli*를 최종농도가 10 3 CFU/mL 되도록 하여 접종하고, 72시간 동안 20°C에 저장하면서 12시간마다 꺼내어 sample을 채취하였다. 이를 100 g의 멀균수에 넣고 잘 혼합한 후, 상등액 0.2 mL를 100 mL의 LB broth에 접종하여 37°C에서 배양하면서 12시간마다 꺼내어 spectrophotometer로 565 nm에서 흡광도를 측정하였다(21).

관능검사

취반 시 첨가된 항균제의 농도에 따른 관능적인 영향을 알아보기 위해 훈련된 폐널인 20명을 대상으로 30°C에서 유지된 밥의 냄새, 맛, 조직감, 전체적인 기호도에 대해서 비구간 9점 line scale 법을 이용하여 검사를 수행하였다. 검사결과는 SAS(22)를 사용하여 5% 유의수준에서 Duncan's multiple range test로서 검증하였다.

결과 및 고찰

혼합 항균제의 항균력 검색

Paper-disk법을 이용하여 ϵ -polylysine과 glyceride 혼합물 및 ϵ -polylysine과 grapefruit seed extract 혼합물의 항균력을 알아보았고(Fig. 1), 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 두 항균제에 대해서 *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* DH5 α , *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*, *Pseudomonas aeruginosa* 모두 항균력을 보여 clear zone을 형성하였는데(Fig. 1), glyceride 첨가군보다 grapefruit seed extract 첨가군의 clear zone들이 6~11 mm정도 더 크게 나타났다. 전체적으로 *Staphylococcus* 종의 clear zone이 다른 종에 비하여 3~5 mm 더 크게 나왔고, 그 중 *S. aureus*의 clear zone이 가장 큰 영역을 보였다. 그 외에도 Heo와 Cho(23)의 연구결과에 따르면, polylysine으로 항균력을 검사한 결과 gram-negative균, gram-positive균 및 yeast 등 짜.Mapping에 대하여 넓은 범위의 처리온도(40°C~150°C)와 pH(4~10) 영역에서 뚜렷한 항균력을 보였다고 보고하여 본 연구에서 사용한 미생물보다 더 넓은 영역에서 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다.

Table 1. Antimicrobial activities of antimicrobial agents on the microbial growth

Microorganism ¹⁾	Incubation Temperature	Clear zone (mm) ²⁾	
		A ³⁾	B ⁴⁾
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 21768	30°C	9.67±0.58 ⁵⁾	15.51±0.07
<i>Escherishia coli</i> DH5α	37°C	8.00±1.22	15.54±1.25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	37°C	8.38±1.25	16.52±0.07
<i>Staphylococcus gallinarum</i> ATCC 35539	37°C	12.00±2.45	18.50±0.17
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	37°C	14.25±0.50	23.52±0.25
<i>Staphylococcus lentus</i> ATCC 29070	37°C	12.62±0.48	20.51±0.38

¹⁾Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10^5 CFU/mL.

²⁾5 μL of antimicrobial agent was absorbed into paper disk (6 mm, diameter) and the diameter (mm) of clear zone was measured.

³⁾A: polylysine and glyceride mixture.

⁴⁾B: polylysine and grapefruit seed extract mixture.

⁵⁾Values are mean±standard mixture deviation for n=5.

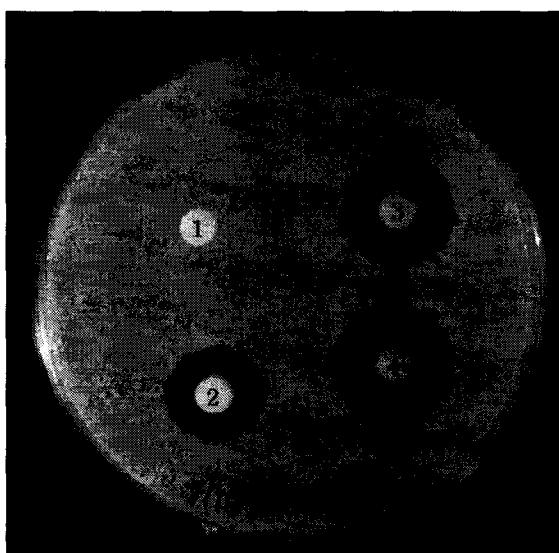


Fig. 1. Antimicrobial activity of polylysine/grapefruit mixture against *Staphylococcus gallinarum*.

1. autoclaved water (negative control).
2. ampicillin 5,000 ppm (positive control).
3. polylysine/grapefruit mixture.
4. polylysine/grapefruit mixture.

혼합 항균제의 minimum inhibitory concentration (MIC)

ε-Polylysine과 glyceride 혼합물 및 ε-polylysine과 grapefruit seed extract 혼합물이 6가지 식품부패균의 생육을 억제하는 최소농도를 비교해 보았고(Fig. 2), 그 결과 grapefruit seed extract와 ε-polylysine의 혼합항균제가 glyceride와 polylysine의 혼합항균제보다 약 100배 정도의 강한 항균효과를 보였다(Table 2). 그러나 두 항균제 모두 다른 분류의 미생물에 비해 *E. coli*에 대하여는 높은 농도를 처리했을 때 생육을 억제하는 것으로 나타났다.

Grapefruit seed extract 첨가제의 경우 *S. lentus*, *B. cereus* 및 *P. aeruginosa*의 생육저해농도보다 *S. gallinarum*, *S. aureus*의 농도가 10배 정도 높게 나타났다. Chaibi 등(24)의 연구에서 grapefruit seed extract를 처리하였을 때 *B. cereus*의 생육을 저해하기 위한 농도는 300 ppm 이상 처리

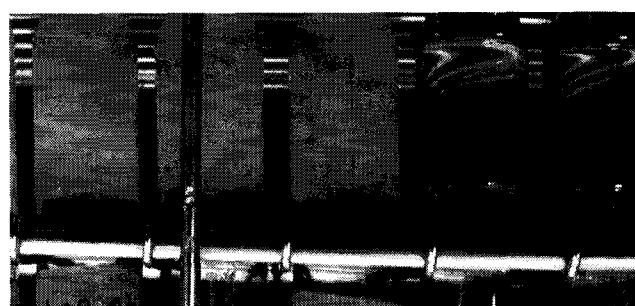


Fig. 2. Minimum inhibitory concentration of polylysine/grapefruit mixture against *Staphylococcus gallinarum*.

Table 2. Minimum inhibitory concentration of antimicrobial agents on the microbial growth

Microorganism ¹⁾	MIC(μL/mL) ²⁾	
	A ³⁾	B ⁴⁾
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 21768	0.1	0.002
<i>Escherishia coli</i> DH5α	15	0.02
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.1	0.002
<i>Staphylococcus gallinarum</i> ATCC 35539	1	0.01
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1	0.02
<i>Staphylococcus lentus</i> ATCC 29070	1	0.001

¹⁾Final cell concentration for each bacterium was approximately 1×10^3 CFU/mL.

²⁾The MIC represents the concentration of minimum inhibitory concentration that showed no growth after 24 hr incubation.

³⁾A: polylysine and glyceride mixture.

⁴⁾B: polylysine and grapefruit seed extract mixture.

해야 하는 것으로 보고하였으나, 본 연구의 결과에 의하면 grapefruit seed extract 혼합항균제 0.002 μL/mL의 농도에서 항균활성을 보여 ε-polylysine과 혼합하여 처리하였을 때 더 효율적으로 나타났다.

Glyceride 첨가제의 경우 *Staphylococcus*. sp보다 *B. cereus*와 *P. aeruginosa*에 대하여 더 낮은 농도에서 생육을 저해하였고, *Staphylococcus*. sp에 대해서는 서로 비슷한 농도에서 저해효과를 나타내었다. *E. coli*균은 다른 균보다 현저

한 저항성을 보여 $15 \mu\text{L/mL}$ 의 MIC를 나타내었다. *E. coli*균이 다른 균에 비하여 높은 MIC를 갖는 특성을 보이는 것은 신갈나무 잎 추출물을 이용한 연구(19)와 식용 가능한 약용 식물 추출물의 항균특성 연구(21)보고와 일치하였다. Glyceride 첨가제는 대상균주 중 *S. aureus*에 대해 가장 낮은 농도에서 생육을 저해하여 가장 강한 활성을 보였다. *S. aureus*는 세균성 식중독균으로 병원감염을 유발하는 매우 위험한 원인균으로 알려져 있으며, 최근 chitosan, essential oil 등 천연물질을 이용한 *S. aureus*의 항균활성에 관한 연구가 진행되어 있다(6,25).

쌀밥에 첨가 시 총균에 대한 항균활성

쌀밥에 glyceride 첨가제를 농도별로 분주하여 저장기간에 따른 총균수의 변화를 측정하여 항균활성을 측정하였다 (Fig. 3). 실험결과, ϵ -polylysine과 glyceride의 혼합항균제를 쌀밥에 첨가했을 때 농도를 달리한 모든 시료에서 저장기간이 길어질수록 총균수의 증가를 볼 수 있었다. 그러나 항균제의 농도가 증가함에 따라 무첨가군에 비해 총균수가 현저히 감소하는 것으로 보아 쌀밥에 적용하였을 때에도 항균제가 활성을 나타낸을 알 수 있었고, 취반 시 가해지는 고열에도 항균제가 활성을 잃지 않는다고 사료된다. 또한 ϵ -polylysine과 glyceride의 혼합항균제 1% 첨가군을 10°C 와 20°C 의 서로 다른 온도에서 저장하였을 때(Fig. 4), 10°C 저장군이 더 낮은 성장을 나타냈는데 이것으로 보아 낮은 온도에서 미생물의 생육이 저해됨을 알 수 있었다. ϵ -Polylysine과 같이 천연항균물질로 분류되는 bacteriocin에 대한 Jung과 Lee(26)의 연구를 살펴보면, pH가 낮은 산성음료를 음용할 때 충치원인균(*S. mutant*)의 증식으로 치아의 enamel질이 부식되어 충치를 유발할 수 있으나, bacteriocin의 첨가로 충치균을 비

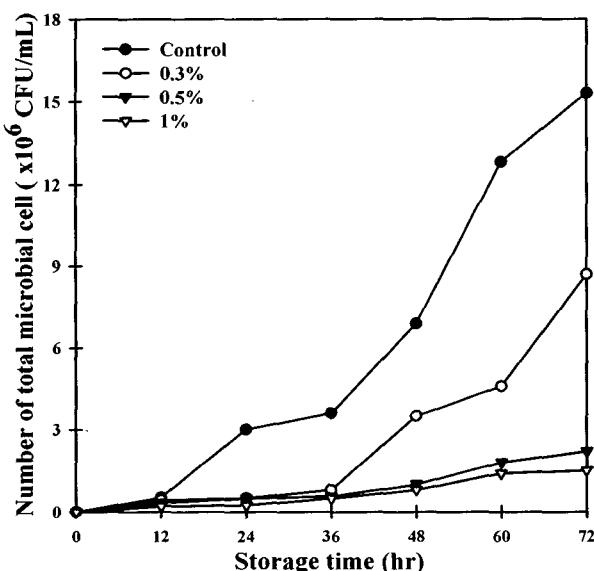


Fig. 3. Changes in total microbial cell of cooked rice with different antimicrobial agent concentrations during storage at 20°C .

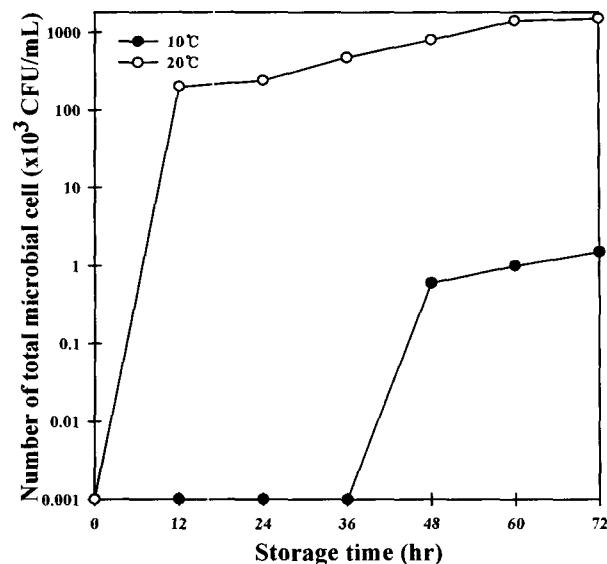


Fig. 4. Changes in total microbial cell of cooked rice with 1% antimicrobial agent during storage temperature at 10°C and 20°C .

롯한 기타 유해균에 대한 저항효과를 나타내어 천연항균제의 식품첨가에 대한 적용을 보고하였다.

*E. coli*에 대한 생육억제효과

*E. coli*는 가장 잘 알려진 식중독균으로 빈번하게 문제가 발생하는 균이다. 이를 밥에 넣어 오염시켰을 때 무처리군과 농도를 달리하여 처리한 것을 비교하였다(Fig. 5). 항균제의 농도가 높아질수록 *E. coli*의 생육은 저해되는 경향을 보였고, MIC로 적용한 0.3%처리군의 경우 무처리군과 큰 차이가 없었으나, 1%처리군의 경우 균의 성장은 현저하게 저해됨을 보여주었다. *E. coli*도 총균수와 마찬가지로 쌀밥 내에서 항

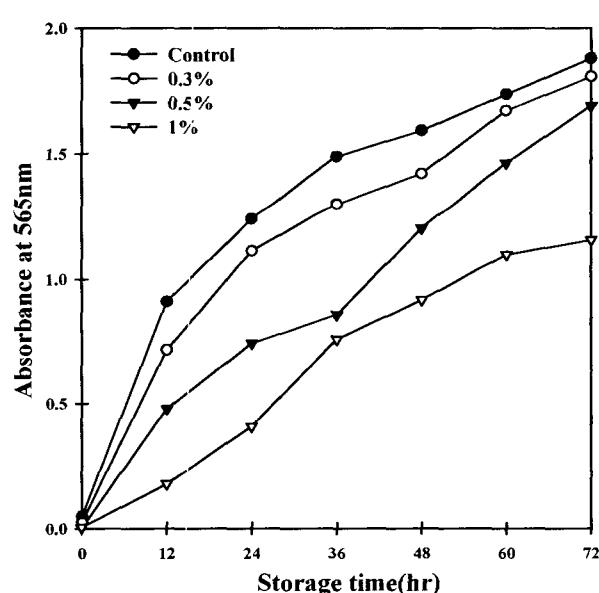


Fig. 5. Growth inhibition with different antimicrobial agent concentrations on *Escherichia coli*.

Table 3. Sensory evaluation of cooked rice with different antimicrobial agent concentration

	Flavor	Taste	Texture	Overall acceptability
0.0%	3.48±2.02 ^{1)NS²⁾}	3.88±1.75 ^{NS}	4.21±2.08 ^{NS}	4.57±1.96 ^{ab³⁾}
0.3%	4.16±1.92	4.88±1.47	5.12±1.63	4.38±1.62 ^{ab}
0.5%	4.10±1.95	4.01±1.82	4.82±1.99	5.12±2.12 ^a
1.0%	4.65±2.13	4.73±2.29	4.99±1.92	3.69±2.12 ^b

¹⁾Values are mean±standard deviation for n=20. ²⁾Not significant.

³⁾Means with different letters within a column are significantly different ($\alpha = 0.05$).

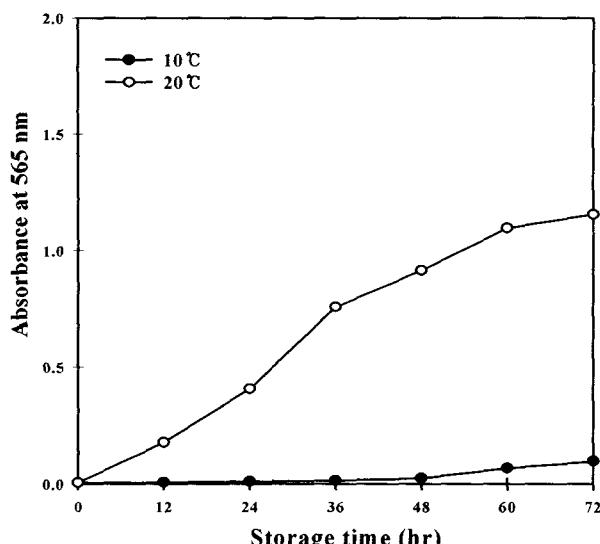


Fig. 6. Growth inhibition of antimicrobial agent on *Escherichia coli* during storage temperature at 10°C and 20°C.

균제의 영향으로 생육저해현상을 보임을 알 수 있었고, *E. coli*의 완전한 생육억제를 위해서는 1% 이상의 더 높은 항균제 농도가 요구된다고 사료되었다. Oh 등(5)은 분자량을 달리한 chitosan을 *E. coli*에 적용하여 그 항균력을 측정하였을 때 200 ppm 이상 처리했을 때 강력한 저해활성을 보인다고 하였고, Choi 등(27)은 grapefruit seed extract와 polylysine 혼합물의 식품에 대한 살균능 연구에서 항균제 농도를 10% 까지 처리하여 사멸한다고 하여 천연항균제의 *E. coli*에 대한 생육억제 농도에 대해 각각 다른 농도가 적용됨을 알 수 있었다. 또한 저장온도를 10°C와 20°C로 달리하여 대장균의 생육저해 효과를 살펴본 결과(Fig. 6), 총 균수의 경우와 유사하게 나타났고, 이는 낮은 온도에서 생육이 더 효과적으로 저해됨을 알 수 있었다.

관능검사

항균제의 농도를 달리하여 첨가한 쌀밥을 상온에서 냉각시킨 후 관능검사를 실시하였다. 외관, 맛, 조직감, 전체적인 기호도에 대한 검사결과(Table 3), 냄새, 맛과 입안에서의 조직감에 있어서 농도에 따른 모든 처리군 간에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났으나, 전체적인 기호도에 있어서 1% 첨가군이 유의적인 차이를 보여 항균제첨가를 인지하는 것으로 보였다. 무처리군과 0.3%, 0.5%처리군은 전체항복에서 유의성이 인지되지 않았다. Roh 등(28)은 천연 항균물질에

속하는 녹차추출물을 1,000 ppm 이상의 농도로 쌀밥에 첨가하였을 때 tannin의 뛰어난 맛에 의해 관능성이 저하된다고 하여 본 실험에서 1% 첨가군이 기호도에서의 유의적인 차이를 나타내는 것이 glyceride와 ε-polylysine 혼합항균제가 쌀밥과 반응하여 맛을 내는 것에 기인한다고 추정하였다.

항균성과 관능검사의 결과를 통해 볼 때 쌀밥의 저장성을 향상시키면서 관능적인 차이가 감지되지 않는 0.5% 처리군이 실생활에 적용 가능할 것으로 사료된다. 항균제 농도별로 식품에 적용시켜 본 결과, 우수한 항균활성을 나타내면서 관능적으로 유의적인 차이를 나타내지 않는 범위를 나타내었지만, 더 높은 생육억제효과를 안전한 범위 내에서 적용하기 위해 관능적인 유의성을 보이지 않으면서 미생물의 생육을 억제하는 항균제에 대한 계속적인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되어진다.

요약

ε-Polylysine에 grapefruit seed extract와 glyceride를 각각 혼합한 항균보존제의 식품부폐균에 대한 항균효과를 MIC test와 실제 쌀밥에 적용하였다. 두 혼합 항균제 모두 clear zone을 나타내었으나, ε-polylysine과 grapefruit seed extract 혼합물이 ε-polylysine과 monoglyceride 혼합물보다 약 100배 정도 낮은 minimum inhibitory concentration을 보였다. Glyceride 첨가제의 실험에서 *Bacillus cereus*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 경우 0.1 μL/mL에서 생육이 저해된 것에 반해 *Escherichia coli*의 경우 15 μL/mL에 저해되어 *E. coli*가 이 항균제에 대하여 강한 저항성을 보이는 것으로 나타났다. 취반 시 glyceride 혼합항균제를 여러 농도별 (0.3%, 0.5%, 1%)로 첨가시킨 쌀밥을 72시간동안 저장하였을 때 총균수는 항균제의 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 쌀밥에 *E. coli*를 접종하여 항균제 농도에 따른 생육억제효과를 측정한 결과 항균제 농도가 높을수록 강하게 생육을 억제하였다. 항균제가 쌀밥의 관능에 미치는 영향은 맛, 냄새, 입안에서의 조직감에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 전체적인 기호도에서 1% 첨가군이 유의적인 차이를 보여 0.5%의 첨가가 적합한 것으로 나타났다.

문현

1. Davidson PM, Post LS. 1983. Naturally occurring and mis-

- cellaneous food antimicrobials. In *Antimicrobials in foods*. Branen AL, Davidson PM, eds. Marcel Dekker, Inc., New York. p 371.
2. Lewis RJ. 1989. Their regulatory status their use by the food industry. In *Food additives handbook*. Dean RW, ed. Noststrand Reinhold, New York. p 3-27.
 3. Hughue VL, Johnson EA. 1987. Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food borne disease. *Appl Environ Microbiol* 53: 2165-2170.
 4. Orman JD, Reiter B. 1968. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. *Biochim Biophys Acta* 170: 351-354.
 5. Oh SW, Hong SP, Kim HJ, Choi YJ. 1999. Antimicrobial effects of chitosans on *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus* and *Candida albicans*. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1667-1678.
 6. Hender IM, Nurmiaho-Lassila EL, Ahvenainen R, Rhoades J, Roller S. 2001. Chisan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. *J Food Microbiol* 71: 235-244.
 7. Sakanara S, Aizawa M, Kim M, Yamamoto T. 1996. Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Prophyromonas gingivalis*. *Biosci Biotechnol Biochem* 60: 745-749.
 8. Tirillini B. 2000. Grapefruit: the last decade acquisitions. *Fitoterapia* 71: 29-37.
 9. Beuchat LR, Golden DA. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol* 43: 134-142.
 10. Shima S, Matsuoka H, Iwamoto T, Sakai H. 1984. Antimicrobial action of ϵ -poly-L-lysine. *J Antibiotics* 37: 1449-1455.
 11. Jack RW, Wan J, Gorden J, Harmark K, Davidson BE, Hiller AJ, Wettenhall RE, Hickey MW, Conventry MJ. 1996. Characterization of the chemical and antimicrobial properties of pisciolin 126, a bacteriocin produced by *Carnobacterium piscicola* JG126. *Appl Environ Microbiol* 62: 2897-2903.
 12. Kahar P, Kengo K, Iwata T, Hiraki J, Kojima M, Okebe M. 2002. Production of ϵ -polylysine in an airlift bioactor (ABR). *J Biosci Bioeng* 93: 274-280.
 13. Kahar P, Iwata T, Hiraki J, Park EY, Okebe M. 2001. Enhancement of ϵ -polylysine production by *Streptomyces albulus* strain 410 using pH control. *J Biosci Bioeng* 91: 190-194.
 14. Kito M, Onji Y, Yoshida T, Nagasawa T. 2002. Occurrence of ϵ -poly-L-lysine-degrading enzyme in ϵ -poly-L-lysine-tolerant *Sphingobacterium multivorum* OJ10: purification and characterization. *FEMS Microbiol Lett* 207: 147-151.
 15. Wang LL, Johnson EA. 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. *Appl Environ Microbiol* 58: 624-629.
 16. Kabara JJ. 1983. Medium-chain fatty acids and esters. In *Antimicrobials in foods*. Branen AL, Davidson PM, eds. Marcel Dekker, Inc., New York. p 307-342.
 17. Verhaegh Els GA, Marshall DL, Oh DH. 1996. Effect of monolaurin and lactic acid on *Listeria monocytogenes* attached to catfish fillets. *Int J Food Microbiol* 29: 403-410.
 18. Sun CQ, O'Connor CJ, Roberton AM. 2003. Antimicrobial actions of fatty and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiol Lett* 36: 9-17.
 19. Kong YJ, Park BG, Oh DH. 2001. Antimicrobial activity of *Quercus mongolica* leaf ethanol extract and organic acids against food-borne microorganism. *Korean J Food Sci Technol* 33: 178-183.
 20. Opalchenova G, Obreshkova D. 2003. Comparative studies on the activity of basil- an essential oil from *Ocimum basilicum* L.- against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *J Microbiol Methods* 54: 105-110.
 21. Lee YC, Oh SW, Hong HD. 2002. Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts. *Korean J Food Sci Technol* 34: 700-709.
 22. SAS. 2003. *SAS user Guide*. Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA.
 23. Heo CY, Cho SH. 2003. Antimicrobial activity of polylysine produced by *Streptomyces* sp. *J Agric Life Science* 36: 47-52.
 24. Chaibi A, Ababouch LH, Belasri K, Boucetta S, Busta FF. 1997. Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food Microbiol* 14: 161-174.
 25. Jorge RM, Lurdes BC, Susana CM, Laurence BD, Norman GL. 2003. Composition and antimicrobial activity of the essential oils from invasive species of the Azores, *Hedychium gardnerianum* and *Pittosporum undulatum*. *Phytochemistry* 64: 561-565.
 26. Jung DS, Lee YK. 2002. Development of fermented isotonic beverage with anticariogenic activity using bacteriocin-producing lactic acid bacteria. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 399-404.
 27. Choi OK, Noh YC, Hwang SY. 2000. Antimicrobial activity of grapefruit seed extracts and polylysine mixture against food-borne pathogens. *Korean J Dietary Culture* 15: 9-15.
 28. Roh HJ, Shin YS, Lee KS, Shin MK. 1996. Effect of water extract of green tea on the quality and shelf life cooked rice. *Korean J Food Sci Technol* 28: 417-420.

(2003년 10월 7일 접수; 2004년 2월 20일 채택)