

자몽씨 추출물을 함유한 Eudragit E100 미세캡슐의 제조 및 김치에 대한 영향

김한수·정성기·조성환*·구재관**·이승철[†]

경남대학교 생명과학부 식품생물공학전공

*경상대학교 식품공학과

** (주)케이비에프

Preparation and Effect of Eudragit E100 Microcapsules Containing Grapefruit Seed Extract on *Kimchi*

Han-Soo Kim, Sung-Ki Jung, Sung-Hwan Cho*, Jae-Gwan Ku** and Seung-Cheol Lee[†]

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

**KBF Co., Ltd., Kimhae 621-840, Korea

Abstract

Microcapsules were prepared by coacervation method using acetone/liquid paraffin system to control the ripening of *kimchi*. Eudragit E100, which was soluble at below pH 5.0 in aqueous solution, was used to make microcapsules to be sensitive to acidity of *kimchi*. The microcapsules with Eudragit E100 containing grapefruit seed extract (GFSE) showed the highest yield of 92.13%, the size of microcapsules was decreasing as increasing the amount of aluminium stearate, a dispersing agent. Morphology of the microcapsules determined by scanning electron microscopy showed spherical forms. GFSE, encapsulated antimicrobial agents, was quickly released at acidic buffer (pH 4, 5, 6) within 1 storage day. However, 70% of encapsulated GFSE in Eudragit E100 microcapsules was continuously released at pH 7 till 3 days, and it was sustained till 9 days. Characteristics of *kimchi* containing microcapsules of GFSE were analysed with ripening period. Decease of pH in *kimchi* was retarded with the added GFSE microcapsules till 2 days of fermentation, but GFSE did not affect pH in *kimchi* after 3 days. Total numbers of microorganisms and lactic acid microorganisms in *kimchi* were decreased with increasing the amount of the added GFSE microcapsules, however, the effect of controlled released GFSE from pH sensitive Eudragit E100 microcapsules was hard to detect. These results suggest the possibility of pH sensitive microcapsules for high quality of *kimchi*.

Key words: *kimchi*, microcapsule, Eudragit E100, grapefruit seed extract (GFSE)

서론

미세캡슐(microcapsule)은 유용물질이나 불안정한 물질을 용도에 맞는 적절한 물질로 감싼 미세한 캡슐로서, 외부 환경으로부터 보호하는 기능과 특정 조건에서 내부물질을 조절 방출할 수 있도록 한다. 미세캡슐은 다양한 산업에 이용되고 있으며, 향료산업을 포함한 각종 식품산업에도 많은 응용성을 가지고 있다(1-5).

한편, 김치는 우리의 고유발효식품으로서 영양학적 우수성이 계속 발견되고 있으며, 세계적인 식품으로 발전하고 있다. 김치의 숙성에는 많은 미생물이 관여하고 있으며, 이를 제어하는 것은 김치의 품질에 매우 중요하다. 특히, 김치의 적절한 숙성 이후에 발생하는 과숙성을 방지할 수 있으면

김치의 품질 향상 및 유통 기간 증가를 유발할 수 있다. 김치의 최적 숙성에서의 pH는 약 4.2, 총산도는 젖산으로 0.5~0.6%이며(6), 식용으로 적합한 범위는 0.4~0.75%(7)인 것으로 보고되어 있다. 본 연구에서는 pH가 5 이하의 산성 조건에서 용해되는 polymer를 이용하여 미세캡슐을 제조하고, 그 내부에 향균물질을 포집시킴으로써 김치의 최적 숙성 이후에 향균물질이 방출되어 김치의 과숙성을 억제시키고자 하였다.

Eudragit는 methacrylate를 기본으로 하여 합성된 polymer로서(Fig. 1) pH, 온도 등의 주위 조건에 따라 용해도가 달라진다(8). Eudragit E는 dimethylaminoethyl methacrylate와 methacrylic ester로 구성된 polymer로서 평균 분자량이 150,000이며, alcohol과 acetone 그리고 pH 5까지의

[†]Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

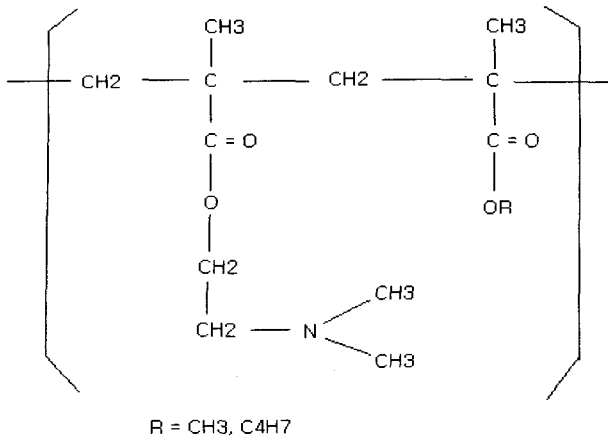


Fig. 1. The chemical structure of Eudragit E100.

산성 용액에서는 잘 녹고 중성 pH에서는 불용성인 특성으로 인하여 위용성 약물전달물질로 널리 이용되고 있다(9-11). 그리고, 자몽씨 추출물(GFSE, grapefruit seed extract)은 천연 항균물질로서, 주된 성분은 ascorbic acid, palmitic acid, glucose, naringin 그리고 tocopherol 등이며(12), 세균과 곰팡이에 대하여 폭넓은 항균성을 보이고 있다. 특히 인체에 대하여 독성이 매우 낮아서(LD₅₀ = 2,900 mg/kg), 각종 식품의 보존에 이용되고 있다(13-16). 따라서, 본 연구에서는 Eudragit E100을 이용하여 GFSE를 함유한 미세캡슐을 제조하여 그 특성을 조사하고, 이를 김치에 첨가하여 숙성의 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

재료

미세캡슐용 polymer인 Eudragit E100은 Röhm Pharma GmbH(Darmstadt, Germany)로부터, 천연항균물질인 GFSE는 (주)구산물산(서울, 한국), 김치는 한국농수산(주)(함안, 한국)의 내수용 배추김치 시제품을 각각 제공받아 이용하였다. Aluminium tristearate와 agar는 Junsei Chemical Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하였으며, Paper disk(8 mm)는 Toyo Roshi Kaisha(Toyko, Japan)에서, MRS broth와 PCA는 DIFCO(Maryland, USA)에서 구입하였다. 그 외에 사용된 각종 시약들은 특급 이상을 사용하였다.

미세캡슐의 제조

GFSE를 함유한 미세캡슐의 제조를 위하여 유중건조법을 사용하였다(17). 즉, 1.0 g의 Eudragit E100을 10 mL의 acetone에 녹인 후 분산제인 aluminium tristearate를 %함량별로 첨가하여 완전히 녹을 때까지 3개의 프로펠라를 가진 교반기(Lab Stirrer, MS-280D, TOPS Co., 서울, 한국)로 교반하였다. 이 용액에 60 mg의 GFSE 분말을 첨가하여 1분 정도 분산시킨 후 10°C에서 300 rpm으로 교반되고 있는 200 mL의 liquid paraffin에 붓고 서서히 35°C까지 승온시킨 뒤 온도

를 유지하면서 acetone이 완전히 휘발될 때까지 교반하였다. Acetone이 완전히 휘발된 후에 Bucher 여과기로 미세캡슐을 회수하여 50 mL n-hexane으로 4~5회 세척하였다. 마이크로 캡슐 제조 과정은 Fig. 2에 나타나 있다.

입도 분석

제조된 마이크로캡슐의 입도 분포를 확인하기 위해 100 μm에서 500 μm사이의 체(표준망체, 청계상공사, 한국)를 이용하였다. 즉, 제조된 미세캡슐의 일정량을 채취하여 체에 넣고 상하좌우 각각 10회씩 체질을 한 후, 크기별로 각각 분리된 미세캡슐을 함유한 각 체의 중량과 공시험한 체 중량의 차이로서 각 입도별 미세캡슐의 분포를 확인하였다. 입도 분포는 무게의 %비율로 나타내었다.

전자현미경 관찰

미세캡슐의 형태는 전자현미경으로 관찰하기 위하여 전처리 과정으로 Ion Coater(IB-3, Eiko, Japan)를 이용하여 진공도 0.1 torr 및 고전압(800~1500 V, 8 mA)하에서 5분간 순금으로 입자 표면을 코팅하였다. 코팅된 미세캡슐은 주사형 전자현미경(ABT-32, Topcon Co., Japan)을 이용하여 15 Kv, 250배율로 형태를 관찰하였다.

미세캡슐로부터 GFSE의 방출에 대한 pH의 영향

GFSE 함유 미세캡슐의 pH에 따른 방출을 확인하기 위해 10 mg의 미세캡슐을 각각 3 mL의 pH 3, 4, 5, 6, 7 buffer(100 mM, sodium phosphate-citrate)에 첨가하여 8°C에서 저장하며 24시간 간격으로 항균활성을 측정하였다. 미세캡슐이 첨가되어 용해된 buffer는 잔류 캡슐에 의한 간섭을 배제하기 위해 Whatman No. 3 filter paper로 여과한 뒤 방출된 GFSE의 항균활성을 측정함으로 방출특성을 조사하였다. GFSE의 항균 활성은 *Micrococcus flavus*를 공식균주로 사용한 spot-on lawn method를 이용하여 저해환의 크기를

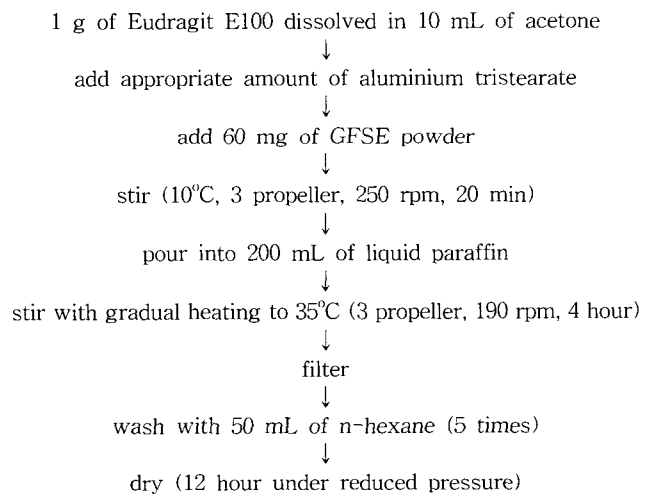


Fig. 2. Preparation of Eudragit E100 microcapsules containing GFSE by solvent evaporation process in liquid paraffin.

mm 단위로 측정된 후 대조군의 저해환의 크기에 대한 %로 나타내었다(18,19).

김치 숙성에 대한 GFSE 미세캡슐의 효과

갯 담근 김치를 알콜로 살균한 blend로 마쇄한 뒤 삼베천으로 고풍분을 걸러낸 액을 시험액으로 하고 각각 0, 50, 100, 300 ppm의 GFSE에 해당되도록 GFSE 미세캡슐을 첨가하여 20°C에서 8일 동안 저장하며 pH, 총균수, 유산균수의 변화를 pH meter, plate count agar, MRS plate를 이용하여 각각 관찰하였다.

결과 및 고찰

미세캡슐의 제조 및 물리적 특성

미세캡슐의 제조법에는 수중건조법, 유중건조법, 분무건조법, 코아세르베이트법 등의 여러 가지가 있다(2,3). 본 연구에서는 제조 방법의 간편성과 대량화 가능성의 이유로 유중건조법을 이용하였다(17). 유중건조법은 극성이 높은 유기용매에 고분자소재를 용해시킨 후 약물을 용해 또는 분산시킨 다음, 계면 활성제 등을 함유하는 유동파라핀 중에 가하여 교반하면서 가온, 감압 또는 용매 추출 등에 의해 고분자 소재를 용해시키는 동안 가한 용매를 제거하여 미세캡슐을 서서히 형성시키는 방법이다.

유중건조법에 의해 생성되는 미세캡슐의 양, 모양, 크기 등의 특성은 polymer의 농도, 분산제의 함량, 교반기의 프로펠러 모양 및 교반속도 등에 영향을 받는다. 본 연구에서는 polymer 농도는 10%, 교반기의 속도는 300 rpm, 3개의 프로펠러로 고정하고, 분산제의 함량을 6, 9, 12, 15%로 변화시키며 미세캡슐을 제조하였다. 분산제는 polymer의 안정한 분산을 위하여 필요한데, aluminium tristearate가 Eudragit E100에 적합하다고 알려져 있다(9,17). Aluminium tristearate의 함량에 따라 GFSE를 첨가하지 않은 경우와 GFSE를 첨가한 경우에 각각 93.53~94.61%, 89.39~92.13%의 수율을 나타내었으며, aluminium tristearate의 양에 따라 큰 차이를 보이지 않았다(Table 1).

그러나, aluminium tristearate는 생성된 미세캡슐의 크기에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다(Fig. 3). 즉, aluminium tristearate 함량이 증가할수록 미세캡슐의 크기는 작아지고, 내부 물질로 함유되는 GFSE가 존재할 경우 입자 크기가 작은 것이 잘 형성되는 경향을 보였다. 실제로 12%의 aluminium tristearate가 존재할 때, GFSE가 존재하지 않을 때와 존재할 경우의 미세캡슐 입자 크기를 보면 200 μm 이상의 각각 50.42%와 65.98%, 150~200 μm의 범위 내의 것이 각각 36.11%와 21.63%, 100~150 μm 범위의 것이 각각 11.28%와 13.50%, 100 μm 이하의 것이 각각 0.17%와 1.02%를 나타내었다. 본 연구와 같은 방법으로 β-락탐계 항생물질을 함유한 Eudragit 미세캡슐을 제조한 경우, 첨가한 aluminium tristearate의 양이 증가함에 따라 형성된 미세캡슐의 크기가 작

Table 1. Formula for preparing Eudragit E100 microcapsules and its recovery yield

Eudragit E (mg)	GFSE (mg)	Aluminium tristearate (mg) ¹⁾	Recovery yield (%) ²⁾
1,000	0	60	93.53
		90	94.61
		120	93.57
		150	93.95
	60	60	91.92
		90	89.39
		120	92.13
		150	90.85

¹⁾ Aluminium tristearate was added to 10 mL of 10% (w/v) Eudragit E100 acetone solution.

²⁾ Recovery yield was calculated as the percentage of the recovered microcapsule weight to the added amount of all materials.

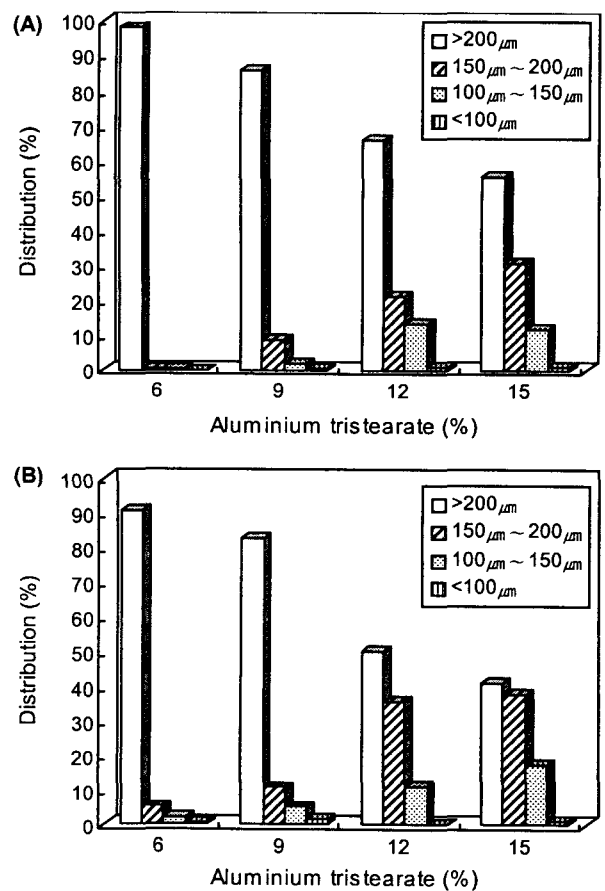


Fig. 3. Effect of aluminium tristearate on the particle size distribution of Eudragit E100 microcapsules; (A) without GFSE, and (B) with GFSE.

고, 그 크기가 대부분 337~637 μm라고 보고된 바 있다(17). 분산제인 aluminium tristearate는 분산입자인 Eudragit와 분산용매인 유동 파라핀 간의 계면장력을 감소시켜 분산계를 안정화시키며, 분산제가 없으면 분산입자의 응집이 발생하여 미세캡슐이 형성되지 못한다(20). 그러나, Eudragit의 종류에 따라 필요한 aluminium tristearate의 첨가량이 달라 지는데, Eudragit E의 경우에는 Eudragit L, S보다 적은 양

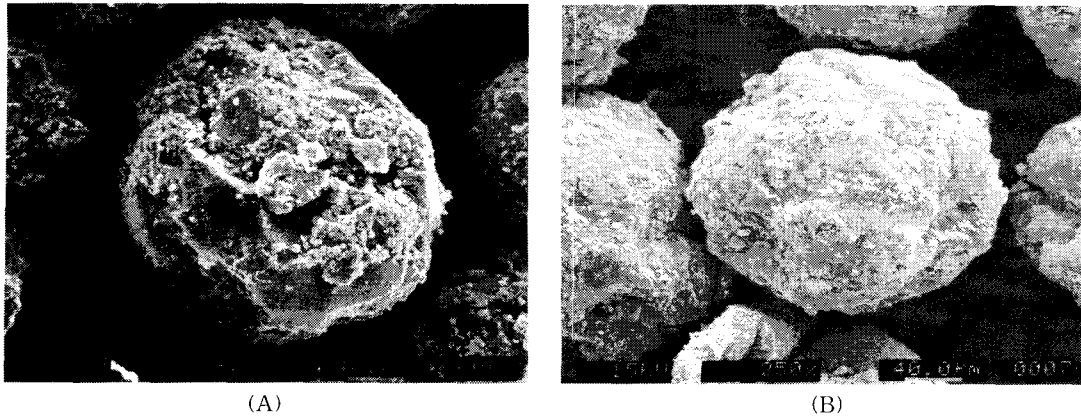


Fig. 4. Scanning electron micrographs of Eudragit E100 microcapsules (A) without GFSE, and (B) containing 6% of GFSE. Aluminium tristearate was added as 12% (w/w) of Eudragit E100.

으로 미세캡슐이 형성되며 재현성이 높다고 보고되었다(9,21).

Fig. 4에 제조한 Eudragit E 미세캡슐의 전자현미경 사진을 나타내었다. GFSE의 첨가 유무에 관계없이 비교적 구형의 미세캡슐이 잘 형성되었으며, 본 연구와 같은 방법으로 제조한 다른 보고에서의 Eudragit E 미세캡슐의 형태가 일치하였다(9,17).

미세캡슐의 용출 특성 및 김치에 미치는 영향

GFSE를 함유한 Eudragit E 미세캡슐의 외부 pH 조건에 따른 용출을 조사하였다(Fig. 5). Eudragit E는 pH 5.0 이하에서 용해되어 내부 물질을 방출한다고 보고되었으나(8), 본 실험에서는 pH 3, 4, 5, 6의 조건에서는 1일 만에 내부의 GFSE가 모두 용출되어 하나의 선으로 표시되었으며, pH 7에서는 9일 후에 약 70%의 GFSE가 용출되었다. 이는 Eudragit E가 정확히 pH 5.0 이상과 이하에서 불용성, 용해성을 나타내지 않았고, pH 7 이상이 되어야 불용성의 일부가 며칠간 지속됨을 의미한다. 실제로 Eudragit E는 위용성 캡슐 소재

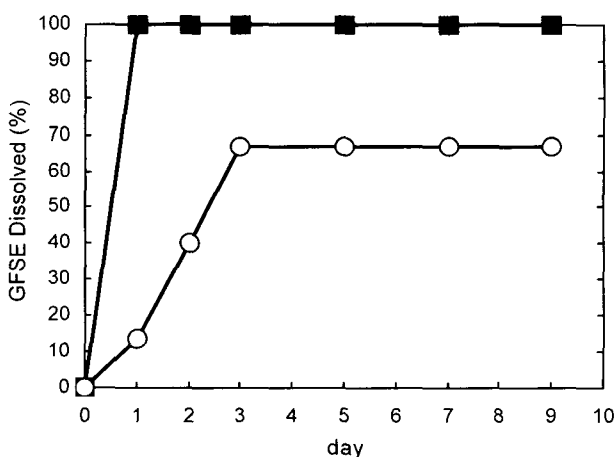


Fig. 5. Dissolution pattern of GFSE from Eudragit E100 microcapsules at several pH conditions.

GFSE containing Eudragit microcapsules were incubated at 8°C in 100 mM sodium phosphate-citrate buffer of pH: ◇, 3; ◆, 4; □, 5; ■, 6; and ○, 7.

로서 약물질의 전달에 이용되고 있는 물질로서 몇 시간 이내의 단시간 개념에서는 pH에 민감하지만(9-11), 본 실험처럼 며칠의 장시간 개념에서는 민감하지 않는 것으로 생각된다.

GFSE를 함유한 Eudragit E 미세캡슐을 첨가한 김치를 20°C에서 저장하며 pH(Fig. 6), 총균수(Fig. 7) 및 젖산균(Fig. 8)의 변화를 각각 측정하였다. GFSE는 물김치에서 pH 저하를 완화시켰으나(14) 배추김치에서는 GFSE 자체의 강한 산성(pH 2.5~3.0)으로 인하여 pH 변화에 큰 영향을 주지 못하지만 첨가량에 따라 총균수와 젖산균 수는 감소시킨다고 보고했으며(16), GFSE 0.1%와 자이리톨 2%를 첨가한 경우에는 pH 저하 완화 효과와 총균수 및 젖산균 수 감소에 가장 효과적이라고 보고한 바 있다(22). 본 연구에서는 GFSE함유 미세캡슐의 양이 증가할수록 저장 기간 2일까지는 김치의 pH 저하를 완화시켰으나, 3일 이후에는 큰 영향을 주지 못하였다(Fig. 6). Fig. 5에 나타난 결과처럼 pH 6 이하의 산성 조건에서는 미세캡슐화된 GFSE가 1일 이내에 모두 방출되므로 김치에서도 GFSE는 1일 이내에 모두 방출되었음을

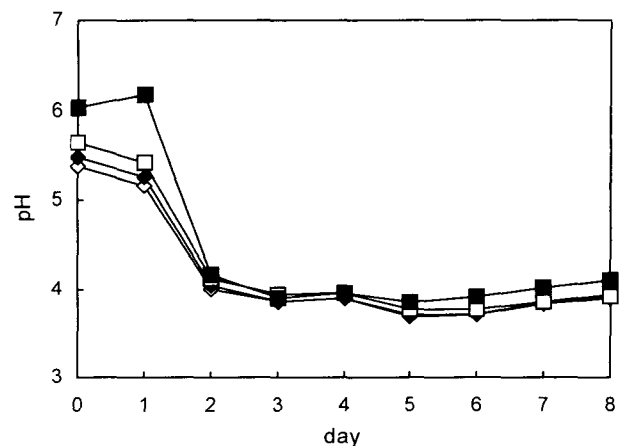


Fig. 6. The effect of Eudragit E100 microcapsules containing GFSE on pH of kimchi during fermentation period.

GFSE contents of Eudragit E are as follows: ◇, 0 ppm; ◆, 50 ppm; □, 100 ppm; and ■, 300 ppm. Kimchi was fermented at 20°C, and values are the average of triplicate.

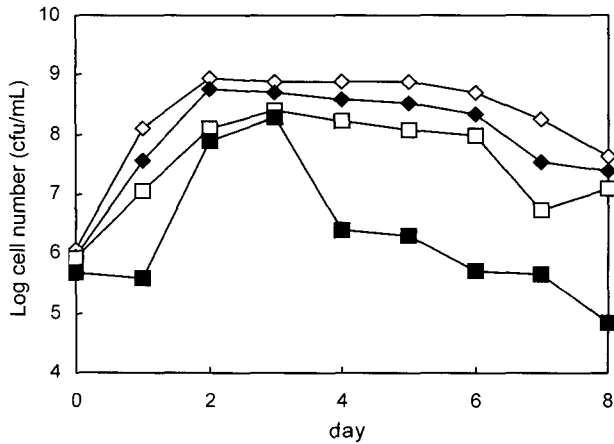


Fig. 7. The effect of Eudragit E100 microcapsules containing GFSE on the growth of total microorganism counts during kimchi fermentation.

GFSE contents of Eudragit E are as follows: ◇, 0 ppm; ◆, 50 ppm; □, 100 ppm; and ■, 300 ppm. Kimchi was fermented at 20°C, and values are the average of triplicate.

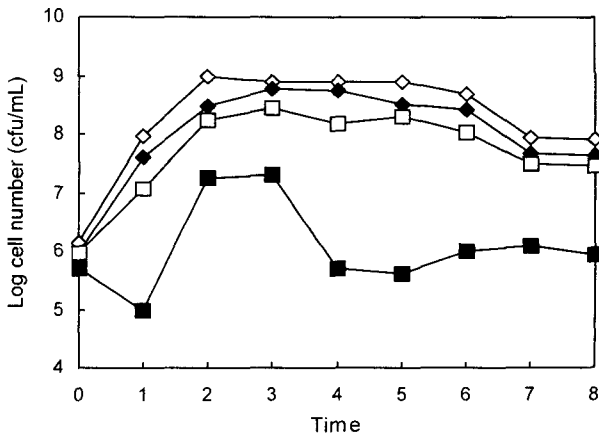


Fig. 8. The effect of Eudragit E100 microcapsules containing GFSE on the growth of lactic acid bacteria during kimchi fermentation.

GFSE contents of Eudragit E are as follows: ◇, 0 ppm; ◆, 50 ppm; □, 100 ppm; and ■, 300 ppm. Kimchi was fermented at 20°C, and values are the average of triplicate.

가정할 때 첨가한 GFSE의 절대량이 김치의 pH 변화에 두드러진 효과를 보이지 않았다. 배추김치에 GFSE를 첨가하지 않은 대조구에 비하여 GFSE를 직접 300 ppm 첨가하여 20°C에서 5일간 저장한 경우 pH는 각각 4.02와 4.05로 측정된 예를 보면(16) 본 연구에서 첨가한 GFSE의 양이 김치의 pH 변화에 크게 영향을 주지 못하였다. 또한, Fig. 7과 Fig. 8에 나타난 바와 같이 총균수와 젖산균의 경우에서도 GFSE의 첨가량이 증가할수록 각각 감소하는 경향을 나타내었으나 세밀한 조절이 관찰되지는 않았다.

본 연구에서 저자들은 김치의 숙성에 따라 pH가 감소할 때, 일정 산성 pH 영역이 되면 Eudragit E100 polymer가 용해되면서 내부의 GFSE가 방출되어 미생물의 활동을 저하시키고 따라서 pH 감소가 지연되어 균수의 변화에 영향을 줌

으로써 김치의 과숙성을 방지하고자 하였다. 그러나, Eudragit E100은 단시간에서는 pH에 민감하지만 장기간 저장되는 경우에는 이론처럼 민감하지 못하였다. 또한, 다양한 미생물이 존재하는 김치에서는 완충용액에서보다도 더욱 빨리 분해되는 경향을 나타내었으며 단순히 첨가한 GFSE의 양에만 의존하였다.

전통발효식품인 김치는 처음 담근 때를 기준으로 완숙기를 지나 부패시기까지의 미생물의 변화가 김치의 맛과 저장성을 결정하는 요인으로 작용하고 있다. 따라서 김치의 발효 과정에 따른 미생물의 조절이 김치의 품질에 매우 중요하며, 실제로 김치발효 초기에는 Gram 음성균인 *Aeromonas*속과 Gram 양성균인 *Bacillus*속이 발효를 주도하고 이어서 Gram 양성균인 젖산균이 발효를 주도하지만 말기에는 효모들에 의한 작용으로 연부현상이 나타난다고 보고되고 있다(23). 이러한 미생물의 변화를 각 단계에서 조절하면 김치의 저장성을 향상시킬 수 있을 것이다. 또한 김치의 숙성기간을 연장하기 위하여 천연물 중에서 항균성 물질을 탐색하고 있다(24). 이러한 관점에서 pH 의존성 polymer를 이용한 항균물질의 미세캡슐화 방법을 고안하였다. 향후, 김치라는 환경에서 pH에 민감한 polymer를 탐색하고 이를 이용한 조절물질의 미세캡슐화 방법은 김치의 품질 향상에 기여할 것으로 생각한다.

요 약

김치의 과숙성을 조절한 고품질화를 위하여 pH 5.0 이하의 산성에서 용해되는 Eudragit E100으로 자몽씨 추출물(GFSE)을 함유한 미세캡슐을 아세톤/액체 파라핀 방법으로 제조하였다. 분산제로 첨가한 aluminium tristearate의 함량에 따라 89.39~92.13%의 수율을 나타내었으며, aluminium tristearate의 양에 따라 큰 차이를 보이지 않았다. 첨가한 aluminium tristearate 함량이 증가할수록 미세캡슐의 크기는 작아지는 경향을 보였는데, 12%의 aluminium tristearate가 존재할 때, GFSE를 함유한 Eudragit E100 미세캡슐은 200 μm 이상이 50.42%, 150~200 μm의 범위 내의 것이 36.11%, 100~150 μm 범위의 것이 11.28%, 100 μm 이하의 것이 0.17%의 입자 분포를 나타내었다. Eudragit E100 미세캡슐은 전자현미경으로 구형으로 관찰되었다. Eudragit E100을 pH를 달리한 완충용액에 저장하였을 때, 함유된 GFSE는 pH 3, 4, 5, 6의 조건에서는 1일 만에 내부의 GFSE가 모두 용출되었고 pH 7에서는 9일 후에 약 70%의 GFSE가 용출되었다. 또한, 김치에 첨가하여 저장하였을 때, GFSE 함유 Eudragit E100 미세캡슐의 양이 증가할수록 저장 기간 2일까지는 김치의 pH 저하를 완화시켰으나, 3일 이후에는 큰 영향을 주지 못하였다. 총균수와 젖산균의 경우에서도 GFSE의 첨가량이 증가할수록 각각 감소하는 경향을 나타내었으나 pH에 의한 엄밀한 방출은 관찰되지는 않았다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 경상남도 생명공학기술개발연구사업 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Karel M, Langer R. 1998. Controlled release of food additives. In *Flavor Encapsulation*. Risch SJ, Reineccius FA, eds. ACS Symposium Series No. 370. American Chemical Society, Washington, DC. p 177-191.
- Kirby C. 1991. Microencapsulation and controlled delivery of food ingredients. *Food Sci Technol, Today* 5: 74-78.
- Reineccius BA. 1995. Controlled release techniques in the food industry. In *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. Rinch SJ, Reineccius FA, eds. ACS Symposium Series No. 590. American Chemical Society, Washington, DC. p 8-25.
- Kim HHY, Baianu IC. 1991. Novel liposome microencapsulation technique for food applications. *Trends Food Sci Technol* 2: 55-61.
- Brannon-Peppas L. 1993. Controlled release in the food and cosmetic industries. In *Polymeric Delivery Systems*. Elnokay MA, Piat KM, Charpentier BA, eds. ACS Symposium Series No 520. American Chemistry Society, Washington, DC. p 42-52.
- Mheen TI, Kwon TW. 1984. Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 16: 443-450.
- Lee YH, Yang IW. 1970. Studies on the packaging and preservation of kimchi. *J Korean Agric Chem Soc* 13: 207-218.
- Leopold CS, Eikeler D. 1998. Eudragit E as coating material for the pH-controlled drug release in the topical treatment of inflammatory bowel disease (IBD). *J Drug Target* 6: 85-94.
- Goto S, Kawata M, Nakamura M, Maekawa K, Aoyama T. 1986. Eudragit E, L and S (acrylic resins) microcapsules as pH sensitive release preparations of ketoprofen. *J Microencapsulation* 3: 305-316.
- Ramadan EM, El-Helw A, El-Said Y. 1987. Effect of encapsulation of mefenamic acid with cationic Eudragit E on its bioavailability and gastric ulcerogenic activity in rabbits. *J Microencapsulation* 4: 125-132.
- Leopold CS, Eikeler D. 1998. Eudragit E as coating material for the pH-controlled drug release in the topical treatment of inflammatory bowel disease (IBD). *J Drug Target* 6: 85-94.
- Sakamoto S, Sato K, Maitani T, Yamada T. 1996. Analysis of components in natural food additive grapefruit seed extract by HPLC and LC/MS. *Eisei Shikenjo Hokoku* 114: 38-42.
- Cho SH, Lee HC, Seo IW, Kim ZU, Chang YS, Sin ZI. 1991. Efficacy of grapefruit seed extract in the preservation of *Satsuma mandarin*. *Korean J Food Sci Technol* 23: 614-618.
- Choi JD, Seo IW, Cho SH. 1990. Studies on the antimicrobial activity of grapefruit seed extract. *Bull Korea Fish Soc* 23: 297-302.
- Hegggers JP, Cottingham J, Gusman J, Reagor L, McCoy L, Carino E, Cox R, Zhao JG, Reagor L. 2002. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. *J Altern Complement Med* 8: 333-340.
- Park WP, Park KD, Cho SH. 1996. Effect of grapefruit seed extract on kimchi fermentation. *Foods & Biotechnol* 5: 91-93.
- Han K, Shin DS, Jee UK, Chung YB. 1992. Preparation and evaluation of sustained-release Eudragit microcapsules containing β -lactam antibiotics. *J Kor Pharm Sci* 22: 267-279.
- Paik HD. 1996. Bacteriocin: Assay, biochemistry, and mode of action. *J Food Sci Nutr* 1: 269-277.
- Hoover DG, Steenson LR. 1993. Screening methods for detection bacteriocin activity. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria*. Academic Press, New York. p 23-37.
- Kawata M, Nakamura M, Goto S, Aoyama T. 1986. Preparation and dissolution pattern of Eudragit RS microcapsules containing ketoprofen. *Chem Pharm Bull* 34: 2618-2623.
- Goto S, Kawata M, Nakamura M, Maekawa K, Aoyama T. 1986. Eudragit RS and RL (acrylic resins) microcapsules as pH insensitive and sustained release preparations of ketoprofen. *J Microencapsulation* 3: 292-304.
- Moon SW, Shin HK, Gi GE. 2003. Effects of xylitol and grapefruit seed extract on sensory value and fermentation of baechu kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 35: 246-253.
- Shin DH, Kim MS, Han IS, Lim DK, Park WS. 1996. Changes of chemical composition and microflora in commercial kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 28: 137-145.
- Moon KD, Byun JA, Kim SJ, Han DS. 1995. Screening of natural preservatives to inhibit kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27: 257-263.

(2003년 7월 4일 접수; 2003년 9월 19일 채택)