J. Fd Hyg. Safety
Vol. 25, No. 1, pp. 1~5 (2010)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

한약재 복합추출물과 점토 광물질 혼합제의 *Escherichia coli* O157:H7에 대한 항균효과

이연옥[1] · 정원철 · 차춘남[2] · 김곤섭 · 이여은[3] · 김석 · 이후장*
경상대학교 수의과대학 생명과학연구소, [1]주식회사 세농
[2]경상대학교 산업시스템공학부 공학연구원, [3]경상대학교 보건대학원 환경보건학과

Antimicrobial Activity of Korean Herbal Complex Extract and Clay Mineral Mixture against *Escherichia coli* O157:H7

Yeon Ok Lee[1], Won Chul Jung, Chun Nam Cha[2], Gon Sup Kim, Yeo Eun Lee[3], Suk Kim, and Hu Jang Lee*
Research Institute of Life Sciences, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea
[1]Senong Co., Ltd., 491 Dong-eup, Changwon, 641-861, Korea
[2]Engineering Research Institute, Department of Industrial Systems Engineering, Gyeongsang National University, 900 Gajwa-dong, Chinju 600-701, Korea
[3]Department of Environmental Health, Graduate School of Public Health, Gyeongsang National University, Chinju, 660-751, Korea
(Received January 8, 2010/Revised January 15, 2010/Accepted January 18, 2010)

ABSTRACT - The present study was evaluated the antibacterial effect of the combination of *Coptidis rhizoma, Lonicerae Flos,* and *Paeonia japonica* (1:1:1) extracts (CLP1000). Also, the effectiveness of CLP1000, dioctahedral smectite (DHS), and the combination of CLP1000 and DHS (CLPS1000) against *E. coli* O157:H7 infection was studied using ICR female mice. During the incubation period, the dose of 10% and 20% CLP1000 were inhibited the growth of *E. coli* O157:H7 by 30% and 47%, respectively. For 7 days after single challenge with *E. coli* O157:H7, forty female ICR mice were divided into four experimental groups which were orally administered with saline, 10% CLP1000, 10% DHS, and 10% CLPS1000, respectively. On the 3rd day, the number of *E. coli* O157:H7 in mouse feces was significantly decreased by administration of CLP1000 ($p < 0.05$), DHS ($p < 0.05$) and CLPS1000 ($p < 0.001$). On the 7th day, CLP1000 ($p < 0.05$) and CLPS1000 ($p < 0.001$) administration significantly decreased the number of *E. coli* O157:H7. According to the results of the present study, administration of CLPS1000 to mice can reduce the severity of *E. coli* O157:H7 infection. Also, it is suggested that CLPS100 represents a good candidate for the treatment of enteric infections in domestic animals.

Key words: Korean traditional herbal extracts, dioctahedral smectite, antibacterial activity, *E. coli* O157:H7

최근, *Escherichia coli O157*:H7 (*E. coli* O157:H7)과 같은 유해 식중독균들에 의한 질병 예방 및 치료를 목적으로 많은 항생제들이 사용됨으로 인해, 항생제 내성균들의 출현이 빈번해 지고 있어서 공중보건 상에 있어서 중요한 문제로 대두되고 있다[1-4].

2002년 6월부터 2003년 5월에 걸쳐서, 한국소비자보호원이 서울과 수도권 지역에서 판매되는 육류, 어류, 야채류 등 212종을 대상으로 세균 검출 여부와 검출된 균의 항생제 내성 획득 여부를 조사한 결과, 조사대상의 62.7%에서 대장균이 검출되었으며, 이 중 항생제 내성균의 비율은 92.9%로 나타난 바 있다[5].

최근, 항생제 내성균의 출현에 따른 부작용을 최소화하기 위해 기존의 항생제를 대체하기 위해, 전통적으로 사용되어 왔던 한약재나[6-10], 생균제인 probiotics[11-14], 그리고 프로폴리스[15-17] 등에서 항균활성 물질을 탐색하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

황련은 해열, 이질, 설사 등에 뛰어난 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 항균작용을 하는 berberine이 있어 장

*Correspondence to: Hu Jang Lee, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea
Tel: 055) 751-6642, Fax : 055) 751-5803
E-mail: hujang@gnu.ac.kr

내 병원성 세균에 대한 증식억제 작용을 갖는 것으로 알려져 있다[18-20].

금은화는 급성장염에 효과를 나타내는 탄닌성분을 함유하고 있으며, 각종 화농성질환 등에 매우 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, ethyl acetate 추출물은 식중독균인 포도상구균, 연쇄상구균, 그리고 대장균 등에 대하여 항균효과를 갖는 것으로 보고되고 있다[21-24].

백작약은 보혈, 지혈, 진통, 항진균 그리고 항균작용이 있는 것으로 보고되어 있으며, 백작약의 전초는 강력한 지사작용을 하는 것으로 알려져 있다[25-29].

점토광물의 일종인 dioctahedral smectite (DHS)는 알루미늄과 마그네슘을 주성분으로 하는 판상구조를 갖는 다공질의 규산염으로, 장내 병원성 세균 및 바이러스 그리고 이들의 독소를 흡착하여 체내로 배출시켜 설사를 예방・치료하는 강력한 수렴작용과 흡착작용을 갖고 있어, 소아의 급성설사 치료에 사용되고 있다[30,31].

따라서, 본 연구에서는 항균활성이 있는 것으로 알려진 황련, 금은화, 그리고 백작약 등 한약재들의 복합추출물과 DHS의 합제를 이용하여 *E. coli* O157:H7에 대한 항균활성을 평가하였다.

재료 및 방법

공시제제

본 연구에서 사용된 황련, 금은화, 그리고 백작약 등은 경상대학교 동물생리활성자원은행(진주)으로부터 구입하여, 세척하여 건조한 후, 세절하여 분말화하였다. 한약재 추출은 김 등[32]의 방법을 변형하여 사용하였다. 분말화한 황련, 금은화, 그리고 백작약을 일정비율(1:1:1)로 혼합한 100 g에 증류수 1,000 ml를 가하여 열탕추출기에서 120°C에서 3시간 동안 추출한 다음, 추출액을 3,000 rpm으로 20분 동안 원심분리 시킨 후, 상층액을 Advantec filter paper No. 2(Japan)로 여과시켰다. 여과액을 감압 농축시켜 200 ml로 만든 후, 동결 건조하였다. 회수율은 10.5%이었다.

*In vitro*에서의 항균시험을 위해, 한약재 동결건조분말 2 g를 10 ml 증류수에 용해시켜 0.2 μm syringe filter (Corning Costar, USA)로 여과한 다음, 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 마우스 접종시험에서는 한약재 추출물(CLP1000)과, CLP1000과 DHS의 합제(1:1, CLPS1000)를 각각 증류수에 용해 혹은 현탁시켜, 마우스 각 개체 당 0.5 ml씩 투여하였다.

사용균주 및 배양

본 실험에 사용한 균주는 *E. coli O157*:H7 (ATCC 933)을 국립수의과학원으로부터 분양받아 사용하였다. *E. coli O157*:H7을 blood agar (Komed, Korea)에서 배양하여 증식여부를 확인한 후, Tryptic Soy Broth (TSB, Difco BRL, USA)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양하여 실험에 사용하였다.

마우스 접종시험에서는, *E. coli* O157:H7을 TSB (Difco BRL, USA)에 접종하여 shaking incubator를 이용하여 37°C에서 24시간 배양한 후, 2,500 rpm에서 30분간 원심분리하여 균체를 회수한 다음, phosphate buffered saline (PBS)으로 세척하고 PBS에 재부유하여 균수를 1.0×10^6 CFU/ml로 하여 마우스 개체(체중평균, 18.3 ± 1.5) 당 catheter (Zonde, 18G)를 이용하여 0.5 ml씩 경구로 접종하였다.

항균력 시험

한천배지를 이용한 한약재 추출물에 대한 항균력 검색에서 CLP1000 시료에 대하여 dilution test를 통해 시간 경과에 따른 *E. coli* O157:H7에 대한 증식억제 효과를 측정하였다. 125 ml 삼각 플라스크에, 30 ml TSB, *E. coli* O157:H7을 희석하여 10^6 CFU/ml 농도로 한 배양액 0.1 ml, 그리고 CLP1000의 최종농도가 5, 10 그리고 20%가 되도록 가하여 37°C에서 30시간동안 배양하면서 6시간 간격으로 생균수를 측정하였다. CLP1000의 농도는 김 등[32]의 실험에서 사용한 농도를 참고하여 설정하였다. 생균수 측정은 배양액 시료를 채취하여 spectrophotometer (Spectronic 20 Genesis, USA)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

실험동물

5주령, 평균체중 18 ± 1.7 g의 Specific Pathogen Free (SPF) ICR 마우스 암컷 40마리를 구입하여 ((주)양성, 용인), SPF 마우스임을 확인하기 위한 미생물학적 검사를 실시하여 특정 병원체가 없는 것을 확인한 후 실험에 사용하였다. 마우스는 대조군과 실험군 각각 10마리씩을 임의로 선택하여 케이지에 분리하여, 1주일간의 적응기간을 거친 후 실험에 사용하였다. SPF 상태를 유지하기 위해 음수, 사료, 깔짚 등은 모두 고압멸균 후 사용하였으며, 사육온도와 습도는 각각 22 ± 1.0°C과 50 ± 10%로 하였으며, 12시간 간격으로 조명을 조절하였으며, 환기는 자동으로 조절되는 실험동물 사육장치 ((주)쓰리샤인, 대전)에서 사육하였다.

마우스 접종 및 약제투여

대조군과 실험군 모두에 대하여, *E. coli O157*:H7을 1×10^7 CFU/ml로 함유하도록 PBS에 현탁시켜 이 용액 0.5 ml를 경구 투여하여 공격 접종을 한 후, 대조군은 PBS만을 투여하였고, 실험군은 CLP1000, DHS, CLPS1000을 증류수에 녹이거나 현탁시켜 10% 용액을 만들어 각각 개체 당 0.1 ml씩을 catheter (Zonde, 18G)를 이용하여 7일 동안 경구 투여하였다.

실험군의 약제투여농도는 CLP1000의 항균력 시험에서

대조군과 비교하여 저해 효과를 보인 농도를 사용하였다.

마우스 분변 중 *E. coli O157*:H7의 검출

E. coli O157:H7을 접종한 마우스에 대하여 각 군별로 증류수(대조군), 10% CLP1000, 10% DHS, 그리고 10% CLPS1000을 투여하면서, 투약 1, 3, 5, 그리고 7일에 각 군의 마우스로부터 분변을 채취하였다. 채취한 마우스의 분변을 0.85% 생리식염수에 십진 희석하고, xylose lysine desoxycholate agar (XLD, Difco BRL, USA)를 사용하여 37°C에서 24시간 배양한 후 균수를 측정하여, 분변 중의 *E. coli* O157:H7의 숫자를 CFU/g으로 환산하여 나타내었다.

통계학적 분석

결과에 대한 통계적 처리는 Sigma plot (Systat Software Inc., USA)을 이용하여 student's t-test로 실시하였으며, $p < 0.05$일 때 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결과 및 고찰

항균력 시험

Fig. 1은 한천배지를 이용하여 다양한 CLP1000 농도에서 *E. coli* O157:H7에 대한 항균력 시험 결과를 나타낸 것이다. 황련, 금은화, 그리고 백작약 등의 복합 추출물인 CLP1000 5%를 첨가하여 배양하였을 경우, 무첨가 대조군과 비교하여 *E. coli* O157:H7에 대한 성장 저해효과가 관찰되지 않았다. CLP1000 10%와 20%를 첨가하여 배양한 경우에는, 배양 12시간부터 30시간에 걸쳐서 평균적으로 각각 약 30%와 47%정도 *E. coli* O157:H7의 성장을 억제시킨 것으로 나타났다. 손 등[33]이 식중독균들에 대한 한약재들의 항균효과를 확인하기 위한 연구를 수행한 결과, 황련이 *E. coli*에 대해 강력한 항균효과를 나타내었다고 보고하였으며, 최 등[24]은 금은화가 *E. coli*에 대하여 높은 항균효과를 갖고 있는 것으로 보고하였다. 또한, 최 등[24]은 백작약 methanol 추출물이 *E. coli*의 성장을 83% 이상 억제하여 높은 항균활성을 갖는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 황련, 금은화, 그리고 백작약 등의 복합 추출물인 CLP1000이 *E. coli* O157:H7의 성장억제 효과를 나타낸 것은 앞서 보고한 한약재들이 항균활성을 보였던 결과들과 유사성을 보이고 있다. 한편, 김[32]이 한약재들의 조합을 통해 *E. coli*의 성장억제 효과를 확인한 연구에서, 황금, 황백, 그리고 백작약 열수추출물 합제 10%를 투여한 배지에서 30시간 배양하는 동안 대조군과 비교하여 *E. coli*의 성장을 60-70% 정도 억제한 것으로 보고하였다. 본 연구에서 황련, 금은화, 그리고 백작약 등의 복합 추출물, CLP1000 10% 첨가 배지에서 약 47% 정도 *E. coli*의 성장을 억제한 결과와 비교하여 김[32]의 연구결과가 다소 높은 항균활성을 보였다. 이는 한약재들 간의 항균활성 차이에 따른 결과로 사료되며, 항균활성을 나타낸 것은 CLP1000가 *E. coli* O157:H7의 대사를 억제하는 성분을 함유하고 있거나[34,35], 세균 세포막의 수송환경의 변화에 의해 대사물질의 전달이 억제되어 발생한 것으로 사료된다[36,37].

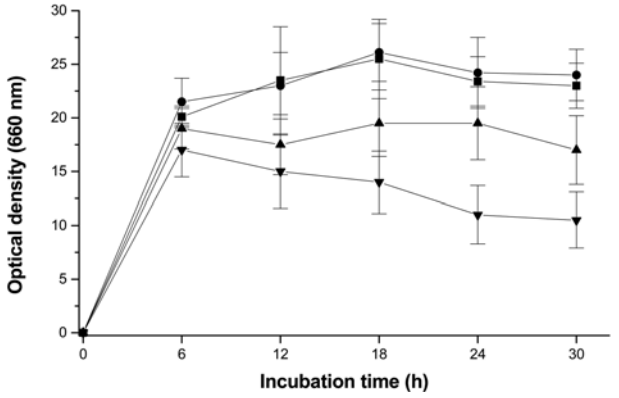

Fig. 1. The inhibition effect of CLP1000, a combination of *C. rhizoma, L. Flos,* and *P. japonica* (1:1:1) extracts. ■, control group treated with phosphate buffer solution (PBS); ●, the group treated with 5% CLP1000; ▲, the group treated with 10% CLP1000; ▼, the group treated with 20% CLP1000. All experiments were independently done in triplicate.

마우스 분변 중 *E. coli O157*:H7의 검출

Fig. 2는 마우스에 *E. coli O157*:H7을 공격 접종한 후, 10% CLP1000, 10% DHS, 그리고 10% CLPS1000을 7일 동안 투여하면서, 마우스의 분변을 채취하여 *E. coli O157*:H7 균수의 경시적 변화를 관찰한 것을 나타낸 것이

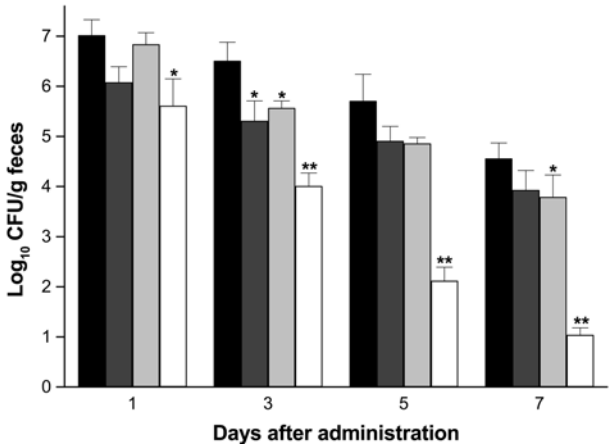

Fig. 2. Fecal *E. coli* O157:H7 counts in group mice during the experiment (means ± S.D., n=10). ■, control group treated with phosphate buffer solution (PBS) (n=10); ■, the group treated with 10% dioctahedral smectite (n=10); ■, the group treated with 10% CLP1000 (n=10); □, the group treated with 10% CLPS1000 (n=10). *Significant difference between control group and treatment group ($p < 0.05$); **Significant difference between control group and treatment group ($p < 0.001$).

다. 마우스에 10% CLP1000을 투여한 경우, 투약 3일째와 7일째에 무처리 대조군과 비교하여 유의성 있게 *E. coli* O157:H7의 감소가 관찰되었으며($p < 0.05$), 10% DHS를 투여한 경우에서도 무처리 대조군과 비교하여 투약 3일째에 유의성 있게 감소하였다($p < 0.05$). CLPS1000을 투여한 경우에는, 투약 1일째부터 대조군과 비교하여 유의성 있게 감소하였으며($p < 0.05$), 투약 3일째부터 투약 7일째까지는 매우 유의성 있게 감소하였다($p < 0.001$).

본 연구에서 사용한 황련은 항균작용이 강한 berberine을 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며[23,38], 금은화는 탄닌성분을 함유하고 있어 급성장염에 대한 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며[23], 백작약은 장 수렴작용을 촉진하는 paeoniflorin 성분을 함유하고 있는 것으로 보고되고 있다[39]. 또한, DHS는 외독소와 내독소, 병원성 세균과 바이러스 등을 흡착하는 능력이 탁월하여 급·만성설사 치료에 효과가 있는 것으로 보고되어 있다[40,41]. 따라서 한약재들의 유효성분과 DHS의 강력한 흡착 및 수렴작용에 의해 *E. coli* O157:H7에 대한 항균효과를 나타내는 것으로 사료된다.

결론적으로, 본 연구에 사용된 황련, 금은화, 그리고 백작약 등의 한약재 복합추출물(CLP1000)은 *E. coli* O157:H7에 대하여 강력한 항균작용을 갖으며, 한약재 복합추출물(CLP1000)과 dioctahedral smectite (DHS)의 합제 (CLPS1000)는 *E. coli* O157:H7에 감염된 마우스에 대하여 효과적인 치료효과를 나타내었다. 따라서 향후, CLPS100에 대하여 가축에 있어서 *E. coli* O157:H7에 의한 장 질환을 치료하기 위한 치료제로써의 가능성에 대한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 중소기업청의 지원을 받아 2009년도 산학연공동기술개발사업(No. 03-2009-0334)의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힘이다.

요 약

본 연구는 황련, 금은화, 그리고 백작약 등 한약재 복합추출물의 *E. coli* O157:H7에 대한 항균효과와, 한약재 복합추출물과 dioctahedral smectite의 합제의 E. coli O157:H7 감염 마우스에 대한 효과를 평가하기 위해 수행되었다.

한약재 복합추출물, CLP1000을 이용하여 E. coli O157:H7에 대한 항균효과 확인 시험을 수행한 결과, CLP1000 10%와 20%를 첨가한 배지에서 *E. coli* O157:H7의 성장을 각각 30%와 47%를 억제하는 효과가 관찰되었다. 또한, E. coli O157:H7을 감염시킨 마우스에 CLP1000, dioctahedral smectite (DHS), 그리고 CLP1000와 DHS 합제 (CLPS1000)를 각각 7일 동안 경시별로 마우스 분변 중의 *E. coli* O157:H7 균수의 변화를 관찰한 결과, 투여 3일째에, 10% CLPS1000을 투여한 군에서 대조군과 비교하여 *E. coli* O157:H7의 균수가 유의성 있게 감소하였으며($p < 0.05$), 투여 7일째에는 10% CLP1000 ($p < 0.05$)과 10% CLPS1000을 투여한 군에서 대조군과 비교하여 *E. coli* O157:H7의 균수가 유의성 있게 감소하는 결과를 나타내었다.

따라서 본 연구의 결과로부터, CLPS1000을 *E. coli* O157:H7에 감염된 마우스에 투여할 경우 감염증상을 완화 시킬 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Mah, M.W. and Memish, Z.A. Antibiotic resistance. An impending crisis. *Saudi Med. J.* **21**, 1125-1129 (2000).
2. Prescott, J.F. Antimicrobial use in food and companion animals. *Anim. Health Res. Rev.* **9**, 127-133 (2008).
3. Gould, I.M. The epidemiology of antibiotic resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents* **32**(Suppl. 1), S2-9 (2008).
4. Ruiz, J., Capitano, L., Nunez, L., Castro, D., Sierra, J.M., Hatha, M., Borrego, J.J. and Vila, J.: Mechanisms of resistance to ampicillin, chloramphenicol and quinolones in multiresistant *Salmonella typhimurium* strains isolated. *J. Antimicrob. Chemother.* **43**, 699-702 (1999).
5. 참여연대: 축·수산 동물약품 (항생제) 실태 보고서 I, 참여연대, 서울, pp. 11-21 (2005).
6. Kim, G.S., Kim, D.H., Lim, J.J., Lee, J.J., Han, D.Y., Lee, W.M., Jung, W.C., Min, W.G., Won, C.G., Rhee, M.H., Lee, H.J. and Kim, S. Biological and antibacterial activities of the natural herb *Houttuynia cordata* water extract against the intracellular bacterial pathogen salmonella within the RAW 264.7 macrophage. *Biol. Pharm. Bull.* **31**, 2012-2017 (2008).
7. Kong, B., Wang, J. and Xiong, Y.L. Antimicrobial activity of several herb and spice extracts in culture medium and in vacuum-packaged pork. *J. Food Prot.* **70**, 641-647 (2007).
8. Abo, K.A., Ogunleye, V.O. and Ashidi, J.S. Antimicrobial potential of *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. *Phytother. Res.* **13**, 494-497 (1999).
9. Chattopadhyay, D., Maiti, K., Kundu, A.P., Chakraborty, M.S., Bhdra, R., Mandal, S.C. and Mandal, A.B. Antimicrobial activity of *Alstonia macrophylla*: a folklore of bay islands. *J. Ethnopharmacol.* **77**, 49-55 (2001).
10. Cutter, C.N. Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli O157*:H7, *Listerial monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *J. Food Prot.* **63**, 601-607 (2000).
11. Bravo, M.V., Bunout, D., Leiva, L., de la Maza, M.P., Barrera, G., de la Maza, J. and Hirsch, S. Effect of probiotic *Saccharomyces boulardii* on prevention of antibiotic-associated diarrhea in adult outpatients with amoxicillin treatment. *Rev. Med. Chil.* **136**, 981-988 (2008).
12. Collado, M.C., Isolauri, E., Salminen, S. and Sanz, Y. The impact of probiotic on gut health. *Curr. Drug Metab.* **10**, 68-78 (2009).

13. Guarner, F. and Schaafsma, G.J. Probiotics. *Int. J. Food Micorbiol.* **39**, 237-238 (1998).
14. 권남훈, 김소현, 배원기, 김지연, 임지연, 노경민, 김준만, 안동삼, 허진, 박용호. *Lactobacillus reuteri*의 주요 식품 위해 미생물에 대한 항균 효과. 한국식품위생안전성학회지, **16**, 264-273 (2001).
15. Scazzocchio, F., D'Auria, F.D., Alessandrini, D. and Pantanella, F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiol. Res.* **161**, 327-333 (2006).
16. Mani, F., Damasceno, H.C., Novelli, E.L., Martins, E.A. and Sforcin, J.M. Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. *J. Ethnopharmacol.* **105**, 95-98 (2006).
17. Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N. and Calder, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol. Res.* **152**, 239-246 (1997).
18. Son, D.H., Lee, S.I., Chung, Y.G.: Antioxidative of medicinal plants on pathogenic bacteria. *J. Korean Soc. Hygiene Sci.* **7**, 103-108 (2001).
19. Kwon, H.A., Kwon, Y.J., Kwon, D.Y., Lee, J.H.: Evaluation of antibacterial effects of a combination of *Coptidis Rhizoma*, *Mume Fructus*, and *Schizandrae Fructus* against Salmonella. *Int. J. Food Microbiol.* **127**, 180-183 (2008).
20. 배지현. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 황련 추출물의 효과. 한국식품 영양학회, **18**, 81-87 (2005).
21. Yun, Y.G., Kim, G.M., Lee, S.J., Ryu, S.H., Jang, S.I.:Inhibitory effect of aqueous extract from Lonicera japonica flower on LPS-induced inflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages. *Kor. J. Herbology* **22**, 117-125 (2007).
22. Park, U.Y., Chang, D.S., Cho, H.R.:Screening of antimicrobial activity for medical herb extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**, 91-96 (1992).
23. 배지현, 김미순, 강은혜. 식중독 유발세균의 증식에 미치는 금은화 추출물의 항균효과. 한국식품과학회지, **37**, 642-647 (2005).
24. 최원균, 김용성, 조규성, 성창근. 국내산 식물의 항균활성 검색. 한국식품 영양학회지, **15**, 300-306 (2002).
25. Jeong, I.Y., Lee, J.S., Oh, H., Jung, U.H., Park, H.R., Jo, S.K.: Inhibitory effect of hot-water extract of Paeonia japonica on oxidative stress and identification of its active components. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 739-744 (2003).
26. Bang, M.H., Song, J.C., Lee, S.Y., Park, N.K., Baek, N.I.: Isolation and structure determination of antioxidants from the root of Paeonia lactiflora. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **42**, 170-175 (1991).
27. Kim, J., Kim, H.S.: The immunomodulating effects of the supplementation of Paeonia Japonica extracts in mice. *Nutr. Sci.* **5**, 60-67 (2002).
28. Jeong, I.Y., Lee, J.S., Oh, H., Jung, U.H., Park, H.R., Jo, S.K.: Inhibitory effect of hot-water extract of Paeonia japonica on oxidative stress and identification of its active components. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 739-744 (2003).
29. Muragami, N., Saka, M., Shimada, H., Matsuda, H., Yamahara, J., Yoshikawa, M.: New bioactive monoterpene glycosides from Paeoniae radix. *Chem. Pharm. Bull.* **44**, 1279-1281 (1996).
30. Madkour, A.A., Madina, E.M., El-Azouni, O.E., Amer, M.A., El-Walili, T.M. and Abbass, T. Smectite in acute diarrhea in children: a double-blind placebo-controlled trial. *J. Paediatr. Gastroenterol. Nutr.* **17**, 176-181 (1993).
31. Weese, J.S., Cote, N.M. and deGannes, R.V. Evaluation of in vitro properties of di-tri-octahedral smectite on clostridial toxins and growth. *Equine Vet. J.* **35**, 638-641 (2003).
32. 김종덕. 유해세균 *E. coli* KCTC 1039의 성장 억제를 위한 항산화 천연산물의 조합구성. 한국생물공학회지, **17**, 490-496 (2002).
33. 손동화, 이석일, 정영건. 한약재의 식중독균에 대한 항균효과. 한국식품영양학회지, **7**, 103-108 (2001).
34. Stevens, D.L. The pathogenesis of clostridial myonecrosis. *Int. J. Med. Microbiol.* **290**, 497-502 (2000).
35. Sikes, A. and Ehioba, R. Feasibility of using food-grade additives to control the growth of Clostridium perfringens. *Int. J. Food. Microbiol.* **46**, 179-185 (1999).
36. Labbe, R.G. and Duncan, C.L. Influence of carbohydrates on growth and sporulation of *Clostridium perfringens* type A. *Appl. Microbiol.* **29**, 345-351 (1975).
37. Yuan, C. and Johnston, L.J. Distribution of ganglioside GM1 in L-alpha-dipalmitoylphosphatidylcholine/cholesterol monolayers: a model for lipid rafts. *Biophys. J.* **79**, 2768-2781 (2000).
38. Chung, I.M. and Paik, S.B. Separation and activity test of antifungal substance. *Anal. Sci. Tech.* **10**, 153-159 (1997).
39. 김동걸, 이상인. 적, 백작약의 효능에 관한 연구(Paeoniflorin을 중심으로). 대한본초학회지, **1**, 1-7 (1986).
40. Brouillard, M.Y. and Rateau, J.G. Adsorption potency of 2 clays, smectite and kaolin on bacterial enterotoxins. In vitro study in cell culture and in the intestine of newborn mice. *Gastroenterol Clin. Biol.* **13**, 18-24 (1989).
41. Chang, F.Y., Lu, C.L., Chen, C.Y., Luo, J.C.: Efficacy of dioctahedral smectite in treating patients of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **22**, 2266-2272 (2007).