

밤 부위별 추출물의 항균활성

김용두[†] · 조덕봉¹ · 김경제 · 김기만 · 허창기 · 조인경²

순천대학교 식품공학과, ¹광주보건대학 식품생명과학과, ²남부대학교 식품생명과학과

Antimicrobial Activity of the Solvent Extracts from of Chestnut

Yong Doo Kim[†], Duk Boung Cho¹, Kyung Je Kim, Ki Man Kim,
Chang Ki Hur and In Kyung Cho²

Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

¹Department of Food Technology, Gwangju Health college, Gwangju 506-701, Korea

²Department of Food Science and Technology, Nambu University, Gwangju 506-302, Korea

Abstract

To develop natural food preservatives, ethanol and water extracts were prepared from chestnut. Antimicrobial activities were examined about 10 microorganisms which were food-borne pathogens and food-poisoning microorganisms, food-related bacteria and yeasts. Ethanol extract exhibited the antimicrobial activity for the microorganisms tested, except lactic acid bacteria and yeast. Especially, minimum inhibitory concentrations(MIC) of the ethanol extracts were determined as 0.5 mg/mL in chestnut leaf and 1.0 mg/mL in chestnut bark against bacteria. Antimicrobial activity of the ethanol extracts was not destroyed by the heating at 121 °C for 15 min, and not affected by pH 3~9. The ethanol extract of chestnut exhibiting the high antimicrobial activities was fractionated in the other of diethylether and butanol fractions. The highest antimicrobial activity against bacteria was shown in the ethanol fraction.

Key words : chestnut, antimicrobial activity, minimum inhibitory concentrations(MIC), isolation

서 론

식품산업의 발달에 따라 유통 및 저장 과정에서 발생하는 부패와 변질의 원인이 되는 미생물의 증식을 억제하기 위해 다양한 형태의 보존료를 첨가하고 있으나 최근 식품에 대한 건강 지향적인 욕구에 따라 화학적 합성 첨가물의 안전성이 문제시되어 합성 첨가물을 기피하는 현상이 강하게 일어나고 있다. 이러한 취지에서 인체에 무해하면서 변패를 억제하고 유통기한을 늘릴 수 있는 천연 보존료의 개발 필요성이 점차 강해지고 있는 실정이다(1,2). 식물 추출물이 항균활성을 갖고 있다는 것은 오래 전부터 알려져 왔고 그 대표적인 것이 향신료들이다(3). 국내산 식물들에서 항균활성 대한연구(4), 정향 추출물에서 항균활성을 조사한 바 있고(5), 올리브 잎 분획물의 항균활성을 보고하였

다(6). 최근 들어 식물성 한약재 및 약용식물에서도 항균작용을 나타낸다는 연구들이 보고되고 있다(7). 밤에 관한 연구로는 가공에 관한 연구(8)와 저장중 성분변화에 관한 연구(9)가 있으며 밤 잎차의 항알레르기 효과에 대하여 보고한 바 있다(10). 이에 본 연구에서는 천연 보존료 개발의 일환으로 밤의 외피, 내피, 과육, 밤나무 잎과 수피의 추출물과 분획물을 몇 종의 병원균과 식중독균, 식품과 관련이 있는 10개 균주에 대한 항균활성 검색과 항균성이 강한 에탄올 추출물의 최소저해농도, 추출물에 함유된 항균활성 물질의 열과 pH 안정성을 조사하여 밤의 항균활성 물질에 대해 식품 보존료의 이용 가능성 검증을 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

[†]Corresponding author. E-mail : kyd4218@sunchon.ac.kr,
Phone : 82-61-750-3256, Fax : 82-61-750-3208

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 밤은 2003년도 9월에 전남 순천 농협에서 구입한 것을 5°C 냉장고에 보관하면서 외피, 내피, 과육, 가공하지 않은 밤으로 분류하여 사용하였으며 밤 잎과 수피는 순천 해룡면에서 2004년 5월 농장에서 직접 채취하여 증자한 후 냉동 보관하면서 사용하였다.

균주 및 시약

시험에 사용한 균주는 그람 양성균 3종, 그람 음성균 3종, 젖산균 2종 및 효모 2종으로 총 10종을 선정하여 사용하였다. 균 생육배지로 세균은 Nutrient broth와 agar(Difco), 젖산균은 *Lactobacillus* MRS broth와 agar(Difco), 효모는 YM broth와 agar(Difco)를 각각 사용하였다.

밤의 용매별 추출물

밤의 외피, 내피, 과육, 밤나무 잎과 수피의 물 가용성 성분의 추출 방법은 시료 100 g에 증류수 300 mL를 첨가하여 마쇄한 다음 상온에서 24시간 동안 교반, 침출시켜 1차 추출하고, 다시 증류수 300 mL를 가하여 동일한 방법으로 2, 3차 추출한 후, 추출액 모두를 여과하였다. 이 여액을 회전감압농축기로 50°C 수욕상에서 농축하여 얻은 점조성의 추출물을 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 에탄올, 에칠아세테이트, 헥산, 디에틸에테르의 가용성 성분은 물 추출물과 같은 방법으로 추출하여 농축한 후 증류수 200 mL를 가하여 잘 혼합하고 냉장실(4°C)에서 24시간 방치한 다음, 6000 rpm 으로 원심분리하여 침전된 수지성분을 제거하였다. 또 다시 수용액을 회전감압농축기로 감압 농축하여 에탄올, 에칠아세테이트, 헥산 및 에테르 추출물 100 mL를 얻어 냉장실에 보관하면서 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

에탄올 추출물의 용매분획

밤 내피, 밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물의 용매분획 물을 얻기 위하여 밤나무 잎 100 g을 상기 방법에 따라 에탄올 추출물 32.4 g을 얻은 후, Fig. 1과 같이 용매분획하였다. 이 에탄올 추출물을 분획여두에서 hexane:methanol:water=10:1:9(v/v) 500 mL를 가하여 헥산층을 분리하였고, 이를 2회 반복하여 분획한 헥산층을 모두 여과, 농축하여 헥산 추출 분획물 3.6 g을 얻었다. 같은 방법으로 남은 수용액 층에 디에틸에테르, 에칠아세테이트 각 용매별로 순차적으로 추출한 후 감압 농축하여 디에틸에테르 분획물을 2.8 g, 에틸아세테이트 분획물 8.4 g을 얻고, 물분획물 10.8 g을 얻은 다음 냉장실(4°C)에 보관하면서 분획물을 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 밤 내피, 밤나무 수피 에탄올

추출물의 용매분획물은 밤나무 잎과 같은 방법으로 얻어 사용하였다.

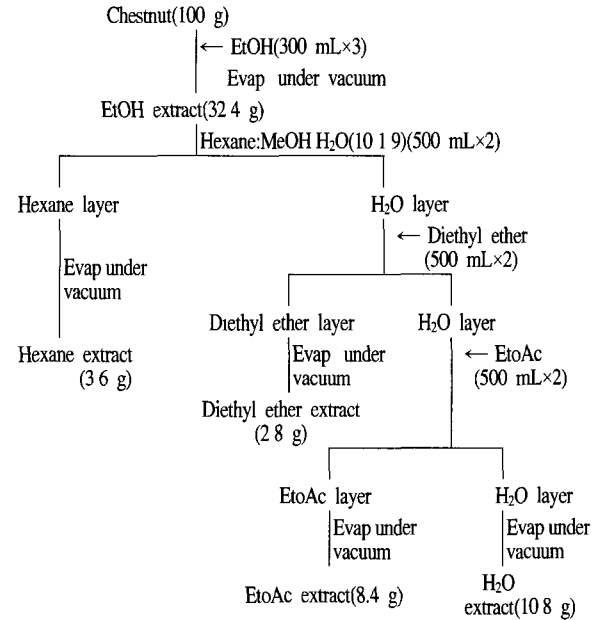


Fig. 1. Fractionation procedure of the ethanol extract from chestnut.

항균력 측정

밤의 외피, 내피, 과육, 밤나무 잎과 수피의 추출물의 항균활성 검색에 사용한 균주는 slant에 배양된 각각의 균주 1백균이를 취해 10 mL broth의 균 생육배지에 접종하고 각각 균주의 생육적온에서 10~18시간씩 3회 계대배양하여 사용하였다. 실험방법은 Lee 등(14-19)의 방법에 준하였다.

밤나무 잎과 수피의 최소저해 농도 측정

밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물의 최소저해 농도측정은 액체배지 희석법(broth dilution method)을 이용하여 측정하였다. 즉, 에탄올 추출물의 고형분 함량이 각각 0.1, 0.25, 0.5 1.0, 2.0 mg/mL의 농도가 되도록 조절한 액체배지를 준비하여 균 현탁액을 각각 0.1 mL 씩 접종하고 30°C에서 24시간 배양후 흡광도(660 nm)에서 측정하여 균 증식이 나타나지 않는 농도로 결정하였다.

항균성 물질의 열 및 pH 안정성 측정

밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물 열 안정성을 측정하기 위해 밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물을 50~100°C까지 10°C 간격으로 각각 1시간 동안, 121°C에서 15분 동안 열처리한 후 대조구와 같이 한천배지 확산법으로 생육저해를 측정하여 비교하였다. 또한 pH 안정성은 밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물을 pH 3~9 까지 조절하고 상온에서

1시간 방치한 후 각 균주의 최적 pH로 중화시켜서 열 안정성과 동일한 방법으로 생육저해환을 측정하여 비교하였다.

결과 및 고찰

밤의 각 부위별 항균활성 검색

추출 용매에 따른 항균활성 물질의 추출능을 확인하기 위하여 밤의 외피, 내피, 과육, 밤나무 잎과 수피로부터 에탄올, 물, hexan, 에칠아세테이트, 에테르 추출물의 항균활성 검색 결과는 Table 1 과 같다. 각 부위별 추출물에서 밤 외피와 밤 과육은 항균활성을 보이지 않았으며 밤 내피에서는 약한 항균활성을 보였고 밤나무 잎과 수피에서는 비교적 강한 항균활성을 나타내었다. 밤 내피와 밤나무 잎과 수피 추출물의 항균활성 검색결과 에탄올 추출물의 경우 대표적인 gram 양성균인 *B. subtilis* 에서 각각 9, 16, 17 mm이고 다른 gram 양성균도 비슷하게 나타났다. 대표적 gram 음성균인 *E. coli* 에서는 clear zone이 9, 12, 13 mm로 항균활성이 나타났고 다른 gram 음성균도 비슷하게 나타났다. 전체적으로 gram 음성균보다 gram 양성균이 밤 내피, 밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물에 대해 항균활성이 강하게 나타났다. 물 추출물에서는 에탄올 추출물과 같은 양상을 보였으나 에탄올 추출물보다는 약한 항균활성을 보였다. 에칠아세테이트 추출물에서는 밤 내피는 항균활성을 보이지 않았으며 밤나무 잎과 수피에서는 약한 항균활성을 보였다. hexan과 디에틸에테르 에서는 항균활성이 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 Hong 등(20)의 유백피의 연구, Park 등(21)의 한약재 추출물의 항균효과 검색에서 그람 음성균보다 그람 양성균에서 항균활성이 더 크게 나타나는 결과와도 비슷하게 나타났다. 밤나무 잎과 수피에서 추출된 주요한 항균 활성 물질의 추출에는 에탄올이 가장

적절한 용매로 생각되며, 앞으로 모든 식품에 강화되고 있는 각종 세균에 대한 규제에 대비하여 밤나무 잎이나 수피를 이러한 가공 식품의 천연 항균제의 대용으로 사용할 수 있을 것으로 추정되어진다.

밤의 잎과 수피 에탄올 추출물 분획의 항균활성

밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물을 극성에 따라 용매 분획으로 추출한 다음 용매 분획물의 항균활성 검색 결과는 Table 2 와 같다. 밤나무 잎의 에칠아세테이트 분획물 항균활성은 *B. subtilis* 에서 clear zone이 9.6 mm로 가장 크게 나타났고, gram 음성균에서는 약한 항균활성을 보였으며, 물분획물에서 *B. cereus* 에서 clear zone이 11.3 mm, gram 음성균인 *P. fluorescens*에서 11.5 mm로 가장 큰 항균력을 나타냈다. 밤나무 수피의 에칠아세테이트 분획물 항균 활

Table 2. Antimicrobial activity of fractions from ethanol extracts of chestnut against target microorganisms

Strains	Clear zone on plate(mm) ³⁾ (8.0 mg/disc)							
	n-Hexane extracts		Diethyl ether extracts		Ethyl acetate extracts		Water extracts	
	D ¹⁾	E ²⁾	D	E	D	E	D	E
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	9.5	9.3	11.3	11.1
<i>B. subtilis</i>	-	-	8.5	8.3	9.6	9.0	10.3	10.5
<i>S. aureus</i>	-	-	8.6	8.3	9.0	8.6	10.2	10.1
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	8.5	8.2	11.1	10.2
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	8.3	8.3	10.3	10.4
<i>P. fluorescens</i>	-	-	-	-	8.2	8.2	11.5	11.2
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. mesenteroides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. anomala</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾D chestnut leaf, ²⁾E chestnut bark, ³⁾In diameter (mm)

Table 1. Antimicrobial activity of chestnut extracts by different solvents

Strains	Clear zone on plate (mm) ⁶⁾ (8.0 mg/disc)																								
	Ethanol extracts					Water extracts					Ethyl acetate extracts					Diethyl ether extracts					n-Hexane extracts				
	A ¹⁾	B ²⁾	C ³⁾	D ⁴⁾	E ⁵⁾	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
<i>B. cereus</i>	10	-	-	17	17	-	-	-	13	12	-	-	-	8.3	8.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	9	-	-	16	17	9	-	-	13	13	-	-	-	8.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	10	-	-	17	15	9	-	-	12	12	-	-	-	9	8.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	9	-	-	12	13	9	-	-	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	9	-	-	13	13	-	-	-	11	11	-	-	-	8.2	8.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. fluorescens</i>	-	-	-	12	13	-	-	-	12	11	-	-	-	8.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. mesenteroides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. anomala</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾A tegmen of chestnut, ²⁾B seed coat of chestnut, ³⁾C fresh of chestnut, ⁴⁾D chestnut leaf, ⁵⁾E chestnut bark, ⁶⁾In diameter (mm)

성은 역시 gram 양성균은 *B. cereus*에서 나타났고, gram 음성균은 *P. fluorescens*에서 가장 큰 항균활성을 보였으며, 물 분획물에서의 항균활성도 같은 양상을 보였다. 디에틸 에테르 분획물에서는 gram 양성균에서 약한 항균활성을 보였고, 핵산 분획물에서는 항균활성을 보이지 않았다. 밤나무 잎과 수피의 용매별 분획물은 수피보다 잎이 조금 강하게 나타났다. 극성 용매인 물 분획물이 비극성인 에칠 아세테이트에 비해서 강한 항균활성을 보였으므로 밤나무의 잎과 수피의 에탄올 추출물에 함유된 항균성 물질은 극성이 강한 것으로 추정할 수 있었다. 또한 균주별로는 gram 양성균과 gram 음성 모두 항균활성이 나타났으며, 효모와 젖산균에서는 항균활성이 없었다.

에탄올 추출물의 미생물에 대한 최소저해농도

항균활성 검색에 사용된 10개 균주에 대해서 항균활성이 우수하였던 밤나무의 잎과 수피의 에탄올 추출물의 각 균주에 대한 최소 저해 농도를 조사한 결과는 Table 3 과 같다. 밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물의 최소저해농도는 밤나무 수피에서 gram양성 세균과 gram음성 세균 모두 1.0 mg/mL로 큰 차이를 보이지 않았으며, 밤나무 잎에서도 gram양성 세균과 gram음성 세균 모두 0.5 mg/mL로 균주간의 차이를 보이지 않았으나 잎과 수피와의 차이는 있었다. 효모와 젖산균은 세균에 비하여 높은 농도에서 생육이 저해

Table 3. Minimum inhibitory concentration(MIC) of the ethanol extracts from chestnut against several microorganisms

Strains		Growth at various concentration (mg/mL)						MIC (mg/mL)
		C ¹⁾	0.1	0.25	0.5	1.0	2.0	
<i>B. cereus</i>	D ²⁾	+	+	+	— ⁵⁾	—	—	0.5
	E ³⁾	+	+	+	± ⁶⁾	—	—	1.0
<i>B. subtilis</i>	D	+	+	+	—	—	—	0.5
	E	+	+	+	+	—	—	1.0
<i>S. aureus</i>	D	+	+	+	—	—	—	0.5
	E	+	+	+	±	—	—	1.0
<i>E. coli</i>	D	+	+	+	±	—	—	1.0
	E	+	+	+	±	—	—	1.0
<i>S. typhimurium</i>	D	+	+	±	—	—	—	0.5
	E	+	+	+	±	—	—	1.0
<i>P. fluorescens</i>	D	+	+	±	—	—	—	0.5
	E	+	+	+	±	—	—	1.0
<i>L. plantarum</i>	D	+	+	+	+	+	+	-
	E	+	+	+	+	+	+	-
<i>L. mesenteroides</i>	D	+	+	+	+	+	+	-
	E	+	+	+	+	+	+	-
<i>S. cerevisiae</i>	D	+	+	+	+	+	+	-
	E	+	+	+	+	+	+	-
<i>H. anomala</i>	D	+	+	+	+	+	+	-
	E	+	+	+	+	+	+	-

¹⁾C control, ²⁾D chestnut leaf, ³⁾E chestnut bark, ⁴⁾+ growth, ⁵⁾- no growth, ⁶⁾± uncertain in growth

됨을 보여 항균활성이 비교적 낮게 나타났다. 따라서 밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물에 함유된 항균활성 물질은 세균에서 항균활성이 강하였으나, 효모와 젖산균에서는 항균활성이 아주 약한 결과를 나타내었다.

항균성 물질의 열 및 pH 안정성 측정

밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질의 열 안정성을 조사하기 위한 실험 결과는 Table 4와 같다. 밤나무 잎과 수피 에탄올 추출물을 121°C로

Table 4. Effect of heat treatment of ethanol extracts on the growth inhibitory activity of chestnut against *B. cereus* and *E. coli*

Strains	C ⁴⁾	Clear zone on plate (mm) ³⁾							
		Heating temperature (°C)							
		(8.0mg/disc)							
<i>B. cereus</i>	D ¹⁾	17.0	17.5	17.2	17.0	17.0	16.8	16.6	16.8
	E ²⁾	17.0	17.2	17.0	17.0	17.0	16.5	16.6	16.4
<i>E. coli</i>	D	12.0	13.0	12.5	12.0	11.5	11.5	12.0	12.0
	E	13.0	13.0	13.0	12.5	12.5	11.1	12.5	12.5

¹⁾D chestnut leaf, ²⁾E chestnut bark, ³⁾In diameter (mm), ⁴⁾C control

열처리한 후 항균활성 검색 결과를 보면, *B. cereus* 에서 16.8, 16.4 mm로 대조구의 17.0 mm와 거의 비슷하였으며, *E. coli* 에서 12.0, 12.5 mm로 대조구의 12.0, 13.0 mm와 비슷하게 나타났다. 즉, 밤나무 수피와 잎의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질은 열에 매우 안정한 것을 알 수 있었다. 또한, 밤나무 잎과 수피 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질의 pH 안정성을 조사한 결과는 Table 5와 같다. pH 3과 pH 9 에서 항균활성이 다소 감소하였으나 두 균주 모두 생육저해환의 크기가 대조구와 거의 비슷한 것으로 보아 밤나무 잎과 수피의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질은 pH변화에 따라서 항균활성 변화가 없는 것을 알 수 있었다.

Table 5. Effect of pH change on the antimicrobial activity of ethanol extracts for *B. cereus* and *E. coli*

Strains	C ⁴⁾	Clear zone on plate (mm) ³⁾				
		pH				
		(8.0mg/disc)				
<i>B. cereus</i>	D ¹⁾	17.0	16.5	17.0	17.2	16.5
	E ²⁾	17.0	16.2	17.0	17.0	16.8
<i>E. coli</i>	D	12.0	10.8	11.5	12.0	11.8
	E	13.0	11.6	13.0	13.2	12.5

¹⁾D chestnut leaf, ²⁾E chestnut bark, ³⁾In diameter (mm), ⁴⁾C control

요 약

새로운 식품개발 및 천연 보존료 개발의 일환으로 물, 에탄올, 에칠아세테이트로 추출한 항균활성 물질을 몇 종의 병원균과 식중독균 식품과 관련이 있는 세균, 젖산균 및 효모 등 10개 균주에 대하여 항균활성 검색을 하였으며, 항균력이 강한 밤잎과 수피 에탄올 추출물을 용매 계통분획하여 각 분획별 항균활성을 조사하였다. 또한 에탄올 추출물의 최소저해농도, 추출물에 함유된 항균성물질의 열안정성 pH 등을 조사하였다. 밤 잎과 수피의 항균활성은 에탄올 추출물과 물 추출물이 10균주 중 세균에 대하여 항균활성이 강하였으나, 젖산균 및 효모에 대해서는 항균활성이 나타나지 않았다. 밤잎과 수피를 핵산, 디에칠에테르, 에칠아세테이트 및 물로 용매계통분획하여 얻은 각 분획물의 항균활성은 에칠아세테이트와 물층에서 강한 항균활성을 보였고 균주별로 일반세균은 항균활성이 나타났으며, 효모와 젖산균에서는 항균활성이 나타나지 않았다. 최소저해농도는 밤나무 잎 0.5 mg/mL 이었고, 수피 추출물에서는 1 mg/mL이었다. 밤 잎과 수피의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질은 121°C에서 15분간 가열한 후에도 그 활성이 유지된 것으로 보아 열에 안정하였으며, pH의 변화에도 항균활성의 변화가 거의 없는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 농업기술개발사업의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 芝崎勲. (1983) 抗菌性天然添加物開發の現状と使用の上問題點. *New Food Industry*, 25, 28-34
2. Nanayama, M. (1996) Antibacterial substances in food. *J. Food Microbial.*, 12, 209-213
3. Fromtling, R.A. and Bulmer, G.S. (1978) In vitro of aqueous extract of garlic(*Allium sativum*) on the growth and viability of *Cryptococcus neformans*. *Mycologia*, 70, 397
4. Choi, O.K., Kim, Y.S., Cho, G.S. and Sung, C.K. (2002) Screening for antimicrobia activity from korean plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 15, 300-306
5. Lee, O.K., Jung, S.H. and Son, J.Y. (2004) Antimicrobial activity of clove extract by extraction solvents. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 33, 494-499
6. Ueda, S., Yamashita, H., Nakajima, M. and Kuwabara,

- Y. (1982) Inhibition of microorganisms by spice extracts and flavouring compounds. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 29, 111-116
7. Ahn, D.J., Kwak, Y.S., Kim, M. J., Lee, J.C., Shin, C.S. and Jeong, K.T. (2003) Screening of herbal extracts showing antimicrobial activity against some food spoilage and pathogenic microorganims. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.*, 8, 109-116
8. Hwang, T.Y., Kim, T.Y., Kim J.K. and Moon, K.D. (2003) The effect of microwave heating on the texture of sugared chestnuts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30, 596-573
9. 山下-美. (1985). 香辛料 利用したう天然保存劑. *New Food Industry*, 27, 35-41
10. Ahn, E.Y., Shin, D.H., Beak, N.I. and Oh, J.A. (1998) Isolation and identification of antimicrobial active substance from *glycyrrhiza uralensis fisch*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30, 680-687
11. Ahn, E.Y., Shin, D.H., Beak, N.I. and Oh, J.A. (1998) Isolation and identification of antimicrobial active substance from *sophora flavescens ait*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30, 672-679
12. Chung, K.H., Lee, S.H., Lee, Y.C. and Kim, J.T. (2001) Antimicrobial activity of *omiya (Schizandra chinensis)* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30, 127-132
13. Kim, K.H., Min, K.C., Lee, S.H. and Han Y.S. (1999) Isolation and identification of antimicrobial compound from dandelion(*Taraxacum platycarpum D.*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 822-829
14. 李在根, 龍口和惠, 提將和, 渡邊忠雄. (1985) グリシンと二, 三の藥劑の抗菌力併用效果. *日本食品衛生學雜誌*, 26, 279-284
15. Bauer, A.W., Kibby, M.M., Sherris, J.C. and Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J. Clin. Pathol.*, 45, 493-496
16. Piddock L.J.V. (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, 68, 307-318
17. MacLowry J.D. and Jaqua M.J. (1970) Detailed methodology and implementation semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial suseptibility testing. *Appl. Microbiol.*, 20, 46-53
18. Pearson R.D., Steigbigel R.T., Davis H.T. and Chapman S.W. (1980) Method for reliable determination of minimal lethal antibiotic concentrations. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 18, 699-708
19. Murray P.R. and Jorgensen J.H. (1981) Quantitative susceptibility test methods in major united states medical

- centers. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 20, 66-70
20. Hong, N.D, Rho, YS., Kim, N.J. and Kim, J.S. (1990) A study on efficacy of ulmi cortex. *J Korean Soc. Pharm.*, 21, 217-222
21. Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. (1992) Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 21, 91-96

(접수 2005년 1월 27일, 채택 2005년 5월 10일)