

Exopolysaccharide 생성 유산균을 이용한 감초 추출물 첨가 Yoghurt의 품질특성 및 *Helicobacter pylori* KCCM 40449 억제활성

정승원¹ · 김철우² · 이수한*

¹동국대학교 식품생명공학과, ²한국식품공업협회, 을지대학교 식품산업외식학과

Quality Characteristics and Inhibition Activity against *Helicobacter pylori* KCCM 40449 of Liquorice Yogurts Manufactured by Exopolysaccharide Producing Lactic Acid Bacteria

Seung-Won Jung¹, Cheol Woo Kim², and Su Han Lee*

¹Department of Food Science & Biotechnology, Dongguk University

²Korea Advanced Food Research Institute

Department of Food Technology and Services, Eulji University

Abstract

This study was carried out to fortify the antimicrobial activity of yoghurt by adding liquorice extract to it. The liquorice extracts (1 mg/mL) showed relatively high antibacterial activity against *H. pylori* KCCM 40449 ($p < 0.05$). The solvent liquorice extracts of minimal inhibitory concentrations (MIC) against *H. pylori* KCCM 40449 were 25-100 µg/mL. *Lactobacillus amylovorus* DU-21 with high EPS production ability were inoculated to milk after the addition of different amounts of liquorice extracts (0.0%, 0.05%, 0.1% and 0.2%). The physico-chemical characteristics of yoghurts added with liquorice extracts were examined. The initial pH, titratable acidity, viscosity and viable cell counts of the yoghurt added liquorice extracts were 3.41-3.51, 1.021-1.091%, 1,686-1,930 cp and 9.41-9.38 Log CFU/mL, respectively. The viscosity and syneresis of yoghurt were better than that of the control. Antimicrobial activity against *H. pylori* KCCM 40449 increased with increasing addition of liquorice extract. However, the sensory score of yoghurt added with different amounts of liquorice extracts was lower than that of the control ($p < 0.05$). As a result of the sensory evaluations, the flavor, taste, texture, color and overall acceptability of the yoghurt with 0.05% liquorice extract were found to be much better than those of the other groups ($p < 0.05$). Overall, the optimal amount of liquorice extract added in the manufacture of yoghurt was 0.05% of the total weight. Further studies on increment of antimicrobial activity and palatability of liquorice extract added yoghurt are necessary.

Key words: yoghurt, liquorice extracts, *Helicobacter pylori*, lactic acid bacteria, syneresis

서 론

오늘날 인류의 최대 관심은 건강이며 그 개념은 육체적으로나 정신적으로 모든 기능을 활발하게 발휘할 수 있는 적극적인 상태를 말하는 것으로 건강을 증진시키는 것은 더욱 중요한 의미를 갖는다. 의학기술의 발달로 인하여 인간의 평균수명이 연장되었으나 노령화 및 식습관의 변화와 운동부족으로 각종 암, 고혈압 등 순환기계질환과 당뇨병, 간장 장애 등 만성 퇴행성 질환이 급증하고 있다. 천연물

로부터 생리활성물질을 찾는 연구는 오래전부터 많은 연구자들에 의해 이루어지고 있으며, 이에 따른 질병에 대한 치료제 및 예방대책 또는 건강보조제로써 식물자원이 널리 이용되고 있는 실정이다(Kang, 2011).

감초는 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생 초본인 *Glycyrrhiza uralensis*, *G. inflata*, *G. glabra*의 뿌리와 뿌리줄기를 건조한 생약으로서 한방의 처방전에 상당히 많이 이용되는 생약중의 하나이다. 중국의 고대 의학 서적에 의하면 감초는 소화계의 활성화, 기의 충만, 열과 독성물질의 제거, 폐의 수분 보충 및 중단, 경련과 통증의 감소 등에 효능이 있는 생약으로 묘사되어 있다(Crance et al., 1994; Davis & Morris, 1991). 감초는 무게의 6-14%가 glycyrrhizic acid에 Ca²⁺ 또는 K⁺가 붙은 glycyrrhizin으로 구성되어 있다. 감초의 단맛은 glycyrrhizin에 기인하는데 설탕보다 약 200 배 정도 높다. Glycyrrhizin은 가수분해에 의해 한 분자의

*Corresponding author: Su Han Lee, Department of Food Technology and Services, Eulji University, 212, Yanggi-dong, Sujeong-gu, Seongnam, Gyeonggi-do, 461-713, Korea

Tel: +82-31-740-7196; Fax: +82-31-710-7349

E-mail: shlee@eulji.ac.kr

Received October 12, 2011; revised November 1, 2011; accepted November 1, 2011

glycyrrhetic acid와 두 분자의 glycuronic acid로 분리된다. 인체에서 glycyrrhizin은 장에서 체내로 흡수되기 전, 대다수는 *Eubacterium* L-8에 의해 18 β -glycyrrhetic acid로, 소수는 *Streptococcus* LJ-22에 의해 18 β -glycyrrhetic acid-3-O- β -D-glucuronide로 대사된다. 또한 항궤양 물질로 알려진 licorione과 FM 100, nonacid 물질인 phenylpentol, plaunotol과 teprenon, 그리고 면역억제 기능을 가진 LX라는 물질 등이 확인되었다(Takeuchi et al., 1991). Glycyrrhizin은 항알레르기, 만성 간염 및 AIDS를 포함한 바이러스성 질환에 뛰어난 효과가 있는 것으로 증명되면서 의약품의 원료로 이용되고 있다. 또한 glycyrrhizin은 항산화성을 가지고 있어서 식품 성분의 산화를 방지하여 품질을 안정화시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2004). Mori et al.은 AIDS 환자에게 감초를 다량 투여한 결과, 면역 및 간기능을 증가시킨다고 하였고(Mori et al., 1990), Shin et al.은 감초추출물을 이용하여 *Listeria monocytogenes*의 증식억제에 미치는 영향을 조사하였으며(Shin et al., 1994), Ahn et al.은 감초추출물 중 liquiritigenin이 *Listeria monocytogenes*균에 대해 항균 활성을 나타내는 물질임을 밝혔다(Ahn et al., 1998). Toshio et al.은 *Glycyrrhiza glabra*, *G uralensis*, *G inflata*, *G glabra*에 공통적으로 포함된 triterpenoid saponin이 glycyrrhizic acid, licoricesaponin G2, liquiritigenin, liquiritin, formononetin임을 확인하였으며, glycyrrhetic acid가 anti-*Helicobacter pylori* activity를 나타낸다고 보고하였다(Toshio et al., 2002).

*H. pylori*는 통성 혐기성 그람음성균으로서, 크기는 폭 0.5-1.0 μm , 길이 5.0 μm 의 가늘고 긴 오른쪽으로 말린 나선상의 형태를 갖는 세균이며, 한쪽 끝에는 4-8 본의 편모(flagella)를 갖고 있다. *H. pylori*는 사람의 위, 특히 유문부(pylorus)나 체부(corpus)의 위 점막층(gastric mucosal layer)의 표층이나 점액(mucous) 내에 살고 있다. *H. pylori*는 만성 활동성 위염, 위십이지장 및 소화성 궤양의 원인균이며, 위암과 위점막연관 림프 조직형 위 림프종의 중요한 인자로 인식되고 있는 균이며(Kang & Lee, 2005; Suerbaum & Michrtri, 2002), 국내 성인의 *H. pylori* 감염률은 60-75% 정도로 서구 여러 나라와 비교하여 매우 높은 보급율을 보이고 있다(Lee et al., 1999). *H. pylori*를 제균(eradication)할 경우 궤양이나 위염의 재발이 현저히 감소하는 것에서 알 수 있으며, 위암 또한 그 연관성이 매우 높은 것으로 여겨지고 있다. 그러나 *H. pylori*에 감염된 것만으로 위암으로 발전되는 것은 아니다. 감염자 중에서 위암이 되는 경우는 연간 약 1000명중 2-3명 꼴로 나타나는 정도이다. 이러한 사실로 미루어 볼 때, 아마도 *H. pylori* 감염에 부가적으로 유전요인이나 발암물질 등이 복합적으로 작용하여 위암이 발생하는 것으로 생각되어 지고 있다(Kim, 2008). In vivo에서의 일반적인 *H. pylori*의 제균방법은 크게 4가지로 구분되어, bismuth (BIS) 제제를 근간으로 하는 3중

요법, proton pump inhibitor(PPI)를 근간으로 하는 3중 요법, ranitidine bismuth citrate(RBC)를 근간으로 하는 3중 요법, 그리고 BIS를 근간으로 하는 3중 요법에 PPI를 추가하는 4중 요법 등이 사용되고 있으며, 우리나라에서는 1차 치료로 PPI에 기초한 amoxicillin과 clarithromycin을 7일간 투여하는 3제 요법이 가장 널리 이용되고 있다(Kil et al., 2004). 그러나 *H. pylori*의 제균에 사용할 수 있는 항생제는 제한되어 있으며, 항생물질을 손쉽게 장기간 지속적으로 사용하면 항생물질이 작용하지 않는 내성균(antibiotics resistant bacteria)이 출현하여 항생물질 그 자체를 무력화시키게 될 우려가 있어 다른 접근법이 요구되고 있다(Kim, 2006). 한편 천연물을 이용한 *H. pylori* 항균활성 실험은 in vitro를 벗어나지는 못했으나 여러 소제들이 시도되고 있다. Tabak et al.은 백리향(thyme)에서(Tabak et al., 1996), Diker & Hascelic은 차(tea)로부터 *H. pylori*에 대한 항균활성을 보고하였다(Diker & Hascelik, 1994). 이에 항균특성을 가진 것으로 알려진 한약재 추출물을 토대로 *H. pylori*에 대한 항균활성을 탐색한다면 사람, 동물 등의 질병 치료뿐만 아니라 직접 식품에 적용하여 내성 균주에 대한 천연 항균제로서의 이용이 가능하리라 사료된다.

우리나라와 같이 위암이 암에 의한 사망원인의 수위를 차지하는 현실에서 *H. pylori* 제균이 암의 화학적 예방법(chemoprevention)이 될 수도 있기 때문에 생약제를 이용한 *H. pylori*의 생육을 저해할 수 있는 기능성 yoghurt의 개발은 임상적 및 보건학적 측면에서 큰 의미를 가질 것으로 사료된다. 이에 본 연구는 산업적으로 이용 가능한 sourdough에서 분리된 exopolysaccharides 생성능이 우수한 유산균을 이용, 우리나라의 식품공전에 식물성 재료로 허가되어 있어 사용 시 안전성에 문제가 없으며 전래된 여러 효능에 착안하여 감초를 이용하여 품질이 개선된 *H. pylori*을 억제하는 기능성 yoghurt를 개발하고자 하였다.

연구 내용 및 방법

시료의 선정

본 연구에서 사용된 감초(甘草, *Glycyrrhiza uralensis* FISCH)는 시중에서 유통되는 중국산 제품으로 경동시장에서 구입하여 사용하였으며, 구입 당시 감초는 건조되어 절단된 상태로 수분함량은 3.2%였다. 박편상의 감초는 Warring blender(Model 33 BL 73, Dynamic Corp., New Hartford, CT, USA)로 분쇄한 후 표준체를 이용하여 30 mesh-60 mesh로 구별하였으며, 밀봉하여 4°C 냉장고에 저장하면서 추출용 시료로 사용하였다.

감초 추출물의 제조

한국인삼연초연구원의 특허에 명시된 방법으로 감초 추출물을 제조하였다(Park, 1999). 즉, 시료의 10%(w/w)에

해당하는 propylene glycol(Samchun pure chemical Co., Ltd., Seoul, Korea)을 시료에 분무하였다. 여기에 시료의 8 배(w/v) 정도의 추출용매를 넣어 45 shaking water bath (Han Back Scientific Co., Gyunggi-do, Korea)에서 12 시간 동안 추출하고, 이 조작을 3 회 반복하였다. 추출용매로는 40% isopropanol, 40% ethyl alcohol, 80% ethyl alcohol, 40% methyl alcohol을 사용하였으며, 추출물은 3000 rpm에서 20 분 동안 원심분리하여 상등액을 취하였다. 모든 추출물은 40°C에서 감압 농축한 후, freezing dryer (DC-55B, Yamato Scientific Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 동결 건조(-50°C, 9 mm/Torr)시켜 -20°C에 보관하면서 시료로 사용하였다. 추출에 사용한 용매는 Samchun사(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

감초 추출물의 항균효과 침 최소화해농도 측정

추출물의 항균효과를 disc 방법에 의하여 확인하였다. 5%(v/v) Defibrinated sheep blood가 첨가된 brucella agar 배지에서 48 시간 배양된 *H. pylori* KCCM 40449를 멸균된 면봉으로 긁어 brucella broth에 흡광도(570 nm)가 0.25가 되도록 현탁하였다(2×10^7 CFU/mL). 현탁액 200 μ L (4×10^6 CFU/mL)를 취해 15 mL로 제조된 5% (v/v)의 Defibrinated sheep blood를 함유한 새로운 brucella agar 배지에 도말한 후, 여기에 멸균된 직경 10 mm의 paper disc (Toyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan)를 올려놓았다. 각 소재 추출물을 0.2 μ m membrane filter로 여과하고 최종농도가 1 mg/mL가 되도록 하여 100 μ L씩 disc에 흡수시켰다. micro-aerobic 조건에서 37°C로 72 시간 배양한 후 disc 주위의 생육저지환(clear zone) 생성 유무로 항균효과를 확인하였다.

최소저해농도(MIC, minimum inhibitory concentration)측정은 이 등의 방법을 변형하였다(Lee et al., 1999). 5% (v/v) defibrinated sheep blood를 첨가한 brucella broth에 감초 추출물을 0.2 μ m membrane filter로 제공하여 2-fold dilution을 실시하였다. 여기에 *H. pylori* KCCM 40449를 4×10^6 CFU/mL의 농도로 접종하여 micro-aerobic 조건에서 37°C로 18 시간 배양 후, 100 μ L씩을 취하여 5% (v/v)의 defibrinated sheep blood를 함유한 brucella agar 배지에 도말하고 동 조건으로 72 시간 배양시켜 colony 생성유무를 확인하여 해당 추출물에 대한 MIC를 측정하였다.

Yoghurt 제조용 starter 및 yoghurt 제조

20%(w/v) CaCO₃ bead를 이용하여 고농도로 배양된 동결 건조된 sourdough에서 분리한 EPS 생성균주인 *Lactobacillus amylovorus* DU-21을 10% (w/v) skim milk에 접종하여 37°C에서 24 시간 배양한 후 yoghurt 제조용 starter로 사용하였다. 시판우유에 glucose (1.5% (w/v))를 첨가하여 105°C에서

20 분간 멸균한 배지에 starter를 5% (v/v)의 농도로 접종한 후, 감초 추출물을 0.05, 0.1, 0.2% (w/v)가 되도록 감초 추출물 10% 용액으로부터 일정량씩 취하여 yoghurt에 첨가한 후, 37°C에서 3일간 발효시켰다.

유산균 수, lactic acid 함량 및 pH 측정

제조된 yogurt는 0.05% L-cysteine(Kanto Chemical Co., Tokyo, Japan)이 첨가된 0.1% buffered peptone water (Difco, Detroit, MI, USA)에 희석한 후 BCP agar (Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan) 배지를 이용하여 standard plate count method에 준하여 37°C에서 48 시간 배양하여 형성된 집락(colony)을 계수하여 CFU/mL로 표시하여 생균수를 측정하였다. pH는 pH meter(model 420A, Orion, Boston, MA, USA)로 직접 측정하였으며, lactic acid 함량은 발효 종료한 발효액 10 g에 멸균 증류수 20 mL와 1% phenolphthalein(Duksan Pure Chemical Co., Ltd., Gyunggi-do, Korea) 용액 2 mL를 첨가한 후 0.1 N NaOH로 적정하여 그 소모량으로부터 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\begin{aligned} \% \text{ Acid as lactic acid} \\ = \{ (0.1 \text{ N NaOH required} \times 0.1 \text{ N NaOH factor} \times 0.009) / \\ \text{weight of sample} \} \times 100 \end{aligned}$$

점도 및 syneresis 측정

냉각한 yoghurt 500 g을 600 mL 비이커에 취하여 균질화한 다음, 4°C의 냉장조건에서 24 시간 보관 후 9-10°C의 수욕조에서 Brookfield viscometer(LVDV+, Brookfield Engineering Lab., Stoughton, MA, USA)의 3 번 spindle을 이용하여 60 rpm에서 4 분에서 8 분까지 1 분 간격으로 점도를 측정하여 평균치를 data로 취하였다. Syneresis의 측정은 냉각한 yoghurt 15 g을 25 mL 원심분리관에 취하고 4°C에서 24 시간 보관 후 1,500 rpm으로 10 분간 원심분리하여 분리된 상등액의 무게로 syneresis(%)를 계산하였다.

Yoghurt의 *Helicobacter pylori* 항균활성 측정

발효된 yoghurt를 5000×g에서 30 분간 원심분리하여 균체를 제거한 yoghurt 여액을 시료로 사용하여 paper disc 방법에 의하여 확인하였다. *H. pylori* KCCM 40449 현탁액 200 μ L (4×10^6 CFU/mL)를 취해 15 mL로 제조된 5%(v/v)의 defibrinated sheep blood를 함유한 새로운 brucella agar 배지에 도말한 후, 여기에 멸균된 직경 10 mm의 paper disc (Toyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan)를 올려놓았다. 원심분리한 yoghurt 여액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 100 μ L씩 disc에 흡수시켰다. Micro-aerobic 조건에서 37°C로 72 시간 배양한 후 disc 주위의 생육저지환(clear zone) 생성 유무로 항균효과를 확인하였다.

pH와 lactic acid에 의한 실험오차를 줄이기 위하여 lactic acid와 2 N NaOH를 사용하여 yoghurt 상등액의 pH를 4.4로 보정하여 실험하였다.

감초 추출물 첨가 Yoghurt의 관능 검사

발효가 완료된 감초 추출물이 첨가된 yoghurt를 Homogenizer(AM-3 Homogenizer, Nihonseiki Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)로 2분간 균질화한 다음 4°C에서 24시간 냉장한 후, 동국대학교 식품생명공학과 전공 학생을 대상으로 20명의 패널요원을 선발하여 시료에 대한 충분한 지식과 용어, 평가기준 등을 숙지시킨후 관능적 품질평가를 실시하였다. 관능평가는 색(color), 향미(flavor), 맛(taste), 조직감(texture) 및 전체적인 기호도(overall acceptability)에 대하여 각 항목별로 최저 1점, 최고 5점의 5단계 평가하였다.

통계처리

실험 결과는 SAS 9.1 for window (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하였고, 실험군 간의 비교는 분산분석법(analysis of variance, ANOVA)을 이용하였으며, 분산분석을 실행한 후 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

감초 추출물의 항균효과 측정

감초 용매 추출물(10 mg/mL, 1 mg/mL)의 *Helicobacter pylori* KCCM 40449에 대한 항균 활성을 측정한 결과, 각각의 추출물은 *H. pylori* KCCM 40449에 대한 항균력은 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 40% methanol 추출물은 13.2±0.6 mm, 40% ethanol 추출물은 14.0±0.2 mm, 80% ethanol 추출물은 14.3±0.3 mm, 40% isopropanol 추출물은 15.1±0.3 mm의 생육저지환을 나타내었다($p < 0.05$) (Table 1).

*H. pylori*에 대한 감초 추출물의 최소저해농도는 액체 배지 희석법을 이용하여 측정하였다. 그 결과 Table 2와 같이

Table 1. Anti-*Helicobacter pylori* KCCM 40449 activities (paper disk method) of liquorice extracts.

Solvents	Diameter of the inhibition zone (mm) ¹⁾	
	10 mg/mL	1 mg/mL
40% Methanol	17.3±0.4 ^c	13.2±0.6 ^b
40% Ethanol	25.3±0.6 ^b	14.0±0.2 ^{ab}
80% Ethanol	27.4±0.2 ^a	14.3±0.3 ^{ab}
40% Isopropanol	28.7±0.5 ^a	15.1±0.3 ^a

¹⁾ Mean±S.D. of three replications

^{a-c} Mean with the same letter on same column are not significantly different ($\alpha=0.05$).

Table 2. Anti-*Helicobacter pylori* KCCM 40449 activities (MIC, µg/mL) of liquorice extracts.

Solvents	Concentrations (µg/mL)						MIC ²⁾ (µg/mL)
	800	500	250	100	50	25	
40% Methanol	- ¹⁾	-	-	-	+	+	50 < MIC < 100
40% Ethanol	-	-	-	-	-	+	25 < MIC < 50
80% Ethanol	-	-	-	-	-	+	25 < MIC < 50
40% Isopropanol	-	-	-	-	-	+	25 < MIC < 50

¹⁾ +: No inhibition of growth

-: Inhibition of growth

²⁾ Minimal inhibitory concentration

각 용매 추출물의 경우 25-100 µg/mL로 나타났다. Kim et al.은 95% ethanol 감초 추출물이 대부분의 Gram(-)균에 대하여 250 µg/mL 이상에서 항균활성을 보였다고 보고하였다 (Kim et al., 2006). 또한 Gram(+) 세균을 이용한 분자생물학적 실험의 항생제로 많이 쓰이는 chloramphenicol의 적정농도가 20-30 µg/mL임을 고려할 때, 본 연구에서의 감초 추출물들은 항균활성이 매우 뛰어남을 알 수 있다.

감초 추출물 첨가 yoghurt의 이화학적 특성

*Helicobacter pylori*에 대한 항균활성이 있는 감초 40% 에탄올 추출물을 yoghurt 제조 시 첨가하여 yoghurt의 이화학적 특성을 관찰하였다. 감초 추출물을 우유 배지에 0.05, 0.1, 0.2%(v/v)의 농도로 첨가하고 *Lactobacillus amylovorus* DU-21을 접종하여 37°C에서 72시간 동안 배양하면서 유산균 수, pH 및 적정산도를 측정하였다.

pH의 변화를 살펴보면, 유산균 접종 직후, 6.44-6.47였으나, 24시간 배양 후, 3.94-3.96으로 저하하였고 48시간 발효된 yoghurt는 다시 pH가 저하되어 3.45-3.55, 72시간 발효된 yoghurt는 3.41-3.51를 나타내었다. 대조구와 감초 추출물 첨가구의 결과를 비교하여 보면 24시간까지는 차이가 없었으나, 48시간 이후로는 감초 추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 pH가 다소 상승하는 경향을 보였다(Table 3).

적정산도를 보면 발효 전, 0.109-0.111, 24시간에는 0.916-0.932, 48시간에는 1.015-1.051, 72시간에는 1.021-1.091로 나타났다. 적정산도는 24시간까지는 감초 추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 적정산도가 유의적으로 증가하였으나($p < 0.05$), 48시간과 72시간의 경우는 감초 추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 유산균수는 시간의 경과에 따라 감소하는 추세를 보였다. 본 연구에서 사용된 감초추출물은 40% 에탄올로 추출한 감초의 감미성분인 glycyrrhizin이 26.72±0.05 mg glycyrrhizin/g liquorice 함유되어 있다(Data not shown). Yoghurt 제조 시, 24시간까지는 glycyrrhizin이 산으로 작용하여 감초추출물의 함량이 증가함에 따라 적정산도가 증가하였으나, 유산균이 왕성하게 생육하는 24시간 후에는

Table 3. Effects of liquorice extract added to yoghurt on pH, titratable acidity and viable cell counts of unfermented and fermented yoghurt.

	Concentration of licorice extract ¹⁾²⁾															
	0-day yoghurt				1-day yoghurt				2-day yoghurt				3-day yoghurt			
	Control	0.05%	0.1%	0.2%	Control	0.05%	0.1%	0.2%	Control	0.05%	0.1%	0.2%	Control	0.05%	0.1%	0.2%
pH	6.44± 0.03 ^a	6.44± 0.01 ^a	6.47± 0.01 ^a	6.45± 0.04 ^a	3.96± 0.02 ^a	3.96± 0.01 ^a	3.96± 0.01 ^a	3.94± 0.03 ^a	3.45± 0.02 ^a	3.48± 0.01 ^a	3.51± 0.04 ^a	3.55± 0.01 ^a	3.41± 0.03 ^b	3.44± 0.03 ^b	3.49± 0.01 ^b	3.51± 0.04 ^a
T.A. ³⁾	0.109± 0.004 ^c	0.112± 0.006 ^b	0.120± 0.002 ^{ab}	0.111± 0.004 ^a	0.916± 0.009 ^b	0.928± 0.006 ^a	0.927± 0.010 ^a	0.932± 0.003 ^a	1.051± 0.002	1.036± 0.007 ^a	1.021± 0.005 ^a	1.015± 0.004 ^b	1.091± 0.003 ^a	1.042± 0.004 ^{ab}	1.027± 0.007 ^{bc}	1.021± 0.003 ^c
V.C. ⁴⁾	9.84± 0.01 ^a	9.84± 0.01 ^a	9.84± 0.01 ^a	9.84± 0.01 ^a	9.53± 0.03 ^a	9.57± 0.01 ^a	9.61± 0.04 ^a	9.42± 0.03 ^a	9.53± 0.02 ^a	9.57± 0.03 ^a	9.73± 0.03 ^a	9.48± 0.01 ^a	9.41± 0.03 ^a	9.41± 0.04 ^a	9.41± 0.04 ^a	9.38± 0.01 ^a

¹⁾ a-c Mean with the same letter on same line are not significantly different ($\alpha=0.05$).

²⁾ Mean±S.D. of three replications

³⁾ Titratable acidity (%)

⁴⁾ Viable cell counts (Log CFU/mL)

glycyrrhizin이 유산균의 생육과 억제하여 감초추출물의 함량이 증가함에 따라 산도가 오히려 감소한 것으로 생각된다.

Yoghurt 제조 시 가장 중요한 화학적 변화는 lactic acid의 생성이다. Lactic acid는 casein micelle의 불안정화에 관여하여 유단백질을 응고시키고 신맛과 신선한 맛을 주어 전형적인 yoghurt의 풍미에 관여한다. 또 생성된 lactic acid는 점차 그 양이 축적됨에 따라 미생물의 성장에 역효과를 초래하기도 한다. Yoghurt의 lactic acid 함량은 mild yoghurt의 경우 0.85-0.95%, acid yoghurt인 경우 0.95-1.20%이다. 국내에서 판매되고 있는 농후 발효유의 경우, 적정산도는 0.82-1.24%, pH는 3.91-4.37, 유산균수가 10^{8-9} CFU/mL로 보고하였는데(Lee et al., 1998), 이는 본 연구의 결과와도 대체적으로 잘 일치하는 경향이며, 본 연구에서 제조된 감초 추출물 첨가 yoghurt는 모두 acid yoghurt 범위에 속하는 범위의 적정산도를 보였다.

감초 추출물 첨가 yoghurt의 물리적 특성

Yoghurt는 점도에 의해서 기호도가 크게 영향을 받고 있어 발효과정 중 각 시간별로 점도의 변화를 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 1과 같다. Yoghurt의 점도는 발효 12시간까지 모든 실험구가 급격히 증가하였으며, 그 이후 24시간까지 증가 폭이 다소 둔화된 후, 72시간까지 완만한 증가 양상을 나타내었다. 감초 추출물 첨가균들이 대조군에 비해 높은 점도를 보였으며 추출물의 첨가량에 비례하여 점도 값도 증가하였다. 발효 24시간에서 대조군과 첨가균의 점도는 각각 1686, 1880, 1860, 1930 cp를 나타냈으며, 이는 산 생성량과 유사한 경향을 보였다.

이러한 결과는 Bouzar et al.의 실험결과(Bouzar et al., 1997)와 유사한데 저하된 pH는 유단백질 응고물 구조에 영향을 주며, EPS 양이 점도와 조직에 작용하는 유일한 인자는 아니라고 보고하였다. EPS는 점도에 긍정적으로 작용하지만, 점도에 대한 EPS 작용 기작은 복잡하며, 단순히 EPS 함량만으로 결정되는 것은 아니며, 발효액내의 단백질

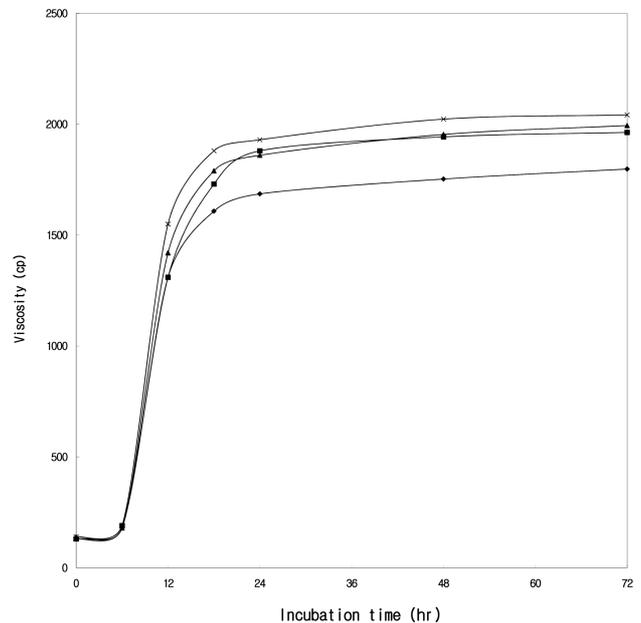


Fig. 1. Effect of 40% ethanol liquorice extract on viscosity of yoghurt during lactic acid fermentation at 37°C. ◆-◆: 0%, ■-■: 0.05%, ▲-▲: 0.1%, X-X: 0.2%.

함량과 EPS와 단백질간의 상호작용 등에 영향을 받으며, EPS의 분자 질량과 중합체의 정도도 발효유의 점도에 중요하게 작용 한다(Ruas-Madiedo et al., 2002). 지금까지 밝혀진 바에 의하면 EPS의 생성은 균의 생육과는 무관하며, 휴지세포와 관련되어 있음을 알 수 있다. 이러한 합성 효소의 활성 때문에 균의 생육이 중단된 후에도 과량의 탄소원이 존재하게 되면 중합체의 생성이 지속된다. 즉, EPS는 균의 생육과 세포분열이 종식된 후에도 계속해서 분비되는 것을 알 수 있다. 이러한 사실은 본 실험에서 감초 추출물의 첨가에 의하여 발효가 진행됨에 따라 유산균수가 미비하게 감소하였으나 발효시간이 경과할수록 점도가 증가한 이유로 사료된다. Kang & Jeong은 yoghurt의 점도에

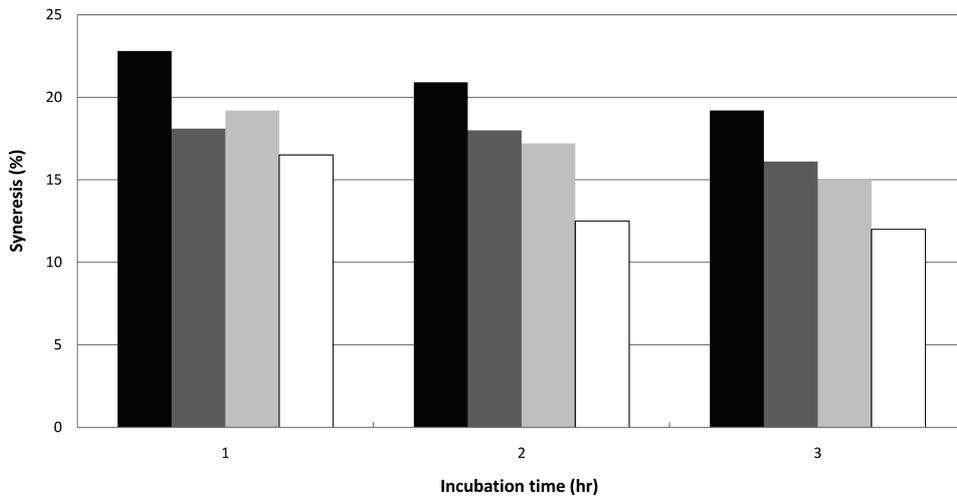


Fig. 2. Syneresis of yoghurt fermented with *Lactobacillus amylovorus* DU-21 at different incubation time after 1 day storage at 4°C. ■: control, ▒: 0.05%, ▓: 0.1%, □: 0.2%. 1: 24 hr, 2: 48 hr, 3: 72 hr.

미치는 요인을 yoghurt 혼합액의 총고형분 함량과 단백질의 가수분해 정도 그리고 사용 균주의 slime 생산능력과 산 생성량 등을 제시하고 있다(Kang & Jeong, 1990). 국내에서 시판되는 농후 발효유의 점도는 대략 256-3,164 cp인 것으로 알려져 있는데(Shin et al., 1994), sourdough에서 분리한 exopolysaccharide 생성능이 우수한 내산성 유산균으로 제조한 yoghurt도 비교적 높은 수치를 나타내어 본 연구에서 사용된 유산균은 발효유 제품에 사용이 가능할 것으로 판단된다.

Syneresis는 발효 시간이 증가할수록 감소하였다. 72 시간 발효 하였을 때, 감초추출물 0.2% 첨가구에서 12.0±0.4%로 가장 적은 값을 나타내었다. Yoghurt의 점도 특성에서 보여준 바와 같이 산생성이 진행됨에 따라 점도가 증가하였으며 syneresis가 감소하는 것을 알 수 있었다(Fig. 2). 우리나라에서 생산되고 있는 액상발효유에는 여러 가지 요인에 의하여 단백질 침전현상이 일어나기 때문에 이것을 방지하기 위하여 안정제를 사용하는 경우가 많다. 단백질 침전현상은 제품의 품질을 크게 손상시키는 문제가 되며, 첨가제의 사용으로 인한 가격 상승은 물론 소비자들에게 좋지 못한 이미지를 주기 때문에 이 문제는 근본적으로 해결되어야 할 중요한 과제가 되고 있다. 이러한 침전현상을 유발시키는 성분으로는 Euglobulin (IgG₂, IgA, IgM), Proteose Peptone Component 8 등이다.

EPS 생성 유산균은 EPS filament로 유산균과 casein micells 네트워크가 연결되어 있기 때문에 유산균과 EPS 또는 EPS와 casein micelles간의 상호작용은 micelles간의 상호작용을 파괴하는 것보다 더 많은 에너지를 필요로 하고(Hess et al., 1997), EPS가 생성된 yoghurt는 교반 후, EPS를 생성하지 않는 yoghurt보다 쉽게 구조적 파괴가 진

Table 4. Antimicrobial effect of yoghurt added with 40% ethanol liquorice extract after lactic acid fermentation at 37°C.

Concentration (%)	Diameter (mm) of inhibitory clear zone ¹⁾²⁾			
	0-day yoghurt	1-day yoghurt	2-day yoghurt	3-day yoghurt
0.0%	-	13.9±0.9***	14.0±0.4***	13.0±0.8***
0.05%	19.2±0.6	23.6±0.8	20.4±1.6	18.4±0.6
0.1%	25.3±1.1***	26.7±0.6***	22.4±0.5***	20.2±0.8***
0.2%	28.7±0.6***	28.3±0.7***	23.5±0.5***	21.3±1.0***

¹⁾ Mean±S.D. of three replications

²⁾ Paper disk, 10 mm diameter

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

행되지만, 빠르게 균일화가 이루어져 교반후의 syneresis를 막아준다(Hassan et al., 2003).

감초 추출물 첨가 yoghurt의 *Helicobacter pylori* KCCM 40449에 대한 항균활성

감초 추출물이 첨가된 yoghurt의 *Helicobacter pylori* KCCM 40449에 대한 항균활성을 살펴보기 위하여 paper disk법을 사용하여 yoghurt의 항균 활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다.

감초 추출물의 농도에 따른 diameter의 변화를 측정한 결과, 유의 수준 5% ($p < 0.05$)에서 감초 추출물의 농도에 따라 항균력에 차이가 있었다. 그러나 발효 시간 및 감초 추출물의 농도와 시간의 교호작용에 대한 각각의 p -값이 모두 0.05보다 크기 때문에 항균력에 유의한 차이를 보인다고 할 수 없었다. 또한 감초 추출물에 Tukey의 다중비교법을 실시한 결과, 유의수준 $\alpha=0.05$ 와 자유도(D.F.; degrees of freedom)는 36의 값을 나타낸다. 따라서 이

결과에서 감초 추출물 첨가량 0%와 0.1%간의 95% 신뢰구간(-7.10, -4.25)와 0%와 0.2% 간의 95% 신뢰구간(-8.88, -6.02) 그리고 0.1%와 0.2% 간의 신뢰구간(-1.78, 1.52)를 구할 수 있었다. 이들 신뢰구간 중 0.1%와 0.2%간의 신뢰구간이 0을 포함하고 있으므로 0.1%와 0.2%간에는 평균력 차이가 없는 것으로 판단할 수 있다. 그러므로 *H. pylori*를 억제할 수 있는 yoghurt의 감초 추출물 최대 농도는 0.1%가 타당하다고 사료된다.

pH와 lactic acid에 의한 실험오차를 줄이기 위하여 lactic acid와 2N NaOH를 이용하여 원심분리된 yoghurt 상등액의 pH를 4.4로 보정하여 실험한 결과, 감초 추출물이 첨가되지 않은 대조군에서는 낮은 항균활성이 나타났으며, 첨가군에서는 뚜렷한 항균활성이 나타났다. 이러한 결과는 yoghurt 상등액의 낮은 pH에 의한 영향이라기 보다는 발효 중 생성된 산의 종류, 항균성 물질 그리고 첨가된 감초 추출물의 영향이라고 판단된다. 실제로 Jung et al.(2001)의 보고에 의하면, *H. pylori* 균주에 대한 생육 억제능이 가장 강한 균주는 대량의 lactic acid를 생성하지 않았다. 이러한 사실로 감초 추출물이 첨가된 yoghurt의 *H. pylori*에 대한 항균 활성은 감초 추출물에 함유된 항균활성 물질이나 *Lactobacillus amylovorus* DU-21에 의해 생성되는 다른 세포 외 성분일 것으로 추측된다. 한편 Kabir 등은 *L. salivarius* 균주가 *in vitro*와 *in vivo* 조건에서 *H. pylori*에 길항 작용을 나타내는 물질을 생성한다고 보고하였다(Kabir et al., 1997). 최근의 임상연구 결과에 의하면, 항미생물제를 생성하는 *L. acidophilus* La 1균주의 배양 상등액 성분은 *H. pylori* 감염의 재발을 억제하는 항생제-제산제 치료의 증강보조제로 사용될 수 있는 것으로 알려져 있다. 유산균이 *H. pylori*의 생육을 억제하는 기작으로서 pH와 유기산이 미치는 영향은 다음과 같다. 유산균이 생성하는

lactic acid는 pH와 상관없이 *H. pylori*의 생육을 억제하는데 관여하는 것으로 추정되고 있다. Midolo et al.(1995)은 pH와 유기산이 *H. pylori*의 생육에 미치는 영향을 실험한 결과에서 lactic acid, 초산, 염산 등이 농도 의존형 방식으로 *H. pylori*의 생육을 억제하는 것으로 보고하였는데, lactic acid가 가장 높은 억제 활성을 나타냈다(Midolo et al., 1995). 한편 Bhatia 등은 3% 농도의 lactic acid가 *H. pylori*의 생육을 억제하지만 이는 pH와 연관되어 있지 않은 것으로 밝혀냈다(Bhatia et al., 1989).

감초 추출물 첨가 yoghurt의 관능적 특성

감초 추출물을 첨가하여 yoghurt를 제조·배양 후, homogenizer로 균질화 시키고, 4°C에서 24 시간 저장한 후 발효유의 관능검사를 실시한 결과는 Table 5와 같다.

Table 5의 결과에 의하면 색에서 감초 추출물을 첨가한 yoghurt 시료들이 유의적으로 낮은 점수를 얻었으며 이는 감초 추출물이 가지는 어두운 색에 기인한 것으로 시판되고 있는 yoghurt 색에 익숙한 검사원들의 생소함에서 온 것으로 사료된다. Flavor의 경우 감초 추출물 첨가군이 대조군에 비해 조금 낮은 값을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. 그러나 24, 48 시간 발효시킨, 0.2% 감초 추출물 첨가구에서는 각각 2.87±0.57, 2.74±0.60로 유의적 차이를 보였다. 각각의 실험군에서 전체적인 기호도는 공통적으로 0.05% 첨가구에서 다른 첨가구에 비하여 높은 점수를 받았다. 이와는 대조적으로 0.2% 감초 추출물 첨가 yoghurt가 가장 낮은 기호도를 보였다.

관능검사 결과, 모든 배양시간에서 첨가구들이 대조구에 비하여 낮은 점수를 받았다. 이는 감초 특유의 향과 맛에 대해 익숙하지 않는 점과 Table 3에서 나타난 24 시간에는 0.916-0.932, 48 시간에는 1.015-1.051, 72 시간에는 1.021-

Table 5. Sensory scores of yoghurt added with 40% ethanol liquorice extract after lactic acid fermentation at 37°C.

Incubation time (hr)	Concentration (%)	Sensory score ¹⁾				
		Flavor	Taste	Texture	Color	Overall acceptability
24	0.0	3.14±0.65 ^{a2)}	3.05±0.61 ^a	3.14±0.87 ^a	4.02±0.91 ^a	3.21±0.73 ^a
	0.05	3.05±0.67 ^{ab}	2.93±0.61 ^{ab}	3.10±0.60 ^a	3.71±0.82 ^{ab}	2.85±0.71 ^{ab}
	0.1	3.18±0.64 ^a	2.61±0.75 ^b	2.82±0.68 ^{ab}	3.30±0.85 ^{bc}	2.47±0.69 ^{bc}
	0.2	2.87±0.57 ^b	2.45±0.55 ^b	2.72±0.63 ^{ab}	2.85±0.54 ^c	2.43±0.76 ^{bc}
48	0.0	3.20±0.78 ^a	3.10±0.71 ^a	3.24±0.58 ^a	4.09±0.85 ^a	3.27±0.69 ^a
	0.05	3.14±0.65 ^a	3.05±0.61 ^a	3.32±0.58 ^a	3.77±0.79 ^{ab}	2.95±0.70 ^{ab}
	0.1	3.27±0.62 ^a	2.73±0.75 ^{ab}	2.91±0.66 ^{ab}	3.41±0.86 ^{bc}	2.55±0.69 ^{bc}
	0.2	3.00±0.55 ^{ab}	2.59±0.54 ^b	2.86±0.63 ^{ab}	2.95±0.52 ^c	2.55±0.77 ^{bc}
74	0.0	3.11±0.66 ^a	3.01±0.70 ^a	3.10±0.60 ^a	4.01±0.54 ^a	3.18±0.62 ^a
	0.05	2.97±0.68 ^{ab}	2.82±0.61 ^{ab}	2.98±0.62 ^{ab}	3.65±0.85 ^{ab}	2.74±0.71 ^{ab}
	0.1	3.08±0.66 ^{ab}	2.49±0.76 ^b	2.73±0.70 ^{ab}	3.18±0.84 ^{bc}	2.40±0.69 ^{bc}
	0.2	2.74±0.60 ^b	2.31±0.56 ^b	2.57±0.64 ^b	2.74±0.56 ^c	2.32±0.75 ^{bc}

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ a-d Mean with the same letter on the same column are not significantly different $\alpha=0.05$.

1.091의 적정 산도 결과와 같이 과도한 산 생성으로 인해 오히려 기호도를 낮춘 것으로 사료된다. 보통 감초 중에 함유된 또 다른 성분인 isoliquiritin과 lactic acid의 비율이 1:16 이하이면 glycyrrhizin에 대한 lactic acid의 양이 적어서 섭취하기에 너무 달다고 하며, isoliquiritin과 lactic acid의 비율이 1:500 이상이면 glycyrrhizin에 대한 lactic acid의 양이 많아서 섭취하기에 너무 신 맛이 강하다. Isoliquiritin과 glycyrrhizin의 비가 1:14 이하이어야 맛이 좋으며, 특히 1:10 이하이면 아주 우수하다(Ryoo, 2006).

요 약

Yoghurt는 쉽게 접할 수 있는 기호성 식품으로 생체 조절 기능을 갖는 기능성과 다양한 맛을 부여할 수 있는 퓨전성을 동시에 강화시킬 수 있기 때문에 여러 가지 기능성 소재들을 첨가하여 새로운 yoghurt를 개발하기 위한 연구가 활발하게 수행되고 있다. 본 연구는 probiotics 유산균이 생성하는 천연의 세포 외 다당류(EPS; exopolysaccharide)를 이용하여 품질이 개선된 *Helicobacter pylori*을 억제하는 기능성 yoghurt를 제조하고자 우리나라의 식품공전에 식물성 재료로 허가되어 있어 사용 시 안전성에 문제가 없으며 전래된 여러 효능에 착안하여 감초를 이용한 기능성 yoghurt를 개발을 검토하였다.

감초 용매 추출물(1 mg/mL)의 *H. pylori* KCCM 40449에 대한 항균 활성을 측정된 결과, 40% methanol 추출물은 13.2 ± 0.6 mm, 40% ethanol 추출물은 14.0 ± 0.2 mm, 80% ethanol 추출물은 14.3 ± 0.3 mm, 40% isopropanol 추출물은 15.1 ± 0.3 mm의 생육저지환을 나타내었으며($p < 0.05$), 최소저해 농도(Minimum Inhibitory concentration: MIC)는 각 용매 추출물의 경우 25-100 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다.

40% 에탄올 감초 추출물을 우유 배지에 0.05, 0.1, 0.2 % (v/v)의 농도로 첨가하고 *Lactobacillus amylovorus* DU-21을 접종하여 37°C에서 72 시간 동안 발효시키면서, yoghurt의 이화학적 특성 및 관능적 특성을 관찰하였다. pH는 균 접종 직후, 6.44-6.47에서 72 시간 발효 후, 3.41-3.51를 나타내었으며, 적정산도는 0.109-0.111%에서 1.021-1.091%로 변화하였다. 점도와 syneresis를 측정된 결과, yoghurt의 점도는 발효 12 시간까지 모든 실험구가 급격히 증가하였으며, 그 이후 24 시간까지 증가 폭이 다소 둔화된 후, 72 시간까지 완만한 증가 양상을 나타내었다. Syneresis는 발효 시간이 증가할수록 감소하였다. 72 시간 발효 하였을 때, 감초추출물 0.2% 첨가구에서 $12.0 \pm 0.4\%$ 로 가장 적은 값을 나타내었다. 산생성이 진행됨에 따라 점도가 증가하였으며 syneresis가 감소하는 것을 알 수 있었다. Yoghurt의 *Helicobacter pylori* KCCM 40449에 대한 항균활성은 첨가구에서 항균활성이 뚜렷이 나타났다($p < 0.05$). 이러한 결과는 yoghurt 상등액의 낮은 pH에 의

한 영향이라기 보다는 발효 중, 생성된 항균성 물질과 첨가된 감초 추출물의 영향이라고 판단된다. 발효유의 관능검사를 실시한 결과 모든 배양시간에서 첨가구들이 대조구에 비하여 낮은 점수를 받았다($p < 0.05$). 이는 감초 특유의 향과 맛에 대해 익숙하지 않는 점과 과도한 산 생성으로 인해 오히려 기호도를 낮춘 것으로 사료된다. 관능검사 결과, 40% 에탄올 감초 추출물을 0.05% 함유한 yoghurt의 향, 맛, 조직감, 색택 및 전반적인 기호도가 다른 처리군에 비하여 월등히 높았다. 이에 감초 추출물을 함유한 yoghurt의 제조 시, 적절한 감초 추출물의 배합비율은 총중량대비 0.05%인 것으로 판단된다.

식물자원에는 다양한 생리활성물질들이 서로 상호작용하면서 혼합되어 있는 형태로 다양한 질환에 대한 조합치료(combination therapy)에 이용될 수 있으며, 생체 내에서 다중 타겟에 영향을 미치므로 식물자원에 함유되어 있는 다양한 성분이 함유되어 있는 조추출물(crude extract), 용매분획물(solvent fraction)을 의약품으로 이용하거나, 이로부터 분리된 단일성분 화합물 또는 이에 대한 유도체를 합성하여 새로운 의약품에 대한 개발이 시도되고 있다. 감초의 지표 성분이며, *H. pylori*에 대한 항균활성이 있는 glycyrrhizin은 비당질의 고감미에 속하는 천연 감미료로서 설탕의 약 200 배의 감미를 가지고 있으며, 항산화성을 가지고 있어서 식품 성분의 산화를 방지하여 품질을 안정화시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있기 때문에 *H. pylori* 억제능 이외의 부수적인 효능을 볼 수 있을 것이다.

기호성이 유지되면서 항균활성이 강화된 기능성 yoghurt의 개발을 위해서는 감초 추출물 0.2% 이상 첨가할 수 있도록 적절한 향을 조합하거나, 항균효과와 기호성을 개선할 수 있는 생약제를 이용하여 감초 추출물의 항균 활성을 강화하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Ahn EY, Shin DH, Baek NI, Oh JA. 1998. Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis* FISCH. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 680-687.
- Bhatia SJ, Kochar N, Abraham P, Nair P, Mehta AP. 1989. *Lactobacillus acidophilus* inhibits growth of *Campylobacter pylori* in vitro. J. Clin. Microbiol. 27: 2328-2330.
- Bouzar F, Cerning J, Desmazeaud M. 1997. Exopolysaccharide producing and texture promoting abilities of mixed strain starter cultures in yogurt producing. J. Dairy Sci. 80: 2310-2317.
- Crance JM, Lvque F, Biziagos E, van Cuyck-Gandr H, Jouan A, Deloince R. 1994. Studies on mechanism of action of glycyrrhizin against hepatitis A virus replication *in vitro*. Antiviral Res. 23: 63-76.
- Davis EA, Morris DJ. 1991. Medicinal uses of licorice through the millennia: the good and plenty of it. Mol. Cell. Endocrinol. 78: 1-6.
- Diker KS, Hascelik G. 1994. The bactericidal activity of tea

- against *Helicobacter pylori*. Lett. Appl. Microbiol. 19: 299-300.
- Hassan AN, Ipsen R, Janzen T, Qvist KB. 2003. Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides. J. Dairy Sci. 86: 1632-1638.
- Hess SJ, Robets RF, Ziegler GR. 1997. Rheological properties of nofat yogurt stabilized using *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* producing exopolysaccharide or using commercial stabilizer systems. J. Dairy Sci. 80: 252-262.
- Jung HK, Kim ER, Juhn SL. 2001. Selection of lactic acid bacteria specifically inhibiting the growth of *Helicobacter pylori*. Korean J. Microbiol. 37: 151-157.
- Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y. 1997. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by Lactobacilli in gnotobiotic murine model. Gut 41: 49-55.
- Kang SC. 2010. Autophagy: noble target mechanisms in natural medicines as anticancer agents. J. Plant Biotechnol. 37: 57-66.
- Kang JH, Lee MS. 2005. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by *Enterococcus faecium* GM-1. Can. J. Microbiol. 51: 629-636.
- Kang KH & Jeong HK. 1990. Study on the optimum cultural conditions for the production of extracellular polysaccharide by lactic acid bacteria. Korean J. Food Hygiene 5: 27-34.
- Kil JH, Jung KO, Lee HS, Hwang IK, Kim YJ, Park KY. 2004. Effects of kimchi on stomach and colon health of *Helicobacter pylori*-infected volunteers. J. Food Sci. Nutr. 9: 161-166.
- Kim NY. 2006. The effect of antibiotic resistance on the eradication of *Helicobacter pylori*. Korea J. Gastroenterol. 47: 82-86.
- Kim JI. 2008. Helicobacter pylori eradication for the gastric cancer prevention. Korean J. Medicine 75: 503-507.
- Kim HY, Yoon HJ, Hong KH, Lee CH, Park SK, Choi JD, Choi WJ, Park SY, Kim JH, Lee CW. 2004. A Study on the analytical method of artificial sweeteners in foods. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 14-18.
- Kim SJ, Shin YJ, Park YM, Chung KM, Lee JH, Kweon DH. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). Korean J. Food Sci. Technol. 38:241-248.
- Lee JJ, Kim SH, Chang BS, Lee JB, Huh CS, Kim TJ, Baek YJ. 1999. The antimicrobial activity of medicinal plants extracts against *Helicobacter pylori*. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 764-770.
- Lee SH, Koo YJ, Shin DH. 1998. Pysicochemical and bacteriological properties of yoghurt made by single or mixed cultures of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*. Korean J. Food Sci. Technol. 20: 140-147.
- Lee SH, Lim CY, Lee KH, Yeo SJ, Kim BJ, Kim SJ, Cho Mj, Rhee KH, Kook YH. 1999. rpoB Gene analysis of *Helicobacter pylori*. J. Korean. Soc. Microbiol. 34: 401-408.
- Midolo PD, Lambert JR, Hull R, Luo F, Grayson ML. 1995. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC11637 by organic acids and lactic acid bacteria. J. Appl. Bacteriol. 79: 475-479.
- Mori K, Sakai H, Suzuk S. 1990. Effects of glycyrrhizin in hemophiliapaitients with HIV-1 infection. Tohoku J. Exp. Med. 162: 183-193.
- Park MG. 1999. Preparation to liquorice extract used the addition of flavor in tobaccos. Korean patent No. 100217000.
- Ryoo HJ. 2006. Lactic acid fermentation characteristics of liquorice extract by the immobilized lactic acid. PhD thesis. Dongguk University, Seoul, Korea.
- Ruas-Madiedo P, Tuinier R, Kanning M, Zoon P. 2002. Role of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* on the viscosity of fermented milks. Int. Dairy J. 12: 689-695.
- Shin DH, Han JS, Kim MS. 1994. Antimicrobial effect of ethanol extract of *Sonomenium acutum* (Thumb.) Rehd. Et wils and *Glycyrrhiza glabra* L. var. Glanduliferaregel et zucc on *Listeria monocytogenes*. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 627-632.
- Shin YS, Sung HJ, Kim DH, Lee KS. 1994. Preparation of yogurt added with potato and its characteristics. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 266-271.
- Shin YS, Sung HJ, Kim DH, Lee KS. 1994. Survival rate of lactic acid bacteria and the change of β -galactosidase activity of *Lactobacillus plantarum* from Kimchi. Agr. Chem. Biotech. 39: 54-59.
- Suerbaum S, Michetri P. 2002. *Helicobacter pylori* infection. N. Engl. J. Med. 347: 1175-1186.
- Tabak M, Armom R, Potasman I, Neeman I. 1996. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. J. Appl. Bacteriol. 80: 667-672.
- Takeuchi T, Shiratori K, Watanabe S, Chang JH, Moriyoshi Y, Shimizu K. 1991. Secretin as a potential mediator of antiulcer actions of mucosal protective agents. J. Clin. Gastroenterol. 13: S83-S87.
- Toshio FM, Kiyoshi AK, Toshihisa K, Sumio T, Taro N. 2002. Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. Life Sci. 71: 1449-1463.