

선학초 추출물이 식중독 유발세균의 증식에 미치는 영향

배 지 현[§] · 손 미 애

계명대학교 식품영양학과

Effect of *Agrimonia Pilosa Ledeb.* Extract on the Growth of Food-Borne Pathogens

Bae, Ji-Hyun[§] · Sohn, Mee-Aae

Department of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the antimicrobial effect of the *Agrimonia pilosa Ledeb.* extracts against food-borne pathogens. First, the *Agrimonia pilosa Ledeb.* was extracted with methanol at room temperatures, and fractionation of the methanol extracts from *Agrimonia pilosa Ledeb.* was carried out by using petroleum ether, chloroform, and ethyl acetate, and methanol respectively. The antimicrobial activity of the *Agrimonia pilosa Ledeb.* extracts was determined using a paper disc method against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. The petroleum ether extracts of *Agrimonia pilosa Ledeb.* showed the highest antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. The synergistic effect has been found in combined extracts of *Agrimonia pilosa Ledeb.* and *Perillae folium* as compared to each extracts alone. Finally, the growth inhibition curve was determined using ethyl acetate extracts of *Agrimonia pilosa Ledeb.* against *Bacillus Cereus* and *Salmonella* Enteritidis. The petroleum ether extract of *Agrimonia pilosa Ledeb.* showed strong antimicrobial activity against *Bacillus Cereus* at the concentration of 4,000 ppm. The 4,000 ppm of petroleum ether extract from *Agrimonia pilosa Ledeb.* retarded the growth of *Bacillus Cereus* more than 24 hours and *Salmonella* Enteritidis up to 36 hours. The petroleum ether extracts of *Agrimonia pilosa Ledeb.* has been shown the antimicrobial effect against *Bacillus Cereus* and *Salmonella* Enteritidis. (*Korean J Nutrition* 38(2): 112~116, 2005)

KEY WORDS : *Agrimonia pilosa Ledeb.*, antimicrobial activity, food-borne pathogens.

서 론

산업문명이 고도로 발달함에 따라 식습관이 크게 변화되어 각종 가공식품이 범람하게 되었고, 식품의 유해 미생물에 의해 야기되는 식중독 사고는 다양한 식품에서 발생하고 있다.¹⁾ 식품의 부패와 변질은 주로 미생물학적 요인에 의해서 나타나게 되며, 미생물에 의한 식중독 발생 사건은 해마다 증가하고 있는 추세이다. 식중독세균과 부패세균의 증식을 억제할 목적으로 많은 종류의 보존료 사용이 증가하고 있으나 이들 화학합성 보존료가 지속적으로 체내에 축적될 경우에는 만성독성, 발암성, 돌연변이 유발성 등의 부작용이 발생하는 문제가 제기되고 있다.²⁾ 따라서 최근에는 독성의 염려가 없고 항균력이 있는 천연물에서 항균성 물질을 추출하여 식품에 이용하려는 연구가 많이 수행되어 왔

다.^{3,4)} 지금까지 연구된 천연 항균성 물질로는 고대부터 이용되어 왔던 향신료⁵⁾와 생약제,^{6,7)} 주로 달걀, 우유 등에 포함되어 있는 여러 단백질과 효소류,⁸⁾ 유기산,^{8,9)} 식물의 정유 성분,^{10,11)} 미생물에서 생산되는 bacteriocin^{12,13)} 등을 들 수 있다.

선학초는 장미과에 속하는 다년생 숙근초로서 용아, 용아초, 황아초, 황용초, 지선초, 짚신나물 등으로 부르기도 한다. 옛부터 민간요법, 녹즙 등으로 널리 이용되어 왔고, 폐암, 간암, 식도암, 중앙, 통증제거, 지형, 지사, 토혈, 혈뇨, 자궁출혈, 결기 등의 약용으로 널리 이용되어 왔다.¹⁴⁾ 선학초에 관한 연구 결과로는, 근래에 와서 자초, 꾸지 뽕나무, 감초, 방기 등의 야생식물 추출물의 항균성이 보고되고 있으며¹⁵⁻¹⁸⁾ Gram 양성균에 대한 항균 실험 연구로는 황백과 느릅뿌리 추출물이 이들 균의 증식 억제에 효과가 있는 것으로 보고 되고 있다.¹⁹⁾ 또한 한약재 추출물⁷⁾이나 기타 향신료 추출물²⁰⁾을 이용한 항균력 검증결과 등도 발표된 바 있다. 본 연구에서는 우리나라에서 오래 전부터 널리 한약 재료로 사용되어온 선학초 추출물을 사용하여 이들이

접수일 : 2004년 12월 8일

채택일 : 2005년 3월 7일

[§]To whom correspondence should be addressed.

식중독 유발 세균의 증식에 미치는 영향을 검증해 보고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 시 료

본 실험에서 사용한 선학초 (仙鶴草, *Agrimonia pilosa Ledeb.*)는 한국산으로, 대구광역시 중국 남성로 약령시장에서 2002년 7월에 건조 상태의 것을 구입하여 불순물을 제거하기 위해 가볍게 2번 수세하여 실온에서 건조시킨 후, 막자사발에서 유리봉으로 미세하게 마쇄한 후 추출용 시료로 사용하였다.

2. 사용 균주 및 배지

선학초 추출물의 항균실험에 사용한 균주는 국내에서 식중독을 유발하는 것으로 널리 알려 준 미생물 가운데 Gram (+)세균 2종과 Gram (-)세균 7종을 선택하여, 총 9종을 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 분양 받아 사용하였다 (Table 1). 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.

3. 항균성 물질의 추출

건조시킨 선학초 500 g에 대해 선학초 중량의 2배 분량인 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol을 사용하여 항균성 물질을 추출하였다. 추출관에 마쇄시킨 선학초를 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 분획 하였다. 이 때

methanol 추출물과 각종 유기용매를 분별깔대기에 넣고 5분간 수작업으로 흔들어 혼합한 후, 15분간 실온에 방치시킨 후 분리하였다. 선학초의 수용성추출물은 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 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

4. 선학초 추출물의 항균력 측정

항균성 물질을 검색하기 위해 본 실험에서는 paper disc 방법을 사용하였다.²¹⁾ Tryptic Soy Broth (TSB)배지에 배양한 세균을 spectrophotometer (Nontron instruments Italy) 620 nm에서 O.D. 값 0.4로 흡광도를 조절하고, 각 균주 150 µl를 petri dish에 붓고 여기에 멸균된 Tryptic Soy Agar (TSA)배지 8 ml를 분주하여 배양접시에 균일하게 섞은 후 실온에서 굳혔다. 이 배지 위에 멸균된 paper disc를 시료 수에 맞게 올리고 밀착시킨 후 선학초의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol, 수용성추출물을 70% ethanol에 각각 250 ppm, 500 ppm 및 1,000 ppm 농도로 희석하여 20 µl씩 천천히 흡수시켰다. Control로 선학초 추출물이 들어 있지 않은 70% ethanol을 실험군과 동일한 방법으로 점적 하였다. 준비된 모든 plate는 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 clear zone (mm)의 크기를 측정하여 각 분획물의 항균 활성 정도를 측정하였다.

5. 미생물의 생육 곡선 측정

선학초의 petroleum ether추출물을 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 109배로 희석하고 무균적으로 집중하여 37°C에서 72시간 배양한 후, 12시간마다 세균 배양액의 증식정도를 620 nm, spectrophotometer에서 측정하였다.¹⁶⁾

Table 1. List of microorganisms used for antimicrobial activity test

Strains	
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 25923
	<i>Bacillus Cereus</i> ATCC 27348
Gram negative bacteria	<i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922
	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028
	<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076
	<i>Shigella Sonnei</i> ATCC 25931
	<i>Shigella Dysenteriae</i> ATCC 9199
	<i>Shigella Flexneri</i> ATCC 12022

결과 및 고찰

1. 선학초 순차 분획물의 추출수율

건조시킨 선학초에서 추출한 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 및 수용성 추출물은 Table 2와 같이 나타났다. 600 g의 선학초에 대하여 3.62 g의 petroleum ether 추출물을 얻어 수율은 0.6%이었으며 ch-

Table 2. Yield of each fractions extracted from *Agrimonia pilosa Ledeb.*

Fraction	Dried weight (g)	Yield (%)
Petroleum ether extract	3.6	0.6
Chloroform extract	2.8	0.5
Ethyl acetate extract	3.3	0.6
Methanol extract	18.8	3.1
Aqueous extract	15.4	2.6

Table 3. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Agrimonia pilosa Ledeb.* against Gram positive bacteria

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) ¹⁾					
		PE	C	EA	M	W	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	-	-	-	-	-	
	500	-	-	-	-	-	
	1,000	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus Cereus</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	-	-	-	-	-	
	500	10	-	-	8	-	
	1,000	14	14	12	12	12	

¹⁾Diameter, ²⁾No inhibitory zone was formed
 PE: Petroleum ether extract, C: Chloroform extract
 EA: Ethyl acetate extract, M: Methanol extract
 W: Water extract

loroform, ethyl acetate, methanol 및 수용성 추출분획물의 추출수율은 각각 0.5%, 0.6%, 3.1% 및 2.6%를 얻어 chloroform의 추출 수율이 가장 낮았으며, methanol 추출물의 수율이 가장 높게 나타났다.

2. 선학초의 항균활성 검색

Paper disc 방법으로 선학초의 각종 유기용매 분획물 및 수용성추출물을 각종 식품부패균 및 식중독균에 적용시켜 항균 활성을 실험해 본 바 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다. Gram 양성균에 대한 선학초의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 추출물 및 수용성추출물의 항균활성은 Table 3와 같이 나타나 disc에 점적한 선학초의 각종 추출물의 농도가 증가할수록 항균 활성이 크게 나타났다. 즉 농도가 증가할수록 항균 활성을 나타내는 inhibition zone의 크기가 증가하여 선학초의 chloroform 추출물의 경우 *Bacillus Cereus*에 대해 1,000 ppm 농도에서 14 mm로 가장 큰 활성도를 나타내었다. 선학초 추출물의 종류 및 농도에 따라 각 균주들에 대한 다른 활성을 나타내 균의 종류에 따라 각기 다른 항균활성을 나타내, 선학초의 petroleum ether 추출물은 *Bacillus Cereus*에 대해 저농도인 250 ppm에서는 항균성을 나타내지 않았고 500 ppm에서부터 항균력을 나타내기 시작하였으며, 1,000 ppm의 고농도에서는 *Staphylococcus Aureus*와 *Shigella*

Table 4. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Agrimonia pilosa Ledeb.* against Gram negative bacteria

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) ¹⁾					
		PE	C	EA	M	W	
<i>Escherichia Coli</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	9	-	-	-	11	
	500	10	14	-	14	13	
	1,000	14	14	12	18	15	
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	28	22	17	11	-	
	500	32	24	21	11	-	
	1,000	33	25	23	16	12	
<i>Salmonella Typhimurium</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	14	-	-	-	-	
	500	16	11	10	12	9	
	1,000	19	14	15	15	12	
<i>Salmonella Enteritidis</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	12	9	12	13	11	
	500	14	11	15	15	12	
	1,000	28	17	17	18	13	
<i>Shigella Sonnei</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	15	-	-	-	12	
	500	17	18	13	18	16	
	1,000	18	18	14	20	20	
<i>Shigella Dysenteriae</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	-	-	-	-	-	
	500	-	-	-	9	10	
	1,000	7	9	8	10	18	
<i>Shigella Flexneri</i>	100	-	-	-	-	-	
	250	-	-	-	-	-	
	500	-	-	-	-	-	
	1,000	-	-	-	-	-	

¹⁾Diameter, ²⁾No inhibitory zone was formed
 PE: Petroleum ether extract, C: Chloroform extract
 EA: Ethyl acetate extract, M: Methanol extract
 W: Water extract

Flexneri에 대해 상대적으로 큰 활성도를 나타내었다. 선학초의 petroleum ether 추출물과 methanol 추출물은 *Bacillus Cereus*에 대해 250 ppm에서는 항균성을 나타내지 않았고 500 ppm에서부터 항균력을 나타내기 시작하였다. 또 선학초의 chloroform 추출물과 ethyl acetate 추출물, 수용성 추출물은 고농도인 1,000 ppm에서만 항균 활성을 나타내었다. 예로부터 한방에서 주요한 약재로 사용되고 있는 목재수종의 대부분은 활엽수로서 이들이 포함하고 있는 추출성분은 침엽수의 성분과 비교해 볼 때, 그 종류가 다양하고 복잡하여 많은 약용성분을 포함하고 있다. 본 실험에 사용한 선학초 추출물의 Gram 음성균에 대한 항균력 검색 결과는 Table 4과 같이 나타나, *Pseudomonas Aerugi-*

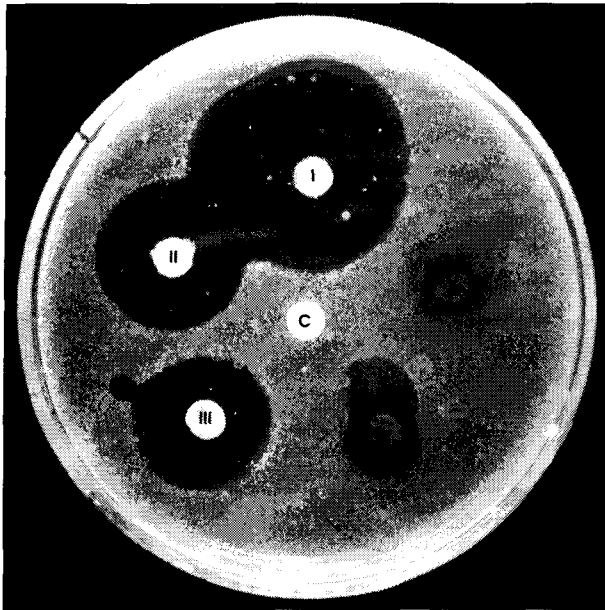


Fig. 1. Antimicrobial activities of various extract of *Agrimonia pilosa* Ledeb. against *Pseudomonas Aeruginosa* at the concentration of 1,000 ppm. C: control (70% ethanol), I: petroleum ether extract, II: chloroform extract, III: ethyl acetate extract, IV: methanol extract, V: aqueous extract.

nosa균에 대해 선학초의 petroleum ether 추출물은 1,000 ppm 농도에서 높은 항균 활성을 나타내었다(Fig. 1) *Salmonella* Enteritidis 균에 대해서도 선학초의 추출물은 모두 항균 활성을 나타내었고, petroleum ether 추출물은 높은 항균력을 보여 각 농도별로 큰 inhibition zone을 나타내었다. *Shigella* Sonnei 균에 대해서는 선학초의 chloroform 추출물과 ethyl acetate 추출물 및 methanol 추출물이 500 ppm에서부터 항균 활성을 나타내었다. 선학초의 methanol 추출물은 *Shigella* Sonnei 균에 대해 1,000 ppm에서 가장 큰 항균 효과를 나타내었다. *Shigella* Dysenteriae 균에 대해서는 선학초의 petroleum ether 추출물과 chloroform 추출물 및 ethyl acetate 추출물이 1,000 ppm에서 항균 활성을 나타내었다. 또한 *Salmonella* Enteritidis균에 대한 항균력도 농도에 비례하여 증가함을 관찰 할 수 있었다. 한편 본 실험에 사용한 선학초 추출물의 농도가 100 ppm이 하인 경우에는 항균 효과를 검증할 수 없었고, 선학초의 수용성추출물의 경우도 모든 균주에 대해 그다지 큰 항균활성을 나타내지 않았다.

3. 선학초의 petroleum ether 추출물이 Gram 음성 및 Gram 양성균의 증식에 미치는 영향

선학초의 petroleum ether 추출물을 농도별로 (0, 1,000, 2,000 및 4,000 ppm) TSB배지에 첨가하고, Gram 양성균인 *Bacillus Cereus*와 Gram 음성균인 *Salmonella* En-

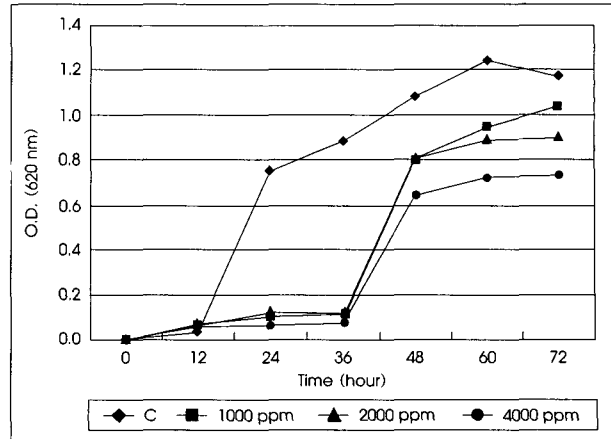


Fig. 2. Effect of petroleum ether extracts of *Agrimonia pilosa* Ledeb. against the growth of *Bacillus Cereus*. Concentration of petroleum ether extracts: (◆) control (70% ethanol); (■) 1,000 ppm; (▲) 2,000 ppm; (●) 4,000 ppm.

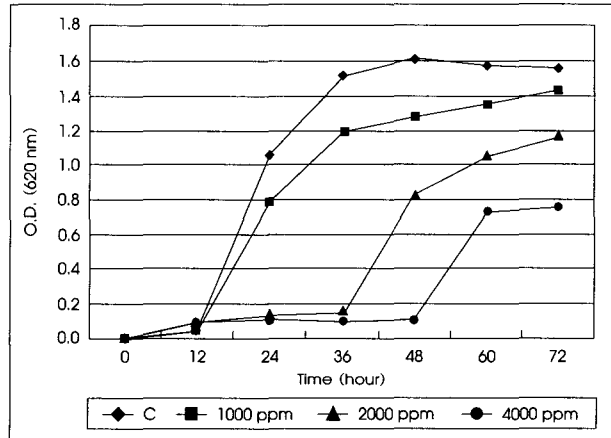


Fig. 3. Effect of petroleum ether extracts of *Agrimonia pilosa* Ledeb. against the growth of *Salmonella* Enteritidis. Concentration of petroleum ether extracts: (◆) control (70% ethanol); (■) 1,000 ppm; (▲) 2,000 ppm; (●) 4,000 ppm.

teritidis에 각각 접종시켜 72시간 배양하면서 일정 시간 간격으로 균주의 성장 정도를 측정해 본 바, Fig. 2 및 Fig. 3와 같은 증식곡선을 얻을 수 있었다. *Bacillus Cereus*의 경우, 선학초의 petroleum ether 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 경우 배양 후 12시간 후부터 급속한 균의 증식을 볼 수 있었고, 4,000 ppm 농도를 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 이루어져 균의 성장이 24시간 까지 억제됨을 관찰할 수 있었다 (Fig. 2). 선학초의 petroleum ether 추출물이 *Salmonella* Enteritidis에 대해 미치는 생육 저해 정도를 동일한 방법으로 72시간 동안 살펴본 바 Fig. 3과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 선학초의 petroleum ether 추출물을 넣지 않은 대조구 배지에서 배양했을 시 12시간 이후부터 급격한 증가를 보여 빠른 성장이 일어남을 관찰할 수 있었으나 선학초의 petroleum

ether 추출물 1,000 ppm을 첨가했을 시부터 성장이 억제 되어 선학초의 petroleum ether 추출물 4,000 ppm을 첨가한 배지에서는 균의 증식이 36시간까지 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 선학초를 각종 유기용매로 추출하여 식중독 유발세균에 대한 항균활성을 조사해 보았다. 선학초를 methanol로 추출한 후, petroleum ether, chloroform, ethyl acetate를 이용하여 실온에서 각각 용매별로 계통분획하고, 수용성추출물을 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. 선학초 추출물의 농도별 항균 활성 검색에서는 선학초의 petroleum ether 추출물이 가장 큰 항균 효과를 보였으며 *Pseudomonas Aruginosa*가 가장 민감하게 반응하는 균주였다. 선학초의 petroleum ether 추출물과 자소엽의 methanol 추출물을 혼합하여 항균력을 측정해 본 결과 두 추출물을 섞어 첨가했을 경우가 단독으로 사용했을 때 보다 상승효과를 나타내었다. 또한 선학초의 petroleum ether 추출물이 식중독 유발세균의 성장에 미치는 효과를 검증하기 위해 *Bacillus Cereus*와 *Salmonella Enteritidis* 배양액에 선학초의 petroleum ether 추출물을 각각 4,000 ppm 농도로 첨가했을 때, *Bacillus Cereus*의 생육이 24시간 이상까지 억제됨을 관찰할 수 있었고, *Salmonella Enteritidis*의 생육도 36시간까지 지연시킬 수 있었다. 이상의 결과 선학초의 petroleum ether추출물은 *Bacillus Cereus*와 *Salmonella Enteritidis*의 성장을 억제하는 것을 알 수 있었다. 이상의 결과 선학초의 petroleum ether 추출물은 각종 식중독 유발세균의 성장을 억제하는 천연 식품보존제 개발의 신소재로 활용될 가능성이 있음을 알 수 있었다.

Literature cited

- 1) Scott VN. Safety considerations for new generation refrigerated foods. *Dairy Food Environ. Sanitation* 8: 5-8, 1988
- 2) Brane AL. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCs* 52: 59-63, 1975
- 3) Chung DO, Jung JH. Studies on antimicrobial substances of *Cand-erma lucidum*. *Korean J Food Sci Technol* 24(6): 552-557, 1992
- 4) Kang SK, Jung DO, Jung HJ. Purification and identification of antimicrobial substances in phenolic fraction of fig leaves. *Agricultural Chemistry and Biotechnol* 38: 293-296, 1995
- 5) Beuchat LR, Golden DA. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol* 43: 134-142, 1989
- 6) Park SW, Kim CJ. Studies on the food preservation by antimicrobial action of medicinal herbs. *J Agric Food Chem* 22: 91-96, 1979
- 7) Park UY, Chang DS, Cho HR. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 91-96, 1992
- 8) Ouattara B, Simard RE, Holley RA, Piette JP, Begin A. Inhibitory effect of organic acids upon meat spoilage bacteria. *J Food Prot* 60: 246-253, 1997
- 9) Ahn YS, Shin DH. Antimicrobial effect of organic acid and ethanol on several foodborne microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1315-1323, 1999
- 10) Kim J, Marshall MR, Wei CI. Antibacterial activity of some essence oil component against five foodborne pathogens. *J Agric Food Chem* 43: 2841-2845, 1995
- 11) Conner DE, Beuchat LR. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeast. *J Food Sci* 49: 429-434, 1984
- 12) Arihara K, Ota H, Itoh M, Kondo Y, Sameshima T, Yamanaka H, Akimoto M, Kanai S, Miki T. Lactobacillus Acidophilus group lactic acid bacteria applied to meat fermentation. *J Food Sci* 63: 544-547, 1998
- 13) Janes ME, Nannapaneni R, Johnson MG. Identification and characterization of two bacteriocin-producing bacteria isolated from garlic and ginger root. *J Food Prot* 62: 899-904, 1999
- 14) Kang BS. Medical herbs. Young-Rym-Sa, Seoul, pp.384-386, 1992
- 15) Shin DH, Kim MS, Han JS. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 29(4): 808-816, 1997
- 16) Park UY, Chang DS, Cho HR. Antimicrobial effect of Lithospermi radix (*Lithosper-mumerythrorhizon*) extract. *J Korean Soc Food Nutr* 21(1): 97-100, 1992
- 17) Kim SH, Kim NJ, Choi JS, Park JC. Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* Bureau. *J Korean Soc Food Nutr* 22(1): 68-72, 1993
- 18) Shin DH, Han JS, Kim MS. Antimicrobial effect of ethanol extracts of *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils and *Glycyrrhiza glabra* L. var. *Glandulifera* Regel et Zucc on *Listeria Monocytogenes*. *Korean J Food Sci Technol* 26(5): 627-632, 1994
- 19) Lee BW, Shin DH. Screening of natural Antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 23(2): 200-204, 1991
- 20) Johnson MG, vaughn RH. Death of *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia Coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. *Appl Microbiol* 17: 903-907, 1969
- 21) Chung DO, Jung JH. Studies on antimicrobial substances of *Ganoderma lucidum*. *Korean J Food Sci Technol* 24: 552-557, 1992