

솔잎 추출물의 항균성 검색

최무영* · 최은정 · 이 은 · 임태진 · 차배천 · 박희준

상지대학교 생체기능과학 연구소

Antimicrobial Activities of Pine Needle (*pinus densiflora* Seib et Zucc.) Extract. Moo-Young Choi*, Eun-Jung Choi, Eun Lee, Tae-Jin Rhim, Bae-Cheon Cha and Hee-Juhn Park. Bioscience Research Center, Sangji University, Wonju 220-702, Korea - To develop natural food preservatives of pine needle (*Pinus densiflora* Seib et Zucc.) extract, pine needle sap, ethanol and ether extracts were prepared for investigation of antimicrobial activities against food-related bacteria and yeasts. All extracts exhibited growth inhibiting activities for most of microorganisms tested. However, in general, growth inhibiting activities were higher in ethanol extract than in sap or ether extract. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of ethanol extract for *Lactobacillus casei*, *Pseudomonas aeruginosa* or *Escherchia coli* were as low as 0.1 mg/ml, whereas MIC of sap or ether extract for most bacteria and yeasts were 0.25~0.8 mg/ml, indicating that the ethanol extract showed the antimicrobial activity by 2.5~8 times higher than the sap and ether extract. The antimicrobial activity of the ethanol extract was reduced by heating or alkali treatment. Moreover, growth of *Pseudomonas aeruginosa* was completely inhibited within 24 hours by the addition of at least 50 ppm of ethanol extract. These findings suggest that pine needle, specially the ethanol extract may play a role for natural food preservatives.

식품의 부패 및 변질을 방지하고 식품의 품질보존성을 향상시키기 위하여 다양한 합성보존료가 이용되고 있다. 그러나 이러한 보존제들은 체내에 축적될 수 있어 그 안전성의 문제가 대두되고 있고, 소비자들은 점차 합성보존제가 첨가된 식품의 선택을 기피하는 경향을 보이고 있다. 이로 인해 최근에는 인체에 무해한 천연물에 존재하는 항균성 물질의 검색과 식품보존료로서의 이용가능성에 대한 연구(1-4)가 활발히 진행되고 있다.

소나무(*Pinus densiflora* Seib et Zucc.)는 우리나라의 어느 곳에서나 흔히 자생하고 있으며, 그 잎은 민간요법의 약용이나 건강식품(5, 6)으로 이용되고 있다. 그러나 솔잎에 대한 연구는 항암 작용(7)이나 고지방 식이를 급여한 흰쥐에서 혈청, 간의 지질 조성 및 효소와 간조직에 미치는 영향(8, 9) 등이 일부 밝혀져 있지만 항균 작용에 대한 연구는 구체적으로 조사 보고된 바 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서 천연보존료 개발의 일환으로 항균 활성이 있는 것으로 추정되는 솔잎을 유기용매로 추출한 후 식품과 관련있는 부패 미생물에 대한 항균력을 검색하여 식품보존료로서의 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재 료

*Corresponding author
Tel. 82-371-730-0324, Fax. 82-371-45-2433
Key words: Pine needle, Antimicrobial activity, Microorganism, Minimum inhibitory concentration (MIC)

본 실험에서 사용한 솔잎은 7월 말경 강원도 평창군 야산에서 자생하는 소나무(적송)의 잎만을 분리한 뒤, 음건 후 세절하여 재료로 사용하였다.

사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 gram 양성균 5종, gram 음성균 3종, 효모 2종을 사용하였으며, 균 생육 및 보존배지는 세균의 경우 nutrient broth와 nutrient agar (Difco), 효모는 YM broth (glucose 5 g, pepton 5 g, malt extract 3 g, yeast extract 3 g)와 PDA(Difco)를 각각 사용하였다.

솔잎즙의 제조

솔잎즙은 채취한 솔잎을 세척한 후 탈수하여 녹즙기 (Green power 1213)로 착즙한 후 Whatman No. 2 여과지로 여과하여 사용하였다.

솔잎 에탄올 및 에테르 추출물 제조

솔잎을 2~3 cm로 세절하여 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 round flask에 넣어 각각의 용매를 시료의 6배 (w/v) 첨가하여 혼합한 후, heating mantle (Ms. E105, Tops)로 80℃에서 5시간 동안 가열하여 추출하였다. 추출액은 Whatman No.2 여과지로 3회 여과한 후 rotary vacuum evaporator (Eyela N-1NW, Tokyo Rikakikai Co.)로 감압 농축하였으며, 최종적으로 각각의 추출물을 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

Soluble solid 함량 측정

Soluble solid의 함량은 감압 농축된 추출물 1 ml를 취하여 105°C에서 건조한 후 증발 잔사의 무게를 측정하여 첨가량(mg)으로 나타내었다.

항균력 검색

먼저 사면배지에 배양된 각 균주의 1백금을 취해 10 ml nutrient broth에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양하여 활성화시킨 후, 실온에서 건조한 두께 4~5 mm인 plate에 균액 0.2 ml를 주입하여 멸균된 면봉으로 균일하게 펼치고, 멸균된 8 mm paper disc(Toyo Roshi Kaisha)를 넣고 각 추출물의 soluble solid의 함량이 50 µg/disc가 되도록 흡수시킨 다음, 30°C에서 24~48시간 동안 배양한 후 disc 주위의 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 비교(10)하였다.

최소 저해농도 측정

최소 저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 사면배지에서 배양된 각 균주 1 백금을 취해 각 추출물의 soluble solid 함량을 0.05 mg/ml 간격으로 0.1에서 1.0 mg/ml 범위 내에서 고체배지에 접종하여 30°C에서 48시간까지 배양한 후 육안으로 관찰하여 미생물이 증식되지 않은 농도를 MIC로 결정하였다.

열 및 pH 안정성 검색

솔잎 에탄올 추출물의 열 안정성을 알아보기 위해 추출물을 0.2 µ membrane filter(Nalgene)로 여과한 다음, 80°C, 100°C 및 120°C에서 각각 30분 동안 열처리한 후 한천배지 확산법(11)으로 생육 저해환을 측정하였다. 또한 pH 안정성은 추출물을 염산이나 수산화나트륨으로 pH를 3, 7 및 11로 조절하여 실온에서 1시간 방치한 후 다시 초기의 pH로 중화시킨 다음, 30°C에서 24~48시간 동안 배양하여 disc 주위의 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 비교조사 하였다.

미생물의 증식억제 효과

솔잎 에탄올 추출물을 0.2 µ membrane filter로 여과한 다음, nutrient broth에 추출물의 soluble solid를 50, 100, 250 및 500 ppm 농도별로 첨가한 후 slant에서 배양된 *Pseudomonas aeruginosa*의 균주 1백금을 취해 다시 10 ml nutrient broth에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양시켰다. 배양액 0.1 ml를 취해 다시 10 ml nutrient broth에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양한 후, 배양액 0.05 ml씩 접종하여 30°C에서 72시간까지 배양하면서 미생물의 생육정도를 12시간 마다 spectrophotometer(Beckman DU650)를 사용하여 620 nm에서 흡광도를 측

정(12)하여 균의 증식정도를 비교하였다. 흡광도 측정시 추출물을 넣은 nutrient broth를 blank로 사용하였다.

통계처리

모든 실험자료의 통계분석은 SPSS package(13)를 이용하여 one-way ANOVA검정을 행하였으며, 처리효과 유의성이 발견된 경우 처리구간 평균치의 유의성 비교는 Duncan의 다중비교검정($p < 0.05$)을 실시하였다.

결과 및 고찰

솔잎 추출물의 항균력

추출용매에 따른 솔잎의 항균력을 조사하기 위하여 솔잎즙, 에탄올 및 에테르 추출물의 soluble solid함량이 50 µg/disc가 되도록 조절하여 시험균주에 대한 생육저해환을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 솔잎즙, 에탄올 및 에테르 추출물들은 검색에 사용된 시험균주에 대해 대체로 높은 항균활성을 나타내었다. *B. licheniformis*, *Sacch. cerevisiae* 및 *Sacch. robustus*에 대해 추출용매별 항균활성의 차이는 관찰되지 않았지만, 솔잎즙에 비해 에탄올 추출물은 특히 *B. subtilis*, *Strep. mutans*, *Lac. casei*, *P. aeruginosa* 및 *E. coli*에 대해 유의성있게($p < 0.05$) 높은 항균효과를 나타내었다. 반면에 효모 균주에서는 유의성이 나타나지 않았다($p < 0.05$). 또한, 전반적으로 gram 음성균과 gram 양성균에 대한 추출용매별 항균력의 차이는 관찰되지 않았다. 이와같이 본 실험에서 에탄올 추출물이 다른 용매 추출물에 비해 항균력이 높게 관찰된 결과는 박 등(14)이 발표한 한약제 추출물의 항균효과 검색, 그리고 이와 신(15)의 식품 부패미생물을 억제하는 천연항균성 물질의 검색 결과와 비슷하게 나타나 솔잎 항균성물질 추출에는 에탄올이 더 적절한 용매로 여겨진다. 솔잎에서 추출된 항균성물질이 대장균이나 식품의 부패를 일으키는 균에도 항균력이 나타나므로 부패 및 식중독균의 생육억제에도 효과가 있을 것으로 생각된다.

최소 저해농도

각 용매별 솔잎 추출물의 최소 저해농도를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 세균에 대한 솔잎 추출물의 항균활성은 대체로 높게 나타났다. 에탄올 추출물의 최소 저해농도는 *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *Strep. mutans*, *Lac. casei*, *P. aeruginosa*와 *E. coli* 균주들에 대해 0.1 mg/ml으로 나타난 반면에 *B. subtilis*와 *Entro. aerogenes* 균주들에서는 0.15 mg/ml으로 나타났다. 에테르 추출물의 최소 저해농도는 *B. licheniformis* 균주에 대해 0.25 mg/ml으로 가장 낮게 나타났고 *P. aeruginosa* 균주에 대해 0.65 mg/ml로 가장 높게 나타났다. 반면에, 솔잎즙의 최소 저해농도는 *B. megaterium* 균주에 대해 0.4

Table 1. Growth inhibiting activities of sap, ethanol or ether extracts of pine needle for microorganisms¹⁾

Strains	Clear zone diameter (mm) ²⁾		
	Ethanol extract	Ether extract	Sap
Gram positive bacteria			
<i>Bacillus megaterium</i> ATCC 8514	15.7±0.89 ^{ab}	13.3±0.33 ^a	17.3±0.33 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	16.0±0.58 ^a	11.7±0.33 ^b	14.0±0.00 ^c
<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 21415	16.7±0.33	15.0±0.58	15.0±0.58
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	17.0±0.58 ^a	13.3±0.33 ^b	14.0±0.00 ^b
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 12004	18.3±0.67 ^a	12.3±0.33 ^b	15.0±0.58 ^c
Gram negative bacteria			
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 29751	18.0±0.58 ^a	13.7±0.33 ^b	16.3±0.33 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3899	16.3±0.33 ^a	12.3±0.33 ^b	13.3±0.33 ^b
<i>Escherichia coli</i> ATCC 15491	18.7±0.33 ^a	13.3±0.57 ^b	11.0±0.00 ^c
Yeast			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1346	15.7±0.67	14.3±0.33	13.7±0.33
<i>Saccharomyces robustus</i>	11.3±0.67	10.0±1.00	11.3±0.33

¹⁾Antimicrobial activity (growth inhibiting activity) was indicated as diameter of clear zone surrounding paper disc absorbing 50 µg of soluble solid of pine needle sap, ethanol or ether extracts on nutrient agar plate inoculated with test microorganisms. ²⁾Values are means ± S.E. of triplication. ^{a,b,c}Values with different superscripts within the same row are significantly different (p<0.05).

Table 2. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of sap, ethanol or ether extracts of pine needle for microorganisms

Strains	MIC (mg/ml)		
	Ethanol extract	Ether extract	Sap
<i>B. megaterium</i>	0.10	0.35	0.40
<i>B. subtilis</i>	0.15	0.30	0.80
<i>B. licheniformis</i>	0.10	0.25	0.55
<i>Strep. mutans</i>	0.10	0.30	0.80
<i>Lac. casei</i>	0.10	0.30	0.55
<i>Entero. aerogenes</i>	0.15	0.35	0.60
<i>P. aeruginosa</i>	0.10	0.65	0.65
<i>E. coli</i>	0.10	0.35	0.65
<i>Sacch. cerevisiae</i>	0.15	0.40	0.80
<i>Sacch. robustus</i>	0.40	0.65	0.75

mg/ml로 가장 낮게 나타났고 *B. subtilis*과 *Strep. mutans* 균주들에 대해 0.8 mg/ml으로 가장 높게 나타났다. 즉, 솔잎의 에탄올 추출물은 에테르 추출물에 비하여 2.5~6배 높은 항균활성을 나타냈으며, 솔잎즙에 대해서도 4~8배 높은 항균활성을 나타내 보였다. 이와같은 결과는 유백피의 추출물이 *B. subtilis* 등의 gram 양성균 5종과 *E. coli* 등 5종의 gram 음성균에 대한 최소 저해농도가 2.5~3.0 mg/ml인 것(16)과 비교해 볼때 솔잎 추출물이 상당한 항균효과가 있음을 나타내 보이고 있다. 그러나 추출물별 gram 양성균과 gram 음성균간 항균활성의 차이는 관찰되지 않았다. 솔잎 추출물의 효모, 특히 *Sacch. robustus*에 대한 항균활성은 세균에서 보다 약간 낮게 관찰되었다.

솔잎 에탄올 추출물의 열 및 pH 안정성

솔잎의 에탄올 추출물이 에테르 추출물이나 솔잎즙에 비하여 2.5~8배 높은 항균활성을 나타내 보였기 때문에

Table 3. Effect of heat treatment on growth inhibiting activities of pine needle ethanol extract for microorganisms¹⁾

Strains	Clear zone diameter (mm) ²⁾		
	80°C	100°C	120°C
<i>B. megaterium</i>	15.7±0.88	13.3±0.33	13.3±0.88
<i>B. subtilis</i>	16.0±0.58 ^a	12.7±0.33 ^b	12.0±0.58 ^b
<i>B. licheniformis</i>	16.7±0.33 ^a	11.0±1.73 ^b	10.0±0.00 ^b
<i>Strep. mutans</i>	14.8±1.32 ^a	11.0±0.58 ^{ab}	10.0±0.00 ^b
<i>Lac. casei</i>	18.3±0.67 ^a	13.3±0.88 ^b	11.7±0.67 ^b
<i>Entero. aerogenes</i>	18.0±0.58 ^a	12.7±0.67 ^b	11.3±0.33 ^b
<i>P. aeruginosa</i>	16.3±0.33 ^a	11.0±0.00 ^b	10.7±0.33 ^b
<i>E. coli</i>	18.7±0.33 ^a	11.0±0.58 ^b	10.7±0.33 ^b
<i>Sacch. cerevisiae</i>	15.7±0.67 ^a	13.7±0.33 ^{ab}	13.0±0.58 ^b
<i>Sacch. robustus</i>	11.3±0.67	12.7±0.67	12.3±0.33

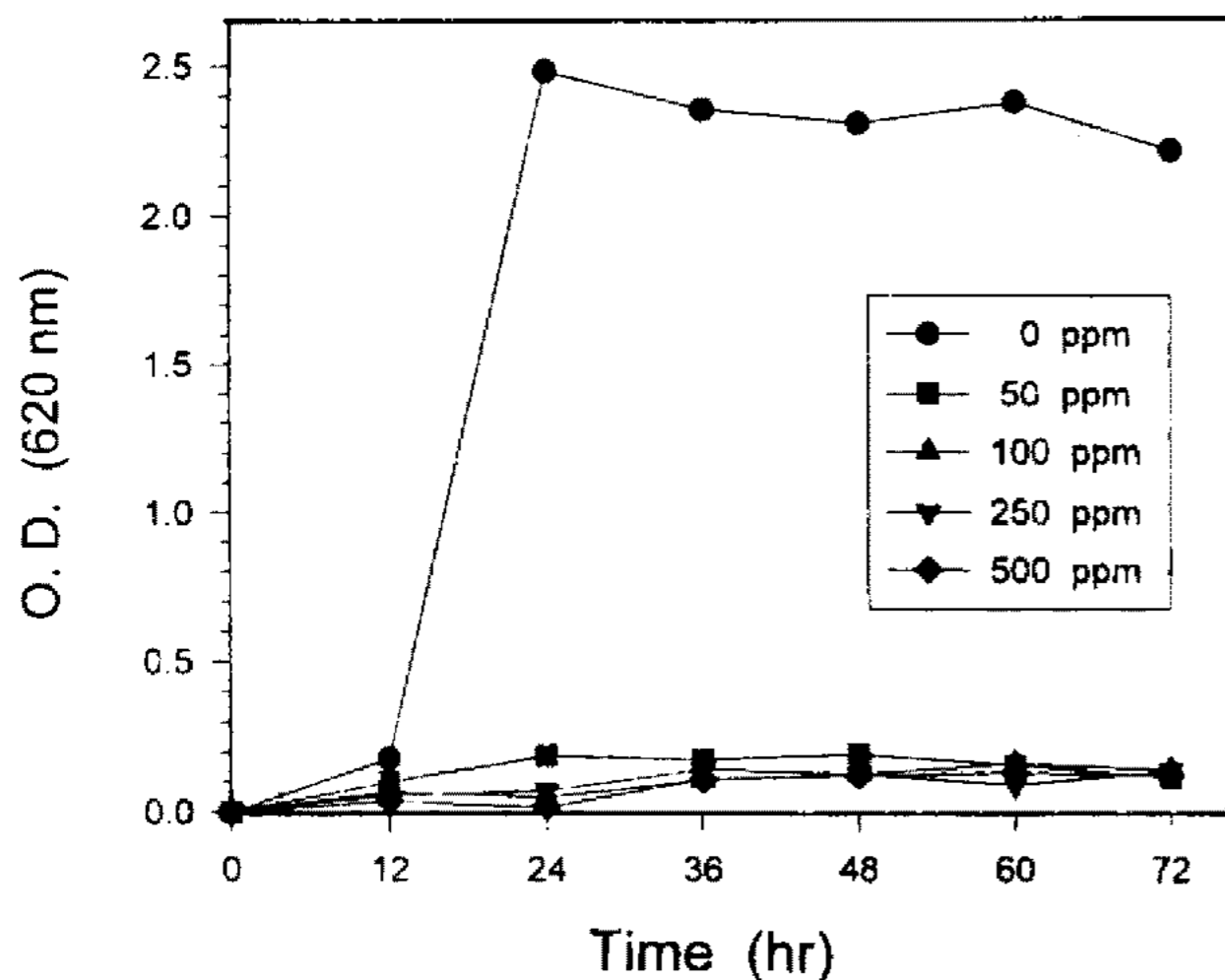
¹⁾Antimicrobial activity (growth inhibiting activity) was indicated as diameter of clear zone surrounding paper disc absorbing 50 µg of soluble solid of pine needle ethanol extract on nutrient agar plate inoculated with test microorganisms. ²⁾Values are means ± S.E. of triplication. ^{a,b,c}Values with different superscripts within the same row are significantly different (p<0.05).

솔잎 에탄올 추출물의 열 및 pH 안정성을 조사하였다. 추출물의 열 안정성을 조사하기 위해 추출물을 80, 100 및 120°C에서 각각 30분동안 열처리한 후, 세균과 효모에 대한 생육저해환을 측정하였다. Table 3에서와 같이 가열온도가 증가함에 따라 *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *Lac. casei*, *Entero. aerogenes* 및 *P. aeruginosa* 균주들에 대한 솔잎 에탄올 추출물의 항균활성은 현저히 (p<0.05) 저하되었다. 강 등(17)은 갖의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균물질이 60~120°C까지 안정하다고 보고하였으나, 솔잎 에탄올 추출물에 함유되어 있는 항균물질은 대체로 100°C 이상의 고온에서 항균활성이 저하됨을 알 수 있었다. 또한 솔잎 에탄올 추출물의 pH

Table 4. Effect of pH treatment on growth inhibiting activities of pine needle ethanol extract for microorganisms¹⁾

Strains	Clear zone diameter (mm) ²⁾		
	pH 3	pH 7	pH 11
<i>B. megaterium</i>	15.3±0.67 ^a	12.7±0.67 ^{a,b}	9.7±0.67 ^b
<i>B. subtilis</i>	18.3±0.33 ^a	14.3±0.33 ^b	11.3±0.33 ^c
<i>B. licheniformis</i>	18.0±0.58 ^a	15.7±0.33 ^b	13.0±0.00 ^c
<i>Strep. mutans</i>	15.3±0.67 ^a	14.0±0.00 ^b	12.0±0.00 ^b
<i>Lac. casei</i>	12.0±0.58 ^a	13.3±0.67 ^{a,b}	10.3±0.67 ^b
<i>Entero. aerogenes</i>	15.3±0.33 ^a	11.3±0.67 ^b	9.5±0.50 ^b
<i>P. aeruginosa</i>	13.0±0.58	10.5±0.50	11.5±0.50
<i>E. coli</i>	18.0±1.12 ^a	10.5±0.50 ^b	10.0±1.00 ^b
<i>Sacch. cerevisiae</i>	14.0±1.00 ^a	19.0±1.00 ^b	12.0±0.00 ^b
<i>Sacch. robustus</i>	11.0±1.35	9.3±0.33	10.0±0.00

¹⁾Antimicrobial activity (growth inhibiting activity) was indicated as diameter of clear zone surrounding paper disc absorbing 50 µg of soluble solid of pine needle ethanol extract on nutrient agar plate inoculated with test microorganisms. ²⁾Values are means ± S. E. of triplication. ^{a,b,c}Values with different superscripts within the same row are significantly different (p<0.05).

**Fig. 1. Effect of concentrations of pine needle ethanol extract on growth inhibiting activity of *P. aeruginosa*.**

Growth activity was indicated by optical density at 620 nm after incubation of *P. aeruginosa* with 5 different concentrations of pine needle extract for 72 hours at 30°C.

안정성을 조사하기 위하여 추출물을 pH 3, 7 및 11이 되도록 염산 또는 수산화나트륨으로 처리한 후, 세균과 효모에 대한 생육저해환을 측정된 결과는 Table 4와 같다. pH가 높아질수록 gram 양성균 중 *B. subtilis*, *Strep. mutans*와 gram 음성균 중 *E. coli*에 대한 항균활성은 현저히(p<0.05) 저하되었다. 그러나 대부분의 세균에 대해 산성상태에서는 항균활성이 유지되었으나 알칼리로 변화되면서 항균활성이 서서히 감소하였다.

미생물의 증식억제 효과

솔잎 에탄올 추출물의 미생물 증식 억제효과를 조사하

기 위하여 증식배지에 0, 50, 100, 250 및 500 ppm의 솔잎 에탄올 추출물을 첨가하여 *P. aeruginosa*의 증식을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 추출물을 첨가하지 않는 구에서는 배양후 24시간에 OD₆₂₀ 값이 2.5 정도로 최고 증식을 보인 반면, 50 ppm 이상의 에탄올 추출물 첨가시 배양후 24시간에 OD₆₂₀ 값이 0.05~0.2 정도로 균의 증식이 현저히 억제되었다. 이러한 솔잎 에탄올 추출물의 *P. aeruginosa* 증식 억제효과는 배양기간 동안 관찰되었다. 속에서 추출된 m-coumaric acid의 농도가 400 ppm 이상일 때 *P. aeruginosa*의 증식억제가 관찰되었다는 보고(2)와 비교해 볼 때, *P. aeruginosa*에 대한 솔잎 에탄올 추출물의 항균효과가 매우 높음을 알 수 있었다.

요 약

본 연구는 천연 식품보존료 개발의 일환으로 옛날부터 약용이나 건강식품으로 널리 이용되고 있는 솔잎을 대상으로 솔잎즙, 에탄올 및 에테르 추출물을 제조하여 식품과 관련이 있는 세균 및 효모에 대한 항균활성을 조사하였다. 솔잎즙, 에탄올 및 에테르 추출물들은 시험균주에 대해 대체로 높은 항균활성을 나타내었으며, 특히 에탄올 추출물은 에테르 추출물이나 솔잎즙에 비해 항균력이 높게 관찰되었다. 또한, 에탄올 추출물의 최소 저해농도는 대부분의 균주들에 대해 0.1~0.15 mg/ml로 나타난 반면에, 에테르 추출물의 최소 저해농도는 0.25~0.65 mg/ml, 그리고 솔잎즙의 최소 저해농도는 0.4~0.8 mg/ml로 측정되었다. 이와같이 솔잎의 에탄올 추출물이 에테르 추출물이나 솔잎즙에 비하여 2.5~8배 높은 항균활성을 나타내 보였기 때문에 솔잎 에탄올 추출물의 열 및 pH 안정성을 조사하였다. 가열 및 알칼리 처리에 의해 솔잎 에탄올 추출물의 항균활성은 서서히 감소되었다. 특히, 가열온도가 증가함에 따라 *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *Lac. casei*, *Entero. aerogenes* 및 *P. aeruginosa* 균주들에 대한 항균활성은 현저히(p<0.05) 저하되었으며, pH가 높아질수록 gram 양성균 중 *B. subtilis*, *Strep. mutans*와 gram 음성균 중 *E. coli*에 대한 항균활성도 현저히(p<0.05) 저하되었다. 또한, 솔잎 에탄올 추출물의 미생물 증식 억제효과를 조사하기 위하여 증식배지에 0, 50, 100, 250 및 500 ppm의 솔잎 에탄올 추출물을 첨가하여 *P. aeruginosa*의 증식을 조사하였다. 배양후 24시간에 에탄올 무첨가구의 OD₆₂₀ 값이 2.5 정도인 반면, 50 ppm 이상의 에탄올 추출물 첨가시 OD₆₂₀ 값은 0.05~0.2 정도로 측정되어, 솔잎 에탄올 추출물이 *P. aeruginosa* 균 증식을 현저히 억제하였다. 이상의 본 연구 결과는 높은 항균효과를 지닌 솔잎 에탄올 추출물이 앞으로 천연 식품보존제로써 개발·이용될 수 있음을 시사하고 있다.

감사의 말

본 연구는 1996년도 상지대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. Park, U. Y., D. S. Chang and H. R. Cho. 1992. Antimicrobial Effect of Lithospermi radix (*Lithospermum erythrorhizon*) Extract. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**: 97-100.
2. Park, S. K. and J. C. Park. 1994. Antimicrobial Activity of Extracts and Coumaric Acid Isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **9**: 506-511.
3. Kim, Y. S., M. N. Kim, J. O. Kim and J. H. Lee. 1994. The Effect of Hot Water-Extract and Flavor Compounds of Mugwort on Microbial Growth. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**: 994-1000.
4. Han, J. S. and D. H. Shin. 1994. Antimicrobial Effect of Each Solvent Fraction of *Morus alba* Linne, *Sophora flavescens* Alton on *Listeria monocytogenes*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**: 539-544.
5. 박종갑. 1984. 한방대외전. 동양종합통신교육원 출판부. 대구. p. 134.
6. 문화방송편저. 1988. 한국민간요법대전. 금박출판사. 서울. p. 21.
7. 최옥자. 1991. 약초의 성분과 이용. 일월서각. 서울. p. 114-116
8. Kang, Y. H., Y. K. Park, T. Y. Ha, and K. D. Moon. 1996. Effects of Pine Needle Extracts on Serum and Liver Lipid Contents in Rats Fed High Fat Diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**: 367-373.
9. Kang, Y. H., Y. K. Park, T. Y. Ha, and K. D. Moon. 1996. Effects of Pine Needle Extracts on Enzyme Activities of Serum and Liver, Liver Morphology in Rats Fed High Fat Diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**: 374-378.
10. Conner, D. E. and L. R. Beuchat. 1984. Effect of Essential Oil from Plants on Growth of Food Spoilage Yeasts. *J. Food Sci.* **49**: 429-434.
11. Board, R. G. and D. W. Lovelock. 1975. Some method for Microbiology assay. Academic press, New York, p. 91.
12. Lim, C. M. K. H. Kyung, and Y. J. Yoo. 1987. Antimicrobial Effects of Butylated Hydroxyanisole(BHA) and Butylated Hydroxytoluene (BHT). *Korean J. Food Sci. Technol.* **19**: 54-60.
13. 이성근, 김범중, 채서일. 1993. SPSS/PC 를 이용한 통계 분석. 학연사, p. 101.
14. Park, U. Y., D. S. Chang and H. R. Cho. 1992. Screening of Antimicrobial Activity for Medicinal Herb Extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**: 91-96.
15. Lee, B. W. and D. H. Shin. 1991. Antimicrobial Effect of Some Plant Extracts and Their Fractionates for Food Spoilage Microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* **23**: 205-211.
16. Lee, H. Y., C. K. Kim, T. K. Sung, T. K. Mum, and C. J. Lim 1992. Antibacterial Activity of *Ulmus pumila* L. Extract. *Kor. J. Appl. Microbiol Biotechnol.* **20**: 1-5.
17. Kang, S. K., N. K. Sung, Y. D. Kim, S. C. Shin, J. S. Seo, K. S. Choi and S. K. Park. 1994. Screening of Antimicrobial Activity of Leaf Mustard (*Brassica juncea*) Extract. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**: 1008-1013.

(Received 5 February 1997)