

도꼬마리 추출물의 유산발효 특성 및 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성

강동희 · 김현수*

계명대학교 자연과학대학 미생물학과

Characterization and Anti-*Helicobacter pylori* Activity of *Xanthium strumarium* L. Extract on Lactic acid Fermentation

Kang, Dong Hee and Hyun-Soo Kim*

Department of Microbiology, College of Natural Science, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract This study characterized the anti-*Helicobacter pylori* activity of *Xanthium strumarium* L. extract obtained by lactic acid fermentation. The growth of the *Lactobacillus* strains was typically robust upon lactic acid production in monocultures containing *Xanthium strumarium* L. extract. Lactic acid fermentation in mixed cultures of *Lactobacillus brevis* KCTC 3498 and *Lactobacillus casei* KCTC 3109 produced higher of anti- *H. pylori* activity than monocultures. Concerning antioxidant activity of fermented extracts, total polyphenol contents were the highest in co-cultures of *Lactobacillus brevis* KCTC 3498 and *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545. Electron donating ability using diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) showed 70% scavenging in *Lactobacillus casei* KCTC 3109.

Keywords: *Helicobacter pylori*, *Xanthium strumarium* L., Anti-*Helicobacter pylori* activity, Lactic acid fermentation, Antioxidant activity

서 론

천연 기능성물질의 생산 산업 (Natural products Industry) 은 고도의 기술력을 바탕으로 고부가가치의 소량 다품목의 제품 개발이 가능할 뿐만 아니라, 신 물질과 신용도에 대한 산업 재산권을 획득하여 높은 가치를 지속적으로 창출할 수 있어, 이미 선진 각국에서는 이 분야의 연구개발에 역점을 두고 있고, 각종 천연물의 제품화와 산업화에 역량을 집중하고 있는 추세이다. 최근 한약재에 함유되어 있는 다양한 페놀성 화합물인 생리활성물질로부터 천연물신약개발을 위한 연구가 급속히 진행됨에 따라 천연식품 소재들을 천연항산화제와 항균, 항암, 항알레르기, 당뇨예방, 심장질환 예방, 중추예방 등의 약제로 개발하기 위한 연구가 활발히

이루어지고 있다 [1-5].

본 연구의 소재인 도꼬마리 (*Xanthium strumarium* L.) 는 국화과 (Compositae)에 속하며 전체에 거센 털이 나 있으며 줄기는 곧게 서고, 키는 1.5 m 정도이다. 꽃은 8~9월 경에 황갈색을 띤 꽃이 줄기 끝에서 핀다. 열매는 대추씨와 비슷하고 과피 부분에 갈고리 모양의 역센 털이 나 있으며 들이나 길가에서 주로 자라는 한해살이풀로 한국을 포함한 동북아시아 및 유럽 등지에 폭넓게 분포·자생하는 것으로 알려져 있다. 그 외 귀화식물인 큰 도꼬마리 (*Xanthium canadense* Mill.)도 많이 확산되어 분포하고 있으며, 도꼬마리에 관한 연구는 중국산 도꼬마리 (*Xanthium sibiricum* Patr. ex Widd)가 시초로서 열매의 씨 (창이자)가 해열, 발한, 진통, 산풍, 거습, 궤양성 피부병, 신경통 및 악성 종양 등에 탁월한 효과가 있으며, 항균효과로서는 티푸스균, 이질균과 더불어 황색포도상구균에 상당한 저해효과가 있는 것으로 알려져 있다. 창이엽에는 거풍습, 진통, 해열, 살충 등 다양한 효능이 있으며, 창이자에 함유된 성분으로는 γ -lactone

*Corresponding author

Tel: +82-53-580-5284, Fax: +82-53-580-6447

e-mail: hskim@kmu.ac.kr

구조를 가진 xanthinin과 carotenoid, alkaloid, saponine, xanthostrumarin, xanthostrunarin 및 oleic acid 등이 알려져 있다. 이러한 성분을 지닌 도꼬마리가 전통적 민간요법으로 정착되어 습진 등의 피부병 치료에 널리 이용되었을 뿐만 아니라, 다양한 약리 작용을 하는 것으로 보아 이와 같은 관점에서 본 연구자는 한국산 도꼬마리로부터 새로운 항균 및 항암효과 등 다양한 생리활성기능이 있는 신규물질의 탐색과 응용을 위한 일환으로서 도꼬마리의 각 부위로부터 추출한 성분이 세균 및 진균류 등에 대한 광범위한 항균효과를 가진다 [6,7]는 사실과 더불어 분자량 386 및 230인 2종류의 항균성 물질을 분리·정제한 결과 [8]와 다양한 암 세포 주에 대한 항암효과를 비롯하여 항변이원성효과 등을 보고하였다 [1].

본 연구의 대상균인 *Helicobacter pylori*는 위암 뿐 아니라 위염, 위 십이지장 및 소화성 궤양의 원인균으로도 알려져 있으며 [9,10], 생육저해를 위해 많은 연구가 수행되고 있다. 특히 성장작용, 항암효과, 혈청콜레스테롤 저하 등 다양한 효과 [11-13]가 알려진 유산균을 이용한 발효를 통해 *H. pylori*로부터 위를 보호한다는 제품을 비롯하여 자연으로 부터의 식물추출물을 통하여 *H. pylori* 생육 저해를 위한 연구가 많이 이루어지고 있다 [14-16].

본 연구에서는 한약재로 쓰이고 있는 도꼬마리의 항균, 항암효과를 가진 선행연구 결과를 기반으로 도꼬마리추출물을 특정 유산균으로 발효시킨 후 특성으로 항산화효과와 *H. pylori*의 생육저해능을 검토하였으며, 특히 다양한 유산균을 이용한 복합배양에 의한 특성을 검토한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에서 사용된 재료는 경남·경북 지역의 산야에 자생하는 *Xanthium strumarium* L. (한국명: 도꼬마리)을 2008년 10월 중 채취하여 음건, 세절한 후 사용하였다. 도꼬마리 추출액의 조제는 잎과 열매를 각각 50 g 씩 파쇄를 하여 1 L의 methanol에 2일간 추출한 후 Vacuum rotary evaporator (EYELA Co. Japan)로 농축하여 사용하였다. 발효에 사용한 유산균은 GRAS유산균 [17]을 참고하여 6균주를 선정하여 한국생명공학연구원 유전자원센터 유전자은행 (KCTC)에서 분양을 받아 사용하였으며, 시험균주로서 Gram 음성 나선균인 *Helicobacter pylori*는 계명대학교 동산의료원에서 분양을 받아 사용하였다.

균주배양 및 사용배지

사용균주의 생육배지는 유산균의 경우 lactobacilli MRS 배지 (proteose peptone No. 3 10 g, beef extract 10 g, yeast

extract 5 g, dextrose 20 g, polyoxyethylene sorbitan monooleate 1 g, ammonium citrate 2 g, magnesium sulfate 0.1 g, manganese sulfate 0.05 g, dipotassium phosphate 2 g, sodium acetate 5 g/L, pH 6.5, BD Co.)에 계대배양한 후 균체를 20% glycerol이 포함된 저장액에 넣어 -70°C에 넣어 보관하였으며, 실험에 사용하기 전 계대배양을 하여 사용하였다. 시험균주인 *Helicobacter pylori*는 Brucella broth 배지 (pancreatic digest of casein 10 g, peptic digest of animal tissue 10 g, yeast extract 2 g, dextrose 1 g, sodium chloride 5 g, sodium bisulfite 0.1 g/L, pH 7, BD Co.)에서 4% FBS, 5% CO₂, 37°C의 조건에서 계대배양 하여 4°C에서 보관하여 사용하였다.

도꼬마리 추출물의 유산발효

도꼬마리 추출물의 유산발효는 유산균을 생육시키기 위하여 lactobacilli MRS배지에 도꼬마리 추출물을 멸균수에 용해 (25 mg/mL)한 추출액을 1 : 1의 비율로 첨가하였다. 단일배양 및 복합배양 시 각각의 유산균 접종량은 1×10^8 CFU/mL으로 stock액을 제조한 후 배양액에 0.1% (v/v)가 되도록 접종 하였으며, 배양은 37°C에서 정치배양 하였다. 발효된 도꼬마리 추출물 배양액에서 공시균주의 산 생성여부는 배양일수별로 배양액을 분취하여 10분간 3,000 rpm에서 원심분리 한 후 상등액의 pH를 측정하여 확인하였다.

Anti-*Helicobacter pylori* 활성 측정

도꼬마리 추출물 발효액의 항균 활성은 Gram 음성 나선균주인 *Helicobacter pylori*를 사용하여 agar diffusion법으로 측정하였다. 시험균주는 Brucella broth배지 계대배양하여 4°C에서 보관하여 사용하였으며, 항균 활성은 배양액을 4°C, 3000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상등액 20 µL를 paper disk (Φ 6 mm, Whatman Co.)에 첨가하여 건조시킨 뒤 시험균주가 접종된 평판배지 위에 얹고 5% CO₂, 37°C에서 2일간 배양하여 inhibitory zone의 유무 및 크기를 통해 판단하였다.

항균성 물질의 분리 및 확인

항균성 물질의 분리는 복합배양한 도꼬마리 추출물 발효액을 사용하였으며, 발효액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후, 1 mL용 C₁₈ Sep-Pak cartridge (Waters Co.)에 배양액 500 µL를 흡착시키고 증류수 1 mL로 wash 한 후 각각 30%, 50%와 100% methanol로 항균성 물질을 용출시켜 20 µL를 paper disk (Φ 6 mm, Whatman Co.)에 첨가하고 건조시킨 뒤 항균활성을 확인하였다.

항균성 물질의 TLC 분석

도꼬마리 추출물의 유산발효액으로부터 생산된 항균성 물

질의 분리를 위한 예비조작은 TLC를 이용하여 분석하였다. C₁₈ Sep-Pak cartridge (Waters Co.)에 흡착시킨 항균성 물질은 30% methanol로 용출시킨 용액 10 µL를 TLC plate (Silica gel 60 F₂₅₄, Merck Co.)에 spotting하고 전개용매는 methylene chloride와 methanol을 6 : 4로 혼합하여 전개하였다. 검출은 UV lamp를 사용하여 254 nm에서 조사한 후 확인하였다. Silica gel plate상에서 UV로 확인된 spot은 silica gel을 회수하여 전개용매로 추출, 농축하여 항균 활성을 확인하였다.

도꼬마리 유산발효액의 항산화 활성 측정

Polyphenol 화합물 측정

Polyphenol 화합물 측정은 polyphenol을 Folin-Denis 방법 [18]을 이용하여 측정하였다. 발효된 도꼬마리 추출물 배양액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 실험에 사용하였다. 도꼬마리 추출물을 농도별로 첨가한 발효액과 2배 희석한 Folin 시약은 1 : 1의 비율로 혼합하여 실온에서 3분간 반응시킨 후 10% Na₂CO₃을 2 mL 첨가하여 1시간 반응시키고 UV/Visible spectrophotometer 700 nm에서 측정하였다. 대조구는 tannic acid를 이용하였으며, 각각 농도별로 첨가하여 측정하였다.

Radical 소거능 측정

Radical 소거능은 Blois의 방법 [19]을 변형한 방법을 이용하여 측정하였다. DPPH는 실험을 시작하기 전 methanol에 0.3 mM이 되도록 녹인 후 사용하였으며, DPPH 용액과 도꼬마리 추출물 발효액을 1 : 1로 혼합하여 실온에서 30분간 반응시킨 다음, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성 대조구는 배양액 대신 methanol을 첨가하여 측정하였다.

$$\text{DPPH Scavenging (\%)} = \frac{C - (S_1 - S_2)}{C} \times 100$$

C: methanol + DPPH의 흡광도, S₁: 시료 + DPPH의 흡광도, S₂: 시료 + methanol의 흡광도.

결과 및 고찰

유산발효용 도꼬마리 추출물의 농도

도꼬마리 추출물의 유산발효에 의한 항균 효과를 비롯한 다양한 기능성 물질의 생산가능성을 검토하기 위하여 먼저 배양에 사용할 도꼬마리 추출물의 농도를 검토하였다. 도꼬마리 추출물은 멸균수로 각각 5, 25, 50, 100, 200 mg/mL의 농도로 희석하여 agar diffusion법으로 시험균주인 *Helicobacter pylori*에 대한 항균 활성을 조사하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 추출물은 5 mg/mL의 농도에서는 항균 활성이 없

으나 25 mg/mL이상의 농도에서는 항균 활성을 나타내었다. 이 결과로 부터 유산발효에 사용할 도꼬마리 추출물은 25 mg/mL의 농도로 조제하여 유산균배지와 1 : 1 (최종농도 12.5 mg/mL)로 혼합하여 배양하였다.

도꼬마리 추출물의 유산발효

유산균을 이용한 도꼬마리 추출물의 유산발효는 미발효시의 anti-*Helicobacter pylori* 활성 (Table 1)보다 우수한 항균성 물질의 생산 등 다양한 기능성 물질의 생산을 목적으로 실험을 시행하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 *Lactobacillus* 6균주의 단일배양에서는 *Lactobacillus brevis* KCTC 3498와 *Lactobacillus casei* KCTC 3109가 미발효 배양액인 control에 비해 항균활성이 약간 증가하는 경향을 보였으나 대다수가 큰 차이가 없이 유사한 결과를 나타내었다. 도꼬마리 추출물의 단일배양 시 pH는 유산생성으로 인한 항균 효과, *Lactobacillus* 6균주의 생육활성과 복합배양의 조합을 위하여 측정하였다. 생육 활성이 가장 양호한 배양 3일째 배양액의 pH를 측정된 결과, 도꼬마리 배양액은 Fig. 1에서 보인 바와 같이 미발효 배지인 control에 비해 대다수의 pH가 3.5~4.0으로 낮아져서 유산을 생산하며 생육이 양호함을 확인하였다. 그 중 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635가 높은 pH를 나타내었으며, 내산성인 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성은 유산에 의한 결과가 아닌 것으로 사료되었다.

Table 1. Anti-*Helicobacter pylori* activity of *Xanthium strumarium* L. extract

Concentration (mg/mL)	Inhibitory zone (mm)
5	-
25	10
50	12.5
100	15
200	16.5

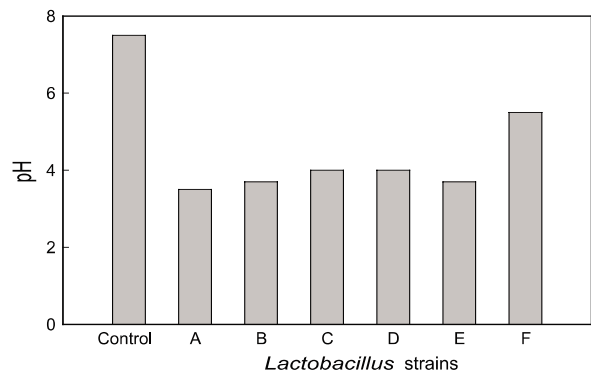


Fig. 1. pH of fermented *Xanthium strumarium* L. extract with *Lactobacillus* strains. Control: Medium containing *Xanthium strumarium* L. extract, A: *Lb. plantarum* KCTC 3108, B: *Lb. casei* KCTC 3109, C: *Lb. fermentum* KCTC 3112, D: *Lb. brevis* KCTC 3498, E: *Lb. helveticus* KCTC 3545, F: *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

유산균 복합배양의 항균효과

복합배양의 항균활성을 확인하기 위하여 두 그룹으로 나누어서 실험을 실시하였다. 단일배양에서의 pH 측정결과 (Fig. 1)로부터 유산생산능이 낮은 *Lactobacillus* 균주 (Fig. 1 C, D, F)를 Fig. 1과 동일하게 접종하여 2일간 배양한 다음, 유산생산능이 우수한 *Lactobacillus* 균주 (Fig. 1 A, B, E)를 동량 접종하여 2일간 더 배양한 A 그룹과 *Lactobacillus* 6균주를 무작위로 2균주 씩 선택하여 배양한 B 그룹으로 나누어 항균 활성을 검토하였다. Fig. 2에서 보인 바와 같이 A 그룹에서는 *Lactobacillus brevis* KCTC 3498와 *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545의 복합배양 (pH 3.2, 결과 미계재)에서 항균 효과가 우수하였으며, 무작위로 선택하여 배양한 B 그룹은 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108과 *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545의 복합배양 (pH 3.5, 결과 미계재)에서 항균 활성이 우수하였다. 이 결과는 단일배양 (Table 2)의 경우 항균 효과가 미약하였으나 (inhibitory zone: 12 mm), 복합배양에서는 A 및 B 그룹 중 두 종류의 복합배양에서 control에 비해 강한 항균 활성 (A: 20.5 mm, B: 20 mm)을 보였다. 특히 A 그룹의 *Lactobacillus brevis* KCTC 3498와 *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545의 복합배양은 단일배양에서의 항균 활성이 가장 우수한 균주간의 배양이며, 이들 유산균주의 복합배양 시 다양한 항균성 물질의 생산에 의해 항균 활성이 증대된다고 사료되었다.

Table 2. Anti-*Helicobacter pylori* activity of fermented *Xanthium strumarium* L. extract with *Lactobacillus* strains

Sample	Incubation time (days)		
	1	3	5
	Inhibitory zone (mm)		
Control	12	12	11
KCTC 3108*	12	12	12
KCTC 3109	11.5	12	13
KCTC 3112	11	12.5	12.5
KCTC 3498	13	13	11
KCTC 3545	12.5	12	9
KCTC 3635	12	12	10

*KCTC 3108: *Lb. plantarum*, KCTC 3109: *Lb. casei*, KCTC 3112: *Lb. fermentum*, KCTC 3498: *Lb. brevis*, KCTC 3545: *Lb. helveticus*, KCTC 3635: *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

항균성 물질의 분리

항균성 물질의 분리는 C₁₈ Sep-Pak cartridge를 사용하여 Fig. 2의 복합배양에서 항균 활성이 우수한 두 그룹 (A 및 B)의 배양액을 사용하였다. 1 mL용 C₁₈ Sep-Pak cartridge에 배양액 500 µL을 흡착시킨 다음 각각 30%, 50%와 100% methanol로 항균성 물질을 용출시켜 용출액 20 µL로 항균 활성을 확인하였다. Fig. 3에서 보인바와 같이 30% methanol에서 항균 활성을 나타내는 것을 확인하였다. 이 결과로 인해 도꼬마리 복합배양액의 항균성 물질은 친수성이 강한 물

질로 추정되었다.

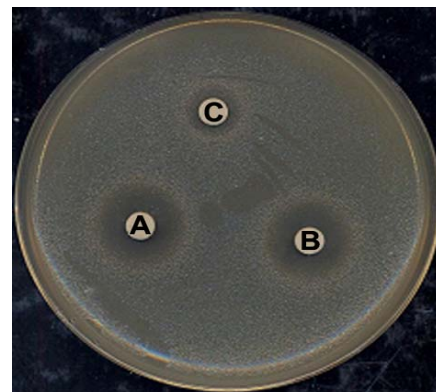


Fig. 2. Anti-*Helicobacter pylori* activity of fermented *Xanthium strumarium* L. extract by mixed culture of *Lactobacillus* strains. A: Culture broth fermented with *Lb. brevis* KCTC 3498 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, B: Culture broth fermented with *Lb. plantarum* KCTC 3108 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, C: Medium containing *Xanthium strumarium* L. extract.

항균성 물질의 TLC 분석

Fig. 3의 결과에서 항균 활성을 가진 30% methanol 용출액 중의 항균성 물질을 TLC로 분석하였다. 용출액 10 µL를 TLC plate에 spotting하고 전개용매는 methylene chloride와 methanol (6 : 4)을 사용하여 전개하였다. 검출은 UV lamp (254 nm)를 사용하였으며 항균성 물질의 확인은 검출된 spot을 회수하여 전개용매로 추출, 농축하여 항균 활성을 확인하였다. Fig. 4에서 보인 바와 같이 a, b 모두 R_f 0.46의 위치에서 spot이 확인되었으며, 이들 spot을 회수하여 항균 활성을 검토한 결과 *Helicobacter pylori*에 항균 활성을 나타내는 것을 확인하였다.

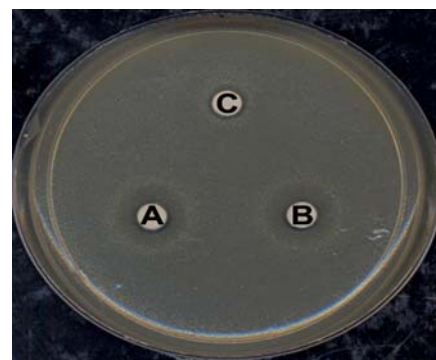


Fig. 3. Anti-*Helicobacter pylori* activity of eluted materials in 30% methanol by C₁₈ Sep-pak cartridge from fermented *Xanthium strumarium* L. extract. A: Mixed culture of *Lb. brevis* KCTC 3498 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, B: Mixed culture of *Lb. plantarum* KCTC 3108 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, C: Medium containing *Xanthium strumarium* L. extract.

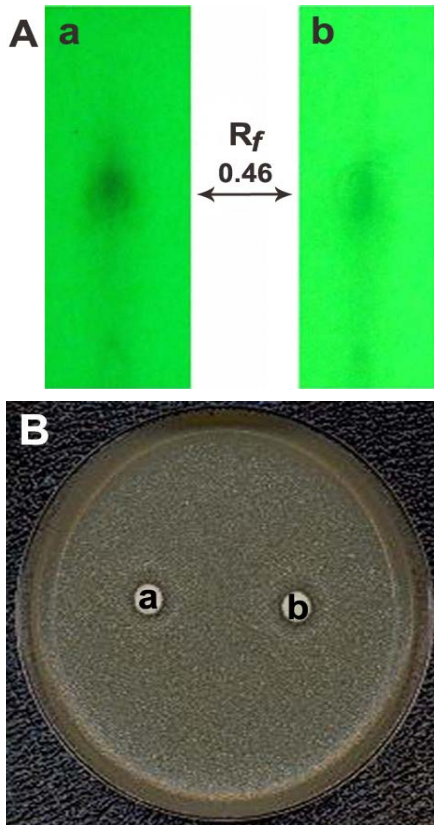


Fig. 4. Detection of antibacterial compound by TLC analysis. A: Coculture of *Lb. brevis* KCTC 3498 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, B: Coculture of *Lb. plantarum* KCTC 3108 and *Lb. helveticus* KCTC 3545.

도꼬마리 유산발효액의 총 polyphenol 함량

도꼬마리 추출물의 유산균 발효에 의해 생산된 기능성 물질 (항산화능)의 변화를 검토하기 위하여 총 polyphenol 함량을 측정하였다. 도꼬마리 추출물의 단일배양에서 Folin-Denis 방법을 응용하여 polyphenol 화합물을 측정된 결과, Fig. 5에서 보인 바와 같이 항균 활성 (Table 2)과는 달리 저농도 (0.5 및 1 mg/mL)의 도꼬마리 추출물을 첨가한 유산 발효 시에 미발효한 추출물에 비해 2~4배의 polyphenol이 생산된 결과를 확인하였다. 특히 *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112로 발효한 도꼬마리 추출물의 polyphenol은 가장 높은 생산성을 나타내었다. 도꼬마리 추출물의 복합 배양에서 polyphenol 생산은 Fig. 6에서 보인 바와 같이 단일 배양 (Fig. 5)에서와 마찬가지로 도꼬마리 추출물 0.5 mg/mL 와 1 mg/mL의 농도에서 추출물에 비해 생산량이 증가하였으며, 특히 A그룹 중 *Lactobacillus brevis* KCTC 3498과 *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545를 복합배양한 경우 1 mg/mL 첨가농도에서 polyphenol이 가장 높게 나타났다. 이들 결과에서 유산균을 이용하여 복합배양을 함으로써 도꼬마리 추출물의 polyphenol 함량이 발효하지 않았을 때보다 크게 증가한다고 사료되었다.

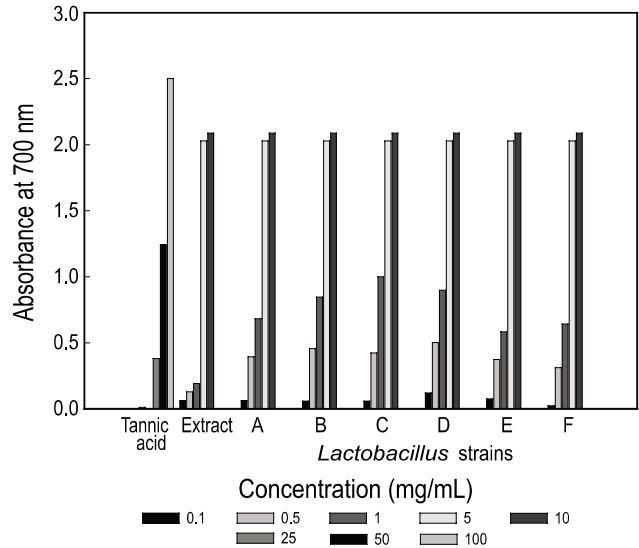


Fig. 5. The total polyphenol contents of fermented *Xanthium strumarium* L. extract with *Lactobacillus* strains. A: *Lb. plantarum* KCTC 3108, B: *Lb. casei* KCTC 3109, C: *Lb. fermentum* KCTC 3112, D: *Lb. brevis* KCTC 3498, E: *Lb. helveticus* KCTC 3545, F: *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgarius* KCTC 3635, Extract: medium containing *Xanthium strumarium* L. extract.

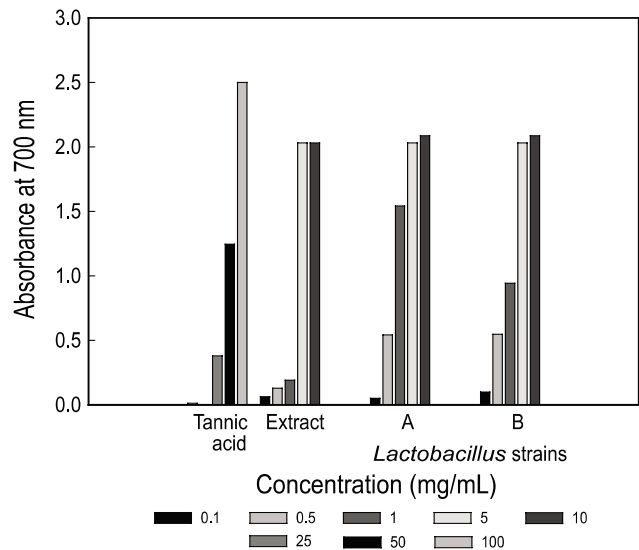


Fig. 6. The total polyphenol contents of fermented *Xanthium strumarium* L. extract with mixed culture of *Lactobacillus* strains. A: Mixed culture of *Lb. brevis* KCTC 3498 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, B: Mixed culture of *Lb. plantarum* KCTC 3108 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, Extract: Medium containing *Xanthium strumarium* L. extract.

도꼬마리 유산발효액의 radical 소거활성

DPPH법을 이용한 도꼬마리 유산발효액의 radical 소거 활성은 Fig. 7의 결과에서 보인 바와 같이 단일배양의 경우 도꼬마리 추출물 0.1 및 0.5 mg/mL 첨가 시에 미발효시

(25%)에 비해 30~40%의 scavenging을 확인하였다. 특히 *Lactobacillus casei* KCTC 3109의 경우 0.1 mg/mL의 농도에서 70%의 scavenging을 나타내었다. 복합배양의 경우 (Fig. 8) A와 B 그룹이 미발효시에 비해 첨가농도 0.1 mg/mL에서 다소 증가한 40%의 scavenging을 나타내었다.

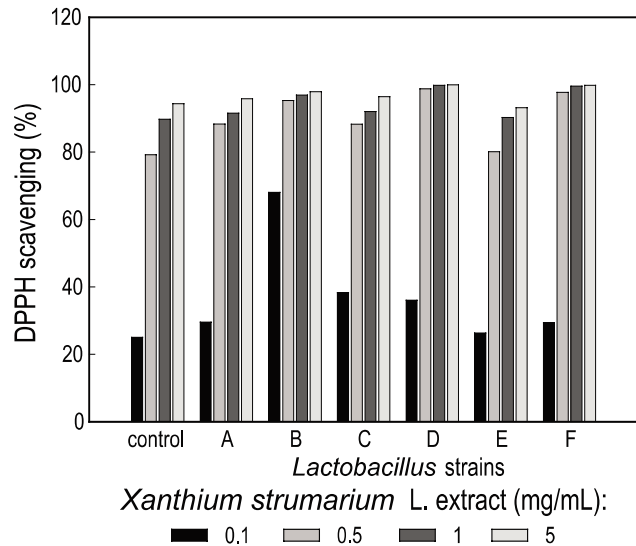


Fig. 7. DPPH radical scavenging activity on fermented *Xanthium strumarium* L. extract with *Lactobacillus* strains. A: *Lb. plantarum* KCTC 3108, B: *Lb. casei* KCTC 3109, C: *Lb. fermentum* KCTC 3112, D: *Lb. brevis* KCTC 3498, E: *Lb. helveticus* KCTC 3545, F: *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635, Control: Medium containing *Xanthium strumarium* L. extract.

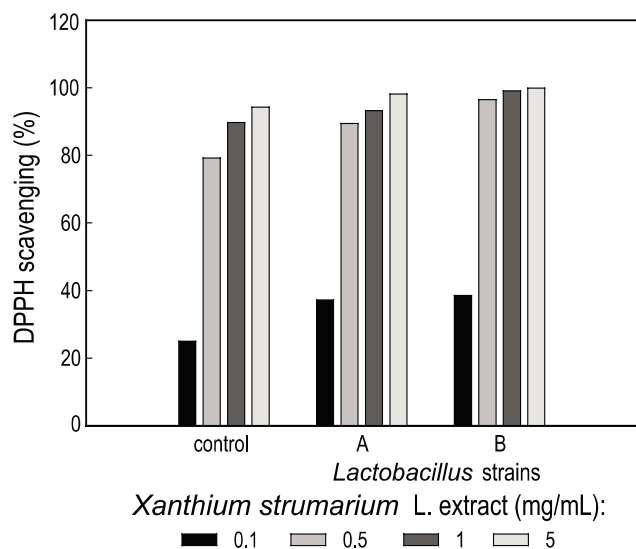


Fig. 8. DPPH radical scavenging activity on fermented *Xanthium strumarium* L. extract with mixed culture of *Lactobacillus* strains. A: Mixed culture of *Lb. brevis* KCTC 3498 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, B: Mixed culture of *Lb. plantarum* KCTC 3108 and *Lb. helveticus* KCTC 3545, Control: Medium containing *Xanthium strumarium* L. extract.

요 약

약용식물인 도꼬마리 추출물을 사용하여 유산균을 이용한 단일 및 복합배양을 통하여 새로운 기능성 물질의 생산을 검토하였다. 도꼬마리 추출물의 유산발효 시 단일배양 결과에서 유산생산을 통해 대체로 잘 증식하는 것이 확인되었으며, *H. pylori*의 항균 활성은 단일배양보다 복합배양 시 항균활성이 아주 우수하였다. 항균성 물질의 분리는 C₁₈ Sep-pak cartridge에 흡착시켜 30% methanol 용출획분에서 항균성물질이 확인되었으며, TLC로 분석한 결과 R_f 0.46의 위치에서 항균성 물질을 확인하였다. 도꼬마리 유산발효액의 항산화활성은 총 polyphenol 함량 및 radical 소거능을 검토하였으며, 그 결과 총 polyphenol 함량은 미발효시에 비해 도꼬마리 추출물의 저농도에서 단일배양의 경우 2~4배 증가하였으며, *Lactobacillus brevis* KCTC 3498과 *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545를 복합배양한 경우 1 mg/mL 첨가농도에서 polyphenol이 가장 높게 나타났다. Radical 소거능은 도꼬마리 추출물을 0.1 및 0.5 mg/mL로 첨가하여 발효하였을 때 30~40%의 scavenging이 확인되어 발효를 하지 않았을 때 (25%)보다 발효를 하였을 때 높아지는 것으로 나타났다. 특히 *Lactobacillus casei* KCTC 3109의 경우 0.1 mg/mL의 농도에서 70%의 scavenging을 나타내었다. 이들 결과로부터 도꼬마리 추출물의 유산발효는 미발효시에 비해 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성물질의 생산과 기능성물질인 항산화물질의 생산성이 우수하다고 사료되었으며 천연한약재의 발효를 통한 천연물 신약 등 신기능성물질의 생산가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화 연구센터 (TMR)의 일부지원에 의해 연구되었음을 감사드립니다.

접수 : 2010년 5월 6일, 게재승인 : 2010년 6월 21일

REFERENCES

- Kim, H. S., I. S. Lee, S. H. Yeo, L. S. Seong, and T. S. Yu (2003) Isolation and characterization of antitumor agents from *Xanthium strumarium* L. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 18: 324-328.
- Shin, D. W., M. S. Kim, and J. S. Han (1997) Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 808-816.
- Chung, S. K., S. J. Lee, Y. J. Chung, W. P. Park, D.

- S. Lee, and S. H. Cho (1998) Antimicrobial activities of Korean medicinal herb extracts for preserving greenhouse fresh produce. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 5: 13-21.
4. Gursoy, N., C. Sarikurkcu, M. Cengiz, and M. H. Solak (2009) Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species. *Food and Chemical Toxicology.* 47: 2381-2388.
 5. An, B. J., C. E. Lee, J. H. Son, J. Y. Lee, G. H. Choi, and T. S. Park (2005) Antioxidant, anticancer and tyrosinase inhibition activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* T. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* 48: 280-284.
 6. Kim, H. S. and J. O. Shin (1997) Isolation and Antimicrobial Activity of *Xanthium strumarium* L. Extract. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25: 183-188.
 7. Park, S. M., H. J. Jung, S. H. Han, S. S. Yeo, Y. W. Kim, H. G. Ahn, H. S. Kim, and T. S. Yu (2005) Antifungal activity of extract from *Xanthium strumarium* L. against plant pathogenous fungi. *Kor. J. Life Science.* 15: 255-262.
 8. Kim, H. S., T. S. Yu, I. S. Lee, Y. W. Kim, and S. H. Yeo (2003) Screening of the Antimicrobial and Antitumor Activity of *Xanthium strumarium* L. Extract. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 18: 55-61.
 9. Kang, J. H. and M. S. Lee (2005) In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by *Enterococcus faecium* GM-1. *Can. J. Microbiol.* 51: 629-636.
 10. Suerbaum, S. and P. Michetri (2002) *Helicobacter pylori* infection. *N. Engl. J. Med.* 349: 1175-1186.
 11. Lee, H. S., S. H. Park, H. K. Chung, and T. B. Choe (1993) Antitumor effect of cell wall component purified from *Lactobacillus plantarum* KK. *J. Gen. Eng.* 5: 22-28.
 12. Kim, J. H., D. M. Kim, H. Baek, S. H. Lee, and M. J. Chung (2008) Anti-cancer effects of peptides purified from culture supernatant of *Lactobacillus casei*. *J. Korea of Dairy Sci. & Technol.* 26: 5-10.
 13. Lee, Y. H., S. W. Choi, and H. D. Park (2008) Characteristics of lactic acid fermentation of peach juice by *Lactobacillus plantarum* KIAB21 possessing antimutagenic effects. *Korea J. Food Preserv.* 15: 469-476.
 14. Kim, T. S., J. W. Hur, M. A. Yu, C. I. Cheigh, K. N. Kim, J. K. Hwang, and Y. R. Pyun (2003) Antagonism of *Helicobacter pylori* by bacteriocins of lactic acid bacteria. *J. Food Protection.* 66: 3-12.
 15. Ju, I. S. and Y. J. Cho (2009) Purification and identification of phenol compounds with inhibitory activity on *Helicobacter pylori* from *Rhododendron mucronulatum* flos. extracts. *Journal of Life Science.* 19: 1125-1131.
 16. Lee, Y. and H. C. Chang (2008) Isolation and characterization of Kimchi lactic acid bacteria showing anti-*Helicobacter pylori* activity. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 36: 106-114.
 17. Jung, H. K (2001) Selection criteria for probiotics and their industrial applications. *Bioindustry news.* 14: 39-48.
 18. Kang, M. S., H. J. Oh, H. C. Lee, and J. S. Oh (2009) Isolation and identification of lactic acid bacteria inhibiting the proliferation of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Bacteriology and Virology.* 39: 11-19.
 19. Blois, M. S. (1985) Antioxident determination by use of stable free radical. *Nature.* 191: 1199-1203.