

## Clostridium perfringens KCTC 5014의 성장 억제를 위한 항산화 천연산물의 효과

김 종 덕

여수대학교 생명·화학공학부

### The Growth Inhibiting Effect of Enterobacteria, *Clostridium perfringens* KCTC 5014, by the Combination of Natural Products

Jong-Deog Kim

Dept. of Biotechnology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

#### Abstract

The growth of *C. perfringens* was inhibited by the combination of natural products which have antioxidative capacity. *C. perfringens* was controlled very effectively by each or the combination of *Paeonia japonica*, *Atractylodis rhizoma alba*, *Epimedii herba*, *Acori graminei rhizoma*, *Schizandrae fructus*, *Lycii fructus*, *Cinnamomi cortex*, *Sophorae flos*, *Phellodendri cortex*, *Nelumbo nucifera gaertner*, *Asparagi tuber*, *Mori cortex radices*, *Astragali radix*, and *Coptidis rhizoma*. The combination of *Phellodendri cortex*, *Epimedii herba*, *Astragali radix* and *Glycyrrhizae radix* inhibited the growth of *C. perfringens* by 75% and increased the antioxidative activity by 4.4 times. This combination also eliminated more than 80% of hydroxyl radical. These natural products can be utilized as pharmaceuticals, functional foods, antiaging tea, and multifunctional fermentative beverages.

**Key words:** antioxidative capacity, natural product, growth inhibition, *C. perfringens*

#### 서 론

*C. perfringens*는 G(+)의 간균, 혐기성 균으로써, 탄수화물의 분해력이 아주 강하며, 각종 당을 분해하여 산과 가스를 생산하며, breaking through의 의미를 가지는 조직상해성(histotoxic clostridia)의 균주이고(1), 이 세균들은 창상부에 감염하여 조직 상해성의 독소를 생산한다. 창상에 있어 이러한 세균의 감염은 국한성의 봉와염(clostridial cellulitis)을 일으키는 경우와 침식성의 근육조직의 괴사(clostridial myonecrosis)(2) 및 식중독을 일으키는 여러 가지의 단계가 있고,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$  및  $\iota$  등의 다양한 독소를 가지고 있으며, 이 spectrum에 따라 이 균주는 A, B, C, D 및 E 형의 5가지 형으로 나누어진다(3). 사람에게 병을 일으키는 원인균은 A형으로써, 사람이나 동물의 장관 내에 존재하며, 분변 중에 영양형이나 아포형 등으로 존재한다. A형 균주의 주요 독소는  $\alpha$  독소, 즉 lecithinase C이며, 이 독소를 쥐의 복강 내에 주사하면 24시간 이내 사망하고, 모르모트에 피하주사하면 국소의 괴사를 일으키며, 용혈작용도 있다. 이 독소는 생체의 세포막을 구성하는 lecithine을 함유하는 lipoprotein에 작용하여 막의 상해를 일으키고 세포를 파괴한다(4). 국소에 있어서 균의 증가가 개시되면, 각종 독소가 생산되고, 주변의 조직 특히, 근조직이 파괴되며, 숙주 세포의 파괴산물은 균의

영양분으로 되어 증식이 촉진되고 생산된 독소가 주변의 근조직을 상해되게 하며 괴사부위의 확대가 일어난다. 또한, 균의 증식에 의하여 대사산물로서 가스의 저류가 일어나, 조직이 압박되어 혈행부전을 일으켜, 국소의 산화, 환원전위는 낮아지고, 균의 증식을 촉진하는 악순환이 되풀이된다. 이러한 기전으로 괴사부위가 급속도로 확대되어 가스괴저(clostridial myonecrosis)를 일으키며 15~30%의 치사율을 가진다. 또한 피하조직에만 확대되어 혐기성 봉와염(anaerobic cellulitis)을 일으키기도 한다. 그리고 A형의 세균에 의하여 감염된 음식물을 가열조리하면 내열성의 아포가 생성되고, 조리 후 냉각하면 발아하여 식품 중에 균이 급격하게 증가하여 장관에 도달하면 아포를 생성하고, enterotoxin을 생산하여 장관 내의 점막 세포에 작용하여 복통, 설사, 구토 등의 식중독을 일으킨다(1,2). 따라서 이러한 유해세균을 제어할 수 있는 방법의 모색이 필요하다. 그리고 생체는 정상적인 생활을 영위함에도 생체 내의 대사과정으로부터 생산되는 alcoxyl radical(RO·), singlet oxygen( $^1O_2$ ), peroxy nitrite anion(ONOO<sup>-</sup>), peroxy radical(ROO·), nitric oxide(NO), semiquinone radical, hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hypochlorous acid(HOCl) 등의 ROS(reactive oxygen species)(5-9)에 의하여 세포 내외적인 요소들로부터 Fig. 1과 같이 조직의 손상을 가져옴으로써, 세포의 기능 저하 및 조직의 괴사에 의한

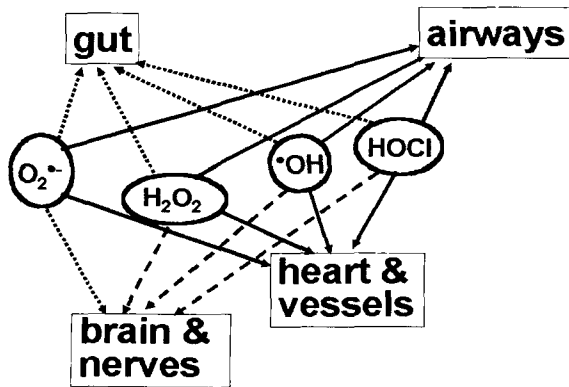


Fig. 1. Frequent targets of ROS.

질병의 과정을 밝게 된다(10-16). 이러한 ROS는 생체에 존재하는 효소적 항산화제만으로는 소거하기가 어렵고, 또한 생체가 늙어감에 따라 *Lactobacillus* 속 및 *Bifidus* 속의 균주는 점차 줄어들고 *Clostridium* 속의 세균이 많아져 장의 괴사를 일으키고, 여러 가지 독소들에 의하여 치매 등의 질환을 일으키기도 하므로, ROS의 제거와 장내세균의 균형을 위하여 항산화력이 강한 천연산물을 선별하여 사용함으로써 생체에서 발생하여 조직을 파괴하는 free radical을 소거할 수도 있고, 새로운 장내세균의 조절기능을 갖는 제재의 개발이 가능할 것으로 사료된다. 이를 위하여 천연산물의 항산화력을 검토하고, 조합하여 효능의 상승효과를 가져오게 함으로써 생체의 기능 향상을 위한 다기능성의 새로운 제재를 개발하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 사용균주

장내 유해균주로는 *Clostridium perfringens* KCTC 5014를 KTCC로부터 분양 받아 사용하였다.

### 재료 및 시약

균주의 성장에 필요한 배지로서는 Reinforced Clostridial Medium(RCM) (pancreatic digest of casein 5.0 g, protease peptone No 3 5.0 g, beef extract 10.0 g, yeast extract 3.0 g, glucose 5.0 g, NaCl 5.0 g, soluble starch 1.0 g, cystein HCl 0.5 g, sodium acetate 3.0 g, agar 0.5 g, purified water 1000.0 mL, Adjust pH to 6.8.)을 사용하였고, 250 mL의 플라스크에 100 mL의 배양액을 넣고 37°C에서 150 rpm으로 교반하면서 48시간 배양하였다.

### 유용천연산물의 선별

천연산물의 선별은 동의보감(東醫寶鑑)(17), 증맥·방약합편(證脈·方藥合編)(18), 한방처방의 구성과 적용(韓方處方的構成과適用)(19), 도해상용한방처방(圖解常用漢方處方)(20), 현대한방강좌(現代韓方講座)(21), 현대생약학(現代生藥學)(22) 등의 여러 고서에 수록된 고처방으로부터 소화기계에 많이 사용되는 처방 중에서 생체를 보하는 기능, 해독작

용, 수렴, 조혈작용, 항균작용을 가지는 천연산물의 역할을 바탕으로 30종류를 선별하여 사용하였다.

### 천연산물의 추출 및 조합

천연산물의 시료는 각각의 천연산물 300 g에 3차 증류수 1500 mL를 넣어 1시간동안 열수 추출한 여액을 500 mL로 농축하여 사용하였다. 단일 천연산물은 각 천연산물 추출액을 사용하였고, 두가지의 천연산물의 조합은 단일 천연산물을 저해 효과가 있는 천연산물을 선별하여 각각의 천연산물을 1:1로 조합한 혼합액을, 세가지의 천연산물의 조합은 두가지의 천연산물의 조합으로 저해 효과가 있는 천연산물의 조합을 중심으로 1:1:1로 조합한 혼합액을, 네가지 천연산물의 조합은 세가지의 천연산물의 조합 중 제어 효과가 있는 조합을 중심으로 1:1:1:1로 조합한 혼합액을 실험의 시료로 사용하였다.

장내 유해세균 *C. perfringens*의 성장을 억제시키는 천연산물군의 탐색

*C. perfringens*의 배양은 250 mL 삼각 플라스크에 천연산물의 조합 시료 3 mL와 RCM을 97 mL 첨가하여 전체량을 100 mL로 하여 멸균한 후, 질소가스로 충전된 glove box (J-926, Jisco, Korea)내에서, 제균 필터가 부착된 needle로 배양액 내로 질소를 불어 넣어 탈기시키고, 전배양한 균주를 0.1% 접종하여 37°C에서 혐기 배양하면서 6시간 간격으로 질소가스가 충전된 glove box 내에서 시료를 채취한 후 20배 희석하여 spectrophotometer(UV-2101PC, Shimadzu, Japan)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였고, 세균의 성장 정도가 천연산물을 넣지 않은 대조군보다 낮은 천연산물을 선택하였다.

용존산소분석법(D.O. analysed method)에 의한 항산화 활성의 측정

용존산소분석법에 의한 항산화력의 측정(13)은 100 mL의 플라스크에 linoleic acid 1 g, tween 40 용액은 2 mL 및 천연산물을 열수 추출한 시료 3 mL를 첨가하고 증류수로 최종량을 30 mL로 조정후, 37°C의 항온조에서  $Fe^{2+}$ 를 첨가하고 D.O. meter(TPS, Model WP-82, Australia)를 사용하여 D.O.의 감소에 따른 AUC(Area Under Curve)를 구하여 항산화력을 비교하였다.

### Hydroxyl radical 소거 활성 측정

Hydroxyl radical 소거 활성은 2-deoxyribose oxidation method(16,23,24), 즉, 시험관에 0.1 mM  $FeSO_4/EDTA$  용액 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 항산화 추출 시료액 0.2 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL, 10 mM의  $H_2O_2$  용액 0.2 mL를 가하고 37°C의 항온조에서 4시간 반응시킨 후, 2.8%의 TCA(trichloroacetic acid) 용액 1 mL를 가하여 반응을 중지시키고, 생성되는 malondialdehyde를 1.0%의 TBA(thiobarbituric acid) 용액 1 mL를 가하여 100°C에서 10분

간 가열 후 급속 냉각하고 532 nm에서 흡광도를 측정하였고, 증류수를 대조군으로 하여 소기 활성을 구하였다.

#### 총 phenol 함량 및 방향족의 측정

항산화력은 phenol성 화합물에서 강하며, 또한 방향족 화합물의 양에 의하여 결정되므로 추출물 일정량을 분광광도계를 이용하여 280 nm에서 흡광도를 측정하여 방향족 화합물의 함량을 측정하고, 총 phenol 함량의 분석은 개량된 Folin-Denis 법(25)으로 측정된 후 tannic acid의 검량선으로부터 구하였다.

### 결과 및 고찰

30종류의 천연산물을 용존산소 분석법에 의하여 분석한 AUC를 기존의 합성 항산화제와 비교해보면 0.02%의 BHA 및 0.02%의 BHT는 각각 1656.80 및 1516.58이었으며, 천연산물의 AUC는 승마(*Cimicifugae rhizoma*: 1045.24), 산수유(*Corni fructus*: 984.50) 등은 높은 항산화력을 보여 합성 항산화제를 대용할 수 있을 것으로 사료되었으며, 상백피(*Mori cortex radices*: 723.28), 연자육(*Nelumbo nucifera gaertner*: 695.86) 및 당귀(*Angelicae gigantis radix*: 532.32) 등은 0.02%의  $\beta$ -carotene(485.28)보다 나은 항산화력을 나타내었다. 천연산물 중에서도 항산화력이 0.02%의  $\beta$ -carotene보다 강한 제제들이 많아 합성 항산화제의 대용뿐만 아니라, ROS 제거를 위한 생체투여가 가능한 물질도 많음을 알 수 있었으며, 유산균 발효유, 식품보존제 및 항노화 제제 등의 다방면으로 사용이 가능할 것으로 판단되며 구체적인 30종류의 천연산물 AUC는 전보에 수록하였다(26).

#### 한 종류의 천연산물로부터 *C. perfringens*의 성장 제어

*C. perfringens*의 균주는 백작약, 백출, 음양곽, 석창포, 오미자, 구기자, 계피, 괴화, 황백, 연자육, 천문동, 상백피, 황기 및 황련 등의 천연산물에 의하여 성장이 저해되어 천연 산물로서 이 세균의 제어가 가능한 것으로 나타났다. 이 천연산물들의 생체에 대한 기능으로서 백작약(白灼藥)은 해독(解毒)작용과 통증완화(止痛)작용을 하며, 백출(白朮)은 소변이 잘 나오지 않는 것(小便難)을 치료하며, 음양곽(淫羊藿)은 정자의 생산(益精), 건망증의 해소, 소변이 잘 나오지 않음을 치료하고, 석창포는 간(肝), 심장(心), 비장(脾), 폐(肺), 신장(腎)의 오장을 도우고(補五臟), 전간, 건망증을 치료하며, 구기자(枸杞子)는 간과 신장 그리고 정력을 도우고(益精), 계피는 혈액을 잘 돌게 하며(活血), 괴화(槐花)는 오장의 기생충을 죽이고(殺五臟蟲), 혈루성 치질(痔血)을 치료하며, 황백(黃柏)은 해독(解毒), 살충(殺蟲), 황달(黃疸) 및 여성의 대하(帶下)를 치료하고, 연자육(蓮子肉)은 비장을 보하고(補脾), 정액을 고이게 하며(澀精), 천문동은 폐의 기능을 도우고(補肺氣), 소변이 잘 나오게 하며(利小便), 상백피(桑白皮)는 토하고 설사하며 위의 경련(攪亂吐瀉)에 각각 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 황기(黃芪)는 폐를 보하며(補肺), 여성의 대하 및 소변 불편

(閉塞)을 치료하며, 황련(黃蓮)은 장을 두텁게 하고, 황달을 치료하며 오장의 냉열을 조절하는 기능(五腸冷熱)을 가지고 있다(17-22). 한 종류의 천연산물로서 *C. perfringens* 균주를 배양하였을 때 성장 억제의 정도를 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2에서 볼 수 있는 바와 같이 배양 30 시간에서까지의 천연산물에 의한 제어는 panel (a)의 백작약, 백출, 음양곽 및 석창포는 50%이상의 제어율을 보였고, panel (b)의 오가피, 구기자, 계피 및 괴화는 40%의 제어율을 보였다. 그리고 panel (d)의 황기는 배양 후 48시간까지 40%의 제어율을 보여 천연산물로서도 균의 제어가 가능함을 보였다. 이는 천연산물이 이 세균의 대사를 제어하는 성분이 있거나(27-29), 세포막의 수송 환경의 변화에 의한 물질의 전달이 제어되는 것으로 추정된다(30,31).

#### 두 종류의 천연산물 조합으로부터 *C. perfringens*의 성장 제어

*C. perfringens*는 황금과 감초, 황금과 천문동, 황금과 상백피, 황금과 구기자, 황백과 감초, 황백과 상백피, 황백과 구기자 및 황금과 황기 등이 두 종류의 천연산물의 조합에 의해서 저해되었고, 대조군에 대한 제어 정도를 Fig. 3에 나타내었다. 수렴 효과가 있는 황금 및 황백을 중심으로 한 조합에서 제어가 잘되는 것으로 나타났으며, 황금과 감초의 조합에서 35.7%, 구기자와 황백의 조합에서 39.3%, 황금과 황기의 조합에서 46.4%, 특히 황백과 감초의 조합에서 64%의 제어 효과를 보여 그 응용 가능성을 찾을 수 있었다.

#### 세 종류의 천연산물 조합으로부터 *C. perfringens*의 성장 제어

*C. perfringens* 균주는 황금과 음양곽 및 황기, 황금과 황백 및 구기자, 황금과 황백 및 음양곽의 조합에 의하여 저해되었으며, 그 제어의 정도를 Fig. 4에 나타내었다. 황금과 황백 및 구기자, 황금과 황백 및 음양곽 등의 3차 조합은 수렴작용을 가지는 황금, 황백의 공통조합에 구기자, 음양곽이 배합되어 70%의 제어율을 보였고, 황금과 음양곽 및 황기의 조합은 60%의 저해율을 나타내었다.

#### 네 종류의 천연산물 조합으로부터 *C. perfringens*의 성장 제어

*C. perfringens* 균주는 황금, 구기자와 황기 및 감초의 조합, 황금, 구기자와 음양곽 및 황기의 조합, 황금, 황백과 음양곽 및 황기의 조합, 황백, 음양곽과 황기 및 감초의 조합 등의 천연산물의 배합에 의하여 성장이 저해되었고, 그 제어 정도를 Fig. 5에 나타내었다. Fig. 5로부터 보면 황백, 음양곽과 황기 및 감초의 조합이 75%의 제어율을 보였고, 황금, 황백과 음양곽 및 황기의 조합, 황금, 구기자와 음양곽 및 황기의 조합, 그리고 황금, 구기자와 오미자 및 감초의 조합은 50%의 제어 효과를 보여 장내 세균의 균형 유지에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

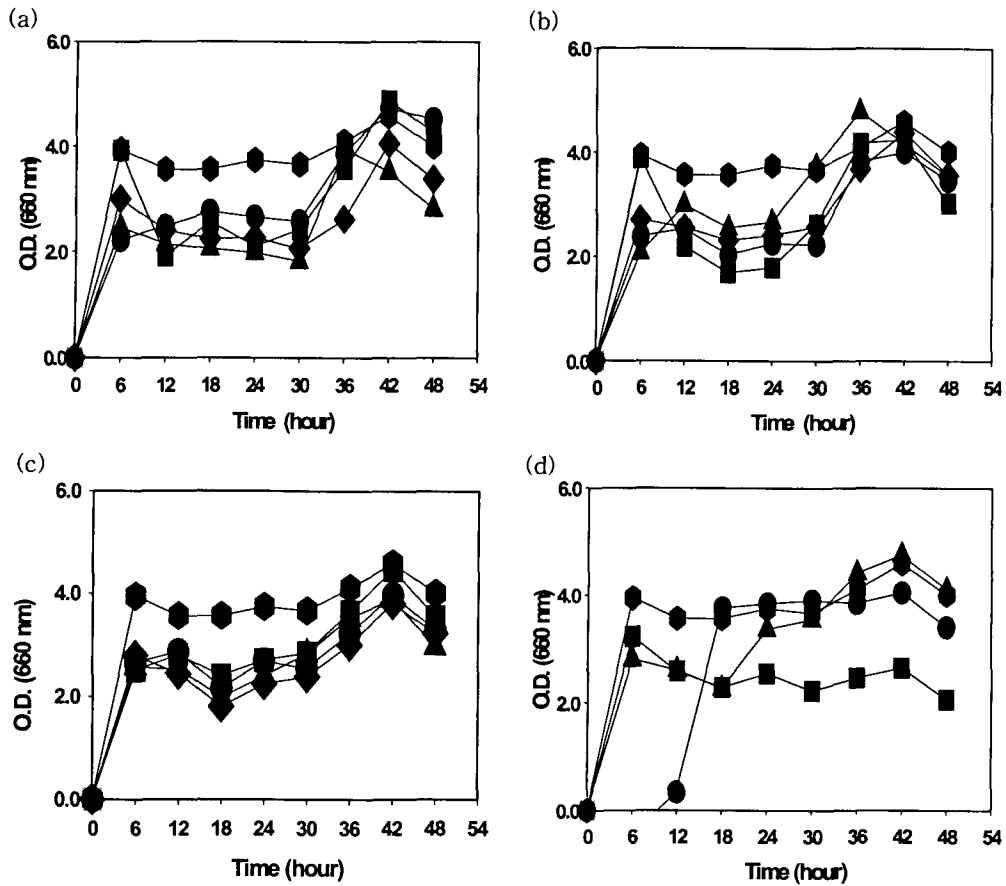


Fig. 2. The inhibition effect of natural products on the growth of *C. perfringens*. Panel (a). ●: *Paeonia japonica*, ■: *Atractylodis rhizoma alba*, ▲: *Epimedium herba*, ◆: *Acori graminei rhizoma*, ●: control. Panel (b). ●: *Acanthodanacis cortex*, ■: *Lycii fructus*, ▲: *Cinnamomi cortex*, ◆: *Sophorae flos*, ●: control. Panel (c). ●: *Phellodendri cortex*, ■: *Nelumbo nucifera gaertner*, ▲: *Asparagi tuber*, ◆: *Mori cortex radicis*, ●: control. Panel (d). ●: *Coptidis rhizoma*, ■: *Astragali radix*, ▲: *Beiamcanda chinensis*, ●: control.

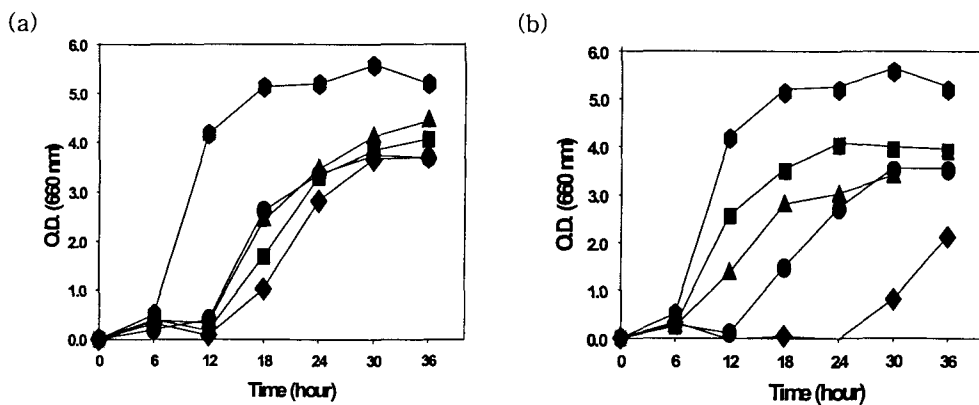


Fig. 3. The inhibition effect of two mixed combination of natural products on the growth of *C. perfringens*. Panel (a). ●: *Scutellaria baicalensis george* and *Asparagi tuber*, ■: *Scutellaria baicalensis george* and *Mori cortex radicis*, ▲: *Scutellaria baicalensis george* and *Lycii fructus*, ◆: *Scutellaria baicalensis george* and *Glycyrrhizae radix*, ●: control. Panel (b). ●: *Scutellaria baicalensis george* and *Astragali radix*, ■: *Lycii fructus* and *Phellodendri cortex*, ▲: *Phellodendri cortex* and *Moricortex radicis*, ◆: *Phellodendri cortex* and *Glycyrrhizae radix*, ●: control.

*C. perfringens*의 성장 제어 효과를 갖는 4 종류 천연산물 조합의 항산화력  
*C. perfringens*의 성장을 현저하게 저해하는 4 종류의 천

연산물의 조합으로 이루어진 4종류의 조합의 항산화력을 용존산소 분석법에 의하여 분석한 결과 황백, 은양곽, 황기 및 감초 조합의 AUC가 581.89로써 가장 높았으며, 다음으로

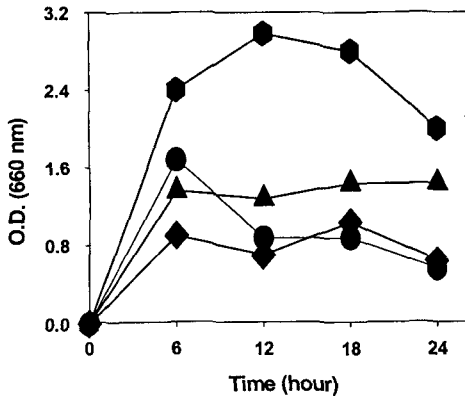


Fig. 4. The inhibition effect of three mixed combination of natural products on the growth of *C. perfringens*. ▲: *Scutellaria baicalensis george*, *Epimedii herba* and *Astragali radii*, ◆: *Scutellaria baicalensis george*, *Phellodendri cortex* and *Lycii fructus*, ●: *Scutellaria baicalensis george*, *Phellodendri cortex* and *Epimedii herba*, ●: control.

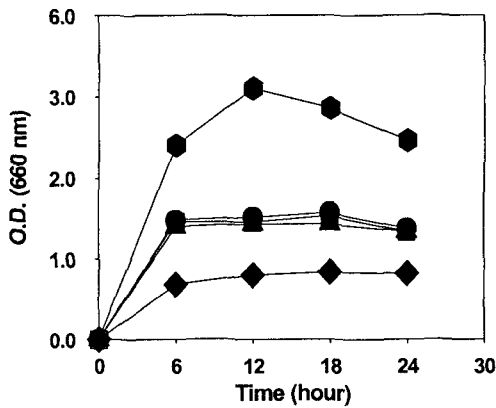


Fig. 5. The inhibition effect of four mixed combination of natural products on the growth of *C. perfringens*. ●: combination of *Scutellaria baicalensis george*, *Lycii fructus*, *Schizandrae fructus* and *Glycyrrhizae radix*, ■: *Scutellaria baicalensis george*, *Lycii fructus*, *Epimedii herba* and *Astragali radix*, ▲: *Scutellaria baicalensis george*, *Phellodendri cortex*, *Epimedii herba* and *Astragali radix*, ◆: *Phellodendri cortex*, *Epimedii herba*, *Astragali radix* and *Glycyrrhizae radix*, ●: control.

황금, 황백, 음양곽 및 황기의 조합(576.67), 황금, 구기자, 음양곽 및 황기의 조합(568.75), 황금, 구기자, 오미자 및 감초의 조합(483.22)의 순서로 나타났다(Fig. 6). 이들의 항산화력은 대조군의 AUC 116.61보다 4.4배 정도 강한 것으로 나타났으며, 황백, 음양곽, 황기 및 감초의 조합에 의하여 75%의 제어율을 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거 활성

*C. perfringens*의 성장을 저해하는 4종류의 조합 중에서 황백, 음양곽, 황기 및 감초의 조합(A)이 다른 조합보다 나은 소거율을 보였으며, 300배의 희석액에서 93.49%로서 최상의 소거율을 보였다. 그리고 황금, 황백, 음양곽 및 황기의 조합(B)은 50배의 희석액에서 90.0%의 소거율을, 황기, 구기자, 음양곽 및 황기의 조합(C)은 300배의 희석액에서 87.5%의

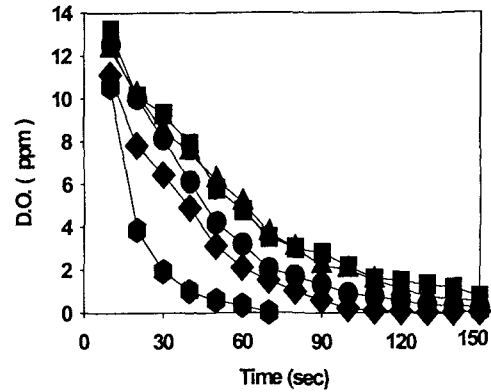


Fig. 6. Comparison of antioxidative capacities of the mixed combinations of four natural antioxidants. ●: combination of *Scutellaria baicalensis george*, *Lycii fructus*, *Epimedii herba* and *Astragali radix* (568.75), ■: *Phellodendri cortex*, *Epimedii herba*, *Astragali radix* and *Glycyrrhizae radix* (581.89), ▲: *Scutellaria baicalensis george*, *Phellodendri cortex*, *Epimedii herba* and *Astragali radix* (576.67), ◆: *Scutellaria baicalensis george*, *Lycii fructus*, *Schizandrae fructus* and *Glycyrrhizae radix* (483.22), ●: control (116.61). Numerics in brackets are designated as AUC of the each combination.

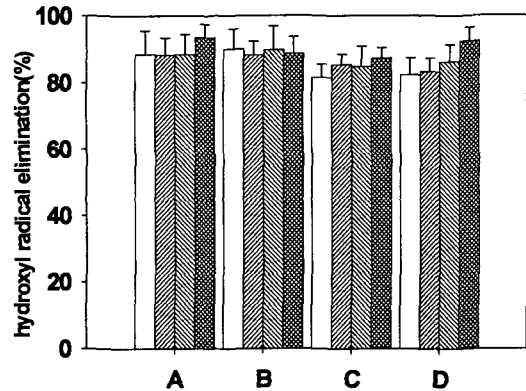


Fig. 7. OH<sup>·</sup> radical elimination ratios by the mixed combinations of four natural antioxidants. A: combination of *Phellodendri cortex*, *Epimedii herba*, *Astragali radix* and *Glycyrrhizae radix*, B: *Scutellaria baicalensis george*, *Phellodendri cortex*, *Epimedii herba* and *Astragali radix*, C: *Scutellaria baicalensis george*, *Lycii fructus*, *Epimedii herba* and *Astragali radix*, D: *Scutellaria baicalensis george*, *Lycii fructus*, *Schizandrae fructus* and *Glycyrrhizae radix*. All values are mean  $\pm$ SE (n = 3). □ 1/50, ▨ 1/100, ▩ 1/200, ▪ 1/300.

소거율을, 황금, 구기자, 오미자 및 감초의 조합(D)은 300배의 희석액에서 92.5%의 소거율을 보였다(Fig. 7). *C. perfringens*의 성장을 저해하는 조합으로써 항산화력이 강화하여 장내의 균형유지에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

총 phenol 함량 및 방향족의 측정

*C. perfringens*의 성장을 촉진하는 4 종류의 각 조합에 따른 방향족의 함량 및 총 phenol 함량을 Table 1에 나타내었으며, Yeo 등(32)의 논문에서 본보와 같은 방법으로 측정된 증제차, 볶음차, 오롱차 및 홍차의 수용성 추출물의 총 phenol량은 각각 1.71, 1.54, 0.96 및 0.89  $\mu$ g/100 g이었다고 보고하였으며,

Table 1. Amounts of aromatic compounds and total phenols of the mixed combinations of four natural products

Combinations	Absorbance at 280 nm	Amounts of total phenols (µg/100 g)
<i>Phellodendri cortex, Epimedii herba, Astragali radix</i> and <i>Glycyrrhizae radix</i>	1.85	16.50
<i>Scutellaria baicalensis george, Phellodendri cortex, Epimedii herba</i> and <i>Astragali radix</i>	1.80	16.05
<i>Scutellaria baicalensis george, Lycii fructus, Epimedii herba</i> and <i>Astragali radix</i>	1.80	16.05
<i>Scutellaria baicalensis george, Lycii fructus, Schizandrae fructus</i> and <i>Glycyrrhizae radix</i>	1.75	15.82

본 실험에 사용한 4종류의 조합은 녹차중의 증제차나 볶음차의 비발효차보다 9배 이상 높은 것으로 나타났으며, 반발효차인 오롱차보다는 16배 이상, 발효차인 홍차보다는 17배 정도 높은 것으로 나타났다. 이것은 4종류의 조합을 구성하는 천연산물의 성분 내에는 녹차보다 다양한 종류의 phenols, phenolic acid 및 polyphenol 등을 가지고 있기 때문으로 사료된다.

### 요 약

*C. perfringens*의 성장은 선택되어진 천연산물의 한 종류 및 이들의 조합에 의하여 특징적으로 성장이 저해되었으며, 이것은 항산화력이 강한 천연산물들을 free radical의 제거와 동시에 *C. perfringens*의 성장 억제 물질로 사용할 수 있고 이를 이용하여 기능성 항산화 제제의 제조가 가능하리라 사료된다. 한 종류의 천연산물, 백작약, 백출, 음양곽, 석창포, 오미자, 황기 및 황련 등에 의하여 성장이 저해되었고, 황기는 40%의 제어율을 보여, 이 세균의 대사를 제어하는 성분이 있거나, 세포막의 수송 환경의 변화에 의한 물질의 전달이 제어되는 것으로 추정된다. 그리고 두 종류 천연산물의 조합인 황금과 감초, 황금과 상백피, 황백과 감초 및 황금과 황기 등의 조합에 의해서 저해되었고, 황백과 감초의 조합에서 64%의 제어 효과를 보였다. 세 종류의 천연산물 조합인 황금과 황백 및 구기자, 황금과 황백 및 음양곽의 조합에 의하여 70%의 제어율을 보였고, 황백, 음양곽, 황기 및 감초의 조합 등의 4 종류의 천연산물 조합에 의해서도 성장이 저해되었으며, 75%의 제어율을 보였다. 4 종류의 조합의 항산화력은 황백, 음양곽, 황기 및 감초 조합의 AUC가 581.89로써 대조군보다 4.4배 정도 강하였으며, 항산화력이 강한 조합에서 제어가 잘되는 것으로 나타났다. Hydroxyl radical의 소거활성은 황백, 음양곽, 황기 및 감초의 조합이 300배의 희석액에서 93.49%로서 최상의 소거율을 보였고, 방향족의 함량 및 총 phenol 함량은 가공된 녹차보다 10배 정도 높은 것으로 나타났다. 이것은 항산화력이 강한 천연산물들을 이용하여 free radical의 제거와 동시에 *C. perfringens*의 성장 억제 물질로 사용할 수 있으며, 생체의 기능을 향상시킬 수 있는 기능성 제제로의 응용 가능성을 보였다.

### 감사의 글

본 연구는 농림기술연구센터에서 지원한 농림기술개발과

제(관리번호200005-2) 결과의 일부이며, 이에 감사합니다.

### 문 헌

- Bergan T. 1984. Pathogenicity of anaerobic bacteria. *Scand J Gastroenterol Suppl* 91: 1-11.
- Hart GB, Lamb RC, Strauss MB. 1983. Gas gangrene. *J Trauma* 23: 991-1000.
- [http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC420/lecture\\_notes/clostridia/clostridia\\_enterotoxigenic/cperfringens\\_enteric.html](http://microvet.arizona.edu/Courses/MIC420/lecture_notes/clostridia/clostridia_enterotoxigenic/cperfringens_enteric.html).
- Mori R, Amako K. 1988. *Toda's New Bacteriology*. Nanzando company, LTD, Tokyo. p 418-431.
- Chung HY, Kim HJ, Jung KJ, Yoon JS, Yoo MA, Kim KW, Yu PB. 2000. The inflammatory process in aging. *Clinical Gerontology* 10: 202-222.
- Harman D. 1978. Free radical theory of aging -nutritional implications. *Age* 1: 143-150.
- Kwon HJ, Kang MJ, Kim HJ, Choi JS, Paik KJ, Chung HY. 2000. Inhibition of NF-κB by methyl chlorogenate from *Eriobotrya japonica*. *Mol Cell* 10: 241-246.
- Yu BP. 1996. Aging and oxidative stress -Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol Med* 21: 651-668.
- Zoubi H. 1998. *Methods for not to lose against free radicals*. Noubunkyo, Tokyo, Japan. p 13-52.
- Li HC, Yashiki S, Sonoda J, Lou H, Ghosh SK, Byrnes JJ, Lema C, Fujiyoshi T, Karasuyama M, Sonoda S. 2000. Green tea polyphenols induce apoptosis *in vitro* in peripheral blood T-lymphocytes of adult T-cell leukemia patients. *Jpn J Cancer Res* 91: 34-40.
- Lunec J. 1995. *Oxygen radical activity detection and measurement in vivo in encyclopedia of analytical science*. Townsend A, ed. Academic Press, New York, US. Vol 6, p 3679-3688.
- Nakada C. 1997. *Talk for free radical*. Koudansya, Tokyo, Japan. p 56-102.
- Outa S. 1987. *Food and antioxidant*. Syokuhinzaikyokai, Tokyo, Japan. p 1-38.
- Peter TP. 1998. The skin's antioxidant systems. *Dermatology Nursing* 10: 401-406.
- Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A. 1994. Red wine, tea, and antioxidants. *The Lancet* 344: 626-629.
- Yosikawa M, Kawano K, Yano I. 2000. *All of reactive oxygen and free radical*. Marusen LTD, Tokyo, Japan. p 8-75.
- Huh J. 1999. *Dongeuibogam*. Bobinmunwhasa, Seoul. p 21-164.
- Kawhudo Y. 1989. *Proof of Pulse-Bangyakhappyeon*. Namsandang, Seoul. p 15-70.
- Mori YZ. 1986. *KanbouSyohounoKouseitoTekiyou*. Hakubutsusyokan, Tokyo, Japan. p 20-140.
- Gan KK. 1982. *Zugai ZouyouKanbouSyohou*. Yakukyosihosya, Japan. p 15-190.
- Yeom TH, Park SS. 1975. *Lecture of modern Hanbang*. Haenglimseowon, Seoul. p 101-300.
- Yuk CS, Yang HS. 1999. *Hyundai Saengyakhak*. Hak-

- changsa, Seoul. p 133-581.
23. Kawagan S. 1996. *Protocol for control of body functional material in food*. Kakuen press center, Tokyo, Japan. p 8-15.
  24. Kogukuchi N. 1999. *Protocol for free radical experiments*. Suiyoonsa, Tokyo, Japan. p 40-45.
  25. AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC. p 703.
  26. Kim JD, Kim MY, Seo HJ, Kim BJ, Kim DH, Kim EO, Chung HY, Kong JY. 2002. Combination of natural products removing ROS for growth promoting effects of the useful enterobacteria *Lacobacillus* sp. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 30: 270-281.
  27. Stevens DL. 2000. The pathogenesis of clostridial myonecrosis. *Int J Med Microbiol* 290: 497-502.
  28. Sikes A, Ehioba R. 1999. Feasibility of using food-grade additives to control the growth of *Clostridium perfringens*. *Int J Food Microbiol* 46: 179-85.
  29. Labbe RG, Duncan CL. 1975. Influence of carbohydrates on growth and sporulation of *Clostridium perfringens* type A. *Appl Microbiol* 29: 345-51.
  30. Yuan C, Johnston LJ. 2000. Distribution of ganglioside GM1 in L-alpha-dipalmitoyl-phosphatidylcholine/cholesterol monolayers: a model for lipid rafts. *Biophys J* 79: 2768-2781.
  31. Yuan C, Johnston LJ. 2001. Atomic force microscopy studies of ganglioside GM1 domains in phosphatidylcholine and phosphatidylcholine/cholesterol bilayers. *Biophys J* 81: 1059-1069.
  32. Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. 1995. Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 154-159.

(2002년 9월 6일 접수; 2002년 11월 6일 채택)