

김치에서 분리한 유산균의 생육에 미치는 오미자 (*Schizandra chinensis*) 추출물의 영향

이신호* · 임용숙

대구효성가톨릭대학교 식품공학과

Effect of Omija (*Schizandra chinensis*) Extract on the Growth of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kimchi. Shin-Ho Lee* and Yong-Suk Im. Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Taegu-Hyosung, Taegu 713-702, Korea - This studies were carried out to investigate the effects of omija (*Schizandra chinensis*) extracts(OE) on the growth of lactic acid bacteria (LAB, HYO-1 and HYO-2) isolated from home-made kimchi. The growth of isolated LAB was inhibited apparently in modified MRS broth containing 1% or 2% of OE. The growth of isolated LAB was inhibited by pH control with HCl to 4.3 or 3.7, the same pH of modified MRS broth containing 1% or 2% of OE. The strong growth inhibitory properties against isolated LAB were shown by fumaric and itaconic acid among various organic acids of *Schizandra chinensis*, such as citric acid, malic acid, lactic acid, fumaric acid, itaconic acid and acetic acid. The isolated LAB were indentified as *Lactobacillus plantarum*.

김치의 보존성 증진은 김치의 산업화 과정에 있어서 시급히 해결해야 할 문제점으로 대두되고 있다. 김치의 숙성은 원료자체와 제조환경으로부터 혼입된 다양한 미생물에 의해 이루어 지지만 주로 유산균의 작용으로 독특한 맛과 풍미를 갖게된다. 이를 유산균의 계속된 작용으로 산도는 증가하여 김치는 시어지고 조직이 연화되며 불쾌취가 생성되어 결국은 식용 불가능한 상태로 변하여 버린다. 김치의 보존성에 관한 문제는 사회구조의 변화로 김치의 소비형태가 급격히 변하여 산업적생산이 보편화되면서 대두되기 시작하였다. 김치의 보존성 증진은 김치의 가식기간을 연장시키는 결과이므로 발효 말기에 번식하는 유산균과 내산성 미생물의 번식을 억제하여 김치의 선도를 유지할 수 있다. 이러한 방법으로는 방사선 조사(1), 방부재첨가(2)가 연구되었으나 소비자가 이러한 처리를 기피하는 점이 문제점으로 제기 되고있다. pH 변화를 억제하기 위한 완충제 또는 염분합물 첨가(3-6)가 시도 되었으며 최근에는 약용식물의 추출물, 천연물질의 첨가등(7)에 관한 연구가 수행되고 있다. 오미자는 목련과의 낙엽 덩굴로 우리나라에서는 산골짜기에서 자라고 일본, 만주, 중국 등에 분포하는 것으로 그 열매가 약용으로 쓰여지고 있으며 한국산이 약용으로 가장 좋다고 한다. 오미자는 특이한 방향과 신맛이 강한 것이 특징이다. 약간의 탄닌을 함유하고 있으며, 뇌신경질환, 강장, 자양, 기침, 피로회복, 기억력 상승, 사고력 집중, 강장작

용 등을 나타낸다(8, 9). 본 연구는 김치의 발효, 숙성 및 변파 전과정에 걸쳐 미생물의 생육을 억제하여 김치의 선도를 유지할 수 있는 천연물의 사용 방안을 모색코져 오미자 알코올 추출물에 대한 김치발효관련 유산균의 성장특성을 검토하였다.

재료 및 방법

김치 발효 유산균의 순수분리 및 보관

대구지역 일반가정에서 담근 70여점의 배추김치를 분리원으로 사용하여 0.02% sodium azide를 함유한 MRS agar에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 특징적인 colony를 취하여 각 시료당 2-3균주씩 분리하여 157균주를 순수 분리하였으며, 분리된 균주를 modified MRS broth에 접종하여 37°C에서 12시간동안 성장실험을 실시하여 활력이 우수한 HYO-1과 HYO-2를 선발하여 MRS slant에 접종하여 37°C에서 24시간 배양후 4°C에서 보관하면서 사용하였다.

오미자 추출물의 제조

오미자의 에탄올 추출물은 오미자를 분쇄하여 냉각관을 설치한 삼각 플라스크에 98% 에탄올을 1:10의 비율로 첨가하여 상온에서 24시간 추출한후 감압증발 농축기상에서 1/10으로 농축하여 멸균한 여과지(Toyo No. 5A)로 여과한후 에탄올 추출액으로 사용하였다.

오미자 추출물의 성장억제 효과

24시간 배양한 분리 유산균인 HYO-1과 HYO-2를 오

*Corresponding author

Tel. 82-53-850-3217, Fax. 82-53-850-3218

E-mail: leesh@cath.cataegu.ac.kr

Key words: *Schizandra chinensis*, Lactic acid bacteria, Growth inhibition, Kimchi, *Lactobacillus plantarum*

미자 에탄올 추출물 1%와 2%를 함유한 modified MRS broth에 각각 접종하여 37°C에서 배양하면서 생균수의 변화를 측정하였다. 생균수의 측정은 시료를 0.1% peptone 용액으로 적정 희석한 후 MRS agar에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 형성된 colony 수를 계측하였다. Modified MRS broth는 증류수 1 l에 peptone 10 g, beef extract 10 g, yeast extract 5 g, glucose 20 g, sodium chloride 5 g을 첨가하여 사용하였다.

배지의 pH에 따른 분리 유산균의 성장

성장배지의 pH를 0.1 N HCl을 사용하여 오미자 1%, 2% 첨가구의 pH인 4.38, 3.75로 각각 pH를 조절한 MRS broth에 24시간 배양한 공시균주를 접종하여 35°C에서 48시간 배양하면서 spectrophotometer (shimadzu, Japan)를 이용 600 nm에서 O.D를 측정하여 대조구와 성장을 비교하였다.

오미자의 구성 유기산이 분리 유산균의 성장에 미치는 영향

오미자에 함유된 주요 유기산으로 알려진(8, 9) fumaric acid, itaconic acid, citric acid, malic acid를 이용하여 오미자 1% 첨가구의 초기 pH인 4.38로 pH를 조절한 MRS broth에 24시간 배양한 공시균주를 접종하여 35°C에서 48시간 배양하면서 대조구와 성장을 비교하였다.

분리 유산균의 동정

Bergey's Manual of Systematized Bacteriology(10)에 의한 동정 Key와 대조하여 HYO-1과 HYO-2를 동정하였다.

결과 및 고찰

오미자 알콜 추출물이 분리 유산균의 성장에 미치는 영향

오미자 농축물 1%, 2%를 첨가한 modified MRS broth에 김치에서 분리한 유산균을 접종하여 48시간 동안 배양하면서 대조구와 성장을 비교한 결과는 Fig. 1에서와 같이 HYO-1, HYO-2 균주 공히 오미자 첨가에 의한 뚜렷한 성장 억제현상을 나타내었다. 1% 첨가구의 경우 HYO-1은 배양 12시간째 대조구는 10^8 CFU/ml, 오미자 추출물 1% 첨가구는 10^4 CFU/ml, 2% 첨가구의 경우 10^3 CFU/ml로 약 4-5 log cycle의 뚜렷한 억제효과를 나타내었다. HYO-2는 HYO-1과 유사한 경향을 나타내어 대조구에 비해 오미자 첨가구가 약 2-3 log cycle의 성장 억제 현상을 나타내었다. HYO-1은 전배양 기간 동안 오미자 추출물 1% 첨가에 의해 거의 성장은 일어나지 않았고 2% 첨가구에 있어서는 배양초기부터 생균수가 감소하

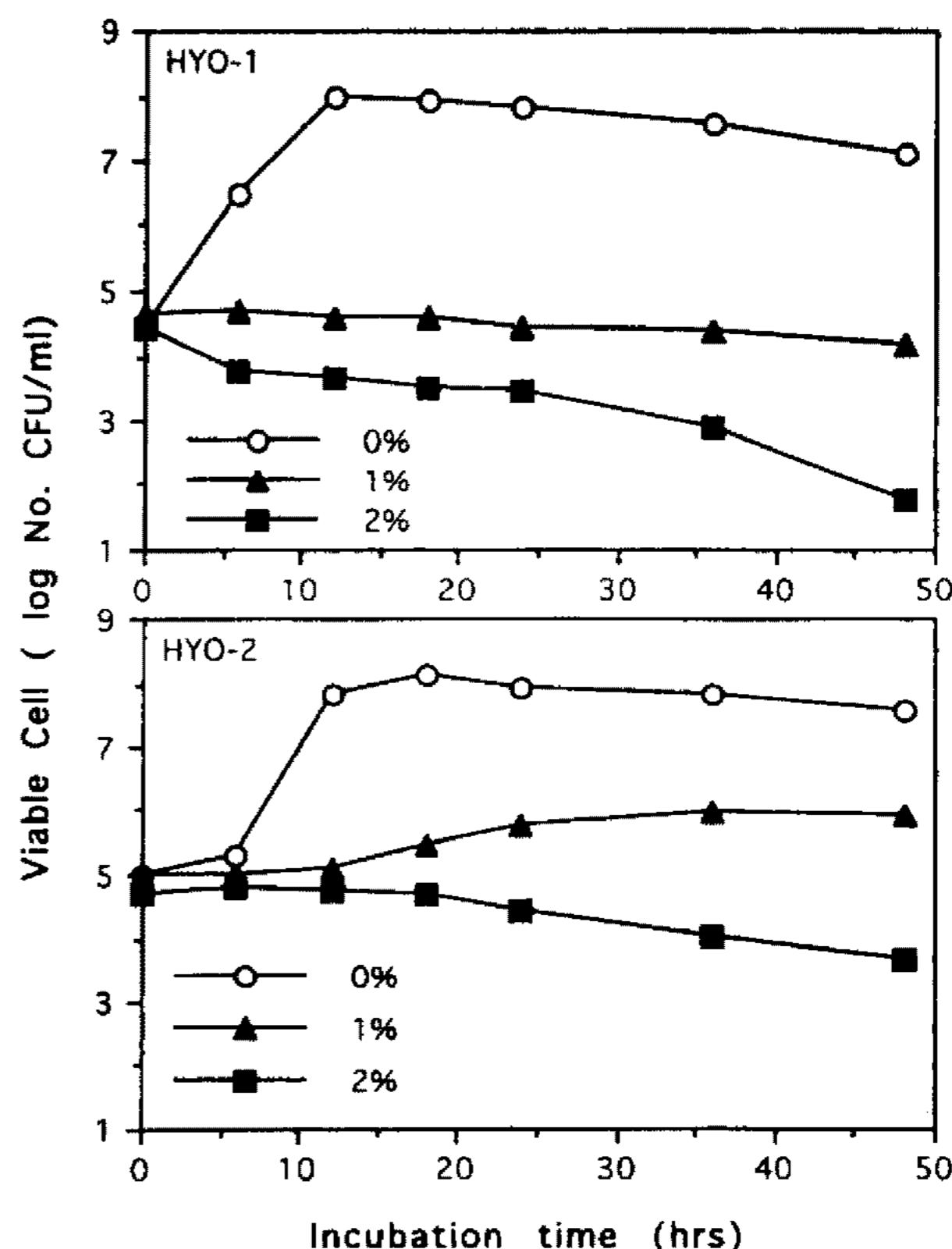


Fig. 1. Growth of lactic acid bacteria isolated from kimchi in modified MRS broth containing 1% or 2% of *Schizandra chinensis* at 37°C.

는 경향을 나타내었다. HYO-2는 배양 12시간 이후 미약한 성장을 관찰할 수 있었으며 오미자 2% 첨가에 의해 생균수는 배양 18시간후 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과로 미루어 보아 오미자 추출물은 김치발효관련 유산균의 뚜렷한 성장 억제효과가 있을 것으로 사료되었으며, 오미자 추출액 1% 농도에서는 김치발효 관련 유산균의 성장이 억제되며 2% 이상 농도에서는 성장이 거의 일어나지 않아 결국 사멸될 것으로 판단되었다.

오미자 첨가에 의한 HYO-1, HYO-2의 배양중 pH의 변화는 Fig. 2에서 보는바와 같이 전배양기간 동안 오미자 1%첨가구의 배양초기 pH 4.38, 2% 첨가구의 초기 pH 3.75에서 거의 변화를 관찰할 수 없었으나 대조구의 pH는 배양 초기 6.20, 6.12에서 배양 18시간째 각각 4.64, 4.80으로 급격한 감소 현상을 보이다가 그 이후는 변화가 둔화되는 경향을 나타내었다. 오미자 첨가구의 pH가 전배양 기간 동안 뚜렷한 변화가 없는 현상은 분리 유산균의 성장이 거의 일어나지 않는 현상과 일치하였다. 오미자 첨가에 의한 분리 유산균의 성장 억제 현상은 오미자 첨가에 의한 배지의 초기 pH가 대조구에 비해 낮아지는 현상에 기인된 것으로 판단되었으며 이는 오미자에 함유된 각종 유기산 즉 fumaric acid, itaconic acid, malic acid, citric acid 등(8, 9)의 작용에 의한 것으로 사료되었다.

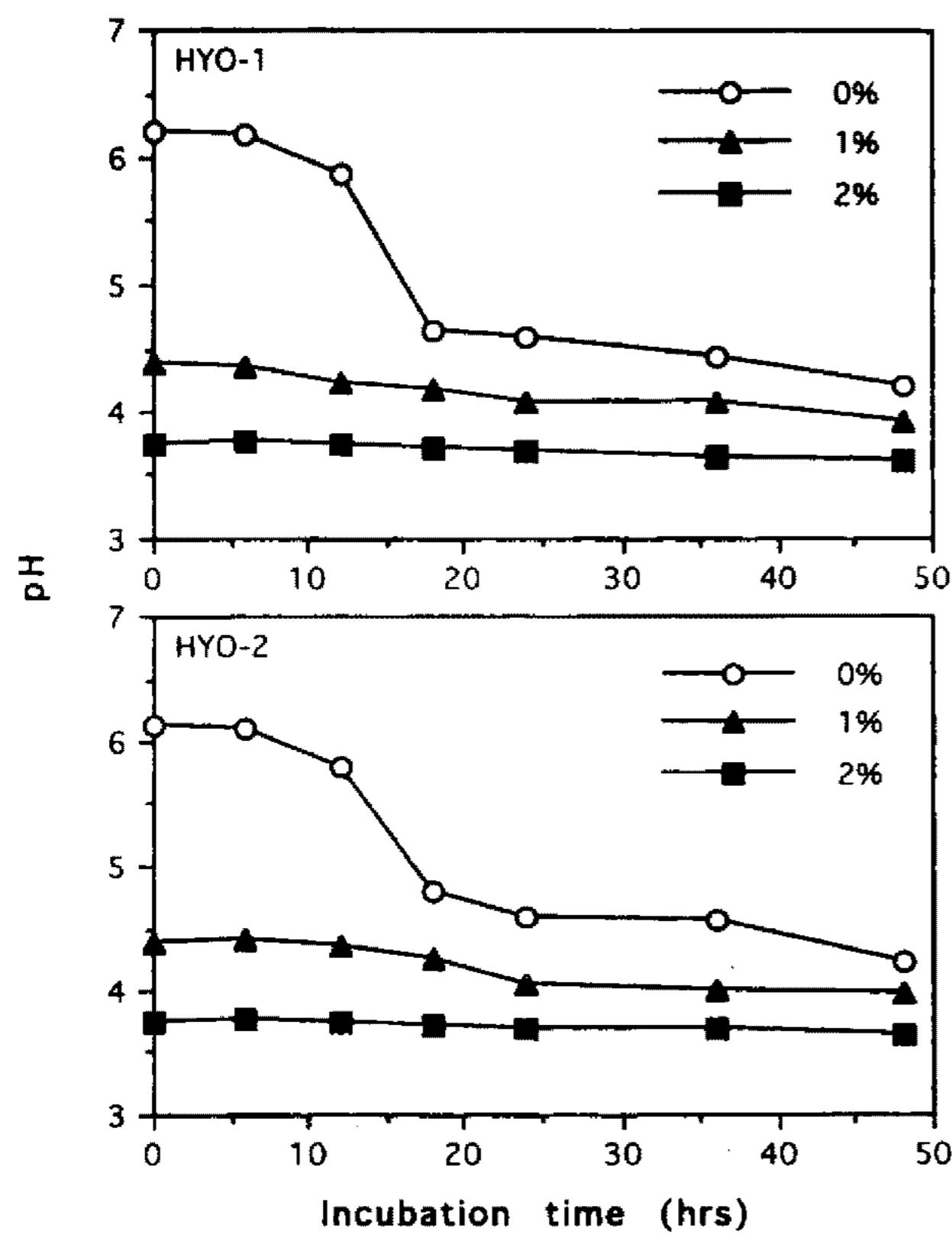


Fig. 2. pH change by lactic acid bacteria isolated from kimchi in modified MRS broth containing 1% or 2% of *Schizandra chinensis* at 37°C.

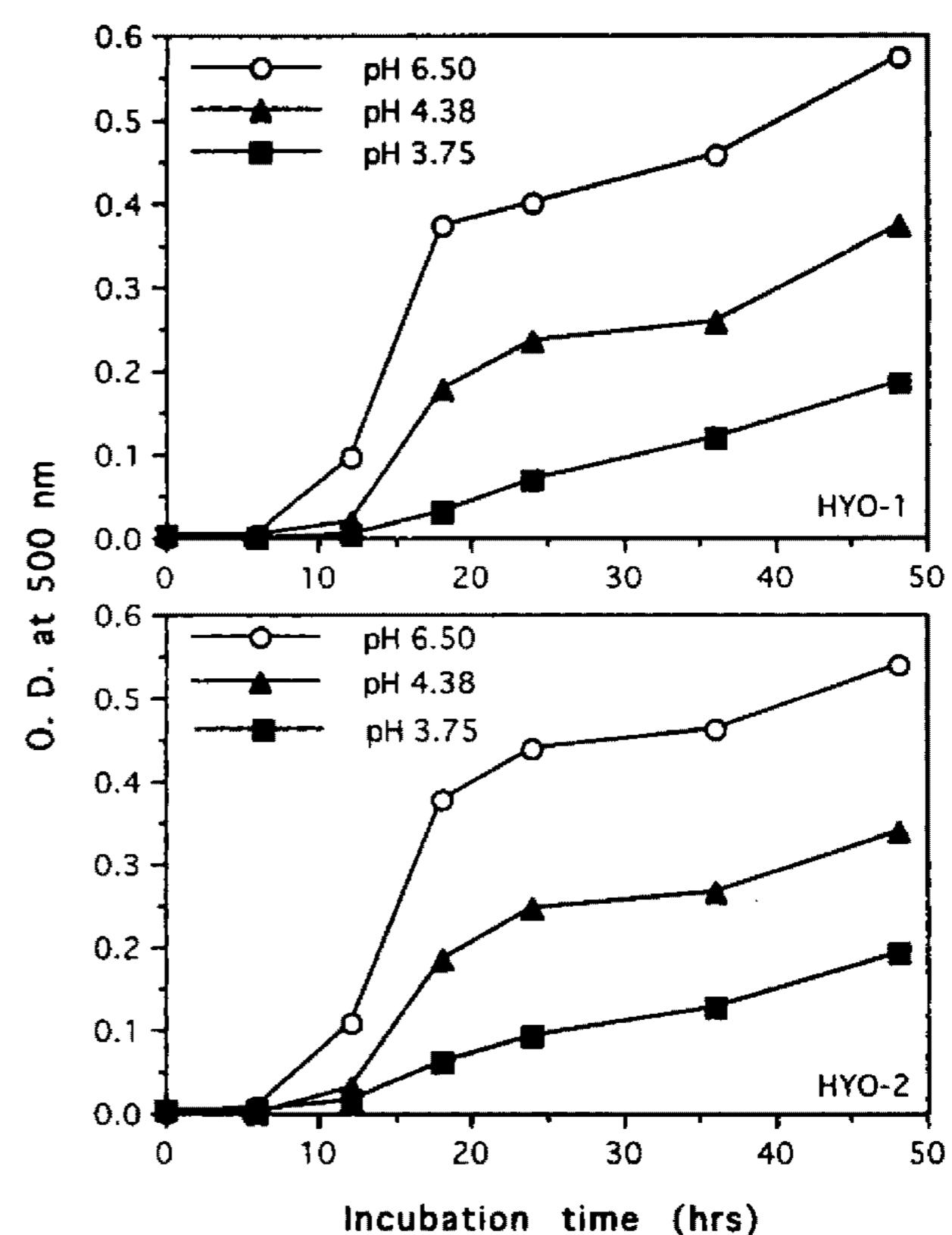


Fig. 3. Effect of pH on the growth of lactic acid bacteria isolated from kimchi in modified MRS broth at 37°C.

배지의 pH에 따른 분리 유산균의 성장

오미자 첨가에 의해 분리 유산균의 성장 억제 현상이 pH에 기인된 것인지를 검토하기 위하여 분리 유산균의 성장배지의 pH를 0.1N HCl을 사용하여 오미자 1%, 2% 첨가구와 같은 pH인 4.38, 3.75로 각각 조절하여 대조구와 성장을 비교 한 결과 Fig. 3에서와 같이 공시균 2균주 (HYO-1, HYO-2) 공히 초기 pH 4.38, pH 3.75인 배지에서 전 배양기간동안 대조구에 비해 성장이 뚜렷하게 억제되었다. 초기 pH가 낮을수록 성장 억제현상은 더욱 뚜렷하여 pH 4.38, 3.75에서 분리 유산균 두 균주 모두 배양 12시간 동안 성장은 관찰할 수 없었다. 그러나 배양 12시간이후 대조구에 비해 성장은 뚜렷한 억제현상을 나타내었으나 서서히 성장하는 경향을 나타내어 오미자 1% 첨가한 배지에서 분리 유산균의 성장은 거의 일어나지 않고 2%첨가구의 경우 생균수는 배양기간 동안 점차 감소하는 결과(Fig.1)와 일치하지 않았다. 이는 pH에 영향을 미치는 유기산의 종류에 따른 해리도의 차이에 일부 영향을 받을 수 있겠으나 오미자의 분리 유산균에 대한 항균력은 오미자 성분중 유기산에 의한 pH저하와 유기산 성분이외 존재할 수 있는 항균성물질과 복합적인 작용에 의한 것으로 판단되었다.

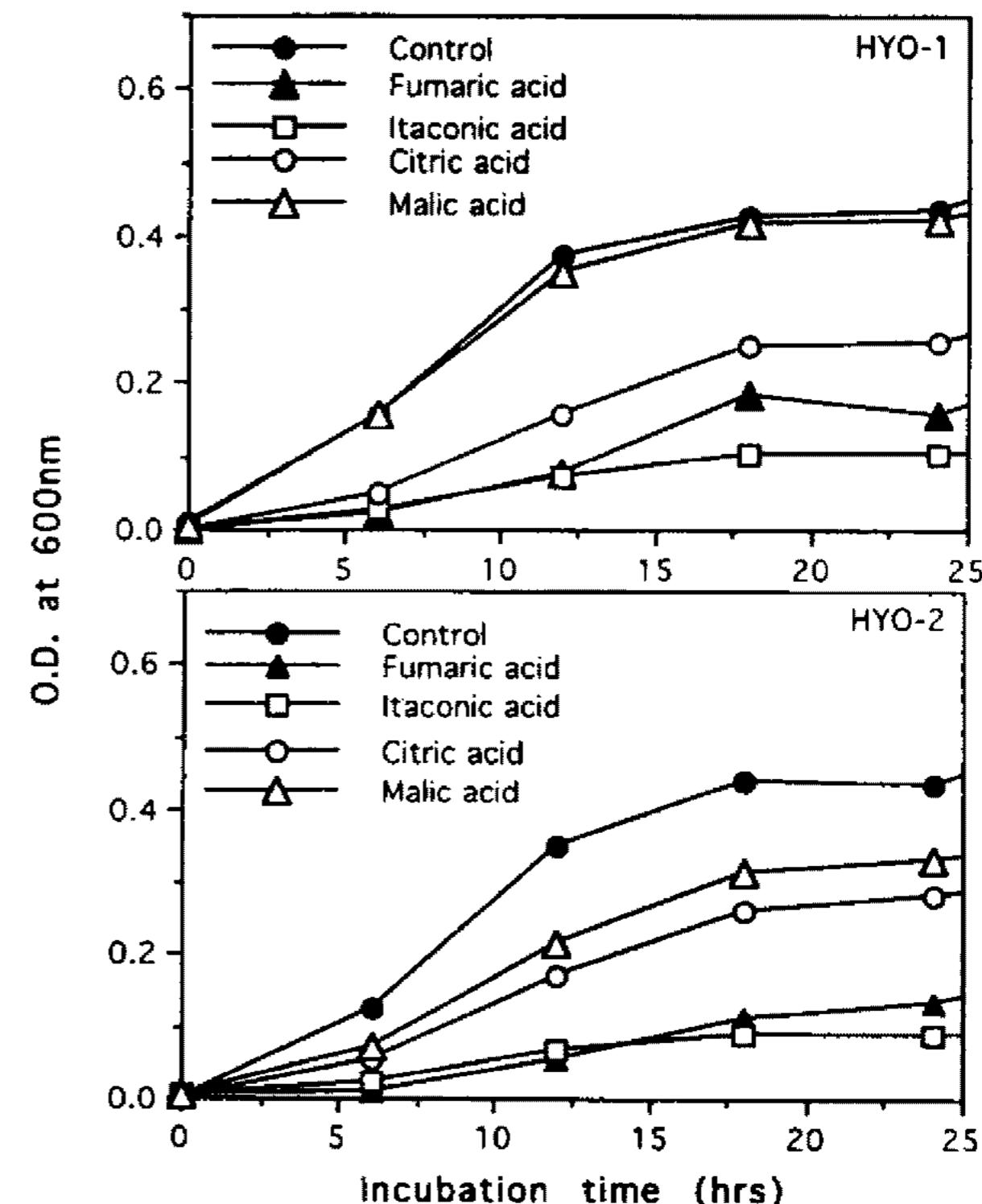


Fig. 4. Effect of various organic acids(1%) on the growth of lactic acid bacteria isolated from kimchi in modified MRS broth at 37°C.

효과

오미자 첨가에 의해 초기 배지의 pH가 낮아져 분리 균

주의 성장이 억제되는 것으로 판단되어 오미자 구성 유기산의 종류에 따른 분리 유산균의 성장 억제도를 검토하기 위하여 fumaric acid, itaconic acid, citric acid, malic acid의 첨가 효과를 검토한 결과 Fig. 4에서와 같이 오미자에 함유된 각각의 유기산에 의해 분리 유산균의 성장은 대부분 억제되는 경향을 나타내었다. 특히 1% itaconic acid를 함유한 배지에서는 분리 유산균의 성장

Table 1. Morphological and biochemical characteristics of HYO-1 and HYO-2

Characteristics	Strain No.	<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i>	HYO-1	HYO-2
Cell form		rod	rod	rod
Gram stain		+	+	+
Motility		-	-	-
Spore formation		-	-	-
Facultative anaerobic		+	+	+
Catalase		-	-	-
Oxidase		-	-	-
Gas from glucose		-	-	-
NH ₃ from arginine		-	-	-
Dextran from sucrose		-	-	-
Isomer of lactic acid	DL	DL	DL	DL
Growth at 15°C	+	+	+	+
Growth at 45°C	-	-	-	-
Growth at pH 3.6	+	+	+	+
Growth at pH 9.6	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	+	+	+	+
Growth in 10% ethanol	-	+	-	-
Acid from				
Arabinose	+	+	+	^w
Cellobiose	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+
Gluconate	+	+	+	+
Glycerol	-	-	-	-
Lactose	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	^w
Mannitol	+	^w	+	+
Mannose	+	+	+	+
Melezitos	+	+	+	+
Melibiose	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	^w
Sorbitol	+	+	+	^w
Sorbose	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-

symbols; +, positive; ^w, weakly positive; -, negative. The source of reference is Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.

을 거의 관찰할 수 없었으며 fumaric acid첨가의 경우 배양 24시간 까지는 거의 성장을 관찰할 수 없었으나 그후 서서히 성장하는 경향을 나타내었다. 오미자 구성 유기산 중 분리유산균의 성장억제 효과는 itaconic acid, fumaric acid가 뚜렷하였으며 citric acid도 억제효과를 나타내었으나 malic acid에 의한 HYO-1의 성장억제 현상은 관찰할 수 없었다. 오미자의 구성유기산 중 함량이 비교적 높은 것으로 밝혀진 fumaric acid, citric acid, malic acid(9)중 fumaric acid에 의해 분리 유산균의 성장은 뚜렷이 억제되었고 malic acid 와 citric acid에 의해 성장은 대조구에 비해 억제되었으나 배양기간동안 완만한 성장현상을 나타내었다. 이러한 결과는 오미자 1% 첨가 시 분리 유산균의 성장이 거의 일어나지 않은 결과와 상이한 것으로 미루어 보아 오미자의 항균력은 앞에서 언급한 바와 같이 오미자에 존재하는 유기산의 작용이 주원인이며 그외 존재 가능한 항균성 물질도 일부 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단되었다.

오미자는 김치발효 관련 유산균의 성장을 뚜렷하게 억제하므로 김치 제조시 첨가하면 김치 숙성을 어느정도 자연시킬 수 있을 것으로 판단 되었으며 실용화 단계전에 보다 광범위한 종류의 김치 유산균에 대한 항균효과가 검증되고 김치의 품질보존에 관한 종합적인 연구가 선행되어 할 것이다.

분리 유산균의 동정

분리유산균인 HYO-1과 HYO-2의 형태학적, 생리학적 성질 및 생화학적 특성은 Table 1과 같으며, Bergey's manual에 준하여 동정한 결과 2균주 모두 *Lactobacillus plantarum*으로 추정되었다.

요 약

김치의 발효, 숙성 및 변패 전과정에 걸쳐 미생물의 생육을 억제하여 김치의 선도를 유지할 수 있는 천연물의 사용 방안을 모색코자 오미자 알콜 추출물에 대한 김치 발효관련 유산균의 성장특성을 검토한 결과, 오미자에 탄올 추출물 1%, 2% 첨가에 의해 김치에서 분리한 유산균인 HYO-1과 HYO-2의 성장은 뚜렷하게 억제되었다. 오미자의 농도가 증가할수록 분리유산균의 성장은 더욱 억제되었다. 오미자 1%, 2% 첨가구의 pH인 4.3, 3.7로 각각 조절한 배지에서도 분리 유산균의 성장은 뚜렷이 억제되었다. 오미자에 함유된 유기산 성분 특히 itaconic acid, fumaric acid가 분리 유산균에 대해 뚜렷한 항균력을 나타내었다. 오미자에 의한 분리 유산균의 성장 억제는 오미자에 함유되어 있는 유기산의 작용과 그 외 존재 가능한 항균성 물질에 기인된 것으로 판단 되었다. 분리 유산균 2균의 동정결과 *Lactobacillus plantarum*

으로 동정되었다.

감사의 글

본 논문은 1995년도 과학기술처 선도기술개발과제 연구비 지원에 의해 수행된 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 차보숙, 김우정, 변명우, 권중호. 1989. 김치의 저장성 연장을 위한 gamma선 조사. *한국식품 과학회지*, **21**: 109-119.
2. 박경자, 우순자. 1988. Na, acetate 및 K-sorbate가 김치 발효 중 pH, 산도 및 산미에 미치는 효과. *한국식품과학회지* **20**: 40-44.
3. 김우정, 강근옥, 경규항, 신재익. 1991. 김치의 저장성 향상을 위한 염혼합물의 첨가. *한국식품 과학회지* **23**: 188-191.
4. 강근옥, 구경형, 김우정. 1991. 동치미의 저장성 향상을 위한 열수 담금 및 염혼합물 첨가의 병용 효과. *한국식품 과학회지* **20**: 565-571.
5. 강근옥, 구경형, 이현재, 김우정. 1991. 효소 및 염의 첨

가와 순간 열처리가 김치발효에 미치는 영향. *한국식품 과학회지* **23**: 183-187.

6. 강근옥, 김종군, 김우정. 1991. 열처리와 염의 첨가가 동치미 발효에 미치는 영향. *한국영양 식량학회지* **20**: 565-571.
7. 문광덕, 변정아, 김석중, 한대석. 1995. 김치의 선도유지를 위한 천연보존제의 탐색. *한국식품 과학회지* **27**: 257-263.
8. 김경임, 남주형, 권태완. 1973. 오미자의 일반성분, 유기산 및 Anthocyanin 색소에 관하여. *한국식품과학회지*, **5**: 178-182.
9. 오상룡, 김성주, 민병용, 정동호. 1990. 구기자(*Lycium chinensis* Miller), 당귀(*Angelica acutiloba* Kitag), 오미자(*Schizandra chinensis* Bailon), 오길피(*Acanthopanax sessiliflorum* Seeman) 추출물의 유리당, 유리아미노산, 유기산 및 타닌의 조성. *한국식품과학회지*, **22**: 76-81.
10. Krieh, N. R., J. G. Holt. 1988. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The William & Wilkins Co., Baltimore, 2, pp1208.
11. 이병완, 신동화. 1991. 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성물질의 검색. *한국식품 과학회지* **23**: 200-204.
12. 박옥연, 장동석, 조학래. 1992. 한약재 추출물의 항균효과 검색. *한국식품과학회지* **21**: 91-96.

(Received 22 November 1996)