



2022년 식품R&D 이슈 4

포스트바이오틱스 분야 동향 보고서



CONTENTS

2022년 식품R&D 이슈 4
포스트바이오틱스 분야 동향 보고서

01	개요	
	1.1. 프로바이오틱스의 개요	1
02	프로바이오틱스 연구 개발 동향	
	2.1. 프로바이오틱스 시장 규모	2
	2.2. 프로바이오틱스 균주 발굴 및 종균화	2
	2.3. 프로바이오틱스 기능성 현황	4
	2.3.1. 기능성 유산균 연구 동향 분석	7
	2.3.2. 마이크로바이옴 관련 기능성 유산균 연구 동향 분석	13
	2.4. 프로바이오틱스 소재화 기술 현황	17
	2.4.1. 프로바이오틱스의 산업적 생산	17
	2.4.2. 프로바이오틱스의 배양조건 최적화	17
	2.4.2.1. 프로바이오틱스의 배양 개요	17
	2.4.2.2. 프로바이오틱스의 배지 성분	17
	2.4.2.3. 프로바이오틱스의 배양 조건	18
	2.4.3. 프로바이오틱스의 캡슐화	19
	2.4.3.1. 프로바이오틱스의 캡슐화	19
	2.4.3.2. 프로바이오틱스의 캡슐화에 사용되는 기술	20
	2.5. 프로바이오틱스 마이크로바이옴 연구 현황	22
03	프로바이오틱스 품질 및 안전성 평가 기술 동향	
	3.1. 프로바이오틱스 생화학 및 분자생물학적 안전성 평가	26
	3.1.1. 개요	26
	3.1.2. 국가 별 프로바이오틱스 안전성 평가 및 관리 시스템	27
	3.1.2.1. FAO/WHO	27
	3.1.2.2. 미국	27
	3.1.2.3. 유럽	30
	3.1.2.4. 국내	33
	3.1.3. 안전성 평가 시험 방법	34
	3.1.3.1. 항생제 내성	34

CONTENTS

3.1.3.2. 용혈활성(hemolysis)	35
3.1.3.3. 독소 생성 여부	35
3.1.3.4. 대사적 특성	35
3.2. 프로바이오틱스 유전체 관련 연구 현황	36
3.2.1. 서론	36
3.2.2. 프로바이오틱 유산균의 유전체 연구 동향	36
3.2.2.1. 내산성 및 내담즙성 관련 유전자	36
3.2.2.2. 항균성에 관련된 유전자	36
3.2.2.3. 장관 흡착 관련 유전자	37
3.2.2.4. 숙주에 직접적으로 건강상의 이점을 제공하는 유전자	37
3.2.3. 생물정보학을 활용한 유전체 연구의 장점, 한계 및 향후 과제	40

04 참고자료



1 개요

1.1. 프로바이오틱스의 개요

- 프로바이오틱스(probiotics)란 일정한 양을 섭취하였을 때, 숙주의 장내미생물 균형을 유지시킴으로 유익한 작용을 하는 살아있는 미생물을 의미함(식약처, 프로바이오틱스 안전성 평가 가이드, 2021). 건강기능식품으로 판매하는 프로바이오틱스는 장내 균총을 조절하며, 독성이 없으며 비병원성이어야 함.
- 프로바이오틱스는 유산(lactic acid)을 생산하는 유산균이 다수에 해당되며 일부 바실러스, 비피도박테리움, 일부 효모 등이 포함되어 짐.
- 프로바이오틱스는 장내에 정착하여 유산, 지방산, 항생물질 등을 생산하여 병원성 세균이 장내에 부착 또는 증식하는 것을 억제하고 면역계를 활성화시켜 면역력을 증진시킴.
- 프로바이오틱스 제품의 연구 동향은 1) 기존의 단일 균주에서 복합균주로 확대, 2) 정장작용에서 면역관련 질환(장염, 아토피), 대사성 증후군 질환(비만, 고혈압, 당뇨 등), 3) 단순 질환에서 정신 질환(우울증, 치매 등)으로 확대, 4) 마이크로바이옴 연구를 통한 *Akkermansia* sp. 같은 새로운 균주로 확대되고 있음(최학중, 2019). 또한, 프로바이오틱스로부터 프리바이오틱스의 발효과정에서 생성되는 인체 건강에 유익한 기능성 생리활성물질들 및 사멸화된 모든 미생물체를 포스트바이오틱스로 이들 제품에 대한 연구가 진행되어 가고 있음.

표 1. 식약처 고시형 프로바이오틱스 균주

Lactobacillus	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. delbruekii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. saliverius</i>
Lactococcus	<i>Lc. lactis</i>
Enterococcus	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>
Streptococcus	<i>S. thermophilus</i>
Bifidobacterium	<i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. animalis</i> sp. <i>lactis</i>

(출처: 식품의약품안전처)

- 유산균을 포함한 프로바이오틱스에 대한 기초 연구뿐만 아니라 인체에 유용한 효과를 얻기 위해 장내 환경 및 미생물 균총에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있음. 또한 파마바이오틱스(pharmabiotics)로서 감염 및 면역질환, 정신 질환, 항암 등의 효능이 제시됨에 따라 기존의 건강기능식품에서부터 프로바이오틱스 개념에서부터 마이크로바이옴 기반 치료제 분야로 확대되고 있음(조윤중 외, 2019).

2 프로바이오틱스 연구 개발 동향

2.1. 프로바이오틱스 시장 규모

- 국내 프로바이오틱스 시장은 2018년 27억 5,000만 달러에서 연평균 성장률 12.1%로 증가하여 2023년에는 48억 5,000만 달러에 이를 것으로 전망됨.
- 전 세계 프로바이오틱스 시장은 2021년 611억 달러에서 연평균 성장률 8.3%로 증가하여, 2026년에는 911억 달러에 이를 것으로 전망됨.

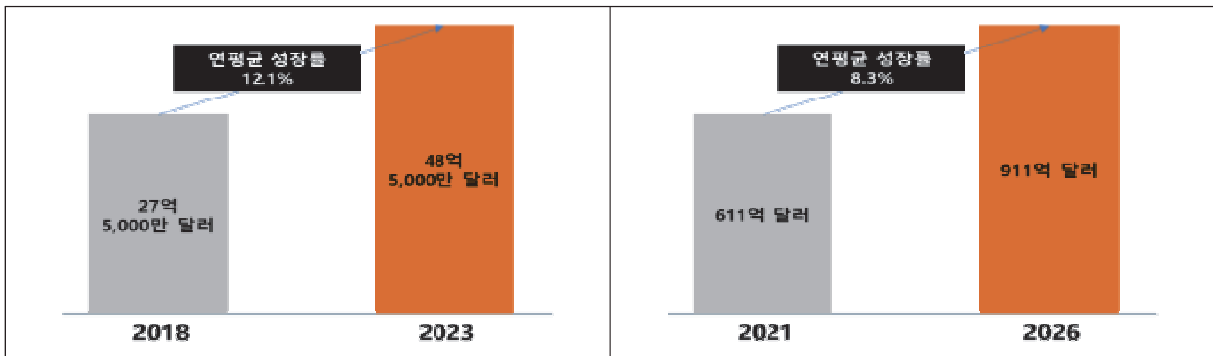


그림 1. 국내·외 프로바이오틱스 시장 규모 및 전망
(A) 국내 시장 규모 현황; (B) 국제 시장 규모 현황

(출처: TechNavio, Markets and Markets, Probiotics Market, 2019; Global Probiotics Market, 2021)

2.2. 프로바이오틱스 균주 발굴 및 종균화

- 프로바이오틱스의 효능은 매우 광범위함. 장 건강에서부터 뇌 건강, 대사증후군 등 신체 전반의 건강에 영향을 미치는 것으로 마이크로바이옴 연구를 통해 입증되었음 (표 2). 그러나 이들 기능성 중 국내에 개별인정형으로 입증된 경우는 면역 조절능, 면역과민반응에 의한 피부상태 개선능, 여성 건강(질 및 갱년기), 피부 건강, 체지방 감소, 혈중 콜레스테롤 개선능으로 보고되고 있음(식품의약품안전처 홈페이지).

표 2. 프로바이오틱스의 효능

프로바이오틱스의 효능	
<ul style="list-style-type: none"> - 유당불내증 - 장내균총 개선 - 장내 감염 억제 - 면역증진능 - 염증이나 알레르기 반응 감소 - 대장암 억제능 	<ul style="list-style-type: none"> - 혈중 지질 및 심장병 예방 - 고혈압 예방 - 요로감염 억제 - <i>Helicobacter pylori</i> 감염 억제 - 변비 개선 - 기타

- 프로바이오틱스 시장은 꾸준히 증가하고 있으며, 이러한 추세에 맞춰 새로운 기능성 균주의 개발은 인체 유래에서부터 발효식품까지로 다양하게 이뤄지고 있음. 프로바이오틱스 균주를 개발하기 위한 일반적인 프로세스는 그림 2와 같음. 그러나 최근에는 균주의 멀티오믹스 분석과 지놈정보까지 요구하고 있음.

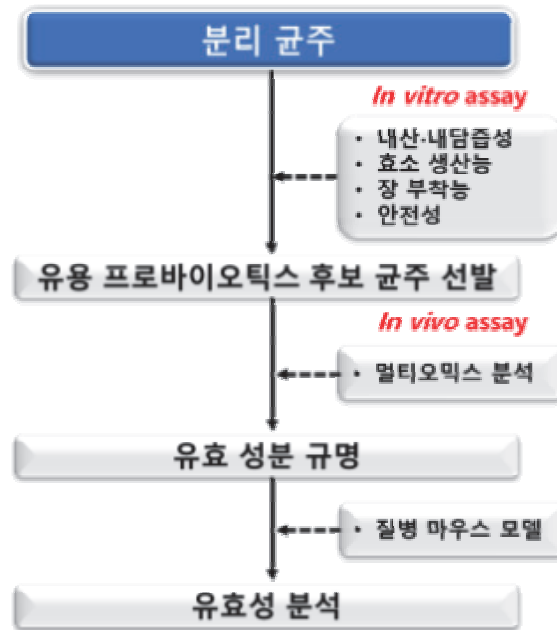


그림 2. 프로바이오틱스 균주 개발 프로토콜

- 표 3은 세계 주요 프로바이오틱스 회사에서 사용하고 있는 균주 현황을 제시하였음. 국내 프로바이오틱스 제품의 수입 균주는 캐나다의 Rosell, 덴마크의 DuPont-Danisco, Chr. Hansen이 주를 이루고 있음.

표 3. 주요 기업 및 균주 현황

기업명	균주명
Chr. Hansen (Denmark)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LGG® • <i>Bifidobacterium</i> BB-12® • <i>Lactobacillus acidophilus</i> DDS-1® • <i>Lactobacillus paracasei</i>, <i>L. casei</i> 431® • <i>Bifidobacterium</i> UABla-12™ • UREX™(<i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14®+<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1®) • ASTARTE™probiotic combination • <i>Lactobacillus gasseri</i> BNR17™ • <i>Lactobacillus reuteri</i> LRC® • <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5® • <i>Lactobacillus paracasei</i> F-19®
Danone	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> CNCM I-2494 • <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CNCM I-1631 • <i>Lactobacillus bulgaricus</i> CNCMI-1632 • <i>Lactobacillus bulgaricus</i> CNCMI-1519 • <i>Lactobacillus casei</i> CNCM I-1518



기업명	균주명
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus rhamnosus</i> CNCM I-3690
Yakult Honsha	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus casei</i> strain Shirota • <i>Bifidobacterium breve</i> strain Yakult
DOWDUPONT	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bifidobacterium breve</i> • <i>Bifidobacterium bifidum</i> • <i>Bifidobacterium lactis</i> • <i>Bifidobacterium longum</i> • <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> • <i>Lactobacillus acidophilus</i> • <i>Lactobacillus brevis</i> • <i>Lactobacillus bulgaricus</i> • <i>Lactobacillus casei</i> • <i>Lactobacillus fermentum</i> • <i>Lactobacillus gasseri</i> • <i>Lactobacillus paracasei</i> • <i>Lactobacillus rhamnosus</i> • <i>Lactobacillus salivarius</i> • <i>Lactococcus lactis</i>
KERRY	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus coagulans</i> GBI-30, 6086

(출처: www.chr-hansen.com; www.danone.com; www.dupontnutritionandbiosciences.com; www.yakult.co.jp; www.kerry.com)

- 국내에서 분리한 우수 프로바이오틱스 균주 중 상품화된 프로바이오틱스는 많지 않으며, 국내 생산 또한 드문 것으로 보고되고 있음. 우수한 균주를 발굴하더라도 제조 공정과 저장 기간 동안의 균 수의 감소, 인체 개선 효과 결과 제시 부족 등으로 인해 균주의 상용화 성공률이 낮은 이유로 고려되어 짐. 따라서, 균주의 우수성뿐만 아니라, 균주 자체의 안전성과 안정성에 대한 연구가 매우 필요함.

2.3. 프로바이오틱스 기능성 현황

- 기능성 원료는 식약처장이 「건강기능식품 공전」에 기준 및 규격을 고시한 원료(고시형 원료)와 개별적으로 식약처장의 심사를 거쳐 인정받은 원료(개별인정형 원료)로 분류됨. ‘프로바이오틱스’가 고시형 원료로서 인정받는 기능성 내용은 “유산균 증식 및 유해균 억제·배변활동 원활·장건강에 도움을 줄 수 있음”임.
- 고시형 원료로서 기능성을 나타내는 프로바이오틱스는 개별인정형 건강기능식품 심사대상에서 제외되지만, 상기 고시형 원료로서 기능성 외의 다른 기능성을 인정받고자 할 경우 개별인정형 원료로서 인정을 받아야 함. 개별인정형 원료로서 기능성 인정을 가장 많이 받은 유산균은 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) 균주로 나타났으며 순차적으로 락토바실러스 람노수스(*Lactobacillus rhamnosus*), 락토바실러스 아시도필루스(*Lactobacillus acidophilus*) 및 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*) 균주로 나타남.



표 4. 국내 유산균 종별 개별인정원료 허가 현황

속(genus)	종(species)	허가 현황(개수)
Lactobacillus	<i>paracasei</i>	1
	<i>plantarum</i>	7
	<i>bulgaricus</i>	1
	<i>acidophilus</i>	3
	<i>casei</i>	1
	<i>rhamnosus</i>	4
	<i>sakei</i>	1
	<i>reuteri</i>	1
	<i>cuvatus</i>	1
	<i>gasseri</i>	1
	<i>helveticus</i>	1
Enterococcus	<i>faecalis</i>	1
Streptococcus	<i>thermophilus</i>	1
Bifidobacterium	<i>breve</i>	1
	<i>longum</i>	2
	<i>infantis</i>	1
	<i>animalis</i> ssp. <i>lactis</i>	1

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2021)

- 허가 현황을 통해 알 수 있듯이 현재 국내에서 개별인정원료로서 기능성을 인정받은 유산균은 대부분 프로바이오틱스 “고시형” 유산균임.
- 개별인정원료 중, 혼합 유산균으로 제조된 원료는 프로바이오틱스(드시모네), 프로바이오틱스 ATP, UREX 프로바이오틱스, 리스펙타(Respecta[®]) 프로바이오틱스, Lactobacillus 복합물 HY7601+KY1032 및 L. plantarum IM76과 B. longum IM55 복합물임.

표 5. 개별인정원료 별 기능성 허가 현황

번호	원료인정 번호	원료명	제품명	업체명	기능성
1	제2009-28호	프로바이오틱스 (드시모네)	드시모네	(주)바이오 일레븐	- 유익한 유산균 증식, 유해균 억제, 배변활동 원활 - 장면역을 조절하여 장건강에 도움을 줄 수 있음.
2	제2013-36호	Lactobacillus helveticus 발효물	-	-	- 인지능력 개선(노화로 인해 저하된 인지력 개선에 도움을 줄 수 있으나 관련 인체적용시험이 미흡(생리활성기능 3등급))
3	제2013-11호	과채유래유산균 (L. plantarum CJLP133)	BYO피부 유산균	CJ제일제당(주)	- 면역과민반응에 의한 피부상태 개선에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능 2등급).
4	제2013-17호	Lactobacillus sakei Probio65	락토피 SP	(주)프로 바이오닉	- 면역과민반응에 의한 피부상태 개선에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능 2등급).



번호	원료인정 번호	원료명	제품명	업체명	기능성
5	제2014-16호	프로바이오틱스 ATP	듀오락	(주)셀바이오텍 인터내셔널	- 면역과민반응에 의한 피부상태 개선에 도움을 줄 수 있으나 관련 인체적용시험이 미흡함(생리활성기능 3등급).
6	제2014-27호	UREX 프로바이오틱스	엘레나	(주)유한양행	- 유산균 증식을 통한 여성 질 건강에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능 2등급).
7	제2015-1호	<i>Lactobacillus plantarum</i> HY7714	뷰티플러스	(주)한국야쿠르트	- 피부 보습에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능 2등급). - 자외선에 의한 피부손상으로부터 피부 건강 유지에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능 2등급).
8	제2015-2호	<i>Lactobacillus plantarum</i> HY7714	뷰티플러스	(주)한국야쿠르트	- 자외선에 의한 피부손상으로부터 피부 건강 유지에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능 2등급).
9	제2017-6호	<i>Lactobacillus gasseri</i> BNR17	비에날씬	(주)에이스바이옴	- 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능).
10	제2018-12호	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> IDCC3201 열처리배양건조물	지큐랩 포스트바이오틱스 알에이치티	일동제약(주)	- 면역과민반응에 의한 피부상태 개선에 도움을 줄 수 있음(생리활성기능).
11	제2019-4호	<i>Lactobacillus</i> 복합물 HY7601+KY1032	킬팻 다이어트	(주)한국야쿠르트	- 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음.
12	제2019-22호	<i>Lactobacillus acidophilus</i> YT1(HU038)	메노락토	(주)휴온스	- 갱년기 여성 건강에 도움을 줄 수 있음.
13	제2019-26호	리스펙타 (Respecta®) 프로바이오틱스	지노프레쉬 건강해질 여성유산균	메디포스트(주)	- 질내 유익균 증식 및 유해균 억제에 도움을 줄 수 있음.
14	제2019-28호	<i>L. plantarum</i> IM76과 <i>B. longum</i> IM55 복합물 (NVP1703)	-	(주)네비팜	- 면역기능(면역과민반응에 의한 코상태 개선에 도움을 줄 수 있음)
15	제2021-5호	<i>B. breve</i> IDCC 4401(BBR4401) 열처리배양건조물	-	일동제약(주)	- 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음
16	제2021-23호	<i>Lactobacillus plantarum</i> Q180	-	(주)중근당 바이오	- 식후 혈중 중성지방 개선에 도움을 줄 수 있음
17	제2022-14호	유산균복합물 (AB-LIFE®)	-	(주)서흥	- 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음
18	제2022-15호	유산균복합물 (AB-LIFE®)	-	(주)사노피아벤티스 코리아	- 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)



2.3.1. 기능성 유산균 연구 동향 분석

- 유산균이 나타내는 기능성 종류를 파악하기 위해, 건강 증진 기능성을 나타내는 기능성 유산균과 관련된 기술을 최근 3년 간 국내 특허 관점에서 조사하였음. 하기 표와 같이 ‘기능성 유산균, 일반 유산균, 건강기능식품의 기능성 종류(식품안전나라 참조)’ 키워드를 조합하여 국내특허를 검색함.

표 6. 키워드 및 검색식

구분	키워드 및 검색식
기능성 유산균 (프로바이오틱스)	"락토바실러스 아시도필루스" "락토바실러스 아시도필러스" "락토바실러스 에시도필루스" "락토바실러스 에시도필루스" "락토바실러스 카제이" "락토바실러스 카세이" "락토바실러스 가세리" "락토바실러스 엘브루키" "락토바실러스 엘브루키" "락토바실러스 엘브루키" "락토바실러스 헬베티쿠스" "락토바실러스 헬베티쿠스" "락토바실러스 퍼멘텀" "락토바실러스 퍼멘텀" "락토바실러스 파라카제이" "락토바실러스 파라카제이" "락토바실러스 플라타렐" "락토바실러스 플라타렐" "락토바실러스 루테리" "락토바실러스 람노시스" "락토바실러스 람노시스" "락토바실러스 살리바리우스" "락토코쿠스 락티스" "락토코쿠스 락티스" "엔테로코쿠스 페시움" "엔테로코쿠스 페시움" "엔테로코쿠스 페시움" "엔테로코쿠스 페시움" "엔테로코쿠스 페칼리스" "엔테로코쿠스 페칼리스" "스트렙토코쿠스 싸오필루스" "스트렙토코쿠스 싸오필루스" "스트렙토코쿠스 싸오필루스" "비피도박테리움 비피덤" "비피도박테리움 브레브" "비피도박테리움 브레베" "비피도박테리움 롱검" "비피도박테리움 롱검" "비피도박테리움 에니멀리스" "비피도박테리움 아니멀리스" "프로바이오틱" "Lactobacillus acidophilus" "L. acidophilus" "Lactobacillus casei" "L. casei" "Lactobacillus gasseri" "L. gasseri" "Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus" "L. delbrueckii ssp. bulgaricus" "L. delbrueckii" "Lactobacillus helveticus" "L. helveticus" "Lactobacillus fermentum" "L. fermentum" "Lactobacillus paracasei" "L. paracasei" "Lactobacillus plantarum" "L. plantarum" "Lactobacillus reuteri" "L. reuteri" "Lactobacillus rhamnosus" "L. rhamnosus" "Lactobacillus salivarius" "L. salivarius" "Lactococcus Lactis" "Lc. Lactis" "Enterococcus faecium" "E. faecium" "Streptococcus faecium" "S. faecium" "Enterococcus faecalis" "E. faecalis" "Streptococcus thermophilus" "S. thermophilus" "Bifidobacterium bifidum" "B. bifidum" "Bifidobacterium breve" "B. breve" "Bifidobacterium longum" "B. longum" "Bifidobacterium animalis ssp. Lactis" "B. animalis ssp. Lactis" "probiotic"
일반 유산균	카르노박테리움 아토포비움 페디오코쿠스 페디오코쿠스 테트라제노코쿠스 테트라제노코쿠스 류코노스톡 와이셀라 웨이셀라 오에노코쿠스 오에노코쿠스 바고코쿠스 바고코쿠스 Carnobacterium Atopobium Pediococcus Tetragenococcus Leuconostoc Weissella Oenococcus Vagococcus
건강기능식품 기능성 종류	"장 건강" "장건강" "intestinal health" "과민성 장" "염증성장질환" "염증성 장 질환" "프로바이오틱스" "probiotic" "당뇨" "당뇨병성" "혈당 혈당조절" "혈당 조절" "blood glucose" "blood glucose regulation" "controlling blood sugar" "blood sugar" "blood sugar regulation" "관절" "관절건강" "관절 건강" "관절강화" "관절 강화" "뼈 건강" "뼈 강화" "골다공증" "articulation" "articulation health" "bone health" "osteoporosis" "콜레스테롤" "콜레스테롤 개선" "콜레스테롤 조절" "cholesterol" "cholesterol lowering" "cholesterol improvement" "cholesterol regulation" "controlling cholesterol" "체지방" "비만" "체지방 감소" "body fat" "obesity" "reducing body fat" "면역기능" "immune enhance" "immune function" "항산화" "antioxid" "anti oxid" "피부건강" "피부 건강" "skin health" "혈압조절" "혈압 조절" "blood pressure" "중성지방" "triglyceride" "혈행" "blood circulation" "기억력" "인지기능" "memory cognitiv" "간 건강" "liver health" "health of the liver" "health of liver" "눈 건강" "eye health" "health of the eye" "health of eye" "긴장" "긴장 완화" "긴장 개선" "relaxation relax" "전립선" "prostate" "칼슘흡수" "칼슘 흡수" "calcium uptake" "calcium absorpt" "운동수행" "운동 수행" "exercise cape" "exercise performance" "요로" "요로 건강" "Urinary tract" "치아건강" "치아 건강" "tooth health" "health of tooth" "health of the tooth" "피로개선" "피로 개선" "fatigue" "갱년기" "menopausal" "면역과민피부" "면역피부" "면역조절" "면역 조절" "면역 피부" "아토피" "과민성" "immune skin" "hyperimmune" "atopic" "high immune" "immunoregulatory" "배뇨기능" "배뇨 기능" "urination" "uroflowmetry urinary" "위건강" "위 건강" "소화기능" "소화 기능" "소화" "gastro adj1 health" "stomach health" "health of the stomach" "health of stomach" "digestion" "digestive function" "정자운동" "정자 운동" "motility of sperm" "sperm motility" "motion of sperm" "sperm motion" "질건강" "질 건강" "vaginal health" "health vaginal" "월경전" "premenstrual syndrome" "menstrual syndrome" "아침이 성장" "growth of children" "children growth" "수면개선" "수면장애 불면증" "sleep disorder" "sleep enhance" "somnopathy" "sleep quality" "insomnia" "근력개선" "근력 개선" "근력강화" "근력 강화" "muscular strength" "기능성" "질환" "염증성 질환" "기억력" "우울증" "우울장애" "우울 장애" "뇌질환" "뇌 질환" "치매"

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- 검색결과 총 603건의 특허가 검색되었으며, 주성분 또는 유효성분으로 기능성을 나타내는 유산균을 기준으로 총 279건의 유효특허를 선별함.
- 유효특허 중 *Lactobacillus* (62%) 및 *Bifidobacterium* (11%)의 기능성과 관련된 특허의 비중이 높음 것으로 나타남.

표 7. 유산균별 특허 출원건 현황

No.	유산균	특허건수
1	Lactobacillus plantarum	68
2	Lactobacillus paracasei	23
3	복합균주	13
4	Lactobacillus fermentum	12
5	Lactobacillus sp.	11
6	Bifidobacterium longum, Lactobacillus reuteri	10
7	Lactobacillus acidophilus, L. gasseri, L. rhamnosus, Bifidobacterium bifidum	9
8	Lactococcus lactis	7
9	Bifidobacterium animalis, Weissella cibaria, Akkermansia muciniphila, Lactobacillus salivarius	5
10	Bifidobacterium breve, Leuconostoc mesenteroides, Pediococcus pentosaceus	4
11	Lactobacillus casei, L. helveticus, Enterococcus faecalis, Pediococcus inopinatus, Bacillus subtilis	3
12	Pediococcus acidilactici, Lactobacillus brevis, L. sakei, Leuconostoc citreum, Leuconostoc lactis, Weissella confusa, Enterococcus faecium, Bifidobacterium sp.	2
13	Acetobacter pasteurianus, Bacillus amyloquelificans, Bacteroides vulgatus, Bifidobacterium adolescentis, B. pseudocatenulatum, Faecalibacterium prausnitzii, Hafnia alvei, Kluyveromyces marxianus, Lactocaseibacillus paracasei, Lactiplantibacillus paraplantarum, Lactiplantibacillus plantarum, Lactobacillus buchneri, L. crispatus, L. curvatus, L. delbrueckii, L. pentosus, L. lactis, Lactococcus chungangensis, Leuconostoc holzapfeli, Limosilactobacillus sp, Micromonospora sp. Propionibacterium freudenreichii, Saccharomyces cerevisiae, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus thermophilus, Weissella sp.	1
합계		279

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- 기능성 중 위장관 건강 기능을 가진 균주가 가장 많고, 피부 건강 및 아토피 개선, 비만, 염증 완화 및 면역 억제, 신경질환 및 인지기능 개선 순으로 나타남.
- 전체 균주에서 *Lactobacillus* 및 *Bifidobacterium*을 제외하면 위장관 건강 기능성을 가진 균주가 가장 비중이 높았으며, 비만·체지방 감소 기능성, 암 예방/염증 완화 및 면역 억제/피부건강 및 아토피 개선 순으로 나타남.

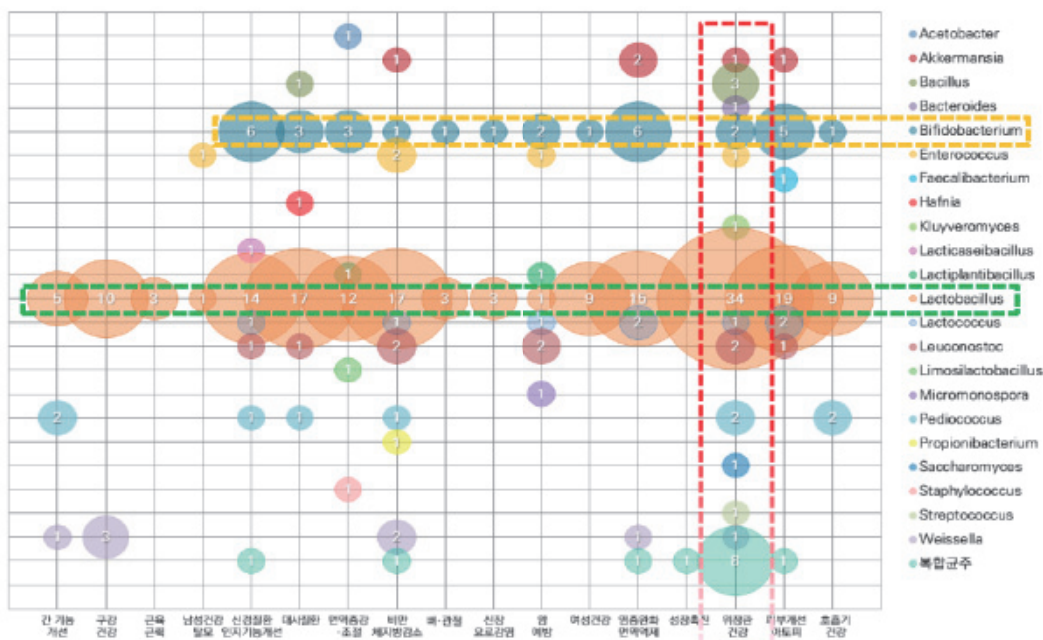


그림 3. 기능성 유산균별 맵핑

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- *Bifidobacterium*과 관련된 특허는 *B. longum*, *B. bifidum*이 비중이 가장 높은 것으로 나타나며, 관련된 기능성은 염증완화 면역억제, 신경질환 및 인지기능 개선, 피부 아토피 개선 순으로 나타남.

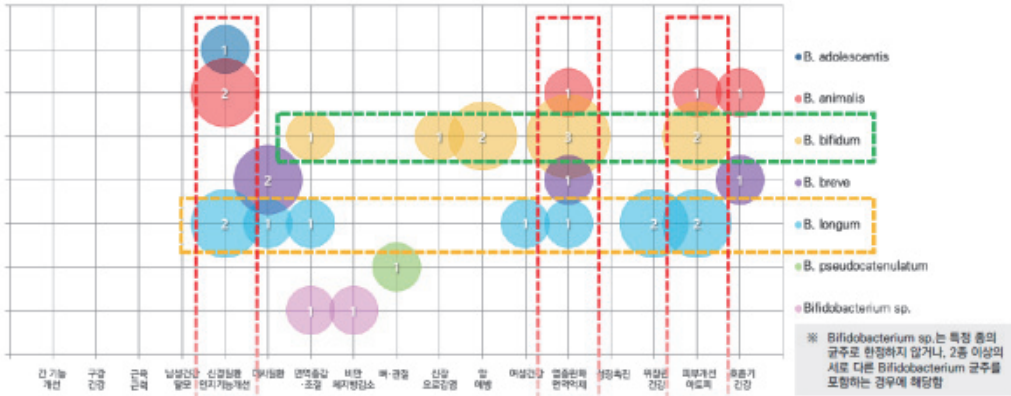


그림 4. *Bifidobacterium* 기능성 맵핑

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- *Lactobacillus*와 관련된 특허는 *L. plantarum* (40%), *L. paracasei* (13%), *L. fermentum* (7%), *L. reuteri* (6%)가 비중이 높은 것으로 나타나며, 관련된 기능성은 위장관 건강 (20%), 피부 아토피 개선 (11%), 비만 체지방 감소 (10%), 대사질환 (10%) 순으로 나타남.

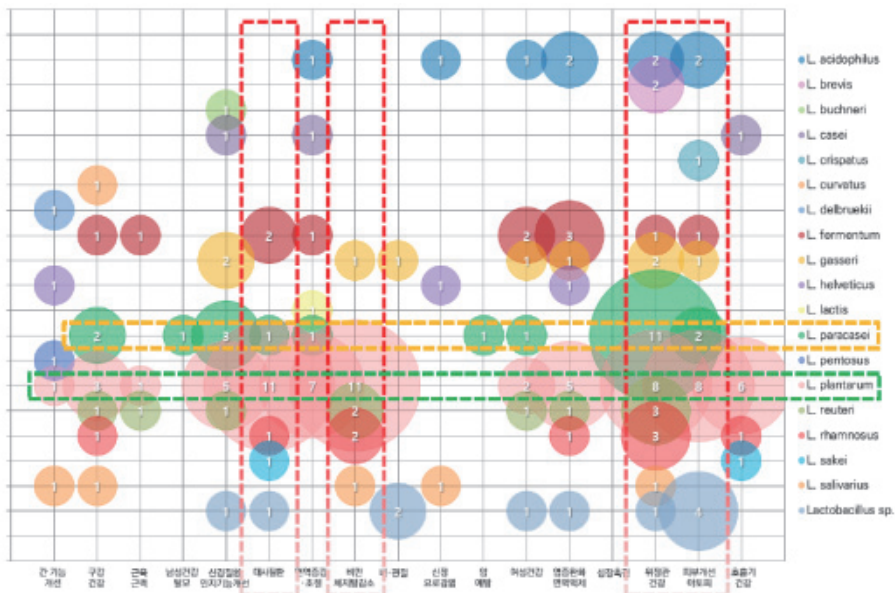


그림 5. *Lactobacillus* 기능성 맵핑

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- 주요 연구기관은 The League of European Research Universities(LERU), Consejo Nacional de Investigaciones Cientificas y Tecnicas Conicet, China Agricultural University 등으로 조사됨.

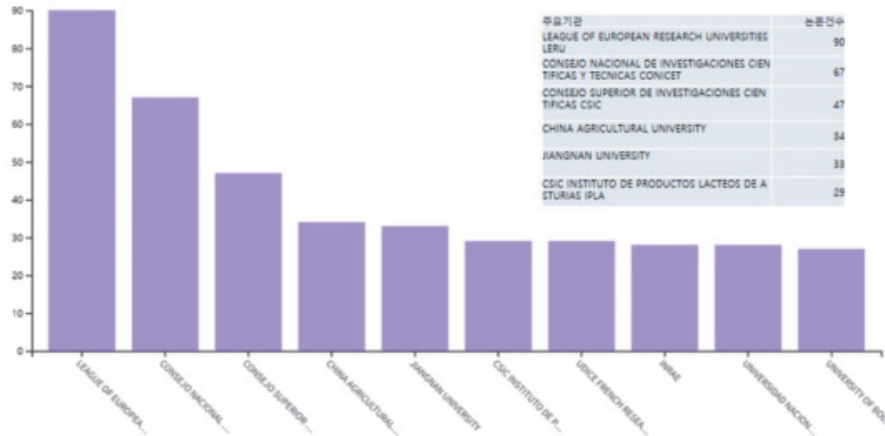


그림 7. 주요 연구기관

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- 주요 유산균 3속에 대한 기능중심으로 맵핑한 결과, *Lactobacillus*속 균주는 주로 장건강 (275건), 여성건강 (123건), *Bifidobacterium*속 균주는 주로 장건강 (56건), 종양 (22건), *Lactococcus*속 균주는 주로 장건강 (15건), 종양 (10건) 관련 논문이 발표됨.

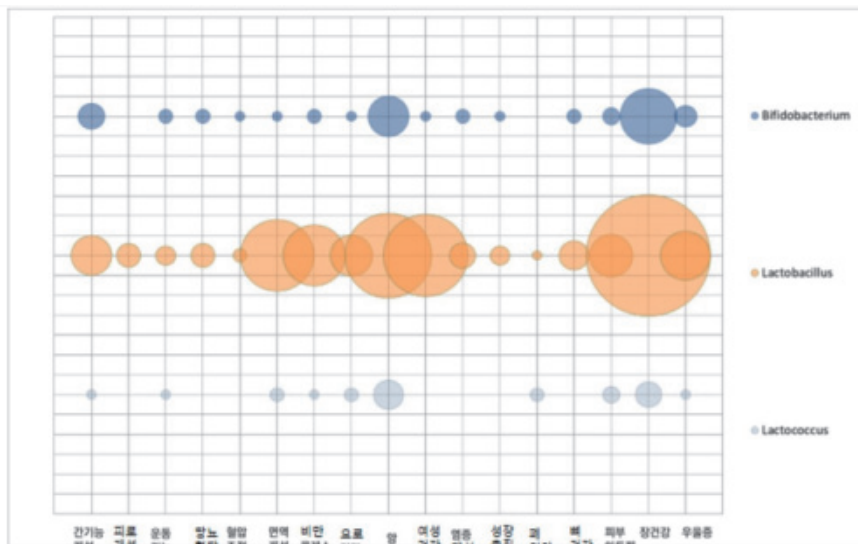


그림 8. 주요 유산균 3속 기능성 논문 현황

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)



- 주요 유산균 3속에 대하여 최근 3년간 (2019년~현재) 논문과 과거 3년(2016년~2018년) 논문의 증감 추이를 보면, 전체적으로 *Lactobacillus*속 균주에 대한 연구가 증가하였으며, 특히 종양, 장건강, 비만 관련 연구가 증가함.

구분	간건강	피로 개선	운동기능 향상	당뇨/혈당관리	혈압조절/고혈압	면역력	비만/콜레스테롤	신장/담낭/요로건강	암/종양	여성건강	영양질환	성장속진	폐건강	뼈건강	아토피및 피부개선	장건강	정신건강 (기억, 인지, 우울, 불안, 스트레스)	총합
Bifidobacterium	6	0	1	1	1	1	-1	0	13	-1	2	1	-1	2	1	9	3	38
Lactobacillus	13	5	3	3	2	21	28	12	39	22	1	4	1	9	3	36	15	217
Lactococcus	1	0	0	0	-1	2	1	2	8	0	-1	-1	2	0	2	-1	1	15
TOTAL	20	5	4	4	2	24	28	14	60	21	2	4	2	11	6	44	19	270

그림 9. 주요 유산균 3속 논문 증감 추이

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- *Lactobacillus*속 균주에 대하여 최근 3년간 (2019년~현재) 논문을 조사한 결과, *L. plantanum* (18%)로 가장 많으며, 이어서 *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. reuteri*순으로 비중이 높고 위장관 건강 및 종양 관련 연구가 높은 것으로 조사됨.



그림 10. *Lactobacillus*속 균주 기능성 논문 현황

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)

- *Bifidobacterium*속 균주에 대하여 최근 3년 간 (2019년~현재) 논문을 조사한 결과, *B. longum*, *B. breve*, *B. animalis*이 비중이 높고 장건강 및 종양 관련 연구가 높은 것으로 조사됨.

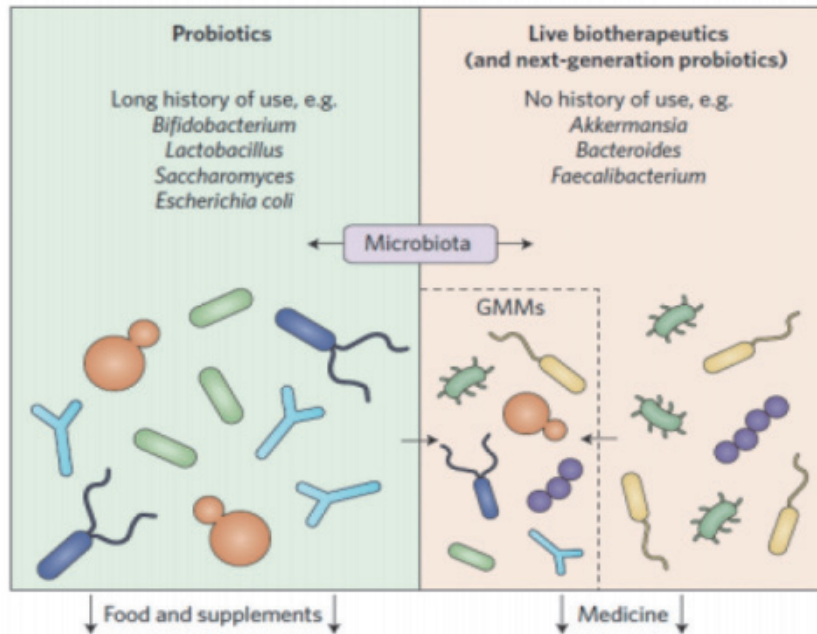


그림 12. 프로바이오틱스와 차세대 프로바이오틱스의 일반적 차이

(출처: O'Toole 등, 2017)

- 마이크로바이옴 기술을 통해 공생미생물의 효능과 적응증이 확대되면서 건강기능식품으로서의 프로바이오틱스와 마이크로바이옴 치료제의 경계가 불분명해지고 있음.
- 기존 프로바이오틱스와 달리 차세대 프로바이오틱스는 의약품처럼 전임상, 독성시험, 약물역학, 3단계의 임상시험이 필요함.
- 프로바이오틱스는 GRAS(generally recognized as safe) 균주로서 사람에게 사용할 때 재조합 균주의 사용이 금지되어왔으나, 차세대 프로바이오틱스는 의약품에 준하는 허가를 필요로 하기 때문에 재조합 균주의 개발에 대한 연구도 진행되고 있음.
- 마이크로바이옴 기반 신약 개발 관련 임상시험 단계에 진행하는 기업 정보는 표 9와 같음.

표 9. 마이크로바이옴 기반 신약 임상시험 현황

기업명	활용 영역	파이프라인/균주명	적응증	국가	단계	비고
(주)고바이오랩	치료제	KBLP-001/ <i>Lactobacillus gasseri</i> KBL697	건선	미국 호주 한국	미국 FDA 2상 IND 승인	투약 개시
		KBLP-007 (KBL692)	염증성 장질환	미국 (호주)	미국 FDA 2a상 IND 승인	투약 준비
		KBLP-002/ <i>Lactobacillus crispatus</i> KBL693	천식, 아토피 피부염	다국가	임상 1상 완료 미국 FDA 2상 IND 예정	-



기업명	활용 영역	파이프라인/균주명	적응증	국가	단계	비고
		KBLP-006/ (KBL382)	염증성 장질환	TBD	2022 하반기 글로벌 1상 IND 예정 임상 1b 진입 준비	- CMO 계약 완료 및 공동협업체 구성 완료 - 한국콜마(주)에 기술 이전 - 미국 Arranta Bio와 임상시험용 의약품 CDMO 계약 체결
		KBLP-005	면역, 항암		동물모델 구축 및 개발후보 확정 진행	자체 및 공동연구 ((주) CJ제일제당 CJ BIO)과제 진행 => 개발 후보 확정 중
		KBLP-004 <i>Akkermansia muciniphila</i> SNUG-61027	NASH	TBD	신규 타겟 검증 및 선도물질 최적화	개발 후보 확정 중
		KBLP-009(KBLF-006) /KBL982	간 질환	한국	예비유효성 임상 시험 진행	투약 개시
		KBLP-010	자폐 스펙트럼 장애	TBD	자폐 유도 마우스 효력시험 진행	개발 후보 확정
		KBL385	과민성 대장증후군, 아토피 피부염	-	-	(주)셀트리온과 공동연구 및 제휴 계약 체결
(주)엠디 헬스케어	치료제	MDH-001	AD, PD, ALS, MS, ASD, ADHD, 황반변성, 당뇨병성망막 병증, 염증성장질환	-	전임상 완료 2022 2분기 1상 2023 2분기 2상 예정	-
			면역항암 (고형암)	-		-
			불안 및 우울증	-	전임상 완료 2022 2분기 1상 2024 4분기 2상 예정	-
			IPF, VP, 천식	-	전임상 완료 2022 2분기 1상 2023 4분기 2상 예정	-
			AD, PD, MS NASH, CKD 천식, COPD	-	전임상	-
		MDH-204	AD, PD, MS, ALS ASD, ADHD	-	전임상	-
		MDH-203	면역항암 (고형암), IBD, Polyp	-	전임상	-



기업명	활용 영역	파이프라인/균주명	적응증	국가	단계	비고
		MDH-201	천식, COPD NASH, 뇌졸중, CM	-	전임상	-
		MDH-002	정신질환		물질 탐색	-
		MDH-003	NASH 천식, COPD	-	물질 탐색	-
		MDH-009	면역항암 (고형암)	-	물질 탐색	-
	진단	-	질환 예측	-	-	혈액 및 소변 내 미생물 EV NGS
(주)지놈앤 컴퍼니	치료제	GEN-001/ 락토바실러스 락티스 GEN3033	폐암, 흑색종, 대장암	미국, 한국	2021년 2상 IND 승인 2022 상반기 2상 예정	Anti-PD1과 병용투 여 Merck, Pfizer, LG 화학과의 파트너십
		SB-121	자폐증(ASD)	-	전임상 완료 1상 진행 중	SB Biosciences와 파트너십
		GEN-004	난임	-	전임상 진행 중	-
		GEN-501	항암, 발진	-	전임상 진행 중	적응증 확장 계획
(주)셀바이오텍	치료제	PP-P8	대장암	-	임상 1상 IND	유산균 유래 항암 단백질
CJ바이오 사이언스(주) (천랩 인수)	치료제	CJRB-101	항암제	-	-	-
		CLP-105	염증성 장질환	-	-	-
		CLCC1	장 질환, 간 질환 면역항암제 및 병용 치료제	-	전임상 데이터 확보	-
		-	신경질환(자폐 스펙트럼 장애 및 치매)	-	물질 탐색	-
	진단	TRUEBAC ID	전장 유전체 기반 세균 감염진단 솔루션	-		-
(주)리비움 (메디톡스 자회사)	치료제	LIV001	급성 및 만성 장염	-	(동물모델) 염증 억제 및 면역 반응 안정화 등 효능 검증완료	Luina Bio & Quay Pharma와 CDMO 계약 체결-임상용 의약품 생산
(주)종근당 바이오	치료제 및 건강기능 식품	PSI-401 엑소좀	염증성 장질환	-	2022 1분기 1상 IND 예정	(주)프로스테믹스와 CDMO 계약 체결 (2022.01)

(출처: 세계김치연구소 분석 보고서, 2022)



2.4. 프로바이오틱스 소재화 기술 현황

2.4.1. 프로바이오틱스의 산업적 생산

- 상용화하기 위해서는 경제적인 균체의 생산을 위한 제조공정 개발연구가 수반되어야 함. 생산 공정은 활성화 및 전배양, 본 배양, 회수, 동결건조, 분쇄를 통한 원말화로 나누어질 수 있으며 각 공정마다 다양한 변수들이 존재하므로 이에 대한 최적 조건의 설정이 필요함.

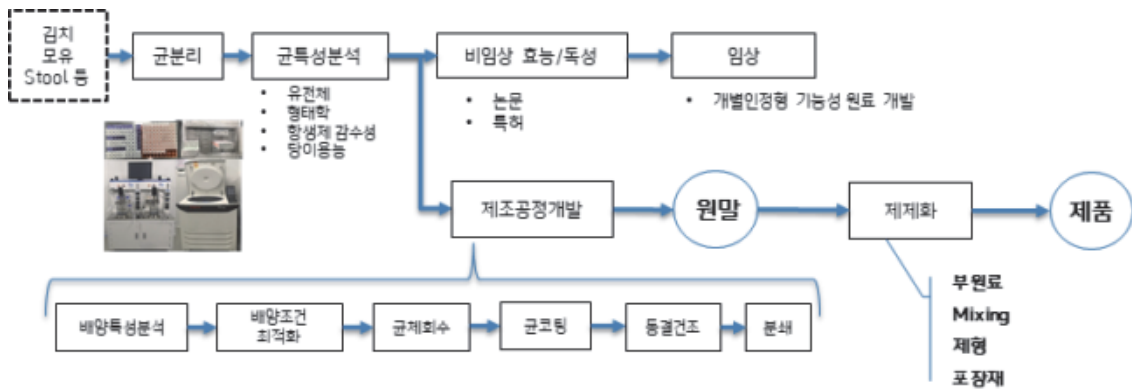


그림 13. 프로바이오틱스의 제품화 과정

2.4.2. 프로바이오틱스의 배양조건 최적화

2.4.2.1. 프로바이오틱스의 배양 개요

- 균주의 대량생산을 위해서는 먼저 각 균주에 적합하도록 배지의 조건을 확립하는 것이 우선 되어야 함.
- 각 균주마다 필요한 영양요구성이나 생육 특성이 다양하기 때문에 각 균주에 대한 탄소원, 질소원, 미량원소 등의 종류와 농도에 대한 최적화가 되어야 하며, 특히 비피더스균의 경우는 절대 혐기성 균으로 배양 및 회수 공정에서 혐기적인 상태의 유지를 위한 조치가 반드시 필요함.

2.4.2.2. 프로바이오틱스의 배지 성분

- 생산에 있어서 배지가 단가에 차지하는 비중이 크므로 낮은 비용의 배양 원료 사용이 상업화를 위한 원가 측면에서 고려되어야 할 사항임.
- 일반적으로 사용되는 배지로 탄소원은 포도당, 유당, 설탕 등이 사용되며, 질소원으로는 대두단백질, skim milk, 효모추출물 등이 사용되고 있음.
- 미생물 배양의 최적조건을 설정할 때는 하나의 요인을 여러 수준으로 놓고 이외 요인들을 고정시켜 실험하는 방법을 사용하나, 이러한 방법으로 설정된 조건으로는 최대반응치를 찾을 수 없음. 따라서 이를 개선하기 위한 방법으로 반응표면방법론이 사용되고 있으며, 이는 두 개 이상의 회귀 변수가 복합적으로 반응변수에 영향을 미칠 때 이 반응변수가 이루는 표면에 대한 통계적 분석을 하고 이에 관련된 설계를 하는 방법임.

- 이에 대한 예로 배지 성분들 중에 영향이 큰 성분으로 포도당과 황산 마그네슘을 확인하였고, 이들의 상관관계에 따라 최적 농도를 조사하였음.

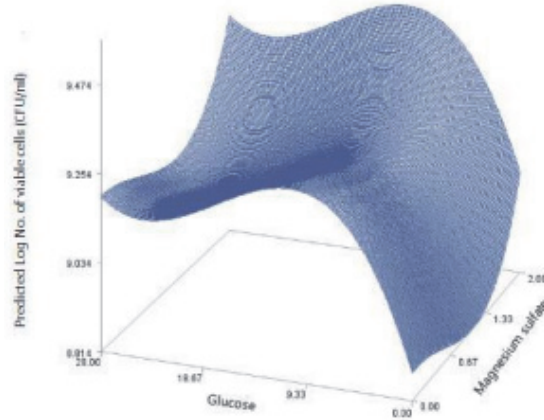


그림 14. 포도당과 황산 마그네슘의 농도에 따른 반응표면 방법

(출처: 유희섭, 2017)

2.4.2.3. 프로바이오틱스의 배양 조건

- 앞서 말한 바와 같이 배양 성분 등이 설정되며, 배양 방법의 선택이 필요함. 유산균 배양 방법의 예로는 회분식(batch) 배양과 연속식(continuous) 배양으로 나누어지며, 일반적으로 산업에서는 회분식 배양법이 많이 사용되고 있음. 각 균주마다 필요한 영양요구성이나 생육특성이 다양하기 때문에 각 균주에 대한 탄소원, 질소원, 미량원소 등의 종류와 농도에 대한 최적화가 되어야 하며, 특히 비피더스균의 경우는 절대 혐기성 균으로 배양 및 회수공정에서 혐기적인 상태의 유지를 위한 조치가 반드시 필요함.

표 10. 배양방법에 따른 용도 및 특징

배양방법	용도	특징
회분식	- 기질(substrate) 1회 투입 - 일정시간 후 배양완료	- 대부분 미생물 배양 사용 - 1회성 생산
회분 유가식	- 기질을 연속적으로 투입 - 생성물(product)의 제거 없이 일정 시간 동안 배양	- 효소배양 등, 생성물의 농도를 높이는 배양 - 균체의 생육은 원할치 못함
연속식	- 기질을 연속적으로 투입 - 생성물을 연속적으로 제거	- 다량의 생성물을 얻을 수 있음 - 생성물에 의한 inhibition 해소

(출처: (주)에이엠바이오 보건신기술인증 예정기술 제안서)

- 유산균은 기본적으로 유기산을 생성하며 자신이 생산한 유기산에 의해 균체가 사멸되는 현상이 발생하여 배양 중에 적절하게 pH를 조절하는 조건의 설정이 필요함.

2.4.3. 프로바이오틱스의 캡슐화

2.4.3.1. 프로바이오틱스의 캡슐화

- 배양이 완료된 프로바이오틱스 균체를 회수하여 분말화한 후 보관하거나 경구로 섭취되며 원하지 않는 외부 환경에 접하게 될 수 있음. 보관의 경우 외부의 온도, 습도 등에 영향을 받을 수 있으며, 섭취 시 입에서는 pH 6~7, 위에서는 pH 1~3, 소장 및 대장에서는 pH 6~7을 형성하고 있음. 이와 같이 위에서의 낮은 pH와 소장에서의 높은 농도의 담즙산 때문에 프로바이오틱스가 살아있는 상태로 대장까지 도달하는 데에 어려움이 있으므로 이를 개선하기 위해 적당한 보호가 필요함.
- 프로바이오틱스의 식품으로서 최소한 10⁶ CFU/g이 되어야 하고 제품화를 위해서 안정성이 중요한 요소임. 이 안정성에 대해서 위장관을 통과하는 동안 생존이 유지되어야 하며, 프로바이오틱스는 제조과정, 보관, 소화 등으로부터 보호가 필요함. 이를 위한 방법으로 프로바이오틱스를 캡슐화 하는 방법이 있으며 이에 대한 시장은 2020년부터 2025년까지 매년 7.5%의 성장률을 기록할 것이며 2025년 시장은 141억 달러로 예측됨.
- 이에 따라 FAO와 WHO에서 제시하는 프로바이오틱스의 평가에 대한 가이드라인이 있음.
- 이를 위해 아래와 같은 고려될 필요사항이 있음.
 - 프로바이오틱스의 안정성: 캡슐화된 프로바이오틱스의 개선된 생존력
 - 프로바이오틱스의 기능성: 위산, 담즙산, 소화효소, 기능성 있는 병원균에 대한 항균성, mucus의 부착, 군집화, 다른 특성 등이 캡슐화 이후에도 가지고 있어야 함.
 - Safety와 Efficiency: 프로바이오틱스는 오염, 독성, 효능의 지연이 되어서는 안됨.
 - Targeting ability: 장내 미생물과 인체 건강에 유익해야 함.

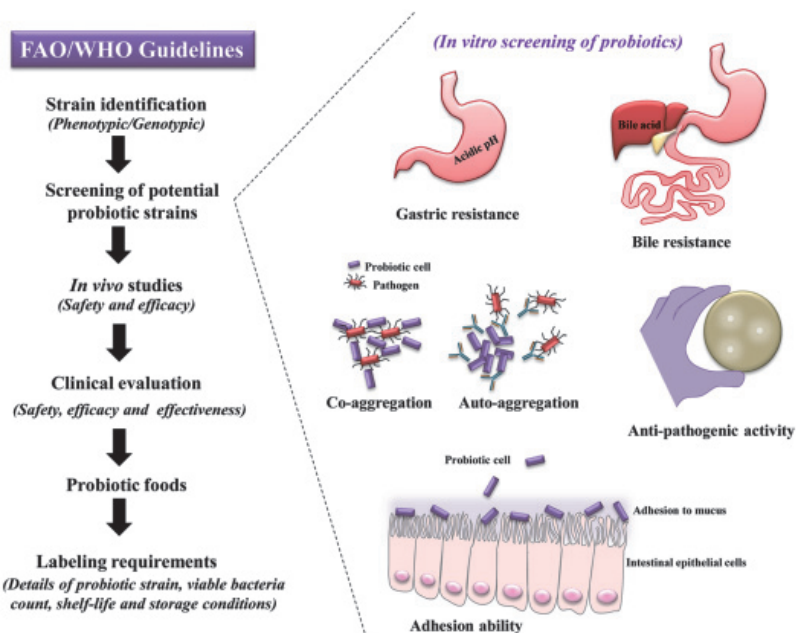


그림 15. 프로바이오틱스의 기능성과 안전성과 관련된 스크리닝

(출처: FAO/WHO guidelines)

- 캡슐화에 사용되는 물질로 전통적으로 식이섬유, 다당류, 단백질, 합성 중합체 등이 있으며, 이렇게 해서 제조된 것은 기능성, 필름 형성능, 안정성, 가용성, 소화능, 해리능 등의 성질이 고려되어야 함. 원하는 성질을 유도하기 위해서 wall materials, emulsifier, filing agent 등이 사용되기도 함.
- 캡슐화된 프로바이오틱스를 건조하는 방법으로 분무 건조, 동결 건조, extrusion, emulsion, 분무 동결 건조, refractance window drying, electrohydrodynamic process가 있음.

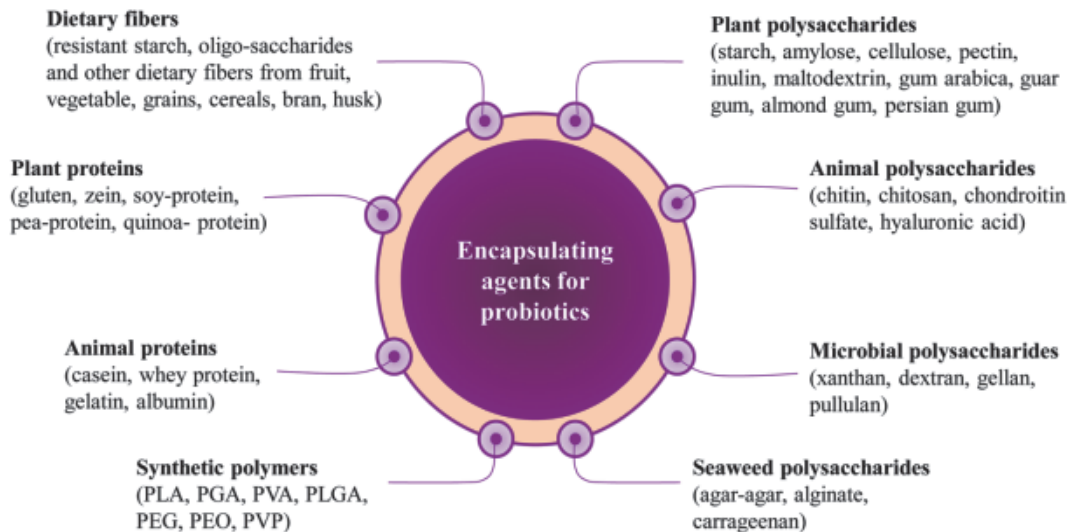


그림 16. 프로바이오틱스 캡슐화에 사용되는 다양한 소재

(출처: Yoha 등, 2022)

2.4.3.2. 프로바이오틱스의 캡슐화에 사용되는 기술

- 분무 건조 방식은 bulk density, flowability, 일정한 구형, size distribution과 같은 원하는 분말 성질을 가진 probiotics powder를 제조하는 방법이며, 이 기술의 장점은 높은 생산성, 낮은 제조 비용, scale-up 하기에 용이한 장점이 있지만, 높은 온도를 사용하기 때문에 내열성이 있어야 하는 조건이 있음.
- 동결 건조는 프로바이오틱스에 있어서 매우 효과적인 방법이며 널리 사용되고 있음. 이것은 1차 건조와 2차 건조의 2단계에 의해 이루어지고 있으며, 이것은 진행할 때 고려해야 하는 요소로 건조하려고 하는 초기량, 동결 온도, 동결 비율이 초기 단계에서는 중요함.
 - 장점으로 높은 다공성 구조와 용해도를 나타내며, 온도에 민감한 경우 사용됨.
 - 단점으로 긴 건조시간, 높은 에너지 소모로 인한 높은 비용, 상업적 규모의 사용에 다소 어려운 점이 있으며, 제조된 분말의 경우도 불규칙적 모양을 나타내며 큰 크기의 입자를 나타내게 됨.
- Extrusion technique은 수행하기 쉽고, 비용에 효과적이며 균체의 생존능을 높일 수 있음. 이 방법은 노즐을 통과할 때 get bead에 의해 캡슐화 되어 dropping 및 spraying 되어 건조되는 것임.



- Emulsion technique은 유화제를 첨가함으로써 연속적 혹은 비연속적인 상태에서 water-in-oil의 형태로 용액이 제조되게 된다. 이것은 높은 shear process에서도 높은 생존능을 얻을 수 있는 장점이 있음.
- 분무 동결 건조는 분무 건조와 동결 건조의 장점을 결합시킨 방법임. 이것은 3단계로 atomization, freezing, freeze-drying으로 순서로 진행됨. 그러나 이 방법은 시간, 비용, 에너지 소모가 많은 방법임.
- Refractance window drying은 hot water에 식품용 폴리에스테르 필름에 혼합된 이후 건조되는 방식임. 이 방법은 건조 비율 및 시간이 낮아지는 장점이 있음.
- Electrohydrodynamic process는 electrospinning(fiber form 안에 polymeric materials을 만듦)과 electrospraying(powder 제조)로 구성됨. 이 방법은 열을 사용하지 않고 진행이 가능하며, 높은 수율과 재 생산성을 갖지만, 높은 전압 사용으로 균체에 damage를 줄 수 있으며, scale-up이 어려움.
- 캡슐화 방법에 대한 구조는 그림 17에 나와 있음.

Spray drying	Freeze drying	Exclusion	
Emulsion	Spray-freeze drying	Refractance window drying	Electrohydrodynamic processes

그림 17. 동결건조방법에 따른 캡슐화 구조

(출처: Yoha 등, 2022)



2.5. 프로바이오틱스 마이크로바이옴 연구 현황

- ‘마이크로바이옴’은 사람, 동·식물, 자연 환경에 서식하는 미생물군집(microbiota)과 유전체(genomes) 및 주위 환경 요소를 포함하는 서식지 전체(entire habitat)를 포괄하는 의미로서 2001년 Lederberg와 McCray이 ‘마이크로바이옴’이라는 용어를 제시하였음.
- 마이크로바이옴은 인간, 동물, 식물 및 토양 등의 모든 환경에서 서식하는 마이크로바이오타(microbiota)와 그 유전정보 전체를 포함하는 미생물군집으로 기존의 개별 미생물 분석에서 진보된 미생물 간의 상호작용을 유전체학에 기반한 연구 및 기술을 의미하며, 인간의 체내에 존재하는 마이크로바이옴은 인체를 구성하는 세포의 숫자보다 10배 이상의 미생물이 우리의 몸에 거주하고 있으며 그 종류도 5,000여 종이 넘는다고 알려져 있음.

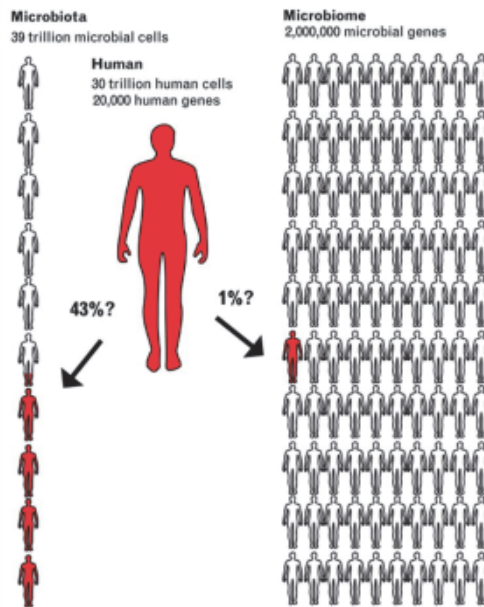


그림 18. 인체에 존재하는 휴먼세포와 마이크로바이오타 및 마이크로바이옴의 비교

(출처: Wischmeyer 등, 2016)

- 이들 중 많은 수의 미생물들이 위장관에서 존재하는 것으로 보고되며, 이들은 위장관에서 발생하는 면역반응이나 질환뿐만 아니라 최근 연구되고 있는 장-간 축(gut-liver axis), 장-뇌 축(gut-brain axis), 장-폐 축(gut-lung axis)과 관련한 연구가 진행되고 있으며, 인체 대부분의 장기에서 발생하는 질환에도 영향을 주고 받는 것이 잘 알려져 있음. 인체 여러 부위 중에서 장내에는 가장 많은 숫자의 미생물들이 높은 다양성을 가지고 있으며 경우에 따라서는 장내 마이크로바이옴을 인체 마이크로바이옴이라고 하기도 하며, 그 수와 다양성이 매우 커서 인간의 세컨드자놈이라고도 함. 장내 마이크로바이옴은 장 질환뿐만 아니라 피부 질환, 비만, 당뇨병, 그리고 최근에는 우울증, 인지 개선, 노화 등 다양한 질병과 관련하여 인간 건강에 큰 영향을 나타내는 것으로 보고되고 있음.

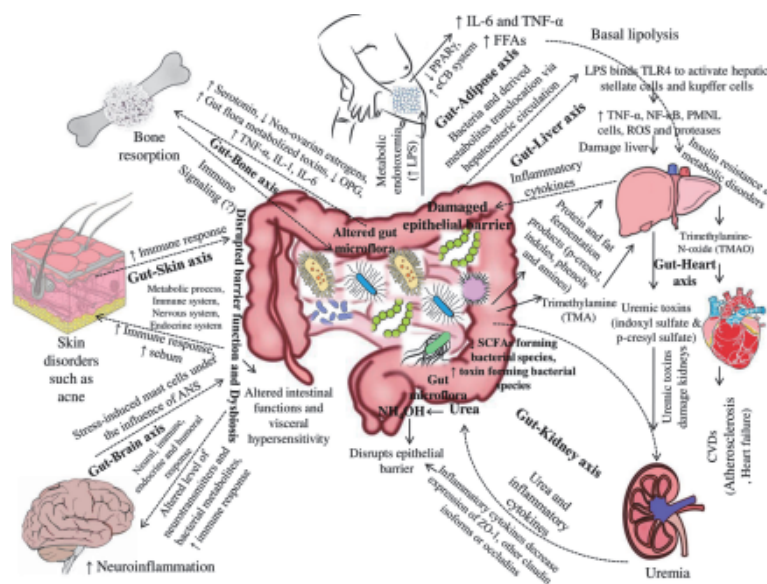


그림 19. 장과 각 기관 간의 통신 네트워크

(출처: Ahlawt 등, 2021)

- 마이크로바이옴 연구는 차세대 염기서열 분석(Next Generation Sequencing, NGS) 기술과 메타지노믹스 (metagenomics) 기술 개발로 크게 가속화되었으며 이미 마이크로바이옴 산업을 선점하기 위한 글로벌 경쟁이 진행되고 있음. 마이크로바이옴 시퀀싱은 미생물 군집의 DNA 염기서열을 분석하는 것을 의미하며 차세대 염기서열 분석기법을 통해 메타지노믹스 연구가 가능함.
- 최근 장내 마이크로바이옴 연구는 미생물을 분리 배양해서 파악하는 것이 아닌 유전자 수준에서 미생물 군집을 분석할 수 있게 되면서 마이크로바이옴 치료에 대한 관심 증가, 국가적 차원의 연구 증가, 마이크로바이옴 연구에 대한 많은 자금 지원으로 인해 시퀀싱 시장이 성장하면서 인공지능, 빅데이터 기술의 발전으로 대규모 시퀀싱이 가능하게 되었고, 이를 활용해 미지의 영역이었던 마이크로바이옴에 대한 본격적 연구가 가능해졌음.
- 초기 마이크로바이옴 연구는 인체 마이크로바이옴 프로젝트에서와 같이 정상인의 신체 다양한 부위의 미생물 군집을 조사하는 마이크로바이옴 연구가 활발히 진행되었으며 Ley 등(2005)은 정상 마우스와 비만 마우스의 장내 마이크로바이옴을 비교하였을 때, 비만인 마우스에서는 후벽균(*Firmicutes*)의 비율이 높았으며 의간균류(*Bacteroidetes*)의 비율이 낮아지는 확연한 차이가 있고 이들의 대사에 장내 마이크로바이옴이 영향을 미칠 수 있다는 연구 결과가 보고되었음. 이를 계기로 장내 마이크로바이옴과 질환과의 관계의 연구들이 활발히 진행되었으며 장내 염증질환과 마이크로바이옴 간의 상관성을 밝히는데 많은 연구가 집중되었고 이는 현재까지도 가장 활발히 연구가 되고 있는 분야임.
- 프로바이오틱스는 염증성 장질환 환자에게 영양 및 유익한 면역 조절 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 지금까지 진행된 연구를 통해 염증성 장질환 환자에 대한 프로바이오틱스의 항염증 효과는 프로바이오틱스가 임상적 이점의 효과가 있음을 보여주었음. 이러한 프로바이오틱스의 건강 상의 이점에는 변비 예방, 항생제 관련 설사(ADD), 면역 체계 강화 등이 있으며 장내 미생물 군집은 영구적이지 않고 생활 습관, 식이 및 항생제



와 같은 다양한 요인에 의해 변경될 수 있기 때문에 프로바이오틱스는 다양한 장 질환을 치료 및 예방하는 데 사용될 수 있음.

표 11. 프로바이오틱스와 질환에 대한 임상시험 결과

질병	프로바이오틱스	내용
항생제관련설사병 (AAD)	<i>L. acidophilus</i> <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>S. thermophilus</i>	성인을 대상으로 한 임상 시험으로 12일 동안 바이오 요거트(n=131), 시판 요거트(N=118), 플라시보(N=120)의 3가지 다른 그룹으로 복용한 결과 AAD를 앓고 있는 참가자의 비율은 각각 6.9%(바이오 요거트), 11.0%(시판 요거트) 및 14.2%(플라시보)로 확인함.
	<i>L. acidophilus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>S. thermophilus</i>	202명의 노인이 8일 동안 임상 시험(요거트 그룹 105명 및 대조군 97명)을 진행한 결과 AAD를 앓고 있는 참가자의 비율은 요거트 그룹에서 12.4%, 대조군에서 23.7%를 확인함.
	<i>L. rhamnosus</i> GG (LGG)	188명의 어린이가 10일 간의 임상 시험에 참여하였으며 대조군(N=95)에서는 25명이 질병이 있었고 LGG를 섭취한 그룹에서는 7명의 어린이 만이 AAD로 고통을 받음.
염증성 장질환 (IBD)	<i>L. acidophilus</i> La-5 <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12	IBD 환자 176명(프로바이오틱스 요거트군 86명, 위약군 90명)과 프로바이오틱스 요거트를 섭취한 대조군 84명을 대상으로 8주간 임상시험에 진행한 결과에 따르면 위약군(B, -4.3%; L, 3.3%)에 비해 프로바이오틱스 요거트군(B, 43.8%, L, 36.1%)과 대조군(B, 11.0%, L, 16.2%)에서 비피도박테리움(B) 및 락토바실러스(L)의 수가 증가함.
	<i>B. longum</i> with fructooligosaccharide/inulin mixture for synbiotics	16명의 IBD 환자를 4주 동안 Synbiotic 그룹(n=8)과 placebo그룹(n=8)을 진행한 결과 염증성 사이토카인(TNF- α 및 IL-1 α)의 mRNA 수준이 유의하게 감소하였으며 염증이 감소가 확인됨.
크론병 (CD)	VSL#3 (<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>S. thermophilus</i>)	119명의 크론병 환자는 VSL# 그룹(N=59) 및 위약 그룹(N=60)으로 1년 동안 진행하였으며 VSL#3 그룹은 screening phase (Day 0), a double-blind treatment phase (Day 1-90) 및 open-label treatment phase (Day 91-365)의 세 가지 하위 그룹으로 나뉨. 후기 VSL#3 그룹(open-label treatment phase, 91-365일)은 42.1%의 중증 재발을 보인 반면, 초기 VSL#3 그룹(1-365일)은 20.5%의 중증 재발을 보임.
대장암 (CRC)	<i>L. paracasei</i> <i>Leu. mesenteroides</i> <i>L. plantarum</i> <i>P. pentosaceus</i> with prebiotics	54명의 CRC 환자는 수술 전 3일 동안 A 그룹(신바이오틱스), B(프리바이오틱스) 및 C(장 준비 위약) 그룹으로 섭취한 결과 <i>L. paracasei</i> 가 B군(2.5배) 및 C군에 비해 A군(53.8배)에서 가장 많이 검출됨.
	<i>B. longum</i> <i>L. acidophilus</i> <i>E. faecalis</i>	60명의 CRC 환자를 프로바이오틱스 그룹(N=30) 및 위약 그룹(N=30)으로 12일 동안 섭취한 결과 설사 발생률은 위약군(53.33%)보다 프로바이오틱스군(26.67%)에서 낮은 결과를 확인함.

(출처: Kim 등, 2019)

- 2019년 중국 우한에서 발생한 코로나바이러스감염증-19(COVID-19)로 인해 바이러스 팬데믹이 일어났으며 2022년 6월까지 전 세계적으로 530만명 이상의 확진환자가 발생하였으며 한국도 18만명이 넘는 확진환자가 발생하였음. COVID-19가 감염되면 호흡기뿐만 아니라 소화기인 위장관에서도 해당 바이러스가 검출된다고 알려져 있으며 분변에서 바이러스의 RNA가 검출되며, 병증 해소되어도 90일 이상 COVID-19 바이

러스의 RNA가 검출되기 때문에 COVID-19의 감염으로 위장관에도 상당기간 영향을 받음. 일반적으로 장내 미생물의 종 다양성이 높을수록 유해균의 성장 억제로 인해 장내 미생물군집에서 유해균의 비율이 낮아지는데 COVID-19 환자의 장환경에서는 종 다양성이 낮아지면서 유해균의 비율이 높아지고 유익균의 비율이 낮아지는 결과를 알 수 있었음.



3 프로바이오틱스 품질 및 안전성 평가 기술 동향

3.1. 프로바이오틱스 생화학 및 분자생물학적 안전성 평가

3.1.1. 개요

- 글로벌 프로바이오틱스 시장은 2021년 630억 달러에서 2033년 1,300억 달러를 넘길 것으로 예상되어 연평균 8.7% 성장을 이룰 것으로 기대함. 국내 프로바이오틱스 시장은 2020년 8,856억 원 규모로, 2018년 5,000억 원을 돌파한 이후 해마다 급성장하고 있으며, 전체 건강기능식품 원료 가운데 2위를 차지하고 있음. 이와 같이 전 세계적으로 프로바이오틱스 시장이 급격히 확대됨에 따라 프로바이오틱스 제품의 안전성에 대한 관심도 증가하고 있음.
- 프로바이오틱스의 안전성 문제에 관한 사례를 보면, 해외의 경우 2006년 스웨덴에서 50대 여성이 *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG(LGG) 균주를 매일 다량으로 섭취하여 패혈증으로 사망하였으며, 네덜란드에서는 *Lactocaseibacillus casei* 균주에 대한 임상실험 과정에서 24명의 사망자가 발생되었다고 보고된 바 있음.
- 국내의 경우에도 식품의약품안전처 건강기능식품 이상사례 중 프로바이오틱스에 의한 이상사례로 접수된 사례가 2015년까지 407건, 2016년 154건, 2017년 177건, 2018년 141건, 2019년 179건, 2020년 169건, 2021년 127건, 2022년 4월 현재 43건 등 매년 100여건 씩 보고되고 있음.
- 식품의약품안전처에서는 식중독 등 장 건강에 이상이 있거나, 면역력이 약한 유아, 임산부, 고령층은 설사, 복통 등의 이상사례가 발생할 수 있음을 주의를 주고 있으며, 섭취 후에 설사, 불편감, 발진 등 이상 증상 발생 시 섭취를 중단하거나 빈도를 줄이도록 권고하고 있음.

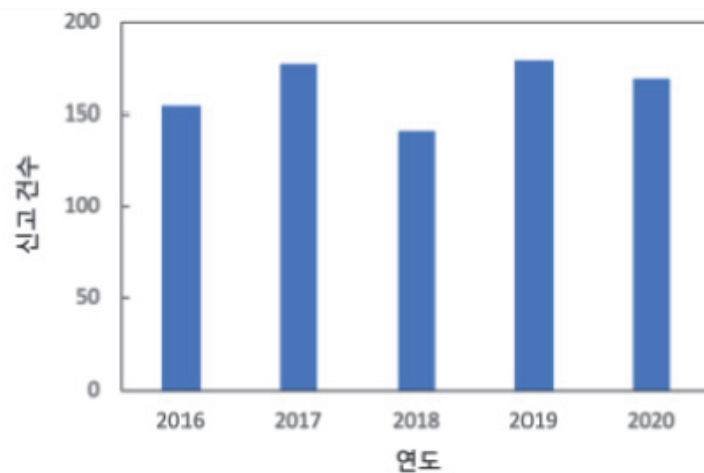


그림 20. 프로바이오틱스 건강기능식품 이상사례 신고 현황

(출처: 식품의약품안전처, 2022)



3.1.2. 국가 별 프로바이오틱스 안전성 평가 및 관리 시스템

- 국내·외에서 프로바이오틱스 섭취에 따른 안전성 문제가 주요시됨에 따라 각 나라에서는 안전성 평가 시스템 과 관리 기준을 마련하여 운영하고 있음.

3.1.2.1. FAO/WHO

- FAO/WHO는 2002년 식품에서의 프로바이오틱스 평가 가이드라인을 마련하여 프로바이오틱스 균주 동정, 기능성 및 안전성 평가 방법 및 인정 후 표시사항까지 프로바이오틱스 평가 전반에 대한 실시 방법을 제시하고 있음.

3.1.2.2. 미국

- 미국의 경우 프로바이오틱스는 용도에 따라 제품을 Foods, Dietary supplements, Drugs로 구분하여 관리함. 미생물을 식품첨가물로 사용하기 위해서는 Food and Drug Administration(FDA)의 사전 승인을 받아야 하지만, 전문가들의 과학적인 안전성 평가에 의해 Generally Recognized as Safe(GRAS)로 인정될 수 있음.

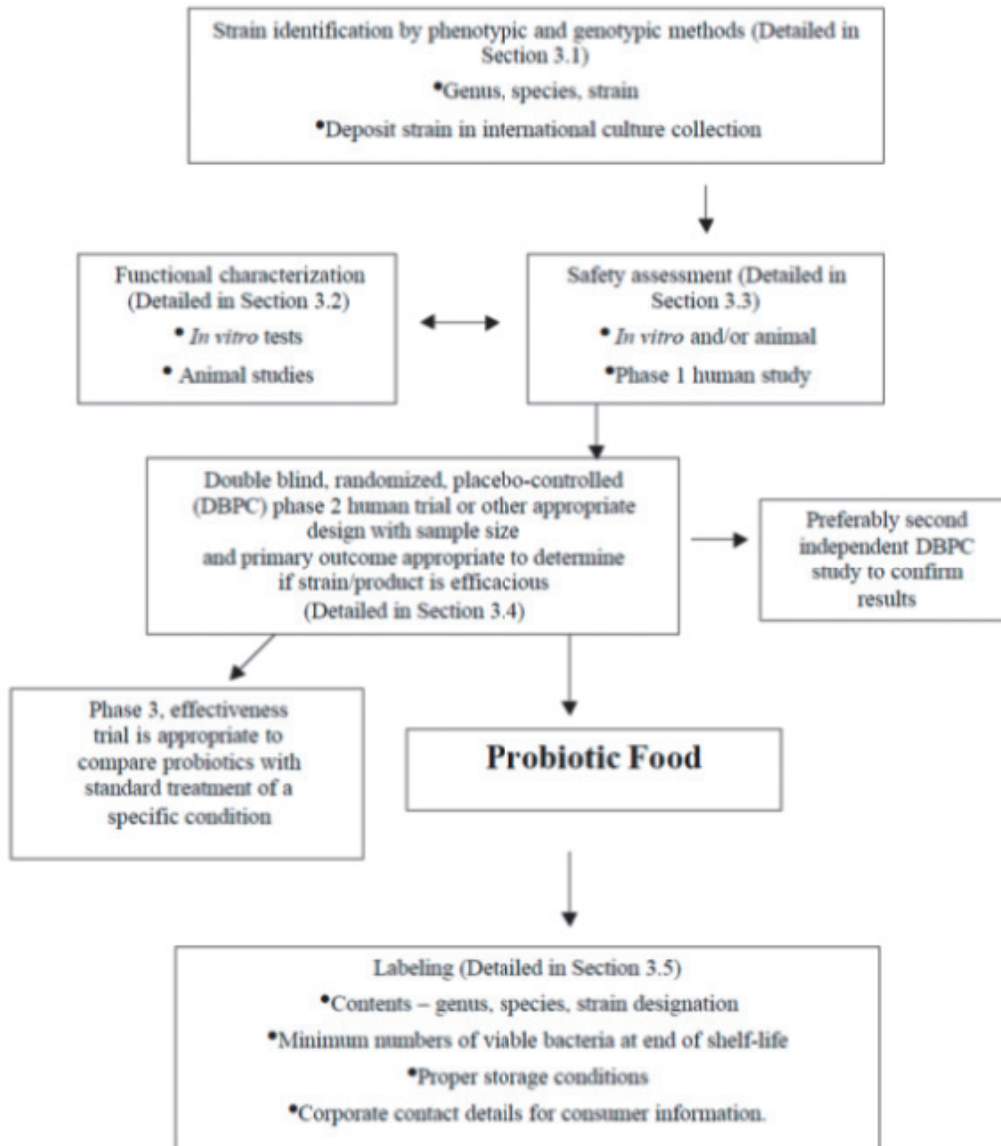


그림 21. 식품에 사용되는 프로바이오틱스의 평가 가이드라인

(출처: FAO/WHO, 2002)

○ 2022년 6월 현재 GRAS로 등록된 균주는 표 12와 같음.

표 12. GRAS 등재 미생물

GRN No.	균주명
49	<i>Bifidobacterium lactis</i> strain Bb12 and <i>Streptococcus thermophilus</i> Th4
120	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ML01 carrying a gene encoding the malolactic enzyme from <i>Oenococcus oeni</i> and a gene encoding malate permease from <i>Schizosaccharomyces pombe</i>
159	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> CB1
171	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i>
175	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain ECMo01 with enhanced expression of urea amidolyase



GRN No.	균주명
231	<i>Lacticaseibacillus casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> strain GG
254	<i>Limosilactobacillus reuteri</i> DSM 17938
268	<i>Bifidobacterium longum</i> BB536
281	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> HN001 produced in a milk-based medium
288	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> HN001
305	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> CB1 (viable and heat-treated)
324	Heat-killed <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
350	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strain P1Y0, a variant of <i>S. cerevisiae</i> parent strain UCD2034
357	<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM
377	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> strain Bf-6
399	Preparation of <i>Bacillus coagulans</i> GBI-30, 6086 spores
409	<i>Limosilactobacillus reuteri</i> NCIMB 30242
410	<i>Limosilactobacillus reuteri</i> DSM 17938
422	Modified baker's yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
429	<i>Lacticaseibacillus casei</i> Shirota
440	<i>Limosilactobacillus reuteri</i> NCIMB 30242
445	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> HN019, Bi-07, BI-04 and B420
453	<i>Bifidobacterium breve</i> M-16V
454	<i>Bifidobacterium breve</i> M-16V
455	<i>Bifidobacterium breve</i> M-16V
457	<i>Bacteroides xylanisolvens</i> DSM 23964
463	<i>Lactobacillus acidophilus</i> NP28, <i>Lactobacillus acidophilus</i> NP51, <i>Lactobacillus</i> subsp. <i>lactis</i> NP7, <i>Pediococcus acidilactici</i> NP3
502	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-14
526	<i>Bacillus coagulans</i> Unique IS2 spores preparation
531	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> CECT5716
591	<i>Streptococcus salivarius</i> K12
597	<i>Bacillus coagulans</i> SNZ1969 spore preparation
601	<i>Bacillus coagulans</i> SBC37-01 spore preparation
604	Baker's Yeast (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) expressing asparaginase II
685	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 299v
722	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> Lp-115
736	<i>Lacticaseibacillus casei</i> subsp. <i>paracasei</i> Lpc-37
758	<i>Lactobacillus helveticus</i> R0052, <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> R0033, <i>Bifidobacterium bifidum</i> R0071
760	<i>Latilactobacillus curvatus</i> DSM 18775
807	<i>Streptococcus salivarius</i> M18
810	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> F-19e
811	<i>Bifidobacterium longum</i> BORI
814	<i>Bifidobacterium bifidum</i> BGN4
820	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> CECT5716
840	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> strain F19



GRN No.	균주명
845	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> LGG
847	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ECGC 13110402
855	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> R0421
856	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12
871	<i>Lactobacillus acidophilus</i> DDS-1
872	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> UABla-12
875	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> AD011
877	<i>Bifidobacterium longum</i> BB536
946	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> DSM 33452
950	<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> DSM 33361
952	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> strain AD011
953	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain CECT 7527, <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain CECT 7528, <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain CECT 7529

3.1.2.3. 유럽

- European Food Safety Authority(EFSA)에서는 Scientific Committee on Animal Nutrition(SCAN), Scientific Committee on Food(SCF), Scientific Committee on Plants(SCP)가 2003년에 발표한 식품 및 사료에 사용되는 미생물의 안전성 평가에 대한 보고서에서 제안한 QPS(Qualified Presumption of Safety) 시스템을 도입하여 전문가가 해당 미생물의 안전성을 평가한 후 사용하도록 하고 있음.
- 2022년 1월 현재 109종의 미생물이 QPS에 등록되어 있음.

표 13. QPS 등재 미생물

Group	Genus	Species
Bacteria	<i>Fructilactobacillus</i>	<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>
Bacteria	<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
Bacteria	<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
Bacteria	<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
Bacteria	<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i>
Bacteria	<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
Bacteria	<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus amylolyticus</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus amylovorus</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus gallinarum</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>



Group	Genus	Species
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
Bacteria	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>
Bacteria	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
Bacteria	<i>Latilactobacillus</i>	<i>Latilactobacillus curvatus</i>
Bacteria	<i>Latilactobacillus</i>	<i>Latilactobacillus sakei</i>
Bacteria	<i>Lentilactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
Bacteria	<i>Lentilactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus diolivorans</i>
Bacteria	<i>Lentilactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus hilgardii</i>
Bacteria	<i>Lentilactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus kefir</i>
Bacteria	<i>Lentilactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus parafarraginis</i>
Bacteria	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc citreum</i>
Bacteria	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>
Bacteria	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Bacteria	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
Bacteria	<i>Levilactobacillus</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
Bacteria	<i>Ligilactobacillus</i>	<i>Ligilactobacillus animalis</i>
Bacteria	<i>Ligilactobacillus</i>	<i>Ligilactobacillus aviarius</i>
Bacteria	<i>Ligilactobacillus</i>	<i>Ligilactobacillus salivarius</i>
Bacteria	<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
Bacteria	<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus mucosae</i>
Bacteria	<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus panis</i>
Bacteria	<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus pontis</i>
Bacteria	<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
Bacteria	<i>Loigolactobacillus</i>	<i>Loigolactobacillus coryniformis</i>
Bacteria	<i>Lopidilactobacillus</i>	<i>Lopidilactobacillus dextrinicus</i>
Bacteria	<i>Microbacterium</i>	<i>Microbacterium imperiale</i>
Bacteria	<i>Oenococcus</i>	<i>Oenococcus oeni</i>
Bacteria	<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Bacteria	<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus parvulus</i>
Bacteria	<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
Bacteria	<i>Propionibacterium</i>	<i>Propionibacterium acidipropionici</i>
Bacteria	<i>Propionibacterium</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
Bacteria	<i>Secundilactobacillus</i>	<i>Secundilactobacillus collinoides</i>
Bacteria	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Bacteria	<i>Alkalihalobacillus</i>	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus atrophaeus</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus mojavensis</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus paralicheniformis</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus pumilus</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus smithii</i>



Group	Genus	Species
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus vallismortis</i>
Bacteria	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus velezensis</i>
Bacteria	<i>Geobacillus</i>	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>
Bacteria	<i>Lederbergia</i>	<i>Lederbergia lentus</i>
Bacteria	<i>Lysinibacillus</i>	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>
Bacteria	<i>Niallia</i>	<i>Niallia circulans</i>
Bacteria	<i>Paenibacillus</i>	<i>Paenibacillus illinoisensis</i>
Bacteria	<i>Parageobacillus</i>	<i>Parageobacillus thermoglucosidasius</i>
Bacteria	<i>Pasteuria</i>	<i>Pasteuria nishizawae</i>
Bacteria	<i>Priestia</i>	<i>Priestia flexa</i>
Bacteria	<i>Priestia</i>	<i>Priestia megaterium</i>
Bacteria	<i>Weizmannia</i>	<i>Weizmannia coagulans</i>
Protists/ Algae	<i>Tetraselmis</i>	<i>Tetraselmis chuii</i>
Protists/ Algae	<i>Euglena</i>	<i>Euglena gracilis</i>
Protists/ Algae	<i>Haematococcus</i>	<i>Haematococcus lacustris</i>
Protists/ Algae	<i>Aurantiochytrium</i>	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>
Viruses	(Family) <i>Baculoviridae</i>	
Viruses	(Family) <i>Alphaflexiviridae</i>	
Viruses	(Family) <i>Potyviridae</i>	
Yeasts	<i>Candida</i>	<i>Limtongozyma cylindracea</i>
Yeasts	<i>Cyberlindnera</i>	<i>Cyberlindnera jadinii</i>
Yeasts	<i>Debaryomyces</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
Yeasts	<i>Hanseniaspora</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
Yeasts	<i>Kluyveromyces</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>
Yeasts	<i>Kluyveromyces</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
Yeasts	<i>Komagataella</i>	<i>Komagataella phaffii</i>
Yeasts	<i>Komagataella</i>	<i>Komagataella pastoris</i>
Yeasts	<i>Ogataea</i>	<i>Ogataea angusta</i>
Yeasts	<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces bayanus</i>
Yeasts	<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Yeasts	<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces pastorianus</i>
Yeasts	<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
Yeasts	<i>Wickerhamomyces</i>	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
Yeasts	<i>Xanthophyllomyces</i>	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>
Yeasts	<i>Yarrowia</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
Yeasts	<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>



3.1.2.4. 국내

- 국내에서는 프로바이오틱스는 건강기능식품과 의약품으로 분류되어 있음. 의약품으로 허가된 경우, ‘정상생 균제’라는 표기로 처방되고 있으며, 건강기능식품으로는 식품의약품안전처에서 제정 고시된 「건강기능식품의 기준 및 규격」에 따라 19종의 프로바이오틱스 균주를 고시하고 있음.

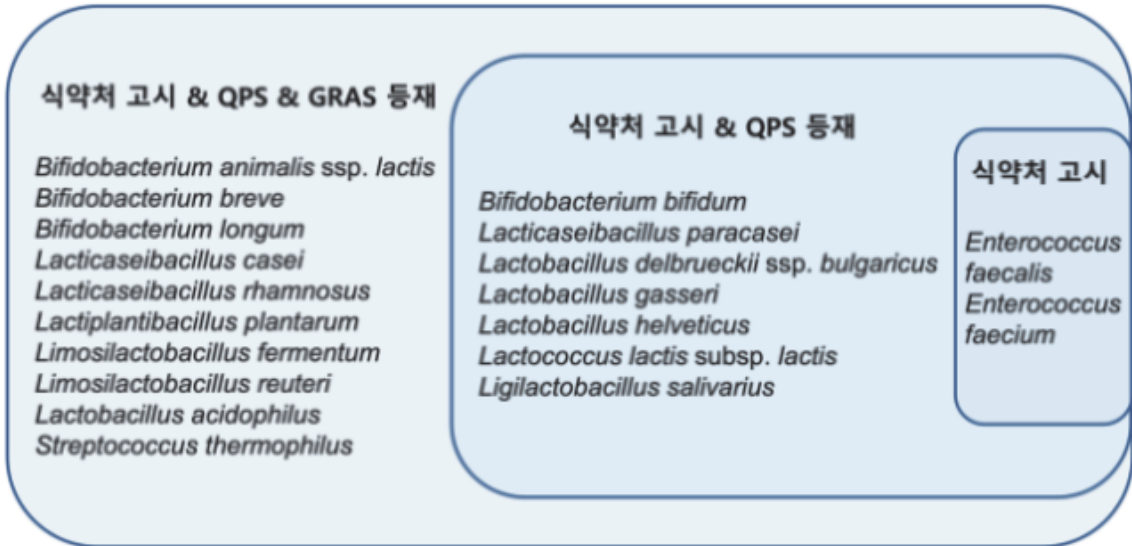


그림 22. 식품의약품안전처 고시 프로바이오틱스 균주 중 QPS와 GRAS 등재 균주

(출처: 농림식품기술기획평가원, 2021)

- 식품의약품안전처에서는 건강기능식품 원료로서의 프로바이오틱스 안전성 평가를 위하여 2021년 6월 ‘건강기능식품 기능성 원료 프로바이오틱스 안전성 평가가이드(민원인 안내서)’를 발간하였음.
- 이 가이드라인은 FAO/WHO가 제안한 식품에서의 프로바이오틱스 평가 가이드라인에 준하여 평가하도록 작성되었으며, 프로바이오틱스를 기능성 원료로 인정받고자 하는 경우 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정」 제14조(제출자료 내용 및 요건) 제7호 (안전성에 관한 자료)에 따른 자료(국내·외 인정·사용현황 등)를 제출하여야 함.
- 균주의 안전성 평가를 위해서는 공통자료로 균주의 전장유전체 염기서열과 분석자료, 기탁증 등 균주 특이성 확인 자료와 항생제 내성, 용혈활성, 독소생성 여부, 대사적 특성 자료 등을 제출해야 하고, 개별자료로서 균주의 고시여부 및 식경험 유무, 부작용 사례 등에 따라 독성 시험자료 등을 제출해야 함.

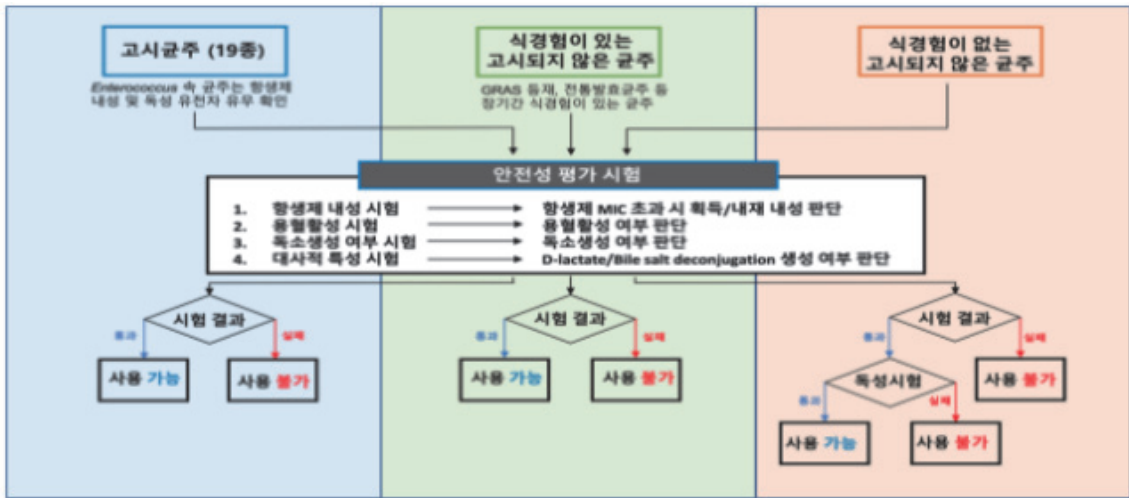


그림 23. 안전성 평가 판단 절차

(출처: 식품의약품안전평가원, 2021)

3.1.3. 안전성 평가 시험 방법

- 식품의약품안전처가 2021년에 발간한 ‘건강기능식품 기능성 원료 프로바이오틱스 안전성 평가가이드에 따른 안전성 평가 시험방법은 아래와 같은 생화학적 및 분자생물학적 방법을 사용함.

3.1.3.1. 항생제 내성

- 균주의 항생제 내성 판정은 3단계로 나뉘서 1단계는 MIC cut-off value에 따른 판정, 2단계는 획득 내성 또는 내재 내성 여부 판단, 3단계는 항생제 내성 획득 경로 확인으로 진행됨.

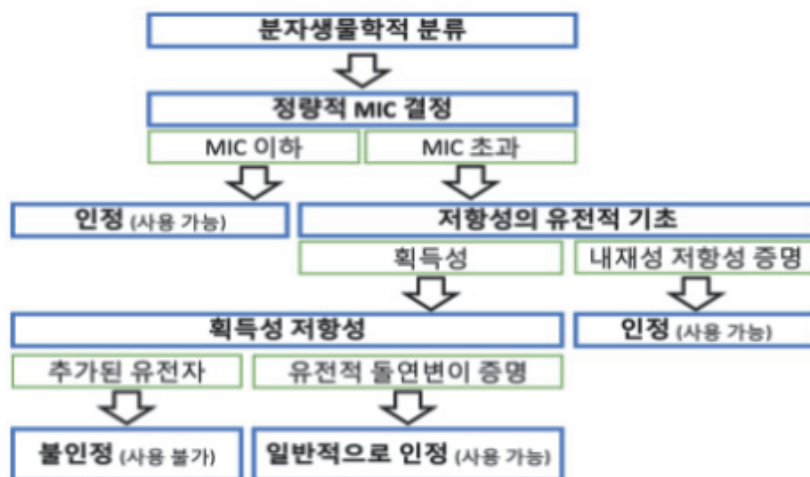


그림 24. 항생제 내성 확인 의사결정도

(출처: 식품의약품안전평가원, 2021)



- 균주의 항생제 내성은 ampicillin, vancomycin, gentamycin, kanamycin, streptomycin, erythromycin, clindamycin, tetracycline, chloramphenicol, tylosine 등 주요 항생제 10종을 대상으로 균주의 minimum inhibitory concentration(MIC)를 확인한 후 EFSA가 제시하는 균주 종류 별 MIC cut-off value의 초과 여부를 조사하며, 균주의 MIC는 strip 기반의 E-TEST법이 주로 사용되고 있음.
- 균주의 MIC가 cut-off value를 미달할 경우에는 사용이 가능하나 초과되는 경우에는 획득 내성 또는 내재 내성 여부를 판단해야 함.
- 균주가 항생제 내성 유전자를 보유하고 있는지 여부는 항생제 내성 유전자 특이적 primer를 이용하여 PCR 법으로 확인할 수도 있지만, ResFinder v.4.1 software나 Resistance Gene Identifier software(RGI v.5.2.0)를 이용하여 Comprehensive Antibiotic Resistance Database(CARD)로부터 확인이 가능함.
- 획득 내성 또는 내재 내성 여부는 일반적으로 균주의 전자유전체 염기서열을 생물정보학 기법을 이용하여 조사할 수 있으며, plasmid에 의한 conjugation은 PlasmidFinder 2.1 program, bacteriophage에 의한 transduction은 PHASTER program, transposon에 의한 transposition은 MobileElementFinder program을 각각 이용하여 획득 내성 여부를 판단함.

3.1.3.2. 용혈활성(hemolysis)

- 균주의 용혈활성은 TSA blood agar 배지를 이용하여 균주를 배양하여 colony를 생성시킨 후 colony 주위의 투명환을 판독하여 용혈반응의 종류를 확인하여 β -hemolysis가 나타나면 양성으로 판정하며, 이 경우 균주는 프로바이오틱스로 사용이 불가함.

3.1.3.3. 독소 생성 여부

- 균주의 독소 생성 여부는 Caco-2 세포주 또는 HT-29 세포주를 이용하여 LDH, MTT, CCK-8법 등을 이용하여 확인함.

3.1.3.4. 대사적 특성

- 인체에 영향을 줄 수 있는 대사체 중에서 산독증(acidosis)을 유발시킬 수 있는 D-lactate와 지방산 분해를 어렵게 하는 bile salt의 deconjugation에 의한 2차 대사산물을 확인함.
- D-lactate는 D-lactic acid/L-lactic acid assay kit를 이용하여 D-lactic acid의 생성량과 D-lactic acid/L-lactic acid의 생성비율을 분석할 수 있음.
- Bile acid는 간에서 콜레스테롤로부터 합성된 후 소장에서 세균이 생산하는 bile salt hydrolase에 의해 deconjugation된 다음 대장에서 세균이 생산하는 7 α -dehydroxylase에 의해 2차 bile acid로 전환됨.



- 2차 bile acid 생성 여부는 conjugated bile acid인 taurodeoxycholic acid를 첨가한 MRS agar 배지에 균주를 생육시켜 colony를 형성시킨 다음, 용해도가 낮은 unconjugated bile acid의 생성에 의한 침전물 형성 여부로 확인할 수 있음.

3.2. 프로바이오틱스 유전체 관련 연구 현황

3.2.1. 서론

- 유전체 염기서열 분석기술의 발전은 생명체를 연구하는 방식에 혁명적인 변화를 가져 왔음. 세균의 유전체 염기서열 분석이 1995년도에 시작된 이후, 2009년에는 1,000번째의 유전체 지도가 완성됨. 유산균의 경우, *Lactobacillus plantarum* (현재명 *Lactiplantibacillus plantarum*) WCFS1 균주의 유전체 서열이 최초로 발표되었으며, 현재까지 미국 국립생명공학정보센터(NCBI) 데이터베이스에는 일만 개 이상의 *Lactobacillaceae*과 유전체 정보가 저장되어 있음. DNA 시퀀싱 기술의 지속적인 혁신과 향상된 연산속도, 소프트웨어의 지속적인 개선 및 시퀀싱 비용 감소 등이 유전체 정보의 확보에 크게 기여해 왔음.
- 방대한 양의 유전체 정보로부터 생물학적 의미를 도출하기 위해 생물정보학 분야도 급속히 발전하여 DNA 분석의 핵심 주체가 되었으며, 현재 염기서열 분석에서부터 비교유전체학, 메타노믹스, 진화연구, 대사 모델링과 같이 보다 복잡한 분석을 위해 다양한 생물정보학 도구가 개발되고 있음. 여기서는 유산균을 중심으로 한 프로바이오틱스의 기능성과 관련된 유전체 연구 동향에 대해 간략히 정리하고자 함.

3.2.2. 프로바이오틱 유산균의 유전체 연구 동향

- 프로바이오틱 유산균의 특성은 특정 속(genus)이나 종(species)에 공통적인 경우도 있지만, 균주 특이적인(strain-specific) 경우가 많음. 따라서, 다양한 생물정보학 도구 및 데이터베이스를 활용한 유전체 연구는 분자 수준에서의 균주 특성을 파악하는데 중요한 역할을 함.

3.2.2.1. 내산성 및 내담즙성 관련 유전자

- 위의 낮은 pH와 소장에서 방출되는 담즙산염을 극복하고 생존할 수 있는 능력은 프로바이오틱 균주가 갖추어야 할 필수 요건 중의 하나임. RAST, Prokka, NCBI-PGAP와 같은 생물정보학 도구는 스트레스에 관여할 수 있는 유전자를 초기에 스크리닝하는데 매우 유용함. O'Sullivan 등(2009)은 유산균의 유전체로부터 담즙산염을 분해하는 효소(choloylglycine hydrolase)를 암호화하는 유전자를 발굴하였으며, 이후 담즙산 내성을 가진 유산균들로부터 다양한 담즙산염 가수분해효소 유전자가 발굴되어 그 특성이 규명된 바 있음.

3.2.2.2. 항균성에 관련된 유전자

- 유산균은 유기산(주로 젖산 및 아세트산), 과산화수소, 박테리옌을 포함한 항균물질의 생산을 통해 병원균



의 성장을 억제하는 것으로 알려져 있음. 이 중에서, 박테리옌은 동물용 항생제 대체제 및 식품보존제 등으로 사용될 가능성이 있어 최근 많은 관심을 끌고 있음.

- 박테리옌은 세균에 의해 생성되는 항균 펩타이드로서, 생산균주는 이에 대한 면역 메커니즘을 가지고 있음. 박테리옌은 효능, 저독성, 스펙트럼의 다양성 등의 특징을 가지고 있기 때문에 항생물질의 잠재적 대안으로 간주되며, 부패 미생물의 성장을 억제함으로써 제품의 안전성과 유통기한을 향상시킴. BAGEL 프로그램은 유산균의 유전체로부터 박테리옌 유전자를 식별하는데 일반적으로 사용되고 있음.
- Knoll 등(2008)은 와인에서 분리한 330종의 유산균을 대상으로 하여 plantaricin 유전자(*plnA*, *plnEF*, *plnJ*, *plnK*) primer를 사용한 PCR-based screening을 통해, plantaricin 유전자를 가진 균주인 *Lactobacillus plantarum* 균주를 선별한 바 있음. Beatriz 등(2017)은 *Lactobacillus salivarius*와 *Pediococcus acidilactici* 유래의 박테리옌인 bactofencin과 pediocin PA-1의 유전자군(gene cluster)의 조합을 다르게 구성한 후에 *E. coli* DE3에서 이종발현을 진행함으로써, 박테리옌 생합성을 위해서는 structure gene뿐만 아니라 accessory gene도 중요한 역할을 한다는 것을 확인한 바 있음.

3.2.2.3. 장관 흡착 관련 유전자

- 현재까지 유산균에서 확인된 장관흡착 관련 유전자로는 LPxTG motif를 가진 단백질, mucus-binding pilin, mucus-binding protein, surface layer (S-layer) protein, cell-surface collagen-binding protein, mannose-specific adhesin 등을 암호화하는 유전자들이 알려져 있음.
- 유전자 발굴을 위해, RAST와 BLAST와 같은 비교유전체학 도구, SignalP, TMHM, LipoP, Pfam과 같은 프로그램이 활용되고 있음. Kankainen 등(2009)은 *L. rhamnosus* GG의 유전체로부터 pilus 유전자군(*spaCBA*)을 발굴하였고, 우유에서 분리된 *L. paracasei* subsp. *paracasei* IBB3423 균주는 *spaCBA* 유전자군을 포함하여 장관 흡착과 관련된 59개의 유전자를 가지고 있는 것으로 확인하였음(Koryszewska-Bagińska 등, 2019).
- Zhang 등(2015)은 *L. plantarum* NL42 균주의 유전체에 5개의 세포벽 anchor 반복도메인과 LPxTG motif가 존재하는 *cwaA* 유전자를 포함하여 42개의 흡착 관련 유전자가 존재함을 확인하였음.

3.2.2.4. 숙주에 직접적으로 건강상의 이점을 제공하는 유전자

1) 비타민의 생산

- 유산균은 배양하기 까다로운 미생물로서 비타민, 아미노산, 핵산 유도체 및 다양한 당류 등이 생장에 필요하나, 유산균의 일부 종은 엽산, 리보플라빈, 코발라민을 포함한 비타민 B군을 합성하는 것으로 알려져 있음.
- *L. reuteri* JCM1112T의 유전체 분석을 통하여 58개의 유전자로 이루어진 gene cluster가 확인되었고, 이러한 유전자 클러스터는 horizontal gene transfer를 통해 JCM1112T 균주의 유전체에 삽입된 것으로 추



정되었음(Morita 등, 2008).

- *L. fermentum* CECT 571 균주의 유전체에서도 엽산과 리보플라빈 생합성을 위한 유전자(Lp790, Lp813, Lp998)가 확인된 바 있으며, 유산균에 의해 생성된 비타민은 숙주의 대장에서 흡수됨(Asrar와 O'Connor, 2005).
- 인간은 대부분의 비타민을 생체 내에서 합성할 수 없고 식품 등의 형태를 통해 섭취해야 하기 때문에, 프로바이오틱 유산균의 배양을 통한 비타민의 생산은 식품산업에서 활발한 연구되고 있는 분야임. 화학적으로 합성된 비타민과 비교하여, 비타민을 생산하는 유산균은 비타민의 효율적인 공급원이 될 수 있음.

2) 면역 조절

- 프로바이오틱 인자는 프로바이오틱스의 건강 증진 효과에 직접적으로 기여하는 인자로서, 장내미생물의 균형 유지, 장관상피세포의 보호 및 면역 조절과 같은 메커니즘을 포함함. Lebeer 등(2008)은 다양한 세포 유형 및 수용체, 세포 구조에 따른 락토바실러스 유산균의 면역 조절 및 숙주세포와의 상호작용 등과 같은 프로바이오틱 효과를 유전자 및 분자 수준에서 검토한 바 있음.
- Yasuda 등(2008)은 면역조절 기능이 있는 것으로 알려진 extracellular polysaccharide(EPS) 또는 capsular polysaccharide(CPS)의 생합성에 관여하는 유전자군을 *L. casei* Shirota 균주의 유전체로부터 확인하여 보고한 바 있으며, 유전체를 분석한 결과, 10개의 유전자로 이루어진 클러스터(cps1A~cps1J)가 확인되었음. 이 외에도, 대식세포 활성화에 의한 과도한 면역반응을 감소시키는 기능을 하는 유전자를 확인한 바 있음.
- *L. plantarum* 종의 일부 균주도 면역조절 특성을 보이는 것으로 알려져 있는데, 테이코산(teichoic acid; TA)이 숙주의 면역반응을 조절하는데 관여하는 것으로 보고된 바 있음. Liu 등(2018)은 면역조절 활성을 가진 *L. plantarum* PS128의 유전체 염기서열을 다른 *L. plantarum* 균주들과 비교한 결과, PS128 균주에 더 많은 수의 리포테이코산 export 유전자가 존재함을 발견하였으며, 이러한 TA 관련 유전자에 대한 추가 연구를 통해 PS128 균주의 항염증 활성화에 대한 분자 수준에서의 규명이 필요하다고 보고함.
- *L. plantarum* J26의 유전체에서도 면역조절과 관련된 TA 유전자군이 확인되었으며, *L. plantarum* 균주 유래의 박테리오파지 및 막 단백질 합성과 관련된 대사산물이 수지상 세포에 대한 면역조절 효과가 있는 것으로 보고됨(Zago 등, 2017).
- 몇몇 유산균은 염증이나 장관미생물 불균형에 의해 유발되는 만성 장질환인 IBS의 치료에 유용한 것으로 알려져 있는데, 최근 Liu 등(2021)은 IBS 증상을 완화시키는 효과를 가진 *L. plantarum* CCFM8610 균주의 비교유전체 분석을 통해 관련 유전자군(conjugated linoleic acid 합성 유전자, COG1028 유전자)를 발굴한 바 있음.



3) 항진균 및 항바이러스 효능

- 프로바이오틱 유산균은 유기산, 과산화수소, 박테리옌과 같은 대사산물의 작용과 숙주세포 흡착에 대한 경쟁적 배제 등을 통해 장관의 병원성 미생물을 억제함. *L. plantarum*과 *L. crispatus* 종의 몇몇 균주는 *Candida albicans* 및 *Gardnerella vaginalis*과 같은 병원성 곰팡이를 억제한다고 보고된 바 있음.
- *L. crispatus* 균주들의 유전체를 비교 분석한 결과, *L. crispatus*의 유전체에 장관상피세포 흡착과 관련된 단백질이 암호화되어 있었으며, 이러한 단백질이 질염을 유발하는 *G. vaginalis*의 경쟁적 배제에 관여하는 것으로 추측되었음(Ojala 등, 2014).
- Zafar와 Saier(2020)는 10종의 *Lactobacillus* 속 유산균의 유전체로부터 hemolysin 유전자를 동정하였는데, 이는 세포막에 모공을 만드는 양친매성 펩타이드(HP2-20) 계열이었음. 이 계열의 펩타이드는 표적 곰팡이 또는 박테리아 세포막에 모공을 만들어 광범위한 항진균 및 항균 활동을 보이는 것으로 알려져 있으며, 동물세포에는 영향을 끼치지 않는다고 보고됨.
- *L. delbrueckii* TUA4408L의 유전체로부터 전형적인 EPS 유전자 클러스터가 확인되었으며, Kanmani 등(2018)은 *L. delbrueckii* TUA4408L 및 이 균주가 생산하는 EPS가 바이러스 복제를 감소시키고 염증반응 조절을 통해 로타바이러스 감염에 대한 돼지 장관세포의 내성을 향상시켰음을 입증하였음.
- 뉴캐슬병과 감염성 활액낭병을 유발하는 바이러스가 박테리옌 등의 대사산물 및 EPS를 생산하는 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium* 균주에 의해 감소하였음(Abdelhamid 등, 2019).

4) 항종양 및 항암 효능

- 여러 종류의 유산균이 종양과 암에 대한 억제능력을 가지고 있는 것으로 보고됨. 세계적으로 암 관련 발병률이 증가함에 따라, 프로바이오틱스 사용을 포함한 대안적인 암예방 전략에 대한 수많은 연구가 이루어지고 있음. 특히, 유산균의 항암 및 항종양 활성에 대한 생체외 및 생체내 평가와 관련된 연구가 다수 보고되었음.
- 최근 들어, EPS, 펩티도글리칸, 핵산, 박테리옌 및 S층 단백질을 포함한 유산균 유래의 항암물질에 대해 많은 연구결과들이 보고되고 있음.
- *L. salivarius* Ren의 유전체로부터 항종양 활성과 관련될 수 있는 유전자가 밝혀졌으며, *L. salivarius* Ren이 rat 실험에서 4-니트로퀴올린 1-옥사이드(4NQO)에 의해 유발되는 구강암을 억제하는 것으로 확인되었음(Zhang 등, 2013).
- 또한, *L. salivarius* Ren 또는 이 균주가 생산하는 대사산물이 DNA의 산화적 손상을 보호함으로써, 4NQO에 의해 유도된 구강암을 억제했을 것으로 추측하였으며, 과산화수소 생성과 관련된 유전자, 즉 피루브산 산화효소, NADH 산화효소, α -글리세로인산 산화효소 등을 암호화하는 유전자들이 *L. salivarius* Ren의 유전체에서 확인된 바 있음(Sun 등, 2015).



5) 기타

- 체중 감량이나 체중 증가를 촉진할 수 있고 비만이나 영양실조에 대처하는 데 응용될 수 있는 유산균들의 유전체를 상호 비교하고 분석하기 위해 생물정보학이 활용될 수 있음. Drissi 등(2014)은 체중 증가 및 체중 감소에 각각 관련된 두 그룹의 *Lactobacillus* 속 유산균 유전체를 각각 비교한 바 있으며 전사, 탄수화물 운반 및 대사에 관여하는 단백질을 암호화하는 유전자들이 체중감소 관련 유산균에서 주로 확인됨.
- 체중감소 관련 유산균에서는 포도당 투과효소 유전자의 copy 수가 많은 반면, 지질대사와 관련된 thiolase를 암호화하는 유전자는 체중증가 관련 유산균에서만 발견되었음.
- 최근 *L. plantarum* EM의 유전체 분석이 진행되었는데, 이 균주의 혈중 콜레스테롤 감소 효과와 관련된 담즙 산염 가수분해효소 유전자가 5가지 존재함이 확인됨(Kim 등, 2020).
- 고암모니아혈증은 혈중 암모니아 수치가 증가하는 반면에 해독이 억제되거나, 또는 암모니아 대사가 원활하지 않을 때 발생함. 수천 종의 균주를 대상으로 고암모니아혈증이 있는 생쥐의 혈중 암모니아 수치를 감소시키는 능력을 조사하였으며, 그 중에서 *L. amylovorus* JBD401의 암모니아 감소 활성이 가장 높았음. *L. amylovorus* JBD401 균주의 유전체를 분석한 결과, 암모니아로부터 아미노산과 폴리아민 대사경로의 전구체를 합성하는데 관련된 유전자가 확인되었음(Singh 등, 2018). 또한, 높은 혈중 암모니아 수치가 알츠하이머병과도 관련성이 있는 것으로 보고된 바 있기 때문에, 혈중 암모니아 수치를 낮추기 위한 프로바이오틱스를 임상적으로 사용하는 것을 고려하는 것도 의미가 있을 것으로 사료됨.

3.2.3. 생물정보학을 활용한 유전체 연구의 장점, 한계 및 향후 과제

- 생물정보학을 통한 유전체 분석은 생물체의 잠재적 대사능력에 대한 자세한 정보를 제공할 뿐만 아니라, 균주의 능력을 향상시킬 수 있는 유전자 조작 수단을 제시함. 프로바이오틱스의 산업적 응용을 위해, 생물정보학은 균주의 초기 선별 및 잠재능 분석에 있어서 중요한 역할을 해 왔으나, 다른 방법과 마찬가지로 생물정보학 분석에도 한계와 과제가 있음. 먼저, 생물정보학을 유전체 연구에 충분히 응용하기 위해서는 Linux 환경 및 Python 및 Perl과 같은 프로그래밍 언어에 대한 지식이 필요하며 이러한 언어들은 기존의 wet-lab 실험에 익숙한 일부의 연구자들에게는 부담스러울 수 있음. 또한 도출되는 많은 정보를 빠른 시간 내에 처리하기 위해서는, 스토리지 및 메모리 요구사항을 지원하는 컴퓨터가 필요함.
- 결론적으로, 생물정보학을 통한 유전체 분석은 프로바이오틱스 연구의 황금률이 되었음. 유전체 연구를 통해, 숙주 장관에서의 생존에 도움을 주는 유전자 및 숙주에게 건강상의 이점을 줄 수 있는 유전자를 쉽고 빠르게 식별할 수 있게 되었음.
- 프로바이오틱 유산균의 임상 및 산업적 응용 연구를 위해 유전체 연구가 중요하지만, 필요에 따라 *in vitro* 또는 *in vivo*에서의 유전자 기능 연구가 동반되어야 하는 점을 잊지 말아야 함. 왜냐하면, 유전체 연구를 통해 확인된 유전자가 *in vitro* 또는 *in vivo*에서 항상 발현되는 것은 아니기 때문임.



4 참고자료

- Abdelhamid AG, El-masry SS, El-DougDoug NK. Probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains possess safety characteristics, antiviral activities and host adherence factors revealed by genome mining. *EPMA Journal*. 10: 337-350 (2019)
- Ahlawat S, Asha, Sharma KK. Gut-organ axis: A microbial outreach and networking. *Letters in Applied Microbiology*. 72: 636-668 (2021)
- Asrar FM, O'Connor DL. Bacterially synthesized folate and supplemental folic acid are absorbed across the large intestine of piglets. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 16: 587-593 (2005)
- Beatriz Mesa-Pereira B, O'Connor PM, Rea MC, Cotter PD, Hill C, Ross RP. Controlled functional expression of the bacteriocins pediocin PA-1 and bactoformicin A in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*. 7: 3069 (2017)
- Bharti R, Dominik GG. Current challenges and best-practice protocols for microbiome analysis. *Briefings in Bioinformatics*. 22: 178-193 (2021)
- Cryan JF, ÓRiordan KJ, Cowan CSM, Sandhu KV, Bastiaanssen TFS, Boehme M, Codagnone MG, Cussotto S, Fulling C, Golubeva AV, Guzzetta KE, Jaggar M, Long-Smith CM, Lyte JM, Martin JA, Molinero-Perez A, Moloney G, Morelli E, Morillas E, O'Connor R, Cruz-Pereira JS, Peterson VL, Rea K, Ritz NL, Sherwin E, Spichak S, Teichman EM, van de Wouw M, Ventura-Silva AP, Wallace-Fitzsimons SE, Hyland N, Clarke G, Dinan TG. The microbiota-gut-brain axis. *Physiological Reviews*. 99: 1877-2013 (2019)
- Eckert C, Agnol WD, Dallé D, Serpa VG, Maciel MJ, Lehn DN, Volken de Souza CF. Development of alginatepectin microparticles with dairy whey using vibration technology: effects of matrix composition on the protection of *Lactobacillus* spp. from adverse conditions. *Food Research International*. 113: 65-73 (2018)
- EFSA. Updated list of QPS-recommended biological agents for safety risk assessments carried out by EFSA (2022)
- FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food (2002)
- FDA. GRAS Notices (2022)
- Galaris A, Fanidis D, Stylianaki EA, Harokopos V, Kalantzi AS, Moulos P, Dimas AS, Hatzis P, Aidinis V. Obesity reshapes the microbial population structure along the gut-liver-lung axis in mice. *Biomedicine*. 10: 494 (2022)
- Gbassi GK, Vandamme T. Probiotic encapsulation technology: From microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*. 4: 149-163 (2012)
- Joshua L, Mccray AT. Ome SweetOmics--A genealogical treasury of words. *The Scientist*. 15: 8 (2001)
- Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, Ossowski IV, Reunanen J, Partanen P, Satokari R, Vesterlund S,



Hendrickx APA, Lebeer S, Keersmaecker SCJD, Vanderleyden J, Hämäläinen T, Laukkanen S, Salovuori N, Ritari J, Alatalo E, Korpela R, Mattila-Sandholm T, Lassig A, Hatakka K, Kinnunen KT, Karjalainen H, Saxelin M, Laakso K, Surakka A, Palva A, Salusjärvi T, Auvinen P, de Vos WM. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human-mucus binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106: 17193-17198 (2009)

- Kanmani P, Albarracin L, Kobayashi H, EMHebert, Saavedra L, Komatsu R, Gatica B, Miyazaki A, Ikeda-Ohtsubo W, Suda Y, Aso H, Egusa S, Mishima T, Salas-Burgos A, Takahashi H, Villena J, H Kitazawa H. Genomic characterization of *Lactobacillus delbrueckii* TUA4408L and evaluation of the antiviral activities of its extracellular polysaccharides in porcine intestinal epithelial cells. *Frontiers in Immunology*. 9: 1-16 (2018)
- Kim ES, Chang HC, Kim HY. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* EM, A putative probiotic strain with the cholesterol-lowering effect and antimicrobial activity. *Current Microbiology*. 77: 1871-1882 (2020)
- Kim SK, Guevarra RB, Ki YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, Kim HB, Lee JH. Role of probiotics in human gut microbiome-associated diseases. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 29: 1335-1340 (2019)
- Knoll C, Divol B, Toit MD. Genetic screening of lactic acid bacteria of oenological origin for bacteriocin-encoding genes. *Food Microbiology*. 25: 983-991 (2008)
- Koryszewska-Bagińska A, Gawor J, Nowak A, Grynberg M, Aleksandrak-Piekarczyk T. Comparative genomics and functional analysis of a highly adhesive dairy *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* IBB3423 strain. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103: 7617-7634 (2019)
- Lavanya MN, Kathiravan T, Moses JA, Anandharamakrishnan C. Influence of spray-drying conditions on microencapsulation of fish oil and chia oil. *Drying Technology*. 38: 279-292 (2019)
- Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and molecules of *Lactobacilli* supporting probiotic action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 72: 728-764 (2008)
- Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102: 11070-11075 (2005)
- Liu WH, Yang CH, Lin CT, Li SW, Cheng WS, Jiang YP, Wu CC, Chang CH, Tsai YC. Genome architecture of *Lactobacillus plantarum* PS128, a probiotic strain with potential immunomodulatory activity. *Gut Pathogens*. 7: 1-7 (2015)
- Liu Y, Xiao W, Yu L, Tian F, Wang G, Lu W, Narbad A, Chen W, Zhai Q. Evidence from comparative genomic analyses indicating that: *Lactobacillus*-mediated irritable bowel syndrome alleviation is mediated by conjugated linoleic acid synthesis. *Food and Function*. 12: 1121-1134 (2021)
- Lucchetti M, Kaminska M, Oluwasegun AK, Mosig AS, Wilmes P. Emulating the gut-liver axis: Dissecting the microbiome's effect on drug metabolism using multiorgan-on-chip models. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*. 18: 94-101 (2021)
- Marcial-Coba MS, Cieplak T, Cahú TB. Viability of microencapsulated *Akkermansia muciniphila* and *Lactobacillus plantarum* during freeze-drying, storage and *in vitro* simulated upper gastrointestinal tract



passage. *Food and Function*. 9: 5868-5879 (2018)

- Morita H, Toh H, Fukuda S, Horikawa H, Oshima K, Suzuki T, Murakami M, Hisamatsu S, Kato Y, Takizawa T, Fukuoka H, Yoshimura T, Itoh K, O'Sullivan DJ, McKay LL, Ohno H, Kikuchi J, Masaoka T, Hattori M. Comparative genome analysis of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum* reveal a genomic Island for reuterin and cobalamin production. *DNA Research*. 15: 151-161 (2008)
- Mu ZY, Wei YL, Li N, Xu FH, Ruan GC, Xiao ZF, Fan LQ, Chen DF, Cui HL. Research progress in gut-lung axis and lung diseases. *Medical Journal of Chinese People's Liberation Army*. 45: 1178-1183 (2020)
- Ojala T, Kankainen M, Castro J, Cerca N, Edelman S, Westerlund-Wikström Ba, Paulin L, Holm L, Auvinen P. Comparative genomics of *Lactobacillus crispatus* suggests novel mechanisms for the competitive exclusion of *Gardnerella vaginalis*. *BMC Genomics*. 15: 1-21 (2014)
- O'Sullivan O, O'Callaghan J, Sangrador-Vegas A, McAuliffe O, Slattery L, Kaleta P, Callanan M, Fitzgerald GF, Ross RP, Beresford T. Comparative genomics of lactic acid bacteria reveals a niche-specific gene set. *BMC Microbiology*. 9: 50 (2009)
- Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunological Reviews*. 279: 70-89 (2017)
- Precedence Research. Probiotics Market – Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, Regional Outlook, and Forecast 2022-2030. (2022)
- Prescott SL. History of medicine: Origin of the term microbiome and why it matters. *Human Microbiome Journal*. 4: 24-25 (2017)
- Raghavi LM, Moses JA, Anandharamakrishnan C. Refractance window drying of foods: a review. *Journal of Food Engineering*. 222: 267-275 (2018)
- Singh P, Chung HJ, Lee IA, D'Souza R, Kim HJ, Hong ST. Elucidation of the anti-hyperammonemic mechanism of *Lactobacillus amylovorus* JBD401 by comparative genomic analysis. *BMC Genomics*. 19: 292 (2018)
- Sun E, Ren F, Liu S, Ge Sh, Zhang M, Guo H, Jiang L, Zhang H, Zhao L. Complete genome sequence of *Lactobacillus salivarius* Ren, a probiotic strain with anti-tumor activity. *Journal of Biotechnology*. 210: 57-58 (2015)
- Tang L, Gu S, Gong Y, Li B, Lu H, Li Q, Zhang R, Gao X, Wu Z, Zhang J, Zhang Y, Li L. Clinical significance of the correlation between changes in the major intestinal bacteria species and COVID-19 severity. *Engineering*. 6: 1178-1184 (2020)
- Vandenkoornhuyse P, Quaiser A, Duhamel M, Van AL, Dufresne A. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*. 206: 1196-1206 (2015)
- Wang WL, Xu SY, Ren ZG, Tao L, Jiang JW, Zheng SS. Application of metagenomics in the human gut microbiome. *World Journal Gastroenterology*. 21: 803 (2015)
- Wischmeyer PE, Daniel M, Rob K. Role of the microbiome, probiotics, and 'dysbiosis therapy' in critical illness. *Current Opinion in Critical Care*. 22: 347-353 (2016)



- Yamamoto S. The human microbiome and COVID-19: A systematic review. *PLoS one*. 16: e0253293 (2021)
- Yasuda E, Serata M, Sako T. Suppressive effect on activation of macrophages by *Lactobacillus casei* strain Shirota genes determining the synthesis of cell wall-associated polysaccharides. *Applied and Environmental Microbiology*. 74: 4746-4755 (2008)
- Yoha KS, Nida S, Dutta S, Moses JA, Anandharamakrishnan, C. Targeted Delivery of Probiotics: Perspectives on Research and Commercialization. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 14: 15-48 (2022)
- Zafar H, Saier Jr MH. Comparative genomics of the transport proteins of ten *Lactobacillus* strains. *Genes*. 11: 1-20 (2020)
- Zago M, Scaltriti E, Bonvini B, Fornasari ME, Penna G, Massimiliano L, Carminati D, Rescigno M, Giraffa G. Genomic diversity and immunomodulatory activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from dairy products. *Beneficial Microbes*. 8: 597-604 (2017)
- Zhang M, Wang F, Jiang L, Liu R, Zhang L, Lei X, Li J, Jiang J, Guo H, Fang B, Zhao L, Ren F. *Lactobacillus salivarius* REN inhibits rat oral cancer induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. *Cancer Prevention Research*. 6: 686-694 (2013)
- Zuidam NJ, Shimoni E. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In: Viktor N (ed) Zuidam NJ. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. Springer-Verlag, New York. pp 3-29 (2010)
- 농림식품기술기획평가원(IPET). 인체 마이크로바이옴의 식품분야 활용 기술 (2022)
- 농림식품기술기획평가원(IPET). 포스트바이오틱스 분야 동향 보고서 (2021)
- 박명수, 지근역. 프로바이오틱스 균주 개발 및 상용화. *식품과학과 산업*. 47: 19-28 (2014)
- 백현동. 고부가가치식품기술개발 최종보고서. 식품산업 활용 중견의 상용화를 위한 기반구축 연구 (2018)
- 성영제, 박명수. 국내외 프로바이오틱스 제품 개발 현황. *식품과학과 산업*. 52: 229-240 (2019)
- 식품의약품안전처. 건강기능식품 기능성 원료 인정 절차 (2022)
- 식품의약품안전처. 건강기능식품 기능성 원료 인정 현황 (2022)
- 식품의약품안전평가원. 건강기능식품 기능성 원료 프로바이오틱스 안전성 평가 가이드. (2021)
- 식품의약품안전처. '건강기능식품의 기준 및 규격' 고시 전문 (2020)
- 식품의약품안전처. 건강기능식품 이상사례 보고 현황 (2022)
- 식품의약품안전처. 보도자료 (프로바이오틱스 올바르게 섭취하세요) (2021)
- 유희섭, 반응표면방법론을 활용한 *Lactobacillus plantarum* JNU2116의 성장 배지 최적화. 전남대학교 석사논문 (2017)
- 조윤정, 양준혁. 글로벌 마이크로바이옴 시장현황 및 전망. *Bioindustry*. No. 136. 2019-4 (2019)
- 최학중. 장내 마이크로바이옴과 차세대 프로바이오틱스 연구 현황. *식품과학과 산업*. 52: 261-271 (2019)
- 한국바이오경제연구센터. 마이크로바이옴과 헬스케어 혁신: 프로바이오틱스 산업 전망 (2019)

발행일 2022년 7월
발행처 농림식품기술기획평가원
집필진 백현동 건국대학교 축산식품생명공학과
교수
박영서 가천대학교 식품생명공학과 교수
김경순 (주)한국의과학연구원 센터장
강대경 단국대학교 천안캠퍼스
생명자원학부 교수
오영준 세계김치연구소 책임연구원
경수현 (주)녹십자웰빙 유닛장
이나경 건국대학교 식품생명공학연구소
연구교수
편집인 농림식품기술기획평가원
문의처 백현동 교수(hdpaik@konkuk.ac.kr)

이 보고서에 실린 내용은 필자 개인의 견해이며, 농림식품기술기획평가원의 공식 견해와 일치하는 것은 아닙니다.

본 발간물에 대한 소유권은 집필진과 발간기관에 있으며, 무단으로 전재·복제하거나 상업적인 목적으로 사용하는 것을 금합니다.