

동치미로부터 항돌연변이 물질을 생산하는 유산균의 분리 및 특성

주길재* · 이창호¹ · 우철주¹

경북대학교 농과대학 농화학과
¹식품공학과

Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria Producing Antimutagenic Substance from Korean *Dongchimi*

Gil-Jae Joo*, Chang-Ho Rhee¹ and Cheol-Joo Woo¹

Department of Agricultural Chemistry and ¹Department of Food Science and Technology,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

Various lactic acid bacteria were isolated from Korean *Dongchimi* (whole radish Kimchi with added water) in order to study their antimutagenic activity. Ames test using *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* TA98 and TA100 showed the strain DLAB19 to have the highest antimutagenic activity among the 300 isolated strains against MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine), NPD (4-nitro-O-phenylenediamine), 4-NQO (4-nitroquinoline-1-oxide) and AFB₁ (aflatoxin B₁). The strain was identified as *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* according to the Bergey's Manual Systematic Bacteriology based on its morphological, cultural, physiological characteristics and biological system. Antimutagenic activity of *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* DLAB19 was found in the culture supernatant suggesting the bacterium secretes, the antimutagenic substance in the media. The antimutagenic activity of *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* DLAB19 was reconfirmed by the spore-rec assay using spores of *Bacillus subtilis* H17 (Rec⁺) and M45 (Rec).

Key words – antimutagenic activity, ames test, spore-rec assay, lactic acid bacteria, *Dongchimi*

서 론

유산균은 오랜 세월동안 산업적으로 이용되어 왔으며 발효유, 치즈, 버터 등의 우유 가공품과 우리나라의 김치, 간장, 된장 등의 자연 발효 식품에서 매우 중요한 역할을 담당하고 있다. 유산균은 인간의 장, 구강 등에 존재하는 미생물군으로 인간과 밀접한 관련이 있으며, 특히 장내에서 유

익한 작용을 나타내어 건강 유지에도 큰 역할을 담당하고 있다[3,11]. 또한, 식품에 특유의 풍미와 우수한 보존성 부여, 단백질 부분 분해에 의한 소화 흡수성의 향상, 장내 정상 세균총의 유지, 장내 이상 발효의 개선, 장내 부패 세균의 독성 물질 무독화 작용, 갈슘의 체내 흡수 촉진, 혈중 콜레스테롤 저하작용, 면역기능 부활 작용에 의한 interferon 유도, 항체 생성 및 세포성 면역 활성화 등의 기작에 의한 병원성 세균의 감염방어 및 항암 효과가 알려짐에 따라 기능성 식품 및 의약품에의 이용에 대한 연구가 진행되고 있다[1,3,5-8,16,19]. 유산균 발효산물과 낙농제품의 잠재적 영

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 053-950-6854, Fax : 053-950-6853
E-mail : gjjoo@knu.ac.kr

양 및 치료의 이점[4,7,9,16]을 보여주는 많은 연구들이 보고되어 있고, 이는 주로 위장관의 미생물계가 유제품에 의해 인체에 이로운 방향으로 유도된다[8,15,17].

유산균이 인간의 건강을 증진시킬 수 있다는 것은 Met-schnikoff[14]의 연구에 의해 밝혀졌다. 그는 요거트 제조에 관여하는 젖산균이 대장내에서 혐기성 세균, 포자형성 세균 및 독소 형성 세균들의 증식을 억제하기 때문에 장내에 *Lactobacillus bulgaricus*를 이식하여 줌으로서 장수에 매우 중요한 역할을 한다고 주장하였다. 최근에 있어서 인간의 건강과 장수에 관한 가장 주요한 인자의 하나는 암의 조절 문제이다. Bogdanov 등[2]에 의해 *L. bulgaricus*가 강력한 항암 효과를 가지고 있다는 사실이 밝혀짐에 따라 실험 동물을 이용한 유산균의 항암효과 및 세균 세포를 이용한 항돌연변이 효과에 관한 연구[1,2]가 진행되고 있다.

우리나라 겨울철에 많이 섭취하는 김치류의 하나인 동치미는 깍두기와 함께 무를 원료로 한 김치류의 한 종류로서 적당한 농도의 소금물에 무와 약간의 부재료를 첨가하여 발효시킨 식품으로서 NaCl 및 무기질의 공급원이 되고, 체액의 산도 평형을 조절함에 있어 알칼리성을 부여하기 때문에 건강 식품으로서의 가치를 지닌다[12]. 그러나 동치미에 관한 연구는 김치에 비해 대단히 미흡한 실정이며 현재까지 연구된 동치미에 관한 내용은 주로 동치미 발효 과정 중 pH, 일반성분, 산도 및 당분의 변화 등이 대부분이었다[12]. 그리고 동치미의 발효에 관여하는 유산균의 항돌연변이 활성에 관한 보고는 거의 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 우리나라 전통 발효식품인 동치미로부터 300여주의 유산균을 분리하여 이들의 항돌연변이 활성을 직접 변이원과 간접 변이원에 대하여 조사하였으며, 활성이 가장 높은 균주를 동정 한 후 그 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

유산균의 분리

유산균의 분리는 숙성중의 동치미 시료를 30일간 4°C에서 보관하면서 5일 간격으로 균원시료를 채취하여 멸균된 0.85% NaCl 용액에 적당량 희석한 후, brobocresol purple (BCP)을 함유한 plate count agar (yeast extract 0.25%, bactopectone 0.5%, glucose 0.1%, tween 80 0.1%, L-lysine

0.01%, BCP 0.004%, agar 1.5%) 배지에 도말하여 30°C에서 48시간 배양하고 균체의 주변에 황색환을 형성하는 약 300여주의 유산균을 1차 분리하였다. 1차 분리된 균주를 MRS broth (bactopectone 1.0%, meat extract 1.0%, yeast extract 0.5%, glucose 2.0%, tween 80 0.1%, sodium acetate 0.5%, tri-ammonium citrate 0.2%, K₂HPO₄ 0.2%, MgSO₄ · 7H₂O 0.02%, MnSO₄ · 4H₂O 0.005%) 배지에 배양하여 상징액의 항돌연변이 활성[13,18,19]을 측정 한 후 활성이 가장 높은 균주를 최종 선별하여 공시 균주로 사용하였다.

유산균의 동정

유산균의 동정은 배양학적, 형태학적 및 생화학적 특성을 조사한 것과 Biolog GP MicroPlate™ (Biolog Co., USA)을 이용하여 특성을 조사한 것을 비교하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology의 방법[10]에 따라 동정하였다.

배양 상징액의 제조

배양 상징액은 유산균을 MRS broth를 사용하여 30°C에서 36시간 진탕 (150 rpm) 배양한 후 25,000×g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상등액은 0.22µm membrane filter로 여과하고 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

Ames test에 의한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 조사 돌연변이 및 항돌연변이원성 조사는 Ames test를 개량한 preincubation 방법[13,18,19]에 따라 행하였으며, 사용 균주는 히스티딘 영양 요구주이며 point mutant인 *Salmonella enterica* serovar typhimurium TA100 (hisG46, rfa, ΔuvrB) 과 frame shift mutant인 *S. enterica* serovar typhimurium TA98 (hisD3052, rfa, ΔuvrB)을 사용하였고, 조사방법은 시료에 의한 His⁺ 복귀 돌연변이 정도를 조사하여 확인하였다. 변이원으로서의 *S. enterica* serovar typhimurium TA100의 경우 MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine), NPD (4-nitro-O-phenylenediamine), AFB₁ (aflatoxin B₁)를 plate당 각각 5 µg, 15 µg, 1 µg되게 사용하였으며, *S. enterica* serovar typhimurium TA98의 경우 NPD, 4-NQO (4-nitroquinoline-1-oxide), AFB₁을 각각 2.5 µg, 0.25 µg, 1 µg되게 사용하였다. AFB₁과 같은 간접 돌연변이원의 활성화를 위해 쥐 간의 microsome 분획인 S-9 mix (Sigma Co.)

를 0.5 ml 첨가하여 행하였다. 항돌연변이원성 조사를 위하여는 미리 건열시킨 glass cap tube에 시료 용액을 일정 농도로 첨가하고 변이원을 50 μ l 첨가한 다음 여기에 영양배지에서 16시간 배양시킨 *S. enterica* serovar *typhimurium* TA 배양액 100 μ l와 직접 변이원의 경우 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 7.0) 0.5 ml 또는 간접 변이원인 경우 S-9 mix 0.5 ml를 첨가하였다. 이것을 37°C에서 30분간 preincubation한 다음 소량의 histidine/biotin이 첨가된 top agar 3 ml를 혼합한 후 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar상에 증충하여 평판 고화 시킨 다음 37°C에서 48시간 배양하였다. 항돌연변이 활성은 상기의 고체 배지에서 생육하는 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니를 계수하여다음식으로 환산하고 His⁺ 복귀 돌연변이 저해율(inhibition ratio)로서 나타내었다.

$$\text{Inhibition ratio}(\%) = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

- a: 변이원에 의해 유도된 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니 수
- b: 변이원과 시료 처리시 유도된 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니 수
- c: 변이원과 시료 무처리시 유도된 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니 수

시료의 돌연변이원성 조사를 위해 변이원을 첨가하지 않고 시료만을 첨가하여 상기의 항돌연변이 실험과 동일한 방법으로 행하였다. 돌연변이 활성은 시료에 의한 His⁺ 복귀 돌연변이율로서 무처리시 유도된 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니 수(자연 복귀 돌연변이 콜로니 수)에 대한 시료 처리시 유도된 His⁺ 복귀 돌연변이 콜로니 수의 %로 나타내었다. 돌연변이 및 항돌연변이 조사는 3구 3회 반복으로 실험하여 평균값으로 나타내었다.

Spore-rec assay에 의한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 조사

Kada의 방법[11]에 따라 행하였으며, 사용한 균주는 *Bacillus subtilis* H17 (rec⁺)과 *B. subtilis* M45 (rec)를 이용하고 포자를 조제하여 실험에 사용하였다. 영양한천 배지를 조제하여 50°C로 냉각한 후 *B. subtilis* H17과 *B. subtilis* M45의 포자 현탁액을 배지 10 ml당 1 ml의 비율로 혼합한 후 petri dish에 각각 분주하여 고화시킨 다음 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 실험에 사용하였다. 항돌연변이원성을 조사하기 위하여는 고화시킨 *B. subtilis* H17과 *B.*

subtilis M45 포자 한천 배지에 paper disc를 놓고 37°C에서 30분간 반응시킨 배양 상징액과 MNNG (10 μ g/10 μ l) 또는 4-NQO (20 ng/10 μ l)혼합액을 주입하고 4°C에서 8시간 배양하였다. 그 후 37°C에서 16시간 배양하여 paper disc 주변에 형성된 생육 저지대의 직경을 측정하였다. 돌연변이원성 조사를 위하여는 배양 상징액을 첨가하지 않고 상기의 항돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 행하였다.

결과 및 고찰

유산균의 분리

숙성 동치미로부터 BCP를 함유한 plate count agar 배지에 황색환을 형성하는 약 300여주의 균을 1차 분리하였다. 1차 분리된 균주를 MRS 배지에서 36시간 재 배양한 후, 원심 분리하여 얻은 배양 상징액의 직접변이원인 MNNG에 대한 항돌연변이 활성을 측정하여 활성이 90% 이상인 20 균주를 2차 분리하였다. 이 균주들의 배양 상징액을 *S. enterica* serovar *typhimurium* TA100과 *S. enterica* serovar *typhimurium* TA98을 사용하여 MNNG, NPD와 4-NQO에 대한 항돌연변이 활성을 조사한 결과(Table 1), 20개의 균주들 중에서 특히 DLAB19가 모든 변이원에 대하여 활성이 가장 높았으므로 최종 선별하여 본 실험의 공시 균주로 사용하였다.

분리주 DLAB19의 동정

항돌연변이 활성이 가장 우수한 균주인 DLAB19의 생리학적 성질을 조사한 결과, Gram 염색 양성 간균으로서 운동성이 없었으며, catalase와 oxidase는 음성, glucose로부터 gas를 생성하지 않았다. Esculin 분해성과 citrate 이용성은 양성이었으며, 6.5% NaCl과 10% ethanol 존재하에서는 생육하지 못하였다(Table 2). 탄소원 이용성을 조사한 결과, esculin, galactose, glucose, lactose, maltose는 이용을 하였으나, 기타의 탄소원은 이용을 하지 못하였으며(Table 3), 또한 Biolog GP Microplate를 이용하여 대사산물을 조사한 결과 *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris*와 유사도가 0.972로 나타났다. 따라서 이상의 특성을 토대로 하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology의 기술된 분류 기준[30]에 따라 동정한 결과, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* 또는 그 유연군으로 동정되어 분리균을 *Leu.*

Table 1. Antimutagenic activities on *S. enterica* serovar *typhimurium* TA100 and TA98 by various bacteria isolated from *Dongchimi*

| Strains | Inhibition ratio(%) [*] | | | |
|---------|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------------|
| | TA100 | | TA98 | |
| | MNNG (5 µg/ plate) | NPD (15 µg/ plate) | NPD (2.5 µg/ plate) | 4-NQO (0.25 µg/ plate) |
| DLAB04 | 90.1 | 38.2 | 25.6 | 42.2 |
| DLAB07 | 92.2 | 46.2 | 32.2 | 45.3 |
| DLAB11 | 91.1 | 42.2 | 31.0 | 42.5 |
| DLAB13 | 90.6 | 37.2 | 26.8 | 18.4 |
| DLAB19 | 93.4 | 54.8 | 35.8 | 48.2 |
| DLAB22 | 90.6 | 45.3 | 21.9 | 35.1 |
| DLAB23 | 91.0 | 46.3 | 25.1 | 18.4 |
| DLAB26 | 92.1 | 45.4 | 40.0 | 47.2 |
| DLAB28 | 91.2 | 39.0 | 19.3 | 20.2 |
| DLAB30 | 90.2 | 30.6 | 10.8 | 15.2 |
| DLAB33 | 90.5 | 30.2 | 15.5 | 9.5 |
| DLAB38 | 90.6 | 35.1 | 11.3 | 18.4 |
| DLAB39 | 90.7 | 34.2 | 15.0 | 12.1 |
| DLAB41 | 90.2 | 30.4 | 10.9 | 8.2 |
| DLAB44 | 90.3 | 32.0 | 7.1 | 1.6 |
| DLAB45 | 90.3 | 30.8 | 12.4 | 5.5 |
| DLAB53 | 91.7 | 49.3 | 33.2 | 40.5 |
| DLAB58 | 90.3 | 45.1 | 23.6 | 21.9 |
| DLAB63 | 91.8 | 42.2 | 30.2 | 11.4 |
| DLAB66 | 92.5 | 39.0 | 32.9 | 46.6 |

*Significantly different from the control at the P<0.05 level. Antimutagenic activity is expressed as inhibition ratio(%) of His⁺ reversion of *S. enterica* serovar *typhimurium* which is described in detail by Maron and Ames[13]. The means represent the average of at least trials that were performed in triplicate.

mesenteroides subsp. *cremoris* DLAB19로 명명하였다.

Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris* DLAB19의 항돌연변이 활성

분리 동정된 *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* DLAB19를 MRS 배지에서 배양한 후 원심분리하여 얻은 상정액의 돌연변이원성을 조사한 결과, Table 4와 같이 배양 상정액의 농도에 따른 돌연변이 효과는 mutation ratio가 2.0이하이었으며, 농도 의존성을 나타내지 않았으므로 돌연변이 활성이 없음을 알 수 있었다. 배양 상정액의 농도를 달리하여

Table 2. Morphological and Physiological characteristics of the isolated strain DLAB19

| Classification | DLAB19 |
|-------------------------------|--------|
| Morphological characteristics | |
| Form | Rod |
| Gram stain | + |
| Motility | - |
| Spore formation | - |
| Faculative anaerobic | + |
| Physiological characteristics | |
| Catalase | - |
| Methyl red test | - |
| Esculin hydrolysis | + |
| Utilization of citrate | + |
| Gas from glucose | - |
| Indol production | - |
| Pigment production | - |
| Oxidase test | - |
| Nitrate reduction | - |
| Growth at 15°C | + |
| Growth at 45°C | - |
| Growth at pH 4.8 | - |
| Growth at pH 6.5 | + |
| Growth in 6.5% NaCl | - |
| Growth in 10% ethanol | - |

+: positive, -: negative

항돌연변이 활성을 측정된 결과, point mutant인 *S. enterica* serovar *typhimurium* TA100을 이용한 실험에서 변이원 MNNG, NPD 및 AFB1에 대한 활성은 배양 상정액 100 µl /plate 첨가시 각각 97.2%, 69.9% 및 78.2%로 높게 나타났다. 또한 frame shift mutant인 *S. enterica* serovar *typhimurium* TA98을 이용한 실험에서 변이원 NPD, 4-NQO 및 AFB1에 대한 활성 또한 배양 상정액을 plate당 100 µl 첨가시 각각 52.4%, 58.2% 및 75.0%로 높게 나타났다(Table 5). 현재까지 발효유 및 유산균의 항 돌연변이원성에 관한 연구 보고가 거의 없으나 항암 활성에 관하여는 많은 연구 보고가 있다[1,2]. 1975년 Bogdanov 등[2]에 의해 발효유 제조에 관여하는 *Lactobacillus bulgaricus*가 쥐의 sarcoma에 대하여 항암 효과를 가지고 있다는 것이 처음으로 알려졌다. 그후 *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *B. thermophilus*, *Lactobacillus kefirifaciens*, *L. cremoris* 등 역

Table 3. Carbon utilization of the isolated strain DLAB19

| Carbon source | DLAB19 |
|---------------|--------|
| Amygdalin | - |
| D-Arabinose | - |
| L-Arabinose | - |
| Arbutin | - |
| Cellobiose | - |
| Cellulose | - |
| Erythritol | - |
| Esculin | + |
| Ethanol | - |
| Fructose | - |
| Galactose | + |
| Glycerol | - |
| Glucose | + |
| Inulin | - |
| Lactose | + |
| Maltose | + |
| Mannitol | - |
| Mannose | - |
| Melibiose | - |
| Melezetose | - |
| Raffinose | - |
| Ribose | - |
| Salicin | - |
| Sorbose | - |
| Sorbitol | + |
| Sucrose | - |
| Trehalose | - |
| Xylitol | - |
| Xylose | - |

+: positive, -: negative

Table 4. Mutagenic tests on *S. enterica* serovar *typhimurium* TA100 and TA98 by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* DLAB19 culture supernatant

| Dose (μl /plate) | TA100 | | TA98 | |
|---------------------------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|
| | His ⁺ (CFU) | Mutation ratio* | His ⁺ (CFU) | Mutation ratio* |
| 0 | 84 | 1.000 | 49 | 1.000 |
| 25 | 79 | 0.941 | 51 | 1.041 |
| 50 | 88 | 1.048 | 53 | 1.082 |
| 75 | 82 | 0.976 | 47 | 0.959 |
| 100 | 78 | 0.929 | 49 | 1.000 |
| 125 | 82 | 0.976 | 50 | 1.020 |
| 150 | 85 | 1.012 | 48 | 0.980 |

*Significantly different from the control at the P<0.05 level. Mutagenic activity is expressed as mutation ratio(%) of His⁺ reversion of *S. enterica* serovar *typhimurium* which is described in detail by Maron and Ames[13]. The means represent the average of at least trials that were performed in triplicate.

시 실험 동물에 있어서 각종 암에 대하여 항암 효과를 가지고 있는 것으로 보고된 바 있다[1]. 이들 유산균이 생산하는 항암물질은 대부분 glycopeptide 또는 다당류로 알려져 있으나[1] 본 실험에서 분리한 균주가 생산하는 항돌연변이원성 물질과 어떤 차이가 있는지는 좀 더 연구해야 할 과제이다.

Spore-rec assay에 의한 항돌연변이 활성

*B. subtilis*의 포자를 이용한 spore-rec assay 방법을 이용하여 분리 균주의 돌연변이 활성 및 항돌연변이 활성을 확

Table 5. Antimutagenic activities on *S. enterica* serovar *typhimurium* TA100 and TA98 by *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* DLAB19 culture supernatant

| Dose (μl /plate) | Inhibition ratio(%)* | | | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| | TA100 | | | TA98 | | |
| | MNNG (5 μg /plate) | NPD (15 μg /plate) | AFB1 (1 μg /plate) | NPD (2.5 μg /plate) | 4-NQO (0.25 μg /plate) | AFB1 (1 μg /plate) |
| 25 | 90.1 | 40.4 | 52.2 | 21.8 | 36.2 | 43.7 |
| 50 | 93.4 | 54.8 | 62.0 | 35.8 | 48.2 | 52.8 |
| 75 | 95.9 | 62.3 | 72.2 | 40.5 | 53.3 | 65.1 |
| 100 | 97.2 | 69.9 | 78.2 | 52.4 | 58.2 | 75.0 |
| 125 | 95.5 | 60.3 | 75.6 | 46.7 | 56.7 | 71.6 |
| 150 | 94.5 | 41.8 | 71.9 | 42.3 | 52.4 | 68.1 |

*Significantly different from the control at the P<0.05 level. Antimutagenic activity is expressed as inhibition ratio(%) of His⁺ reversion of *S. enterica* serovar *typhimurium* which is described in detail by Maron and Ames[13]. The means represent the average of at least trials that were performed in triplicate.

Table 6. Mutagenic and Antimutagenic activities of the *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* DLAB19 on MNNG and 4-NQO in the spore-rec assay

| Mutagen | Culture supernatant ($\mu\ell$ /disc) | Inhibition zone (mm) | | | | | |
|--|--|----------------------|-----|------------|------------------------|-----|------------|
| | | Mutagenic activity | | | Antimutagenic activity | | |
| | | M45 | H17 | Difference | M45 | H17 | Difference |
| MNNG (10 $\mu\text{g}/10 \mu\ell$) | 0 | 35 | 0 | 35 | 35 | 0 | 35 |
| | 50 | 30 | 30 | 0 | 33 | 21 | 12 |
| | 100 | 33 | 33 | 0 | 36 | 31 | 5 |
| | 150 | 36 | 36 | 0 | 37 | 32 | 5 |
| 4-NQO (20 $\text{ng}/10 \mu\ell$) | 0 | 39 | 0 | 39 | 39 | 0 | 39 |
| | 50 | 36 | 36 | 0 | 38 | 31 | 7 |
| | 100 | 38 | 38 | 0 | 40 | 38 | 2 |
| | 150 | 34 | 34 | 0 | 39 | 37 | 2 |

*Mutagenic and antimutagenic activities are expressed as inhibition zone (mm) of *Bacillus subtilis* which described in detail by Kada *et al.*, [11]

인한 결과 Table 6과 같이 분리균의 배양 상정액을 첨가하지 않은 경우 변이원 MNNG와 4-NQO의 변이원성 실험 결과에서 *B. subtilis* M45와 *B. subtilis* H17의 생육 저지대의 차이가 30 mm 이상으로서 2가지 변이원 모두 강력한 돌연변이 활성이 존재하는 것으로 나타났다. 그러나 배양 상정액의 농도를 증가시켜 주입함에 따라 생육 저지대의 차이가 없었으므로 상정액은 돌연변이원성이 없음을 알 수 있었다. 배양 상정액의 항돌연변이 활성을 조사한 결과는 각각의 변이원에 대해 배양 상정액의 첨가량에 따라 *B. subtilis* M45와 *B. subtilis* H17의 생육 저지대의 차이가 각각 최저 5 mm와 4 mm로서 분리균의 배양 상정액이 강한 항돌연변이 활성을 가지고 있음을 재확인할 수 있었다.

요 약

우리나라 동치미 발효에 관여하는 유산균의 항돌연변이 활성을 조사하기 위하여 숙성중의 동치미로부터 300여종의 유산균을 분리하였다. 이들 균주들의 항돌연변이 활성을 *Salmonella enterotica* serovar *typhimurium* TA100과 TA98을 이용하여 조사하고 직접 변이원 MNNG, NPD, 4-NQO와 간접변이원으로서 AFB1에 대하여 항돌연변이 활성이 가장 우수한 DLAB19균주를 최종 선별하였다. 최종 선별한 DLAB19의 형태학적, 배양학적 및 생리학적 특성을 조사하여 Bergey's Manual Systematic Bacteriology의 분류 기준에

따라 동정한 결과 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* 또는 그 유연군으로 동정하였다. *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* DLAB19의 배양 상정액의 MNNG, NPD, 4-NQO 및 AFB1에 대한 항돌연변이 활성은 100 $\mu\ell$ /plate 첨가시 활성이 가장 높게 나타났다. 또한 *B. subtilis*의 포자를 이용한 spore-rec assay 방법을 사용하여 MNNG와 4-NQO에 대한 항돌연변이 활성을 가지고 있음을 재확인하였다.

참 고 문 헌

1. Adachi, S. 1992. Lactic acid bacteria and the control of tumors, pp. 233-247. In B. J. B. Wood(ed), *The Lactic Acid Bacteria* Vol. 1, *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Elsevier Applied Science, London.
2. Bogdanov, I. G., P. G. Dalev, L. A. Gurevich, M. N. Kolosov, V. P. Malkove, L. A. Plemyannikova and I. B. Sorokina. 1975. Antitumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. *FEBS Lett.* **57**, 259-261.
3. Carr, J. G. 1975. *Lactic acid bacteria in Beverage and Foods*. pp. 234. Academic press, New York.
4. Deeth, H. C. 1984. Yogurt and cultured products. *Aust. J. Dairy Technol.* **39**, 111-114.
5. Fernandes, C. F., K. M. Shahni and M. A. Amer. 1987. Therapeutic role of dietary and *Lactobacilli* fermented dairy products. *FEMS Microbiol. Rev.* **46**, 343-356.
6. Fernandes, C. F., K. M. Shahni and M. A. Amer.

1988. Control of diarrhea by *Lactobacilli*. *J. Appl. Nutr.* **40**, 32-39.
7. Gilland, S. E. 1989. Acidophilus milk products: A review of potential benefits to consumer. *J. Dairy Sci.* **72**, 2483-2489.
 8. Goldin, B. R. and S. L. Gorbach. 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am. J. Clin. Nutr.* **39**, 756-762.
 9. Gurr, M. I. 1987. Nutritional aspects of fermented milk products. *FEMS Microbiol. Rev.* **46**, 337-342.
 10. John, G. H., R. K. Noel, H. S. S. Peter, T. S. James and T. W. Stanely. 1994. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore.
 11. Kada, T., K. Kaneko, T. Matsuzaki and T. Hara. 1985. Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens: A case of the green tea factor. *Mutat. Res.* **150**, 127-132.
 12. Kang, K. O., H. J. Sohn and W. J. Kim. 1991. Changes in chemical and sensory properties of *Dongchimi* during fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 267-271.
 13. Maron, D. M. and B. N. Ames. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.* **113**, 173-219.
 14. Metchnikoff, E. 1908. *The Prolongation of Life*. pp.161-183, C. P. Putnam's sons, New York.
 15. Robinsin, R. K. 1989. Special yogurts the potential health benefits. *Dairy Ind. Int.* **54**, 23-29.
 16. Savino, D. A. and M. D. Levitt. 1987. Milk intolerance and microbe-containing dairy foods. *J. Dairy Sci.* **70**, 397-403.
 17. Shun, Y. L., J. A. Ayres, W. Winkler and W. E. Sandine. 1989. *Lactobacillus* effect on cholesterol: *In vitro* and *in vivo* results. *J. Dairy Sci.* **72**, 2884-2889.
 18. Yahagi, T., M. Degawa, Y. Seino, T. Matsushima, M. Nagao, T. Sugimura and Y. Hashimoto. 1975. Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives. *Cancer Lett.* **1**, 91-98.
 19. Yahagi, T., M. Degawa, Y. Seino, T. Matsushima, T. Sugimura and M. Okada. 1977. Mutagenicities of N-nitrosamines on *Salmonella*. *Mutat. Res.* **48**, 121-126.

(Received July 3, 2001; Accepted August 24, 2001)