



ARTICLE

한국전통식품 김치로부터 분리한 유산균주의 항산화 활성

김다영¹ · 김홍석² · 유정식¹ · 조윤아¹ · 김철현^{1*}

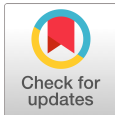
¹단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단, ²유담

Antioxidant Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Korean Traditional Food Kimchi

Da-Young Kim¹, Hong Seok Kim², Jung Sik Yoo¹, Yoon Ah Cho¹, and Cheol-Hyun Kim^{1*}

¹Dept. of Animal Resources Science, Dankook University, Cheonan, Korea

²Youdam Co., Cheonan, Korea



Received: June 16, 2020

Revised: June 22, 2020

Accepted: June 22, 2020

*Corresponding author :

Cheol-Hyun Kim

Dept. Animal Resources Science,
Dankook University, Cheonan, Korea

Tel : +82-41-529-6264

Fax : +82-41-529-6264

E-mail : hichkim@dankook.ac.kr

Copyright © 2020 Korean Society of Dairy Science and Biotechnology.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Da-Young Kim

<https://orcid.org/0000-0003-0927-1512>

Hong Seok Kim

<https://orcid.org/0000-0002-6546-3976>

Jung Sik Yoo

<https://orcid.org/0000-0002-3758-3604>

Yoon Ah Cho

<https://orcid.org/0000-0001-9360-3959>

Cheol-Hyun Kim

<https://orcid.org/0000-0002-1905-9948>

Abstract

The purpose of this study was to investigate the probiotic properties of lactic acid bacteria (LAB) isolated from a Korean traditional food kimchi. Gram staining was performed by MacroGen (MacroGen, Inc.) for identification of the LAB. Five strains of LAB were identified, including DKGf9 (*Lactobacillus plantarum*), DKGf1 (*L. paracasei*), DKGf8 (*L. casei*), DK207 (*L. casei*), and DK211 (*L. casei*). The biological activities of the isolated strains were assessed. The results showed that heat resistance of the strains was similar to or higher than the commercial strain *L. acidophilus* LA-5. Indirect testing of the ability of the strains to attach to the mucin layer revealed that DKGf9, DKGf1, and DKGf8 have high binding affinities for the mucous layer. All strains showed antimicrobial activity similar to or higher than the commercial strain LA-5. In proteolysis experiments, the diameters of proteolysis zones of the five strains increased in the period of 24–72 h, with DKGf1 exhibiting the largest zone diameter. Three strains were selected based on their antioxidant activities. Among the five isolated strains, *L. paracasei* DKGf1 showed potential probiotic activity, and thus, it may be useful for the development of health-promoting products.

Keywords

probiotics, kimchi, antioxidant activity, proteolytic activity, heat resistance

서론

프로바이오틱스는 "장 미생물 균형을 개선함으로써 숙주 동물에 유익하게 영향을 미치는 살아있는 미생물 식품보충제"로 정의되었다[1]. 많은 프로바이오틱스는 건강한 장내 미생물의 정상적인 공생 박테리아이며, 가장 자주 사용되는 프로바이오틱스는 lactobacilli와 bifidobacteria를 포함한다. 프로바이오틱스의 정의는 프로바이오틱스의 안전성과 효능이 각 균주에 대해 과학적으로 입증되어야 한다. 건강 효과의 입증은 인간 대상에 대한 메커니즘 및 임상 및 영양 연구에 대한 연구로 구성된다[2].

김치는 한국 전통 발효 야채로 양배추나 무가 붉은 고추, 마늘, 생강, 파 등 다양한 재료와 혼합된 후 다양한 유산균에 의해 주로 발효된다[3]. 김치 발효는 일반적으로 10°C 이하의 저온에서 수행되고, 김치 발효 동안 다양한 유산균이 증식하여 김치의 독특한 맛과 향의 발달에 기여한다[4,5]. 김치 발효에는 약 200종의 미생물이 있지만, *Leuconostoc* spp. 및 *Lactobacillus* spp.와 같은 유산균이 주를 이룬다[6,7].

미생물이 프로바이오틱스로 사용되는 경우, 이들은 숙주의 위장관에서 상피 세포에 강하게 부착하고, 낮은 pH 및 담즙 염을 포함하여 바람직하지 않은 조건에서 생존할 수 있는 능력과 같은 일부

특성을 가져야 한다. 그리고 β -galactosidase와 같은 바람직한 효소 활성을 보유하는 것은 유당불내성을 완화시킨다[8]. 프로바이오틱 유산균은 장 면역계에 영향을 주어 장 질환을 예방 또는 개선하거나, 병원성 미생물의 성장을 억제하여 장 건강을 유지하는 정상 작용 등이 대표적인 기능으로 알려져 있다[9]. 미생물이 프로바이오틱으로 이용되기 위해서는 인간과 동물의 장내 환경에서 생육 가능하여야 하며, 추가적인 기능성을 위한 장내 세포 표면에 대한 부착성과 최종적인 산업화를 위한 제조 및 유통 과정에 대한 안정성 및 안전성 등이 확보되어야 한다[10]. 또한, 유산균은 활성산소로부터 자신을 보호할 수 있는 항산화 활성을 가지고 있다. 활성산소는 체내에 축적될 경우, 암, 간경변증, 관절염 등 각종 질병을 초래하게 되어 문제가 되고 있다. 항산화 작용은 이러한 활성산소의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 따라서 유산균의 항산화 작용을 검토하는 것은 활성산소에 의해 유발되는 각종 질병들을 예방하기 위한 의미 있는 기초자료로 활용될 수 있을 것이라 사료된다. 따라서 이에 대한 특성과 차이를 파악하는 것은 프로바이오틱스의 활성을 검증하는 중요한 자료가 될 것으로 사료된다.

따라서 본 연구에서는 김치에서 분리한 유산균의 내열성, 항균 활성, 단백질분해능, 장내부착능 및 항산화능 검증 등을 통한 프로바이오틱스 제품으로서의 가능성 확인을 목표로 하였다.

재료 및 방법

1. 균주의 분리

실험에는 관능검사를 통해 적절한 발효취와 조직감을 가진 김치를 선발하여 멸균된 0.85% NaCl(Junsei Chemical, Japan) 용액에 십진희석한 뒤 시료로 사용하였다. 이 후, 희석액을 MRS agar(BD Difco, USA)에 도말하여 접종한 다음 37°C에서 48시간 동안 배양 후 MRS Agar에 나타나는 유백색의 단일 콜로니를 선택적으로 분리하기 위해 형성된 콜로니를 Loop으로 분산 도말하였다. 37°C에서 48시간 동안 배양 후 MRS agar 상에 나타난 콜로니를 백금으로 채집하여 MRS broth(BD Difco)에 3회 계대 배양하여 얻어진 균주를 20%(v/v) glycerol MRS broth에 현탁하고, -72°C에서 보관하여 실험에 사용하였다.

2. 분리 균주의 동정

분리 균주의 동정을 위하여 일차적으로 형태학적, 생화학적 특성을 조사하였으며, 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석하였다. 형태학적 특성은 그람염색 후 현미경으로 관찰하였으며, 생화학적 특성 조사는 API 50 Kit(biomérieux, France)를 이용하여 37°C에서 48시간 배양 후 실시하였고, 실험 결과는 Bergey's manual과 API LAB PLUS 프로그램(API50 CHL, biomérieux, France)으로 비교 분석하였다. 유전학적 동정을 위한 16S rRNA sequencing은 유니버설 프라이머(universal primer)인 27F와 1492R을 이용하여 16S rRNA 유전자 부분을 증폭하여 DNA 서열분석(Magrogen, Korea)을 의뢰하여 확인하였다.

3. 내열성

MRS broth 99 mL에 분리 균주 5종을 1 mL씩 접종 후 배양하였다. 16-18시간 후 멸균된 Cap tube에 10 mL씩 소분하였다. Water bath에 37°C, 55°C, 65°C, 75°C에 각 5, 15분씩 진탕 배양하여 십진희석 후 BCP agar(Eiken chemical, Japan)에 37°C, 48시간 동안 배양 후 집락수를 계수하였다.

4. 장내부착능

장내부착능 측정은 Azcarate-Peril(2009)의 방법을 통해 Mucin을 이용하여 수행하였다[11]. 96

Well plate(SPL Life Sciences, Korea)에 Mucin solution(Sigma-Aldrich, USA) 100 μ L 분주 후 4 $^{\circ}$ C, 24시간 동안 반응시켰다. 96 Well plate(SPL Life Sciences, Korea)를 0.85% NaCl로 2회 세척 후 계대배양한 균 100 μ L를 분주하고, 37 $^{\circ}$ C, 2시간 동안 배양 후 상등액을 제거하였다. 반응하지 않은 균체 제거를 위해 0.85% NaCl로 각 Well을 5회 세척한 뒤 mucin에 부착된 균체 회수를 위해 각 Well에 0.1% Triton X-100(Sigma) 100 μ L 분주 후 Pipetting하였다. 0.85% NaCl에 십진희석 후 37 $^{\circ}$ C, 48시간 동안 배양 후 집락 수를 계수하였다.

5. 항균 활성 측정

병원성 세균은 KCTC(한국생명공학연구원 생물자원센터)에서 분양받은 *Escherichia coli* KCTC1682, *Salmonella enterica* KCTC2054, *Bacillus cereus* KCTC3624 3종을 균주로 사용하였다. 사용된 병원균주는 LB broth(BD Difco)에서 배양하였다. 실험은 Chang 등의 방법을 변형하여, Cork borer(11 mm)를 이용하여 well 형성 후 억제환의 직경(mm, diameter)을 측정하였다. 3차 계대배양한 분리 균주 5종과 LB Broth에 37 $^{\circ}$ C에서 16-18시간 간격으로 3차 계대 배양한 병원균 3종(*E. coli*, *S. aureus*, *S. enterica*)을 멸균된 Centrifuge tube에 담아 원심분리(4,000 g, 10 min, 4 $^{\circ}$ C) 후 상등액을 취한 뒤 0.1 N NaOH, 0.1 N HCl을 이용하여 pH 7.0으로 조정하였다. Mueller Hinton Agar(BD Difco)에 병원균을 도말 및 건조한 후 Cork borer로 well을 뚫어 분리균주 5종, 상용균주 *L. acidophilus* LA-5, 0.25 N HCl, 대조구, 접종하지 않은 MRS broth를 차례로 150 μ L 분주하였다. 4 $^{\circ}$ C에서 흡수 후, 37 $^{\circ}$ C incubator에서 1 시간 간격으로 환의 유무를 확인하여 직경을 측정하여 항균력을 비교하였다.

6. 단백질 분해능

MRS broth에 37 $^{\circ}$ C에서 16-18시간 간격으로 3차 계대배양한 분리 균주 5종을 멸균된 Centrifuge tube에 넣은 후, 배양액을 원심분리(4,000 g, 4 $^{\circ}$ C, 10 min)하여 상등액을 제거하고, 동량의 pH 7.4의 PBS buffer(Thermo Fisher Scientific, USA)를 첨가하였다. Cork borer로 Skim milk(BD Difco) 배지 정중앙에 Well을 뚫은 후 100-150 μ L의 균을 분주하였다. 37 $^{\circ}$ C Incubator에서 24, 48, 72시간 동안 배양하여 시간마다 환의 직경을 측정하였다.

7. 향산화 활성의 측정 방법

1) 시료 전처리

선발 유산균의 향산화 활성 측정을 위한 전처리 방법에는 Lin과 Chang(2000)의 방법을 이용하여, MRS broth에 37 $^{\circ}$ C에서 16-18시간 간격으로 3차 계대배양한 분리 균주 5종을 멸균한 Centrifuge tube에 넣은 후 원심분리(3,000 g, 10 min, 4 $^{\circ}$ C)하였다[12]. 그 후 상등액을 제거하여 동량의 PBS buffer(pH 7.4)를 첨가한 뒤, 원심분리(3,000 g, 10 min, 4 $^{\circ}$ C) 후 상등액을 샘플로 사용하였다.

2) ABTS radical scavenging activity

ABTS 라디칼 소거능 측정은 Re(1999)의 방법을 응용하여 실험하였다[13]. 2,2'-Azobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt(Sigma)과 증류수를 혼합하여 7 mM의 ABTS solution을 제조하고, Potassium persulfate(Sigma)와 증류수를 혼합하여 2.45 mM Potassium persulfate을 제조하였다. 그 후, ABTS solution과 Potassium persulfate(Sigma)를 1:1 비율로 혼합하여 상온 암실에서 12-16시간 동안 반응 후 pH 7.4의 PBS buffer(Walkersville, USA)에 희석하여 사용하였다(0.70 \pm 0.02 Abs). 만들어진 ABTS 용액 200 μ L에 전처리한 Sample

20 μ L를 혼합하여 상온에서 6분간 반응시킨 후 microplate reader(Thermo Fisher Scientific) 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) DPPH radical scavenging activity

DPPH 라디칼 소거능 측정은 Cho(2011)의 방법을 응용하여 실험하였다[14]. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(Sigma)과 Ethanol(Samchun, Korea)을 혼합하여 0.2 mM DPPH 시약을 제조하여 사용하였다. DPPH 시약과 전처리한 Sample을 1:1 비율로 혼합하여 상온에 30분 동안 반응 후 microplate reader 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power) assay

Ferric reducing antioxidant power(FRAP) 활성은 Fe(III)-2,4,6-tripyridyls-triazine(TPTZ)가 항산화 물질에 의해 Fe(II)-TPTZ로 환원되는 원리를 이용하여 분광법으로 측정하는 방법으로 Khanizadeh의 방법(2008)을 일부 수정하여 실험하였다[15]. 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine(Sigma) 및 3차 증류수를 혼합하여 10 mM TPTZ 용액을 제조한 후, HCl(Daejung chemical & metals, Korea) 및 3차 증류수를 혼합하여 제조한 40 mM HCl Solution을 혼합하여 TPTZ solution을 제조하였다. Sodium acetate trihydrate(Sigma)와 Acetic acid(Samchun)를 혼합하여 300 mM Acetate buffer를 제조한 후 Iron(III) Chloride hexahydrate(Junsei Chemical)와 Ethanol을 혼합하여 20 mM Iron(III) Chloride hexahydrate 용액을 제조한 후, 위 용액을 Acetate buffer:TPTZ solution:Iron(III) Chloride hexahydrate를 10:1:1 비율로 혼합하여 완성된 FRAP 시약을 37°C Water bath에 보관 후 사용하였다. FRAP 시약과 전처리한 Sample을 19:1 비율로 혼합하여 상온에서 30분 동안 반응 후 microplate reader 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5) Hydroxyl radical scavenging assay

0.75 mM 1,10-Phenanthroline(Sigma) 용액 및 2.5 mM Ferrous Sulfate Heptahydrate(Sigma) 용액을 제조하고, PBS(pH 7.4)를 제조하여 위의 용액들과 전처리한 샘플 시료를 96 Well plate(SPL life sciences, Korea)에 각각 50 μ L씩 혼합한 후 마지막으로 반응 시약인 20 mM Hydrogen peroxide(Junsei chemical) 용액을 혼합하였다. 혼합물을 37°C water bath에서 90분간 반응시킨 후 microplate reader 516 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 분리균주의 동정

김치로부터 LAB를 분리한 후, 균주의 동정은 16S rRNA sequencing을 사용하였다. DKGF9는 16S rRNA 유전자 sequencing에서 *Lactobacillus plantarum*, DKGF1은 *Lactobacillus paracasei*로 확인되었다(GeneBank 서열과 99% 유사성). 그러나, DKGF8, DK207, DK211은 *Lactobacillus casei*(GeneBank 서열과 99% 유사성)로 확인되었다(Table 1).

2. 내열성

김치에서 분리하여 전처리한 분리 균주 5종을 37°C, 55°C, 65°C, 75°C에서 5, 15분 동안 진탕 배양시킨 후 생균수의 변화를 나타내었다(Fig. 1). 분리 균주 5종 모두 성장 온도와 가장 가까운 37°C(대조구)와 비교하였을 때, 온도가 높아질수록 낮은 생존율을 보였으며, 또한 진탕 배양시킨 시간이 길어질수록 낮은 생존율을 확인하였다. 5종의 균주 모두 상용균주 *L. acidophilus* LA-5와 비교하였



Table 1. Identification of isolated strains using 16S rRNA gene sequencing

Strains	16S-rRNA sequence	% ID
DKGF9	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain LP-1	99.0
DKGF1	<i>Lactobacillus paracasei</i> strain ChR-II-str10	99.0
DKGF8	<i>Lactobacillus casei</i> strain 186	99.0
DK207	<i>Lactobacillus casei</i> strain NWL63	99.0
DK211	<i>Lactobacillus casei</i> strain ML7	99.0

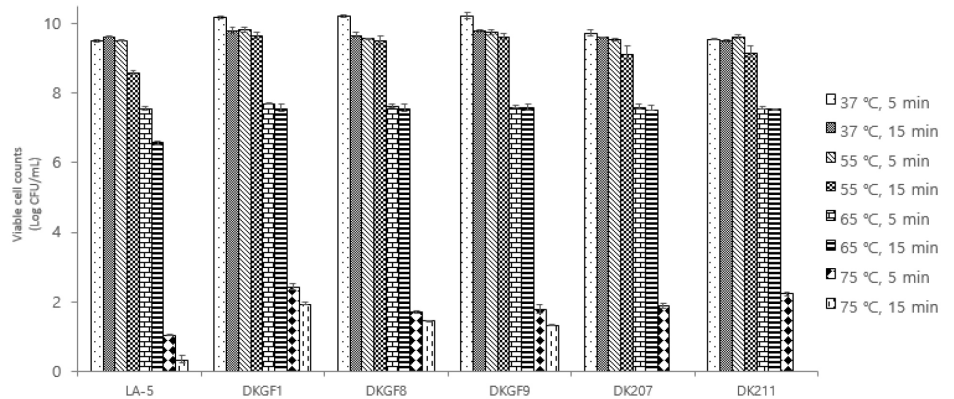


Fig. 1. Survivals of DK strains and LA-5 that are treated for 5, 15 minutes at 37°C, 55°C, 65°C, and 75°C, after separating the strains from the kimchi. All values were mean±SD of triplicates. All strains were incubated at 37°C for 16–18h. LA-5, Commercial strain: *Lactobacillus acidophilus* LA-5; DKGF1, *Lactobacillus paracasei*; DKGF8, *Lactobacillus casei*; DKGF9, *Lactobacillus plantarum*; DK207, DK211, *Lactobacillus casei*.

을 때 비슷하거나 우수한 생존율을 확인하였다.

3. 장내부착능

김치에서 분리하여 전처리한 균주 5종을 Mucin(Sigma)에 대한 결합능을 측정하였다. Fig. 2와 같이 5종의 균주 모두 10⁷ CFU/mL로 상용균주 LA-5(*L. acidophilus*)와 비슷하거나 우수한 장내부착능력을 보였으며, 그 중 DKGF9(*L. plantarum*), DKGF1(*L. paracasei*), DKGF8(*L. casei*)이 비슷한 수준의 장내부착능력을 보였고, 그 다음으로 DK211(*L. casei*), DK207(*L. casei*) 순서로 높은 장내부착능력을 확인하였다.

4. 향균 활성

배지에 Well 형성 후 균주 5종을 분주하여 흡수시킨 후, 1시간 간격으로 환 형성 및 관찰한 결과를 확인하였다(Table 2). 5종의 균주 모두 상용균주 *L. acidophilus* LA-5와 비교하였을 때 비슷하거나 우수한 향균활성을 보였으며, DK207(*L. casei*)의 향균활성이 가장 높게 확인되었다.

5. 단백질 분해능

배지에 구멍 뚫은 후 균을 분주하여 24, 48, 72시간 동안 배양한 결과는 확인하였다(Table 3). 5종의 균주 모두 상용균주 *L. acidophilus* LA-5와 비교했을 때 24시간에서 72시간으로 갈수록 환의 직경이 커지는 것을 확인할 수 있었고, DK211(*L. casei*)를 제외하고 모두 우수한 단백질분해능력을 보였으며, DKGF1(*L. paracasei*)의 단백질분해능력이 가장 우수한 것으로 확인되었고, 앞선

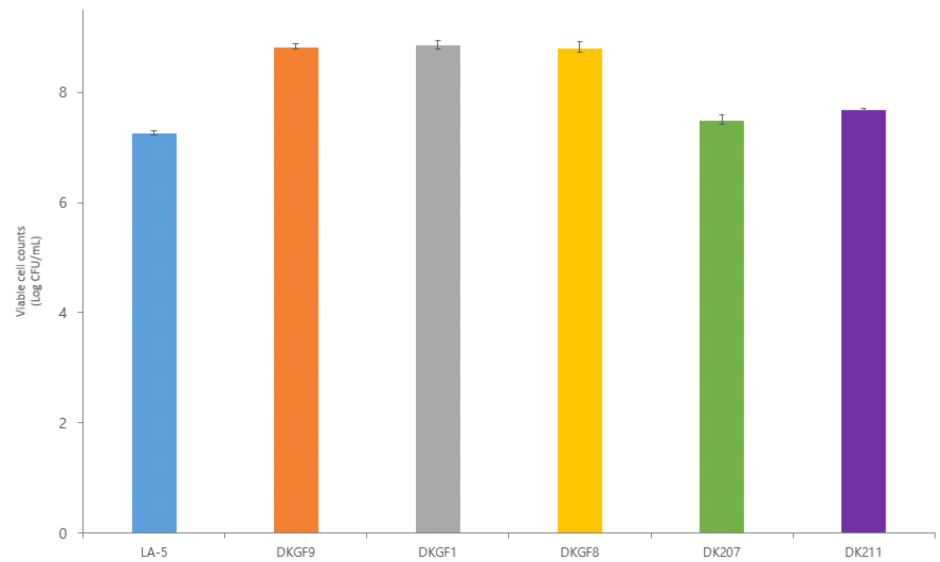


Fig. 2. Attachment activity to the mucin adhesion of lactic acid bacteria (LAB). All values were mean \pm SD of triplicates. All strains were incubated at 37°C for 2 h in 96 well plate treated with mucin. LA-5, Commercial strain: *Lactobacillus acidophilus*; DKG9, *Lactobacillus plantarum* LA-5; DKG1, *Lactobacillus paracasei*; DKG8, DK207, DK211, *Lactobacillus casei*.

Table 2. Measurement of antibacterial activity of the isolated strains

Sample	Species clear zone surrounding the disc (mm)		
	<i>E. coli</i> (KCTC1682)	<i>S. enterica</i> (KCTC2054)	<i>B. cereus</i> (KCTC3624)
LA-5 (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	+	++	+
PC (0.25 N HCl)	+	+	+
DKG9 (<i>Lactobacillus plantarum</i>)	+++	+	++
DKG1 (<i>Lactobacillus paracasei</i>)	+	+++	+
DKG8 (<i>Lactobacillus casei</i>)	++	+	++
DK207 (<i>Lactobacillus casei</i>)	++	+++	+++
DK211 (<i>Lactobacillus casei</i>)	++	++	+

* All values were mean \pm SD of triplicates.

** +, 10<diameter<15; ++, 15<diameter<20; +++, 20<diameter.

Table 3. Measurement of proteolytic activity of the isolated strains at 24, 48, and 72 h

Sample	Species clear zone surrounding the disc (mm)		
	24 h	48 h	72 h
LA-5	11	19	28.8
DKG9	13	24	36
DKG1	21	32.4	41.6
DKG8	12	25.3	38.2
DK207	12	22.5	33.5
DK211	13	24.7	27.6

* All strains used 11 mm cork borer.

** +, 0<diameter<10; ++, 10<diameter<15; +++, 15<diameter.

LA-5, Commercial strain: *Lactobacillus acidophilus* LA-5; DKG9, *Lactobacillus plantarum*; DKG1, *Lactobacillus paracasei*; DKG8, DK207, DK211, *Lactobacillus casei*.

실험을 바탕으로 DKGF9(*L. plantarum*), DKGF1(*L. paracasei*), DKGF8(*L. casei*) 3종을 선별하여 항산화 활성을 측정하였다.

6. 항산화 활성 측정

선별된 균 DKGF1(*L. paracasei*), DKGF8(*L. casei*), DKGF9(*L. plantarum*)를 사용한 발효유의 항산화 활성 기능을 평가하기 위해 ABTS radical scavenging activity, DPPH radical scavenging activity, FRAP assay, Hydroxyl radical scavenging assay에 대한 결과를 확인하였다(Figs. 3-6). 김치에서 분리된 3종의 유산균들의 ABTS radical 소거 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 분리된 3종의 유산균 중 DKGF1(*L. paracasei*)가 상용균주인 *L. acidophilus* LA-5보다 높은 활성을 보였다. DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 상용균주인 *L. acidophilus* LA-5보다 DKGF1(*L. paracasei*)의 활성이 가장 높게 확인되었다. DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 상용균주인 *L. acidophilus* LA-5보다 DKGF1(*L. paracasei*)의

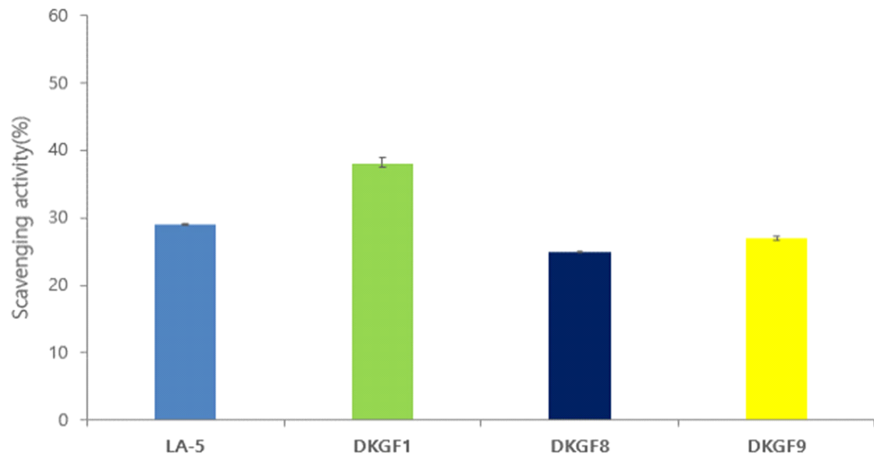


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity for LA-5 and DK strains. All values were mean±SD of triplicates. LA-5, Commercial strain: *Lactobacillus acidophilus* LA-5; DKGF1, *Lactobacillus paracasei*; DKGF8, *Lactobacillus casei*; DKGF9, *Lactobacillus plantarum*.

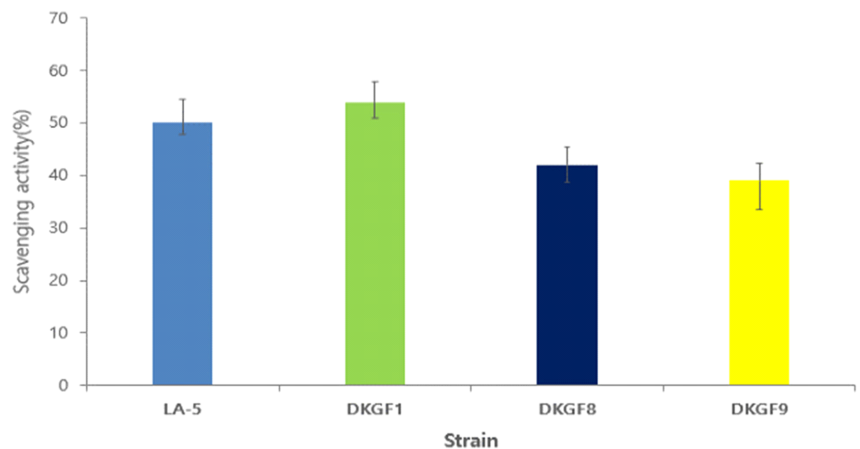


Fig. 4. DPPH radical scavenging activity for LA-5 and DK strains. All values were mean±SD of triplicates. LA-5, Commercial strain: *Lactobacillus acidophilus* LA-5; DKGF1, *Lactobacillus paracasei*; DKGF8, *Lactobacillus casei*; DKGF9, *Lactobacillus plantarum*.

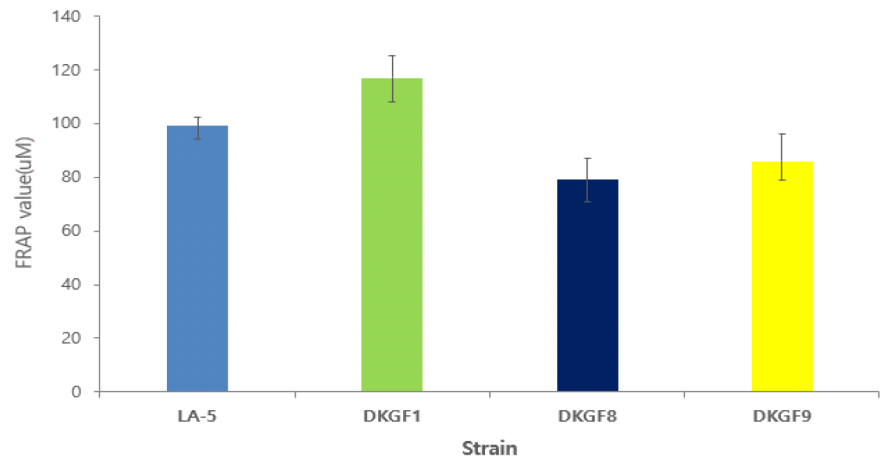


Fig. 5. FRAP activity for LA-5 and DK strains. All values were mean±SD of triplicates. LA-5, Commercial strain: *Lactobacillus acidophilus* LA-5; DKGF1, *Lactobacillus paracasei*; DKGF8, *Lactobacillus casei*; DKGF9, *Lactobacillus plantarum*.

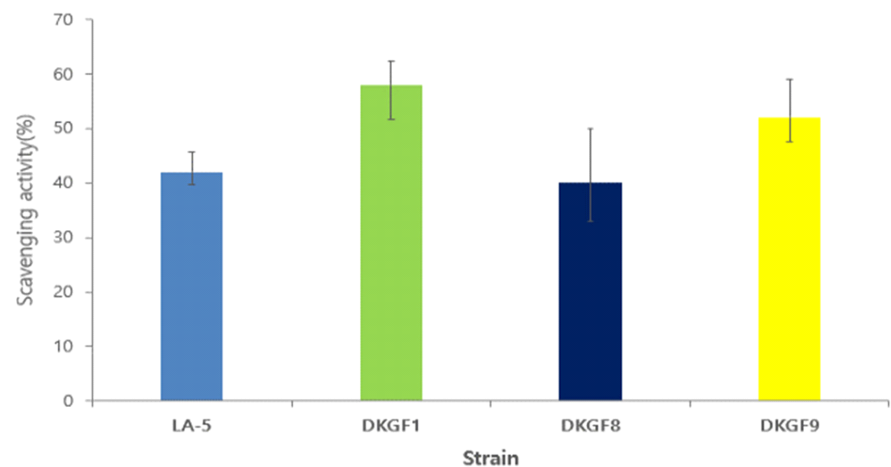


Fig. 6. Hydroxyl radical scavenging activities for LA-5 and DK strains. All values were mean±SD of triplicates. LA-5, Commercial strain: *Lactobacillus acidophilus* LA-5; DKGF1, *Lactobacillus paracasei*; DKGF8, *Lactobacillus casei*; DKGF9, *Lactobacillus plantarum*.

활성이 가장 높게 확인되었다. FRAP 활성 분석 결과에서는 DKGF1(*L. paracasei*)가 상용균주인 *Lactobacillus acidophilus* LA-5보다 우수한 항산화 능력을 나타내었다. Hydroxyl radical 소거 능력을 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. DKGF1(*L. paracasei*), DKGF8(*L. casei*)가 대조균인 *L. acidophilus* LA-5 및 다른 후보균주와 비교하였을 때 우수한 항산화능이 확인되었다. 유산균은 활성산소로부터 자신을 보호하기 위한 항산화 메커니즘을 가지고 있으며, 이들 유산균의 항산화효과에 대하여 최근에 보고되기 시작하였다[16,17]. 따라서, 차후 항산화 능력이 우수한 프로바이오틱스로서의 유용할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구의 목적은 한국 전통 음식 김치에서 분리한 유산균의 특성을 연구하기 위해 형태학적, 생화학적 특성을 조사하였다. 한국의 전통 발효 식품에서 젖산균을 확인하기 위해 분리된 균주의 그림염

색을 수행한 후 MacroGen에서 16S rRNA 분석 결과, DKG9(*Lactobacillus plantarum*), DKG1(*Lactobacillus paracasei*), DKG8(*Lactobacillus casei*), DK207(*Lactobacillus casei*), DK211(*Lactobacillus casei*)이 확인되었다. 우리는 한국의 전통 발효 식품인 김치에서 분리된 5가지 LAB의 기본 생물학적 활성에 대한 실험을 수행했다. 37°C, 55°C, 65°C, 75°C에서 각각 5분, 15분 5균주의 내열성 확인 결과, 상업 균주인 *Lactobacillus acidophilus* LA-5의 내열성과 유사하거나 더 높음을 보여주었다. 장내부착능에서는 선발균주 모두 상용균주와 비교했을 때 10^7 CFU/mL 이상으로 우수한 결합능을 보여주었고, KCTC(한국생명공학연구원 생물자원센터)에서 분양받은 *Escherichia coli* KCTC1682, *Salmonella enterica* KCTC2054, *Bacillus cereus* KCTC3624 3종을 활용한 항균활성 결과, 모든 균주는 상업용 균주인 *L. acidophilus* LA-5와 비교하여 유사하거나 더 높은 항균 활성을 나타냈다. 단백질분해능력 실험에서, 5개의 균주는 clear-zone의 직경이 24시간에서 72시간으로 갈수록 점차 증가하고, *L. paracasei* DKG1이 가장 큰 직경을 갖고 있어 단백질분해능력이 가장 우수한 것으로 나타났다. 5개의 균주로부터 선택된 3개의 균주는 ABTS, DPPH, FRAP, Hydroxyl radical scanenging 활성을 포함하여 다양한 항산화활성 효과를 나타냈다. 결과적으로, 5가지 균주 중에서 우수한 기능성을 갖는 *L. paracasei* DKG1이 잠재적인 프로바이오틱스 활성을 나타내며, 건강 관련 제품의 개발에 유용한 균주라고 판단된다.

Conflict of Interest

The authors declare no potential conflict of interest.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원이 지원하는 “광역협력권산업육성사업”(과제번호 P0004697)으로 수행된 연구결과입니다.

References

1. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* 1989;66:365-378.
2. Blum S, Reniero R, Schiffrin EJ, Crittenden R, Mattila-Sandholm T, Ouwehand AC, Salminen S, von Wright A, Saarela M, Saxelin M, Collins K, Morelli L. Adhesion studies for probiotics: need for validation and refinement. *Trends Food Sci Technol.* 1999;10:405-410.
3. Park KY, Jeong JK, Lee YE, Dailylll JW. Health benefits of kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food. *J Med Food.* 2014;17:6-20.
4. Cheigh HS, Park KY, Lee CY. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). *J Crit Rev Food Sci Nutr.* 1994; 34:175-203.
5. Kwon EA, Kim M. Microbial evaluation of commercially packed kimchi products. *Food Sci Biotechnol.* 2007;16:615-620.
6. Chang JH, Shim YY, Cha SK, Chee KM. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *J Appl Microbiol.* 2010;109:220-230.
7. Nam YD, Chang HW, Kim KH, Roh SW, Bae JW. Metatranscriptome analysis of lactic

- acid bacteria during kimchi fermentation with genome-probing microarrays. *Int J Food Microbiol.* 2009;130:140-146.
8. de Vrese M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S. Probiotics—compensation for lactase insufficiency. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:421S-429S.
 9. Choi HJ, Kim DW, Joo WH. Characteristics of *Paenibacillus* sp. BCNU 5016 as a novel probiotic. *J Life Sci.* 2014;24:161-166.
 10. Bang JH, Shin HJ, Choi HJ, Kim DW, Ahn CS, Jeong YK, et al. Probiotic potential of *Lactobacillus* isolates. *J Life Sci.* 2012;22:251-258.
 11. Azcarate-Peril MA, Tallon R, Klaenhammer R. Temporal gene expression and probiotic attributes of *Lactobacillus acidophilus* during growth in milk. *J Dairy Sci.* 2009;92:870-886.
 12. Lin MY, Chang FJ. Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. *Dig Dis Sci.* 2000;45:1617-1622.
 13. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 1999;26:1231-1237.
 14. Cho ML, Lee HS, Kang IJ, Won MH, You SG. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chem.* 2011;127:999-1006.
 15. Khanizadeh S, Tsao R, Rekika D, Yang R, Charles MT, Rupasinghe HPV. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *J Food Compos Anal.* 2008;21:396-401.
 16. Ahotupa M, Saxelin M, Korpela R. Antioxidative properties of *Lactobacillus* GG. *Nutr Today Supp.* 1996;31:51S-52S.
 17. Korpela R, Lähteenmäki T, Sievi E, Saxelin M, Vapaatalo H. *Lactobacillus rhamnosus* GG shows antioxidative properties in vascular endothelial cell cultures. *Milchwissenschaft* 1997;52:503-505.