

Review

전통발효식품용 종균의 안전성 평가 필요성

정도원, 이종훈*
경기대학교 식품생물공학과

Received: January 28, 2014 / Revised: February 3, 2014 / Accepted: February 6, 2014

Safety Assessment of Starters for Traditional Korean Fermented Foods

Do-Won Jeong and Jong-Hoon Lee*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 443-760, Republic of Korea

Most microorganisms have been used for foods for such a long period of time with no question posed for their safety. However, the progress of food processing technology has activated international food trades, and the consumers and authorities of import countries have come to question the safety of microorganisms used in foods. At present, the most widely known safety standards are Generally Recognized as Safe (GRAS) status from the US Food and Drug Administration (FDA) and Qualified Presumption of Safety (QPS) status by the European Food Safety Authority (EFSA). GRAS status is not for the safety of microorganisms themselves but for the permissibility of strains or cultures in specific food uses. QPS provides a qualified generic approval to a defined taxonomic unit. The increase of commercialized traditional fermented foods in Korea has spurred the starter development for traditional food fermentations. However, starter development in Korea has been carried out based on the technological properties of microorganisms with no research on developing a standardized tool for safety assessment. In the globalization of traditional Korean fermented foods, technological properties as well as safety of future starters should be guaranteed, and establishment of the safety assessment regulation for microorganisms used for foods is necessary.

Keywords: Starter, traditional fermented foods, safety assessment

발효식품과 종균

인간의 발효식품 섭취는 유사이전으로 거슬러 올라간다. 이집트 피라미드에서 발견된 발효빵, 그리스 신화에 나오는 포도주, 서양의 주요 발효식품인 치즈와 요구르트, 동양의 장류, 수산발효식품 등은 인류의 문명사와 그 역사를 같이 한다. 식품발효에 대한 과학적 토대는 현미경의 발명과 1665년 Robert Hooke와 Antonie van Leeuwenhoek에 의한 미생물 존재 확인으로부터 시작되었고, 1857년 Louis Pasteur가 미생물에 의해 발효가 일어남을 증명하면서 확립되었다. 식품의 발효는 식품소재에 존재하는 미생물에 의한 자연발효에 의존하다가, 미생물 첨가에 의한 식품발효가 시작된 역사는 100년 정도에 불과하다. 서구에서 발생한 산업혁명은 도시

인구의 증가를 초래하였고, 대량생산의 필요성은 공산품뿐만 아니라 식품에서도 발생하였다. 다행히도 1850년경의 미생물학은 발효산업을 지원할 수 있는 과학적 수준에 도달해 있었기 때문에 미생물을 이용한 발효식품의 대량생산이 시작되었다[4]. Pasteur가 정립한 미생물이 발효를 진행시킨다는 기본개념은 식품발효를 담당하는 미생물의 탐색으로 연결되었고, Christian Hansen이 효모를 분리하여 양조산업에 이용하면서 종균발효가 시작되었다.

종균(starter)은 미생물이 가지고 있는 대사능력을 이용하기 위하여 식품발효에 의도적으로 첨가하는 미생물을 의미하고, 종균첨가제(starter culture)는 발효식품의 빠른 제조를 위하여 종균을 배양하여 증식시킨 첨가용 균체를 지칭하며, 식품소재에 첨가한 종균첨가제는 발효식품의 품질 향상 및 균일화, 식품 안전성 확보, 저장기간 연장 등을 가능하게 하였다[18]. 자연발효로 시작한 식품발효는 성공적으로 제조된 발효식품의 일부를 다음 발효식품의 제조에 첨가하는 back slopping으로 발전하여 품질 향상이 달성되었다. Back

*Corresponding author

Tel: +82-31-249-9656, Fax: +82-31-253-1165

E-mail: jhl@kgu.ac.kr

© 2014, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

slopping은 지금까지도 발효 관련 미생물상(microbial ecology)과 미생물의 천이에 대한 정확한 지식이 확립되지 않은 경우 사용되고 있고, 소규모 생산 및 저비용으로 품질 균일화를 달성할 수 있는 발효법이다[17]. 한편 대량생산에 필요한 균일하고, 높은 관능적 품질은 종균의 사용으로 달성되고 있다[27]. 현재, 단일 균주를 배양한 single-strain culture와 복수의 균주를 배양한 multiple-strain culture가 제조되어 종균첨가제로 식품발효에 이용되고 있다. 종균첨가제의 산업적 활용을 위해서는 첨가제의 안전성, 첨가제 첨가에 따른 기술적 효용성, 첨가제의 유지 및 생산에 따르는 비용 대비 얻을 수 있는 경제성이 확보되어야 하고, 추가적으로 첨가제에 포함된 종균의 건강기능성이 입증된다면 산업적 유용성의 향상이 예상된다[3].

식품발효용 미생물의 안전성 평가 필요성

유산균은 채소, 곡류, 사람과 동물의 장관을 포함하는 다양한 환경에서 검출되는 발효미생물로 치즈, 요구르트와 같은 발효유제품, 김치나 피클 등과 같은 발효채류, 발효소시지, 빵의 제조 등, 수 많은 발효식품들의 종균으로 이용된다[5]. 또한 의약품인 정장제제와 건강보조식품, 가축사료의 발효제 및 영양개선제로 사용되고 있고, 최근에는 백신운반 수단으로 주목을 받고 있다. 이 외에도 dextran이나 pullulan 등의 고분자화합물, 생분해성 플라스틱 원료인 유산, nisin과 같은 bacteriocin, 식품보존제, 기타 유기산, 비타민, 풍미 성분 등의 정밀화학제품, 화장품원료의 발효생산에 이용되고 있고[15], 우리나라에서도 식품발효용 종균 및 probiotics

Table 1. Overview of antibiotic resistances reported in the food-associated lactic acid bacteria [29].

Foods	Species	Resistance
Raw meat products		
Poultry	<i>Lb. reuteri</i> G4	<i>cat</i>
Raw ground pork	<i>Lb. reuteri</i> 100-63	<i>erm</i> (T)
	<i>Lb. plantarum</i> caTC2R	Cm
Raw ground pork and beef	<i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Leuco. mesenteroides</i>	Tetracycline (69%); chloramphenicol (3%); methicillin (85%)
Fermented products		
Raw milk soft cheese	<i>Lc. lactis</i> strain K214	<i>Str-tet</i> (S)- <i>cat</i>
Greek cheese	<i>Lb. acidophilus</i> ACA-DC 243	Penicillin
Yoghurt starter cultures	<i>S. thermophilus</i> and <i>Lb. delbruekii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	Neomycin, polymyxin B
Nigerian fermented foods and beverages	<i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. jensenii</i>	Tetracycline (42.5%)
		Erythromycin (17.5%)
		Ampicillin (47.5%) cloxacillin (80%); penicillin (77.5%);
Fermented dry sausages	<i>Lactobacillus</i> species	Tetracycline Gentamicin (79%) Penicillin G (64%) Kanamycin (79%)
Turkish yoghurts	<i>S. thermophiles</i>	Vancomycin (65%)
European probiotic products	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. johnsonii</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. delbruekii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	Tetracycline (26%) Penicillin G (23%) Erythromycin (16%) Chloramphenicol (11%)
Others		
Maize silage	<i>Lb. plantarum</i> 5057	<i>tet</i> (M)

Gene names and abbreviations: *cat*: chloramphenicol acetylase gene; *erm*: erythromycin resistance gene; Cm: Chloramphenicol; *tet*: tetracycline resistance gene; *str*: streptomycin adenylase gene; *Lb*: *Lactobacillus*; *Lc*: *Lactococcus*; *Leuco*: *Leuconostoc*; *S*: *Streptococcus*.

로 산업화하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 뿐만 아니라, 오랜 기간의 사용이력으로 안전성이 증명되었다고 볼 수 있다. 이러한 맥락에서 미국 Food and Drug Administration (FDA)는 유산균을 Generally Recognized as Safe (GRAS) 규격으로 오랜 기간 인정하고 있었다.

그러나 유산균이 항생물질 내성을 유발할 수 있는 plasmid와 transposon을 보유하고 있다는 연구 보고가 지속적으로 발표되면서, 이들의 사용이력이 더 이상 안전성에 대한 근거가 되지 못하기 시작했고, 유산균의 항생물질내성에 대한 연구들은 계속 증가하고 있다[7, 29, 33, 34]. 특히, 발효유제품의 숙성 및 풍미형성에 관여하는 것으로 알려져 발효산업용 종균 및 probiotics로 오랜 기간 이용되어 왔던 *Enterococcus* 속의 경우에는 더 이상 GRAS로 인정되지 않는다. *Enterococci*는 높은 항생물질내성 유전자 획득 능력을 가지고 있을 뿐만 아니라 병원의 감염환자로부터 빈번히 검출되고 있어 기회감염성균으로도 인식되고 있다. 아직 *enterococci*의 섭취에 의한 감염환자 발생은 보고된 바 없고, 시제품으로 출시된 *enterococci* 함유 probiotics로부터 발견된 위해인자에 대한 보고가 없었지만, 식품에서 분리되는 *enterococci*의 안전성 문제는 계속적으로 논란이 되고 있어, 현재 식품에 사용하기 위해서는 안전성 평가가 필요한 미생물로 분류되고 있다[13, 14, 30]. 이러한 항생물질내성의 문제는 *enterococci* 뿐만 아니라 *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* 속 유산균 및 bifidobacteria에서도 나타나고 있어 식품미생물 분야에서의 큰 위해요인으로 등장하였다. Table 1은 *enterococci*를 제외한 유산균에서 나타난 항생물질내성에 대한 보고를 Mathur and Singh [29]가 정리한 표이다. 유산균은 발효식품에 다수 존재하고 있기 때문에 이들이 전이 가능한 항생물질내성 유전자를 보유하게 된다면 발효식품이 항생물질 확산의 매개체가 될 수 있다. 또한 종균으로 식품발효에 사용하거나 probiotics로 섭취하게 된다면, 이들이 인간의 장(gut)에 정착하여 항생물질내성 유전자를 지속적으로 위해균 및 기회감염성균에게 전달할 수 있고, 최종적으로 항생물질로는 더 이상 감염균을 조절할 수 없는 상황에 도달하게 될 것이다. 따라서 유럽에서는 식품발효용 미생물 및 식품용 미생물제제에 대한 항생물질내성 문제가 심각히 거론되고 있다.

최근에는, 식품발효용 미생물의 안전성 문제 중 항생물질내성 외에도 독소생성(toxin production), 용혈작용(hemolysis), biogenic amine 생성, biofilm 형성 등의 여러 위해인자들에 대한 안전성 평가가 필요한 것으로 보고되고 있다[32].

식품용 미생물 안전성 평가 시스템

대량생산에 의해 식품이 제조되고 있는 현대사회에서 소비자 및 생산자에게 가장 중요한 문제는 식품의 안전성이다.

안전한 식품에 대한 요구 증가는 발효식품 제조에 첨가하는 종균의 안전성 평가에 대한 중요성을 부각시켰다. 그러나 2000년 초반까지 유럽연합(EU)에는 식품에 첨가하는 미생물에 대한 안전성 평가기준이 존재하지 않았고, 미국 FDA가 사용하고 있는 GRAS가 대표적 기준으로 적용되고 있었다. 2002년 EU의 European Food Safety Authority (EFSA)는 GRAS 기준과 비슷한 개념과 목적을 위하여 미생물 안전성 평가시스템을 제안하였다. 식품에 첨가하는 생물제제의 안전을 담당하고 있는 EFSA는 EU 각국에서 진행하고 있는 식품용 미생물 안전성 평가시스템을 간소화하기 위하여 포괄적으로 적용할 수 있는 Qualified Presumption of Safety (QPS) 개념을 도입하였다[8, 28]. 식품에 첨가하는 미생물제제를 용도에 따라 개별적으로 안전성을 평가하는 GRAS 시스템과는 달리, QPS 시스템은 EFSA 전문가 집단의 식품에 첨가되는 미생물 단위(분류학적 단위, taxonomic unit)에 대한 안전성 평가이다.

미국의 GRAS 시스템

미국에서 식품첨가물은 연방식품의약품화장품법(Federal Food, Drug and Cosmetic Act, FFDC)에 따라 규제되고 있다. FFDC 201(s) 및 409 조항에 따르면 식품첨가물은 식품의 특성에 영향을 미칠 수 있는 성분으로 의도적으로 첨가한 물질로 정의하고 있으며, 신규 물질의 식품사용을 위해서는 FDA의 사전승인(premarket approval)을 받아야 한다. 그러나 GRAS로 인정된 식품첨가물의 사용에는 사전승인을 면제하고 있다.

GRAS는 미국 FDA가 오랜 사용이력 및 전문가들의 평가를 통하여 일반적으로 안전하다고 판단되는 식품첨가물을 관리하는 규격(status)이다. FFDC에 의해 GRAS 시스템이 시행되기 시작한 1958년 이전부터 사용한 물질에 대해서는 사전승인(prior sanction) 물질로 간주해 안전성 평가 없이 GRAS로 인정되었지만, 현재는 안전성에 대한 과학적 근거 자료에 대한 전문가들의 심사를 통하여 인정된다. 미생물 및 미생물에서 유래한 성분을 식품에 첨가하려는 경우, 식품첨가물과 동일한 절차를 거쳐 GRAS로 승인된다. GRAS 규격은 식품에 첨가하는 원료 자체에 대한 안전성을 제공하는 것이 아닌, 특정용도에서의 안전성을 의미한다. 따라서 항상 용도를 지정해야 한다.

GRAS notification program은 식품원료의 안전성을 증명하는 과정으로, GRAS로 인증된 식품원료는 GRAS notice inventory에 등재되어 FDA homepage (<http://www.fda.gov>)에 공개된다. 1997년 이전에는 GRAS 인증의 심사가 FDA 및 제조업체의 안전성 평가 전문가들에 의해서 진행되었지만, 오랜 기간에 걸쳐 진행되는 단점을 보완하기 위해, 1997년 이후에는 생산자 또는 판매자가 GRAS 여부를 판단하여 FDA

에 심사를 청구하면 독성, 영양, 분자생물학 분야 전문가 패널의 안전성 검증을 통해 GRAS 규격을 획득한다. 다만 1958년 이전에 안전하게 사용되었다는 역사적 사용 근거가 있는 물질에 대해서는 사전승인 물질로 인정해 위해성이 없는 물질로 간주하고 있다. Table 2에는 미국연방법(CFR, Title 21, Part 131, <http://www.gpo.gov/>)에 명기된 사전승인 물질 중, 유산균 관련 내용을 정리하였다. 지금까지 490건의 식품원료 심사가 FDA에 요청되었고, 그 중 329건이 GRAS 규격을 획득하였다(2014년 1월 기준). Table 3에는 GRAS로 인정받은 22건의 bacteria 목록을 정리하였다. 예를 들어 GRN number 49를 부여받은 *Bifidobacterium lactis* Bb1와 *Streptococcus thermophilus* Th4는 유아식에 사용할 수 있으며, GRN number 171을 부여받은 *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici*는 육가공제품의 유해균 저해를 위해서 사용할 수 있다.

유럽의 QPS 시스템

유럽에서 식품제조를 위해 첨가되는 미생물은 1997년부터 Novel Food Regulation (NFR)의 적용을 받았다. 전통적으로 식품제조에 사용되었던 미생물은 오랫동안 안전하게 섭취된 사용이력에 근거 규제 없이 사용되었으나, 새롭게 발견되는 균주나 유전자조작 미생물, 사료첨가제를 통해 식품에 유입될 수 있는 미생물은 관련 법령에 의해 엄격히 규제되고 있었다. 특히 사료첨가제로 사용되는 미생물은 식품제조에 사용되는 미생물과 동일하거나 매우 유사한 균주가 많지만 식품과 달리 엄격한 규제를 받고 있어 형평성에 대한 논란이 있었다. 낙농제품 생산 및 축산업의 대형화에 따른 항생제 사용의 증가로 환경시료로부터 항생제내성균의 분리가 증가하고 있으며, 식품에서 분리되는 미생물에서도 항생제내성이 증가하고 있는 추세이다. 그러나, NFR에서는 항생

제내성을 갖는 미생물의 사료첨가제 사용을 제한하지만 식품발효에는 별다른 규제 없이 사용되었다. 이러한 문제의 해결을 위해 EFSA는 EU의 Scientific Committee on Animal Nutrition (SCAN), Scientific Committee on Food (SCF), Scientific Committee on Plants (SCP)의 전문가 그룹을 2002년과 2003년에 소집하여 식품이나 사료에 사용될 미생물의 안전성 평가를 위한 QPS 개념을 제안하였다[8, 28].

QPS는 특정 용도로 식품에 첨가하는 미생물의 균주(starin) 수준(level)에서의 안전성을 의미하는 미국의 GRAS와는 달리, 미생물 단위의 일반적인 안전성을 정의한다. 따라서, QPS 시스템을 통하여 안전하다고 평가된 미생물 단위(종 또는 속)는 사용 용도를 제한하지 않는다. QPS에 의해 안전성이 확보된 미생물 단위는 QPS list에 등록되고, 이 목록은 매년 업데이트된다(<http://www.efsa.eu.int/>). QPS list에 등록된 미생물 단위는 일반적인 안전성이 입증되었기 때문에 개별적인 안전성 평가가 필요 없고, 균주 수준에서의 특이적 안전성 문제가 없다면 식품에 사용 가능하다. 한편 등록되지 않은 미생물 단위에 대해서는 평가가 필요한 모든 안전성이 검증되어야 한다. EFSA의 과학위원회는 2005년 식품에 첨가하는 미생물의 안전성 평가에 QPS를 적용하도록 제안하였고[9], 2007년에는 bifidobacteria, 유산균, *Bacillus* 속 및 일부 효모에 대한 안전성을 검토하여 QPS list를 작성하였다[10]. 2008년부터는 EFSA의 Biological Hazards (BIOHAZ) 패널이 안전성을 검토하여 QPS list를 업데이트한다[2, 11, 12]. Table 4에 2013년에 업데이트된 QPS 미생물 목록을 속(genus) 수준에서 정리하였다.

QPS 규격 획득을 위한 안전성 평가는 분류(taxonomy), 정량적 정보의 양(familiarity), 병원성(pathogenicity), 적용 상황(end use)의 4가지 항목을 중심으로 진행된다[9]. 안전성에 논란이 없거나, 위해요소가 있더라도 제거 가능한 미생물

Table 2. Food microbial substances of prior sanction in 21 CFR 131.

Regulation in 21 CFR	Food	Substance
§ 131.112	Cultured milk	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
§ 131.160	Sour cream	lactic acid producing bacteria <i>Lactobacillus bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophiles</i>
§ 133.128	Cottage cheese	lactic acid producing bacteria <i>Lactobacillus bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophiles</i>
§ 131.200	Yogurt	lactic acid producing bacteria <i>Lactobacillus bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophiles</i>
§ 131.203	Low fat yogurt	lactic acid producing bacteria <i>Lactobacillus bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophiles</i>
§ 131.206	Non-fat yogurt	lactic acid producing bacteria <i>Lactobacillus bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophiles</i>

21 CFR 131: Code of Federal Regulations (CFR), Title 21, Part 131 (<http://www.gpo.gov/>)

Table 3. Bacteria in the GRAS notice inventory.

GRN No.	Strain	Use
49	<i>Bifidobacterium lactis</i> strain Bb12 <i>Streptococcus thermophilus</i> strain Th4	Ingredient in infant formula
159	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> strain CB1	Inhibitor of <i>Listeria monocytogenes</i> in ready-to-meat products
171	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>	Antimicrobial agent in meat and poultry products
231	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> strain GG	Ingredient in infant formula
240	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> <i>Bacillus coagulans</i> LA-1 <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>hermanii</i> mixtures of these microorganisms	Antimicrobial agent in meat and poultry products
254	<i>Lactobacillus reuteri</i> strain DSM 17938	Ingredient in processed dairy and vegetable products
268	<i>Bifidobacterium longum</i> strain BB536	Ingredient in various foods
281	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain HN001 produced in a milk-based medium	Ingredient in infant formula
288	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain HN001	Ingredient in various foods
305	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> strain CB1 (viable and heat-treated)	Inhibitor of <i>Listeria monocytogenes</i> in various foods
357	<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	Ingredient in various foods
377	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> strain Bf-6	Ingredient in food
378	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bacillus coagulans</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> or mixtures of these strains	Antimicrobial agents in various food including meat and poultry products excepting infant formula and infant foods
399	<i>Bacillus coagulans</i> strain GBI-30, 6086 spores	Ingredient in baked goods
410	<i>Lactobacillus reuteri</i> strain DSM 17938	Ingredient in infant formula
415	Heat-killed <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ET-3 culture	Ingredient in specific foods
429	<i>Lactobacillus casei</i> strain Shirota	Ingredient in fermented dairy products
440	<i>Lactobacillus reuteri</i> strain NCIMB 30242	Ingredient in beverages and various foods
445	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> strains HN019, Bi-07, BI-04 and B420	Ingredients in ready-to-eat foods
453	<i>Bifidobacterium breve</i> M-16V	Ingredient in baked goods
454	<i>Bifidobacterium breve</i> M-16V	Ingredient in infant formulas
455	<i>Bifidobacterium breve</i> M-16V	Ingredient in exempt term powdered amino acid-based formulas

Table 4. Microorganisms of QPS status in the 2013 updated list.

Phylum	Family	Genus	Species ^a		
<i>Actinobacteria</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>	5		
	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium</i>	1		
	<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Propionibacterium</i>	2		
<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	12		
		<i>Geobacillus</i>	1		
	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	36		
		<i>Pediococcus</i>	3		
	<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	4		
		<i>Oenococcus</i>	1		
	<i>Streptococaceae</i>	<i>Lactococcus</i>	1		
		<i>Streptococcus</i>	1		
<i>Proteobacteria</i>	<i>Acetobacteraceae</i>	<i>Gluconacetobacter</i>	1		
<i>Ascomycota</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>Debaryomyces</i>	1		
		<i>Hanseniaspora</i>	1		
		<i>Kluyveromyces</i>	2		
		<i>Komagataella</i>	1		
		<i>Lindnera</i>	1		
		<i>Ogataea</i>	1		
		<i>Saccharomyces</i>	3		
		<i>Wickerhamomyces</i>	1		
		<i>Schizosaccharomycetaceae</i>	<i>Schizosaccharomyces</i>	1	
		<i>Basidiomycota</i>	<i>Cystofilobasidiaceae</i>	<i>Xanthophyllomyces</i>	1
Total number of species			81		

^aNumbers of QPS status species in the listed genus.

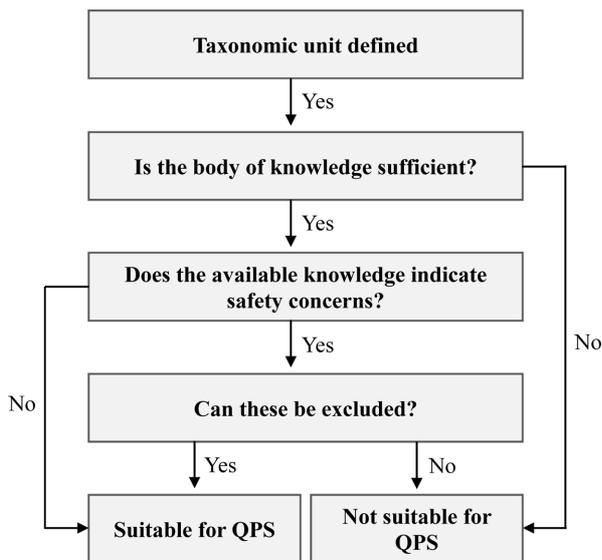


Fig. 1. A generalized scheme for assessing the suitability for QPS status of microorganisms.

단위는 QPS 규격 획득이 가능하고, 4가지 요건에 근거한 QPS 규격 평가 진행은 Fig. 1과 같다.

분류(Taxonomy): 미생물 동정은 QPS 규격 획득을 위한 위해도 평가의 첫 단계이다. 미생물은 유산균 등과 같이 일반적인 분류가 아닌, 속(genus) 또는 종(genus)과 같이 학술적 분류단위에 의해 분류되어야 하고, 가능한 식품용으로 적합하지 않은 균주를 제거할 수 있는 분류 단위의 적용을 원칙으로 한다. 심사 청구자는 가능한 최신의 방법을 적용하여 가장 최근의 명명법을 동정에 사용해야 한다. 미생물이 분류 방법론 상의 변경으로 재분류되더라도 QPS 지위를 상실하는 것은 아니고, 이력상의 정보변경으로 간주한다. 돌연변이 및 선발을 통해 개량된 특성을 갖는 산업용 균주의 경우에도 분류학적 위치는 변하지 않는다. 그러나 유전자 재조합을 통해 개량된 특성을 갖는 균주는 유전자재조합 관련 법규에 따른다.

정량적 정보의 양(Familiarity, Body of knowledge): QPS 시스템의 도입 시점에는 “familiarity”라는 용어를 사

용하였으나, 혼동을 일으킬 우려가 있어 “body of knowledge”로 수정하였다. 이것은 미생물의 산업적 이용을 포함하는 역사적 사용 이력, 주요 분포 생태계, 질병 관련성, 안전성 등의 과학적 평가가 가능한 모든 정보를 의미한다. QPS 인증을 위해 제출한 자료는 미생물이 사람, 가축, 환경 등에 악영향을 미치지 않음에 대한 판단이 가능해야 한다. 제출한 자료가 완벽한 안전성을 증명하지 못하더라도, 위해성에 대한 합리적인 증거 제시만으로도 QPS 규격 획득이 가능하다.

병원성(Pathogenicity): QPS 규격 획득을 위해서는 미생물의 사용이력 및 과학적 근거 자료를 토대로 병원성이 없음을 제시해야 한다. 따라서 일반적인 질병에 관여하는 미생물은 QPS 인증이 불가하지만, 병원성이 일부 균주에서만 한정적으로 나타나고 발병기작이 잘 알려져 있다면 병원성 균주만을 제외하는 제한규정을 첨부하여 QPS의 판단 대상이 될 수 있다. 예를 들어 *Bacillus subtilis* 중에서 위해성을 나타낼 가능성이 있는 균주, 곰팡이 독소를 생산하는 곰팡이 균주, 위해성이 있는 enterococci를 QPS list에서 제외하는 조건으로 이들을 QPS로 인증할 수 있다.

적용 상황(End use): 생물체제의 사용에 대한 적용 상황 또한 body of knowledge의 일부로써 안전성 평가에 영향을 미친다. 미생물의 안전성 평가에 있어 모든 측면에서의 안전성이 확보되는 것이 최선일 수 있지만, 실용적 측면에서 조건부 사용이 따르는 경우, end use는 QPS 인증에 큰 영향을 줄 수 있다. 예를 들어 곰팡이의 경우, 식물보호의 목적으로 사용함에 있어 안전성이 검증되었다 하더라도 곰팡이가 가지고 있는 능력을 모든 분야로 확대하여 이용하는 점에서는 안전성을 확대 해석하는 것에는 문제점이 있는 것으로 판단하고 있다.

대한민국 식품위생법

우리나라 식품공전에는 곰팡이 사용을 위한 종균에 대한 정의를 명시하고 있지만, 종균에 대한 정의 및 관리가 명확하지는 않다. 현재 식품의 발효를 위해 사용되는 종균은 식품위생법에 정의된 식품첨가물[식품에 의도적 비의도적으로 혼입된 물질(오염물질 제외)]에 해당하지만, 아직까지 요구르트 제조에 사용하는 유산균 외에 사용허가된 것이 없으며,

유산균의 경우에도 균주 수준에서의 특이적 사항에 대한 제시가 없고, 사용허가를 위한 기준조건이 없다.

건강기능성식품법에는 probiotics로 허가된 유산균 품목이 있다(Table 5). 그러나 허가된 유산균에 대한 최신 정보를 통한 업데이트가 진행되지 않을 뿐 아니라, 허가 품목 중, *Enterococcus*의 경우, 병원성 관련 문제점이 제시되고 있고 [13, 14, 30], 캐나다에서는 Natural Health Products Regulations에 의해 사용이 금지되었지만, 우리나라에서는 여전히 probiotics로 승인되어 있다. 따라서 식품 용도로 사용되는 미생물에 대한 안전성 평가 및 허가 기준에 대한 검토가 필요하다.

우리나라 전통발효식품 미생물 연구

우리나라에는 김치, 된장, 젓갈과 같은 다양한 전통발효식품과 전통주가 있으며, 자연발효 기반으로, 지역과 가정에 따라 특징적인 제조법으로 만들어지고 있다. 가정에서 만들어 지던 전통발효식품은 1970년대에 들어 각종 산업체 증가에 따른 단체급식 물량이 발생하면서 산업화가 시작되었고, 경제성장에 따른 주거환경의 변화, 가공식품산업의 발달, 여성의 사회참여 증가 등의 사회적 변화에 의해 산업규모가 지속적으로 성장하고 있다.

전통발효식품의 상업적 생산과 관련한 문제점 해결을 위하여 1980년 이후 다양한 물리적, 화학적 처리 및 공정개발이 시도되었지만, 품질의 변화가 발생하는 경우가 많아, 종균의 사용은 가장 바람직한 해결책의 하나로 주목받고 있다. 전통발효식품 미생물 연구는 다양한 소재를 대상으로 진행되었지만, 우리 식생활과 가장 밀접한 김치와 된장에 대한 연구가 주를 이루고 있다. 2013년 10월 기준 국가과학기술정보센터(NDSL, <http://ndsl.kr>)의 데이터베이스에서 검색되는 국내에서 보고된 전통발효식품 관련 미생물 논문은 김치 209건, 된장 84건, 고추장 70건, 젓갈 51건, 청국장 45건, 막걸리 21건으로 김치에 대한 연구가 가장 많이 진행되었다. 이러한 경향은 김치의 우리 식생활과의 관련성뿐만 아니라, 상품화 및 세계화에 가장 적합한 특성 때문으로 추정된다.

Table 5. Approved probiotics in the Health Functional Food Code of Korea.

Genus	Species
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. gasseri</i> , <i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. rahmnosus</i> , <i>Lb. salivarius</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc. lactis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. animalis ssp. lactis</i>

김치의 경우, 미생물뿐만 아니라 다양한 측면에서의 품질 균일화 및 유통기간 연장을 위한 가장 많은 연구가 진행되었다. 선택배지를 이용한 배양법을 통하여 발효에 관여하는 미생물상을 분석하는 미생물 연구가 진행되다가, 2000년 이후부터는 metagenome을 분석하는 배양 비의존적 미생물 군집 분석이 본격적으로 도입되면서 발효과정 중의 미생물 천이에 대한 높은 과학수준의 지식이 확보되었다[31]. 또한 종균 개발에 대한 연구도 꾸준히 진행되고 있고[20], *Leuconostoc* 속 균주가 상품김치에 첨가되고 있다.

장류 관련 미생물 연구는 김치보다는 활발하지 않지만, 김치의 경우와 마찬가지로 배양법에 의한 미생물상 분석이 최근 들어 배양 비의존적 미생물 군집 분석으로 발전하면서 곰팡이와 *Bacillus* 속 외에도 *Enterococcus* 속, *Staphylococcus* 속, *Tetragenococcus halophilus* 등의 새로운 bacteria의 발효 관련성이 보고되고 있다[23-26]. 개량식 된장의 제조에서는 코지의 사용으로 품질 균일화가 달성되었지만, 전통식 담금에서는 미생물 천이에 대한 충분한 지견이 얻어지지 않았다. 따라서 전통식 된장의 대량생산 및 품질 표준화를 위한 지속적인 연구가 필요한 시점에 있다.

젓갈은 6개월 이상의 숙성기간이 소요되기 때문에 숙성기간 단축을 위한 숙성발효가 주된 연구 목표이다. 최근까지 숙성과정 중의 미생물상 천이 및 고염발효에 대한 정확한 지식이 확립되지 않아, 단순히 내염성 및 단백질 분해활성이 높은 균주를 선발하여 종균제로 첨가하려는 시도가 진행되었고[1, 6, 19], 20% 이상의 고염 상태에서 숙성이 진행되기 때문에 미생물에 의한 발효가 아닌 원재료에서 유래하는 효소가 숙성에 주된 역할을 한다는 견해도 있다. 최근의 배양법 및 배양 비의존적 방법을 이용한 미생물상의 분석을 통하여 미생물 군집의 천이가 밝혀지고 있고, *Staphylococcus* 속이 주발효 미생물이라는 결과들이 도출되고 있어, 향후 종균을 이용한 숙성발효의 가능성이 높아지고 있다[16, 21, 22]. 그러나 최근의 건강을 우선시하는 음식의 섭취가 증가하고, 젓갈이 비위생적으로 제조되고 있다는 소비자들의 인식이 늘어나면서 염도가 높은 젓갈의 소비가 감소하고 있다. 또한 장기간의 숙성으로 인해 자금 회수가 늦어지는 경제적 문제점을 가지고 있어 젓갈에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있지는 않다. 그러나 젓갈은 한국인의 밥상에 빈번하게 등장하는 부식 중의 하나이고, 김치의 부재료로 첨가되고 있어 향후 지속적인 종균화를 통하여 경제성을 향상시킬 필요성이 높은 전통발효식품 중의 하나이다.

전통발효식품의 산업화 관련 미생물 연구는 bacteria의 경우, 유산균과 *Bacillus*를 중심으로 진행되었고, 효모와 곰팡이에 대한 연구가 꾸준히 뒤를 따르고 있다. 2013년 10월 기준으로 국가과학기술정보센터 데이터베이스에서 종균을 키워드로 검색되는 국내 발표 논문은 총 502건이고, 유산균 중

균 128건, *Bacillus* 종균 52건, 효모 종균 50건, *Aspergillus* 종균 17건 등으로 이미 산업적 활용성 및 안전성이 알려진 미생물들을 대상으로 한 연구가 보고되었고, 그 외의 미생물의 종균화에 대한 연구는 보고된 바 없다.

제 언

우리나라에서는 김치발효와 probiotics 관련 유산균과 장류발효에 관여하는 것으로 알려진 *Bacillus* 속을 중심으로 종균 개발 연구가 진행되고 있어, 다른 미생물은 종균화 대상으로 주목 받지 못하고 있다. 그러나 metagenome 분석에 기반을 둔 미생물상 분석이 전통발효식품에 적용되면서 기존 연구에서 알려지지 않았던 다양한 미생물의 존재가 전통발효식품의 발효에 관여하는 것으로 알려지기 시작했다. 한 예로, 고염에서 숙성되는 젓갈이 coagulase-negative staphylococci (CNS)에 의한 발효에 의존한다는 보고들의 계속적 증가를 들 수 있다[16, 21, 22]. 따라서 우리 전통발효식품의 안전성을 입증하기 위하여 전통발효식품에서 검출되는 새로운 우점 미생물에 대한 안전성 평가가 필요하다. 유럽에서는 육류 및 소시지 발효에 CNS가 종균으로 사용되고 있어, 간접적으로 안전성이 확보되었다고 할 수 있다. 그러나 종균발효를 시작한 유럽에서 식품에 첨가하는 미생물의 안전성을 평가하는 QPS 시스템이 만들어져 시행되고 있다는 점을 고려하면 우리나라에서도 식품에 사용되는 미생물 안전성 평가의 필요성이 제기되어야 할 시점으로 생각한다.

한식의 세계화가 활발하게 진행되고 있는 현 시점에서 김치를 비롯한 전통발효식품의 세계화를 위한 노력이 다양한 측면에서 진행되고 있다. 전통발효식품에 대한 우수성을 알리기 위하여 건강기능성에 대한 다양한 논문들이 보고되고 있지만, 안전성과 관련한 문제들은 드물게 보고되고 있다. 안전성 문제는 자칫 잘못하면 그동안의 세계화 노력을 물거품으로 만드는 가능성을 가지고 있는 민감한 사항이다. 그러나, 전통발효식품의 산업화 및 대규모 제조의 증가에 따른 품질 균일화 및 숙성발효를 위한 종균 개발 및 종균제 첨가의 지속적 증가가 예상되고 있어, 종균의 안전성은 지속적인 전통발효식품의 발전에 필요한 전제 조건이다. 한편, 우리나라에는 발효용 종균에 대한 안전성 기준규격 없어, 안전성 평가 없이 기능성만으로 선발된 종균의 사용은 국내뿐만 아니라 세계화에 걸림돌이 될 것으로 예상된다. 국제적인 식품 거래가 활발해지면서 소비자와 수입국의 정부당국들은 안전에 대해서 더욱 민감하게 반응하고 있다. 전통발효식품의 세계화를 위해서는 향후 적용될 종균에 대한 기능적 측면뿐만 아니라 안전성의 확보가 필요하고, 안전성 평가 기준의 마련이 필요한 시점에 도달해 있다.

요약

식품발효용으로 사용하는 미생물은 오랜 기간의 사용이력에 근거하여 안전성에 대한 의문이 제기되지 않고 사용되어 왔다. 한편, 가공식품산업의 발달로 국제적인 식품 거래가 활발해지면서 수입국의 소비자와 정부당국은 식품에 첨가하는 미생물의 안전에 대해서 더욱 민감하게 반응하고 있다. 현재, 식품에 첨가하는 미생물에 대한 안전성 평가기준은 미국 Food and Drug Administration (FDA)가 사용하고 있는 Generally Recognized as Safe (GRAS)와 유럽연합 European Food Safety Agency (EFSA)의 Qualified Presumption of Safety (QPS)가 대표적으로 적용되고 있다. GRAS는 식품에 첨가하는 미생물 자체에 대한 안전성이 아닌 특정용도에서의 첨가에 따른 안전성을 의미하고, QPS는 식품에 첨가 가능한 미생물 단위(분류학적 단위, taxonomic unit)에 대한 안전성 평가이다. 우리나라에서는 전통발효식품의 상업적 생산이 증가하면서 종균 적용이 추진되고 있지만, 식품발효용 종균에 대한 안전성 기준규격 없어 안전성 평가 없이 기능성만으로 종균 개발이 진행되고 있다. 전통발효식품의 세계화를 위해서는 향후 적용될 종균에 대한 기능적 측면뿐만 아니라 안전성의 확보가 필요하고, 식품용 미생물에 대한 안전성 평가 기준의 마련이 필요한 시점에 도달해 있다.

Acknowledgements

This project was conducted by the generous financial support of the Youlchon Foundation (Nongshim Corporation and its affiliated companies) in Korea.

References

- Ahn Y-S, Kim C-J, Choi S-H. 1990. Production of protease by the extreme halophile, *Halobacterium* sp. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **33**: 247-251.
- Bourdichon F, Casaregola S, Farrokh C, Frisvad JC, Gerds ML, Hammes WP, et al. 2012. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *Int. J. Food Microbiol.* **154**: 87-97.
- Buckenhuskes HJ. 1993. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol. Rev.* **12**: 253-272.
- Caplice E, Fitzgerald GF. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* **50**: 131-149.
- Carr FJ, Chill D, Maida N. 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Crit. Rev. Microbiol.* **28**: 281-370.
- Cha Y-J, Lee K-H, Lee E-H, Kim J-S, Joo D-S. 1990. Studies on the processing of rapid fermented anchovy prepared with low salt contents by adapted microorganism (Processing of low salt fermented anchovy with proteolytic bacteria and quality stability during storage). *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **33**: 330-336.
- Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J. Food Prot.* **61**: 1636-1643.
- EFSA. 2004. Scientific colloquium summary report: Qualified Presumption of Safety of microorganisms in food and feed. <http://www.efsa.europa.eu/>.
- EFSA. 2005. Opinion of the scientific committee on a request from EFSA related to a generic approach to the safety assessment by EFSA of microorganisms used in food/feed and the production of food/feed additives. *EFSA J.* **226**: 1-12.
- EFSA. 2007. Opinion of the scientific committee on introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. *EFSA J.* **587**: 1-16.
- EFSA. 2008. Scientific opinion of the panel on biological hazards on the maintenance of the list of QPS microorganisms intentionally added to food or feed. *EFSA J.* **923**: 1-48.
- EFSA. 2009. Scientific opinion of the panel on biological hazards on the maintenance of the list of QPS microorganisms intentionally added to food or feed. *EFSA J.* **7**: 1-93.
- Franz CMAP, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH. 2003. Enterococci in foods—a conundrum for food safety. *Int. J. Food Microbiol.* **88**: 105-122.
- Franz CMAP, Huch M, Abriouel H, Holzapfel W, Galvez A. 2011. Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *Int. J. Food Microbiol.* **151**: 125-140.
- Giraffa G, Chanishvili N, Widyastuti Y. 2010. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Res. Microbiol.* **161**: 480-487.
- Guan L, Cho KH, Lee JH. 2011. Analysis of the cultivable bacterial community in *jeotgal*, a Korean salted and fermented seafood, and identification of its dominant bacteria. *Food Microbiol.* **28**: 101-113.
- Holzapfel W. 1997. Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control* **8**: 241-258.
- Holzapfel WH. 2002. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *Int. J. Food Microbiol.* **75**: 197-212.
- Jung YJ, Park DH. 2004. Physiology and growth properties of halophilic bacteria isolated from *jeotgal* (salted seafood). *Korean J. Microbiol.* **40**: 263-268.
- Jung JY, Lee SH, Lee HJ, Seo HY, Park WS, Jeon CO. 2012. Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **153**: 378-387.
- Jung J, Choi S, Jeon CO, Park W. 2013. Pyrosequencing-based analysis of the bacterial community in Korean traditional seafood, *ojingeo jeotgal*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 1428-1433.

22. Jung JY, Lee SH, Lee HJ, Jeon CO. 2013. Microbial succession and metabolite changes during fermentation of saeu-jeot: traditional Korean salted seafood. *Food Microbiol.* **34**: 360-368.
23. Kim TW, Lee JH, Kim SE, Park MH, Chang HC, Kim HY. 2009. Analysis of microbial communities in *doenjang*, a Korean fermented soybean paste, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* **131**: 265-271.
24. Kim YS, Kim MC, Kwon SW, Kim SJ, Park IC, Ka JO, *et al.* 2011. Analysis of bacterial communities in meju, a Korean traditional fermented soybean bricks, by cultivation-based and pyrosequencing methods. *J. Microbiol.* **49**: 340-348.
25. Kim YS, Jeong DY, Hwang YT, Uhm TB. 2011. Bacterial community profiling during the manufacturing process of traditional soybean paste by pyrosequencing method. *Korean J. Microbiol.* **47**: 275-280.
26. Lee JH, Kim TW, Lee H, Chang HC, Kim HY. 2010. Determination of microbial diversity in *meju*, fermented, cooked soya beans, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Lett. Appl. Microbiol.* **51**: 388-394.
27. Leroy F, De Vuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* **15**: 67-78.
28. Leuschner RGK, Robinson TP, Hugas M, Cocconcelli PS, Richard-Forget F, Klein G, *et al.* 2010. Qualified presumption of safety (QPS): a generic risk assessment approach for biological agents notified to the European Food Safety Authority (EFSA). *Trends Food Sci. Technol.* **21**: 425-435.
29. Mathur S, Singh R. 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria: a review. *Int. J. Food Microbiol.* **105**: 281-295.
30. Ogier JC, Serror P. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: the *Enterococcus* genus. *Int. J. Food Microbiol.* **126**: 291-301.
31. Park EJ, Chun J, Cha CJ, Park WS, Jeon CO, Bae JW. 2012. Bacterial community analysis during fermentation of ten representative kinds of kimchi with barcoded pyrosequencing. *Food Microbiol.* **30**: 197-204.
32. Talon R, Leroy S. 2011. Diversity and safety hazards of bacteria involved in meat fermentations. *Meat Sci.* **89**: 303-309.
33. Temmerman R, Pot B, Huys G, Swings J. 2002. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.* **81**: 1-10.
34. Teuber M, Meile L, Schwarz F. 1999. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. *Antonie Van Leeuwenhoek* **76**: 115-137.