

쌀 발효제품 제조를 위한 마크로파지활성 비피더스균의 선별

차성관* · 홍석산 · 지근익¹ · 목철균² · 박종현²

한국식품개발연구원, ¹서울대학교 식품영양학과, ²경원대학교 식품생물공학과

Isolation of Macrophage-activating *Bifidobacterium* for the Manufacture of Fermented Rice Products. Cha, Seong-Kwan*, Seok-San Hong, Geun Eok Ji¹, Chulkyoon Mok², and Jong-Hyun Park². Korea Food Research Institute, Songnam 462-430, ¹Department of Food Science and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151-742, ²Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University, Songnam 461-701, Korea – Forty seven amylolytic *Bifidobacterium* strains were isolated on starch-containing agar medium from the faecal samples of the various age groups of Korean. From these amylolytic *Bifidobacterium* spp., two strains of KFRI 1535, identified temporarily as *Bifidobacterium longum*, and KFRI 1550, identified as *Bifidobacterium breve*, showed great macrophage-stimulating activity for the production of tumor necrosis factor- α and interleukin-6. As the cell concentration increased the cytokine production increased, although in some strains the cytokine levels started to decline over cell concentration of 250 μ g/ml. The strains which showed high cytokine-stimulating activity generally showed greater production of nitric oxide even though differences were less between strains. Selected *Bifidobacterium* strains were compared for their fermentation capability in saccharified rice solution and in apple pomace mixture.

Key word: *Bifidobacterium*, rice fermentation, macrophage activation

젖산균은 세계 각국의 발효식품 제조에 이용되고 있는 균으로서 젖산균을 이용한 대표적인 발효식품은 치즈, 요구르트와 같은 발효유제품, 양배추를 발효시켜 만든 사우어크라우트 그리고 우리나라의 김치 등을 예로 들 수 있다[15]. 지금까지 젖산균은 당을 이용한 젖산 생성을 통하여 식품의 pH를 낮춤으로써 식품이 저장성을 갖게 하는데 중요한 역할을 하였으나, 건강 지향적인 기능성식품을 선호하는 세계적인 추세와 함께 프로바이오틱스(probiotics)로서의 젖산균의 역할이 새롭게 대두되고 있다. 이러한 젖산균의 프로바이오틱(probiotic) 활성으로는 장내에서의 해로운 미생물을 견제할 수 있는 정장작용, 설사병의 방지, 항암작용, 콜레스테롤 제거능력, 면역활성능력 등과 같은 효과로 예로 들 수가 있다[3,16]. 젖산균의 면역활성능력 증진효과에 관한 실험은 Perdigon 등[12]이 *Lactobacillus casei* 균을 쥐에 경구 투여하였을 때 쥐의 장내에 IGA가 생성됨으로써 *Salmonella typhimurium*의 감염이 방지됨을, 그리고 Kaila 등[6]은 약 3살까지의 유아들에게 *L. casei* 균을 투여하였을 때 혈청내의 IGA, IGG 그리고 IGM을 생산하는 세포수가 증가하였고 대조구에 비교하여 설사기간이 짧아졌음을 발견하였다. Schiffrin 등[13]은 *L. acidophilus* 혹은 *Bifidobacterium bifidum*을 이용한 발효유를 사람이 섭취하였을 때, 특별한 림프세포의 변화 없이 백혈구의 대

장균 포식활동이 증가됨을 발견하였고, Marin 등[8]은 macrophage 세포주를 이용한 *in vitro* 실험에서 bifidobacteria 균주들이 tumor necrosis factor- α 및 interleukin-6와 같은 cytokine 생산을 증진시켜줌을, 그리고 Fukushima 등[2]은 유아들에게 비피도박테리아 균을 우유와 함께 투여하였을 때 변에서의 IGA 함량이 유의적으로 증가하였음을 발견하였는데 이로 인하여 장내의 감염방지에 기여할 수 있음을 주장하였다. 본 연구는 비피더스 균주를 이용한 쌀 발효식품을 개발하기 위하여 한국인으로부터 분리된 비피더스 균주들로부터 amylase 효소활성능력 및 면역활성능력이 있는 비피더스 균을 탐색하고, 사과즙 제조시 착즙 후 폐기되는 사과박을 식이섬유원과 *Bifidobacterium*의 growth factor로 이용하여, 면역기능 강화능을 갖는 *Bifidobacterium* 발효식품을 개발하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

시약 및 배지

실험에 사용된 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louise, Mo, USA)에서 구입하여 사용하였다. *Bifidobacterium* 균주의 기본배지인 MBS (modified *Bifidobacterium* selective medium) 에 첨가된 올리고당 mixture (프락토올리고당, 갈락토올리고당, 이소말토올리고당)는 (주)선일포도당에서 구입하였다. 탄소원 이용성을 이용한 균동정 kit인 API 50

*Corresponding author

Tel. 82-342-780-9108, Fax. 82-342-780-9265

E-mail: skcha@kfri.re.kr

CH system은 Bio Merieux사(Marcy l'Etoile, France)에서 구입하였고 기타의 시약은 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

Bifidobacterium 균주의 배양을 위한 기본배지로는 Ji 등 [5]의 TP 배지를 변형한 MBS [modified *Bifidobacterium* selective medium; trypticase 10 g, protease 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 g, KH_2PO_4 2 g, K_2HPO_4 1 g, L-cysteine 0.5 g, $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{Na}$ 10 g, MgSO_4 0.1 g, 올리고당 mixture 25 ml, D.W. 1 l]를 이용하였고, amylase 활성측정 배지로는 MBS 기본배지에 올리고당 혼합물 대신에 가용성전분 1%를 첨가한 배지를 이용하였다.

Amylolytic bifidobacteria 의 분리 및 선발

한국인 성인 및 유아들로 구성된 38명의 지원자로부터 얻은 변 시료를 혐기적 상태에서 1% 가용성전분이 첨가된 BHI(Difco, 0418-01-5) 고체배지에 도말하였고, 고체배지 위에서 자란 균집락 중 요오드용액에 의해 투명환을 형성하는 집락의 균을 순수분리하였다. 분리된 균주 중 Y, V자형의 무정형의 그람양성 혐기성균이며 fructose-6-phosphate phosphoketolase (F-6-PPK) 양성, 젖산과 초산을 주요 발효산물로 갖는 균주를 *Bifidobacterium*으로 동정하였다. *Bifidobacterium* 균주의 amylase 효소활성의 측정에는 Ji 등 [4]과 Park 등[11]의 DNS법을 사용하였고, glucoamylase 효소활성의 측정에는 1% soluble starch(0.05% CaCl_2 + 0.6% NaCl) 0.4 ml와 0.1M tris-maleate buffer(pH 6.8) 0.5 ml를 65°C에서 5분간 예열한 후, 100 μl 의 조효소를 가하여 1시간동안 반응시켰고, DNS로 반응을 정지시킨 후 95°C에서 3분간 발색시켜 550 nm에서 흡광도를 측정하는 방법을 사용하였다. Glucoamylase 활성의 1 unit는 65°C에서 1시간 반응시킨 후 1 μmole 의 glucose를 생성하는 효소의 양으로 정하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Lowry 등[7]의 방법으로 측정하였다.

마크로파지 활성능 비피더스균주의 선발

1) Macrophage cell line : Mouse macrophage cell line RAW264.7을 10% fetal bovine serum, 1 mM sodium pyruvate, 1% NCTC-135, 100 g/ml streptomycin, 100 unit/ml penicillin이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM)에 배양하였다. 배양은 습도 조절된 5% CO_2 incubator내에서 37°C로 유지하며 수행하고 세포의 생존율은 trypan blue로 염색하여 관찰하였다. 세포는 15 cm tissue culture plates (Costar, Cambridge, MA)에서 활성화시키고 실험을 위해서는 5×10^5 macrophage cells/ml이 포함된 96-well culture plates (Costar Cambridge, MA)에서 3반복 배양하였다.

2) Nitric oxide (NO) : L-arginine이 함유되지 않은 special DMEM에 arginine이 2 mM농도가 되도록 조절한 뒤

면역세포를 배양하며 시간별로 시료를 처리하였다. NO정량을 위하여는 N-(1-naphthyl)-ethylncnediamine dihydrochloride와 sulfanilamide가 함유된 Griess발색시약을 사용하였다.

3) Cytokine : 조사한 cytokine의 종류에는 tumor necrosis factor(TNF)- α 와 interleukin(IL)-6을 포함하였다. 각각의 cytokine에 대한 anti-mouse monoclonal antibody(MAB)을 ELISA plate에 coating 한 뒤 배양된 세포의 상등액을 취하여 sandwich ELISA법에 의하여 각 cytokine에 대하여 정량적인 cytokine 농도를 결정하였다. 정량적인 발색은 biotin-streptavidin-HRP(horse radish peroxide)를 이용하였다.

선발균주의 동정, 내산소성 및 발효적합성 실험

선발균주의 동정을 위하여 탄소원의 이용성을 균동정에 이용한 API 50 CHL 균동정 kit와 세포막의 지방산 조성 분석에 의한 data base를 이용하는 동정시스템(MIDI Sherlock 5890 System)을 이용하였고 문헌[1,14]을 참조하여 동정을 실시하였다.

내산소성 실험은 0.05% cysteine이 첨가된 MRS broth (Merck, 10660)에서 24시간 배양 후, 혐기 희석액[9]에 십진 희석하여 MRS agar 배지에 도말하였고, aerobic incubator(37°C)에서 20시간 공기에 노출시킨 후 다시 anaerobic glove box(37°C)에서 48시간 배양한 후 집락수를 계수하였다. 내산소성은 공기에 노출시키지 않고 계속적으로 anaerobic glove box에서 배양시킨 대조구와의 비율로 계산하였다.

선발균주의 발효특성

쌀발효배지의 제조는 목 등[10]의 방법을 토대로 하여 제조하였다. 즉 쌀에 물을 쌀 : 물=1 : 1.25 (w/v)의 비율로 첨가하여 전기 밥솥에서 15분간 침지하고 30분간 호화하여 밥을 제조하고 0.3%(w/v) α -amylase와 glucoamylase 효소액을 밥 중량의 75% 수준으로 각각 첨가하여 60°C에서 1시간동안 당화시킨 다음 단독으로 또는 사과박을 첨가하여 균질화하였다. 균질화한 당화물을 95°C에서 30분간 가열 처리 함으로써 효소를 불활성화 시키고 동시에 살균한 다음 냉각 후 선발된 균주를 첨가하여 37°C에서 발효하면서 pH 및 적정산도를 조사하였다.

이화학 성분분석 및 미생물 수의 측정

발효물의 pH값은 pH-meter (model 520A, Orion, U.S.A)를 사용하여 측정하였고, 적정산도는 시료 10 ml를 취하여 0.1% 페놀프탈레인을 지시약으로 사용하여 0.1N NaOH로 적정하고 소비된 NaOH양으로부터 아래와 같은 식에 의하여 적정산도를 계산하였다.

$$\text{적정산도}(\%) = \frac{\text{NaOH 소비량} \times \text{NaOH역가}}{\text{시료부피}} \times 100$$

Bifidobacterium 균주의 측정을 위한 모든 과정은 glove box(anaerobic incubator, H₂:CO₂:N₂=5:15:80)내에서 이루어졌는데, 혐기회석액(Mitsuoka, T. 1990. P.477)으로 십진 회석된 시료는 MBS에 도달하여 72시간 배양 후 생성된 집락수를 계수하여 균수를 측정하였다.

결과 및 고찰

Amylolytic *Bifidobacterium*의 분리 및 효소활성

Amylolytic *Bifidobacterium*의 분리는 이미 보고된 문헌 박 등[11]에서와 같이 38명의 한국인의 분변을 시료로 하여 가용성 전분 1%가 첨가된 BHI(Difco) 배지를 이용하여 2일간 혐기 배양한 후, 요오드 용액을 첨가하여 투명화를 형성하는 균주를 분리하였다. Table 1은 선발된 amylytic *Bifidobacterium* 8균주의 두가지 배지에서의 성장 후 효소 활성을 보여주고 있다. KFRI 1550 균주의 경우 두가지 성장배지에서 타 균주에 비하여 상대적으로 높은 효소활성을 보여주고 있음을 알 수 있다.

면역능력 비피더스균주의 선발 (*in vitro* macrophage activity)

인체의 장내 세균총은 Lamina propria, Peyer's patches 등의 장내 면역계에 영향을 미친다. 이들 면역계는 macrophage, B세포, T세포 등이 면역을 담당하고 있다. 이중 macrophage는 외부에서 침입하는 유해 항원을 직접 탐식하고 항원을 표면에 제시하여 B 및 T세포에 항원을 전달한다. 또한 macrophage에 의하여 생산되는 IL-1, IL-6 및 TNF- α 등은 cytokine을 생성하는 여러 종류의 면역세포의 활성을 조절한다. 본 실험에서는 한국인에서 분리한 amylytic활성이 강하고 제품 적용성이 우수한 균주들을 대상으로 이들이 macrophage에 미치는 영향을 조사하기 위한 *in vitro* 실험을 실시하였다. 실험 결과 특히 KFRI 1535 균주와 KFRI 1550 균주가 TNF- α (Table 2), IL-6

Table 2. Effect of amylytic *Bifidobacterium* strain on TNF- α production by RAW 264.7 macrophage cell line

Cell concentration (ug/mL)	Control	10	50	250
<i>Bifidobacterium</i> spp.				
KFRI 1533	2.2*	6.0	11.9	12.5
KFRI 1535	2.2	10.8	18.3	22.5
KFRI 1537	2.2	9.7	15.8	15.6
KFRI 1548	2.2	11.0	10.2	11.3
KFRI 1550	2.2	12.4	18.7	24.7
KFRI 1554	2.2	11.4	17.0	22.9
KFRI 1558	2.2	11.7	16.2	19.9
KFRI 1560	2.2	6.5	10.2	8.5

*ng/ml

Table 3. Effect of amylytic *Bifidobacterium* strain on IL-6 production by RAW 264.7 macrophage cell line

Cell concentration (ug/mL)	Control	10	50	250
<i>Bifidobacterium</i> spp.				
KFRI 1533	3.0*	4.5	49.0	12.5
KFRI 1535	3.0	25.5	77.0	90.0
KFRI 1537	3.0	9.5	16.5	44.5
KFRI 1548	3.0	ND	ND	ND**
KFRI 1550	3.0	56.0	66.5	3.0
KFRI 1554	3.0	26.0	7.5	7.0
KFRI 1558	3.0	4.0	2.5	12.0
KFRI 1560	3.0	3.5	4.0	6.0

*ng/ml, ** not determined

(Table 3) 생성을 모두 높은 수준으로 증가시켰고 KFRI 1560 균주는 다른 균주들에 비하여 IL-6 와 TNF- α 의 생산 능력이 낮았다. 균체의 농도가 증가할수록 cytokine 생산능이 일반적으로 증가하였지만 균체의 농도가 250 μ g

Table 1. Glucoamylase and α -amylase activity of selected *Bifidobacterium* spp. in two different growth media**

Enzyme (Growth media*)	Glucoamylase (PYF)	Glucoamylase (MRS)	α -Amylase (PYF)	α -Amylase (MRS)
<i>Bifidobacterium</i> spp.				
KFRI 1533	0.172	0.065	ND****	0.040
KFRI 1535	ND	0.007	0.012	0.023
KFRI 1537	0.002	0.024	0.025	0.077
KFRI 1548	0.009	ND	0.006	0.024
KFRI 1550	0.020	0.055	0.026	0.101
KFRI 1554	0.005	ND	0.003	0.024
KFRI 1558	ND	0.027	0.031	0.171
KFRI 1560	0.019	0.005	ND	0.024

* PYF media: Mitsuoka[7]. MRS media: DeMan, Rogosa, Sharpe media(Merck 10660)

** Unit/ml. *** not determined

Table 4. Effect of amylolytic *Bifidobacterium* strain on NO production by RAW 264.7 macrophage cell line

Cell concentration (μg/mL)	Control			
	10	50	250	
<i>Bifidobacterium</i> spp.				
KFRI 1533	42.0*	42.0	57.0	71.0
KFRI 1535	42.0	39.0	51.0	70.0
KFRI 1537	42.0	54.0	62.0	80.0
KFRI 1548	42.0	53.0	65.0	75.0
KFRI 1550	42.0	69.0	70.0	65.0
KFRI 1554	42.0	55.0	73.0	81.0
KFRI 1558	42.0	57.0	69.0	68.0
KFRI 1560	42.0	52.0	54.0	70.0

*μM

mL 수준에 달하였을 때 일부의 균주에서 cytokine수준이 감소하는 경우도 있었다. 대체적으로 cytokine 증가능이 큰 균주들이 NO의 수준도 크게 증가시켰지만 cytokine에 비하여 균주별 차이가 뚜렷하지는 않았다(Table 4). 본 연구의 결과는 macrophage의 활성능이 균주에 따라 상이함을 보여주는데, 이러한 균주별 차이가 생기는 것이 균체의 어떤 성분 때문인지에 관한 후속 연구가 요구된다.

균주의 동정 및 내산소성 조사

아밀라아제 효소역가를 가지고 있고 면역능력이 우수한 균주로 선발된 4종의 *Bifidobacterium* 균주는 아래 Table

Table 5. Carbon source utilization and identification of *Bifidobacterium* strains with API-kit and MIDI system

<i>Bifidobacterium</i> strains	KFRI 1535	KFRI 1537	KFRI 1550	KFRI 1554
Carbon source				
L-Arabinose	+	-	+	+
D-Xylose	+	-	(+)*	+
D-Glucose	+	+	(+)	+
D-Fructose	+	+	-	(+)
D-Mannose	+	(+)	(+)	(+)
Mannitol	-	-	-	+
Sorbitol	-	+	+	+
α-Methyl-D-glucoside	(+)	+	-	-
N-Acethyl glucosamine	-	-	-	(-)
Amygdaline	-	-	(+)	-
Arbutine	-	+	(+)	-
Salicine	-	+	(+)	-
Cellobiose	-	(+)	-	-
Trehalose	-	(+)	-	-
Melezitose	+	-	-	-
Amidon	-	+	-	-
Glycogene	-	+	+	-
Xylitol	-	(+)	-	-
β-Gentiobiose	-	-	(+)	-
D-Turanose	(+)	+	(+)	(-)
Gluconate	-	-	(+)	-
Identification	<i>B. longum</i>	<i>B. breve</i>	<i>B. breve</i>	<i>B. breve</i>

* (+), (-): weak reaction

Table 6. Aerotolerance of four selected *Bifidobacterium* spp.

Strains	Viable counts of <i>Bifidobacterium</i>		Aerotolerance (% survival)
	Without air	With air	
KFRI 1535	2.55 × 10 ⁹	2.15 × 10 ⁸	88.58
KFRI 1537	3.26 × 10 ⁹	1.09 × 10 ⁵	52.95
KFRI 1550	1.17 × 10 ⁹	2.26 × 10 ⁷	81.10
KFRI 1554	1.69 × 10 ⁹	2.20 × 10 ⁶	68.73

5에서 보여주는 것과 같은 탄소원 이용 능력을 보여 주었다. 이들 4종의 균주들은 모두 글리세롤, 에리스리톨, D-아라비노우스, L-크실로우스, 아도니톨, 베타-메틸-크실로사이드, L-소르보스, 램노우스, 돌시톨, 이노시톨, 알파-메틸-D-만노사이드, 이눌린, D-리소스, D-타가토스, D-후코스, L-후코스, D-아라비톨, L-아라비톨, 2-케토-글루코네이트, 5-케토-글루코네이트와 같은 탄소원은 이용하지 못하였으나, 균주들은 모두 리보스, 갈락토스, 에스쿨린, 말토스, 락토스, 멜리비오스, 싸카로스, D-라피노스와 같은 탄소원은 이용하였다. 세포벽 지방산 분석에 의한 동정방법인 MIDI 동정 시스템과 API 동정 kit를 이용하여, 그리고 Bergcy's Manual of Systematic Bacteriology[14] 및 The Prokaryotes [1]의 참고문헌을 이용하여 동정하였을 때, KFRI 1535 균주는 *B. longum* 균주로 그리고 KFRI 1537, 1550, 1554 균주는 모두 *B. breve* 균주로 잠정적으로 동정되었다. 선발된 4균주들의 내산소성 실험결과는 Table 6에서 보여주는 것과 같다. 선발균주중 KFRI 1535 균주가 가장 내성이 강한 것으로 나타났고 KFRI 1550, 1554 그리고 1537의 순서로 산소에 대한 내성을 보여 주었다.

쌀, 사과박 발효특성의 조사

선발된 4 균주들(KFRI 1535, 1537, 1550, 1554)의 쌀, 사과박 발효특성을 조사하기 위하여 쌀 당화액에 1.67%의 건조 사과박을 첨가하고 4가지 균주를 1.5%씩 접종하여 37°C에서 36시간 동안 발효하여 특성을 조사한 결과 pH가 KFRI 1535 균주의 경우 발효 전 5.39에서 12시간 이후 5.01로 낮아졌고 36시간발효 후에는 3.72로 되어 균주중에서 가장 낮은 값을 나타내었으나 다른 세 균주의 경우는 pH의 저하를 관측할 수 없었다. 적정산도 역시 pH값의 측정 결과와 유사하게 KFRI 1535균주를 접종한 경우에만 뚜렷하게 산도가 증가하였다. 발효과정 중 *Bifidobacterium* 균수의 조사결과는 KFRI 1535 균주가 10⁸ CFU/ml로 가장 높은 *Bifidobacterium* 생장율을 보였으며 나머지 균주들은 10⁶ CFU/ml 수준으로 이에 미치지 못하였다.

선발실험에서 최종적으로 선발된 KFRI 1535 균주를 이용하여 쌀당화액 (saccharified rice solution, SRS)과 사과박 (wet apple pomace, WAP) 첨가비율을 달리하여 발효한 제품의 pH와 적정산도를 측정된 결과는 Table 7에서

보여주는 것과 같이 WAP : SRS=1 : 2에서 가장 우수하였다.

요 약

아밀라아제 효소활성 및 면역 증강능이 높은 비피더스 균주를 이용한 쌀 발효식품을 개발하기 위하여 다양한 연령층의 성인 및 유아들 지원자로부터 변시료를 제공받아 전분이 첨가된 고체배지에서 자라는 *Bifidobacterium* 중 amylase 효소활성이 높은 47균주를 분리하였다. 이들 amylolytic *Bifidobacterium*들이 면역활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 macrophage 세포에 해당하는 murine macrophage cell line RAW 264.7을 이용하였고, 조사된 면역 매개 물질로서는 tumor necrosis factor(TNF- α), interleukin(IL)-6 등의 cytokine과 nitric oxide(NO)를 대상으로 하였다. 실험 결과 *Bifidobacterium longum*으로 잠정적으로 동정된 KFRI 1535 균주와 *B. breve*로 동정된 KFRI 1550 두 균주가 TNF- α 와 IL-6의 높은 생성능을 보여 주었다. 균체의 농도가 증가할수록 cytokine 생산능이 일반적으로 증가하였지만 균체의 농도가 250 μ g/ml 수준에

Table 7. Properties of *Bifidobacterium* sp. KFRI 1535 fermented WAP:SRS* with respect to mixing ratio

Properties	Fermentation time (hr)	WAP:SRS (w:w)		
		1:1.5	1:2	1:2.5
pH	0	5.23	5.23	5.23
	48	4.53	4.43	4.67
Titratable Acidity(%)	0	0.07	0.07	0.07
	48	0.11	0.18	0.13

* WAP - wet apple pomace, SRS - saccharified rice solution

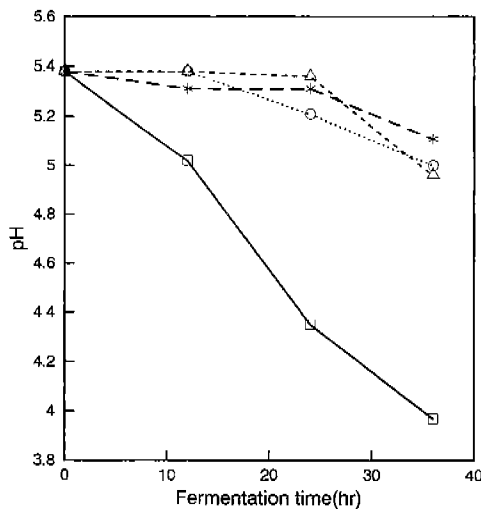


Fig. 1. Changes in pH of dried apple pomace/saccharified rice solution during fermentation using different *Bifidobacterium* strain.

□: KFRI 1535, △: KFRI 1537, ○: KFRI 1550, ▽: KFRI 1554

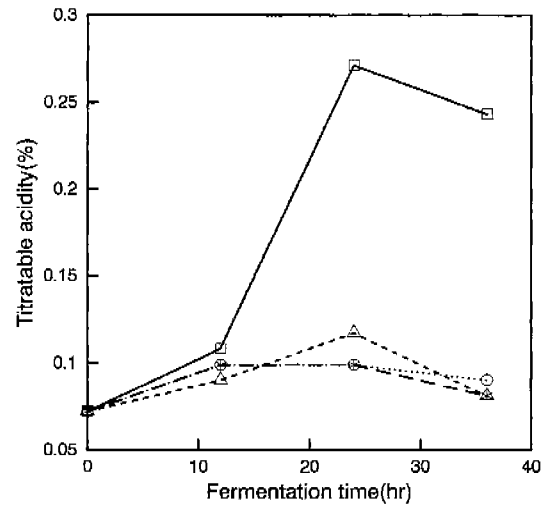


Fig. 2. Changes in titratable acidity of dried apple pomace/saccharified rice solution during fermentation using different *Bifidobacterium* strain.

□: KFRI 1535, △: KFRI 1537, ○: KFRI 1550, ▽: KFRI 1554

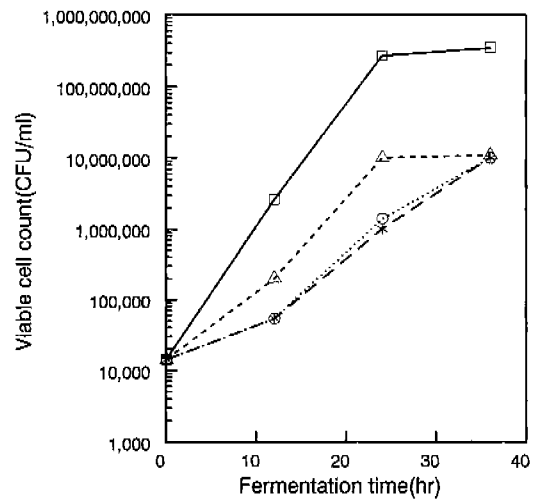


Fig. 3. Changes in viable cell count during fermentation of dried apple pomace / saccharified rice solution using different *Bifidobacterium* strain.

□: KFRI 1535, △: KFRI 1537, ○: KFRI 1550, ▽: KFRI 1554

달하였을 때 일부의 균주에서 cytokine 생산능이 감소하는 경우도 있었다. 대체로 cytokine 증가능이 클수록 NO의 수준도 크게 증가시켰지만 cytokine에 비하여는 균주별 차이가 뚜렷하지는 못하였다. 쌀 사과박 발효제품의 제조를 위한 선발된 균주들의 발효특성 조사가 이루어졌고, 최종적으로 선발된 KFRI 1535 균주를 이용하여 쌀당화액과 사과박의 비율을 달리하여 발효한 제품의 pH와 적정산도를 측정 한 결과 쌀당화액이 사과박의 2배농도에서 가장 우수한 발효특성을 보였다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 첨단 농림수산물기술개발사업에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사 드립니다.

REFERENCES

- Balows, A., H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K.-H. Schleifer. 1992. *The Prokaryotes*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
- Fukushima, Y., Y. Kawata, H. Hara, A. Terada, and T. Mitsuoka. 1998. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int. J. Food Microbiol.* **42** : 39–44.
- Fuller, R. 1992. *Probiotics - The Scientific Basis*. Chapman and Hall, London.
- Ji, G.E., H. K. Han, S. W. Yun, and S. L. Rhim. 1992. Isolation of amylolytic *Bifidobacterium* sp. Int-57 and characterization of amylase. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2** : 85–91.
- Ji, G. E., S. K. Lee, and I. H. Kim. 1994. Improved selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* sp. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **5** : 526–531.
- Kaila, M., E. Isolauri, E. Soppi, E. Virtanen, S. Laine, and M.E. Gershwin. 1992. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response on human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr. Res.* **32** : 141–144.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, L. Farr, and R. J. Randall. 1955. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193** : 265–267.
- Marin, M. L., J. Lee, J. Murtha, Z. Ustunol, and J. J. Pestka. 1997. Differential cytokine production in clonal macrophage and T-cell lines cultured with bifidobacteria. *J. Dairy Sci.* **80** : 2713–2720.
- Mitsuoka, T. 1990. *Intestinal Bacteriology*, pp 477–480. Asakura Shoden, Tokyo (in Japanese).
- Mok, C., J. Han, Y. J. Kim, N. Kim, D. Y. Kwon, and Y. J. Nam. 1991. Lactic acid fermentation of rice and quality improvement by amylolytic enzyme treatment during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **23** (6): 739–744.
- Park, J. H., H. K. Song, J. B. Ahn, G. E. Ji, and C. Mok. 1997. Rice fermentation by Korean amylolytic *Bifidobacterium* spp. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29** : 581–587.
- Perdigon, G., S. Alvarez, M.E.N. De Macias, M.E. Roux, and A.P. De Ruiz Holgado. 1990. The oral administration of lactic acid bacteria increase the mucosal intestinal immunity in response to enteropathogens. *J. Food Prot.* **53** : 404–410.
- Schiffrin, E. J., R. Rochat, H. Link-Amster, J. M. Aeschli-mann, and Donnet-Hughes. 1995. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* **78** : 491–497.
- Sneath, P. H. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Steinkraus, K. H. 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker, Inc.
- Wood, B. J. B. 1992. The lactic acid bacteria, Vol I. *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Elsevier Appl. Sci., London.

(Received September 21, 1999)