

Probiotic bacteria의 생장에 대한 막걸리슬러지의 이용

김완섭^{1*}

¹한경대학교 동물생명환경과학부

Utilization of Makgeolli sludge for growth of probiotic bacteria

Wan-Sub Kim^{1*}

¹Division of Animal Life and Environmental Science, Hankyong National University, Anseong 456-749, Gyeonggi-do, Korea

Received on 29 August 2011, revised on 9 September 2011, accepted on 19 September 2011

Abstract : A number of health benefits have been claimed for probiotic bacteria such as *Bifidobacterium* (*B*) spp. *Lactobacillus*(*L*) *acidophilus*, and *Lactococcus*(*Lc*) *cremoris*. Viability of probiotic bacteria is important in order to provide health benefits. Only a limited culture media for the test purpose of probiotic bacteria are commercially available (MRS broth), but the media for large-scale propagation of viable cells which are able to be used as food additive are not available. The manufacture of a low priced and preferred novel medium for probiotic bacteria was therefore, attempted using whey protein concentrate(WPC) and Makgeolli sludge as a starting material. The effect of WPC and Makgeolli sludge on the growth of four strains (*B. bifidum* 15696, *B. longum* 15707, *L. acidophilus* CH-2, and *Lc. cremoris* 20076) was investigated. Medium prepared such as WPC, Makgeolli sludge, and WPC+Makgeolli sludge(WPCMs). It was observed that the growth of 4 strains (*B. bifidum* 15696, *B. longum* 15707, *L. acidophilus* CH-2, and *Lc. cremoris* 20076) was stimulated by Makgeolli sludge, WPC, WPCMs. Especially, Viable cell number of 4 strains in the WPCMs were higher than that of the single media. These result suggest the possibility that Makgeolli and WPC, acts as a growth factor for the growth of probiotic bacteria.

Key words : Probiotic, Bifidobacteria, Makgeolli, Whey protein

I. 서론

막걸리는 우리나라를 대표하는 전통술 중의 하나로 쌀과 누룩을 버무려 술을 담고 발효 후 막 걸러내어 만들었다 하여 붙여진 이름으로 전해지고 있다. 현재는 우리나라 뿐 만 아니라 세계적으로 막걸리 열풍이 불고 있으며 영문으로는 Makgeolli, 일본어로는 マッコリ(맛코리)로 표기하고 있다. 2010년 막걸리 출고량은 412천kl로 2009년도 260천kl 보다 58.1% 증가한 것으로 집계되었다(NTS, 2011). 이는 전체 주류 출고량의 12%를 차지하고 있다. 또한 막걸리의 수출 현황을 보면 2009년 6,978kl에서 2010년 19,407kl로 전년 대비 약 178.1%나 증가하였다(NTS, 2011). 주요 수출 국으로는 일본(15,686kl), 미국(1,698kl), 중국(844kl), 기타(1,179kl) 등지로 수출하고 있으며, 특히 올해는 막걸리

의 수출액이 일본산의 청주수입액을 초과하였다고 한다.

막걸리는 누룩에 생존하는 곰팡이와 미생물의 생장에 의해 분비된 protease와 amylase의 작용으로 쌀의 단백질과 전분을 분해하여 얻어진 아미노산과 당을 효모가 이용하여 알코올을 생산하여 만든 술이다(Kim 등, 1990). 막걸리는 발효 중 생성된 유기산의 상큼한 신맛, 단백질의 분해산물인 아미노산 맛, 알코올에서 유래되는 쓴맛, 전분분해 산물인 당류 등이 조화되어 독특한 풍미를 지닌 술이다. 또한 막걸리는 많은 함량의 단백질과 당 이외에 각종 풍부한 영양분이 많이 함유되어 있다. 특히 인체 내의 신진대사에 관여하는 필수아미노산이 많고, 그 중 lysine의 함량이 많이 함유되어 있다(Kim 등, 2008). 또한 vitamin B₁, B₂와 ethyl acetate, amylacetate, ethylcaproate 등의 풍미물질(Lee, 1994)과, 새콤한 맛을 내어 갈증을 해소시켜 주는 유기산 (pyruvic acid, malic acid, succinic acid, oxalic acid, fumaric acid 등) 이 함유되어 있으며(Kim 등, 2008)

*Corresponding author: Tel: +82-31-670-5122

E-mail address: kimws@hknu.ac.kr

그 외 미량의 생리활성물질 등이 들어있어 영양적 가치가 높은 우수한 술이다. 또한, 막걸리는 살아있는 효모와 유산균이 함유되어 있기 때문에 특이한 맛을 가지고 있는 우수한 발효식품이지만 살균하지 않은 막걸리는 알코올 농도가 저농도 이므로 유통 및 저장과정 중에 발효가 진행되어 종종 품질변화를 일으키거나 유통기간이 매우 짧아 저장기간이 길어질수록 품질 및 풍미의 저하를 야기시킨다. 그러므로 막걸리는 저장성이 매우 짧다는 단점을 가지고 있어 상품적 가치가 매우 미약하다. 저장 시 일어나는 침전현상과 이취발생 등 주질 상의 주요 문제점 등이 발생하여 판매업체는 유통기간이 짧은 막걸리를 받아들이기 쉽지 않다. 따라서 유통기한이 지난 제품에 대한 부담감과 늘어나는 막걸리의 재고품에 대한 방안을 연구하여야만 한다. 더욱이 2013년 1월부터 음식물쓰레기(음폐수포함)의 해양투기가 전면 중단됨으로써 유통기한이 끝난 막걸리의 재활용 문제도 매우 심각할 것이다. 다행히도 막걸리슬러지에는 당분, 분해되지 않은 전분질, 단백질, 지질 등이 함유되어 있고, 미생물과 그 대사산물까지도 포함되어 있다. 이러한 물질들은 유산균의 좋은 영양원이 되기 때문에 충분히 유산균 증식 배지로서 이용 가능할 것으로 사료된다. 본 연구에서 막걸리슬러지 외에 함께 첨가할 소재로는 유청단백질(whey protein)을 선택하였다.

현재 치즈의 생산량은 세계적으로 꾸준히 증가하고 있다. 따라서 치즈 제조 시 수반하는 부산물인 유청(whey)의 생산량도 증가하고 있다. 유청의 이용 및 처리기술이 부족한 예전에는 대부분의 유청은 하천으로 흘러 보내 하천의 악취발생 및 생물학적산소요구량(BOD)의 증가에 따른 환경문제를 일으켜 처리 문제가 발생하였다. 현재 유청은 영양학적으로 우수한 생리활성물질을 다량 함유하고 있기 때문에 분말상태로 이용되고 있다. 특히 유청은 단백질원으로서 영양가가 높고 필수아미노산의 비율이 높고 우수한 아미노산 조성을 가지며, 아미노산 스코아도 100이상이 된다(Imai, 2007). 단백질농도가 35 및 80%의 유청단백질 농축물(whey protein concentrate: WPC)과 단백질농도를 90%이상 높은 유청단백질 분리물(whey protein isolate: WPI)이 제조되어 식품산업에 널리 이용되고 있다. 식품산업에서의 이용은 양질의 단백질 공급원으로서 뿐만 아니라 풍미, 물성개량제 및 가열겔화성물질로 이용되고 있다. Kim 등(1988)은 유청이 비피도박테리아의 생장을 촉진한다는 연구 보고를 하였다.

따라서 본 연구는 프로바이오틱스균의 생장을 위한 저가의 배지생산을 위해 치즈제조 시 생산되는 유청의 이용과 유효(유통)기간이 지난 막걸리의 재활용 목적으로 실험을 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료 및 균주

균주 *Bifidobacterium bifidum* 15696과 *Bifidobacterium longum* 15707는 ATCC로부터 구입하였다. *Lactococcus cremoris* JCM20076은 JCM (Japan collection of Micro-organism)으로부터 구입하였고, *Lactobacillus acidophilus* CH-2는 Chr. Hansen (Hoersholm, Denmark)으로부터 구입하여 사용하였다. 막걸리는 경기도 소재 남한산성소주사의 100% 친환경 쌀로 제조된 생막걸리를 직접 구입하여 유통기간을 경과하여 슬러지를 사용하였다. Whey protein concentrate(WPC)는 한국야쿠르트에서 구입하여 실험에 사용하였다.

2. 슬러지의 제조

막걸리의 슬러지제조는 유통기간이 지난 제품을 120℃에서 20분간 멸균하였다. 1단계로 4℃에서 48시간 정치 후, 상징액은 조심스럽게 버리고 침전물을 얻었다. 2단계로 1단계에서 얻어진 침전물은 원심분리기를 이용하여 4,000 rpm/10분간 원심분리 한 후, 상징액은 버리고, 침전물을 얻었다. 최종적으로 얻어진 침전물은 동결건조기(FDCF-12006, 한국)를 이용하여 동결 건조하였고, -20℃에서 저장하면서 실험에 이용하였다.

3. 배지의 제조

대조구의 배지로는 MRS 배지를 사용하였으며 시험구의 배지조성은 다음과 같다. 막걸리슬러지 배지의 조성은 단독 막걸리슬러지 각각 2, 4, 6%를 함유하여 제조하였다. WPC 배지제조는 Kim 등(1998)이 보고한 연구결과와 같이 WPC 2% 단독 함유한 배지를 제조하였고, 혼합배지(막걸리슬러지+WPC)는 막걸리슬러지 2%와 WPC 2%함유한 배지를 제조하여 시험에 이용하였다.

4. 배양

B. bifidum 15696과 *B. longum* 15707은 MRS 배지 내에 37°C에서 혐기 배양하였고, *L. acidophilus* CH-2는 MRS 배지 내에 37°C의 온도에서 호기 배양하였다. 그리고 *Lc. cremoris* 20076은 MRS배지에서 30°C의 온도에서 호기 상태로 예비 배양하였다.

대조구인 MRS배지와 각각 제조된 시험구배지에 예비 배양된 각각의 균을 1% 접종하였다. *B. bifidum* 15696과 *B. longum* 15707은 37°C 항온기에서 혐기 배양하였고, *Lc. cremoris* 20076은 30°C 항온기에서 호기 배양하였으며 마지막으로 *L. acidophilus* CH-2는 37°C온도에서 호기 배

양하면서 시간대별 생균수를 측정하였다.

5. 생균수의 측정

각각 제조된 배지로부터 미생물 균수의 측정은 채취된 시료를 멸균 희석액(0.1% peptone)으로 10진 희석법에 따라 희석한 후, MRS agar에서 *B. bifidum* 15696과 *B. longum* 15707은 37°C 항온기에서 혐기 배양하였고, *Lc. cremoris* 20076과 *L. acidophilus* CH-2는 각각 30°C와 37°C 항온기에서 호기 배양하였다.

III. 결과 및 고찰

막걸리슬러지의 함량을 달리한 단독배지에서 시험에 이용된 4균주의 성장실험에서 막걸리슬러지의 함량에 따른 균수의 변화는 나타나지 않았다(data not shown). 따라서 혼합배지는 2%의 막걸리슬러지를 선택하였다.

막걸리슬러지와 WPC에 대한 *B. bifidum* 15696의 성장에 미치는 효과는 Fig. 1과 같다. 막걸리슬러지 단독은 생균수의 Log수가 12시간과 24시간에 각각 6.8과 6.9를 나타내었다. WPC 단독배지에서는 12시간과 24시간에 각각 Log수가 7.4와 7.5를 나타내었다. 또한 막걸리슬러지와 WPC 혼합 배지에서는 배양 12시간에 7.6, 24시간에 7.5를 나타내었다. 대조구인 MRS 배지에서는 12시간에 8.8, 24시간에 9를 나타내었다. 비록 막걸리 슬러지 단독배지에서 대조구와 현저한 성장 차이를 보여 주고 있지만 WPC와 혼합한 배지에서 약간의 성장 증가를 보여줌으로써 *B. bifidum* 15696의 성장 배지로서 충분한 가능성을 보여주었다.

B. longum 15707의 막걸리슬러지와 WPC 배지에 대한 성장 효과는 Fig. 2와 같다. 막걸리슬러지 단독은 생균수의 Log 수가 12시간에 6.2, 24시간에 6.8을 나타내었고, WPC 단독은 12시간과 24시간에 각각 7.2와 7.3을 나타내어 막걸리슬러지 단독 보다는 약간 높은 성장을 보여 주었다. 그러나 막걸리슬러지와 WPC 혼합 배지는 WPC 단독 배지와 동일 또는 약간 낮은 성장을 나타내었다. 전반적으로 막걸리슬러지와 WPC는 대조구인 MRS 배지에 비하여 낮은 성장증식 효과를 보여 주었으나 기초적인 성장배지로서의 가능성은 충분히 있다고 판단된다.

막걸리슬러지 또는 WPC 단독배지와 막걸리슬러지와 WPC 혼합배지에서 *Lc. cremoris* 20076의 성장 효과는 Fig.

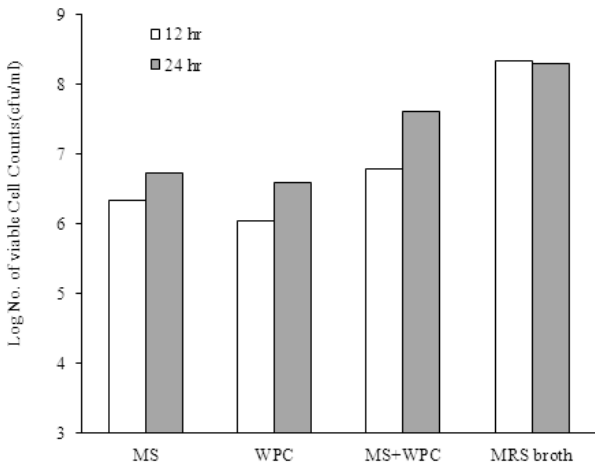


Fig. 1. Effects of Makgeolli sludge (MS), whey protein concentrate (WPC) on the Growth of *Bifidobacterium bifidum* at 12 and 24h incubation. The MRS broth is commercial medium.

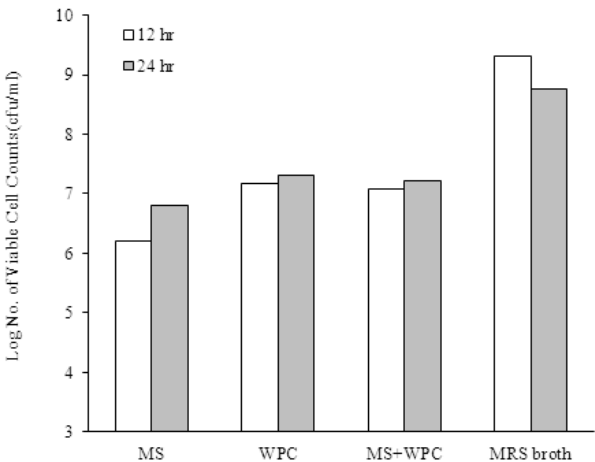


Fig. 2. Effects of Makgeolli sludge (MS), whey protein concentrate (WPC) on the Growth of *Bifidobacterium longum* at 12 and 24h incubation. The MRS broth is commercial medium.

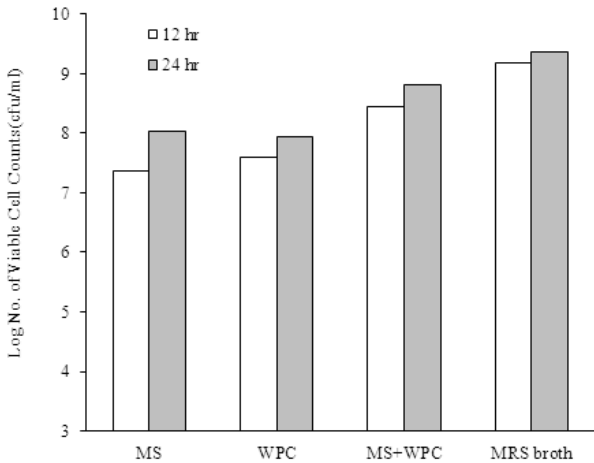


Fig. 3. Effects of Makgeolli sludge (MS), whey protein concentrate (WPC) on the Growth of *Lactococcus cremoris* at 24h incubation. 12 and 24h incubation. The MRS broth is commercial medium.

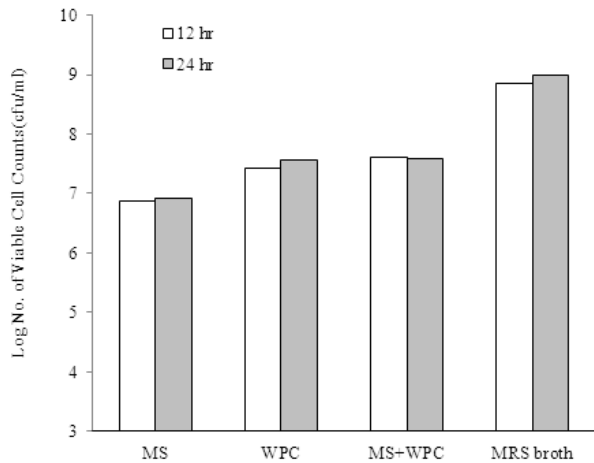


Fig. 4. Effects of Makgeolli sludge (MS), whey protein concentrate (WPC) on the Growth of *Lactobacillus acidophilus* at 24h incubation. 12 and 24h incubation. The MRS broth is commercial medium.

3과 같다. Bifidobacteria와는 달리 *Lc. cremoris* 20076에서는 각각의 배지에서 현저한 성장촉진효과를 보여 주었다 (Fig. 3). 막걸리슬러지 단독배지는 12시간에 7.3, 24시간에 8을 나타내었고, WPC 단독배지는 12시간에 7.7, 24시간에 7.9를 나타내었다. 특히 막걸리슬러지와 WPC의 혼합 배지는 단독배지(막걸리슬러지 또는 WPC) 보다 현저한 균의 성장 촉진 효과 나타내었으며, 대조구인 MRS 배지에 근접한 성장 촉진효과를 나타내었다. 따라서 막걸리슬러지와 WPC의 혼합 배지는 MRS를 대체할 배지로서 가능성을 보여 주었다.

L. acidophilus CH-2에 대한 막걸리슬러지 단독 또는

WPC 단독, 그리고 막걸리슬러지와 WPC 혼합 배지에 있어서 성장효과는 Fig. 4와 같다. 막걸리슬러지와 WPC의 이용은 bifidobacteria와 같은 성장효과를 나타내었다. 막걸리슬러지 단독배지는 12시간에 Log 수가 6.9로서 24시간과 동일한 성장을 보여 주었으며, WPC 단독 배지는 막걸리슬러지 보다 높은 12시간에 7.4, 24시간에 7.6을 각각 나타내었다. 한편 막걸리슬러지와 WPC 혼합 배지는 WPC 단독 배지와 동일한 성장 효과를 보여 줌으로써 상승효과가 없는 것으로 나타났다. *L. acidophilus* CH-2에 대한 막걸리슬러지와 WPC 배지에서의 생장이 대조구인 MRS 배지에 비해 낮은 성장촉진효과를 보여 주었으나, *B. longum* 15707과 같이 기초적인 성장배지로서의 가능성을 보여주었다.

막걸리슬러지에 대한 연구는 극히 드문 편이다. 그 중, Jeong과 Park (2006)은 탁주의 분말을 분무건조 및 동결건조하여 식빵에 첨가하여 미생물의 총균수를 조사하였는데, 동결건조한 탁주 분말에서 높은 값을 나타내었고, 더욱이 이러한 탁주 분말의 첨가가 향미개선 효과를 높였다고 보고하였다. 그리고 Cho와 Lee(1996)는 비지와 막걸리박을 이용한 고식이섬유 빵을 제조한 결과, 비지나 막걸리박을 10% 혼합하였을 경우 반죽의 수분흡수율과 빵의 무게가 증가하였으나 부피는 40% 감소하였다고 하였다. 더욱이 막걸리박은 식이섬유를 26% 함유하고 있으나 막걸리박 첨가 빵의 경우는 식이섬유가 2배로 증가하였다고 보고하였다. 이러한 식이섬유의 기능으로 불용성식이섬유는 수분흡수력이 강하여 포만감과 변을 묽게 하여 변비를 예방하고, 수용성식이섬유는 장내세균(특히 유산균)의 기질로 이용되어 인간의 건강을 유지시켜 준다고 하였다(Blackburn 등, 1984).

본 연구에서 전반적으로 막걸리슬러지 단독보다 WPC를 복합적으로 첨가하였을 때, 성장효과가 높게 나타났는데 이는 WPC의 성분조성 중에 특히 유산균의 성장인자인 유당의 함량이 영향을 미쳤다고 볼 수 있다. Imai (2007)는 WPC 성분 중에 유당의 함량이 많다고 보고하였다. 유당은 장내의 유산균과 비피도박테리아의 성장인자 기능이 있다. 한편, 치즈유청을 기반으로 한 유산균 배지의 이용에 관한 연구로서 Kim 등(1998)은 치즈 유청에 우유단백질 분해물을 첨가시 bifidobacteria의 성장배지로서 우수하다고 보고하였다. 그리고 Masuda 등(2006)은 시중의 시판중인 MRS배지에는 식품첨가물로서 인가되지 않은 (예를들면,

Tween 80) 성분대신 대체 방법으로 치즈유청을 기본배지로서 카제인분해물, 글로코스, 효모엑기스, 무기염류 등을 첨가할 경우 유산균의 저렴한 성장배지로서 이용이 가능하다고 보고하였다. 유청의 미생물 성장관련 연구 결과 외에, 유청은 몸의 형성과 생체방어 조절에 관한 기능성 성분이 다량 함유되어 있다. 유청 성분 중 유염기성단백질(Milk Basic Protein: MBP)는 골형성을 촉진시키는 작용과 골흡수를 억제하는 작용이 보고되었다(Kawakami, 2005). 또한 Wolber 등(2005)은 WPC가 로타바이러스의 감염방어에 효과가 있다고 보고한바 있다. Bojsen 등(2007)은 시판의 고분자량유청단백질(MMWP) 희분이 4종의 로타바이러스균주에 대하여 효과적으로 방어한다고 보고하였다. 그리고 Inagaki 등(2008)은 유청의 성분 중 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin을 로타바이러스에 걸린 마우스에 응용시킨 결과 설사증상이 개선되었다고 보고하였다.

따라서, 막걸리슬러지의 유산균배지로서의 이용은 연구결과와 같이 충분한 가능성을 보여 주었고, 특히 WPC와의 혼합 이용은 최근 프로바이오틱스로 잘 알려진 *Bifidobacterium*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* 및 *Lactobacillus rhamnosus* 등에 중요한 영양원이 될 수 있는 가능성, 폐자원을 이용하는 점에서 환경문제의 해결, 그리고 저가의 배지를 이용함으로써 경제적인 이익과 식품첨가물로서 부적합 물질들이 첨가되지 않음으로써 안정적인 유산균제제를 공급할 수 있을 것으로 사료된다.

IV. 결론

Probiotic bacteria의 성장증식 촉진 효과를 위한 저가의 배지생산을 개발하기 위해 치즈제조 시 생산되는 유청과 유통기간이 지난 막걸리슬러지의 배지 이용가능성을 검토하였다. 막걸리슬러지와 WPC에 대한 *Bifidobacteria*와 유산균의 성장에 미치는 효과는 다음과 같다. 막걸리슬러지의 WPC와의 혼합에 의한 현저한 성장 증가 효과를 보여준 유산균은 *Lc. cremoris* 20076로 밝혀졌다. *Lc. cremoris* 20076균은 막걸리슬러지 단독 배지와 WPC 단독배지에서 우수한 성장 촉진 효과를 나타내었지만 특히 막걸리슬러지와 WPC의 혼합배지에서는 상업배지인 MRS배지와 유사한 성장촉진 효과를 나타내었다. 그외 *B. bifidum* 15696, *B. longum* 15707 그리고 *L. acidophilus* CH-2는 막걸리슬러지단독배지, WPC단독배지 및 혼합배지(막걸리슬러지와

WPC)에 있어서 상업배지인 MRS배지에는 못 미치지만 성장 증식 효과를 나타내었다. 따라서 막걸리슬러지는 본 실험에 이용된 probiotic bacteria의 증식배지로서 충분히 이용 가능하다고 사료된다.

참고 문헌

- Blackburn NA, Redfern JS, Jarjis OH. 1984. The mechanism of action of guar gum in improving glucose tolerance in man. *Clin. Sci.* 66: 329-336.
- Bojsen A, Buesa J, Montava R, Kvistgaard AS, Kongsbak MB, Petersen TE, Heegaard CW, Rasmussen JT. 2007. Inhibitory activities of bovine macromolecular whey proteins on rotavirus infections in vitro and in vivo. *J. Dairy Sci.* 90: 66-74.
- Cho MK, Lee WJ. 1996. Preparation of high-fiber bread with soybean curd residue and makkolli(rice wine) residue. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 632-636. [in Korean]
- Imai T. 2007. Health function and utilization of whey protein. *Milk Science* 55: 227-232. [in Japanese]
- Inagaki M, Kobayashi C, Nohara M, Kanamaru Y. 2008. Control of intestinal infection with bovine milk α -lactalbumin and β -lactoglobulin. *Milk Science* 56: 131-136. [in Japanese]
- Jeong JW, Park KJ. 2006. Quality characteristics of loaf bread added with Takju powder. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 38: 52-58. [in Korean]
- Kawakami H. 2005. Biological significance of milk basic protein (MBP) for bone health. *Food Sci. Technol. Res.* 11: 1-8.
- Kim AR, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim JH, Kim MJ, Ji KW, Ahn IS, Ji KW, Ahn IS, Ahn DH. 2008. Effect of glycyrrhiza uralensis on shelf-life and quality of takju. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 40: 194-200. [in Korean]
- Kim CJ, Kim KC, Kim DY, Oh MJ, Lee SK, Lee SO, Chung ST, Jung JH. 1990. *Fermentation Technology*. pp. 79-103. Sunjinmunwhasa, Seoul, Korea [in Korean]
- Kim WS, Choi JW, Park SY, Lee BJ, Kim PH, Choi SH, Goh JS. 1998. Effects of casein hydrolysates fractionated by molecular weight on the growth of *Bifidobacterium bifidum* Bb-11. *Kor. J. Dairy Sci.* 20: 123-132. [in Korean]
- Lee GH. 1994. The properties and new technologies of Korean medicinal wine and takju. *J. Microbiol. Biotechnol.* 7: 4036-4046. [in Korean]
- Masuda T, Nagai A, Suzuta Y, Itoh T. 2006. A novel culture medium for Lactobacilli based on cheese whey. *Milk Science* 55: 23-29. [in Japanese]
- National Tax Service (NTS). 2011. *News Reference Data*. [in Korean]
- Wolber FM, Broomfield AM, Fray K, Cross ML, Dey D. 2005. Supplemental dietary whey protein concentrate reduces rotavirus induced disease symptoms in suckling mice. *J. Nutr.* 135: 1470-1474.