

## 김치로부터 고효성 dextransucrase를 생성하는 저온성 *Leuconostoc mesenteroides* 균주선발

엄현주 · 서동미 · 윤향식 · 이희봉 · 한남수\*  
충북대학교 식품공학과, 생물건강산업개발연구센터

### Strain Selection of Psychrotrophic *Leuconostoc mesenteroides* Producing a Highly Active Dextransucrase from Kimchi

Hyun-Ju Eom, Dong Mi Seo, Hyang Sik Yoon,  
Hee Bong Lee and Nam Soo Han\*

Department of Food Science and Technology, Research Center for Bioresource and Health (RCBH),  
Chungbuk National University

*Leuconostoc mesenteroides*, the major bacterium in the initial phase of lactate-fermentation in kimchi, produces lactic acid, acetic acid, mannitol, and CO<sub>2</sub>. It also secretes dextransucrase, which catalyzes the transfer reaction of glucose from sucrose to maltose, synthesizing mainly panose (6<sup>2</sup>-α-D-glucopyranosylmaltose), a probiotic oligosaccharide. To use the strain as a starter culture to produce high amount of panose during kimchi fermentation, we screened psychrotrophic strains showing fast growth rate at low temperature among the isolates of *Leuconostoc* sp. and selected two strains showing high dextransucrase activity. The strains were identified as *Leuconostoc mesenteroides*, which can be used as function added-starters for lactate-fermented foods.

**Key words:** *Leuconostoc mesenteroides*, dextransucrase, panose, psychrotroph, kimchi

### 서 론

김치 발효에 관여하는 젖산균 중 발효초기에 우점종으로 생육하는 이형 발효 젖산균인 *Leuconostoc mesenteroides*는 김치의 숙성과 맛에 관여하는 주요 미생물<sup>(1)</sup>로서 발효과정에서 젖산, 초산, 이산화탄소 그리고 만니톨과 같은 매우 다양한 성분을 생산한다<sup>(2,3)</sup>. 특히 본 미생물은 설탕(sucrose) 존재 시 dextransucrase(EC 2.4.1.5)를 분비하여 과당(fructose)을 유리하고 dextran이라는 점질의 다당을 생성하여 김치액의 점도를 높이게 한다. 설탕으로부터 dextran을 생산하는 이외에, 다른 당을 첨가할 경우 설탕의 구성당인 포도당을 다른 당에 전달하는 반응을 촉매하여 새로운 구조의 올리고당을 생성한다. 이때 첨가해준 탄수화물을 수용체(acceptor)라 부르며, 이 반응기작을 수용체 반응(acceptor reaction)이라 한다<sup>(4)</sup>. 수용체의 종류는 상당히 광범위하여 단당류, 이당류, 올리고당류 그리고 작은 크기의 텍스트란들이 포함되는데<sup>(5)</sup> 이중

맥아당(maltose)이 가장 효율적인 수용체이며 판노스(panose, 6<sup>2</sup>-α-D-glucopyranosylmaltose) 올리고당을 생성한다. 이소말토 올리고당의 주요한 성분인 판노스는 낮은 칼로리(≤2 kcal/g)와 유용 장내미생물의 성장을 증진<sup>(6)</sup>시키는 이유 때문에 기능성식품 첨가물로 이용되며<sup>(7)</sup> 높은 흡습성, 낮은 점도 그리고 높은 빙점은 식품에 다양한 물리적 특성을 부여한다.

Dextransucrase는 설탕을 기질로 이용하여 dextran을 생성하는데 산업적으로 인공 혈장 첨가제와 Sephadex를 제조하는데 이용된다<sup>(8)</sup>. *Leuconostoc*속과 *Streptococcus*속으로부터 생성되며 세포외로 분비된다. *Streptococcus*속이 생성하는 효소는 constitutive하게 설탕이 없는 배지에서도 생성되는 반면, *Leuconostoc*속은 설탕이 효소의 inducer로서 필요하게 된다. 김 등<sup>(9,10)</sup>은 *Leuconostoc*속에 돌연변이를 일으켜 설탕 없이도 constitutive하게 dextransucrase를 생산하는 균주를 보고하기도 하였다. 가장 많이 연구된 *Leuc. mesenteroides* NRRL B-512F가 생성하는 dextransucrase의 분자량은 약 180 kDa으로 보고되고 있으며<sup>(11)</sup>, pH 5.2, 28°C에서 최대 효소활성을 가지고 pH 4 이하에서는 대부분의 활성을 잃는다.

본 연구진은 *Leuconostoc mesenteroides*가 주발효균으로 작용하는 김치를 제조하면서 첨가물로 설탕(sucrose)과 맥아당(maltose)을 함께 추가하였을 때 dextransucrase의 수용체 반응에 의해 판노스가 생성됨을 확인하였고, 이로써 김치발효

\*Corresponding author : Nam Soo Han, Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea  
Tel: 82-43-261-2567  
Fax: 82-43-271-4412  
E-mail: namssoo@chungbuk.ac.kr

미생물의 효소반응을 이용하면 고가의 기능성 식품첨가물인 올리고당을 미생물 발효과정에서 동시에 생성시킬 수 있을 것을 처음으로 제시하였다<sup>(12)</sup>. 따라서 본 연구는 김치에서 판노스를 다량 생성하는 스타터를 얻기 위해 김치가 발효되는 저온에서 빠른 생육속도를 보이면서 동시에 높은 dextranucrase 활성을 보이는 *Leuconostoc*속 젓산균을 선발하는 실험을 수행하였다. 이를 위하여 일차적으로 동치미에서 *Leuconostoc*속 젓산균을 선발하였고, 당전이 반응에 의해 판노스를 생성하는 균주를 2차 선발하고, 저온에서도 빠른 생육속도와 dextranucrase 활성을 보이는 우수균주를 최종 선발하여 동정하였다.

## 재료 및 방법

### 동치미제조

무(800 g)의 껍질을 벗기고 네 조각으로 자른 후 4 L 용량 김치통에 넣고 소금(40 g)을 뿌린 다음 20°C에서 12시간 정치하여 절였다. 마늘(10 g)과 생강(3 g)을 곱게 다져 넣고, 쪽파(20 g)는 크게 잘라 넣은 후 볼로 채우고 뚜껑을 닫은 후 10°C에서 발효시켰다.

### 사용배지

균주선발을 위하여 MRS(Difco) 한천배지와 phenylethanol agar(Difco)에 2% sucrose를 첨가한 PES 한천배지<sup>(13)</sup> 그리고 1 L의 증류수에 tryptone 10 g, yeast extract 1 g, beef extract 1 g, glucose 20 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2 g, MgSO<sub>4</sub> 0.1 g, sodium acetate 5 g, ammonium sulfate 2 g, sorbic acid 0.5 g, sodium azide 0.0075 g, Tween 80 1 g, agar 15 g을 함유한 기본배지에 novobiocin과 vancomycin 항생제를 함유한 NLS 한천배지<sup>(14)</sup>를 사용하였다. 그리고 다량의 합성을 알아보기 위한 배지는 1 L의 증류수에 sucrose 24.7 g, peptone 4.2 g, yeast extract 4.2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20 g, MgSO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.2 g, NaCl 0.1 g, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1 g, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.1 g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.13 g을 함유한 sucrose 합성배지<sup>(15)</sup>, 올리고당의 합성을 알아보기 위한 배지는 sucrose 합성배지에 maltose 24.7 g을 함유한 sucrose-maltose(SM) 합성배지를 사용하였다. 실험에 쓰인 항생제는 Sigma(St. Louis, MO, USA)사로부터 구입하였고 여러 종류의 배지 성분들은 Difco(Detroit, MI, USA) 및 일반시약을 사용하였다.

### PES 한천배지를 이용한 검색

배지상에서 *Leuconostoc* sp. 균주를 선택 배양하기 위해 2% sucrose를 포함하는 phenylethanol 한천배지를 이용하였다. 동치미를 제조한 2~4일 후 동치미 액을 1 mL씩 채취하여 lactobacilli MRS 한천배지에 단계별로 희석, 도말하였다. 28°C에서 48시간동안 배양한 다음 PES배지를 사용하여 위에서 얻은 콜로니들을 streaking한 후 20°C에서 48시간동안 배양하였다.

### 항생제 내성의 차이를 이용한 검색

*Leuconostoc* sp. 균주를 선발하기 위해 항생제 내성을 이용하였는데, NLS 기본배지를 제조하여 살균하고 약 60°C로

식힌 후 0.25 µm membrane filter로 제공한 novobiocin, vancomycin, cysteine HCl을 각각 5 µg/mL, 30 µg/mL, 0.5 µg/mL가 되게 첨가하였다. PES 한천배지에서 선발한 콜로니들을 streaking한 후 30°C에서 24시간 배양하였다.

### Glucan 합성 및 조성당 분석

선택배지에서 선발된 *Leuconostoc*속 균주들을 sucrose 합성배지에 접종하여 28°C에서 120 rpm으로 24시간 배양하였다. 배양 후 액을 1 µL를 취하여 Merck K5 TLC plate에 점적하고 acetonitrile/water(85/15, v/v)에서 3번 전개하였다. 분리된 당의 성분은 에탄올에 0.5% α-naphthol(w/v)과 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 함유한 시약으로 발색한 후 110°C에서 10분간 건조하였다<sup>(16)</sup>. 배양액을 원심분리하여 균체를 제거한 다음 상정액에 50% 에탄올을 첨가하고 냉장고에서 하루동안 정치하였다. 다시 원심분리하여 상정액을 제거한 다음 2 N HCl로 산 가수분해하여 TLC(전개용매; acetonitrile/water, 85/15) 분석하였다.

### 당전이 반응

Sucrose-maltose(SM) 합성배지 제조 후 선발균주들을 각각 1 백금이씩 접종하여 28°C에서 120 rpm으로 24시간 배양하였고, 판노스 생성여부는 TLC(전개용매; acetonitrile/water, 85/15)로 분석하였다.

### 저온생장 특성실험

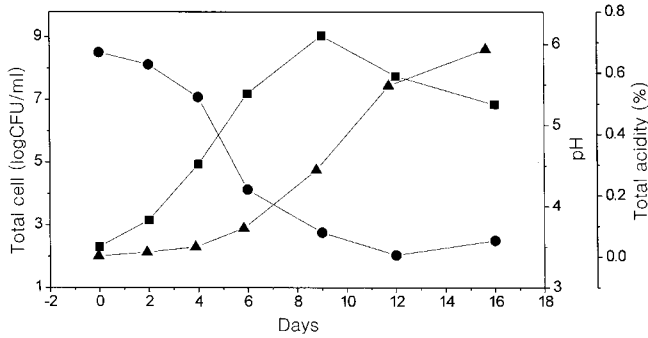
최종 분리균주를 전배양 한 후, sucrose-maltose 합성배지에 전배양액 1%를 접종 하고 김치의 저장온도인 8°C에서 120 rpm으로 3일간 배양하였다. 배양하면서 균체량측정을 위하여 흡광도(550 nm)를 측정하였고, panose는 TLC로 확인한 후 Sigmagel program(SPSS Science Inc., USA)을 이용하여 정량분석하였다.

### Dextranucrase 활성 측정

균주배양액(sucrose broth at 8°C) 5 mL를 1 mM CaCl<sub>2</sub>를 함유한 20 mM Na-acetate buffer(pH 5.2) 13 mL와 1.5 M sucrose 2 mL의 효소반응액에 첨가하고 28°C에서 150 rpm으로 반응시키며 0, 10, 20, 30분 간격으로 1 mL씩을 취해 10% pyridine을 동량 첨가해 효소반응을 멈추었다. 원심분리로 세포를 제거하고 얻은 상정액을 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC(Hewlett Packard 1100 system, USA)를 이용하여 과당의 농도를 측정하였다. 사용한 컬럼은 Zorbax NH<sub>2</sub>, 4.6 mm ID×25 cm(Hewlett Packard, USA)이며, 분석조건인 이동용매는 acetonitrile : water = 75 : 25(v/v), 용매속도는 1.0 mL/min, peak는 RI detector(Hewlett Packard, USA)로 검출하였으며, injection량은 20 µL이었다. Dextranucrase의 1 unit은 1분당 해리되는 fructose의 µmol수로 정의하였다.

### 지방산 조성 분석을 통한 미생물동정

선발된 균주는 균체 세포벽의 지방산 조성을 분석하는 미생물 동정기(MIDI Sherlock Microbial Identification System, HP 6890 Series GC System, USA)를 이용하여 동정하였다. 사용한 column은 separation column(25 m×0.2 mm×0.33 µm, Ultra 2.5% phenyl methyl siloxane capillary column, HP



**Fig. 1. Changes in total cell counts, pH and total acidity during dongchimi fermentation at 8°C.**

-■ -: Total cell counts, -● -: pH, -▲ -: Total acidity.

19091B-102, USA)을 사용하였고<sup>(17)</sup>, GC분석 조건은 carrier로서 H<sub>2</sub> gas를 사용하고 검출기로는 FID detector, 초기온도 170°C, 최종 온도 270°C, 검출기 온도는 300°C 그리고 injector의 온도는 250°C로 하였다. Fatty acid methylesters (FAMES) profile은 MIS Software<sup>(18)</sup>를 이용하였다.

### 결과 및 고찰

#### 동치미발효

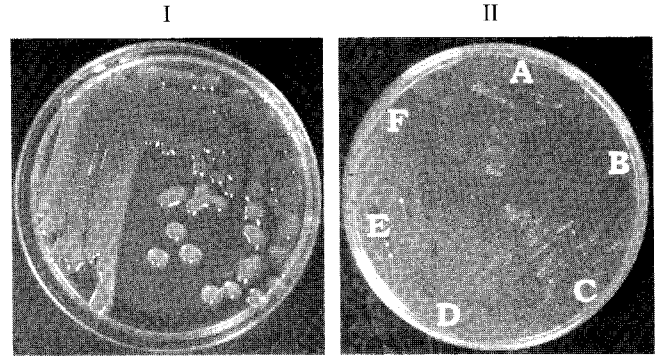
저온에서 고활성 dextransucrase를 분비하는 *Leuc. mesenteroides*를 선발하기 위해 동치미를 제조하여 발효양상을 조사하였다(Fig. 1) 동치미 제조 후, 시간이 경과하면서 pH는 점점 감소하여 발효 6~9일 사이에 4 이하가 되었고 총젓산은 0.2% 이상으로 증가하여 발효 16일째에는 pH와 총산이 각각 3.6과 0.7%가 되었다. 총젓산균수는 시간이 경과함에 따라 점점 증가하여 발효 9일째가 가장 많은 젓산균수를 보였다.

#### 2% sucrose를 함유한 phenylethanol 한천배지(PES)

발효식품에서 *Leuconostoc*속은 발효초기에는 우점종이지만 pH 4 이하에서는 생육이 저해되므로 동치미의 pH가 4이하로 내려가기 전인 발효 2~4일째에 시료액을 채취하여 lactobacilli MRS 한천배지에 단계별로 희석하여 도말하였다. Gram 음성균의 생육을 억제하는 phenylethanol agar에 2% sucrose를 첨가한 PES배지를 사용하여 20°C에서 2일간 배양하였고, 투명하며 광택을 내는 콜로니를 만든 균주를 *Leuconostoc*속으로 1차 간주하였다(Fig. 2. I).

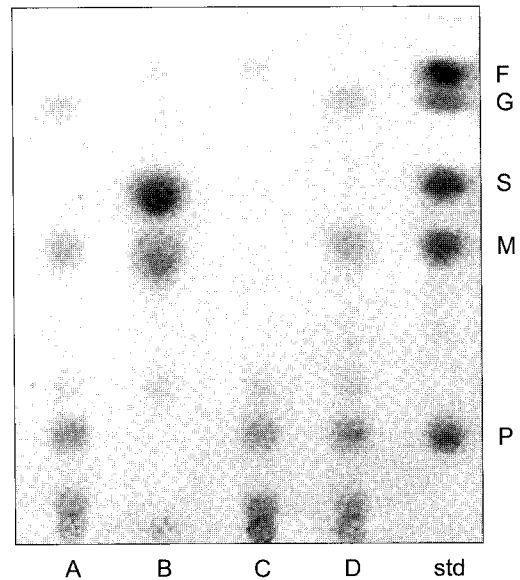
#### 항생제내성의 차이를 이용한 선발배지

최 등<sup>(14)</sup>이 보고한 *Leuconostoc*속의 새로운 선택배지에서 사용한 항생제 중 vancomycin은 Gram(+)균에 대하여 세포벽생합성을 방해함으로써 생육을 저해하지만 *Leuconostoc*속의 경우 vancomycin의 대한 MIC(Minimal inhibitory concentration)가 500 µg/mL 이상으로 다른 젓산균주에 비해 매우 큰 것이 특징이다. 그러나 젓산균 중에서 *Lb. plantarum*과 *Lb. brevis*도 vancomycin에 대한 MIC가 높기 때문에 vancomycin만을 첨가한 배지로는 선택성이 낮다. Novobiocin은 이 두



**Fig. 2. Isolation of *Leuconostoc* sp. from dongchimi.**

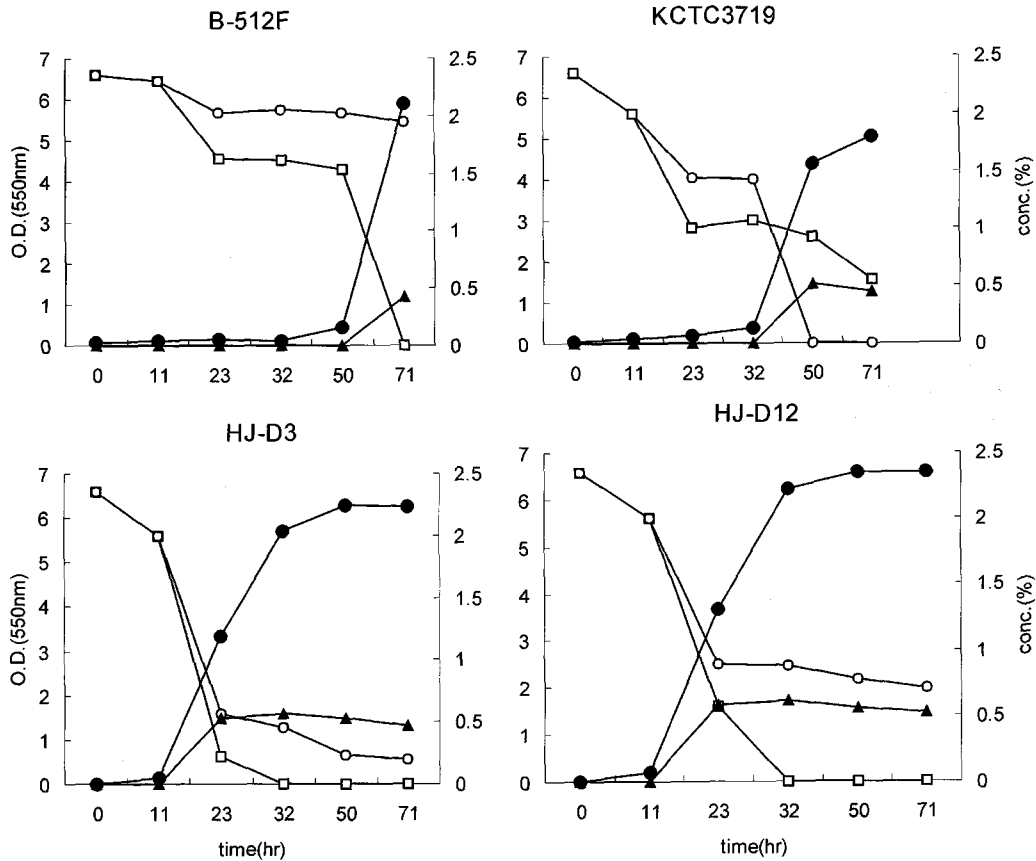
(I) *Leuconostoc* sp. grown on PES medium containing phenylethanol agar and 2% sucrose. (II) *Leuconostoc* sp. grown on NLS medium containing novobiocin, vancomycin, and cysteine HCl. A: *Leuc. mesenteroides* B-512F, B: *Lb. plantarum*, C: *Leuc. mesenteroides* KCTC3719, D: *Lb. fermentum*, E: Isolated strain from dongchimi, F: *Lb. brevis*.



**Fig. 3. TLC analysis of panose synthesized by strains isolated from dongchimi.**

Strains of *Leuconostoc* sp. isolated from dongchimi were cultured for 24 h at 28°C in a sucrose (2%)-maltose (2%) broth and synthesis of panose was analyzed with TLC using three ascents of acetonitrile : water (85 : 15). Lane A~D: isolated strain from dongchimi, std: 0.5% standard solution of fructose, glucose, sucrose, maltose and panose.

균주의 생육을 선택적으로 저해하므로 이 두 가지 항생제를 넣은 배지(NLS medium)를 제조하였다. 그러나 sucrose를 탄소원으로 넣었을 경우 점질물이 너무 많이 생겨 콜로니 관찰이 어려웠으므로 탄소원을 sucrose에서 glucose로 대체한 modified NLS 배지를 만들어 다른 젓산균 공시균주와 비교 실험하였다. *Lactobacillus* 공시균주로서는 *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*와 *Leuc. mesenteroides* B-512F, *Leuc. mesenteroides* KCTC3719와 같이 비교하였는데 *Leuconostoc* 속에 해당하는 균주만 콜로니를 형성하였다(Fig. 2. II).



**Fig. 4. Growth profiles and panose synthesis of *Leuc. mesenteroides* in broth containing sucrose and maltose at 8°C.** -□-: sucrose, -○-: maltose, -▲-: panose, -●-: optical density. B-512F: *Leuc. mesenteroides* NRRL B-512F, KCTC3719: *Leuc. mesenteroides* KCTC3719, HJ-D3, D12: Strains isolated from dongchimi.

**Glucan 분석**

*Leuc. mesenteroides*는 sucrose로부터 glucan을 합성하는 glucansucrase 또는 dextransucrase를 생성하므로 sucrose를 함유한 배지에서 배양한 후 glucan 생성여부를 TLC로 확인하였다. TLC plate에서 움직이지 않고 원점에 머물러있는 다당을 확인할 수 있었고, 그 다당을 산 가수분해 한후 TLC한 결과 모두 단당은 glucose로만 구성되어있는 polymer임을 확인할 수가 있었다(data not shown).

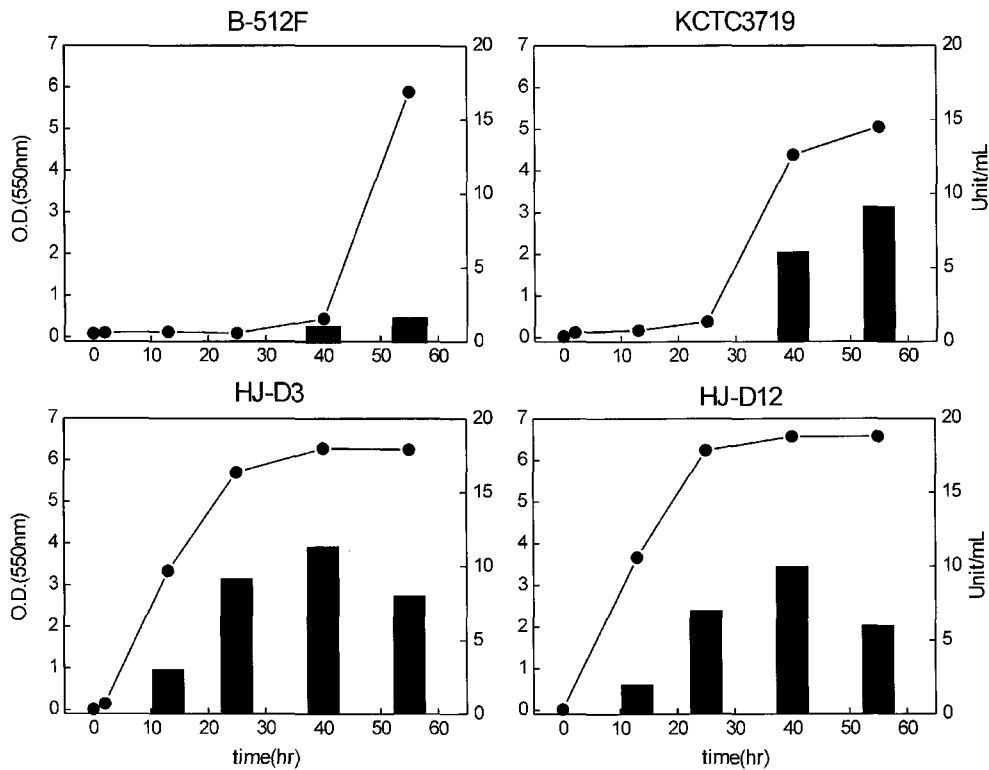
**올리고당 합성**

*Leuc. mesenteroides*가 분비하는 dextransucrase는 sucrose로부터 dextran 생합성과 더불어 효소반응액 중에 수용체가 첨가될 경우 당전이반응에 의해 판노스를 주성분으로 하는 이소말토올리고당을 생성한다. Sucrose와 수용체로서 maltose를 1:1로 첨가한 SM합성배지를 제조하여 28°C에서 120 rpm으로 24시간 배양한 후, panose 생성을 TLC로 확인하였다(Fig. 3). 콜로니 B는 panose를 생성하지 못한 반면 A, C, D는 판노스를 생성하였다.

**저온생장 특성실험**

서로 다른 2가지 선발배지와 2가지 합성배지를 통하여 sucrose에서 다당류를 합성하고 panose를 생성하는 42개 콜로니를 얻었고, 저온에서의 성장속도와 판노스 생성 능력을

비교하기 위해 공시균주인 *Leuc. mesenteroides* B-512F, *Leuc. mesenteroides* KCTC3719와 함께 저온생장 특성실험을 실시하였다. *Leuc. mesenteroides* B-512F는 지금까지 dextransucrase의 효소특성연구에 가장 많이 이용되었고, 산업적으로 dextran을 생산하는데 실제 이용되고 있는 공시균주이다. SM 합성 배지를 제조하여 균주를 접종한 후, 8°C에서 배양하면서 균체량 측정을 위하여 흡광도(O.D., optical density at 550 nm)를, panose의 생성은 TLC분석으로 확인하였다. 흡광도를 통하여 균체의 대수 성장도입시간(log phase)과 균체의 비성장속도( $\mu$ ) 그리고 최대 균체량(maximum O.D.)을 확인하였고, densitometer(Sigma Gel program)를 이용하여 panose의 생성량을 정량분석하였다. 42개 콜로니 중 가장 빠른 생육속도와 다량의 panose 생성량을 보이는 균주 2개의 생육곡선을 공시균주와 비교하여 Fig. 4에 나타내었다. 공시균주인 *Leuc. mesenteroides* B-512F와 KCTC3719는 균체의 성장속도가 분리균주 HJ-D3, HJ-D12 보다 느려 KCTC3719는 배양 32시간이 지나야 자라기 시작했고 B-512F는 50시간이 되어야 자랐다. 반면 분리균주는 배양 11시간째부터 성장하기 시작하여 대수가 시작되었고 32시간에는 maximum O.D.에 도달하여 공시균주에 비하여 도입기(lag phase)가 약 2.5배 정도 짧았다. 배지 중 당 조성의 변화를 측정된 결과, 공시균주 B-512F는 sucrose 경우 50시간까지 서서히 소모되다가 71시간이 되어서야 완전히 소모되었고, maltose는 71시간이 되어도



**Fig. 5. Profiles of cell growth and dextransucrase activity of *Leuconostoc* sp. isolated from lactate-fermented foods.** -■-: Dextransucrase activity, -●-: Optical density at 550 nm. B-512F: *Leuc. mesenteroides* NRRL B-512F, KCTC3719: *Leuc. mesenteroides* KCTC3719, HJ-D3, D12: Strains isolated from dongchimi.

변화가 거의 없었으며 판노스도 71시간이 되어야 약 0.4%가 합성되었다. KCTC3719는 11시간부터 sucrose와 maltose가 서서히 감소되었고, sucrose는 배양 50시간째 완전히 소모되었으며, panose는 32시간째부터 합성되기 시작하여 50시간일 때 최대 0.5%의 생성량을 나타내었다. 반면에 분리균주인 HJ-D3와 HJ-D12는 8°C에서 배양을 시작하면서 sucrose와 maltose를 소모하기 시작하였고, sucrose는 배양 32시간째

완전히 소모되었으며, maltose는 배양 71시간에 약 0.5%정도만 잔존하였다. 판노스도 11시간부터 생성하기 시작하여 32시간일 때 최대 0.6% 합성되었다(Table 1).

**Table 1. Comparison of panose synthesis and growth characteristics of *Leuconostoc* sp. (at 8°C)**

	Strains			
	B-512F	KCTC3719	HJ-D3	HJ-D12
Lag time (hr)	71	50	23	23
Growth rate (1/hr)	0.10	0.11	0.26	0.25
Max. O.D. (abs 550 nm)	5.89	5.05	6.28	6.57
Panose conc. (%)	0.42	0.52	0.56	0.62
Max. DS activity (unit/mL)	0.94	9.14	11.30	10.12
BPB-MRS medium	+	+	+	+
PES medium	+	+	+	+
NLS medium	+	+	+	+
MIDI test	L.m	L.m	L.m	L.m

Max. O.D.: maximum optical density, abs: absorbance, Panose conc.: panose concentration, Max. DS activity: maximum dextransucrase activity, BPB-MRS medium: 0.002% bromophenol blue-lactobacilli MRS medium, PES medium: phenylethanol agar containing 2% sucrose. NLS medium: medium containing novobiocin, vancomycin, and cysteine HCl. L.m=*Leuconostoc mesenteroides*.

**효소활성비교**

전배양한 공시균주와 분리균주를 sucrose 합성배지에 접종한 후 8°C에서 배양하면서 일정한 시간 간격으로 효소활성을 HPLC를 이용하여 측정하였다(Fig. 6). 앞의 저온생장특성 실험결과와 같이 공시균주는 38시간이 지나서야 생육이 시작되어 미미한 dextransucrase 활성을 보인 반면 선발균주인 HJ-D3와 HJ-D12는 접종 후 즉시 생육을 시작하여 38시간만에 각각 11.3와 10.12 unit/mL 최대효소활성을 보였다(Table 1). Fig. 1에서 확인한 것과 같이 김치는 저온에서 발효가 진행되면서 약 7일안에 pH가 4미만으로 떨어지고 dextransucrase는 산성(pH4 미만) 환경에서 효소활성을 잃어버리는 점을 고려할 때, 선발된 균주는 접종 후 빠른 속도로 생육하며 dextransucrase를 생성하고 높은 효소활성을 초기 수일동안 유지하므로 젓산발효와 당전이 반응을 동시에 진행하는 스타터로서 이용될 수 있다고 판단된다.

**선발균주의 동정**

본 실험에서 선발한 균주들의 세포벽 조성 지방산을 추출한 후 그 지방산 함량을 MIDI를 이용하여 분석하고 Sherlock MIS의 소프트웨어를 통해 지방산 조성을 비교함으로써 동정하였는데, 분리균주 HJ-D3, HJ-D12 모두 *Leuc. mesenteroides*로 판명되었다.

## 요 약

Dextranucrase의 수용체반응(acceptor reaction)을 이용하여 판노스(panose)를 포함한 다양한 당전이화합물을 발효식품에서 생성하기 위하여 고효성 dextranucrase를 저온에서 생성하는 *Leuconostoc*속 균주를 동치미김치로부터 분리 및 선발하였다. 동치미를 제조하여 8°C에서 발효시키면서 분리한 *Leuconostoc*속 균주중에서 균체의 증식유도기간(lag phase), 최대균체량(g/L), 균체의 비성장속도( $\mu$ ) 및 dextranucrase 활성을 종합적으로 비교하여 우수균주를 선발하였고, 최종적으로 MIDI를 이용하여 *Leuc. mesenteroides*로 동정하였다. 본 균주는 김치를 포함한 저온성 발효식품에서 당전이화합물을 생성하여 기능성을 부여하는 스타터로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 과학기술부·과학재단지정 생물건강산업개발연구센터와 2002년 충북대학교 발전기금의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 문 헌

- Mheen, T.I. and Kwan, T.W. Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 16: 443-450 (1984)
- Chyun, J.H. and Rhee, H.S. Studies on the volatile fatty acids and carbon dioxide produced in different kimchis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 8: 90-94 (1976)
- Han, H.U., Lim C.R. and Park, H.K. Determination of microbial community as an indicator of kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 26-32 (1990)
- Robyt, J.F. and Eklund, S.H. Relative, quantitative effects of acceptors in the reaction of *Leuconostoc mesenteroides* B-512F dextranucrase. *Carbohydr. Res.* 121: 279-286 (1983)
- Lee, J.H., Kim, D., Ryu, H.J., Heo, S.J., Jhon, D.Y., Han, N.S. and Robyt, J.F. Modification of pullulan using dextranucrase and characterization of the modified pullulan. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 26: 264-268 (1998)
- Park, K.H. Development of new carbohydrate materials. *Food Sci. Ind.* 25: 73-82 (1992)
- Tomomatsu, H. Health effects of oligosaccharides. *Food Technol.* 48: 61-65 (1994)
- De Belder, A.N. Dextran, pp. 399-425 In: *Industrial Gums*, Whistler, R.L. and J.N. BeMiller (eds.), Academic Press. San Diego, USA (1993)
- Kim, D. and Robyt, J.F. Production, selection, and characteristics of mutants of *Leuconostoc mesenteroides* B-742 constitutive for dextranucrase. *Enzyme Microbial Technol.* 17: 689-695 (1995)
- Kim, D. and Robyt, J.F. Selection of *Leuconostoc mesenteroides* mutants constitutive for glucanucrase. *Enzyme Microbial Technol.* 16: 1010-1015 (1994)
- Miller, A.W., Eklund, S.H. and Robyt, J.F. Milligram to gram scale purification and characterization of dextranucrase from *Leuconostoc mesenteroides* B-512F. *Carbohydr. Res.* 147: 119-134 (1986)
- Han, N.S., Jung, Y., Eom, H., Koh, Y., Robyt, J.F. and Seo, J. Simultaneous Biocatalytic synthesis of panose during lactate fermentation in kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12: 46-52 (2002)
- Miyao, S. and Ogawa, T. Selective media for enumerating lactic acid bacteria groups from fermented pickles. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 35: 610-617 (1988)
- Choi, H., Shin, Y., Yu, J. and Yoon, S. A new selective medium for the isolation and the detection of *Leuconostocs* in foodstuffs. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28: 279-284 (1996)
- Motomitsu, K. and Robyt, J.F. Large-scale preparation of highly purified dextranucrase from a high-producing constitutive mutant of *Leuconostoc mesenteroides* B-512FMC. *Enzyme and Micro. Technol.* 23: 386-391 (1998)
- Kim, D. and Robyt, J.F. Dextranucrase constitutive mutants of *Leuconostoc mesenteroides* B-1299. *Enzyme Micro. Technol.* 17: 1050-1056 (1995)
- Chang, Y.H., Kim, J.K., Kim, H.J., Yoon, J.H., Kim, W.Y., Choi, Y.W. Lee, W.J., Kim, Y.B. and Park, Y.H. Characteristics of *Lactobacillus reuteri* BSA-131 isolated from swine intestine. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27: 23-27 (1999)
- MIDI, Inc. Operating Manual, Ver. 6. *Sherlock Microbiol Identification System* (1997)

(2002년 8월 19일 접수, 2002년 10월 9일 채택)