

# Aspergillus parasiticus R-716의 aflatoxin 생성저해 물질에 관한 연구 —효과적인 채소추출 및 그 영향—

정덕화, 김종규\*, 장진규\*\*, 최수철  
경상대학교, 서울대학교 보건대학원\*, 한국인삼연조연구소\*\*

## Studies on the inhibitor of aflatoxin production by Aspergillus parasiticus R-716 —Effective extraction of vegetables and their effects—

Duck-Hwa Chung, Jong-Kyu Kim\*, Jin-Kyu Jang\*\* and Soo-Chul Choi  
Gyeongsang Nat. Univ., School of Public Health, Seoul Nat. Univ.\*,  
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute\*\*

**ABSTRACT**-In this study, the effective extraction of 5 vegeitables, which have been shown to inhibit the growth of the aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* R-716, was investigated and their effects were examined. Radish, cabbage, garlic and zinger were effectively extracted with water-chloroform, but crown daisy with n-hexane.

Among them, water-chloroform extract of radish was remarkably effective, and garlic extract only inhibited the growth stongly. The growth and the aflatoxin production of the strain were showed 0.758g/25ml, 763ug/25ml with the addition of water-chloroform extract equivalent 15g of raw radish, and an increase in the level of radish extract resulted in a decrease both the growth and the aflatoxin production per mycerial weight.

**Keywords** □ *Aspergillus parasitius* R-716, inhibitor, Aflatoxin-production, Radish

가축의 肝에 치명적인 손상을 주는 것으로 알려진 aflatoxin은 *Aspergillus* 속 및 *Penicillium* 속 등과 어떤 진균류가 생산하는 2 차 대사산물로서 이미 발암물질로 알려진 dimethyl-nitrosoamine 보다도 약 3750배의 높은 발암유기력을 나타낸다고 발표된 후<sup>1)</sup>, 사료는 물론 양곡이나 여러 식품이 aflatoxin에 오염될 가능성으로 관심을 크게 끌게 되었다<sup>2)</sup>.

특히 농산물에서의 mycotoxin 오염방지는

mycotoxic fungi를 억제하는 일이며, 이것은 환경의 조절, 항곰팡이제의 사용 및 농산물이 가지는 自然的 抵抗因자의 이용이 효과적이며, 그중 환경의 조절 및 항 곰팡이제에 의한 aflatoxin 생성억제에 관한 연구는 비교적 많이 되어왔다<sup>3-6)</sup>.

최근 들어 약초류를 포함한 농산물이 함유하고 있는 특수성분이 미생물의 생육 및 mycotoxin과 같은 2 차 대사산물의 축적을 억제하는 작용이 있음에 근거하여 이 분야에 관한 관심이 대두되기 시작하였다<sup>5)</sup>.

Mycotoxin 생성억제에 관한 연구로는 Swamianthan은<sup>6)</sup> white potato에서 caffeic acid와 비슷하나 orthodihydroxy기가 없는

Received for publication; 14 October 1986 ;  
accepted 3 November 1986  
Reprint requests; Dr D.H. Chung at the above  
address

hydroxy-cinnamic acid가 *Aspergillus parasiticus*의 생육 및 aflatoxin 생성에 대해 저해력이 높다고 했으며, Hitokoto 등은<sup>7)</sup> 후추의 chloroform 추출물과 고추가루가, Sharma 등은<sup>8)</sup> 양파추출물이, Nortowicz 등은<sup>9)</sup> coffee bean에서 추출한 caffein이 각각 *Aspergillus flavus* 또는 *Aspergillus parasiticus*의 aflatoxin 생성을 억제한다고 보고한 것을 비롯하여 상당한 보문이 발표되었다<sup>10-14)</sup>.

이와같은 광범위한 외국의 연구와는 달리 국내에서는 부분적으로 대두발효식품, 변질미, 및 기타 발효식품에서 aflatoxin 생성균을 분리 동정하고, aflatoxin 생성을 확인한바 있으나<sup>15-17)</sup> 곡물을 주식으로 하고 발효식품을 많이 섭취하고 있는 우리나라 실정을 고려할 때 전국적인 규모로 aflatoxin의 오염상태와 aflatoxin 생성균의 검색은 물론 배양학적 조건들을 조사하는 동시에 aflatoxin의 오염억제 방안을 체계적으로 연구할 필요성과 aflatoxin으로부터의 오염가능성을 방지할 필요성이 절실히 요청되나 아직도 이 분야에 대한 연구는 대단히 미흡하다.

이와같은 실정과 우리나라 기후의 특성을 감안하여 저자는 각종 시료로부터 aflatoxin 생성능이 강한 균을 분리 동정하고<sup>18)</sup> temperature cycling을 시키면서 공시균의 aflatoxin 생산성을 검토하였고<sup>19)</sup>, 또한 우유를 비롯한 15종의 채소를 chloroform으로 추출물을 조제하여 이들 추출물이 공시균의 생육 및 aflatoxin 생성에 미치는 영향을 조사한 바가 있다<sup>20)</sup>. 본보에서는 전보에서 얻은 결과를 토대로 공시균의 생육 또는 aflatoxin 생성에 효과를 나타낸 쑥갓 등 5종의 채소성분을 효과적으로 추출하고 공시균에 대한 영향을 좀더 자세히 알기위해 몇가지 실험을 하여 그 결과를 보고하는 바이다.

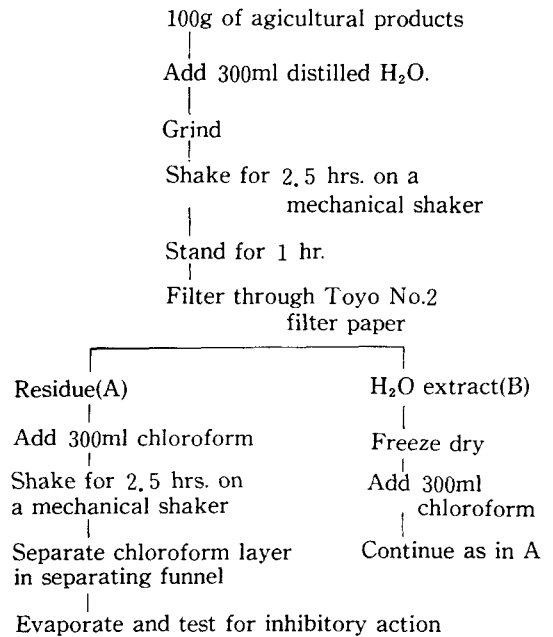
**재료 및 방법**

**공시균주 및 재료**—실험에 사용한 공시균주는 보관중인 *Aspergillus parasiticus* R-716이었고 사용된 채소는 전<sup>20)</sup>에서 공시균의 생육 또는 aflatoxin 생성에 효과를 나타낸 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.), 무우(*Raphanus*

*sativus* L.), 양배추(*Brassica oleracea var sativum* L.), 생강(*Zingiber officinale* Bascoe) 및 마늘(*Allium sativum* L.)이었다.

**채소추출물의 조제방법**—Batt 등의<sup>21)</sup> 방법에 따라 공시균에 대하여 aflatoxin 생성저해능이 있는 채소류인 양배추, 쑥갓, 무우, 마늘 및 생강 100g에 각종 유기용매(chloroform, petroleum ether, benzene, n-hexane, water-chloroform) 200ml을 첨가하여 마쇄한 후 1000ml 삼각 flask에 옮기고 다시 각각의 추출용매 100ml로 완전히 씻어 넣은 후, Hitokoto 등의<sup>7)</sup> 방법과 같이 추출, 여과하여 유기용매층만을 모아 감압농축시켜 사용하였다. 추출용매로 water-chloroform을 사용할 경우는 Fig.1과 같이 처리하여 채소추출물을 조제하여 상기와 같은 방법으로 보관, 용해시켜 사용하였다.

**배양방법**—SLS 배지 25ml을 300ml 삼각 flask에 넣고 살균한 다음 필요한 농도의 각종 채소추출물을 첨가하여 포자현탁액을 무균적으로 접종한 다음 배양하면서 경시적으로 공시균의 생육 및 aflatoxin 생성저해유무를 관찰하였다.



**Fig.1. Extraction procedure of agricultural products using water and chloroform separately.**

**Aflatoxin의 정제 및 정량**—1) Aflatoxin 추출, 정제; 시료중의 aflatoxin 추출은 AOAC法<sup>22)</sup>에 준하였다. 즉, 액체배지 25ml에 동량의 chloroform을 가하여 2.5시간 진탕시켜 추출하거나 고체배양을 30g에 증류수 15ml, chloroform 150ml 및 규조토 15g을 가하여 waring blender로 5분간 추출하였다. 이 각각의 추출물을 2.5시간 진탕시킨 다음 규조토를 균일하게 깐 Büchner funnel로 여과한 후 분액여두로 분획하여 chloroform 층만 분리한 후 50ml로 감압농축해서 column chromatography를 하였다.

먼저 glass filter가 부착된 22×30mm column에 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5g을 가하고 chloroform을 1/2정도 채웠다. 그 위에 chloroform으로 현탁하여 활성화된 silicagel 10g을 가하여 15분간 방치한 다음, 15g의 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 다시 첨가하였다.

이렇게 충전된 column에 chloroform 추출물 150ml를 흡착시킨 후 유속 10~20ml/min이 되게 질소 gas로 조절하여 n-hexane 150ml와 ethyl ether 150ml로 지방과 색소를 제거하였으며, column에 흡착된 aflatoxin은 chloroform:methanol(97:3)의 혼합액으로 용출시켜 이 용출액을 감압농축하여 소량의 chloroform으로 vial에 씻어 진공건조기에서 상온건조하였다. 2) Aflatoxin 정량; aflatoxin은 high pressure liquid chromatography(HPLC)를 이용하여 Table 1과 같은 조건으로 분석하여 미리 작성해둔 표준 aflatoxin의 HPLC 검량곡선에 의해 산출하였다.

**Table 1. Condition of high pressure liquid chromatography for the analysis of aflatoxin.**

Type	WATERS MODEL 244
Detector	UV 365nm
Column	Bondapak C <sub>18</sub>
Flow rate	1ml/min.
Solvent	H <sub>2</sub> O:MeOH:Acetonitrile=50:25:10
Chart speed	0.5cm/min.
Sensitivity	0.01~0.5 Afs.

\*Absorbance unit: full scale.

## 결과 및 고찰

전보<sup>20)</sup>에서 얻은 결과를 토대로 균의 생육을 강하게 저해하였거나 또는 aflatoxin 생성저해에 효과를 나타낸 쑥갓을 비롯한 5가지 채소의 성분을 효과적으로 추출하고 공시균에 대한 작용을 좀더 자세히 확인하기 위해 chloroform, pet. ether, benzene, n-hexane 등의 유기용매 및 water-chloroform으로 동일시료의 성분을 다양하게 추출하여 추출물을 조제한 다음, 마늘은 2g/25ml, 그외는 15g/25ml에 해당되는 농도의 추출물을 배양액에 첨가하여 배양하면서, 공시균의 생육 및 aflatoxin 생성에 미치는 영향을 조사하였다. 생육에 대한 영향은 Table 2에서 보는바와 같이 동일한 시료 일지라도 추출 유기용매에 따라 상이한 값을 나타내었다.

즉, 쑥갓은 n-hexane 추출군에서는 생육 저해도가 chloroform에 비해 약 4% 향상되었으나 ether, benzene 처리군은 오히려 대조군보다 높아 쑥갓 성분의 추출에 효과적인 유기용매는 n-hexane으로 나타났다.

무우의 경우는 chloroform, water-chloroform 추출법이 양호하였고 water-chloroform 처리군의 경우 0.785g/25ml의 균체가 생성되어 23%의 생육저해를 보였고, 양배추와 생강의 경우도 water-chloroform 추출법이 효과적이었다. 또한 마늘은 2g에 해당하는 추출물의 첨가로 chloroform, benzene, water-chloroform 처리군에서 완전히 균의 생육이 억제되었다.

그런데 aflatoxin 생성경향은 Table 3처럼 다양하여 양배추, 생강, 마늘의 경우 강한 생육저해 작용에도 불구하고 균체 g당 aflatoxin 생성이 대조군보다 증가하였고 특히 pet. ether 처리군은 모든 구간에서 가장 효과가 적게 나타났다.

또한 쑥갓, n-hexane 처리군의 경우는 17%의 생육저해에 비해 20% aflatoxin 생성저해를 가져왔으며, 무우의 water-chloroform 추출군에서는 23%의 생육저해에 비해 aflatoxin 생성은 대조군의 56%인 763 μg/25ml가 생성되었다. 특히 마늘은 강력한 항균작용과는 달리, 생육이 가능했던 pet. ether, n-hexane의 처리군에서 보면 대체로 생육저해에 비해 aflatoxin 생성저해는 약하게 나

**Table 2. Effect of various solvent extracts of agricultural products on growth of *Aspergillus parasiticus* R-716.**

Agricultural products*	Extraction solvent	Final pH	Sporulation***	Mycellium Dry weight (g)	% Control
Control		2.3	+++	0.985	100
Chrysanthemum coronarium L.	Chloroform	2.5	++	0.858	87
	Pet. ether	2.0	+++	1.054	107
	Benzene	2.1	+++	1.015	103
	n-Hexane	2.8	++	0.817	83
	water-chlor.	2.7	++	0.836	85
Raphanus sativa L.	Chloroform	2.6	+	0.767	78
	Pet. ether	2.0	++	1.045	106
	Benzene	2.5	+	0.797	81
	n-Hexane	2.6	++	0.906	92
	Water-chlor.	2.5	+	0.758	77
Brassica oleracea var capitata L.	Chloroform	2.2	++	0.845	86
	Pet. ether	2.2	+++	1.032	105
	Benzene	1.9	+++	0.876	89
	n-Hexane	2.2	++	0.895	91
	Water-chlor.	2.3	++	0.827	84
Zingiber officinale	Chloroform	3.6	+	0.570	58
	Pet. ether	2.4	+++	1.054	107
	Benzene	3.2	+	0.739	75
Roscoe	n-hexane	3.2	+	0.687	70
	Water-chlor.	3.0	+	0.551	56
	Chloroform	4.5	-	-****	-
Allium sativa L. **	Pet. ether	3.8	-	0.324	33
	Benzene	4.5	-	-	-
	n-Hexane	3.3	+	0.768	78
	Water-chlor.	4.5	-	-	-

\*15g equivalent. weight, \*\*2g equivalent weight, \*\*\*+ : poor, ++ : middle, +++ : good, \*\*\*\*No detectable growth.

타났다. Batt 등도<sup>21)</sup> 각종 유기용매를 써서 75g의 당근을 추출하여 ethanol 첨가균과 대조시켜 본 결과 chloroform 추출물이 가장 크게 aflatoxin 생성을 저해하였다고 보고 하였다.

한편 공시균의 생육과 aflatoxin 생성저해에 양호한 결과를 보인 쭈갓의 n-hexane 추출물, 무우의 water-chloroform 추출물을 서로 다른 농도로 첨가하여 공시균의 aflatoxin 생성에 미치는 효과를 검토한 결과는 Table 4와 같다.

먼저 쭈갓의 경우 SLS 배지 25ml 5, 10, 15, 20, 25g에 해당되는 n-hexane 추출물을 가할경우, 5g 첨가시에는 약간 균의 증식이 촉진되었으나 15g에 해당되는 추출물 첨가로 1091 µg/25ml의 aflatoxin이 생성되어 g당 aflatoxin 생성량은

1335 µg에 이르렀다.

마늘의 경우는 아주 소량의 첨가(1.5g)로도 완전히 생육은 억제되었으나, 1.0g 첨가시 0.503g/25ml의 균체와 791 µg/25ml의 aflatoxin이 생성되어 균체 g당 aflatoxin 생성은 1572 µg으로 대조균보다 높게 나타남으로서 마늘의 경우는 aflatoxin 생성저해보다 생육억제작용이 강하게 나타났다.

Anderson 등도<sup>24)</sup> 본 실험에서와 같이 dextrose broth에서 산패세균 및 효모류에 대한 마늘, 양파 및 mustard 등의 항균효과를 관찰한 바 있으며, Mano 등도<sup>25)</sup> 마늘의 알콜 추출물이 세균성장에 강한 저해작용이 있음을 보고하는 등, 마늘의 살균 및 항 미생물작용에 대한 영향을 상당

**Table 3. Effect of various solvent extracts of agricultural products on aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* R-716.**

Agricultural product *	Extraction	Aflatoxin ( $\mu\text{g}/25\text{ml}$ )					
		B 1	B 2	G 1	G 2	Total	% Control
Control		782	143	367	74	1365	100
	Chloroform	626	134	296	89	1145	84
Chrysanthemum coronatum L.	Pet. ether	1036	126	278	87	1527	112
	Benzene	666	182	447	62	1357	100
	n-Hexane	621	42	331	97	1091	80
	Water-chlor.	578	168	365	75	1186	87
	Chloroform	709	55	166	11	941	69
Raphanus sativa L.	Pet. ether	686	285	377	143	1391	102
	Benzene	579	186	303	77	1145	84
	n-Hexane	653	196	189	94	1132	83
	Water-chlor.	506	39	187	31	763	56
	Chloroform	736	37	352	75	1200	88
Brassica oleracea var. capitata L.	Pet. ether	681	187	396	105	1369	100
	Benzene	858	178	387	86	1309	96
	n-Hexane	917	121	401	88	1527	106
	Water-chlor.	721	159	278	110	1268	92
	Chloroform	784	72	341	89	1286	78
Zingiber officinale	Pet. ether	819	97	594	82	1691	124
	Benzene	731	112	321	172	1336	98
Roscoe	n-Hexane	761	160	298	76	1295	95
	Water-chlor.	467	95	316	104	982	72
	Chloroform	- ***	-	-	-	-	-
Allium sativa L. **	Pet. ether	370	156	158	50	736	54
	Benzene	-	-	-	-	-	-
	n-Hexane	687	171	286	69	1213	89
	Water-chlor	-	-	-	-	-	-

\*15g equivalent weight. \*\*2g equivalent weight. \*\*\*No detectable toxin.

히 많이 보고되어 있다.

한편 무우의 water-chloroform 추출물은 전 구간에서 aflatoxin 생성력이 생육에 비해 크게 떨어졌으며 25g 첨가군의 경우 전체 g당 aflatoxin 생성량이 382  $\mu\text{g}$  으로서 대조군의 1381  $\mu\text{g}$  에 비해 크게 감소되어, 결과적으로 무우가 본 실험에서 목적하는 가장 효과적인 저해물질을 함유한 채소로 검색되었다.

이와같은 현상은 당근종자유에서와 마찬가지로 <sup>21)</sup> 대수기에서 allylisothiocyanate 와 같은 항균제에 의해 일차적으로 균체성장이 억제되고, 그 결과 효소계에 이상이 생겨 대사작용이 지연되는 aflatoxin 등의 2 차대사산물의 축적이 감소되는 것으로 생각된다.

Grim 은 <sup>26)</sup> 채소류가 함유한 천연저항인자를 농

산물저장에 이용하기 위해 서양고추냉이, 마늘, 양파껍질 10~20%를 첨가한 결과, 양파의 경우 lachrymatory factor 가 강력한 항균활성을 가지며 그 주성분은 thio-propanol-s-oxide 라고 하였으나, *Aspergillus* 속의 mycotoxin 생성과 관련된 무우의 영향을 조사한 바는 아직 찾아볼 수 없었다.

## 결론

전 보에서 *Aspergillus parasiticus* R-716의 생육 또는 aflatoxin 생성에 효과를 나타낸 쑥갓 등 5종의 채소성분을 효과적으로 추출하여 그 영향을 알아 본 결과는 다음과 같았다. 즉, 효과적인 추출법은 무우, 양배추, 마늘, 생강의 경우 water

**Table 4. Aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* R-716 increasing concentration of extract of agricultural products.**

Extract*	Tissus equivalent weight (g)	Mycelium Dry weight (g)	Aflatoxin ( $\mu\text{g}/25\text{ml}$ )					
			B 1	B 2	G 1	G 2	total	% Control
Control		0.986	782	143	367	74	1364	100
A	5	0.992	736	168	464	35	1403	103
	10	0.916	684	167	391	26	1628	93
	15	0.817	621	42	311	97	1091	80
	20	0.694	427	59	193	34	813	59
	25	0.527	405	53	152	9	609	44
B	5	0.942	641	179	346	61	1227	90
	10	0.865	478	149	282	73	982	72
	15	0.758	506	39	187	31	763	56
	20	0.601	203	88	104	17	412	30
	25	0.418	85	22	52	-	159	12
C	0.5	0.898	684	188	415	104	1391	102
	0.75	0.710	486	140	391	62	1097	79
	1.0	0.503	498	84	187	22	792	58
	1.25	0.286	185	32	71	15	305	22
	1.5	-	-	-	-	-	-	-

\*A: n-hexane extract of *Chrysanthemum coronarium* L.

B: Water-chloroform extract of *Raphanus sativus* L.

C: Chloroform extract of *Allium sativum* L.

-chloroform 으로, 쪽갓은 n-hexane 에 의한 방법이었다. 그중 무우의 water-chloroform 엑기스가 가장 효과적이었고, 마늘은 강력한 생육저해만 보였다. 무우의 15g 에 해당하는 water-chloroform 엑기스 첨가로 균체와 aflatoxin 이 0.758g/25ml, 763 $\mu\text{g}/25\text{ml}$  이 생성되어 대조군에 비해 균체 g 당 aflatoxin 함량이 감소되었다.

#### 참고문헌

1. Wogon G.N., and Newbern P.M., Dose-response characteristics of Aflatoxin B1 carcinogenesis in the rat., *Cancer.*, **27**, 2307(1967).
2. Sargeant K., A. Sheridan, J. Okelly, and R.B.A. Carnaghan, 1961. Toxicity associated with certain samples of ground nuts, *Nature*, **192**, 1096(1961).
3. Bean G.A., Klarman W.L., Rambo G.W. and Sanford J.B.. Dimethyl sulfoxide inhibition of aflatoxin synthesis by *A. flavus*, *Phytopathology*, **61**, 380.
4. Hsieh D.P.H., Inhibition of aflatoxin biosynthesis by dichlorovos, *J. Agr. Food Chem.*, **21**, 468(1973).
5. Prasad H. & V. Joshi, The preservative value of spices used picking raw fruits in India, *J. Ind. End. Chem.*, **24**, 402(1929).
6. Swamiathan B. and P.E. Koehler, Isolation of inhibitor of *Aspergillus parasiticus* from white potato, *J. of Food Sci.*, **41**, 313(1976).
7. Hitokoto H., S. Moruzumi, T. Wiuke, S. Sakai and I. Ueno., Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth, *Mycopathologia* **66** (3), 161(1978).
8. Sharma A., Tewari G.M., Shrikhanda A. J., Padwal-Dest S.R. and Bandyopadhyay, C., Inhibition of aflatoxin producing fungi by onion extracts, *J. Food Sci.*, **44**(1945).
9. Nartowicz V.B., R.L. Buchanan and S. Segall., Aflatoxin production in regular and decaffeinated coffee beans, *J. Food*,

- Sci.*, **44**(2), 446(1979).
10. Tsai W.Y.J., J.H. Moy, W.K. Nip and H. A. Frank, Stimulation of aflatoxin production in media supplemented with taro, *J. Food, Sci.*, **46**, 1274(1981).
  11. Bahk, J.R., and E.H. Marth, Growth and synthesis of aflatoxin by *Asp. parasiticus* in the presence of ginseng products, *J. Food Prot.*, **46**, 210(1983).
  12. Batt C., M. Solberg, and M. Ceponis, Effect of volatile components of carrots seed oil on growth and aflatoxin production by *Asp. parasiticus*, *J. Food Sci.*, **48**, 762(1983).
  13. Ray I.I. and L.B. Bullerman, Preventing growth of potentially toxin molds using antifungal agents, *J. Food prot.*, **45**, 953(1982).
  14. Buchanan R.L., M.A. Harry and M.A. Gealt. Caffeine inhibition of sterigmatocystin, citrinin and patulin production, *J. Food Sic.*, **48**, 1226(1983).
  15. 이태령, 이상규, 식품중 유독성 대사산물에 관하여 (제 1 보). 수종의 한국 대두발효식품 중 aflatoxin 유무의 검색에 관하여, 한국식품과학회지, **1**, 78(1969).
  16. 이관령, 이서래, 국내의 변질이에서 분리된 *Aspergillus flavus* 의 aflatoxin 생성능, 한국식품과학회지, **6**(3), 196(1974).
  17. 김용화, 황보정숙, 이서래, 몇가지 한국식품 중 aflatoxin 의 검출, 한국식품과학회지, **9**(1), 73(1977).
  18. 정덕화, 김찬조, Aflatoxin 생성균의 분리 및 초기 PH, Zn 의 영향, 한국산업미생물 학회지, **14**(1), 1-9(1986).
  19. 정덕화, 정영철, 성낙계, 고체배지에서 aflatoxin 생성능에 미치는 temperature cycling 의 영향, 한국환경위생학회지, **12**(1), 39-45(1986).
  20. 정덕화, 김찬조, *Asperigillus parasiticus* R-716의 생육 및 aflatoxin 생성에 미치는 채소 추출물의 영향, 대한위행 학회지, **1**(1) (1986).
  21. Batt C., M. Solberg, and M. Ceponis, Inhibition of aflatoxin production by carrot extract, *J. Food, Sci*, **45**, 1210(1980).
  22. AOAC, Official Methods of Analysis, 12th Ed(1975).
  23. Dong M.W., and J.L. Dicesare, Improved food analysis using high speed liquid chromatography, *Food Technology*, **58**(1983).
  24. Anderson E.E., Esslen W.B., and Handleme N.A.R., The effect of essential oil son the inhibition and thermal resistance of microorganisms in acid food products, *Food Res.*, **18**, 40(1953).
  25. Mano. Daiji., The inhibitory action of some plant extracts on bacterial growth. II, Changes in the susceptibiity to antibiotics of the strains of bacterial adapted by culturing with a fraction from *Allium sativum*, *Nippon Sailinfaku Zasshi*, **17**, 417(1962).
  26. Grimm A.I., Use of anticeptic and antibiotic during storage of carrots. Sb. Leningh, Inst. Sof. Torg, *F. Engl. Sci.*, **5**, 17(1959).