

천일염과 감마선이 막걸리의 미생물 성장 억제에 미치는 효과

남지영 · 김재훈 · 이주운 · 김진규*

한국원자력연구원 방사선과학연구소

Growth-inhibitory Effect of the Sun-dried Salts and Gamma rays on Microorganisms Isolated from Korean Traditional Raw Rice Wine

Ji-young Nam, Jae-Hun Kim, Ju-Woon Lee and Jin Kyu Kim*

Korea Atomic Energy Research Institute, Advanced Radiation Technology Institute, Jeongeup 580-185, Korea

Abstract – This study was carried out to investigate the changes in the storage characteristics of the Korean traditional raw rice wine (RRW) treated with Korean sun-dried salts and gamma rays. Nowadays, RRWs have received attention because they are a nutritious food with health-stimulating properties. But the rapid deterioration of the fermented RRW is one of the serious problems for brewing and marketing in the world. Actually, the expiry date of the RRW is around a week and this has been a biggest disadvantage of the RRW. The goal of this study was to make it of high quality and extend the period of circulation of the RRW. A lactic acid bacterium was isolated from the RRW. The 16S rRNA sequences of isolates showed 98% homology with the *Lactobacillus fermentum*. These results suggested that could be manageable improve the shelf life with addition of the sun-dried salts and irradiation with gamma rays.

Key words : Korean traditional raw rice wine (RRW), *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*), gamma rays, Sun-dried salt (solor salt or SA)

서 론

산업혁명 이후 의료 기술의 발전과 식생활의 개선으로 인해 평균수명은 지속적으로 증가추세에 있지만 영양과잉 등으로 인한 성인병, 노인성 질환의 발생 등 부정적인 측면도 존재한다. 비전염성 질환인 만성퇴행성 질환은 환경인자와 관련된 생활양식의 변화를 주된 원인으로 보고, 그 중에서도 식생활의 변화와 밀접한 관련이 있을 것으로 추측한다. 따라서 인체의 생리기능을 유지,

개선시키는 것은 의료비 절감, 삶의 질의 향상을 도모할 수 있다는 점에서 특히 중요하다.

모든 식품에 필요한 소금은 특히 우리나라의 전통발효 식품인 김치, 된장 등에 많이 사용되어 식품의 저장성과 풍미에 영향을 주며 짠맛을 내는 조미료뿐만 아니라 방부력을 가지는 보존료로서, KS 규격에 따라 크게 천일염과 정제염으로 나뉘며 정제염은 다시 기계염과 가공염으로 분류 된다(비락연구실 1995; 이 등 2009). 소금은 생리적으로 체내의 신경이나 근육 흥분성을 유지하고 신진대사를 왕성하게 할 뿐만 아니라 체내의 삼투압 조절 및 산과 알칼리의 균형을 이루게 하며, 김치류, 장류, 젓갈류 등 발효식품의 미생물 생육과 발효과정에서 무기

* Corresponding author: Jin Kyu Kim, Tel. 063-570-3130, Fax. 063-570-3139, E-mail. jkkim@kaeri.re.kr

물의 공급원으로서도 중요한 역할을 한다 (Shin and Rhee 1983; Maurice and Vernon 1988; Ha and Park 1998; Park and Park 1998; 이 등 2009). 천일염은 해수를 저류지로 유입해 태양열과 바람 등 자연을 이용해 농축시켜 얻은 소금이고 (Hwang 1988), 정제염은 해수를 이온교환막에 전기투석시켜 정제한 농축함수를 증발관에 넣어 제조한 소금이다 (Korea Food and Drug Administration 2004). 또한 99.8%의 NaCl을 함유하고 있는 정제염에 비해 천일염은 92.4~94.4%의 NaCl을 함유하고 있으며 (Ha and Park 1998), Ca, K, Mg 및 S와 같은 다량의 무기질을 함유하고 있는 것으로 밝혀졌다 (Kong *et al.* 2005). 그러나 그동안 천일염은 비위생적이고 오염되었다는 오해로 인해 제도적으로 식품으로 사용할 수 없어 전처리용으로만 사용할 수 있도록 광물로 분류되어 규제되어 있었다. 한국 식품의약품안전청 위해기준팀에 의해 2년 동안 국내산 천일염과 외국산 천일염 등을 200회 이상 분석한 결과 우리나라 천일염의 천연 미네랄이 가장 풍부하다고 판정되어 2008년 3월 28일 식품으로 분류되었다. 이로 인해 천일염이 식품산업에서 사용이 허용되었고 많은 연구가 이루어지고 있다. 특히 소금의 과산화 효과 연구결과 천일염은 약간의 과산화물 축진능이 있음에 비해 정제염은 가장 높은 과산화 축진능을 나타내기 때문에 돌연변이 유발효과가 크므로, 소금은 가공처리에 따라 생리적으로 다르게 작용할 수 있음을 보고한 바 있다 (Ha and Park 1998). 또한 천일염으로 제조한 된장의 암세포 성장 억제효과가 정제염 된장보다 매우 뛰어나 높은 항암효과가 있음을 증명한 사례도 있다 (이와 장 2009).

한편 5천 년 전통을 지닌 우리나라 고유의 발효주인 막걸리는 곡류를 이용한 발효 식품으로 알코올 도수가 상대적으로 낮아서 위에 부담을 주지 않고 다양한 맛으로 대중의 관심을 받고 있으며, 특히 일본에서는 한류 열풍과 함께 막걸리 전체 수출량의 89%가 일본으로 수출되고 막걸리 다이어트가 있을 정도로 건강식품으로써 인기를 끌고 있다. 또한 막걸리를 찾는 소비자가 늘어남에 따라 유통채널도 고급화 되고 있으며 국내의 'L'백화점 본점은 막걸리를 찾는 젊은층과 일본인 관광객들의 수요가 늘어나자 판매하는 막걸리 종류를 다양화하여 매출액도 매월 10% 이상 꾸준히 늘어나고 있다. 이처럼 막걸리가 국내 소비 뿐 아니라 해외에서 큰 인기를 얻으면서 2008년에 비해 2009년도에는 수출량이 16%, 수출액은 13% 증가하였다 (한 2009). 그러나 현재 막걸리 시장이 급성장하며 본격적으로 세계 시장 진출을 준비 중에 있음에도 불구하고, 국내 막걸리 시장의 연구 상태는 체계적이지 못하며 막걸리 관련 균주의 개발과 보관 상태는 미비한 실정이다. 혈액순환과 신진대사를 원활하게

해주고 소화촉진을 돕는 이점이 있는 막걸리는 당화와 발효 공정을 통해 제조되는 것으로, 특히 양조장의 생 막걸리는 약 8%의 에탄올 및 단백질, 리보플라빈 등을 함유하며 다양한 유산균이 존재하는 것으로 알려져 있다 (Yoo 1981; 신 등 2008). 그러나 효모와 유산균이 살아 있는 신선식품인 막걸리는 상온에서 시간이 지남에 따라 유산균을 비롯한 기타 미생물이 기하급수적으로 증가하면서 품질저하를 우려시키는 단점으로 인해 품질이 저하되고 변질되어 국내 유통 뿐 아니라 수출 시 문제가 따른다. 더불어 유산균은 발효 식품의 풍미를 증강시키고 다양한 항균 물질을 생산하여 유해 미생물을 저해하기 때문에 식품 보존제 개발에 많은 관심이 집중되고 있다. 현재 식품보존을 위한 방법으로는 여러 가지 물리적 방법과 화학 첨가물을 이용하는 화학적 방법 등이 있다. 그러나 물리적 처리로 인한 식품의 질적 저하와 영양 손실, 화학성 보존제의 사용으로 인한 소비자들의 심리적 거부감과 미생물의 내성 문제로 새로운 식품보존 방법에 대한 요구가 증가하고 있다. 이러한 문제들을 해결할 수 있는 식품보존의 방법으로 천연물 유래의 식품 보존제에 대한 개발 필요성과 함께 기존의 식품보존 방법을 보완하거나 대체할 수 있는 새로운 생물학적 보존제의 개발이 요구되고 있다 (Gould 2001; 양과 장 2008). 따라서 본 연구에서는 양조장 막걸리를 이용하여 유산균을 분리하여 인체에 무해한 천연 보존제인 천일염과 감마선을 이용하여 막걸리 내 유산균과 효모, 기타 잡균 등의 미생물학적 변화를 관측하였고 최종적으로 국내산 생 막걸리의 품질을 높이고 유통기한을 연장시키는 것을 목적으로 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

양조장의 생 막걸리 유래 유산균을 분리하기 위해 본 실험에 사용된 막걸리 (RRW)는 전라북도 정읍시 정읍 양조장에서 구입하였으며, 천일염은 태안자연 (염화나트륨 88%, 총 염소 57.84%, 수분 1.02%, 황산이온 0.11%, 칼륨 3.082 mg kg⁻¹, 마그네슘 9.569 mg kg⁻¹, 칼슘 12.784 mg kg⁻¹, 불용분, 비소, 카드뮴, 납, 수은-불검출: 총납대 및 과학기술분석센터 분석자료)을 사용하였다.

2. RRW 유래 유산균의 분리

RRW 유래 유산균을 분리하기 위해 멸균수를 이용해 단계적으로 희석하고 MRS (Difco, U.S.A.) 한천배지

(1.5% agar, w/v)에 도말하여 30°C에서 평판배양 하였다. 이후 얻은 단일 집락을 16S rRNA sequencing을 의뢰하였다(SolGent service).

3. 감마선 조사

효모, 유산균 및 기타 잡균이 복합적으로 내제되어 있는 RRW에 감마선을 처리했을 때의 효과를 알아보기 위해 한국원자력연구원 방사선과학연구소 내의 ^{60}Co 선원(7.4PBq)으로 각 0, 100, 400, 800, 1200, 1800, 2100 Gy를 조사 하였다.

4. RRW 관련 미생물수의 측정

실험 실험 이후 *L. fermentum*의 최종 조사선량을 LD₅₀ 값인 800 Gy hr⁻¹이 되도록 조사한 실험군을 대상으로 배양 집락 형성 단위 CFU (Colony Forming Unit)법을 이용하여 3 반복된 평균 생존율을 측정하였다. 유산균과 효모, 기타잡균의 균수를 측정하기 위한 미생물 배지는 MRS (Difco, U.S.A.) 한천배지 (1.5% agar, w/v)와 YPD (1% yeast extract, 2% peptone, 2% dextrose) 한천배지 (2.0% agar, w/v), LB (1% tryptone, 1% sodium chloride, 5% yeast extract) 한천배지 (1.5% agar, w/v)에 도말하여 30°C에서 평판배양 하였다.

결과 및 고찰

1. 균주의 분리 및 동정

분리된 균주는 probiotics의 일종인 *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*)과 98%의 상동성을 보였다. *L. fermentum*의 생리적 특성을 살펴보고자 단일 집락을 백금 이온 MRS 액체배지에 접종 후 30°C에서 16시간 동안 진탕 배양 후 시료를 채취하여 10⁻³으로 희석한 시료를 spectrophotometer로 Optical Density (O.D.) 값을 확인하고, 10⁻⁷로 희석 한 후 MRS 한천배지에 도말하여 6시간 후부터 단일 집락을 계수하고 이를 2시간 마다 반복하여 24시간까지 측정하였다. 그 결과 RRW 유래 *L. fermentum*은 생육 8~12시간 사이에 대수기 중반을 지나 18시간에 생육 정지기에 도달함을 확인할 수 있었다(남과 김 2010, in press).

2. 감마선 조사

감마선이 RRW에 미치는 효과를 보고자 각 선량별로 조사를 실시하였다. 그 결과 대조군의 *L. fermentum*의

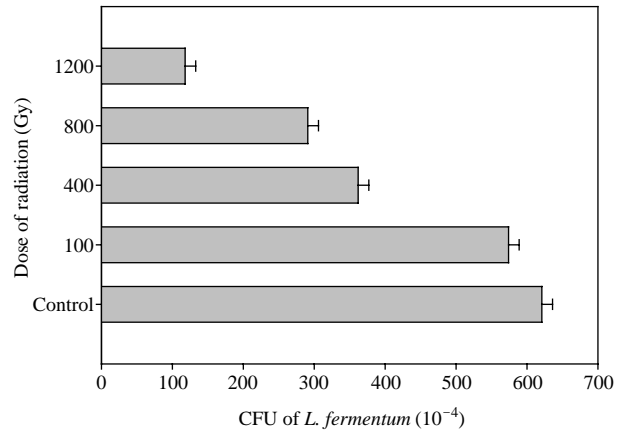


Fig. 1. Survival rate of *L. fermentum* at different radiation doses.

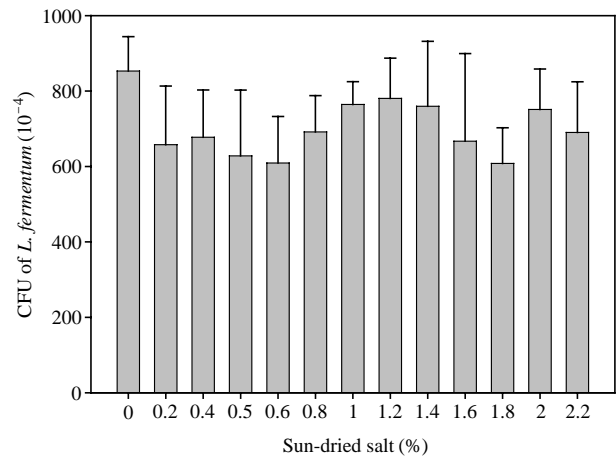


Fig. 2. Survival rate of *L. fermentum* at different concentration of the sun-dried salt (%).

균수를 100%의 생존율로 보았을 때 100 Gy에서는 92%, 400 Gy에서는 58%, 800 Gy에서는 47%, 1,200 Gy에서는 19%로 감마선 선량에 따른 *L. fermentum*의 균수는 800 Gy가 반 치사선량임을 알 수 있었다(Fig. 1).

3. 천일염 조사

천일염을 농도별로 처리한 RRW 내 유산균의 CFU (Fig. 2), 효모의 CFU (Fig. 3), 기타 잡균 등의 CFU (Fig. 4)를 살펴본 결과 유산균과 효모는 천일염 1.8%를 첨가하고, 잡균은 0.85%를 첨가했을 때 대조군에 비해 균수가 상대적으로 제어됨을 확인할 수 있었다. 세부적으로 알아보기 위해 천일염을 농도별로 처리해 *L. fermentum*의 growth curve를 측정된 결과 24시간을 지났을 때 비교적 천일염이 2.00% > 1.50% > 0.50% > 1.00% > 0.85% 순으로 *L. fermentum*을 제어함을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 그러

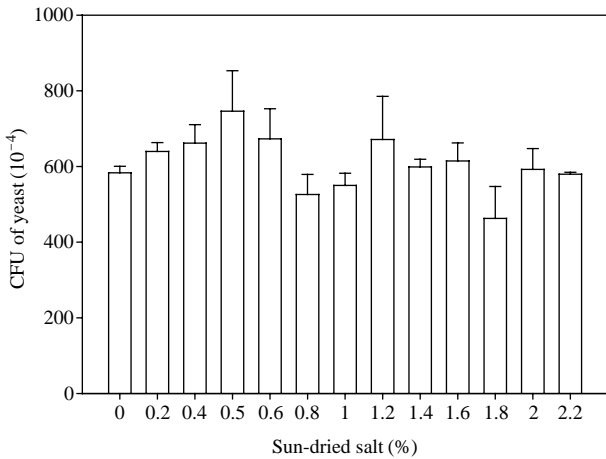


Fig. 3. Survival rate of yeast at different concentration of the sun-dried salt (%).

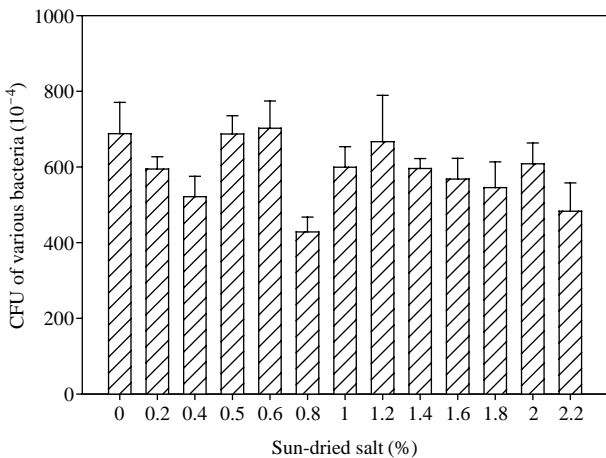


Fig. 4. Survival rate of various bacteria at different concentration of the sun-dried salt (%).

나 막걸리는 담금 후 누룩중의 미생물에 의한 효소의 작용으로 인해 원료 성분이 분해되어 생성되는 아미노산, 유기산, 당분 등의 맛 성분과 효모나 젖산균 등의 미생물로 인해 알코올 발효로 휘발성 풍미 성분이 생성되어 색과 함께 품질의 조화를 이루게 되므로(Lee et al. 1996) 천일염이 막걸리의 본래 향과 풍미에 어떠한 영향을 끼칠지는 아직 알 수 없다. 그러나 천일염은 천연적인 방부제이고 인체에 무해한 동시에 인위적으로 균수를 제어 가능하므로, 앞으로 막걸리를 이용한 기능성 식품을 개발할 수 있는 가능성이 보인다.

일반적으로 소금은 산화작용을 촉진시키지만(Takahashi et al. 1991), 정제염에 비해 천일염이 과산화물 생성을 억제하는 것으로 밝혀지는(Ha and Park 1999) 등 천일염의 우수한 효능이 속속 보고되고 있다. 특히 최근 국산

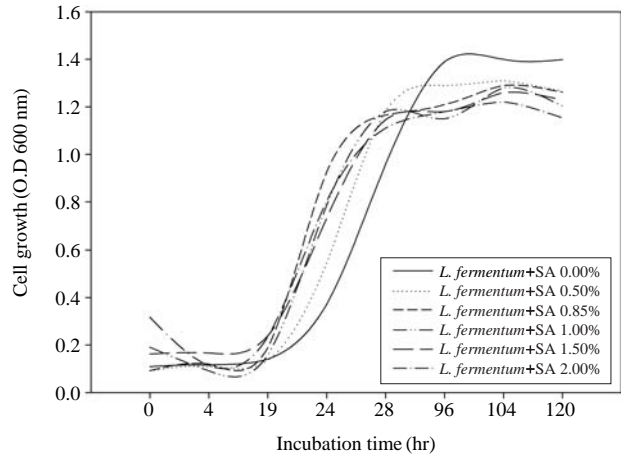


Fig. 5. Effect of different concentration of sun-dried salt (SA) on the growth of *L. fermentum*.

천일염에서 항비만 효과를 가진 유산균이 항비만 효능이 있는 아미노산 물질인 오르니틴(Ornithine)을 생산한다는 사실을 세계 최초로 밝혀냈다는 국내의 보고가 있어(유 등 2009) 귀추가 주목된다. 천일염과 RRW에 관한 총체적인 연구는 아직 학계에 보고된 바 없다. 천일염의 미네랄 성분과 효과가 RRW에 긍정적인 영향을 미친다면 고품질의 특수화된 RRW를 기능성 식품으로 제고시킬 수 있을 것으로 보인다. 이상으로 건강식품, 식품 보존료 등으로 이미 산업적으로 이용되고 있는 천일염의 첨가에 따라 RRW 유래 효모, 유산균 그리고 기타 잡균이 영향을 받으므로 앞으로 산업적 측면에서 이를 이용한 잠재 가치가 있을 것으로 판단되며, 향후 더욱 세밀하고 다양한 농도별 실험과 함께 RRW 숙성 중 산도변화 및 총균수에 대한 생육양상의 결과 등을 추가적으로 연구하여 보정할 수 있을 것으로 사료 된다.

사 사

본 연구는 교육과학기술부에서 시행하는 주요사업의 지원으로 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 남지영, 김진규. 2010. 방사선 조사가 막걸리 유래 유산균에 미치는 효과. 한국방사선산업학회 학술발표대회. pp. 284.
- 남지영, 김진규. 2010. 녹차추출물과 감마선이 막걸리 유래 *Lactobacillus fermentum*에 미치는 효과 연구. 대한방사선방어학회 학술발표대회. pp. 218-219.

- 남지영, 김재훈, 이주은, 김진규. 2010. 천연 식물추출물과 감마선이 막걸리에서 분리한 유산균에 미치는 영향 연구. 한국방사선산업학회지. in press.
- 비락연구실 가공2팀. 1995. 소금에 관한 보고서. 주(비락) 비락연구실, 김해.
- 신미옥, 강대연, 김미향, 배송자. 2008. 막걸리 분획물에 의한 암세포 성장 억제 및 Quinine Reductase 활성 증가 효과. 한국식품영양과학회지. 37:288-293.
- 양은주, 장해춘. 2008. 김치로부터 항진균 활성 *Lactobacillus plantarum*의 분리 및 특성 규명 한국미생물생명공학회지. 36:276-284.
- 유진주, 박형주, 김수곤, 오석홍. 2009. 김치로부터 오르니틴 생성능을 갖는 *Weissella*속 균주의 분리, 동정 및 특성. 한국미생물학회지. 45: 339-345.
- 이재준, 김아라, 장해춘, 이명렬. 2009. 천일염 함유 청국장의 항산화 효과. 한국식품저장유통학회지. 16:238-245.
- 이선미, 장해춘. 2009. 천일염으로 제조한 된장의 암세포 성장 억제효과. 한국식품영양과학회지. 38:1664-1671.
- 한민희. 2009(7/8). http://www.daehong.com/admin/market/marketpdf/주류시장_한민희%20연구원.pdf.
- Gould GW. 2001. New processing technologies: an overview. Proc. Nutr. Soc. 60:463-474.
- Ha JO and KY Park. 1998. Comparison of mineral contents and external structure of various salts. Korean J. Food Sci. Nutr. 27:413-418.
- Ha JO and KY Park. 1999. Comparison of autooxidation rate and comutagenic effect of different kinds of salt. J. Korean Assoc. Cancer. Prevention 4:44-51.
- Hwang SH. 1988. A study on the heavy metal contents of common salts in Korean. Korean J. Environ. Hlth. Soc. 14:73-86.
- Korea Food and Drug Administration. 2004. Food Standards Codex. Korean Foods Industry Association, Seoul, Korea.
- Kong CS, S Bak, KO Jung, JH Kil, SY Lim and KY Park. 2005. Antimutagenic and anticancer effects of salted mackerel with various kinds of salts. J. Kor. Fish Soc. 38:281-285.
- Lee JS, TS Lee, SO Park and BS Noh. 1996. Flavor components in mash of takju prepared by different raw materials. Korean J. Food Sci. Technol. 28:316-323.
- Maurice ES and RY Vernon. 1988. Nutrition and diet in hypertension. In Modern Nutrition in Health and Disease, 7th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1272pp.
- Park MW and YK Park. 1998. Changes of physicochemical and sensory characteristics of Oiji (Korean pickled cucumbers) prepared with different salts. Korean J. Food Sic. Nutr. 27: 417-424.
- Shin MS and HI Rhee. 1983. The properties of salts and their effects on salted vegetables. Korean Home Econ. Assoc. 21:55-63.
- Takahashi M, T Hasegawa, F Furukawa, H Okamiya, K Shinoda, K Toyoda and Y Hayashi. 1991. Enhanced lipid peroxidation in rat gastric mucosa caused by NaCl. Carcinogenesis. 12:2201-2209.
- Yoo TJ. 1981. Korean famous wine. Central New Book, Seoul, Korea. 96pp.

Manuscript Received: October 28, 2010
 Revision Accepted: November 12, 2010
 Responsible Editor: Hak Young Lee