

## 식중독유발 세균의 증식에 미치는 천초근 추출물의 영향

배지현<sup>†</sup> · 장혜정 · 정정임

계명대학교 식품영양학과

### Antimicrobial Effect of *Rubia akane* Nakai Extract on Food-Borne Pathogens

Ji-Hyun Bae<sup>†</sup>, Hye-Jung Jang and Jung-Im Jung

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

#### Abstract

This study was performed to investigate the antimicrobial activity of the *Rubia akane* Nakai extract against food-borne pathogens. First, the *Rubia akane* Nakai was extracted with methanol at room temperature and the fractionation of the methanol extract was carried out by using petroleum ether, chloroform, and ethyl acetate, and methanol. The antimicrobial activity of the *Rubia akane* Nakai extract was determined by using a paper disc method against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. The methanol extract of *Rubia akane* Nakai showed the highest antimicrobial activity against *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Synergistic antimicrobial effect was observed when *Rubia akane* Nakai extract was mixed with *Viscum album* var. *coloratum* extract as compared to each extract alone. Finally, the growth inhibition curves were determined by using methanol extract of *Rubia akane* Nakai against *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The methanol extract of *Rubia akane* Nakai had strong antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* at the concentration of 4,000 ppm. At this concentration, the growth of *Pseudomonas aeruginosa* was retarded more than 72 hours and up to 48 hours for *Bacillus cereus*. From these results, it was concluded that the methanol extract of *Rubia akane* Nakai inhibited effectively *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key words:** *Rubia akane* Nakai, antimicrobial activity, food-borne pathogens

#### 서 론

최근 음식문화의 발달에 따른 식습관의 변화에 의하여 자주 발생하는 식중독균들은 *Salmonella*속균과 *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Welchii*균과 육제품 및 가공류에서 검출된 *E. coli* O157:H7 등이 있으며 식품 전반에 걸쳐 광범위하게 분포되어 있다(1). 식품의 부패와 변질은 주로 미생물작용에 의해 일어나는데, 이를 방지하기 위해 가열처리, 냉장, 냉동, 보존제 첨가, 방사선 조사 등 다양한 방법들을 사용하여 저장기간의 연장을 시도하고 있다. 그러나 가열처리나 냉장 및 냉동법은 제품 질의 저하, 저장비용의 증가를 가져올 수 있으며 합성보존제의 경우는 그 안전성에 대한 우려를 낳고 있어 근래에는 소비자들의 건강 욕구 증대에 따라 점차 사용량을 제한하려는 추세이다. 이러한 상황들을 극복하기 위한 방법의 하나로 천연소재로부터 얻은 항균제를 식품에 첨가하여 보존제로 이용함으로써 식품의 신선함과 안전성을 동시에 만족시키고자 하는 노력이 수반되고 있다. 마늘(2), 양파(3) 및 정향(4) 등과 같은 각종 향신료들로부터 추출한 성분들에 관한 항균력이 보고된 바 있

으며 그밖에 chitin(5)과 chitosan(6) 등의 동물성 항균성 물질이 보고된 바도 있다. 최근에는 한약재와 같은 천연식물 중에서도 상당한 항균성 물질이 존재한다고 알려져 이들 성분의 약리작용 및 항균성 효과에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(7-9). 따라서 본 연구에서는 천연 식물 추출물에서 이러한 식중독 유발세균에 대한 항균력이 있는 물질을 검색하고자 천초근을 사용하였다.

천초근(혈견수(血見愁), 지소목(地蘇木), 팔선초(八仙草); *Rubia akane* Nakai)은 민간명으로 꼭두서니라고도 하는데 예로부터 다양한 약리에 효과가 있는 것으로 알려져 왔다. 한방에서는 혈액순환을 원활하게 하여 어혈을 없애고 지혈작용을 하는 것으로 알려져 있고 관절이 저리고 아픈 것을 다스리는 곳에 사용되고 있다(10). 최근 약리실험 결과에 의하면 강심작용, 지혈촉진작용, 자궁수축작용, 이뇨작용, 항균작용 등이 보고되고 있다(11-14). 본 연구에서는 이와 같은 천초근이 각종 식중독 유발 세균의 증식에 미치는 영향에 대해 조사해 보고, 한방에서 널리 혼합되어 처방되고 있는 겨우살이 추출물을 천초근 추출물과 섞어 이들의 항균력을 검증해 보고자 하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: jhb@kmu.ac.kr  
Phone: 82-53-580-5875, Fax: 82-53-580-5885

## 재료 및 방법

### 시료

본 실험에 사용한 천초근과 겨우살이는 한국산으로 대구 시 중구 약전골목 내 약업사에서 건조된 것을 구입하여 미세하게 마쇄한 후 추출용 시료로 사용하였다. 사용한 시료의 양은 500 g이었다.

### 사용균주 및 배지

천초근 및 겨우살이 추출물의 항균실험에 사용한 균주는 그람 양성세균 2종과 그람 음성세균 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.

### 항균성 물질의 추출

천초근 및 겨우살이의 항균성 물질을 유기용매로 추출할 때는 petroleum ether, chloroform, ethylacetate, methanol 순으로 추출하였다. 건조된 천초근을 깨끗이 씻어 말린 후 마쇄하여 500 g을 추출관에 각각 나누어 담는다. 먼저 petroleum ether를 넣어 천초근이 완전히 잠기도록 붓고 유기용매가 휘발하지 않도록 추출관 위를 밀봉한다. 이 상태로 5시간 방치한 후 추출관으로부터 추출 성분을 수거하고 사용한 유기용매가 완전히 휘발하도록 한 후 chloroform, ethylacetate, methanol을 같은 방법으로 차례대로 추출한다. 이렇게 얻어진 4가지 천초근 추출물을 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. 열수추출은 앞에서 사용한 유기용매가 모두 휘발하도록 하루정도 그늘에서 방치한 후 여기에다 증류수를 시료가 잠기도록 넣고 hot plate에서 100°C에서 30분 이상 끓인 후 여과하여 감압, 농축하였다. 이것을 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

### 천초근 추출물의 항균활성 측정

항균효과 실험을 하기 위하여 paper disc method을 사용하였다(15). 각 시험 균주는 사면배지에 배양된 것을 1백종이를 취하여 5 mL의 TSB(Tryptic Soy Broth)배지에 접종

한 후 37°C 배양기에 24시간 배양해서 spectrophotometer를 사용하여 650 nm에서 흡광도가 0.4가 되도록 조절한 후 사용하였다. 각 균주 150 µL를 petri dish에 넣고 여기에 멸균된 TSA(Tryptic Soy Agar)배지 7 mL를 분주하여 고루 섞은 후에 완전히 굳힌 다음 10분 동안 incubator에 넣어둔다. 멸균된 paper disc(6 mm, whatman)를 배지 표면에 5개씩 얹고 밀착시킨 후 천초근 추출물을 농도별(250, 500, 1000 mg/mL)로 20 µL를 흡수시켜 건조시킨 다음 37°C incubator에서 24시간 동안 배양하여 paper dish 주위의 clear zone의 크기(cm)를 측정하여 항균력을 비교하였다. Control은 70% ethanol을 각 시료와 동일한 양인 20 µL를 paper dish에 분주한 것으로 하였다.

### 항균력의 상승효과 측정

항균력 측정 시와 동일한 방법으로 겨우살이 추출물을 준비하고, 본 연구의 예비실험에서 가장 높은 항균력을 보였던 겨우살이의 petroleum ether추출물을 천초근의 methanol 추출물과 혼합해 보았다. Paper disc에 천초근의 methanol 추출물과 겨우살이의 petroleum ether 추출물을 250 mg/mL 농도로 20 µL를 흡수시켜 건조시킨 다음 37°C incubator에서 24시간 동안 배양하고 paper disc 주위의 clear zone의 크기(cm)를 측정하였다. Control은 70% ethanol을 각 시료와 동일한 양인 20 µL를 paper disc에 분주한 것으로 하였다. 균주는 항균실험에서 항균력이 가장 크게 나타난 *Bacillus cereus*와 *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였다.

### 미생물의 생육 곡선 측정

천초근의 methanol 추출물을 TSB배지에 1,000 ppm, 2,000 ppm, 4,000 ppm 농도별로 첨가하여. 여기에 O.D값을 0.4로 맞춘 세균 배양액을 각각 1 mL씩 접종하고 37°C에서 72시간 배양하면서 12시간마다 세균 배양액을 2 mL씩 들어내어 spectrophotometer 620 nm로 흡광도를 측정하였다. 천초근의 methanol 추출물은 그람 양성균인 *Bacillus cereus*와 그람 음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하여 각 균주에 대한 증식억제를 검정하는데 사용하였고 각각의 O.D값을 비교하여 추출물의 농도별 미생물 증식 정도를 확인하였다(16).

## 결과 및 고찰

### 천초근의 유기용매 및 열수추출물의 항균활성 검색

Paper disc방법으로 천초근의 각종 유기용매 추출물 및 수용성 분획물을 2종의 그람양성균과 7종의 그람 음성균에 적용시켜 실험한 결과 Table 2 및 Table 3과 같이 나타났다. 전반적으로 petroleum ether, chloroform, water extract에서 항균력이 낮게 나타난 반면 ethyl acetate, methanol 추출물에서는 모든 균에 대하여 항균력이 비교적 높게 나타났다. 또 그람양성균보다는 그람 음성균에서 항균 효과가 좀더 강하게 나타났고 추출물의 농도에 따라서는 250 ppm에서는

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</i> Enteritidis ATCC 13076
	<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931
	<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9199
	<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022

Table 2. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Rubia akane* Nakai against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>				
		PE	C	EA	M	W
<i>Staphylococcus aureus</i>	250	- <sup>2)</sup>	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1,000	2	-	3	5	-
<i>Bacillus cereus</i>	250	1	1	-	-	-
	500	5	-	-	3	-
	1,000	7	1	3	9	1

<sup>1)</sup>Diameter. <sup>2)</sup>No inhibitory zone was formed.

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

Table 3. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Rubia akane* Nakai against Gram negative bacteria

Strains	Fraction conc. (ppm)	Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>				
		PE	C	EA	M	W
<i>Escherichia coli</i>	250	- <sup>2)</sup>	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1,000	-	-	3	8	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250	-	1	-	-	-
	500	-	-	2	9	1
	1,000	-	4	9	15	2
<i>Salmonella</i> Typhimurium	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-
	1,000	-	-	-	5	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	4	-
	1,000	-	-	5	9	2
<i>Shigella sonnei</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	3	2	1
	1,000	8	4	10	10	3
<i>Shigella dysenteriae</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	3	-	-
	1,000	4	-	8	11	-
<i>Shigella flexneri</i>	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	6	2	1
	1,000	5	5	12	12	4

<sup>1)</sup>Diameter. <sup>2)</sup>No inhibitory zone was formed.

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

항균활성을 나타내는 clear zone이 나타나지 않았고 500 ppm에서는 아주 미미하게 드러났으며 1,000 ppm의 농도에서 선명하게 드러났으므로 농도가 높아짐에 따라 항균활성이 증가함을 확인할 수 있었다. Petroleum ether extract에서는 1,000 ppm 농도에서 *Bacillus cereus*, *Salmonella* Typhimurium, *Shigella sonnei* 균에 대해 clear zone이 형성되었고 그 외의 균에 대해서는 clear zone이 미미하게 나타나거나 아예 보이지 않았다. Chloroform extract에서는 1,000 ppm의 농도에서 *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri* 균에 대해 5 mm 내외의 clear zone을 형성한 반면 그 외의 균에서는 항균활성이 거의 나타나지 않았다. Ethyl acetate extract에서는 1,000 ppm의 농도에서 *Shigella*

*sonnei*, *Shigella flexneri*가 각각 10, 12 mm의 선명한 clear zone을 형성하였고 실험에 사용한 거의 모든 균에서 항균활성이 있는 것으로 나타났다. Methanol extract에서는 1,000 ppm의 농도에서 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 15 mm의 가장 큰 clear zone이 나타나 가장 높은 항균활성을 보였고, 500 ppm의 농도에서도 clear zone이 비교적 많이 나타났으며 전반적으로 모든 균에 대해 가장 선명한 clear zone을 형성하였다(Fig. 1). Aqueous extract에서는 항균활성이 매우 낮게 나타났다.

천초근 추출물과 겨우살이 추출물의 상승 효과

겨우살이는 과거로부터 민간요법에서 사용되어 왔고 이들의 각종 약리효과에 대해서는 널리 알려진 바가 있는 식물

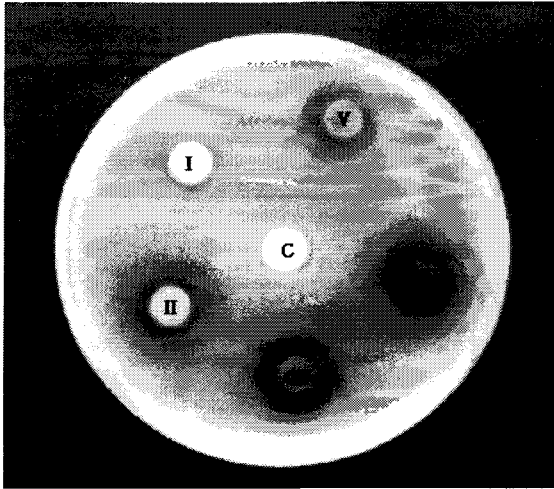


Fig. 1. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Rubia akane* Nakai against *Pseudomonas aeruginosa* at the concentration of 1,000 ppm.

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

이다(10). 본 실험의 예비 실험에서 나타난 겨우살이의 항균력을 토대로 가장 항균효과가 크게 나타났던 겨우살이의 petroleum ether 추출물과 본 연구에서 가장 큰 항균력을 보였던 천초근의 methanol추출물을 혼합하여 이것이 식중독 유발세균에 대한 성장 억제력을 상승적으로 유도할 수 있는지 검정해 보고자 하였다. 천초근의 methanol 추출물과 겨우살이의 petroleum ether 추출물을 혼합한 추출물을 항균활성이 가장 잘 나타난 그람 양성균인 *Bacillus cereus*와 그람 음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 실험해 본 결과 두 식물의 각종 추출물을 혼합한 시료에서 더욱 큰 항균효과가 나타남을 알 수 있었다(Table 4). *Pseudomonas aeruginosa* 균의 경우 clear zone이 25 mm로 나타났고 *Bacillus cereus* 균에 대해서는 clear zone이 20 mm로 나타나는 가지 추출물을 사용한 경우보다 항균력이 상승하였다(Fig. 2). 전통적으로 서양에서는 식물이나 수목에서 추출한 생약 성분에 대해 그것의 안전성이나 신뢰성을 부여하고 있지 않기 때문에 수목의 추출성분을 이용한 약리효과 및 기능성에 관한 연구가 활발히 수행되고 있지 않으나, 각종 천연물이 함유하고 있는 유효 성분들의 상승효과를 이용함으로써 효과적인 식품보존제 등의 개발도 가능하리라 사료된다.

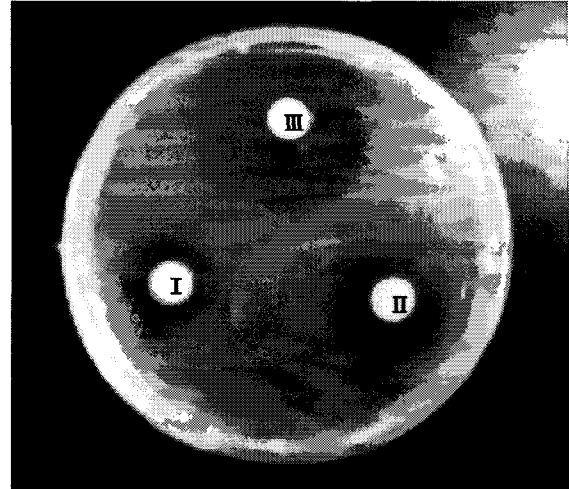


Fig. 2. Antimicrobial activities of methanol extract of *Rubia akane* Nakai and petroleum ether extract of *Viscum album* var. *coloratum* and combined extract against *Pseudomonas aeruginosa*.

I: *Rubia akane* Nakai (1,000 ppm),  
II: *Viscum album* var. *coloratum* (1,000 ppm),  
III: *Rubia akane* Nakai (500 ppm) and *Viscum album* var. *coloratum* (500 ppm).

천초근의 methanol 추출물이 그람 음성 및 그람 양성균의 증식에 미치는 영향

천초근의 추출물이 미생물의 생육 저해에 미치는 영향을 알아 보기 위하여 항균 실험에서 가장 큰 효과를 보인 methanol 추출물을 *Bacillus cereus*와 *Pseudomonas aeruginosa*를 이용하여 세균 수를 나타내는 O.D값을 통해 성장곡선으로 나타내 보았다. 그 결과 먼저 *Bacillus cereus* 균에서는 천초근 추출물이 포함되어 있지 않는 control에서는 급격히 O.D값이 상승했고 1,000 ppm농도에서는 O.D값이 control과 비슷하게 증가하여 성장억제가 주춤했으나 2,000 ppm의 농도에서 점차적으로 그 값이 떨어지기 시작하여 4,000 ppm의 농도에서는 현저하게 낮아짐을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 또 *Pseudomonas aeruginosa*에서는 12시간 이후부터 control의 O.D값이 점차적으로 많아지기 시작하여 24시간 이후부터는 급격한 성장을 보였고 마찬가지로 1,000 ppm에서부터 O.D값이 감소하기 시작하여 2,000 ppm, 4,000 ppm이 될수록 성장이 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 두 균주 모두 천초근 추출물을 통한 성장억제 효과는 72시간동안 지

Table 4. Antimicrobial activity of each and combined extract from *Rubia akane* Nakai and *Viscum album* var. *coloratum*

Strains	Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup> at 1,000 ppm			
	Control	<i>Rubia akane</i> Nakai (1,000 ppm)	<i>Viscum album</i> var. <i>coloratum</i> (1,000 ppm)	Both <sup>3)</sup> (each 500 ppm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- <sup>2)</sup>	15	23	25
<i>Bacillus cereus</i>	-	9	17	20

<sup>1)</sup>Diameter.

<sup>2)</sup>No inhibitory zone was formed.

<sup>3)</sup>*Rubia akane* Nakai and *Viscum album* var. *coloratum*.

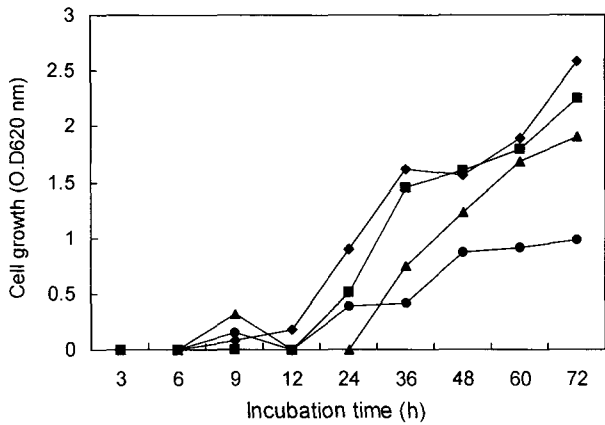


Fig. 3. Effect of methanol extract of *Rubia akane* Nakai on the growth of *Bacillus cereus*. Concentration of methanol acetate extract: ◆, control; ■, 1000 ppm; ▲, 2000 ppm; ●, 4000 ppm.

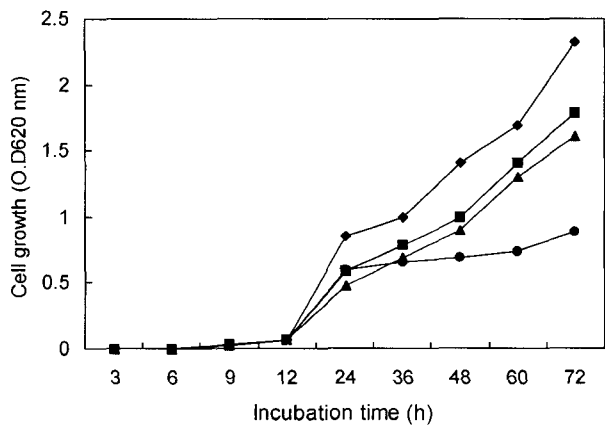


Fig. 4. Effect of methanol extract of *Rubia akane* Nakai on the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. Concentration of methanol acetate extract: ◆, control; ■, 1000 ppm; ▲, 2000 ppm; ●, 4000 ppm.

연됨을 알 수 있었고, O.D값의 변화로 볼 때 *Bacillus cereus* 균에서보다 *Pseudomonas aeruginosa*에서 성장이 좀 더 많이 억제됨을 알 수 있었다. 한편 Chung(17)은 *S. aureus*에 대해 손바닥 선인장 ethanol 추출물이 3.0 mg/mL 이상에서 증식이 지연되었다고 보고한 바 있으며, Jeon 등(18)은 질경이의 methanol 추출물이 *S. aureus*의 성장을 억제한다고 보고한 바 있는데, 본 실험에서도 천초근의 methanol 추출물이 *Bacillus cereus*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 증식에 억제 효과를 보였다.

요 약

약리실험 결과 강심작용, 지혈촉진작용, 항균작용, 항암작용 등이 밝혀진바 있는 천초근을 이용하여 항균성 및 천연 식품보존제로서의 이용가능성을 검색하여 보았다. 먼저 천초근의 뿌리성분을 petroleum ether, chloroform, ethyl-

acetate, methanol 및 증류수를 이용하여 항균성분을 추출하여 9종의 식중독균(*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis, *Shigella flexner*, *Escherichia coil*, *Salmonella* Typhi, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*)에 추출물의 농도를 250 ppm, 500 ppm, 1,000 ppm으로 달리하여 disc method로 실험한 결과 *Salmonella* Typhimurium에서 아주 약한 clear zone이 형성되긴 하였으나 거의 모든 균에서 항균작용이 있는 것으로 나타났다. 가장 큰 clear zone이 형성된 균은 *Pseudomonas aeruginosa*였고 추출물의 농도가 높아질수록 비례하여 항균효과가 크게 드러났다. 또 methanol 추출물에서 항균활성이 가장 잘 나타났으며 그 다음으로는 ethylacetate, chloroform, petroleum ether, 증류수 순이었다. 항균활성이 가장 잘 나타난 천초근의 methanol 추출물과 또 다른 겨우살이 추출물을 사용한 상승효과 여부를 알아보기 위한 실험 결과 그람 양성균인 *Bacillus cereus*와 그람 음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 상승적인 항균효과를 나타내었다. 천초근의 methanol 추출물이 *Bacillus cereus*와 *Pseudomonas aeruginosa* 균의 성장에 미치는 효과를 검정해 본 바 천초근 추출물의 농도가 진해짐에 따라 균의 증식을 억제하는 것으로 나타났고 *Pseudomonas aeruginosa*에서 더 두드러지게 증식이 억제되었다. 또 72시간 동안 그 성장 억제 효과가 지속됨을 알 수 있었다.

문 헌

1. Shin DH, Han JS, Kim MS. 1994. Antimicrobial effect of ethanol extract of *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils and *Glycyrrhiza glabra* L. var. *glandulifera* Regel et Zucc on *Listeria monocytogenes*. *Korean J Food Sci Technol* 26: 627-632.
2. Lee HH, Ma Sj, Moon JH, Park KH. 1998. Isolation of characterization of 4-hydroxycinnamic acid isolatd and identified from rice hull. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 2273-2276.
3. Park UY, Chang DS, Cho HR. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 21: 91-96.
4. Cha SM. 1977. Potential anticancer medicinal plants a statistical evaluation of their frequencies of appearance in oriental medicine formularies. *Kor J Pharmacogn* 8: 1-12.
5. Han BJ, Lee SW, Shin HK. 1994. Effects of edibld herbs on the growth of *in vitro* intestianl microorganism. *Korean J Nutr* 27: 819-823.
6. Ahn BY. 1992. Antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Kor J Food Hygiene* 7: 157-160.
7. Lee JH, Lee SR. 1994. Some physiological activity of phenolic substances in plant food. *Korean J Food Sci Technol* 26: 505-511.
8. Cho SH, Chung DH, Seo IW, Lee HS, Whang BH, Park WP. 1992. Inhibitory effects of grapefruit seed extract on growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*. *Kor J Food Hygiene* 7: 15-22.
9. Lee BW, Shin DH. 1991. Antimicrobial effect of some plant extract and their fractionates for food spoilage micro-

- organisms. *Korean J Food Sci Technol* 23: 205-211.
10. Yook CS. 1989. *Coloured Medicinal Plants of Korea*. Academic Publishing Co., Seoul, Korea.
  11. Park YH. 1990. Studies on components of *Rubia akane* Nakai. *PhD Dissertation*. Seoul National Univ. p 31.
  12. Shim JJ. 1999. Permeabilization of elicited suspension culture of madder (*Rubia akane* Nakai) cells for release of anthraquinones. *Biotechnology Techniques* 13: 249-252.
  13. Mizutani H. 1997. Anthraquinone production by cell suspension cultures of *Rubia akane* Nakai. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 1743-1744.
  14. Chi HJ, Shin SH. 1989. Current studies on tissue culture of some medicinal plants in Korea. *Kor J Pharmacogn* 20: 141-146.
  15. James GC, Sherman J. 1987. Chemotherapeutic agent in microbiology. In *A laboratory manual chemical agents of control*. 2nd ed. Prentice Hall, New Jersey, USA. p 247-254.
  16. Karapinar M. 1990. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *Int J Food Microbiol* 10: 193-200.
  17. Chung HJ. 2000. Antioxidative and antimicrobial activities of *Opuntia ficus indica* var. *saboten*. *Kor J Soc Food Sci* 16: 164-169.
  18. Jeon YO, Kim KH, Kim SI, Han YS. 1998. Screening of antimicrobial activity of the plantain (*Plantago asiatica* L.) extract. *Kor J Food Sci Technol* 14: 39-45.

(2005년 1월 6일 접수; 2005년 2월 28일 채택)