

유산균의 증식과 항균 활성에 관한 탈지유 및 두유의 영향

임은서* 

동명대학교 식품영양학과

Influence of soymilk and skim milk on growth and antibacterial activity of lactic acid bacteria

Eun-Seo Lim* 

Department of Food Science & Nutrition, Tongmyong University, Busan 48520, Republic of Korea

(Received June 19, 2019; Revised July 10, 2019; Accepted July 10, 2019)

The purpose of this study was to investigate the effect of lactic acid bacteria (LAB) on the growth and biogenic amines (BA) formation of *Enterobacter aerogenes* CIH05 in skim milk and soymilk. *Lactobacillus acidophilus* GK20, *Lactobacillus paracasei* GK74, and *Lactobacillus plantarum* GK81 isolated from mustard kimchi did not produce BA in the decarboxylation broth. *L. paracasei* GK74 exhibited the highest cell viability and antimicrobial compounds producing ability in fermented skim milk and soymilk samples, while the lowest producer was *L. plantarum* GK81. The production yield of lactic acid, hydrogen peroxide, and bacteriocin was dependent on the species of *Lactobacillus* and the type of culture medium. As LAB the number of viable cells of *E. aerogenes* CIH05 were higher in skim milk than in soymilk. When mixed culture with *L. acidophilus* GK20 and *L. paracasei* GK74 and treated with bacteriocin solution (300 AU/ml) obtained from these strains in milk media, the cell growth and cadaverine and histamine contents of *E. aerogenes* CIH05 were significantly ($P < 0.05$) lower than the respective values in control sample.

Keywords: biogenic amine, lactic acid bacteria, skim milk, soymilk

바이오제닉 아민(biogenic amines, BA)은 아미노산의 탈탄산화에 의해 주로 생성되며 생물학적 활성을 가지는 저분자의

유기 질소성 화합물이다. 이들은 식물, 동물 및 미생물의 단백질의 대사 과정 중에 자연적으로 발생되어 세포 성장, 유전자 발현, 단백질 합성 등 생리 조절에 중요한 역할을 하는 물질이지만, BA가 다량 함유된 식품을 섭취할 경우에는 홍조, 두통, 부종, 구토, 설사, 복부 경련 및 저혈압 등의 중독 증상을 초래한다(Shalaby, 1996). BA에 의한 독성은 유전학적 결함이나 특정 약물의 복용에 의해 아민 분해효소(amine oxidase)가 불활성화되면 유해 아민의 무독화 능력이 저하되어 심각한 문제를 야기한다(Bodmer *et al.*, 1999). BA의 양은 발효 과정 중 유입균에 의해 증가되는 경우가 많으므로 제조 환경 불량에 따른 오염 여부 및 식품의 변질을 판단하는 지표로 이용되기도 한다(Linares *et al.*, 2011). BA는 생선 및 그 가공품을 비롯하여 육류, 채소, 맥주 및 포도주와 같은 각종 발효식품 등에서 다량 검출된다. 이러한 식품들에 주로 함유된 히스티딘, 티로신, 오르니틴, 베타-페닐알라닌 등의 아미노산은 미생물이 생산한 효소에 의해 카르복실기가 이탈되면서 각각 히스타민, 티라민, 푸트레신, 카다베린 및 베타-페닐에틸아민 등이 생산된다(Linares *et al.*, 2011). 게다가 장 건강에 도움을 주고 필수 영양소 공급원으로 잘 알려진 유산균 발효 식품인 유제품 뿐만 아니라 우유, 커드 및 유청에서도 폴리 아민, 티라민, 히스타민, 푸트레신, 카다베린, 베타-페닐에틸아민 및 트립타민 등 각종 BA가 검출된다(Linares *et al.*, 2011). 유제품의 주 원료인 우유에 함유된 단백질은 다양한 미생물들이 생산한 프로테아제, 펩티다아제 혹은 아미노펩티다아제 등의 각종 효소에 의해

*For correspondence. E-mail: limsm020@tu.ac.kr;
Tel.: +82-51-629-1714; Fax: +82-51-629-1709

BA 생성에 필요한 전구체 아미노산이 만들어진다(Benkerroum, 2016). 유제품의 BA 함량은 원유 자체에 혼재하거나 제조 과정 중에 외부로부터 혼입된 미생물 및 발효 스타터인 유산균의 종류, 기질 아미노산의 이용능, pH, 온도 및 수분활성도 등의 발효 조건 등에 의해 주로 결정된다(Linares *et al.*, 2011). *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Pichia jadinii*, *Geotrichum candidum* 등과 같은 진균류뿐만 아니라 *Hafnia alvei*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* sp. 및 *Enterobacteriaceae* 등도 유제품 내에서 유해 아민을 생성하는 것으로 보고되고 있다(Pircher *et al.*, 2007). 또한 프로바이오틱 균주로서 면역기능 강화, 항산화, 항암 및 항콜레스테롤 등의 활성을 발휘하는 유익균으로 알려진 유산균인 *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp. 및 *Streptococcus* sp. 등도 아미노산 탈탄산 효소의 작용에 의해 유해 물질인 BA를 생산하는 주요 원인균으로 알려져 있다(Gardini *et al.*, 2006; Quinto *et al.*, 2014).

발효 식품의 주체인 유산균이 균주에 따라 아미노산 탈탄산 효소의 작용으로 BA를 생산하기도 하지만 일부의 유산균은 항균 물질을 생산함으로써 BA 생성균에 대한 항균 활성을 나타내기도 한다. 유산균은 유기산이나 박테리옌 등의 항균 물질을 생산하는데 이는 인체에 해가 없으며, 유해 미생물의 균수 감소 및 독성 물질 생성을 억제하는데 효과적이므로 식품 제조와 가공 중에 생물학적 보존제로도 널리 이용되고 있다(Özogul and Hamed, 2018). 항균 물질을 생산하는 유산균을 치즈 발효에 이용한 경우 BA 생성균의 증식이 억제됨에 따라 유해 물질의 함량을 효과적으로 낮출 수 있다는 결과도 보고된 바 있으므로(Joosten and Nuñez, 1996; Capozzi *et al.*, 2012) 유해 아민 저감화를 위해 유산균의 이용 가치가 높다고 판단된다.

따라서 본 연구에서는 BA 함량이 낮은 치즈 제조에 이용할 발효 스타터를 선발하기 위하여 탈지유와 두유 내에서 유산균의 아미노산 탈탄산 효소 및 항균 물질 생성능과 이에 따른 BA 생성균의 증식과 아민 생성량에 미치는 영향을 비교하였다.

재료 및 방법

실험 균주 및 배양

전보(Lim *et al.*, 2011; Lim and Lee, 2016)에서 갖김치로부터 분리된 유산균(*Lactobacillus acidophilus* GK20, *Lactobacillus brevis* GK55, *Lactobacillus paracasei* GK74, *Lactobacillus plantarum* GK81)을 실험 균주로 사용하였고, 생선 내장으로부

터 분리된 BA 생성균 *Enterobacter aerogenes* CIH05는 항균 활성 측정을 위한 지시 균주로 사용하였다. 유산균은 Lactobacilli MRS agar (BD Difco), BA 생성균은 Brain Heart Infusion (BHI) agar (BD Difco) 사면배지 상에서 계대 배양(37°C, 24시간)하여 실험하였다.

BA 생성능 확인

실험 균주의 효소 생성을 유도하기 위해 탈카르복시화 액체 배지에 전구체 아미노산(L-arginine monohydrochloride, L-histidine monohydrochloride monohydrate, L-lysine monohydrochloride, L-ornithine monohydrochloride, L-phenylalanine, L-tryptophan 및 L-tyrosine hydrochloride, Sigma-Aldrich, 1 g/L)과 1 mg/L pyridoxal 5-phosphate를 첨가한 다음 균 접종 후 37°C에서 48시간 동안 5회 전배양하였다(Bover-Cid and Holzapfel, 1999). Microtiter plate의 well에 전 배양액(50 µl)과 아미노산(2%, w/v)이 첨가된 탈카르복시화 액체배지(100 µl)를 각각 분주한 후 35°C, 48시간 동안 혐기적인 조건(Anoxomat system, MART Co.) 하에서 배양한 다음 BA 함량은 Eerola 등(1993)과 Mah 등(2003)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 배양액을 원심 분리(7,000 × g, 10분, 4°C)한 후 상등액(1 ml)은 여과 제균(0.22 µm membrane filter, Millipore Co.)한 다음 BA 혼합 표준 용액(cadaverine, histamine, putrescine, tyramine, tryptamine, 500 ppm)과 0.4 M perchloric acid (Merck, 9 ml)를 첨가하였다. 진탕 혼합 후 원심분리(3,000 × g, 10분)해서 회수한 상등액은 여과(Whatman paper No. 1)한 다음 여과액(1 ml)에 2 N sodium hydroxide (200 µl)와 sodium bicarbonate 포화 용액(300 µl)을 가하고 acetone에 용해 시킨 dansyl chloride (Sigma-Aldrich, 10 mg/ml) 2 ml를 가하였다. 40°C에서 약 45분간 반응시킨 다음 잔존하는 dansyl chloride는 25% ammonium hydroxide (100 µl)를 가하여 제거하고 상온에서 약 30분간 방치한 후 acetonitrile을 가하여 최종 5 ml로 맞추고, 원심분리(2,500 × g, 5분)해서 얻은 상등액은 여과(0.22 µm membrane filter)하여 dansyl 유도체화 시켰다. High pressure liquid chromatography (HPLC, Shimadzu)의 Nova-Pak C₁₈ column (150 × 3.9 mm, Waters)을 사용하였으며 UV 254 nm에서 검출하였다. 컬럼 온도 40°C에서 이동상(solvent A: 0.1 M ammonium acetate, solvent B: acetonitrile)의 유속은 1 ml/min으로 조정하였고, 시료량은 10 µl에 맞춰 주입하였다.

탈지유와 두유 제조 및 배양 조건

Skim milk powder (BD Difco)를 10% (w/v)의 농도에 맞춰 증류수에 용해시킨 다음 고압살균 멸균하여 탈지유를 제조하

였다. 한편, 대두(500 g)에 10배의 증류수를 가하여 상온에서 12시간 동안 수침한 후 대두를 건져 60°C의 열수(5 L)를 가하여 약 3분간 분쇄하였다. 면보로 압착하여 얻은 액체는 원심분리(5,000 × g, 5분)하여 침전물을 제거한 후 상등액은 65°C에서 30분간 가열 살균하여 두유를 제조하였다(Devi *et al.*, 2014). 유산균은 MRS broth에 접종하고 37°C, 24시간 동안 배양하여 얻은 배양액으로부터 원심분리(7,000 × g, 10분, 4°C)해서 세포를 회수한 다음 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.0)으로 2회 세척하였다. 초기 균수를 1.0×10^6 CFU/ml로 조정해 세포 현탁액 1% (v/v)를 탈지유와 두유에 각각 접종한 후 37°C에서 24시간 동안 배양하였다.

시료 내 유산균수 및 항균 물질 생성능

배양한 시료(1 g)를 채취한 후 PBS (pH 7.0)로 십진 희석한 다음 MRS agar 상에서 표준한천평판배양법으로 유산균수를 측정하였다.

pH는 시료(10 g)에 증류수 5배를 가하고 스토마커(3 M)로 균질화 한 다음 원심분리(7,000 × g, 10분)해서 얻은 상등액을 시료액으로 하여 pH meter (Fisher Scientific)로 측정하였다.

시료 5 g에 동량의 증류수를 가하고 1% (w/v) 페놀프탈레인 지시약을 첨가한 다음 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 그 소비량을 측정한다 다음 계산식[산도(%) = 0.1 N NaOH 소비량 × 0.1 N NaOH 역가 × 0.9]/시료량]에 대입하여 적정 산도를 계산하였다.

유산의 함량은 Shah와 Ravula (2002)의 방법에 따라 시료(1 g)에 15.5 M nitric acid (100 µl)와 0.01 M sulfuric acid (2 ml)를 가한 후 원심분리(14,000 × g, 30분)해서 단백질을 침전시켰다. 상등액을 회수하여 0.22 µm membrane filter로 여과 제균한 후 HPLC의 ion exchange column (Aminex HPX-87H, 300 × 7.8 mm, Bio-Rad) 온도는 65°C, 이동상(0.01 M H₂SO₄) 유속은 0.6 ml/min 하에서 분석하였다.

과산화수소의 함량은 Gilliland (1969)의 방법에 따라 시료(10 g)의 pH를 4.5로 조정해 후 0.1 M acetate buffer (2 ml)를 가하고 멸균수를 첨가하여 20 ml에 맞춰서 약 2분 동안 균질화하였다. Whatman No.2로 여과시킨 여액(5 ml)에 1% o-dianisidine (100 µl)과 horseradish peroxidase (0.01 mg, Fisher Scientific)를 가하고 상온에서 약 10분간 반응시킨 후 4 N HCl (200 µl)를 가하여 반응을 종료시켰다. 400 nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선으로부터 과산화수소의 함량(µg/ml)을 측정하였다.

박테리옌 함량은 Settanni 등(2005)의 방법에 따라 시료(10 g)에 40% acetonitrile-0.1% (v/v) trifluoroacetic acid (90 ml)을 가하여 균질화 한 다음 원심분리(15,000 × g, 10분)하여 얻

어진 침전물을 동결 건조시켰다. 50% (v/v) alcohol (4 ml)에 용해시켜 조박테리옌 용액을 제조하고 microtiter plate method (Hole *et al.*, 1991)로 항균 활성을 측정하였다. BA 생성균은 BHI broth 내에서 37°C, 24시간 동안 배양 후 원심분리(7,000 × g, 20분, 4°C)하여 모든 세포를 PBS (pH 7.0)로 2회 세척하였다. 세포 현탁액 내 균수는 1.0×10^5 CFU/ml로 맞추고 이진법으로 희석한 박테리옌 용액을 microtiter plate well (Falcon)에 가한 후 37°C에서 24시간 배양하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 박테리옌 용액 대신 PBS (pH 7.0)를 가하여 얻은 탁도 50%에 해당하는 최대 희석배수의 역수를 박테리옌 활성(arbitrary unit, AU)으로 계산하였다.

배양 조건별 BA 생성균에 대한 항균 활성

혼합 배양: 유산균과 BA 생성균은 MRS broth와 BHI broth에 각각 접종하고 37°C, 24시간 동안 배양하여 얻은 배양액으로부터 원심분리(7,000 × g, 10분, 4°C)하여 세포를 모아서 PBS (pH 7.0)로 2회 세척하였다. 각각의 초기 균수를 1.0×10^6 CFU/ml로 조정해 세포 현탁액 1% (v/v)를 탈지유와 두유에 각각 접종한 후 37°C에서 24시간 동안 혼합 배양하였다.

배양 상등액 처리: 유산균은 MRS broth에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 원심분리(7,000 × g, 20분, 4°C)하여 상등액을 회수한 후 세포를 제거하기 위해 여과 제균(0.45 µm membrane filter)하고 탈지유와 두유에 각각 5.0% (v/v) 농도로 첨가하였다. 여기에 BHI broth에서 overnight 배양한 BA 생성균의 배양액을 원심분리(7,000 × g, 10분)하여 세포를 세척한 후 균수를 1.0×10^6 CFU/ml로 조정해 다음 시료에 접종하고 37°C에서 24시간 동안 배양하였다.

박테리옌 용액 처리: 전보(Lim *et al.*, 2011)의 방법에 따라 유산균의 배양 상등액 내 유산 및 과산화수소의 항균력을 배제하기 위해 1 N NaOH를 이용하여 pH 7.0으로 조정해 다음 카탈라아제(1 mg/ml, Sigma-Aldrich)를 처리하였다. 60% (w/v)의 황산암모늄으로 염색 후 투석하여 탈염시켜 조박테리옌 용액을 조제하였다. 박테리옌 용액 300 AU/ml을 탈지유와 두유에 각각 첨가한 다음 BHI broth에서 배양한 BA 생성균의 배양액을 원심분리(7,000 × g, 20분, 4°C)하여 세포 현탁액 (1.0×10^6 CFU/ml)을 접종하고 37°C에서 24시간 동안 배양하였다.

시료 내 BA 생성 균수 및 생성량 측정

시료(1 g)를 채취한 후 PBS (pH 7.0)로 십진 희석한 다음 BA 생성균은 Eosin Methylene Blue (EMB) agar (BD Difco) 상에서 표준한천평판배양법으로 생균수를 측정하였다.

시료 내 BA 함량은 Eerola 등(1993)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 시료(2 ml)에 0.4 M perchloric acid (10 ml)을 첨가하여 균질화 한 후 원심분리(3,000 × g, 10분) 하였다. 상등액은 여과지(Whatman No. 1)로 여과하여 얻은 여액에 BA 혼합 표준용액(cadaverine, histamine, 500 ppm)과 0.4 M perchloric acid (Merck)를 가하여 최종 25 ml로 맞추었다. 시료 추출물에 2 N sodium hydroxide (200 µl), 포화 sodium bicarbonate (300 µl) 및 10 mg/ml dansyl chloride (Sigma-Aldrich, 2 ml)를 가한 후 40°C에서 45분간 반응시키고 100 µl ammonia를 첨가한 다음 30분간 방치하였다. Acetonitrile를 가해 최종 5 ml에 맞추어 원심분리(2,500 × g, 5분)하여 얻은 상등액을 0.22 µl syringe filter로 여과 제균한 후 HPLC의 Nova-Pak C₁₈ column (150 × 3.9 mm, Waters)으로 BA의 함량을 측정하였다. 컬럼 온도 40°C에서 이동상은 0.1 M ammonium acetate (A)와 acetonitrile (B)을 이용하였으며, 유속은 1 ml/min, 시료 10 µl 주입 후 254 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다.

통계처리

실험 항목별로 3회씩 실험하여 얻은 측정값은 평균±표준편차로 나타내었다. 실험 결과값은 SPSS 프로그램(Ver. 12.0, Chicago, IL, USA)의 Student's t-test를 통해 $P < 0.05$ 유의수준에서 대조구와 실험구의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

탈카르복시화 액체배지 상에서의 BA 생성능

탈카르복시화 액체배지 상에서 실험 균주의 BA 생성균을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 생선 내장으로부터 분리된 *E. aerogenes* CIH05는 카다베린(572.3 ± 16.2 mg/L)과 히스타민(2,564.2 ± 20.5 mg/L)을 생성하는 것으로 확인되었다. 갖김치

로부터 분리된 *L. brevis* GK55는 히스타민(852.4 ± 11.6 mg/L)과 티라민(662.3 ± 22.7 mg/L)을 생성하였고, *L. mesenteroides* GK104는 카다베린(356.8 ± 9.6 mg/L)을 생성하는 것으로 확인되었다. 반면, *L. acidophilus* GK20, *L. paracasei* GK74 및 *L. plantarum* GK81은 BA를 생성하지 않아 후속 연구를 위한 균주로 선발하였다.

Alvarez와 Moreno-Arribas (2014)는 *L. plantarum*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus acidilactici* 등의 유산균이 *in vitro*에서 히스타민과 티라민을 생성하였다고 보고하였다. Barbieri 등(2019)의 유산균 균종별 BA 생성에 대한 연구결과에 따르면, *L. brevis*는 히스타민, 티라민, 베타-페닐에틸아민, 카다베린, 푸트레신을 생산하고, *L. paracasei*는 히스타민, 티라민, 카다베린, 푸트레신을 생성한다고 알려져 있다. 또한, *L. plantarum*은 히스타민, 티라민, 푸트레신을 생산하고, *L. mesenteroides*는 히스타민, 티라민, 베타-페닐에틸아민, 카다베린, 푸트레신 등을 생산하는 것으로 보고되고 있으나, *L. acidophilus*으로부터는 아미노산 탈탄산 효소 생성능이 확인되지 않아 본 연구 결과와 부분적으로 일치하였다.

Priyadarshani와 Rakshit (2014)에 의하면 *Lactobacillus casei* TISTR 389는 강력한 단백질 가수분해 및 아미노산 탈탄산 효소 활성에 의해 탈지유 내에서 48시간 배양 후 히스타민과 티라민의 생성량이 각각 6.86 ± 0.035 mg/L와 6.08 ± 0.042 mg/L로 나타났다. Russo 등(2012)에 따르면 와인으로부터 분리된 *L. brevis* IOEB 9809는 티라민과 푸트레신을 생성하였으며, 원유로부터 분리된 *L. mesenteroides* IPLA 1040은 0.5% 전구체 아미노산이 함유된 탈카르복시화 액체 배지 상에서 807 mg/L의 티라민과 6.90 mg/L의 트립타민을 생성하는 것으로 보고되었다(De Llano *et al.*, 1998). 이러한 결과는 동종의 유산균 일지라도 균주에 따라 생성하는 BA의 종류와 생성량에 상당한 차이가 있다는 본 연구결과와는 일치하지 않는다. 동종의 유산균들에서 BA 생성능에 차이가 있는 것은 아미노산 탈탄

Table 1. Biogenic amines (BA)-forming ability of the tested strains in decarboxylase medium supplemented with amino acid

Strain	BA content (mg/L)			
	Cadaverine	Histamine	Putrescine	Tyramine
<i>Enterobacter aerogenes</i> CIH05	572.3 ± 16.2	2,564.2 ± 20.5	ND	ND
<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	ND	ND	ND	ND
<i>Lactobacillus brevis</i> GK55	ND	852.4 ± 11.6	ND	662.3 ± 22.7
<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	ND	ND	ND	ND
<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	ND	ND	ND	ND
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> GK104	356.8 ± 9.6	ND	ND	ND

Data are means ± standard deviation (SD) from triplicate determinations. ND, not detected.

산효소가 이용 가능한 기질의 종류가 다르고 효소의 활성에도 차이가 있기 때문으로 판단된다.

유산균은 성장을 위한 최적 조건이 아닌 상황에서도 적응력이 비교적 높아 주요 영양원인 당이 고갈된 후에도 아미노산을 에너지원으로 이용할 수 있는 능력을 가지고 있어 오랜 기간 생존이 가능하며, 낮은 pH 하에서도 저항성이 강해 효소 활성을 발휘한다(Papadimitriou *et al.*, 2016). 미생물의 아미노산 탈탄산화는 산의 자극(acid stress)에 대한 세포반응으로써 운반 단백질을 통해 세포 내로 유입된 아미노산은 탈탄산 효소에 의해 H^+ 를 이용하여 아미노산의 CO_2 가 제거되어 세포질 내 pH가 증가하게 되고 생성된 아민은 역수송체(antiporter)를 통해 세포 밖으로 이동하게 된다(Gardini *et al.*, 2016). 위산의 자극 하에서도 H^+ 를 소비하여 BA를 생성함으로써 미생물의 생존율을 높게 되고 장내 상피세포 점막에 대한 부착력도 증가하게 되는 것으로 보고된 바 있다(Russo *et al.*, 2012). 따라서 탈탄산 효소는 미생물 세포 활성과는 무관하게 열악한 환경 조건 하에서 세포가 용해된 상황에서도 활성이 유지되며 식품 내에 생성된 BA는 가열, 냉동 및 혼연 처리에도 분해되기 어려울 만큼 안정하다고 알려져 있으므로 탈탄산 효소 특성을 고려한 유해 아민 함량 저감화 방법을 모색해야 할 것이다(Barbieri *et al.*, 2019).

탈지유와 두유 내에서의 유산균 증식 및 항균 물질 생성능

탈지유와 두유 내에서 선발 균주의 증식 정도 및 항균 물질 생성능을 측정된 결과는 Table 2와 같다. *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74는 탈지유 내에서 10^9 CFU/g 이상 검출되었으나, 두유에서는 이보다 다소 낮은 균수가 검출되었다. 한편, *L. plantarum* GK81의 균수는 GK20 및 GK74 보다는 적은 균수가 측정되었으나, 이들은 탈지유와 두유 내에서 유의할 만한 차이는 보이지 않았다. 탈지유의 pH는 *L. paracasei* GK74 (4.20 ± 0.09)에 의해 가장 낮게 나타났고 그 다음으로는 *L. acidophilus* GK20 (4.75 ± 0.12), *L. plantarum* GK81 (4.91 ± 0.07) 순이었으며, GK74와 GK81에 의한 pH는 두유보다는 탈지유에서 다소 낮게 나타났다. 탈지유의 적정 산도는 *L. paracasei* GK74 ($1.37 \pm 0.02\%$)가 *L. acidophilus* GK20 ($0.95 \pm 0.05\%$) 및 *L. plantarum* GK81 ($0.89 \pm 0.01\%$)에 비해 유의하게 높았고, 두유 보다는 탈지유 내에서 비교적 높은 값이 측정되었다.

유산의 함량도 적정 산도와 유사한 경향으로 두유보다 탈지유에서 더 높았고 *L. acidophilus* GK20 (90.2 ± 0.9 mM)이 나 *L. plantarum* GK81 (76.9 ± 4.1 mM)보다 *L. paracasei* GK74 (116.9 ± 5.0 mM)에 의해 높게 나타났다. 과산화수소는 탈지유에서 배양한 *L. acidophilus* GK20 (6.8 ± 0.1 mM)에 의해 가장 많은 양이 검출되었고 두유 내에서 검출된 양도 *L.*

Table 2. Cell viability and antimicrobial substances production of BA non-forming lactic acid bacteria (LAB) in skimmed milk and soy milk

Characteristics		Skim milk	Soymilk
Viable cell counts (CFU/g)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	$3.3 \pm 0.5 \times 10^9$	$9.6 \pm 1.5 \times 10^8$
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	$4.5 \pm 0.3 \times 10^9$	$7.9 \pm 3.0 \times 10^8$
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	$8.5 \pm 0.9 \times 10^8$	$6.8 \pm 2.1 \times 10^8$
pH	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	4.75 ± 0.12	4.66 ± 0.11
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	4.20 ± 0.09	4.32 ± 0.10
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	4.91 ± 0.07	5.02 ± 0.06
Titratable acidity (%)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	0.95 ± 0.05	0.97 ± 0.02
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	1.37 ± 0.02	1.14 ± 0.03
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	0.89 ± 0.01	0.77 ± 0.06
Lactic acid (mM)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	90.2 ± 0.9	88.6 ± 3.8
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	116.9 ± 5.0	105.2 ± 1.7
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	76.9 ± 4.1	60.2 ± 2.5
Hydrogen peroxide (mM)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	6.8 ± 0.1	5.9 ± 0.4
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	4.2 ± 0.1	3.6 ± 0.2
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	1.9 ± 0.4	1.5 ± 0.5
Bacteriocin activity (AU/g)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	640	160
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	1,280	640
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	ND	ND

Data are means \pm SD from triplicate determinations.
ND, not detected.

paracasei GK74 (3.6 ± 0.2 mM)나 *L. plantarum* GK81 (1.5 ± 0.5 mM)에 비해 높았다. 탈지유 내에서 *L. paracasei* GK74 (1280 AU/g)의 박테리오신 활성은 *L. acidophilus* GK20 (640 AU/g) 보다 2배 높게 나타났으나, 이들의 활성은 탈지유보다 두유에서 유의하게 낮게 검출되었다. 반면 탈지유 및 두유 내에서 *L. plantarum* GK81의 박테리오신 활성은 나타나지 않았다.

유산균의 증식 및 항균 물질의 생성량은 원료유의 물리화학적 특성과 고형분의 함량, 미생물의 산소 및 영양 성분의 이용, 발효 온도 등 다양한 인자들에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 유산균은 단백질 가수분해 효소를 통해 얻은 유기 질소원인 펩타이드나 아미노산 등을 주로 이용하므로 탈지유나 두유는 증식이나 대사산물 생산을 위해 적합한 영양원이라고 보고된 바 있는데(Priyadarshani and Rakshit, 2014), 본 연구 결과 유산균의 증식과 항균 물질 생산에는 두유 보다 탈지유에 함유된 영양 성분이 더 유용한 것으로 판단된다. Hati 등(2018)에 의하면, *Streptococcus thermophiles* MD2와 *Lactobacillus helveticus* V3의 발효액은 다른 균주들에 비해 유의하게 높은 항균 활성을 나타내었으며 유산균의 균종에 따라 두유 및 발효유 내에서 나타난 활성에는 유의한 차이가 있었고 이들 활성은 두유보다는 탈지유에서 더 높게 나타났다고 하였는데 본 연구 결과도 이와 유사한 것으로 확인되었다.

전보(Lim et al., 2011)에 따르면, MRS broth 상에서 24시간 만에 GK20과 GK74의 박테리오신 활성은 각각 640 AU/ml과 2,560 AU/ml로 측정되었으나, 두유나 탈지유에서는 이보다 적은 양의 활성이 측정되어 탈지유 보다도 배지 내 영양성분이 박테리오신 생산에 유리한 것으로 확인하였다. 이상의

결과, 유산균의 균종 및 균주에 따라 증식과 항균 물질 생산을 위해선 특정 영양분을 요구하는 것으로 보인다.

배양 조건에 따른 탈지유 및 두유 내 BA 생성 균수 변화

BA 생성균과 선발된 유산균의 혼합 배양 및 유산균의 항균 물질 처리 시 탈지유와 두유 내 BA 생성균의 균수를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 탈지유 내에서 *E. aerogenes* CIH05 단독 배양에 의한 균수는 $5.8 \pm 1.0 \times 10^8$ CFU/ml이었으나, 두유에서는 이보다 낮은 $8.2 \pm 0.4 \times 10^7$ CFU/ml로 나타났다. 탈지유에서 *E. aerogenes* CIH05의 균수는 *L. acidophilus* GK20 및 *L. paracasei* GK74와의 혼합 배양에 의해 유의하게 낮았으나 *L. plantarum* GK81과의 혼합 배양에 의해서 유의할 만한 균수 감소가 나타나지 않았다. 두유 내에서는 *L. paracasei* GK74와의 혼합 배양에 의해 유의한 균수 감소가 나타났으나, GK20 및 GK81에 의해서는 대조구와 비슷한 수준의 균수가 검출되었다. 3종의 유산균이 생산한 유기산을 탈지유와 두유에 처리한 경우 *E. aerogenes* CIH05에 대한 항균 효과는 나타나지 않았다. 하지만 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74가 생산한 박테리오신(300 AU/ml)을 처리한 경우에는 탈지유와 두유 내에서 2 log cycle 내외의 균수 감소 효과가 확인되었다. 탈지유 및 두유 내에서 배양된 BA 생성균의 균수는 유산균과의 혼합 배양이나 배양 상등액의 처리에 의해서는 유의할 만한 정도로 감소되지는 않았으나, 유산균이 생산한 박테리오신은 이들의 균수를 효과적으로 감소시켰다.

전통 발효 된장으로부터 분리된 *L. plantarum* DLA205, *L. brevis* DLA501, *Lactobacillus fermentum* DLA509, *L. acidophilus*

Table 3. Effects of antimicrobial substances-producing LAB on viable cell counts of *Enterobacter aerogenes* CIH05 in skimmed milk and soy milk

Incubation condition	LAB	Viable cell counts (CFU/ml)	
		Skim milk	Soy milk
Control		$5.8 \pm 1.0 \times 10^8$	$8.2 \pm 0.4 \times 10^7$
Mixed culture	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	$1.1 \pm 0.2 \times 10^8$ *	$6.5 \pm 1.6 \times 10^7$
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	$8.0 \pm 3.1 \times 10^7$ *	$4.6 \pm 0.5 \times 10^6$ *
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	$6.3 \pm 2.4 \times 10^8$	$9.1 \pm 2.4 \times 10^7$
Treatment of CFCS (10%)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	$7.0 \pm 2.8 \times 10^8$	$6.9 \pm 3.5 \times 10^7$
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	$3.6 \pm 0.2 \times 10^8$	$8.0 \pm 2.1 \times 10^7$
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	$9.1 \pm 0.6 \times 10^8$	$1.9 \pm 1.0 \times 10^8$
Treatment of bacteriocin (300 AU/ml)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	$9.5 \pm 2.7 \times 10^8$ *	$7.4 \pm 1.8 \times 10^6$ *
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	$2.8 \pm 0.9 \times 10^6$ *	$9.8 \pm 3.6 \times 10^5$ *
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	NT	NT

Data are means \pm SD from triplicate determinations.

*Significantly differ ($P < 0.05$) from the control group by Student's t-test.

CFCS, cell-free culture supernatant.

NT, not tested.

DLA703 및 *E. faecalis* DLA804 등이 생산한 박테리오신은 BA 생성균인 *Bacillus licheniformis* DB102, *Bacillus subtilis* DB203, *Bacillus amyloliquefaciens* DB714에 대한 항균 활성을 나타내었고 박테리오신의 활성은 유산균의 종류에 따라 큰 차이가 있었다(Lim, 2018). Nugrahani 등(2016)도 *L. casei*가 생산한 박테리오신은 히스타민 생성균인 *Pseudomonas* sp.과 *Micrococcus* sp.에 대한 항균 활성을 나타내었다고 하였으므로 유산균의 항균 물질이 유해 아민 제어에 효과적이라고 보고하였다.

배양 조건에 따른 탈지유 및 두유 내 BA 생성량 변화

BA 생성균과 선발된 유산균의 혼합 배양 및 유산균의 항균 물질 처리 시 탈지유와 두유 내 BA 생성균에 의한 카다베린과 히스타민의 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 탈지유와 두유 내 *E. aerogenes* CIH05 단독 배양한 경우 카다베린 생성량은 각각 501.7 ± 7.9 mg/L와 452.2 ± 20.5 mg/L로 탈지유 내에서 다소 높게 나타났고, 히스타민의 생성량은 카다베린에 비해 4배 이상 검출되었으며 두유 보다는 탈지유 내 영양성분이 CIH05의 BA 생성에도 유리한 것으로 나타났다.

탈지유 내에서는 *L. acidophilus* GK20 및 *L. paracasei* GK74와의 혼합 배양에 의해선 카다베린과 히스타민 생성량이 대조구에 비해 유의하게 감소되었으나, 두유 내에서는 *L. paracasei* GK74와의 혼합 배양에 의해서만 감소 효과가 나타났다. 한편, 실험 유산균 3종의 배양 상등액을 처리한 경우 탈지유 및 두유 내에 카다베린의 함량은 대조구와 비슷한 수준으로 검출되었고, 히스타민의 함량에도 유의할 만한 변화를 주지는 못했다.

이는 배양 상등액 내에 함유된 유산에 의해 pH가 낮아지면 탈탄산 효소 활성이 증가되어 BA의 생성량이 많아진다는 기존 문헌(Kimura *et al.*, 2001; Gardini *et al.*, 2016)의 보고에 따라 본 연구 결과에서도 유산균의 배양 상등액을 처리한 경우 탈지유 및 두유 내 BA 함량 감소 효과는 나타나지 않은 것으로 추정된다. 반면 *L. acidophilus* GK20과 *L. paracasei* GK74가 생산한 박테리오신(300 AU/ml)은 탈지유와 두유 내에 카다베린과 히스타민의 함량을 효과적으로 감소시켰다. 이상의 결과, 유산균이 생산한 박테리오신 용액을 조제하여 처리한 경우도 이들의 항균 활성에 의해 균이 사멸됨으로써 BA 생성량이 유의하게 낮게 검출된 것으로 사료된다.

타이 전통 발효 어육 소시지인 *som-fug* 내 BA 축적에 관한 유산균(*L. sakei* KM5474, *L. plantarum* KM1450)의 영향을 측정한 결과, 유산균을 접종하지 않은 대조구에서는 카다베린, 푸트레신, 히스타민, 트립타민, 페닐에틸아민 및 티라민 등의 BA가 유의하게 높게 나타났으나, 이들 균주로 발효시킨 경우에는 BA양이 월등히 감소되었다. 시료 내 유리아미노산 양은 BA의 생성량과 상관 관계가 있었으며, 유리아미노산의 이용을 제한한 경우 BA의 양도 감소되었다. 또한 *L. sakei* 보다는 *L. plantarum*에 의한 BA 함량 감소 효과가 더 크게 나타났고 혼합 균주가 단독 균주로 발효시킨 경우보다 감소량이 더 많은 것으로 나타나 수산 발효 식품의 유해 아민 함량 감소를 위해 유산균을 이용한 바 있다(Kongkiattikajorn, 2015).

한편으로 *E. faecalis*, *E. faecium* 및 *Enterococcus durans*의 티라민 생성은 낮은 pH 하에서 높은 활성을 유지하였고, *Lactococcus lactis*와 *L. brevis*의 히스티딘 탈탄산 효소의 활성

Table 4. Effects of antimicrobial substances-producing LAB on cadaverine and histamine formation of *E. aerogenes* CIH05 in skimmed milk and soy milk

Incubation condition	LAB	Cadaverine (mg/L)		Histamine (mg/L)	
		Skim milk	Soymilk	Skim milk	Soymilk
Control		501.7 ± 7.9	452.2 ± 20.5	$2,214.7 \pm 8.2$	$1,726.3 \pm 22.5$
Mixed culture	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	$425.9 \pm 20.7^*$	440.7 ± 23.0	$1,752.3 \pm 4.9^*$	$1,417.8 \pm 40.8$
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	$381.2 \pm 14.7^*$	$399.2 \pm 9.4^*$	$1,562.7 \pm 27.0^*$	$1,296.1 \pm 17.0^*$
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	493.5 ± 5.5	466.5 ± 19.9	$2,096.3 \pm 31.4$	$1,526.7 \pm 13.5$
Treatment of CFCS (10%)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	503.3 ± 15.8	470.8 ± 22.3	$2,164.5 \pm 5.5$	$1,801.2 \pm 12.3$
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	479.2 ± 30.9	447.9 ± 9.9	$2,043.1 \pm 14.1$	$1,623.5 \pm 5.9$
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	496.0 ± 23.8	438.2 ± 5.2	$2,355.7 \pm 6.3$	$1,599.5 \pm 32.4$
Treatment of bacteriocin (300 AU/ml)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> GK20	$441.5 \pm 11.8^*$	$403.6 \pm 11.5^*$	$1,788.2 \pm 7.1^*$	$1,219.2 \pm 20.6^*$
	<i>Lactobacillus paracasei</i> GK74	$391.2 \pm 7.8^*$	$372.4 \pm 12.9^*$	$1,428.3 \pm 16.9^*$	$1,163.0 \pm 19.9^*$
	<i>Lactobacillus plantarum</i> GK81	NT	NT	NT	NT

Data are means \pm SD from triplicate determinations.

*Significantly differ ($P < 0.05$) from the control group by Student's t-test.

CFCS, cell-free culture supernatant.

NT, not tested.

도 pH 약산성에서 더 높게 나타났다고 알려진 바 있다(Gardini *et al.*, 2016). Bargossi 등(2015)도 티로신 탈탄산 효소의 최대 활성은 pH 5.0~6.0에서 나타났고 pH 4.0 이하에서는 활성이 약해졌음을 확인하였다. 탈지유에서 배양한 *L. casei* TISTR 389는 배양 시간이 경과될수록 pH는 감소된 반면 BA 생성량은 오히려 증가되었으므로 치즈와 같이 숙성 시간이 오래 걸리면 유해 아민의 함량은 더욱 더 높아질 것이라고 고찰하였다(Priyadarshani and Rakshit, 2014). *L. brevis*의 티라민 생성능도 pH 5.0에서 가장 높게 나타났으며 pH 7.4에서도 배양 7 일 동안 92% 정도의 높은 활성을 유지하였다고 보고(Zhang and Ni, 2014)된 바 있는데 본 연구에서 유산균이 생산한 배양 상등액에 함유된 유기산으로는 BA 생성량을 낮추기 어렵다는 사실을 확인하였다. 그러나 다량의 유기산을 생성하여 배양액의 pH를 급속히 낮출 수 있는 유산균을 발효 스타터로 사용하면 아미노산 탈탄산 효소 생성 미생물의 증식을 억제하여 결국 BA 함량을 줄일 수 있다고 알려진 바 있는데(Zhang *et al.*, 2013), 본 연구에서도 다른 유산균들보다 유기산 생성량이 많은 *L. acidophilus* GK74의 배양 상등액이 BA 생성량을 감소시킨 것으로 판단된다.

L. mesenteroides subsp. *cremoris*와 *L. lactis* subsp. *lactis*는 *L. monocytogenes*의 티라민 생성량을 약 160% 증가시켰는데 이는 유산균도 아미노산 탈탄산 효소를 생성하여 오히려 BA 함량에 대한 상승작용을 하기도 한다. 하지만 *Pediococcus acidophilus*가 *Salmonella paratyphi*의 티라민 98%를 감소시켰는데 이는 유산균의 박테리오신이 BA 및 암모니아와 같은 부패산물의 생성량을 감소시킨 것이라고 보고(Özogul and Hamed, 2018)된 바 있어 본 연구에서도 박테리오신의 활성이 높은 균주에 의해 BA 생성량이 감소된 것으로 판단된다. 항균 물질이 미생물의 탈탄산 효소 활성에 직접적인 영향을 미치지 보다는 세균수를 감소시키기에 따라 BA의 생성량이 낮아지는 것으로 보고된 바 있다(Gardini *et al.*, 2016).

우유나 두유는 단백질이 풍부한 식품이므로 미생물 오염 시 단시간 내에 균수 급증과 유해 물질 생산으로 인하여 식중독이 유발되어 경제적 손실 및 공중 보건에 심각한 위협이 되고 있다(Benkerroum, 2016). 발효 과정 중 특정 미생물에 의해 생성된 BA의 함량 감소를 위해 주로 이용되는 물리화학적 방법은 물성이나 관능학적 품질 악화를 초래함으로써 사용에 한계가 있으므로 아민 함량을 효과적으로 감소시키고 식품의 조직감이나 영양학적 가치에 악영향을 주지 않는 실용적이고 경제적인 제조 공정 도입과 작업 환경 개선이 이루어져야 한다. 본 연구 결과에서 보듯이 유산균 중 일부는 아미노산 탈탄산

효소를 생산하는 것으로 밝혀졌으며, 특히 *Lactobacillus* 및 *Enterococcus* sp. 등은 원유 내에 다수 존재하여 살균 공정 중에도 생존하고 발효나 숙성 기간 동안 2차 오염으로도 유입되어 발효 유제품 내 BA 축적에 관여하는 대표적인 유산균으로 알려져 있다(Benkerroum, 2016). 그러므로 치즈나 요구르트와 같은 발효 식품 제조용 스타터인 유산균은 반드시 전구체 아미노산의 이용을 제한하도록 단백질 가수분해 활성이 약하고 아미노산의 탈탄산 효소 생성능이 없거나 아민 산화 효소 생성능을 가진 균주 이용을 권장한다. 또한 미생물의 단백질 가수분해력, 원료 내 전구체 아미노산의 종류와 함량 및 혼재하는 미생물의 항균 물질 생산에 따른 길항 작용 등에 영향을 받을 수 있으므로 BA 생산에 관여하는 인자들을 고려한 최적의 발효 조건 설정이 필요하다.

발효 유제품의 안전성 확보 및 강화와 생리 활성으로 인하여 건강에도 유익한 프로바이오틱 유산균을 활용함으로써 BA의 독성 위험을 최소화할 수 있을 것이다. 프로바이오틱 유산균은 발효 식품 제조 스타터나 배양 보조제로서 발효 과정 중 유기산, 디아세틸, 아세트인, 과산화수소 및 박테리오신 등 다양한 항균 물질을 생산하여 부패균이나 병원성 미생물에 대해 광범위한 항균 스펙트럼을 나타내며 식품에 적용 시 품질과 품미 개선 등 유익한 작용을 하고 오랜 기간 사용되어도 인체에 유해한 독성 인자가 확인되지 않았기에 이들은 QPS (Qualified Presumption of Safety) 및 GRAS (Generally Regarded as Safe) 등에도 등재되어 있다(Özogul and Hamed, 2018). 본 연구 결과 유산균의 항균 물질 생산량은 두유 보다는 탈지유 내에서 더 많았으므로 발효에 이용할 원료별 항균 물질 생산량을 조사하여 유해 아민 함량을 낮출 수 있도록 유산균의 증식과 항균 물질 생산을 위한 최적의 원료 선정도 선행되어야 할 것이다. 항균 물질 생산량을 증가시킬 수 있는 배양 조건 하에서 발효 및 숙성 시키고 유기산 생산량을 최대한으로 높이기 위한 혼합 균주 사용 및 박테리오신 생산 유산균을 물리화학적 처리 방법(보존제, 방사선 조사, 정수압 및 가스 치환 등)과 병용한 허들 테크놀로지 등에 적용함으로써 발효 식품의 안전성 확보와 부패 산물 생성 억제에 따른 식품의 저장성도 향상시킬 수 있을 것이다. 아울러 발효 및 숙성 과정 중 BA 생성의 주된 요인인 미생물의 오염을 방지하기 위해선 GMP (good manufacturing practice guide)나 HACCP (hazard analysis critical control point) 시스템을 도입하여 위생적인 제조 공정이 이루어져만 BA의 독성 위험을 감소시킬 수 있을 것이다.

적 요

본 연구의 목적은 탈지유와 두유 내에서 *Enterobacter aerogenes* CIH05의 증식과 바이오제닉 아민(biogenic amines, BA) 생성량에 대한 유산균의 영향을 조사하는 것이다. 갖김치로부터 분리된 *Lactobacillus acidophilus* GK20, *Lactobacillus paracasei* GK74 및 *Lactobacillus plantarum* GK81은 탈카르복시화 배지 상에서 BA를 생성하지 않았다. 탈지유와 두유 내에서 *L. paracasei* GK74에 의해 가장 많은 생균수와 항균 물질 생성량이 측정되었고, 반면 *L. plantarum* GK81은 다른 균주들에 비해 유의하게 낮은 균수와 항균 물질을 생산하였다. 유산, 과산화수소 및 박테리오신의 생산량은 *Lactobacillus*의 균종과 배지 종류에 의존하였다. 유산균과 유사하게 *E. aerogenes* CIH05도 단독 배양 시 두유보다 탈지유에서 더 많은 균수가 측정되었다. 탈지유와 두유 내에서 *L. acidophilus* GK20이나 *L. paracasei* GK74와 혼합 배양하거나 박테리오신 용액(300 AU/ml)을 처리했을 때 *E. aerogenes* CIH05의 균수가 유의하게 감소되었고 히스타민과 카다베린의 생성도 효과적으로 억제되었다.

References

- Alvarez MA and Moreno-Arribas MV. 2014. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trend Food Sci. Technol.* **39**, 146-155.
- Barbieri F, Montanari C, Gardini F, and Tabanelli G. 2019. Biogenic amine production by lactic acid bacteria: a review. *Foods* **8**, 17-43.
- Bargossi E, Gardini F, Gatto V, Montanari C, Torriani S, and Tabanelli G. 2015. The capability of tyramine production and correlation between phenotypic and genetic characteristics of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains. *Front. Microbiol.* **6**, 1371-1377.
- Benkerroum N. 2016. Biogenic amines in dairy products: origin, incidence, and control means. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety* **15**, 801-826.
- Bodmer S, Imark C, and Kneubühl M. 1999. Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. *Inflam. Res.* **48**, 296-300.
- Bover-Cid S and Holzapfel WH. 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **53**, 33-41.
- Capozzi V, Russo P, Ladero V, Fernández M, Fiocco D, Alvarez MA, Grieco F, and Spano G. 2012. Biogenic amines degradation by *Lactobacillus plantarum*: toward a potential application in wine. *Front. Microbiol.* **3**, 1-6.
- De Llano DG, Cuesta P, and Rodriguez A. 1998. Biogenic amine production by wild lactococcal and leuconostoc strains. *Let. Appl. Microbiol.* **26**, 270-274.
- Devi SM, Ramaswamy AM, and Halami PM. 2014. *In situ* production on pediocin PA-1 like bacteriocin by different genera of lactic acid bacteria in soymilk fermentation and evaluation of sensory properties of the fermented soy curd. *J. Food Sci. Technol.* **51**, 3325-3332.
- Eerola S, Hinkkanen R, Lindfors E, and Hirvi T. 1993. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.* **75**, 575-577.
- Gardini F, Özogul Y, Suzzi G, Tabanelli G, and Özogul F. 2016. Technological factors affecting biogenic amine content in foods: a review. *Front. Microbiol.* **7**, 1-18.
- Gardini F, Tofalo R, Belletti N, Iucci L, Suzi G, Torriani S, Guerzoni ME, and Lanciotti R. 2006. Characterization of yeasts involved in the ripening of Pecorino Crotonese cheese. *Food Microbiol.* **23**, 641-648.
- Gilliland SE. 1969. Enzymatic determination of residual hydrogen peroxide in milk. *J. Dairy Sci.* **52**, 321-324.
- Hati S, Patel N, and Mandal S. 2018. Comparative growth behavior and biofunctionality of lactic acid bacteria during fermentation of soy milk and bovine milk. *Probiotics Antimicrob. Proteins* **10**, 277-283.
- Hole H, Nilssen O, and Nes IF. 1991. Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: Isolation and characterization of the protein and its gene. *J. Bacteriol.* **173**, 3879-3887.
- Joosten H and Nuñez M. 1996. Prevention of histamine formation in cheese by bacteriocin-producing lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 1178-1181.
- Kimura B, Konagaya Y, and Fujii T. 2001. Histamine formation by *Tetragenococcus muritatus*, a halophilic lactic acid bacterium isolated from fish sauce. *Int. J. Food Microbiol.* **70**, 71-77.
- Kongkiattikajom J. 2015. Potential of starter culture to reduce biogenic amines accumulation in *som-fug*, a Thai traditional fermented fish sausage. *J. Ethn. Food* **2**, 186-194.
- Lim ES. 2018. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against biogenic amine-producing *Bacillus* spp. isolated from traditional fermented soybean paste. *Korean J. Microbiol.* **54**, 398-409.
- Lim SM, Jeong KS, Lee NG, Park SM, and Ahn DH. 2011. Synergy effects by combination with lactic acid bacteria and fructooligosaccharides on the cell growth and antimicrobial activity. *Food Sci. Biotechnol.* **20**, 1389-1397.
- Lim ES and Lee NG. 2016. Control of histamine-forming bacteria by probiotic lactic acid bacteria isolated from fish intestine. *Korean J. Microbiol.* **52**, 352-364.
- Linares DM, Martín MC, Ladero V, Alvarez MA, and Fernandez M. 2011. Biogenic amines in dairy products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **51**, 629-703.
- Mah JH, Ahn JB, Park JH, Sung HC, and Hwang HJ. 2003. Characterization of biogenic amine-producing microorganisms isolated from Myeolchi-Jeot, Korean salted and fermented anchovy. *J. Microbiol. Biotechnol.* **13**, 692-699.

- Nugrahani A, Hardoko A, and Hariati AM.** 2016. Characterization of bacteriocin *Lactobacillus casei* on histamine-forming bacteria. *J. Life Sci. Biomed.* **6**, 15–21.
- Özogul F and Hamed I.** 2018. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **58**, 1660–1670.
- Papadimitriou K, Alegria A, Bron PA, De Angelis M, Gobetti M, Kleerebezem M, Lemos JA, Linares DM, Ross P, Stanton C, et al.** 2016. Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **80**, 837–887.
- Pircher A, Bauer F, and Paulsen P.** 2007. Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacterial isolated from mean, fermented sausages and cheeses. *Eur. Food Res. Technol.* **226**, 225–231.
- Priyadarshani WMD and Rakshit SK.** 2014. Growth and biogenic amine (histamine and tyramine) potential of probiotic *Lactobacillus casei* in skim milk. *Am. J. Food Technol.* **9**, 69–79.
- Quinto EJ, Jiménez P, Caro I, Tejero J, Matero J, and Gorbés T.** 2014. Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food Nutr. Sci.* **5**, 1765–1775.
- Russo P, De Palencia PF, Romano A, Fernández M, Lucas P, Spano G, and López P.** 2012. Biogenic amine production by the wine *Lactobacillus brevis* IOEB 9809 in systems that partially mimic the gastrointestinal tract stress. *BMC Microbiol.* **12**, 247–256.
- Settanni L, Massitti O, Van Sinderen D, and Corsetti A.** 2005. *In situ* activity of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* strain. Influence on the interactions between lactic acid bacteria during sourdough fermentation. *J. Appl. Microbiol.* **99**, 670–681.
- Shah NP and Ravula RR.** 2002. Influence of water activity on fermentation, organic acids production and viability of yogurt and probiotic bacteria. *Aust. J. Dairy Technol.* **55**, 127–131.
- Shalaby AR.** 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* **29**, 675–690.
- Zhang Q, Lin S, and Nie X.** 2013. Reduction of biogenic amine accumulation in silver carp sausage by an amine-negative *Lactobacillus plantarum*. *Food Cont.* **32**, 496–500.
- Zhang K and Ni Y.** 2014. Tyrosine decarboxylase from *Lactobacillus brevis*: soluble expression and characterization. *Protein Expr. Purif.* **94**, 33–39.