

*Saccharomyces cerevisiae*에 대한 EDTA의 항진균 활성 및 EDTA와 Polygodial 간의 병용 효과

이상화 · 이재란 · 김창진
생명공학연구소

Antifungal Activity of EDTA and Combinatory Synergism of EDTA with Polygodial against *Saccharomyces cerevisiae*

Sang-Hwa Lee, Jae-Ran Lee and Chang-Jin Kim
Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology

Abstract

The antifungal activity of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), an antioxidative food preservative, was investigated against *Saccharomyces cerevisiae*. At the general condition for antifungal test, EDTA exhibited the minimum inhibitory concentration (MIC) of 200 µg/mL and the minimum fungicidal concentration (MFC) of 6,400 µg/mL. As seen with the antibacterial activity, the antifungal activity of EDTA was greatly decreased by high inoculum size, acidic medium, and cation (Ca^{++} or Mg^{++}) added to medium. On the other hand, when EDTA was combined with polygodial isolated from natural food spice, they showed strong synergism on the antifungal activity. Further, the diminishing antifungal activity of EDTA by high inoculum size, acidic medium, and cation (Ca^{++} or Mg^{++}) added to medium was considerably improved by the combination with polygodial.

Key words: antifungal activity, EDTA, polygodial, synergism

서 론

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)는 각종 금속 이온과 chelate 화합물을 형성하여 용액과 효소로부터 이들 이온의 작용을 봉쇄함으로써 금속 이온 의존성 화학 및 생화학적 산화 반응을 억제한다. 이러한 기능으로 인해 현재 EDTA는 샐러드 드레싱, 마요네즈, 소세지와 같은 다양한 식품에서 산화적 변질을 막기 위한 보존제로서 사용되고 있다^(1,2). 한편 EDTA는 세포막 금속 이온과도 결합하여 막의 완전성을 파괴함으로써 항세균 활성을 나타내며^(3,4) 종균 농도, 배지 pH, 배지에 존재하는 금속 이온의 농도는 EDTA의 항세균 활성에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다⁽⁵⁾.

Drimane sesquiterpene dialdehyde인 polygodial은 *Polygonum hydropiper*, *Warburgia ugandensis*, *Drymis lanceolata* 등의 여러 식물로부터 insect antifeedant로서 처음 분리되었다⁽⁶⁻⁸⁾. 이후 polygodial은 일본 등지에서 오랫동안 식품 양념으로 사용되고 있는 *Polygonum hydropiper*

(water-pepper)의 매운 맛 성분으로도 규명되었다⁽⁹⁾. 한편 최근의 여러 보고^(10,11)에 따르면, polygodial은 식품 오염 진균들에 대해 강한 항진균 활성을 나타내며 특히 기존의 항진균성 식품 보존제와는 달리 강한 살균 활성을 나타내었다. 또한 polygodial은 actinomycin D와 병용할 때 actinomycin D의 항진균 활성을 크게 증진시키는 것으로 조사되었다⁽¹²⁾.

항진균성 식품 보존제를 개발하기 위해서는 현재 식품 첨가가 허용되고 있는 화합물의 새로운 활성을 탐색하거나 화합물간의 병용 가능성을 연구하는 것도 좋은 방법인 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 효과적인 식품 보존제를 개발하기 위해 여러 항진균 측정 조건에서 EDTA의 새로운 항진균 활성 탐색과 천연 식품 양념으로부터 분리된 polygodial과의 병용 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

균주, 배지 및 배양

본 실험에 사용된 균주 *Saccharomyces cerevisiae* 7754는 American Type Culture Collection(Rockville, MD)로

Corresponding author: Chang-Jin Kim, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, P. O. Box 115, Yuseong, Taejeon 305-600, Korea

부터 분양받아 Malt Extract(ME)(BBL, Cockeysville, MD) 액체 배지를 이용하여 30°C에서 24시간 동안 진탕 배양한 다음 신선 배지 상에서 5시간 더 배양하여 종균으로 사용하였다. 특별히 배지 pH 또는 금속 이온의 배지 첨가에 따른 화합물의 항진균 효과를 알아보기 위해 항균 배지(ME)의 pH를 0.2 M MOPS(4-morpholinepropanesulfonic acid) buffer(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)로 조정하였으며 또한 항균 배지(ME)에 CaCl_2 와 MgCl_2 를 각각 10 mM 첨가하였다.

항진균 물질

EDTA는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)로부터 구입하였으며 항진균성 phytochemical인 polygodial은 Kubo 등⁽⁷⁾의 방법에 준하여 *Polygonum hydropiper*로부터 순수 분리하여 사용하였다. 실험에 사용된 화합물은 dimethyl sulfoxide(DMSO) 용매를 이용하여 최고 처리 농도의 100배로 녹인 다음 DMSO 용매 상에서 순차적으로 2배 희석한 후 각각을 다시 ME 액체 배지로 10배 희석하였다. 이때 EDTA는 멸균 증류수를 용매로 사용하였으며 세균 여과기로 제균하였다.

MIC 및 MFC 측정

화합물의 항진균 활성은 Parish 등⁽¹³⁾이 제안한 일반적인 항진균 측정 조건에 근거하여 고안된 macrobroth dilution법⁽¹⁴⁾에 따라 조사하였다. 즉, 화합물의 희석액 0.3 mL을 종균(최종 농도; 1×10^5 CFU/mL)이 포함된 ME 액체 배지 2.7 mL와 혼합한 다음 30°C에서 48시간 동안 정지 배양하였다. 이때 육안상 균생육이 없는 화합물의 최저 농도를 MIC(minimum inhibitory concentration)로 결정하였다. 그리고 MIC를 결정한 후 균생육이 없는 각 시험관으로부터 30 μL 를 취하여 새로운 ME 액체 배지 3 mL에 가한 다음 30°C에서 48시간 동안 정지 배양하였다. 이때 균생육이 회복되지 않는 화합물의 최저 농도를 MFC(minimum fungicidal concentration)로 결정하였으며 모든 항진균 시험은 3회 반복하였다.

병용 효과

두 화합물간의 병용 효과는 한 화합물의 1/2 MIC 또는 1/2 MFC를 다른 화합물의 일정 농도와 혼합하여 MIC 및 MFC를 측정한 다음 화합물 단독의 MIC 및 MFC와 서로 비교하였다. 또한 두 화합물간의 병용 효과는 macrobroth dilution checkerboard 법^(14,15)을 이용하여 여러 농도에서도 조사하였다. 두 화합물의 연속적

2배 희석액을 checkerboard 형으로 혼합한 다음 MIC 및 MFC를 측정하여 병용 효과 판정에 근거로 하였다.

FIC 및 FFC 지수 결정

FIC(fractional inhibitory concentration) 지수는 macrobroth dilution checkerboard 법에 의한 MIC 결과로부터 다음의 식을 이용하여 계산하였다^(14,15).

$$\text{FIC index} = (\text{MICa combined with b/MICa alone}) + (\text{MICb combined with a/MICb alone})$$

이때 a와 b는 사용된 각 화합물이며 FIC 지수 값이 0.5 이하, 0.5 초과 4 미만, 4 이상일 때 각각 상승적, 부가적, 길항적이라고 판정하였다. 또한 FFC(fractional fungicidal concentration) 지수는 MFC 결과를 이용하여 FIC 지수와 같은 식으로 결정하였다.

항진균 화합물의 세포 사멸 동태

종균과 적정 농도의 화합물을 포함하는 조사 시험관(3 mL)은 앞서 기술한 바와 같이 준비하였다. 이때 초기 종균 농도는 2×10^6 CFU/mL 이었으며 반응 시험관은 30°C에서 정지 배양하였다. 일정 시간 별로 반응액 0.1 mL을 취하여 멸균 생리 식염수(0.85% NaCl)로 희석한 후 Sabouraud Dextrose Agar(SDA)(Bactopeptone 1%, Dextrose 4%, Bacto-agar 1.8%) 배지에 도말하여 30°C에서 2일간 배양한 다음 출현하는 균의 집락 수(CFU/mL)를 측정하였다.

결 과

종균 농도에 따른 항진균 활성

*Saccharomyces cerevisiae*의 종균 농도를 10^5 과 10^7 CFU/mL로 각각 조절한 다음 화합물의 항진균 활성을 조사하였다. 그 결과, 10^5 CFU/mL의 종균 농도에 대해 EDTA는 400 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 정균 활성(MIC)을 나타내었고, 6400 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 살균 활성(MFC)을 나타내었다. Polygodial은 3.13 $\mu\text{g/mL}$ 과 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 MIC와 MFC를 나타내었는데 이는 기존의 보고⁽¹⁶⁾와 일치하였다. 또한 10^7 CFU/mL의 종균 농도에 대해, EDTA는 6,400 $\mu\text{g/mL}$ 농도까지 어떠한 항진균 활성도 나타내지 못한 반면 polygodial은 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 의 낮은 농도에서 살균 활성을 나타내었다. 한편, 이들 종균 농도에서 EDTA와 polygodial 간의 항진균성 병용 효과를 *Saccharomyces cerevisiae*를 대상으로 조사하였다. 10^5 CFU/mL의 종균 농도에 대해, EDTA는 polygodial의 1/2 MIC(1.56 $\mu\text{g/mL}$)와 병용하였을 때

12.5 µg/mL의 MIC를 나타내었으며 polygodial의 1/2 MFC(3.13 µg/mL)와 병용하였을 때는 50 µg/mL의 MFC를 나타내었다. 반대로, polygodial은 EDTA의 1/2 MIC(200 µg/mL)와 병용하였을 때 0.39 µg/mL의 MIC를 나타내었으며 EDTA의 1/2 MFC(3,200 µg/mL)와 병용하였을 때는 0.39 µg/mL에서 MFC를 나타내었다. 또한 10⁷ CFU/mL의 종균 농도에 대해, EDTA는 polygodial의 1/2 MIC(3.13 µg/mL)와 병용하였을 때 25 µg/mL의 MIC와 200 µg/mL의 MFC를 각각 나타내었다. 반대로, polygodial은 3,200 µg/mL의 EDTA와 병용하였을 때 0.39 µg/mL의 MIC와 0.78 µg/mL의 MFC를 각각 나타내었다(Table 1).

배지 pH에 따른 항진균 활성

배지 pH를 각각 3, 5, 7로 조정된 다음 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 화합물의 항진균 활성을 조사하였다. 그 결과 EDTA는 pH 7에서 가장 낮은 200 µg/mL의 MIC를 나타내었으며 pH 5와 3에서는 각각 3,200 µg/mL과 >6,400 µg/mL의 MIC를 나타내었다. 또한 EDTA는 pH 7에서 6,400 µg/mL의 MFC를 나타내었으며 나머지 pH 조건에서는 6,400 µg/mL의 농도까지 살균 활성(MFC)을 나타내지 못하였다. 반면, 이미 보고⁽¹⁶⁾된 바와 같이 polygodial은 산성 조건에서 오히

려 더 강한 항진균 활성을 나타내었다. 한편 이들 배지 pH 조건에서 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 EDTA와 polygodial 간의 항진균성 병용 효과를 조사하였다. EDTA는 polygodial의 1/2 MIC와 병용하였을 때 pH 7, 5, 3에서 각각 6.25 µg/mL, 25 µg/mL, 400 µg/mL의 MIC를 나타내었으며 polygodial의 1/2 MFC와 병용하였을 때는 pH 7, 5, 3에서 각각 6.25 µg/mL, 1,600 µg/mL, 3,200 µg/mL의 MFC를 각각 나타내었다. 반대로, polygodial은 EDTA의 1/2 MIC 또는 1/2 MFC와 병용하였을 때 조사된 모든 pH에서 각각 0.10 µg/mL의 MIC와 0.20 µg/mL의 MFC를 나타내었다 (Table 2).

금속 이온의 배지 첨가에 따른 항진균 활성

CaCl₂와 MgCl₂를 각각 10 mM씩 배지에 첨가한 다음 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 화합물들의 항진균 활성을 조사하였다. 그 결과 첨가된 금속 이온의 종류와 관계없이 EDTA의 MIC는 400 µg/mL로부터 6,400 µg/mL로 증가하였으며 MFC는 6,400 µg/mL로부터 >6,400 µg/mL로 증가하였다. 반면 polygodial의 항진균 활성은 금속 이온의 배지 첨가와 관계없는 것으로 나타났다. 한편, 배지에 이들 금속 이온이 첨가된 조건에서 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 EDTA와 polygodial

Table 1. Effect of inoculum size on the antifungal activities of EDTA and polygodial against *Saccharomyces cerevisiae*

Inoculum (CFU/mL)	EDTA (µg/mL)				Polygodial (µg/mL)			
	Alone		With polygodial ¹⁾		Alone		With EDTA ²⁾	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
10 ⁵	400	6400	12.5	50	3.13	6.25	0.39	0.39
10 ⁷	>6400	>6400	25	200	6.25	6.25	0.39	0.78

¹⁾The MIC (MFC) of EDTA was estimated in combination with 1/2 MIC (MFC) of polygodial.

²⁾The MIC (MFC) of polygodial was estimated in combination with 1/2 MIC (MFC) of EDTA.

³⁾In case that the MIC (MFC) of EDTA was >6,400 µg/mL, the MIC (MFC) of polygodial was estimated in combination with EDTA of 3,200 µg/mL.

Table 2. Effect of medium pH on the antifungal activities of EDTA and polygodial against *Saccharomyces cerevisiae*

pH	EDTA (µg/mL)				Polygodial (µg/mL)			
	Alone		With polygodial ¹⁾		Alone		With EDTA ²⁾	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
3	>6400	>6400	400	3200	0.39	0.39	0.10	0.20
5	3200	>6400	25	1600	0.78	0.78	0.10	0.20
7	200	6400	6.25	6.25	3.13	6.25	0.10	0.20

¹⁾The MIC (MFC) of EDTA was estimated in combination with 1/2 MIC (MFC) of polygodial.

²⁾The MIC (MFC) of polygodial was estimated in combination with 1/2 MIC (MFC) of EDTA.

³⁾In case that the MIC (MFC) of EDTA was >6,400 µg/mL, the MIC (MFC) of polygodial was estimated in combination with EDTA of 3,200 µg/mL.

간의 항진균성 병용 효과를 조사하였다. 그 결과 첨가된 금속 이온의 종류와 관계없이 EDTA는 polygodial의 1/2 MIC와 병용하였을 때 그 MIC는 6,400 µg/mL로부터 25 µg/mL로 감소하였으며 polygodial의 1/2 MFC와 병용하였을 경우 그 MFC는 >6,400 µg/mL로부터 400 µg/mL로 감소하였다. 반대로, polygodial은 EDTA의 1/2 MIC와 병용하였을 때 그 MIC는 3.13 µg/mL로부터 0.10 µg/mL로 감소하였으며 EDTA의 1/2 MFC와 병용하였을 경우 그 MFC는 6.25 µg/mL로부터 1.56 µg/mL로 감소하였다(Table 3).

화합물의 병용 농도에 따른 항진균 활성의 증진

EDTA와 polygodial 간의 병용 농도에 따른 항진균 활성의 증진 효과를 알아보기 위해 *Saccharomyces cerevisiae*를 대상으로 macrobroth dilution checkerboard 법을 이용하여 항진균 활성을 조사하였다(Fig. 1). 그 결과 EDTA와 polygodial은 정균적 항진균 작용에서 0.38의 FIC 지수를 나타내었으며 살균적 항진균 작용에서는 0.25의 FFC 지수를 나타내었다. 즉, EDTA의 MIC는 polygodial의 1/4 MIC인 0.78 µg/mL에 의해 400 µg/mL로부터 50 µg/mL로 감소하였으며 polygodial의 1/16 MIC인 0.20 µg/mL에 의해서도 200 µg/mL로 감소하였다. 또한 EDTA의 MFC는 polygodial의 1/4 MFC인 1.56 µg/mL에 의해 6,400 µg/mL로부터 400 µg/mL로 감소하였으며 polygodial의 1/8 MFC인 0.78 µg/mL에 의해서도 800 µg/mL로 감소하였다. 따라서 EDTA와 polygodial은 여러 병용 농도에서 상호 상승적인 정균 및 살균 활성을 나타내는 것으로 판단된다.

EDTA의 세포 사멸 활성에 대한 polygodial의 병용 효과

EDTA의 살균 활성에 대한 polygodial의 증진 효과

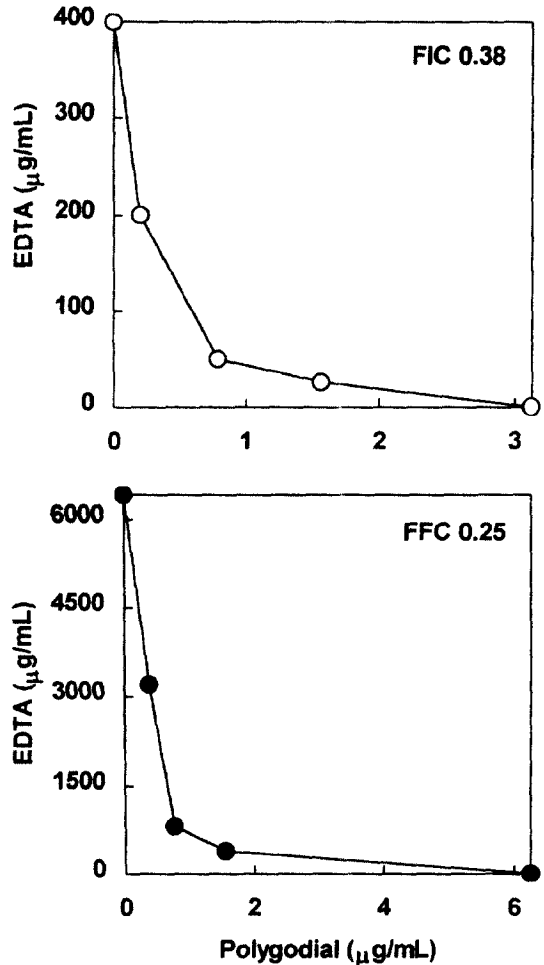


Fig. 1. Resulting isobolograms of the MICs (○) and MFCs (●) obtained with checkerboard combinations of EDTA and polygodial against *Saccharomyces cerevisiae*. The fractional inhibitory concentration (FIC) and fractional fungicidal concentration (FFC) indices were calculated with the MICs and MFCs of the combined compounds which exhibited the best antifungal effect, respectively.

Table 3. The effect of metal ion on the antifungal activities of EDTA and polygodial against *Saccharomyces cerevisiae*

Cation (10 mM)	EDTA (µg/mL)				Polygodial (µg/mL)			
	Alone		With polygodial ¹⁾		Alone		With EDTA ²⁾	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
None	400	6400	12.5	50	3.13	6.25	0.39	0.39
Ca ⁺⁺	6400	>6400	25	400	3.13	6.25	0.10	1.56
Mg ⁺⁺	6400	>6400	25	400	3.13	6.25	0.10	1.56

¹⁾The MIC (MFC) of EDTA was estimated in combination with 1/2 MIC (MFC) of polygodial.

²⁾The MIC (MFC) of polygodial was estimated in combination with 1/2 MIC (MFC) of EDTA.

³⁾In case that the MFC of EDTA was >6,400 µg/mL, the MFC of polygodial was estimated in combination with EDTA of 3,200 µg/mL.

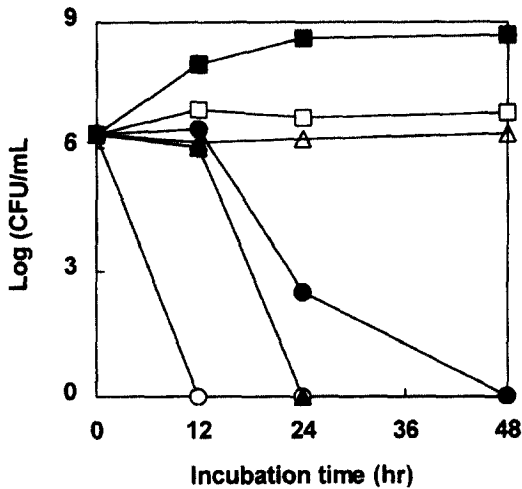


Fig. 2. Killing kinetics of EDTA in combination with polygodial against *Saccharomyces cerevisiae*. Symbols indicate the concentration of EDTA and polygodial: drug free (■); polygodial 3.13 µg/mL (△); EDTA 6,400 µg/mL (□); polygodial 3.13 µg/mL + EDTA of 200 µg/mL (○), 100 µg/mL (▲), 50 µg/mL (●)

를 더 자세히 알아보기 위해 *Saccharomyces cerevisiae* 를 대상으로 세포 사멸 동태 연구를 행하였다(Fig. 2). 항진균제를 처리하지 않았을 때 조사균의 농도는 시간에 따라 증가하여 48시간 후 5×10^8 CFU/mL 수준에 도달하였다. 또한 3.13 µg/mL의 polygodial과 6,400 µg/mL의 EDTA를 각각 처리하였을 때도 조사균은 48시간 동안 사멸되지 않고 초기 평균 농도 수준을 유지하였다. 그러나 polygodial의 준 살균 농도(3.13 µg/mL)를 EDTA와 병용하였을 때 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL의 EDTA는 조사균을 각각 12시간, 24시간, 48시간 내에 완전히 사멸시켰다. 따라서 EDTA는 polygodial과 병용할 때 크게 강화된 살균 활성을 짧은 시간 내에 나타내는 것으로 판단된다.

고 찰

일반적으로 화합물의 항진균 활성은 종균 농도, 배지 pH, 금속 이온의 배지 농도 등과 같은 측정 조건에 따라 큰 차이를 나타내는 것으로 알려져 왔다⁽¹⁷⁾. 따라서 본 연구에서는 이들의 여러 조건에서 EDTA의 항진균 활성을 *Saccharomyces cerevisiae*를 대상으로 조사하였다. 그 결과 EDTA는 Parish 등⁽¹³⁾이 제안한 일반적인 항진균 측정 조건 즉, 10^5 CFU/mL의 종균 농도, 중성 배지, 특별히 금속 이온을 첨가하지 않은 조건에서 200 µg/mL의 MIC(정균 활성)를 나타내

었으며 이는 대표적인 항진균성 식품 보존제인 sorbic acid의 활성⁽¹⁶⁾과 비슷한 것으로 판단된다. 그러나 EDTA는 항세균 작용⁽⁵⁾에서와 달리 항진균 작용에서는 살균 활성을 거의 나타내지 못하였으며, 종균 농도가 높을 경우에는 항세균 활성⁽⁵⁾과 마찬가지로 항진균 활성을 상실하였다. 또한 EDTA의 항진균 활성은 배지 pH가 낮거나 배지에 금속 이온이 높게 존재할 때 크게 감소하였는데, 이러한 결과로 미루어 볼 때 EDTA의 항진균 활성도 항세균 활성^(3,4)에서와 같이 세포막 금속 이온과의 결합에 의존하는 것으로 생각된다.

Polygodial은 진균의 세포막을 파괴하여 세포 내용물을 유출시키며 이는 Ca^{++} 이온에 의해 특이적으로 억제되는 것으로 알려져 있다^(12,18). 또한 polygodial의 이러한 작용은 외부 화합물의 세포막 통과를 용이하게 하여 다른 화합물의 항진균 활성을 증진시키는 것으로 추정되고 있다⁽¹²⁾. 한편 EDTA는 이미 지적인 바와 같이 용액으로부터 Ca^{++} 등의 금속 이온을 제거하며 또한 세균의 세포막 금속 이온과 결합하여 구조적 완전성을 파괴함으로써 외부 화합물의 막 통과를 용이하게 하는 것으로 알려져 있다^(19,21). 그러므로 EDTA와 polygodial은 항진균 작용에 있어서 상호 상승적인 것으로 추론되었으며 이러한 예측은 EDTA와 polygodial 간의 실제 항진균성 병용 결과와 일치하였다. 한편, Kubo 등^(12,18)은 세포 내용물을 유출시키는 polygodial의 작용을 polygodial의 항진균 기구로 제안하였다. 그런데 본 연구에서 polygodial의 항진균 활성은 금속 이온(Ca^{++})의 배지 첨가와 관계없는 것으로 나타났다. 따라서 polygodial에 의한 세포 내용물의 유출은 직접적인 항진균 기구가 아닌 것으로 고려되며, 또한 polygodial에 의한 EDTA의 항진균 활성 강화도 단순히 EDTA의 세포막 투과를 가능하게 함으로서 이루어지는 것이 아닌 것으로 생각된다.

현재 식품에서 산화 방지제로 사용되고 있는 EDTA는 항진균 활성을 나타내는 것으로 조사되었는데 이는 새로운 항진균성 식품 보존제의 개발 측면에서 큰 의의가 있는 것으로 고려된다. 더욱이 EDTA의 항진균 활성은 천연 식품 양념으로부터 분리된 polygodial을 소량 첨가하였을 때 크게 증진되었으며 특히 식품으로부터 오염균을 완전히 제거할 수 있는 살균 활성도 매우 강화되었다. 또한 종균 농도, 배지 pH, 배지에 존재하는 금속 이온의 농도에 따른 EDTA의 제한적 항진균 활성은 polygodial과의 병용에 의해 매우 개선되었다. 따라서 천연물 polygodial은 EDTA의 항진균 효과를 크게 높일 수 있는 유용한 병용 화합물

인 것으로 생각된다.

요 약

식품에서 산화 방지제로 사용되고 있는 EDTA를 이용하여 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 항진균 활성을 조사하였다. 그 결과 일반적인 항진균 측정 조건에서 EDTA의 MIC(정균 농도) 및 MFC(살균 농도) 값은 각각 200 µg/mL과 6,400 µg/mL로 나타났다. 또한 EDTA의 항진균 활성은 항세균 활성에서 알려진 바와 같이 높은 종균 농도, 산성 배지, 배지에 첨가된 금속 이온(Ca^{++} , Mg^{++})에 의해 크게 감소하였다. 한편 EDTA를 천연 식품 양념으로부터 분리된 polygodial과 병용한 결과 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 그들의 항진균 활성은 상호 상승적으로 증가하였다. 또한 종균 농도, 배지 pH, 금속 이온(Ca^{++} , Mg^{++})의 배지 첨가와 같은 측정 조건에 따른 EDTA의 항진균 활성 감소는 polygodial과의 병용에 의해 크게 개선되었다.

문 헌

- Shin, K.S., Shin, H.S., Lee, Y.O. and Jeong, Y.J. Advances in food hygienics, p.385-395. ShinKwang Press, Inc. Seoul, Korea (1996)
- Song, J.C. and Yang, H.C. Food additives, pp. 182-183. Semoon Press, Inc. Seoul, Korea (1992)
- Gray, G.W. and Wilkinson, S.G. The action of ethylenediaminetetraacetic acid on *Pseudomonas aeruginosa*. J. Appl. Bact. 28: 153-159 (1965)
- Kraniak, J.M. and Shelef, L.A. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and metal ions on growth of *Staphylococcus aureus* 196E in culture media. J. Food Sci. 53: 910-913 (1988)
- Shelef, L.A. and Seiter, J.A. Indirect antimicrobials, pp. 550-555. In: Antimicrobials in foods, 2nd ed. Davidson, P.M. and Branan, A.L. (eds.). Marcel Dekker, Inc., New York, USA (1993)
- Asakawa, Y., Dawson, G.W., Griffiths, D.C., Lallemand, J.Y., Ley, S.V., Mori, K., Mudd, A., Pezechk-Leclaire, M., Pickett, J.A., Watanabe, H., Woodstock, C.M. and Zhong-Ning, Z. Activity of drimane antifeedants and related compounds against aphids and comparative biological effects and chemical reactivity of (-) and (+)-polygodial. J. Chem. Ecol. 14: 1845-1855 (1988)
- Kubo, I., Lee, Y.W., Pettei, M., Pilkevicz, F. and Nakanishi, K. Potent army worm antifeedants from the East African *Warburgia* plants. J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1013-1014 (1976)
- Nakanishi, K. and Kubo, I. Studies on warburganal, muzigadial and related compounds. Isr. J. Chem. 16: 28-31 (1981)
- Kubo, I. and Ganjian, I. Insect antifeedant terpenes, hot-tasting to humans. Experientia 37: 1063-1064 (1981)
- Kubo, I., Miura, I., Pettei, M., Lee, Y.W., Pilkevicz, F. and Nakanishi, K. Muzigadial and warburganal, potent antifungal antiyeast, and African army worm antifeedant agents. Tetrahedron Lett. 52: 4553-4556 (1977)
- Lee, S.H. Antifungal activity and action of polygodial, a new antifungal agent. Paper presented at Spring Meeting of the Korean Society for Appl. Microbiol., Seoul, Korea (1998)
- Kubo, I. and Taniguchi, M. Polygodial, an antifungal potentiator. J. Nat. Prod. 51: 22-29 (1988)
- Parish, M.E. and Davidson, P.M. Methods for evaluation, p. 597-616. In: Antimicrobials in foods, 2nd ed. Davidson, P.M. and Branan, A.L. (eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, USA (1993)
- Hallander, H., Dornbusch, K., Gezelius, L., Jacobson, K. and Karlsson, I. Synergism between aminoglycosides and cephalosporins with antipseudomonal activity: Interaction index and killing curve method. Antimicrob. Agents Chemother. 22: 743-752 (1982)
- Neu, H.C. and Chin, N. *In vitro* activity of fleroxacin in combination with other antimicrobial agents. Am. J. Med. 94(suppl): 9-16 (1993)
- Lee, J.R., Lee, S.H. and Hong, S.D. Antifungal activity of polygodial against food-contaminants and effects of temperature and pH on the action. Kor. J. Life Sci. 8: 421-425 (1998)
- Galgiani, J.N. Antifungal susceptibility tests. Antimicrob. Agents Chemother. 31: 1867-1870 (1987)
- Yano, Y., Taniguchi, M., Tanaka, T., Oi, S. and Kubo, I. Protective effects of Ca^{++} on cell membrane damage by polygodial in *Saccharomyces cerevisiae*. Agric. Biol. Chem. 55: 603-604 (1991)
- Nezval, J. and Halacka, K. The enhancing effect of EDTA on the antibacterial activity of nalidixic acid against *Pseudomonas aeruginosa*. Experientia 23: 1043-1044 (1967)
- Hancock, R.E.W. Alterations in outer membrane permeability. Ann. Rev. Microbiol. 38: 237-264 (1984)
- Leive, L. Studies on the permeability change produced in coliform bacteria by ethylenediaminetetraacetate. J. Biol. Chem. 243: 2373-2380 (1968)

(1999년 4월 20일 접수)