

## 갓(*Brassica juncea*) 추출물의 항균물질이 *Escherichia coli*와 *Staphylococcus aureus*의 균체 성분의 조성 및 누출에 미치는 영향

강성구<sup>†</sup> · 김용두 · 박석규\*

순천대학교 식품공학과

\*순천대학교 식품영양학과

### Effects of Antimicrobial of Leaf Mustard(*Brassica juncea*) Extract on Compositions and Leakage of Cellular Materials in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Seong-Koo Kang<sup>†</sup>, Yong-Doo Kim and Seok-Kyu Park\*

Dept. of Food Science and Technology, Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Sunchon National University, Sunchon 540-742, Korea

#### Abstract

To develop natural food preservatives, antimicrobial effect of the ethanol extract of leaf mustard against *E. coli* and *S. aureus* were examined in terms of compositions and leakage of cellular materials in the microorganisms treated with the extract. No effect of the concentration of ethanol extract on the fatty acid composition of *E. coli* and *S. aureus* at logarithmic phase was shown, but the content of palmitic and palmitoleic acid of *E. coli* slightly increased and decreased, respectively, and the content of palmitic and margaric acid of *S. aureus* slightly increased, when compared to each control. Ethanol extract did not affect most of the amino acids *E. coli* and *S. aureus* at logarithmic phase; however, some of them (proline, glycine, valine and histidine of *E. coli* and proline, methionine and histidine of *S. aureus*) were elevated and some other amino acid (aspartic acid, glutamic acid, tyrosine and arginine of *E. coli* and aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine and lysine of *Staph. aureus*) found to be decreased. The amount of cell body protein leaked from *E. coli* and *S. aureus* increased to 1.02 and 0.22mg/g cell weight, respectively, as compared to controls. Similarly, the substances with absorbance at 260 nm from *E. coli* and *S. aureus* increased to 0.12 and 0.06mg/g cell weight, respectively.

**Key words :** leaf mustard (*Brassica juncea*), antimicrobial effect, fatty acid and amino acid compositions, leakage of cellular material

#### 서 론

자연계에는 항균작용을 나타내는 물질이 많이 알려져 있고, 동·식물 또는 미생물에 있어서도 여러 가지 형태로 자기 방어 수단으로서 항균 기능을 갖추고 있다<sup>[1]</sup>. 그러나 항균작용을 나타내는 천연물이 식품 보존료로서 이용되기 위해서는 반드시 안전성과 경제성이 확보되어야 하는데, 식품의 경우에는 인간이 계속해서 섭취해 왔던 동·식물의 조직으로부터 항균성분을 추

출해서 이용하는 것이 바람직하다고 본다<sup>[2]</sup>. 이러한 측면에서 현재도 일상생활에서 많이 섭취해온 식품재료나 생약재로부터 천연 항균성 물질의 겹색과 식품에의 이용에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있는데, 주로 향신료와 그 정유성분, 생약재의 항진균성 성분, chitin과 chitosan, 미생물이 생성하는 항균물질에 대해 이루어지고 있다<sup>[3-9]</sup>.

현재 식품에 이용되고 있는 천연보존료로서는 에탄올, 발효법으로 제조한 유기산, 향신료 추출물, pectin 분해물, 멜라노이딘 등이 있다. 또한 이것들의 천연물

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

과 식품위생법에 의해 지정된 식품첨가물에 표시의무와 사용제한이 없는 glycine, 유기산, 저급지방산 에스테르, 중합인산염 등을 배합한 천연보존제가 보급되고 있다<sup>1)</sup>.

한편, 본 연구자들에 의해 천연보존료 개발의 일환으로 옛부터 김치재료, 조미료 및 향신료 등으로 식품에 사용되고 있는 한국산 재래종 갓<sup>[10]</sup>의 에탄올 추출물이 몇 종의 병원균과 식중독균, 식품과 관련이 있는 세균 및 효모 등 15균주에 대하여 항균효과를 검색하여 보고한 바 있다<sup>[11]</sup>. 또한 갓 에탄올 추출물의 항균성 물질이 미생물 증식에 미치는 영향과 전자현미경에 의한 세균의 형태변화를 보고한 바 있다<sup>[12]</sup>.

본 연구에서는 전보<sup>[11,12]</sup>에서 항균효과가 있는 것으로 보고된 갓 에탄올 추출물을 *Staphylococcus aureus*와 *Escherichia coli* 두 균주의 배양액에 처리하여 균체의 지방산과 아미노산 조성 및 균체성분의 누출 등에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 항균성 물질의 추출용 재료는 전보<sup>[11]</sup>에서 사용하였던 한국산 재래종 갓(leaf mustard, *Brassica juncea*)을 사용하였다.

### 갓 에탄올 추출물의 제조

갓 에탄올 추출은 음전 세척한 시료 1.4kg을 에탄올 6L로 24시간 동안 상온에서 교반 침출시킨 후 1차 추출하고, 다시 에탄올 6L를 가하여 동일한 방식으로 2차 추출한 후 추출액 모두를 여과(Whatman No.2)하였다. 추출액을 evaporator로 50°C 수욕상에서 약 100ml로 감압 농축한 후 중류수 1L를 가한 다음 잘 혼합하여 5°C의 냉장고에서 24시간 방치한 다음, 3500rpm으로 원심분리하여 침전된 수지성분을 2회 반복하여 제거하였다. 원심분리하여 얻은 상징액을 다시 evaporator로 감압 농축하여 최종적으로 에탄올 추출물(고형물 155.8 g)을 얻은 다음, 에탄올을 가하여 적당한 농도로 회색하여 사용하였다.

### 사용균주

전보<sup>[11]</sup>의 항균력 검색에 사용한 *Staphylococcus aureus* ATCC 13301과 *Escherichia coli* ATCC 15489 두 균주를 사용하였다.

### 배양조건

두 균주를 갓 에탄올 추출물로 처리하여 균체의 지방산, 아미노산 및 누출성분 등의 변화를 조사하기 위하여 30°C에서 대수증기까지 배양한 균을 원심분리(7,000 ×g, 5분, 4°C)하여 균체를 회수한 다음, 탈 이온수로 3회 세척한 후 0.05M phosphate buffer(pH 7.0)를 첨가하여 흡광도(O.D. 660nm)가 0.4가 되도록 혼탁하고, 이 혼탁된 균액을 멸균된 원심관에 40ml씩 분주한 다음 갓 에탄올 추출물을 소정의 농도가 되도록 첨가하여 30°C에서 서서히 1시간 진탕 배양하였다. 그 후 균체를 원심분리(10,000 ×g, 10분, 4°C)하여 집균된 균체는 지방산과 아미노산을 분석하였으며, 상징액은 단백질과 260 nm에서 최대흡수특성을 나타내는 물질의 정량시료로 사용하였다.

### 균체 지방산 분석

지방산 분석은 갓 에탄올 추출물로 처리된 균체를 Bligh와 Dyer 방법<sup>[13]</sup>에 따라 지질을 추출하고, 이 지질분획을 50ml 둥근 바닥 flask에 넣은 다음 감압농축하여 용매를 완전히 제거한 후, 14% BF<sub>3</sub>-methanol로 methyl ester화 시켜 gas chromatography로 분석하였으며<sup>[14,15]</sup>, 분석조건은 Table 1과 같다.

### 균체 아미노산 분석

구성아미노산 분석은 지방산 정량과 같은 방법으로 균을 배양하여 균체를 집균한 후, 6N HCl 10ml와 같이 시험관에 넣고 감압하에서 봉관하여 110°C에서 24시간 동안 가수분해시킨 후, 여과하고 감압농축하여 HCl을 제거하고 sodium citrate buffer(pH 2.2)로 일정량 정용한 후, 0.22μm 수용성 막여과지로 여과하여 아미노산 자동분석기로 분석하였으며, 분석조건은 Table 2와 같다.

### 균체의 누출성분 분석

단백질은 소의 혈청 albumin을 표준물질로 해서 Lo-

Table 1. The condition of gas chromatography for analysis of fatty acids

Instrument	Hewlett-Packard 5890A
Detector	Flame ionization detector (FID)
Column	15% DEGS on chromosorb W, glass column 3m × 4mm
Oven temp.	130~190°C (7°C/min, after 2min)
Injection temp.	250°C
Detector temp.	250°C
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Flow rate	35ml/min

Table 2. The conditions of amino acid autoanalyzer for analysis of amino acids

Instrument	LKB 4150, alpha autoanalyzer
Column	Ultrapac 11 cation exchange resin
Buffer solution	pH 3.2~10.0, 0.2M Na-citrate
Buffer flow rate	45ml/h
Ninhydrin flow rate	35ml/h
Column temperature	50~80°C
Injection volume	40μl

wry법<sup>16)</sup>에 의해 정량하였고, 260nm에서 최대흡광특성을 나타내는 물질의 측정은 Tatsuguchi 등의 방법<sup>17)</sup>에 따라 시료를 10배로 회석한 후 260nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 0.22를 10μg/ml로 해서 계산하였다.

### 균체 건조중량

균체 누출물질의 측정에 사용한 상징액은 버리고 균체를 탈이온수로 다시 혼탁하여 40ml로 만든 다음 이 혼탁액의 1.0ml를 오산화인이 들어 있는 진공 데시케이터 속에서 전조시켜 항량이 될 때 까지 중량을 측정하였다. 각 균체 누출성분은 모두 이 전조중량 1g으로 환산하였다<sup>17)</sup>.

### 결과 및 고찰

#### 균체 지방산 조성에 미치는 영향

갓 에탄올 추출물의 처리농도에 따른 균체 지방산의 변화를 살펴보기 위하여 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주에 대하여 지방산 조성비를 조사한 결과(Table 3, 4), *E. coli*의 경우 에탄올 추출물의 처리농도에 따라 지방산 조성비의 차이를 보이고 있는데, 에탄올 추출물의 처리농도가 높아질수록 대조구에 비하여 균체의 주 지방산 중의 포화지방산인 palmitic acid(16 : 0)과 oleic acid(17 : 0)의 함량이 증가하는 반면 불포화지방산인 palmitoleic acid(16 : 1)의 함량이 감소하는 경향을 보였다. 그리고 myristic acid(14 : 0)는 비교적 적게 감소하는 경향을 보였으며, margaric acid(17 : 0), stearic acid(18 : 0) 및 oleic acid(18 : 1) 등은 거의 변화되지 않았다. *S. aureus*의 경우는 *E. coli* 보다도 훨씬 변동의 폭이 적게 나타났는데 포화지방산인 palmitic acid(16 : 0) 함량은 대조구 13.44%에서 에탄올 추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 15.8%로 약 2% 이상의 뚜렷한 증가를 나타내었으며, 그 외 margaric acid와 palmitoleic acid도 에탄올 추출물의 농도가 높아지면 지방산의 조성비가 약간 증가하였다. 특히 oleic acid의 경우 10mg/ml까지는

Table 3. Major fatty acid composition of *E. coli* ATCC 15489 treated with ethanol extracts of leaf mustard

Fatty acid composition (%)	Added amount (mg/ml)				
	0	5	10	20	40
14 : 0	1.63	1.61	1.45	1.11	1.09
16 : 0	24.57	24.40	27.58	28.11	29.00
16 : 1	21.36	21.05	19.13	20.50	19.38
17 : 0	1.35	1.25	1.15	1.05	1.25
18 : 0	2.12	2.41	2.64	2.54	2.57
18 : 1	31.99	32.07	32.31	32.77	33.48
Others	16.98	17.21	15.74	13.92	13.23

Results are represented as percentage of total fatty acid  
Each value is the average of three determinations

Table 4. Major fatty acid composition of *S. aureus* ATCC 13301 treated with ethanol extracts of leaf mustard

Fatty acid composition (%)	Added amount (mg/ml)				
	0	5	10	20	40
14 : 0	0.38	0.30	0.34	0.38	0.32
16 : 0	13.44	13.30	13.48	14.70	15.80
16 : 1	8.43	7.85	8.40	9.16	8.75
17 : 0	21.24	20.23	23.68	22.92	22.44
18 : 0	7.82	6.94	5.91	8.50	7.09
18 : 1	7.19	9.12	9.01	8.22	7.09
Others	41.50	42.26	39.18	36.12	38.51

Results are represented as percentage of total fatty acid  
Each value is the average of three determinations

증가하고 그 이상의 농도에서는 오히려 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 36~42% 정도의 확인되지 못한 지방산은 대부분이 탄소가 14 이하의 저급지방산군으로 간주되었다.

미생물이 일반적으로 환경 온도가 낮은 경우에는 불포화지방산은 증가하고 포화지방산은 감소하며, 온도가 높아지면 반대로 포화지방산은 증가한다. 이러한 현상은 외부의 온도변화에 따라 막의 유동성을 일정하게 유지하기 위해서 막인지질의 지방산 조성을 빠르게 변화시키는데<sup>18)</sup>, 이와 같은 이유는 불포화지방산이 많은 막은 부드럽고 포화지방산이 많은 막은 단단하기 때문인 것으로 알려져 있다<sup>19)</sup>. 이와 같은 관점에서 보면,갓 에탄올 추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 균체 지방산 조성의 변화가 약간 관찰되었는데 에탄올 추출물 중의 항균성 물질이 지방산의 합성 등에 영향을 주는 것으로 추정되었다.

또한갓의 에탄올 추출물은 Tatsuguchi 등<sup>17)</sup>이 글리신과 식염에 의한 대장균 인자질 조성의 변화에서 막지질의 지방산은 식염 및 글리신 함유배지 등 배지조

전에 따라 변화하지만 항균력 발현과의 관련이 적었다는 보고와 butyl-p-hydroxybenzoate의 처리에 의한 대장균 세포막의 열손상에서 short chain fatty acid(14:0)의 조성비는 변화를 보였으나 다른 지방산의 조성비는 거의 변화가 관찰되지 않았다는 보고와는 상이한 결과를 나타냈다<sup>20</sup>.

#### 균체 아미노산 성분에 미치는 영향

갓 추출물의 처리농도에 따라 균체 아미노산 조성의 변화를 살펴보기 위하여 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주에 대한 아미노산 함량을 조사한 결과(Table 5, 6), 균체 아미노산 조성의 변화는 *E. coli*의 경우 에탄올 추출물의 처리농도에 따라 증감의 차이를 나타내었으며, 총 아미노산 함량은 다소 감소하는 경향이었다. 처리농도가 높아짐에 따라 proline은 약 2배로 크게 증가되었으며, glycine, valine, histidine 등도 약간씩 증가되었다. 또한 tyrosine, glutamic acid, arginine 함량은 1.4~2배 정도 대조구 보다 감소하는 경향을 나타내었으며 그 외 대부분의 아미노산들도 감소하였다. *S. aureus*의 경우는 *E. coli* 보다 변화 폭이 전반적으로 크게 나타났으며 처리농도가 높아짐에 따라 methionine, proline 및 histidine 등이 증가를 보였으나 대부분의 아미노산은 감소를 하였는데, 특히 tyrosine 함량은 대조구 보다 2.8배 이상 감소의 폭이 심하였으며, aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine 및 lysine 등도 비교적 많이 감소

하였다.

또한 두 균주간의 아미노산 함량을 보면 다소 차이를 보였는데, 그 이유로는 그람 양성균과 그람 음성균의 균체 아미노산 성분의 구성비의 차이 때문인 것으로 생각된다<sup>21</sup>. 더구나 총 단백질 중의 아미노산 조성 변화가 proline, tyrosine, methionine 등 특정 아미노산에 집중되었는데, 이는 현재의 실험 결과로 정확하게 설명하기 어렵지만 이를 아미노산들이 균체막이나 균체의 단백질 누출현상으로 인하여 타 아미노산 보다 상대적으로 증감의 폭이 심한 것이 아닌가 생각된다.

#### 균체성분의 누출

갓 추출물에 의한 균체성분의 누출정도를 알아보기 위하여 단백질과 260nm의 흡수물질량을 측정하였다. *E. coli*와 *S. aureus*의 두 균주를 대상으로 하여갓 에탄올 추출물을 농도별로 처리한 후 누출된 균체성분량을 측정한 결과(Table 7), 그람 음성균인 *E. coli*의 경우 대조구에 비해서 에탄올 추출물 처리구가 처리농도가 높아짐에 따라 전반적으로 균체성분의 누출이 증가하는 경향을 나타내었는데, 단백질은 40mg/ml 에탄올 추출물 첨가구가 대조구의 0.48mg/ml에 비해서 약 3배 정도 많은 1.55mg/ml 누출량을 나타내었다. 260nm에서의 흡수물질은 대조구에서 0.002mg/g의 누출을 나타낸 반면, 40mg/ml의 에탄올추출물 첨가구에서는 0.122mg/g의 누출 되었다.

Table 5. Amino acid composition of *E. coli* ATCC 15489 treated with ethanol extracts of leaf mustard

Amino acid (mg/g)	Added amount (mg/ml)				
	0	5	10	20	40
Asp	33.21	31.62	32.69	32.81	30.49
Thr	25.52	24.90	24.53	24.95	26.42
Ser	19.94	19.28	19.06	19.11	19.70
Glu	58.10	50.30	48.34	38.90	28.22
Pro	22.16	26.67	29.09	39.66	43.97
Gly	29.96	34.88	32.41	32.86	34.73
Ala	33.83	30.63	31.51	33.84	33.33
Val	32.09	31.31	32.01	32.18	35.09
Met	5.99	5.04	5.26	5.72	5.46
Ile	26.68	26.59	26.57	26.57	27.11
Leu	38.60	38.70	38.76	38.45	40.19
Tyr	12.96	12.10	8.43	8.78	8.64
Phe	22.46	21.51	22.12	23.20	24.57
His	30.77	31.57	34.81	33.91	34.97
Lys	34.53	33.12	32.75	33.66	31.70
Arg	39.30	38.14	29.26	28.91	28.42
Total	466.16	456.36	447.60	453.54	453.01

Each value is the average of three determinations

Table 6. Amino acid composition of *S. aureus* ATCC 13301 treated with ethanol extracts of leaf mustard

Amino acid (mg/g)	Added amount (mg/ml)				
	0	5	10	20	40
Asp	29.18	28.42	26.89	21.67	21.36
Thr	19.84	20.06	18.25	17.66	17.99
Ser	16.32	16.10	13.78	13.94	13.49
Glu	48.78	45.96	43.93	44.91	38.78
Pro	25.57	26.44	33.50	42.62	46.09
Gly	38.92	36.58	29.71	30.24	31.37
Ala	32.99	30.75	30.66	25.99	25.90
Val	25.30	24.89	22.87	25.24	23.49
Met	2.51	6.20	5.85	7.25	10.87
Ile	23.66	22.61	21.90	21.27	20.85
Leu	29.55	28.07	28.30	25.68	24.98
Tyr	12.54	12.53	5.90	3.83	4.48
Phe	19.13	18.19	15.04	14.58	15.30
His	24.14	23.28	36.11	38.28	36.24
Lys	33.76	33.19	30.90	30.09	28.76
Arg	22.45	19.13	17.77	19.01	22.25
Total	404.64	392.40	381.36	382.26	382.20

Each value is the average of three determinations

Table 7. Leakage of cellular materials of *E. coli* and *S. aureus* treatment with of ethanol extract of leaf mustard

Added amount (mg/ml)	Leakage of cellular materials (mg/g)			
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	A	B	A	B
0	0.480	0.002	0.650	0.001
5	0.501	0.003	0.670	0.003
10	0.498	0.021	0.680	0.041
20	1.230	0.086	0.860	0.065
40	1.550	0.122	0.879	0.067

A : Protein, B : Absorbing materials at 260nm

그럼 양성균인 *S. aureus*의 경우도 대장균과 마찬가지로 처리농도가 높아짐에 따라 균체성분의 누출량이 증가하고 있는데, 단백질과 260nm 흡수물질이 대조구에서는 0.65, 0.001mg/g의 누출을 나타내고 있는 반면, 40mg/ml의 에탄올 추출물 첨가구에서는 0.879, 0.067mg/g이 각각 누출되었다.

따라서 에탄올 추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 단백질과 260nm 흡수물질 등 균체성분의 누출이 증대하고 있음은 에탄올 추출물 중에 함유되어 있는 항균성 물질에 의해서 막구조의 손상을 초래하기 때문인 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 Tatsuguchi 등<sup>20)</sup>이 대장균을 NaCl 존재하에서 배양하여 glycine을 처리하였을 때 단백질, 260nm 흡수물질 및 인지질 등의 균체성분의 누출이 증가한다는 보고와 비슷한 경향이었다.

## 요 약

항균효과가 있는 것 에탄올 추출물을 *S. aureus*와 *E. coli* 두 균주의 배양액에 처리하여 균체의 지방산과 아미노산 조성 및 균체성분의 누출 등에 미치는 영향을 조사한 결과, 대수증식기에 것 에탄올 추출물 첨가에 의한 균체 지방산 조성비의 변화는 에탄올 추출물의 처리농도가 높아짐에 따라 *E. coli*의 경우 대조구에 비해 palmitic과 oleic acid 함량은 증가한 반면 palmitoleic acid 함량은 감소하는 경향을 보였으며, *S. aureus* 경우는 palmitic과 margaric acid 함량이 증가하였으나 그 외의 지방산은 별다른 변화가 없었다. 대수증식기에 것 에탄올 추출물 첨가에 의한 균체 아미노산 성분은 전반적으로 큰 변화는 없었으나 *E. coli*의 경우는 proline, glycine, valine 및 histidine 등이 증가하였으며, aspartic acid, glutamic acid, tyrosine 및 arginine 등이 감소하는 경향을 보였다. *S. aureus* 경우는 proline, methionine 및 histidine 등이 증가하였으며, aspartic acid, glutamic ac-

id, glycine, alanine, tyrosine 및 lysine 등이 감소하는 경향을 보였다. 것 에탄올 추출물에 의해서 균체성분인 단백질과 260nm 흡수물질의 누출은 *E. coli*와 *S. aureus* 두 균주 모두 40mg/ml의 첨가구에서 대조구에 비하여 단백질은 1.02, 0.22mg/g, 260nm 흡수물질은 0.12, 0.06mg/g으로 누출량이 증가하였는데, 이는 항균성 물질에 의한 균체의 막구조의 손상이 초래되는 것으로 생각된다.

## 문 헌

- 野崎一彦：天然物による食品の保存の現状と效果. 月刊フードケミカル, 2, 45(1986)
- 成瀬治己, 庄司 穎：現状における抗菌性物質とその應用. 月刊フードケミカル, 4, 53(1989)
- Sato, A., Terao, M. and Honma, Y. : Antibacterial action of garlic extract on food poisoning bacteria. J. Food Hyg. Soc. Japan, 31, 328(1990)
- Kawamura, J. and Takeo, T. : Antibacterial activity of tea catechin to *Streptococcus mutans*. J. Japanese Soc. Food Sci. and Tech., 36, 463(1989)
- 仁科淳良：孟宗竹抽出物の抗菌活性. 月刊フードケミカル, 5, 36(1990)
- 太田静行：抗菌・抗酸化物質の検索と應用. 月刊フードケミカル, 2, 48(1990)
- Kurita, N. and Koike, S. : Synergistic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oil components. Agric. Biol. Chem., 46, 159(1982)
- 이홍용, 김치경, 성태경, 문태규, 임치주 : 유백피 추출물의 항세균 작용. 산업미생물학회지, 20, 1(1992)
- 이병완, 신동화 : 식품부폐미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, 23, 200(1991)
- 이춘영, 김우정 : 천연향신료와 식용색소. 향문화. 서울, p.15(1987)
- 강성구, 성낙계, 김용두, 신수철, 서재신, 최갑성, 박석규 : 것(Brassica juncea) 추출물의 항균활성 검색. 한국영양식량학회지, 23, 1008(1994)
- 강성구, 성낙계, 김용두, 이재근, 송보현, 김영환, 박석규 : 것(Brassica juncea)의 에탄올 추출물이 미생물 생육에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 23, 1014(1994)
- Bligh, E. G. and Dyer, W. J. : A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911(1959)
- Metcalfe, L. D. : Rapid preparation fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Analytical Chem., 38, 514(1966)
- Wungaarden, D. V. : Modified rapid preparation fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Analytical Chem., 39, 848(1967)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265(1951)
- Tatsuguchi, K., Sakamodto, J., Lee, J. K. and Tsutumi,

- M. : Leakage of cellular materials and damage to the cellular surface of *Escherichia coli* by glycine and/or sodium chloride. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **30**, 506 (1989)
18. De Siervo, A. J. : Alterations in the phospholipid composition of *Escherichia coli* during growth at different temperatures. *J. Bacteriol.*, **100**, 1342 (1969)
19. Tatsuguchi, K., Kuwamoto, S. and Watanabe, T. : Membrane degradation of heat-injured *Escherichia coli* stimulated by butyl-*p*-hydroxybenzoate. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **32**, 278 (1991)
20. Tatsuguchi, K., Sakamotko, J., Lee, J. K. and Tsutsumi, M. : Effects of treatments with glycine and/or sodium chloride on phospholipid composition of *Escherichia coli*. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **30**, 513 (1989)
21. 정동호 : 식품미생물학. 선진문화사, p.281 (1980)

(1995년 1월 17일 접수)