

Review

## 막걸리 유래 미생물의 활용을 위한 연구 동향

이영석<sup>†</sup>, 설정만<sup>†</sup>, 정덕열, 김수린\*  
경북대학교 식품공학부

Received: May 17, 2016 / Revised: July 15, 2016 / Accepted: July 20, 2016

### Application of Functional Microbial Strains Isolated from Traditional Rice Wine in Korea

Youngsuk Lee<sup>†</sup>, Jeongman Seol<sup>†</sup>, Deokyeol Jeong, and Soo Rin Kim\*

School of Food Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea

Korea has a long history of brewing traditional rice wine using a authentic starter culture called nuruk, which contains natural microbial flora. Because rice wine is consumed fresh without filtration, its viable cells contribute to the biological activities of the wine. In numerous studies, microbial strains isolated from rice wine have been screened for their functionalities, which were mainly probiotic properties and antimicrobial activities. Indeed, some lactic acid bacteria (LAB) were confirmed to have strong probiotic activities as well as other health-promoting effects. Moreover, some of the isolated probiotic strains produced functional compounds, such as exopolysaccharides and  $\gamma$ -aminobutyric acid. For antimicrobial activities, some LAB and yeast strains were identified to produce bacteriocins and killer toxins, respectively, with significantly broad spectrum of antimicrobial activity. These functional strains originating from traditional rice wine and their metabolites can be used directly for the production of value-added food products.

**Keywords:** Killer yeast, makgeolli, natural antimicrobial agents, probiotics, takju

## 서론

막걸리(또는 탁주)는 청주 및 소주와 함께 우리나라의 대표적인 전통주이면서, 현재 우리나라에서 가장 대중적으로 소비되는 주류 중 하나이다. 막걸리의 제조 방법은 익힌 찹쌀, 멥쌀, 보리, 밀가루에 물과 누룩을 섞어 배양하는 것으로, 배양 과정 중에 당화와 발효가 동시에 진행되며, 발효가 완료되면 여과 시키지 않고 제품화 된다는 것이 특징이다[27]. 누룩은 당화효소를 분비하는 곰팡이와 에탄올 발효를 담당하는 효모 및 향미에 기여하는 다양한 균류가 혼합된 일종의 발효제(starter culture)이다[31, 55]. 개량형이 아닌 전통 방식으로 제조된 누룩의 경우, 누룩의 종류에 따라 곰팡이,

효모 등의 미생물의 종류가 매우 다양하고, 그 비율이 다르다. 그 이유는 누룩이 자연에서 유래한 미생물로 만들어질 뿐 아니라 지역에 따라 누룩의 원료로 밀, 보리, 호밀, 귀리 등 다양한 재료를 사용하기 때문이다[17, 46, 55]. 위와 같은 이유로 전통누룩을 사용한 막걸리에는 수없이 많은 다양한 조합과 조성의 우리나라 토착 미생물들이 함유되어 있다. 현재까지 많은 연구를 통해서 누룩 및 막걸리 유래의 미생물들이 분리동정되어 왔고, 정 등[7]은 18속 97종의 곰팡이와, 15속 47종의 효모, 6속 19종의 세균을 보고한 바 있다. 이러한 토착 미생물들을 보존 및 활용하는데 관심이 높아지면서, 막걸리 유래의 미생물 및 미생물들이 생산하는 대사산물들이 가지는 다양한 생리활성 및 기능성이 새롭게 주목 받고 있다.

본 총설은 막걸리 유래의 기능성 미생물에 관한 지금까지의 연구 결과를 크게 프로바이오틱스 활성과 항균 활성으로 나누어 정리하였다. 이를 바탕으로 막걸리 유래 기능성 미생물들의 산업적인 활용 방안과 향후 연구 및 개발 방향에 대해 고찰해 보고자 한다.

### \*Corresponding author

Tel: +82-53-950-7769, Fax: +82-53-950-7762

E-mail: soorinkim@knu.ac.kr

<sup>†</sup>These authors contributed equally to this work.

© 2016, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

## 본 론

### 막걸리 유래 프로바이오틱스의 연구 개발 동향

막걸리에는 다양한 종류의 효모 및 세균들이 존재하는데, 기능성 측면에서 가장 많은 관심을 많이 받고 있는 미생물은 바로 유산균이다[30]. 일반적으로 시중에 유통되는 막걸리에는 약  $10^8$  CFU/ml 이상의 유산균이 함유되어 있다[20]. 실제로 20종의 막걸리로부터 유산균을 분리동정해서 비교한 결과, 공통적으로 *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L.*

*paracasei* 등을 주요 우점종으로 가지고 있었다[14]. 이러한 막걸리 유산균은 막걸리 자체의 영양학적인 측면에 기여할 뿐만 아니라[34], 신규 프로바이오틱스 균주의 발굴을 위한 주요한 매체가 될 수 있다[14, 37, 49, 50]. 그러나 아직까지는 대부분의 연구가 막걸리 유산균의 분포와 종류에 초점이 맞춰져 있고[8, 9, 15, 28, 35, 43, 45, 49], 분리된 미생물의 기능성 관련 연구는 아직 미흡한 실정이다. Table 1에 요약된 것처럼, 지금까지 수행된 막걸리 유산균의 기능성 관련 연구를 프로바이오틱스 효과, EPS (exopolysaccharide) 생산

**Table 1. Functional microbial strains isolated from traditional rice wine in Korea.**

Strains	Isolates	Tested functions	Antimicrobi-al activity	Ref.
<i>Lactobacillus brevis</i>	JBE 30	Acid tolerance	Organic acid	[6]
	BSM-3	Acid tolerance, Bile tolerance Antioxidant, Cholesterol-lowering effects	Organic acid	[12]
<i>Lactobacillus plantarum</i>	BSM-2	Acid tolerance, Bile tolerance Antioxidant, Cholesterol-lowering effects	Organic acid	[12]
	EHJ-1	Acid tolerance, Bile tolerance, Antioxidant, Cholesterol-lowering effects	Organic acid	[12]
	JS1	Acid tolerance, Bile tolerance	N.D. <sup>a</sup>	[22]
<i>Lactobacillus casei</i>	GSM-3	Acid tolerance, Bile tolerance Antioxidant, Cholesterol-lowering effects	Organic acid	[12]
	EHJ-2	Acid tolerance, Bile tolerance Antioxidant, Cholesterol-lowering effects	Organic acid	[12]
	HK-9	N.D.	Organic acid	[2]
	JS13	Acid tolerance, Bile tolerance	N.D.	[22]
<i>Lactobacillus fermentum</i>	R-12.1	Antihypertensive activity	N.D.	[33]
<i>Lactobacillus harbinensis</i>	R-12.2	Antihypertensive activity	N.D.	[33]
<i>Lactobacillus ingluviei</i>	R-14.1	Antihypertensive activity	N.D.	[33]
<i>Lactobacillus curvatus</i>	LCU1	Acid tolerance, Bile tolerance, Cell adhesion	N.D.	[37]
<i>Lactobacillus curstorum</i>	LCR1	Acid tolerance, Bile tolerance, Cell adhesion	N.D.	[37]
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	FG6	Functional EPS <sup>b</sup> production	N.D.	[30]
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	FG1	Functional EPS production	N.D.	[30]
	MB1283	N.D.	Unknown mechanism	[48]
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	TJH-1	Acid tolerance, Bile tolerance Antioxidant, Cholesterol-lowering effects	Organic acid	[12]
	TNO-4	Acid tolerance, Bile tolerance Immunomodulatory effect Reduced lipid accumulation (in vitro)	N.D.	[54]
	PP5	Acid tolerance, Bile tolerance, Cell adhesion	N.D.	[37]
<i>Pediococcus acidilactici</i>	M76	Reduced body weight in obese mice Functional EPS production	N.D.	[34, 50]
	PA5	Acid tolerance, Bile tolerance, Cell adhesion	N.D.	[37]
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	ST-1	N.D.	Bacteriocin-like substance	[25]
<i>Pichia anomala</i>	K15	N.D.	Killer toxin	[11]

<sup>a</sup>N.D.: not determined.

<sup>b</sup>EPS: exopolysaccharides.

능력, GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) 생산 능력으로 나누어 살펴보고 앞으로의 연구 방향에 대해 검토해 보도록 하겠다.

**막걸리 유래 미생물의 프로바이오틱스 효과 탐색.** 막걸리 유산균이 프로바이오틱스로 기능을 하기 위해서는 가장 먼저 위산과 담즙으로부터 살아남아 장에서 머물러야 한다. 따라서 프로바이오틱스 효과를 검증하기 위해 가장 우선적으로 평가되는 항목이 내산성, 내담즙성 및 장 부착능이다[22]. 최근 한 연구에서는 막걸리로부터 분리한 *L. plantarum* JS1와 *L. casei* JS13 두 종의 유산균과 이와 동일한 종의 표준균주들을 대상으로 내산성과 내담즙성을 확인하는 실험을 수행하였다[22]. 그 결과, *L. plantarum* JS1 균주가 다른 균주들에 비해 매우 강력한 내산성을 가지고 있다는 것을 확인하였다[22].

다른 연구에서는 막걸리에서 분리한 17종의 유산균에 대해 내산성, 내담즙성 및 장 부착능을 평가함과 동시에 in vitro 수준에서 면역활성을 측정하였다[37]. 면역활성은 세포에 처리했을 때 nitric oxide (NO)의 생성량을 통해 확인했는데, 종합적인 평가를 통해 프로바이오틱스 활성이 높은 4종의 유산균(*L. curvatus*, *L. curvatorum*, *Pediococcus pentosaceus*)을 선별하였다[37].

또 다른 연구에서는 막걸리로부터 *L. plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*, *P. pentosaceus* 등 6종의 유산균을 분리동정하여 내산성, 내담즙성, 장 부착능을 측정하였다[12]. 그 결과, *L. plantarum* BSM-2의 경우 가장 높은 내산성을 보였고, *L. brevis* BSM-3는 가장 높은 내담즙성을 보였다[12]. 특히 *L. plantarum* BSM-2의 경우 DPPH 라디칼 소거능을 통한 항산화 효과와 콜레스테롤 함유 배지에서의 콜레스테롤 흡착 효과가 모두 높게 측정되어, 종합적으로 프로바이오틱스 활성이 가장 높은 균주로 선별되었다[12]. 하지만 위에서 열거한 세 연구로부터 발굴된 막걸리 유래 높은 기능성의 프로바이오틱스 균주들에 대한 in vivo 수준의 추가 효능평가는 아직 보고되지 않고 있다.

한편, 최근에 발표된 한 논문에서 막걸리로부터 분리한 *P. pentosaceus* TNO-4 유산균의 지방세포 분화 억제능을 in vitro 수준에서 확인한 결과는 주목할 만 하다[54]. 특히 해당 논문에서는 17종의 막걸리 유래 유산균을 대상으로 ariginine으로부터 ornithine을 생산하는 능력이 우수한 유산균을 스크리닝 함으로써 TNO-4 균주를 선별하였다[54]. 이외에도 막걸리에서 분리한 *P. acidilactici* M76 균주의 기능성을 in vivo 수준에서 확인하였는데, 고지방 식이로 유도된 비만 쥐에 12주간 생균을 경구 투여한 결과, 대조군에 비해 유의적인 체지방 감소 효과를 확인하였다[34]. 이러한 최근 연구 결과들은 막걸리 유래 유산균들에는 일반적인 장 기능 개선 효과 이상의 다양한 기능성이 잠재되었을 가능성을 보여준다.

**막걸리 유래 미생물의 EPS 생산 능력.** 일부 유산균을 비롯한 프로바이오틱스 미생물들은 긴 사슬형태의 다당체 구조인 exopolysaccharide (EPS)를 합성할 수 있다[42, 50]. EPS는 일반적으로 미생물 세포 표면에 고정되어 있는 capsular polysaccharide와는 달리 세포의 성장 동안에 세포 주변으로 분비되어 미끌미끌한 점액물질을 형성하는 원인이 된다[21]. 유산균 외의 다른 세균과 미세조류가 분비하는 다당체도 이러한 EPS로 분류된다[21]. 프로바이오틱스 미생물에 의해 생성되는 EPS에 더욱 관심을 갖는 이유는, 위에서 서술한 프로바이오틱스의 다양한 기능성들이 EPS와 직간접적으로 관련되어 있기 때문이다[51]. 특히 EPS의 일차적인 기능은 프로바이오틱스를 외부 환경으로부터 보호하고, 유산균 관련 발효식품의 물성을 형성하는 것이다[21]. 최근에는 프로바이오틱스 미생물이 생산한 EPS 자체의 다양한 생리활성에 대한 관심이 증가되고 있으며[18, 52], 따라서 이러한 EPS를 기능성 식품소재로 대량생산하기에 적합한 균주의 탐색 및 발효 기술과 관련한 연구가 수행되고 있다[38].

최근에 발표된 두 개의 독립적인 연구결과는 전통주 유래의 미생물들이 기능성 EPS 생산에 적합하다는 것을 보여준다[30, 50]. 한 연구에서는, 막걸리 유산균 54종에 대해 콜로니의 morphology와 상등액의 생리활성을 스크리닝했고, 그 결과 기능성 EPS를 분비하는 *P. acidilactici* M76를 선별하였다[50]. 구체적으로는, *P. acidilactici* M76 배양액으로부터 분리한 EPS가 높은 항산화효과 및 항당뇨효과(in vitro)를 보였으며, 앞에서 언급한 것처럼 *P. acidilactici* M76 생균 또한 항비만효과(in vivo)가 있는 것으로 확인되었다[34]. 다른 연구에서는, 막걸리에서 유래한 *Bacillus amyloliquefaciens* FG1과 *L. rhamnosus* FG6가 분비한 각각의 EPS의 농도를 점차 증가시키며 처리함에 따라 NO 생성 억제효과 역시 증가함을 확인함으로써 강력한 항염증효과(in vitro)를 나타낸다는 것을 확인하였다[30].

**막걸리 유래 미생물의 GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) 생산 능력.** GABA는 GAD (glutamate decarboxylase)에 의해 L-glutamate가 탈탄산반응으로 생성되는 비단백질 구성 아미노산의 일종이다[47]. 체내에서는 신경전달물질로 작용하여 혈압개선 및 긴장완화 등에 효과가 있는 것으로 알려져, 기능성 식품 원료로 활용하려는 연구가 계속되고 있다[1, 10, 23, 29, 47]. 특히 김치 및 장류 등의 전통 발효식품에서 GABA의 함량이 높게 검출되었고, 이러한 발효식품에서 분리한 효모 및 유산균 등이 GABA 생성의 원인으로 밝혀졌다[4, 13, 19, 36, 53].

최근 한 연구에서는 시중에 유통되고 있는 18종의 막걸리로부터 1000여종의 유산균을 분리하여 GABA 생산능력에 대한 스크리닝을 수행하였다[24]. 그 결과 130개의 유산균에

서 GABA가 생산됨을 확인하였고, 그 중 90개 균주가 *L. plantarum*, 29개 균주가 *L. casei*, 11개 균주가 *L. brevis*로 확인되었다[24]. 특히 고 GABA 생산 균주로부터 발굴한 GAD 효소를 성공적으로 대장균에 발현시킨 사례도 보고되었다[36]. 이처럼 막걸리 유래의 미생물을 직접 활용하거나 [23], 그 유전정보를 이용한 재조합 미생물을 제작함으로써 산업적인 GABA 생산공정을 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

**막걸리 유래 미생물의 항균활성 연구 동향**

막걸리는 일차적으로 효모에 의해 생성된 높은 농도의 에탄올과 유산균들에 의해 생성된 여러 종류의 유기산들의 복합적인 효과로 인해 높은 항균활성을 가지고 있다[2, 6, 37].

이와는 별개로, 항균활성을 가지는 단일 미생물을 전통주로부터 분리 동정하고, 그 항균 기작을 밝히는 연구가 꾸준히 진행되어 왔다(Table 2). 항균활성을 가지는 전통주 유래의 미생물 또는 미생물의 대사물질은 식품 및 사료에 첨가할 수 있는 안전한 항균제로 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 신규 항생제로서 의학적인 활용가치가 높다고 할 수 있다.

**막걸리 유산균의 항균활성과 프로바이오틱스.** 유산균은 다양한 종류의 유기산을 생성해 주위 pH를 낮추고 세포독성을 일으킴으로써 다른 미생물의 생육을 억제한다. 프로바이오틱스로서의 유산균은 이러한 항균활성을 이용해 장내에서 유해균의 생육을 억제하여 장건강에 도움을 준다[41]. 단, 유

**Table 2. Antimicrobial activities<sup>a</sup> of strains isolated from traditional rice wine in Korea.**

Target strains	Strains isolated from Makgeolli										
	<i>Lb</i>		<i>Lp</i>		<i>Lc</i>			<i>Ba</i>	<i>Ppe</i>	<i>Ppo</i>	<i>Pa</i>
	JBE 30	BSM-3	BSM-2	EHJ-1	GSM-3	EHJ-2	HK-9	MB1283	TJH-1	ST-1	K15
<b>Gram positive</b>											
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+	-	+	+	-	.	.	-	.	.
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	+	.	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	.	.	.	.	.	+	+	.	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-	+	+	-	+	+	+	+	.	-
<i>Micrococcus luteus</i>	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<b>Gram negative</b>											
<i>Salmonella enterica</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.
<i>Salmonella</i> Typhimurium	.	+	+	+	+	-	.	+	-	.	+
<i>Salmonella</i> Enteritidis	.	+	+	+	+	+	+	.	+	.	.
<i>Yersinia enterocolitica</i>	.	+	-	+	+	+	.	.	+	.	.
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.
<i>Shigella flexneri</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.
<b>Yeast</b>											
<i>Candida albicans</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+
<i>Cryptococcus neoformans</i>	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.
<b>Mold</b>											
<i>Aspergillus terreus</i>	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.
<i>Aspergillus flavus</i>	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.
References	[6]	[12]	[12]	[12]	[12]	[12]	[2]	[48]	[12]	[25]	[11]

<sup>a</sup>+: inhibitory activity, -: no activity, .: not determined.

*Lb*, *Lactobacillus brevis*; *Lp*, *Lactobacillus plantarum*; *Lc*, *Lactobacillus casei*; *Ba*, *Bacillus amyloliquefaciens*; *Ppe*, *Pediococcus pentosaceus*; *Ppo*, *Paenibacillus polymyxa*; *Pa*, *Pichia anomala*.



기산으로 인한 항균활성은 pH가 중성일 경우는 나타나지 않으며, 이러한 원리를 활용해 유산균의 항균활성 메커니즘을 검증할 수 있다[12]. 예를들면, 막걸리에서 분리한 *L. casei* HK-9 균주의 경우 배양 과정에서 lactic acid와 acetic acid 등의 유기산이 생성되었으며, 72시간 배양 후의 pH가 7.0에서 3.74로 낮아졌다[2]. 이때, 발효 상등액은 *Staphylococcus aureus*와 *Bacillus cereus*에 대한 강력한 항균효과(clear zone)를 보였으나, pH를 중성으로 조절한 경우에는 항균 효과가 발견되지 않았다. 그러나 유기산 효과로 추정되는 항균 활성 또한 유산균의 종류에 따라 활성의 강도 및 작용 미생물의 범위가 다르게 나타났다[12]. 게다가 생균액과 세포 파쇄액 간의 항균효과 차이가 유산균의 종류에 따라 다른 것으로 볼 때[12], 유기산과 다른 메커니즘의 항균효과가 복합적으로 작용하는 것으로 추정된다.

**막걸리 미생물의 박테리옌 생산 능력.** 일부 유산균들은 bacteriocin이라고 불리는 항균성 단백질을 생성해서 자신을 제외한 다른 미생물의 성장을 억제한다[32]. Bacteriocin은 세포막 및 DNA에 손상을 일으켜 항균효과를 내는데, 단백질분해효소에 의해 분해될 수 있기 때문에 인체에 독성이 거의 없으며 잔류의 위험 또한 없다[32]. 최근 막걸리에서 분리된 *Paenibacillus polymyxa* ST-1 균주에서 *Escherichia coli* 및 *Salmonella enterica*에 대해 항균효과가 확인되었다[25]. 같은 종의 *P. polymyxa* 균주가 bacteriocin을 생성한다는 결과[39]를 바탕으로 막걸리 유래의 ST-1 균주 또한 bacteriocin을 생성할 것으로 추정되고 있다. 그러나 아직 막걸리 유래 유산균이 생산하는 bacteriocin과 같은 항균물질에 관한 연구는 초기단계이다.

**막걸리 미생물의 Killer toxin 생산 능력.** 특정 바이러스에 감염된 효모 종들은 다른 효모나 곰팡이의 생육을 억제할 수 있는 독성 단백질인 killer toxin을 분비하는데, 이러한 효모 종들을 killer yeast라고 한다[44]. 지금까지 발견된 killer yeast는 대부분 *Saccharomyces cerevisiae*에 속하지만, *Kluyveromyces* spp. 및 *Pichia* spp. 등의 non-conventional yeast 종에서도 발견된 사례가 있다[44]. 우리나라에서는 다양한 야생 자원으로부터 성공적으로 killer yeast를 분리한 사례들이 보고되고 있고[5, 26], 전통 발효식품 유래의 killer yeast는 재래식 메주로 부터 분리된 *Hansenula capsulata* S-13의 예가 있다[16]. 특히 killer yeast *H. capsulata* S-13의 경우, random mutagenesis를 통해 killer toxin의 활성을 2배 이상 증가시킬 수 있었다[16].

전통주 관련 killer yeast에 관한 지금까지의 연구결과는 누룩에서 분리된 *Pichia anomala* K15가 유일하다[11]. 해당 연구에서는 누룩 유래의 효모종들을 대상으로 non-killer

yeast *S. cerevisiae*에 대한 clear zone 생성 여부 및 그 크기를 스크리닝 함으로써, 가장 높은 항진균 효과를 가지는 *P. anomala* K15를 분리 및 동정할 수 있었다[11]. *P. anomala* K15는 효모 뿐만 아니라 *Vibrio parahaemolyticus*와 *S. Typhimurium* 등의 병원성 세균에 대해서도 항균효과가 있는 것이 확인되었다[11]. *P. anomala* K15 배양액의 상등액을 protease 처리했을 때 그 항균효과가 불활성화 되는 것을 통해, 단백질 유래의 killer toxin이 항균효과의 주요 메커니즘이라는 것을 확인하였다[11].

이처럼 전통주 유래의 killer yeast는 식품에 즉각 활용 가능한 안전한 항균소재가 될 수 있다. 한 예로 발효식품의 부패 및 저장기간의 향상을 위해 이러한 killer yeast들이 활용될 수 있으며, 전통주 발효 과정에서도 killer toxin에 감수성을 가진 오염 요인들의 제거가 가능[3]하기 때문에, 이를 활용한 전통주 발효 균주를 분리동정하여 에탄올 발효의 특성도 연구되고 있다[40]. 뿐만 아니라, killer toxin이 소화효소에 의해 쉽게 분해될 수 있는 단백질 소재라는 측면에서, 인체 독성이 없는 항균소재로 다양한 분야에서 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 결론 및 전망

막걸리 유래의 미생물을 기능성 소재로 활용하기 위해 지금까지 수행된 연구는 주로 미생물의 프로바이오틱스 활성과 항균활성의 스크리닝에 초점이 맞춰져 있었다. 그러나 앞으로는 프로바이오틱스 활성을 가진 균주들에 대해서 추가 효능 평가 및 안전성 검증을 수행함으로써 균주의 상용화 방향으로 연구가 진행되어야 할 것이다. 또한 신규 항균소재의 발굴을 위해서, 유기산 효과를 배제한 항균 활성 균주의 high throughput 스크리닝과 항균 메커니즘에 관한 심도있는 연구가 필요하다. 덧붙여 다양한 유용미생물들의 유전자원 확보 및 유전체 분석은 고기능성 유전자의 발굴 및 산업적 활용을 위해 필수적인 기초자료를 제공해 줄 수 있을 것이다.

막걸리는 한국인과 오랜 시간 함께 해 온 발효식품으로 다양한 토착 효모와 유산균의 보고이다. 이러한 막걸리로부터 발굴한 기능성 미생물은 기존에 많이 이용되고 있는 수입 종균보다 한국인의 체질에 잘 맞는, 보다 높은 효율의 프로바이오틱스 효과를 기대할 수 있을 것이며, 또한 발굴한 기능성 미생물이 가지는 항균효과는 식품산업을 포함한 다양한 분야에서 천연 항균제로 사용될 수 있을 것이다. 더 나아가 막걸리 뿐만 아니라 전통 발효식품인 김치, 된장 등 다양한 발효식품에서도 기능성 미생물을 발굴하여 보다 기능성이 강화되고 품질이 뛰어난 고부가가치 발효식품을 개발하는데 활용될 수 있을 것이다. 궁극적으로는 이러한 토착 미생물의 활용을 통해 수입 종균에 대한 의존도를 낮추고 우리나라 식

품산업의 세계 경쟁력을 향상시킬 수 있는 계기가 되기를 기대해 본다.

## 요약

우리나라는 예전부터 전통적인 방법으로 누룩을 제조하고, 이를 발효제로 막걸리를 만들어 왔다. 막걸리는 여과 또는 살균 과정없이 다양한 미생물을 살아 있는 상태로 섭취하기 때문에 영양학적으로나 기능적인 측면에서 가치가 높다. 최근 많은 연구에서 막걸리로부터 미생물을 분리동정하고 다양한 기능성에 대해 스크리닝한 결과, 높은 프로바이오틱스 활성과 다양한 스펙트럼의 항균활성을 가진 균주들이 선별되었다. 특히 일부 유산균들은 GABA와 EPS 등의 기능성 물질을 생성하기도 했다. 또한, 일부 유산균과 효모의 경우 각각 bacteriocin 및 killer toxin을 통해 항균활성을 나타내는 것으로 여겨진다. 이러한 막걸리 유래 기능성 미생물과 그 대사산물은 기능성 식품 소재나 안전한 식품첨가물 및 다양한 산업분야에서 활용될 수 있을 것이다.

## Acknowledgments

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (2015R1D1A1A01057217).

## References

- Aoki H, Furuya Y, Endo Y, Fujimoto K. 2003. Effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid-enriched tempeh-like fermented soybean (GABA-tempeh) on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**: 1806-1808.
- Baek H, Choi M-S, Oh K-H. 2012. Characterization and antibacterial activity of *Lactobacillus casei* HK-9 isolated from Korean rice wine, makgeolli. *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* **27**: 161-166.
- Bositan KA, Hopper JE, Rogers DT, Tipper DJ. 1980. Translational analysis of the killer-associated virus-like particle dsRNA genome of *S. cerevisiae*: M dsRNA encodes toxin. *Cell* **19**: 403-414.
- Cao J, Barbosa JM, Singh NK, Locy RD. 2013. GABA shunt mediates thermotolerance in *Saccharomyces cerevisiae* by reducing reactive oxygen production. *Yeast* **30**: 129-144.
- Eon-Ho C, Chang H-C, Chung E-Y, Chung W-C. 1990. Isolation and identification of wild killer yeasts *Candida dattila*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 1-5.
- Heo J, Ryu M, Jeon S, Oh H, Kim YS, Jeong D, Uhm T-B. 2014. Characterization of *Lactobacillus brevis* JBE 30 as a starter for the brewing of traditional liquor. *Korean J. Microbiol.* **50**: 233-238.
- Jeong S-T, Kwak H-J, Kim S-M. 2013. Quality characteristics and biogenic amine production of *Makgeolli* brewed with commercial nuruks. *Korean J. Food Sci. Technol.* **45**: 727-734.
- Jin J, Kim S-Y, Jin Q, Eom H-J, Han NS. 2008. Diversity analysis of lactic acid bacteria in *Takju*, Korean rice wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 1678-1682.
- Jo KY, Ha DM. 1995. Isolation and identification of the lactic acid bacteria from Nuruk. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **38**: 95-99.
- Jow F, Chiu D, Lim H-K, Novak T, Lin S. 2004. Production of GABA by cultured hippocampal glial cells. *Neurochem. Int.* **45**: 273-283.
- Jung H-K, Park C-D, Lee G-D, Park S-C, Park H-H, Hong J-H. 2007. Characteristics of *Pichia anomala* K15 producing killer toxin isolated from traditional nuruk. *Korean J. Food Nutr.* **36**: 1077-1082.
- Jung S-E, Kim S-H. 2015. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from commercial raw Makgeolli. *Korean J. Food Sci. Technol.* **47**: 44-50.
- Kamei Y, Tamura T, Yoshida R, Ohta S, Fukusaki E, Mukai Y. 2011. GABA metabolism pathway genes, *UGA1* and *GAD1*, regulate replicative lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **407**: 185-190.
- Kang KH. 2013. Health benefits of lactic acid bacteria. *Curr. Top. LAB Probiotics.* **1**: 1-8.
- Kim HR, Kim J-H, Bae D-H, Ahn B-H. 2010. Characterization of Yakju brewed from glutinous rice and wild-type yeast strains isolated from Nuruks. *J. Microbiol. Biotechnol.* **20**: 1702-1710.
- Kim J-H, Kim N-M, Lee J-S. 2000. Production of killer toxin from a mutant of *Hansenula capsulata* S-13. *Korean J. Food Nutr.* **13**: 158-163.
- Kim MS, Kim S, Ha B-S, Park H-Y, Baek S-Y, Yeo S-H, et al. 2014. Diversity, Saccharification capacity, and toxigenicity analyses of fungal isolates in Nuruk. *Korean J. Mycol.* **42**: 191-200.
- Kim Y, Oh S, Yun HS, Kim SH. 2010. Cell-bound exopolysaccharide from probiotic bacteria induces autophagic cell death of tumour cells. *Lett. Appl. Microbiol.* **51**: 123-130.
- Komatsuzaki N, Shima J, Kawamoto S, Momose H, Kimura T. 2005. Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus paracasei* isolated from traditional fermented foods. *Food Microbiol.* **22**: 497-504.
- Kwon Y-H, Lee A-R, Kim J-H, Kim H-R, Ahn B-H. 2012. Changes of physicochemical properties and microbial during storage of commercial makgeolli. *Korean J. Mycol.* **40**: 210-214.
- Laws A, Gu Y, Marshall V. 2001. Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnol. Adv.* **19**: 597-625.
- Lee AR, Kim HR, Kim J-H, Ahn B-H, Lee J-E. 2014. Isolation of lactic acid bacteria and its application for synbiotics makgeolli fermentation. *Curr. Top. LAB Probiotics.* **2**: 27-33.
- Lee E-J, Lee S-P. 2015. Optimization of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) production using immobilized *Lactobacillus plantarum* K154 in submerged culture of *Ceriporia lacerata*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **47**: 438-445.

24. Lee H-L, Kang K-W, Seo D-H, Jung J-H, Jung D-H, Kim G-W, et al. 2015. Diversity of lactic acid bacteria (LAB) in *makgeolli* and their production of  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Korean J. Food Sci. Technol.* **47**: 204-210.
25. Lee J-K, Jo H-J, Yoon J-A, Chung K-H, Song BC, Kim KI, et al. 2014. Isolation and identification of microorganisms with antimicrobial activity in Makgeolli of different kinds Koji and Nuruk. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **43**: 577-583.
26. Lee J-S, Kim H-K, Lee HB, Mun HY, Hyun SH. 2013. Isolation of yeasts from wild flowers in Gyonggi-do province and Jeju island in Korea and the production of anti-gout xanthine oxidase inhibitor. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **41**: 383-390.
27. Lee J-S, Lee T-S, Park S-O, Noh B-S. 1996. Flavor components in mash of *takju* prepared by different raw materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**: 316-323.
28. Lee JH, Yu TS. 2000. Identification and characteristics of lactic acid bacteria isolated from Nuruk. *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* **15**.
29. Lee S-H. 2015. Development of mulberry-leaf tea containing  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by anaerobic treatments. *Korean J. Food Sci. Technol.* **47**: 652-657.
30. Lee SH, Kwon M-J, Kang H-T, Chung CW, Kim BO, Kim J-S. 2015. The anti-inflammatory effects of probiotic-produced exopolysaccharide. *J. Life Sci.* **25**: 709-714.
31. Lee T-S, Han E-H. 2001. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using *Aspergillus oryzae* nuruks. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**: 366-372.
32. Lindgren SE, Dobrogosz WJ. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol. Lett.* **87**: 149-164.
33. Min J-H, Kim Y-H, Kim J-H, Choi S-Y, Lee J-S, Kim H-K. 2012. Comparison of microbial diversity of Korean commercial *Makgeolli* showing high  $\beta$ -glucan content and high antihypertensive activity, respectively. *Mycobiology* **40**: 138-141.
34. Moon Y-J, Baik S-H, Cah Y-S. 2014. Lipid-lowering effects of *Pediococcus acidilactici* M76 isolated from Korean traditional makgeolli in high fat diet-induced obese mice. *Nutrients* **6**: 1016-1028.
35. Park C-D, Jung H-K, Park H-H, Hong J-H. 2007. Identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria isolated from *Hahyangju* Nuruk. *Korean J. Food Preserv.* **14**: 188-193.
36. Park K-B, Oh S-H. 2007. Cloning, sequencing and expression of a novel glutamate decarboxylase gene from a newly isolated lactic acid bacterium, *Lactobacillus brevis* OPK-3. *Bioresour. Technol.* **98**: 312-319.
37. Park Y-U, Kim M-D, Jung D-H, Seo D-H, Jung J-H, Park J-G, et al. 2015. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Korean rice wine *Makgeolli*. *Food Sci. Biotechnol.* **24**: 1761-1766.
38. Patel AK, Michaud P, Singhania RR, Soccol CR, Pandey A. 2010. Polysaccharides from probiotics: new developments as food additives. *Food Technol. Biotechnol.* **48**: 451-463.
39. Piuri M, Sanchez-Rivas C, Ruzal S. 1998. A novel antimicrobial activity of a *Paenibacillus polymyxa* strain isolated from regional fermented sausages. *Lett. Appl. Microbiol.* **27**: 9-13.
40. Rhee C-H, Woo C-J, Lee J-S, Chung K-T, Park H-D. 1996. Characteristics of ethanol fermentation by a killer yeast, *Saccharomyces cerevisiae* B15-1. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. (Korea Republic)* **24**: 331-335.
41. Rhee SJ, Lee J-E, Lee C-H. 2011. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods. *Microb. Cell. Fact.* **10**: S5-S5.
42. Ruas-Madiedo P, Mereno JA, Salazar N, Delgado S, Mayo B, Margolles A, et al. 2007. Screening of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains isolated from the human intestinal microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**: 4385-4388.
43. Ryun KH, Kim JH. 2012. Microbial dynamics of commercial makgeolli depending on the storage temperature. *J. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 1101-1106.
44. Schmitt MJ, Breinig F. 2006. Yeast viral killer toxins: lethality and self-protection. *Nat. Rev. Microbiol.* **4**: 212-221.
45. Seo D-H, Jung J-H, Kim H-Y, Kim Y-R, Ha S-J, Kim Y-C, et al. 2007. Identification of lactic acid bacteria involved in traditional Korean rice wine fermentation. *Food Sci. Biotechnol.* **16**: 994-998.
46. Seo WT, Cho KK, Lee JY, Kim B, Cho KM. 2012. Quality characteristics of wheat-rice *Makgeolli* by making of rice Nuruk prepared by *Rhizopus oryzae* CCS01. *Korean J. Microbiol.* **48**: 147-155.
47. Shelp BJ, Bown AW, McLean MD. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends Plant Sci.* **4**: 446-452.
48. Sim H, Kim M-D. 2016. Antipathogenic activity of *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from Korean traditional rice wine. *Microbiol. Biotechnol.* **44**: 98-105.
49. Song SH, Lee C, Lee S, Park JM, Lee H-J, Yoon S-S, et al. 2013. Analysis of microflora profile in Korean traditional nuruk. *J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 40-46.
50. Song Y-R. 2013. Exopolysaccharide produced by *Pediococcus acidilactici* M76 isolated from the Korean traditional rice wine, *Makgeolli*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 681-688.
51. Welman AD, Maddox IS. 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends Biotechnol.* **21**: 269-274.
52. Wu M-H, Pan T-M, Wu Y-J, Chang S-J, Chang M-S, Hu C-Y. 2010. Exopolysaccharide activities from probiotic bifidobacterium: Immunomodulatory effects (on J774A.1 macrophages) and antimicrobial properties. *Int. J. Food. Microbiol.* **144**: 104-110.
53. Yokoyama S, Hiramatsu J-I, Kayakawa K. 2002. Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid from alcohol distillery lees by *Lactobacillus brevis* IFO-12005. *J. Biosci. Bioeng.* **93**: 95-97.
54. Yook J-S, Oh S-H, Kim S-G, Lee J-S, Mun E-G, Cha Y-S. 2015. Isolation of *Pediococcus* strain from nuruk and anti-lipid accumulation effect of ornithine-containing Makgeolli on 3T3-L1 cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **44**: 1264-1269.
55. Yu T-S, Kim H-S, Hong J, Ha H-P, Kim T-Y, Yoon I-W. 1996. Bibliographical study on microorganisms of nuruk (Until 1945). *Korean J. Food Nutr.* **25**: 170-179.