Kor. J. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 33, No. 2, 142–147 (2005)

방아(*Agastache rugosa*)로부터 소폐렴균에 대한 항균성 물질의 생산

장봉각 · 이대형[1] · 이종수[1]*
(주)중앙 백신, [1]배재대학교 유전공학과

Production of Antibacterial Substance against Bovine Pneumoniae Bacteria from *Agastache rugosa*. **Jang, Bong-Gak, Dae-Hyoung Lee[1], and Jong-Soo Lee[1]*.** *Choongang Vaccine Laboratory Corp. Daedeok Valley 59-3, Hwaam-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-348, Korea, [1]Department of Genetic Engineering, Paichai University 302-735, Korea* – The objective of this study was to develop a new potent antibacterial compound against bovine pneumoniae bacteria from medicinal plants or herbs. Among 65 kinds of medicinal plants and herbs, ethanol extracts of *Citrus unishiu* showed the highest solid yield of 54%. However, ethanal extracts from *Agastache rugosa* had the highest antibacterial activities against bovine pneumoniae bacteria, *Mannheimia haemolytica* A and *Haemophilus somnus* (size of clear zone: 16.0 mm and 10.0 mm, respectively). The antibacterial compound was also maximally extracted when the powder of *A. rugosa* was treated with 70% ethanol at 45°C for 12 hours.

Key words: *Agastache rugosa*, antibacterial compound, bovine pneumoniae bacteria

소의 호흡기 질병은 최적 생활조건을 갖추지 못하고 밀집된 상태로 소를 집단 사육하면서 발생하는 스트레스에 의해서 많이 유발되게 된다. 특히 겨울철에는 실내외 기온차를 막기 위해 외부 공기의 유입을 차단함으로써 밀폐된 우사 내의 암모니아와 탄산가스의 축적과 먼지, 다습 등으로 인한 호흡기계의 기본 면역체계의 약화로 항 병력이 떨어지게 되고 또 여기에 2차적인 세균 또는 바이러스의 감염에 따라 호흡기 질병이 많아지게 된다[14].

소의 주요한 세균성 호흡기 질병으로는 파스튜렐라성 폐렴(*Mannheimia haemolytica*)과 헤모필루스 감염증(*Haemophilus somnus*)이 있다. 먼저 *M. haemolytica*는 Gram 음성, 간균이며 양단염색성이고 β-hemolysis를 일으킨다. *H. somnus*는 Gram 음성, 단간균, cocobacilli이며 운동성이 없다. 두 질병 모두 소의 생산성을 저하시키거나 집단 폐사시킴으로써 농가에 막대한 피해를 주는 사례가 많이 있다. 이 때문에 미생물의 우사 유입을 막거나 활동을 억제하는 방법으로 항균력이 뛰어난 화학물질, 항생물질 등을 이용하는 적극적인 방법들이 많이 활용되었다. 그러나 최근 들어 이들 물질들의 축산물 내에 잔류로 인한 위험성에 대한 인식이 확산되면서 이들의 사용을 금지하거나 줄이는 방향으로 가고 있다. 그러나 기존 항생제의 사용을 금지함으로써 발생되는 가축의 생산성 감소와 폐사율의 증가 등 또 다른 문제를 야기하여 때문에 어떤 형태로든 항생물질을 대체할 수 있는 항균물질의 개발이 시급히 요구되고 있다[11, 12, 14].

*Corresponding author
Tel: 82-42-520-5388, Fax: 82-42-520-5388
E-mail: biotech8@mail.pcu.ac.kr

자연계에는 각종 식물체의 자체 방어에 중요한 역할을 하는 수많은 종류의 항균 화합물들이 있다. 근래에 병원성 균이나 식품등에 독성 물질을 생산하는 미생물들을 제어할 수 있는 항균 활성을 가진 식물 추출물과 식물 정유 성분에 관한 관심이 점점 높아지고 있다[8, 9, 15]. 식물 추출물에는 항산화 활성과 항균성 등을 포함하는 매우 유용한 생물 활성이 있는 것으로 알려져 있고 따라서 수많은 종류의 대사산물들이 다양한 식물들로부터 분리되었고 이들의 화학적 구조와 기능이 밝혀지고 있다[4, 6, 11]. 그러나 아직까지 소 폐렴 원인균에 대한 천연 항균성 물질에 관한 연구는 이루어지지 않아 항균 활성이 우수하면서 부작용이 없는 소 폐렴 예방(치료)제제가 개발 되어 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 각종 약용 식물과 허브로부터 부작용이 없고, 효능이 우수한 새로운 소 폐렴 원인균에 대한 항균 활성 물질을 탐색, 개발하여 이를 산업화 하고자 먼저 약용 식물과 허브 분말로 부터 물과 에탄올 추출물을 제조한 후 이들의 수율과 소 폐렴 원인균에 대한 항균 활성을 측정하여 우수 시료를 선정하고 추출 최적조건을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 약용식물 및 허브 등은 (주)초당농산(충남 금산)으로부터 분양 받아 분쇄 후 즉시 동결 건조하여 시료로 사용하였다[5].

소의 폐렴 원인균인 *M. haemolytica* type A와 *H. somnus*는 국립수의과학검역원으로부터 분양 받아 Blood agar(Heart muscle. Infusion from(solid) 2 g, Pancreatic

digest of casein 13 g, Yeast extract 5 g, Sodium chloride 5 g, Agar-agar 15 g, Defibrinated Sheep blood 50 ml, pH 7.3)을 사용하여 37°C에서 1일간 배양하여 실험에 사용하였다.

추출 및 수율 측정

각각의 약용식물과 허브 분말 100 g에 40배의 증류수를 가한 후 30°C에서 200 rpm으로 진탕항온수조에서 12시간 동안 추출하였다. 이 추출액을 15,000 rpm로 15분간 원심분리하여 상등액을 취하고 이를 Whatman No 2로 여과 한 후 동결 건조하여 물 추출 시료로 사용하였다[5]. 약용식물과 허브 분말 100 g에 에탄올을 40배씩 가하여 섞은 후 30°C에서 200 rpm으로 진탕항온수조에서 12시간 동안 추출하였다. 이 추출액을 15,000 rpm로 15분간 원심분리 하여 상등액을 취하고 이를 Whatman No 2로 여과한 후 동결 건조하여 에탄올 추출 시료로 사용하였다[18]. 추출 수율은 추출액 일정량을 취하여 동결 건조 시켜서 건물 중량을 구한 다음 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 계산하였다.

항균 활성 측정

항균성 시험은 Blood agar plate에 배양된 *M. haemolytica* type A와 *H. somnus*를 일백금이씩 TSB 10 mL에 접종한 후 37°C에서 12시간 배양 한 다음 이 배양액 0.1 mL를 Blood agar plate에 떨어뜨린 후 균일하게 도포하였다. 각 시험균이 접종된 plate위에 추출물을 흡수시킨 지름 8 mm paper disc를 놓고 37°C에서 12시간 배양하여 disc 주위에 나타난 clear zone의 직경으로 항균성을 표시하였다[16, 17].

세균에 대한 minimal inhibitory concentration(MIC) 측정은 한천배지 확산법을 이용하였다. 에탄올 추출물을 0.45 μm membrane filter로 제균 시킨 후 시험균을 함유한 평판배지위에 놓은 후 37°C, 12시간 배양한 후 육안으로 관찰했을 때 미생물이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다[8, 13].

미생물의 생육곡선 측정

방아의 에탄올 추출물을 membrane filter(0.2 μm, pore size)로 제균 시키고, 액체 배지에 각 추출물을 0.1%, 0.5%, 1%씩 농도별 로 첨가하였다. 여기에 O.D. 값을 0.4로 맞춘 세균 배양액을 무균적으로 접종하여 37°C에서 배양하면서, 일정 시간마다 세균 배양액의 증식 정도를 600 nm 분광광도계(Shimadzu UV-1601, Japan)로 측정 하였다[3].

일반성분 분석

선정 시료의 일반 성분은 AOAC법[2]에 따라 조단백질은 Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 수분함량은 105°C 상압 가열 건조법, 조회분은 건식 회화법으로 분석하였으며 탄수화물 함량은 고형분의 총량에서 회분, 조단백질 그리고 조

Table 1. Solid yield of some extracts from medicinal plants and herbs. (Unit: %, dry base)

Plants and Herbs	Part used	Water extract	EtOH extract
Pueraria thunbergiana	Radix	16	16
Glicyrrhizae radix	Radix	13	19
Angelica koreana Maximowicz	Radix	17	20
Curcurna longa Linne	Radix	4	18
Rehmannia glutinosa Liboschitz var. purpurea Makino	Radix	34	15
Agastache rugosa	Herba, Stem	3	3
Lycium chinense Miller	Fruit	26	17
Lonicerae flos	Herba, Stem	19	20
Platycodon grandiflorum A.De Candolle	Radix	20	16
Rheum palmatum Linne	Radix	16	23
Prunus persica Batsch	Seed	4	1
Aralia continentalis Kitagawa	Radix	9	15
Hordeum vulgare	Seed	6	5
Chaenomeles sinensis	Fruit	13	29
Paeonia suffruticosa Andrews	Cortex	18	12
Akebia quinata	Radix	10	9
Angelica dahurica Bentham et. Hooker	Radix	25	40
Atractylodes japonica Koidzumi	Radix, Stem	26	14
Poria cocos Wolf	Whole	3	3
Rubus coreanus Miquel	Fruit	6	4
Torilis japonica	Fruit	2	3
Cornus officinalis Siebold et. Zuccarini	Fruit	30	31
Morus alba	Stem	6	9
Acorus graminueus Solander	Radix, Stem	12	12
Perillae semen	Seed	1	1
Alpiniae officinari Rhizoma	Radix	4	4
Lindera strichnifolia Villars	Radix	3	4
Polygala tenuifolia Willdenow	Whole	14	19
Ulmus macrocarpa Hance	Cortex	5	3
Cinnamon sp.	Cortex	8	3
Cistanche deserticola Y.C. Ma	Fruit	44	40
Coix lachrymajobi	Fruit	1	2
Leonurus sibircus Linne	Whole	5	1
Alpinia oxyphylla Miquel	Fruit	36	13
Magnolia denudata Desrousseaux	Radix	29	12
Artemisia princeps	Whole	20	7
Cnidium officinale Makino	Radix, Stem	30	9
Paeonia lactiflora var. Hortensis	Radix	44	16
Polyporus umbellatus Fries	Radix	29	5
Gleditsia sinensis	Whole	33	2
Bambusae calulis	Stem	45	2
Poncirus trifoliata Rafinesque	Fruit	18	17
Xanthium strumarium	Fruit	32	1
Rhizoma atractylodes Lancea D.C	Fruit	34	21
Achyranthes japonica	Radix	10	23
Gardenia jasminoides for. grandiflora	Fruit	34	32

Table 1. Continued. (Unit: %, dry base)

Plants and Herbs	Part used	Water extract	EtOH extract
Alisma oreintale Juzepczuk	Radix, Stem	12	20
Angelicagigas sp.	Fruit	20	31
Taraxacum platycarpum	Whole	12	12
Scrophularia buergeriana	Radix	44	36
Carthamus tinctorius Linne	Flower	23	34
Astragalus membranaceus Bunge	Radix	8	8
Coptis japonica Makino	Radix	19	11
Phellodendron amurense	Cortex	13	10
Polygonatum sibiricum Redoute	Radix	25	31
Magnolia obovata Thunberg	Cortex	1	2
Siegesbeckia pubescens Makino	Radix	12	10
Cyperus rotundus Linne	Radix	2	4
Dioscorea batatas	Radix	14	6
Crataegus pinnatifida	Fruit	36	22
Morus alba	Leave	17	18
Schizandra chinensis Baill	Fruit	29	28
Cassia obtusifolia Linne	Fruit	8	10
Eucommia ulmoides Oliver	Cortex	11	17
Citrus Unshiu Markovich	Cortex	34	54

지방의 함량을 뺀 값으로 나타내었다.

결과 및 고찰

약용 식물 및 허브 시료의 용매별 추출 수율

65종의 약용식물과 허브에 대하여 각 용매별로 추출 수율을 측정한 결과 물 추출물에서는 죽여(*Bambusae calulis*)의 줄기(stem)가 45%로 높은 추출 수율을 보였고, 에탄올 추출물은 유자(*Citrus unishiu* markovich)의 외피(cortex)가 54%로 가장 높은 추출 수율을 나타내었다(Table 1). 그러나 시료에 따라 추출 수율의 차이가 매우 심하였고 두 추출용매 간에는 큰 차이 없이 대체로 낮았다. 따라서 이들의 추출 수율을 높이기 위해서는 전처리 와 가열처리 등 추가의 추출 방법을 검토해야 할 것으로 사료된다.

각종 추출물에 대한 항균 활성

M. haemolytica type A와 *H. somnus*균에 대한 65종의 약용식물과 허브 추출물들의 항균성을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 먼저 각종 추출물들의 *M. haemolytica* type A균에 대한 항균성은 익지인(*Alpinia oxyphylla*)의 에탄올 추출

Table 2. Antibacterial activities against *Mannheimia haemolytica* type A and *Haemophilus somnus* of the various extracts from medicinal plants and herbs. [Clear zone (mm) / Extract (mg)]

Plants and Herbs	Part used	*Mannheimia haemolytica*		Haemophilus somnus	
		Water extract	EtOH extract	Water extract	EtOH extract
Pueraria thunbergiana	Radix	n.d[a]	2.7	n.d	4.0
Glicyrrhizae radix	Radix	n.d	n.d	n.d	n.d
Angelica koreana Maximowicz	Radix	n.d	n.d	n.d	6.0
Curcurna longa Linne	Radix	4.4	n.d	4.4	n.d
Rehmannia glutinosa Liboschitz var. purpurea Makino	Radix	n.d	n.d	n.d	n.d
Agastache rugosa	Herba, Stem	n.d	10.0	n.d	15.0
Lycium chinense Miller	Fruit	n.d	3.8	n.d	5.4
Lonicerae flos	Herba, Stem	4.5	n.d	2.8	1.2
Platycodon grandiflorum A.De Candolle	Radix	n.d	n.d	n.d	2.1
Rheum palmatum Linne	Radix	n.d	0.9	n.d	1.4
Prunus persica Batsch	Seed	n.d	n.d	n.d	n.d
Aralia continentalis Kitagawa	Radix	9.8	n.d	n.d	n.d
Hordeum vulgare	Seed	n.d	n.d	n.d	n.d
Chaenomeles sinensis	Fruit	n.d	0.8	n.d	0.8
Paeonia suffruticosa Andrews	Cortex	n.d	n.d	n.d	n.d
Akebia quinata	Radix	n.d	n.d	n.d	n.d
Angelica dahurica Bentham	Radix	n.d	n.d	n.d	n.d
Atractylodes japonica Koidzumi	Radix, Stem	2.0	n.d	2.5	n.d
Poria cocos Wolf	Whole	n.d	0.5	n.d	0.5
Rubus coreanus Miquel	Fruit	n.d	n.d	n.d	n.d
Torilis japonica	Fruit	n.d	n.d	n.d	n.d
Cornus officinalis Siebold	Fruit	7.0	0.8	5.2	0.8
Morus alba	Stem	n.d	n.d	n.d	n.d
Acorus graminueus Solander	Radix, Stem	n.d	1.8	n.d	2.2
Perillae semen	Seed	n.d	2.4	n.d	2.0

Table 2. Continued.

[Clear zone (mm) / Extract (mg)]

Plants and Herbs	Part used	*Mannheimia haemolytica*		Haemophilus somnus	
		Water extract	EtOH extract	Water extract	EtOH extract
Alpiniae officinari Rhizoma	Radix	n.d	n.d	n.d	n.d
Lindera strichnifolia Villars	Radix	8.0	n.d	n.d	n.d
Polygala tenuifolia Willdenow	Whole	n.d	n.d	n.d	1.4
Ulmus macrocarpa Hance	Cortex	n.d	4.2	n.d	n.d
Cinnamon sp.	Cortex	n.d	n.d	n.d	n.d
Cistanche deserticola Y.C. Ma	Fruit	n.d	3.5	n.d	n.d
Coix lachrymajobi	Fruit	n.d	3.3	n.d	n.d
Leonurus sibircus Linne	Whole	n.d	2.3	n.d	n.d
Alpinia oxyphylla Miquel	Fruit	10.0	16.0	12.5	n.d
Magnolia denudata Desrousseaux	Radix	14.2	6.0	n.d	n.d
Artemisia princeps	Whole	5.7	n.d	1.8	8.3
Cnidium officinale Makino	Radix, Stem	n.d	n.d	n.d	n.d
Paeonia lactiflora var. Hortensis	Radix	n.d	n.d	n.d	1.3
Polyporus umbellatus Fries	Radix	n.d	n.d	n.d	1.9
Gleditsia sinensis	Whole	n.d	n.d	n.d	n.d
Bambusae calulis	Stem	n.d	n.d	n.d	n.d
Poncirus trifoliata Rafinesque	Fruit	n.d	1.3	n.d	1.9
Xanthium strumarium	Fruit	n.d	n.d	n.d	n.d
Rhizoma atractylodes Lancea D.C	Fruit	n.d	1.9	n.d	1.6
Achyranthes japonica	Radix	n.d	4.0	n.d	4.0
Gardenia jasminoides for. grandiflora	Fruit	n.d	n.d	n.d	3.0
Alisma oreintale Juzepczuk	Radix, Stem	n.d	n.d	n.d	n.d
Angelicagigas sp.	Fruit	n.d	n.d	n.d	n.d
Taraxacum platycarpum	Whole	n.d	5.0	n.d	4.0
Scrophularia buergeriana	Radix	n.d	n.d	n.d	n.d
Carthamus tinctorius Linne	Flower	4.8	3.8	4.8	3.8
Astragalus membranaceus Bunge	Radix	4.0	4.8	n.d	n.d
Coptis japonica Makino	Radix	n.d	4.0	n.d	4.8
Phellodendron amurense	Cortex	n.d	n.d	n.d	n.d
Polygonatum sibiricum Redoute	Radix	n.d	n.d	n.d	1.5
Magnolia obovata Thunberg	Cortex	n.d	n.d	n.d	n.d
Siegesbeckia pubescens Makino	Radix	n.d	n.d	n.d	5.3
Cyperus rotundus Linne	Radix	1.5	2.5	n.d	3.2
Dioscorea batatas	Radix	n.d	1.6	n.d	n.d
Crataegus pinnatifida	Fruit	n.d	0.5	n.d	0.8
Morus alba	Leave	n.d	n.d	n.d	1.8
Schizandra chinensis Baill	Fruit	n.d	n.d	n.d	2.5
Cassia obtusifolia Linne	Fruit	n.d	n.d	n.d	n.d
Eucommia ulmoides Oliver	Cortex	n.d	n.d	n.d	n.d
Citrus Unshiu Markovich	Cortex	0.7	n.d	1.4	0.5

[a]n.d: not determined.

물이 16.0 mm의 생육 저해 환을 보여 가장 높은 항균 활성을 보였고 백목련(*Magnolia denudata*)과 익지인(*Alpinia oxyphylla*)의 물 추출물들로 각각 14.2 mm와 10.0 mm의 생육 저해 활성을 보여 우수한 항균성을 보였다. 여타의 추출물들의 항균 활성은 없거나 매우 미약하였다.

*H. somnus*균에 대한 항균성은 방아(*Agastache rugosa*)의 에탄올 추출물이 15.0 mm의 생육 저해 환을 보여 항균 활성이 가장 우수하였고 익지인(*Alpinia oxyphylla*)의 물 추출물이 12.5 mm의 저해 환으로 비교적 항균 활성이 높았으나 이들 이외에는 대체로 항균 활성이 없거나 극히 미약하였다. 그리고 방아(*Agastache rugosa*)의 에탄올 추출물은 두 균 모두에 대하여 높은 항균성(생육 저해 환: 10.0 mm, 15.0 mm)을 가지고 있었으므로 최종 시료로 선정하였다.

항균 활성이 가장 뛰어난 방아(*Agastache rugosa*)는 배초

향으로도 불리며 끈풀과에 속하는 여러해살이 풀로 제주도를 비롯한 전국, 일본, 대만, 동아시아의 온대지방에 야생하며, 한방에서 건위제로 소화불량, 식체, 복통, 흉통등에 사용하며 청량 해열제로 감기, 두통 등에 이용되며, 종기, 종독에 다른 약제와 함께 이용되고 있다[1]. 본 연구에서 방아가 소의 폐렴균에 대하여 항균 활성을 보인다는 사실은 방아가 고부가가치의 사료나 대체의약 원료로 사용될 수 있음을 암시하며, 이들 물질의 특성 규명과 제품 개발에 관한 추가의 연구가 요구된다. 한편, 시료로 선정된 방아의 일반 성분을 분석한 결과, 수분 8.8%, 조회분 8.1%, 조단백질 3.1%, 조지방 2.4%, 가용성 무질소물(탄수화물) 77.6%이었다.

방아 추출물이 소 폐렴균의 생육에 미치는 영향

방아 분말의 에탄올 추출물이 소 폐렴균인 *M. haemolytica* type A와 *H. somnus*의 생육에 미치는 영향을 조사한 결과

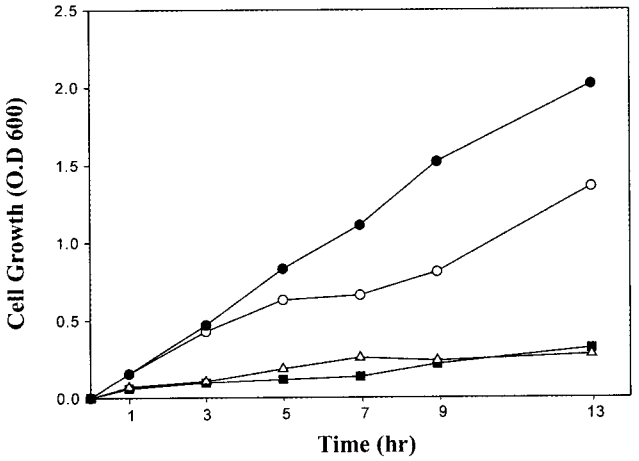

Fig. 1. Effect of ethanol extract from *Agastache rugosa* on the growth of *H. somnus* (●: control, ○: 0.1% addition, △: 0.5% addition, ■: 1.0% addition).

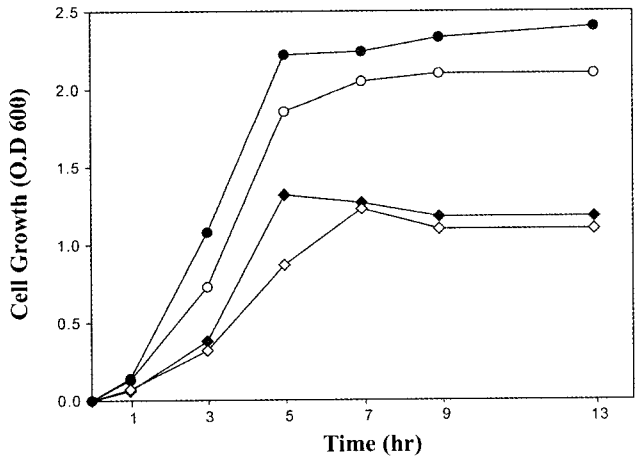

Fig. 2. Effect of ethanol extract from *Agastache rugosa* on the growth of *M. haemolytica* (●: control, ○: 0.1% addition, △: 0.5% addition, ■: 1.0% addition).

*H. somnus*의 경우 0.5%와 1.0% 방아 추출물 첨가시 균 생육이 배양 초기부터 현저하게 저해 되었고(Fig. 1) *M. haemolytica* type A의 경우도 비슷한 경향이 있으나(Fig. 2) *H. somnus* 보다는 약하게 생육이 저해 되었다. 이는 선정된 방아 추출물이 *H. somnus*에 더 강한 항균 활성을 보인 Table 1의 결과와 같은 경향으로 따라서 방아의 에탄올 추출물은 *H. somnus*에 대하여 유용한 항균제제로 응용성이 클 것으로 사료된다.

항균 물질의 추출 최적 조건

방아로부터 항균 활성 물질을 대량으로 생산하기 위한 추출 최적 조건으로 추출 온도와 시간을 검토한 결과 두 폐렴균 모두에 대한 항균물질의 추출 최적 온도는 45°C이었고, 50°C보다는 40°C에서 더 높은 항균 활성을 보였다(Fig. 3).

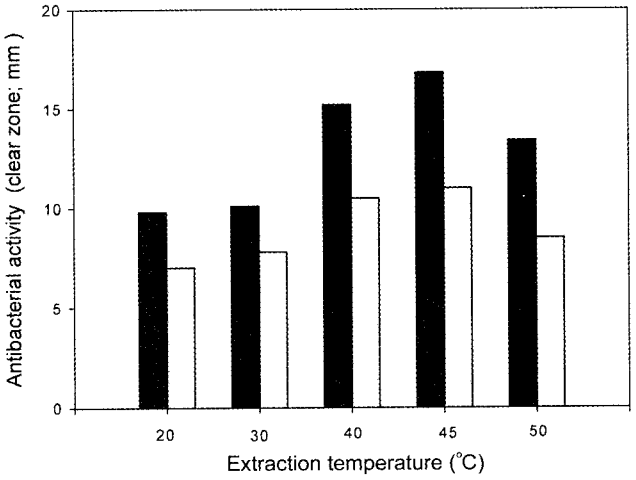

Fig. 3. Effect of extraction temperature on antibacterial activity against *Haemophilus somnus* A (■) and *Mannheimia haemolytica* B ( ) of ethanol extracts from *Agastache rugosa*.

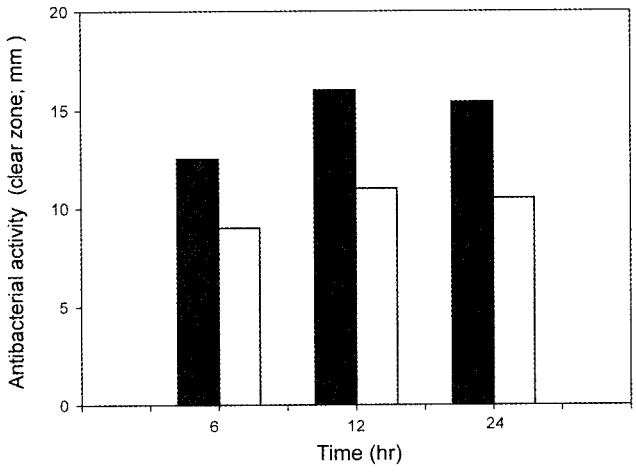

Fig. 4. Effect of extraction time on antibacterial activity against *Haemophilus somnus* A (■) and *Mannheimia haemolytica* B ( ) of ethanol extracts from *Agastache rugosa*.

또한 추출 최적 시간을 조사한 결과, 두 균 모두에 대하여 12시간까지 추출시간이 경과함에 따라 항균 활성 물질이 많이 생산되다가 그 이후에는 변화가 거의 없었다(Fig. 4).

REFERENCES

1. Ahn, B. and C. B. Yang. 1991. Chemical composition of Bangah (*Agastache rugosa* O. Kuntze) herb. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**: 375-382.
2. A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis. 15th Edition, Edited by Kenneth Helrich, Association of Official Analysis Chemist. Virginia. U.S.A.
3. Bae, J. H. 2005. Antimicrobial effect of *fraxinus rhynchophylla* extracts on food-borne pathogens. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **32**: 277-281.
4. Bhak, J. R., S. H. Park, J. O. Kim, S. W. Kim, and S. Y. Lee. 1997. The effect of estragole identified and extracts from *Agastache rugosa* O . Kuntze on the fungal growth and Metabolism. *J. Food Hygien and Safety* **12**: 63-70.
5. Choi, I. 2003. Antimicrobial activity of *Rhus javanica* extracts against animal husbandry disease-related bacteria *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**: 1214-1220.
6. Do, J. R., K. J. Kim, S. Y. Park, O. K. Lee, B. S. Kim, and S. N. Kang. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of ethanol extracts of medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Nutr.* **10**: 81-87.
7. Dong, S. S., H. Jung, J. S. Moon, S. K. Rhee, and J. Y. Son. 2004. Antioxidant activities of clove by extraction solvent. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**: 609-613.
8. Lee, H. B., H. K. Lee, and Y. J. Ahn. 2003. Antibacterial activity of oriental medicinal plant extracts toward *Helicobacter pylori. Agric. Chem. Biotechnol.* **46**: 97-99.
9. Sato, J., K. Goto, N. Fumio, K. Shigeyuki, and M. Kousaku. 2000. Antifungal activity of plant extracts against *Arthrinium sacchari* and *Chaetomium funicola. J. Biosci. Bioengin.* **90**: 442-446.
10. Kim, J. B. 2001. Purification and characterization of antioxidant substance from the stem bark of *Rhus verniciflua. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **14**: 527-531.
11. Kang, S. H., S. B. Seo, J. H. Kim, and J. S. Lee, 2002. Isolation of a bacterium with potent antibacterial activity against swine atrophic rhinitis bacteria and antibacterial activities. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **17**: 313-317.
12. Kim, B. H. and K. H. Cho. 1991. Biochemical properties and antimicrobial drug susceptibility of *Pasteurella haemolytica* isolated from pneumonic calves and goats. *Kor. J. Vet. Res.* **31**: 4-9.
13. Kim, S. T. 2003. Characteristics of antimicrobial activities for the human pathogenic mocroorganism by extracts form korean mushrooms. *Kor. J. Mycol.* **31**: 67-76.
14. Lee, H. B. 1986. Animal Disease, Yoohan Pub., Seoul.
15. Lee, J. J., S. H. Kim, B. S. Chang, J. B. Lee, C. S. Huh, T. J. Kim, and Y. J. Baek. 1999. The Antimicrobial activity of medicinal plants extracts against *Helicobacter pylori. Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**: 764-770.
16. Lee, K. S., J. C. Lee, K. H. Han, and M. J. OH, 1999. Antimicrobial activities of extracts of *Perilla frutescens* Briton var. acuta Kudo on food spoilage or foodborne disease microorganisms. *Kor. J. Ostharvest Sci. Technol.* **6**: 239-244.
17. Lee. K. S., S. H. Kim, K. C. Sim, C. S. Park, and Y. S. Shim. 1997. Antimicrobial activity of *Terminalia chebula* Retz. extract of against intestinal pathogens. *Kor. J. Food and Nutr.* **10**: 559-563.
18. Senji. S., L. Juneja, and T. Makoto. 2000. Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore-forming bacteria. *J. Biosci. Bioeng.* **90**: 58-81.
19. Yi, S. D., J. H. Joo, G. H. Lee, K. T. Lee, and M. J. Oh. 2003. Antimicrobial activity of gluten hydrolysate with *Asp. saitoi* Protease *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**: 745-751.

(Received Apr. 21, 2005/Accepted May 20, 2005)