J. Fd Hyg. Safety 12(3), 200 - 204(1997)

Escherichia coli O157:H7의 제어를 위한 Benzoate, Sorbate 및 pH의 병용처리 효과

김덕진 · 권오진*† · 변명우*
*대구대학교 식품공학과, *한국원자력연구소 식품공학부*

Combination Effects of Benzoate, Sorbate and pH for Control of *Escherichia coli* O157:H7

Duk-Jin Kim, Oh-Jin Kwon*† and Myung-Woo Byun*
Dept. of Food Engineering, Taegu University, Kyungbuk 713-714, Korea
**Dept. of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea*

ABSTRACT — Effects of benzoate (0~0.6 g/*l*) and sorbate (0~2.0 g/*l*) on the growth of *Escherichia coli* O157:H7 in tryptic soy broth at various pH levels (4~8) and temperatures (4°C, 37°C) were investigated. Benzoate and sorbate were inhibited the growth of *E. coli* O157:H7 up to 12 hours cultivation at 4°C, and 2.0 g/*l* sorbate was only inhibited during 48 hours cultivation at 37°C. Among the pH levels tested, pH 4 showed significant inhibitory effect against the *E. coli* O 157:H7 on 4°C and at 37°C, respectively. When used in combination 0.2 g/*l* benzoate and sorbate were completely inhibited the growth of *E. coli* O157:H7 on pH 4 and at 37°C. While on pH 5 at 4°C, all of the concentration tested did not exert any inhibitory effect. The combined effects were retarded more than single treatment of *E. coli* O157:H7.

Key words □ *E. coli* O157:H7, benzoate, sorbate, pH, combined effects

대장균의 많은 종류 가운데 일부가 설사를 일으키는 것이 있으며 이를 병원성대장균 혹은 설사원성대장균이라 한다. 병원성 대장균의 종류는 장관병원성대장균(EPEC), 세포침입성대장균(EIEC), 독소원성대장균(ETEC), 장관출혈성대장균(EHEC)이 있다.[1] *Escherichia coil* O157:H7 균주는 EHEC에 속하는 대장균으로서 동물의 대변에서 유래되어 덜 익힌 고기나 우유, 야채 샐러드 등을 통해 주로 사람에게 감염되며 증세는 피가 섞인 대변과 복통, 설사 등이 뒤따르고 어린이나 노인의 경우 신부전(용혈성 요독증)으로 악화되면 5% 정도는 뇌장애로 사망하고 10%는 신장이나 뇌에 후유증이 남는다.[2-6] 병원성 O157:H7 균주는 유전자 돌연변이종으로 일반 대장균과 유전 형질이 상당부분 일치하며 형태적으로 구별할 수 없을 정도로 유사해 항원항체반응을 이용한 혈청학적 방법으로 검출한다.[7-9] 대장균의 혈청학적인 동정은 내열성 lipopoly saccharide에 관련된 O 항원, 편모의 특성에 따른 H 항원 및 capsule의 성분에 관련된 K 항원의 분석으로 실시되고 있는데 이에 따른 많은 종류의 O:K:H 조합의 혈청형으로 분류될 수 있다.[10] 최근 문제가 되는 *E. coli* O157:H7 균주는 O항원의 약 173종류의 혈청학적 type 중 157번째, H항원의 60종류 중 7번째로 발견된 것으로서 치명적인 병원성을 유발하므로 이러한 위협으로부터 벗어나기 위해 많은 연구자들이 노력하고 있다.[11-15] 한편, benzoate나 sorbate는 화학적 합성품으로서 식품중의 유해 미생물에 대한 정균작용(bacteriostatc action)이나 효소억제작용(antienzyme action)으로 식품의 안전성을 확보하여 주는 보존제로 사용되고 있으며 그 사용기준은 식품의 섭취량, 사용빈도 등을 고려하여 식품별로 그 효력을 발휘하는 최소량을 첨가하도록 규정되어 있다. 그러나 식품의 풍미와 안전성, 실용적인 면에서 수종의 보존료를 병용하던가 다른 화합물을 첨가하여 보다 낮은 농도로서 식품의 보존성을 높히려는 연구가 이루어져 왔다.[16,17]

이에 본 연구에서는 benzoate와 sorbate가 *E. coli, S. typhimurium, S. aureus* 등의 억제효과에 대해 다수 보고된 바 있지만[18,19] 병원성 *E. coli* O157:H7 균주에 대해서는 거의 보고가 없었으므로 본 균주의 제어를 위해 이들 보존료들을 단독 및 pH와 병용처리하여 그 효과를 조사하였다.

† Author to whom correspondence should be addressed.

재료 및 방법

공시균주

실험에 사용한 균주는 Iowa State University(Iowa Pork Industry Center, USA)에서 분양받은 *E. coli* O157:H7 (ATCC 43894)를 사용하였다.

균주의 배양과 현탁액의 조제

공시균주를 tryptic soy agar(TSA, Difco laboratories, Detroit, MI, USA)의 사면배지에 24시간 수회 계대배양 후 이것을 tryptic soy broth(TSB, Difco) 100 m*l*에 1 백금이를 접종하여 37°C에서 24시간 진탕배양(150 rpm)한 후 균 현탁액 1 m*l*를 다시 새로운 액체배지 100 m*l*에 접종하고 16시간 진탕배양시켜 정상기(stationary phase)의 영양세포 현탁액을 얻었다.

Bezoate, Sorbate의 첨가효과

100 m*l*의 TSB 배지에 benzoate는 0.2, 0.4 및 0.6 g/*l*로, sorbate는 0.25, 0.5, 1.0 및 2.0 g/*l*의 농도가 되게 첨가한 뒤 균 현탁액 1 m*l*(≈10^9 cfu)를 접종하여 4°C와 37°C에서 0~48시간 진탕배양(150 rpm)하였다. 각 배양기간별로 배양액 1 m*l*를 무균적으로 채취하여 멸균된 냉 Butterfield's phosphate buffer(0.1 M KH_2PO_4 adjusted to pH 7.1 with NaOH, 이하 buffer)에 적절히 희석하여 TSA 배지가 들어 있는 petri dish에 0.1 m*l*씩 접종, spreader로 도말하고 37°C에서 배양한 후에 생성된 집락을 계수하여 조사하였다.

pH의 효과

100 m*l*의 TSB 배지에 0.2 μm filter로 여과한 5 M HCl과 1 M NaOH로 배양액의 pH를 4~8(interval: 1)로 조정한 후 균 현탁액 1 m*l*(≈10^9 cfu)를 접종한 다음 0~48시간 배양하였다. 이때 배양온도는 4°C와 37°C로 하여 각 시간별로 1 m*l*를 무균적으로 채취하여 멸균된 냉 buffer로 적절히 희석하고 상기와 같은 방법으로 TSA 평판배지에 생성된 집락을 계수하여 조사하였다.

Benzoate, Sorbate 및 pH의 병용처리 효과

Benzoate는 0.2~0.6 g/*l*로, sorbate는 0.25~2.0 g/*l*의 농도로 첨가한 TSB 배지의 pH를 4~8로 달리 조절한 다음 각각 4°C와 37°C에서 상기와 같은 방법으로 균주의 증식에 미치는 benzoate, sorbate 및 pH의 병용처리 효과를 조사하였다.

결과 및 고찰

Benzoate, Sorbate의 첨가효과

육류나 가금류 등의 저장을 위해 사용되어 오던 nitrites가 발암성 물질인 nitrosamine을 생성함에 따라 그 대체 보존료로 사용되어 오고 있는 benzoate의 최대허용농도는 청량음료수와 간장 등의 식품에 0.6 g/kg, sorbate는 식육이나 어육제품 등에서 2.0 g/kg 이하로 사용기준이 정해져 있다.[20] 이에 따라 본 실험에서도 benzoate와 sorbate의 최대농도를 각각 0.6 g/*l*, 2.0 g/*l*로 하여 배양시간별로 *E. coli* O157:H7 균주의 억제효과를 조사하였다(Fig. 1, 2). 4°C에서는 benzoate 무첨가시는 전 배양기간에 걸쳐 ≈10^8 cfu/m*l*의 균수를 유지하였으나 첨가시는 배양 12시간째에 모든 농도에서

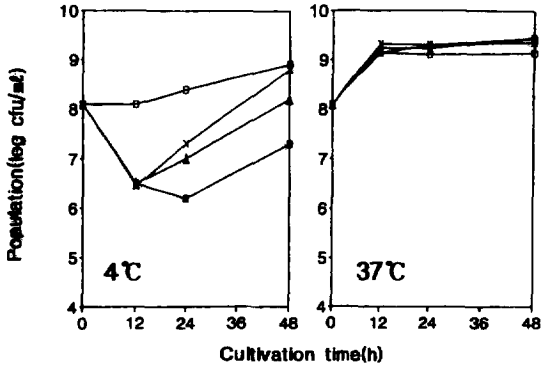

Fig. 1. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in tryptic soy broth containing benzoate at 4°C and 37°C.
□-□, 0 g/*l*; × - ×, 0.25 g/*l*; ▲-▲, 0.5 g/*l*; ■-■, 1.0 g/*l*; I-I, 2.0 g/*l*.

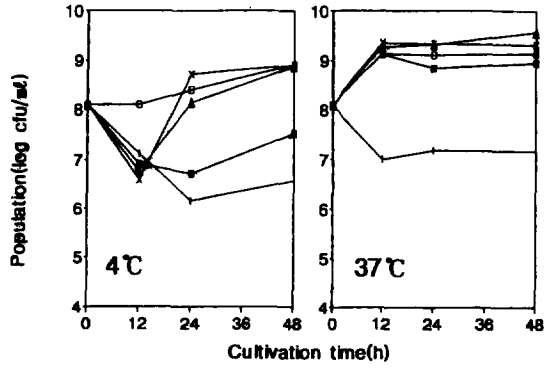

Fig. 2. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in tryptic soy broth containing sorbate at 4°C and 37°C.
□-□, 0 g/*l*; × - ×, 0.25 g/*l*; ▲-▲, 0.5 g/*l*; ■-■, 1.0 g/*l*; I-I, 2.0 g/*l*.

$\approx 10^6$ cfu/m*l*의 균수를 나타내어 무첨가시 보다 약 1.5 log cycle 정도의 균수가 감소되었다. 그러나 배양 12시간째 이후부터는 균수가 증가되었고 특히, 0.2 g/*l* 첨가시는 거의 무첨가시와 같은 균수를 나타내었다. 37°C 배양에서는 benzoate 첨가시나 무첨가시 모두 전배양시간에 걸쳐 균수가 $\approx 10^9$ cfu/m*l*로 증가, 유지하여 균주의 억제효과가 없었다 (Fig. 1). 본 실험의 결과, 비록 *E. coli* O157:H7 균주의 저온내성(0°C, -18°C)이 비교적 강하다고 보고[21]되고 있지만 식품에 허용된 농도 이하의 benzoate로서 4°C, 12시간만에 $\approx 10^2$ cfu/m*l*(96% kill)의 균수를 감소시킬 수 있었다. 그러나 이러한 억제효과는 0.2 g/*l* 이상의 benzoate의 첨가로 4°C에서 12시간 이내에서만 가능하였고 37°C의 온도에서는 그 효과가 나타나지 않았다. Sorbate의 첨가효과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 4°C에서는 배양 12시간째까지는 첨가효과가 있었으나 그 후에는 1.0 g/*l*와 2.0 g/*l* 첨가시만이 균주의 증식을 억제하여 benzoate 첨가시와 유사하였으나 37°C에서는 2.0 g/*l* 첨가로 균주의 증식을 억제시켜 benzoate 첨가시보다 효과가 좋았다. Tsai와 Chou[22]는 *E. coli* O157:H7 균주를 37°C에서 배양시 2.0 g/*l* potassium sorbate의 첨가에도 억제효과가 없었다고 보고하여 본 실험의 결과와 달랐다. 그러나 Morad 등[23]은 고기에 오염된 *S. typhimurium*을 1.0 g/*l* potassium sorbate 첨가로 약간 억제시켰고 Lahellec 등[24]은 같은 농도에서 *S. aureus*를 ≈99% 정도를 억제시켰다. 이상의 결과, 균주에 따라 다소 항균작용이 차이는 있었지만 *E. coli* O157:H7는 고 농도의 sorbate 첨가로서 억제되었으며 benzoate 첨가는 단지 저온에서만 약간의 효과가 있었고 배양온도별로는 4°C에서는 benzoate, 37°C에서는 sorbate 첨가가 균주를 억제시키는 데 유리하였다.

pH의 효과

E. coli O157:H7 균주의 증식에 미치는 pH의 영향을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 4°C의 배양온도에서는 pH 4, 5 및 8에서 배양 24시간까지 균주의 증식이 억제되었으나 배양 48시간째에는 pH 4에서만 증식되지 않았으며 pH 6, 7은 전 배양기간에 걸쳐 증식이 좋았다. 또한 37°C에서도 pH 4의 경우만이 배양시간이 경과됨에 따라 균수가 급격이 감소하여 억제효과가 뚜렷하였으며 그외의 pH에서는 효과가 없거나 미약하였다. 이로서 *E. coli* O157:H7 균주는 4°C나 37°C 모두 pH 4일 때만이 균주가 증식하지 않았으며 그 이상의 pH 일때는 증식억제에 영향을 주지 못하거나 그 효과가 미약하여 본 균주의 주 오염원인 고기의 사후 최종 pH가 5.4 내외인 점을 고려할 때 차후 이를 제어하기 위한 또 다른 방법이 필요함을 알 수 있었다. Glass 등[25]은 pH 6.3에 비해 pH 4.5에서 *E. coli* O157:H7 균주의 증식을 $\approx 10^1$ cfu/m*l* 정도로 더 감소시켰으며 Abdul-Raouf 등[26]은 5°C에서 배양시 pH 5.98에서 24시간 동안 증식이 되지 않았으나 30°C에서는 $\approx 10^4$ cfu/m*l*의 균수가 증가되었다고 각각 보고하였다.

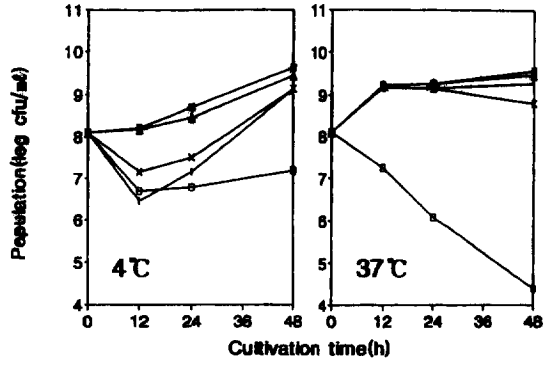

Fig. 3. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in tryptic soy broth with different pH during incubation at 4°C and 37°C.
□-□, pH 4; ×-×, pH 5; ▲-▲, pH 6; ■-■, pH 7; I-I, pH 8.

Benzoate, Sorbate 및 pH의 병용처리 효과

Benzoate와 sorbate는 산형 보존료로서 pH가 낮으면 H^+ 농도가 증가되어 비해리 분자의 몰분율이 높아져 항균효과가 증대되며 또한 본 보존료들은 pH가 중성이하 특히, 산성식품에서 효과적이다.[27] 따라서 *E. coli* O157:H7 균주를 효과적으로 제어하기 위하여 benzoate, sorbate 및 pH를 병용처리하여 37°C에서 24시간 배양한 후 단독배양시와 비교하였으며 또한 실제 냉장/냉동육에서 오염된 균주의 제거에 적용하기 위해 4°C, pH 5에서도 조사하였다(Table 1). 37°C에서는 *E. coli* O157:H7 균주가 pH 6 이하에서 benzoate와 sorbate의 첨가효과가 나타났으며 특히 2.0 g/*l* sorbate 첨가시는 균주의 증식을 완전히 저해시켰다. 한편 4°C, pH 5에서는 24시간 배양으로는 보존료들의 첨가효과가 나타나지 않아 그 이상의 배양시간이 요구됨을 알 수 있었다. El-Shenawy와 Marth[28]는 sodium benzoate(0.3%)를 pH 5와 병용처리하여 35°C에서는 40시간, 13°C에서는 7일간 배양으로서 각각 *L. monocytogenes* 균주를 완전사멸시켰으며 4°C, pH 5에서 배양 6일 이후부터 1 log cycle 내외의 균수를 감소시켜 배양 30일째에 완전사멸시켰다. 그리고 Tsay와 Chou[29]는 K-sorbate(0~0.5%)와 pH 5.5를 병용처리한 결과, *Y. enterocolitica* 균주의 억제효과는 3°C에서 72시간 배양에서는 나타나지 않는다고 보고하였다. 또한 차후 meat system에 본 결과를 적용시 4°C에서 12시간 이내 소비한다면 benzoate, sorbate 및 pH의 단독처리로서 약간의

Table 1. Effects of bezoate and sorbate on the growth of *Escherichia coli* O157:H7 at different temperatures and pH

	Final population (log cfu/m*l*)[a]					
	37°C					4°C
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 5
Benzoate (g/*l*)						
0	6.13	9.17	9.23	9.40	9.38	6.18
0.2	5.34	6.15	8.68	9.26	9.34	6.24
0.4	–	6.14	8.66	9.25	9.32	6.24
0.6	–	6.14	6.22	9.16	9.26	6.17
Sorbate (g/*l*)						
0	6.13	9.17	9.23	9.40	9.38	6.18
0.25	–[b]	5.87	9.15	9.32	9.48	6.26
0.5	–	5.39	8.17	9.20	9.36	6.23
1.0	–	–	6.20	8.12	9.25	6.24
2.0	–	–	–	6.12	5.74	6.22

[a] Range of the results for the *E. coli* O157:H7 strain tested and was determined after 24 hours of incubation. Test organism at an initial concentration of ca 10^5 cfu/m*l* was inoculated to the broth.

[b] No viable *E. coli* O157:H7 was detected when 0.1 m*l* of the cultures were surface plated on the media used.

균수(≈10^1 cfu/m*l*)는 감소시킬 수가 있지만 4°C에서는 단시간(24시간)의 단독이나 병용처리로서는 *E. coli* O157:H7 균주를 제어할 수 없을 것으로 생각된다. 이러한 관점에서 Abdul-Raouf 등[26]은 beef에 오염된 *E. coli* O157:H7 균주를 불활성화 시키기 위해 acetic acid와 lactic acid를 첨가, pH 5로 조정하여 5°C, 24시간만에 ≈2 log cycle의 균수를 감소시켜 효과적인 제어방법을 보고하였다. 한편, 37°C에서의 병용처리는 단독처리와 비교해 볼 때 좀 더 높은 pH(pH 6)에서 균주의 증식을 억제시킬 수 있었고 또한 2.0 g/*l* sorbate 첨가로서 균주를 완전히 제거할 수 있었다. 이러한 병용처리 효과는 Tsai와 Chou[22]가 pH와 potassium sorbate, sodium nitrite로 *E. coli* O157:H7 균주를 불활성화 시키는데 적용하여 확인한 바 있다.

감사의 글

본 논문은 1997년도 대구대학교 학술연구비 지원으로 한국원자력연구소와 공동으로 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구는 병원성 *Escherichia coli* O157:H7 균주의 제어를 목적으로 benzoate, sorbate 및 pH의 처리효과를 4°C와 37°C의 배양온도에서 조사하였다. Benzoate와 sorbate 각각의 단독처리시는 4°C, 12시간까지는 모든 농도에서 *E. coli* O157:H7 균주에 대해 억제효과가 있었으나 37°C에서는 2.0 g/*l* sorbate 첨가시만이 억제효과가 있었다. pH별 처리효과는 4°C나 37°C 모두 pH 4에서만 저해효과가 뚜렷하였다. Benzoate, sorbate 및 pH를 병용처리시는 37°C, pH 4에서는 0.2 g/*l* 이상의 benzoate와 sorbate 첨가로 균주의 증식을 완전히 저해시켰으며 4°C, pH 5에서는 첨가효과가 없었다. 이상의 결과로서 보존료들과 pH의 병용처리는 각각의 단독처리시 보다 *E. coli* O157:H7 균주의 증식억제에 매우 효과적이였다.

참고문헌

1. 編集部: 病原大腸菌O157とその檢査方法, 食品と開發, **31**, 30-37 (1996).
2. Padhye, N.V. and Doyle, P.: *Escherichia coli* O157:H7: Epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food, *J. Food Protect.*, **55**, 555-565 (1992).
3. Doyle, M.P.: *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods, *Int. J. Food Microbiol.*, **12**, 289-302 (1991).
4. Wells, J.G., Davis, B.R., Wachsmuth, I.K., Riley, L. W., Remis, R.S., Sokow, R. and Morris, G.K.: Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype, *J. Clin. Microbiol.*, **18**, 289-302 (1993).
5. Doyle, M.P. and Schoeni, J.L.: Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry, *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 2394-2396 (1987).
6. Abdul-Raouf, U.M., Beuchat, L.R. and Ammar, M.S.: Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 1999-2006 (1993).
7. Padhye, N.V. and Doyle, M.P.: Rapid procedure for detecting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in

food, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2693-2698 (1991).
8. Fratamico, P.M., Buchanan, R.L. and Cooke, P.H.: Virulence of an *Escherichia coli* O157:H7 sorbitol-positive mutant, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 4245-4252 (1993).
9. Levasseur, S., Husson, M., Leitz, R., Merlin, F., Laurent, F., Peladan, F., Drocourt, J., Leclerc, H. and Hoegaerden, M.V.: Rapid detection of members of the family Enterobacteriaceae by a monoclonal antibody, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 1524-1529 (1992).
10. Kauffman, F.: The serology of the coli group, *J. Immunol.*, **57**, 71-100 (1947).
11. Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.W., Hargrett, N.T., Blake, P.A. and Cohen, M.L.: Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype, *N. Engl. J. Med.*, **308**, 681-685 (1983).
12. Thayer, D.W.: Use of irradiation to kill enteric pathogens on meat and poultry, *J. Food Safety*, **15**, 181-192 (1995).
13. Thayer, D.W. and Boyd, G.: Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meats by gamma irradiation, *Appl. Enviro. Microbiol.*, **59**, 1030-1034 (1993).
14. Ahmed, N.M., Conner, D.E. and Huffman, D.L.: Heat-resistence *Escherichia coli* O157:H7 in meat and poultry as affected by product composition, *J. Food Sci.*, **60**, 606-610 (1995).
15. Ratnam. S., March, S.B., Ahmed, R., Bezanson, G.S. and Kasatiya, S.: Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7, *J. Clin. Microbiol.*, **26**, 2006-2012 (1988).
16. Park, H.S. and Marth, E.H.: Inactivation of *Salmonella typhimurium* by sorbic acid, *J. Milk Food Technol.*, **35**, 532-539 (1972).
17. El-Gazzar, F.E. and Marth, E.H.: Sodium benzoate in the control of growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*, *J. Food Prot.*, **50**, 503-509 (1987).
18. Zhao, T., Doyle, M.P. and Besser, R.E.: Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 2526-2530 (1993).
19. Sofos, J.N. and Busta, F.F.: Antimicrobial activity sorbate, *J. Food Prot.*, **44**, 614-622 (1981).
20. Bowen, J.F., Starchan, C.C. and Davis, C.W.: Effects of preservation on fermentation spoilage in pickled cherries, *Food Technol.*, **7**, 102-105 (1953).
21. 권오진, 양재승, 임성일, 변명우: 전자선 조사에 의한 동결육에 오염된 *Escherichia coli* O157:H7의 제거, 한국식품과학회지, **29**, 게재중 (1997).
22. Tsai, S.H. and Chou, C.C.: Injury, inhibition and inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by potassium sorbate and sodium nitrite as affected by pH and temperature, *J. Sci. Food Agric.*, **71**, 10-12 (1996).
23. Morad, M.M., Branen, A.L. and Brekke, C.J.: Antimicrobial activity of buthylated hydroxyanisole and potassium sorbate against natural microflorain in raw turkey meat and *Salmonella typhimurium* in cooked turkey meat, *J. Food Prot.*, **45**, 1038-1040 (1982).
24. Lahellec, C., Fung, D.Y.C. and Cunningham, F.E.: Growth effects of sorbate and selected antioxidants on toxigenic strains of *Staphylcoccus aureus*, *J. Food Prot.*, **44**, 531-534 (1981).
25. Glass, K.A., Loeffelholz, J.M., Ford, J.P. and Doyle, M. P.: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2513-2516 (1992).
26. Abdul-Raouf, U.M., Beuchat, L.R. and Ammar, M.S.: Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground, roasted beef as affected by pH, acidulants, and temperature, *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 2364-2368 (1993).
27. Cruess, W.V. and Richert, P.H.: Effect of hydrogen-ion concentration on the toxicity of sodium benzoate to microorganisms, *J. Bacteriol.*, **17**, 363-371 (1992).
28. El-Shenawy, M.A. and Marth, E.H.: Sodium benzoate inhibits growth of or inactivates *Listeria monocytogenes*, *J. Food Prot.*, **51**, 525-530 (1988).
29. Tsay, W. I. and Chou, C.C.: Influence of potassium sorbate on the growth of *Yersinia enterocolitica*, *J. Food Prot.*, **52**, 723-726 (1989).