*Journal of Radiation Industry* 6 (2) : 177~180 (2012)

# 감마선 조사가 젖산균의 내산성 및 내담즙성에 미치는 영향

김재경[1] · 이지혜[1,2] · 박종흠[1] · 송범석[1] · 이주운[1] · 최종일[1]
황이남[3] · 강상모[4] · 박상현[1] · 김재훈[1,*]

[1]한국원자력연구원 첨단방사선연구소, [2]충남대학교 식품영양학과,
[3]아시아나국제특허법률사무소, [4]건국대학교 미생물공학과

# The Effect of Gamma Irradiation on the Acid Tolerance and Bile Tolerance of Lactic Acid Bacteria

Jae-Kyung Kim[1], Ji-hye Lee[1,2], Jong-Heum Park[1], Beom-Seok Song[1], Ju-Woon Lee[1], Jong-Il Choi[1], E-Nam Hwang[3], Sangmo Kang[4], Sang-Hyun Park[1] and Jae-Hun Kim[1,*]

[1]*Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Reserch Institute, Jeongeup 580-185, Korea*
[2]*Department of Food Science & Human Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea*
[3]*Asiana International Patent & Law office, Seoul 137-818, Korea*
[4]*Department of Microbioal Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea*

**Abstract - The acid and bile tolerance changes of 5 different lactic acid bacteria (LAB; *Lactobacillus paracasei, Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum,* and *Lactobacillus debruekii*) with gamma irradiation were evaluated. The abilities of LAB to survive in the acidic conditions at the stomach and the bile acidic conditions at the beginning of the small intestine are the key functions for applying LAB to probiotics. In the results, all of LAB survived more than 50% after incubation in PBS (pH 2.5) for 2 hr, which indicated more than half of LAB are possible to pass through the stomach. However, gamma irradiation decreased the acid tolerances of LAB. The bile tolerances of all bacteria except Lactobacillus acidophilus were observed to survive at a 3% oxgall concentration in MRS, and 1 kGy of gamma irradiation to LAB did not affect any bile tolerances changes. But gamma irradiated Lactobacillus casei and Lactobacillus casei (3 kGy) showed decreasing survival rate with oxgall added MAS agar. In conclusion, gamma irradiation should be applied to yogurt or fermented foods with care because LAB could be changes their properties on acid and bile tolerances.**

**Key words : Lactic acid bacteria, Acid tolerance, Bile tolerance, Gamma irradiation**

## 서 론

젖산균 (lactic acid bacteria, LAB)은 건강한 사람의 장내 미생물 생태계에 존재하며, 장내 상피내포에 정착하

* Corresponding author: Jae-Hun Kim, Tel. +82-63-570-3205, Fax. +82-63-570-3207, E-mail. jaehun@kaeri.re.kr

여 정상적인 장관 내 미생물 균총 유지, 유당불내증의 완화, 혈중 콜레스테롤의 감소, 항암작용, 면역조절작용 및 식품의 영양학적 가치 증진 등의 유익한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 이러한 유익한 기능을 하는 살아 있는 젖산균을 프로바이오틱스(probiotics)라 분류하고 있다(Kim 2009). 이러한 젖산균이 프로바이오틱스로서 유용한 기능을 나타내기 위해서는 섭취한 많은 수의 균이 인체 내 소화기환을 통하여 장내에 점착하여야 함으로, 젖산균은 사람 장관의 위산과 담즙산에 대한 안정성을 기본적으로 보유해야 한다. 이러한 이유로 유용한 프로바이오틱스 젖산균주를 선발하기 위해서는 내산성 및 내담즙성에 대한 연구가 반드시 필요하다(Saarela *et al.* 2000).

방사선 조사 기술 중 감마선 조사는 제품을 포장한 상태에서 강력한 투과력으로 연속적인 조사 처리가 가능하여 살균처리 후 재포장에 따른 2차 오염을 방지할 수 있으며, 최소한의 성분 파괴로 냉장 혹은 냉동 상태에서도 살균이 가능한 비가열 식품가공 처리 기술이다(Han *et al.* 2011). 최근에는 방사선을 천연물 추출물에 조사하여 추출수율을 증가시키고 다양한 약리활성을 증가시키려는 연구도 다양하게 진행되고 있다(Kim *et al.* 2006). 이러한 방사선 조사 기술을 시판 플레인 요구르트에 적용(1～5 kGy)할 경우 요구르트의 품질 변화를 최소화 하면서 미생물학적 안전성을 확보된 발효유 제품을 제조하는 것이 가능하다(Kim *et al.* 2008). 또한, 방사선 조사된 요거트를 각각 다른 온도로 저장한 후 품질 평가를 한 결과 각 온도에 따른 플레인 요거트의 화학적, 관능적에 유의적인 차이가 없었다는 연구 보고가 있다(Ham *et al.* 2009). 이렇게 발효유나 발효식품에 방사선 조사 기술을 적용하여 관능적 품질과 미생물학적 안전성에 대한 평가는 이루어진 반면, 방사선에 의한 젖산균의 위산과 담즙산에 대한 안정성 변화 연구는 없었다. 따라서 본 연구에서는 시판중인 유산균 음료에 사용되는 대표적인 젖산균주 5종에 대하여 감마선을 적용한 후 내산성과 내담즙성을 평가하여 간접적으로 방사선 조사된 발효유 섭취 시 프로바이오틱스로서의 기능성 변화 유무를 유추하여 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 사용 균주

본 실험에 사용한 *Lactobacillus paracasei* KCTC 13169, *Lactobacillus casei* KCTC 3109, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3140, *Lactobacillus plantarum subsp plantarum* KCTC 3103, *Lactobacillus debruekii subsp bulgaricus* KCTC 3635는 한국생물공학연구원 생물자원센터(KCTC Korean Collection for Type Cultures, Daejeon, Korea)에서 분양 받아 실험을 실시하였다.

### 2. 감마선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소(Jeongeup, Korea)내 선원 11.1 PBq, Co-60 감마선 조사시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co., Ltd., Canada)을 이용하였으며 젖산균 5종을 MRS (Lactobacilli, Difco, Detroit, MI, USA) 액체 배지에서 37 °C, 48시간동안 배양한 후 배양액 상태(5 ml)로 0, 1 및 3 kGy의 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량의 확인은 alanine dosimeter (5 mm, Bruker Instruments, germant)를 사용하였으며, 흡수선량의 오차는 ±5% 이내였다.

### 3. 내산성 측정

내산성 측정은 젖산균 5종을 MRS (Lactobacilli, Difco, Detroit, MI, USA) 액체 배지에서 37°C, 48 시간동안 배양하여 9 log CFU $g^{-1}$이 되도록 링거액(NaCl: 8 g $l^{-1}$, KCL: 0.3 g $l^{-1}$, $CaCl_2$: 0.33 g $l^{-1}$)으로 희석 후 9 ml의 PBS (phosphate buffer saline; pH 2.5)에 1 ml을 넣은 후 2시간 동안 37°C에서 배양을 하였다. 회수한 배양액은 링거액으로 2회 washing 후 MRS agar plate에 표준한천배양방법으로 37°C, 48시간동안 배양하여 30～300개의 집락을 형성한 배지만 계수하여 시료 log CFU $g^{-1}$로 나타내었다(Seo and Lee 2007).

### 4. 내담즙성 측정

내담즙성 측정은 젖산균 5종을 MRS (Lactobacilli, Difco, Detroit, MI, USA) 액체 배지에서 37°C, 48시간동안 배양하여 9 log CFU $g^{-1}$이 되도록 링거액 (NaCl: 8 g $l^{-1}$, KCL: 0.3 g $l^{-1}$, $CaCl_2$: 0.33 g $l^{-1}$)으로 희석 후, 희석된 균주를 oxgall (0, 0.3, 1 및 3%; pH (2%): 7.0～8.5)이 첨가된 MRS agar plate에 표준안천배양방법으로 37°C, 48시간동안 배양하여 측정하였다(Seo and Lee 2007).

### 5. 통계처리

동일 실험을 3회 반복하여 얻어진 결과는 Statistical Package for Social Sciences (SPSS, 10.0)를 이용하여 One Way ANOVA test로 분석하였으며, 시료간의 유의성은 Duncan's multiple range test법으로 $p \leq 0.05$ 수준에서 평가하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 감마선 조사에 의한 젖산균의 내산성 평가

젖산균이 강산성의 위산으로부터 살아남아 장까지 이동하기 위해서는 낮은 pH에서 살아남을 수 있는 내산성이 강해야 한다. 위에서 분비되는 염산의 pH는 약 0.9이지만 음식물이 유입될 때는 약 pH가 2.0에서 3.0으로 상승되며, 음식물이 위를 통과하는 데는 약 2～4시간이 소요된다 (Pennacchia *et al.* 2004). 본 실험에서는 염산(HCl)으로 pH를 2.5로 조절한 PBS를 이용하여 감마선 조사 (1 kGy)에 의한 젖산균 5종의 내산성을 비교하였으며 3 kGy로 감마선 조사한 경우 젖산균 5종 모두 검출한도 (< 1 log CFU $g^{-1}$)내에서 발견되지 않아 표시하지 않았다 (Fig. 1). 먼저 감마선 조사를 하지 않은 경우 모든 젖산균주의 생존율이 50% 이상으로 높게 나타났으며, 특히 *L. paracasei*와 *L. acidophilus*의 생존율이 69% 이상으로 다른 젖산균에 비해 높은 내산성을 나타내었다. 따라서 5종의 젖산균 모두 인간이 섭취하였을 경우 많은 수의 젖산균이 위를 통과하여 소장으로 이동할 수 있을 것이라 사료된다.

반면 젖산균에 1 kGy의 감마선을 조사한 경우 모든 젖산균의 내산성이 감소하였으며 *L. paracasei*와 *L. acidophilus*만이 생존율이 60% 이상을 나타내었다. 이는 감마선 조사에 의한 젖산균의 생존율이 유의적으로 감소하는 결과와 일치하였으며, 또한 방사선 저항성이 가장 높은 것으로 평가된 *L. acidophilus*의 경우, 본 실험 결과 역시 방사선에 의한 영향이 가장 적은 것을 확인할 수 있었다 (Lee *et al.* 2011).

### 2. 감마선 조사에 의한 젖산균의 내담즙성 평가

담즙에 대한 내성은 소장에 도달한 젖산균의 생존 및 기능성에 중요한 역할을 하기 때문에 젖산균을 프로바이오틱스로 사용하기 위해서 반드시 갖추어야 할 특성이다. 실제로 젖산균이 프로바이오틱스 균주로서 기능을 정상적으로 수행하기 위해서는 장내 담즙의 농도 (0.3%)보다 훨씬 많은 oxgall이 함유된 배지에서 성장할 수 있는 내성을 가지고 있어야 한다 (Hyronimus *et al.* 2000). 담즙은 소장의 상부에서 분비되어 섭취된 지질식품의 소화, 흡수를 촉진하고, 미생물에 대해 세제와 유사한 (detergent-like) 작용을 함으로써 지방과 지방산으로 구성되어있는 미생물의 세포막에 영향을 주어 미생물 살균작용을 하는 것으로 알려져있다 (Seo and Lee 2007). 그러나 몇몇 미생물은 담즙산염 가수분해효소 (bile salt hydrolase, BSH)에 의해 담즙산염을 가수분해하여 그들의 용해도를 감소시킴으로써 이러한 작용을 저하시킬 수 있다. 특히 *Lactobacillus*를 포함한 많은 종의 젖산균에서 BSH 효소가 발견되었으나, 이들의 담즙산에 대한 작용기작은 아직 밝혀지지 않았다 (Gilliland *et al.* 1984).

본 실험에서는 서로 다른 oxgall의 농도 (0～3.0%)의 MRS 배지에서 감마선 조사 (0, 1 및 3 kGy)에 의한 젖산균의 담즙산 내성을 측정하였다 (Table 1). 실험 결과 감마선 조사를 하지 않은 젖산균의 경우 *L. acidophilus*를 제외한 4종의 젖산균 모두 3.0%의 oxgall이 첨가된 배지

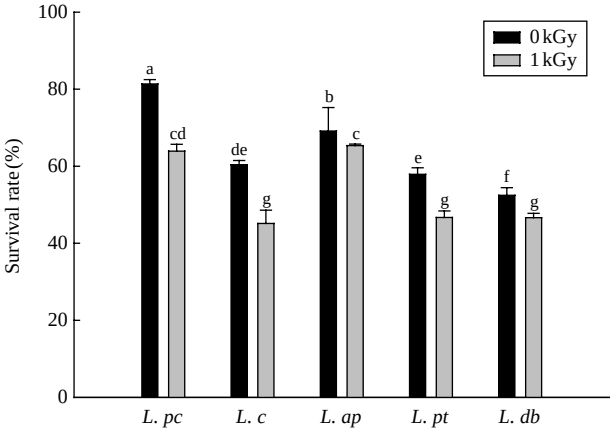


**Fig. 1.** Effect of gamma irradiation on acid tolerance of lactic acid bacteria. Alphabel (a-f) are significantly different at $p \leq 0.05$. *L. pc*: *Lactobacillus paracasei*, *L. c*: *Lactobacillus casei*, *L. ap*: *Lactobacillus acidophilus*, *L. pt*: *Lactobacillus plantarum*, *L. db*: *Lactobacillus debruekii*.

**Table 1.** Effect of gamma irradiation on bile tolerance lactic acid bacteria

| Bile salts (%) | Irradiation dose (kGy) | *L. pc* | *L. c* | *L. ap* | *L. pt* | *L. db* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | +[a] | + | + | + | + |
| | 1 | + | + | + | + | + |
| | 3 | + | + | + | + | + |
| 0.3 | 0 | + | + | + | + | + |
| | 1 | + | + | + | + | + |
| | 3 | + | + | + | − | + |
| 1.0 | 0 | + | + | + | + | + |
| | 1 | + | + | + | + | + |
| | 3 | + | + | + | − | + |
| 3.0 | 0 | + | + | − | + | + |
| | 1 | + | + | − | + | + |
| | 3 | + | − | − | − | + |

[a]+: growth; −: no growth.
*L. pc*: *Lactobacillus paracasei*, *L. c*: *Lactobacillus casei*, *L. ap*: *Lactobacillus acidophilus*, *L. pt*: *Lactobacillus plantarum*, *L. db*: *Lactobacillus debruekii*.

에서도 성장하였으며 *L. acidophilus*의 경우 1%의 oxgall이 첨가된 배지까지만 성장하였다. 하지만 인간의 소장 내의 평균적인 담즙산의 농도는 0.3% w/v이므로 실험에 사용된 다섯균주 모두 담즙산에 대한 저항성을 충분히 갖고 있는 것으로 보아 실제 소장을 통과할 때에 많은 균이 대장까지 도달할 것으로 사료된다(Gilliland *et al.* 1984).

감마선 조사에 의한 젖산균의 내담즙성을 평가한 결과, 모든 젖산균에 1 kGy를 조사하여도 조사하지 않은 젖산균과 내담즙성 차이를 나타내지 않았다. 하지만 3 kGy를 조사한 경우 *L. casei*는 3.0%의 oxgall이 첨가된 배지에서 자라지 못하였으며 *L. plantarum*은 0.3～3.0%의 oxgall이 첨가된 배지에서 자라지 못하였다. 따라서 *L. casei*와 *L. plantarum*은 감마선 조사에 의하여 내담즙성이 감소하는 것을 확인하였으며 이는 두 균주의 방사선에 대한 D10 값이 0.51과 0.44로 다른 젖산균주에 비해 방사선 감수성이 낮기 때문으로 사료된다(Lee *et al.* 2011).

## 결 론

유산균 음료와 발효식품에 사용되는 대표적인 젖산균 5종에 대한 프로바이오틱스로서의 기능성을 평가하기 위하여 내산성과 내담즙성을 평가하였으며 감마선 조사에 의한 효과를 비교하였다. 실험결과 젖산균 5종 모두 높은 내산성과 내담즙성을 보임으로써 인간이 섭취하였을 경우 위와 소장을 통과할 때 많은 수의 젖산균이 살아남아 대장까지 이동할 가능성이 높은 것으로 나타나 인체 내에서 프로바이오틱스로서의 유용한 기능을 나타낼 것으로 사료된다. 하지만 젖산균에 감마선 조사를 할 경우 모든 균주의 내산성이 유의적으로 감소하였으며 내담즙성 역시 특정 균주의 경우 낮아지는 것을 확인하였다. 따라서 유산균 음료나 발효음식에 감마선을 적용할 경우 젖산균이 영향을 받지 않는 수준의 선량을 확인하여 적용함으로써 프로바이오틱스로서의 기능성을 떨어뜨리지 않도록 유의해야 할 필요가 있다고 사료된다.

## 사 사

본 연구는 한국원자력연구원 기본연구사업 및 원자력연구개발사업의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 참 고 문 헌

Gilliland SE, Staley TE and Bush LJ. 1984. Importance of bile tolerance of *Lact. acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Diary Sci.* **67**:3045-3051.

Ham JS, Jeong SG, Lee SG, Han GS, Jang A, Yoo YM, Chae HS, Kim DH, Kim HJ, Lee WK and Jo C. 2009 Quality of irradiated plain yogurt during storage at different temperatures. *Asian-Australasian J. Ani. Sci.* **22**(2):289-295.

Han IJ, Park JN, Park JK, Song BS, Lee JW, Kim JH, Ryu HS, Park JR and Chun SS. 2011. Quality characteristics of milk porridge (Tarakjuk) sterilized with radiation technology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **40**(6):885-891.

Hyronimus B, Marrec CL, Sassi AH and Deschamps A. 2000. Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **61**:193-197.

Kim CH. 2009. Immunomodulatory effects of Lactic acid bacteria and bioactive peptides derived from milk. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* **27**(1):37-43.

Kim HJ, Song HP, Ham JS, Lee JW, Kim KH and Jo C. 2008. Effect of gamma irradiation on the overall quality of a commercial plain-type yogurt products. *Korea J. Food Sci. Ani. Resour.* **28**(5):574-579.

Kim JK, Jo C, Hwang HJ, Park HJ, Kim YJ and Byun MW. 2006. Color improvement by irradiation of Curcuma aromatica extract for industrial application. *Radiat. Phys. Chem.* **75**:449-452.

Lee JH, Kim JK, Jo EU, Sung NY, Choi JI, Kim JH, Song BS, Park JH, Yook HS and Lee JW. 2011. The effect of gamma irradiation on the survival of lactic acid isolated from commercial daily product. *J. Rad. Indust.* **5**(2):175-178.

Pennacchia C, Ercolini D, Blaiotta G, Pepe O, Mauriello G and Villani F. 2004. Selection of Lactobacillus strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Sci.* **67**:309-317.

Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J and Mattila-Sandholm T. 2000. Probiotic bacteria: Safety, Functional and technological properties. *J. Biotechnol.* **84**:197-215.

Seo JH and Lee H. 2007. Characteristics and immunomodulating activity of lactic acid bacteria for the potential probiotics. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**(6):681-687.

Manuscript Received: April 2, 2012
Revised: April 17, 2012
Revision Accepted: May 22, 2012