J Korean Soc Food Sci Nutr
38(7), 892~901(2009)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2009.38.7.892

시판 김치 분리 젖산균에 의한 아질산염 소거

고정림[1] · 오창경[2†] · 오명철[2] · 김수현[3]

[1]제주바이오기업협회
[2]제주산업정보대학 관광호텔조리과
[3]제주대학교 식품생명공학과

Depletion of Nitrite by Lactic Acid Bacteria Isolated from Commercial *Kimchi*

Jung-Lim Ko[1], Chang-Kyung Oh[2†], Myung-Cheol Oh[2], and Soo-Hyun Kim[3]

[1]Jeju Bio Business Association, Jeju 690-121, Korea
[2]Dept. of Tourism Hotel Culinary Art, Jeju College of Technology, Jeju 690-140, Korea
[3]Dept. of Food Science & Biotechnology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Abstract

This study confirmed depletion efficiency of nitrite when incubate lactic acid bacteria was isolated from commercial Chinese cabbage pickles (*Baechu kimchi*), pickled ponytail radishes (*Chongkak kimchi*), radish cube *kimchi* (*Kaktugi*) and pickled Wakegi (*Pa kimchi*) at temperatures of 15°C and 25°C. At 15°C, lactic acid bacteria isolated from commercial *kimchi* depleted nitrite actively except *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* and *Leuconostoc paramesenteroides*. In particular, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextrinicum* and *Leuconostoc lactis* depleted nitrite by very actively without period adaptation in nitrite. *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, and *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens* depleted nitrite very actively after 1 day. *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* depleted nitrite relatively actively after 2 days pass. In contrast, *L. paramesenteroides* displayed very low nitrite depletion ratio compared to other species. At 25°C, all lactic acid bacteria isolated from commercial *kimchi* did not need adapting period in nitrite, and depleted nitrite very actively except *L. paramesenteroides*. Also, all lactic acid bacteria except *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* and *L. paramesenteroides* nitrite of more than 90% after 1 day, and *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* depleted nitrite of more than 90% after 2 days. However, because *L. paramesenteroides* was not active even at 25°C, nitrite depletion efficiency was very low compared to other species. On the other hand, the same species of *Lactobacilli* and *Leuconostocs* except *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* and *L. paramesenteroides* of other *kimchi* origin at 15°C as well as 25°C by vitality depleted nitrite very actively without statistically significant difference ($p<0.05$).

Key words: depletion of nitrite, commercial *kimchi*, lactic acid bacteria, *Leuconostocs*, *Lactobacilli*

서 론

젖산균은 혈청콜레스테롤의 감소(1), 유해균에 대한 항균성(2,3), 세균 세포벽 성분의 항종양 활성(4), 항돌연변이 효과(5,6), 항암 특성(7,8), 항산화효과(9) 등이 알려져 있다. 장내 세균의 효소 중 발암 전구물질로부터 발암물질로의 전환을 촉진시키는 β-glucuronidase, nitroreductase, azoreductase 등에 *Lactobacillus acidophilus*를 경구적으로 섭취하면 이들 효소의 활성이 저하된다는 보고가 있으며(10,11), 발효유에서 분리한 *Leuconostoc*속 및 *Streptococcus* 속 젖산균들이 돌연변이물질인 *N*-nitrosodiethylamine (NDEA)에 대하여 강한 항돌연변이 활성을 가지고 있다(12). 이처럼 유제품 분리 젖산균에 의하여 유해물질들의 활성억제에 의한 항암 및 항돌연변이 활성 등이 보고되었으며, 또한 곡물을 발효시킨 Dadih와 Idly에서 분리한 젖산균에 의한 항암 및 항돌연변이 활성 등에 대한 연구가 진행되었다(13,14).

질산염과 아질산염은 식품 자체에 다량 함유되어 있으며(15), 육제품이나 수산가공식품 등의 발색제로 첨가되어 육제품의 발색 및 육색의 안정화에 기여하고(16), 풍미 향상(17), 산패취 발생 감소(18), 지방의 산패 방지(19), *Clostridium botulinum*에 대한 정균 작용을 하며(20,21), 육의 보수성과 결착성을 개선하는데 중요한 역할을 한다(22). 이들 질산염은 소화기관 내에서나 식품의 저장 중에 질산환원효소나 질산염 환원세균에 의하여 아질산염으로 환원되며, 아질산염은 2급 및 3급 amine류와 반응하여 nitrosamine을 생성하는 것으로

†Corresponding author. E-mail: ohcky59@jeju.ac.kr
Phone: 82-64-754-0351, Fax: 82-64-754-0360

알려져 있으며(23,24), 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈액 중의 헤모글로빈을 산화시켜 청색증(methemoglobinemia), 빈혈성저산소증 등의 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다(25).

식품에서 아질산염의 소거는 주로 육가공품에 첨가했던 아질산염의 소거에 관심이 집중되고 있는데, 이는 pH, 온도 및 저장시간과 관련하여 아질산염의 농도가 감소하고, 일부의 아질산염이 세균의 작용에 의하여 소거되기도 하지만 확실하게 밝혀진 바는 없다(26). 그러나 Dodds와 Collins-Thompson(27)은 젖산균은 육류에서 아질산염의 소거에 많은 기여를 한다고 하였는데, 젖산균에 의해 생성되는 젖산에 의하여 아질산염의 화학적 소거가 증가한 것이라고 하였고, 많은 유산균들이 아질산염을 소거할 수 있는 효소 nitrite reductase를 소유한다고 하였다.

그러나 젖산균이 갖는 발암억제 효과 및 젖산균의 기능성에 대해서는 우유발효 식품을 대상으로 한 것이 대부분이며, 김치에서 분리된 젖산균의 기능성에 대한 연구는 일부의 연구자들에 국한되어 있다. 최근에는 우리나라에서도 김치에서 분리된 젖산균에 의한 연구가 수행되면서 김치 젖산균에 의하여 발암성 nitrosamine의 전구물질인 아질산염의 소거(2,28), 항돌연변이(29), 항암(30) 등 생리활성에 대한 연구가 이루어지고 있다.

따라서 본 연구에서는 우리나라의 전통발효식품인 시판 김치에서 분리한 젖산균을 15℃와 25℃에서 배양하면서 아질산염이 소거되는 정도를 측정하여 김치의 발효에 관여하는 젖산균들의 기능성을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

젖산균

제주시내의 재래시장에서 시판되는 배추김치, 총각김치, 깍두기 및 파김치에서 분리, 동정된 *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextrinicum*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens* 등 8종의 젖산균으로 그 기원과 동정 결과는 Table 1에 나타내었다(31). 이들 분리된 젖산균은 Lactobacilli MRS agar slant에 접종하여 37℃에서 24시간 배양한 후 4℃에 보관하면서 사용하였다.

젖산균에 의한 아질산염의 소거

젖산균에 의하여 아질산염이 소거되는 정도는 Dodds와 Collins-Thompson(27)의 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다. 아질산염 소거에 사용된 배지는 Lactobacilli MRS 액체배지였으며, 아질산염은 최종 농도가 100 μg/mL가 되도록 첨가하였고, 여기에 18시간 배양한 배양액을 100 μg 접종하여 15℃와 25℃에서 0~7일 동안 배양하면서 540 nm에서 흡광도로부터 아질산염이 소거되는 정도를 측정하였다. 양성대조구는 배지에 아질산염의 최종농도가 100 μg/mL가 되도록 MRS 배지에 첨가하였으며, 음성대조구는 멸균 증류수만을 첨가하여 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다. 모든 실험용 용기는 121℃에서 30분 동안 멸균하였으며, Lactobacilli MRS 배지는 멸균 직전에 pH 6.5±0.1로 조정하였다.

아질산염의 정량

아질산염은 Ito 등(32)의 방법에 따라 Fig. 1과 같이 배양기간 동안 1일 간격으로 배양액 100 μL씩 취하여 비색정량 하였다. 이때 아질산염은 MRS broth에 대하여 최종농도가 100 μg/mL 되도록 첨가하였다. 실험에 사용된 color development solution의 조제 방법은 다음과 같다. 즉, color development solution Ⅰ은 냉수 800 mL에 0.2 g의 sulfanilamine ($NH_2C_6SO_2NH_2$)을 넣고 수욕조에서 가열하면서 용해, 여과시킨 후 증류수를 가하여 1,000 mL로 하였다. Color development solution Ⅱ는 증류수에 0.1 g의 *N*-1-naphthylethylene diamine dihydrochloride($C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2 \cdot 2HCl$)를 용해시키고 증류수를 가하여 100 mL로 하였다. Color devel-

Table 1. Species distribution of lactic acid bacteria isolated randomly from commercial *kimchi* (31)

Identified as	Origin	Isolate No.
Leuconostoc lactis	*Bauchu kimchi*, *Kaktugi*	B04, K01, K09
Leuconostoc mesenteroides subsp. *dextrinicum*	*Kaktugi*	K03, K04, K10
Leuconostoc paramesenteroides	*Chongkak kimchi*	C01, C03, C05
Leuconostoc mesenteroides subsp. *mesenteroides*	*Chongkak kimchi*	C02, C04
Lactobacillus plantarum	*Bauchu kimchi*, *Kaktugi* *Chongkak kimchi*, *Pa kimchi*	B01, B02, B06, B07, B09~B12, P01, P02, P04~P23, K11, K13, K15
Lactobacillus casei subsp. *pseudoplantarum*	*Bauchu kimchi*, *Chongkak kimchi*	B03, B05, K02, K07, K08, K12
Lactobacillus sake	*Bauchu kimchi*, *Kaktugi*	B08, P03
Lactobacillus coryniformis subsp. *torquens*	*Kaktugi*	K05, K11, K13, K14

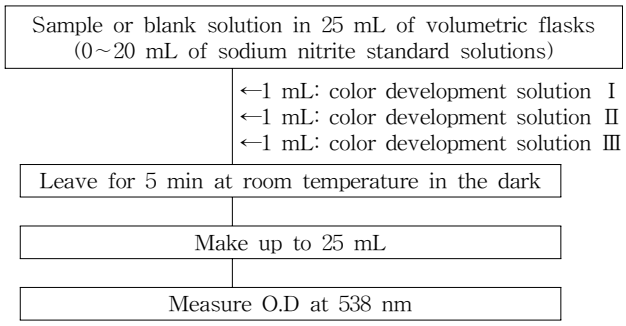

Fig. 1. Procedure for determination of nitrite.

opment solution Ⅲ는 445 mL의 염산을 증류수로 희석하여 1,000 mL로 하였다.

통계처리

본 연구의 실험 결과는 3회 반복 측정한 후 평균과 표준편차를 나타내었으며, SPSS 11.1을 이용하여 실험군 간의 유의차를 ANOVA로 검증한 후 $p<0.05$ 수준에서 상호 비교하였다.

결과 및 고찰

배추김치

배추김치에서 분리한 *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum* 및 *Lactobacillus sake*를 15 및 25°C에서 배양할 때 100 μg/mL의 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 각각 Fig. 2A와 B에 나타내었다.

15°C에서(Fig. 2A), 배추김치에서 분리한 젖산균들은 배양 기간에 따라 매우 활발하게 아질산염을 소거하였다. 즉, *L. lactis*는 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 함이 없이 매우 활발하게 작용하여 3일 이후에 90% 이상 아질산염을 소거하였다. 그러나 *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum* 및 *L. sake*는 하루 정도 아질산염에 적응하는 기간을 거친 이후에 매우 활발하게 작용하여 4일 이후에 90% 이상(*L. sake*는 5일 이후)의 아질산염을 소거하였다.

한편, 배추김치에서 분리된 젖산균들은 *L. lactis*를 제외하고는 아질산염을 소거할 때 1일 정도의 유도기간을 필요로 하였는데, 이는 이들 젖산균들이 15°C에서 아질산염을 이용하기 위해서는 어느 정도의 시간이 필요하기 때문이라고 판단된다(28).

25°C에서(Fig. 2B), 배추김치에서 분리한 젖산균은 15°C와는 달리 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하지 않았으며, 또한 모든 젖산균종이 1일에 통계적인 유의차 없이 90% 전후의 아질산염을 소거하여 15°C에서 3일 배양했을 때 83.5~91.2%의 소거율을 나타낸 것에 비하여 매우 활성적으로 아질산염을 소거하였다. 이는 유산균들은 15°C에서는 온도에 적응하는 시간을 필요로 하지만, 25°C에서는 이러한 적응기간을 필요로 하지 않기 때문으로 판단된다(28).

총각김치

총각김치에서 분리한 *Leuconostoc paramesenteroide*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 및 *Lactobacillus plantarum*를 15 및 25°C에서 배양할 때 100 μg/mL의 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 각각 Fig. 3A와 B에 나타내었다.

15°C에서(Fig. 3A), 총각김치에서 분리한 젖산균들은 균종에 따라서 아질산염이 소거되는 능력이 서로 달라서 각 분리된 균종 간에 통계적인 유의차를 보이면서 아질산염 소거율이 증가하였으며, 또한 분리된 모든 젖산균들이 1일 정도 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하였다. 즉, *L. plantarum*은 3일에 93.2%의 소거율을 나타내어 총각김치 분리 젖산균 중 가장 활발하게 아질산염을 소거하였으며, *L.*

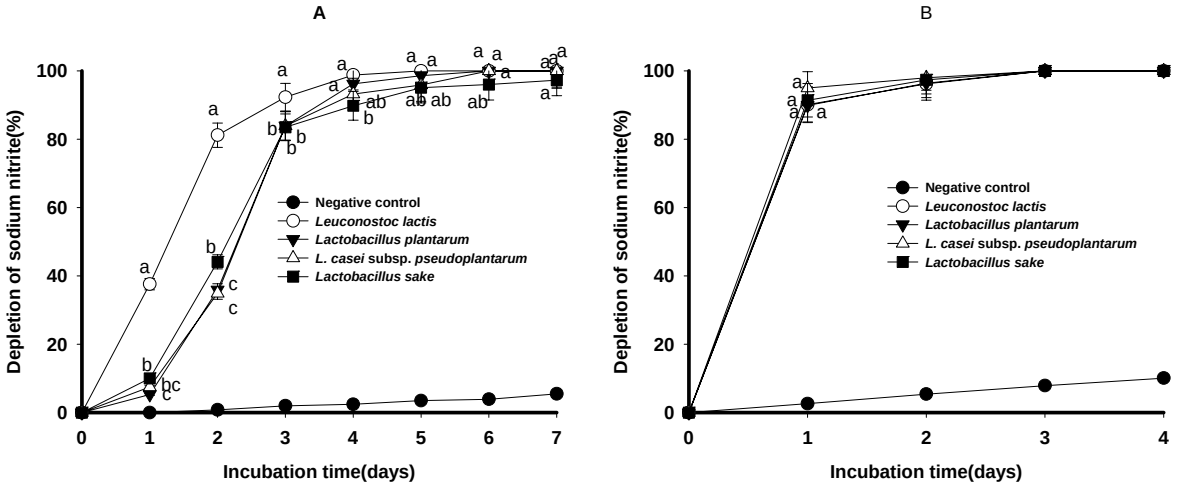

Fig. 2. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from *Baechu kimchi* during incubation at 15 (A) and 25°C (B). Final concentration of nitrite per broth: 100 μg/mL. Values with different superscript letters (a-c) within same incubation time are significantly different ($p<0.05$) as determined by Duncan's range test. Values are means of 3 triplicates.

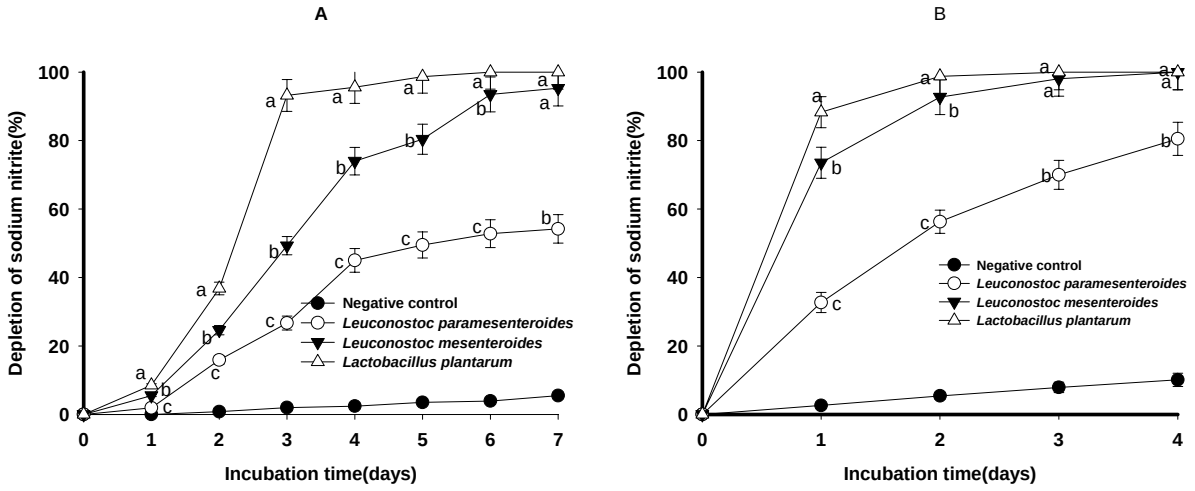

Fig. 3. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from *Chongkak kimchi* during incubation at 15 (A) and 25°C (B). Final concentration of nitrite per broth: 100 μg/mL. Values with different superscript letters (a–c) within same incubation time are significantly different ($p<0.05$) as determined by Duncan's range test. Values are means of 3 triplicates.

mesenteroides subsp. *mesenteroides*는 6일에 93.5%의 소거율로 *L. plantarum*보다 낮았으나 비교적 활발하게 아질산염을 소거하였다. 그러나 *L. paramesenteroides*는 아질산염을 소거하는 능력이 떨어져서 7일이 경과한 후에도 54.2%로서 총각김치 분리 젖산균 중 가장 낮은 소거율 변화를 보였다. 특히, *L. paramesenteroides*는 1일의 적응기간을 거친 후에도 아질산염이 소거되는 정도가 매우 낮았는데, 이는 *L. paramesenteroides*는 아질산염을 분해하는 효소체계(nitrite reductase)가 없거나 있다고 하더라도 효소활성이 매우 낮기 때문에 아질산염 소거율 변화가 매우 낮은 것으로 판단된다(27).

25°C에서(Fig. 3B), 총각김치에서 분리된 젖산균은 배추김치 분리 젖산균과 마찬가지로 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하지 않았으며, 아질산염 소거율도 15°C보다 높았다. 즉, *L. plantarum*은 2일에 98.8%, 그리고 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 2일에 92.7%로서 매우 높은 아질산염 소거율을 보였는데, 특히 15°C에서는 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*가 *L. plantarum*보다 낮은 소거율 변화를 보였으나, 25°C에서는 2일 이후 *L. plantarum*과 거의 비슷한 변화를 보이는 것은 주목할 만하다 하겠다. 반면, *L. paramesenteroides*는 4일에 80.5%로서 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 *L. plantarum*보다 상당히 낮은 소거율 변화를 보였다. 이것으로 보아 *L. paramesenteroides*는 아질산염을 분해하는 효소의 활성이 낮은 것으로 판단된다(27).

깍두기

깍두기에서 분리한 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextrinicum*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens* 및 *Lactobacillus plantarum*을 15와 25°C에서 배양할 때 100 μg/mL의 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 각각 Fig. 4A와 B에 나타내었다.

15°C에서(Fig. 4A), 깍두기에서 분리한 젖산균들은 매우 활발하게 아질산염을 소거하였으며, 또한 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*과 *L. lactis*는 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하지 않았으나, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. plantarum* 및 *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 1일 정도 아질산염에 적응하는 기간을 요하였다. *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*과 *L. lactis*는 각각 2일에 80.8%와 80.0%, 3일에 93.9%와 91.2%로서 매우 활발하게 아질산염을 소거하였으나, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. coryniformis* subsp. *torquens* 및 *L. plantarum*은 각각 3일에 80.2%, 88.8% 및 90.4%, 4일에 91.9%, 96.4% 및 97.9%로서 4일 이후 매우 활발하게 아질산염을 소거하였다. 그러나 *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*은 배양 3일에 깍두기에서 분리된 다른 젖산균들에 비하여 유의적인 차이를 보이면서 약간 낮은 소거율을 보였다.

25°C에서(Fig. 4B), 깍두기에서 분리된 젖산균은 모두 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하지 않았으며, 1일에 89.8~94.5%, 2일에 92.7~99.1%, 3일 이후에 100%로서 매우 높은 아질산염 소거율 변화를 보였다.

파김치

파김치에서 분리한 *Lactobacillus sake*와 *Lactobacillus plantarum*을 15와 25°C에서 배양할 때 100 μg/mL의 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 각각 Fig. 5A와 B에 나타내었다.

15°C에서(Fig. 5A), 파김치에서 분리한 젖산균들은 아질산염을 활발하게 소거하였으나 1일 정도 아질산염에 적응하

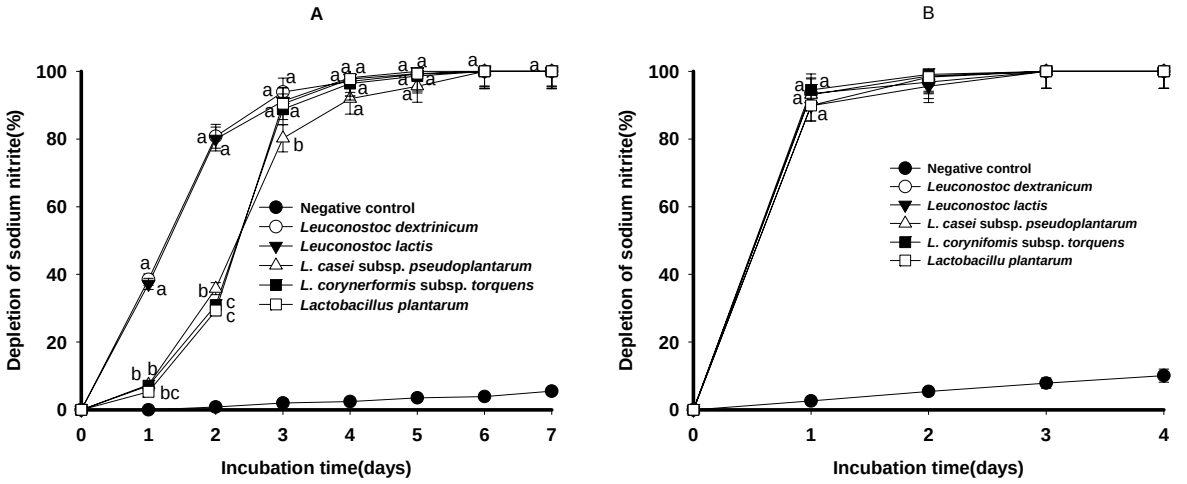

Fig. 4. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from *Kaktugi* during incubation at 15 (A) and 25°C (B). Final concentration of nitrite per broth: 100 μg/mL. Values with different superscript letters (a–c) within same incubation time are significantly different ($p<0.05$) as determined by Duncan's range test. Values are means of 3 triplicates.

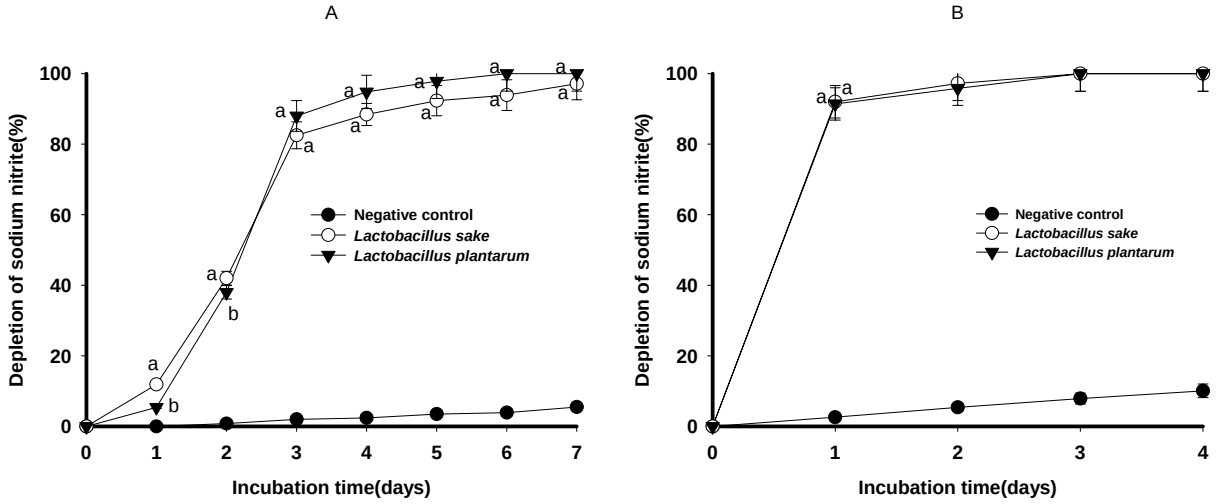

Fig. 5. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from *Pa kimchi* during incubation at 15 (A) and 25°C (B). Final concentration of nitrite per broth: 100 μg/mL. Values with different superscript letters (a,b) within same incubation time are significantly different ($p<0.05$) as determined by Duncan's range test. Values are means of 3 triplicates.

는 기간을 필요로 하였다. *L. sake*와 *L. plantarum*은 1~2일에 *L. sake*가 약간 높은 아질산염 소거율 분포를 보였으나, 3일 이후 *L. plantarum*이 약간 높은 소거율 변화를 보였다. 그러나 3일 이후에는 두 균종간의 유의적인 차이를 확인할 수 없었다.

25°C에서(Fig. 5B), 파김치에서 분리한 젖산균들은 다른 김치에서 분리한 젖산균종들과 마찬가지로 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하지 않았으며, 1일에 각각 92.0과 91.4%, 2일에 97.2와 95.8% 및 3일 이후에 모든 아질산염을 소거시켰다.

*Lactobacilli*와 *Leuconostocs*에 의한 아질산염 소거능의 비교

배추김치에서 분리한 *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. sake*, 총각김치에서 분리한 *L. plantarum*, 깍두기에서 분리한 *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. coryniformis* subsp. *torquens*, *L. plantarum* 및 파김치에서 분리한 *L. sake*와 *L. plantarum* 등의 *Lactobacilli*(A, B, C, D 및 E)와 배추김치에서 분리한 *L. lactis*, 총각김치에서 분리한 *L. paramesenteroides*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 및 깍두기에서 분리한 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*, *L. lactis* 등의 *Leuconostocs*(F)를 15°C에서 배양할 때 100 μg/mL의 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 Fig. 6에 나타내었다.

Fig. 6A, B, C, D 및 E에서 보는 바와 같이 김치에서 분리한 *Lactobacilli*인 *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. plantarum*(2일에 깍두기, 3일에 배추김치 기원의 *L. plantarum*은 예외) 및 *L. sake*는 다른 김치 기원의 동일 균종일 경우 통계적인 유의차 없이 아질산염이 소거되는 것으로 나

타나서 동일 균종의 경우 기원이 다르더라도 아질산염이 소거되는 효과는 거의 같거나 비슷한 것으로 판단된다. 한편, 다른 균종인 *L. plantarum*과 *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 통계적인 유의차 없이 아질산염을 소거하였으나, 앞의 두 균종과 *L. sake* 간에는 통계적인 유의차를 확인할 수 있었다. 그러나 Fig. 6F에서 보는 바와 같이 김치에서

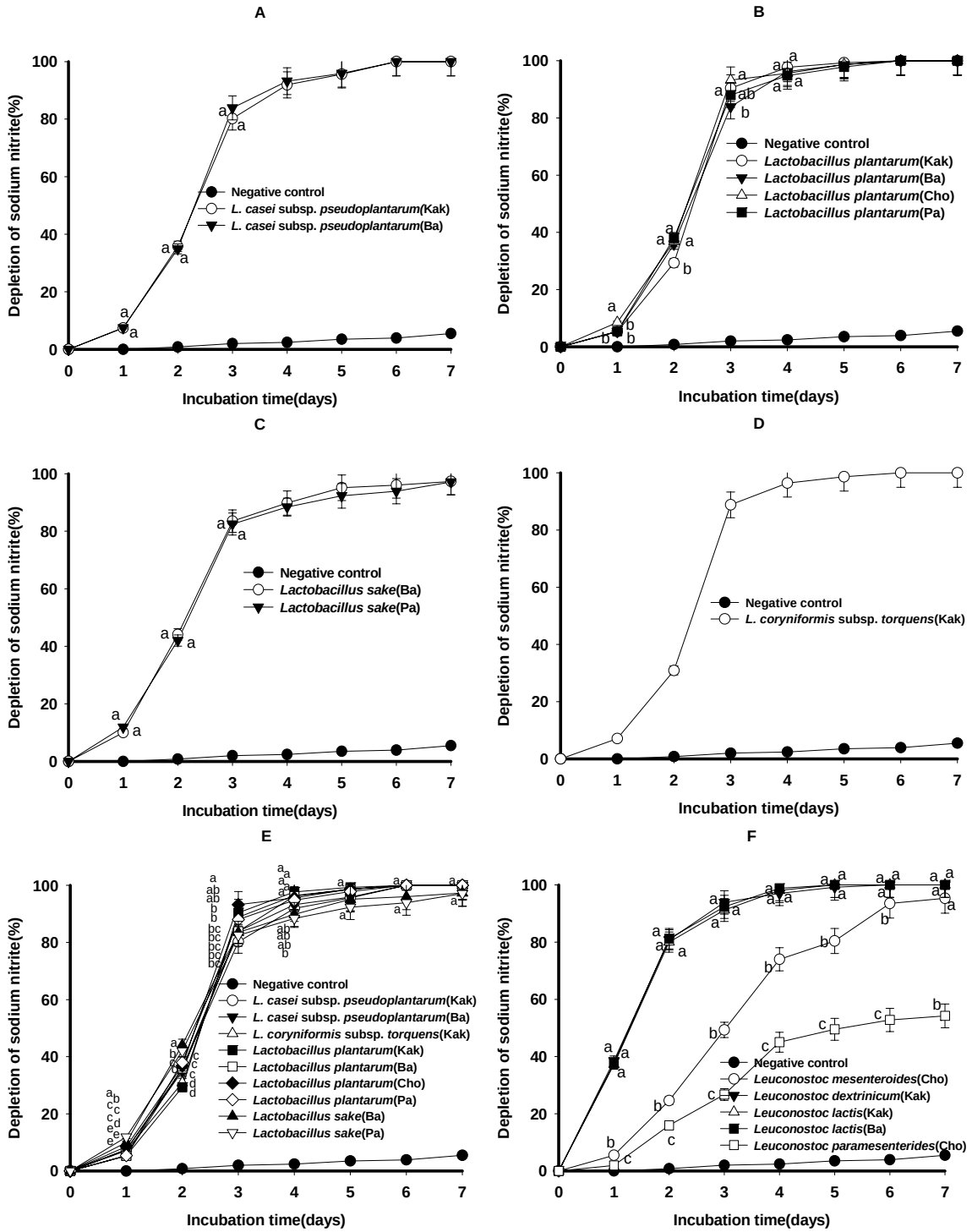

Fig. 6. Depletion of sodium nitrite by *Lactobacilli* (A, B, C, D, and E) and *Leuconostocs* (F) isolated from commercial *kimchi* during incubation at 15°C. A: *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, B: *Lactobacillus plantarum*, C: *Lactobacillus sake*, D: *L. coryniformis* subsp. *torquens*, E: All *Lactobacilli* isolated from several commercial *kimchi*, F: All *Leuconostocs* isolated from several commercial *kimchi*. Cho: *Chongkak kimchi*, Kak: *Kaktugi*, Ba: *Baechu kimchi*, Pa: *Pa kimchi*. Final concentration of nitrite per broth: 100 μg/mL. Values with different superscript letters (a-e) within same incubation time are significantly different ($p<0.05$) as determined by Duncan's range test. Values are means of 3 triplicates.

분리한 *Leuconostocs*는 균종에 따라 아질산염의 소거율에 커다란 통계적인 유의차를 나타내었다. 즉, 깍두기 기원의 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*과 배추김치 및 깍두기 기원의 *L. lactis*는 *Lactobacilli*와는 달리 통계적인 유의차 없이 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하지 않으면서 배양 초기부터 아질산염을 매우 활성적으로 소거시켰으나, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 1일 정도의 적응기간을 필요로 하면서 비교적 활발하게 아질산염을 소거하였다. 그러나 *L. paramesenteroides*는 아질산염이 소거되는 효소체계가 잘 발달되어 있지 못하여 다른 젖산균에 비하여 낮은 소거율 변화를 나타내었다.

배추김치에서 분리한 *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. sake*, 총각김치에서 분리한 *L. plantarum*, 깍두기에서 분리한 *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. coryniformis* subsp. *torquens*, *L. plantarum* 및 파김치에서 분리한 *L. sake*와 *L. plantarum* 등의 *Lactobacilli*, 그리고 배추김치에서 분리한 *L. lactis*, 총각김치에서 분리한 *L. paramesenteroides*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 및 깍두기에서 분리한 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*, *L. lactis* 등의 *Leuconostocs*를 25℃에서 배양할 때 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 각각 Fig. 7A와 B에 나타내었다.

Fig. 7A에서 보는 바와 같이 시판김치에서 분리한 *Lactobacilli*는 25℃에서 다른 기원의 동일 균종이거나 동일 기원의 다른 균종에 관계없이 통계적인 유의차 없이 아질산염을 매우 활발하게 소거시켰다. 그러나 Fig. 7B에서 보는 바와 같이 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*과 *L. lactis*는 *Leuconostos*의 다른 균종에 비하여 통계적인 유의차를 나타내면서 매우 활발하게 아질산염으로 소거시켰다. 그리고 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 2일 이후 앞의 두 균종과 통계적인 유의차 없이 매우 활발하게 아질산염을 소거시켰으나, *L. paramesenteroides*는 *Leuconostocs*의 다른 균종에 비하여 소거율이 매우 낮았다. 이와 같이 15℃보다 25℃에서 아질산염의 소거가 보다 더 활발하게 이루어지는 이유는 젖산균에 의한 아질산염의 소거가 온도에 의한 영향을 받기 때문이며(32), 또한 25℃가 유산균 성장의 적정 온도인 30℃에 근접하기 때문에 아질산염을 소거할 수 있는 효소가 매우 활발하게 작용하여 아질산염 소거율이 높아지는 것으로 판단된다(33).

시판김치로부터 분리한 *Lactobacilli*와 *Leconostocs*를 15(A) 및 25℃(B)에서 배양할 때 아질산염이 소거되는 정도에 대한 각 젖산균종의 평균값을 Fig. 8에 나타내었다.

Fig. 8A에서 보는 바와 같이 시판김치에서 분리한 젖산균들은 15℃에서 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 *L. paramesenteroides*를 제외하고는 아질산염을 매우 활발하게 소거시켰다. 특히 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*과 *L. lactis*는 초기부터 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 함이 없이 매우 활발하게 아질산염을 소거시켜 아질산염의 소거체계가 잘 발달되어 있었다. 또한 *L. sake*, *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum* 및 *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 1일 이후에 매우 활발하게, 그리고 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 비교적 활발하게 아질산염이 소거되는 것으로 보아 하루 정도 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하는 아질산염 소거체계를 소유한 것으로 판단된다. 반면, *L. paramesenteroides*는 아질산염이 소거되는 정도가 다른 균종에 비하여 매우 낮은 것으로 보아 아질산염 소거체계가 거의 없거나 발달되어 있지 않은 것으로 판단된다. 또한 *L. plantarum*은 3일 이후에, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*과 *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 4일 이후에, 그리고 *L. sake*는 5일 이후에 *L.*

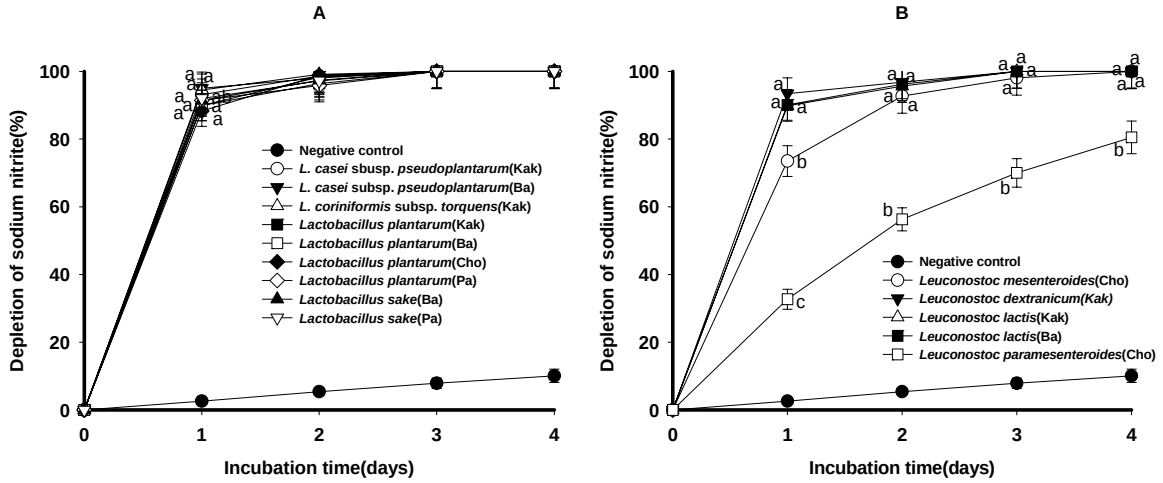

Fig. 7. Depletion of sodium nitrite by *Lactobacilli* (A) and *Leuconostocs* (B) isolated from several commercial *kimchi* during incubation at 25℃. A: Each *Lactobacilli* isolated from several commercial *kimchi*, B: Each *Leuconostocs* isolated from several commercial *kimchi*. Final concentration of nitrite per broth: 100 μg/mL. Values with different superscript letters (a–c) within same incubation time are significantly different ($p<0.05$) as determined by Duncan's range test. Values are means of 3 triplicates.

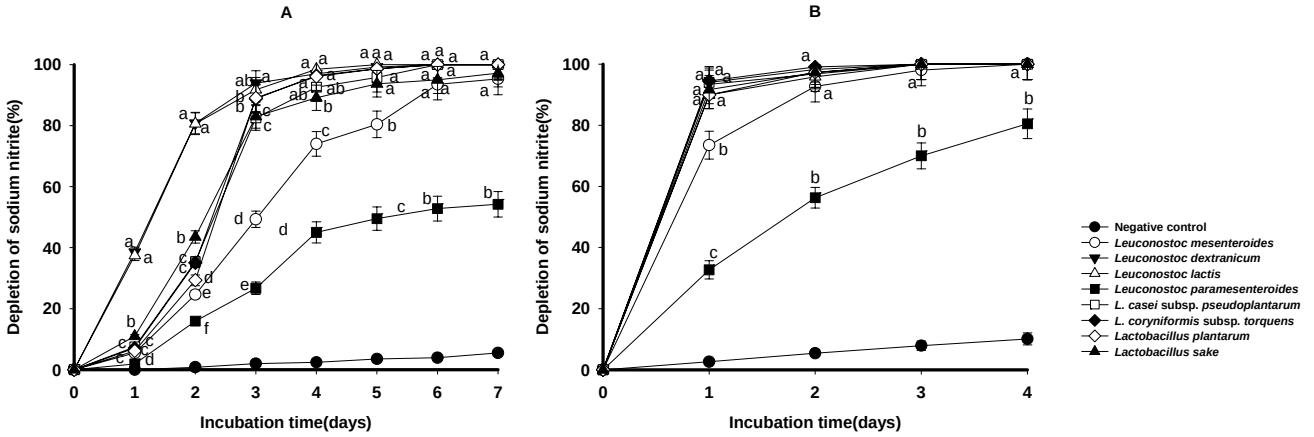

Fig. 8. Mean depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from commercial *kimchi* during incubation at 15 (A) and 25°C (B). A: Means of each lactic acid bacteria isolated from several commercial *kimchi* at 15°C, B: Means of each lactic acid bacteria isolated from several commercial *kimchi* at 25°C. Final concentration of nitrite per broth: 100 μg/mL. Values with different superscript letters (a–e) within same incubation time are significantly different ($p<0.05$) as determined by Duncan's range test. Values are means of each species of lactic acid bacteria.

mesenteroides subsp. *dextrinicum* 및 *L. lactis*와 통계적인 유의차 없이 아질산염을 소거시켰다. 한편, 김치에서 분리한 *Lactobacilli*는 다른 기원의 동일 균종일 경우 통계적인 유의차 없이 아질산염을 소거하였다. 또한 다른 균종인 *L. plantarum*과 *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 통계적인 유의차 없이 아질산염을 소거하였으나, 앞의 두 균종과 *L. lactis* 간에는 통계적인 유의차를 확인할 수 있었다. *Leuconostocs*는 균종에 따라 아질산염 소거율에 커다란 통계적인 유의차를 나타내어 *L. lactis* 및 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*은 매우 활발하게 아질산염을 소거하였으며, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 비교적 활발하게 아질산염을 소거하였으나, *L. paramesenteroides*는 아질산염이 소거되는 효소체계가 발달되어 있지 못하여 낮은 소거율 변화를 보였다. 한편, 다른 김치 기원의 동일 균종의 *Leuconostocs*는 통계적인 유의차 없이 아질산염을 활발하게 소거하는 것으로 나타났다.

Fig. 8B에서 보는 바와 같이 25°C에서는 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 *L. paramesenteroides*를 제외한 모든 젖산균들이 초기부터 매우 활성적으로 아질산염을 소거하여 배양 1일부터 90% 이상의 아질산염을 소거시켰으며, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 2일부터 다른 젖산균들과의 유의적인 차이 없이 아질산염을 매우 활성적으로 소거시켰으나, *L. paramesenteroides*는 다른 젖산균들에 비하여 활성이 낮았다.

이상의 결과로부터 시판김치(배추김치, 총각김치, 깍두기 및 파김치)에서 분리된 젖산균은 15°C에서는 균종에 따라 아질산염을 소거하는 정도가 서로 다르게 나타났으며, *Leuconostocs*인 *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum*과 *L. lactis*를 제외하고는 하루 또는 그 이상 아질산염에 적응하는 기간(유도기간)을 필요로 하였다. 또한 다른 기원의 같은 균종일 경우에는 통계적인 유의차 없이 거의 같은 양상으로 아질산염을 소거하였다. 반면 같은 기원의 젖산균일 경우 *Lactobacilli*와 *Leuconostocs*에 따라서 약간 다른 양상으로 아질산염을 소거하였으나, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 *L. paramesenteroides*를 제외하고는 3일 이후부터 거의 비슷한 양상으로 아질산염을 활성적으로 소거하였다.

25°C에서는 모든 *Lactobacilli*와 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 및 *L. paramesenteroides*를 제외한 *Leconostocs*는 아질산염을 활발하게 소거시켜 1일에 90% 전후의 소거율을 나타내었다. *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 2일 이후 90% 이상의 아질산염을 소거시켰으며, 아질산염에 적응하는 기간도 필요로 하지 않았다. 따라서 25°C에서는 *L. paramesenteroides*를 제외한 모든 시판김치 분리 균종들은 아질산염 소거체계가 잘 발달되어 있는 것으로 판단된다. 그러나 15°C에서와 마찬가지로 *L. paramesenteroides*는 낮은 소거율을 보여 아질산염 소거체계가 잘 발달되어 있지 않은 것으로 판단된다. *Lactobacilli*는 다른 기원의 동일 균종이거나 동일 기원의 다른 균종에 관계없이 통계적인 유의차 없이 아질산염을 매우 활발하게 소거시켰다. *Leuconostocs*도 다른 기원의 동일 균종에서 통계적인 유의차 없이 아질산염을 소거하였으나, 동일 및 다른 기원의 다른 젖산균에서는 균종에 따라 서로 다른 양상의 아질산염 소거율을 나타내었다. 특히, *L. mesenteroides* subsp. *dextrinicum* 및 *L. lactis*는 *Leuconostocs*의 다른 균종에 비하여 통계적인 유의차를 나타내면서 매우 활발하게 아질산염으로 소거시켰다. 이와 같이 15°C보다 25°C에서 아질산염의 소거가 보다 더 활발하게 이루어지는 이유는 젖산균에 의한 아질산염의 소거가 온도에 의한 영향을 받기 때문이며 (32), 또한 25°C가 유산균 성장의 적정온도인 30°C에 근접하

기 때문에 아질산염을 소거할 수 있는 효소가 매우 활발하게 작용하여 아질산염 소거율이 높아진 것으로 판단된다(33).

한편, Collins-Thompson과 Rodriguez-Lopez(33)는 bologna 소시지로에서 분리된 젖산균에 대하여 본 연구와 동일한 농도의 아질산염을 첨가하여 5℃와 15℃의 혐기조건에서 6일 동안 배양한 후 아질산염의 소거정도를 측정한 결과, *L. mesenteroieds*, *L. plantarum*, *L. viridescens*는 아질산염을 환원시키는 nitrite reductase 효소계를 소유하여 아질산염을 활발하게 소거한 반면, nitrite reductase를 소유하지 않은 *L. brevis* 등의 균은 대조구와 유사한 수준을 나타내었으며, 아질산염을 소거시키는 능력은 *L. mesenteroieds*, *L. plantarum*, *L. viridescens*, *L. brevis*의 순서라고 하였는데, 이는 본 연구의 15℃에서 배양 3일 이후의 연구 결과와 거의 일치하였다. 또한 Nordin(26)은 pH가 0.86 단위만큼 감소됨에 따라 아질산염이 두 배로 소거되며, 아질산염이 질소 등의 gas성 물질로 전환되는 속도는 산성 pH에서 증가된다고 하였는데, 이는 젖산균이 성장하면서 젖산을 생성하므로 아질산염 소거에 기여하였음을 제시하는 것으로서, 본 연구에서는 아질산염 소거에 따른 pH와의 관계를 측정하지 않았지만, Oh 등(28)의 연구 결과에서 고온(30℃)에서 pH 감소와 아질산염의 소거가 직선적인 관계를 나타내는 것으로 보아 pH 감소가 부분적으로 아질산염의 소거에 기여하고 있음을 알 수 있다.

이상과 같이 김치에서 분리한 대부분의 젖산균종들이 25℃는 물론 15℃에서도 매우 활발하게 아질산염을 소거하는 것으로 보아 가공육 제품이나 유제품 등에서 분리되는 젖산균종에 비하여 결코 뒤지지 않는 아질산염 소거효능을 볼 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 앞으로 아질산염을 환원시키는 효소계에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

요 약

본 연구는 시판 배추김치, 총각김치, 깍두기 및 파김치에서 분리한 젖산균을 15℃와 25℃의 온도에서 배양하였을 때 아질산염의 소거 효능을 확인하였다. 15℃에서, 시판김치에서 분리된 젖산균은 *L. mesenteroides* subsp *mesenteroides*와 *L. paramesenteroides*를 제외하고는 매우 활성적으로 아질산염을 소거시켰다. 특히 *L. mesenteroides* subsp *dextrinicum*과 *L. lactis*는 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 함이 없이 매우 활성적으로 아질산염을 소거시켰다. *L. sake*, *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum* 및 *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 하루 정도 아질산염에 적응하는 기간을 거친 이후에 매우 활성적으로 아질산염을 소거시켰다. *L mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 하루가 경과된 이후에 비교적 활성적으로 아질산염을 소거시켰다. 그러나 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 다른 균종에 비하여 매우 낮은 아질산염 소거율을 나타내었다. 25℃에서, 시판김치에서 분리된 모든 젖산균은 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하지 않았으며, *L. paramesenteroides*를 제외하고는 매우 활성적으로 아질산염을 소거하였다. 또한 시판김치로부터 분리된 젖산균은 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 *L. paramesenteroides*를 제외하고는 1일 이후에, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 2일 이후에 90% 이상의 아질산염을 소거시켰다. 그러나 *L. paramesenteroides*는 25℃에서도 활성적이지 못하여 다른 균종에 비하여 아질산염의 소거 능력이 매우 낮았다. 한편, 다른 김치 기원의 동일 균종의 *Lactobacilli*와 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 및 *L. paramesenteroides*를 제외한 *Leuconostocs*는 15℃에서는 물론 25℃에서 매우 활성적으로 아질산염을 소거시켰다.

문 헌

1. Gilliland SE. 1989. Acidophilus milk products: a review of potential benefits to consumer. *J Dairy Sci* 72: 2483-2489.
2. Lee SH, Park NY. 2000. Nitrite depletion and antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 28: 39-44.
3. Ahn DK, Han TW, Shin HY, Jin IN, Ghim SY. 2003. Diversity and antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Kor J Microbiol Biotechnol* 31: 191-196.
4. Sasaki S, Kodama K, Uchida K, Yoshino H. 1985. Antitumor activity of *Aspergillus* cell walls. *Agric Biol Chem* 49: 1219-1221.
5. Son TJ, Kim SH, Park KY. 1998. Antimutagenic activities of lactic acid bacteria from kimchi. *J Kor Ass Cancer Prevention* 3: 65-74.
6. Thyagaraja N, Hosono A. 1992. Antimutagenicity of lactic acid bacteria from "ldly" against food-related mutagens. *J Food Prot* 56: 1061-1066.
7. Friend BA, Shahani M. 1984. Antitumor properties of lactobacilli and dairy products fermented by lactobacilli. *J Food Prot* 47: 717-723.
8. Rhee CH, Park HD. 2000. Culture condition on the antimutagenic effects of *Lactobacillus plantarum* KLAB21 isolated from kimchi against N-methyl-N-nitrosoguanidine and 4-nitroquinoline-1-oxide. *Korean J Food Sci Technol* 32: 417-423.
9. Kim HS, Ham JS. 2003. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Kor J Food Sci Animal Resour* 23: 186-192.
10. Goldin BR, Gorbach SL. 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am J Clin Nutr* 39: 756-761.
11. Lee KE, Choi UH, Ji GE. 1996. Effect of kimchi intake on the composition of human large intestinal bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 28: 981-986.
12. Hosono A, Wardojo R, Otani H. 1990. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. *Agric Biol Chem* 54: 1639-1643.
13. Hosono A, Wardojo R, Otani H. 1989. Microbial flora in 'Dadih', a traditional fermented milk in Indonesia. *Lebenson Wiss Technol* 22: 20-24.

14. Hosono A, Wardojo R, Otani H. 1990. Binding of amino acid pyrolyzates by lactic acid bacteria isolated from 'Dadih'. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologies* 23: 149-153.
15. Chung SY, Kim NK, Yoon S. 1999. Nitrite scavenging effect of methanol fraction obtained from green yellow vegetable juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 342-347.
16. Fox JR. 1966. Chemistry of meat pigments. *J Agric Food Chem* 14: 207-210.
17. MacDoulla DB, Mottrm DS, Rhodes DN. 1975. Contribution of and nitrite to the color and flavor of cured meat. *J Sci Food Agric* 26: 1743-1754.
18. Duncan C, Foster EM. 1968. Effect of sodium nitrite and sodium chloride on germination and outgrowth of anaerobic spores. *Appl Microbiol* 16: 406-409.
19. Eakes BD, Blmer TN, Monroe RJ. 1975. Effect of nitrate and nitrite on color and flavor of country-style hams. *J Food Sci* 40: 973-976.
20. Johnston MA, Pivnicl H, Samson JM. 1969. Inhibition of *Clostridium botulimun* by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meat. *J Can Inst Food Technol* 2: 52-55.
21. Christiansen LN, Tompkin PB, Shaparis AB, Kueper TV, Johnston RW, Kautter DA, Kolari OJ. 1974. Effect of sodium nitrite on toxin production by *Clostridium botulimun* in bacon. *Appl Microbiol* 27: 733-737.
22. Gray JI, Macdonald B, Pearson AM, Morton ID. 1981. Role of nitrite in cured meat flavor: a review. *J Food Prot* 44: 302-312.
23. Mirvish SS. 1970. Kinetics of dimethylamine nitrosation in reaction to nitrosamine carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 44: 633-639.
24. Macrae R, Robinson RK, Sadler MJ. 1993. *Encyclopedia of food science food technology and nutrition*. Academic Press, New York, NY, USA. p 3240-3249.
25. Alan F, Keenan P, Donovan FO, Mayne P, Murphy J. 1998. Methaemoglobinaemia associated with sodium nitrite in three siblings. *BMJ* 317: 1138-1139.
26. Nordin HR. 1969. The depletion of added sodium nitrite in ham. *Can Inst Food Sci Technol J* 2: 79-85.
27. Dodds KL, Collins-Thompson DL. 1984. Incidence of nitrite-depleting lactic acid bacteria in cured meats and in meat starter cultures. *J Food Prot* 47: 7-10.
28. Oh CK, Oh MY, Kim SH. 2004. The depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria from kimchi. *J Med Food* 7: 38-44.
29. Lee SK, Ji KE. 1996. Antimutagenic effects of bifidobacteria. *Korean J Food Sci Technol* 28: 796-799.
30. Park KY, Cheigh HS. 2000. Antimutagenic and anticancer effects of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Bioindustry News* 13: 11-17.
31. Ko JL, Oh MY, Oh CK, Kim SH. 2009. Isolation of lactic acid bacteria from commercial kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 732-741.
32. Ito Y, Yodoshi M, Tanaka JI, Iwaida M. 1979. Comparison of two methods and improvements for colorimetric determination of nitrite in cod roe. *J Food Prot* 42: 715-718.
33. Collins-Thompson DL, Rodriguez-Lopez G. 1981. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed bologna. *J Food Prot* 44: 593-595.

(2009년 3월 5일 접수; 2009년 6월 10일 채택)