

총 실

한국 전통발효식품에 관련된 박테리오신의 연구동향 (Current Researches on Bacteriocins in Korean Traditional Fermented Foods)

이나경 · 김성미 · 백현동

경남대학교 생명과학부

Lee, Na-Kyoung · Seong-Mi Kim · Hyun-Dong Paik

Division of Life Sciences, Kyungnam University

서 론

우리나라의 전통발효식품은 선조들의 지혜와 경험 그리고 우리 땅과 체질에 맞는 음식으로부터 개발되어 발전되어 왔으며, 그 중에서 김치류, 젓갈류, 장류, 술 등이 대표적인 예이다.

김치는 배추나 무를 주원료로 하여 다양한 부재료를 첨가하여 발효시킨 채소 발효식품이며, 원료와 젖산균 발효과정 중 생성되는 물질을 주성분으로 하는 한국인의 건강식품인 동시에 기능성 식품이다(5). 김치는 미생물에 의한 복합 발효로 숙성되어지며, 재료 중의 탄수화물, 아미노산 등으로부터 방향을 내는 저분자 물질들이 생겨나 김치의 독특한 맛과 향을 부여하게 된다. 김치 발효 초기에는 그람음성균인 *Aeromonas*속과 그람양성균인 *Bacillus*속이 우점종으로 나타나고, 적숙기의 김치(pH 4.3)에는 약 10^8 CFU/ml의 젖산균이 있으며 이때 김치의 주요 젖산균으로는 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *Pediococcus acidilactici* 등이 있다. 또한 김치발효 말기에는 효모들에 의해서 연부현상이 나타나게 된다(27).

한편, 한국인의 식생활에 중요한 위치를 차지하고 있는 젓갈류는 어폐류를 원료로 한 여러 종류의 미생물과 효소작용에 의한 전통발효식품이며 특유의 맛과 유리 아미노산 및 정미 성분이 풍부하여 단백질 공급원으로서 뿐만 아니라 김치의 부원료나 조미료로써 우리의 식생활과 밀접한 식품이다. 젓갈에서는 대부분 내염성인 호기성과 혐기성균이 공존하며 발효 숙성에는 주로 *Bacillus subtilis*, *L. mesenteroides*, *Pediococcus halophilus* 및 *Sarcina litoralis* 등이 관련하는 것으로 알려져 있다. 구체적으로 멸치젓 숙성 초기에는 *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Brevibacterium*, *Pediococcus*, *Sarcina*, *Micrococcus* 등이 우세하게 나타나며, 숙성 중기에는 *Saccharomyces*, *Torula* 등이 분리되었으며, 그 중에서도 *Pediococcus*가 가장 우세하게 존재한다고 보고되었다. 새우젓 숙성 중 미생물 변화를 보면 숙성 초기에는 *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Micrococcus denitrificans*와 같은 해양세균이 분리되었으나, 숙성 후기에는 호염성 세균인 *Halobacterium*,

Pseudomonas, *Micrococcus morrhuae*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*가 우세하다는 사실이 밝혀졌다(34, 35).

장류는 간장, 된장 등을 들 수 있으며, 식물성 단백질이 높은 소금농도에서 미생물의 작용으로 분해되어 구수한 향미를 나타내므로 조미료가 되는 동시에 저장성이 우수한 발효식품인 것이다. 간장의 경우 중국에 사용되는 국균은 단백질 분해력이 강한 *Aspergillus oryzae*와 *A. sojae*에 속하는 균주로 원료 중의 전분과 단백질이 분해된다. 또한 내염성 젖산균인 *Pediococcus sojae*가 주로 증식하게 되고, 그밖에 *Tetracoccus sojae*도 분포 한다. 젖산균의 증식으로 pH가 떨어지고 온도가 상승하면 내염성 효모인 *Zygosaccharomyces rouxii*가 증식하며 담금 후 3개월이 지나면 *Z. rouxii*가 *Candida polymorpha*(*C. diddensiae*), *C. versatilis*(*Torulopsis versatilis*) 등으로 대체된다. 이들 *Candida* 효모를 후숙 효모라 하며 6개월 정도면 발효와 숙성이 완료된다. 된장의 경우, 개량된장에서는 발효에 *A. oryzae*를 사용하는데 비해 재래된장은 *B. subtilis*가 발효에 관여한다. 또한 된장의 발효를 안전하게 진행시키기 위해 효모(*Z. rouxii*, *Candida*, 젖산균(*P. halophilus*, *Streptococcus faecalis*)이 이용되기도 한다.

탁주는 오랫동안 즐겨 음용 되어왔던 전통 주류로서 자연 발효시킨 밀기울과 증자된 쌀을 물과 적당히 혼합하여 발효시켜 제조한다(47). 탁주의 제조는 누룩으로부터 유래된 여러 당화효소들과 효모들이 작용하여 우선 전분을 분해, 당화하면서 효모류가 발효성 당을 이용하여 에탄올을 생산하는 것이 주된 공정이다. 이 외에도 전통발효식품의 술로는 청주, 약주 등이 있다.

우리 전통고유의 김치, 된장 등의 발효식품에서는 대부분 젖산균이 중요한 역할을 담당하고 있다(6, 14, 17). 또한 발효식품을 통해 섭취된 젖산균은 각종 동물의 장관 내에서 점막의 보호 및 장내 이상발효의 개선, 칼슘의 체내 흡수촉진 등 여러 가지 유익한 생리작용을 나타내기 때문에 정장제와 같은 의약품 및 사료첨가제로도 이용되고 있다. 최근에는 젖산균에 의한 혈중 콜레스테롤 저하작용, 면역기능 부활효과가 밝혀졌으며, 특히 면역기능 부활작용은 병원성 세균에 대한 감염 방어효과, 항암효과 등의 약리효능을 갖는다고 알려져 있다.

박테리오신은 미생물이 생산하는 천연의 항균성 단백질로서 기존의 항생제가 2차 대사산물인데 반해 자신의 유전자로부터 직접 생합성 되며, 분자가 단백질로 이루어져 있기 때문에 인체에 섭취되는 즉시 소화기관의 단백질가수분해효소에 의해 분해됨으로서 인체에 무독하고 잔류성이 없다는 측면에서 식품의 새로운 생물학적 보존제로 내지는 발효식품 들의 생물제어제로 그 효용이 크게 기대되고 있다(1-3). 현재까지 가장 활발히 연구된 젖산균 유래의 박테리오신은 nisin이다. Nisin은 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*가 세포 외로 생산하는 박테리오신으로서, 가공식품에 있어서 해로운 식품 오염균인 *Clostridium botulinum*에 대해서 항균작용이 있기 때문에 유럽에서는 아질산을 대신하는 식품보존료로서 통조림 등에 사용되고 있다. 또한 미국에서도 FDA(Food and Drug Administration)에서 식품첨가물로 인정되어 있으며, 현재 많은 국가에서 식품보존제로서 가공치즈, 야채, 과일 통조림, 우유, 마요네즈 등에 사용되고 있다(2, 15). 박테리오신의 작용 기작은 박테리오신의 종류와 성질에 따라 다양하지만 대략 3가지로 요약할 수 있다. 첫째, 대부분의 박테리오신은 인지질이나 당단백질과 같은 세포성분과 응집체를 형성하여 세포막의 수용체와 결합함으로서, 세포막에 ion channel을 만들어 세포 내 전해질을 유출시키거나 pH 균형을 파괴함으로서 세포막에 손상을 준다. 둘째, 일부 박테리오신은 세포막을 통과해서 protease로 작용함으로서 내부 단백질에 영향을 미친다. 셋째, 박테리오신이 target cell의 immune gene에 의해 생산되는 면역단백질과 가역적으로 결합하여 복합체를 형성한 다음 target cell의 receptor에 흡착한 후, 면역단백질이 박테리오신을 해리시켜 활성화시키면 해리된 박테리오신이 target cell 내로 들어가 작용한다(6, 38).

현재 전통발효식품과 관련된 박테리오신의 연구는 전통발효식품 유래 젖산균의 항균성 및 박테리오신의 특성에 대한 연구(1, 4, 10, 16, 43)와 상품화되어 있는 nisin을 전통발효식품에 대해 적용한 연구(12, 13, 42)가 주류를 이루고 있다. 따라서 본 총설에서는 국내 전통발효식품과 관련되어 수행되고 있는 박테리오신의 연구동향을 살펴보고자 한다.

전통발효식품으로부터 박테리오신 생산균주의 탐색과 동정

전통발효식품인 김치, 젓갈 등으로부터 박테리오신 생산균주의 탐색이 활발하게 이루어지고 있지만, 박테리오신 생산균주의 탐색 및 동정 기술은 식품환경 및 목적 균종에 따른 선택배지 선정, indicator의 합리성, 활성 유무 판단, 항균성 물질이 박테리오신임을 입증하는 방법 등의 어려움으로 인하여 가장 기본적이면서도 또한 어려운 기술이다.

지금까지 시도되었던 탐색방법으로는 김치 등의 시료를 희석하여 도말하는 일반적인 도말법과 고체 배지에서 직접 항균물질을 생산하는 균주를 분리할 수 있는 방법인 triple agar layer method(29, 36)가 사용되어 왔다. 배지는 주로 MRS 배지가 사

용되었고 선택배지로는 phenyl ethyl alcohol sucrose 배지 (*Leuconostoc* 용), m-Enterococcus 배지(*Streptococcus* 및 *Pediococcus* 용) 및 m-LBS 배지(*Lactobacillus* 용)가 사용되었다. 배양온도는 25°C, 30°C와 37°C로 하였고, 분리 후 주로 20% glycerol을 첨가하여 -70°C에서 보관하였다.

박테리오신의 활성을 측정하는 방법(38, 39)에는 spot-on-lawn method, well diffusion method(3), 및 paper disc method(5)가 보편적으로 사용되었다. 첫째, spot-on-lawn method는 액체 배양에서 배양된 indicator를 준비된 0.75% soft agar에 100 µl씩 접종, 혼합한 후 건조된 plate에 overlay하여 실온에 방치하여 건조시킨다. Cell-free supernatant를 overlay한 plate에 5 µl씩 각각 loading 한 후, 최적의 배양온도에서 배양하여 생육저해를 조사한다. 둘째, agar well diffusion method는 well을 만들고 상등액 또는 시료를 확산시킨 후 indicator를 포함한 soft agar를 overlay한다. 셋째, paper disc method는 plate 위에 indicator를 포함한 soft agar를 overlay하며, paper disc에 유산균 또는 상등액을 적신 후 배양하여 생육저해를 조사하는 방법이다.

전통발효식품에서 박테리오신 생산균주의 대부분을 차지하는 젖산균의 특성은 일반적으로 G+C 조성 50 mol%이하, 유기산 생성, 그람양성, 무 아포, 통성혐기적 배양특성, catalase 음성 등을 나타낸다. 이를 균주를 동정하기 위해 가장 많이 사용되는 방법으로는, API 50 CHL kit, BioLog로 탄소 이용성, 균체 지방산 조성분석(MIDI) 등이 있으며 carbon chain의 길이, 이중결합의 위치, 치환기 등의 차이가 미생물에 따라 다양하게 존재하므로 동정의 방법으로 사용되어 진다. 분자생물학적인 방법으로는 16S rRNA 염기서열 분석, DNA-DNA 상동성 분석, PCR을 이용하는 방법 등이 사용되고 있다. 지금까지 알려진 전통발효식품 유래 박테리오신 생산균주의 동정은 거의 생육 및 형태학적인 특징과 API kit를 이용하여 이루어져 왔다. *Lactococcus lactis* H-559의 경우는 16S rRNA의 염기서열 분석에 의해 동정하였으며(35), *L. lactis* NK24는 MIDI와 16S rRNA 등의 실험을 병행하여 행하였다(37). 차 등(35)은 cellulose TLC 방법 및 DNA 염기서열 분석에 의해 동정하였다. 신규 박테리오신 생산균주를 동정하는 것은 전통발효식품의 우수성과 기존의 생산균주와 비교 등에 이용될 수 있으며, 윤 등(48)에 의해 동정된 박테리오신 생산균주는 *Lactobacillus kimchii* sp. nov.로 밝혀졌으며, 김치에서 발견한 새로운 균종으로 증명되기도 하였다.

전통발효식품 유래 박테리오신의 정제

일반적으로 박테리오신을 정제하는데 있어서 문제점들은(6, 40). 첫째로 박테리오신은 일반적으로 배양액에 낮은 titer로 생산되기 때문에 많은 양이 생산될 수 있도록 생육 조건을 최적화해야 한다. 둘째, 생육 배지의 조성에 따라 정제에 많은 영향을 미치므로 이를 고려해야 한다. 특히 대부분의 박테리오신이 MRS와 같은 배지를 사용하여 미생물을 배양하고 그 배양액으로부터

정제를 수행하는 데, MRS에는 계면활성제인 Tween 80이 함유되어 있으므로 정제하는 과정에 있어 특히, 황산암모늄 침전시 원심분리하면 3가지 다른 phase를 나타나게 한다. 즉, pellet, surface pellicle, 그리고 상등액인데 대부분 박테리오신은 surface pellicle 부분에 나타나게 되므로 황산암모늄 침전에 의해 많은 양의 박테리오신이 손실된다. 셋째, 일반적으로 박테리오신은 여러 단계의 정제과정을 거치는 동안에 pH가 자주 바뀌게 되면 정제 수율은 매우 낮아지며, 반면에 낮은 pH 수준을 유지할 경우에는 정제 수율이 높게 나타난다(2-4). 넷째, 단백질 농도를 측정할 때 박테리오신의 경우 일반적으로 Lowry 방법을 사용하고 있으나 이 방법의 경우 지방과 세제가 반응을 저해하므로 주의를 기울여야 한다. 다섯째, 박테리오신의 정제도와 연관된 안정성으로 박테리오신은 순수하게 정제되면 될수록 안정성이 떨어지는 단점이 있다. 그러나 낮은 pH에서는 효과적으로 보관할 수 있다는 보고가 있다(40).

Table 1에서 보는 바와 같이 국내 전통발효식품에서 유래된 박테리오신의 정제에 관한 실험결과는 상기와 같은 이유들로 인해 아직 미비한 실정이며 따라서 탐색된 박테리오신이 순수 정

제되어 기존의 박테리오신과 비교 검토되는 연구들이 선행되어야한다. 생산된 박테리오신의 정제 및 분자 동정 기술은 일반적으로 분별 침전(주로 에탄올 침전 또는 황산암모늄 침전), 이온교환결합크로마토그래피, 젤여과결합크로마토그래피, HPLC 등의 방법을 가장 많이 사용하고 있으며 정제 방법의 선정은 박테리오신의 분자성질에 따라 여러 가지 방법으로 시도되었다.

전통발효식품 유래 박테리오신의 분자생물학적 특성과 생산

대부분의 유산균 박테리오신들은 활성을 갖지 못하는 prepeptide로서 처음 해독된 후 생물학적 항균활성을 갖는 성숙한 분자로 형성되기 위해 연속적인 가공과정(processing)을 거치며, 대부분의 젖산균 박테리오신 생산 균주들의 박테리오신 생산에 관련된 유전자들은 세포내 plasmid DNA에 존재하고 있다는 것인 plasmid curing test(6, 31, 46)에 의해 밝혀졌다. Leucocin K(23 kb plasmid), lactococcin K3113(15.5 kb plasmid)의 유전자는 plasmid에 존재하는 김치 유래 박테리오신이다(14, 46). 예외적으로 nisin의 경우에 박테리오신이 chromosome에 위치

Table 1. Purification, characterization and comparison of bacteriocins from traditional Korean fermented foods

Bacteriocin	Producer	Medium	Purification Scheme ^a	Gene location	Reference
LAB JJ2001	<i>Lactobacillus</i> JJ-2001	MRS	ND ^b	ND	22
Caseicin K319	<i>L. casei</i> LAB 31-9	MRS	ND	ND	1
Unnamed	<i>L. curvatus</i> SE1	MRS	IEC(14 kDa)	ND	27
Unnamed	<i>L. brevis</i>	MRS	GFC(59 kDa)	ND	4
Lacticin BH5	<i>Lactococcus lactis</i>	MRS	ASP, EP, IEC (3.5 kDa)	ND	35
Unnamed	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> A164	0.5% lactose + M17 broth	CEC, UF (3.5 kDa)	ND	3, 6, 7
Lactococcin K3113	<i>L. lactis</i> LAB3113	MRS	ASP(10.5 kDa)	Plasmid (15.5 kb)	46
Unnamed	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> H-559	MRS	ND	ND	18, 44
Lacticin NK24	<i>L. lactis</i> NK24	MRS	ASP(3.5 kDa)	ND	37
Lacticin SA72	<i>L. lactis</i> SA72	MRS	EP(3-3.5 kDa)	ND	30
Lactococcin K	<i>L. lactis</i> KCA2386	MRS	CEC, GFC (8.1kDa)	Chromosome	31
Leucocin K	<i>Leuconostoc</i> sp. LAB145-3A	MRS	CEC, GFC (4.4 kDa)	Plasmid (23 kb)	12
Unnamed	<i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> DU-0608	MRS	ASP(6kDa)	ND	4
Leucocin J	<i>Leuconostoc</i> sp. J2	MRS	ASP(2.5-3.5 kDa)	ND	8

^aAbbreviations: ASP, ammonium sulfate precipitation; EP, ethanol precipitation; GFC, gel filtration chromatography; UF, ultrafiltration; CEC, cation exchange chromatography; IEC, ion exchange chromatography. ^bND, Not determined.

하고 있다는 것이 보고되어 있으며, 또한 김치에서 분리된 A164 박테리오신, lactococcin K와 caseicin K319 등의 유전자도 chromosome에 존재한다고 보고되었다(1, 6, 31). 젖산균의 박테리오신 생산과 연관된 유전자들은 전형적으로 구조 단백질을 암호화하는 첫 번째 유전자와 함께 multigene operon-like structure 안에 배치되어 있는 것으로 알려졌으며, 이들 유전자의 산물들은 전사조절, 해독 후 변형과정, processing, 세포 외로의 분비, 그리고 박테리오신 생산 균주 자신의 보호를 위한 면역 기작에 요구된다고 알려져 있다(6, 41).

이밖에 전통발효식품 유래 박테리오신들에 대한 분자생물학적 인 연구들이 시도되었다. 즉, 그람양성균에 대해서만 항균활성을 보이는 단점을 극복하기 위해, *L. lactis* A164/pOED1의 응합체를 형성하여 그람음성균에 강한 항균 활성을 나타내는 human -defensin-1(hBD-1)을 발현시킨 연구가 있으며(6), 또한 젖산균의 균주 육중 방범증의 하나인 electrofusion(20, 21) 기법에 의해 김치에서 분리한 박테리오신 생성능이 없는 *Lactobacillus* JC-7과 박테리오신 생성능이 우수한 *Lactobacillus acidophilus* 88을 응합시키는 방법도 연구되었다. *Leuconostoc* sp. J2로부터 plasmid를 분리한 후, 대장균에 cloning하여 발현에 성공하였다(8). 향후에도 박테리오신의 제한된 항균범위 및 생산량 등을 개선할 수 있도록 많은 유전공학적인 시도가 이루어져야 할 것이다.

전통발효식품에서 유래된 균주에 의한 유용 박테리오신의 생산은 생육배지, pH, 온도 등의 배양 조건에 의해서 크게 영향을 받는다. 특히 배지의 pH는 박테리오신 생산에 있어 가장 큰 영향을 주는 인자로 알려져 왔다. 그러나 박테리오신 생산에 미치는 배지의 조성에 대해서 상세하게 연구된 비는 부족하지만, 일반적으로 질소원으로 yeast extract 또는 beef extract를 사용하거나, 계면 활성제인 Tween 80을 첨가하면 박테리오신의 생산이 증가되는 것으로 알려져 있다(3, 35). *L. lactis* subsp. *lactis* A164의 경우, 최적 배지 조성은 M17 broth에 0.5% lactose를 첨가하였을 때이며, 30°C와 pH 6.0을 유지할 때 최대 박테리오신 활성을 보였다. 젓갈에서 유래한 *L. lactis* NK24는 MRS broth가 최적 배지였으며, 최적 생육 온도는 37°C이지만 30°C에서 산도를 pH 6.0으로 조절할 때 최대 박테리오신 활성을 보였다. 반면, *L. lactis* subsp. *lactis* H-559의 경우 박테리오신 생산을 위한 최적 온도는 25°C였으며, 초기 pH가 8.0일 때 최대 박테리오신 활성을 보였다. *Lactococcus* sp. J-105의 생육 및 박테리오신의 생산을 위한 최적 탄소원 및 질소원은 각각 maltose와 polypeptone이었고, 최적 온도는 25°C이며, pH 8에서 최고 활성을 나타내었다(3, 19, 35).

현재, 상업화 되어있는 nisin의 경우에는 유가식 및 연속 배양과 고정화 등에 의한 생산 결과가 보고된 바 있으나, 전통발효식품 유래 유용 박테리오신인 경우 이러한 연구가 아직 부족한 실정이다. 이들의 산업화를 위해서는 nisin과 마찬가지로, 경제성 있는 산업용 배지의 검토가 이루어지고 유가식 배양, 연속

배양, 그리고 세포 고정화에 의한 박테리오신의 생산성 증가에 관한 연구들이 이루어져야 할 것이다.

전통발효식품과 관련된 박테리오신의 응용

박테리오신은 미생물이 생산하는 천연 무독성 방부제로 주목받고 있는 항균성 단백질로서 인체에 섭취되면 소화기관의 단백질가수분해효소에 의해 분해되고, 인체에 무해하며 잔류성이 없기 때문에 식품 등에 천연방부제로서 효용성이 증대되고 있다. 대부분의 박테리오신은 비교적 고온에서 불활성화되지 않으며, 광범위한 pH에서 안정성을 갖는 것이 특징이고, 무독, 무색, 무취이므로 다양한 용도 개발이 기대되는 단백질이다. 즉, 발효유, 발효알콜음료, 통조림, 냉장·냉동제품에서의 저장성 향상 및 고추장, 된장, 두부, 유산균 발효 제품 등의 저장연장, 또한 김치, 약주, 톡주 등의 전통식품과 과실 및 야채류의 저장성을 향상시킬 수 있으리라 판단된다(25, 47).

박테리오신의 이용 방법으로는 크게 식품 보존료로서 첨가하는 방법과 생산균주를 직접 첨가하는 방법이 있다. 박테리오신을 보존료로 첨가하는 방법으로서 nisin을 톡주 제조시 500 IU/g 수준으로 첨가하므로써 세균 오염에 의한 변패 방지 및 품질 향상에 도움을 주었다(47). 그러나 류 등(45)의 보고에 의하면 김치의 과숙을 방지하기 위해 nisin을 첨가하였을 때, 김치 성분 자체에 의한 nisin의 불활성화로 큰 효과를 보지 못하였다. 이와 반대로 쇠 등(9, 10, 12, 13)에 의하면 nisin이 젖산균, 특히 *Lactobacilli*를 효율적으로 저해하므로 김치의 과숙을 방지하는데 효과가 있는 것으로 보고되었다. 저장온도를 변화시킨(4 또는 7일간 저장한 후 25°C로 조절) 수출용 김치에 *Leuconostoc mesenteroides*와 nisin을 같이 첨가하였을 때, 대장균의 생육을 억제할 수 있었다. 전통발효식품에서 얻은 새로운 박테리오신에 관한 연구로서, ground beef에 nisin과 lacticin NK24를 각각 첨가하였을 때 리스테리아균에 대한 생육 저해 효과를 확인할 수 있었다(42). 그 외에도 김치에서 분리한 젖산균인 *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* 균주로부터 얻은 박테리오신들은 냉장 식품에 악영향을 주는 리스테리아 균에 대한 생육저해 효과가 확인되었다(11, 25, 26, 43). 박테리오신 생산 균주를 식품에 직접 첨가하는 방법으로서 *Enterococcus faecium* 박테리오신 생산균주를 starter로 이용하였고, 이는 김치의 적식기를 연장시키기 위한 방법으로 사용되었다. 따라서 김치에 대해서는 박테리오신 및 생산균주를 첨가함으로서 어느 정도 저장성을 인위적으로 조절할 수 있을 것으로 사료된다. 마지막으로 전통발효식품으로부터 얻은 박테리오신을 항균물질로 사용하여 포장제로 사용하는 방법도 검토되었다(28). Lacticin NK24와 nisin을 저밀도 폴리에틸렌에 코팅하여 항균필름을 제작하여 이 항균 포장재를 소고기나 생굴에 적용하였을 때, 품질보존에 도움을 주었고 또한 저장기한을 연장시키는 등의 효과로 볼 때, 박테리오신을 항균포장의 원료 물질로 이용할 수 있다는 가능성을 보여주었다.

전통발효식품과 관련된 박테리오신 특허현황

국내 특허청에 박테리오신과 관련된 특허는 총 50건 정도이고, 이 중 전통발효식품에 관한 특허로 김치관련은 6건, 젓갈 관련은 1건으로 총 7건이다. 이를 특허 내용은 Table 2에서 보는 바와 같이, 전통발효식품 유래 박테리오신 생산균주의 분리 및 식품에 응용(김치의 저장기간 연장, 발효육에서 유해균에 대한 생육 억제 효과, 안정성과 풍미 등에 미치는 영향, 김치의 박테리오신 생산균을 카테지 치즈 제조에 사용), nisin 첨가에 의한 산폐 방지 방법과 박테리오신 생산방법 등으로 이루어져 있다.

향후 연구개발 전망

우리나라는 김치, 젓갈, 장류 등의 전통발효식품이 풍부한 뿐만 아니라 이를 식품이 국민건강을 좌우하는 주요 기초식품을 이루고 있으므로, 박테리오신에 대한 과학적, 산업적 응용 기술에 대한 연구는 매우 중요하다. 이미 젖산균이 발효식품에서 사용되고 있고 또한 소비자들에게 안전성을 인정받고 있으므로 이를 젖산균에서 천연 항균성 단백질인 박테리오신을 얻는다는 것은 의의가 있을 것이다. 따라서 신규 박테리오신을 탐색하기 위한 효율적인 탐색기술의 개발이 필요하며, 전통발효식품에서 탐색된 유용 박테리오신의 순수 정제를 통해 더욱 많은 연구성과가 확보되어야 하며, 젖산균 박테리오신의 그람양성균에 대해 한정된 범위의 항균력과 내성균 출현의 문제점 등이 보고되고 있으므로 다른 항균제와의 혼용 및 defensin과의 공동 발현을 통한 그람음성균에 대한 감수성을 증가시키는 연구들이 이루어져야 할 것으로 사료된다. 또한 박테리오신에 의한 내성균 출현의 문제를 해결하기 위해서는 여러 종류의 박테리오신을 혼합하여 사용하는 방법과 보다 체계적인 분자생물학적 연구가 진행되어야 하며, 유용 박테리오신들을 여러 식품에 항균제로서 또는 생균 형태로 식품에 첨가할 때 특정 병원균에 대한 안전성을 확보하는 연구들도 활성화되어야 할 것이다. 결론적으로 전통발효식품에서 유래된 젖산균 박테리오신은 내열성과 안전성 및 식품의 풍미에 영향을 미치지 않는 등의 장점이 있으므로, 지속적인 연구를 통한 많은 정보들이 축적되어 질 때 산업화가 급속히 이루어 질 것이다.

참고문헌

- Bae, S.-S. and C. Ahn. 1997. Antibiosis and bacteriocin production of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *J. Food Sci. Nutr.* **2**, 109-120.
- Bibek, R. and D. Mark. 1992. Food biopreservatives of microbial origin. pp. 323-342. CRC Press.
- Cheigh, C.-I. 1998. Optimal conditions for the production of a bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164. MS thesis, Yonsei University.
- Cha, D.-S. and D.-M. Ha. 1996. Isolation of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* DU-0608 with antibacterial activity from Kimchi and characterization of its bacteriocin. *J. Microbiol. Biotechnol.* **6**, 270-277.
- Cho, J.-S., S.-J. Jung, Y.-M. Kim and U.-H. Chun. 1994. Detection of the bacteriocin from lactic acid bacteria involved in Kimchi fermentation. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 700-706.
- Choi, H.-J. 2001. Production of a bacteriocin, nisin Z by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from Kimchi and heterologous gene expression of human β -defensin-1. Ph. D. dissertation, Yonsei University.
- Choi, H.-J., C.-I. Cheigh, S.-B. Kim and Y.-R. Pyun. 2000. Production of a nisin-like bacteriocin *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from Kimchi. *J. Appl. Microbiol.* **88**, 563-571.
- Choi, H.-J., H.-S. Lee, S. Her, D.-H. Oh and S.-S. Yoon. 1999. Partial characterization and cloning of leuconocin J, a bacteriocin produced by *Leuconostoc* sp. J2 isolated from the Korean fermented vegetable Kimchi. *J. Appl. Microbiol.* **86**, 175-181.
- Choi, M.-H. and Y.-H. Park. 2000. Selective control of lactobacilli in Kimchi with nisin. *Lett. Appl. Microbiol.* **30**, 173-177.
- Choi, M.-H. and Y.-H. Park. 1998. Inhibition of lactic acid bacteria in Kimchi fermentation by nisin. *J. Microbiol.*

Table. 2. 전통발효식품에 관련된 박테리오신의 특허현황

특허 명칭	등록(출원)번호	출원인
박테리오신을 생산하는 유산균 및 그를 이용한 김치의 장기보존	제 131136호	두산종합식품(주)
김치로부터 분리한 락토바실러스 펜토서스 LSDM	제 196680호	한국식품개발연구원
신규한 박테리오신을 생산하는 신규 락토코커스 속 미생물 및 그로부터 생산되는 박테리오신	제 209787호	한국과학기술연구원
천연 항균물질을 생산하는 락토코커스 락티스 미생물(KFCC 11047)	제 273742호	(주)풀무원
나신 첨가에 의한 김치 산폐 방지 방법	제 1999-015451호	학교법인 대우학원
젓갈 유래 박테리오신 생산균주 및 이로부터 박테리오신 생산방법	제 1999-054721호	백현동
김치발효공정을 이용한 유산균 식이섬유함유 발효육의 제조방법	제 2000-024426호	(주)엔티케이코리아

- Biotechnol.* **8**, 547-551.
11. Choi, S.-Y. and L. R. Beuchat. 1994. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by a bacteriocin of *Pediococcus acidilactici* M during fermentation of Kimchi. *Food Microbiol.* **11**, 301-307.
 12. Choi, S.-Y., H.-W. Lee and K.-S. Chung. 1992. Fluctuation of *Escherichia coli* on the storage of Kimchi treated with *Leuconostoc mesenteroides* IFO 12060 and nisin. *J. Korean. Soc. Food Nutr.* **21**, 414-417.
 13. Choi, S.-Y., I.-S. Lee, J.-Y. Yoo, K.-S. Chung and Y.-J. Koo. 1990. Inhibitory effect of nisin upon Kimchi fermentation. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **18**, 620-623.
 14. Choi, Y.-O. and C. Ahn. 1997. Plasmid-associated bacteriocin production by *Leuconostoc* sp. LAB145-3A isolated from Kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **7**, 409-416.
 15. De Vuyst, L. and E. J. Vandamme. 1994. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria, pp. 91-142. In De Vuyst, L. and E. J. Vandamme (eds.) *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic & Professional, Glasgow, U.K.
 16. Ha, D.-M. and D.-S. Cha. 1994. Novel starter for Kimchi, using bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* strain. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 550-556.
 17. Ha, D.-M., D.-S. Cha and S.-G. Han. 1994. Identification of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from Kimchi and partial characterization of their bacteriocin. *J. Microbiol. Biotechnol.* **4**, 305-315.
 18. Hur, J.-W., H.-H. Hyun, Y.-R. Pyun, T.-S. Kim, I.-H. Yeo and H.-D. Paik. 2000. Identification and partial characterization of lacticin BH5, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* BH5 isolated from Kimchi. *J. Food Prot.* **63**, 1707-1712.
 19. Jo, Y.-B., K.-M. Bae, S.-K. Kim and H.-K. Jun. 1996. Evaluation of optimum conditions for bacteriocin production from *Lactobacillus* sp. JB-42 isolated from Kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **6**, 63-67.
 20. Jo, Y.-B., H.-J. Choi, K.-M. Bae and H.-K. Jun. 1997. Morphological and physiological properties of interspecific electrofusants, bacteriocin producer, from *Lactobacillus* sp. JC-7 and *Lactobacillus acidophilus* 88. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 1237-1245.
 21. Jo, Y.-B., H.-J. Choi, H.-S. Baik and H.-K. Jun. 1997. Evaluation of optimum conditions for the electrofusion between *Lactobacillus* sp. JC-7 isolated from Kimchi and *Lactobacillus acidophilus* 88. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 121-128.
 22. Jo, Y.-B., W.-J. Joh, Y.-I. Cho, E.-J. Lee, S.-K. Kim and H.-K. Jun. 1997. A study on bacteriocin produced by *Lactobacillus* sp. JJ-2001 isolated from Kimchi. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **12**, 73-80.
 23. Jo, Y.-B., Y.-I. Cho, H.-S. Baik and H.-K. Jun. 1996. Bacteriocin production by *Streptococcus* sp. J-C1 isolated from Kimchi. *Korean J. Life Sci.* **6**, 270-277.
 24. Jung, C.-M. 2000. The bacteriocin of lactic acid bacteria and application. *Bioindustry* **13**, 7-8.
 25. Kim, H.-J., N.-K. Lee, S.-M. Cho, K.-T. Kim and H.-D. Paik. 1999. Inhibition of spoilage and pathogenic bacteria by lacticin NK24, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* NK24 from fermented fish food. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**, 1035-1043.
 26. Kim, J.-H. 1995. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by bacteriocin(s) from lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Agri. Chem. Biotechnol.* **38**, 302-307.
 27. Kim, S.-K., E.-J. Kim, K.-Y. Park and H.-K. Jun. 1998. Bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* SE1 isolated from Kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **8**, 588-594.
 28. Kim, Y.-M., N.-K. Lee, H.-D. Paik and D.-S. Lee. 2000. Migration of bacteriocin from bacteriocin-coated film and its antimicrobial activity. *Food Sci. Biotechnol.* **9**, 325-329.
 29. Kim, W.-J. 1996. Screening of bacteriocinogenic lactic acid bacteria and their antagonistic effects in sausage fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* **6**, 461-467.
 30. Koo, K.-M., N.-K. Lee, Y.-I. Hwang and H.-D. Paik. 2000. Identification and partial characterization of lacticin SA72, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* SA72 isolated from Jeot-gal. *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 488-495.
 31. Ko, S.-H and C. Ahn. 2000. Bacteriocin production by *Lactococcus lactis* KCA2386 isolated from white Kimchi. *Food Sci. Biotechnol.* **9**, 263-269.
 32. Kwak, G.-S., S.-K. Kim and H.-K. Jun. 2001. Purification and characterization of bacteriocin J105 produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* J105 isolated from Kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **11**, 275-280.
 33. Kwak, G.-S., J.-F. Cu, K.-M. Bae and H.-K. Jun. 1999. Characterization of bacteriocin production by *Lactococcus* sp. J-105 isolated from Kimchi. *Korean J. Life Sci.* **9**, 111-120.

34. Lee, C.-H., K. H. Steinkraus and P. J. A. Reilly. 1993. Fish fermentation technology. pp. 187-279. United Nations University Press.
35. Lee, H.-J., C.-S. Park, Y.-J. Joo, S.-H. Kim, J.-H. Yoon, Y.-H. Park, I.-K. Hwang, J.-S. Ahn and T.-I. Mheen. 1999. Identification and characterization of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 282-291.
36. Lee, N.-K., S.-A. Jun, J.-U. Ha and H.-D. Paik. 2000. Screening and characterization of bacteriocinogenic lactic acid bacteria from Jeot-gal, a Korean fermented fish food. *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 423-428.
37. Lee, N.-K. and H.-D. Paik. 2001. Partial characterization of lacticin NK24, a newly identified bacteriocin of *Lactococcus lactis* NK24 isolated from Jeot-gal. *Food Microbiol.* **18**, 17-24.
38. Paik, H.-D. 1996. Bacteriocins: assay, biochemistry, and mode of action. *J. Food Sci. Nutr.* **1**, 269-277.
39. Paik, H.-D., S.-S. Bae, S.-H. Park and J.-G. Pan. 1997. Identification and partial characterization of tochicin, a bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp. *tochigensis*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **19**, 294-298.
40. Paik, H.-D. and D.-H. Oh. 1996. Purification, characterization, and comparison of bacteriocins. *J. Microbiol. Biotechnol.* **6**, 151-161.
41. Paik, H.-D. and B. A. Glatz. 1997. Purification and partial amino acid sequence of propionicin PLG-1, a bacteriocin produced *Propionibacterium thoenii* P127. *Lait* **75**, 367-377.
42. Park, H.-J., N.-K. Lee, J.-O. Choi, J.-U. Ha and H.-D. Paik. 2001. Control of *Listeria monocytogenes* in ground beef by lactococcal bacteriocins. *Food Sci. Biotechnol.* **10**, 199-203.
43. Park, Y.-H. and H.-J. Song. 1991. Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* Lp2 isolated from Kimchi. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **19**, 637-643.
44. Park, E.-H. 1998. Production, purification and characterization of bacteriocin from *Lactococcus lactis* sub-species BH5 and strain GO5 isolated from Korean traditional fermented foods. MS thesis, Hankuk University of Foreign Studies.
45. Ryu, H.-J., C.-H. Chung and K.-H. Kyung. 1998. Evaluation of nisin as a preservative to prevent over-acidification of Kimchi. *Food Sci. Biotechnol.* **7**, 205-208.
46. Shin, J.-Y. and C. Ahn. 1997. Characterization of bacteriocin production by *Lactococcus lactis* LAB3113 isolated from Kimchi. *J. Food Sci. Nutr.* **2**, 101-108.
47. Yoo, J.-Y. and S. Lee. 1997. Use of nisin for improved ethanol producing Takju fermentation. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 203-206.
48. Yoon, J.-H., S.S. Kang, T.-I. Mheen, J.-S. Ahn, H.-J. Lee, T.-K. Kim, C.-S. Park, Y.-H. Kho, K.-H. Kang and Y.-H. Park. 2000. *Lactobacillus kimchii* sp. nov., a new species from Kimchi. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **50**, 1789-1795.

백현동

1979-1983년	연세대학교 식품공학과(공학사)
1983-1985년	연세대학교 대학원
	식품생물공학과(공학석사)
1984-1988년	현대중공업(주)
	유전공학연구소(연구원)
1988-1990년	고려화학(주) 중앙연구소(연구원)
1990-1992년	미국 아이오와주립대(ISU)
	식품공학과(M.S.)
1993-1995년	미국 아이오와주립대(ISU)
	식품공학과(Ph.D.)
1995년	한국과학기술연구원 부설
	생명공학연구소(Post-doc Fellow)
1995-1998년	경남대학교 식품공학과 (전임강사, 조교수)
1999-현재	경남대학교 생명과학부 식품생물공학전공(조교수, 부교수)