

김치에서 分離한 酵母에 관한 研究

— 酵母의 分離 同定 —

崔 國 智

(江原大學 農化學科)

Studies on the Yeasts Isolated from Kimchi

— Classification and Identification of Yeasts —

CHOI, Kook-Chi

(Dept. of Agricultural Chemistry, Kangwon National University)

ABSTRACT

In order to isolate and identify of the yeasts in Chinese cabbage Kimchi, was prepared and fermented by traditional methods. 40 strains of the yeast were isolated from the Kimchi juice.

As the results of the serial experiments on morphological, cultural and physiological properties, according to the methods of Lodder, Irzuka, Barnett and Hasegocwa, 13 species of 8 genera were identified as the followings; *Brettanomyces claussenii*, *Candida bogoriensis*, *C. cacaui*, *C. guilliermondii*, *Citeromyces matritensis*, *Kluyveromyces veronae*, *Pichia membranaefaciens*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. pretoriensis*, *S. italicus*, and *Torulopsis salmanticensis*.

緒 論

김치는 原料野菜, 調味料의 種類 食鹽의 濃度, 加工의 程度, 微生物의 作用 等에 依해서 여러가지로 分類할 수 있으며 우리나라 固有의 배추김치는 特有한 芳香과 風味를 지닌 大端히 重要한 副食의 하나이다.

김치에 對한 微生物學의 研究는 gram 陽性의 好氣性細菌分離(晉, 1939), 김치 熟成 및 酸敗에 關한 細菌의 調査(權, 1952), 嫌氣性細菌의 分類와 同定(金等, 1959), 및 好氣性細菌의 分類와 同定(黃等, 1960)에 關한 研究 報告가 있으며, 그 外에 김치 醱酵中의 細菌의 動的 變化에 關한 研究(金等, 1966) 等 細菌學의 研究는 相當히 많이

發表되었으나, 김치中의 酵母에 對한 研究는 거의 볼 수 없으며, 김치 軟腐에 미치는 酵母의 影響에 關한 研究에 있어서 産膜酵母 27菌株, 非産膜酵母 6菌株를 分離하여 pectin 分解酵素의 活性에 關한 河(1960)의 調査와 서울市內의 한 家庭에서 담근 김치로부터 細菌 200菌株 酵母 2菌株를 分離하였다는(金等, 1958) 菌學의 研究가 있을 程度로 김치 酵母에 對한 研究는 거의 없다 食生活이 거의 같은 日本에 있어서도 各種 漬物에 對한 酵母의 分類學의 研究를 보면, 오이 소금물 沈菜에 있어서 7種 sauerkraut 에 있어서는 3種의 菌株를 分離한데 不過하였다(好井等 1973).

酵母는 김치 醱酵에 있어서 alcohol의 生成. 芳香 및 風味等을 附與할 뿐만 아니라

濃鹽酸 含有의 95% ethanol로 脫色한다. 이것을 流水로 洗滌한 後, 1% methylene blue로 對比 染色한다. 子囊胞子는 赤色으로 營養細胞는 靑色으로 染色된다.

ㄴ. 培養의 性質의 試驗

ㄱ) 液體培養에 있어서의 生育

中型 test tube에 YM培地 6~7ml를 分注한 後 殺菌하여 斜面培養의 新鮮한 酵母를 1白金耳 取해서 接種하고 25°C에서 4~7日間 培養하면서 gas의 發生 混濁 沈澱 및 皮膜의 形成狀態等을 觀察하였다.

ㄴ) 斜面培養에 있어서의 生育: YM agar培地 7ml를 乾熱殺菌한 test tube에 分注 斜面化하여 25~30°C에서 7日間 放置해서 培地表面을 自然乾燥시킨 後 20°C에서 30日間 劃線培養하면서 生育의 程度 colony의 形狀을 觀察하였다.

ㄷ. 生理學的 性質의 試驗

ㄱ) 醱酵性試驗: Bromthymol blue(BTB)

로 分明히 綠色이 되도록 添加한 培地(yeast extract 4.5g, peptone 7.5g dist. water 1,000ml) 2ml를 Durham tube에 넣어서 殺菌後 zeits濾過器에서 除菌濾過한 6%의 各可檢糖液을 1ml 添加하였다. 이것에 斜面培地上에서 24~28時間 培養한 酵母菌體를 殺菌水 4.5ml에 懸濁한 것으로부터 0.1ml를 移植하였다. 25°C에서 24日間 매때로 tube를 움직이면서 內管中의 gas의 發生, 指示藥의 黃變色(醱酵에 依한 培地의 pH低下)을 觀察하였다. 但, 可檢糖類는 glucose(Gl), galactose(Ga), sucrose(Su), maltose(Ma), lactose(La), 및 raffinose(Ra)의 6種을 使用했고, 다만 raffinose의 醱酵試驗은 그것을 完全히 醱酵하는지 或은 1/3, 2/3를 醱酵하는지를 raffinose 4%의 酵母水를 使用해 Einhorn管에 依해서 醱酵性을 觀察하였다.

ㄴ) 炭素源의 資化性: Wickerham의 合成培地인 炭素源 資化 試驗用의 bacto-yeast nitrogen base 6.7g을 물 1,000ml에 溶解시키고 可檢炭素源을 2% 加해서 test-tube에 分注하였다. 이것에 細胞數가 約 10^4 /ml가 되도록 酵母懸濁液을 接種하였다. 同時에 無炭素源對照區를 作成해서 酵母懸濁液을

同一하게 接種하고 25°C에서 7日間 培養해 對照區와의 生育差를 比色法에 依해서 資化性 有無를 判定하였다. 可檢炭素源으로서는 glucose, galactose, sucrose, maltose, 및 lactose의 5種을 使用하였다.

ㄷ) 窒酸鹽의 資化性: Bacto-yeast carbon base(窒素源 同化試驗用) 11.7g를 물 1,000ml에 溶解하고 이것에 特級 KNO_3 0.78%를 添加하여 培地로 하였다. 實驗操作은 炭素源의 資化試驗과 同一하게 하였다.

ㄴ) Arbutin 分解性: 殺菌한 petri dish에 arbutin agar培地(arbutin 5g, yeast extract solution 1,000ml, agar 20g)의 適當量과 $FeCl_3$ 10%溶液 1~2滴을 流入하고 잘 混合하였다. 培地가 固化한 後, 酵母를 劃線狀으로 接種하여 25°C에서 7日間 培養하고 arbutin의 分解는 分解生成物인 phenol과 $FeCl_3$ 와의 着色反應(暗褐色)에 依해서 判定하였다.

ㄷ) 澱粉類似物質의 生成: 炭素化合物同化試驗用培地에 炭素源으로서 glucose를 3% 添加하여 調製한 液體培地를 殺菌하고 25°C에서 24日間 培養한 後, Lugol液 1~2滴을 加해서 判定하였다.

ㄴ) 色素의 生成: YM Streak培地를 使用해 25°C에서 1~3週間 培養하면서 色調를 判定하였다.

ㄷ) Ester의 生成: Glucose 5%를 含有하는 酵母水 培地 20ml를 넣은 50ml容 三角 flask에 酵母를 接種하고 25°C로 5日間 培養한 後 官能的으로 香氣에 依해서 ester의 生成을 檢査하였다.

ㄴ) 生酸性試驗: 酵母浸出液 1,000ml, agar 20g glucose 5g, agar 20g의 培地를 test tube에 分注 殺菌하여 斜面培地로 해서 酵母를 接種하였다. 25°C에서 14日間 培養하면서 colony周邊의 $CaCO_3$ 의 溶解程度에 依해서 生酸性을 觀察하였다.

ㄷ) Gelatin의 液化性: Gelatin 10g를 물 90ml에 溶解하여 이 45ml에 glucose 10g를 加한 10倍 濃度의 Wickerham의 炭素源資化性 試驗用培地 0.5ml를 加하였다. 이 培地에 酵母를 穿刺接種하여 25°C에서 2週間 培

養하면서 結果를 觀察하였다.

ㄷ) Vitamin 要求性 : Wickerham의 vitamin 無添加合成培地에 biotin, Ca-pantothenate, inositol, nicotinic acid, pyridoxine-HCl, thiamine-HCl p-aminobenzoic acid, riboflavin의 各 vitamin을 各各 添加한 것과 이들 vitamin 全部를 添加한 培地 및 對照로서 無添加 培地の 總 10種類의 培地를 調製하였다. 可檢 vitamin의 添加量은 表 1과 같다.

Table 1. Vitamin requirement

Vitamin		Vitamin	
Biotin	2 μ g	Pyridoxine HCl	400 μ g
Ca-pantothenate	400 "	Thiamine HCl	400 "
Inositol	2,000 "	p-aminobenzoic acid	200 "
Nicotinic acid	400 "	Riboflavin	200 "

供試酵母는 YM培地에 前培養하고 이 前培養菌體를 모아 生理的 食鹽水에 懸濁洗滌하였다. 그 後에 遠心分離法으로 菌體를 모아 再次 生理的 食鹽水로 洗滌하였다. 이 洗滌操作을 3回 反復하고 最後에 殺菌水로 1回 洗滌하였다. 이 洗滌菌體를 곧 殺菌水中에 懸濁 稀釋해서 最後의 稀釋液에 있어서의 細胞數를 約 $3\sim 6 \times 10^4$ /ml가 되도록 하였다. 이와같이 調製한 酵母菌體 懸濁液의 0.5ml를 먼저 準備한 vitamine 試驗用 培地 9.5ml에 殺菌한 pipette로 注入해서 接種하였다. 接種後 25°C에서 3日間振盪培養해서 生育狀態를 比色計(spectronic-20)를 使用하여 波長 610mm에서 吸光度(O.D.)의 增減을 測定하여 生育率(R)을 다음 方法으로 求하였다.

$$R = \frac{VF(\text{Vitamin 無添加培地에 있어서의 O.D.})}{VA(\text{Vitamin 含有培地에 있어서의 O.D.})}$$

ㄹ) 耐滲透壓性 : YM-agar 培地에 NaCl를 0~20%의 範圍에서 2~3%의 段階로 添加해서 殺菌하고 25°C에서 7日間 培養하였다. 生育狀態는 NaCl無添加培地에 있어서의 生育狀態와 比較하기 爲해서 比色計(spectronic-20)로 波長 610mm에서 吸光度를 測定하여

耐滲透最性を 判定하였다.

ㅅ) 生育 pH : YM培地에 묽은 HCl이나 묽은 NaOH 溶液을 使用해서 pH 2~9의 範圍에서 pH값 1의 間隔으로 調製한 一連의 培地를 test tube에 分注해서 殺菌하고 酵母를 接種하였다. 25°C에서 2週間 培養後, 比色計(spectronic-20)로 610mm에서 吸光度를 測定하여 生育適使pH를 判定하였다.

ㅈ) Urease test : Christensen 培地(peptone 0.1%, glucose 0.1%, NaCl 0.5%, KH_2PO_4 0.2%, agar 1.5%, phenolred 0.012g/1,000ml, pH6.8) 4.5ml를 test tube에 分注, 殺菌後 미리 殺菌한 尿素의 20% 水溶液 0.5ml를 加하여 混合해서 斜面狀으로 固化시키고 이것에 酵母를 劃線接種하여 25°C에서 48時間 培養하였다. 結果는 培地의 色調變化에 依해서 判定하였으며 尿素를 分解했을 境遇에는 培地의 橙黃色은 深紅色으로 變化한다.

ㅇ) 生育溫度 : 固體培地를 調製하여 test tube에 分注, 殺菌하고 固化시킨 後, 미리 37°C로 保溫한 恒溫器에 넣어서 培養溫도와 같은 溫度로 保溫한 後 接種하였다. 37°C에서 1~3週間 培養하면서 肉眼에 依해서 判定하였다. 培地의 組成은 glucose 20g, peptone 10g, yeast extract 5g를 蒸溜水 1,000ml에 溶解해서 調製하였다.

結果 및 考察

形態學的 性質의 試驗은 營養細胞의 形態 크기, 增殖形態 偽菌糸 및 子囊胞子의 形成을 基準으로 하였고 培養的 性質의 試驗은 gas의 發生, 生育의 狀態 colony의 性狀 및 皮膜의 形成을 主로 觀察하여 Table 2와 같은 結果를 얻었다.

酵母의 營養細胞의 形態는 大部分 卵形을 이루어 13菌株中 8菌株를 차지하였고, 그 다음이 橢圓形이며, 球形과 Sausage은 各各 1株 였었다. 또 크기는 6菌株는 普通크기 ($5.5\mu \times 7.5\mu$)를 나타냈으나, 나머지 菌株들은 작은 편이었다.

Table 2. Morphological and cultural properties of yeasts isolated from Kimchi.

Strain No.	Shape	Size(μ)	Multi-plication	Pseudo-mycelium	Spore	Colony	Pellicie
1	Ellipsoidal	(2.0~6.5)×(3.5~16.0)	Singly short chains	+	None	Shiny entire smooth	Slight Ring
2	Sausage-shaped	(1.5~4)×(7~14)	Singly	+	None	Smooth	Ring
3	Ovoid	(2.5~4)×(3×7)	Chains groups	+	None	Dull smooth	Thin
4	Ovoid	(2~4.5)×(2.5×7)	Singly groups	+	None	Smooth wrinkled	Ring islet
5	Ellipsoidal	(3.0~3.8)×(5.2×7.0)	Singly	-	One~four	Smooth entire	None
7	Ovoid	(3.0~6.5)×(5.5~8.0)	Singly short chain	+	One~four	Smooth	Ring
7	Oval	(2~5.5)×(4.5~30)	Singly pairs	+	One~four	Flat smooth entirely wrinkled	Ring
8	Ovoid globose	(2.3~5.0)×(4.5~10)	Singly chains	+	None	Coral red smooth entire wrinkled	Ring
9	Ovoid	(3.5~7.5)×(4.5×17.5)	Pairs short chains	+	One~four	Smooth entire brownish	None
10	Ovoid ellipsoidal	(4.5~10.5)×(7.0~18.5)	Singly pairs short chains	+	One~four	Raised entire	None
11	Opheroidal	(3.0×6.0)×(3.5~7.0)	Singly pairs	-	One~two	Smooth entire undulate	None
12	Spheroidal ellipsoidal	(3.0~8.0)×(4.5~17.0)	Singly pairs	+	One~four	Raised entire undulating	Imcomplete ring
13	Ovoid	(2.5~5)×(5~9)	Group	-	None	Semidull smooth	None

+ : positive. - : negative.

偽菌系の形成에 있어서 cover glass의 使用 與否는 影響이 컸으며 특히 No 1의 菌株에 있어서는 현저하였다. 一般적으로 No 5, 11, 13의 菌株를 除外하고는 偽菌系の形成이 明確하게 觀察되었다. 屬의 決定에 가장 重要한 特徵의 하나가 되는 子囊孢子形成에 는 石膏培地와 改良 Gorodokowa agar培地를 使用하였으나 No 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12菌株는 YM agar培地에서도 胞子를 잘 形成하였다.

培養的 性質試驗에서는 液體培養의 沈澱 皮膜形成等을 主로 觀察하였으며 gas의 發生은 生理學的 性質의 醱酵性에서 觀察하였다. 皮膜形成에서 小島嶼(islet)狀을 띠는 No. 4, 7의 2菌株였으며 反對로 No. 1, 5, 9, 10, 13의 5菌株는 全然 皮膜을 형성하지 않았다. YM agar 斜面培地上에 生育한 colony

는 性狀이나 色調에 特徵이 있어 菌種의 判別에 重要한 指標가 되었다. 斜面培地上에 서의 生育을 보면 No. 4, 5, 7, 8, 11의 5菌株는 良好하였으며, 其他 菌株는 普通 程度였다. colony의 表面形成은 大部分이 平渦 하였고, No. 4, 7, 8의 3菌株는 皺狀(wrinkled), No. 10, 12의 2菌株는 台狀(raised)을 나타냈다. 周緣의 形狀에 있어서도 全緣(entire), 波狀(undulate)을 나타낸 것이 많았고, 光澤은 一般적으로 輝光(shiny) 또는 鈍光(dull)을 띠고 있었다. 色調는 大部分 乳白色을 나타냈지만, No. 5, 6, 8, 9의 4菌株는 赤紅色 또는 褐色을 나타내어 同定에 큰 도움이 되었다.

酵母의 屬은 形態學的 培養的 性質에 依해서 大概 決定할 수가 있지만 生理學的 性質의 特徵은 種의 分類 同定에 決定的인 指

Table 3 Physiological properties of yeasts isolated from Kimchi.

Strain No.	Fermentation						Assimilation						Splitting of arbutin
	Gl.	Ga.	Su.	Ma.	La.	Ra.	Gl.	Ga.	Su.	Ma.	La.	KNO ₃	
1	+	+	+	+	+	1/3	+	-	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
3	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
4	+	-	-	-	-	1/3	+	+	+	+	-	-	+
5	+	-	+	+	-	1/3	+	-	+	+	-	+	-
6	+	-	+	+	-	1/3	+	+	+	+	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
9	-	-	+	+	-	1/3	+	-	+	+	-	-	-
10	+	+	+	+	-	1/3	+	+	+	+	-	-	-
11	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
12	-	+	-	±	-	-	+	+	+	+	-	-	-
13	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+

Production of starch like compounds	Pigment fermentation	Ester formation	Acid production	Gelatin liquefaction	Vitamin requirements	Osmo-tolerance NaCl14%	Urease test	Growth temperature 37°C
-	-	-	+	-	+	-	-	+
-	-	+	+	+	+	-	-	-
-	-	-	+	+	+	+	-	+
-	-	-	+	+	+	-	-	+
-	Brown	-	-	+	-	-	-	-
-	Brownish Cream	-	+	+	+	-	-	+
-	-	-	+	+	-	-	-	+
-	Pink to Orange	-	+	-	-	-	+	+
-	Brownish Cream	-	+	+	-	-	-	+
-	-	+	+	-	±	-	-	+
-	-	-	+	-	-	+	-	-
-	-	-	+	+	+	-	-	-
-	-	+	-	-	+	-	-	+

(+) : positive, (-) : negative, (±) : variable.

標가 되기 때문에 現在 各種의 酵母에 對해서 實施되고 있는 試驗 項目中 糖類의 醱酵性 炭素化合物의 資化性, 窒酸鹽의 資化性, arbutin의 分解色素의 生成等 基本的인 14項目을 取扱하였고 直接 同定에 關係가 없는 全醱酵度, 醱酵力試驗이나, 아직 研究結果가 不充分하여 基準化되어 있지 않은 性質, 例를 들면 脂質의 分解 또는 生成, 炭化水素 資化性, DNA의 試驗等은 除外하고 生理的 特性을 試驗하였는데 그 結果는 Table 3과 같다.

糖類의 醱酵性에 있어서는 No. 1의 菌株는 可檢糖類 6種을 全部 醱酵하였지만 No. 2, 7, 8의 3菌株는 反對로 全部 非醱酵性이었다. 특히 lactose의 醱酵에 있어서는 No. 1의 菌株만이 陽性을 나타내었고 其他 菌株는 全部 陰性을 나타내었다. 糖類의 醱酵性 判定에 있어서 Lodder, 飯塚 및 Barnett等

의 檢索表에 있어서 몇種의 糖은 表示가 一致되지 않아 菌種 同定에 困難을 가지고 온 것도 있었다. 糖類의 資化性은 醱酵性和 같이 酵母의 分類 同定上 重要한 性質의 하나이다. 특히 Barnett의 「A New Key the yeasts」에 있어서는 大端히 重要한 位置를 차지하고 있다. No. 1의 菌株는 5種의 全糖類를 資化하였고, No. 4. 6. 8. 10. 11. 12. 13의 7菌株는 lactose만을 除外하고는 全部 資化하였다. No. 7의 菌株는 glucose만을 資化하였으나 其他의 糖類는 資化能力이 없었다. 특히 lactose는 唯一하게 No. 1의 菌株만이 資化하였고 다른 菌株들은 資化能力이 전혀 없었다. 窒酸鹽(KNO₃)의 資化에 있어서는 No. 1. 5. 8의 3種만이 陽性으로 나타났으며 其他 菌株들은 전혀 資化能力이 없었다. Arbutin의 分解性에 있어서는 No. 1. 2. 3. 4. 8. 13의 6菌株는 陽性이었으나 其他는

分解성이 없었다. 澱粉類似物質의 生成은 全部陰性을 나타 내었다. 大部分의 酵母는 cream色 또는 白色이지만 獨特한 色素形成은 分類 同定上 重要한 指標가 되었다. No. 5, 6, 8, 9의 4菌株는 色素를 生成하였는데 그 中에서도 No. 8의 菌株는 赤紅色을 나타내었다. Ester의 生産性에 있어서 No. 1, 2, 10, 13의 4菌株는 官能的으로 檢知할 수가 있었는데 그 中 No. 2의 菌株는 若干 判定하기가 困難한 程度로 弱하였다. 酵母의 酸性에 있어서 No. 5 및 No. 13의 2菌株는 陰性이었고 其他는 陽性을 나타냈는데 No. 1의 菌株는 가장 強한 反應을 나타내었다. Gelatin의 液化性에 있어서는 No. 1, 8, 10, 11, 13의 5菌株는 反應이 없었고 其他는 全部 微弱한 溶解性을 나타내었다. vitamin의 要求性은 比色計의 吸光度를 測定하여 生育率(R)를 求하여 R=70 以上은 vitamin을 要求하지 않으며 R=10~50은 刺戟的 또는 適應的으로 要求하고 R=5 以下는 必須的으로 要求하는 것으로 判定하였다. No. 3, 5, 7, 8, 11의 5菌株는 모든 可檢 vitamin을 要求하지 않으며, 其他 菌株는 要求性的 것이었다. 耐滲透壓性에 있어서의 生育은 NaCl 14%를 基準으로 하였을 때 No. 3, 11의 2菌株만이 耐滲透壓性이었다. 生育 pH를 보면 5.0~8.0사이에서는 모든 酵母가 잘 生育하였으나 酸性으로 됨에 따라 No. 1, 2, 3, 5, 10, 11, 13의 7菌株는 pH 2에서도 生育할 수 있었으나 나머지 6菌株는 pH 4.0에서도 生育할 수가 없었다. 그리고 No. 2, 6, 7, 9의 4菌株는 pH 8 이상에서 역시 生育不能이었다. Urease test에 있어서는 No. 8의 한 菌株만이 陽性이며 나머지는 모두 陰性을 나타내었다. 끝으로 生育溫度에 있어서는 37°C에서 生育하지 못하는 것이 No. 2, 5, 11의 3菌株 뿐이었다.

以上 實驗의 結果 및 考察로부터 No. 1菌株는 *Brettanomyces clausenii*, No. 2菌株는 *Candida bogoriensis*, No. 3菌株는 *C. cacaoi*, No. 4菌株는 *C. guilliermondii*, No. 5菌株는 *Citeromyces matritensis*, No. 6菌株는 *Kluyveromyces veronae*, No. 7菌

株는 *Pichia membranaefaciens*, No. 8菌株는 *Rhodotorula glutinis*, No. 9菌株는 *Saccaromyces bayanus*, No. 10菌株는 *S. cerevisiae*, No. 11菌株는 *S. pretoriensis*, No. 12菌株는 *S. italicus*, No. 13菌株는 *Torulopsis salmanticensis*의 8屬 13種으로 分類同定하였는 바, 各 菌種의 特性은 다음과 같다.

1. *Brettanomyces clausenii*

多極性 出芽에 依해서 增殖 細胞는 尖頭 橢圓形 또는 卵形이며 크기는 (2.0~6.5) × (3.5~16.0) μ이다. 單一細胞 또는 몇 個의 細胞가 짧은 連鎖를 이룬다. 皮膜은 形成치 않으나 沈澱을 生成하며 偽菌糸도 形成한다 Cover glass가 被覆된 部分의 偽菌糸는 slide glass에 好氣的으로 露出된 部分보다 生育이 旺盛하다. Colony는 平滑 輝光을 띠며 周緣의 形狀은 全緣이다. 可檢 全糖類를 醱酵 및 資化하였으며 窒酸鹽도 資化한다. Arbutin을 分解하며 vitamin要求性도 있다. glucose로부터 酸을 生成하나 urease test는 陰性이다. 37°C에서 生育한다. 耐滲透壓性은 없다.

2. *Candida bogoriensis*

多極性 出芽 細胞는 圓筒伸長形(sausage)이며 크기는 (1.5~4.0) × (7.0~14.0) μ이다. 皮膜과 沈澱을 生成하며 偽菌糸를 잘 形成한다. Colony는 粘稠性(mucoid)을 띠고 平滑하다. 粘類는 醱酵하지 않으나 glucose와 maltose를 資化한다. 窒酸鹽은 資化하지 않고 arbutin을 分解한다. Vitamin 要求性은 있으나 弱하다. Urease test는 陰性이다. 37°C에서 生育하지 못하며 耐滲透壓性은 없다.

※ Lodder의 「The yeasts」에는 galactose의 資化가 negative인데 反하여 飯塚의 檢索表에서는 positive로 되어 있어 一定하지 않으나, 本 實驗의 結果는 negative이었으며 Lodder의 方法에 따라 *Candida bogoriensis*로 同定하였다.

3. *Candida cacaoi*

多極性 出芽 細胞는 卵形이며 크기는 (2.5~4.0) × (3.0~7.0) μ이다. 連鎖 또는 群을 이룬다. 얇은 皮膜과 偽菌糸를 形成한다. Colony는 鈍光을 띠며 表面은 平滑하다. 糖類의 醱酵性은 glucose에만 있으며, 資化

性은 glucose 및 galactose에만 있다. 窒酸鹽을 資化하지 못하고 arbutin을 分解하며 vitamin要求性은 없다. Urease test는 陰性이고 37°C에서 生育한다. 耐滲透性이 있다.

飯塚의 檢索表에는 이 菌種에 對한 記載가 없으며 Lodder의 方法에 依하여 同定하였다.

4. *Candida guilliermondii*

多極性 出芽 細胞는 卵形이며 크기는 $(2.0 \sim 4.5) \times (2.5 \times 7.0) \mu$ 이다. 單一細胞 또는 짧은 連鎖를 이룬다. 皮膜과 偽菌糸를 形成하며 colony는 平滑하다. 糖類의 醱酵性은 glucose, sucrose, raffinose에는 있고 galactose는 미약하다. 資化性은 lactose를 除外하고는 陽性이다. 窒酸鹽의 資化性은 없고, arbutin을 分解하며 vitamin要求性은 弱하다. Urease test는 陰性이고 耐滲透性은 弱하여 14% NaCl 濃度에서는 生育하지 못한다. 37°C에서 生育한다.

Lodder의 檢索表에서는 糖類의 醱酵性에 있어서 galactose는 陽性 또는 weak, sucrose는 陽性 또는 weak이며, 飯塚의 檢索表에는 galactose가 陰性, sucrose가 陽性으로 記載되어 있으나, 本 實驗의 結果는 galactose 陰性, sucrose 陽性이었으므로 飯塚의 檢索表에 따라서 *Candida guilliermondii*로 同定하였다.

5. *Citeromyces matritensis* (*Torulopsis globosa*)

多極性 出芽, 卵形~球形의 細胞로서 크기는 $(3.0 \sim 3.8) \times (5.2 \sim 7.0) \mu$ 이다. 單一細胞 또는 雙連鎖狀을 이룬다. 皮膜과 偽菌糸를 形成하지 않는다. Colony의 表面은 平滑하며 全綠이다. 時日이 경과함에 따라 褐色을 나타낸다. 1~2後의 子囊胞子를 形成한다. 糖類는 glucose, sucrose maltose 및 raffinose를 醱酵하고 galactose 및 lactose에는 資化性이 없다. 질산鹽은 資化하나 arbutin은 分解하지 않는다. vitamin要求性은 없으며 urease test는 陰性이다. 37°C에서 生育하지 않는다. 耐滲透性이 없다.

Maltose의 醱酵에 對해서는 Lodder에 依하면 陰性이나 飯塚에 依하면 陽性, 그리고

Barnett and Pankhurst에 依하면 陰性으로 되어 있다. 本 實驗의 結果는 陽性이므로 飯塚의 記載에 따라 *Citeromyces matritensis*로 同定하였다. 또 本 菌種의 其他 糖類의 醱酵性이나 資化性 및 窒酸鹽의 資化性은 Lodder, 飯塚 및 Barnett 등의 記載가 모두 同一하다. Lodder의 「The Yeasts」에 依하면, 本 菌種은 *Torulopsis globosa* (1952), *Hansenula matritensis* (1956)로 命名되었던 것을 1957年 Santa Maria는 *Citeromyces*屬을 創立하여 *Citeromyces matritensis*로 命名하였기에 이 同定菌도 *Citeromyces matritensis*로 同定하였다.

6. *Kluyveromyces veronae*

多極性 出芽, 細胞는 橢圓~卵形이며, 크기는 $(3.0 \sim 6.5) \times (5.5 \sim 8.0) \mu$ 이다. 單一細胞 또는 짧은 連鎖狀을 이룬다. 皮膜과 沈澱을 生成하며 偽菌糸도 形成한다. colony의 表面은 平滑하며 全綠 또는 波狀인데 輝光을 띄나 時日이 경과하면 褐紅色을 나타낸다. galactose, lactose를 除外한 糖類는 醱酵性이 있고 lactose를 除外한 糖類를 資化한다. 窒酸鹽은 資化하지 못하며 arbutin의 分解性도 없다. vitamin의 要求性은 있으며 耐滲透性은 없다. urease test는 陰性이며 37°C에서 弱한 生育을 한다.

7. *Pichia membranaefaciens*

多極性 出芽, 卵形 長卵形, 圓柱形이며 크기는 $(3.0 \sim 5.0) \times (5.0 \sim 12.0) \mu$ 이다. 單獨 또는 짧은 連鎖를 이룬다. 少量의 沈澱과 皮膜을 生成하며 偽菌糸도 形成한다. Colony는 鈍光澤 隆起 또는 平坦이며 部分의 또는 全體의으로 皺狀으로 되기도 한다. 子囊胞子는 1~4個 形成한다. 糖類는 glucose만을 極히 弱하게 醱酵하여 -로 表示하였고 資化性은 glucose에만 있다. 窒酸鹽을 資化하지 못하고 arbutin도 分解하지 못한다. vitamin 要求性은 不定이며 耐滲透性은 없다. Urease test는 陰性이며 ester形成도 없다. 37°C에서 生育한다.

8. *Rhodotorula glutinis*

多極性 出芽 細胞는 球形 또는 卵形이며 크기는 $(4.0 \sim 5.0) \times (5.0 \sim 6.0) \mu$ 이다. 單一

細胞가 遊離狀態로 存在하거나 몇 개의 細胞가 짧은 連鎖를 이룬다. 얇은 皮膜과 沈澱을 生成하는데 偽菌糸의 形成은 不完全하다. colony의 表面은 平滑하고 全緣이며 色調는 赤橙色을 나타낸다. 糖類는 醱酵하지 않으나 lactose를 除外하고서는 資化한다. 窒酸鹽을 資化하고 arbutin을 分解하는데 vitamin의 要求性은 없다. Urease test는 弱한 陽性을 나타낸다. 耐滲透性은 陰性이고 37°C에서 生育한다.

9. *Saccharomyces bayanus*

多極性 出芽 球形 卵形, 또는 橢圓形이며 크기는 (3.5~7.5) × (4.6~17.5) μ이다. 單一細胞 또는 짧은 連鎖를 이룬다. 沈澱은 生成하나 皮膜은 거의 形成하지 않고 偽菌糸를 形成한다. Colony는 紅褐色을 띠며 隆起 平滑하며 全緣이다. 子囊胞子는 1~4個를 形成한다. galactose와 lactose를 除外한 糖類에 對해 醱酵性과 資化性이 있다. 窒酸鹽의 資化性 및 arbutin의 分解性은 없다. vitamin要求性은 不定이고 耐滲透性은 없으며 ester를 形成하지는 않으나 gelatin液化力은 있다. 37°C에서 生育한다.

10. *Saccharomyces cerevisiae*

多極性 出芽 細胞는 球形, 卵形 또는 橢圓形이며 크기는 (5.0~10.0) × (6.0~12.0) μ이다. 單一細胞 또는 짧은 連鎖를 이룬다. 沈澱을 生成하는데 皮膜은 거의 形成하지 않는다. 偽菌糸를 形成한다.

Colony는 cream色 내지 黃褐色을 나타내며 鈍光澤이 있고 平滑하다. colony의 周緣는 全緣 내지 波狀을 이룬다. 子囊胞子는 1~4個를 形成한다. lactose를 除外한 糖類에 對해 醱酵性 및 資化性이 있다. 窒酸鹽의 資化나 arbutin의 分解力은 없다. Vitamin의 要求性은 不定이다. 耐滲透性은 없고 gelatin液化性이나 urease分解力은 없다. ester를 形成하고 37°C에서 生育한다.

22. *Saccharomyces pretoriensis*

多極性 出芽 細胞는 球形이며 크기는 (3.0~6.0) × (3.5~7.0) μ이다. 單一細胞 또는 雙連鎖를 이룬다. 沈澱과 皮膜을 形成한다. 偽菌糸는 嫌氣的 條件에서는 形成하나 好氣的 條件에서는 形成하지 않는다. Colony는 平滑하며 全緣 내지 波狀을 이룬다. 子囊胞子는 1~2個 形成한다. 糖類中 lactose를 除外하고는 醱酵 및 資化性이 있다. 窒酸鹽의 資化性 및 arbutin의 分解力은 없다. Vitamin의 要求性은 없다. 耐滲透性은 있으며 gelatin液化性 및 ester의 生成力은 없다. Urease test는 陰性이다. 37°C에서 生育하지 못한다.

12. *Saccharomyces italicus*

多極性 出芽, 細胞는 球形 또는 橢圓形이며 크기는 (3.0~8.0) × (4.5~17.0) μ이다. 單一細胞가 遊離하든지 몇 個의 짧은 連鎖를 이룬다. 沈澱 및 皮膜을 生成하며 偽菌糸도 形成한다. Colony는 平滑하며 때로는 隆起이며 全緣내지 波狀을 띤다. 子囊胞子는 1~4個를 形成한다. Lactose 및 raffinose를 除外한 糖類에 醱酵性이 있으나, 資化性은 lactose에만 있다. 窒酸鹽은 資化性 및 arbutin의 分解力은 모두 없다. Vitamin 要求性은 不定이며 耐滲透性은 없다. Gelatin液化性은 있으나, ester의 形成力은 없다. 37°C에서 生育한다.

13. *Torulopsis salmanticensis*

多極性 出芽, 細胞는 卵形이며 크기는 (2.5~5.0) × (5.0~9.0) μ이다. 大部分 群을 이룬다. 沈澱을 生成하나 皮膜 및 偽菌糸를 形成하지 않는다. Colony는 平滑하고 全緣이며 若干의 光澤이 있다. Lactose를 除外한 糖類에 醱酵性 및 資化性이 있다. 窒酸鹽의 資化性은 없고 arbutin의 分解力은 있다. Vitamin의 要求性은 있으며 gelatin液化性은 없다. Ester를 形成하여 耐滲透性이 없다. Urease test는 陰性이다. 37°C에서 生育한다.

摘 要

겨울 배추김치中の 酵母를 分離, 同定하기 위해 一般의 方法으로 겨울 배추 김치를 製造 熟成시킨 後

그 汁液에서 分離된 菌株에 對하여 形態學的, 培養的, 生理學的 諸 性質을 試驗하여 Lodder의 「The Yeasts」, 飯塚의 「酵母의 分類同定法」 Baruett aud Paukhurst의 「A New Key to the Yeasts」 및 長谷川の 「微生物의 分類와 同定」의 記載와 比輕 檢討하고, 이들 菌株를 *Brettanomyces claussenii*, *Candida bogoriensis*, *C. cacaoi*, *C. guilliermondii*, *Citeromyces matritensis*, *Kluyveromyces veronae*, *Pichia membranaefaciens*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. pretoriensis*, *S. italicus*, 및 *Torulopsis salmanticensis*의 8屬 13種을 分類 同定하였다.

引用 文 獻

1. Barnett, J.A. & R.J. Pankhurst, 1974, A New Key to the Yeasts, North Holland Publishing Company.
2. 河 淳燮, 1960. Pectin 分解酵素 및 産膜微生物이 沈菜類의 軟腐에 미치는 影響에 關하여. 科硏彙報, 5(2) : 139—147.
3. 長谷川 武治, 1975. 微生物의 分類と 同定, 東京 大學出版會.
4. 黃圭贊, 鄭允秀, 金浩植, 1960. 김치의 微生物學的 研究(第二報). 好氣性 細菌의 分類와 同定. 科硏彙報 5(1), 51—55.
5. 飯塚 廣, 後藤昭二, 1969. 酵母의 分類 同定法. 東京大學出版會 143—146.
6. 晉寅鉉, 1939. 朝鮮醫界, 92
7. 金浩植, 黃圭贊, 1959. 김치의 微生物學的 研究(第一報). 嫌氣性 細菌의 分類와 同定. 科硏彙報, 4(1), 56—63
8. 金浩植, 金在根, 1966. 김치 醱寫中의 細菌의 動的 變化에 關한 研究, 原子力論文集, 6, 112—118
9. 權肅鉉, 1952, 中央化學研究報告, 4, 42—46.
10. Lodder, 1971. The Yeasts. North Hollaud Publishing Co.
11. 好井久雄, 金子委之, 山口和夫, 1973. 食品 微生物學, 技報堂, 144—146.