

산두근 추출물의 식중독성 미생물에 대한 항균효과

배 지 현

계명대학교 식품영양학과

Antimicrobial Effect of *Indigofera kirilowii* Extracts on Food-borne Pathogens

Ji-Hyun Bae

Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 705-701, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the antimicrobial effect of the *Indigofera kirilowii* extracts against food-borne pathogens. The *Indigofera kirilowii* was extracted with methanol at room temperature, and fractionation of the methanol extract from *Indigofera kirilowii* was carried out by using petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and methanol, respectively. The antimicrobial activity of the *Indigofera kirilowii* extracts was determined using a paper disc method against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. The ethyl acetate extract of *Indigofera kirilowii* showed the highest antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*. The water extract of *Indigofera kirilowii* showed relatively low antimicrobial activity against microorganisms used in this experiment. The synergistic effect has been found in combined extracts of *Indigofera kirilowii* and *Pulsatilla koreana* as compared to each extract alone. The growth inhibition curve was determined using ethyl acetate extracts of *Indigofera kirilowii* against *S. aureus* and *S. dysenteriae*. The ethyl acetate extract of *Indigofera kirilowii* showed strong antimicrobial activity against *S. aureus* at the concentration of 4,000 ppm. The 4,000 ppm of ethyl acetate extract from *Indigofera kirilowii* retarded the growth of *S. aureus* more than 24 hours and *S. dysenteriae* up to 48 hours. This study showed the possibility of using ethyl acetate extract of *Indigofera kirilowii* as a material of food preservative.

Key words: *Indigofera kirilowii*, antimicrobial activity, food-borne pathogens

서 론

최근 웰빙(well-being)바람과 더불어 평상시에 건강을 유지하고 질병을 예방하고자하는 많은 노력을 기울이고 있다. 이러한 노력은 특히 과거부터 전수되어온 각종 생약재들에 관한 관심을 높이면서 이들의 약리 활성이나 효능을 과학적으로 규명하려는 연구와 새로운 항균물질을 찾고자하는 연구를 활발히 진행시키고 있다. 한방 및 민간요법에서 경험적으로 얻은 각종 생약재에서 추출한 천연 항균성 물질을 식품 보존에 이용하거나 기능성 식품에 사용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(1-5). 국내에서 천연 항균제의 개발을 위한 연구는 생약재 추출물에서 항균성 물질을 검색하는 것이 주를 이루고 있고(6-8), 야생식물에서는 Yang 등(9)이 경남일대의 자생식물 80종에서 4종의 균주에 대해 항균성을 검토하였으며, Moon 등(10)은 김치의 선도 유지를 위한 천연 보존제를 탐색한 바 있다. 그러나 식품 보존에 이용하는 천연 항균성 물질 중에는 특유의 맛과 냄새를 갖는 것과 항균력이 약하

고, 특정 세균에만 항균성을 가지는 것 등의 문제가 있는 것이 많아, 아직까지도 많은 생약재들의 식품에의 실용화를 위한 연구가 진행 중이다(11,12).

한편 산두근(山豆根, *Indigofera kirilowii*)은 콩과(豆科)에 속하는 땅비싸리의 뿌리를 말하는 것으로 주로 국내 및 중국 등지에 분포하고 있다. 8~9월경에 뿌리를 채취해서 깨끗이 씻은 다음 햇볕에서 말려 약재로 주로 사용하는데 산두근의 쓴맛에는 살균 성분이 있어서 여러 약재와 혼용하여 사용한다. 산두근의 주요성분으로는 Kampferitin 및 Quercitrin 등이 알려져 있고, 산두근을 약으로 쓸 때는 주로 탕이나 환제로 사용하며 부인과 질환과 악성 피부염증, 인후통증, 종창, 진통, 치은염, 치질 및 해독 등에 효과가 있다고 알려져 있다(13). 본 연구에서는 이와 같은 산두근을 petroleum ether, chloroform, ethlyl acetate, methanol 및 수용성 분획물로 추출하여 식중독을 유발하거나 식품 부패를 일으키는 각종 세균들에 대한 항균활성을 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 항균성 시험 대상 식물인 산두균 한국산으로, 대구시 중구 남성로 약전 골목에서 2003년 11월, 건조 상태의 것을 구입하였다. 불순물을 제거하기 위해 가볍게 2번 수세하여 건조시킨 후, 미세하게 마쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

사용 균주 및 배지

산두균 추출물의 항균실험에 사용한 균주는 Gram(+)세균 2종(*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 27348)과 Gram(-)세균 7종(*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Shigella dysenteriae* ATCC 9199 및 *Shigella flexneri* ATCC 12022)으로 총 9종을 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 분양 받아 사용하였다. 균의 생육배지로는 모든 균주에 대하여 Tryptic soy broth(Difco, USA)를 사용하여 37°C, incubator에서 18~24시간 배양하였다. 항균성 실험에 사용한 고체배지는 Tryptic soy agar(Difco, USA)였다.

항균성 물질의 추출

건조시킨 산두균 500 g에 대해 산두균 중량의 2배 분량인 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol을 사용하여 항균성 물질을 추출하였다. 추출관에 마쇄시킨 산두균을 넣고 1 L의 methanol을 넣은 후 실온에서 6시간 방치한 후, Whatman No. 2(Whatman international Ltd., England)에 여과하여 불순물을 제거하였다. 여과된 용액은 감압농축기(EYELA, N-N. Series, Japan)를 사용하여 45°C에서 감압·농축하였으며 농축한 methanol 추출물은 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 methanol을 각각 사용하여 용매 계통 분획하였다. 이 때 methanol 추출물과 각종 유기용매를 분별깔대기에 넣고 5분간 수작업으로 흔들어 혼합한 후, 15분간 실온에 방치시킨 후 분리하였다. 산두균의 열수추출물은 유기용매로 추출하고 남은 잔사에 1차 증류수를 넣고 100°C에서 30분간 끓인 후 동일한 방법으로 여과하였다. 여과된 용액은 감압농축기(EYELA, N-N. Series, Japan)를 사용하여 45°C에서 감압·농축하였으며, 건조중량 단위를 근거로 하여 적당한 농도로 희석한 후 실험에 사용하였다.

산두균 추출물의 항균효과 검색

항균성 물질을 검색하기 위해 본 실험에서는 paper disc방법을 사용하였다(14). Tryptic soy broth(TSB) 배지에 배양한 세균을 spectrophotometer(Nontron instruments, Italy) 620 nm에서 O.D.값 0.4로 흡광도를 조절하고 pour-plate method에 따라 Tryptic soy agar(TSA) 배지가 분주된 배양 접시에 균일하게 섞은 후 실온에서 굳혔다. 이 배지 위에 멸

균된 직경 3 mm의 paper disc를 시료 수에 맞게 올리고 밀착시킨 후 산두균의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol, 열수추출물을 각각 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm 및 1,000 ppm으로 희석하여 20 µL씩 천천히 흡수시켰다. Control로 산두균 추출물이 들어 있지 않은 70% ethanol을 실험군과 동일한 방법으로 점적하였다. 준비된 모든 plate는 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 clear zone(mm)의 크기를 측정하여 각 분획물의 항균 활성 정도를 측정하였다.

항균력의 상승효과 측정

산두균 추출물을 다른 항균성 식물 추출물과 혼합했을 시 항균력의 상승 여부를 확인하고자 백두옹 추출물과의 혼합을 시도하였다. 본 실험의 예비 실험에서 항균력이 있음이 입증된 산두균의 ethyl acetate 추출물과 백두옹의 ethyl acetate 추출물을 각각 250 ppm씩 섞고, 산두균의 ethyl acetate 추출물 500 ppm 및 백두옹의 ethyl acetate 추출물 500 ppm과 항균력을 비교하였다. 대상 균주는 *Staphylococcus aureus*와 *Shigella dysenteriae*를 사용하고 대조균으로 70% ethanol을 각 시료와 동일한 양인 20 µL씩 분주하여 검증하였다.

미생물의 생육곡선 측정

산두균의 ethyl acetate 추출물을 membrane filter(0.2 µm, pore size, Toyoroshi kaisha, Ltd., Japan)로 제균시키고, 액체배지에 각 추출물을 1,000 ppm, 2,000 ppm 및 4,000 ppm 농도별로 첨가하였다. 여기에 O.D.값을 0.4로 맞춘 세균 배양액을 10⁶배 희석시키고 무균적으로 접종하여 37°C에서 72시간 배양하고, 12시간마다 세균 배양액의 증식정도를 620 nm, spectrophotometer에서 측정하였다(15).

결과 및 고찰

산두균 추출물의 수율

산두균의 methanol 추출물을 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 methanol로 각각 분리한 결과, 각 분획물의 추출 수율은 산두균의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 분획물 및 열수추출물이 각각 2%, 9%, 3%, 5% 및 10%로 나타나, petroleum ether의 수율이 가장 낮았고 열수추출물의 수율이 가장 높았다.

산두균의 항균활성 검색

Paper disc 방법으로 산두균의 각종 유기용매 분획물 및 열수추출물을 각종 식품부패균 및 식중독균에 적용시켜 항균 활성을 실험해 본 바 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다. Gram 양성균에 대한 산두균의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 추출물 및 열수추출물의 항균활성은 Table 1과 같이 나타나 disc에 점적한 산두균의 각종 추출물의 농도가 증가할수록 항균 활성이 크게 나타났다. 즉 농도가 증가할수록 항균 활성을 나타내는 inhibition zone의 크기

Table 1. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Indigofera kirilowii* against Gram positive bacteria

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) ¹⁾				
		PE ²⁾	C ³⁾	EA ⁴⁾	M ⁵⁾	W ⁶⁾
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	- ⁷⁾	-	-	-	-
	250	12	10	12	12	-
	500	12	12	18	15	8
	1,000	16	16	28	22	9
<i>Bacillus cereus</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	12	8	-
	1,000	-	-	14	10	8

¹⁾Diameter. ²⁾PE: Petroleum ether extract. ³⁾C: Chloroform extract. ⁴⁾EA: Ethyl acetate extract.

⁵⁾M: Methanol extract. ⁶⁾W: Water extract. ⁷⁾No inhibitory zone was formed.

가 증가하여 ethyl acetate 추출물의 경우 *Staphylococcus aureus*에 대해 1,000 ppm 농도에서 28 mm로 가장 큰 활성도를 나타내었다. 산두근 추출물의 종류 및 농도에 따라 각 균주들에 대한 다른 활성을 나타내 균의 종류에 따라 각기 다른 항균활성을 나타내, 산두근의 petroleum ether 추출물은 *Staphylococcus aureus*에 대해 주된 항균 활성을 나타내었고, 산두근의 chloroform 추출물은 *Shigella dysenteriae*에서 가장 큰 활성을 나타내었다. 산두근의 ethyl acetate 추출물은

본 실험에 사용한 모든 균주에 대해 항균활성을 나타내었고 250 ppm농도에서도 항균효과가 나타났다. 갖의 에탄올 추출물 중 ethyl acetate 분획물은 *Staphylococcus aureus*에 대해서 가장 높은 항균활성이 있음이 보고된 바 있는데(16), 본 실험에서도 산두근의 ethyl acetate 추출물이 *Staphylococcus aureus*에 대해 가장 강한 항균효과를 나타내었다. 본 실험에 사용한 각종 산두근 추출물의 Gram 음성균에 대한 항균력 검색 결과는 Table 2와 같이 나타나, 산두근의 methanol 추

Table 2. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Indigofera kirilowii* against Gram negative bacteria

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) ¹⁾				
		PE ²⁾	C ³⁾	EA ⁴⁾	M ⁵⁾	W ⁶⁾
<i>Escherichia coli</i>	100	- ⁷⁾	-	-	-	-
	250	-	-	10	-	-
	500	-	-	11	6	-
	1,000	-	-	12	7	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	12	6	7
	1,000	-	-	14	8	8
<i>Salmonella Typhimurium</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	10	-	-
	500	-	5	12	7	-
	1,000	-	6	13	8	6
<i>Salmonella Enteritidis</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	10	9	4
	500	-	-	11	10	6
	1,000	8	-	17	11	8
<i>Shigella sonnei</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	9	-	5
	500	-	-	10	5	6
	1,000	-	-	14	6	8
<i>Shigella dysenteriae</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	11	14	9	3
	500	10	12	17	15	4
	1,000	16	20	24	18	5
<i>Shigella flexneri</i>	100	-	-	-	-	-
	250	-	-	8	-	-
	500	-	-	12	9	7
	1,000	-	-	16	10	8

¹⁾Diameter. ²⁾PE: Petroleum ether extract. ³⁾C: Chloroform extract. ⁴⁾EA: Ethyl acetate extract.

⁵⁾M: Methanol extract. ⁶⁾W: Water extract. ⁷⁾No inhibitory zone was formed.

출물과 열수추출물은 *Staphylococcus aureus*에 대해 가장 효과적인 항균활성을 보였고, 산두근의 ethyl acetate 추출물이 모든 균주에 대해 강한 항균력을 나타내었다. 이 중 *Shigella dysenteriae*가 가장 민감하게 반응해 산두근의 ethyl acetate 추출물 1,000 ppm에서 26 mm의 clear zone을 나타내었다. 이처럼 산두근의 ethyl acetate 추출물은 Gram 양성균과 Gram 음성균에 대해 폭넓은 항균력을 지니고 있음을 알 수 있었는데 Kim(17)은 산초의 메탄올 추출물이 Gram 양성 균주보다 Gram 음성균주인 *E. coli*에 더 민감하게 반응하였다고 보고한 바 있다. 한편 본 실험에 사용한 산두근 추출물의 농도가 100 ppm 이하인 경우에는 항균 효과를 검증할 수 없었고, 산두근의 petroleum ether 추출물과 chloroform 추출물의 경우도 모든 균주에 대해 그다지 큰 항균활성을 나타내지 않았다. 식물의 ethyl acetate 추출층에는 사포닌 성분, 유기산류, 탄닌, 당, 배당체 및 기타 알칼로이드류가 주로 용출되는 것으로 알려져 있는데, 본 실험에서 가장 높은 항균력을 보인 산두근의 ethyl acetate 추출물에도 이와 유사한 성분들이 함유되어 있을 것으로 사료된다. Hong 등(18)은 유백피의 butanol추출물이 Gram 양성균인 *S. aureus*, *S. faecalis* 및 *Bacillus sp.*에 대하여 발육억제 효과를 보이며 Gram 음성균인 *E. coli*와 진균인 *Candida albicans*에 대해서는 억제효과가 없다고 보고한 바 있으나, 본 실험에 사용한 산두근의 경우 Gram 양성균과 음성 균주 간에 특징적인 차이를 보이지 않았다.

산두근 추출물과 백두옹 추출물의 상승 효과

산두근의 ethyl acetate 추출물과 백두옹의 ethyl acetate 추출물을 섞었을 경우 나타나는 항균효과는 Table 3과 같이 나타났다. 본 실험에서 가장 민감한 항균효과를 보였던 *Staphylococcus aureus*에 대한 두 식물 추출물의 항균력은 산두근 추출물과 백두옹 추출물을 혼합했을 경우 더 크게 나타나, 산두근의 ethyl acetate 추출물만을 단독으로 500 ppm 준 경우(17 mm)보다 산두근의 ethyl acetate 추출물 250 ppm에 백두옹의 ethyl acetate 추출물 250 ppm을 섞어준 경우가 더 큰 항균력을 보였다(20 mm). *Shigella dysenteriae*균에 대해서도 두 추출물을 각각 250 ppm씩 섞어 투여한 경우가 산두근의 ethyl acetate 추출물 500 ppm을 단독으로 준 경우보다

Table 3. Antimicrobial activity of combined extracts from *Indigofera kirilowii* and *Pulsatilla koreana*

Strains	Clear zone on plate (mm) ¹⁾			
	Control	<i>Indigofera kirilowii</i> (500 ppm)	<i>Pulsatilla koreana</i> (500 ppm)	Both ²⁾ (each 250 ppm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	- ³⁾	17	18	20
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	16	13	19

¹⁾Diameter.

²⁾*Indigofera kirilowii* and *Pulsatilla koreana*.

³⁾No inhibitory zone was formed.

높은 항균력을 보였다.

산두근의 ethyl acetate 추출물이 Gram 음성 및 Gram 양성균의 증식에 미치는 영향

산두근의 ethyl acetate 추출물을 농도별로(0 ppm, 1,000 ppm, 2,000 ppm 및 4,000 ppm) TSB배지에 첨가하고, Gram 양성균인 *Staphylococcus aureus*와 Gram 음성균인 *Shigella dysenteriae*에 각각 접종시켜 72시간 배양하면서 일정 시간 간격으로 균주의 성장 정도를 측정해 본 바, Fig. 1 및 Fig. 2와 같은 증식곡선을 얻을 수 있었다. *Staphylococcus aureus*의 경우, 산두근의 ethyl acetate 추출물을 첨가하지 않은 control의 경우 배양 후 12시간 후부터 급속한 균의 증식을 볼 수 있었고, 4,000 ppm 농도를 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 이루어져 균의 성장이 24시간까지 억제됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). Chung(19)은 *Staphylococcus aureus*에 대해 손바닥 선인장 ethanol 추출물이 3.0 mg/mL 이상에서 증식이 지연되었다고 보고한 바 있으며, Park 등(20)은 갖의 수용성 추출물이 1,000~1,200 ppm 범위에서 균의 증식

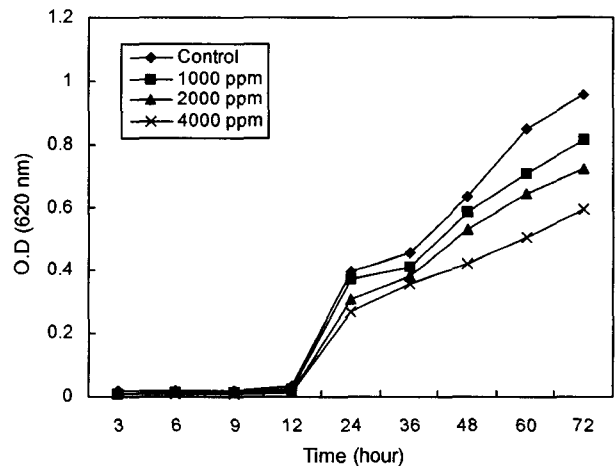


Fig. 1. Effect of ethyl acetate extract of *Indigofera kirilowii* against the growth of *Staphylococcus aureus*.

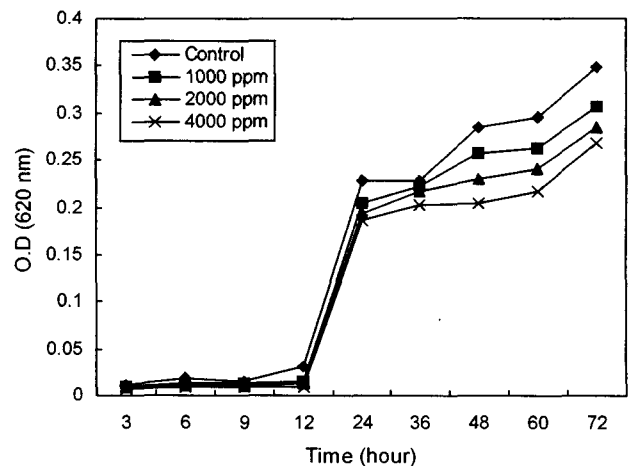


Fig. 2. Effect of ethyl acetate extract of *Indigofera kirilowii* against the growth of *Shigella dysenteriae*.

억제가 시작된다고 보고하였다. 또한 Jeon 등(21)은 질경이의 methanol 추출물이 *Staphylococcus aureus*의 성장을 억제한다고 보고한 바 있는데, 본 실험에서도 산두근의 ethyl acetate 추출물이 *Staphylococcus aureus*의 증식에 억제 효과를 보였다. 또 Shin 등(22)은 자소잎의 ethanol 추출물이 *S. Typhimurium*의 생육 억제를 36시간까지 지속시킨다고 하였고, Chung과 Jung(23)도 영지 추출물이 특이적으로 *S. Typhimurium*에 대해 항균활성을 갖는다고 보고한 바 있어, 천연물에서 분리되는 각종 항균성 물질을 섞어 활용하면 식중독균의 성장을 효율적으로 억제할 수도 있을 것으로 사료된다. 산두근의 ethyl acetate 추출물이 *Shigella dysenteriae*에 대해 미치는 생육 저해 정도를 동일한 방법으로 72시간 동안 살펴본 바 Fig. 2와 같은 결과를 얻을 수 있었다. 산두근의 ethyl acetate 추출물을 넣지 않은 control 배지에서 배양했을 때 12시간 이후부터 급격한 증가를 보여 빠른 성장이 일어남을 관찰할 수 있었으나 산두근의 ethyl acetate 추출물 4,000 ppm을 첨가한 배지에서는 균의 증식이 48시간까지 지연되는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 식중독 유발세균에 대한 항균활성이 우수한 천연 항균성 물질을 검색하기 위해 예로부터 민간과 한방에서 널리 이용되어 온 산두근을 각종 유기용매로 추출하여 식중독 유발세균에 대한 항균활성을 조사해 보았다. 산두근을 methanol로 추출한 후, petroleum ether, chloroform, ethyl acetate를 이용하여 실온에서 각각 용매별로 계통 분획하고, 열수추출물을 얻은 후, 9종의 식중독 유발세균(*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aruginosa*, *Shigella sonnei*)에 대하여 항균효과를 조사하였다. 산두근 추출물의 농도별 항균 활성 검색에서는 산두근의 ethyl acetate 추출물이 가장 큰 항균 효과를 보였으며 *Staphylococcus aureus*와 *Shigella dysenteriae*가 가장 민감하게 반응하는 균주였다. 산두근의 ethyl acetate 추출물과 백두옹의 ethyl acetate 추출물을 혼합하여 항균력을 측정해 본 결과 두 추출물을 섞어 첨가했을 경우가 단독으로 사용했을 때보다 상승효과를 나타내었다. 또한 산두근의 ethyl acetate 추출물이 식중독 유발세균의 성장에 미치는 효과를 검정하기 위해 *Staphylococcus aureus* 및 *Shigella dysenteriae*의 배양액에 산두근의 ethyl acetate 추출물을 각각 4,000 ppm 농도로 첨가했을 시, *Staphylococcus aureus*의 생육이 24시간 이상까지 억제됨을 관찰할 수 있었고, *Shigella dysenteriae*의 생육도 48시간까지 지연시킬 수 있었다. 이상의 결과 산두근의 ethyl acetate 추출물은 식품보존제 등의 신소재 물질로 활용가능성이 높음을 알 수 있었다.

문 헌

1. Bullerman LB, Lieu FY, Seier SA. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *J Food Sci* 42: 1107-1109.
2. Laura LZ, John CK. 1982. Inhibition and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus ceretisiae*. *J Food Sci* 46: 1205-1210.
3. Conner DE, Beuchat LR. 1984. Effects of essential oils from plants on food spoilage yeasts. *J Food Sci Technol* 27: 216-220.
4. Arun GM, Tewari AJ, Shrikhande SR. 1978. Inhibition of aflatoxin producing fungi by onion extracts. *J Food Sci* 44: 1545-1547.
5. Kim SJ, Park KH. 1995. Antimicrobial activities of the extracts of vegetable Kimchi stuff. *Kor J Food Sci Technol* 27: 216-220.
6. Lee BW, Shin DH. 1991. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms. *Kor J Food Sci Technol* 23: 200-204.
7. Park UY, Chang DS, Cho HR. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 91-96.
8. Kim SJ. 1995. Screening and characteristics of antimicrobial activity in oriental medicines. *PhD Dissertation*. Kyung-sang National Univ., Korea.
9. Yang MS, Ha YL, Nam SH, Choi SU, Jang DS. 1995. Screening of domestic plants with antibacterial activity. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* 38: 584-589.
10. Moon KD, Byun JA, Kim SJ, Han D. 1995. Screening of natural preservatives to inhibit Kimchi fermentation. *Kor J Food Sci Technol* 27: 257-263.
11. Kim HB, Kim AJ, Kim SY. 2003. The analysis of functional materials in mulberry fruit and food product development trends. *Food Sci and Industry* 36: 49-61.
12. An BJ. 1999. The material of natural anti-bacterial agents for the food preservatives. *Food Industry and Nutr* 4: 5-16.
13. Yook CS. 1989. *Coloured medicinal plants of Korea*. Academic Publishing Co., Seoul, Korea.
14. James GC, Sherman J. 1987. Chemotherapeutic agent in microbiology, A laboratory manual chemical agents of control. Chapman & Hall, New York. p 247-254.
15. Karapinar M. 1990. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *International J Food Microbiol* 10: 193-200.
16. Kang SK. 1995. Isolation and antimicrobial activity of antimicrobial substance obtained from leaf mustard (*Brassica juncea*). *Kor J Food Sci Technol* 24: 697-698.
17. Kim SY. 1997. Effect of wildlife plants addition on the preservation of bread and rice cake. *PhD Dissertation*. Pukyong National Univ., Korea.
18. Hong ND, Noh YS, Kim NJ, Kim JS. 1990. A study on efficacy of *Ulmi cortex*. *Korean J Pharmacognosy* 21: 217-223.
19. Chung HJ. 2000. Antioxidative and antimicrobial activities of *Opuntia ficus indica* var. saboten. *Korean J Soc Food Sci* 16: 164-169.
20. Park SK, Park JR, Lee SW, Seo KI, Kang SK, Shim KH. 1995. Antimicrobial activity and heat stability of water-pretreated extract of leaf mustard dolsan (*Brassica juncea*). *J Korean Soc Food Nutr* 24: 710-715.
21. Jeon YO, Kim KH, Kim SI, Han YS. 1998. Screening of antimicrobial activity of the plantain (*Plantago asiatica* L.) extract. *Kor J Food Sci Technol* 14: 39-45.
22. Shin DH, Kim MS, Han JS. 1997. Antimicrobial effect of

ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionated against food borne bacteria. *Kor J Food Sci Technol* 29: 808-816.

23. Chung DO, Jung JH. 1992. Studies on antimicrobial substances of *Ganoderma lucidum*. *Kor J Food Sci Technol* 24: 552-557.

(2004년 4월 28일 접수; 2004년 8월 4일 채택)