

김치 발효를 위한 *Leuconostoc mesenteroides* 균주의 개량과 starter로의 첨가효과

강상모* · 양완숙 · 김영찬 · 정은영 · 한용구
건국대학교 미생물공학과

Strain Improvement of *Leuconostoc mesenteroides* for Kimchi Fermentation and Effect of Starter

Sang-Mo Kang*, Wan-Suk Yang, Young-Chan Kim,
Eun-Young Joung and Yong-Gu Han

Department of Microbiological Engineering, Konkuk University, Seoul 133-701, Korea

Abstract — The heterofermentative *Leuconostoc mesenteroides*, which is propagated from the initial to the intermediate stage of *Kimchi* fermentation, produces organic acids and carbon dioxide to impart refreshment, weak acid taste to *Kimchi*. But owing to lactic acid production by the homofermentative *Lactobacillus plantarum*, *Kimchi* finally reaches its acidified state. So, *Leu. mesenteroides* was isolated from *Kimchi* and identified and was improved by mutation for carbon dioxide production at low pH, and for the high total acceptability. We tested with a wild-type strain K-1 and its improved mutant strain M-10 of *Leu. mesenteroides*. The wild-type strain K-1 could grow in pH 4.2 at 30°C or 20°C, and in pH 5.0 at 10°C. But the mutant strain M-10 could grow in pH 3.3 at 10°C. In the respect of total acceptability, mutant strain M-10 inoculated *Kimchi* was ever better than any others. Mutant M-10 inoculated *Kimchi* prolonged the optimum ripening period of *Kimchi* up to two times as compared with the control group.

김치의 맛 중 상쾌미는 발효의 주생성물인 유기산의 독특한 산미와 부수적으로 발생하는 CO₂와, CO₂가 국물에 녹은 상태인 탄산에 의해 크게 영향을 받는다. *Leuconostoc mesenteroides*는 김치발효의 초기부터 중기에 가장 많이 나타나는 주발효균으로 젖산, 초산, succinic acid, CO₂를 생성하는 hetero 젖산발효균으로 (1), 적숙기일 때 가장 많이 검출되며, CO₂도 최대치가 되게 한다(2). 그러나 산에 약한 *Leu. mesenteroides*는 pH가 4.0 이하로 떨어지는 발효중기에 이르면 수가 급격히 떨어진다. 한편 *Lactobacillus plantarum*은 산 생성능이 강하고 pH 3.0 정도에서도 생육가능하기 때문에, 발효후기에 우세균주로 작용하여 산패에 관여하는 것으로 알려져 있다(1).

*Leu. mesenteroides*를 내산성으로 개량하면 내산성의 균주는 pH가 떨어져도 계속 각종 유기산과 CO₂를 생성하므로, starter로 첨가하였을 때 재래식 김치에

Key words: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus cerevisiae*, yeast, mutation, isolation, identification, starter, *Kimchi*

*Corresponding author

비하여 맛이 향상되고, *Lac. plantarum*에 의한 생육 저해를 받지 않고, 경쟁적 생육을 하기 때문에 신맛이 덜한 김치를 만들 수 있다.

본 연구에서는 김치로부터 *Leuconostoc* sp.를 분리, 동정하고, 이들을 내산성이며 저온에서 야생주보다 많은 CO₂를 생성하는 균주로 개량하였다. 이에 균주 분리 및 개량된 균주의 특성과 개량된 *Leu. mesenteroides* M-10을 김치의 starter로 첨가하였을 때의 결과를 보고한다.

재료 및 방법

균주분리 및 동정

본 연구실에서 발효시킨 배추와 실험실원의 각 가정에서 가져 온 김치 국물을 희석하여 MRS 배지(3) (pH 6.6)에 도말하고 20°C, 4일간 배양하는 과정을 순수분리될 때까지 반복하였다. 분리된 젖산균 균주는 Bergey's manual of systematic bacteriology(4) 및 기타 동정법(5-7)에 따라 동정하였다.

균주의 변이처리

변이원으로 nitrosoguanidine(NTG)을 사용하였으며, 대장균 변이처리법(8)을 수정하여 pH 3.8 이하에서도 잘 자라는 균을 선별하였다. 즉, 정치배양한 전배양 균을 2% 접종하고 6시간 정치배양한 후, NTG 농도 5%에서 1시간 처리하여 변이를 유도하였다. 20°C, pH 3.8의 MRS 배지에서 4일에 한번씩 1개월간 반복 계대배양한 다음, pH 3.8의 MRS 한천배지에서 평판배양하고 나타난 colony를 순수분리하여 내산성 균주를 선별하였다. 이들 균주는 각각 배양하여 원심분리하고, 증류수로 세척하여 김치에 starter로 첨가하였으며, 관능검사를 통해 김치에 가장 좋은 맛을 주는 균주를 선택하였다.

내산성 변이균의 증식 및 CO₂ 생성 비교

pH와 온도에 따른 증식 1백금이를 MRS broth에 식균하여 20°C에서 5일 배양한 것을 전배양으로 하였다. MRS broth를 HCl로 pH 5.0, 4.2, 4.0, 3.8, 3.5 및, 3.3으로 각각 조정하여 100 ml 삼각 플라스크에 50 ml 씩 분주한 후, 이들 배지에 전배양한 내산성 변이주와 야생주를 약 1%씩 접종하여 10, 20, 30°C의 각 온도별로 배양하였다. 10°C에서는 5일 간격으로, 30°C와 20°C는 매일, pH와 흡광도를 측정하여 증식도를 비교하였다. 흡광도 측정에는 UV-VIS spectrophotometer(UV-1201, SHIMAZU)를 이용하였다.

이산화탄소 생성능력 시험 30 ml 시험관에 배지를 채워 0.5%의 전배양 균주를 접종하고, 이 시험관보다 큰 tube에 거꾸로 세워 놓고, 10, 20°C의 각 온도에서 배양하며, 시험관 안에 생성된 CO₂의 양으로 비교하였다.

젖산 내성 실험 MRS broth를 젖산으로 6.8, 5.0로 pH를 조절한 뒤 내산성 변이주와 야생주를 접종하여 20°C에서 배양하면서, pH와 660 nm에서의 흡광도로 증식 정도를 비교하였다.

균주배양

MRS 배지(3)(pH 6.6)를 사용하여 20°C에서 배양하였으며, starter로 사용할 때는 10°C에서 배양 보관하였다.

시료 김치의 제조

12%(w/v)의 NaCl(80% 재제염) 용액에 침지시킨 후 흐르는 물에 3회 세척하여 물빠기를 한 다음 4~5 cm 정도로 절단하였다. 배추에 부재료를 섞어 잘 버무려서 100 g 씩 비닐봉지에 담고 공기를 빼고 밀봉하였다. 재료의 배합비(9)는 배추 100 g에 대하여

마늘 0.8 g, 파 2.0 g, 고추 2.5 g, 생강 0.5 g, 젓갈 1 g으로 하였고 비닐봉지에 담은 김치의 염도는 약 3%가 되도록 조정하였다. 야생주 K-1 균주와 변이주 M-10을 배양하여 10⁸ cell/ml을 김치 부피에 대하여 0.2% 첨가하였다. 비닐봉지에 담은 김치는 10°C에서 발효시키면서 시료로 사용하였다.

염농도의 측정

김치액 10 ml를 취하여 질산은 적정법(10)으로 측정하였다.

pH 및 산도의 측정

pH는 pH meter(M-8S, Horiba CO.)로 측정하였으며, 산도는 A.O.A.C 방법(11)에 의하여 10 ml 김치액을 중화시키는데 소요되는 0.1N NaOH의 용량(ml)을 lactic acid 함량으로 표시하였다.

환원당 측정

담금액의 환원당은 dinitrosalicylic acid(DNS)에 의한 비색방법(12)으로 측정하였다.

관능검사

관능검사는 다시료비교법으로 평가원은 약 6개월 전부터 김치맛에 대한 훈련을 실시한 건국대학교 미생물공학과 대학원생 10명으로 구성하였다. 관능검사 평가는 김치에서 느낄 수 있는 풋내, 신내, 군덕내 3개 항목과 전체적인 기호도를 첨가한 4개 항목을 맛과 냄새로 구분하였으며, 평가항목은 5점 채점법(아주 나쁘다, 나쁘다, 양호하다, 좋다, 아주 좋다)으로 실시하였다(13-15). 이 결과의 통계처리는 statistical analysis(SAS)로 각 처리 평균간의 유의적 검정을 하였으며, 시료간의 유의성 검토는 Duncan의 다중비교분석법으로 하였다(16).

젖산균의 분포

김치 중의 젖산균을 각 속별로 분리계수하기 위하여 官尾 등(17, 18)의 방법에 따라 균주별 선택배지를 이용하였다. 즉, *Leuconostoc* 속의 분리계수는 phenylethyl alcohol-sucrose agar medium을 사용하여 20°C에서 5일간 평판배양 후에 하였다. *Streptococcus* 속과 *Pediococcus* 속 분리계수에는 M-Enterococcus agar 배지를 사용하여 37°C에서 3일간 배양 후에 하였다. *Streptococcus* 속은 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC)를 환원하여 붉은색을 나타내고, *Pediococcus* 속은 환원하지 않아서 흰색을 나타낸다. *Lactobacillus* 속 분리계수에는 acetic acid와 sodium ace-

tate를 첨가한 개량된 LBS 배지를 이용하여 30°C에서 3일 배양 후에 하였다.

결과 및 고찰

균주분리 및 동정

시료 김치로부터 colony가 작고 흰 것을 중심으로 colony의 형태가 *Leuconostoc* sp.로 추정되는 젖산균을 분리하여, 두 균주 K-1, K-2를 최종분리하였다. 이 균주는 sucrose 배지에서 dextran을 생성하여 큰 colony를 형성하며, 생리적인 특성은 Table 1과 같다. 이 두 균주가 *Leu. mesenteroides*의 특성과 같았으므로, 이 두 균주를 *Leu. mesenteroides*로 동정하였다. 분리된 두 가지 *Leu. mesenteroides* 균주를 실제 김치 담금시에 1% 첨가하여, 관능검사를 한 결과, K-1균주 첨가균이 더 맛이 좋은 것으로 나타나 야생주 K-1 균주를 변이처리하였다.

균주의 변이처리

변이처리된 균주 중에서 pH 3.8 MRS 한천배지에서 증식하며 야생주보다 많은 CO₂를 생성하는 20균주를 선별하였고, 이때 김치에 사과향을 진하게 풍기는 균주, 김치에 단맛을 주는 균주 등 다양한 성질을 갖는 균주를 볼 수 있었으나, 관능검사의 결과 김치 맛이 가장 좋은 균주인 M-10균주를 김치 starter 균으로 최종 선택하였다.

내산성 변이균주의 특성

pH와 온도에 따른 증식 MRS broth를 이용하여 내산성 변이주인 M-10 균주의 각 온도, 각 pH에서의 생육 상태를 실험한 결과는 Fig. 1~6에 나타냈다. 30°C에서 야생주 K-1균주는 pH 4.2에서 약간의 증식을 볼 수 있으나, pH 4.0에서는 증식을 볼 수 없었다. Fig. 2에서 변이주 M-10균주는 pH 3.5에서도 K-1균주의 pH 5.0에서 보다 증식 정도가 높았다. 20°C에서는 K-1균주는, pH 4.2 이하에서 증식이 어려운데 비하여, M-10균주는 증식도가 높으며, pH 3.8까지도 증식하였다. 10°C에서는 K-1균주는 pH 4.2에서 전 배양기간을 통해서 증식을 보이지 않는데 비해서, M-10균주는 처음에는 증식하지 않았으나, 약 1개월이 경과한 후 부터는 증식이 되어, pH 3.3에서도 증식하기 시작하는 것을 볼 수 있었다. M-10균주가 10°C에서 생육이 늦게 나타나는 것은, NTG로 변이시킨 균주를 계속적으로 계대배양을 하면서 단시간에 안정화시키기 위해, 김치발효시의 온도인 10°C에 비하여 비교적 높은 온도인 20°C에서 계대배양하였으므로, 이 온도에 가장 잘 맞

Table 1. Physiological characteristics of the strains isolated from *Kimchi*

Characteristics	Strains	
	K-1	K-2
Agar colony	Small, white	Small, white
Gram's staining	+	+
Size (μm)	1.0~1.2	1.0~1.2
Chain linkage	Chain linkage	Chain linkage
Spore formation	-	-
Gas from glucose	+	+
Motility	-	-
Catalase	-	-
Urease	-	-
Opt. temp. (°C)	30	30
Salt tolerance (NaCl%)	6.5	6.0
Gelatin liquification	-	-
Litmus milk	-	-
Sucrose broth	Turbid, gelatinous	Turbid, gelatinous
Dextran formation	+	+
Acid from glucose	+	+
fructose	+	+
galactose	+	+
mannose	+	+
xylose	+	+
arabinose	+	+
maltose	+	+
sucrose	+	+
lactose	(-)	(-)
glycerol	-	-
raffinose	(-)	+
dextrin	-	-
salicin	-	-
manitol	+	+
inulin	-	-
Growth at pH 6.8 (initial)	+	+

(-): Not accorded with manual

는 균들이 살아 남았을 가능성이 높다. 따라서 10°C의 저온에서 배양을 하게 되면 여기에 적응하는 데는 다시 시간이 걸리기 때문인 것으로 사료된다.

이상의 결과로 변이주 M-10균주가 K-1균주보다 pH에 대한 내성이 강하며, 잘 증식되는 것으로 나타났다.

내산성 변이균주의 CO₂ 생성능력 내산성 변이주

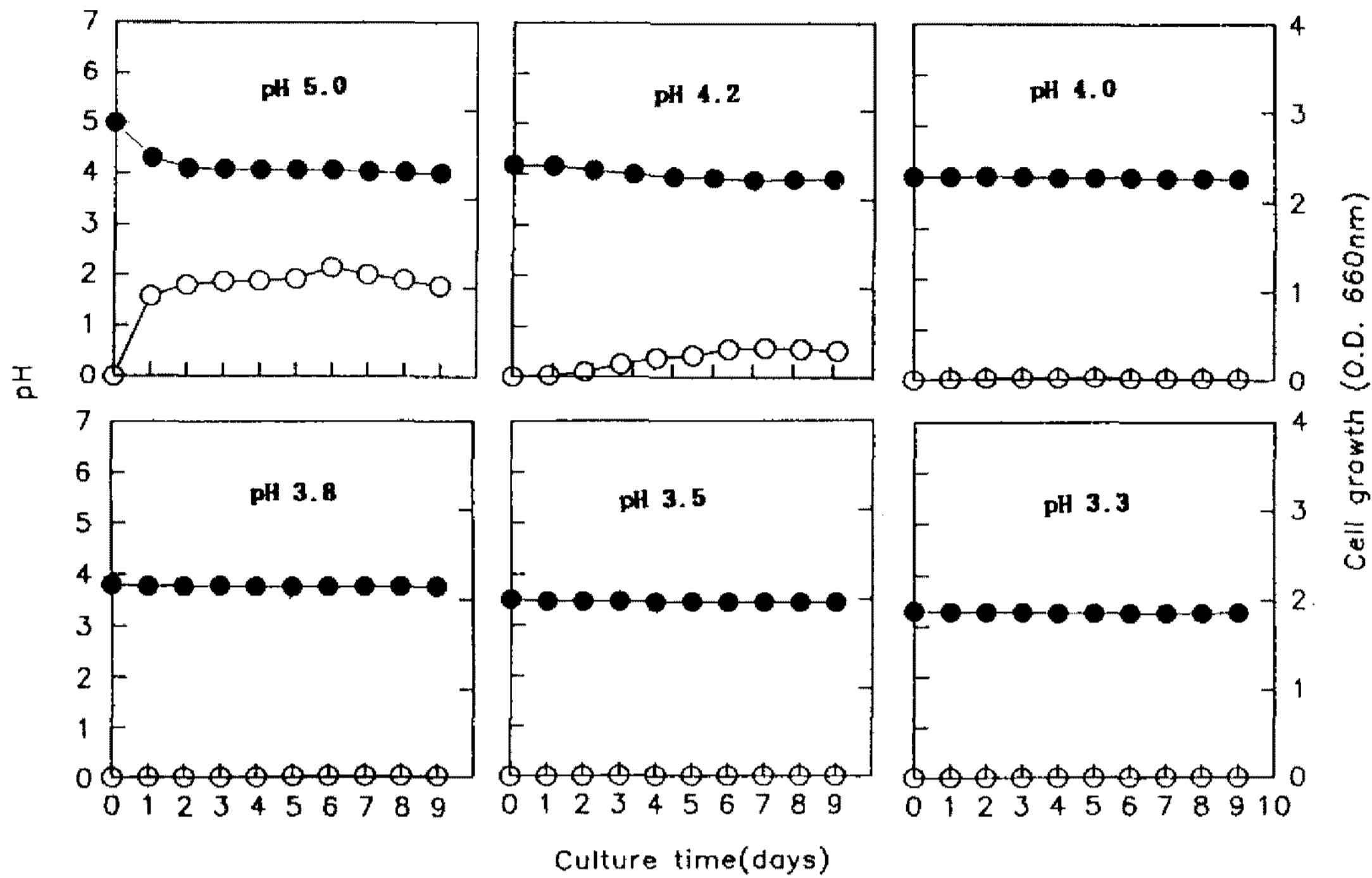


Fig. 1. Cell growth of wild strain K-1 in various pHs of MRS broth at 30°C.
symbols: ●-●; pH, ○-○; O.D.

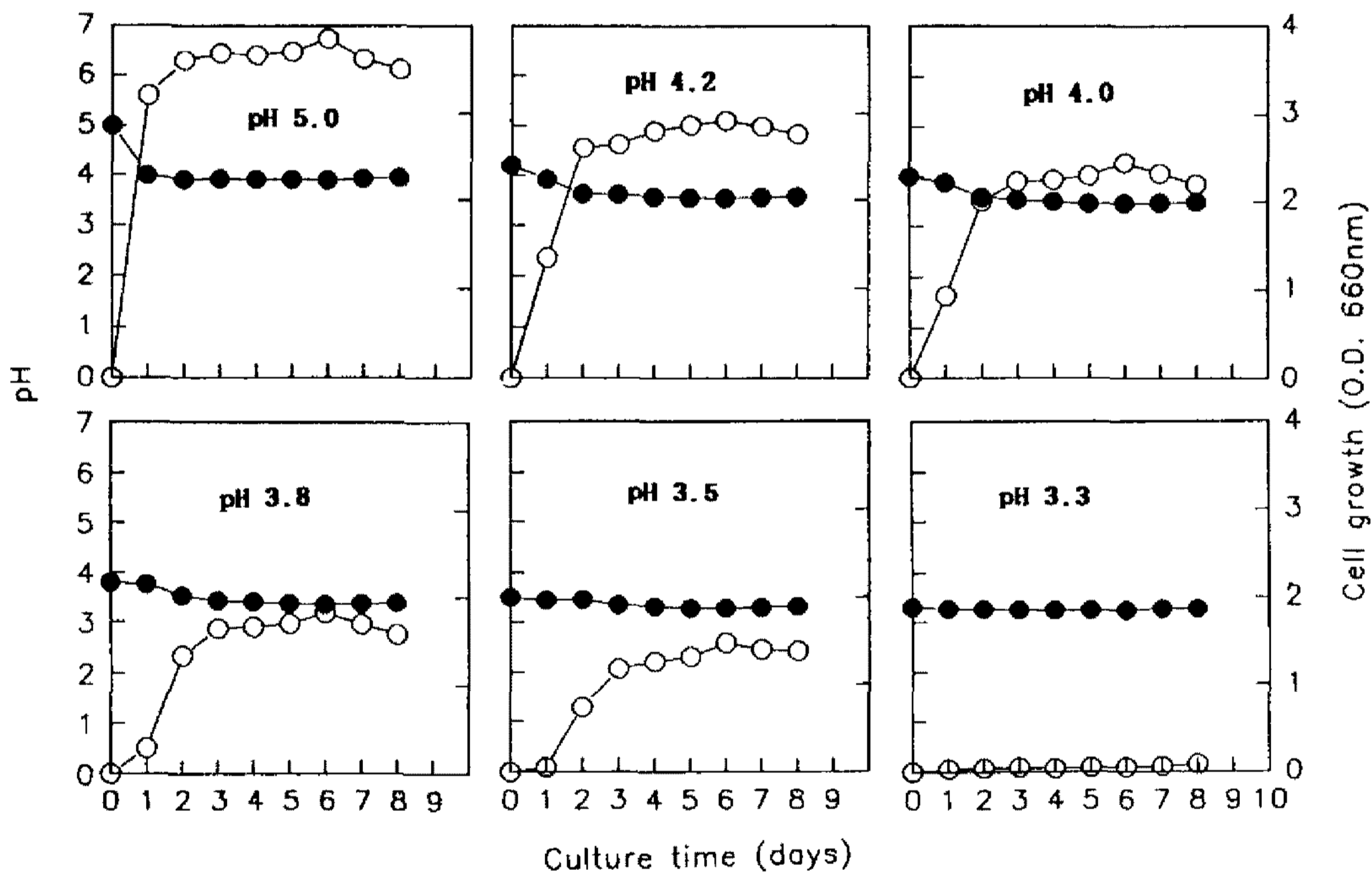


Fig. 2. Cell growth of mutant strain M-10 in various pHs of MRS broth at 30°C.
symbols: ●-●; pH, ○-○; O.D.

M-10균주와 야생주 K-1균주를 pH 6.8과 pH 4.0의 MRS broth에 접종하고 CO₂ 생성능력을 비교한 결과를 Fig. 7~8에 나타내었다. 20°C에서는 pH 4.2까지는 M-10균주가 K-1균주보다 10% 이상 많은 CO₂ 생성능력을 나타냈고, pH 4.0에서는 변이주만이 CO₂를 생성하였다. 10°C에서는 높은 pH 일수록 야생주

K-1균주쪽이 CO₂ 생산능 좋았으나, pH가 낮아지면서 변이주 M-10균주가 높았으며, pH 4.0에서는 변이주 M-10균주만이 CO₂를 생성하였다.

이들의 결과로부터 M-10균주가 K-1균주보다 pH가 낮을수록 높은 CO₂ 생성능력을 나타내며, 각 균주의 CO₂의 생성량은 증식곡선과 비례하는 것으로 나타

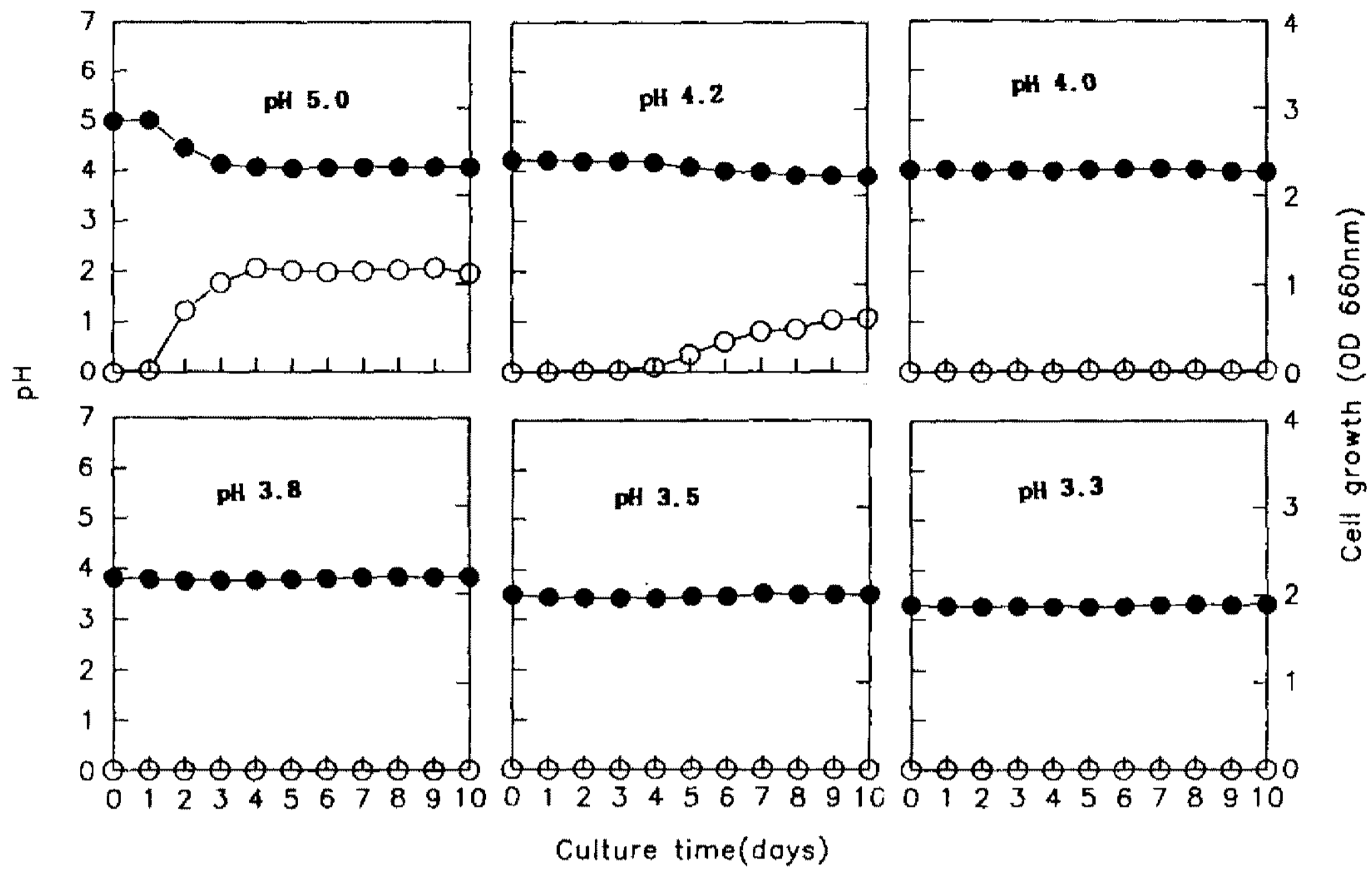


Fig. 3. Cell growth of wild strain K-1 in various pHs of MRS broth at 20°C.
 symbols: ●-●; pH, ○-○; O.D.

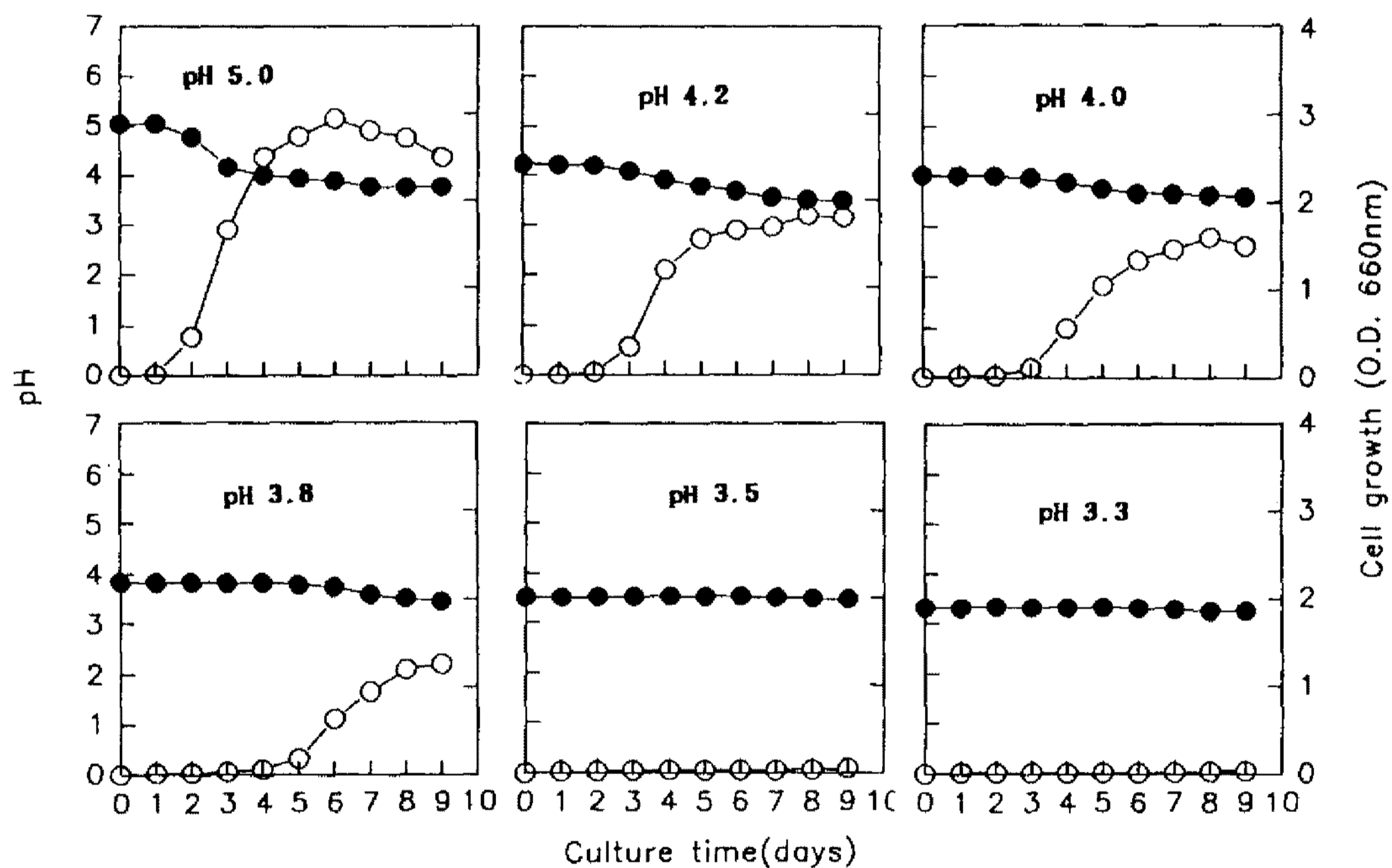


Fig. 4. Cell growth of mutant strain M-10 in various pHs of MRS broth at 20°C.
 symbols: ●-●; pH, ○-○; O.D.

났다. 이것은 *Leu. mesenteroides*가 포도당을 이용하여 에너지를 얻으려고 할 때, heterofermentative pathway를 이용하므로 CO₂가 생성되기 때문이다(19, 20). 20°C에서는 M-10균주가 pH에 관계없이 거의 유사한 형태로 CO₂를 생성하지만 10°C에서는 약간의 유도를 필요로 하나, 시간의 경과에 따라 많은 양의 CO₂를

생성하므로, 이 균주를 starter로 김치에 첨가하면 김치의 상쾌미를 유지하는데 유효할 것으로 사료되었다.

젖산내성 실험 김치발효시 주로 생성되는 유기산인 젖산에 대한 야생주 K-1균주와 변이주 M-10균주의 내성실험 결과는 Fig. 9와 같다. pH 6.8에서의 증식속

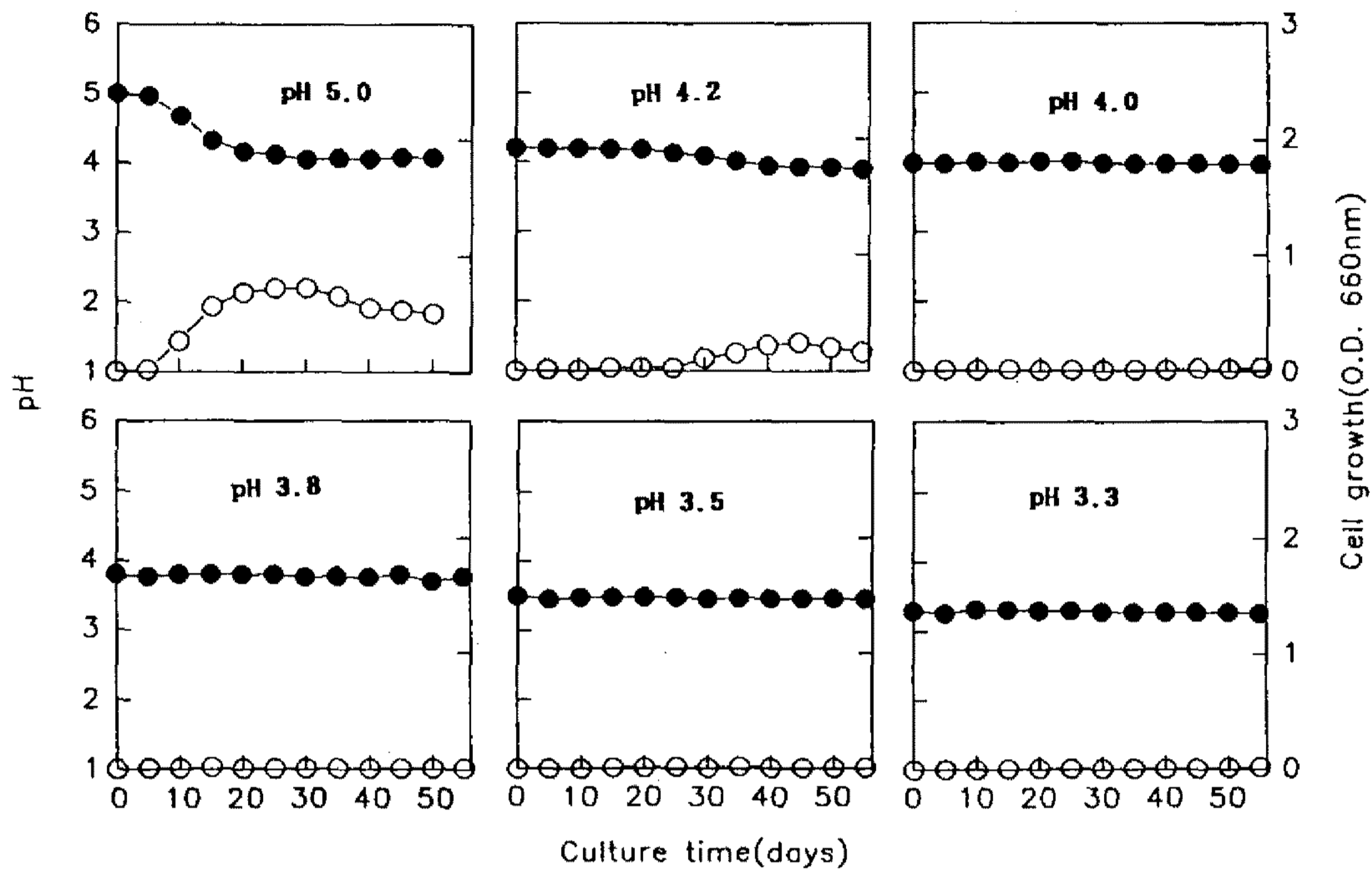


Fig. 5. Cell growth of wild strain K-1 in various pHs of MRS broth at 10°C.
symbols: ●-●; pH, ○-○; O.D.

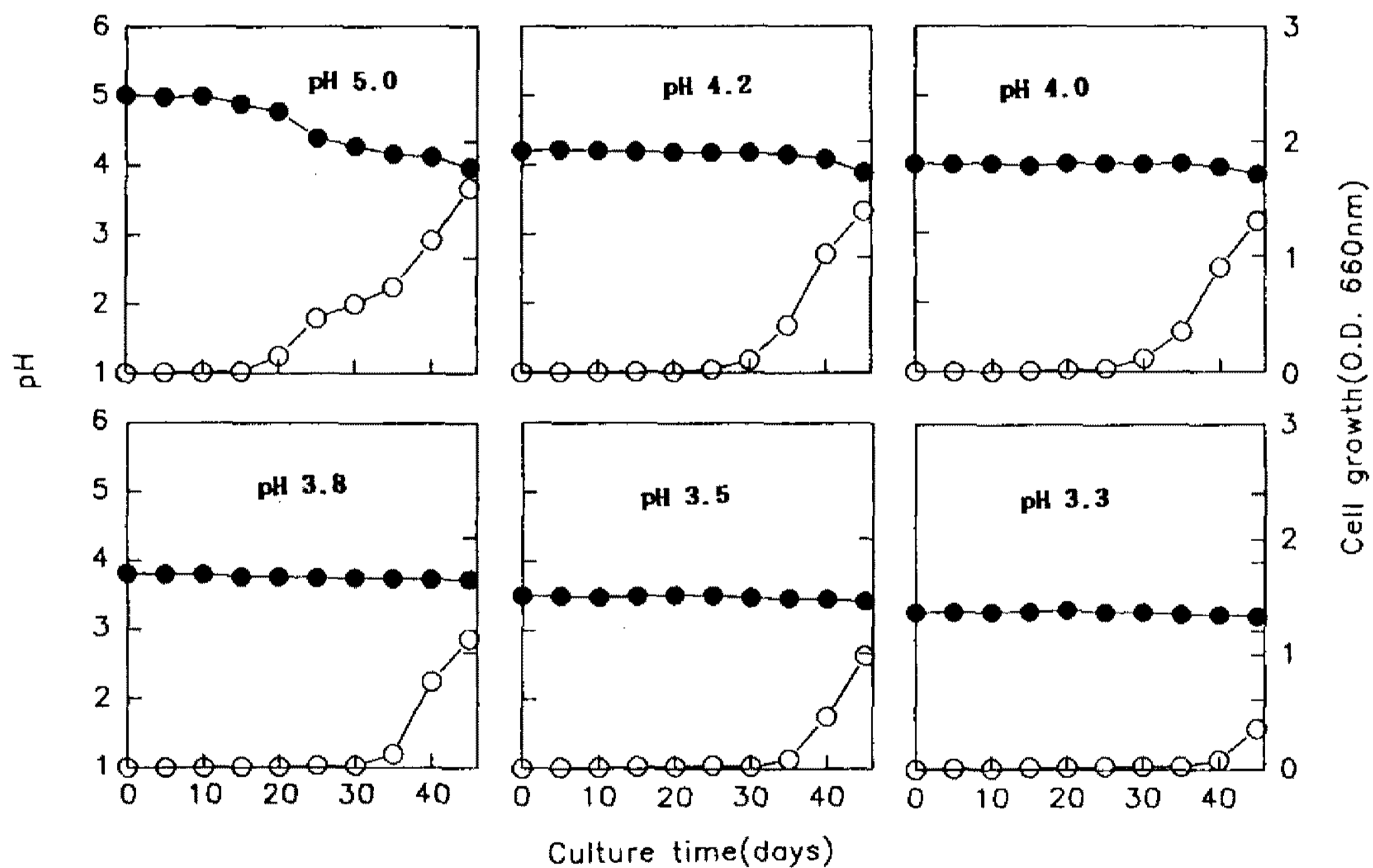


Fig. 6. Cell growth of mutant strain M-10 in various pHs of MRS broth at 10°C.
symbols: ●-●; pH, ○-○; O.D.

도는 차이가 없으나, pH 5.0에서 변이주 M-10균주가 야생주 K-1균주보다 2배 정도의 빠른 성장속도를 나타내었다. 따라서 변이주 M-10균주가 야생주 K-1균주보다 김치발효시 많이 생성되는 젖산의 영향을 적게 받아, 숙성 말기에도 생존하면서 김치의 맛 및 보존에도 영향을 줄 것으로 사료되었다.

내산성 변이주 M-10을 starter로 첨가한 김치의 pH 및 산도의 변화

구(21)는 낮은 온도에서 김치를 발효숙성시키면 *Leuconostoc mesenteroides*와 같은 hetero형의 발효젖산균이 대부분을 차지하여 이들이 생성하는 CO₂, 휘발성 유기산 및 알코올 등이 조직과 액즙내에 스며

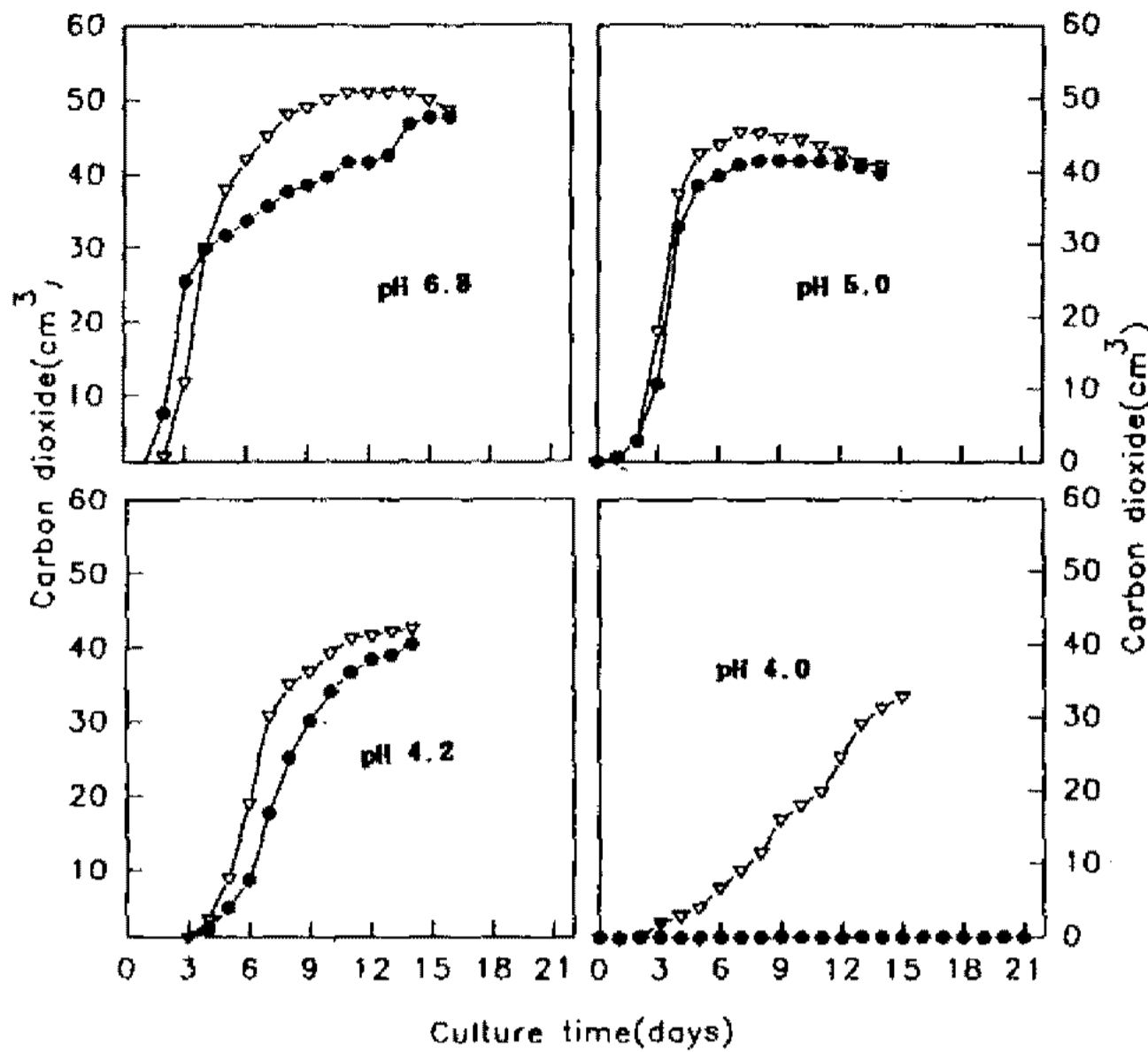


Fig. 7. Changes of the production of carbon dioxide by strain K-1 and M-10 at 20°C. symbols: ●-●; wild K-1, ▽-▽; Mutant M-10

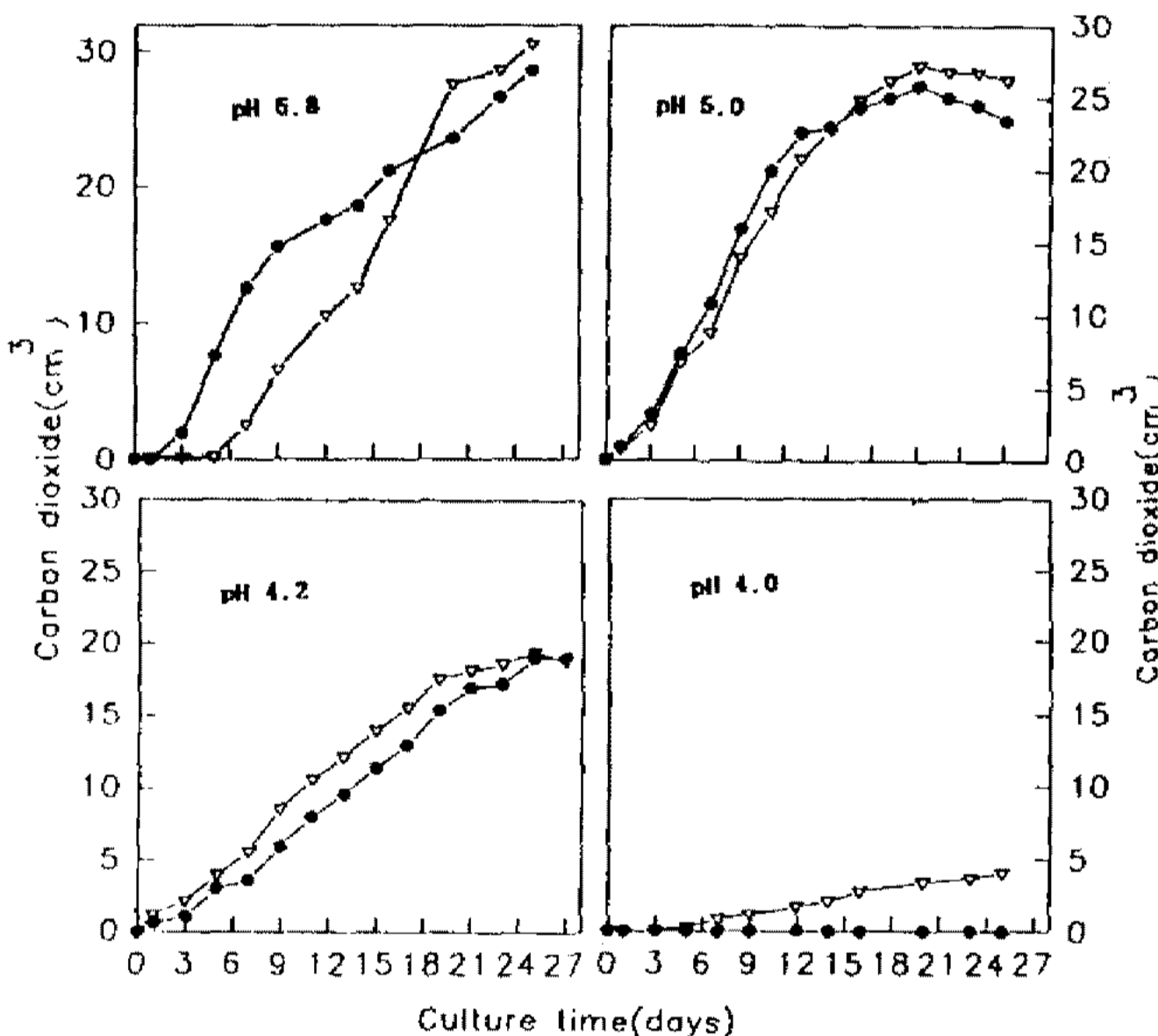


Fig. 8. Changes of the production of carbon dioxide by strain K-1 and M-10 at 10°C. symbols: ●-●; wild K-1, ▽-▽; Mutant M-10

들어 맛이 상쾌하며, 온도가 높은 곳에서 김치를 발효숙성시키면 *Lactobacillus plantarum*과 같은 homo형의 젖산균이 대부분을 차지하여 젖산만을 생성하므로, 상쾌한 맛이 없어져 김치공장에서는 저온에서 저장하고 있다고 하였다. 또한 임 등(22)의 김치균 분리 동정 보고에 의하여도 저온일수록 *Leuconostoc*속의 분포가 높은 것으로 나타났다. 또한 김 등(15)은 김치에 감칠 맛을 주는 succinic acid도 저온에서 많이 생성된다고 하였다. 따라서 내산성으로 개량한 변이주

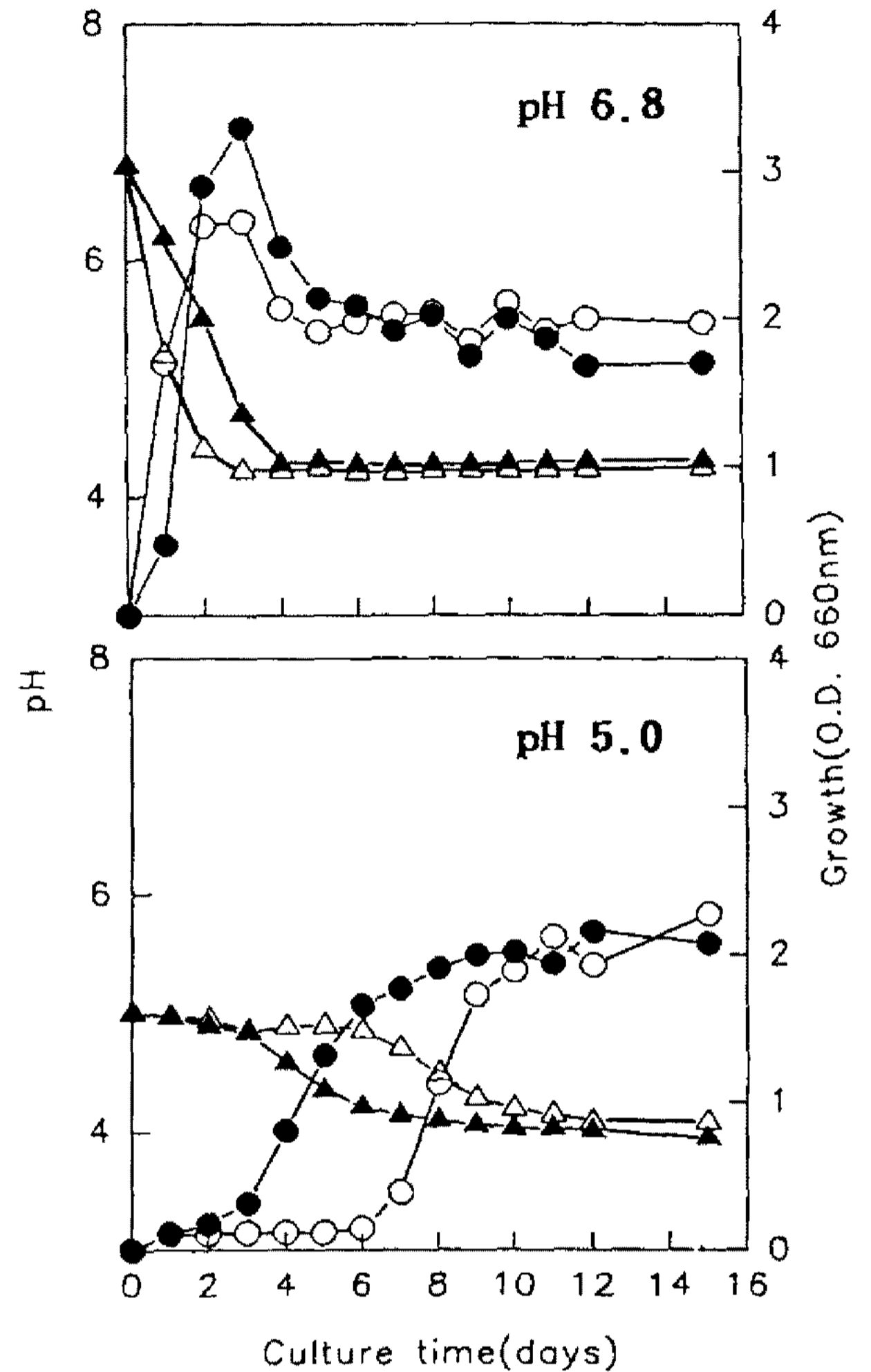


Fig. 9. Growth test of two strains in pHs adjusted with lactic acid at 20°C. symbols: O.D.: (○-○) Wild K-1; (●-●) Mutant M-10; pH: (△-△) Wild K-1; (▲-▲) Mutant M-10

M-10균주를 starter로 김치에 첨가하여 10°C에서 저장발효시켰다. 초기 pH의 경우는 모두 pH 5.30 부근이었으며, 저장 31일째는 변이주 M-10균주 첨가균이 pH 3.81, 야생주 K-1균주 첨가균이 pH 3.85, 대조균이 pH 3.90까지 감소되었다(Fig. 10). 모두 숙성 3일 이후부터는 pH의 급격한 감소경향을 보였으나, 변이주 M-10균주 첨가균의 감소경향이 가장 적었으며, 발효기간동안 변이주 M-10균주 첨가균이 다른 두 균에 비해 대체적으로 pH가 높게 나타났다. 총산도에 있어서는 모든 균이 숙성 초기에는 거의 비슷한 양상을 보였고, 대조균은 숙성 3일, 야생주 K-1균주 첨가균은 7일, 그리고 변이주 M-10균주 첨가균은 10일 이후에 급격한 증가현상을 보이다가, 그 이후부터 완만한 증가를 나타내었으며, 역시 변이주 M-10균주 첨가균이 전반적으로 낮은 산도를 나타내었다.

Mheen 등(23)은 염도 3.0%인 김치를 5~14°C의 저온에서 발효시켜 pH 4.2, 산도 0.3~0.8%일 때, 구

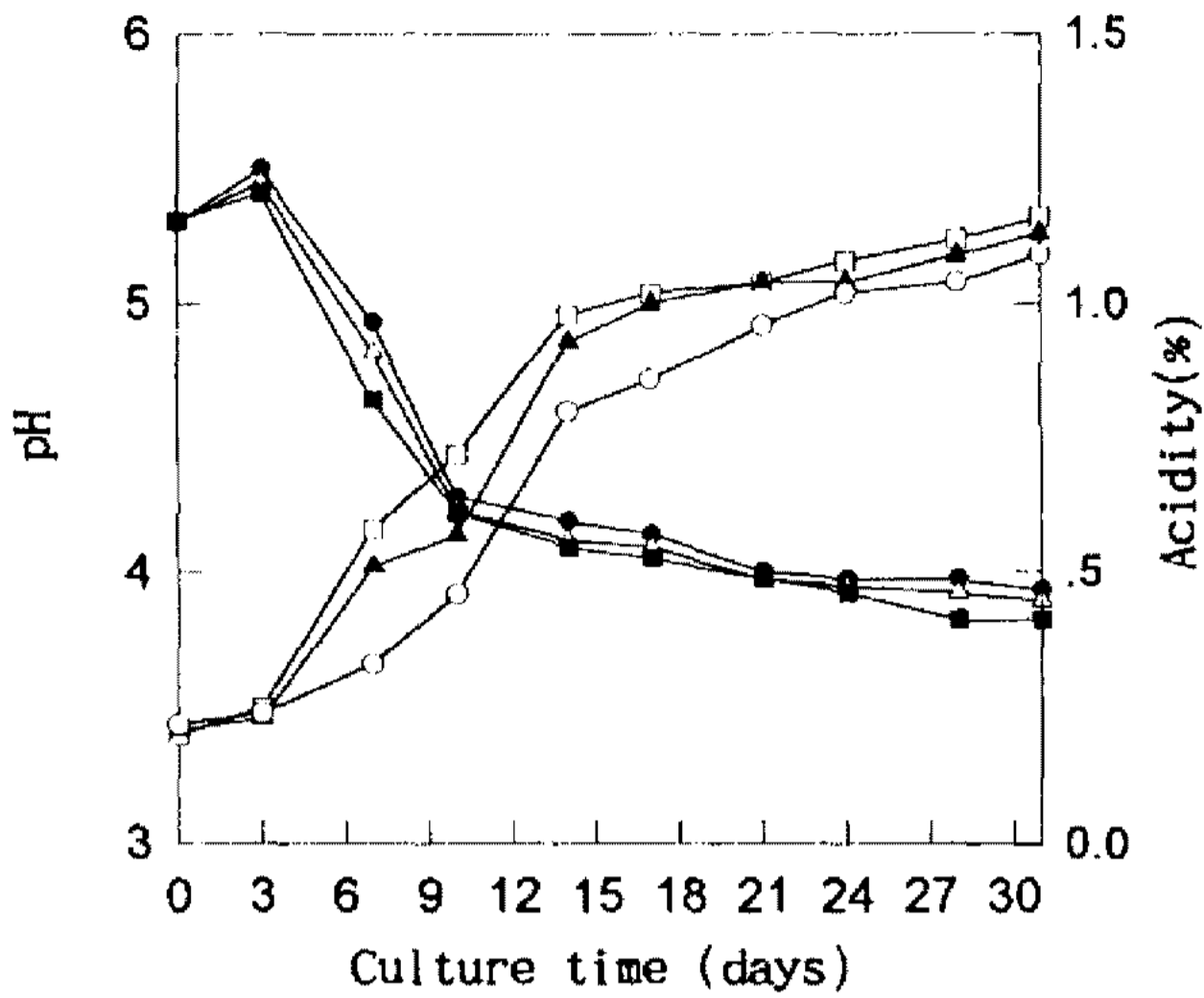


Fig. 10. Changes in pH and total acidity during *Kimchi* fermentation at 10°C.

Symbols: Acidity: (□-□) Control *Kimchi* group; (▲-▲) Wild K-1 starter inoculated *Kimchi* group; (○-○) Mutant M-10 starter inoculated *Kimchi* group, pH: (■-■) Control *Kimchi* group; (△-△) Wild K-1 starter inoculated *Kimchi* group; (●-●) Mutant M-10 starter inoculated *Kimchi* group.

등(21)은 pH 4.2~4.4일 때가 적숙기라고 보고하였다. 또한 이 등(24)은 적숙기가 젖산 함량이 0.4~0.75%이며 특히 0.5% 부근이라고 하였다. 적숙기를 산도 0.4~0.75%로 본다면 본 실험에서는 대조군의 적숙기가 발효 6일부터 13일까지 약 7일간, 야생주 K-1 균주 첨가군이 발효 6일부터 14일까지 약 8일간, 변이주 M-10균주 첨가군이 발효 8일부터 21일까지 약 13일로 M-10균주 첨가군이 대조군에 비해 약 2배 적숙기가 연장되었다.

내산성 변이주 M-10균주를 starter로 첨가한 김치의 당소비 변화

김치발효에서 미생물의 성장에 이용되는 에너지원은 주로 배추로부터 발효액으로 용출되는 당이 이용되며, 당함량은 배추의 품종, 첨가한 부재료의 종류와 양, 김치제조방법에 따라 상당한 차이가 있다. Fig. 11에 의하면 김치의 초기 당함량은 대조군과 야생주 K-1균주 첨가군 및 변이주 M-10균주 첨가군이 각각 20.2, 19.3, 20.7 mg/ml이었다. 대조군에 비하여 야생주 K-1균주 첨가군과 변이주 M-10균주 첨가군은 발효 초기에 일시적 증가 현상을 강하게 나타내다가, 7일 이후부터 계속 감소하였다. 세 실험군에서 환원당의 일시적인 증가 현상을 보인 것은 배추 또는 양념류 중에 들어 있는 환원성기를 갖는 화합물들의 분해 또는 용출에 의한 것으로 추측되며, 그 이후에 유산

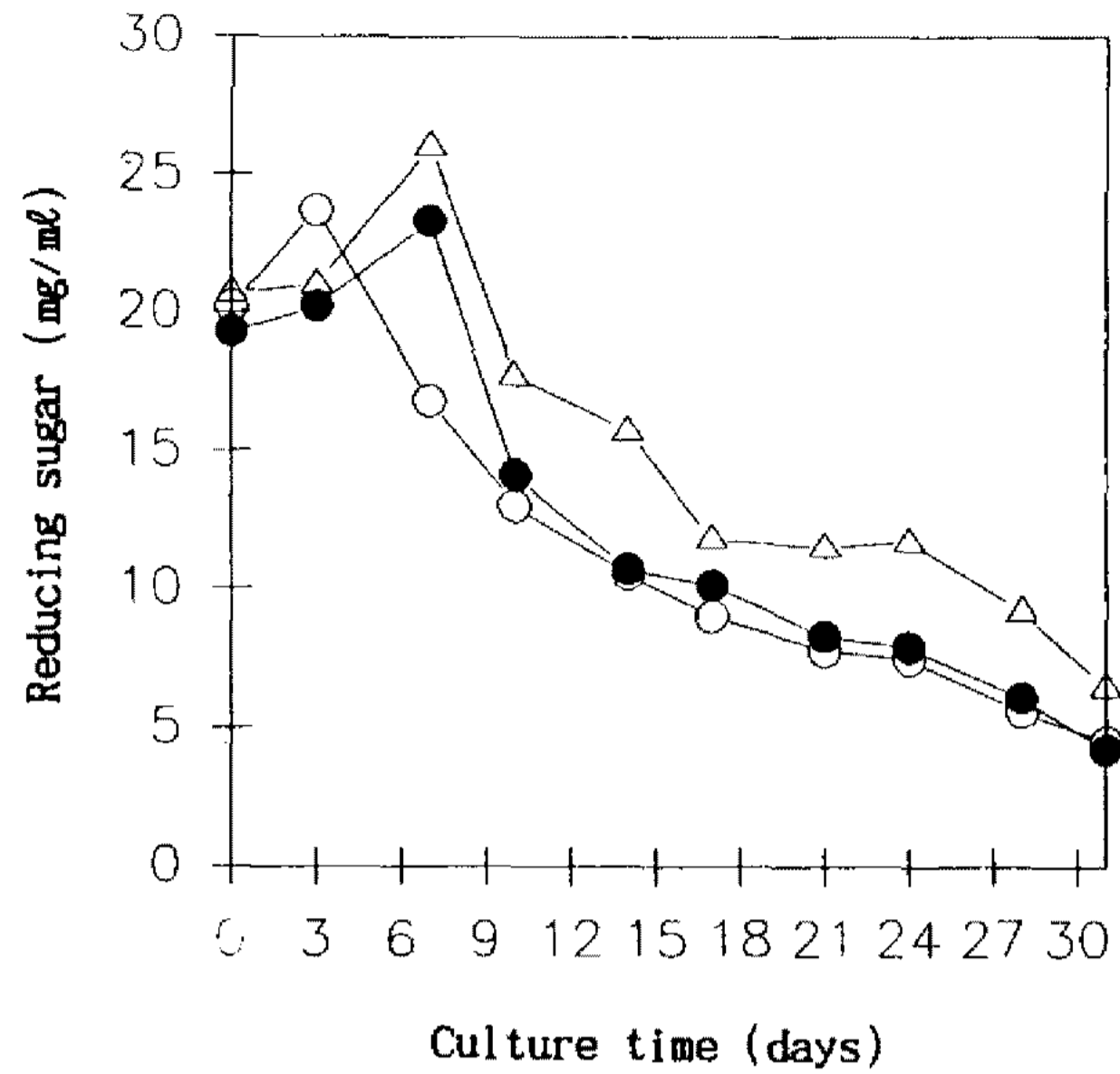


Fig. 11. Changes of reducing sugar during *Kimchi* fermentation at 10°C.

Symbols: (○-○) Control *Kimchi* group; (●-●) Wild K-1 starter inoculated *Kimchi* group; (△-△) Mutant M-10 starter inoculated *Kimchi* group

균들이 급속하게 성장하면서 젖산을 비롯한 acetic acid, alcohol, carbon dioxide 등의 발효산물로 변화시켜 환원당이 감소하는 것으로 생각된다. 윤 등(9)도 김치를 26°C에서 발효시킬 때 환원당은 일시적으로 증가하다가 현저하게 감소된다고 보고하였는데 본 실험의 결과와 유사하였다. 그리고 변이주 M-10균주를 첨가한 경우, 당 이용성이 더욱 떨어지는데 이는 당을 빨리 이용하는 균들이 starter와 경쟁적 생육을 하였기 때문으로 사료된다.

내산성 변이주 M-10균주를 starter로 첨가한 김치의 관능적 기호도 조사

대조군과 야생주 K-1균주 및 변이주 M-10균주 첨가군의 관능적 기호도 조사의 평균값을 나타낸 결과는 Table 2와 같다. 풋내, 군덕내와 군덕맛 등은 세 군간에 서로 유의적인 차이가 없었지만, 신내와 전체적인 기호도(맛) 등은 세 군간의 1% 수준(p<0.01)에서, 전체적인 기호도(냄새), 풋내(맛), 신맛 등은 5% 수준(p<0.05)에서 유의적인 차이를 보였다. 특히 신맛의 경우 변이주 M-10균주 첨가군이 전반적으로 높은 점수를 보여, 변이주 M-10균주를 starter로 첨가함으로써, 김치의 신맛이 지연되는 효과를 얻었으며, 이는 변이주 M-10균주 첨가군이 다른 두 군보다 전 숙성기간 동안 총산의 생성량이 낮았던 점과 일치하는 결과이며, 또한 관능검사 요원들에 의해서도 확인된 것으로 상큼한 맛과 냄새로 인해 전체적인

Table 2. Statistical analysis of sensory evaluation score of starter inoculated *Kimchi*

Day	Sample	Flavor				Taste			
		Fresh-cabbage	Acidic	Moldy	Total acceptability	Fresh-cabbage	Acidic	Moldy	Total acceptability
0	Control	4.00	8.00	7.33	3.56	4.89	8.00	7.25	3.56
	wild K-1	4.00	8.00	7.35	3.57	4.90	8.00	7.50	3.55
	M-10	4.67	8.00	7.56	3.56	5.11	8.00	7.50	3.56
3	Control	5.56	7.11	7.33	4.25	6.00	8.00	7.11	4.25
	wild K-1	5.55	7.53	7.33	4.29	5.83	8.00	7.22	4.32
	M-10	5.50	7.78	7.56	4.57	5.50	7.78	6.89	4.57
7	Control	6.60	5.78	7.80	6.20	6.60	6.60	7.40	6.22
	wild K-1	6.68	5.90	7.71	6.20	6.73	7.34	7.35	6.31
	M-10	6.67	6.44	7.20	6.22	6.67	7.20	7.11	6.25
10	Control	7.75	5.00	7.75	7.00	7.43	5.00	8.00	6.67
	wild K-1	7.76	5.33	7.83	7.11	7.38	6.22	8.00	6.79
	M-10	7.25	5.75	7.56	7.00	7.25	6.44	7.75	6.80
14	Control	7.53	5.00	7.11	6.67	7.33	5.11	7.33	6.44
	wild K-1	7.53	5.08	7.68	6.90	7.41	6.00	7.35	6.91
	M-10	7.56	5.14	7.56	6.89	7.25	6.20	7.33	6.89
17	Control	7.71	5.14	7.71	6.67	8.00	4.00	7.14	6.29
	wild K-1	7.70	5.16	7.83	6.70	8.03	4.53	7.22	6.32
	M-10	7.71	5.14	7.71	6.85	7.71	4.86	7.67	6.67
21	Control	7.33	4.67	7.56	6.57	8.00	4.22	7.33	6.22
	wild K-1	7.49	4.70	7.82	6.73	7.85	4.44	7.41	6.21
	M-10	7.78	4.75	7.75	6.67	7.71	4.57	7.75	6.44
24	Control	7.43	3.71	7.43	6.29	8.00	3.75	7.25	6.00
	wild K-1	7.47	3.71	7.22	6.25	7.92	3.92	7.50	6.10
	M-10	7.71	4.00	7.14	6.29	7.75	4.00	7.50	6.25
28	Control	7.71	4.00	7.14	6.57	8.00	3.43	7.43	6.00
	wild K-1	7.70	4.05	7.20	6.55	8.00	3.49	7.68	6.02
	M-10	7.71	4.30	8.00	6.57	7.71	3.60	7.71	6.25
31	Control	7.75	3.50	6.50	5.50	8.00	3.75	6.50	5.71
	wild K-1	7.78	3.55	6.75	5.62	8.00	3.81	6.66	5.71
	M-10	8.00	3.60	7.25	5.75	8.00	3.43	6.75	5.75
	Control	6.94± 1.18 ^{A)}	5.20± 1.37 ^a	7.38± 0.36	5.93± 1.09	7.20± 1.01	5.19± 1.66	7.00± 0.66	5.74± 0.96
	wild K-1	6.96± 1.19	5.30± 1.42 ^a	7.47± 0.34	5.99± 1.11 ^b	7.21± 1.02 ^a	5.58± 1.67 ^a	7.38± 0.33	5.82± 1.02 ^b
	M-10	7.05± 1.06	5.49± 1.63 ^b	7.57± 0.29	6.04± 1.07	7.13± 1.06	5.49± 0.29	7.40± 0.35	5.92± 1.06
	F value	0.3	12 ^{**}	1.83	5.0 [*]	5.77 ^{**}	5.87 [*]	1.73	10.42 ^{**}

^{A)} Mean ± S.D

^{*}Significance at p<0.05

^{**}Significance at p<0.01

Means with same superscripts in a row are significantly different (p<0.05)

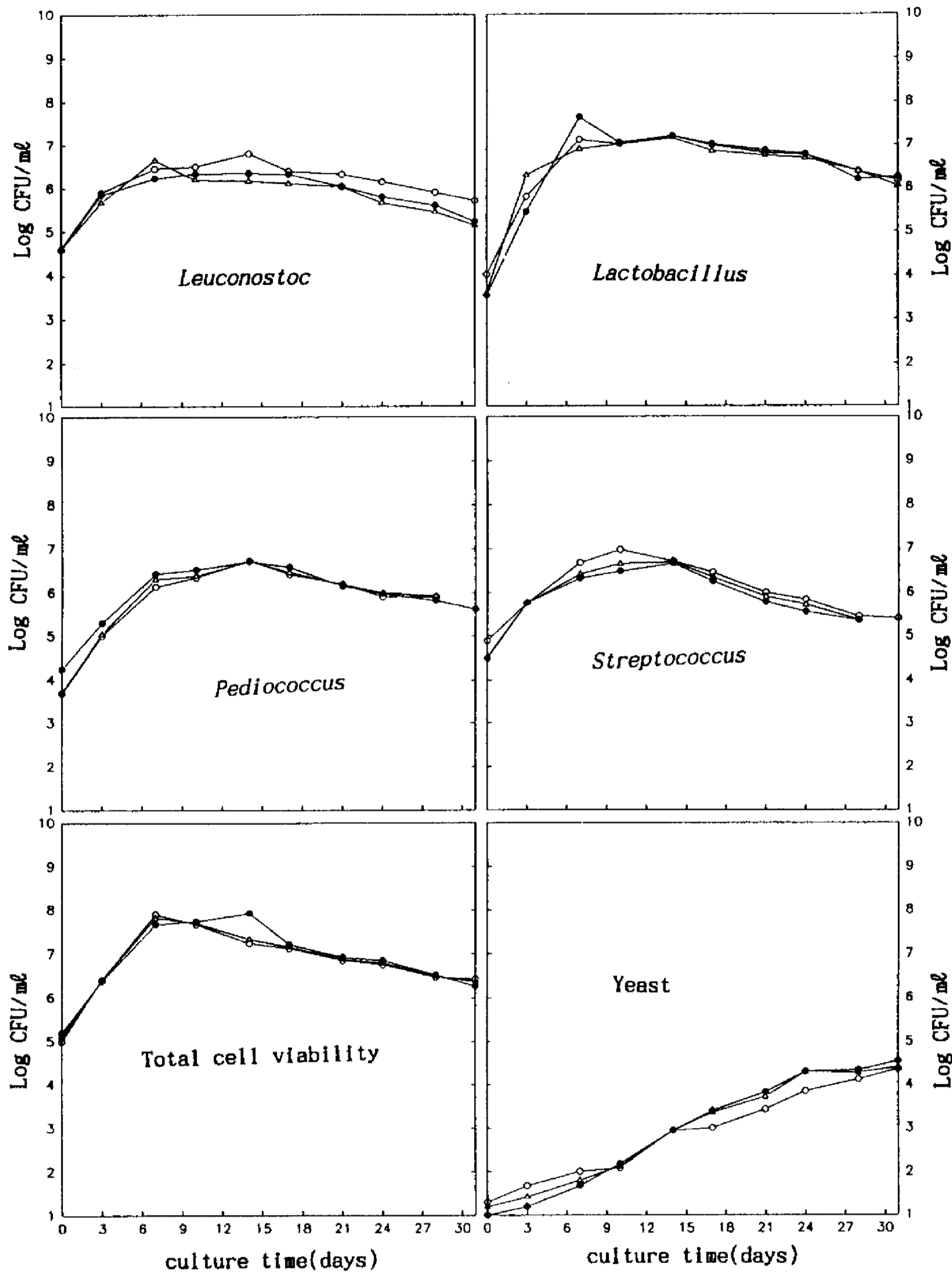


Fig. 12. Microfloral changes of lactic acid bacteria and yeast during *Kimchi* fermentation at 10°C.

Symbols: (Δ - Δ) Control *Kimchi* group; (\bullet - \bullet) Wild K-1 starter inoculated *Kimchi* group; (\circ - \circ) Mutant M-10 starter inoculated *Kimchi* group

기호도가 높았던 것으로 사료된다.

내산성 변이주 M-10균주를 starter로 첨가한 김치 젖산균의 변화

Fig. 12는 M-10균주를 starter로 첨가했을 때, 젖산균의 경시적 변화를 나타낸 것이다. 전체적으로 *Leu-*

conostoc 속과 *Streptococcus* 속은 발효초기에는 증가하다가 후기로 갈수록 타 균에 비하여 군수가 줄어들었다. 이것은 이(18)의 보고와도 일치하였다. 그런데 변이주 M-10균주 첨가군의 경우 *Leuconostoc* 속은 발효 12일 이후부터 감소하였으나, 대조군이나 야생주 K-1균주 첨가군에 비해 그 속도가 완만하였다. Fig. 12

의 *Leuconostoc* 속의 균주가 12일째부터 사멸하는 것은 변이주 M-10균주가 젖산에 대한 내성이 크지 못하여 나타난 결과라고 사료된다.

따라서 수소이온에 대한 내성 뿐 아니라 젖산 및 초산에 대한 내성을 갖는 균주로의 변이와 내산성이면서 저온에서도 잘 자라는 균주의 개발이 필요하다고 하겠다.

요 약

김치로부터 *Leuconostoc mesenteroides* 균주를 선별한 후, NTG로 변이처리를 하여 내산성이며, 낮은 pH에서도 증식하며, 높은 CO₂ 생성 능력을 갖는 균주로 개량하였다. HCl로 pH를 조절한 MRS 배지에서 변이주 M-10균주는 30°C에서 pH 5.0~3.5, 20°C에서는 pH 5.0~3.8, 10°C에서는 pH 3.3까지에서 증식을 나타내었다. 20°C, 10°C에서 변이주 M-10균주가 야생주 K-1균주 보다 더 많은 CO₂를 생성하였다. 젖산으로 pH를 조절한 MRS배지에서 내산성 변이주 *Leuconostoc mesenteroides* M-10균주가 받는 증식저해 영향은 야생주 K-1균주에 대한 것보다 적었다. 내산성 변이주 *Leuconostoc mesenteroides* M-10균주를 김치에 starter로 첨가하였을 때 10°C에서 야생주 K-1균주에 비하여 당소비가 떨어지고 pH 변화량과, 총산도 증가 폭도 감소하고, 상쾌미에 의한 기호도도 향상되는 것이 나타났다.

감사의 말

본 연구는 1992년도 한국음식문화원 연구비 지원으로 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. 조재선. 1988. 김치의 이화학적 특성. *식품과학* 21(1): 25-32.
2. 천종희, 이혜수. 1976. 김치의揮發性有機酸과 이산화탄소에 관한 研究. *한국식품과학회지* 8: 90-94.
3. Atlas, R.M. 1993. *Handbook of microbiological media*. Parks, L.C. CRC press.: 621-622.
4. Sneath, P.H.A., H.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Williams & Wilkins: 988-1216.
5. 한홍의, 임종락, 박현근. 1990. 김치발효의 지표로서

- 미생물 군집의 측정. *한국식품과학회지* 22: 26-32.
6. MacFaddin, J.F. 1980. *Biochemical tests for identification of medical bacteria* (2 edition). Williams and Ilhins, London.
7. 長谷川武治. 1987. *微生物の分類と同定(上,下)*. 學會出版センター.
8. Schleeif, R.F. and P.C. Wensink. 1987. *Practical methods in molecular biology*. Springer-Verlag: 17-18.
9. 윤석인, 박길동, 김영찬, 임영희, 이철. 1988. 김치보존성 연구. *한국식품공업협회, 식품연구소*: 24-117.
10. 천종희, 이혜수. 1976. 김치의 휘발성 유기산과 이산화탄소에 관한 연구. *한국식품과학회지* 8: 90-94.
11. A.O.A.C. 1990. *Official Methods of Analysis, fruits and products acidity (Titratable) of fruit products*: 420.
12. Gail Lorenz Miller. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *In analytical chemistry* 31: 426.
13. 이상금, 신말식, 전덕영, 홍윤호, 임현숙. 1989. 마늘 첨가량을 달리한 김치의 숙성에 따른 변화. *한국식품과학회지* 21: 68-74.
14. 구경형, 강근옥, 김우정. 1988. 김치의 발효중 품질 변화. *한국식품과학회지* 20: 476-482.
15. 김현옥, 이혜수. 1975. 숙성온도에 따른 김치의 비휘발성 유기산에 관한 연구. *한국식품과학회지* 7: 74-81.
16. SAS. 1988. *SAS user's guide. Statistics*.
17. 官尾茂雄, 小川敏男. 1988. 醱酵漬物中の各種乳酸菌群の選擇計數. *日本食品工業學會誌* 35: 610-617.
18. 이철우, 고창영, 하덕모. 1992. 김치발효중의 젖산균의 경시적 변화 및 분리 젖산균의 동정. *한국산업미생물학회지* 20: 102-109.
19. Moat, A.G. 1979. *Microbial physiology*, Wiley-Interscience, John Wiley and Sons: 123-189.
20. McDonald, L.C., R.F. McFeeters, M.A. Daeschel, and H.P. Fleming. 1987. A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* 53: 1382-1384.
21. 구영조. 1992. 김치산업기술개발 현황과 미래. *생물산업(한국산업미생물학회)* 5: 43-51.
22. 임종락, 박현근, 한홍의. 1989. 김치에 서식하는 Gram 양성세균의 분리 및 동정의 재평가. *한국산업미생물학회지* 27: 404-414.
23. 민태익, 권태완. 1984. 온도와 염농도의 김치발효에의 영향. *한국식품과학회지* 16: 443-450.
24. 이양희, 양익환. 1988. 우리나라 김치의 포장과 저장 방법에 관한 연구. *한국농화학회지* 13: 207-218.

(Received 5 January 1995)