

## 쇠비름 추출물 발효액이 *Campylobacter jejuni*의 증식에 미치는 영향

†배 지 현

계명대학교 식품영양학과

### The Effect of Fermented Extracts of *Portulaca oleracea* against *Campylobacter jejuni*

†Ji-Hyun Bae

Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

#### Abstract

One of the main microorganisms causing diarrheal diseases is *Campylobacter jejuni*. Purslane or *Portulaca oleracea* is an edible plant containing polyphenols that has been widely used as a folk remedy for treatment of diarrhea for a long time. This study was performed to investigate the antimicrobial activity of fermented *P. oleracea* extracts made with probiotics and plant-origin lactic acid bacteria (PLAB) isolated from *P. oleracea* against *C. jejuni*. *Lactobacillus rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Bifidobacterium longum* were applied to *P. oleracea* to make a fermentation broth of purslane. *Leuconostoc mesenteroides* and the lactic acid bacteria isolated from *P. oleracea* grew best in the fermentation broth of *P. oleracea* extracts when the broth was combined with 2% yeast extract, 1% peptone, and 0.05 to 1% potassium phosphate. The number of viable cells in the fermentation broth containing purslane extracts after 48 hours increased to  $1 \times 10^{12}$  CFU/ml and remained at  $1.3 \times 10^{10}$  CFU/ml after refrigeration for 2 weeks. The pH and acidity of purslane-fermented broth after 48 hours of fermentation was 3.7 and 3.14, respectively, which show that the fermentation broth was within the range of the general standards of fermented dairy products. The antimicrobial activity of the fermented *P. oleracea* extracts was determined using the liquid culture method. The 10 mg/ml concentration of the fermented *P. oleracea* extract made with *Leuconostoc mesenteroides* and the lactic acid bacteria isolated from purslane showed the strongest antimicrobial activity against *C. jejuni*. The fermentation broth of purslane with the probiotics retarded the growth of *C. jejuni* for 48 hours at 42°C.

Key words: *Portulaca oleracea*, *Campylobacter jejuni*, probiotics

#### 서 론

설사는 소장이나 대장에 병원성 세균이나 바이러스가 증식함으로 생기게 되는 장내 질환으로, 성인의 경우 *Clostridium difficile*이나 rotavirus가 주된 원인이며, 신생아의 경우 *Campylobacter jejuni*가 주된 원인균으로 보고되고 있다(Gonzalez-Sarrias 등 2010). 선진국에서도 중요한 건강상의 문제가 되고 있고, 국내에서도 많은 수의 환자들이 설사 등의 장염으로 치료를 받고 있으며, 특히 신생아에게는 치명적인 장내 질환이

다(Bhatnagar 등 1998). 일반적으로 우리 몸과 공생관계에 있는 장내 미생물들은 건강과 관련해 유익한 일들을 하고 있어, 음식물의 대사를 도와 에너지나 미량 영양소 등을 제공해 주거나, 면역체계를 바로 잡아 주고, 비만, 염증성 대장 질환, 당뇨병 등을 예방하는 데 관여하기도 한다. 설사와 같은 장염의 치료에는 항생제가 사용되거나 프로바이오틱스(probiotics)와 같은 대체요법이 이용되게 되는데, 프로바이오틱스를 요구르트 형태로 주게 되면 erythromycin으로 인한 설사의 치료에 효과적이라고 한다(Bezkorovainy A 2001). 특히 신생아

† Corresponding author: Ji-Hyun Bae, Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea. Tel: +82-53-580-5875, E-mail: jhb@kmu.ac.kr

에게 문제가 되는 *C. jejuni*의 경우 닭 등의 가금류와 관련된 식중독을 일으키는 원인균으로도 알려져 있는데, *Lactobacillus acidophilus*를 투여하게 되면 제거가 가능하다고 보고되고 있다(Saavedra JM 1995).

프로바이오틱스란 살아있는 미생물로 장내 균총을 개선해 숙주에게 유리한 효과를 제공해 주는 것을 말하는데, 프로바이오틱스는 장내 균총이 정상 범위를 벗어나므로 발생하게 되는 여러 가지 장관 질환을 안정화시킨다고 한다. 이 중 *Lactobacillus casei rhamnosus*(LGG)는 사람에게서 분리된 균으로 항생제 사용으로 인해 발생하는 설사의 치료에 효과적이고, *Clostridium difficile*이나 *Helicobacter pylori*에 의한 장염, 유당불내증, 과민성 대장 증후군 등에 효과적이라고 알려져 있으며, Caco-2(human colonic carcinoma)를 가지고 한 실험에 의하면 LGG는 장관세포에 흡착하여 집락을 이루고 장내 유해 미생물인 *C. jejuni*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 및 *C. difficile* 등의 침투를 방해한다고 한다(Mattar 등 2001). *Bifidobacterium*이나 *Lactobacillus*와 같은 프로바이오틱스들은 유제품의 제조에 널리 이용되어온 미생물인데, 이들 또한 유해 장내 미생물의 흡착, 증식, 침투, 독소 생산 등을 막아주는 것으로 알려져 있으며, 그 기전으로는 이들이 장내에서 휘발성 저급지방산(short chain fatty acid, SCFA)을 생산함으로써 장내 pH를 낮추거나 또는 박테리오킨을 생산하여 유해균의 증식을 억제한다고 한다(Fooks & Gibson 2002). 이러한 프로바이오틱스들은 발효 유제품 등의 형태를 통해 섭취되어 위장관을 통과하면서 많은 부분들이 파괴되고, 약 20~40% 정도만이 살아남아 대장에까지 이르게 된다. 주로 위산에 의해서거나 소장에서는 담즙염에 의해 파괴되는데 따라서 프로바이오틱스의 효과를 최대한 얻기 위해서는 지속적으로 매일 섭취해 주어야 하며, 소장에서도 파괴되지 않고 이들의 증식을 도와주는 lactulose나 fructose를 포함한 올리고당 같은 prebiotics를 같이 섭취해 주는 것이 필요하다. 최근에는 이와 같은 프로바이오틱스의 단점을 보완하여, 위산 등에 파괴되지 않고 여러 가지 prebiotics를 포함하고 있는 식물성 소재의 유산균을 활용한 synbiotics를 개발하려는 연구도 진행되고 있다(Karimi & Peria 2008). 이러한 식물성 유산균은 채소나 과일 등의 식물성 소재에서 유래된 것으로 채식을 위주로 하는 동양인들의 장에는 더 적합한 것으로 알려져 있다(Chang & Kim 2010). 쇠비름은 예로부터 민간요법과 한방에서 널리 사용되어온 식용 식물로 각종 항균 효과나 항염증, 항암 효과 등이 있는 것으로 알려져 있고, 국내 야산 등지에서 널리 자생하고 있다(Bae JH 2004; Park 등 2011). 본 연구에서는 프로바이오틱스와 약용 식물로 활용되어 온 쇠비름으로부터 식물성 유래 유산균을 분리하여 쇠비름 추출물 발효액을 제조한 후, 이들이 신생아 장염 유발 미생물인 *C. jejuni*의 증식에 미치는 영향을 조사해 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료준비 및 사용균주

경북 경산시의 인근 농가에서 재배한 쇠비름을 잘 씻어 말린 후 쇠비름 중량의 1.5%(w/w)에 해당하는 소금을 넣고 2배의 물을 첨가한 후 저온초음파병합추출기(SONIMEDI, Korea)를 이용하여 60°C, 620 kHz 초음파에서 6시간 압착, 추출하였다. 그리고 bottle top filter 0.22  $\mu$ m(Millipore, China)에 여과하여 쇠비름 추출물을 만들고, 감압 농축기(ELELA TYPE N-N SERIES, Japan)로 65°C에서 감압, 농축시키고, 동결건조한 후 -18°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 실험에 사용한 균주는 Table 1과 같이 한국농업미생물자원센터와 생명자원센터에서 분양 받아 MRS(Difco, USA)배지 또는 Brucella(Difco, USA) 배지에 계대 배양하였다. *Campylobacter jejuni* 균의 배양에는 4% fetal bovine serum(Gibco, USA)을 첨가한 Brucella broth(Difco, USA)를 이용하였으며, 미호기성 조건을 유지시켜 주기 위해서 CO<sub>2</sub> incubator(SANYO, MCO-175, Japan)에서 10% CO<sub>2</sub>, 습도 95% 이상, 42°C 온도를 유지하였다.

### 2. 쇠비름에서 식물성 유래 유산균(PLAB) 분리

쇠비름에 열배의 증류수를 첨가하여 Homogenizer(WissMix<sup>TM</sup>, HG-15D, DAIHAN scientific)로 분쇄한 후 원심분리기(MICRO 24-48 R, Germany) 10,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 MRS 평판배지(Difco, USA)에 도말하고, 37°C에서 3일 동안 배양(incubator, HK-IB072, 한국종합기기제작소)하였다. 가장 좋은 증식률을 보인 한 종의 집락을 선택하여 15회 반복 도말함으로써 순수분리시키고, 15번째 배지 중 가장 좋은 증식률을 보인 한 colony를 선택하여 MRS broth에 접종하고 24시간 배양한 후 사용하였다.

### 3. 쇠비름 추출물 발효액의 제조

쇠비름 추출물에 1% 농도의 프로바이오틱스를 종류별로 접종하고, 여기에 glucose 5%, 10%, 15%, yeast extract 1%, 2%,

**Table 1. Microorganisms used for *Portulaca oleracea* fermentation and its antimicrobial activity test**

<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	KACC 11953
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	KACC 12419
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	KACC 12420
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	KACC 13439
<i>Lactobacillus plantarum</i>	KACC 15357
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	KACC 12312
<i>Bifidobacterium longum</i>	KACC 20597
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560

3%, peptone 1%, 2%, 3% 및 potassium phosphate 0.05%, 0.1%, 0.15%를 각각 혼합한 후 37°C에서 배양하며 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 프로바이오틱스 증식을 도와주는 조건을 찾고, 가장 높은 증식률을 보인 균주를 선택하여 최종 쇠비름 발효액을 제조하였다. 대조군으로 사용한 쇠비름 발효액에는 상기의 영양 성분들을 제외한 나머지 균주만을 동일 농도로 첨가해 만들었다.

#### 4. 생균수 측정

멸균 처리된 쇠비름 추출액에 yeast extract 2%, peptone 1%, potassium phosphate 0.1%를 각각 첨가하고, 쇠비름에서 분리한 균과 *Leuconostoc mesenteroides*를 각각 1%씩 접종한 후 37°C에서 3일간 발효시켰다. 접종 직후와 48시간 배양 뒤에 각각의 생균수를 계대희석법을 이용해 측정하고, 5°C 냉장고에 2주 동안 보관하면서 살아남은 생균수를 계수하였다.

#### 5. pH 및 산도 측정

쇠비름 대조군(쇠비름 추출물에 쇠비름에서 분리한 균과 *Leuconostoc mesenteroides* 만을 접종한 것)과 쇠비름 발효액(쇠비름 추출물에 쇠비름에서 분리한 균과 *Leuconostoc mesenteroides*를 접종하고 증식에 필요한 각종 영양분을 첨가한 것)을 취해 pH meter(METTLER TOLEDO, pH meter 320, Shanghai)를 사용해 pH를 측정하였다. 산도는 대조군과 쇠비름 발효액 각각 1 ml를 취하여 증류수 9 ml를 가해 희석한 후 1% phenolphthalein 용액(DUKSAN, Korea) 2~3방울을 가하고, 0.05 N NaOH 용액(DUKSAN, Korea)으로 적정하였으며, 적정에 소비된 0.05 N NaOH로부터 젖산의 함량(%)을 계산하였다. pH와 산도는 0, 6, 12, 36, 48시간 단위로 모니터링하였다. 모든 데이터는 3회 반복하여 평균과 표준편차로 표시하였으며, 분산 분석으로 통계 처리하였다.

#### 6. 쇠비름 발효액이 *C. jejuni* 증식에 미치는 영향

탁도 0.5로 맞춘 *C. jejuni*를 Brucella 배지에 1% 농도로 접종하고, membrane filter(0.45  $\mu$ m, Millipore, USA)로 제균한 쇠비름 추출물과 쇠비름 발효액을 각각 10 mg/ml, 20 mg/ml의 농도로 첨가하였다. 10% CO<sub>2</sub>, 42°C의 미호기성 조건에서 48시간 배양하면서 600 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

#### 7. 통계 처리

모든 실험은 2회 이상 반복하였으며, 통계 처리는 SPSS (IBM SPSS Statistics version 19)를 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다범위 검정법(Duncan's multiple range test)으로 샘플 간의 유의적 차이를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 균주 선택 및 쇠비름 발효액 제조

쇠비름 추출액에 Table 1에서와 같이 프로바이오틱스 7종과 쇠비름에서 분리한 식물성 유산균(PLAB)을 접종하고, 37°C에서 배양하면서 510 nm에서 흡광도를 조사한 결과, Fig. 1과 같이 쇠비름 자체에서 분리한 균주와 김치 등에서 분리한 대표적 식물성 유산균인 *Leuconostoc mesenteroides*가 가장 잘 자람을 알 수 있었다. *Lactobacillus delbrueckii*도 비교적 증식하였으나, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus* 및 *Bifidobacterium longum* 등은 쇠비름 추출액에서 잘 자라지 못함을 나타냈다. Fig. 1에서 선발된 두 종의 균주를 선택하여 쇠비름 추출액에 각각 1% 농도를 접종하고, 균의 증식을 도와주는 각종 영양 성분들을 첨가해 주었다. 쇠비름 추출액에 탄수화물 급원으로 glucose를 농도별로 첨가하고, 무기질 및 비타민 등을 공급하기 위해 yeast extract를 사용하여 농도별로 첨가하였다. Glucose의 경우 5~15%까지 첨가해 주었을 때 오히려 선발된 균주들의 증식을 저지시켰고, 이는 수분활성도의 저하에서 일어난 현상이라 사료된다. PLAB의 경우, Fig. 2에서와 같이 2% 농도의 yeast extract를 첨가했을 시 가장 호조의 증식을 보였고, 당의 경우 예상과 달리 균의 증식에 별 영향을 미치지 않았다. *Leuconostoc mesenteroides*의 경우도 쇠비름 추출액에서 증식시켰을 때 Fig. 3과 같이 당의 첨가에 의해서는 증식에

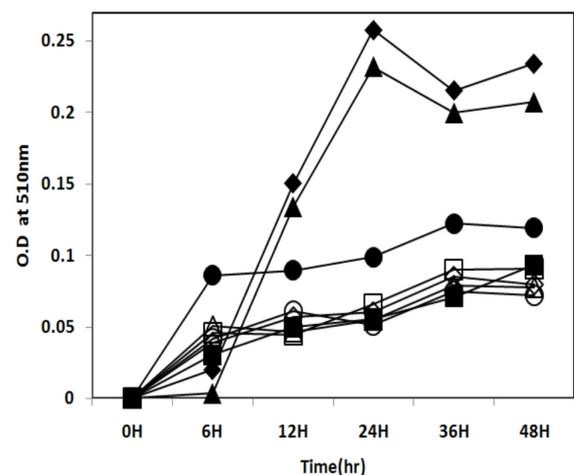


Fig. 1. Growth curve of probiotics in the *Portulaca oleracea* extract at 37°C ( $F=2.697$ ,  $p=0.012$ ). ◆: LAB isolated from *Portulaca oleracea*(PLAB), ▲: *Leuconostoc mesenteroides*, ●: *Lactobacillus delbrueckii*, ■: *Lactobacillus plantarum*, □: *Lactobacillus acidophilus*, ◇: *Lactobacillus bulgaricus*, △: *Bifidobacterium longum*, ○: *Lactobacillus rhamnosus*, Alphabetical letters represent a significant difference at  $p<0.05$ .

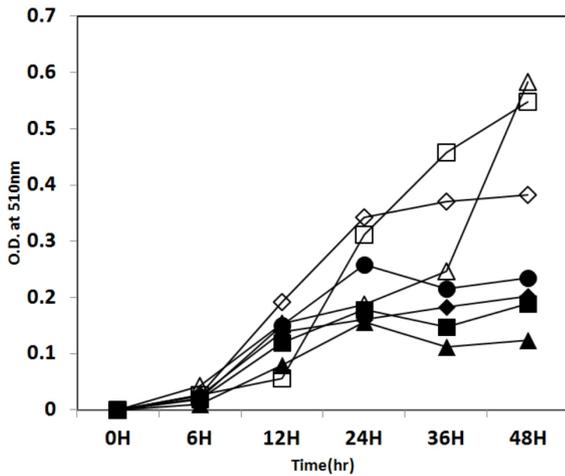


Fig. 2. Growth curve of probiotics isolated from *Portulaca oleracea* in the *Portulaca oleracea* extracts added sucrose and yeast at 37°C ( $F=0.607$ ,  $p=0.845$  for glucose,  $F=1.827$ ,  $p=0.105$  for yeast). ●: Control(*Portulaca oleracea* extract inoculated with same concentration of probiotics without nutrients), ◆: Glucose 5%, ■: Glucose 10%, ▲: Glucose 15%, ◇: Yeast 1%, □: Yeast 2%, △: Yeast 3%.

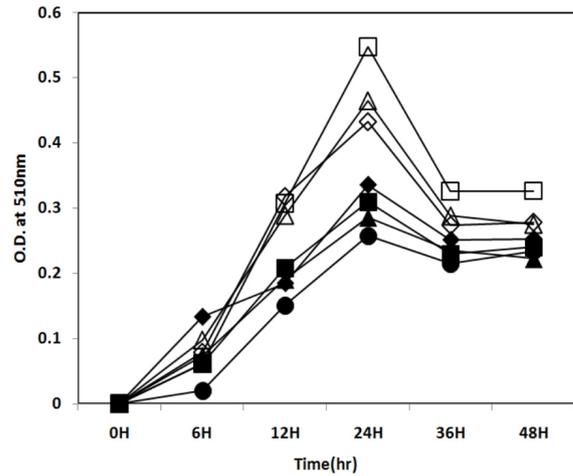


Fig. 4. Growth curve of probiotics isolated from *Portulaca oleracea* in the *Portulaca oleracea* extracts added peptone and phosphate at 37°C ( $F=0.466$ ,  $p=0.939$  for peptone,  $F=0.391$ ,  $p=0.971$  for phosphate). ●: Control(*Portulaca oleracea* extract inoculated with same concentration of probiotics without nutrients), ◆: Peptone 1%, ■: Peptone 2%, ▲: Peptone 3%, ◇: Phosphate 0.05%, □: Phosphate 0.1%, △: Phosphate 0.15%.

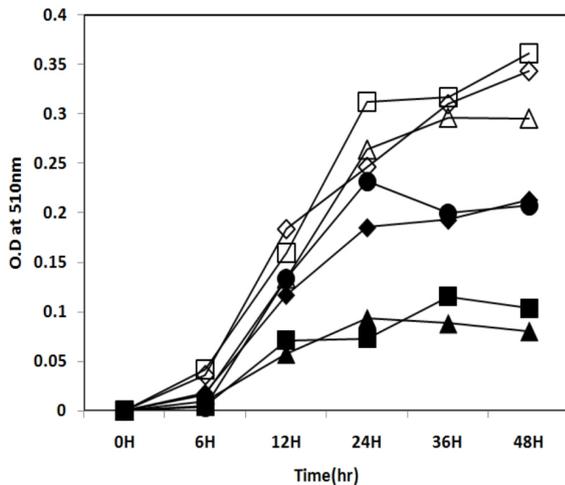


Fig. 3. Growth curve of *Leuconostoc mesenteroides* in the *Portulaca oleracea* extracts added sucrose and yeast at 37°C ( $F=0.577$ ,  $p=0.869$  for glucose,  $F=0.882$ ,  $p=0.6$  for yeast). ●: Control(*Portulaca oleracea* extract inoculated with same concentration of probiotics without nutrients), ◆: Glucose 5%, ■: Glucose 10%, ▲: Glucose 15%, ◇: Yeast 1%, □: Yeast 2%, △: Yeast 3%.

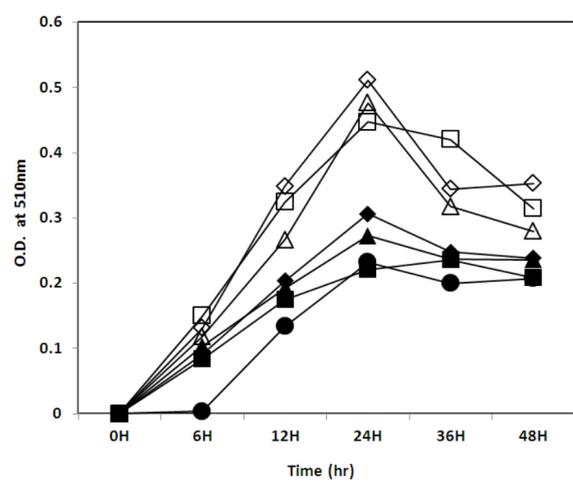


Fig. 5. Growth curve of *Leuconostoc mesenteroides* in the *Portulaca oleracea* extracts added peptone and phosphate at 37°C ( $F=0.405$ ,  $p=0.966$  for peptone,  $F=0.377$ ,  $p=0.975$  for phosphate). ●: Control(*Portulaca oleracea* extract inoculated with same concentration of probiotics without nutrients), ◆: Peptone 1%, ■: Peptone 2%, ▲: Peptone 3%, ◇: Phosphate 0.05%, □: Phosphate 0.1%, △: Phosphate 0.15%.

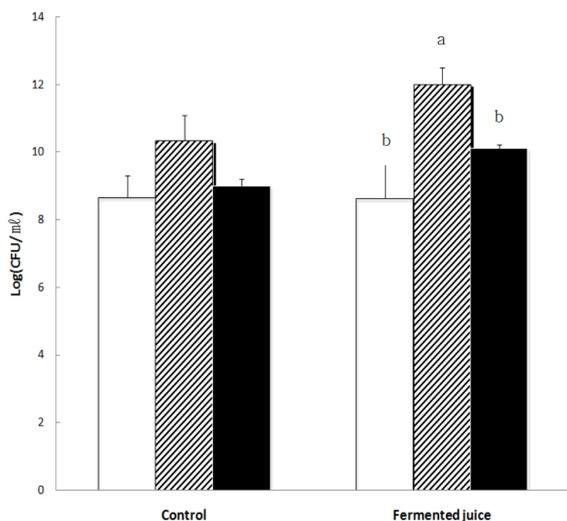
자극을 받지 않았으나, 2% 농도의 yeast extract 첨가에서 가장 높은 증식을 보였다. 또한 질소 급원으로 peptone을 첨가하거나 인산을 제공했을 시 Fig. 4 및 Fig. 5에서와 같이 PLAB

나 *Leuconostoc mesenteroides* 모두가 증식이 증가함을 알 수 있었다. Peptone의 경우 1% 농도가 가장 적합하였으며, 인산의 경우 0.05~1% 농도에서 가장 좋은 증식을 드러냈다. 이

상의 결과, 쇠비름을 발효시킬 때 적합한 프로바이오틱스는 쇠비름 자체에서 분리한 균주이거나 *Leuconostoc mesenteroides*였으며, 이 균주를 이용해 발효액을 제조할 때 yeast extract 2%, peptone 1%, 인산 0.05~0.1%를 첨가해 주면 증식이 촉진됨을 알 수 있었다.

## 2. 쇠비름 발효액의 생균수 측정

상기의 조건으로 제조한 쇠비름 발효액에 들어있는 프로바이오틱스의 생균수를 측정해 본 결과는 Fig. 6과 같이 나타났다. 쇠비름 추출물과 쇠비름 발효액에 상기 실험에서 선택된 2가지 종류의 균주를 각각 1% 농도로 접종하고, 48시간 발효를 시킨 후 생균수를 측정하였다. 실험군인 쇠비름 발효액의 경우, 생균수의 수가 대조군(쇠비름 추출물에 각종 영양 성분을 제외한 균주만 접종한 것)보다 높게 나타나,  $10^{12}$  CFU/ml까지 프로바이오틱스가 증식하고 있음을 알 수 있었다. 처음 발효를 거치지 않은 상태에서는 두 군에 함유된 생균수가  $4.6 \times 10^8$ 과  $4.3 \times 10^8$ 로 비슷하게 나왔으나, 48시간 발효 후에는 대조군의 경우  $2.2 \times 10^{10}$  CFU/ml로 나왔고, 실험군의 경우,  $1 \times 10^{12}$  CFU/ml로 생균수가 증가하였다. 일반 유제품의 경우, 평균 유통기한이 냉장 보관 2주인 점을 고려하여 2주간 냉장 보관하였을 시 살아있는 프로바이오틱스 균수에 어떠한 변화가 있는 지 조사해 본 바, 2주 이후에도 생균수가 크게 줄어들지 않고 남아 있음을 알 수 있었다. 쇠비름 발효액의 경



**Fig. 6.** Number of viable cells in the fermented *Portulaca oleracea* extract. □: Zero time, ▨: 48 hours, ■: 2 weeks, Control: *Portulaca oleracea* extract inoculated with same concentration of probiotics without nutrients such as yeast extract, peptone and phosphate. Alphabetical letters represent a significant difference according to Duncan's multiple range test at  $p < 0.05$ .

우, 2주 후에도 생균수가  $1.3 \times 10^{10}$  CFU/ml로 나타나 식품공전에 제시된 농후발효유 유산균수 기준인  $1 \times 10^8$  CFU/ml 보다 높게 나옴을 알 수 있었다.

## 3. 쇠비름 발효액의 pH 및 산도 측정

쇠비름 발효액의 경우, 시간이 경과함에 따라 Table 2에서와 같이 pH는 낮아짐을 알 수 있었고, 산도는 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. pH의 경우, 쇠비름 추출물에 증식에 필요한 각종 영양분을 제외하고, 균주만 접종한 대조군에 비해 실험군인 쇠비름 발효액은 48시간 발효 이후에 pH가 3.7로 낮아짐을 알 수 있었고, 산도도 3.14로 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 일반적으로 요구르트의 바람직한 pH 범위는 3.27~4.53임을 고려해 볼 때 쇠비름 발효액이 이 범위 안에 들어감을 알 수 있었다. 프로바이오틱스는 acetic acid나 propionic acid, butyric acid 등의 SCFA를 생산해 주며, 생산되는 지방산의 양과 종류는 섭취한 식품의 종류나 장내 체류 시간, 장내 세균의 종류 등에 따라 달라진다고 하는데(Rooks & Garrett 2011), 본 연구에 사용된 프로바이오틱스의 항균력도 이들이 생산하는 SCFA를 통해 pH를 떨어뜨리거나, 박테리 오신 분비를 통한 직접적인 항균작용에 의해서 일 것이라고 추정된다. 한편, 프로바이오틱에 의해 생산된 유기산인 SCFA는 약 95%가 체내에서 흡수, 대사되어 여러 가지 생리 작용에 관여하게 되는데, acetate의 경우 면역세포에서 발현되는 G-protein-coupled receptor인 GPR 43에 결합되어 염증 반응의 해소에 도움을 주게 된다고 알려져 있다. 또한 acetate는 epithelial barrier 기능을 강화해 *E. coli* O157과 같은 출혈성 병원균의 감염으로부터 숙주를 보호한다고 하며, propionic acid의 경우

**Table 2.** Change of pH and acidity in the fermented *Portulaca oleracea* extract

Time (hrs)	pH		Acidity	
	Control	Fermented juice	Control	Fermented juice
0	6.12±0.08 <sup>c</sup>	4.87±0.78 <sup>c</sup>	0.34±0.11 <sup>c</sup>	1.32±0.23 <sup>d</sup>
6	6.06±0.32 <sup>c</sup>	4.52±0.19 <sup>bc</sup>	0.67±0.14 <sup>b</sup>	1.81±0.26 <sup>c</sup>
12	5.62±1.46 <sup>bc</sup>	4.48±0.12 <sup>bc</sup>	0.89±0.13 <sup>ab</sup>	2.03±0.14 <sup>bc</sup>
36	4.47±0.08 <sup>ab</sup>	4.05±0.14 <sup>ab</sup>	0.91±0.18 <sup>ab</sup>	2.25±0.17 <sup>b</sup>
48	4.10±0.14 <sup>a</sup>	3.72±0.13 <sup>a</sup>	0.96±0.07 <sup>a</sup>	3.14±0.18 <sup>a</sup>
F value	5.775*	4.318*	11.513**	33.534**

Control: *Portulaca oleracea* extract inoculated with same concentration of probiotics without nutrients such as yeast extract, peptone and phosphate. Alphabetical letters at each column represent a significant difference according to Duncan's multiple range test at  $p < 0.05$ .

Asterisks indicate statistically significant difference (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ).

T helper cell의 면역 반응을 조절해 주고, butyrate는 microRNA 발현에 영향을 주어 microR106b의 수준을 변화시킴으로 cell cycle을 조절해 주고, 항암 효과를 지니게 된다고 보고되고 있다(Rooks & Garrett 2011).

#### 4. 쇠비름 추출물 발효액이 *C. jejuni*의 증식에 미치는 영향

액체배양법으로 쇠비름 추출물과 발효액을 *C. jejuni*에 적용시켜 증식 효과를 조사해 본 바, Fig. 7과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 대조군에 비해 쇠비름 추출물과 쇠비름 발효액을 배지에 첨가한 경우, *C. jejuni*의 증식이 억제됨을 알 수 있었다. 쇠비름 추출물의 경우 20 mg/ml 농도 이상에서 증식 억제 효과가 있었으나, 발효액의 경우 10 mg/ml 농도에서 증식 저해 효과를 관찰할 수 있었고, 이 효과는 48시간 동안 지속됨을 알 수 있었다. *Campylobacter*는 닭과 같은 가금류 및 사람의 장내에 감염을 일으켜 식이성 장관 질환을 일으키는 대표적인 병원균으로, 주로 장관 상피 세포의 표면에 부착되어 감염을 일으키고, 궁극적으로는 세포내로 침범하게 된다. 이들의 흡착과 침투를 막아주는 여러 가지 방법으로 항생제 등이 사용되나, 대체 방법으로 프로바이오틱스를 사용하여 병원균에 직접적 해를 주거나 또는 숙주의 면역시스템을 조절하여 그 병원균을 퇴치하기도 한다(Lee & Newell 2006). *Campylobacter* 중 가장 병원성이 큰 종은 *C. jejuni*인데, 이 균은 신생아나 노약자, 또는 면역 능력이 약화된 사람들에게서 주로 설사 등의 장관 질환을 일으키게 된다. 나선모양의 그람 음성균으로,

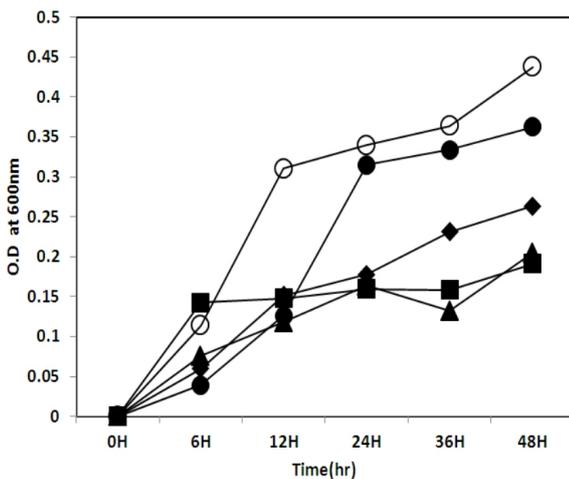


Fig. 7. The effect of fermented *Portulaca oleracea* extract against the growth of *Campylobacter jejuni* incubated at 42°C for 36 hours ( $F=6.716$ ,  $p=0.001$ ). ○: Control, ●: *Portulaca oleracea* extract 10 mg/ml, ◆: *Portulaca oleracea* extract 20 mg/ml, ■: fermented *Portulaca oleracea* extract 10 mg/ml, ▲: fermented *Portulaca oleracea* extract 20 mg/ml, Alphabetical letters represent a significant difference at  $p<0.05$ .

코르크 나사 모양의 운동을 하므로 장관 벽을 쉽게 뚫고 침입하게 되는데, 장관 세포에 부착되기 위해서는 숙주세포 표면에 glycoprotein이나 glycolipid로 구성된 receptor가 필요하며, 여기에 세균 표면에 있는 adhesin이 결합됨으로 세포 신호 전달 작용에 의해 cytoskeleton의 재 배열이 일어나게 되고, 이로 인해 병원균의 세포내 침투가 용이해지게 된다고 한다(Ganan 등 2012). 미호기성 세균으로 10% CO<sub>2</sub> 환경에서 잘 자라며 최적 온도는 37~42°C이다. 열에는 비교적 약하여 조리나 저온성 살균 온도에서 파괴되고, 건조, 삼투압, 2% 이상의 소금 농도에서도 잘 자라지 못하게 된다(Park SF 2002). 한편, 본 연구에 사용된 쇠비름의 경우 폴리페놀류를 많이 함유하고 있는데, 식물에 들어있는 폴리페놀류는 flavonoid류와 phenolic acid, lignan 등의 3 계열로 구분할 수 있다(Park 등 2011). 이들은 숙주의 위장관 상층부에서 소화, 흡수되지 않고 대장에 이르러 장내 미생물이 분비하는 효소에 의해 대사되게 되는데, 베리류나 견과류에서 많이 발견되는 ellagic acid의 경우 장내 미생물에 의해 urolithin으로 전환되고, 이것이 항균 작용을 하게 된다고 보고되고 있다(Larrosa 등 2010). 또한 폴리페놀류는 직접적으로 장내 유해 미생물에 독소로 작용하기도 하여, *in-vitro* 상에서 그람 음성균과 그람 양성균 모두에게 항균효과를 주기도 한다고 한다(Friedman M 2007). 이와 같은 선행 연구들은 본 연구의 결과에서 나타난 쇠비름 추출물과 발효액이 *C. jejuni*의 증식을 억제시킨다는 사실을 뒷받침해 주며, 쇠비름에 함유된 폴리페놀류와 프로바이오틱스가 생산한 박테리옌 등이 항균력을 제공해 주었을 것으로 사료된다. 또한 이들이 생산하는 항생물질은 장내 유해한 미생물인 *C. jejuni*, *S. typhimurium*, *E. coli* 및 *C. difficile* 등의 증식도 저해하게 된다고 알려져 있는데(Ley 등 2005) 본 연구에서 사용한 프로바이오틱스를 이용한 쇠비름 발효액도 *C. jejuni*의 증식을 억제해 주었다. 최근 발표된 연구에 의하면 키토산이나 와인 등에 들어있는 페놀성 화합물이 1,000 mg/l 농도에서 *C. jejuni*에 대해 항균성이 있는 것으로 보고되고 있어(Ganan 등 2012), 본 연구의 쇠비름 발효액이 이 균에 대해 항균력을 나타낸 것도 페놀성 화합물의 영향이 있었으리라 추정되며, 프로바이오틱스가 생산한 SCFA에 의한 항균 효과도 있었을 것으로 판단된다. 또한 식물에서 추출된 천연 항생물질은 일반 항생제에 대해 내성을 지니는 병원성균에 대해 효과적이라고 보고되기도 하는데, *C. jejuni*의 경우 생강, 셀러리, 오렌지 등에서 추출된 천연물질이 *in vitro* 상에서 이 균에 대한 항균 효과를 나타낸다고 알려져 있다(Friedman 등 2002; Nannapaneni 등 2009).

## 요 약

본 연구에서는 신생아 질환과 사망 원인 중 첫 번째에 해

당하는 설사의 주된 원인균인 *Campylobacter jejuni*에 대한 쇠비름 발효액의 항균 효과를 검증해 보고자 하였다. 민간요법과 한방에서 널리 이용되어온 쇠비름은 각종 항균 효과나 항염증, 항암 효과 등이 있는 것으로 알려져 있는 식용 식물로, 여기에서 식물성 유산균을 분리해 각종 프로바이오틱스와 더불어 쇠비름 발효액을 제조하였다. *Lactobacillus rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* 및 *Bifidobacterium longum*과 쇠비름에서 분리한 균을 쇠비름 추출물에 적용하였을 때, *Leuconostoc mesenteroides*와 쇠비름에서 분리한 식물성 유래 유산균이 쇠비름 추출액에서 가장 잘 자랐고, 여기에 2% yeast extract, 1% peptone 및 0.05~1% 인산을 첨가하였을 때 가장 적합한 발효액을 만들 수 있었다. 쇠비름 발효액에 들어있는 생균수는 발효 48시간 후  $1 \times 10^{12}$  CFU/ml로 증가하였고, 2주간 냉장 보관을 한 이후에도 생균수가  $1.3 \times 10^{10}$  CFU/ml로 남아있었다. 쇠비름 발효액의 pH와 산도는 발효 48시간 이후 3.7과 3.14로 각각 나타나 일반 유제품 발효액의 기준 범위 안에 들어감을 알 수 있었다. PLAB과 *Leuconostoc mesenteroides*로 만든 쇠비름 발효액은 10 mg/ml 이상의 농도에서 *C. jejuni*에 대해 증식 억제 효과를 나타냈으며, 이 억제 효과는 48시간 동안 지속되었다.

## 감사의 글

이 연구는 2009 학년도 계명대학교 교수 연구년 지원에 의한 결과의 일부임.

## 참고문헌

- Bae JH. 2004. Antimicrobial effect of *Portulaca oleracea* extracts on food-borne pathogens. *J Food Sci Nutr* 9:306-311
- Bezborovainy A. 2001. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr* 73:399S-405S
- Bhatnagar S, Singh KD, Sazawal S, Saxena S, Bhan MK. 1998. Efficacy of milk versus yoghurt offered as part of a mixed diet in acute noncholera diarrhea among malnourished children. *J Pediatrics* 132:999-1003
- Chang DR, Kim JB. 2010. A case study on Pulmone healthy life's 『Pulmone vegetable lactic acid bacteria』 advertising campaign: Creating a new category in a growth market. *Korean J Advertising* 21:253-265
- Fooks LJ, Gibson GR. 2002. *In vitro* investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. *FEMS Microbiol Ecology* 39:67-75
- Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J Food Protection* 65:1545-1560
- Friedman M. 2007. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol Nutr Food Res* 51:116-134
- Ganan M, Silvan JM, Carrascosa AV, Martinez-Rodriguez AJ. 2012. Alternative strategies to use antibiotics or chemical products for controlling *Campylobacter* in the food chain. *Food Control* 24:6-14
- Gonzalez-Sarrias A, Larrosa M, Tomas-Barberan F, Dolara P, Espin JC. 2010. NF-kappaB-dependent anti-inflammatory activity of urolithins, gut microbiota ellagic acid-derived metabolites, in human colonic fibroblasts. *Br J Nutr* 104:503-512
- Karimi O, Peria AS. 2008. Indications and challenges of probiotics, prebiotics, and synbiotics in the management of arthralgias and spondyloarthropathies in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 42:136S-141S
- Larrosa M, Gonzalez-Sarrias A, Yanez-Gascon MJ, Selma MV, Azorin-Orturil M, Toti S, Tomas-Barberan F, Dolara P, Espin JC. 2010. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. *J Nutr Biochem* 21:717-725
- Lee MD, Newell DG. 2006. *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. *Avian Diseases* 50:1-9
- Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. 2005. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci* 102:11070-11075
- Mattar AF, Drongowski RA, Coran AG, Harmon CM. 2001. Effect of probiotics on enterocyte bacterial translocation *in vitro*. *Pediatr Surg Int* 17:265-268
- Nannapaneni R, Chalova VI, Crandall PG, Ricke SC, Johnson MG, O'Bryan CA. 2009. *Campylobacter* and *Arcobacter* species sensitivity to commercial orange oil fractions. *International J Food Microbiol* 129:43-49
- Park SF. 2002. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogen. *International J Food Microbiol* 74:177-188
- Park SH, Kim DK, Bae JH. 2011. The antioxidant effect of *Portulaca oleracea* extracts and its antimicrobial activity on *Helicobacter pylori*. *Korean J Food & Nutr* 24:306-311

- Rooks MG, Garrett WS. 2011. Bacteria, food and cancer.  
*F1000Reports Biol* 3:12-18
- Saavedra JM. 1995. Microbes to fight microbes: a not so novel  
approach to controlling diarrheal disease. *J Pediatr Gastroenterol  
Nutr* 21:125-129

---

접 수 : 2012년 4월 7일  
최종수정 : 2012년 5월 14일  
채 택 : 2012년 5월 14일