

가축질병 균주에 대한 오배자 추출물의 항균활성

최 일

상지대학교 생명산업학과

Antimicrobial Activity of *Rhus javanica* Extracts Against Animal Husbandry Disease-Related Bacteria

Choi Il

Dept. of Bioindustry and Technology, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract

Antimicrobial activity of *Rhus javanica* (RJ) extract against animal husbandry disease-related bacteria was determined by a paper disc method. The RJ extracts showed a significant antimicrobial activity against Gram positive (+) bacteria and especially the activity was most potent against *L. monocytogenes* and *S. epidermidis*. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the MeOH and EtOH extracts of RJ were in the range of 0.8~16 mg/mL and 0.8~10 mg/mL, respectively. Furthermore, among five solvent fractions (n-hexane, CHCl₃, EtOAc, n-BuOH and H₂O frs.) from MeOH extract of RJ, the EtOAc fr. exhibited the most significant antimicrobial activity. The antimicrobial activities of RJ extracts against most microbial strains were unstable by either heat treatment or acid treatment. The inhibitory effect of RJ extracts on microbial cell growth was further examined by the addition of 0, 100, 300, and 500 ppm of RJ extracts into growth medium. The growth of gram positive (+) bacteria, *S. aureus*, *S. epidermidis* and *L. monocytogenes* was inhibited for 72 hours when at least 300 ppm of RJ extracts added, but the growth of gram negative (-) bacteria was only inhibited when at least 500 ppm of RJ extracts were added. Taken together, the antimicrobial activities of RJ extracts were more effective against gram positive (+) bacteria compared to those against gram negative (-) bacteria.

Key words: antimicrobial activity, *Rhus javanica*, animal husbandry disease-related bacteria

서 론

가축의 장내에는 다양한 미생물이 복잡한 생태계를 이루고 있으며 이들은 가축이 흡수한 물질이나 내인성 물질을 이용하여 유익한 물질을 생산함으로써 정상적인 생리기능을 도와주는 것도 있지만 때로는 해로운 유도체를 생산하여 질병을 일으키는 경우도 있다. 또한 사료나 음수를 통해 장내로 직접 유입되는 유해한 미생물이 장내 미생물 생태계를 교란하여 가축의 생산성을 저하시키거나 질병을 일으켜 집단 폐사시킴으로써 막대한 피해를 주는 사례가 많이 있다. 이 때문에 유해 미생물의 장내 유입을 막거나 활동을 억제하는 방법으로 항균력이 뛰어난 화학물질과 항생물질 등을 이용하는 적극적인 방법들이 많이 활용되어 왔으나 20세기말에 들어와서 이들 물질들이 축산물 내에 잔류하여 이를 이용하는 인간에게 파생될 수 있는 위험성에 대한 인식이 확산되면서 사용을 금지하는 방향으로 가고 있다.

그러나 기존 항생제의 사용을 금지함으로써 발생하는 가축의 생산성 감소와 폐사율의 증가 등 또 다른 문제를 불러

일으켜 어떤 형태로든 항생물질을 대체할 수 있는 항균물질의 개발이 화급히 요구되고 있으나 기존의 항생물질의 효과를 살릴 수 있으면서 축산물에 잔류하지 않고 잔류하더라도 인체에 전혀 해를 주지 않는 항균물질이어야 하는데 어려움이 있다.

다행히 식물에는 다양한 항균물질이 존재하는 것으로 밝혀졌으며 식물에 들어 있는 항균물질은 alkaloid류, flavonoid류, terpenoid류, phenolic compound류, quinone류 및 volatile oil 등의 2차 대사산물이거나 그 유도체들로 알려졌다(1-3). 그러나 이들 항균물질은 기존의 항생물질에 비해 효과가 적어 아직까지 실용화에는 미치지 못하고 있는 실정이나 항균효과가 있는 식물의 탐색에 많은 연구가 진행되고 있어(2-11) 머지 않아 항균성이 우수한 새로운 항균물질의 출현이 가능할 것으로 보인다.

오배자는 붉나무의 잎에 오배자 진딧물이 산란함에 의해 생긴 벌레집으로서 예로부터 수렴지시제, 외상출혈 치료에 사용되어져 왔으며 그들의 높은 탄닌의 함량 덕분에 tannic acid나 pyrogallol의 제조원료 등에 이용되어져 왔다. 한편

오배자의 약효와 성분에 관한 연구에서 항암효과, 장내 세균 억제효과, 항당뇨효과가 연구 검토되었고 이들 약효의 주성분은 gallic methylester임이 보고되어져 있다(10,12,13).

본 연구는 항균작용이 있다고 알려진 한약재인 오배자 (*Rhus javanica*)를 이용하여 가축에게 질병을 유발하는 미생물에 대한 항균활성을 탐색하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 국립 보건원과 국립수의과학검역원에서 분양 받은 것으로 균주명과 배지는 Table 1과 같다.

항균력 검색을 위한 시료조제

오배자 추출액의 조제는 약재 200 g을 세절하거나 잘게 부수어 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 round flask에 시료의 5배 정도의 MeOH(v/w)와 EtOH(v/w)를 각각 첨가하여 혼합한 후, heating mantle로 80°C에서 5시간 동안 3회 추출하였다. 추출액은 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 rotary vacuum evaporator(Eyela Tokyo Rikakikai Co., Japan)로 감압 농축하였으며 최종적으로 각각의 농축물은 멸균한 dimethylsulfoxide(DMSO)용액을 용매로 하여 5, 10, 30 및 50 mg/mL로 희석하여 사용하였다.

추출물의 항균력 검색

항균력 검색에 사용한 균주는 평판배지에 배양된 각 균주 2~3 백금이를 취해 10 mL nutrient broth의 균 생육 액체배지에 접종하고 37°C에서 24시간 배양하여 활성화시킨 후 nutrient broth를 blank로 하여 620 nm에서 흡광도를 측정하여 0.4~0.5 사이로 조정하여 사용하였다. 항균력 시험용 평판배지의 조제는 nutrient agar가 함유된 기층용 배지(agar 1.5%)를 1기압, 120°C에서 15분간 멸균하고 60°C정도로 냉각한 후 멸균된 petri dish에 약 15 mL씩 분주하였다. 활성화시킨 시험균액 0.2 mL를 무균적으로 첨가하여 기층용 배지 위에 고르게 퍼지도록 멸균된 유리막대로 도포한 뒤

Piddok(8)의 paper disc에 의한 한천배지 확산법으로 측정하였다

최소 저해농도 측정(minimum inhibitory concentration: MIC)

최소 저해농도 측정은 한천배지 확산법을 이용하였다. 여과하여 제균시킨 농축물을 0.2 mg/mL의 간격으로 paper disc에 첨가한 후 건조하고, 시험균을 함유한 평판배지위에 놓은 후 37°C, 24시간 배양한 후 육안으로 관찰했을때 미생물이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다.

열 및 pH 안정성

열 및 pH 안정성을 알아보기 위해 오배자 추출물을 membrane filter(0.45 µm Whatman, USA)로 여과한 다음, 80°C, 100°C, 120°C에서 각각 30분 동안 열처리한 후 상온에서 서서히 식힌 후 disc plate method로 생육 저해환을 측정하였다. 또한 pH 안정성은 0.1 N HCl과 0.1 N NaOH를 이용하여 pH를 3, 7 및 11로 조절하여 실온에서 1시간 방치한 후 다시 초기의 pH로 중화시킨 다음 37°C에서 24시간 배양하여 disc 주위의 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 비교 조사하였다.

미생물의 증식억제 효과

오배자 추출물을 0.45 µm membrane filter로 여과한 다음 100 mL의 nutrient broth에 추출물의 soluble solid를 기준으로 하여 0, 100, 300, 500 ppm 농도별로 첨가한 후 slant에서 배양된 각 균주 1백금이를 취해 10 mL nutrient broth에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양액 0.1 mL씩을 취해 다시 10 mL nutrient broth에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 활성화된 배양액 0.5 mL씩을 접종하여 37°C에서 72시간까지 배양하면서 미생물의 생육정도를 확인하기 위하여 12시간마다 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정 시 nutrient broth를 blank로 사용하였다.

통계처리

모든 실험자료의 통계분석은 SPSS를 이용하여 one-way ANOVA 검정을 행하였으며 처리효과의 유의성이 발견된

Table 1. List of strains and media used for antimicrobial experiments

| | Strains | Media |
|-------------------|--|---------------------------------------|
| Gram (+) bacteria | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | Nutrient Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 | Nutrient Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Clostridium perfringens</i> Type C | LB Broth, Miller Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111 | Tryptic Soy Broth & Agar (Difco) |
| Gram (-) bacteria | <i>Salmonella pullorum</i> ATCC 9120 | Nutrient Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Salmonella gallinarum</i> ATCC 9184 | Nutrient Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311 | Nutrient Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708 | Nutrient Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Escherichia coli</i> Serotype O ₈ | LB Broth, Miller Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Escherichia coli</i> Serotype O ₇₈ | LB Broth, Miller Broth & Agar (Difco) |
| | <i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 4617 | Smith-Baskerville Medium |
| Mold | <i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 10394 | Potato Dextrose Broth & Agar (Difco) |
| Yeast | <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | YPD Broth & Agar (Difco) |

경우 처리구간 평균치의 유의성 비교는 Duncan의 다중 비교 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

항균력 검색

13종의 균주에 대한 오배자 추출물의 항균성을 조사한 결과는 Table 2와 Fig. 1에서와 같이 각 검정균주에 따라 각기 다른 특성을 나타내었다. 그람 양성균인 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*와 그람 음성균인 *S. pullorum*, *E. coli* Serotype O₈, *E. coli* Serotype O₇₈, *B. bronchiseptica*에 대해서는 5 mg/mL 이상의 수준에서부터 항균성을 나타냈으며 *S. gallinarum*에 대해서는 10 mg/mL 이상에서 나타났고 *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*는 30 mg/mL 이상에서 나타나는 등 여러 미생물에서 넓은 항균 spectrum을 보

Table 2. Growth inhibiting activities of *Rhus javanica* for microorganisms

| Name | Clear zone diameter (mm) | | | | | | | |
|---|--------------------------|----|----|----|----------------------|----|----|----|
| | MeOH ext. (mg/mL) | | | | EtOH ext. (mg/mL) | | | |
| | 5 | 10 | 30 | 50 | 5 | 10 | 30 | 50 |
| <i>S. aureus</i> | 12 | 15 | 17 | 21 | 12 | 14 | 16 | 18 |
| <i>S. epidermidis</i> | 17 | 18 | 20 | 22 | 10 | 12 | 18 | 20 |
| <i>C. perfringens</i> Type C | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>L. monocytogenes</i> | 18 | 19 | 23 | 24 | 12 | 13 | 14 | 16 |
| <i>S. pullorum</i> | 7 | 9 | 13 | 17 | 7 | 10 | 14 | 17 |
| <i>S. gallinarum</i> | - | 11 | 14 | 20 | - | 10 | 13 | 18 |
| <i>S. typhimurium</i> | - | - | 10 | 12 | - | 10 | 13 | 15 |
| <i>S. choleraesuis</i> | - | - | 9 | 12 | - | - | 9 | 12 |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₈ | 14 | 16 | 17 | 18 | 8 | 14 | 17 | 19 |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₇₈ | 13 | 15 | 17 | 19 | 10 | 15 | 17 | 21 |
| <i>B. bronchiseptica</i> | 15 | 18 | 22 | 25 | 9 | 11 | 12 | 15 |
| <i>A. fumigatus</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>C. albicans</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |

여주고 있다. 반면 *C. perfringens*, *A. fumigatus* 및 *C. albicans*에 대해서는 항균효과를 확인하기 어려웠다. 한편 추출용매에 따른 항균력을 비교한 결과 MeOH추출물이 EtOH추출물보다 높은 경향을 보이거나 유사한 결과를 나타내고 있다. Lee 등(14)은 *E. coli*, *L. monocytogenes*와 *C. albicans*에 대한 오배자의 항균력을 검토한 결과 열수 추출에서는 *E. coli*, 에탄올추출에서는 *L. monocytogenes*가 우수하다고 보고하였으며 10여종의 미생물에 대한 항균력 검사에서 비교적 넓은 항균 spectrum을 나타낸다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하는 경향을 나타내고 있다.

한편 An(10)은 오배자 수용성 추출물의 항균성 검사에서 *S. aureus*, *E. coli*, *S. mutans* 및 *B. subtilis* 균주에서 높은 항균활성이 있다고 하였고 Choi 등(11)은 *S. aureus*와 *S. gallinarum*에 대한 40여종의 한약재를 농도별로 처리한 후의 항균성을 조사한 결과 *S. aureus*의 경우 5 mg/mL 수준에서 오배자, 하고초, 소목, 향유, 지실, 초두구 및 육두구에서 항균성을 보였다고 보고하였다. 이와같이 생약추출물의 항균활성의 차이는 항균성물질을 추출할 때 추출온도, 용매농도 및 용매의 종류에 따라 항균력이 차이가 난다고 하였다 (15).

최소 저해농도 측정

여러 종류의 균주에 대하여 항균활성이 나타난 오배자 추출물의 최소저해농도(MIC)를 추출물의 항균성 검색과 동일한 방법(paper disc agar diffusion)으로 측정한 결과는 Table 3과 같다. 최소저해농도는 MeOH추출물에서 0.6~12 mg/mL를 나타내며 EtOH추출물에서는 0.2~16 mg/mL로 EtOH추출물에서 높은 MIC를 나타냈다. 오배자의 농도별 항균활성을 측정한 결과 *S. epidermidis*와 *L. monocytogenes*에서 MeOH추출물이 5 mg/mL 수준에서 17 mm와 18 mm로 가장 큰 clear zone을 나타냈지만, 최소저해농도는

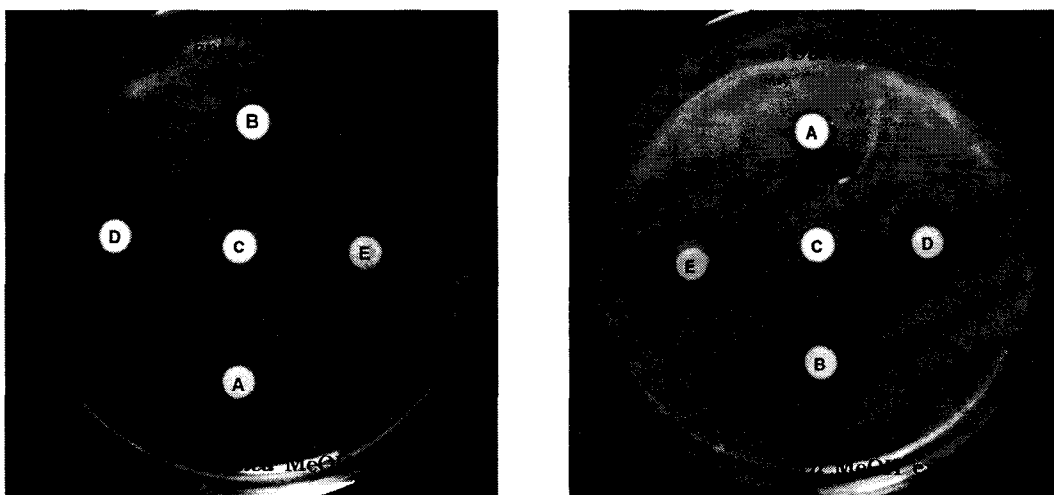


Fig. 1. Antimicrobial activity of *Rhus javanica* extract against *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* Serotype O₈.

A: 5 mg/mL. B: 10 mg/mL, C: Control, D: 30 mg/mL, E: 50 mg/mL.

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Rhus javanica* extract against microorganisms

| Treatment | Minimum inhibitory concentration (mg/mL) | | | | | | | | | |
|-----------|--|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|-----------------|-----|----|
| | SA | SE | ST | SC | SP | SG | EO ₇₈ | EO ₈ | BP | LM |
| MeOH ext. | 1.2 | 0.6 | 12 | 12 | 4.8 | 8.0 | 6.0 | 8.0 | 0.6 | 10 |
| EtOH ext. | 1.0 | 0.4 | 6.0 | 2.0 | 4.4 | 6.0 | 8.0 | 8.0 | 0.2 | 16 |

SA: *Staphylococcus aureus*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, ST: *Salmonella typhimurium*, SC: *Salmonella choleraesuis*, SP: *Salmonella pullorum*, SG: *Salmonella gallinarum*, EO₇₈: *E.coli* Serotype O₇₈, EO₈: *E. coli* Serotype O₈, BP: *Bordetella bronchiseptica*, LM: *Listeria monocytogenes*.

다른 균에 비해 *S. epidermidis*와 *B. bronchiseptica*가 0.4 mg/mL와 0.2 mg/mL로 특히 강한 MIC가 나타났으며 *C. albicans*와 *A. fumigatus*에서는 측정되지 않았다. Lee 등(16)은 오배자 등 민간 생약제와 포도과과 추출물의 항균활성을 조사한 결과 오배자의 MeOH추출물의 *B. subtilis*와 *E. coli*에 대한 최소저해 농도가 각각 1.0 mg/mL와 3.0 mg/mL로 본 실험의 결과가 높게 나타났으며 Lee 등(17)은 *E. coli*, *L. monocytogenes* 및 *C. albicans*에서 오배자의 최소 생육저해농도가 1.25 mg/mL로 본 실험의 결과가 높게 나타났는데 이는 추출용매 및 대상 균주가 상이하기 때문이라고 사료되었다.

분획물의 항균성 검색

오배자 추출물의 활성성분에 대한 특성을 검토하고자 극성이 다른 유기용매인 n-hexan, CHCl₃, EtOAc, n-butanol 및 water로 순차적으로 분획하여 항균성을 검색한 결과는 Table 4와 같다. 5가지 용매 분획물 중 n-hexane을 제외한 다른 용매에 대하여 대부분 항균활성이 나타났으며, MeOH 추출물의 EtOAc층이 *B. bronchiseptica*에서 23.67 mm로 가장 높았고 대부분의 균주에서도 EtOAc층이 다른 분획층에 비해 성장억제효과가 높게 나타났다. Ahn 등(13)은 오배자의 ethyl acetate 분획물의 성분 중 tannins methyl gallate와 gallic acid가 주된 항균물질이라 하였으며 Lee 등(18)은 오배자에서 분획물의 항균활성을 측정할 결과 EtOAc층에서 가장 활성이 높게 나타났다고 보고하였으며 Kweon 등(19)은 목단피에서 분획물의 항균활성을 측정할 결과 EtOAc층은 모든 시험균에 대해 항균작용을 나타낸다고 보고하였다. 일반적으로 분획시 특정 용매에서 효과가 상승하는 경향(9)

과 비슷한 양상을 보이고 있으며 이는 항균물질의 화학적 특성 때문으로 사료된다.

열 및 pH 안정성

Table 5는 오배자 추출물의 열 안정성을 조사하기 위해 추출물을 80°C, 100°C 및 120°C에서 각각 30분간 열처리한 후 생육 저해환을 측정할 결과다. MeOH추출물에서는 *S. pullorum*, *E. coli* Serotype O₇₈ 및 *B. bronchiseptica*에서 열처리에 따른 유의적 차이가 있었으며 EtOH추출물에서는 *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *E. coli* Serotype O₈ 및 *B. bronchiseptica*에서 유의적 차이를 보였으나 기타 균주에서는 억제환의 차이는 없었다. Lee 등(6)과 Park 등(7)은 열처리에 의한 억제환의 차이는 없다고 하였으며 Choi 등(20)은 가열온도가 증가함에 따라 항균활성이 감소한다고 하였다. 본 실험에서 억제환의 차이가 보이거나 없는 경우가 나타나는 것은 오배자의 주요 생리활성 물질인 탄닌화합물의 열에 대한 불안정성과 추출용매와 대상균주에 따라 차이를 보인 것으로 생각된다.

한편 Table 6은 추출물의 항균력에 대한 pH의 영향을 조사하기 위해 pH 3~11의 범위에서 생육 저해환을 측정할 결과다. MeOH추출물에서는 *L. monocytogenes*, *S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*, *E. coli* Serotype O₇₈ 및 *B. bronchiseptica*는 산도에 따른 유의적 차이가 있었으며 EtOH추출물에서는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *S. pullorum*, *S. typhimurium*, 및 *E. coli* Serotype O₈에서 유의적 차이를 보이는 등 대부분의 균주에서는 억제환의 차이를 보이고 있다. 이는 오배자의

Table 4. Antimicrobial activities of solvent fractions on *Rhus javanica* extracts

| Strains | Clear zone diameter (mm) | | | | | | | | | |
|---|--------------------------|---|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Hexane | | CHCl ₃ | | EtOAc | | BuOH | | Water | |
| | M | E | M | E | M | E | M | E | M | E |
| <i>S. aureus</i> | - | - | 10.00 | 8.67 | 10.00 | 9.33 | 11.00 | 10.33 | - | - |
| <i>S. epidermidis</i> | 7.67 | - | 9.67 | 8.67 | 12.67 | 11.00 | 11.33 | 10.33 | 8.67 | 7.67 |
| <i>S. typhimurium</i> | - | - | 8.33 | 9.33 | 22.67 | 22.67 | 13.33 | 12.33 | - | - |
| <i>S. choleraesuis</i> | - | - | 11.33 | 14.00 | 21.67 | 22.00 | 14.00 | 14.67 | 12.33 | 12.67 |
| <i>S. pullorum</i> | - | - | 8.00 | 8.67 | 20.33 | 21.33 | 19.67 | 20.33 | - | - |
| <i>S. gallinarum</i> | - | - | 8.00 | 9.00 | 15.67 | 16.33 | 12.67 | 13.00 | - | - |
| <i>B. bronchiseptica</i> | - | - | 8.67 | 9.00 | 23.67 | 20.33 | 18.33 | 15.67 | 9.33 | 8.67 |
| <i>L. monocytogenes</i> | - | - | 14.00 | 12.00 | 22.00 | 20.67 | 9.33 | 8.67 | - | - |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₈ | - | - | - | - | 14.67 | 15.33 | 14.67 | 13.67 | 8.67 | 8.00 |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₇₈ | - | - | 8.67 | 7.67 | 12.33 | 13.33 | 18.00 | 17.33 | 9.00 | 8.67 |

M: MeOH ext. E: EtOH ext.

Table 5. Effect of heat treatment on growth inhibiting activities of *Rhus javanica* extracts against microorganisms

| Strains | Clear zone diameter (mm) | | | | | |
|---|--------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | MeOH ext. | | | EtOH ext. | | |
| | 80°C | 100°C | 120°C | 80°C | 100°C | 120°C |
| <i>S. aureus</i> | 17.00 | 16.67 | 16.33 | 13.33 ^{ab} | 15.00 ^a | 13.00 ^b |
| <i>S. epidermidis</i> | 12.67 | 12.33 | 13.00 | 12.00 | 12.00 | 12.67 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 22.67 | 22.00 | 21.33 | 14.00 ^a | 13.67 ^a | 12.33 ^b |
| <i>S. pullorum</i> | 13.33 ^{a1)} | 12.00 ^{ab} | 11.33 ^b | 13.33 | 12.67 | 12.67 |
| <i>S. gallinarum</i> | 13.00 | 12.33 | 12.67 | 12.00 | 12.67 | 12.67 |
| <i>S. typhimurium</i> | 8.33 | 9.00 | 9.00 | 11.00 ^a | 10.67 ^a | 12.00 ^b |
| <i>S. choleraesuis</i> | 12.33 | 11.67 | 13.00 | 13.33 ^a | 13.00 ^{ab} | 12.33 ^b |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₈ | 16.00 | 16.33 | 16.33 | 14.67 ^{ab} | 16.00 ^a | 13.67 ^b |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₇₈ | 14.33 ^{ab} | 15.67 ^a | 16.00 ^b | 14.67 | 14.00 | 14.33 |
| <i>B. bronchiseptica</i> | 23.33 ^a | 22.33 ^{ab} | 21.33 ^b | 11.33 ^a | 13.00 ^b | 12.00 ^{ab} |

¹⁾Mean with different superscripts in the same row are significantly different (p<0.05).

Table 6. Effect of pH treatment on growth inhibiting activities of *Rhus javanica* extracts against microorganisms

| Strains | Clear zone diameter (mm) | | | | | |
|---|--------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | MeOH ext. | | | EtOH ext. | | |
| | pH 3 | pH 7 | pH 11 | pH 3 | pH 7 | pH 11 |
| <i>S. aureus</i> | 15.67 | 15.33 | 15.00 | 12.67 ^a | 11.55 ^b | 11.33 ^b |
| <i>S. epidermidis</i> | 12.00 | 12.00 | 13.00 | 10.33 ^b | 12.33 ^a | 12.67 ^a |
| <i>L. monocytogenes</i> | 17.00 ⁽¹⁾ | 21.67 ^a | 19.67 ^b | 9.67 ^c | 13.00 ^a | 11.00 ^b |
| <i>S. pullorum</i> | 10.67 ^b | 12.33 ^a | 11.00 ^b | 10.00 ^a | 13.00 ^{ab} | 11.33 ^b |
| <i>S. gallinarum</i> | 8.33 ^b | 10.33 ^a | 9.66 ^a | 10.33 | 11.33 | 11.00 |
| <i>S. typhimurium</i> | 10.66 ^a | 9.83 ^b | 11.00 ^a | 10.00 ^b | 11.00 ^a | 10.67 ^a |
| <i>S. choleraesuis</i> | 13.67 ^b | 15.33 ^a | 15.67 ^a | 12.67 | 12.67 | 13.17 |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₈ | 12.33 | 13.00 | 12.67 | 12.67 | 12.67 | 12.67 |
| <i>E. coli</i> Serotype O ₇₈ | 12.67 ^b | 14.33 ^{ab} | 15.33 ^a | 15.00 ^b | 14.00 ^c | 15.67 ^a |
| <i>B. bronchiseptica</i> | 16.67 ^b | 19.00 ^a | 17.33 ^b | 17.67 | 17.00 | 17.00 |

¹⁾Mean with different superscripts in the same row are significantly different (p<0.05).

주요 항균물질인 tannin화합물이 pH의 변화에 불안정하기 때문이라 생각된다.

Kang 등(21)은 pH 변화에 의한 항균활성의 변화가 거의 없다고 하였으며 Park 등(15)과 Choi 등(20)은 산성상태에서는 항균활성이 유지된다고 하였고 Kim과 Shin(2)은 가압 가열처리하고 다시 산 및 알칼리 처리를 한 다음 항균력을 조사한 결과 가압 가열 처리 시에는 항균력의 변화가 없었으

나 산처리의 경우 50%이상 감소되며 알칼리 처리 시에는 항균성이 완전히 소실되었다고 하였다.

첨가 농도별 항균효과

오배자 추출물을 실험균주에 대해 각 농도별 항균효과를 측정하기 위해 증식배지에 0, 100, 300 및 500 ppm을 첨가하여 조사한 결과를 Fig. 2에서 Fig. 5로 나타냈다. 오배자 추출

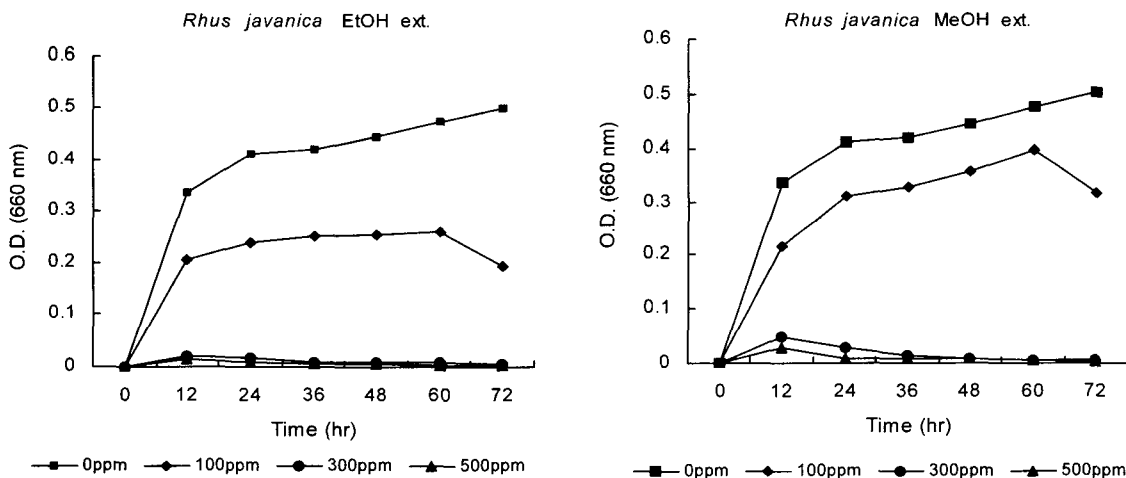


Fig. 2. Effect of concentrations of *Rhus javanica* extracts on growth inhibiting activity of *Staphylococcus aureus*.

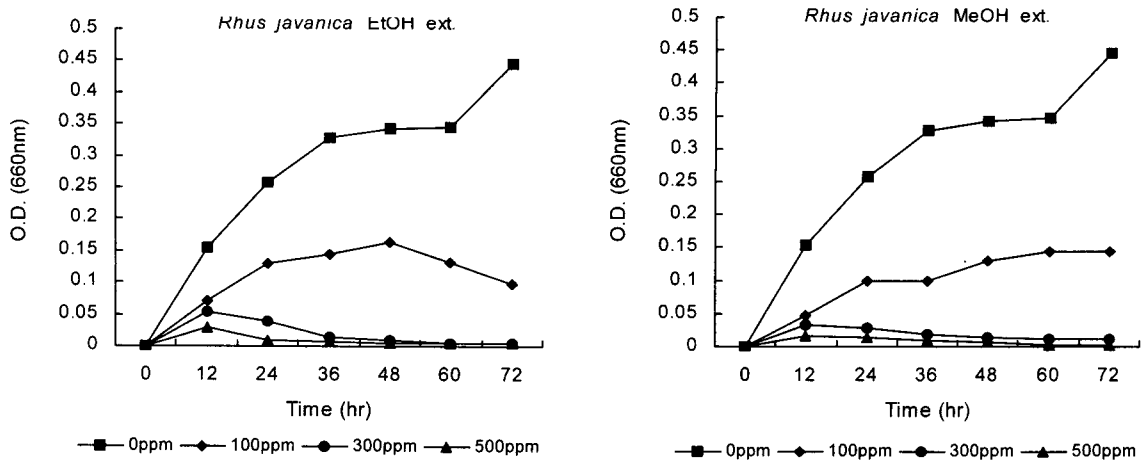


Fig. 3. Effect of concentrations of *Rhus javanica* extracts on growth inhibiting activity of *Staphylococcus epidermidis*.

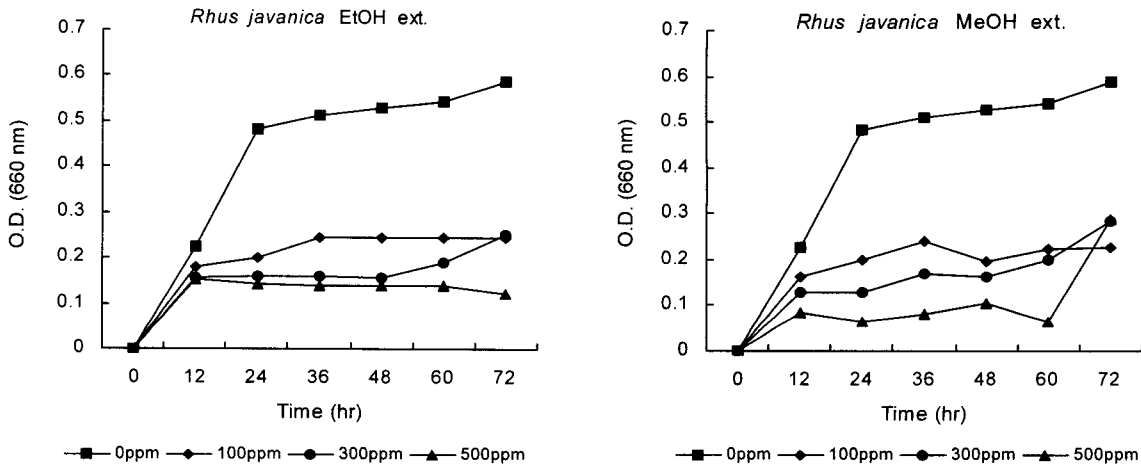


Fig. 4. Effect of concentrations of *Rhus javanica* extracts on growth inhibiting activity of *Salmonella pullorum*.

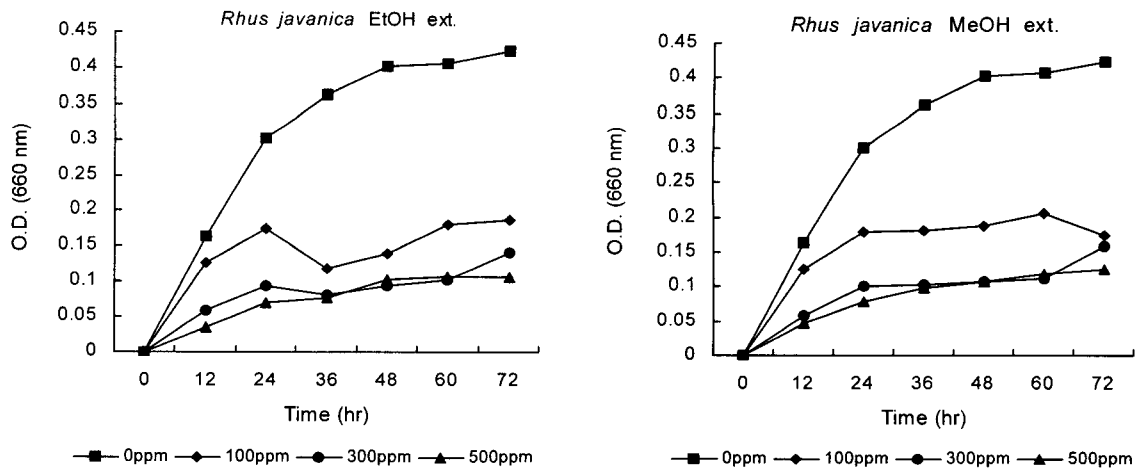


Fig. 5. Effect of concentrations of *Rhus javanica* extracts on growth inhibiting activity of *Bordetella bronchiseptica*.

물을 첨가하지 않은 대조구에서는 12시간 이후 급격한 균의 성장을 나타냈으나 그람양성균인 *S. aureus*의 경우 오배자 추출물의 첨가 농도가 높을수록 뚜렷한 억제효과를 보였으며, *S. epidermidis*의 경우 *S. aureus*와 같은 경향으로 300

ppm이상 첨가시 강한 억제효과를 나타냈다. 한편 그람음성균인 *S. pullorum*의 경우 모든 농도의 오배자 추출물에서 성장저해효과가 나타났고 *B. bronchiseptica*에서도 *S. pullorum*의 경우와 같이 성장저해효과가 보여주었다. 본 실험

에서 오배자 추출물은 추출용매에 관계가 없음을 나타내고 있으며 그람 양성균에 대하여는 매우 강력한 성장억제효과를 보이고 있으나 그람 음성균에 대해서는 다소 떨어지는 경향을 보이고 있다. 자초를 이용한 Park 등(15)의 실험에서 *S. aureus*에 대하여 항균력이 우수하였으나 Gram 음성균인 *E. coli*, *S. typhimurium* 등에 효과가 적다는 결과와 유사하였다. Lee 등(16)은 오배자 추출물에서 항균활성을 나타내는 주요 물질은 polyphenol이며 오배자 추출물을 0.1, 0.5, 1.0% 첨가하여 생육저해능력을 검정한 결과 대조구와 비교시 배양 16시간째 0.5%농도에서 *Escherichia coli*는 22%, *Bacillus subtilis*는 50% 정도의 생육저해도를 보여 그람 양성균에 대하여 우수한 항균력을 나타낸다고 하였으며 이에 대해 앞으로 연구가 더욱 필요하다고 본다.

요 약

오배자 추출물을 제조하여 가축질병에 관련이 있는 균에 대한 항균활성을 조사하였다. 오배자 추출물은 그람양성균에 대해 높은 항균활성을 보였으며 그 중 *S. epidermidis*와 *L. monocytogenes*에서 가장 높은 항균활성을 보였다. 오배자 추출물의 최소저해농도는 MeOH추출물은 0.6~12 mg/mL의 범위였으며 EtOH추출물은 0.2~16 mg/mL 농도에서 항균활성을 보였고 오배자 분획물의 항균활성은 EtOAc층이 가장 높은 활성을 나타냈다. 열과 pH에 의한 항균활성 변화에 있어서는 대부분의 균주에서 항균력의 차이를 보였다. 오배자 추출물의 미생물 증식억제 효과를 조사하기 위해 증식배지에 0, 100, 300 및 500 ppm의 추출물을 첨가하여 균주의 증식 억제효과를 조사하였다. 그람양성균인 *S. aureus*와 *S. epidermidis*는 300 ppm이상 첨가시 배양 후 72시간까지 증식이 정지된 상태를 보였으며 그람 음성균에서는 500 ppm 이상 첨가 시 증식이 저지되거나 저해효과가 있었다. 이런 결과를 종합하면 오배자 추출물은 그람 음성균에 비해 그람 양성균에 더욱 효과적인 항균활성이 있다고 보여진다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 상지대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Beuchat IR, Galden DA. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol* 43: 134-138.
2. Kim HS, Shin JO. 1997. Isolation and antimicrobial activity of *Xanthium strumarium* L. extract. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 183-188.

3. Lee SH, Moon WS, Park KN. 2000. Antimicrobial activity of *Caesalpinia sappou* L. extracts and its effect on preservation of ground meats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29: 888-892.
4. Jung SR. 1993. Antimicrobial activity of commercial medicinal herbs. *J Kor Phar Assoc* 4: 78-81.
5. Lee BW, Shin DH. 1991. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganism. *Kor J Food Sci Technol* 23: 200-204.
6. Lee SH, Lim YS. 1998. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenic microorganism. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 27: 239-243.
7. Park SK, Park JR, Lee SW, Seo KI, Kang 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: 707-712.
8. Piddok LJV. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol* 68: 307-318.
9. Shin DH, Kim MS, Han JS. 1997. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractions against food-borne bacteria. *Kor J Food Sci Technol* 29: 808-816.
10. An BJ. 2001. Effect of inhibition on glucosyltransferase and antimicrobial activity of polyphenol fraction of gallnut and red grape husk. *Kor J Postharvest Sci Technol* 8: 217-223.
11. Choi I, Chang HS, Yun YM, Um JC. 2002. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella gallinarum*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 30: 177-183.
12. Cha BC, Lee SB. 1998. Antioxidative and free radical scavenging effects of *Rhus javanica* Linne. *Kor J Medicinal Crop Sci* 6: 181-187.
13. Ahn YJ, Lee CO, Kweon JH, Ahn JW, Park JH. 1998. Growth-inhibitory effects of *Galla Rhois*-derived tannins on intestinal bacteria. *J Appl Microbiol* 84: 439-443.
14. Lee YC, Oh SW, Hong JS. 2002. Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts. *Kor J Food Sci Technol* 34: 700-709.
15. Park UY, Chang DS, Cho HR. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herbs extracts. *J Kor Soc Food Nutr* 21: 91-96.
16. Lee MC, Kim GP, Kim SH, Chung NH, Yim MH. 1997. Antimicrobial activity of extract from gall-nut and red-grape husk. *Korean J Food & Nutr* 10: 174-179.
17. Lee YC, Oh SW, Hong HD. 2002. Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts. *Kor J Food Sci Technol* 34: 700-709.
18. Lee JY, Min YK, Kim HY. 2001. Isolation of antimicrobial substance from *Schizandra chinensis* baillon and antimicrobial effect. *Kor J Food Sci Technol* 33: 389-394.
19. Kweon OG, Son JC, Kim SC, Chung SK, Park SW. 1998. Antimicrobial and antioxidative activities from motan cortex extract. *Kor J Postharvest Sci Technol* 5: 281-285.
20. Choi MY, Choi EJ, Rhim TJ, Cha BC, Park HJ. 1997. Antimicrobial activities of pine needle (*Pinus densiflora* Seib et Zucc) extract. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 293-297.
21. Kang SK, Sung NK, Kim YD, Shin SC, Seo JS, Choi KS, Park SK. 1994. Screening of antimicrobial activity of leaf mustard (*Brassica juncea*) extract. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 23: 1008-1013.

(2003년 6월 27일 접수; 2003년 10월 24일 채택)