THE KOREAN JOURNAL OF MYCOLOGY
Vo. 32, No 2, p145-147 December 2004
Copyright © 2004 by The Korean Society of Mycology
Printed in S. KOREA

가축질병 세균 및 항생제 내성 세균에 대한 버섯 균사체 배양 추출물의 항균 활성

박주웅 · 김택[1] · 임동중 · 이향범[2] · 주이석[3] · 박용일*

가톨릭대학교 생명공학부, [1](주) MAT, [2]서울대학교 생명과학부, [3]국립수의과학검역원 세균과

Antibacterial Activities of Mushroom Liquid Culture Extracts Against Livestock Disease-Causing Bacteria and Antibiotic Resistant Bacteria

Joo-Woong Park, Taeg Kim[1], Dong-Jung Lim, Hyang-Burm Lee[2], Yi-Seok Joo[3] and Yong-Il Park*

Division of Biotechnology, The Catholic University of Korea, Buchon 420-743, Korea
[1]MAT Co. Bukjeju-Gun, Jeju-Do 695-810, Korea
[2]School of Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
[3]National Veterinary Research & Quarantine Service, Anyang 430-824, Korea

(Received November 4, 2004)

ABSTRACT: The ethyl acetate extracts from the liquid cultures of *Coriolus versicolor*, *Phellinus linteus*, and *Hericium erinaceus* showed significant antibacterial activities against *Escherichia coli* K88, *E. coli* K99, *E. coli* 987P, and *Salmonella typhimurium* 14058 causing bacterial diarrhea in Korean house pigs and chicken. Of these extracts, *Coriolus versicolor* extract showed the highest antibacterial activity. In addition, these extracts also showed significant growth inhibition against *Staphylococcus aureus* CARM3230 and *E. coli* CARM1381 which are known as kanamycin and ampicillin-resistant strains. These results showed that the mushroom extracts could be developed as a livestock feed additives that can replace commercial antibiotics, and also could be good resources for the development of a new antibacterial agent.

KEYWORDS: Antibacterial activity, Antibiotic resistance, *Coriolus versicolor*, Mushroom extracts, Livestock disease

가축의 질병 유발 세균은 가축사료 등에 의해 장내로 유입되어 장내 미생물에 영향을 주어 사료효율 저하, 증체율 감소, 출하일령 지연 등으로 인한 경제적 손실로 이어져 축산농가에 막대한 피해를 주는 것으로 알려져 있다 (Lee *et al.*, 1997). 항균성 화학물질의 과도한 사용에 의한 축산물 내 항생물물질의 잔류는 인체에도 영향을 주거나 항생물질 남용에 의한 항생제 내성 유발 비율이 점차 증가되고 있으며, 특히 우리나라의 경우 항생제 남용으로 인해 국민보건상 심각한 문제로 대두되고 있는 실정이다. 따라서 기존 항생물질과 같은 효과를 지니며 축산물 내에 잔류되지 않고 인체에 대해 무독성의 항균물질을 천연물로부터 개발하려는 연구가 진행되고 있다.

버섯은 예로부터 식용으로 이용되었을 뿐만 아니라 다양한 약리작용이 밝혀지면서 항균활성물질에 관한 연구들이 많이 보고되어 왔다. Kavanagh *et al.*(1945)이 낙엽버섯의 일종인 *Marasmius conigenum*으로부터 그람양성균에 대한 강한 항균활성을 보이는 marasmic acid A, B, C를 분리한 이래 현재까지 약 100여종 이상의 항생물질이 보고되었으며, 뽕나무버섯(*Armillaria mellea*)으로부터 melleolide(Midland *et al.*, 1982), 흰구멍버섯 *Poria medullaepanis*로부터 pereniporins A, B(Kida *et al.*, 1986), 구름버섯류의 일종인 *Coriolus consors*와 구름버섯(*Coriolus versicolor*)에서 coriolin(Kupka *et al.*, 1979), 동충하초(*Cordyceps militaris*)에서 cordycepin(Iinuma *et al.*, 1983), 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*)에서 chlorinated orcinol 유도체(Okamoto *et al.*, 1993), 표고버섯(*Lentinus edodes*)추출물의 항균활성(Kim *et al.*, 2003) 등이 보고된 바 있다. 본 연구에서는 구름버섯[*Coriolus versicolor* (Fr.) Quel.], 상황버섯[*Phellinus linteus*(Berk. & M.A. Curtis)], 노루궁뎅이버섯[*Hericium erinaceum* (Bull. ex Fr.) Pers.] 균사체 배양액의 ethyl acetate 추출물의 가축질병 병원미생물균주와 kanamycin과 ampicillin 내성균주에 대한 항균활성을 평가하였다.

버섯 균사체의 배양 및 추출물의 조제

구름버섯의 배양은 Lee *et al.*(2003)의 방법에 따라 실시하였으며, 상황버섯은 glucose 2%, peptone 0.6%, yeast extract 0.4%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.15%, KH_2PO_4 0.04%, K_2HPO_4 0.02%의 배지에서 배양하였으며, 노루궁뎅이버섯은 glucose 2%, yeast extract 1.0%의 배지에서 각각

*Corresponding author <E-mail: yongil382@catholic.ac.kr>

Table 1. Antibacterial activities of the liquid culture extracts of *Coriolus versicolor*, *Phellinus linteus*, and *Hericium erinaceus* against Korean isolates of livestock diarrhea-causing bacteria

Strains	Inhibition zone (mm)[1)]		
	Coriolus versicolor	*Phellinus linteus*	*Hericium erinaceus*
Escherichia coli K88	16	11	10
Escherichia coli K99	14	10	10
Escherichia coli 987P	15	12	11
Salmonella typhimurium 14058	13	10	10

[1)]Cells were grown on LB plates for 24 h at 37°C after 10 mg each of ethyl acetate extract of mushroom liquid cultures was absorbed into paper disc (8 mm in diameter) and then the diameter (mm) of the growth inhibition zone was measured. The values were the mean of triplicates.

25°C에서 7일간 배양하였다. 배양 완료 후 whole broth에 동량의 증류수를 첨가하여 90~95°C로 3시간 동안 열탕으로 추출한 다음 filter paper(Whatman No. 2)로 여과하여 그 여액에 ethyl acetate를 동량으로 첨가한 후 실온에서 1시간 동안 강하게 교반하여 추출 하였으며, 2회 반복 추출하였다. 얻어진 ethyl acetate 추출물을 회전감압농축기로 농축한 후 동결건조하여 보관하면서 실험에 사용하였다.

버섯 균사체 추출물의 항균 활성

버섯 균사체 배양 추출물의 항균력 검색에 사용한 균주는 LB broth에 접종하여 36°C에서 20~24시간 배양하여 사용하였다. 항균력 시험용 평판배지는 Difco사의 Mueller Hinton(Detroit Michigan, USA)배지를 사용하여 멸균된 기층용 배지를 petri dish에 15 *ml*씩 분주하여 응고시키고, 멸균된 중층용 배지를 5 *ml*에 각종 시험균액(균 농도는 660 nm에서 흡광도가 0.3) 0.1 *ml*를 첨가한 후에 기층용 배지에 분주하는 방법으로 한천배지 확산법(disc plate method)으로 측정하였으며(Piddock *et al.*, 1990), 직경이 8 mm인 paper dics를 사용하였다. 시험균주는 국립수의과학검역원에서 분양 받은 돼지의 설사 유발균인 *Escherichia coli* K88, *E. coli* K99, *E. coli* 987P와 양계의 설사 유발균인 *Salmonella typhimurium* 14058 균주를 대상으로 하였으며, 항생제 내성균주는 kanamycin과 ampicillin에 내성을 갖는 *Staphylococcus aureus* CARM3230와 *E. coli* CARM1381 균주를 서울여자대학교에서 분양받아 사용하였다. 균 생육배지는 Difco사(Detroit Michigan, USA) 제품을 사용하였다.

각 버섯의 균사체 배양액 1 *l* 로부터 얻어진 ethyl acetate 추출물의 양은 구름버섯(*Coriolus versicolor*)에서 1,550 mg, 상황버섯(*Phellinus lenteus*)에서 610 mg, 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*)에서 760 mg으로, 상황이나 노루궁뎅이버섯에 비해 구름버섯 균사체 배양 추출물이 2배 정도 높게 나타났다. 이들 추출물을 살균 증류수에 녹여 disc당 10 mg 되게 동일하게 처리하여 항균 실험에 사용하였다. 가축 설사유발 병원균을 대상으로 한 항균실험의 대조군으로서는 기존 항생제인 ampicillin과 kanamycin을 disc 당 12.5 μg되게 처리하였으며, 항생제 내성 균주에 대한 항균 실험에서는 각각 disc당 25 μg되게 처리한 결과, 상황버섯 및 노루궁뎅이버섯 균사체 배양 추출물은 가축 설사 유발 병원균에 대해 유사한 증식 억제능을 나타낸 반면 구름버섯 추출물을 첨가한 군에서는 높은 수치의 항균활성을 나타내었다(Table 1, Fig. 1A, B). 이는, Kim *et al.*(2003)이 보고한 표고버섯 자실체의 물 및 에탄올 추출물의 일반 병원성 세균인 *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*에 대한 항균활성(추출물 43.1 mg/disc) 결과에 비해 높은 항균활성을 보여주었으며, Choi *et al.*(2003)과 Lee *et al.*(2003)이 보고한 오배자 및 소목유래의 추출물에 대한 항균활성의 효과와 유사한 경

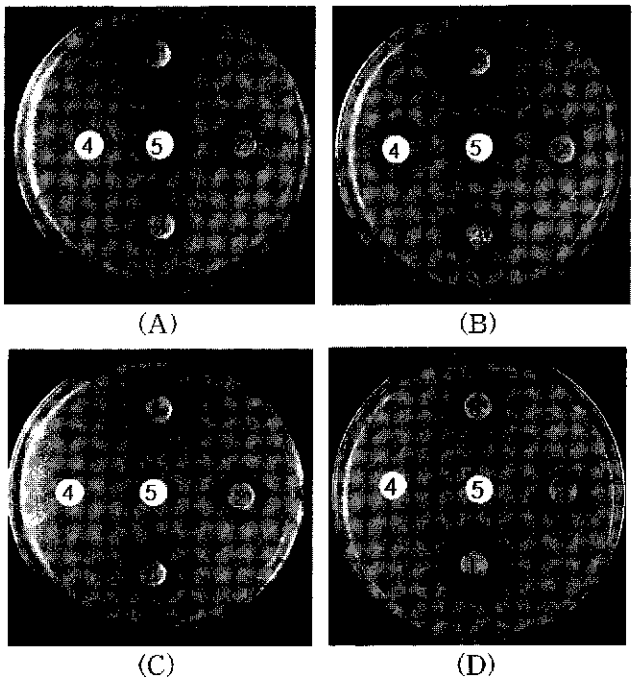

Fig. 1. Antibacterial activities of the liquid culture extracts of *Coriolus versicolor*, *Phellinus linteus*, and *Hericium erinaceus* against Korean isolates of livestock diarrhea-causing bacteria and antibiotic resistant bacterial strains. Test strains: (A), *Escherichia coli* K88; (B), *Salmonella typhimurium*; (C), *E. coli* CARM1381; (D), *Staphylococcus aureus*. Numbers: 1, extracts of *Coriolus versicolor*; 2, *Hericium erinaceus*; 3, *Phellinus linteus*; 4, ampicillin; 5, kanamycin.

Table 2. Antibacterial activities of the liquid culture extracts of *Coriolus versicolor*, *Phellinus linteus*, and *Hericium erinaceus* against antibiotic resistant bacterial strains

Strains	Inhibition zone (mm)[1)]				
	Coriolus versicolor	*Phellinus lenteus*	*Hericium erinaceus*	Ampicillin	Kanamicin
Escherichia coli CARM1381	16	12	11	0	0
Staphylococcus aureus CARM3230	18	13	12	0	0

[1)]The experiment was performed by the same method as Table 1. Kanamycin and ampicillin (25 μg per disc) were used as references.

향을 보였다. 이러한 결과는 이들 세가지 버섯류의 모두 기존 항생제를 대체하여 가축사료 첨가제로 사용할 수 있는 가능성이 있고, 특히, 구름버섯 배양 추출물의 경우 그 가능성이 높은 것으로 나타났다.

한편, 본 실험에 사용한 3종 버섯균사체 배양추출물의 항생제 내성균주 *E. coli* CARM1381, *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성을 검토한 결과를 Table 2와 Fig. 1의 (C)와 (D)에 나타내었다. 기존 항생제인 ampicillin과 kanamycin(12.5 ug/disc)에 대해 항생제 내성 균주인 *Staphylococcus aureus* CARM3230와 *E. coli* CARM1381는 생육저해를 받지 않은 반면, 상황, 노루궁뎅이버섯, 구름버섯 균사체 배양 추출물 모두 뚜렷한 항균 활성을 나타냈다. 특히, 구름버섯 배양 추출물의 경우, 가축 설사 유발 균에 대한 경우와 마찬가지로 가장 높은 항균 활성을 보였다. 이러한 결과는, 이들 버섯류로부터 항생제 내성균을 억제할 수 있는 신규 항균성 물질의 발견 가능성을 보여 준다. 특히, 항생물질의 남용으로 인해 기존 항생물질의 처리에 의해 제어되지 않는 항생물질 내성 및 다제내성 균의 출현빈도가 외국에 비해 월등히 높은 우리나라의 현실에서 매우 의미 있는 연구결과라 사료된다.

적 요

구름버섯(*Coriolus versicolor*), 상황버섯(*Phellinus linteus*), 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*)의 균사체 배양액의 ethyl acetate 추출물이 돼지와 가금류의 설사 유발 세균류인 *E. coli* K88, *E. coli* K99, *E. coli* 987P와 *Salmonella typhimurium* 14058 균주에 대하여 항균활성을 보였으며, 특히 구름버섯 추출물은 가장 높은 항균활성을 보였다. 한편, kanamycin과 ampicillin에 대해 내성을 보이는 *Staphylococcus aureus* CARM3230과 *E. coli* CARM1381 균주에 대해서도 세 가지 버섯 배양 추출물 모두 항균활성을 보였으며, 특히, 구름버섯 추출물은 가장 높은 항균활성을 보였다. 이는, 이들 버섯 균사체 배양 추출물이 기존 항생제 대체용으로 가축 사료에 첨가제로 사용될 수 있다는 가능성을 보였다. 또한 이들 버섯류로부터 항생제 내성균을 억제할 수 있는 신규 항균성 물질의 탐색을 위한 기초자료로서 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 가톨릭대학교 2004년도 교비연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드리는 바입니다.

참고문헌

Choe, I. I. 2003. Antimicrobial activity of *Rhus javanica* extracts against animal husbandry desease-related bacteria. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**: 1214-1220.

Iinuma, H., Nakamura, H., Naganawa, H., Masuda, T., Takano, S., Takeuchi, T., Umezawa, H., Iitaka, Y. and Obayashi, A. 1983. Basidalin, a new antibiotic from Basidiomycetes. *J. Antibiotics* **36**: 448-450.

Kavanagh, F., Ilervey, A. and Robbins, W. J. 1949. Antibiotic substances from Basidiomycetes IV. *Marasmius conigenus*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **35**: 343-351.

Kida, T., Shibai, H. and Seto, H. 1986. Structure of new antibiotics, pereniporins A and B from a Basidiomycete. *J. Antibiotics* **39**: 613-615.

Kim, Y. D., Kim, K. J. and Cho, D. B. 2003. Antimicrobial activity of *Lentinus edodes* extract. *Korean J. Food Preservation* **10**: 89-93.

Kupka, J., Anke, T., Oberwinkler, F., Schramm, G. and Steglich, W. 1979. Antibiotics from basidiomycetes VII Crinipellin, a new antibiotic from the basidiomycetous fungus *Crinipellis stipitaria* (Fr.) Pat. *J. Antibiotics* **32**: 130-135.

Lee, J. A., Kim, S. K., Cho, O. S., Oh, G. H. and Park, Y. G. 1997. Inverstigation of respiratory disorders in slaughtered pigs. *Korean J. Vet. Serv.* **20**: 27-36.

Lee, S. J., Moon, S. H., Kim, T., Kim, J. Y., Seo, J. S., Kim, D. S., Kim, J., Kim, Y. J. and Park, Y. I. 2003. Anticancer and antioxidant activities of *Coriolus versicolor* culture extracts cultivated in the citrus extracts. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 362-367.

Lee, S. K. 2003. Antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* against animal husbandry disease. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 242-249.

Midland, S. L., Izac, R. R., Wing, R. M., Zaki, A. I., Munnecke, D. E. and Sims, J. J. 1982. Melleolide a new antibiotic from *Armillaria mellea*. *Tetrahedron Lett.* **23**: 2515-2518.

Okamoto, K. A., Shimada, R., Shirai, H., Sakamito, S., Yoshida, F., Olima, Y., Ishiguro, T., Sakai, and Kawagishi, H. 1993. Antimicrobial chlorinated orcinol derivatives from mycelia of *Hericium erinaceum*. *Phytochemistry* **34**: 1445-1446.

Piddock, L. J. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **68**: 307-318.