

Phytobiotic 소재 선발을 위한 약용식물 추출물의 항산화 및 항균 활성

정희경¹ · 김영진² · 박병권³ · 박승춘⁴ · 정유석⁵ · 홍주현^{1*}

¹대구신기술사업단 바이오산업지원센터, ²대구가톨릭대학교 의공학과
³전진바이오팜(주), ⁴경북대학교 수의과대학, ⁵한국생명공학연구원

Antioxidative and Antimicrobial Activities of Medicinal Plant Extracts for Screening Phytobiotic Material

Hee-Kyoung Jung¹, Young-Jin Kim², Byung-Kwon Park³, Seung-Chun Park⁴,
Yoo-Seok Jeong⁵, and Joo-Heon Hong^{1*}

¹Bio Industry Center, Daegu New Technology Agency, Daegu 704-801, Korea

²Dept. of Biomedical Engineering, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

³Jeonjin Bio Farm Co., Ltd., Daegu 704-948, Korea

⁴College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

⁵BioNanotechnology Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and
Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea

Abstract

For this study, plant material for development of phytobiotics (feed additives made with plant extract) was screened. Among hot-water extracts of 9 medicinal plants, *Fallopia japonica* showed the highest antioxidative activity; the electron donating ability (EDA) and nitrite scavenging ability were 86.9% and 92.7%, respectively. Also, *F. japonica* had the antimicrobial activity for *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. Specially, antimicrobial activity of *F. japonica* against *K. pneumoniae*, and *S. aureus* was very strong. IC₅₀ of *F. japonica* against *K. pneumoniae*, and *S. aureus* was 6.24 mg/mL and 1.8 mg/mL respectively. These results suggested that *F. japonica* was a candidate for a phytobiotic material.

Key words: phytobiotic, medicinal plants, antioxidative, antimicrobial activity

서 론

가축산업이 대규모화됨에 따라 가축의 관리 및 운영의 효율성이 높아졌으며, 가축의 육종과 사료제의 발달은 생산성을 고도로 향상시켰다. 하지만 각종 병원성 미생물의 감염에 대한 저항성이 낮아져서 여러 가지 질병 발생에 대한 피해도 커지고 있으며 지금까지 질병에 대한 대책은 예방백신과 더불어 항생제에 의존적이었다. 항생제는 지난 60여 년간 사료 첨가제로써 널리 이용되어 항균작용과 함께 사료의 효율을 증진시켜 왔으며, 보다 경제적인 방법으로 가축을 생산하도록 하였다. 우리나라는 축산용 항생제의 사용량이 축산 선진국의 사육규모에 비해 약 2~10배 정도 많이 사용되고 있는 실정으로 가축사육에서 항생제 의존성이 높으며, 아울러 수의사 처방에 의한 질병의 직접적인 치료용으로서의 항생제 사용보다는 성장촉진을 위한 배합사료 첨가제로 사용되거나 자가 치료 및 예방용으로 약품 도매상 등을 통해 농가에

서 직접 구입하여 사용되고 있어 항생제의 부적절한 사용이 사회문제화 되고 있다(1,2). 가축산업에서 항생제의 오남용으로 인하여 항생제 내성균 발생에 대한 문제가 제기되면서 항생제 사용의 법적인 규제도 이루어지고 있으며, 축산식품 중에 항생물질이 잔류하여 인체에 악영향을 일으키는 문제점이 대두되고 있다(3).

이러한 항생제 사용에 대한 규제에 따라 대체물질의 연구가 활발히 진행되고 있으며(4), 많은 학자들은 생물체의 면역기능을 활성화 시키면서 체내에 잔류하지 않으며 인체에 영향을 주지 않는 항균성 약제, 생리활성 물질 및 생균제 등에 높은 관심을 기울이고 있다(5,6). 항생제 대체제로서 주목받고 있는 것들을 분류해보면, 미생물제제, 유기산제제, 효소제, 올리고당류, 그리고 한약재나 식물추출물 등을 들 수 있다. 특히 한약재와 식물추출물들은 이미 동양을 비롯하여 서양에서도 오래전부터 사용되어 오던 물질이며, 천연물이라는 장점으로 인해 항생물질의 대안으로서 각광 받고 있다.

*Corresponding author. E-mail: betabio@empal.com
Phone: 82-53-602-1823, Fax: 82-53-602-1898

국내에서는 다양한 한약재와 식물 성분의 항산화성 및 항균성에 대한 연구가 진행되어, Do 등(7)은 32종 생약재의 항균 활성을 탐색하여 강황, 파고지, 석곡, 오미자, 호장근 추출물 등의 항균성이 우수하다고 보고하였으며, Nam과 Kang(8)은 130종의 식물성 한약재 열수 추출물의 항산화활성을 조사하여 지모, 상백피, 택사, 진피 등이 항산화 효과가 우수하다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 약용식물을 이용한 가축사료 첨가용 소재(phytobiotic) 개발을 목적으로 문헌을 통해 선별한 9종의 약용 식물추출물의 항산화성 및 항균성을 조사하였으며 phytobiotic용 소재 선발을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 추출

가축사료 첨가용 소재(phytobiotic)로 활용 가능한 9종의 약용식물체인 *Citrus unshiu* Markovich(진피), *Berberis koreana*(매자나무)의 뿌리 및 줄기, *Morus alba*(상백피), *Dendrobium moniliforme*(석곡), *Acorus gramineus*(석창포), *Aster scabar*(취나물), *Alisma canaliculatum*(택사), *Fallopia japonica*(호장근)를 선정하여 miller로 분쇄하고 표준망체(40 mesh)를 통과한 분말에 10배의 증류수를 첨가한 다음 95°C에서 2시간 환류 추출하였다. 추출액은 30°C에서 감압농축하고 동결건조한 후 -20°C에서 냉동보관하면서 본 실험에 이용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis(9)법을 이용하여 측정하였다. 각각의 식물추출물 0.5 mL에 2 N Folin-ciocalteau reagent 0.1 mL를 첨가하고 충분히 혼합한 다음 8.4 mL의 멸균 증류수를 가하여 실온에서 3분간 반응시켰다. 여기에 20% Na₂CO₃ 1 mL를 첨가하고 실온에서 1시간 반응시킨 후 spectrophotometer(Ultraspex 2100pro, Amersham Co., Sweden)를 이용하여 625 nm에서 흡광도를 측정하였다.

이때 총 폴리페놀 함량은 tannic acid를 정량하여 작성한 표준곡선으로부터 계산하였다.

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Gray와 Dugan(10)의 방법에 따라 1 mM NaNO₂ 용액 0.1 mL에 시료액 0.2 mL를 첨가한 후 0.1 N HCl(pH 1.2) 및 0.2 N citrate buffer(pH 3.0, 4.2, 6.0) 0.7 mL를 가하여 반응액의 총 부피를 1 mL로 하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 이 반응액을 취하여 2% 초산용액 5 mL, griess 시약 0.4 mL를 가한 후 혼합하고 520 nm에서 흡광도를 측정하여 무첨가구와 시료액을 첨가한 실험구의 잔존하는 아질산염을 아래의 식을 이용하여 구하였다.

$$N(\%) = \left\{ 1 - \frac{(A-C)}{B} \right\} \times 100$$

N: 아질산염 소거율

A: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료 대신 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

C: 추출물 자체의 흡광도

전자공여능 측정

전자공여능은 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)의 환원력을 이용하여 측정하였다(11). 추출물 200 µL에 DPPH 용액(4×10⁻⁴ M DPPH, ethanol 100 mL에 용해) 800 µL를 가한 후 absolute ethanol을 2 mL 첨가하여 10초간 혼합한 다음 실온에서 15분간 반응시키고 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료를 첨가하지 않은 대조구와 흡광도 차이를 백분율로 계산하였다.

사용 균주 및 배지

항균력 측정에 사용되는 균주인 *Pseudomonas aeruginosa*(KCTC 11321), *Staphylococcus aureus*(KCTC 40050), *Staphylococcus epidermidis*(KCTC 40416), *Salmonella choleraesuis*(KCTC 40763), *Escherichia coli*(KCTC 40880), *Klebsiella pneumoniae*(KCTC 41433)는 Korean collection for type cultures(KCTC)에서 구입하여 사용하였다. 또한 식품의 식중독 균으로 알려져 있는 *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*와 *Salmonella Typhimurium*은 영남대학교 미생물 유전학연구실에서 분양받아 사용하였다. 계대 배지 및 균체 생육 배지는 *P. aeruginosa*(KCTC 11321), *S. aureus*(KCTC 40050), *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes*는 tryptic soy agar 또는 tryptic soy broth를 이용하였으며, *S. epidermidis*(KCTC 40416), *S. choleraesuis*(KCTC 40763), *E. coli*(KCTC 40880), *K. pneumoniae*(KCTC 41433), *B. cereus*, *S. Typhimurium*은 nutrient agar 또는 nutrient broth를 이용하였다. 모든 균주는 일주일 간격으로 계대배양 후 4°C에서 보관하여 사용하였다.

항균성 조사

식물 추출물에 대한 항균성 조사는 paper disc법으로 측정하였다. 각 병원성균주의 생육을 위한 액체배지 및 고체 평판배지는 상기에서 언급된 배지를 이용하였으며 병원균을 한 백금이 취하여 액체배지에 접종 후 37°C에서 18시간 배양하였다. 전배양액 100 µL를 중층용 배지인 0.8% agar를 첨가한 soft agar 배지에 접종하고 평판배지에 분주 후 실온에서 균히고 0.2 µm membrane filter로 제균한 시료를 0.8 mg/mL의 농도로 paper disc에 분주한 다음 37°C에서 배양하면서 생육 저해 환을 관찰하였다. 또한 병원균의 전배양액을 멸균된 면봉을 이용하여 고체배지에 고르게 도말한 다음 disc당 0.8 mg/mL 농도의 시료를 분주하고 37°C에서 배양하면서 생육 저해 환을 관찰하였다.

항균성을 가지는 식물추출물의 IC₅₀ 측정

항균성을 가지는 식물추출물의 IC₅₀ 측정은 시료를 첨가한 실험구와 시료 대신 멸균 증류수를 첨가한 병원균의 생육을 비교하여 조사하였다. 즉, 18시간 배양한 병원균의 배양액을 원심 분리하여 균체를 회수하고 멸균 증류수로 현탁시켜 10⁸ CFU/mL로 병원균의 접종액을 준비하였다. 24 well plate에 액체 배지를 1.5 mL씩 분주하고 다양한 농도의 식물추출물(1~10 mg/well)을 실험구에 첨가하였다. 그 후 각 well 당 10⁸ CFU/mL 병원균을 100 µL씩 접종하고 37°C에서 16시간 배양한 후 ELISA plate reader(UVM340, ASYS Hitech GmbH, Austria)를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하여 병원균의 생육을 조사하였다.

결과 및 고찰

약용식물 추출물의 항산화성

에너지 생산에 사용된 산소의 일부는 superoxide 및 hydroxy radical을 생성시켜 산화적 스트레스 환경을 조성하여 단백질, DNA, 효소 및 T 세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시킨다(12). 축산동물의 항산화성을 통한 면역 기능의 증진을 위해 Kim 등(13)은 xanthophyll이 혼합된 사료를 개발하여 육계에 섭취시켰다. 그러나 동물 사료에 항산화성을 가지는 기능성 물질을 첨가하고자 하는 시도나 상품화된 경우는 드물다. 따라서 본 연구에서는 phytobiotic용 약용식물 소재를 선별하기 위해 총 폴리페놀 함량과 항산화성을 1차적으로 조사하였다.

문헌을 통해 가축사료용 소재로 활용 가능한 9종의 약용식물인 진피, 매자나무 뿌리, 매자나무 줄기, 상백피, 석곡, 석창포, 취나물, 택사, 호장근을 대상으로 총 폴리페놀 함량을 조사한 결과, 호장근이 725.8 µg/mL로 가장 높았으며, 택사가 76.2 µg/mL로 가장 낮았다(Table 1). 전자공여능은 9종의 식물 추출물 중 택사를 제외하고 모두 60% 이상의 전자공여능을 나타내었다. 특히 진피는 89.6%의 높은 전자공여능을 보였으며, 매자나무는 뿌리보다 줄기의 전자공여능이 조금 더 높았다. 그 외에도 취나물과 호장근도 전자공여능이 각각 86.9%, 83.6%로 높게 분석되었다.

Table 1. Extraction yields and total polyphenol contents in medicinal plant extracts

Plant extract	°Brix	Total polyphenol contents (µg/mL)
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	1.81	386.7
<i>Berberis koreana</i> (Root)	0.54	254.9
<i>Berberis koreana</i> (Stem)	0.68	436.2
<i>Morus alba</i>	0.54	234.0
<i>Dendrobium moniliforme</i>	0.36	104.9
<i>Acorus gramineus</i>	0.67	249.1
<i>Aster scabar</i>	0.84	655.0
<i>Alisma canaliculatum</i>	1.55	76.2
<i>Fallopia japonica</i>	0.84	725.8

약용식물 추출물의 아질산염 소거능은 pH가 상승함에 따라 급격히 감소하는 경향이었으며, pH 6.0에서는 거의 나타나지 않았다. pH 1.2에서의 아질산염 소거능은 석창포와 호장근이 각각 91.0%와 92.7%로 다른 약용식물에 비해 높음을 알 수 있었다. 그 외 약용식물 추출물의 아질산염 소거능은 취나물 > 매자나무(줄기) > 상백피 > 진피 > 석곡 > 매자나무(뿌리) > 택사 순이었다(Table 2).

일반적으로 식물체가 가지는 페놀성 물질이 항산화성을 나타낸다는 보고(14)와 같이 호장근은 총 폴리페놀 함량이 타 식물체에 비해 높았으며, 전자공여능 및 아질산염 소거능도 높게 분석되어 항산화성 소재로 활용가능하리라 사료된다. 산업사회의 발달로 환경오염과 영양과잉화가 야기되어 현대인의 건강에 대한 관심은 더욱 고조되고 있다(15). 따라서 본 연구결과를 기초로 항산화 효과가 뛰어난 약용식물 추출물을 사료에 첨가하여 자연스럽게 식품동물에 급여시킨다면 기능성 돈육, 즉 항산화 효과로 인한 품질이 개선된 돈육을 생산할 수 있어 소비자 취향과 시장상황에 적합한 고부가가치 상품을 개발할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 Kim 등(13)의 보고에서와 같이 항산화 소재를 이용하여 닭고기의 보존성을 증가시킨 것과 같이 약용식물 추출물을 이용하여 육류의 신선도 유지효과도 얻을 수 있을 것이다.

약용식물 추출물의 항균성

본 실험에 사용된 9종의 약용식물 추출물에 대한 항균성 분석을 위하여 가축질병원인균과 식중독원인균을 포함한 10종의 균주에 대하여 본 실험에서는 paper disc 방법을 이용하여 측정하였다. 그 결과 매자나무(뿌리) 추출물은 *S. aureus*, *B. cereus*, *V. parahaemolyticus*, *S. Typhimurium* 등 4종의 균주에서 clear zone을 나타내어 항균활성을 가짐을 확인할 수 있었다. 또한 호장근 추출물은 *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. Typhimurium*, *L. minocytogenesis* 등 7종의 균주에 대하여 clear zone을 나타내어 항균활성이 가장 우수함을 확인하였다(Table 3). 매자나무(뿌리) 추출물과 호장근 추출물에 의해 생긴 생육 저해 현을 3일간 계속적으로 배양하면서 관찰한 결과, 호장근 추

Table 2. Effect of electron donating ability and nitrite-scavenging ability of medicinal plant extracts (%)

Plant extract	Electron donating ability	Nitrite-scavenging ability		
		pH 1.2	pH 3.0	pH6.0
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	89.6	41.6	20.2	3.9
<i>Berberis koreana</i> (Root)	86.7	36.4	19.8	2.4
<i>Berberis koreana</i> (Stem)	88.8	59.1	32.8	2.2
<i>Morus alba</i>	75.2	58.6	21.8	1.3
<i>Dendrobium moniliforme</i>	65.1	38.3	13.9	0.7
<i>Acorus gramineus</i>	69.0	91.0	66.5	3.5
<i>Aster scabar</i>	86.9	74.2	26.5	3.7
<i>Alisma canaliculatum</i>	23.5	25.1	9.0	0.2
<i>Fallopia japonica</i>	83.6	92.7	79.3	10.6

Table 3. Inhibition effect of pathogenic bacteria growth by medicinal plant extracts

Microorganism strains	Medicinal plant extracts								
	<i>Citrus unshiu Markovich</i>	<i>Berberis koreana</i> (Root)	<i>Berberis koreana</i> (Stem)	<i>Morus alba</i>	<i>Dendrobium moniliforme</i>	<i>Acorus gramineus</i>	<i>Aster scabar</i>	<i>Alisma canaliculatum</i>	<i>Fallopia japonica</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium	-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+

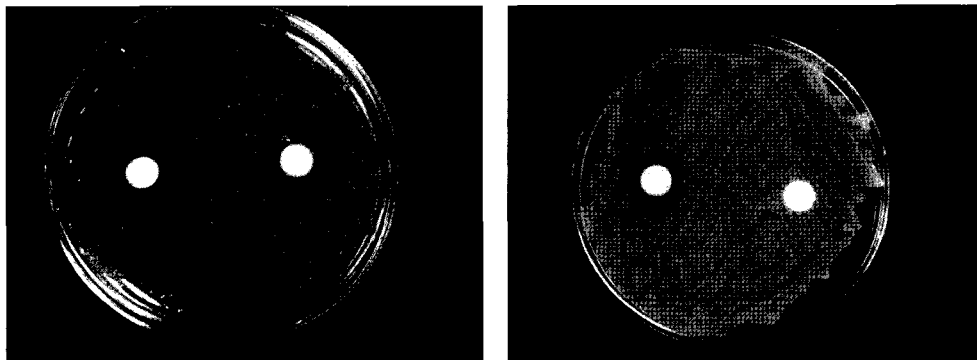


Fig. 1. Antimicrobial activity of *Fallopia japonica* extract after incubation for 3 days by disc diffusion method. Left: *Klebsiella pneumoniae*. *Fallopia japonica* extract (A), Water (B). Right: *Staphylococcus aureus*. *Fallopia japonica* extract (A), Water (B).

출물은 *S. aureus*, *K. pneumoniae* 두 균주에 대하여 생육 저지대인 clear zone이 지속적으로 유지되어(Fig. 1) 생육저해 효과는 물론 살균 효과를 가지는 항균활성 소재로 활용 가능성을 확인하였다.

호장근 추출물의 농도에 따른 항균활성 및 IC₅₀

9종의 약용식물 추출물 중 항균활성이 가장 우수한 호장근 추출물의 *S. aureus*와 *K. pneumoniae*에 대한 항균성을 액체 배양법으로 측정된 결과는 다음과 같다. 추출물 10 mg/mL에서 *K. pneumoniae* 생육을 약 85% 억제시켰으며, *S. aureus*는 4 mg/mL 농도에서 97%의 생육 저해능을 나타내었다(Fig. 2, 3). 각 병원균의 생육을 50% 저해시키는 호장근 추출물의 농도(IC₅₀)를 조사하기 위하여 시료 함량별로 병원균 *K. pneumoniae*, *S. aureus*의 농도에 따른 생육 저해율은 농도가 증가할수록 증가하였으며, *K. pneumoniae*와 *S. aureus*에 대한 IC₅₀는 각각 6.24 mg/mL, 1.8 mg/mL이었다. 호장근 추출물은 특히 *K. pneumoniae*보다 *S. aureus*에서 소량의 추출물로도 항균효과를 나타내었다.

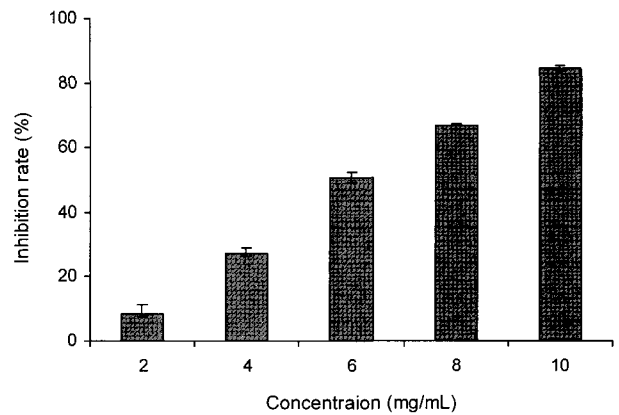


Fig. 2. Inhibition rate on concentration of *Fallopia japonica* extract against *Klebsiella pneumoniae*. Each value is expressed as mean ± SD in triplicate experiments.

사료에 의해 가축의 장내로 유입되는 질병 유발 세균은 가축의 장내 미생물에 영향을 주어 사료효율을 저하시키거나, 증체율을 감소시키고 출하일령을 지연시킨다고 보고되

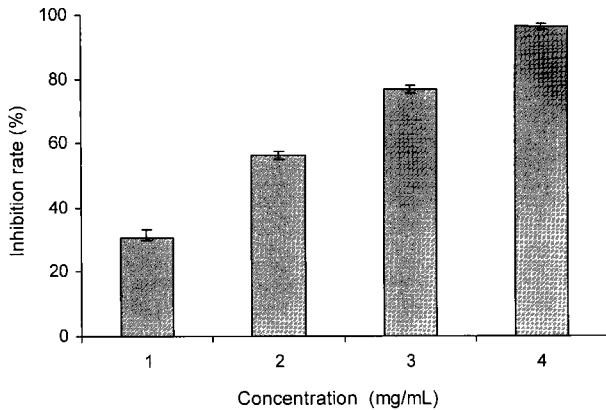


Fig. 3. Inhibition rate on concentration of *Fallopia japonica* extract against *Staphylococcus aureus*.

Each value is expressed as mean \pm SD in triplicate experiments.

고 있다(16). 또한 항균성 화학물질의 과다 사용은 축산물 내 항생물질이 잔류하게 되어 인체에도 영향을 준다(17). 따라서 사료첨가제로서 항균성 화합물을 대체하는 천연 항균 물질의 개발은 필수적이다. 이에 따라 국내에서는 버섯균사체 배양 추출물(18) 및 소목 추출물(19)을 이용하여 가축 질병균에 대한 항균성을 조사하였으며, Mok 등(20)은 어류 질병 세균에 대해 계피를 이용하여 천연항균제 개발을 시도하였다. 하지만 아직까지 가축 사료용으로 항산화성 및 항균성을 동시에 가지는 다기능성 식물 추출물을 이용하고자 하는 연구는 미흡한 실정이며, 농장실험에서 그 효과를 측정하는 예는 없다.

본 연구에서는 광범위한 항균활성을 가지며, 항산화성도 우수한 호장근을 phytobiotic 소재로 선정하였으며 생육저해능이 높은 가축 병원균에 대해서는 IC_{50} 를 측정하여 사료 제조시 배합량을 선정하기 위한 기초자료로 활용 가능할 것이다. 호장근을 이용한 phytobiotic 소재로의 개발은 합성항균제의 과다사용으로 인한 토양오염 및 잔류로부터 인체피해 등을 예방할 수 있으며, 축산 농가에서는 사료를 보관하는 동안에 사료 자체에서의 병원 미생물 오염을 방지할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

Phytobiotic으로 활용 가능한 소재를 선별하기 위하여 9종의 약용식물인 진피, 매자나무 뿌리, 매자나무 줄기, 상백피, 석곡, 석창포, 취나물, 택사, 호장근의 열수 추출물을 대상으로 항산화성 및 항균활성을 조사하였다. 호장근은 총 폴리페놀 함량이 725.8 μ g/mL로 가장 높았으며, 전자공여능이 86.9%, 아질산염 소거능이 92.7%로 우수한 항산화성을 나타내었다. 또한 호장근은 0.8 mg/mL의 농도에서 *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. cereus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*의 생육을 저해하였

다. 호장근 추출물은 7종의 균주에 대해 항균활성을 나타내었고, 특히 *K. pneumoniae*, *S. aureus*에 대해서 지속적인 항균활성을 나타내었다. *K. pneumoniae*, *S. aureus*에 대한 IC_{50} 는 각각 6.24 mg/mL, 1.8 mg/mL이었다. 호장근은 항산화성 및 항균활성을 동시에 가지는 기능성 약용식물 추출물로 가축의 phytobiotic 소재로 활용 가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역산업기술개발사업(과제번호: 70000464)의 연구비 지원에 의해 이루어진 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Vanbelle M. 1989. The European perspective on the use of animal feed additives: A world without antibiotics, anabolic agents or growth hormone. In Lyons TP, ed. *Biotechnology in the feed industry*. Proc. of Alltech's 5th Annu. Symp. Alltech Tech. Publ., p 191.
2. Neidert E, Schemenbrecker PW, Frank T. 1987. Drug residues in animal tissue. *J Assoc Chem* 70: 197-200.
3. Bae KH, Ko TG, Kim JH, Cho WT, Han YK, Han IK. 1999. Use of metabolically active substances to substitute for antibiotics in finishing pigs. *Kor J Anim Sci* 41: 23-30.
4. Kim JD, Kang WB, Han YK, Han IK. 1999. Study on the development of antibiotic-free diet for weaned pigs. *Kor J Anim Nutr Feed* 23: 277-282.
5. Sohn KS, Kim MK, Kim JD, Han IK. 2000. The role of immunostimulants in monogastric animal and fish. *Asian-Aus J Anim Sci* 13: 1178-1187.
6. Berg RD. 1998. Probiotics, prebiotics or conbiotics. *Trend Microbiol* 6: 9-92.
7. Do JR, Kim KJ, Jo JH, Kim YM, Kim BS, Kim HK, Lim SD, Lee SW. 2005. Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of medicinal herbs. *Korean J Food Sci Technol* 37: 206-213.
8. Nam SH, Kang MY. 2000. Screening of antioxidative activity of hot-water extracts from medicinal plants. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 141-147.
9. Folin O, Denis W. 1912. On phosphtungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
10. Gray JI, Dugan JR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981-984.
11. Kim KT, Kim JO, Lee GD, Kwon JH. 2005. Antioxidative and nitrite scavenging activities of *Polygonatum odoratum* physiological activities of fresh *Pleurotus eryngii* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 439-445.
12. Cha BC, Lee EH. 2007. Antioxidant activities of flavonoids from the leaves of smilax China linne. *Kor J Pharmacogn* 38: 31-36.
13. Kim CH, Lee SK, Lee KH. 2004. Effects of dietary xanthophylls and see weed by-products on growth performance, color and antioxidant properties in broiler chicks. *Korean J Food Sci Ani Resour* 24: 128-134.
14. Han SK. 2004. Antioxidant effect of fermented *Salicornia herbacea* L. liquid with EM (effective microorganism) on pork. *Korean J Food Sci Ani Resour* 24: 298-302.

15. Han SI, Choi SC. 2002. The promotion of consumption on fresh-meat brand. *Korean J Agric Manag Policy* 29: 298-315.
16. Lee JA, Kim SK, Cho OS, Oh GH, Park YG. 1997. Investigation of respiratory disorders in slaughtered pig. *Korean J Vet Ser* 20: 27-36.
17. Park HY, Park KK, Jung YC, Lee ES, Yang SY, Im BS, Kim CJ. 2004. Effect of feeding fermented food wastes on consumer acceptability of pork belly. *Korean J Food Sci Ani Resour* 24: 386-392.
18. Park JW, Kim T, Lim DJ, Lee HB, Joo YS, Park YI. 2004. Antibacterial activities of mushroom liquid culture extracts against livestock disease-causing bacteria and antibiotic resistant bacteria. *J Mycol* 32: 145-147.
19. Lee SG. 2003. Antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* against animal husbandry disease. *Kor J Microbiol Biotechnol* 31: 242-249.
20. Mok JS, Song KC, Choi NJ, Yang HS. 2001. Antibacterial effect of Cinnamon (*Cinnamomum cassia*) bark extract against fish pathogenic bacteria. *J Korean Fish Soc* 34: 545-549.

(2007년 8월 6일 접수; 2007년 9월 13일 채택)