

썩 추출물이 인체 장내 미생물에 미치는 영향

권동진* · 박종현¹ · 권 민² · 유진영³ · 구영조³
국립원주대학 식품과학과, ¹경원대학교 식품생물공학과,
²농촌진흥청 고령지 농업시험장, ³한국식품개발연구원

Effect of Wormwood Ethanol Extract on Human Intestinal Microorganisms. Kwon, Dong-Jin*, Jong-Hyun Park¹, Min Kwon², Jin-Young Yoo³, and Young-Jo Koo³. *Department of Food Science, Wonju National College, Wonju 220-840, Korea, ¹Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University, Sunghnam 461-701, Korea, ²Alpine Agricultural Experiment Station, RDA, Pyongchang 232-950, Korea, ³Korea Food Research Institute, Sunghnam 463-420, Korea - To investigate the effect of wormwood extract on intestinal microorganisms of human, we examined the changes of the intestinal microflora of 6 volunteers for 13 days. Numbers of total anaerobes in feces of 6 volunteers showed 10^{10} cfu/g before and after intake of wormwood extract. In case of beneficial microorganisms, wormwood extract did not have an effect on the growth of bifidobacteria and *Lactobacillus* spp. On the other hand, the growth of *C. perfringens* and *E. coli*, the harmful microorganisms of human intestines, was inhibited by the wormwood extract.

Key words: wormwood ethanol extract, intestinal microorganism, human.

인체의 장내에는 100여종에 달하는 장내 미생물이 존재하며 이들은 대장 내용물의 약 1/3을 차지하고 있으며 숙주인 인간의 건강유지, 질병 또는 노화 등에 큰 영향을 미치고 있는 것으로 알려져 있다. 이들 미생물은 성인의 경우 분변 g당 10^{11} cfu 수준으로 존재하는데 *Bacteroidaceae*, *Eubacterium* spp. 및 *Bifidobacterium* spp. 등이 10^9 - 11 cfu/g 수준으로 가장 많고, *Lactobacillus* spp., *E. coli*, *Streptococcus* spp., *Veillonella* spp. 등은 10^{5-8} cfu/g 정도 존재하며, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp. 및 *Pseudomonas* spp. 등의 병원 및 유해 미생물은 10^4 cfu/g 이하로 존재하는 것으로 알려져 있다[14].

이러한 장내 균총이 숙주에 미치는 유익한 작용[3, 16]으로는 유해성 균의 오염 및 번식 억제, 면역기능 강화, vitamin류의 생성 및 단백질의 합성, 암 유발물질인 nitrosoamine의 감소, 고기를 태웠을 때 발생하는 발암 유발물질의 제거, 장내 유해균에 의하여 분비되는 발암물질의 생성 효소의 감소 등이 알려져 있다. 한편 유해한 작용[17]을 하는 유해 미생물로는 *Clostridium* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp. 등이 알려져 있으며 특히 *C. perfringens*는 각종 독소의 생산과 발암관련 물질인 amine을 생성하고 각종 장기에 장해를 주어 발암, 동맥경화, 고혈압, 간 장해 및 면역기능 저하 등의

소위 성인병[1]을 일으킬 가능성이 높은 것으로 알려져 있다.

이와 같이 장내 균총이 인체의 건강 및 질병과 밀접한 관계가 있다는 사실은 장내 균총의 균형이 극히 중요하다는 것을 시사하고 있다. 장내 균총을 결정하는 요인으로는 숙주에 의한 영향, 균총 외부의 환경적인 요인 및 균총 내부의 요인 등으로 분류할 수 있다. 장내 균총의 구성을 우리가 원하는 방향, 즉 유익한 균들을 증가시키고 유해균들을 감소시키기 위한 방법으로는 장내 유익균의 대표균인 bifidobacteria를 증가시키기 위하여 유제품 중에 bifidobacteria를 첨가하는 방법[8,12]이 주류를 이루고 있으며 이외에 난소화성의 올리고 당류들, 즉, fructooligo 당류, galactooligo 당류, maltooligo 당류 및 innulooligo 당류 등의 첨가에 대하여 보고되어 있다[1]. 이와 같이 인체의 주요한 유익균인 bifidobacteria의 생육을 촉진하는 식품소재를 선정한 결과 구 등[4-6]은 국내 소재식품을 대상으로 *in vitro* 평가실험을 한 결과 썩이 장내 균총개선 효과가 가장 우수하다고 보고하고 있다. 이 등[11]은 장내 bifidobacteria의 생육 촉진을 위해 첨가된 썩의 oligosaccharide를 분석한 결과 중합도가 2~5인 올리고당을 잘 이용한다고 보고하고 있다. 이[9, 10]는 약썩의 향돌연변이성에 관하여 보고하고 있고 권 등[7]은 장내 유해균인 *C. perfringens*의 생육을 억제시키기 위한 썩 추출물의 최적 추출조건을 설정, 보고하고 있으나 썩을 이용한 인체실험에 대한 연구는 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 썩 추출물을 이용한 제조한 시

*Corresponding author
Tel. 82-371-760-8452, Fax. 82-371-763-8680
E-mail: kdj6001@sky.wonju.ac.kr

제품이 인체의 장내 미생물에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 시제품은 썩 추출물이다. 즉 건조된 약속에 30배의 에탄올을 가하여 40℃에서 48시간 추출한 후 여과하여 얻은 여액을 중량으로 51.59%(W/W)가 되게 감압 농축하였다. 농축된 썩 추출물과 당 혼합물 (lactose:glucose=3:7)을 각각 50%(W/W)씩 혼합하여 60℃에서 24시간 동안 건조한 후 마쇄하여 장에서 분해되는 장용제를 이용하여 캡슐화한 것을 시제품으로 하였다.

인체를 이용하여 시제품이 장내 균총에 미치는 영향 실험

실험요원은 남녀 3명씩이며 연령은 20~50대에 이르며 제조된 시제품을 일정량씩 복용시켰다. 즉, 시제품 캡슐을 하루 3번 식전 300 mg씩 하루 900 mg씩 복용하였다. 복용 전 3일간, 복용 중 5일간, 복용을 끝낸 5일간 분변을 채취하여 장내 균총의 변화를 조사하였다.

장내세균의 균수 측정

실험요원의 분변을 하루 한번 채취하여 곧바로 Table 1의 희석액[6]을 이용하여 각각의 배지에 접종한 후 혐기적으로 37℃에서 배양하여 생균수를 측정하였다. 총 혐기성균 검출배지로는 EG 한천배지와 BL 한천배지[13], bifidobacteria는 BS 한천배지[13], *Lactobacillus* spp.는 modified LBS 한천배지[15], *C. perfringens*는 Neomycin-Nagler 한천배지[13], *E. coli*는 DHL 한천배지[13]를 이용하였으며 배지 조제 및 절차는 Holdeman 등[2]의 방법에 준하였다. 즉 각각 선택배지에 적절하게 희석도말시킨 후 37℃에서 혐기적으로 2일간 배양한 후 colony의 형태, 혐기적 생육의 유무 및 gram 염색을 하여 현미경에서 관찰하였다.

결과 및 고찰

인체를 이용한 썩 추출물의 장내 균총에 미치는 영향
썩 추출물이 장내 균총에 미치는 영향을 조사하기 위

Table 1. Composition of dilution solution

KH ₂ PO ₄	4.5 g
Na ₂ HPO ₄	6.0 g
L-cystein · HCl	0.5 g
Tween 80	0.5 g
Bacto Agar	1.0 g
Dist. Water	1,000 ml

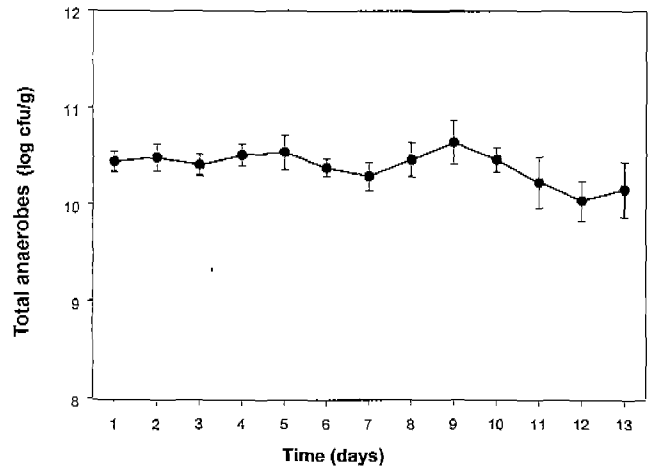


Fig. 1. Changes in counts of total anaerobes in fecal microflora of 6 volunteers by intaking the wormwood extract.

1-3 days; Before intake of wormwood extract
4-8 days; During intake of wormwood extract
9-13 days; After intake of wormwood extract.

하여 썩 추출물을 복용하기 전 3일간, 복용하는 5일간, 또한 효과의 지속성 여부를 알아보기 위하여 썩 추출물의 복용을 마친 5일간 분변을 채취하여 장내 균총의 변화를 조사하였다.

한편 장내 균총 중 유익균으로는 bifidobacteria와 *Lactobacillus* spp.를 선정하였고 유해균으로 *C. perfringens*와 *E. coli*를 선정하였다.

총 혐기성 균수

썩 추출물이 장내의 총 혐기성 미생물 균수에 영향을 미치는 결과는 Fig. 1과 같다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 썩 추출물을 복용하기 3일 전에는 실험요원들의 평균 균수가 2.8×10^{10} cfu/g로 개인간의 편차가 크지 않았으나 복용하는 동안 균수가 약간 감소하고 있으며 편차도 크게 나고 있어 썩 추출물이 개인에 따라서는 혐기성 미생물의 생육에 약간 영향을 미치고 있으며 복용을 마친 후에 그 효과의 지속성이 있는 것으로 나타났다.

Bifidobacteria의 수

썩 추출물이 장내 세균 중 bifidobacteria의 생균수에 영향을 미치는 결과는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 썩 추출물을 복용하기 전에는 개인간에 큰 편차를 볼 수 없었으나 복용하는 동안에는 개인에 따라 균수가 약간 감소하고 편차가 큰 것으로 나타났다. 썩 추출물을 복용하기 전 3일 동안에는 bifidobacteria의 평균 균수가 1.9×10^9 cfu/g이었고 복용하는 5일 동안 개인에 따라 차이는 있었지만 평균 균수가 1.5×10^9 cfu/g으로 복용하기 전과 비교하여 큰 영향은

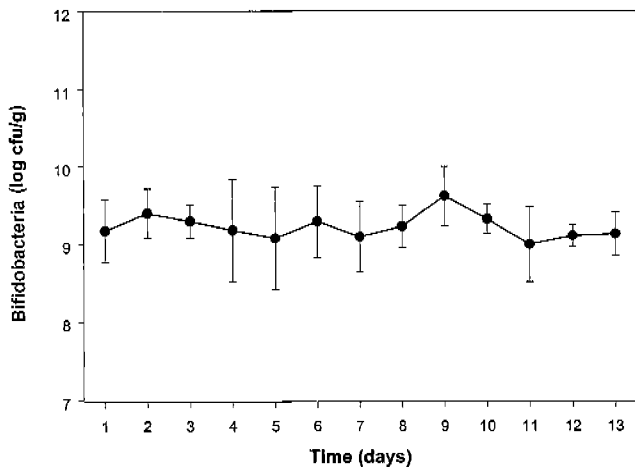


Fig. 2. Changes in counts of bifidobacteria in fecal microflora of 6 volunteers by intaking the wormwood extract.

1-3 days; Before intake of wormwood extract
 4-8 days; During intake of wormwood extract
 9-13 days; After intake of wormwood extract.

미치지 않은 것으로 나타났다. 또한 복용을 마친 5일간의 평균 균수가 1.7×10^9 cfu/g으로 쑥 추출물을 복용하기 전과 비교하여 큰 차이를 보이고 있지 않아 쑥 추출물이 bifidobacteria의 생육에는 영향을 미치지 않고 효과의 지속성도 없는 것으로 나타났다. 구 등[5]이 쑥 추출물이 bifidobacteria에 미치는 영향을 알아보기 위해 쑥 추출물의 minimal inhibition concentration(MIC) 농도를 1, 2, 3배 농도로 첨가하여 생육에 미치는 영향을 조사한 결과 MIC 농도의 1배를 첨가한 경우 초기 균수가 4.7×10^7 cfu/ml에서 40시간 배양한 후 2.4×10^8 cfu/ml으로 약간 늘어났고 2배 첨가한 경우 초기 균수가 1.6×10^7 cfu/ml에서 40시간 후 9.2×10^8 cfu/ml, 3배 첨가한 경우 초기 균수가 2.9×10^7 cfu/ml에서 40시간 후 1.7×10^8 cfu/ml로 약간 증가하는 결과와는 약간 상이하지만 쑥 추출물이 bifidobacteria의 생육에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Lactobacillus spp.의 수

쑥 추출물이 장내 세균 중 *Lactobacillus* spp.의 생균수에 영향을 미치는 결과는 Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 쑥 추출물을 복용하기 전보다는 복용하는 동안 *Lactobacillus* spp.의 생균수가 약간 증가하고 복용을 마친 후에는 다시 감소하고 있어 쑥 추출물이 *Lactobacillus* spp.의 생육을 촉진하고 있는 것으로 나타났다. 즉 쑥 추출물을 복용하기 전 3일 동안의 평균 균수는 1.4×10^6 cfu/g에서 복용하는 5일 동안 2.1×10^6 cfu/g으로 약간 증가하고 있으며 복용을 마친 5일 동안 1.6×10^6 cfu/g으로 복용하기 전과 비슷한 수준으로 되돌아가고 있어 쑥 추출물이 *Lactobacillus* spp.의 생육

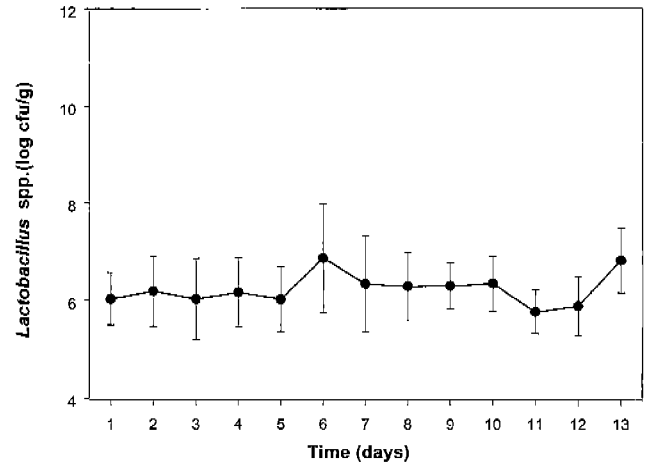


Fig. 3. Changes in counts of *Lactobacillus* spp. in fecal microflora of 6 volunteers by intaking the wormwood extract.

1-3 days; Before intake of wormwood extract
 4-8 days; During intake of wormwood extract
 9-13 days; After intake of wormwood extract.

에는 약간 촉진하는 효과가 있으나 효과의 지속성은 없는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 구 등[5]이 쑥 추출물의 장내 세균에 미치는 영향을 조사하기 위하여 인간의 분변에 쑥 추출물을 첨가하여 48시간 배양시키면서 *Lactobacillus* spp.의 생균수를 측정한 결과 초기 생균수가 1.2×10^4 cfu/g에서 48시간 후 1.1×10^5 cfu/g으로 증가하였다는 결과와 유사하였다.

***Clostridium perfringens*의 수**

쑥 추출물이 장내 세균 중 *C. perfringens*의 생균수에 영향을 미치는 결과는 Fig. 4와 같다.

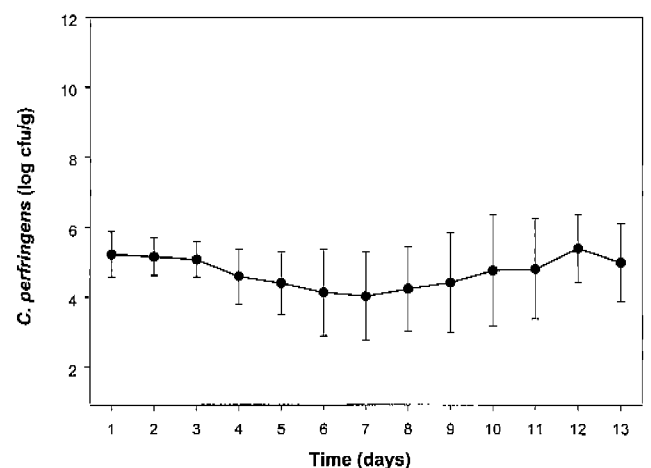


Fig. 4. Changes in counts of *C. perfringens* in fecal microflora of 6 volunteers by intaking the wormwood extract.

1-3 days; Before intake of wormwood extract
 4-8 days; During intake of wormwood extract
 9-13 days; After intake of wormwood extract.

Fig. 4에서 보는 바와 같이 *C. perfringens*는 $10^4 \sim 10^6$ cfu/g로 다른 균총에 비해 적은 편으로 이는 Mitsuoka [14]가 *C. perfringens*를 비롯한 장내 유해 균총이 10^4 cfu/g이라는 결과와 유사하였다. 쑥 추출물을 복용하기 전에는 큰 편차가 없어 개인간에 큰 차이를 보이지 않고 거의 비슷한 수준을 유지하고 있었으나 복용하는 동안 생균수의 값이 감소하고 있었으며 복용을 마친 후에는 실험요원 6명의 생균수 값이 상승하고 편차가 큰 것으로 나타나고 있어 개인에 따라서는 쑥 추출물의 지속성이 있는 것으로 나타났다. 즉 쑥 추출물을 복용하기 전인 3일 동안 1.4×10^5 cfu/g에서 복용하는 5일 동안 평균 균수가 1.9×10^4 cfu/g으로 약 10배 정도 감소하고 있었고 복용을 마친 후에도 7.6×10^4 cfu/g으로 다시 증가하는 경향을 나타내고 있었다. 구 등[5]이 쑥 추출물이 *C. perfringens*에 미치는 영향을 알아보기 위해 쑥 추출물의 minimal inhibition concentration(MIC) 농도를 1, 2, 3 배 농도로 첨가하여 생육에 미치는 영향을 조사한 결과 MIC 농도의 1배를 첨가한 경우 초기 균수가 2.6×10^4 cfu/ml에서 40시간 배양한 후 2.3×10^7 cfu/ml으로 늘어났으나 2배 첨가한 경우 초기 균수가 4.1×10^4 cfu/ml에서 40시간 후 4.0×10^3 cfu/ml으로 감소를 보이고 있었고 3배 첨가한 경우 초기 균수가 4.0×10^6 cfu/ml에서 40시간 후 1.0×10^4 cfu/ml 이하로 현저히 감소하는 결과와 유사하였다. 또한 권 등[7]이 쑥 에탄올 추출물의 *C. perfringens*의 생육 억제효과를 조사한 결과 쑥 추출물이 *C. perfringens*의 생육 억제가 매우 크다는 결과와 일치하였다.

E. coli의 수

쑥 추출물이 장내 세균 중 *E. coli*의 생균수에 영향을 미치는 결과는 Fig. 5와 같다.

Fig. 5에서 보는 바와 같이 복용하기 전보다는 복용하는 동안 및 복용을 마친 직후에 생균수가 감소하고 있어 쑥 추출물이 *E. coli*의 생육에 억제 효과가 있는 것으로 나타났다. 즉 쑥 추출물을 복용하기 전 3일 동안의 평균 균수는 1.3×10^8 cfu/g에서 복용하는 동안의 평균 균수가 4.2×10^7 cfu/g으로 감소를 보이고 복용을 마친 5일 동안 1.1×10^7 으로 계속 감소하고 있어 쑥 추출물이 *E. coli*의 생육 억제 효과에 미치는 영향은 매우 큰 것으로 나타났다.

따라서 인체에 직접 쑥 추출물을 복용하여 장내 균총에 미치는 실험 결과 연령 및 성별에 따라 개인차가 있었지만 유익균으로 선정된 bifidobacteria는 복용하는 동안 약간 생균수가 감소하고 있는 반면 *Lactobacillus* spp.의 생균수에는 복용하는 동안 균수가 증가하여 생육을 촉진하고 있었다. 한편 유해균으로 선정된 *C. perfringens*와 *E. coli*에 대하여 생육 저해 효과를 나타내는 것으로 나타났다.

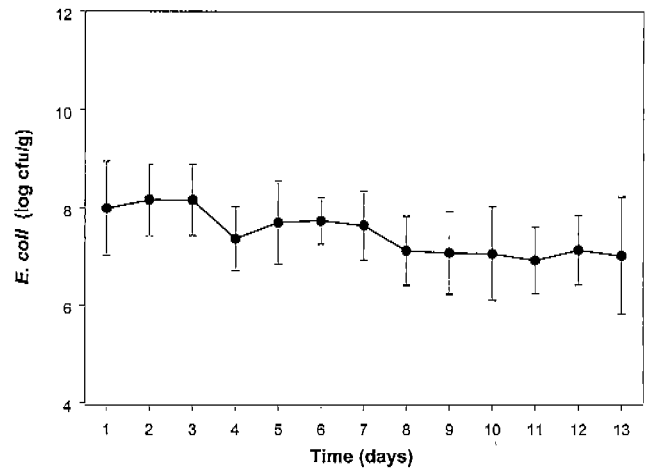


Fig. 5. Changes in counts of *E. coli* in fecal microflora of 6 volunteers by intaking the wormwood extract.

1-3 days; Before intake of wormwood extract
 4-8 days; During intake of wormwood extract
 9-13 days; After intake of wormwood extract.

요 약

쑥 추출물을 인체에 복용하여 쑥 추출물이 장내 균총에 미치는 영향을 조사한 결과 총 혐기성 균수는 쑥 추출물 복용 전후 모두 10^{10} cfu/g정도를 유지하고 있었다. 장내 유익균인 bifidobacteria 경우에는 쑥 추출물이 생육 촉진 및 억제에 큰 영향을 주지 못하는 것으로 나타났으며 *Lactobacillus* spp.는 쑥 추출물을 복용하는 동안 생육 촉진 효과가 있었다. 한편 장내 유해균인 *C. perfringens*와 *E. coli*의 경우 쑥 추출물을 복용하였을 때 생균수가 감소하는 경향을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처의 연구비지원으로 수행된 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Hidaka, H., M. Hirayama, and K. Yamada. 1991. Fructooligosaccharides enzymatic preparation and biofunction. *J. Carbohydr. Chem.* **10**: 509-513.
- Holdeman, L. V., E. P. Cato, and W. E. L. Moore. 1977. *Anaerobe Laboratory Manual*, pp. 117-152, 4th ed. Southern Printing Co., Virginia.
- Hosono, A., R. Wardojo, and H. Otani. 1990. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosoamines. *Agr. Biol. Chem.* **54**: 1639-1643.
- Koo, Y. J., H. K. Shin, J.Y. Yoo, and J.H. Park. 1992. Studies on the effects of foodstuffs on the intestinal mi-

- croorganism and its application to the development of functional foods, pp. 1–138. *Korea Food Research Institute*. Sungnam, Korea.
5. Koo, Y. J., H. K. Shin, J. Y. Yoo, J. H. Park, and D. J. Kwon. 1993. Studies on the effects of foodstuffs on the intestinal microorganism and its application to the development of functional foods, pp. 1–103. *Korea Food Research Institute*. Sungnam, Korea.
 6. Koo, Y. J., H. K. Shin, J. Y. Yoo, J. H. Park, and D. J. Kwon. 1994. Studies on the effects of foodstuffs on the intestinal microorganism and its application to the development of functional foods, pp. 1–90. *Korea Food Research Institute*. Sungnam, Korea.
 7. Kwon, D. J., J. H. Park, M. Kwon, J. Y. Yoo, and Y. J. Koo. 1997. Optimal extracting condition of growth-inhibitory component of wormwood (*Artemisia princeps*) against *Clostridium perfringens*. *Agri. Chem. Biotech.* **40**: 267–270.
 8. Laroia, S. and J. H. Martin. 1990. Bifidobacteria as possible dietary adjuncts in cultured dairy products-A review. *Cultured Dairy Products Journal* **November**, 18.
 9. Lee, S. 1995. Effect of mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) extract on the *in vitro* mutagenicity and desmutagenicity. *Chungang Univ. Master's Thesis*.
 10. Lee, S., D. J. Kwon, J. Y. Yoo, and D. H. Chung. 1996. Effect of mugwort extract on the *in vitro* mutagenicity, desmutagenicity. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 105–110.
 11. Lee, S. H. and H. K. Shin. 1996. Analysis of mugwort oligosaccharides utilized by bifidobacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**: 28–33.
 12. Misra, A. K. and R. K. Kulia. 1991. Intesified growth of *Bifidobacterium* and preparation of *Bifidobacterium bifidum* for a dietary adjunct. *Cultured Dairy Products Journal* **November**, 4.
 13. Mitusoka, T. 1984. *A Color Atlas of Anaerobic Bacteria*, pp. 319–327. Chongmunsa, Tokyo.
 14. Mitsuoaka, T. 1989. *Ecology and Role of Intestinal Flora*, pp. 1–29. Japan Scientific Soc. Press, Tokyo.
 15. Park, J. H., M. Kwon, D. J. Kwon, J. Y. Yoo, and Y. J. Koo. 1996. Effect of soybean extract on growth and metabolism of *Clostridium perfringens* and human intestinal bacteria. *Food Sci. Biotechnol.* **5**: 220–225.
 16. Shahani, K. M. and R. C. Chandan. 1979. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture containing dairy foods. *J. Dairy Sci.* **62**: 1685–1689.
 17. Tanaka, P., H. Takayama, M. Morotomi, T. Kuroshima, S. Ueyama, K. Matsumoto, A. Kuroda, and M. Mutai. 1983. Effects of administration of TOS and *Bifidobacterium breve* on the human fecal flora. *Bifidobacteria Microflora* **2**: 17–21.

(Received November 30, 1998)