

Effect of Growth Conditions on *Lactic acid bacteria* Isolated from Kimchi

Lim Joe, Kyu Hyuk Kwun, and JungHeon Lee

Department of Chemical Engineering, Chosun University

Tel : +82-62-230-7259, Fax : +82-62-230-7226

Abstract

This studies were carried out to investigate optimal conditions for *Lactic acid bacteria* growth, which was grown in a batch fermenter. The optimal temperature was 30°C, optimal pH was 6.5 and agitation speed was 100rpm and didn't supply the air. Used media compositions were yeast extract 5g/L, peptone 10g/L, sugar 20g/L, beef extract 10g/L, tween 80 1ml/L, ammonium citrate 2g/L, sodium acetate 5g/L, magnesium sulfate 0.1g/L, manganese sulfate 0.05g/L, dipotassium phosphate 2g/L. These results would be useful for enhancing lactic acid bacteria concentration.

Keywords : Batch culture, *Lactic acid bacteria*

Introduction

유산균(*Lactic acid bacteria*)은 포도당 또는 유당과 같은 탄수화물을 분해 이용하여 유산을 생성해내는 박테리아로서 단백질을 분해하지만 부패시키는 능력은 없다. 유산균은 인간이 이용할 수 있는 가장 유익한 미생물중의 한 종으로서 그이용은 오랜 역사를 갖고 있다. 인류는 19세기 Pasteur에 의하여 유산균의 실체가 밝혀지기 훨씬 이전부터 각종 발효식품, 장류, 주류, 김치, 의약품, 가축사료 등에 이르기까지 생활에 광범위하게 활용해 왔다.¹⁾ 이들은 낮은 pH 및 혐기성조건하에서 당류를 발효해서 다량의 젖산을 생성하지만 생육에 많은 종류의 영양물질을 요구하는 특성을 가지고 있다.²⁾ 이들 유산균은 발효가 진행될 때 부가적으로 미량의 방향물질을 생산하여 맛과 풍미를 향상시켜 주며³⁾ 또한 protease, lipase 등의 효소를 생산하여 유제품의 숙성을 돕는다. 현재 밝혀진 유산균은 300~400여 종이며 그중에서도 김치유산균은 우리가 많이 다루고 있는 균이다.⁴⁾

김치유산균은 김치에 존재하는 균으로서 그 숫자는 그램당 10억 이상 존재한다. 김치의 맛을 살리는데 있어서 유산균의 작용이 아주 크다. 식품뿐만 아니라 사람의

암을 예방하며 장내노화를 예방하는 등 여러 가지 특성을 가지고 있어 이에 관련된 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 김치유산균을 이용한 회분식 배양을 통하여 균의 성장에 필요한 최적온도, pH 및 용존 산소농도를 알아보려고 하였다.

Materials and methods

1) 균주 및 배지

본 실험에서 사용한 균주는 김치에서로부터 기능성 고분자를 생산하는 *Lactic acid bacteria*이고 MRS배지에서 2주 간격으로 계대배양하면서 실험에 사용하였고 균주의 오랜 보관을 위해서 동결건조방법을 사용하였다. 균주 배양을 위한 최적배지의 조성은 Yeast extract 5g/L, Peptone 1g/L, Sugar 20g/L, Beef extract 10g/L, Tween 80 1ml/L, Ammonium citrate 2g/L, Sodium acetate 5g/L, Magnesium sulfate 0.1g/L, Manganese sulfate 0.05g/L, Dipotassium phosphate 2g/L이었다.

2) 배양조건 및 회분배양

플라스크 배양에 사용된 접종원은 300ml 플라스크를 4개를 준비하여 배지를 각각 100ml씩 만들어 pH 6.5로 하고 121°C에서 15분간 살균하여 균을 접종한 후 30°C shanking incubator(Dongyang Scientific Co.)에서 12시간 진탕배양(100rpm)하여 사용하였다. 본 배양에서는 접종비의 10%인 200ml의 전배양액을 접종하였고 회분식 배양은 5L 발효기(Hanil Scientific Co.)에서 working volume 2L로 하여 온도는 25에서 35°C, 정치배양에서 200rpm, 통기량은 0으로 변화를 주어 배양을 실시하였고 pH는 1N HCl과 1N NaOH로 조절하였다.

3) 분석 방법

부동한 조건에서 유산균의 성장조건을 알아보기 위하여 6시간 간격으로 sample를 각각 1ml씩 취하여 UV-vis 흡광광도계(Dong-il SHIMADZU)를 이용하여 파장 600nm에서 O.D(optical density)를 측정하였고 나머지 1ml로는 1.5ml micro-tube에 담아 1,200rpm에서 10min 원심분리한 후 상등액은 버리고 분리된 세포를 증류수로 3회 세척하여 50°C에서 24hr 건조시켜 건조 중량을 측정하였다.

Results and discussions

1) 정치배양과 교반속도의 영향

정기배양과 교반속도 100rpm, 200rpm으로 조절하고 온도 30℃, pH 6.5인 조건하에서 30시간 배양한 결과 교반속도 100rpm에서 가장 잘 자랐다. 정기배양과 교반속도의 영향에 의한 발효시간에 따른 세포농도 증가는 Fig. 1과 같다.

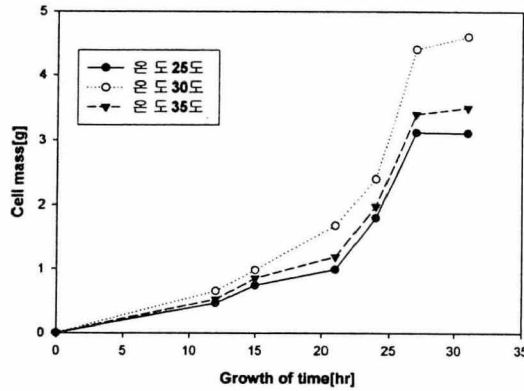


Figure 1. Effect of temperature on cell growth.

2) 온도의 영향

발효기 온도를 각각 25℃, 30℃, 35℃로 조절하여 교반속도를 100rpm으로 정하고 pH를 6.5인 조건하에서 34시간 배양한 결과 온도 30℃에서 가장 잘 자랐다. 부동한 온도에 의한 시간과 Cell mass관계는 Fig. 2와 같다.

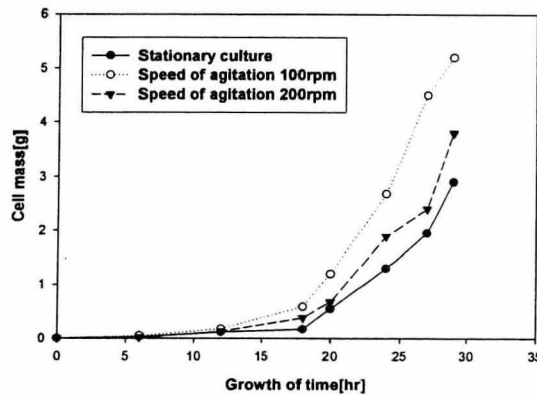


Figure 2. Effect of agitation speed on cell growth.

3) pH의 영향

발효기 pH를 각각 6.0, 6.5, 7.0으로 조절하고 온도 30℃, 교반속도를 100rpm으로 30시간 배양한 결과 pH 6.5에서 가장 잘 자랐다. 따라서 가장 적합한 pH는 6.5로 선택

하였다. 부동한 pH에 의한 시간에 따른 Cell mass 변화는 Fig. 3과 같다.

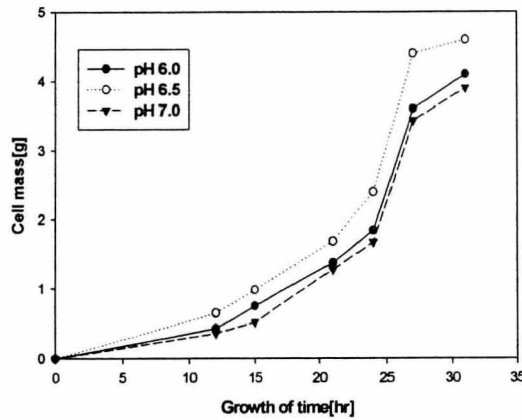


Fig 3. Effect pH on cell growth.

4) 탄소원의 영향

탄소원으로 Glucose, Sugar, Maltose를 사용하여 성장을 비교한 결과 Fig. 4에서와 같이 Sugar 생산성이 뛰어난 것을 알 수 있다.

5) 질소원의 영향

유산균성장의 중요성분인 질소원의 영향을 알아보기 위하여 질소원으로 Ammonium citrate, Ammonium sulfate, Ammonium chloride를 사용하여 비교한 결과 Fig. 5에서와 같이 Ammonium citrate에서 가장 잘 자랐다.

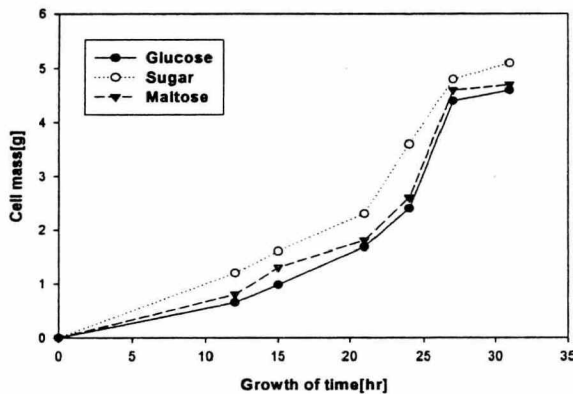


Fig 4. Effect of Carbon source on cell growth.

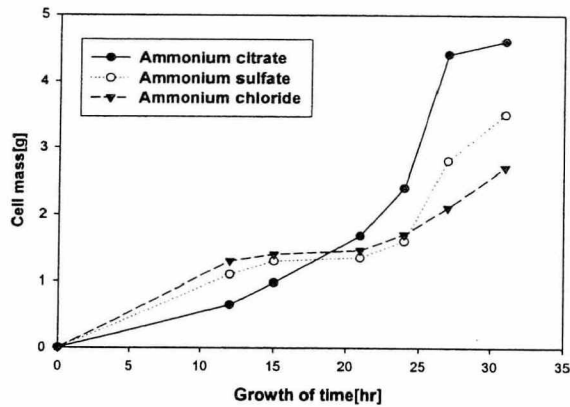


Fig 5. Effect of Nitrogen source on cell growth.

참고문헌

1. Carr, J. G. (1975), Lactic acid bacteria in beverages and foods, Academic Press, New York.
2. 조영배 외 6명, 김치 유산균인 *Lactobacillus* sp. JJ-2001이 생산하는 Bacteriocin에 관한 연구, KOREA J. BIOTECHNOL. BIOENG vol.12. No. 1.73-80(1997)
3. Sharpe, M. E. (1979), Lactic acid bacteria in the dairy industry, J. Soc. Dairy Technol, 32, 9-18.
4. 성원희 외3명, 분리대두단백이 *Lactobacillus acidophilus*의 생육에 미치는 영향 (1984), KOREAN J, FOOD SCI, TECHNOL. Vol. 16. No.1 pp. 121