

Isoflavone 비배당화 및 항산화 활성을 지닌 *Lactobacillus plantarum* YS712의 선발

조윤희 · 임지영¹ · 김화영² · 홍성길² · 황성주² · 박동준³ · 오세종*

전남대학교 동물자원학부, ¹국민대학교 식품영양학과, ²(주)이룸, ³한국식품연구소

Isolation and Partial Characterization of Isoflavone Transforming *Lactobacillus plantarum* YS712 for Potential Probiotic Use

Yoon Hee Cho, Jee-Young Imm¹, Hwa Young Kim², Seong Gil Hong²,
Sung Joo Hwang², Dong-Jun Park³, and Sejong Oh*

Division of Animal Science, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

¹Department of Foods & Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

²Erom Co., Ltd., Gyeonggi-do 464-828, Korea

³Korea Food Research Institute, Gyeonggi-do 463-746, Korea

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) are typical probiotic microbes that are used in various industries including fermented foods, feed additives, and pharmaceuticals. The purpose of this study was to compare the ability of isoflavone biotransformation and antioxidative activity of 17 LAB. Six strains including the *Lactobacillus* species exhibited a 100% hydrolysis rate for daidzein during fermentation. The content of total genistein in soymilk fermented with these strains was 872-943 µg/g. The DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging ability of the LAB was widely variable and ranged from 23-78%. A selected strain was isolated from kimchi and the strain was identified as *Lactobacillus plantarum* ssp. through the API carbohydrate fermentation pattern and 16S rDNA profile. The strain exhibited excellent acid tolerance in an artificial gastric solution. *L. plantarum* YS712 showed high β-glucosidase activity in fermentation. The concentration of genistein and daidzein in soymilk fermented with *L. plantarum* YS712 increased from 3.64 to 917.3 µg/g and from 58.18 to 1062.17 µg/g, respectively. These results demonstrate the potential of *L. plantarum* YS712 as a probiotic culture that can be utilized in the manufacturing of fermentation foods and dietary supplements.

Key words: isoflavone, acid tolerance, daidzein, genistein, antioxidative, probiotics

서 론

유산균은 발효를 통해 젖산 및 여러 가지 대사산물을 생산하는 미생물로 각종 발효 식품, 의약품, 사료 첨가제 등의 제조에 광범위하게 이용되고 있으며, 최근에는 건강 증진 및 질병 예방의 특징을 가지는 probiotics 균주의 연구와 응용이 증가하고 있다(Fuller, 1989). 또한, *E. coli* 및 *Salmonella* 등의 병원균을 억제하여 장 질환이나 내인성 질병을 감소시키며(Dunham 등, 1993) *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*에 대해 일부 유산균

이 항균력을 나타낸다고 보고되었다(Kim *et al.*, 2004). *Lactobacillus* 및 *Bifidobacterium* 속 미생물들은 대표적으로 이용되는 유산균으로 과거에는 주로 우유를 이용하여 유산균 발효음료로서 제조하여 왔다. 최근에는 캡슐, 타블렛, 동결건조제품 등 다양한 형태의 건강기능식품 수요가 증가하면서 인삼, 콩, 쌀, 감자, 양배추, 알로에, 매실, 한약재, 녹차, 비타민 A와 C 등 다양한 식품소재를 이용하여 혼합 발효하거나 또는 발효유에 첨가하여 식품의 기능성 강화는 물론 관능적 품질을 향상시킨 발효식품으로 개발하려는 시도가 이루어지고 있다(Kim and Han, 2005; Lee and Park, 2003; Shah, 2006).

대두는 뛰어난 영양성분 및 다양한 생리활성물질들의 기능이 밝혀지면서 요구르트 등의 발효식품에 적용시키기 위한 연구가 진행되어 왔다(Lee *et al.*, 2008; Lee and Oh,

*Corresponding author : Sejong Oh, Division of Animal Science, Chonnam National University, Gwangju, 500-757, Korea. Tel: 82-62-530-2116, Fax: 82-62-530-2129, E-mail: soh@chonnam.ac.kr

1999). 다른 식물체와 마찬가지로 대두에는 당 성분이 혼합되어 있는 aglycone 형태의 배당체가 존재하는데 대표적인 물질이 isoflavone이다. Isoflavone은 phytoestrogen이라 불리며, 체내에 활성물질로 일컫는 것이 daidzein과 genistein이다. 배당체 형태로 존재하고 있는 isoflavone은 위산과 장내 미생물 효소인 β -glucosidase에 의하여 유리된 형태 즉, 비배당화 형태의 daidzein과 genistein 등으로 전환되어 장에서 흡수되는 것이다. 최근 보고에 의하면 genistein은 강한 항암 작용을 하는 것으로 확인되었다(Adlercreutz *et al.*, 1987; Adlercreutz *et al.*, 1992; Adlercreutz, 1995; Shanma *et al.*, 1992; Wei *et al.*, 1993). 생리활성을 증진시키기 위한 비배당화 방법은 가수분해, 효소적 변화 그리고 미생물에 의한 비배당화를 들 수 있다. 특히 미생물에 의한 bioconversion은 epimerization, hydration, hydroxylation과 같은 부가반응이 적은 장점이 있다. 따라서 비배당화 미생물을 발효유제조에 응용한다면 장내 미생물로써 생리활성을 증진시킬 수 있는 가능성이 높을 것이다.

본 연구는 다양한 원천에서 분리한 유산균을 대상으로 isoflavone 배당체의 비배당화 활성을 비교하였으며, 유산균의 내산성 및 DPPH(1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거 활성을 평가하여 산업적 이용가치가 있는 유산균을 선발하고자 수행하였다.

재료 및 방법

유산균의 선발 및 보관

김치, 쇠고기 분쇄육, 산양유, 원유 및 신생아의 분변을 시료로 사용하여 bromocresol purple 0.004%를 첨가한 MRS agar(Difco, USA)에 평판도말법으로 도말하고 혐기 상태에서 37°C, 48시간 동안 배양한 다음 노란색 집락을 띄는 균주들을 선택하여 순수 분리하였다. 선발된 균주는 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 및 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology에 따라 그람 염색, 5°C 및 45°C에서의 성장 유무, catalase 및 oxidase test, gas 형성 등을 조사하였다. 유산균의 보존을 위해 모든 균주를 MRS broth에 3회 계대 배양한 후, 원심분리(3,000 g, 20 min)한 다음 cell pellet에 skim milk(10%), glucose(1%), yeast extract(0.2%)가 함유된 배지를 제조하여 혼합하였다. 이것을 vial에 1 mL씩 분주하여 동결건조하고 -80°C의 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

Isoflavone류 전환 활성 시료제조

배양실험은 성연식품(논산시, 충남)에서 제조한 두유액을 공급받아 실시하였다. 멸균 두유액 mL 당 10⁶ 수준으로 유산균을 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 다음 이를 원심 분리하여 상등액을 취하여 0.45 μ m filter(Pall,

USA)로 여과한 후 동결 건조시켰다.

Isoflavone의 추출 및 HPLC 정량

시료로부터 isoflavone을 추출하기 위하여 동결 건조된 시료 0.4 g에 100% acetonitrile 10 mL와 0.1 N HCl 2 mL를 첨가하고 실온에서 2시간 동안 교반한 후 760 g에서 20분간 원심 분리하여 상등액 8 mL를 회수하였다. 회수된 시료에 80% methanol을 첨가하여 최종 volume이 50 mL가 되도록 정용한 후 0.45 μ m PTEE syringe filter로 여과한 시료를 HPLC column에 주입하였다. Isoflavone 분석은 Tsangalis 등(2002)의 방법을 변형하여 다음과 같이 수행하였다. 시료의 분석은 역상 HPLC(Jasco PU2089, Tokyo, Japan)를 이용하여 C18 column(size ϕ 4.6 mm \times 250 mm)을 사용하였으며, 이동상으로는 0.1% acetic acid를 함유한 증류수(HPLC grade, 용매 A)와 0.1% acetic acid를 함유한 acetonitrile (HPLC grade, 용매 B)을 사용하였으며 용매 A를 15%에서 시작하여 50분간 35%로 상승시킨 후 10분간 35%로 유지하였다. 이동상의 유속은 1 mL/min이었으며 254 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Isoflavone 분석을 위한 표준물질로 daidzein, genistein을 사용하였으며, daidzein은 Wako(Wako Pure Chemical, Japan) 제품을 사용하였고, genistein은 Sigma(Sigma Chemical Co., USA) 제품을 구입하여 사용하였다. Isoflavone함량은 표준물질을 이용하여 표준검량곡선을 작성한 후 계산하였으며 분석결과는 3반복 측정 평균치와 표준편차로 나타내었다.

선발 유산균의 genomic rDNA 추출

유산균은 MRS broth에 접종한 다음 37°C에서 18시간 2차 계대 배양하여 배양액 2 mL을 8,000 rpm에서 1분 동안 원심분리 하였다. 원심분리 하여 얻은 세포 침전물은 0.85% NaCl로 2회 세척하였다. 세척 후, lysozyme(10 mg/mL) 0.5 mL을 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 처리하였다. Protease K(10 mg/mL) 20 μ L와 10% sodium dodecyl sulfate(SDS) 25 μ L를 첨가한 후, 60°C에서 30분 처리하였다. 동량의 phenol-chloroform-isoamyl alcohol(25:24:1)을 첨가하여 현탁한 후, 14,000 rpm으로 5분 동안 4°C에서 원심분리 하여 상층액만 취한 다음 다시 반복하였다. 상층액 양의 1/2 volume의 3 M ammonium acetate(pH 4.8)와 2 volume의 100% alcohol를 첨가하고 -20°C에서 1시간 정지하였다. 14,000 rpm으로 5분 동안 4°C에서 원심분리 하여 세포 침전물을 확인하고, 상등액을 완전히 제거한 후에 70% ethanol 1 mL을 넣고 다시 14,000 rpm으로 5분 동안 4°C에서 원심분리 하였다. 상등액 제거 후, 증류수 100 μ L를 넣고 잘 녹여준 다음, RNase A(10 mg/mL) 1 μ L를 첨가하고 37°C에서 1시간 처리하였다.

선발 유산균의 동정

선발된 유산균을 동정하기 위하여 당 발효성과 16S rDNA 염기서열을 분석하였다. 분리한 genomic DNA로부터 16S rDNA를 증폭시키기 위해 PCR premix(Cat No. K-2012, Bioneer, Korea)를 사용하였다. PCR premix에 증류수 17 µL와 forward primer 1 µL, reverse primer 1 µL, DNA 1 µL를 첨가하여 혼합한 후 증폭하였다. Primer는 341F(5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CCG CCC CCG CCC CCC TAC GGG AGG CGA CAG-3')와 534R(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3')을 사용하였고, 증폭된 16S rDNA의 정제는 PCR product purification kit(Intron, Korea)를 사용하여 정제하였다. 염기서열 분석은 바이오닉스(www.bionicsro.co.kr)에서 분석하였으며 plasmid DNA를 추출하여 ABI BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing kits를 이용하여 PCR을 실시한 후 정제하였다. 정제한 시료는 ABI 3730xl DNA analyzer(ABI, USA)를 통해 DNA를 분석하였으며 NCBI blast search(www.ncbi.nlm.nih.gov)를 이용하여 sequence 결과를 확인하였다.

당 발효성을 분석하기 위하여 API 50 CH kit(Biomerieux, France)를 사용하였다. 유산균을 MRS broth에 37°C, 18시간 배양한 다음 MRS agar에 도말하였다. 집락을 취해서 당을 함유하지 않은 minimal BCP 배지에 취한 후, 2 McFarland로 탁도를 맞춘 다음 API 50 CH kit에 접종하여 37°C에서 48시간 동안 배양하여 색을 판정하였다.

선발 유산균의 내산성 평가

유산균의 내산성은 Sim 등(1995)의 방법을 이용하여 다음과 같이 평가하였다. pH를 2.0, 3.0 및 3.5로 조정된 MRS broth에 pepsin을 1000 unit/mL이 되도록 첨가하여 내산성 측정용 배지로 사용하였다. 선발 유산균은 MRS 배지에서 2회 이상 계대하여 활력을 높인 다음 10⁶/mL 수준으로 첨가하여 37°C에서 120분간 배양한 다음 0.2 M phosphate buffered saline(pH 7.2)에 희석하여 집락수를 계수하였다.

선발 유산균의 DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능 평가

선발 유산균의 DPPH 라디칼 소거능은 Blois(1985)의 방법으로 측정하였다. DPPH 16 mg을 100 mL 에탄올에 녹인 후 여과지로 여과하고 냉암소에 보관하였다. 조제한 DPPH 용액 0.8 mL에 에탄올 적당량(2-3 mL)을 가하고 10 초 동안 강하게 진탕하여 spectrophotometer의 흡광도 값이 0.95-0.99가 되도록 에탄올의 양을 조정하였다. 시료 용액 0.2 mL을 취하여 앞에서 조절된 적정량의 에탄올과 DPPH용액 0.8 mL를 가하여 10초 동안 강하게 진탕하여 10분 동안 방치하고 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대

조구로는 대표적인 항산화 물질인 1 mM Ascorbic-acid를 사용하였으며 다음의 식을 이용하여 라디칼 소거능을 계산하였다.

DPPH 라디칼 소거능(%)

$$= (1 - \text{시료의 흡광도} / \text{대조군 흡광도}) \times 100$$

결과 및 고찰

Isoflavone 비배당화 활성

시료 내에 존재하는 isoflavone의 대표적 형태는 대조군에서 관찰된 바와 같이 배당체 형태인 daidzein과 genistein으로 나타났으며 시료 g당 각각 3.2 및 2.1 mg 수준으로 존재하였다(Table 1). 비배당체 형태인 daidzein과 genistein은 각각 동일한 배당체 형태의 1.8, 0.2% 수준으로서 미미한 수준이었다. 다양한 균주를 이용하여 18시간 배양한 후 시료 내에 존재하는 isoflavone의 형태를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 배양과정 중 높은 수준의 β-glucosidase 활성을 보인 균주는 *Enterococcus* sp. 77, *Lactobacillus paracasei*, *L. plantarum* ssp. 712, *L. brevis* ATCC 8287, *Lactococcus* sp. KU107, *L. acidophilus* KCNU, *L. plantarum* L155 등으로 나타났으며 이들 균주는 daidzein의 약 32-33%, genistein의 42-45% 정도를 비배당체의 형태로 전환시키는 것으로 확인되었다.

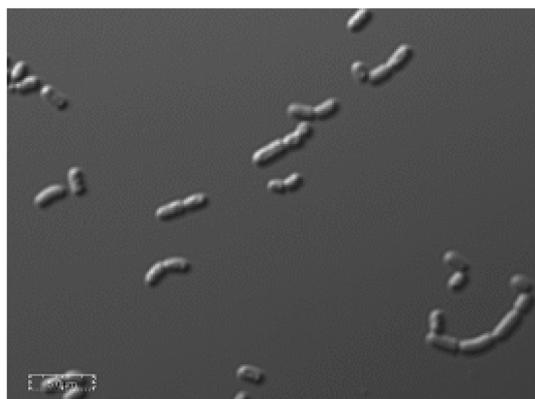
Choi 등(1999)은 *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, *Lactococcus lactis*로 두유를 발효시킬 때 daidzein의 99.8-104.7%, genistein의 95.3-106.1%가 가수분해된다고 보고하였다. Chien 등(2006)은 두유에 유산균과 bifidobacteria를 동시에 접종하여 발효시키면 aglycone의 가수분해가 촉진된다고 하였다. Mastsuda 등(1994)은 *L. casei* subsp. *ramnosus*의 β-glucosidase가 세포에 결합한 상태로 존재하여 isoflavone 배당체의 가수분해에 관여한다고 하였다. 유산균에 의한 비배당화 활성은 유산균의 종류에 따라 다양하며, β-glucosidase의 활성과 밀접하게 관련되어 있다. β-glucosidase는 *Lactobacillus*, *Bacteriodes*, *Bifidobacterium* 속 미생물이 생산할 수 있으며, 장내세균은 아니지만 요구르트 제조에 많이 사용되는 *Streptococcus thermophilus* 등의 유산균이 생산하는 것으로 알려져 있다(Chien *et al.*, 2006). 따라서 isoflavone의 전환능력이 높은 유산균을 발효유제조에 응용한다면 isoflavone 류의 생리적 활성을 증진시킬 수 있는 장점이 있을 것이다.

선발 유산균의 동정

Table 1의 결과를 기초로 isoflavone 전환 능력을 평가하여 우수한 유산균을 선발하였는데 *Enterococcus* 속들은 lactose 발효성이 낮아 후보에서 제외시켰고, 비배당화 daidzein과 genistein으로의 전환 활성이 높게 나타난

Table 1. Concentration of isoflavone isomers ($\mu\text{g/g}$) in soymilk fermented by various lactic acid bacteria

Sample	Isoflavone ($\mu\text{g/g}$)			
	Glycoside		Aglycone	
	Daidzein	Genistin	Daidzein	Genistein
Control	3232.29 \pm 40.98	2080.60 \pm 15.34	58.18 \pm 1.17	3.64 \pm 1.32
<i>L. gasseri</i> ATCC 33323	2766.30 \pm 2.65	1556.00 \pm 4.63	166.70 \pm 15.36	246.04 \pm 5.62
<i>Pediococcus pentosaceus</i> ATCC 43200	3211.60 \pm 3.97	2034.74 \pm 2.28	59.82 \pm 1.02	12.56 \pm 1.10
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ATCC 10830	1453.77 \pm 10.36	814.94 \pm 11.71	599.89 \pm 1.33	734.48 \pm 8.35
<i>Enterococcus</i> sp. 77	-	576.95 \pm 4.13	1083.29 \pm 6.79	942.9 \pm 12.16
<i>Enterococcus</i> sp. S1	3196.137 \pm 4.82	2000.74 \pm 0.55	57.55 \pm 2.19	13.03 \pm 0.05
<i>L. plantarum</i> ATCC 8014	1567.56 \pm 6.17	1330.68 \pm 6.11	637.89 \pm 20.73	326.72 \pm 4.90
<i>L. paracasei</i>	-	582.13 \pm 2.30	1047.50 \pm 4.14	898.64 \pm 5.10
<i>Enterococcus</i> sp. 01	3165.06 \pm 41.40	2031.27 \pm 6.25	83.37 \pm 0.93	43.04 \pm 2.34
<i>L. plantarum</i> ssp. 712	-	591.61 \pm 2.78	1062.17 \pm 18.51	917.30 \pm 19.19
<i>Enterococcus</i> sp. S2	3198.30 \pm 11.86	2074.27 \pm 1.93	64.72 \pm 1.29	19.07 \pm 0.28
<i>L. brevis</i> ATCC 8287	123.13 \pm 4.95	564.10 \pm 2.32	1040.24 \pm 2.29	852.25 \pm 18.22
<i>Lactococcus</i> sp. KU107	-	577.79 \pm 1.89	1026.52 \pm 11.56	871.50 \pm 3.98
<i>Enterococcus</i> sp. S3	-	589.74 \pm 8.81	1088.50 \pm 67.03	892.95 \pm 7.31
<i>L. acidophilus</i> KCNU	97.13 \pm 2.70	589.07 \pm 0.98	1053.03 \pm 13.88	898.54 \pm 5.02
<i>Enterococcus</i> S6	3156.30 \pm 19.40	2042.44 \pm 0.69	61.30 \pm 1.31	16.93 \pm 1.84
<i>Enterococcus</i> S7	2449.11 \pm 22.51	1710.40 \pm 1.33	297.20 \pm 4028	110.214 \pm 0.21
<i>L. plantarum</i> L155	-	590.89 \pm 1.44	1033.37 \pm 0.89	880.85 \pm 9.48

**Fig. 1. Cell morphological characteristics of YS712 strain using Olympus BH2-RFCA microscope (amplified 1400 times). A YS712 strain was incubated at 37°C for 24 h on MRS medium.**

Lactobacillus sp. 712 균주를 최종 선발하였다. 이 균주는 김치에서 분리한 유산균으로 현미경으로 검경 결과(Fig. 1) 간균 형태로 관찰되었으며 API CHL 50 kit 당 이용성 결과를 ATB identification program(Biomerieux, France)에 입력한 결과 99.1%의 확률로 *Lactobacillus plantarum*으로 동정되었다(Table 2). 또한 선발 균주의 16S rDNA 유전자 분석 결과 역시 *L. plantarum*으로 확인되어 본 연구에서 최종 선발된 유산균을 *L. plantarum* YS712로 명명하였다.

Lactobacillus plantarum YS712의 내산성

유산균이 정상작용 등 체내에서 여러 가지 생리적 기능

Table 2. Carbohydrate fermentation profile of *Lactobacillus plantarum* YS712 strain isolated from kimchi

Carbohydrates	Fermentation	Carbohydrates	Fermentation
0 Control	-	26 Salicin	+
1 Glycerol	-	27 Cellobiose	+
2 Erythritol	-	28 Maltose	+
3 D-Arabinose	-	29 Lactose	+
4 L-Arabinose	+	30 Melibiose	+
5 Ribose	+	31 Sucrose	+
6 D-Xylose	-	32 Trehalose	+
7 L-Xylose	-	33 Inulin	-
8 Adonitol	-	34 Melezitose	+
9 β Methyl-D-xyloside	-	35 Raffinose	+
10 Galactose	+	36 Starch	-
11 Glucose	+	37 Glycogen	-
12 Fructose	+	38 Xylitol	-
13 Manose	+	39 Gentiobiose	-
14 Sorbose	-	40 D-Turanose	+
15 Rhamnose	+	41 D-Lyxose	-
16 Dulcitol	-	42 D-Tagatose	-
17 Inositol	-	43 D-Fucose	-
18 Mannitol	+	44 L-Fucose	-
19 Sorbitol	+	45 D-Arabitol	-
20 α Methyl-D-mannoside	-	46 L-Arabitol	-
21 α Methyl-D-glucoside	+	47 Gluconate	-
22 N Acetyl glucosamine	+	48 2 keto-gluconate	-
23 Amygdalin	+	49 5 keto-gluconate	-
24 Arbutin	+		
25 Esculin	+		

+, positive; -, negative

Table 3. Comparison of acid tolerance of *Lactobacillus plantarum* YS712 at different pHs

pH	Time of incubation (h)	
	0 h	2 h
3.5	3.8×10^6 ^a	5.4×10^6
3.0	4.7×10^6	6.7×10^6
2.5	2.02×10^6	1.12×10^6

^aViable cell numbers (CFU/mL)

을 발휘하려면 위 내에서 생존이 가능해야 한다. 유산균이 생균제로서 기능을 발휘하기 위해서는 pH 3 이하의 위 장관을 통과하여 소장 내로 도달하여 생존하여야 한다 (Booth, 1985). 따라서 발효제품의 경우 그 안에 존재하는 유산균을 섭취할 때 위를 통과하는 동안 낮은 pH 조건과 유기산에 의해 그 생존율이 저하될 수 있어 사전에 인공 위액 등의 내성을 지니는 유산균들을 분리하여 사용하는 것이 중요하다고 생각된다. 본 실험 결과 *L. plantarum* YS712 균주는 pH 3.5과 pH 3.0에서는 생균수가 2시간이 지나도 사멸되지 않았으며 pH 2.5에서도 약 50% 이상의 생존율을 보였다(Table 3). 위액의 pH는 1.4-2.0 정도로서의 대부분 미생물은 사멸하게 되지만 섭취한 음식물의 완충작용으로 인하여 위의 pH가 높아진다는 것을(Sim *et al.*, 1995) 고려한다면 실제 생존율은 더 높아질 것으로 생각된다.

Lactobacillus plantarum YS712가 DPPH 라디칼 소거능에 미치는 영향

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능 측정은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품의 지방질 산화를

억제하는 목적으로 사용되고, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다(Woo *et al.*, 2005).

본 실험에서 분리 선발한 *L. plantarum* YS712 균주가 다른 유산균에 비해 DPPH 라디칼 소거 활성이 어느 정도 있는지에 대한 측정 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 대조구로 사용한 1mM Ascorbic acid의 라디칼 소거능은 97%로 이보다 더 높은 소거능을 보이는 유산균은 없었다. 그 중 김치에서 분리한 *L. plantarum* YS712균주가 95.8%로 가장 높은 라디칼 소거능을 나타내었으며, *L. plantarum* ATCC 8014(95.3%), *L. plantarum* L155(95.2%), *Enterococcus* sp. 01(94.9%), *Lactococcus* sp. KU107(94.6%)의 순으로 나타났다. 유산균은 전반적으로 DPPH 라디칼 소거능을 가지고 있으며 실험한 유산균 중에서 *L. plantarum* YS712가 가장 높은 소거능을 보였다는 것을 알 수 있었다.

Joo 등(2006)은 열수추출물 항산화 활성 시험결과, 꿀풀 추출물 자체의 전자공여능은 낮았으나 꿀풀 추출물에 유산균을 첨가하여 실험한 결과에서는 높은 전자공여능을 나타내었다고 보고하였다. 또한 Lin과 Yen(1999)은 *S. thermophilus* 및 *L. bulgaricus* 등의 유산균 배양 세포 추출액에서 항산화 활성이 있다고 보고하였다. Kang 등(1996)은 시료 중의 환원력이 높은 phenolic acid, flavonoid 및 기타 phenol성 화합물들에 의하여 전자공여능이 높게 나타난다고 보고하였으며, DPPH 라디칼 소거능이 높으면 자유라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 높아 항산화 활성 및 활성산소와 같은 자유라디칼의 소거작용 증진으로 인체 내 노화를 억제하는 효과가 있을 것으로 알려져 있다(Aoshima *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 1995).

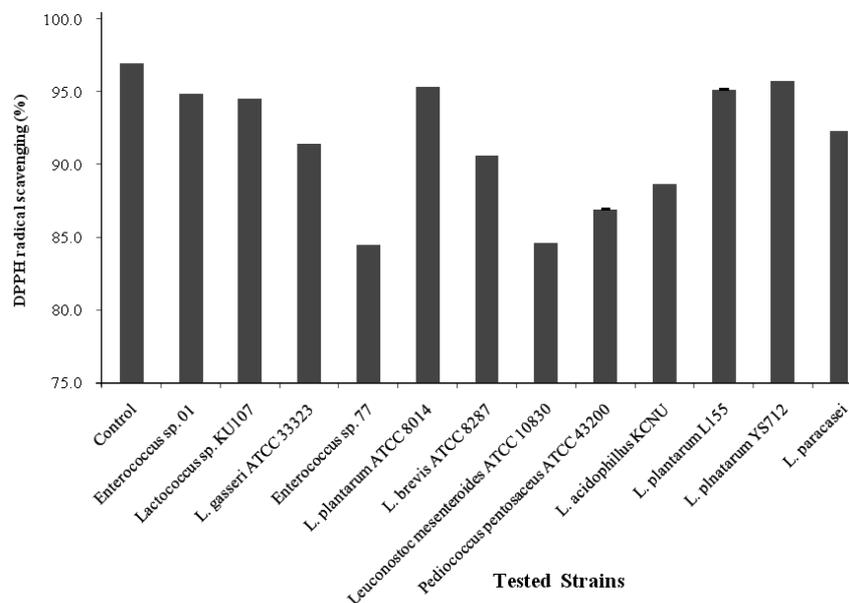


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of various lactic acid bacteria.

요 약

발효유제품, 김치, 및 신생아 분변 등에서 유산균을 분리하여 isoflavone 전환 능력을 평가하였다. 유산균 중 높은 수준의 β -glucosidase 활성을 보인 균주는 *Enterococcus* sp. 77, *L. paracasei*, *Lactobacillus* sp. 712, *L. brevis* ATCC 8287, *Lactococcus* sp. KU107, *L. acidophilus* KCNU, *L. plantarum* L155 등으로 나타났다. 이들 유산균에 대하여 유당 발효성을 평가하여 가장 우수한 유산균을 선발하여 API, 16S rDNA를 분석한 결과 *Lactobacillus plantarum*으로 동정되었으며 이 활성 유산균을 *Lactobacillus plantarum* YS712로 명명하였다. *Lactobacillus plantarum* YS712는 pH 2.5에서도 약 50% 이상의 강한 생존율을 보였으며 DPPH 라디칼 소거능도 95.8%로, 선발된 유산균 중 가장 높은 라디칼 소거능을 나타내었다. 이로써 *Lactobacillus plantarum* YS712는 발효식품 및 유제품에 다양하게 이용할 가치가 있다고 판단된다.

감사의 글

본 논문은 2006년 중소기업청 기술혁신개발사업(S1009644)의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Adlercreutz, H. (1995) Phytoestrogens: epidemiology and a possible role in cancer protection. *Environ. Health Persp.* **103**, 103-112.
- Adlercreutz, H., Hockerstedt, K., Bannwart, C., Bloigu, S., Hamalainen, E., Fotsis, T., and Olles, A. (1987) Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **27**, 1135-1144.
- Adlercreutz, H., Mousavi, Y., Clark, J., Hockerstedt, K., Hamalainen, E., Wahala, K., Maketa, T., and Hase, T. (1992) Dietary phytoestrogens and cancer *in vitro* and *in vivo* studies. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **41**, 331-337.
- Aoshima, H., Tsunoue, H., Koda, H., and Kiso, Y. (2004) Aging of whisky increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. *J. Agr. Food Chem.* **52**, 5240-5244.
- Blois, M. S. (1985) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **4617**, 1198.
- Booth, I. R. (1985) Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiol. Rev.* **49**, 359-378.
- Chien, H. L., Huang, H. Y., and Chou, C. C. (2006) Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiol.* **23**, 772-778.
- Choi, Y. B., Woo, J. G., and Noh, W. S. (1999) Hydrolysis of β -glucosidase bonds of isoflavone conjugates in the lactic acid fermentation of soy milk. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**, 189-195.
- Dunham, H. J., William, C., Edens, F. W., Casas, I. A., and Dobrogosz, W. J. (1993) *Lactobacillus reuteri* immunomodulation of stressor-associated disease in newly hatched chickens and turkeys. *Poult. Sci.* **72**, 103.
- Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378.
- Joo, J. C., Shin, J. H., Lee, S. J., Cho, H. S., and Sung, N. J. (2006) Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 7-14.
- Kang, Y. H., Park, Y. K., and Lee, G. D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**, 232-239.
- Kim, H. K., Kim, Y. E., Do, J. R., Lee, Y. C., and Lee, B. Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**, 80-85.
- Kim, H. J., Kim, J. H., Son, J. H., Seo, H. J., Park, S. J., Park, N. S., and Kim, S. K. (2004) Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**, 503-508.
- Kim, N. Y. and Han, M. J. (2005) Development of Ginseng yoghurt fermented by *Bifidobacterium* ssp. *Korean J. Food Cookery Sci.* **21**, 575-584.
- Lee, I. S. and Park, K. Y. (2003) Preparation and quality characteristics of yoghurt added with cultured ginseng. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **35**, 235-241.
- Lee, M. J., Sohn, C. Y., and Kim, J. H. (2008) Relation between health examination outcome and intake of soy food and isoflavone among adult male in seoul. *Korean J. Nutr.* **41**, 254-263.
- Lee, S. Y. and Oh, K. N. (1999) Effects of sweeteners and enzyme treatments on the quality attributes of soy yogurt containing soy protein isolate. *Korean J. Soc. Food Sci.* **15**, 73-80.
- Lin, M. Y. and Yen, C. L. (1999) Reactive oxygen species and lipid peroxidation product-scavenging ability of yogurt organism. *J. Dairy Sci.* **82**, 1629-1634.
- Matsuda, S., Norimoto, F., Matsumoto, Y., Ohba, R., Teramoto, Y., Ohta, N., and Ueda, S. (1994) Solubilization of a novel isoflavone glycoside-hydrolyzing β -glucosidase from *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. *J. Ferment. Bioeng.* **77**, 439-441.
- Shah, N. P. (2006) Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technol.* **55**, 46-53.
- Shanma, O. P., Adlercreutz, H., Strandberg, J. D., Zirkin, B. R., Coffey, D. S., and Ewing, L. L. (1992) Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **43**, 557-564.
- Sim, J. H., Oh, S. J., Kim, S. K., and Baek, Y. J. (1995) Comparative tests on the acid tolerance of some lactic acid bacteria species isolated from lactic fermented products. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**, 101-104.

-
24. Tsangalis, D., Ashton, J. F., Magill, A. E. J., and Shah, N. P. (2002) Enzymic transformation of isoflavone phytoestrogens in soymilk by β -glucosidase-producing bifidobacteria. *J. Food Sci.* **67**, 3104-3113.
25. Wei, H., Wei, L., Frenkel, F., Bowen, R., and Bames, S. (1993) Inhibition of tumor promoter-induced hydrogen peroxide formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. *Nutr. Cancer* **20**, 1-12.
26. Woo, J. Y., Paek, N. S., and Kim, Y. M. (2005) Studies on antioxidative effect and lactic acid bacteria growth of persimmon leaf extracts. *Korean J. Food & Nutr.* **18**, 28-38.
-
- (Received 2009.5.28/Revised 1st 2009.8.7, 2nd 2009.9.19/
Accepted 2009.10.5)