

오이에 對한 乳酸菌 生育促進 因子에 關하여

金 浩 植 · 全 在 根

서울大學校 農科大學 農化學科

(1967年 12月 26日 受理)

Factors stimulating the Growth of Lactic acid Bacteria in Cucumber Juice

H. S. Kim and J.K. Chun

Dept. of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Seoul National University

Summary

Addition of one percent cucumber, as a Kimchi component, showed the stimulation of lactic acid fermentation, by reducing the lagphase, and resulted the early matured Kimchi. Alcohol-soluble fraction from cucumber serum accerelated the growth of *Lactobacillus plantarum*, p-1, p-2 newly isolated strains from cucumber pickle, but had no effect on the growth rate of *Streptococcus faecalis*.

The growth promoting activity was inactivated by dialysis against water and heat treatment at 120°C for 10 minutes. Softness of cucumber tissues enables to extract easily out a substance, which is thought one of the important factors for the stimulation of the growth of Lactic acid bacteria.

序 論

乳酸菌의 營養 및 生育因子의 問題는 微生物學的인 면에서나 乳酸製造를 위시한 乳酸菌利用工業에서 큰 比重을 차지하고 있다. 乳酸菌을 위한 人工培地에 菜蔬抽生物을 添加하면 菌의 生育을 促進함을 알게된 이래 (1) tomato(2,3), 당근(4), orange(5) 등으로부터 乳酸菌의 生育因子의 存在를 確認할려는 일련의 努力이 傾注되었다.

Kuicken 등(6)은 生育因子가 tomato juice 中에 存在함을 確認하고 酸과 熱에 安定한 物質임을 밝혔으며, Metcalf(7) 등은 이物質이 alkali-labile 로써 tomato, beef 以外에 양배추, 양파, 고추, 시금치 등의 菜蔬類에서도 觀察하였다. 한편 Colio, Snell(8, 9)는 麥芽根 asparagus juice 가 *Streptococcus lactis*

와 *Loctobacillus casei* 에 對하여 生育促進效果를 보였으며 이는 炭水化合物과 還元劑의 適當한 配合만으로 同一한 效果를 거둘수 있음을 들어 이와같은 現象을 單純한 酸素와의 관계로 說明하였다. 그러나 最近의 研究結果는 生育促進物質의 存在를 確信케 하였으나 그 物質의 究明은 이루어지지 못하였고 오직 thiamin, vitamin B₆, B₁₂(10,11)와 같은 vitamin 類나 類似體 일것이라는것, 또는 vitamin 以外의 物質로서 thymine, deoxyriboside, purine pyrimidine(12)이나 N-acetyl-D-glucosamine(13)의 誘導體일 可能性만을 題示하고 있다. Stamer(14), Nowakowska(15) 등은 Mn⁺⁺, Mg⁺⁺ 같은 無機 ion 이 tomato serum 과 對等한 促進效果를 나타냈다는 報告들은 乳酸菌의 生育條件과 生育因子를 究明함에 어려운 問題임을 말하고 있으며 여기에 乳酸菌의 菌種別로 多樣한 營養의 要求는(16) 더욱 複雜性을 보이고 있다. 著者 등은 韓國김치의 醱酵를 研究中 김치의 組成材料로 오이를 添加하였을때 乳酸生成이 促進되어 김치의 早熟現象을 보임을 觀察하여 이같은 現象의 原因을, 나아가서는 오이中의 乳酸菌 生育因子를 究明함에 寄與코져 本實驗은 示圖하였다.

材料 및 方法

1) 菌 株

本學保存 *Streptococcus faecalis* 와 오이김치중에서 分離한 *Lactobacillus plantarum* 의 2個의 菌株 p-1, p-2를 使用하였다.

2) 基本培地

本實驗中 使用한 基本培地로는 Table 1 과 같은 組成의 것을 使用하였다.

Table 1. Composition of Basal Medium

Dextrose	100(mg/10ml)
Tryptone(Difco)	50
Yeast extract(//)	25
MnSO ₄ ·H ₂ O	0.30
NaCl	0.30
MgSO ₄ ·7H ₂ O	6.0
FeSO ₄	0.30

3) 接種 및 培養

上記 基本培地에 一白金耳를 接種하고 34°C에서 24時間 培養하여 活性化 시킨후 菌의 濃도를 650m μ 에서 透過率이 45~80%以內의 一定值를 갖도록 基本培地로 稀釋하고 이를 接種하였다. 그리고 培養은 34°C에서 24, 48時間 行하였다.

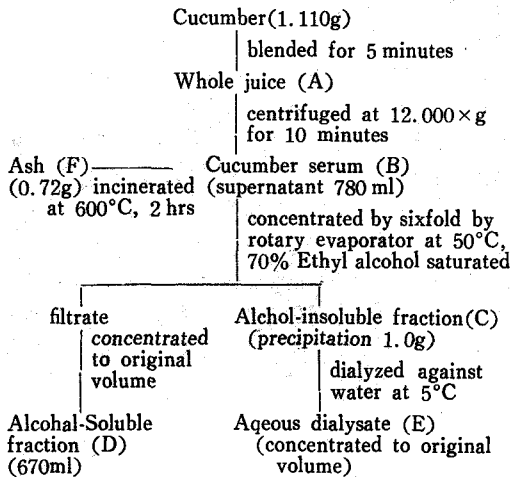
4) 生育促進效果의 測定

乳酸菌의 生育促進效果는 生菌數의 增加와 酸生成의 增加로 보았으며 生菌數의 경우 650 m μ 의 波長에서 吸光度(OD)로 나타내었고, 酸은 0.1N NaOH 標準溶液으로 滴定하였다. 以上の 測定은 各各 3反復으로 施行하였다.

5) 오이 成分의 分別分離

新鮮한 오이를 다음 表 2와 같이 cucumber serum, alcohol-insoluble, alcohol-soluble, aqueous dialysate 및 灰分으로 分離하였다.

Table 2. The Fractionation Process of cucumber



6) 오이 內容物의 浸出量의 定量

오이 및 배추 100g 적을 各各 1cm 두께로 절단 이를 3% NaCl 용액 500 ml에 浸漬, 震盪機에서 震盪하면서 經時的으로 溶出되는 有機物을 全炭素의 簡易 滴定法(18)에 依하여 0.2N FeSO₄(NH₄)₂ SO₄ 용액으로 滴定하였다.

結果 및 考察

1. 오이가 김치 발효에 미치는 영향

오이 배추 및 토마토를 各各 磨碎하여 3%食鹽濃度로 하고 이들을 25°C에서 4日間 醱酵시켰을때 生成된 有機酸量을 比較하여 本來 오이와 1%의 오이를 혼합한 區에서 월등히 높은 酸도를 보이고 있다.(Table 3) 乳酸菌의 培地로 利用되고 있는 토마토즙에서 보다는 높은 酸도를 나타낸 오이중에도 乳酸菌의 生育을 促進하는 物質 및 要因의 存在를 意味한다고 볼수있다.

Table 3. Acid productions from the fermentation of various vegetables

Vegetable	before fermentation	Acidity * after fermentation
Cucumber	5.6	30.5
Cabbage	5.0	22.0
Cabbage supplemented with 1% Cucumber	5.0	23.6
Tomato	4.8	23.5

* milliter of 0.05N NaOH to neutralize 10ml of the filtrate

常法에 따라 김치를 製造하고 김치의 成分으로 오이의 添加가 實際로 김치 熟成에 미치는 影響은 調査키 위하여 5%의 오이를 混合 製造한 김치 熟成中 酸生成을 比較하여 本來 Fig 1에서와 같이 오이의 첨가는 김치의 熟成을 앞당겨 김치醱酵에 있어서의 lagphase를 短縮시켜주었다. 이러한 結果는 乳酸菌群들에 對한 營養的 條件의 改善보다 某種 生育促進因子의 介在에 依하든가 또는 오이 성분을 選擇으로 要求하는 菌種의 生育만을 촉진한 결과 인지는 分明치 않다.

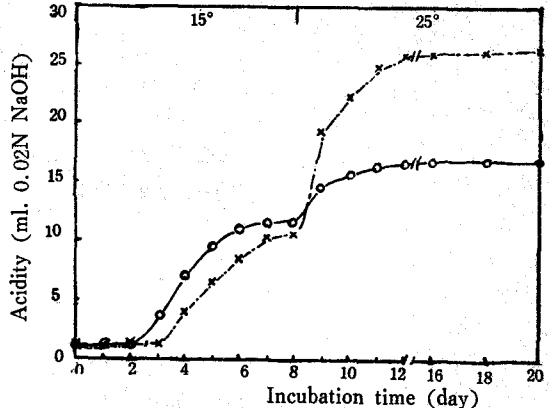


Fig 1. Changes in acidity during Kimchi fermentation
X-X : common Kimchi, O-O : suplimented with 5% Cucumber

김치 醱酵中 乳酸生成이 stationary phase 에 이르는 期間이 15°C에서 160時間이 있고 이 期間 동안은 오이 添加區에서 lag phase 가 約 3分의 2 短縮되었으며 약간 酸度가 높았다. 그러나 醱酵溫度를 上昇시켰을때 도리어 cabbage 만으로된 區에서 높은 酸도를 나타내었는데 이는 오직 糖分含量的 差에서 오는 것으로 생각된다. 오이의 glucose 含量은 4% (乾物當)인데 비하여 배추는 33%나 되는 높은 糖分的 量을 갖고 있으므로 殘存 醱酵性糖분이 溫度

의 上昇으로 醱酵가 旺盛하게 된 結果로 생각된다.

2. 오이 抽出物이 乳酸菌生育 및 酸生成에 미치는 影響

Cucumber serum 을 3% 添加한 基本培地에서 菌의 生育 및 酸生成은 基本培地에 比하여 p-1, p-2의 生育 및 酸量的 增加를 보였다. 그러나 *Streptococcus faecalis* 에 對하여는 그 影響이 全然없었다. (Table 4)

Table 4. Growth Stimulation of the Lactic acid Bacteria by Cucumber Serum¹

Culture	OD × 1000				Acidity ³			
	Medium A ²		Medium B		Medium A		Medium B	
	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.
P-1	694 ⁴	750	735	815	2.06	2.48	2.40	3.00
P-2	500	560	540	610	1.97	2.40	2.08	2.62
St. faecalis	516	520	519	523	1.41	1.70	1.42	1.70

1. Incubated at 34°C; 10 ml of medium per tube
2. Medium A: tryptone-glucose-yeast extract, Medium B; tryptone-glucose-yeast extract, supplemented with 3% cucumber serum
3. expressed as milliliter of 0.1N NaOH
4. mean of triplicate

Table 5. Growth Response of the Lactic acid Bacteria to various Cucumber Juice Fractions

Fraction	Lactic acid Bacteria								
	P-1			P-2			St. faecalis		
	OD × 1000 ⁺	Acidity	Percent Activity	OD × 1000	Acidity	Percent Activity	OD × 1000	Acidity	% Activity
Control	800	2.54	79.4	682	2.58	82.2	575	1.83	100.0
A	830	3.20	100.0	780	3.14	100.0	573	1.83	100.0
B	820	3.16	99.0	772	3.04	97.0	570	1.82	99.5
C	779	2.83	88.4	697	2.59	82.5	572	1.81	99.4
D	825	2.94	92.0	705	2.91	92.7	590	1.85	100.1
E	775	2.58	80.7	690	2.54	82.5	560	1.77	96.8
F	790	2.78	86.9	697	2.77	88.2	570	1.76	96.7

Control: basal medium, A: whole juice, B: cucumber serum, C: alcohol-insoluble fraction, D: alcohol-soluble fraction, E: aqueous dialyzates, F: ash from the serum.

⁺ Optical density at 650 m μ measured by Beckmann DU Spectrophotometer

Table 5에서와 같이 whole juice 의 活性을 거의 다 serum 에서 나타내었으며 이 serum 內의 alcohol soluble fraction 이 P-1, P-2 菌株에 對하여 92% 以上の activity 를 보일뿐 餘他 fraction 에서는 control 에 比하여 0~8%의 增加밖에 보이지 않았다. 따라서 오이에 있어서의 유산균의 生育促進因子는 alcohol soluble fraction 에 있음을 알수 있다. 그러나 alcohol soluble fraction 은 물을 加함에 따라 침전하였고 침전은 加熱에 의해서로 용해되지 않았다. 이 沈澱은 물에 對하여 透析한 透析物이나 透析殘留物 은 單獨으로는 生育促進能이 없었다. 이는 半透膜透

過性物質과 非透性物質은 相對的인 cofactor 의 役割을 갖고 있는것 같다. 한편 cucumber serum 을 120°C에서 10 分間 加熱함에 따라 activity 의 減少 내지는 全然活性을 나타내지 못하였다. 따라서 오이중에 存在하는 乳酸菌의 生育促進物質은 alcohol 可溶性이고 半透膜의 通過로 失活되는 熱에 不安定한 性質이라는 結果를 얻게 되었다. 그런데 Stamer (14)에 의한 Tomato serum 에 關한 生育促進程度가 거의 100% 以上の activity 의 增大하였다는 結果에 比較하여 볼때 오이의 경우 30%程度에 이르지 못하였다. 따라서 問題가 되는 것은 實際 김치

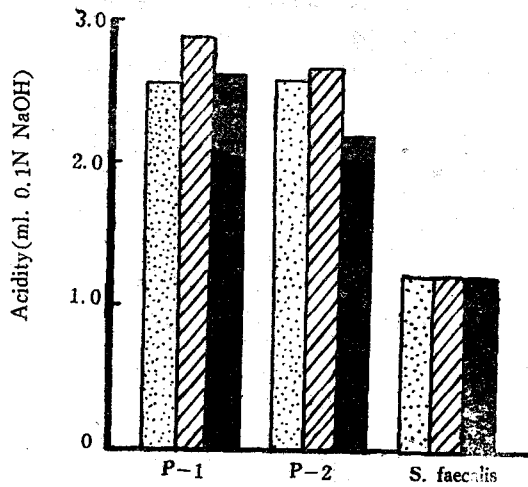


Fig 2. Inactivation of Growth Stimulation after Heat treatment
 Basal medium, supplemented with Cucumber serum,
 Supplemented with Cucumber serum heated at 120°C for 10 minutes.

製造過程에서 觀察된 乳酸生成促進으로 인한 早熟現象은 과연 生育促進物質自體에 基因하는가 그렇지 않으면 배추에 비해 内容營養分の 容易한 溶出에 의한 物理的인 條件에 原因이 있는지 究明되어야 한다. 다음 Fig 3에서 보여주는 결과는 용출되는 유기물을 全炭素의 量으로 比較하면 오이의 경우가 훨씬 큰 有機物の 溶出을 나타내고 있다. 따라서 乳酸菌의 生育및 김치醱酵에 있어서의 早熟現象등은 生育促進因子와 오이의 獨特한 組織의 柔軟性에 依한다고 보아야 하겠다. 生育促進因子의 化學的 究明에對하여는 앞으로의 많은 研究를 要하여야 할것로 믿는다.

要約

오이 成分이 乳酸菌 生育에 미치는 影響과 이로 인한 김치의 早熟現象을 研究하여 다음結果를 얻었다.

- 1) 김치의 組成材料로 1%의 오이를 添加하므로써 김치 醱酵의 lagphase를 현저히 短縮시켜 醱酵을 促進하는 早熟現象을 보였다.
- 2) Cucumber serum 中에서 alcohol-soluble fraction은 *Lactobacillus plantarum*에 對하여 生育促進 效果를 보였으나 *Streptococcus faecalis*의 生育에는 影響이 없었다.
- 3) Alcohol-soluble fraction의 效果는 透析 및

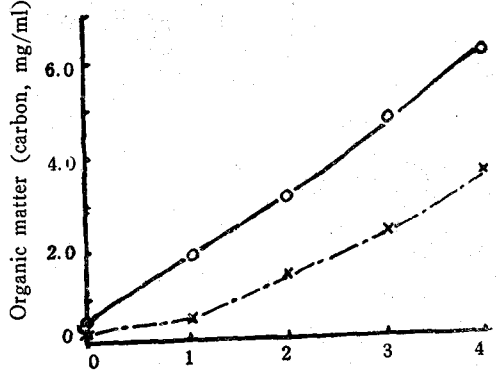


Fig 3. Extraction of organic matter from sliced cucumber(O-O) and cabbage(X-X) in 3% NaCl solution by shaking.

120°C, 10 分間의 熱處理에 依하여 失活되었다. 오이 組織의 物理的性質에 따른 内容成分의 溶出程度를 觀察하여 生育및 生酸促進要因을 物理化學的인 面에서 考察하였다.

參考文獻

- (1) Mickle F. L.: Abstr. Bacteriol 8, 403-404 (1924)
- (2) Mickle, F. L., and R. S. Breed: N.Y. State Agr. Expt. Sta.(Geneva, N.Y.) Bull. (1925) 110
- (3) Kulp, W. L.: Science, 66, 512-513(1927)
- (4) Garey, C., E.M. Foster, and Frazier. W. C.: J. Dairy Sci. 42 101-105(1941)
- (5) Murdock, D. J., Folinazzp, J. F. and Frey, V.S. : Food Technol., 6 181-195(1952)
- (6) Kuiken, K. A., W. H. Norman, C. M. Lyman, F. Hale, and L. Blotter: J. Biol. Chem. 151, 615-626(1943)
- (7) Metcalf D., G. J. Hucker, and D. C. Carpenter: J. Bacteriol. 51, 381-384(1946)
- (8) Colio, L. G., and V. Babb: J. Biol. Chem. 174, 405-409(1948)
- (9) Snell, E. E., E. Kituy and E. Hoff-Jorgensen: Arch. Biochem. Biophys. 18, 495-510(1948)
- (10) Shorb, M. S., Science: 107 397(1948)
- (11) Hoffmann, C. E., E. L. R. Strkstad, B. L. Hutchings, A.C. Dornbush, and T.H. Jukes: J. Biol. Chem. 181 635-644(1949)
- (12) JŘi Soška J. Bactesid: 91, 1840-1847(1966)
- (13) Lambert, R. and F. Zilliken: Arch, Biochem,

- Pederson: and Biophysic: 110 544—550(1965)
- (14) Stamer, J. R., M. N. Albary and C. S. Pederson: Appl Microbiol. 12, 165—168(1964)
- (15) Nowakowska-waszczuk, Anna: Acta Microbiol. poland: 14, 293—302(1965) : Biol. Ast. 47, 63006(1965)
- (16) Lambert, R. Y. Saito and F. Zilliken : Fed Proc. 23, 479(1964)
- (17) Yang Lin, Amy, H. and W.L. Williams: J Nutrition, 88, 323—330(1966)
- (18) 實驗農藝化學(上) 朝倉書店(1960) 53