

## 열처리에 의한 *Morganella morganii*와 *Photobacterium phosphoreum* 유래 Histidine Decarboxylase의 불활성화

박원민<sup>1</sup> · 김꽃봉우리<sup>2</sup> · 김민지<sup>1</sup> · 박지혜<sup>1</sup> · 배난영<sup>1</sup> · 박선희<sup>1</sup> · 안동현<sup>1</sup>

<sup>1</sup>부경대학교 식품공학과/식품연구소

<sup>2</sup>부경대학교 수산과학연구소

### Effects of Thermal Treatments on Inactivation of Histidine Decarboxylase from *Morganella morganii* and *Photobacterium phosphoreum*

Won-Min Pak<sup>1</sup>, Koth-Bong-Woo-Ri Kim<sup>2</sup>, Min-Ji Kim<sup>1</sup>, Ji-Hye Park<sup>1</sup>,  
Nan-Young Bae<sup>1</sup>, Sun-Hee Park<sup>1</sup>, and Dong-Hyun Ahn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science & Technology/Institute of Food Science and

<sup>2</sup>Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University

**ABSTRACT** This study was performed to investigate the effects of various thermal treatments on the growth of *Morganella morganii* and *Photobacterium phosphoreum* and activity of crude histidine decarboxylase (HDC) obtained from *M. morganii* and *P. phosphoreum*. Crude HDC and the two strains were treated at 65°C/30 min, 80°C/10 min, 100°C/10 min, and 121°C/10 min. Activity of crude HDC decreased with increasing temperature. Viable cells counts of *M. morganii* and *P. phosphoreum* were not detected in any heated samples. SDS-PAGE patterns of heated HDC did not show significant differences up to 100°C. However, at 121°C, protein band intensity was weakened. In native-PAGE, there was a major change in the pattern of HDC at 65°C. These results suggest that thermal treatment can help to reduce histamine production by reducing HDC activity and growth of *M. morganii* and *P. phosphoreum*.

**Key words:** thermal treatment, *Morganella morganii*, *Photobacterium phosphoreum*, histidine decarboxylase

## 서 론

식품 중 histamine은 주로 단백질을 함유한 식품의 부패나 발효 및 숙성 과정에서 탈탄산효소 활성을 가진 *Escherichia coli*(1), *Morganella morganii*(2), *Photobacterium phosphoreum*(3), *Klebsiella pneumonia*(4,5), *Hafnia alvea*(6,7), *Citrobacter freundii*(8), *Enterobacter aerogenes* 및 *Vibrio alginolyticus*(9) 등과 같은 미생물에 의해 생성되는 저분자의 질소화합물인 biogenic amine이 가장 대표적인 물질로 알려졌다. Histamine은 스트레스나 염증, 알레르기 반응 시에 체내에서 합성되는 것 이외에 식품으로부터 체내로 유입될 수 있는데, 인간의 장관에서 흡수의 효율성은 떨어지지만 500~1,000 ppm 농도로 다량으로 유입되면 독성을 나타낼 수 있다(10). 적색 어류는 histidine 함량이 높으며, 부패가 진행되면 미생물이 생산하는 histidine decarboxylase(HDC)의 촉매 부위에 histidine이 결합함

으로써 아미노기의 전이반응과 비가역적인 탈탄산 작용이 일어나 histamine으로 전환된다(11). 이처럼 미생물에 의해 부패한 어류에서 생성된 histamine을 다량 섭취 시 알레르기성 식중독을 일으키며, 발진, 부종, 현기증, 두통, 구토 및 두드러기 등이 생기는 것으로 알려졌다(12). 따라서 histamine 생성의 원인물질인 부패세균 또는 부패세균이 생성하는 HDC를 제어하여 안전성을 확보하는 것이 매우 중요하다.

Histamine 생성 억제에 관한 연구로 histamine 분해균에 관한 연구(13)와 향신료(14-16)와 해조류(17)의 histamine 생성균 및 HDC 저해 효과, 초고압에 의한 HDC 저해 활성 및 histamine 생성 억제(18)에 대해 보고되었다. Histamine의 축적은 histamine을 생성하는 균이 사멸하여도 어류 내에 존재하는 HDC에 의해 histamine의 함유량이 증가하는 것으로 보고되고 있다(3). 따라서 HDC는 histamine 축적에 독립적인 요소로서 작용할 수 있어 이를 제어하는 방법이 중요하다고 볼 수 있다. 현재까지 HDC의 활성을 감소시킬 수 있는 물리 화학적 방법은 앞서 소개된 천연물, 초고압 이외에는 연구가 미미한 편이며, 이러한 방법이 적용된 후에도 HDC의 활성이 남아 있어 확실한 제어 방법이 필요한 실정이다.

Received 3 November 2015; Accepted 18 December 2015

Corresponding author: Dong-Hyun Ahn, Department of Food Science & Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

E-mail: dhahn@pknu.ac.kr, Phone: +82-51-629-5831

가열처리는 식품의 품질 변화에 관여하는 효소 및 식중독에 관여하는 미생물을 불활성화시키는 방법의 하나이다(19, 20). 적색 어류의 가공 제품은 주로 염장이나 건조된 제품 및 통조림 형태로 저온 및 중온에서의 저장기간 동안 HDC의 잔존 활성에 관한 연구는 보고된 바 있으나, 고온에서의 HDC 잔존 활성에 관한 연구는 보고된 적이 없다. 따라서 본 연구에서는 강력한 histamine 생성균으로 알려진 *M. morganii*와 저온에서 대표적인 균인 *P. phosphoreum*에서 추출한 crude HDC에 대해 식품공정에서 이용되고 있는 저온 장시간에서 고온 단시간 가열 처리에 의한 HDC의 잔존 활성을 확인하여, 식품공정 중에 이용되고 있는 가열처리에 의한 HDC의 불활성화 여부를 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 시험균주

실험에 사용된 균주는 가장 대표적인 histamine 생성균으로 *Morganella morganii* KCCM 11497 및 대표적인 저온성 histamine 생성균인 *Photobacterium phosphoreum* KCTC 2852를 각각 한국미생물보존센터(KCCM, Seoul, Korea)와 미생물자원센터(KCTC, Daejeon, Korea)에서 분양받아 실험에 사용하였다.

### 조효소액 제조

Histamine 생성균으로부터 조효소 HDC를 추출하기 위해 Tanase 등(21)의 방법을 참고하였다. *M. morganii* 및 *P. phosphoreum* 균주를  $10^5 \sim 10^6$  CFU/mL가 되도록 하여 0.5% L-histidine monohydrochloride monohydrate를 첨가한 trypticase soy broth(BBL, Sparks, MD, USA) 및 marine broth(MB, Difco, Sparks, MD, USA) 배지에 접종하고 각각 35°C에서 12시간, 25°C에서 42시간 배양하였다. 균 배양액을 12,000×g로 30분간 원심분리 하여 균체를 수집하였다. 수집된 균체에 buffer A[0.1 M potassium phosphate buffer, 0.1 mM dithiothreitol, 1%(v/v) polyethylene glycol no. 300, pH 6.5]로 세척한 후 실험에 사용하였다. 세척한 wet cell을 1:4 비율의 buffer A로 현탁시킨 후, time 20분, pulse 20 s, amplitude 55%의 조건으로 초음파 처리(VCX 130, Sonics & Materials, Newtown, CT, USA) 하여 cell을 파괴한 다음 12,000×g에서 30분간 원심분리 하여 상층액을 취하였다. 침전물은 다시 1:3 비율로 buffer A를 가하여 한 번 더 초음파 처리하고 원심분리 한 상층액을 앞의 상층액과 혼합하여 20,000×g에서 30분간 다시 한 번 원심분리 하였고 잔사는 폐기하였다.

### 열처리

균주 및 crude HDC를 항온수조(PCWB-2, Lab Partner Co., Guri, Korea)를 이용하여 65°C 30분, 80°C 10분, 100°C 10분, 가압멸균기(DW-AC C 920, D.W. Industries,

Busan, Korea)에서 온도 121°C, 게이지압 1.1 kg/cm<sup>2</sup>에서 10분간 열처리 한 후 급랭하였다. 이를 4°C에서 보관하여 실험에 사용하였다.

### 열처리에 의한 균수 변화

열처리된 균주를 멸균한 phosphate buffered saline 용액(pH 7.4)을 사용하여 10배 희석법으로 희석하였다. 이때 *M. morganii*의 경우 trypticase soy agar(BBL) 배지를 사용하여 35°C에서 12시간 배양한 후 생성되는 colony 수를 측정하였으며, *P. phosphoreum*의 경우 marine agar(Difco) 배지를 사용하여 25°C에서 42시간 배양한 후 생성되는 colony 수를 측정하였다.

### HDC 저해 활성 측정

HDC 활성 측정은 37°C에서 기질인 histidine이 histamine으로 방출되는 정도를 측정함으로써 확인하였다. Kanki 등(3)의 방법을 참고하여 buffer A 1 mL와 증류수 0.1 mL를 시험관에 취하여 37°C에서 5분간 효소 반응의 열 반응 전처리 단계를 거친 후, 조효소액 0.1 mL를 가하여 다시 5분간 배양하였다. 200 mM L-histidine monohydrochloride monohydrate 0.2 mL를 첨가한 후 37°C에서 15분간 반응시켜 histamine을 생성시켰다. 반응을 정지시키기 위하여 94~95°C에서 5분간 가열처리 한 후 얼음물에 급속 냉각하였다. 생성된 histamine 정량을 위하여 histamin assay kit(Kikkoman Co., Tokyo, Japan)을 사용하여 UV/visible spectrophotometer(GENESYS 10UV, Thermo Scientific™, Rochester, NY, USA)로 470 nm에서 흡광도를 측정하였다(22).

### SDS-PAGE와 native-PAGE

열처리에 의한 조효소 HDC의 단백질 변화를 알아보기 위해 Laemmli(23)의 방법을 사용하여 15% separating gel과 4.5% stacking gel로 구성된 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel)를 실시하였다. 시료와 sample buffer(16 mM tris-HCl; pH 8.0, 6.2 mM EDTA, 31% glycerol, 3.1% SDS) 및 2-mercaptoethanol을 혼합한 후 2분 동안 가열하였다. 그 후 BPB 용액(0.1% bromophenol blue, 50% glycerol)을 가한 후 냉동 보관하며 실험에 사용하였다. Loading 한 후의 gel은 CBB 용액(50% methanol, 10% acetic acid, 0.1% coomassie brilliant blue R-250)으로 1시간 동안 염색하고, 탈색액(5% methanol, 7% acetic acid)을 이용하여 탈색하였다. 표준분자량 marker로는 protein marker(New England BioLabs, Ipswich, MA, USA)를 사용하였다. 또한 native-PAGE는 10% running gel을 사용하였으며, SDS와 β-mercaptoethanol 첨가 및 가열 처리 과정을 제외하고 SDS-PAGE와 같이 진행되었다.

## 통계처리

각 실험에 대한 유의차 검정은 SAS software V8(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)에서 평균값을 분산분석 한 후, Duncan's multiple range test 법에 따라  $P < 0.05$  수준에서 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 열처리에 의한 균수 변화

Histamine 생성을 억제하는 방법에는 미생물을 제어하거나 미생물에 의해 생성된 효소를 제어하는 방법이 있다. 이에 식품 가공 공정 중에 널리 이용되고 있는 65~121°C 열처리 조건을 적용하여, 대표적인 histamine 생성균인 *M. morgani* 및 *P. phosphoreum*의 생육 억제에 대하여 알아보았다. 그 결과 *M. morgani*의 경우  $1.76 \times 10^7$  CFU/mL, *P. phosphoreum*의 경우  $3.79 \times 10^6$  CFU/mL였으나 65~121°C 가열 때문에 균의 생육이 모두 억제됨을 확인하였다 (Table 1). *M. morgani*의 경우 50~60°C에서 미생물을 사멸시키는 데 소요되는 가열 시간인  $D_{50}$ -value가  $13.1 \pm 0.2$  분, DT(미생물 수를 10분의 1로 줄이는 데 필요한 시간)값을 10배 변화시키는 온도 차이를 나타내는 z-value가 7.2°C의 열 저항성을 가지는 것으로 보고되고 있다(24). Osborne과 Bremer(25)는 훈연 처리된 kahawai에서 *M. morgani*를 제거하는 데 필요한 중심 온도와 시간을 측정하기 위하여 *M. morgani*를 분리하였으며, D-value는 58~62°C 온도에서 15분에서 1.5분이었다고 하였다. 본 실험의 경우 균이 가지는 열 저항성 이상의 열처리로 인하여 탈퓨린화, 시토신 탈아미노화 등과 같은 포자의 DNA 손상을 보호하는  $\alpha/\beta$ -type SASP(small acid soluble proteins)의 손실로 인하여 균의 생육이 억제되는 것이라 생각한다(22,26).

현재 보고된 연구 결과에서와 같이 본 실험에 적용된 열처리 조건은 *M. morgani*와 *P. phosphoreum*의 활성을 억제하는 것으로 확인하였고 이에 histamine의 축적 또한 억제될 수 있을 것으로 생각한다.

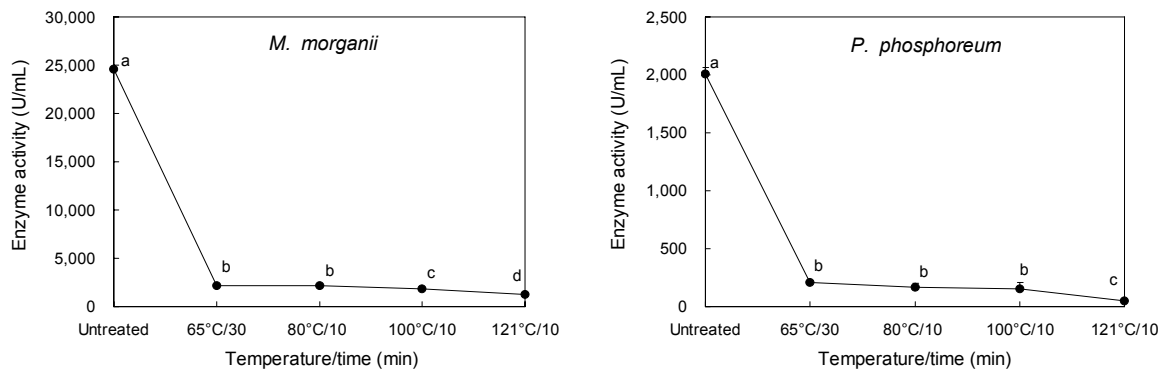
### HDC 저해 활성 측정

HDC에 의한 histamine의 생성은 histamine 생성균의 생육이 저해되었을 때에도 증가하기 때문에 HDC가 scombroid poisoning에 독립적인 요인으로 작용이 될 수 있다(3). 따라서 본 연구에서는 histamine 생성균인 *M. morgani* 및 *P. phosphoreum*으로부터 HDC 조효소액을 얻은 후 열처리에 의한 HDC 저해 활성을 측정하였다. 그 결과 *M. morgani* 유래 HDC의 활성은 비가열 처리구가 24,596 U/mL였으나, 65°C/30분 열처리 시에 2,189 U/mL로 활성이 감소하여 비가열 처리구보다 91% 저해되었다(Fig. 1). 80°C/10분, 100°C/10분, 121°C/10분 처리 시에는 2,125, 1,856, 1,229 U/mL로 65°C와 80°C 처리구 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 100°C 이상 처리 시 유의적으로 활성이 더 감소하는 것으로 나타나 각각 91, 92, 95% 정도 활성이 저해됨을 확인하였다. *P. phosphoreum* 유래 HDC 활성은 비가열 처리구가 2,010 U/mL이고 65°C에서 30분 처리 시 비가열 처리구에 비하여 89% 정도 감소하여 204 U/mL의 활성을 가졌으며, 80°C/10분, 100°C/10분, 121°C/10분 처리 시 각각 91, 92, 97% 감소한 166, 153, 51 U/mL의 효소 활성을 나타내었다. *M. morgani* 및 *P. phosphoreum* 유래 HDC 모두 열처리 시 효소 활성이 90% 이상 감소하는 것을 확인하였으며, 특히 121°C/10분 처리 시 유의적으로 가장 낮은 잔존 활성을 가지는 것을 확인하였다. 하지만 본 연구 결과와는 달리 Kanki 등(3)은 *M. morgani*와 *P. phosphoreum*의 HDC에 대해 열처리 시 *M. morgani*

**Table 1.** Viable cell counts of *Morganella morgani* and *Photobacterium phosphoreum* treated with thermal treatment (CFU/mL)

	Untreated	65°C 30 min	80°C 10 min	100°C 10 min	121°C 10 min
<i>M. morgani</i>	$1.76 \times 10^7$	— <sup>1)</sup>	—	—	—
<i>P. phosphoreum</i>	$3.79 \times 10^6$	—	—	—	—

<sup>1)</sup>Not detected.



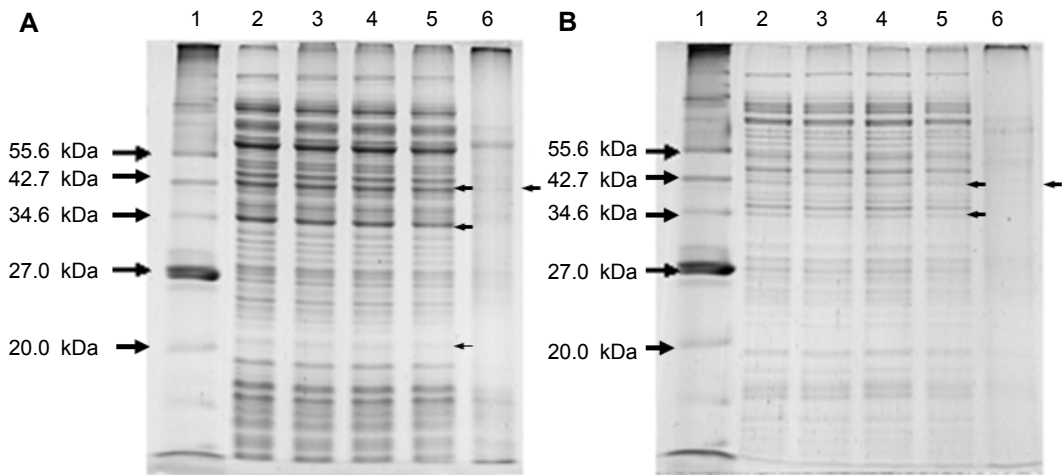
**Fig. 1.** Histidine decarboxylase activity from *Morganella morgani* and *Photobacterium phosphoreum* treated with thermal treatment. Means bearing different letters (a-d) are significantly different by Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ).

유래 HDC는 60°C에서 1%의 잔존 활성을 보였고, *P. phosphoreum* 유래 HDC는 50°C에서 4~5%의 잔존 활성을 보였으며, 60°C에서는 활성이 검출되지 않았다고 보고하였다. 다른 균 유래 HDC 활성 연구에서 Tabanelli 등(27)은 gram-positive bacteria인 *Streptococcus thermophilus*의 HDC 활성이 60°C에서 10%로 활성이 감소하였다고 보고하였다. 이상으로 65~121°C 조건에서 처리된 *M. morgani* 및 *P. phosphoreum* 유래 HDC 조효소액의 활성은 10% 이하로 감소하여 식품산업에 상업적으로 적용되는 열 처리는 histamine의 형성 억제에 효과적인 것으로 생각한다.

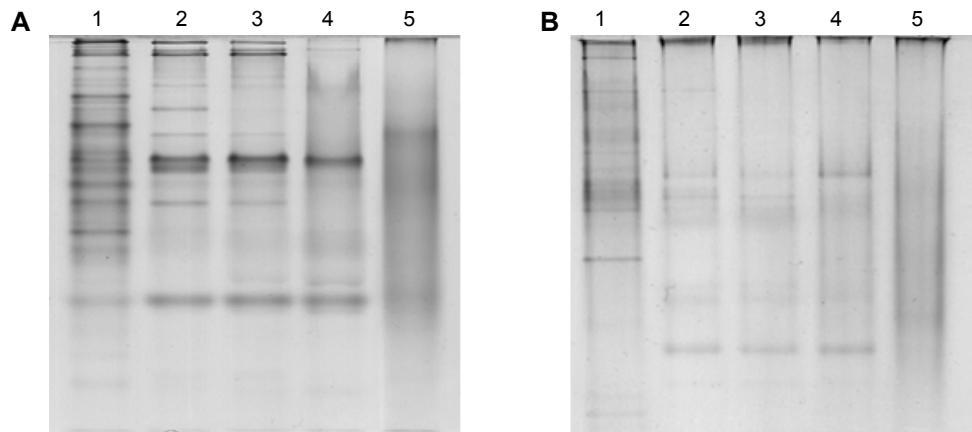
**HDC 조효소액의 단백질 패턴 변화**

*M. morgani* 유래 HDC 조효소액을 65~121°C에서 가열 처리하여 단백질 패턴 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 조효소액을 가열 처리 시 65~80°C 처리구는 비가열 처리구와 비교 시 단백질 패턴의 변화가 거의 없었으나 100°C에서는

43, 34, 20 kDa 단백질의 band 강도가 약해졌다. 특히 121°C 처리구에서는 단백질 band가 소실되거나 강도가 약해짐을 확인하였다. *P. phosphoreum* 조효소액도 비가열 처리구와 비교 시 65~80°C 처리구는 단백질 패턴의 변화가 거의 없었으나, 100°C 이상의 온도에서부터 단백질 패턴의 변화가 보임을 확인하였다. 100°C 처리구에서는 43, 34 kDa band에서 강도가 약해짐을 확인하였고, 121°C 처리구는 단백질이 소실되거나 강도가 약해졌다. *M. morgani* 유래 HDC는 같은 4개의 subunit을 가진 tetramer이며, 4개의 pyridoxal 5'-phosphate의 coenzyme이 결합하여 있다(21). Tanase 등(21)은 *M. morgani* AM-15에서 43 kDa 분자량을 가진 HDC를 분리하였으며, 이외에도 gram negative 균인 *Klebsiella planticola*와 *Enterobacter aerogenes*(28) 균주로부터 42.5 kDa, 50 kDa의 분자량을 지닌 pyridoxal-P-dependent HDC에 대해 보고가 되어 있다. Kanki 등(3)은 약 43 kDa의 *P. phosphoreum* 유래 HDC를 분리하였다.



**Fig. 2.** SDS-PAGE patterns of thermal treated histidine decarboxylase from *M. morgani* (A) and *P. phosphoreum* (B). Lane 1, protein marker; lane 2, untreated; lane 3, 65°C/30 min; lane 4, 80°C/10 min; lane 5, 100°C/10 min; lane 6, 121°C/10 min. The arrows in lane 5 indicate about 43, 34, and 20 kDa bands, and the arrow in lane 6 indicates about 43 kDa band as described in the text.



**Fig. 3.** Native-PAGE patterns of thermal treated histidine decarboxylase from *M. morgani* (A) and *P. phosphoreum* (B). Lane 1, untreated; lane 2, 65°C/30 min; lane 3, 80°C/10 min; lane 4, 100°C/10 min; lane 5, 121°C/10 min.

지금까지 보고된 *M. morgani*와 *P. phosphoreum* 유래 HDC 분자량이 약 43 kDa로 보고되고 있어, Fig. 2에서 HDC로 추정되는 약 43 kDa 단백질 band는 121°C/10분 처리 조건에서 band의 강도가 상당히 약해짐을 확인할 수 있다. SDS-PAGE 결과에서는 65°C/30분 이상의 온도에서 단백질의 패턴 변화가 크게 나타나지 않아 native-PAGE 상에서의 단백질의 변화를 알아보았다. Native-PAGE 결과에서는 SDS-PAGE 결과와 달리 65°C/30분 조건에서부터 단백질 패턴의 변화가 크게 나타났다(Fig. 3). 또한 가열 처리 온도가 증가함에 따라 단백질이 소실되는 정도가 컸으며, 특히 121°C/10분에서 단백질 band의 소실이 가장 컸는데 이는 높은 온도에서의 열처리에 따른 단백질 응집 정도가 가장 컸기 때문으로 생각한다. 따라서 65°C/30분 조건에서부터 90% 이상의 감소 저해 효과를 보인 것은 이 온도 이상에서 HDC 조효소액의 구조 변화가 크게 나타나 활성이 감소한 것으로 보인다.

## 요 약

Histamine을 생성하는 *Morganella morgani*와 *Photobacterium phosphoreum*으로부터 crude histidine decarboxylase(HDC)를 추출하여 65~121°C로 열처리한 다음 균의 생육 및 효소 활성 변화에 대해 살펴보았다. 그 결과 *M. morgani*와 *P. phosphoreum*은 모든 열처리 조건에서 비 가열 처리구와 비교 시 균의 생육이 저해됨을 확인하였다. *M. morgani*와 *P. phosphoreum* 유래 HDC의 효소 활성은 65°C에서 90% 이상의 효소 활성이 저해됨을 확인하였고, 온도가 증가함에 따라 유의적으로 활성이 억제되는 것으로 나타났다. SDS-PAGE 결과에서는 65~100°C 범위에서 비가열 처리구와 비교 시 조효소액의 단백질 패턴의 변화가 크지 않았으나, 121°C에서 단백질 band의 강도가 크게 약해졌다. Native-PAGE에서는 65°C 처리 조건에서부터 단백질 패턴의 변화가 크게 나타났다. 따라서 가열처리(65~121°C)는 histamine 생성균인 *M. morgani*와 *P. phosphoreum*의 생육을 억제할 뿐만 아니라 HDC의 효소 활성도가 저해됨을 확인하여, 식품산업에서 적용되고 있는 열처리 조건에서 histamine 생성 억제에 큰 효과가 있는 것으로 생각한다.

## 감사의 글

본 연구는 2014년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(No. 2013R1A1A2009906)이며, 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

1. Ferencik M. 1970. Formation of histamine during bacterial decarboxylation of histidine in the flesh of some marine fishes. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 14: 52-60.
2. Kawabata T, Ishizaka K, Miura T. 1956. Studies on the food poisoning associated with putrefaction of marine products-VII. An outbreak of allergy-like food poisoning caused by "sashimi" of *Parathunnus mebachi* and the isolation of causative bacteria. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 22: 41-47.
3. Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Baba E. 2007. Histidine decarboxylase and their role in accumulation of histamine in tuna and dried saury. *Appl Environ Microbiol* 73: 1467-1473.
4. Lerke PA, Werner SB, Taylor SL, Guthertz LS. 1978. Scombroid poisoning. Report of an outbreak. *West J Med* 129: 381-386.
5. Taylor SL, Guthertz LS, Leatherwood M, Lieber ER. 1979. Histamine production by *Klebsiella pneumoniae* and an incident of scombroid fish poisoning. *Appl Environ Microbiol* 37: 274-278.
6. Havelka B. 1967. Role of the *Hafnia* bacteria in the rise of histamine in tuna fish meat. *Cesk Hyg* 12: 343-352.
7. Omura Y, Price RJ, Olcott HS. 1978. Histamine forming bacteria isolated from spoiled skipjack tuna and jack mackerel. *J Food Sci* 43: 1779-1781.
8. Taylor SL, Speckhard MW. 1983. Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna. *Mar Fish Rev* 45: 35-39.
9. Yoshinaga DH, Frank HA. 1982. Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Appl Environ Microbiol* 44: 447-452.
10. ten Brink B, Damink C, Joosten HMLJ, Huis in't Veld JHJ. 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol* 11: 73-84.
11. Moya-Garcia AA, Medina MA, Sánchez-Jiménez F. 2005. Mammalian histidine decarboxylase: from structure to function. *Bioessays* 27: 57-63.
12. Hungerford JM. 2010. Scombroid poisoning: a review. *Toxicol* 56: 231-243.
13. Mah JH, Hwang HJ. 2009. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosum* as a protective culture. *Food Control* 20: 796-801.
14. Mah JH, Kim YJ, Hwang HJ. 2009. Inhibitory effects of garlic and other spices on biogenic amine production in *Myeolchi-jeot*, Korean salted and fermented anchovy product. *Food Control* 20: 449-454.
15. Wendakoon CN, Sakahuchi M. 1993. Combined effect of sodium chloride and clove on growth and biogenic amine formation of *Enterobacter aerogenes* in mackerel muscle extract. *J Food Prot* 56: 410-413.
16. Shakila RJ, Vasundhara TS, Rao DV. 1996. Inhibitory effect of spices on in vitro histamine production and histidine decarboxylase activity of *Morganella morgani* and on the biogenic amine formation in mackerel stored at 30 degrees C. *Z Lebensm Unters Forsch* 203: 71-76.
17. Kim DH, Kim KB, Cho JY, Ahn DH. 2014. Inhibitory effects of brown algae extracts on histamine production in mackerel muscle via inhibition of growth and histidine decarboxylase activity of *Morganella morgani*. *J Microbiol Biotechnol* 24: 465-474.
18. Kim DH, Kim KBWR, Ahn DH. 2013. Inhibitory effects of high-hydrostatic-pressure treatments on histamine production in mackerel (*Scomber japonicus*) muscle inoculated with *Morganella morgani* and *Photobacterium phosphoreum*. *Food Control* 34: 307-311.
19. Lee K, Kim KH, Kim HK. 2002. Thermal inactivation pa-

- rameters of peroxidase in *Flammulina velutipes* and *Lycophyllum ulmarium*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1067-1072.
20. Jun SY, Lee YK. 2014. Effects of heat treatments on the microbial reduction and germination rates of red radish sprout seeds (*Raphanus sativus*). *Korean J Food Preserv* 21: 544-548.
  21. Tanase S, Guirard BM, Snell EE. 1984. Purification and properties of a pyridoxal 5'-phosphate-dependent histidine decarboxylase from *Morganella morganii* AM-15. *J Biol Chem* 260: 6738-6746.
  22. Setlow B, Setlow P. 1995. Small, acid-soluble proteins bound to DNA protect *Bacillus subtilis* spores from killing by dry heat. *Appl Environ Microbiol* 61: 2787-2790.
  23. Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
  24. Emborg J, Dalgaard P. 2008. Growth, inactivation and histamine formation of *Morganella psychrotolerans* and *Morganella morganii*—development and evaluation of predictive models. *Int J Food Microbiol* 128: 234-243.
  25. Osborne CM, Bremer PJ. 2000. Application of the Bigelow (z-value) model and histamine detection to determine the time and temperature required to eliminate *Morganella morganii* from seafood. *J Food Prot* 63: 277-280.
  26. Nicholson WL, Munakata N, Horneck G, Melosh HJ, Setlow P. 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiol Mol Biol Rev* 64: 548-572.
  27. Tabanelli G, Torriani S, Rossi F, Rizzotti L, Gardini F. 2012. Effect of chemico-physical parameters on the histidine decarboxylase (HdcA) enzymatic activity in *Streptococcus thermophilus* PRI60. *J Food Sci* 77: M231-237.
  28. Guirard BM, Snell EE. 1987. Purification and properties of pyridoxal-5'-phosphate-dependent histidine decarboxylases from *Klebsiella planticola* and *Enterobacter aerogenes*. *J Bacteriol* 169: 3963-3968.