KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 31, No. 6, pp. 1667~1678(1999)

전통식품 및 천연물에서 천연보존료 개발에 관한 연구

김희연 · 이영자 · 홍기형 · 권용관 · 이주연 · 김소희
하상철* · 조홍연** · 장이섭*** · 이철원 · 김길생
식품의약품안전청 천연첨가물과, *대구미래대학 제과데코레이션과,
**고려대학교 생명공학원, ***피부과학연구원 미래상품팀

Studies on the Development of Natural Preservatives from Natural Products

Hee-Yun Kim, Young-Ja Lee, So-Hee Kim, Ki-Hyoung Hong, Yong-Kwan Kwon, Ju-Yeun Lee, Sang-Chunl Ha*, Hong-Yon Cho**, IH-Seop Chang***, Chul-Won Lee and Kil-Saeng Kim
Division of Natural Food Additives, Korea Food and Drug Administration,
**Department of Confectionary Decoration, Taegu Future College,*
***Graduate School of Biotechnology, Korea University,*
****Cosmeticals Research Team, Skin Research Institute*

Abstract

Certain parts of 190 kinds of medicinal herbs and 171 kinds of original materials of food were extracted by methanol. The extracts were tested their microbial inhibition activities against several food spoilage microorganisms, *Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae, Candida albicans, Penicillium citrinum, Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger.* The methanol extracts of *Cornus officinalis, Evodia officinalis, Glycyrrhiza glabra, Salvia miltiorrhiza, Schizandrae fructus, Coptidis rhizoma,* aroma hop and bitter hop were shown inhibitory effect on certain species of gram(+) bacteria. Aroma hop and bitter hop were shown inhibitory effect on certain species of gram(-) bacteria. The methanol extract of Salvia miltiorrhiza exhibited a strong antibacterial activities. It was purified by solvent fractionation, silicagel column chromatography, prep. TLC, prep. HPLC. The purified active substance was identified as cryptotanshinone by EI-MS, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and DEPT. Cryptotanshinone showed a strong antibacterial activity against gram positive bacteria (MIC : 3.91~62.50 μg/mL). Especially, this compound was the most strong activity against *Bacillus subtilis* (MIC : 3.91 μg/mL).

Key words : antibacterial activity, food spoilage microorganism, *Salvia miltiorrhiza*, cryptotanshinone, MIC

서 론

식품의 부패와 변질은 주로 미생물작용에 의해 일어나는데, 이를 방지하기 위해 각종 합성보존료를 사용하여 저장기간의 연장을 시도하고 있으나, 대부분의 보존료는 화학적 합성품으로 그 안전성에 대한 재고가 사회적인 관심사로 대두되고 있으며, 더욱이 근래 소비자들의 건강욕구 증대에 따라 식품제조 · 가공에서도 합성첨가물의 사용을 될 수 있는 한 제한하려는 추세이다. 한편 천연물 중에도 상당한 항균성 물질을 갖는다는 사실은 옛날부터 전해지고 있다. 이로 인하여 오래전부터 이에 대한 연구가 계속적으로 수행되어 왔으며, 현재도 천연항균성 물질의 검색과 식품의 이용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다.[1,2] 이러한 연구결과 천연항균성 물질과 그 기작이 서서히 밝혀지고 있으며, 단백질 성분으로서 항균성을 갖는 물질들은 계란에 함유된 conalbumin, avidin, lysozyme[3-5]과 우유에 함유된 lactoferrin[6]등이 이미 알려져 있는 실정이다. Succinic, malic, tartaric, benzoic acid는 천연물에 함유된 유기산으로서 미생물이 특정 아미노산의 이용을 저지하므로 증식 억제효과가 있다고 보고되고 있다.[7-10] 소량으로 동식물의 조직에 함유된 탄소수가 12-18개의 지방산은 가장 효과적인 항균성 물질

Corresponding author : Hee-Yun Kim, Division of Natural Food Additives, Korea Food and Drug Administration, 5 Nokbun-Dong, Eungpyung-Ku, Seoul 122-704, Korea

Table 1. List of herbs and foods collected nationwide for antimicrobial experiments

Korean name	English name	Korean name	English name
참깨(중국산)	Sesame seed (China)	은행잎	Gingko nuts leaf
참깨(국산)	Sesame seed (Korea)	은행	Gingko nut
쌀	Rice	옥수수잎	Sweet corn leaf
흑두	Black soybean	쑥	Mugwort
호밀	Rye	된장	Soybean paste
기장	Prosomillet	민들레	Dandelion
멸치	Anchovy boiled-dried	아카시아잎	Acacia leaf
갓	Mustard leaf	콩나물콩	Soybean sprout
부추	Leek	쌀겨	Rice hull
두충차	Duchung tea	호박씨	Pumpkin seed
둥글레차	Dunggulle tea	호두알갱이	Walnuts
다시마	Sea tangle	호두껍질	Walnuts bark
미역	Sea mustard	명태	Alaska pollack,dried
자몽종자	Grape fruits seed	땅콩	Peanut
우롱차	Oolong tea	새우	Shrimp,dried
김	Laver	잣	Pine nut
감귤	Citrus fruit	홍합	Hard-shelled mussel
마늘	Garlic	꼴뚜기	Beka squid
깻잎	Perilla leaf	굴	Oyster
고추장	Red pepper paste	바지락	Little neck clam
감잎차	Persimon leaf tea	대합	Orient clam
수박껍질	Watermelon bark	골뱅이	Whelk
코코아	Cocoa	꼬막	Granulated ark shell
수수	Sorghum	소라	Turban shell
팥	Small red bean	인스턴트커피	Coffee instant
흑깨	Seasame seed, black	원두커피	Coffee
고사리	Braken	인진쑥	InJin-mugwort
겉보리	Unhulled Barley	영지버섯	Shining Ganodernia
강낭콩	Kidney bean	모과	Chinese quince
녹두	Mungbean	사과	Apple
들깨	Perilla seed	유자	Citron
메조	Foxtail millet	단감껍질	Persimon bark, hard
메밀	Buckwheat	달래	Wild garlic
표고버섯	Lentinus edodes, dried	목이버섯	Juda's ear
차조	Glutinous millet	인삼	Ginseng
제피	Zanthoxylum pipertitum	대구	Pacific cod
율무	Job's-tears	싸리버섯	Clavaria botrytis
포도씨	Grape seed	우렁	Snail
거봉씨	Grape, large seed	청각	Sea staghom
수박씨	Watermelon seed	얼레지	Dogtooth violet
밤껍질	Chestnuts bark	치커리	Chicory, green
머위	Butterbur	노가리	Alaska pollack immature, dried
대추	Jujube	더덕취	D dk chew
호프(방향)	Hop, aroma	원두충	Wonduchung
호프(쓴맛)	Hop, bitter	다래순	Wide rocambole stalk
더덕	Dodok	방어	Yellow tail
참취	Cham Chwi	청어	Pacific herring
풋고추	Green pepper	오징어	Common squid
피망	Sweet pepper, green	삼치	Spanish mackerel
느타리버섯	Oyster mushroom	꽁치	Pacific saury
메추리알	Quail's egg	갈치	Hair tail
토마토	Tomato	생태	Alaska pollack, fresh
가지	Egg plant	우엉	Burdock
레몬	Lemon	상추	Lettuce, improved
아스파라거스	Asparagus	쑥갓	Crown daisy
브로컬리	Broccoli	팽이버섯	Winter fungus
양송이버섯	Mushroom	미나리	Water dropwort
고비	Royal fern	양상추	Lettuce
고구마순	Sweet potato stalk	냉이	Shepherd's purse

Table 1. Continued

Korean name	English name	Korean name	English name
토란대	Stem of taro	울민티	Ulmin tea
콩나물	Soybean sprout	레몬껍질	Lemon bark
배	Pear	바나나껍질	Banana bark
톳	Seaweed fusiform	귤	Citrus fruit
감	Persimon	황태	Alaska pollack,yellow
딸기	Strawberry	배추뿌리	Cabbage root
바나나	Banana	생강	Ginger root
무	Radish root	파래	Sea lettuce
감자	Potato	쥐치	File fish,fillet,dried
호박	Pumpkin, matured	꼴뚜기	Beka squid
양파	Onion	게	Crab
동부	Cowpea	향신료	Geranium african oil
고구마	Sweet potato	향신료	Petitgrain lemon tree
아욱	Mallow	향신료	Oakmoss absolute
근대	Chard	향신료	Palmarosa madacascar oil
양배추	Cabbage	향신료	Clove bud oil
시금치	Spinach	향신료	Neroli oil
미더덕	Warty sea squirt	향신료	Lavandin oil
숯	Charcoal	향신료	Orange florida oil
대파	Large green onion	향신료	Thyme white oil
임연수	Alabesque greenling	향신료	Wintergreen oil
멍게	Common sea squirt	향신료	Allspice oleoresin
해삼	Sea cucumber	향신료	Pimento leaf oil
고등어	Mackerel	향신료	Bergamot italian oil
가자미	Flounder	향신료	Bois de rose
조기	Yellow croaker	향신료	Lavender absolute
멸치	Anchovy, raw		

로 조사연구되어 밝혀지고 있다.[11-14] 우리나라에서 많이 사용되는 향신료들 중 가장 많이 알려진 것은 마늘[15]과 양파[16]이다. 또한 최근의 연구로 상백피 추출물이 식품 부패미생물에 항균효과가 있음이 보고된 바 있다.[17] 생약재에 의한 항균성은 오래전부터 알려져 왔었다.[18] 단삼(丹蔘, *Salvia miltiorrhiza*)은 꿀풀과의 다년생 약용식물로 뿌리가 붉기 때문에 단삼이라고 하며, 그 길이는 40-80 cm이다. 원산지는 중국으로 봄이나 가을에 채취한 뿌리를 건조시킨후 약재로 사용하고 있으며, 우리나라에서 경북 가야산, 강원도 설악산에서 자생하는 것으로 알려져 있는데, 그 이용도는 한방에 국한되어 있다. 단삼은 간보호작용 및 불규칙한 생리, 혈관염, 월경과다, 불면증, 혈액순환장애, 협심증, 염증 등의 치료에 효과적인 것으로 알려져 있으며,[19,20] 성분으로 tanshinone I, II, cryptotanshinone, tanshindiol, methyltanshinone, hydroxytanshinone, isotanshinones 등이 보고 되었다.[20-24] 그리고 이들 tanshinone계 색소성분은 *Staphylococcus aureus*[25]와 *Mycobacterium*속[26]에 대하여 항균작용이 있다고 보고된 바 있으나, 기타 식중독 세균이나 부패 미생물에 대한 폭넓은 항균작용과 식품 보존효과에 관한 연구 보고는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 옛날부터 우리조상들이 대대로 식용하여 왔던 식품원재료와 약용식물학 등에서 방부 또는 살균효과가 있어 예로부터 민간에서 식품에 사용되어 그 안전성이 확보된 생약재 및 식물을 대상으로 대표적인 식품 부패미생물에 대한 보존활성 성분을 탐색하였으며 그 중 강한 보존활성을 나타내는 단삼의 항균성분을 분리, 정제 및 구조결정을 하여 천연보존료로서의 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

전국 각지에서 수집하여 실험한 식품원재료 및 한약재는 Table 1, 2와 같다. 보건복지부에서 발행한 한국 식품성분표의 분류방법에 따라 식품원재료 곡류, 서류, 전분류, 두류, 종실류, 채소류, 향신료, 조미료, 유지류, 어패류, 해조류, 버섯류, 과실류 등에서 171종과 한약재로는 갈근 등 190종을 시료로 사용하였다.

사용균주 및 배지

실험에 사용한 균주는 그람양성세균 중 *Micrococcus luteus, Bacillus subtilus, Bacillus cereus, Listeria*

Table 2. List of medicinal herbs collected nationwide for antimicrobial experiments

Korean name	Scientific name	Korean name	Scientific name
갈근	*Pueraria thunbergiana*	몰약	*Commiphora molmol*
감국	*Chrysanthemum indicum*	박하	*Mentha arvensis*
감송향	*Nardostachys chinensis*	반하	*Pinellia ternata*
감초	*Glycyrrhiza gabra*	방기	*Sinomenium acutum*
강활	*Angelica koreana*	방풍	*Ledebouriella seseloides*
강황	*Curcuma longa*	백강잠	*Bombyx mori*
건강	*Zingiber officinale*	백개자	*Brassica alba*
건지황	*Rehmannia glutinosa*	백부근	*Stemona japonica*
검인	*Euryale ferox*	백두구	*Amomum cardamomum*
계내금	*Gallus gallus*	백복령	*Poria cocos wolf*
계지	*Cinnamomum cassia*	백선피	*Dictamnus albus*
계피	*Cinnamomum cassia*	백자인	*Thuja orientalis*
고련피	*Melia azedarach*	백지	*Angelica dahurica*
고본	*Angelica tenuissima*	백출	*Atractylodes japonica*
고삼	*Sophora flavescens*	백편두	*Dolichos lablab*
골쇄보	*Drynaria fortunei*	별갑	*Amyda maakii*
곽향	*Agastache rugosa*	복분자	*Rubus coreanus miquel*
관동화	*Tussilago farfara*	복신	*Pachyma hoelen*
괴화	*Sophora japonica*	봉출	*Curcuma zedoaria*
구기자	*Lycium chinense*	부평초	*Spiradela polyrhiza*
구자	*Allium tuberosum*	비자	*Torreya nucifera*
구절초	*Chrysanthemum zawadskii*	비파엽	*Eriobotrya japonica*
구척	*Cibotium barometz*	비해	*Dioscorea tokoro*
금앵자	*Rosa laevigata*	사간	*Belamcanda chinensis*
금은화	*Lonicera japonica*	사삼	*Adenophora triphylla*
길경	*Platycodon grandiflorum*	사인	*Amomum xanthioides*
남성	*Arisaema amurense*	산두근	*Sophora subprostrata*
내복자	*Raphanus sativus*	산사자	*Crataegus pinnatifida*
단삼	*Salvia miltiorrhiza*	산수유	*Cornus officinalis*
당귀	*Angelica gigas*	산약	*Dioscorea japonica*
대복피	*Areca catechu*	산조인	*Zizyphus vulgaris*
대황	*Rheum palmatum*	산초	*Zanthoxylum piperitum*
도인	*Prunus persica*	삼릉	*Scirpus flaviatilis*
독활	*Aralia cordata*	상기생	*Loranthus parasiticus*
두충	*Eucommia ulmoides*	상백피	*Morus alba*
마황	*Ephedra sinica*	석결명	*Haliotis gigantea*
만형자	*Vitex rotundifolia*	석고	*Gypsum*
만삼	*Codonopsis pilosula*	석곡	*Dendrobium nobile*
망초	*Sodium sulfate*	석창포	*Acorus gramineus*
맥아	*Hordeum vulgare*	선퇴	*Cryptotympana pustulata*
모려	*Ostrea gigas*	세신	*Asiasarum sieboldi*
목과	*Chaenomeles sinensis*	소엽	*Perilla sikokiana*
명일엽	*Angelica utilis*	소자	*Perilla sikokiana*
목단피	*Paeonia moutan*	소회향	*Foeniculum vulgare*
목적	*Equisetum hiemale*	속단	*Phlomis umbrosa*
목통	*Akebia quinata*	송지	*Pinus densiflora*
목향	*Saussurea lappa*	쇄양	*Cynomorium songaricum*
승마	*Cimicifuga heracleifolia*	진범	*Aconitum pseudo-laeve*
시호	*Bupleurum falcatum*	진피	*Citrus unshiu*
신곡	*Medicata fementata*	차전자	*Plantago asiatica*
신이화	*Mahnolia denudata*	창이자	*Xanthium strumarium*
양강	*Alpinia officinarum*	창출	*Atractylodes japonica*
애엽	*Artemisia asiatica*	천궁	*Cnidium officinale*
어성초	*Houttuynia cordata*	천련자	*Melia azedarach*
여정실	*Ligustrum lucidum*	천마	*Gastrodia elata*
연교	*Forsythia viridissima*	천화분	*Trichosanthes kirlowii*
연자육	*Nelumbo nucifera*	천초	*Rubia akane*
오가피	*Acanthopanax sessiliflorum*	청상자	*Celosia argentea*
오령지	*Trogopterus xanthipes*	초결명	*Cassia obtusifolia*

Table 2. Cotinued

Korean name	Scientific name	Korean name	Scientific name
오매	*Prunus mume*	초과	*Amomum tsao-ko Crevostet*
오미자	*Schizandra chinensis*	초룡담	*Gentiana scabra*
오배자	*Rhus javanica*	치자	*Gardenia jasminoides*
오수유	*Evodia officinalis*	측백	*Biota orientalis*
오약	*Lindera strichnifolia*	택란	*Lycopus corenus*
용골	*Fossilia ossis*	택사	*Alisma orientale*
우방자	*Arctium lappa*	토복령	*Smilax china*
우슬	*Achyranthes japonica*	토사자	*Cuscuta chinensis*
욱리인	*Prunus nakaii*	통초	*Tetrapanax papyriferus*
원지	*Polygala tenuifolia*	파고지	*Uncaria sinensis*
육계	*Cinnamomum cassia*	파극천	*Morinda officinalis*
육두구	*Myristica fragrans*	패장근	*Patrinia villosa*
육종용	*Cistanche deserticola*	포황	*Typha orientalis*
위령선	*Clematis mandshurica*	편축	*Polygonum aviculare*
의이인	*Coix lacryma-jobi*	하고초	*Prunella vulgaris*
음양곽	*Epimedium koreanum*	하수오	*Polygonum multiflorum*
익모초	*Leonurus sibiricus*	합환피	*Albizzia julibrissin*
익지인	*Alpinia oxyphylla*	향부자	*Cyperus rotundus*
인동	*Lonicera japonica*	향유	*Elsholtzia ciliata*
자실	*Catalpa ovata*	해동피	*Kalopanax pictus*
작약	*Paeonia albiflora*	행인	*Prunus armeniaca*
저령	*Polyporus umbellatus*	현삼	*Scrophularia vuergeriana*
적석지	*Halloysite*	현초	*Geranium thunbergii*
전호	*Anthriscus sylvestris*	현호색	*Corydalis ternata*
정향피	*Eugenia caryophyllata*	홍화	*Carthamus tinctorius*
조각자	*Gleditsia japonica*	화피	*Betula platyphylla*
조구등	*Uncaria sinensis*	활석	*Talc*
죽엽	*Phyllostachys nigra*	황금	*Scutellaria baicalensis*
지각	*Citrus aurantium*	황기	*Astragalus membranaceus*
지골피	*Lycium chinense*	황련	*Coptis japonica*
지구자	*Hovenia dulcis*	황백	*Phellodendron amurense*
지모	*Anemarrhena asphodeloides*	황정	*Polygonatum sibiricum*
지부자	*Kochia scoparia*	향나무	*Juniperus chinensis*
지유	*Sanguisorba officinalis*	후박	*Magnolia officinalis*
지치	*Lithospermum erythrorhizon*	희첨	*Siegesbeckia orientalis*
진교	*Gentiana macrophylla*	흑축	*Pharbitis nil*

monocytogenes, 그람음성세균 중 *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, 효모 중 *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, 곰팡이 중 *Penicillium citrinum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*을 사용하였으며, 증식 및 보존에 사용한 배지는 Table 3과 같다.

기기

화합물의 분리를 위하여 HPLC는 Waters Co.의 HPLC System(M-510 Solvent Delivery System, M-486 Tunable Absorbance Detector, M-746 Data Module)을 사용하였으며, ^{1}H-NMR과 ^{13}C-NMR spectra는 Varian Unity 300 NMR Spectrometer를, EI-MS는 HP 5989A spectrometer를 사용하였다.

추출물의 항균성검색

Table 1의 시료들을 methanol로 각각 추출하여 얻은 추출용액을 감압농축 건고한 다음 최종농도가 100 mg/mL 및 4 mg/mL(저농도)가 되도록 methanol로 희석한

Table 3. List of strains and media used for antimicrobial experiments

Strain	Media
Micrococcus luteus ATCC 9341	Nutrient agar
Bacillus subtilis ATCC 6633	Nutrient agar
Bacillus cereus KCCM 11774	Nutrient agar
Listeria monocytogenes ATCC19111	Nutrient agar
Pseudomonas aeruginosa PAO 303	Nutrient agar
Salmonella typhimurium ATCC 29629	Nutrient agar
Escherichia coli ATCC 9637	Nutrient agar
Candida albicans KCTC 1940	YM agar
Saccharomyces cerevisiae KCTC 1552	YM agar
Penicillium citrinum KCTC 1255	Potato dextrose agar
Aspergillus flavus KCTC 1375	Potato dextrose agar
Aspergillus niger KCTC 2119	Potato dextrose agar

것을 시험용액으로 하였다. 각 추출물의 항균성 검색은 slant에 배양된 각 균주 2백금이를 취해 500 mL broth에 접종하여 30°C, 37°C에서 72시간 동안 배양하여 모은 균체를 도말할 배지에 첨가하여 도말한 뒤 멸균된 9 mm paper disc에 각각의 시험용액을 흡수시켜 plate 표면위에 놓아 30°C, 37°C에서 24-48시간 동안 배양후 disc 주위의 clear zone의 직경(mm)으로서 비교하였다.

결과 및 고찰

식품원재료 및 한약재로부터 천연보존료 탐색

보건복지부에서 발행한 한국식품성분표의 분류방법에 따른 식품원재료 171종의 추출물의 그람양성세균 4종, 그람음성세균 3종, 효모 2종, 곰팡이 3종에 대한 항균활성을 탐색한 결과 중 활성이 검출된 것을 Table 4, 5, 6, 7에 나타내었다. Table 4는 그람양성세균을 대상으로 항균활성을 측정한 것으로서 모과, 얼레지, aroma hop, bitter hop, 은행잎은 4균주 모두에서 항균활성이 검출되었고, 특히 aroma hop, bitter hop는 저농도에서도 활성을 나타내었다. 그람양성세균 중 *M.*

Table 4. Antimicrobial activity of food materials against gram(+) bacteria Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	English name	*M.L.*[1]	*B.S.*[2]	*B.C.*[3]	*L.M.*[4]
갓	Mustard leaf	16	28	20	-[5]
부 추	Leek	14	21	15	-
우롱차	Oolong tea	-	25	12	-
마 늘	Garlic	14	-	19	-
고사리	Braken	15	10	-	10
포도씨	Grape seed	15	15	-	13
거봉씨	Grape, large seed	10	17	10	-
호프(방향)	Hop, aroma	18(×10)	12(×10)	14(×10)	20
호프(쓴맛)	Hop, bitter	19(×10)	12(×10)	16(×10)	21
은행잎	Gingko nuts leaf	15	12	27	13
호두알갱이	Walnut	21	12	16	-
인스턴트커피	Instant coffee	14	10	20	-
모 과	Chinese quince	22	14	30	12
유 자	Citron	-	12	13	10
얼레지	Dogtooth violet	14	15	23	17
레 몬	Lemon	21	-	17	10

[1]*Micrococcus luteus*,
[2]*Bacillus subtilis*,
[3]*Bacillus cereus*,
[4]*Listeria monocytogenes*,
[5]have no antibacterial activity

Table 5. Antimicrobial activity of food materials against gram(-) bacteria Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	English name	*P. aeruginosa*[6]	*S. typhimurium*[7]	*E. coli*[8]
머 위	Butterbur	-[5]	10	-
대 추	Jujube	-	-	14
호프(방향)	Hop, aroma	-	20	22
호프(쓴맛)	Hop, bitter	-	24	25
쑥	Mugwort	-	12	-
된 장	Soybean paste	-	10	10
피 망	Sweet pepper, green	-	-	-
참 취	Cham Chwi	-	-	-
레 몬	Lemon	9	16	12
고 비	Royal fern	-	-	-
고구마순	Sweet potato stalk	-	-	-
토란대	Taro stem	-	-	-
얼레지	Dogtooth violet	16	17	17
향신료	Pimento leaf oil	-	-	-

[5]See the Table 4.,
[6]*Pseudomonas aeruginosa*,
[7]*Salmonella typhimurium*,
[8]*Escherichia coli*

Table 6. Antimicrobial activity of food materials against yeast Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	English name	*S. cerevisiae*[9]	*C. albicans*[10]
갓	Mustard leaf	-[5]	10
부 추	Leek	10	33
호프(방향)	Hop, aroma	22	-
인스턴트커피	Instant coffee	-	16
원두커피	Coffee	-	11
인진쑥	InJin-mugwort	-	-
달 래	Wild garlic	-	-
싸리버섯	Clavaria botrytis	-	-
원두충	Wonduchung	-	9
얼레지	Dogtooth violet	15	14
레 몬	Lemon	14	-
토란대	Taro stem	-	-
향신료	Oakmoss absolute	12	-
향신료	Neroli oil	-	-
향신료	Thyme white oil	-	-

[5]See the Table 4.,
[9]*Saccharomyces cerevisiae*,
[10]*Candida albicans*

*luteus, B. subtilis, B. cereus, L. monocytogenes*에 강한 항균활성을 나타내는 것은 갓, 부추, 거봉씨, 호두알갱이, 인스탄트커피, 부추였으며, 호두알갱이의 경우는 저농도에서도 활성이 검출되었다. Table 5는 3종의 그람음성세균에 대한 항균활성을 조사한 것으로써 *P. aeruginosa, S. typhimurium, E. coli*의 세 균주에 항균활성을 나타내는 것은 레몬, 얼레지였다. 그리고 *S. typhimurium, E. coli*의 두 균주에 강한 보존활성을 나타내는 것은 Aroma hop, Bitter hop, 된장이었다. Table 6은 효모에 대한 항균활성을 조사한 결과로서, 부추 및 얼레지의 추출물이 항균활성을 가지고 있었으며, *S. cerevisiae*에 활성을 나타낸 식품원재료는 Aroma hop, 레몬, 향신료인 Oakmoss absolute이고, *C. albicans*에만 활성이 검출된 것은 갓, 인스탄트커피, 원두커피, 원두충이였다. Table 7은 곰팡이 *P. citrinum, Asp. flavus, Asp. niger*에 대한 항균활성을 나타낸 것으로 3균주 모두에 대해서 활성이 나타난 것은 레몬과 얼레지뿐이었고, 2균주 *Asp. flavus, Asp. niger*에 활성을 나타낸 것은 모과였으며, *Asp. flavus*에만 활성을 나타낸 것은 갓, Aroma hop이었고, *P. citrinum*에만 활성을 나타내는 것은 레몬껍질이었다. 여러 향신료들은 *Asp. niger*에만 약한 활성을 나타내었다.

190종의 한약재를 methanol로 추출하여 얻은 추출물로 그람양성세균 4종, 그람음성세균 3종, 효모 2종, 곰팡이 3종에 대한 보존활성을 측정한 결과, 활성을 보인 것을 Table 8, 9, 10, 11에 나타내었다. Table 8은 그람양성세균을 대상으로 항균활성을 측정한 것으로서 *M. luteus, B. subtilis, B. cereus, L. monocytogenes* 모두에 항균활성이 검출된 한약재는 감초, 고삼, 단삼, 몰약, 오매, 육계, 희첨이었으며, *M. luteus, B. subtilis, B. cereus*에 대해서는 모려, 목과, 명일엽, 석창포, 양강, 오수유, 후박이, *L. monocytogenes, B. subtilis, M. luteus*에 대해서는 산수유, 산초, 오미자가, *M. luteus, B. cereus, L. monocytogens*에 대해서는 죽엽만이 항균활성을 나타내었다. 그람음성세균에 대해서는 Table 9와 같이 많은 세균에 대해 항균활성이 있는 것은 오매, 육계이고, *P. aeruginosa, S. typhimurium*에 대해서는 복분자만이 활성을 가지고 있었고 정

Table 7. Antimicrobial activity of food materials against mold Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	English name	*P. citrinum*[11]	*A. flavus*[12]	*A. niger*[13]
갓	Mustard leaf	-[5]	10	-
모 과	Chinese quince	-	13	11
호프(방향)	Hop, aroma	-	12	-
치커리	Chicory greens	-	-	-
느타리버섯	Oyster mushroom	-	-	-
레 몬	Lemon	21	26	20
고 비	Royal fern	-	-	-
얼레지	Dogtooth violet	28	31	33
레몬껍질	Lemon bark	13	-	-
향신료	Oakmoss absolute	-	-	12
향신료	Neroli oil	-	-	10
향신료	Thyme white oil	-	-	12
향신료	Pimento leaf oil	-	-	12
향신료	Bergamot italian oil	-	-	15
향신료	Lavender absolute	-	-	-

[5]See the Table 4.,
[11]*Penicillium citrinum*,
[12]*Aspergillus flavus*,
[13]*Aspergillus niger*

Table 8. Antimicrobial activity of medicinal herbs against gram(+) bacteria Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	Scientific name	*M.L.*[1]	*B.S.*[2]	*B.C.*[3]	*L.M.*[4]
감초	*Glycyrrhiza gabra*	20	18	23	14
고삼	*Sophora falvescens*	25	17	20	13
단삼	*Salvia miltiorrhiza*	25	13	20	13
모려	*Ostrea gigas*	15	19	13	-[5]
목과	*Chaenomeles sinensis*	19	10	18	-
명일엽	*Angelica utilis*	20	11	11	-
목향	*Saussurea lappa*	-	-	22	22
몰약	*Commiphora molmol*	11	18	14	11
백개자	*Brassica alba*	-	-	-	-
백두구	*Amomum cardamomum*	-	-	13	12
백부근	*Stemona japonica*	-	-	-	-
백지	*Angelica dahurica*	-	14	22	14
복분자	*Rubus coreanus miquel*	20	15	-	-
산두근	*Sophora subprostrata*	-	-	-	11
산사자	*Crataegus pinnatifida*	-[5]	14	43	-
산수유	*Cornus officinalis*	10	13	-	11
산초	*Zanthoxylum schinifolium*	11	9	-	10
석창포	*Acorus gramineus*	10	12	12	-
소엽	*Perilla sikokiana*	14	-	15	-
속단	*Phlomis umbrosa*	-	21	13	-
승마	*Cimicifuga heracleifolia*	-	-	10	-
신이화	*Mahnolia denudata*	11	-	13	-
양강	*Alpinia officinarum*	16	12	18	-
오매	*Prunus mume*	34	22	29	19
오미자	*Schizandra chinensis*	11	22	-	17
오수유	*Evodia officinalis*	11	15	19	-
육계	*Cinnamomum cassia*	11	15	22	21
측엽	*Phyllostachys nigra*	17	-	27	13
후박	*Magnolia officinalis*	12	10	21	-
희첨	*Siegesbeckia orientalis*	17	11	17	13

[1]~[5]See the Table 4.

Table 9. Antimicrobial activity of medicinal herbs against gram(-) bacteria Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	Scientific name	*P. aeruginosa*[6]	*S. typhimurium*[7]	*E. coli*[8]
건지황	*Rehmannia glutinosa*	-[5]	-	25
단삼	*Salvia miltiorrhiza*	-	-	14
만형자	*Vitex rotundifolia*	-	-	18
목향	*Saussurea lappa*	-	-	14
복분자	*Rubus coreanus miquel*	12	13	-
석창포	*Acorus gramineus*	-	-	13
소자	*Perilla sikokiana*	-	-	13
오매	*Prunus mume*	10	16	18
육계	*Cinnamomu cassia*	34	23	30
저령	*Polyporus umbellatus*	-	13	-
정향피	*Eugenia caryophyllata*	-	14	23
지유	*Sanguisorba officinalis*	-	14	-
현삼	*Scrophularia vuergeriana*	-	-	15
황련	*Coptis japonica*	-	-	13

[5]See the Table 4.,
[6]~[8]See the Table 5.

향피는 *S. typhimurium, E. coli*에 대해 약한 항균활성을 가지고 있었다. *E. coli*에만 항균활성을 나타낸 것은 건지황, 단삼, 만형자, 목향, 소자, 석창포, 현삼, 황련이었다. Table 10은 효모에 대한 항균활성을 조사한 결과로서 *S. cerevisiae*와 *C. albicans*에 모두 항균활성을 나타내는 한약재는 고삼, 육계, 정향피, 통초, 향유, 황련이었고, *S. cerevisiae*에 활성을 나타내는 것은 감송향, 감초, 백두구, 산두근, 산수유, 석곡, 애엽, 오수유, 진교이었고, *C. albicans*만 활성을 나타내는 것은 계지뿐이었다. 그리고 Table 11은 곰팡이에 대한 활

Table 10. Antimicrobial activity of medicinal herbs against yeasts Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	Scientific name	*S. cerevisiae*[9]	*C. albicans*[10]
감송향	*Nardostachys chinensis*	15	-[5]
감 초	*Glycyrrhiza gabra*	10	-
계 지	*Cinnamomum cassia*	-	26
고 삼	*Sophora flavescens*	12	18
백두구	*Amomum cardamomum*	12	-
산두근	*Sophora subprostrata*	20	-
산수유	*Cornus officinalis*	10	-
석 곡	*Dendrobium nobile*	13	-
애 엽	*Artemisia asiatica*	13	-
오수유	*Evodia officinalis*	20	-
육 계	*Cinnamomum cassia*	40	20
정향피	*Eugenia caryophyllata*	20	18
진 교	*Gentiana macrophylla*	18	-
통 초	*Tetrapanax papyriferus*	26	11
향 유	*Elsholwzia ciliata*	11	12
황 련	*Coptis japonica*	15	15

[5]See the Table 4.,
[9],[10]See the Table 6.

성을 나타낸 것으로 곰팡이 *Asp. flavus, Asp. niger*에 활성을 나타낸 것은 산수유, 오배자, 육계, 정향피이었으며, *Asp. niger*에만 활성을 나타낸 것은 계지, 구절초, 세신, 석창포, 소회향이었으며, *Asp. flavus*균주에 활성을 보이는 것은 오매뿐이었다.

오[27] 등은 산사, 황련, 측백, 창출, 석창포 ethanol 추출물이 그람양성 또는 음성세균 모두에 대하여 강한 항균성을 가졌다고 보고하였으며, 안[28] 등은 상백피 추출물이 *Listeria monocytogenes* 증식을 저해하는 것으로 보고하였고, 박[29] 등은 한약재인 오미자, 울금, 자초, 고삼, 감초 등이 항균활성이 있다고 보고하였다. 각종 식물 추출물에 의한 식중독 미생물과 부패 미생물의 증식억제 효과는 많이 알려져 있으며, *Bacillus cereus* 등에 대한 황백 등 몇가지 식물 추출물의 항균효과 수준은 500~2000 ppm, Grape fruit 종자 추출물은 *Bacillus subtilis*와 *Aspergillus oryzae*의 증식저해는 100 ppm에서 항균활성을 보였으며, 돌산갓의 추출물은 *Bacillus subtilis* 등 몇가지 균종에 대하여 400~600 ppm 농도에서 증식 지연효과가 인정되었으며 그 원인 물질은 allyisothiocyanate로 확인되었고, 쑥씨 중 항균활성 물질은 terpinen-4-ol로 알려졌다.

단삼으로부터 천연보존활성물질(T-1)의 분리, 정제 및 구조결정

식품원재료 및 한약재로부터 천연보존료의 탐색 결과중 가장 강한 항균활성을 보인 단삼을 분리, 정제하였다. Fig.1에서 보는 바와 같이 한약재인 단삼 20 kg을 methanol로 추출한 뒤 농축하여 얻은 crude mass (2.01 kg)를 chloroform : methanol(100 : 1)로 추출하고 농축한 후 chloroform : methanol(50 : 1)의 용매로 silica-gel column chromatography를 행한 뒤 다시 hexane : ethylacetate(2 : 1)의 용매로 2차 silicagel column chromatography를 행한 뒤 fraction A(2.08 g)을 얻었고, Prep. TLC를 행한 후 활성부분(1.3 g)을 얻은 후 Preparative HPLC(70% methanol)로 순수한 화합물(T-1) 190 mg을 얻었다.

천연보존활성물질(T-1)의 ^{1}H-NMR spectrum은 Fig. 2와 같다. 7.53(2H, ABq)ppm에 방향족 proton, 4.86(1H, dd)ppm과 4.33(1H, dd)ppm에 산소원자가 붙은 methylene proton, 3.56(1H, m)ppm에 methine

Table 11. Antimicrobial activity of medicinal herbs against molds Unit : Inhibition zone diameter(mm)

Korean name	Scientific name	*P. citrinum*[11]	*A. flavus*[12]	*A. niger*[13]
계 지	*Cinnamomum cassia*	-[5]	-	20
구절초	*Chrysanthemum zawadskii*	-	-	15
당 귀	*Angelica gigas*	-	-	-
산수유	*Cornus officinalis*	-	14	10
석창포	*Acorus gramineus*	-	-	12
세 신	*Asiasarum sieboldi*	-	-	13
소회향	*Foeniculum vulgare*	-	-	10
오 매	*Prunus mume*	-	20	-
오배자	*Rhus javanica*	-	24	22
육 계	*Cinnamomum cassia*	-	19	42
의이인	*Coix lacryma-jobi*	-	-	-
음양곽	*Epimedium koreanum*	-	-	-
정향피	*Eugenia caryophyllata*	-	14	26
토복령	*Smilax china*	-	-	-
통 초	*Tetrapanax papyriferus*	-	-	-

[5]See the Table 4.,
[11]~[13]See the Table 7.

Powdered of *Salvia miltiorrhiza* (20kg)
↓ extracted with MeOH concentrated in *vacua*
Crude mass (2.01kg)
↓ extracted with $CHCl_3$:MeOH (100:1) concentrated in *vacua*
SiO_2 column chromatography
↓ eluted with $CHCl_3$:MeOH (50:1) concentrated in *vacua*
SiO_2 column chromatography
↓ eluted with Hexane:EtOAc (2:1)
Fraction A (2.08g)
↓
Prep.TLC
↓ Hexane:EtOAc (2:1)
Active band (1.3g)
↓
Prep. HPLC (70% MeOH)
↓
T-1 (190mg)

Fig. 1. Isolation procedure of compound T-1 from rhizomes of Salvia miltiorrhiza.

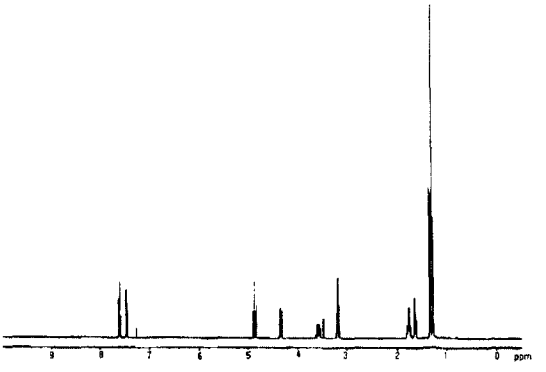

Fig. 2. ^{1}H-NMR spectrum of compound T-1 (500 MHz, $CDCl_3$).

proton, 3.18(2H, br t)ppm과 1.65(4H, m)ppm에 3개의 methylene proton, 1.33(3H, d)ppm에 methine기가 붙은 methyl proton, 1.28(6H, s)ppm에 geminal dimethyl의 signal이 관측되었다. 이 NMR spcetrum은 isocryptotanshinone의 spectrum과 유사하다. 두 개의 방향족 proton의 AB pattern의 signal이 isocryptotanshinone(7.75 ppm, 2H, AB1)의 signal보다 저자장에 나타난다.

천연보존활성물질(T-1)의 ^{13}C-NMR spectrum은 Fig. 3과 같다. 2개의 carbonyl 탄소(δ184.10, δ175.52 ppm), 7개의 방향족 4급탄소와 2개의 방향족 methine 탄소(δ122.4, δ132.4), 1개의 methine 탄소(δ34.49), 3개의 methylene 탄소(δ18.96, δ29.56, δ37.67), 산소 원자가

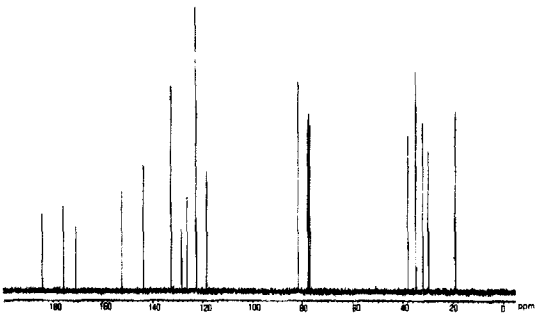

Fig. 3. ^{13}C-NMR spectrum of compound T-1 (125 MHz, $CDCl_3$).

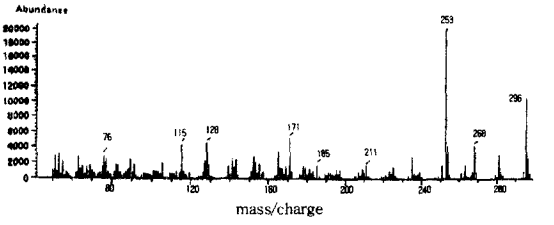

Fig. 4. EI-MS spectrum of compound T-1.

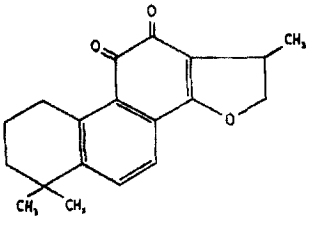

Fig. 5. Structure of cryptotanshinone.

붙은 methylene 탄소(δ81.35), methine 탄소(δ34.49)가 붙은 1개의 methyl 탄소(δ18.71), 1개의 germinal dimethyl 탄소(δ31.77, δ31.82) 등 19개의 탄소 signal이 관측되었다. T-1 화합물의 DEPT spcetra에서는 3개의 methyl 탄소, 4개의 methylene 탄소, 3개의 methine 탄소를 포함하여 10개의 proton이 붙은 탄소의 존재를 보여주었다.

천연보존활성물질(T-1)의 EI-MS spectrum은 Fig. 4와 같으며, 분자량은 296을 나타내었다. 위에서 설명한 data중 특히, EI-MS; ^{1}H-NMR spectra, ^{13}C- 등의 spectral data를 종합하면 천연보존활성물질(T-1)은 Fig. 5와 같은 구조를 갖는 cryptotanshinone으로 결정하였다.

항균활성

천연보존활성물질(T-1)의 항균활성의 결과는 Table 12와 같다. 즉, 그람양성세균에 대하여 MIC 3.91~62.50 μg/mL 범위에서 강한 보존활성을 나타내었으며, 특히

Table 12. Antimicrobial spectrum of compound T-1 against several microorganisms Unit : (μg/ml)

	Strains	T-1 MIC
Gram(+)	*Bacillus cereus* KCCM 11774	31.25
	Bacillus circulans IAM 1112	7.82
	Bacillus circulans IAM 1140	62.50
	Bacillus subtilis ATCC 6633	31.25
	Bacillus subtilis KCTC 3069	3.91
	Bacillus thuringiensis KCTC 1033	3.91
	Enterococcus casseliflavus ATCC 14432	>100
	Micrococcus luteus ATCC 9341	7.82
	Staphyloccus aureus KCTC 1621	7.82
	Staphyloccus aureus ATCC 25923	7.82
	Staphyloccus epidermis KCTC 1917	3.91
	Streptococcus pyrogenes CW-102	>100
	Streptococcus faecium CW-103	100
Gram(-)	*Alcaligenes faecalis* KCTC 1004	15.63
	Klebsiella pneumoniae CW-118	3.91
	Pseudomonas aeruginosa PAO 303	>100
Yeast	*Candida albicans* KCTC 1940	-
	Candida utilis KCTC 7137	-
	Saccharomyces cerevisiae KCTC 1552	-
Mold	*Aspergillus niger* KCTC 2119	-
	Dictyostelium discoideum KCTC 6050	-
	Penicillium citrium KCTC 1255	-
	Penicillium notatum KCTC 6053	-
	Rhizopus stolonifer KCTC 6062	-
	Trichophytan mentagrophytes KCTC 6085	-

*MIC values were determined by serial agar dilution method.
*The antimicrobial activities of cryptotanshinone was determined by disc diffusion method using 9 mm paper disc containing 100 μg/ml of cryptotanshinone.
*Test microorganisms were treated by pour-plate method.

B. subtilis KCTC 3069, *Bacillus thuringiensis* KCTC 1033 및 *Staphyloccus epidermis* KCTC 1917에 대하여 MIC 3.91 μg/mL로 가장 강한 보존활성을 나타내었다.

요 약

식품원재료 171종과 한약재 190종의 metanol 추출물의 항균활성을 조사하였다. 항균활성은 식품의 부패, 변질에 관여한다고 알려진 그람양성세균인 *Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes,* 그람음성세균인 *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Escherichia coli* 및 효모인 *Saccharomyces cerevisiae, Candida albicans,* 곰팡이 *Penicillium citrinum, Aspergillus flavus, Aspergillus niger*를 대상으로 측정하였다. 산수유, 오수유, 감초, 단삼, 오미자, 황련, 명일엽, aroma hop와 bitter hop는 그람양성세균에 항균활성을 나타내었다. Aroma hop와 bitter hop는 그람음성세균에 항균활성을 나타내었다. 한편, 그람양성세균에 대해 강한 항균활성을 나타낸 단삼으로부터 항균물질을 분리, 정제하고 그 구조를 결정하였다. 단삼의 methanol 추출액을 농축하여 ethylacetate로 extraction, silicagel column chromatography, preparative TLC, preparative HPLC 등을 통하여 보존활성물질(T-1)을 분리, 정제하고 UV, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT 및 EI-MS 등의 기기분석한 결과, 단삼의 항균활성물질은 cryptotanshinone으로 결정되었다. 그람양성균에 대하여 MIC는 3.91~62.50 μg/mL 범위에서 강한 보존활성을 나타내었고 특히 *Bacillus subtilis*에 대하여 MIC는 3.91 μg/mL로 가장 강한 보존활성을 나타내었다. 따라서 단삼의 cryptotanshinone은 그람양성세균 및 그람음성세균에 의해 변패될 수 있는 식품에서 천연보존료로 이용 가능할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 1997년도 보건의료기술연구개발사업 연구비(HMP-97-F-5-0028)에 의해 수행된 연구과제의 결과의 일부로서 이에 감사를 드립니다

문 헌

1. Sofos, J.N., Beuchat, L.R., Davidson, P.M., and Johnson, E.A. Naturally occurring antimicrobials in foods. Regul. Toxicol. Pharmacol. 28: 71-72 (1998)
2. Dalgaard, P., Garcia Munoz, L. and Mejlholm, O. Specific inhibition of *Photobacterium phosphoreum* extends the shelf life of modified- atmosphere-packed cod fillets. J. Food Prot. 61: 1191-1194 (1998)
3. Hughey, V.L. and Johnson, E.A. Antibacterial activity of lysozyme against bacteria involed in food spoilage and food-borne disease. Appl. Environ. Microbiol. 53: 2165-2170 (1987)
4. Hughey, V.L., and Johnson, E.A. Antibacterial activity of hen egg white lysozyme against *Listeria monocytogenes* Scott A in foods. Appl. Environ. Microbiol. 55: 631-638 (1989)
5. Valenti, P., Antonini, G., von Hunolstein, C., Visca, P., Orsi, N. and Antonini, E. Studies of the antimicrobial activity of ovotransferrin. Int. J. Tissue React. 5: 97-105 (1983)
6. Orman, J.D. and Reiter, B. Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. Biochem. Biophys. Acta 170: 351-354 (1968)
7. Golovinsky, E.V., Maneva, L.S., Angelov, I.I., Veljanova, K.D., Sniker, D.J., and Stankevich, E.K. Antibacterial and antitumor activity of some derivatives of ureidosuccinic acid. Neoplasma 23: 43-46 (1976)

8. Ayres, H.M., Payne, D.N., Furr, J.R., and Russell, A.D. Use of Malthus-AT system to assess the efficacy of permeabilizing agents on the activity of antibacterial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. Lett. Appl. Microbiol. 26: 422-426 (1998)
9. Rojas Hernandez, N.M. and Cuellar, A. Preparation and evaluation of antibacterial activity of partial fraction *Vallesia antillana* Wood. Rev. Cubana. Med. Trop. 30: 167-173 (1978)
10. Orrjala, J., Erdelmeier, C.A., Wright, A.D., Rali, T. and Sticher, O. Five new prenylated p-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. Planta Medica 59: 546-551 (1993)
11. Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J., and Begin, A. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. Int. J. Food Microbiol. 37: 155-162 (1997)
12. Hogan, J.S., Pankey, J.W., and Duthie, A.H. : Growth inhibition of mastitis pathogens by long-chain fatty acids. J. Dairy Sci. 70: 927-934 (1987)
13. Saheb, S.A., Turcotte, P., and Picard, B. : Effects of fatty acids on the antibacterial activity of butylated hydroxytoluene. Can. J. Microbiol. 24: 1321-1330 (1978)
14. Galbraith, H., Miller, T.B., Panton, A.M., and Thompson, J.K. Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, ergocalciferol and cholesterol. J. Appl. Bacteriol. 34: 803-813 (1971)
15. Tansey, M.R. and Appleton, J.A. Inhibition of fungal growth by garlic extract. Mycologia. 70: 397-401 (1978)
16. Kim, J.H. Anti-bacterial action of onion (*Allium cepa L.*)extracts against oral pathogenic bacteria. J. Nippon Univ. Sch. Dent. 39: 136-141 (1997)
17. An, E.Y, Han, J.S., and Shin, D.W. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by pure compound isolated from extract of *Morus alba Linne* bark, Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1236-1240 (1997)
18. Oh, D.H, Ham, S.S, Park, B.K., Ahn C., and Yu, J.Y. Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 957-963 (1998)
19. Eun, J.S., Lim, J.P., Park, Y.K., Choi, D.S., and Ahn, M.S. Hepatoprotective activity of *Salvia miltiorrhizae Radix* extract. Korean J. Pharmacogn 22: 95-100 (1991)
20. Tang, W. and Eisenbtand, G. Chinese drug of plant origin. pp. 891-902, Springer- Verlag, Berlin, Germany (1992)
21. Kakisawa, H., Hayashi, T., and Yamazaki, T. Structures of isotanshinones. Tetrahedron Lett. 5: 301-304 (1969)
22. Yagi, Y., Fujimoto, K., Tanonaka, K., Hirai, K, and Takeo, S. Possible active components of tan-shen for protection of the myocardium against ischemia-induced derangements. Planta Medica 55: 51-54 (1989)
23. Takiura. K. and Koizumi, K. Components of the Chinese drug tanshin. IV. The structure of tanshinone II A. Chem. Pharm. Bull. 10: 112-116 (1962)
24. Ikeshiro, Y., Mase, I. and Tomita. Y. Abietane type diterphenoid from *Salvia milltiorrhiza*. Phytochemistry 28: 3139-3141 (1989)
25. Gao, Y.G., Song, Y.M., Yang, Y.Y., Liu, W.F. and Tang, J.X. Pharmacology of tanshinone. Yao Hsueh Hsueh Pao. 14: 75-82 (1979)
26. Luo, H.W., Sheng, L.S., Zhang, S.Q., Xu, L.F. and Wei, P. Tanshinone : Antimycobacterial agents-its bile excretion and biotransformation in rat liver. Yao Hsueh Hsueh Pao. 18: 1-6 (1983)
27. Oh, D.H., Ham, S.S., Park, B.K., Ahn, C. and Yu, J.Y. : Antimicrobial Activities of Natural Medicinal Herbs on the Food spoilage of Foodborne Disease Microorganisms. Korean. J. Food Sci. Techno. 30(4): 957-963 (1998)
28. An, E.Y., Han, J.S. and Shin, D.W. : Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by pure compound isolated from extract of *Morus alba Linne* Bark. Korean. J. Food Sci. Technol. 29(6) : 1236-1240 (1997)
29. Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. : Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 21(1): 91-96 (1992)

(1999년 9월 17일 접수)