

식중독유발 세균의 증식에 미치는 백화사설초 추출물의 영향

배 지 현

계명대학교 식품영양학과

Antimicrobial Effect of *Hedyotis diffusa* Extracts on Food-Borne Pathogens

Ji-Hyun Bae

Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the antimicrobial effect of the *Hedyotis diffusa* extracts against food-borne pathogens. First, the *Hedyotis diffusa* was extracted with methanol at room temperature and the fractionation of the methanol extracts was carried out by using petroleum ether, chloroform, and ethyl acetate, and methanol respectively. The antimicrobial activity of the *Hedyotis diffusa* extracts was determined by using a paper disc method against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. The methanol extracts of *Hedyotis diffusa* showed the highest antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella flexneri*. Synergistic effect in inhibition was observed when *Hedyotis diffusa* extract was mixed *Sophora subprostrata* extract as compared to each extracts alone. Finally, the growth inhibition curves were determined by using ethyl acetate extracts of *Hedyotis diffusa* against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Typhimurium. The methanol extract of *Hedyotis diffusa* had strong antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* at the concentration of 4,000 ppm. At this concentration, the growth of *Staphylococcus aureus* was retarded more than 36 hours and up to 24 hours for *Salmonella* Typhimurium. In conclusion, the methanol extracts of *Hedyotis diffusa* inhibit efficiently *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Typhimurium.

Key words: *Hedyotis diffusa*, antimicrobial activity, food-borne pathogens

서 론

현대사회는 경제발전과 더불어 고도로 조직화, 산업화되고 있고 식생활 양상에도 변화가 일어 최근 가공식품의 소비가 증가하고 있다. 이에 따라 식품의 저장기간을 연장시키기 위한 식품보존제가 활발하게 이용되고 있고, 소비자들의 식품에 대한 건강 지향적인 욕구가 커짐에 따라 천연 식품보존제의 개발을 위한 많은 연구들이 수행되고 있다. 식생활의 서구화나 다양화와 더불어 단체급식이나 외식의 기회가 증대되고 있는데, 단체급식에서 가장 문제가 되고 있는 것은 식품 위생문제로서 국내의 경우도 식중독 발생이 점차 대형화되고 있는 추세이다. 우리나라 식중독 발생의 경우 주 원인으로 살모넬라균이나 포도상구균, 세균성이질균 등을 들 수 있는데(1), 이와 같은 식중독 유발세균에 대한 천연 식품의 항균효과를 과학적으로 검증하고자 하는 연구가 활발히 진행 중이다(2,3). 본 연구에 사용한 백화사설초는 예로부터 민간요법에서 널리 사용되어 온 풀로, 열을 내리고 독을 풀며 염증을 삭이고, 통증을 멎게 하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다(4).

백화사설초(*Hedyotis diffusa*)는 꼭두서니과에 속하는 일년생 초본으로 흰꽃이 핀다하여 백화, 밤의 헛바닥처럼 생긴 잎이 돋는다 해서 사설초를 붙여 '백화사설초'라 불리고 있다. 원래 중국이 원산지이지만 우리나라에서 제주도 한라산과 전남 백운산 습지에서 자라는 것이 발견되고 있다. 이밖에 일본, 대만, 말레이시아, 인도 등에서도 분포하며 밑부분이 옆으로 자라면서 가지가 갈라져 비스듬히 서며 백색털이 다소 있다(5). 백화사설초가 포함하고 있는 성분 중에는 β -sitosterol이 있는데 이는 고등식물에 가장 풍부하게 존재하는 phytosterol 중 하나이다(6). 이것은 발암원으로 유발된 쥐의 대장암을 억제할 수 있는 것으로 보고된 바 있으며 항염증효과, 면역증강효과 등이 있는 것으로 알려져 있다(7). 뿐만 아니라 이 성분은 항암효과가 있는 것으로도 밝혀져 이와 관련된 연구도 활발하게 진행되고 있는 중이다(8). 본 연구에서는 이처럼 한방과 민간요법에서 경험적으로 얻은 약리효과를 토대로 많은 생리 활성이 검증되고 있는 백화사설초를 이용하여, 이들의 식중독성 미생물에 대한 항균효과를 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험에서 사용한 항균성 시험 대상 식물인 백화사설초와 산두근은 한국산으로, 대구시 중구 남성로 약전 골목에서 2004년 7월, 건조 상태의 것을 구입하였다. 불순물을 제거하기 위해 가볍게 2번 수세하여 건조시킨 후, 추출용 시료로 사용하였다.

사용 균주 및 배지

백화사설초 추출물의 항균실험에 사용한 균주는 Gram(+) 세균 2종과 Gram(-)세균 7종으로 총 9종을 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 분양 받아 사용하였다(Table 1). 균의 생육배지로는 모든 균주에 대하여 Tryptic Soy Broth (Difco, TSB)를 사용하여 37°C, incubator에서 18~24시간 배양하였다. 항균성 실험에 사용한 고체배지는 Tryptic Soy Agar(Difco, TSA)였다.

추출물 제조

건조시킨 백화사설초 300 g에 대해 백화사설초 중량의 2배 분량인 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol을 사용하여 항균성 물질을 추출하였다. 추출관에 백화사설초를 넣고 1 L의 methanol을 넣은 후 실온에서 6시간 방치한 후, Whatman No.2(Whatman international Ltd., England)에 여과하여 불순물을 제거하였다. 여과된 용액은 감압농축기(EYELA, N-N. Series, Japan)를 사용하여 35°C에서 감압·농축하였으며 농축한 추출물은 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 methanol을 각각 사용하여 용매 계통 분획하였다. 이 때 methanol 추출물과 각종 유기용매를 개별 깔대기에 넣고 5분간 수작업으로 흔들어 혼합한 후, 15분간 실온에 방치시킨 후 분리하였다. 백화사설초의 열수추출물은 유기용매로 추출하고 남은 잔사에 1차 증류수를 넣고 100°C에서 30분간 끓인 후 동일한 방법으로 여과하였다. 여과된 용액은 감압농축기(EYELA, N-N. Series, Japan)를 사용하여 45°C에서 감압·농축하였으며 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. 산두근도 위와 동일한 방법으로 시료를 준비하였다.

Table 1. List of microorganisms used for antimicrobial activity test

	Strains
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 27348
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028
	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076
	<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931
	<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9199
	<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022

백화사설초 추출물의 항균활성 측정

항균성 물질을 검색하기 위해 본 실험에서는 paper disc 방법을 사용하였다(9). Tryptic Soy Broth(TSB)배지에 배양한 세균을 spectrophotometer(Nontron instruments, Italy) 560 nm에서 O.D.값 0.4로 흡광도를 조절하고 pour-plate method에 따라 Tryptic Soy Agar(TSA)배지가 분주된 배양접시에 균일하게 섞은 후 실온에서 굳혔다. 이 배지 위에 멸균된 paper disc를 시료 수에 맞게 올리고 밀착시킨 후 백화사설초의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol, 열수추출물을 각각 250 ppm, 500 ppm, 1,000 ppm, 2,000 ppm으로 희석하여 20 µL씩 천천히 흡수시켰다. Control로 백화사설초 추출물이 들어 있지 않은 70% ethanol을 실험군과 동일한 방법으로 점적하였다. 준비된 모든 plate는 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 clear zone(mm)의 크기를 측정하여 각 분획물의 항균 활성을 측정하였다.

항균력의 상승효과 측정

백화사설초 추출물을 다른 항균성 식물 추출물과 혼합했을 시 항균력의 상승 여부를 확인하고자 산두근 추출물과의 혼합을 시도하였다. 본 실험의 예비 실험에서 항균력이 있음이 입증된 백화사설초의 methanol 추출물과 산두근의 ethyl acetate 추출물을 각각 1,000 ppm씩 섞고, 백화사설초의 methanol 추출물 2,000 ppm 및 산두근의 ethyl acetate 추출물 2,000 ppm과 항균력을 비교하였다. 대상 균주는 *Staphylococcus aureus* 및 *Shigella flexneri*를 사용하고, 대조군으로 70% ethanol을 각 시료와 동일한 양인 20 µL씩 분주하여 검증하였다.

미생물의 생육 곡선 측정

백화사설초의 methanol 추출물을 membrane filter(0.2 µm, pore size, Toyoroshi kaisha, Ltd, Japan)로 체균시키고, 액체배지에 각 추출물을 1,000 ppm, 2,000 ppm 및 4,000 ppm 농도별로 첨가하였다. 여기에 O.D.값을 0.4로 맞춘 세균 배양액을 10⁹배 희석하여 무균적으로 접종하고 37°C에서 72시간 배양하면서 12시간마다 세균 배양액의 증식정도를 660 nm에서 spectrophotometer로 측정하였다(10).

결과 및 고찰

백화사설초의 각종 유기용매 및 열수추출물의 수율

백화사설초의 추출물을 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 methanol로 각각 분리한 결과, 각 분획물의 추출 수율은 Table 2와 같이 나타났다. 백화사설초의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 분획물 및 열수추출물은 각각 0.3%, 2.3%, 0.9%, 5.5% 및 6.6%로 나타나, petroleum ether의 수율이 가장 낮았고 열수추출물의 수율이 가장 높았다.

백화사설초의 유기용매 및 열수추출물의 항균활성 검색 Paper disc 방법으로 백화사설초의 각종 유기용매 분획물

Table 2. Yield of organic solvents and water extracts from *Hedyotis diffusa*

Fraction	Dried weight (g)	Yield (%)
Petroleum ether extract	0.8	0.3
Chloroform extract	6.7	2.2
Ethyl acetate extract	2.8	0.9
Methanol extract	16.7	5.5
Aqueous extract	19.8	6.6

및 열수추출물을 각종 식품부패균 및 식중독균에 적용시켜 항균 활성을 실험해 본 바 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다. Gram 양성균에 대한 백화사설초의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 추출물 및 열수추출물의 항균활성은 Table 3과 같이 나타나 disc에 점적한 백화사설초의 각종 추출물의 농도가 증가할수록 항균 활성이 크게 나타났다. 즉 농도가 증가할수록 항균 활성을 나타내는 inhibition zone의 크기가 증가하여 methanol 추출물의 경우 *S. aureus*에 대해 2,000 ppm 농도에서 22 mm로 가장 큰 활성도를 나타내었다(Fig. 1). 백화사설초 추출물의 종류 및 농도에 따라 각 균주들에 대한 다른 활성을 나타내 균의 종류에 따라 각기 다른 항균활성을 나타내, 백화사설초의 ethyl acetate 추출물은 *Shigella dysenteriae*에 대해 주된 항균 활성을 나타내었고, 백화사설초의 열수추출물은 *Pseudomonas aeruginosa*에서 가장 큰 활성을 나타내었다. 백화사설초의 methanol 추출물은 본 실험에 사용한 모든 균주에 대해 항균활성을 나타내었고 500 ppm농도에서도 항균효과가 나타났다. 한편 짚신나물의 methanol 추출물도 *S. aureus*의 생육억제 항균 활성이 있음이 보고된 바 있다(11). 본 실험에 사용한 각종 백화사설초 추출물의 Gram 음성균에 대한 항균력 검색 결과는 Table 4와 같이 나타났다. 백화사설초의 methanol 추출물은 Gram 음성균에 대해서도 폭넓은 항균력을 지니고 있음을 알 수 있었는데 Baek 등(12)은 고삼의 에탄올 추출물이 *S. aureus*와 *E. coli*에서 항균효과를 보고한 바 있다. 한편 본 실험에 사용한 백화사설초 추출물의 농도가 250 ppm이하인 경우에는 항균 효과를 검증할 수 없었고, 백화사설초의 petroleum ether 추출물과 chloroform 추출물의 경우

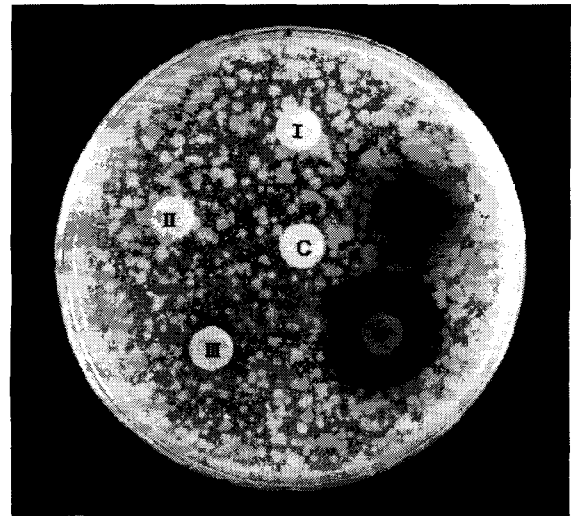


Fig. 1. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Hedyotis diffusa* against *Staphylococcus aureus* at the concentration of 2,000 ppm.

C: control (70% ethanol), I: petroleum ether extract, II: chloroform extract, III: ethyl acetate extract, IV: methanol extract, V: aqueous extract.

도 모든 균주에 대해 그다지 큰 항균활성을 나타내지 않았다. Hong 등(13)은 유백피의 butanol 추출물이 Gram 양성균인 *S. aureus*, *S. faecalis* 및 *Bacillus* sp.에 대하여 발육억제 효과를 보이며 Gram 음성균인 *E. coli*와 진균인 *Candida albicans*에 대해서는 억제효과가 없다고 보고한 바 있다. 또한 Moon 등(14)은 손바닥 선인장의 메탄올 추출물이 그램 음성균 중 *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium에 항균 효과를 나타내었으며, 그램 양성균 중 *Bacillus subtilis*에 대해 항균 효과를 나타낸다고 하였다. 그 밖에 대황의 메탄올 추출물도 항균 효과를 나타낸다고 보고된 바 있다(15).

백화사설초 추출물과 산두근추출물의 상승 효과

백화사설초의 methanol 추출물과 산두근의 ethyl acetate 추출물을 섞었을 경우 나타나는 항균효과는 Table 5와 같이 나타났다. 본 실험에서 가장 민감한 항균효과를 보였던 *S. aureus*에 대한 두 식물 추출물의 항균력은, 백화사설초 추출

Table 3. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Hedyotis diffusa* against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) ¹⁾				
		PE	C	EA	M	W
<i>Staphylococcus aureus</i>	250	- ²⁾	-	-	-	-
	500	-	-	-	9	-
	1,000	-	-	9	15	-
	2,000	-	-	10	22	-
<i>Bacillus cereus</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	9	-	-
	1,000	-	-	12	10	-
	2,000	-	-	16	11	-

¹⁾Diameter. ²⁾No inhibitory zone was formed.

PE: Petroleum ether extract, C: Chloroform extract, EA: Ethyl acetate extract, M: Methanol extract, W: Water extract.

Table 4. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Hedyotis diffusa* against Gram negative bacteria

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) ¹⁾				
		PE	C	EA	M	W
<i>Escherichia coli</i>	250	- ²⁾	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1,000	-	-	10	9	-
	2,000	-	-	11	11	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	9	-	-
	1,000	-	-	12	9	10
	2,000	-	-	15	10	12
<i>Salmonella Typhimurium</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1,000	-	-	10	9	-
	2,000	-	-	14	12	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1,000	-	-	10	9	-
	2,000	-	-	11	11	-
<i>Shigella sonnei</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	10	-
	1,000	-	-	9	13	-
	2,000	-	-	10	16	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	9	-	-
	1,000	-	-	12	10	-
	2,000	-	-	14	12	10
<i>Shigella flexneri</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	10	9	-
	1,000	-	-	12	10	-
	2,000	-	-	15	12	9

¹⁾Diameter. ²⁾No inhibitory zone was formed.

PE: Petroleum ether extract, C: Chloroform extract, EA: Ethyl acetate extract, M: Methanol extract, W: Water extract.

Table 5. Antimicrobial activity of each and combined extracts from *Hedyotis diffusa* and *Sophora subprostrata*

Strains	Clear zone on plate (mm) ¹⁾ at 2,000 ppm			
	Control	<i>Hedyotis diffusa</i> (2,000 ppm)	<i>Sophora subprostrata</i> (2,000 ppm)	Both ³⁾ (each 1,000 ppm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	- ²⁾	17	12	24
<i>Shigella flexneri</i>	-	12	9	17

¹⁾Diameter. ²⁾No inhibitory zone was formed.

³⁾*Hedyotis diffusa* and *Sophora subprostrata*.

물과 산두근 추출물을 혼합했을 경우 더 크게 나타나, 백화사설초의 methanol 추출물만을 단독으로 2,000 ppm 준 경우 (17 mm)보다 산두근의 ethyl acetate 추출물 1,000 ppm에 백화사설초의 methanol 추출물 1,000 ppm을 섞어 준 경우가 더 큰 항균력을 보였다(24 mm). *S. flexneri* 균에 대해서도 두 추출물을 각각 1,000 ppm씩 섞어 투여한 경우가 백화사설초의 methanol 추출물 2,000 ppm을 단독으로 준 경우보다 높은 항균력을 보였다(Fig. 2).

백화사설초의 methanol 추출물이 Gram 음성 및 Gram 양성균의 증식에 미치는 영향

백화사설초의 methanol 추출물을 농도별로(0 ppm, 1,000

ppm, 2,000 ppm 및 4,000 ppm) TSB배지에 첨가하고, Gram 양성균인 *S. aureus*와 Gram 음성균인 *Salmonella Typhimurium*에 각각 접종시켜 72시간 배양하면서 일정 시간 간격으로 균주의 성장 정도를 측정해 본 바, Fig. 3 및 Fig. 4와 같은 증식곡선을 얻을 수 있었다. *S. aureus*의 경우, 백화사설초의 methanol 추출물을 넣지 않은 control배지에서 배양했을 시 12시간 후부터 급격한 증가를 보여 빠른 성장이 일어남을 관찰할 수 있었다. 백화사설초의 methanol 추출물 4,000 ppm의 농도에서는 균의 증식이 완만하게 이루어져 균의 성장이 24시간까지 억제됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). Jeon 등(16)은 질경이의 methanol 추출물이 *S. aureus*의 성

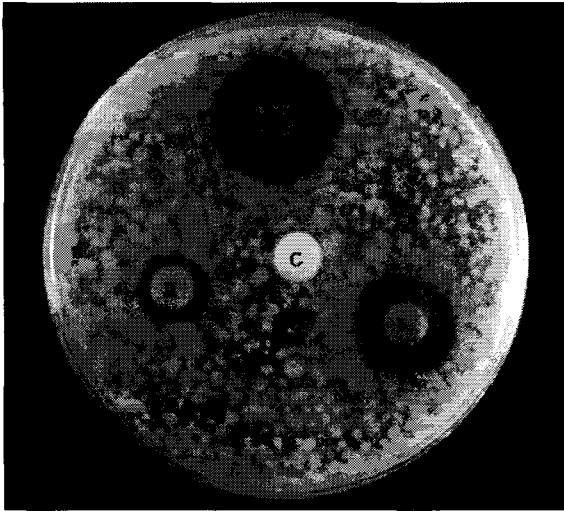


Fig. 2. Antimicrobial activities of methanol extract of *Hedyotis diffusa* and ethyl acetate extract of *Sophora subprostrata* and combined extracts against *Staphylococcus aureus*. C: control (70% ethanol), I: *Hedyotis diffusa* (2,000 ppm), II: *Sophora subprostrata* (2,000 ppm), III: *Hedyotis diffusa* (1,000 ppm) and *Sophora subprostrata* (1,000 ppm).

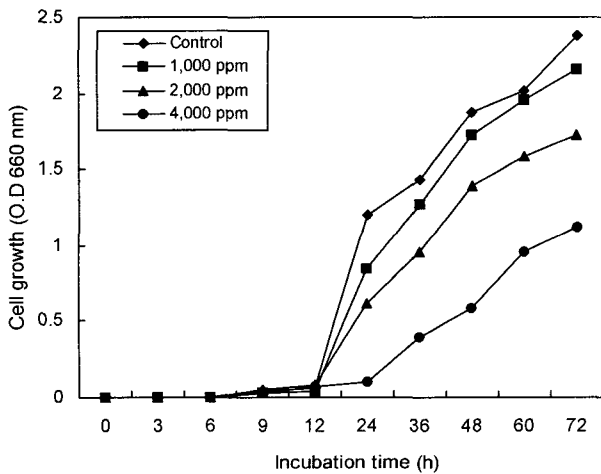


Fig. 3. Effect of ethyl acetate extracts of *Hedyotis diffusa* on the growth of *Staphylococcus aureus*. Concentration of ethyl acetate extracts: —◆—, control; —■—, 1,000 ppm; —▲—, 2,000 ppm; —●—, 4,000 ppm.

장을 억제한다고 보고한 바 있는데, 본 실험에서도 백화사설초의 methanol 추출물이 *S. aureus*의 증식에 억제 효과를 보였다. 한편 식중독 가운데 이질에는 세균성 이질과 아메바성 이질이 있는데 식품위생상 문제가 되고 있는 이질은 세균성 이질이다. 주로 10세 이하의 연령층에서 초여름에 많이 발생하며 원인균으로는 *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei* 등이 있는데 우리나라의 경우 *S. flexneri*가 대부분을 차지하며 *S. dysenteriae*에 의해 감염된 경우는 중증을 유발한다. Lee와 Park(17)은 부추의 추출물이 *S. aureus* 및 *E. coli*에 대한 생육저해 효과를 보이며 특히 *S. aureus*에 대해 농도에 비례하여 상당한 항균 활성을 갖는다고 보고한 바 있어, 천연물에서 분리되는 각종 항균성 물질을 잘 섞어 활용하면 식

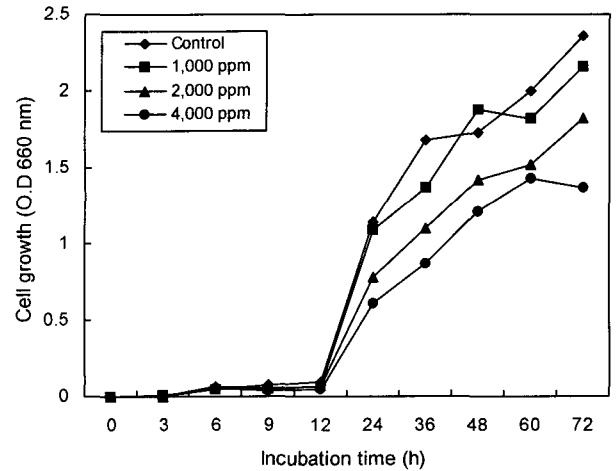


Fig. 4. Effect of ethyl acetate extracts of *Hedyotis diffusa* on the growth of *Salmonella Typhimurium*. Concentration of ethyl acetate extracts: —◆—, control; —■—, 1,000 ppm; —▲—, 2,000 ppm; —●—, 4,000 ppm.

중독 균의 성장을 효율적으로 억제할 수도 있을 것으로 사료된다. 백화사설초의 methanol 추출물이 *Salmonella Typhimurium*에 대해 미치는 생육 저해 정도를 동일한 방법으로 72시간 동안 살펴본 바 Fig. 4와 같은 결과를 얻을 수 있었다. 백화사설초의 methanol 추출물을 첨가하지 않은 control의 경우 배양 후 12시간부터 급속한 균의 증식을 볼 수 있었고, 4,000 ppm 농도를 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 이루어져 백화사설초의 methanol 추출물이 *S. aureus*와 *Salmonella Typhimurium*균의 성장을 효율적으로 억제시킬 수 있는 것으로 판단되었다.

요 약

본 연구에서는 식중독 유발세균에 대한 항균활성이 우수한 천연 항균성 물질을 검색하기 위해 예로부터 민간과 한방에서 널리 이용되어 온 백화사설초를 각종 유기용매로 추출하여 식중독 유발세균에 대한 항균활성을 조사해 보았다. 백화사설초를 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol을 이용하여 실온에서 각각 용매별로 계통 분획하고, 열수추출물을 얻은 후, 9종의 식중독 유발세균(*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*)에 대하여 항균효과를 조사하였다. 백화사설초 추출물의 농도별 항균 활성 검색에서는 백화사설초의 methanol 추출물이 가장 큰 항균 효과를 보였으며 *S. aureus*와 *S. flexneri*가 가장 민감하게 반응하는 균주였다. 백화사설초의 methanol 추출물과 산두근의 ethyl acetate 추출물을 혼합하여 항균력을 측정해 본 결과 두 추출물을 섞어 첨가했을 경우가 단독으로 사용했을 시보다 상승효과를 나타내었다. 또

한 백화사설초의 methanol 추출물이 식중독 유발세균의 성장에 미치는 효과를 검증하기 위해 *S. aureus* 및 *S. Typhimurium*의 배양액에 백화사설초의 methanol 추출물을 각각 4,000 ppm 농도로 첨가했을 시, *S. aureus*의 생육이 36시간 이상까지 억제됨을 관찰할 수 있었고, *S. Typhimurium*의 생육도 24시간까지 지연시킬 수 있었다. 이상의 결과 백화사설초의 methanol추출물은 *S. aureus*와 *S. Typhimurium*의 성장을 효과적으로 억제시킴을 알 수 있었다.

문 헌

1. Moon BS. 2003. *Food sanitation*. 2nd ed. Shinkwang Publishing Co., Seoul, Korea. p 75-116.
2. Kang SK. 1995. Isolation and antimicrobial activity of antimicrobial substance obtained from leaf mustard (*Brassica juncea*). *Kor J Food Sci Technol* 24: 697-698.
3. Park SK, Park SW, Lee KI, Seo SK, Shim KH. 1995. Antimicrobial activity and heat stability of water-pretreated extract of leaf mustard dolsan (*Brassica juncea*). *J Kor Soc Food Nutr* 24: 710-715.
4. Lee YN. 1996. *Flora of Korea*. Kyohak Publishing Co., Seoul, Korea. p 637.
5. Ko KS, Jeon ES. 2003. *Ferns, fern-allies and seed-bearing plants of Korea*. Iljin Publishing Co., Seoul, Korea. p 623.
6. Kim YH. 1995. Studies on the constituents of *Oldenlandia diffusa*. *Kor J Medicinal Crop Sci* 3: 91-95.
7. Choi YH, Kim YA, Park C, Choi BT, Lee WH, Hwang KM, Jung KO, Park KY. 2004. β -Sitosterol induced growth inhibition is associated with up-regulation of Cdk inhibitor p21^{WAF1/CIP1} in human colon cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1-6.
8. Lim WK, Gwon KC. 1996. A study on the antitumor activity of the extracts from *Hedyotis diffusa* wild. *Seoul National Univ J Agricultural Sci* 21: 1-6.
9. James GC, Sherman J. 1987. *Chemotherapeutic agent in microbiology, a laboratory manual chemical agents of control*. 2nd ed. Prentice Hall, New Jersey, USA. p 247-254.
10. Karapinar M. 1990. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *Int'l J Food Microbiol* 10: 193-200.
11. Lee ES, Seo BI. 2003. Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* by *Agrimonia pilosa* Ledeb. extract. *J Oriental Med Pathol* 3: 37-42.
12. Baek NI, Shin DH, An EY, Oh JA. 1998. Biological activity/nutrition: Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Sophora flavescens*. *Kor J Food Sci Technol* 30: 672-679.
13. Hong ND, Kim NJ, Noh YS, Kim JS. 1990. Studies on the pharmacological activities and constituents of *Ulm cortex*. *Kor J Pharm* 21: 201-204.
14. Moon YI, Lee YC, Han YN, Jeong SW. 1999. Quality characteristics of wet noodle added with powder of *Ountia ficus-indica*. *Kor J Food Sci Technol* 31: 1604-1612.
15. Kim MR, Lim MK. 2003. Antimicrobial activity of methanol extract from *Rheum tanguricum* against food hazardous microorganisms and the composition of the extract. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19: 470-476.
16. Jeon YO, Han YS, Kim SI, Kim KH. 1998. Screening of antimicrobial activity of the plantain (*Plantago asiatica L.*) extract. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 14: 498-502.
17. Lee MK, Park IS. 2001. Growth retardation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by leek extract. *J Food Sci Nutr* 30: 196-198.

(2004년 10월 26일 접수; 2004년 12월 8일 채택)