

## Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria with Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory and Antioxidative Activities

Sung-Bo Park<sup>1</sup>, Jeong-Do Kim<sup>1</sup>, Na-Ri Lee<sup>1</sup>, Jin-Ha Jeong<sup>1</sup>, Seong-Yun Jeong<sup>2</sup>, Hee-Seob Lee<sup>3</sup>, Dae-Youn Hwang<sup>1</sup>, Jong-Sup Lee<sup>4</sup> and Hong-Joo Son<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Natural Resources and Life Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

<sup>2</sup>Department of Medical Life Science, Catholic University of Daegu, Daegu 712-784, Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

<sup>4</sup>Sandong Processing Plant, Nonghyup, Miryang 627-706, Korea

Received July 20, 2011 / Revised October 15, 2011 / Accepted October 24, 2011

In this study, we isolated and characterized plant-associated lactic acid bacteria which are able to produce angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory and antioxidative activities. Five lactic acid bacteria were isolated from plants (grape and leek), a plant-associated fermentative product (Kimchi) and Korean traditional alcohol (Dongdongju). Strains K-1 and K-21 from Kimchi, strain L-5 from leek, strain G-3 from grape, and strain D-3 from Dongdongju were identified as *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella cibaria*, *L. plantarum*, and *L. brevis*, respectively, by 16S rRNA gene analysis. ACE inhibitory activities of isolated strains ranged from 44.3 to 71.9% in the MRS broth. G-3, L-5 and K-1 strains especially showed high ACE inhibitory activities (59.8-98.69%) in the MRS broth containing skim milk. DPPH radical scavenging activities of the strains were in the range of 42.5-82.7%. All strains showed varying levels of resistance in artificial gastric fluid (pH 2.5), retaining viability ranging from 42.2 to 88.1% after 3 hr of incubation. All strains showed high resistance to 0.3% oxgall after 24 hr of incubation; survival rates were in the range of 55.4-112.8%. Isolated strains were found to be antagonistic to some pathogens including *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key words** : Lactic acid bacteria, ACE inhibition, antioxidant, fermentation

### 서 론

젖산균(lactic acid bacteria)은 발효를 통하여 젖산 및 다양한 대사산물을 생산하는 세균으로서 각종 발효식품, 사료첨가제 등의 제조에 널리 이용되고 있으며, 최근에는 건강 증진과 질병을 예방하고자 하는 probiotics로서의 연구가 폭넓게 진행되고 있다[6]. 발효식품을 통하여 인체 내로 흡수된 젖산균은 장 내로 유입되어 비피더스균과 같은 유익균주의 생육을 부양하는 반면 유해세균을 억제하여 장내 유용미생물의 균형을 유지시킨다[13]. 또한 항산화 작용, 항암 작용, 면역활성화 작용, 혈중 콜레스테롤 저하 등의 작용이 있어 질병을 예방하는데 도움이 되는 것으로 알려져 있다[7].

발효식품 제조에 이용되고 있는 젖산균은 starter culture로서 역할뿐만 아니라 인체에 섭취되어 고유한 기능을 발휘할 수 있어야 하며, 사람의 위장 환경에서 높은 생존성과 안정성이 있어야 하는데 위액, 담즙산 등의 억제작용을 견딜 수 있어야 한다[24]. 젖산균은 인체의 장이나 우유에서 분리되어 요구르트, 치즈 등 유제품 발효에 관여하는 동물성 젖산균과 과일, 채소절임, 된장, 간장 등 식물 소재에서 유래된 식물성

젖산균으로 구분될 수 있다[5]. 식물성 젖산균은 동물성 젖산균보다 산성 환경에 강하고, 가혹한 환경에서 생존할 수 있기 때문에 동물성 유산균보다 더 용이하게 장까지 도달하는 것 [20]으로 알려져 있으나 동물성 젖산균에 비해 연구가 많이 되어 있지 않은 실정이다.

한편, 고혈압의 원인은 renin-angiotensin system이 중요한 역할을 하는데, 여기에는 angiotensin-converting enzyme (ACE)이 관여하는 것으로 보고되어 있다[27]. 인체 내에 존재하는 renin은 angiotensinogen을 angiotensin I으로 분해하고, 비활성의 angiotensin I은 ACE에 의해 강력한 혈관 수축 작용이 있는 angiotensin II로 전환된다[27]. Angiotensin II는 동맥 혈관을 수축하여 혈압을 상승시키고, 부신에서 aldosterone의 분비를 촉진하여 신장의 나트륨 및 수분의 재흡수를 증가시킴으로써 고혈압 발병에 관여한다[22]. 식품의 생체조절 작용 중 ACE 저해능이 있다는 것이 보고되면서 식품의 ACE 저해물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[22,23].

본 연구는 젖산발효를 통한 한방식물자원인 맥문동의 기능성 식품화, 즉 항고혈압 및 항산화 활성을 가진 맥문동 발효식품의 제조를 최종 목표로 설정되었으며, 이에 따라 먼저 ACE 저해능 및 항산화능을 모두 보유하면서 극한 환경에 내성이 있는 식물성 젖산균을 분리 및 동정함으로써 새로운 미생물 자원을 확보하고자 하였다.

### \*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5544, Fax : +82-55-350-5549

E-mail : shjoo@pusan.ac.kr

## 재료 및 방법

### 식물유래 젖산균의 분리

경남지역의 각 가정에서 수집한 다양한 식물유래 발효식품 (김치, 된장, 청국장, 식혜, 채소절임류, 전통주 등)과 호박, 포도, 맥문동 등 각종 농작물의 뿌리, 열매, 잎 등을 젖산균 분리용 시료로 하였다. 채집한 시료를 생리적 식염수에 고체 시료는 1 g, 액체 시료는 1 ml씩 첨가하여 혼합한 후,  $10^{-6}$ 의 범위로 계단 희석하였다. 계단 희석된 각 시료 100  $\mu$ l를 lactic acid bacteria selective medium인 0.5%  $\text{CaCO}_3$ 가 첨가된 MRS 평판 배지에 도말하여 37°C에서 48시간 동안 배양하였다. 콜로니 주위에 젖산을 생성하여  $\text{CaCO}_3$  중화 영역인 투명환을 생성하는 균주들을 1차 선정 한 후, 상기 배지에 3번 반복 도말함으로써 순수분리하였다. 이후 투명환 직경의 크기와 콜로니의 형태적 차이에 의거하여 실험균주를 최종 선정하였다.

### ACE 저해능 조사

분리균주를 MRS broth 및 10% skim milk가 함유된 MRS broth에서 37°C, 24시간 배양한 후, 10,000 x g에서 15분 동안 원심분리하여 회수한 배양상등액을 시료로 사용하였다. 분리균주의 ACE 저해능은 Cushman과 Cheung [6]의 방법에 준하여 다음과 같이 조사하였다. 0.4 M NaCl을 함유한 0.1 M sodium borate buffer (pH 8.3)에 Hip-His-Leu 12.5 mM을 녹인 용액 100  $\mu$ l, ACE 100  $\mu$ l, 시료 50  $\mu$ l를 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, HCl을 첨가하여 반응을 중지시켰다. 여기에 ethylacetate를 첨가하여 반응산물을 추출한 후, 완전히 건조시켰다. 건조물에 증류수를 첨가하여 229 nm에서 흡광도를 측정하였으며, ACE 저해율(%)은 식  $\frac{[(\text{control-control blank}) - (\text{sample-sample blank})]}{(\text{control-control blank})} \times 100$ 에 의하여 산출하였다.

### 항산화능 조사

분리균주를 MRS broth에서 37°C, 24시간 배양한 후, 17418 x g에서 15분 동안 원심분리하여 회수한 배양상등액을 시료로 사용하였다. 분리균주의 항산화능은 다음과 같이 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity를 조사하여 평가하였다[18]. 200  $\mu$ M DPPH 1 ml와 시료 1 ml를 혼합하여 37°C, 암소에서 30분 동안 반응시킨 후, 517 nm에서의 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거능(%)은 식  $\frac{[(\text{control} - \text{sample})]}{\text{control}} \times 100$ 에 의하여 산출하였다.

### 인공위액 내성 조사

인공위액은 0.5 N HCl을 이용하여 pH 2.5 및 3.0으로 조정된 MRS broth에 pepsin 0.3%를 첨가하여 조제하였다. 분리균주를 인공위액에 접종하고 37°C에서 3시간 동안 배양한 후, 200  $\mu$ l의 배양액을 MRS 평판배지에 도말하였다. 37°C에서 3시

간 동안 배양한 후, 생성된 콜로니를 계수하였다[13]. 인공위액 내성은 pepsin이 첨가되지 않은 MRS broth (pH 6.8)에서의 생균수와 비교하여 백분율로 나타내었다.

### 인공담즙 내성 조사

인공담즙은 MRS broth에 oxgall을 각각 0.1% 및 0.3% 첨가한 후, 0.5 N NaOH를 이용하여 pH 6.8로 조정하여 조제하였다. 분리균주를 인공담즙에 접종하고 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 600 nm에서의 흡광도를 측정하였다[13]. 인공담즙 내성은 oxgall이 첨가되지 않은 MRS broth (pH 6.8)에서의 흡광도와 비교하여 백분율로 나타내었다.

### 항균능 조사

분리균주를 MRS broth에서 48시간 동안 배양한 후, 원심분리(10,000 x g, 10분)하여 상등액을 회수하였다. 0.5 N NaOH를 이용하여 상등액의 pH를 6.8로 조정 한 것과 조정하지 않은 것을 항균능을 조사하기 위한 시료로 사용하였다. 항균능 측정은 agar-well diffusion법[9]을 이용하여 다음과 같이 조사하였다. 피검균주인 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* 및 *Listeria monocytogenes*를 BHI 평판배지에 도말하고, 직경 0.8 mm의 구멍을 뚫은 후, 시료 200  $\mu$ l를 분주하였다. 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 생육 저해환의 직경으로 항균능을 평가하였다.

### 16S rRNA gene 염기서열 분석 및 계통분류

분리균주의 16S rRNA gene 염기서열에 기초한 분자계통학적 분석을 통하여 동정을 실시하였다. 16S rRNA gene을 증폭하기 위하여 사용된 primers는 *E. coli* 16S rRNA gene의 conserved sequence를 기초로 하여 합성된 27F (5'-AGAGTTT GATCMTGGCTCAG-3') primer와 1492R (5'-TACGGYTACC TTGTTACGACTT-3') primer이었다[14]. 16S rRNA gene 염기서열을 결정 한 후, GenBank 데이터베이스의 유사균주들과 비교하였다. 또한 염기서열을 Clustal X (version 1.81) program package [28]를 이용하여 정렬한 후, Neighbor-joining method [25]에 의거하여 각 균주들의 계통분류학적 위치를 결정하였다.

## 결과 및 고찰

### 분리균주의 ACE 저해능 및 항산화능

각 시료를 젖산균 선택배지인  $\text{CaCO}_3$ 가 함유된 MRS 평판 배지에 접종하여 콜로니의 형태가 서로 상이한 78 균주를 순수분리하였다.

사람의 고혈압은 ACE에 의하여 초래되기도 하므로 ACE의 활성을 저해할 수 있다면 고혈압을 예방할 수 있을 것이다. 따라서 분리균주들의 ACE 저해능을 조사하였으며, 그 결과는

Table 1에서 보는 바와 같다. 분리균주들 중 포도(G-3), 부추(L-5), 김치(K-1, K-21) 및 동동주(D-3)에서 분리된 다섯 균주가 MRS broth에서 44.3-71.9%의 ACE 저해능을 나타내었다. 특히 G-3, L-5, K-1 균주는 skim milk가 첨가된 MRS broth에서 ACE 저해능이 59.8-98.6%로서, MRS broth보다 높은 활성을 나타내었다. 분리균주들의 ACE 저해능은 세포 생육과 정확하게 비례하지 않았다. 세포 생육당( $A_{600}=1.0$ ) ACE 저해물질의 수율( $Y_{activity/A600}$ )은 skim milk가 함유된 MRS broth에서 생육한 D3 균주가 63.8로서 가장 높았으며, MRS broth에서 생육한 G3 균주가 11.1로 가장 낮았다. 젖산균 자체의 ACE 저해능에 대한 연구는 소수인 반면, 젖산균 발효식품에 있어 ACE 저해물질에 대한 연구는 활발한 편이다. 즉 일부 젖산균들은 우유 발효 동안 다양한 농도의 ACE 저해물질을 생성하는 것으로 알려져 있는데, ACE 저해물질은 젖산균이 우유 단백질인 카제인을 분해할 때 생성되는 펩티드성 물질인 것으로 보고되어 있다[22,23,27]. 따라서 상기 세 균주들은 균주 자체의 ACE 저해능 외에 skim milk에 함유된 단백질을 분해함으로써 ACE 저해물질을 생산하는 것으로 추정된다. 현재 본 연구의 최종 목표인 기능성 맥문동 발효식품 제조를 위하여 분리균주를 이용한 맥문동 발효실험을 수행중이므로 상기에서 언급된 의문사항에 대한 결과를 마련할 수 있을 것으로 판단된다.

산화된 식품의 섭취와 산소 호흡으로 인한 생체 내 대사과정 중에 발생된 다양한 유리 라디칼 및 오염물질 등은 인간의 세포에 산화적 손상(oxidative damage)을 유발하므로 이러한 스트레스를 소거할 수 있는 항산화 물질의 개발은 매우 중요

한 과제이다[1]. 따라서 분리균주들의 항산화능을 DPPH radical 소거능으로 측정하였으며, 그 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 양성 대조구인 ascorbic acid보다 DPPH radical 소거능은 낮았지만 다섯 균주 모두 DPPH radical 소거능(42.5-82.7%)이 있었으며, 그 중 D-3 균주의 radical 소거 활성이 82.7%로 가장 높았다. 또한 분리균주들의 DPPH radical 소거능은 세포 생육과 비례하지 않았으며, DPPH radical 소거물질의 수율은 D3 균주가 53.5로서 가장 높았고, G3 균주가 12.2로 가장 낮았다. Kaizu 등[12]은 *Lactobacillus* spp.는 70%의 항산화 효과가 있으며, 인체 내 활성산소 축적을 감소시켜준다고 보고했으며, Cho 등[4]은 김치에서 분리한 *L. plantarum* YS712는 95.8%의 항산화능을 나타내었다고 보고하였다.

분리균주의 인공위액 내성

인체에 적용되는 젖산균의 경우, 산도가 높은 사람의 위 환경에서 사멸되지 않고 생존율을 향상시키는 것이 관건이다. 따라서 분리균주들의 인공위액 내성을 조사하였으며, 그 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. pH 3.0의 인공위액에서 분리균주들의 생존율은 93.2-100%로 매우 높았으나 pH 2.5의 인공위액에서는 생존율이 감소하여 7.3-88.1%의 범위에 있었다. 그러나 G-3 및 K-1 균주의 경우, pH 2.5에서 42.2-88.1%의 높은 생존율을 나타내었다. 현재 젖산균의 위 속 생존율을 향상시키기 microencapsulation을 포함한 몇몇 방법 등이 연구되고 있다[10]. 한편, 김치로부터 분리된 *L. plantarum* NO1는 pH 3.0에서 99%의 생존율을 나타내었으나[15] 산양유로부터 분

Table 1. ACE inhibitory and antioxidant activities of the culture supernatants of the isolated strains

Isolate	Cell growth ( $A_{600}$ ) in MRS	ACE inhibition activity (%)		DPPH radical scavenging activity (%)	Isolation source
		MRS	MRS with skim milk		
G-3	4.765±0.021	53.1±3.2	67.2±4.6	58.2±1.3	Grape
L-5	2.525±0.037	44.3±2.7	59.8±2.6	42.5±2.9	Leek
K-1	2.541±0.017	61.5±3.8	91.5±2.2	47.9±1.8	Kimchi
K-21	4.148±0.055	71.9±1.3	70.5±4.0	66.7±1.2	Kimchi
D-3	1.545±0.028	62.5±4.4	98.6±4.6	82.7±2.7	Dongdongju
Ascorbic acid (0.1 mg/ml)				95.2±0.0	

Values are expressed as average±standard deviation of three independent experiments.

Table 2. Survival rates of isolated strains in artificial gastric fluid and oxgall

Isolate	Survival rate in artificial gastric fluid (%)			Survival rate in oxgall (%)		
	pH 2.5		pH 3.0	0.1%		0.3%
	3 hr	3 hr	12 hr	24 hr	12 hr	24 hr
G-3	88.1±2.0	100±1.8	62.7±1.1	96.1±2.5	77.4±2.2	84.6±3.3
L-5	7.3±2.3	93.2±1.2	110.5±2.2	125.4±3.3	67.4±2.2	72.5±2.7
K-1	42.2±1.8	99.1±3.6	53.5±3.4	61.2±2.8	45.7±3.5	55.4±1.7
K-21	10.2±1.5	94.3±1.4	79.0±1.6	87.7±1.4	56.8±3.1	82.2±2.0
D-3	22.6±2.5	99.3±2.9	117.1±2.5	102.4±2.0	102.4±1.1	112.8±2.5

Values are expressed as average±standard deviation of three independent experiments.

Table 3. Antibacterial activities of the culture supernatants of the isolated strains based on agar-well diffusion method

Isolate	Final pH	Inhibitory zone (mm)			
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>
G-3	3.6±0.1	23±2	21±0	15±1	No activity
L-5	4.3±0.0	No activity	13±0	No activity	No activity
K-1	3.8±0.1	17±1	22±1	No activity	No activity
K-21	3.8±0.2	18±1	22±2	No activity	No activity
D-3	4.2±0.0	12±0	14±1	No activity	No activity

Values are expressed as mean±standard deviation of three independent experiments.

리된 *L. lactis* 및 *Streptococcus salivarius*는 pH 3.0에서 대부분 사멸하였으며[17], 원유에서 분리된 *L. zeae*의 경우, pH 3.0과 6.4에서의 생존율은 비슷하다고[16] 보고되었다. 따라서 상기에서 확인된 생존율이 높은 균주는 인간 위 환경에 적용될 수 있는 잠재적 가능성이 있음을 시사한다.

#### 분리균주의 인공담즙 내성

인체에 적용되는 젓산균은 장의 담즙 환경에서도 생존할 수 있어야 하므로 분리균주의 담즙 내성을 조사하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 분리균주는 0.1% oxgall에서 12시간 배양시 53.5-117.1%, 24시간 배양시 61.2-125.4%의 생존율을 나타내었으며, 인체 내 최고 담즙 농도인 0.3% oxgall에서 12시간 배양시 45.7-102.4%, 24시간 배양시 55.4-112.8%의 생존율을 나타내었다. 대부분의 경우, 배양 12시간대보다 24시간대의 담즙 내성이 더 좋았으므로 분리균주들은 담즙에 대해 적응을 거쳤으리라 판단되는데, 이와 같은 결과는 Jeon 등[11]에 의해 보고된 바 있다. 특히 D-3 균주의 경우, oxgall이 첨가되지 않은 대조구보다 높은 균체 생육을 나타내었다. 담즙은 bile salt hydrolase 생성능이 있는 젓산균에 의하여 탈중합되고, 그 산물로 생성된 glycine, taurine이 젓산균의 생육을 부양할 수 있는 것[3]으로 알려져 있으며, 또한 담즙 자체를 생육을

위한 기질로서 완전히 무기화할 수 있는 젓산균도 보고되어 있다[21]. 따라서 D-3 균주는 이러한 기능을 가지고 있을 것으로 예측되어 현재 이에 대한 연구를 수행중이다.

#### 분리균주의 항균능

분리균주의 항균능을 조사한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 시료의 pH를 조정하지 않은 경우, 다섯 균주 모두 *P. aeruginosa*의 생육을 억제할 수 있었으나 *S. aureus*의 생육은 억제할 수 없었다. G-3 균주는 *S. aureus*를 제외한 모든 피검균주의 생육을 억제하였으며, L-5 균주는 *P. aeruginosa*의 생육만 억제하였다. Fig. 1은 pH를 조정하지 않은 배양상등액의 *P. aeruginosa*에 대한 항균능을 보여주는 사진이다. 한편, 시료의 pH를 6.8로 조정할 경우, 다섯 균주 모두 항균능을 나타내지 않았다. 젓산균은 acetic acid, lactic acid를 생성하여 산도를 낮추어 줌으로써 병원성 세균의 생육을 억제하는 것으로 알려져 있다[26]. 젓산균의 항균작용은 pH effect 외에 박테리옌 등의 항균성 대사산물 생성에도 기인한다[2,19]. 유기산 생성에 의한 병원균 억제효과를 배제하기 위하여 시료의 pH를 6.8로 조정할 경우, 피검균주에 대한 항균능이 전혀 나타나지 않았으므로(미제시) 분리균주에 의한 항균능은 주로 이들이 생산한 유기산에 의한 것으로 추정되었다. 따라서 본 결과는 상기 균주들을 이용하여 맥문동을 발효할 경우, 항균능이 부여된 맥문동 제조 가능성을 시사한다.

#### 분리균주의 동정

분리균주를 동정하기 위하여 16S rRNA gene의 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열을 GenBank에 등록된 유사균주와 비교 분석하여 유전자간 상관성을 알아본 결과, G-3 및 K-21 균주는 각각 *L. plantarum*과 98% 및 99%, L-5 균주는 *Weissella cibaria*와 97%, D-3 균주는 *L. brevis*와 98%, K-1 균주는 *Pediococcus pentosaceus*와 98%의 상동성을 가지고 있었다. 한편, 16S rRNA gene의 구조에 근거하여 기존 젓산균과의 분자계통학적 유연관계를 파악하기 위하여 계통수(phylogenetic tree)를 작성한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 즉, 분자계통학적 분석에서도 분리균주들은 위에서 언급한 각 젓산균을 포함하는 계통학적 그룹에 속함을 알 수 있었다.

본 연구를 통하여 ACE 저해능과 항산화능이 있으며, 인체

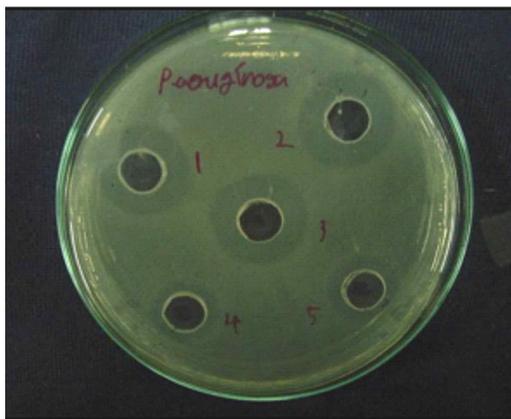


Fig. 1. Photograph showing antibacterial activities of the culture supernatants of the isolated strains against *Pseudomonas aeruginosa*. 1, strain G3; 2, strain K-1; 3, strain K-21; 4, strain L-5; 5, strain D-3.

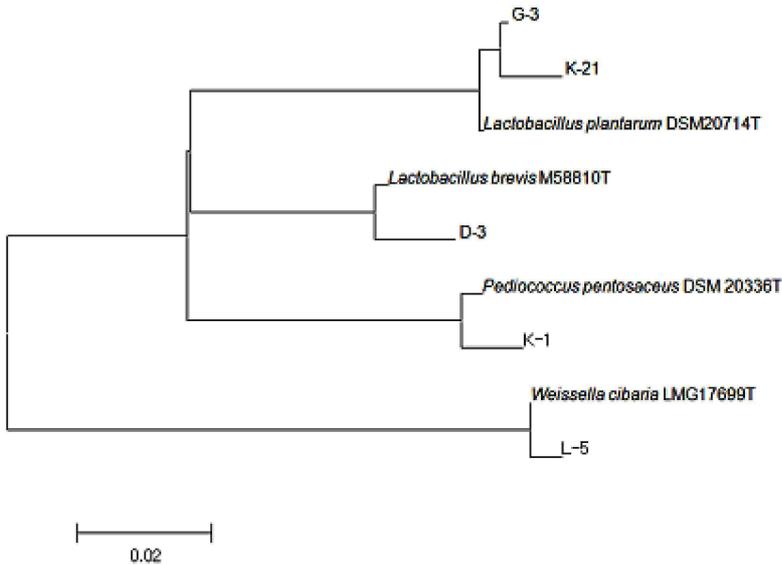


Fig. 2. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences showing the positions of strains isolated and type strains of some lactic acid bacteria.

내 극한 환경에서 생존율이 높은 젖산균들을 분리하였다. 현재 이들 균주를 이용하여 한방식물자원인 맥문동 발효 실험을 수행 중에 있으며, 그 결과를 바탕으로 식물자원의 발효를 위한 starter로서 분리균주들의 이용 가능성을 확인하고자 한다.

### 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 연구개발사업(식품기술개발사업)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다(과제 번호 110119-3).

### References

- Azzi, A., K. J. A. Davies, and F. Kelly. 2004. Free radical biology-terminology and critical thinking. *FEBS Lett.* **558**, 3-6.
- Baek, H., H. R. Ahn, Y. S. Cho, and K. H. Oh. 2010. Antibacterial effects of *Lactococcus lactis* HK-9 isolated from feces of a new born infant. *Korean J. Microbiol.* **46**, 127-133.
- Begley, M., C. Hill, and C. G. M. Gahan. 2006. Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 1729-1738.
- Cho, Y. H., J. Y. Imm, H. Y. Kim, S. G. Hong, S. J. Hwang, D. J. Park, and S. J. Oh. 2009. Isolation and partial characterization of isoflavone transforming *Lactobacillus plantarum* YS712 for potential probiotic use. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **29**, 640-646.
- Cho, Y. H., S. N. Park, and S. W. Jeong. 2009. A study on the physiological activity and industrial prospects of plant-origin lactic acid bacteria. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* **27**, 53-57.
- Chung, H. S. and D. W. Chushman. 1971. Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* **20**, 1637-1641.
- Cotter, P. D., C. Hill, and R. P. Ross. 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 777-788.
- Hammes, W. P. and C. Hertel, 2002. Research approaches for pre- and probiotics: challenges and outlook. *Food Res. Int.* **35**, 165-170.
- Hechard, Y., M. Dherbomez, Y. Ceniempo, and F. Lettlier. 1990. Antagonism of lactic acid bacteria from goats' milk against pathogenic strains assessed by the sandwich method. *Lett. Appl. Microbiol.* **11**, 185-188.
- Islam, M. A., C. H. Yun, Y. J. Choi, and C. S. Cho. 2010. Microencapsulation of live probiotic bacteria. *J. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 1367-1377.
- Jeon, C. P., Y. H. Kim, J. B. Lee, M. S. Jo, K. S. Shin, C. S. Choi, and G. S. Kwon. 2010. Physiological characteristics and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of *Lactobacillus brevis* HLJ59 isolated from salted shrimp. *Korean J. Microbiol.* **46**, 9-14.
- Kaizu, H., H. Sasaki, H. Nakajima, and Y. Suzuki. 1993. Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient in vitamin E. *J. Dairy Sci.* **76**, 2493-2499.
- Kobayashi, Y., K. Tohyama, and T. Terashima. 1974. Tolerance of the multiple antibiotic resistant strain. *Jpn. J. Microbiol.* **29**, 691-697.
- Lane, D. J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing, pp. 115-175, In E. Stackebrandt and M. Goodfellow (eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley and Sons, New York.
- Lee, Y. and H. C. Chang. 2008. Isolation and characterization of Kimchi lactic acid bacteria showing anti-*Helicobacter pylori* activity. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 106-114.
- 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. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **28**, 587-595.
17. Lim, Y. S., S. Y. Kim, and S. K. Lee. 2008. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kefir made of goat milk. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **28**, 82-90.
  18. Lu, Y. and Y. Foo. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem* **68**, 81-85.
  19. Messens, W. and L. De Vuyst. 2002. Inhibitory substances produced by Lactobacilli isolated from sourdoughs- a review. *Int. J. Food Microbiol.* **72**, 31-43.
  20. Molin, G. 2001. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v. *Am. J. Clin. Nutr.* **73**, 380S-385S.
  21. Philipp, B. 2011. Bacterial degradation of bile salts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **89**, 903-915.
  22. Pihlanto, A., T. Virtanen, and H. Korhonen. 2010. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. *Int. Dairy J.* **20**, 3-10.
  23. Quiros, A., B. Hernandez-Ledesma, M. Ramos, L. Amigo, and I. Recio. 2005. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine kefir. *J. Dairy Sci.* **88**, 3480-3487.
  24. Saarela, M., G. Mogensen, R. Fonden, J. Matto, and T. Mattila-Sandholm. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* **84**, 197-215.
  25. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**, 406-426.
  26. Salminen, S., M. Laine, A. Wright, J. Vuopio-Varkila, T. Korhonen, and T. Mattila-Sandholm. 1996. Development of selection criteria for probiotic strains to assess their potential functional foods: a nordic and european approach. *Biosci. Microflora* **15**, 61-67.
  27. Sun, T., S. Zhao, H. Wang, C. Cai, Y. Chen, and H. Zhang. 2009. ACE-inhibitory activity and gamma-aminobutyric acid content of fermented skim milk by *Lactobacillus helveticus* isolated from *Xinjiang koumiss* in China. *Eur. Food Res. Technol.* **228**, 607-612.
  28. Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, and D. G. Higgins. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* **24**, 4876-4882.

#### 초록 : 안지오텐신 전환효소 저해 활성 및 항산화 활성을 가진 젖산균의 분리 및 특성

박성보<sup>1</sup> · 김정도<sup>1</sup> · 이나리<sup>1</sup> · 정진하<sup>1</sup> · 정성운<sup>2</sup> · 이희섭<sup>3</sup> · 황대연<sup>1</sup> · 이종섭<sup>4</sup> · 손홍주<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>부산대학교 생명자원과학대학, <sup>2</sup>대구가톨릭대 의생명과학과, <sup>3</sup>부산대학교 식품영양학과, <sup>4</sup>밀양 산동농협)

본 연구에서는 ACE 저해능 및 항산화능이 있는 식물성 젖산균을 다양한 식물체로부터 분리한 후, 그 특성을 조사하였다. 김치, 부추, 포도 및 동동주에서 K-1, K-21, L-5, G-3 및 D-3 균주가 분리되었으며, 16S rRNA gene 염기서열 분석을 통하여 이들은 각각 *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella cibaria*, *L. plantarum* 및 *L. brevis*로 동정되었다. 분리균주들은 MRS broth에서 44.3-71.9%의 ACE 저해능을 나타내었으며, 특히 G-3, L-5, K-1 균주는 skim milk가 함유된 MRS broth에서 59.0-8-98.6%의 높은 ACE 저해능을 나타내었다. 분리균주는 42.5-82.7%의 DPPH radical 소거능을 나타내었으며, G-3 및 K-1 균주는 pH 2.5의 인공위액에서 42.2-88.1%의 높은 생존율을 나타내었다. 분리균주는 0.3% oxgall에서 24시간 배양시 55.4-112.8%의 내성을 나타내었다. 또한 분리균주는 유기산 생성에 따른 pH 감소 효과로 인하여 *Pseudomonas aeruginosa*를 포함한 일부 병원성 세균의 생육을 억제할 수 있었다.