

## 가축질병 균주에 대한 소목의 항균활성

이성규

상지대학교 생명산업학과

**Antimicrobial Activity of *Caesalpinia sappan* against Animal husbandry disease. Lee, Sung Kyu.** Department of Bioindustry and Technology, Sangji University, Wonju 220-702. Korea – Antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* L. extract (CS extract) against animal husbandry disease-related bacteria was studied. The CS extracts showed a significant antimicrobial activity against Gram(+) bacteria and this antimicrobial activity was most significant against *Staphylococcus epidermidis*. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of CS was in the range of 0.8~16 mg/ml and 0.8~10 mg/ml, in the case of MeOH extracts and EtOH extracts, respectively. In addition, the antimicrobial activity of each solvent fraction was most significant with EtOAc layer. The antimicrobial activities of CS extracts against most microbial strains were stable by either heat treatment or acid treatment, whereas those against *S. aureus* and *Sal. typhimurium* were reduced by acid treatment. The inhibitory effect of CS extracts on microbial cell growth was further examined by the addition of 0, 100, 300, and 500 ppm of CS extracts into growth medium. The growth of gram(+) bacteria, *S. aureus* and *S. epidermidis*, was inhibited for 72 hours in all ranges of CS extracts added, but the growth of gram(-) bacteria was only inhibited when at least 100 ppm of CS extracts were added. Taken together, the antimicrobial activities of CS extracts were more effective against gram(+) bacteria compared to those against gram(-) bacteria.

**Key words:** Antimicrobial activity, *Caesalpinia sappan*, animal husbandry disease

가축의 장내에는 다양한 미생물이 복잡한 생태계를 이루고 있다. 이들 미생물은 가축이 흡수한 물질이나 장내의 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 미생물의 환경조건을 변화시켜 활동을 억제하는 소극적인 방법에서 항균력이 뛰어난 화학물질과 항생물질 등을 이용하여 표적이 되는 미생물을 억제하거나 제거하는 적극적인 방법들이 많이 활용되어 왔다. 하지만 20세기말에 들어와서 이들 물질들이 축산물 내에 잔류하여 파생될 수 있는 위험성에 대한 인식이 확산되면서 사용을 금지하는 방향으로 가고 있으나 기존 항생제의 사용을 금지함으로써 발생하는 가축의 생산성 감소, 질병발생에 의한 폐사율의 증가 등 또 다른 문제를 불러 일으켜 어떤 형태로든 항생물질을 대체할 수 있는 항균물질의 개발이 화급히 요구되고 있으나 기존의 항생

물질의 효과를 살릴 수 있으면서 축산물에 잔류하지 않고 잔류하더라도 인체에 전혀 해를 주지 않는 항균물질이어야 하는데 어려움이 있다.

다행히 식물에는 다양한 항균물질이 존재하는 것으로 밝혀졌는데 [1, 12] 식물에 들어 있는 항균물질은 alkaloid류, flavonoid류, terpenoid류, phenolic compound류, quinone류 및 volatile oil 등의 2차 대사산물이거나 그 유도체들로 알려 졌다 [6]. 그러나 이들 항균물질은 기존의 항생물질에 비해 효과가 적어 아직까지 실용화에는 미치지 못하고 있는 실정이나 항균효과가 있는 식물의 탐색에 많은 연구가 진행되고 있어 [4, 6, 10, 12-14, 16, 18, 20, 21] 머지 않아 항균성이 우수한 새로운 항균물질의 출현이 가능할 것으로 보인다.

본 연구는 항균작용이 있다고 알려진 콩과에 속하는 목류 한약재인 소목(*Caesalpinia sappan*)을 이용하여 가축에게 질병을 유발하는 미생물에 대한 항균활성을 탐색하고자 실시 하였다.

### 재료 및 방법

#### 공시균주 및 배지

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

\*Corresponding author  
Tel: 033-730-0551, Fax: 033-730-0503  
E-mail: sglee@mail.sangji.ac.kr

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

|          | Strain                                           | Media                              |
|----------|--------------------------------------------------|------------------------------------|
| Gram (+) | <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 (-) | <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 <sub>8</sub>  | LB broth, miller broth agar(Difco) |
|          | <i>Escherichia coli</i> Serotype O <sub>78</sub> | LB broth, miller broth agar(Difco) |
|          | <i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 4617       | Smith-baskerville medium           |
| Mold     | <i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 10894          | Potato dextrose broth agar(Difco)  |
| Yeast    | <i>Candida albicans</i> ATCC 10231               | YPD broth agar(Difco)              |

#### 항균력 검색을 위한 시료조제

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

#### Soluble solid 함량 측정

Soluble solid함량은 감압 농축된 추출물 1 g를 취하여 105°C에서 24시간 건조한 후 증발 잔사의 무게를 측정하여 첨가량으로 나타내었다.

#### 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 0.4~0.5사이로 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[19]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 0.2 mg/ml에서 50 mg/ml의 범위에서 paper disc에 첨가한 후 건조하고, 시험균을 함유한 평판배지위에 놓은 후 37°C, 24시간 배양한 후 육안으로 관찰 했을때 미생물이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다.

#### 분획물의 항균성 검색

소목의 MeOH와 EtOH 추출물을 얻은 후 각각의 추출물을 분획여두에서 극성을 달리하는 용매(*n*-hexane, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, *n*-butanol, water)로 순차적으로 분획한 후 이 분획물을 45°C 수욕상에서 rotatory vacuum evaporator로 농축, 용매를 완전히 제거하였다. 각 용매별 농축물은 멸균한 DMSO용액을 용매로 하여 농도를 일정하게 조절하여 각 균주별 항균활성을 측정하였다.

#### 열 및 pH 안정성

열 및 pH 안정성을 알아보기 위해 소목 추출물을 membrane filter (0.45 μm)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 비교조사 하였다.

#### 미생물의 증식억제 효과

소목 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. 배양

액 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 측정시 nutrient broth를 blank로 사용하였다.

**통계처리**

모든 실험자료의 통계분석은 SPSS를 이용하여 one-way ANOVA검정을 행하였으며 처리효과의 유의성이 발견된 경우 처리구간 평균치의 유의성 비교는 Duncan의 다중 비교 검정을 실시하였다.

**결과 및 고찰**

**항균력 검색**

Table 2와 Fig. 1에서와 같이 13종의 균주에 대한 소목 추출물의 항균성을 조사한 결과 추출용매에 따른 항균성의 차이는 없었으며 4종의 gram positive bacteria에서는 모든 균주에서 항균력을 보였으며 그 중 *S. epidermidis*에서 가장 높은 항균성을 보였다. 그러나 gram negative bacteria 균주에서는 *Salmonella* sp.에서는 거의 항균성이 없었으나 *E. coli* sp.과 *B. bronchiseptica*에서는 항균성을 보이는 등 균주에 따라 달랐으며 mold와 yeast에서는 항균력이 없었다. 신 등[20]은 *S. aureus*에 대해서는 소목 추출물이 가장 우수하다고 하였고 이 등[15]은 1% 소목 추출물이 *E. coli*와 *S. aureus* 등에 성장억제 효과가 있다고 하였다. 박 등[18]은 항균성물질을 추출할 때 추출온도, 용매농도 및 용매의 종류에 따라 항균력이 차이가 난다고 하였다.

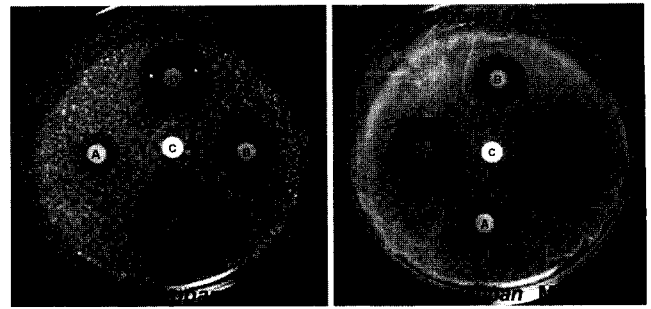


Fig. 1. Antimicrobial activity of *C. sappan* extracts. A: 5 mg/ml, B: 10 mg/ml, C: Control, D: 30 mg/ml, E: 50 mg/ml.

**최소 저해농도 측정**

Table 3은 여러 종류의 병원성 균주에 대하여 소목 추출물의 최소저해농도를 측정한 결과로 각각의 균주에 대해 소목 MeOH추출물은 0.8~16 mg/ml의 범위로 최소저해농도가 측정되었으며 소목 EtOH추출물은 0.8~10 mg/ml의 범위로 최소저해농도가 측정되었다. 김 등[9]은 *S. aureus* 균주에 대한 MIC를 측정한 결과 소목에서 50 µg/ml을 나타냈으며 최 등[3]은 *S. aureus* 균주에서 1.6 mg/ml, *S. gallinarum*에서는 8 mg/ml를 나타냈다.

**분획물의 항균성 검색**

소목추출물의 활성성분에 대한 특성을 검토코자 극성이 다른 용매인 *n*-hexan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, *n*-butanol, water를 순차적으로 분획하여 추출물의 수율을 측정한 결과 MeOH 추출물에서는 각각 1.10%, 1.50%, 62.04%, 23.00% 및 3.40%이며 EtOH추출물에서는 각각 2.30%, 1.00%, 61.90%, 28.10% 및 2.00%로 추출용매에 따른 차이는 없었다. 이러한 결과를 가지고 분획물의 항균활성을 검토한 결과는 Table

Table 2. Growth inhibiting activities of *C. sappan* for microorganisms.

| Name                                    | Clear zone diameter (mm) <sup>1)</sup> |         |         |         |           |         |         |         |
|-----------------------------------------|----------------------------------------|---------|---------|---------|-----------|---------|---------|---------|
|                                         | MeOH ext.                              |         |         |         | EtOH ext. |         |         |         |
|                                         | 5                                      | 10      | 30      | 50      | 5         | 10      | 30      | 50      |
| <i>S. aureus</i>                        | 10±0.24                                | 14±0.47 | 19±1.73 | 21±0.34 | 12±0.17   | 15±0.12 | 18±0.13 | 21±0.13 |
| <i>S. epidermidis</i>                   | 18±0.08                                | 22±0.08 | 27±0.13 | 30±0.47 | 15±0.16   | 17±0.19 | 23±0.17 | 27±0.13 |
| <i>C. perfringens</i> Type C            | 9±0.07                                 | 15±0.14 | 18±0.09 | 22±0.05 | 10±0.12   | 13±0.12 | 16±0.12 | 19±0.22 |
| <i>L. monocytogenes</i>                 | 13±0.09                                | 15±0.09 | 18±0.08 | 20±0.13 | 10±0.12   | 13±0.09 | 15±0.13 | 18±0.05 |
| <i>S. pullorum</i>                      | -                                      | -       | -       | -       | -         | -       | -       | -       |
| <i>S. gallinarum</i>                    | -                                      | -       | -       | -       | -         | -       | -       | -       |
| <i>S. typhimurium</i>                   | -                                      | -       | 7±0.05  | 9±0.05  | -         | -       | 9±0.09  | 10±0.09 |
| <i>S. choleraesuis</i>                  | -                                      | -       | -       | -       | -         | -       | -       | -       |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>8</sub>  | 10±0.05                                | 15±0.09 | 20±0.05 | 21±0.09 | 11±0.05   | 14±0.09 | 18±0.13 | 22±0.09 |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>78</sub> | 8±0.05                                 | 9±0.09  | 11±0.09 | 18±0.09 | 11±0.09   | 13±0.09 | 18±0.09 | 22±0.13 |
| <i>B. bronchiseptica</i>                | 8±0.05                                 | 13±0.09 | 17±0.25 | 19±0.09 | 9±0.13    | 13±0.13 | 18±0.13 | 20±0.13 |
| <i>A. fumigatus</i>                     | -                                      | -       | -       | -       | -         | -       | -       | -       |
| <i>C. albicans</i>                      | -                                      | -       | -       | -       | -         | -       | -       | -       |

<sup>1)</sup> Values of means ± S.E of triplication

**Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) of *C. sappan* for microorganisms.**

| Sample    | Minimum inhibitory concentration (mg/ml) |     |     |    |    |    |    |    |                 |                  |     |    |    |
|-----------|------------------------------------------|-----|-----|----|----|----|----|----|-----------------|------------------|-----|----|----|
|           | SA                                       | SE  | CP  | LM | SP | SG | ST | SC | EO <sub>8</sub> | EO <sub>78</sub> | BB  | AF | CA |
| MeOH ext. | 1.0                                      | 0.8 | 2.6 | 16 | -  | -  | 16 | -  | 1.4             | 1.6              | 4.6 | -  | -  |
| EtOH ext. | 1.2                                      | 0.8 | 2.4 | 10 | -  | -  | 14 | -  | 1.2             | 1.4              | 4.6 | -  | -  |

SA:*S. aureus*, SE:*S. epidermidis*, CP:*C. perfringens* Type C LM:*L. monocytogenes* SP:*S. pullorum*, SG:*S. gallinarum*, ST:*S. typhimurium*, SC:*S. choleraesuis*, EO<sub>8</sub>:*E. coli* Serotype O<sub>8</sub>, EO<sub>78</sub>:*E. coli* Serotype O<sub>78</sub>, BB:*B. bronchiseptica*, AF:*A. fumigatus*, CA:*C. albicans*.

**Table 4. Antimicrobial activities of solvent fraction on *C. sappan*.**

| Strains                                 | Clear zone diameter (mm) <sup>1)</sup> |           |                   |            |            |            |            |            |            |            |
|-----------------------------------------|----------------------------------------|-----------|-------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                                         | Hexane                                 |           | CHCl <sub>3</sub> |            | EtOAc      |            | BuOH       |            | Water      |            |
|                                         | M <sup>2)</sup>                        | E         | M                 | E          | M          | E          | M          | E          | M          | E          |
| <i>S. aureus</i>                        | 8.00±0.00                              | 8.00±0.00 | 13.33±0.27        | 12.67±0.27 | 19.67±0.27 | 19.33±0.27 | 13.00±0.00 | 12.67±0.27 | 10.33±0.27 | 9.33±0.27  |
| <i>S. epidermidis</i>                   | 9.33±0.27                              | 8.33±0.27 | 16.67±0.27        | 14.00±0.00 | 23.67±0.00 | 18.67±0.27 | 23.33±0.27 | 18.67±0.27 | 18.67±0.27 | 18.00±0.00 |
| <i>S. typhimurium</i>                   | -                                      | -         | -                 | -          | 9.67±0.27  | 10.67±0.27 | 8.00±0.00  | 8.33±0.27  | -          | -          |
| <i>S. choleraesuis</i>                  | -                                      | -         | -                 | -          | -          | -          | -          | -          | -          | -          |
| <i>S. pullorum</i>                      | -                                      | -         | -                 | -          | -          | -          | -          | -          | -          | -          |
| <i>S. gallinarum</i>                    | -                                      | -         | -                 | -          | -          | -          | -          | -          | -          | -          |
| <i>B. bronchiseptica</i>                | -                                      | -         | 12.67±0.27        | 13.00±0.00 | 19.33±0.27 | 21.00±0.00 | 13.67±0.27 | 13.33±0.27 | 8.33±0.27  | 8.00       |
| <i>L. monocytogenes</i>                 | -                                      | -         | 9.67±0.27         | 8.33±0.27  | 11.67±0.27 | 10.67±0.27 | 12.33±0.27 | 10.33±0.27 | -          | -          |
| <i>C. perfringens</i>                   | -                                      | -         | 9.00±0.00         | 8.33±0.27  | 14.67±0.27 | 13.67±0.27 | 13.33±0.27 | 9.33±0.27  | 9.33±0.27  | 8.33±0.27  |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>8</sub>  | 8.67±0.27                              | 9.00±0.00 | 12.33±0.27        | 13.33±0.27 | 19.67±0.27 | 22.33±0.27 | 18.00±0.00 | 18.33±0.27 | 11.33±0.27 | 10.33±0.27 |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>78</sub> | -                                      | -         | 14.67±0.27        | 15.00±0.00 | 20.67±0.27 | 24.00±0.00 | 18.33±0.27 | 16.33±0.27 | 13.33±0.27 | 11.33±0.27 |
| <i>C. albicans</i>                      | -                                      | -         | -                 | -          | -          | -          | -          | -          | -          | -          |

<sup>1)</sup> Values of means ± S.E of triplication.

<sup>2)</sup> M : MeOH ext., E : EtOH ext.

4와 같다. *C. albicans*과 *Salmonella* sp. 중 *Sal. pullorum*, *Sal. gallinarum* 및 *Sal. choleraesuis*를 제외한 균주에서 각 분획물에 대한 항균성이 나타났으며, *S. aureus*와 *S. epidermidis*에서는 MeOH추출물과 EtOH추출물의 모든 분획층에서 활성을 나타냈고, EtOAc층이 가장 높은 활성을 나타냈으나 MeOH추출물과 EtOH추출물의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다. 정[5]은 물 분획물에서 대체적으로 항균활성이 낮다고 하였으며 권 등[11]은 EtOAc층은 모든 시험균에 대하여 항균활성이 있다고 하였다.

**열 및 pH 안정성**

Table 5는 소목추출물의 열 안정성을 조사하기 위해 추출물을 80°C, 100°C 및 120°C에서 각각 30분간 열처리한 후 생육저해환을 측정된 결과다. *L. monocytogenes*와 *E. coli* Serotype O<sub>78</sub>에서 열처리에 따른 차이가 있었으나 대부분의 균주에서는 억제환의 차이는 없었다. 이 등[13]과 박 등[17]은 열처리에 의한 억제환의 차이는 없다고 하였으며 최 등[2]은 가열온도가 증가함에 따라 항균활성이 감소한다고 하였다. 또한 Table 6은 추출물의 항균력에 대한 pH의 영향을 조사하기 위해 pH 3~11의 범위에서 생육저해환을 측정한

결과다. *S. aureus*와 *Sal. typhimurium*에서 산처리 시 감소하는 경향을 보였으나 대부분의 균주에서 pH 변화에 의한 항균활성의 변화가 거의 없다. 강 등[6]은 pH 변화에 의한 항균활성의 변화가 거의 없다고 하였으며 김과 신[8]은 가압 가열처리하고 다시 산 및 알칼리 처리를 한 다음 항균력을 조사한 결과 가압 가열 처리시에는 항균력의 변화가 없었으나 산처리의 경우 50% 이상 감소되었으며 알칼리 처리시에는 항균성이 완전히 소실되었다고 하였다.

**첨가 농도별 항균효과**

소목 추출물을 각 농도별 항균효과를 측정하기 위해 증식 배지에 0, 100, 300 및 500 ppm을 첨가하여 조사하였다. Fig. 2에서 Fig. 6은 소목 추출물을 농도별로 처리한 후의 결과로서 그람양성균인 *S. aureus*와 *S. epidermidis*에서는 추출물을 첨가하지 않은 control(0 ppm)에서는 12시간 이후 급격한 균의 성장을 나타내고 있으나 첨가농도에 상관없이 배양 72시간까지 증식이 정지된 상태를 보였으며 *L. monocytogenes*는 100 ppm에서는 12시간이후 증식을 시작하였으나 300~500 ppm 첨가시 증식이 억제됨을 보여주고 있다. 한편 그람 음성균인 *B. bronchiseptica*는 100 ppm에

**Table 5. Effect of heat treatment on growth inhibiting activities of *C. sappan* for microorganisms.**

| Scientific name                         | Clear zone diameter(mm) <sup>1)</sup> |                           |                          |            |            |            |
|-----------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------|------------|------------|------------|
|                                         | MeOH ext.                             |                           |                          | EtOH ext.  |            |            |
|                                         | 80°C                                  | 100°C                     | 120°C                    | 80°C       | 100°C      | 120°C      |
| <i>S. aureus</i>                        | 20.33±0.27                            | 20.00±0.00                | 20.00±0.00               | 16.33±0.27 | 17.33±0.27 | 16.33±0.27 |
| <i>S. epidermidis</i>                   | 22.00±0.00                            | 21.33±0.27                | 21.67±0.27               | 21.33±0.27 | 21.00±0.00 | 21.33±0.27 |
| <i>C. perfringens</i> Type C            | 17.00±0.00                            | 18.00±0.00                | 18.00±0.00               | 17.67±0.27 | 18.33±0.27 | 18.00±0.00 |
| <i>L. monocytogenes</i>                 | 18.00 <sup>a</sup> ±0.00              | 17.33 <sup>ab</sup> ±0.27 | 16.67 <sup>b</sup> ±0.27 | 14.67±0.27 | 14.33±0.27 | 13.00±0.00 |
| <i>S. pullorum</i>                      | —                                     | —                         | —                        | —          | —          | —          |
| <i>S. gallinarum</i>                    | —                                     | —                         | —                        | —          | —          | —          |
| <i>S. typhimurium</i>                   | 8.00±0.00                             | 8.00±0.00                 | 8.00±0.00                | 8.00±0.00  | 8.33±0.27  | 8.67±0.27  |
| <i>S. choleraesuis</i>                  | —                                     | —                         | —                        | —          | —          | —          |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>8</sub>  | 16.67±0.27                            | 17.00±0.00                | 16.67±0.27               | 14.67±0.27 | 16.00±0.00 | 13.67±0.27 |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>78</sub> | 19.33 <sup>ab</sup> ±0.27             | 18.00 <sup>a</sup> ±0.00  | 20.00 <sup>b</sup> ±0.00 | 18.33±0.27 | 17.67±0.27 | 18.33±0.27 |
| <i>B. bronchiseptica</i>                | 15.67±0.27                            | 15.67±0.27                | 16.33±0.27               | 16.00±0.00 | 16.67±0.27 | 15.67±0.27 |
| <i>A. fumigatus</i>                     | —                                     | —                         | —                        | —          | —          | —          |
| <i>C. albicans</i>                      | —                                     | —                         | —                        | —          | —          | —          |

<sup>1)</sup> Values of means ± S.E of triplication

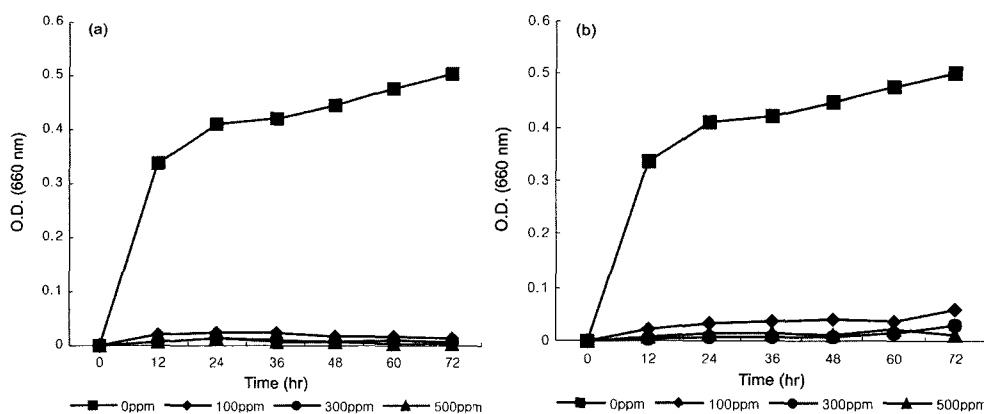
<sup>ab</sup> Mean with different superscripts in the same row are significantly different (P0.05)

**Table 6. Effect of pH treatment on growth inhibiting activities of *C. sappan* for microorganisms.**

| Scientific name                         | Clear zone diameter (mm) <sup>1)</sup> |                          |                          |                          |                          |                          |
|-----------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                         | MeOH ext.                              |                          |                          | EtOH ext.                |                          |                          |
|                                         | pH3                                    | pH7                      | pH11                     | pH3                      | pH7                      | pH11                     |
| <i>S. aureus</i>                        | 19.00 <sup>a</sup> ±0.00               | 20.33 <sup>b</sup> ±0.27 | 20.33 <sup>b</sup> ±0.27 | 16.67 <sup>a</sup> ±0.27 | 20.00 <sup>b</sup> ±0.00 | 21.00 <sup>b</sup> ±0.00 |
| <i>S. epidermidis</i>                   | 24.33±0.27                             | 23.33±0.27               | 23.00±0.00               | 22.67±0.27               | 23.00±0.00               | 22.67±0.27               |
| <i>C. perfringens</i> Type C            | 17.67±0.27                             | 18.67±0.27               | 18.67±0.27               | 19.00±0.00               | 18.00±0.00               | 19.00±0.00               |
| <i>L. monocytogenes</i>                 | 12.00±0.00                             | 11.33±0.27               | 11.33±0.27               | 11.33±0.27               | 11.00±0.00               | 12.33±0.27               |
| <i>S. pullorum</i>                      | —                                      | —                        | —                        | —                        | —                        | —                        |
| <i>S. gallinarum</i>                    | —                                      | —                        | —                        | —                        | —                        | —                        |
| <i>S. typhimurium</i>                   | 7.33 <sup>a</sup> ±0.27                | 8.33 <sup>ab</sup> ±0.27 | 9.00 <sup>b</sup> ±0.00  | 8.33±0.27                | 8.33±0.27                | 8.33±0.27                |
| <i>S. choleraesuis</i>                  | —                                      | —                        | —                        | —                        | —                        | —                        |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>8</sub>  | 17.00±0.00                             | 16.00±0.00               | 16.00±0.00               | 16.67±0.27               | 16.67±0.27               | 16.33±0.27               |
| <i>E. coli</i> Serotype O <sub>78</sub> | 18.33±0.27                             | 17.33±0.27               | 18.00±0.00               | 17.00±0.00               | 17.67±0.27               | 17.33±0.27               |
| <i>B. bronchiseptica</i>                | 16.00±0.00                             | 15.67±0.27               | 16.00±0.00               | 15.67±0.27               | 15.33±0.27               | 16.67±0.27               |
| <i>A. fumigatus</i>                     | —                                      | —                        | —                        | —                        | —                        | —                        |
| <i>C. albicans</i>                      | —                                      | —                        | —                        | —                        | —                        | —                        |

<sup>1)</sup> Values of means ± S.E of triplication

<sup>ab</sup> Mean with different superscripts in the same row are significantly different (P0.05)

**Fig 2. Effect of concentrations of *C. sappan* on growth inhibiting activity of *S. aureus*. (a) EtOH extract and (b) MeOH extract.**

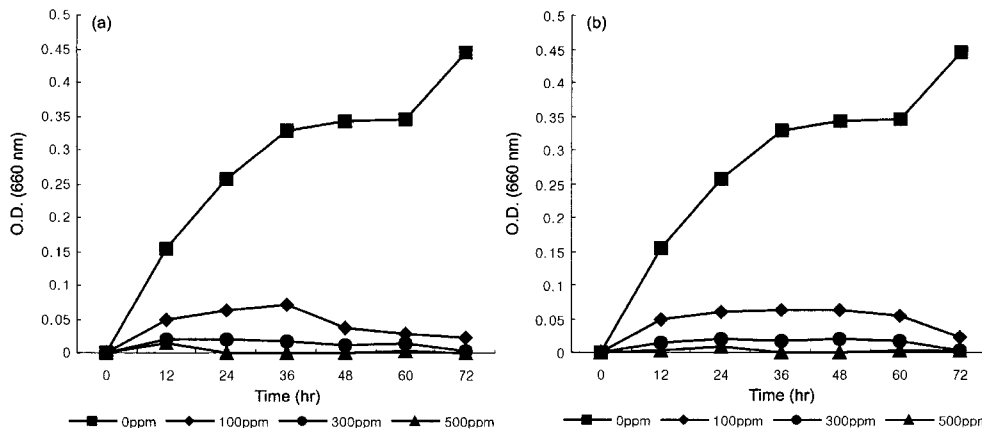


Fig 3. Effect of concentrations of *C. sappan* on growth inhibiting activity of *S. epidermidis*. (a) EtOH extract and (b) MeOH extract.

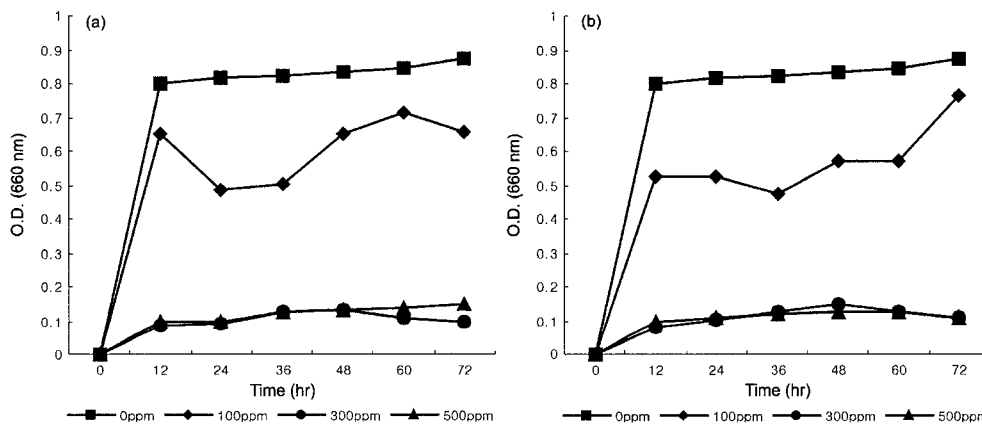


Fig 4. Effect of concentrations of *C. sappan* on growth inhibiting activity of *L. monocytogenes*. (a) EtOH extract and (b) MeOH extract.

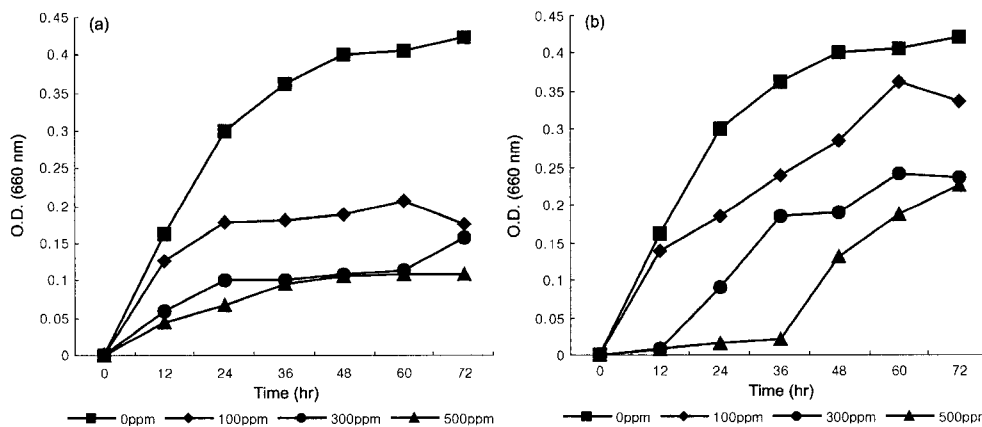


Fig 5. Effect of concentrations of *C. sappan* on growth inhibiting activity of *B. bronchiseptica*. (a) EtOH extract and (b) MeOH extract.

서는 증식억제 효과를 보이지 않으나 300~500 ppm 첨가시 증식저지효과를 보였으며 *E. coli* Serotype O<sub>8</sub>은 100 ppm 첨가시 증식억제 효과가 없었으나 300~500 ppm 첨가시에는 완전한 증식 억제 효과가 있었다. 신 등[20]은 소목의 조 추출물 100 ppm에서 *S. aureus*, *L. monocytogenes* 및 *B.*

*cereus*가 대조구에 비해 우수한 증식억제효과가 있다고 하였으며 최 등[3]은 *S. aureus*에서 소목 추출물 300~500 ppm에서 완전한 증식 효과가 있다고 하였다. 이와 같은 결과를 볼 때 소목 추출물은 그람음성균에 비해 그람양성균에 더욱 효과적인 항균활성이 있다고 보여 진다.

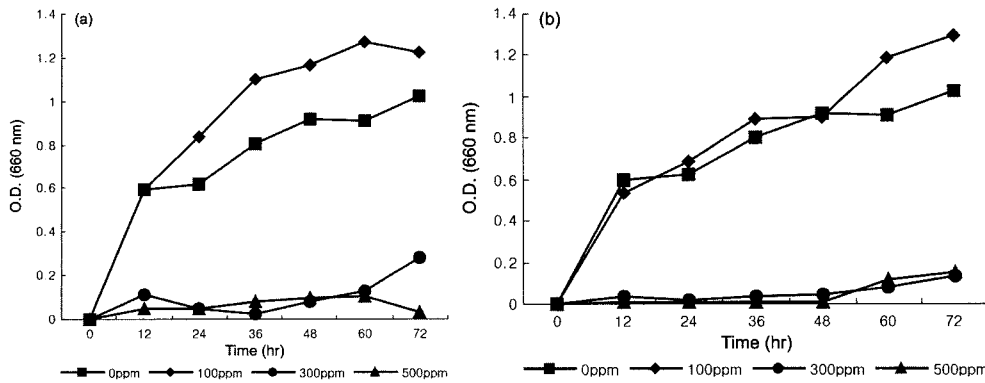


Fig 6. Effect of concentrations of *C. sappan* on growth inhibiting activity of *E. coli* Serotype O8. (a) EtOH extract and (b) MeOH extract.

요 약

소목추출물을 제조하여 가축질병에 관련이 있는 균에 대한 항균활성을 조사하였다. 소목추출물은 그람양성균에 대해 높은 항균활성을 보였으며 그 중 *S. epidermidis*에서 가장 높은 항균활성을 보였다. 소목추출물의 최소저해농도는 MeOH추출물은 0.8~16 mg/ml의 범위였으며 EtOH추출물은 0.8~10 mg/ml 농도에서 항균활성을 보였으며 소목 분획물의 항균활성은 EtOAc층이 가장 높은 활성을 나타냈다.

열에 의한 항균활성 변화에 있어서는 대부분의 균주에서 항균력은 안정적이며 pH에 의한 항균활성의 변화에서 *S. aureus*와 *Sal. typhimurium*에서 산 처리 시 감소하는 경향을 보였으나 대부분의 균주에서 안정적이었다.

소목 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 첨가농도에 관계없이 배양 후 72시간까지 증식이 정지된 상태를 보였으며 그람 음성균에서는 100 ppm 이상 첨가 시 증식이 저지되거나 억제효과가 있었다.

이런 결과를 종합하면 소목 추출물은 그람음성균에 비해 그람양성균에 더욱 효과적인 항균활성이 있다고 보여 진다.

감사의 글

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

REFERENCES

1. Beuchat, I. R. and D. A. Galden. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.* **43**: 134-138.
2. Choi, M. Y., E. J. Choi, T. J. Rhim, B. C. Cha, and H. J. Park. 1997. Antimicrobial activities of pine needle (*pinus densiflora* Seib et Zucc) extract. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 293-297.

3. Choi, I., H. S. Chang, Y. M. Yun, and J. C. Um. 2002. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella gallinarum*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **30**: 177-183.
4. Han, J. S. and D. H. Shin. 1997. Antimicrobial effect of each solvent fraction of *Morus alba* Linne. *Sophora flavescens* ACTION on *Listeria monocytogenes*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**: 1236-1240.
5. Jung, S. R. 1993. Antimicrobial activity of commercial medicinal herbs. *J. Kor. phar. assoc.* **4**: 78-81.
6. Kang, J. M., I. H. Cha, Y. K. Lee, and H. S. Ryu. 1997. Identification of volatile essential oil, and flavor characterization and antimicrobial effect of fractions from *Houttuynia cordatathunb.* *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**: 209-213.
7. Kang, S. K., N. K. Sung, Y. D. Kim, S. C. Shin, J. S. Seo, K. S. Choi, and S. K. Park. 1994. Screening of antimicrobial activity of leaf mustard (*Brassica juncea*) extract. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 1008-1013.
8. Kim, H. S. and J. O. Shin. 1997. Isolation and antimicrobial activity of *Xanthium strumarium* L. extract. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 183-188.
9. Kim, M. S., D. C. Lee, H. E. Hong, I. S. Chang, H. Y. Che, Y. K. Kwon, and H. Y. Kim. 2000. Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**: 949-958.
10. Kim, N. K., S. H. Cho, S. D. Lee, J. S. Ryu, and K. H. Shin. 2001. Functional properties and antimicrobial activity of bamboo extract. *Kor. J. Posthavest Sci. Technol.* **8**: 475-480.
11. Kwon, O. G., S. H. Kim, B. Y. Chun, C. K. Park, and K. H. Son. 1999. Isolation of antimicrobial components from Moutan Cortex. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 340-344.
12. Lee, B. W. and D. H. Shin. 1991. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganism. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**: 200-204.
13. Lee, H. Y., C. K. Kim, T. K. Sung, T. K. Mun, and C. J. Lim. 1992. Antibacterial activity of *Ulmus pumila* L. extract. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**: 1-5.
14. Lee, S. H. and Y. S. Lim. 1997. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extracts against *Listeria monocytogenes*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 229-234.

15. Lee, S. H., W. S. Moon, and K. N. Park. 2000. Antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* L. extracts and its effect on preservation of ground meats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **29**: 888-892.
16. Oh, D. H., M. K. Lee, and B. K. Park. 1999. Antimicrobial activities of commercially available tea on the harmful food-born organism. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**: 100-106.
17. Park, S. K., J. R. Park, S. W. Lee, K. I. Seo, S. K. Kang, and K. H. Shim. 1995. Antimicrobial activity and heat stability of water-pretreated extract of leaf mustard Dolsan (*Brassica juncea*). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **24**: 707-712.
18. Park, U. Y., D. S. Chang, and H. R. Cho. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herbs extracts. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**: 91-96.
19. Piddok, L. J. V. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **68**: 307-318.
20. Shin, D. H., M. S. Kim, and J. S. Han. 1997. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**: 808-816.
21. Woo, J. K., H. S. Yun, H. J. Chi, and W. S. Woo. 1978. Occurrence of alkaloids in Korea medicinal plants. *Report of Natural Product Institute of Seoul National University*. Seoul, Korea. **17**: 17-19.

(Received May 15, 2003/Accepted Aug. 8, 2003)