

젓갈에서 분리한 락토바실러스 파라카제이 GLU70 균주의 생화학적 특성 및 글루텐 분해능

박혜인¹ · 윤슬기¹ · 장준호¹ · 변지영¹ · 윤복근^{1,*}
¹주마이크로바이옴 기업부설연구소

Biochemical properties and gluten degradation of *Lactobacillus paracasei* strain GLU70 isolated from salted seafood

Hyein Park¹, Seul Gi Yoon¹, Junho Jang¹, Ji Young Byun¹, and Bok Kun Yoon^{1,*}
¹Microbiome Inc.

Abstract Gluten is an insoluble protein present in cereals such as wheat. Gluten consumed through food is not digested and accumulates in the body; this has been linked to digestive discomfort, irritation, and various digestive disorders, including intestinal inflammation. In this study, the *Lactobacillus paracasei* strain GLU70, which exhibits a gluten-degrading ability, was isolated from salted seafood. At a pH of 3.0, GLU70 showed a survival rate of approximately 84%, and at 0.3% oxgall, it showed a survival rate of approximately 53%. When the culture supernatant collected after 12 h of incubation was added to flour dough, approximately 50% gluten degradation was observed. Moreover, among several probiotic isolates exhibiting proteolytic activity selected to assess the gluten-degrading ability, GLU70 showed superior results regardless of the dough fermentation temperature. Although further research is required, GLU70 is expected to be of value in manufacturing gluten-reduced products and the food industry as an ingredient or additive.

Keywords: wheat flour, gluten, degradation, probiotics, fermentation

서 론

글루텐은 불용성 단백질의 일종으로 밀, 귀리, 보리 등 주로 곡류에 함유되어 있으며 점성을 가지는 글리아딘과 탄력성을 가지는 글루테닌으로 구성된다. 밀가루에 물을 첨가하면 글루텐 속 글리아딘과 글루테닌이 서로 결합하면서 형성되는 얇은 피막을 글루텐이라고 한다(Blomfeldt 등, 2011, Dupont 등, 2011). 주로 밀가루 생산 시 발생하는 글루텐은 밀가루 반죽을 발효할 때 피막을 형성해 탄산가스가 빠져나가지 못하게 포집하여 부풀어오르는 성질을 가지며 밀가루 음식 특유의 찰지고 쫄깃한 식감을 만든다(Moore 등, 2004). 밀가루는 글루텐의 함량에 따라 강력분, 중력분, 박력분으로 분류한다. 글루텐이 13% 이상 함유된 강력분은 반죽 시 글루텐이 가장 많이 형성되어 부풀어오르는 정도가 크기 때문에 주로 제빵에 사용되며, 글루텐이 10-13%가 함유된 중력분은 주로 제면과 다목적 가정용에 사용되고, 글루텐이 10% 이하로 함유된 박력분은 제과에 사용된다. 이처럼 밀가루 내 글루텐의 함량에 따라 형성되는 반죽의 골격, 기공 및 팽창 유무, 발효 중 생성되는 가스 보유력 등에 따라 식품에서의 활용도가 매우 다양하다.

밀가루 속 글루텐 함량의 차이는 밀가루를 이용하는 식품의 다양성에 큰 기여를 하지만 인체 내에서 소화장애를 유발하는 원인이 된다. 글루텐으로 인해 초래되는 여러가지 부작용 중 글루텐 불내증과 장누수증후군이 대표적인 질병이다. 글루텐 불내증은 섭취한 글루텐이 분해되지 않아 발생하는 일종의 거부반응으로 설사, 복통, 변비, 더부룩함, 복부팽만 등의 소화장애 증상을 동반한다(Balakireva와 Zamyatnin, 2016). 영양분을 소화 및 흡수하는 역할을 하는 소장은 매우 큰 면적의 점막세포로 이루어져 있는데 각 점막세포들은 조놀린이라는 단백질을 통해 밀착결합을 유지하고 있다(Fasano, 2011). 이 소장의 점막세포가 특정 자극으로 인해 간격이 느슨해지거나 손상을 입어 장벽의 기능을 제대로 하지 못해 혈액 속 물질들이 장관 내로 직접 들어가는 현상을 장누수증후군이라고 한다(Jeon, 2010). 이때 장관 내로 분해되지 않은 물질, 바이러스, 세균, 중금속, 잔류농약 등이 유입되는 경우 장내세균전위, 장관내독소혈증 등을 유발하여 각종 염증 및 면역반응을 야기하는 원인이 된다(Silverman과 Ostro, 1999). 이러한 소장 점막세포에 영향을 주는 요인 중 대표적인 물질이 글루텐이다. 글루텐 속 글리아딘은 조놀린 단백질의 분비를 촉진시켜 소장 용모 간의 밀착결합을 느슨하게 만드는 원인이 된다. 이는 혈액을 오염시켜 아토피 피부염과 같은 면역계 질환, 여드름, 지루성 피부염, 습진, 두드러기 등의 증상을 나타내는 알레르기 반응을 유발한다. 또한 그 정도가 심할 경우 기도 부종에 의한 호흡곤란이나 아나필락시스가 발생할 수 있다(Kárpáti, 2012). 한 연구에서 만성, 다형성, 가려움성 피부질환인 포진형 피부염이 연령대에 상관없이 잠재적인 글루텐 민감성 장질환을 가지고 있는 환자에게서 발생한다고 보고하고 있다(Kárpáti, 2012). 여기

*Corresponding author: Bok Kun Yoon, Microbiome Inc, Seoul, 08382, Republic of Korea
Tel: +82-2-322-8515
Fax: +82-2-322-0759
E-mail: abeyoon1031@hanmail.net
Received November 18, 2021; revised February 18, 2022;
accepted March 14, 2022

서 제시한 포진형 피부염의 가장 좋은 치료로 글루텐 프리 식사를 제안하였고 이를 통해 글루텐 유발 장 질환 및 흡수 장애와 관련된 기타 질병들의 발병을 예방할 수 있다고 제시한다.

최근 글루텐에 대한 소비자들의 인식과 글루텐으로 인한 소화 장애를 가지는 사람들이 증가하고 있다. 이에 식품업계는 글루텐의 함량을 줄이거나 제거한 ‘글루텐 프리’ 제품을 제시하고 있다. 농림축산식품부는 지난 2018년 ‘글루텐 프리는 글루텐에 민감한 소비자의 식이 편이를 위해 글루텐 함량을 20 mg/kg 이하로 낮춘 가공식품’으로 규정했다. 간혹 소비자들이 글루텐 프리 식품을 다이어트나 건강식품으로 오인하는 경우가 있다. 글루텐 프리 식품이 글루텐 섭취에 제한이 있는 소비자들에게 밀가루를 섭취할 수 있는 방안이 될 수 있지만 건강에 이롭다고 보기는 어렵다(Antvorskov 등, 2014). 글루텐 프리 식품은 글루텐을 감자 또는 옥수수 전분과 같은 탄수화물로 대체한 고탄수화물 식품이기 때문에 다른 무기질 및 비타민 등의 영양소 부족 및 비만 등의 건강 문제를 야기할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 글루텐으로 인해 발생 가능한 건강 문제를 예방 및 개선하기 위해 전통발효식품에서 균주를 선발하여 글루텐 분해능 및 생리적 특성을 통해 글루텐을 분해하는 글루텐분해유산균을 연구자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

국내에서 구입한 것갈류 32종을 수거해 각 시료별로 10 g씩을 취하여 시료로 사용하였다. 단백질 분해능 확인 및 유산균 분리를 위해 skim milk, TSA (tryptic soy agar, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), TSB (tryptic soy broth, Difco Laboratories) 및 MRS (De Man, Rogosa and Sharpe, *Lactobacilli* MRS broth, Difco Laboratories) 배지를 사용하였다. 당 분해 분석을 통한 유산균 동정에는 API 50 CHL Kit (Biomérieux, Craponne, France)를 사용하였다.

유산균 분리 및 선발

유산균을 분리하기 위해 채취한 시료 10 g을 1% (w/v) skim milk가 첨가된 MRS 액체배지에 배양하였다. 배양이 끝난 배양액을 10⁵까지 십진희석하여 pH 5.4의 MRS 배지에 도말하고 48 h 배양 후 콜로니를 선별하였다. 선별한 콜로니를 다시 MRS 액체 배지에 접종하여 배양액의 투명한 정도에 따라 단백질 분해능이 우수한 균을 선발하였다.

분리균의 형태 및 동정

분리 유산균은 광학현미경을 통해 형태를 관찰하였고, 동정은 API 50 CHL Kit를 이용하여 분석하였다. MRS 배지에서 배양한 분리 유산균의 단일 콜로니를 API 50 CHL medium에 접종하여 strip에 분주하고 37°C, 24 h 배양한 후 각 cupule의 색 변화로 negative (-), positive (+) 등으로 판정하였다.

분리 유산균의 유전자 염기서열 분석

16s rRNA sequencing 분석을 통해 분리 유산균의 정확한 유전학적 동정을 실시하였다. 분리 유산균을 MRS 액체배지에 접종 및 배양하여 DNA를 분리하였다. 이후 균주의 16s rRNA를 증폭하기 위해 universal primer인 forward primer (27f): (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')와 reverse primer (1492r): (5'-GGT TAC CTT TGT TAC TT-3')를 사용하였다. PCR 조건은

94°C에서 5분간 처리한 후, 94°C에서 1분, 62°C에서 40초, 72°C에서 40초로 30 cycles을 반복하였으며 72°C에서 7분으로 반응을 종료하였다. PCR 반응산물은 0.8% agarose gel에서 전기영동을 통해 확인하였고 염기서열은 NCBI BLASTN 프로그램을 사용하여 선별 유산균을 동정하였다.

분리 유산균의 생육

분리 유산균을 MRS 액체배지 및 37°C에서 배양하면서 시간별로 시료를 채취하여 600 nm에서 흡광도 및 균 수를 측정하였다.

글루텐 분해능 분석

글루텐 분해능 평가를 위해 1% (w/v) 글루텐이 함유된 MRS 액체배지에 분리 유산균을 37°C에서 시간별로 배양하여 세포성장을 흡광도를 통해 확인하였고 시간별 배양액을 ELISA kit (Biovision, Milpitas, CA, USA)를 이용하여 글루텐을 정량하였다. 배양액은 dilution solution과 섞어주고 gluten microwell plate에 100 µL를 분주하였다. Microwell은 plate shaker에서 60분 배양한 후, microwell의 액체는 버리고 wash solution으로 세번 세척하였다. Anti-gliadin peroxidase conjugate (Anti-Gliadin[PEE14C7], Absolute Antibody, Cleveland, UK)를 100 µL 분주하고 30분 동안 반응시켰다. 이후 wash solution을 이용해 세번 세척 후 TMB substrate 100 µL를 분주하여 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

분리유산균의 생화학적 특성 분석

분리한 유산균의 산, 담즙산 및 열에 대한 안정성을 분석하였다. 산에 대한 안정성을 확인하기 위해 pH 1.0 단위로 조절한 10 mL의 MRS 배지에 분리한 유산균을 10% 접종하여 37°C에서 2 시간 동안 배양하였다. 담즙산에 대한 안정성을 확인하기 위해 oxgall (Difco™ Oxgall, Difco Laboratories)의 농도를 0.1%부터 1%단위로 조절한 10 mL의 MRS 배지에 분리한 유산균을 10% 접종하여 37°C에서 4시간 동안 배양하였다. 열에 대한 안정성을 조사하기 위해 10 mL MRS 배지에 분리한 유산균을 10% 접종한 후 각 온도에서 1시간을 방치하였다. 배양이 끝난 이후 배양액을 연속 희석하여 MRS 배지에 도말하였다. 48시간 배양한 후 균 수를 세어 산, 담즙 및 열에 대한 안정성을 조사하였다.

밀가루 반죽에 적용한 글루텐 분해능 분석

밀가루 반죽의 글루텐 함량이 감소하는지를 확인하기 위해 분리 유산균의 배양 상등액을 활용하여 밀가루 반죽 실험을 진행하였다. 배합비율은 밀가루 중량 기준 1% (w/v)으로 하여 37°C에서 12, 24, 36 h 배양한 유산균 상등액을 각각 첨가하여 반죽한 후 25°C에서 24 h 발효를 진행하였다. 제빵 시 일반적으로 이용하는 밀가루 반죽의 발효온도는 25°C에서 35°C 사이에서 이루어지기 때문에 25°C에서 발효를 진행하였다. 발효가 끝난 반죽은 식품공전에 제시된 글루텐 분석방법을 이용하여 분석을 진행하였다. 발효가 끝난 반죽 10 g을 취하여 필터백에 넣고 흐르는 물에 전분을 씻어 60°C dry oven에서 3시간 건조한 후 무게를 측정하였다.

글루텐 분해능에 대한 우수성 평가

선별한 균주의 글루텐 분해능에 대한 우수성을 평가하기 위해 KCTC 생물자원센터에서 GRAS 인증된 식품용 유산균을 분양받아 글루텐 분해능 분석을 진행하였다. 분양 받은 표준 균주 11종은 각 배양조건에 맞는 배지와 환경에 맞추어 배양하였다. 유산

균과 밀가루의 배합비율은 동일하게 진행하였고, 밀가루 발효 온도는 25°C 와 35°C에서 각각 24 h 동안 진행하였다. 이후 발효가 끝난 반죽 10 g을 취하여 필트백에 넣고 흐르는 물에 진분을 씻어 글루텐을 분리하였다. 분리한 글루텐을 dry oven에서 충분히 건조하여 건성 글루텐의 무게를 통해 분해능을 평가하였다.

결과 및 고찰

유산균 분리, 동정 및 형태학적 특성

본 연구에서는 글루텐 분해능을 가지는 유산균을 분리하고자 하였다. 따라서 김치와 같은 식물성 발효식품이 아닌 젓갈과 같은 동물성 발효식품에서 분리하였다(Yoon, 2017). 젓갈에서 시료 10 g씩을 취하여 1% skim milk가 함유된 MRS 액체배지에서 37°C, 24 h 배양한 후 이를 다시 MRS 고체배지에 접종하여 단일 콜로니를 선별하였다. 선별한 콜로니 100여종을 1% skim milk가 함유된 TSA 고체배지에 접종하여 단백질 분해능을 확인하였고 콜로니 주변으로 clear zone을 형성하는 균주 19종을 선별하였다 (Fig. 1). 선별한 19종의 유산균 중 글루텐 분해능을 가지는 균주를 선별하기 위해 1% (w/v) 글루텐이 함유된 MRS 액체배지에 배양하였다. 글루텐으로 인한 각 배지의 변화를 조사하여 글루텐의 분해로 인해 투명함의 정도가 증가한 균주를 선별하여 순수 분리하였다. 선별된 균주를 16s rRNA sequencing을 통해 계통도 및 API 50 CHL kit를 이용한 분석을 진행한 결과 *Lactobacillus* 종으로 확인되었다(Fig. 2A, Table 1). 또한 현미경을 통해 형태

학적 분석을 실시한 결과 기다란 간균의 형태를 가지는 것을 확인하였다(Fig. 2B)(Kask 등, 2003). 이에 따라 글루텐 분해능이 가장 뛰어난 *Lactobacillus paracasei*를 최종 균주로 선별하였고 이후 해당 분리한 균을 GLU70으로 명명하였다. GLU70의 성장특성을 확인하기 위해 MRS 배지에서 시간별로 배양하여 분석하였다(Fig. 2C). 배양 후 6시간부터 12시간이 균수가 가장 증폭되는 시기인 대수기(logarithmic phase)이며, 12시간 이후부터 정지기(stationary phase)임을 확인하였다.

GLU70의 최적 배양시간 및 글루텐 분해능 분석

최종 선별된 균주인 GLU70의 글루텐 분해능 분석을 위해 글루텐이 함유된 배지에서 배양시간에 따른 생육특성과 글루텐 분해율의 분석을 진행하였다. 1% (w/v) 글루텐이 함유된 MRS 액체배지에서 시간별로 시료를 채취하여 흡광도를 통해 세포성장을 확인한 결과 글루텐이 존재 시 24시간 이후부터 세포성장의 정지기가 시작됨을 확인하였다(Fig. 3A). 글루텐 분해능은 시간별로 채취한 시료에서 글루텐 정량을 통해 확인하였고 그 결과 48 h에서 최대 45%정도의 분해율을 보였다(Fig. 3B).

GLU70의 내산성, 내담즙성 및 내열성 분석

주로 식품이나 첨가제로서 섭취되는 유산균은 위산과 담즙산에서 살아남아야 장에 도달하여 정장작용 및 다양한 생리활성에 도움을 줄 수 있게 된다(Sahadeva 등, 2011). 섭취 후 위를 통과하기 위해서는 위액에 대한 내성이 있어야 한다. 또한 위를 거처

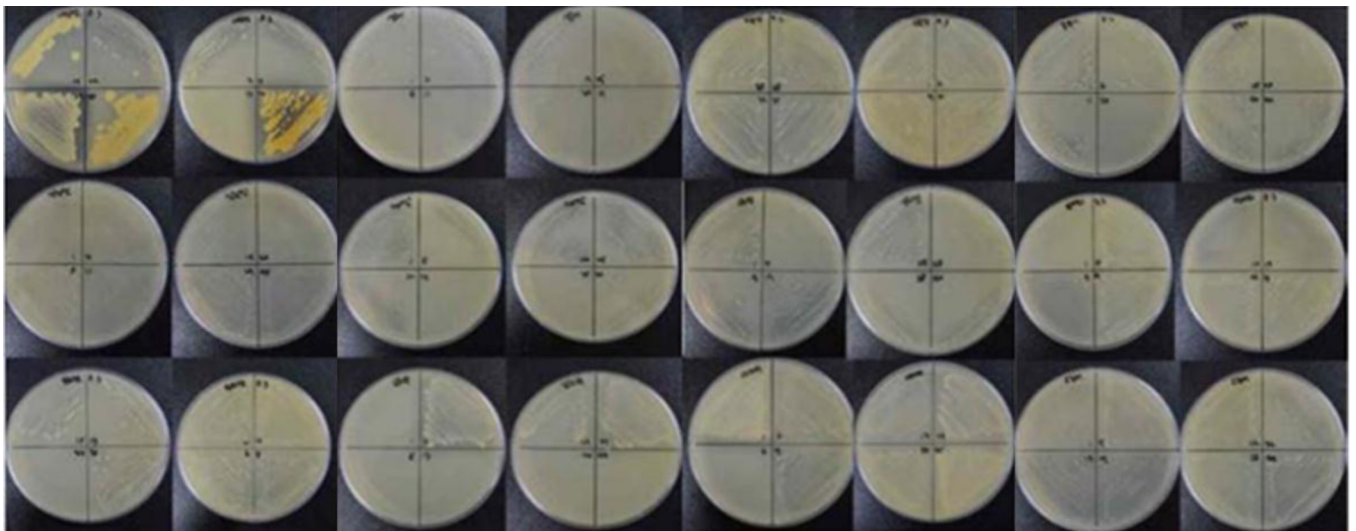


Fig. 1. Proteolytic activity of lactic acid bacteria isolated from fermented seafood confirmed by clear zone formation on TSA agar plates with 1% (w/v) skim milk

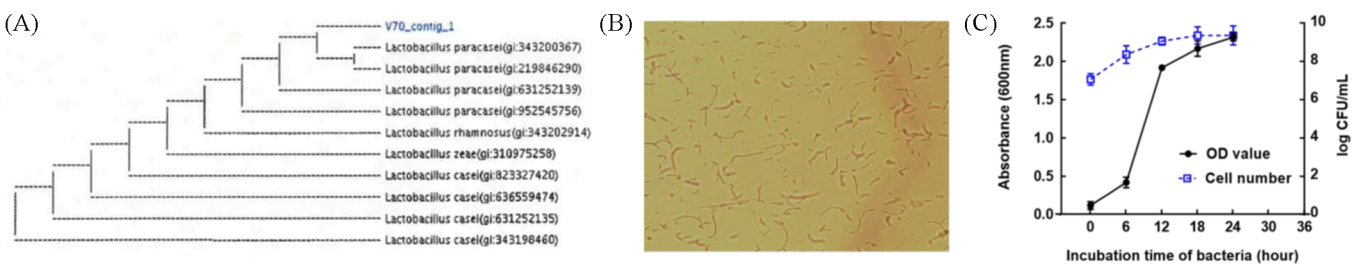


Fig. 2. (A) Phylogenetic analysis result, (B) optical microscope image and (C) growth curve based on 16s rRNA gene sequence of *Lactobacillus paracasei*

Table 1. Carbohydrate fermentation pattern of *Lactobacillus paracasei* using API 50 CHL system

	API 50 CHL	
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-β-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-α-D-mannopyranoside	-	D-Arabitol -
Methyl-α-D-glucopyranoside	-	L-Arabitol -
N-Acetyl-glucosamine	+	Gluconate -
Amygdaline	-	2-Keto-gluconate -
Arbutin	+	5-Keto-gluconate -

동정 결과: *Lactobacillus paracasei* (99.8%)

API 50 CHL kit 동정, + : 양성, - : 음성

소장의 첫 부분인 십이지장에 도달하여도 담즙산에 대한 내성이 있어야 최종적으로 대장에 도착할 수 있게 된다. 이에 따라 섭취

되는 유산균은 내산성, 내담즙성, 내열성을 가져야 한다. 따라서 본 연구에서도 GLU70의 산, 담즙과 온도에 대한 내성을 확인하였다. 먼저 산에 대한 내성을 확인하기 위하여 각 pH에 따라 조정된 MRS 배지에서 내성을 평가하였다(Fig. 4A). pH 2.0에서는 사멸하였지만 pH 3.0에서는 84%의 높은 생존율을 보였으며, pH 10.0까지 유사한 생존율을 확인하였다. 또한 분리한 균이 유산균으로서 기능을 나타내기 위해서는 oxgall이 0.3% 함유된 배지에서 성장할 수 있을 정도의 내성을 갖고 있어야 한다(Gilliland 등, 1984). 이에 따라 oxgall을 0.1%에서부터 1.0%까지 첨가한 MRS 배지에서 담즙에 대한 내성을 평가하였다(Fig. 4B). Oxgall이 0.3% 이상 첨가된 배지에서는 균이 자라지 못하는 것을 볼 수 있었다. 또한 0.1%에서는 잘 성장하였으나 0.2%와 0.3%에서는 크게 감소하는 경향을 보였다. 또한 열에 대한 안정성을 조사한 결과 40°C에서부터 급격히 감소하여 50°C 이상의 온도에서는 사멸하는 것을 확인하였다(Fig. 4C).

GLU70 배양시간 차이에 따른 반죽 내 글루텐 함량 분석

GLU70을 시간별로 배양하여 얻은 배양상등액을 밀가루 반죽 시 첨가하여 반죽한 후 25°C, 24 h 동안 발효하여 남은 글루텐의 양을 비교, 분석하였다(Fig. 5A). 음성대조군은 멸균수를 넣어 반죽 및 발효를 진행하였다. 발효 후 글루텐의 함량을 분석한 결과 12 h 배양한 GLU70의 배양상등액이 가장 높은 글루텐 감소량을 보였고 그 이후의 배양시간에서는 글루텐 감소량이 낮아지는 경향을 보였다(Fig. 5B, 5C). 확인한 건부글루텐의 양으로 글루텐 분해율의 평균을 계산한 결과 12 h 배양한 GLU70 배양상등액은 약 51%의 높은 글루텐 분해율을 보였다(Fig. 5D). 이는 앞서 확인한 GLU70의 성장에서 균 배양 12시간까지가 세포의 생리적 활성이 가장 강한 시기인 대수기이고 그 이후부터는 정지기인 특성으로 인해 균 배양 시간에 따른 글루텐 분해율의 차이가 있었을 것으로 판단된다.

밀가루 반죽의 발효 온도에 따른 글루텐 분해능과 우수성

글루텐 분해능의 우수성을 평가하기 위해 GRAS에서 인증된 식품용 유산균 11종을 KCTC 생물자원센터에서 분양 받아 글루텐 분해능을 평가하였다. 또한 제빵업계에서는 빵 종류에 따라 밀가루 반죽의 발효 온도가 다르기 때문에 일반적으로 많이 사용하는 온도인 25°C와 35°C를 밀가루 반죽의 발효 온도로 설정하였다(Rosell과 Collar, 2009). GRAS에서 인증된 유산균 10종과

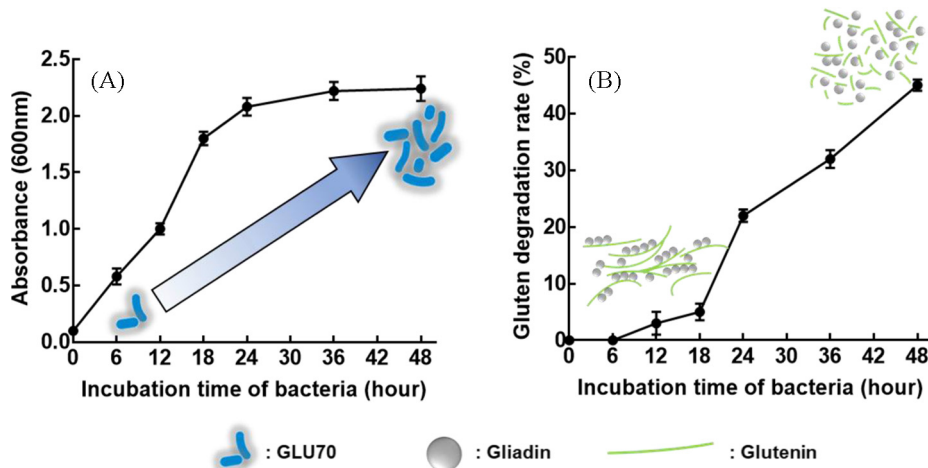


Fig. 3. (A) Effect of incubation period on GLU70 growth. (B) Degradation of gluten (%) by GLU70 based on incubation time

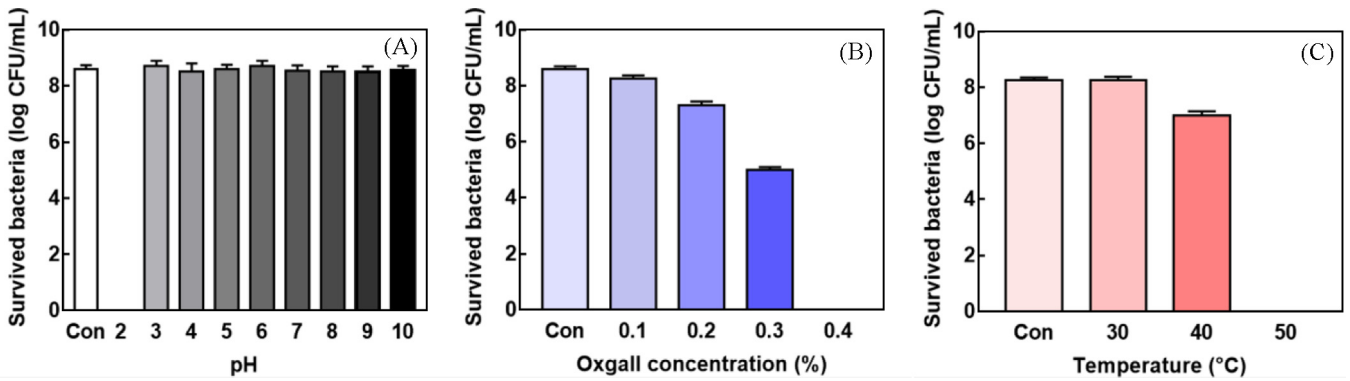


Fig. 4. (A) pH, (B) bile acid, and (C) heat (temperature) resistance of GLU70

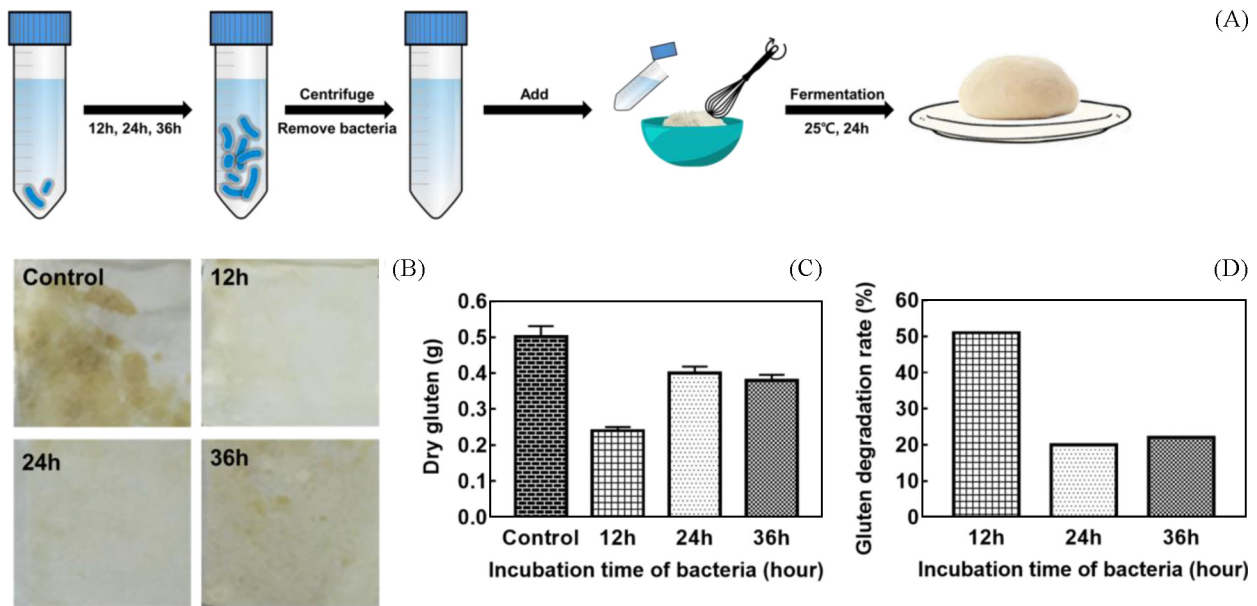


Fig. 5. (A) Schematic illustration of the fermentation of flour dough by GLU70. (B) The images show the results of gluten degradation based on different incubation time. (C) Weight of dry gluten and (D) Gluten degradation rate (%) of GLU70 according to incubation time

GLU70으로 발효한 밀가루 반죽의 건부글루텐 양과 글루텐 분해능은 Table 2와 같다. GLU70이 25°C에서 약 56%, 35°C에서 약 85%로 분석한 모든 유산균 중에서 가장 높은 글루텐 분해율을 보였다. GLU70의 분해율을 두 온도에서 다른 비교 균주들 대비 낮은 분해율을 보인 *L. acidophilus* KCTC 3145와 비교하였다. 그 결과, GLU70의 분해율은 *L. acidophilus* KCTC 3145 대비 약 53.7, 79.5%의 높은 증가를 보였다. 반면 *L. rhamnosus*와 *S. thermophilus* 균주 역시 다소 높은 수준의 글루텐 분해능을 보였으나 글루텐 분해가 시작되는 비교적 초기 시점부터 반죽이 흘러내리는 이상현상이 있어 실제 제품에 적용하기에는 어려움이 있을 것으로 판단되어진다. 이에 따라 GLU70이 반죽의 발효 온도와 관계없이 다른 균주들보다 높은 글루텐 분해율을 가지는 것을 통해 글루텐 저감화 밀가루 제품을 제조하는데 적합한 균주임을 제시한다.

요 약

본 연구에서는 글루텐 분해능을 가지는 유산균을 선별하기 위해 전통식품인 젓갈을 이용하였다. 선별된 균주는 API, 16S rRNA

sequencing과 현미경을 통해 간균의 형태를 갖는 *Lactobacillus paracasei*로 동정되었고 이를 GLU70으로 명명하기로 하였다. MRS 배지에서 GLU70의 생육특성을 조사한 결과, 6시간부터 12시간 까지 대수기이며 12시간 이후부터 정지기임을 확인하였다. 이렇게 동정된 GLU70을 글루텐이 함유된 MRS배지에서 시간별로 배양하였을 때 대수기인 12시간 이후부터 24시간 이전까지 글루텐 분해가 가속화되었고, 48시간에서 최대 45% 정도의 분해율을 나타내었다. 또한 GLU70이 유산균으로서 적합하기 위해서 가져야 하는 내산성, 내담즙성, 내열성에 대한 분석을 실시하였다. 많은 연구에서 *Lactobacillus* 종이 pH 2.5 이상에서는 균의 생존율이 높았지만, 그 이하에서는 거의 생존하지 않는다고 보고하고 있다 (Shin 등, 1999). 이에 따라 분리한 GLU70에서도 유사하게 pH 2.0에서는 균이 사멸하였고 pH 3.0부터 약 84%의 생존율을 보였고 많은 연구들과 유사한 결과를 가지는 것을 통해 우수한 내산성을 가지는 것을 확인하였다. 내담즙성의 경우 oxgall이 0.3% 함유된 배지에서 성장할 수 있을 정도의 내성을 가져야 한다는 연구결과와 비교하였을 때 GLU70은 담즙에 대하여 매우 강한 내성을 가지고 있다고 보기는 어렵다. 또한 내열성에 대한 연구결과에서는 50°C 이상의 온도에서는 사멸하였으나 30°C에서는 높

Table 2. Weight of dry gluten and gluten degradation rate of GRAS accepted strains and GLU70 according to fermentation temperature of the dough

발효 온도	Sample	건부 글루텐 (g)	분해율 (%)
25°C	Control	1.85	0.00
	<i>L. paracasei</i> GLU70	0.82	55.68
	<i>L. acidophilus</i> KCTC 3145	1.18	36.22
	<i>L. casei</i> KCTC 3109	1.17	36.76
	<i>L. paracasei</i> KCTC 3510	0.95	48.64
	<i>L. delbrueckii spp bulgaricu</i> KCTC 3635	1.36	26.49
	<i>L. helveticus</i> KCTC 3545	1.47	20.54
	<i>L. ferment</i> KCTC 3112	1.28	30.81
	<i>L. plantarum</i> KCTC 3108	1.08	41.62
	<i>L. rhamnosus</i> KCTC 13088	0.99	46.49
	<i>Lc. lactis</i> KCTC 3769	1.54	16.76
35°C	<i>S. thermophiles</i> KCTC 3658	1.04	43.78
	<i>B. animalis ssp. lactis</i> KCTC 5854	1.11	40.0
	Control	1.85	0.00
	<i>L. paracasei</i> GLU70	0.27	85.41
	<i>L. acidophilus</i> KCTC 3145	0.97	47.57
	<i>L. casei</i> KCTC 3109	0.68	63.24
	<i>L. paracasei</i> KCTC 3510	0.47	74.59
	<i>L. delbrueckii spp bulgaricus</i> KCTC 3635	0.68	63.24
	<i>L. helveticus</i> KCTC 3645	0.87	52.97
	<i>L. fermentum</i> KCTC 3112	0.75	59.45
	<i>L. plantarum</i> KCTC 3108	0.66	64.32
<i>L. rhamnosus</i> KCTC 13088	0.42	77.29	
<i>Lc. Lactis</i> KCTC 3769	0.65	64.86	
<i>S. thermophiles</i> KCTC 3658	0.47	74.59	
<i>B. animalis ssp. lactis</i> KCTC 5854	0.87	52.97	

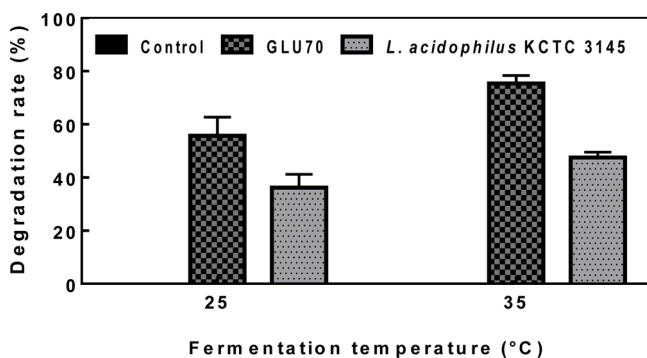


Fig. 6. Gluten degradation rate according to the fermentation temperature of wheat dough

은 생존율을 나타냈다. 또한 분리된 GLU70이 실제 밀가루 반죽에서 감소하는 글루텐 함량을 분석하였을 때 12 h 배양한 배양상 등액을 넣어 25°C에서 24 h 동안 발효한 밀가루 반죽에서 가장 높은 분해력을 확인하였다. 또한 밀가루 반죽의 발효 온도에 따른 글루텐 분해율을 타 균주와 비교하여 GLU70의 우수성을 판단하고자 하였다. GRAS 인정 유산균 11종과 GLU70을 각각 밀가루 반죽에 넣은 후 25°C와 35°C에서 발효하였다. 그 결과 GLU70이 타 균주들과 비교하였을 때 모든 온도에서 반죽이 흘러내리는 등의 이상현상 없이 50% 이상의 매우 높은 글루텐 분해율을 보였다. 이를 통해 GLU70이 향후 식품 산업에 다양한 활용 가능성을 지니며 글루텐 저감화 밀가루 제조 등에 적용하기에 적합하다고 제시된다.

References

- Antvorskov JC, Josefsen K, Engkilde K, Funda DP, Buschard K. Dietary gluten and the development of type 1 diabetes. *Diabetologia*. 57: 1770-1780 (2014)
- Balakireva AV, Zamyatnin AA. Properties of gluten intolerance: gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. *Nutrients*. 8: 644 (2016)
- Blmfeldt TO, Kuktaite R, Johansson E, Hedenqvist MS. Mechanical properties and network structure of wheat gluten foams. *Biomacromolecules*. 12: 1707-1715 (2011)
- Dupont FM, Vensel WH, Tanaka CK, Hurkman WJ, Altenbach SB. Deciphering the complexities of the wheat flour proteome using quantitative two-dimensional electrophoresis, three proteases and tandem mass spectrometry. *Proteome Sci*. 9: 1-29 (2011)
- Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol. Rev.* (2011)
- Gilliland S, Staley T, Bush L. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.* 67: 3045-3051 (1984)
- Jeon WK. Complement and integrative approach in gut health and immunologic disease. *Hanyang Med. Rev.* 30: 109-114 (2010)
- Kárpáti S. Dermatitis herpetiformis. *Clin. Dermatol. Lawrence C. Parish, MD.* 30: 56-59 (2012)
- Kask S, Adamberg K, Orłowski A, Vogensen FK, Møller PL, Ardö Y, Paalme T. Physiological properties of *Lactobacillus paracasei*, *L. danicus* and *L. curvatus* strains isolated from Estonian semi-hard cheese. *Int. Food Res. J.* 36: 1037-1046 (2003)
- Moore MM, Schober TJ, Dockery P, Arendt EK. Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. *Cereal Chem.* 81: 567-575 (2004)
- Rosell CM, Collar C. Effect of temperature and consistency on wheat dough performance. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44: 493-502 (2009)
- Sahadev RPK, Leong SF, Chua KH, Tan CH, Chan HY, Tong EV, Wong SYW, Chan HK. Survival of commercial probiotic strains to pH and bile. *Int. Food Res. J.* 18: 1515-1522 (2011)
- Shin MS, Kim HM, Kim GT, Huh CS, Bae HS, Baek YJ. Selection and characteristics of *Lactobacillus acidophilus* isolated from Korean feces. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 495-501 (1999)
- Silverman MH, Ostro MJ. Bacterial endotoxin in human disease. Princeton, NJ: KPMG. 35 (1999)
- Yoon JY. Studies on Identification, Purification and characteristics of gluten degradable enzyme isolated from *Lactobacillus paracasei*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 18-24 (2017)