

<Review>

유산균의 항산화 효과

김 현 수 · 함 준 상

농촌진흥청 축산기술연구소

Antioxidative Ability of Lactic Acid Bacteria

Hyun-Soo Kim* and Jun-Sang Ham

National Livestock Research Institute, RDA

Abstract

The health benefits of friendly bacteria first came to the attention of the general public in 1908, when Dr. Elie Metchnikoff, a Russian biologist, wrote *The Prolongation of Life*. The longevity may be, in part, due to the antioxidative ability of lactic acid bacteria. However, the antioxidative effect of lactic acid bacteria has been reported only recently. Many kinds of reactive oxygen species can be formed in the human body and in food system, oxidative stress plays a significant pathological role in human disease. Antioxidants are effective for the reduction of oxidation induced by oxygen radicals by scavenging reactive oxygen species. Various synthetic and natural antioxidants have been reported, but there are doubts about the safety and long term effects on health. Antioxidants from natural sources are likely to be found more desirable. An elevated scavenging ability of reactive oxygen species would be a good property for commercially applied lactic acid bacteria. Antioxidant supplement or food containing antioxidants would be greatly applied for the reduction of oxidative damage for human body, and lactic acid bacteria are potentiated candidates for the production of functional foods or natural antioxidant supplements.

Key words : antioxidative ability, reactive oxygen species, lactic acid bacteria

서 론

호기성 생물은 산소를 전자수용체로 하는 호흡을 통하여 에너지를 생산한다. 그러나 이 산소는 각종 물리적, 화학적 및 환경적 요인에 의하여 다양한 활성산소로 전환될 수 있다. 사람을 비롯한 생물은 항산화 메커니즘을 가지고 있어 산화적 손상으로부터 스스로를 보호할 수 있으나 이들 손상을 완전히 제거하기에는 충분하지 않다(Simic, 1988). 항산화 메커니즘에 문제가 생겨 활성산소가 축적될 경우 산화적 스트레스(oxidative stress)가 야기되며, 세포 구성성분인 DNA, RNA, 단백질과 지질에 손상을 주어 노화는 물론 뇌졸중, 파킨슨병 등의 뇌질환과 심장질환 등 각종 질병을 초래하게 된

다. 또한 활성산소에 의한 지질 과산화 결과로 생성된 과산화물도 세포에 대한 산화적 파괴로 각종 기능 장애를 야기하는 것으로 알려져 있다(Halliwell, 1987). 자유기(free radical)을 소거할 수 있는 화합물(free radical scavenger)이나 과산화물 억제물질과 같은 항산화제를 함유한 식품은 인체의 산화적 스트레스에 의한 손상으로부터 보호해 줄 수 있을 것으로 생각된다.

항산화제에 대한 연구는 주로 식품첨가물로서의 항산화제 개발에서 최근에는 각종 질병 및 노화 등에 활성산소 및 과산화물이 직접적인 작용을 한다는 사실이 밝혀지면서 질병 예방 및 치료제로서의 항산화제 탐색으로 연구가 전환되고 있다. 다양한 합성 및 천연 항산화제가 보고되었으나 이들은 안전성과 약한 활성 등의 한계가 있으므로 천연으로부터 얻은 자연적 항산화제가 바람직하다고 생각된다.

유산균 또한 활성산소로부터 자신을 보호하기 위한 항산화

*Corresponding author : Hyun-Soo Kim, National Livestock Research Institute, RDA, Suwon 441-350, Korea. Tel: 82-31-290-1682, Fax: 82-31-290-1697, E-mail: khs0208@rda.go.kr

메커니즘을 가지고 있으며, 이들 유산균의 항산화효과에 대하여 최근에 보고되기 시작하였다(Sanders et. al., 1995; Ahotupa et. al., 1996; Korpela et. al., 1997). 그러나 아직까지 유산균의 항산화 효과에 대한 연구는 많이 부족한 실정이다. 인류의 오랜 역사를 통한 발효유의 섭취는 유산균의 안전성을 입증해 주는 것이며 또한 항미생물 효과, 면역증강 효과, 항종양 효과 등의 여러 가지 건강증진 효과가 보고되었고, 어떠한 종들은 probiotics로서 일반적으로 사용되고 있다. 항산화 활성이 높은 능력의 유산균은 인체내 활성산소를 제거할 수 있을 것이며 따라서 이들 균주의 탐색은 산업적으로 가치가 있다고 생각된다.

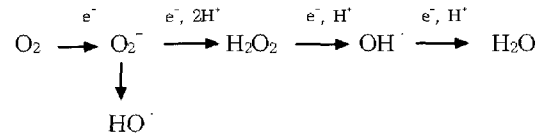
따라서 본 고에서는 산화적 손상을 일으키는 활성산소와 유산균의 항산화 활성에 대하여 고찰하고자 하였다.

활성산소(Reactive Oxygen Species, ROS)

쌍을 이루지 못한 전자를 하나 또는 그 이상 가지고 있으며 짧은 시간이지만 일정시간 동안 혼자 독립적으로 존재할 수 있는 물질을 free radical(자유 라디칼)라 한다. 따라서 짝을 이루지 못한 전자를 갖고 있는 원자를 가진 물질은 모두 free radical이 될 수 있다. 이 free radical은 매우 불안정하여 곁에 있는 다른 물질로부터 전자를 빼앗거나 자신의 전자를 다른 물질에 건네주기 때문에 생기자마자 다른 물질과 반응해 버리는 성질이 있다. 산소가 주성분이 되어 짝을 이루지 못한 전자를 가진 물질이 만들어지면 이를 활성산소(reactive oxygen radical, ROS)라고 한다. 여러 가지 radical 중 활성산소는 인체 내에서 가장 흔하게 많이 생기며 동시에 인체에 가장 많은 손상을 주기 때문에 중요하다. 처음 생물계에서 활성산소는 1954년 Commoner 등에 의해 감지되었으며, 미토콘드리아는 free radical 생성의 주요 장소이다(Fig. 1). 활성산소 중 대표적인 것은 superoxide radical(O₂⁻), hydroxy radical(OH[·]), hydrogen peroxide(H₂O₂)와 singlet oxygen(1O₂)이다. Boveris와 Chanc(1973)는 미토콘드리아에서 O₂⁻

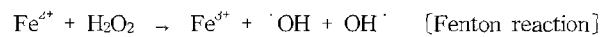
또는 H₂O₂ 형태의 활성산소가 약 2% 정도 측정되었다고 보고하였다.

Superoxide radical(O₂⁻)은 산소분자에 전자가 하나 더 붙어서 만들어지는 물질로서 이들 전자 불균형은 강한 반응성을 갖게 하여 세포 내에서 매우 강한 독성을 갖는다. *E. coli*에서 O₂가 H₂O로 전환되는 과정에서 NADH dehydrogenase, succinate dehydrogenase, 및 D-lactate dehydrogenase에 의하여 O₂⁻이 생성된다(Imlay and Fridovich, 1991). O₂⁻는 thiol, ascorbate, tocopherol 그리고 catecholamine을 산화시키며(Fridovich, 1989), 특히 (Fe-S)₄ cluster를 함유하는 단백질을 매우 강하게 공격한다(Gardner and Fridovich, 1991). 무엇보다도 중요한 O₂⁻의 작용은 중성 pH 수용액 환경에 계속해서 H₂O₂가 생성되게 하는 것이다(Fridovich, 1989).



또한 O₂⁻은 Fe³⁺과 결합하여 perferyl radical [2Fe²⁺+O₂]⁻을 형성하여 DNA 손상과 지질 과산화를 일으킨다(Imlay and Linn, 1988).

Hydroxy radical(OH[·])은 짧은 시간 존재하지만 가장 반응력이 강한 활성 산소로 인체에 가장 큰 손상을 주는 radical로 알려져 있다. O₂⁻는 SOD(superoxide dismutase)의 작용으로 H₂O₂로 변하며, 이것은 Fe²⁺와 반응하여 Fenton reaction을 통하여 OH[·]로 된다.



SOD 뿐만 아니라 D-amino acid oxidase 같은 여러 가지 oxidase나 tryptophan 잔기는 OH[·]을 생성할 수 있으며, 물의 방사선 분해에 의해서도 생성된다. 그러나 무엇보다도 주요한 OH[·]의 생성은 Fenton reaction에 통하여 일어난다. OH[·]은 O₂⁻보다 반응성이 커 매우 빠르게 세포구성 성분인 당, 아미노산, 인지질, DNA 염기 그리고 유기산과 반응한다. 세포나 미토콘드리아 내 pH가 감소하면 산화적 세포막 손상이 일어나며, 이 비선택적 활성산소의 공격에 대한 결과로 세포의 성질, 효소작용 그리고 유전적 안전성을 잃게 된다(Floyd, 1990; Stadman and Berlett, 1991; Gille et. al., 1994; Halliwell, 1999). 따라서 세포 내 O₂⁻이 증가하면 H₂O₂와 OH[·]도 함께 증가한다.

H₂O₂와 1O₂는 free radical은 아니지만 반응성이 강하며 언제든지 free radical을 형성할 수 있는 물질이다. 1O₂는 불포화지방산이나 histidine과 반응하여 세포막에 들어가 지질 과

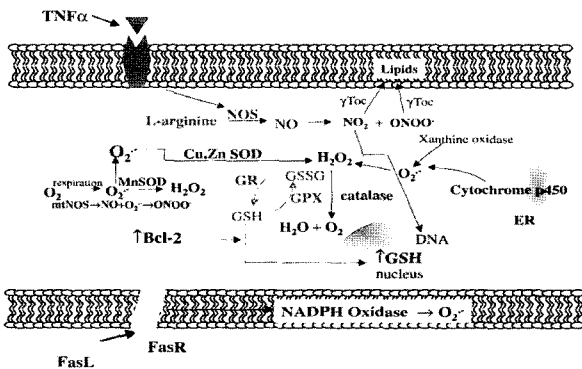
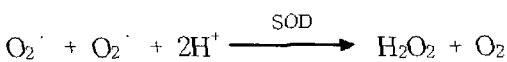


Fig. 1. Intracellular sources of ROS and principle defence mechanisms(Curtin et. al., 2002).

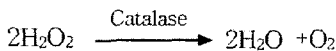
산화 개시를 가능하게 한다.

활성산소에 대한 방어 메커니즘

위에서 활성산소는 호기적 대사 같은 정상적인 상태에서 계속해서 생성되며 반응성이 매우 크기 때문에 비선택적으로 세포에 손상을 준다고 언급하였다. 이에 대하여 생물은 활성산소에 방어하기 위하여 효소적 그리고 비효소적 항산화 메커니즘을 가지고 있어 활성산소의 수치를 세포에 유해하지 않도록 최소한으로 줄여준다. 박테리아에서의 항산화 메커니즘은 *E. coli*와 *Salmonella typhimurium*(Farr and Kogoma, 1991)에서 잘 연구되어 있다. 활성산소에 대한 효소적 항산화 작용은 활성산소가 세포 내 물질에 손상을 주기 전에 제거함으로써 산화적 손상에 대하여 직접적으로 방어하는 작용을 포함한다. 이들 항산화 효소에는 SOD, glutathione peroxidase, catalase 및 thriodoxin reductase가 있다. SOD는 Mn-SOD, Cu-SOD, Zn-SOD 그리고 Ni-SOD로서 금속결합에 따라 4개의 그룹으로 나눈다(Nakayama, 1992). SOD는 $O_2^{\cdot -}$ 에 대항하는 첫 번째 효소로서 $O_2^{\cdot -}$ 을 H_2O_2 로 변환시켜 세포 내 $O_2^{\cdot -}$ 의 농도를 줄여준다.



$O_2^{\cdot -}$ 로부터 SOD 작용에 의하여 생성된 H_2O_2 자체도 세포 내 중요한 활성산소로서 낮은 농도로도 세포는 소멸된다(Hampton and Orrenius, 1997). SOD 작용에 의하여 활성산소인 H_2O_2 가 생성되지만 H_2O_2 는 $O_2^{\cdot -}$ 보다 독성이 약하며 매우 빠르게 분해되므로 세포에는 유익하다. 이와 같이 생성된 H_2O_2 에 대한 첫 번째 방어 메커니즘은 catalase(Michiels et al., 1994)로서 H_2O_2 제거에 catalase가 가장 효과적인 효소 중 하나로서 산화적 손상으로부터 세포를 보호(Bai et al., 1999)하고 세포의 apoptosis에 대하여 저항한다(Tome et al., 2001).



Catalase는 매우 빠른 속도로 H_2O_2 를 파괴시킨다. *E. coli*의 경우 2가지의 catalase가 서로 다른 장소인 periplasm과 cytoplasm에서 발견되었는데(Heimberger and Eisenetark, 1988), 이렇게 다른 장소에서 발견되는 이유는 H_2O_2 의 생성 원인이 매우 다양하기 때문이다. Peroxidase도 H_2O_2 를 제거할 수 있으나 catalase와는 달리 NADH, NADPH를 필요로 한다(Condon, 1987).

Glutathione(GSH)는 활성산소인 $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , H_2O_2 과 반응하여 안정한 glutathione radical($GS^{\cdot -}$)을 형성한다. GSH은

glutathione synthetase에 의하여 합성되는 tripeptide(γ -Glu-Cys-Gly)로서 활성산소의 소거작용뿐만 아니라 세포 조절작용을 하여 세포 내 존재하는 가장 중요한 방어 메커니즘으로 여겨지고 있다(Loewen, 1979). *Streptococcus mutans*에서 glutathione의 증가는 산화적 스트레스에 방어하기 위한 것이다(Fahey, 1978).

효소적 물질이 활성산소에 대하여 더 직접적일 수 있으나 비효소적 항산화제를 생산함으로써도 가능할 것으로 여겨지고 있다(Farr and Kogoma, 1991).

Glutathione, thioredoxine 같은 다양한 비효소적 항산화제는 세포 내에서 어떤 활성산소의 중간매체로서 산화적 스트레스 제거에 더욱 중요할 것으로 생각되고 있다(Mager and Kruiff, 1995). 작은 분자인 glutathione 같은 것은 활성산소에 대한 세포 내 완충작용을 하여 산화적 손상에 대하여 방어를 더 좋게 하며(Reed, 1990), 뿐만 아니라 vitamin A 같은 지질성계 항산화제가 존재하여 활성산소 중간물질을 제거한다(Ingold et. al., 1987; Buettner, 1993).

결과적으로 많은 항산화작용은 세포 내 산화적 스트레스를 줄이기 위한 것으로서 SOD는 $O_2^{\cdot -}$ 를 H_2O_2 로 바꾸고 이것은 catalase나 다른 glutathione의 의존 하에 물로 재합성된다(Fig. 2).

항산화제 연구 동향

항산화제에 대한 연구는 1969년 McCord와 Fridovich가 superoxide radical을 소거하는 효소인 SOD를 발견한 것을 계기로 생체 내 활성산소의 발생, *in vivo*에서 독성 및 방어·소거 메커니즘 등에 관하여 관심을 갖게 되면서 본격적으로 시작되었다. 주로 식품첨가물로서의 항산화제 개발을 위한 연구에서 최근에는 활성산소가 각종 질병 및 노화 등에 직접적인 원인으로 작용한다는 사실이 밝혀지면서 노화억제 및 질병치료제로서의 항산화제를 찾으려는 연구로 전환되고 있다.

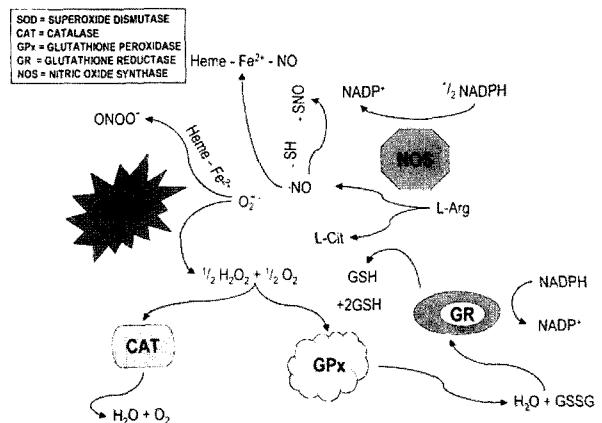


Fig. 2. Antioxidant system(Mruk et. al., 2002).

지금까지 개발되어 사용되고 있는 항산화제로는 tert-butylhydroxytoluene(BHT)이나 tert-butylhydroxyanisole(BHA) 등과 같은 합성 항산화제, α -tocopherol, vitamin C, carotenoids, flavonoids와 탄닌 등과 같은 일부 천연항산화제 및 SOD와 같은 항산화효소이다. 그런데 이들 항산화제는 독성, 저활성 및 용도의 한계성 등으로 인하여 사용에 제한을 받고 있다. 따라서 보다 안전하고 강한 항산화제를 천연물 또는 미생물 대사산물로부터 얻고자 하는 연구가 활발하게 진행 중에 있다. 항산화제의 대상은 지질과산화 생성 억제물질에서 생체 내에서 산화적 피해의 직접적인 원인이 되는 free radical 및 활성산소 생성 자체를 억제하는 예방적 항산화물질로 확산되고 있으며, SOD와 같은 고분자물질과 합성항산화제에서 실용성이 크고 안전한 저분자 천연항산화제로 연구의 방향이 전환되고 있다. 또한 산화적 손상 및 이로부터 유발되는 갖가지 질병으로부터 생물을 보호하기 위한 방어 기구로서 천연항산화물질들의 규명과 항산화 방어 메커니즘 및 이들 항산화제들의 유전자발현 및 세포조절에 대하여 연구가 진행되고 있다.

국내에서의 항산화제 개발 연구는 대부분 식품소재를 재료로 하여 항산화활성의 유무 및 강도를 측정하고 식품의 보호제로서 항산화제의 이용에 국한되어 왔으며, 천연으로부터 항산화제 탐색은 1992년부터 시작되어 미생물 대사산물 등 다양한 새로운 항산화물질에 대한 연구가 본격적으로 시작되었다. 현재 항염증제, 뇌신경세포보호제, 피부노화방지제 및 식품첨가물의 개발을 목적으로 연구가 이루어지고 있다. 천연항산화제 탐색을 위한 재료로는 미생물 대사산물을 비롯하여 버섯류, 조류 등의 해양생물과 동·식물성 식품의 가수분해물 등 매우 다양하다.

유산균의 항산화 작용

유산균의 항미생물 효과는 유산균에 의해 생성된 활성산소에 의한 것으로 이러한 특성은 식품 보존에 중요한 역할을 하여왔다(Dahiya and Speck, 1968). 과도하게 생성된 활성산소에 의한 산화적 스트레스를 줄이기 위한 효과적인 방법은 활성산소를 제거하는 것으로서 살아있는 생물은 산화적 스트레스를 감소시키기 위하여 항산화 물질을 생산하여 스스로를 보호한다.

그 동안 유산균의 항산화 효과는 주로 SOD나 세포 내 Mn^{2+} 농도에 관하여 다루어져 왔으며(Archibald and Fridovich, 1981), 활성산소는 *Lactococcus lactis*의 Mn-SOD에 의하여 비독성화되었다(Zitzelsberger et al., 1984). 이 효소의 활성은 배지내 O_2 함량이 증가할 수록 높아졌다(Smart and Thomas, 1987). 그러나 SOD는 열처리에 의하여 활성이 소실

되며(Lingnert et al., 1989), *Listeria monocytogenes*가 생산하는 SOD 또한 $45^\circ C$ 이상 온도에서 불활성화되었다(Zemser and Martin, 1998). Akaike 등 (1992)은 peroxy radical에 대한 미생물의 항산화 작용은 Cu, Zn-SOD에 의한 것이 아니라 α -tocopherol과 L-ascorbate에 의한 저해라고 보고하여 비효소적 항산화 물질의 중요성을 나타내었다. 비효소적 항산화 물질은 생물체에서 hydroxy radical을 분해할 수 있으며, 미생물은 NADH, NADPH, glutathione 및 uric acid 같은 항산화제를 생산하며 ascorbate와 α -tocopherol은 대표적인 수용성, 지용성계 항산화제로서 최근에는 열에 안정한 저분자 물질인 비효소적 항산화제에 대한 관심이 증가하고 있다.

Lactobacillus sp. SBT 2028은 *in vivo*에서 항산화 효과를 가지며 인체 내 활성산소 축적을 감소시켜 준다고 보고되는(Kaizu et al., 1993) 등 유산균의 여러 가지 활성산소에 대한 제거능력이 보고되었다(Sanders et al., 1995; Ahotupa et al., 1996; Korpela et al., 1997). 그러나 유산균의 항산화 효과에 대한 체계적인 연구는 많지 않다.

일반적으로 항산화 활성의 측정은 지질의 과산화 억제가 일반적으로 사용되고 있다. 사용되는 지질로는 linoleic acid(Wanasundara et al., 1994), methyl linoleate(Bertelsen et al., 1995), 그리고 arachidonic acid(Husain et al., 1987)이다. Hydroperoxide는 지질산화의 1차 산물로서 독성이 강하고 DNA를 손상시킬 수 있다(Baker and He, 1991; Shertzer et al., 1992). Malondialdehyde는 지질산화의 2차 산물로서 반응성이 크며 단백질과 DNA 같은 생체분자 손상의 원인으로(Aubourg, 1993), 세포가 malondialdehyde에 노출되었을 때 세포 형태 변화와 단백질합성 능력이 감소하였다(Gardner, 1975). Ahotupa 등(1996)은 *Lactobacillus* GG가 *in vitro*에서 지질산화를 억제하였다고 보고하였으며, *B. longum*, *L. acidophilus*는 28~48%의 지질과산화 억제 효과를 나타내었다(Lin and Chang, 2000).

금속이온은 지질산화를 개시하고 peroxy radical과 alkoxy radical을 주어 hydroperoxide를 재합성한다(Halliwell and Gutteridge, 1984; Halliwell et al., 1995). 유산균의 이온제거 효과를 조사한 결과 *S. thermophilus*는 Fe^{2+} , Cu^{2+} 에 대하여 제거 효과가 높았다(Lin and Yen, 1999).

유산균의 H_2O_2 제거능력은 다양하여 *Bifidobacterium infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis* 및 *B. longum*의 NADH peroxide는 H_2O_2 를 분해하였다(Knauf et al., 1992; Shimamura et al., 1992). *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* DIP15는 항산화효과를 나타내었으며 열처리 후에도 안정하였다(Stecchini et al., 2001). *Lactobacillus sake* 또한 항산화 효과를 나타내었다(Amanatidou et al., 2001). 유아의 장에서 분리한 *L. fermentum*은 OH^\cdot 제거능력이 높았다(Kullisaar et.

al., 2002).

이와 같이 유산균은 효소적 그리고 비효소적 메커니즘을 통하여 활성산소에 대하여 방어 및 소거작용을 한다. 이들 항산화 작용을 갖는 유산균은 인간의 활성산소 축적의 위험으로부터 보호해 줄 수 있을 것으로 생각되며, 항산화 활성이 높은 유산균의 탐색뿐만 아니라 식품용으로 허용되는 유전공학 기법을 이용한 활성산소 제거 능력이 우수한 형질 전환 유산균의 생산은 산업적 적용이 유효하다고 생각된다.

요 약

최근 항산화제 연구는 식품, 의약품, 농업분야 등 다방면에서 이용될 수 있기 때문에 많은 산업적 효과를 기대할 수 있다. 특히 지금까지 알려진 항산화제가 약한 활성, 독성 및 사용상의 한계로 인하여 사용하는데 있어서 많은 문제점을 내포하고 있다. 따라서 천연으로부터 보다 안전하고 강한 활성을 지닌 천연항산화제의 개발이 요구된다. 활성산소 제거 능력이 향상된 유산균은 식품산업에 중요하며 인간 장내 외 인성, 내인성 산화적 스트레스 제거에 중요하다고 생각된다. 따라서 유산균을 이용한 항산화제의 고부가가치 창출을 위해서는 생물학적 기능연구 및 질병모델계에서의 효능평가가 이루어져야 하며 항산화제의 효능검정 및 항산화제 작용 메커니즘 등 다양한 방면의 연구가 병행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Ahotupa, M., Saxelin, M., and Korpela, R. (1996) Antioxidative properties of *Lactobacillus* GG. *Nutr. Today*(Suppl.) **31**, 51S-52S.
- Akaike, T., Sato, K., Ijiri, S., Miyamoto, Y., Kondo, M., Ando, M., and Maeda, H. (1992) Bactericidal activity of alkyl peroxy radicals generated by heme-iron-catalyzed decomposition of organic peroxides. *Arch. Biochem. Biophys.* **294**, 55-63.
- Amanatidou, A. E., Smid, J., Bennik, M. H. J., and Gorris, L. G. M. (2001) Antioxidative properties of *Lactobacillus sake* upon exposure to elevated oxygen concentrations. *FEMS Microbiol. Lett.* **203**, 87-94.
- Archibald, F. S. and Fridovich, I. (1981) Manganese, superoxide dismutase and oxygen tolerance in some lactic acid bacteria. *J. Bacteriol.* **146**, 928-936.
- Aubourg, S. P. (1993) Review: interaction of malondialdehyde with biological molecules-new trend about reactivity and significance. *Int. J. Food Technol.* **28**, 323-335.
- Bai, J., Rodriguez, A. M., Melendez, J. A., and Cedersbaum, A. I. (1999) Over expression of catalase in cytosolic or mitochondrial compartment protects HepG2 cells against oxidative injury. *J. Bio. Chem.* **274**, 26217-26224.
- Baker, M. A. and He, S. Q. (1991) Elaboration cellular DNA break by hydroperoxides. *Free Radic. Bio. Med.* **11**, 563-572.
- Bertelsen, G., Christophersen, C., Nielsen, P. H., Madsen, H. L., and Stadel, P. (1995) Chromatographic isolation of antioxidants guided by a methyl linoleate assay. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 1272-1275.
- Boveris, A. and Chance, B. (1973) The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem. J.* **134**, 707-716.
- Buettner, G. R. (1993) The packing order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* **300**, 535-534.
- Commoner, B., Townsend, J., and Pake, G. E. (1954) Free radicals in biological materials. *Nature* **174**, 689-691.
- Condon, S. (1987) Response of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiol. Rev.* **46**, 269-280.
- Curtin, J. F., Donovan, M., and Cotter, T. G. (2002) Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J. of Immunol. Methods* **265**, 49-72.
- Dahiya, R. S. and Speck, M. L. (1968) Hydrogen peroxide formation by *lactobacilli* and its effect on *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.* **51**, 1568-1572.
- Fahey, R. C., Brown, W. C., Adams, W. B., and Worsham, M. B. (1978) Occurrence of glutathione in bacteria. *J. Bacteriol.* **133**, 1126-1129.
- Farr, S. B. and Kogoma, T. (1991) Oxidative stress response in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Microbiol. Rev.* **55**, 561-585.
- Floyd, R. A. (1990) The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis* **11**, 1447-1450.
- Fridovich, I. (1989) Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* **264**, 7761-7764.
- Gardner, H. W. (1975) Decomposition of linoleic acid hydroperoxides. *J. Agric. Food Chem.* **23**, 129-136.
- Gardner, P. and Fridovich, I. (1991) Superoxide

- sensitivity of the *Escherichia coli* 6-phosphogluconate dehydratase. *J. Biol. Chem.* **266**, 1478-1483.
21. Gille, J. J., Van Berkel, C. G., and Joenje, H. (1994) Mutagenicity of metabolic oxygen radicals in mammalian cell cultures. *Carcinogenesis* **15**, 2695- 2699.
 22. Halliwell, B. (1987) Oxidant and human disease: Some new concepts. *FASEB J.* **1**, 358-364.
 23. Halliwell, B. (1999) Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutat. Res.* **443**, 37-52.
 24. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* **219**, 1-14.
 25. Halliwell, H. S., Murica, S., Chrigo, S., and Aruoma, O. I. (1995) Free radical and antioxidants in foods: what do they and how do they work. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **35**, 7-20.
 26. Hampton, M. D. and Orrenius, S. (1997) Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: implications for apoptosis. *FEBS Lett.* **414**, 552-556.
 27. Heimberger, A. and Eisenstark, A. (1988) Compartmentalization of catalase in *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **154**, 392-397.
 28. Husain, S. R., Gillard, J., and Gillard, P. (1987) α -Tocopherol prooxidant effect and malondialdehyde production. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **64**, 109-111.
 29. Imlay, J. A. and Fridovich, I. (1991) DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction *in vivo* and *in vitro*. *Science* **240**, 640-642.
 30. Imlay, J. A. and Linn, S. (1988) DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* **240**, 1302-1309.
 31. Ingold, K. U., Webb, A. C., Witter, D., Burton, G. W., Metcalfe, T. A., and Muller, D. P. R. (1987) Vitamin E remain the major lipid-soluble, chain breaking antioxidant in human plasma even in individuals suffering vitamin E deficiency. *Arch. Biochem. Biophys.* **259**, 224-225.
 32. Kaizu, H., Sasaki, M., Nakajima, H., and Suzuli, Y. (1993) Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient in vitamin E. *J. Dairy Sci.* **76**, 2493-2499.
 33. Knauf, H. J., Vogel, R. F., and Hammes, W. P. (1992) Cloning, sequence, and phenotype expression of *kata*, which encodes the catalase of *Lactobacillus sake* LTH677. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 832-839.
 34. Korpela, R., Peuhkuri, K., Lähtenmäki, T., Sievi, E., Saxelin, M., and Vapaatalo, H. (1997) *Lactobacillus rhamnosus* GG shows antioxidative properties in vascular endothelial cell culture. *Milchwissenschaft* **52**, 503-505.
 35. Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C., and Kilk, A. (2002) Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *Intl. J. Food Microbiol.* **72**, 215-224.
 36. Lin, M. Y. and Chang, F. J. (2000) Antioxiative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium logum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. *Diges. Diseases and Sci.* **45**, 1617-1622.
 37. Lin, M. Y. and Yen, C. L. (1999) Inhibition of lipid peroxidation by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium logum*. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3661-3664.
 38. Lingnert, H., Åkesson, G., and Eriksson, C. E. (1989) Antioxidant effect of superoxide dismutase from *Saccharomyces cerevisiae* in model system. *J. Agric. Food Chem.* **37**, 23-28.
 39. Loewen P. C. (1979) Levels of glutathione in *Escherichia coli*. *Can J. Biochem.* **57**, 107-111.
 40. Mager, W. H. and De Kruijff, A. J. J. (1995) Stress-induced transcriptional activation. *Microbiol. Rev.* **59**, 506-531.
 41. McCord, J. M. and Fridovich, I. (1969) Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte cuprein (chemocuprein). *J. Bio. Chem.* **244**, 6049-6055.
 42. Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., and Remacle, J. (1994) Importance of SE-glutathione peroxidase, catalase, and CU/ZN SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic. Bio. Med.* **17**, 235-248.
 43. Mruk, D. D., Silvestrini, B., Mo, M. Y., and Cheng C. Y. (2002) Antioxidant superoxide dismutase a review: its function, regulation in the testis and role in male fertility. *Contraception* **65**, 305-311.
 44. Nakayama, K. (1992) Nucleotide sequence of *Streptococcus mutans* superoxide dismutase gene and isolation of insertion mutants. *J. Bacteriol.* **174**, 4928-4934.
 45. Reed, D. J. (1990) Glutathione: Toxicological implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **30**, 603-631.
 46. Sanders, J. W., Leehouts, K. J., Haandrikman, A. J.,

- Venema, G., and Kok, J. (1995) Stress response in *Lactococcus lactis*: cloning, expression analysis and mutation of the lactococcal superoxide dismutase gene. *J. Bacteriol.* **177**, 5254-5260.
47. Simic, M. G. (1988) Mechanism of inhibition of free-radical processed in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat. Res.* **202**, 377-386.
48. Shertzer, H. G., Bannenberg, G., and Mold, P. (1992) Evaluation of iron binding and peroxide-mediated toxicity in rat hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* **44**, 1367-1373.
49. Shimamura, S., Abe, F., Ishibashi, N., Miyakawa, H., Yaeshima, T., Araya, T., and Tomita, M., (1992) Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of *Bifidobacterium* species. *J. Dairy Sci.* **75**, 3296-3306.
50. Smart, J. B. and Thomas, T. D., (1987) Effect of oxygen on lactose metabolism in lactic streptococci. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 533-541.
51. Stadtman, E. R. and Berlett, B. S. (1991) Fenton chemistry, Amino acid oxidation. *J. Bio. Chem.* **266**, 17201-17211.
52. Stecchini, M. L., Torre, M. D., and Munari, M. (2001) Determination of peroxy radical scavenging of lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **64**, 183-188.
53. Tome, M. E., Baker, A. F., Powis, G., Payne, C. M., and Briehl, M. M. (2001) Catalase-overexpressing thymocytes are resistant to glucocorticoid-induced apoptosis and exhibit increased net tumor growth. *Cancer Res.* **61**, 2766-2773.
54. Wanasundara, U., Amarowicz, R., and Shahidi, F. (1994) Isolation and identification of an antioxidative component in canola meal. *J. Agric. Food. Chem.* **42**, 1285-1290.
55. Zemser, R. B. and Martin, S. E. (1998) Heat stability of virulence associated enzymes from *Listeria monocytogenes* SLCC 5764. *J. Food. Prot.* **61**, 899-902.
56. Zitzelsberger, W., Götz, F., and Schleifer, K. H. (1984) Distribution of superoxide dismutases oxides and NADH peroxides and various streptococci. *FEMS Microbiol. Lett.* **21**, 243-246.

(2003. 3. 4 접수 ; 2003. 4. 28 채택)