*KOREAN J. SOC. FOOD SCI.*
*Vol. 4, No. 2, December 1988*

# 김치에서 分離한 乳酸菌의 生育에 미치는 食監과 食品保存料의 영향

안 숙 자

중앙대학교 가정교육학과 부교수

# The effect of Salt and Food Preservatives on the Growth of Lactic acid bacteria isolated from Kimchi

**Sook Ja Ahn**

*Dept. of Home Economics Chung-Ang University Associate Professor*

**Abstract**

Main lactic acid bacteria fermenting "Baechu Kimchi" and" "Dongchim", which are indigenous fermented food in Korea, were isolated at optimum fermentation period and identified. The three groups of food preservatives-sorbic acid, p-hydroxybutyl benzoate (POBB), p-hydroxypropyl benzoate (POPB), and sorbic acid-POBB were prepared, and the effect of the food preservatives and various salt concentrations on those lactic acid bacteria was examined.

The results obatined are as follows;

1. Lactic acid bacteria were isolated from "Baechu Kimchi" and "Dongchimi" and identifed as *Leuconostoc mesenteriodse, Lactobacillus plantatum, Lactobacillus brevis, Streptococcus faecalis,* and *Pedicoccus pentosaceus.*

2. Lactic acid bacteria were grown much better at 0.5-2% NaCl level than 0% NaCl level.

3. Among the isolated lactic acid bactera, *Lactobacillus plantarum* showed the highest acid producibility. The lower the concentration of NaCl, the higher the acid producibility by *Leuconostoc mesentroides,* and the other bacteria produced a large amount of acid at 0.5-2.5% NaCl level.

4. Both the sorbic acid (0.05-0.1%) and sorbic (0.05%)-POBB (0.004%) groups showed the highest preservatives effect. In contrast, however, POPB (0.01%) Group showed the lowest effect, and the preservatives effect was enhanced by the addition of NaCl. *Lactobacillus plantarum* was least affected by all preservatives, whereas *Leuconostoc mesentroides* was most affected by them.

## 緖 論

김치는 오랜 전통을 가진 한국 고유의 채소 醱酵食品이다. 김치의 熟成은 김치 材料인 무우, 배추, 파, 마늘, 젓갈, 소금등을 영양원으로하는 호염성, 또는 내염성의 乳酸菌에 의하며, 주로 온도와 소금농도의 영향을 받아, 각종 有機酸을 생성하므로서, 상쾌한 酸味와 함께 김치 특유의 향미를 낸다.

김치의 細菌學的인 硏究는 1934년 晋[1] 이 김치에서 好氣性 細菌을 分離하면서 부터 시작되었으며, 그후 權[2]은 김치에서 12種의 細菌을 분리하여, 몇가지 特性을 硏究하였으며, 金等[3,4]은 5種의 혐기성세균 및 호기성세균을 分離, 同定하였고, 金等[4] 黃[8]은 김치에서 분리한 *Pseudomonas sp*의 생산능에 대해 보고했다. 또한 金等[6]은 醱酵가 진행됨에 따라 혐기성균은 급격히 증가되지만, 호기성균은 生育이 억제되어 감소되다가, 발효후기에 다시 急增된다고 하였고, 발효최적기의 혐기성균은 대부분 乳酸菌이라고 報告했다[2~4], 朴等[7]은 김치에서 분리한 乳酸菌이 다른 미생물의 生育을 저해하는 것을 발표했고, 민등[9]은 김치발효에 미치는 온도 및 식염농도에 대해 발표했다. 그리고, Pederson等[19~23], Costilow等[24,25]은 Sauerkraut와 Cucumber pickle 발효시 소금농도와 온도에 따르는 미생물의 변화에 대해 硏究, 報告해다. 그외에도 김치의 品質保存 硏究에서는 김치의 過熟을 막기위해 미생물의 작용을 억제시키는 방법으로, 통조림, 냉장, 냉동, 식품보존료첨가등의 硏究가 일부 되어 있다[10~15].

本 實驗에서는 가정용 배추통김치와 동치미에서 김치熟成에 관여하는 주요 乳酸菌을 分離, 同定한 후, 이들 乳酸菌에 미치는 소금의 농도와 食用의 保存料인 Sorbic acid, P-hydroxybutyl benzoate, P-hydroxypropylbenzoate의 영향을 調査 檢討하였으므로, 그 結果를 報告한다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材 料

#### (1) 김치 試料

통배추김치와 동치미를 가정에서 담그는 방법으로하여, 15℃에서 10일간 25℃에서 5일간 각각 醱酵, 熟成시킨 것을 試料로 했다(Table 1 및 Table 2).

Table 1. Proportions of baechukimchi ingeredients

| Ingredients | Distribution (% by weight) |
|---|---|
| Chinese cabbage | 80 |
| Radish | 8 |
| Green onion | 2.7 |
| Garlic | 1.1 |
| Ginger | 0.3 |
| Red pepper powder | 2.6 |
| Salted shrimp | 2.6 |
| Salt | 2.7 |

Table 2. Proportions of dongchimi ingredients

| Ingredients | Distribution (% by weight) |
|---|---|
| Radish | 58 |
| Green onion | 1.2 |
| Garlic | 0.4 |
| Ginger | 0.1 |
| Green pepper | 0.2 |
| Salt | 1.5 |
| Tap water | 38.6 |

#### (2) 培 地

사용한 培地는 다음과 같다.

Medium I : Composition of Media for the isolation of lactic acid bacteria

| | | | |
|---|---|---|---|
| Yeast extract | 5 g | $KH_2PO_4$ | 0.25 g |
| Bacto peptone | 10 g | $K_2HPO_4$ | 0.25 g |
| Glucose | 10 g | Sodium acetate | 10 g |
| $MgSO_4$ | 0.1 g | $CaCO_3$ | 5 g |
| $MnSO_4$ | 5 mg | Agar | 15 g |
| $FeSO_4$ | 5 mg | Dist water | 1000 ml |

Medium II : Thioglycollate Media for isolation and Stock culture of lactic acid bacteria

| | |
|---|---|
| Tryptone | 5 g |
| Yeast extract | 5 g |
| Glucose | 1 g |
| $K_2HPO_4$ | 1 g |

| | |
|---|---|
| Sodium thioglycollate | 1 g |
| Agar | 20 g |
| Dist Water | 1000 ml |

Medium III : MRS (DeMAN ROGOSA and SHARPE) Media for isolation

| | |
|---|---|
| Bacto—proteose peptone | 10 g |
| Bacto—Beef extract | 10 g |
| Bacto—yeast extract | 5 g |
| Dextrose | 20 g |
| Tween 80 | 1 g |
| Ammoium citrate | 2 g |
| Sodium acetate | 5 g |
| Magnesium sulfate | 0.1 g |
| Manganese sulfate | 0.05 g |
| Disodium phosphate | 2 g |
| Dist water | 1000 ml |

Medium IV : Compostion of Media for acid production

| | |
|---|---|
| Glucose | 20 g |
| Peptone | 5 g |
| Yeast extract | 3 g |
| Tween 80 | 1 g |
| Dist water | 1000 ml |

**(2) 食品保存料**

實驗에 사용한 保存料 및 그 사용량은 여러 문헌들[10~18]을 참조하고, 김치에 넣어 사용할 수 있는량의 범위를 예비실험한, 결과와 식품위생법에서 허용되고 있는 것으로 했다. 사용한 식품보존료는 다음과 같다.

Sorbic acid 0.025%, 0.05%, 0.1%

P-hydroxy butyl benzoate (POBB) 0.005%, 0.01%, 0.02%

P-hydroxy propyl benzoate 0.005%, 0.01%, 0.02%

Sorbic acid 0.05%와 P-hydroxybutyl benzoate 0.004%의 혼합물

### 2. 實驗方法

**(1) 乳酸菌의 分離**

김치속의 乳酸菌分離는 통배추김치와 동치미를 15℃에서 10일간, 25℃에서 5일간 각각 숙성시킨 시료에서, 숙성초기(pH 5.0부근, 담근 1일째), 숙성중기(pH 4~4.3부근, 산의 함량 0.4~0.5%로 가장 맛있을때), 숙성후기(산의 함량이 0.8%이상이고 pH 3.7이하인때)로 나누어서 乳酸菌을 분리했다.

乳酸菌을 완전히 分離해 내기위해서 유산균 분리 배지로 쓰이는 Medium I, II, III을 使用하여, 평면배양법으로 1차 分離했으며, 分離된 菌은 Stock culture medium에 Stab culture한 후, 순수분리여부를 현미경으로 확인하였고, 순수분리되지 않은 菌은 다시 稀釋培養을 반복하여 순수분리시켰다.

**(2) 分離한 乳酸菌의 同定**

分離한 乳酸菌의 培養學的, 形態學的, 生理學的 特性等은 Manual of Methods for General Bacteriology[30] 및 Microbiology: a laboratory manual[29]에 준하여 調査하였고, Bergeys' manual of Determinative Bacteriology[27]에 의하여 同定했다.

**(3) 耐鹽性 試驗**

agar-agar는 넣지 않은 Medium II에 식염을 농도별로 첨가하고 24시간 培養한 후, Spectronic 20으로 500 nm에서 그 투과율을 測定하여 유산균의 생육도를 측정하였다.

**(4) 酸生性能 試驗**

分離, 同定된 김치 유산균의 酸生性能試驗은 Medium II에서 30℃, 24시간 培養한 種菌液 2.5%를 접종하여 Medium IV에서 30℃ 40시간 培養한 다음 0.1% Phenolphtalein을 indicator로 0.1N NaOH로 적정하여 乳酸量으로 환산하여 측정했다.

$$(\text{Lactic acid } (\%)=\frac{\text{ml of 0.1N-NaOH}\times 0.009}{\text{weight of sample}}\times 100)$$

**(5) 保存料 試驗**

保存料 試驗은 Media II를 사용하여 각각의 보존료에 대한 乳酸菌의 耐性試驗 및 酸生性能 試驗을 30℃에서 培養하면서 했다. 保存料의 使用量은 培地 용량에 대한 g%로 하였고, 모두 ethylalcohol에 용해시켜 사용했다.

## III. 結果 및 考察

### 1. 김치 乳酸菌의 分離·同定

배추김치와 동치미 시료에서, 혐기성세균을 분리하고, 形態學的, 培養學的, 生理學的, 特性등을 종합하여

Table 3. Morphological characteristics, Physiological characteristics of anaerobic bacteria Isolated from Kimchi

| Bacteria Identified | Gram strain | Size of cell (um) | Form | Liquid culture | | | Litmus milk | 5% Glucose-Gelatin | | Acid from Glucose |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Pellicle | Turbid | Sediment | | Gaspro-duction | Growing form | |
| *Leucomostoc mesenteroides* | Positive | 0.7–1.2x0.7–1.2 | Cocci | – | – | + | Not changed | + | Filiform | + |
| *Lactobacillus plantarum* | Positive | 0.6–1.2x0.9–6.0 | Rod | – | + | + | Curdled Red | – | Filiform | +++ |
| *Lactobacillus brevis* | Positive | 0.8–0.9x0.9–5.0 | Rod | – | – | – | Not changed | + | Filiform | ++ |
| *Streptococcus faecalis* | Postiive | 0.8–1.2x0.8–1.2 | Cocci | – | + | + | Not changed | – | Beaded | + |
| *Pediococcus pentosaceus* | Positive | 0.7–1.2x0.7–1.2 | Pedio-cocci | – | + | + | Curdled Red | – | Filiform | ++ (+) |

note : + : 0.1–0.5% acid (as lactic acid) produced
++ : 0.5–1.0% acid (as lactic acid) produced
+++ : > 1.0% acid (as lactic acid) Produced.

Table 4. Acid producibility from carbohydrates by anaerobic bacteria isolated from Kimchi

| Carbohydrates / Bacteria | Arab-inose | Xylo-se | Rham-nose | Fruc-tose | Man-nose | Gala-ctose | Suc-rose | Lac-tose | Mal-tose | Raff-inose | Mann-itol | Sorbi-tol | Gly-cerol | Dex-trin | Inu-lin | Star-ch |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Leuconostoc mesenteroides* | + | +l | l | + | + | + | + | l | l | +l | + | l | l | l | l | l |
| *Lactobacillus plantarum* | + | + | l | + | + | + | + | + | + | +l | + | +l | l | + | + | l |
| *Lactobacillus brevis* | + | + | +l | + | + | + | l | l | + | l | l | l | l | l | l | l |
| *Streptococcus faecalis* | + | l | l | + | + | + | + | + | + | l | + | + | l | l | l | l |
| *Pediococcus pentosaceus* | + | + | l | + | + | + | + | + | + | + | l | l | l | (+) | (+) | l |

Bergey's Manual[27] 및 Pederson[21,23], 黃[8]의 결과와 對照 檢討하여 同定한 결과는, Table 3, Table 4와 같다. 즉 gram양성균이며, 0.7×1.2×0.7×1.2 μm의 Size를 가지는 球菌으로 glucose에서 酸과 gas를 生成하였으므로 *Leuconostoc mesenteroides*로 同定하였고, gram양성으로 0.6×1.2×0.9×6.0(μm)의 Size를 갖는 桿菌으로 glucose에서 1%이상의 酸을 生成하였으며 液體培養에서 심한 흔탁을 일으키고, *arabinose, xylose*에서 酸을 生成하였으므로 *Lactobacillus plantarum*이라고 同定하였다. Gram 양성균이고, 0.8×0.9×0.9×5.0 μm의 Size를 가지는 桿菌으로 glucose에서 酸과 gas를 生成하였고, Litmus milk에서 변화가 없었으므로 *Lactobacillus brevis*라고 同定했다. 또한 gram양성이고, Size가 0.8×1.2×0.8×1.2 μm 정도이고, 5% glucose-gelatin에서 beaded form으로 生育하였으므로 *Streptococcus faecalis*로 同定하였다. 또 gram양성인 球菌으로 0.7×1.2×0.7×1.2 μm의 Size를 가지며 glucose에서 비교적 다량의 酸을 生成하고 Litmus milk를 응고시키며, arabinose, xylose, sucrose, lactose에서 酸을 生成함으로 *Pediococcus pentosaceus*로 同定했다.

### 2. 김치 乳酸菌에 대한 소금의 영향

#### 11) 소금이 김치 乳酸菌의 生育에 미치는 영향

소금이 김치乳酸菌의 生育에 미치는 영향은 Table 5와 같이 無鹽에서 보다는 다소의 食鹽濃度(0.5%~2%부근)에서 生育이 더 잘되었다. Pederson等[21]은 Cucumber pickle 발효시 소금 2~5%에서 미생물의 증식과 酸의 生成이 빨랐다고 報告했다. *Lactobacillus plantarum*은 소금농도 4%이내에서는 生育에 크게지장이 없게 나타났으며, 이농도에서 *Pediococcus pentosaceus*도 잘 生育되는 것으로 나타났다. 이 결과는 Pederson등[22]의 Sauerkraut 발효에서 *Lactobacillus plantarum* 과 *Pediococcus cervisiae*는 23~32℃에서도 잘 生育된다고 한 내용과 일치했다. *Streptococcus faecalis*가 다른 菌에 비하여, 소금에 의해 生育이 가장 저해되는 것으로 나타났는데, 이는 Pederson等[20]의 실험에서도 *Streptococcus faecalis*가 1%이상의 소금농도에서 거의 生育되지 않았다는 報告와 비슷한 경향임을 알 수 있다.

#### 2) 소금 농도에 따른 김치 유산균의 酸生成能

소금농도에 따른 김치 乳酸菌의 酸生成을 調査한 結果는 Table 6에서와 같이 *Lactobacillus plantarum*이 酸

Table 5. Effect of various concentration of salt in Media II on the growth of lactic acid bacteria (30°C 22hrs)

| Salt concentration % / Bacteria T* | 0 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 2.5 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Leuconostoc mesenteroides* | 47.0 | 45.0 | 44.0 | 43.0 | 47.0 | 50.5 | 52.0 | 58.0 | 97.0 | 100.0 |
| *Lactobacillus plantarum* | 57.0 | 49.0 | 54.1 | 42.9 | 47.2 | 40.0 | 45.0 | 44.9 | 82.9 | 87.0 |
| *Lactobacillus brevis* | 57.0 | 54.0 | 53.0 | 57.0 | 54.0 | 56.0 | 59.0 | 62.0 | 87.5 | 98.0 |
| *Streptococcus faecalis* | 61.0 | 47.0 | 65.0 | 64.9 | 68.0 | 75.0 | 76.0 | 81.1 | 93.0 | 100.0 |
| *Pediococcus pentosaceus* | 42.5 | 39.0 | 41.5 | 45.5 | 43.0 | 51.0 | 51.5 | 82.0 | 85.0 | 89.0 |

*T : Transparency of germ free sample is adjusted to 100

Table 6. Effect of various concentration of salt in Media IV on the acid producibility of lactic acid bacteria (30°C 40 hrs)

| Salt concentration % / Bacteria Acid % | 0 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 2.5 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Leuconosotc mesentereides* | 0.243 | 0.216 | 0.153 | 0.144 | 0.126 | 0.117 | 0.108 | 0.059 | 0 | 0 |
| *Lactobacillus plantarum* | 0.229 | 0.252 | 0.243 | 0.234 | 0.207 | 0.198 | 0.180 | 0.162 | 0.036 | 0.081 |
| *Lactobacillus brevis* | 0.122 | 0.139 | 0.148 | 0.122 | 0.140 | 0.031 | 0.108 | 0.086 | 0.081 | 0.056 |
| *Streptococcus faecalis* | 0.103 | 0.140 | 0.149 | 0.149 | 0.135 | 0.126 | 0.095 | 0.126 | 0.072 | 0.027 |
| *Pediococcus pentosaceus* | 0.135 | 0.144 | 0.198 | 0.162 | 0.171 | 0.126 | 0.113 | 0.063 | 0.050 | 0 |

生成을 가장 많이 했으며, 소금농도 4%이내에서 가장 많았다. 이 結果는 Pederson의 Sauerkraut발효[20]에서 *Lactobacillus plantarum*은 소금 농도 3.5%에서도 우세하고, 많은 酸을 生成했다고한 내용과 일치되었다. 李等[10]이 熟成 및 酸敗期에 있는 김치로 부터 분리한 유산균 중 가장 강력한 酸生成能力을 가진 菌이 *Lactobacillus plantarum*이라고 한 내용과도 일치했다.

*Leuconostoc mesenteroides*는 소금 함량이 적을수록 酸을 많이 生成했는데, Pederson[20]은 소금농도 1~2.25 % 이하에서는 우세하고 소금농도 3.5%이상에서는 酸의 生成이 억제되었다고 報告했다. 김치 乳酸菌은 無鹽에서 보다는 食鹽의 농도가 0.5%~2.0%일때 酸을 더 많이 生成하는 것으로 나타났다. 한편 *Lactobacillus plantarum*을 제외하고는 모든 김치 乳酸菌이 소금농도 4% 이상에서는 酸生成이 억제되었다.

### 3. 김치 乳酸菌에 대한 食品保存料의 영향

#### 2) 食品保存料가 김치 乳酸菌의 生育에 미치는 영향

김치 乳酸菌에 대한 食品保存料의 영향을 調査한 결과는 Table 7에서와 같이 대체적으로 POPB보다 Sorbic acid와 POBB, 그리고 Synergistic effect를 위해 Sorbic acid와 POBB를 병용한 것이 억제효과가 큰 것으로 나타났다. 乳酸菌의 종류에 따른 보존료의 영향을 보면 *Lactobacillus plantarum*과 *Lactobacillus brevis*가 저항성이 강한 菌으로 나타났다. 즉 POBB 0.01%에서 *Lactobacillus plantarum*은 투과율이 47.0%였으며 *Lactobacillus brevis*는 투과율이 58.0%로서 生育에 크게 저해를 받지 않았다. 또한 Sorbic acid 0.1%에서도 *Lactobacillus plantarum*은 67.0%이었고 *Lactobacillus brevis*는 59.0%로서 生育이 크게 억제되지는 않았다.

*Streptococcus faecalis*와 *Pediococcus pentosaceus*는 POPB 0.01%(투과율이 각각 47.0%, 61.0%)에서는 生育에 크게 저해를 받지 않았지만, Sorbic acid 0.1%에서는 *Streptococcus faecalis*는 투과율이 99.0%였고, *Pediococcus pentosaceus*는 투과율이 100%로 거의 生長되지 않았었다. POBB 0.01%에서도 *Streptococcus faecalis*는 88.5%였고, *Pediococcus pentosaceus*는 98.0 %로 生育이 거의 억제되었다. *Leuconostoc mesenteroides*는 POPB 0.01%에서는 투과율이 44.0%로 生育에 큰 지장은 없었지만, Sorbic acid 0.1%에서 투과율이 100% POBB 0.01%에서는 80%로 生育이 억제되었다. *Lactobacillus brevis*를 제외한 모든 균이 Sorbic acid

Table 7. Effect of various preservatives in Media II on the growth rate of lactic acid bacteria (30°C 22hrs)

| Preservatives / Concentration % | Control | Sorbic acid | | | POBB | | | POPB | | | Sorbic acid + POBB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Bacteria \ T* | | 0.025 | 0.05 | 0.1 | 0.005 | 0.01 | 0.02 | 0.005 | 0.01 | 0.02 | 0.05+0.004 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | 47.0 | 51.0 | 59.0 | 100.0 | 55.0 | 80.0 | 98.0 | 47.5 | 44.0 | 64.0 | 98.5 |
| *Lactobacillus plantarum* | 57.0 | 53.8 | 55.5 | 67.0 | 41.0 | 47.0 | 95.2 | 41.2 | 39.8 | 50.1 | 95.0 |
| *Lactobacillus brevis* | 57.0 | 48.0 | 53.0 | 59.0 | 56.0 | 58.0 | 96.0 | 56.5 | 57.0 | 57.0 | 49.0 |
| *Streptococcus faecalis* | 61.0 | 47.1 | 94.0 | 99.0 | 47.9 | 88.5 | 96.5 | 45.0 | 47.0 | 73.5 | 95.0 |
| *Pediococcus pentosaceus* | 42.5 | 97.5 | 99.0 | 100.0 | 81.0 | 98.0 | 99.0 | 47.0 | 61.0 | 84.0 | 100.0 |

* T : Transparency of germ free sample adiusted to 100

Table 8. Effect of various preservatives in Media IV on the acid producitility of lactic acid bacteria (30°C 40hrs)

| Preservatives / Concentration % | Control | Sorbic acid | | | POBB | | | POPB | | | Sorbic acid + POBB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Bacteria \ Acid % | | 0.025 | 0.05 | 0.1 | 0.025 | 0.01 | 0.01 | 0.005 | 0.01 | 0.02 | 0.05+0.004 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | 0.234 | 0.108 | 0.099 | 0.085 | 0.099 | 0.099 | 0.090 | 0.090 | 0.909 | 0.090 | 0.063 |
| *Lactobacillus plantarum* | 0.229 | 0.225 | 0.171 | 0.144 | 0.315 | 0.279 | 0.239 | 0.306 | 0.243 | 0.243 | 0.153 |
| *Lactobacillus brevis* | 0.122 | 0.081 | 0.090 | 0.117 | 0.130 | 0.117 | 0.090 | 0.122 | 0.117 | 0.081 | 0.113 |
| *Streptococcus faecaslis* | 0.103 | 0.153 | 0.054 | 0.095 | 0.108 | 0.162 | 0.054 | 0.171 | 0.171 | 0.072 | 0.032 |
| *pediococcus pentosaceus* | 0.135 | 0.135 | 0.099 | 0.063 | 0.108 | 0.153 | 0.099 | 0.117 | 0.081 | 0.081 | 0.045 |

0.05%와 POBB 0.004%를 병용 첨가했을 때는 거의 生長되지 않았다.

이상의 POBB와 Sorbic acid의 保存効果는 Wyss[32] Mossel[33], Shibasak[38]등이 지적한 것과 같이 菌種에 따라서는 POBB가 細菌의 세포막형성을 억제하고, 또한 Co-enzyme을 不活性化하여 細菌의 生育을 억제한다는 것과 Azukas[34], York등[35]의 Sorbic acid는 細菌세포내의 enolase, lactatedehydrogenase, malate dehydrogenase, isocitric dehydrogenase, $\alpha$-ketoglutarate dehydrogenase succinate dehydrogenase, fumarase, aspartase등의 효소를 불활성화시켜, 세균 생육을 억제한다는 것의 원인으로 해석된다. 또 POBB가 POPB보다 保存効果가 더 높게 나타났는데, Shibasak[38], Aalto等[37]의 報告와도 일치되었다. 즉 Phenolester에 비하여 POPB는 25배, POBB는 35배의 보존효과가 있었다고 보고하였으며, 이것은 Chain길이의 비율에 비례한다고 하였다.

**2) 食品保存料가 김치 乳酸菌의 酸生成能에 미치는 영향**

食品保存料가 김치유산균의 酸生成能에 미치는 영향은 Table 8에서와 같이 生育이 억제되었던것처럼 酸의 生成도 억제되었다. 즉, 보존료를 첨가한 것과 control을 비교하면 保存料를 첨가했을 때, *Leuconostoc mesenteroides*는 사용한 保存料 전부에 영향을 받아 酸의 生成이 억제되었고, 특히 Sorbic acid와 POBB의 併用區에서 현저하게 酸生成이 억제되었음을 알 수 있었고 *Lactobacillus plantarum*은 Sorbic acid 0.05%, 0.01의 單用區와 Sorbic acid와 POBB의 併用區에서 酸의 生成이 다소 억제되었음을 나타내었다. *Streptococcus faecalis*는 Sorbic acid 0.05%, 0.1%의 單用區와

Table 9. Effect of various concentration of salt with 0.1% Sorbic acid, 0.01% POBB, and 0.01% POPB in Media II on the growth of lactic acid bacteria (30°C, 22hrs)

| Salt concentration (%) Control / Preservatives concentration (%) / Bacteria / T* | | 0 | | | 0.5 | | | 1.0 | | | 1.5 | | | 2.0 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPS (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) |
| *Leuconostoc mesenteroides* | 47.0 | 100.0 | 80.0 | 44.0 | 98.0 | 73.0 | 42.0 | 100.0 | 96.0 | 44.0 | 100.0 | 96.0 | 49.0 | 100.0 | 98.0 | 54.0 |
| *Lactobacillus plantarim* | 57.0 | 67.0 | 47.0 | 39.8 | 72.1 | 50.0 | 36.5 | 76.9 | 52.0 | 38.0 | 85.7 | 55.1 | 47.9 | 90.5 | 77.0 | 42.0 |
| *Lactobacillus brevis* | 57.0 | 59.0 | 58.0 | 57.0 | 79.0 | 67.5 | 51.0 | 90.0 | 69.0 | 47.0 | 90.0 | 94.0 | 55.0 | 98.0 | 96.0 | 58.0 |
| *Streptococcus* faecalis | 61.0 | 99.0 | 88.5 | 47.0 | 100.0 | 95.7 | 57.7 | 100.0 | 96.0 | 52.0 | 100.0 | 98.0 | 62.0 | 100.0 | 97.0 | 72.9 |
| *Pediococcus pcntosaceus* | 42.5 | 100.0 | 98.0 | 61.0 | 100.0 | 99.0 | 63.0 | 100.0 | 99.0 | 71.5 | 100.0 | 100.0 | 82.0 | 100.0 | 100.0 | 86.0 |

| Salt concentration (%) Control / Preservatives concentration (%) / Bacteria / T* | | 2.5 | | | 3.0 | | | 4.0 | | | 5.0 | | | 6.0 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | S (0.1) | POBB (0.01) | POBB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) |
| *Leuconostoe mesemteroids* | 47.0 | 100.0 | 100.0 | 71.0 | 100.0 | 97.0 | 76.0 | 100.0 | 99.0 | 92.0 | 100.0 | 100.0 | 10.00 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| *Lactobacillus plantaum* | 57.0 | 100.0 | 84.0 | 44.0 | 100.0 | 100.0 | 49.1 | 100.0 | 98.0 | 59.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| *Latobacillus brevis* | 57.0 | 98.0 | 95.0 | 60.0 | 98.0 | 97.0 | 65.0 | 100.0 | 97.0 | 99.0 | 100.0 | 96.0 | 89.0 | 100.0 | 99.0 | 100.0 |
| *Streptococcus faecalis* | 61.0 | 100.0 | 98.0 | 82.0 | 100.0 | 97.5 | 92.0 | 100.0 | 95.2 | 97.0 | 100.0 | 98.5 | 100.0 | 100.0 | 97.0 | 98.0 |
| *Pediococus pentosaceus* | 42.5 | 100.0 | 100.0 | 88.0 | 100.0 | 100.0 | 98.5 | 100.0 | 100.0 | 84.0 | 98.0 | 97.5 | 98.0 | 100.0 | 98.5 | 100.0 |

T* : Transparency of germ free sapmle is adjusted to 100.

Preservatives : S : Sorbic acid. POBB : p-hydroxy butyl benzoate POPB : p-hydroxy propyl benzoate

Table 10. Effect of various salt concentration with 0.1% sorbic acid, 0.01% POBB, and 0.01% POPB in Media IV on the acid producibility of lactic acid bacteria (30°C 40hrs)

| Salt concentration (%) / Preservatives coycentration (%) / Acid % / Bacteria | Control | 0 | | | 0.5 | | | 1.0 | | | 1.5 | | | 2.0 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB 0.01 |
| *Leuconostoc mesemteroids* | 0.243 | 0.085 | 0.099 | 0.090 | 0.099 | 0.144 | 0.162 | 0.072 | 0.126 | 0.162 | 0.063 | 0.126 | 0.135 | 0.072 | 0.086 | 0.126 |
| *Lactobacillus plantarum* | 0.229 | 0.144 | 0.279 | 0.243 | 0.063 | 0.207 | 0.252 | 0.126 | 0.225 | 0.135 | 0.126 | 0.216 | 0.243 | 0.162 | 0.198 | 0.234 |
| *Lactobacilus brevis* | 0.122 | 0.117 | 0.117 | 0.117 | 0.099 | 0.126 | 0.180 | 0.081 | 0.104 | 0.153 | 0.059 | 0.081 | 0.104 | 0.081 | 0.095 | 0.099 |
| *Steptococcus faecalis* | 0.103 | 0.095 | 0.162 | 0.171 | 0.104 | 0.167 | 0.153 | 0.077 | 0.104 | 0.162 | 0.072 | 0.135 | 0.139 | 0.099 | 0.081 | 0.090 |
| *Pediococcus pentoaceus* | 0.135 | 0.063 | 0.153 | 0.081 | 0.144 | 0.117 | 0.099 | 0.054 | 0.090 | 0.126 | 0.063 | 0.090 | 0.099 | 0.063 | 0.126 | 0.099 |

| Salt concentration (%) / Preservatives concent -ration (%) / Acid % / Bacteria | Control | 2.5 | | | 3.0 | | | 4.0 | | | 5.0 | | | 6.0 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) | S (0.1) | POBB (0.01) | POPB (0.01) |
| *Leuconostoc mescmteroids* | 0.243 | 0.045 | 0.090 | 0.135 | 0.072 | 0.054 | 0.090 | 0.108 | 0.059 | 0.081 | 0.153 | 0.027 | 0.063 | 0.063 | 0 | 0.036 |
| *Lactobacillus plamtarum* | 0.229 | 0.072 | 0.144 | 0.198 | 0.153 | 0.198 | 0.180 | 0.063 | 0.225 | 0.086 | 0.036 | 0.099 | 0.117 | 0.045 | 0.072 | 0.135 |
| *Lactobacills bevis* | 0.122 | 0.036 | 0.081 | 0.122 | 0.063 | 0.077 | 0.081 | 0.045 | 0.153 | 0.095 | 0.063 | 0.027 | 0.059 | 0.068 | 0.027 | 0.023 |
| *Strptococcus fascalls* | 0.103 | 0.072 | 0.104 | 0.135 | 0.099 | 0.063 | 0.122 | 0.072 | 0.018 | 0.027 | 0.063 | 0 | 0 | 0.104 | 0 | 0.009 |
| *Pediococcus penosaceus* | 0.135 | 0.090 | 0.081 | 0.180 | 0.081 | 0.117 | 0.099 | 0.036 | 0.099 | 0.072 | 0.054 | 0.045 | 0.045 | 0.045 | 0.027 | 0.045 |

POBB 0.02%, POPB 0.02% Sorbic acid와 POBB의 併用區에서 酸의 生成이 현저하게 저해되었다. *Pediococcus Pentosaceus*는 Sorbic acid 0.05%이상, POBB 0.02%, POPB 0.01% 이상에서 酸生成에 다소 저해를 받았으며 *Lactobacillus brevis*는 Sorbic acid 0.05%와 POBB 0.004%의 併用區에서 가장 영향을 적게 받은 菌으로 나타났다.

**3) 식품보존료와 소금의 첨가가 乳酸菌 생육에 미치는 영향**

식품 보존료가 김치유산균의 생육억제에 효과가 있고 (Table 7-8), 또 김치에 넣어서 사용할 수 있는 최대의 농도(본인의 실험결과임)인 Sorbic acid 0.1% 및 POBB 0.01%, POPB 0.01%를 각각 첨가하고, 소금농도별 乳酸菌의 억제효과 및 酸生成能을 비교한 결과는 Table 9 및 Table 10과 같다.

Sorbic acid 0.1% 첨가시, 菌의 生育(Table 9)은 *Lactobacillus plantarum*은 소금농도 1%이하에서 투과율 67%~76.9%로 다소 生長되었고, *Lactobacillus brevis*는 소금농도 0.5%이하에서 투과율 72.1%로서 약간 生長되었다. 그외 *Leuconostoc mesenteroides, Streptococcus faecalis, Pediococcus pentosaceus*는 거의 生長되지 않았다. Sorbic acid 0.1%를 첨가했을때의 酸의 生成(Table 10)도, *Lactobacillus plantarum*만은 소금농도 1~2%에서 生成이 가장 많았으나, 소금농도 0.5%이하와 2.5%이상에서는 酸生成이 억제됨을 알 수 있고, 기타 乳酸菌들은 소금농도 1%이상에서는 酸生成能이 자해 되었음을 알 수 있다.

POBB 0.01%를 첨가하고, 각 소금농도별 유산균의 생육(Table 9)은 *Lactobacillus plantarum*이 소금농도 1.5%이하에서 투과율이 47.0%~55.1%로 유산균중 가장 저해를 받지 않았으며, *Lactobacillus brevis*는 소금농도 1%에서 투과율 69%를 나타내어 약간 生育되었으며 *Leconostoc mesenteroides, Streptococcus faecalis, Pediococcus pentosaceus*는 거의 生長되지 않았다. 그리고 POBB 0.01% 첨가시 유산균의 酸生成量(Table 10)은 control과 비교하여 대체적으로 생성이 억제되었으며, 소금의 농도가 높을 수록 酸의 生成이 더 많이 억제되었다.

즉 *Leuconostoc mesenteroides*는 Control의 酸生成量이 0.243%인데 비하여 소금을 0.5% 첨가했을 때는 0.144%, 소금 2.5% 첨가시는 0.090%로, 저해되었다. *Lactobacillus plantarum*은 Control이 0.229%인데 비하여, 소금 0.5% 첨가시의 酸生成量이 0.207%, 소금 2.5%첨가 시는 0.144%로 다소 억제되었다. *Lactobacillus brevis*는 Control이 0.122%인데 비하여 소금 0.5% 첨가에서는 0.126%로서 크게 영향을 받지 않았지만 소금 2.5%에서는 0.104%이었고, 소금 6%에서는 0%로 酸이 生成되지 않았다.

*Streptococcus faecalis*는 *Control*이 0.103%인데 비하여, 소금 0.5%를 첨가했을 때는 0.167%이었고, 소금 2.5% 첨가에서는 0.104%로 크게 영향을 받지 않은 것으로 나타났으며, 소금농도 3% 이상(3%에서 0.063%, 4%에서는 0.018% 5%에서는 0%)에서는 酸生成이 현저하게 저해되었다. 또 *Pediococcus pentosaceus*는 Control이 0.135%인데 비하여, 소금 2.5% 첨가에서는 0.081%, 6%에서는 0.027%로 酸의 生成이 현저하게 억제 되었다.

POPB 0.01% 첨가에서는 乳酸菌의 生育에 크게 저해를 받지는 않았으며 사용한 保存料중 가장 영향을 적게 받은 것으로 나타났다. 즉 *Leuconostoc mesenteroides*는 소금농도 2%까지는 투과율 44%~54%였고, *Lactobacillus plantarum*은 소금농도 3%까지는 투과율이 39.8%~49.1%로 生長되었으며, 소금농도 4%에서도 투과율이 59%였다. *Lactobacillus brevis*는 소금농도 1.5%이하에서 47~55%였고, *Streptococcus faecalis*는 소금농도 1.5%에서 투과율 62%를 보였고 *Pediococcus pentosaceus*는 소금농도 2~2.5%에서 투과율이 86~8%로 다른 유산균에 비해 생육저해 영향을 가장 많이 받는 것으로 나타났다.

POPB 0.01% 첨가시 酸生成能(Table 10)은 control과 비교하면 *Leuconostoc mesenteroides*는 control이 0.243%인제 비하여 POPB 0..01%와 소금 0.5%첨가에서는 산의 생성이 0.162%이었고 소금 2.5% 첨가에서는 0.135%로 영향을 받았다. *Pediococcus Pentosaceus*도 대체로 영향을 많이 받아 酸의 生成이 억제되었다.

즉 control이 0.135%인데 비하여 소금 0.5%첨가시 0.099%이었고, 소금 6%에서는 0.045%였다. *Lactobacillus brevis*는 control이 0.122%, 소금 1%에서는 0.153%로 별로 영향을 받지 않았으며, *Streptococcus faecalis*는 control이 0.103%, 소금 1.5% 첨가시 0.139%로 크게 영향을 받지 않았으며 *Lactobacillus plantarum*은 control이 0.229%인데 비하여, 소금 0.5%첨가에

서는 0.252%였고, 소금 2%첨가시에는 0.234%였으며 소금 2.5%에서 0.198%, 소금 6%에서 0.135%로서 유산균증에서 영향을 가장 적게 받았다.

따라서 酸生成能이 월등한 *Lactobacillus plantarum*에 대하여 POPB의 효과는 매우 약하게 작용하였다.

## 要 約

가정용 통배추김치와 동치미를 시료로 하여, 김치 醱酵의 最適期에 관여하는 주요 乳酸菌種을 분리, 동정한 후 그들 乳酸菌에 대한 소금과 食品保存料(Sorbic acid, P-hydroxybutly benzoate, P-hydroxypropyl benzoate, Sorbic acid와 P-hydroxybutyl benzoate병용)에 대한 영향을 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 배추김치와 동치미에서 分離·同定된 乳酸菌은 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Streptococcus faecalis Pediococcus pentosaceus*였다.

2. 乳酸菌 生育과 食鹽과의 관계는 無鹽에서 보다는 소금 0.5～2.0%에서 生長이 더 잘 되었다.

3. 乳酸菌의 酸生成能은 *Lactobacillus plantarum*이 酸의 生成을 가장 많이 했다. 소금농도에 따른 乳酸菌의 酸生成能은 *Leuconostoc mesenteroides*는 소금 함량이 낮을수록 酸을 많이 生成했고, 그 외 모든 菌은 소금 0.5%～2.0%에서 酸의 生成量이 많았다.

4. 乳酸菌에 대한 保存料의 영향을 Sorbic acid 0.05% 및, 1%의 單用과 Sorbic acid 0.05%와 POBB 0.004% 併用이 保存効果가 크게 나타났고, POPB 0.01%가 가장 効果가 작았다. 소금이 첨가되면 保存効果가 더 좋게 나타났다. *Lactobacillus plantarum*이 모든 保存料에 대해 가장 영향을 적게 받았고, *Leuconostoc mesenteroides*가 가장 영향을 많이 받았다.

5. 이상의 결과에서 효과가 큰 보존료 Sorbic acid 0.05%～1% 및 Sorbic acid 0.05%와 POBB 0.004%의 혼합물을 넣고, 김치를 숙성시키면, 여름철 김치의 산패를 다소 억제시켜서 저장 기간을 지연 시킬 수 있으리라 기대된다.

## 參 考 文 獻

1) 晋寅鉉 : 조선 청물의 세균학적 연구, 조선의계 92(1932)
2) 權鼎杓 : 김치의 細菌學的 硏究(제 1 보), 분리한 菌에 대하여 中央化學硏究所報告 **4**, 42～46(1955)
3) 金造植, 黃圭彬 : 김치의 微生物學的硏究(제 1 보) 혐기성세균의 분리와 동정, 과연휘보, **4**, 56～63 (1959)
4) 黃圭彬, 鄭允秀, 金造植 : 김치의 미생물학적연구(제 1 보), 호기성세균의 분리와 동정, 과연휘보 **5**, 51～55(1960)
5) 金造植, 黃圭彬, 李啓湖 : 김치류와 해태에서 분리된 Pseudomonas SP의 Vitamsn $B_{12}$ 생산능에 관하여, 과연휘보 **5**, 1960
6) 金造植, 金在根 : 김치 醱酵中의 細菌의 動的變化에 관한 연구, 원자력논문집, **6**, 112～118(1966)
7) 朴淵姬, 權正周, 曺道鉉, 金秀一, 김치에 서 분리한 젖산균의 미생물 생육저해, 한국농화학회지, **26**(1) 1983
8) 黃圭彬 : 침채류 숙성 세균과 vt, $B_{12}$ 생산성, 경희대학교 박사학위논문, 1983
9) 민태익, 권태완 : 김치발효에 미치는 온도 및 식염농도의 영향. 한국식품과학회지, **16**(4):443～450(1984)
10) 이춘영, 김호식, 김재근 : 김치통조림 제조에 관한 연구 한국농화학회지, **10**, 33～38(1968)
11) 申東禾, 金期成 : 기업적 생산을 위한 김치제조에관한 연구. 식품연구소 보고서(농어촌개발공사) 201(1975)
12) 李陽熙, 梁益桓 : 우리나라 김치의 포장과 저장방법에 관한 연구 한국농화학회지, **13**(3):207～218(1970)
13) 宋錫勳, 曹哉銑, 金權 : 김치 保存에 관한연구 김치발효에 미치는 방부제에 관하여, 기술연구보고, 5,5 (1966)
14) 정호권 : 김치통조림의 간헐적 열처리방법, 한국특허 150호, 1967
15) 군숙표, 최건우 김치의 酸敗防止保存法. 특허공보 152호, 1967
16) 문범수 : 식품첨가물, 수학사, 1978.
17) 新村毒夫 : 食品添加物の生化學と安全性. 腸內細菌の作用. 地人書館, 1975
18) 岡村一弘 : 食品添加物の使用法, 食品と科學社, 1977
19) Pederson, C.S.: Floral changes in the fermentation of Sauerkraut, *New York State Agric. Exp. Stn. Bull.* **168**(1930).
20) Pederson, C.S. and Albury, M.N.: The Influence of Salt and Temperature on the microflora of sauerkraut fermentation, *Food Technol*, 8, 15(1954).
21) Pederson C.S. and Wand L.: The effect of salt upon the bacteriological and chmical changes in fermenting cucumbers, *N.Y. State Agric. Exp. Stn. Bull.* **288**(1949).
22) Pederson C.S. and Albury, M.N.: The sauerkraut

fermentation, N.Y. State Agric. Exp. Stn. Bull. **824**(1969).

23) Pederson, C.S. and Albury M.N.: The effect of temperature upon bacteriological and chemical changes in fermenting cucumbers, *N.Y. State Agric. Exp. Stn. Bull.* **744**(1950).

24) R.N. Costilow and F.W. Fabian: Availability of Essential Vitamins and Amino Acids for *Lactobacillus plantarum* in cucumber fermentations, *Appl. Microbiol*, **1**, 320~326(1953).

25) R.N. Costilow and F.W. Fabian, Microbiological Studies of Cucumber Fermentations, *Appl. Microbiol*, **1**, 314~319(1953).

26) N. Okada: Practical applicability of Ethanol Solution of Sorbic acid to pickles, *Food Industry* **11**, 10, 59(1968)

27) Bergery's Manual of Determinative Bacteriology (eighth edition), 1974.

28) A.I. Laskin, H.A. Lechevalier, Handbook of Microbiology, Volume 1, Baceria 1977.

29) James G. Cappuccino Natalie Sherman, Microbiology: a laboratory manual, Addison-wesley publishing Co., 1983

30) Philipp, Gerhardt, R.G.E. Murray, Ralph N. Costilow, Eugene W. Nester, Willis, A. Wood, Nole R. Krieg. G. Briggs Phillips, Manual of Methods for General Bacteriology, American Society for Microbiology, 1981.

31) Difco Manual, Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology Difco Laboratories, 1984

32) WYSS, O: Microbial inhibition by food preservatives, *Adv. Food. Res.* **1**, 373~393(1948).

33) Mossel, D.A.A.: Ecological essentials of antimicrobial food preservation proc. 21st Symp. Soc. Gen. Microbial 1971, 177~195.

34) Azukas, J.J.: Sorbic acid inhibition of enolase from yeast and lactic acid bactera, Thesis Michigan State Univ. 1962.

35) York, G.K. Vaughn, R.H.: Mechanisms in the inhibition of Microorgainsm by Sorbic acid, *J. Bacteriol*, **88**, 411~417, 1964

36) Oka, S.: Studies on transfer of antiseptics to microbes and their toxic effect, part I, Accumulation of acid antiseptics in yearst cells, *Bull, Agric, Chem. Soc. Japan* **24**, 59~65, 1960.

37) Aalto, T.R., Firman, M.C., Rigler, N.E.: *J. Am. Pharm Assoc. SCI. Ed.*, **42**, 449~457, (1953).

38) Shibasaki, I.: Antimicrobial activity of alkyl esters of p-hydroxy benozic acid, *J. Ferment, Technol*, **47**, 167~177(1969).