

## 김치로부터 Phytate 분해 유산균 선별 및 현미에서 반응특성

박성희 · 양소영 · 이종희 · 강미란<sup>†</sup>

세계김치연구소

### Selection of Phytate-degrading Lactic Acid Bacteria from Kimchi and Reaction Properties in Brown Rice

Sung-Hee Park, Soyoung Yang, Jong-Hee Lee, and Miran Kang<sup>†</sup>

World Institute of Kimchi, Gwangju 503-360, Korea

#### Abstract

High levels of an extracellular phytase were isolated from kimchi and found to be produced from a bacterial strain of *Lactobacillus sakei* (designated as *L. sakei* Wikim001). Phytase activity was measured from liberated inorganic phosphate obtained by a modification of the ammonium molybdate method using brown rice. Phytase activity was also detected in the culture broth supernatant at the stationary phase. The highest levels of phytase activity from *L. sakei* Wikim001 were detected at pH 5.0~6.5 and 30~40°C.

**Key words:** phytase, phytate, lactic acid bacteria, kimchi, brown rice

#### 서 론

곡류에는 인의 주요 저장 형태로 inositol에 6개의 인산기가 결합된 인산 ester 구조의 phytate(*myo*-inositol hexakisphosphate)가 존재한다. Phytate는 킬레이트 활성에 의하여 중금속 제거, 항암작용 등과 같은 긍정적인 효과도 보고되어 있으나, 호소(湖沼)에서 부영양화를 유발하여 환경오염을 유발시키는 원인 물질이며 생체 내에서 Mg, Ca, Fe, Zn 등의 무기질이나 영양 성분의 체내 흡수를 저해하는 항영양인자(antinutrient)로도 작용한다. 그러므로 식품에서 phytate의 제거는 영양학적으로 중요하며, phytase를 사용하여 식품 중의 phytate 함량을 저감시키는 방법이 실용화되고 있다(1). Phytase는 phytate를 분해하여 *myo*-inositol과 무기태인을 형성하게 하는 효소로서 식품, 동물의 장관 및 미생물 등에 존재하는 것으로 알려져 있다(2-4).

김치는 배추나 무를 주원료로 마늘, 생강, 파, 고춧가루, 젓갈 등 다양한 향신료를 첨가하여 일정 기간 발효시킨 한국 고유의 발효식품이며, 이들 원료와 미생물의 작용에서 유래되는 성분이 잘 조화되어 고유의 맛을 나타내게 된다(5,6). 이러한 채소발효식품과 관련된 미생물 중 유산균들의 기능성과 효능에 관한 연구결과들이 활발하게 진행되면서 유산균의 활용에 대한 인식이 재평가되고 있다.

유산균 및 효모의 phytase 활성에 대해서는 국외에서는 꾸준히 연구되어 왔으며(7), 특히 통 밀가루(whole wheat

flour)로 sourdough를 제조하여 빵을 만드는 경우 유산균 배양으로 반죽의 pH가 낮아지고 밀에 존재하는 phytase의 활성화로 밀가루에 함유된 phytate가 효과적으로 분해되는 것으로 보고되어 있다(3). 또한 자돈분변에서 분리한 *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*는 우수한 phytate 분해력을 가지고 있고, 분리 균주를 비육돈 사료에 첨가하여 급여한 결과 사료효율 개선효과를 얻었다고 하였으며(8), 인 함량이 낮은 사료를 급여한 쥐에 있어 *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture 제제 4~6% 첨가 시 phytate의 인산기(phytate-P)의 이용성이 높아졌다고 하였다(9,10). 뿐만 아니라 산란계에 있어 인 함량이 낮은(0.25%) 사료 급여 시 유산균의 첨가에 의해 P 축적율이 개선되었는데, 이는 함유된 phytase 및 장내 pH 저하에 따른 결과라고 하였다(11). 하지만 주로 동물사료의 phytate 저감에 대한 연구이며, 식품 중 phytate 분해에 대한 연구는 대부분 밀가루를 재료로 사용하는 빵 제품에 집중되어 있고 쌀 제품의 phytate 분해에 대한 연구는 미미한 실정이다(12-15).

따라서 최근 웰빙(well-being)과 함께 건강식품으로 알려진 현미의 영양학적 가치를 높이기 위한 기초 연구로 본 연구에서는 현미에 김치에서 분리한 phytase 활성 우수 *Lactobacillus(L.) sakei* wikim001 균주 첨가를 통한 발효에 의한 현미의 phytate 함량 변화 및 적정 발효 조건에 대한 연구를 수행하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: miran1125@wikim.re.kr  
Phone: 82-62-610-1727, Fax: 82-62-610-1850

## 재료 및 방법

### 김치유산균 분리 및 배양

광주 지역의 맛집과 김치 생산업체들의 배추김치를 수거하여 4°C의 저온에서 숙성시켰다. 상기 김치시료가 pH 4.3 내외가 되었을 때 균의 분리가 가능한 농도로 생리식염수로 희석하여 MRS 평판배지에 도말하여 30°C, 미호기 조건에서 48시간 배양하였다. 배지에서 성장한 150여개의 집락들 중 외관상 색깔과 모양이 차이가 나는 집락을 순수분리 하였다. 유산균주들은 MRS 액체배지(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하여 배양한 후 대수기에 있는 배양액에 글리세롤 25% (v/v)가 되게 첨가하여 -70°C에서 보관하였으며, 실험에 사용할 경우 5 mL MRS 액체배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후 MRS 액체배지에 1차 계대배양하고 다시 MRS 액체배지에 2차 계대하여 30°C에서 24시간 배양하였다.

### Phytase 활성 측정

Phytase의 활성도는 Quan 등(16)과 Shimizu(17)의 방법을 변형하여 분석하였으며, 세포내 phytase 활성(intracellular phytase activity)은 배양액을 원심분리 하여 균체를 수확한 후 0.85% NaCl 용액으로 2~3회 세척하고 0.2 M acetate 완충용액(pH 3.5)에서 유산균체의 phytase 활성을 측정하였다. 세포 내 phytase 활성은 단위 배양액이 함유하는 세포의 효소활성을 용량을 기준으로 한 세포내 효소활성의 합으로 나타내었다. 기질로 사용한 2 mM의 sodium phytase 활성은 세포의 활성과 용량을 기준으로 한 세포내 효소활성의 합으로 나타내었다. 기질로 사용한 2 mM의 sodium phytate 용액 0.9 mL를 37°C에서 충분히 예열시킨 후 0.1 mL의 조효소액 또는 균체 현탁액을 첨가하여 10분간 반응시킨 후, 10% TCA 1 mL를 첨가하여 효소활성을 중지시켰다. 이 반응완료액에 발색시약 1.5 mL(5.5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 1.5%가 되도록 ammonium molybdate를 녹인 용액과 2.7% ferrous sulfate를 증류수에 녹인 용액을 4:1로 혼합하여 조제한 용액)를 첨가하여 10분간 발색시킨 후 유리된 인산의 양을 700 nm에서 측정하여 phytase의 활성도로 나타냈다. 효소활성도 1 unit는 1분 동안에 phytate에서 1 μmole의 PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>으로 전환시키는 효소량으로 정의하였다.

### Genomic DNA 추출 및 균주의 동정

Genomic DNA는 G-spin genomic DNA extraction kit (iNtRon Biotechnology, Seoul, Korea)를 사용하여 분리하고 제조사의 protocol에 따라 genomic DNA를 추출하였다. 균주를 동정하기 위해 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석하였다. Genomic DNA는 PCR 기계(Eppendorf, Hamburg, Germany)를 사용하여 증폭하였으며 각각의 primer 1 μL(40 pmol), 10×buffer 2.5 μL, dNTP 2 μL(2.5 mM, Takara, Shiga, Japan), Taq polymerase(5 unit/μL, Takara) 0.1 μL가 포함된 25 μL 혼합액에 1 μL template DNA를 넣어 증폭

시켰다. 각 반응은 95°C에서 5분간 예비변성(predenaturation)을 1회 실시한 후, 본변성(denaturation)은 95°C에서 1분, 풀림(annealing)은 45°C에서 1분, 확장(extension)은 72°C에서 1분간의 중합반응 과정으로 30회 실시하였고 마지막으로 추가확장을 72°C에서 10분간 더 실시하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동으로 확인 후 염기서열을 분석하였다. 그 결과 확인된 염기서열을 균 동정을 위하여 National Center for Biotechnology Information(NCBI)에서 제공하는 Basic Local Alignment Search Tool(BLAST) 프로그램을 이용하여 염기서열을 비교하였다.

### *In vitro* 내산성 시험

내산성 시험은 HCl과 NaOH 용액을 사용하여 pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.5로 각각 조정된 MRS 액체배지에 유산균 배양액을 10% 접종하고, 37°C incubator(SJ-402M, Sejong Scientific Co., Gyeonggi, Korea)에서 2시간 배양한 다음 MRS 평판배지에 도말하여 48시간 배양한 후, 총균수를 측정하였다.

### *In vitro* 열 안정성 시험

열 안정성은 MRS 액체배지에 유산균 배양액을 10% 접종하고 30, 40, 50, 60°C incubator(SJ-402M, Sejong Scientific Co.)에서 20분간 정치한 다음 MRS 평판배지에 도말하여 48시간 배양한 후, 총균수를 측정하였다.

### Phytate 함량 분석

현미 200 g을 phytase 생성균주와 반응시켜 30°C incubator에 24시간, 48시간 배양한 후, 5 g을 채취하여 증류수 30 mL를 첨가하고 그라인더에 1분 동안 마쇄하여 10배 희석하였다. 증류수로 10배 희석한 시료 3 mL에 Wade 시약(증류수에 0.03% FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O와 0.3% sulfosalicylic acid 용해) 1 mL를 가한 후 vortex mixer로 10초간 혼합하고 0.45 μm syringe filter로 여과하여 500 nm에서 여과액의 흡광도를 측정하였다. Phytate 함량은 Na-phytate 표준곡선을 이용하여 계산하였다.

### Phytate 분해에 미치는 온도 및 pH의 영향

효소에 대한 온도와 pH의 영향을 알아보기 위하여 배양액 중 phytate 함량은 변형된 Wade 방법으로 측정하였다. 온도에 대한 phytase의 영향은 30, 40, 50, 60°C에서 실시하였다. 곱게 같은 현미의 상층액을 1%로 첨가한 MRS broth에 phytase 활성을 가지는 유산균을 첨가하여 24시간 방치한 후 phytate 함량을 비교하였다. pH에 대한 phytase의 영향을 알아보기 위하여 MRS broth를 0.1 N HCl로 pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.5로 조정된 다음 곱게 같은 현미의 상층액을 1%가 되게 첨가한 배지에 phytase 활성을 가지는 유산균을 첨가하여 30°C에서 24시간 방치한 후 phytate 함량을 비교하였다. Phytate 함량을 비교하기 위하여 증류수로 10배 희석한 배양액 3 mL에 Wade 시약 1 mL를 가한 후 vortex mixer

로 10초간 혼합하고 0.45 µm syringe filter로 여과하여 500 nm에서 여과액의 흡광도를 측정하였다. Phytate 함량은 Na-phytate 표준곡선을 이용하여 계산하였다.

**통계분석**

모든 자료는 mean±SE이며, 통계학적 유의성 검정은 Student's *t*-test에 의하여 검정하였다. p값은 p<0.05 수준에서 유의적 차이를 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**Phytase 활성 우수 균주의 분리**

김치로부터 분리한 48개의 김치유산균의 세포 내 phytase 활성을 측정하였으며 결과는 Fig. 1과 같다. 김치 시료로부터 분리한 균주는 선발한 순서에 따라 명명하였으며, 이들 중 효소 생산성이 높은 균주 B04을 선발하였다. 그리고 API 50 CHL kit(BioMerieux, Lyon, France)를 사용하여 분리균의 당 이용성 조사(Table 1)를 통한 균 동정 결과 *L. sakei*와 매우 유사한 것으로 판정되었다. 보다 정확한 동정을 위하여 분리균주의 16S rRNA 염기서열을 NCBI의 BLAST program을 이용하여 상동성을 비교한 결과 *L. sakei* 균주 (GenBank accession number AB600196.1)와 99%의 상동성을 나타내어 이 균주를 *L. sakei* Wikim001으로 명명하였다 (Fig. 2).

**In vitro 내산성 및 열 안정성**

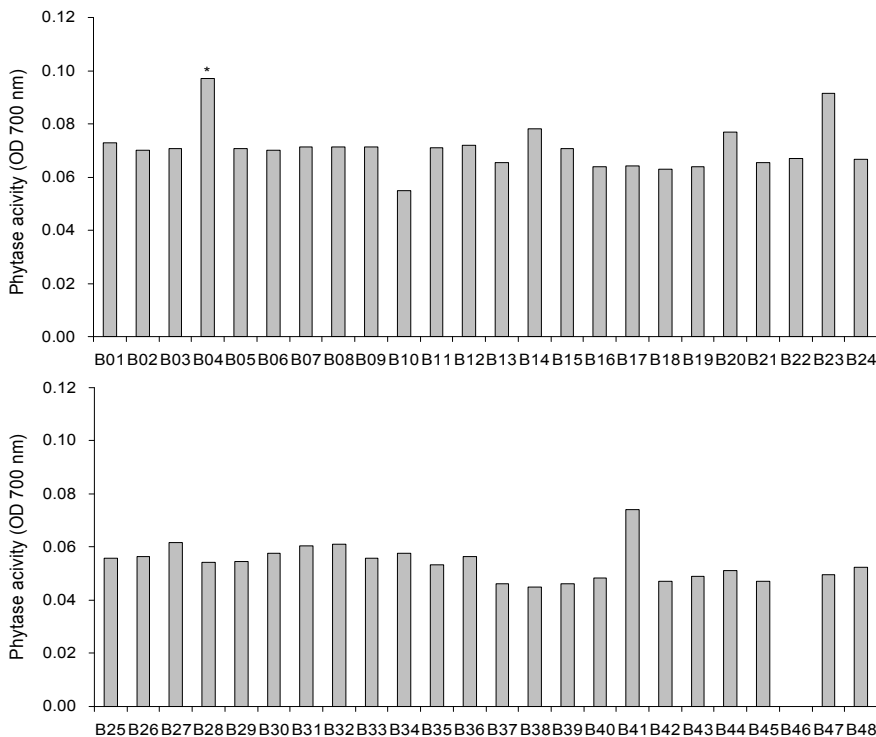
김치로부터 분리한 *L. sakei* Wikim001의 특성 확인을 위하여 내산성 및 열 안정성을 확인하였다. 내산성 실험 결과

**Table 1. Utilization of various carbohydrates by *L. sakei* Wikim001 isolated from kimchi**

Carbohydrate	Reaction	Carbohydrate	Reaction
Control	-	Esculin	+
Glycerol	-	Salicin	-
Erythritol	-	Cellobiose	+
D-Arabinose	-	Maltose	+
L-Arabinose	+	Lactose	-
Ribose	+	Melibiose	+
D-Xylose	-	Saccharose	+
L-Xylose	-	Trehalose	+
Adonitol	-	Inuline	-
Methyl-β-xyloside	-	Melezitose	-
D-Galactose	+	D-Raffinose	-
D-Glucose	+	Amidon	-
D-Fructose	+	Glycogene	-
D-Mannose	+	Xylitol	-
L-Sorbose	-	β-Gentiobiose	-
Rhamnose	-	D-Turanose	-
Dulcitol	-	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	-
Mannitol	-	D-Fucose	-
Sorbitol	-	L-Fucose	-
Ethyl-α-D-mannoside	-	D-Arabitol	-
Methyl-α-D-glucoside	-	L-Arabitol	-
N-Acetyl glucosamine	+	Gluconate	-
Amygdalin	-	2-Keto-gluconate	-
Arbutin	-	5-Keto-gluconate	-

+: Positive reaction, -: Negative reaction.

*L. sakei* Wikim001은 pH 6.5에서 생육이 잘 되었다(Fig. 3). *L. sakei* Wikim001의 열 안정성은 MRS 배지에 투여한 다음 30, 40, 50, 60°C에서 20분간 정치 후 생존하는 수를 조사하였다(Fig. 4). 30°C에서는  $5.90 \times 10^8$  CFU/mL, 40°C에서는



**Fig. 1. Profile of intracellular phytase activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi.**

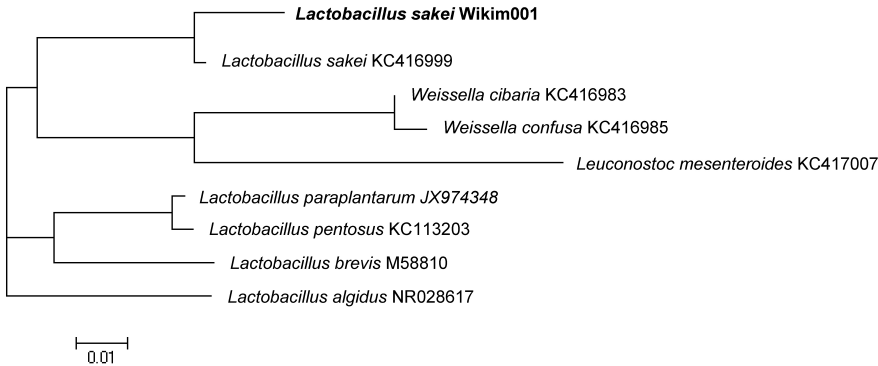


Fig. 2. Phylogenetic relationship between *L. sakei* Wikim001 and other related bacteria based on 16S rRNA sequence.

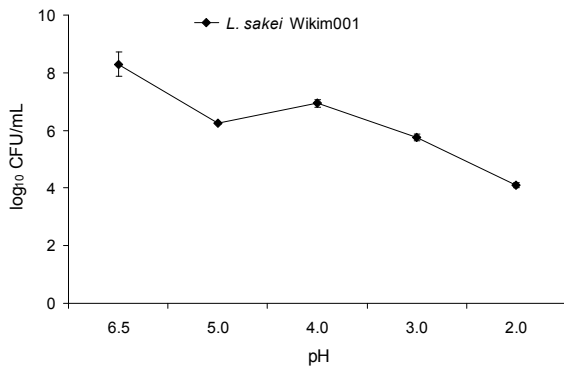


Fig. 3. Effect of the acid expose on the survival of *L. sakei* Wikim001. *L. sakei* Wikim001 was incubated in MRS broth adjusted to various pH for 2 hr and diluted with saline, and then plated out in MRS-agar. The values are expressed as means±SE of three different experiments.

2.15 × 10<sup>8</sup> CFU/mL, 50°C에서는 7.35 × 10<sup>6</sup> CFU/mL, 60°C에서는 5.16 × 10<sup>4</sup> CFU/mL 정도 생존하여 30°C가 가장 우수한 생육 조건임을 알 수 있었다.

*L. sakei* Wikim001의 현미에서의 phytate 저감 효과

표준 기질에서의 반응 pattern을 기반으로 실제 식품에서의 기질인 현미에 김치유산균주를 처리하고 그 반응 양상을 관찰하였다. 현미에 김치유산균을 접종하여 24시간 동안 배

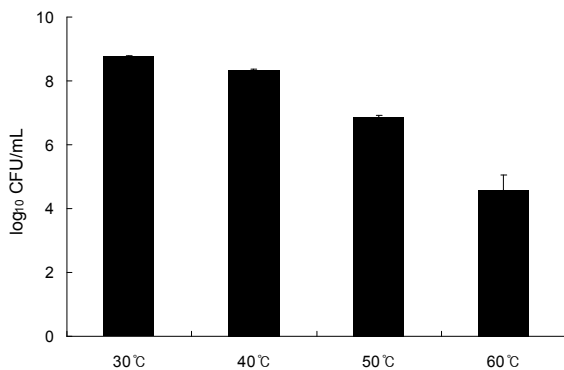


Fig. 4. Stability of *L. sakei* Wikim001 in various temperature conditions. *L. sakei* Wikim001 was incubated in MRS broth in various temperature conditions for 20 min, and diluted with saline, and then plated out in MRS-agar. The values are expressed as means±SE of three different experiments.

양한 결과 *L. sakei* Wikim001 김치유산균주는 현미의 phytate 함량을 유의적으로 감소시켰다(Fig. 5). 발효에 의한 여러 기질의 이용효율을 파악하기 위해서는 pH, *in vitro*에서의 단백질과 전분 소화율, *in vivo* 실험 등을 수행해야 정확한 자료를 도출할 수 있다. 그러나 phytate 분해에 따라 현미에서 인 추출율(P extractability), 미네랄 이용성 및 단백질과 전분 소화율 등이 개선되는 점을 고려할 때 발효성상을 파악함에 있어 간접적인 index로서 phytate 함량의 변화를 측정하는 것도 바람직한 방법으로 평가된다(8).

현미 phytate 저감을 위한 적정 pH 및 온도

*L. sakei* Wikim001의 pH 영역별 phytate 저감능을 확인하였다(Fig. 6). Phytate 함량 변화로 추론한 *L. sakei* Wikim001 최적 phytase 활성을 가지는 최적반응 pH는 5.0~6.5로 나타났으며, pH 4.0 이하에서는 *L. sakei* Wikim001의 phytase에 의해 현미의 phytate는 거의 분해되지 않았다. 일반적으로 세균의 phytase는 pH 6.5~7.5의 영역에서 최적반응을 나타내고, 곰팡이와 효모 기원의 많은 phytase는 4.0~5.0의 pH 영역에서 최적반응 pH를 갖는 산성 phytase이다(18). 본 연구에서 사용한 *L. sakei* Wikim001 균주 역시 중성 범위의 pH에서 가장 우수한 phytate 분해능을 보임으로써 다른 세균과 유사한 결과를 나타내었다. Fig. 6에 나타난 pH 4.0

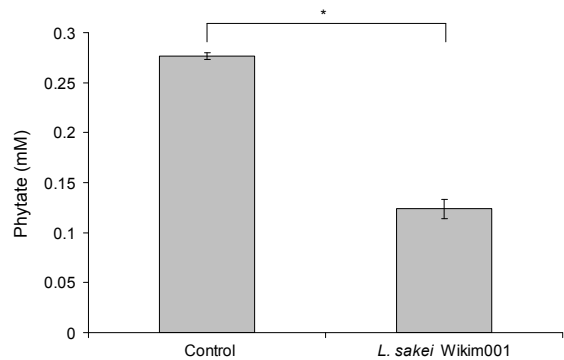
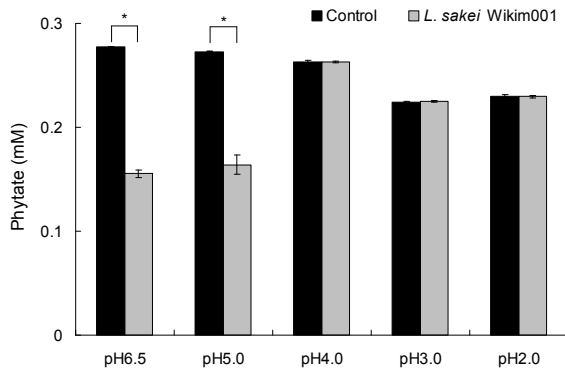
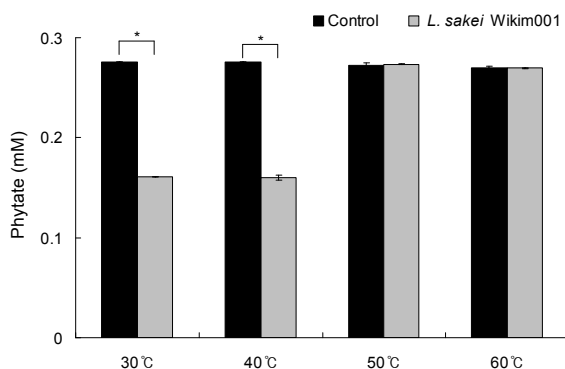


Fig. 5. Degradation of phytate in brown rice by *L. sakei* Wikim001. *L. sakei* Wikim001 was incubated in MRS broth containing 1% grinded brown rice supernatant for 24 hr and diluted with saline, and then phytate content was measured with modified Wade method. The values are expressed as means±SE of three different experiments. \*p<0.05 versus control.



**Fig. 6. Degradation of phytate in brown rice by *L. sakei* Wikim001 in different pH.** *L. sakei* Wikim001 was incubated in MRS broth containing 1% grinded brown rice supernatant adjusted to various pH for 24 hr and diluted with saline, and then phytate content was measured with modified Wade method. The values are expressed as means±SE of three different experiments. \*p<0.05 versus control.

이하에서 control 및 *L. sakei* Wikim001을 첨가한 균의 phytate 함량 감소는 산에 의한 현미의 phytate 분해가 원인으로 생각되어진다. Phytase의 적정반응 온도는 미생물 균종에 따라서 차이가 있으며, *B. subtilis*, *Enterobacter*, *Pseudomonas fragi* 등의 세균은 50~70°C, *Aspergillus* 속, *Rhizopus* 속 등의 곰팡이에서는 40~70°C, 효모인 경우에도 균주에 따라서 다르나 대략 60~75°C에서 적정반응 온도를 보여 미생물 기원의 phytase는 주로 고온 영역에서 적정반응 온도를 보이는 것으로 생각된다(19). 유산균은 자연계에 광범위하게 분포하며 전통적으로 다양한 발효식품에 이용되어 왔고 일반적으로 안전하다고 인식되는 미생물(GRAS, generally recognized as safe)이다. 많은 유산균은 프로바이오틱스로서 소화 흡수를 돕고 장내부패를 억제하며 설사 변비의 치료 효과, 장내 유해균의 억제, 비타민의 생성, 혈중 콜레스테롤 저하능, 항암 효과, 인체의 면역 능력 증강 등 다양한 기능이 보고되고 있다(20-23). 다른 미생물은 균의 phy-



**Fig. 7. Degradation of phytate in brown rice by *L. sakei* Wikim001 in various temperature condition.** *L. sakei* Wikim001 was incubated in MRS broth containing 1% grinded brown rice supernatant adjusted to various temperature for 24 hr and diluted with saline, and then phytate content was measured with modified Wade method. The values are expressed as means±SE of three different experiments. \*p<0.05 versus control.

tase를 분리하여 식품이나 사료에 적용해야 하지만 본 연구에서 사용한 *L. sakei* Wikim001 균주는 phytase 분리 없이 균 자체를 식품이나 사료에 적용 가능할 것으로 판단된다. 본 연구에 사용된 *L. sakei* Wikim001 균주 역시 비교적 높은 온도에서 적정반응을 보일 것으로 기대하였으나 기존에 보고된 균주들의 적정반응 온도보다 낮은 30~40°C로 나타났다(Fig. 7). 이러한 낮은 적정반응 온도는 오히려 생공상태의 *L. sakei* Wikim001 균주를 식품이나 사료에 적용될 경우 생체내 phytate 분해 반응에 긍정적 효과를 미칠 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 phytate를 myo-inositol과 무기태인으로 분해시키는 효소인 phytase 생산균주의 분리 및 현미의 phytate 저장 최적 온도 및 pH에 관한 것이다. 먼저 phytase 활성 측정을 통하여 우수한 phytase 활성을 가지는 균주를 김치로부터 분리 및 선별하고 내산성과 내열성 실험으로 균주의 특성을 파악하고, 당 이용성 조사 및 16S rRNA sequence 분석으로 *L. sakei*가 동정되어 이 균주를 *L. sakei* Wikim001으로 명명하였다. *L. sakei* Wikim001에 의한 현미의 phytate 분해능을 확인하였으며, *L. sakei* Wikim001의 현미의 phytate 분해의 적정반응 pH는 5.0~6.5이며 온도는 30~40°C로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2011년 농수산식품부 고부가가치식품기술개발 사업에 의해 수행한 결과이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. In MJ, Choi SY, Kim HR, Park DB, Oh NS, Kim DC. 2009. Acid production and phytase degradation using a *Leuconostoc mesenteroides* KC51 strain in saccharified-rice suspension. *J Appl Biol Chem* 52: 33-37.
2. Lee SH, Kwon HS, Koo KT, Kang BH, Kim TY. 2006. Characterization of phytase from *Bacillus coagulans* IDCC 1201. *Kor J Microbiol Biotechnol* 34: 28-34.
3. De Angelis M, Gallo G, Corbo MR, McSweeney PL, Faccia M, Giovine M, Gobbetti M. 2003. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *Int J Food Microbiol* 87: 259-270.
4. Wodzinski RJ, Ullah AH. 1996. Phytase. *Adv Appl Microbiol* 42: 263-302.
5. Kim SJ. 2005. Physicochemical characteristics of yogurt prepared with lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Korean J Food Culture* 20: 337-340.
6. Kong CS, Kim DK, Rhee SH, Rho CW, Hwang HJ, Choi KL, Park KY. 2005. Fermentation properties and *in vitro* anticancer effect of young radish kimchi and young radish watery kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 311-316.
7. Shirai K, Revah-Moiseev S, Garcia-Garibay M, Marshall

- VM. 1994. Ability of some strains of lactic acid bacteria to degrade phytic acid. *Lett Appl Microbiol* 19: 366-369.
8. Yang SY, Song MD, Kim CW, Yu JH, Chung KC. 2001. Isolation and application of phytate-hydrolysing lactic acid bacteria. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 29: 195-200.
  9. Moore RJ, Veum TL. 1983. Effect of source and level of dietary yeast product on phytate phosphorus utilization by rats fed low phosphorus diets. *Nutr Rep Intl* 27: 1267-1275.
  10. In MJ, Seo SW, Oh NS. 2008. Fermentative production and application of acid phytase by *Saccharomyces cerevisiae* CY strain. *Afr J Biotechnol* 7: 3115-3120.
  11. Nahashon SN, Nakaue HS, Mirosh LW. 1994. Phytase activity, phosphorus and calcium retention, and performance of single comb White Leghorn layers fed diets containing two levels of available phosphorus and supplemented with direct-fed microbials. *Poult Sci* 73: 1552-1562.
  12. Kim EY, Kim YH, Rhee MH, Song JC, Lee KW, Kim KS, Lee SP, Lee IS, Park SC. 2007. Selection of *Lactobacillus* sp. PSC101 that produces active dietary enzymes such as amylase, lipase, phytase and protease in pigs. *J Gen Appl Microbiol* 53: 111-117.
  13. Reale A, Konietzny U, Coppola R, Sorrentino E, Greiner R. 2007. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. *J Agric Food Chem* 55: 2993-2997.
  14. Huang LS, Sok DE, Kim HC, Yoon WK, Kim HM, Kim MR. 2006. Phytate determination in various cultivars of Korean rice. *J Food Sci Nutr* 11: 67-72.
  15. Yang Y, Tao WY, Liu YJ, Zhu F. 2008. Inhibition of *Bacillus cereus* by lactic acid bacteria starter cultures in rice fermentation. *Food Control* 19: 159-161.
  16. Quan C, Zhang L, Wang Y, Ohta Y. 2001. Production of phytase in a low phosphate medium by a novel yeast *Candida krusei*. *J Biosci Bioeng* 92: 154-160.
  17. Shimizu M. 1992. Purification and characterization of phytase from *Bacillus subtilis* (natto) N-77. *Biosci Biotechnol Biochem* 56: 1266-1269.
  18. Oh BC, Choi WC, Park S, Kim YO, Oh TK. 2004. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. *Appl Microbiol Biotechnol* 63: 362-372.
  19. Seo SW, In MJ, Oh NS. 2005. Production and reaction properties of phytase by *Saccharomyces cerevisiae* CY strain. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 228-232.
  20. Lee SH, Yang EH, Kwon HS, Kang JH, Kang BH. 2008. Potential probiotic properties of *Lactobacillus johnsonii* IDCC 9203 isolated from infant feces. *Kor J Microbiol Biotechnol* 36: 121-127.
  21. Sandine WE, Muralidhara KS, Elliker PR, England DC. 1972. Lactic acid bacteria in food and health: a review with special reference to enteropathogenic *Escherichia coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli. *J Milk Food Technol* 35: 691-702.
  22. Kim HJ, Chang HC. 2006. Isolation and characterization of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria from Kimchi. *Kor J Microbiol Biotechnol* 34: 196-203.
  23. Gilliland SE. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 7: 175-188.

(2012년 10월 26일 접수; 2013년 3월 21일 채택)