

유산균의 항균 효과

안 영 태 박사

한국야쿠르트 중앙연구소

유산균의 항균 효과

안 영 태
한국야쿠르트 중앙연구소

I. 서 론

유산균은 사람과 동물의 구강 및 장내, 그리고 발효유, 치즈, 김치와 같은 다양한 발효식품 등에 존재하며, 숙주의 건강, 식품의 보존과 매우 밀접한 관련을 맺고 있다. 유산균의 이러한 효과는 주로 유산균이 생산하는 다양한 대사산물에 기인한다. 유산균은 포도당 발효의 최종 대사산물로 젖산 및 초산과 같은 유기산을 생산하고, hydrogen peroxide, bacteriocins, 그리고 저분자의 항균물질 등을 생산한다. 유산균의 항균활성의 주요한 기전으로 젖산 및 초산의 산 생성이 많이 연구되어 왔으나, 최근에는 bacteriocins과 저분자의 항균물질에 관한 연구들이 활발히 진행되고 있다. 현재 유산균의 항균효과는 식품, 의약품 등에 다양한 형태로 활용되고 있으며, 그 활용범위도 점차 넓혀가고 있다.

이 글에서는 다양한 유산균 항균활성의 기전들과 biopreservatives로서 유산균 항균활성의 활용에 대해 알아보려고 한다.

II. 본 론

1. 유산균의 항균효과 기전

1) Organic Acid

유산균의 산 생성에 의한 병원균 억제는 가장 많이 연구된 항균활성의 기전이다. 대부분의 유산균은 젖산 및 초산과 같은 대사산물을 생산함으로써 pH를 낮추어, 유해균의 성장을 억제한다(1). 산의 lipophilicity의 정도에 따라 해리되지 않은 산은 미생물의 세포안으로 들어가 세포내에서 해리되어 세포내 pH를 저하시켜 미생물의 성장에 영향을 미친다(2). 반면, 해리된 산은 박테리아의 세포 표면의 음전하 때문에 세포안으로 들어갈 수 없다. 산에 의한 억제 정도는 pH, 산의 pKa, 그리고 산의 lipophilicity에 따라 차이가 있다. 젖산은 유산균의 포도당 발효과정 중에 생성되는 주요 대사산물로 해리되지 않은 형태와 해리된 형태로 평형을 이루고 존재하며, pH에 따라 해리되는 정도가 다르다. 낮은 pH에서 많은 양의 젖산이 해리되지 않은 형태로 존재하며, 박테리아, 곰팡이, 효모에게 독성을 나타낸다. 그리고 pH 5.0에서 젖산은 포자형성균에 항균활성을 나타내지만 효모와 곰팡이에게는 활성을 나타내지 못한다. 또한, 젖산의 입체이성체에 따라 항균활성에 차이가 있는데, L-젖산이 D-젖산보다 더 항균활성이 높은 것으로 보고되었다(3). 한

<Table 1> pKa values and undissociated ratios of lactic, acetic, and propionic acids(Earnshaw, 1992)

Acid	pKa	Undissociated acid(%)				
		pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7
Lactic	3.08	56	11	1	>1	>1
Acetic	4.75	98	85	36	5.4	0.6
Propionic	4.87	99	88	43	7.0	0.8

편, 유산균이 생산하는 초산과 프로피온산은 세포막과 상호반응하여 세포내 산성화와 단백질 변성을 유발한다(4). 초산과 프로피온산은 높은 pKa(젖산 3.08, 초산 4.75, 그리고 프로피온산 4.87)를 갖고 있기 때문에 젖산보다 항균활성에서 더 효과적이며, 같은 pH에서 젖산보다 해리되지 않은 산의 함량이 높다(Table 1).

많은 연구들에서 유산균이 생산하는 젖산과 초산 등의 유기산에 의해 병원균들이 억제되는 것으로 보고되었다. *L. lactis*, *L. casei* Shirota, 또는 *L. acidophilus* YIT 0070은 젖산 생산과 pH를 저하시킴으로써 *E. coli* O157:H7의 증식을 감소시켰다(6). 그리고 *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, 그리고 *B. bifidus* 균주들이 젖산, 초산 그리고 염화수소산에 의해 *H. pylori*의 증식을 억제하는 것으로 보고되었다(7). 한편, Alakomi 등(8)은 lactobacilli가 생산하는 젖산은 그람음성균의 outer membrane의 막투과제로서 작용하여 다른 항균물질이 투과할 수 있게 하여 병원균의 항균물질에 대한 감수성을 증가시키는 것으로 보고하였다.

2) Hydrogen Peroxide와 Carbon Dioxide

Hydrogen peroxide는 산소존재하에서 flavoprotein oxidases 또는 nicotinamide adenine hydroxydinucleotide (NADH) peroxidase에 의해 유산균이 생산한다. Hydrogen peroxide의 항균효과는 효소의 변성과 membrane lipids의 과산화에 의해 membrane permeability의 증가를 유발하는 sulfhydryl groups의 산화로부터 나타난다. 또한, hydrogne peroxide는 DNA 손상을 유발할 수 있는 superoxide(O₂⁻)와 hydroxyl(OH[·]) radicals과 같은 bactericidal free radicals의 전구물질이 될 수 있다(9). 한편, 원유에 존재하는 H₂O₂는 lactoperoxidase system을 활성화시켜, 그람양성균과 그람음성균에 억제활성을 갖는 hypothiocyanate(OSCN⁻), oxyacids (O₂SCN⁻과 O₃SCN⁻), 그리고 intermediate oxidation products를 생산한다(10).

여성의 질에 존재하는 가장 대표적인 lactobacilli로서 *L. crispatus*와 *L. jensenii*는 H₂O₂를 생산하여 gonococci의 증식을 억제한다(11). 질에 존재하는 *Lactobacillus* 22균주의 항균활성에 대한 시험에서, 약 80%의 균주가 H₂O₂를 생산하였으며, 그 이외에 젖산, 유기산과 bacteriocins을 생산하는 것으로 확인되었다(12). 한편, *L. brevis* CD2, *L. salivarius* FV2, 그리고 *L. gasseri* MB335는 다량의 H₂O₂를 생산하여 *Gardnerella vaginalis*을 제거하고 장상피세포에 흡착하였다(13). 이밖에도 *L. crispatus* F117, *L. paracasei* F2 및 F28은 다량의 H₂O₂를 생산하여 *Staphylococcus aureus*의 증식을 억제하는 것으로 보고되었다(14).

Carbon dioxide는 heterofermentative 유산균이 주로 생산한다. CO₂의 항균활성의 기전에 대해서는 아직 명확하게 규명되어 있지는 않다. 그러나 CO₂는 enzymatic decarboxylations을 억제하는 혐기환경을 만드는 역할을 하고, membrane lipid bilayer에서 CO₂ 축적은 permeability의 장애를 유발한다(15). CO₂는 많은 식품부패 미생물 특히, 그람음성 저온성 세균의 증식을 효과적으로 억제하며(16), CO₂에 의한 억제 정도는 미생물간에 상당히 차이를 나타낸다.

3) Bacteriocin

Bacteriocin은 박테리아가 생산하는 bactericidal proteinaceous molecules이다. Bacteriocin은 크기, microbial target, 그리고 action 및 immunity의 기전에 따라 다양한 peptides와 단백질들을 포함하고 있다. Lactobacilli에 의해 생산되는 bacteriocin은 3그룹으로 분류(Table 2, 3)되어 왔으나 최근에는 4가지 그룹이 제시되었다(17).

Class I bacteriocin은 antibiotics로서 알려져 있으며, aminoacids lantionine과 β -methyllanthionine, 그리고 다수의 dehydrated amino acids을 함유한 5 kDa의 저분자 single-, two-peptides로 이루어져 있다. Antibiotics는 구조와 항균활성에 따라 A와 B의 2 그룹으로 나누어지며, type A는 박테리아 세포막에 구멍을 형성하여 항균활성을 나타내는 양전하를 갖는 elongated peptides로서, *Lactococcus lactis*가 생산하는 nisin이 이에 속한다. Type B에는 특정 효소의 억제와 관련된 항균활성을 나타내며, 유산균은 이 그룹에 속하는 bacteriocins을 생성하지 않는다. Class II bacteriocin은 10 kDa 이하의 저분자, heat-stable, non-lanthionine을 함유하는 peptides로서 3 그룹으로 나누어진다. Class IIa는 Pediocin-like peptides로서 N-terminal consensus sequence로 -Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys가 존재한다. 이 그룹은 *Listeria*에 대한 항균활성을 갖고 있어 주목을 받아왔으며, *Pediococcus acidilacti*나 *Pediococcus. parvulus*가 생산하는 pediocin PA-1이 있다. Class IIb는 항균활성을 나타내기 위해 2개의 다른 peptides로 필요로 하는 bacteriocin이고, class IIc는 circular bacteriocins이다. Class III bacteriocin은 30 kDa 이상의 크고, heat-labile proteins으로 특성이 잘 파악되지 않았다. 4번째 Class는 활성을 위해 carbohydrate 또는 lipid moieties를 필요로 하는 complex bacteriocins으로 구성되어 있다. 그러나 이 class에 속하는 bacteriocins은 생화학적 수준에서 특성이 제대로 밝혀져 있지는 않다(18).

Bacteriocin은 상대적으로 적은 살균범위와 *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Listeria* 그리고 *Mycobacterium*을 포함하여 bacteriocin을 생산하는 균주와 가까운 bacteria에만 독성을 나타낸다. 대부분의 bacteriocin의 primary target은 sensitive bacteria의 cytoplasmic membrane으로 proton motive force의 소실에 의해 discrete pores가 cytoplasmic membrane에 형성되는 것으로 알려져 있다. 그리고 일부 bacteriocins은 membrane pores을 형성하지 않지만, 중요한 효소의 활성을 방해한다. Lactobacilli가 생산하는 bacteriocins이 일반적으로 그람음성균에 대해 항균활성을 나타내지 못하지만 lacticins A164와 BH5는 *H. pylori*와 같은 그람음성균에 대해 항균활성을 나타내고(20), nisin은 outer membrane을 붕괴시켜 그람음성균에 대해 항균활성을 나타낸다(21). 더욱이 *L. acidophilus* IBB 801은 acidophilin 801이라는 6.5 kDa 이하의 작은 bacteriocin을 생산하여 그람음성 병원균인 *E. coli* Row와 *S. panama* 1467에 항균활성을 나타낸다. 유산균

<Table 2> Classification of LAB bacteriocins(Drider et al., 2006)

Main category	Characteristics	Subcategory
Class I	Lantibiotics(containing lantionine and β -lantionine)	Type A(elongated molecules; molecular mass, <4 kDa)
		Type B(globular molecules; molecular mass, 1.8 to 2.1 kDa)
Class II	Nonmodified heat-stable bacteriocins containing peptides with molecular masses of <10 kDa	Subclass II a(antilisterial pediocin-like bacteriocins)
		Subclass II b(two-peptide bacteriocins)
		Subclass II c(other peptide bacteriocins)
Class III	Protein bacteriocins with molecular masses of >30 kDa	

의 bacteriocins 생산은 유산균의 growth phase 전체에 걸쳐 일어나며, 대수생장기 후반에서 중지된다. 그리고 bacteriocin 생산은 탄소, 질소, 그리고 인의 공급원과 양이온 계면활성제 및 inhibitors의 형태와 수준에 영향을 받으며, 배지에 함유되어 있는 탄수화물에 따라 차이가 있다. Nisin Z는 *Lactococcus lactis* IO-1

<Table 3> Example of bacteriocins(Chen and Hoover, 2003)

Bacteriocins	Producer
<i>Class I-type A lantibiotics</i>	
Mutacin B-Ny266	<i>Streptococcus mutans</i> Ny266
Mutacin 1140	<i>S. mutans</i> JH1000
Nisin A	<i>Lactococcus lactis</i> NIZOR5, 6F3, NCFB894, ATCC11454
Nisin Z	<i>L. lactis</i> N8, NIZO22186
Carnocin U149	<i>Carnobacterium piscicola</i> U149
Cytolysin	<i>Enterococcus faecalis</i> DS16
Lactocin S	<i>Lactobacillus sake</i> L45
Lacticin 481	<i>L. lactis</i> CNRZ481, ADRIA85LO30
Salivaricin A	<i>Streptococcus salivarius</i> 20P3
Streptococcin A-FF22	<i>Streptococcus pyogenes</i> FF22
<i>Class I-type B lantibiotics</i>	
Not produced by LAB	
<i>Class IIa</i>	
Bavaricin A	<i>Lactobacillus sake</i> MI401
Bavaricin MN	<i>L. sake</i> MN
Carnobacteriocin B2	<i>C. piscicola</i> LV17B
Curvacin A	<i>Lactobacillus curvatus</i> LTH1174
Pediocin PA-1/AcH	<i>Pediococcus acidilactici</i> H/SJ-1/PAC 1.0, <i>Pediococcus parvulus</i> ATO34,/ATO77
Sakacin 674	<i>L. sake</i> LB764
Sakacin A	<i>L. sake</i> LB764
Sakacin P	<i>L. sake</i> LB673
Leucocin A-UAL 187	<i>Leuconostoc gelidum</i>
Leucocin A/B-Talla	<i>L. gelidum</i> UAL187
Mesentericin Y105	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> Y105
Enterocin A	<i>Enterococcus faecium</i>
Enterocin P	<i>E. faecium</i> P13
Divercin V41	<i>Carnobacterium divergens</i>
Lactococcin MMF II	<i>L. lactis</i>
<i>Class IIb</i>	
Aciocin J1132	<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM 1132
Lactococcin G	<i>L. lactis</i> LMG2081
Lactococcin M	<i>L. lactis</i>
Lactacin F	<i>Lactobacillus johnsonii</i> 11088
Lacticin 3147	<i>L. lactis</i> DPC3147
Lactobin A	<i>Lactobacillus amylovorus</i> LMG P-13139
Plantaricin S	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Plantaricin EF	<i>L. plantarum</i> C11
Plantaricin JK	<i>L. plantarum</i> C11
Thermophilin T	<i>Streptococcus thermophilus</i>

<Table 3> Continued

Bacteriocins	Producer
<i>Class IIc</i>	
Acidocin B	<i>L. acidophilus</i>
Carnobacteriocin A	<i>C. piscicola</i>
Divergicin A	<i>C. divergens</i> LV13
Enterocin P	<i>E. faecium</i>
Enterocin B	<i>E. faecium</i>
Lactococcin A	<i>L. lactis</i>
Lactococcin 972	<i>L. lactis</i> IPLA972
Plantaricin A	<i>L. plantarum</i> C-11
<i>Class III</i>	
Aciophilucin A	<i>L. acidophilus</i>
Caseicin	<i>Lactobacillus casei</i> B40
Helveticin J	<i>Lactobacillus helveticus</i> 481
Helveticin V-1829	<i>L. helveticus</i> 1829
Lactacin A	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Lactacin B	<i>L. delbrueckii</i>

에 의해 glucose, sucrose 그리고 xylose로부터 생산되며, Pediocin AcH의 생산에는 glucose 그 다음으로, sucrose, xylose 그리고 galactose가 우수하다.

4) 저분자 항균물질

유산균이 생산하는 이 저분자 항균물질은 낮은 pH에서 활성, 열안정성, 넓은 항균 spectrum, 그리고 acetone 용해성과 같은 특성을 갖고 있다.

(1) Reuterin

Reuterin은 *Lactobacillus reuteri*가 glucose와 glycerol 또는 glyceraldehyde가 존재하는 혐기조건에서 성장하였을 때 생성되는 저분자 항균물질이다. Glycerol의 hydration을 통해 *L. reuteri*는 3-hydroxypropanal (reuterin)을 생산한다. Reuterin은 수용액상에서 주로 monomeric, hydrated monomeric, 그리고 적은 양의 cyclic dimer로 존재하는데, 어느 형태가 더 활성이 있는지는 밝혀져 있지 않다. Reuterin은 항균, 항진균, 항원충, 그리고 항바이러스와 같은 매우 광범위한 항균활성을 갖고 있다. *L. reuteri*를 포함하여 유산균 또한 reuterin에 민감하지만 다른 미생물보다는 더 내성을 갖고 있다(22).

(2) Reutericyclin

최근에 *L. reuteri* 균주 중에 저분자 항균물질, reutericyclin을 생산하는 균주가 보고되었다. Reutericyclin은 349Da의 분자량을 갖고 있으며, 음전하를 띠고 매우 hydrophobic하다. 배지의 지방산이 reutericyclin의 생산에 영향을 주는데, Tween 80은 reutericyclin의 생산을 크게 증가시킨다. Reutericyclin의 항균활성은 높은 염농도(2%), 그리고 낮은 pH(4.5)에서 크게 증가한다(22).

(3) 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid

Pyroglutamic acid(PCA)는 비록 과일, 채소, 그리고 풀에도 존재하지만, *Lactobacillus casei* ssp. *casei*, *L. casei* ssp. *pseudoplantarum*, 그리고 *Streptococcus bovis*에 의해 생산된다. PCA는 *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas putida*, 그리고 *Pseudomonas fluorescens*를 억제한다. PCA는 열(120°C, 20min)에 안정하지만, pH가 2.5 이상으로 증가할 때는 항균활성이 소실된다. 비록 같은 농도에서 PCA의 항균활성이 젖산보다 높지만, PCA의 항균기전은 유기산의 기전과 유사하다(22).

5) 기타 Antimicrobial Molecules

*Lactobacilli*와 *bifidobacteria*가 생산하는 bacteriocins과 다른 특성을 갖는 저분자 항균물질을 생산한다. *L. rhamnosus* GG는 젖산 및 초산과 다른 low molecular weight, heat-stable, 항균물질을 분비하고, 이 항균물질은 *Clostridium* spp., *Bacteriodes* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., 그리고 *Streptococcus* spp.에 대해 항균활성을 나타낸다(23). 이러한 항균 물질은 non-bacteriocin으로, *Enterobacteriaceae*가 생산하는 microcin과 매우 유사하다. *L. rhamnosus* GR-1과 *L. acidophilus* 76은 pyelonephritogenic *E. coli*에 대해 젖산 또는 hydrogen peroxide가 아닌 bactericidal substance를 생산하는데, 12~14 kDa 이상의 분자량을 갖고 있는 이 항균물질은 heat labile, ammonium sulphate 80%까지 침전이 되지 않으며, chloroform으로 추출되는 특성을 갖고 있다(23). 또한, *L. delbrueckii* VII1007도 젖산과 다른 3종류의 growth-inhibiting factors를 생산하는데, 그 중의 하나는 50 kDa 이상의 분자량을 갖는 bacteriocin-like, heat-sensitive, proteinase-sensitive bactericidal molecule 또는 complex로 확인되었다(24). 한편, 사람에서 유래한 *Bifidobacterium* spp. CA1과 F9 균주에 의해 생산되는 항균물질은 3,500 Da 이하의 분자량을 갖는 lipophilic molecule로 밝혀졌으며(25), *L. acidophilus* CRL 639의 항 *H. pylori* 활성은 autolytic activity를 갖는 proteinaceous compound로부터 유래하는 것으로 보고되었다(26). 이러한 저분자 물질은 젖산 또는 초산 등의 유기산과 상호작용하여 상승작용을 나타내기도 한다. *L. johnsonii* La1은 *Giardia intestinalis*의 증식과 사람의 intestinal epithelial cell line Caco-2에 대한 이 균주의 흡착을 유의적으로 억제한다. 이 흡착 억제효과가 비록 항균효과가 pH 의존적이지만, 단순히 젖산에 기인하지 않으며, anti-giardiasis action과 관련된 요인들의 일부 특성은 열처리에 의해 불활성화 된다(27). *L. rhamnosus* DR20, *L. acidophilus* HN017, 그리고 *B. lactis* DR10 균주가 생산하는 *E. coli* O157:H7에 활성은 갖는 항균물질은 lactate dehydrogenase, trypsin, 그리고 proteinase K에 의해 부분적으로 불활성화되며, 전반적인 억제활성은 젖산과 proteinaceous 물질의 synergistic action에 기인하는 것으로 보고되었다(28). 결과적으로, pH의 저하로부터 항균 효과에 더하여 또한 젖산은 그람음성균의 outer membrane의 permeabilizer로서 작용하며, 다른 항균물질의 효과를 증가시킨다(8).

6) Aroma Components

Diacetyl은 citrate 발효에 의해 유산균이 생산한다. Diacetyl은 arginine-binding protein과 반응하여 그람음성균의 arginine 이용에 영향을 줌으로써 그람음성균의 증식을 억제한다. Jay(1982)는 그람음성균은 diacetyl 200 µg/ml에서, 그람양성균은 diacetyl 300 µg/ml에서 억제되어 그람음성균이 그람양성균보다 diacetyl에 더 민감하다고 하였다. Diacetyl 344 µg/ml은 *Listeria*, *Samonella*, *Yersinia*, *Escherichia coli*, 그리고 *Aeromonas*를 억제할 수 있다. 젖산 발효중에 diacetyl의 생산은 적고, 관능적으로 허용치가 2~7 µg/ml로 적기 때문에 식품 보존제로서 실제 사용하기 어렵지만 다른 항균요인들과 함께 사용하여 상승작용을 나타낼 수 있다. Acetaldehyde는 threonine를 acetaldehyde와 glycine으로 분해하는 threonine aldolase에

의해 *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*에 의해 생산된다. 요구르트에서 *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*와 *Str. thermophilus*는 acetaldehyde를 이용할 수 없기 때문에, 약 25 ppm 정도 축적된다. Acetaldehyde 10~100 ppm은 *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, 그리고 *E. coli*를 억제한다(30).

7) Biosurfactants

Biosurfactant는 미생물이 생산하는 양친매성 물질로서 다양한 산업분야에서 이용 가능성을 갖고 있다. 현재 미생물이 생산하는 biosurfactant는 매우 다양한 종류가 있지만 크게 glycolipid, lipopeptide, lipoprotein, phospholipid, fatty acid, polymeric surfactant 및 particulate surfactant로 나누어진다(31). *Lactobacillus fermentum* RC-14가 분비하는 biosurfactants가 쥐에서 외과적 보형물에 대한 사회감염 또는 병원감염의 주요 원인균인 *Staphylococcus aureus*의 감염을 억제하는 것으로 보고되었다(32). 또한 *in vitro* 시험에서, *L. rhamnosus* 36과 ATCC 7469, 그리고 *L. fermentum* B54과 RC-14 균주가 생산하는 biosurfactants는 uropathogenic *Enterococcus faecalis*의 흡착을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다(33). *L. fermentum* RC-14와 B54가 생산하는 biosurfactants는 대부분 단백질이며, 한편 *L. rhamnosus* 36과 ATCC7469가 생산하는 biosurfactants는 상대적으로 높은 polysaccharide와 phosphate를 함유하고 있다.

2. 유산균 항균활성의 식품에 활용

물리적, 화학적, 효소, 그리고 미생물의 작용은 식품의 변질의 주요 원인으로 알려져 왔다. 미생물에 의한 식품 품질의 저하를 예방하고 위해요인을 차단하기 위하여, 다양한 식품 보존제를 비롯하여 열처리, 수분활동도 및 pH 감소를 포함한 여러 식품가공 기술이 사용되어 왔다. 최근에 화학 보존제를 사용하지 않고, 자연 친화적이고 미생물학적으로 안전한 식품을 원하는 소비자들의 요구를 만족시키기 위해 새로운 식품 보존기술이 필요하게 되었다. 이에 부합하여, 유산균의 항균물질 특히, bacteriocins은 식품에서 자연 보존제 또는 biopreservatives로서 식품내 유해미생물의 증식과 생존을 조절할 수 있다(Table 4). Biopreservatives는 식품의 안전성과 저장성을 높이기 위해 항균활성을 나타내는 미생물 또는 식품에 존재하는 유해 미생물을 억제하는 활성을 갖는 미생물의 대사산물을 사용하는 것을 의미한다. 식품의 biopreservatives로서 bacteriocins은 다음과 같은 3가지 방법으로 사용되고 있다(18).

- bacteriocin 생성 유산균의 식품에 접종 : 식품에서 유산균이 증식하고 bacteriocin을 생성하는 능력이 중요함
- 식품 보존제로서 정제 또는 부분정제된 bacteriocins을 첨가
- 식품 가공과정에 있어 원료로서 bacteriocin 생성 균주로 미리 발효시킨 발효산물을 사용

한편, 식품에서 bacteriocins을 활용하는데 있어 기능적 한계는 bacteriocins이 좁은 항균범위를 갖으며, 항균효과가 다소 낮다는 것이다. 더욱이 bacteriocins은 일반적으로 그람음성균에 대해 활성을 나타내지 못한다는 것이다. 이러한 한계를 극복하기 위해, 식품의 저장성을 개선하고 안전성을 높이는데 이용하는 hurdle technology의 개념이 사용되었다(Table 5). 즉, 그람음성균의 outer membrane의 permeability 특성이 손상 받으면 bacteriocins에 대해 감수성이 높아진다. 예로, EDTA와 같은 chelating agents는 그람음성균의 lipopolysaccharide 층의 magnesium irons과 결합하여, outer membrane을 파괴할 수 있다. 그 결과, nisin이 cytoplasmic membrane에 접근할 수 있도록 해준다. 이 밖에도 식품내 유해균의 사멸시키기 위한 bacteriocins

과 high hydrostatic pressure 및 pulsed electric field와 같은 가공 공정을 함께 사용한 시너지 효과들에 대해 많은 연구결과들이 보고되었다(18).

Bacteriocins의 다른 식품 보존제로서 활용방법으로 bacteriocin을 포장 필름에 고정시키는 방법들이 고안되어 왔다. 항균성 포장 필름은 식품의 표면과 포장 필름이 직접 접촉함으로써 고기와 치즈와 같은 식

<Table 4> Applications of class IIa bacteriocins and their producing organisms to control the growth of food-borne pathogens and LAB(Drider et al., 2006)

Bacteriocin	Producer strains	Food treated for targeting of the following organism			
		<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	LAB
Divercin V41	<i>Carnobacterium divergens</i> V41	Smoked salmon			
Enterocin A	<i>Enterococcus faecium</i> CTC 492	Dry fermented sausage			
Enterocin CCM 4231	<i>Enterococcus faecium</i> CCM 4231	Dry fermented sausage Soy milk	Soy milk		
Leucocin A	<i>Leuconostoc gelidum</i> UAL187	Ground beef	Beef slices		
Leucocin A-4010	<i>Leuconostoc carnosum</i> 4010	Cooked sausage			
Mundticin	<i>Enterococcus mundtii</i> ATO6	Mung bean sprouts			
Pediocin PA-1/AcH	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Cheese Frankfurters Chicken summer sausage Red smear cheese	Chilled soup		
Piscicoli 126	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> JG126	Ham paste Camembert cheese			
Piscicosin CS526	<i>Carnobacterium pisciola</i> CS526	Surimi			
Plantaricin 423	<i>Lactobacillus plantarum</i> 423	Ostrich meat salami			
Sakacin A or K or curvacin A	<i>Lactobacillus sakei</i> 790 and	Chicken cold cuts			
	<i>Lactobacillus curvatus</i> LTH 1174 <i>Lactobacillus sakei</i> CRC 494	Raw minced pork, poultry, cooked pork			
Sajacin P or bavaricin A	<i>Lactobacillus sakei</i> 790 <i>Lactobacillus sakei</i> MI401	Cold smoked salmon			
					Brined shrimp

<Table 5> Hurdle technology to enhance food safety(Chen and Hoover, 2003)

Bacteriocins	Inactivation effects
<u>In combination with heat</u>	
Nisin	Nisin(1,000 IU/g) enhances inactivation of <i>Listeria monocytogenes</i> in lobster by mild heat(60 or 65°C).
Nisin	Nisin(500 to 2,500 IU/ml) enhances inactivation of <i>Salmonella enteritidis</i> by mild heat (55°C).
Nisin, Pediocin AcH	Both bacteriocins reduced the viability of gram-negative and gram-positive bacterial cells surviving sublethal stresses.
<u>In combination with chelating agents</u>	
Nisin	When used with EDTA, citrate, or lactate, nisin(2,000 IU/ml) is effective against gram-negative bacteria(<i>Salmonella typhimurium</i> and <i>E. coli</i> O157:H7) in combination with modified atmosphere packaging(MAP)
Nisin	When used with MAP and low temperature, nisin at a level of 400 IU/ml increases the lag phase of <i>L. monocytogenes</i> , and at 1,250 IU/ml prevents its growth.
Nisin	Combined use of MAP(100% CO ₂ , 80% CO ₂ + 20% air) and nisin(1,000 or 10,000 IU/ml) inhibits growth of <i>L. monocytogenes</i> and <i>Pseudomonas fragi</i> .
<u>In combination with antimicrobials</u>	
Nisin	The combined use of potassium sorbate(0.3%) and nisin(400 IU/ml) inhibited the growth of <i>L. monocytogenes</i> .
Pediocin AcH	Synergistic effects between sodium diacetate(0.3 and 0.5%) and pediocin(5,000 AU/ml) against <i>L. monocytogenes</i> .
Nisin	Synergist effect between sucrose fatty acid esters and nisin on inhibition of gram-positive bacteria.
Nisin	Carbon dioxide and nisin act synergistically against <i>L. monocytogenes</i> .
Nisin	When combined with carvacrol(0.3 mmol /l), nisin(6 IU/ml) is more effective in reducing the counts of <i>Bacillus cereus</i> than when it is applied alone.
Nisin	Nisin(100 IU/ml) and monolaurin(0.25 mg/l) act synergistically against <i>Bacillus</i> sp. vegetative cells in milk.
<u>In combination with lactoperoxidase system</u>	
Nisin	A synergistic and lasting bactericidal effect on <i>L. monocytogenes</i> between nisin (100 or 200 IU/ml) and lactoperoxidase system.
Nisin	Synergistic effect of nisin (10 or 100 IU/ml) and the lactoperoxidase system on inactivation of <i>L. monocytogenes</i> in skim milk.
<u>In combination with other bacteriocins</u>	
Pediocin AcH	When used with nisin, lacticin 481, or lactacin F, pediocin AcH produced synergistic effects.
Leucocin F10	In combination with nisin, leucocin F10 provides greater activity against <i>L. monocytogenes</i> .
Curvaticin	Simultaneous or sequential additions of nisin(50 IU/ml) and curvaticin 13(160 AU/ml) induces a greater inhibitory effect against <i>L. monocytogenes</i> than the use of a single bacteriocin.

품 표면에서 미생물의 증식을 억제시킬 수 있다. 항균성 포장 필름으로부터 bacteriocins이 서서히 방출됨으로써 bacteriocins에 식품을 침지하거나 분무하는 것보다 장점을 갖고 있다. Bacteriocins을 이용하여 포장 필름을 제조하는데 있어 두 가지 방법이 사용되는데, bacteriocins을 직접 폴리머에 고정시키는 방법과 폴리머의 표면에 코팅 또는 흡착시키는 방법이다(18).

Ⅲ. 결 론

앞에서 살펴본 바와 같이 유산균은 유기산, hydrogen peroxide, bacteriocins, 저분자 항균물질 등의 다양한 대사산물을 생산함으로써 항균활성을 나타낸다. 유산균 및 유산균이 생산하는 이러한 항균물질들은 최근에 화학 보존제를 사용하지 않고, 자연 친화적이고 안전한 식품을 원하는 소비자들의 요구를 만족시키기 위한 새로운 식품 보존기술 즉, biopreservatives로서 활용가치가 매우 높다. 그 예로 nisin은 50여 년 넘게 60개 이상의 나라에서 치즈, 액란 제품, 채소 통조림, 다양한 살균 낙농제품, 그리고 새러드 드레싱에서 사용이 승인되어 왔다. 한편, bacteriocins 사용의 기능적 한계도 다양한 식품 가공 공정 도입에 의한 시너지 효과에 의해 극복되어가고 있어 앞으로 다양한 형태의 식품에 활용 가능한 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Vandenberg, P. A. 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. FEMS Microbiol. Rev. 12:221-238.
2. Rubin, H. E., Nerad, T., Vaughan, F. 1982. Lactate acid inhibition of *Salmonella typhimurium* in yogurt. J. Dairy Sci. 65:197-203.
3. Benthin, S., Villadsen, J. 1995. Different inhibition of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* by D- and L-lactic acid: effects on lag phase, growth rate and cell yield. J. Appl. Bacteriol. 78:647-654.
4. Huang, L., Forsberg, C. W., Gibbins, L. N. 1986. Influence of external pH and fermentation products on *Clostridium acetobutylicum* intracellular pH and cellular distribution of fermented products. Appl. Environ. Microbiol. 51:1230-1234.
5. Earnshaw, R. G. 1992. The antimicrobial action of lactic acid bacteria: natural food preservation systems. In: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. ed. Wood BJB. pp. 211-232. Elsevier Applied Science, London and New York.
6. Ogawa, M., Shimizu, K., Nomoto, K., Tanaka, R., Hamabata, T., Yamasaki, S., Takeda, T., Takeda, Y. 2001. Inhibition of *in vitro* growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. Int. J. Food Microbiol. 68:135-140.
7. Midolo, P. D., Lambert, J. R., Hull, R., Luo, F., Grayson, M. L. 1995. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. J. Appl. Bacteriol. 79:475-479.
8. Alakomi, H. L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., Helander, I. M. 2000. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. Appl. Environ. Microbiol. 66:2001-2005.
9. Byczkowski, J., Gessner, T. 1988. Biological role of superoxide ion-radical. Int. J. Biochem. 20:569-580.
10. Reiter, B., Härnlöv, B. G. 1984. Lactoperoxidase antibacterial systems: natural occurrence, biological functions and practical applications. J. Food Prot. 47:724-732.
11. St Amant, D. C., Valentin-Bon, I. E., Jerse, A. E. 2002. Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by *Lactobacillus*

- species that are commonly isolated from the female genital tract. *Infect. Immun.* 70:7169-7171.
12. Aroutcheva, A., Gariti, D., Simon, M., Shott, S., Faro, J., Simoes, J. A., Gurguis, A., Faro, S. 2001. Defense factors of vaginal lactobacilli. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 185:375-379.
 13. Mastromarino, P., Brigidi, P., Macchia, S., Maggi, L., Pirovano, F., Trinchieri, V., Conte, U., Matteuzzi, D. 2002. Characterization and selection of vaginal *Lactobacillus* strains for the preparation of vaginal tablets. *J. Appl. Microbiol.* 93:884-893.
 14. Ocana, V. S., Pesce De Ruiz Holgado, A. A., Nader-Macias, M. E. 1999. Selection of vaginal H₂O₂-generating *Lactobacillus* species for probiotic use. *Curr. Microbiol.* 38:279-284.
 15. Eklund, T. 1984. The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake processes in the bacterial membrane vesicles. *Int. J. Food Microbiol.* 1:179-185.
 16. Hotchkiss, J. H., Chen, J. H., Lawless, H. T. 1999. Combined effects of carbon dioxide addition and barrier films on microbial and sensory changes in pasteurized milk. *J. Dairy Sci.* 82:690-695.
 17. Servin, A. L. 2004. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol. Rev.* 28:405-440.
 18. Chen, H., Hoover, D. G. 2003. Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Sci. Food Safety.* 2:82-100.
 19. Drider, D., Fimland, G., Héchar, Y., McMullen, L. M., Prévost, H. 2006. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70:564-582.
 20. Kim, T. S., Hur, J. W., Yu, M. A., Cheigh, C. I., Kim, K. N., Hwang, J. K., Pyun, Y. R. 2003. Antagonism of *Helicobacter pylori* by bacteriocins of lactic acid bacteria. *J. Food Protect.* 66:3-12.
 21. Stevens, K. A., Sheldon, B. W., Klapes, N. A., Klaenhammer, T. R. 1991. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:3613-3615.
 22. Ouwehand, A. C., Vesterlund, S. 2004. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: *The Lactic Acid Bacteria.* ed. Salminen S, Von Wright A, Ouwehand A. pp. 375-395. Marcel Dekker, Inc.
 23. McGroarty, J. A., Reid, G. 1988. Detection of a *Lactobacillus* substance that inhibits *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol.* 34:974-978.
 24. Van De Guchte, M., Ehrlich, S. D., Maguin, E. 2001. Production of growth-inhibiting factors by *Lactobacillus delbrueckii*. *J. Appl. Microbiol.* 91:147-153
 25. Lievin, V., Peiffer, I., Hudault, S., Rochat, F., Brassart, D., Neeser, J. R., Servin, A. L. 2000. *Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut.* 47: 646-652.
 26. Lorca, G. L., Wadstrom, T., Valdez, G. F., Ljungh, A. 2001. *Lactobacillus acidophilus* autolysins inhibit *Helicobacter pylori* *in vitro*. *Curr. Microbiol.* 42:39-44
 27. Perez, P. F., Minnaard, J., Rouvet, M., Knabenhans, C., Brassart, D., De Antoni, G. L., Schiffrin, E. J. 2001. Inhibition of *Giardia intestinalis* by extracellular factors from lactobacilli: an *in vitro* study. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:5037-5042.
 28. Gopal, P. K., Prasad, J., Smart, J., Gill, H. S. 2001. *In vitro* adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR20 and *Bifidobacterium lactis* DR10 strains and their antagonistic activity against an

- enterotoxigenic *Escherichia coli*. Int. J. Food Microbiol. 67:207-216.
29. Jay, J. M. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. Appl. Environ. Microbiol. 44:525-532.
30. Piard, J. C., Desmazeaud, M. 1991. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria: 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products. Lait. 71:525-541.
31. Gautam, K. K., Tyagi, V. K. 2006. Microbial surfactants: a review. J. Oleo Sci. 55:155-166.
32. Gan, B. S., Kim, J., Reid, G., Cadieux, P., Howard, J. C. 2002. *Lactobacillus fermentum* RC-14 inhibits *Staphylococcus aureus* infection of surgical implants in rats. J. Infect. Dis. 185:1369-1372.
33. Velraeds, M. M., Van Der Mei, H. C., Reid, G., Busscher, H. J. 1996. Inhibition of initial adhesion of uropathogenic *Enterococcus faecalis* by biosurfactants from *Lactobacillus* isolates. Appl. Environ. Microbiol. 62:1958-1963.