

남은 음식물 발효를 위한 내염성 유산균의 분리

양시용 · 박홍양 · 김창원 · 박근규*

건국대학교 동물자원연구센터

Isolation of Halotolerant Lactic Acid Bacteria for Fermentation of Food Wastes

Yang, S. Y., Park, H. Y., Kim, C. W. and Park, K. K.*

Animal Resources Research Center, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Summary

The objective of this study was isolation of halotolerant lactic acid bacteria for fermentation of food wastes. 5 strains of lactic acid bacteria were isolated from fermented foods. Among isolated strains, the strain 5-2 was selected according to the growth characteristics in food wastes containing medium. The selected strain 5-2 was identified as *Pediococcus acidilactici* based on its biochemical characteristics.

(Key words : *Pediococcus acidilactici*, Food wastes, Fermentation)

서 론

남은 음식물의 처리 방안으로는 크게 가축 사료화(김판경 등, 1998; 서은희 등, 1997), 퇴비화(백영민과 정재춘, 1994; 윤하연 등, 1994; 이성택 등, 1994; 정재춘 등, 1999; 최민호 등, 1996, 소화(김영권 등, 1998; 신항식 등, 1993; 조재경 등, 1994), 소각 등으로 나눌 수 있다. 이 중 가축 사료화 방안은 거의 전량 수입에 의존하는 사료 원료를 대체할 수 있을 뿐만 아니라 환경오염을 방지할 수 있는 측면에서 많은 관심과 연구가 진행되고 있다. 음식물 쓰레기의 가축 사료화는 일반적으로 살균 및 발효(fermentation) 과정을 통해 가축에게 유용한 형태의 사료로 제조되어진다. 따라서 식물성 성분이 많고 염분 함량이 높은 국내 남은 음식물 발효에 적합하며 가축에게 유용한 미생물의 개발이 요구되고 있다(김판경 등, 1998). 본 연구는 다양한 식

물성 발효식품으로부터 국내 남은 음식물 환경에서 성장이 우수한 유산균을 얻기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

1. 미생물의 분리

유산균의 분리를 위해 김치, 장아찌, 사일리지(silage) 등 여러 식물성 발효식품에서 얻은 시료를 멸균된 생리식염수(0.85% NaCl)를 이용하여 적당히 희석하여 유산 등의 산 생성에 의해 배지색깔이 자주색에서 노란색으로 변하는 유산균수 측정용 배지인 BCP agar를 이용하여 산 생성이 우수한 균주들을 분리하였다. 분리 균주들 중 내염성 균주를 얻기 위해 3%(w/v) NaCl을 함유한 멸균된 MRS broth에 접종하여 37°C, 150 rpm으로 20 시간 진탕배양 후 성장이 우수한 5 균주를

선발하였다. 미생물의 성장은 spectrophotometer(Kontron사, Model No. 922)를 이용하여 600 nm에서 흡광도(O.D)를 측정하여 성장도를 파악하였다.

2. 남은 음식물 함유 배지에서의 성장도

선발된 5 균주를 인천지역 아파트단지에서 수거해 온 남은 음식물 30%(w/v)와 여기에 당밀 2%(w/v)를 함유한 것을 배양액으로 121 °C, 1.5기압 조건에서 15분간 멸균시킨 다음 MRS broth에서 20시간 미리 배양한 배양액을 접종액으로 1.0%(v/v) 접종하여 37°C, 150 rpm으로 20시간 진탕배양 후 미생물 성장이 가장 우수한 최종 1 균주를 최종 선발하였다. 미생물의 성장은 연속희석법에 따라 희석 후 유산균 수 측정배지인 BCP agar에 도말한 다음 37°C에서 24 시간 배양 후 콜로니 부근이 노란색으로 변하는 콜로니 수를 유산균 수로 측정하였다.

3. 미생물 동정

최종적으로 선발된 균주는 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Kandler와 Weiss, 1986)에 따라서 실시하였는데 현미경 관찰, BCP agar 상에서의 유기산 생성여부, 그람염색 등과 API 50 CH 균 동정 kit(Bio Merieux Vitek, Inc.)를 이용한 생화학적 시험을 통해 동정하였다.

4. 내염성 조사

동정된 *Pediococcus acidilactici*는 내염성이 있는 것으로 알려져 있는 유산균주로 한국종균협회로부터 분양받은 *Pediococcus acidilactici*(KCCM 11746)를 비교를 위한 표준균주로 하여 NaCl 첨가수준에 따른 미생물 성장도를 비교하였다. 미생물의 성장은 spectrophotometer(Kontron사, Model No. 922)를 이용하여 600 nm에서 흡광도(O.D)를 측정하여 성장도를 파악하였다.

결과 및 고찰

1. 유산균의 분리

남은 음식물 발효에 적합한 유산균주를 얻기 위해 1차적으로 분리된 유산균 5 균주를 3% NaCl이 함유된 MRS broth에서 배양할 경우 pH 변화 및 균주 성장도를 비교한 결과 Table 1에 나타난 바와 같이 5-2 균주가 pH도 가장 낮았으며, 균주성장도 가장 우수하였다. Lee와 No(1997)에 의하면 발효 후 pH가 낮은 유산균일수록 내산성이 높은 경향을 나타낸다고 하였는데 이러한 측면에서 분리 균주들 중 가장 내산성이 우수할 것으로 파악된다.

Table 1. Change of pH and cell growth of 1st selected strains in MRS broth containing 3%(w/v) NaCl^{1,2}

| Strains | pH | Cell growth (O.D., 600nm) |
|---------|-------------|---------------------------|
| 2-3 | 4.78 ± 0.02 | 1.75 ± 0.08 |
| 3-7 | 4.22 ± 0.10 | 2.12 ± 0.12 |
| 5-2 | 4.02 ± 0.01 | 3.01 ± 0.02 |
| 11-9 | 4.89 ± 0.03 | 2.71 ± 0.02 |
| 14-2 | 4.02 ± 0.03 | 2.77 ± 0.02 |

¹ Means ± STD

² Culture conditions : 37°C, 150 rpm, 20 hr

Table 2. Cell growth in medium containing food wastes^{1,2}

| Strains | Culture time(h) | |
|---------|-----------------------|-----------------------|
| | 10 | 24 |
| 2-3 | 2.7 × 10 ³ | 2.7 × 10 ³ |
| 3-7 | 1.0 × 10 ³ | 1.2 × 10 ³ |
| 5-2 | 5.7 × 10 ³ | 3.0 × 10 ⁷ |
| 11-9 | 2.5 × 10 ⁴ | 2.7 × 10 ³ |
| 14-2 | 2.1 × 10 ³ | 2.7 × 10 ⁴ |

¹ 30%(w/v) food wastes and 2%(w/v) molasses

² Culture conditions: 37°C, 150 rpm, 20 hr

또한 남은 음식물 발효에 이용하기 위해 남은 음식물을 함유한 배지에서 균주 성장도를 파악한 결과 Table 2에 나타난 바와 같이 5-2 균주가 가장 성장도가 높아 남은 음식물 발효에 가장 적합한 것으로 파악되었다.

대부분의 당 이용 및 발효는 동일하였으나 rhamnose의 경우 KCCM 11746 균주는 발효시켰으나 분리균주는 발효시키지 않는 것으로 나타났다.

2. 유산균의 동정

분리 유산균인 5-2 유산균은 99.4%의 신뢰도로 *Pediococcus acidilactici*로 동정되었다 (Table 3). 이때 동정의 정확성과 기존의 균주와의 차이를 확인하기 위해 한국중균협회로부터 분양받은 *Pediococcus acidilactici* (KCCM 11746)를 대조구로 하여 비교한 결과

3. 유산균의 내염성 조사

분리 유산균 5-2의 내염성을 조사한 결과 5% NaCl 함유 조건에서도 성장이 우수하였으며, 비교를 위해 한국중균협회로부터 분양 받은 *Pediococcus acidilactici*(KCCM 11746)를 대조구로 하여 비교한 결과 5% NaCl 함유 조건에서 KCCM 11746 균주와 내염성이 거의 비슷한 것으로 나타났다(Table 4).

Table 3. Biochemical characteristics of the 5-2 strain

| Item | 5-2 | KC CM 11746 | Item | 5-2 | KC CM 11746 |
|----------------------|-----|-------------------|-------------------|-----|-------------------|
| Glycerol | - | - | Salicine | + | + |
| Erythritol | - | - | Cellobiose | + | + |
| D-Arabinose | - | - | Maltose | - | - |
| L-Arabinose | + | + | Lactose | + | + |
| Ribose | + | + | Melibiose | - | - |
| D-Xylose | + | + | Saccharose | - | - |
| L-Xylose | - | - | Trehalose | - | - |
| Adonitol | - | - | Inuline | - | - |
| β-Methyl-xyloside | - | - | Melezitose | - | - |
| Galactose | + | + | D-Raffinose | - | - |
| D-Glucose | + | + | Amidon | - | - |
| D-Fructose | + | + | Glycogen | - | - |
| D-Mannose | + | + | Xylitol | - | - |
| L-Sorbose | - | - | β-Gentiobiose | + | + |
| Rhamnose | - | + | D-Turanose | - | - |
| Dulcitol | - | - | D-Lyxose | - | - |
| Inositol | - | - | D-Tagatose | + | + |
| Mannitol | - | - | D-Fucose | - | - |
| Sorbitol | - | - | L-Fucose | - | - |
| α-Methyl-D-mannoside | - | - | D-Arabitol | - | - |
| α-Methyl-D-glucoside | - | - | L-Arabitol | - | - |
| N-Acetyl glucosamine | + | + | Gluconate | + | + |
| Amygdaline | + | + | 2 aceto-gluconate | - | - |
| Arbutine | + | + | 5 aceto-gluconate | - | - |
| Esculine | + | + | | | |

+: positive, -: negative, +: weakly positive.

Table 4. Halotolerance of the 5-2 strain¹

(O.D., 600nm)

| Strains NaCl (%, w/v) | 5-2 | | | KCCM 11746 | | |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| | 0 h | 6 h | 12 h | 0 h | 6 h | 12 h |
| 0 | 0.14±0.01 | 2.65±0.01 | 2.79±0.00 | 0.13±0.00 | 2.55±0.11 | 2.74±0.02 |
| 5 | 0.15±0.03 | 1.82±0.05 | 2.39±0.01 | 0.14±0.02 | 0.79±0.03 | 2.07±0.07 |
| 7 | 0.15±0.03 | 0.18±0.00 | 0.25±0.01 | 0.15±0.03 | 0.20±0.00 | 0.24±0.01 |

¹Means ± STD

적 요

본 연구는 남은 음식물 발효를 위한 내염성 유산균의 분리에 관한 것이다. 1차적으로 내염성이 우수한 유산균 5 균주가 선발되었으며, 이 중 남은 음식물 함유 배지에서 성장이 가장 우수한 5-2 균주가 최종 선발되었다. 분리된 유산균을 생화학적 특성을 이용하여 동정한 결과 *Pediococcus acidilactici*로 동정되었다. 분리 균주의 내염성을 조사한 결과 5% NaCl 조건에서도 성장이 우수하여 남은 음식물 발효용 균주로 효과적으로 이용할 수 있을 것이다.

인 용 문 헌

1. Claus, D. and Berkeley, R. C. W. 1986. Genus *Pediococcus*, pp 1075-1079. In Sneath, P. H. A. (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
2. Lee, S. H. and No, M. J. 1997. Viability in artificial gastric and bile juice and antimicrobial activity of some lactic acid bacteria isolated from *Kimchi*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25:617-622.
3. 김영권, 홍명표, 김명진, 홍석일, 박명석, 김종석, 장호근. 1998. 음식물찌꺼기 소멸 효율 재고를 위한 발효균 및 발효 공정 최적화 연구. *유기성폐기물자원화*. 6: 95-112.
4. 김관경, 박승춘, 손천배, 김명희, 오태광

1998. 동물 사료화를 위한 음식물 쓰레기의 미생물 분포 변화. *한국임상수의학회지*. 15:156-161.
5. 백영민, 정재춘. 1994. 집단 급식소의 음식물 쓰레기의 퇴비화에 관한 연구. *한국폐기물학회지*. 11:29-40.
6. 서은희, 송은승, 한익, 이성택, 양재경, 이기영. 1997. 종균 첨가에 의한 음식물 찌꺼기의 발효 사료화. *유기성폐기물자원화*. 5:1-13.
7. 신항식, 문민주, 송영채, 배병욱. 1993. 생분해도 실험에 의한 주방 폐기물의 혐기성 소화 타당성 연구. *한국폐기물학회지*. 10:35-42.
8. 윤하연, 유기영, 박후원, 김갑수, 유명진. 1994. 음식물 쓰레기 호기성 퇴비화 시설의 설계변수 및 운전조건 도출에 관한 연구. *한국폐기물학회지*. 11:377-387.
9. 이성택, 이재정, 나현준. 1994. 퇴비화 과정에 관여하는 생체 고분자 분해 미생물 및 황산 환원균의 분리. *유기성폐기물자원화*. 2:31-37.
10. 정재춘, 박형숙, 김중기, 박용남, 김경숙, 원효정. 1999. 퇴비화 공정에 출현하는 미생물의 종류 및 생태학적 기능. *유기성폐기물자원화*. 7:1-23.
11. 조재경, 이준표, 이진석, 박순철, 장호남. 1994. 주방 폐기물의 고상 혐기성 소화에 관한 연구. *한국폐기물학회지*. 11:556-568.
12. 최민호, 정윤진, 박연희. 1996. 종균 첨가가 음식물 쓰레기 퇴비화 미생물에 미치는 영향. *유기성폐기물자원화*. 4:1-11.