중금속 흡착능 *Leuconostoc mesenteroides* CJNU 0705 균주를 활용한 피부 건강기능성 소재 개발

한민희, 문기성*
한국교통대학교 생명공학전공

Received: May 11, 2020 / Revised: August 21, 2020 / Accepted: August 21, 2020

Development of Skin Health Promoting Materials Using *Leuconostoc mesenteroides*

Min-Hui Han and Gi-Seong Moon*

Major of Biotechnology, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Republic of Korea

Leuconostoc mesenteroides CJNU 0705 was isolated from a breast milk sample and identified by 16S rRNA gene sequencing and confirmed by its ability to produce dextran from tryptic soy agar plates supplemented with 2% sucrose. This strain can absorb various heavy metals including lead (Pb) and cadmium (Cd) which are both found in fine dust and have been shown to be harmful to human skin. In addition, *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 has demonstrated antimicrobial activity against *Propionibacterium acnes*, the primary causative agent of acne. Given these traits it was natural to evaluate the use of this strain in the fermentation of several natural extracts from green tea, carrot, annual wormwood, parsley, broccoli, and corn silk, which are known to improve skin health, to see if it could increase their dextran content when supplemented with no sucrose, 2% sucrose, or 2% sucrose and 3% yeast extract. The extracts supplemented with both yeast and sucrose were found to produce the most dextran, which was confirmed by the scanning electron microscope (SEM) images. These results suggest that *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 and its fermented natural extracts could be used as functional materials for improving human skin health.

Keywords: *Leuconostoc mesenteroides*, breast milk, heavy metal, dextran, *Propionibacterium acnes*

서론

최근 산업화와 도시화에 기인하여 미세먼지(PMs; particulate matters)가 글로벌 이슈로 자리잡은 지 오래되었다. 미세먼지는 인체에 흡수되어 다양한 질환에 영향을 미치며 특히 외부에 노출되는 피부도 예외는 아니다. 피부질환이 발생하는 주요 원리는 미세먼지로 인한 활성산소의 발생에 따른 염증성 인자의 생성이다[1]. 국내의 한 보고에 따르면 서울지역 미세먼지에는 유독성의 비소(As), 카드뮴(Cd), 납(Pb) 등이 검출되며 이는 암 발생에도 영향을 미치는 것으로 확인되었다[2]. 따라서 미세먼지에 함유된 중금속의 인체 흡수를 줄이는 것은 궁극적으로 다양한 질환을 예방하는 방

법이 될 수 있으며 그러한 목적으로 중금속 흡착능을 가진 인체 유익균이 활용될 수 있다. 특히 장관, 질 등 인체 여러 영역에서 공생관계를 이루고 있으며 다양한 발효식품에서 발견되는 주요 균 속으로 잘 알려진 *Lactobacillus* 속 유산균은 다수의 연구를 통해 중금속 소거능이 있는 것으로 확인되었으며 저비용으로 균주의 대량생산이 가능하여 그 활용성이 높다[3].

같은 범주에 속하는 *Leuconostoc mesenteroides* 유산균종은 자연계에 널리 분포하며 김치 발효의 주요 균종으로 잘 알려져 있으며 자당(sucrose)을 이용하여 세포 외 다당체(exopolysaccharide)인 텍스트란(dextran)을 생산할 수 있다[4, 5]. 텍스트란을 생산하는 주요 유산균종은 *Leu. mesenteroides*, *Leu. citreum*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella confusa* 등이며 그 중에서도 활용도가 높은 텍스트란은 *Leuconostoc* 속이 생산한다[6]. 텍스트란은 포도당(D-glucose)으로 구성된 고분자의 다당체이며 α -1,6 글루코

*Corresponding author

Tel: +82-43-820-5251, Fax: +82-43-820-5272

E-mail: gsmoon@ut.ac.kr

© 2020, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

오스 결합의 주 사슬에 α -1,2, α -1,3, α -1,4 글루코오스 결합의 다양한 가지를 가지고 있다. 이는 자당을 기질로 한 텍스트란슈크레이스(dextranase; 1,6- α -D-glucan-6- α -glucosyltransferase, EC 2.4.1.5.)의 작용으로 생합성된다[7]. 텍스트란은 구조에 따라서 물리화학적 특성이 다양하게 나타날 수 있고 특히 GRAS (generally regarded as safe)에 속하는 유산균이 생산할 경우 안전성이 확보되어 식품, 화장품 및 의약품 소재로서 활용도가 매우 크다[8].

본 연구에서는 피부 건강기능성과 관련하여 모유 유래 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 중금속(납과 카드뮴) 흡착능을 검증하였으며 피부 건강기능 소재로서의 활용성을 높이기 위하여 여드름 원인균으로 잘 알려진 *Propionibacterium acnes* 균주에 대한 항균활성을 확인하였다. 또한 피부 건강에 유익한 것으로 잘 알려진 천연원료(녹차, 당근, 개뽕쥬, 파슬리, 브로콜리, 옥수수수염)의 추출물에 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 적용하여 텍스트란 생산 조건을 확립하였다.

재료 및 방법

실험재료

식물성 천연 원료인 녹차, 당근, 개뽕쥬, 파슬리, 브로콜리, 옥수수수염은 분말 혹은 원물 형태로 구매 혹은 제공받았다. 녹차와 당근 분말은 농업회사법인 푸른산(주) (서울) 제품을 구매하였고 개뽕쥬와 파슬리 분말은 인그린(주) (포천) 제품을 구매하였으며 브로콜리 분말과 옥수수수염 원물은 서원대학교(청주)로부터 제공받았다.

모유 유래 유산균 분리 및 동정

기증받은 모유(2007년 충북지역)를 0.1% 펩톤수(w/v)로 10진 희석하고 MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) 고체배지(BD, Sparks, MD)에 도말하여 37°C, 24시간 혐기적으로 배양하였다. 즉, GasPak™ EZ Anaerobe Container System (BD)을 사용하여 혐기 jar (Oxoid Ltd., UK)에서 24시간 배양한 후 무작위로 콜로니를 채취하여 MRS broth에서 배양한 다음 2차에 걸쳐 3분회법으로 순수분리하여 -76°C 초저온 냉동고에 보관하였다. 보관된 균주들을 대상으로 그람염색 및 현미경 관찰을 통하여 유산균으로 추정되는 CJNU 0705 균주를 선별하였다. 선별된 CJNU 0705 균주는 16S rRNA 유전자 염기서열 분석으로 동정하였다. 즉, 국내 생명공학기업(Macrogen Co., Korea)에 의뢰하여 27F (5'-AGAGTTTGTATCMTGGCTCAG-3')와 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') 프라이머를 이용한 16S rRNA 유전자 PCR 증폭, 염기서열 분석 및 동정을 수행하였다.

텍스트란 생성 확인

CJNU 0705 균주가 *Leu. mesenteroides* 균종으로 동정되어 추가 검증을 위해 텍스트란 생성 유무를 확인하였다. 즉, CJNU 0705 균주를 tryptic soy broth (BD)에 계대 배양하여 활성화시킨 후 2% 자당(w/v; Daejung Co., Korea)이 함유된 tryptic soy agar (BD) 고체배지에 배양액 2 μ l (ca. 10^6 CFU)를 점적하여 25°C에서 배양하면서 콜로니 주변에 점질물이 생성되는지를 확인하였다[5, 9].

중금속 흡착능

Leu. mesenteroides CJNU 0705 균주의 생균 및 사균에 대한 중금속 흡착능 실험을 진행하였다. MRS broth에서 배양된 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 생균과 80°C, 30분의 조건으로 처리한 사균 5 ml를 취하여 원심분리(10,000 rpm, 4°C, 5분)한 후 상등액을 제거하고 3차 증류수 100 μ l로 세포 현탁 후 최종농도 100 ppm의 CdSO₄ 및 Pb(NO₃)₂ 용액 5 ml에 각각 첨가하였다. 이를 30°C, 200 rpm으로 6시간 동안 진탕 배양하였으며 원심분리(10,000 rpm, 4°C, 5분) 후 상등액을 주사여과(0.45 μ m 주사필터; AnyLab, Korea)하여 잔류 중금속을 유도결합플라즈마 질량분석기(ICP-MS, Australia)로 정량분석하였다.

여드름 원인균에 대한 항균활성

여드름 원인균으로 알려진 *P. acnes* 균종에 대한 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 항균활성 유무를 확인하기 위하여 한천확산법(agar diffusion method)을 사용하였다. 즉, MRS 고체배지에 하룻밤 배양한 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주 2 μ l (ca. 10^6 CFU)를 점적하여 37°C, 12시간 배양한 후 그 위에 지시균(*P. acnes* KCTC 3314)이 1% (ca. 10^7 CFU/ml) 함유된 RCM (reinforced clostridial medium; BD) soft agar (0.7% agar, w/v)를 부었다. 이를 상기의 혐기적 방법으로 48시간 배양한 후 콜로니 주변에 생성되는 생육저해환(inhibition zone)을 관찰하였다.

천연 추출물에서의 텍스트란 생산 조건

식물성 천연 원료인 녹차, 당근, 개뽕쥬, 파슬리, 브로콜리(이상 분말), 옥수수수염(원물)을 각각 열수추출하고 추출물에 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 접종하여 텍스트란 생산 조건을 최적화하였다. 즉, 원료 분말 혹은 원물을 1차 증류수와 혼합(최종농도 2%)하여 100°C에서 1시간 열수추출한 후 원심분리(4,000 rpm, 4°C, 10분)하고 상등액을 0.45 μ m 멤브레인 필터(Merck Millipore, Ireland)로 감압 여과하였다. 추출물(A), 추출물 + 자당(2%)(B) 및 추출물+자당(2%) + 효모추출물(3%)(C)을 배지로 사용하여 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 1% (ca. 10^7 CFU/ml)

접종한 후 25℃에서 배양하면서 경시적으로 생균수를 측정하였다. 48시간 배양액에 대해서는 원심분리(5,000 rpm, 4℃, 5분) 후 세포를 회수하여 주사전자현미경(scanning electron microscope; JSM-6700F, JEOL, Japan) 사진을 촬영하였다. 또한 24시간 배양액의 균체량과 덱스트란 생성량을 확인하기 위하여 원심분리(5,000 rpm, 4℃, 15분)한 후 상등액에 2배의 100% EtOH을 첨가하여 24시간 동안 상온에서 방치하였다. 이후 원심분리(5,000 rpm, 4℃, 15분)하여 상등액을 제거하고 100% EtOH로 현탁한 후 은박접시에 담아 80℃에서 건조하여 무게를 측정하였다[5]. 균체는 증류수에 현탁한 후 상기의 조건으로 건조하여 무게를 측정하였다.

통계처리

3반복 실험의 결과 값은 평균 혹은 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었으며 SPSS (ver. 25, SPSS Inc., USA) 프로그램을 사용하여 일원분산분석(one-way ANOVA)으로 유의성을 검증하고 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

모유 유래 유산균 분리 및 동정

모유 유래 분리균주인 CJNU 0705는 그람양성 세균으로 확인되었으며(Fig. 1A) 16S rRNA 유전자 염기서열에 기초한 동정결과 *Leu. mesenteroides*로 확인되었다. 해당 염기서열은 미국립보건원 생명공학정보센터 GenBank (accession no. MT348592)에 제출 및 보관되었다. 선행연구에서 16S rRNA 유전자 부분 염기서열에 기초한 차세대 염기서열(NGS, next generation sequencing) 분석 결과 *Leuconostoc* 속 균종은 *Weissella* 속 균종과 함께 초유 및 수유 6개월째 모유 시료에서 우점종으로 확인되었다[10]. 또한 메타게놈 분석 방법이 아닌 실제 균주 분리 실험에서도 드물지만 모유 시료에서 *Leu. mesenteroides* 균주가 분리된 사례가 있다[11].

덱스트란 생성 확인

CJNU 0705 균주가 *Leu. mesenteroides* 균종으로 동정되어 추가 검증을 위해 덱스트란 생산 유무를 확인하였다. 2% 자당(Daejung Co.)이 함유된 tryptic soy agar (BD) 고체배지에 배양액 2 μ l (ca. 10^6 CFU)를 점적하여 25℃에서 배양한 결과 콜로니로부터 점질물이 생산되는 것을 관찰하였다(Fig. 1B) [5, 9]. 유산균이 생산하는 세포 외 다당체(EPS, exopolysaccharides)는 다양한 환경으로부터 세포를 보호하는 기능을 하며 또한 다른 세포와의 상호작용에서도 중요한 역할을 한다[12]. 덱스트란의 합성은 덱스트란슈크레이스에 의해 자당의 글리코사이드 결합(glycosidic bond)이 분해되면서 생성된 포도당 잔기들이 신장되고 있는 글루칸(glucan) 중합체에 결합되면서 이루어진다[13]. 특히 분자량이 작은 덱스트란은 기능성 화장품 소재로 활용되고 있다[14].

중금속 흡착능

Leu. mesenteroides CJNU 0705 균주의 생균 및 사균에 대해 중금속 흡착능을 확인하였다. 납의 경우 대조구(무처리구)의 잔류 농도는 35.74 ppm인 반면, 생균과 사균 처리의 경우 잔류 농도가 각각 18.46과 25.14 ppm으로 나타나 각각 48.35%와 29.66%가 제거되는 효과가 있었다. 또한 카드뮴의 경우 대조구(무처리구)의 잔류 농도는 37.83 ppm인 반면, 생균과 사균 처리의 경우 잔류 농도가 각각 31.89와 33.30 ppm으로 나타나 각각 15.70%와 11.97%가 제거되었다(Table 1). *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 생균 뿐만 아니라, 사균에서도 중금속 흡착능이 나타나는 것은 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 활용한 피부 건강기능성 소재 생산 시 공정상 살균과정이 있더라도 그 유효성을 기대할 수 있어 장점으로 판단된다.

전세계적으로 중금속 오염은 심각하며 이는 인체 건강뿐만 아니라 환경적인 관점에서도 큰 문제이다. 중금속 중에서도 납과 카드뮴은 독성이 강한 것으로 잘 알려져 있으며 “The ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 2019 Substance Priority List (<https://www.atsdr.cdc.gov/prioritylist/>)”

Fig. 1. Gram staining of *Leuconostoc mesenteroides* CJNU 0705 (A), dextran production from the strain on tryptic soy agar containing 2% sucrose (B), and antimicrobial activity of the strain against *Propionibacterium acnes* KCTC 3314.

Table 1. Quantitative analysis of biosorption of *Leuconostoc mesenteroides* CJNU 0705 for lead and cadmium.

Heavy metal	Concentration (ppm)		
	Control*	Live cell	Dead cell
Lead (Pb)	35.74±2.33 ^c	18.46±0.56 ^a	25.14±1.26 ^b
Cadmium (Cd)	37.83±1.90 ^b	31.89±1.53 ^a	33.30±2.99 ^a

*Control: no treatment of bacteria.

Values are represented as mean ± SD from triplicate experiments and different uppercase letters in the row mean significantly different ($p < 0.05$).

atsdr.cdc.gov/spl/”에서 각각 2위와 7위를 차지하였다. 국내의 경우 최근 미세먼지로 인한 불편함이 가중되고 있으며 그 속에 유해성 중금속(납, 카드뮴, 비소, 망간, 아연, 크롬 등)이 함유되어 있어 사람들의 건강을 위협하고 있다. Park 등 [2]의 초봄 서울북부 지역 미세먼지에 함유된 중금속 분석 결과에 의하면 납의 경우 최대 392.2 ng/m³이 검출되었으며 카드뮴은 최대 2.9 ng/m³이 검출되었다. 중금속 중에서도 납, 수은, 카드뮴, 비소, 니켈 등은 일부 화장품에서도 검출되며 이에 과도하게 노출되면 알레르기성 접촉성 피부염(allergic contact dermatitis)과 같은 피부질환이 발생할 수 있다[15]. 따라서 다양한 환경 중의 중금속이 체내 유입 혹은 피부에 접촉되는 것을 막는 것이 필요하며 이를 위해 유산균이 활용될 수 있다. Bhakta 등[16]은 카드뮴과 납을 흡착할 수 있는 유산균주(Cd70-13, Pb71-1)를 환경시료(진흙)로부터 분리하였으며 동정결과 *Lactobacillus reuteri*로 나타났다. Cd70-13과 Pb71-1 균주는 MRS 배지 상에서 카드뮴과 납을 각각 25%와 59% 제거하였다. Liu 등[17]의 보고에 따르면 *L. plantarum* YW11 균주는 납에 대한 흡착력이 아주 우수하여 최대 99.9%의 흡착력을 보였으며 YW11 균주에 대한 납의 최소저해농도(MIC, minimum inhibitory concentration)가 1000 mg/l (ppm) 이상으로 나타나 내성 또한 강한 것으로 확인되었다. 이러한 특성의 분자기작을 규명하기 위하여 단백질체(proteome)를 분석한 결과 25개의 단백질이 과발현되었으며 이들은 아미노산과 지질 대사, 에너지 대사, 세포벽 생합성, 물질 수송과 관련이 있는 것으로 확인되었다. 또한 김치에서 분리한 *Leu. mesenteroides* L-96 균주는 납에 대한 내성 및 제거능이 우수하였으며 마우스를 이용한 동물 실험에서 납과 함께 L-96 균주를 투여한 군이 대조군(납만 투여)에 비해 간독성이 줄어들었다[18]. 따라서 선발된 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주는 납과 카드뮴에 대한 흡착능이 우수하여 환경중의 중금속 제거와 인체내 흡수를 방지할 수 있는 바이오소재로서 활용될 수 있을 것이다.

여드름 원인균에 대한 항균활성

Leu. mesenteroides CJNU 0705 균주가 여드름 원인균인 *P. acnes*에 대하여 항균활성을 나타내는지 확인하기 위하여 한천확산법으로 시험한 결과 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 콜로니 주변에 *P. acnes* KCTC 3314 균주에 대한 생육저해환이 나타나는 것을 확인하였다(Fig. 1C). 유산균을 활용한 여드름균 및 여드름균에 의한 염증반응 억제에 관한 연구논문들이 다수 발표되었다. Jeong 등[19]은 *L. plantarum* 균주가 생산하는 박테리오파지인 여드름균 *P. acnes*에 의해 유발되는 각질형성세포(HaCaT)의 염증성 사이토카인의 발현량이 감소됨을 보고하였고, Kang 등[20]은 사람 유래의 유산균이 여드름 형성에 영향을 미치는 *P. acnes*와 *Staphylococcus epidermidis* 균주를 효과적으로 억제함을 확인하였고 동정결과 *Lactobacillus salivarius* subsp. *salicinius*와 *Lactobacillus fermentum*으로 나타났다. 또한 Koleva 등[21]의 연구에서는 식용 달팽이 장내에서 유산균들을 분리하였으며 동정결과 *Enterococcus* 속, *Lactococcus* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속 균주들이 확인되었고 이중 *Leu. mesenteroides* P4/8 균주가 유일하게 여드름균 *P. acnes*에 대하여 항균활성을 보였다. 이러한 유산균들의 항균활성은 젖산을 포함하는 유기산, 과산화수소 및 박테리오파지에 기인하는 것으로 알려져 있으며[20] *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 경우 유기산에 의한 항균활성으로 추정되었다.

천연 추출물에서의 텍스트란 생산 조건

추출물(A), 추출물+자당(2%)(B) 및 추출물+자당(2%)+효모추출물(3%)(C)을 배지로 사용하여 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 1% (ca. 10⁷ CFU/ml) 접종한 후 25℃에서 배양하면서 경시적으로 생균수를 측정한 결과, 전체적으로 C 배지에서 가장 잘 성장하는 것으로 확인되었으며 파슬리, 브로콜리, 옥수수수염의 경우 A 배지에서도 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 생장이 관찰되었다(Fig. 2). C 배지에서 48시간 배양한 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 주사전자현미경 사진 촬영 결과 텍스트란이 세포벽을 감싸고 있는 것이 확인되었으며(Fig. 3), 또한 24시간대 배양액의 균체량과 텍스트란 생산량을 비교한 결과 A, B, C 배지 순서에 따라 증가하는 양상을 보였다(Table 2). 특히 C 배지에서 텍스트란 생산량이 급격히 증가하는 것은 질소원으로 첨가된 효모추출물에 의한 텍스트란슈크레이스의 활성 증가 영향으로 추정되며 Kim 등[22]의 연구에서도 제한배지(자당 20%(w/v), K₂HPO₄ 0.5%(w/v), 감자분말 0.1%(w/v))에 효모추출물의 농도(0–5%)를 달리하여 적용했을 때 3% 농도에서 *Leu. mesenteroides* SM 균주 발효물의 점도도가 가장 높게 나타났고 그 원인으로 텍스트란슈크

Fig. 2. Viable cell counts of *Leuconostoc mesenteroides* CJNU 0705 in hot-water extracts of green tea, carrot, annual wormwood, parsley, broccoli, and corn silk. -◆-, hot-water extracts; -■-, hot-water extracts added with 2% sucrose; -▲-, hot-water extracts added with 2% sucrose and 3% yeast extract. The values indicate averages of triplicate experiments. **, $p < 0.01$ and ***, $p < 0.001$ when compared with the hot-water extracts by one-way ANOVA with Duncan's multiple range test.

레이스의 활성 증가로 추론한 바 있다.

피부 노화의 주요원인은 유해인자에 의한 산화적 스트레스로 알려져 있어 항산화 활성이 우수한 파이토케이컬 (phytochemicals)이 피부건강에 도움이 될 수 있으며 이들의 소재화 기술은 중요하다[23]. 본 연구에서 사용한 천연 원료인 파슬리, 녹차, 옥수수수염, 브로콜리, 당근, 개뽕쥬는 피부건강에 도움이 되는 소재로 잘 알려져 있으며 화장품으로도 개발되었다[23-26].

이러한 천연원료의 추출물을 단독으로 사용하여 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 접종했을 때 균체량이 가장 적었으며 추출물에 탄소원(자당)을 첨가했을 때 균체량이 다소 증가하였고 탄소원과 질소원(효모추출물)을 모두 첨가한 경우 균체량이 가장 많았다(Table 2). 그 결과와 연동해서 텍스트란의 생산량도 $C > B > A$ 배치 순이었다. 특히, 당근 추출물의 경우 자당과 효모추출물이 첨가되었을 때 텍스트란의 생산량이 11.5 g/l로 사용한 추출물 중에서 가장 많았다. 그 외 파슬리, 녹차, 옥수수수염, 브로콜리, 개뽕쥬 추출물의 텍스트란 생성량은 동일조건에서 각각 9.4, 6, 9.2, 9.8, 9.7 g/l로 나타났다. 추출물에 자당과 효모추출물을 첨가하여 배양한 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 주사전자현미경 사진에서 텍스트란이 세포벽을 감싸고 있는 현상이 관찰되었는데(Fig. 3), 이러한 현상은 *Leu. citreum*을 대상으로 한 선행연구에서도 관찰되었으며 텍스트란 합성에

Table 2. Quantitative analysis of cell mass and dextran after 24 h cultivation in hot-water extract samples.

Extract sample		Cell mass (g/l)	Dextran (g/l)
Parsley	A	0.3	0.8
	B	0.6	3.5
	C	1.9	9.4
Green tea	A	0.1	0.8
	B	0.2	1
	C	3.3	6
Corn silk	A	0.1	0.2
	B	0.5	2.6
	C	1.5	9.2
Broccoli	A	0.3	0.5
	B	0.8	4.8
	C	1.3	9.8
Carrot	A	0.2	1
	B	0.6	2.6
	C	1.5	11.5
Annual Wormwood	A	0.2	0.4
	B	0.2	0.7
	C	1.4	9.7

A, hot-water extracts; B, hot-water extracts added with 2% sucrose; C, hot-water extracts added with 2% sucrose and 3% yeast extract.

Fig. 3. SEM images of *Leuconostoc mesenteroides* CJNU 0705 cells cultured in hot-water extracts added with 2% sucrose and 3% yeast extract for 48 h. Cells in tryptic soy broth (TSB) (A), TSB added with 2% sucrose (B), green tea (C), carrot (D), annual wormwood (E), parsley (F), broccoli (G), corn silk (H).

관여하는 텍스트란슈크레이스 합성유전자(*dsrC*)의 돌연변이 유도 결과 점질물이 사라진 깨끗한 표면의 세포벽이 확인되었다[27].

본 연구에서는 모두 유래 유산균 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 활용한 피부 건강기능성 소재 개발과 관련하여 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 중금속 흡착능, 여드름균에 대한 항균활성, 천연원료를 배지원으로한 텍스트란 생산 최적조건을 확인하였다. 최근 식이 및 환경적인 요인에 의한 피부건강상태의 악화는 다양한 피부질환을 유발한다. *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주는 미세먼지 속 유해 중금속인 납과 카드뮴에 대한 흡착능력을 가지고 있어 중금속 노출에 의한 피부질환을 예방하는데 도움을 줄 수 있다. 또한 청소년 뿐만 아니라 성인에서도 흔하게 나타나는 여드름은 피부 상재균인 *P. acnes*에 의한 염증이 그 원인 중에 하나인데[28], *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주는 *P. acnes*에 대한 항균활성을 가지고 있어 그러한 염증을 완

화시키는데 기여할 수 있다. 마지막으로 피부친화적 천연원료를 기본 배지원으로 하여 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주의 텍스트란 생산조건을 최적화하였다.

결론적으로 모두 유래 유산균 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주는 중금속 흡착, 여드름 원인균 억제 및 천연원료의 발효를 통해 생산된 텍스트란의 기능성을 중심으로 피부 건강기능성 소재 생산에 활용될 수 있을 것이다.

요 약

Leu. mesenteroides CJNU 0705 균주는 모두에서 분리되었으며 16S rRNA 유전자 염기서열 분석과 자당(2%)이 포함된 tryptic soy agar plate상에서의 텍스트란 생성능을 통하여 동정하였다. *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주는 미세먼지 속에 존재하는 피부 유해성 중금속인 납과 카드뮴에 대한 흡착능이 있으며 이러한 성질은 사균 상태에서도 확

인되었다. 또한 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주는 여드름 원인균인 *P. acnes* 균주에 대하여 항균활성을 나타내었다. 마지막으로 피부 건강기능소재로 잘 알려진 녹차, 당근, 개뽕썩, 파슬리, 브로콜리 및 옥수수수염 추출물을 기본 배지(A)로 하여 2% 자당(B) 혹은 2% 자당과 3% 효모추출물(C)을 각각의 추출물에 첨가한 후 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주를 접종 및 배양하여 텍스트란 생산량을 확인한 결과 C 배지가 최적배지로 확인되었으며 텍스트란의 생산은 주사전자현미경 사진으로도 관찰되었다. 결론적으로 모두 유래의 *Leu. mesenteroides* CJNU 0705 균주나 이를 이용한 천연발효추출물은 피부 건강기능소재로 활용될 수 있을 것이다.

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

- Kim KE, Cho D, Park HJ. 2016. Air pollution and skin diseases: Adverse effects of airborne particulate matter on various skin diseases. *Life Sci.* **152**: 126-134.
- Park EJ, Kang M, You DE, Kim DS, Yu SD, Chung KH, et al. 2005. Health risk assessment of heavy metals in fine particles collected in Seoul metropolitan area. *J. Environ. Toxicol.* **20**: 179-186.
- Monachese M, Burton JP, Reid G. 2012. Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: a potential role for probiotics? *Appl. Environ. Microbiol.* **78**: 6397-6404.
- Jeong EJ, Moon DW, Oh JS, Moon JS, Seong H, Kim KY, et al. 2017. Development of cabbage juice medium for industrial production of *Leuconostoc mesenteroides* starter. *J. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 2112-2118.
- Hwang SK, Hong JT, Jung KH, Chang BC, Hwang KS, Shin JH, et al. 2008. Process optimization of dextran production by *Leuconostoc* sp. strain YSK isolated from fermented kimchi. *J. Life Sci.* **18**: 1377-1383.
- Zhou Q, Feng F, Yang Y, Zhao F, Du R, Zhou Z, et al. 2018. Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. *Int. J. Biol. Macromol.* **107(Pt B)**: 2234-2241.
- Khalikova E, Susi P, Korpela T. 2005. Microbial dextran-hydrolyzing enzyme: fundamentals and applications. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **69**: 306-325.
- Feng F, Zhou Q, Yang Y, Zhao F, Du R, Han Y, et al. 2018. Characterization of highly branched dextran produced by *Leuconostoc citreum* B-2 from pineapple fermented product. *Int. J. Biol. Macromol.* **113**: 45-50.
- Gu JJ, Ha YJ, Yoo SK. 2015. Isolation and characterization of dextrans produced by *Leuconostoc* sp. strain JYY4 from fermented kimchi. *J. Korean Oil Chemists Soc.* **32**: 758-766.
- Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. 2012. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am. J. Clin. Nutr.* **96**: 544-551.
- Heikkilä MP, Saris PE. 2003. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J. Appl. Microbiol.* **95**: 471-478.
- Zannini E, Waters DM, Coffey A, Arendt EK. 2016. Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**: 1121-1135.
- Werning ML, Notararigo S, Nacher M, Fernández de Palencia P, Aznar R, López P. 2012. Biosynthesis, purification and biotechnological use of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria, pp. 83-114. In El-Samragy Y (ed), Food Additive. InTech, Rijeka, Croatia.
- Patel S, Goyal A. 2011. Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 1119-1128.
- Borowska S, Brzóska MM. 2015. Metals in cosmetics: implications for human health. *J. Appl. Toxicol.* **35**: 551-572.
- Bhakta JN, Ohnishi K, Munekage Y, Iwasaki K, Wei MQ. 2012. Characterization of lactic acid bacteria-based probiotics as potential heavy metal sorbents. *J. Appl. Microbiol.* **112**: 1193-1206.
- Liu S, Zheng Y, Ma Y, Sarwar A, Zhao X, Luo T, et al. 2019. Evaluation and proteomic analysis of lead adsorption by lactic acid bacteria. *Int. J. Mol. Sci.* **20**: 5540.
- Yi YJ, Lim JM, Gu S, Lee WK, Oh E, Lee SM, et al. 2017. Potential use of lactic acid bacteria *Leuconostoc mesenteroides* as a probiotic for the removal of Pb(II) toxicity. *J. Microbiol.* **55**: 296-303.
- Jeong JW, Jung YH, Lee JS, Yoon SW, Lee SY, Lee HC, et al. 2016. The suppression of inflammatory cytokines induced by *Propionibacterium acnes* using bacteriocin isolated from *Lactobacillus plantarum* K-1 BR. *J. Life Sci.* **26**: 970-975.
- Kang MS, Oh HJ, Lee HC, Oh JS. 2009. Isolation and identification of lactic acid bacteria inhibiting the proliferation of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. *J. Bacteriol. Virol.* **39**: 11-19.
- Koleva Z, Dedov I, Kizheva J, Lipovanska R, Moncheva P, Hristova P. 2014. Lactic acid microflora of the gut of snail *Cornu aspersum*. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **28**: 627-634.
- Kim JE, Whang K, Lee SP. 2012. Physicochemical properties of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* SM according to concentration of yeast extract and its modulation of rheological properties. *Korean J. Food Sci. Technol.* **44**: 216-223.
- Kim EA. 2007. Phytochemicals and beauty food. *Food Sci. Ind.* **40**: 3-9.
- Cho BO, Shin JY, Che DN, Hwang YM, Lee HS, Ryu C, et al. 2016. Improvement effect of corn silk, perilla leaf and grape stem extract mixture against UVB-induced skin damage and compound 48/80-induced pruritus. *J. Rad. Ind.* **10**: 231-242.

25. Kim MK. 2018. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities of broccoli leaf extracts. *J. Invest. Cosmetol.* **14**: 153-159.
26. Kang GJ, Kang NJ, Han SC, Koo DH, Kim YS, Lee JH, *et al.* 2012. Inhibitory effect of artemisinic acid isolated from *Artemisia annua* L on the MCD in HaCaT keratinocytes. *Korean J. Pharmacogn.* **43**: 217-223.
27. Jin Q, Li L, Kim YJ, Han NS. 2014. Construction of a dextran-free *Leuconostoc citreum* mutant by targeted disruption of the dextransucrase gene. *J. Appl. Microbiol.* **117**: 1104-1112.
28. Park HJ, Choi SW, Che KO, Koh JS, Kim HO, Park YJ. 2000. A comparison of the sebum excretion rate and the density of *Propionibacterium acnes* between adult acne and adolescent acne. *Korean J. Dermatol.* **38**: 1199-1204.