

발효한약의 항생제 다제내성균 *Pseudomonas aeruginosa*를 억제하는 항균활성

류지연¹, 박영자², 김현수^{3*}

Antibacterial Activity of Fermented Korean Medicine Against Multi-drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Ryu, Ji-Yeon¹, Young-Ja Park², and Hyun-Soo Kim^{3*}

접수: 2011년 10월 6일 / 게재승인: 2011년 12월 11일
© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Bacterial antibiotic resistance is a real and growing problem for both Gram positive and Gram negative bacterial pathogens in the hospital setting. Among Gram negative bacteria, the ubiquitous bacterium *Pseudomonas aeruginosa* is a particular concern in immunocompromised and burn patients. The present study evaluated antibacterial activity and efficacy of a Korean herbal medicine against eight multi-drug resistant clinical isolates of *P. aeruginosa* (0225, 0254, 0347, 0826, 1113, 1378, 1731, and 2492) isolated at Daegu Catholic University Hospital. Methanol extracts of *Galla rhois* (5 and 10 mg/mL) displayed inhibition diameters for isolate 2492 of 10 and 12 mm, respectively, in a conventional disc diffusion assay. In seven kinds of Korean herbal medicines, increased inhibitory power of *Lonicera japonica*, *Gardenia jasminoides*, *Galla rhois*, and *Scutellaria baicalensis* was evident with the fermentation of six kinds of lactic acid bacteria. Three lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum*

subsp. *plantarum* KCTC 3108, *L. casei* KCTC 3109, and *L. fermentum* KCTC 3112) were identified as excellent strains for the production of antibacterial materials. In the six Korean herbal medicine extracts, strong inhibitory activity of fermented *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, and *Schizandra chinensis* with five kinds of lactic acid bacteria was evident for seven multi-drug resistant *P. aeruginosa* isolates.

Keywords: Multi-drug resistance *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiotics, Bioconversion, Korean herbal medicine, Lactic acid bacteria

1. 서론

현대과학과 의학의 발전으로 인간 생명 연장이 조금씩 실현되고 있으나 한편으로는 감염에 취약한 노령인구의 증가, 만성 퇴행성 질환자의 증가, 항생제 남용 및 장기간의 항생제 사용으로 인한 항생제 내성균 증가, 각종 인체 내 삽입술의 확대 등 의학이 발달할수록 병원 감염은 급속히 증가하고 있어 매우 심각한 문제점을 야기하고 있다.

원내 감염은 일반 병동보다는 중환자실이나 면역저하환자 대상 병동에서 병원감염률이 높게 발생하는 경향을 보여주고 있으며, 특히 중환자실은 일반 입원실보다 약 6배 높게 발생하는 것으로 보고되고 있다 [1]. 국내 병원 내 감염보고에서 나타난 균주 중 가장 많은 것은 *Staphylococcus aureus* (20~22%)이며 그 다음으로 많이 분리되는 균이 *Pseudomonas*

¹대구가톨릭대학교병원 진단검사의학과

¹Department of Laboratory Medicine, Daegu Catholic University, Medical Center, Daegu 705-718, Korea

²서라벌대학 임상병리과

²Department of Laboratory Pathology, Sorabol College, Gyeongju-si, Gyeongbuk 780-711, Korea

³계명대학교 자연과학대학 미생물학과

³Department of Microbiology, College of Natural Science, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Tel: +82-53-580-5284, Fax: +82-53-580-5284

e-mail: hskim@kmu.ac.kr

aeruginosa (8~18%)이다. 그 외에도 *Escherichia coli*, *Serratia*, *Actinobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Streptococcus* 등이 분리되고 있다 [2-4]. 이 중에서 *P. aeruginosa*는 건강한 사람의 소화기에 상재하며 피부, 비점막 (nasal mucosa) 및 인두 (throat) 등에서도 상재할 수 있으며 폐렴, 비노기계 감염, 창상감염, 폐혈증 등의 원내감염의 원인이 된다 [5,6].

*P. aeruginosa*는 병원 내 폐렴 및 요로 감염에서 흔히 동정되는 Gram 음성 간균 (병원성 폐렴 18.1%, 요로감염 16.3%)으로 알려져 있으며, Gram 음성 간균에 의한 병원 균혈증에서도 *E. coli*와 *Klebsiella spicies*에 이어 세 번째로 흔하며, 전체 균혈증의 7위를 차지할 정도로 드물지 않다 [7]. 이러한 *P. aeruginosa*에 의한 감염의 치료는 실제 임상에서 조기에 발견하여 적절하게 치료하는 것이 쉽지 않으며, *P. aeruginosa*에 의한 bloodstream infection은 심각하고 치명적일 수 있는 상태로 18%~62%의 사망률을 보여 균혈증으로 인한 사망의 경우 2위를 차지하는 것으로 알려져 있다 [8]. 오늘날 사용 중인 항생물질은 의학의 발달과 함께 지속적으로 발견, 개발되어 질병치료에 널리 사용되고 있으나, 점차 내성이 생긴 병원성 미생물이 출현하게 되면서 현 의학계에서는 심각성이 크게 대두되고 있는 실정이다. 특히 *P. aeruginosa*와 *Acinetobacter baumannii*의 경우 지금까지 Gram 음성 세균 감염의 치료의 최후의 보루로 여겨지던 carbapenem 계열의 항생제마저도 내성인 균주가 확산되어 큰 문제가 되고 있다 [9,10]. *P. aeruginosa*의 경우, 다수의 항생제 및 항균 화학요법제에도 내성을 보이는 다제내성 녹농균 (MRPA, multi-resistant *P. aeruginosa*)으로 폐렴이나 폐혈증 등에 발병 시 치료가 힘든 내성균으로 분류되고 있다 [11,12]. 다제내성 *Acinetobacter* (MRAB, Multi Drug Resistant *A. baumannii*) [10,13]은 최근 일본에서 사망자가 보고되어 경각심을 야기 시켰으며, 새로운 내성 균주들의 출현에 따른 내성균 대처를 위한 항생물질의 개발은 빠르게 진행되고 있다 [14,15].

본 연구에서는 옛 부터 인간이 지속적으로 사용해 온 천연 재료인 식물을 대상으로 하여 미생물에 대한 항균활성이 있는 한약재를 선정하여 연구를 수행하였다. 생약제와 식용식물, 향신료 등은 천연 보존료를 개발하기 위한 좋은 소재가 되며 항균제 및 방부제에 대한 실험이 활발하게 이루어지고 있으며 오배자 [16], 도꼬마리 [17], 황금, 고삼, 연교 등의 추출물은 이미 각각 특정 미생물에 대한 항균활성을 나타낸다는 사실이 알려져 있다 [18-20].

한약재의 발효는 전통 한약재를 미생물이 잘 이용할 수 있도록 찌거나 삶은 후 미생물을 접종하여 고체 및 액체배양을 하는 것으로 한약의 발효를 위하여 사용되는 미생물은 유산균이나 *Bacillus sp.* 및 버섯 균사체 등이 있는데 이 중에서 유산균이 가장 많이 사용되며, 한약에서 유산균의 생육특성을 확인하는 연구가 보고되고 있다 [21,22]. 발효한약의 기능성에 대한 연구는 주로 항산화, 항암 및 알레르기 억제 효과를 확인하여 이루어지고 있다. 버섯균사체로 복령과 후박을 발효하였을 때 항산화 효과가 다소 떨어졌으나 인체 간암 세포주에서 항암 활성이 뚜렷하게 나타났다는 보고 [23]와 용안육을 청국장 균으로 발효하였을 때 전자공여능이 높고 자궁경부암세포 및 간암세포에 대한 항암 활성이 높아졌다

는 보고가 있다 [24].

따라서 본 연구는 최근 증가 하고 있는 다제내성균에 대한 항균제 개발을 목표로 하여 다제내성균 *P. aeruginosa*를 대상으로 한약 재료로부터 발효를 통한 새로운 항균물질을 개발하기 위해 추출물의 발효 전후의 항균활성을 비교하여 그 상승효과를 보고하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 사용 한약재

본 연구에 사용된 한약재는 약제내성을 가지지 않은 일반 *P. aeruginosa*에 항균 효과가 있는 한약재 13가지를 선정하였으며, 대구광역시 약령시소재 한약방에서 건조 상태가 좋은 것을 구입하여 깨끗이 손질 한 후 사용하였다 (Table 1).

Table 1. List of Korean medicinal plants used for antimicrobial experiments

Korean medicine name	Scientific name	Effective Part
감초	<i>Glycyrrhizae radix</i>	Root
구기자	<i>Lycium chinense</i>	Fruit
금은화	<i>Lonicera japonica</i>	Flower
길경	<i>Platycodon grum</i>	Root
단삼	<i>Slavia miltorrhiza Bunge</i>	Root
연교	<i>Forsythia suspensa</i>	Seeds
오미자	<i>Schizandra chinensis</i>	Fruit
오배자	<i>Galla rhois</i>	Leaf nodules
작약	<i>Paeonia lactiflora</i>	Root
정향	<i>Syzygium aromaticum</i>	Flower
치자	<i>Gardenia jasminoides</i>	Seeds
황금	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Root
황연	<i>Coptis chinensis</i>	Root

2.2. 한약재의 추출 및 농축

한약재 추출은 열수 및 메탄올을 사용하였으며, 열수 추출은 각 한약재 10 g에 3차 증류수 100 mL를 첨가하여 100°C에서 끓여 증발시킨 후 최소량을 초과하여 감압 농축하였다. 메탄올 추출은 한약재 10 g에 메탄올 100 mL를 첨가하여 28°C에서 24시간 동안 overnight 시킨 후 초과하여 감압 농축하였다.

2.3. 시험균주

본 실험에 사용된 시험 균주는 그람 양성인 *Bacillus substilis* PCI 219와 그람 음성인 *E. coli* KCTC 1682, 다제내성 *P. aeruginosa*를 사용하였다. *P. aeruginosa*는 대구가톨릭대학교 진단검사의학과 미생물부에서 환자의 가검물로부터 분리한 후 MicroScan[®]으로 항생제 감수성 검사를 실시하여 8 균주 (0225, 0254, 0347, 0826, 1113, 1378, 1731, 2492)를 선별하여 사용하였으며, 8 균주의 항생제 내성은 Table 2와 같다. MicroScan[®]은 Ca²⁺와 Mg²⁺가 함유된 Mueller-Hinton 배지에 다양한 항생제가 희석되어 있어 검사 대상인 미생물의 최소억제농도 (MIC) 또는 정량적인 감수성 (susceptible, intermediate, resistant)을 억제하는 가장 낮은 항균제 농도를 확인하는 것이 가능하다.

Table 2. Antibiotics sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* by MicroScan®

Antibiotics	Strains							
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							
	0225*	0254*	0347*	0826*	1113*	1378*	1731*	2492*
	Sensitivity							
Amikacin	S	S	S	I	S	S	S	R
Ampicillin	-	R	R	-	-	I	-	S
Ampicillin/sulbactam	-	R	R	-	-	R	-	R
Aztreonam	R	R	R	I	I	S	I	S
Cefepime	S	I	I	R	S	I	I	S
Cefotaxime	R	-	-	R	R	-	R	-
Ceftazidime	I	I	R	I	I	S	I	S
Ceftriaxone	R	R	R	R	R	R	R	-
Cephalothin	-	R	R	-	-	R	-	R
Ciprofloxacin	-	S	R	S	S	R	R	R
Gentamicin	S	S	S	-	S	I	-	S
Imipenem	R	S	R	R	S	S	S	S
Levofloxacin	-	-	-	-	S	-	R	-
Meropenem	S	-	-	R	S	-	S	-
Piperacillin	-	R	R	-	-	S	-	S
Piperacillin/tazobactam	I	S	S	I	I	S	R	S
Ticarcillin/CA	R	R	R	R	-	S	R	S
Tobramycin	S	S	S	S	S	S	S	S
Trimethoprim/sulfametho	-	R	R	-	-	R	-	R

I: intermediate; R: resistant; S: sensitive.

*: Antibiotics resistant strains.

-: Untested.

2.4. 한약의 발효

2.4.1. 발효미생물의 선정 및 배양

유용미생물은 GRAS 미생물로서 유산균을 선정하였으며, Table 3에서 보는 바와 같이 한국생명공학연구원 유전자원센터 유전자은행 (KCTC)에서 분양을 받아 lactobacilli MRS 배지 (proteose peptone No. 3, 10 g, beef extract 10 g, yeast extract 5 g, dextrose 20 g, polyoxyethylene sorbitan monooleate 1 g, ammonium citrate 2 g, magnesium sulfate 0.1 g, manganese sulfate 0.05 g, dipotassium phosphate 2 g, sodium acetate 5 g/L, pH 6.5, Difco Co.)에 계대배양한 후 균체를 20% glycerol이 포함된 저장액에 넣어 -70°C에 보관하였으며, 실험에 사용하기 전 계대배양을 실시하였다.

Table 3. Used *Lactobacillus* strains

Strains	Sources
<i>Lactobacillus brevis</i> KCTC 3498	Pickled cabbage
<i>Lactobacillus casei</i> KCTC 3109	Cheese
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> KCTC 3635	Fermented beets
<i>Lactobacillus fermentum</i> KCTC 3112	Human feces
<i>Lactobacillus helveticus</i> KCTC 3545	Emmental (Swiss) cheese
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> KCTC 3108	Bulgarian yogurt

2.4.2. 한약재 발효

한약재의 발효는 사용 한약재의 추출 농축액을 5 mg/mL의 농도로 MRS배지에 첨가하여 멸균 하였다. 사용 유산균은

계대배양한 stock액 (1×10⁸ CFU/mL)을 제조한 후, 0.2% (v/v)가 되도록 추출 농축액 (5 mg/mL)을 첨가한 멸균 MRS 배지에 접종하였다. 배양은 37°C에서 5일간 배양하여 배양 일수별로 sampling을 하였으며, 배양액은 4°C, 1,000×g에서 10분간 원심분리 후 상등액을 실험에 사용하였다.

2.5. 항균활성

한약재 추출물 및 발효 한약의 항균활성은 agar diffusion법으로 측정하였다. 시험 균주는 LB배지 (peptone 10 g, yeast extract 5 g, sodium chloride 5 g/L, pH 6.8)와 Nutrient 배지 (beef extract 3 g, peptone 5 g/L, pH 6.8, Difco Co.)에 계대배양 하였으며, 4°C에서 보관하여 사용하였다. 열수 추출과 메탄올 추출을 통해 얻어진 추출액은 각각 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL와 10 mg/mL의 농도로 희석하였다. 각각의 희석한 추출액과 발효 후 얻어진 상등액 20 µL를 paper disc에 첨가하여 건조시킨 후, 시험 균주가 함유된 평판배지 위에 얹고 37°C에서 1일간 배양하여 생성된 저지환의 유무 및 크기를 통해 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 한약재 추출액의 pH

한약재 추출액의 pH는 시험균의 항균활성에 미칠 수 있는 영향을 고려하여 검토하였다. Table 4에서 보는 바와 같이 열수추출 및 메탄올 추출액의 pH는 3.8~5.6의 약산성 영역을 보였으며, 한약재 추출액의 항균활성은 pH에 의해 크게 영향을 받지 않는 것으로 확인되었다.

Table 4. pH of extracts by boiling water and methanol

Scientific name	Extract method	
	Boiling water	Methanol
<i>Coptis chinensis</i>	4.8	4.6
<i>Forsythia suspensa</i>	5.6	5.0
<i>Galla rhois</i>	4.6	4.6
<i>Gardenia jasminoides</i>	4.2	4.6
<i>Glycyrrhizae radix</i>	4.2	5.0
<i>Lonicera japonica</i>	5.0	5.0
<i>Lycium chinense</i>	5.0	4.8
<i>Paeonia lactiflora</i>	5.0	5.0
<i>Platycodon grum</i>	5.0	4.6
<i>Schizandra chinensis</i>	3.8	4.6
<i>Scutellaria baicalensis</i>	5.2	4.6
<i>Slavia miltorrhiza Bunge</i>	5.2	4.8
<i>Syzygium aromaticum</i>	4.6	4.6

3.2. 한약재 추출 농축액의 항균활성

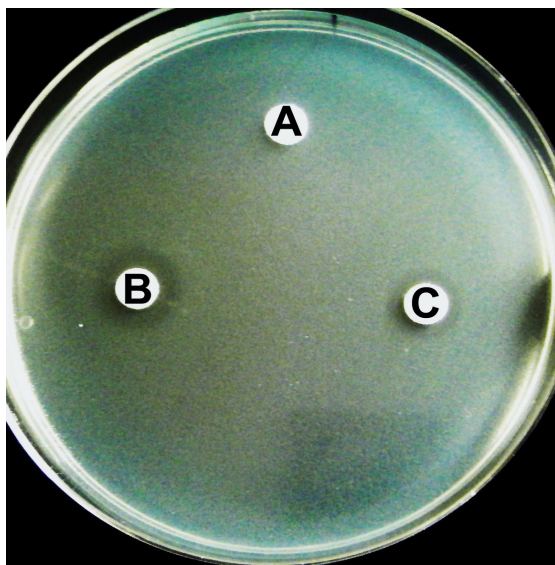
열수 추출과 메탄올 추출을 통해 얻어진 한약재 추출액의 항균활성은 각 추출물을 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL와 10 mg/mL의 농도가 되게 물과 메탄올로 희석하고, 20 µL를 paper disc에 첨가하여 건조시킨 후 시험 균주가 함유된 평판배지 위에 얹고 37°C에서 1일간 배양하였다. 생성된 저지환의 유무와 크기를 확인한 결과, Table 5와 6에

서 보인 바와 같이 13가지의 한약재 추출물 중 오배자와 황연 추출물이 다제내성 *P. aeruginosa*에 항균활성을 나타내었다. 오배자 추출물의 경우 5 mg/mL와 10 mg/mL의 농도에서 항균력을 보였으며, 특히 열수 및 메탄올 추출물은 내성균 1113에 모두 각각 7 mm와 10 mm의 항균 활성을 나타내었다. 오배자 메탄올 추출액은 내성균 2492에 각각 10 mm와 12 mm의 다소 강한 항균 활성을 나타내었으며 (Fig. 1), 내성균 1378에서 각각 8 mm와 10 mm, 내성균 0347에서 각각 7 mm와 10 mm의 항균활성을 나타내었다. 황연의 경우 (Table 6) 메탄올 추출액에서 내성균 1378에 10 mg/mL의 농도에서 8 mm의 약한 항균활성을 나타내었다. 그러나 13종류의 한약재 열수 추출액과 메탄올 추출액 모두 일반 시험균 *B. subtilis* PCI 219와 *E. coli* KCTC 1682에는 항균 활성을 나타내지 않았다 (결과 미공개).

Table 5. Antibacterial activity of extracts by boiling water and methanol from *Galla rhois*

Test strains	Extracts	<i>Galla rhois</i> , Conc. (mg/mL)				
		0.5	1	2.5	5	10
Inhibitory zone (∅, mm)						
2492*	Boiling water	-	-	-	-	-
	Methanol	-	-	-	10	12
1113*	Boiling water	-	-	-	7	10
	Methanol	-	-	-	7	10
1378*	Boiling water	-	-	-	-	-
	Methanol	-	-	-	8	10
0347*	Boiling water	-	-	-	-	-
	Methanol	-	-	-	7	10

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.
 -: No-inhibition.



A: control (methanol); B: 10 mg/mL; C: 5 mg/mL

Fig. 1. Antibacterial activity of methanol extracts from *Galla rhois* on *Pseudomonas aeruginosa* 2492.

3.3. 추출한약재의 발효에 의한 항균활성

한약재 추출물 자체의 항균 활성은 Table 5와 6에서 보인 바와 같이 13가지 한약재 중 오배자와 황연 메탄올 추출물에서 다제내성 *P. aeruginosa*에 약한 항균 활성을 보였으므로, 새로운 강력한 항균성 물질의 생산을 위해 한약재 추출물 중 메탄올 추출물을 대상으로 6종의 *Lactobacillus* 균주를 이용한 bioconversion을 통하여 유산발효를 시킨 후 항균활성을 검토하였다.

Table 6. Antibacterial activity of extracts by boiling water and methanol from *Coptis chinensis*

Test strain	Extracts	<i>Coptis chinensis</i> , Conc. (mg/mL)				
		0.5	1	2.5	5	10
Inhibitory zone (∅, mm)						
1378*	Boiling water	-	-	-	-	-
	Methanol	-	-	-	-	8

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.
 -: No inhibition.

3.3.1. 황연, 치자, 금은화, 황금, 오배자추출물의 유산발효 항균활성

유산발효는 실험재료 및 방법에 따라 6종의 *Lactobacillus* 균주를 7가지의 한약재인 황연, 치자, 금은화, 황금, 오배자, 단삼, 작약의 메탄올 추출액 (5 mg/mL)이 함유된 MRS배지에 각각 접종하여 5일째 배양액을 대상으로 내성균에 대한 항균활성을 검토하였다. 그 결과 단삼과 작약을 제외한 5가지 한약재는 내성균에 대한 항균활성을 나타내었다. 특히 *Lactobacillus casei* KCTC 3109 (B)로 발효 시 치자 메탄올 추출액은 내성균 0225에서 22 mm (Table 7), 내성균 2492에서 17 mm (Table 8)로 가장 강한 항균활성을 나타냈으며, 금은화 메탄올 추출물은 내성균 0225에서 17 mm, 내성균 1731에서 17 mm, 내성균 2492에서 16 mm로 높은 항균활성을 나타내었다. 황금 메탄올 추출액을 첨가하여 *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108 (A)로 발효 시 항균활성은 내성균 1731에서 19 mm로 가장 크게 나타났다 (Table 8). 오배자 메탄올 추출액은 미발효 시 5 mg/mL의 농도에서 내성균 2492, 1378, 0347과 1113에 대해 7 mm~10 mm (Table 7)의 항균력을 보였으나, *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108 (A)로 발효 시에는 내성균 0225와 1731을 포함한 6 균주에 10 mm~19 mm의 높은 항균활성을 나타내었으며 (Table 7,8), 내성균에 강력한 저해물질의 생산이 예상되었다. 특히 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108 (A)는 5가지 약재에 발효 시 다제내성 6 균주에 10 mm~19 mm의 항균활성을 나타내어 한약재 발효에 우수한 유산균으로 평가되었다. 황연의 경우 Table 6에서 보인 바와 같이 5 mg/mL 첨가농도에서는 내성균 1378을 포함하여 항균력이 없으나, 동일농도에서 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108 (A)를 이용한 발효 시에는 내성균 1378을 제외한 0225, 0347, 1113, 1731과 2492에서 9 mm~13 mm의 새로운 항균활성을 나타내었다 (Table 7,8).

Table 7. Antibacterial activity of fermented methanol extracts from *Coptis chinensis*, *Galla rhois*, *Gardenia jasminoides*, *Lonicera japonica*, and *Scutellaria baicalensis* on *Pseudomonas aeruginosa* 0225*, 0347* and 1113*

Test strains	Scientific name	<i>Lactobacillus</i> strains					
		A	B	C	D	E	F
Inhibitory zone (∅, mm)							
0225*	<i>Coptis chinensis</i>	11	-	-	-	-	-
	<i>Galla rhois</i>	15	-	12	-	-	-
	<i>Gardenia jasminoides</i>	16	22	15	14	14	14
	<i>Lonicera japonica</i>	12	17	16	13	15	15
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	16	-	15	-	8	10
0347*	<i>Coptis chinensis</i>	9	-	-	-	-	-
	<i>Galla rhois</i>	13	13	8	-	-	-
	<i>Gardenia jasminoides</i>	-	11	10	-	-	-
	<i>Lonicera japonica</i>	9	13	7	-	-	-
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	10	-	-	-	-	-
1113*	<i>Coptis chinensis</i>	9	-	-	-	-	-
	<i>Galla rhois</i>	13	12	9	-	-	-
	<i>Gardenia jasminoides</i>	8	9	6.5	-	7	9
	<i>Lonicera japonica</i>	8	10	6.5	8	6.5	6.5
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	9	-	6.5	6.5	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 8. Antibacterial activity of fermented methanol extracts from *Coptis chinensis*, *Galla rhois*, *Gardenia jasminoides*, *Lonicera japonica*, and *Scutellaria baicalensis* on *Pseudomonas aeruginosa* 1378*, 1731* and 2492*

Test strains	Scientific name	<i>Lactobacillus</i> strains					
		A	B	C	D	E	F
Inhibitory zone (∅, mm)							
1378*	<i>Coptis chinensis</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Galla rhois</i>	10	10	9	-	-	-
	<i>Gardenia jasminoides</i>	10	10	-	-	-	-
	<i>Lonicera japonica</i>	10	12	-	-	-	-
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	-	-	-	-	-	-
1731*	<i>Coptis chinensis</i>	13	-	-	-	-	-
	<i>Galla rhois</i>	11	-	8	-	-	-
	<i>Gardenia jasminoides</i>	14	14	14	13	12	10
	<i>Lonicera japonica</i>	17	17	16	14	14	14
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	19	-	13	-	-	-
2492*	<i>Coptis chinensis</i>	12	-	-	-	-	-
	<i>Galla rhois</i>	19	16	10	-	-	-
	<i>Gardenia jasminoides</i>	12	17	9	-	8	13
	<i>Lonicera japonica</i>	12	16	8	8	8	9
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	13	-	8	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 9. Antibacterial activity of methanol extracts from *Coptis chinensis*, *Galla rhois*, *Gardenia jasminoides*, *Lonicera japonica*, and *Scutellaria baicalensis* on *Bacillus subtilis* PCI 219

Test strain	Scientific name	<i>Lactobacillus</i> strains					
		A	B	C	D	E	F
Inhibitory zone (∅, mm)							
PCI 219	<i>Coptis chinensis</i>	18	19	13	12	13	13
	<i>Galla rhois</i>	15	15	11	-	-	-
	<i>Gardenia jasminoides</i>	18	22	18	18	18	16
	<i>Lonicera japonica</i>	24	22	20	18	24	16
	<i>Scutellaria baicalensis</i>	17	-	11	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635

-: No-inhibition

13가지 약재추출물은 일반 시험균인 *B. subtilis* PCI 219 및 *E. coli* KCTC 1682에 항균력을 보이지 않았으나 (결과 미계제), *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108 (A) 및 *Lb. fermentum* KCTC 3112 (C)로 발효한 5종의 한약재는 모두 *B. subtilis* PCI 219에서도 11 mm~24 mm로 강한 항균활성을 나타냈으며 (Table 9), *E. coli* KCTC 1682와 내성균 0826과 0254에는 *Lactobacillus* 균주로 발효시킨 발효 한약재 모두 항균활성을 나타내지 않았다 (결과 미계제).

6종의 *Lactobacillus* 균주로 한약재 메탄올 추출액을 발효 하였을 때 항균활성은 금은화, 치자, 오배자, 황금 추출액의 순으로 높게 나타났으며, 사용 유산균 중 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, *Lb. casei* KCTC 3109와 *Lb. fermentum* KCTC 3112가 내성균을 억제하는 항균성 물질을 발효 전보다 발효 후 많이 생산하는 우수한 균으로 확인 되었다. 이 결과에서 한약재 추출물을 대상으로 유산균 발효를 통한 bioconversion은 다제내성균을 억제하는 새로운 물질의 생산가능성이 확인되었다.

3.3.2. 연교, 감초, 구기자, 길경, 오미자, 정향의 유산발효 항균활성

앞의 5가지 한약재의 유산발효 (Table 7~9)는 5일째에 항균력이 우수하였으므로, 동일한 조건에서 6가지 한약재인 연교, 감초, 구기자, 길경, 오미자와 정향의 메탄올 추출액의 유산발효는 3일과 5일간 수행한 후 항균 활성을 측정하였다. Table 9에서 6종의 유산균으로 발효한 5가지 한약재는 일반 세균인 *B. subtilis* PCI 219에만 강한 항균활성이 확인되었으나, 6가지 한약재의 발효는 Table 9와 달리 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108 (A)로 발효 시와 정향추출물의 발효 시 항균력을 보이지 않았다 (Table 10,11). *Lb. casei* KCTC 3109 (B)와 나머지 5 균주는 5일간 발효 시 다제내성균에 12 mm~24 mm의 우수한 항균활성을 나타내었으며 (Table 10), *E. coli* KCTC 1682에 대한 항균활성은 *Lb. casei* KCTC 3109 (B)가 가장 우수하였으며, 연교, 구기자, 오미자와 길경을 이용한 발효 시 항균활성을 나타내

었다 (Table 11).

Table 10. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Bacillus subtilis* PCI 219

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (\varnothing , mm)					
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	19	18	8	13	13
		5	-	16	17	13	14	15
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	19	17	12	18	18
		5	-	24	20	18	18	18
	<i>Lycium chinense</i>	3	-	22	18	13	18	20
		5	-	24	18	16	20	18
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	21	18	13	21	20
		5	-	21	19	14	22	20
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	18	15	8	17	17
		5	-	21	15	12	18	17
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

-: No-inhibition.

Table 11. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *E. coli* KCTC 1682

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (\varnothing , mm)					
<i>E. coli</i> KCTC 1682	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	19	11	-	-	-
		5	-	11	9	10	12	11
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	9	9	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-
	<i>Lycium chinense</i>	3	-	9	9	-	-	-
		5	-	13	9	9	9	9
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	11	-	-	-	-
		5	-	11	9	-	-	9
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	11	10	9	9	9
		5	-	12	-	-	-	-
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

-: No-inhibition.

Table 12. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 0225

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (\varnothing , mm)					
0225	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	14	12	10	11	11
		5	-	8	11	8	8	11
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	13	13	11	11	12
		5	-	12	9	9	12	8
	<i>Lycium chinense</i>	3	-	13	12	14	9	9
		5	-	15	14	15	15	16
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	13	12	11	9	11
		5	-	9	11	12	12	14
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	14	14	12	14	10
		5	-	11	12	11	12	13
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 13. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 0254

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (\varnothing , mm)					
0254*	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	18	14	12	12	13
		5	-	20	12	12	10	9
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	13	10	8	12	11
		5	-	10	12	12	12	12
	<i>Lycium chinense</i>	3	-	14	10	8	14	12
		5	-	20	17	15	21	20
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	16	15	12	15	15
		5	-	13	13	12	12	13
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	13	12	10	13	13
		5	-	20	16	16	20	20
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 14. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 0347

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (∅, mm)					
	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	10	10	9	9	8
		5	-	10	9	9	8	8
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	12	11	8	11	11
		5	-	15	13	11	14	16
0347*	<i>Lycium chinense</i>	3	-	13	15	13	20	17
		5	-	16	12	12	14	16
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	10	10	9	8	7
		5	-	14	10	13	14	8
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	9	7	8	8	8
		5	-	9	8	9	9	10
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 15. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 0826

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (∅, mm)					
	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	16	13	9	10	10
		5	-	18	14	13	16	16
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	12	10	11	10	10
		5	-	19	15	13	16	18
0826*	<i>Lycium chinense</i>	3	-	21	16	14	21	21
		5	-	21	12	13	18	18
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	12	12	9	12	19
		5	-	23	19	15	17	20
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	15	13	11	12	13
		5	-	19	16	14	17	18
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 16. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 1113

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (∅, mm)					
	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	7	-	-	-	-
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	7	-	-	-	-
1113*	<i>Lycium chinense</i>	3	-	7	-	-	-	-
		5	-	7	-	-	-	-
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	8	7	-	-	-
		5	-	7	7	-	-	-
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 17. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 1378

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (∅, mm)					
	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	13	12	10	11	10
		5	-	19	16	12	16	17
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	11	11	10	11	11
		5	-	12	12	12	11	10
1378*	<i>Lycium chinense</i>	3	-	10	9	9	11	10
		5	-	15	15	9	15	15
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	13	11	9	13	13
		5	-	17	14	11	19	19
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	13	14	10	13	14
		5	-	13	13	10	13	12
	<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

-: No-inhibition.

Table 18. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 1731

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (\varnothing , mm)					
1731*	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	14	13	13	12	11
		5	-	15	12	10	14	14
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	13	13	10	12	12
		5	-	13	11	9	11	11
	<i>Lycium chinense</i>	3	-	15	13	10	13	14
		5	-	19	14	12	18	17
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	12	13	13	13	13
		5	-	13	12	10	12	12
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	11	11	11	11	11
		5	-	14	11	12	14	14
<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-	
	5	-	-	-	-	-	-	

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*

-: No-inhibition

Table 19. Antibacterial activity of culture broth by methanol extracts from *Forsythia suspensa*, *Glycyrrhizae radix*, *Lycium chinense*, *Platycodon grum*, *Schizandra chinensis* and *Syzygium aromaticum* on *Pseudomonas aeruginosa* 2492.

Test strain	Scientific name	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> strains					
			A	B	C	D	E	F
			Inhibitory zone (\varnothing , mm)					
2492*	<i>Forsythia suspensa</i>	3	-	20	15	11	21	19
		5	-	15	13	10	10	10
	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3	-	14	14	13	13	13
		5	-	20	16	16	16	15
	<i>Lycium chinense</i>	3	-	14	12	11	11	11
		5	-	14	12	12	13	13
	<i>Platycodon grum</i>	3	-	16	13	10	18	17
		5	-	15	15	12	16	16
	<i>Schizandra chinensis</i>	3	-	15	13	10	13	13
		5	-	13	11	10	10	10
<i>Syzygium aromaticum</i>	3	-	-	-	-	-	-	
	5	-	-	-	-	-	-	

A: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, B: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, C: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, D: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, E: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, F: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

*: Antibiotics resistant *Pseudomonas aeruginosa*

-: No-inhibition

내성균에 대한 항균활성은 앞의 결과 (Table 7~9)와 달리 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108 (A) 발효 시와 정향추출물의 발효는 항균활성을 보이지 않았다 (Table 12~19). 내성균 0225의 경우, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635 (F)로 5일간 발효한 구기자 16 mm로 가장 강한 항균활성을 보였으며, 연교, 감초, 길경, 오미자를 발효한 5 균주는 3일간 배양 시에 항균활성이 우수하였다 (Table 12). 내성균 0254에 대한 항균 활성은 *Lactobacillus*속의 5 균주로 구기자와 오미자 추출물을 5일간 발효 시 항균활성이 우수하였으며, 연교, 감초와 길경 추출물의 발효는 3일째가 우수하거나 비슷한 항균활성을 보였다 (Table 13). 내성균 0347에 대한 항균활성은 발효된 구기자, 감초와 길경에서 항균활성이 양호하였으나 발효된 연교와 오미자는 약한 항균활성을 보였으며 (Table 14), 내성균 0826에 대한 항균활성은 5가지 유산균발효 결과, 구기자의 경우 3일째 항균효과가 우수하였으며, 나머지 연교, 감초, 길경과 오미자는 5일간 발효 시 강한 항균활성을 보였다 (Table 15). 그러나 내성균 1113에 대한 항균활성은 *Lb. casei* KCTC 3109 (B)로 발효 시 연교, 감초, 구기자와 오미자에만 아주 약한 활성을 보였다 (Table 16). 내성균 1378에 대한 항균활성은 연교, 구기자와 길경에 5종의 *Lactobacillus* 균주 모두 5일간 발효 시 항균활성이 우수하였으며, 감초와 오미자는 다소 약한 항균활성을 보였다 (Table 17). 내성균 1731에 대한 항균 활성은 5일간 발효한 구기자가 가장 우수하였으며 (Table 18), 내성균 2492에 대한 항균 활성은 감초와 길경을 5일간 발효 시 가장 항균활성이 우수 하였다 (Table 19). 이들 결과에서 *Lactobacillus*속의 5 균주로 연교, 감초, 구기자, 길경, 오미자와 정향 추출물을 발효 시 구기자 추출물이 내성균 1113을 제외한 다제내성 7 균주에 우수한 항균활성을 보였다. 앞의 결과 (Table 7,8)와 비교할 때, 10가지 한약재인 황연, 치자, 금은화, 황금, 오배자, 연교, 감초, 구기자, 길경과 오미자의 추출물을 *Lactobacillus* 균주로 발효하였을 때 유산발효 전보다 발효 후에 bioconversion에 의한 내성균을 억제할 수 있는 강력한 새로운 항균성 물질의 생산이 가능하다고 사료되었다.

4. 결론

본 연구는 일반적인 병원에서의 기회 감염균으로 알려진 녹농균 (*Pseudomonas aeruginosa*)에 항균활성을 갖는 13가지 한약재 추출물 (열수 및 메탄올)을 대상으로 추출물 자체 및 메탄올 추출물을 6종의 *Lactobacillus* 균주로 유산발효시킨 후 다제 내성균으로 분리된 *P. aeruginosa*를 억제하는 새로운 항균성 물질의 생산을 확인하였다. 한약재를 열수와 메탄올을 이용하여 추출, 농축한 후 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL 농도로 희석하여 다제내성 *P. aeruginosa* 8 균주 (0225, 0254, 0347, 0826, 1113, 1378, 1731과 2492)를 대상으로 항균력을 확인하였다. 한약재 추출물 중 오배자의 메탄올 추출물은 5 mg/mL와 10 mg/mL의 농도에서 다제내성 *P. aeruginosa* 2492에 대한 저지원이 각각 10 mm와 12 mm로 항균활성을 보였다. 6종의

Lactobacillus 균주로 7가지의 한약재인 황연, 치자, 금은화, 황금, 오배자, 단삼 및 작약의 메탄올 추출액을 발효하였을 때 항균활성은 금은화, 치자, 오배자, 황금 추출액의 순으로 높게 나타났으며, 사용 유산균 중 *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, *Lactobacillus casei* KCTC 3109와 *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112가 다제내성균을 억제하는 항균성 물질을 발효 전보다 발효 후 많이 생산하는 우수한 균으로 확인되었다. *Lactobacillus* 속의 5 균주로 연교, 감초, 구기자, 길경, 오미자, 정향추출물을 발효 시 정향을 제외한 5개 추출물이 내성균 1113을 제외한 다제내성 7 균주에 우수한 항균활성을 보였다. 10가지 한약재인 황연, 치자, 금은화, 황금, 오배자, 연교, 감초, 구기자, 길경, 오미자의 추출물을 *Lactobacillus* 균주로 발효 하였을 때 유산발효 전보다 발효 후에 bioconversion에 의한 다제내성균을 억제할 수 있는 강력한 새로운 항균성 물질의 생산이 추정되었다.

References

- Bonten, M. J. (2002) Infection in the Intensive Care Unit: Prevention Strategies. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 15: 401-405.
- Park, K. H. (2007) *Nosocomial Infection Rates and Risk Factors in Intensive Care Units of a University Hospital*. M.D. Thesis. University of Chosun, Dong-gu, Gwangju, Korea.
- Oh, H. S. (2005) *A Study on the Nosocomial Infection Control and Development of Evaluation Indices and Model in Korea*. Ph.D. Thesis. National University of Seoul, Gwanak-gu, Seoul, Korea.
- Cho, Y. S. (2000) *A Study on the Validity of the Hospital Infection Surveillance Records Collected by Ward Liaison Nurses*. M.D. Thesis. National University of Seoul, Gwanak-gu, Seoul, Korea.
- Yoo, J. S. (2008) *Characterization of Multi-drug Resistant Pseudomonas Aeruginosa and Functional Analysis of PA2491 Gene*. Ph.D. Thesis. University of Korea, Seongbuk-gu, Seoul, Korea.
- Doring, G., M. Horz, J. Ortel, H. Grupp, and C. Wolz (1993) Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *Epicemiol. Infect.* 110: 427-436.
- Gaynes, R. and J. R. Edwards (2005) Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin. Infect. Dis.* 41: 848-54.
- Vidal, F., J. Mensa, M. Almela, J. A. Martinez, F. Marco, C. Casals, J. M. Gatell, E. Soriano, and M. T. Jimenez de Anta (1996) Epidemiology and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia, with special emphasis on the influence of antibiotic treatment. Analysis of 189 episodes. *Arch. Intern. Med.* 156: 2121-2126.
- Falagas, M. E., P. K. Koletsi, and I. A. Bliziotis (2006) The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med. Microbiol.* 55: 1619-1629.
- Pankuch, G. A., H. Seifert, and P. C. Appelbaum (2010) Activity of doripenem with and without levofloxacin, amikacin, and colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 67: 191-197.
- Zaborina, O., J. E. Kohler, Y. Wang, C. Bethel, O. Shevchenko, L. Wu, J. R. Turner, and J. C. Alverdy (2006) Identification of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates that are highly disruptive to the intestinal epithelial barrier. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 5: 14.
- Inglis, T. J., K. A. Benson, L. O'Reilly, R. Bradbury, M. Hodge, D. Speers, and C. H. Heath (2010) Emergence of multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Western Australian hospital. *J. Hosp. Infect.* 76: 60-65.
- Jung, J. Y., M. S. Park, S. E. Kim, B. H. Park, J. Y. Son, E. Y. Kim, J. E. Lim, S. K. Lee, S. H. Lee, K. J. Lee, Y. A. Kang, S. K. Kim, J. Chang, and Y. S. Kim (2010) Risk factors for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with colonization in the intensive care unit. *BMC Infect. Dis.* 10: 228.
- Neu, J. M. and G. D. Wright (2003) Inhibition of sporulation, glycopeptide antibiotic production and resistance in *Streptomyces toyocaensis* NRRL 15009 by protein kinase inhibitors. *FEMS Microbiol. Lett.* 199: 15-20.
- Bang, B. H. and E. J. Jeong (2009) Isolation and optimal producing conditions of broad spectrum antibiotics from *Streptomyces* sp. Y-88. *Korean J. Food & Nutr.* 22: 103-109.
- Choi, H. S., J. S. Kim, D. S. Jang, Y. B. Yu, Y. CH. Kim, and J. S. Lee (2005) Antibacterial activities of *Galla Rhois* extracts against fish pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.* 18: 239-245.
- Kim, H. S., T. S. Yu, I. S. Lee, Y. W. Kim, and S. H. Yeo (2003) Screening of the antibacterial and antitumor activity of *Xanthium strumarium* L. extract. *Kor. J. Biotech. Bioeng.* 18: 55-61.
- Yang, J. H., D. S. Kim, H. D. Yoo, and N. H. Lee (1996) Preparation and bioavailability of oriental medicine containing baicalin (II): Gastro-intestinal absorption and antibacterial effect of coprecipitated product of *Scutellariae radix* and *Coptidis rhizoma*. *J. Kor. Pharm. Sci.* 26: 91-98.
- Kim, K. D., J. H. Min, J. E. Jo, and M. K. Na (2006) Studies on the antimicrobial effect of herbal extracts. *J. kor. Soc. Cosm.* 23: 75-83.
- Cha, J. Y., S. E. Ha, S. M. Sim, J. K. Park, Y. O. Chung, H. J. Kim, and N. B. Park (2008) Antimicrobial effects of ethanol extracts of korea endemic herb plants. *Journal of Life Science.* 18: 228-233.
- Bae, H. C., J. Y. Lee, and M. S. Nam (2005) Effect of red ginseng extract on growth of *Lactobacillus* sp., *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in pH controlled medium. *Korean J. Food. Sci. Ani. Resour.* 25: 257-264.
- Park, S. J., D. H. Kim, N. S. Paek, and S. S. Kim (2006) Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). *J. Ginseng Res.* 30: 88-94.
- Shon, M. Y. (2007) Antioxidant and anticancer activities of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* fermented with mycelial mushrooms. *Food Industry and Nutrition* 12: 51-57.
- Shon, M. Y., S. H. Nam, and S. W. Lee (2007) Antioxidant, anticancer activities and nitric oxide production of *Euphoria longana* fermented with lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis*. *Korean J. Food Preserv.* 14: 531-537.