



한국에서 수집된 케퍼 그레인 특성에 대한 연구

박선정 · 주영철 · 장윤현¹ · 차성관*
한국식품개발연구원, 비엔아이티(주)¹

Studies on the Characteristics of Kefir Grains Collected from Korean Locals

Sun Jung Park, Young Chul Joo, Yoon Hyun Jang¹ and Seong Kwan Cha*
Korea Food Research Institute, BNIT Co.¹

Abstract

Kefir is a traditional fermented milk in Caucasian area and is made mainly of milk fermented with lactic acid bacteria and yeasts. Six typical kefir grains were selected from ten kefir grains collected from different locals in Korea. Kefir grains were gelatinous in texture and had various shapes of villi, grapes, leaves, hulled millets, and towels. To investigate predominant microflora of kefir grains, SPC, MRS, M17, Rogosa, and APT agar media were used for viable cell count. MRS, SPC, and Rogosa media were most acceptable for bacterial cell counts of the selected kefir grains. From one or two of the SPC agar plates which contained around 25-50 colonies, all grown colonies were isolated and identified. Most predominant bacteria was identified as *Lactobacillus fermentum* by API 50 CHL kit. The proportions of *Lb. fermentum* and *Lb. brevis* among the total identified bacteria were around 41-88% and 2-54%, respectively. To select the best preservation method for kefir grains, refrigeration, freezing, and freeze drying were compared. Freeze drying was found most suitable for the preservation of kefir grains, based upon their acid-producing activities and production of off-flavors.

Key words : kefir grain, preservation, *Lactobacillus fermentum*, morphology, microflora

서 론

케퍼 그레인은 코카서스 지방에서 기원한 전통적인 산-알코올 발효유로 알려져 있으며(Toba, 1987), 지역에 따라서 kephir, kiaphur, kefer, knapon, kepi나 kippi 등과 같은 다양한 명칭으로 불리고 있고(Koroleva, 1988b), 국내에서는 티벳 버섯과 혼용되어 불리어지고 있다. 케퍼 그레인의 균총에 대한 연구가 세계 각 지역의 여러 연구자들에 의해 수행되었는데, Koroleva(1988a, b)는 케퍼 그레인이나 케퍼에는 고온성 또는 중온성의 젖산간균과 젖산구균, 효모, 초산균 등이 분포되어 있으며, 젖산간균과 젖산구균은 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL, 효모는 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mL, 초산균은 $10^4 \sim 10^5$ cfu/mL의 농도로 존재

하고 있다고 보고하였다.

Lee와 Kim(1986)은 APT 배지로 케퍼 그레인 배양액으로부터 젖산균을 분리하였는데, 그 중 *Streptococcus diacetylactis*가 가장 많이 존재하였다고 하였으며, Simova 등(2002)은 중온성 젖산균으로는 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*가, 고온성 젖산균으로는 *Str. thermophilus*가 우점하고 있다고 발표하였다. 한편, 초산균으로는 *Acetobacter aceti*와 *A. rancens*가 분리되었고, 효모로는 *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*를 비롯하여 *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir*, *C. holii*, *C. maris* 등이 존재하는 것으로 알려져 있다(Engel et al., 1986; Ottogalli et al., 1973; Simova et al., 2002).

케퍼 그레인은 형태적으로 다양한 모양을 가지고 있고, 물성은 젤라틴과 유사한 특성을 나타내며, 입자의 크기는 1-2 mm에서 3-6 mm, 또는 그 이상의 큰 것에 이르기까지 다양하게 존재하고 있다(Koroleva, 1988b). Bottazzi와 Dellaglio

* Corresponding author : Seong Kwan Cha, Korea Food Research Institute, 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-ku, Sungnam city, Kyunggi-do 463-746, Korea. Tel: 82-31-780-9108, Fax: 82-31-780-9234, E-mail: skcha@kfri.re.kr

(1967)는 케퍼 그레이인의 내부에는 주로 효모가 우점하고 있고, 외부에는 젖산균이 많이 분포하고 있다고 밝혔다. 케퍼 그레이인은 포도당과 갈락토오스가 1:1의 비율로 구성된 kefiran이라는 다당체가 미생물과 결합되어 있으며, kefiran의 분자량은 1,000 dalton 이상으로 알려져 있다(La Riviere, 1967).

케퍼 그레이인을 구성하고 있는 젖산균을 분리할 때 우유 성분을 첨가하면 분리율이 상승하는 것으로 알려져 있으며, 이를 근거로 치즈 유청을 기초로하여 Rogosa 배지와 혼합한 Rogosa-CW 배지(pH 5.4)가 개발되었다(Benno, 1998; Kojima et al., 1993). 이 배지를 MRS나 MRS-CW, Briggs나 BCP 배지 등과 비교했을 때 케퍼 미생물들의 분리율이 다른 배지보다 매우 높은 결과를 얻었는데, 특히 점성 다당류 생성균주가 다른 배지에서는 거의 검출되지 않았지만 이 Rogosa-CW 배지에서는 매우 많이 분리되었다고 보고되고 있다.

케퍼 그레이인의 보존을 위하여 냉장(4℃)과 냉동보존(-20℃, -80℃)을 비교한 연구에서는, 냉장보존은 보존 전의 조직과 향미를 상실하였으나, 냉동보존하였을 경우에는 조직과 향미뿐만 아니라 균총도 보존 전과 거의 같은 상태를 유지하였고, -20℃와 -80℃에서의 보존성은 유사하였으므로 가정에서 케퍼 그레이인을 보존할 때에 냉장보다 -20℃ 냉동실에서 보존하는 방법을 권장하였다(Garrote et al., 1997). 그러나 케퍼 그레이인의 미생물 균총과 냉동건조한 케퍼 그레이인의 균총을 비교해 본 연구에서 냉동건조 전에는 매우 희소하게 존재했던 *Weissella confusa*가 냉동건조 후 재발효시킬 때는 우점균주로 나타나, 냉동건조 전후의 배양이나 보존 조건에 의해 우점균총의 변화가 있음을 보여주었다(Ohara et al., 1997).

본 연구에서는 국내에서 수집된 10종류의 케퍼 그레이인의 형태학적인 특성을 조사하였고, 이들 케퍼 그레이인 중에서 성장이 빠른 6종류의 케퍼 그레이인을 선발하여 케퍼 그레이인의 균수 측정과 미생물 균총을 조사하였다. 또한 케퍼 그레이인의 보급을 위한 보존방법을 확립하기 위하여 냉장저장과 냉동저장, 그리고 냉동건조저장 후의 형태학적인 특징과 산생성 능력을 비교 평가하였다.

재료 및 방법

케퍼 그레이인의 수집, 보존 및 형태학적 특성 조사

케퍼 그레이인의 수집은 서울과 경기도 지역에서 케퍼 그레이인을 소지한 민가 혹은 판매처로부터 케퍼 그레이인을 분양받거나 구입하였다. 수집된 케퍼 그레이인은 수돗물로 씻은 후 시유에 5%씩 접종하여 상온에서 하루 동안 발효시킨 후 냉장고에 2~7일동안 숙성시키는 방법으로 계속적으로 시유를

이용하여 케퍼를 제조하면서 케퍼 그레이인을 보존하였다.

케퍼 그레이인의 형태학적인 특성 조사는 수돗물에 씻은 케퍼 그레이인을 디지털 카메라(Nikon Coolpix 950)로 외관상의 형태를 관찰하였으며, 전자현미경 관찰을 위하여 직경 0.5 cm 정도 크기의 케퍼 그레이인을 2 mL의 2.5% glutaraldehyde에 담근 후 4℃에서 한시간 fixation시켰고, 0.1 M cacodylic acid buffer로 15분씩 3회 세척한 다음, 50, 70, 80, 90 및 95% ethanol에 순차적으로 15분씩, 그리고 100% ethanol에 15분씩 3회 담그는 탈수과정을 거친 후 air drying시켰다. 탈수된 시료는 stub 표면에 붙였고 gold coating을 1분간 한 후 Scanning Electron Microscope(S-2380N, Hitachi, Japan)로 형태를 관찰하였다.

케퍼 그레이인의 미생물 균수 측정

수집된 케퍼 그레이인의 미생물 균수를 측정하기 위하여 케퍼 그레이인을 각각 10 g씩 취하여 Cell Master(CM-100, Iuchi, Japan)를 이용하여 균질하였고, 희석액(0.1% peptone, 0.85% NaCl, 0.03% KH₂PO₄, 0.04% Na₂HPO₄)으로 10⁴, 10⁵의 10⁶배로 각각 희석한 다음 SPC, MRS, M17, Rogosa, APT 한천 배지(Difco, USA)에 도말하여 30℃에서 24시간 배양하였다. 콜로니 모양과 크기에 따라 일반세균과 효모의 수를 분별 계수하였고, 의심되는 집락은 광학현미경(Bit-2, Olympus, Japan)으로 확인 작업을 하였다. 균수의 측정은 식품공전(2003)의 일반세균수 측정방법에 따라 계산하였다. 일반세균수와 효모균수의 측정은 추가적으로 aerobic bacteria-용 petrifilm과 yeast와 molds-용 petrifilm(3M, USA)을 이용하여 측정하였다.

동결건조 후의 케퍼 그레이인 미생물 균수를 측정하기 위하여 수집된 케퍼 그레이인 각각 1 g과 10% 환원탈지유 2 mL를 혼합하여 유리관에 넣어 동결건조기(Bondiro, 일신엔지니어링, Korea)로 건조한 다음 진공상태에서 유리관을 밀봉하였고 1년 보존 후 일반세균수를 측정하였다. 동결건조 후 케퍼 그레이인의 일반세균수를 측정하기 위하여 제조된 케퍼 그레이인 동결건조 vial을 깨뜨린 후, 내용물을 10 mL 희석액에 담아 standard homogenizer를 이용하여 homogenization시켰다. 희석액으로 10⁴, 10⁵와 10⁶배로 각각 희석한 다음, 각각 다른 다섯 가지의 배지(PCa, MRS, M17, Rogosa, APT)에서 동결건조 전의 일반 세균수 및 효모 균수 측정방법과 동일한 방법으로 균수를 측정하였다.

케퍼 그레이인으로부터 미생물의 분리 및 동정

케퍼 그레이인의 미생물 균총을 조사하기 위하여 미생물 균수 측정에 사용되었던 SPC 한천배지에서 25~50개의 균락이 자란 plate를 1개 혹은 2개를 선정하여 plate의 모든 균락을 순수 분리하였다. 케퍼 그레이인 각각에 대하여 약 50개의

순수분리된 미생물은 SPC 한천배지에서 콜로니 형태관찰과 광학현미경을 이용한 미생물의 형태 관찰, Gram 염색, Catalase 검사, Oxidase 검사를 실시하여 미생물을 1차적으로 분류한 다음, 2차적으로 API 50 CHL kit(Biomerieux, France)를 이용하여 동정하였다.

케퍼 그레인의 저장성 실험

케퍼 그레인의 저장방법에 따른 저장성을 실험하기 위하여 멸균된 10% 환원탈지유 1,000 mL에 각각의 케퍼 그레인을 370 g 씩 혼합하여 20×30 cm의 평판에 담아 동결건조하였고, 젖산균수는 Rogosa 배지로, 효모는 yeast와 molds용 petrifilm(3M, USA)으로 측정하였다. 케퍼 그레인 자체를 6개월간 -20℃에서 냉동보존한 것과, 멸균된 10% 환원탈지유 100 mL에 케퍼 그레인 50 g을 혼합하여 3개월간 4℃ 냉장보존 또는 6개월간 냉동보존한 것, 그리고 냉동건조 후 15개월 보존한 것을 이용하여 우유가 응고될 때까지 3회 계대배양한 다음 케퍼 그레인의 형태 유지 여부를 관찰하였고 산생성 능력을 비교 평가하였다.

결과 및 고찰

수집된 케퍼 그레인의 형태적 특성 조사

국내 서울과 경기도 지역에서 수집된 케퍼 그레인들의 수집 경로와 형태학적인 관찰 결과는 Table 1 및 Fig. 1에서 보여주는 것과 같다. 수집한 케퍼 그레인의 크기는 대체적으로 5 mm 부터 40 mm 까지 다양하였고, 젤라틴같이 끈끈한 점성을 갖고 있었으나 표면은 고무같은 탄력이 있었다. 케퍼

Table 1. Morphology of kefir grains collected from Korean domestic area

Kefir grains	Collected area	Shape of kefir grain
A	Bucheon, Gyeonggi-do	Villus
B	Toekyewon, Gyeonggi-do	Grape
C	Toekyewon, Gyeonggi-do	Large grain of B type
D	Toekyewon, Gyeonggi-do	Dish shape of B type
E	Mixture of A and F type	Villus + Leaf
F	Bundang, Gyeonggi-do	Leaf
G	Seoul	Villus
H	Seoul	Hulled millet
I	Purchased from K Company	Hulled millet
J	Uijeongbu, Gyeonggi-do	Towel

그레인의 형태는 용털(villus), 포도송이(grape), 나뭇잎(leaf), 좁쌀(hulled millet), 혹은 수건(towel)같이 다양한 형태를 가지고 있었다. 그러나 수집된 이들 케퍼 그레인을 이용하여 계속적으로 케퍼를 제조(시유에 5%씩 접종하여 상온에서 하루동안 발효시킨 후 냉장고에 2~7일동안 숙성)하면서, 또 이들 케퍼 그레인을 이용한 케퍼 제조실험과 케퍼 그레인의 증체실험을 거치면서 케퍼 그레인의 형태는 계속적으로 변형되는 것이 관찰되었다. Fig. 2는 6개월 후의 케퍼 그레인의 변형된 형태를 보여주고 있다. Fig. 3은 케퍼 그레인 A

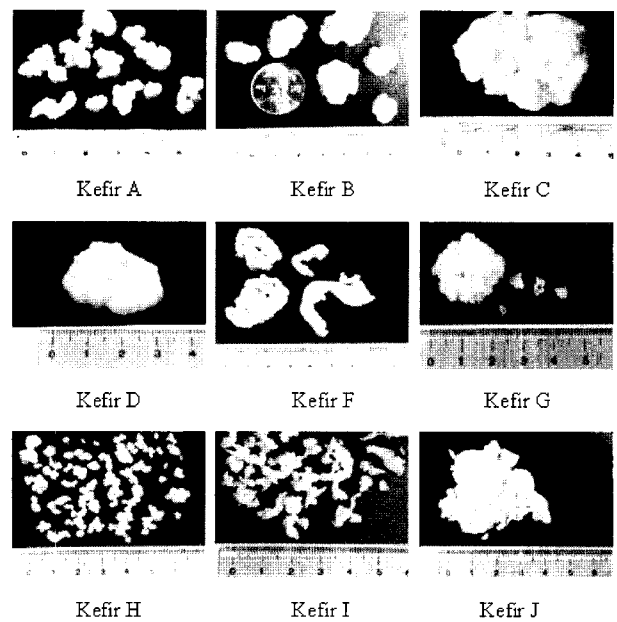


Fig. 1. Photographs of the collected kefir grains.

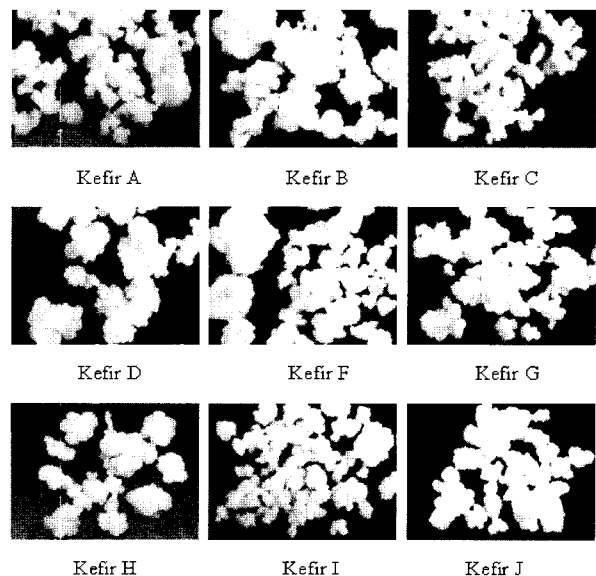


Fig. 2. Photographs of the collected kefir grains after 6 months.

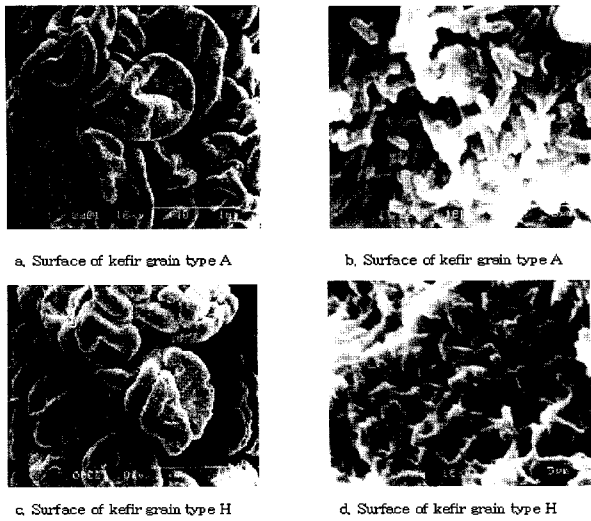


Fig. 3. Scanning electron micrographs of kefir grain type A and H.

와 H의 전자현미경 사진을 보여주고 있는데, 왼쪽의 사진에 보여주는 막대기 크기는 1 mm로서 주름잡힌 표면 형상을 보여주고 있으며, 오른쪽의 사진은 더욱 크게 확대한 사진으로서 막대기의 크기는 5 μm이고 간균 모양의 세균이 분포되어 있는 것을 알 수 있다. 그러나 효모의 모양은 뚜렷하게 관찰되지 않았다.

케퍼 그레인의 미생물 균수 측정

국내에서 수집된 케퍼 그레인의 미생물 균수의 측정 결과는 Table 2에서 보여주는 것과 같다. 케퍼 그레인의 미생물

균총은 젖산균과 효모로 추정되기 때문에 SPC 표준한천배지와 4종류의 젖산균 측정용 배지를 사용하여 비교하였다. 젖산균과 효모균수의 측정은 같은 배지상에서의 콜로니의 크기와 모양으로 구분하여 계수하였는데, 측정 결과는 균수 측정배지의 종류에 따라 세균의 경우는 100배 내지 1,000배의 균수 측정의 차이가 있었고, 효모균수의 경우 10배 정도의 차이가 있음을 표에서 알 수가 있다. 일반세균은 전체적으로 $10^7 \sim 10^8$ cfu/g 수준이었고, 효모는 $10^6 \sim 10^7$ cfu/mL 수준이었다. Koroleva(1988b)는 케퍼 그레인 starter 중에서 중온성 homo형 젖산구균의 농도가 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL 정도이고, 고온성 젖산간균은 10^5 cfu/mL, hetero형 젖산구균이 $10^7 \sim 10^8$ cfu/mL, 그리고 효모와 초산균이 각각 $10^5 \sim 10^6$ cfu/mL의 농도로 들어있는 것이 케퍼 제조용으로 적합하다고 하였다. 그러나 수집된 케퍼 그레인의 미생물 측정 결과는 젖산균의 농도는 이와 비교하여 낮은 편이었고, 효모는 다소 높은 것으로 나타났다.

케퍼 그레인의 미생물 동정 및 균총 조사

케퍼 그레인의 미생물 균수 측정에 이용되었던 SPC 배지를 이용하여 25~50개 콜로니가 있는 plate 한 개 혹은 두 개로부터 약 50개의 모든 콜로니를 순수 분리하여 미생물 동정을 한 결과는 Table 3에서 보여주는 것과 같다. 6가지 종류의 케퍼 그레인의 미생물 균총에 있어 젖산구균이 차지하는 비율은 많지 않은 것으로 밝혀졌다. 6종류의 케퍼 그레인 모두 *Lb. fermentum* 종이 가장 우점종으로 확인되었고 *Lb. fermentum* 균종의 분포도는 41~88%를 점유하는 것으로 나

Table 2 Viable cells of bacteria and yeast in kefir grains on various media (cfu/g)

Media	Grains						
		A	B	F	H	I	J
Bacteria	SPC	2.0×10^8	1.1×10^8	1.4×10^8	1.9×10^8	9.8×10^7	9.8×10^7
	MRS	2.8×10^8	2.7×10^8	2.5×10^8	3.4×10^8	8.8×10^7	1.6×10^8
	M17	2.4×10^6	6.9×10^7	1.8×10^7	1.1×10^8	$< 10^4$	3.5×10^7
	Rogosa	3.6×10^8	9.6×10^7	2.7×10^8	2.9×10^8	9.0×10^7	2.0×10^8
	APT	2.2×10^7	8.8×10^7	1.4×10^7	1.8×10^8	2.8×10^7	3.7×10^7
	Petrifilm ¹⁾	2.6×10^8	5.3×10^8	3.9×10^8	3.0×10^8	3.0×10^7	3.7×10^8
Yeast	SPC	5.8×10^6	5.1×10^7	5.0×10^5	3.4×10^6	2.1×10^6	3.9×10^6
	MRS	3.9×10^7	4.0×10^6	5.8×10^5	1.2×10^6	6.9×10^6	1.0×10^6
	M17	4.6×10^7	4.8×10^6	1.1×10^6	1.3×10^6	3.6×10^6	1.4×10^6
	Rogosa	8.1×10^6	3.9×10^6	6.5×10^5	2.2×10^6	9.1×10^7	1.6×10^6
	APT	5.9×10^6	4.2×10^6	1.1×10^5	1.7×10^6	3.7×10^6	3.4×10^6
	Petrifilm ²⁾	4.0×10^7	1.8×10^7	5.5×10^7	1.7×10^8	4.5×10^7	5.2×10^7

¹⁾ Petrifilm for aerobic bacteria(3M, USA).

²⁾ Petrifilm for yeast & mold(3M, USA).

Table 3. Occurrence of microflora isolated from kefir grains

Type	Identification of isolated bacteria	No. of colonies	%
A (41) ¹⁾	<i>Lactobacillus fermentum</i>	17	41.4
	<i>Lactobacillus brevis</i>	22	53.7
	Unidentified bacteria	2	4.9
B (47)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	31	66.0
	<i>Leuconostoc lactis</i>	1	2.1
	<i>Lactococcus lactis</i> sp. <i>lactis</i>	1	2.1
	Unidentified bacteria	14	29.8
F (52)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	28	53.9
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	3	5.8
	<i>Lactobacillus brevis</i>	1	1.9
	Unidentified bacteria	20	38.4
H (50)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	40	80.0
	<i>Lactobacillus brevis</i>	6	12.0
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	3	6.0
	Unidentified bacteria	2	4.0
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	50	87.7
I (57)	<i>Leuconostoc lactis</i>	1	1.8
	<i>Lactobacillus brevis</i>	2	3.5
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	1	1.8
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	1	1.7
	Unidentified bacteria	2	3.5
J (39)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	25	64.1
	<i>Lactobacillus brevis</i>	4	10.3
	Unidentified bacteria	10	25.6

¹⁾ Total number of the isolated colonies on SPC agar plates.

타났다. 그리고 *Lb. brevis* 종은 2~54%의 점유율을 보여주었다. 반면, *Leuconostoc* spp.와 *Lactococcus* spp.는 아주 소수만이 검출되었는데, 케피균총 중 *Lc. lactis* subsp. *lactis*가 중온성 젖산균으로서 우점종이라고 발표한 Simova(2002)의 결과와는 다른 결과를 보여주었기 때문에, 케피 그레인 균총 분포와 케피의 균총 분포가 다를 수 있는 것인지에 대한 추가적인 실험이 요구되었다.

케피 그레인의 저장성 실험

케피 그레인을 저장하기 위한 가장 효율적인 방법을 찾기

위하여 케피 그레인의 냉장보관, 냉동보관 및 동결건조와 같은 보존방법에 따른 케피 그레인의 보존상태를 조사한 실험 결과는 다음과 같다. 3개월간 냉장보관한 케피 그레인은 조직이 물러졌으며, 첫 번째 배양에 7일 이상이 소요되었고 15회 반복 계대배양 후에야 정상적인 산 생성력을 회복하였다. 그러나, 케피 그레인 고유의 향미가 약해졌고 이미와 이취가 발생하는 등 관능적으로 좋지 않았다. Kosikowski(1977)는 케피 그레인의 냉장보관에서 8~10일 후에는 미생물의 활력이 상실된다고 한 점으로 미루어볼 때 냉장에서 3개월간 보존하는 것은 적합하지 않은 것으로 판단되었다. 그렇지만 -20℃에서 6개월간 냉동시킨 케피 그레인은 첫 번째 배양하는데 36시간 정도 소요되었으며, 두 번째 계대배양부터는 정상적인 산 생성력을 회복하였다. 그러나 냉동시킨 케피 그레인으로 제조한 케피도 고유의 향미가 약해지고 이미와 이취가 약간 발생하여 냉동보존전의 케피 그레인으로 제조한 맛보다는 좋지 않았다. 한편, 냉동건조한 후 15개월 경과된 케피 그레인으로 배양한 것은 냉동건조 전과 동일한 산 생성력을 나타냈고, 이미와 이취도 거의 느낄 수 없어서 가장 좋은 보존 방법이라고 생각되었다. Kosikowski(1977)도 동결건조한 케피 그레인은 12~18개월후에 사용해도 좋은 활력을 유지한다고 보고하여서 케피 그레인의 장기보존을 위해서는 동결건조가 적합한 방법이라고 사료된다.

케피 그레인의 저장실험 중 동결건조 후의 미생물 균수의 측정 결과는 Table 4에서 보여주는 것과 같다. 동결건조 후 케피 그레인 6가지의 일반세균수를 SPC, Rogosa agar 및 petrifilm으로 측정하였을 때, 케피 그레인 F type이 2.1×10^8 , 1.2×10^8 , 2.7×10^8 cfu/g으로서 가장 높은 균수를 보여 주었으며, 효모의 경우에 있어서도 F type 케피 그레인이 5.0×10^6 cfu/g으로서 가장 높은 균수를 보여 주었다. 그 외는 모두 $10^5 \sim 10^6$ cfu/g 수준이었으나, J type 케피 그레인은 가장 낮은 1.2×10^4 cfu/g을 보여주고 있다.

Fig. 4는 케피 그레인의 동결건조 전후의 미생물 균수의

Table 4. Viable cells of kefir grains after freeze drying (cfu/g)

Kefir grain	Count media	SPC agar	Rogosa agar	Aerobic (3M Petrifilm)	Yeast (3M Petrifilm)
A		4.8×10^7	3.1×10^7	3.5×10^7	4.1×10^5
B		1.1×10^7	5.7×10^8	1.4×10^7	3.0×10^5
F		2.1×10^8	1.2×10^8	2.7×10^8	5.0×10^6
H		1.1×10^7	1.6×10^7	1.2×10^6	1.0×10^6
I		2.0×10^7	1.5×10^7	3.2×10^6	3.2×10^5
J		1.4×10^6	1.6×10^7	1.5×10^6	1.2×10^4

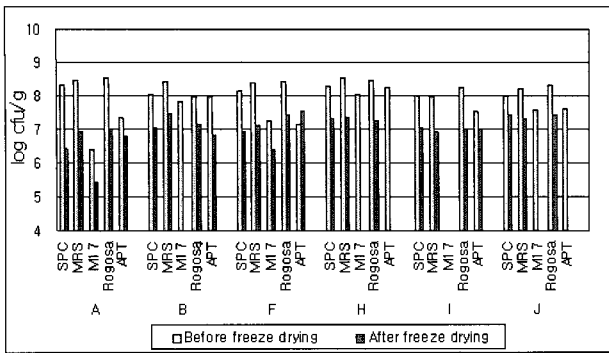


Fig. 4. Viable cells of bacteria in kefir grains on various media before and after freeze drying.

변화를 조사한 결과를 보여주고 있다. 5가지 종류의 일반세균 측정배지를 이용하여 동결건조 전후의 균수 측정을 한 결과, 케퍼 그레인의 동결건조를 통하여 10배 내지 100배의 균수 감소가 있음을 알 수가 있다. 모든 케퍼 그레인 종류에 있어서 M17 배지는 제일 적은 균수의 측정 결과를 보여주었는데, 동결건조 전에는 한가지, 그리고 동결건조 후에는 4가지 종류의 케퍼 그레인 미생물 균수 측정에 있어 10^4 배 희석에서 균이 검출되지 않았다. SPC, MRS나 Rogosa 배지는 젖산간균이 잘 검출되는 반면에 M17과 APT 배지는 젖산구균이 잘 검출되는 특성을 갖고 있는 점으로 미루어 보면, 수집된 케퍼 그레인의 주요 균종이 젖산간균이라고 유추할 수 있었고 이러한 결과는 케퍼 그레인의 미생물 균총 조사를 통하여 확인되었다.

케퍼 그레인 A, B, F, H, I와 J 6종류의 케퍼 그레인을 이용하여 제조한 케퍼의 관능검사 실험에서 케퍼 그레인 A, H와 I가 선발되었고(data not shown), 이 세가지 케퍼 그레인을 6개월간 냉장보존한 것과 환원탈지유와 혼합하여 3개월간 냉장보존 또는 6개월간 냉장보존한 것을 꺼내어 연속

계대배양하면서 산 생성 능력을 비교한 결과는 Fig. 5에서 보여주는 것과 같다. 3개월간 냉장보존한 케퍼 그레인보다는 6개월간 냉장보존한 케퍼 그레인이 산 생성능력이 우수하였으나, 환원탈지유를 첨가한 것은 첨가하지 않은 것보다 산 생성 능력이 떨어지는 결과를 보여주었다.

요 약

케퍼 그레인은 코카서스 지방에서 유래한 전통적인 발효유이며, 주로 젖산균과 효모로 우유를 발효시켜서 만든다. 국내에서 수집한 10종류의 케퍼 그레인 중에서 6종류가 포도송이 형태나 응탄, 나뭇잎, 좁쌀, 수건 같은 특징적인 형태를 가지고 있었으며, 젤라틴같이 끈적한 조직감을 나타냈다. 케퍼 그레인에서 우점하는 미생물을 조사하기 위하여 SPC, MRS, M17, Rogosa와 APT 한천배지와 petrifilm을 사용하여 일반세균과 효모를 계수하였다. 5종류의 한천배지 중에서 가장 검출률이 좋았던 것은 SPC, MRS와 Rogosa 한천배지였으며, M17과 APT 한천배지에서는 균락의 수가 매우 적었는데, 이는 케퍼 그레인에 존재하는 미생물의 종류가 대부분 젖산간균이었기 때문으로 추정되었다. 각 케퍼 그레인당 50여개 정도의 균락을 분리하여 API 50 CHL kit로 동정한 결과 *Lactobacillus fermentum*과 *Lb. brevis*가 각각 41~88%와 2~54%의 점유율을 나타내는 우점균으로 밝혀졌다. 이 외에 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*와 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*가 소수로 검출되었으며, 일반세균은 전체적으로 10^8 cfu/g 수준이었고, 효모는 10^6 ~ 10^7 cfu/g 수준이었다. 케퍼 그레인의 효과적인 보존방법을 찾기 위하여 멸균된 10% 환원탈지유와 혼합하여 동결건조한 것, 3개월간 냉장보존한 것, 그리고 6개월간 냉장보존한 것, 그

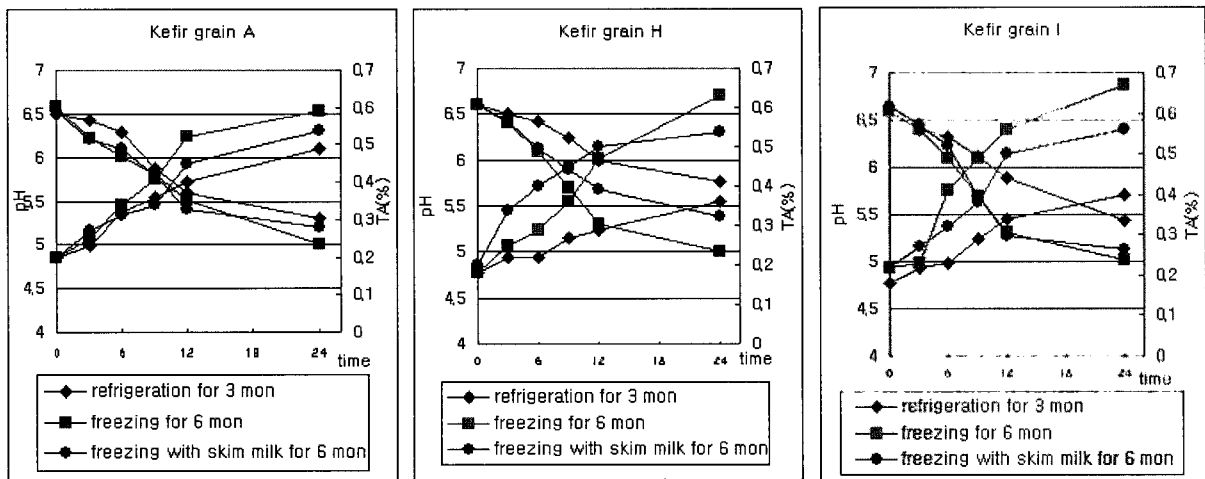


Fig. 5. Acid-producing activities of kefir grains according to preservation methods.

리고 케퍼 그레인 자체로 냉동보존한 것을 비교 평가하였다. 그 결과, 냉동보존한 케퍼 그레인의 복원시 산 생성력이 우수하였으나 15개월 냉동건조한 케퍼 그레인이 냉장 또는 냉동보존한 케퍼 그레인에 비하여 산 생성력이 우수하였을 뿐만 아니라 이미와 이취도 거의 없어 가장 좋은 보존방법으로 평가되었다.

감사의 글

본 논문은 2002년도 농림기술개발사업으로 수행된 연구 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사 드립니다.

참고문헌

- Benno, Y. (1998) The lactic acid bacteria flora in kefir grains. *醸協* **93**, 176-183.
- Botazzi, V. and Dellaglio, F. (1967) Acetaldehyde and diacetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus* and other lactic streptococci, *J. Dairy Res.* **34**, 109-113.
- Engel, G., Krusch, U., and Teuber, M. (1986) Mikrobiologische Zusammensetzung von kefir. I. Heven. *Milchwissenschaft* **41**, 418-421.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G., and De Antoni, G. L. (1997) Preservation of kefir grains, a comparative study. *Lebensm. Wiss. U. Technol.* **30**, 77-84.
- Koroleva, N. S. (1988b) Technology of kefir and kumys. *IDF Bulletin* **227**, 96-99.
- Koroleva, N. S. (1988a) Starters for fermented milks. Section 4. Kefir and kumys starters. *IDF Bulletin* **227**, 35-39.
- Kojima, S., Takizawa, S., Fujinaga, S., Benno, Y., and Nakase T. (1993) An improved medium for the isolation of lactobacilli from kefir grains. *Biosci. Biotech. Biochem.* **57**, 119-120
- Kosikowski, F. V. (1977) Cheese and fermented milk foods (2nd Ed.). *Edwards Brothers, Inc.* 37-48.
- La Riviere, J. W. M. (1967) Ecology of yeasts in the kefir grain. *J. Microbiol. Serol.(Suppl.)* **35**, D15-D16.
- Lee, K. S. and Kim, D. S. (1986) Studies on microbiological characteristics of kefir culture. *Korean J. Dairy Sci.* **8**, 266-274.
- Ohara, N., Suzaki, M., Okada, S., Uchimura, T., Kozaki, M., and Komagata, K. (1997) Identification of lactic acid bacteria isolated from freeze-dried kefir grains(Gorgia, Russia). *Jap. J. Food Microbiol.* **13**, 165-171.
- Simova, E., Beshkova, D., Angellov, A., Hiritozova, Ts., Fregonova, G., and Spasov, Z. (2002) Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J. Industrial Microbiol. and Biotechnol.* **28**, 1-6.
- Toba, T. (1987) Symposium Reports on Advance of Dairy Science and Technology in Japan. *Jap. J. Dairy and Food Sci.* **36**, A235-A243.
- 한국식품공업협회 (2003) 식품공전. pp. 649-650

(2003. 8. 14. 접수 ; 2003. 9. 20. 채택)