J. Fd Hyg. Safety 9(2), S17-S22(1994)

천연 식품 첨가물의 개발 및 연구동향

이 형 주

서울대학교 농업생명과학대학 식품공학과

Trends in Development and Research of Natural Food Additives

Hyong Joo Lee

Department of Food Science and Technology,
College of Agriculture and Life Science, Seoul National University

ABSTRACT—Food additives are minor components which are used to enhance nutritive or sensory values, and to improve shelf life of foods. In foods, natural additives are preferred over artificial or synthetic materials because of concern on food safety. Many biotechnological techniques have been applied to the production of food additives since the biotechnology has been utilized to produce many flavor components such as glutamate, 5'-nucleotides, esters, 2,3-butadione, pyrazines, terpenes, and lactones. Natural flavors, fragrances, sweetners, and colorants can be produced by plant cell culture. Many lactic acid bacteria produce bacteriocins such as nisin or diplococcin. These bacteriocins are used as safe preservatives in foods and many researches on the improvement of bacteriocin productivity by genetic engineering are in progress.

식품첨가물이란 식품의 영양적 및 관능적 가치와 저장성 등 식품의 품질을 향상시키기 위하여 첨가되는 물질로서 식품의 주성분이 아닌 것을 말한다. 식품첨가물의 기능이 다양하기 때문에 그 종류도 대단히 많은데, 그 기능별로 크게 나누어 보면 비타민, 미네랄, 아미노산 등 식품의 영양적 품질을 향상시키기 위한 것, 색소, 풍미, 조직감 등 식품의 관능적 품질을 향상시키기 위한 것, 그리고 보존제, 항산화제, 유화제, 안정제 등 식품의 저장 안정성을 향상시키기 위한 것 등이 있다. Table 1은 현재 사용되고 있는 식품첨가물의 기능별 종류를 보여주는 것이다.

현재 사용되고 있는 식품첨가물의 종류는 약 2,000 품목이 되는데 그중 가장 많은 부분을 차지하고 있는 것은 풍미료 소재로서 천연풍미료와 함께 전체 품목의 63.5%를 점하고 있으며 그 밖에 영양강화소재 6.9 %, 유화제 5%의 순서로 사용빈도가 높다(Table 2).

어느 사회가 선진국 수준으로 진입하게 되면 소비자들은 신선하고 안전하며 편의성이 높고 풍미가 좋은 고품질의 식품을 더욱 선호하게 된다. 그런데 현재 사용되거나 개발중인 식품첨가물은 대부분 식품의 신선도, 안전성, 편의성 및 풍미에 관여하여 제품의 고품질화에 기여할 수 있기 때문에 매우 중요한 식품소재라고 할 수 있다. 또한 이들 식품첨가물은 소량씩 다품목이 사용되고 기술집약적 제품이기 때문에 부가가치가 높은 식품소재인데 이와같은 이유 때문에 현재 대부분이 선진 각국에서 주로 생산되고 있으며, 우리나라도 해마다 상당량을 수입하고 있는 실정이다.

한편 소량다품목, 기술집약적, 고부가가치 제품이라는 식품첨가물의 특징은, 최근 괄목할 만한 발전을 이루고 있으며 앞으로 그 응용이 크게 기대되는 생물공학적 기술이 쉽게 적용될 수 있는 소지를 제공한다고 볼 수 있다. 특히 식품에서는 천연소재가 안전성이나 기호도에서 선호되고 있는데 생물공학적 기술에 의해 생산된 식품소재는 "천연물"로 인정되고 있기 때문에 값이 비싸다는 이유로 사용되지 못하던 여러 천연 첨가물의 생산성이 새로운 기술로 높아진다면 대부분의 화학 합성품을 대치할 수 있을 것이다.[1,2]

예를 들어 미국의 FDA에서 1987년에 식품생물공학 및 유전공학 관련 약 500업체를 대상으로 조사한

Table 1. Food additives used to enhence food quality

Function	Additives
Nutritive value	Vitamins, amino acid, minerals
Sensory value	Flavors, natural flavors, MSG, nucleotides, sweetners, colorants, acids, bases, thickners, chelators, emulsifiers, stabilizers, humectants, anticaking agents, propellants, bleaching agents
Shelf life	Antioxidants, antimicrobial agents

Table 2. Utilization of food additives as % of total number of additives used in the U.S.

Additives	% of total	Additives	% of total
Flavors	42.5	Preservatives	1.8
Natural flavors	21.0	Stabilizers	1.8
Nutr.fortifiers	6.9	Antioxidants	1.7
Surfactants	5.0	Bleaching agents	1.4
Acids & bases	3.5	Sweetners	0.5
Chelators	2.6	Others	9.4
Colors	2.1		

결과에 의하면 중점 연구 분야의 43%가 식품가공에 관한 것이었으며 이중의 59.3%가 식품성분에 관한 것, 23.5%가 식품공정 개선에 관한 것, 17.1%가 개선된 식품에 관한 것이었다. 또한 식품 및 농업분야에서 생물공학이 응용될 수 있는 연구 중 발효분야의 23%가 풍미료 관련, 식물세포배양 분야의 40%가 풍미료, 10%가 식용색소 관련, 유전공학 일반 분야의 9%가 신감미료 관련 품목으로 나타난 바 있다.[3]

이 글에서는 식품첨가물 중 생물공학적 방법에 의하여 생산될 수 있는 미생물 풍미료, 식물세포 배양에 의해 생산되는 천연풍미료와 천연 색소, 유전자 재조합 미생물에 의해 생산될 수 있는 식품보존제에 관련하여 개발현황과 전망을 살펴보고 필자의 실험실에서 얻어진 관련 연구결과를 정리해 보기로 한다.

미생물공학적 방법에 의한 풍미료의 생산

최근 들어 여러 식품의 풍미성분이 자세히 밝혀지고 또 이들 성분에 관계하는 미생물의 대사과정이 알려지게 되자 여러 화합물군에 속하는 특정 풍미성분을 미생물에 의해 생산하려는 시도가 이루어지게 되었다. 이 경우 여러가지 발효식품의 풍미성분만을 미생물에 의해 생산할 수도 있고 또한 이제까지는 미생물에 의해 생산되지 않던 풍미성분, 예를 들어 과일이나 꽃, 유제품, 육제품의 풍미성분도 생산될 수 있다.[4] 미생물에 의해 생산될 수 있는 풍미성분으로는 감칠맛 조미료로 사용되는 glutamate와 5'-nucleotides, 과일이나 꽃의 향을 내는 esters, 버터 및 요구르트 등의 풍미성분인 2,3-butanedione, 구운 고기나 볶은 견과류의 풍미성분인 pyrazines, 과일에서 중요한 terpenes, "nutty" 풍미를 내는 lactones 등이 있고,[5] 기타 과일, 장미, 재스민 등의 향을 내는 미생물도 많이 알려져 있다.[6]

본 실험실에서는 체다 치즈 숙성 과정중의 주요 미생물인 *Lactobacills casei*가 체다 치즈 곤죽의 발효와 풍미에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Na-caseinate, 크림, 첨가물, 기타 미량성분을 혼합하여 CONTROL 체다치즈 곤죽을 만들고, 이에 *L. casei* AHU 1055를 넣은 CASEI와 *L. casei* AHU 1055와 환원형 glutathione을 함께 넣은 CAGSH를 비교구로 하여 30℃에서 7일간 발효시키면서 발효중의 pH 변화, 생균수 변화, 점도 변화를 측정하고 발효가 끝난 곤죽의 풍미특성을 알아보기 위하여 유리 지방산, 쓴맛 펩타이드 및 휘발성 향기성분을 분석하였다. 휘발성 향기성분은 headspace technique으로 분리하여 GLC와 GC-MS로 분석하였는데, GC-MS에 의해 동정된 휘발성 향기 성분들은 aldehyde, alcohol, ketone 및 ester였으며, CONTROL에서는 propanal, 3-methyl-1-butanol 등이, CASEI에서는 2-propanol, 3-methyl-1-butanol, 2-pentanol, 2-pentanone, 2-heptanone, ethyl butyrate, ethyl hexanoate, toluene 등이 검출되었으며, 또한 GLC의 머무름 시간에 의해 동정된 성분들을 합하여 비교하여 보면 CONTROL에서는 3-methyl-2-butanal이 특이적으로 검출되고, CASEI에서는 2-pentanol, toluene, 2-nonanone 및 2-nonanol이 추가로 검출되었으며, CAGSH에서는 CASEI와 종류는 같았으나 CASEI에 비해서 2-propanol, 2-pentanoil, 2-heptanol의 양이 감소하고 2-pentanone과 2-heptanone의 양이 증가하는 것으로 나타났다.[7]

유당발효 효모균주를 이용하여 유청으로부터 terpenoid 등을 포함한 과일향 풍미성분의 생산능이 우수한 균주를 얻기 위해 *Kluyveromyces lactis* ATCC 8585를 3차에 걸쳐 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosogua-

nidine(NTG)로 처리하고 고농도의 geraniol에 내성을 지닌 균주로서 27℃, 3일 배양액의 풍미가 과일향은 강하나 효모취는 약한 우수 균주를 선발하였다. 변이주의 생육최적온도는 27℃ 였고, 최적 pH는 5.0이었는데, 모균주에 비해 정상기가 연장된 생육특성을 보였다. 선발한 변이균주를 사용하여 유청배지에서 각각 1일, 2일, 3일 동안 배양했을 때, 3일간 배양한 액의 풍미가 가장 좋았으며, 3일간 진탕배양한 액을 pentane: dichloromethane(2 : 1)으로 용매추출하고 회전진공 증발기로 농축하여 *oleoresin*을 얻은 후 gas chromatography에 의해 휘발성 향기성분을 분석하였다. 선발한 변이주로부터 확인된 휘발성 향기성분들은 γ-terpene, citronellol, α-terpeneol 등의 terpene류, cis-3-hexenol, n-hexanol, 1,4-butanediol 등의 alcohol류, ethyl isovalerate, cis-3-hexenyl isobutyrate, isoamyl 2-furoate등의 ester류, phenylacetaldehyde와 같은 aldehyde류, methyl vinyl ketone, 2-butanone, diethyl ketone등의 ketone류, 그리고 vanillin, 3-methylcoumarin 등이었다. 변이주의 전체 향기성분 중 terpenoid류는 0.423%로 배양액에 대해 3.53 ppm에 해당되는 양이었다.[8]

Lactococcus lactis ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*(*L. diacetylactis*) FC1에 의해 tetramethylpyrazine(TMP) 풍미성분을 생산하기 위하여 TMP의 전구체인 acetoin과 NH_3, 그리고 TMP를 생산하기 위한 최적 pH, 온도, 기질농도 등의 발효조건과 발효특성을 분석하였다. Citrate를 기질로 한 acetoin의 생산을 위해서는 초기 pH 5.5, 온도 34℃, Na-citrate 3%, thiamine HCl 2 mg/*l*, 당은 galactose가 적당하였다. Acetoin과 축합반응을 통하여 TMP로 전환되는 NH_3를 arginine HCl로부터 생산하는데 필요한 최적조건은 초기 pH 5.5, 온도 34℃, arginine HCl 6%, 당은 galactose 1% 등이었다. 이들 acetoin및 NH_3의 생산조건을 토대로 TMP생산배지를 조성하고 19일간 발효한 결과 0.57 g/*l*의 TMP를 얻을 수 있었다. Acetoin과 NH_3간의 축합반응을 촉진시키기 위하여 이들 두 전구체가 충분히 생성된 발효 2일 후에 최적발효온도인 34℃를 58℃의 반응온도로 올려 배양하였을때 16일 후에 3.4 g/*l*의 TMP가 생산되었다. 이상의 결과는 *L. diacetylactis*에 의해 TMP가 생산될 수 있음을 보여주는 최초의 보고이고 또 미생물에 의해서 생산되는 TMP로서는 최대의 생산치를 보여주는 것이었다.[9-11]

한편 *L. diacetylactis* FC1의 생육과 acetoin, 암모니아 생산성은 hematin을 포함하는 배지에서 호기적으로 배양하였을 때 크게 증가함을 알 수 있다. 각각 acetoin과 암모니아의 기질로 작용하는 citrate와 arginine을 동시에 배양 초기에 넣었을 때, 균 생육과 acetoin, 암모니아 생산성이 매우 낮았다. 그러나 citrate와 arginine을 배양 18시간 후에 각각 156, 50 mM씩 첨가하는 유가 배양법을 이용하여 98시간까지 배양하였을 때 acetoin과 암모니아는 각각 127, 195 mM까지 생성되었다. TMP는 acetoin과 암모니아의 축합 반응으로 생성되며 이것은 반응 온도, 반응시 pH 그리고 반응 시간에 영향을 받는데, 배양액으로부터 TMP를 생산하기 위한 최적 조건은 pH 8.3으로 조정한 후 121℃에서 4시간 가열하였을 때이었으며, 이 때 생성된 TMP 양은 0.8 g/*l*이었다.[12]

식물세포공학적 방법에 의한 방향 정유의 생산

각종 식물자원은 식품용 풍미료나 향료, 색소는 물론 여러가지 의약품이나 농업용 화학제품 등을 위해서도 이용되어 왔는데 최근에는 이들 2차 대사산물을 식물세포공학적으로 생산하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다.[13] 이 생물공학적인 생산 방법은 전통적인 방법에 비해 기후나 병충해등 환경요인에 관계없이 유용물질의 공급을 조절할 수 있고 생산성을 높일 수 있으며 단세포 수준에서 형질 개량을 할 수 있고 원 식물체나 화학적 합성법으로는 얻을 수 없는 새로운 물질을 생산할 수 있다는 장점을 갖고 있다.[14]

식물에서 생산할 수 있는 중요 2차 대사산물 중 식품에 관련된 성분은 크게 보아 풍미료와 색소로 나누어 볼 수 있는데 풍미료 성분 중에는 딸기, 포도, 바닐라 등의 풍미성분, 박하나 장미, 재스민 등의 방향정유, stevioside나 thaumatin, monellin 등의 감미료가 유망한 품목으로 알려져 있다.[15].

본 실험실에서는 peppermint와 spearmint의 진탕배양, 회분배양, 2단배양, 고정화 배양 등의 과정에서 박하세포의 생육 및 정유특성을 실험한 바 있다. 먼저 박하 세포의 현탁배양에 의한 monoterpenoid 풍미성분의 생산 가능성을 알아보기 위해 페퍼민트 박하 잎으로부터 캘러스를 유기하고 현탁배양중 배지의 조성, 식물 성장 호르몬, pH, 생육온도가 세포의 생육과 박하정유 생산에 미치는 영향을 조사하였다. 배지중에서는 Lin-Staba 배지에서 세포의 생육 및 박하 정유의 생산량이 가장 높았으며 특히 이 배지에 100 mg/*l* yeast extract를 첨가했을때 생육은 크게

저해되었으나 정유 생산량과 menthol의 함량은 각각 0.39 g/l와 19.6%로서 매우 높았다. 식물 성장 호르몬의 경우에는 auxin류가 cytokinin류를 첨가했을때 보다 생산성이 좋았으며 그 중 NAA가 생산량 및 menthol함량면에서 좋았다. 18/6시간 명암 반복의 광조건과 온도 27℃의 배양조건에서 암상태일 때의 온도를 10℃로 낮추어 배양한 결과 생육은 27℃와 차이가 없으면서 정유 생산량은 최고 528 mg/l로 높은 생성량을 보였고 menthol의 함량도 정유중 21%에 이르렀다. 그러나 재배된 박하와 비교하였을 때 주요 정유 성분인 menthol과 menthone은 각각 20%와 0.9%를 생산한 대신 그 전구체인 pulegone과 piperitone의 함량은 25%와 13%로, 재배된 박하에 비해 매우 많았다. 이와 같은 결과로부터 배양세포의 경우 pulegone에서 menthone, menthol로 이어지는 생합성 경로가 차단되었음을 알 수 있었다.[16]

페퍼민트 세포의 회분배양에 의한 monoterpenoid 풍미성분의 생산 가능성과 세포의 생육및 정유생산 특성을 알아보기 위해서는 캘러스로부터 얻은 모배양액을 기포 반응기 형태의 생물반응기에 접종하여 배양하였다. 회분배양중 접종량, abiotic stress, yeast elicitor, 그리고 2단 배양 등의 배양조건이 세포생육과 박하정유 생성 및 조성에 미치는 영향을 조사하였으며 배지의 pH, sucrose와 phosphate 농도, 그리고 세포생육의 kinetics를 분석하였다. 접종량을 달리하여 배양한 결과 2.0% PCV를 접종한 경우가 반응기에서 배양이 가장 적당하였는데 배양 10일만에 5.8 g/l의 세포 생육을 얻었으며 0.109 g/l의 박하정유가 생성되었다. Abiotic stress의 영향을 보기위해 27℃, 24시간 명상태로 배양하였던 조건에서 8시간을 암상태로 하고 10℃로 온도를 낮추어 배양한 결과 세포의 생육은 떨어졌으나 박하정유 생성량은 0.546 g/l로 높은 수율을 보여주었다. 사용한 Lin-Staba 배지에 100 mg/l의 yeast extract를 elicitor로서 첨가했을 때 세포의 생육과 정유 생성량이 높았으며 유일하게 menthol이 정유중 22.45%의 농도로 생성되었다. Lin-Staba 배지의 당농도를 1/2로 줄이고 27℃, 명조건으로 6일간 배양한 후 100 mg/l의 yeast elicitor를 첨가하여 8시간을 암상태와 10℃로 저온처리를 실시하여 6일간 배양한 결과 8일 이후에는 세포의 생육이 감소하였고 정유 생성량은 증가하지 않았으며 menthol도 생성되지 않았다.[17]

다음으로 pepperment 세포를 고정화하기 위한 최적 조건을 살펴보기 위하여 support matrix의 종류, polyurethane(PU) foam의 pore size, 안정제의 첨가, DEAE-cellulose의 농도, PU foams의 갯수, 세포의 초기 접종농도, 모배양액의 배양일수, 교반속도, loading phase의 길이 등이 고정화에 미치는 효과들을 분석하였다. 고정화 담체로는 PU foams, nylon mesh, cotton cloth 중 PU foams를 사용하였을 때 가장 효과적이었고 PU foams 중에서는 단위 cm^2당 145개의 pores가 있는 것이 가장 좋은 결과를 나타냈다. 세포의 g fresh weight당 200 mg의 DEAE-cellulose를 안정제로 첨가하고 배지 200 ml 안에 400개의 PU foams이 있을 때 세포의 고정화율이 가장 높았다. 또한 최대의 고정화율은 초기 접종량이 4 g fresh weight일 때 얻을 수 있었고, 고정화율은 교반 배양기의 교반속도에 매우 민감하여 100 rpm일 때 가장 높았다. 위에서 결정된 최적 조건들 하에서 고정화시 90%까지의 대부분의 peppermint 세포들이 4~5일 안에 PU foam에 고정화되었다.[18]

한편 spearmint에서도 우수 세포주를 선발하여 현탁배양을 실시하여 배양 중 배지성분, 식물 성장 호르몬, 배지 pH, 배양온도, 빛조건, 초기 phosphate 이온의 농도, yeast elicitor의 농도, cold stress 등 물리적, 화학적 배양환경이 세포의 생장 및 정유성분의 생성에 미치는 영향을 알아 보았다. 세포의 생육에 가장 좋은 배양 조건으로는 B5 배지, NAA 2 ppm, 27℃, 빛조건은 16시간/8시간, 명/암 반복조건이었다. 각 실험조건의 최적조건 하에서 배양한 결과 세포의 생육도는 PCV로 11.58%, 건물 중량으로 3.28 mg/ml의 세포생육을 얻을 수 있었다. 정유성분 생성을 위한 최적의 배지, 식물생장 호르몬, 배양온도, 빛 조건 및 배지의 pH는 최적의 생육도를 위한 조건과 일치하였고 배지 phosphate 및 yeast elicitor의 농도가 각각 100 mg/l 및 150 mg/l일때 정유생성량 및 정유조성에 가장 좋은 영향을 주었다. 본 실험에서 최적의 생육조건 및 정유성분 생성조건이 일치하지 않았음으로 배양초기 10일간은 세포생육 최적조건하에서 배양하여 상당량의 생육도를 얻은 후 다음 10일간의 배양기간중 최적의 정유성분생산을 도모하기 위한 2단계 배양을 실시하였다. 배양중 8시간 동안 암조건하에서 10℃로 온도를 낮추는 cold stress를 주었을 때 그 자체로서는 세포의 생육 및 정유성분 생성에 좋은 영향을 미치지 않았으나 제2단계에서 cold stress가 가해진 경우 정유성분 조성에 좋은 영향을 미치는 것으로 나타났다. 2단계 배양에 있어 가장 좋은 정유량 및 정유성분은 yeast elicitor에 의한

2단계 배양에서 얻어졌으며 이때 얻은 박하 정유량은 약 530 mg/*l*이었고 그 조성은 limonene 1.68%, carvone 3.48%로 나타났다.[19]

식물세포공학적 방법에 의한 천연색소의 생산

식물성 색소는 식품용, 화장품용, 의류 염색용 등으로 사용되어 왔는데 최근 들어 특히 수요가 많아지고 각광을 받는 분야는 식용색소 분야로서 안전성 문제 때문에 청량음료, 과자, 육제품 등에서의 잠재수요가 크다. 화장품에서의 관심도 커지고 있는데 이 경우 색소로서 뿐만 아니라 살균작용이나 항염작용 같은 약리효과를 기대하는 경우도 많다. 식물세포 배양에 의해 생산될 수 있는 천연색소로서는 지치의 shikonin, 꽃의 anthocyanin, 레드비트의 betanin, 꼭두서니의 purpurin, 쪽의 indigo blue, 울금의 curcumin 등이 있는데[20] 필자의 실험실에서는 이중 레드비트, 울금, 쪽의 세포배양을 시도한 바 있다.

Red beet(*Beta vulgaris*)에서 캘러스를 유기하는 데 있어서, 최적의 조건은 naphthaleneacetic acid 1 ppm 및 6-benzylaminopurine 0.3 ppm을 함유하는 전일 광조건이었으며, 캘러스 유기와 같은 배지 및 호르몬 조성으로 캘러스를 배양했을 때의 최적 광 조건으로서는 명암 (16/8시간) 반복 조건이었다. 이상의 조건하에서 캘러스를 배양 했을 때, 캘러스의 생육에는 sucrose 5%, 무기 질소원으로 KNO_3 2,500 mg이 좋은 효과를 보였으며, betacyanin의 생성에 있어서는 sucrose 3%, 전구체로서 L-dihydroxyphenylalanine 10^{-5} M이 좋은 효과를 보여 주었다. Red beet 추출물과 적색 캘러스 추출물, 흑색 캘러스 추출물을 wave length scanning과 TLC 분석을 한 결과, red beet 추출물과 적색 캘러스 추출물은 적색 색소 성분인 betacyanin과 황색색소성분인 betaxanthine을 함께 함유하고 있었으나 적색 캘러스에서는 raw red beet에 비해 betacyanin의 함량이 betaxanthine의 함량보다 상대적으로 적었음을 보여 주었다. 흑색 캘러스에서는 betacyanin 및 betaxanthine의 분해물로 추정되는 갈색물질과 황색색소성분인 betaxanthine이 함유되어 있었다.[21]

식품용 항생물질 nisin의 생산

Nisin은 34개의 아미노산으로 이루어진 peptide성 항생물질로 *Lactococcus lactis* 등이 생산하는데 소화기관에서 분해되므로 여러 식품에서 보존제로 사용될 수 있다. 미국, 영국, 프랑스등 여러나라에서는 식품에 10 ppm 농도로 첨가를 허용하고 있고 유제품, 과채류, 육제품 등의 식품에 매우 효과적으로 적용될 수 있음이 보고되었다.[22] 본 실험실에서는 각종 유제품의 발효에 중요한 역할을 하는 *L. lactis* ssp. *lactis* ML8의 nisin 생산특성을 조사하기 위하여 배지성분, 배양액의 pH, 배양시간의 항생역가에 미치는 영향을 분석하였고 nisin 농도에 대한 내성을 조사하기 위하여 nisin을 함유한 고체배지에서의 생균수와 Ca^{2+} 이온이 내성에 미치는 영향을 알아보았다. Nisin 확산법에 의한 미생물 생육저해구역 측정에 의한 표준곡선은 0.5~20 unit에서 직선관계를 보였는데 실험균주를 30 ℃에서 배양하였을 때 생산역가는 10.5 unit으로 나타났다. Nisin의 역가는 균체가 대수기 후기에 도달함에 따라 급격히 증가하다가 16시간 이후에 10 unit에 접근하였다. 액체배지에서의 내성은 고체배지에서 보다 약하였고, 내성이 없는 plasmid free strain인 *L. lactis* LM0230은 nisin이 175 ng/m*l* 함유된 Elliker agar 배지에서 생육이 억제되었으나 ML8 균주는 500 ng/m*l*에서 10^5 colony의 생육도를 보였다. Nisin이 200 ng/m*l* 함유된 액체배지에 Ca^{2+}을 400 mM 첨가했을 때 고유증식율(m)은 Ca 무첨가의 대조구와 비슷하게 나타났으며 Ca^{2+}이 내성에 미치는 영향이 큰 것으로 나타났다.[23]

또한 본 실험실에서는 nisin 생성능이 매우 높다고 알려진 *L. lactis* 7962 균주의 plasmid로부터 nisin production (nip^+) 유전자를 cloning 하였는데, 5 kb 및 9 kb의 fragment가 삽입된 colony를 hybridization 방법으로 확인하였다.

결 론

식품첨가물에서 특히 중요한 위치를 차지하는 천연풍미료, 천연색소, 식품용 보존제등은 부가가치가 높은 성분들인데 그 특성상 유전공학, 미생물세포공학, 식물세포공학 등 각종 생물공학적 기법이 적용되기 좋은 식품신소재이다. 생물공학적 기법을 이용하여 이들 식품신소재를 효율적으로 생산하기 위해서는 분자생물학, 생화학, 유기화학, 생물공학, 화학공학등 여러 학제간의 긴밀한 협조가 요구되며 또한 선진각국에서 집중 투자하고 있는 분야이다. 우리나라에서도 이 분야에서 보다 활발한 연구가 이루어짐으로써 안전하고 부가가치가 높은 천연 식품첨가물이

효율적으로 생산되어 국민건강과 관련산업발전에 이바지되어야 할 것이다.

참고문헌

1. Knorr, D: Food Biotechnology: it's organization and potential. *Food Technol.* **41**(4), 95 (1987).
2. Wasserman, B.P., Montiville, T.J. and Korwek, E.L.: *Food Technol.* **42**(1), 133 (1988).
3. U.S. F.D.A.: *Biotechnology and the U.S. food industry*. Technomic Pulb. Co., Lancaster, PA, USA (1987).
4. Lindsay, R.C. and Willis, B.J.: *Biotechnology challenges for the flavor and food industry*. Elsevier, London (1989).
5. Harlander, S.K. and Labuza, T.P.: *Biotechnology in food processing*. Noyes. Park Ridge, NJ, USA (19 86).
6. Schindler, J. and Schmid, R.D.: Fragrance or aroma chemicals—microbial synthesis and enzymatic transformations—a review. *Process Biochem.* **17**(5), 2 (1982).
7. Han, E.S. and Lee, H.J.: Effect of *Lactobacillus casei* AHU1055 on the fermentation and flavor of cheddar cheese slurries. *Foods Biotechnol.* **1**, 141 (1992).
8. 김소미, 이형주: *Kluyveromyces lactis*에 의한 유청으로부터 과일향 성분의 생성. 산업미생물학회지. **19**, 536 (1991).
9. Kim, K.H. and Lee, H.J.: Optimum conditions for the formation of acetoin as a precursor of the tetramethylpyrazine during the citrate fermentation by *L. diacetilactis* FC1. *J. Microbiol. Biotechnol.* **1**, 202 (1991).
10. Kim, K.H. and Lee, H.J.: Optimum conditions for the formation of ammonia as a precursor of the tetramethylpyrazine by *L. diacetilactis* FC1. *J. Microbiol. Biotechnol.* **1**, 281 (1991).
11. Kim, K.H. and Lee, H.J.: Optimum conditions for the formation of tetramethylpyrazine flavor compound by *L. diacetilactis* FC1. *J. Microbiol. Biotechnol.* **1**, 285 (1991).
12. Kim, K.S.: Optimum conditions for the formation of tetramethylpyrazine flavor compound by aerobic fed-batch culture of *L. diacetilactis* FC1. M.S. Thesis. Seoul National Unversity (1992).
13. Balandrin, M.F., Kloeke, J.A., Wurtele, E.S. and Bollinger, W.H.: Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science* **228**, 1154 (1985).
14. Payne, G.F., Schuler, M.L. and Brodelius, P.: Large scale plant cell culture. *In Large Scale Cell Culture Technology*. (Lyderson, B.K. ed.) Hauser Pulb. Munich. pp. 193-229 (1987).
15. Sahai, O.P. and Knuth, M.: Commercializing plant tissue culture process: economics, problems and prospects. *Biotechnol. Progress* **1**(1), 1 (1985).
16. 김진환, 이형주: 페퍼민트 현탁배양시 생육 및 정유생성 특성. 한국 농화학회지 **35**, 443 (1992).
17. 송은범, 이형주: 기포 생물반응기에서 페퍼민트 세포의 생육 및 정유생산 특성. 한국 생물공학회지 **8**, 281 (1993).
18. Kim, Y.S. and Lee, H.J.: Optimal conditions for the immobilization of peppermint cells in polyurethane foam matrix. *Foods Biotechnol.* **2**, 141 (1993).
19. Lee, H.J: Characteristics of growth and oil production of spearmint cells in a suspension culture. M.S. Thesis. Seoul National Unversity (1991).
20. 이형주: 식물성 bio색소의 생산. 유전공학 **34**, 42 (1991).
21. Choi, H.K.: Effects of environmental factors on callus growth and betalain accumulation in red beet callus culture. M.S. Thesis. Seoul National Unversity (1991).
22. 김등양, 이형주: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ML8의 nisin 생산 및 저항특성. 산업미생물학회지 **19**, 619 (1991).