

감자 단백질이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 영향

신현경* · 신옥호 · 구영조¹

한림대학교 식품영양학과, ¹한국식품개발연구원

Effects of Potato Protein on the Growth of *Clostridium perfringens* and Other Intestinal Microorganisms

Shin, Hyun-Kyung*, Ok-Ho Shin and Young-Jo Koo¹

Department of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

¹Korea Food Research Institute, Songnam 462-420, Korea

Abstract — Potato juice was found out to have a strong inhibition activity on the growth of *Clostridium perfringens* during work of foodstuffs for the improvement of human intestinal microflora. The anti-bacterial activity of the precipitated protein obtained from the potato juice in 70% ammonium sulfate solution was stable at the range of pH 4 to 10, whereas it was lost by a heat treatment at 60°C for 10 min. The minimal inhibitory concentration of the precipitated protein on the growth of *Cl. perfringens* was about 0.2 mg/ml. The potato protein also suppressed the growth of *Cl. butyricum* and *Eubacterium limosum*, while it showed a promoting effect for the growth of *Bifidobacterium bifidum*, *Bif. animalis*, *Lactobacillus plantarum* and *Lact. acidophilus*. The potato protein was further purified by CM-Sepharose ion exchange column chromatography, Sephadex G-150 gel filtration column chromatography and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. The purified protein(kCp) was proved to be a glycoprotein by PAS staining and its molecular weight was about 38.7 kd.

Pasteur 연구소의 Tissier는 모유 영양아와 인공 영양아의 장내 균총 차이를 비교하여 모유 영양아에 상대적으로 *Bifidobacteria* 수가 많음을 발견하고 이 *Bifidobacteria*가 어린아이 건강 및 면역에 매우 중요한 역할을 함을 발표하였다(1). 그 후 혐기성 배양 방법의 발달에 따라 장관 내에는 분변 g당 10^{11} 이상의 균이 존재함을 알게 되었고, Mitsuoka에 의해서 어린 아이뿐 아니라 성인이나 노인에 있어서도 *Bifidobacteria*가 건강에 중요한 역할을 하고 있을 것으로 추정되었다(2). Mitsuoka는 장관 분변 용량의 1/3 이상이 미생물임을 밝혀내고, 이들 장내 균총중 인간에 유용한 미생물로서 *Bacteroides*, *Eubacteria*, *Anaerobic cocci*, *Bifidobacteria* 등이 분변 g당 $10^9 \sim 10^{11}$ 존재하며, 이들은 숙주의 면역 능력을 자극하거나 감염의 방어

작용을 하며 비타민을 합성하여 숙주에 공급함으로써 숙주의 건강유지에 기여하는 것으로 알려져 있으며, 유해성 균으로서 *Streptococcus*, *E. coli*, *Enterococcus* 등이 분변 g당 $10^5 \sim 10^8$ 존재하며 장내 부패나 독소 생성, 발암물질 생성으로 숙주에 나쁜 영향을 주기도 하지만 경우에 따라 비타민 합성이나 숙주의 소화흡수를 돕는 유익한 작용이 동시에 보고되어 있다. 한편 병원성 균으로는 *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus* 등이 알려져 있고 이들은 장관내 분변 g당 10^4 이하로 존재하면서 숙주의 노화를 촉진하고 질병을 유발시키는 것으로 보고되어 있다(3). 이들 중 *Bifidobacteria*는 유해균의 장관내 정착을 억제할 뿐 아니라 발암 물질을 제거하고 혈중 cholesterol 농도를 낮추어 주는 등의 역할을 함으로써 최근 장내에 존재하는 가장 중요한 유익균으로 인정되고 있으며(4), 반면 병원성 미생물로서는 *Cl. perfringens*가 가장 흔히 발견되고 가장 독성이 강한 균으로

Key words: Potato protein, *Clostridium perfringens*, bacteriocin, intestinal microorganisms

*Corresponding author

알려져 있다. 이 균은 흙속에서도 g당 5×10^4 존재할 뿐 아니라, 동양인에서는 분변 g당 10^4 정도 존재하고 서양인 장관내에서는 10^9 으로 다량 존재하고 있다(4, 5). *Cl. perfringens*는 여러가지 다양한 독소를 생산하는데 이들 독소중 alpha 독소와 kappa 독소는 효소로서 phospholipase C와 collagenase 활성을 가져서 숙주세포를 파괴할 뿐 아니라 beta, epsilon, iota 독소는 vascular endothelium에 작용하여 특히 뇌의 capillary permeability를 증가시킴으로써 신생아의 괴사성 장염, Pig-bel 질환, 담석증, 류마치스, 간암, virus 감염 등에 깊이 관여한다(4). 또한 *Cl. perfringens*는 노인이 되면 장관내에 그 수가 현저히 증가하는 것으로 미루어 사람의 노화에도 깊이 관여하는 것으로 추정되고 있다(3). 우리들이 건강을 유지하려면 이상적인 장내 균총의 균형이 이루어져야 하며 유익균이 장내 유세균이 되도록 유지시켜야 하는 바 이를 위하여 유익균 자체를 섭취하는 방법과 장내 균총을 조절할 수 있는 식이 조절에 의하여 유익균의 장내 증식을 촉진시키는 방법이 도입될 수 있다. 전자의 경우 섭취한 유익균의 장내 정착이 쉽지 않을 것으로 생각되나, 후자의 경우 장관내에 서식하는 유익균의 수를 선택적으로 증가시킬 수 있으므로 매우 실현성 있는 접근 방법으로 생각된다. 유익균인 *Bifidobacteria*의 생육촉진 물질로서 올리고당(6), 모유중에 존재하는 당단백질(7,8), 펩톤, casein 가수 분해물, yeast extract(9) 등의 효과가 연구되어 있으나 유해균인 *Clostridium*이나 *E. coli*의 생육 억제 물질에 대한 연구는 *Cl. perfringens*에 대한 butyric acid의 항균 작용(10) 외에는 거의 찾아보기 어렵다.

본 실험에서는 국내에서 구입 가능한 식이 소재중 *Cl. perfringens*의 생육을 억제하는 소재를 검색하여 그 중 감자단백질이 *Cl. perfringens*의 생육을 작 억제하면서 *Bifidobacterium bifidum*과 *Lactobacillus*의 생육을 촉진시키는 효과를 보였기에 보고한다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용한 장관내 주요 미생물 중 *Bacteroides fragilis*, *Eubacterium limosum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bif. bifidum*, *Bif. longum*, *Bif. infantis*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Cl. butyricum*, *Cl. ramosum*, *Cl. paraputrificium*은 ATCC에서 구입하였고, *Lacto-*

*bacillus acidophilus*는 KCTC에서 구입하였으며, EGLF[®]한천 배지(11)에 계대하면서 사용하였다.

협기 배양

Mitsuoka의 steel wool 방법(11)을 사용하였다. Vacuum desiccator에 plate를 넣은 후, CuSO_4 , Tween 80 그리고 H_2SO_4 를 포함하는 용액에 steel wool을 넣어 산소를 제거하면서 이산화탄소로 치환시킨 후 37°C에서 2~3일 배양하였다.

검색 식품 소재

본 실험에서 검색한 식품소재는 곡류로서 쌀, 울무, 차수수, 참쌀, 조, 늘보기, 맥주맥, 서류로서 감자, 고구마, 돼지감자, 토란, 콩류로서 검정콩, 녹두, 팥씨앗 및 견과류로서, 검정깨, 참깨, 땅콩, 은행, 잣, 해바라기씨, 호두, 밤, 야채류로서 가지, 갈퀴나물, 개미취, 깻잎, 껌질콩, 고들빼기, 고바, 고사리, 고추, 근대, 냉이, 늙은호박, 당근, 달래, 더덕, 도라지, 들나물, 두릅, 마, 마늘, 마늘쫑, 무, 머위, 무릇, 물쭉, 미나리, 미역취, 민들레, 밀순, 박조가리, 배추, 부추, 비름, 비비추, 싸리순, 삼주, 산갯잎, 산미나리, 상추, 썰러리, 생강, 숙주, 쑥, 쑥갓, 썸바귀 뿌리, 썸바귀 나물, 시금치, 아스파라거스, 아욱, 양배추, 양상추, 양파, 연근, 열무, 오아리순, 오이, 우엉, 원추리, 이밥나물, 잔대, 죽순, 질경이, 참취, 케일, 콩나물, 토마토, 파, 풋마늘, 호박, 홀잎, 황새냉이 과실류로서 깻깻, 대추, 매실, 바나나, 배, 복숭아, 사과, 산딸기 해조류로서 김, 다시마, 미역, 바다나물, 파래, 그리고 그 밖에 고추가루, 솔잎, 알로에베라, 알로에, 아보레 센스, 영지, 인삼, 진달래꽃, 쑥, 컴푸리 등을 사용하였다.

위의 식품 소재중 즙으로 짤수 있는 것은 즙으로 검색하였으며 나머지 소재는 blender로 갈은 후, 물, acetone, ethylacetate, 및 butanol로 추출하여 검색하였다.

항균활성 검색법

EG한천 배지를 121°C에서 15분간 멸균한 후 45°C로 냉각시킨 다음 균 배양액을 2~3%로 첨가하여 혼합한 후 petri dish에 20 ml씩 부어 굳혔다. 한천이 굳은 후 잘 말려서 지름 6.5 mm의 TOYO No.2 paper disk를 한천위에 올려 놓고 검색하고자 하는 식품소재 추출액을 filter로 제균한 후 10 μl 를 paper disk에 loading하여 37°C에서 협기 배양하면서 plate상에서의 생육촉진환이나 억제환을 검사하였다.

감자단백질의 *Cl. perfringens*의 생육억제 농도 결정

감자단백질의 *Cl. perfringens*의 생육을 억제하는 최소 농도를 측정하기 위하여 EG 한천배지(11) 20 ml에 *Cl. perfringens* 배양액 0.5 ml을 넣어 균한 후 감자단백질 용액을 농도별로 paper disk에 loading 하여 24시간 혐기 배양하여 억제환이 생기는 최소 감자단백질 용액농도를 결정하였다.

항균활성 감자단백질의 열 및 pH 안정성 조사

0.5% 감자단백질 용액을 40, 50, 60, 70, 80°C에서 5, 10, 30, 60분간 처리하여 EG 한천배지상에서 paper disk를 이용하여 *Cl. perfringens*의 억제환을 측정하였다. 한편 0.5% 감자단백질 용액을 염산이나 수산화나트륨으로 pH 1에서 13까지 조정후 상온에서 4시간 방치하고 다시 pH 7로 중화한 다음 EG 한천배지상에서 paper disk를 이용하여 *Cl. perfringens*의 억제환을 측정하였다.

감자단백질의 장내 미생물 증식효과 조사

감자단백질의 장내 주요 균 증식효과를 조사하기 위하여 modified EG 액체배지(Table 1)의 질소원인 beef extract와 proteose peptone No. 3 대신 감자즙을 70% 황산암모늄으로 침전시켜 동결 건조한 감자단백질을 사용하여 균 증식 효과를 실험하였다. 각 배지에 시험균을 1% 접종하여 48시간 배양하면서 균 증식 정도를 600 nm에서 O.D.로 측정하였다.

항균활성 감자단백질의 분리 및 정제

감자즙 중 70% 황산암모늄용액에서 침전된 단백

질을 냉동 건조 후 pH 5.7로 평형 상태에 있는 CM-Sepharose column (3.5D×32.5L cm)에 loading하여 40 ml/hr의 속도로 fraction당 10 ml씩 받아내었다. 각 fraction을 *Cl. perfringens*가 첨가된 EG agar plate 상에서 paper disk로 검색하여 *Cl. perfringens* 생육 억제활성을 보이는 fraction만 모아 ultrafiltration으로 농축하였다. CM-Sepharose에 흡착된 유용 단백질은 void volume을 받아낸 후 NaCl로 1 M까지 gradient를 걸어서 용출시켰다. CM-Sepharose ion exchange chromatography에 의해 분리 농축한 각 fraction들을 Sephadex G-150 gel filtration column (2.1 D×85L cm)에서 9 ml/hr의 속도로 fraction당 10 ml씩 받아내어 *Cl. perfringens* 생육억제활성을 보이는 fraction을 모았다. 정제된 단백질의 분자량 측정을 위하여 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis 행하였으며 PAS 염색으로 glycoprotein여부를 확인하였다.

결과 및 고찰

***Clostridium perfringens*의 생육 억제 물질 검색**

장내 미생물중 대표적 유해균인 *Clostridium perfringens*의 생육을 억제하는 물질을 paper disk 방법으로 1차 탐색한 결과, 상기 재료 및 방법에 기재된 100여 종류의 소재중 Table 2에 표시된 5가지 이외의 소재에서는 뚜렷한 억제 활성을 발견하지 못하였다.

감자의 물 추출물은 *Cl. perfringens*의 생육을 억제하였으며, 차수수(glutinous sorghum) 및 차조(glutinous fox tailmillet)의 경우 물 추출물을 제외한 유기용매 추출액에서 억제활성을 나타냈다. 맥아의 경우 에틸아세테이트와 부탄올 추출물에서 억제활성을 보여주었고, 매실(Japanese apricot)은 물 추출물

Table 1. Medium composition of modified EG broth

| | |
|----------------------------------|---------|
| * Beef extract | 2 g |
| * Proteose peptone No. 3 | 10 g |
| Yeast extract | 5 g |
| Na ₂ HPO ₄ | 4 g |
| Soluble starch | 0.5 g |
| Glucose | 1.5 g |
| L-Cysteine | 0.4 g |
| Silicone antifoamer | 0.25 ml |
| Tween 80 | 0.5 g |
| Distilled water pH 7.6 | 1000 ml |

* These nitrogen sources were replaced with potato protein for experiment indicated in Materials and Methods.

Table 2. Growth inhibition of *Cl. perfringens* by food materials

| Food materials | Solvent | | | |
|--------------------------|---------|---------|---------------|---------|
| | Water | Acetone | Ethyl acetate | Butanol |
| Potato | ++ | - | - | - |
| Barley sprout | - | - | + | + |
| Glutinous sorghum | - | + | + | + |
| Glutinous fox tailmillet | - | + | + | + |
| Japanese apricot | + | - | - | - |

++: strongly inhibited, +: inhibited, -: no effect.

Table 3. Effects of the potato juice on the growth of intestinal microorganisms

| Species | Growth |
|---|--------|
| <i>Cl. perfringens</i> ATCC 13124 | - |
| <i>Cl. ramosum</i> ATCC 25582 | + |
| <i>Cl. butyricum</i> ATCC 19398 | + |
| <i>Cl. paraputrificum</i> ATCC 25780 | + |
| <i>Bif. bifidum</i> ATCC 29521 | ++ |
| <i>Bif. thermophilum</i> ATCC 25525 | + |
| <i>Bif. longum</i> ATCC 15707 | + |
| <i>Bif. animalis</i> ATCC 25527 | + |
| <i>Bif. adolescentis</i> KCTC 3216 | + |
| <i>Bif. infantis</i> ATCC 15698 | + |
| <i>Lact. acidophilus</i> KCTC 3151 | ++ |
| <i>Eubact. lomosum</i> ATCC 8486 | - |
| <i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285 | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600 | + |

-: inhibited, +: weakly stimulated, ++: stimulated

에서 *Cl. perfringens*의 생육을 억제시켰다.

감자즙이 주요 장내 세균의 생육에 미치는 영향

감자즙이 주요 장내 미생물에 어떤 영향을 미치는가를 살펴보기 위하여 EG 한천배지상에서 paper disk를 사용하여 생육 상태를 조사한 결과는 Table 3와 같다. 감자즙에 의하여 *Cl. perfringens*와 *Eubacterium limosum*은 균증식이 강하게 억제되었으나 *Cl. ramosum*, *Cl. butyricum*, *Cl. paraputrificum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides fragilis*, *Bif. adolescentis*, *Bif. thermophilum*, *Bif. animalis*, *Bif. infantis* 등은 생육이 촉진되었고, 특히 *Bifidobacterium bifidum*과 *Lactobacillus acidophilus*는 균 생육이 현저하게 촉진되었다. 감자 즙액 중 생육억제 물질이 기존의 알려진 독소 물질인지의 여부를 조사하기 위하여 대표적인 감자 독소인 solanidine, α-solanine 및 demissidine이 *Cl. perfringens*의 생육억제에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 1에서 볼 수 있는 바와 같이 이들 물질들은 생육억제 활성을 보여주지 못한 반면, 감자의 물 추출물 중 황산암모늄 침전물에서 뚜렷한 억제 활성을 나타냄으로써 이 활성물질이 이상의 알려진 독소 물질은 아닌 것으로 밝혀졌으며 아울러 활성물질이 단백질성 물질인 것으로 추정되었다.

감자 단백질의 항균활성

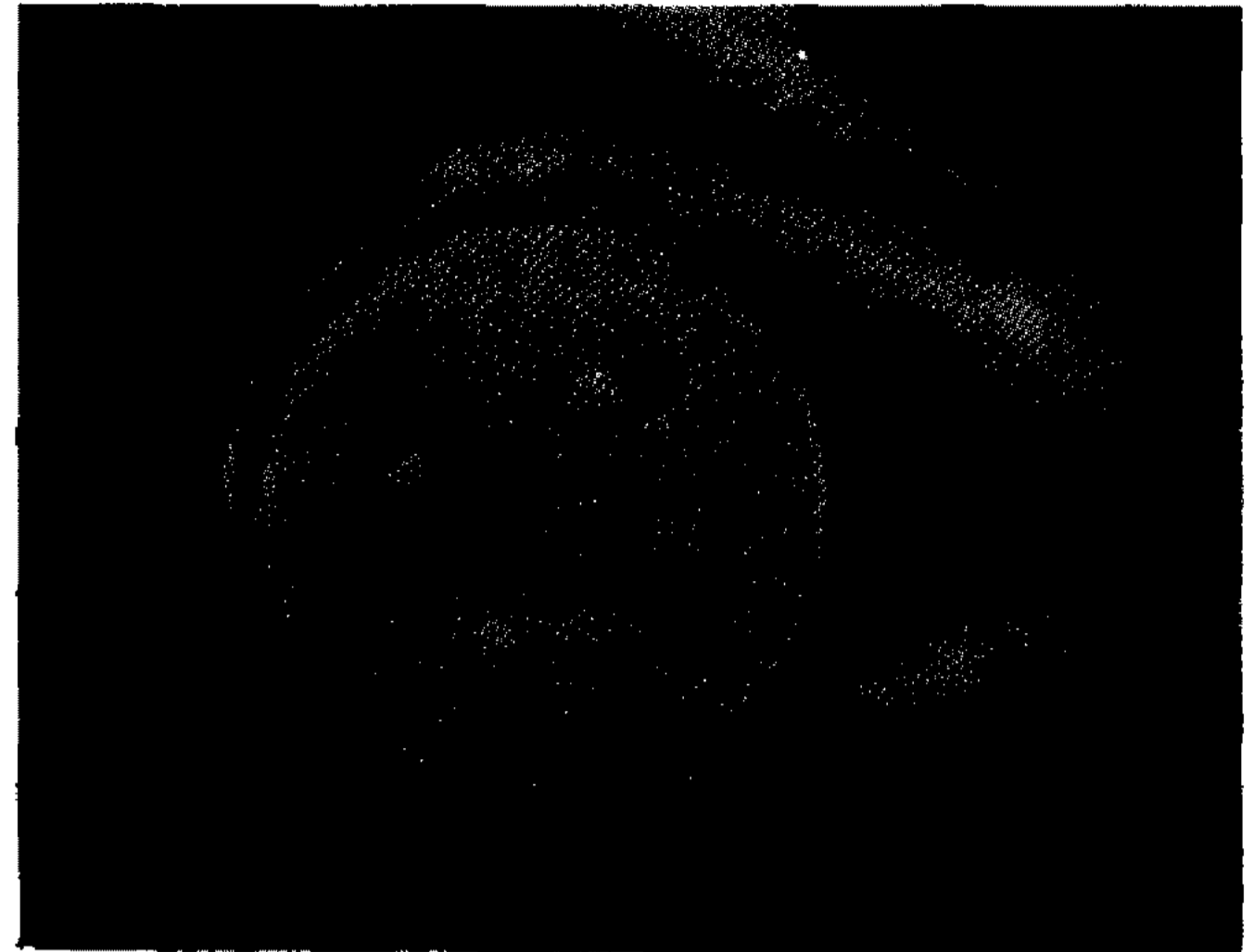


Fig. 1. Effects of the potato protein and potato toxins on the growth of *Clostridium perfringens*.

A: 1% potato protein solution, B: 1% solanidine solution, C: 1% α-solanine solution, D: 1% demissidine solution.

Inhibition zone was formed by 1% potato protein solution on the lawn of *Cl. perfringens* ATCC 13124.

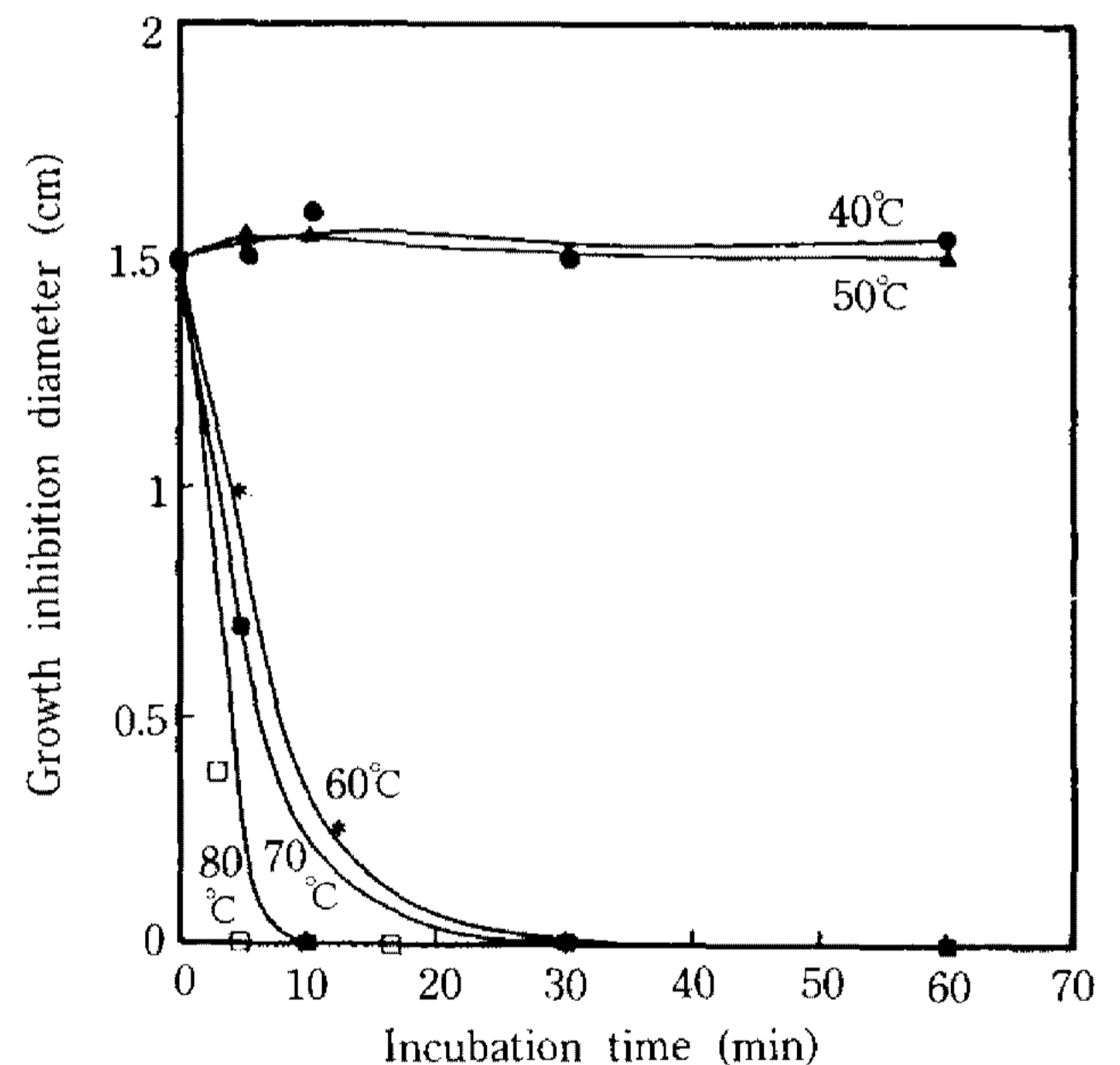


Fig. 2. Thermal stability of the potato protein.

The growth inhibition activity against *Cl. perfringens* was detected on the EG agar plate containing *Cl. perfringens* preincubated in 0.5% potato protein solution at various temperatures indicated in the figure.

*Cl. perfringens*의 생육을 억제하는 감자단백질의 온도 안정성을 조사한 결과 Fig. 2와 같이 60°C에서 10분 동안의 열처리로 거의 실활되었다. 또한 Fig. 3에서 볼 수 있는 바와 같이 pH 4로부터 10 사이에서는 안정하였지만 pH 2의 산성이나 pH 12의 알칼리성에

서는 항균활성이 모두 소실되었다. 한편 70% 황산암 모늄으로 침전하여 동결 건조시킨 감자단백질이 *Cl. perfringens*의 생육을 억제시키는 최소농도를 조사한

결과 Fig.4와 같이 0.2 mg/ml 이상에서 *Cl. perfringens* 생육억제가 일어남을 알 수 있다.

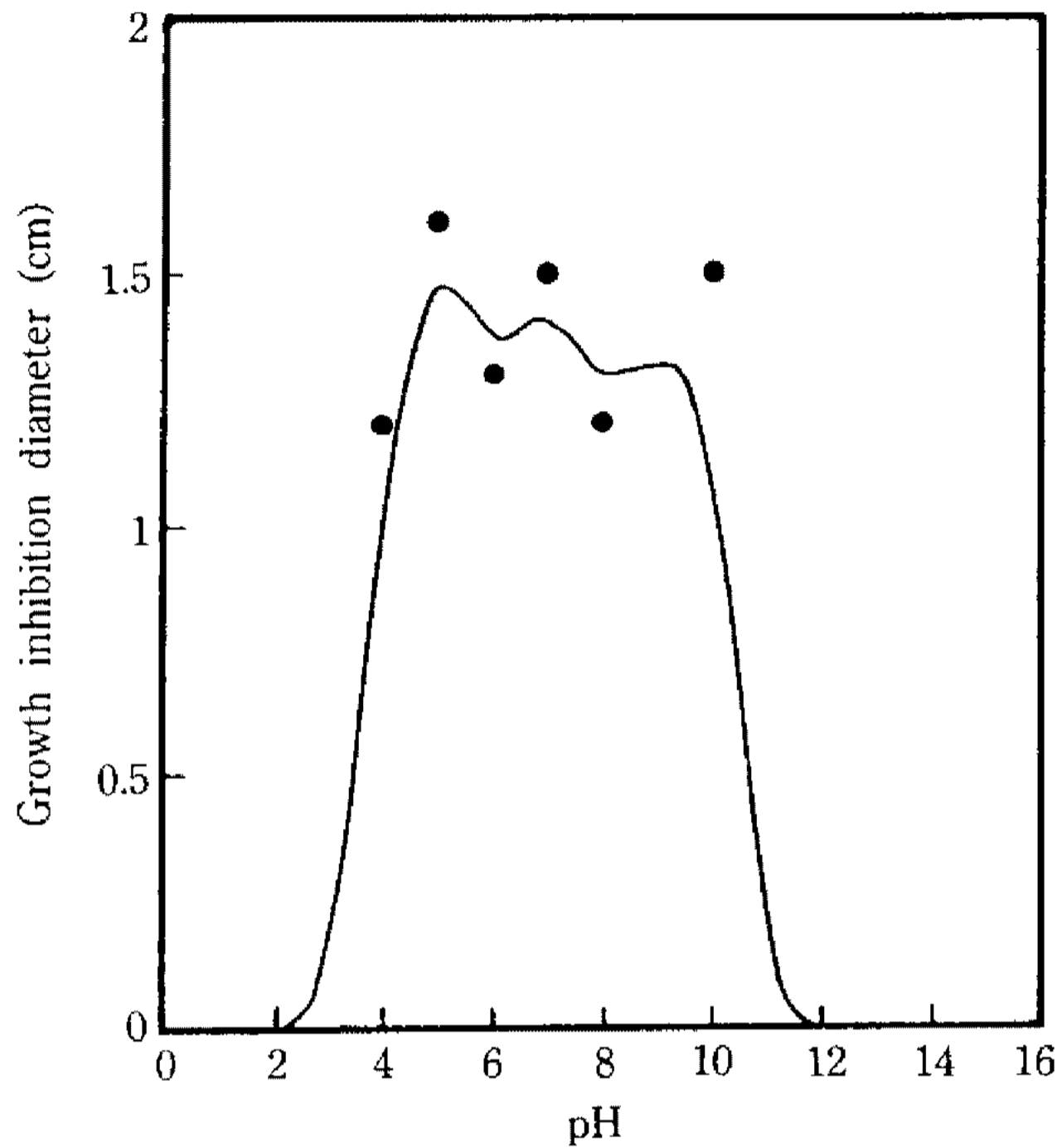


Fig. 3. pH stability of potato protein.
The growth inhibition activity against *Cl. perfringens* was detected on the EG agar plate containing *Cl. perfringens* preincubated in 0.5% potato protein solution at room temperature at the various pHs indicated in the figure.

감자단백질이 주요 장내 미생물의 생육에 미치는 효과

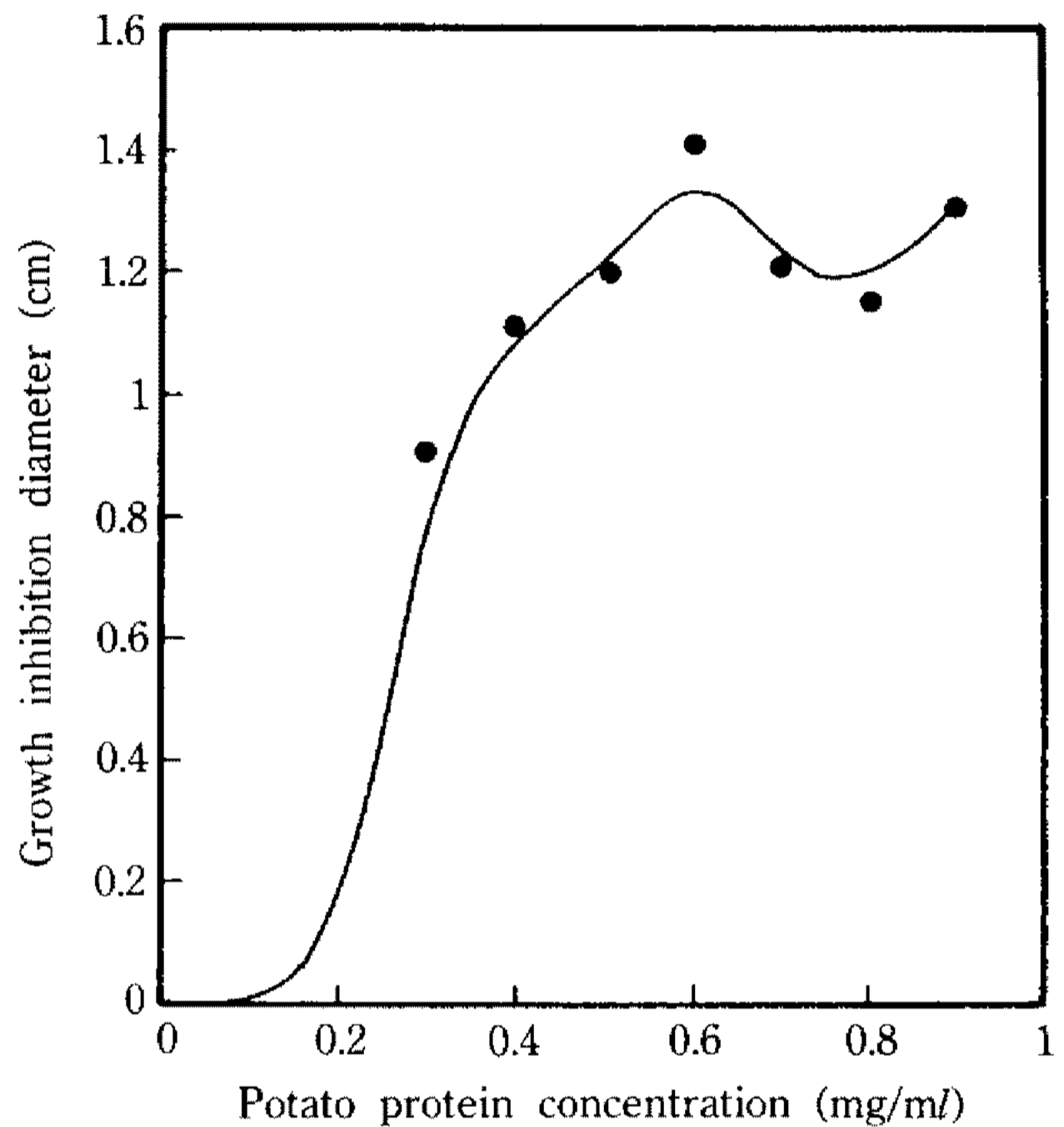


Fig. 4. Minimum potato protein concentration which inhibits the growth of *Clostridium perfringens*.
Minimum potato protein concentration was detected on the lawn of *Cl. perfringens* ATCC 13124.

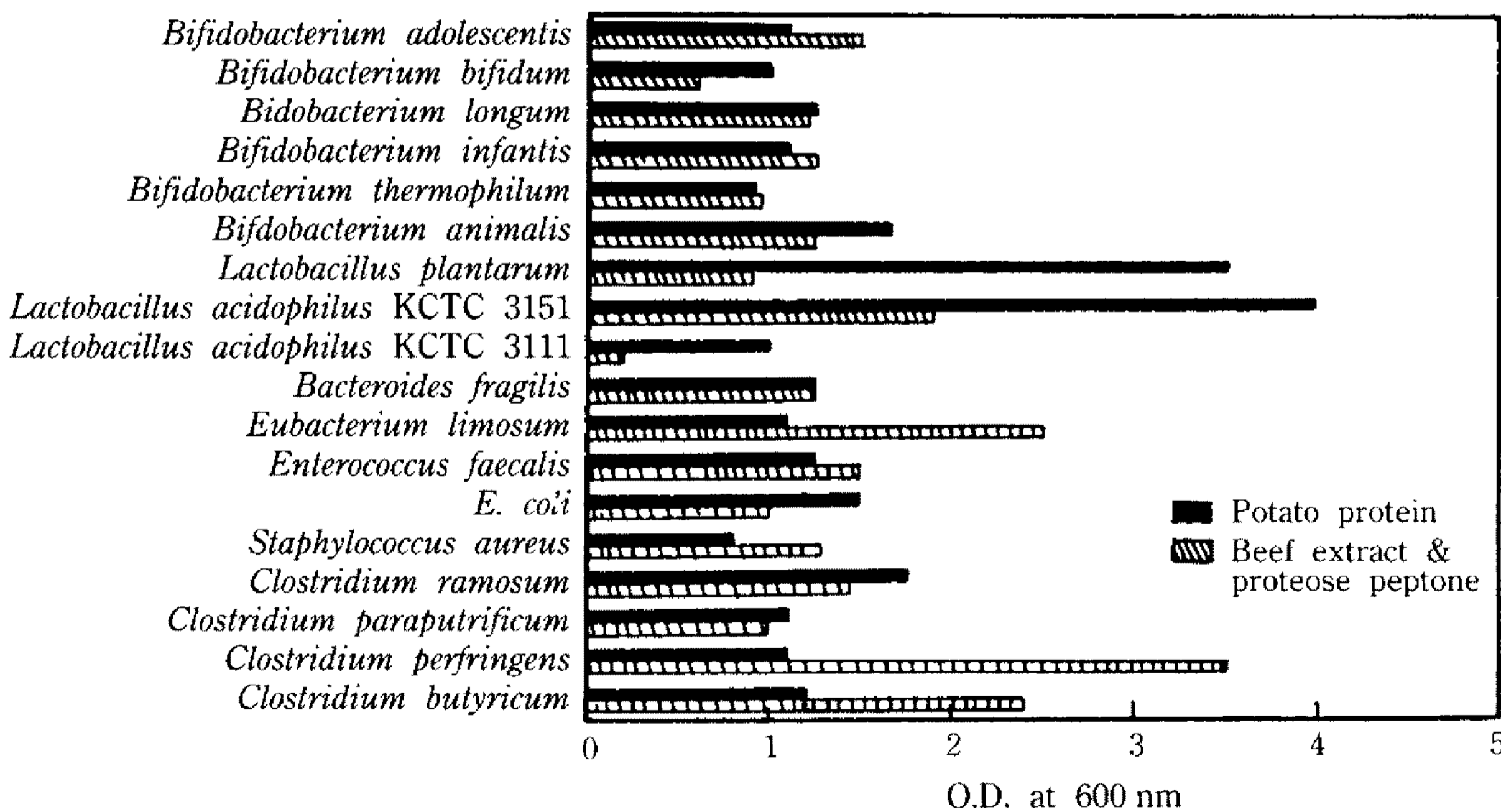


Fig. 5. Effects of potato protein on the growth of various intestinal microorganisms.
The intestinal microorganisms were separately cultivated in the modified EG broth with potato protein instead of beef extract and proteose peptone.

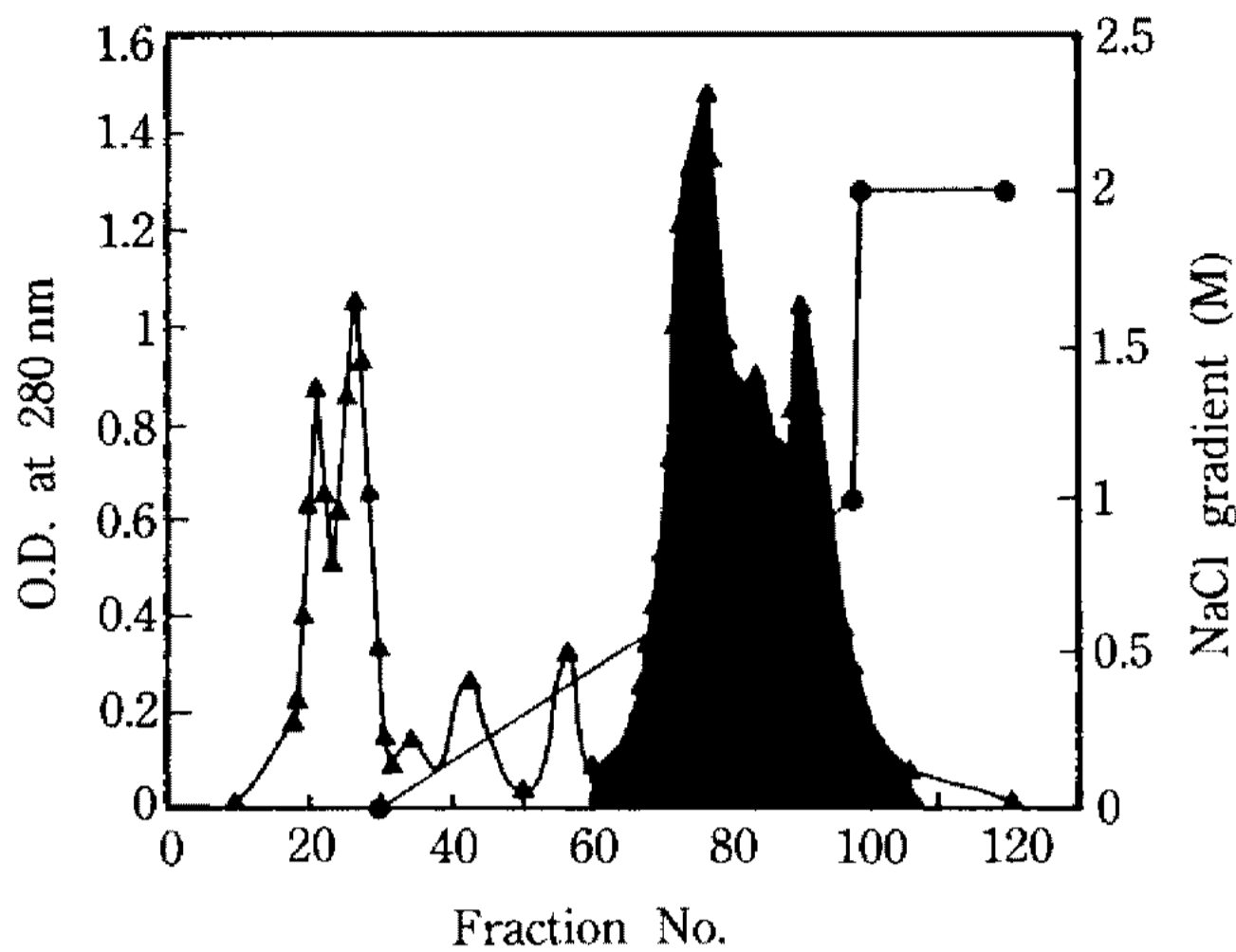


Fig. 6. CM-Sepharose ion exchange chromatography. Shaded fractions had the growth inhibition activity against *Clostridium perfringens*.

장내 미생물 배양시 공통배지로 사용되고 있는 modified EG 액체 배지와 이 배지 성분 중 질소원으로 사용되고 있는 beef extract와 proteose peptone No. 3를 감자단백질로 대체한 액체배지를 사용하여 주요 장내 세균에 대한 증식 상태를 조사하여 보았다. 감자단백질이 *Cl. perfringens*의 생육을 억제하는 활성이 60°C에서 10분 열처리로 모두 소실되었으므로 감자단백질 용액을 여지로 제공한 후 autoclave한 다른 배지성분과 혼합하여 실험하였다. Fig. 5에서와 같이 감자단백질로 대체한 실험구에서 *Bifidobacterium bifidum*과 *Lactobacillus acidophilus*의 생육이 촉진되었으며, 반면 *Eubacterium limosum*, *Cl. perfringens* 및 *Cl. butyricum*의 경우는 균 생육이 억제되었다. *Eubacterium limosum*과 *Cl. perfringens*는 감자단백질 중 항균물질에 의해서 생육이 억제된 것이고, *Cl. butyricum*의 경우 Table 2와 비교해 볼 때 질소원으로서 감자단백질이 적합하지 않기 때문으로 생각된다. Fig. 5에서 보면 감자단백질이 대부분 장내 세균에 의해서 beef extract, proteose peptone No. 3와 같이 질소원으로서 잘 이용됨을 알 수 있다.

항균활성 감자단백질의 분리 및 정제

*Cl. perfringens*의 생육을 억제하는 단백질은 pH 5.7에서 CM-Sepharose에 흡착되었으며, 이 단백질을 정제하기 위하여 CM-Sepharose ion exchange column chromatography를 한 결과는 Fig. 6과 같다. 검은색 영역 즉 NaCl 농도 0.5 M 이상에서 용출되는 단백질에 *Cl. perfringens*의 증식을 억제하는 활성이

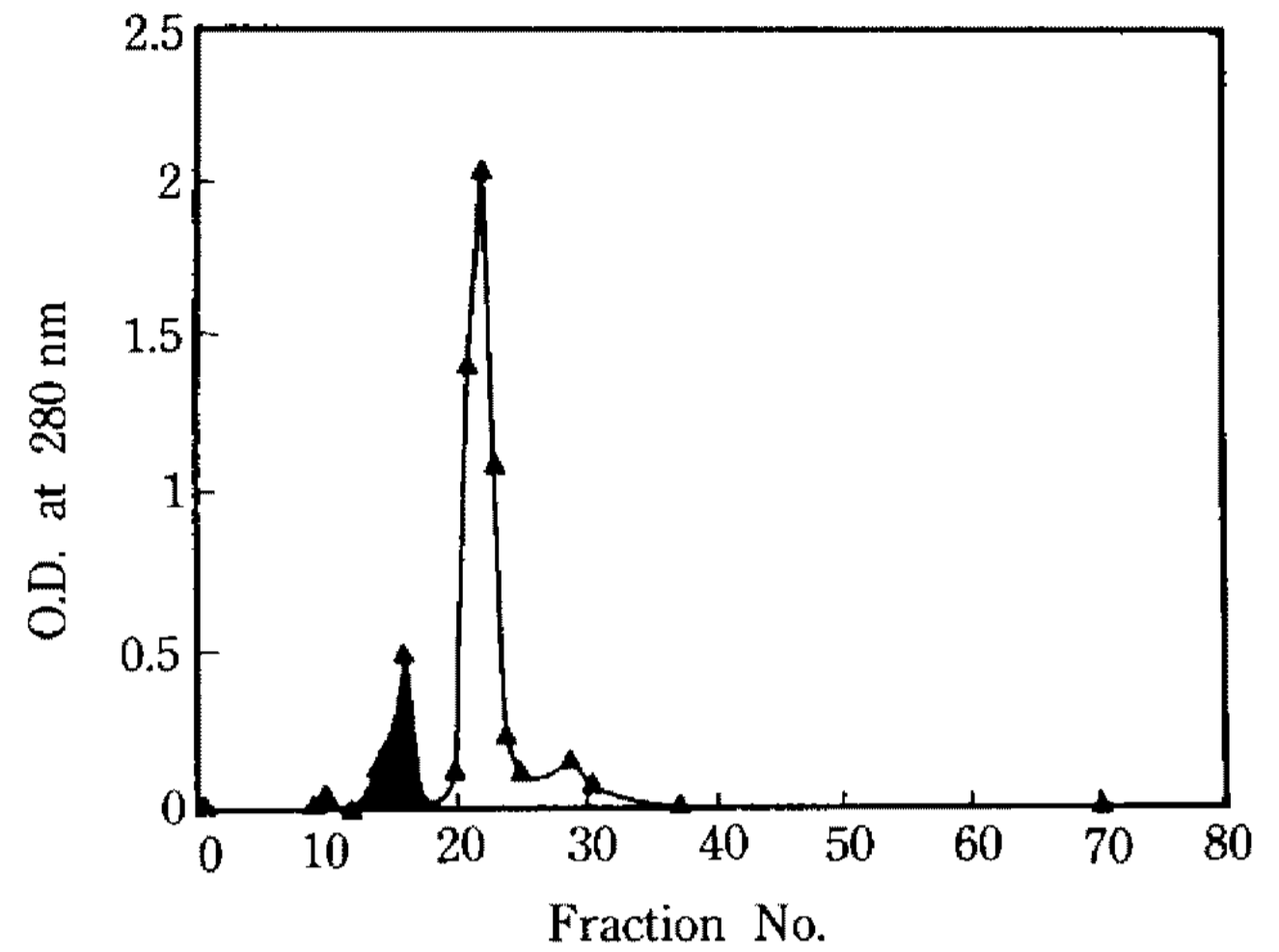


Fig. 7. Sephadex G-150 gel filtration column chromatography.

The active fractions No. 67~77 obtained by CM-Sepharose ion exchange chromatography(Fig. 6) were applied to Sephadex G-150 gel filtration column chromatography. Shaded fractions had the growth inhibition activity against *Cl. perfringens*.

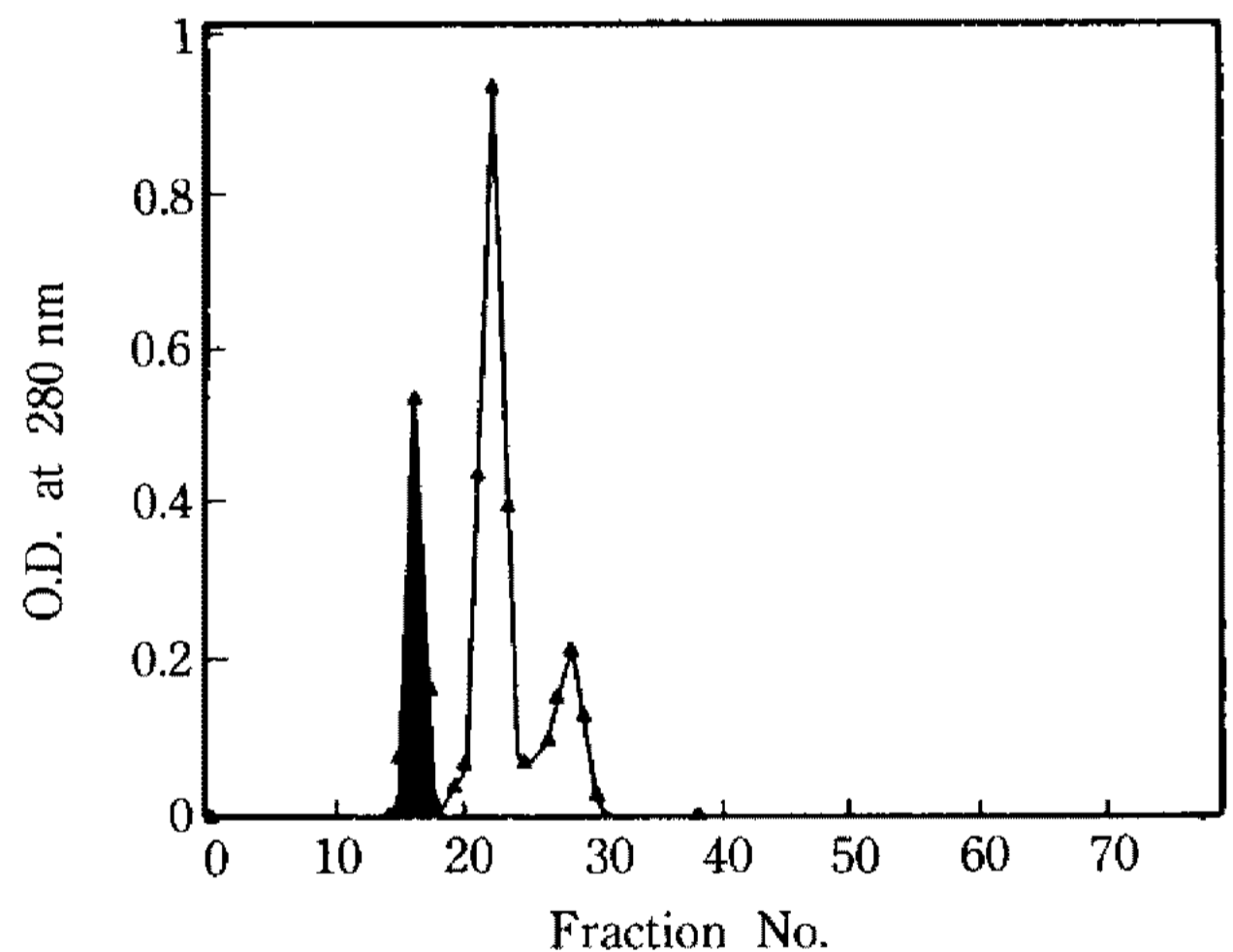


Fig. 8. Sephadex G-150 gel filtration column chromatography.

The active fractions No. 78~87 obtained by CM-Sepharose ion exchange chromatography(Fig. 6) were applied to Sephadex G-150 gel filtration column chromatography. Shaded fractions had the growth inhibition activity against *Cl. perfringens*.

있었으며, 이곳은 3개의 단백질 peak로 구성되어 있었다. CM-Sepharose ion exchange chromatography에서 *Cl. perfringens* 억제활성을 보이는 fraction중 67~77, 78~87, 88~98을 각각 농축하여 Sephadex G-150 gel filtration을 해보면 각각 Fig. 7, 8, 9와 같다. 모두 16번 fraction에서 *Cl. perfringens* 생육억제 활성이 나타났다. Sephadex G-150 gel filtration column

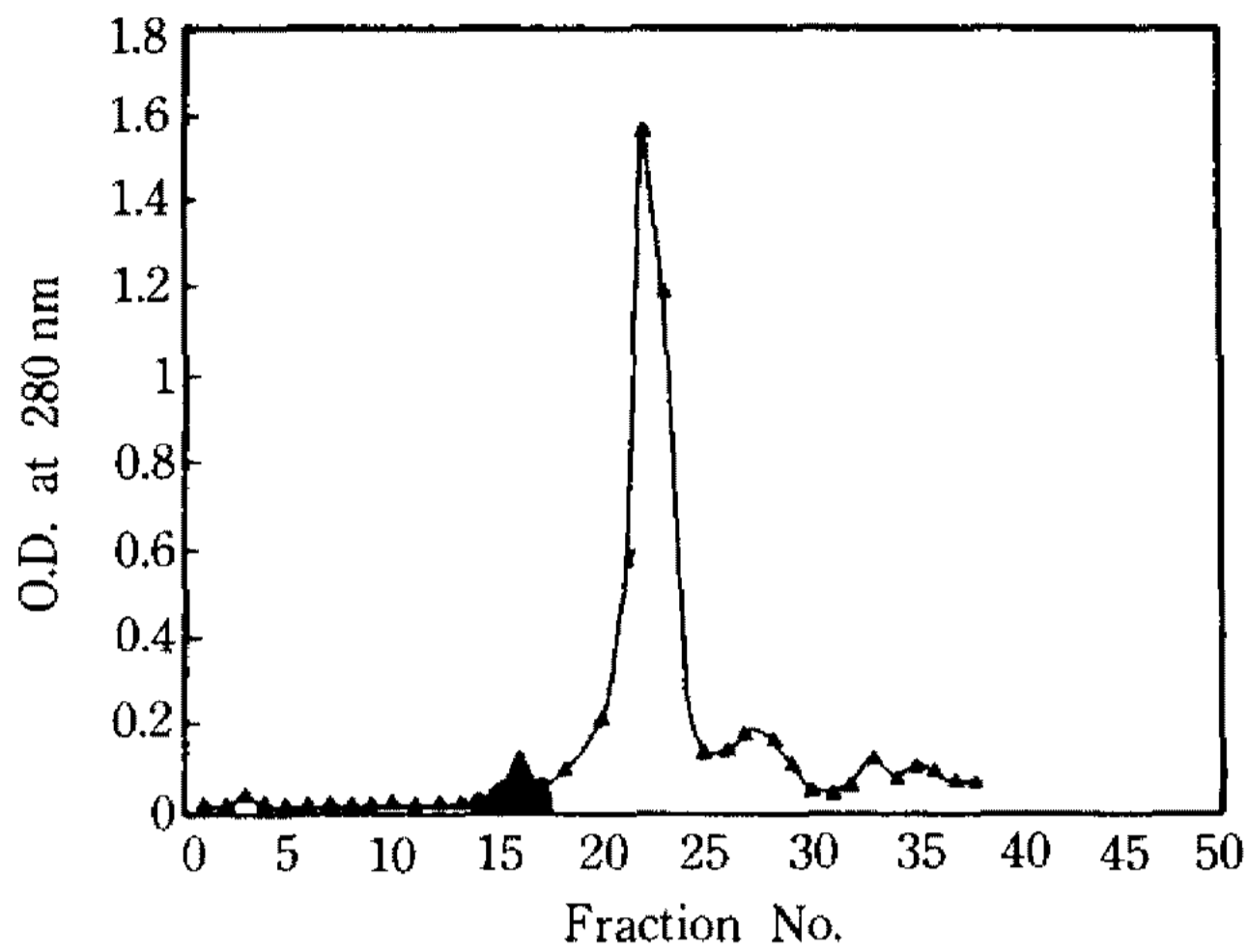


Fig. 9. Sephadex G-150 gel filtration column chromatography.

The active fractions No. 88~98 obtained by CM-Sepharose ion exchange chromatography(Fig. 6) were applied to Sephadex G-150 gel filtration column chromatography. Shaded fractions had *Cl. perfringens* growth inhibition activity.

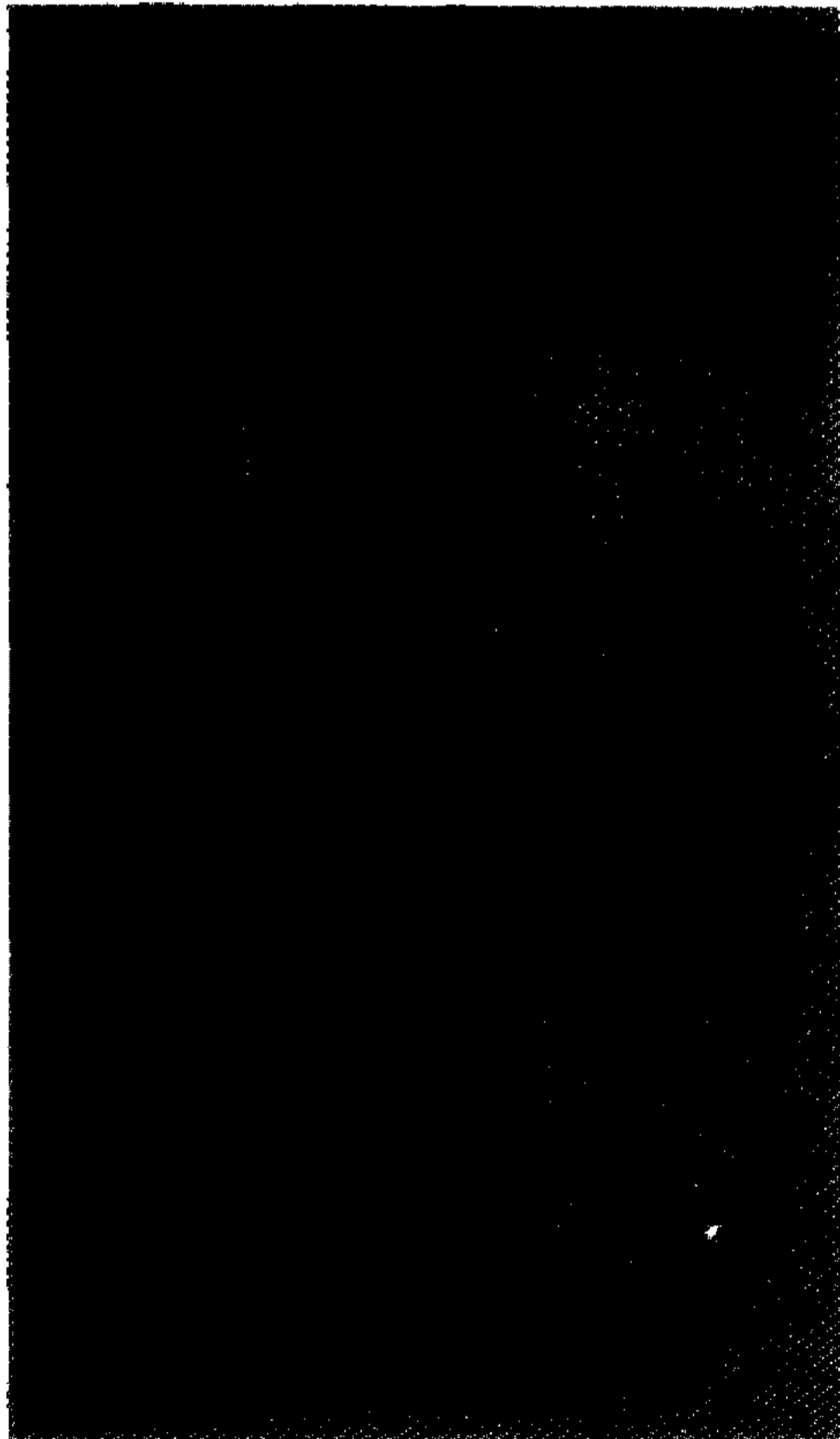


Fig. 10. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of kCp. 5 µg of purified kCp protein was applied to SDS-PAGE.

chromatography에서 *Cl. perfringens* 생육의 억제활성을 보이는 fraction을 모두 SDS-PAGE로 보면 Fig. 10, 11과 같다. 5 µg loading시 단일 band로 나타났

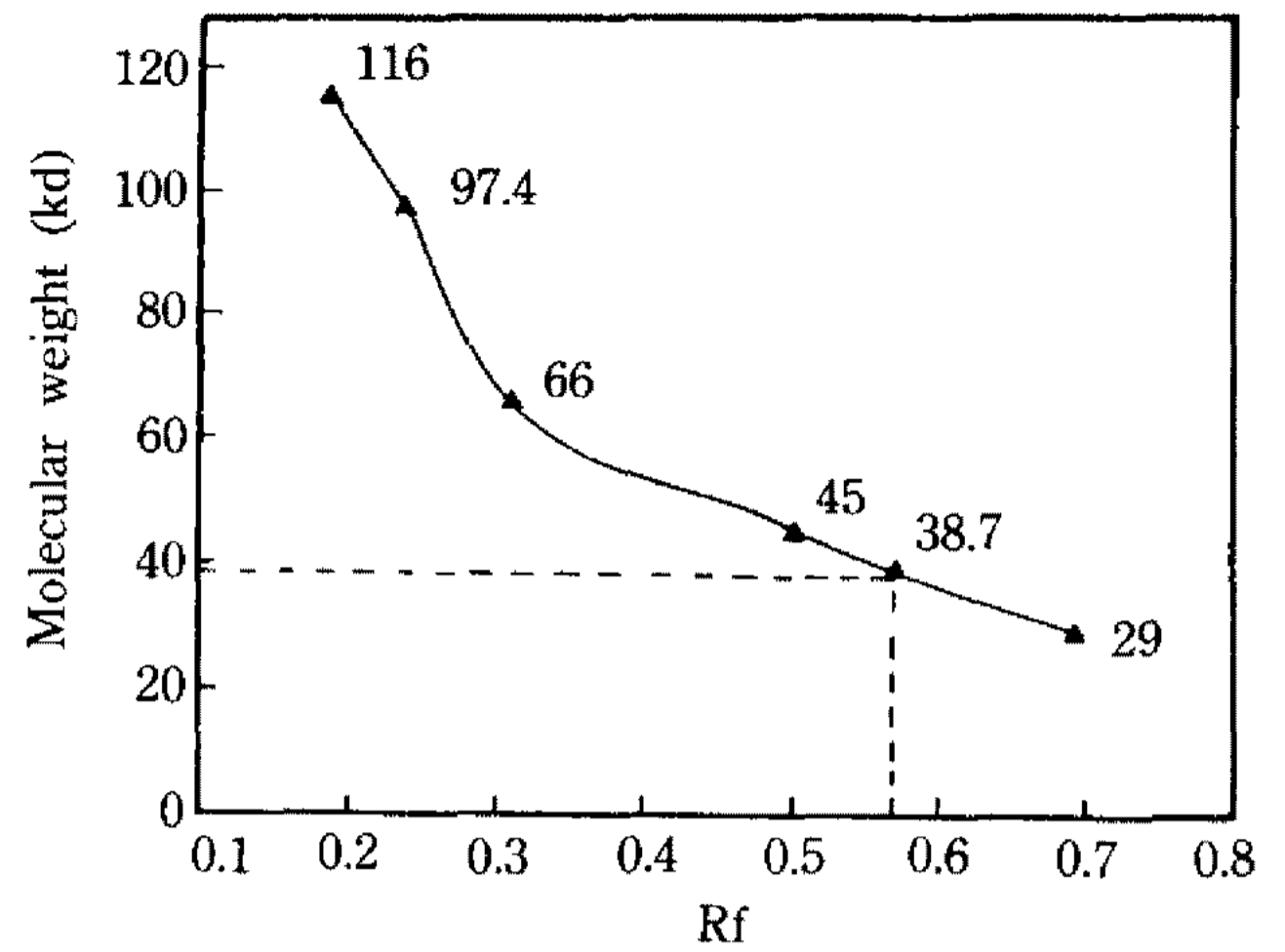


Fig. 11. Estimation of molecular weight of kCp by SDS-PAGE.

으며, 분자량은 약 38.7 kd이었고 PAS 염색되는 것으로 보아 glycoprotein으로 생각된다. 우리는 이 단백질을 kCp(protein killing *Cl. perfringens*)라 명명하였다. 이 kCp는 실험한 수미품종에서 전체 단백질 중 7% 가량 존재하였다.

감자단백질 중 인체의 단백질 분해효소에 대해 억제작용을 나타내는 단백질에 대한 연구는 많이 이루어져 있으나(12, 13), *Cl. perfringens*의 생육억제 작용에 대한 연구는 아직 발견하지 못하였다. kCp가 *Cl. perfringens*에 대하여 항균활성을 나타내는 기작에 대해서는 앞으로 연구가 이루어져야 할 것이고, 또한 kCp의 특성에 대해서는 이를 정제한 형태로 다각적인 실험이 이루어져야 할 것이며, 아울러 장내 균총에 대한 종합적인 영향을 파악하기 위해서는 *in vivo* 실험이 행해져야 할 것이다.

요 약

국내에서 구입 가능한 주요 식이 소재로부터 장내의 대표적인 유해균인 *Clostridium perfringens*의 생육을 억제시키는 소재를 탐색한 결과 감자즙에서 강력한 항균활성을 발견하였다. 감자즙 중 70% 황산암모늄 용액에서 침전되는 단백질성 물질이 항균활성을 나타낸 것으로 밝혀졌으며, 이 감자단백질은 pH 4~10 사이에서는 안정하나 60°C에서 10분간의 열처리로 그 활성이 소실되었다. 이 감자단백질의 *Cl. perfringens*에 대한 최소 항균활성 농도는 0.2 mg/ml로 나타났으며, 이 감자단백질로 modified EG 배지중 beef extract와 proteose peptone을 대체하여 인체주요 장내미생물의

생육상태를 조사한 결과, *Bifidobacterium bifidum*, *Bif. animalis*, *Lactobacillus plantarum* 및 *Lact. acidophilus*에 대해서는 생육촉진 효과를 나타냈으며 *Eubacterium limosum*, *Cl. perfringens* 및 *Cl. butyricum*에 대해서 현저하게 생육을 억제하였다. 이 감자단백질을 CM-Sepharose ion exchange column chromatography, Sephadex G-150 gel filtration column chromatography 및 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis의 방법으로 정제한 결과 이 항균활성 단백질(kCp)은 당단백질이며 그 분자량은 약 38.7 kd으로 밝혀졌다.

참고문헌

1. Bezkorovainy, A.R., Miller-Catchpole. 1989. *Biochemistry and Physiology of Bifidobacteria*, Pp. 2-5, CRC Press, Inc., U.S.A.
2. Mitsuoka T. 1980. *A Color Atlas of Anaerobic Bacteria*, Pp. 15-26, 叢文社, Japan.
3. Mitsuoka T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 4(1): 3-27.
4. Laroia, S. and J.H. Martin. 1990. *Bifidobacteria* as possible dietary adjuncts in cultured dairy products-A review. *Cultured Dairy Products Journal*, November: 18-22.
5. Smith, L.D.S. 1979. Virulence factors of *Clostridium perfringens*. *Reviews of Infectious Diseases* 1(2): 254-260.
6. Yazawa, K. and Z. Tamura. 1982. Search for sugar source for selective increase of *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria Microflora* 4(1): 39-44.
7. Hirano, S., H. Hayashi, T. Terabayashi, K. Onodera, S. Iseki and N. Kochibe. 1968. Biologically active glycopeptides in human Colostrum. *J. Biochem.* 64(4): 563-565.
8. Bezkorovainy, A. and N. Topouzian. 1981. *Int. J. Biochem.* 13: 585-590.
9. Poch, M. and A. Bezkorovainy. 1988. Growth-enhancing supplements for various species of the genus *Bifidobacterium*. *J. Dairy Sci.* 71: 3214-3221.
10. Kwag, J.H., J.C. Lee, T.H. Kim, P.K. Chung, and K.K. Lee. 1989. Isolation and characterization of a butyric acid bacterium from infant feces. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 17(1): 56-62.
11. Mitsuoka T. 1980. *A Color Atlas of Anaerobic Bacteria*. Pp. 53-65, 叢文社, Japan.
12. Belitz, H.D., K.P. Kaise and K. Santarius. 1971. Trypsin and alpha-chymotrypsin inhibitors: isolation and some properties. *Biochem. Biophys. Research Commun.* 42(3): 420-427.
13. Lee, S.S., I.E. Liener, and S. Desborough. 1985. Comparative effects of feeding a protease inhibitor-enriched potato protein concentrate and soy flour to rats. *Qual. Plant Plant Foods Hum Nutr.* 35: 9-19.

(Received March 20, 1992)