

## 김치에서 젖산균의 선별 및 계수를 위한 선택배지

이명기<sup>†</sup> · 박원수 · 강국희\*

한국식품개발연구원 생물공학연구부  
\*성균관대학교 낙농공학과

### Selective Media for Isolation and Enumeration of Lactic Acid Bacteria from Kimchi

Myung-Ki Lee<sup>†</sup>, Wan-Soo Park and Kook-Hee Kang\*

Food Biotechnology Division, Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea  
\*Dept. of Dairy Science and Technology, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

#### Abstract

Selective media for isolation and enumeration of lactic acid bacteria from kimchi were compared using 36 strains of lactic acid bacteria from kimchi and dairy products. Among the selective media, KF *Streptococcus* agar showed the best result for the selection of *Enterococcus* group and *Pediococcus* group, and M-17 agar with pH indicator for *Lactococcus* group, the m-LBS agar for *Lactobacillus* group, and PES-3 agar for *Leuconostoc* group.

**Key words:** selective media, lactic acid bacteria, kimchi

#### 서 론

김치에 나타나는 젖산균은 *Lactobacillus*, *Leuconostoc* 과 *Pediococcus*가 주로 나타나고 일부 *Enterococcus* 와 *Streptococcus*가 보고(1-7)되어 있으며, 알려진 일반 젖산균과는 다른 여러특징들이 나타난다. 즉, 김치 *Leuconostoc*속이 보다 낮은 pH 및 고농도의 소금함유 배지에서 증식하고 그 속의 일부 김치 균주와 김치 *Lactobacillus*의 일부 균주가 에탄올 12%에서도 증식하며 모든 김치 젖산균이 *Enterococcus*속의 특징인 pH 3.0의 인공위액과 40%의 담즙액에서 내성을 나타내었다(1).

최근에 김치 젖산균을 분리하기 위하여 사용된 배지는 Mheen과 Kwan(2)이 젖산생성균을 분리하기 위하여 sodium azide-sucrose agar 사용하여, Gram염색, 세포모양, 발효양상 및 산 생성량에 따라 *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus cerevisiae*, *Streptococcus faecalis*를, dextran 생성 특성으로 *Leuconostoc mesenteroides*를, 그리고 젖산을 소량 생성하는 *Lactobacillus*를 구별하였다. 이 등(3)은 宮尾과 小川의 방법(8)에 따라

phenyl ethyl alcohol-sucrose agar(PES)를 사용하여 20°C 배양에서 dextran 생성 특성으로 *Leuconostoc* 을, M-*Enterococcus* agar를 사용하여 37°C 배양에서 *Streptococcus*와 *Pediococcus*를, m-LBS 배지를 사용하여 30°C에서 3~4일간 배양하여 *Lactobacillus*를 분별하였고, 김치에서 젖산균을 경시적으로 조사하였다. 심 등(4)은 변형시킨 Rogosa SL 액체배지를 사용하여 에탄올 저항성에 따라 에탄올 5%에서 성장한 것을 전체 젖산간균으로, 7%에서 성장한 것을 *L. brevis*와 *L. plantarum*으로 계수하였고 또한, sodium azide-sucrose agar에서 나타난 거대 colony를 *Leuconostoc*속으로, sodium azide glucose agar에서 나타난 것을 전체 젖산균으로 하였다. 임 등(5)은 lactobacilli MRS(MRS) agar, Tryptone glucose yeast extract agar, Nutrient agar, Kimchi material agar, Kimchi fermented(KM) agar를 사용하여 김치에서 나타나는 Gram 양성세균을 조사하였으며 김치젖산균 분리용 배지는 MRS 배지가, 계수에는 KM 배지가 적합할 것이라고 하였다. 한과 박(6)은 bromophenol blue (BPB)를 첨가하여 만든 MRS-BPB agar에서 산생산 정도 및 BPB가 colony

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

에 흡착하여 colony의 색이 다르게 나타나는 성질, 그리고 나타난 colony 모양을 이용하여 *Ped. acidilactici*, *Ent. faecalis*, *Leu. mesenteroides*, *L. brevis*, *L. plantarum* 등을 구별하였고 이것을 이 등(7)이 김치젖산균 군집 계수에 사용하였다. 그러나, 이와같이 많은 젖산균 선택배지가 사용되었으나 효과적으로 각각의 젖산균 속을 분별하여 주는 선택성 높은 배지는 거의 없으며, 또한, 김치 젖산균의 특성은 일반 젖산균과 차이가 있으므로 김치균의 선택적 계수 및 균선발을 위하여 기존의 배지를 조사할 필요가 있다.

따라서, 본 실험은 김치에서 발견되는 자연 균총의 균 양상을 조사하기 위한 기초 자료로 사용하기 위하여 알려진 젖산균 선택배지 및 수정된 선택배지에서 최적 선택배지를 선정하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주 및 배지

본 실험에 사용한 젖산균주는 20개의 김치 유래균과 16개의 낙농제품 유래균을 한국식품개발연구원 균주보관소(KFRI), 성균관대학교 낙농공학과(SKD)와 기타, 본 실험실에 보관된 균주를 사용하였다(Table 1). 증균용으로는 *Lactobacilli* MRS Agar(Difco)를, *Enterococcus*와 *Pediococcus* 선별용으로는 0.5%와 1.0%

의 bile salt를 첨가한 MRS Agar, azide dextrose agar (Difco), KF *Streptococcus* agar(Difco), Slanetz-Bartley medium(Oxoid), bile esculin azide agar(Difco)를, *Lactococcus* 선별용으로는 FSDA-I(9), M17에 각각 0.002%의 bromocresol purple(BCP)을 첨가한 배지, 0.002%의 bromocresol green(BCG)을 첨가한 배지, 0.01%의 triphenyl tetrazolium chloride(TTC)를 첨가한 배지, 0.01%의 TTC와 0.5%의 lithium chloride(LC)를 첨가한 배지, 그리고 0.01%의 TTC, 0.5%의 LC, 1%의 glucose 등을 첨가한 배지를, *Lactobacillus* 선별용으로는 m-LBS(8), Rogosa SL medium(Difco)를, *Leuconostoc* 선별용으로는 phenylethanol agar(Difco)에 0.05%의 LC 등을 첨가한 배지(여기서는 PES-1이라 하였습)(10), PES-1에 0.05%의 thalose acetate(TA)를 첨가한 PES-2, 窩尾과 小川이 사용한 PES 배지(8)(여기서는 PES-3라 하였습), LUSM 배지(11)를 사용하였다.

#### 실험 방법

MRS broth에서 2차 계대한 각 균주를 0.85% 생리 식염수에 재현탁한 후에 지름이 0.25mm인 멸균 나무봉을 사용하여 균액을 나무봉에 흡습시킨 후에 agar 속으로 삽입되지 않게 하여 배지 표면에 접종하였고, *Lactobacillus*는 37°C에서, 나머지 균은 30°C에서 48시간 동안 GasPak anaerobic system(BBL)을 이용한 혐

Table 1. List of lactic acid bacteria from kimchi and dairy products used in this experiment

From kimchi	From dairy products
<i>L. amylophilus</i> KFRI238	<i>E. faecalis</i> var. <i>liquefaeciens</i> SKD1007
<i>L. brevis</i> KFRI146	<i>E. faecium</i> KFRI195
<i>L. casei</i> KFRI228	<i>L. acidophilus</i> KFRI150
<i>L. confusus</i> KFRI227	<i>L. plantarm</i> KFRI144
<i>L. curvatus</i> KFRI231	<i>L. plantarm</i> KFRI399
<i>L. fermentum</i> KFRI164	<i>Lac. lactis</i> sub. <i>lactis</i> N2
<i>L. hilgardii</i> KFRI229	<i>Lac. lactis</i> sub. <i>lactis</i> N26
<i>L. homohiochii</i> KFRI234	<i>Lac. lactis</i> sub. <i>lactis</i> SKD1001
<i>L. maltaromicus</i> KFRI235	<i>Lac. lactis</i> sub. <i>lactis</i> SKD1002
<i>L. plantarm</i> KFRI236	<i>Lac. lactis</i> sub. <i>cremoris</i> SKD1003
<i>Lac. lactis</i> sub. <i>lactis</i> KR121	<i>Leu. meseneroides</i> KFRI352
<i>Lac. lactis</i> sub. <i>lactis</i> KR127	<i>Leu. parameseneroides</i> KFRI159
<i>Lac. lactis</i> sub. <i>lactis</i> KR130	<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KFRI148
<i>Leu. cremoris</i> KFRI241	<i>P. acidilactici</i> KFRI189
<i>Leu. lactis</i> KFRI232	<i>P. acidilactici</i> KFRI157
<i>Leu. meseneroides</i> KFRI218	<i>Str. mutans</i> SKD1017
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>citreum</i> KA132	
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KM132	
<i>P. acidilactici</i> JM127	
<i>P. cerevisiae</i> KFRI355	

L.: *Lactobacillus*, Lac.: *Lactococcus*, P.: *Pediococcus*, E.: *Enterococcus*, Str.: *Streptococcus*.

기 조건에서 배양하여 colony 생성과 형태 그리고 배지 변색을 다음과 같이 조사하였다. 즉, *Enterococcus*와 *Pediococcus*를 구별하기 위하여 담즙산 염이 첨가된 MRS배지와 azide dextrose배지를 사용하여 성장 억제 차이에 의한 colony형성을, KF *Streptococcus*배지와 Slanetz-Bartley배지를 사용하여 환원력에 의한 붉은색 colony형성을, 그리고 bile esculin azide를 사용하여 bile에 의한 억제와 esculin 환원에 의한 흑색환형성 여부를 조사하여 비교하였다(12-14). *Lactococcus*의 선택배지로 FSDA-I배지와 M17배지에 pH 지시약 또는 염과 환원물질을 첨가하여 비교하였으며, FSDA-I배지는 colony의 크기, 단백질 분해력 및 산생성력을, M17배지에 BCP 또는 BCG를 첨가한 경우는 산에 의한 colony 변색을, TTC 첨가는 환원력에 의한 붉은색의 colony 변색을, LC와 TTC첨가는 균의 감수성 차이에 따른 성장력 차이와 환원력에 의한 변색을, lithium chloride, TTC와 glucose 첨가는 균의 감수성 차이에 따른 성장력 차이와 환원당에 의한 TTC 환원에 대한 간섭으로 나타나는 colony 색의 변화를 조사하였다. *Lactobacillus*의 선택배지로는 *Lactobacillus*속이 산에 대한 저항성이 크므로(15) 낮은 pH와 유기산염을 첨가한 배지를 사용하였고, *Leuconostoc*의 선택배지로는 *Leuconostoc*이 sucrose에서 점액질을 생성하므로(8) sucrose와 유기산염을 첨가한 배지를 사용하여 다른 젖산균속과의 선택성을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### *Enterococcus*와 *Pediococcus* 분리배지의 선별력 조사

*Enterococcus*와 *Pediococcus*를 구별하기 위하여 다음과 같이 실험하였으며 그 결과는 Table 2에 나타내었다. *Enterococcus*속은 사용된 모든 배지에서 양성으로 나타나 음성적으로 분리할 수 있는 선택성은 없었다. MRS배지에 담즙산 염을 첨가한 배지에서는 *Pediococcus*속의 모든 균주가 양성을, *Lactobacillus*속은 일부가 양성이었으므로 혼합된 균집에서 양성만으로 나타나는 *Enterococcus*속과의 구별이 쉽지 않았고, bile salt 첨가배지에서 *Leuconostoc*속과 *Lactococcus*속의 대부분이 약하거나 음성으로 나타나므로서 *Enterococcus*와 *Pediococcus*, 두 속에 대해서는 선택성을 보였다. Azide dextrose agar의 경우에는 *Lactobacillus*속에서 1균주가 양성이고 2균주가 약한 양성을, *Leuconostoc*속에서 2균주와 *Pediococcus*속에서 1균주가 양성이고 3균주가 약한 양성을 나타냄으

로서 약한 선택성을 나타내었지만, *Lactococcus*속의 경우에 양성의 1균주를 제외하고 음성이거나 약하므로서 *Lactococcus*속에 대해서는 *Enterococcus*속과의 선택성을 보였다. KF *Streptococcus* agar의 경우에는 *Leuconostoc*속의 1균주만 양성을, 그리고 *Pediococcus*속의 1균주가 약한 양성을 나타냄으로서 대부분의 균집에서 *Enterococcus*가 가장 잘 선별될 수 있는 배지였다. Bile esculin azide agar는 *Lactobacillus*속에서 1균주가 강한 양성이고 1균주는 약한 양성이었으므로 *Enterococcus*속과의 선별력이 높게 나타났지만, 나머지 균집에서는 양성으로 나타나는 균주가 많아 *Enterococcus*속과의 선별력이 낮았다. Slanetz-Bartley 배지의 경우에는 *Lactobacillus*속과 *Pediococcus*속이 음성으로 나타나 두 균집에 대한 *Enterococcus*속과의 선별력이 높게 나타났지만, 나머지 균집은 약한 양성으로 나타나는 균주가 많아 *Enterococcus*속과의 선별력이 낮았다. 그리고, *Enterococcus*속은 김치유래균에 대하여 조사되지 못하였으므로 추후에 김치유래균과 일반균의 비교가 필요하였고 *Pediococcus*속은 김치유래균과 일반균의 차이가 없었다. 따라서, *Enterococcus*속 선별에는 KF *Streptococcus*배지가 가장 우수하였다.

### *Lactococcus* 분리배지의 선별력 조사

*Lactococcus*의 선택배지로 FSDA-I배지(9)와 M17배지(16) 등이 있으나 elective media에 속하여(3) 선별력이 약한 것으로 알려졌다. FSDA-I배지의 경우, *Enterococcus*속 균주와 낙농제품 유래의 *Lactococcus*속 균주들이 대부분 노란색 colony를 형성하면서 빠르게 성장하였으며, 색변화가 없이 느리게 성장한 *Lactobacillus*속, *Leuconostoc*속, *Pediococcus*속 균주들과 구별되었고, 김치 유래 *Lactococcus*속도 잘 성장하지 못하여 낙농유래의 *Lactococcus*속 균주와 구별되었다. M-17배지의 경우에는 BCP를 첨가한 배지는 *Lactococcus*속 균주들이 대부분 노란색과 초록색 colony를 형성하면서 성장하였고, 회색과 흰색 colony를 나타내면서 느리게 성장한 *Lactobacillus*속과 흰색 colony를 나타내면서 느리게 성장한 *Leuconostoc*속(*dextranicum* KM132제외), 그리고 회색과 흰색을 나타내면서 느리게 성장한 *Pediococcus*속과 구별되었다. M-17배지에 BCG를 첨가한 배지도 BCP를 첨가한 결과와 유사하였고 단지 BCG는 BCP 보다 낮은 pH에서 변색되므로 변화된 색에서만 차이가 있었다. M-17배지에 TTC를 첨가한 배지에서는 *Lactococcus*속의 대부분의 균주가 적색으로 환원성을 나타냈으나 다른

Table 2. Pattern of colony formation or color change by lactic acid bacteria during incubation on the *Enterococcus* and *Pediococcus* selective agar and bile salt agar at 30°C

Test strain	Selective medium					
	MRS+Bile salt		ADA	KF	Bile esculin azide	Slanetz bartley medium
	0.5%	1.0%				
<i>E. faecalis</i> var. <i>liquefaeciens</i> SKD1007	+	+	+	+	+	±
<i>E. faecium</i> KFRI195	+	+	+	+	+	±
<i>L. amylophilus</i> KFRI238	±	±	-	-	-	-
<i>L. brevis</i> KFRI146	±	±	-	-	-	-
<i>L. casei</i> KFRI228	+	+	-	-	-	-
<i>L. confusus</i> KFRI227	+	+	-	-	-	-
<i>L. curvatus</i> KFRI231	+	+	-	-	-	-
<i>L. fermentum</i> KFRI164	±	-	-	-	-	-
<i>L. hilgardii</i> KFRI229	+	+	-	-	-	-
<i>L. homohiochii</i> KFRI234	+	+	-	-	-	-
<i>L. maltaromicus</i> KFRI235	-	-	±	-	-	-
<i>L. plantarum</i> KFRI144	-	-	+	-	±	-
<i>L. plantarum</i> KFRI236	+	+	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i> KFRI399	±	±	±	-	++	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> N2	-	-	+	-	+	±
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> N26	-	-	-	-	±	±
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> SKD1001	-	-	±	-	-	±
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> SKD1002	±	-	±	-	-	±
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR121	±	±	-	-	-	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR127	-	-	-	-	+	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR130	-	-	-	-	+	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> SKD1003	-	-	NT	NT	NT	NT
<i>Leu. cremoris</i> KFRI241	+	+	-	-	-	-
<i>Leu. lactis</i> KFRI232	-	-	-	-	+	-
<i>Leu. mesenteroides</i> KFRI352	±	±	+	+	+	-
<i>Leu. mesenteroides</i> KFRI218	-	-	+	-	+	±
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KFRI148	+	+	-	-	-	-
<i>Leu. paramesenteroides</i> KFRI159	±	±	NT	NT	NT	NT
<i>Leu. citreum</i> KA132	-	-	-	-	+	+
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KM132	±	±	-	-	-	-
<i>P. acidilactici</i> KFRI157	+	+	±	±	+	-
<i>P. acidilactici</i> KFRI189	+	+	±	-	±	-
<i>P. cerevisiae</i> KFRI355	+	+	±	-	+	-
<i>P. acidilactici</i> JM127	+	+	+	-	+	-
<i>Str. mutans</i> SKD1017	±	-	±	-	+	±

ADA: Azide dextrose agar, KF: KF *Streptococcus* medium, NT: Not tested, +: Colony formation or color change, ±: Colony formation of small size or weak color change, -: Negative or absent

속에서도 적색으로 나타나는 균주들이 많아 서로 혼동될 것으로 생각되었다. M-17배지에 TTC와 LC를 첨가한 배지는 김치 유래의 *Lactococcus*속 균주들이 성장을 못하여 colony의 변색을 볼 수 없었으며 낙농유래의 균주들은 적색으로 잘 나타나 분리원에 따른 차이를 보였다. 그리고, M-17배지에 TTC와 glucose 그리고 LC를 첨가한 배지는 *Lactococcus*속 균주들의 일부만 적색으로 나타났고 *Enterococcus*속의 균주는 모두 적색으로 나타나 *Lactococcus*속 분리를 위한 선택배지 보다는 *Enterococcus*속 분리를 위한 선택배지로서 좋을 것으로 생각되었다. 따라서, *Lactococcus*속 분

리를 위한 선택배지는 pH 지시약을 첨가한 M-17배지가 가장 우수하였다(Table 3).

*Lactobacillus*와 *Leuconostoc* 분리배지의 선별력 조사

*Lactobacillus*속은 산에 대한 저항성이 크므로(15) 낮은 pH와 유기산염 첨가한 배지로, *Leuconostoc*은 sucrose에서 점액질을 생성하므로(8) sucrose와 유기산염을 첨가한 배지로 다른 젖산균 속과의 선택성을 조사하였으며, 얻어진 결과는 Table 4에 나타내었다. 즉, m-LBS(8)와 Rogosa SL배지(13)는 *Lactobacillus*

Table 3. Pattern of colony formation and color change by lactic acid bacteria during incubation on the *Lactococcus* selective agar at 30°C

Test Strain	Selective medium					
	FSDA-I	M17+ BCP	M17+ BCG	M17+ TTC	M17+ TTC+ LC	M17+ Glu+ TTC+ LC
<i>E. faecalis</i> var. <i>liquefaeciens</i> SKD1007	+, F, C, Y	++, Y	+, G	+, Dr	++, Dr	+, R
<i>E. faecium</i> KFRI195	+, F, Y	±	±	-	±	+, R
<i>L. acidophilus</i> KFRI150	-	-	-	-	-	-
<i>L. amylophilus</i> KFRI238	-	±	±	±	±	±
<i>L. brevis</i> KFRI146	-	-	-	-	-	-
<i>L. casei</i> KFRI228	-	±	±	-	-	-
<i>L. confusus</i> KFRI227	-	±	±	±	±	±
<i>L. curvatus</i> KFRI231	-	±	±	±	±	±
<i>L. fermentum</i> KFRI164	±	+, G	±	-	±	±
<i>L. hilgardii</i> KFRI229	-	±	±	±, R	±	±
<i>L. homohiochii</i> KFRI234	-	±	±	±	±	±
<i>L. maltaromicus</i> KFRI235	+, F, Y	+, W	+, W	-	-	-
<i>L. plantarum</i> KFRI144	±, S	+, W	+, W	±	±	±
<i>L. plantarum</i> KFRI236	±	±	±	±	±	±
<i>L. plantarum</i> KFRI399	+, F, Y	+, Gr	+, Gr	±	±	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> N2	±, F, Y	+, Y	+, B	+, R	+, R	+, P
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> N26	+, F, Y	+, Y	+, Dbr	±, R	+, R	±
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> SKD1001	+, S	+, Gr	+, Gr	±, R	±, Dbr	±, R
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> SKD1002	+, F, Y	+, Y	+, G	±, R	±, R	±, R
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR121	-	+, Gr	+	-	-	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR127	±	+, Gr	+, Grb	±	-	±
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR130	-	+, W	±, W	±, R	±, R	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> SKD1003	+, F, Y	+, Y	+, Grbl	-	-	-
<i>Leu. cremoris</i> KFRI241	-	±	±	-	-	±
<i>Leu. lactis</i> KFRI232	±, S	±	±	-	-	-
<i>Leu. mesenteroides</i> KFRI352	+, S	+, W	+, W	++, Rb	++, Rb	+, Rb
<i>Leu. mesenteroides</i> KFRI218	±	±, W	±, W	-	-	-
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KFRI148	±, S	-	-	-	-	-
<i>Leu. paramesenteroides</i> KFRI159	±, S	±	±	-	-	-
<i>Leu. citreum</i> KA132	±	±	±	±	-	±
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KM132	±	+, Y	+, Sb	±, R	±	-
<i>P. acidilactici</i> KFRI157	±	±, Gr	+, Gr	±, W	+, Pg	+, W
<i>P. acidilactici</i> KFRI189	±	±	±	±, R	+, Pgr	+, W
<i>P. cerevisiae</i> KFRI355	±	±	±	±, P	+, Pgr	+, P
<i>P. acidilactici</i> JM127	±	+, W	+, Sb	±, R	±, R	+, W
<i>Str. mutans</i> SKD1017	+, S	±	±	-	-	-

C: Clear zone formation, DbZ: Dark brown, Dbr: Dark brown red, Dr: Dark red, G: Green, Gr: Gray, Grbl: Gray blue, Lb: Light brown, P: Pink, Pg: Pale green, Pgr: Pale gray, R: Red, W: White, Y: Yellow, Yb: Yellowish brown, Yg: Yellowish green, F: Fast growth, S: Slow growth

속을, PES-1(10), PES-2, PES-3(8)과 LUSM배지(11)는 *Leuconostoc*속을 선별하기 위하여 사용하였다. m-LBS 배지는 *Lactobacillus*속의 대부분 균주가 성장을 잘하였고 상대적으로 *Lactococcus*속과 *Leuconostoc*속이 잘 못자라 *Lactobacillus*속 구별이 용이하였으나 *Pediococcus*속은 잘 자라서 *Lactobacillus*속과의 구별이 어려웠다. Rogosa SL배지는 *Lactobacillus*속의 모든 균주가 성장하였으나 김치유래 *Lactococcus*속, *Leucon-*

*ostoc*속과 *Pediococcus*속도 잘 성장하여 선별능이 낮았다. 따라서 상기의 두 선택배지는 *Lactobacillus*속 균수 계수에서 m-LBS가 보다 우수하였지만 *Pediococcus*속이 자랄 수 있는 경우에는 주의하여야 할 것으로 생각되었으며, *Lactobacillus*속은 김치균주와 일반균주 선별에 대한 차이가 *L. fermentum* KFRI164 제외하고는 없었다.

PES-1배지와 PES-2배지는 *Leuconostoc*속의 일

Table 4. Pattern of colony formation by lactic acid bacteria during incubation on the *Lactobacillus* and *Leuconostoc* selective agar at 30°C

Test strain	Selective medium					
	m-LBS	Rogosa	PES-I	PES-2	PES-3	LUSM
<i>E. faecalis</i> var. <i>liquefaeciens</i> SKD1007	-	-	+	+	+	-
<i>E. faecium</i> KFRI195	±	±	+	+	+	-
<i>L. acidophilus</i> KFRI150	-	NT	-	-	++	-
<i>L. amylophilus</i> KFRI238	+	+	-	-	±	+
<i>L. brevis</i> KFRI146	+	+	-	-	+	+
<i>L. casei</i> KFRI228	+	+	-	-	±	+
<i>L. confusus</i> KFRI227	+	+	-	-	±	+
<i>L. curvatus</i> KFRI231	+	+	-	-	±	+
<i>L. fermentum</i> KFRI164	-	+, M	-	-	+, M	+, M
<i>L. hilgardii</i> KFRI229	+	+	-	-	±	+
<i>L. homohiochii</i> KFRI234	+	+	-	-	±	+
<i>L. maltaromicus</i> KFRI235	+	+	+	+	+	+
<i>L. plantarum</i> KFRI144	+	+	+	+	+	+
<i>L. plantarum</i> KFRI236	+	+	-	-	-	+
<i>L. plantarum</i> KFRI399	+	+	+	+	+	+
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> N2	-	-	+	+	+	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> N26	-	-	+	+	+	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> SKD1001	-	-	-	-	+	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> SKD1002	-	-	+	+	+	-
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR121	-	+	-	-	±	+
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR127	+	+	-	-	±	+
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> KR130	-	+	±	-	±	+
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> SKD1003	-	-	±	-	+	-
<i>Leu. cremoris</i> KFRI241	+	+	+	+	+, M	+
<i>Leu. lactis</i> KFRI232	-	+	+	+	+, M	+
<i>Leu. mesenteroides</i> KFRI352	-	+, M	+	+	+, M	+
<i>Leu. mesenteroides</i> KFRI218	-	+, M	-	-	+, M	±
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KFRI148	±	+	±	-	±	+
<i>Leu. paramesenteroides</i> KFRI159	+	NT	±	-	+	+
<i>Leu. citreum</i> KA132	-	+, M	±	-	+, M	±
<i>Leu. mesenteroides</i> sub. <i>dextranicum</i> KM132	-	+, M	+	+	+, M	+
<i>P. acidilactici</i> KFRI157	+	+	±	±	+	+
<i>P. acidilactici</i> KFRI189	+	+	±	±	+	+
<i>P. cervisiae</i> KFRI355	+	+	±	±	+	+
<i>P. acidilactici</i> JM127	+	+	±	±	+	+
<i>Str. mutans</i> SKD1017	+	+	+	+	+	+

M: Mucoid colony, +: Colony formation, ±: Colony formation of small size, -: Negative or absent

부 균주가 자라지 않아 이 속과 다른 속과 비교가 어려웠으나, 속내의 종의 구별에는 사용 용이할 것으로 생각되었고, PES-3배지는 일부 *Leuconostoc*을 제외하고 점질물을 잘 형성하였으며 *Lactobacillus*속(*L. fermentum* KFRI164 제외) 뿐만 아니라 다른 균집이 점질물을 거의 생성하지 못함으로서 *Leuconostoc*속 선별이 용이하였다. LUSM배지는 *Leuconostoc*속의 균주는 모두 성장하였으나 *Lactobacillus*속과 *Pediococcus*속도 성장하여 서로 구별이 어려웠으며 *Enterococcus*속과 낙농제품 유래의 *Lactococcus* 균주(*lactis* N2, N26, SKD1001, SKD1002, *cremoris* SKD1003)는 모두 성장하지 못함으로서 두 균집에서 *Leuconostoc*속 선

별이 용이할 것으로 생각되었다. 따라서, *Leuconostoc*속 선별에는 PES-3이 가장 우수하였고 또한, *Leuconostoc*속은 김치균주와와 일반 균주를 구별하여 주는 배지는 없었다.

그러므로, 젖산균들을 효과적으로 분리하기 위하여 선택배지를 시험한 결과, *Enterococcus*와 *Pediococcus* 선별용으로 KF *Streptococcus* agar가, *Lactococcus* 선별용으로 M17에 pH indicator를 첨가한 배지가, *Lactobacillus* 선별용으로 m-LBS 배지가, *Leuconostoc* 선별용으로 PES-3 배지가 우수하였다. 한편, *Lactococcus*속은 김치 유래균과 낙농제품 유래균의 선별성이 FSDA-I과 LUSM배지 등에서 차이가 났으므로 그 균을 분리

할 때에는 분리원에 따라 선택배지를 달리하여야 할 것이다. 또한, *Enterococcus*속은 대부분의 선택배지에서 잘 자라 계수에는 문제가 안되었으나, 상대적으로 다른 속균들의 계수에 간섭이 될 수 있으므로 *Enterococcus*속의 경우는 선택배지 선택에 주의하여야 할 것이며 그리고 이 실험에서 김치 유래 *Enterococcus*속에 대한 비교가 없으므로 추후 실험이 필요하다. 따라서, 한 속만을 완전히 분리할 수 있는 배지는 없었고 실험목적에 따라 선택배지를 적절히 조합하여 사용하여야 선택력이 높은 방법을 사용해야 할 것으로 생각되었다.

## 요 약

일반적으로 사용되는 젓산균 선택 배지와 변화시킨 배지 중에 김치 젓산균 분리를 위한 선택배지는 *Enterococcus*속과 *Pediococcus*속 선별에 KF *Streptococcus* 배지가, *Lactococcus*속 선별에 pH 지시약을 첨가한 M-17배지가, *Lactobacillus*속 선별에 m-LBS 배지가, *Leuconostoc* 선별에 PES-3 배지가 우수하였다.

## 감사의 글

본 연구는 과학기술처 특정연구개발과제의 일환으로 수행되었으며 연구비 지원에 대하여 감사드립니다.

## 문 헌

1. 소명환, 김영배 : 김치에서 분리한 저온성 젓산균의 동정. *한국식품과학회지*, **27**, 495(1995)
2. Mheen, T. I. and Kwan, T. W. : Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 443(1984)
3. 이철우, 고창영, 하덕모 : 김치발효 중의 젓산균의 경시

- 적 변화 및 분리 젓산균의 동정. *한국산업미생물학회지*, **20**, 102(1992)
4. 심선택, 경규향, 유양자 : 김치에서 젓산균의 분리 및 이 세균들의 배추즙액 발효. *한국식품과학회지*, **22**, 373(1990)
  5. 임종락, 박현근, 한홍의 : 김치에서 서식하는 Gram 양성세균의 분리 및 동정의 재평가. *한국미생물학회지*, **27**, 404(1989)
  6. 한홍의, 박현근 : Bromophenol blue 배지상에서 유산균의 분별 측정. *인하대학교 기초과학연구소 논문집*, **12**, 89(1991)
  7. 이현중, 백지호, 양문, 한홍의, 고용덕, 김홍재 : 온도강하에 의한 김치발효의 유산균 군집의 특징. *한국미생물학회지*, **31**, 346(1993)
  8. 宮尾茂雄, 小川敏男 : 發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(1988)
  9. Gilliland, S. E. : *Bacterial starter cultures for foods*. 3rd ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, p.2(1985)
  10. Al-Zoreky, N. and Sandine, W. E. : A selective and differential agar medium. *J. Food Sci.*, **56**, 1729(1991)
  11. Benkerroum, N., Misbah, M., Sadine, W. E. and Elaraki, A. T. : Development and use of a selective medium for isolation of *Leuconostoc* spp. from vegetables and dairy products. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 607(1993)
  12. Teuber, M. and Geis, A. : The family *Streptococcaceae*. In "The prokaryotes" Starr, M. P., Stolp, H. G., Balows, A. and Schelegel, H. G., Springer-Verlag, New York, Vol. II, p.1572(1981)
  13. Difco Laboratories : Dehydrated culture media and reagents for microbiology. *Difco Manual*, 10th ed., Difco Laboratories, Detroit, p.129(1985)
  14. Oxoid Limited : The oxoid manual of culture media, ingredients and other Laboratory services. *Oxoid Manual*, 5th ed., Oxoid Limited, Hampshire, U.K., p.285(1982)
  15. Reuter, G. : Elective and selectibve media for lactic acid bacteria. *International J. Food Microbiol.*, **2**, 55(1985)
  16. Terzaghi, B. E. and Sandine, W. E. : Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophage. *Appl. Microbiol.*, **29**, 807(1975)

(1996년 6월 10일 접수)