ISSN(Print) : 1738-7248, ISSN(Online) : 2287-7428
Korean J. Food Preserv.
23(6), 883-889 (2016)
http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.6.883

사단법인 한국식품저장유통학회
The Korean Society of Food Preservation

Quality characteristics of *Weissella confusa* strain having gluten degradation activity from salted seafood

Jong Young Yoon[1,2], Kwontack Hwang[3*]
[1]*Dongsung Foods Inc., Youngin 10742, Korea*
[2]*Department of Food Science and Technology, Kongju National University, Gongju 32588, Korea*
[3]*Department of Food and Nutrition, Nambu University, Gwangju 62271, Korea*

젓갈로부터 분리된 글루텐 분해능을 가지는 *Weissella confusa* 균주와 특성

윤종영[1,2] · 황권택[3*]
[1](주)동성식품, [2]공주대학교 식품공학과, [3]남부대학교 식품영양학과

Abstract

A new lactic acid bacteria with gluten-degrading activity which was isolated from salted sea foods (traditional Korea fermented food), identified as *Weissella confusa* (99%) by use of API kit and 16S rRNA sequencing, and designated as *W. confusa*. When the *W. confusa* cultured for 48 hours at 30℃ in a MRS medium containing 1% gluten, 45% of gluten was founded to be degraded. *W. confusa* showed 85% of survival rate at pH 3, and 94% tolerance at 0.1% oxgall, which indicates that *W. confusa* would survive in stomach of human. Experiments on the thermostability was confirmed that it has a stability of 70% in 50℃. *W. confusa* inhibited the growth of some pathogen, except for *S. aureus*. Results in this study suggest that using *W. confusa* for fermentation of grain flour containing gluten would be desirable to prepare the gluten-free foods needed for those who suffer from celia disease and gluten allergy.

Key words : *Weissella confusa*, gluten, gluten-free, fermentation

서 론

밀가루는 식품산업에서 제면·제과·제빵에 사용되는 가장 주된 원료중 하나로 100여 년 동안 체계적인 연구 축적과 산업화가 이루어져 각각의 음식에 최적화된 수백 가지 제품이 생산되고 있다. 특히 밀을 주식으로 하는 서구 사회에서는 탄수화물 가공식품에 있어 밀 가공식품이 거의 대부분이며 빵, 과자, 국수, 튀김, 피자 등으로 가공된다(1). 최근 국내의 서구화된 음식문화로 인하여, 여전히 쌀이 주식이기는 하지만 매년 1인당 쌀 소비량은 감소하고 있으며 쌀 대신 밀가루 음식의 소비는 점차 증가하고 있다(2).

*Corresponding author. E-mail : hwangskt@gmail.com
Phone : 82-62-970-0174, Fax : 82-62-970-0174
Received 7 October 2016; Revised 17 October 2016; Accepted 29 October 2016.
Copyright ⓒ The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

밀가루는 주로 전분과 단백질 그리고 섬유소로 구성되어 있는데 그중 단백질이 약 10~15%를 차지하고, 단백질 중 약 80%는 프롤라민(글리아딘)과 글루테닌이 차지한다(3). 밀과 같은 곡류에서 주요 저장 단백질로서 존재하는 프롤라민은 점성과 신장성을 띄며, 이는 물과 함께 글루테닌을 만나면 글루텐을 형성한다. 글루텐의 망상구조에 의해 형성된 막은 air cell을 둘러쌓아 가스를 보유하는 기능을 하여 골격형성에 영향을 미치므로, 글루텐의 함량은 가공식품의 특성을 결정하는데 중요하게 작용한다(4). 예를 들면 빵을 만드는데 사용하는 강력분용 밀가루는 글루텐 함량이 높게 나타나고, 과자를 만드는 박력분용 밀가루는 글루텐 함량이 낮게 나타난다(5). 그리고 국수 등 제면에는 주로 중력분이 사용되는데, 기능성 제면을 위해 다른 첨가물을 첨가시 부착성 및 응집성을 위해서 강력분을 사용하기도 한다(6).

글루텐은 제빵, 제면, 제과와 같은 식품가공에 있어 밀가루의 질을 결정하는데 중요한 요소가 되지만(7), 글루텐을

구성하는 프롤라민은 부정적 반응을 일으키는 것으로도 알려져 있다(3). 부정적인 반응의 첫 번째는 셀리악 질병(celiac disease, celiac sprue 또는 gluten-sensitive enteropathy)인데, 이는 글루텐 단백질의 과민성 알레르기로 인하여 소장에서 나타나는 자가 면역 질환이다. 글루텐이 소장에 노출되면 장의 융모 구조의 파괴를 초래하는 염증반응이 유도된다(8). 이러한 증상은 보통 만성 설사, 복부팽만, 발육저하 등의 증상과 함께 유아기에 나타나고 되고 성인이 되고 나서도 흡수불량, 빈혈, 신경학적 증상으로 인한 피로, 설사, 체중 저하 등의 증상이 나타난다(9-10). 글루텐 만성 소화장애증은 유전적 요인에 의해 발병하며 2000년대 초반 유럽이나 미국에서는 200~400명중 한 명꼴로 나타난다고 보고되었으나(11-12), 2008년에는 유럽과 미국에서 약 133명당 1명(0.75%) 꼴로 발병한다고 보고되었으며(13) 최근에는 전체 인구의 약 1%가 셀리악 질병에 의해 고통받고 있다는 보고가 있었다(14-15).

또 다른 하나는 호흡기 알레르기인 제빵사 천식(bakers' asthma)의 원인이 될 수 있다. 제빵사 천식을 일으키는 알레르겐은 밀가루 내에 존재하는 여러 가지 단백질이 될 수 있지만, 그 중 하나가 글루텐이다(16). 순수 발현된 작은 분자량의 글루테닌(LMW-glutenin)과 αβ-글리아딘은 알레르기 면역에 관여하는 IgE를 인식한다는 것이 알려져 있으며, 천식질환을 앓고 있는 제빵사의 1/3은 글라이딘에 민감하게 반응한다는 결과도 보고되어 있다(17,18). 일부이기는 하지만 이렇게 밀가루 식품의 부작용이 있는데도 불구하고 현대사회에서 식품의 소비추세가 간편하고 빠르게 먹을 수 있는 제품을 선호하고 있기 때문에 밀가루 가공식품의 이용 비중이 점차 높아지고 있다. 그러므로 세계적으로 gluten-free 식품 시장은 매년 10.2%의 성장률로 자라 2018년에는 6,206.2백만 달러의 가치에 도달할 것으로 예상되어진다고 보고되어졌다(Marketsandmarkets.com). 그러므로 이러한 식생활 패턴에 맞추어 여러 가지 방법으로 밀가루 식품에서 글루텐을 감소시키거나 제거하여 식품 가공을 하려는 노력이 있어 왔다. 이에 따라 미국 식품의약국(RDA)에서는 2014년 8월부터는 글루텐 함량이 20 ppm미만일 경우에만 'gluten-free'라는 표시를 할 수 있도록 통합기준을 발표하고 관리하고 있다(http://www.fda.gov/Food/NewsEvents/ConstituentUpdates/ucm407867.htm). 이전의 연구에서 gluten-free 제품을 개발하기 위하여 글루텐 성분이 낮은 가루류를 첨가하여 글루텐의 조성을 낮추거나, 글루텐이 없는 쌀가루를 이용하여 쿠키나 머핀등을 만드는 방법에 대한 연구가 되어져 왔다.

본 연구에서는 글루텐을 감소시키는 방법으로 미생물학적 발효를 이용하고자 하였다. 글루텐을 분해할 유산균을 이용하여 밀가루 반죽을 발효하면 유산균에 의해 반죽 내 글루텐이 분해되어 글루텐 프리 가공식품을 제조할 수 있을 것으로 기대하였다. 또한 유산균은 생균으로 섭취하여 체내에서 유산균에 의해 생성되는 유기산 등에 의해 유해균의 증식을 억제하는 프로바이오틱스로서 이용될 수 있는데, 글루텐 분해 유산균을 섭취하면 체내 면역유지에 도움을 줄 뿐만 아니라 장내에서 잔여 글루텐을 분해할 수 있으므로 글루텐에 의한 알레르기반응도 감소시킬 것으로 기대할 수 있다. 그러므로 본 연구에서 발효식품인 젓갈류로부터 글루텐을 분해할 수 있는 유산균을 선별하고 글루텐 분해능 및 생리적인 특징을 조사하였다.

재료 및 방법

단백질 분해 유산균의 스크리닝

글루텐 분해능을 갖는 유산균을 분리하기 위하여 전라북도 부안군 및 충청남도 강경에서 총 32종의 젓갈을 구입하였고, 각 젓갈 1 g을 멸균 생리식염수(0.85% NaCl) 9 mL에 현탁하고 10^2부터 10^5까지 단계적으로 희석하여 1% skim milk(Sigma-aldrich Co., St. Louis, MO, USA)가 함유된 MRS(Difco Co., NJ, USA) 고체 배지에 각각 도말하였다. 30℃에서 48시간 배양한 후 단백질 분해에 의해 생성되는 clear zone을 형성하는 미생물을 분리하였다. 또한 유산균임을 확인하기 위하여 MRS배지에 bromocresol perple (BCP)를 0.004%로 첨가하여 균으로부터 생성되는 산에 의해 배지가 노란색으로 변하는 균주를 선별하였다.

미생물 동정 및 계통도 분석

분리된 미생물의 단일 콜로니로부터 27F와 1492R 프라이머를 이용하여 16S rRNA 유전자를 확보하고, 염기서열을 분석하였다(Genotech, Daejeon, Korea). 염기서열은 NCBI BLASTN 을 통하여 근연종과 유사도를 확인하였고, Clustal X를 사용하여 염기서열을 정렬한 후 MEGA5를 통하여 neighbor-joining 방법으로 계통도를 그리고 1,000번 반복 bootstrap분석을 통해 평가되었다. 또한 API 50 CHL kit(bioMerieux, NC, USA)를 이용한 당발효성 조사를 위해, 단일 콜로니를 접종한 CHL 배지를 각 capsules에 100 μL씩 분주 후 30℃에서 48시간 배양하여 색의 변화를 관찰 하였다. 각각의 당 발효패턴을 API web software(https://apiweb.biomerieux.com/)에 입력하여 동정 결과를 확인하였다.

배양 및 글루텐 분해 활성 측정

분리된 균주는 MRS배지를 이용하여 30℃에서 배양하였으며, 생장곡선 확인을 위하여 매 3시간마다 OD값을 측정하였다. 또한 생균수는 9, 12, 24, 36 그리고 48시간의 배양액을 10^{-9}까지 연속적으로 희석하여 MRS 평판배지에 도말 후 자라는 콜로니의 수로 확인하였다. 글루텐 분해능을 확인하기 위하여 1% (w/v) 글루텐이 함유된 MRS 액체배지에 분리된 균주를 접종하여 생장하는 동안 탁도를 관찰하였

다. 배양액내의 글루텐 분해 활성을 확인하기 위하여 분리된 균주를 MRS배지에 접종하여, 30℃에서 교반 배양하였고, 배양 후 12, 24, 36 그리고 48시간의 배양 상등액을 회수하여 밀가루 반죽에 사용하였다. 반죽을 위하여 배양 상등액은 밀가루 부피의 0.4배를 사용하였으며, 반죽의 발효를 위하여 24시간동안 30℃에 방치하였다. 이후 발효된 반죽은 다시 팩에 넣어 흐르는 물에 씻어 전분을 완전히 제거하고, 60℃에서 3시간동안 건조하여 수분을 완전히 제거한 후 글루텐의 무게를 측정하였다.

선발 균주의 특성

분리 균주의 열에 대한 안정성을 조사하기 위하여 전배양한 균을 MRS 액체배지에 10%가 되게 접종하여 30~60℃까지 10℃ 간격으로 1시간 동안 방치한 후, 연속 희석하여 MRS 고체배지에 도말하였다. 이를 30℃에서 48시간 두어 자라난 균체의 총 수를 확인하였다. 또한 분리된 균주의 산과 담즙에 대한 내성을 조사하기 위하여 pH 2.0~10.0까지 조정한 10 mL의 MRS 액체배지 또는 0.1~0.8% oxgall이 함유된 MRS 액체배지에 전배양한 균을 10%가 되게 접종하여 30℃에서 2시간 또는 4시간 동안 방치한 후 연속 희석하여 MRS 고체배지에 도말하였다. 도말한 배지를 30℃에서 48시간 배양한 균체의 총 수를 확인하였다.

항균활성 분석

병원성 미생물(*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Ewinia rhapontici*)을 nutrient broth(Difco Co., NJ, USA)에 각각 1% 농도로 접종하여 37℃에서 24시간 배양 후, 각 배양액의 200 μL를 nutrient agar에 도말하였다. 도말된 평판배지에 직경 8 mm의 구멍을 만들고 MRS 배지에서 24시간 배양한 유산균 배양액을 100 μL씩 일정하게 점적하였다. 이를 37℃에서 24시간 배양한 후 생성된 홀 주위의 생육 저지환의 크기를 관찰하여 상대적 활성을 확인하였다.

결과 및 고찰

글루텐 분해 유산균의 분리

단백질 분해 유산균을 분리하기 위하여 전라북도 부안군에서 젓갈류 12종과 충청남도 강경에서 젓갈류 20종을 구입하였고, 이 젓갈 샘플 32종을 희석하여 1% skim milk가 포함된 MRS 고체배지에 접종하였다. 이로부터 자라난 600여종의 콜로니 중 단백질 분해에 의한 투명환을 형성하는 콜로니를 MRS+BCP배지에서 배양하여 유산균으로 추정되는 100여종의 콜로니를 선별하였다. 이중 단백질 분해능이 우수한 19종의 유산균을 선별하였으며 이 유산균들이 글루텐을 분해하는지 확인하기 위하여 1% 글루텐이 함유된 MRS 액체배지에 접종하여 배양하였다. 그 결과 글루텐 분해에 의해 배지의 탁도가 감소되는 유산균 4종을 확보하였고, 그 중 균주 1종을 선택하여 동정하고 특성을 파악하고자 하였다. 이 선별 균주를 동정하기 위하여 27F와 1492R 프라이머를 이용하여 PCR을 통하여 16S rRNA 유전자를 확보하였으며, 확인된 염기서열은 NCBI BLASTN을 이용하여 검색 결과 *Weissella confusa* strain SL3와 99%(1394/1395) 상동성을 보였다. 16S rRNA의 비교를 통한 계통도 분석에서 *W. confusa* 균주들과 같은 분기군 내에 존재하여 *W. confusa*로 확인되었다(Fig. 1). 또한 API 50 CHL kit를 이용한 당이용성을 확인한 결과 Table 1과 같이 나타났고 계통도 분석과 동일하게 *W. confusa* 99.9%로 동정 되었다. 따라서 본 연구에서 분리된 균주는 *Weissella confusa* strain 라명명하였고 한국생명공학연구원 생물자원센터에 특허기탁 하였다(기탁번호 KCTC 12908BP).

Table 1. Carbohydrate fermentation patterns of the gluten degradation on API 50 CHL kit

Substrate	Inhibition	Substrate	Inhibition
Control	-	Esculin	-
Glycerol	-	Salicin	-
Erythritol	-	D-Cellobiose	-
D-Arabinose	-	D-Maltose	+
L-Arabinose	-	D-Lactose	+
Ribose	+	D-Melibiose	+
D-Xylose	-	D-Sacharose	+
L-Xylose	-	D-Trehalose	-
Adonitol	-	Inulin	-
Methyl-B-D-xylopyranoside	-	D-Melezitose	-
D-Galactose	+	D-Raffinose	+
D-Glucose	+	Amidon	-
D-Fructose	+	Glycogene	-
D-Mannose	+	Xylitol	-
L-Sorbose	-	Gentiobiose	-
L-Rhamnose	-	D-Turanose	-
Dulcitol	-	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	-
D-Mannitol	-	D-Fucose	-
D-Sorbitol	-	L-Fucose	-
Methyl-a,D-mannopyranoside	-	D-Arabitol	-
Methyl-a,D-glucopyranoside	-	L-Arabitol	-
N-Acetyl-glucosamine	-	Gluconate	-
Amygdaline	-	2-Keto-gluconate	-
Arbutin	-	5-Keto-gluconate	-

+, positive; -, negative.

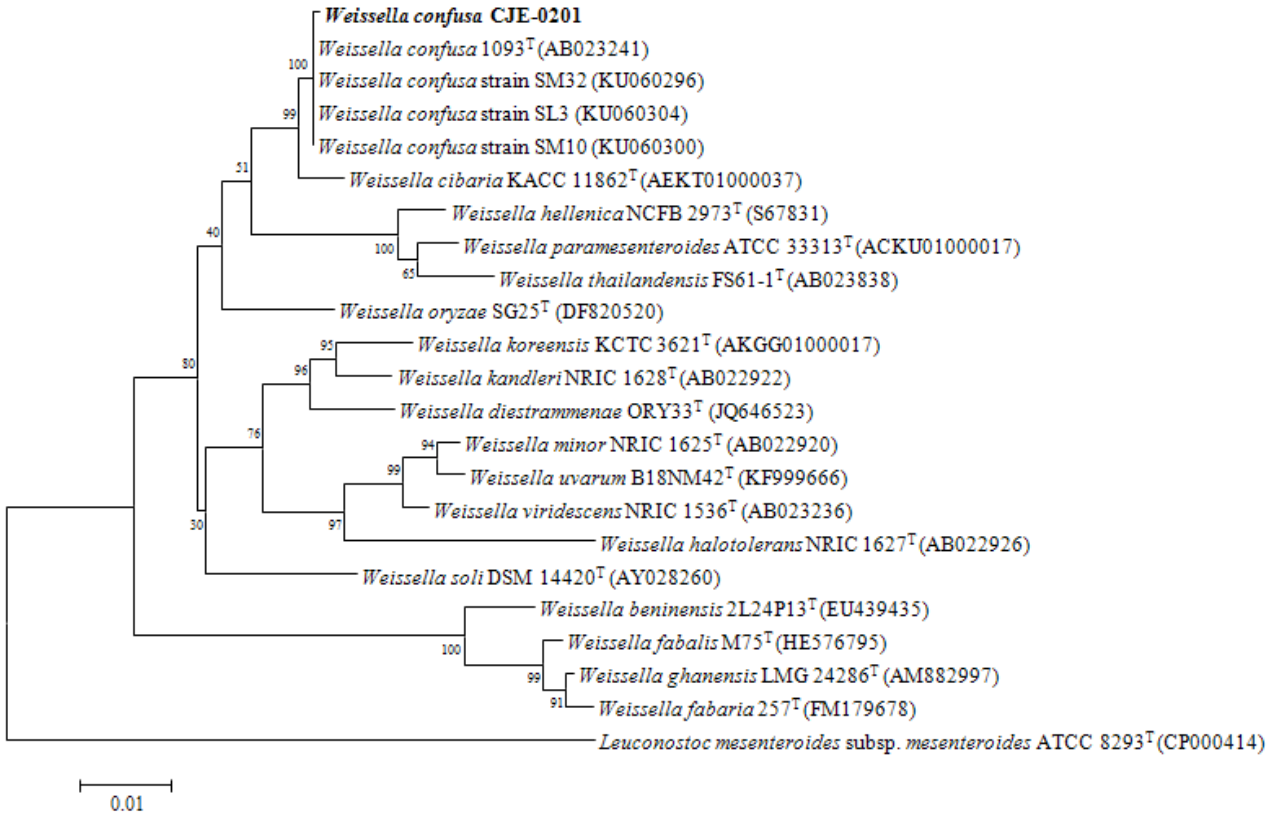

Fig. 1. Neighbor-joining tree, based on 16S rRNA gene sequences, showing the phylogenetic relationships of *W. confusa* and some other related taxa.

Leuconostoc mesenteroides subsp. *mesenteroides* ATCC 8293^T (CP000414) was used as the out-group. Numbers at nodes indicate levels of bootstrap support based on 1,000 resampled datasets. Bar, 0.01 substitutions per nucleotide position.

*Weissella. confusa*의 배양 및 글루텐 분해능

MRS 배지에서 *W. confusa*의 생장곡선을 확인한 결과, 접종 후 배양 12시간까지 생장잠복기와 12시간부터 18시간까지 대수증식기를 거쳐 18시간 이후에 정체기에 도달함을 확인하였다(Fig. 2a). 하지만 배양 후 36시간부터는 생균수가 감소하여 균주 활성이 감소됨을 나타내었다(Fig. 2a). 글루텐 분해능을 조사하기 위하여 글루텐이 1% 농도로 첨가된 MRS배지에 을 접종하여 배양 시간에 따라 탁도의 변화를 관찰하였다. Gluten assay로는 신뢰성이 있는 결과를 얻지는 못하였지만, 육안으로 글루텐에 의한 탁도가 감소함을 확인 할 수 있었다(Fig. 2b).

배양 상등액을 이용한 반죽의 발효 시 글루텐의 감소를 확인하기 위하여, 12, 24, 36 그리고 48시간 배양된 배양 상등액을 이용하여 밀가루 반죽을 하였고, 반죽을 24시간 30℃에서 발효한 후 남아있는 글루텐의 양을 확인하였다. 그 결과 초기 발효하지 않은 반죽과 비교하여 발효한 반죽 내에 남아있는 글루텐 양은 배양 후 24시간의 상등액을 이용한 발효에서 약 29. 4% 감소하여 가장 크게 글루텐이 감소하였음을 확인하였다. 배양 36시간과 48시간의 상등액을 이용한 반죽의 발효 후에는 글루텐의 잔존량이 배양 24시간의 상등액을 이용한 반죽에서보다 덜 감소한 약 20.6% 그리고 12.5% 감소율을 보였다. 이 결과는 유산균의 배양시간이 길어지면서 배양액 내 단백질 분해효소의 활성이 감소하여 나타난 결과라고 판단되어진다. 그림 2의 a에서 보여 지듯이 배양 24시간째 보다 배양 36시간과 48시간째에 생균수가 감소하는데, 이 결과는 배양 24시간 이후에

Table 2. Inhibition spectrum of *W. confusa* against pathogenic bacteria

Indicator strains	Inhibition
Escherichia coli	+[1)]
Ewinia rhapontici	+
Bacillus cereus	+
Listeria monocytogenes	+
Shigella sonnei	++
Shigella flexneri	++
Staphylococcus epidermidis	+
Staphylococcus aureus	-

[1)]Degree of clarity of clear zone by growth inhibition; -, none; +, below 5 mm; ++, 6~10 mm.

는 유산균이 사멸기에 접어들어 세포 활성이 감소하는 것을 보여주며, 배양 상등액을 이용한 글루텐의 발효에서 24시간의 상등액보다 36시간이나 48시간의 상등액을 이용한 발효에서 글루텐 분해 효과가 낮은 이유를 뒷받침해 준다.

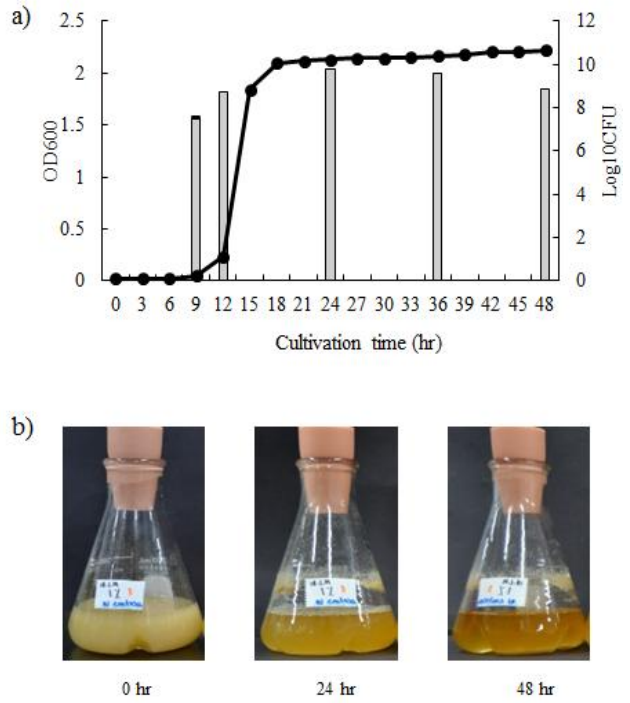

Fig. 2. Growth curve and gluten degradation effect of *W. confusa*.

(a), Growth curve was determined at OD600 and simultaneously performed with counting the number of live cells; (b), The growth of at MRS medium contained 1% gluten.

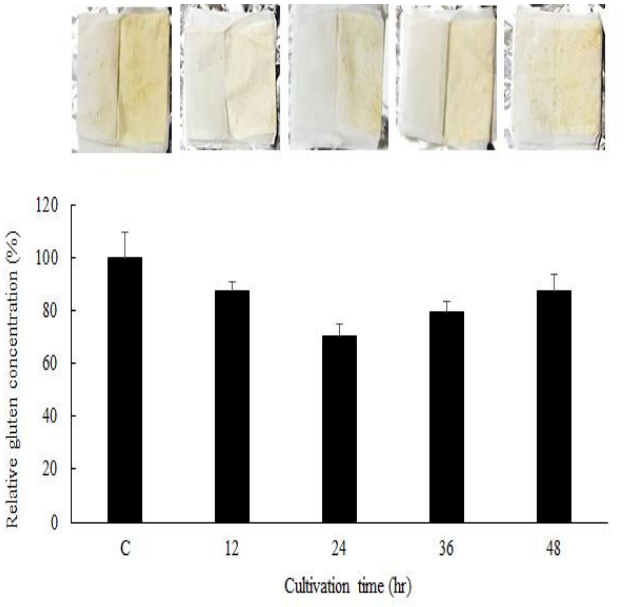

Fig. 3. Effect of Gluten-degradation in the dough by *W. confusa*.

Filtered cultured solution of was harvested at the indicated time (12, 24, 36, and 48 hr) and used for fermentation during 24 hr at 30℃.

*W. confusa*의 생화학적 특성

분리된 유산균 *W. confusa* 를 글루텐 발효뿐만 아니라 프로바이오틱스로서 사용하여 장관 내 글루텐을 분해할 수 있을 것이다. 그러나 식품이나 사료 첨가제로 사용되는 프로바이오틱스 유산균은 위 장관이라는 특정 부위에 생존하면서 생리적인 활성을 유지해야하기 때문에 체온 이상의 온도에서 장시간 내성을 나타낼 수 있어야 하고, 위를 통과하기 위해서는 pH 2~3인 위액에 대한 내성이 있어야 한다. 또한, 위를 거쳐 장에 도달하기 위해서는 담즙이 분비되는

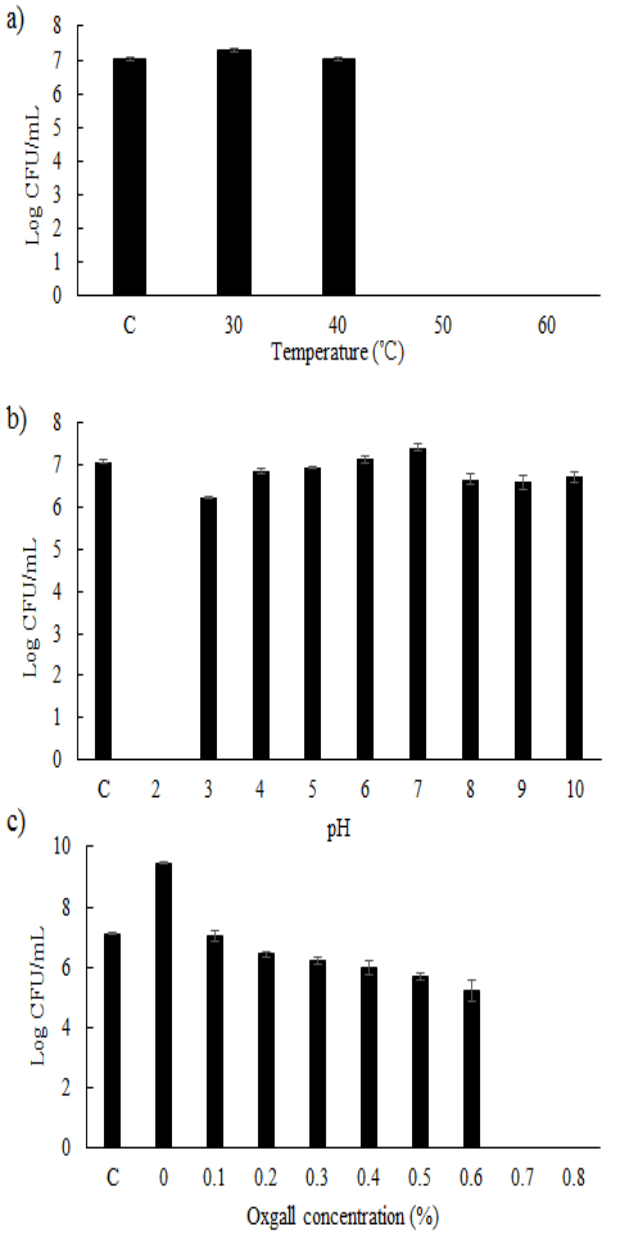

Fig. 4. Tolerance test of temperature, pH and Oxgall of *W. confusa*.

(A), Temperature tolerance in MRS broth for 1 hr; (B), Acid tolerance in MRS broth at 30℃ for 2 hr; (C), Effect of oxgall was performed in MRS broth at 30℃ for 4 hr.

췌장과 십이지장을 통과하게 되며, 최종적으로 장내로 들어오기 귀해서는 담즙액에 대한 내성이 있어야 한다. 답즙산은 세균의 성장을 억제하는 기능을 지니고 있어야 한다. 그러므로 *W. confusa*가 온도와 산, 담즙에 대한 내성을 갖는지 확인하였다. 열안정성을 평가하기 위하여 30~60℃온도에서 처리 후 생균수를 측정한 결과, 30℃와 40℃에서 100% 안정성을 보였으며 50℃ 이상의 온도에서는 내성이 없는 것으로 나타났다(Fig. 4a). 산에 대한 내성을 평가하기 위하여 pH 2~10범위에서 처리 후 생균수를 측정한 결과, pH 2에서는 내성이 없는 것으로 나타났지만, pH 3에서는 약 89%의 생존율을 보였고, pH 4 이상에서는 모두 93% 이상의 생존율을 유지하는 것으로 나타났다(Fig. 4b). 그리고 oxgall 0.1%~0.8% 내에서 내성을 평가한 결과 oxgall 0.1%에서 100%, oxgall 0.2%부터 0.6%까지는 농도 의존적으로 감소하여 약 90%부터 약 73%의 생존율을 나타냈다(Fig. 4c). 결론적으로, *W. confusa*의 열안정성, 내산성과 내담즙성의 결과는 *W. confusa*가 발효 제품 개발뿐만 아니라 프로바이오틱스 유산균으로서 생균제로 섭취 시 체내에서 유용하게 작용할 수 있을 것으로 판단된다.

*W. confusa*의 항균활성

프로바이오틱스 유산균은 *in vitro* 조건에서 식품유래의 병원성 세균과 부패세균의 생육을 억제한다고 알려져 있으며 이러한 억제 기작은 유산균에 의해서 생성된 유산(lactic acid), 저급 지방산(short-chain fatty acid), 박테리오신(bacteriocin), 항생물질 및 면역체계 자극 등의 작용에 의해 일어난다(19). 박테리오신에 관한 연구는 20년 전부터 가속화되어 유럽이나 미국에서는 이미 산업화 단계에 있으며 우량 균주 확보 및 기술 개발과 특허출원 등 다양한 연구가 진행되고 있다(20). 따라서 본 연구에서도 분리한 유산균의 병원성 미생물에 대한 *W. confusa*의 항균 활성 여부를 조사하였으며 8 종의 병원성 미생물에 대한 항균활성을 측적하였다. Table 2에 나타난 것처럼, *S. sonnei*와 *S. flexneri*에 대해서는 6 mm 이상의 저해환이 생성되었으며 *E. coli, E. rhapontici, B. cereus, L. monocytogenes* 그리고 *S. epidermidis*에 대해서는 5 mm이하의 저해환이 생성되어 각 균주에 대해 항균활성이 있는 것으로 나타났다. 그러나 *S. aureus*에 대해서는 저해환이 생성되지 않았다. 시험된 병원성 미생물 대부분에 대한 항균활성을 가지는 *W. confusa* 는 장내 유해세균의 증식을 억제하는 역할이 가능할 것으로 판단된다.

요 약

본 실험에서는 발효식품 중 하나인 젓갈로부터 글루텐 분해능을 가지는 유산균은 선별하여 API 당 발효성과 16S rRNA를 분석한 결과 *Weissella confusa*로 동정되었다. 1% 글루텐이 함유된 MRS 배지에서 48시간 배양하였을 때 글루텐에 의한 탁도가 감소되는 것 을 확인하였고, 배양 상등액을 이용한 반죽의 발효에서 대수증식기 직후인 24시간째의 배양 상등액이 글루텐을 감소시킬 수 있는 발효의 효율성이 가장 높게 나타났다. 배양 후 36시간이나 48시간의 배양 상등액을 이용하는 것은 생균수가 감소하는 것으로 보아 사멸기에 접어들어 효소 활성이 감소하는 것으로 판단되었으며 발효 효율도 높지 않았다. 프로바이오틱스로서 이용 가능성을 확인하기 위하여, *W. confusa*의 열에 대한 안정성 및 산과 담즙에 대한 내성을 확인해본 결과 40℃까지는 열에 대한 안정성을 나타내었고, pH 3에서도 89%의 생존율을 나타내므로 위액에 의해 죽지 않고 위 장관까지 생존 할 수 있을 것으로 판단되었다. 또한 0.6% oxgall에서도 73%의 내성을 유지하므로 담즙액에 대한 내성을 갖는다고 판단되고, 이 결과로 *W. confusa*는 프로바이오틱스 및 발효식품으로 개발 시 체내에 유용하게 작용할 수 있을 것으로 판단된다. 또한 8종의 병원성균들에 대한 저항성 실험을 통해 *S. aureus*를 제외한 나머지 그람 음성과 양성균의 생육을 저지하는 것을 확인하는 것으로 나타났다. 그러므로 *W. confusa* 을 이용하여 밀가루를 발효하여 글루텐 프리 가공식품을 제조할 수 있을 것으로 보이며, 발효 식품 및 프로바이오틱스로서 생균으로 섭취 시 장 내의 글루텐 분해에 의한 셀리악 질병 및 글루텐 알레르기 예방에 효과가 있을 것이고 항균활성으로 인한 내장 질환을 예방할 수 있을 것이라고 추측된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 고부가가치식품기술개발사업(과제번호: 314049-3)에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

References

1. Kim MR (2011) The status of Korea's rice industry and the rice processing industry. Food Ind Nut, 16, 22-26
2. Yang HS, Kim CS (2010) Quality characteristics of rice noodles in Korean market. J Korean Soc Food Sci Nut, 39, 737-744
3. Tatham AS, Shewry PR (2008) Allergens to wheat and related cereals. Clin Exp Allergy, 38, 1712-1726
4. Lim EJ, Lee HS, Lee YH (2010) Physical and sensory characteristics of sponge cake with added broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica plenck*) powder. J East

Asian Soc Dietary Life, 20, 873-880
5. Kang CS, Kim HS, Cheong YK, Kim JG, Park KH, Park CS (2008) Flour characteristics and end-use quality of commercial flour produced from Korean wheat and imported wheat. Korean J Food Preserv, 15, 687-693
6. Kim BR, Choi YS, Kim JD, Lee SY (1999) Noodle making characteristics of buckwheat composite flours. J Korean Soc Food Sci Nutr, 28, 383-389
7. Shewry PR, Tatham AS (1990) The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. Biochem J, 267, 1-12
8. Schuppan D (2000) Current concepts of celiac disease pathogenesis. Gastroenterol, 119, 234-242
9. Maki M, Collin P (1997) Coeliac disease. The lancet, 349, 1755-1759
10. Shan L, Molberg Q, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C (2002) Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. Science, 297, 2275-2279
11. Bojković G, Caparević Z, Ilić V, Stojanović D, Lalosević D, Stojanović M (2002) Case report: celiac disease. Medicinski Pregled, 55, 532-534
12. Choi BH, Kim JB, Do MS (2005) Current trends in nutrigenomics. J Korean Soc Food Sci Nut, 34, 1642-1654
13. Neuhausen SL, Steele L, Ryan S, Mousavi M, Pinto M, Osann KE, Flodman P, Zone JJ (2008) Co-occurrence of celiac disease and other autoimmune diseases in celiacs and their first-degree relatives. J autoimmun, 31, 160-165
14. Reilly NR, Green PHR (2012) Epidemiology and clinical presentations of celiac disease. Semin immunopathol, 34, 473-478
15. Slot IDB, Bremer MGEG, Hamer RJ, van der Fels-Klerx HJ (2015) Part of celiac population still at risk despite current gluten thresholds. Trends Food Sci Tech, 43, 219-226
16. Sandiford CP, Tatham AS, Fido R, Welch JA, Jones MG, Tee RD, Shewry PR, Taylor AJN (1997). Identification of the major water/salt insoluble wheat proteins involved in cereal hypersensitivity. Clin Exp Allergy, 27, 1120-1129
17. Bittner C, Grassau B, Frenzel K, Baur X (2008) Identification of wheat gliadins as an allergen family related to baker's asthma. J Allergy Clin Immunol, 121, 744-749
18. Snegaroff J, Branlard G, Bouchez-Mahiout I, Laudet B, Tylichova M, Chardot T, Pecquet C, Choudat D, Raison-Peyron N, Vigan M, Kerre S, Lauviere M (2007) Recombinant proteins and peptides as tools for studying IgE reactivity with low-molecular-weight glutenin subunits in some wheat allergies. J Agric Food Chem, 55, 9837-9845
19. Frei R, Akdis M, O'Mahony L (2015) Prebiotics, probiotics, synbiotics, and the immune system: experimental data and clinical evidence. Curr opin gastroenterol, 31, 153-158
20. O'Shea EF, Cotter PD, Ross RP, Hill C (2013) Strategies to improve the bacteriocin protection provided by lactic acid bacteria. Curr Opin Biotechnol, 24, 130-134