

식물성 생약재 열수추출물이 어병 원인세균에 대한 항균활성 및 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 식세포의 활성산소 생산에 미치는 *in vitro* 효과

정승희[†] · 손영찬* · 김이청**

국립수산진흥원 병리과, *국립수산물검사소 인천지소, **국립수산진흥원 진해내수면 연구소

In vitro Effect of Water Extract of Medicinal Herbs on Antimicrobial Activity against Fish Pathogenic Bacteria and Superoxide Production of Kidney Phagocytes in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Sung Hee Jung[†], Young-Chan Sohn* and Yi Cheong Kim**

[†]Pathology Division, National Fisheries Research & Development Institute

*Inchon branch, National Fisheries Products Inspection Station

**Jinhae Inland Fisheries Research Institute, NFRDI

The present study was to obtain a basic research data about medicinal herbs by screening *in vitro* antimicrobial activity and the production of superoxide anion(O₂⁻) from the head kidney phagocytes of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. The following fourteen kinds of medicinal herbs extracted by boiling water were used : Gosam, Gwijeonu, Gujeolcho, Bagha, Bangpung, Yeongyo, Yagssug, Jiyu, Sambaegcho, Samjiguyeobcho, Sangbaegpi, Sohwehyang, Pyeonchug, Palgag. Antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria, *Listonella anguillarum*, *Vibrio* sp., *Vibrio alginolyticus*, *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus* sp. and *Lactococcus garvieae*, and the production of superoxide in kidney macrophage of olive flounder were examined by disk method and nitroblue tetrazolium(NBT) reaction, respectively. Among the tested herbs, Yagssug showed the highest antimicrobial activity against those fish pathogenic bacteria and stimulation of O₂⁻ production.

Key words : Medicinal herb, Antimicrobial activity, NBT reaction, Kidney macrophage, Olive flounder

천연물로부터 항균성 물질을 탐색하고 이를 합성보존료에 대체할 수 있는 천연보존료나 병원성 미생물 살균제를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 식물추출물이 항균성을 가지고 있다는 것은 오래 전부터 알려져 왔고 마늘, 파 등과 같은 향신료와 그 정유성분, 솔잎, 녹차, 우롱차 및 홍차 추출물이 식품부패 미생물에 대해 상당한 항균성물질이 존재한다는 사실이 이미 증명되었다(Yeo *et al.*, 1995 ; Park *et al.*, 1995 ; Choi *et al.*, 1997). 그리고 질병에 대한 직접적인 치료수단으로 이용되기보다는 예방치료의 목적으로 더 많이 사용되고 있는 한약재와 같은 천연식물 가운데 항균성물질을 검색하는 연구가 많이 진행되어 왔다(Park *et al.*, 1992a, b ; Han *et al.*, 1994 ; Mok *et al.*, 1995 ; Park *et al.*, 1995). 이런 연구들은 주로 식품 보존 시 문제가 되는 효모, 곰팡이, 식중독을 일으키는 세균들이 주된 대상이 되고 있다.

Sohn(1999)은 천연물질의 추출물을 어류에 직접 적용하기에 앞서 구기자, 오미자 및 인삼 추출물이 나일틸라피아의 신장 식세포의 *in vitro* 활성산소생산량을 증가시킨다고 하였으며, Kim *et al.*(1999a)은 알로에가 넙치 백혈구의 *in vitro* 호흡 폭발능을 증가시킨다고 하였다. 이러한 *in vitro* 연구결과를 토대로 하여 *in vivo* 적용실험에 있어서도 구기자의 추출물을 경구 투여한 나일틸라피아는 *Edwardsiella tarda*에 대한 감염 방어력이 향상된다고 보고된 바 있으며(Kwon *et al.*, 1999 ; Hwang *et al.*, 1999), 알로에를 먹인 조피볼락 치어는 *Vibrio alginolyticus*에 대하여 질병 저항성이 증가한다고 보고되었다(Kim *et al.*, 1999b).

수산용 약품과 비슷한 효능을 가지는 천연물질의 탐색을 목적으로 어병 세균에 대한 축 정유의 항균력 검색(Kim *et al.*, 1994), 해조류 추출액의 어병세균에 대한 항균활성(Lim *et al.*, 1999), 녹차 추

[†]Corresponding Author

Table 1. List of medicinal herbs used for test

Scientific name	Abbreviation	Korean name
<i>Artemisia asiatica</i> Nakai	(Aa)	Yagssug
<i>Chrysanthemum zawadskii</i> var. <i>latilobum</i> Kitamura	(Cz)	Gujeolcho
<i>Epimedium koreanum</i> Nakai	(Ek)	Samjiguyeobcho
<i>Euonymus alatus</i> (Thunb.) Sieb.	(Ea)	Gwijeonu
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	(Fv)	Sohwehyang
<i>Forsythia koreana</i> Nakai	(Fk)	Yeongyo
<i>Illicium verum</i> Hook. f.	(Iv)	Palgag
<i>Ledebouriella sesloides</i> (Hoffm.) Wolff	(Ls)	Bangpung
<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> Malinv.	(Mp)	Bagha
<i>Morus alba</i> L.	(Ma)	Sangbaegpi
<i>Polygonum aviculare</i> L.	(Pa)	Pyeonchug
<i>Sanguisorba officinalis</i> L.	(Sa)	Jiyu
<i>Saururus chinensis</i> Baill.	(Sc)	Sambaegcho
<i>Sophora flavescens</i> Ait.	(Sf)	Gosam

출물을 이용한 어병세균의 생육억제(Park *et al.*, 1999) 등이 연구되기 시작하고 있다. 이와 같이 천연물로부터 어류 병원성 세균에 대한 항균성 물질의 개발은 값비싼 수산용 의약품에 대용할 천연약재의 개발이라는 차원에서 그 의의가 크다고 하겠다. 왜냐 하면 양식어류의 질병 예방 및 치료제로 사용되는 수산용 의약품은 약제 내성균을 유발시킬 뿐만 아니라 어체 내에 흡수되지 않은 약제가 함유된 사육수의 배출이 주변 수역에 대해 오염을 유발하는 요인이 될 수도 있어 많은 문제점을 안고 있기 때문이다.

본 연구는 한약재로 이용되는 식물성 생약재의 열수추출물을 대상으로 하여 해산어 주요 어병세균에 대한 항균력과 넓치 대식세포의 활성산소생산량을 측정하는 NBT반응(nitroblue tetrazolium reaction)을 조사함으로써 어류 체내 항병력을 증진시킬 수 있는 식물성 생약재 발굴을 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

식물성 생약재 추출물 및 추출방법

원색한국본초도감 및 본초학의 관련 문헌을 조사하여 한방에서 약재로 사용되는 식물성 생약재 중에서 항균성, 살균능력 및 면역기능이 있다고 알

려진 고삼(Gosam), 귀전우(Gwijeonu), 구절초(Gujeolcho), 박하(Bagha), 방풍(Bangpung), 연교(Yeongyo), 약쭈(Yagssug), 지유(Jiyu), 삼백초(Sambaegcho), 삼지구엽초(Samjiguyeobcho), 상백피(Sangbaegpi), 소회향(Sohwehyang), 편축(Pyeonchug), 팔각(Palgag) 등 14종류를 선정하였다(Table 1).

본 실험에서 사용한 생약재의 상태는 줄기, 잎, 열매 등을 따로 분리하지 않고 한약재 상에서 팔고 있는 원료 그대로를 전부 시험재료로 사용하였다. 생약재의 열수추출물은 시료무게 g당 약 10배의 증류수를 첨가하여 110°C, 4시간동안 가열 추출하여 얻었다. 이 열수추출물은 고형성분을 제거한 다음 여과하여 이 여액 100 ml씩을 rotatory vacuum evaporator에 각각 넣고 최대한 증발시켜 검액시료로 사용하였으며, soluble solid 함량(mg)은 증발된 추출물 1ml를 취하여 105°C에서 건조 후 증발잔사의 양으로 하였다.

어병균주

넙치로부터 동정된 *E. tarda* 10균주, *Streptococcus* sp. 10균주, *Lactococcus garvieae* 10균주, *Listonella anguillarum* 4균주, *Vibrio* sp. 1 균주, *V. alginolyticus* 1균주 그리고 방어로부터 분리되어 동정된 *L. anguillarum* 1균주를 항균력 시험균주로 사용하였다.

시약 및 기구

항균력 측정용 배지로는 1.5% NaCl을 첨가한 Muller hinton agar(MHA, Difco), 배양배지로는 Tryptic soy agar(TSA, Difco)를 사용하였다. petridish는 85×15mm(세원양행), disk는 직경 10 mm(두께 153mm, 흡수량 61±2c, Advantec Toyo, Japan)를 고압증기멸균(121°C, 15분)하여 충분히 건조시켜서 사용하였다. 그리고 시험 평판 배지위에 형성된 저지원의 직경은 vernier caliper (Matsui co., Japan)를 이용하여 측정하였다.

dimethyl sulfoxide(DMSO), fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin solution(P/S), heparin(25,000 units), L-15 medium, percoll, trypan blue, zymosan A, nitro blue tetrazolium(NBT)은 Sigma사로부터 구입하였다.

Disk법에 의한 항균력 조사

항균력 실험을 실시하기에 앞서 균주들은 1.5% NaCl이 첨가된 TSA 평판배지에서 하루 밤 배양된 신선한 colony를 이용하여 멸균생리식염수에 MacFarland No. 0.5가 되도록 현탁시켰다. 이 시험균 현탁액 1 ml를 MHA배지에 분주하고 콘라디봉으로 잘 도말하여 수분을 건조시켜서 준비하였다.

항균력 조사용 disk에 생약재 추출물 검액 시료를 80 µl씩 흡습시켜서 충분히 풍건한 뒤에 각각의 disk를 시험균이 도말된 MHA배지 위에 약제 감수성 시험을 하는 것과 동일한 방법으로 얹고 냉장고(4°C) 안에서 약 1시간 가량 정치시켰다. *Streptococcus* sp.가 도말된 배지는 32°C, 나머지 균주 배지는 25°C 배양기에서 24시간 배양한 후에 생긴 저지원으로부터 항균력 유무를 판정하였다.

넙치 식세포에 대한 활성산소 측정

주사기를 이용하여 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 미부혈관에서 가능한 한 순환 혈액을 전부 제거한 후에 해부하여 신장의 전신을 무균적으로 절취하였다. 이것을 2%의 FBS, 1%의 P/S 및 0.2% heparin이 함유된 L-15 medium을 소량 분주한 소형 disposable petridish에 넣고 핀셋을 이용하여 teasing한 후, 40 µm의 nylon mesh에 통과시켜 세포 현탁액을 만들었다. 이 세포 현탁액을 34%와 51% percoll 용액이 들어있는 시험관 위에 조심스럽게 중층시킨 후, 이 시험관을 400 g에서 30분간

원심분리하여 식세포를 분리하였다.

분리된 식세포는 L-15 medium으로 3회 세척한 다음 0.3% trypan blue로 viability를 관찰한 후, 1×10^6 cells/ml의 농도로 조정하여 96-well plate에 각각 100 µl씩 분주한 다음, 농축하기 전의 식물성 생약재 추출물을 10 µl씩 첨가하여 20°C에서 3시간 부착시켰다. 부착시킨 후 각 well내의 상정액을 조심스럽게 제거한 뒤, 각 well에 흡소닌화된 zymosan A 첨가 NBT용액을 100 µl씩 첨가하여 20°C, 30분 동안 반응시켰다. 반응시킨 후 상정액을 버리고 L-15배지로 1회 세척한 다음 100% methanol로 10분간 고정시켰다. 고정된 세포를 70% methanol로 2회 세척한 후 실온에서 풍건한 다음, 각 well에 DMSO용액 140 µl와 2 M KOH 용액 120 µl를 첨가하여 formazan을 녹여서 ELISA reader(Biolog, microstation)로 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 식물성 생약재 추출물로 자극하지 않은 식세포를 대조구로 설정하였다.

통계처리

넙치 식세포에 대한 활성산소 측정에서 대조구와 각 생약재 시험구 사이의 통계학적 유의성은 Student's *t*-test로 비교하여 *p*값이 0.05 미만일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

어병세균에 대한 항균력

실험에 사용된 식물성 생약재 열수추출물의 주요 어병 원인세균에 대한 항균활성을 Table 2에서 Table 5까지 나타내었다. 삼백초가 *Vibrio* sp. 1균주에 대하여 항균활성을 보인 것을 제외하면 나머지 생약재는 *Vibrio* sp.와 *V. alginolyticus*에 대하여 전혀 항균활성을 나타내지 않았다. *L. anguillarum*에 대하여는 약쑥 5균주, 구절초 4균주, 연교 3균주, 지유 3균주, 삼지구엽초, 귀전우 및 박하 2균주, 편축 및 삼백초 1균주가 항균활성을 나타내었다. *E. tarda*에 대하여는 약쑥, 구절초, 연교 및 지유 10균주, 박하 3균주 그리고 팔각 2균주가 항균활성을 나타내었다. *Streptococcus* sp.에 대하여는 약쑥 10균주, 삼백피 7균주, 연교 및 지유 5균주, 소회향 및 팔각 2균주, 삼지구엽초 및 박하 1균주가 항균활성을 나타내었다. *L. garvieae*에 대하여는 팔각 9균주,

Table 2. Growth inhibition of water extracts of medicinal herbs on fish pathogenic *Vibrio* species

Medicinal herb	Korean name	Diameter of inhibition zone (mm)							mg of solid soluble content of extract/disk
		<i>Listonella anguillarum</i>					<i>Vibrio</i>	<i>Vibrio</i>	
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	<i>alginolyticus</i>	<i>sp.</i>	
Aa	Yagssug	11	11	14	24	23	-	-	2.4
Cz	Gujeolcho	14	-	10.5	17.5	19	-	-	2.6
Ek	Samjiguyeobcho	-	-	-	12	21	-	-	1.1
Ea	Gwijeonu	-	-	-	14	14	-	-	0.6
Fv	Sohwehyang	-	-	-	-	-	-	-	2.5
Fk	Yeongyo	-	15	12.5	29	-	-	-	1.8
Iv	Palgag	-	11	-	-	-	-	-	2.0
Ls	Bangpung	-	-	-	-	-	-	-	1.8
Mp	Bagha	-	-	-	14	15	-	-	1.0
Ma	Sangbaegpi	-	-	-	-	-	-	-	1.2
Pa	Pyeonchug	-	-	-	-	15	-	-	1.0
Sa	Jiyu	-	13	-	18	30	-	-	1.5
Sc	Sambaegcho	-	-	-	-	15	-	-	1.4
Sf	Gosam	-	-	-	-	-	-	-	1.6

* : no inhibition

Table 3. Growth inhibition of water extracts of medicinal herbs on fish pathogenic *Edwardsiella tarda*

Medicinal herb	Korean name	Diameter of inhibition zone (mm)										mg of solid soluble content of extract/disk
		<i>Edwardsiella tarda</i>										
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	
Aa	Yagssug	24	20	21.5	19	20	18	23	22	20	21	2.4
Cz	Gujeolcho	11.5	14	15	16.5	16	16.5	22	17.5	14	19	2.6
Ek	Samjiguyeobcho	-*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.1
Ea	Gwijeonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6
Fv	Sohwehyang	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.5
Fk	Yeongyo	20.5	20	22	-	20	22	24	18	18.5	19	1.8
Iv	Palgag	-	-	-	12.5	-	-	13	-	-	-	2.0
Ls	Bangpung	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8
Mp	Bagha	-	-	-	-	-	18	18	20	-	-	1.0
Ma	Sangbaegpi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.2
Pa	Pyeonchug	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
Sa	Jiyu	20	16.5	25	18	20.5	19.5	22	21.5	18.5	18.5	1.5
Sc	Sambaegcho	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4
Sf	Gosam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6

* : no inhibition

Table 4. Growth inhibition of water extracts of medicinal herbs water extracts on fish pathogenic *Streptococcus* sp.

Medicinal herb	Korean name	Diameter of inhibition zone(mm)										mg of solid soluble content of extract/disk
		<i>Streptococcus</i> sp.										
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	
Aa	Yagssug	16	21	17	14	21	12.5	12	10.5	17	20	2.4
Cz	Gujeolcho	-*	-	-	-	-	-	-	-	-	15	2.6
Ek	Samjiguyeobcho	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	1.1
Ea	Gwijeonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6
Fv	Sohwehyang	-	-	-	-	-	-	19	-	-	12	2.5
Fk	Yeongyo	-	-	-	17	-	-	10	10	17	12	1.8
Iv	Palgag	-	-	-	12.5	-	-	13	-	-	-	2.0
Ls	Bangpung	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8
Mp	Bagha	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	1.0
Ma	Sangbaegpi	10	-	-	13.5	11	11.5	10.5	10	-	10	1.2
Pa	Pyeonchug	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
Sa	Jiyu	12	-	11	-	-	-	13	-	17	10	1.5
Sc	Sambaegcho	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4
Sf	Gosam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6

* : no inhibition

Table 5. Growth inhibition of water extracts of medicinal herbs on fish pathogenic *Lactococcus garvieae*

Medicinal herb	Korean name	Diameter of inhibition zone (mm)										mg of solid soluble content of extract/disk
		<i>Latococcus garvieae</i>										
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	
Aa	Yagssug	16	-	15.5	19	15	23	20	20	-*	-	2.4
Cz	Gujeolcho	-	-	12.5	-	-	-	-	16	-	17	2.6
Ek	Samjiguyeobcho	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	1.1
Ea	Gwijeonu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6
Fv	Sohwehyang	-	-	-	-	-	-	19	-	-	12	2.5
Fk	Yeongyo	12	-	-	-	10	-	-	-	-	-	1.8
Iv	Palgag	11.5	10	11	12	10	11	12	11.5	11	-	2.0
Ls	Bangpung	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8
Mp	Bagha	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	1.0
Ma	Sangbaegpi	10	-	10.5	-	10.5	10	-	10	10	-	1.2
Pa	Pyeonchug	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
Sa	Jiyu	12.5	-	12.5	13	-	12	-	-	10.5	-	1.5
Sc	Sambaegcho	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4
Sf	Gosam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6

* : no inhibition

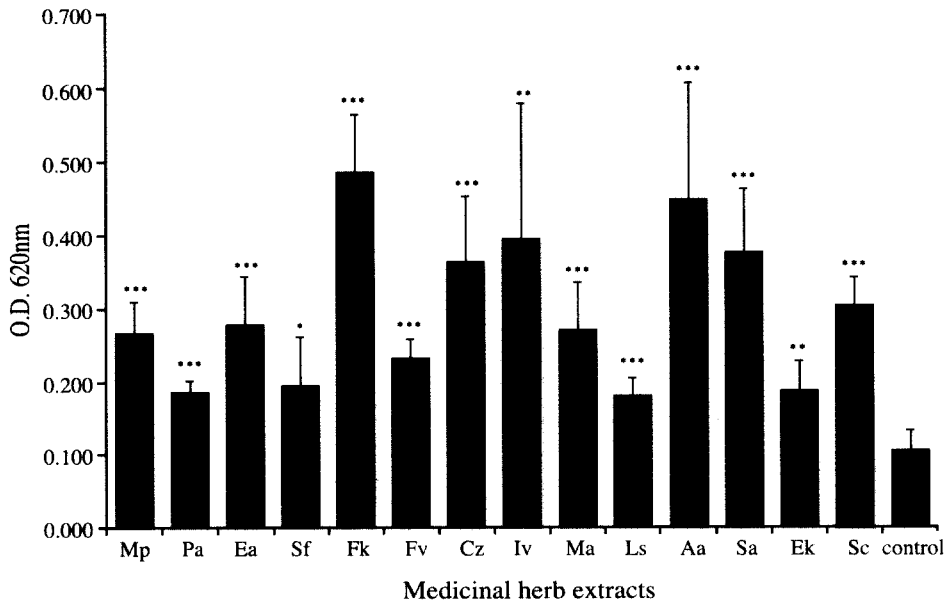


Fig. 1. The production of superoxide anion(O_2^-) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, head kidney phagocytes by stimulation with water extracts of medicinal herb in nitroblue tetrazolium(NBT) reaction: Bagha(Mp), Pyeonchug(Pa), Gwijeonu(Ea), Gosam(Sf), Yeongyo(Fk), Sohwehyang(Fv), Gujeolcho(Cz), Palgag(Iv), Sangbaegpi(Ma), Bangpung(Ls), Yagssug(Aa), Jiyu(Sa), Samjiguyebcho(Ek), Sambaegcho(Sc). Values shown are means (\pm SD) of six replicate assays. Asterisks indicate significant differences(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) with respect to the control.

약쑥 7균주, 상백피 6균주, 지유 5균주, 구절초 3균주, 소회향 및 연교 2균주, 삼지구엽초 및 박하 1균주가 항균활성을 나타내었다.

넙치 식세포의 활성산소량

실험에 사용된 식물성 생약재 열수추출물의 자극에 따른 넙치 식세포의 활성산소량(NBT반응)을 측정 한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 대조구에서 NBT반응의 흡광도(620nm) 값이 0.102 ± 0.027 인데 비하여 모든 열수추출물의 NBT반응은 유의적으로 높게 나타났다. 이 중에서 특히 연교(0.483 ± 0.08), 약쑥(0.445 ± 0.160), 팔각(0.392 ± 0.186), 지유(0.375 ± 0.086), 구절초(0.362 ± 0.09), 삼백초(0.301 ± 0.04)의 순으로 넙치 대식세포의 활성산소량 생산을 자극하는 효과를 나타내었다.

고 찰

식물성 생약재가 가지는 항균성 물질의 효과는 유기용매인 에탄올, hexan, 에테르 및 메탄올 그리고

물(증류수)로써 추출되어 주로 비교되고 있다. 이것은 사용하는 추출용매의 특성에 따라서 추출되는 생약재 성분이 달라지기 때문이다. Lim(1999)은 해조류로부터 핵산, 메탄올 및 물로써 추출한 용액을 대상으로 어병 원인세균인 *L. anguillarum*, *E. tarda*, *Streptococcus* sp.에 대한 항균력을 비교하여, 참보라색무우의 메탄올 추출물이 가장 높은 항균력을 나타내었으나 열수추출물은 전혀 항균력을 보이지 않았다고 하였다. 그러나 Sohn(1999)은 오미자, 구기자 및 인삼을 에탄올, 메탄올 및 물로써 추출한 용액을 이용하여 어병 세균인 *L. anguillarum*, *E. tarda*, *L. garvieae*에 대한 항균력을 살펴본 결과, 오미자는 에탄올 추출물이 메탄올 및 열수추출물에 비해 다소 강한 항균력을 나타내었고, 구기자는 열수추출물이 보다 높은 항균력을 그리고 인삼은 *L. garvieae*를 제외한 다른 시험균주에 대하여는 모든 추출물이 전혀 항균효과가 인정되지 않았다고 하였다. 본 연구에서는 한약관련 문헌상 항균활성 또는 살균력이 있다고 알려진 각종 식물성 생약재를 대상으로 우선 열수추출물만을 이용하여 어병 원

인세균에 대하여 항균력을 조사하였다. 그 결과, 약쭉이 gram 음성 및 양성균에 대하여 가장 광범위한 항균스펙트럼을 가지면서 뛰어난 항균활성을 나타내었다. 약쭉 이외에도 gram 음성균에 대하여는 구절초, 연교, 지유 그리고 gram 양성균에 대하여는 삼백피, 지유 등이 비교적 높은 항균활성을 보였다. 한편, 팔각은 *L. garvieae*에 대하여 높은 항균활성을 나타내었다.

Kim et al.(1994)은 쭉(*Artemisia princeps* var. *orientalis*)의 정유(essential oil) 추출물 1,000~2,000 ppm에서 어병세균 *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *E. tarda*, *Streptococcus* sp.는 증식이 억제되었으나, 100~2,000ppm에서 *L. anguillarum*, *Vibrio ordalii*, *E. ictaluri*의 증식은 현저한 억제효과가 나타나지 않았다고 보고하였다. 그들은 결론적으로 쭉이 어느 정도 어병세균에 대하여 항균효과가 있었지만 세균의 증식농도가 대부분 1,000ppm 이상이어서 실용성은 크지 않다고 하였다. 그렇지만 본 연구에서는 항균력 조사에 사용한 식물성 생약재의 열수추출물을 진공 동결 건조한 상태의 것이 아니기 때문에 그들의 논문과 동일하게 비교할 수는 없었다.

항균활성과 마찬가지로 활성산소량 역시 추출용매에 따른 효과가 연구되고 있는데 오미자, 구기자 및 인삼을 에탄올, 메탄올 및 물로써 추출한 후 이를 mitogen으로 자극하여 나일틸라피아 식세포의 활성산소량을 조사한 결과, 이들 생약재는 모두 열수추출물이 에탄올 및 메탄올 추출물보다 뛰어난 활성산소량을 나타내었으며 특히 구기자와 인삼이 오미자보다 뛰어난 효과를 보고하였다(Sohn, 1999). 어류의 비특이적 면역체계에 있어 중요한 역할을 수행하는 식세포는 병원체가 침입하여 자극하면 활성산소(O_2^-)와 같은 reactive oxygen species(ROS)를 생산하는데, 이 물질들은 강력한 살균효과가 있는 것으로 알려져 있다(Ellis, 2000). 본 연구에서 활성산소량을 크게 자극한 연교, 약쭉, 팔각, 지유, 구절초, 삼백초 등의 열수추출물은 어류의 체내 비특이적 세포성 면역기능을 증가시켜 세균성 질병에 대한 방어효과에 중요한 역할을 할 것으로 예상된다.

본 연구는 한약관련 문헌상 기재된 항균활성과 면역기능을 가지는 식물성 생약재를 선정하여 이들 중에서 두 가지 기능과 밀접한 *in vitro* 시험을

통하여 어류 세균성 질병에 대한 항병력을 증가시킬 수 있는 생약재를 찾고자 하였다. 그 결과, 예로부터 항균력 및 면역기능이 뛰어난 한약재인 약쭉이 어병세균에 대해 항균성이 있고 동시에 넓치 식세포의 활성산소량 생산을 크게 자극함으로써 어류 세균성 질병에 대한 항병력을 증가시킬 수 있는 식물성 생약재로서의 이용 가능성이 매우 높은 것으로 확인되었다.

요 약

식물성 생약재의 항균력과 활성산소(superoxide anion, O_2^-)의 생산에 미치는 *in vitro* 효과를 조사하여 금후 *in vivo* 실험에 적용할 때, 어류 체내 자연 저항성 증진을 피할 수 있는 식물성 생약재를 발굴하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다. 식물성 생약재는 고삼, 귀전우, 구절초, 박하, 방풍, 연교, 약쭉, 지유, 삼백초, 삼지구엽초, 삼백피, 소회향, 편측, 팔각 등 14종류로 이들을 열수추출하여 실험에 사용하였다. 항균력 시험에는 어병세균 *Listonella anguillarum*(*Vibrio anguillarum*), *Vibrio* sp., *Vibrio alginolyticus*, *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus* sp., *Lactococcus garvieae*를 대상으로 disk법을 사용하였으며, 활성산소의 생산능은 넓치 신장 대식세포를 이용한 nitroblue tetrazolium(NBT) 반응으로써 조사하였다. 그 결과, 약쭉이 다른 생약재에 비하여 시험에 사용된 어병 세균에 대한 항균활성이 월등히 뛰어났으며, 또한 넓치 대식세포의 활성산소 생산능을 크게 자극하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

참고문헌

- Choi, M.Y., Choi, E.J., Lee, E., Rhim, T.J., Cha, B.C. and Park, H.J. : Antimicrobial activities of pine needle (*Pinus densiflora* Seib et Zucc.) extract. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 25(2) : 183-188, 1997.
- Ellis, A.E. : Immunity to bacteria in fish. Fish Shellfish Immun., 9 : 291-308, 1999.
- Han, J.S., Shin, D.H., Yun, S.E. and Kim, M.S. : Antimicrobial effects on *Listeria monocytogenes* by some edible plant extracts. Kor. J. Food Sci. Technol., 26(5), 545-551, 1994.
- Hwang, M.H., Park, S.I. and Kim, Y.C. : Effect of dietary

- herb medical stuff on the non-specific immune response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. Fish Pathol., 12(1) : 7-14, 1999.
- Kim, K.H., Hwang, Y.J. and Bai, S.H. : In vitro effect of Aloe on the respiratory burst activity of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) leucocytes. J. Fish Pathol., 12(1) : 1-6, 1999a.
- Kim, K.H., Hwang, Y.J. and Bai, S.C. : Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*) fed diets containing different doses of aloe. Aquaculture, 180 : 13-21, 1999b.
- Kim, Y.G., Rho, B.J. and Lee, K.K. : Antimicrobial activity of *Artemisa princeps* var. *orientalis* essential oil against fish pathogenic bacteria., J. Fish Pathol., 7(2) : 113-117, 1994.
- Kwon, M.G., Kim, Y.C., Sohn, Y.C. and Park, S.I. : The dietary supplementing effects of Kugija, *Lycium chinense*, on immune responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Edwardsiella tarda*. J. Fish Pathol., 12(2) : 73-81, 1999.
- Lim, C.W. : Characterization and structure of antimicrobial compounds isolated from the red alga, *Symphylodadia latiuscula*. Ph. D. Thesis, Pukyong National University, Korea, pp.105, 1999.
- Mok, J.S., Kim, Y.M., Kim, S.H. and Chang, D.S. : Antimicrobial property of the ethanol extract from *Salvia miltiorrhiza*. J. Food Hyg. Safety, 10(1) : 23-28, 1995.
- Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. : Antimicrobial effect of *Lithospermum erythrorhizon* extract. J. Korean Soc. Food Nutr., 21(1) : 97-100, 1992a.
- Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R. : Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. J. Korean Soc. Food Nutr., 21(1) : 91-96, 1992b.
- Park, U.Y., Kim, Y.M., Kim, S.H. and Chang, D.S. : Investigation of optimum extracting condition and antimicrobial activity of the extract from the Root Bark of *Morus alba*. J. Food Hyg. Safety, 10(3) : 139-145, 1995.
- Park, S.M., Park, S.I., Huh, M.D. and Hong, Y.G. : Inhibitory effect of Green Tea extract on collagenase activity and growth of fish pathogenic bacteria. J. Fish Pathol., 12(2) : 83-88, 1999.
- Sohn, Y.C. : Effects of medical herb stuff extracts and mitogens on the activation of kidney macrophage in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Master Thesis, Pukyong National University, Korea, pp.63, 1999.
- Yeo, S.G., Ahn, C.W., Kim I.S., Park, Y.B., Park, Y.H. and Kim, S.B. : Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. J. Korean Soc. Food Nutr., 24(2) : 293-298, 1995.