

국내 새우젓에서 분리한 *Lactobacillus brevis* HLJ59의 Angiotensin Converting Enzyme 저해활성 및 생리적 특성

전춘표^{1,4} · 김윤희^{1†} · 이중복² · 조민섭¹ · 신기선³ · 최종식⁴ · 권기석^{*}

안동대학교 생명자원과학과¹, 건동대학교², 한국생명공학연구원³, (주)한스바이오 부설바이오산업연구소⁴

Physiological Characteristics and Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity of *Lactobacillus brevis* HLJ59 Isolated from Salted Shrimp

Chun-Pyo Jeon^{1,4}, Yun-Hoi Kim^{1†}, Jung-Bok Lee², Min-Sub Jo¹, Kee-Sun Shin³,
Chung-Sig Choi⁴, and Gi-Seok Kwon^{1*}

¹Department of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Republic of Korea

²Department Food and Nutrition Science, Kundong University, Andong 760-833, Republic of Korea

³Biological Resource Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Daejeon 305-600, Republic of Korea

⁴Bio Industry Institute, HansBio Co. Ltd., Andong 760-380, Republic of Korea

(Received November 24, 2009/Accepted December 17, 2009)

In this study, lactic acid bacteria with high angiotensin converting enzyme inhibitor activity were isolated from Korean fermented food, such as kimchi and salted seafood. The strain HLJ59, isolated from salted shrimp showed the highest angiotensin converting enzyme inhibitor activity in DeMan Rogosa Sharpe broth. Optimum growth temperature of *Lactobacillus brevis* HLJ59 was at 34°C. Acid treatment at pH 3.0 for 1.5 h decreased cell viability from 9.9×10^8 CFU/ml to 3.11×10^4 CFU/ml. The bile extract concentration of 0.3%, 0.5%, and 1.0% in MRS broth did not inhibit the growth of HLJ59. Isolated strain HLJ59 showed more sensibility to amikacin, gentamycin, neomycin, streptomycin, kanamycin, cefmetazole, cephalothin, ampicillin, ticarcillin, sulbactam+ampicillin, amoxicillin+clavulanic acid (AMC), tetracycline, and sulfamethoxazole+trime thoprim (SXT) as compare to other 7 different antibiotics. However, it showed more resistance to cefoxatin, ceftaxone, penicillin, ciprofloxacin, nalidixic acid, lincomycin, and chloramphenicol.

Keywords: ACE inhibitory activity, antibiotics, fermented food, lactic acid bacteria

최근 식생활의 서구화로 인하여 각종 성인성 질환의 급증과 노령인구의 증가추세에 따라 각종 만성 노인성 질환 또한 급속히 증가하고 있는 실정이다(23). 이러한 성인성 질환과 노인성 질환 중 대표적인 질환 중 고혈압이 대부분을 차지하고 있으며, 최근에는 성인뿐만 아니라 청소년들에게도 나타나고 있는 질병이다(15).

고혈압은 본태성 고혈압과 2차성 고혈압으로 크게 구분하는데, 그 중 본태성 고혈압은 renin-angiotensin계가 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다. Angiotensinogen이 renin의 특이적 분해를 받아서 angiotensin I을 생성하여, 다시 angiotensin

converting enzyme (ACE)에 의하여 혈관수축작용을 하는 angiotensin II를 생성한다. 또한 ACE는 혈관이완작용을 가진 bradykinin을 분해하여 불활성화 시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다. 이와 같이 혈압의 상승에는 ACE의 관여가 크므로 혈압의 강하에는 ACE의 저해가 필수적이고, 또한 ACE 저해제들이 고혈압 치료제로서 제시되면서 고혈압 예방 및 치료에 있어서 ACE 저해제의 중요성이 부각되고 있다(17).

고혈압을 개선하기 위한 목적으로 captopril, enalapril, ramipril 등의 ACE 저해제가 개발되어 상용되고 있으나 이러한 약제의 경우 사용으로 인한 부작용으로 마른기침, 식욕부진, 미각이상, 발진, 백혈구 감소, 혈관부종 및 간 기능 이상 등이 보고되고 있다(10).

[†] This author contributed equally to this work.

* For correspondence. E-mail: gskwon@andong.ac.kr; Tel: +82-54-820-5909; Fax: +82-54-820-6252

따라서 부작용이 적은 천연물질로부터 항고혈압 효과를 가지는 물질 탐색에 대한 연구로 대두 및 어육 단백질의 가수 분해물(22), 배에서 추출한 펩틴(18), 발아현미 추출물(6), 메밀 추출물(9), 제주 자생 녹조류와 갈조류의 항고혈압 효과(2), 우유 단백질 peptide의 혈압조절효과(12) 등이 보고되고 있다. 또한 최근 전통 발효식품에는 다양한 기능성(5, 19)이 있다는 학계의 결과가 발표되고 있으며, 발효식품 내의 유산균은 고부가가치를 창출할 수 있는 자원으로써 새롭게 인식되고 있고, 인간의 웰빙 및 건강과 밀접한 관계를 가지고 있다(14). 특히 우리고유의 발효식품은 풍부한 유산균을 내포하고 있어 생활 습관병(고혈압, 비만, 당뇨 등)의 예방, 항암효과, 소화, 장강 효과 및 뇌기능 활성화 등의 과학적 우수성이 지속적으로 밝혀지고 있으며(20), 최근에는 혈중 콜레스테롤 저하효과에 대해서도 연구결과가 보고되고 있다(21).

따라서 본 연구에서는 전통 발효식품인 김치 및 젓갈류로부터 ACE 저해활성이 우수한 젓산균을 분리하여, 향후 분리 균주를 이용한 항고혈압 발효유의 개발을 위한 starter로서의 가능성을 제시하고자 하며 또한 우리나라 전통 발효식품으로부터 분리한 균주의 생리적 특성을 조사하고, 전통 발효식품의 우수성에 대한 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

젓산균의 분리

분리시료는 강원도, 경북, 충북 등에서 제조원이 다른 장류, 김치류 및 젓갈류로부터 젓산균을 분리하여 실험에 사용하였다. 젓산균을 분리하기 위한 선택배지로는 bromocresol purple (BCP, Eiken chemical Co., Japan)을 함유한 BCP 한천배지를 사용하였으며, 준비된 시료를 마쇄한 후 평판희석 도말법을 이용하여 BCP 한천배지에 10^5 - 10^6 수준으로 희석하여 도말한 후, 37°C에서 48시간 배양하면서 균체 주변에 노란색을 형성하는 균주를 1차로 선별하였다. 1차 선별된 균주들은 BCP 한천배지에 다시 계대 배양하여 순수분리 하였고, 여기서 선별된 균주는 DeMan Rogosa Sharpe (MRS, Difco, USA) 한천배지에서 계대 배양하여 활성화 시킨 후 MRS 액체배지에 접종하여 48시간 배양한 후, ACE 저해활성을 측정하고 활성이 높은 균주들을 2차로 선별하였다.

균주의 동정

분리된 젓산균은 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석하여 동정하였으며, 16S rRNA 유전자를 증폭하기 위해 27F primer (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')와 1492R primer (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')를 사용하여 PCR (polymerase chain reaction)을 수행하였다. PCR 증폭과정은 95°C에서 5분간 변성 후, 95°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 45초 반응을 30회 반복 시행하였으며, 72°C에서 10분간 반응 후 4°C로 내려 종료하였다. 증폭된 PCR 산물은 PCR purification kit (Solgent, Korea)로 정제한 후 ABI PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing kit (Perkin Elmer,

USA)를 사용하여 염기서열 분석을 위한 PCR을 수행한 후 ABI 3730XL capillary DNA Sequencer (Applied Biosystems, USA)로 결과를 분석하였다. 조사된 젓산균의 염기서열 결과는 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)의 Blast 검색을 통해 GenBank data base에 수록되어 있는 16S rRNA 유전자 염기서열과 비교·분석하였다.

ACE 저해활성

ACE 저해활성의 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(8)을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 100 μ l에 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 100 μ l를 가한 후, 37°C에서 5분간 preincubation 시켰다. 여기에 기질로서 hippuril-L-histidine-L-leucine (HLL, Sigma, USA) 용액 50 μ l를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 μ l를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1 ml를 가하여 30초간 vortexing 한 다음 1,500 \times g으로 15분간 원심분리 한 후 상등액 800 μ l를 취하였다. 이 상등액을 120°C에서 40분간 완전히 건조시킨 후 동일조건으로 100 mM sodium borate buffer 1 ml를 가하여 완전히 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 계산하였다.

젓산균의 생육 특성

선발된 젓산균의 생장은 생육도와 pH의 변화로 측정하였다. 생육도는 MRS 액체배지에 젓산균을 접종한 후 34, 37 및 40°C에서 36시간 동안 배양하면서 4시간 간격으로 시료를 취하고, UV-VIS spectrophotometer (Hewlett Packard 8453, Germany)로 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

젓산균의 내산성과 내담즙성

선발된 젓산균의 내산성은 Clark 등의 방법(7)을 변형하여 사용하였으며 1 N HCl을 증류수에 희석하여 MRS 산성 액체배지(pH 1.0, 2.0 및 3.0)와 MRS 중성 액체배지(pH 6.3)를 준비하고 34°C에서 24시간 배양된 균주를 1%로 접종하여 34°C에서 120분간 배양하면서 30분 간격으로 sampling하여 BCP 한천 배지에 도말하여 34°C에서 36시간 배양한 후 균체수를 계수하였다.

선발된 젓산균의 내담즙성은 Gilliland와 Speck의 방법(11)을 변형하여 사용하였으며 MRS 액체배지에 0.3, 0.5 및 1.0% bile extract (Sigma)를 첨가하고 34°C에서 24시간 배양된 균주를 2%로 접종하여 34°C에서 30시간 동안 배양하면서 시간대별 생육도를 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

젓산균의 항생제 내성

선발된 젓산균의 항생제 내성은 Charteris 등이 기술한 방법(3)을 일부 변형하여 사용하였다. 즉, MRS 액체 배지에서 24시간 동안 배양한 *L. brevis* HLJ59를 MRS 한천배지와 잘 혼합한 후 평판 배양한 다음 약 1시간 동안 방치하였다. 다음 20종의 항생제 [amikacin (30 μ g), neomycin (30 μ g), streptomycin

(10 µg), gentamycin (10 µg), kanamycin (30 µg), cefmetazole (30 µg), cefoxatin (30 µg), ceftaxone (30 µg), cephalothin (30 µg), ampicillin (10 µg), penicillin (10 units), ticarcillin (75 µg), sulbactam+ampicillin (20 µg), amoxicillin+clavulanic acid (30 µg), tetracycline (30 µg), ciprofloxacin (5 µg), nalidixic acid (30 µg), lincomycin (2 µg), chloramphenicol (30 µg), sulfamethoxazole+trime thoprim (23.75 µg/1.25 µg)]가 함유된 paper disc (BD BBL™ Sensi-Disc™)를 올려 34°C에서 24시간 배양한 후 디스크 주변에 형성된 투명환의 직경을 측정하여 감수성정도를 측정하였다.

결과 및 고찰

ACE 저해활성이 우수한 젖산균의 분리 및 선발

강원도, 경북, 충북 등에서 제조원이 다른 전통발효식품 중 장류, 김치류 및 젓갈류의 각 시료 1 g을 멸균된 0.85% 생리 식염수 용액으로 단계희석하고, BCP 한천 배지에 도말하여 형광색의 집락을 형성하는 나타내는 68종의 균주를 1차적으로 선발하였다. 선발된 균주들을 MRS 한천 배지에 2회 계대 배양하여 순수 분리된 균주들을 MRS 액체배지에 접종하여 34°C에서 36시간 정지 배양하였다. 배양 상등액을 원심분리하여 ACE 저해활성을 측정하였으며 그 중 ACE 저해활성을 나타내는 균주 중에서 ACE 저해활성이 98.8%로 가장 높은 HLJ59를 본 연구의 최종 실험 균주로 선발하였다(Table 1).

분리균주의 동정

최종 선발된 HLJ59 균주의 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석하여 얻은 1,468 bp의 염기서열을 NCBI의 GenBank에 등록된 염기서열 data base와 비교하여 본 결과 *L. brevis*의 표준 균주인 ATCC 14869T 균주의 염기서열과 99.7%의 유사도를 나타내었다(Fig. 1). 따라서 본 연구에서 분리한 HLJ59 균주는 16S rRNA 유전자 염기서열 분석결과를 토대로 *L. brevis* HLJ59로 명명하였다.

L. brevis HLJ59의 생육 특성

Figure 2에서 보는 바와 같이 *L. brevis* HLJ59의 최적 생장 온도를 알아보기 위하여 MRS 액체배지에 seed 배양액(9.9×

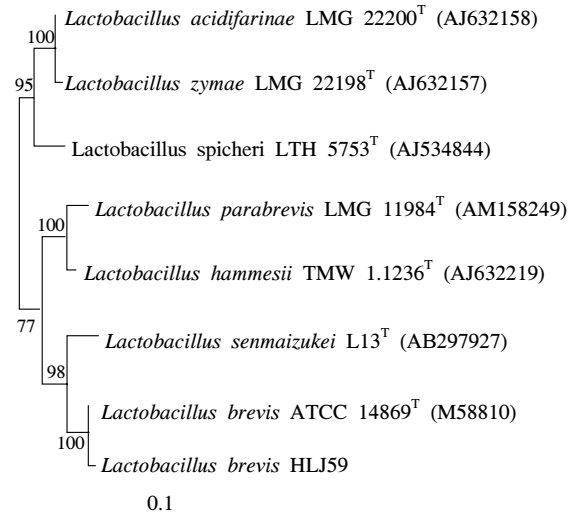


Fig. 1. Phylogenetic position of strain HLJ59 in the genus *Lactobacillus* based on the 16S rRNA gene sequences. The bar represents 0.1% sequence divergence.

10⁸/ml)을 2% (v/v)로 접종한 후 각 온도별로 4시간 간격으로 36시간 동안 배양한 결과, 각각의 온도에서 균주의 생장과 pH의 변화가 비슷한 패턴을 보였으나 34°C가 최적의 온도로 조사되었다. 16시간째부터 생육이 증가하기 시작하여 24시간 배양 하였을 때 가장 우수한 생육을 나타내었으며 이후는 점차 감소하는 것으로 나타났다. 균주의 생육에 따른 pH의 변화는 8시간째부터 산생성능이 높아지기 시작하여 배양 20시간째에 가장 높은 산생성능을 보였으며 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 이러한 결과는 Jeon (13)이 보고한 *L. brevis* BH-21이 배양시간 28시간일 때 최대 증식을 나타내었다는 결과와 유사하였으며, 20시간일 때 최대 산생성능을 보였다는 결과와는 일치하였다. 또한 Cho 등(4)이 보고한 *L. plantarum*이 배양시간 18시간일 때 생육과 산생성능이 우수하였다는 결과와는 다른 것을 알 수 있었다. 이는 각 균주간의 특이성에 따른 결과라 사료된다.

L. brevis HLJ59의 내산성

L. brevis HLJ59의 내산성을 조사한 결과는 Table 2와 같

Table 1. ACE inhibitory activity by lactic acid bacteria in MRS broth at 34°C

Strains	Source	ACE inhibitory activity (%)
<i>L. acidophilus</i> ^a	NCFM, Rhone-poulenc	55.4±5.6
<i>Streptococcus thermophilus</i> ^a	Culture system. Inc.	44.3±5.4
<i>L. paracasei</i> subsp. <i>Paracasei</i>	KCTC 3510	62.6±4.7
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Lactic</i>	KCTC 3636	72.1±3.9
<i>Lactobacillus brevis</i>	KCCM 40017	66.7±4.2
HLB-A2	Isolated	82.2±2.8
HLR-G1	Isolated	58.7±4.6
HLW-E3	Isolated	75.1±3.3
HLW-F1	Isolated	86.4±4.1
<i>L. brevis</i> HLJ59	This study	98.8±1.1

^a Commercial lactic acid bacteria

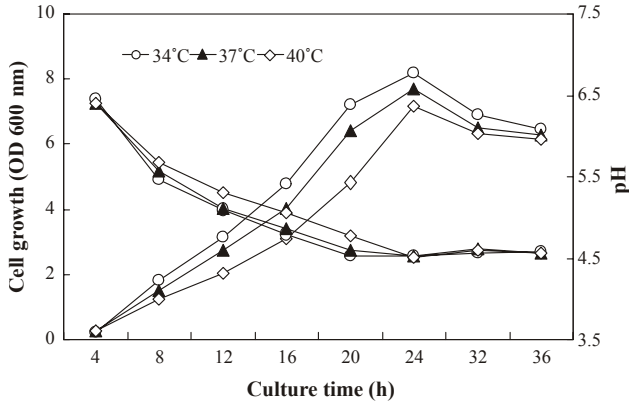


Fig. 2. Growth patterns of *L. brevis* HLJ59 in MRS medium at various temperatures.

다. 분리균주의 내산성 측정을 위한 대조구로서 pH를 6.3으로 보정한 MRS 액체배지에서 120분간 배양하였을 때 배양시간이 경과함에 따라 균체수는 배양초기와 비교시 약 11% 증가하는 것을 알 수 있었다. 하지만 pH를 3.0, 2.0 및 1.0으로 보정한 MRS 액체배지에서 120분간 배양하였을 경우에는 배양시간이 경과함에 따라 균체수는 감소하는 것을 확인 할 수 있었으며, MRS 액체배지의 pH를 3.0으로 보정한 경우 90분이 경과하였을 때 배양초기와 비교시 약 99% 감소하였으며, pH를 2.0으로 보정한 경우 30분이 경과하였을 때 배양초기와 비교시 약 99% 감소하는 것을 알 수 있었다.

이러한 결과는 pH가 낮아질수록 균 자체의 안정성 또한 낮아지는 것을 보여주며, 인체내에서 젖산균이 기능을 발휘하기 위해서는 pH 3.0 이하의 낮은 pH 조건의 위장관을 통과하여 소장내로 도달하여 생존하여야 한다(1). 그러나 공복시 위내는 pH 2.0 이하의 강산성 이지만 음식물 섭취 후 침과 음식으로 인해 희석되므로 균의 생존율은 보다 높아 질 것으로 추정된다고 하였다(23). 하지만 분리 균주의 pH에 대한 안정성을 높여 주기 위한 조건들에 대해서는 좀 더 검토할 필요가 있다고 사료된다.

L. brevis HLJ59의 내담즙성

분리된 균주를 담즙산에 대한 내성을 측정하기 위하여 담즙을 0.3~1.0%로 첨가하였을 때 생존율을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 그 결과 담즙을 첨가하지 않은 대조구와 비교하였을 때 배양 15시간 전까지는 첨가구 모두에서 생육에 저해를 받았으나, 담즙에 대한 적응기간을 거친 15시간 이후부터는 오히려 대조구 보다도 생육이 더 활발하게 일어남을 알 수 있었다.

Table 2. pH stability of *L. brevis* HLJ59 in MRS medium

Time (min)	pH 6.3	pH 3.0	pH 2.0	pH 1.0
30	9.9×10 ⁸	1.02×10 ⁶	3.12×10 ⁵	0
60	1.13×10 ⁹	7.81×10 ⁵	0	0
90	2.16×10 ⁹	3.11×10 ⁴	0	0
120	8.89×10 ⁹	0	0	0

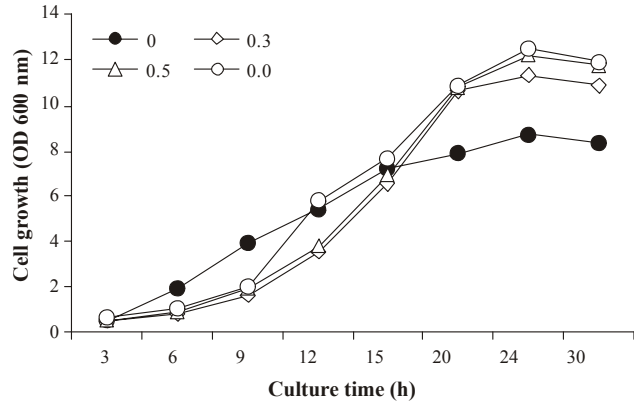


Fig. 3. Growth patterns of *L. brevis* HLJ59 in MRS medium with bile extract.

이는 *L. brevis* HLJ59 균주가 담즙을 생육에 필요한 인자로 이용한 것으로 사료되며, 이러한 담즙산은 십이지장을 통해서 분비되는 물질로 세균의 성장을 억제하는 기능을 지니고 있고, 특히 장내 세균이 아닌 경우에는 담즙산이 함유된 배지에서는 자랄 수 없다고 알려져 있다(4, 11). 그러나 Park (21)의 보고에 따르면 대부분의 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*는 비교적 담즙산에 약하였으나 몇 종류의 균주는 강한 담즙산 내성을 보인다 하였고, *Lactobacillus*의 경우 균종간의 차이보다는 각 균주별 내성 능력의 차이에 기인된 것이라 보고하였다. 이러한 결과를 바탕으로 향후 담즙산에 내성능을 가지고 있는 *L. brevis* HLJ59를 probiotics로 활용하는 측면에서 볼 때 매우 우수한 균주라 판단된다.

L. brevis HLJ59의 항생제 내성

항생제는 내성 자체로서 치료의 어려움뿐만 아니라 질병의 치료에 대한 항생제의 선택과 적절한 항생제 사용에 대한 어려움을 야기하게 되어 문제가 될 수 있다(23). 이처럼 치료 목적으로 사용된 항생제에 의해서 probiotics 균주가 사멸될 경우 생체내에서의 기능성이 낮아지게 되는데, 이러한 측면에서 항생제에 대한 내성은 매우 중요한 요소로 인식되고 있는 실정이다(16).

각종 항생제에 대한 감수성의 조사 결과 Fig. 4와 같이 aminoglycosides계의 amikacin (30 µg), gentamycin (10 µg), neomycin (30 µg), streptomycin (10 µg)에 감수성을 보였고, kanamycin (30 µg)은 약간의 감수성을 보였으며, cephalosporin계의 cefmetazole (30 µg), cephalothin (30 µg), β-lactam penicillins계의 ampicillin (10 µg), ticarcillin (75 µg), sulbactam+ampicillin (20 µg), β-lactam+β-lactamase inhibitor 복합계의 amoxicillin+clavulanic acid (AMC, 30 µg), tetracyclines계의 tetracycline (30 µg) 및 기타 sulfamethoxazole+trimethoprim (SXT, 23.75 µg/1.25 µg)에 대하여 감수성을 나타내었다. 한편 cephalosporin계의 ceftaxin (30 µg), ceftaxone (30 µg), penicillin계의 penicillin (10 units), quinolones계 ciprofloxacin (5 µg), nalidixic acid (30 µg), lincosamid계의 lincomycin (2 µg) 및 기타 chloramphenicol (30 µg)에 대해서

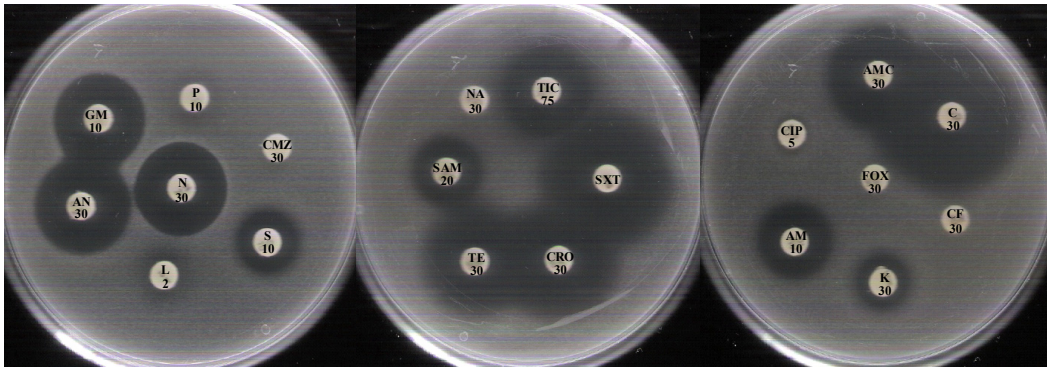


Fig. 4. Antibiotics susceptibility of *L. brevis* HLJ59.

(AN, Amikacin; AMC, Amoxicillin+Clavulanic acid; AM, Ampicillin; CMZ, Cefmetazole; FOX, Cefoxatin; CRO, Ceftriaxone; CF, Cephalothin; C, Chloramphenicol; CIP, Ci-profloxacin; GM, Gentamycin; K, Kanamycin; L, Lincomycin; NA, Nalidixic acid; N, Neomycin; P, Penicillin; S, Streptomycin; SAM, Sulbactam+Ampicillin; SXT, Sulf-amethoxazole+Trimethoprim; TE, Tetracycline, and TIC, Ticarcillin)

는 내성을 가지고 있음을 확인하였다. 이러한 결과는 Kang (16)에 따르면 *Lactobacillus*는 사람과 동물의 소화관 등에 많이 서식하는 미생물로서, 대표적인 전통발효식품 중에 하나인 김치내의 항생제 내성 *Lactobacillus*가 내성 운반체로 작용하고, 장내 세균군에 내성 유전자를 전달할 수 있는 저장고로 기능할 가능성이 있다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 분리한 *L. brevis* HLJ59 균주 또한 *Lactobacillus* 속의 균주로서 항생제에 대한 내성이 장내 세균군으로 전이될 가능성이 있으므로 이에 대한 실험이 필요하다 생각된다. 또한, 항생제 오염으로 인해 발생하는 장내 젖산균 활동이 저해되어, 향후 젖산균을 probiotics로 사용하기 위한 균주 선택에 있어 중요한 기초자료가 될 수 있을 것이다.

이러한 결과를 바탕으로 *L. brevis* HLJ59 균주를 이용한 항고혈압 활성이 뛰어난 요쿠르트, 발효음료, 발효김치 등의 다양한 발효 식품으로의 접근 가능성과 현재 연구 중인 마 활용성을 증대시키기 위한 발효마의 개발을 통한 기능성 마 첨가 발효유 등에 본 균주가 활용될 수 있고, 현재 이에 대한 실험이 진행 중에 있다. 또한 본 연구에서 분리된 *L. brevis* HLJ59 균주의 특성을 이용하여 향후 발효유 제조에 사용되고 있는 수입 균주의 대체 또한 가능하리라 판단된다.

적요

본 연구는 우리나라 전통 발효식품인 장류, 김치류 및 젓갈류로부터 angiotensin converting enzyme 저해활성이 우수한 젖산균을 분리하고자 하였다. 젖산균을 분리하기 위한 선택배지로서 bromocresol purple (BCP) 한천배지를 사용하여 1차적으로 젖산균을 분리하였으며, 그 중 angiotensin converting enzyme 저해활성이 우수한 균주를 최종 선발하였다. 분리된 젖산균을 16S rRNA 유전자 염기서열 분석으로 동정한 결과 *Lactobacillus brevis* ATCC 14869^T와 99.7%의 유사도를 나타냄에 따라 *L. brevis* HLJ59로 명명하였다.

L. brevis HLJ59는 내산성의 경우 pH가 2.0, 3.0으로 조정

된 DeMan Rogosa Sharpe 액체배지에서 접종 후 각각 90분, 30분이 경과하였을 때 배양초기와 비교 시 약 99% 감소하는 결과를 보였으나, 담즙산(Bile extract)의 경우 1% 첨가 시에도 생육에 저해를 받지 않는 것으로 조사되어 *L. brevis* HLJ59 균주는 담즙산에 대한 내성이 우수한 균주임을 확인하였다.

항생제 내성의 경우 20종의 항생제를 paper disc법으로 조사한 결과 본 균주는 cephalosporin계의 cefoxatin (30 µg), ceftriaxone (30 µg), penicillin계의 penicillin (10 units), quinolones계 ciprofloxacin (5 µg), nalidixic acid (30 µg), lincosamide계의 lincomycin (2 µg) 및 기타 chloramphenicol (30 µg)에 대해서는 내성을 가지고 있음을 확인하였다.

감사의 말

본 연구는 ARPC과제 “마의 부가가치 증대 및 산업화를 위한 가공기술의 개발” (2009-0164)의 지원에 의한 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Booth, I.R. 1985. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiol. Rev.* 49, 359-378.
- Cha, S.H., G.N. Ahn, S.J. Heo, K.N. Kim, K.W. Lee, C.B. Song, S.K. Cho, and Y.J. Jeon. 2006. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 35, 307-314.
- Charteris, W.P., P. Kelly, L. Morelli, and J.K. Collins. 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J. Food Prot.* 26, 333-337.
- Cho, J.K., G.H. Li, S.J. Cho, Y.C. Yoon, S.G. Hwang, K.C. Heo, and I.S. Choe. 2007. The identification and physiological properties of *Lactobacillus plantarum* JK-01 isolated from Kimchi. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 27, 363-370.
- Cho, Y.J., W.S. Cha, S.K. Bok, M.U. Kim, S.S. Chun, and U.K. Choi. 2000. Production and separation of anti-hypertensive peptide during chunggugjang fermentation with *Bacillus subtilis*

- CH-1023. *J. Kor. Soc. Agri. Chem. Biotechnol.* 43, 247-252.
6. Choi, H.D., Y.S. Kim, I.W. Choi, Y.K. Park, and Y.D. Park. 2006. Hypotensive effect of germinated brown rice on spontaneously hypertensive rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 38, 448-451.
 7. Clack, P.A., L.N. Cotton, and J.H. Martin. 1993. Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods: II-tolerance to simulated pH of human stomachs. *Cult. Dairy Prod. J.* 28, 11-14.
 8. Cushman, D.W. and H.S. Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20, 1637-1648.
 9. Do, J.R., I.S. Heo, S.Y. Back, H.S. Yoon, J.H. Jo, Y.M. Kim, K.J. Kim, and S.K. Kim. 2006. Physiological activity/nutrition : Antihypertensive, antimicrobial and antifungal activities of buckwheat hydrolysate. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 38, 268-272.
 10. Doyle, A.E. 1984. Handbook of hypertension: clinical pharmacology of antihypertensive drug, vol. 5, pp. 246-271. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
 11. Gilliland, S.E. and M.L. Speck. 1977. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *J. Food Prot.* 40, 820-823.
 12. Jauhiainen, T.K. 2007. Milk peptides and blood pressure. *J. Nutr.* 137, 825S-829S.
 13. Jeon, J.H. Production of γ -aminobutyric acid (GABA) by immobilization of lactic acid bacteria isolated from salt fermented anchovy. Ph.D. thesis. Dissertation. Dept. of Food Science and Biotechnology Graduate School. Kyungsoong University. Busan.
 14. Jo, J.S. 1989. Analytical survey on the study of traditional fermented food in Korea. *Kor. J. Diet Culture* 4, 375-382.
 15. Jung, J.W. 2009. Hypertension in children and adolescents. *Kor. J. Pediatr.* 52, 745-751.
 16. Kang, H.J., B.C. Kim, and W. Park. 2004. Isolation of tetracycline-resistant lactic acid bacteria from Kimchi. *Kor. J. Microbiol.* 40, 1-6.
 17. Lim, S.D., K.S. Kim, and J.R. Do. 2008. Physiological characteristics and ACE inhibitory activity of *Lactobacillus zeae* RMK354 isolated from raw milk. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 28, 587-595.
 18. Na, C.S., D.H. Yun, D.H. Choi, J.S. Kim, C.H. Cho, and J.B. Eun. 2003. The effect of pear pectin on blood pressure, plasma renin, ANP and cardiac hypertrophy in hypertensive rat induced by 2K1C. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 32, 700-705.
 19. Noh, K.A., D.H. Kim, N.S. Choi, and S.H. Kim. 1999. Isolation of fibrinolytic enzyme producing strains from kimchi. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 31, 219-223.
 20. Park, K.Y. 2002. Korean traditional food and their anticancer effects. *J. Kor. Soc. Plant. People Environ.* 5, 41-45.
 21. Park, S.Y., Y.T. Ko, H.K. Jeong, J.O. Yang, H.S. Chung, Y.B. Kim, and G.E. Ji. 1996. Effect of various lactic acid bacteria on the serum cholesterol levels in rats and resistance to acid, bile and antibiotics. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24, 304-310.
 22. Park, Y.R., D.K. Chung, H.S. Nam, and Z.I. Shin. 1996. Effect of soybean hydrolysate on hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 25, 1031-1036.
 23. You, S.J., J.K. Cho, S.G. Hwang, and K.C. Heo. 2005. Probiotic characteristics of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from kefir. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* 25, 357-364.
 24. Yun, J.S., B.H. Chung, N.Y. Kim, N.S. Seong, H.Y. Lee, J.H. Lee, and J.D. Kim. 2003. Screening of 94 plant species showing ACE inhibitory activity. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* 11, 246-251.