



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0016634
(43) 공개일자 2017년02월14일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 5/20 (2016.01) A23L 3/3571 (2017.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A23L 5/28 (2016.08)
A23L 3/3571 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-0109968</p> <p>(22) 출원일자 2015년08월04일
심사청구일자 2015년08월04일</p> | <p>(71) 출원인
창원대학교 산학협력단
경상남도 창원시 의창구 창원대로 20(퇴촌동)</p> <p>(72) 발명자
주우홍
경상남도 창원시 의창구 도계로 69, 세영빌딩 1층 (도계동)</p> <p>임보람
경상남도 산청군 신안면 원지강변로61번길 24, 101동 1009호 (대동강변타운아파트)</p> <p>최혜정
경상남도 창원시 의창구 동읍 죽동길45번길 11</p> <p>(74) 대리인
김순웅</p> |
|---|---|

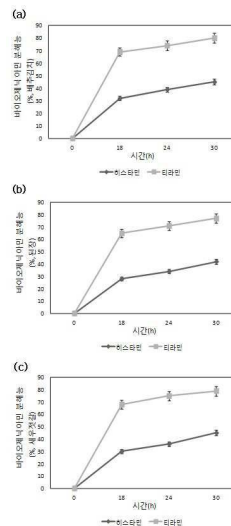
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 바이오제닉 아민 분해 활성이 있는 락토바실러스 아리조넨시스 균주의 용도

(57) 요약

본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민(biogenic amine) 분해용 미생물 제제, 상기 균주를 배양하는 단계를 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 미생물 제제의 제조방법, 상기 균주를 포함하는 식품, 상기 균주 또는 이의 배양액을 발효식품에 처리하는 단계를 포함하는 발효식품 유해 인자 제어방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12N 1/20 (2013.01)

A23Y 2220/00 (2013.01)

C12R 1/225 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015-E-0037-010103

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학협력선도대학(LINC)육성(0.5)

연구과제명 마늘 기능성 제품의 표준공정 개발을 위한 위해요소 저감화 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 창원대학교

연구기간 2015.07.01 ~ 2015.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민(biogenic amine) 분해용 미생물 제제.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 바이오제닉 아민은 히스타민(histamine), 티라민(tryamine), 푸트레신(putreacine) 및 카다베린(cadaverine) 중 선택된 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 바이오제닉 아민 분해용 미생물 제제.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 미생물 제제는 pH 4~7, 30~40℃의 온도에서 바이오제닉 아민 분해 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 바이오제닉 아민 분해용 미생물 제제.

청구항 4

수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주를 배양하는 단계를 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 미생물 제제의 제조방법.

청구항 5

수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주를 포함하는 식품.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 식품은 김치류, 장류, 젓갈류, 주류 및 발효 육가공류 중 선택된 어느 하나 이상의 발효식품인 것을 특징으로 하는 식품.

청구항 7

수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 발효식품에 처리하는 단계를 포함하는 발효식품 유해 인자의 제어방법.

청구항 8

수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민(biogenic amine) 분해용 미생물 제제, 상기 균주를 배양하는 단계를 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 미생물 제제의 제조방법, 상기 균주를 포함하는 식품, 상기 균주 또는 이의 배양액을 발효식품에 처리하는 단계를 포함하는 발효식품 유해 인자 제어방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0001]

- [0002] 바이오제닉 아민(biogenic amine)은 단백질을 함유한 식품이 부패하거나, 발효·숙성 과정에서 유리아미노산이 미생물의 탈탄산작용, 아미노기 전이작용 등의 화학적 작용에 의해 주로 생성되는 질소화합물이다. 바이오제닉 아민은 발효식품, 어류제품, 육류제품, 낙농제품, 포도주, 맥주, 채소, 과일, 견과류 등 다양한 식품에 함유되어 있다. 이러한 바이오제닉 아민은 인체 및 동물 체내에서 신경전달물질로서 직·간접적으로 작용하고, 혈압조절, 혈류 등의 심혈관계에도 영향을 미치므로 바이오제닉 아민이 함유된 식품의 섭취로 여러 약리적인 현상이 나타날 수 있다.
- [0003] 식품에서 주로 발견되는 바이오제닉 아민은 히스타민, 티라민, 푸트레신, 카다베린 등이 있으며, 구조상 지방족 화합물(putrescine, cadaverine 등), 방향족화합물(tyramine, 2-phenylethylamine), 히스테로고리화합물(histamine, tryptamine)로 나눌 수 있는데, 지방족 화합물은 부패의 지표물질로서 흔히 이용되고 있으며, 최근에는 이들 폴리아민(polyamine)류는 세포의 성장과 증식에 관여하는 인자로 알려져 연구가 진행되고 있으며, N-니트로사민(N-nitrosamine)과 같은 발암물질로 전환될 수 있는 잠재성을 갖고 있는 것으로 알려져 있다.
- [0004] 바이오제닉 아민 중 가장 널리 알려진 물질은 히스타민으로, 고등어, 꽂치, 정어리, 참치 등의 어종이 비위생적 처리로 인해 부패가 발생하게 되면 발진, 국소적 피부염증, 구토 등을 증상으로 하는 'scombrototoxicosis'를 유발하게 된다. 하지만 히스타민에 의한 식중독은 식품섭취를 통한 알레르기와 증상이 비슷해 그 발생빈도가 잘 알려져 있지 않다. 바이오제닉 아민의 독성 증세로는 오심, 호흡곤란, 발열홍조, 발한, 두통, 구강작열통, 설사, 경련, 홍반, 혈압상승, 두드러기 등이 발생할 수 있는데, 특히 티라민은 혈관수축 및 혈압상승작용에 관여하는 가장 강한 혈압증진 아민으로 고혈압을 유발할 수 있으며, 편두통을 유발하기도 한다.
- [0005] 일반적으로 인체에는 바이오제닉 아민을 분해하는 mono-,diamine oxidase가 소장에 존재하여 무독화하는 시스템을 갖추고 있지만, 과잉의 바이오제닉 아민이 섭취되는 경우 우울증 치료제인 페넬진(phenelzine)과 같은 MAO 억제제(monoamine oxidase inhibitors, MAOIs)를 복용하고 있는 환자의 경우 과량의 술을 섭취하거나, 소장에 질환이 있어 효소의 작용이 제대로 이루어지지 않을 경우 바이오제닉 아민이 함유된 식품을 소량만 섭취하여도 인체에 유해한 증상이 나타날 수 있다.
- [0006] 현재 외국에서의 바이오제닉 아민에 대한 규정은 히스타민에 대해 국제식품규격위원회(Codex)를 비롯한 유럽연합(EU) 등 일부 국가에서는 어육 및 가공 어육제품에 대해 100~200ppm 이하를 권장하고 있으며, 미국은 가다랑어 및 참치 통조림에 대해 500ppm 이하로 규정하고 있다. 이렇듯 우리나라 발효식품인 김치, 된장, 젓갈 등은 조미를 위해 꾸준히 섭취가 된다는 점을 고려할 때 우리나라에서도 발효식품 특성에 맞는 기준 규격이 필요할 것이다.
- [0007] 따라서, 바이오제닉 아민 분해능이 우수한 스타터 균주를 탐색하여 발효식품뿐만 아니라 맥주, 소시지, 와인 등 다양한 식품에 적용하여 식품의 안전성을 높일 필요가 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 국내등록특허 제10-1376629호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하고자, 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주를 포함하여 식품의 발효 과정 동안 발생하는 바이오제닉 아민을 효과적으로 분해할 수 있는 분해용 미생물 제제, 이를 포함하는 식품 및 발효식품 유해 인자의 제어방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0010] 또한 본 발명은 바이오제닉 아민의 높은 분해 활성으로 독성이 없으며, 안전한 발효식품을 생산할 수 있어 산업적으로 유용하게 이용될 수 있는 바이오제닉 아민을 효과적으로 분해할 수 있는 분해용 미생물 제제, 이를 포함하는 식품 및 발효식품 유해 인자의 제어방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민(biogenic amine) 분해용 미생물 제제를 제공한다.
- [0012] 상기 바이오제닉 아민은 히스타민(histamine), 티라민(tryamine), 푸트레신(putreacine), 카다베린(cadaverine) 등일 수 있다.
- [0013] 상기 미생물 제제는 pH 4~7, 30~40℃의 온도에서 최대의 바이오제닉 아민 분해 활성을 나타낼 수 있다.
- [0014] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주를 배양하는 단계를 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 미생물 제제의 제조방법을 제공한다.
- [0015] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주를 포함하는 식품을 제공한다.
- [0016] 상기 식품은 김치류, 장류, 젓갈류, 주류, 발효 육가공류 등일 수 있다.
- [0017] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 발효식품에 처리하는 단계를 포함하는 발효식품 유해 인자의 제어방법을 제공한다.
- [0018] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0019] 본 발명에 따르면 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 이용하여 식품의 발효 과정 동안 바이오제닉 아민을 생산하지 않고 바이오제닉 아민의 높은 분해 활성을 가지며, 독성이 없으며 안전한 발효 식품을 생산할 수 있는 효과를 가져올 수 있으므로, 산업적으로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따라 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주의 바이오제닉 아민 분해능을 분석한 결과를 나타낸 도이다. 도 1a는 배추김치에 대한 바이오제닉 아민 분해능을, 도 1b는 된장에 대한 바이오제닉 아민 분해능을, 도 1c는 새우젓갈에 대한 바이오제닉 아민 분해능을 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 일실시예에 따라 pH에 따른 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주의 바이오제닉 아민 분해능을 분석한 결과를 나타낸 도이다. 도 2a는 히스타민 분해능을, 도 2b는 티라민 분해능을 나타낸 것이다.
- 도 3은 도 2는 본 발명의 일실시예에 따라 온도에 따른 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주의 바이오제닉 아민 분해능을 분석한 결과를 나타낸 도이다. 도 3a는 히스타민 분해능을, 도 3b는 티라민 분해능을 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명의 일실시예에 따라 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주와 락토바실러스 파란타룸(*L. plantarum*) 균주의 바이오제닉 아민 분해능을 비교한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 5는 본 발명의 일실시예에 따라 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주와 락토바실러스 파란타룸(*L. plantarum*) 균주의 배추김치에 대한 발효시간에 따른 바이오제닉 아민 분해능을 비교한 결과를 나타낸 도이다. 도 5a는 히스타민 분해능을, 도 5b는 티라민 분해능을 나타낸 것이다.
- 도 6은 본 발명의 일실시예에 따라 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주와 락토바실러스 파란타룸(*L. plantarum*) 균주의 된장에 대한 발효시간에 따른 바이오제닉 아민 분해능을 비교한 결과를 나타낸 도이다. 도 6a는 히스타민 분해능을, 도 6b는 티라민 분해능을 나타낸 것이다.
- 도 7은 본 발명의 일실시예에 따라 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주와 락토바실러스 파란타룸(*L. plantarum*) 균주의 새우젓갈에 대한 발효시간에 따른 바이오제닉 아민 분해능을 비교한 결과를 나타낸 도이다. 도 7a는 히스타민 분해능을, 도 7b는 티라민 분해능을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

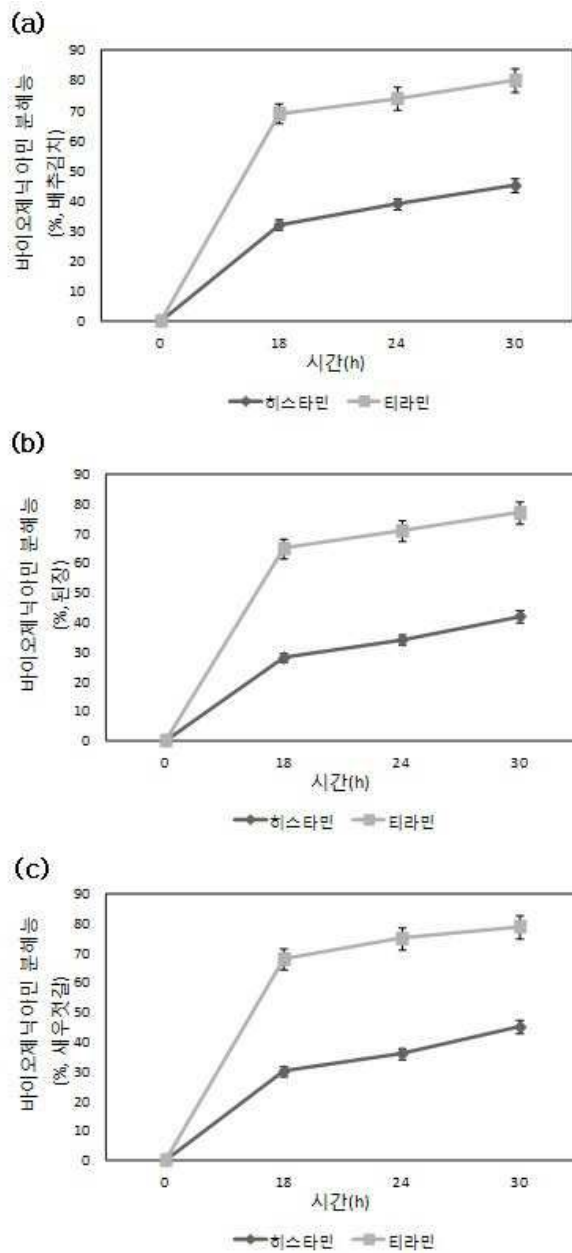
- [0021] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0022] 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민(biogenic amine) 분해용 미생물 제제를 제공한다.
- [0023] 상기 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주는 본 출원인이 이전 출원한 출원번호 제10-2012-0042030호(출원일:2012년 4월 23일)에 기재하고 있는 바와 같이 농업유전자정보센터에 2012년 3월 5일자로 기탁하여 기탁번호 KACC 91716P를 부여받았다.
- [0024] 상기 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 바이오제닉 아민을 생산하지 않는 것을 특징으로 하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 상기 바이오제닉 아민은 식품에서 주로 발견되는 것으로 히스타민(histamine), 티라민(tryamine), 푸트레신(putrescine), 카다베린(cadaverine) 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 특히, 본 발명의 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 히스타민 또는 티라민에 대하여 우수한 분해 활성을 갖는다.
- [0026] 상기 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 바이오제닉 아민에 대한 높은 분해 활성을 가지며, 특히 pH 4~7, 30~40℃의 온도 조건에서 최적의 바이오제닉 아민 분해 활성을 가지며, pH 6, 35℃의 온도 조건에서 최대의 바이오제닉 아민 분해 활성을 갖는다.
- [0027] 본 발명에 의한 상기 미생물 제제는 그 제형에 있어 특별히 한정되지 않으나, 액상 형태로 제조할 수 있으며, 이에 중량제를 첨가하여 가루분말 형태로 제조할 수도 있고, 이를 제형화하여 과립화 형태로 제조할 수도 있다.
- [0028] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 배양하는 단계를 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 미생물 제제의 제조방법을 제공한다. 본 발명의 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 배양하는 방법은 당업계에서 알려진 통상의 방법을 이용할 수 있다.
- [0029] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 포함하는 식품을 제공한다.
- [0030] 상기 식품은 김치류, 장류, 젓갈류, 주류, 발효 육가공류일 수 있다. 구체적으로, 상기 김치류는 배추김치, 물김치, 깍두기, 열무김치, 총각김치, 오이김치, 파김치, 갯김치 등일 수 있고, 상기 장류는 메주, 한식된장, 된장, 조미된장, 고추장, 조미고추장, 춘장, 청국장, 혼합장, 한식간장, 양조간장, 혼합간장 등일 수 있고, 상기 젓갈류는 새우젓, 창난젓, 전복젓, 어간장, 연어알젓, 오징어젓, 은어젓, 젓갈, 양념젓갈, 액젓 등일 수 있고, 주류로는 맥주, 청주, 약주, 노주, 탁주, 과일주, 와인 등일 수 있으며, 발효 육가공류는 소시지, 햄, 건조육, 베이컨, 프레스햄 등일 수 있다. 그러나, 이에 제한되지 않는다.
- [0031] 본 발명의 상기 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 균주를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 균주는 원료에 대하여 15중량부 이하, 바람직하게는 10중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0032] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 바람직하게는 식품은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 함유하는 형태일 수 있으며, 또한 다른 식품의 첨가물로서도 이용될 수 있다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.
- [0033] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주 또는 이의 배양액을 발효식품에 처리하는 단계를 포함하는 발효식품 유해 인자 제어 방법을 제공한다.
- [0034] 상기 발효식품 유해 인자 제어는 본 발명의 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 발효식품에 처리함으로써 유해 인자의 생성을 지연시키거나 저해시켜 제어할 수 있다.
- [0035] 또한 본 발명은 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 바이오제닉 아민 분해용 조성물을 제공한다.

- [0036] 이하에서는 실시예를 들어 본 발명에 관하여 더욱 상세하게 설명할 것이나, 이들 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것으로 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.
- [0037] 실시예 1. 바이오제닉 아민 분해능
- [0038] (1)시료 추출
- [0039] 실험균주인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*Lactobacillus arizonensis*) 균주를 Lactobacilli MRS broth에서 18시간 배양한 뒤 원심분리하여(8,000×g, 10분, 4℃) 배양 상등액을 조추출물로 사용하였다. 실험에 사용한 식품은 롯데마트에서 구입한 배추김치(통큰 김치), 재래식 된장 및 시장에서 구입한 새우젓갈을 이용하였다. 상기 각각의 식품과 배양액을 각각 1:1의 비율로 혼합한 후 20℃에서 18시간 동안 130rpm으로 반응시켰으며, 비교를 위해 조추출물을 대신하여 MRS broth를 동량 넣은 식품을 대조군으로 사용하였다. 반응 후 각각의 혼합물에 0.4M perchloride acid 10mL을 각각 첨가하여 초음파 수조(HAN-400A, 한샘인테리어, Korea)에서 30분 동안 처리하고, 5,000×g에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 시료로 사용하였다.
- [0040] (2)유도체화
- [0041] 각각의 시료 1mL에 2M 수산화나트륨 200 μL와 탄산수소나트륨 300 μL를 혼합한 후, 1% 댄실클로라이드(dansyl chloride)가 첨가된 2mL의 아세톤 용액에 첨가하고 40℃에서 45분 동안 유도체화시켰다. 유도체화시킨 각각의 시료에 25% 수산화암모늄 100 μL을 넣고 25℃에서 30분 동안 반응시켜 여분의 댄실클로라이드를 제거한 뒤 아세토니트릴을 이용하여 총 부피를 5mL로 조정하였다. 각각의 혼합물은 원심분리(3,000×g, 5분, 4℃)한 후 0.2 μm의 필터로 여과한 다음 HPLC 분석을 위한 시료로 사용하였다.
- [0042] (3)바이오제닉 아민 분해능 분석
- [0043] 실험균주인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주의 바이오제닉 아민 분해 능력을 정량적으로 분석하기 위해 액체 크로마토그래피(LC-20AD series, SHIMADZU, Japan)를 이용하여 수행하였다. 칼럼은 ODS C18(250×4.6mm, 5 μm)으로 40℃로 사용하였고, 전개용매는 아세토니트릴: 0.1M 아세트산암모늄을 gradient로 50:50의 비율로 시작하여 19분에 10:90의 비율로 1mL/분의 속도로 전개하였으며, 각각의 시료는 15 μL씩 주입하였다. 다이오드 어레이 검출기를 이용하여 254nm에서 모니터링을 하고, 그 결과를 도 1에 나타내었다.
- [0044] 실험결과, 도 1에 나타낸 바와 같이 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주는 모노아민인 히스타민과 티라민을 분해함을 확인할 수 있었다. 특히, 히스타민 분해능은 김치에서 12.5mg/kg에서 8.5mg/kg으로 약 32%의 감소를 보였고(도 1a), 된장에서는 83.2mg/kg에서 60.3mg/kg으로 약 28%의 감소를 보였으며(도 1b), 새우젓갈에서는 32.8mg/kg에서 22.9mg/kg으로 약 30%의 감소를 보여(도 1c), 히스타민에 대해 평균 약 30%의 분해능을 보임을 알 수 있었다. 또한 티라민 분해능은 김치에서 4.25 mg/kg에서 1.3mg/kg으로 약 69%의 감소를 보였고(도 1a), 된장에서는 134mg/kg에서 46.9mg/kg으로 약 65%의 감소를 보였으며(도 1b), 새우젓갈에서는 13.5mg/kg에서 4.32mg/kg으로 약 68%의 감소를 보여(도 1c), 티라민에 대해 평균 약 67%의 분해능을 보임을 알 수 있었다.
- [0045] 실시예 2. pH에 따른 바이오제닉 아민 분해능
- [0046] 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주의 pH에 따른 바이오제닉 아민 분해능을 분석을 위해 각 pH별 버퍼를 만들어 측정하였다. pH 4~5는 0.05M 아세트이트 버퍼(acetate buffer), pH 6~7은 0.05M 포스페이트 버퍼(phosphate buffer), pH 8~10은 트리스 버퍼(Tris buffer)를 각각 사용하였다. 각 버퍼에는 100ppm의 히스타민과 100ppm의 티라민을 각각 혼합하였다. 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 Lactobacilli MRS broth에서 18시간 배양한 후 배양액 1mL를 멸균된 버퍼 9mL와 혼합한 뒤 35℃에서 24시간 동안 배양하였다. 배양한 시료에 동량의 1M HCl을 가하고 10분간 100℃에서 끓인 후 원심분리(9000×g, 10분, 4℃)하고, 얻어진 상등액 1mL를 채취하여 상기 실시예 1과 같이 액체 크로마토그래피를 이용하여 바이오제닉 아민 분해능을 측정하였다.
- [0047] 그 결과 도 2에 나타낸 바와 같이, pH에 따른 히스타민 및 티라민은 pH 4~7에서 높은 분해능을 나타내었으며, 특히 pH 6에서 히스타민의 경우 53%로(도 2a), 티라민의 경우 73.3%(도 2b)로 가장 높은 분해능을 나타내었음을 확인할 수 있었다. 이같은 결과로부터, 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 pH 6에서 가장 높은 바이오제닉 아민 분해능을 나타낼 것임을 유추할 수 있었다.

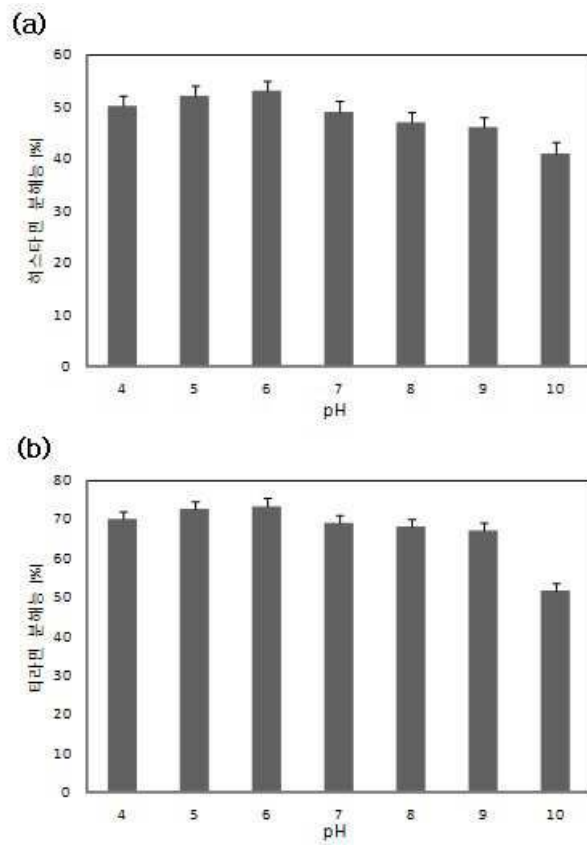
- [0048] 실시예 3. 온도에 따른 바이오제닉 아민 분해능
- [0049] 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주의 온도에 따른 바이오제닉 아민 분해능을 분석하기 위해, 히스타민과 티라민을 각각 100ppm으로 첨가한 0.05M 포스페이트 버퍼(pH 7)를 사용하여 온도별 바이오제닉 아민 분해능을 분석하였다. 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 Lactobacill MRS broth에서 18시간 배양한 후 배양액 1mL를 버퍼 9mL와 혼합한 뒤 30, 35, 40, 45, 50℃에서 24시간 동안 배양하였다. 배양한 시료에 동량의 1M HCl을 가하고 10분간 100℃에서 끓인 후 원심분리(9000×g, 10분, 4℃)하고, 얻어진 상등액 1mL을 채취하여 상기 실시예 1과 같이 액체 크로마토그래피를 이용하여 바이오제닉 아민 분해능을 측정하였다.
- [0050] 그 결과 도 3에 나타난 바와 같이, 온도에 따른 히스타민 및 티라민은 30~40℃에서 높은 분해능을 나타내었으며, 특히 35℃에서 히스타민의 경우 48%(도 3a), 티라민의 경우 67%(도 3b)로 가장 높은 분해능을 나타내었음을 확인할 수 있었다. 이같은 결과로부터, 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 35℃의 온도에서 가장 높은 바이오제닉 아민 분해능을 나타낼 것임을 유추할 수 있었다.
- [0051] 실시예 4. 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주와 락토바실러스 프란타륨(*L. plantarum*) 균주의 바이오제닉 아민 분해능 비교
- [0052] 실험균주인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주와 락토바실러스 프란타륨(*L. plantarum*) 균주를 식품으로 롯데마트에서 구입한 배추김치(통큰 김치)를 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법에 따라 시료 추출한 후 유도체화하여 바이오제닉 아민 분해능을 분석하였다. 그 결과는 도 4에 나타내었다.
- [0053] 도 4에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 모노아민인 히스타민과 티라민을 각각 32%와 69%로 감소시키는 것으로 나타났으나, 락토바실러스 프란타륨 균주는 히스타민 2%, 티라민 5%로 감소시킴을 확인할 수 있었다. 이같은 결과로부터 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 동일한 락토바실러스속 균주인 락토바실러스 프란타륨 균주와 대비하여 바이오제닉 아민 분해능이 월등히 뛰어난 것을 알 수 있었다.
- [0054] 실시예 5. 시료별 발효시간에 따른 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주와 락토바실러스 프란타륨(*L. plantarum*) 균주의 바이오제닉 아민 분해능 비교
- [0055] 배추김치는 경상남도 가정에서 담근 김치(배추김치)를 사용하였으며, 된장은 일반 가정에서 만든 후 두달 가량 숙성시키고 장물과 된장을 나눈 후부터 사용하였다. 젓갈은 새우젓갈로 제조하였으며, 새우는 소금물에 담갔다가 물기를 제거한 후 새우 100g과 소금 50g을 넣고 혼합하여 저장용기에 새우를 담고 남은 소금을 위에 덮어 밀봉한 뒤 하루 동안 숙성한 것을 사용하였다.
- [0056] 바이오제닉 아민 측정을 위해 각 시료는 깨끗한 밀폐용기에 담아 10℃의 항온기 내에서 30일 동안 발효시키면서 15일째에 1% 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주를 스타터로 한 실험균과 1% 락토바실러스 프란타륨 균주를 스타터로 접종한 대조군, 그리고 배양액을 접종하지 않는 시료(무처리군)를 5일 간격으로 30일 동안 채취하여 상기 실시예 1과 같이 바이오제닉 아민 분해능을 측정하였다.
- [0057] 그 결과 도 5 내지 7에 나타난 바와 같이, 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스 균주는 배추김치, 된장, 새우젓갈의 시료에 대해 발효 30일 동안 평균 히스타민을 41%, 티라민을 72%로 분해함을 확인할 수 있었다. 반면, 락토바실러스 프란타륨 균주의 경우 배추김치, 된장, 새우젓갈의 시료에 대해 발효 30일 동안 히스타민과 티라민을 평균 5% 이하로 분해하는 것으로 나타났다.
- [0058] 이같은 결과로부터, 본 발명의 유효성분인 수탁번호가 KACC 91716P인 락토바실러스 아리조넨시스(*L. arizonensis*) 균주는 락토바실러스속 균주 중에서 식품의 발효과정 동안 바이오제닉 아민을 더욱 효과적으로 줄일 수 있음을 알 수 있었다.
- [0059] 비록 본 발명이 상기에 언급된 바람직한 실시예로서 설명되었으나, 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 또한 첨부된 청구 범위는 본 발명의 요지에 속하는 이러한 수정이나 변형을 포함한다.

도면

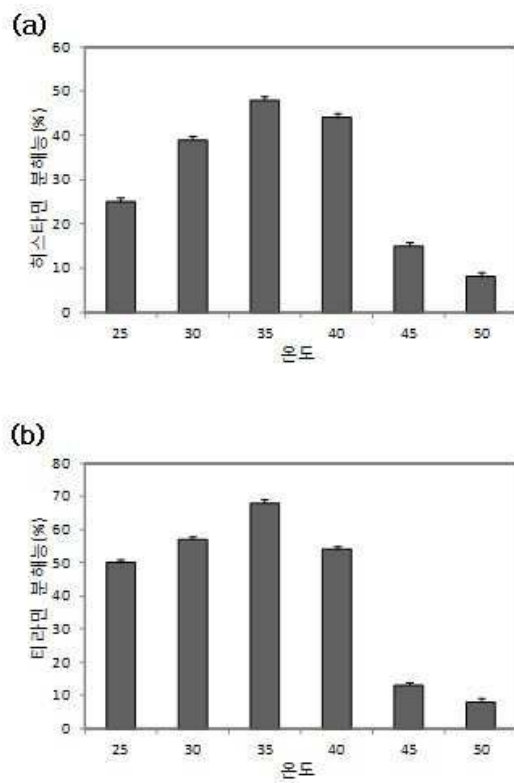
도면1



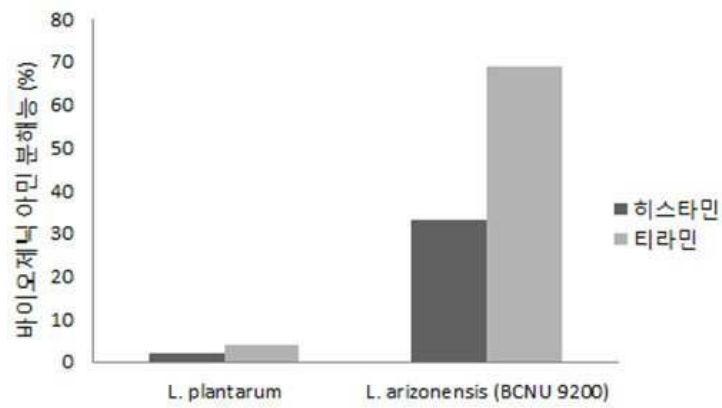
도면2



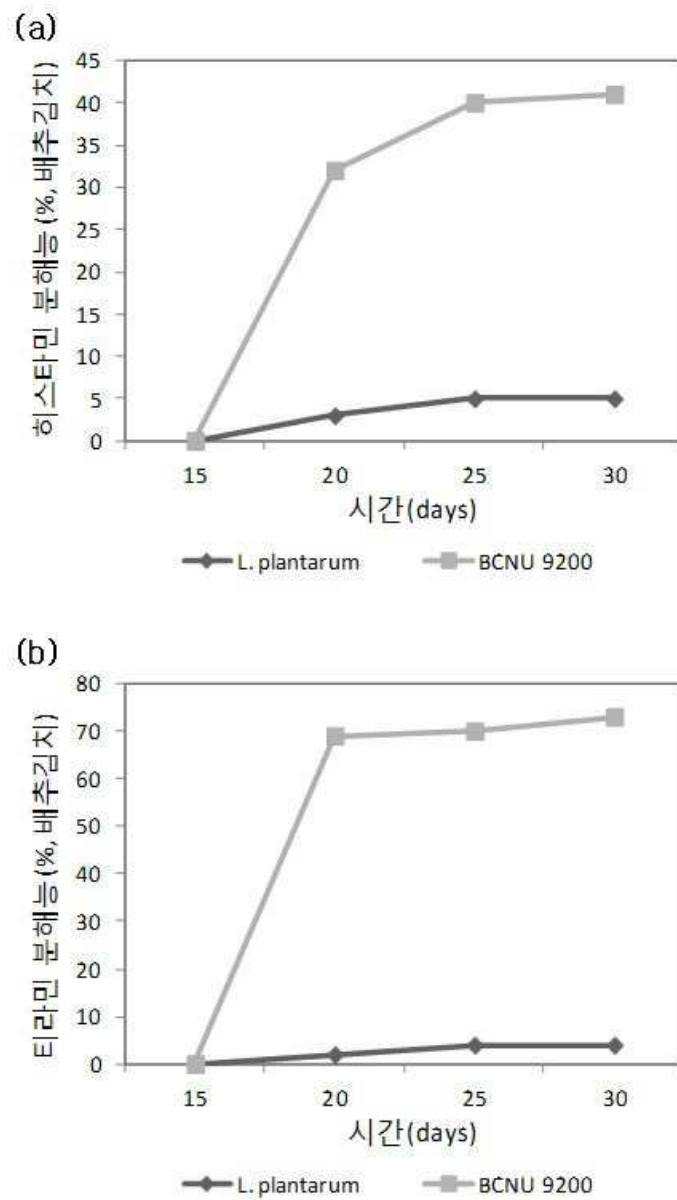
도면3



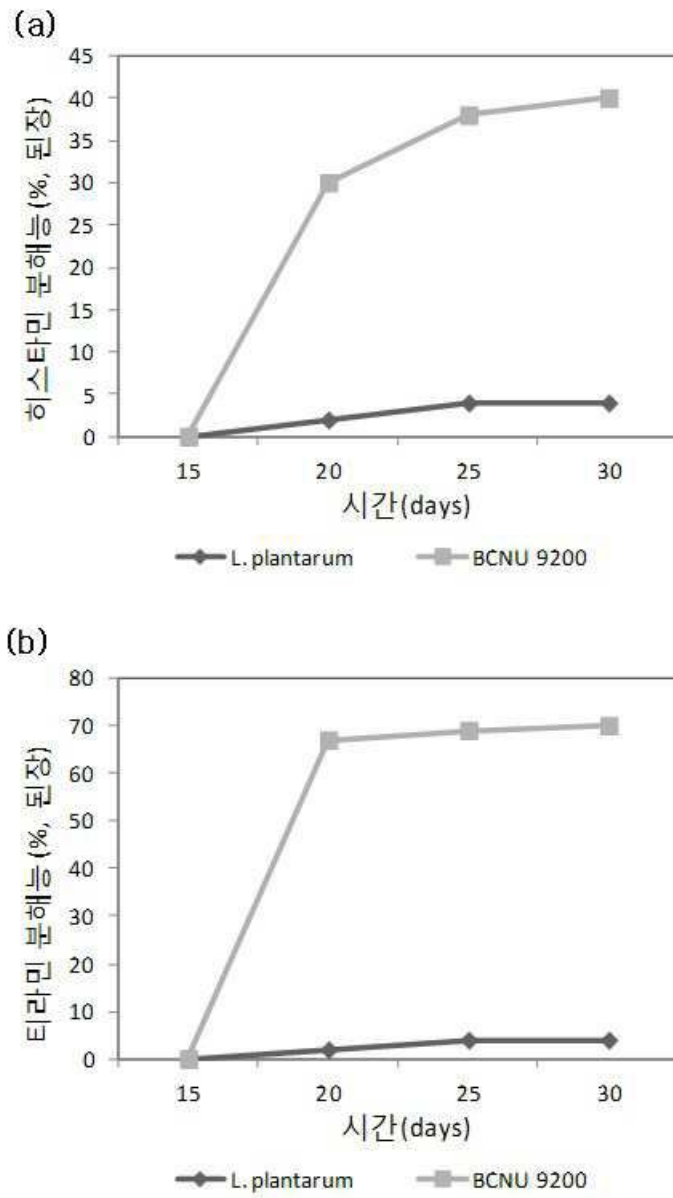
도면4



도면5



도면6



도면7

