

## 오매의 에틸아세테이트 추출물이 *Staphylococcus aureus*의 증식에 미치는 영향

양미옥·배지현†

계명대학교 식품영양학과

### Effect of Ethyl Acetate Extract of the Dried *Prunus mume* on the Growth of *Staphylococcus aureus*

Mi-Ok Yang and Ji-Hyun Bae†

Department of Food Science and Nutrition, Keimyung University

#### Abstract

The dried *Prunus mume*, an alkaline food abundant in organic acids (citric acid, malic acid and tartaric acid), has been largely used in both folklore remedies and Chinese herbal medicine for a long time. This study was performed to investigate the antimicrobial activity of the dried *Prunus mume*. The fractionation of the methanol extracts from *Prunus mume* was conducted using petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and butanol, respectively. The antimicrobial activity of the *Prunus mume* extracts was then determined against food-borne pathogens using a paper disc method. The ethyl acetate extract showed the strongest antimicrobial activity against the eight food-borne pathogens used in this present study. Diaion HP 20 column chromatography was performed to remove some sugars that might inhibit the antimicrobial activity of *Prunus mume*. The strongest antimicrobial activity of ethyl acetate fraction of *Prunus mume* was shown against *Staphylococcus aureus*. The growth inhibition curve was determined using ethyl acetate extracts of *Prunus mume* against *Staphylococcus aureus*, which showed the growth inhibition up to 72 hours at 1,000 ppm concentration.

Key words: *Prunus mume*, antimicrobial activity, food-borne pathogens.

#### I. 서론

식품의 부패는 미생물학적 또는 물리화학적 요인에 의해 주로 일어난다고 할 수 있다. 미생물에 의한 식품의 품질 저하 또는 부패 방지는 중요한 연구대상이 되어 왔으며, 미생물의 증식을 억제시키기 위한

보존료들이 개발되어 왔다. 유해 미생물의 증식을 억제시키기 위해 현재 식품 위생법상 허용하고 있는 보존료는 13개 품목으로 대상식품에 따라 사용량이 규제되고 있다<sup>1)</sup>. 식품산업체에서 주로 사용하고 있는 합성 보존료는 sorbic acid, benzoic acid, propionic acid 등과 같은 것이 있지만, 소비자들의 건강 지향적 욕구가 증대됨에 따라 합성 보존료의 기피현상이 두드

러지고 있다. 이러한 측면에서 합성 보존료를 대체할 수 있는 천연보존제의 개발에 관한 관심이 높아지고 있고, 인간이 오랫동안 식용해 온 식물이나 생약 등의 천연물로부터 항균성 물질을 찾고자 하는 시도가 이루어지고 있다<sup>2)</sup>. 천연 식물 중에는 미생물의 증식을 억제하는 물질이 상당량 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며, 이러한 물질의 탐색과 식품에의 응용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>3)</sup>. 특히 우리나라의 경우, 한방 및 민간요법에서 경험적으로 얻은 각종 생약재의 약리 활성을 과학적 실험으로 규명하려는 연구와 이것에서부터 새로운 항균성 물질을 찾고자 하는 노력이 활발하다<sup>4~8)</sup>.

한편 매실(*Prunus mume*)은 Ca, Na 및 Mg 등의 무기질을 비롯하여 각종 유기산이 다량 함유되어 있는 매화나무의 과실로, 민간에서는 해열, 수렴(收斂), 지혈, 구충 등의 치료를 위한 한약재로 이용되어 왔다<sup>9)</sup>. 말린 매실을 오매라고 하며, 미숙 과실에는 citric acid, malic acid, tartaric acid 및 succinic acid 등의 유기산과 sitosterol 등이 풍부하고 종자에는 amygdalin 등이 함유되어 있다<sup>10)</sup>. 매실의 효능에 관한 연구로는 매실추출물이 당뇨병에 미치는 영향<sup>11)</sup>, 간장 장애에 미치는 영향<sup>12)</sup>, 그리고 암세포 증식에 미치는 영향<sup>13)</sup> 등이 보고되고 있으며, 매실을 음료로 가공하였을 때도 식중독 유발세균에 대한 항균효과가 여전히 남아 있는 것으로 보고되고 있다<sup>14)</sup>. 본 연구에서는 오매를 각종 유기용매로 추출하고, 이 추출물들이 식중독 유발 세균에 대해 미치는 항균성을 검색해 보고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료준비 및 사용균주

오매는 대구광역시 소재 한약방에서 구입한 후 직경 1~1.5 cm 되는 것을 골라 이물질을 제거하고 사용하였다. 오매를 추출관에 채운 후 메탄올(J. T. Baker Co., USA)을 시료 무게의 약 2배 가량으로 넣고 실온에서 8시간 동안 침지한 후, 추출된 오매의 메탄올 추출물을 받아 모았다. 불순물을 제거하기 위하여 Whatman No. 2 여과지로 여과하고 감압 농축기

**Table 1.** Microorganisms used for testing antimicrobial activity of *Prunus mume*

Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228
Gram negative bacteria	<i>Salmonella paratyphimurium</i> ATCC 19430 <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9199 <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022 <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

(ELELA TYPE N-N SERIES, Japan)로 45℃에서 감압, 농축시켰다. 실험에 사용한 균주는 Table 1에서와 같이 Gram(+)세균 2 종과 Gram(-)세균 6 종을 한국 과학기술연구원 생명공학연구소 유전자은행에서 분양 받아 Tryptic Soy Agar(Difco, USA)와 Tryptic Soy Broth(Difco, USA)를 사용하여 37℃에서 계대 배양한 후 사용하였다.

### 2. 오매 메탄올 추출물의 용매 계통 분획

오매의 메탄올 추출물을 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 butanol 등의 4가지 유기용매와 수용액 층을 사용하여 Fig. 1과 같이 계통 분획하였다. 메탄올 추출물로부터 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 butanol 추출물을 순차적으로 얻은 후, 45℃에서 감압 농축하고 각각의 추출물은 냉장 데시케이터에 보관하면서 사용하였다.

### 3. Diaion HP20 Column Chromatography

용매 분획물 중 항균활성에 저해 요인으로 작용할 것으로 사료되는 일부 당을 제거하기 위해서 Diaion HP20 column chromatography를 실시하였다. Diaion HP20(Mitsubishi Industrial Ltd, Japan)을 비이커에 넣어 ethanol에 24시간 동안 침지한 후 ethanol을 제거하고 2차 증류수로 잔존하는 ethanol을 깨끗이 씻어 내었다. 그 후 2차 증류수에 24시간 팽윤시켜 column (size  $\phi$  15cm $\times$ 50cm)에 충전하였다. 3% HCl과 3% NaOH로 활성화 시킨 후 용매 계통 분획하여 얻은 오매 추출물을 수지 위로 조심스럽게 떨어뜨린 후 100% 증류수, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 및 80%

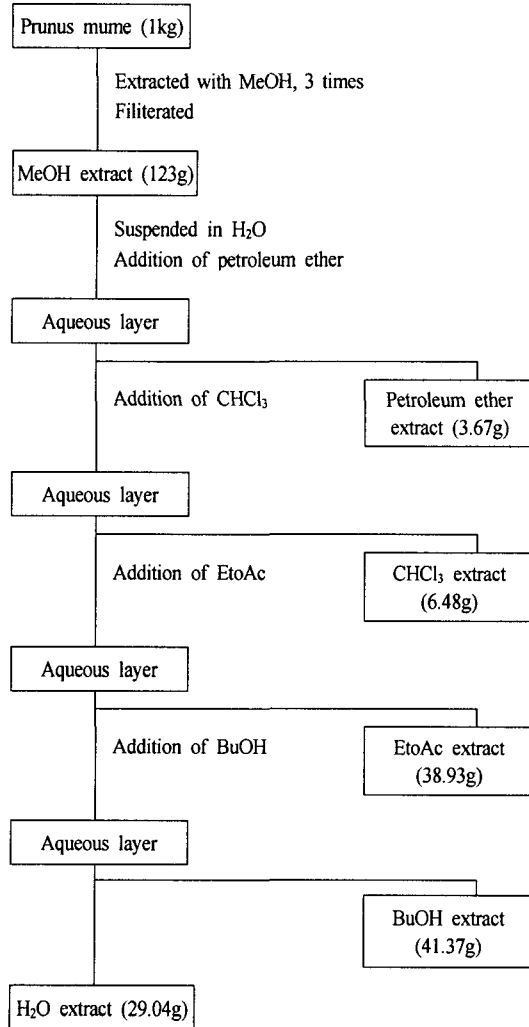


Fig. 1. Fractionation procedure of methanol extract from *Prunus mume*.

ethanol을 용매로 각각 분획 추출하였다.

#### 4. 오매 추출물의 항균력 측정

항균성 물질을 검색하기 위해 본 실험에서는 paper disc 방법을 사용하였다<sup>15)</sup>. Tryptic Soy Broth (TSB) 배지에 배양한 세균을 spectrophotometer(Nonttron instruments, Italy) 620nm에서 O.D.값 0.4로 흡광도를 조절하고 pour-plate method에 따라 Tryptic Soy Agar (TSA) 배지가 분주된 배양접시에 균일하게 섞

은 후 실온에서 굳혔다. 이 배지 위에 멸균된 paper disc를 시료 수에 맞게 올리고 밀착시킨 후 오매의 methanol, petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, butanol, 수용성 추출물을 각각 250 ppm, 500 ppm 및 1,000 ppm으로 희석하여 20  $\mu$ l씩 천천히 흡수시켰다. Control로 오매 추출물이 들어 있지 않은 70% ethanol을 실험군과 동일한 방법으로 점적하였다. 준비된 모든 plate는 37°C에서 24시간 배양한 다음 disc 주변에 생성되는 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 각 추출물의 항균 활성 정도를 측정하였다.

#### 5. 미생물의 생육 곡선 측정

오매의 ethyl acetate 분획물을 membrane filter(0.2  $\mu$ m, pore size, Toyoroshi Kaisha, Ltd. Japan)로 제균시키고, 액체배지에 각 추출물을 100, 250, 500 및 1,000 ppm 농도로 첨가하였다. 여기에 O.D.값을 0.4로 맞춘 세균 배양액을 접종하여 37°C에서 72시간 배양하고, 12시간마다 세균 배양액의 증식 정도를 620 nm에서 흡광도를 spectrophotometer(Uvikon 930, Kontron Ins.)로 측정하였다<sup>16)</sup>.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 오매 계통 분획물의 추출 수율

오매에서 추출한 methanol 및 각 용매 계통 분획물의 수율은 Table 2와 같이 나타나 Petroleum ether의 추출수율이 가장 낮았으며 Butanol 추출물의 수율이 가장 높게 나타났다. 일반적으로 지방이나 정유성분 또는 소량의 배당체 및 알칼로이드를 용출하는 것으로 알려진 petroleum ether 층은 오매의 특성 상 가장 적은 함량을 나타내었고, 사포닌이나 당, 배당체, 유기산, 탄닌 및 알칼로이드류가 용출되는 butanol 층에는 많은 성분들이 녹아 나왔다.

#### 2. 오매 추출물의 항균활성 검색

오매의 유기용매 및 열수 추출물의 항균력을 검색하기 위하여 paper disc 법으로 각종 식중독 유발 세균에 대한 항균성을 조사해 본 바 Table 2 및 Table 3과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 오매 추출물의 농

Table 2. Yield of each fraction extracted from *Prunus mume*

Fraction	Dried weight(g/kg)	Yield(%)
Methanol	123	12.0
Petroleum ether	3.75	0.4
Chloroform	6.52	0.7
Ethyl acetate	38.97	3.9
Butanol	41.68	4.2
Aqueous	31.09	3.1

도가 증가할수록 clear zone의 크기가 증가하여 오매가 식중독 유발세균에 대한 항균력이 있음을 알 수 있었다. 특히 ethyl acetate 추출물의 경우 1,000 ppm 농도에서 *Staphylococcus aureus*에 대해 27 mm의 clear zone을 나타내 가장 큰 항균활성을 나타내었다. Kubo 등<sup>17)</sup>은 죽백 나무껍질의 ethyl acetate 추출물에 들어있는 diterpenoid가 *Staphylococcus aureus*에 대해 높은 항균력이 있다고 보고한 바 있는데, 본 실험에 사용한 오매의 ethyl acetate 추출물도 *Staphylococcus aureus*에 대해 강한 항균효과를 나타내었다. 또한 *Staphylococcus epidermidis*에 대해서도 21 mm의 큰 inhibition zone을 드러내 높은 항균력을 보여주었다. 오매의 petroleum ether 추출물은 *Staphylococcus aureus*에 대해서는 항균 활성을 나타내었으나, *Staphylococcus epidermidis*에 대해서는 항균성을 나타내지 않았다. 또한 오매의 chloroform 추출물도 *Staphylococcus aureus*에 대해 농도가 증가할수록 항균력이

증가했다. 한편 자와지정의 chloroform 추출물은 Gram 양성 세균에만 특이적 항균활성이 있음이 보고된 바 있는데<sup>18)</sup>, 본 연구에서는 오매의 chloroform 추출물이 Gram 양성 세균뿐만 아니라 Gram 음성 세균에도 항균력이 있음을 알 수 있었다. 오매의 butanol 추출물은 *Staphylococcus aureus* 및 *Staphylococcus epidermidis*에 대해 항균활성을 나타내었고 1,000 ppm 농도에서는 모든 균주에 대해 상대적으로 큰 활성도를 나타내었다. 한편 Lee 등<sup>19)</sup>은 유백피의 butanol 추출물이 Gram 양성균인 *Staphylococcus aureus*와 *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Bacillus subtilis*에 대해 발육 억제 효과가 있음을 보고한 바 있다. 본 실험에서 사용한 오매의 각종 유기 용매 및 수용성 분획물 중 오매의 ethyl acetate 추출물이 가장 높은 항균력을 보였으며, 특히 *Staphylococcus aureus*에 대해 가장 큰 항균활성을 나타내었다.

한편 Chung과 Jung<sup>20)</sup>은 영지의 ethyl acetate 추출물이 *Staphylococcus aureus*에 대해 높은 항균활성을 나타낸다고 보고한 바 있고, Kang 등<sup>21)</sup>은 갖의 ethanol 추출물을 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 순으로 용매 계통 분획하여 Gram 양성균과 Gram 음성세균에 대해 항균효과를 조사한 바, 갖의 ethyl acetate와 butanol 추출물이 강한 항균 효과를 나타내었으며, 그 중 ethyl acetate 추출물은 *Staphylococcus aureus*와 *Pediococcus fluorescens*에 대해 가장 높

Table 3. Antimicrobial activities of each extracts of *Prunus mume* against Gram positive bacteria.

Strains	Fraction conc.(ppm)	Clear zone on plate(mm) <sup>a)</sup>					
		PE	C	EA	B	M	A
<i>Staphylococcus aureus</i>	250	9	11	18	11	11.5	12
	500	9	14	23	15	14	16
	1,000	12	16	27	18	15	21
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	250	- <sup>b)</sup>	9	15	12	9	14
	500	-	12	17	13	12	17
	1,000	-	13	21	18	16	19

<sup>a)</sup> Diameter, <sup>b)</sup> No inhibitory zone was formed

PE : Petroleum ether extract

C : Chloroform extract

EA : Ethyl acetate extract

B : Butanol extract

M : Methanol extract

A : Aqueous extract

**Table 4.** Antimicrobial activities of each extracts of *Prunus mume* against Gram negative bacteria.

Strains	Fraction conc.(ppm)	Clear zone on plate(mm) <sup>a)</sup>					
		PE	C	EA	B	M	A
<i>Salmonella paratyphimurium</i>	250	11	10	11	16	11	13
	500	12	11	13	19	13	15
	1,000	14	13	15	23	14	21
<i>Shigella dysenteriae</i>	250	-	9	13	11	9	11
	500	8	10	15	13	12	12
	1,000	9	12	18	15	13	15
<i>Shigella flexneri</i>	250	-	10	13	14	11	13
	500	8	12	15	16	12	15
	1,000	10	13	18	18	14	18
<i>Shigella sonnei</i>	250	-	10	13	13	12	13
	500	7	11	16	14	14	14
	1,000	8	12	17	16	16	19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250	6	10	16	15	10	10
	500	7	12	18	16	11	12
	1,000	8	13	19	17	14	18
<i>Escherichia coli</i>	250	7	8	16	12	13	14
	500	8	10	19	13	16	17
	1,000	9	11	22	16	17	18

<sup>a)</sup> Diameter, <sup>b)</sup> No inhibitory zone was formed

PE : Petroleum ether extract

C : Chloroform extract

EA : Ethyl acetate extract

B : Butanol extract

M : Methanol extract

A : Aqueous extract

은 항균 활성을 나타냈다고 보고하였다. 또 매실을 음료로 가공하였을 때도 항균력이 남아 있음이 보고된 바 있다<sup>14)</sup>. 본 실험에서 가장 큰 항균력을 보였던 오매의 ethyl acetate 추출물로부터 항균력에 지장을 줄 수 있는 일부 당을 제거하기 위해 Diaion HP20 column chromatography를 실시하였다. 오매의 ethyl acetate 추출물을 농도를 달리한 ethanol을 사용하여 분획별로 분리해내고 TLC상에 전개시켜 당의 일부가 제거됨을 확인하였다. 오매의 ethyl acetate 추출물을 농도를 달리한 ethanol로 분리한 분획물 각각 준비하고 이들의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균실험을 실시한 결과 분획물 V(50~60 % ethanol)에서 가장 큰 항균력을 나타내었다(Fig. 2).

### 3. 오매의 ethyl acetate 추출물이 *Staphylococcus*

### *aureus*의 증식에 미치는 영향

본 연구에서 가장 높은 항균력을 나타낸 오매의 ethyl acetate 추출물이 *Staphylococcus aureus*의 증식에 미치는 영향을 살펴보기 위해, 균을 배양한 액체 배지에 오매의 ethyl acetate 추출물을 농도별로 첨가하고 72시간 동안 세포의 성장을 관찰하였다. 오매 추출물을 넣지 않은 대조군에서는 세균의 성장이 급속히 일어난 반면, 오매의 ethyl acetate 추출물을 첨가한 실험군에서는 균의 성장 속도가 지연되었다(Fig. 3). 오매의 ethyl acetate 추출물을 넣지 않은 control의 경우 배양 직후부터 O.D.값의 급격한 증가를 보여 빠른 성장이 일어남을 알 수 있었으며, 오매의 ethyl acetate 추출물을 100 ppm 농도로 첨가한 배양에서도 control과 유사한 O.D.값을 관찰할 수 있어 이 농도에서는 성장 저해를 유도하기 어렵다는 것을 알 수 있

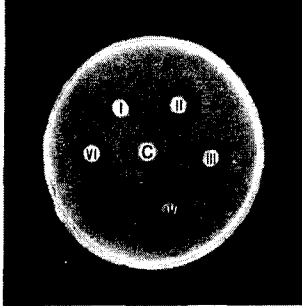


Fig. 2. Antimicrobial activity of the ethyl acetate extracts of *Prunus mume* against *Staphylococcus aureus* at the concentration of 1,000 ppm.

- C : control (20  $\mu$ l of 70% ethanol was loaded)  
 I : Fraction eluted with H<sub>2</sub>O  
 II : Fraction eluted with 10 % ethanol  
 III : Fraction eluted with 20 % ethanol  
 IV : Fraction eluted with 30 ~ 40 % ethanol  
 V : Fraction eluted with 50 ~ 60 % ethanol  
 VI : Fraction eluted with 70 ~ 80 % ethanol

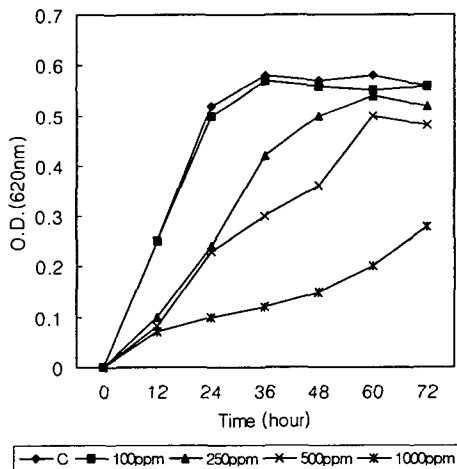


Fig. 3. Effect of ethyl acetate fraction of methanol extracts of *Prunus mume* against the growth of *Staphylococcus aureus*.

었다. 또 오매의 ethyl acetate 추출물을 250 ppm 농도로 첨가한 경우, 성장 속도는 약간 지연되었으나 24 시간 이후부터는 다시 급속한 성장을 나타내었다. 한편 오매의 ethyl acetate 추출물을 1,000 ppm 농도로 첨가했을 경우, 48시간까지 균의 성장을 현저히 억제

할 수 있었으며 72시간 이후에도 낮은 O.D.값을 관찰할 수 있어 성장 지연 효과가 3일까지 지속될 수 있음을 알 수 있었다. Shin 등<sup>22)</sup>은 *Staphylococcus aureus*에 대해 가자육의 ethanol 추출물을 500 ppm과 1,000 ppm 농도로 첨가했을 시 생육 증진이 지연됨을 관찰하였고, 2,000 ppm 농도를 첨가한 실험군에서는 뛰어난 항균 효과를 보여 3일 동안 증식이 억제되었다는 보고를 한 바 있다. 또한 Lee와 Park<sup>23)</sup>도 자소의 ethanol 추출물을 첨가하지 않은 control과 100  $\mu$ g/ml 농도로 첨가한 실험군에서 *Staphylococcus aureus*가 생육 초기부터 급격히 성장한 반면, 500  $\mu$ g/ml 농도로 첨가한 실험군에서는 48시간까지 생육이 억제되었다고 보고하여, 본 실험 결과와 유사한 양상을 나타내었다.

#### IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 오래 전부터 민간이나 한방에서 치료의 목적으로 널리 사용해 온 오매의 식중독 유발 세균에 대한 항균성을 조사해 보고자 하였다. 말린 매실인 오매는 citric acid, malic acid, tartaric acid 및 succinic acid 등의 유기산과 sitosterol이 풍부할 뿐만 아니라 각종 미네랄 함유량이 높은 알칼리성 식품이다. 오매를 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 butanol의 4가지 유기용매와 수용액 층으로 분별 추출하고, 이들에 대한 항균활성을 paper disc법을 이용하여 확인하였다. 본 실험에 사용한 8종의 식중독 유발세균에 대해 가장 높은 항균성을 나타낸 추출물은 오매의 ethyl acetate 추출물이었으며, 특히 *Staphylococcus aureus*에 대해 가장 강한 항균력을 나타내었다. 오매의 ethyl acetate 추출물을 Diaion HP20 column Chromatography에 통과시켜 일부 당을 제거한 후 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균력을 조사해 본 바 높은 항균 활성을 측정할 수 있었다. 또한 오매의 ethyl acetate 추출물이 *Staphylococcus aureus*의 증식에 미치는 영향을 증식곡선을 통해 살펴본 바, 오매의 ethyl acetate 추출물을 1,000 ppm 농도로 첨가했을 때 *Staphylococcus aureus*의 생육이 72시간까지 억제됨을 관찰할 수 있었다.

## V. 문헌

1. Ministry of Health and Welfare: Food additives dictionary, Korea Food Industry Association, pp. 10~578, 1989.
2. Farag, R. S., Daw, Z. Y. and Hewedi, F. M.: Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Protect.*, 52: 665~669, 1989.
3. Fleming, H. P., Walter, W. M. and Etchells, J. R.: Isolation of bacterial inhibition from green olives. *Appl. Microbiol.* 18: 856~860, 1969.
4. Farag, R. S., Daw, Z. Y. and Abo-raya, S. H.: Influence of some spice essential oil on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxin in a synthetic medium. *J. Food Sci.*, 54: 74~79, 1989.
5. Clark, A. M., Jurgen, T. M. and Hufford, C. D.: Antimicrobial activity of Juglone. *Phytochemistry Research*, 4: 11~15, 1990.
6. Beuchat, L. R. and Golden, D. A.: Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.*, 43: 134~139, 1989.
7. Diaz, J. G., Fraga, B. M., Gonzalz, A. G., Gonzalez, P., Hernandez, M. G. and Perales, A.: Carotene sesquiterpens from *Ferura linkii*. *Phytochemistry*, 25(5): 1161~1615, 1986.
8. Davidson, P. M. and Post, L. S. Naturally occurring and miscellaneous food antimicrobials In : *Antimicrobials in Foods*, ed, Branen, A. L. and Davidaon, P. M., pp. 371, Marcel Dekker Inc, New York, 1983.
9. Choi, C. W.: Studies on the changes of physical and chemical compositions in ripening of *Prunus mume*.. Masters Thesis of Yonsei University, 1995.
10. Youn, M. S.: Effect of Maesil extracts injection on blood lactate density and serum lipid components. Masters Thesis of Kyungnam University, 1989.
11. Ko, E. Y.: Effect of *Prunus mume* extracts on experimentally alloxan induced diabetes in rabbits. Masters Thesis of Chosun University, 1996.
12. Sheo, H. J., Lee, M. Y. and Chung, D. L.: Effect of prunus mume extract on gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 19(1): 21~29, 1990.
13. Kim, J. H. : Traditional drugs of the east. Young Lim Sa, Seoul, Korea, 1997.
14. Bae, J. H. and Kim, G. J.: Effect of *Prunus mume* extract beverages on the growth of food-borne pathogens. *J. East Asian of Dietary Life.* 9(2), 214~222, 1999.
15. Didry, N., Dubreuil, L. and Pinkas, M.: Antimicrobial antibiotics. *Pharm. Acta. Hev.*, 67(5-6): 148~151, 1992.
16. Karapinar, M.: Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *International J. Food Microbiol.*, 10, 193~200, 1990.
17. Kubo, S., Muroi, H. and Himejima, M.: Antibacterial activity of totarol and its potentiation. *J. Nut. Product.*, 55(10), 1436~1440, 1992.
18. Meksuriyen, D. and Cordell, G. A.: Tradition medical plants of thailand, IV.10-hydrxy-11-methoxydarcaenone and 7,10-dihydroxy-11-ethoxydracaenone from dracaena loureiri. *J. Nat. Products*, 50(6), 1118~1125, 1987.
19. Lee, K. S., Lee, J. C., Han, K. H. and Oh, M. J.: Antimicrobial activities of extracts of *Perilla frutescens briton* var. *acuta* kudo on food spoliage or foodborne disease microorganisms. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, 6(2), 239~244, 1999.
20. Chung, D. O. and Jung, J. H.: Studies on antimicrobial substances of *Ganoderma lucidum*. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 24(6), 552~557, 1992.
21. Kang, S. K., Sung, N. K., Kim, Y. D. and Shin, S. C.: Screening of antimicrobial activity of leaf Mustard extracts. *korean J. Soc. Food. Nutr.*, 23(6), 1008~1012, 1994.
22. Shin, D. H. and Han, J. S.: Antimicrobial effect of

ethanol extracts of *Sinomenium acutum*(Thunb)  
rdhd.et wils and *Glycyrrhiza glabar* L. var, *gland-*  
*lifera* fegel et zucc on *Listeria monocytogenes*.  
Korean J. Food Sci. Technol., **26**(5), 627~632,

1994.

23. Lee, I. L. and Park, H. S.: Antimicrobial effect of skullcap plant. Kor. J. Pharmacogn., **18**, 249~253, 1987.