

식육에 첨가한 피틴산의 항균효과와 항산화능

한복경¹ · 최혁준¹ · 박영서*
가천대학교 식품생물공학과, ¹(주)비케이바이오

Antimicrobial and Antioxidative Activities of Phytic Acid in Meats

Bok-Kyeong Han¹, Hyeok-Jun Choi¹, and Young-Seo Park*

Department of Food Science & Biotechnology, Gachon University
¹BK bio Co., Ltd.

Abstract

Phytic acid was purified from rice bran and applied to meats. Then, its antimicrobial and antioxidant activities were examined to investigate its availability as a food preservative. When *Salmonella* Typhimurium KCCM 11806 was cultivated in tryptic soy broth added with phytic acid, the growth of *S. Typhimurium* was completely inhibited at the concentration of 1% (w/v) phytic acid. Similarly, the growth of *Escherichia coli* O157:H7 was reduced by 3.0 log scale when 1% (w/v) phytic acid was added to the growth medium. When *Salmonella* Typhimurium was inoculated onto fresh chicken, pork, and beef supplemented with phytic acid followed by incubation at 37°C for 24 hr, the antimicrobial activity of phytic acid was dependent on the concentration of phytic acid, and the growth of *Salmonella* Typhimurium was reduced by 3 log scale at 1% (w/v) phytic acid. When phytic acid was applied to the fresh chicken, pork, and beef, the growth of *E. coli* O157:H7 was reduced by 2.0 log scale at the concentration of 0.5% (w/v) phytic acid. Phytic acid also inhibited the growth of *E. coli* O157:H7 inoculated on cooked meats in a concentration-dependent manner. When fresh meats supplemented with phytic acid were stored at 4°C for 3 days, TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances) values of fresh meats increased as the storage time increased, and decreased significantly at the concentration of 5 mM phytic acid, indicating that phytic acid has antioxidant activity.

Key words: phytic acid, meat, shelf-life, antimicrobial activity, antioxidant

서 론

축산가공업 분야에서 식육이나 식육가공품의 보존기간을 연장시키기 위한 방법 중의 하나로 아질산염, 소르빈산(sorbic acid), 소르빈산칼륨이나 소르빈산칼슘 등과 같은 몇 가지 식품첨가제를 사용하고 있다. 식육 가공제품에서 발색제로 첨가되는 아질산염은 육색의 발현과 안정화(Fox, 1966) 및 풍미 향상(MacDoulla et al., 1975)뿐만 아니라 대표적인 식중독 원인균인 *Clostridium botulinum*의 생육 및 독소 생성 억제 작용(Johnston et al., 1969)과 지방 산패취 발생 억제(Duncan & Foster, 1968) 등과 같은 다양한 작용을 한다. 그러나 식품 내의 잔존 아질산염은 그 자체가 독성을 가지며 다량 섭취하게 되면 혈액의 hemoglobin을 methemoglobin으로 산화시켜 methemoglobin증을 일으

키며(Peter, 1975), 제2급 및 제3급 아민류와 반응하여 발암성 나이트로사민을 생성하기도 한다(Fiddler et al., 1972; Massey et al., 1978). 그러나 아질산염이 가지는 다양한 기능을 대체할 수 있는 물질이 적당하지 않아 부득이 육제품에 아질산염의 사용을 허용은 하되 잔류량을 규제하고 있는 실정이며, 이를 대체할 천연물질을 개발하고자 노력하고 있다. 현재 베이컨을 제조할 때 첨가하는 아질산염은 120 ppm 이상 초과하지 않아야 하며, 아질산염 잔류량은 40 ppm 이하로 규제하고 있다(Korean Food and Drug Administration, 2009).

소르빈산은 국내와 일본에서는 소시지의 방부 목적으로 세절 시 다른 첨가제와 함께 사용되는데 방부제 중에서 작용 pH의 범위가 높은 편에 속하는 장점이 있어 육제품뿐만 아니라 다른 식품에서도 널리 쓰이고 있으나, 육제품에는 2 g/kg 이하의 수준으로 첨가 사용되고 있다(Park, 1991). 한편, 식품 중에 존재하는 지방의 산화를 방지하기 위한 산화방지제로는 아스코르브산, 에리소르브산, 디부틸히드록시톨루엔(BHT), 부틸하이드록시아니솔(BHA), 갈산프로필 등이 사용되고 있는데, 특히 식육제품의 경우 지방

*Corresponding author: Young-Seo Park, Department of Food Science & Biotechnology, Gachon University, Seongnam, 461-701, Korea
Tel: +82-31-750-5378; Fax: +82-31-750-4273

E-mail: ypark@gachon.ac.kr

Received March 27, 2012; revised April 16, 2012; accepted April 20, 2012

함량이 20% 이상 되기 때문에 식육제품의 산화방지를 위해서는 천연항산화능을 지닌 물질의 개발이 요구된다.

피틴산(phytic acid, inositol hexaphosphate)은 자연 식물성 항산화제로서 곡류나 씨앗 등에 1-5%(w/w) 정도 함유되어 있는데(Graf & Eaton, 1990), 이는 곡류 내 총 인산의 60-90%에 해당하는 양이다(Johnson & Tate, 1969; Reddy & Salunkhe, 1981). 피틴산은 인 또는 고에너지 인산그룹이나 양이온의 저장, 세포벽 전구체 등과 같은 씨앗의 발아에 중요한 생리적 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다(Hall & Hodges, 1966; Williams, 1970; Biswas et al., 1978; Loewus & Loewus, 1980). 피틴산은 여러 종류의 식물체로부터 분리 정제할 수 있는데 4-5%의 피틴산이 존재하는 미강으로부터는 묽은 염산으로 추출한 후 KOH 등과 같은 염기나 알코올에 의한 침전법에 의해 분리 정제할 수 있다(Kolchev, 1978). 본 연구팀에서는 미강으로부터 피틴산을 분리 정제 공정을 최적화하여 산업화의 가능성을 보고한 바 있다(Choi et al., 2012). 이에 본 연구에서는 미강으로부터 분리 정제된 피틴산을 식육에 적용하여 식육에서의 항균활성과 항산화능을 조사함으로써 식품보존제로서의 가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 사용균주

본 연구에 사용된 피틴산은 진보(Choi et al., 2012)에서 사용한 방법을 이용하여 미강으로부터 분리 정제하였다. 피틴산의 항균효과를 조사하기 위하여 피검균으로 사용한 *Salmonella* Typhimurium KCCM 11806과 *Escherichia coli* O157:H7 KCCM 40406은 (사)한국종균협회 부설 한국미생물보존센터에서 분양받아 사용하였다.

배지에서 피틴산의 항균효과

미생물 생육배지에서의 *S. Typhimurium* KCCM 11806에 대한 피틴산의 항균효과는 Tryptic soy broth(TSB, Difco, Detroit, MI, USA)에 피틴산을 최종농도가 0.1, 0.5, 1.0% (w/v)가 되도록 각각 첨가한 후 배지의 pH를 식육의 일반적 pH 범위인 5.5, 6.0, 6.5, 7.0로 각각 조정된 다음 *S. Typhimurium* KCCM 11806을 접종하여 이 균주에 대한 피틴산의 시간에 따른 생육 저해도를 600 nm에서의 흡광도로 관찰하였다.

한편, *E. coli* O157:H7에 대한 피틴산의 생육저해효과를 관찰하기 위하여 TSB에 피틴산을 최종 농도가 0.05, 0.1, 0.5, 1%(w/v)가 되도록 각각 첨가한 후 *E. coli* O157:H7 KCCM 40406을 3%(v/v)(1×10^8 CFU/mL) 접종한 다음 37°C에서 8시간 배양한 후 생균수를 측정하였다. 생균수는 10 배 희석된 배양액 0.1 mL를 Tryptic soy agar에 도말한 후 37°C에서 24시간 배양하여 생성된 colony를 계수하여

측정하였다.

식육에서 피틴산의 항균효과

닭고기, 돼지고기 및 소고기의 생육은 시중 마켓에서 구입하여 사용하였다. 생육 10 g에 20 mL의 peptone water를 첨가하고 피틴산을 최종농도가 0.05, 0.1, 0.5%가 되도록 각각 첨가한 후 균질기(HP-93F, TAITEC, Nishikata, Japan)로 마쇄하였다. 여기에 *E. coli* O157:H7을 1 mL(1×10^8 /mL) 분주하고 37°C에서 24시간 배양한 후 배양액 내의 생균수를 측정하였다. 생균수는 배양액을 10 배 희석한 후 희석액 0.1 mL를 TSA 배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 생성된 colony를 계수하여 측정하였다.

한편 생육을 90°C에서 10분간 가열처리한 후에 생육에서의 방법과 동일한 방법으로 처리하여 마쇄한 혼합물에 *E. coli* O157:H7을 접종하여 37°C에서 24시간 배양 후 배양액 내의 생균수를 측정하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정

Buege & Aust(1978)의 방법에 따라 maleic acid buffer(pH 6.5)와 Tween-20으로 제조한 oil emulsion 0.8 mL와 시료 0.2 mL를 혼합한 후 37°C에서 1시간 동안 산화 반응시켰다. 반응 후 반응액 1 mL에 TBA reagent 2 mL를 가하고 15분간 끓인 후 10분간 냉각시켰다. 반응액은 15분간 1,000 rpm에서 원심분리하여 실온에서 10분간 방치한 다음 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였으며, TBARS값은 반응 혼합물 kg 당 $\mu\text{mole malondialdehyde}$ 로 표시하였다.

통계분석

모든 실험은 3 번 반복하여 평균과 표준편차를 구하였으며, 얻은 실험값의 통계분석은 Windows용(ver. 16.0) SPSS(statistical package for the social science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 package를 이용하였으며 Duncan의 중범위검정($\alpha = 0.05$)을 실시하여 유의차를 분석하였다.

결과 및 고찰

식중독 미생물에 대한 피틴산의 항균효과

본 연구팀에서는 미강으로부터 피틴산을 분리 정제하는 공정을 최적화하여 피틴산의 식품보존제로서의 산업화 가능성을 검토한 바 있다(Choi et al., 2012). 이에 본 연구팀에서 미강으로부터 추출 분리 정제한 피틴산이 식중독 미생물에 대하여 항균효과를 지니고 있는지 조사하기 위하여 pH를 조정된 Tryptic soy broth(TSB)에 피틴산을 첨가한 후 *S. Typhimurium* KCCM 11806을 접종하여 이 균주에 대한 피틴산의 생육 저해도를 관찰하였다. 그 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 1%(w/v) 피틴산이 함유된 경우 pH 5.5-7.0의 pH 범위에서 *S. Typhimurium*의 생육을 완전히

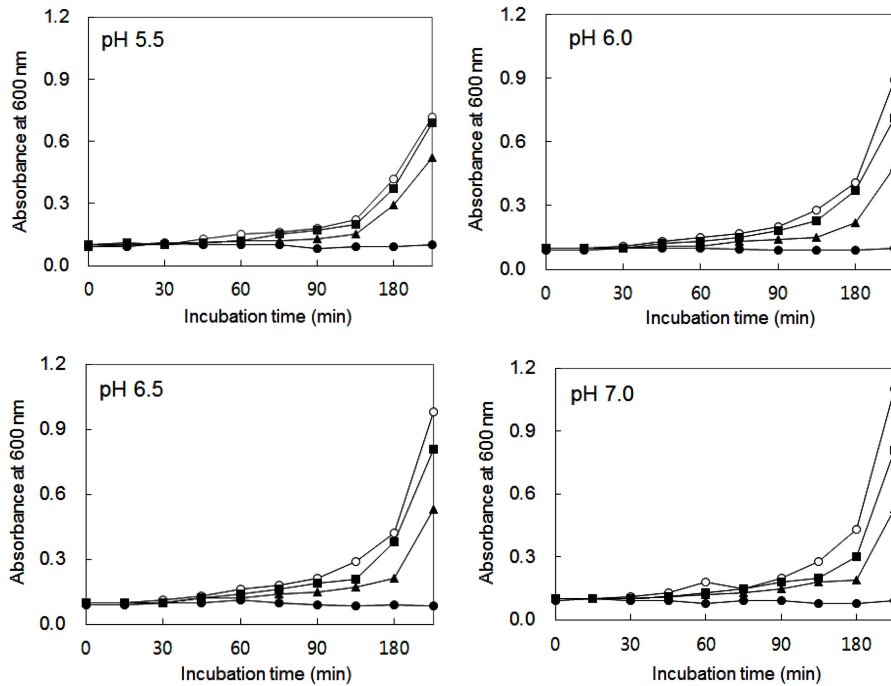


Fig. 1. Antibacterial effect of phytic acid at the final concentrations of 0.1, 0.5, and 1% (w/v) against *Salmonella Typhimurium* KCCM 11806 in Tryptic soy broth. ○, Control; ■, 0.1% phytic acid; ▲, 0.5% phytic acid; ●, 1.0% phytic acid

저해시킴을 확인할 수 있었으며, 0.5%(w/v) 피틴산을 첨가한 경우에는 약 50%의 높은 생육저해효과를 나타내었다. 배지에 피틴산을 0.1%(w/v) 첨가하였을 경우 pH 5.5에서는 항균활성을 나타내지 않았으나 pH 7.0에서는 20% 이상의 생육저해효과를 보여주었다. *S. Typhimurium*은 중성에 가까울수록 잘 증식하였으며, 피틴산의 항균효과 역시 pH가 중성에 가까울수록 높게 나타났다.

한편, 피틴산의 농도에 따른 *E. coli* O157:H7에 대한 생육저해효과를 관찰한 결과 Fig. 2와 같이 피틴산의 *E. coli* O157:H7에 대한 항균 효과는 농도 의존적인 것으로 나타났으며, 0.5%(w/v) 피틴산 첨가 시 약 1.6 log 단위의 생육저해효과를 나타내었으며, 1.0%(w/v) 피틴산 첨가 시 약 3.0 log 단위의 생육저해효과를 확인하였다.

피틴산의 항균효과에 대한 기작은 명확하게 알려져 있지는 않으나 Lee & Hendricks(1997)은 피틴산은 Fe²⁺의 산화를 촉진할 수 있는 ferroxidase의 기능을 가지고 있으며, Fe³⁺과 쉽게 결합하는데, 이러한 과정에서 H₂O₂의 생성과 연관이 있어 세균들을 사멸할 수 있다고 주장한 바 있다 (Klebanoff, 1992; Baek et al., 2007).

생육에서 피틴산의 *Salmonella Typhimurium*에 대한 항균효과

피틴산을 식육에 적용하였을 경우 식육 내에서 항균효과를 나타내는지 확인하기 위하여 신선한 닭고기, 돼지고기, 소고기에 *S. Typhimurium*을 접종하고 37°C에서 24시간 배

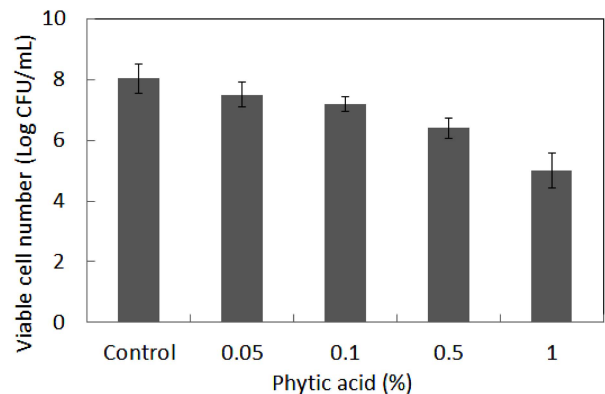


Fig. 2. Antibacterial effect of phytic acid at the final concentrations of 0.05, 0.1, and 0.5% (w/v) on *Escherichia coli* O157:H7.

양한 후 시료 중의 생균수를 측정하여 피틴산의 항균효과를 조사하였다. 그 결과 모든 식육에서 항균효과가 피틴산 농도에 의존적으로 나타났는데, 닭고기의 경우에는 0.5%(w/v)의 피틴산 첨가 시 2.1 log 단위의 생육 감소 효과를 나타냈으며, 1%(w/v)일 경우에는 3.0 log 단위의 항균효과를 나타내었다(Fig. 3A). 돼지고기의 경우에도 0.5%(w/v) 피틴산 첨가 시 약 2.0 log 단위의 생육 감소 효과를 나타냈으며, 1%(w/v)일 경우 3.3 log 단위의 항균효과를 나타내었다(Fig. 3B). 또한 소고기의 경우에도 0.5%(w/v) 이상의 피틴산 농도에 대하여 유의적으로 *S. Typhimurium*의 증식을 억제시켰다(Fig. 3C).

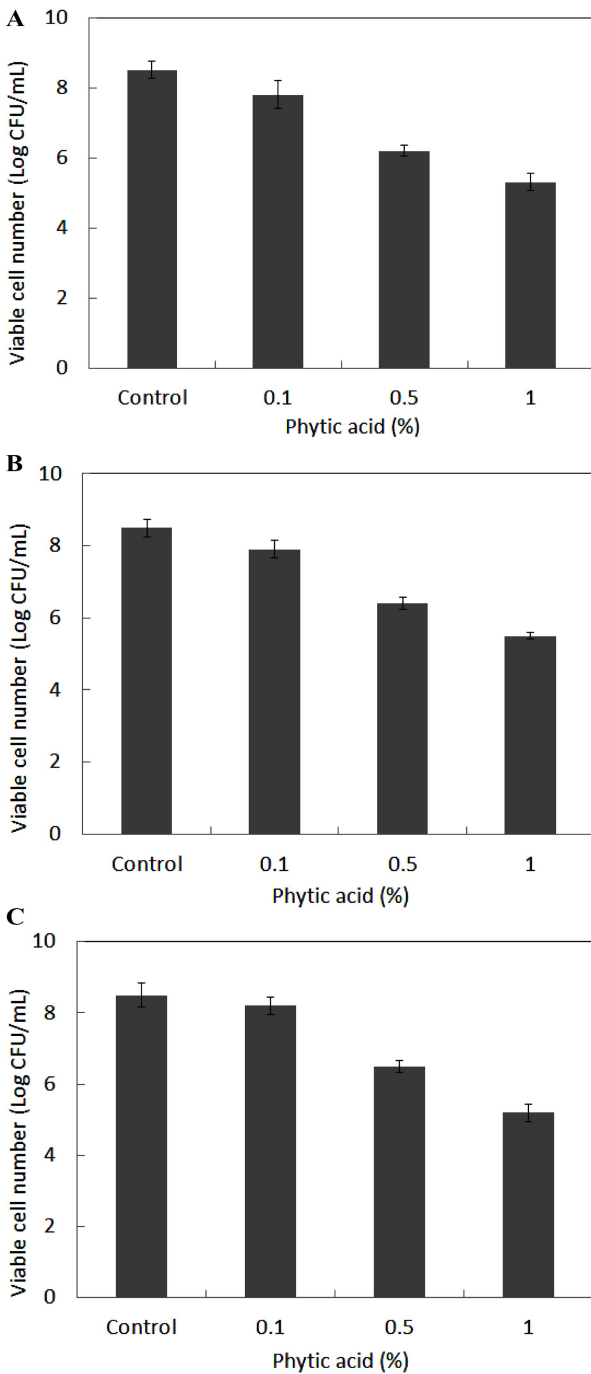


Fig. 3. Antibacterial effect of phytic acid at the final concentrations of 0.1, 0.5, and 1.0% (w/v) against *Salmonella Typhimurium* in chicken breast (A), pork (B), and beef (C).

Lee & Hendricks(1995, 1997)은 피틴산염이 식육의 산패를 방지하고, 육색을 보존시키며, 보수성을 증진시키는 효과가 있다는 것을 보고한 바 있다. 또한 피틴산은 소고기 마쇄 모델에서 철분으로 촉매된 지방 과산화물을 억제시키며, ascorbic acid나 butylated hydroxytoluene(BHT)보다 항산화능이 우수하다고 보고된 바 있으며(Graf & Eaton,

1990), 소고기 패티에 피틴산을 첨가할 경우 육색이 보존되고, 산화 방지와 보존기간 연장 효과가 있음이 보고된 바 있다(Lee et al., 1999). 또한 Hue et al.(2007)은 증균 배지상에서 피틴산의 *S. Typhimurium*에 대한 항균효과는 일반적인 식육 pH 범위인 5.5-7.0 사이에서 모두 유의적으로 나타났는데, 그러한 효과가 pH 5.5보다는 pH 7.0에서 더욱 강하게 나타났다고 보고하여 본 연구결과와 일치함을 알 수 있었다.

생육과 가열 처리된 식육에서 피틴산의 *Escherichia coli* O157:H7에 대한 항균효과

생육과 가열 처리한 식육에 피틴산을 첨가하였을 경우 *E. coli* O157:H7에 대한 항균효과를 조사하기 위하여 신선한 생육인 닭고기, 돼지고기, 소고기에 피틴산을 여러 농도로 첨가한 결과 *E. coli* O157:H7에 대한 항균효과는 피틴산의 농도에 의존적인 것으로 나타났으며, 모든 생육에서 0.5% 피틴산 첨가 시 약 2.0 log 단위의 생육저해 효과를 보여 주었다(Fig. 4). 가열 처리된 식육에서도 첨가된 피틴산 농도에 의존적으로 유의성 있게 증식을 억제하였는데,

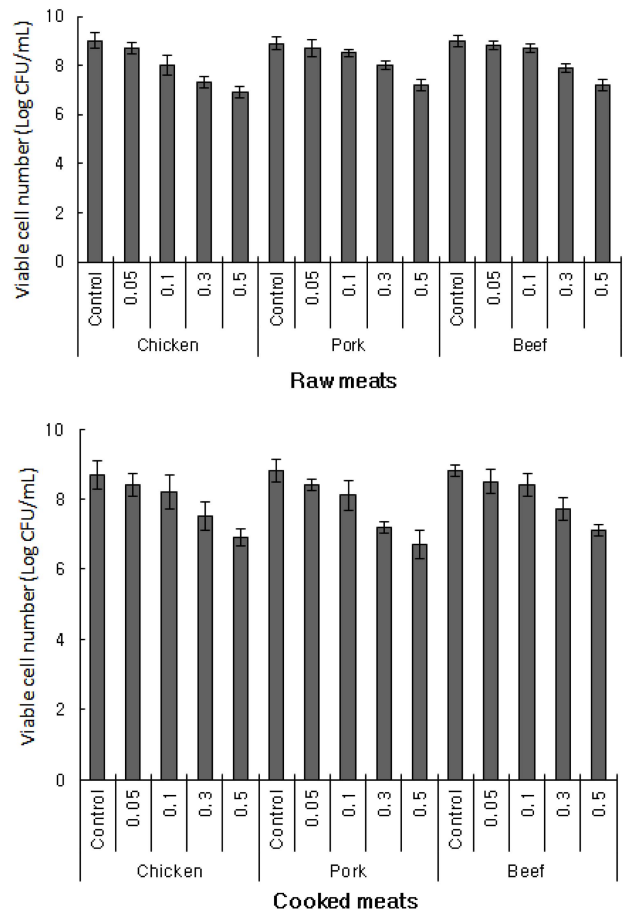


Fig. 4. Antibacterial effect of phytic acid at the final concentrations of 0.05, 0.1, 0.3, and 0.5% (w/v) on *Escherichia coli* O157:H7 in fresh raw meats and cooked meats.

Table 1. Changes in TBARS value in raw and cooked beef homogenates stored for 3 days at 4°C (unit: μ mole malondialdehyde/kg).

Phytic acid (mM)	Storage time (hr)					
	Raw beef			Cooked beef		
	0	24	72	0	24	72
0	ND ¹⁾	26.2±1.3 ²⁾	63.1±2.4 ^b	10.9±0.9 ^a	23.4±1.6 ^a	62.4±3.1 ^a
0.1	ND	25.4±0.9 ^a	68.4±1.8 ^{ab}	8.22±1.0 ^b	13.9±1.3 ^b	69.2±2.4 ^a
1.0	ND	24.2±1.2 ^a	74.9±2.1 ^a	9.51±1.2 ^{ab}	13.1±1.2 ^b	47.6±0.8 ^b
5.0	ND	12.5±1.0 ^b	29.0±1.3 ^c	6.05±0.7 ^c	5.5±0.5 ^c	11.4±0.9 ^c

¹⁾ND: not detected

²⁾ Values with different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

Table 2. Changes in TBARS value in raw and cooked pork homogenates stored for 3 days at 4°C (unit: μ mole malondialdehyde/kg).

Phytic acid (mM)	Storage time (hr)					
	Raw pork			Cooked pork		
	0	24	72	0	24	72
0	1.85±0.7 ^{a1)}	2.47±0.5 ^a	5.04±0.2 ^a	6.20±0.2 ^a	23.5±1.3 ^a	53.2±1.4 ^a
0.1	1.85±0.7 ^a	2.38±0.4 ^a	4.33±0.5 ^{ab}	4.68±0.4 ^b	24.8±2.1 ^a	53.9±1.1 ^a
1.0	1.85±0.7 ^a	2.36±0.4 ^a	4.78±0.4 ^{ab}	4.15±0.3 ^b	14.1±1.6 ^b	43.7±1.8 ^b
5.0	1.85±0.7 ^a	2.11±0.7 ^a	4.19±0.3 ^b	2.51±0.3 ^c	6.55±0.8 ^c	22.1±0.8 ^c

¹⁾ Values with different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

돼지고기에서 0.5% 피틴산 첨가 시 가장 강한 항균효과를 나타내었다(Fig. 4).

Li et al.(2006)은 pH 4.5-7.0의 산성 조건에서 *E. coli* O157:H7에 대한 피틴산의 항균효과를 조사한 결과 pH가 높을수록 항균효과가 더욱 높다고 보고하여 본 연구결과와 일치함을 알 수 있었다.

식육을 이용한 피틴산의 항산화능

식품 보존제로서 피틴산의 유용성을 확인하기 위하여 식육에 여러 가지 농도로 피틴산을 첨가한 후 저장기간에 따른 피틴산의 항산화능을 측정하였다. 소고기 생육에 0.1, 1, 5 mM의 피틴산을 첨가하여 균질화시킨 후 4°C에서 3일간 저장한 다음 생육의 TBARS(thiobarbituric acid-reactive substances) 값을 측정하였다. 그 결과 Table 1에서와 같이 저장기간이 증가함에 따라 TBARS 값이 증가하였으며 피틴산을 5 mM 첨가하였을 때 TBARS 값이 유의적으로 감소함을 알 수 있었다. 가열 처리한 소고기의 경우에도 피틴산의 첨가량이 증가함에 따라 TBARS 값이 감소하는 것으로 나타났다.

돼지고기를 이용하여 동일한 실험을 수행하였을 경우에도 생육과 가열처리한 식육의 경우 모두 피틴산을 5 mM 첨가하였을 때 TBARS 값이 유의적으로 감소하는 것으로 나타나 피틴산이 항산화능이 우수한 것으로 확인되어 식품 보존제로서 이용할 수 있을 것으로 판단되었다(Table 2).

피틴산의 항산화작용은 철 이온을 킬레이트함으로써 촉매된 철이 OH 기를 가진 자유 라디칼의 형성을 억제하기

때문으로 알려져 있는데, 피틴산은 철 이온과 결합하여 철 이온에 의해 촉매되는 산화반응을 효과적으로 억제한다고 하였다(Graf & Empson, 1987). 피틴산은 다른 킬레이트 화합물과는 달리 철 이온에 물 분자를 배워하지 않고 착화합물을 형성할 수 있으며, 철이온에 의해 촉매되는 Fenton 반응을 억제하고, Harber-Weiss 사이클에서 OH 라디칼이 생성되는 것을 저해함으로써 항산화능을 지닌다고 하였다(Graf et al., 1984). 또한 피틴산은 ascorbic acid의 산화를 방지하고 sorbic acid를 안정화시키며, 지방과 오일의 과산화와 분해를 방지하는 효과를 지니고 있다(Niwa et al., 1967).

요 약

미강으로부터 분리 정제된 피틴산을 식육에 적용하여 식육에서의 항균활성과 항산화능을 조사함으로써 식품보존제로서의 가능성을 확인하였다. 피틴산이 첨가된 Tryptic soy broth에 *S. Typhimurium* KCCM 11806을 배양하였을 경우 1%(w/v) 피틴산 첨가 시 *S. Typhimurium*의 생육을 완전히 저해시켰다. *E. coli* O157:H7에 대한 항균 효과는 1.0%(w/v) 피틴산 첨가 시 약 3.0 log 단위의 생육저해효과를 확인하였다. 신선한 닭고기, 돼지고기, 소고기에 *S. Typhimurium*을 접종하고 피틴산을 첨가하여 37°C에서 24시간 배양하여 피틴산의 항균효과를 조사한 결과 모든 식육에서 항균효과가 피틴산 농도에 의존적으로 나타났으며 1%(w/v) 피틴산 첨가 시 약 3.0 log 단위의 항균효과를 나타내었다. 생육인

닭고기, 돼지고기, 소고기에 피틴산을 여러 농도로 첨가한 결과 *E. coli* O157:H7에 대한 항균효과는 모든 생육에서 0.5% 피틴산 첨가 시 약 2.0 log 단위의 생육저해 효과를 보여 주었으며, 가열 처리된 식육에서도 첨가된 피틴산 농도에 의존적으로 유의성 있게 증식을 억제하였다. 생육에 피틴산을 첨가하여 4°C에서 3일간 저장할 경우 저장기간이 증가함에 따라 TBARS(thiobarbituric acid-reactive substances) 값이 증가하였으며 피틴산을 5 mM 첨가하였을 때 TBARS 값이 유의적으로 감소하여 식육에서의 항산화능을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림수산식품 연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Baek DJ, Hue JJ, Lee YE, Lee KN, Nam SY, Yun YW, Jeong JH, Lee SH, Lee BJ. 2007. Antibacterial activity of sodium phytate against *Salmonella typhimurium* in meats. *J. Food Hyg. Safety* 22: 382-387.
- Biswas S, Maity IB, Chakrabarti S, Biswas BB. 1978. Purification and characterization of myo-inositol hexaphosphate-adenosine diphosphate phosphotransferase from *Phaseolus aureus*. *Arch. Biochem. Biophys.* 185: 557-566.
- Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52: 302-310.
- Choi MS, Choi HJ, Han BK, Park YS. 2012. Optimization of extraction and purification of phytic acid from defatted rice bran. *Food Eng. Prog.* 15: 276-281.
- Duncan C, Foster EM. 1968. Effect of sodium nitrite sodium chloride and sodium nitrite on germination and outgrowth of anaerobic spores. *Appl. Microbiol.* 16: 406-409.
- Fiddler W, Piotrowski EG, Pensabene JW, Doerr RC, Wasserman AE. 1972. Effect of sodium nitrite concentration on N-nitrosodimethylamine formation in frankfurters. *J. Food Sci.* 37: 668-670.
- Fox JR. 1966. Chemistry of meat pigments. *J. Agric. Food Chem.* 14: 207-210.
- Graf E, Eaton JW. 1990. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radical Biol. Med.* 8: 61-69.
- Graf E, Empson KL. 1987. Phytic acid. A natural antioxidant. *J. Biol. Chem.* 262: 11647-11650.
- Graf E, Mahoney JR, Bryant RG, Eaton JW. 1984. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation. Stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol. Chem.* 259: 3620-3624.
- Hall JR, Hodges TK. 1966. Phosphorus metabolism of germinating oat seeds. *Plant Physiol.* 41: 1459-1464.
- Hue JJ, Li L, Lee YE, Lee KN, Nam SY, Yun YW, Jeong JH, Lee SH, Yoo HS, Lee BJ. 2007. Antibacterial activity of sodium phytate and sodium phosphates against *Escherichia coli* O157:H7 in meats. *J. Food Hyg. Safety* 22: 37-44.
- Johnson LF, Tate ME. 1969. Structure of phytic acids. *Can. J. Chem.* 47: 63-73.
- Johnston MA, Pivnick H, Samson JM. 1969. Inhibition of *Clostridium botulinum* by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meat. *J. Can. Inst. Food Technol.* 2: 52-55.
- Klebanoff SJ. 1992. Bactericidal effect of Fe²⁺, ceruloplasmin, and phosphate. *Arch. Biochem. Biophys.* 295: 302-308.
- Kolchev LA. 1978. Method for producing phytin. US Patent No. 4070422.
- Korean Food and Drug Administration. 2009. Official Book for Food. Seoul, Korea, p. 200.
- Lee BJ, Hendricks DG. 1995. Phytic acid protective effect against beef round muscle lipid peroxidation. *J. Food Sci.* 60: 241-244.
- Lee BJ, Hendricks DG. 1997. Metal-catalyzed oxidation of ascorbate, deoxyribose and linoleic acids as affected by phytic acid in a model system. *J. Food Sci.* 62: 935-938.
- Lee BJ, Lee YS, Cho MH. 1999. Effects of carnosine and phytate on water-holding capacity, color, and TBA values in a dilute beef model system. *Food Sci. Biotechnol.* 8: 118-123.
- Li L, Hue JJ, Lee YE, Nam SY, Yun YW, Jeong JH, Lee SH, Yoo HS, Lee BJ. 2006. Antibacterial activity of sodium phytate and sodium phosphates against *Escherichia coli* O157:H7 in acidic pH. *Korean J. Vet. Publ. Hlth.* 30: 19-25.
- Loewus FA, Loewus MW. 1980. The Biochemistry of Plants. Preiss J. (ed) Vol. 3, Academic Press, New York, USA, pp. 43-76.
- MacDoulla DB, Mottram DS, Rhodes DN. 1975. Contribution of and nitrite and nitrate to the color and flavor of cured meat. *J. Sci. Food Agric.* 26: 1743-1754.
- Massey RC, Crews C, Davies R, McWeeney DJ. 1978. A study of the competitive nitrosations of pyrrolidine, ascorbic acid, cysteine and p-cresol in a protein based model system. *J. Sci. Food Agric.* 29: 815-821.
- Niwa S, Imbo Y, Katayama R, Katayama N, Hattori I, Ishida A. 1967. Vitamin. *Chem. Abstr.* 67: 76250k.
- Park HK. 1991. Science and Application of Meats. Sunjin Munh-wasa, Seoul, Korea, pp. 128-131.
- Peter FS. 1975. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric.* 26: 1761-1770.
- Reddy NR, Salunkhe DK. 1981. Interactions between protein and minerals in whey fractions of black gram. *J. Food Sci.* 46: 564-568.
- Williams SG. 1970. The role of phytic acid in the wheat grain. *Plant Physiol.* 45: 376-381.