

(19) 대한민국 지식재산청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2026-0059693
(43) 공개일자 2026년05월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/20 (2026.01) *A23K 10/16* (2017.01)
A23L 33/135 (2016.01) *C12R 1/01* (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 1/205 (2026.01)
A23K 10/16 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2024-0145282

(22) 출원일자 2024년10월22일

심사청구일자 2024년10월22일

(71) 출원인

한국식품연구원

전북특별자치도 완주군 이서면 농생명로 245

(72) 발명자

이세희

광주광역시 광산구 송정로85번길 10, 203동 1202호

이지수

광주광역시 남구 효우로230번길 30-1, 202호 (행암동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김보열

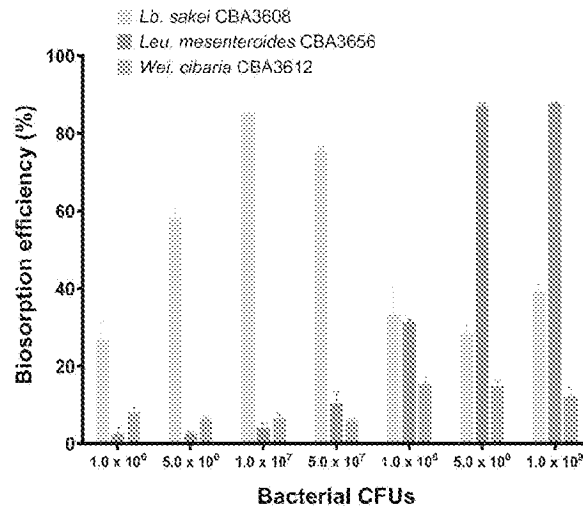
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 미세플라스틱 흡착 능력을 갖는 류코노스톡 메센테로이데스 WiKim0200 균주 및 이를 포함하는 조성물

(57) 요약

본 발명은 미세플라스틱 흡착 능력을 갖는 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주 및 이를 포함하는 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 인체에 유입된 미세 플라스틱을 흡착하는 효과가 뛰어나므로, 인체 내의 미세 플라스틱을 배변을 통하여 쉽고 빠르게 제거할 수 있는 생물학적 제제로 유용하게 활용될 수 있다.

배 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/135 (2016.08)

C12R 2001/01 (2021.05)

(72) 발명자

이민지

광주광역시 남구 효천안길 26-3

원태웅

광주광역시 남구 효천3로 110, 201동 401호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2710019354

과제번호 KE2401-1-1

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국식품연구원부설 세계김치연구소

연구사업명 세계김치연구소운영비지원(R&D)(주요사업비)

연구과제명 멀티오믹스 기반 김치미생물의 김치발효 전개 방향성 구명

과제수행기관명 한국식품연구원부설 세계김치연구소

연구기간 2024.01.01 ~ 2024.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711192008

과제번호 2021R1C1C1013859

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)

연구과제명 말의 건강관리 및 개선을 위한 장내 마이크로바이옴 연구

과제수행기관명 한국식품연구원부설 세계김치연구소

연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2540000254

과제번호 RS-2024-00397218

부처명 농림축산식품부

과제관리(전문)기관명 농림식품기술기획평가원

연구사업명 농생명마이크로바이옴혁신기술기반구축

연구과제명 고기능성 복합종균 기반 맞춤형 김치 개발 및 산업화

과제수행기관명 고려대학교산학협력단

연구기간 2024.04.01 ~ 2024.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

체내에서 미세플라스틱의 흡착력이 우수한 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656(수탁번호: KACC 92625P) 균주.

청구항 2

류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 미세플라스틱의 체내 흡수 저감용 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 체내는 위 또는 장내인 것인 미세플라스틱의 체내 흡수 저감용 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서, 상기 미세플라스틱의 농도는 20 내지 100ppm인 것인 미세플라스틱의 체내 흡수 저감용 조성물.

청구항 5

류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 식품 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 체내는 위 또는 장내인 것인 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 식품 조성물.

청구항 7

류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 사료 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서, 상기 체내는 위 또는 장내인 것인 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 사료 조성물.

발명의 설명

기술분야

본 발명은 미세플라스틱 흡착 능력을 갖는 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주 및 이를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 미세 플라스틱은 다양한 경로를 통해 인체로 유입될 수 있으며, 이에 대한 우려가 점점 커지고 있다. 미세 플라스틱은 주로 해양 생물과 육상 생물에 의해 섭취된 후, 인간이 해당 음식을 섭취하면서 몸 안으로 들어올 수 있다. 특히 어류나 조개류와 같은 해양 생물은 미세 플라스틱을 축적할 수 있으며, 이로 인해 수산물을 통해 인체에 유입될 위험이 크다. 또한, 농업에서 플라스틱 제품이 사용되기 때문에 일부 식물성 식품에서도 미세 플라스틱이 발견될 수 있다.
- [0003] 음료를 통해서도 미세 플라스틱이 인체로 유입될 수 있다. 특히 플라스틱 병에 담긴 생수나 음료수는 플라스틱 포장재와의 접촉으로 인해 미세 플라스틱이 섞일 가능성이 크다. 연구에 따르면, 생수 병 안에 존재하는 미세 플라스틱 입자가 상당히 많이 발견되고 있어, 일상적인 음료 소비를 통해 인체로 유입되는 것이 확인되었다. 또 다른 경로는 대기 중 미세 플라스틱 먼지를 흡입하는 것이다. 미세 플라스틱은 매우 작은 크기로 인해 공기 중에 부유할 수 있으며, 특히 도심지나 실내 환경에서는 이러한 입자들이 공기 중에 더 많이 존재할 수 있다. 사람들은 숨을 쉬면서 이러한 미세 플라스틱을 호흡기로 흡입하게 되며, 이것이 인체 건강에 미치는 영향에 대한 연구가 진행 중이다.
- [0004] 일부 화장품이나 개인 위생 용품에 포함된 미세 플라스틱도 문제로 지적되고 있다. 특히 스크럽제나 치약 등에 포함된 마이크로비즈는 사용 후 배수로를 통해 환경으로 배출되며, 이는 다시 물과 함께 순환하면서 인간에게로 되돌아올 수 있다. 따라서, 미세플라스틱은 인체에 영향을 미칠 수 있어 새로운 위협으로 대두되고 있으므로 장내 미세플라스틱을 쉽고 빠르게 제거할 방법이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0005] (특허문헌 0001) 대한민국 특허등록 제10-2486858호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 이에 본 발명자들은 장내 미세플라스틱을 제거하기 위하여 생흡착(biosorption) 방식을 이용하였으며, 김치 유래 유산균이 미세플라스틱을 생흡착 할 수 있음을 확인하였고, 이를 바탕으로 본 발명을 완성하였다.
- [0007] 본 발명의 하나의 목적은 체내에서 미세플라스틱의 흡착력이 우수한 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656(수탁번호: KACC 92625P) 균주를 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 미세플라스틱의 체내 흡수 저감용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 사료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명의 일 양상은 체내에서 미세플라스틱의 흡착력이 우수한 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656(수탁번호: KACC 92625P) 균주를 제공한다.
- [0012] 본 발명에 따른 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 김치에서 분리된 유산균으로, 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은행에 2024년 09월 26일자로 기탁하였다(수탁번호: KACC 92625P).
- [0013] 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 구균(coccus) 모양이므로 표면에 많은 양의 미세플라스틱을 흡착할 수 있다.

- [0014] 본 발명의 다른 양상은 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 미세플라스틱의 체내 흡수 저감용 조성물을 제공한다.
- [0015] 본 발명의 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 위 또는 장내에서 미세플라스틱과 흡착되어 체외로 배출시킬 수 있다. 특히, 본 발명의 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 동속동종의 다른 strain의 균주 대비 장내 환경에서 현저히 월등한 미세플라스틱 흡착률을 나타낼 수 있다.
- [0016] 본 명세서에서 "유효성분"은 단독으로 목적하는 활성을 나타내거나 또는 그 자체 활성이 없는 담체와 함께 활성을 나타낼 수 있는 성분을 의미한다.
- [0017] 본 명세서에서 "미세플라스틱(microplastics)"은 의도적으로 제조되었거나 또는 기존 플라스틱 제품이 조각나서 미세화된 직경이 5mm 이하인 합성 고분자화합물을 의미한다.
- [0018] 본 발명의 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 식품 조성물이나 사료 조성물에 포함될 경우 생균체로서 존재할 수 있으며, 다양한 조성물 내에 포함시키기 적합한 유산균의 형태 및 제제화 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 공지의 액체 배지 또는 고체 배지에서 배양시켜 수득한 배양물이거나, 상기 균주와 추가의 성분을 함께 배양하여 수득한 발효물이거나, 상기 균주를 유기용매로 추출한 추출물, 상기 균주의 세포막을 용해시키거나, 파쇄 또는 균질화 처리한 용해물(또는 파쇄물) 등의 형태로 제제화된 것일 수 있다. 다만, 사균체 상태에서는 미세플라스틱 흡착률이 낮아질 수 있으므로, 식품이나 사료 조성물 등 다양한 조성물에 생균체로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0019] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 멸균 증류수 pH(3,4,5,6,7,8 및 9), 흡착 시간(0, 30, 60, 120, 180분), 흡착 온도(4, 15, 25, 30, 37, 55℃), 미세플라스틱 농도(10, 20, 40, 70, 100ppm) 및 균주 상태(Live)에서도 미세플라스틱 흡착 능력이 탁월하였다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 양상은 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로 포함하는 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 식품 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명의 식품 조성물은 예를 들어 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품 또는 음료, 조미료, 바, 발효유 등과 같은 형태의 식품으로 제조될 수 있다. 이 경우, 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품 또는 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올일 수 있다. 향미제로서 천연 향미제[타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)가 사용될 수 있다.
- [0022] 예를 들어, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조될 경우에는 본 발명의 조성물 외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액 및/또는 감초 추출액 등이 추가로 포함될 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명의 식품 조성물이 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화될 경우, 본 발명의 균주, 이의 배양물, 이의 파쇄물, 이의 추출물은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약학적으로 허용가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 예를 들어, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐아세테이트, 소듐클로라이드 등일 수 있다. 붕해제는 녹말, 메틸셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄검 등일 수 있다. 그 외에도, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및/또는 윤활제가 부가적으로 첨가될 수 있다.
- [0025] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 본 발명의 식품 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0026] 본 발명의 다른 양상은 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656 균주를 유효성분으로

포함하는 체내 미세플라스틱 흡착 또는 제거용 사료 조성물을 제공한다.

[0027] 본 발명의 사료용 조성물은 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미할 수 있으며, 당업계의 공지된 다양한 형태로 제조 가능하다.

[0028] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0029] 본 발명의 류코노스톡 메센테로이데스 CBA3656 균주는 인체에 유입된 미세 플라스틱을 흡착하는 효과가 뛰어나므로, 인체 내의 미세 플라스틱을 배변을 통하여 쉽고 빠르게 제거할 수 있는 생물학적 제제로 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0030] 도 1은 세균 CFUs에 따른 김치 유래 유산균 3종에 따른 미세플라스틱 흡착 능력을 확인한 그래프이다:

Left: *Lactobacillus sakei* CBA3608, Middle: *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656, Right: *Weissella cibaria* CBA3612

도 2는 다양한 조건에서의 김치 유산균을 활용한 미세플라스틱 흡착 결과를 나타낸 그래프이다:

(A) 멸균 증류수 pH, (B) 흡착 시간, (C) 흡착 온도, (D) 미세플라스틱 농도, (E) 균주 상태에 따른 균주 *Lactobacillus sakei* CBA3608와 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656의 흡착률.

도 3은 미세플라스틱을 흡착한 김치 유래 균주 2종에 대한 SEM 분석 결과를 나타낸 사진이다:

(A) 미세플라스틱의 흡착 반응 전, (B, C) 미세플라스틱의 흡착 반응 전, (D) CBA3608 균주의 흡착 반응 전, (E, F) CBA3608 균주의 흡착 반응 후, (G) CBA3656 균주의 흡착 반응 전, (H, I) CBA3656 균주의 흡착 반응 후.

도 4는 미세플라스틱을 흡착한 김치 유래 균주 2종에 대한 Cross-sectional TEM 분석 결과를 나타낸 사진이다:

A: Control, B: *Lactobacillus sakei* CBA3608, C: *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656, 화살표: 미세플라스틱.

도 5는 김치 유래 균주 2종에 대한 실제 인체 내 환경을 재현한 in vitro 상에서의 미세플라스틱 흡착력을 나타낸 그래프이다:

Left: *Lactobacillus sakei* CBA3608, Right: *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656.

도 6은 모의 장액 및 모의 위액에서의 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656의 미세플라스틱의 흡착에 대한 SEM 분석 결과를 나타낸 사진이다:

(A, B) SIF에서의 미세플라스틱, (C, D) SGF에서의 미세플라스틱, (E, F) SIF에서의 CBA3656 균주 흡착 반응 전, (G, H) SGF에서의 CBA3656 균주 흡착 반응 전, (I, J) SIF에서의 CBA3656 균주 흡착 반응 후, (K, L) SGF에서의 CBA3656 균주 흡착 반응 후.

도 7은 기존 김치 유래 균주 2종류를 포함하여, 다양한 *Leuconostoc mesenteroides* 균주들의 in vitro에서의 미세플라스틱 흡착력을 나타낸 그래프이다:

좌부터 순서대로: *Lactobacillus sakei* CBA3608, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3607, *Leuconostoc*

mesenteroides CBA3651, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3654, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3655, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656, *Leuconostoc mesenteroides* WiKim0121, *Leuconostoc mesenteroides* WiKim32, *Leuconostoc mesenteroides* WiKim33.

도 8은 본 발명의 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주에 대한 계통분류학적 표지 유전자(16S rRNA gene) 서열 기반 계통수(phylogenetic tree) 분석 결과를 나타낸 계통도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] 이하 본 발명을 하나 이상의 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0033] <실시예 1> 김치 유산균 3종을 이용한 미세플라스틱 흡착 분석

[0034] 김치 유래 유산균 3종을 이용하여 미세플라스틱의 흡착 정도를 분석하기 위하여, 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656, 류코노스톡 사케이(*Lactobacillus sakei*) CBA3608, 와이셀라 시바리아(*Weissella cibaria*) CBA3612의 세균 CFUs에 따른 미세플라스틱 생흡착 능력을 조사하였다.

[0035] 구체적으로, 멸균된 증류수에 균주와 미세플라스틱을 넣어 생흡착을 수행하였다. 반응액을 원심분리(12,300×g, 1분)한 후, 상층액 200 μ l를 96-well plate에 옮겨 UV 분광광도계(wavelength 400nm)로 측정하였다. 이는 상층액에 남아있는 균주에 흡착되지 않은 미세플라스틱 농도를 측정하여 유산균 3종에서 미세 플라스틱 생흡착 능력을 조사하였다. 균주 CFUs를 제외한 나머지 조건은 pH 7, 흡착 시간 60분, 흡착 온도 37℃, 플라스틱 농도 20ppm으로 설정하였다. 모든 실험은 3회 반복하였다.

[0036] 그 결과, *Weissella cibaria* CBA3612는 모든 CFUs에서 낮은 흡착률을 보인 반면에 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주는 5.0×10^8 CFUs, *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주는 1.0×10^7 CFUs에서 가장 높은 흡착률을 보였다. 이후 다양한 조건에서 생흡착 실험을 진행할 때 각 CFUs를 적용하였다(도 1).

[0038] <실시예 2> 김치 유래 유산균 2종을 이용한 pH, 흡착 시간, 흡착 온도, 미세플라스틱 농도 및 균주상태에 따른 미세플라스틱 흡착 분석

[0039] 상기 실시예 2에서 미세플라스틱에 대하여 흡착능을 가지는 김치 유산균 류코노스톡 메센테로이데스(*Leuconostoc mesenteroides*) CBA3656, 류코노스톡 사케이(*Lactobacillus sakei*) CBA3608를 이용하여, 멸균 증류수 pH, 흡착 시간, 흡착 온도, 미세플라스틱 농도, 균주 상태에 따른 미세플라스틱 흡착 정도를 분석하였다.

[0040] 구체적으로, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656, *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주를 멸균 증류수 pH(3,4,5,6,7,8 및 9), 흡착 시간(0, 30, 60, 120, 180분), 흡착 온도(4, 15, 25, 30, 37, 55℃), 미세플라스틱 농도(10, 20, 40, 70, 100ppm) 및 균주 상태(Live, Dead)에 따라 생흡착 정도를 측정하였다. 반응액을 원심분리(12,300×g, 1분)한 후, 상층액 200 μ l를 96-well plate에 옮겨 UV 분광광도계(wavelength 400nm)로 측정하였다. 이는 상층액에 남아있는 균주에 흡착되지 않은 미세플라스틱 농도를 측정하였다.

[0041] 그 결과, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656와 *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주 모두 30분 이내에 모든 pH와 온도 조건에서 높은 흡착률을 보였으나, 사균 상태에서는 흡착률이 급격히 낮아졌다. 미세플라스틱 농도에 따른 흡착률에서 두 균주는 차이점을 보였다. *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주는 10 내지 100ppm의 모든 농도에서 높은 흡착률을 보인 반면, *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주는 농도가 높을수록 흡착률이 감소하였다. 다양한 환경에서의 활용을 고려했을 때, *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주보다 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주에서 미세플라스틱 흡착에 대한 더 높은 활용 가능성이 확인되었다(도 2).

[0043] <실시예 3> 미세플라스틱을 흡착한 김치 유래 유산균 2종의 형태학적 분석

[0044] 상기 실시예 2에서 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656와 *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주의 미세플라스틱 흡착력을 확인하였고, 전자현미경을 이용하여 미세플라스틱의 흡착하기 전과 후의 형태학적 분석을 수행하였다.

[0045] 구체적으로, 멸균 증류수 pH 7, 흡착 시간 60분, 흡착 온도 37℃, 플라스틱 농도 20ppm의 조건에서 미세플라스

틱의 흡착 전과 후를 SEM(Scanning Electron Microscope)을 이용하여 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656와 *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주에 미세플라스틱이 흡착되었는지 확인하였다.

[0046] 그 결과, pH 7의 멸균증류수에 첨가된 미세플라스틱의 모양은 37℃에서 1시간 동안 방치되어도 반응 전과 다르지 않았다. 반면, Rod(간균) 모양의 *Lactobacillus sakei* CBA3608와 coccus(구균) 모양의 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주 모두 반응 후 표면에 많은 양의 미세플라스틱을 흡착하였다(도 3)

[0047] 또한, 생흡착이 아닌 생축적(Bioaccumulation)의 가능성을 조사하기 위해, SEM과 같은 조건에서 반응 후 Cross-sectional TEM 결과를 조사한 결과, 미세플라스틱은 균주 내부에 축적되는 것이 아닌 표면에 흡착하는 것을 확인하였다(도 4).

[0049] <실시예 4> 김치 유래 유산균 2종의 인체 장과 위의 모사 환경에서 흡착 반응 분석

[0050] 상기 실시예 2에서 다양한 환경에서 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656와 *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주의 미세플라스틱 흡착력을 확인하였고, 실제 인체 내 조건에서도 비슷한 능력을 보이는지 분석하였다.

[0051] 구체적으로, SIF(simulated intestinal fluid: 모의 장액, TB1211, TMABIO) 및 SGF(simulated gastric fluid: 모의 위액, TB1210, TMABIO) 내에서 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656와 *Lactobacillus sakei* CBA3608 균주의 미세플라스틱 흡착력을 흡착 시간 60분, 흡착 온도 37℃, 플라스틱 농도 20ppm의 조건에서 분석하였으며, 각 용액의 pH는 SIF 6.8, SGF 1.5로 설정하였다.

[0052] 그 결과, *Lactobacillus sakei* CBA3608는 두 용액에서 5% 이하의 매우 낮은 흡착률을 보인 반면, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656는 SIF와 SGF에서 각각 약 60% 및 20%의 높은 흡착률을 보였다.

[0053] 이와 같은 결과를 통하여, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주가 실제 인체 내 미세플라스틱을 쉽고 빠르게 제거할 수 있는 생물학적 제제로 적절함을 확인하였다(도 5).

[0055] <실시예 5> *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656의 인체 장과 위의 모사 환경에서 형태학적 분석

[0056] 상기 실시예 4에서 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주의 인체 장과 위의 모사 환경에서도 미세플라스틱을 흡착함을 확인하여, 전자현미경을 이용하여 두 균주의 *in vitro* 환경에서 흡착 형태를 분석하였다.

[0057] 구체적으로, 모의 장액 및 모의 위액 내에서 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656와 균주 미세플라스틱 흡착 형태를 SEM(Scanning Electron Microscope)을 이용하여 분석하였다.

[0058] 그 결과, SIF와 SGF에서 미세플라스틱의 모양은 변하지 않는 것으로 확인된 반면(도 6A-D), *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656의 표면은 SIF와 SGF에서 모두 우그러지거나 찌그러지는 모양을 보이는 것으로 확인되었다(도 6E-H). 다만, SIF와 SGF에서 모두 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 표면에 많은 양의 미세플라스틱이 흡착됨을 확인하였으며, 특히 위장보다 소장 모사 용액에서 더 많은 양이 흡착됨을 확인하였다(도 6I-L).

[0060] <실시예 6> 다양한 *Leuconostoc mesenteroides* 균주들의 인체 장과 위의 모사 환경에서 흡착 반응 분석

[0061] 상기 실시예 4에서 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주가 인체 장과 위의 모사 환경에서도 미세플라스틱을 흡착함을 확인하였다. 이와 같은 미세플라스틱 흡착력이 동속동종에도 동일하게 나타나는지 혹은 균주 특이적(strain-specific)인지 분석하였다.

[0062] 구체적으로, 다양한 *Leuconostoc mesenteroides* 균주를 선별하여, 실시예 4와 동일한 조건으로 장과 위의 모사 환경에서의 미세플라스틱 흡착력을 조사하였다. 선별된 균주는 다음과 같다: *Lactobacillus sakei* CBA3608, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3607, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3651, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3654, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3655, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656, *Leuconostoc mesenteroides* WiKim0121, *Leuconostoc mesenteroides* WiKim32, *Leuconostoc mesenteroides* WiKim33.

[0063] 그 결과, 위장을 모사한 SGF에서는 흡착률에 두드러진 차이가 없는 것으로 확인되었다. 다만, 장내를 모사한 SIF에서는 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주가 월등히 높은 흡착력을 보이는 것으로 확인되었으며, *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주는 약 60%의 미세플라스틱 흡착률을 나타낸 반면, 다른 동속동종 균주

는 20% 내외의 흡착률을 나타낸 것으로 확인되었다(도 7).

[0064] 이와 같은 결과를 통하여 같은 동속동종이라도 strain의 차이에 따라 미세플라스틱에 대한 흡착력에 차이가 있음을 확인하였으며, 본 발명의 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주의 현저한 장내 미세플라스틱 흡착 효과가 입증되었음을 확인하였다.

[0066] <실시예 7> *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656 균주의 동정

[0067] 미세플라스틱에 대한 흡착력이 우수한 본 발명의 균주의 DNA를 QIAamp DNA Mini Kit(QIAgen, Germany)를 사용하여 추출하였다. 추출된 DNA는 1% 아가로스 겔을 이용하여 확인하였으며, 16S rRNA 유전자를 증폭하기 위하여 추출된 DNA를 주형으로 하여 PCR을 진행하였다. 수득된 PCR 산물에 대해 Sanger sequencing을 이용하여 서열을 분석하였다. 확인된 16S rRNA 유전자 서열을 이용하여 neighbor-joining 방법으로 계통수를 분석하여 균주를 동정하였다.

[0068] 그 결과, 본 발명 균주의 16S rRNA 유전자의 DNA 서열은 표 1과 같이 확인되었고, *Leuconostoc mesenteroides* 와 가장 유사한 것으로 확인되어(도 8), 해당 균주를 *Leuconostoc mesenteroides* CBA3656로 명명하고, 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은행에 2024년 09월 26일자로 기탁하였다(수탁번호 KACC 92625P).

표 1

[0070]	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CBA3656 16S rRNA 유전자의 DNA 서열(5'→3') <pre> GATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCACAGCGAAAGGTGCTTGCACCTTTCAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC ACGTGGACAACCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGGAACAGATGCTAATACCGAATAAACTTAGTGTGCGATGACAAAAAGTTAAAAG GCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAG AGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGG AGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGCTAGAATAGGAAATGATTTTAGTTTGACGG TACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTATGTCCCAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGA GCGCAGACGGTTTATTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGAGCTCAACTCCGAATGGCATTGGAACTGGTTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAG TGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTC GAAAGTGTGGGTAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGC CGAAGCTAACGCATTAAGTGTTCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCA TGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTTTAGAGATAGAAGTGTCTCTTCGGAGACAAAG TGACAGGTGGTGCATGGTCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTGTTAGTTGCCAGCAT TCAGATGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACAC ACGTGCTACAATGGCGTATACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAGTACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACT CGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGACACACCGCCGTCACCCAT GGGAGTTTGTATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCTTTTAGGAAGGAGCCGTCTAAG </pre>
--------	--

[0072] 이제까지 본 발명에 대하여 그 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

수탁번호

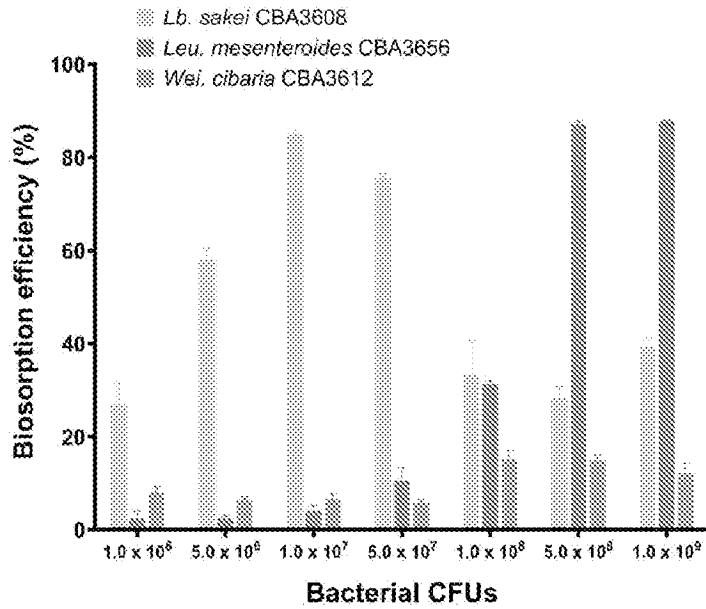
[0074] 기탁기관명 : 농촌진흥청 국립농업과학원 미생물은행(KACC)

수탁번호 : KACC92625P

수탁일자 : 20240926

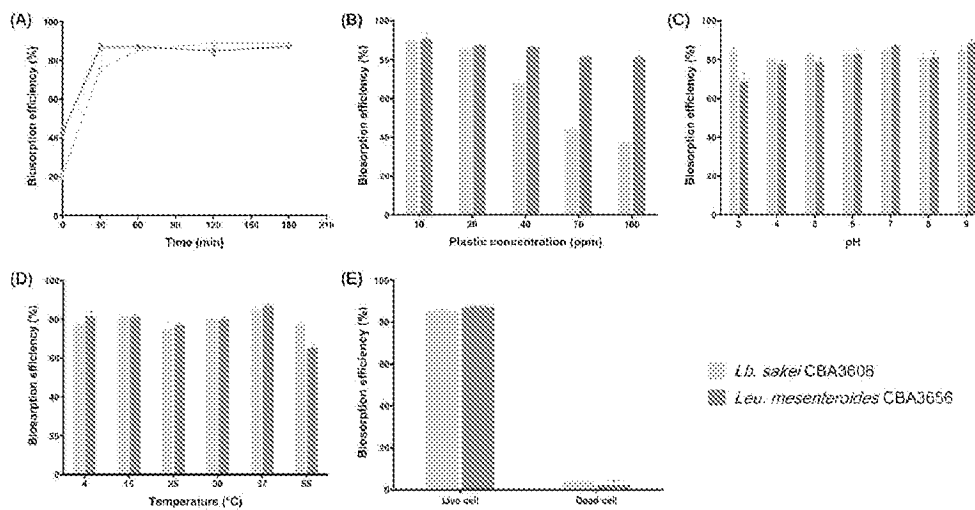
도면

도면1

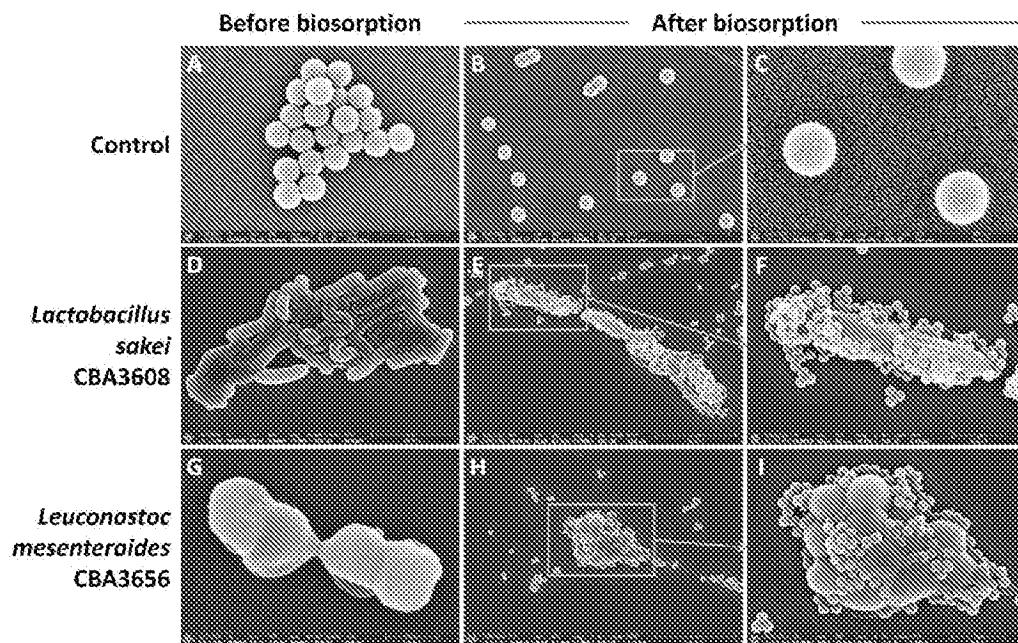


도면2

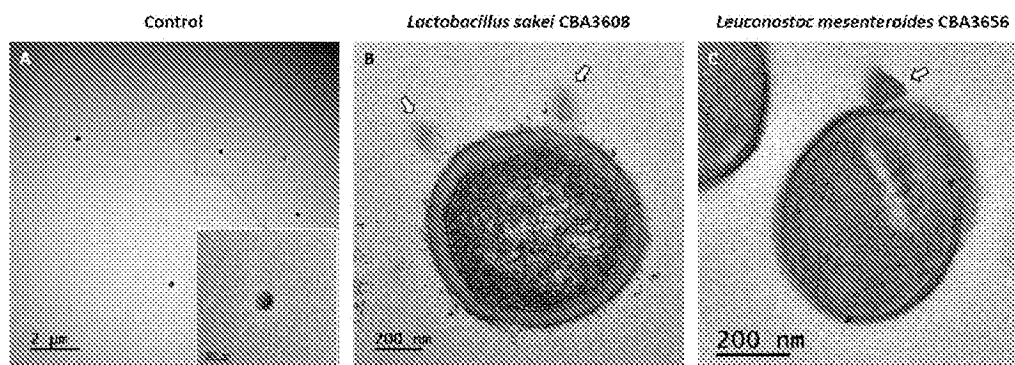
(A) 흡착 시간, (B) 미세플라스틱 농도, (C) 용액 pH, (D) 흡착 온도, (E) 균의 생사



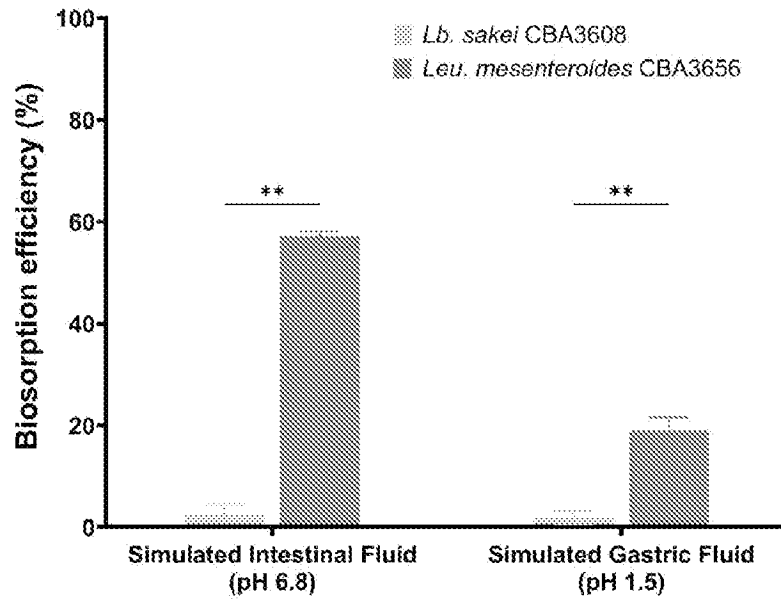
도면3



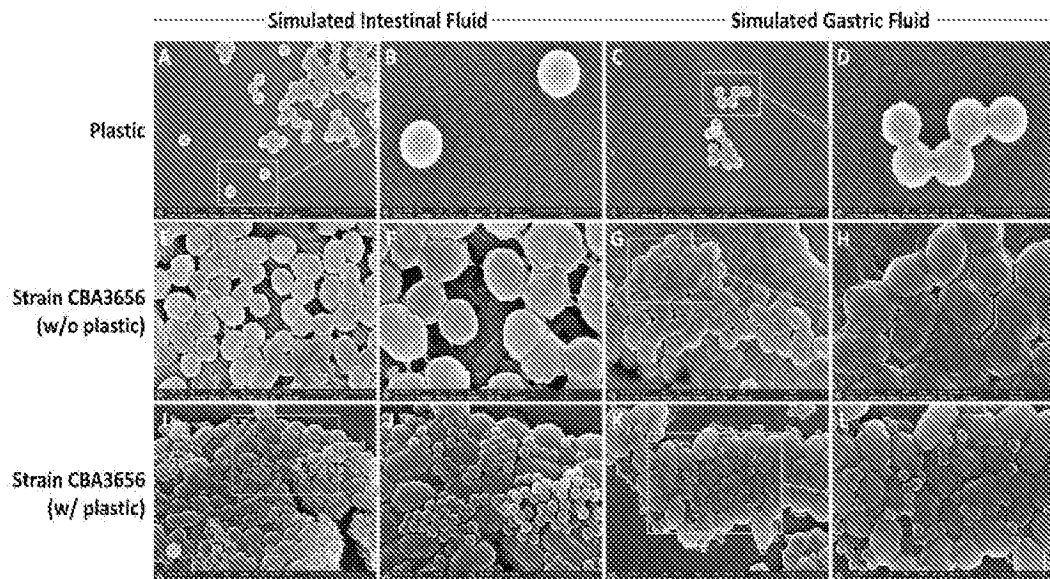
도면4



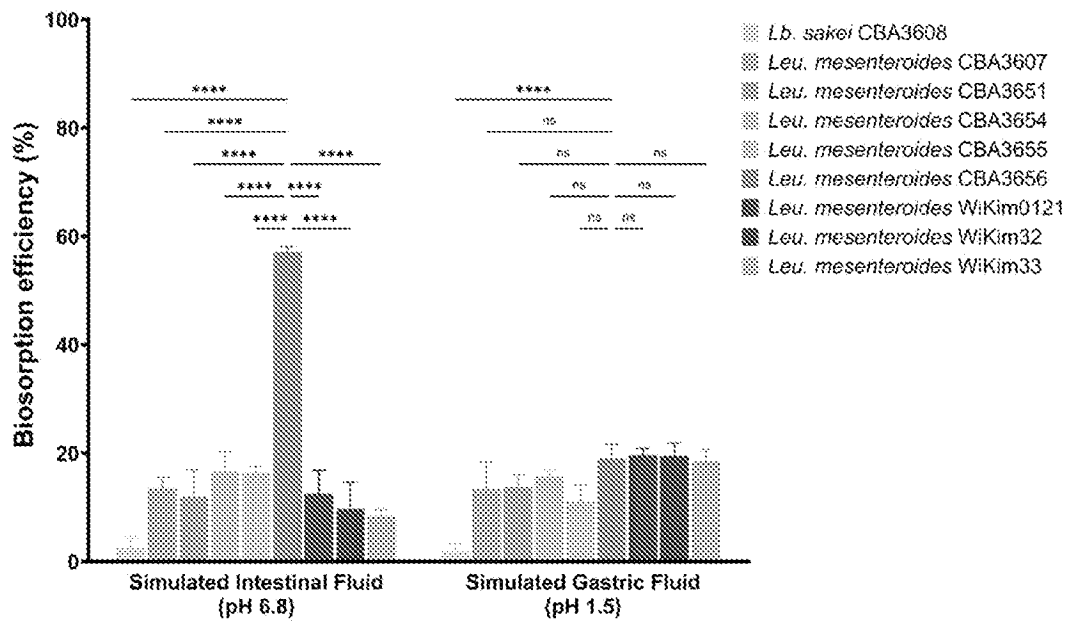
도면5



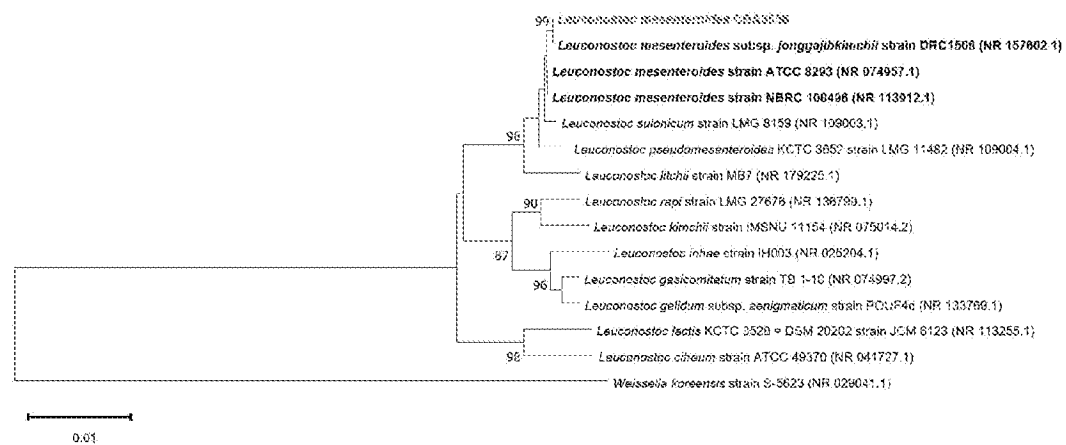
도면6



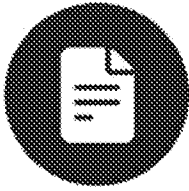
도면 7



도면 8



서 열 록 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.