

질경이로부터 항균성 화합물의 분리 및 동정

김건희 · 김순임 · 한영실
숙명여자대학교 식품영양학과

Isolation and Identification of Antimicrobial Compound from Plantain (*Plantago asiatica* L.)

Keun-Hee Kim, Soon-Im Kim and Young-Sil Han

Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract

Antimicrobial activity of Plantain(*Plantago asiatica* L.) was investigated. Methanol extract of dried Plantain was fractionated to hexane, chloroform, ethylacetate, butanol and aqueous fraction. Ethylacetate fraction among these fractions showed the highest inhibitory effect on the microorganisms such as *B. subtilis*, *E. coli*, and *V. parahaemolyticus* at 500 µg/disc. Ethylacetate fraction was further fractionated into 8 fractions by silica gel column and thin layer chromatography(TLC). The results showed that ethylacetate fractions No. 2 and 3 had the highest antimicrobial activity. They were mixed again, re-separated, and seven fractions were obtained. Among them, No. 4 and 6 fraction had the highest inhibitory effect on the microorganisms, which were then separated into four fractions. In the 3rd fractionation, No. 4 fraction was identified as hexadecanoic acid by HPLC, ¹H-NMR and GC-MS.

Key words: antimicrobial activity, plantain, ethylacetate fraction, hexadecanoic acid

I. 서 론

최근 식품 소비 패턴의 변화와 외식 산업의 발달로 식생활이 고급화, 편리화를 추구함에 따라 가공식품과 인스턴트 식품의 소비가 증가하고 있다¹⁾. 특히 식품의 부패와 변질을 방지하고 장기간 안전하게 보존하기 위하여 식품보존제의 사용이 증가하고 있다. 그러나 대부분의 보존제는 화학합성품으로 체내에 계속 축적시 위장장애나 발암 및 돌연변이 유발과 같은 부작용을 초래할 수 있다는 우려가 높아지면서 인체에 무해한 대체 보존제를 찾기 시작하였다. 식용식물 및 생약 등의 천연물로부터 특정성분을 추출하여 천연식품보존제를 개발하려는 연구가 이루어지고 있다^{2,3)}. 약용식물로 사용되어 온 쑥, 민들레, 두릅수피 및 상백피의 항균 효과등이 보고되고 있다^{4,7)}. 특히 예로부터 나물로 식용해 온 쑥에는 coumarin등이 항균에 관여하는 것으로 보고되었고, 산초의 hexadecanoic acid와 민들레의 benzoic acid등이 항균성을 나타내는 것으로 보고되었다^{4,5)}.

질경이(*Plantago asiatica* L.)는 질경이과에 속한 다년생 초본식물로 길경이, 배부장이, 배짜개, 길짱구, 치룬채, 하미초, 우모채, 차전초등으로 불리우며 우리나라 아산에

서 흔히 볼수 있다. 예로부터 부드러운 잎과 줄기는 나물로 먹었고 즙을 내어 열매와 고기와 기름을 섞어 고추장에 무쳐서 먹었다. 또, 질경이에는 무기질과 단백질, 비타민류 및 소당류 등이 많으며 이런 성분들은 항염증 작용에 관여하는 것으로 알려져 있다^{8,9)}.

본 연구에서는 천연식품보존제 개발의 일환으로 구황식물이자 약용식물로 이용되어 온 질경이를 메탄올로 추출하여 항균성을 살펴보고, 항균성을 나타내는 물질을 분리, 동정하였기에 그 결과를 보고한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 질경이는 1997년 6월에 강원도 원통에서 채취하여 건조시킨 것을 서울 경동시장에서 구입하여 분쇄한 후 실험에 사용하였다.

2. 질경이 추출물의 항균성 검색

분말화한 질경이를 Fig. 1과 같이 메탄올로 3회 반복 추출하여 여과한 후 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 메탄올 추출물의 항균성 검색은 Fig. 2와 같은

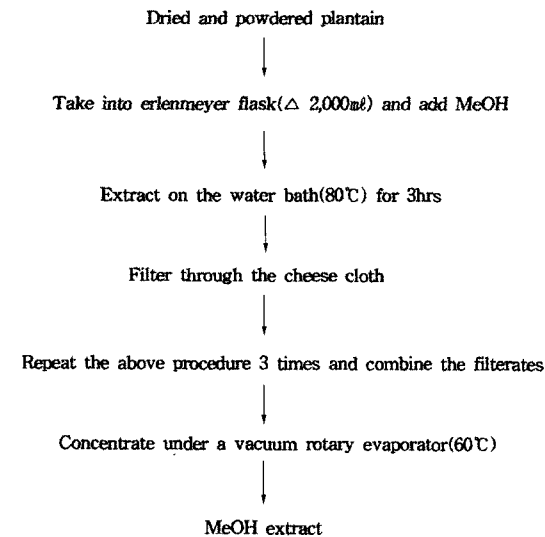


Fig. 1. Extraction procedure of MeOH extract.

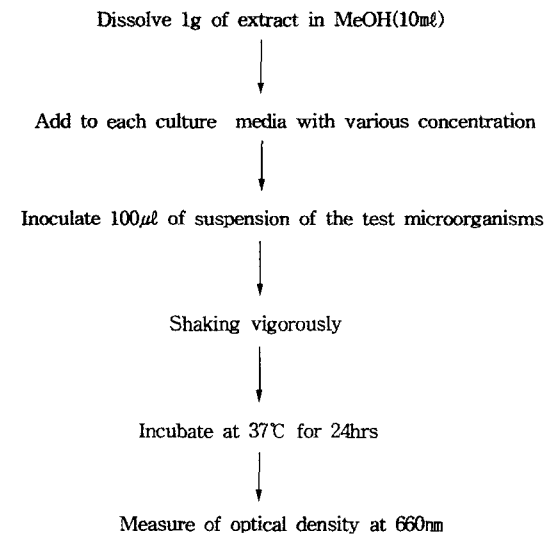


Fig. 2. Antimicrobial activity assay.

방법으로 하였다. 사용한 균주는 자연계에 널리 분포하여 식품을 변질시키는 *Bacillus subtilis* KCTC 1021, 저온에서도 생육하여 냉동, 냉장 식품에서 오염의 원인이 되는 *Listeria monocytogenes* KCCM 40307, gram 양성균으로서 enterotoxin을 생성하여 식중독의 원인이 되는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, gram 음성균으로 오염의 지표균이면서 부패세균인 *Escherichia coli* KCTC 2441, 그리고 호흡성균으로 장염의 원인균이며 식중독을 일으키는 *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471을 사용하였다. 배지는 *B. subtilis*, *L. monocytogenes*,

S. aureus 그리고 *E. coli*는 tryptic soy broth (Difco)와 nutrient agar(Difco)를 사용하였고 *V. parahaemolyticus*는 위와 같은 배지에 NaCl을 3% 첨가하여 사용하였다.

3. 시약

추출과 silica gel column chromatography용 용매는 시약용 1급을 사용하였고 TLC plate는 Merk사의 1.05715, 25 DC-Platten kiesel gel 60을 구입하여 사용하였다.

4. 질경이 추출물의 분획

시료 11 kg으로부터 얻은 메탄올 추출물을 증류수에 현탁한 후 Fig. 3과 같이 *n*-hexane을 가하여 분획한 후 여과 감압 농축하여 분획물 93.27 g을 얻었다. 이와 같은 방법으로 chloroform, ethylacetate, *n*-butanol 및 물로 극성이 낮은 용매에서 극성이 높은 용매로 순차적으로 계통 분획하여 chloroform 분획물 8.2 g, ethylacetate 분획물 31 g, butanol 분획물 133.7 g 그리고 물 분획물 323.72 g을 얻었다.

5. 질경이 추출물의 용매 분획별 항균성 검색

계통분획물의 항균성 검색은 paper disc법⁹⁾으로 하였으며, 시험용 평판 배지는 nutrient agar를 멸균 후 직경 9 cm인 petridish에 15 ml씩 분주하여 clean bench에서 하룻밤 건조시키고 그 위에 각 균주의 배양액 100 µl를 구부린 막대로 도말하였다. 각 용매분획별 분획물의 농도를 500~2000 µg/disc로 하였다. 이를 멸균된 disc(직경 8 mm, Toyo Seisakusho Co.)에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate 표면에 올려 놓은 후 37°C의 incubator에서 24시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로 항균활성을 측정하였다.

6. 항균성 물질의 분리

질경이의 ethylacetate fraction을 Fig. 4와 같이 silica gel column chromatography(7 cm×120 cm)를 이용하여 분리한 후 TLC로 각 분획물을 전개시켜 8개의 fraction을 얻었다. 8개의 fraction을 다시 5개의 시험균주를 이용하여 항균성이 높게 나타난 2번째, 3번째 fraction을 합쳐서 다시 silica gel column chromatography(5 cm×75 cm)와 TLC로 분리하여 7개의 fraction을 얻었고 이 중에서 항균력이 가장 우수한 4번째와 6번째 fraction을 다시 동일한 방법으로 분리하여 4개의 3rd fraction을 얻었다.

7. 항균성 물질의 동정

1) HPLC

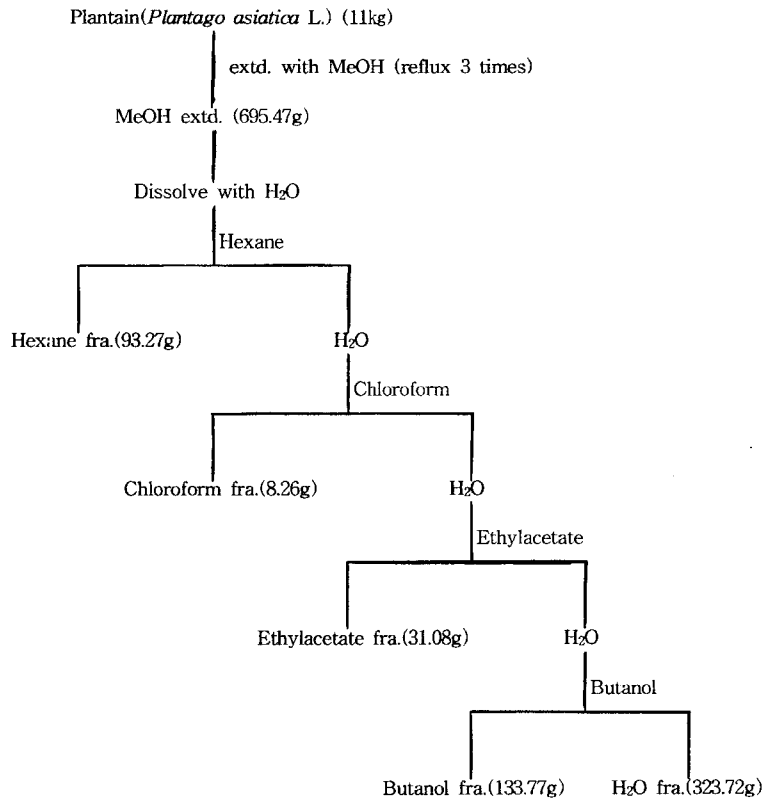


Fig. 3. Fractionation procedure of the methanol extract from plantain.

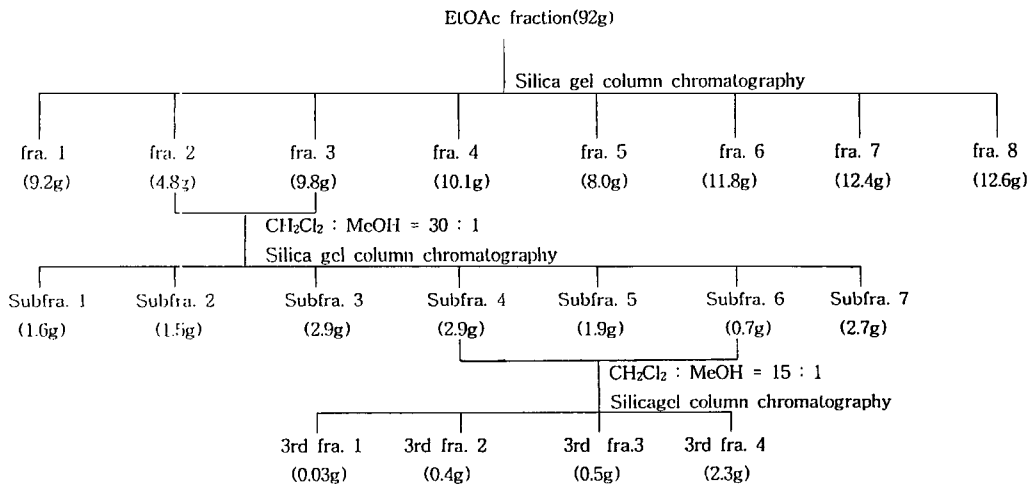


Fig. 4. Fractionation of ethylacetate extract from plantain by passing through a silica gel column.

질경이의 ethylacetate의 4번째 3rd fraction을 단일 분리 하기 위하여 Table 1의 조건으로 HPLC분석을 실시하였다.

2) NMR

Proton nuclear magnetic resonance spectrophotometer(¹H-NMR) spectrum은 Bruker AMX-500 MHz NMR

로 온도 303 K 조건에서 측정하였다. 화학적 이동은 내부 표준물질로 tetramethylsilane(TMS)을 사용하여 parts per million(ppm)단위로 나타내었다.

3) GC-MSD

Mass spectrum(MS)은 Hewlett-Packard 6890 Gas

Table 1. Operating conditions of HPLC for analysis of antimicrobial compounds from plantain

Requester	Condition
Instrument	Waters Associates
Column	μ -C ₁₈ bondpak
Eluent	Water Water : Acetonitrile=9 : 1
Wave length	254 nm
Detector	Waters 441
Injection volume	25 μ l

Table 2. Operating conditions of GC/MSD for analysis of antimicrobial compounds from plantain

Requester	Condition
Instrument	Hewlett-Packard 6890 GC Hewlett-Packard 5973 MSD
El condition	Electron energy: 70 eV Source Temperature: 250°C Trap Current: 300 μ A
Column	HP-5SM(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)
Injector Temp.	250°C
Detector Temp.	300°C
Column Tem	10°C/min 40°C(2 min) 320°C, 1 min
Carrier Gas	He(1.0 ml/min)

Chromatography와 연결된 Hewlett-Packard 5973 MSD 를 사용하였다. 분석조건은 Table 2와 같다.

III. 실험결과 및 고찰

1. 질경이 추출물의 항균성

질경이를 건조시켜 분쇄한 후 메탄올로 추출하여 얻은 추출물의 식품부패미생물에 대한 증식억제효과를 검색한 결과는 Table 3과 같다. 질경이의 메탄올 추출물은 2000 μ g/ml농도에서 *B. subtilis* 및 *V. parahaemolyticus*의 증식을 완전히 억제하였으며 *L. monocytogenes*와

Table 3. Antimicrobial activity of the methanol extract from plantain

Plantain Conc (μ g/ml)	Inhibitory effect (%)				
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
500	88.13	33.84	85.63	12.26	88.00
1000	91.14	89.48	90.36	65.46	96.04
1500	96.66	93.38	92.80	88.13	99.37
2000	100.00	98.50	98.67	90.50	100.00

*S. aureus*는 1000 μ g/ml의 농도에서부터 균주의 증식을 90%이상 억제하였다. 일반적으로 G(-)bacteria보다 G(+) bacteria에 대하여 정유성분들이 민감하게 반응하여 항균력이 훨씬 높다고 보고^{10,11)} 되었으나 본 실험에서는 G(-) 균주인 *V. parahaemolyticus*균주의 생육에도 추출물이 민감하게 반응하는 경향을 보여주었다. 김⁴⁾의 연구에 의하면 산초의 메탄올 추출물이 G(+)균주보다 G(-)균주인 *E. coli*에 더 민감하게 반응하였다고 보고하였고, 김등¹²⁾의 연구 또한 carvacrol을 비롯한 8종의 정유성분들은 G(-)균주인 *Vibrio vulnificus*에 민감한 효과를 보인 반면, G(+)균주인 *L. monocytogenes*에 대하여 가장 큰 저항성을 보여 균주의 성장 억제효과는 균주의 형태에 의해 영향을 받는다고 확인하기는 어렵다고 하였다.

2. 질경이 추출물의 분획별 항균성

질경이 methanol 추출물의 항균성 물질을 분리할 목적으로 *n*-hexane, chloroform, ethylacetate, *n*-butanol 및 물 순으로 점차 극성을 높여서 분획하여 항균성을 검색한 결과를 Table 4에 나타내었다. 질경이의 ethylacetate 분획물은 가장 낮은 농도인 500 μ g/disc의 농도에서 *B. subtilis*, *E. coli* 및 *V. parahaemolyticus*에 대하여 clear zone을 형성하여 항균력을 나타내었다. 특히 2000 μ g/disc 농도에서는 각각 11.5, 13 및 14 mm의 clear zone을 형성하였다. 같은 농도에서 *L. monocytogenes*와 *S. aureus*에 대한 항균력은 각각 10.5와 10 mm의 clear zone을 보였다. 그러므로 질경이의 항균효과를 추출용매별로 살펴보면 ethylacetate층이 가장 우수하고 그 다음이 chloroform 층이며 *n*-hexane, 그리고 *n*-butanol 과 물층의 순으로 활성이 낮았다. 장등¹³⁾은 산국, 감국 및 쑥갓을 대상으로 용매분획을 한 결과 각 식물체의 chloroform분획물이 *B. subtilis*와 *V. parahaemolyticus*를 비롯한 균주들에 대해 강한 활성이 있다고 보고하였다. 홍등¹⁴⁾은 유백피의 *n*-butanol 분획에서 *B. subtilis*에 대하여 강한 항균성이 있다고 보고하였다.

따라서, 질경이도 각 분획별로 약간의 항균성을 보이는 것으로 보아 각 용매분획시 항균성 물질이 용해되어 나타나는 것으로 생각되며 항균물질은 단일 성분이기보다 여러성분이 혼합되어 있는 것으로 사료된다.

3. Ethylacetate 분획물의 항균성

Ethylacetate 분획물을 silica gel column chromatography(7 cm \times 1.2 cm)한 후 thin layer chromatography(TLC)를 실시하여 Fig. 4와 같이 8개의 분획을 얻었고 그에 대한 항균성은 Table 5와 같다. 각 fraction의 농도가 1000 μ g/disc가 되도록 paper disc에 첨가한 후 5

Table 4. Antimicrobial activity of various solvent fractions from thanol extract of plantain(*Plantago asiatica* L.)

Fraction	Clear zone on plate (mm)					
	µg/disc	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
Hexane	500	nd ¹⁾	nd	nd	nd	9
	1000	nd	nd	nd	nd	10
	1500	nd	nd	nd	nd	10.5
	2000	nd	nd	nd	nd	11
CH ₃ Cl	500	nd	9.5	10.2	nd	nd
	1000	nd	10.5	12	nd	10
	1500	nd	11.5	13	nd	12
	2000	nd	12	13	nd	13
EtoAc	500	8.5	nd	nd	9	8.5
	1000	9.2	9	8.5	11	11
	1500	10.5	9.5	10	11	12.5
	2000	11.5	10.5	10	13	14
BuOH	500	nd	nd	nd	nd	nd
	1000	nd	nd	nd	nd	nd
	1500	nd	nd	nd	nd	nd
	2000	nd	nd	nd	w ²⁾	w
Water	500	nd	nd	nd	nd	nd
	1000	nd	nd	nd	nd	nd
	1500	nd	nd	nd	nd	nd
	2000	nd	nd	nd	nd	nd

1) nd : not detected

2) w : weak clear zone

Table 5. Antimicrobial activity of ethylacetate fractions from methanol extract of plantain on the growth of bacteria at the concentration of 1000 µg/disc

Fra. No	Clear zone on plate (mm)				
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
1	nd ¹⁾	nd	nd	9	nd
2	11	20	16	13	15.5
3	nd	10.5	12	10	9
4	nd	nd	11	11.5	nd
5	nd	nd	w ²⁾	11	10
6	nd	nd	nd	9	10
7	nd	nd	9	11	9
8	nd	nd	nd	nd	nd

1) nd : not detected

2) w : weak clear zone

종의 시험균주를 대상으로 항균력을 검색하였다. 1000 µg/disc 농도에서 모든 균주에 대하여 2번째 fraction이 11~20 mm의 clear zone을 형성하였고 3번째 fraction도 *B. subtilis*를 제외하고 나머지 균주에 대하여 9~12 mm의 clear zone을 형성하였다. 따라서 어떤 fraction보다 높은 항균력을 보인 2번째와 3번째 fraction을 합쳐서 다시 silica gel column chromatography (5 cm × 75 cm)와 TLC plate를 하여 7개의 분획을 얻어내었다.

Table 6. Antimicrobial activity of the 2nd ethylacetate fractions from plantain at the concentration of 500 µg/disc

2nd Fra. No	Clear zone on plate (mm)				
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
1	nd ¹⁾	nd	nd	nd	nd
2	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	19	14	nd	17
4	12	20	15	13.5	17.5
5	11.5	18	12.5	nd	15.5
6	12	18.5	13.5	11	16
7	nd	12	11	nd	15.5

1) nd : not detected

7개 분획의 항균성 결과는 Table 6과 같다.

500 µg/disc 농도에서 *B. subtilis*의 경우 4번째, 5번째 및 6번째 2nd fraction이 각각 12, 11.5 및 12 mm 크기의 clear zone을 형성하였고, 같은 농도에서 *L. monocytogenes*는 4번째 2nd fraction이 20 mm를, G(-)균주인 *E. coli*는 clear zone의 크기가 13.5 mm로 나타났고, *V. parahaemolyticus* 균주에 대해서는 17.5 mm의 크기로 clear zone을 보였다. 항균력이 가장 우수한 4번째와 6번째 2nd fraction을 다시 silica gel column chrom-

Table 7. Antimicrobial activity of the 3rd ethylacetate fractions from plantain at the concentration of 250 µg/disc

3rd Fra. No	Clear zone on plate (mm)				
	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
1	nd ¹⁾	nd	nd	nd	nd
2	nd	nd	10	w ²⁾	nd
3	nd	nd	9.5	w	nd
4	10	11	10	10	11

1) nd : not detected.
2) w : weak clear zone.

atography (2.5 cm×60 cm)와 TLC를 이용하여 4개의 분획으로 분리하였다. 분리된 4개의 분획물의 항균효과를 Table 7에 나타내었다. 4번째 3rd fraction은 250 µg/disc농도에서 5종의 실험균주에 대하여 10~11 mm 크기의 clear zone을 보여 항균활성이 가장 높았다.

이상의 결과를 볼 때 질경이 ethylacetate 추출물은 *B. subtilis*, *L. monocytogenes*와 *V. parahaemolyticus*에 대하여 항균활성이 뛰어난 것을 볼 수 있었으며 1차 분획물이나 2차, 3차 분획물들이 clear zone을 형성하는데 큰 차이가 없는 것으로 미루어 항균성에 관여하는 물질은 단일 성분의 물질이라기 보다 여러 성분들이 혼합된 복합 물질로 존재하는 것으로 사료되며 이들 2nd fraction들을 조합하면 훨씬 더 높은 항균효과를 내리라고 생각된다.

4. 분리된 활성성분의 구조결정

질경이의 메탄올 추출물로부터 각 용매별로 계통 분획

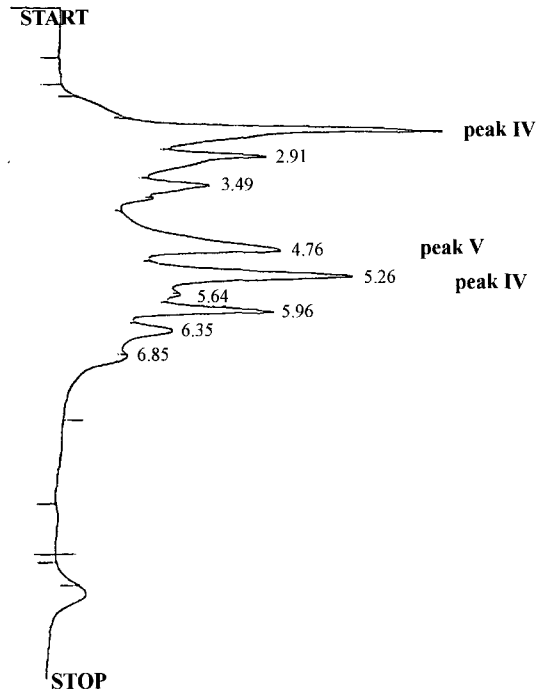


Fig. 5. HPLC spectrum of 3rd Fraction No. 4 of ethylacetate fraction from plantain.

하여 분리한 ethylacetate 분획물을 silica gel column chromatography와 TLC로 분리하였다. 항균성을 보인 3rd fraction의 3번째 분획물을 HPLC로 Fig. 5와 같이 분리하였다. 분리된 Peak IV를 ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz, TMS)로 측정된 결과는 Fig. 6과 같으며 δ2.34

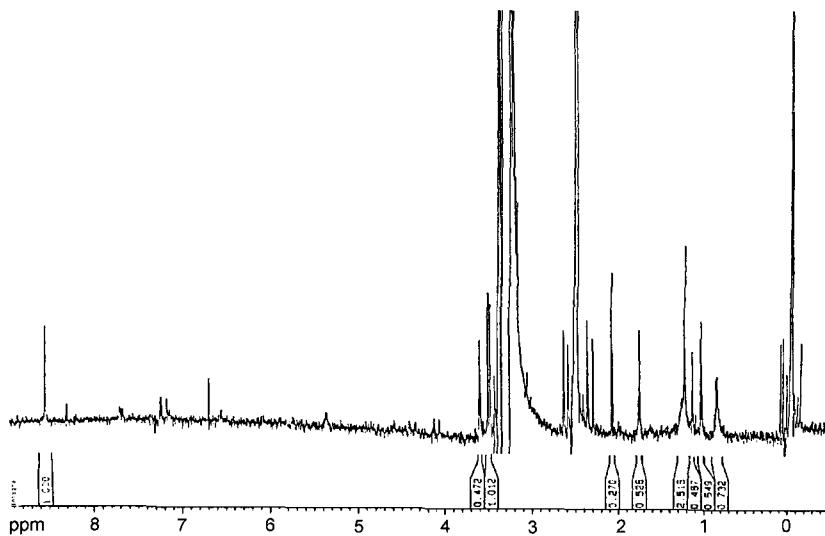


Fig. 6. ¹H-NMR(500 MHz) spectrum of antimicrobial compound from plantain.

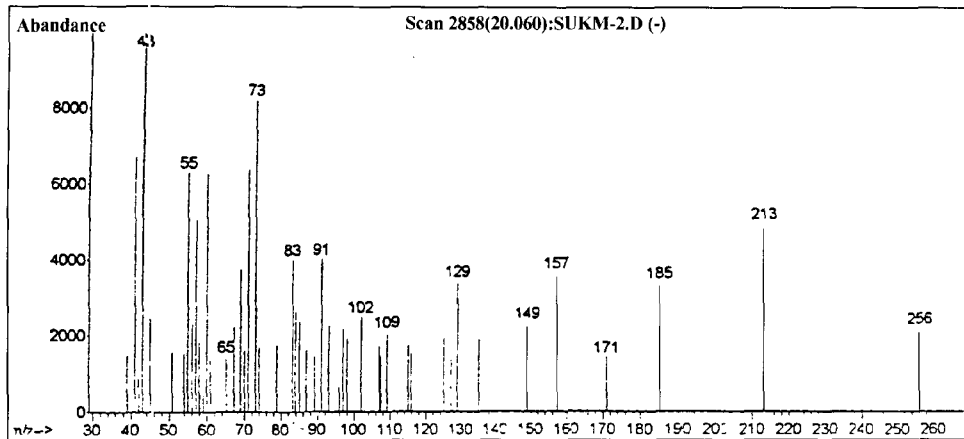


Fig. 7. GC-MS spectrum of antimicrobial compound from plantain.

(2H, triplet, $J=7.5$ Hz), 1.63(2H, triplet, $J=7.2$ Hz), 1.25(24H, singlet) 그리고 0.90(3H, triplet, $J=7.5$ Hz)에서 proton이 관찰되었으며 GC-MSD(m/z)를 분석한 결과는 Fig. 7과 같이 molecular ion(M^+)이 m/z 256에서 관찰되었다. 질경이로부터 분리한 peak IV는 hexadecanoic acid로 동정되었다.

지금까지 연구된 바에 의하면 탄소수가 12~18개의 중급지방산들이 항균효과가 있다고 하였다^{15,16}. 또한 김⁴은 산초의 hexadecanoic acid를 항균물질로 보고하였고 송등¹⁷은 청미래덩굴의 항균력과 관련된 물질은 페놀성 화합물의 일종이라고 보고하였다.

IV. 요약

우리나라 야산에서 쉽게 구할 수 있는 구황 식물인 질경이를 메탄올과 여러 용매로 추출하여 식품 부패 미생물에 대한 항균력을 실험하고 그 항균활성 물질을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

질경이의 메탄올 추출물은 2000 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 *B. subtilis* 및 *V. parahaemolyticus*의 증식을 100% 억제하였다. 그리고 질경이의 ethylacetate 분획물은 1000 $\mu\text{g/disc}$ 농도에서 5종의 모든 실험 균주에 대하여 8.5~11 mm 크기의 clear zone을 형성하여 가장 높은 항균력을 보였다. 질경이의 ethylacetate 분획물을 silica gel column chromatography와 TLC로 분리하여 얻은 fraction을 5가지 실험 균주에 대하여 항균 실험을 한 결과 3rd 분획물 중 4번째 분획물이 250 $\mu\text{g/disc}$ 농도에서 모든 균주에 대하여 10 mm 이상의 clear zone을 나타내었다. 항균력을 보인 질경이의 ethylacetate 3rd fraction No. 4를 HPLC로 단일 분리하여 얻은 peak IV로

부터 ¹H-NMR 및 GC-MSD로 동정한 결과 hexadecanoic acid로 동정되었다.

감사의 글

본 연구는 농림부의 농림기술관리센터 연구비의 지원에 의하여 이루어진 내용의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 안은영, 신동화, 백남인, 오진아: 감초로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조 동정. *Korean Sci. Technol.*, **30**(3): 680(1998).
2. 식품위생관계법규: 지구문화사, 180(1997).
3. 신동화: 천연 항균성 물질의 연구 현황과 식품 가공에의 이용. *식품과학과 산업*, **23**(4): 68(1990).
4. 김순임: 야생 식물의 첨가가 빵과 떡의 저장성 향상에 미치는 영향. 부경대학교 박사학위논문, 34(1997).
5. 김건희: 민들레와 질경이로부터 항균물질의 분리, 동정 및 식품에의 첨가효과. 숙명여자대학교 박사학위논문, 20(1999).
6. 이승진, 고병섭, 박근형: 두릅수피에서 항미생물 활성을 갖는 3,4-dihydroxybenzoic acid의 분리. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**(5): 807(1995).
7. 박옥연, 김신희, 김지희, 김용관, 장동석: 상백피 추출물로부터 항균성 물질의 분리, 정제. *J. Fd Hyg. Safety.*, **10**(4): 225 (1995).
8. 최영진: 산나물 재배와 이용법. 오성출판사, 252(1991).
9. Davidson, P.M. and Parish, M.E.: Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.*, January, 148(1989).
10. Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewidi, F.M. and El-Baroty, G.S.A.: Antimicrobial activity of some Egyptian

- spice essential oils. *J. Food Prot.*, **52**: 665(1989).
11. Lemos, T.L.G., Matos, F.J.A., Alencar, J.W., Cra-veiro, A.A., Clark, A.M. and McChesney, J.D.: Antimicrobial activity of essential oils of Brazillian plants. *Phytother. Res.*, **4**(2): 82(1990).
 12. Kim, J.M., Marshall M.R. and Wei, C.I.: Antibac-terial activity of some essential oil componets ag-ainst five foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **43**: 2839(1995).
 13. 장대식, 남상해, 최상욱, 양민식: Chrysanthemum屬의 식물의 항균력. *Agricultural Chemistry and Biotechno-logy*, **39**(4): 315(1996).
 14. 홍남두, 노영수, 김남재, 김진식: 유백피의 약효 연구. *Kor. J. Pharmacogn.*, **21**(3): 217(1990).
 15. Kubo, I., Hisae, M. and Kubo, A.: Antibacteria activity of long-chain alcohols against Streptococcus mutans. *J. Agric. Food Chem.*, **29**(4): 808(1997).
 16. Jay, J.M.: Food preservation with chemicals. In "Modern Food Microbiology". 3rd ed., Van Nostrand Reinhold Co., New York, 257(1986).
 17. 송중호, 권혁동, 이원구, 박인호: 청미래덩굴 뿌리에서 추출한 순차 분획물의 항균활성과 성분분석. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **27**(4): 574(1998).
-
- (1999년 7월 9일 접수)