KOREAN J. POSTHARVEST SCI. TECHNOL.
Vol. 5. No. 1, pp. 13~21

시설채소산물의 선도유지를 위한 한국산 약용식물추출물의 항균특성

정순경 · 이숙지 · 정윤정 · 박우포* · 이동선** · 조성환
경상대학교 식품공학과, *마산대학 식품영양과, **경남대학교 식품공학과

Antimicrobial Activities of Korean Medicinal Herb Extracts for Preserving Greenhouse Fresh Produce

Sun-Kyung Chung · Suk-Ji Lee · Yun-Jung Chung · *Woo-Po Park · **Dong-Sun Lee · Sung-Hwan Cho
Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University
**Department of Foods and Nutrition, Masan College*
***Department of Food Engineering, Kyungnam University*

Abstract

Korean medicinal herb extracts(KMHE) were applied to the preservation of greenhouse produce in order to prove their effectiveness. KMHE showed remarkable antimicrobial effects against *Bacillus cereus*, *Peudomonas syringae*, and *Corynebacterium xerosis* causing the postharvest decay of greenhouse produce. Among KMHE the extracts of *Rheum palmatum L.* and *Coptis chinensis* Franch most obviously inhibited the growth of microorganims causing the postharvest decay of greenhouse produce, which destroyed to undetectable levels when treated with more than 500ppm of KMHE. The activities of KMHE were stable in the wide spectrum of pH and temperature. Direct visualization of microbial cells by using both transmission electron microscope and scanning electron microscope showed microbial cell membrane the function of which was destroyed by treating with the dilute solutions of KMHE. This change of cellular membrane permeability could be identified in the experiment that O-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside(ONPG), the artificial substrate of β-galactosidase, was hydrolyzed in the presence of KMHE, indicating that the membrane was perturbed by KMHE.

Key words : Korean medicinal herb extracts, antimicrobial effect, greenhouse produce, β-galactosidase

서 론

시설채소산물의 경우는 대부분 수확한 다음 정선하여 곧바로 포장 출하하므로 표피에 많은 병원성 및 변패성 미생물이 존재하므로 이들이 저장·유통기간을 단축시킬 것으로 판단된다. 미생물에 의한 시설채소산물의 변패를 억제하거나 예방하는 데 사용되는 보존료나 선도유지제 등은 최근 들어 그 사용량이 급격하게 증가하고 있다. 이는 현대적 식생활 및 소비생활의 변화에 따라 시설채소산물의 품질변패의 억제와 선도유지의 필요성이 현저히 증가되고 있음을 보여주고 있다. 그러나 대부분의 소비자들은 합성 보존료에 상당한 거부감을 가지고 있으므로 외국에서 생산된 천연항균제재가 수입된다면 이들 합성 보존료의 시장은 상당히 외국 기업에 잠식 당할 것이다. 따라서 안전성이 보장된 선도유지 기능성의 항균성 저장소재 개발이 절실히 요구되고 있다. 현재 국내외적으로 진행되고 있는 천연항균제에 관한 연구(1~10)는 대부분 실제 응용분야에 있어서 효과면에 치중한 연구로서 살균작용을 하는 유효성분 및 작용기작을 규명하기 위한 기초연구가 부족한 상태이며, 이들 천연항균제의 안전성에 관한 조사가 선행

Corresponding author : Sung-Hwan Cho, Dept, of Food Sci. & Technol., Gyengsang National University, 900 Kazwa-Dong, Chinju, 660-701, Korea

되어야 할 입장이다. 따라서, 본 실험에서는 한국산 약용식물추출물(Korean medicinal herb extracts : 이하 KMHE라 칭함)로부터 항균활성물질을 분리하고 KMHE의 항균활성성분이 미생물세포막 또는 세포벽의 유동성에 미치는 영향을 검토하는 한편, 전자현미경을 이용하여 변패미생물의 세포형태 및 기능성변화를 살펴봄으로써 KMHE의 항균작용을 확인하였다. 이를 기초로 하여, 항균력이 우수한 KMHE을 선발하고, 시설채소산물에 대한 분무 또는 침지처리제 및 포장소재등의 천연 선도유지제로서의 이용가능성을 검토하였다. 아울러 저장, 수송 등 유통과정에서 시설채소산물의 shelf life를 연장함으로써 우리나라 시설채소산물 산업의 국제경쟁력 강화에 기여할 수 있는 기초를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

KMHE의 조제 및 성분분석

KMHE의 조제는 한국산 약용식물 20여종을 건조상태로 한약재상에서 구입한 후, 각각 일정량을 분쇄하여 원심분리 순환식 무압력 한약추출기에 시료와 증류수를 1 : 5의 비율로 넣고 100℃ water bath에서 3시간 동안 추출하여 1차 여과포를 이용하여 여과하였다. 여과액은 10분 동안 5,000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 수집하고 2차 여과시켜 얻은 액을 회전진공증발기로 최초량의 약 1/10로 농축하고 동결건조기로 건조하여 조제하였다. 한편, 분리·추출한 KMHE의 물리·화학적 특성분석은 AOAC법(11)에 의하여 측정하였다.

항균력 시험

KMHE의 항균력 검색용 균주는 일반적으로 시설채소산물의 변질에 관여하는 부패미생물로 세균류는 brain heart infusion broth에 각각 접종하여 적온에서 18시간 배양한 배양액을 공시균주로 하였다. 곰팡이류는 potato dextrose agar 사면배지에서 충분하게 포자를 형성시킨 후 생리식염수 10ml를 사면배지위에 가하여 현탁액으로 만들어 공시균주로 사용 하였다. KMHE의 최소저해 농도 항균력 시험은 disc method(12)에 의해 측정하였다. 즉, 배양된 공시균액 1ml을 petri dish에 가하고 멸균된 배지 약 15ml를 부어 혼합하고 굳힌 다음 그 위에 다시 10ml를 중첩하여 응고시켰다. 그 위에 paper disc를 놓고 KMHE를 0~1,000 ppm 범위내의 농도별로 조제된 액을 10㎕ 흡수시켜 세균의 경우 35℃에서 48시간 배양하고, 곰팡이의 경우는 30℃에서 72시간 배양한 후 균이 증식하지 못한 clear zone의 직경을 대조구와 비교하여 항균력을 시험하였다.

KMHE의 열 및 pH 안정성 조사

Paper disc method에 의하여 KMHE의 항균력을 측정하여 항균력이 가장 우수한 대황 및 황련추출물을 선택하고 그 열안정성을 측정하기 위하여 추출물을 40, 60, 80, 100, 120, 180℃에서 각각 30분 동안 열처리한 후 처리온도별로 KMHE의 농도가 1,000ppm이 되도록 살균증류수로 조제한 다음, 항균력 시험 방법과 동일하게 비교·측정하였다. 또한, pH안정성은 pH를 4, 6, 7, 8, 10으로 조정한 후 37℃에서 1시간 방치한 다음, 다시 pH 7로 중화시켜 열안정성 시험과 같은 방법으로 생육저해환을 비교·검토하여 pH안정성을 측정하였다.

KMHE의 미생물 생육저해 농도곡선 측정

KMHE의 항균력 시험에서 항균력이 입증된 KMHE을 선택하여 membrane filter(0.2㎛)로 제균시켰다. Tryptic soy broth(TSB)에 대황 및 황련추출물을 여러 가지 농도(100, 500, 1000, 2500, 5000ppm) 단위로 첨가한 후, 각 공시균주의 slant에서 배양된 균주 1백금이를 취하여 10ml TSB에 접종한 후, 30℃에서 24시간 동안 배양시켰다. 이 배양액 0.1ml를 취해 다시 10ml TSB에 접종하여 30℃에서 24시간 동안 배양한 배양액 0.1ml를 여러농도(100, 500, 1000, 2500, 5000ppm)의 대황 및 황련추출물이 함유된 TSB에 접종한 후 배양하였다. KMHE의 첨가농도별 항균효과는 배양미생물의 생육정도를 spectrophotometer를 이용하여 620 ㎚에서 흡광도를 측정하고 KMHE를 넣은 TSB를 blank로 하여 비교·검토하였다..

KMHE의 항균력에 의한 미생물세포의 전자현미경학적 형태변화 조사

항균력이 뛰어난 대황 및 황련추출물의 처리로 인한 공시균주의 세포형태 및 기능성 변화를 알아보기 위해 전자현미경을 이용하여 처리전후의 세포구조를 관찰하였다.(13,14) 대황 및 황련추출물 1000ppm의 농도로 처리한 것과, 처리하지 않은 대조구 균체세포의 전자현미경 촬영사진을 비교·검토하여 미생물 세포조직의 변화를 측정하였다. 즉, 투과전자현미경(TEM : transmission electron micros-cope : Hitachi H-600)의 조직표본 제작은 0.1M phosphate buffer(pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde용액으로 4℃에서 2-4시간 동안 전고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide(OsO4)로 4℃에서 2시간 동안 후 고정 하였으며, 고정이 끝난 재료는 0.1M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 실온에서 15분 간격으로 단계별로 탈수하여

epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5㎛의 semithin section과 70㎚의 ultrathin section을 하였으며, ultrathin section은 copper grid(200 mesh)에 올려 uranyl acetate와 lead citrate용액으로 이중염색하여 투과전자현미경으로 관찰하였다. 한편, 주사전자현미경(SEM : scanning electron microscope : DS-130C, ISI ABT)의 조직표본 제작과정 중, 고정과 탈수과정은 TEM 조직표본제작과 동일하게 처리하였다. 탈수된 조직은 critical point dryer로 건조시킨후 ion sputter를 이용하여 gold ion particle을 두께 20㎚로 피막을 입힌 후 주사전자현미경으로 관찰하였다.

β-Galactosidase activity의 측정

대황 및 황련추출물이 미생물의 세포막에 미치는 영향을 알아보기 위하여 세포를 파쇄하지 않고 toluene , chloroform과 KMHE 존재시에 균체의 β-galactosidase가 정량되는 가의 여부를 살펴보았다.(15) 사용균주가 β-galactosidase를 가지고 있음은 IPTG와 X-gal을 함유한 배지에서 확인하였다. 공시균주인 E. coli 및 Pseudomonas syringae를 영양배지에 접종한 뒤, 37℃에서 24시간 배양한 후, M9 medium으로 옮겨주고 600nm에서 흡광도가 0.2~0.7이 되도록 배양한 다음, 0℃에서 방치하여 성장을 억제하였다 배양액 0.5ml에 같은 부피의 완충액을 가하고 10초간 잘 혼들어 toluene, 증류수, KMHE, chloroform을 같은 농도로 처리하고, 다시 10초간 세게 혼들어 주었다. Toluene제거를 위해 37℃에서 40분간 방치하고, 28℃에서 5분간 더 방치하고 ONPG(O-nitrophenyl-β-D-galactopyran-oside, 4mg/ml)를 0.2ml 첨가후 잘 혼들어 주고 약 20시간동안 28℃에서 반응하였다. 1M Na2CO3 0.5ml를 가하여 반응을 정지시킨 후 원심분리하고 상등액의 흡광도를 420nm에서 측정하였다. 증류수을 넣은 경우를 0으로 하고 toluene을 넣어준 경우를 100으로 하여 대황 및 황련추출물이 세포막에 미치는 영향을 비교하였다.

결과 및 고찰

KMHE의 물리·화학적 특성

국내산 약용식물추출물(20여종)을 건조된 상태로 구입하여 추출·농축하고 동결건조기로 건조하여 조제한 KMHE의 추출수율은 Table 1과 같다. 건물중으로 2.7%~46.7% 범위에서 다양하게 나타났으며 황정이 46.7%로 가장 높은 값을 보였으며, 항균력이 우수한 것으로 확인된 대황은 16.2%, 황련은 11.9%로 비교적 높은 수율로 나타났다.

Table 1. The extraction yields of Korean medicinal herbs as dry weight basis.

Name of medicinal herb	Scientific name	Extraction yields(%)
甘 草	Glycyrrhiza uralensis Fisch	10.9
肉 桂	Cinnamomum cassia Presl.	2.9
大 黃	Rheum palmatum L.	16.2
淫羊藿	Epimedium grandiflorum Morr.	8.2
香附子	Cyperus rotundus L.	7.0
黃 連	Coptis chinensis Franch	11.9
黃 精	Polygonatum sibiricum Redoute	46.7
夏枯草	Prunella vulgaris L	13.8
決明子	Cassia tora L.	2.7

아울러, 대황 및 황련추출물의 물리적·화학적 특성을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 즉, 대황추출물은 회분 19.2%, 총당 12.3%, 총질소 6.8%를 함유하고 있는데 반하여, 황련추출물은 당을 함유하고 있지 않으며 총질소의 함량이 11.4%로 비교적 높은 질소함유율을 보여 주고 있다. 대황 및 황련추출물 모두 갈색을 띠는 중성화합물들로서 190℃이상의 인화점을 가지고 있으며, 수용액은 비점질성 혼합용액의 양상을 나타내었다.

Table 2. Chemical components and physical properties of the extract of Rheum palmatum L. and Coptis chinensis Franch.

Dry weight basis(%)	Chemical components	
	Rheum palmatum L.	*Coptis chinensis Franch.*
Moisture	4.8	5.8
Ash	19.2	11.6
Total sugar	12.3	-
Fat	4.0	3.8
Total nitrogen	6.8	11.4
Physical properties	***Rheum palmatum L***	***Coptis chinensis Franch.***
Color	Brown	Reddish brown
pH at 25℃ (aqueous soln.)	6.87	6.85
Flash point(℃)	195	192
Viscosity(Centistoke) (10% aq. soln)	6.3	4.8

KMHE의 항균력

본 실험시료로 선택한 KMHE 중 넓은 영역의 변패미생물에 대하여 항균력이 뛰어난 것은 감초,육계, 대황, 음양곽, 황련, 황정, 하고초, 결명자 등의 추출물로 나타났으며, 금은화와 적작약도 약간의 항균력을 보였다. 이들 중, 대황추출물(Fig. 1)과 황련추출물(Fig. 2)의 항균력이 탁월하여 paper disk법에 의하여

얻어진 결과에서 가장 큰 생육억제저해환을 보여 주었다. 아울러 이들은 공시균주에 대해서 농도에 비례하여 항균력이 증가하는 것을 알 수 있었다.

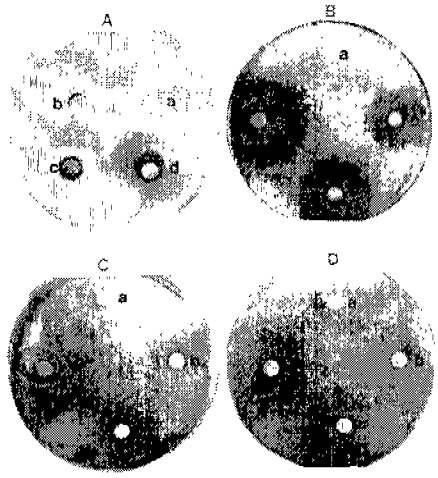

Fig. 1. Inhibitory effect of Rheum palmatum L. extracts on the growth of microorganisms.
A : Escherichia coli B : Bacillus cereus
C : Pseudomonas syringae
D : Corynebacterium xerosis
a : 0ppm(Control), b : 200ppm,
c : 500ppm, d : 1,000ppm

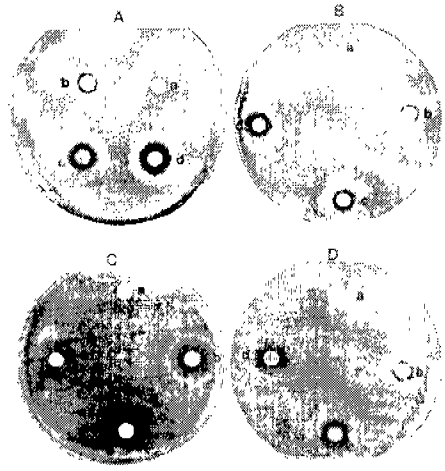

Fig. 2. Inhibitory effect of Coptis chinensis Franch extracts on the growth of microorganisms.
A : Escherichia coli B : Bacillus cereus
C : Pseudomonas syringae
D : Corynebacterium xerosis
a : 0ppm(Control), b : 200ppm,
c : 500ppm, d : 1,000ppm

KMHE의 미생물 생육저해 농도곡선

KMHE의 항균력 시험에서 항균력이 입증된 대황 및 황련추출물의 시설채소 변패미생물에 대한 생육억제효과를 확인하기 위하여 측정한 생육저해 농도곡선은 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 즉, 대황 및 황련추출물 어느 경우에나 *Bacillus cereus*에서는 100ppm 이상에서 생육이 완전히 억제되는 것으로 나타났으며, Pseudomonas syringae와 Corynebacterium xerosis에서는 500ppm 이상에서 거의 생육이 억제되는 것으로 나타났다.

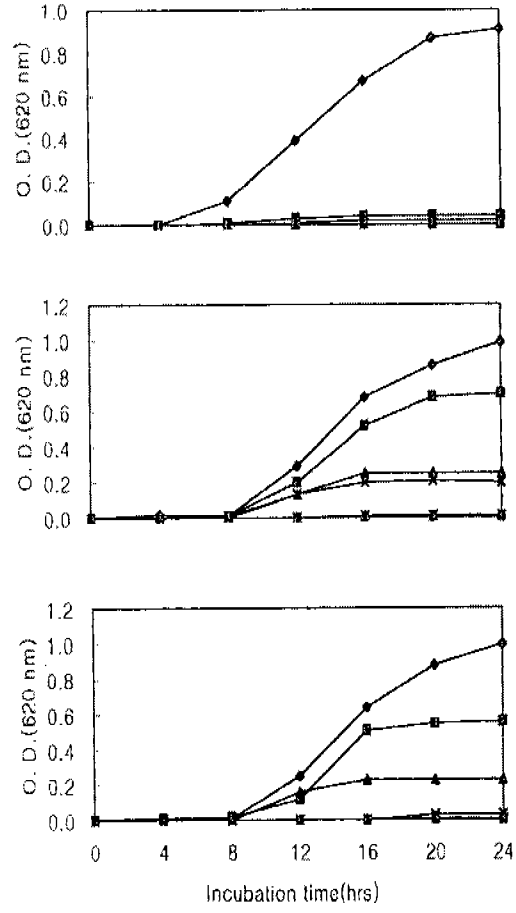

Fig. 3. Microbial growth curve in the medium containing Rheum palmatum L. extracts.
A : Bacillus cereus
B : Pseudomonas syringae
C : Corynebacterium xerosis
◇ : Control, ■ : 100ppm,
▲ : 500ppm, × : 1,000ppm,
* : 2,500ppm, ● : 5,000ppm

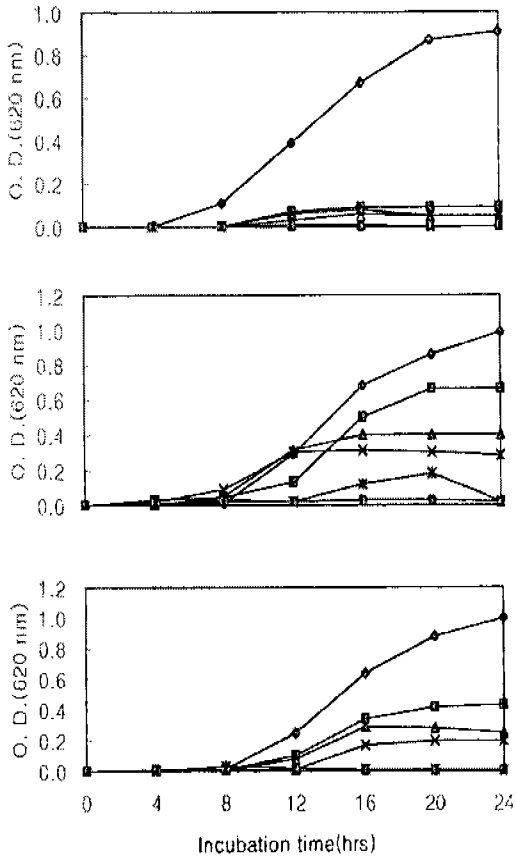

Fig. 4. Microbial growth curve in the medium containing Coptis chinensis Franch extracts.
A : Bacillus cereus
B : Pseudomonas syringae
C : Corynebacterium xerosis
◇ : Control, ■ : 100 ppm,
▲ : 500 ppm, × : 1,000 ppm,
* : 2,500 ppm, ● : 5,000 ppm

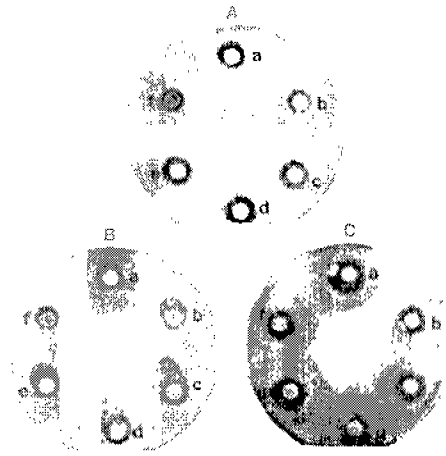

Fig. 5. Thermal stability of Rheum palmatum L. extracts for the growth inhibition of microorganisms.
A : *Escherichia coli*, B : *Bacillus cereus*
C : *Listeria monocytogenes*
a : 40℃, b : 60℃, c : 80℃,
d : 100℃, e : 120℃, f : 180℃

KMHE의 열 및 pH 안정성

Paper disc method에 의하여 항균력이 가장 우수한 것으로 나타난 대황 및 황련추출물의 열안정성 및 pH안정성을 검토한 결과는 열 안정성에 대해서는 Fig. 5와 Fig. 6에서, pH 안전성에 대해서는 Fig. 7과 Fig. 8에서 보여주고 있다. Fig. 5~8에서 나타난 것처럼 넓은 영역의 열처리의 온도(40~180℃)와 pH 범위(pH4~10)에서 항균력을 보임으로써 열과 pH에 안정한 것으로 나타났다.

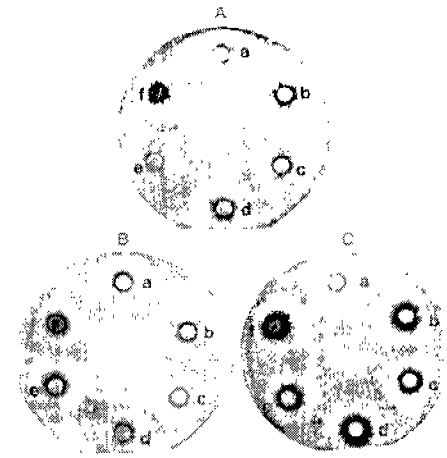

Fig. 6. Thermal stability of Coptis chinensis Franch extracts for the growth inhibition of microorganisms.
A : *Escherichia coli*, B : *Bacillus cereus*
C : *Listeria monocytogenes*
a : 40℃, b : 60℃, c : 80℃,
d : 100℃, e : 120℃, f : 180℃

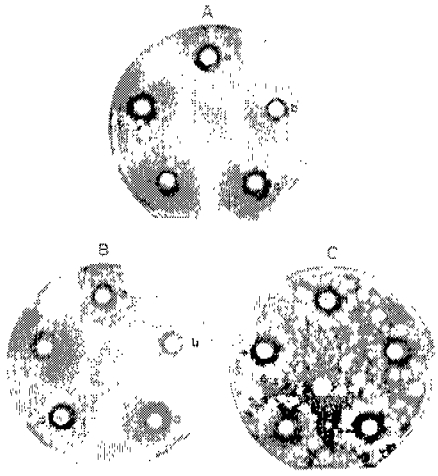

Fig. 7. pH stability of Rheum palmatum L. extracts for the growth inhibition of microorganisms.
A : *Escherichia coli*, B : *Bacillus cereus*
C : *Listeria monocytogenes*
a : pH 4, b : pH 6, c : pH 7,
d : pH 8, e : pH 10

Fig. 8. pH stability of Coptis chinensis Franch extracts for the growth inhibition of microorganisms.
A : *Escherichia coli*, B : *Bacillus cereus*
3 : *Listeria monocytogenes*
a : pH 4, b : pH 6, c : pH 7,
d : pH 8, e : pH 10

KMHE의 항균력에 의한 미생물세포의 전자현미경학적 형태변화

대황 및 황련추출물이 미생물세포생리특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 배양된 공시균주를 사용하여 대황 및 황련추출물의 농도를 1000ppm으로 처리한 것을 처리하지 않은 대조구 균주와 함께 전자현미경 촬영시료로 조제하여 SEM과 TEM을 촬영한 결과는 Fig. 9 및 Fig. 10과 같다.

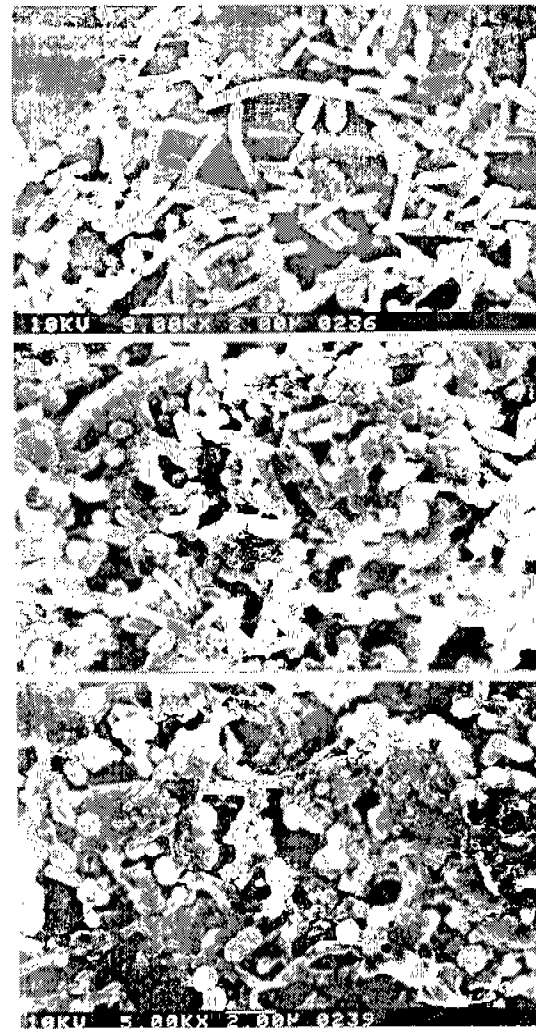

Fig. 9 The effect of KMHE on the membrane perturbation of E. coli. The cells were treated with *Peagents including* toluene, chloroform, *Rheum palmatum* L. extracts and *Coptis chinensis* Franch extracts.

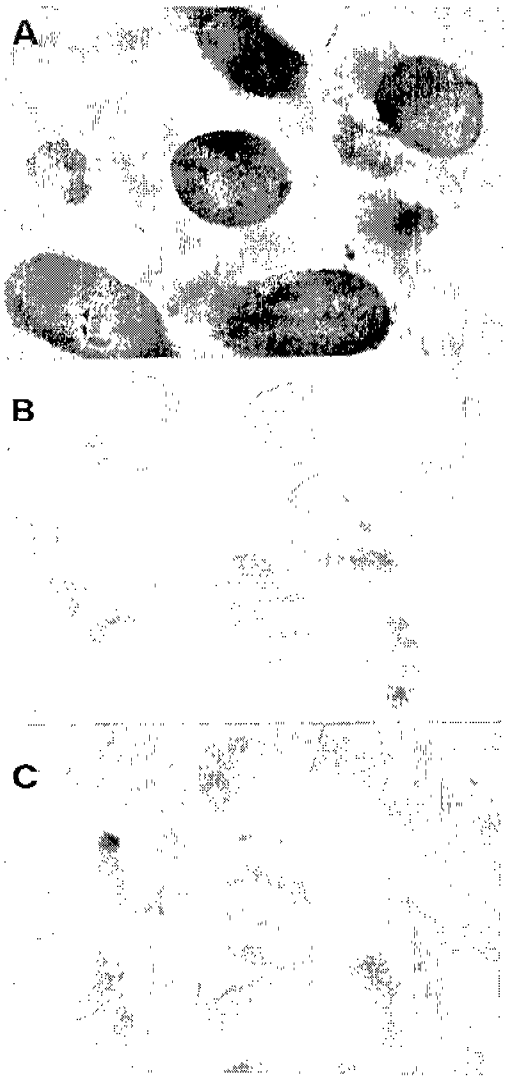

Fig. 10. The effect of KMHE on the membrane perturbation of *Psedomonas syringae*. The cells were treated with reagents including toluene, chloroform, *Rheum palmatum* L. extracts and *Coptis chinensis* Franch extracts.

SEM의 결과인 Fig. 9에서 보는 바와 같이 미생물의 생리활성효소의 기능이 약화되고 세포벽 또는 세포막이 파손되어 삼투기능이 상실됨으로써 미생물의 생리가 중단되고 생육이 억제되는 것을 볼 수 있다. 또한, TEM의 결과는 Fig. 10에서 보는 바와 같이 대황 및 황련추출물의 항균물질에 의하여 균체세포는 세포막의 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되며, 균체내부가 빈 ghot 형태의 균체수가 증대함을 알 수 있었다. 이것은 천연항균제가 미생물의 세포내 생리활성효소의 기능을 약화시키고, DNA/RNA 유전정보기작을 방해한다는 기존의 연구보고(16)로 미루어 포자의 세포벽 및 세포막의 기능이 상실되어 포자내용물의 소실 등으로 인한 대황 및 황련추출물의 항균작용에 기인한 것으로 생각된다.

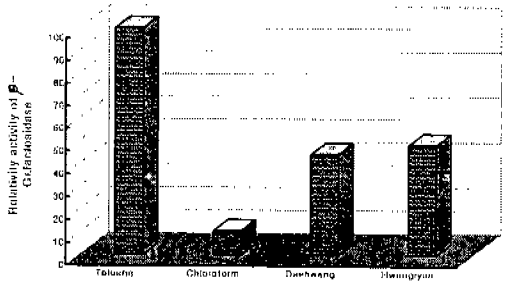

Fig. 11. The effect of KMHE on the membrane perturbation of *E. coli*. The cells were treated with reagents including toluene, chloroform, *Rheum palmatum* L. extracts and *Coptis chinensis* Franch extracts.

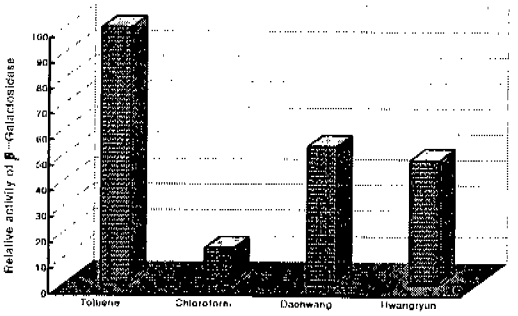

Fig. 12. The effect of KMHE on the membrane perturbation of *Psedomonas syringae*. The cells were treated with reagents including toluene, chloroform, *Rheum palmatum* L. extracts and *Coptis chinensis* Franch extracts.

β-Galactosidase activity

대황 및 황련추출물을 미생물 세포에 처리하였을 때, 세포막에 영향을 주는 지를 알아보기 위하여 대황 및 황련추출물의 존재하에서 E. coli 및 Pseudomonas syringae의 β-galactosidase활성을 측정하였다. Fig. 11 및 Fig. 12에서 보는 바와 같이, 증류수를 가해준 대조구에서의 값을 0으로 하고 toluene을 가해 준 시험구를 100으로 하였을 때, E. coli의 경우,

대황 및 황련추출물처리구는 각각 40%, 43%, Pseudomonas syringae의 경우, 각각 50%, 43%의 활성이 검출되었다. Chloroform을 가해서 세포막을 손상하여 얻은 값이 10%정도였는데, 이를 토대로 보면, 대황 및 황련추출물은 chloroform보다 세포막을 더 손상시키며, 세포막 파손이 심하게 일어나는 toluene처리구의 40~50%에 상응하는 세포막 기능파괴가 초래된 것으로 예상할 수 있었다. 이 결과는 전자현미경 실험결과(Fig. 9 및 Fig. 10)와 잘 일치하였으며, 이와 같은 항균기작에 연유하여 대황 및 황련추출물처리는 각각 뛰어난 미생물 세포의 생육억제효과를 보여 줄 수 있는 것으로 판단되었다.

이상과 같은 실험을 통하여 한국산 약용식물인 대황 및 황련 추출물에서 강한 항균력이 있다는 것을 확인하였으나 이 항균물질을 시설채소산물 기타 식품원료에 직접 또는 포장소재로 적용할 수 있기까지는 많은 기초연구가 지속되어야 할 것으로 생각된다. KMHE의 항균활성물질 및 그 작용기작을 확립하기 위해서는 먼저 항균작용에 관여하는 KMHE의 유효활성물질을 순수 분리하여 분자구조를 구명함과 동시에, 이들의 복합적인 작용기작을 조사하여 항균성분의 미생물 세포에 대한 작용부위 및 작용억제기작 등 KMHE의 미생물 억제작용에 대한 다각적인 실험이 더 많이 진행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

한국산 약용식물추출물(Korean medicinal herb extracts : KMHE)로부터 항균활성물질을 분리하고 그 시설채소산물의 선도유지제로써의 기능과 효능을 입증하고자 하였다. 약용식물 물추출물이 시설채소산물의 저장중 발생되는 변패균주, *Bacillus cereus, Pseudomonas syringae, Corynebacterium xerosis* 등 공시균주에 대한 항균성을 확인한 결과, 감초, 육계, 대황, 음양곽, 황련, 황정, 하고초, 결명자 등에서 항균성이 확인되었다. 이중 가장 우수한 항균력을 가진 대황 및 황련추출물을 선택하여 paper disk method에 의한 농도별 항균력을 실험한 결과, 변패미생물에 대하여 농도에 비례하여 상당한 항균효과를 보였으며, 또한 생육저해곡선에서는 500ppm 이상에서 미생물의 생육이 완전히 억제되는 것을 볼 수 있었다. 그리고 열 및 pH 안정성에 대해서도 열처리의 온도와 pH 범위에 관계없이 항균력을 보임으로써 열과 pH에 안정한 것으로 나타났다. 또한 항균력에 의한 미생물의 생태변화에 대한 전자현미경적 관찰(SEM, TEM)에서도 항균물질이 미생물의 생리활성효소의 기능을 약화시켜 세포벽 또는 세포막을 파손하여 삼투기능이 상실됨으로써 미생물의 생리가 중단되고 생육이 억제되는 것을 볼 수 있었다. 또한 균체내부에 빈 ghot 형태의 균체들이 증대함을 알 수 있었다. 이와 같은 미생물의 세포막 생리기능 상실현상은 β-galactosidase활성 변화에서도 확인되었다.

감사의 글

이 논문은 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업(96년도 첨단기술사업)의 연구결과중 일부이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Beuchat, L. R. and Golden, D. A. (1989) Antimicrobials occuring naturally in foods. *Food Technol*, **43**, 134
2. Fromtling, R. A. and Bulmer, G. S. (1978) In vitro effect of aqueous extract of garlic(Allium sativum) on the growth and viability of Cryptococcus neoformans. *Mycologia*, **70**, 397(1978)
3. Farag, R. S., Daw, Z. Y., and Abo-Raya, S. H. (1989) Influence of some spice essential oils on Aspergillus parasiticus growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *J. Foof Sci.*, **54**, 74
4. Karkpinar, M. (1990) Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of Aspergillus parasiticus. *International J. Food Microbiol*, **10**, 193
5. Briozzo, J., Nunez, L., Chirife, J., Herszage,L., and D,Aquino, M.(1989) Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 69
6. Zaika, L. L. (1988) Spices and herbs; their antimicrobial activity and it,s determination. *J. Food Safety*, **9**, 97
7. Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y., and Ichimura, K. (1979) Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Biol. Chem.*, **43**, 2365

8. 곽이성, 양재원, 이광승 (1993) 일부 병원성 미생물에 대해 항균활성을 보이는 생약의 탐색. 한국식품위생학회지, 8(3), 141-145
9. 이인란, 박홍순 (1987) 황금탕의 항균작용. 생약학회지, 18, 249
10. 이병완, 신동화 (1991) 식품부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지 23(2), 200
11. A.O.A.C. (1984) *Official methods of analysis*, 14th.
12. Piddock, L.J.V. (1990) Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacterio.* 68, 307
13. Bendayan, M. (1984) Protein-A-gold electron microscopic immunocytochemistry; methods, applications and limitations. *J. Elect. Microsc. Tech* 1, 243
14. 조성환, 김기옥, 정진환, 류충호 (1994) 농축수산물 및 그 가공식품에 대한 Listeria균주의 오염실태조사와 Listeriosis발생억제방법. 한국식품위생학회지 (식품위생 · 안전성 연구) 9(4), 191
15. Miller, J. (1972) Experiments in Molecular Biology, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.
16. Miele, W. H. (1988) Efficacy of grapefruit seed extract against *Salmonella typhi, Escherchia coli* and *Staphylococcus aureus*. Microbiological food analysis report reviewed and approved by Southern Testing and Research Laboratories, Inc. Wilson, NC, U.S.A.

(1998년 3월 7일 접수)