J. Fd Hyg. Safety 15(1), 55-59 (2000)

대나무 기름의 항균효과

이숙경
단국대학교 식품공학과

Antimicrobial Activity of Bamboo (*Phyllostachys bambusoides*) Essential Oil

Sook Kyung Lee
Department of Food Engineering, Dankook University, Chonan 330-714, Korea

ABSTRACT – In order to develop a antimicrobial agent, dried bamboo trunk was extracted by high temperature suction and then antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* ATCC 2825 and *Escherichia coli* DH 5α were investigated as compared with tea tree oil and BHA. The minimal inhibitory concentration(MIC) of the extracted substance against microorganisms were also examined. The results are as follows: 1. By disc diffusion method, BHA showed the strongest antimicrobial activity on Gram-positive bacteria such as *S. aureus* ATCC 2825 but bamboo essential oil showed the strongest antimicrobial activity on Gram-negative bacteria such as *E. coli* DH 5α. 2. By broth dilution method, the minimum inhibitory concentration of the BHA, tea tree oil and bamboo oil were not detected against *S. aureus* ATCC 2825(MIC, 6.0 μl/ml) and *E. coli* DH 5α(MIC, 6.0 μl/ml)

Key words □ Bamboo essential oil, Tea tree oil, BHA, Antimicrobial activity. Minimal inhibitory concentration.

미생물에 의해 식품이 부패 또는 변질되는 것을 방지하기 위하여 각종 보존료[1]를 사용하고 있으며 이는 대부분 화학적 합성 보존료로서 소화율의 감소, 돌연변이의 유발 및 발암성 등의 안전성에 문제가 발생[2-3]되고 있다. 또한 다량 섭취 시 유해하다는 이유로 사용량과 사용대상 식품을 법적으로 규제[4]하고 있으며, 특히 BHA(Butylated Hydroxy Anisol)와 BHT(Butylated Hydroxy Toluene)를 50 mg/kg/day 이상 사람이 섭취할 경우 생체 효소 및 지방질 변화로 암 등의 질병이 유발된다는 보고[5-7]가 있다. 이러한 문제점들로 인해 소비자들의 건강증진에 대한 욕구가 증대됨에 따라 천연 보존료에 대한 요구가 절실해지면서 우리 나라를 비롯한 각 선진국에서는 오래 전부터 천연물 중 항균력이 있는 물질에 대한 연구[8-11]가 있었고 현재도 천연 항균물질의 검색과 이의 응용에 관한 연구[12-16]가 활발하게 진행되고 있다.

실제로 우리 나라에서 많이 사용되고 있는 마늘과 같은 향신료의 정유에 함유되어 있는 성분들 그리고 약용식물 등이 천연 항균물질[17-21]로 검토된 바 있으며, 정 등[22]은 계피의 에탄올 추출물이, 조[23] 등은 고삼 추출물에서 항균력이 있다는 최근의 연구가 있었다.

본 연구에서는 약용식물학[24]에서 방부 또는 살균작용이 있어 민간요법에서[25]숯, 죽순, 수액음용, 죽염(竹鹽), 죽력(竹瀝)등으로 이용되어 그 안전성이 확보된 왕대나무(*Phyllostachys bambusoides*)를 대상으로 하였다.

대나무에 관한 연구로 신과 이[26]는 대나무잎이 식품의 변질에 관여하는 *L. plantarum*과 *L. mesenteroides*, *S. cerevisiae* 등에 항균성이 있다고 보고하였고, 정 등[27]은 대나무잎을 이용한 천연 건강음료의 가능성을 검토하였다. 그러나 대나무 줄기의 성분을 용출시켜 얻어진 대나무기름을 천안 광덕사 안양암에서는 50여년 전부터 현재에 이르기까지 직접 음용, 또는 피부염 치료제로 사용하고 있으나 항균성에 관한 연구는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구는 대나무 기름을 선택하여 시험균 중 식품과 향장품에서 여러 균주 중 대표적으로 오염여부를 판단할 수 있는 호성균주인 *Staphylococcus aureus*와 *Escherichia coli*에 이미 항균성이 인정된 tea tree oil(*Leptospermum scorparium* oil, New Zealand)[28-29]을 대치할 수 있는 지를 비교하는데 목적을 두었으며, 아울러 비교군으로써 항균성이 인정된 BHA)[30-32]와의 상호 비교

†Author to whom correspondence should be addressed.

를 통해 1차적인 천연 식품보존료로서의 가능성도 검토하였다.

또한 천연물질에서 항균성이 강한 물질을 검색한 후 이를 실용화 하는데 가장 큰 문제점은 경제성이 없다는데 있었으나 대나무 기름에서 경제성이 있음이 검토되어 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 시료는 건조한 왕대나무(*Phyllostachys bambusoides* Sieb. et Zucc) 줄기를 전통적인 방법(대나무 줄기를 담은 옹기를 왕겨로 덮은 후 고온의 열을 3일 이상 가하여 추출)으로 고온 감압 추출하여 얻은 essential oil(이하 bamboo oil이라 함, relative density 20°/20°C(g/ml): 0.9847, pH:3.2±0.5: pH meter, 420A, ORION)을 1999년 10월 충남 천안 광덕사 안양암에서 제조하여 이를 4°C에 냉장보관 하면서 실험에 사용하였다.

사용균주 및 배지

본 연구에 사용한 균주는 호기성 균주로 Gram 양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 2825(이하 S. aureus라 함)와 Gram 음성균인 Escherichia coli DH 5α(이하 *E. coli* 라 함)로 단국대학교 식품공학과 미생물공학 실험실에서 1999년 10월에 분양 받아 사용하였다.

항균력 실험에 사용된 균주는 nutrient broth에서 seed culture하여 O.D≒0.5(600nm, UV spectrophotometer, SIMAZU)로 농도를 일정하게 하였다. 미생물의 disc diffusion법과 broth dilution법 배양에 사용된 배지는 tryptone glucose extract agar(Difco 社)와 nutrient agar로 제조하여(각각 24 g, 23 g/l, pH: 7.0±0.2) 121°C 2기압에서 30분간 멸균하여 사용하였으며, seed culture 및 broth dilution에 이용한 nutrient broth(Difico 社) 배지(8 g/l, pH: 6.8±0.2) 역시 121°C 2기압에서 30분간 멸균하여 사용하였다.

실험방법

시료의 전처리 – bamboo oil의 균주에 대한 상대적인 항균력을 알아보기 위해 BHA(Sigma, G.R reagent), tea tree oil(*Leptospermum scorparium*, New Zealand)을 ethyl alcohol(James Burrough, G.R reagent 99.9%)에 1 : 1로 희석 후 사용하였다.

배양기 및 배양조건 – 삼우과학의 SW-029배양기를 사용하여 disc diffusion법과 broth dilution법에 이용된 배지를 36°C에서 각각의 시간에 따라 배양하였다. 이 때 bamboo oil과 tea tree oil은 휘발성이 강하여 사용된 멸균 petri dish(87×15 mm)의 바깥 경계부분을 para film으로 실링하여 배양하였다.

Disc diffusion법을 이용한 항균력 시험 – 멸균된 petri dish(87×15 mm)를 이용하여 제작된 tryptone glucose extract agar(Difco 社)배지에 O.D≒0.5(600 nm, UV spectrophotometer, SIMAZU)인 각각의 균주를 50 μl씩 도말하고 정중앙에 멸균된 8 mm paper disc(Tokyo Roshi Kaisha)를 올려 놓은 후 각각의 시료를 99.9% ethanol에 1 : 1로 희석하여 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 μl/ml로 첨가하였다. 휘발성이 강한 시료는 petri dish의 바깥 경계부분을 para film으로 실링하여 36°C에서 72시간 동안 배양 후 8 mm paper disc주변에 형성된 발육저지대의 크기(mm)를 조사하였다.

희석시에 첨가되는 용매 자체의 항균력을 배제하기 위하여 용매별 대조구를 만들어서 비교하였다.

Broth dilution법을 이용한 minimum inhibitory concentration(MIC) - 멸균된 test tube에 nutrient broth을 취하여 O.D≒0.5(600 nm, UV spectrophotometer, SIMAZU)로 배양된 균주를 10^{-2}로 희석(Staphylococcus aureus: 3.4×10^4 cells/ml, Escherichia coli: 2.5×10^5 cells/ml)하고 여기에 각각의 시료를 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 μl/ml로 첨가한 후 24시간 배양하였다. 각각의 시료에 대하여 배양된 균주를 50 μl씩 tryptone glucose extract agar(Difco 社) 평판배지에 도말한 후 36°C에서 48시간 동안 배양 후 각 시료의 농도에 대한 균수를 측정하여 MIC를 구하였다.

희석시에 첨가되는 용매 자체의 항균력을 배제하기 위하여 용매별 대조구를 만들어서 비교하였다.

결과 및 고찰

Disc diffusion법을 이용한 항균작용

*S. aureus*와 *E. coli*의 두 균주를 대상으로 항균력을 조사한 결과는 Table 1.에 나타내었다.

Bamboo oil 4.0 μl/ml를 첨가 시 *S. aureus*에 대한 항균력이 나타나지 않은 것을 제외하고는 각 시료의 모든 농도에서 *S. aureus*와 *E. coli*에 항균력이 나타났다. Gram 양성균인 *S. aureus*는 0.0~4.8±0.3 mm, Gram 음성균인 *E. coli*는 0.5~5.2±0.3 mm의 발육저지대를 나타내어 각 시료에 따라 큰 차이가 있었다. *S. aureus* 대한 항균력은 *E. coli*에 비하여 BHA는 200~300% 정도, tea tree oil은 180~260% 정도 큰 것으로 나타나 이는 S. aureus에 대한 항균력이 *E. coli* 보다 우수 하다는 보고[30]와 일치하였다.

본 연구 결과 BHA와 tea tree oil은 *E. coli*에 비하여 *S. aureus*에 대한 항균력이 180~300% 정도 큰 것으로 나

Table 1. The inhibition zone of *S. aureus* and *E. coli* for BHA, tea tree oil and bamboo oil

Strains	Conc. (μl/ml)	Inhibition zone[a] (mm)		
		BHA	Tea tree oil	Bamboo oil
Staphylococcus aureus ATCC 2825	4.0	3.5±0.2	1.3±0.1	0
	6.0	4.0±0.1	1.7±0.2	0.3±0.1
	8.0	4.1±0.1	2.1±0.1	1.1±0.2
	10.0	4.8±0.3	2.8±0.2	1.8±0.3
Escherichia coli DH 5α	4.0	1.2±0.1	0.5±0.1	1.5±0.1
	6.0	1.8±0.1	0.7±0.1	2.4±0.3
	8.0	2.0±0.1	1.1±0.1	4.3±0.3
	10.0	2.2±0.1	1.6±0.2	5.2±0.3

[a] Results indicate mean ± SD from five separate experiments.

타나 특히 Gram 양성균에 대해 효과가 큰 것을 알 수 있었다. 그러나 bamboo oil은 BHA와 tea tree oil과는 달리 *E. coli*에 대한 항균력이 *S. aureus*에 비하여 290~800% 정도 큰 것으로 나타나 특히 Gram 음성균에 대해 효과가 클 것으로 예상된다..

Gram 양성균인 S. aureus에 대한 발육저지대는 BHA 4.0 μl/ml을 첨가 시 3.5±0.2 mm, 6.0 μl/ml첨가 시 4.0 ±0.1 mm, 8.0 μl/ml첨가 시 4.1±0.1 mm, 10.0 μl/ml첨가 시 4.8±0.3 mm를 형성하여 농도가 높아짐에 따라 항균력이 증가함을 볼 수 있었으나 큰 차이가 없는 것으로 보아 효율적인 농도는 6.0~8.0 μl/ml임을 알 수 있었다.

Tea tree oil 4.0 μl/ml를 첨가 시 발육저지대는 1.3±0.1 mm, 6.0 μl/ml첨가 시 1.7±0.2 mm, 8.0 μl/ml첨가 시 2.1 ±0.1 mm, 10.0 μl/ml첨가 시 2.8±0.2 mm를 형성하여 tea tree oil의 농도에 따른 항균력은 4.0 μl/ml 보다 50% 증가된 6.0 μl/ml에서 30.8%, 100% 증가된 8.0 μl/ml에서는 약 61.5%, 150% 증가된 10.0 μl/ml에서 약 115.4% 증가한 것으로 보아 첨가 농도와 항균효과는 비례관계로 나타났다.

Bamboo oil의 경우 4.0 μl/ml를 첨가 했을 시에 발육저지대를 형성하지 않았으며, 6.0 μl/ml첨가 시 0.3±0.1 mm, 8.0 μl/ml첨가 시 1.1±0.2 mm, 10.0 μl/ml첨가 시 1.8± 0.3 mm의 발육저지대를 형성하였다.

각 시료 10.0 μl/ml첨가 시 *S. aureus*에 대한 항균력은 bamboo oil 보다 tea tree oil이 약 55.6%, BHA가 166.7 % 증가되어 항균효과는 BHA>tea tree oil>bamboo oil의 순으로 나타나났다.

6.0~10.0 μl/ml의 농도에서 bamboo oil의 항균력은 BHA의 약 7.5~37.5%, tea tree oil의 약 17.6~64.2%로 낮게 나타나 bamboo oil이 BHA나 tea tree oil 보다 항균효과는 아주 미약하였다. 그러나 6.0~10.0 μl/ml에서 항균력이 BHA의 37.5%, tea tree oil의 64.2%로 나타나 대나무의 추출용매와 추출방법 등의 추가 연구가 뒷받침된다면 천연 보존료로의 응용을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

Gram 음성균인 *E. coli* 대한 발육저지대는 BHA 4.0 μl/ml를 첨가 시 1.2±0.1 mm, 6.0 μl/ml첨가 시 1.8±0.1 mm, 8.0 μl/ml첨가 시 2.0±0.1 mm, 10 μl/ml첨가 시 2.2± 0.1 mm를 형성하여 농도가 높아짐에 따라 *S. aureus*와는 달리 크게 차이가 있는 것으로 보아 효율적인 농도는 4.0 ~6.0 μl/ml임을 알 수 있었다. 특히 bamboo oil 4.0 μl/ml 첨가 시 1.5±0.1 mm에서 10.0 μl/ml첨가 시 5.2±0.3 mm로 약 346.7% 효과가 큰 것으로 나타나 농도에 의한 항균력이 크게 달라지는 것을 알 수 있었다.

Tea tree oil 4.0 μl/ml를 첨가 시 발육저지대는 0.5± 0.1 mm, 6.0 μl/ml첨가 시 0.7±0.1 mm, 8.0 μl/ml첨가 시 1.1±0.1 mm, 10.0 μl/ml첨가 시 1.6±0.2 mm를 형성하여 *S. aureus*의 항균력 보다 미약한 것으로 나타났다.

Bamboo oil 4.0 μl/ml를 첨가 시 발육저지대는 0.3±0.1 mm, 6.0 μl/ml첨가 시 2.4±0.3 mm, 8.0 μl/ml첨가 시 4.3 ±0.3 mm, 10.0 μl/ml첨가 시 5.2±0.3 mm를 형성하였다. 4.0~10.0 μl/ml의 농도에서 *E. coli*에 대한 항균 효과는 bamboo oil은 BHA 보다 약 25.0~136.4%, tea tree oil 보다 약 200.0~291.0%가 증가된 것으로 나타나 항균력는 bamboo oil>BHA>tea tree oil의 순으로 나타났다.

각 시료의 농도에 따른 *E. coli*에 대한 항균력이 10.0 μl/ml 첨가 시 4.0 μl/ml 비해 BHA는 약 183.3%, tea tree oil은 약 320.0%, bamboo oil은 약 346.7% 큰 것으로 나타나 bamboo oil의 항균력은 농도에 의한 영향을 가장 크게 받는 것을 알 수 있었다.

본 연구에서 bamboo oil의 Gram 양성균인 *S. aureus*에 대한 항균작용은 tea treee oil의 약 17.6~∞%, BHA의 약 7.5~∞%로 나타나 항균효과가 미미한 것으로 나타났으나 *E. coli*에 대한 항균력은 tea tree oil 보다 약 300.0~ 390.9%, BHA 보다 약 125.0~236.4%로 나타나 Gram 음성균에 대해서는 훨씬 강한 항균효과가 있음을 알 수 있었다.

Broth dilution법을 이용한 minimum inhibitory concentration(MIC)

*S. aureus*와 *E. coli*를 대상으로 MIC를 조사한 결과 각 시료의 종류보다는 농도에 따라 큰 차이가 있었다. Gram 양성균인 *S. aureus*에 대해서는 BHA, tea tree oil 및 bamboo oil을 각각 4.0 μl/ml첨가 시 BHA>bamboo oil> tea tree oil의 순으로 항균력이 나타났으며 이는 disc diffusion method의 결과인 BHA>tea tree oil>bamboo oil의 항균력과는 다른 결과를 보였으나 두 방법 모두에서 BHA가 가장 효과가 큰 것을 알 수 있었다

Gram 음성균인 *E. coli*에 대해서 BHA, tea tree oil 및

Table 2. The colony form unit of *S. aureus* and *E. coli* produced by BHA, tea tree oiland bamboo oil using broth dilution method

Strains	Conc. (μl/ml)	Colony form unit[a](ea)		
		BHA	Tea tree oil	Bamboo oil
Staphylococcus aureus ATCC 2825	4.0	1.0×10^2	7.0×10^2	2.0×10^2
	6.0	nd[b]	nd	nd
	8.0	nd	nd	nd
	10.0	nd	nd	nd
Escherichia coli DH 5α	4.0	2.4×10^2	5.0×10^2	3.6×10^2
	6.0	nd	nd	nd
	8.0	nd	nd	nd
	10.0	nd	nd	nd

[a] Results from five separate experiments. [b]not detect.

bamboo oil을 각각 4.0 μl/ml첨가 시 BHA>bamboo oil> tea tree oil의 순으로 항균력이 나타났으며 이는 disc diffusion method의 결과인 bamboo oil>BHA>tea tree oil 의 항균력과는 다른 결과를 보였으나 두 방법 모두에서 tea tree oil의 효과가 가장 미미한 것을 알 수 있었다. 그러나 6.0 μl/ml 이상의 농도에서 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 MIC는 모든 시료의 경우 동일한 것으로 나타나 MIC 6.0 μl/ml 이하의 4.0 μl/ml첨가 시 항균력의 비교는 의미가 없는 것으로 보이며 시료의 종류보다는 농도에 의한 항균 효과가 크게 영향을 받는 것을 알 수 있었다.

Gram 양성균인 *S. aureus* 3.4×10^4 cells/ml에 BHA 4.0 μl/ml 첨가 시 1.0×10^2 cells/ml, tea tree oil 4.0 μl/ml 첨가 시 7.0×10^2 cells/ml, bamboo oil 4.0 μl/ml 첨가 시 2.0×10^2 cells/ml로 약 100배 정도 감소시키는 항균력을 나타내었다.

Gram 음성균인 *E. coli* 2.5×10^5 cells/ml에 BHA 4.0 μl/ml 첨가 시 2.4×10^5 cells/ml, tea tree oil 4.0 μl/ml 첨가 시 5.0×10^2 cells/ml, bamboo oil 4.0 μl/ml 첨가 시 3.6×10^2 cells/ml로 약 1000배 감소시키는 항균력을 나타내었다.

Broth dilution의 결과 각 시료 모든 농도에서 *S. aureus*에 비해 *E. coli*에 대한 항균효과가 10배 정도 우수한 것으로 나타났으나 bamboo oil만이 *E. coli*에 대한 항균효과가 약 290%~800% 우수한 것으로 나타난 disc diffusion과는 다른 결과를 보였다. 그러나 6.0, 8.0, 10.0 μl/ml에서 균이 검출되지 않은 결과로 보아 bamboo oil의 *S. aureus*와 *E. coli* 모두에서 같이 MIC(균 발육 최소 억제농도) 6.0 μl/ml으로 나타났다.

이상의 결과로 보아 bamboo oil의 Gram 음성균인 *E. coli*에 대한 항균효과는 disc diffusion method에 의하면 BHA의 125.0~236.4%, tea tree oil의 약 300.0~391.0% 강한 것으로 나타났다. 또한 broth dilution method에 의하면 사용한 시료 모두에서 6 μl/ml 이상 첨가 시 균이 검출되지 않는 점으로 보아 bamboo oil을 합성 보존료인 BHA나 수입에 의존하고 있는 천연 보존료인 tea tree oil의 대체물질로 사용하여도 우수한 효과를 기대할 수 있어 *E. coli*가 문제되는 식품에 적용할 수 있을 것으로 생각된다.

천연물질에서 항균성이 강한 물질을 검색한 후에 이를 대량 생산하여 실용화하는데 가장 큰 문제점은 경제성이 없다는데 있었다. 그러나 천연 보존료로 수입되고 있는 tea tree oil의 경우 80만원/kg이고 bamboo oil은 15만원/kg으로 4.0 μl/ml첨가 시 *E. coli*에 대한 항균력을 볼 때 bamboo oil은 tea tree oil에 비하여 약 300%가 강하고 단가는 76.5%가 저렴하므로 경제적인 측면에서 개발의 가능성이 대단히 높은 것으로 나타났다. 한편 bamboo oil의 경우 한방과 민간요법에서 목이 아플 때나 편도선염에 음용하고 있으며, 염증이 있는 피부병 치료에 이용되고 있는 것으로 보아 이미 임상실험이 이루어진 부작용이 없고 안전성이 검증된 GRAS(Generally Recognized As Safe)의 수준으로 기대되어 활성을 갖는 물질의 구조규명에 대한 추가연구가 필요하다고 생각된다.

국문요약

Bamboo oil의 천연 보존료로서의 가치를 평가하기 위해 합성 보존료인 BHA와 이미 수입되어 사용되고 있는 천연 보존료인 tea tree oil을 비교하기 위하여 disc diffusion법과 broth dilution 법으로 *S. aureus*와 *E. coli* 대한 항균력을 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다. 1. Disc diffusion법으로 *S. aureus*에 대한 항균력을 조사한 결과 BHA>tea tree oil>bamboo oil 순이었고 *E. coli*에 대한 항균력은 bamboo oil이 가장 강하게 나타났으며 다음은 BHA>tea tree oil 순으로 나타났다. 2. Broth dilution법으로 *S. aureus*와 *E. coli* 모든 시료 6.0 μl/ml 이상에서 모두 측정되지 않아 모든 시료에서 동일하게 최소억제농도가 6.0 μl/ml 이상 필요한 것으로 나타났다. 3. Bamboo oil의 이용 개발 시 경제적 조건은 동일한 항균력을 기대할 때 tea tree oil에 비하여 약 20% 정도 저렴하여 경제성이 충분히 있는 것으로 나타났다.

참고 문헌

1. 식품의약품안전청: 식품첨가물공전, (주)문영사(1998).
2. Branen, A.L: Toxicology and Biochemistry of Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **52**, 59-65 (1975).
3. Lin, C.C.S. and Fung, D.Y.C.: Effect of BHA, BHT, TBHQ., and PG on Growth and Toxigenesis of Selected Aspergilli. *J. Food Sci.*, **48**, 576-583 (1983).
4. 식품의약품안전청: 식품공전, (주)문영사 (1999).
5. Lester, P. and Alexander, N.G.: Oxygen radicals in biological systems, Academic press, London, pp. 635-650 (1993).
6. Takiguchi, A.: Lipid oxidation and hydrolysis in dried anchovy during drying and storage. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **53**, 1463-1468 (1987).
7. 石 守三, 鈴木郁生, 谷村顯雄: 食品添加物公定解說書, 弟 六版, 廣川書店, 東京, pp. D 504-509, D 968-970 (1992).
8. Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C. and Svendsen, A.B.: Antimicrobial activity of essential oils; a 1976-1986 literature review. *Planta. Med.*, **53**, 395-400 (1987).
9. Recio, M.C., Rias, J.L. and Villar, A.: A review of some antimicrobial compounds isolated from medical plants reported in the literature 1978-1988. *Phytother. Res.*, **3**, 117 (1988).
10. Yousef, R. T. and Tawil, G. G.: Antimicrobial activity of volatile oils. *Pharmazie.*, **35**, 698 (1980).
11. Janssen, A.M., Chin, N.L., Scheffer, J. J. and Baerheim, S. A.: Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overley technique. *Pharm. Weekbl* [Sci]., **12**, 289-295 (1986).
12. Williams, L. and Lusunz, I.: Essential oil from Melaleuca dissitiflora. Ind. *Crops. Prod.*, **2**, 211-217 (1994).
13. Carson, C.F. and Riley, T.V.: Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of Melaleuca alternifolia. *J. Appl. Bacteriol.*, **78**, 264-269 (1995).
14. Penolope, A. and Doran, J.: Intraspecific variation in leaf oils of Melaleuca alternifolia. *Biochem. Syst. Ecol.*, **22**, 419-425 (1994).
15. Park, M.Y., Choi, S.T. and Chang, D.S.: Antimicrobial activity of pectin hydrolysate and its preservative effect. *J. Fd Hyg. Safety.*, **13**, 99-105 (1998).
16. Pattnaik, S., Subraman, V. R. and Kole, C. R.: Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios.*, **86**, 273-280 (1996).
17. Lim, S.W. and Kim, T.H.: Physiological Activity of Alliin and Ethanol Extract from Korean Garlic(*Allium Sativum, L.*). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 348-354 (1997).
18. Singh, H.B. and Singh, U.P.: Inhibition of growth and sclerotium formatiom in *Rhizoctonia solani* by garlic oil. *Mycologia.*, **72**, 1022-1029 (1980).
19. Kim, S.J. and Park, K.H.: Antimicrobial Substances in Leek(*Allium tuberosum*). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**. 604-608 (1996).
20. Shin, D.H., Kim, M.S. and Han, J.S.: Antimicrobial Effect of Ethanol Extracts from Some Medical Herbs and Their Fractionates against Food-Born Bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**. 808-816 (1997).
21. Oh, D.H., Ham, S.S., Park, B.K., Ahn C. and Yu, J.Y.: Antimicrobial Activities of Natural Medical Herds on the Food Spoilage or Foodborne Disease Microoganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**. 957-963 (1998).
22. Jeong, E.T., Park, Y.M., Lee, J.G. and Chang, D.S: Antimicrobial Activity and Antimutagenesis of Cinnamom(Cinnamomum cassia Blume) Bark Extract. *J. Fd Hyg. Safety.*, **13**, 337-343 (1998).
23. Cho, H, et al: Antimicrobials effect of the extracts of Sophora of leavescens Ait(II), *Yokhak Hoeji*, **43**, 419-422 (1999).
24. 이민재: 약용식물학, 동명사, 서울 (1995).
25. 구본흥: 사전식 동의보감, 한국사전연구사, 서울, pp. 954-960 (1997).
26. Shin, D.W. and Lee, B.W.: Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage, mcrooganisms. *Korean J. Food Sci. Technol*, **23**, 200-204 (1991).
27. Chung, M.J., Lee, S.J., Shin, J.H., Jo, J.S. and Sung, N.J.: The Components of the Sap from Birches, Bamboos and Darae. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 727-733 (1995).
28. Harkenthal. M.: Comparative study on the in vitro antibacterial activity of Australian tea tree oil, cajuput oil, niaouli oil, manuka oil, kanuka oil, and eucalyptus oil. *Pharium.* **54**, 460-463. (1999).
29. Lis-Balchin M, et al: An investigation of the action of the essential oils of manuka(leptospermum scoparium) and Kanuka(Kunzea ericoides), Mytaceae on guinea-pig smooth muscle. *J Pharm Pharmacol.* **50**, 809-811 (1998).
30. Perry, N.B., Brennan, N.J., Klink, van J.W., Harris, W., Douglas, M.H., McGimpsey, J.A., Smallfield, B.M. and Anderson, R.E.: Essential oil from new Zealand Manuka and kanuka. Chemotaxonomy of Leptospermum. *Phytochemistry*, **8**, 1485-1493 (1997)
31. Davidson, P.M. and A.L Branen.: Antimicrobial mechanisms of buthylated hydroxyanisole against two Pseudomonas species. *J. Food Sci.*, **45**, 1607-1613 (1980).
32. Shelef, L.A. and P. Liang.: Antibactderial effects of butylated hydroxyanisole against Bacillus species, *J. Food Sci.*, **47**, 796-802 (1982).