

젖산균이 물김치에서 분리한 효모의 생육에 미치는 영향

송현주 · 박연희*
아주대학교 생물공학과

Effect of Lactic Acid Bacteria on the Growth of Yeast from Mul-kimchi

Song, Hyun-Joo, Yun-Hee Park*

Department of Biotechnology, A Jou University, Suwon 441-749, Korea

Abstract— The changes of yeast population were investigated in Mul-kimchi containing 3% salt, fermented at 15°C. The total viable count increased to the maximum at the optimum ripening period and then decreased rapidly. Among twenty-nine strains isolated at the optimum ripening period, the yeasts of genus *Saccharomyces* were predominant. The growth of five strains, *Saccharomyces saitoanus* Y17, *Saccharomyces capensis* Y29, *Saccharomyces chevalieri* Y13, *Kluyveromyces fragilis* Y2, *Torulopsis candida* Y9, was measured in mixed culture with each selected lactic strains, *Lactobacillus plantarum* Lp2, *Pediococcus pentosaceus* P1, *Leuconostoc mesenteroides* Lu5. The results indicated that all the yeasts tested were inhibited significantly by lactic strains, however the sensitivity of yeast strains varied greatly.

김치는 우리의 식생활에 큰 비중을 차지하고 있는 고유식품으로 젖산균을 비롯한 각종 미생물이 숙성 과정에 관련되어 있다. 그러나 김치의 미생물에 대하여는 젖산균 및 기타 세균의 분리동정에 관한 연구(1-3)와 김치에서 분리한 젖산균의 다른 미생물에 대한 생육억제작용에 관한 연구보고(4-6)가 있었으나 효모에 대한 연구는 극히 적은 실정이다. 김치 발효 중의 효모의 영향은 종류에 따라 alcohol 생성과 방향 및 풍미를 생성하는 경우도 있으나 막을 형성하고 젖산, alcohol을 산화 분해하여 젖산에 의해 억제되었던 산패균의 증식을 유발하게 되어 보존성에 악영향을 주는 점도 있는 것으로 알려졌다(7).

김치 효모의 분리·동정에 관하여는 최(7)가 8 genera에 속하는 13종의 효모를 분리·동정하였으며 민(8) 등이 식염 농도와 온도에 따른 미생물 수의 변화를 측정하여 식염농도가 높은 경우 10°C 부근에서

효모의 수가 크게 증가한다고 보고하였다. 김치발효에 관련된 미생물은 그 원료, 제조방법, 식염농도, 온도 등 여러가지 요인에 의하여 그 종류와 수에 있어서 큰 영향을 받으며 일반김치와 달리 국물이 많은 물김치에서는 효모의 수와 그 작용이 중요한 것으로 추측할 수 있다.

그러나 젖산균과 효모가 공존하는 숙성과정에서 젖산균이 효모에 미치는 영향에 대하여는 연구된 바가 없었으므로 본 실험에서는 물김치 숙성중의 효모를 분리·동정하고 동일한 김치에서 분리하여 이미 *E. coli* 등 수종의 세균에 대하여 생육억제작용을 나타낸 젖산균의 이들 효모에 대한 억제작용을 조사하였다.

실험재료 및 방법

김치제조

배추, 무우, 파, 마늘 및 생강을 사용하여 상법으로 물김치를 제조하였으며 물의 양은 원료의 약 4배로 하고 최종 식염농도가 3.0%(w/v)가 되도록 소금을

첨가하여 15°C에서 숙성시켰다.

pH 및 total acidity 측정

김치발효중의 pH 변화는 pH meter로 측정하였으며 total acidity는 김치 sample 2~4 ml을 0.1 N NaOH 용액을 적정하여 젖산(% w/v)으로 표시하였다.

사용균주

젖산균은 이미 전보(9)의 실험결과로 *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 등에 강한 생육억제작용을 갖는 *Lactobacillus plantarum* Lp2와 역시 김치에서 분리한 젖산균 *Pediococcus pentosaceus* P1, *Leuconostoc me-*

senteroides Lu5를 사용하였다.

효모의 분리 및 동정

효모의 분리: 김치국물을 멸균수에 적당히 희석한 후 malt agar에 penicillin 60 µg/ml과 streptomycin 100 µg/ml을 첨가한 배지(10)에 접종하여 25~27°C에서 2~3일간 배양하여 자란 colony를 분리하였다.

분리한 균주는 YM(yeast extract-malt extract) broth에 접종한 다음 25°C에서 24~48시간 배양한 후 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

효모의 동정: YM agar 배지에서 25°C로 2일간 배양한 후 각 균주에 대해서 Lodder의 방법(11)으로 형태학적 및 생리학적 성질을 시험하여 동정하였다.

Table 1. Morphological and physiological properties of yeasts isolated from Mul-kimchi

| Strain No. | Shape | Fermentation | | | | | | | | | Assimilation | | | | |
|------------|-------|--------------|----|----|----|----|----|----|----|------------------|--------------|----|----|----|----|
| | | G | Ga | Su | Ma | Ra | Tr | Me | La | KNO ₃ | G | Ga | Su | Ma | La |
| 1 | E | + | + | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | - | + |
| 2 | E | + | + | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | - | + |
| 3 | E | + | + | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | - | + |
| 4 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 5 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 6 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 7 | S | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 8 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 9 | S | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | + |
| 10 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 11 | S | + | + | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 12 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 13 | S | + | + | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 14 | S | + | + | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 15 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 16 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 17 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 18 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 19 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 20 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 21 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 22 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 23 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 24 | E | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| 25 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 26 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 27 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 28 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| 29 | S | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |

G: Glucose, Ga: Galactose, Su: Sucrose, Ma: Maltose, Ra: Raffinose Tr: Trehalose, Me: Melibiose, La: Lactose, E: Ellipsoidal, S: Spheroidal

효모의 생육 측정

젖산균과 혼합배양종의 효모의 생육은 선택배지에서 생균수로 측정하였다. 즉, 선발한 젖산균 3주를 각각 선발한 효모균주와 동시에 100 ml의 MRS broth (12)에 균수가 약 1×10^5 /ml씩 접종하여 30°C에서 배양하면서 12시간마다 시료를 취하였으며 효모의 생육은 생균수로 측정하였다. 효모의 선택배지로는 세균의 생육을 억제시키기 위하여 penicillin과 streptomycin을 각각 60, 100 µg/ml 첨가한 malt agar를 사용하였다. 또한 비교측정을 위하여 각 효모균주 단독으로 배양한 때는 lactic acid로 12시간마다 *Lactobacillus plantarum* Lp2가 MRS broth에서 생육할 때와 같은 수준의 pH로 조절하였다.

젖산균의 억제작용에 젖산균이 생성하는 H₂O₂의 관련여부를 조사하기 위하여 catalase(crude beef liver catalase, Sigma Co.)를 0.05 M phosphate buffer에 1 mg/ml로 만들어 Millipore filter(pore size 0.45 µm)로 여과하여 배양액에 30 unit/ml가 되도록 첨가하였다.

젖산균의 측정

혼합배양시 젖산균의 생육을 조사하기 위하여 12시간마다 시료를 취하여 saline buffer에 10배수로 희석한 뒤 생균수를 측정하였다.

결과 및 고찰

효모의 동정

물김치의 발효시작 6~7일 후에 분리한 효모 29주의 형태 및 당의 발효, 자화능력 등을 조사하여 Loddner(11)에 의해 동정한 결과 *Saccharomyces* sp.가 24주로 대부분이었으며 *Kluyveromyces fragilis* 3주, *Torulopsis candida* 2주가 동정되었다(Table 1). *Saccharomyces* sp. 24주는 *S. capensis*가 12주, *S. saitoanus* 9주, *S. chevalieri* 3주로 밝혀져 최(7)가 겨울에 3개월간 숙성시킨 김치에서 분리한 효모와는 일치하는 종이 없었고 *Pichia*, *Candida*와 같은 전형적인 산막효모는 발견되지 않았다.

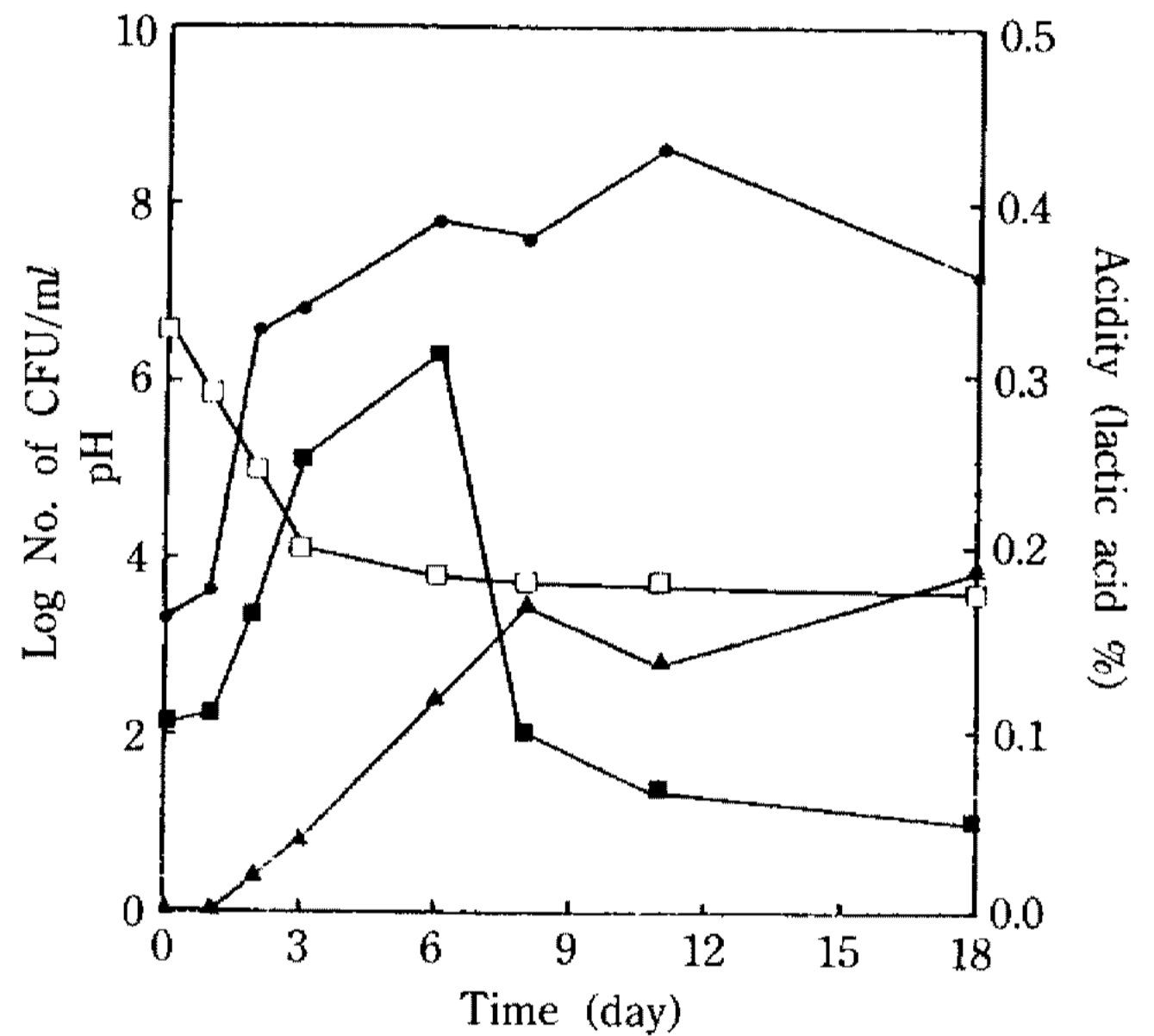


Fig. 1. Change of lactic acid bacteria (●), yeasts (■), total acidity (▲) and pH (□) during Mul-kimch fermentation at 15°C with 3% NaCl.

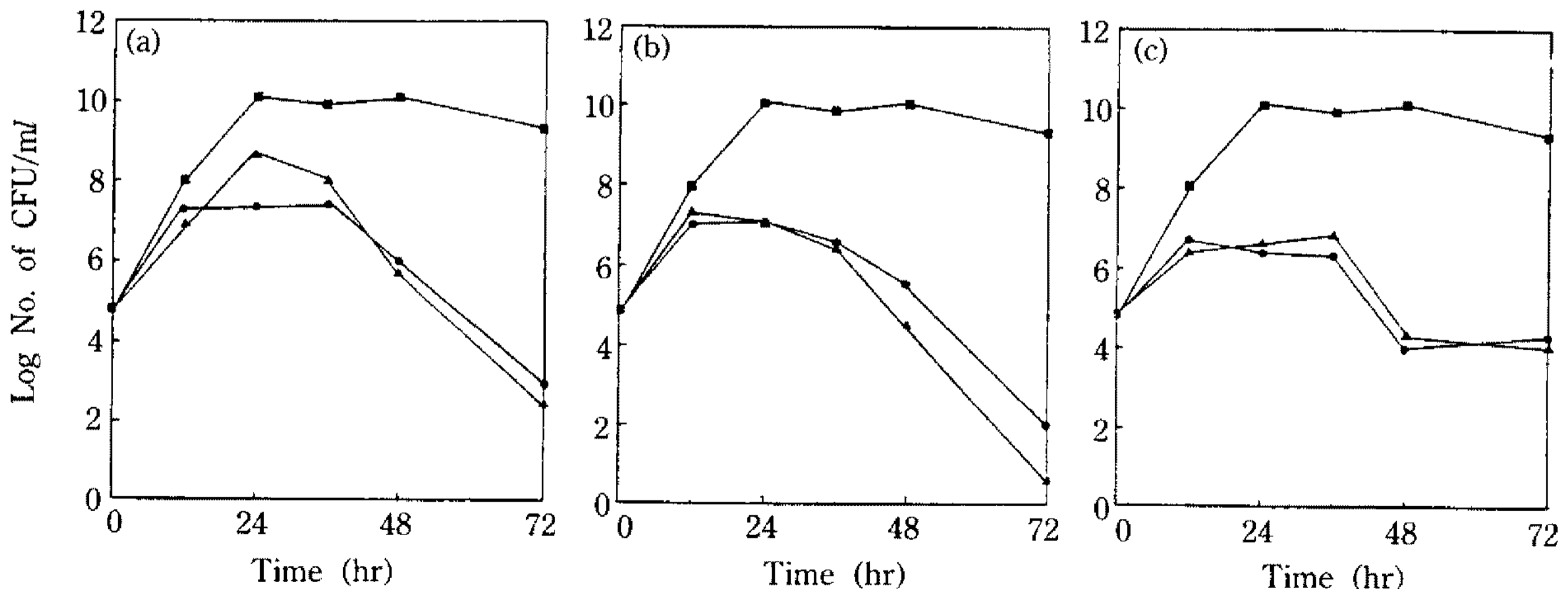


Fig. 2. Effect of lactic acid bacteria on the growth of *Saccharomyces saitoanus* Y17 at 30°C (control ■). (a) *P. pentosaceus* P1 (▲) and P1 (●) with catalase, (b) *L. plantarum* Lp2 (▲) and Lp2 (●) with catalase, (c) *L. mesenteroides* Lu5 (▲) and Lu5 (●) with catalase

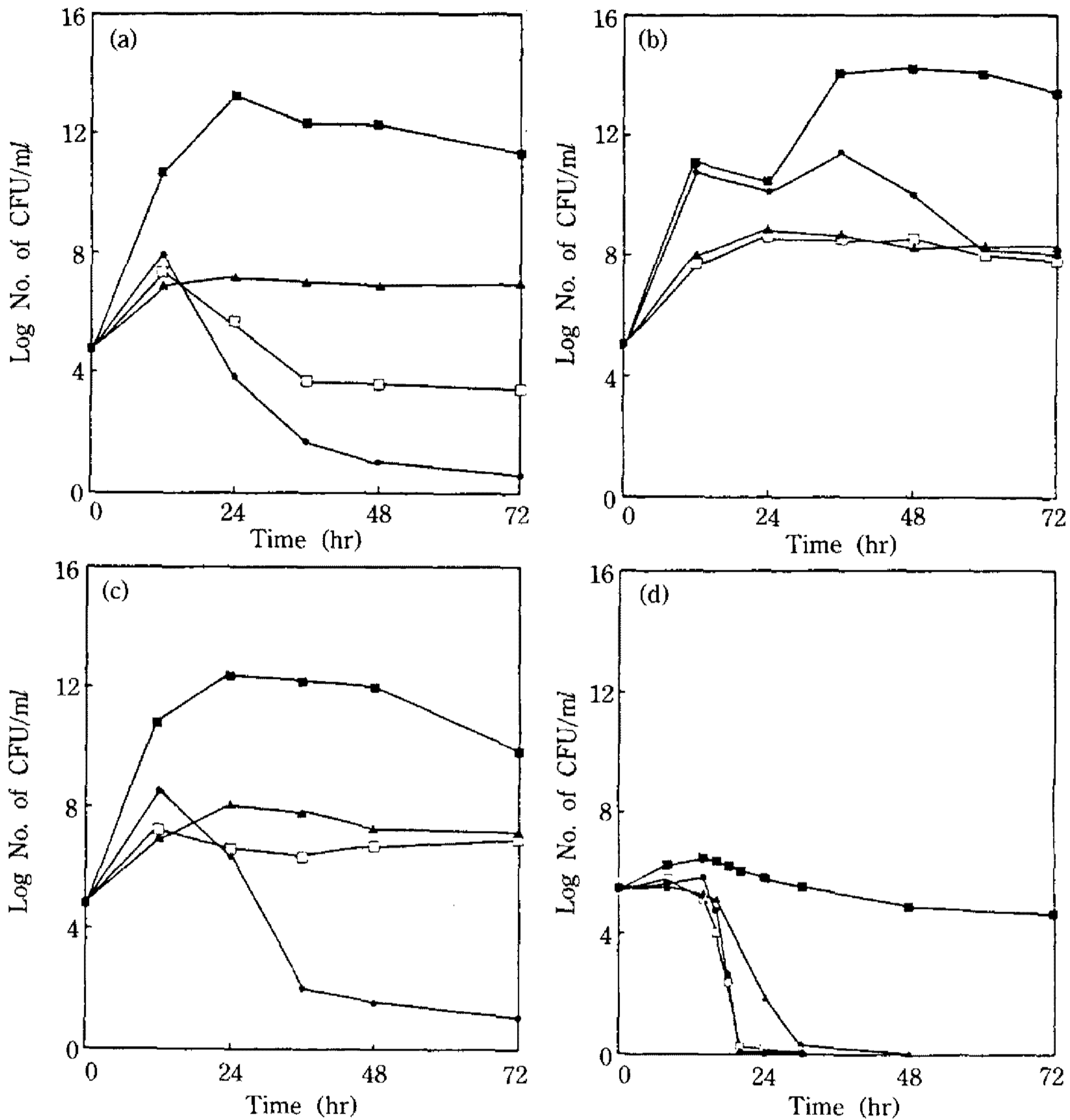


Fig. 3. Growth of yeasts in mixed culture with *P. pentosaceus* P1 (□), *L. plantarum* Lp2 (●), and *L. mesenteroides* Lu5 (▲) at 30°C (control: ■).
 (a) *Saccharomyces capensis* Y29, (b) *Saccharomyces chevalieri* Y13, (c) *Kluyveromyces fragilis* Y2, (d) *Torulopsis candida* Y9

물김치 숙성중 효모의 변화

식염의 농도를 2%로 하여 15°C에서 담근 물김치의 젖산균의 효모 수의 변화, total acidity 및 pH를 측정된 결과는 Fig.1과 같다. 효모는 젖산균과 유사한 추세로 6일까지 증가하다가 그 후에는 급격히 감소하였으며 그 수는 최고 2.5×10^6 /ml에 달하여 일반 김치에서 효모의 수가 대체로 1,000/ml 정도인데 비하여 약 1,000배 가량 많은 것으로 나타났고 이는 국물이 많은 물김치의 조성이 효모의 생육에 적합하기 때문으로 볼 수 있다. 이 결과는 민(8) 등의 결과와 비교하여 큰 차이를 나타내는 것으로, 일반 김치에서는 유사한 조건에서 김치의 숙성 적기까지 효모의

수가 크게 증가하지 않은 반면 후기에 증가하여 주로 알콜이나 젖산을 산화시켜 변패에 원인이 되는 것으로 밝혀졌다. 그러나 이 물김치의 경우에는 15°C에서는 숙성 적기까지 효모의 수가 증가하는 반면, 후기에는 감소하는 것으로 나타나 그 작용이 당의 발효에 의한 ethanol과 CO₂ 생성, 풍미의 생성으로 물김치에 좋은 영향을 미치는 것으로 추측할 수 있다.

젖산균의 효모에 대한 억제작용

물김치에서 분리한 젖산균 중 *E. coli* 등 그람음성 세균에 대하여 생육억제작용을 가진 것으로 밝혀진 *Lactobacillus plantarum* Lp2(9)와 *Pediococcus pento-*

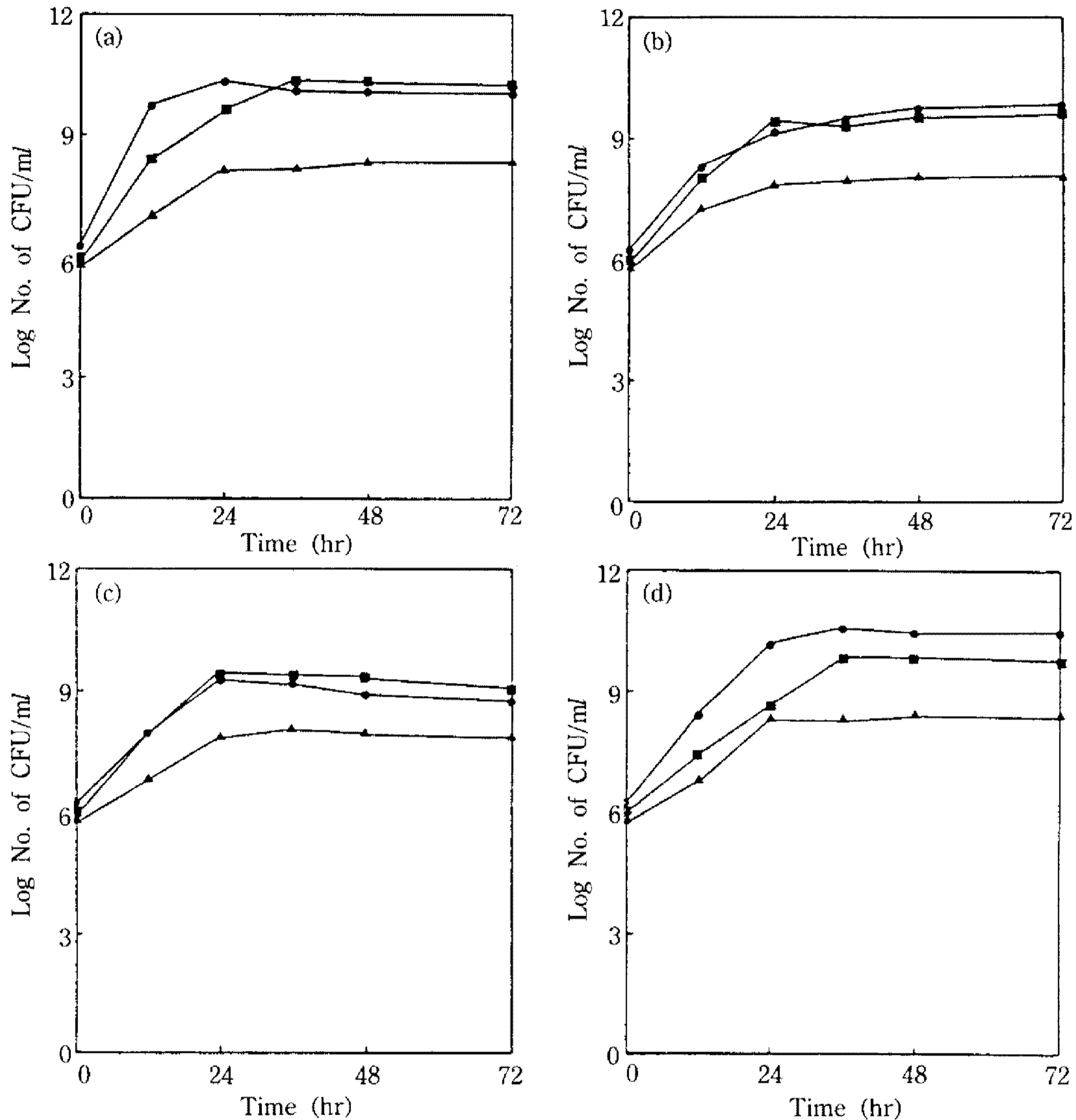


Fig. 4. Growth of *P. pentosaceus* P1 (■), *L. plantarum* Lp2 (●) and *L. mesenteroides* Lu5 (▲) in mixed culture with yeasts at 30°C. (a) P1, Lp2 and Lu5 alone, (b) with *Saccharomyces capensis* Y29, (c) with *Saccharomyces chevalieri* Y13, (d) with *Torulopsis candida* Y9

saceus P1, *Leuconostoc mesenteroides* Lu5를 동일한 물김치에서 분리한 효모 *Saccharomyces saioanus* Y17에 각각 첨가 혼합배양하여 효모의 생육에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다.

세 종류의 젖산균을 첨가한 경우 모두 control에 비하여 Y17의 생육이 억제되었으며 Lp2와 P1을 첨가한 경우에는 36시간 후부터 효모의 수가 거의 일정한 비율로 감소하는 것으로 나타났다. 이때 젖산균의 생육억제작용의 원인을 조사하기 위하여 control에는 *L. plantarum* Lp2가 생산하는 것과 같은 양의 lactic acid를 첨가하였으며 또한 catalase를 첨가하여 이 젖산균이 생성하는 H₂O₂가 생육억제작용을 하는지

여부를 조사한 결과 catalase의 첨가는 거의 영향을 미치지 않은 것으로 나타나 젖산균의 효모에 대한 억제작용은 lactic acid나 H₂O₂가 아닌 다른 물질에 의한 것으로 생각된다. Fig. 3에서는 물김치에서 분리한 효모 *Saccharomyces capensis* Y29, *Saccharomyces chevalieri* Y13, *Kluyveromyces fragilis* Y2 및 *Torulopsis candida* Y9에 각각 세 젖산균을 혼합배양하여 효모의 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 효모의 종류에 따라 이 세 종류의 젖산균에 의하여 영향을 받은 정도가 매우 다른 것으로 나타났다. 즉, *S. capensis* Y29의 경우에는 *L. plantarum* Lp2가 가장 강한 효과를 보여 12시간 후부터는 Y29의 수가 감소하였고,

Leu. mesenteroides Lu5는 효모의 생육억제작용만 나타내었다. 그러나, *S. chevalieri* Y13에 대하여는 P1과 Lu5가 거의 같은 정도의 억제효과를 보였고, *S. capensis* Y29에 대하여 강한 효과를 나타내었던 Lp2는 초기에는 효과가 거의 없었으며 36시간 이후에 수가 감소하여 P1, Lu5와 같은 생균수를 나타내었다. *Torulopsis candida* Y9의 경우에는 초기부터 생육이 억제되었고 약 16시간 후부터는 효모의 수가 급격히 감소되어 약 30시간 후에는 살아있는 효모가 발견되지 않았다.

이와 같이 효모의 종류에 따라 세 젖산균에 의한 저해 정도의 차이가 각각 혼합배양시 젖산균의 생육 정도의 차이에 의한 것인지 조사하기 위하여 *S. capensis* Y29, *S. chevalieri* Y13, *Torulopsis candida* Y9 효모와 혼합배양시의 젖산균의 생육을 측정하였다. 이 결과는 세 종류의 젖산균주는 혼합배양하는 효모균주에 따라 total growth에 어느 정도의 차이는 있으나 대체로 일정한 생육양상을 보이고 있으므로 이들 젖산균에 의해 5종류의 효모가 억제되는 정도에 대단히 큰 차이를 보이는 것은 젖산균이 생성하는 생육억제 물질에 대한 효모의 감수성에 차이가 있기 때문으로 볼 수 있다. 그러나 그 원인에 대하여는 알 수 없으며 젖산균이 생성하는 생육억제물질의 특성 및 그 작용 기작이 밝혀져야 설명할 수 있을 것이다.

요 약

식염농도 3%로 15°C에서 발효시킨 물김치에서 젖산균과 효모의 균수변화를 측정한 결과 숙성적기까지 효모의 수가 증가한 후 후기에 감소하는 것으로 나타났다. 숙성적기에 효모를 분리동정한 결과 *Saccharomyces* sp.가 24주로 대부분을 차지하였으나 *Kluyveromyces fragilis* 3주, *Torulopsis candida* 2주도 발견되었다. 이 중에서 *S. saitoanus* Y17, *S. capensis* Y29, *S. chevalieri* Y13, *K. fragilis* Y2, *T. candida* Y9를 같은 김치에서 분리한 젖산균 *Lactobacillus plantarum* Lp2, *Pediococcus pentosaceus* P1, *Leuconostoc mesen-*

teroides Lu5와 각각 혼합배양하여 효모의 생육에 미치는 영향을 조사한 결과 모두 생육이 억제되었으며, 이는 lactic acid나 H₂O₂에 의한 억제가 아닌 다른 물질에 의한 것으로 밝혀졌다. 이 세 종류의 젖산균에 의해 영향을 받는 정도는 효모의 종류에 따라 매우 큰 차이를 나타내었다.

참고문헌

1. 황규찬, 정윤수, 김호식. 1960. 김치의 미생물학적 연구(제 2보): 호기성 세균의 분리와 동정. 과연회보 5(1): 51-55.
2. 김호식, 황규찬. 1959. 김치의 미생물학적 연구(제 1보): 혐기성 세균의 분리와 동정. 과연회보 4(1): 56-62.
3. 김호식, 전재근. 1966. 김치발효중의 세균의 동적 변화에 관한 연구. 원자력연구집 6: 112-118.
4. 박연희, 권정주, 조도현, 김수일. 1983. Microbial inhibition of lactic strains isolated from Kimchi. *J. Kor. Agri. Chem. Society* 26: 35-40.
5. 박연희, 조도현. 1986. Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from Kimchi. *J. Kor. Agri. Chem. Society* 29: 207-211.
6. 류옥상. 1989. 김치에서 분리한 *Pediococcus* spp.와 *Lactobacillus plantarum*의 미생물 생육저해 및 plasmid DNA 분리. 아주대학교 생물공학과 석사학위 논문.
7. 최국지. 1970. 김치에서 분리한 효모에 관한 연구-효모의 분리동정. *Kor. J. Microbiol.* 16(1): 1-10.
8. 민태익, 권태완. 1984. Effect of temperature and salt concentration on Kimchi fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 16(4): 443-449.
9. 박연희, 송현주. 1991. Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* Lp2 isolated from Kimchi. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 19(6): 637-643.
10. Davenport, R.R. 1980. *Biology and Activities of Yeasts*, p. 26. Academic Press, London.
11. Lodder, J. 1970. *The Yeast-A Taxonomy Study*, p. 36-102. North-Holland Pub. Co., New York.
12. Difco Laboratories. 1984. *Difco Manual-Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology*, 10th ed., p. 492.

(Received January 13, 1992)