

## 감초로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조 동정

안은영 · 신동화 · 백남인\* · 오진아  
전북대학교 식품공학과, \*경희대학교 농학과

### Isolation and Identification of Antimicrobial Active Substance from *Glycyrrhiza uralensis* FISCH

Eun-Young Ahn, Dong-Hwa Shin, Nam-In Baek\* and Jin-A Oh  
Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University,  
\*Department of Agriculture, Kyung Hee University

#### Abstract

The ethyl acetate fraction from ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH showed growth inhibition on 5 strains of *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111, 19112, 19113, 19114 and 15313) at 50~100 ppm. By silica gel column chromatography twice, antimicrobial active compound G-4-4 was isolated from ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH. The G-4-4 fraction showed growth inhibition at 10~50 ppm and confirmed bactericidal effect at 50 and 100 ppm on 5 strains of *Listeria monocytogenes*. *Staphylococcus aureus* KFCC 11764 was inhibited at 30~50 ppm of G-4-4 but *Escherichia coli* ATCC 25922 was not inhibited at 100 ppm. The antimicrobial active substance G-4-4 was identified as liquiritigenin, a kind of flavanone compound, by IR, MS, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* FISCH, antimicrobial activity, liquiritigenin

#### 서 론

식품의 원료, 가공, 저장·유통 중에 발생되는 부패성 및 병원성 미생물에 의한 오염과 균의 증식 정도는 국민의 건강은 물론 식품의 보존기간과 부패유형에 중요한 인자로 작용하며 이로 인한 식품의 변질을 막기 위해서 가열처리, 냉장·냉동, 보존제 첨가, 방사선 조사 등 균의 증식을 제어하거나 살균하기 위한 다양한 방법들이 이용되고 있다<sup>(1)</sup>. 제시된 방법 중에서 경제성과 안전성을 고려하여 가장 널리 쓰이는 가열 살균법은 열에 의해 제품의 질이 저하되는 단점이 있으며, 열처리를 최소화하여 신선함을 유지할 수 있는 냉장·냉동법은 저장 비용이 많이 들며, 원료에 이미 균이 오염되었거나 유통 과정 중 온도의 관리가 허술할 경우 식중독이 발생될 수 있는 가능성이 매우 높다<sup>(2,3)</sup>. 또한 일부 식품에 인공 합성 보존제를 첨가하고 있으나 독성이 있어 사용량에 제한이 있고 경우에 따라 잔류독성, 돌연변이 유발로

인하여 문제가 제기되고 있어<sup>(4)</sup> 그 사용범위가 점차 줄어들고 있다. 이러한 상황들을 극복하기 위한 방법의 하나로 천연 소재로부터 얻은 항균제를 식품에 첨가하여 보존제로 이용 하므로서 가열 살균 시 열처리량을 감소시킬 수 있고, 냉장식품을 비롯한 다수의 식품에 적용하여 신선함과 안전성을 동시에 만족 시킬 수 있을 것이다.

감초(*Glycyrrhiza uralensis* FISCH)는 콩과에 속한 다년생 본초로서 단맛 성분인 glycyrrhizin을 6~14% 함유하고 있어 맛이 달고 독이 없으며 따뜻한 기운을 가지고 있어 한약의 구성 재료로 많이 쓰이며 기관지염이나 결핵 치료에 효능이 있다고 알려져 있다<sup>(5,6)</sup>. 특히 감초의 75% 에탄올 추출물이 *L. monocytogenes*에 대하여 뚜렷한 항균 효과를 보이므로서<sup>(7)</sup> 본 실험에서는 용매 분획, column chromatography를 통하여 항균 물질을 분리하고 기기분석을 통해 구조를 동정함으로서 항균제로서 이용 가능성을 제시하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

감초(*Glycyrrhiza uralensis* FISCH)는 건조된 제품을

Corresponding author: Dong-Hwa Shin, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Dukjin-dong, Chonju, Chonbuk 560-756, Korea

전주시 소재 건재상에서 구입한 후 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

### 추출 및 용매분획

감초 310 g에 75% 에탄올 1.6 L를 가해 78°C 수육상에서 3 시간 추출한 후 여과, 농축하여 에탄올 추출물을 얻고 이를 다시 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올로 분획하여 각각의 용매 분획물을 얻었다. 추출물과 각 분획물은 진공 농축기와 진공 진조기로 용매를 완전히 제거한 후 에탄올을 가해 용해시킨 후 항균 활성 실험에 사용하였다.

### Silica gel column chromatography<sup>(8,9)</sup>

감초 에탄올 추출물을 순차 분획하여 항균 활성을 확인한 결과 에틸아세테이트 분획물이 항균 효과와 수율이 높아 순차 분획을 하지 않고 에탄올 추출물에 에틸아세테이트를 직접 가해 에틸아세테이트 분획물을 얻고 이로부터 활성 물질을 분리하였다. 에틸아세테이트 분획물(20 g)을 silica gel (700 g, 70~230 mesh, Merck)이 클로로포름 : 메탄올 (30 : 1)로 혼탁, 충전된 column (5.5×57 cm)에서 메탄올을 비울을 단계적으로 증가시키는(30:1→2:1, v/v) step-wise 용출법으로 분리하여 13개의 회분(G-1~G-13)을 얻었고 이 중에서 활성과 수율이 우수한 G-4와 G-11로부터 항균 활성 물질을 분리하였다.

회분 G-4 (1 g)는 다시 혼탁 : 에틸아세테이트 : 부탄올(12:3:0.5, 10:3:0.5, v/v)용매계로 silica gel column chromatography (55 g, 2.5×35 cm)하여 소회분 (G-4-1~G-4-7)을 얻었고 이 중에서 항균 효과가 있으며 정제도와 수율이 높은 G-4-4의 구조를 동정하였다. 회분 G-11(2 g)은 다시 클로로포름 : 메탄올 : 물 (15:3:1, 10:3:1, v/v) 용매계로 silica gel column chromatography (160 g, 5×20 cm)하여 8개의 소회분을 얻었다. 분취할 때 용리물들은 TLC 상에서 전개시킨 후 UV (254 nm, 365 nm)의 흡수 양상과 황산(15~20%) 발색

시 나타나는 점적의 모양에 따라 분취하였다.

### 분석 기기

IR은 Perkin Elmer 599B를 사용하였고 <sup>1</sup>H-NMR은 ZEOL JNM-LA400 (400 MHz)을, <sup>13</sup>C-NMR은 ZEOL JNM-LA400 (100 MHz)을 사용하고 CD,OD를 용매로 하였다.

### 사용 미생물 및 배지

항균 활성 시험에 사용한 미생물과 배지는 Table 1과 같다.

### 항균 활성 측정<sup>(7,10)</sup>

시험 균주가 접종된 사면배지에서 1배금이를 취해 10 mL 액체배지에 접종하여 30°C에서 24 시간 배양시킨 배양액 0.1 mL를 다시 10 mL 액체배지에 접종하여 30°C에서 24 시간 배양시켰다. 이 균주 배양액 0.1 mL를 에탄올로 완전히 용해시킨 후 membrane filter (0.2 μm)로 재균시킨 각 시료를 일정농도(ppm)로 첨가한 액체배지에 접종한 후 30°C에서 72 시간(또는 48 시간)동안 배양하면서 24 시간(또는 12 시간) 간격으로 620 nm에서 혼탁 정도로 증식억제 효과를 비교하였다. 이때 첨가되는 용매 자체의 항균력을 배제하기 위하여 모든 시험은 처리농도와 동일하게 에탄올만을 첨가한 대조구를 설정하였다.

### 살균 효과 측정

각 균주가 배양된 사면배지에서 1배금이씩 취해 10 mL 액체배지에 접종, 30°C에서 24 시간 배양하였다. 이 배양액 0.1 mL를 정제된 물질이 일정농도로 첨가된 액체배지에 접종하여 30°C에서 72 시간 동안 배양하면서 24 시간 간격으로 표준평판한천 배양법에 의해 생균수를 계수하고 같은 방법으로 균주배양액 0.1 mL의 생균수를 계수하여 초기 접종균수를 구했다. 처리구와 동일 농도로 에탄올 만을 가한 것을 대조구로 하였다.

Table 1. List of strains and media used for antimicrobial experiment

Microorganism tested	Media used	Incubation temperature(°C)
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC19111	
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC19112	
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC19113	Tryptic soy broth & agar (Difco)
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC19114	
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC15313	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Tryptic soy broth & nutrient agar (Difco)
<i>Staphylococcus aureus</i>	KFCC 11764	35
		35

## 결과 및 고찰

### 용매 분획물의 항균 효과

감초 75% 에탄올 추출물이 한<sup>(7)</sup> 등에 의한 실험 결과와 같은 수준에서 ( $50 < \text{MIC} < 100$ ) 항균활성을 나타내어 이를 유기 용매로 순차 분획한 후 각각의 분획물을 50, 100 및 300 ppm 수준으로 배지에 첨가하여 *L. monocytogenes* 5 균주를 배양시켰다. 그 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 클로로포름 분획물은 50~300 ppm 수준에서, 에틸아세테이트 분획물은 50~100 ppm 수준에서 중식억제 효과를 보였으나 부탄을 분획물은 300 ppm 수준에서도 중식억제 효과가 전혀 나타나지 않았다. 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물의 *L. monocytogenes* 5 균주에 대한 최소 중식억제 농도 (minimum inhibitory concentration : ppm)는 유사한 수준이었으나 에틸아세테이트 분획물의 수율이 높아 이로부터 활성 물질을 분리하였다.

### 활성 물질의 정체와 얻어진 획분들의 항균 효과

감초 에틸아세테이트 분획물을 silica gel column chromatography하여 얻은 획분을 *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대하여 항균 활성을 확인한 결과 (Table 3) 획분 G-4, G-5, G-6, G-8 및 G-11이 강한 활성을 보였는데 이중에서 G-4와 G-11이 전조약재에 대한 수율과 정체 정도가 우수하여 두 획분에서 활성 물질을 분리하고자 다시 silica gel column chromatography를 실시하였다. Table 4에서 나타난 바와 같이 획분 G-4에서 얻은 소획분 중 G-4-4가 회수량이 0.34 g으로 전조 약재에 대한 수율이 가장 높고 TLC 상에서 거의 단일 점적 (Fig. 1)을 나타내므로서 여러 식중독균에 대한 항균 활성을 비교하고 구조를 동정하였다. 또한 클로로포름과 메탄올의 비가 6:1과 4:1인 범위에서 용출되어 G-4에 비해 구성이 매우 높은 활성 분획인 G-11에서 얻은 소획분들은 *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대해서 50 ppm 농도에서도 중식억제

효과가 전혀 나타나지 않으므로 G-11의 항균 효과는 단일 물질보다는 여러 물질의 복합 작용에 의한 것임

**Table 3. Growth inhibition at 50 ppm of the fraction obtained after column chromatography of ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH ethanol extract on *L. monocytogenes* ATCC 19111**

Fraction	Elution solvent (CHCl <sub>3</sub> : MeOH)	Antimicrobial activity	Yield <sup>1)</sup> (%)
G-1	30:1	- <sup>2)</sup>	0.05
G-2	30:1	+ <sup>3)</sup>	0.05
G-3	30:1 15:1	++ <sup>4)</sup>	0.45
G-4	15:1 10:1	+++ <sup>5)</sup>	0.35
G-5	10:1	+++	0.18
G-6	10:1	+++	0.09
G-7	10:1 8:1	+	0.07
G-8	8:1	+++	0.11
G-9	8:1	+	0.02
G-10	8:1 6:1	+	0.08
G-11	6:1 4:1	+++	0.79
G-12	4:1 3:1	-	0.34
G-13	3:1 2:1	-	0.61

<sup>1)</sup> See footnote on Table 2, <sup>2)</sup> - : no inhibition,

<sup>3)</sup> + : weak inhibition, <sup>4)</sup> ++ : strong inhibition,

<sup>5)</sup> +++ : very strong inhibition

**Table 2. Minimum inhibitory concentration of ethanol extract and solvent fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH.**

<i>L. monocytogenes</i>	MIC (ppm)					Yield <sup>2)</sup> (%)	
	EtOH extract	CHCl <sub>3</sub> fraction	EtOAc fraction	BuOH fraction	CHCl <sub>3</sub> fraction	EtOAc fraction	
ATCC 19111	50 < M <sub>0</sub> < 100	M < 50	M < 50	300 < M			
ATCC 19112	50 < M < 100	M < 50	M < 50	300 < M			
ATCC 19113	50 < M < 100	50 < M < 100	M < 50	300 < M			
ATCC 19114	50 < M < 100	100 < M < 300	50 < M < 100	300 < M			
ATCC 15313	50 < M < 100	M < 50	50 < M < 100	300 < M			
					5.72	6.56	

<sup>1)</sup> Minimum inhibitory concentration (ppm)

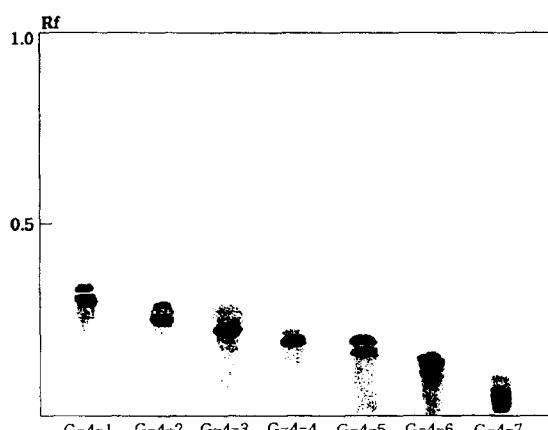
<sup>2)</sup> Fraction weight (g)/dried plant (g) × 100

**Table 4. Growth inhibition at 50 ppm of the fraction obtained after column chromatography of G-4 isolated from ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH ethanol extract on *L. monocytogenes* ATCC 19111**

Fraction	Elution solvent (Hexane : EtOAc : BuOH)	Antimicrobial activity	Yield <sup>1)</sup> (%)
G-4-1	15:3:0.5	+++ <sup>2)</sup>	0.04
G-4-2	15:3:0.5	+++	0.03
G-4-3	15:3:0.5	+++	0.05
G-4-4	10:3:0.5	+++	0.11
G-4-5	10:3:0.5	+++	0.02
G-4-6	10:3:0.5	+++	0.04
G-4-7	10:3:0.5, MeOH	- <sup>3)</sup>	0.14

<sup>1)</sup>See footnote on Table 2

<sup>2),3)</sup>See footnote on Table 3



**Fig. 1. Thin layer chromatogram of fraction of G-4 isolated from ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH ethanol extract (Hexane : EtOAc : BuOH=8 : 3 : 0.5).**

을 추정할 수 있었다(결과생략).

#### 활성 소획분 G-4-4의 항균 효과

에틸아세테이트 분획물에서 분리된 활성 소획분 G-4-4를 10~100 ppm 수준으로 첨가하여 몇 가지 식중독균을 배양시킨 결과는 Fig. 2와 같다. *L. monocytogenes* ATCC 19111 및 19113은 G-4-4가 10 ppm 첨가되었을 때 24 시간 내지 36 시간 증식이 완전 억제되다가 이후에는 급격히 증식 되는 것을 관찰할 수 있었으며 50 ppm 첨가구는 배양시간 내내 혼탁도가 증가하지 않으므로 뚜렷한 증식 억제효과가 나타났다. 이와 같은 항균 효과는 *L. monocytogenes* ATCC 19112, ATCC 19114 및 ATCC 15313의 배양 중에도 관찰되므로서 활성 화분 G-4-4의 *L. monocytogenes*에 대한 최소 증식억제 농도는 10~50 ppm 수준임을 알 수 있

었다. 한편 *S. aureus* KFCC 11764는 G-4-4가 30 ppm 첨가되었을 경우 24 시간 까지는 증식억제 효과를 보이다가 이후에는 대조구와 마찬가지로 균이 증식하였고 50 및 100 ppm 첨가 되었을 때 균증식이 완전히 억제되었으며, *E. coli* ATCC 25922의 경우 G-4-4가 100 ppm 첨가 되었을 때도 대조구와 마찬가지로 균이 증식하므로 항균 효과가 전혀 나타나지 않았다.

합성 보존제인 sodium benzoate와 potassium sorbate의 *L. monocytogenes*에 대한 최소 증식억제 농도가 500 ppm 이상이며<sup>(11)</sup>, 국화과 Artesmisa 속 식물에서 분리한 flavone 화합물<sup>(12)</sup>, 꿀풀과 식물 뿐만 아니라 분리한 horminone<sup>(13)</sup> 및 Arnica 속 꽃에서 분리한 4종의 sesquiterpenoid 등<sup>(14)</sup>의 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 최소 증식억제 농도가 100~800 ppm 이상으로 나타난 결과와 비교하여 볼 때 감초에서 분리된 항균 활성 화분 G-4-4는 천연 항균제로서 이용할 수 있는 충분한 가치가 있다고 생각되는 바이다.

#### 활성 소획분 G-4-4의 살균 효과

*L. monocytogenes*의 증식억제를 위한 활성 소획분 G-4-4의 최소농도가 10<MIC<50로 기존의 합성보존제보다 효과가 좋음을 확인하였으나 액체배양법에서 혼탁도의 측정은 균의 증식양상을 관찰할 수 있으나 정확한 항균정도를 확인할 수 없으므로 이를 보완하기 위하여 각 실험 균주가 접종된 배지에 감초 분리물 G-4-4를 50 및 100 ppm 첨가하여 72 시간 동안 배양하면서 24 시간 간격으로 생균수를 계수하면서 살균 효과를 관찰하였다. 초기 접종 균수에 따른, 균종에 따른 차이점은 있으나 전체적인 균수의 변화를 살펴보면 (Fig. 3), 배양 24 시간 후 초기 접종 균수와 비교하여 볼 때 대조구는 균수가  $10^2\sim10^4$  CFU/mL 증가한 반면에 처리구는  $10^2\sim10^3$  CFU/mL 정도 균수가 감소하였다. 이후 배양시간 동안에는 대조구는  $10^2$  CFU/mL 정도 균수가 감소하였고 처리구는 균에따라 균수가 감소(ATCC 19112), 증가하거나(ATCC 19113 및 19114) 뚜렷한 균수의 변화가 나타나지 않았다(ATCC 19111).

이상의 결과로 보아 G-4-4는 50 및 100 ppm 농도에서 *L. monocytogenes*에 대한 살균작용이 인정되며, 특히 100 ppm 첨가구에서 ATCC 19112경우 초기 균수가  $4\times10^6$  CFU/mL이고 최종 균수가  $1.7\times10^2$  CFU/mL으로 균수가  $10^4$  CFU/mL 감소하여 살균효과가 가장 뚜렷한 반면에 초기 접종 수준( $5.7\times10^6$  CFU/mL,  $3.5\times10^6$  CFU/mL) 유사한 ATCC 19113 및 19114는 배양 후 균수가 초기에 비하여  $10^2$  CFU/mL 감소함으로서 효과가 낮음을 알 수 있었다. 또한 소획분 G-4-

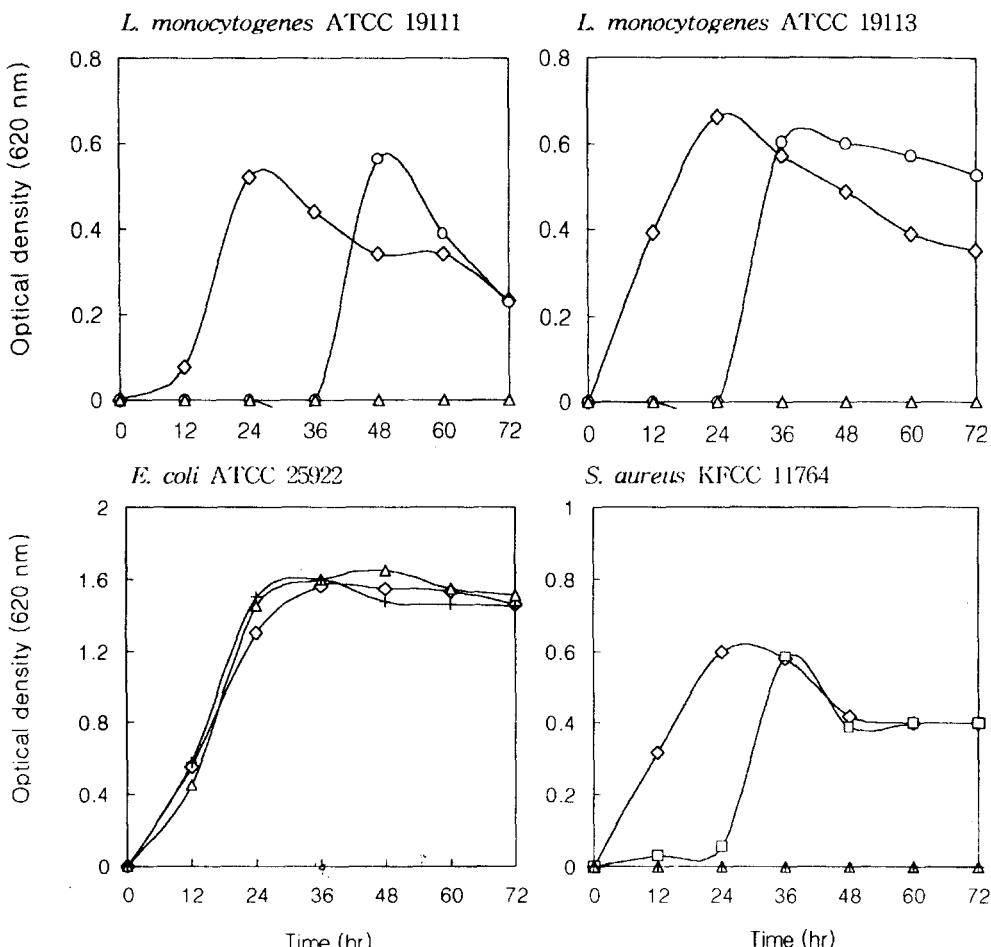


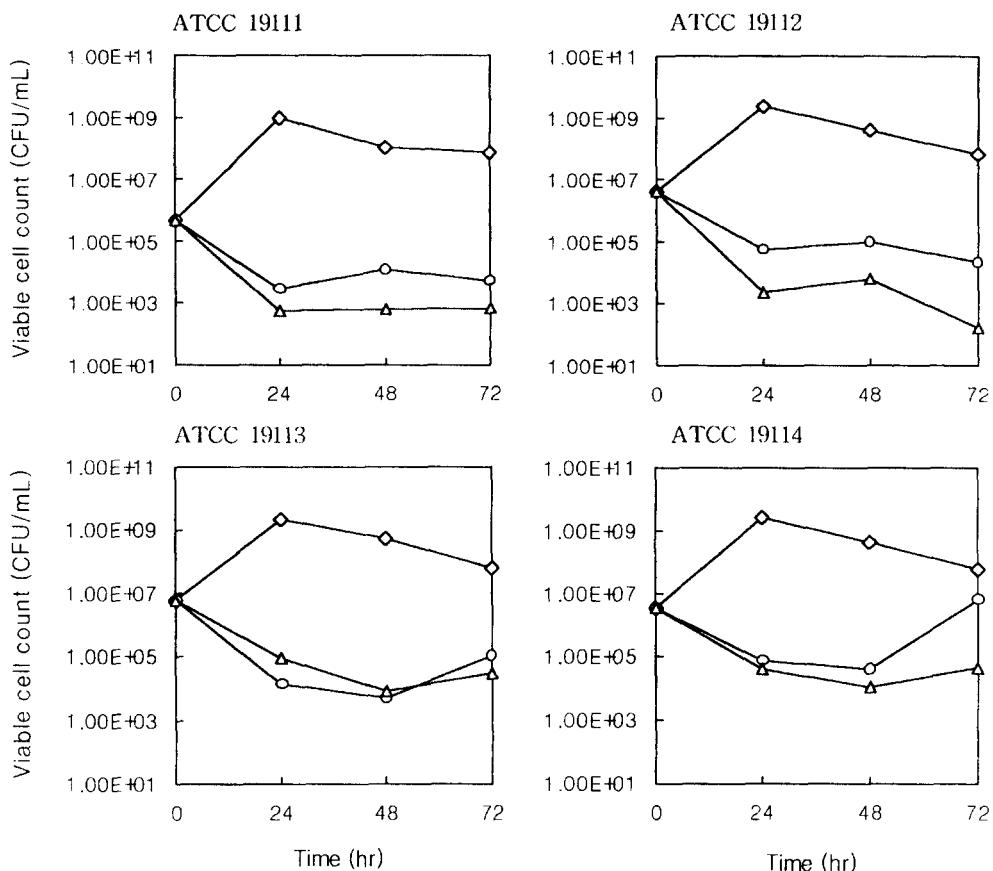
Fig. 2. Growth inhibition by G-4-4 isolated from ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH ethanol extract on several strains of bacteria. ◇—◇: control, ○—○: 10 ppm, □—□: 30 ppm, △—△: 50 ppm, +—+: 100 ppm

4를 50 ppm 첨가하여 ATCC 19114를 배양 시켰을 때 균수가 약간의 감소를 보이다가 증가하여 최종 균수가 초기 접종 균수까지 증가하는 것을 볼 수 있는데 이와같이 적용 농도에서 균의 수가 감소하다가 증가하는 실험균주에 대해서는 살균효과 및 증식억제 효과를 유지하기 위해서 보다 높은 농도의 항균성 물질이 필요할 것으로 본다.

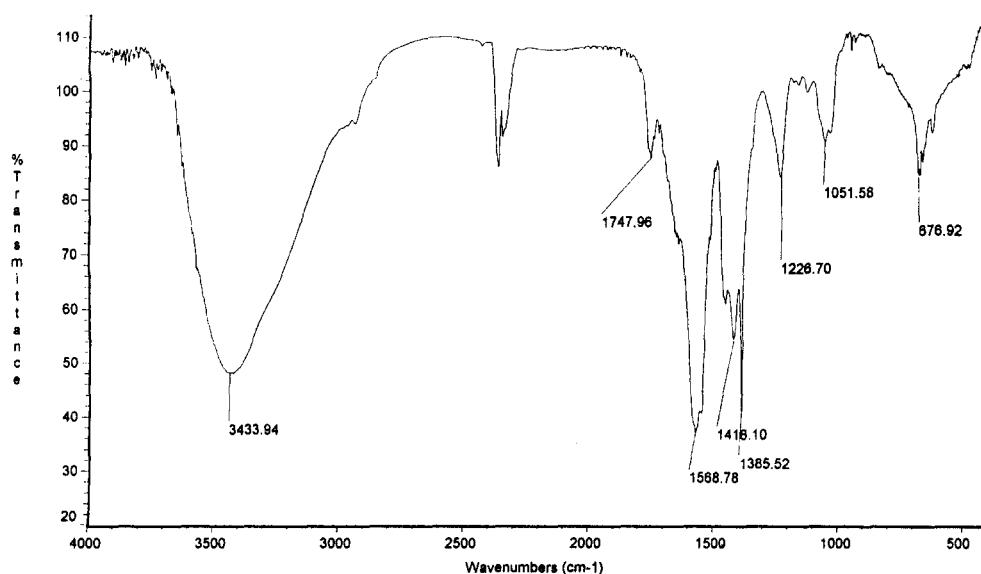
#### 활성 소획분의 구조 동정<sup>(15)</sup>

감초로부터 분리된 G-4-4는 황색분말로 TLC 상에서 황산 발색시 어두운 주황색을 나타내었다. IR spectrum (Fig. 4)에서 3433 cm<sup>-1</sup>의 broad한 흡수 band로부터 OH기를, 1748 cm<sup>-1</sup>에서 C=O 결합을, 1569, 1418, 1386 cm<sup>-1</sup>에서 공역이중결합들의 존재를 확인하였다.

<sup>1</sup>H-NMR (Fig. 5)을 살펴보면 7.69 (1H, d, *J*=8.8 Hz, H-5), 6.43 (1H, d, *J*=8.8, 2.2 Hz, H-6), 6.31 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H-8) signal로부터 1,2,4 치환 benzene환의 존재를, 7.20 (1H, d, *J*=8.8 Hz, H-2'), 7.20 (1H, d, *J*=8.8 Hz, H-6')의 두 개의 수소의 coupling을 관측하여 para 치환 benzene 구조를 확인하였고, 5.25 (1H, d, *J*=8.8 Hz, H-2)에서 산소가 결합된 methine proton signal을 확인하였고 2.94 (1H, d, *J*=17.0, 13.4 Hz, Ha-3), 2.65 (1H, d, *J*=17.0, 3.0 Hz, Hb-3)에서 geminal coupling을 이루고 있는 methylene proton의 존재를 확인하였다. 이상의 결과로부터 A환의 7번, B환의 4번 탄소에 치환기를 갖는 flavanone 화합물임을 확인할 수 있었다. <sup>13</sup>C-NMR (Fig. 5)로부터 192 ppm에서 ketone, 150~170 ppm에서 산소가 결합된 benzene 탄소, 100~130 ppm



**Fig. 3. Bactericidal effect of G-4-4 isolated from ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH ethanol extract on *L. monocytogenes*. ◇—◇: control, ◇—○: 50 ppm, △—△: 100 ppm**



**Fig. 4. IR spectrum of G-4-4 isolated from ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH ethanol extract.**

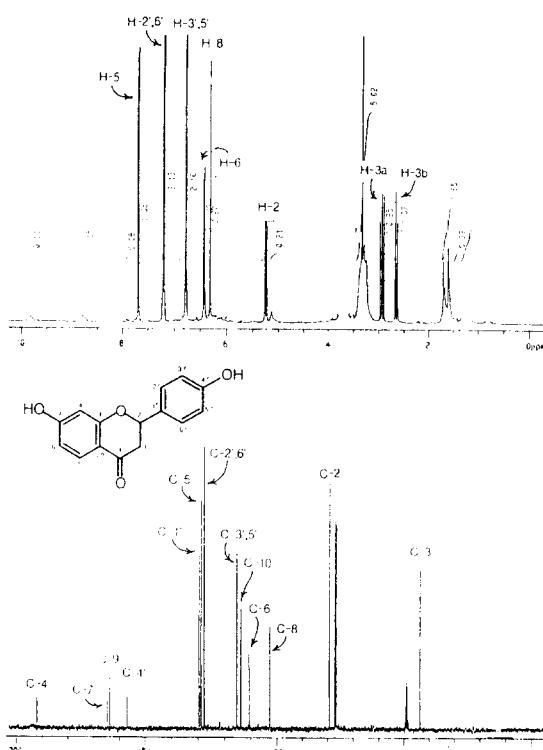


Fig. 5.  $^1\text{H}$ -NMR and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of G-4-4 isolated from ethyl acetate fraction of *Glycyrrhiza uralensis* FISCH ethanol extract ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

에서 9개의 이중결합 탄소 signal 관측, 79.47 ppm에서 산소가 결합된 methine, 43.68 ppm에서 methylene 탄소의 존재를 확인할 수 있었다.

이상의 IR, MS, NMR의 해석결과를 바탕으로 전통 동양약물 데이터베이스<sup>(16)</sup>와 Tsutomo 등<sup>(17)</sup>의 결과와 비교 검토하여본 결과 화합물 G-4-4는 감초중에 함유된 flavanone 화합물의 일종인 liquiritigenin으로 동정되었다.

## 요 약

감초(*Glycyrrhiza uralensis* FISCH) 75% 에탄올 추출물이 *L. monocytogenes* 5 균주에 대하여 뚜렷한 항균 활성이 인정되어 용매 분획한 후 활성이 높은 에틸아세테이트 분획물을 얻었고 이를 silica gel column chromatography로 연속으로 2회 정제하여 황색 분말의 항균 활성 소획분을 분리하였다. 활성 소획분은 *L. monocytogenes*에 대해서는 10~50 ppm 수준에서 중식억제 효과를 보였고 50 및 100 ppm 농도에서는 살균 효과가

인정되었으며 *S. aureus*에 대해서는 30~50 ppm 수준에서 중식억제 효과를 보였으며 *E. coli*에 대해서는 100 ppm 농도에서도 중식억제 효과가 전혀 나타나지 않았다. IR,  $^1\text{H}$ -NMR 및  $^{13}\text{C}$ -NMR로 기기분석하여 활성 획분의 구조를 분석한 결과 감초에 함유된 flavanone 화합물의 하나인 liquiritigenin으로 동정되었다.

## 감사의 글

이 연구는 농림수산 특정 연구과제(첨단기술개발)로 수행한 결과의 일부로 이에 감사를 드립니다.

## 문 헌

1. Roberts, T.A.: Combinations of antimicrobial and processing methods. *Food Technol.*, **43**, 156-163 (1989)
2. Shin, D.H.: Present status of natural antimicrobial compound their application (in Korean). *Food Science and Industry*, **23**(4), 68-77 (1990)
3. Frack, J.F.: Control of *L. monocytogenes* in food processing environments. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **19**, 491-493 (1990)
4. Cho, S.H., Lee, S.Y., Kim, J.W., Ko, G.H. and Seo, I. W.: Antimicrobial activities of grapefruit seed extract (in Korean). *J. Fd. Hyg. Safety*, **10**, 33-39 (1995)
5. 신민교 : 임상본초학. 남산당, p. 175-177 (1986)
6. Kee, C.H.: The pharmacology of chinese herbs. CRC Press, Inc. p. 275-278 (1993)
7. Shin, D.H., Han, J.S. and Kim, M.S.: Antimicrobial effect of ethanol extract of *Sonomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et wils and *Glycyrrhiza glabra* L. var. *Glandulifera* Regel et zucc on *Listeria monocytogenes* (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 627-632 (1995)
8. 우원식 : 천연물화학 연구법. 민음사, p. 22-23 (1989)
9. Roberts, R.M. 외 3인 원저, 김정균 외 5인 공역 : 유기화 학실험. 청문각, p. 50-55 (1997)
10. Park, U.Y., Kim, S.H., Kim, J.H., Kim, Y.G. and Chang, D.S.: Purification of antimicrobial substance for the extract from the root bark of *morus alba* (in Korean). *J. Fd. Hyg. Safety*, **10**, 225-230 (1995)
11. Han, J.S.: Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by plant extract. *M. S. Thesis*, Chonbuk National Univ., Seoul, Korea (1995)
12. Zheng, W.F., Tan, R.X., Yang, L. and Liu, Z.L.: Two flavones from *artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta Med.*, **63**, 160-162 (1996)
13. Batista, O., Duarate, A., Nascimanto, J. and Simoes, M. F.: Structure and antimicrobial activity of diterpenes from the roots of *Plectranthus hereroensis*. *J. Natural Product*, **57**, 858-861 (1994)
14. Kubo, I., Muroi, H., Kubo, A., Chandhuri, S. K., Chez, Y.S. and Ogura, T.: Antimicrobial agents from *Heterotheca inuloides*. *Planta Med.*, **60**, 218-221 (1994)

15. 일본분석학회 구주지부 편, 이용근 외 3인 공역 : 『기기 분석입문』 탐구당, p. 185-195 (1995)
16. Seoul National University Natural Products Research Institute: Traditional oriental medicines database. Seoul systems CO., LTD. (1996)
17. Nakanishi, T., Inada, A., Kazuko, K. and Yoneda, K.: Flavonoid glycosides of the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Phytochem.*, **24**, 339-341 (1985)

---

(1998년 5월 15일 접수)