

프로바이오틱스 유산균을 이용한 건강 기능 식품 개발

박명수¹ · 권 빈¹ · 조상희¹ · 염은미² · 김남주² · 김혜영² · 지근익^{1,2*}¹(주)비피도 중앙연구소²서울대학교 식품영양학과

서 론

전 세계적으로 고령화 사회가 되며 건강 관련 산업이 생명공학 시대를 움직이는 원동력이 되고 있다. 질환 부위로서는 위와 간은 점차 낮아지며 장과 폐 질환이 증가하는데 특히 대장암이 현저하게 증가하고 있다. 장 질환의 증가는 각자의 장내에 있는 1 kg의 세균 대사와 밀접한 관련이 있다. 선진국에서 대장암은 부위별 암 발생에서 2위이며 우리나라도 지난 20년 동안 7위에서 4위로 올라왔는데 앞으로 2위로 오를 것으로 전망된다. 대장암 이외에도 과민성 대장 증세와 장염이 증가하고 있어 장의 건강을 증진시키기 위한 각종 기능성 식품 소재 및 약제의 개발이 매우 활발할 것으로 예상된다. 유산균은 일반인에게 널리 알려져 있는 유용성 소재로서 주로 정장 작용을 기대하며 사람들이 섭취하는 프로바이오틱스 균의 대표이다. 유산균의 종류로서는 비피더스, 유산 간균, 유산 구균 등 다양한 종류가 있는데 모두 젖산(또는 유산)을 생성하는 능력이 왕성한 균들이다. 프로바이오틱 유산균들은 균주마다 인체에게 유용성을 주는 능력에 차이가 있다. 인체의 위장을 죽지 않고 살아서 통과하는 정도, 인체의 장에서의 정착성, 장 내의 다른 균들과의 경쟁에서 살아남는 능력, 독성물질을 제거하는 능력 등 균주에 따라 그 능력에 차이가 있는 것이다. 따라서 보다 우수한 능력의 균을 개발하기 위한 노력이 현재 활발히 진행되고 있고 이들 균주를 이용하여 건강증진을 높여주는 기능성 식품이 활발히 개발되고 있다. 또한 현재 일어나는 매우 중요한 변화의 하나는 이제 유산균이 단순히 식품의 제조에 이용되는 것에 그치는 것이 아니고 인체 질병의 치료 의학적 기능을 갖도록 보다 적극적으로 새로운 프로바이오틱 균주를 개발하는 것이 진행되고 있는 바 이는 점차 식품과 약의 경계를 모호하게 할 것이다. 본 내용에서는 위와 같은 새로운 변화를 일으키는 유산균의 연구가 구체적으로 어떻게 진행되고 있는지 보다 언급하기로 하겠다.

본 론

프로바이오틱스의 기능으로서 인체의 장내에 존재하는 해로운 세균의 억제 작용이 가장 중요하다. 유산균이 생산하는 유기산, 항균성 펩타이드인 박테리오신, 과산화 수소, 저분자 항균물질 등이 있다. 박테리오신에 대한 많은 연구가 이루어진 상태이지만 *Lactococcus lactis*가 생산하는 nisin 이외의 박테리오신은 아직 상용화되지 못하였다. 우리나라에서는 사용 허가된 박테리오신이 없다. 일반적으로 박테리오신의 항균 범위는 넓지 못하고 최근에는 식중독 균들의 박테리오신에 대한 내성 발현도 보고되고 있다. 유산균들은 식품으로 안전하게 사용할 있기 때문에 유산균을 발효하거나 정장제 유산균의 항균성 물질을 이용하는 제품은 우리나라에도 다수 있으며 계속 새로운 제품이 개발되고 있다. 프로바이오틱스 기능성은 비피더스가 매우 좋는데 비피더스에서는 박테리오신 연구가 매우 제한적으로 이루어지고 있다. 비피더스에서 많이 생산되는 초산은 일반 유산균이 생산하는 젖산에 비하여 항균력이 보다 강한 것으로 알려져 있다. *L. reuteri*가 생산하는 루테린은 유기화합물성 항균물질이라 항균 범위가 대단히 넓고 항균력도 매우 좋으나 인체 세포에 대한 세포 독성도 보유하고 있어 이 균을 이용한 제품 개발시에는 적절한 검토가 요구된다. 유산균이 유아에서 발생하는 로타바이러스 설사의 증상을 완화한다는 보고들이 다수 있다. 최근에 본 연구진에서는 로타바이러스의

증식을 억제하는 신규 단백질을 발견하였다. 프로바이오틱스의 항균 작용은 균주에 따라 소장 또는 대장에서 작용하게 된다. 따라서 장에서 잘 정착할 수 있는 균주를 선발하여야 장내의 유해균에 대한 억제 효과를 보다 잘 구현할 수 있다.

최근에 유산균이 생산하는 저분자 또는 고분자 기능성 물질들에 대한 관심이 높아지고 있다. 대표적인 저분자 기능성 물질로서는 CLA (conjugated linoleic acid)와 GABA (gamma amino butyric acid) 등이 있다. 유산균 중에는 *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium* 등이 CLA를 생산한다. CLA는 항암성, 콜레스테롤 저하성, 체중 저하 효과 등이 있다고 알려져 있다. 현재 CLA 생산은 알칼리 처리법으로 생산하는 것이 경제적이다. CLA 생산 유산균의 이용, 효소적 전환 또는 CLA 생산 효소의 분자 클로닝을 통하여 CLA를 생산하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있으나 아직은 경제성 있는 공정은 개발되어 있지 못하다. GABA는 *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis* 등이 glutamate로부터 생산한다. GABA는 혈압 조절 작용, 신경 안정 작용 등이 알려져 있다. 유산균에 의한 GABA의 생산은 경제성이 좋아 최근 기존의 합성법에 의한 생산을 대체하고 있으며 생산원가를 상당히 낮추고 있다. GABA 생산 유산균의 활용은 발아 현미를 이용한 GABA 생산보다는 경제적인 방법이며 GABA의 생산 응용 범위가 더욱 넓어질 것으로 예상된다.

아울러 엽산, 리보플라빈, 비타민 B12 등을 생산하는 유산균을 개발하는 노력이 이루어지고 있는데 이는 주로 유산균 대사 공학법에 의한 생물 공정 개발이 주된 접근 방법이다. 유산균을 이용한 대사공학 및 생물 공정 개발은 기존의 천연 식품소재 또는 천연 약초 소재의 활성을 크게 증가시킬 수 있다. 콩에 천연적으로 존재하는 여성 호르몬 유사체인 이소플라본은 배당체 상태로 존재하는데 배당체 보다는 비배당체가 인체 흡수율이 높다. 특히 비피더스는 최근 전체 유전자 염기 배열이 규명되면서 다양한 생물 전환 효소를 보유하고 있는 것으로 밝혀졌다. 본 연구진은 비피더스를 이용하여 이소플라본을 활성화하는 기술을 특허 출원하였다. 출원 기술을 바탕으로 이소플라본의 활성화 효율이 높은 균주를 선발하여 발효 이소플라본 제품을 새로이 상품화하였다.

유산균 대사공학을 이용하여 유산균의 형질을 전환한 매우 주목할만한 경우는 최근에 Nature Biotechnology에 발표되어 소개된 알라닌 생산 유산균의 개발이다. 알라닌은 감미가 있어 이 균이 자라게 되면 배양액이 신맛이 나지 않고 단맛이 난다. 이 균은 앞으로 추가적인 연구 후에 직접 식품 생산에 이용될 수도 있고 또는 알라닌 생산의 산업적 용도로 활용될 수도 있을 것이다. 보다 최근에는 만니톨, 소비톨, 타가토스 등을 생산하는 유산균들이 개발되고 있는데 이들은 설장에 근접하는 감미도, 향 충치성, 저 열량성 등의 성질을 갖고 있어 다이어트용 유산균 발효 제품 제조에 접목될 수 있을 것이다.

알레르기과 관련한 프로바이오틱스의 연구도 매우 흥미롭다. 최근 선진국 및 우리나라에서 알레르기가 증가하고 있으며 고소득층에서 높은 경향을 보인다. 정확한 원인은 아직 규명되지 않았지만 어렸을 때 전염성 질환 및 기생충에 의한 감염이 적어진 것과 대기 환경의 악화에 기인한 것으로 생각되고 있다. 유아는 성인보다 많은 알레르기 발병률을 보인다. 유아 시절 외부의 균이 침입하면 면역 세포 중 Th1, Th3, Tr1 세포들이 활성화되어 IgE를 만드는 Th2 세포를 억제한다. 그러나, 알레르기 발생을 억제하기 위하여 일부러 병원균을 투여할 수는 없기 때문에 최근에 부상하고 있는 방법은 유용 유산균을 이용한 Probiotic Therapy 법이다. 실제로 다양한 연구를 통하여 유산균의 효과가 입증되고 있으며 최근에는 알레르기 환자를 대상으로 한 임상 연구에서도 유산균의 투여가 알레르기 발생을 절반으로 줄인다는 결과들이 보고되고 있다. 알레르기 억제 효과는 균에 따라 그 효과가 틀리기 때문에 현재 연구되고 있는 것은 유산균의 조합에 따라 알레르기 발생 억제의 최대 효과를 얻는 방법을 연구하고 있다.

유산균의 항암성은 특히 대장암에 대하여 기대된다. 대장암 발생의 약 80%는 식품섭취와 관련이 있다. 고지방, 고단백을 섭취하면 대장암 발생이 증가한다. 고지방, 고단백이 왜 대장암을 일으키는가에 대하여는 아직 확실하게 알려져 있지 않다. 따라서 여러 가지 추론이 있는데 가장 지지를 받는 가설은 고지방 섭취시 많이 분비되는 담즙산이 세균에 의하여 발암물질로 변환되며 단백질도 분해되어 아민과 페놀 계통의 발암물질이 생성되는 것으로 생각하고 있다. 일반적으로 유산균은 동물 실험에서 항암성을 보유하고 있으나 그 능

력은 유산균의 종류 및 균주에 따라 다른 것으로 알려져 있다. 유산균의 항암성은 유산균 세포벽 또는 세포질 물질에 의한 면역 증강, 유산균에 의한 발암 물질의 흡착, 발암성 물질의 무독화, 인체의 발암 효소 작용의 억제 등에 기인하는 것으로 보고되고 있다. 최근에는 유산균이 종양 세포를 직접 사멸하는 작용까지 보고되고 있다. 그러나, 아직은 유산균의 항암성 물질이 인체 내에서 구체적으로 어떻게 작용하는지에 대한 연구가 더욱 필요하다. 본 연구진은 유산균의 다양한 생리활성을 조사하며 시험관내 종양 세포 작용 및 면역 활성 작용이 우수한 비피더스 균주를 단독으로 배양하거나 또는 콩에 배양하여 그 배양물을 대장암 발병 실험 쥐에 사료와 함께 섭취시킨 결과 실험 쥐의 종양이 현저히 줄어드는 것을 확인하였다. 유산균의 항암 효과는 주로 유산균 세포벽 성분인 펩티도글리칸 성분이 면역 활성을 증진시켜 항암효과가 일어날 것으로 생각되었다. 최근에 본 연구진에서는 *In vitro*에서 종양 세포의 증식을 억제하는 *Bifidobacterium* 다당류를 발견하였다.

프로바이오틱스 유산균은 기능성 식품의 개발은 물론 미래에는 치료용 유전자를 장내에 전달하는 운반체로 개발하는 것이 가능하다. 유산균에 IL-10 유전자를 발현하여 염증성 장질환이 발생된 쥐에게 IL-10을 생산하는 유산균을 경구적으로 섭취시켰을 때 쥐에서 장염의 발생이 현저히 줄어들은 결과가 최근에 보고되었다. 아직 이 기술을 적용하려면 많은 추가적인 연구가 필요할 것이나 치료용 유전자를 장내로 운반하는 새로운 대안으로서 연구 가치가 충분하다고 사료된다. 유럽의 주요 연구 벡터는 *Lactococcus lactis* 용인데 이 균은 사람의 장관내에서의 정착력이 매우 약하다. 장에서의 정착성은 비피더스가 가장 높기 때문에 비피더스 벡터 개발을 핵심화 한다면 유럽과의 차별화 및 경쟁력 제고를 할 수 있다. 이에 본 연구실에서는 비피더스 벡터 개발을 지난 10여 년간 수행하여 오면서 비피더스 벡터를 이용한 단백질 생산 분야에서 선도적 기술력을 보유하게 되었다. 현재 전분 분해 효소인 amylase, 소화율을 낮추는 피틴산을 분해하는 phytase, 항암성능이 있는 endostatin, 콜레스테롤을 분해하는 cholesterol oxidase 등을 발현하였다. 이들 중 amylase와 phytase는 균체 밖으로 분비하도록 하였다. 본 기술의 활용 범위는 점차적으로 증가할 것이다. 현재 본 벡터의 기능을 더욱 좋게 하기 위한 다양한 추가적인 연구가 진행되고 있으며 다양한 연구자들과 공동 연구를 통하여 보다 효용성을 증대하고 있다. 최근 Self-cloning에 의한 novel food 개념이 도입됨에 따라 WHO 산하 Codex 식품규격위원회에서는 2003년에 '유전자재조합 식품용 생균제'의 사용에 대한 규정을 제정하기로 합의하여 프로바이오틱 유산균을 이용한 재조합 균주는 법적으로 안전한 식품용 균주로 사용 가능성이 한층 높아지고 있다.