

## 생약 추출물이 유산균의 생육 및 동결건조 보호제로서의 효과

최종범 · 신용우 · †백남수 · 김영만\*

한경대학교 식품생물공학과 및 식품생물 산업연구소, \*(주) 메디오젠

### Influence of Herbal Extract on Lactic Acid Bacteria Growth and Cryoprotectants

Jong-Bum Choi, Yong-Woo Shin, †Nam-Soo Paek and Young-Man Kim\*

Dept. of Food & Biotechnology, Food & Biotechnology Research Center, Hankyong National University

\*Mediogen, Co. Ltd, Seoul 133-111, Korea

#### Abstract

Extract of *Eleutherococcus senticosus*, *Lycium chinensis*, *Angelica acutiloba* and *Schizandra chinensis* were investigated to determine whether its addition may inflict on growth of lactic acid bacteria, freeze dry and cell viability during the storage. In cultivation with herbal extract, all strains tested did not demonstrate a significant reduction in their cell population, particularly *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei*. But *Schizandra chinensis* extract inhibited growth of several strains. Immediately after freeze-drying using the skim milk 10%(w/v), sucrose 5%(w/v) with herbal extract 2.5%(v/v), the percentage viability was about 81.7%, 63.8%, 73.2%, 78.1% in *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei*, *L. casei* respectively. The protective effect of herbal extract to cell damage from freeze-drying was weak in comparison with control. During accelerated storage of freeze-dried lactic acid bacteria, those survival rate decrease rapidly, reaching 8~18% in one month. But addition of *Eleutherococcus senticosus* extract in freeze dry of *L. acidophilus* showed a positive activity in storage.

Key words: prebiotics, lactic acid bacteria, freeze-drying cryoprotectant.

#### 서 론

생활 수준의 향상과 함께 무병 장수에 대한 관심이 증대되고 있는 추세에 있고 수명이 점차 연장되고는 있으나 각종 공해와 스트레스, 운동량 부족, 패스트푸드 섭취의 증가에 따라 암, 고혈압, 당뇨, 간 질환 등의 질병이 늘어나고 이로 인한 사망률도 점차 증가 추세에 있다. 이의 대처방안으로 약초로부터 성인병을 예방하거나 치료하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있으며 의약품보다는 손쉽게 접할 수 있고 비교적 안전

하게 복용할 수 있는 건강 식품을 선호하게 되어 매년 그 시장 규모가 증가하고 있다. 특히 생약 중에서 식품공전에 수록된 구기자, 오가피, 오미자, 당귀 등이 전통차류나 캔 음료 및 건강 식품의 원료 등으로 개발되어 꾸준히 상용되고 있다<sup>1,2)</sup>.

당귀(*Angelica acutiloba* Kitagawa)는 미나리과에 속하는 독특한 맛과 향을 지닌 다년생 초본으로 주 성분은 decusin, decursinol, α-pinene, limonene, β-edudesmol, elemol 등이 함유되어 자궁 기능 조절, 진정, 진통, 이뇨, 항균, 사하작용의 효능이 있으며 어린 순은 나

† Corresponding author : Young-Man Kim, Department of Food & Biotechnology and Food & Biotechnology Research Center, Hankyong National University, 67 Seokjeong-dong, Ansong, Kyonggi-do 456-746, Korea.

Tel: 82-31-670-5150, Fax: 82-31-677-0990, E-mail: kimagi@hanmail.net

물로 먹고 약은 주로 뿌리를 이용하는데 특히 보혈과 여성의 생리 조절 능력이 우수한 것으로 알려져 있다<sup>3)</sup>.

오미자(*Schizandra chinensis* Baillon)는 목련과(Magnoliaceae)에 속하는 낙엽성 식물로 적색으로 성숙된 열매를 사용하는데 단맛, 신맛, 매운맛, 짠맛, 쓴맛의 5가지 맛을 가지고 있다고 하여 오미자라 이름이 붙여졌으며 전체적으로는 신맛을 가지고 있다. 열매의 성분은 정유인 schizandrin과 gomisin A가 주 성분이고 그 외 지방산과 sterol, 유기산인 citric acid, malic acid, succinic acid, 비타민 C 및 47종의 휘발성 정유 성분이 포함되어 있다. 오미자는 옛날부터 노화를 방지하고 건강증진을 예방하는 약재로 사용되었으며<sup>3~5)</sup> 특히 해소와 천식에 유효하고 갈증과 피로를 풀어주는 자양 강장제로 쓰였으며 중추 억제 작용, 혈압 강하 작용 및 알콜 해독 작용이 있다. 또한 혈당 강하 작용<sup>6)</sup>, 손상된 간기능 복구 효과<sup>7)</sup>, 항균 및 항궤양 작용<sup>8)</sup>, 항암 및 항종양 효과<sup>9)</sup>, nitric oxide 생성 촉진 작용<sup>10)</sup> 등이 보고되었으며 끓이지 않고 불려서 차로 마시거나 술을 만들어 먹기도 한다.

가시오가피(*Eleutherococcus senticosus* Maxim)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 낙엽성 관목으로 검은색으로 성숙된 상태의 줄기나 뿌리의 껍질을 사용하여 이를 오가피라 부른다. 시베리아 인삼으로도 불리는데 1969년 Brekmann에 의해 스트레스에 대한 생체의 적응력 및 피로 회복에 효과가 매우 우수한 것으로 보고하였으며<sup>11)</sup> 근피나 수피 추출물중 lignan과 iridoid glycoside류 등이 기관지 천식, 항알러지<sup>12)</sup>, 항바이러스<sup>13)</sup>, 항우울증<sup>14)</sup>, 항고지혈증 및 면역 증진 효과가 있는 것으로 알려져 있으며<sup>15)</sup> isofraxidin는 이담작용이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>16)</sup>. 오가피의 일반적 주 성분은 tannin, saponin, palmitic acid, seasmin, vitamin A, B 등이 함유되어 있으며 식품 원료로 고시되어 있어 다양한 건강식품으로 판매되고 있다.

구기자(*Lycium chinensis* Miller)는 가지과(Solanaceae)에 속하는 낙엽성 관목으로서 우리나라 전 지역에서 재배되며 뿌리는 지골피, 잎은 구기엽, 어린 순은 천정초, 열매는 구기자로 불리는데 동의보감<sup>17)</sup>에 구기자는 자양, 강장, 보혈, 지갈 등에 효과가 있는 것으로 기록되어 있고 본초강목<sup>18)</sup>에는 독성이 없고 근골을 단단하게 하여 늙지 않으며 더위와 추위를 타지 않고 당뇨병이나 신경마비 등에 효능이 있는 것으로 기술하고 있다. 주 성분은 physaligen과 betaine, zeaxanthin, rutin, choline,  $\beta$ -sitosterol, vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C 등을 함유하고 있다. 일반적인 약리 작용으로는 콜레스테롤 저하와 간세포 신생 촉진 및 빈혈 치유 등의 효과가 있는 것으로

알려져 있다<sup>19)</sup>. 열매를 물에 달여 차로 마시며 약용으로는 면역 증강 작용과 강장제로 쓰인다.

한편 유산균은 1908년 Pasteur 연구소의 러시아 미생물학자인 Metchnikoff가 Balkan지방 주민의 장수가 유산균이 함유된 요구르트를 상용한 것에 기인한다고 보고한 이래 의약품과 건강식품에 재료로 널리 사용되고 있다. 전 세계적으로 이용되는 주요 유산균종은 *Lactobacillus* 속으로 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. fermentum* 등이 있고 *Lactococcus* 속으로는 *L. lactis*, *Bifidobacterium* 속으로는 *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis* 등이 있다. 유산균은 장내 정상 세균총의 유지, 부패 세균에 의해서 발생된 독성 물질의 분해, 항암 효과, 유당 분해, 면역 증강 작용 및 혈중 콜레스테롤의 저하 등의 기능이 많은 문헌에 의해 보고되고 있다<sup>20~24)</sup>. 이러한 유산균들은 자신들의 성장에 도움을 주는 물질들이 있는데 Gibson과 Roberfroid 등<sup>25)</sup>은 이러한 물질을 prebiotics라 하고 대장에서 선택적으로만 균주 또는 소수의 균주를 활성 및 성장을 촉진 하므로서 숙주에게 이익을 주는 소화될 수 없는 식품으로 정의하였다.

Prebiotics로는 fructooligosaccharid, galactooligosaccharide, lactitol, lactulose 및 대두 oligosaccharide 등이 있다. 최근에 많은 형태의 요구르트 및 유산균 함유 건강식품에서 유산균과 prebiotics가 혼합된 형태의 제품이 유행하고 있으며 이렇게 조합된 제품을 synbiotics라 한다.

위에 언급한 생약들은 약용으로 쓰이지만 현재는 기호식품 및 기능성 식품으로 개발되어 많이 응용되고 있는데 이러한 식품을 복용하였을 때 장내 세균 특히 유익균인 유산균에 대해서 어떠한 영향을 미치는지 아직까지 조사된 바가 없다. 이에 본 연구에서는 한약 차류 및 한방 기능성 식품으로 대중화되어 있는 4 종류의 생약 추출물이 유산균에 대하여 어떠한 영향을 미치는가를 조사하고 증식인자로서의 효과를 확인하여 유산균과 한약이 결합된 제품의 가능성을 확인해보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 사용균주 및 보존

사용된 균주는 (주)메디오젠에서 *Lactobacillus acidophilus* 외 15종을 분양 받아 MRS agar 배지(Difco, Maryland, USA)에 stab culture 하여 4°C에서 냉장 보관하면서 3주마다 계대하여 사용하였고, 또한 장기보존

을 하기 위해서 멸균된 20% glycerol(Shinyo Chem. Japan)(w/v)에 배양액을 현탁하여 -70℃의 Deep freezer (Operon-128c, Korea)에 보관하며 사용하였다.

## 2. 사용배지

유산균 증식용 배지로 *Lactobacillus*속 및 *Enterococcus*속은 MRS 배지(Difco, Maryland, USA)를 사용하였고 *Bifidobacterium*속은 BL 배지(영연, Japan)를 사용하였으며 유산균 총균수 측정용 배지는 *Lactobacillus*속 및 *Enterococcus*속은 glucose 함량을 1%로 높은 BCP(영연, Japan), *Bifidobacterium*속은 BL 배지(영연, Japan)를 사용하였다. 희석수는 0.9% 멸균 생리식염수를 조제하여 사용하였다.

## 3. 생약 추출물의 제조

4종의 생약을 농협 하나로 마트에서 2003년생으로 구입하였으며 구기자, 청양, 오미자와 오가피 및 당귀는 정선지역 제품을 사용하였다. 실험에 사용한 생약 추출물은 각각의 생약 1 kg에 대하여 증류수 10 l를 가한 후 3시간 가열(100℃), 온탕(80℃) 후 여과하여 앞서 추출한 1차 추출물을 회수하고 남은 생약에 다시 증류수 10 l를 가한 후 3시간 가열(100℃), 온탕(80℃) 후 여과하여 앞서 추출한 1차 추출물과 혼합하여 가열 농축을 한 후 1 l로 만든 다음 냉장 보관하였으며 유산균 증식 및 동결건조 보호제의 기본 첨가제로 사용하였다.

## 4. 생약 추출물에 대한 유산균의 생육 조사

냉장 보관된 종균 중 *Lactobacillus* 속 및 *Enterococcus*속은 MRS배지에 *Bifidobacterium* 속은 BL 배지에 접종 후 37℃에서 24시간 배양한 다음 각각의 생약 추출물이 10%(v/v), 50%(v/v), 100%(v/v) 함유된 배지에 5%씩 접종 후 48시간 배양하였다. 배양이 완료된 뒤 1 ml의 배양액을 멸균 생리식염수 9 ml가 든 cap tube에 넣고 잘 섞은 후 차례로 단계 희석한 다음 1 ml를 취하여 *Lactobacillus* 속 및 *Enterococcus* 속은 glucose 함량을 1%로 높은 BCP plate count agar에 접종하여 잘 혼합하고, *Bifidobacterium* 속은 BL agar 배지에 접종하여 도말 평판 배양한 후 혐기성 상자(BBL Gas Pak Anaerobic System)에 넣고 37℃에서 48시간 배양 후 생성된 집락수를 계측하고 그 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 배양액 ml당 생균수를 산출하였다.

## 5. 산도 측정

산도는 식품공전 방법에 준하여 측정하였고, 균질

화된 시료 9 g에 동량의 증류수를 가하여 1% phenolphthalein alcohol 0.5 ml를 가한 후 0.1N NaOH 용액으로 적정하여 엷은 홍색이 30초 유지되는 시점에서의 소비량을 측정하여 다음 식에 의해 총산을 적정하였다.

$$\text{Total activity} = 0.1 \text{ N NaOH(ml)} \times F \times 0.9 / \text{sample(g)} \\ (f=0.1\text{N NaOH의 factor})$$

## 6. 동결건조 보호제 성분으로서의 생약 추출물 효과

생약 추출물에 대하여 증식이 양호한 각각의 균주를 6 l 발효조(NBS, Bioflo IV)에서 MRS 배지를 사용하여 배양한 후 원심분리(8,000 rpm×10 min) 하여 균체를 회수하였다. 회수된 균체는 skim milk 10%(w/v), sucrose 5%로 구성된 기본보호제 조성물에 대하여 각각의 생약 추출물을 2.5%(v/v)로 첨가하여 균질화 한 후 -40℃로 동결시킨 다음 동결건조기(IL-Shin, Lab)에서 건조하였다. 건조된 균체는 분쇄하여 분말화시킨 다음 멸균 생리식염수에 단계 희석하여 BCP 배지에 도말한 후 37℃에서 48시간 배양한 다음 생균수를 측정하여 동결건조 후의 생존율을 표시하였다.

## 7. 가혹조건에서의 동결건조 균원료의 경시변화

생약 추출물을 skim milk 10%(w/v), sucrose 5%(w/v)로 구성된 기본 보호제 조성물에 2.5% 첨가하여 동결 건조한 균 원료를 vial에 10 g씩 넣고 밀봉한 다음 온도 37℃, 습도 70%를 유지하는 항온항습기(SE-96HP, Korea)에서 1개월간 방치시킨 후 시료를 채취하여 멸균 생리식염수에 단계 희석하여 BCP 배지에 도말한 후 37℃에서 48시간 배양한 다음 생균수를 측정하여 가혹조건에서의 생존율을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 생약 추출에 대한 유산균의 생육

유산균주 16종에 대하여 생약인 가시오가피, 구기자, 당귀 및 오미자 추출물을 MRS broth에 각각 50%(v/v)씩 첨가한 배지에서의 생육상태를 조사한 결과 Table 1에서와 같이 가시오가피 추출물을 첨가한 경우 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. pentosus* 균주가 생육이 양호하였으며, 구기자 추출물을 첨가한 경우 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei* 등이 양호하였고 당귀 추출물에서는 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. lactis* 등이 잘 생육하였으며, 오미자 추출물에서는 *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. pentosus* 등이 양호하였다.

**Table 1. Result of lactic acid bacteria growth in the various herbal extract**

Strain	C <sup>a)</sup>	O <sup>b)</sup>	D <sup>c)</sup>	G <sup>d)</sup>	GO <sup>e)</sup>
<i>L. bulgaricus</i> MG515	++++ <sup>1)</sup>	++ <sup>3)</sup>	++++	+++ <sup>2)</sup>	++++
<i>L. pentosus</i> MG402	++++	++	++	++	+++
<i>L. acidophilus</i> MG501	++++	++	++++	+++	++++
<i>L. casei</i> MG311	++++	- <sup>5)</sup>	++	+++	+++
<i>L. paracasei</i> MG310	++++	+ <sup>4)</sup>	++++	++	++++
<i>L. rhamnosus</i> MG315	++++	++	++	+	+
<i>L. reuteri</i> MG505	++++	+	+	+	+
<i>L. brevis</i> MG19	++++	-	++	+	+
<i>L. plantarum</i> MG208	++++	+	+++	-	+
<i>L. lactis</i> MG530	++++	+	+++	++	++
<i>L. gasseri</i> MG 423	++++	+	+	+	+
<i>L. jhonsonii</i> MG450	++++	+	++	++	+
<i>Bi. longum</i> MG723	++++	+	++	+	++
<i>Bi. breve</i> MG729	++++	+	++	++	++
<i>En. faecium</i> MG89	++++	+	++	++	++
<i>St. thermophilus</i> MG510	++++	+	++	-	++

<sup>1)</sup> Viable cell(CFU/ml)  $\geq 10^7$ , <sup>2)</sup>  $\geq 10^6$ , <sup>3)</sup>  $\geq 10^5$ , <sup>4)</sup>  $\geq 10^4$ , <sup>5)</sup>  $\leq 10^4$ .

<sup>a)</sup> Control <sup>b)</sup> *Schizandra chinensis* Baillon, <sup>c)</sup> *Angelica acutiloba* Kitagawa, <sup>d)</sup> *Lycium chinensis* Miller, <sup>e)</sup> *Eleutherococcus senticosus* Maxim.

## 2. 동결 건조 보호제로서의 역할과 경시 변화

생약 추출물에 대한 유산균의 생육 결과를 토대로 하여 한약재 추출물의 농도별 첨가에 의한 증균 시험과 동결건조 보호제로서의 역할 및 이들을 함유한 동

결건조 균 원료에 있어서의 경시 변화를 측정하였다. 즉, 생약을 유산균 증균 배지인 MRS broth에 10%, 50%, 100% 비율로 첨가하여 증식정도를 조사한 결과 가시오가피 추출물을 농도별로 첨가한 경우 Table 2에 서와 같이 *L. acidophilus* 균주에서는 10% 첨가 시 증가 하는 경향을 보였고 100% 첨가농도에서도  $1.4 \times 10^8$  CFU/ml의 높은 생균수를 보였다. 최종 배양액 pH는 첨가한 농도가 높을수록 높은 수치를 나타냈고 산도는 전반적으로 낮아지는 경향을 보였다. *L. paracasei* 균주는 첨가한 농도가 높아질수록 점차 감소하는 경향을 보였으며 100% 첨가 농도에서도  $5.3 \times 10^7$  CFU/ml로 *L. acidophilus* 보다는 낮으나 증식하는데는 문제가 없는 것으로 나타났다. *L. bulgaricus* 균주는 생육상태와 최종 pH 및 산도에 있어서 *L. acidophilus*와 매우 유사한 결과를 보였다. 구기자추출물을 농도별로 첨가한 경우 Table 3에서와 같이 *L. acidophilus* 균주에서는 가시오가피 추출물 첨가시의 결과와 마찬가지로 10%까지는 배양액 생균수가 증가하는 추세를 보였고 100% 첨가농도에서도  $1.6 \times 10^9$  CFU/ml 정도의 높은 증식상태를 나타냈으며 배양액 최종 pH는 구기자 추출물의 첨가농도에 비례하여 점차 높은 수치를 나타냈으며, 산도는 점차 감소하는 경향을 보였다. *L. paracasei* 및 *L. bulgaricus*의 경우 가시오가피 추출물을 첨가하였을 때의 결과와 매우 유사한 상태를 나타냈다. 당귀 추출물을 농도별로 첨가한 경우 Table 4에서와 같이 *L. acidophilus* 균주는 가시오가피나 구기자 추출물의 첨가시 보다 전반적으로 배양액 균수는 감소하는 경향이 있으나 10% 첨가농도와 50% 첨가농도에서도 거의

**Table 2. Results of pH, total acidity and growth of selected strains in MRS broth added with *Eleutherococcus senticosus* Maxim extract**

Concentration (%)	After culture for 24hours	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. paracasei</i>
0	Final pH	3.7	3.7	3.8
	Acidity (%)	1.8	1.8	2.3
	Viable cell (CFU/ml)	$3 \times 10^9$	$3.7 \times 10^9$	$1.0 \times 10^9$
10	Final pH	3.6	3.6	3.6
	Acidity (%)	2.2	2.2	2.3
	Viable cell (CFU/ml)	$3.5 \times 10^9$	$2.8 \times 10^9$	$8 \times 10^8$
50	Final pH	3.6	3.5	3.5
	Acidity (%)	1.5	1.6	1.56
	Viable cell (CFU/ml)	$1.6 \times 10^9$	$1.5 \times 10^9$	$3.6 \times 10^8$
100	Final pH	4.1	4.0	4.0
	Acidity (%)	0.56	0.59	0.63
	Viable cell (CFU/ml)	$1.4 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	$5.3 \times 10^7$

**Table 3. Results of pH, total acidity and growth of selected strains in culture broth added with *Lycium chinensis* Miller extract**

Concentration (%)	After culture for 24hours	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. paracasei</i>
0	Final pH	3.7	3.7	3.8
	Acidity (%)	1.8	1.8	2.3
	Viable cell (CFU/ml)	$3 \times 10^9$	$3.7 \times 10^9$	$1.0 \times 10^9$
10	Final pH	3.6	3.6	3.5
	Acidity (%)	3.00	2.91	3.06
	Viable cell (CFU/ml)	$3.7 \times 10^9$	$3.7 \times 10^9$	$1.1 \times 10^9$
50	Final pH	3.8	3.9	3.8
	Acidity (%)	3.70	3.42	3.46
	Viable cell (CFU/ml)	$2.8 \times 10^9$	$2.1 \times 10^9$	$3.6 \times 10^8$
100	Final pH	4.0	4.1	4.0
	Acidity (%)	4.03	4.07	4.24
	Viable cell (CFU/ml)	$1.6 \times 10^9$	$1.5 \times 10^9$	$3.0 \times 10^8$

**Table 4. Results of pH, total acidity and growth of selected strains in MRS broth added with *Angelica acutiloba* Kitagawa extract**

Concentration (%)	After culture for 24hours	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. casei</i>
0	Final pH	3.7	3.7	3.6
	Acidity (%)	1.8	1.8	2.08
	Viable cell (CFU/ml)	$3 \times 10^9$	$3.7 \times 10^9$	$5.7 \times 10^9$
10	Final pH	3.6	3.6	3.6
	Acidity (%)	2.1	2.27	2.34
	Viable cell (CFU/ml)	$2.7 \times 10^9$	$3.8 \times 10^9$	$5.1 \times 10^8$
50	Final pH	3.7	3.6	3.7
	Acidity (%)	2.41	2.41	2.32
	Viable cell (CFU/ml)	$2.4 \times 10^9$	$3.6 \times 10^9$	$4.6 \times 10^8$
100	Final pH	3.9	3.9	3.8
	Acidity (%)	2.07	2.3	2.2
	Viable cell (CFU/ml)	$1.3 \times 10^9$	$3.2 \times 10^8$	$2.8 \times 10^9$

비슷한 생육상태를 나타냈다. *L. bulgaricus* 균주는 특히 100% 첨가 농도에서도 배양액 생균수, 최종 pH, 산도 등에서 대조군과 유사한 수치를 보임으로써 당귀 추출물이 *L. bulgaricus* 생육에 매우 적합함을 나타냈다. *L. casei* 균주는 대조군에 비해 첨가 농도가 높아질수록 배양액 생균수는 감소하는 경향을 보였으나 전반적으로 배양액 생균수도 높고 생육 상태도 양호하게 나타났다. 오미자 추출물을 농도별로 첨가한 경우 Table 5에서와 같이 *L. acidophilus* 균주는 50% 첨가 농도 이상 첨가시 생육이 급속히 감소하는 경향을 보였

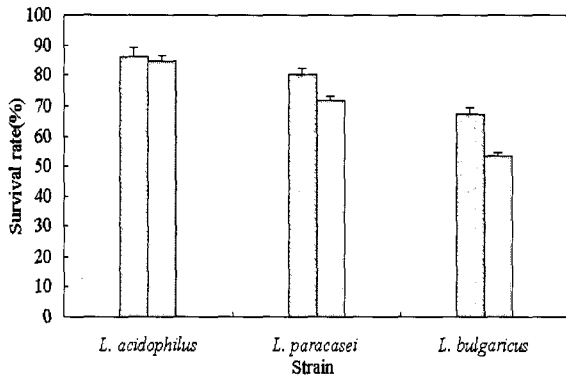
는데 이는 오미자 추출물 자체의 산도가 매우 높아 높은 농도로 첨가시 배지의 산도가 높아지고 pH 또한 매우 낮아 유산균이 자랄 수 없는 환경이 되어 균 증식이 억제됨을 나타냈다. *L. pentosus*와 *L. rhamnosus* 균주는 10% 첨가 농도의 경우 각각의 대조군에 비해 동등 이상의 증식상태를 보였으나 50% 첨가농도와 100% 첨가 농도에서 *L. acidophilus*와 마찬가지로 증식이 억제되었다.

### 3. 동결건조 보호제로서의 효과

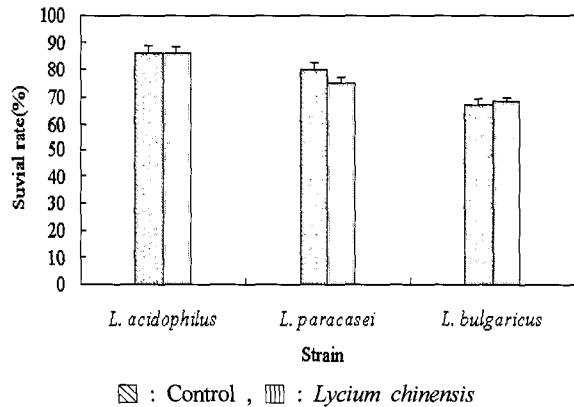
**Table 5. Results of pH, total acidity and growth of selected strains in MRS broth added with *Schizandra chinensis* Baillon extract**

Concentration (%)	After culture for 24hours	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. rhamnous</i>
0	Final pH	3.7	3.6	3.5
	Acidity (%)	1.82	2.03	2.54
	Viable cell (CFU/ml)	$3 \times 10^9$	$1.1 \times 10^9$	$4.9 \times 10^8$
10	Final pH	3.6	3.6	3.5
	Acidity (%)	3.13	2.46	3.07
	Viable cell (CFU/ml)	$1.1 \times 10^9$	$1.2 \times 10^9$	$4.7 \times 10^8$
50	Final pH	2.8	2.8	2.9
	Acidity (%)	8.46	8.28	8.53
	Viable cell (CFU/ml)	$< 10^5$	$< 10^4$	$< 10^4$
100	Final pH	2.4	2.4	2.5
	Acidity (%)	15.12	15.48	14.5
	Viable cell (CFU/ml)	$< 10^4$	$< 10^4$	$< 10^4$

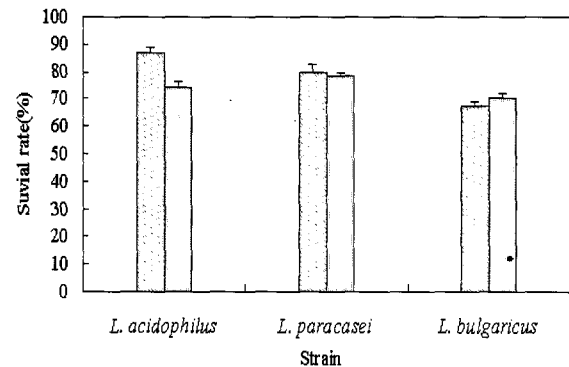
오미자를 제외한 나머지 생약을 이용하여 동결건조 보호제로서의 역할을 조사한 결과 skim milk 10%(w/v), sucrose 5%(w/v)로 구성된 기본 보호제 조성물에 가지 오가피 추출물을 2.5%(V/V) 첨가한 경우 Fig. 1에서와 같이 *L. acidophilus* 균주의 경우 대조군과 비교하여 거의 변화가 없으나 *L. paracasei* 및 *L. bulgaricus*의 경우 약 10% 정도 생존율 감소를 보였다. 구기자 추출물을 2.5% 첨가한 경우에는 Fig. 2와 같이 *L. paracasei* 균에서 약 5% 정도 감소가 보였으나 *L. acidophilus* 및 *L. bulgaricus*에서는 동등 이상의 생존율을 보였다. 당귀 추출물을 2.5% 첨가한 경우 Fig. 3에서와 같이 *L. bulgaricus* 균에서는 대조군보다 약간 생존율이 높았으나 *L. casei* 균에서는 거의 동등한 효과를 나타냈고, *L. acido-*



**Fig. 1. Survival rate of selected strains in freeze-dry using the *Eleutherococcus senticosus* Maxim extract as cryoprotectant.**



**Fig. 2. Survival rate of selected strains in freeze-dry using the *Lycium chinensis* Miller extract as cryoprotectant.**



**Fig. 3. Survival of selected strains in freeze-dry using the *Angelica acutiloba* Kitagawa extract as cryoprotectant.**

*philus*에서는 약 10%의 생존율 감소를 나타냈다. 따라서 구기자 추출물의 경우, *L. acidophilus*와 *L. bulgaricus*에서 당귀 추출물의 경우 *L. bulgaricus*와 *L. casei*에서 동결 보호제로서 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 4. 가혹조건에서의 경시 변화

생약 추출물을 보호제로 첨가하여 얻은 동결 건조균 원료에 대한 가혹조건에서의 생존율을 조사한 결과 가시오가피 추출물을 2.5% 첨가하여 동결 건조한 균 원료를 온도 40℃, 습도 70% 유지하는 항온항습기에서 한달간 방치시킨 후 생존율은 Table 6에서와 같이 *L. acidophilus*의 경우 대조군에 비해 약 6% *L. paracasei*와 *L. bulgaricus*의 경우 약 3%의 생존율 증가를 보여 가혹조건에서 균의 생존율을 연장시키는데 역할을 하는 것으로 보이며, 구기자추출물을 2.5% 첨가하여 동결 건조한 균원료의 경우 *L. paracasei*에서 약 1.5% 정도 증가를 나타냈으며, *L. acidophilus*와 *L. bulgaricus*에서는 약 1% 정도 감소하는 경향을 보였다(Table 7).

**Table 6. Survival rate of freeze-dried cell powder using the *Eleutherococcus senticosus* Maxim extract as cryoprotectant after 1 month storage period at the 40℃ and humidity 70%**

Strain	Survival rate(%) after 1 month storage period	
	Control	Addition with <i>Eleutherococcus senticosus</i>
<i>L. acidophilus</i>	12.3	18.0
<i>L. paracasei</i>	7.3	10.4
<i>L. bulgaricus</i>	10.5	13.6

**Table 7. Survival rate of freeze-dried cell powder using the *Lycium chinensis* Miller extract as cryoprotectant after one month storage period at the 40℃ and humidity 70%**

Strain	Survival rate(%) after 1 month storage period	
	Control	Addition with <i>Lycium chinensis</i>
<i>L. acidophilus</i>	12.3	11.1
<i>L. paracasei</i>	7.3	8.8
<i>L. bulgaricus</i>	10.5	10.1

**Table 8. Survival rate of freeze-dried cell powder using the *Angelica acutiloba* Kitagawa extract as cryoprotectant after 1 month storage period at the 40℃ and humidity 70%**

Strain	Survival rate(%) after 1 month storage period	
	Control	Addition with <i>Eleutherococcus senticosus</i>
<i>L. acidophilus</i>	12.3	8.0
<i>L. casei</i>	9.3	9.0
<i>L. bulgaricus</i>	10.5	11.2

당귀추출물을 2.5% 첨가하여 동결 건조한 균 원료의 경우 *L. bulgaricus*에서 약간의 생존율 증가를 보였으나 *L. acidophilus*와 *L. casei* 균에서 감소 현상을 나타냈다.

따라서 가시오가피 추출물의 경우 균체의 장기보존시 보호제로 사용될 수 있는 가능성을 보여 주었다(Table 8).

## 요 약

가시오가피, 구기자, 당귀, 오미자의 열수 추출물이 유산균의 생육과 동결 건조시 보호제로서의 역할 및 동결 건조된 유산균원료의 저장 시 생존율에 미치는 영향을 조사하였다. MRS 배지에 생약 추출물을 첨가한 경우 유산균주 16종에 대하여 가시오가피, 구기자, 당귀 및 오미자 추출물을 MRS broth에 각각 50%(v/v) 씩 첨가한 배지에서의 생육상태를 조사하였다. 가시오가피 추출물을 첨가한 경우 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei*, *L. casei*, *L. pentosus* 균주가 생육이 양호하였으며 구기자 추출물을 첨가한 경우 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei* 등이 양호하였고 당귀 추출물에서는 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. lactis* 등이 잘 생육하였으며 오미자 추출물에서는 *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. pentosus* 등이 양호하였다. 기본 동결보호제로 조성으로 구성된 skim milk 10%(w/v)와 sucrose 5%(w/v)에 생약 추출물 2.5%(v/v)를 첨가한 경우 동결 건조 직후 생존율은 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei*, *L. casei*가 평균 각각 81.7%, 63.8%, 73.2%, 78.1%를 나타냈다. 동결 건조한 유산균 원료를 온도 40℃, 습도 70% 유지하는 항온항습기에서 한달간 방치시킨 후 생존율은 *L. acidophilus*의 경우 대조군에 비해 약 6%, *L. paracasei*와 *L. bulgaricus*의 경우 약 3%의 생존율 증가를 보여 가

혹조건에서 균의 생존율을 연장시키는데 역할을 하는 것으로 보이며, 구기자 추출물을 2.5% 첨가하여 동결건조 한 균 원료의 경우 *L. paracasei*에서 약 1.5% 정도 증가를 나타냈으며 *L. acidophilus*와 *L. bulgaricus*에서는 약 1% 정도 감소하는 경향을 보였다. 특히, 구기자 추출물의 경우 *L. acidophilus*와 *L. bulgaricus*에서 당귀 추출물의 경우 *L. bulgaricus*와 *L. casei*에서 동결 보호제로서 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

### 참고문헌

1. 문관심. 약초의 성분과 이용, pp.430, 일월서각. 1991
2. 생약학연구학회지. 현대생약학, pp.336, 학창사. 1993
3. Li, SZ (Ming dynasty) "Ben-Cao Gong-Mu" People Health Publisher, pp.1711. 1978
4. Nishiyama, N, Chu, PJ and Saito, H. An herbal prescription, S-113m, consisting of biota, hinseng and schizandra, improves learning performance in senescence accelerated mouse. *Biol. Pharm. Bull.* 19(3): 388-393. 1996
5. Hsieh, MT, Tsai, ML, Peng, WH and Wu, CR. Effects of *Fructus schizandrae* on cycloheximide-induced amnesia in rats. *Phytother. Res.* 13(3):256-257. 1999
6. Molokovskii, DS, Davydov, VV and Tiulenev, VV. The action of adaptogenic plant preparations in experimental alloxan diabetes. *Probl. Endokrinol(Mosk).* 35:82-87. 1987
7. Zhu, M, Lin, KF, Yeung, RY and Li, RC. Evaluation of the protective effects of *Schizandra chinensis* on Phase I drug metabolism using a CCl<sub>4</sub> intoxication model. *J. Etharopharmacol.* 67(1):61-68. 1999
8. Hernandez, DZ, Hancke, JL and Wikman, G. Evaluation of the anti-ulcer and antisecretory activity of extracts of *Aralia elata* root and *Schizandra ehinensis* fruit in the rat. *J. Ethanopharmacol.* 23(1):109-14. 1988
9. Nomura, M, Nakachiyama, M, Hida, T, Ohtaki, Y, Sudo, K, Aizawa, T, Aburada, M and Miyamoto, Y. GomisinA, a lignan component of *Schizandra fructus*, inhibits development of preneoplastic lesions in rat liver by 3'-methyl-4-dimethylamino- azobenzene. *Cancer Lette.* 76(1):11-18. 1994
10. Panossion, AG, Oganessian, AS, Ambartsumian, M, Gabrielian, ES, Wagner, H and Wikman, G. Effectsof heavy physical exercise and adaptogens on nitric oxide content in human saliva. *Phytomedicine* 6(1): 17-26. 1999
11. Brekhmann, II and Paradyomov, ID, New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Ann. Rev. Pharmaco.* 9:419-430. 1969
12. Yoon, BT, Lee, SW, Shin, KS, Choi, WH, Hwang, SH, Seo, SH, Kim, SH and Park, WM. Effect of hot water extract from *Acanthopanax senticosus* on systemic anaphylaxis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34:518-523. 2002
13. Glatthaar, Saalmuller, B, Sacher, F and Esperester, A. Antiviral activity of an extract derived from roots of *Eleutherococcus senticosus*. *Antiviral Res.* 50:223-228. 2001
14. Deyama, T, Nishibe, S and Nakazawa, Y. Constituents and pharmacological effects of Eucommia and Siberian ginseng. *Acta Pharmacol. Sin.* 22:1057-1570. 2001
15. Szolomicki, S, Samochowiec, L, Wojcicki, J and Drozdzik, M. The influence of componento of *Eleutherococcus senticosus* on cellular defence and physical fitness in man. *Phytotherapy Res.* 14:30-35. 2000
16. Danielak, R, Popowska, E and Borkowski, B. The preparation of vegetable products containing isofrayidin, silibin, and Glaucium alkaloids and evaluation of their choloretic action. *Polish J. Pharmacol. Pharma.* 25:271-283. 1973
17. Her, J. Drient Medicine Handbook. pp.1966. Pubin Press. 1999
18. Lee, SJ. A Botanical List, pp.1206-1210. Gomoonsa. 1987
19. Tang, W and Eisenbrand, G. Chinese Drugs of Plant Origin. pp.633. Springer Verlag. NY. 1986
20. Shah, N. *Lactobacillus acidophilus* and lactose intolerance, a review. *ASEAN Food J.*, 9:47-54. 1994
21. Giboson, GR and Roberfroid, MB, Dietary modulation of the humman colonic microbiota. introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125(6):1401-12. 1995