

상백피 추출물이 미생물의 균체성분 및 형태 변화에 미치는 영향

박옥연 · 성희경 · 목종수 · 장동석
부산수산대학교 식품공학과

Effects of Treatment with the Extract from the Root Bark of *Morus alba* on the Cell Composition and the Shape Change of Microorganisms

Uk-Yeon Park, Hee-Kyung Seong, Jong-Soo Mok and Dong-Suck Chang
Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737

ABSTRACT—The ethanol extract from the root bark of *Morus alba* showed the strongest antimicrobial activity on the growth of almost all the tested microorganisms which were food-borne pathogens and food-related microorganisms.¹⁶⁾ Therefore, fatty acid composition, amino acid composition and shape change of microorganisms treated with the ethanol extract from the root bark of *Morus alba* were examined. In effects of treatment with the ethanol extract on the fatty acid compositions of *B. subtilis*, *S. aureus* and *E. coli*, fatty acid compositions such as hexadecanoic acid (16:0) and octadecanoic acid (18:0)/octadecadienoic acid (18:2) of the tested strains were increased but pentadecanoic acid (15:0), heptadecanoic acid (17:0) and octadecenoic acid (18:1) of *B. subtilis*, pentadecanoic acid (15:0) of *S. aureus* and hexadecenoic acid (16:1) and octadecenoic acid (18:1) of *E. coli* were decreased. The ethanol extract did not significantly affect the amino acid composition of the tested strains. Transmission electron micrographs of microorganisms treated with the ethanol extract exhibited morphological changes that irregularly contracted cell surface in *S. aureus* and destructed cell walls in *B. subtilis* and *E. coli*.

Key words □ *Morus alba*, Fatty acid, Amino acid, Transmission electron microscope

상백피는 뽕나무(*Morus alba*) 및 같은 속 식물의 뿌리 껍질을 말린 것으로써 옛부터 진해제, 항염증제, 이뇨제 등으로 한방제제에 사용되어 온 생약의 하나이다.¹⁾ 생리활성에 관한 연구로 진통, 이뇨, 진해, 항부종, 진정, 항경련 및 혈압강하 작용 등이 있다고 보고^{2,4)}된 바 있다. 상백피로부터 분리된 성분 중에는 그람 양성균에 대하여 항균효과가 있으나, 그람 음성균에 대해서는 효과가 약하다고 보고⁵⁾된 것이 있으며, 곰팡이 발육억제 효과가 있다는 보고^{6,8)}도 있다.

지방산은 미생물 세포의 구성물질 중 중요한 building block의 하나로, 인지질의 구성성분이며, 세포막에 주로 존재한다. 이러한 세포막 인지질의 지방산 조성은 외계의 온도 변화에 따라 변화되어 막의 유동성을 일정하게 유지한다고 알려져 있으며, 세포막의 유동성은 인지질의 상전이 온도(phase transition temperature, *T_m*)와 관련이 있다

고 보고된 바 있다.⁹⁻¹¹⁾ 즉, 일반적으로 환경온도가 낮은 경우에는 불포화 지방산을 증가시키고, 반대로 온도가 높게 되면 포화 지방산을 증가시켜 막의 유동성을 일정하게 유지하지만, 이러한 변화가 동일 온도에서 일어나는 것은 불포화 지방산이 많은 막은 부드럽게 되고 포화 지방산이 많은 막은 단단해지기 때문이다.⁹⁻¹⁵⁾

본 연구에서는 전보¹⁶⁾에서 항균성이 우수하다고 보고된 상백피 추출물이 미생물의 지방산과 아미노산 조성 및 형태 변화에 미치는 영향에 대하여 살펴보았다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

사용균주는 식품의 부패나 식중독 원인균으로 *Staphylo-*

coccus aureus ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 14593 및 *Escherichia coli* ATCC 25922를 사용하였고, 미생물 배양용 배지는 Difco사(USA) 제품의 nutrient broth를 사용하였다.

에탄올 추출물의 조제

마쇄된 시료 1.0 kg에 무수 에탄올 7 l씩을 가하여 상온에서 5시간 동안 2회 진탕 추출한 후, 멸균된 여과지(Toyo No. 5A)로 여과하였다. 여액은 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤, 이를 다시 무수 에탄올에 용해시켜 1 l로 정용한 다음 검액으로 사용하였다.

지방산 분석

균체에 대한 상백피 추출물의 처리는 Tatsuguchi 등의 방법¹⁷⁾에 따랐다. 35°C에서 대수증식기 중기까지 배양한 균을 원심분리(4,300×g, 10분, 4°C)에 의해 집균하고, 멸균된 0.05 M 인산완충용액(pH 7.0)으로 2회 수세 후, 같은 완충액으로 흡광도(660 nm)가 0.35가 되도록 현탁액을 조제하였다. 이 균 현탁액에 추출물을 고정분 함량으로 32 µg/ml 및 96 µg/ml의 농도가 되도록 각각 가한 다음 35°C에서 3시간 처리한 후 균체를 원심분리(4,300×g, 10분 4°C)에 의하여 집균하였다. 이때 대조구로서는 추출물을 첨가하지 않은 것을 같은 방법으로 처리하였다.

지방산의 추출은 Miller 등의 방법¹⁸⁾에 따랐다. 시료 1 ml에 메탄올 : 수산화 나트륨 용액(50 : 15, v : w) 1 ml를 가하여 100°C에서 30분간 끓인 다음, 6 N 염산 : 메탄올(54 : 46, v/v) 2 ml를 가하여 80°C에서 10분간 가열하여 메틸화시켰다. 메틸화된 시료에 헥산 : 에틸 에테르(1 : 1, v/v)를 1.25 ml 가하여 10분간 교반시킨 후, 하층부의 액을 제거하고 여액에 포화 수산화 나트륨 용액을 3.0 ml 가한 다음, 5분간 교반한 후 상층액을 취하여 gas liquid chromatography(GLC)분석에 사용하였다. 이때 지방산의 분석 조건은 Table 1과 같으며, 지방산 표준품은 Hewlett-Packard Co.의 fatty acid methyl ester화된 제품을 사용하였다.

아미노산 분석

지방산 분석용 시료의 조제와 같은 방법으로 균체에 추출물을 처리하여 집균한 후, 시료 약 0.1 g에 6 N 염산 10 ml를 가한 다음 질소가스로서 공기를 치환시키면서 밀봉하고 110°C의 sand bath에서 24시간 동안 가수분해시켰다. 분해액은 여과지로 여과하고 회전 진공 농축기로 감압농축하여 염산을 완전 제거한 다음, 0.02 N 염산을 사용하여 50 ml로 정용한 후, 수용성막 여과지(0.22 µm)로 여과하고 50 µl를 취하여 아미노산 자동분석기를 사용하여 Table 2와 같은

조건으로 아미노산 분석을 행하였다.

투과전자현미경(Transmission electron microscope)에 의한 미생물의 형태 관찰

지방산 분석용 시료의 조제와 같은 방법으로 균체에 추출물을 처리하여 집균한 후, Wang 등¹⁹⁾의 방법에 따라 현미경용 표본을 제작하였다. 균체를 1% 한천액으로 균진 후 1 mm³로 세절하여 2.5% 글루타르알데히드와 1% 사산화오스뮴으로 4°C에서 2시간 동안 2중 고정을 행하였다. 고정된 균체를 0.1 M 인산완충용액(pH 7.2)으로 2회 씻은 후, 에탄올(50, 70, 80, 90, 95 및 99.9%)로 탈수하여 에폭시 수지로 포매 및 중합시킨 다음, ultramicrotome(LKB 2188 Ultratome, Nova Co., Sweden)로 준 초박절편(1 µm)을 제작하여 toluidine blue로 염색한 후 광학 현미경으로 관찰할 부위를 결정하였으며, 관찰할 부위를 중심으로 여분의 것을 잘라낸 후, 다시 초박절편(60~90 nm)을 만들어 200 mesh동판에 올려서 아세트산 우라늄과 구연산 납으로 2중 염색을 행하

Table 1. The conditions of gas liquid chromatography for fatty acids analysis

Instrument	Hewlett-Packard 5890A (USA)
Column	Fused silica capillary (0.2 mm × 25 m)
Carrier gas	N ₂ (20 psi)
Flow rate	30 ml/min
Oven temperature	170~300 °C (5 °C/min)
Injector temperature	250 °C
Detector	Flame ionization detector(FID)
Detector temperature	300 °C
Chart speed	0.2 cm/min

Table 2. The conditions of amino acid autoanalyzer for amino acids analysis

Instrument	Hitachi 835-50 (Japan)
Column	Ion-exchange resin # 2619 (2.6 × 150 mm)
Analysis cycle time	70 min
Buffer flow rate	0.225 ml/min
Ninhydrin flow rate	0.3 ml/min
Column pressure	80~130 kg/cm ²
Ninhydrin pressure	15~35 kg/cm ²
Buffer change steps	4 steps
Column temperature	53°C
Injection volume	50 µl

였다. 염색이 끝난 균체를 투과전자현미경(JEM-1200 EXII, JEOL Co., Japan)으로 가속전압 80 kV하에서 관찰하였다.

결과 및 고찰

균체의 지방산 조성에 미치는 영향

상백피 추출물 처리에 의한 균체의 지방산 조성변화를 살펴본 결과는 Table 3, 4 및 5와 같다.

*B. subtilis*의 경우, 추출물의 처리농도가 증가할수록 대조구에 비하여 hexadecanoic acid(16:0) 및 octadecanoic acid(18:0)/octadecadienoic acid(18:2)의 조성이 17 및 8%로 각각 증가한 반면, pentadecanoic acid(15:0), heptadecanoic acid(17:0) 및 octadecenoic acid(18:1)는 4 및 12%로 각각 감소하였다(Table 3).

*S. aureus*는 hexadecanoic acid(16:0) 및 octadecanoic acid(18:0)/octadecadienoic acid(18:2)의 조성이 13 및 8%로 각각 증가하였으나, pentadecanoic acid(15:0)는 17% 정도 감소하는 경향을 나타내었다(Table 4).

*E. coli*도 hexadecanoic acid(16:0) 및 octadecanoic acid(18:0)/octadecadienoic acid(18:2)의 조성이 5 및 24%로 증가하였으나, hexadecenoic acid(16:1) 및 octadecenoic acid(18:1)의 조성은 5 및 20%로 각각 감소하는 경향을 나타내었다(Table 5).

대부분의 세균은 외계의 온도 변화에 적응하기 위하여 세포막 인지질의 지방산 조성을 빠르게 변화시켜 막의 유동성을 일정하게 유지한다고 알려져 있으며, 이러한 세포막의 유동성은 인지질의 상전이 온도(phase transition temperature,

Tm)와 관련이 있다고 보고^{9,10)}된 바 있다. 즉, 일반적으로 환경 온도가 낮은 경우에는 불포화 지방산이나 포화 지방산 중에서도 *Tm*이 낮은 iso-C_{15:0}, anteiso-C_{15:0} 및 anteiso-C_{17:0}과 같은 branched-chain 지방산을 증가시키고, 반대로 온도가 높게 되면 *Tm*이 높은 n-C_{16:0} 및 n-C_{18:0}과 같은 포화 지방산을 증가시켜 막의 유동성을 일정하게 유지하지만, 이러한 변화가 동일

Table 4. Comparison of the fatty acid composition (%) of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 treated with the extract from the root bark of *Morus alba* in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)

Fatty acid	Added extract concentration (µg/ml)		
	Control	32	96
14:0	2.41	2.35	2.04
15:0	44.73	40.55	27.50
16:0	15.96	20.40	29.05
17:0	2.18	4.11	0.62
18:0	8.84	6.26	3.85
18:0/18:2	7.55	9.43	20.82
18:1	15.50	12.30	14.39
Others	2.83	4.6	1.73

14:0; Tetradecanoic acid, 15:0; Pentadecanoic acid, 16:0; Hexadecanoic acid, 17:0; Heptadecanoic acid, 18:0; Octadecanoic acid, 18:1; Octadecenoic acid, 18:2; Octadecadienoic acid.

Table 5. Comparison of the fatty acid composition (%) of *Escherichia coli* ATCC 25922 treated with the extract from the root bark of *Morus alba* in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)

Fatty acid	Added extract concentration (µg/ml)		
	Control	1280	1600
14:0	8.94	6.00	6.87
16:0	31.42	32.67	35.44
16:1	17.43	12.40	12.07
17:0	4.49	5.15	3.63
18:0	2.09	1.45	2.94
18:0/18:2	4.47	27.98	28.44
18:1	23.05	9.16	4.40
18:1	8.11	5.19	6.21

14:0; Tetradecanoic acid, 16:0; Hexadecanoic acid, 16:1; Hexadecenoic acid, 17:0; Heptadecanoic acid, 18:0; Octadecanoic acid, 18:1; Octadecenoic acid, 18:2; Octadecadienoic acid.

Table 3. Comparison of the fatty acid composition (%) of *Bacillus subtilis* ATCC 14593 treated with the extract from the root bark of *Morus alba* in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)

Fatty acid	Added extract concentration (µg/ml)		
	Control	32	96
15:0	11.99	6.47	7.65
16:0	14.54	22.53	32.04
17:0	7.92	2.38	2.68
18:0	21.58	14.83	4.28
18:0/18:2	8.27	22.01	34.06
18:1	15.51	18.25	4.18
Other	20.19	13.53	15.11

15:0; Pentadecanoic acid, 16:0; Hexadecanoic acid, 17:0; Heptadecanoic acid, 18:0; Octadecanoic acid, 18:1; Octadecenoic acid, 18:2; Octadecadienoic acid.

온도에서 일어나는 것은 불포화 지방산이 많은 막은 부드럽게 되고 포화 지방산이 많은 막은 단단해지기 때문이다.^{9,15)}

이러한 측면에서 본 실험의 결과와 비교해 보면, 균종에 따라 지방산의 종류 및 변화의 폭은 차이가 있지만 주로 hexadecanoic acid(16:0) 및 octadecanoic acid(18:0)/octadecadienoic acid(18:2)의 지방산 조성은 증가하였고, 포화 지방산인 pentadecanoic acid(15:0), heptadecanoic acid(17:0) 그리고 불포화 지방산인 hexadecenoic acid(16:1), octadecenoic acid(18:1)는 감소하는 경향을 나타내어 상백피 추출물 처리시 균체는 주위 환경의 변화에 적응하기 위하여 지방산 조성을 변화시킨 것으로 사료된다. 또한 *B. subtilis* 및 *S. aureus*의 경우, 포화 지방산인 pentadecanoic acid(15:0) 및 heptadecanoic acid(17:0)는 감소하는 경향을 나타내었는데, 이들 지방산들은 *normal*-형보다 *Tm*이 낮은 *iso*-형 및 *anteiso*-형의 지방산 함량이 높기(Data not shown) 때문이라 생각된다.

Tatsuguchi 등¹⁷⁾은 2% 식염 함유 배지에 글리신을 처리하여 *E. coli*를 배양했을 때 포화 지방산인 hexadecanoic acid(16:0)의 조성은 증가하였고 불포화 지방산인 octadecenoic acid(18:1)는 감소하였다고 보고한 바 있으며, 또한 姜²⁰⁾도 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대하여 잣 추출물을 처

Table 6. Comparison of the amino acid composition (%) of *Bacillus subtilis* ATCC 14593 treated with the extract from the rook bark of *Morus alba* in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)

Amino acid	Added extract concentration ($\mu\text{g/ml}$)		
	Control	32	96
Asp	11.8	12.7	12.7
Thr	4.3	4.7	5.0
Ser	4.2	4.5	4.4
Glu	19.2	15.0	18.3
Pro	3.4	3.9	2.7
Gly	4.8	6.4	6.2
Ala	7.8	7.8	11.7
Val	3.8	6.0	4.2
Met	4.1	3.4	5.1
Ile	3.0	2.8	3.9
Leu	6.3	6.0	8.1
Tyr	3.1	3.2	2.6
Phe	5.0	5.4	4.4
Lys	0.4	2.2	4.8
His	13.8	10.9	0.1
Arg	3.4	5.1	5.7

Table 7. Comparison of the amino acid composition (%) of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 treated with the extract from the root bark of *Morus alba* in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)

Amino acid	Added extract concentration ($\mu\text{g/ml}$)		
	Control	32	96
Asp	7.3	10.7	9.8
Thr	3.5	4.8	4.6
Ser	3.7	3.3	3.3
Glu	16.2	15.3	15.0
Pro	2.8	2.5	0.5
Gly	12.2	14.8	15.1
Ala	12.0	13.0	13.3
Val	6.1	6.7	7.5
Met	4.8	4.1	4.7
Ile	2.3	1.5	1.6
Leu	4.8	3.8	3.6
Tyr	3.1	2.2	2.5
Phe	4.6	3.7	3.9
Lys	4.7	4.7	3.9
His	8.5	5.8	7.7
Arg	3.4	3.1	3.0

Table 8. Comparison of the amino acid composition (%) of *Escherichia coli* ATCC 25922 treated with the extract from the root bark of *Morus alba* in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0)

Amino acid	Added extract concentration ($\mu\text{g/ml}$)		
	Control	1280	1600
Asp	15.0	14.2	14.4
Thr	4.4	5.0	5.1
Ser	4.8	5.0	4.9
Glu	15.5	15.8	16.3
Pro	3.6	3.8	3.8
Gly	6.9	6.7	6.7
Ala	9.1	8.9	9.1
Val	4.3	4.1	3.5
Met	2.9	2.5	2.3
Ile	2.1	2.3	2.3
Leu	7.3	7.6	7.7
Tyr	3.9	3.6	3.5
Phe	6.4	5.5	5.6
Lys	4.1	4.3	4.7
His	3.0	3.4	3.0
Arg	6.7	6.8	6.9

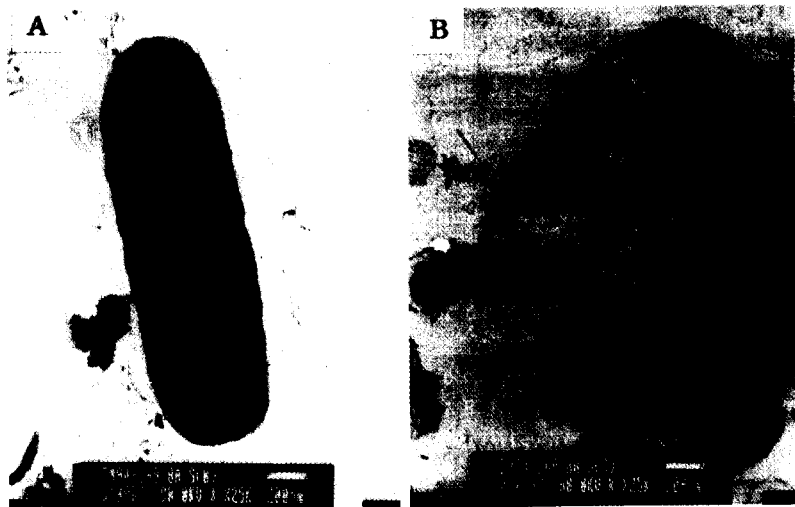


Fig. 1. Transmission electron micrographs ($\times 37,500$) of *Bacillus subtilis* ATCC 14593. A; Control, B; Treated with the prepared extract ($96 \mu\text{g/ml}$) at 35°C for 3 hours.

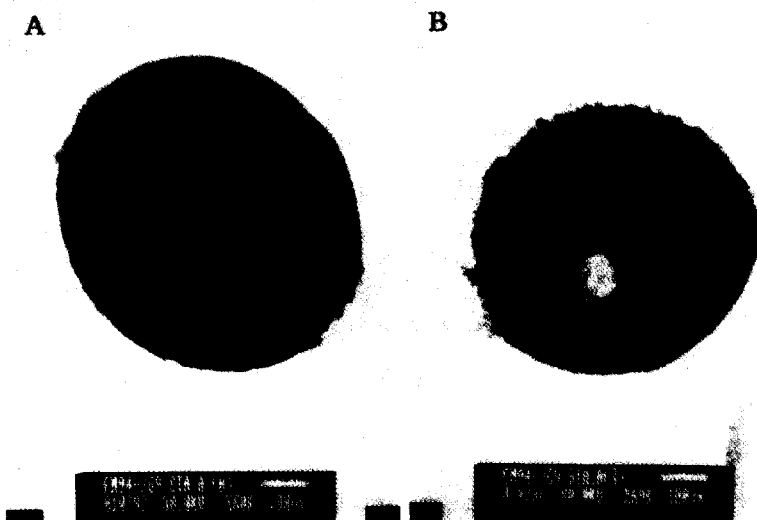


Fig. 2. Transmission electron micrographs ($\times 90,000$) of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A; Control, B; Treated sample with the same condition as in Fig. 1.

리시 증감의 폭은 적지만 포화 지방산인 hexadecanoic acid (16:0)의 조성은 증가하였으나, 불포화 지방산인 octadecenoic acid(18:1)는 감소하였다고 보고한 바 있어 본 실험의 결과와도 비슷한 경향을 나타내었다.

균체의 아미노산 조성에 미치는 영향

상백피 추출물 처리에 의한 균체의 아미노산 조성 변화를 살펴본 결과는 Table 6, 7 및 8과 같다. 추출물을 $96 \mu\text{g/ml}$ 로 처리했을시 *B. subtilis*는 alanine 및 lysine의 조성은 약 4% 증가하였으나, histidine은 약 13% 정도 감소하는 경향을 나



Fig. 3. Transmission electron micrographs ($\times 45,000$) of *Escherichia coli* ATCC 25922. A; Control, B; Treated with the prepared extract ($1600 \mu\text{g/ml}$) at 35°C for 3 hours.

타내었고, 그의 다른 아미노산의 조성에는 별다른 변화가 없었다(Table 6). 또한 *S. aureus* 및 *E. coli*의 경우도 전체적인 아미노산의 조성에는 큰 변화가 없었다(Table 7, 8).

Tatsuguchi 등^{17,21)}에 의하면 2% 식염을 함유하는 배지에는 증식하는 *E. coli*에 대하여 글리신을 처리했을 경우, 균체성분의 누출과 용균은 관찰되지만, 막단백질의 조성에는 전체적인 변화가 보이지 않았다고 보고하였으며, 또한 spheroplast를 조제하여 막단백질의 조성 변화를 살펴본 결과, 역시 전체적인 변화가 나타나지 않았다고 하였다. 따라서 본 실험의 결과에서도 균체를 상백피 추출물로 처리하여도 전체적인 아미노산의 조성에는 큰 변화가 나타나지 않아 이와 비슷한 경향을 나타내었다.

미생물의 형태 변화에 미치는 영향

항균성 물질의 처리시 균체의 형태 변화에 미치는 영향을 투과전자현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 1, 2 및 3과 같다. 즉, 0.05 M 인산완충용액에 현탁되어 있는 균체에 대하여 항균성 물질을 균의 치사농도 이상으로 가하여 35°C 에서 3시간 처리한 후 투과전자현미경으로 관찰한 결과, *B. subtilis*($\times 37,500$)는 세포벽이 심하게 파괴되었고(Fig. 1), *S. aureus*($\times 90,000$)는 전체적인 세포 표면이 불규칙하게 나타나 형태학적인 변화가 관찰되었다(Fig. 2). 또한 *E. coli*($\times 43,000$)도 세포벽이 심하게 파괴되었음이 관찰되었다(Fig. 3).

국문요약

상백피 추출물 처리에 의한 미생물의 균체 지방산과 아미노산의 조성 및 형태변화에 미치는 영향을 비교하였다. 그 결과, *B. subtilis*, *S. aureus* 및 *E. coli* 모두, 추출물의 처리 농도가 증가할수록 hexadecanoic acid(16:0) 및 octadecanoic acid(18:0)/octadecadienoic acid(18:2)의 조성은 증가하는 경향을 나타내었다. 반면 *B. subtilis*의 경우는 pentadecanoic acid(15:0), heptadecanoic acid(17:0) 및 octadecenoic acid(18:1), *S. aureus*는 pentadecanoic acid(15:0), *E. coli*는 hexadecenoic acid(16:1) 및 octadecenoic acid(18:1)의 조성이 각각 감소하였으며, 그 외 다른 지방산의 조성에는 세 균주 모두 큰 변화가 없었다. 또한 균체 아미노산 조성 변화를 살펴본 결과, 세 균주 모두 전체적인 아미노산의 조성에는 큰 변화가 없었다. 상백피 추출물을 균의 치사농도 이상으로 처리하여 투과전자현미경으로 관찰한 결과, *S. aureus*는 균체 표면이 불규칙적인 형태로 나타났으며, *B. subtilis*와 *E. coli*는 세포벽이 심하게 파괴되었음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. 金在佶 : 原色天然物大辭典(下卷). 南山堂, 서울, pp. 148 (1994).
2. Tang, W. and Eisenbrand, G.: *Chinese drugs of plant origin*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 891- 902 (1992).
3. Fukai, T., Hano, Y., Hirakura, K., Nomura, T., Uzawa J. and Fukushima, K.: Structure of two natural hypotensive diels-alder type adducts, mulberrofurans F and G, from the cultivated mulberry tree(*Morus lhou* Koidz.). *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3195-3204 (1985).
4. Oshima, Y., Konno, C., Hikino, H. and Matsushita, K.: Structure of moracenin B, A hypotensive of *Morus* root barks. *Tetrahedron Lett.*, **21**, 3381-3384 (1980).
5. Nomura, T., Fukai, T., Uno, J. and Arai, T.: Mulberrofuran A, A new isoprenoid 2-arylbenzofuran from the root bark of the cultivated mulberry tree(*Morus alba* L.) *Heterocycles*, **9**, 1593-1601 (1978).
6. Takasugi, M., Nagao, S., Masamune, T., Shirata, A. and Takahashi, K.: Structure of moracin A and B, New phytoalexins from diseased mulberry. *Tetrahedron Lett.*, **9**, 797-798 (1978).
7. Takasugi, M., Munoz, L., Masamune, T., Shirata, A. and Takahashi, K.: Stilbene phytoalexins from diseased mulberry. *Chem. Lett.* 1241-1242 (1978).
8. Takasugi, M., Ishikawa, S., Nagao, S., Masamune, T., Shirata, A. and Takahashi, K.: Albanins F and G, Natural diels-alder adducts from mulberry. *Chem. Lett.* 1577-1580 (1980).
9. Cronan, J.E., Jr. and Rock, C.O.: Biosynthesis of membrane lipids. In *Escherichia coli and Salmonella typhimurium - Cellular and Molecular Biology*, Vol. 1(Neidhardt, F.C., Ingraham, J.L., Low, K.B., Magasanik, B., Schaechter, M. and Umberger, H.E.), *American Society for Microbiology*, Washington, D.C., pp. 474-497 (1987).
10. De Mendoza, D., Grau, R. and Cronan, J.E., Jr.: Biosynthesis and function of membrane lipids. In *Bacillus subtilis and other Gram - positive bacteria-Biochemistry, Physiology and Molecular genetics* (Sonenshein, A. L., Hoch, J. A. and Losick, R.), *American Society for Microbiology*, Washington, D.C., pp. 411-421 (1993).
11. Kaneda, T.: Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria- Biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Reviews*, **55**, 288~302 (1991).
12. De Siervo, A.J.: Alterations in the phospholipid composition of *Escherichia coli* B during growth at different temperatures. *J. Bacteriol.*, **100**, 1342-1349 (1969).
13. Fulco, A.J.: The biosynthesis of unsaturated fatty acids by *Bacilli*. I. Temperature induction of the desaturation reaction. *J. Biol. Chem.*, **244**, 889-895 (1969).
14. Kaneda, T.: Fatty acids of the genus *Bacillus*- An example of branched-chain preference. *Bacteriol. Reviews*, **42**, 391-418 (1977).
15. Weerkamp, A. and Heinen, W.: Effect of temperature on the fatty acid composition of the extreme thermophiles, *Bacillus caldolyticus* and *Bacillus caldotenax*. *J. Bacteriol.*, **109**, 443-446 (1972).
16. 박옥연, 김영목, 김신희, 장동식: 桑白皮 추출물의 항균력 및 최적추출조건검토. 식품위생·안전성학회지, **10**, 139-145 (1995).
17. Tatsuguchi, K., Sakamoto, J., Lee, J.K. and Tsutsumi, M.: Effects of treatments with glycine and/or sodium chloride on phospholipid composition of *Escherichia coli*. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **30**, 506-511 (1989).
18. Miller, L. and Berger, T.: Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acid. In *Hewlett-Packard application note*, Hewlett-Packard Co., Avondale, pp. 228-248 (1985).
19. Wang, L.L. and Johnson, E.A.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 624-629 (1992).
20. 姜聖求: 갓(*Brassica juncea* Coss.) 抽出物の 抗菌性과 抗菌物質의 分離 및 同定. 경상대학교 박사학위논문 (1994).
21. Tatsuguchi, K., Sakamoto, J., Lee, J.K. and Tsutsumi, M.: Leakage of cellular materials and damage to the cellular surface of *Escherichia coli* by glycine and/or sodium chloride. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **30**, 512-517 (1989).