Korean Journal of Food Preservation Vol. 11. No. 3, pp.411~416 (2004) 한국식품저장유통학회지

항균포장지 제조용 식물성 자몽종자추출물제재의 항균특성

조성환† · 김철환[1] · 박우포[2]

경상대학교 식품공학과 및 농업생명과학연구원, [1]경상대학교 임산공학과,
[2]마산대학 식품과학부

Antimicrobial Activities of Botanical Antimicrobial Agent-Grapefruit Seed Extract Mixture for the Preparation of Anitimicrobial Packaging Paper

Sung-Hwan Cho†, Chul-Hwan Kim[1] and Woo-Po Park[2]

Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

[1]Department of Forest Products, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

[2]Division of Food Science, Masan College, Masan 630-729, Korea

Abstract

Botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture(BAAG), which could be applied to the preparation of antimicrobial packaging paper, was investigated in order to prove the preservative function of fruits and vegetables. BAAG showed remarkable antimicrobial effects against *Fusarium solani, Botrytis cinerea, Pencillium crustosum, Erwinia carotovora, Phoma destructiva* and *Alternaria radicina* causing the postharvest decay of fruits and vegetables. We have examined that BAAG could inhibit the growth of microorganims when treated with more than 500 μg/mL concentration. The activities of BAAG were stable in the wide spectrum of pH and temperature. Direct visualization of microbial cells by using scanning electron microscope showed the loss of microbial cell membrane function, which was destroyed by treating with the dilute solutions of BAAG. We could confirm that BAAG be an antimicrobial agent for the preparation of antimicrobial packaging paper.

Key words : botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture, postharvest decay, scanning electron microscope

서 론

수확한 과채류는 호흡작용, 증산작용 등의 생리작용이 활발해질 뿐만 아니라 곰팡이를 비롯한 식물병리 미생물의 오염 및 성장으로 선도가 크게 상실될 수 있다(1,2). 과채류의 소비와 생산량이 늘어가고 있는 상황에서 매년 수확기에 홍수 출하로 인하여 가격을 제대로 받지 못하고 있는 실정이다. 소비자들은 고품질의 과채류를 요구하므로 적절한 선도를 유지해야 높은 가격을 받을 수 있다. 영세 농가가 안고 있는 이러한 문제점을 조금이라도 해결하기 위해서는 상온에서도 어느 정도의 선도 유지 성능을 갖는 저장 및 유통용 포장 소재의 개발이 무엇보다 필요하다. 이러한 포장 소재는 수확후 과채류의 저장 및 유통 기간 동안 변패 미생물의 발생을 억제하고, 호흡 작용을 통하여 방출하는 숙성 호르몬인 에틸렌가스나, 이산화탄소 및 산소를 흡수 제거하며, 과채류의 수분 손실을 최소화할 수 있어야 한다. 따라서 수확한 과채류의 품질과 부가가치를 향상시키는 하나의 수단으로서 저장성 향상 및 선도 유지 방법의 개발이 요구된다. 과채류의 선도를 향상시키는 방안으로서는 안전성에서 우수한 천연 항균제를 이용하는 것이다. 또한 과채류의 유통시에 포장은 필수적이므로 항균력이 뛰어난 천연항균제를 함유한 포장재의 개발도 과채류의 선도 유지에 바람직한 방안의 하나가 될 수 있다. 아울러, 과채류는 인간의 식생활과 밀접하게 관련되기 때문에 과채류의 포장에 사용되는 소재의 안전성은 매우 중요하다. 현재, 국내외적으로 진행되고

†Corresponding author. E-mail : sunghcho@nongae.gsnu.ac.kr,
Phone : 82-55-751-5478, Fax : 82-55-753-4630

있는 천연항균제에 관한 연구(3-9)는 대부분 실제응용분야에 있어서 효과면에 치중한 연구로서 항균작용을 확인하기 위한 기초연구가 부족한 형편이다. 따라서, 본 실험에서는 전보(10)에서 시설채소산물의 선도유지를 위하여 활용했던 약용식물추출물 등을 비교실험구로 하여, 안정성과 항균력이 뛰어난 자몽종자추출물제재(Botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture : 이하 BAAG라 칭함)로부터 항균활성물질을 추출하고 BAAG의 항균활성성분이 미생물세포막 또는 세포벽의 유동성에 미치는 영향을 검토하는 한편, 전자현미경을 이용하여 변패미생물의 세포형태 및 기능성변화를 살펴봄으로써 BAAG의 항균작용을 확인하였다. 이를 기초로 해서, 항균력이 우수한 BAAG를 제조하여, 과채류에 대한 분무 또는 침지처리제 및 포장소재등의 천연 선도유지제로서의 이용가능성을 검토하여, 저장, 수송등 유통과정에서 과채류의 half life를 연장함으로써, 우리나라 과채류 산업의 국제경쟁력 강화에 기여할 수 있는 기초를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

식물성 천연항균제의 조제

일반 약용식물을 건조된 상태로 구입하여 각각 100 g씩을 분쇄기에 분쇄하여 시료와 증류수를 1 : 5의 비율로 넣고 100℃ water bath에서 3시간 동안 추출하여 1차 여과포를 이용하여 여과한 후 10분 동안 5,000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 수집하였다. 이 상등액에 2차 여과시켜 얻은 액을 합쳐 회전진공증발기로 최초량의 약 1/10로 농축하고 동결건조기를 이용하여 분말상태로 조제하였다. 한편, 자몽종자추출물은 외국산 자몽을 구입하여 과육부와 종자의 비율이 1 : 4 정도로 혼합되어 있는 자몽과실체를 60℃~70℃의 건조실에서 drum-drying을 행하여 건조시킨 후, milling system으로 80~120 mesh 크기로 분쇄하고, 자체 개발된 감압추출장치를 이용하여 glycerine을 추출용매로 연속 추출하고, 층분리시켜 자몽종자추출물(Grapefruit seed extract : GFSE)을 수집하였다(11). 이와같이 추출조제한 종자추출물에 lactic acid 5%, citric acid 5%가 되도록 혼합, 교반하고 균질화하는 과정을 반복한 다음, 50~80 rpm의 느린 속도로 일정시간 교반하여 얻어진 추출물을 식물성 천연항균제 자몽종자추출물제재(Botanical antimicrobial agent-GFSE mixture: 이하 BAAG라 칭함)로 선택하여 항균력 실험원액으로 사용하였다. BAAG는 목적에 맞게 일정농도로 희석하여 실험용 시료로 이용하였다. 이 때 얻어지는 BAAG는 자외선이 조사되는 무균실에서 특정 온도, 압력, 시간 등의 조건 하에서 품질관리 방법에 의한 검사를 실시하여 일정한 규격의 제품이 되도록 하였다.

항균력 시험

식물추출물에 대한 항균력 시험은 paper disc method(12)에 의해 측정하였다. 즉, 배양된 공시균액 1 mL를 petri dish에 가하고 멸균된 배지를 약 15 mL 부어 혼합하고 굳혀서 그 위에 다시 10 mL을 중첩하여 굳힌다. 그 위에 paper disc를 놓고 BAA의 농도를 250 - 1000 μg/mL의 농도로 조제된 액을 10 μL 흡수시켜 세균의 경우 생육최적온도인 35℃에서 48시간 배양하고, 곰팡이의 경우는 25℃에서 72시간 배양후 균이 증식하지 못한 clear zone의 직경을 대조구(약용식물 추출물을 처리하지 않은 것)와 비교하여 항균력을 시험하였다.

BAAG의 생육 저해 적정 농도 측정시험

BAA의 항균력 시험에서 항균력이 우수한 것으로 입증된 자몽종자추출제재(BAAG)를 선택하여 membrane filter(0.2 μm)로 제균시키고, tryptic soy broth(TSB)에 BAAG를 여러 가지 농도(50, 100, 250, 500, 1000 μg/mL)단위로 첨가한 후, 각 공시균주의 slant에서 배양된 균주 1백금이를 취하여 10 mL TSB에 접종, 30℃에서 24시간 동안 배양시키고, 이 배양액 0.1 mL를 취해 다시 10 mL TSB에 접종하여 30℃에서 24시간 동안 배양한 배양액 0.1 mL를 여러농도(50, 100, 250, 500, 1000 μg/mL)의 BAAG가 함유된 TSB에 접종한후 배양하였다. BAAG의 첨가농도별 항균효과는 미생물의 생육정도를 spectrometer(620 ㎚)로 흡광도를 측정, 비교하고 천연항균소재인 BAAG를 넣은 TSB를 blank로 사용하였다. 공시균주에 대하여 BAAG의 생육억제를 확인하기 위하여 생육저해농도곡선을 측정하였다. 이때 실험에 사용한 균주는 과채류의 생육 및 저장유통중에 오염되어 상품가치를 떨어뜨리는 것으로 알려져 있는(13, 14) 건부병균 Fusarium solani, 잿빛곰팡이병균 Botrytis cinerea, 녹색곰팡이병균 Pencillium crustosum, 연부병균 Erwinia carotovora, 실부병균 Phoma destructiva, 흑반병균 Alternaria radicina 등을 공시균주로 하였다.

BAAG의 열 및 pH 안정성검사

Paper disc method에 의하여 BAA의 항균성을 측정하여 항균력이 가장 우수한 BAAG를 대상으로 열 및 pH 안정성를 검토하였다. 열 안정성을 측정하기 위하여 40, 60, 80, 100, 120, 150℃까지 30분 동안 열처리한 후, 처리온도 별로 BAAG를 1000 μg/mL 농도가 되게한 다음, gram 양성균, gram 음성균, 곰팡이 및 효모 분류에 해당된는 각각의 공시균주를 이용하여 항균력 시험 방법과 동일하게 생육저해환을 비교, 측정하였다. 또한 pH안정성을 측정하기 위하여, buffer solution으로 BAAG의 pH를 4, 6, 7, 8, 10으로 조정한 후, 37℃에서 1시간 방치한 다음, 다시 pH 7로 중화시켜 열안정성 시험과 같은 방법으로 생육저해환을 비교·검토하여 pH 안정성을 측정하였다.

BAAG의 항균력에 의한 미생물세포의 전자현미경적 형태 변화

항균력이 뛰어난 BAAG의 처리로 인한 공시균주의 세포 형태 및 기능성 변화를 알아보기 위해 전자현미경을 이용하여 전술한 방법(15, 16)에 준하여 BAAG처리전후의 미생물의 세포구조를 관찰하였다. 즉, BAAG 1,000 μg/mL의 농도로 처리한 것과, 처리하지 않은 대조구 균체세포의 주사전자현미경(SEM : Scanning electron microscope : DS-130C, ISI ABT)촬영사진을 비교·검토하여 미생물 세포조직의 변화를 측정하였다. 주사전자현미경의 조직표본 제작과정은 다음과 같다. 즉, broth 배지상에 미생물을 eppendorf tube에 전배양하고, 항균물질을 투입할 경우, eppendorf tube에 배지와 항균물질을 동시에 주입한 후 미생물에 따라 시간을 달리하여 1~2일정도 배양하였다. 배양액을 4℃에서 12,000 rpm으로 원심분리 시킨 후, 2.5% glutraldehyde용액(pH 7.0~7.4)에서 2~4시간 정도에서 고정하였다. 고정 후, phosphate buffer (monobasic & dibasic) pH(7.0~7.4)로 2회 정도 세척하고, 다시 1~2% osmium tetroxide용액 (pH7.0~7.4, 4℃)로 1~2시간 고정하고, phosphate buffer pH(7.0~7.4)로 2회 정도 세척한 후, 95% Ethanol로 각각 15분 간격으로 탈수를 실시하였다. 이어서 acetone이나 isoamylacetate에 침전시키고, 바로 CO_2나 HMDS(hexamethyldisilazane)를 이용하여 시료를 완전히 건조시켰다. 탈수된 조직은 critical point dryer로 건조시킨후 ion sputter를 이용하여 gold ion particle을 두께 20 nm로 피막을 입힌 후 주사전자현미경(Scanning electron micrograph, SEM : DS-130C, ISI ABT)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

천연항균소재의 항균성 시험

식물성 천연항균소재(Botanical antimicrobial agent : BAA)의 항균력을 측정하기 위하여 공시균주에 대하여 각각 조제한 일정농도의 BAA를 paper disk 상에 접종하여 생육저해도를 측정하였다. 실험결과, Table 1에서 보는 바와 같이, 본 실험시료로 선택한 BAA중 넓은 영역의 변패미생물에 대하여 항균력이 뛰어난 것은 비교실험용 항균소재인 마두령, 대황, 황금, 치자, 황련, 호장, 정향 등으로 나타났으나, 광범위한 영역의 미생물군에 대하여 뚜렷한 생육저해환을 보이고 있어 본 연구의 항균포장지 제조용 항균소재로 BAAG를 선택하고 그 항균특성을 검토하였다.

BAAG의 생육 저해 적정 농도 측정시험

BAA의 항균력 시험에서 항균력이 우수한 것으로 입증된 BAAG를 선택하여 BAAG 첨가 농도를 달리하여 공시균주인 과채류 변패미생물에 대한 생육저해 농도곡선을 측정하였다. 실험결과, Fig. 1, Fig. 2 및 Fig. 3에서 보는 바와 같이 대부분의 과채류 변패미생물들이 100-500 μg/mL 이상의 BAAG농도에서 생육이 크게 억제되는 것으로 나타났다.

Table 1. Inhhibitory effect of natural antimicrobial agents against the growth of microorganisms related to the putrefaction of fruit and vegetable products

Botanical antimicrobial agent	*Bacillus cereus*	*Escherchia coli*	*Lactobaillus plantarum*	*Leuconostoc mesenteroides*
Rheum palmatum L. (大黃)	+	++	+	+
Scutellariae radix (黃芩)	+	+	+	+
Gardenia jasminoides (梔子)	+	+	+	-
Coptis chinensis Franch (黃連)	++	+	+	-
Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc.(虎杖)	+	+	-	-
Aristolochia contorta Bge.(馬兜鈴)	+	+	-	+
Syzyrium aromaticum (L.) Merr. et Perry (丁香)	+	+	+	+
BAAG*	++	++	+	++

* Botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture.
++ : very effective, + : effective, - : not effective.

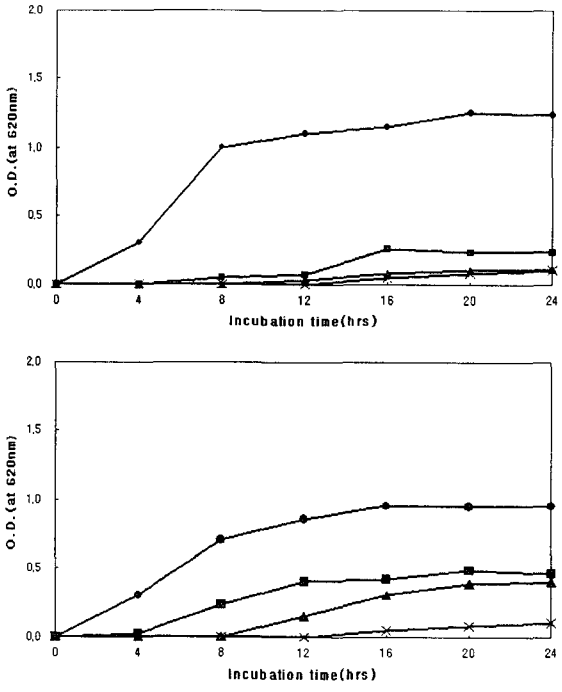

Fig. 1. Growth curves of *Fusarium solani*(Top) and *Botrytis cinerea*(Bottom) in the medium containing botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract(BAAG).

●: Control, ■: 100 μg/mL of BAAG, ▲: 250 μg/mL of BAAG, ×: 500 μg/mL of BAAG

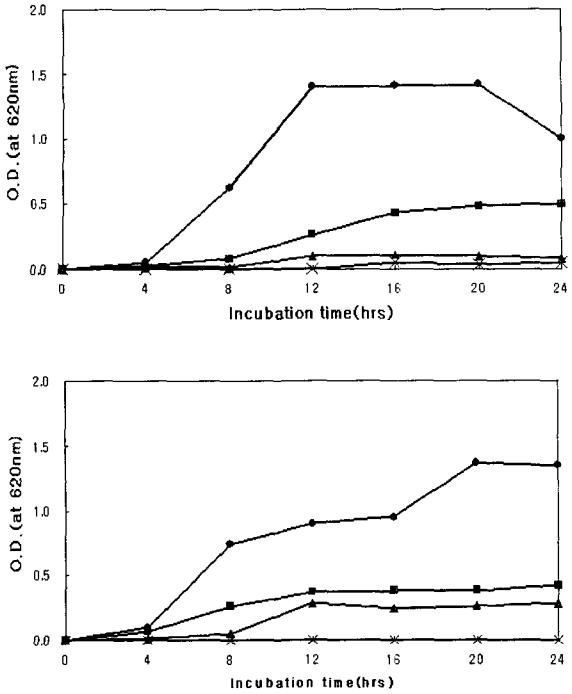

Fig. 2. Growth curves of *Pencillium crustosum*(Top) and *Erwinia carotovora* (Bottom) in the medium containing botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract (BAAG).

●: Control, ■: 100 μg/mL of BAAG, ▲: 250 μg/mL of BAAG, ×: 500 μg/mL of BAAG

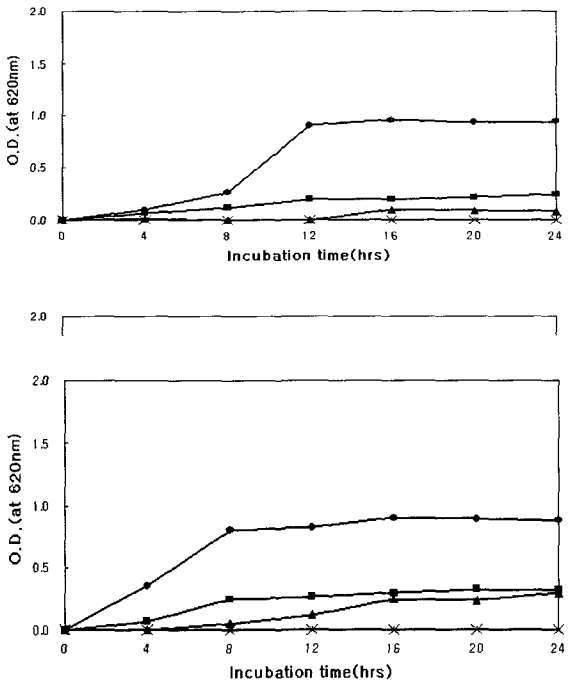

Fig. 3. Growth curves of *Phoma destructiva*(Top) and *Alternaria radicina* (Bottom) in the medium containing botanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract (BAAG).

●: Control, ■: 100 μg/mL of BAAG, ▲: 250 μg/mL of BAAG, ×: 500 μg/mL of BAAG

BAAG의 열 및 pH 안정성검사

Paper disc method에 의하여 BAA의 항균성을 측정하여 항균력이 가장 우수한 BAAG를 대상으로 열 및 pH 안정성를 검토하였다. 열 안정성을 측정하기 위하여 40, 60, 80, 100, 120, 150℃까지 30분 동안 열처리한 후, 처리온도 별로 BAAG를 1000 μg/mL 농도가 되게한 다음, gram 양성균, gram 음성균, 곰팡이 및 효모 분류에 해당된는 각각의 공시균주를 이용하여 항균력 시험 방법과 동일하게 생육저해환을 비교, 측정하였다. 또한 pH 안정성을 측정하기 위하여, buffer solution으로 BAAG의 pH를 4, 6, 7, 8, 10으로 조정한 후, 37℃에서 1시간 방치한 다음, 다시 pH 7로 중화시켜 열 안정성 시험과 같은 방법으로 생육저해 환을 측정하였다. 그 결과, BAAG는 gram 양성균, gram 음성균, mold 및 yeast 등 폭넓은 미생물영역에 대하여 넓은 범위의 처리온도(Fig. 4)와 pH(Fig. 5)에서 뚜렷한 항균력을 보임으로써 열과 pH에 안정한 것으로 나타났다.

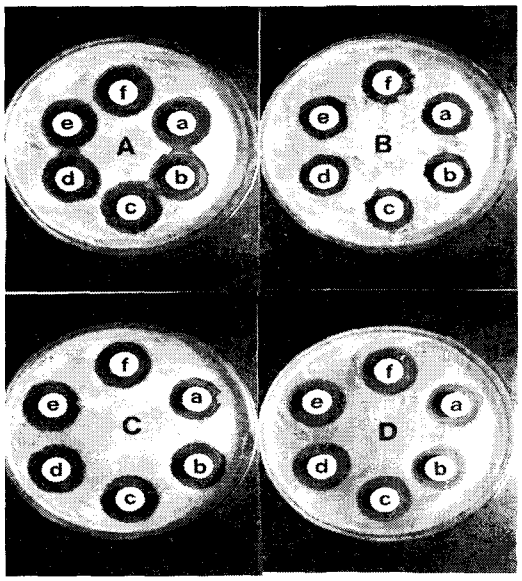

Fig. 4. Thermal stability of grapefruit seed extract mixed with lactic acid and citric acid (BAAG) against the growth inhibition of microorganisms.

A : *Staphylococcus aureus* B : *Salmonella choleraesuis*
C : *Aspergillus oryzae* D : *Candida albicans*
(a : 40℃, b : 60℃, c : 80℃, d : 100℃, e : 120℃, f : 150℃)

전자현미경을 이용한 미생물의 세포형태변화

BAAG의 미생물세포 생리특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 국립보건원으로부터 구입 또는 분양받거나, 경상대학교 의과대학에서 분양받아 식품공학과에 보관중인 과채류 오염 및 이상생리를 유도하는 *Listeria monocytogenes* 및 *Fusarium* sp. 균체세포를 500 μg/mL의 BAAG용액으로 처리한 균체세

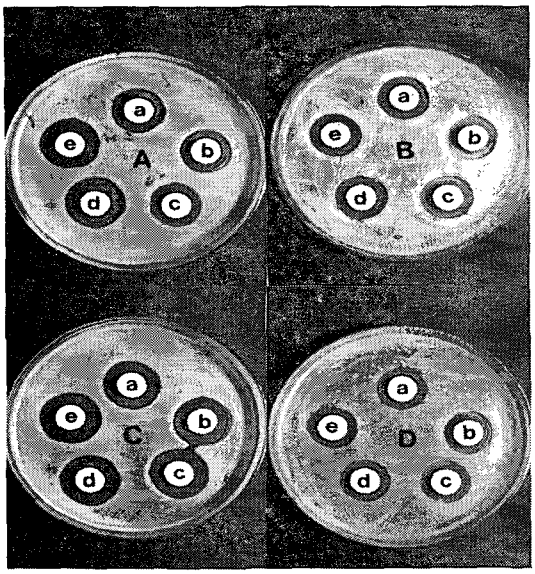

Fig. 5. pH stability of grapefruit seed extract mixed with lactic acid and citric acid (BAAG) against the growth inhibition of microorganisms.

A : *Staphylococcus aureus* B : *Salmonella choleraesuis*

C : *Aspergillus oryzae* D : *Candida albicans*

(a : pH 4, b : pH 6, c : pH 7, d : pH 8, e : pH 10)

포 및 포자를 처리하지 않은 대조구와 함께 전자현미경 검경시료로 조제하여 SEM으로 촬영한 결과는 Fig. 6 및 Fig. 7과 같다. 즉, SEM에 의한 시료촬영결과에서 BAAG처리로 미생물 균체가 세포벽 또는 세포막의 기능파괴로 인하여 세포형태의 변화가 뚜렷하게 발생하고, 사멸하게 되어 미생물 균체세포에 대한 BAAG의 항균작용을 확인할 수 있었고, 부패성 및 병원성 균주오염 가능성이 있는 식품을 BAAG로 예방처리함으로써 변패성 미생물균주에 의한 농축수산 식품원료 및 그 가공식품의 변패현상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

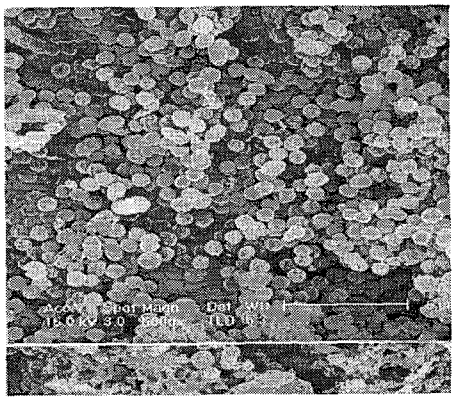

Fig. 6. Scanning electron micrographs of *Listeria monocytogenes* not-treated (Top : Control) and treated with BAAG(Bottom : 250 μg/mL).

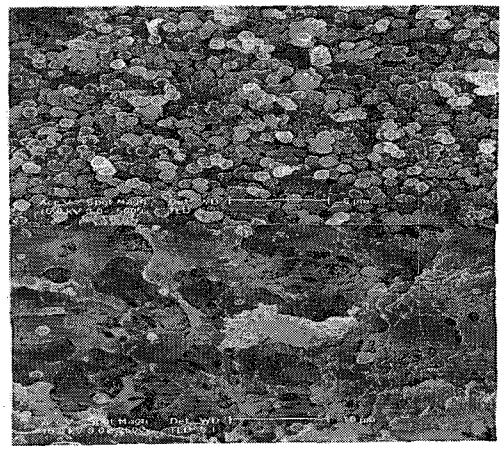

Fig. 7. Scanning electron micrographs of Fusarium sp. not-treated(Top : Control) and treated with BAAG(Bottom : 250 μg/mL).

이상과 같은 실험을 통하여 BAAG가 강한 항균력이 있다는 것을 확인하였으나, 이로부터 항균물질을 분리동정하고 과채류에 직접 또는 포장소재로 적용할 수 있기까지는 많은 기초연구가 지속되어야 할 것으로 생각된다. BAAG의 항균활성물질 및 그 작용기작을 확립하기 위해서는 먼저 항균작용에 관여하는 BAAG의 항균작용을 분자구조적인 차원에서 이해하고 유효활성물질을 순수분리하여, 이들의 복합적인 작용기작을 조사하여 항균성분의 미생물 생육억제작용에 대한 다각적인 실험이 더 많이 진행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

식물성 천연항균제인 자몽종자추출제재(Boatanical antimicrobial agent-grapefruit seed extract mixture : BAAG)의 항균특성을 구명하고, 과채류의 선도유지제로서의 기능과 효능을 입증하기 위하여 BAAG를 조제하여 과채류의 저장, 유통중 발생하는 변패균주, *Fusarium solani, Botrytis cinerea, Pencillium crustosum, Erwinia carotovora, Phoma destructiva* and *Alternaria radicina*등을 공시균주로 사용하여 paper disk method에 의한 농도별 항균력을 실험한 결과, 변패미생물에 대하여 농도에 비례하여 상당한 항균효과를 보였으며, 또한 생육저해곡선에서는 500 μg/mL 이상에서 미생물의 생육이 완전히 억제되는 것을 볼수 있었다. 그리고 열 및 pH 안전성에 대해서도 열처리의 온도와 pH 범위에 관계없이 항균력을 보임으로써 열과 pH에 안정한 것으로 나타났다. 또한 항균력에 의한 미생물의 생태변화에 대한 전자현미경적 검사(SEM)에서도 항균물질이 미생물 세포벽 또는 세포막의 기능성을 파손하여 삼투기능이 상실됨으로 해서 미생물의 생리가 중단되고 생육이 억제되는 것을 볼 수 있으며, 균체 내부에 빈 사멸 균체들이 증대함을 알 수 있었다. 이상의 결과로 미루어, BAAG는 항균포장원지 또는 항균포장상자의

기능성 소재로 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 김동만, 김종기, 박세원, 박윤문, 양용준, 이승구, 최성진, 황용수 (1996) 원예작물의 수확후 생리. 도서출판 성균사, 수원, p.1-21
2. 박윤문, 이승구 (1997) 원예 생산물 저장, 수확 후 관리 기술의 실제. 농민신문사, 서울, p.33-44
3. Baranowski, J.D., Davidson, P.M., Nagel, C.W., and Branen, A.L. (1980) Inhibition of Saccharomyces cerevisiae by naturally occurring hydroxycinnamates. Journal of Food Science, 45, 592-594
4. Cutter, C.N. (2000) Antimicrobial effect of herb extracts against Escherichia coli O157, H7, Listeria monocytogenes, and Salmonella typhimurium associated with beef. Journal of Food protection, 63, 601-607
5. Hur, J.W., Hyun, H.H., Pyun, Y.R., Kim, T.S., Yeo, I.H. and Paik, H.D. (2000) Identification and partial characterization of lacticin BH5, a bacteriocin produced by Lactcoccus lactis BH5 isolated from Kimchi. Journal of Food Protection, 63, 1707-1712
6. Ko, K.H. (1996) Antimicrobial effect short-chain fatty acids against Saccharomyces cerevisiae, Food and Biotechnology, 5, 42-47
7. Nanayama, M. (1996) Antibacterial actions of citric acid in Umebosi (Salted Japanese apricot) and Bainikuekisu (Concentrate of Japanese apricot juice). Jpn. J. Food Microbiol., 12, 211-217
8. Masako, T. and Tadakatsu, S. (1996) Antimicrobial activity of tea. Jpn. J. Food Microbiol., 12, 227-234
9. Ross, Z.M. O'gara, E.A., Hill, D.J., Sleightholme, H.V. and Maslin D.J. (2001) Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria. Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder, Applied and Environmental Microbiology, Jan. 67, 475-480
10. Chung, S.K., Lee, S.J., Chung, Y.J., Park, W.P., Lee, D.S. and Cho, S.H. (1998) Antimicrobial avtivities of Korean medicinal herb extracts for preserving greenhouse fresh produce. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 5, 13-21
11. Cho, S.H., Lee, S.Y., Kim, J.W., Ko, G.H. and Seo, I.W. (1995) Development and application of natural antimicrobial agent isolated form grapefruit seed extract-Antimicrobial activities of grapefruit seed extract-. J. Fd Hyg. Safety, 10, 33-39
12. Piddock, L.J.V. (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. J. Appl. Bacterio. 68, 307-312
13. 최귀문, 한만종, 김병수, 유승헌, 정순주, 정범윤 (1995) 시설채소의 생육저해와 병해충방제. 한국원예기술정보센터 서울종묘 출판부
14. 김찬조, 장지현 (1991) 식품미생물학. 수학사 p.323-330
15. Bendayan, M. (1984) Protein-A-gold electron microscopic immunocytochemistry ; methods, applications and limitations. J. Elect. Microsc. Tech 1, 243-236
16. Cho, S.H., Kim, K.O., Chung, J.H., and Ryu, C.H.(1994) Outbreak and control of Listeria attributed to agricultural, marine and animal husbandry products. J. Fd Hyg. Safety 9, 191-198

(접수 2004년 7월 29일, 채택 2004년 8월 27일)