

Bifidobacterium spp.와 *Clostridium perfringens*의 생육에 영향을 주는 식품소재의 탐색

박종현 · 한남수 · 유진영 · 권동진 · 신현경* · 구영조
한국식품개발연구원 생물공학연구부, *한림대학교 식품영양학과

Screening of the Foodstuffs Influencing the Growth of *Bifidobacterium* spp. and *Clostridium perfringens*

Jong-Hyun Park, Nam-Soo Han, Jin-Young Yoo, Dong-Jin Kwon,
Hyun-Kyung Shin* and Young-Jo Koo

Food Biotechnology Division, Korea Food Research Institute
*Department of Food Science and Nutrition, Hallym University

Abstract

In order to investigate the effects of food materials toward the growth of *Bifidobacterium* spp. and *Clostridium perfringens* which have great influences on the intestinal physiology of human, 162 kinds of foodstuffs and foods were collected. Among their extracts, 31 samples showed the inhibitory effects against the growth of *B. bifidum* and *C. perfringens* by agar diffusion method. Especially, the methanol extracts of *Caltha palustris*, Deonjang, onion, mustard and potato inhibited the growth of *C. perfringens*, while they did not remarkably inhibit other intestinal bacteria including *Bifidobacterium* spp. By the cultivation of faecal inoculum in the 1% (v/v) extract broths of *Caltha palustris*, onion and mustard, population of *Bifidobacterium* spp. increased by 10^{2-3} order and that of *C. perfringens* decreased. β -glucuronidase activities and indole amounts in the cultures of onion and mustard extracts were lower than those of the control culture and β -glucosidase activities were not detected in the cultures of onion and Doenjang extracts.

Key words: *Bifidobacterium* spp., *Clostridium perfringens*, foodstuffs, faecal inoculum.

서 론

최근에 혐기성 미생물 배양기술의 향상과 무균동물의 개발로 인하여 장관내의 미생물 군총(microflora)의 복잡성과 숙주에 대한 중요한 영향이 밝혀지고 있다.

Bifidobacterium spp.는 어린이와 성인의 분변 중에 존재하는 총 균수의 5~10%를 차지하고 있는데⁽¹⁾ 이들 균수가 25%를 넘으면 부패산물의 생성이 현저히 줄어드는 것으로 보고⁽²⁾되고 있다.

Bifidobacterium spp.의 인체 장관에서의 생리적인 역할은 장관에서 부패미생물의 생육과 장관 부패현상을 억제하여 변비나 암 등의 질환, 특히 노인성 질환의 유발을 억제하며, 항생제 관련 설사를 막아주고, 면역기능을 제고시켜 감염에 대한 저항성을 강화하여 주는 것으로 보고^(3,3)되어 있다.

그리고 *Clostridium perfringens*는 사람이나 동물 뿐만

아니라 토양, 하수 등에서도 발견되고 있는데, 사람의 질병, 식품의 부패, 유아의 괴사성 소장결장염, 괴사성 장염 등을 유발^(4,5)시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 질병은 이들이 분비하는 효소나 phospholipase C, thiol-activated hemolysin, collagenase, hyaluronidase, DNase, neuraminidase, ξ -toxin 독소 등이 장관에 생산됨으로써 발생된다.

또한 이 미생물은 노인들에서 현저히 증가하는 것으로 보아 노화에도 관련되어 있는 것⁽¹⁾으로 추측된다.

정상군총을 구성하는 미생물의 숫자와 활동은 외래성 인자(allogenic factor)와 내인성 인자(autogenic factor)에 의하여 조절⁽⁶⁾되는데, 전자는 숙주의 환경이나 식이 등에서 유발되며 후자는 군총내의 미생물들 사이에서 주로 일어나게 된다.

즉, 정상군총의 균형은 장관의 강한 혐기적 조건, 장의 연동운동, 연속적인 배설의 환경하에서 주로 장관내의 서식처와 영양원에 대한 경쟁에 의해 유지되고, 일부는 pH, 산화환원전위, 담즙산, 생산되는 bacteriocin, 지방산, 유화수소 등에 의하여 이루어지는 것으로 보고⁽⁷⁾되어 있다.

Corresponding author: Jong-Hyun Park, Biotechnology Lab., Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyundong, Bundang-ku, Songnam, Kyongki-do 462-420, Korea

Table 1. List of intestinal bacteria used in this study

Genera	Species
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i> ATCC 15073
	<i>B. animalis</i> ATCC 25527
	<i>B. bifidum</i> ATCC 29521
	<i>B. breve</i> ATCC 15700
	<i>B. infantis</i> ATCC 15697
	<i>B. longum</i> ATCC 15707
	<i>B. thermophilum</i> ATCC 25525
<i>Bacteroides</i>	<i>Bac. fragilis</i> ATCC 25285
<i>Clostridium</i>	<i>C. butyricum</i> ATCC 19398
	<i>C. paraputrificum</i> ATCC 25780
	<i>C. perfringens</i> ATCC 13124
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> ATCC 11775
<i>Eubacterium</i>	<i>Eub. limosum</i> ATCC 8486
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lac. acidophilus</i> KCTC 3145
	<i>Lac. acidophilus</i> KCTC 3151
	<i>Lac. acidophilus</i> KCTC 3168
	<i>Lac. plantarum</i> ATCC 14917
<i>Staphylococcus</i>	<i>Sta. aureus</i> ATCC 12600
<i>Streptococcus</i>	<i>Str. faecalis</i> ATCC 19433

내인성 인자에 의한 영향은 아직 많이 알려져 있지 않으나 외래성 인자인 식이에 의한 정상균총의 변화에 대한 연구와 보다 바람직한 정상균총의 조성을 위한 연구⁽⁸⁻¹⁰⁾는 많이 이루어지고 있다.

노인들과 장이 좋지 않은 사람들은 장내에 비정상적인 균총⁽¹¹⁾이 형성되어 있는데, 보통 소장에서의 균수가 현저히 증가하거나, *Streptococcus*와 *Enterobacteriaceae* 등의 호기성균은 증가하고, 또 *Bifidobacterium* spp.가 줄어들거나 없어지는 반면에 *C. perfringens* 등의 *Clostridium* spp.는 현저히 증가하게 된다. 따라서 건강하게 장수하기 위하여 *Bifidobacterium* spp. 등의 유용세균은 많이, 그리고 *C. perfringens* 등의 유해세균은 적은 상태로 유지시키는 이상적인 장내 균총을 유지시키는 것이 제안⁽¹¹⁾되고 있다.

Bifidobacterium spp.를 선택적으로 증식시키는 몇몇의 비흡수성 올리고당 제품^(12,13)은 이미 시판되고 있고, 현재는 *C. perfringens* 생육을 선택적으로 저해시키는 물질의 검색^(14,15)이 이루어지고 있다.

따라서 본 연구는 여러 식품소재로부터 장내세균 중에서 특히 *C. perfringens*의 생육을 억제하고 *Bifidobacterium* spp.의 생육을 촉진시키는 물질을 탐색하였고, 또한 장내에서 유해효소와 유해산물⁽¹⁰⁾인 β-glucuronidase, β-glucosidase와 indole 생산에 미치는 그들의 영향을 배양액에서 측정하였기에 그의 일부를 보고한다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에서 사용한 균주는 Table 1과 같이 8속, 19

Table 2. Composition of EGF medium used for the mixed culture of intestinal bacteria with human faeces as an inoculum

Component	Amount
Lab-lemco powder(Oxoid)	2.4 g
Proteose peptone No. 3	10.0 g
Yeast extract	5.0 g
Na ₂ HPO ₄	4.0 g
Fildes solution*	40 ml
Glucose	5.0 g
Soluble starch	0.5 g
L-cysteine HCl	0.5 g
D.W.	960.0 ml
pH 7.6	

*Fildes solution: Horse blood was digested by pepsin.

Table 3. Composition of Neomycin-Nagler(NN) agar medium for the selective viable count of *C. perfringens*

Component	Amount
Peptone	40.0 g
Na ₂ HPO ₄	5.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
NaCl	2.0 g
MgSO ₄	0.1 g
Glucose	2.0 g
Bacto-agar	25.0 g
D.W.	1000 ml
pH 7.6	
Egg yolk solution(50% solution)	100 ml
Neomycin sulfate(2% solution)	10 ml

종의 장내세균을 사용하였으며 균주의 계대는 EGLF 한천배지⁽¹⁶⁾에서 하였고 사용하기 바로 전에 reinforced clostridial broth(Difco Laboratories)에서 활성화시켜 사용하였다. 일차적인 검색 목표미생물은 유해세균으로 *Clostridium(C.) perfringens*와 유용세균으로 *Bifidobacterium(B.) bifidum*을 사용하였다.

재료 및 시약

Agar diffusion method에 의한 생육의 여부를 알아보기 위해서 EG 한천배지(Eiken, Tokyo)를 사용하였으며, EGF⁽¹⁶⁾(Table 2) 배지에서 분변을 종균으로 배양할 때 분변은 30대 중반의 건강한 한국인 남자의 것을 사용하였다. 이때 총균수는 EG, BL 한천배지에서 측정하였고 *Bifidobacterium* spp.는 BL 한천배지에서의 colony 모양과 호기적 배양 및 Gram 염색 등으로 판별하였다. *C. perfringens*의 생균수 측정은 Neomycin-Nagler 한천배지⁽¹⁶⁾(Table 3)를 이용하였다.

배지에 들어가는 시약들은 Difco사에서 구입하였고 phenolphthalein-β-D-glucuronic acid, nitrophenyl-β-D-

Table 4. Growth effect on *B. bifidum* and *C. perfringens* by extracts of foodstuffs and foods in Korea

Names	<i>C. perfringens</i>			<i>B. bifidum</i>		
	Water	Ethylacetate	Acetone	Water	Ethylacetate	Acetone
<i>Caltha palustris</i>	—	n	n	n	n	n
<i>Erythronium japonicum</i>	—	n	n	—	n	n
<i>Erigeron canadensis</i>	—	n	n	n	n	—
ddang-na-mul	—	—	—	n	n	n
<i>Aster scaber</i>	—	n	—	n	n	n
wormwood	—	—	n	n	n	n
<i>Pleurotus ostreatus</i>	—	n	—	—	n	n
<i>Lentinus edodes</i>	n	n	n	—	—	—
<i>Tricholoma matsutake</i>	n	n	—	n	n	n
chestnut	—	n	—	n	n	n
walnut	—	n	—	n	n	n
red pepper	n	n	n	—	n	n
cinnamon	n	—	—	n	n	n
onion [*]	n	—	n	n	n	n
tomato	n	n	n	—	n	n
Gochujang	—	n	n	n	n	n
Doenjang	—	n	n	n	n	n
mustard	—	n	n	n	n	n
garlic [†]	—	n	n	n	n	n
potato [*]	—	x	x	n	x	x
glutinus sorghum	n	—	—	n	n	n
foxtailmillet	n	—	—	n	n	n
ginger root	n	—	n	n	n	n
soybean sprout [*]	—	x	x	n	x	x
peanuts ⁺	—	x	x	n	x	x
<i>Adenophora triphylla</i> [*]	—	x	x	n	x	x
amaranth ⁺	—	x	x	n	x	x
crown daisy [*]	—	x	x	n	x	x
taro ⁻	—	x	x	n	x	x
apricot [*]	—	x	x	n	x	x
malt	n	—	—	n	n	n

Symbols; one bar(—) indicates the halo size ranging from 7 to 9 mm, while two bars from 10 to 14 and three bars means above 15 mm. The halo size includes the size of hole or paper disk of 7 mm. *Cross indicates wet sample, so that juice of the sample was applied. x=not applied, n=no effect.

glucoside, p-dimethyl-aminobenzaldehyde는 Sigma Chemicals Co.에서 구입하였다. 기타의 시약은 G.R. 등급을 사용하였다. 말혈액은 한국마사회 마필보건소의 협조로 말에서 직접 채취하여 사용하였다. 식품재료 중 산채류는 홍천, 철원, 청송 등에서 건물상태로 구입하였고 기타의 재료는 경동시장 등의 재래시장과 백화점에서 구하였다. 건물시료의 경우는 물, acetone, ethylacetate, butanol 등을 시료에 동량(w/v)첨가, 추출하고 추출용매와 같이 각각의 추출시료로 사용하였다. 습물시료의 경우는 직접 압착한 주스를 추출시료로 사용하였다.

탐색재료로는 쌀, 울무, 치수수, 찹쌀, 조, 늘보리, 맥주맥, 현미, 감자, 고구마, 토란, 검정콩, 땅콩, 껌질콩, 녹두, 팥, 검정깨, 참깨, 은행, 잣, 해바라기씨, 호두, 밤, 가지, 갈퀴나물, 갯잎, 고들빼기, 고비, 고사리, 고추, 근대, 냉이, 늙은 호박, 당근, 달래, 더덕, 도라지, 돌나물, 두릅, 마, 마늘, 마늘쭉, 무, 머위, 물쑥, 미나리, 민들레, 밀순,

박조가리, 배추, 부추, 비름, 비비추, 싸리순, 삼주, 산갯잎, 산미나리, 상추, 샐러리, 생강, 숙주, 쑥, 쑥갓, 썸바귀뿌리, 썸바귀나물, 시금치, 아스파라거스, 아욱, 양배추, 양상추, 양파, 연근, 열무, 오아리순, 오이, 우엉, 원추리, 이팝나물, 잔데, 죽순, 질경이, 참취, 케일, 콩나물, 토마토, 파, 풋마늘, 호박, 홀잎, 황새냉이, 조선훈박, 홍당무, 적채, 논나물, 숙주나물, 피망, 푸른고추, 붉은고추, 포향초, 깻깻, 대추, 매실, 바나나, 배, 복숭아, 사과, 산딸기, 키위, 귤, 김, 다시마, 미역, 바다나물, 파래, 모자반, 한천, 고춧가루, 솔방울, 솔잎, 알로에베라, 아보레센스, 영지, 인삼, 진달래꽃, 취, 컴부리, 요플러스, 우유, 겨자, 와사비, 계피, 녹차, 덩굴차, 감로차, 참나물, 참고비, 알가지(동의나물), 고사리, 열레지, 망초, 다래순, 청옥취, 취나물, 개미취, 산미역취, 곰취, 미역취, 드릅, 쇠비름나물, 땅나물, 재추잎, 백도라지, 무말랭이, 건당근, 단오쑥, 금치채, 치커리, 노타리버섯, 송이버섯, 팽이버섯, 표고버섯, 고추장, 된장

등의 163종의 식품이나 식품소재를 시료로 사용하였다.

배양방법

목표미생물의 종균이 5%(v/v) 함유되도록 하여 EG 한천배지를 조제하고 그 위에 직경 7 mm의 hole을 만들어 70 µl의 추출시료를 넣었다. 이 배지를 H₂(5%), CO₂(15%)와 N₂(80%)를 함유하는 혼합가스가 들어 있는 Glove box(Coy Laboratory Products Inc.)에서 37°C로 2일간 배양하였다. 또한 steel wool 방법⁽¹⁶⁾도 사용하였는데 vacuum desiccator속에, 처리된 한천배지와 CuSO₄, Tween 80 그리고 H₂SO₄를 함유하는 용액에서 처리된 steel wool을 넣고 산소가 제거된 이산화탄소로 치환하여 37°C에서 2~3일간 배양하였다. 이렇게 배양시킨 후 hole 주위의 억제환 및 촉진환을 관찰하였다.

Table 5. Growth effect of the methanol extracts on principal intestinal bacteria by agar diffusion method

Strains	<i>Caltha palustris</i>	Doenjang	Mustard
<i>B. adolescentis</i>	N	N	N
<i>B. animalis</i>	N	+	N
<i>B. breve</i>	N	N	N
<i>B. bifidum</i>	N	-	N
<i>B. infantis</i>	-	N	N
<i>B. longum</i>	N	N	N
<i>B. thermophilum</i>	N	N	N
<i>C. paraputrificum</i>	N	N	N
<i>C. perfringens</i>	-	-	-
<i>C. butyricum</i>	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	N	N	N
<i>L. acidophilus</i>	N	N	N
KCTC 3145	N	-	N
3151	N	N	N
3168	N	N	N
<i>E. limosum</i>	N	N	N
<i>B. fragilis</i>	-	N	-
<i>E. coli</i>	N	N	N
<i>Str. faecalis</i>	N	N	N
<i>Sta. aureus</i>	N	+	N

-, + symbols represent growth inhibition and promotion, respectively. No. of symbol; -, + <15 mm, 16 ≤ --, ++ < 20, 20 ≤ ++++, N: no-effect.

분변을 종균으로 사용할 때는 신선한 것을 회석액으로 100배 희석한 다음, 배지 20 ml 들어있는 pressure tube (25 ml 용량)에 2.5%를 첨가하여 37°C 항온배양기에서 2일간 배양하였다.

기타의 배지 조제법 및 첨가적 조작은 VPI manual⁽¹⁷⁾을 따랐다.

효소역가 및 indole의 측정법

배양액 중의 β-glucuronidase와 β-glucosidase의 역가는 Goldin 등⁽¹⁸⁾의 방법을 따랐으며 indole 함량 측정은 Sigma's protocol를 사용하였다. 기질로는 phenolphthalein-β-D-glucuronic acid와 nitrophenyl-β-D-glucoside를 1 mM로 하여 40분, 20분간 반응시켜 유리되는 phenolphthalein과 nitrophenol을 측정하였다.

배양액에서 indole의 추출은 배양액 2 ml를 toluene 2 ml와 격렬하게 혼합한 다음 1 ml의 5% p-dimethylaminobezaldehyde solution(w/v)를 첨가하였다. 이어 상등액 0.2 ml를 취하여 8.8 ml의 acid-alcohol reagent(12 N HCl 8 ml plus 95% ethyl alcohol 92 ml)를 넣어 혼합하고, 10분 동안 방치한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선을 이용하여 indole의 함량을 계산하였다.

결과 및 고찰

식품소재로부터 장내세균에 유효한 소재의 탐색

국내에서 수집된 163종의 식품소재 및 식품의 추출물을 이용하여 장내세균 중 *C. perfringens*와 *B. bifidum*을 검색 목표미생물로 정하고 agar diffusion method로 그 미생물의 생육을 조사하였다(Table 4).

식품소재 및 식품의 검색 목표미생물에 대한 생육저해 효과를 보면 알가지(동의나물, *Caltha palustris*), 얼러지(*Erythronium japonicum*), 망초(*Erigeron canadensis*), 땅나물(ddang-na-mul), 취나물(*Aster scaber*), 쑥, 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*), 호도, 고추장, 된장 등의 물추출물과 감자쥬스 등이 *C. perfringens*를 강하게 억제하고 있으며 밤, 겨자 물추출물과 콩나물, 땅콩, 잔테(*Adenophora triphylla*), 비름, 쑥갓, 토란, 매실 등의 쥬스가 *C. perfringens*의 생육을 억제하였다. 송이버섯(*Tricholoma*

Table 6. Viable count in the culture of human-originated faeces using extracts of several food materials as culture broth (Log₁₀ viable cells/ml)

Microorganisms	Control ¹		Algae ²	Doenjang ³	Mustard ⁴	Onion ⁵	Potato ⁶
	0 ⁷	48	48	48	48	48	48
Total anaerobes	5.45	8.38	8.40	8.20	8.36	7.13	8.34
<i>C. perfringens</i>	3.28	3.75	<2.0	3.69	<2.0	<2.0	<2.0
<i>Bifidobacterium</i> spp.	5.26	5.48	7.85	5.78	8.23	6.91	5.00

Control: cultivating without adding the extracts to the culture broth. Cultivating with 1%(w/v) of the extracts in the broth: ²Algae (= *Caltha palustris*); lyophilized water extract of algae, ³Doenjang; methanol extract, ⁴Mustard; lyophilized water extract of mustard, ⁵Onion; lyophilized juice, ⁶Potato; lyophilized potato juice, ⁷: cultivation time in hour.

*matsutake*의 acetone 추출물이 또한 강하게 그의 생육을 억제하고 있고 땅나물, 취나물, 느타리버섯, 밤, 호도, 계피, 차수수, 조, 맥아의 acetone 추출물도 억제하였다. 계피 ethylacetate 추출물이 *C. perfringens*를 강하게 억제하고 있었고 땅나물, 쑥, 양파, 생강, 차수수, 조, 생강, 맥아 등에 의해서도 억제하는 현상을 관찰하였다. 한편, butanol은 그 자체가 세균의 생육을 억제하였기 때문에 시료추출물에 의한 영향은 확인하기가 어려웠다.

한편 인체에 유용한 세균인 *B. bifidum*을 얼리지, 느타리버섯, 표고버섯(*Lentinus edodes*), 고추, 토마토의 물 추출물이 생육을 억제하고 있는 것으로 나타났고 표고버섯의 acetone과 ethylacetate 추출물도 같은 효과를 보여주고 있다.

이와 같은 탐색결과로 알가지, 땅나물, 취나물, 쑥, 호도, 계피, 된장, 감자 등의 25종의 *B. bifidum*에 영향을 주지 않고 *C. perfringens*를 억제하는 소재 중에서 알가지, 된장, 감자와 향신소재로서 중요한 양파와 겨자를 우선 선정하여 그 효과에 대한 실험을 수행하였다.

검출시료의 장내세균에 대한 영향

알가지, 된장, 양파, 겨자, 감자 등을 메탄올로 추출하여 10 mg를 한천배지 위의 hole에 loading하여 19속 장내세균의 생육에 미치는 영향을 agar diffusion method로 조사하였다. Table 5에서와 같이 알가지추출물의 경우는 *B. infantis*, *C. perfringens*, *C. butyricum*, *Bacteroides fragilis* 등의 생육을 억제하였는데 특히 *C. perfringens*와 *Bac. fragilis*를 강력하게 억제하였다. 된장의 추출물은 *B. bifidum*, *C. perfringens*, *C. butyricum*, *L. acidophilus* KCTC3145의 생육을 억제하였고 겨자의 경우도 *C. perfringens*, *C. butyricum*, *Bac. fragilis*의 생육을 억제하였다. 양파는 대부분의 장내미생물의 생육을 억제하였고 감자는 *C. perfringens*, *Eubacterium limosum*의 생육⁽¹⁰⁾을 저해하는 것으로 나타났다.

따라서 각 시료를 10 mg/hole 처리하는 경우 공히 *C. perfringens*의 생육을 저해하는 경향을 보이고 있었고 1 mg/hole을 처리할 때도 생육저해 경향(data not shown)을 보이고 있었으나 *Bifidobacterium* spp.와 다른 장내세균의 생육을 크게 저해하는 현상은 보이지 않았다.

인체유래 분변에 의한 추출물의 배양과 그 배양액의 분석

인체 장내에는 미생물 100여종이 존재하여 그 수량은 분변 gram당 10^{11} 개 정도되며 장내 내용물의 1/3을 차지하고 있는데 영양원과 서식처에 대한 심한 경쟁속에서 공생 및 길항작용을 하면서 생존하는 것으로 알려져 있다^(6,7). 따라서 *Bifidobacterium* spp.와 *C. perfringens*를 포함하는 분변 그 자체를 종균으로 배양하는 것은 장내에서 선발시료의 미생물에 대한 영향을 *in vitro*로 평가하는 방법 중의 하나가 될 수 있다.

일차적으로 검색된 시료 중에 *C. perfringens*의 생육은

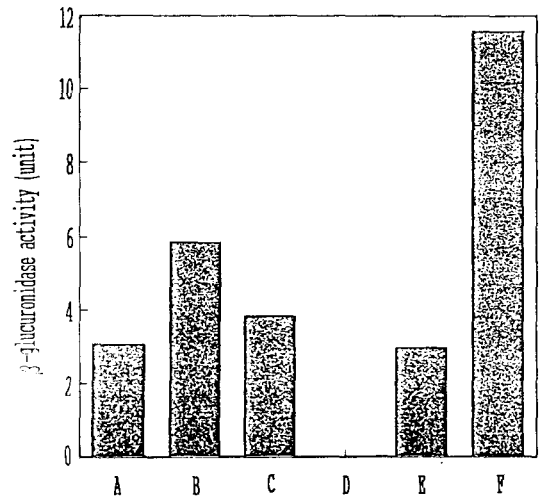


Fig. 1. β -glucuronidase activities in the culture broths of the extracts from *Caltha palustris*, Doenjang, onion, mustard and potato by using the human faeces as an inoculum(unit). A, B, C, D, E and F represent the cultures with 1% extracts of control, *Caltha palustris*, Doenjang, onion, mustard potato

억제하고 있고 *B. bifidum*의 생육은 촉진하거나 영향을 미치지 않는 시료인 알가지, 된장, 겨자, 감자, 양파 등에 대하여 사람 분변을 종균으로 하여 배양한 후 *Bifidobacterium* spp.와 *C. perfringens*의 생균수와 유해효소인 β -glucuronidase, β -glucosidase 역가와 indole의 함량을 배양액에서 분석하였다(Table 6).

대조구의 경우 48시간 배양했을 때 총 혐기성균의 수는 10^8 규모로 증가하고 있는 반면, *Bifidobacterium* spp.와 *C. perfringens*의 균수는 거의 변함이 없었다. 따라서 이와 같이 하여 두 균주의 생육에 대한 추출물의 영향을 평가할 수 있으리라 판단되었다.

알가지추출물로 배양한 경우는 총 혐기성균수는 대조구와 비슷했지만 *Bifidobacterium* spp. 균수는 10^6 혹은 10^5 크기로 증가하고 있으며 *C. perfringens*균수는 반대로 감소하였다. 따라서 본 배양 system에서 1%의 알가지 추출물은 *Bifidobacterium* spp.의 생육을 촉진하고 *C. perfringens*의 생육을 저해하고 있는 것으로 보인다.

이러한 경향은 겨자와 양파추출물 배양액에서도 유사하게 나타났으며 양파추출물의 경우는 전반적으로 균의 생육이 저조한 것으로 보였는데 allyl 황화합물 등이 함유된 양파에 의해 대체적으로 모든 균의 생육이 저해를 받고 있는 것으로 보였다.

그러나 알가지, 겨자, 양파 등의 식물체 자체 추출물 시료 이외의 된장추출물의 경우는 대조구와 비슷해 *Bifidobacterium* spp.와 *C. perfringens*의 균수가 비슷하게 나타났고 감자추출물의 배양액에서도 *C. perfringens*의 생육은 저해하였으나 *Bifidobacterium* spp.의 생육촉진의 효과를 보여주고 있지 않았다.

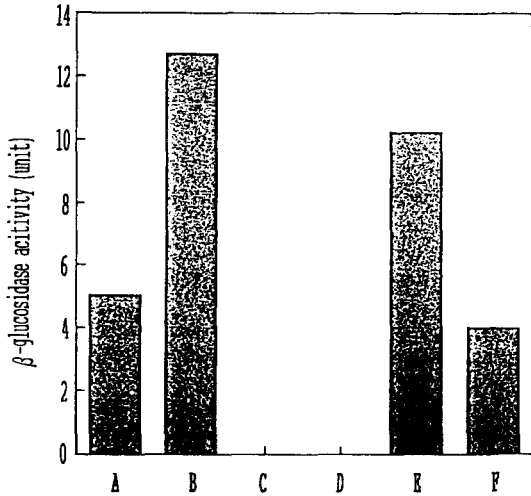


Fig. 2. β -glucosidase activities in the culture broths of the extracts from *Caltha palustris*, Doenjang, onion, mustard and potato by using the human faeces as an inoculum(unit). A, B, C, D, E and F represent the cultures with 1% extracts of control, *Caltha palustris*, Doenjang, onion, mustard potato

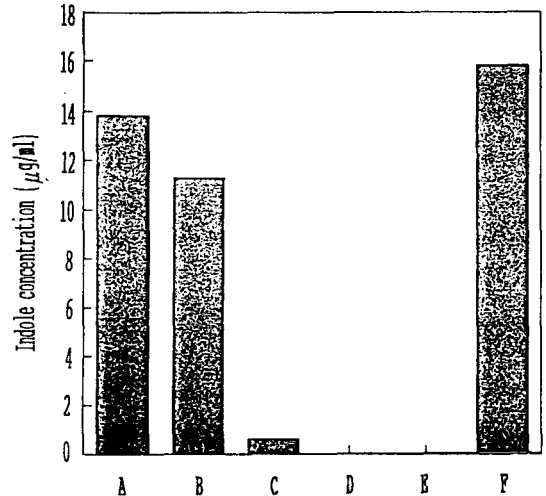


Fig. 3. Indole concentration in the culture broths of the extracts from *Caltha palustris*, Doenjang, onion, mustard and potato by using the human faeces as an inoculum(μ g/ml). A, B, C, D, E and F represent the cultures with 1% extracts of control, *Caltha palustris*, Doenjang, onion, mustard potato

이러한 경향은 식물체에서 추출된 fiber, fructooligosaccharide 등이 *Bifidobacterium* spp.에 선택적으로 생육 촉진 효과를 주어 그의 생육에 의해 분비되는 acetic acid와 lactic acid와 추출물에 함유된 *C. perfringens*의 선택적 저해물질에 의해 *C. perfringens*의 생육저해효과가 상승적으로 이루어져 나타난 것으로 사료되지만 추출물에서 이들 유효물질에 대한 정제와 아울러 그 특성분석이 이루어져야 하겠다.

대장내에서 carcinogen의 생성에 관계⁽¹⁸⁾되는 것으로 알려진 β -glucuronidase의 역가는 감자, 알가지, 된장추출물이 대조구보다 높은 값을 나타내고 있으며 겨자와 양파추출물 배양액에서는 작게 나타났다. 특히 양파의 경우는 배양액에서 그의 역가를 검출할 수가 없었다(Fig. 1). 이것은 *Bifidobacterium* spp.와 *C. perfringens* 이외의 β -glucuronidase를 분비하는 균의 생육과 관련이 있는 것으로 생각된다. 또한 β -glucosidase 역가의 경우는 알가지나 겨자와 같이 식물체 자체추출물의 경우는 대조구보다 높았고 감자추출물은 대조구보다 낮게 나타났으며, 특히 된장과 양파의 경우는 역가가 거의 나타나지 않았다. 이는 이 효소를 분비하는 균의 생육과 그 추출물에 함유되어 있는 많은 배당체결합 함유물질에 의하여 유도⁽¹⁰⁾되는 것으로 생각된다(Fig. 2). 장내 부패산물의 하나인 indole의 배양액 중 함량은 대부분의 대조구와 비슷하거나 낮게 나타났는데 양파와 겨자의 경우는 그의 역가를 거의 검출할 수가 없었다(Fig. 3).

그러므로 장내에서 *Bifidobacterium* spp.를 높게 유지하고 *C. perfringens*를 낮게 유지시키는 이상적인 균총을

위해서는 *C. perfringens*의 생육저해물질을 함유하는 알가지, 겨자, 양파 등의 식물체를 많이 섭취하는 것이 좋을 것 같고 특히 양파, 겨자의 경우는 장내 유해효소 및 유해물질인 β -glucuronidase 및 indole를 생산하는 장내세균을 억제하거나 그의 역가를 저해하는 것으로 보인다.

그러나 분변을 종균으로 사용한 본 배양 system의 경우 배양이 진행되어 감에 따라 culture tube의 headspace에 가스의 압력이 높아지고 장내의 pH인 중성 pH를 유지시키지 못하는 단점 등을 보완하여 보다 *in vivo*에 접근시키는 faecal incubation system과 배지의 개발이 요망되고 최종적으로는 인체에 직접 투여분석하는 연구가 이어져야 하겠다. 이렇게 하여 장내 환경개선에 유효한 물질을 함유하는 식품소재를 선발하고 그 물질을 분리, 정제하여 특성을 연구함과 아울러 그 유효기능을 적절하게 이용하는 새로운 형태의 식품개발이 이루어져야 하겠고 본 연구는 그러한 연구의 기초가 된다고 생각된다.

요 약

한국인들이 섭취하고 있는 식품이 인체 장내에서 중요한 생리적 기능을 보이는 *Bifidobacterium* spp.와 *Clostridium perfringens*의 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 수집된 162종의 식품소재 및 식품 추출물 중에서 *B. bifidum*과 *C. perfringens*의 생육에 영향을 주는 소재를 agar diffusion method로 31종을 선발하였다. 이들 중에서 알가지, 된장, 양파, 겨자, 감자 등의 추출물은 *C. perfringens*

ngens의 생육을 강하게 억제하였으며 *Bifidobacterium* spp.를 포함하는 기타의 장내미생물의 생육에는 크게 영향을 주지 않았다. 사람 분변을 증균으로 하여 이들 추출물 1%를 첨가하여 배양한 결과 알가지, 양과, 겨자 배양액에서 *Bifidobacterium* spp.의 생균수는 대조구에 비하여 10^2 ~ 10^3 배 증가하고 있는 반면 *C. perfringens*의 생균수는 현저히 감소하였다. 그리고 양과, 겨자의 경우 배양액 중의 β -glucuronidase 역가, indole 함량 등이 현저히 낮아졌고, 양과와 된장에서는 β -glucosidase 역가가 검출되지 않았다.

감사의 말

본 연구는 1991년도 과학기술처 특정연구개발비로 이루어진 연구결과의 일부로서 이에 감사드리는 바입니다.

문 헌

- Mitsuoka, T.: Bifidobacteria and their role in human health. *Journal of Industrial Microbiology*, **6**, 263(1990)
- 藤川茂昭, 岡崎昌子, 松元信也: キシロオリゴ糖攝取による腸内細菌と腸内腐敗産物の挙動. *日本栄養・食糧學會誌*, **44**, 37(1991)
- Ishibashi, N. and Shimamura S.: Bifidobacteria: research and development in Japan. *Food Technology*, **6**, 126(1993)
- Granum, P.E.: *Clostridium perfringens* toxins involved in food poisoning. *Int. J. Food. Microbiol.*, **10**, 101(1990)
- McDonel, J.L.: *Clostridium perfringens* toxins (Type A, B, C, D). *Pharmac. Ther.*, **10**, 617(1980)
- Tannock, G.W.: The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiological Sciences*, **5**, 4(1988)
- Freter, R.: Mechanisms of control the microflora in the large intestine. In Human intestinal microflora in health and disease, D.J. Hentges(ed) Academic Press, New York, p.33(1983)
- Benno, Y.: Effect of diets on human fecal microflora. *Bifidus*, **4**, 1(1990)
- Mallett, A.K., Rowland, I.R., Bearne, C.A., Flynn, J.C., Fehilly, B.J., Udeen, S. and Farthing, M.J.G.: Effect of dietary supplements of apple pectin, wheat bran or fat on the enzyme activity of the human faecal flora. *Microbial Ecology in Health and Disease*, **1**, 23(1988)
- Brockett, M. and Tannock, G.W.: Dietary influence on microbial activities in the caecum of mice. *Can. J. Microbiol.*, **28**, 493(1982)
- Mitusoka, T.: The intestinal bacteria and health. In Ecology and role of intestinal flora. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, p.1(1989)
- Kashimura, J., Fujisawa, T., Nakajima, Y., Nishio, K. and Mitusoka, T.: Utilization of palatinose, palatinose condensate, trehalulose and isomalt by various intestinal bacteria. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **44**, 54(1991)
- 박종현, 유진영, 신옥호, 신현경, 이성준, 박관화: 분지올리고당이 장내 주요 세균의 생육에 미치는 영향. *산업미생물학회지*, **20**, 237(1992)
- 신옥호, 유시승, 이완규, 신현경: 방기(*Sinomenium acutum*)의 물추출물이 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 영향. *산업미생물학회지*, **20**, 491(1992)
- Ahn, Y.J., Kawamura, T., Kim, M., Yamamoto, Y. and Mitsuoka, T.: Tea polyphenols: Selective growth inhibitors of *Clostridium* spp. *Agri. Biol. Chem.*, **55**, 1425(1991)
- 光岡知足: 腸内菌の世界. 叢文社, 東京. p.319(1984)
- Holdeman, L.V., Cato, E.P. and Moore, W.E.C.: Anaerobe laboratory manual, 4th, Southern Printing Co., Virginia, p.117(1977)
- Goldin, B.R. and Gorbach, S.L.: The relationship between diet and rat fecal bacterial enzymes implicated in colon cancer. *J. Natl. Cancer. Inst.*, **57**, 371(1976)
- 신현경, 신옥호, 구영조: 감자 단백질이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 영향. *산업미생물학회지*, **20**, 249(1992)

(1993년 9월 16일 접수)