權,沈,魯,金,孫等----中央化学研究所報告第一卷第一号(1949)

4. 仝 上 (第二報)

權,沈,魯,金,孫,李等----中央化学研究所報告(第二卷)(1949)

5. 仝 上 (第三報)

權,魯,金,孫,金等----中央化學研究所報告(第四卷)未定

김치의 細菌學的硏究 (第一報)

(分離한 菌에 對하여)

權 肅 杓

保健部中央化学研究所 衛生化学科

緖 言

「김치」의 熟成機構와 腐敗機構에 關하여 考察하여보건대 野菜其他材料에 含有된 酵素의 作用과 그러한 材料와 隨伴하여 侵入하는 各種一般醱酵菌의 繁殖으로 말미아마 發生하는 醱酵作用을 生覺할수있다 그러나 著者는 이後者가 主動的役割을 할것이라고 推測할수있는 小知見을 얻었다 卽 著者는「김치」를 담어서 2個의 flask에 分割하여 그 한 flask에는 Toluol를 混合하고 他 Flask에는 Toluol를 混入하지 않고 兩 Flask를 孵卵器中에 넣어서 36時間 30°C로 保存하였을때 Toluol를 混入하지 않은 Flask 內의「김치」가 他에 比하여 甚히 酸度上昇 PH下降 糖分의 消失을 이르켰다는것을 알었다

이「김치」醱酵에 對한 硏究에 對하여는 過去에 全然 硏究報告가 없었고 다만 鍾[1] 等은「김치」의 種類「김치」를 담그는 時期 담는 方法의 概要를 記錄하고 食品化学上의 成分分析을 하여 그 品質을 明白히하였다 또한 醱酵前後의 糖分, 乳酸, 酢酸, 琥珀酸等의 有機酸과 VitaminC 含量의 變化에 對하여 調査報告하였고 畜[2]은 夏期及冬期「김치」各數種에 對하여 그 液汁內에 存

(1) 鍾遇秉: 朝鮮漬物「김치」調査 — 朝鮮農学会雜誌 第21卷 (1) (1941)
(2) 畜留鉉: 朝鮮漬物「김치」細菌学的研究 — 朝鮮醫界 92 (1939)

在하는 好気性 Gram(+) 菌을 数種分離하여 그 各菌의 生理学的研究를 하는 同時에 強한 Amylase, protease, Esterase를 発出하는 性質과 그 菌의 無害性에 비추어 韓国人의 食生活에 있어서 消化器에 良好한 影響을 미친 것이라고 結論하였다

著者는 「김치」 熟成機構와 腐敗機構研究의 見地에서 그 関與細菌을 究明하고저 冬期「김치」 数種及 夏期「김치」 数種에 対하여 分布하는 細菌 10種(Gram(+) 桿菌 8種, Gram(+) 球菌 2種)을 分離하여 그 特性을 調査하였음으로 그 結果를 報告하는 바이다

이 研究에 있어서는 菌의 分離에 特殊한 培地를 使用하고 各種 温度에서 또한 嫌気性 好気性을 区分하여 分離하여 그 各菌의 「김치」 醱酵의 各段階에 対한 関與如否를 研究決定하여야 할 것이나 여기에 対하여는 次後研究하여 報告하겠다

實 驗

1). 菌의 分離; 서울市内 一般家庭에서 夏期及冬期에 各二回式 「김치」液汁(未熟及熟成「김치」 各1種)을 滅菌瓶에 採取하여 乾熱滅菌한 濾紙와 濾斗를 通하여 濾過한 半透明한 褐色液汁을 無菌水로 各 1000倍로 稀釈하여 混合平板培養法에 依하여 普通寒天培地上에 発生하는 集落을 外観的特徴에 따라 釣菌하여 純培養을 反覆하였다

한便 「김치」液汁의 1000倍稀釈의 寒天平板上에 発生하는 集落数를 検査하여 그 一般細菌数를 調査한 結果 夏期「김치」에 있어서 浸漬初期 20000/cc, 熟成期에 있어서 500.000/cc를 算하였고 pH는 初期 5.6~5.3, 熟成期 5.6~4.0, 腐敗期에 4.0 以下였다

2) 菌의 生理学的検査; 一般細菌学的方法에 依하여 Gram染色 各種培地上의 培養相, 그리고 Indol, Gas, H_2S, Acetylmethylcarbinol, 色素의 産生有無를 検査하였다(第一表)

Indol 反応에는 菌의 Buillon 48hrs 培養에 対하여 Ehrlich 法에 依하여 検査하고 Gas 産生検査는 葡萄糖加培養基에 穿刺培養하여 37°C 24hrs 後에 観察하고, 硫化水素産生検査는 10% 酢酸鉛液을 적신 濾紙片을 Buillon 培養基의 口部에 懸垂하여 37°C, 24hrs 後 黒変有無를 検査하고 Acetylmethylcarbinol 産生은 葡萄糖肉汁培養에 対한 Vogcs proskauer 反応을 検査하고

色素産生은 馬鈴薯培地에 接種하여 温室에서 培養1週日後에 檢査하였다

(第一表) 菌의生理學的檢査

菌株 (Culture)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Gram染色 (Gram Stain)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
型態 (Form)	中等小桿菌	中等小桿菌	双小桿菌	長桿菌	中等桿菌	微小球菌	小桿菌	中等桿菌	長糸状桿菌	葡萄状球菌
寒天平板上의培養相 (on Agar Plate)	白色小円型表面隆起湿潤滑沢	褐色不整型大略円型辺縁鋸歯型偏平状乾燥	帯黄色不整小円型辺縁鋸歯型光沢豆型表面小隆起	白色不正大円型辺縁鋸歯型偏平状乾燥	白色小円型多少偏平光沢湿潤	灰黄色小円型光沢表面隆起	灰黄色円型集落表面周辺光沢透明湿潤	灰黄色小円型表面은中心外周透明湿潤	白色不正円型表面中心部隆起乾燥	表面隆起湿潤光沢
Buillon	平等混濁	薄膜形成液透明	平等混濁	薄膜形成液透明	白色膜形成液混濁	平等混濁	平等混濁	平等混濁	薄膜形成液混濁	平等混濁
牛乳培地 (milk)	不凝固	不凝固 Peptonit	不凝固 Peptonit	不凝固 Peptonit	不凝固 Peptonit	不凝固 Peptonit	不凝固 Peptonit	不凝固 Peptonit	不凝固 Peptonit	凝固
馬鈴薯培地 (potato)	白色湿潤光沢	淡黒色擴蔓性乾燥[illegible]粉末状	黒色光沢湿潤	黒色擴蔓性乾燥皺壁[illegible]	帯褐色擴蔓性,[illegible]湿潤光沢	白色不正円型湿潤光沢	灰白色의軟膏状湿潤光沢	帯黄色軟膏状湿潤	帯黄紅色擴蔓性乾燥皺壁[illegible]	白色乾燥性皺壁
Indol産生	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Gas産生	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Acetylmethylcarbinol產生	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
色素産生 (Pigment)	白色	淡黒色	(-)	黒色	帯褐色	白色	灰白色	帯黄色	紅色	白色
H_2S産生	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	(+)	痕跡	(+)	痕跡	(+)	(-)

(「김치」中関與細菌의 検索에있어서는 中温菌(Mesophile Bakterien) 이기보다 通性嫌気性菌 (Facultative anaerobe bakterien) 이며, 好塩性, 또한低温菁好性인 Psychrophile Bakterien에 注目해야 할것이나 여기에対해서는 次後研究의機会를 가출수있을리라고 生覚함으로 그때報告하기로하고 本稿에는 極히 一般的方法에있어서 検出된菌에限하여 研究報告하기로 하였다)

上表에서보는바와 같이 分離한菌10株는 全部 Gram(+) 이며 桿菌8株, 球菌2株이었으며 Indol 産生, Gas fermentation 을 하는菌은 없고 第10菌株以外는 全部少量의 H_2S를 産生하며 特히 第5.7.9株는 H_2S 産出이顕著하였다. Acetylme-

thylcarbinol 은 3株에 있어서 産生되었으며 色素는 8株에서 産生됨을 보았다

各種糖에 對한 酸産生能은 Barsiekow 培地를 使用하여 37°C, 24hr 培養하여 酸産生을 檢査하였다 (第二表

第二表 (酸産生의 檢査)

糖類 \ 菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Glycerol	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+
Arabinose	−	+	−	−	−	−	+	−	+	−
Xylose	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Galactose	−	−	−	+	−	−	−	−	+	+
Fructose	−	+	−	+	+	−	+	+	+	−
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	−	+	+	+	+	−	+	+	+	+
Durcit	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Lactose	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+
Sacchalose	−	+	−	+	+	+	−	+	+	+
Raffinose	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+

Barsiekow 培地에는 Nutrose를 加하지 않고 實驗하였다 使用한 糖은 Grycerol, Pentose 인 Arabinose 와 Xylose, Hexose 인 Galactose와 Fructose 그리고 Glucose, Polyalcohol 인 Mannitol 와 Durcit, 2糖類中의 Lactose 及 Saccharose 3糖類의 Raffinose 의 11種의 糖에 對하여 試驗하였다 이中 2.4.5.7 8.9.10 의 7種의 菌株는 比較的 多種糖의 糖을 分解하여 酸을 産生하였다 特히 8.9.10 의 三菌株는 高級含水炭素를 分解하는 特性이 있음은 注目된다 Glucose 에對하여는 全菌株가 酸産生을 하였다

3) 分離한 菌株의 産生酵素

各菌株의 37°C 24時間 Buillon 培養液에 對하여 Amylase, Proteose, Esterase 의 强度를 測定하였다 卽 Amylase 의 測定은 Buillon 培養溶液을 倍數稀釋하여 그것을 酵素液으로 하고 그 各稀釋液의 1cc 式을 試驗管에 넣고 여기에 2% Starch Soln 을 各々 1cc 式 加하여 混和하여 Toluol 1滴을 加하고 37°C 24hr 放置한 後 0.1N, Iodine soln 을 滴加하여 紫色反應이 發生하는 것을(−) 陰性反應인 것을(+)로 表示하였다 (第三表)

第三表 Amylase力測定結果 (+)分解 (−)未分解

稀釈倍数 \ 菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	−	+	+	+	−	+	+	+	+	−
8	−	+	+	+	−	+	+	+	+	−
6	−	+	−	+	−	+	+	+	+	−
32	−	+	−	+	−	+	−	−	+	−
64	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−
128	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−
256	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
512	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
1024	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Cont	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

第四表 Protease力測定結果

稀釈倍数 \ 菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	−	+	−	+	+	+	−	−	+	+
8	−	+	−	+	+	+	−	−	+	+
16	−	+	−	+	+	+	−	−	+	+
32	−	+	−	+	+	+	−	−	+	−
64	−	+	−	−	+	+	−	−	+	−
128	−	−	−	−	+	+	−	−	+	−
256	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Cont	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

第三表와같이 2,4,6,7,8,9菌株는 Amylase를 相当히発出하며 特히2,4両菌株는 强力하다 「김치」熟成에 있어서 Amylase의 役割은 重要한意味를 갖으리라고想像되는故로 注目되는것이다 即 (2)菌株는 Buillon培養의512倍稀釈液1cc는 2%澱粉液1cc를 完全히糖化하고 (4)菌株는 그128倍稀釈液1cc가 基質1cc를完全히 糖化하였다

Protease力測定에있어서는 Amylase力測定에있어서와 같이 그 Buillon培養沪液을 倍数稀釈하여 그1cc式을 試験管

에 넣어서 여기에 各々 2% Casein 液 (使用前에 phenolphthalein 을 1방울을하여 Na_2CO_3 液으로 淡紅色이 되도록(pH8.0) 한液) 를 1cc式加한後 37°C 5hr 後 2% Na_2SO_4 液 2cc 를 各管에 加하여 殘留한 Casein 을 沈澱시킨다 Casein이 完全히 分解하면 沈澱의 發生이 없고 液은 透明하다

透明한管을(+), 沈澱이 發生하면 分解不完全함으로 (−)로 表示한다 (第四表)

結果는 2,4,5,6,9, 菌株에있어서 特히 强한 Protease産生을 보았다 即 5,6 菌株는 그 Buillon 培養의 128 倍 稀釋 1cc 가 2% Casein (基質)液 1cc 를 分解하였다

-「김치」의 材料로서 「젓」또는 「肉類」 等을 使用하였을 境遇에 「김치」의 味覺이 좋은것은 元來 「젓」 種類에 含有된 Amino酸의 味覺도 있겠으나 이러한 菌에依한 Protease 作用에서 發生하는 Amino酸의 味覺이 重味를 갖으리라고도 生覺된다

Esterase 의 測定에 있어서는 Buillon 培養沪液을 倍數稀釋하여 標準脂肪乳液을 1cc式加한試驗管에 上記稀釋 1cc式을 加하고 Toluol 1방울을 滴加하여 37°C, 24hr放置하였다 다음에 Phenolphthalein을 indicator로하여 發生한 脂肪酸을 N/10 NaOH液으로 滴定하여 그 消費cc數를 酵素力으로 表示하였다

標準脂肪乳液의 調製法; 2% Tragant Gum Soln, 100cc에 Caster oil 3g. 를 加하여 充分히 混和하여 24hr 冷藏庫에 貯藏한後 使用하였다

第五表 Esterase 力의 測定結果

稀釋倍數 \ 菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	0.1cc	0.05cc	1drop	1drop	0.05cc	0.2cc	0.2cc	0.3cc	0.4cc	0.3cc
4	0.05cc	1drop	〃	〃	1drop	0.15cc	0.15cc	0.25cc	0.3cc	0.25cc
8	1drop	〃	〃	〃	〃	0.1cc	0.1cc	0.2cc	0.25cc	0.1cc
16	〃	〃	〃	〃	〃	0.05cc	1drop	0.1cc	0.2cc	0.05
32	〃	〃	〃	〃	〃	1drop	〃	1drop	0.1cc	1drop
64	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	1drop	〃
128	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
Cont	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃

表와 같이 第6、8、9、10菌株는 比較的 多量의 Esterase를 產出함을 보았다 卽第6菌株는 그16倍稀釈1cc가 標準脂肪酸液1cc를分解하여 $N/10$ NaOH液 0.05cc 에該当하는 脂肪液을 分離하였고, 第8、9菌株는 그16倍稀釈液1cc가 標準脂肪酸液1cc를分解하여 $N/10$ NaOH液各0.1, 0.05cc에 該当하는脂肪酸을 分離하였다 第9菌株는 32倍稀釈液이 0.1cc에 該当하는 脂肪酸을 分離한다 그러나 全般的으로보아서 「김치」에서 分離한菌株는 Esterase力은 弱하다는것을 알수있다 実際上으로도 「김치」 醱酵中의 Esterase作用은 그리重要한意味는 갖으지 못한다고 生覺된다

考 察

以上実驗에있어서 爲先「김치」中 細菌의分離方法과 生理学的檢查를 더욱追究하여 菌型을決定치못함이 遺憾千萬이나 「김치」中에서 発育하여 酵素作用을 発揮하는菌株는 水中土壤中空氣中에 一般的으로 存在하는 菌種에 一致된다고 生覺된다

따라서 土壤中에 一般的으로存在하는 Bac. mycoides, Bac. Subtilis, Bac. mesentericus, proteus 等의 好気性菌과 Buthylic acid Bacillus 와같은 嫌気性菌等 또한水中細菌의 Bac. Prodigiosus, B. ruber, B. indicus, B. rubescens, B. aquatilis, B. Ochraceum, B. aurantiacus, B. flavus, Sarcina lutia 等과 micrococcus 의 Candicans, nivalis, aquatilis, Cronatus 等 그外에 Lactobacillus系統의 菌種일것이라고 보고있다

本研究의結果로서 「김치」에서分離한 菌株가 一般的으로 Indol Gas의產生이 없고 또한 그中의数種에있어서는 많은種類의糖類를分解하여 酸을產生하고 强力한 Amylase, Protease를產生하는것은 그菌種이大体로 非病原性이며 「김치」 醱酵에 甚大한 影響을 미칠것임을 想像시킨다

이러한菌株가 「김치」醱酵의 어느段階에서 関與하느냐하는問題에対하여는 尚今明白하되지않았다. 그러고 그菌株가今般事変으로因하여 全部紛失되였으니 次遺再次分離하여 研究報告하겠다

本研究에있어서 中央化学研究所舊生化学科研究員이였든 金寅貞氏의 努力이多大하였음을 附言한다 (檀紀4285年2月20日記)