

FOOD&CHEMISTRY

# Effects on the growth promotion of lactic acid bacteria, antimicrobial effect and antioxidant activity of natural materials

Woo Jin Ki<sup>1</sup>, Gereltuya Renchinkhand<sup>2</sup>, Tae-Hwan Kim<sup>3</sup>, Myoung Soo Nam<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Animal and Dairy Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

<sup>2</sup>Department of Biology, School of Arts and Sciences, National University of Mongolia, Ulaanbaatar 14200, Mongolia

<sup>3</sup>College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

\*Corresponding author: [namssoo@cnu.ac.kr](mailto:namssoo@cnu.ac.kr)

## Abstract

According to various negative effects of antibiotic growth promoters, the effects of nature-derived alternatives to antibiotic growth promoters are mainly investigated in livestock industry these days. The effects of nature-derived alternatives to antibiotic growth promoters are mainly investigated in livestock industry these days. This study was conducted to estimate the efficiency of natural-derived alternatives to antimicrobial and antioxidant such as oregano oil (OGO), sulfide type antimicrobial peptides derived from Bacillus or Yeast (SAPBY), antimicrobial peptides derived from yeast (APY). The lactic acid bacteria growth effects were found to be minimal. The antibacterial activity of SAPBY was minimal, but OGO and APY showed antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*, and APY also showed antibacterial activity against *Staphylococcus*. Antioxidant effects were observed in all SAPBY, OGO, and APY, and when comparing the radical scavenging rate at 10 mg · mL<sup>-1</sup> for each sample, OGO showed the highest at 84.9%, followed by SAPBY at 48.7%. Therefore, the substances that can be used as natural antibiotics are SAPBY, APY, and OGO. It is believed that adding these substances to feed and feeding them to livestock will greatly contribute to improving the health of livestock and the productivity of safe livestock products. In further, research focused on various nature-derived alternatives to antibiotic growth promoter in livestock industry is needed.

**Keywords:** antibiotics, antimicrobial peptide, antioxidant, natural materials, safe livestock products

## OPEN ACCESS


**Citation:** Ki WJ, Renchink G, Kim TH, Nam MS. 2024. Effects on the growth promotion of lactic acid bacteria, antimicrobial effect and antioxidant activity of natural materials. Korean Journal of Agricultural Science 51:341-350. <https://doi.org/10.7744/kjoas.510309>

**Received:** June 25, 2024

**Revised:** July 16, 2024

**Accepted:** July 30, 2024

**Copyright:** © 2024 Korean Journal of Agricultural Science

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## Introduction

축산의 미래는 친환경적인 가축 사육 및 가축의 건강과 생산성이 좌우한다. 생물학적으로 합성이 가능한 nanoparticles, probiotics, prebiotics, synbiotics, 허브 추출물, 필수지방, 유기산, 요소, 필수아미노산 등을 포함한 다양한 종류의 사료첨가제는 항생물질 기능을 하는 성장 촉진제의 대체제로 이용되어지고 있다(Reda et al., 2020, 2021; Sheiha et al., 2020; Abd El-Ghany

et al., 2021; El-Saadony et al., 2021a, 2021b, 2021c). 항생제 내성으로 인한 가축과 소비자의 건강이 위협을 받고 있는 시점에 우리나라는 2012년부터 배합사료 내에 항생제 사용을 전면 금지하고 있어서 항생제 대체 친환경 천연 소재 개발이 시급하다. 따라서 전 세계적으로 항생제 기능을 가지면서 인체에 무해한 천연항생물질에 대한 탐색 연구가 계속되고 있다. 유산균 등 프로바이오틱스 생균, 박테리오파지, 마늘·생강 등 식물유래 물질, 락토페린·라이소자임 등 동물유래 천연물질 등 다양한 물질에 대한 연구 중 박테리오파지는 인체 내 안전성, 비잔류성, 정장작용 등 여러 장점을 가지고 있기 때문에 활발한 연구가 진행되고 있다. 그러나 유용 박테리오파지의 분리 및 확보, 산업적 생산 및 응용은 주로 농·축산물의 항생제 대체물질과 기능성 식품첨가제에 관한 연구가 주를 이루고 있으며 연구량에 비해 산업화율이 적은 편이다. 항생제 내성균의 발생 및 축산식품 내 항생물질 잔류 문제로 인해 국내를 비롯한 전 세계적으로 사료 내 항생제 처리는 제한되고 있는 추세이고(농림축산식품부 고시 제2020-90호; OIE, 2015), 이에 부작용이 없는 성장촉진용 천연 항생제 대체물질에 관심이 집중되고 있다(Gyawali et al., 2021; Abd El-Hack et al., 2022; Rafiq et al., 2022).

황산염(sulfate)은 무수황산나트륨(sodium sulfate anhydrous) 형태로 화장품 제조 시 점성을 높이는 목적으로 주로 이용되는 물질이다(Andersen, 2000). 반면 축산업에서 황산염은 가축의 다양한 체내 대사 및 해독작용을 촉진하기 위해 사료첨가제의 형태로 이용되는 것이 일반적이다(Ross and Harms, 1970). *Saccharomyces cerevisiae* 속에서 유래한 효모추출물은 다양한 소화 효소를 가지고 있어 가축에 급여 시 소화율을 향상시킨다(Stanley et al., 1993). 또한 효모 세포벽의 만난 올리고당(mannan oligosaccharides)은 장내 면역체계를 활성화시켜 면역 반응을 촉진하는 것으로 알려져 있다. 오레가노 추출물(oregano essential oil)은 꽃박하속(*Origanum*)에서부터 추출한 대표적인 천연 식물추출물(herb extract)로, 티몰(thymol)과 카르바크롤(carvacrol)을 비롯한 페놀 성분(phenolic content)이 풍부하여 항산화 작용(antioxidant activity), 항균작용(antimicrobial activity), 간 보호기능(hepatoprotective effect) 등 다양한 효능을 갖는다(Oniga et al., 2018).

에센셜 오일의 다양한 식물 공급원 사료첨가제 효능에 대해 연구되었는데, 에센셜 오일 블렌드타임, 사향초 바질, 오레가노와 같은 허브를 포함하는 Herbal Mix PL 에센셜 오일 블렌드타임을 100 g 첨가시켜서 육계의 경우 100 g에서 500 g으로 증가되었다(Khattak et al., 2014). 에센셜 오일은 장내의 대장균과 살모넬라균과 같은 그람 음성균 *Escherichia coli* (*E. coli*)와 *Salmonella*와 같은 병원균의 수준을 감소시킨다(Khattak et al., 2014).

본 연구는 oregano oil (OGO), sulfide type antimicrobial peptides derived from *Bacillus* or Yeast (SAPBY), antimicrobial peptides derived from yeast (APY)들이 유해미생물의 항균작용과 항산화작용에 미치는 영향을 조사하기 위해 실시되었다. 본 연구를 통해 가축의 항생제 대체물질 급여로 생산된 축산물의 품질 향상과 국민건강에 기여 및 지속 가능한 축산식품 산업의 발전에 도움이 되고자 하는 바이다.

## Materials and Methods

### 시료

오레가노 식물로부터 얻은 기름(OGO), 효모 또는 *Bacillus* 유래 항균펩타이드(SAPBY), 효모 유래 항균펩타이드(APY)는 청미바이오(주)로부터 제공받아 시료로 이용하였다.

### 유산균 증식 효과

천연항생물질에 대한 유산균 증식효과를 확인하기 위해 *Lactobacillus*속인 *Lactobacillus plantarum* CRNB22 (*L. plantarum*, KCTC11931BP)와 *Streptococcus*속 *Streptococcus thermophilus* CNB11 (*S. thermophilus*, KCTC11406BP)

을 이용하였다. 효능 검증을 확인하기 위한 천연항생물질은 OGO, SAPBY, APY의 3종류를 준비하였다. 유산균 증식효과를 확인하기 위해 각 천연항생물질의 농도는 균주를 접종한 broth의 총용량 3 mL 기준으로 다음과 같이 설정하였다. 오레가노는 0.1% ( $1 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.05% ( $0.5 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.025% ( $0.25 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.0125% ( $0.125 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ )의 농도로 MRS broth (Difco, USA)에 첨가하였다. SAPBY는 0.2% ( $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.1% ( $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.05% ( $0.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.025% ( $0.25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )의 농도로 MRS broth (Difco, USA)에 첨가하였다. APY는 2% ( $20 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 1% ( $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.5% ( $5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 0.25% ( $2.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )의 농도로 첨가하였다. 그 후 MRS broth에서 계대배양한 균주를 접종(3%, v·v<sup>-1</sup>)하여 *L. plantarum* CRNB22와 *S. thermophilus* CNB11을 각각 37°C와 40°C에서 24시간 배양하였다. 생균수 검사를 위해 BCP plate count agar (Eiken Chemical Co., Ltd., Japan)를 사용하여 37°C에서 48시간 표준평판 배양법으로 배양한 후 생균수를 측정하였다. 천연항생물질을 첨가하지 않은 MRS broth에 동일하게 균주를 접종해 배양한 것을 대조구로 사용하였다.

### 항균활성 효과

천연항생물질의 최소화해농도를 알기 위해 실험을 진행하였다. 식중독균(TISTR 527), *Salmonella* Typhimurium (KCCM40253), *Staphylococcus aureus* (KACC13236), *Pseudomonas aeruginosa* (KACC14021)를 이용하여 paper disc agar diffusion 방법으로 항균활성을 측정하였다. OGO는 50% dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해하여 4%로 제작한 후 0.2  $\mu\text{m}$  syringe filter로 여과하여 사용하였다. 2 fold dilution으로 희석하여 50  $\mu\text{L}$ 씩 disc에 분주하였다. SAPBY 1 g을 50 mL methanol에 넣어 ultrasonic에 10분 동안 반응시켰다. 충분히 시간을 들여 시료를 녹인 후 원심 분리기 4,000 rpm으로 10분 동안 처리하였고 상정액을 0.2  $\mu\text{m}$  syringe filter로 여과하여 사용하였다. 이 용액을 2% SAPBY 용액으로 사용하였다. 2% 용액을 50% methanol을 이용하여 2 fold dilution하여 희석액을 만든 후 50  $\mu\text{L}$ 씩 disc에 분주하였다. APY를 distilled water (DW)에 녹인 후 2 fold dilution을 통해 희석하였다. 시료를 녹인 용액을 0.2  $\mu\text{m}$  syringe filter로 여과하여 사용하였다. 희석하여 얻은 용액을 50  $\mu\text{L}$ 씩 주입하여 disc에 들어간 시료의 용량은 250, 125, 50, 25  $\mu\text{g}$ 이다. 식중독균을 LB broth (Difco, USA)에 접종하여 *Pseudomonas aeruginosa*는 30°C에서, 나머지 3종류 식중독균은 37°C에서 24시간 배양한 후 표준평판배양법을 이용해 생균수를 확인하고  $1 \times 10^7$  CFU·mL<sup>-1</sup>로 희석하였다. 희석한 균액을 LB agar (BD Difco, USA)에 100  $\mu\text{L}$  접종한 후 멸균한 paper disc를 배지 위에 올리고 paper disc에 희석한 천연항생물질 50  $\mu\text{L}$ 를 각각 주입하였다. 시료 주입 후 37°C에서 24시간 배양한 뒤 clear zone의 여부를 확인했다. Disc 주변에 생성된 clear zone의 지름을 측정 후 disc의 지름(8 mm)을 빼고 반으로 나눈 반지름을 측정 결과로 사용하였다.

### 항산화 효과

천연항생물질의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma Aldrich, USA) radical 소거능 측정을 위해 메탄올에 녹인 0.2 mM DPPH solution을 제작하였다. DPPH solution 500  $\mu\text{L}$ 와 준비한 시료 500  $\mu\text{L}$ 를 혼합한 후 빛을 차단한 암실에서 10분 동안 반응시켰다. 그 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 대조구는 L-ascorbic acid를 이용하였다. SAPBY와 OGO는 methanol을 용매로 사용하였으며, SAPBY는 20, 10, 1, 0.5 mg·mL<sup>-1</sup>의 농도로, OGO는 10, 5, 2.5, 1 mg·mL<sup>-1</sup>의 농도로 준비하였다. APY는 DW를 용매로 사용하였다.

## 통계처리

실험에 이용된 모든 데이터는 3반복으로 진행하여 평균 및 평균의 표준 오차(standard error)를 검증하였다. DPPH 라디칼 소거능에 대한 통계 분석에서 각 처리구 간 표준값을 Tukey's test를 통해 다중 검정하였고 95% 신뢰수준에서 유의성을 검정하였다.

## Results and Discussion

### 유산균 성장 효과

#### SAPBY

SAPBY 첨가량에 따른 유산균의 생균수 변화는 Table 1과 같다. Control은 천연항생물질을 첨가하지 않은 대조구이다. SAPBY의 첨가량이 0.025%일 때 *L. plantarum* CRNB22의 생균수는  $1.1 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>로 control의 생균수  $1.3 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>와 비슷한 수치를 보였다. SAPBY의 농도가 0.2%일 때의 생균수는  $1.7 \times 10^7$  CFU·mL<sup>-1</sup>로 control의  $1.3 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>보다 약 77배 낮은 수치를 보였다. SAPBY의 첨가량이 늘어날수록 *L. plantarum* CRNB22의 생장이 줄어드는 것을 확인하였다. *S. thermophilus* CNB11의 경우 control에서는  $4.0 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>의 생균수를 보였으며 SAPBY 0.025%를 첨가하였을 때,  $5.2 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>으로 control보다 약간 높았다. 0.2%에서는  $1.1 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup> 농도가 높아질수록 미미하게 줄어드는 경향을 보였다.

**Table 1.** Growth effect of *Lactobacillus plantarum*CRNB22 and *Streptococcus thermophilus*CNB11 added to SAPBY.

| Groups  | Concentration | <i>Lactobacillus plantarum</i> CRNB22<br>(CFU·mL <sup>-1</sup> ) | <i>Streptococcus thermophilus</i> CNB11<br>(CFU·mL <sup>-1</sup> ) |
|---------|---------------|--|--|
| Control | 0%            | $1.3 \times 10^9$  | $4.0 \times 10^8$  |
| SAPBY   | 0.025%        | $1.1 \times 10^9$  | $5.2 \times 10^8$  |
|         | 0.05%         | $7.1 \times 10^8$  | $4.2 \times 10^8$  |
|         | 0.1%          | $2.6 \times 10^8$  | $2.1 \times 10^8$  |
|         | 0.2%          | $1.67 \times 10^7$   | $1.1 \times 10^8$  |

SAPBY, sulfide type antimicrobial peptides derived from Bacillus or Yeast.

#### APY

APY의 첨가량에 따른 생균수의 변화는 Table 2와 같다. Control은 APY를 첨가하지 않은 대조구이다. APY의 첨가량이 0.25%일 때의 *L. plantarum* CRNB22의 생균수는  $1.1 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>이며 이는 대조구  $1.3 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>와 큰 차이가 나지 않았다. APY의 첨가량을 2% 높였을 때도  $1.1 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>이었다. APY의 첨가는 *L. plantarum* CRNB22의 생육에는 거의 영향을 미치지 않았다. APY의 첨가량이 0.25%일 때의 *S. thermophilus* CNB11의 생균수는  $5.0 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>이고 2%일 때의 생균수는  $4.9 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>이다. 이는 대조구  $4.3 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>와 큰 차이가 없는 것으로 보아 APY 첨가는 *S. thermophilus*의 CNB11의 생육에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

**Table 2.** Growth effect of *Lactobacillus plantarum*CRNB22 and *Streptococcus thermophilus*CNB11 added to APY.

| Groups  | Concentration | <i>Lactobacillus plantarum</i> CRNB22<br>(CFU·mL <sup>-1</sup> ) | <i>Streptococcus thermophilus</i> CNB11<br>(CFU·mL <sup>-1</sup> ) |
|---------|---------------|--|--|
| Control | 0%            | $1.3 \times 10^9$  | $4.3 \times 10^8$  |
| APY     | 0.25%         | $1.1 \times 10^9$  | $5.0 \times 10^8$  |
|         | 0.5%          | $1.2 \times 10^9$  | $5.4 \times 10^8$  |
|         | 1.0%          | $1.2 \times 10^9$  | $5.7 \times 10^8$  |
|         | 2.0%          | $1.1 \times 10^9$  | $4.9 \times 10^8$  |

APY, antimicrobial peptides derived from yeast.

### OGO

OGO의 첨가량에 따른 생균수의 변화는 Table 3과 같다. OGO를 첨가하지 않은 *L. plantarum* CRNB22의 control은  $1.3 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>의 생균수를 보였다. OGO의 첨가량 0.0125%에서는  $7.1 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>로 control과 비교하여 1.81배 감소했으며, 0.025%에서는  $2.4 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>로 5.38배 감소하였다. 0.05%에서는  $4.5 \times 10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup>로  $2.9 \times 10^3$ 배 감소하고 0.1%는  $1.6 \times 10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup>로  $8.2 \times 10^3$ 배 감소하였다. OGO의 농도 0.05%에서 *L. plantarum* CRNB22의 생육이 크게 저하되었다.

*S. thermophilus* CNB11의 control 생균수는  $3.7 \times 10^9$  CFU·mL<sup>-1</sup>이며 OGO의 첨가량이 0.125%, 0.025%, 0.05%에서는 대조구와 비교했을 때 각각 11배, 16배,  $6.73 \times 10^2$ 배 감소하였으며, 0.1%에서는  $1.73 \times 10^4$ 배 감소하였다. 농도가 높아질수록 생육이 저하되며 0.05%를 기점으로 생육 저하가 크게 일어났다.

결론적으로 SAPBY와 APY는 유산균의 생육 증감에 큰 영향을 미치지 않았으며 OGO는 0.05%부터 유산균의 생육을 억제하였다. 따라서 천연항생물질에 의한 유산균 증식 효과는 나타나지 않았다.

**Table 3.** Growth effect of *Lactobacillus plantarum*CRNB22 and *Streptococcus thermophilus*CNB11 added to OGO.

| Groups  | Concentration | <i>Lactobacillus plantarum</i> CRNB22<br>(CFU·mL <sup>-1</sup> ) | <i>Streptococcus thermophilus</i> CNB11<br>(CFU·mL <sup>-1</sup> ) |
|---------|---------------|--|--|
| Control | 0%            | $1.3 \times 10^9$  | $3.7 \times 10^9$  |
| OGO     | 0.0125%       | $7.1 \times 10^8$  | $3.3 \times 10^8$  |
|         | 0.025%        | $2.4 \times 10^8$  | $2.3 \times 10^8$  |
|         | 0.05%         | $4.5 \times 10^5$  | $5.5 \times 10^6$  |
|         | 0.1%          | $1.6 \times 10^5$  | $2.1 \times 10^5$  |

OGO, oregano oil.

### 항균활성 효과

#### SAPBY

Control은 100% methanol과 50% methanol을 사용하였다. SAPBY 첨가량에 따른 식중독균에 대한 항균효과는 Table 4와 같다. 1,000 µg의 경우 모두 clear zone이 형성되었지만, control인 100% methanol과 같은 크기의 clear zone이 형성된 것으로 보아 methanol의 영향으로 생긴 것이며 시료 자체의 항균 효과로 보이지 않는다. 500 µg, 200 µg의 경우 clear zone이 형성되지 않았으며 control 또한 아무런 반응이 없었다. SAPBY의 식중독균(병원성균)에

대한 항균 효과는 없는 것으로 나타났다.

**Table 4.** Antibacterial effect against pathogenic bacteria added to SAPBY.

| Groups  | Disc volume | <i>Escherichia coli</i> TISTR527 (mm) | <i>Salmonella</i> Typhimurium KCCM40253 (mm) | <i>Staphylococcus aureus</i> KACC13236 (mm) | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> KACC14021 (mm) |
|---------|-------------|---------------------------------------|--|---|--|
| Control | 100% MeOH   | 1.0                                   | 0  | 1.5   | 2.0  |
| SAPBY   | 1,000 µg    | 0.5                                   | 0  | 1.5   | 2.5  |
| Control | 50% MeOH    | 0                                     | 0  | 0   | 0  |
| SAPBY   | 500 µg      | 0                                     | 0  | 0   | 0  |
|         | 250 µg      | 0                                     | 0  | 0   | 0  |

SAPBY, sulfide type antimicrobial peptides derived from Bacillus or Yeast.

### APY

APY 첨가량에 따른 식중독균에 대한 항균효과는 Table 5와 같다. APY의 *E. coli*에 대한 항균 효과는 25 µg에서 2.0 mm의 clear zone이 나타났으며 APY의 주입량이 많아질수록 clear zone이 커져 250 µg 주입 시 6.5 mm의 clear zone이 나타났다. *Salmonella* Typhimurium에서 APY 25 µg 주입 시 clear zone의 크기는 1.5 mm로 *E. coli*보다 작았지만 항균 효과를 나타내었다. 주입 용량을 늘릴수록 항균 효과가 커졌으며 250 µg 주입 시 7.0 mm의 clear zone이 형성되었다. *Staphylococcus aureus*는 APY의 용량이 25 µg일 때 clear zone이 나타나지 않았으며 50 µg에서 1.0 mm의 clear zone이 형성되었다. 용량을 늘릴수록 clear zone이 커졌으며 250 µg 주입 시 5.0 mm의 clear zone이 형성되었다.

*Pseudomonas aeruginosa*에서는 25 µg 주입 시 3.0 mm의 clear zone이 나타났다. 용량을 늘릴수록 clear zone이 커졌으며 250 µg에서 6.0 mm의 clear zone이 형성되었다. APY는 주입 용량이 25 µg일 때 *Pseudomonas aeruginosa*에서 3.0 mm로 clear zone이 가장 크게 나타났으며 *Staphylococcus aureus*에서 0 mm로 clear zone이 나타나지 않았다.

**Table 5.** Antibacterial effect against pathogenic bacteria added to APY.

| Groups  | Disc volume | <i>Escherichia coli</i> TISTR527 (mm) | <i>Salmonella</i> Typhimurium KCCM40253 (mm) | <i>Staphylococcus aureus</i> KACC13236 (mm) | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> KACC14021 (mm) |
|---------|-------------|---------------------------------------|--|---|--|
| Control | DW          | 0                                     | 0  | 0   | 0  |
| APY     | 25 µg       | 2.0                                   | 1.5  | 0   | 3.0  |
|         | 50 µg       | 4.5                                   | 3.5  | 1.0   | 4.5  |
|         | 125 µg      | 5.5                                   | 6.0  | 4.0   | 6.0  |
|         | 250 µg      | 6.5                                   | 7.0  | 5.0   | 6.0  |

APY, antimicrobial peptides derived from yeast; DW, distilled water.

### OGO

OGO 첨가량에 따른 식중독균에 대한 항균효과는 Table 6과 같다. OGO를 1 µL 이상 주입한 경우 항균 효과가 강하여 비교적 넓은 범위까지 균의 성장이 저해되었다. *E. coli*와 *Staphylococcus*의 경우 용액이 퍼지는 시간 차이로

인해 도달한 균이 성장한 이후 항생물질의 항균 활성이 이루어져 병원성균이 완전히 보이지 않는 clear zone과 열게 식중독균이 성장한 clear zone이 생성되었다. *E. coli*에 0.25  $\mu\text{L}$  주입 시 0.5 mm의 clear zone이 생성되었으며, 0.5  $\mu\text{L}$  주입 시 2.0 mm의 clear zone이 생성되었다. 1.0  $\mu\text{L}$  주입 시 균이 완전히 성장하지 못한 1.5 mm의 clear zone이 생겼으며, 균이 열게 성장한 3.5 mm의 clear zone도 함께 형성되었다. 2  $\mu\text{L}$  주입 시에도 2.5 mm의 균이 완전히 성장하지 못한 clear zone이 생성되었으며, 식중독균이 열게 성장한 12 mm의 clear zone이 형성되었다. *Salmonella* Typhimurium은 0.25  $\mu\text{L}$  주입 시 1.0 mm의 clear zone이 형성되었다. 주입 용량을 늘릴수록 clear zone이 넓어졌으며 2.0  $\mu\text{L}$  주입 시 5.0 mm의 clear zone이 형성되었다. *Staphylococcus aureus*는 0.25  $\mu\text{L}$  주입 시 1.0 mm의 clear zone이 형성되었다. 용량을 늘릴수록 clear zone이 넓어졌으며 1  $\mu\text{L}$  주입 시 1 mm의 완전한 clear zone이 형성되었고, 3.5 mm의 균이 열게 성장한 clear zone이 형성되었다. 2  $\mu\text{L}$ 의 주입 시 2.5 mm의 완전한 clear zone이 형성되었고 12 mm의 균이 열게 성장한 clear zone이 형성되었다. *Pseudomonas aeruginosa*의 경우 0.25  $\mu\text{L}$  주입 시 clear zone이 형성되지 않았다. 용량을 늘려 0.5  $\mu\text{L}$ , 1.0  $\mu\text{L}$ , 2.0  $\mu\text{L}$  주입 시 모두 1.0 mm의 clear zone이 형성되어 OGO의 항균 효과는 미미했다. 한편 천연물을 첨가한 발효유의 항균효과를 보면 vitamin tree (*Hippophae rhamnoides* L.) 추출물을 이용한 보고(Park et al., 2022)와 구기자(*Lycium chinense* Mill.) 추출물을 이용한 보고에서 첨가량이 증가할수록 높았다(Kim et al., 2023). 또한 cacao nibs (*Theobroma cacao* L.)도 같은 결과를 얻었다(Jeong et al., 2023).

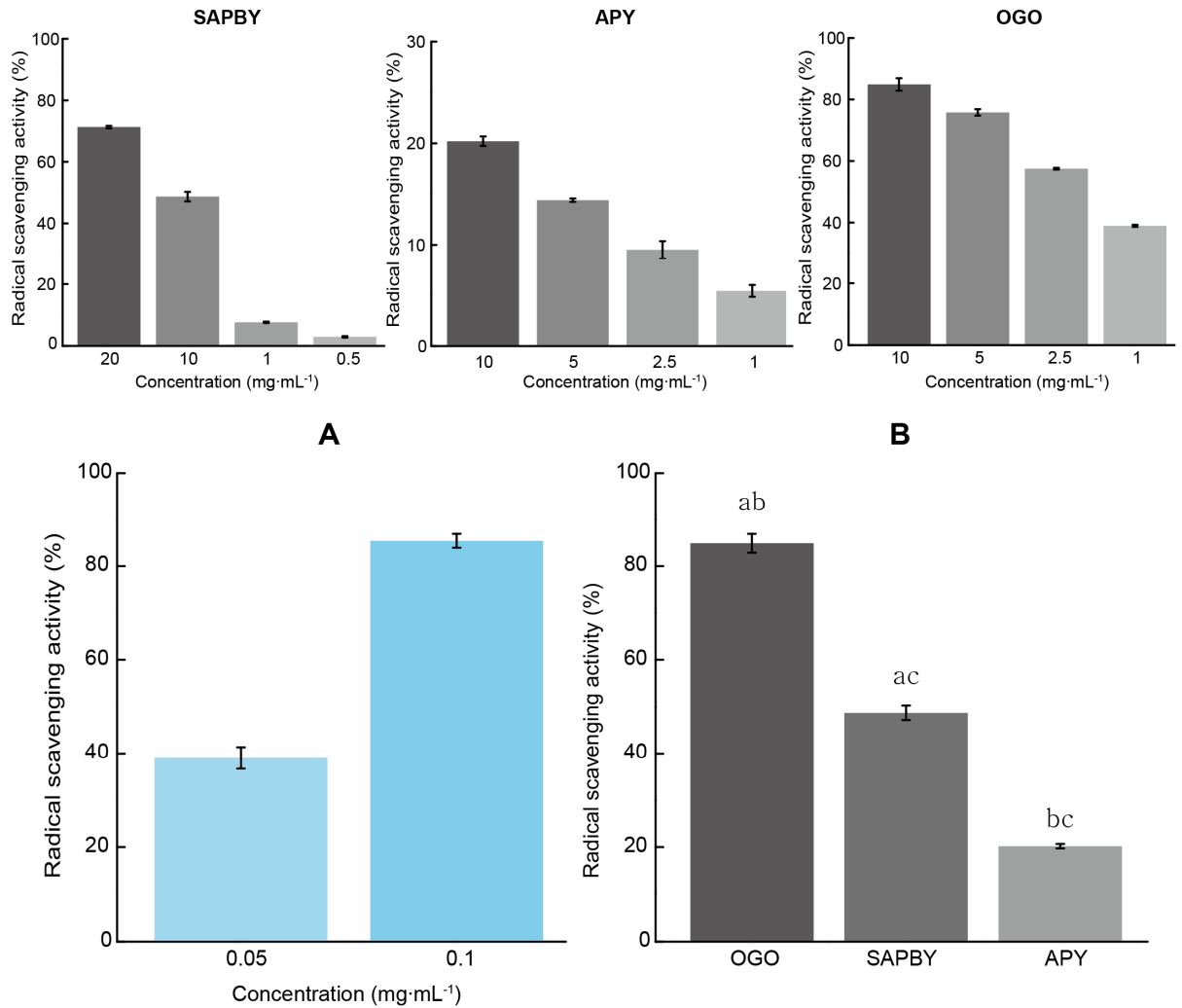
**Table 6.** Antibacterial effect against pathogenic bacteria added to OGO.

| Groups  | Disc volume         | <i>Escherichia coli</i> TISTR527 (mm) | <i>Salmonella</i> Typhimurium KCCM40253 (mm) | <i>Staphylococcus aureus</i> KACC13236 (mm) | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> KACC14021 (mm) |
|---------|---------------------|---------------------------------------|--|---|--|
| Control | 50% DMSO            | 0                                     | 0  | 0   | 0  |
| OGO     | 0.125 $\mu\text{L}$ | 0                                     | 0  | 0   | 0  |
|         | 0.25 $\mu\text{L}$  | 0.5                                   | 1.0  | 1.0   | 0  |
|         | 0.5 $\mu\text{L}$   | 2.0                                   | 1.5  | 1.5   | 1.0  |
|         | 1.0 $\mu\text{L}$   | 3.5                                   | 3.0  | 3.5   | 1.0  |
|         | 2.0 $\mu\text{L}$   | 12                                    | 5.0  | 12  | 1.0  |

OGO, oregano oil; DMSO, dimethyl sulfoxide.

## 항산화 효과

천연항생물질의 농도별 radical scavenging activity (%)는 Fig. 1에 정리하였다. SAPBY는 20  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 에서 71.3%의 소거율을 보였으며, 10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 는 48.7%, 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  7.6%, 0.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 에서는 2.9%의 라디칼 소거율을 보여주었다. APY는 10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 에서 20.2%의 소거율을 보였으며 5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 는 14.4%, 2.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  9.5%, 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 에서는 5.4%의 라디칼 소거율을 보여주었다. OGO는 10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 에서 84.9%의 소거율을 보였으며 5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 는 72.8%, 2.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  57.5%, 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 에서는 38.9%의 라디칼 소거율을 보여주었다. 시료 별 10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 에서의 라디칼 소거율을 비교하였을 때 OGO가 84.9%로 가장 높았으며, SAPBY 48.7% 순으로 나타났다. 한편 천연물을 첨가한 발효유의 항산화효과를 보면 vitamin tree (*Hippophae rhamnoides* L.) 추출물을 이용한 보고(Park et al., 2022)와 구기자(*Lycium chinense* Mill.) 추출물을 이용한 보고에서 첨가량이 증가할수록 높았다(Kim et al., 2023). 또한 cacao nibs (*Theobroma cacao* L.)도 같은 결과를 얻었다(Jeong et al., 2023).



**Fig. 1.** DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity added to OGO, SAPBY and APY. A: L-ascorbic acid standard, B: Comparison of antioxidant activity (each sample for 10 mg·mL<sup>-1</sup>). The values for each group in B are expressed as mean  $\pm$  standard error of mean (n = 3). a, significant difference ( $p < 0.05$ ) between OGO and SAPBY; b, significant difference ( $p < 0.05$ ) between OGO and APY; c, significant difference ( $p < 0.05$ ) between SAPBY and APY. SAPBY, sulfide type antimicrobial peptides derived from Bacillus or Yeast; APY, antimicrobial peptides derived from yeast; OGO, organo oil.

## Conclusion

본 연구는 항생제 대체 물질로 그 기능이 알려진 천연항생제 즉, OGO, SAPBY, APY 등 3종류에 대해 유산균 성장효과, 항균활성 기능, 항산화 효과를 조사하였다. 이들 시료 중 유산균 성장효과는 모두 효과가 미미한 것으로 나타났다. 항균활성 기능은 SAPBY는 미미하였으나 OGO와 APY는 *E. coli*, *Salmonella Typhimurium*에 대해 항균활성이 나타났고, APY는 *Staphylococcus*에 대해서도 항균활성이 나타났다. 항산화 효과는 SAPBY, OGO, APY 모두 나타났다. 시료 별 10 mg·mL<sup>-1</sup>에서의 라디칼 소거율을 비교하였을 때 OGO가 84.9%로 가장 높았으며, SAPBY 48.7% 순으로 나타났다. 따라서 천연항생제로 이용가능한 물질은 SAPBY, APY, OGO이다. 이들 물질을 사료에 첨가하여 가축에게 급여함으로써 가축의 건강과 안전한 축산물의 생산성 향상에 크게 기여할 것으로 사료된다.



## Conflict of Interests

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## Acknowledgements

본 과제는 교육부와 한국연구재단의 재원으로 지원을 받아 수행된 사회맞춤형 산학협력 선도대학(LINC+) 육성 사업의 연구결과입니다.

## Authors Information

Woo Jin Ki, <https://orcid.org/0000-0001-8241-874X>

Gereltuya Renchinkhand, <https://orcid.org/0000-0003-2107-0430>

Tae-Hwan Kim, <https://orcid.org/0009-0007-5448-8266>

Myoung Soo Nam, <https://orcid.org/0000-0003-0866-1041>

## References

- Abd El-Ghany WA, Shaalan M, Salem HM. 2021. Nanoparticles applications in poultry production: An updated review. *World's Poultry Science Journal* 77:1001-1025.
- Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Salem HM, El-Tahan AM, Soliman MM, Youssef GB, Swelum AA. 2022. Alternatives to antibiotics for organic poultry production: Types, modes of action and impacts on bird's health and production. *Poultry Science* 101:101696.
- Andersen FA. 2000. Final report on the safety assessment of sodium sulfate. *International Journal of Toxicology* 19: 77-87.
- El-Saadony MT, Alkhatib FM, Alzahrani SO, Shafi ME, Abdel-Hamid SE, Taha TF, Aboelenin SM, Soliman MM, Ahmed NH. 2021a. Impact of mycogenic zinc nanoparticles on performance, behavior, immune response, and microbial load in *Oreochromis niloticus*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28:4592-4604.
- El-Saadony MT, Saad AM, Taha TF, Najjar AA, Zabermaawi NM, Nader MM, AbuQamar SF, El-Tarabily KA, Salama A. 2021b. Selenium nanoparticles from *Lactobacillus paracasei* HM1 capable of antagonizing animal pathogenic fungi as a new source from human breast milk. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28:6782-6794.
- El-Saadony MT, Sitohy MZ, Ramadan MF, Saad AM. 2021c. Green nanotechnology for preserving and enriching yogurt with biologically available iron (II). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 69:102645.
- Gyawali I, Paudel R, Rayamajhi K, Khan IA, Dahal G. 2021. Ecofriendly alternatives to antibiotics for improving growth performance in poultry. *Matrix Science Pharma* 5:60-67.
- Jeong NR, Ki WJ, Kim MJ, Nam MS. 2023. Anti-oxidant, ant-microbial and antiinflammatory activity of yogurt with added cacao nibs (*Theobroma cacao* L.). *Korean Journal of Agricultural Science* 49:583-593. [in Korean]
- Khattak F, Ronchi A, Castelli P, Sparks N. 2014. Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology, and carcass quality of broiler chickens. *Poultry Science* 93:132-137.
- Kim KY, Renchinkhand G, Ki WJ, Choi JW, Nam MS. 2023. Antioxidant, antibacterial, and antiinflammatory effects of fermented milk made with *Lycium chinense* Mill extract, red ginseng extract, and rice powder. *Korean Journal of Agricultural Science* 50:43-53. [in Korean]
- OIE (World Organisation for Animal Health). 2015. OIE Standards, Guidelines and Resolutions on Antimicrobial Resistance and the Use of Antimicrobial Agents. pp. 1-130. OIE, France, Paris.

- Oniga I, Puşcaş C, Silaghi-Dumitrescu R, Olah NK, Sevastre B, Marica R, Hanganu D. 2018. *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical composition and biological studies. *Molecules* 23:2077.
- Park BB, Renchinkhand G, Ki WJ, Choi JW, Nam MS. 2022. Antioxidant, antibacterial, and antiinflammatory effects of yoghurt made with vitamin tree (*Hippophae rhamnoides*L.) fruit powder. *Korean Journal of Agricultural Science* 49:957-969. [in Korean]
- Rafiq K, Tofazzal Hossain M, Ahmed R, Hasan MM, Islam R, Hossen MI, Islam MR. 2022. Role of different growth enhancers as alternative to in-feed antibiotics in poultry industry. *Frontiers in Veterinary Science* 8:794588.
- Reda FM, El-Saadony MT, Elnesr SS, Alagawany M, Tufarelli V. 2020. Effect of dietary supplementation of biological curcumin nanoparticles on growth and carcass traits, antioxidant status, immunity and caecal microbiota of Japanese quails. *Animals* 10:754.
- Reda FM, El-Saadony MT, El-Rayes TK, Attia AI, El-Sayed SA, Ahmed SY, Madkour M, Alagawany M. 2021. Use of biological nano zinc as a feed additive in quail nutrition: biosynthesis, antimicrobial activity and its effect on growth, feed utilisation, blood metabolites and intestinal microbiota. *Italian Journal of Animal Science* 20:324-335.
- Ross E, Harms RH. 1970. The response of chicks to sodium sulfate supplementation of a corn-soy diet. *Poultry Science* 49:1605-1610.
- Sheiha AM, Abdelnour SA, Abd El-Hack ME, Khafaga AF, Metwally KA, Ajarem JS, Maodaa SN, Allam AA, El-Saadony MT. 2020. Effects of dietary biological or chemical-synthesized nano-selenium supplementation on growing rabbits exposed to thermal stress. *Animals* 10:430.
- Stanley VG, Ojo R, Woldesenbet S, Hutchinson DH, Kubena LF. 1993. The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science* 72:1867-1872.