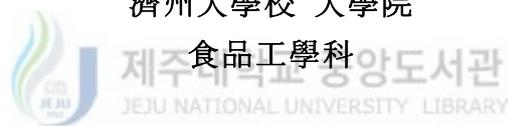


碩士學位論文

시판 김치로부터 분리한 유산균에
의한 아질산염 소거



濟州大學校 大學院

食品工學科

高 廷 林

2001年 12月

시판 김치로부터 분리한 유산균에
의한 아질산염 소거

指導教授 金 洙 賢

高 廷 林

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함

2001年 12月

高廷林의 工學 碩士學位 論文을 認准 함

審査委員長 河 璉 桓 (印)

委 員 任 尙 彬 (印)

委 員 金 洙 賢 (印)

濟州大學校 大學院

2001年 12月

Depletion of Nitrite by Lactic Acid Bacteria
Isolated from Commercial Kimchi

Jung-Rim Ko

(Supervised by Professor Soo-Hyun Kim)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF ENGINEERING

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND ENGINEERING
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

2001. 12.

목 차

Summary	1
I. 서 론	3
II. 연구사	7
1. 김치발효 미생물	7
2. 아질산염의 효과 및 피해	9
3. 아질산염 소거에 기인하는 인자	11
4. 유산균의 항암활성 및 항돌연변이 효과	13
III. 재료 및 방법	16
1. 유산균의 분리 및 동정	16
1) 유산균 분리용 김치시료	16
2) 유산균의 분리	17
3) 유산균의 동정	18
(1) 배지	18
(2) 시약	20
2. 유산균에 의한 아질산염 소거	20
3. 아질산염의 정량	21
1) 시약	21
2) 실험방법	22

IV. 결과 및 고찰	24
1. 시판 김치 분리유산균의 동정	24
1) <i>Lactobacillus plantarum</i> 종의 동정	24
2) <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>pseudoplantarum</i> 종의 동정	30
3) <i>Lactobacillus sake</i> 종의 동정	30
4) <i>Lactobacillus coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> 종의 동정	31
5) <i>Lactobacillus brevis</i> 종의 동정	31
6) <i>Lactobacillus confusus</i> 종의 동정	35
7) <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> 종의 동정	35
2. 시판 김치 분리유산균에 의한 아질산염 소거	37
1) 시판 김치 분리유산균의 15℃에서 아질산염의 소거	37
(1) 배추김치 분리유산균의 아질산염 소거	37
(2) 총각김치 분리유산균의 아질산염 소거	39
(3) 깍두기 분리유산균의 아질산염 소거	41
(4) 파김치 분리유산균의 아질산염 소거	41
2) 시판김치 분리유산균의 25℃에서 아질산염의 소거	44
(1) 배추김치 분리 유산균의 아질산염 소거	44
(2) 총각김치 분리 유산균의 아질산염 소거	44
(3) 깍두기 분리 유산균의 아질산염 소거	47
(4) 파김치 분리 유산균의 아질산염 소거	47
3) 시판 김치분리 유산균에 의한 아질산염 소거 고찰	50
V. 요약	54
VI. 참고문헌	56

Summary

This study was carried out to investigate the depletion of nitrite during incubation of lactic acid bacteria isolated from commercial kimchi. These bacteria were incubated into Lactobacilli MRS broth at 15°C and 25°C. Among 12 strains of lactic acid bacteria isolated from Baechu kimchi(pH 4.0), 8 were identified as *Lactobacillus plantarum*, 2 as *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, 1 as *Lactobacillus sake* and 1 as *Lactobacillus brevis*. Among 6 strains of lactic acid bacteria isolated from Chongkak-kimchi(pH 4.5), 1 isolates were identified as *L. plantarum*, 4 as *Lactobacillus confusus* and 1 as *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*. Among 15 strains of lactic acid bacteria isolated from Kaktugi(pH 4.0), 2 isolates were identified as *L. plantarum*, 4 as *L. casei* subsp. *pseudo plantarum*, 4 as *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens*, 5 as *L. brevis*. Among 23 strains of lactic acid bacteria isolated from Pa-kimchi(pH 4.1), 22 strains were identified as *L. plantarum*, 1 as *L. sake*. The ability of these isolates to deplete nitrite during growth at 15 and 25°C in MRS broth containing 100µg/ml of nitrite was examined. *L. brevis* depleted 74.9~91.3% of nitrite in the model system for 2 days of growth at 15°C. *L. coryniformis* subsp. *torquens*, *L. plantarum*, *L. sake*, and *L. casei* subsp. *pseudoplantarum* depleted 82.8~92.1%, 77.8~93.7%, 82.5~83.5%, and 71.9~85.6% of nitrite(100µg/ml) for 3 days of growth at 15°C. *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* and *L. confusus* depleted than 95% and 50.2~56.8% and

of nitrite for 7 days of growth at 15°C. All lactic acid bacteria required induction periods for adapting to nitrite and was remarkably depleted nitrite after 1 day of growth at 15°C, with the exception of *L. brevis*. All lactic acid bacteria did not required those periods and showed the high effect of depletion at 25°C. *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. sake*, *L. coryniformis* subsp. *torquens* and *L. brevis* depleted 90% of nitrite for 1 day of growth at 25°C. *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* and *L. confusus* depleted 98.1% and 70.1~73.0% of nitrite for 3 days of growth at 25°C.



I. 서 론

유산균은 인간이 이용할 수 있는 가장 유익한 미생물 중의 한 종류로 산업적으로 오랫동안 이용되어왔으며 발효식품의 주요 미생물로서 식품의 저장수명을 연장시켜 식품보존에 중요한 역할을 한다(Michael, 1996). 또한 우유, 곡물, 육류 및 채소류 등의 발효에 관여하여 발효유, 치즈, 버터 등의 우유 가공품과 소시지와 같은 육가공품 및 우리나라의 김치, 간장, 된장 등의 자연발효 식품에 중요한 역할을 담당하고 있다(이와 박, 1999).

특히 우리나라 고유의 발효식품인 김치는 배추나 무를 주원료로 마늘, 생강, 파, 고춧가루, 젓갈 등 다양한 향신료를 첨가하여 발효시킨 채소발효식품으로서 비타민과 무기질의 조절 영양소로의 역할 및 식이섬유소 공급원 그리고 발효과정에서 생성된 유산균 및 유기산에 의하여 정장작용에도 중요하게 작용한다(박, 1997). 또한 김치는 항변이 및 항암효과를 보이는 생리활성물질들이 존재하는 다양한 재료를 이용하여 제조되며, 유산균뿐만 아니라 여러 효소와 미생물들이 관여하는 복잡한 발효과정을 거치면서 또 다른 생리활성물질들을 생성하므로 한국은 물론 세계적인 식품으로 영양공급 및 건강유지를 위해 중요한 역할을 한다(최와 황, 2000; 박과 최, 2000).

김치는 각종 재료에 부착되어 있는 다양한 미생물들이 그대로 혼입되고 이 미생물들이 연속적으로 작용하여 발효가 진행된다. 유산균들만이 우세하게 증식할 수 있는 환경이 조성되면 유산균에 의한 발효가 연속적으로 진행되는 복잡한 과정을 거치게 된다(소, 1993).

김치숙성의 주 발효균은 유산균들이지만, 초기에 번식하는 호기성균들도 어느 정도 김치숙성에 관여하며 또 유산균 종류에 따라 각각 그들의 작용이 다르다. 또한 이러한 균들이 작용하게 되면 재료가 분해되고 균들에 의

해서 합성되는 성분들, 특히 향미성분들도 각각 다르게 된다(조, 1991).

김치는 외국의 sauerkraut와 마찬가지로 초기에는 *Leuconostoc*속이 우세하게 증식하여 초기의 산생성을 주도하고 뒤이어 *Streptococcus*속과 *Pediococcus*속이 약간 증식한 후 발효후기에 *Lactobacillus*속이 왕성하게 증식하는 것으로 알려져 있다(Stamer 등, 1971). 유산균의 온도에 따른 경시적 변화를 보면 낮은 온도에서 *Leuconostoc*속은 증가하고 기타의 유산균은 감소하는 경향이 있다(이 등, 1992).

유산균은 혈청콜레스테롤의 감소(Gilliland, 1989), 유해균에 대한 항균성(이 등, 1996; 맹 등, 1997), 세균 세포벽 성분의 항종양 활성(Sasaki 등, 1985), 항돌연변이 효과(이와 박, 1999; 손 등, 1998; Thyagaraja와 Hosono, 1992), 항암 특성(Friend와 Shahani, 1984) 등이 있는 것으로 알려져 있다. 예를 들어 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(Goldin과 Gorbach, 1984; 이 등, 1996), 발효유에서 분리한 *Leuconostoc*속 및 *Streptococcus*속 유산균들이 돌연변이물질인 *N*-nitrosodiethylamine (NDEA)에 대하여 강한 항돌연변이 활성을 가지고 있다(Hosono 등, 1990a). 이처럼 유제품 분리유산균에 의하여 유해효소들의 활성억제에 의한 항암 및 항돌연변이 활성 등이 보고되어 왔으며(Goldin과 Gorbach, 1984; Hosono 등, 1990a), 최근에는 cereal과 같은 곡물을 발효시킨 “Dadih”와 “Idly”로부터 분리한 유산균에 의한 항암 및 항돌연변이 활성 등에 대한 연구가 진행되었다(Hosono 등, 1989, 1990b; Thyagaraja와 Hosono, 1992). 국내에서는 김치 유산균에 의한 연구가 수행되면서 유산균에 의해 발암물질 *N*-nitrosamine의 전구물질인 아질산염의 소거, 항돌연변이 및 항종양 활성, 항암 및 면역조절기능 등에 대한 생리활성에 대한 연구가 이루어지고 있다

(이와 박, 2000a, 2000b; 오, 1997).

아질산염은 그 자체가 독성을 나타낼 뿐만 아니라 채소에 다량 함유되어 있는 질산염을 섭취할 경우 위장관에 존재하는 미생물의 작용에 의하여 또는 식품의 저장 중에 질산환원 효소나 환원세균 등의 작용에 의하여 생성되므로 문제시되고 있다(정 등, 1999; Tannenbaum과 Young, 1980). 이처럼 질산염과 아질산염은 식품자체에 다량 함유되어 있거나(정 등, 1999), 육가공식품의 풍미향상, 색소고정, *Clostridium botulinum*의 생육억제 등을 위하여 첨가물로서 다량 사용하게 되면(Gray 등, 1981; Sofos 등, 1979) 적당한 조건에서 아민과 결합하여 강력한 발암물질인 니트로소 화합물을 생성하기도 하며(Mirvish, 1970), 일정 농도 이상 섭취하게 되면 청색증(methemoglobinemia) 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다(Alan 등, 1998). 김치발효 중 *N*-nitrosamine 생성가능성으로 인하여 김치발효 중 nitrite와 *N*-nitrosamine 분석에 관한 연구들이 많이 있는데, 젓갈을 넣은 김치에서 질산염은 감소하나 아질산염은 거의 측정할 수 없었다고 하였으며 아질산염을 첨가하였을 때 비로소 *N*-nitrosamine 생성이 가능하였다고 하였다(김, 1982). 따라서 김치와 *N*-nitrosamine과의 위험성관계는 거의 없거나 우려되는 범위 이하라고 하였다(박, 1995).

식품에서 아질산염의 소거는 주로 육가공품에 첨가했던 아질산염이 소거됨으로 관심을 끌었는데, 이는 pH, 온도 및 저장시간과 관련하여 아질산염의 농도가 감소한다고 보고하였다. 그리고 일부의 아질산염이 세균의 작용에 의하여 소거되기도 한다고 하였으나 확실하게 밝혀진 바는 없다(Nordin, 1969; Sofos 등, 1979). Dodds와 Collins-Thompson(1984)은 유산균은 육류에서 아질산염의 소거에 많은 기여를 한다고 하였는데, 유산균에 의해 생성되는 유산에 의하여 아질산염의 화학적 소거가 증가한 것이라고 하였고, 많은 유산균들이 아질산염을 소거할 수 있는 효소 nitrite reductase를 소유한

다고 하였다. 최근에는 유제품 및 육제품에서 분리한 유산균이 아니라 우리나라 고유의 식품인 김치에서 분리한 유산균을 이용하여 아질산염 소거에 관한 연구가 보고되고 있기도 하다(이와 박, 2000b; 오, 1997).

김치로부터 분리 동정된 유산균들은 요구르트와 같은 유제품으로부터 분리 동정된 유산균들과 마찬가지로 장내 미생물의 균형을 개선함으로써 숙주동물에게 유익한 작용을 하는데(Friend와 Shahani, 1984), 유산균이 갖는 발암억제 효과 및 유산균의 기능성에 대해서는 유발효 식품을 대상으로 한 것이 대부분이며, 대사 활성화에 의해 돌연변이를 유발하는 발암물질 *N*-nitrosamine의 전구물질인 아질산염의 소거에 관한 연구는 거의 연구된 바가 없다. 본 연구에서는 우리나라의 전통발효식품인 김치에서 분리되는 유산균에는 어떤 종류가 있으며, 유산균을 15℃와 25℃에서 배양하면서 아질산염이 어느 정도 소거되는지를 측정하여 김치유산균의 효용성을 밝히고자 하는데 목적을 두었다.



II. 연구사

1. 김치발효 미생물

김치를 담그면 각종 재료에 들어 있던 호기성 미생물들이 작용을 하여 김치국물 중의 산소를 제거하고 나면 내염성 유산균들이 성장하기에 알맞게 되고 젖산이 생성되면 호기성균들은 사멸하게 된다. 이들 유산균도 어느 정도 성장하고 나면 자체 생산된 산에 의해서 사멸된다. 그렇게 되면 김치는 시어지고 마침내 효모나 곰팡이 등이 성장하여 변색되고 물러지며 균 등내 등을 생성하여 섭취할 수 없게 된다(조, 1991). 김치 미생물의 천이 과정은 Gram음성균인 *Aeromonas*속과 Gram양성이며 내생포자생성균인 *Bacillus*속이 출현하는 초기단계, Gram양성균인 유산균이 출현하는 발달단계, *Hansenula*속과 *Brettanomyces*속의 효모가 출현하는 말기 단계로 나눌 수 있다. 김치발효에 해당되는 발달단계는 발효온도가 높아짐에 따라서 발효속도가 증가 할 뿐 아니라, 균종의 다양성이 증가한다(박 등, 1990). 김치 숙성의 주 발효균은 유산균들이지만, 초기에 번식하는 호기성균들도 어느 정도 김치숙성에 관여하며 또 유산균들도 각각 그들의 작용이 다르다. 또한 이러한 균들이 작용하게 되면 재료가 분해되고 균들에 의해서 합성되는 성분들, 특히 향미성분들도 각각 다르게 된다. 김치의 주발효균은 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus cerevisiae*, *Streptococcus faecalis* 등의 혐기성 세균들이 주를 이룬다(조, 1991).

김치도 외국의 sauerkraut와 마찬가지로 발달단계에서 발효초기에는 *Leuconostoc*속이 우세하게 증식하는데 주로 이상발효종(heterofermentative)

인 *L. mesenteroides*가 많이 번식하여 유산, 초산 등의 유기산과 에탄올, CO₂ 등을 발생시켜 초기의 산생성을 주도하고 뒤이어 *Streptococcus*속과 *Pediococcus*속이 약간 증식한 후 발효후기에 가서 *Lactobacillus*속이 왕성하게 증식하며, 특히 정상발효종(homofermentative)인 *L. plantarum*이 유산을 대량 생성하여 발효말기까지 성장한다(조, 1991; Stamer 등, 1971). 그러나 이 등(1992)의 연구에서는 *Lactobacillus*속은 전 발효기간을 통하여 높은 분포를 나타내며 발효의 진행에 따라 조금 감소하는 경향이 있다고 하였다. 저온에서 발효시킨 김치와 중온 또는 고온에서 발효시킨 김치에 관여하는 유산균들의 종류가 다르다(임 등, 1989; 박 등, 1990). 유산균의 온도에 따른 경시적 변화를 보면 낮은 온도에서 *Leuconostoc*속은 증가하고 기타의 유산균은 감소하는 경향이 있으며, *Lactobacillus*속은 온도가 상승할수록 증가한다(이 등, 1992).

김과 황(1959)은 김치의 미생물학적 연구 중 혐기성 세균을 분리 동정하여 김치의 총 균수를 조사한 결과, 염분 2.43%의 통김치는 혐기성 세균이 $78 \times 10^6/g$ 이었고, *L. mesenteroides*, *S. faecalis*, *L. plantarum*, *L. brevis* 등을 동정한 바 있다. 계속된 연구에서 김 등(1960)은 통김치와 동치미에서 약 50균주의 호기성 세균을 분리하여 동정한 결과 *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*속들이었다고 보고하였다.

*L. plantarum*과 *L. mesenteroides*는 채소발효식품에서 많이 발견되는 유산균으로서 김치에서도 많이 발견되며, 당류 발효성에서 maltose와 sucrose는 잘 발효하지만 lactose는 잘 발효하지 못한다(Sneath 등, 1986). Tilbury(1975)는 제당공장의 cane juice에서 많이 검출되는 *L. mesenteroides*를 동정하였다. 이 균은 다른 세균들이 자라기 어려운 고농도의 설탕(15%내외)에서 잘 자라고 다른 균들과는 특이하게 점질물질인 dextran을 생성하는데, 이는 이러한 환경하에서 본균만이 선택적으로 생존하기 위하여 과잉의 설탕을 고분

자인 dextran으로 전환하여 삼투압을 줄이고 차후의 energy원으로 당류를 비축하는 능력을 습득한 결과라고 하였다.

2. 아질산염의 효과 및 피해

아질산염에 대한 절임육류의 안전성은 1970년대에 대단한 논쟁의 주제였으며, 지금도 아질산염에 대한 안전성은 중요시 되고 있다(Cassens, 1995). 아질산염은 절임 육류에서 특정한 색, 향, 조직감 등을 부여함은 물론 식품 유래 병원균인 *Clostridium botulinum*의 성장 및 독소생성물을 감소시켜준다(Gray 등, 1981; Sofos 등, 1979). 질산염과 아질산염은 여러 국가에서 육류 절임에 사용되고 있으며, 미국에서는 1990년대 초부터 농림성(U.S. Department of Agriculture, USDA)에 의하여 규제되고 있다. 절임 육류에 있어서 질산염과 아질산염의 사용에 대한 실제적인 변화는 1970년대에서 이루어졌으며 질산염의 사용은 결국 금지되었다. 허용되는 아질산염의 농도는 아질산나트륨으로 최대 156ppm을 첨가하도록 하고 있으나, 실제로는 120ppm 이하의 낮은 양이 사용되고 있다(Cassens, 1995). 우리나라의 식품 첨가물공전을 보면 보존료 및 색소고정제로 사용이 허가되고 있으며, 그 사용량은 식육가공품은 0.07g/kg, 어육 소시지류 및 어육햄류는 0.05g/kg, 명란젓 및 연어알젓은 0.005g/kg으로 규제되고 있다.

아질산염은 아민과 반응하여 pH 3.4에서 니트로화 반응이 최적이므로 체내 섭취시 위액 pH가 1~4 범위내에서 강력한 발암물질인 니트로소 화합물을 생성한다(Mirvish, 1970). 그리고 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈액 중의 헤모글로빈이 메트헤모글로빈으로 산화되어 청색증(methemoglobinemia) 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다(Alan 등, 1998). 이처럼 아질

산염에 대한 피해가 크므로 아질산염 섭취량을 줄이는 것이 시급하지만, 육류의 유해 병원성균에 대한 안전성을 위해서는 충분한 수준으로 남아 있어야 한다는 이중성을 가지고 있다(Cassens, 1995).

아질산염은 채소에 다량 함유되어 있는 질산염을 섭취할 경우 위장관에 존재하는 미생물의 작용에 의해 또는 식품의 저장 중에 질산환원 효소나 환원세균 등의 작용에 의하여 생성된다(정 등, 1999; Tannenbaum과 Young, 1980). 그러나 질산염의 아질산염으로의 세균적 환원은 낮은 pH에서는 일어나지 않으며, 흡수된 아질산염도 또한 혈액에서 질산염으로 쉽게 산화된다(Cassens, 1995).

질산염, 아질산염 및 *N*-nitroso 화합물의 총 섭취량은 절임 육류 이외의 많은 물질 등에 의해 영향을 받는다. 음료수에 존재하는 질산염은 아주 다양하며, 녹색잎 채소류 및 뿌리 채소류에 상당량의 질산염이 함유되어 있다. 1981년 National Academy Science의 연구에 의하면 아질산염의 약 87%가 채소류에서 유래된다고 하였는데, 이는 질산염 비료의 사용에 의하여 영향을 받는다. 우리나라의 경우 국내배추의 질산염 함량은 362~3,015mg/kg으로 평균 1,498mg/kg이고, 무는 273~5,141mg/kg으로 평균 1,551mg/kg이다(정 등, 1999). 이외에도 우리가 살고 있는 환경에서 담배 흡연 등으로부터 질소 산화물을 제공한다(Cassens, 1995).

FAO/WHO에 의해 설정된 일일 섭취 허용량(Acceptable Daily Intakes, ADI)은 대표적인 60kg 성인에 대하여 NO_3 220mg과 NO_2 8mg이다(Schuddeboom, 1993). Cornee 등(1992)은 프랑스 식료품에서 질산염, 아질산염, *N*-nitrosodimethylamine(NDMA)에 대해 추정치를 발표하였는데 하루 1인당 평균 1일 질산염 섭취량은 121mg으로서 채소에서 85%, 저장 및 절임 육류에서 5%, 곡류 제품에서 5%라 하였으며, 하루 1인당 평균 아질산염 섭취량은 1.88mg으로 채소에서 43%, 절임육류에서 28%, 곡류에서

16%로 나타났다고 하였다.

3. 아질산염 소거에 기인하는 인자

식품에서 아질산염의 소거는 주로 육가공품에 식품첨가물로서 첨가했던 아질산염이 소거됨으로 관심을 끌었는데 이러한 감소는 pH, 온도 및 저장 시간과 관련하여 아질산염의 농도가 감소한다고 보고하였으며, 일부의 아질산염이 세균의 작용에 의하여 소거되기도 한다고 하였으나 확실하게 밝혀진 바는 없다(Nordin, 1969; Sofos 등, 1979). Collins-Thompson과 Rodriguez-Lopez(1981)는 bologna 소시지에서 분리된 유산균을 접종한 진공포장된 bologna 소시지에서 아질산염이 감소됨을 발견하였는데 아질산염 감소의 30%는 유산균 작용에 의한 것이라 하였다. Dodds와 Collins-Thompson(1984)은 여러 소시지들로부터 유산균들을 분리하였는데 이 유산균들은 육류에서 아질산염의 소거에 많이 기여하였으며, 특히 육류의 starter culture로 사용된 *Lactobacillus plantarum*이 아질산염 소거능이 높았다. 이 연구에서 관찰된 아질산염의 소거 기작은 두 가지로, 유산균에 의하여 생성되는 유산에 의하여 아질산염의 화학적 소거가 증가한 것이라고 하였으며, 많은 유산균들이 아질산염을 소거할 수 있는 효소 nitrite reductase를 소유한다고 하였다.

Harada와 Yamada(1979)는 비병원성 미생물인 *Rhizopus oryzae*, 유산균인 *Streptococcus cremoris*와 효모 *Saccharomyces rouxii*를 이용하여 니트로소 화합물인 NDMA, NDEA 및 NDPA 등을 분해시킬 수 있음을 보였으며, 각각의 미생물은 80%, 70% 그리고 50%의 NDPA를 분해시킨다고 하였다. 계속된 연구에서 Harada(1980)는 nitrosamine 함유 배지에서 예비배양을 한 것이 nitrosamine 비함유 배지로부터 얻은 현탁액에 비하여 빠르게

분해한다고 하였다.

오(1997)는 우리나라 고유의 발효식품인 김치에서 유산균을 분리하여 배양액에 함께 접종하여 최종농도 $250\mu\text{g/ml}$ 의 아질산염을 소거시키는 능력을 시험하였는데, *L. sake*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum* 모두 온도가 상승함에 따라 아질산염 소거율 또한 커졌으며, 배지의 pH가 낮아짐에 따라 아질산염 소거율 또한 증가한다고 하였다.

이와 박(2000b)은 발효육제품의 starter로 사용가능한 유산균을 김치로부터 분리하여 아질산염의 최종농도가 $200\mu\text{g/ml}$ 가 되도록 배지내에서와 염지 및 분쇄육에 유산균을 첨가하여 아질산염 소거능을 조사하였는데, 분리한 유산균은 *L. plantarum*과 *L. lactis* ssp. *lactis*로 배지내에서의 아질산염 소거율은 32°C 에서 92.20~94.94%이었으며, 분쇄육에 유산균을 첨가한 경우보다 염지액에 유산균을 첨가한 경우가 아질산염 소거율이 약 20% 정도 높았다고 보고하였다.

유산균에 의한 아질산염 소거 이외에도 아질산염을 소거시키는 연구는 많이 진행되고 있는데 이는 아질산염을 빠르게 파괴하거나 반응성 없는 물질로 환원시키는 역할을 하여 니트로사민 생성의 기질인 아민과 경쟁적으로 작용하기 때문이라고 보고되었다(Gray와 Dugan, 1975). Phenol성 화합물의 환원력에 기인한 아질산염 소거에 관한 것으로는 Tsutao 등(1980)의 무즙 추출물의 니트로사민 생성억제에 관한연구, 이 등(1997)의 버섯류의 항산화성 및 아질산염 소거작용에 관한 연구, Normington 등(1986)의 중국 오얏에서 분리한 3-hydroxy-2-pyranone이 아질산염을 분해함으로써 니트로소화 반응을 억제한다고 보고한 연구, 여 등(1994)의 녹차 추출물의 아질산염 분해작용에 관한 연구 등이 있다. Maillard 반응생성물인 melanoidin의 환원력에 기인한 아질산염 소거에 관한 보고로는 김 등(1988)의 Glucose-아미노산계 Maillard 반응생성물의 아질산염 소거작용에 관한 연구,

Kato 등(1987)의 비투석성 melanoidine에 의한 니트로사민의 생성억제에 관한 연구, 김 등(1990)의 가공조건에 따른 볶음보리 추출물의 아질산염 소거 작용에 관한 연구가 있다. 이외에도 α -tocopherol, sulfur dioxide 등 또한 아질산염 소거경로가 ascorbic acid에서와 같이 환원작용에 의하여 nitric oxide(NO)로 분해된다고 보고되고 있는 것으로 보아 이들의 아질산염 소거 기능도 유사할 것이라는 보고도 있다(Kawabata 등, 1974; 김 등, 1988).

4. 유산균의 항암활성 및 항돌연변이 효과

유산균이 암세포의 증식을 억제한다는 사실은 Bogdanov 등(1975)에 의해서 처음 보고되었다. 그는 *L. bulgaricus*의 세포벽의 peptidoglycan이 종양 생성을 억제하는 것을 발견하였고, 또한 *Lactobacilli*의 세포벽의 구성인자이기도 하다는 사실이 밝혀짐에 따라 그에 따른 유산균의 항암효과 및 항돌연변이 효과에 관한 연구가 이루어져 왔다.

유산균의 항암활성 및 항돌연변이 효과의 기작에 관한 최근의 연구 결과 두 가지 기작이 밝혀졌다. 첫째, 유산균은 β -glucuronidase, nitroreductase, azoreductase 등과 같이 발암 전구물질을 발암 물질로 전환시키는 효소를 저해함으로써 항암 및 항돌연변이 작용을 가지는데, 유산균 중 *L. acidophilus*를 포함하는 유제품을 경구적으로 섭취하면 이들 효소의 활성이 저하된다(Goldin 등, 1984; Macdonald 등, 1984). 둘째, 유산균은 항암기작에 중요한 역할을 하는 면역계에 작용을 하여 항암작용을 하는 것으로 알려져 있는데, 특히 유산 간균은 면역계를 강화시켜 Macrophage와 lymphocyte의 활성을 크게 증진시킨다(Ayebo 등, 1981; Fernandes와 Shahani, 1990; Kato 등, 1981; Perdigon 등, 1986). Bogdanov 등(1975)에 의하여 밝혀진 *Lactobacilli*

의 세포벽 구성인자인 peptidoglycan은 muramyl peptide로 구성되어 있는데 이 muramyl dipeptide와 그 유도체는 세포성 중계 면역에 관여한다고 하였다. Friend와 Shahani(1984)는 *Lactobacilli*의 특수 균주와 이 균주로 발효한 유가공품은 항암효과가 있다고 하였는데, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei* 등과 이 균주들의 발효추출물은 sarcoma 180 세포와 Ehrlich carcinoma 57세포를 처리한 mice에서 종양세포들의 증식을 효과적으로 억제하였으며 면역기능을 항진시켰다고 보고하였다. 그리고 유산균은 nitrosamine류를 비롯한 많은 돌연변이원에 대하여 억제효과를 보이는데 (Bodana와 Rao, 1990; Hosono 등, 1986; Hosono 등, 1990a; Hosoda 등, 1992; 이와 지, 1996; Thyagaraja와 Hosono, 1992), Hosono(1990a) 등은 발효유에서 분리한 *L. paramesenteroides*, *S. lactis* subsp. *diacetylactis* 등의 유산균들이 NDEA 등 여러 돌연변이물질에 대해 억제효과가 있음을 보고하였다.

김치로부터 분리 동정된 유산균들은 요구르트와 같은 유제품으로부터 분리 동정된 유산균들과 마찬가지로 장내 미생물의 균형을 개선함으로써 숙주동물에게 유익한 작용을 하는 생균 첨가물인 probiotics로 여겨진다 (Friend와 Shahani, 1984; 박과 최, 2000). Shin 등(1998)은 김치로부터 분리한 *L. plantarum*의 파쇄액을 경구투여한 쥐에서 항종양 효과가 나타났음을 보고하였으며, 면역계를 활성화시켜 암세포가 다른 기관에 증식하는 것을 상당 수준 억제하는 것으로 나타났다고 하였다. 이 등(1996)은 김치의 섭취 기간 중 김치에 존재하는 유산균인 *Lactobacillus*와 *Leuconostoc*의 수가 장내에서 유의적으로 증가하였으며, 장내 유해효소로 알려진 β -glucosidase와 β -glucuronidase의 수준은 김치 섭취시에 유의적으로 감소였다고 보고하였다. Park 등(1998)은 김치로부터 분리한 균체 시료들의 돌연변이 유발 억제효과를 실험하였는데, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*과 같은 유산균들

은 항암기능성이 큰 것으로 알려진 유제품 분리유산균인 *L. acidophilus*와 비슷한 항돌연변이 효과를 나타내었다(Friend와 Shahani, 1984; 박과 최, 2000). 그리고 김치 유산균의 항돌연변이 활성을 확인하기 위하여 세포벽 성분과 세포질 성분의 돌연변이 억제효과를 측정한 결과 균체의 항돌연변이 활성은 세포벽 물질에 의한 것으로 나타났다고 보고하였는데(Park 등, 1998), 이는 Bogdanov 등(1975)의 *L. bulgaricus*의 세포벽의 peptidoglycan이 종양생성을 억제하는 것과 관련이 있다고 볼 수 있다. 한편 다른 연구에서는 김치에서 분리한 *L. plantarum*의 세포벽성분이 복수암 및 고형암에 대해 항암효과가 있다고 하였는데, 세포벽 물질 중 peptidoglycan 부분 보다는 다당류 분획이 암억제 효과에 중요한 역할을 한다고 하였다(정, 1993). 신생아 분변에서 분리 동정한 *Enterococcus faecalis* 2B4-1은 세포벽 성분 중 peptidoglycan(PG)과 polysaccharide fraction(PS) 모두에서 활성을 나타내었으나, PS의 분획이 다소 우세한 억제효과를 가진다는 보고도 있었다(박 등, 1999).



Ⅲ. 재료 및 방법

1. 유산균의 분리 및 동정

1) 유산균 분리용 김치시료

유산균 분리용 김치시료는 배추김치, 총각김치, 무깍두기, 파김치로 1999년 10월에 제주시내에 소재하는 남헌김치에서 제조한 것을 바로 구입하였으며, 구입 후 배추김치는 실온에서 4일간 발효시켜서 pH 4.0, 총각김치는 실온에서 2일간 발효시켜 pH 4.5, 무깍두기는 실온에서 5일간 발효시켜 pH 4.0, 파김치는 실온에서 4일간 발효시켜 pH 4.1인 김치를 실험재료로 사용하였다(Table 1).

Table 1. Kimchi samples used for isolation of lactic acid bacteria

	Baechu Kimchi	Chongkak Kimchi	Kaktugi	Pa Kimchi
Main material	Korean cabbage	Ponytail Radish	Radish	Green onion
Prepared on	October 6, 1999	October 8, 1999	October 5, 1999	October 6, 1999
Fermented at	23~25℃	23~25℃	23~25℃	23~25℃
Fermented for	4 days	2 days	5 days	4 days
pH	4.0	4.5	4.0	4.1

2) 유산균의 분리

김치로부터 유산균의 분리는 Hosono 등(1989)과 오(1997)의 방법에 따랐으며, 유산균 분리용 배지인 Lactobacilli MRS(Difco Lab, USA) 한천배지와 유산균 확인용 배지인 Brom Cresol Purple(BCP; Difco Lab, USA) 한천배지를 사용하여 Fig. 1과 같이 실시하였다.

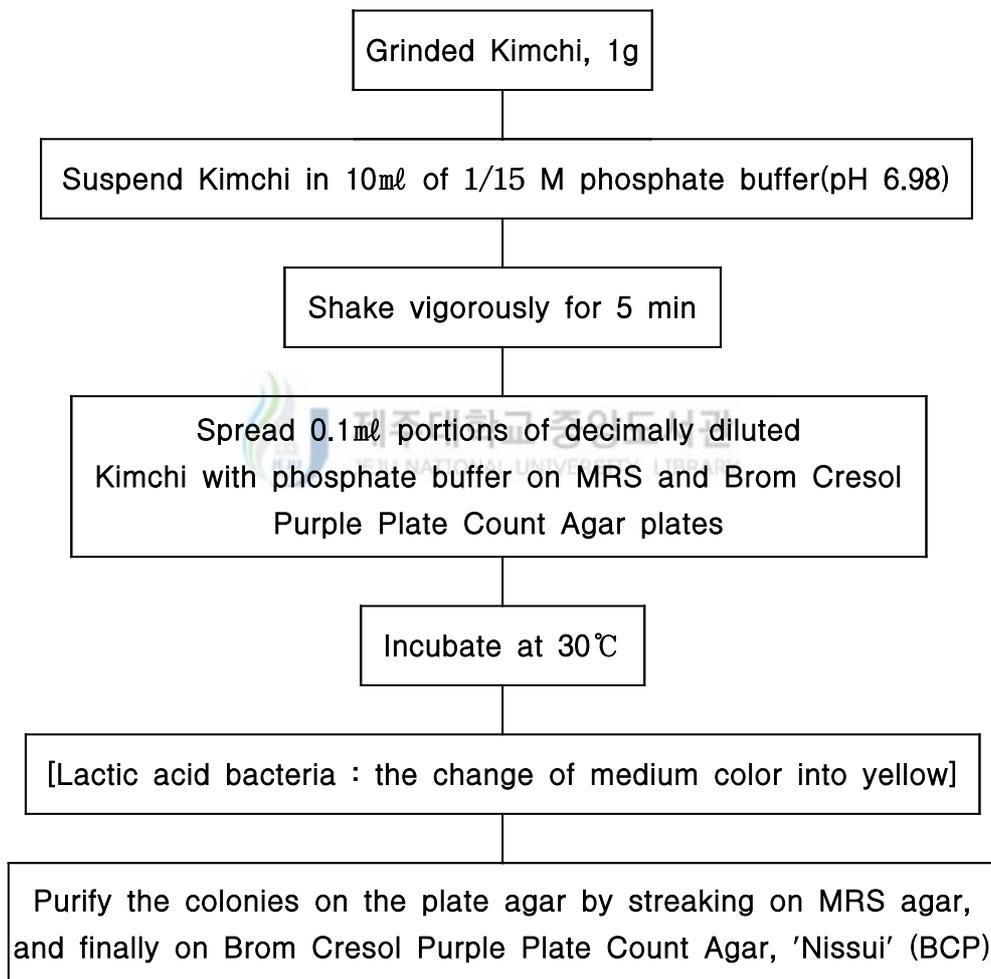


Fig. 1. Flow sheet for isolation of lactic acid bacteria from Kimchi.

MRS 평판배지로부터 분리한 균주를 무작위로 colony를 선택하여 BCP 평판배지에 배양한 후 배지의 색을 노란색으로 변화시키는 colony만을 선발하였다. 이들은 다시 MRS 평판배지에서 여러 번 계대배양하여 순화시켰으며, 최종적으로 BCP 평판배지에서 배양하여 시험용 균주로 사용하였다. 이들 분리된 균주는 MRS와 BCP 평판배지에 배양하여 시험시 마다 계대배양하며 사용하였다. 일부는 보존을 위하여 Lactobacilli MRS 사면배지에 도말하여 30℃에서 24시간 배양한 후 5℃ 냉장고에서 보관하였으며 일정기간마다 재도말하였다.

3) 유산균의 동정

김치분리 유산균의 동정은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Sneath 등, 1986)와 Laboratory Method in Food and Dairy Microbiology (Harrigan과 McCance, 1976) 및 기타의 동정서(이 등, 1992; 임 등, 1989; 소와 김, 1995a, 1995b)에 따라서 형태적, 배양적 및 생리적 특성을 조사하여 확인하였다.

(1) 배지

유산균의 동정에 사용된 기본배지는 Lactobacilli MRS 액체배지로써 멸균하기 직전에 pH 6.5±0.1로 조정하여 사용하였으며, 균의 형태, Gram 염색성 및 배양특성에 따른 증식성 검사시에 사용하였다. 포도당에서 CO₂의 생성 및 당류발효성 검사시에는 Basal medium V(Lactobacilli MRS fermentation medium)를 사용하였으며, 마찬가지로 멸균하기 직전에 pH 6.5±0.1로 조정하여 사용하였다. Arginine으로부터 NH₃의 생성능 검사시에는 Arginine broth를 sucrose로부터 dextran 생성능 검사시에는 Sucrose agar를 사용하였으며 그 조성은 Table 2와 같다.

Table 2. Media used in this study

Basal medium V (MRS fermentation medium)	
Peptone	10g
Lab-Lemco meat extract	10g
Yeast extract	5g
D-Glucose(or other carbohydrate)	20g
Tween 80	1g
Dipotassium hydrogen phosphate	2g
Sodium acetate	2g
Triammonium citrate	2g
Magnesium sulfate	0.2g
Manganese sulfate	0.05g
Distilled water	1 <i>l</i>
pH	6.5
Arginine broth	
Tryptone	5g
Yeast extract	2.5g
D-Glucose	0.5g
Dipotassium hydrogen phosphate	2g
L-Arginine monohydrochloride	3g
Distilled water	1 <i>l</i>
pH	7.0
Sucrose agar	
Tryptone	10g
Yeast extract	5g
Dipotassium hydrogen phosphate	5g
Triammonium citrate	5g
Sucrose	50g
Agar	15g
Distilled water	1 <i>l</i>

(2) 시약

포도당에서 CO₂의 생성 및 당류발효성 검사시 사용한 당류 및 배당체 중 arabinose, esculin, mannose, raffinose, rhamnose, trehalose, xylose는 Sigma Chemicals(USA)의 것을, fructose, galactose, glucose, mannitol, sucrose는 Hayashi Pure Chemical(Japan)의 것을, cellobiose, lactose, maltose, sorbitol은 Junsei Chemicals(Japan)의 것을 amygdalin, ribose는 BDH Chemicals (England) 그리고 salicin은 Merck(Germany)의 것을 사용하였으며 멸균한 Basal medium V에 0.45 μ m 제균용 filter를 사용하여 무균적으로 가하였다.

2. 유산균에 의한 아질산염 소거

유산균에 의한 아질산염 소거는 Dodds와 Collins-Thompson(1984)의 방법에 따라 Fig. 2와 같이 실시하였다. 아질산염 소거에 사용한 배지는 Lactobacilli MRS 액체배지이며, 아질산염은 최종농도가 100 μ g/ml가 되도록 첨가하였고, 여기에 18시간 배양한 배양액을 100 μ l 접종하여 15 $^{\circ}$ C와 25 $^{\circ}$ C에서 0~7일 동안 배양하면서 540nm에서 흡광도로부터 아질산염이 소거되는 정도를 측정하였다. 양성대조구는 마찬가지로 배지에 최종농도가 100 μ g/ml가 되도록 아질산염만 첨가하였으며, 음성대조구는 멸균 증류수만을 첨가하여 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다. 모든 실험용 용기는 121 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 멸균하였으며, Lactobacilli MRS배지는 멸균전에 pH 6.5 \pm 0.1로 조정하였다.

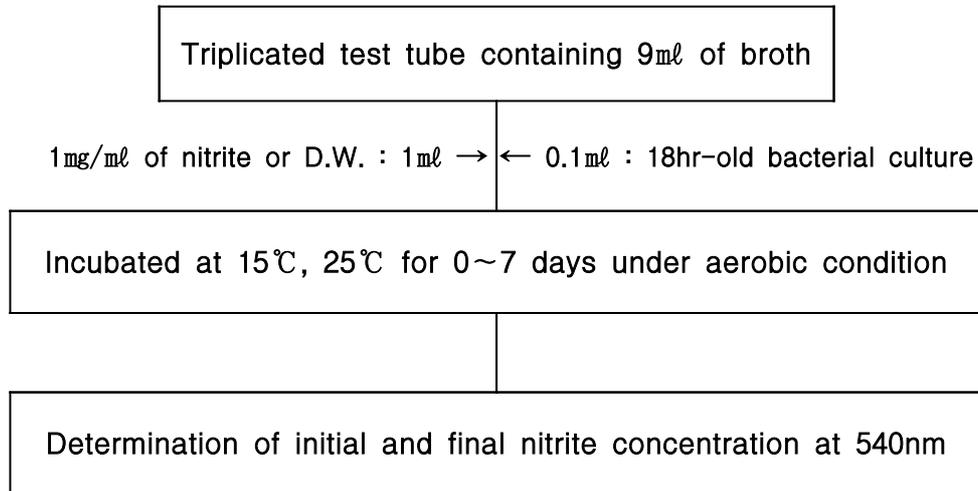


Fig. 2. Flow sheet for depletion of nitrite in broth culture.



3. 아질산염의 정량

1) 시약

아질산염은 Hayashi Pure Chemical(Japan)것을 사용하였으며, MRS broth에 대하여 최종농도가 $100\mu\text{g/ml}$ 되도록 첨가하였다. 아질산염의 정량에 사용되는 시약은 color development solution I, II, III이며, 각각의 시약은 Sulfanilamide 용액, *N*-1-naphthylethylene diamine dihydrochloride 용액, 염산수용액으로 5°C 의 냉장고에서 보관하며 사용하였고, 1주일 이상 보관하지 않았다.

2) 실험방법

아질산염이 소거되는 정도를 측정하기 위하여 아질산염 측정은 Ito 등 (1979)과 오(1997)의 방법에 따랐으며, Fig. 2에서의 실험구 및 대조구로부터 배양기간동안 1일 간격으로 $100\mu\text{l}$ 씩 취하여 Fig. 3과 같이 비색정량 하였다.

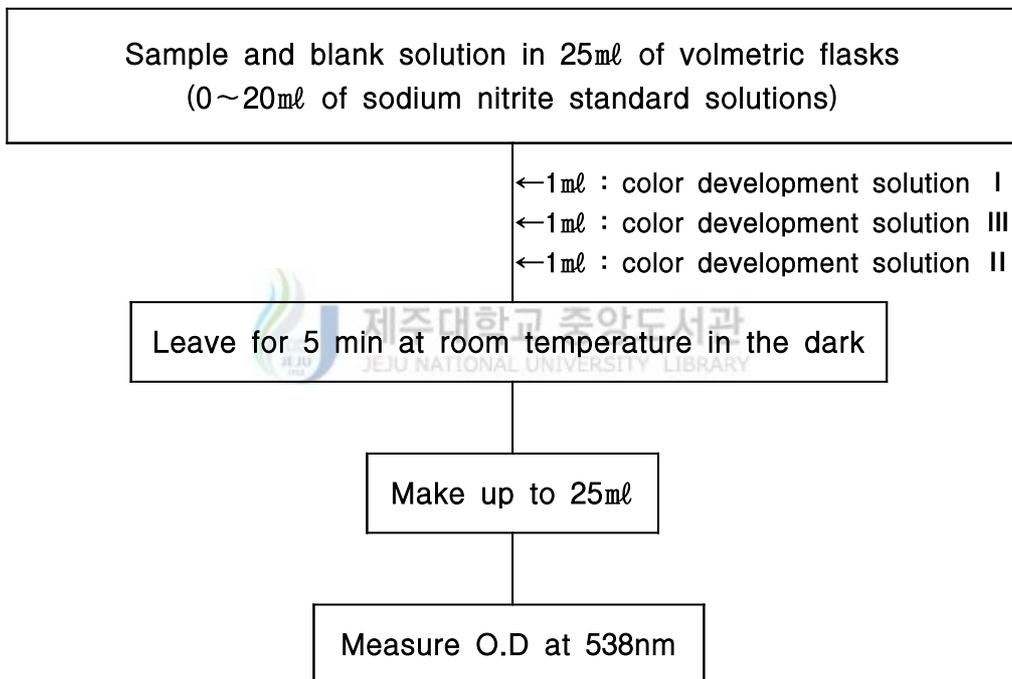


Fig. 3. Procedure for determination of nitrite.

아질산염 정량을 위한 검량곡선은 Fig. 4와 같다.

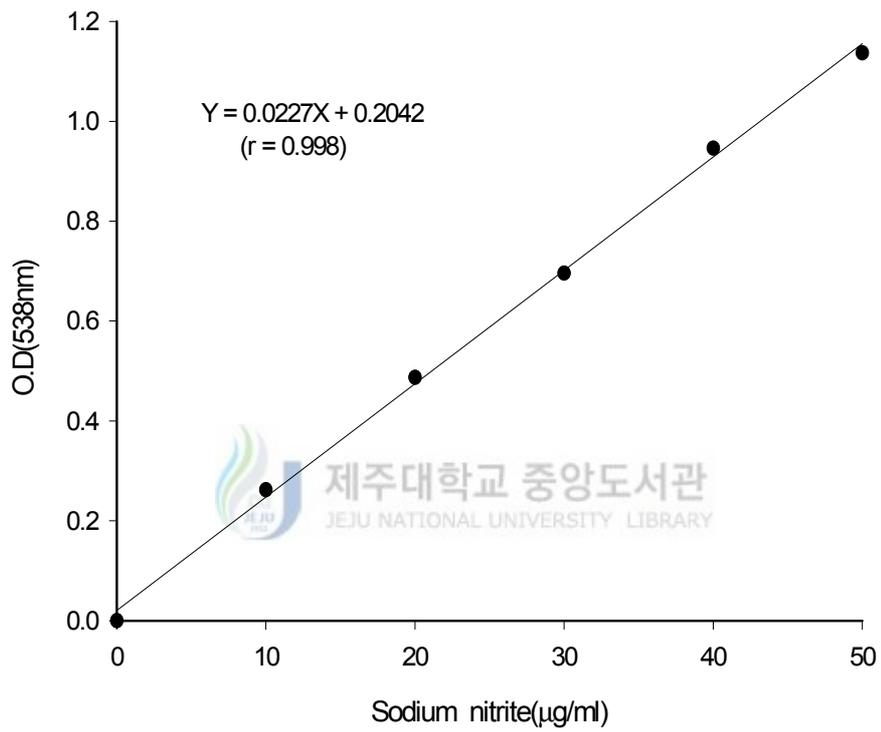


Fig. 4. Calibration curve for determination of sodium nitrite.

IV. 결과 및 고찰

1. 시판 김치 분리유산균의 동정

시판 김치 분리유산균의 동정은 일반적으로 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(Sneath 등, 1986)와 Laboratory Method in Food and Dairy Microbiology(Harrigan과 McCance, 1976)를 기준으로 하였으나, 동정이 곤란한 경우는 기타의 문헌(이 등, 1992; 임 등, 1989; 소와 김, 1995a, 1995b)을 참고로 하여 형태적, 배양적 및 생리적 특성을 조사하여 확인하였다. 각각의 시판 김치시료에서 분리한 54개의 분리균주에 대하여 동정한 결과는 Table 3~10과 같다. 분리균주들은 Gram 염색 양성이며, Brom Cresol Purple(BCP; Difco Lab, USA) 한천배지를 사용하여 산 생성시 colony가 노란색으로 변하는 것으로 유산균임을 확인하였다. 또 glucose로부터 gas 생성, arginine으로부터 암모니아 생성, sucrose로부터 dextran 생성, 당류발효 및 배양적 특성 등 모든 특성들이 각각의 유산균종의 일반적인 특성들과 잘 일치하였다.

1) *Lactobacillus plantarum* 종의 동정

Table 3~6은 유산균의 형태, 생화학적 특성 및 배양적 특성이 거의 일치하는 균주들을 나타낸 것이다. B01, B02, B06, B07, B09~B12, C06, K06, K15, P01, P02, P04~P23 모든 균주가 glucose로부터 gas 생성, arginine으로부터 암모니아 생성, sucrose로부터 dextran 생성에 대하여 모두 음성반응을 나타내었으며, amygdalin, arabinose, cellobiose, esculin, fructose, galactose, glucose, lactose, maltose, mannitol, mannose, raffinose, ribose, salicin, sorbitol, sucrose 및 trehalose는 발효하였으나 rhamnose와 xylose

는 발효하지 못했는데, 균주에 따라 다소 차이를 보이는 것도 있었다. 위 균종들은 이러한 특성들 이외에도 다른 배양특성들에 근거하여 *L. plantarum*으로 동정되었다.

Gibbs와 Skinner(1964)는 *Lactobacillus*속으로 동정된 균들의 생육가능한 서식지에 대하여 소개하였는데 *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. confusus* 및 *L. coryniformis*는 주로 채소발효식품과 목초 중에서 분리된다고 하였다. 이 중 *L. plantarum*과 뒤에서 동정되어지는 *L. brevis*, *L. confusus* 및 *L. coryniformis*는 본 실험에 사용한 김치시료에서도 분리·동정된 균주로서 일치하는 점이 있다.

김치는 발달단계에서 발효초기에는 *Leuconostoc*속이 우세하게 증식하는데 주로 *L. mesenteroides*가 많이 번식하여 초기의 산생성을 주도하고 뒤이어 *Streptococcus*속과 *Pediococcus*속이 약간 증식한 후 발효후기에 가서 *Lactobacillus*속이 왕성하게 증식하며, 특히 *L. plantarum*이 유산을 대량 생성하여 발효말기까지 성장한다(조, 1991; Stamer 등, 1971). 그러나 이 등(1992)은 *Lactobacillus*속은 전 발효기간을 통하여 높은 분포를 나타내며 발효의 진행에 따라 조금 감소하는 경향이 있다고도 하였다. 저온에서 발효시킨 김치와 중온 또는 고온에서 발효시킨 김치간에 관여하는 유산균들의 종류는 다르다(임 등, 1989; 박 등, 1990). 유산균의 온도에 따른 경시적 변화를 보면 낮은 온도에서 *Leuconostoc*속은 증가하고 기타의 유산균은 감소하는 경향이 있으며, *Lactobacillus*속은 온도가 상승할수록 증가한다(이 등, 1992). 이런 점을 감안하면 본 실험에서 사용된 김치시료의 발효온도가 25℃ 정도인 실온인 점으로 보아 분리된 유산균 중 *Lactobacillus*속이 거의 모두를 차지하며, *L. plantarum*이 모든 김치에서 가장 많이 동정된 것에 대하여 설명되어 진다. 그리고 과김치의 경우는 분리시 pH가 4.1이고, 1종류의 균주만 제외하고 모두 *Lactobacillus*속 인 것으로 보아 김치의 발효단계 중 말기상태에 있는 것으로도 추측할 수 있다(조, 1991).

Table 3. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.							
	B01	B02	B06	B07	B09	B10	B11	B12
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-	-	-
NH ₃ from arginine	-	-	-	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from								
Amygdalin	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	(d)	+	+	+	+	+	+	(d)
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	(d)	(d)	+ _w	+	(d)	(d)	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at 15°C	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	(d)	+ _w	(d)	(d)	(d)	+	+	+ _w
Growth in 10% ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+ _w
Identified as	<i>Lactobacillus plantarum</i> B01, B02, B06~B12							

B(strain No.) : Baechu Kimchi

+: positive, +_w: weak growth, (d): delayed reaction, -: negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

Table 4. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.							
	C06	K06	K15	P01	P02	P04	P05	P06
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-	-	-
NH ₃ from arginine	-	-	-	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from								
Amygdalin	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	(d)	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+ _w	+	(d)	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at 15°C	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	+	(d)	+	(d)	(d)	+	(d)	(d)
Growth in 10% ethanol	+ _w	+	+	+	+ _w	+ _w	+	+
Identified as	<i>Lactobacillus plantarum</i> C06, K06, K15, P01, P02, P04~P06							

C(strain No.) : Chongkak Kimchi, K(strain No.) : Kaktugi, P(strain No.) : Pa Kimchi

+: positive, +_w: weak growth, (d): delayed reaction, -: negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

Table 5. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.							
	P07	P08	P09	P10	P11	P12	P13	P14
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-	-	-
NH ₃ from arginine	-	-	-	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from								
Amygdalin	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+ _w	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	(d)	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+ _w	(d)	+	+	(d)	(d)	(d)	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at 15°C	(d)	(d)	(d)	+	(d)	(d)	(d)	(d)
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	(d)	+	+	+	+	+	(d)	(d)
Growth in 10% ethanol	+	+ _w						
Identified as	<i>Lactobacillus plantarum</i> P07~P14							

P(strain No.) : Pa Kimchi

+: positive, +_w :weak growth, (d): delayed reaction, -: negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

Table 6. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.								
	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NH ₃ from arginine	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from									
Amygdalin	+	+ _w	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	(d)	+	+	+	-	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	(d)	(d)	(d)	+	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at 15°C	(d)	(d)	(d)	(d)	+	+	+	+	(d)
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	+	+ _w	+	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)	(d)
Growth in 10% ethanol	+ _w	+ _w	+ _w	+	+ _w				
Identified as	<i>Lactobacillus plantarum</i> P15~P23								

P(strain No.) : Pa Kimchi

+: positive, +_w :weak growth, (d): delayed reaction, -: negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

2) *Lactobacillus casei* subsp. *pseudopantarum*종의 동정

Table 7은 유산균의 형태, 생화학적 특성 및 배양적 특성이 거의 일치하는 균주들을 나타낸 것이다. 배추김치와 깍두기로부터 분리한 B03, B05, K02, K07, K08, K12 균주가 glucose로부터 gas 생성, arginine으로부터 암모니아 생성, sucrose로부터 dextran 생성에 대하여 모두 음성반응을 나타내었으며, amygdalin, cellobiose, esculin, fructose, galactose, glucose, lactose, maltose, mannitol, mannose, ribose, salicin, sorbitol, sucrose 및 trehalose는 발효하였으나 arabinose, raffinose, rhamnose 및 xylose는 발효하지 못했는데, 균주에 따라 다소 차이를 보이는 것도 있었다. 위 균종들은 이러한 특성들 이외에도 다른 배양특성들에 근거하여 *L. casei* subsp. *pseudopantarum*으로 동정되었다.

3) *Lactobacillus sake*종의 동정

Table 8의 균주번호 B08, P03은 배추김치와 과김치로부터 분리한 유산균으로 glucose로부터 gas 생성, arginine으로부터 암모니아 생성, sucrose로부터 dextran 생성에 대하여 모두 음성반응을 나타내었으며, amygdalin, arabinose, cellobiose, esculin, fructose, galactose, glucose, lactose, maltose, mannose, ribose, salicin, sucrose 및 trehalose는 발효하였으나 mannitol, raffinose, rhamnose 및 sorbitol은 발효하지 못했다. *L. sake*종은 xylose를 발효할 수 없는 특성을 갖는데, 균주번호 B08은 이러한 특성과 일치하였고, P03은 xylose를 발효할 수 있었지만, 이외의 다른 특성들에 근거하여 *L. sake*로 동정되었다.

4) *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens*종의 동정

Table 8의 균주번호 K05, K11, K13, K14는 깍두기로부터 분리된 유산균으로 glucose로부터 gas 생성, arginine으로부터 암모니아 생성, sucrose로부터 dextran 생성에 대하여 모두 음성반응을 나타내었으며, fructose, galactose, glucose, lactose, maltose, mannose, sucrose 및 trehalose는 발효하였으나 amygdalin, arabinose, cellobiose, esculin, mannitol, raffinose, rhamnose, ribose, salicin, sorbitol 및 xylose는 발효하지 못했는데 균주에 따라 다소 차이를 보이는 것도 있었다. 위 균종들은 이러한 특성들 이외에도 다른 배양특성에 근거하여 *L. coryniformis* subsp. *torquens*로 동정되었다.

5) *Lactobacillus brevis*종의 동정

Table 9는 유산균의 형태, 생화학적 특성 및 배양적 특성이 거의 일치하는 균주들을 나타낸 것이다. 배추김치와 깍두기로부터 분리한 B04, K01, K03, K04, K09, K10 균주가 glucose로부터 gas 생성, arginine으로부터 암모니아 생성에 대하여 모두 양성반응을 나타내었으며, sucrose로부터 dextran 생성에 대하여 음성반응을 나타내었다. 위의 모든 균주가 arabinose, fructose, glucose, maltose, ribose 및 xylose는 발효하였고, amygdalin, cellobiose, esculin, mannitol, mannose, rhamnose, salicin, sorbitol 및 trehalose는 발효하지 못하였다. 그리고 galactose, lactose, raffinose 및 sucrose는 반응이 늦어졌는데, 균주에 따라 특성에서 다소 차이가 나는 것도 있었지만 이러한 특성들 이외에 다른 배양특성들에 근거하여 *L. brevis*로 동정되었다.

Table 7. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.					
	B03	B05	K02	K07	K08	K12
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-
NH ₃ from arginine	-	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	-	-	-	-	-
Acid from						
Amygdalin	+	+	+	+	+	+
Arabinose	-	-	-	-	-	-
Cellobiose	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+
Raffinose	-	+ _w	-	-	-	+ _w
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	(d)	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-
Growth at 15°C	+	+	+	(d)	+	+
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	+	+ _w	(d)	(d)	+	+
Growth in 10% ethanol	+	+	+	+	+	+
Identified as	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>pseudoplantarum</i> B03, B05, K02, K07, K08, K12					

B(strain No.) : Baechu Kimchi, K(strain No.) : Kaktugi

+: positive, +_w: weak growth, (d): delayed reaction, -: negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

Table 8. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.					
	B08	P03	K05	K11	K13	K14
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-	-	-	-
NH ₃ from arginine	-	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	-	-	-	-	-
Acid from						
Amygdalin	+	+	-	-	-	-
Arabinose	+	+ _w	-	-	+ _w	-
Cellobiose	+	+	-	-	-	-
Esculin	+	+	-	-	-	-
Fructose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	(d)	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	+ _w	+ _w	-
Mannose	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	-	-	+	+
Salicin	+	+	+ _w	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Sucrose	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	-	+
Xylose	-	+ _w	-	-	-	-
Growth at 15°C	+	+	+	+	+	+
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	+ _w	+ _w	(d)	+ _w	(d)	+
Growth in 10% ethanol	+	+	+	+	+	+
Identified as	<i>Lactobacillus sake</i> B08, P03		<i>Lactobacillus coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> K05, K11, K13, K14			

B(strain No.) : Baechu Kimchi, K(strain No.) : Kaktugi, P(strain No.) : Pa Kimchi

+: positive, +_w: weak growth, (d): delayed reaction, -: negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

Table 9. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.					
	B04	K01	K03	K04	K09	K10
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+	+	+
Gas from glucose	+	+	+	+	+	+
NH ₃ from arginine	+	+	+	+	+	+
Dextran formation	-	-	-	-	-	-
Acid from						
Amygdalin	-	-	-	-	-	-
Arabinose	+	+	+	+	+	(d)
Cellobiose	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	-
Fructose	+	+	+	+	+	+
Galactose	(d)	(d)	(d)	(d)	+ _w	d
Glucose	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	-	+	+ _w	-	+ _w
Maltose	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-
Mannose	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	+	+ _w	+	+ _w
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+
Salicin	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Sucrose	+	-	d	+	-	+
Trehalose	-	-	-	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	+	+
Growth at 15°C	+	+	(d)	+	+	+
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	+	+
Growth in 6.5% NaCl	+	+	+	(d)	(d)	+
Growth in 10% ethanol	+	+	+	+	+	+
Identified as	<i>Lactobacillus brevis</i> B04, K01, K03, K04, K09, K10					

B(strain No.) : Baechu Kimchi, K(strain No.) : Kaktugi

+ : positive, +_w : weak growth, (d) : delayed reaction, - : negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

6) *Lactobacillus confusus*종의 동정

Table 10의 균주번호 C01, C03, C04, C05는 총각김치로부터 분리한 유산균으로 glucose로부터 gas 생성, arginine으로부터 암모니아 생성, sucrose로부터 dextran 생성에 대해 모두 양성반응을 나타내었다. 모든 균주가 amygdalin, cellobiose, esculin, galactose, glucose, mannose, ribose, salicin, 및 sucrose는 발효하였는데, 균주번호 C04는 fructose와 maltose에서, C03은 xylose에서 다소 차이를 보였다. 그리고 arabinose, raffinose, rhamnose 및 sorbitol은 발효하지 못하였는데, 균주번호 C01은 lactose, C03은 mannitol, C04는 trehalose에서 다소 차이를 보였다. C01, C03, C04, C05 균주는 이러한 특성들 이외에도 다른 배양특성들에 근거하여 *L. confusus*로 동정되었다.

7) *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*종의 동정

Table 10의 균주번호 C02는 총각김치로부터 분리한 유산균으로 54개의 분리균주 중 유일한 구균이며, glucose로부터 gas 생성과 sucrose로부터 dextran 생성에 대해 양성반응을 나타내고 arginine으로부터 암모니아 생성에 대해 음성반응을 나타내었다. C02는 lactose와 rhamnose를 제외하고 모든 당을 발효할 수 있는 특성을 가졌는데 반응속도가 늦거나, 반응이 약하게 나타나기도 하였다. 그리고 배양적 특성에서 pH 4.8과 10% ethanol에서 성장할 수 없는 특성을 가졌다. 이러한 특성들에 근거하여 C02는 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*로 동정되었다.

Table 10. The general characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Characteristics	Strain No.				
	C01	C03	C04	C05	C02
Cell form	Rod	Rod	Rod	Rod	Cocci
Gram stain	+	+	+	+	+
Gas from glucose	+	+	+	+	+
NH ₃ from arginine	+	+	+	+	-
Dextran formation	+	+	+	+	+
Acid from					
Amygdalin	+	+	+	+	+
Arabinose	-	-	-	-	(d)
Cellobiose	+	+	+	+	+
Esculin	+ _w	+	+	+	+
Fructose	+	+	-	+	+
Galactose	+	+	+	+	(d)
Glucose	+	+	+	(d)	+
Lactose	+ _w	-	-	-	-
Maltose	+	+	-	+	+
Mannitol	-	(d)	-	-	+ _w
Mannose	+	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	+
Rhamnose	-	-	-	-	-
Ribose	+ _w	+	+	+	+ _w
Salicin	+	+	+	+	+
Sorbitol	-	-	-	-	+ _w
Sucrose	+	+	+	+	+
Trehalose	-	-	+	-	+
Xylose	+	-	+	+	+
Growth at 15°C	+	+	+	+	+
Growth at 45°C	-	-	-	-	-
Growth at pH 4.8	+	+	+	+	-
Growth in 6.5% NaCl	(d)	(d)	+	(d)	+
Growth in 10% ethanol	+	+ _w	+	+	-
Identified as	<i>Lactobacillus confusus</i> C01, C03~C05				<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> C02

C(strain No.) : Chongkak Kimchi,

+: positive, +_w: weak growth, (d): delayed reaction, -: negative

All grow at 37°C, at pH 6.5-9.2, in 3.0% NaCl

2. 시판 김치 분리유산균에 의한 아질산염 소거

시판 김치 분리유산균이 아질산염 소거에 미치는 영향과 김치의 저온저장온도인 15℃와 일반적으로 실내온도라고 하는 25℃에서의 아질산염 소거능의 영향을 알아보기 위하여 Lactobacilli MRS broth를 사용하여 아질산염의 최종농도가 100µg/ml가 되도록 첨가한 후 김치에서 분리된 각각의 유산균에 의해 아질산염이 소거되는 능력을 조사하였다.

1) 시판 김치 분리유산균의 15℃에서 아질산염의 소거

(1) 배추김치 분리유산균의 아질산염 소거

배추김치 분리유산균인 *L. brevis*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. plantarum* 및 *L. sake*에 의하여 15℃에서 배양하면서 배양 기간에 따라 100µg/ml의 아질산염을 소거하는 정도를 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 15℃에서 *L. plantarum*의 아질산염 소거는 배양기간이 길어짐에 따라 증가하였고, 소거되는 정도는 배양 2일에 35.9%, 배양 4일에는 96.2%이었다. 총 각김치, 깍두기, 파김치로부터 분리한 *L. plantarum*에 의한 아질산염 소거 정도는 분리원에 따라 다소 차이가 있었으나 배추김치에서 분리한 *L. plantarum*과 비슷하였다. *L. sake*는 4종의 시판김치에서 분리된 54균주 중 2균주만이 분리·동정되었으며, 배양 2일에 44.1%로 35.9%인 *L. plantarum* 보다 높았으나, 배양 4일에 89.8%, 배양 7일에 97.3%로 96.2%, 98.6%인 *L. plantarum* 보다는 소거율이 낮았다. *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*은 배양 3일에 83.9%의 소거율로 *L. plantarum*과 *L. sake*와는 거의 일치하였으나, 배양 3일 이후 *L. plantarum* 보다 낮은 소거율을 보이면서 배양 6일에 100%의 소거율을 보였다. 15℃에서 *L. brevis*를 제외한 모든 김치 분리유산균에 의하여 아질산염을 소거하는 경우 배양 1일의 유도기간을 요하였는

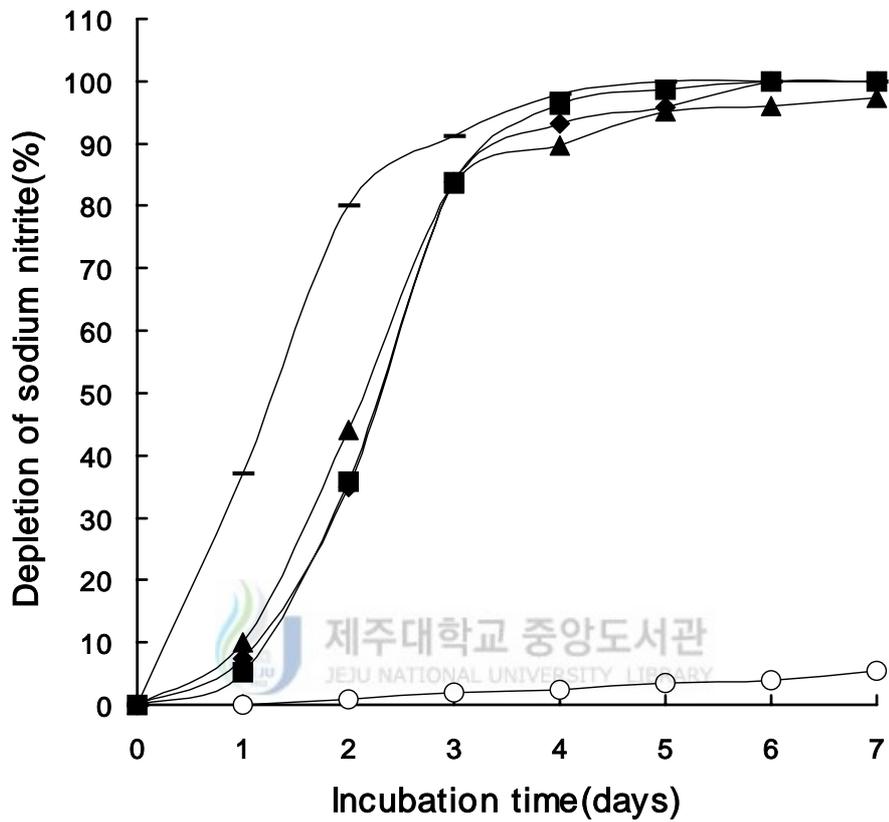


Fig. 5. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Baechu Kimchi during incubation at 15°C.

(Final concentration of nitrite per broth: 100 µg/ml)

- : Blank(without lactic acid bacteria)
- : *Lactobacillus brevis*
- ◆ : *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*
- : *Lactobacillus plantarum*
- ▲ : *Lactobacillus sake*

데, 이는 저온인 15℃에 적응하는 기간과 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하기 때문이라고 생각되어진다. *L. brevis*는 배양 1일에 37.2%, 배양 2일에 80.0%로 가장 높은 아질산염 소거율을 보였다.

한편 *L. plantarum*은 김치의 주요 발효균으로서 주발효단계인 발전단계에서 유산을 대량 생산하며 발효말기까지 왕성하게 성장하는 균으로 알려져 있다(조, 1991). 따라서 유산균을 분리시 김치의 발효정도를 짐작할 수 있으며, 가장 광범위하게 성장하는 유산균이므로 아질산염의 소거에도 크게 기여할 것으로 생각되어진다.

(2) 총각김치 분리유산균의 아질산염 소거

Fig. 6은 총각김치로부터 분리한 *L. confusus*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *L. plantarum*에 의하여 15℃에서 아질산염 소거능을 본 것으로 *L. plantarum*의 경우 배양 3일에 93.2%의 높은 소거율을 보였다. 그러나 같은 분리원에서 분리된 유산균인 *L. confusus*의 경우 배양 1일의 유도기간을 요하는 것은 *L. plantarum*과 동일하지만 배양 2일과 3일 사이에도 또 한번의 유도기간을 요해서 배양 7일에 이르러서야 54.2%의 아질산염을 소거하였다. 4종의 김치 중에서 유일한 구균인 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 *L. confusus* 보다는 높은 소거율을 보였으나, *L. plantarum* 보다 낮은 소거율을 보여 배양 7일에 95.3%이었다. 그리고 배양 1일의 유도기간을 요한 후 배양 4일까지는 1일 간격으로 아질산염 소거율이 약 20% 정도씩 증가하였으나, *L. confusus*와 마찬가지로 또 한번의 유도기간을 요하는 소거 경향을 보였다.

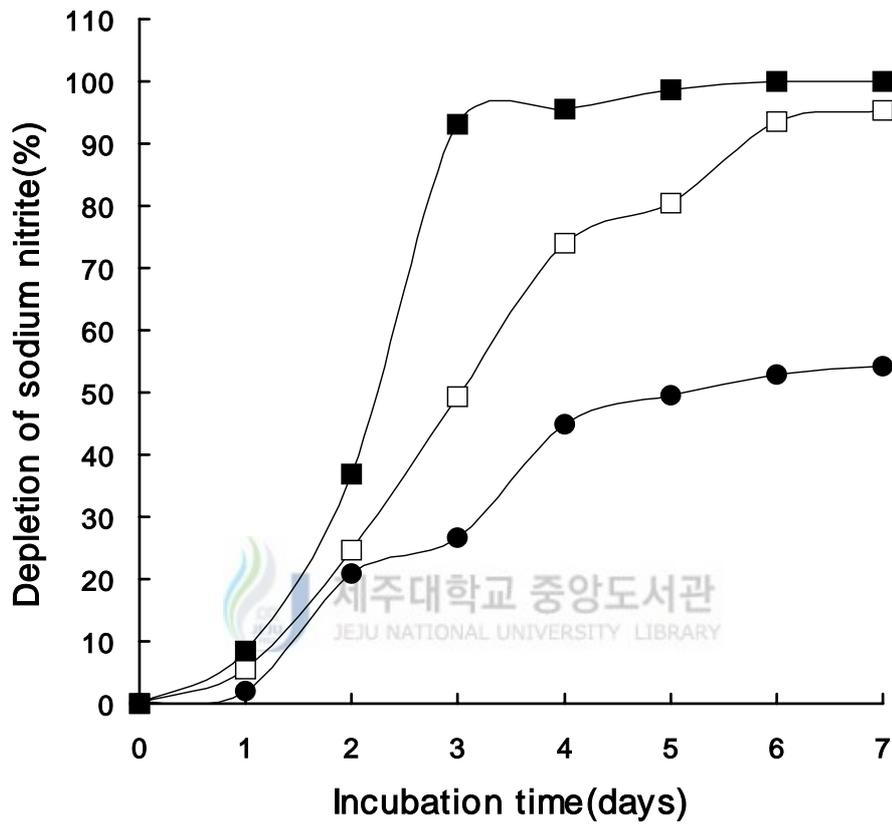


Fig. 6. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Chongkak Kimchi during incubation at 15°C.

(Final concentration of nitrite per broth: 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

- : *Lactobacillus confusus*
- : *Lactobacillus plantarum*
- : *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*

(3) 깍두기 분리유산균의 아질산염 소거

Fig. 7은 깍두기로부터 분리한 *L. brevis*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. coryniformis* subsp. *torquens* 및 *L. plantarum*에 의하여 15°C에서 배양 기간에 따라 100 μ g/ml의 아질산염 소거정도를 측정한 결과이다. *L. brevis*는 배양 1일에 38.5%의 소거율을 나타내어 배양 1일의 유도기간을 필요로 하는 다른 유산균들 보다 상당히 높은 소거능을 보였다. 이 균주는 배추김치에서 분리한 동일 균종과 마찬가지로 유도기간을 전혀 요하지 않았으며, 배양 2일에 29.3~35.8%의 아질산염 소거율을 보이는 다른 균주들과는 달리 80.8%의 높은 소거율을 보였다. *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 깍두기에서만 분리된 균으로 *L. plantarum*과 거의 일치하는 경향을 보였으며, 배양 1일의 유도기간을 요하였다. *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*은 배양 2일에 35.8%로 *L. plantarum* 보다 약 5% 정도 높은 소거율을 보였으나, 배양 3일에는 80.2%로 약 10% 정도 낮은 소거율을 보였다. 그리고 배양 5일에 95.6%의 아질산염을 소거하여 배추김치에서 분리한 동일 균종과 유사한 소거율을 보였다.

(4) 파김치 분리유산균의 아질산염 소거

Fig. 8은 파김치로부터 분리한 유산균의 아질산염 소거능을 나타낸 것으로 *L. sake* P03을 제외한 22개의 균주 모두 *L. plantarum*으로 동정되었다. *L. sake*와 *L. plantarum*은 배양 초기에 1일의 유도기간을 요하였으며, 배양 1일에 11.9%와 5.4%로 *L. plantarum* 보다 *L. sake*가 온도 및 아질산염에 적응하는 기간이 짧았다. 그러나 두 균주가 각기 배양 3일에 82.5%, 88.0%이었으며, 배양 6일에 93.9%, 100%의 소거율을 보여 배양 초기에는 *L. sake*가 아질산염을 활성화적으로 소거하였으나, 배양 중기부터는 *L. plantarum*이 더 활성화적으로 소거한다는 것을 알 수 있었다.

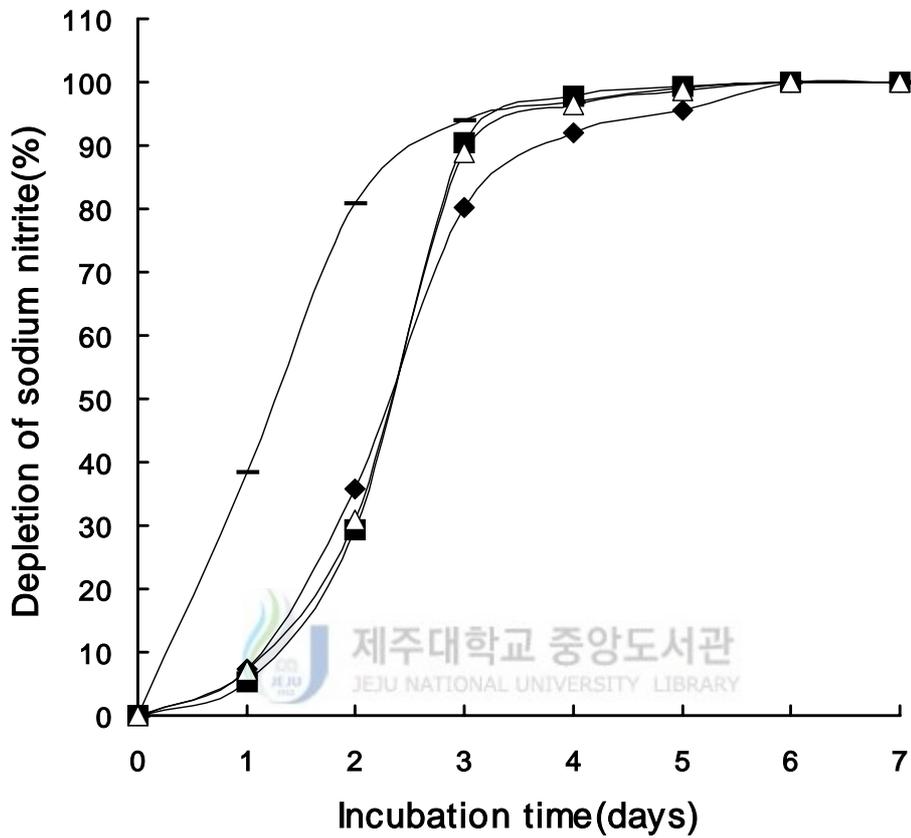


Fig. 7. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kaktugi during incubation at 15°C.

(Final concentration of nitrite per broth: 100 µg/ml)

— : *Lactobacillus brevis*

◆ : *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*

△ : *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens*

■ : *Lactobacillus plantarum*

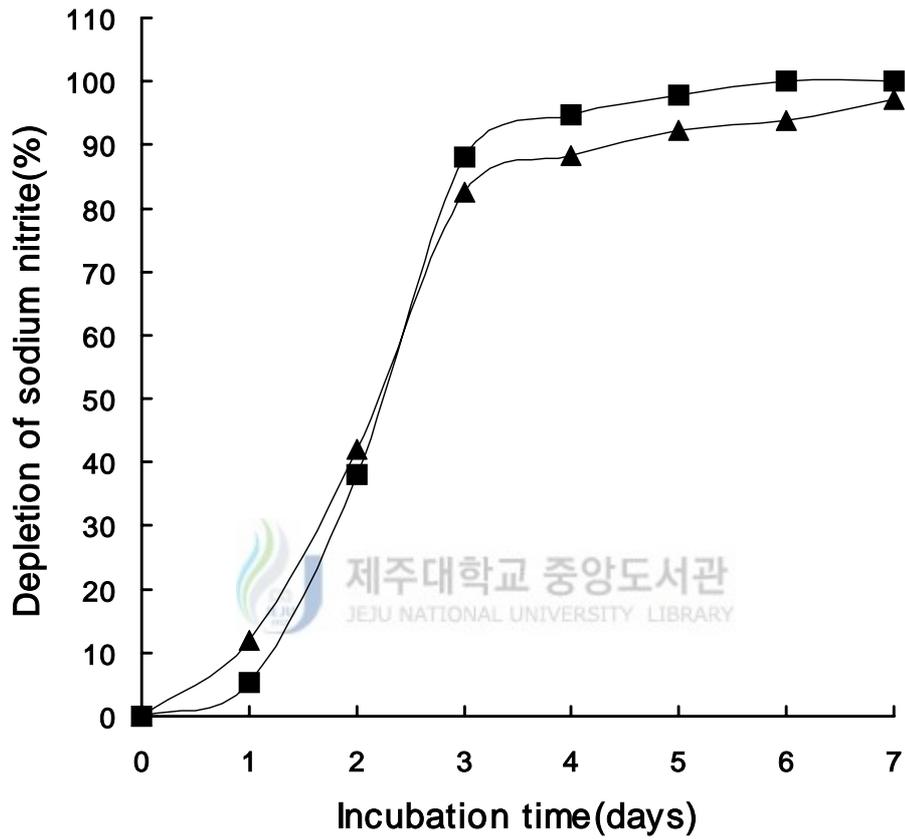


Fig. 8. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Pa Kimchi during incubation at 15°C
 (Final concentration of nitrite per broth: 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)
 ■ : *Lactobacillus plantarum*
 ▲ : *Lactobacillus sake*

2) 시판김치 분리유산균의 25℃에서 아질산염의 소거

(1) 배추김치 분리유산균의 아질산염 소거

배추김치 분리유산균인 *L. brevis*, *L. casei* subsp. *pseudopantarum*, *L. plantarum* 및 *L. sake*에 의하여 25℃에서 배양하면서 배양 기간에 따라 100µg/ml의 아질산염을 소거하는 정도를 측정한 결과는 Fig. 9와 같다. 25℃에서는 15℃와 달리 모든 유산균종이 유도기간을 요하지 않았으며, 아질산염 소거율 또한 급격히 증가하였다. 이는 유산균이 15℃에서는 온도에 적응하는 시간을 필요로 하지만, 25℃에서는 이러한 적응기간을 필요로 하지 않기 때문으로 생각되어진다. 그리고 15℃와는 달리 배양기간동안 모든 균종의 소거율이 거의 유사하였으며, 배양 1일에 89.8~95.0%, 배양 3일에는 100%로 모든 아질산염을 소거하여 15℃에서의 83.5~91.2%에 비해서는 높은 소거율을 보였다. 15℃에서는 *L. brevis*가 가장 높은 소거율을 보였으나, 25℃에서는 *L. casei* subsp. *pseudopantarum*이 배양 2일에 95.0%로 가장 높은 소거율을 보였다.



(2) 총각김치 분리유산균의 아질산염 소거

Fig. 10은 총각김치 분리유산균인 *L. confusus*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *L. plantarum*에 의하여 25℃에서 아질산염 소거능을 측정한 결과이다. 배추김치 분리유산균들과 마찬가지로 25℃에서는 유도기간을 요하지 않았으며, 아질산염 소거율 또한 15℃ 보다 급격히 증가하였다. 이는 25℃가 유산균 성장의 평균 적정온도인 30℃에 근사하므로 아질산염을 소거할 수 있는 효소 또한 적정온도에서 활성화되었기 때문에 소거율이 높은 것으로 생각되어진다. *L. confusus*의 경우 배양 2일에 20.9%의 아질산염을 소거한 반면에, 25℃에서는 56.3%의 소거율을 보였다. 그러나 배양 5일에 약 90% 정도의 아질산염을 소거하여 배양 2일에 95% 이상 소거시키는 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 *L. plantarum*과는 상당한 차이가

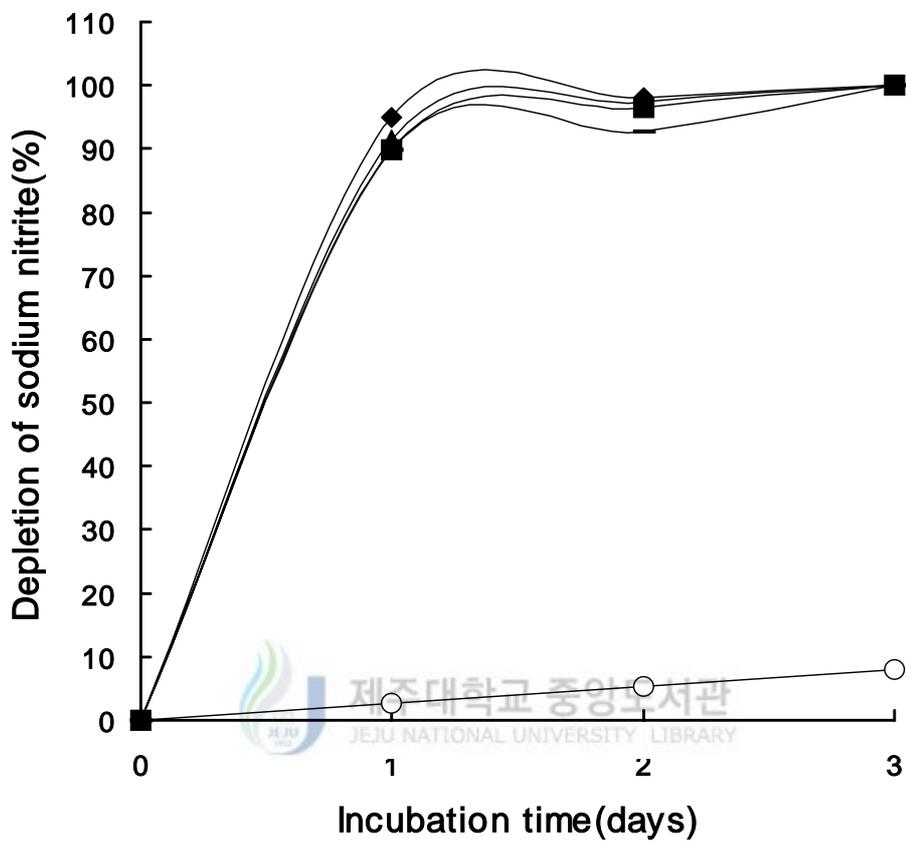


Fig. 9. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Baechu Kimchi during incubation at 25°C

(Final concentration of nitrite per broth: 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

○ : Blank(without lactic acid bacteria)

— : *Lactobacillus brevis*

◆ : *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*

■ : *Lactobacillus plantarum*

▲ : *Lactobacillus sake*

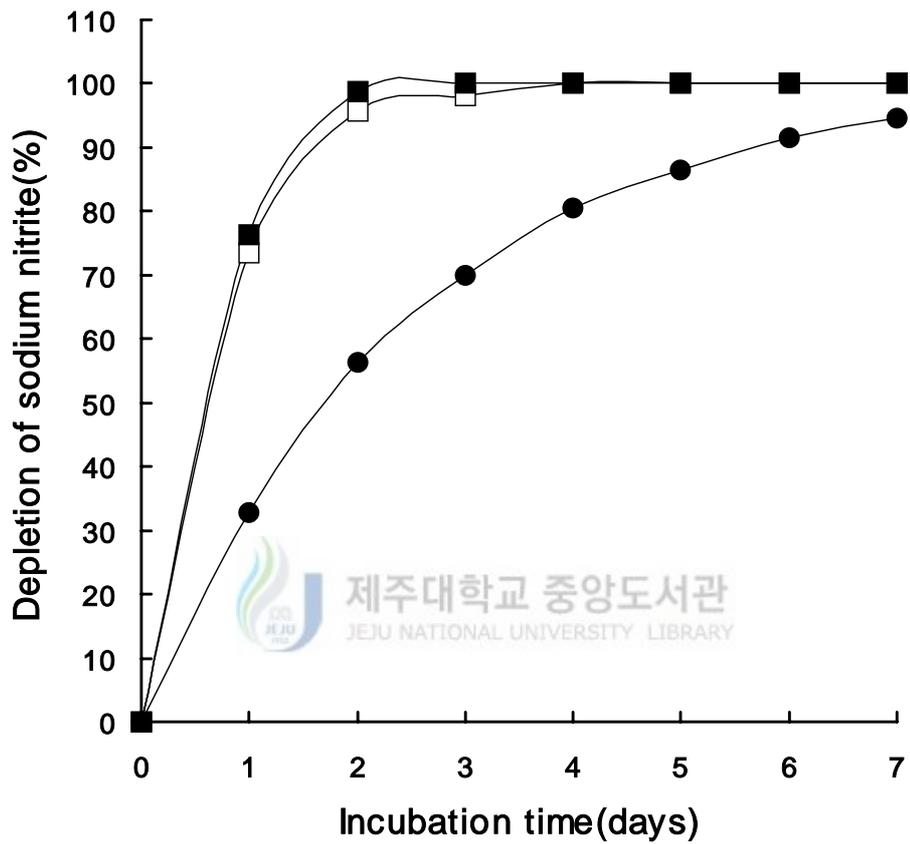


Fig. 10. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Chongkak Kimchi during incubation at 25°C.

(Final concentration of nitrite per broth: 100 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$)

- : *Lactobacillus confusus*
- : *Lactobacillus plantarum*
- : *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*

났다. 15℃에서 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*의 아질산염 소거율은 *L. plantarum* 보다 낮은 편이지만, 25℃에서는 *L. plantarum*과 거의 유사한 소거율을 보였다.

(3) 깍두기 분리유산균의 아질산염 소거

Fig. 11은 깍두기로부터 분리한 *L. brevis*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. coryniformis* subsp. *torquens*에 의하여 25℃에서 배양 기간에 따라 100 µg/ml의 아질산염을 소거하는 정도를 측정한 결과이다. 이들 유산균 모두 유도기간을 필요로 하지 않았으며, 배양 1일에 89.9~94.5%의 아질산염 소거율을 보였다.

(4) 파김치 분리유산균의 아질산염 소거

Fig. 12는 파김치로부터 분리한 *L. plantarum*과 *L. sake*에 의하여 25℃에서 아질산염 100µg/ml의 아질산염을 소거하는 정도를 측정한 결과이다. 두 균주는 다른 유산균종들과 마찬가지로 유도기간을 필요로 하지 않았으며, 배양 3일에 모든 아질산염을 소거시켰다.

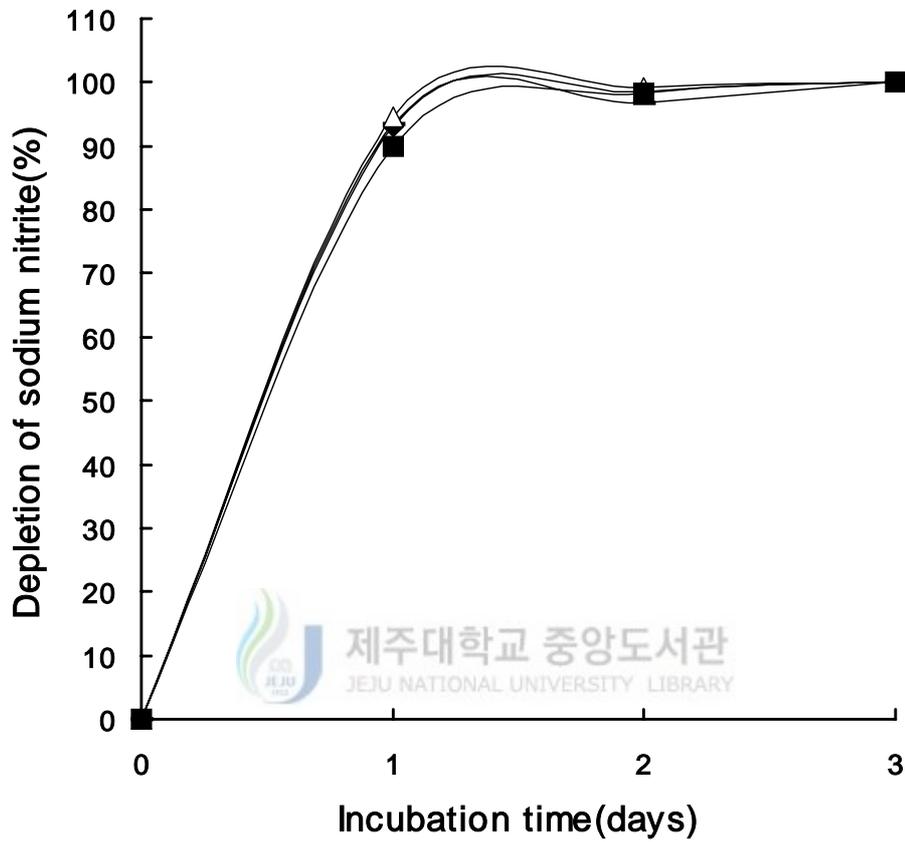


Fig. 11. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kaktugi during incubation at 25°C

(Final concentration of nitrite per broth: 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

— : *Lactobacillus brevis*

◆ : *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*

△ : *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens*

■ : *Lactobacillus plantarum*

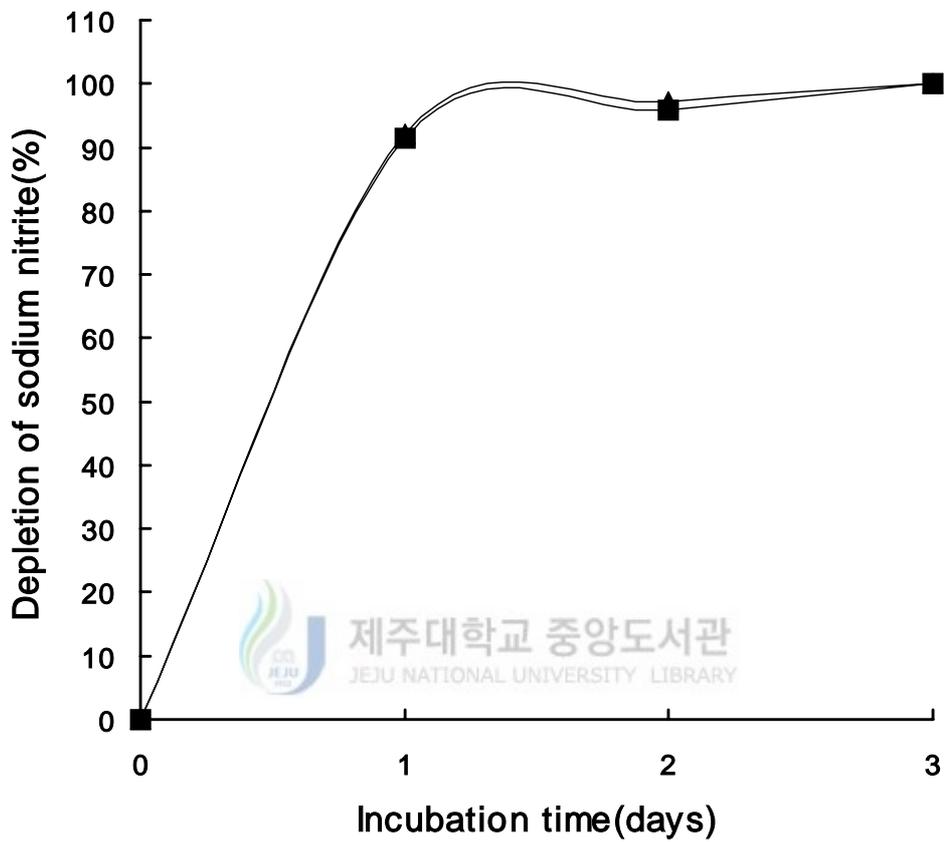


Fig. 12. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Pa Kimchi during incubation at 25°C

(Final concentration of nitrite per broth: 100 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$)

▲ : *Lactobacillus sake*

■ : *Lactobacillus plantarum*

3) 시판 김치분리 유산균에 의한 아질산염 소거 고찰

오(1997)는 김치 분리유산균에 의하여 15℃와 25℃에서 성장하는 동안 배양기간에 따라 250 μ g/ml의 아질산염을 소거하는 정도를 측정하였다. 15℃에서 배양 초기에는 *Lactobacillus*속 균주들이 *Leuconostoc*속 균주들에 비하여 아질산염에 적응하는 능력이 떨어져서 장기간의 적응기간, 즉 유도기간을 필요로 하였으며 동일 균속이라도 균종에 따라 차이가 났다고 하였다. 그러나 25℃에서는 15℃에서와 달리 *Lactobacillus*속 균주들은 유도기간을 필요로 함이 없이 배양 초기부터 매우 활성적이었다고 보고하였다. 본 연구에서는 시판 김치로부터 분리한 54개의 유산균 중 53개의 균주가 *Lactobacillus*속이며, 1개의 균주만이 *Leuconostoc*속이었다. 이들 유산균에 의하여 15℃와 25℃에서 성장하는 동안 배양기간에 따라 100 μ g/ml의 아질산염을 소거하는 정도를 측정한 결과를 보면, 15℃에서는 배양 1일의 유도기간을 필요로 하여 유도기간에서 차이는 없었으나, *Lactobacillus*속 중에서 *L. brevis*만이 유도기간을 필요로 하지 않는다는 것을 알 수 있었다. 이는 오(1997)의 동일 균속이라도 균종에 따라 차이가 날 수 있다는 결론과 일치하였다. 25℃에서 *Lactobacillus*속 균주들은 유도기간을 필요로 하지 않았으며, 아질산염 소거에 매우 활성적이었다는 결론과도 일치하였다. *L. confusus*의 경우는 15℃와 25℃의 온도에서 모두 매우 낮은 소거율을 보였으며, 15℃에서는 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 함께 배양 초기에 1일의 유도기간을 필요로 한 후 또 한번의 유도기간을 필요로 하였다.

*Lactobacillus*속은 *L. confusus* 균주를 제외하고는 15℃와 25℃에서 높은 아질산염 소거율을 보여 주었다. 이외에도 *Lactobacillus*속은 발암 전구물질로부터 발암물질로의 전환을 촉진시키는 장내 세균의 효소 활성을 저하시키며(Goldin과 Gorbach, 1984; 이 등, 1996), 면역계에 활성을 증진시켜 항암 작용을 하는 것으로 밝혀졌다(Ayebo 등, 1981; Fernandes와 Shahani, 1990;

Kato 등, 1981; Perdigon 등, 1986). 따라서 우리나라의 경우 김치에서 많이 분리되는 *Lactobacillus*속에 대한 연구가 많이 진행되어야 될 것으로 생각되어진다.

*L. sake*는 발효초기에 가장 많이 분리되는데 대해서 pH가 4.0이하로 저하된 과숙기에는 거의 분리되지 않는다. *L. brevis*는 발효초기에 비교적 많이 분리되고 과숙기에는 적게 분리되는 균주이며, *L. plantarum*은 발효의 전기간을 통해서 분리되나 특히 발효가 상당히 진행된 과숙기에 많이 분리된다(이등, 1992). 따라서 시료로 사용된 김치들은 과숙기에 가까이 있다는 것을 짐작 할 수 있으며, *L. brevis*는 거의 분리되지 않았지만 소거율이 가장 높아서 아질산염을 활성적으로 소거시킨다고 할 수 있다.

오(1997)는 15℃에서 유도기간을 *L. plantarum*은 2일, *L. sake*는 1일을 요하였으며, 배양 4일에는 *L. plantarum*은 61.8~73.9%, *L. sake*는 62.1~71.1%로 비슷한 수준을 유지한 후 배양 말기까지 *L. plantarum*이 *L. sake*보다 높은 소거율을 보였다. 본 연구에서는 두 균 모두 1일의 유도기간을 필요로 하였으며 배양 4일 이후에는 *L. plantarum*이 *L. sake*보다 높은 소거율을 보였다. 이것으로 첨가된 아질산염 농도에 따라 배양기간동안 유산균의 소거율에는 차이가 있지만 소거경향은 유사할 것이라고 생각된다.

오(1997)는 김치 분리유산균이 *L. mesenteroides* 균주에 의하여 배양 기간에 따라 150µg/ml의 아질산염을 소거하는 정도를 측정하였는데, 배양 초기에 유도기간을 필요로 하지 않았으며, 15℃에서 배양 7일에 85.4%, 25℃에서 3일에 91.7% 이상이 소거되어 온도가 상승됨에 따라 소거능이 증가하였다. 본 연구에서는 *L. mesenteroides*의 아종인 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*을 분리하였는데, 이 균에 의한 15℃와 25℃에서 100µg/ml의 아질산염을 소거하는 경향을 보면 동일 균속이라도 균종에 따라 다소 차이가 났으며, 15℃에서는 1일의 유도기간을 필요로 하였다. 그리고 15℃에서 배양

7일에 95.3%, 25℃에서 3일에 98.1%의 아질산염이 소거되어 마찬가지로 온도가 상승됨에 따라 소거율이 증가하였다. 이로부터 유산균에 의한 아질산염 소거는 온도에 의한 영향이 큰 것으로 생각되어진다.

Collins-Thompson과 Rodrigues-Lopez(1981)는 bologna 소시지로부터 분리된 유산균에 대해 본 실험과 동일한 농도의 아질산염을 첨가하여 5℃와 15℃의 혐기적 조건하에서 6일 동안 배양한 후 유산균에 의한 아질산염 소거 정도를 측정하였다. 그 결과, *L. mesenteroieds*, *L. plantarum*, *L. viridescens*는 아질산염을 환원시키는 nitrite reductase 효소계를 소유한 반면, *L. brevis*와 유산균이 아닌 다른 균주들은 유산균을 접종하지 않은 대조구와 유사한 수준을 나타내었고, 이들은 nitrite reductase를 소유하지 않았으며, 아질산염을 소거시키는 능력은 *L. mesenteroieds*, *L. plantarum*, *L. viridescens*, *L. brevis* 순서라 하였다. 하지만 본 연구에서는 15℃에서 *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 순서로 아질산염을 많이 소거시켰는데, 이는 *L. brevis*가 nitrite reductase를 소유하지 않아 소거율이 낮다는 연구결과와는 상반되었다. 그러나 오(1997)의 연구에서 *L. plantarum*, *L. sake*, *L. mesenteroides* 순서로 아질산염을 소거한다는 결과와는 일치하였다. 이는 오(1997)의 연구에서의 실험조건, 유산균 분리원 및 실험에 사용된 배지등이 다르기 때문이라는 결론과 일치한다고 생각되어진다.

Nordin(1969)은 pH가 0.86 단위만큼 감소됨에 따라 아질산염이 두배로 소거되며, 아질산염이 질소등의 gas성 물질로 전환되는 속도는 산성 pH에서 증가된다고 하였다. 이는 유산균이 성장하면서 유산을 생성하므로 아질산염 소거에 기여하였음을 제시하였는데, 본 연구에서는 아질산염 소거에 따른 pH와의 관계를 측정하지 않았지만, 오(1997)의 연구에서 고온에서 pH 감소와 아질산염의 소거가 직선적인 관계를 나타낸 것으로 더욱 확실하게 pH 감소가 부분적으로 아질산염의 소거에 기여하였다는 것을 알 수 있었

다.

이상의 결과로부터 김치 분리유산균은 아질산염 소거에 매우 활성적이므로 가공육 제품 및 유제품 등에서 분리되는 유산균에 뒤지지 않는 효과를 볼 수 있을 것으로 생각되며, 아질산염을 환원시키는 효소계에 대한 많은 연구가 필요하다고 사려된다.



V. 요약

김치분리 유산균의 아질산염 소거에 관한 유용성을 확인하기 위하여 시판 김치인 배추김치, 총각김치, 깍두기 및 파김치로부터 분리한 유산균을 15℃와 25℃의 온도조건에서 배양하는 중에 Lactobacilli MRS 액체배지에서 최종농도가 100 μ g/ml가 되도록 첨가한 아질산염의 소거에 관한 연구를 하였다.

배추김치(pH 4.0)에서 12종의 유산균을 분리하여 동정한 결과 8종은 *Lactobacillus plantarum*, 2종은 *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, 1종은 *Lactobacillus sake*, 1종은 *Lactobacillus brevis*로 동정되었다. 총각김치(pH 4.5)에서 6종을 분리하여 동정한 결과 1종은 *L. plantarum*, 4종은 *L. confusus*, 1종은 *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*로 동정되었다. 깍두기(pH 4.0)에서 15종을 분리하여 동정한 결과 2종은 *L. plantarum*, 4종은 *L. casei* subsp. *pseudo plantarum*, 4종은 *L. coryniformis* subsp. *torquens*, 5종은 *Lactobacillus brevis*로 동정되었다. 파김치(pH 4.1)에서 23종을 분리하여 동정한 결과 22종은 *L. plantarum*, 1종은 *L. sake*로 동정되었다.

아질산염의 소거효과는 15℃에서 *L. brevis*는 배양 2일에 74.9~91.3%의 소거율을 보였다. 배양 3일에 *L. coryniformis* subsp. *torquens*는 82.8~92.1%, *L. plantarum*은 77.8~93.7%, *L. sake*는 82.5~83.5%, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*은 71.9~85.6%의 소거율을 보였다. *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 95% 이상, *L. confusus*는 배양 7일에 50.2~56.8%로 매우 낮은 소거율을 보였다. 온도 및 아질산염에 적응하는 유도기간은 1일로 모두 같았으나, *L. brevis*는 유도기간을 필요로 하지 않고 배양 초기부터 아질산염 소거에 매우 활성적이었다. 25℃에서는 모든 유산균이 유도기

간을 필요로 하지 않았으며, 아질산염 소거효과 또한 높아서 *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. sake*, *L. coryniformis* subsp. *torquens* 및 *L. brevis*는 배양 1일만에 약 90%에 가까운 소거율을 보였으며, 배양 3일에 *L. confusus*는 70.1~73.0% *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*는 98.1%의 소거율을 보였다.



VI. 참고문헌

- Alan, F., P. Keenan, F. O' Donovan, P. Mayne and J. Murphy, 1998. Methaemoglobinaemia associated with sodium nitrite in three siblings. *BMJ*, 317, 1138~1139.
- Ayebo, A.D., K.M. Shahani and R. Dam, 1981. Antitumor component(s) of yogurt : Fraktionation. *J. Dairy Sci.*, 64, 2318~2323.
- Bodana, A.R. and D.R. Rao, 1990. Antimutagenic Activity of Milk fermented by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Dairy Sci*, 73, 3379~3384.
- Bogdanov, I.G., P.G. Dalev, A.I. Grevich, M.N. Kolosov, V.P. Malkova, L.A. Plemynnikova, and I.B. Sorokina, 1975. Antitumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. *FEBS Lett.*, 57, 259~261.
- Cassens, R.G., 1995. Use of sodium nitrite in cured meats today. *Food Technol.*, 49(7), 72~80.
- 조재선, 1991. 김치숙성중 미생물의 동태와 성분변화. 한국식문화학회지, 6(4), 479~501.
- 최홍식, 황정희, 2000, 김치 및 김치재료의 항산화 기능성. 식품산업과 영양, 5(3), 52~56.
- 정호권, 1993, 김치유산균의 생리적 특성과 면역학적 특성, 김치과학과 산업, 2, 23.
- 정소영, 김낙경, 윤선, 1999. 녹즙추출물의 아질산염 소거능에 대한 연구. 한국식품영양과학회지, 28(2), 342~347.
- Collins-Thompson, D.L. and G. Rodriguez-Lopez, 1981. Depletion of

- sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed bologna. *J. Food Protect.*, 44(8), 593~595.
- Cornee, J., D. Velema, M. Guyader and P. Berthezene, 1992. An estimate of nitrate, nitrite and *N*-nitrosodimethylamine concentrations in French food products or food groups. *Sci. des Aliments*, 12, 155~162.
- Dodds, K.L. and D.L. Collins-Thomson, 1984. Incidence of nitrite-depleting lactic acid bacteria in cured meats and in meat starter cultures. *J. Food Protect.*, 47(1), 7~10.
- Fernandes, C.F. and K.M. Shahani, 1990. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary lactobacilli. *J. Food Protect.*, 53(8), 704~710.
- Friend, B.A. and M. Shahani, 1984. Antitumor properties of lactobacilli and dairy products fermented by lactobacilli. *J. Food Protect.*, 47(9), 717~723.
- Gibbs, B.M. and F.A. Skinner, 1964. *Identification methods for microbiologists*, Vol 2, Academic Press, New York.
- Gilland, S.E., 1989. Acidophilus milk products: A review of potential benefits to consumer. *J. Dairy Sci.*, 72, 2483~2489.
- Goldin, B.R. and S.L. Gorbach, 1984, The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am. J. Clin. Nutr.*, 39, 756~761.
- Gray, J.I., B. Macdonald, A.M. Pearson and I.D. Morton, 1981. Role of Nitrite in Cured Meat Flavor : A Review. *J. Food Protect.*, 44(4), 302~312.
- Gray, J.I. and J.R. Dugan, 1975. Inhibition of *N*-nitrosamine formation

- in model food systems. *J. Food Sci.*, 40, 981~984.
- Harada, K. and K. Yamada, 1979. Microbial degradation of nitrosamines. I. Inducible breakdown of nitrosamines. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 45(7), 925~928.
- Harada, K., 1980. Microbial Degradation of Nitrosamines. II. Effect of the Conditions of Growth and Enzymic Reaction on the Nitrosamine Breakdown. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 46(4), 723~726.
- Harrigan, W.F. and M.E. McCance, 1976. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*, New York, Academic Press.
- Hosoda, M., H. Hashimoto, H. Morita and M. Chiba, 1992. Antimutagenicity of milk cultured with lactic acid bacteria against *N*-Methyl-*N*-Nitro-*N*-Nitroso-guanidine. *J. Dairy Sci.*, 75, 976~981.
- Hosono, A., T. Kashina and T. Kata, 1986. Antimutagenic properties of lactic acid bacteria-cultured milk on chemical and fecal mutagens. *J. Dairy Sci.*, 69, 2237~2242.
- Hosono, A., R. Wardoyo and H. Otani, 1989. Microbial flora in 'Dadiah', a traditional fermented milk in Indonesia. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 22, 20-24.
- Hosono, A., R. Wardoyo and H. Otani, 1990a. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1639~1643.
- Hosono, A., R. Wardoyo and H. Otani, 1990b. Binding of amino acid pyrolyzates by lactic acid bacteria isolated from 'Dadiah'. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologies* 23, 149~153.
- Ito, Y., M. Yodoshi, J.I. Tanaka and M. Iwaida, 1979. Comparison of

- two methods and improvements for calorimetric determination of nitrite in cod roe. *J. Food Protect.*, 42, 715~718.
- Kato, H., I.H. Lee, N.V. Chuyen, S.B. Kim and F. Hayase, 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 1333~1337.
- Kato, I., S. Kobayashi, T. Yokokura and M. Mutani, 1981. Antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice. *Microbiol. Immunol.*, 27, 611~618.
- Kawabata, T., H. Shazuki and T. Ishibashi, 1974. Effect of ascorbic acid on the formation of *N*-nitrosodimethylamine in vitro. *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 40, 1251~1257.
- 김호식, 황규찬, 1959. 김치의 미생물학적 연구(제1보). 혐기성세균의 분리와 동정. *과연회보*, 4(1), 56~63.
- 김호식, 황규찬, 이계호, 1960. 김치류와 해태에서 분리된 *Pseudomonas* sp. 의 비타민 B₁₂ 생산능에 관하여. *과연회보*, 5, 65~67.
- 김수현, 1982. 김치 숙성중 *N*-nitrosamine의 생성요인에 관한 연구. 부산수산대학 대학원 이학박사 학위 청구논문, pp. 39~62.
- 김선봉, 도정룡, 이용우, 구연숙, 김창남, 박영호, 1990. 가공조건에 따른 북음보리 추출물의 아질산염 소거작용. *한국식품과학회지*, 22(7), 748~752.
- 김선봉, 이동호, 염동민, 박진우, 도정룡, 박영호, 1988. Glucose-아미노산계 Maillard 반응생성물의 소거작용. *한국식품과학회지*, 20(3), 453~458.
- 이창호, 박희동, 1999. 김치로부터 항돌연변이 물질을 생산하는 유산균의 분리 및 특성. *한국산업미생물학회지*, 27(1), 15~22.
- 이창호, 박희동, 2000a. 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* KLAB21의 배양조건에 따른 *N*-methyl-*N*-nitrosoguanidine과 4-nitroquinoline-

- 1-oxide에 대한 항돌연변이 효과. 한국식품과학회지, 32(2), 417~423.
- 이철우, 고창영, 하덕모, 1992. 김치발효 중의 젖산균의 경시적 변화 및 분리
젖산균의 동정. 한국산업미생물학회지, 20(1), 102~109.
- 이기동, 장학길, 김현구, 1997. 버섯류의 항산화성 및 아질산염 소거작용. 한
국식품과학회지, 29(3), 432~436.
- 이기은, 최언호, 지근억, 1996. 김치의 섭취가 인체의 장내 미생물에 미치는
영향. 한국식품과학회지, 28(5), 981~986.
- 이세경, 지근억, 1996. Bifidobacteria에 의한 항돌연변이 효과. 한국식품과학
회지, 28(4), 796~799.
- 이신호, 박나영, 2000b. 김치에서 분리된 유산균의 Nitrite 소거능과 항균성.
한국산업미생물학회지, 28(1), 39~44.
- 임종락, 박현근, 한홍의, 1989. 김치에서 서식하는 Gram 양성세균의 분리
및 동정의 재평가. 한국미생물학회지, 27(4), 404~414.
- Macdonald, I.A., R.G. Bussated, D.M. Hutdhinson and L.V. Holdeman,
1984. Rutin-induced β -glucosidase activity in *Streptococcus faecium*
VGH-1 and *Streptococcus* sp. strain FRP-17 isolated from human
feces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 350~357.
- 맹길재, 김정상, 지근억, 김정환, 1997. Bacteriocin을 생산하는 장내 유산균의
분리 및 Bacteriocin 특성 조사. 한국식품영양과학회지, 26(6), 1228~1236.
- Michael, E.S., 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van*
Leeuwenhoek, 70, 331~345.
- Mirvish, S.S., 1970. Kinetics of dimethylamine nitrosation in reaction to
nitrosamine carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.*, 44, 633~639.
- Nordin, H.R., 1969. The depletion of added sodium nitrite in ham. *Can.*
Inst. Food Sci. Technol. J., 2, 79~85.

- Normington, K.W., B. Irene, M. Molina, J.S. Wishnok, S.R. Tannenbaum, and S. Paju, 1986. Characterization of a Nitrite Scavenger, 3-Hydroxy-2-pyranone, from Chinese Wild Plum Juice. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 215~217.
- 오창경, 1997. 김치의 (항)돌연변이원성과 유산균에 의한 아질산염 소거. 제주대학교 대학원 박사학위 논문, pp. 28~73.
- 박현근, 임종락, 한홍의, 1990. 각 온도에서 김치발효 중 미생물의 천이과정. 인하대학교 기초과학연구소 논문집, 11, 161~169.
- 박건영, 1995. 김치의 영양학적 평가와 항돌연변이 및 항암효과. 한국영양식량학회지, 24(1), 169~182.
- 박건영, 1997. 한국 전통발효식품(된장, 김치)의 발암안정성, 항돌연변이 및 항암 기능성. 식품과 산업, 30(2), 89~102.
- 박건영, 최홍식, 2000. 김치 유산균의 항돌연변이 및 항암효과. 생물산업, 13(3), 11~17.
- Park, K.Y., S.H. Kim and T.J. Son, 1998. Antimutagenic activities of cell wall and cytosol fractions of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *J. Food Sci. Nutr.*, 3, 329~333.
- 박상진, 김정환, 이경호, 양중범, 백영진, 김창환, 1999. *Enterococcus faecalis* 2B4-1 세포벽 성분 중 Polysaccharide Fraction의 종양세포 증식억제 효과. 한국산업미생물학회지, 27(1), 8~14.
- Perdigon, G., M.E.N. de Macias, S. Alvarez, M. Medici, G. Oliver and A.A. de Ruiz Holgado, 1986. Effect of a mixture of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* administered orally on the immune system in mice. *J. Food Protect.* 49, 986~989.
- Sasaki, S., K. Kodama, K. Uchida and H. Yoshino, 1985. Antitumor

- activity of *Aspergillus* cell walls. *Agric. Biol. Chem.*, 49(4), 1219~1221.
- Schuddeboom, L.J., 1993. *Nitrates and Nitrites in Foodstuffs*. Council of Europe Press, Belgium.
- Shin, K.S., O.W. Chae, I.C. Park, S.K. Hong, and T.B. Choe, 1998. Antitumor effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 13, 357~363.
- Sneath, P.H.A., N.S. Mair and M.E. Sharpe, 1986. *Bergey's Manual of Systematic Microbiology*, Vol 2, Willams and Wilkins, Baltimore.
- Sofos, J.N., F.F. Busta and C.E. Allen, 1979. Botulism Control by Nitrite and Sorbate in Cured Meats : A Review. *J. Food Protect.*, 42(9), 739~770.
- 소명환, 1993, 김치에서 분리한 저온성 젖산균의 특성. 고려대학교 대학원 박사학위 논문, pp. 1~3.
- 소명환, 김영배, 1995a. 김치에서 분리한 저온성 젖산균의 동정. 한국식품과학회지, 27(4), 495~505.
- 소명환, 김영배, 1995b. 김치에서 분리한 저온성 젖산균의 배양특성. 한국식품과학회지, 27(4), 506~515.
- 손태진, 김소희, 박건영, 1998. 김치에서 분리한 유산균의 항돌연변이 효과. 대한암예방학회지, 3(1), 65~74.
- Stamer, J.R., B.O. Stoyla and B.A. Dunckel, 1971. Growth rates and fermentation patters of lactic acid bacteria associated with sauerkraut fermentation. *Milk Food Technol.*, 34(11), 521~525.
- Tannenbaum, S.R. and V.R. Young, 1980. Endogenous nitrite formation in man. *J. Environ. Phatol. Toxicol.*, 3, 357~368.

- Thyagaraja, N. and A. Hosono, 1992. Antimutagenicity of lactic acid bacteria from "Idly" against food-related mutagens, *J. of Food Protect.*, 56(12), 1061~1066.
- Tilbury, R.H., 1975. Occurrence and effects of lactic acid bacteria in the sugar industry, in *Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food*, Academic Press, London, pp. 177~191.
- Tsutao, K., K. Kikugawa and S. Fukuda, 1980. Nitrite-reacting substances in japanese radish juice and their inhibition of nitrosamine formation. *J. Agric. Food Chem.*, 28(6), 1265~1269.
- 여생규, 염동민, 이동호, 안철우, 김선봉, 박영호, 1994. 녹차 추출물의 아질산염 분해작용. *한국영양식량학회지*, 23(2), 287~292.



사 사

먼저 미흡한 저를 깊은 관심과 사랑으로 이끌어 주시고 이 논문이 완성되기까지 세심한 배려와 격려를 아끼지 않으신 김수현 지도교수님께 깊은 감사를 드립니다.

그리고 바쁘신 가운데도 논문심사를 기꺼이 맡아 주시어 세심하게 검토하여 주신 하진환 교수님, 임상빈 교수님께도 감사드리며, 평소에 많은 조언을 해주신 송대진 교수님, 김재하 교수님, 강영주 교수님, 고영환 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

본 연구를 수행하는 도중에 많은 도움을 주시고 논문 교정에 신경써주신 오창경 선생님과 많은 충고와 논문 교정에 도움을 주신 오명철 선생님 그리고 많은 관심과 사랑을 베풀어주신 오혁수 선생님, 나임순 선생님, 김효선 선생님, 정완석 선생님께도 감사드립니다. 미생물 동정에 많은 조언을 아끼지 않으신 허윤희 선배님, 논문 발표시에 많은 힘이 되어준 좌미경 선배님, 이번에 함께 졸업하게 된 안용석 선배님, 이해심 많게 힘이 되어준 김성미 동료를 비롯한 식품공학과 대학원 선·후배님들과 식품생화학실험실 식구들께도 감사드립니다.

옆에서 항상 사랑스런 마음으로 돌봐주신 사랑하는 아버님, 어머님 그리고 항상 고맙게 생각하는 오빠와 남동생에게도 감사드리며, 이 논문을 바칩니다.