

## 발효과정에서 생성되는 발효유제품의 안식향산 함량 수준 평가

임상동\* · 박미선 · 김기성 · 유미영  
한국식품연구원

### Evaluation of Benzoic Acid Level of Fermented Dairy Products during Fermentation

Sang-Dong Lim\*, Mi-Sun Park, Kee-Sung Kim, and Mi-Young Yoo  
Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

#### Abstract

The purpose of this study was to utilize the results as a basic data of benzoic acids in animal products that didn't mention in the quality standard of National Veterinary Research and Quarantine Service (NVRQS) to solve the conflict of international trade and administration. Set-Pak method listed in the quality standard of NVRQS, faster than auto distillation methods with same recovery selected as a pre treatment for the determination of benzoic acid. The regression curve of benzoic acid with Sep-Pak method was linear with the  $R^2$  value of 0.999 and the limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) was 0.058 mg/kg and 0.176 mg/kg, respectively. The benzoic acid in the fermented milk was detected after the fermentation stage by addition of starter culture with the level of 2.28~10.48 mg/kg and 0~16.5 mg/kg in the commercial fermented milk products without detection by the addition of syrup. In case of cheese products, the benzoic acids level was influenced by the curd formation (Camembert cheese) and the quality of natural cheese (processed cheese), by the way, the benzoic acid level of commercial natural cheese was 0~4.2 mg/kg, processed cheese was 0~20.8 mg/kg, respectively. Based on this result, it may be possible to utilize as a basic data for the systematic control the level of natural benzoic acids in raw material, processing and final products of animal origin.

**Key words:** evaluation, benzoic acid, fermented milk, cheese, fermentation

#### 서 론

안식향산은 산성배지에서 여러 박테리아, 효모 및 곰팡이 성장을 억제하기 위하여 식품보존제로 식품업계에서 널리 사용되고 있다. 1991년 미국산 건포도에서의 안식향산 검출 및 1994년 호주산 포도주에서 검출된 안식향산으로 인한 통상문제를 비롯하여 쌍화차, 케첩, 카레 등 안식향산의 사용이 허용되지 않은 식품에서 안식향산이 검출되어 적부 관정의 문제가 야기된 경우가 종종 있어 왔다. 안식향산은 많은 동식물에서 유리 및 결합형태로 자연적으로 발생하는 대사산물이다(Hegnauer, 1992). 평가할 만한 양은 gum benzoic(안식향, 약 20%)과 다수의 베리(약 0.05%)에서 발견되어 왔다(Budavari *et al.*, 1996). 많은 생물에서 발견되기 때문에 안식향산은 식품에 자연적으로 존재한다(Sieber *et al.*,

1989, 1990b). 안식향산은 우유에 보존제로서 허용되지 않으나 치즈, 발효크림 및 요구르트에서 발견되고 있다(Hejtmankova *et al.*, 2000; Horak *et al.*, 1996; Urbienė and Leskauskaitė, 2006).

요구르트, 과일 요구르트, 비피더스균과 케피어가 들어 있는 발효유는 안식향산이 대부분 평균 20 mg/kg(Nagayama *et al.*, 1986), 12-40 mg/kg(Sieber *et al.*, 1989)이다.

치즈는 종류에 따라 안식향산의 함량이 차이가 많이 나는데 Quarg cheese는 평균 16.0 mg/kg, 범위 10-25 mg/kg, Fresh cheese는 평균 8 mg/kg, 범위 1-17 mg/kg(Sieber *et al.*, 1990a), Cottage cheese는 평균 9±6 mg/kg, 범위 2-18 mg/kg(Takeba *et al.*, 1990), Provolone cheese는 평균 96.4 mg/kg, 범위 8-341 mg/kg(Toppino *et al.*, 1990)이다.

Choi 등(2008)은 한국에서 유통 중인 치즈 40개 시료 중 9개에서 안식향산이 검출되었고, 평균농도는 3.7 mg/kg이라고 하였다. 가공식품으로부터 안식향산의 평균 일일 섭취량은 0.02-0.2 mg/체중 kg (50-70 kg인 사람), 10.9 mg/사람 (Toyoda *et al.*, 1983a)과 1.4 mg/사람 (Toyoda *et al.*, 1983b;

\*Corresponding author: Sang-Dong Lim, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea. Tel: 82-31-780-9082, Fax: 82-31-780-9160, E-mail: [lmsd@kfri.re.kr](mailto:lmsd@kfri.re.kr)

Yomota *et al.*, 1988)이라고 보고되었다.

본 연구는 축산물의 가공기준 및 성분 규격(검역검사본부 고시)에 허가되지 않은 축산식품에서 안식향산이 검출될 경우 야기될 수 있는 여러 가지 행정상, 통상상의 문제를 해결하기 위한 축산식품관리 정책의 기초자료로 활용 설정하는데 그 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 공시시료

드링크 타입 발효유는 유통 중인 6개 업체에서 7종, 국내산 치즈는 9종, 수입치즈 12종을 구입하여 사용하였고, 제조과정 중 단계별 안식향산 생성 가능성을 확인하기 위하여 업체에서 지원 받아 발효유는 원유, 배합직후, 스타터 첨가직후, 완제품 단계에서, 치즈는 각각 모짜렐라 치즈(원료 - 커드형성 후 - 스트레칭 후 - 완제품), 까망베르 치즈(원료 - 커드형성 후 - 염지 후 - 완제품) 및 가공치즈(원료 - 배합 후 - 유화 후 - 완제품)별로 시료를 채취하여 아이스박스에 담아 냉장상태로 실험실로 운송하였고, 보관온도는 5°C 이하로 보관하면서 저장 중의 품질변화를 최소화하여 안식향산의 함량을 분석하였다.

### 시료 전처리

#### Sep-Pak 전처리

검체 5 g을 취하여 물로 25 mL가 되게 희석한 후 이 액 5 mL를 취해 1 N 염산 0.5 mL와 0.005 M CTA 용액(Aldrich, Germany) 0.5 mL를 가하여 섞어준 후 메탄올 10 mL, 물 10 mL, 0.005 M CTA 용액 10 mL로 차례로 흘려 씻어준 Sep-Pak C<sub>18</sub>카트리지(Waters, Ireland)에 시험용액을 2 mL/min의 속도로 가하였다. 이어서 물 10 mL로 카트리지를 씻고 메탄올 10 mL로 용출시켜 전량을 메탄올로 10 mL가 되게 하였다. 이 액을 0.45 µm의 멤브레인 필터(Sartorius Stedim, Germany)로 여과하여 시험용액으로 하였다.

#### 자동증류장치를 이용한 전처리

검체 30-100 g을 비이커에 취하여 10% 수산화나트륨용액 또는 10% 염산으로 중화하고 이를 500 mL - 1 L의 플라스크에 옮기고 이에 15% 주석산용액 10 mL, 염화나트륨 약 80 g 및 실리콘수지 한 방울을 가한 후, 적정량의 물을 추가하였다. 이를 수증기 자동증류기(k-350, BUCHI, Switzerland)에 연결하고 증류액을 받는 수기 끝을 1% 수산화나트륨용액(Junsei, Japan) 20 mL에 잠기도록 하여 증류하고 유액은 매분 10 mL의 속도로 하여 500 mL를 취하여 시험용액으로 하였다.

#### HPLC에 의한 안식향산 분석

안식향산의 공인시험법으로 축산물가공기준 및 성분규격(농림수산검역검사본부 제 2011-105호)을 이용하였고 분석 조건은 Table 1과 같으며, 분석된 성분은 안식향산 표준물질의 분석 데이터와 비교, 확인하였다.

검출한계(Limits of detection, LOD) 및 정량한계(Limits of quantitation, LOQ)

시그널(signal) 대 노이즈(noise)에 근거하는 방법- 대상물질을 포함한 검체의 시그널과 공시험 검체의 시그널을 비교하여 구하여 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하였다.

$$LOD = 3.3 \times \sigma/S$$

$$LOQ = 10 \times \sigma/S$$

σ는 반응의 표준편차, S는 검량선의 기울기

Table 1. Analysis condition of HPLC

Detector	PDA (Jasco MD-2018, wavelength: 217 nm)
Column	Capcell pak MF-C8 (150×4.6 mm, 5 µm)
Flow	1.0 mL/min
Injection volume	20 µL
Retention time	15 min

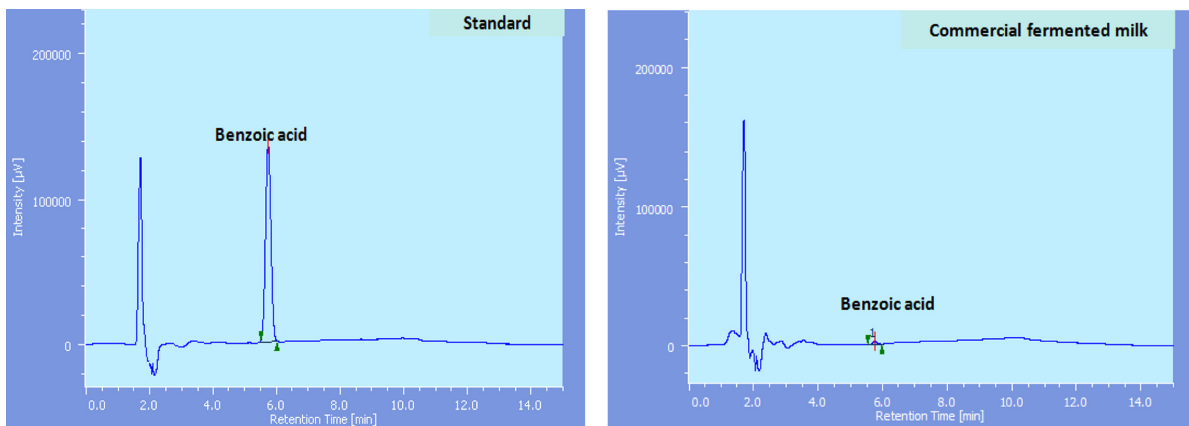


Fig. 1. Chromatogram of benzoic acid of standard (left) and commercial fermented milk (right) determined by HPLC.

**Table 2. Recovery of benzoic acid with mixed standard solution and fermented dairy products**

Products Preparation		5 ppm	10 ppm	20 ppm
Fermented milk	Sep-Pak method	90.17±5.68	93.61±1.36	95.34±1.37 <sup>a</sup>
	Auto-Distill method	97.59±4.61	95.03±2.32	91.49±0.75 <sup>b</sup>
Processed cheese	Sep-Pak method	96.87±10.12	104.86±1.72 <sup>a</sup>	103.85±3.60 <sup>a</sup>
	Auto-Distill method	97.24±0.84	86.22±3.70 <sup>b</sup>	83.40±1.01 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Mean with different superscript in the same column significantly differ at  $p < 0.05$ . (n=3)

**회수율**

회수율은 표준액첨가법(standard addition)을 이용하여 회수율을 측정하였다.

**결과 및 고찰**

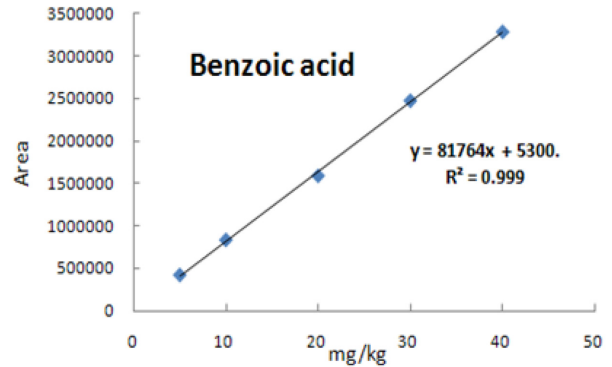
**전처리 방법 확립**

축산물의 가공기준 및 성분규격의 축산물 시험법 중 전처리 방법인 Sep-Pak을 이용한 분석방법과 자동증류장치를 이용한 분석방법을 선정하기 위하여 발효유제품의 회수율을 측정 한 결과는 Table 2와 같다.

안식향산이 5 ppm과 10 ppm 첨가된 발효유의 경우 Sep-Pak법보다 자동증류법이 회수율이 더 높았으나 유의성은 없었다. 반면 20 ppm 첨가된 발효유에서는 Sep-Pak법이 회수율이 높았으며, 유의성이 있었다. 발효유에 첨가된 표준용액의 농도가 높을수록 Sep-Pak법이 회수율이 높아지는 반면 자동증류법은 낮아지는 경향을 보였다. 가공치즈의 경우 표준용액 5 ppm이 첨가된 제품에선 자동증류법이 Sep-Pak 법보다 약간 높았으나 유의성이 없었고, 10 ppm과 20 ppm에서는 Sep-Pak법이 회수율이 높아지고 유의성이 인정되었다. 그러나 Sep-Pak법과 자동증류법 공히 회수율이 각각 90.17-104.86%와 83.40-97.59%로서 양호한 결과를 얻음으로써 분석시간이 짧은 Sep-Pak을 이용한 분석방법을 선정하였다.

**Sep-Pak법의 유효성 검증**

시료의 정량을 위하여 안식향산의 검량선, 정량한계 및 검출한계를 작성한 결과는 Fig. 2와 Table 3과 같다. Sep-Pak법의 유효성 검증으로 안식향산의 검량선은  $R^2 = 0.999$ 로 양호한 직선성을 나타냈으며, 검출한계는 0.058 mg/kg,



**Fig. 2. The regression curve of benzoic acid determined by HPLC.**

**Table 3. Validation test of benzoic acid**

Items	Result
Limit of Detection (mg/kg)	0.058
Limit of Quantitation (mg/kg)	0.176
Recovery Rate (%)	93.04±3.76

정량한계는 0.176 mg/kg을 보였다.

**공정과정 중 단계별 안식향산 생성**

발효유는 정치형 (Set type)인 경우 원유, 배합직후, 스타터 첨가직후, 완제품에서 시료를 채취하여 안식향산의 함량을 분석하였다(Table 4). 그 결과 B사인 경우 스타터 첨가직후에서 4.55 mg/kg이었고 배양이 완료된 완제품에서는 10.48 mg/kg을 나타내었다. 교반형인 경우 I사와 K사 공히 스타터 첨가직후에서는 검출되지 않았고, 배양이 완료된 완제품에서는 I사 6.32 mg/kg, K사 2.28 mg/kg과 5.28 mg/kg을 나타내었다.

**Table 4. Benzoic acid determination of fermented milk during processing stage (Unit: mg/kg)**

Company	Raw milk		After mix		After starter addition		Product		Additive (syrup)	
	Detection volumn	Detection rate (%)	Detection volumn	Detection rate (%)	Detection volumn	Detection rate (%)	Detection volumn	Detection rate (%)	Detection volumn	Detection rate (%)
B	ND	0	ND	0	4.55±0.88	100	10.48±0.20	100	-	-
I	ND	0	ND	0	-	-	6.32±0.33	100	ND	0
K	ND	0	ND	0	ND	0	2.28±0.28	100	-	-
	ND	0	ND	0	ND	0	5.28±0.52	100	ND	0

ND: not detected.

**Table 5. Benzoic acid determination of cheese during processing stage (Unit: mg/kg)**

Company	Raw milk <sup>a</sup> / Natural cheese <sup>b</sup>		After Curd formation <sup>a</sup> /After mix <sup>b</sup>		After stretching <sup>a</sup> /After cure <sup>b</sup> / After melting <sup>c</sup>		Product	
	Detection volumn	Detection rate (%)	Detection volumn	Detection rate (%)	Detection volumn	Detection rate (%)	Detection volumn	Detection rate (%)
Mozzarella A	ND <sup>a</sup>	0	ND <sup>a</sup>	0	ND <sup>a</sup>	0	ND	0
Camember A	ND <sup>a</sup>	0	12.88±2.50 <sup>a</sup>	100	8.89±0.65 <sup>b</sup>	100	8.48±0.01	100
Proceesed cheese B	14.22±0.55 <sup>b</sup> 15.83±0.94 <sup>b</sup>	100	7.08±1.76 <sup>b</sup>	100	8.45±1.34 <sup>c</sup>	100	7.32±1.31	100

ND: not detected.

완제품의 경우 100%의 검출율로 2.28-10.48 mg/kg 수준 이었고, 첨가제(시럽)에서는 안식향산이 검출되지 않아 Stijve 와 Hischenhuber (1984)가 제시한 바와 같이 젖산균 발효에 의해 안식향산이 자연유래되어 완제품에서 함량이 높아졌을 것으로 사료되었다. Urbienne과 Leskauskaite(2006)에 따르면 상업적 젖산균으로 우유의 발효 중 안식향산의 변화를 조사한 결과 발효유의 안식향산 함량은 14-23 mg/kg 이라고 하였으며, 원유와 발효유를 비교하였을 때 안식향산 함량이 5.1배 높았다고 하였다. 안식향산은 우유 발효 3-6시간(Log phase) 중에 가장 많이 형성되었고, 상업적 젖산균 스타터의 종류에 영향을 받아 *Lactobacillus acidophilus* 를 함유한 La-5 스타터로 발효된 우유에서 가장 많이 검출되었으며, 저장기간 중 감소하는 것으로 나타났다고 하였다.

치즈는 모짜렐라 치즈(원료 - 커드형성 후 - 스트레칭 후 - 완제품), 까망베르 치즈(원료 - 커드형성 후 - 염지 후 - 완제품) 및 가공치즈(원료 - 배합 후 - 유화 후 - 완제품)로 나누어 제조공정에 따른 안식향산 함량을 분석하였으며 그 결과는 Table 5와 같다. A사의 모짜렐라 치즈의 경우 완제품을 포함한 모든 공정에서 안식향산이 검출되지 않았다. 까망베르 치즈의 경우 원유에서는 검출되지 않았으나 커드 형성 후 12.88 mg/kg을 나타내었고, 염지 후에는 8.89 mg/kg, 숙성이 완료된 완제품에서는 8.48 mg/kg을 나타내었다. 가공치즈의 경우 B사 제품은 원료치즈로서 체다치즈 2종의 안식향산 함량이 14.22 mg/kg과 15.83 mg/kg을 나타내었고 기타 다른 첨가물이 포함되어 배합한 직후 7.08 mg/kg, 유화 후에는 8.45 mg/kg, 완제품에는 7.32 mg/kg을 나타내어

배합 이후 단계에서는 거의 변화가 없음을 따라 원료치즈에 따라 함량이 영향을 받는 것으로 나타났다.

#### 업체별 발효유제품의 안식향산 함량

업체별 발효유의 안식향산 함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 업체에 따라 함량 차이를 보이나 0-16.5 mg/kg의 수준으로 제조공정 중 발효를 거친 유가공품의 안식향산 자연 유래가 확인되었다. 발효유의 검출율은 85.71%로 나타났다. 유통기한 중 함량 변화를 보기 위해 5-7일의 간격으로 유통기한 최종일의 안식향산 함량을 분석한 결과 제품 및 업체에 관계없이 큰 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 Yildiz 등(2012)이 안식향산 함량이 8.94-28.30 mg/kg이라고 한 결과보다 낮은 수준을 보였다.

치즈의 안식향산 함량은 국내에 유통 중인 치즈(연성치즈 및 연성가공치즈)와 수입치즈(연성치즈, 반경성치즈 및 생치즈)로 나누어 분석한 결과는 Table 7과 같다. 국내 유통치즈의 경우 연성치즈가 0-4.2 mg/kg, 연성가공치즈가 0-20.8 mg/kg의 수준을 보였다. 모짜렐라 치즈가 원료인 연성가공치즈의 경우 0-16.36 mg/kg으로 업체에 따라 큰 차이를 보였고, 오랜 시간 발효 및 숙성에 의해 제조되는 체다치즈는 14.08-20.75 mg/kg, 고다 치즈는 5.95 mg/kg이었으며 국내 유통치즈의 안식향산 검출율은 66.66%이었다. 이와 같은 결과는 Yildiz 등(2012)이 안식향산 함량이 3.17-56.77 mg/kg, Sieber 등(1989)이 trace-40 mg/kg이라고 한 결과보다 낮은 수준을 보였다.

수입치즈의 경우 연성치즈는 0-15.5 mg/kg, 반경성치즈는 0-20.20 mg/kg의 함량을 보였고 페타 치즈(12.89 mg/kg), 블루 치즈(14.86 mg/kg), 그루이어 치즈(19.15 mg/kg)가 높은 함량을 보였으며 생치즈에서는 검출되지 않았다. 수입치즈의 안식향산 검출율은 69.23%로 국내 치즈(66.66%)보다 높은 수준으로 나타났다.

#### 요 약

본 연구는 발효과정 중 생성되는 발효유제품의 안식향산을 조사함으로써 축산식품관리 정책의 기초자료로 활용하기 위하여 실시하였다.

**Table 6. Benzoic acid determination of fermented milk**

Company	Range (mg/kg)	Type	Content (mg/kg)	
			During shelf-life	Final day shelf-life
A	14.8-16.5	Plain	15.65±1.17	-
B	ND	Plain	ND	-
C	7.1-7.7	Plain	7.47±0.32	7.80±0.41
D	7.8-8.1	Strawberry	7.93±0.15	7.49±0.24
E	7.1-9.7	Cherry	8.01±0.14	-
F	4.3-9.7	Apple	8.18±2.20	-
		Plain	5.46±0.40	5.82±0.11

(n=3).

**Table 7. Benzoic acid determination of domestic and imported cheese**

Item	Cheese type	Range (mg/kg)	Product	Content (mg/kg)	Detection rate (%)	
Domestic cheese (n=9)	Soft cheese (n=3)	0-4.2	Mozzarella	4.19±0.67	66.66	
			Camembert	ND		
			Brie	ND		
	Soft processed cheese (n=6)	0-16.4	Cheddar	20.75±4.37		
			Cheddar	14.08±0.65		
			Mozzarella	ND		
			Mozzarella	5.09±0.86		
	Soft cheese (n=3)	0-15.5	Mozzarella	16.36±1.92		
			Gouda	5.95±0.38		
			Camembert <sup>1</sup>	ND		
Camembert <sup>2</sup>			15.45±1.38			
Gorgonzola(Piccante)			ND			
Cheddar			9.62±0.45			
Gouda			7.09±1.01			
Imported cheese (n=13)	Semi hard cheese (n=8)	6.3-7.3	Emmental	6.92±0.56	69.23	
		12.6-13.1	Feta	12.89±0.25		
		13.4-16.4	Blue	14.86±1.51		
		17.9-20.2	Gruyere	19.15±1.13		
		0	Bule d'auvergne	ND		
		4.7-15.6	Edam	10.15±7.65		
		Fresh cheese (n=1)	0	Mascarpone		ND

ND: not detected.

축산물의 가공기준 및 성분규격의 축산물 시험법 중 전처리 방법인 Sep-Pak을 이용한 분석방법과 자동증류장치를 이용한 분석방법 중 1개를 택일하기 위하여 유제품의 회수율을 측정하고 결과 커다란 차이가 없음을 따라 전처리 시간이 짧은 Sep-Pak을 이용한 분석방법을 선정하였다. Sep-Pak법의 유효성 검증으로 안식향산의 검량선은  $R^2 = 0.999$ 로 양호한 직선성을 나타냈으며, 검출한계는 0.058 mg/kg, 정량한계는 0.176 mg/kg을 보였다. 완제품에서 검출된 발효유를 대상으로 공정 단계별로 안식향산을 분석한 결과 스타터를 첨가한 이후 단계에서 2.28-10.48 mg/kg 수준이었고 첨가제(시럽)에서는 검출되지 않았으며, 시중 유통 중인 발효유는 0-16.5 mg/kg으로 나타났다. 치즈의 경우 카렘베르 치즈는 커드형성 후, 가공치즈는 원료치즈에서 영향을 많이 받는 것으로 나타났고, 시중 유통 중인 자연치즈는 0-4.2 mg/kg, 가공치즈는 0-20.8 mg/kg으로 나타났다.

이러한 결과를 토대로 원료, 제조과정 중 및 완제품 전 과정에서 발생할 수 있는 자연유래 안식향산을 일관성 있고 체계적으로 관리할 수 있는 기초자료로 활용할 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 2012년도 농림수산검역검사본부 수의과학기술개발 용역연구사업의 연구비 지원(VRIS Z-1541764-2012-12-01)에 의해 수행되었습니다.

### 참고문헌

- Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E., and Kinneary, J. F. (1996) The Merck index - an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, 12th ed. Whitehouse Station, NJ, Merck & Co., Inc. p. 183.
- Choi, S. H., Lee, J. Y., Park, E. Y., Won, J., Hong, K. H., Moon, G. I., Kim, M. S., and Hong, J. W. (2008) Assessment of estimated daily intakes of preservatives in the Korean population. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**, 503-509.
- Hegnauer, R. (1992) Benzoessäure. In: Hegnauer R, ed. Chemotaxonomie der Pflanzen. Basel, Birkhäuser Verlag, pp. 415-416.
- Hejtmanikova, A., Dolejskova, J., Horak, V., Dragounova, H., and Louda, F. (2000) Benzoic acid in some milk products from the market in the Czech Republic. *Czech J. Food Sci.* **18**, 99-102.
- Horak, V., Cuhra, P., Dolejskova, J., Louda, F., Dragounova, H., and Neuhybel, P. (1996) Hippuric and benzoic acid in milk and dairy products. *Zivocisna Vyroba* **41**, 277-279.
- Nagayama, T., Nishijima, M., Yasuda, K., Staito, K., Kamimura, H., Ibe, A., Ushiyama, H., Naoi, Y., and Nishima, T. (1986) Benzoic acid in agricultural food products and processed foods. *J. Food Hyg. Soc. Japan.* **27**, 316-325.
- Quality standards of animal products. 2011-105, National Veterinary Research and Quarantine Service (NVRQS), 2011. 10. 12.
- Sieber, R., Bütikofer, U., Baumann, H., and Bosset, J. O. (1990a) Über das Vorkommen der Benzoessäure in Sauermilchprodukten und Käse. *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* **81**, 484-

- 493.
9. Sieber, R., Bütikofer, U., Baumann, E., and Bosset, J. O. (1990b) Über die Benzoessäurebildung und -verteilung während der Herstellung und Reifung von geschmierten Käsen. *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* **81**, 722-730.
  10. Sieber, R., Bütikofer, U., Bosset, J. O., and Rüegg, M. (1989) Benzoessäure als natürlicher Bestandteil von Lebensmitteln-eine Übersicht. *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* **80**, 345-362.
  11. Stijve, T. and Hischenhuber, C. (1984) High performance liquid chromatographic determination of low levels of benzoic acid and sorbic acid in yoghurts. *Dtsch Lebensm-Rundsch.* **80**, 81-84.
  12. Takeba, K., Umeki, F., Murakami, F., Nakama, A., Igusa, K., Maruyama, T., and Matsumoto, M. (1990) Estimation of chemical and microbiological quality of domestic cheese. *Ann. Rep. Tokyo Metrop. Res. Lab. Public Health.* **41**, 95-100.
  13. Toppino, P. M., Volpato, R., Amelotti, G., and Contarini, G. (1990) Determinazione quantitativa HPLC di acido sorbico e acido benzoico nei prodotti lattiero-caseari. *Sci. Technol. Latt. Cas.* **41**, 137-152.
  14. Toyoda, M., Ito, Y., Isshiki, K., Onishi, K., Kato, T., Kamikura, M., Shiroishi, Y., Harada, Y., Hukasawa, Y., Yokoyama, T., Yoneda, M., and Iwaida, M. (1983a) Daily intake of preservatives, benzoic acid, dehydroacetic acid, propionic acid and their salts, and esters of *p*-hydrobenzoic acid in Japan. *J. Jpn. Soc. Nutri. Food Sci.* **36**, 467-480.
  15. Toyoda, M., Ito, Y., Isshiki, K., Onishi, K., Kato, T., Kamikura, M., Shiroishi, Y., Harada, Y., Hukasawa, Y., Yokoyama, Y., Yamamoto, Y., Fujii, M., and Iwaida, M. (1983b) Estimation of daily intake of many kinds of food additives according to the market basket studies in Japan. *J. Jpn. Soc. Nutri. Food Sci.* **36**, 489-497.
  16. Urbiene, S. and Leskauskaitė, D. (2006) Formation of some organic acids during fermentation of milk. *Polish J. Food Nutri. Sci.* **15**, 277-281.
  17. Yildiz, A., Erdogan, S., Saydut, A., and Hamamci, C. (2012) High performance liquid chromatography analysis and assessment of benzoic acid in yogurt, ayran, and cheese in turkey. *Food Anal. Method.* **5**, 591-595.
  18. Yomota, C., Isshiki, K., Kato, T., Kamikura, M., Shiroishi, Y., Nishijima, M., Hayashi, H., Hikasawa, Y., Yokoama, T., Yoneda, M., Moriguchi, H., Uchiyama, H., Shiro, T., and Ito, Y. (1988) Estimation of daily intake of 8 kinds of organic acids, 4 kinds of nucleic acids, orthophosphat, benzoic acid, glycerol monostearate, sodium alginate, sulfur dioxide, nitrate, nitrite, mannitol, sorbitol, glycerol and ammonium hydroxide from fresh foods purchased in Japan according to the market basket method. *J. Jpn. Soc. Nutri. Food Sci.* **41**, 11-16.

---

(Received 2013.6.4/Revised 2013.9.24/Accepted 2013.9.27)