

## 산채류가 장내세균의 *In Vitro* 생육에 미치는 영향

한복진\* · 이선화\*\* · 신현경

한림대학교 식품영양학과, 한림전문대학 전통조리과,\* 고려대학교 식품공학과\*\*

### Effects of Edible Herbs on the Growth of *In Vitro* Intestinal Microorganisms

Han, Bok Jin\* · Lee, Seon Hwa\*\* · Shin, Hyun Kyung

Department of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Korea

Department of Traditional Cuisine,\* Hallym Junior College, Chuncheon, Korea

Department of Food Technology,\*\* Korea University, Seoul, Korea

#### ABSTRACT

This study was aimed to screen edible herbs which control the composition of intestinal microflora. With *in vitro* experiments, we screened the water or ethanol extracts of about 60 edible herbs and wild plants in terms of the inhibition activity on the growth of the harmful *Clostridium perfringens* and growth promoting activity for the beneficial *Bifidobacteria*. The water extracts of mugwort and small water dropwort inhibited the growth of *Cl.perfringens* both in agar diffusion method and broth culture. On the other hand, the water extracts of petasites, mugwort, yellow day-lily and bitter cress have shown the promotion effect on the growth of *Bifidobacterium longum*. In the culture test using human feces as starter, the extracts of the above selected herbs increased the population of *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* while they reduced the numbers of *Cl.perfringens* and *E.coli*.

KEY WORDS : edible herbs · bifidobacteria · *Cl.perfringens* · intestinal microflora.

#### 서 론

사람의 장관내에는 수많은 각종 균들이 서식하고 있으며 이들 균총의 조성은 우리의 노화, 변비, 장관관련 질환발생 등과 깊은 관계가 있는 것으로 알려져 있다<sup>1-2)</sup>. 이들 장내세균들은 숙주인 인간에 대해 유익한 작용을 하는 것들과 유해한 작용을 하는 것들로 나누어 볼 수 있으며 대표적 유익균인 *Bifidus*균에 대해서는 이균의 증식인자로서 N-acetyl glucosamine, peptide 및 pantheine<sup>3)</sup>, fructo-oligo

saccharides<sup>4-6)</sup> 그리고 lactulose 및 raffinose<sup>7)</sup> 등에 대한 연구가 이루어지고 있으며 국내에서는 유아 분변중의 *Bifidobacteria* 분포<sup>8-10)</sup>, *Bifidobacteria*의 생육<sup>11)</sup> 그리고 *Bif. longum* 이 분비한 항균물질<sup>12)</sup> 및 이들의 생육을 촉진시킬 수 있는 식품소재의 탐색에 대한 연구 등이 활발하게 이루어지고 있다<sup>13-14)</sup>. 한편 장내 유해균에 대해서는 질병발생과 관련하여 의학분야에서 활발한 연구<sup>15)</sup>가 이루어지고 있으며 *Clostridium perfringens*의 경우 이균이 생성한 각종 독소물질과 이 독소성분들의 작용기작 등에 대한 연구결과가 보고되어 있다<sup>16)</sup>. 그러나 이 유해균의 생육을 억제시킬 수 있는 소재에 대해서는

별로 연구가 행해지고 있지 않다. 이에 본 연구자들은 국산농산물 및 한약소재로 부터 장내균총에 영향을 미칠 수 있는 소재를 광범위하게 탐색한 결과 방기의 물추출물<sup>17)</sup>, 감자 단백질<sup>18)</sup> 등이 유해균인 *Cl. perfringens*의 생육을 강력히 억제하는 활성을 가지고 있음을 보고한 바 있고, 아울러 장내세균의 상호관계가 장내균총의 변화에 영향을 미치는 사실을 확인하고, *Cl. perfringens*를 억제 할 수 있는 *Streptococcus* 속 균을 분리, 동정한 바 있다<sup>19)</sup>.

한편 산채류는 일반적으로 현재 100여종이 알려져 있으나<sup>20-22)</sup>, 이중 도라지, 취나물, 달래, 들나물, 고들빼기, 두릅, 씀바귀, 머위 등 24종류가 채취 또는 재배되어 식용으로 이용되고 있다<sup>23)</sup>. 산채의 성분에 관해서는 김 등<sup>24)</sup> 등의 연구가 있고, 산채의 생리적 기능성에 대해서는 일부 산채 추출물의 항암성에 대한 기초 연구가 단편적으로 이루어진 바 있으며, 중국에서는 항암성 산채로서 145종의 산야초가 소개되고 있다<sup>25)</sup>. 또한 산채에는 각종 알카로이드, 탄닌, 사포닌, 배당체 등이 많이 함유되어있기 때문에 특수한 생리학적 기능을 나타낼 가능성이 매우 높은 것으로 지적되고 있다<sup>21)</sup>.

본 연구는 장내세균의 조성을 바꿈직한 방향으로 조절할 수 있는 소재를 산채류로 부터 탐색하여 제시함으로써 산채류의 활용도를 높이고 새로운 기능성 식품소재를 발굴하고자 수행되었다. 국내에서 자생하고 있는 산채류 또는 산야초 60여종을 직접 채취하여 그 즙액 또는 에탄올추출물을 이용하여 장내세균 중 대표적 유해균인 *Clostridium perfringens*의 생육을 저해하거나 유익균인 *Bifidus* 균 및 *Lactobacillus*균의 생육을 촉진시키는 소재를 in vitro 실험으로 탐색하여 그 결과를 보고 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 탐색소재

본 실험에서 사용한 산채류 및 산야초 60여종은 강원도 평창군 흥정산과 태기산에서 1992년 7월

초순에 직접 채취하거나 강원도 농촌진흥원 산채 시험장에서 수집하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 검색소재의 종류는 Table 1과 같다.

### 2. 시료의 제조

직접 채취한 신선한 상태의 산채류는 작즙하여 바로 0.2 $\mu$ m의 filter(Sartorius co. Ltd)로 제균한 후 사용하거나 냉동보관하면서 실험할 때 100 $^{\circ}$ C에 5분간 열처리한 후 사용하였다. 또한 일부 시료는 즙을 짜고 남은 고형물에 에탄올을 첨가하여 상온에서 24시간 추출한 후 그 추출액을 5,000rpm에서 30분간 원심분리시킨 후 여과하여 감압 농축한 후 그 농축액을 시료로 사용하였다.

### 3. 사용균주 및 보존배지

본 실험에 사용한 균주는 ATCC,KCTC에서 구입하였으며 Table 2와 같다. 장내 유익균의 지표로서 *Bifidobacterium* 4종, 장내 유해균의 지표로 *Cl.perfringens* ATCC 13124를 1차검색에 사용하였고, 이어 다른 장내 주요균들에 대한 영향을 조사하였다.

이들 균주는 EGLF한천배지(Table 3)상에서 계대하면서 사용전에 RCM(reinforced clostridium media) 배지 (Table 4 Difco)에서 활성화시켜 사용하였다.

### 4. Agar diffusion method에 의한 활성검색법

EG(Eggerth Gagnon)한천배지<sup>26)</sup>를 멸균한 후 50 $^{\circ}$ C로 식힌 다음 종균을 2~3.5% 섞어서 20ml씩 직경 85mm petridish에 plating 한 후 직경 5mm paper disk(Whatman paper No.41)에 시료를 10 $\mu$ l씩 loading하여 Anaerobic jar와 vacuum desiccator를 사용하여 혐기적으로 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 배양<sup>26)</sup>한 다음 생육저해환의 크기를 측정하여 생육의 억제상태를 비교하였고, 생육 촉진은 생육상태를 육안으로 관찰하여 조사하였다.

### 5. 액체 배양에 의한 활성검색법

EG한천배지상에서의 생육 저해 또는 촉진 효과를 보다 명확히 하기 위해서, modified EG broth (Table 5)에 추출물을 0.5%(w/v)농도로 첨가하여 100 $^{\circ}$ C에서 5분간 열처리하여 제균한 다음 활성화

Table 1. List of the edible herbs used in this study

Korean Name	English name	Scientific name
고추나물	St. John's wort	<i>Staphyllea bumalda</i> DC
표취	Leopard plant	<i>Ligularia Fischri(Lcd)</i> Turcz
관중	Broad shield Fern	<i>Dyopteris crassirhizomia</i> Nakai
구릿대	Angelica	<i>Angelica dahurica</i> Benthani et Hooker
기린초	Orange stonecrop	<i>Sedum kamtschaticum</i> Fisher
깨묵	<i>Kkenmwuk</i>	<i>Holileion Maximowiczii</i> Kitam
꼭두서니	Madder	<i>Rubia cordilolia</i> L.
꿀풀	Self heal	<i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> Nakai
다래	Actinis Family	<i>Actinidia arguta</i> Planchon
당귀	Angelica	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa
닭의상풀	Day flower	<i>Commelinna communis</i> Linné
더덕뿌리	<i>Todok</i> root	<i>Codonopsis lanceolata</i> Trautv.
더덕잎	<i>Todok</i> leaf	<i>Codonopsis lanceolata</i> Trautv.
떡취	Aster	<i>Aster spathulifolius</i> Maxim
들미나리	Small water dropwort	<i>Ostercicum Sieboldii</i> NAKAI
동작꽃	Lychnis	<i>Liehnis cognato</i>
돛나물	Stone crop	<i>Sedum sarmento sum</i> Bunge
두릅	Angclia tree	<i>Aralia clata</i> Seemann
땅두릅	Udo	<i>Aralia. cordata</i> Thunb.
아타리	<i>Matar</i>	<i>Patinia scabiosacfolia</i> Fisher
만삼잎	<i>Mansam</i> leaf	<i>Codonopsis philosula</i> Namf.
만삼뿌리	<i>Mansam</i> root	<i>Codonopsis philosula</i> Namf
남초	Butterweed, Horseweed	<i>Erigeron canadensis</i> Linn
비위	Butterbur	<i>Petasites japonicus</i> MAXIM
명아주	Goosefoot, Wild spina	<i>Chenopodium album</i> L.var. <i>centrorubrum</i> Makino
명일엽	<i>Myungilyeup</i>	<i>Angelica utilis</i> Makino
무간대	Lady bell	<i>Adenophora triphylla</i> A.DC.var <i>japonica</i> Hara
물레나물	St.Jhon's work	<i>Hypericum ascyron</i> Linn
물봉선	Touch-me-not	<i>Impatiens's textori</i> Miquel
미역취	Common goldenrod	<i>Solidaga japonica</i> KIAM
방가지똥	Milk or sow thistle	<i>Sonchus oleraceus</i> L.
백미	<i>Beckni</i>	<i>Cynanchum aratum</i> Bunge
뻘무	Avens herb bennet	<i>Geum japonicum</i> Thunberg
붓꽃	Safran crocus	<i>Crocus sativus</i> L.
산뽕나무	Japanese mulberry	<i>Morus bombycis</i> Koidz.
산쑥	Fellon herb	<i>Artemisia vulgaris</i> L.
세잎양지	Live forever	<i>Potentilla freyniana</i>
소나무잎	Japanese redpine leaf	<i>Pinus densiflora</i> S. et Z.
소리쟁이	Sorrel, Dock	<i>Rumex crispus</i> L.subsp.japonicus Kiamura
솔나물	<i>Solnamul</i>	<i>Galium verum</i> var. <i>asiaticum</i>
쇠뜨기	Field horse tail	<i>Equisetum arvense</i> Linn
쑥	Mugwort, Worm wood	<i>Artemisia princeps</i> Pam.
쑥바귀	Sow thistle	<i>Ixenis dentata</i> Nakai
약모밀	<i>Yakmomil</i>	<i>Houtuyania cordata</i> Thunberg
역레지	Japanese dog's Vile	<i>Erythronium japonicum</i> Decaisne
영길취	Thisle	<i>Cirsium maackii</i> MAX
약쑥	<i>Yakssuk</i>	<i>Artemisia princeps</i> Pam
오미자	Maxinowiczia tipica	<i>Schisandra chinensis</i> Baillon
용선채	<i>Yongseolche</i>	<i>Lactuca indica</i> var <i>dragocrossa</i>
원추리	Yellow day-Lily	<i>Hemerocallis aurantiac</i> Baker
잔대	Dotted bell flower	<i>Adenophora triphylla</i> var. <i>japonica</i>
세비쑥	<i>Jebissuk</i>	<i>Artemisia japonica</i> Thunb.
쑥도리풀	Wild ginger	<i>Asiasarum heterotropoides</i>
질경이	Plantain	<i>Plantago asiatica</i> L.
깎신나물	Agrimony	<i>Agrimonia pilosa</i> Ledeb. var. <i>japonica</i> Nakai
참나물	Anise	<i>Pimpinella brachycarpa</i> Nakai
참비름	Amaranth	<i>Amaranthus mangosstanus</i> L.
참취	Aster	<i>Aster scaber</i> Thunberg
총총이꽃	<i>Chwugchwugii</i>	<i>Connaus controversa</i> Hemsley
취잎	Arrowroot leaf	<i>Pueraria lobata</i> Ohwi
토천궁	Privet	<i>Ligustium Waliechii</i> Franch var.
뽕풀	Yarrow	<i>Achillea Sibirica</i> LEDEB
피마자잎	Caster bean leaf	<i>Ricinus communis</i> L.
황새냉이	Bitter cress	<i>Cardamine flexuosa</i> Whithering.

산채류의 장내세균 생육영양

**Table 2.** List of strains used in this study

<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	ATCC 15703
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	ATCC 29521
<i>Bifidobacterium infantis</i>	ATCC 15697
<i>Bifidobacterium longum</i>	ATCC 15707
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 13124
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11775
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	KCTC 3151

**Table 3.** EGLF agar medium for maintenance of anaerobic bacteria

Lab-lemco powder(oxid)	2.1g
Proteose peptone No.3	10.0g
Yeast extract	5.0g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4.0g
Glucose	1.0g
Soluble starch	0.5g
L-cystine	0.2g
Anti-form	5.0ml
Agar	17.0g
0.1% resazurin	1.0ml
Liver extract	75ml
Fildes solution**	40ml
4% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	100ml
Distilled water	800ml
pH 7.6-7.8	

\*\*One of components of Fildes solution, horse blood, was replaced with cow blood

**Table 4.** Medium composition of reinforced clostridial broth

Bacto-tryptose	10.0g
Bacto-beef extract	10.0g
Bacto-yeast extract	3.0g
Bacto-dexrose	5.0g
Sodium chloride	5.0g
Soluble starch	1.0g
L-cysteine hydrochloride	0.5g
Sodium acetate	3.0g
Bacto-agar	0.5g
Distilled water	1000ml
pH 7.6	

**Table 5.** Medium composition of modified EG broth

Beef extract	2.0g
Proteose peptone No.3	10.0g
Yeast extract	5.0g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4.0g
Soluble starch	0.5g
Glucose	1.5g
L-cysteine	0.4g
Silicon antifoamer	0.25ml
Tween 80	0.5g
Distilled water	1000ml
pH 7.6-7.8	

시킨 각균의 배양액을 1%씩 접종하여 혐기적으로 37°C에서 24~48시간 배양<sup>26)</sup>하면서 600nm에서 O. D.(optical density)을 측정하여 균의 생육상태를 조사하였고, 아울러 산 생성균의 경우 pH강하 정도로 그 생육촉진 효과를 보완 측정하였다.

6. 인변균 접종에 의한 *in vitro* 평가 실험

건강한 한국인(31세 남)의 분변을 혐기성 희석액<sup>26)</sup>으로 10<sup>3</sup>배로 희석한 다음 modified EG broth에 2.5% 접종한 후 37°C 항온기에서 배양하면서 12, 24, 36, 48 시간대의 생균수(colony forming unit; cfu/ml)를 측정하였다. 분변은 Sampling후 곧 바로 실험에 사용하였으며, 액체배지에 첨가된 각 시료 추출물의 농도는 0.5% (w/v)이었다.

총혐기성균 검출배지로는 BL(glucose-blood-liver)배지, *Bifidobacteria*는 BS(*Bifidobacterium* selective)배지, *Lactobacillus*는 LBS(*Lactobacillus* selective, BBL)배지, *Cl.perfringens*는 NN(Ncomycin-Nagler)배지<sup>26)</sup>를 사용하여 선택적으로 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 유해균 억제 산채류의 탐색

산채류 및 산야초로부터 우선적으로 *Clostridium perfringens*균의 생육을 저해할 수 있는 소재를 탐색하기 위해서 산채류의 즙액 또는 에탄올추출물이 한천배지상에서 생육저해를 생성하는 상태

**Table 6.** Effects of the juices or ethanol extract of edible herbs on the growth of *Cl.perfringens* and *E.coli* by agar diffusion method

Sample	Test organisms		
	<i>Cl. perfringens</i>		<i>E.coli</i>
	juices	ethanol extract	ethanol extract
<i>St.John's Wort</i>	+	+	-
<i>Leopard plant</i>	n	-	-
<i>Broad shield fern</i>	n	-	-
<i>Angelica</i>	n	n	n
<i>Orange stonecrop</i>	n	n	n
<i>Kkemwuk</i>	n	n	n
Madder	n	-	-
Self heal	n	n	--
Actinis family	n	---	-
Angelica	n	--	n
Day flower	n	n	n
<i>Todok leaf</i>	n	n	n
<i>Todok root</i>	n	n	n
Aster	n	n	n
Small waterdropwort	---	n	-
Lychnis	-	--	n
Stone crop	n	-	n
Angelica tree	n	n	n
Udo	n	n	-
<i>Matari</i>	n	n	n
<i>Mansam leaf</i>	n	n	n
<i>Mansam root</i>	n	n	---
Butterweed	n	n	n
Butterbur	+	n	n
Goosefoot	n	n	n
<i>Myungilyeup</i>	n	n	n
<i>Lady bell</i>	n	n	n
<i>St.Jhon's Work</i>	n	n	n
<i>Touch-me-not</i>	n	n	n
<i>Common goldenrod</i>	n	n	---
<i>Milk or sow thistle</i>	n	n	---
<i>Beckmi</i>	n	n	-
Avens herb bennet	n	n	n
Safran crocus	n	n	n
Japanese mulberry	n	n	n
Fellon herb	n	n	n
Live forever	n	n	n

Japanese red pine	-	n	n
Sorrel	n	n	n
<i>Solnamul</i>	n	n	n
Field horse tail	n	n	n
Worm wood,	-	n	n
mugwort			
Sow thistle	n	n	n
<i>Yakmomil</i>	n	n	---
Japanese dog's Vide	n	n	---
Thistle	n	n	n
<i>Yaksuk</i>	n	n	n
<i>Maxinowiczia tipica</i>	++	---	---
<i>Yongseolche</i>	n	n	-
Yellow day-Lily	n	n	n
Dotted bell flower	n	n	n
<i>Jebissuk</i>	n	n	n
Wild ginger	n	n	n
Plantain	n	n	n
Agromony	n	n	n
Anise	n	n	n
Amaranth	n	n	n
Aster	n	n	n
<i>Chwugchwugii</i>	n	n	-
Arrowroot leaf	n	n	n
Privet	n	n	n
Yarrow	n	n	n
Casterbean leaf	n	n	n
Bitter cress	n	n	n

- : weakly inhibited(diameter 7-9mm)  
 -- : strong inhibited(diameter 10-14mm)  
 --- : very strongly inhibited(diameter over 15mm)  
 n : no effected  
 + : weakly promoted(diameter 7-9mm)  
 ++ : strong promoted(diameter 10-14mm)  
 +++ : very strongly promoted(diameter over 15mm)

**Table 7.** Effects of the water extracts of some edible herbs on the growth of *Cl.perfringens* in broth culture

Sample	Growth*
Small water dropwort	-----
Lynchnis	-----
Japanesc red pine leaf	n
Mugwort	--
<i>Dodok</i>	-

\*n : no effected

~ : O.D. for sample/O.D. for control ; 0.9-1.0  
 -- : O.D. for sample/O.D. for control ; 0.8-0.9  
 --- : O.D. for sample/O.D. for control ; 0.7-0.9  
 ---- : O.D.forsample/O.D.forcontrol ; 0.6-0.7  
 O.D. at 600nm

를 조사하여 Table 6과 같은 결과를 얻었다. 60여 종의 시료중 들미나리의 즙액이 *Cl.perfringens*의 생육을 강력하게 저해하는 활성을 보여주었으며 이어서 동작꽃, 소나무잎, 쑥에서도 저해활성을 나타냈으며, 나머지 대부분 시료에서는 생육에 영향을 미치지 못하였고, 고추나물, 머위 및 오미자 잎에서는 오히려 약간 촉진하는 활성을 보여주었다. 에탄올추출물을 사용한 검색실험에서는 다래와 오미자잎이 *Cl.perfringens*에 대해 강력한 저해활성을 보였고, 당귀와 동작꽃도 비교적 저해활성이 강하였다. Table 6에서 볼 수 있는 바와 같이 시료의 추출방법에 따라 저해활성이 다르게 나타난 것은 용매에 따라 추출성분이 다르거나 추출율이 다르기 때문으로 생각된다. 이상의 한천배지에서 *Cl. perf ringens*의 생육을 저해하는 것으로 나타난 들미나리, 쑥, 동작꽃, 소나무잎, 더덕뿌리에 대해서 Modified EG액체배지에 일정 시료량을 첨가하고 *Cl.perfringens*균을 접종하여 액체배양하여 그 균체 증식량을 무첨가 대조구와 비교한 결과는 Table 7과 같다. 한천배지에서 탐색한 결과와 마찬가지로 들미나리에서 가장 강하고 이어서 동작꽃에서 생육 저해활성을 보여주었고 쑥, 더덕은 미약하게 *Cl.perfringens*의 생육을 억제하였으나 소나무잎은 별 영향이 없었다.

한편 산채류의 에탄올 추출물들이 한천배지상에서 *E. coli*의 생육에 미치는 영향을 조사한 결과는

Table 6과 같다. 만삼, 미역취, 방가지똥, 약모밀, 얼레지에서 강한 생육저해활성을 나타냈으며 이어서 다래, 오미자도 비교적 강한 저해활성을 보였다

식물자원 중 항균활성 물질을 나타낸 물질로서는 flavonoides와 alkaloids계통의 물질들이 많이 연구되고 있으며 이들은 주로 세균의 DNA, RNA, 단백질 또는 세포막과 같은 고분자 물질의 생합성을 방해함으로써 항균작용을 갖는 것으로 알려져 있으며<sup>27)</sup> *Cl.perfringens*에 대해서는 polyphenol 화합물<sup>28)29)</sup>과 감자의 단백질성분 물질들이 항균작용을 나타낸 것으로<sup>18)</sup> 보고되어있으나 상기 산채추출물의 유효성분을 밝히기 위해서는 유효물질의 분리 및 구조규명과 같은 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것이다.

## 2. 유익균 증식 산채류의 탐색

장내세균 중 유익균으로는 *Bifidus*균과 *Lactobacillus* 등 유산균이 대표적인 균으로 알려져 있다. 따라서 산채류 중 *Bifidus*균의 생육을 촉진시킬 수 있는 소재를 1차로 한천배지 상에서 생육상태를 육안으로 관찰하여 검색하였다. Table 8에서 보면 *Bifidus*균의 종류에 따라서 다른 양상을 보이는데 *Bif.adolesccntis*에 대해서는 더덕뿌리, 무잔대, 오미자 등이 생육을 촉진시켰고, *Bif. infantis*에 대해서는 무잔대, 닭의장풀, 쑥, 꼭두서니, 참취, 용설채, 만삼뿌리와 잎, 층층이꽃, 동작꽃, 망초, 썬바귀, 참비름 등 많은 종류가 생육을 촉진시켰다. 그러나 *Bif. bifidum*의 생육촉진을 나타낸 소재는 하나도 발견할 수 없었고, *Bif. longum*의 경우 참취, 층층이꽃, 쑥, 들미나리 등에서 미약한 촉진활성을 볼 수 있었다.

이상 한천배지에서 1차 선별한 더덕뿌리, 동작꽃, 만삼, 참취, 머위, 쑥, 원추리, 황새냉이 등 8종의 시료를 Modified EG 액체배지에 첨가하고 *Bif. longum*을 접종하여 액체배양하면서 균의 생육정도를 O.D.와 pH를 측정하여 상대적 생육촉진 정도를 조사한 결과(Table 9.) 머위, 쑥, 원추리, 황새냉이 등이 균체량이 많고, 산생성에 의한 pH저하도가 크게 나타났다.

**Table 8.** Effects of the juices of edible herbs on the growth of various *Bifidobacteria* by agar diffusion method

Sample	Test organisms			
	<i>Bif. adolescentis</i>	<i>Bif. bifidum</i>	<i>Bif. infantis</i>	<i>Bif. longum</i>
<i>St. John's Wort</i>	n	n	+	n
<i>Leopard plant</i>	n	n	n	n
<i>Broad Shield Fern</i>	n	n	n	n
<i>Angelica</i>	n	n	n	n
<i>Orange stonecrop</i>	n	n	n	n
<i>Kkemwuk</i>	n	n	n	n
<i>Madder</i>	n	n	+++	+
<i>Self heal</i>	n	n	n	n
<i>Acunis family</i>	n	n	n	n
<i>Angelica</i>	n	n	n	n
<i>Day flower</i>	n	n	+++	n
<i>Todok leaf</i>	n	n	+	n
<i>Todok root</i>	n	n	+++	n
<i>Aster</i>	n	n	+	n
<i>Small water dropwort</i>	n	n	n	+
<i>Lychnis</i>	n	-	++	n
<i>Stone crop</i>	n	n	n	n
<i>Angelica tree</i>	n	n	n	n
<i>Udo</i>	n	n	n	n
<i>Matari</i>	n	n	n	n
<i>Mansam leaf</i>	n	n	n	n
<i>Mansam root</i>	n	n	++	n
<i>Butterweed</i>	n	n	+	n
<i>Butterbur</i>	n	n	n	+++
<i>Goosefoot</i>	n	n	n	n
<i>Myungilycup</i>	n	n	n	n
<i>nLady bell</i>	+	-	+++	n
<i>St. John's Wort</i>	n	n	n	n
<i>Touch-me-not</i>	n	n	n	n
<i>Common goldenrod</i>	-	n	n	n
<i>Milk or'sow thistle</i>	n	n	n	n
<i>Beckmi</i>	n	n	n	n
<i>Avens herb bennet</i>	n	n	n	n
<i>Safran crocus</i>	n	n	n	n
<i>Japanese mulberry</i>	-	-	+	-
<i>Fellon herb</i>	n	n	+	n
<i>Live forever</i>	-	-	n	n
<i>Japanese redpine leaf</i>	n	n	+	n
<i>Sorrel</i>	n	n	n	n
<i>Solanum</i>	n	n	n	n
<i>Field horse tail</i>	n	n	n	n
<i>Mugwort</i>	n	n	+++	+
<i>Sow thistle</i>	n	n	++	n
<i>Yakomil</i>	n	n	n	n
<i>Japanese dog's Vide</i>	n	n	n	n
<i>Thistle</i>	n	n	n	n
<i>Yakssuk</i>	n	n	++	n
<i>Maxinowiczia tipica</i>	+	-	n	+
<i>Yongsoolche</i>	n	n	+++	n
<i>Yellow Day-Lily</i>	n	n	n	++
<i>Dotted bell flower</i>	n	n	+	n
<i>Jebissuk</i>	n	n	n	n
<i>Wild ginger</i>	n	-	n	n
<i>Plantain</i>	n	n	n	n
<i>Agromony</i>	n	n	n	n
<i>Anise</i>	n	n	n	n
<i>Amaranth</i>	n	n	++	n
<i>Aster</i>	n	n	+++	++
<i>Chwugchwugii</i>	-	n	+++	+
<i>Arrowroot leaf</i>	n	n	n	n
<i>Privet</i>	n	n	n	n
<i>Yarrow</i>	n	-	n	n
<i>Casterbean leaf</i>	n	n	n	n
<i>Bitter cress</i>	n	n	n	+

\* - : weakly inhibited (diameter 7-9mm)  
 - - : strong inhibited (diameter 10-15mm)  
 - - - : very strongly inhibited (diameter over 15mm)  
 n : no effected  
 + : weakly promoted (diameter 7-9mm)  
 ++ : strong promoted (diameter 10-14mm)  
 +++ : very strongly promoted (diameter over 15mm)

**Table 9.** Effects of the juices of some edible herbs on the growth of *Bif. longum* in broth culture

Sample	Growth	
	O.D. <sup>**</sup>	pH drop <sup>**</sup>
<i>Dodok root</i>	n	+
<i>Lychnis</i>	+	+
<i>Mansam root</i>	n	+
<i>Butterbur</i>	+++	+++
<i>Mugwort</i>	+++	++
<i>Yellow day-Lily</i>	+++	+++
<i>Aster</i>	+	+
<i>Bitter cress</i>	++	++

"n" : no effected  
 + : O.D. for sample/O.D. for control ; 1.0-1.1  
 ++ : O.D. for sample/O.D. for control ; 1.1-1.2  
 +++ : O.D. for sample/O.D. for control ; 1.2-1.3  
 O.D. at 600nm  
<sup>\*\*</sup>pH drop of medium after 24hr-incubation  
 + : <1.5 ++ : 1.5-2.0 +++ : >2.0

**Table 10.** Effects of the juices of some edible herbs on the growth of *Lac. acidophilus* KCTC 3151 in broth culture

Sample	Growth	
	O.D. <sup>**</sup>	pH drop <sup>**</sup>
<i>Dodok root</i>	+	+
<i>Lychnis</i>	+	+
<i>Mansam root</i>	++	+
<i>Butterbur</i>	+	+
<i>Mugwort</i>	++++	++
<i>Yellow day-Lily</i>	++	++
<i>Small water Dropwort</i>	+	++
<i>Bitter cress</i>	+++	++

++ : O.D. for sample/O.D. for control ; 1.0-1.1  
 +++ : O.D. for sample/O.D. for control ; 1.1-1.2  
 ++++ : O.D. for sample/O.D. for control ; 1.2-1.3  
 +++++ : O.D. for sample/O.D. for control ; >1.3  
 O.D. at 600nm  
<sup>\*\*</sup>pH drop of medium after 24hr-incubation  
 + : <1.5 ++ : 1.5-2.0 +++ : >2.0

*Bifidobacteria*의 생육을 촉진시키는 소재로서는 올리고당을 위시한 탄수화물소재와 생리활성인자로 나누어 연구가 이루어지고 있는데 최근 녹차의 polyphenol 화합물<sup>28)29)</sup> 인삼의 추출물<sup>30)</sup>과 녹차<sup>31)</sup>

### 산채류의 장내세균 생육영향

추출물에서 *Bifidus*균의 증식효과를 보고한 바 있으나 본 연구에서 증식 효과를 나타낸 소재들의 경우 산채의 성분들에 대해 거의 연구 보고된 바가 없기 때문에 그 유효성분의 분리, 정제 및 특성구명과 같은 연구가 뒤따라야 할 것이다.

한편 유익균인 *Lac.acidophilus* KCTC 3151을 액체배양시키면서 O.D.와 pH 감소량을 측정하여 상대적 생육촉진 정도를 조사한 결과(Table 10) 쑥, 원추리, 황새냉이, 들미나리, 머위 등이 균체량이 많고, 산생성에 의한 pH저하도가 크게 나타났다.

### 3. 인변중균의 혼합배양에 의한 *in vitro* 평가 이상 한천배지와 액체배지에서 배양 결과를

바탕으로 유해균인 *Cl.perfringens*의 생육저해 소재로서 쑥과 들미나리를, 그리고 *Bif. longum*의 생육을 촉진시키는 소재로서 쑥, 머위, 원추리, 황새냉이를 선별하여 이들이 인변에 존재하는 혼합균총의 조성에 어떤 변화를 줄 수 있는가를 분석하였다. Modified EG broth배지에 각 시료추출물을 첨가한 후 신선한 인변을 종균으로서 접종하여 혐기상태에서 배양하면서 12, 24, 36, 48시간대의 총균수와 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* 및 *Cl.perfringens* 등의 균수를 측정하였다(Fig. 1-3).

머위, 원추리, 황새냉이에 대해서 인변균 starter를 접종하여 배양한 결과(Fig. 1)에서 보는 바와 같이

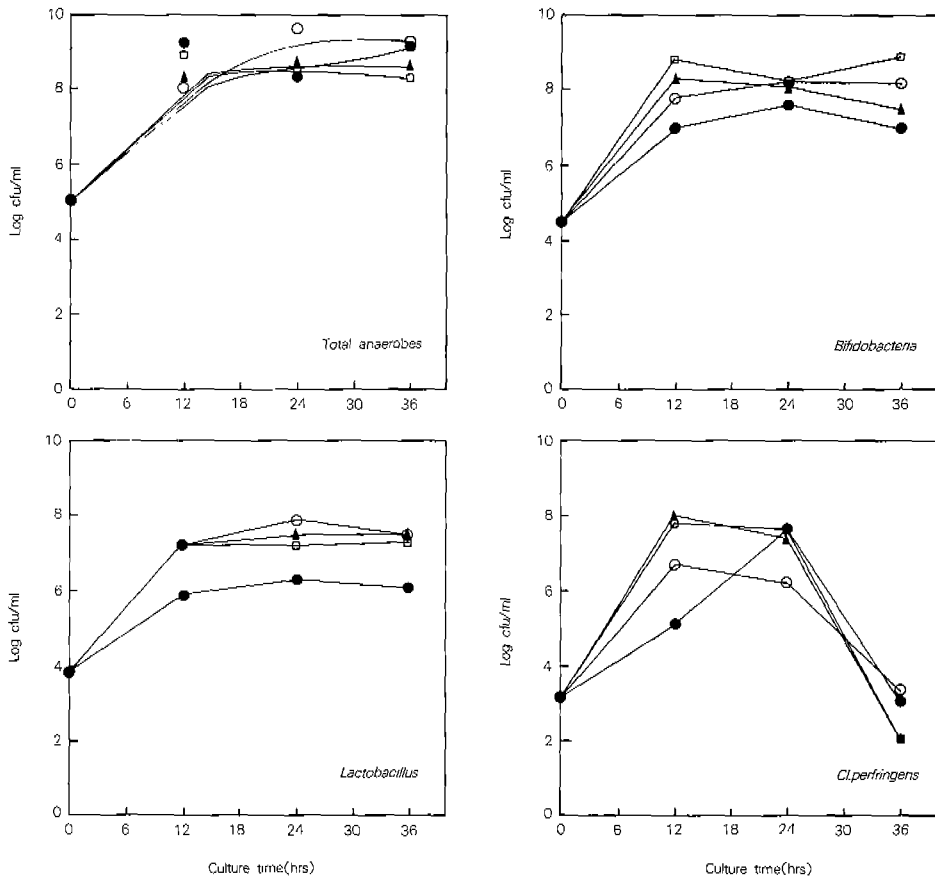


Fig. 1. Changes of feces microflora in the cultivation with the juices of butterbur, yellow day-lily and bitter cress.

Control (No addition)      Yellow Day-Lily (0.5%)  
 Butterbur (0.5%)          Bitter cress (0.5%)



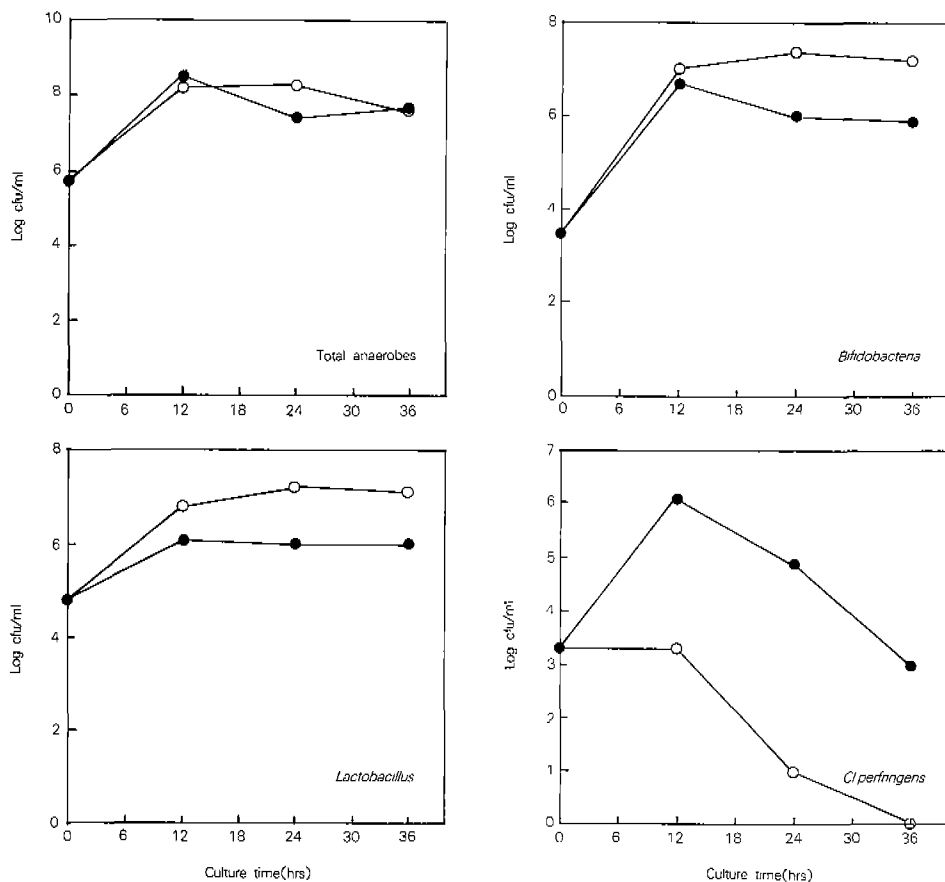


Fig. 2. Changes of feces microflora in the cultivation with the juice of small water dropwort. Control(No addition) Small water dropwort(0.5%)

머위의 경우 *Bifidobacteria*의 균수가 대조구에 비해서 5~16배나 많은 것을 알 수 있으며, *Lactobacillus*도 20배 이상 증가하고 있음을 볼 수 있다. 그러나 *Cl.perfringens*균의 억제에는 별 효과가 없는 것으로 나타났고, *E.coli*균은 약간 억제효과가 있는 것으로 보인다. 한편 원추리는 *Bifidobacteria* 균수를 3~20배 증가시키고, *Lactobacillus*는 15~28배 증가시켰으나, 유해균인 *Cl.perfringens*에는 억제효과가 없었고, *E.coli* 균은 약간 증가시키는 경향을 살펴볼 수 있다. 그리고 황새냉이도 역시 *Bifidobacteria*의 생육을 4~80배 정도 증가시켰고, *Lactobacillus*의 수를 10~20배 정도 증가시키고 있으나 *Cl.perfringens*와 *E.coli*에 대해서는 일관된 효과를 얻을 수 없었다.

다른 인변균을 종균으로 들미나리추출물을 첨가하여 배양한 결과(Fig. 2) 대조구에 비하여 *Bifidobacteria*의 생육을 2~23배 정도 증가시켰고, *Lactobacillus*를 6~16배 정도 증가시켰으며, *Cl.perfringens*의 균수는 확실히 감소시켰다.

또 다른 인변균을 종균으로 쑥물추출물 첨가하여 배양한 결과(Fig. 3)에서 종균수는 대조구에서 거의 비슷하게 배양 12시간에 최고치를 기록하고, 그후 48시간까지 감소하고 있음을 알 수 있는데 이러한 경향은 *Bifidobacteria*나 *Cl.perfringens*도 마찬가지이다. 특히 12시간 배양시 대조구 배양액의 pH가 5.5이고, 쑥의 시험구는 4.5수준으로 낮기 때문에 산에 저항성이 약한 *Cl.perfringens*의 수가 대조구보다 적어진 것으로 생각된다. 쑥의 첨가구가 대

산채류의 장내세균 생육영향

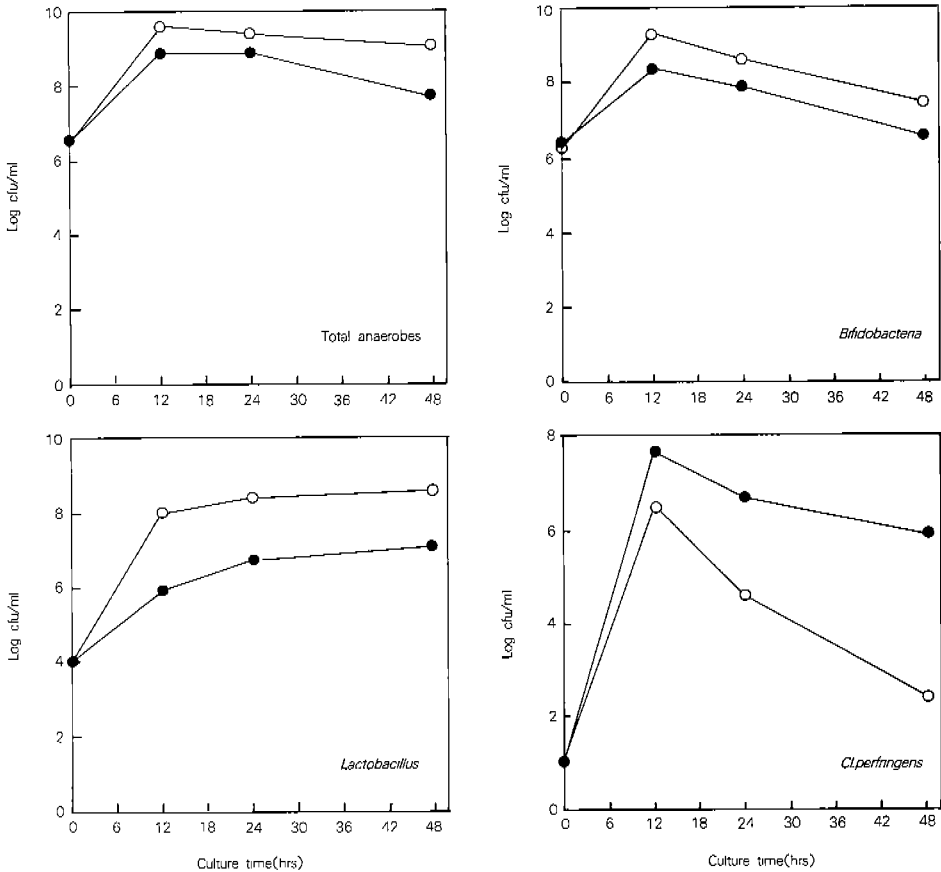


Fig. 3. Changes of feces microflora in the cultivation with the juice of mugwort. Control(No addition) Mugwort(0.5%)

조구에 비해서 *Bifidus* 생균수가 10배 정도 높게 나타났으며 48시간까지 배양기간 중 계속 높게 유지됨을 알 수 있으며, *Lactobacillus*의 경우도 축의 시험구에서 대조구에 비해 10배이상 균수가 많은 것을 알 수 있다.

여러 균을 혼합배양한 후 균총조성이 변화하는 것은 증식촉진성분에 대해서는 상대적 이용성의 차이에 따라 그리고 유해성분에 대해서는 상대적 저해성의 차이에 따라 균총이 변화하게 된다. 따라서 균총조성의 변화를 과학적으로 조사하기 위해서는 시험에 사용한 추출물들을 더욱 정밀하게 분획 또는 분리하여 이들 성분들이 각 균의 생육에 미치는 영향을 분석함과 아울러 각균의 상호작용을 조사해야만 혼합배양시의 균총변화를 설명할 수

있을 것이다.

이상에서 살펴본 소재들은 모두 인변균의 혼합 배양시 유익균인 *Bifidobacteria*와 *Lactobacillus*균에 대해서는 유해균인 *Cl.perfringens*나 *E.coli*균에 비해서 상대적으로 높은 생육 촉진 효과를 나타내고 있으므로 이들 유효성분의 분리, 확인과 함께 동물실험에 의해서 그 유효성을 평가할 필요가 큰 것으로 판단된다.

요 약

국내에 자생하고 있는 산채류 또는 산야초 60여종을 직접 채취하여 그 즙액, 물추출물 또는 에탄올 추출물을 이용하여 장내세균중 대표적 유해

균인 *Clostridium perfringens*의 생육을 저해하거나 유익균인 *Bifidus*균의 생육을 촉진시키는 소재를 *in vitro* 실험으로 탐색하였다. *Clostridium perfringens*의 억제 소재로서 들미나리와 쑥의 물추출물이 환천배양 및 액체배양에서 비교적 강한 저해 활성을 나타냈으며, 머위, 쑥, 원추리 및 황새냉이가 *Bif. longum*의 생육을 촉진시키는 활성을 보여주었다. 쑥, 머위, 원추리 및 황새냉이의 물추출물들은 인변종균을 혼합배양한 *in vitro* 평가실험에서도 유익균인 *Bifidus*균과 *Lactobacillus*균을 증식시키고, 유해균인 *Cl. perfringens*나 *E.coli*의 생육은 억제시키는 결과를 나타냄으로써 이들을 장내균총을 개선시킬 수 있는 유망한 소재로 선별하였다.

■ 감사의 글

본 연구는 1992년 (주) 미원 부설 한국음식문화연구원과 한국과학재단의 1992년 특정기초연구과제 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드리며 아울러 산채시료의 수집에 협조하여 주신 강원도 농촌진흥원 산채시험장 여러분에게 감사드립니다.

Literature cited

- 1) 1) Mistuoka T. Recent trends in research on intestinal flora *Bifidobacteria Microflora*. 1(1) : 3,1982
- 2) 光岡知足 · 腸内細菌學, 朝倉書店, 東京, 1990
- 3) Yazawa K, Nakajima A, Tamura Z. Growth of *Bifidobacteria* in adults, intestines on oral administration of sugar source, panthethine and riboflavin. *Bifidobacteria Microflora* 3(1) : 43-49,1984
- 4) Mistuoka T, Hidaka H, Eida T. Effects of fructo oligosaccharides on intestinal microflora. *Die Nah-rung*, 31(5-6) : 427-436, 1986
- 5) RC Mckellar and HW Modler. Metabolism of Fructo-oligosaccharides by *Bifidobacterium spp.*, *Appl Microbiol Biotechnol* 31 : 537-541, 1989
- 6) Yazawa T, Dilawri N. Measurement of growth of *Bifidobacteria* on inulofructo oligosaccharides, *Letters in applied Microbiology* 10 : 229-232, 1990
- 7) Yazawa K. Tamura Z. Search for sugar source for selective increase of *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria Microflora* 1(1) : 39-44, 1982

- 8) 장준환 · 권일경 · 김현욱. 한국모유아 장내에 분포하는 *Bifidobacteria*에 관한 연구. *한국낙농학회지* 5(2) : 111-120, 1983
- 9) 김상희 · 강국희. 한국유아의 분변종의 *Bifidobacterium*의 분포. *한국낙농학회지* 6(2) : 126-134, 1984
- 10) 허철성 · 이수원 · 유래병. 한국유아 분변에 분포하는 *Bifidobacteria*에 관한 연구. *한국낙농학회지* 11(1) : 16-25, 1988
- 11) 임광세 · 허철성 · 백영진. *Bifidobacteria bifidum* HY-8108의 우유내 성장에 관한 연구. *한국낙농학회지* 12(2) : 172-180, 1990
- 12) 강국희 · 신현경 · 박연희 · 이택수. 유산균이 생성하는 항균성 물질에 관한 연구. *한국낙농학회지* 11(3) : 204-216, 1989
- 13) 박종현 · 한남수 · 유진영 · 권동진 · 신현경 · 구영조. *Bifidobacterium spp.*와 *Clostridium perfringens*의 생육에 영향을 주는 식품소재의 탐색. *한국식품과학회지* 25(5) : 582-588, 1993
- 14) 김장곤 · 김수일 · 신현경. 돼지간자 Fructo 올리고당-Inulin이 돼지의 주요장내균의 생육에 미치는 영향. *한국식품과학회지* 25(4) : 395-399, 1993
- 15) Kim H Y, Bae H S, Baek Y J. *Journal of Korean Cancer Association*, 23(2) : 188-196, 1989
- 16) Smith L.DS. Virulence factors of *Clostridium perfringens*. *Reviews of Infections Diseases* 1(2) : 254-262, 1979
- 17) 신옥호 · 유시승 · 이완규 · 신현경. 방기(*Sinomenium acutum*)의 물추출물이 주요 장내미생물의 생육에 미치는 영향. *산업미생물학회지* 20(5) : 491-497, 1992
- 18) 신현경 · 신옥호 · 구영조. 간자단백질이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내미생물의 생육에 미치는 영향. *산업미생물학회지* 20(3) : 249-256, 1992
- 19) 신현경. *Clostridium perfringens* 생육을 억제하는 장내세균 탐색. 춘계학술발표대회 논문초록, 한국산업미생물학회 Apr. 24 : 87,1992
- 20) 박철호 · 이기철. 식용산채생산, 선진문화사, 1991
- 21) 윤국병 · 장준근. 맛있는 산나물 100선, 석오출판사, 1990
- 22) 최영전. 한국민속식물, 아카데미출판사, 1992
- 23) 황은희. 야생나물의 이용실태조사. *한국영양식품학회지* 20(5) : 440-446, 1991

산채류의 장내세균 생육영향

- 24) 김용두 · 양원모. 산채의 성분에 관한 연구. *한국 식품과학회지* 15(4) : 10-16, 1991
- 25) 최영전. 산나물의 재배와 이용법, 오성출판사, 1993
- 26) Mitsuoka T. *A Color Atlas of Anaerobic Bacteria*, Sobunsha, 53-65, Japan, 1980
- 27) LA Mitscher, Okwuoke SK, Gollapudi SR, Drako S, Avona E. Antimicrobial pterocarpanes of Nigerian *Erythrina mildbraedii* Phytochemistry 26 : 2231-2234, 1988
- 28) Okubo T, Ishihara N, Oura A, Serit M, Kim M J, Yamamoto T, Mitsuoka T. *In vivo* Effects of Tea polyphenol intake on human intestinal microflora and metabolism. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56(4) : 588-591, 1992
- 29) Ahn YJ, Kawamura T, Kim MJ, Yamamoto T, Mitsuoka T. Tea polyphenols : Selective growth Inhibitors of Clostridium spp. *Agric Biol Chem* 55(5) : 1425-1426, 1991
- 30) Ahn YJ, Kim MJ, Yamamoto T, Fujisawa T, Mitsuoka T. Selective growth responses of human intestinal bacteria to *Araliaceae* extracts. *Microbial Ecology in Health and Disease* 3 : 223-229, 1990
- 31) Ahn YJ, Sakanakamoto S, Kawamura T, Fujisawa T, Mitsuoka T. Effect of green tea extract on growth of intestinal bacteria. *Microbial Ecology in Health and Disease* 3 : 335-338, 1990