

Lactobacillus spp.와 *Bacillus coagulans*의 Glutathione Sulphydryl 함유율과 항산화 활성

변 정 열 · 윤 영 호
중앙대학교 산업과학대학 동물자원학과

Glutathione Sulphydryl Contents and Antioxidant Activities of *Lactobacillus* spp. and *Bacillus coagulans*

J. Y. Byun and Y. H. Yoon
Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University

ABSTRACT

The antioxidative ability on the basis of reduced glutathione sulphydryl(GSH) level, the inhibition activities of linoleic acid peroxidation of cell free extract of *Lactobacillus* spp. and *Bacillus* spp. have been determined; *Lactobacillus casei* CU4114 contained the highest level of GSH among the probiotic strains with 25.15 μ mole/g. Significantly high level of GSH occurred in the intracellular cell free extract of *Lactobacillus rhamnosus* CU4201, *Lactobacillus plantarum* CU4203. The antioxidant activity and inhibition of linoleic acid peroxidation of cell free extract of *Lactobacillus* spp. and *Bacillus* spp. by thiobarbituric acid(TBA) assay have been shown to be significantly differed depending on the strains($P>0.01$). Intracellular cell free extracts of *L. acidophilus* CU4111, *L. casei* CU4114, and strains of *Bacillus coagulans* revealed a significantly intensive inhibitory activity in the linoleic acid peroxidation reactions. Spearman's rank correlation between inhibitory activity on linoleic acid peroxidation and cellular GSH levels of *Lactobacillus* spp. was analysed and the correlation quotient was 0.65 which means a significant positive correlation.

(Key words : Glutathione sulphydryl level, Antioxidant effect)

I. 서론

호기성 생물은 산소를 전자수용체로 하는 호흡을 통하여 에너지를 생산한다. 그러나 이 산소는 각종 물리적, 화학적 및 환경적 요인에 의하여 다양한 활성산소로 전환될 수 있다. 사람을 비롯한 생물은 항산화

메커니즘을 가지고 있어 산화적 손상으로부터 스스로를 보호할 수 있으나 이들 손상을 완전히 제거하기에는 충분하지 않다(Codon, 1987). 항산화 메커니즘에 문제가 생겨 활성산소가 축적될 경우 산화적 스트레스가 야기되며, 세포 구성성분인 DNA, RNA, 단백질과 지질에 손상을 주어 노화는 물론 뇌졸중, 파킨슨병 등의 뇌질환과 심장질환 등 각종 질병을 초래하게 된다. 또한 활성산소에 의한 지질과산화 결과로 생성된 과산화물도 세포에 대한 산화적 파괴로 각종 기능 장애

Corresponding author : Y. H. Yoon, Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea.

를 야기하는 것으로 알려져 있다(Ahotupa et al., 1996; Korpela et al., 1997; Sanders et al., 1995).

Free Radical을 소거할 수 있는 화합물이나 과산화 억제물질과 같은 항산화제를 함유한 식품은 인체의 산화적 스트레스에 의한 손상으로부터 보호해 줄 수 있을 것으로 판단되어 식품첨가물로서의 항산화제가 개발되고 있고, 각종 질병 및 노화 등에 활성산소 및 과산화물이 직접적으로 작용한다는 사실이 밝혀져 질병 예방 및 치료제로서의 항산화 연구가 수행되고 있다. 다양한 합성 및 천연 항산화제가 보고되었으나 이들은 안전성과 약한 활성 등의 한계가 있으므로 천연으로부터 얻은 자연적 항산화제가 바람직한 것으로 판단된다(Haliwell과 Guteridge, 1984; Imlay와 Frividoch 1991; Imlay와 Linn, 1988).

세포내의 중요한 항산화 방어기능을 가진 성분으로서 환원형 glutathione과 항산화 효소가 있다. 환원형 glutathione은 살아있는 세포 내에 존재하는 성분으로서 함유황아미노산인 cysteine과 glutamic acid 및 glycine이 결합된 tripeptide이다. 이 분자의 환원작용은 세포내의 대사반응에서 대부분의 호기성 세포 내에서 항산화 성분으로서 중심적인 역할을 하므로 대사와 촉매 및 물질이동에 있어 매우 중요한 역할을 담당하는 것으로 확인된 바 있다(Rose, 1980; Lowen, 1979).

또한 세포 내에서 유리기와 반응성 산소 및 독성 물질의 작용에 대하여 보호 기능을 나타내는 것으로 알려져 있어 세포내의 glutathione 항산화 물질의 농도와 성인 질병과의 연관성에 관한 보고가 있다 (Rose, 1980; Anderson, 1985; Bounous, 1989; Bounous and Gold, 1991; Yihong et al., 1998; Fahey 등, 1978).

유산균은 활성산소로부터 자신을 보호하기 위한 항산화 메커니즘을 가지고 있으며, 이들 유산균의 항산화 효과에 대하여 보고되었다(Ahotupa et al., 1996; Sanders et al., 1995; Dahiya와 Speck, 1968). 그러나 유산균의 항산화 효과에 대한 연구는 부족한 실정이며 인류의 오랜 역사를 통한 발효유의 섭취성향은 유산균의 안전성을 입증해 주는 것으로 보이며 또한 항미생물 효과, 면역증강 효과, 항종양 효과 등의 여러 가지 건강증진 효과가 보고되었고, 어떠한 종들은 probiotics로서 일반적으로 사용되고 있다(Amanatidou 등, 2001; Shimmamura 등, 1992; Stecchini 등, 2001).

항산화 활성이 높은 능력의 유산균은 인체내 활성산소를 제거할 수 있을 것이며 따라서 이들 균주의 탐

색은 산업적 효용성이 있을 것으로 판단된다.

이 연구에서는 probiotic으로 사용 가능한 *Lactobacillus* spp.와 *Bacillus coagulans* 균주가 갖는 linoleic acid 산화체계 내에서 항산화 활성과 세포내 glutathione 함유율을 비교하여 활성이 우수한 균주를 선발하기 위하여 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 사용 균주 및 배지

본 연구에 사용한 *Lactobacillus* spp. 및 *Bacillus coagulans*는 Table 1에 제시된 바와 같다.

Lactobacillus spp.의 배양은 37°C MRS(DeMan-Rogosa-Sharpe, Difco, USA) broth를 사용하였고, 보존은 0.75M adonitol을 함유한 11% skim milk의 동해 방지제와 원심분리한 cell을 1:1로 혼합한 후 -70°C에서 냉동보존하였다. *Bacillus coagulans*는 *Bacillus coagulans* broth(Difco, USA)에서 배양을 하였고, cell의 보존은 배양액과 80% glycerol을 7:3의 비율로 혼합하여, -70°C에서 보관하였다.

2. 세포질액의 GSH 농도측정

Bacillus spp.는 *Bacillus coagulans* broth(BCB)에서 각 배양조건에 따라 배양하였고, *Lactobacillus* spp.는 MRS broth에서 37°C 16시간 배양 후, 10,000rpm에서 10분간 원심분리한다. Saline으로 2회 washing 후, wet cell pellet 10mg을 0°C에서 20분간 ultra sonicator로 분쇄한다. 분쇄된 cell을 10,000rpm에서 10분간 원심분리 후, intracellular cell free extraction(IE)를 얻는다.

IE solution의 GSH 농도를 GSH assay kit (Calbiochem, Cat. No. 354102. USA)을 이용하여 3회 반복 측정하였다. 200ul의 세포추출액을 취하고 완충액(R3)을 가하여 총용량이 900ul가 되게 한 후 50ul의 용액(R1)을 가한 후 철저히 혼합하였다. 다시 용액(R2) 50ul를 가하고 철저히 혼합하고 암소에서 25°C에 10분간 정치시킨 후 400nm에서 흡광도를 측정하고 다음 계산식에 의하여 glutathione 농도를 측정하였다.

$$[\text{GSH}] = \frac{(A - A_0) \times D}{\epsilon}$$

Table 1. Sources of strains of used in this investigation

| Species | Strains | Source |
|-------------------------------------|---------|-----------------|
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4101 | 중앙대학교 축산물가공학실험실 |
| <i>B. coagulans</i> | CU4102 | " |
| <i>B. coagulans</i> | CU4103 | " |
| <i>B. coagulans</i> | CU4104 | " |
| <i>B. coagulans</i> | CU4105 | " |
| <i>B. coagulans</i> | CU4106 | " |
| <i>B. coagulans</i> | CU4107 | " |
| <i>B. coagulans</i> | CU819 | " |
| <i>Bacillus polyfermenticus</i> SCD | CU4108 | " |
| <i>Lactobacillus sporogenes</i> | CU4109 | " |
| <i>Sporolactobacillus inlimus</i> | CU4110 | " |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | CU4201 | " |
| <i>L. rhamnosus</i> | CU4202 | " |
| <i>L. helveticus</i> | CU4231 | " |
| <i>L. plantarum</i> | CU4203 | " |
| <i>L. brevis</i> | CU4205 | " |
| <i>L. brevis</i> | CU4206 | " |
| <i>L. acidophilus</i> | CU4111 | " |
| <i>L. rhamnosus</i> GG | CU4112 | " |
| <i>L. acidophilus</i> | CU4113 | " |
| <i>L. casei</i> | CU4114 | " |
| <i>L. casei</i> | CU4126 | " |
| <i>L. acidophilus</i> | CU4127 | " |
| <i>L. acidophilus</i> | CU4128 | " |
| <i>L. casei</i> | CU4129 | " |
| <i>L. casei</i> | CU4130 | " |
| <i>Bifidobacterium lactis</i> | CU4133 | " |
| <i>Bifidobacterium longum</i> | CU4134 | " |

[GSH]는 시료중의 glutathione의 mole 농도이며, A 시료의 존재 하에서 측정된 흡광도, A₀는 시료가 채하지 않는 상태에서 측정된 흡광도, t는 물 계수이며 t는 시료의 희석배율이다.

3. 항산화 활성측정

MRS broth에서 배양 후, 10,000rpm에서 10분간 원심분리한다. Saline으로 2회 washing 후, wet cell pellet 0℃에서 20분간 Ultra sonicator로 분쇄한다. 분쇄된

cell을 10,000rpm에서 10분간 원심분리 후 intracellular cell; free extraction(IE)를 얻는다.

1 ml의 linoleic acid(L-2376, Sigma, USA)와 0.2ml와 tween 20(S31962, Merck, Germany), 19.7ml of deionized water을 혼합하여 20ml의 linoleic acid 유화액을 제조한다. Linoleic acid emulsion 1 ml에 0.2ml의 ascorbate (0.01%), 0.2ml의 FeSO₄(F-7002, Sigma, USA)(0.01%), 0.02M, phosphate buffer solution pH 7.4 0.5ml 및 세포 내용물(0.4ml)을 혼합한 후 37℃에서 12시간 정치한다. 혼합물 2ml에 TCA(4%)(T-9159, Sigma, USA) 0.2ml,

0.4% BHT(B-1378, USA) 0.2ml, 0.8% tribarbituric acid (TBA, T-5500, Sigma, USA) 2ml을 첨가한 후 100℃에서 30분간 배양하고, 식힌 후에 2ml of chloroform을 첨가하여 추출한 후 532nm에서 O.D 값을 측정한다.

$$\text{Inhibition rate(\%)} = 1 - (\text{sample OD}/\text{blank OD}) \times 100\%$$

III. 결과 및 고찰

1. 세포 내 GSH 농도

Lactobacillus spp. 19 균주 *Bifidobacterium* spp. 4균주 및 *Sporolactobacillus inulinus* 1균주, *Bacillus coagulans* 8균주, *Bacillus polypermenticus* 1균주, 총 33균주에 대한 세포내 추출액의 총 Glutathione 함유율은 Table 2에 제시된 바와 같다.

균속별 세포질내 GSH 농도를 비교하면 *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Sporolactobacillus*, *Bacillus* spp. 순서로 총 glutathione 함유농도가 높은 경향을 나타내고 있다. *Lactobacillus* spp.의 세포내 glutathione 함유율 측정 결과는 Table 2와 Fig. 1에 제시된 바와 같이 *Lactobacillus casei* CU4114는 25.15 umol/g으로 가장 높은 함유율을 보이고 있으며 *Lactobacillus rhamnosus* CU4201, *Lactobacillus plantarum* CU4203이 14.0 umol/g으로 통계적인 유의성을 나타내는 수준으로 높은 함유율을 나타내었다. 포자를 형성하는 *Sporolactobacillus inulinus* CU4110의 경우 8.19 umol/g의 함유율을 나타내어 *Lactobacillus* spp.와 비교할때 낮은 수준의 함유율을 보였다.

Bifidobacterium spp.의 GSH 함유율은 4균주가 유사한 함유율을 보이나 *Bifidobacterium lactis* CU 4133이 이 균속의 다른 균종보다 통계적인 유의성을 나타내는 수준으로 높은 함유율을 나타내었다.

Bacillus coagulans 균주의 GSH 함유율은 유사한 수준으로 나타났으나 *Bacillus polypermenticus* SCD CU-4108와 포자 형성 균주인 *Lactobacillus sporogenes* CU4109, *Sporolactobacillus inulinus* CU4110은 *Bacillus coagulans*보다 유의성이 인정되는 높은 수준의 GSH 함유율을 나타내었다.

유산균의 유용효과를 세포 내에서 전자를 방출하여 안정화 안정한 pair를 형성함으로 중성 전하를 유지하게 하는 항산화 활성을 담당하는 glutathione 분자의 함

유율 증대 효과에 따라 설명하는데 hydroxyl기의 세포 유해활성은 glutathione 분자로부터 전자를 획득하므로 물 분자로 변화하는 것으로 알려져 있다(Anderson, 1985). 여러 종류의 반응성 산소가 인체 내에서 생성될 수 있으며 유리된 반응성 기는 세포벽을 파괴함으로 apoptosis 생성과 동시에 질병 생성의 과정의 시발을 유도하게 된다. 충분한 수준의 항산화성 분자의 존재는 반응성 산소함유율을 감소하게 하여 glutathione 및 세포내 thiol 함유율의 결핍현상과 더불어 세포내 calcium 유출과 cytotoxicity 현상으로 나타나게 된다(Anderson, 1985; Bounous와 Gold, 1991).

2. Linoleic산 과산화물 생성의 항산화 활성

Lactobacillus spp. 13 균주와 포자생성 *Bacillus coagulans*등 11균주에 대한 세포내 추출액의 항산화 활성 측정결과는 Fig. 2와 Fig. 3에 제시된 바와 같다. 각 균주에 대한 linoleic acid 산화 반응을 시발케 하여 과산화물을 생성시킨 후 tribarbituric acid에 의한 과산화물 생성량에 따른 시험균주의 균체 추출액에 의한 산화 억제활성을 측정한 결과 13균주의 *Lactobacillus* spp.중 4균주는 강한 산화 억제활성을 나타내어 *L. acidophilus* CU4111, *L. casei* CU4114, *L. brevis* CU4206, *L. helvis* CU4231이 통계적인 유의성이 인정되는 수준으로 높은 항산화 활성을 나타내었다.

*Bacillus coagulans*의 항산화 활성은 6.02~51.72% 수준으로 나타내었으며 시험균주의 전반적 억제활성 수준은 *Bacillus coagulans*가 *Lactobacillus* spp.보다 높은 산화 억제 활성을 나타내었다. 포자 생성 시험 균주 11균주중 8균주가 고도의 유의성이 인정되는 수준으로 항산화 활성을 나타내었다.

이 결과는 *L. acidophilus* 6균주가 강한 항산화 활성을 나타낸다고 보고한 Lin과 Yen의 보고(1999)와 유사한 성향을 보이며 linoleic acid에 대한 항산화 활성은 glutathione 함유율과 positive 상관성을 나타낸다는 Kullisarr 등(2002)의 보고와 유사한 성향을 나타내었다. *L. casei* CU4114 균주는 세포내 glutathione 함유율과 linoleic acid 산화 억제 활성이 각각 25.15umole/g, 62.3% 로 probiotic 균주로 그 활성이 우수한 것으로 나타났으며 포자형성 균주중에서 선발될 수 있는 균주로 *Lactobacillus sporogenes* CU4109, *Bacillus coagulans* CU 819 균주가 그 효용성이 높은 균주로 선발되었다.

Table 2. Total glutathione content of *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Sporolactobacillus*, *Bacillus* spp.

| Species | Strain | Total GSH(umol/g) | SE |
|------------------------------------|--------|-----------------------|------|
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | CU4201 | 14.29 ^b | 0.94 |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> | CU4231 | 8.72 ^{ghij} | 0.85 |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | CU4202 | 7.42 ⁱ | 0.83 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> | CU4203 | 14.47 ^b | 0.94 |
| <i>Lactobacillus brevis</i> | CU4205 | 10.98 ^{def} | 0.89 |
| <i>Lactobacillus brevis</i> | CU4206 | 9.86 ^{edfg} | 0.87 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | CU4111 | 11.71 ^{cd} | 0.90 |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | CU4112 | 9.45 ^{efghi} | 0.86 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | CU4113 | 8.63 ^{ghij} | 0.85 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | CU4114 | 25.15 ^a | 1.09 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | CU4126 | 13.05 ^{bc} | 0.92 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | CU4127 | 10.15 ^{edfg} | 0.87 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | CU4128 | 10.15 ^{edfg} | 0.87 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | CU4129 | 9.08 ^{efghi} | 0.86 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | CU4130 | 7.67 ^{ijk} | 0.83 |
| <i>Bifidobacterium longum</i> | CU4131 | 11.16 ^{cd} | 0.89 |
| <i>Bifidobacterium infantis</i> | CU4132 | 10.11 ^{efg} | 0.87 |
| <i>Bifidobacterium lactis</i> | CU4133 | 12.46 ^{bc} | 0.91 |
| <i>Bifidobacterium longum</i> | CU4134 | 7.10 ^{efgh} | 0.82 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | CU4135 | 10.09 ^{defg} | 0.87 |
| <i>Lactobacillus johnsoni</i> | CU4115 | 9.65 ^{efgh} | 0.86 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | CU4116 | 13.69 ^b | 0.93 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4101 | 6.30 ^{mk} | 0.81 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4102 | 5.34 ^m | 0.79 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4103 | 5.34 ^m | 0.79 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4104 | 5.68 ^{lm} | 0.79 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4105 | 6.43 ^{mk} | 0.81 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4106 | 6.59 ^{mk} | 0.81 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU4107 | 6.46 ^{mk} | 0.81 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | CU819 | 7.71 ^{kl} | 0.83 |
| <i>Bacillus polyfermenticus</i> | CU4108 | 7.26 ^{kl} | 0.83 |
| <i>Lactobacillus sporogenes</i> | CU4109 | 8.19 ^{hijk} | 0.84 |
| <i>Sporolactobacillus inulinus</i> | CU4110 | 7.87 ^{ghijk} | 0.84 |

^{a-m}Value with different superscripts in the same row are different ($P < 0.05$).

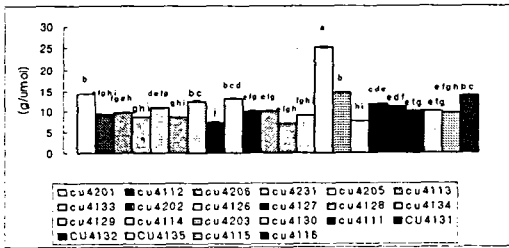


Fig. 1. Total glutathione content of *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Sporolactobacillus*.

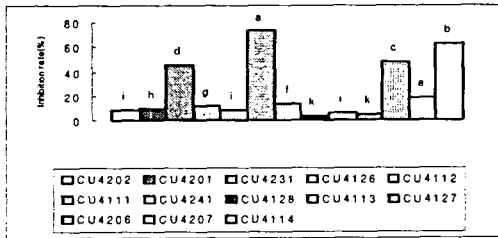


Fig. 2. Inhibition of linoleic acid peroxidation by intracellular cell-free extraction of *Lactobacilli*.

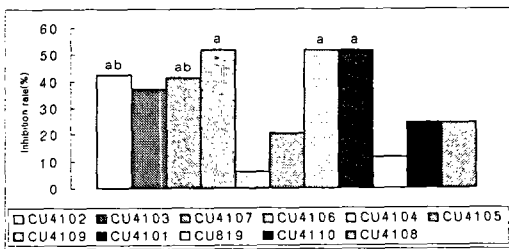


Fig. 3. Inhibition of linoleic acid peroxidation by intracellular cell-free extraction of sporeforming *Bacillus coagulans*.

IV. 요약

활성산소의 세포막 파괴 효과로부터 보호작용과 항산화 활성이 강한 균주를 선별하기 위하여 33균주에 대한 세포내 glutathione 함유율과 linoleic acid 산화 억제활성을 측정하였다. *Lactobacillus casei* CU4114 25.15 $\mu\text{mol/g}$ 으로 가장 높은 함유율을 보이고 있으며 *Lactobacillus rhamnosus* CU4201, *Lactobacillus plantarum* CU4203이 14.0 $\mu\text{mol/g}$ 으로 통계적인 유의성을

나타내는 수준으로 높은 함유율을 나타내었다. 포자형성균주중의 glutathione 함유율 측정 결과 *Lactobacillus sporogenes* CU4109, *Sporolactobacillus inulinus* CU4110은 *Bacillus coagulans* 균주의 GSH 함유율보다 유의성이 인정되는 높은 함유율을 나타내었다.

L. acidophilus CU4111, *L. casei* CU4114, *L. brevis* CU4206, *L. helveticus* CU4231은 *Lactobacillus* spp. 중 높은 항산화 활성을 나타내었고 *Bacillus coagulans*의 항산화 활성범위는 6.02~51.72%로 나타났으며 *Bacillus coagulans* 균주의 항산화 활성이 *Lactobacillus* spp.의 산화억제활성보다 높은 성향을 나타내었다.

V. 인용문헌

- Ahotupa, M., Saxelin, M. and Kopela, R. 1996. Antioxidative properties of *Lactobacillus* GG. Nutr. Today(suppl.) 31;51S-52S.
- Amanatidou, A. E., Smid, J., Bennik, M. H. J. and Gorris, L. G. M. 2001. Antioxidative properties of *Lactobacillus sake* upon exposure to elevated oxygen concentrations. FEMS Microbiol. Lett., 203, 87-94.
- Anderson, M. 1985 : Tissue glutathione : C. R. C. Handbook of methods for oxygen radical research. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc: 317-293.
- Bonous, G., Batist, G. and Gold, P. 1989. Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: Role of glutathione. Clinical investigative Medicine 12;154-61.
- Commoner, B., Townsend, J., and Pake, G. E. 1954. Free radicals in biological materials. Nature. 174, 689-691.
- Bounous, G. and Gold, P. 1991. The biological activity of undenatured whey proteins: The role of glutathione. Clinical Investigative Medicine, 14:154-161.
- Condon, S. 1987. Response of lactic acid bacteria to oxygen. FEMS Microbiol. Rev., 46, 269-280.
- Dahiya, R. S. and Speck, M. L. 1968. Hydrogen peroxide formation by *lactobacilli* and its effect on *Staphylococcus aureus*. J. Dairy Sci., 51, 1568-1572.
- Fahey, R. C., Brown, W. C., Adams, W. B. and Worsham, M. B. 1978. Occurrence of glutathione in

- bacteria. *J. Bacteriol.*, 133, 1126-1129.
10. Gardner, H. W. 1975. Decomposition of linoleic acid hydroperoxides. *J. Agric. Food Chem.*, 23, 129-136.
 11. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.*, 219, 1-14.
 12. Imlay, J. A. and Fridovich, I. 1991. DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction *in vivo* and *in vitro*. *Science*, 240, 640-642.
 13. Imlay, J. A. and Linn, S. 1988. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, 240, 1302-1309.
 14. Korpela, H. J., Vogel, R. F. and Hammes, W. P. 1992. Cloning, sequence, and phenotype expression of *kata*, when encodes the catalase of *Lactobacillus sake* LTH677. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 832-839.
 15. Kullissar, T., Zilmer, M., Mikelasaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C. and Kilk, A. 2002. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *Intl. J. Food Microbiol.*, 72, 215-224.
 16. Lin, M. Y. and Yen, C. L. 1999. Inhibition of lipid peroxidation by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium logum*. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3661-3664.
 17. Loewen, P. C. 1979. Levels of glutathione in *Escherichia coli*. *Can. J. Biochem.*, 57, 107-111.
 18. Rose, W. C. 1980. New aspects of glutathione biochemistry and transport-selective alteration of glutathione metabolism. *Nutrition Review* 42; (12) 397-420.
 19. Shimamura, S., Abe, F., Ishibashi, N., Miyakawa, H., Yaeshima, T., Araya, T. and Tomita, M. 1992. Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of *Bifidobacterium* species. *J. Dairy Sci.*, 75, 3296-3306.
 20. Stecchini, M. L., Torre, M. D. and Munari, M. 2001. Determination of peroxy radical scavenging of lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 64, 183-188.
 21. Yihong Cao, Zuliang Feng, Annie Hoos and V. Suzanne Klimberg. 1998. Glutamine enhances gut glutathione production. *Journal of Parental and Enteral Nutrition*, 22:224-227.