



REVIEW

유산균의 곰팡이 억제 활성

설국환 · 유지연 · 윤정희 · 오미화 · 함준상*

농촌진흥청 국립축산과학원

Inhibitory Activity of Lactic Acid Bacteria against Fungal Spoilage

Kuk-Hwan Seol, Jayeon Yoo, Jeonghee Yun, Mi-Hwa Oh, and Jun-Sang Ham*

National Institute of Animal Science, RDA, Wanju, Korea



Received: June 18, 2019
Revised: June 24, 2019
Accepted: June 26, 2019

*Corresponding author :
Jun-Sang Ham
National Institute of Animal Science,
RDA, Wanju, Korea
Tel : +82-63-238-7366
Fax : +82-63-238-7397
E-mail : hamjs@korea.kr

Copyright © 2019 Korean Society of Milk Science and Biotechnology.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Kuk-Hwan Seol
<https://orcid.org/0000-0002-0907-882X>
Jayeon Yoo
<https://orcid.org/0000-0003-3593-5191>
Jeonghee Yun
<https://orcid.org/0000-0001-5929-0055>
Mi-Hwa Oh
<https://orcid.org/0000-0001-7838-5260>
Jun-Sang Ham
<https://orcid.org/0000-0003-4966-6631>

Abstract

Food spoilage by fungi is responsible for considerable food waste and economical losses. Among the food products, fermented dairy products are susceptible to deterioration due to the growth of fungi, which are resistant to low pH and can proliferate at low storage temperatures. For controlling fungal growth in dairy products, potassium sorbate and natamycin are the main preservatives used, and natamycin is approved by most countries for use in cheese surface treatment. However, a strong societal demand for less processed and preservative-free food has emerged. In the dairy products, lactic acid bacteria (LAB) are naturally present or used as cultures and play a key role in the fermentation process. Fermentation is a natural preservation technique that improves food safety, nutritional value, and specific organoleptic features. Production of organic acids is one of the main features of the LAB used for outcompeting organisms that cause spoilage, although other mechanisms such as antifungal peptides obtained from the cleavage of food proteins and competition for nutrients also play a role. More studies for better understanding these mechanisms are required to increase antifungal LAB available in the market.

Keywords

antifungal activity, lactic acid bacteria, fermentation, biopreservation

서론

유산균은 수 천년동안 빵, 채소 및 유제품 같은 식품을 부패 미생물로부터 보호하는데 사용되어 왔다. 최근에 식품 보존을 위해 항미생물 활성이 있는 새로운 유산균 스트레인을 찾는데 관심이 높아지고 있다(Leyva Salas 등, 2017; Olonisakin 등, 2017; Russo 등, 2017). 그런데, 유산균이 생산한 생리활성 화합물의 동정과 정량을 포함하여 항균 활성의 배경 원리를 이해하는데 대한 관심도 증가하고 있다(Schnurer와 Manusson, 2005; Crowley 등, 2013). 유산균은 항균활성을 갖는 다양한 화합물을 생산할 수 있다. 유산균이 생산하는 개별 화합물은 억제 활성을 보이기에 부족한 양이지만, 이들 화합물의 조합에 의한 상승적 또는 부가적 생리활성 때문에 억제활성이 나타날 수 있다(Siedler 등, 2019). 저분자성 대사산물뿐만 아니라, 펩타이드들이 유산균의 항곰팡이 활성으로 보고되고 있다. 이러한 항곰팡이 펩타이드들은 유산균이 새롭게 합성하는 것이 아니라, 주변(예, 우유 단백질)에 있는 단백질의 가수분해로 생산된다. 만약 우유 단백질이 생리활성 펩타이드로 분해되어 병원성 미생물 생장을 억제한다면 이는 포유동물에 이로운 공진화 효과(co-evolutionary effect)가 될 것이다. 본 원고에서는 유산균에 의한 곰팡이 억제 활성에 대한 연구들을 소개하고자 한다.

본 론

1. 박테리아 대사 유래 화합물

과거에 유산균이 생산하는 여러 가지 향미생물 화합물이 동정되고 개별적으로 부패미생물의 억제 가능성이 밝혀졌다(Table 1). 이들 화합물은 단순 유기산과 일차 대사산물에서 단백질 분해뿐만 아니라 생물적 전환이나 펩타이드 합성에서 유래된 매우 복잡한 화합물까지 다양하다. 유산균이 생산하는 가장 중요하고 향미생물 특성이 밝혀진 것은 젖산과 아세트산이다. 이들은 낮은 pH에서 수소화되었을 때 활성적이며(Arena 등, 2016), 상승적으로 작용할 수 있다(Narendranath, 2001). 다른 유산균 대사 물질들은 비록 특정 효과를 정량화하기 어려우나, 유산균의 전체적인 향미생물 능력에 기여한다

Table 1. List of compounds derived from LAB metabolic activity and their antimicrobial spectrum (Siedler et al., 2019)

Compound	Producing microorganisms	Pathway	Target	Ref.
Lactic acid	All LAB	C ¹⁾	Yeasts, Gram±	
Acetic acid	Heterofermentative LAB	C	Yeasts, Gram±	
Benzoic acid	<i>L. plantarum</i>	S, B	Fungi, Gram-	Garniene et al., 2010
Azelacid acid	<i>L. reuteri</i> 5529, <i>P. freudenreichii</i> L. saci 68 and <i>L. spicheri</i> O15		Bacteria	Le Lay et al., 2016
Propionic acid	<i>L. buchneri</i> , <i>L. diolivorans</i>	C	Fungi	Corsetti et al., 1998
Cinnamic acid derivatives	<i>L. amylovorus</i> DSM 19280	O	Fungi	Brosnan et al., 2012; Ryan et al., 2011
Salicylic acid	<i>L. amylovorus</i> DSM 19280	O, B	Fungi	Broberg et al., 2007; Ryan et al., 2011
Vanillic acid	<i>Lactobacillus</i>	O		Brosnan et al., 2012
p-Coumaric acid ²⁾	<i>L. reuteri</i> , <i>L. plantarum</i> ²⁾	O		Broberg et al., 2007; Guo et al., 2012
Diacetyl				
Acetaldehyde	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i>	C	Yeasts, Gram±	Aunsbjerg et al., 2015
Acetoin	<i>Pediococcus</i>			
Hydrogen peroxide	All LAB	C	Yeasts, Gram±	Lindgren et al., 1990
Carbon dioxide	Heterofermentative LAB	C		Lindgren et al., 1990
Ethanol	Heterofermentative LAB	C		Eishaghabee et al., 2016
Reuterin/acrolein	<i>L. reuteri</i>	C	Fungi, protozoa, Gram±	Cleusix et al., 2007; Engels et al., 2016
3-Hydroxy fatty acids		C		Black et al., 2013
Reutericyclin	<i>L. reuteri</i>	S	Gram+	Ganzle et al., 2003
Cyclic dipeptides	<i>L. plantarum</i> , <i>L. pentosus</i>	S	Fungi	Niku-Paavola et al., 1999; Ryan et al., 2009; Strom et al., 2002
3-Phenyllactic acid	<i>L. plantarum</i> , <i>Lb. slimentarius</i> , <i>L. rhamnosus</i>	S		
4-Hydroxyphenyllactic acid	<i>Lb. sanfransiscensis</i> , <i>L.hilgardii</i> , <i>Leuconostoc citreum</i> , <i>L.brevis</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	S	Fungi	Ryan et al., 2009; Strom et al., 2002
2-Hydroxy-4-methylpentanoic acid	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i>	S	Fungi	Broberg et al., 2007; Honore et al., 2016; Ndagano et al., 2011
2-Hydroxy acids	<i>L. paracasei</i>	S	Fungi	Honore et al., 2016
Methylhydantoin		S		
Mevalonolactone	<i>L. plantarum</i>	S	Fungi, Gram-	Niku-Paavola et al., 1999
δ-Dodecalactone	<i>L. plantarum</i>	S	Fungi, Gram±	Yang et al., 2011

¹⁾ Abbreviations: C, central carbon metabolism; S, secondary carbon metabolism; B, bioconversion; O, other/no *de novo* synthesis.

²⁾ Hypothetic release from grass after addition of LAB (Broberg et al., 2007).

(Lindgren과 Dobrogosz, 1990). 대부분의 유기산이 중심 탄소 대사를 통해 생산되는 반면, 다른 억제 물질들은 2차 대사나 생물적 전환에 의해 생산된다. 몇 가지 단일 화합물의 억제 배경 기작이 자세히 연구되었고, 막 불안정화(Sjogren 등, 2003), 양성자 기울기 간섭(Kashket, 1987; Vandenbergh, 1993; Ganzle과 Vogel, 2003), 효소 억제(Lindgren과 Dobrogosz, 1990), 활성 산소의 방출을 포함한다(Lindgren과 Dobrogosz, 1990; Schaefer 등, 2010). 그러나, 이들 연구는 상승적 그리고/또는 부가적 효과보다는 개별적 연구에만 초점을 맞추었다.

2. 상승적/부가적 효과

새로운 생리활성 물질의 동정은 도전적이고, 더 높은 감도와 더 효과적인 분리법(예, GC-MS, HPLC-MS/MS)의 개발이 복잡한 용액내에 존재하는 낮은 농도의 유기 화합물을 검출하는 열쇠이다. 여러 가지 연구에서 유산균 상등액내 10개 이상의 향미생물체가 동정되었다(Broberg 등, 2007; Ryan 등, 2011; Brosnan 등, 2012; Guo 등, 2012). 그런데, 유산균이 생산하는 향곰팡이 화합물은 실험실에서 개별적으로 측정시 억제 효과를 나타내는 농도보다 상당히 낮게 보고되고 있기 때문에 개별적인 공헌을 정량화하기는 어렵다(Table 2).

이처럼 개별적 화합물들이 높은 최소억제 농도(MIC) 값을 갖는 것은 향곰팡이 효과가 단일물질에 의해 일어나는 것이 아니라, 여러가지 화합물들이 상승적 또는 부가적 효과에 의해 작용하기 때문이라는 것을 의미한다. 사실, 때때로 상승적으로 작용하는 몇몇 화합물의 조합만이 억제 효과를 보인다(Corsetti 등, 1998). 이러한 높은 MIC 수치는 부가적 효과가 상실되거나 그 농도가 평균 활성을 검출하기에 너무나 낮기 때문에 생물정량에 따른 분획기술로 화합물 동정을 못하게 될 수 있다. Corsetti 등(1998)은 발효 반죽에서 분리한 유산균의 곰팡이 억제를 보고했다. 그들은 *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1의 억제효과에 유기산 조합, 즉, 아세트산, 카프로익산, 개미산, 프로피온산, 뷰티르산, 그리고 발레릭산이 상승적으로 작용함을 발견했다. *L. sanfranciscensis*가 생산한 산의 개별 농도에서 *Fusarium graminearum* 623을 억제하지 않았으나, 이들 조합은 곰팡이를 강하게 억제하였다. 그런데, 이러한 결과가 다른 연구에서 확인되지는 않았다. Niku-Paavola 등(1999)은 *L. plantarum* 배양 여액의 활성 분획에서 벤조익산, methylhydantoin, mevalonolactone과 cyclo(glycyl-L-leucyl)를 동정하였다. 화합물 각각은 전체의 10%-15% 억제를 나타낸 반면, 화합물의 조합과 1% 젖산은 *Pantoea agglomerans*를 완전히 억제하였다(Niku-Paavola 등, 1999). 최근 연구에서 Le Lay 등(2016)은 밀가루 분해 배지내 *Leuconostoc citreum* L123, *Lactobacillus brevis* Lu35, *Lactobacillus reuteri* 5529, 그리고 *Lactobacillus spicheri* O15 등의 혼합 배양을 통해 생산된 화합물들을 분석하고, *Lactobacillus casei* Lu55의 단일 배양에 의해 생산된 화합물과 그 효능을 비교하였다. 동정된 화합물의 다양한 조합은 *Penicillium corylophilum*과 *Eurotium repens*의 분생자 발아 및 생장에 미치는 효과 평가에 사용되었다. 그들은 단독배양된 배양물 상등액과 같은 정도의 활성을 나타내는 일부 조합이 있음을 발견하고, 혼합배양을 통해 생산된 향곰팡이 효능이 있는 어떤 동일한 물질이 세균의 단독배양 상등액 중에도 포함되어 있을 것이라고 제안하였다.

요약하면, 젖산 및 아세트산과 함께 에탄올과 과산화수소의 적절한 조합을 통해 향곰팡이 효능이 회복됨을 확인하였다. 흥미롭게도 다른 화합물(예, phenyllactic acid, hydroxyphenyllactic acid 그리고 azelaic acid)의 추가는 향곰팡이 활성을 낮추어 이들 화합물이 억제기작에 역할이 없음을 제안한다. 아세트산을 제외하면 최저의 향곰팡이 활성을 나타낸다(Le Lay, 2016). 다른 화합물들이 MIC 값보다 낮은 농도로 생산된다(Le Lay, 2016)것과 달리 아세트산은 MIC 값과 유사한 농도로 발견되었다(Leon Pelaez 등, 2012). 부패미생물을 억제하는 용액으로써 화합물의 조합은 이미 상업적 흥미를 끌었다. 예를 들어 효모, 곰팡이 그리고 박테리아의 성장을 억제하는 diacetyl(0.05% w/v)과 cinnamic aldehyde(0.0025% w/v)의 조합은 최근에 특허 출원되었다(WO 2011095372A1). 흥미

Table 2. Compounds produced by lactic acid bacteria and their individual minimal inhibitory concentration (MIC) values against yeast, mould and bacteria as well as the reported production concentration in LAB. The concentration produced are highly dependent on the conditions used and should only be considered as an indicator (Siedler *et al.*, 2019)

Compound	MIC yeast (mM)	MIC mould (mM)	MIC bac ³⁾ (mM)	Reference	Produced (mM)	Reference
Lactic acid	278	274-405	2-11	Leon Pelaez <i>et al.</i> , 2012; Narendranath <i>et al.</i> , 2001; Ostling <i>et al.</i> , 1993	55	Le Lay <i>et al.</i> , 2016
Acetic acid	100	38-41; 80 8.3	0.5-14	Corsetti <i>et al.</i> , 1998; Leon Pelaez <i>et al.</i> , 2012; Narendranath <i>et al.</i> , 2001; Ostling <i>et al.</i> , 1993; Stratford <i>et al.</i> , 2009	5-40	Aunbjerg <i>et al.</i> , 2015 Corsetti <i>et al.</i> , 1998; Le Lay <i>et al.</i> , 2016
Benzoic acid	10		1.27 ¹⁾	Arroyo-Lopez <i>et al.</i> , 2008	0.19	Urbiene & Leskauskaitė, 2006; Yu <i>et al.</i> , 2016
Azelacid acid			4.5 10.6-21.3	Farmery <i>et al.</i> , 1994; Maple <i>et al.</i> , 1992	0.01	Le Lay <i>et al.</i> , 2016
Succinic acid	200-500			Schwenninger <i>et al.</i> , 2008	29-300	Ozcelik <i>et al.</i> , 2016; Schwenninger <i>et al.</i> , 2008
Propionic acid		8.1		Corsetti <i>et al.</i> , 1998	54	Zhang <i>et al.</i> , 2010
Formic acid	21-43	19.5	0.1-1.5	Corsetti <i>et al.</i> , 1998; Lastauskiene <i>et al.</i> , 2014; Ostling <i>et al.</i> , 1993	1.5-27	Corsetti <i>et al.</i> , 1998; Ozcelik <i>et al.</i> , 2016; Rizzello <i>et al.</i> , 2011
Ethanol		434		Berni & Scaramuzza, 2013	80	Elshagabee <i>et al.</i> , 2016
Diacetyl	1.45-2.9	0.005-0.7	0.005-0.011	Aunbjerg <i>et al.</i> , 2015	0.15-0.7	Aunbjerg <i>et al.</i> , 2015
Hydrogen peroxide	4.4-80		1-2	Brudzynski <i>et al.</i> , 2011 ; Larsen <i>et al.</i> , 1995	0.0006	Le Lay <i>et al.</i> , 2016
Reuterin/acrolein			8-50	Cleusix <i>et al.</i> , 2007		
Reutericyclin	0.3-2.8 ¹⁾			Ganzle <i>et al.</i> , 2003	14 ¹⁾	Ganzle <i>et al.</i> , 2003
Cyclo (L-Phe-L-Pro)	0.08			Strom <i>et al.</i> , 2002		
3-Phenyllactic acid	50-500 ³⁾ , 55			Schwenninger <i>et al.</i> , 2008; Strom <i>et al.</i> , 2002	<7 0.57	Schwenninger <i>et al.</i> , 2008; Valerio <i>et al.</i> , 2004
4-Hydroxyphenyllactic acid	50-500 ²⁾			Schwenninger <i>et al.</i> , 2008	<7	Schwenninger <i>et al.</i> , 2008
3-Hydroxy fatty acids	<0.46	<0.46		Sjogren <i>et al.</i> , 2003	0.009	Sjogren <i>et al.</i> , 2003
Indolelactic acid		24		Honore <i>et al.</i> , 2016	0.02	Honore <i>et al.</i> , 2016
2-Hydroxy-(4-methylthio)butanoic acid		66		Honore <i>et al.</i> , 2016	0.029	Honore <i>et al.</i> , 2016
2-Hydroxy-3-methylbutanoic acid		42		Honore <i>et al.</i> , 2016	0.2	Honore <i>et al.</i> , 2016
2-Hydroxy-4-methylbutanoic acid		38		Honore <i>et al.</i> , 2016	0.49	Honore <i>et al.</i> , 2016
δ-Dodecalactone	3.2-4.2	1.7-3.2	3.9-31	Yang <i>et al.</i> , 2011		

¹⁾ μM.

²⁾ pH-dependent.

³⁾ Bacteria.

롭게도 유산균이 생산한 향미생물 화합물의 조합효과에 대한 배경지식 이해를 위한 연구는 드물다. 게다가, 이들 화합물의 다수가 약한 산이고, pH 조절 조건하에서 효과가 거의 설명되지 않았다. MIC 값은 억제가능성을 나타내는데 사용될 수 있으나, MIC가 같은 효모나 곰팡이 스트레인을 사용하여 표준화된 조건에서 측정된 것이 아니기 때문에 직접적 비교는 제한된다(Table 2). 같은 종이라도

특정 분자에 대한 민감도는 크게 변이가 있을 수 있고, 다른 실험실에서 분석의 재현을 매우 어렵게 만든다(Zerva와 Hollis, 1996). 특히, 식품 유래 부패 미생물은 또다른 분리된 원종보다 종종 젖산에 높은 저항성을 가진다(Qvirist 등, 2016). 생리활성 물질의 기작과 상승 또는 부가적 효과를 더 잘 이해하기 위해서는 일반 부패 효모와 곰팡이의 생리에 대한 이해가 필요하다. 게다가, 식품적용을 위해서는 발효제품의 관능 특성에 대한 항미생 화합물의 영향을 고려할 필요가 있다. 예를 들어, 아세트산은 잘 허용된 식품 보존제이나 소비자들이 발효유에서 빙초산 같은 맛을 좋아하지는 않는다.

3. 단백질 화합물

유산균이 생산하는 단백질 화합물은 리보솜(RSPs)과 비-리보솜(NRPs) 펩타이드 뿐만 아니라, 단백질의 효소적 가수분해에 의해 생산된 펩타이드를 포함한다. 박테리옌 같은 리보솜 합성 펩타이드는 잘 고찰된바 있으므로(De Vuyst와 Leroy, 2007; Yang 등, 2012), 식품 단백질 분해로 유도된 항곰팡이 펩타이드(AFPs)에 대해 고찰하겠다. AFPs는 항미생물 펩타이드(AMPs)의 한 그룹이다(Rautenbach 등, 2016). AFPs는 곰팡이 감염에 특정하고 활성적이고 목표 병원균이 저항성을 만들지 않는다(Yeaman과 Yount, 2003; Faruck 등, 2016). 지금까지, 식품 단백질 가수분해물에서 여러 가지 AFPs가 정제되고 동정되었다(Liu 등, 2007). 몇몇 AFPs는 케피어나 발효크림 같은 발효 유제품에서 유래되었지만, 많은 AFPs는 맥아 발효 반죽(Rizzello 등, 2011), 그리고 중국 전통 발효육(*Nanx Wud*)(Chen 등, 2014)에서 동정되었다. 최근에 Song 등(2017)은 민어(*Collichthys lucidus*) 발효 부산물에서 항곰팡이 펩타이드의 정제를 보고하였다. 이 펩타이드의 이론적 분자량은 2,373.75 Da이고, *Pestalotiopsis* 종에 MIC 값이 0.82 mg/mL인 항곰팡이 활성을 나타내었다. 우유 유래 항곰팡이 활성에 대해 많이 연구되었고, 대부분 락토펙린(Lf)에서 유래된 것으로 동정되었다(Fernandes와 Carter, 2017). 락토펙린 유래 주요 펩타이드인 락토펙리신(Lfcin)은 양으로 하전되고, 소수성 잔기를 많이 가지며, 락토펙린보다 항균활성이 높다(Gifford 등, 2005). Bellamy 등(1993)은 Lfcin 작용의 일차 기작은 곰팡이 표면과의 직접적인 상호작용에 의한 곰팡이 막의 파괴라고 보고하였다. 다른 중요한 펩타이드는 Lf의 N-말단을 구성하는 Lf(1-11) 펩타이드이고, *Candida albicans*와 *Aspergillus fumigatus* 억제활성을 보인다(Lupetti 등, 2000). Lf(1-11)의 작용기작도 곰팡이 막과의 상호작용에 의존하는 것으로 나타난다(Bruni 등, 2016). α_{s1} -케이신을 pH 6.4에서 키모신으로 분해시 생성되는 Isracidin은 그람 양성 및 음성 박테리아 모두 억제할 수 있다(Hill 등, 1974). 또한, Lahov와 Regelson(1996)은 isracidin이 쥐의 식균작용과 면역반응을 자극하여 *C. albicans*로부터 보호할 수 있다고 보고했다. 우유 단백질이 인체 소화효소인 트립신과 키모신에 의해 분해되어 유도되는 펩타이드는 많이 보고되었으나(Sah 등, 2018), 유산균 유래 단백질 분해효소에 의한 AFPs 생산에 대한 연구는 많지 않다. 최근에 α_{s2} -케이신에서 생리활성 펩타이드인 SSSEESII 생산과 관련된 metalloprotease를 *Lactobacillus lactis*에서 동정하였다. 게다가, β -케이신 분해로 유도되는 생리활성 펩타이드(DMPIQAFLLY)가 최근에 *L. rhamnosus*와 *L. paracasei*를 함유하는 발효 크림에서 동정되었다(Bougherra 등, 2017).

4. 영양소에 대한 경합

항미생물 화합물의 생산은 부패 미생물을 억제하는데 가장 널리 사용되는 기작이다. 그런데, 항미생물 화합물의 농도가 개별적 억제 농도 이하라는 것을 고려하면, 다른 기작을 추측하는 것이 타당하다. 그런 기작의 하나는 영양소에 대한 경합으로 부패미생물과 유산균이 가용한 영양소에 대해 경쟁하는 것으로 단독 또는 생리활성 화합물과 조합 기작이다. 유산균은 성장배지에서 필수적인 영양소를 제한 또는 고갈시켜 효과적으로 부패 미생물의 성장을 억제할 수 있다. Honore 등(2016)은 *L. paracasei* 3개 균주의 대사를 소비를 측정하였고, 성장 억제 차이와의 상관을 구명하였다. 이들 유산간균에 의

한 포도당과 글루타민의 소비는 부패 곰팡이의 성장과 역의 상관성이 있었다. 인체에서 경쟁적 배제는 ‘영양적 면역’으로 기술되고, 특정 신체 틈새에서 철과 아연의 고갈은 병원성 곰팡이 생장의 억제를 나타낸다(Gerwien 등, 2018). 다양한 식품내에서 어느 정도까지 경쟁적 배제에 의해 유산균이 항공팡이 효과를 나타내는지에 대해 자세히 연구되지 못했고, 또한 이 기작이 전체적인 생물학적 보존기작에 기여하는 역할에 대해서는 추가적인 연구를 통해 밝혀져야 할 부분이다.

결론

곰팡이에 의한 식품 부패는 상당한 식품 쓰레기 및 경제적 손실을 유발한다. 식품 중에서 발효유제품이 낮은 pH와 낮은 온도(10℃ 이하)에서 자랄 수 있는 곰팡이에 영향을 받을 수 있다. 유제품의 곰팡이 조절을 위해 potassium sorbate와 natamycin이 주요 보존제로 사용되며, natamycin은 대부분의 나라에서 치즈 표면 처리 용도로 승인되고 있다. 그러나 사회적으로는 보존제가 없는 제품에 대한 요구가 강해지고 있다. 유제품에서 유산균은 천연적으로 존재하거나 사용되어 발효 공정에 중요한 역할을 하며, 발효는 “천연” 보존기술로 식품이 안전성, 영양적 가치, 그리고 관능적 특성을 개선한다. 유기산 생산은 유산균이 부패 미생물을 억제하는 주요 방법이지만, 유산균의 생육 환경인 식품 단백질의 분해를 통한 항공팡이 펩타이드 생산이나 영양소에 대한 경합 같은 다른 기작들도 있다. 항공팡이 활성 유산균의 상업적 활용성 증진을 위해 배경 기작에 대해 더 많은 연구가 필요하다고 생각한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 치즈 숙성 중 곰팡이 오염 저감화 연구, PJ01252501)에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Arena, M. P., Silvain, A., Normanno, G., Grieco, F., Drider, D., Spano, G. and Fiocco, D. 2016. Use of *Lactobacillus plantarum* strains as a bio-control strategy against food-borne pathogenic microorganisms. *Front. Microbiol.* 7:464.
- Arroyo-Lopez, F. N., Bautista-Gallego, J., Duran-Quintana, M. C. and Garrido-Fernandez, A. 2008. Modelling the inhibition of sorbic and benzoic acids on a native yeast cocktail from table olives. *Food Microbiol.* 25:566-574.
- Aunbjerg, S. D., Honore, A. H., Marcussen, J., Ebrahimi, P., Vogensen, F. K., Benfeldt, C., Skov, T. and Knochel, S. 2015. Contribution of volatiles to the antifungal effect of *Lactobacillus paracasei* in defined medium and yogurt. *Int. J. Food Microbiol.* 194:46-53.
- Bellamy, W., Wakabayashi, H., Takase, M., Kawase, K., Shimamura, S. and Tomita, M. 1993. Killing of *Candida albicans* by lactoferricin B, a potent antimicrobial peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *Med. Microbiol. Immunol.* 182:97-105.
- Berni, E. and Scaramuzza, N. 2013. Effect of ethanol on growth of *Chrysonilia sitophila* (‘the red bread mould’) and *Hyphopichia burtonii* (‘the chalky mould’) in sliced bread. *Lett. Appl. Microbiol.* 57:344-349.

- Black, B. A., Zannini, E., Curtis, J. M. and Ganzle, M. G. 2013. Antifungal hydroxy fatty acids produced during sourdough fermentation: microbial and enzymatic pathways, and antifungal activity in bread. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:1866-1873.
- Bougherra, F., Dilmi-Bouras, A., Balti, R., Przybylski, R., Adoui, F., Elhameur, H., Chevalier, M., Flahaut, C., Dhulster, P. and Naima, N. 2017. Antibacterial activity of new peptide from bovine casein hydrolyzed by a serine metalloprotease of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BR16. *J. Funct. Foods.* 32:112-122.
- Broberg, A., Jacobsson, K., Strom, K. and Schnurer, J. 2007. Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:5547-5552.
- Brosnan, B., Coffey, A., Arendt, E. K. and Furey, A. 2012. Rapid identification, by use of the LTQ Orbitrap hybrid FT mass spectrometer, of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria. *Anal. Bioanal. Chem.* 403:2983-2995.
- Brudzynski, K., Abubaker, K., St-Martin, L. and Castle, A. 2011. Re-examining the role of hydrogen peroxide in bacteriostatic and bactericidal activities of honey. *Front. Microbiol.* 2:213.
- Bruni, N., Capuccino, M. T., Biasibetti, E., Pessione, E., Cirrincione, S., Giraud, L., Corona, A. and Dosio, F. 2016. Antimicrobial activity of lactoferrin-related peptides and applications in human and veterinary medicine. *Molecules.* 21:752.
- Chen, C., Chen, X., Jiang, M., Rui, X., Li, W. and Dong, M. 2014. A newly discovered bacteriocin from *Weissella hellenica* D1501 associated with Chinese Dong fermented meat (Nanx Wudl). *Food Control.* 42:116-124.
- Cleusix, V., Lacroix, C., Vollenweider, S., Duboux, M. and Le Blay, G. 2007. Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. *BMC Microbiol.* 7:101.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., Rossi, J. and Damiani, P. 1998. Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50:253-256.
- Crowley, S., Mahony, J. and van Sinderen, D. 2013. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends Food Sci. Technol.* 33:93-109.
- De Vuyst, L. and Leroy, F. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 13:194-199.
- Elshaghabee, F. M., Bockelmann, W., Meske, D., de Vrese, M., Walte, H. G., Schrezenmeir, J. and Heller, K. J. 2016. Ethanol production by selected intestinal microorganisms and lactic acid bacteria growing under different nutritional conditions. *Front. Microbiol.* 7:47.
- Engels, C., Schwab, C., Zhang, J., Stevens, M. J., Bieri, C., Ebert, M. O., McNeill K., Sturla, S. J. and Lacroix C. 2016. Acrolein contributes strongly to antimicrobial and heterocyclic amine transformation activities of reuterin. *Sci. Rep.* 6:36246.
- Farmery, M., Jones, C., Eady, E., Cove, J. and Cunliffe, W. 1994. *In vitro* activity of azelaic acid, benzoyl peroxide and zinc acetate against antibiotic-resistant propionibacteria from acne patients. *J. Dermatolog. Treat.* 5:63-65.
- Faruck, M. O., Yusof, F. and Chowdhury, S. 2016. An overview of antifungal peptides

- derived from insect. Peptides. 80:80-88.
- Fernandes, K. E. and Carter, D. A. 2017. The antifungal activity of lactoferrin and its derived peptides: mechanisms of action and synergy with drugs against fungal pathogens. *Front. Microbiol.* 8:2.
- Ganzle, M. G. and Vogel, R. F. 2003. Studies on the mode of action of reutericyclin. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:1305-1307.
- Garmiene, G., Salomskiene, J., Jasutiene, I., Macioniene, I. and Miliauskiene, I. 2010. Production of benzoic acid by lactic acid bacteria from *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus* genera in milk. *Milchwissenschaft.* 65:295-298.
- Gerwien, F., Skrahina, V., Kasper, L., Hube, B. and Brunke, S. 2018. Metals in fungal virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* 42:1-21.
- Gifford, J. L., Hunter, H. N. and Vogel, H. J. 2005. Lactoferricin: a lactoferrin-derived peptide with antimicrobial, antiviral, antitumor and immunological properties. *Cell Mol. Life Sci.* 62:2588-2598.
- Guo, J., Brosnan, B., Furey, A., Arendt, E., Murphy, P. and Coffey, A. 2012. Antifungal activity of *Lactobacillus* against *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum* and *Epidermophyton floccosum*. *Bioeng. Bugs.* 3:104-113.
- Hill, R. D., Lahav, E. and Givol, D. 1974. A rennin-sensitive bond in α_{s1} B-casein. *J. Dairy Res.* 41:147-153.
- Honore, A. H., Aunsbjerg, S. D., Ebrahimi, P., Thorsen, M., Benfeldt, C., Knochel, S. and Skov, T. 2016. Metabolic footprinting for investigation of antifungal properties of *Lactobacillus paracasei*. *Anal. Bioanal. Chem.* 408:83-96.
- Kashket, E. R. 1987. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. *FEMS Microbiol. Lett.* 46:233-244.
- Lahov, E. and Regelson, W. 1996. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: Casecidin, isracidin peptides. *Food Chem. Toxicol.* 34:131-145.
- Larsen, B. and White, S. 1995. Antifungal effect of hydrogen peroxide on catalase-producing strains of *Candida* spp. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 3:73-78.
- Lastauskiene, E., Zinkeviciene, A., Girkontaite, I., Kaunietis, A. and Kvedariene, V. 2014. Formic acid and acetic acid induce a programmed cell death in pathogenic *Candida* species. *Curr. Microbiol.* 69:303-310.
- Le Lay, C., Coton, E., Le Blay, G., Chobert, J. M., Haertle, T., Choiset, Y., Van Long, N. N., Meslet-Cladiere, L. and Mounier, J. 2016. Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 239:79-85.
- Leon Pelaez, A. M., Serna Catano, C. A., Quintero Yepes, E. A., Gamba Villaruel, R. R., De Antoni, G. L. and Giannuzzi, L. 2012. Inhibitory activity of lactic acid and acetic acid on *Aspergillus flavus* growth for food preservation. *Food Control.* 24:177-183.
- Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A. and Coton, E. 2017. Antifungal microbial agents for food biopreservation—a review. *Microorganisms.* 5:37.
- Lindgren, S. E. and Dobrogosz, W. J. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol. Rev.* 7:149-163.



- Liu, Z., Zeng, M., Dong, S., Xu, J., Song, H. and Zhao, Y. 2007. Effect of an antifungal peptide from oyster enzymatic hydrolysates for control of gray mold (*Botrytis cinerea*) on harvested strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 46:95-98.
- Lupetti, A., Paulusma-Annema, A., Welling M. M., Senesi, S., van Dissel, J. T. and Nibbering, P. H. 2000. Candidacidal activities of human lactoferrin peptides derived from the N terminus. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:3257-3263.
- Maple, P. A., Hamilton-Miller, J. M. and Brumfitt, W. 1992. Comparison of the *in-vitro* activities of the topical antimicrobials azelaic acid, nitrofurazone, silver sulphadiazine and mupirocin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicro. Chemother.* 29:661-668.
- Narendranath, N. V., Thomas, K. C. and Ingledew, W. M. 2001. Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 26:171-177.
- Ndagano, D., Lamoureux, T., Dortu, C., Vandermoten, S. and Thonart, P. 2011. Antifungal activity of 2 lactic acid bacteria of the *Weissella* Genus isolated from food. *J. Food Sci.* 76:M305-M311.
- Niku-Paavola, M. L., Laitila, A., Mattila-Sandholm, T. and Haikara, A. 1999. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.* 86:29-35.
- Olonisakin, O. O., Jeff-Agboola, Y. A., Ogidi, C. O. and Akinyele, B. J. 2017. Isolation of antifungal lactic acid bacteria (LAB) from “Kunu” against toxigenic *Aspergillus flavus*. *Prev. Nutr. Food Sci.* 22:138-143.
- Ostling, C. E. and Lindgren, S. E. 1993. Inhibition of enterobacteria and *Listeria* growth by lactic, acetic and formic acids. *J. Appl. Bacteriol.* 75:18-24.
- Ozcelik, S., Kuley, E. and Ozogul, F. 2016. Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. *LWT-Food Sci. Technol.* 73:536-542.
- Qvirist, L. A., De Filippo, C., Strati, F., Stefanini, I., Sordo, M., Andlid, T., Felis, G. E., Mattarelli, P. and Cavalieri, D. 2016. Isolation, identification and characterization of yeasts from fermented goat milk of the Yaghnob valley in Tajikistan. *Front. Microbiol.* 7:1-17.
- Rautenbach, M., Troskie, A. M. and Vosloo, J. A. 2016. Antifungal peptides: to be or not to be membrane active. *Biochimie.* 130:132-145.
- Rizzello, C. G., Cassone, A., Coda, R. and Gobbetti, M. 2011. Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food Chem.* 127:952-959.
- Russo, P., Fares, C., Longo, A., Spano, G. and Capozzi, V. 2017. *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity as a protective starter culture for bread production. *Foods.* 6:110.
- Ryan, L. A., Dal Bello, F., Arendt, E. K. and Koehler, P. 2009. Detection and quantitation of 2,5-diketopiperazines in wheat sourdough and bread. *J. Agric. Food Chem.* 57:9563-9568.
- Ryan, L. A., Zannini, E., Dal Bello, F., Pawlowska, A., Koehler, P. and Arendt, E. K. 2011.

- Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 as a novel food-grade antifungal agent for bakery products. *Int. J. Food Microbiol.* 146:276-283.
- Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S. and Donkor, O. N. 2018. Antioxidative and antibacterial peptides derived from bovine milk proteins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 58:726-740.
- Schaefer, L., Auchtung, T. A., Hermans, K. E., Whitehead, D., Borhan, B. and Britton, R. A. 2010. The antimicrobial compound reuterin (3-hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology.* 156:1589-1599.
- Schnurer, J. and Magnusson, J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends Food Sci. Technol.* 16:70-78.
- Schwenninger, S. M., Lacroix, C., Truttmann, S., Jans, C., Spornli, C., Bigler, L. and Meile, L. 2008. Characterization of low-molecular-weight antiyeast metabolites produced by a food-protective *Lactobacillus-Propionibacterium* coculture. *J. Food Prot.* 71:2481-2487.
- Siedler, S., Balti, R. and Neves, A. R. 2019. Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Curr. Opin. Biotechnol.* 56:138-146.
- Sjogren, J., Magnusson, J., Broberg, A., Schnurer, J. and Kenne, L. 2003. Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:7554-7557.
- Song, R., Shi, Q., Gningue, A., Wei, R. and Luo, H. 2017. Purification and identification of a novel peptide derived from by-products fermentation of spiny head croaker (*Collichthys lucidus*) with antifungal effects on phytopathogens. *Process Biochem.* 62:184-192.
- Stratford, M., Plumridge, A., Nebe-von-Caron, G. and Archer, D. B. 2009. Inhibition of spoilage mould conidia by acetic acid and sorbic acid involves different modes of action, requiring modification of the classical weak-acid theory. *Int. J. Food Microbiol.* 136:37-43.
- Strom, K., Sjogren, J., Broberg, A. and Schnurer, J. 2002. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo(L-Phe-L-Pro) and cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4322-4327.
- Urbiene, S. and Leskauskaitė, D. 2006. Formation of some organic acids during fermentation of milk. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 56:277-281.
- Valerio, F., Lavermicocca, P., Pascale, M. and Visconti, A. 2004. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS Microbiol. Lett.* 233:289-295.
- Vandenbergh, P. A. 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiol. Rev.* 12:221-237.
- Yang, E. J., Kim, Y. S. and Chang, H. C. 2011. Purification and characterization of antifungal δ -dodecalactone from *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from Kimchi. *J. Food Prot.* 74:651-657.
- Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C. and Fillmore, S. 2012. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express.* 2:1-12.

- Yeaman, M. R. and Yount, N. Y. 2003. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol. Rev.* 55:27-55.
- Yu, H. S., Lee, N. K., Jeon, H. L., Eom, S. J., Yoo, M. Y., Lim S. D. and Paik, H. D. 2016. Benzoic acid production with respect to starter culture and incubation temperature during yogurt fermentation using response surface methodology. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 36:427-434.
- Zerva, L., Hollis, R. J. and Pfaller, M. A. 1996. *In vitro* susceptibility testing and DNA typing of *Saccharomyces cerevisiae* clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.* 34:3031-3034.
- Zhang, C., Brandt, M. J., Schwab, C. and Ganzle, M. G. 2010. Propionic acid production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. *Food Microbiol.* 27:390-395.