

## 무 주스 제조를 위한 starter로써 동치미에서 분리한 유산균의 동정 및 발효 특성

김정희 · 김종일\*

서울여자대학교 식품 · 미생물공학과

본 연구는 동치미에서 유산균을 분리하여 동치미의 기능성이 강화된 무 주스를 제조하기 위한 starter로써의 가능성을 검토하기 위하여 유산균의 발효특성을 조사하였다. 동치미에서 분리 동정된 40 균주는 당 발효능과 양상에 따라 5개의 group으로 분류되었다. Species별 분포를 살펴본 결과는 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*의 5개 균종이였으며, 유산균의 분포는 *Leuconostoc mesenteroides*가 52.5%로 최 우점종으로 나타났다. 분리된 5개의 group에서 가장 생육능이 왕성한 1개 균주씩 *Leuconostoc mesenteroides* J-9, *Lactobacillus brevis* J-12, *Lactobacillus sake* J-20, *Lactobacillus plantarum* J-39, *Lactobacillus fermentum* J-7 등 5균주를 선정하여 한외 여과한 무즙에 각각  $0.3(10^6 \text{ cfu/ml})\%$ 씩 접종하여 25°C에서 9일간 숙성하면서 pH 및 총 산도, 비휘발성 유기산함량의 변화 등을 조사하였다. 각 접종 균주 중 *Lactobacillus plantarum*의 생육능이 가장 빠르게 나타났으며 *Lactobacillus sake*가 가장 느리게 성장하였다. 발효 개시 전의 한외 여과한 무즙의 pH 및 총 산도는 6.30~6.36, 0.09~1.0%이었으나 9일째 pH 3.2~4.3, 0.85~1.2%로 나타났다. 각 접종 균주의 pH, 산도의 변화를 비교해보면 미생물의 생육능과 상관성이 높아 유산균수의 증가속도가 빠를수록 pH는 빠르게 감소하고, 산도는 빠르게 증가하였다. 비휘발성 유기산의 변화를 보면 모든 접종균에서 시트르산, 말산, 말론산, 숙신산은 감소하는 경향으로 나타났으며 락트산은 발효가 진행됨에 따라 증가하였다. 관능적으로 맛에 좋은 영향을 주는 유기산으로 알려진 숙신산과 락트산의 함량을 보면 *L. mesenteroides* J-9가 가장 높게 나타났다. 락트산 단독의 경우는 *L. plantarum* J-39, *L. brevis* J-12 접종균의 순으로 높게 나타났다. 이 · 화학적 검사와 향미에 대한 관능검사결과 *L. mesenteroides* J-9, *L. brevis* J-12, *L. fermentum* J-7이 무주스의 젖산발효를 위한 starter로써 적합한 것으로 나타났다.

Key words □ *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides*, starter, total acidity

1960년이래 식생활의 다변화와 이에 따른 서구식품에 대한 선호도는 전통식품에 대한 명맥마저 위협하고 있어 우리의 전통식품을 보다 편의화, 보편화시켜 세계화하려는 조류를 타고 식혜, 대추차 등 각종 기호음료가 탄생하여 대중적 애호를 받고 있다. 전통식품에 관련된 주스에 대한 관심이 높아지면서 동치미 주스에 대한 연구도 1994년을 전후하여 활발히 이루어지고 있으나 산업화하기엔 아직 미비한 실정이다. 지금까지의 연구결과를 보면 서로 상이한 실험 조건에서 단편적으로 행해진 결과로서 재래식 담금법에 의한 맛과 보존성에 대한 상대적 비교가 어려울 뿐만 아니라 동치미의 발효조건에 따라 맛과 향이 달라지고 적숙기를 지나면 액이 탁해지며 균덕내를 갖기 때문에 일관성 있는 품질효과도 기대하기 힘든 실정으로 실용화하기엔 여러 가지 문제점이 있다. 재래식 담금법에 의한 동치미에는 여러 종류의 유산균이 관여하여 발효되는 식품으로 자연 발효의 조건에선 발효 및 저장조건에 따라 품질에 현저한 차이가 있어 균일한 맛의 품질관리가 대단히 어렵고, 가장 맛이 좋은 상태(pH 3.9±1)에서도 발효가 계속 진행되어 품질이 저하되고 유통

안정성이 부족하므로 동치미는 기능성 기호음료로서의 상품 가치가 높으면서도 산업화하기엔 어려움이 많다. 그러므로 동치미에서 자연발효 조건에서도 재래식 담금법과 같은 균일한 맛을 생성하는 우수 발효 균주를 분리 동정하여 starter로 첨가하여 발효조건을 제어할 수 있다면 맛과 향이 우수하고, 동치미의 기능적 특성이 부여된 균일한 품질의 무 주스 제조가 가능할 것으로 기대된다. 소 등(7)은 저온에서 분리한 젖산균 starter가 발효에 미치는 영향을 검토한 결과 젖산균 starter의 첨가로 발효 시간을 단축시킬 수 있었으며, *Leuconostoc*속은 *Lactobacillus*속의 starter보다 양호하다고 보고하였다. 이에 본 연구는 동치미에서 분리한 유산균을 한외 여과된 무즙에 접종하여 유산균의 발효에 의한 품질특성을 조사하여 무 재료만으로도 동치미의 기능성이 부여된 무 주스를 제조할 수 있는 starter로서의 가능성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 유산균 분리용 동치미 제조

무는 잔털과 무청을 제거하고, 파 등 부 재료는 깨끗이 다듬어 씻어 물기를 제거하였다. 전 치리가 끝난 무는 1.5×1.5×5 cm

\*To whom correspondence should be addressed  
Tel : 02-970-5630, Fax : 02-970-5639  
E-mail : jikim@swu.ac.kr

로, 대파는 길이로 5 cm씩 절단하였고, 마늘과 생강은 가늘게 썰어 예비균능검사를 하여 맛이 있다고 판명된 배합 량(무 246 g, 생강 5 g, 대파 17 g, 마늘 4 g, 물 580 g)으로 동치미를 담급하여 11의 유리병에 담아 뚜껑을 덮고 25°C에서 2일간 발효시킨 후 5°C로 옮겨 15일 동안 숙성하여 유산균을 분리하였다.

### 유산균의 분리 및 동정

유산균의 분리는 위의 방법으로 제조한 동치미 액을 시료로 하여 0.85% NaCl로 단계적으로 희석하여 MRS-BPB agar배지에 도말하여 25°C에서 2일간 평판 배양하여 나타난 집락 중에서 40개의 colony를 한과 박의 방법(15)에 따라 유산균의 유산 생성 정도에 따라 분리하였다. 유산균의 동정과 형태 및 생리학적 특성 실험은 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*(17), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*(19), *The Prokaryotes*(20)에 따라 실시하였다.

#### (1) *Leuconostoc*속 균주의 종(species)동정

분리 균주의 세포의 형태가 쌍 및 연쇄상의 구균이고 arginine에서 NH<sub>3</sub>를 생성하지 못하고 esculin을 가수분해하며 glucose로부터 gas를 생성하는 균을 *Leuconostoc*속으로 동정하였다. *Leuconostoc*속으로 동정된 모든 분리주들이 sucrose로부터 dextran을 생성하였으므로 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*와 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*에 대한 구분은 당 발효 능에 따라 분류하였는데 arabinose에서 산을 생성하면 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*로 동정하였고, arabinose에서 산을 생성하지 못하면 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*으로 동정하였다. *Leuconostoc*속으로 동정된 21균주 모두 쌍 또는 연쇄상의 구균이고, glucose에서 gas를 생성하였으며 sucrose로부터 dextran을 생성하고 esculin을 가수분해하고 arabinose에서 산을 생성하였으므로 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*로 동정하였다.

#### (2) *Lactobacillus*속 균주의 종(species)동정

분리 균주의 세포의 형태가 간균이고 glucose에서 gas를 생성하지 않고 sucrose에서 dextran을 생성하지 않으면 *Lactobacillus*속으로 동정하였으며, *Lactobacillus*속으로 동정된 19 균주에 대하여 당 발효능에 따라 종 동정을 하였다. glucose로부터 gas를 생성하지 못하고 arginine으로부터 암모니아를 생성하지 못하며 rhamnose에서 산을 생성하지 않는 균주는 *Lactobacillus plantarum*의 전형적인 특성과 잘 일치하여 *Lactobacillus plantarum*으로 동정하였다. glucose로부터 gas를 생성하고 arginine으로부터 암모니아를 생성하며 amygdalin, cellobiose, mannitol, mannose, melezitose, rhamnose, salicin, sorbitol, trehalose에서 산을 생성하지 않으면 *Lactobacillus brevis*으로, glucose로부터 gas를 생성하고 arginine으로부터 암모니아를 생성하며 amygdalin, esculin, mannitol, melezitose, rhamnose, salicin, sorbitol에서 산을 생성하지 않으면 *Lactobacillus fermentum*으로 동정하였다. glucose로부터 gas를 생성하지 않고 arginine으로부터 암모니아를 생성하며 mannitol, melezitose, raffinose, rhamnose, sorbitol, xylose에서 산을 생성하지 않았으

면 *Lactobacillus sake*로 동정하였다.

### 유산균의 발효 특성 조사용 시료 제조

무 20 kg을 잔털과 무청을 제거하고 깨끗이 씻은 후 물기를 제거하고 착즙기로 마쇄, 착즙하여 냉동원심분리 (12,000 rpm, 25분)하였다. 이 상층액을 취하여 무균 상태를 만들기 위하여 한외여과(선경 인터스트리, BUS 200)하여 그 여액 15 l을 접종 시료로 사용하였다. 한외여과는 M.W. cut-off value 30,000의 조건에서 처리하였다.

### 접종방법 및 발효조건

동치미에서 분리하여 동정된 각 group에서 발육능이 가장 우수한 5개 균주 J-9, J-12, J-7, J-39, J-20을 선정하여 121°C에서 15분간 멸균한 MRS broth 5 ml에 각각 0.1 ml씩 접종하여 25°C에서 24시간 배양하였다. 이 배양액을 한외 여과된 무즙 시료에 각각 0.3%씩 접종하여 100 ml씩 멸균된 유리병에 분주하고 밀봉하여 25°C에서 9일간 배양하면서 발효기간별로 pH, 적정산도, 총 유산균 수 등을 비교 분석하였다.

### 유산균의 발육능

유산균수는 멸균 petri dish에 0.02% sodium azide를 첨가한 lactobacilli MRS agar(Difco)를 분주하여 냉각 응고하고, 시료 0.5 ml를 0.85% NaCl 4.5 ml에 현탁하여 이를 10배 단위로 희석한 것을 배지에 도말하여 spreader로 분산시키고 25°C에서 2일간 배양하여 형성된 집락을 Quebec colony counter를 이용하여 계수 하였다.

### pH 및 총 산도

pH는 시료를 일정량 취하여 pH meter로 측정하였다. 총 산도는 발효액 10 ml를 1% phenolphthalein 용액을 지시약으로 하여 0.1 N-NaOH용액으로 적정하고, NaOH의 소비량을 젖산 함량으로 환산하여 총 산 함량(%)으로 표시하였다.

### 가용성 고형분 및 탁도

가용성 고형분은 시료의 액을 일정량 취하여 굴절당도계(hand refractometer, No. 507-1, Japan)를 사용하여 측정하였다. 탁도는 시료표면의 상등액을 30 ml를 취하여 탁도계(Nephelometer monitec, Japan)로 측정하였으며, nephelos turbidity units(NTU)로 나타내었다.

### 아스코르브산(vitamin C)

L-아스코르브산은  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -dipyridyl method(16)로 분석하였다. 시료는 Whatman No 2. filter paper(0.45  $\mu$ m)로 여과한 후 여과한 액에 10% TCA(trichloroacetic acid)를 넣고 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액 2 ml를 취하였다. 상층액에 42.5%의 phosphoric acid 0.3 ml와 0.8%의  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl 1.5 ml, 3%의 FeCl<sub>3</sub> 0.15 ml를 섞은 다음 25°C에서 30분간 반응시켰다. 이 액을 분광광도계(Hewlett Packard 8452A, Diode Array spectrophotometer)로 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며

검량곡선은 표준 아스코르브산(sigma) 용액(0.1~2 mg%)을 만들어 구하였다.

**비휘발성 유기산**

시료를 12,000 rpm에서 25분간 원심분리하고 syringe filter

**Table 1.** Morphological and physiological characteristics of the strains of identified lactic acid bacteria isolated from *Dongchimi*

Characteristics/Strain No.	J	J	J	J	J
	-7	-9	-12	-20	39
<b>Cell morphology</b>					
Rod	+	-	+	+	+
Spherical	-	+	-	-	-
Pairs and chains	+	+	+	+	+
Tetrads	-	-	-	-	-
Gram strain	+	+	+	+	+
Catalase	-	-	-	-	-
Oxidase	-	-	-	-	-
Dextran formation	-	+	-	-	-
CO <sub>2</sub> from glucose	+	+	+	-	-
Hydrolysis of esculin		+ <sup>w</sup>			
NH <sub>3</sub> from arginine	+	-	+	-	-
<b>Acid From</b>					
Amygdalin	-	+	-	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+
Cellobiose	+ <sup>w</sup>	+	-	+	+
Esculin	-	-	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+
Gluconate	+	+	+	+	+ <sup>w</sup>
Lactose	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+
Mannitol	-	+	-	-	+
Mannose	+	+	-	+	+
Melezitose	-	+ <sup>w</sup>	-	-	+
Melibiose	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	-	+
Rhamnose	-	+	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+
Salicin	-	+	-	+	+
Sorbitol	-	+	-	-	+
Sucrose	+	+	+	+	+
Trehalose	+ <sup>w</sup>	+	-	+	+
Xylose	+ <sup>w</sup>	+	+	-	+

+, positive; +<sup>w</sup>, weak positive; -, negative

(0.45 μm, whatman)로 여과시켜서 HPLC로 분석하였다. 유기산의 컬럼은 Aminex HPX-87H (300×7.8 mm, Biorad, Serial No. 404437, U.S.A.)를 사용하여 Shimadzu LC-10AD 기기로 측정하였다. 검출기는 Shimadzu SPD-10A로 210 nm에서 측정하였다. 이때 컬럼 온도는 35°C로 하였으며 유속을 분당 0.6 ml로 시료를 20 μl 주입하였고 이동상의 용매는 0.008N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였다.

**결과 및 고찰**

**동치미에서 유산균의 분리 및 동정**

한과 박(15)의 방법에 따라 MRS-BPB agar배지를 사용하여 유산균을 분리하였다. 시료는 25°C에서 2일간 발효시킨 후 5°C로 옮겨 15일 동안 숙성하여 사용하였으며, 10<sup>7</sup>으로 희석한 agar plate에서 나타난 40개의 colony를 분리하여 MRS broth에 옮긴 후 25°C에서 1일간 배양하였다. 유산균의 동정은 형태학적, 생리학적 특성을 조사한 결과, 동치미에 분포하고 있는 유산균의 종류는 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sake*, *Leuconostoc mesenteroides*로 5개의 group으로 분류되었다. 동정된 모든 분리주들은 Gram 염색 양성이고, 통성 혐기성의 구균 혹은 간균이었으며, catalase와 oxidase test 결과 음성이었고, glucose broth에서 산을 잘 생성하는 등 여러 특성들이 유산균의 일반적인 특성과 일치하였다. 대표적인 분리 균주의 생리, 생화학적 특성을 Table 1에 나타내었다.

**유산균 종 분포**

동치미에서 분리한 유산균 40주에 대하여 동정한 것을 토대로 하여 유산균의 종 분포를 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 동치미에서 분리 동정된 유산균은 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*의 5개 균종에서 *Leuconostoc mesenteroides*가 52.5%로 최 우점종으로 나타났다.

**분리한 유산균의 발효 특성**

**유산균의 생육능**

한외 여과한 무즙에 분리한 유산균 5개 균종중 생육이 가장

**Table 2.** Genera distribution of lactic acid bacteria isolated from *Dongchimi*

Species	Number of isolates (%)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	21 (52.5%)
<i>Lactobacillus brevis</i>	6 (15%)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	3 (7.5%)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	8 (20%)
<i>Lactobacillus sake</i>	2 (5%)
Total	40 (100%)

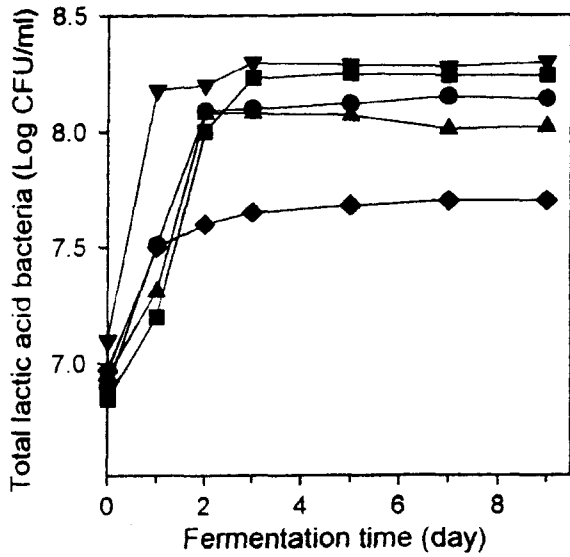


Fig. 1. Growth curves of the isolated lactic acid bacteria in ultrafiltrated radish juice. †, *Leuconostoc mesenteroides*; ▴, *Lactobacillus brevis*; ●, *Lactobacillus fermentum*; ◆, *Lactobacillus plantarum*; ▼, *Lactobacillus sake*.

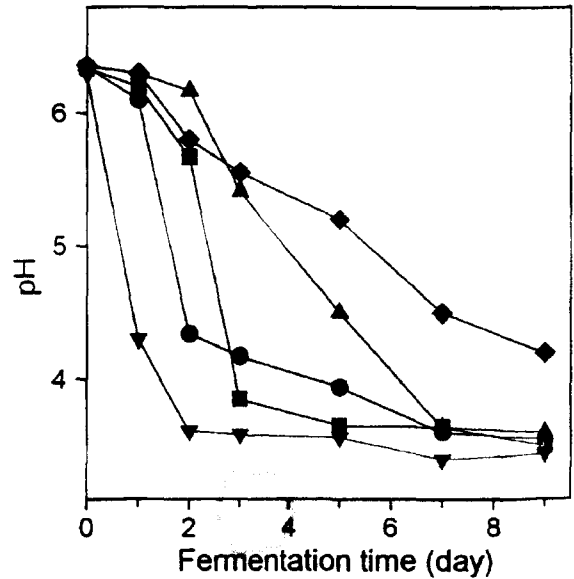


Fig. 2. Changes in pH during fermentation of ultrafiltrated radish juice with isolated lactic acid bacteria. †, *Leuconostoc mesenteroides*; ▴, *Lactobacillus brevis*; ●, *Lactobacillus fermentum*; ◆, *Lactobacillus plantarum*; ▼, *Lactobacillus sake*.

왕성한 균주를 균종별 각각 1 개 균주를 선별하여 각각 1 균주를 접종하여 25°C에서 발효시키면서 유산균수의 변화를 log 값으로 측정된 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 각 접종량은 6.85 ~ 7.1 cfu/ml로 발효기간에 따른 각 균주의 생육특성을 살펴보면 *Lactobacillus plantarum*이 가장 빨리 증식되어 1일만에 큰 폭으로 증가하여 8.18 cfu/ml에 도달하였으며 4일까지 8.31 cfu/ml로 약간 증가하다가 9일까지 비슷한 수준을 유지하였다. 생육 능이 가장 낮은 유산균은 *Lactobacillus sake*로 1일에는 7.5 cfu/ml로서 *Lactobacillus fermentum* 7.3 cfu/ml, *Lactobacillus brevis* 7.2 cfu/ml에 비해 다소 높은 수치를 보여주었으나 증식속도가 낮아 9일에도 7.7 cfu/ml로 나타났다. 분리된 유산균의 생육능은 3일 이후부터 Fig. 1.에서와 같이 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus sake* 순으로 높게 나타났으며, 발효 말기인 9일의 경우 *Lactobacillus sake*를 제외하곤 8.0~8.3 cfu/ml로 나타났다. *Lactobacillus sake*를 제외한 모든 접종구에서 1~2일 후에 급격한 증가를 보이다가 그 이후로는 완만하게 변화하는 경향은 유산균이 발효초기에 급격히 증가하였다가 거의 변화를 보이지 않았다는 박과 김(6)의 결과와 일치하였다. 또한 급격한 증가를 보인 시기는 접종균수에 관계없이 pH 4.3~4.34 과 산도 0.32~0.43% 수준으로 유지된 발효기간과 일치하는 경향을 보여주었다. 이는 김치에서 유산균의 급속한 증가를 보인 시기는 pH 4.0~4.2와 산도 0.6~0.7% 수준을 유지시킨 발효기간과 일치하는 경향을 보인다는 유 등(11)의 보고와 유사하였다. 미생물이 급속한 증가를 보인 시기는 동치미와 김치의 적숙기에 해당하는 pH 범위로서 유산균의 동태는 향미 성분에 영향을 미치는 주요 인자 중 하나로 생각된다.

pH 및 산도

발효 전 한외 여과한 무즙의 pH는 Fig. 2, 산도는 Fig. 3에서와 같이 발효가 진행될수록 pH는 감소하고 산도는 증가하였다. 심 등(9)은 김치에 *Leuconostoc mesenteroides*를 첨가하였을 경우 산 생성 유도기 없이 산을 빠른 속도로 생성하였고, 첨가하지 않았을 때는 산 생성 유도기가 관찰된다고 보고하였다. 한외 여과한 무즙에 유산균을 접종한 결과는 *Lactobacillus plantarum*

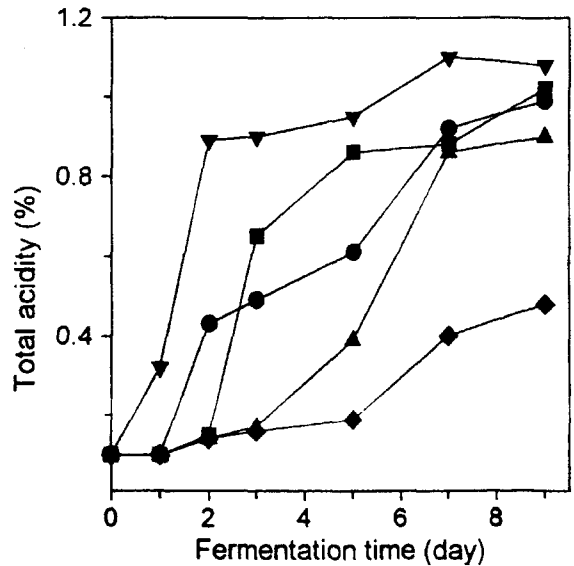


Fig. 3. Changes in total acidity during fermentation of ultrafiltrated radish juice with isolated lactic acid bacteria. †, *Leuconostoc mesenteroides*; ▴, *Lactobacillus brevis*; ●, *Lactobacillus fermentum*; ◆, *Lactobacillus plantarum*; ▼, *Lactobacillus sake*.

은 산생성 유도기 없이 산을 빠른 속도로 생성하였으나 *Leuconostoc mesenteroides*와 *Lactobacillus brevis*는 산생성 유도기를 가진 후 빠른 속도로 산을 생성하였다. *Lactobacillus plantarum*의 경우 1일째 pH는 4.30, 산도 0.27%로 pH가 급격히 감소하고 높은 적정산도를 보여주었다. *Leuconostoc mesenteroides*는 2일째부터 급격한 변화가 나타나 이때의 pH는 4.34, 산도 0.21%였다. *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus fermentum*은 3일부터 변화양상을 보여주었으나 *Lactobacillus brevis*에 비해 나머지 2개 균주는 완만하게 증가하였다. 동치미에서 가장 맛이 있을 때의 pH는 3.7~4.3이고, 산도 0.1~0.5%(3)임을 감안할 때 *Lactobacillus plantarum*은 1일, *Leuconostoc mesenteroides*는 2일, *Lactobacillus brevis*는 3일, *Lactobacillus fermentum*은 5일이 소요되었다. *Lactobacillus sake*는 7일이 소요되어 이 때의 pH 4.20, 산도 0.18%로 9일간의 발효기간 동안 접종균주 중 유일하게 가장 높은 pH와 가장 낮은 산도를 보여주었다. 이는 Fig. 1에서와 같이 유산균의 생육능과 관련이 있는 것으로 5균주 중 증식속도가 가장 낮아 발효가 완만하게 진행됨을 알 수 있었다.

발효말기로 보여지는 pH를 살펴보면 *Lactobacillus plantarum*의 경우 7일째 3.40이었으나 9일째 3.45로 증가되었다. 이러한 현상은 김치 발효 후기 효모 등에 의해 유기산이 소모되는 경향과는 일치하나(14) 본 실험구는 한외 여과한 무즙에 순수 분리한 유산균을 접종하여 발효시킨 것이므로 배양기의 위치상의 온도차이로 보여진다. 9일째 *Lactobacillus sake*를 제외한 모든 균주에서 pH 3.5~3.6으로 나타나 김치 중에 존재하는 산은 약산으로서 해리상수가 적기 때문에 pH가 3이하로 내려가지 않는다는 안(10)의 보고와 일치하였다. 발효에 따른 산도 변화는 Fig. 3에서와 같이 pH와 반비례적인 관계를 보여주었으며, 한외 여과한 무즙의 적숙기의 산도는 0.43~0.63%으로 동치미의 0.1~

0.5%(3), 배추김치의 산도 0.6~0.8%(14)의 중간 정도임을 알 수 있었다.

**가용성 고형분**

가용성 고형분은 Fig. 4와 같이 초기 7.3°Brix에서 9일째 6.75~7.00°Brix로 커다란 변화가 없었다. *Leuconostoc mesenteroides*는 2일까지 지속적으로 낮아져 7.04°Brix였고 이후 거의 변화가 일어나지 않았다. *Lactobacillus brevis*는 2일째 급격히 낮아져 3일째 6.89°Brix로 나타났으며 이후 완만하게 감소하는 경향을 보였다가 9일째 약간 증가하였다. *Lactobacillus sake*는 5일부터 지속적으로 감소하는 경향을 보였다. 다른 접종균주와는 특이하게 *Lactobacillus plantarum*은 3일째까지 거의 변화가 없었으나 이후 완만히 감소하는 경향으로, 다른 접종균주에서는 pH 5.6~4.34에 도달할 때 가용성 고형분이 7.02°Brix로 낮아지는 것과는 차이가 있었다. Fig. 1에서 보듯이 *Lactobacillus plantarum*은 생육능이 가장 높은 유산균으로 1일째에 이미 pH 4.30, 산도 0.32%로 발효가 진행되었음에도 가용성 고형분은 3일부터 낮아지는 경향을 보였다. 이는 *Lactobacillus plantarum*이 분비하는 효소 등에 의해 pectin 등 불용성 고형물이 분해되어 소모되는 양을 보충해주기 때문으로 보여진다.

**탁도**

탁도의 변화는 Fig. 5에 나타나 있다. 모든 접종균주에서 pH가 낮아짐에 따라 탁도도 증가하였다. 증가하는 경향은 접종균주에 따라 차이가 있었지만 유산균의 생육속도가 빠른 순서대로 더 많이 증가하였다. 발효 말기로 보여지는 9일째엔 *Lactobacillus sake*를 제외한 접종균주에서 탁도가 약간씩 감소하였다. 특히 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*의 경우 9일째 급격히 낮아져 육안으로도 투명해짐을 알 수 있었다. 이

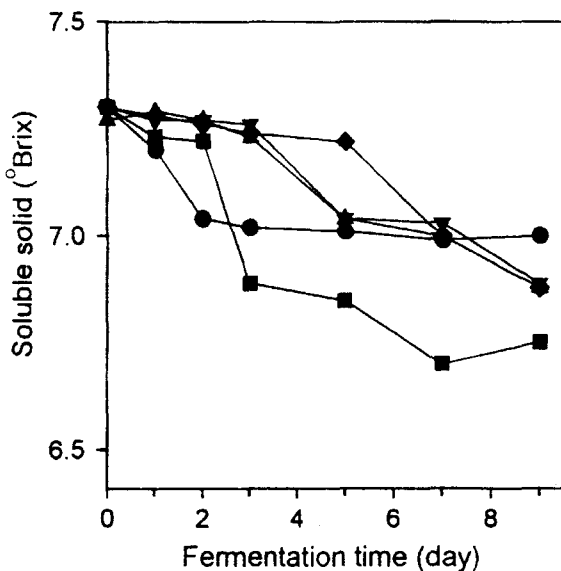


Fig. 4. Changes in soluble solid during fermentation of ultrafiltered radish juice with isolated lactic acid bacteria. ●, *Leuconostoc mesenteroides*; ■, *Lactobacillus brevis*; ▲, *Lactobacillus fermentum*; ▼, *Lactobacillus plantarum*; ◆, *Lactobacillus sake*.

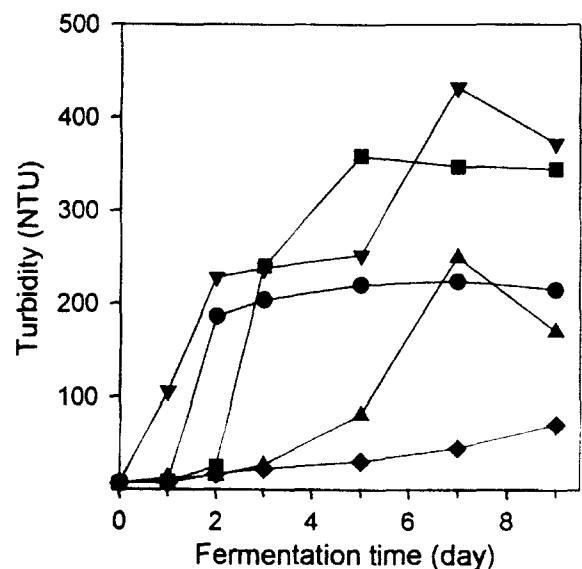


Fig. 5. Changes in turbidity during fermentation of ultrafiltered radish juice with isolated lactic acid bacteria. ●, *Leuconostoc mesenteroides*; ■, *Lactobacillus brevis*; ▲, *Lactobacillus fermentum*; ▼, *Lactobacillus plantarum*; ◆, *Lactobacillus sake*.

것은 계속적 발효로 인하여 생균수의 운동성이 저하되어 침전되었거나 발효성 당 등 영양물질들이 소진되었기 때문으로 보여진다. 발효개시전 탁도는 7 NTU에서 9일째 *Lactobacillus plantarum*는 372 NTU로 가장 높은 수치를 보여주었다.

#### 아스코르브산(vitamin C)

발효중 L-아스코르브산의 변화는 Table 3에 나타나 있다. 아스코르브산은 균주에 따라 차이는 있으나 발효가 진행됨에 따라 지속적으로 감소하는 경향을 보여주었으며, 신(8)은 마쇄한 김치액즙 중 아스코르브산의 함량은 발효기간이 증가할수록 감소하였다는 보고와 일치하였다. Ro 등(21)은 4°C에서 김치를 숙성시키는 동안 아스코르브산의 함량이 숙성초기부터 감소하여 제 5주가 되자 초기 아스코르브산의 45%만이 존재한다고 하였다. 이 등(12)도 처음 일주일 동안은 증가하였다가 다시 감소하여 산패시엔 처음양의 30%만이 잔존한다고 하였다. 본 연구 결과 발효 개시 전의 아스코르브산의 함량은 5.09 mg%였으나 9일째 1.66~2.08 mg%로 잔존 함유량이 32.6~40.9%로 나타났다. *Lactobacillus plantarum*가 2.08 mg%인 40.9%로 아스코르브산의 보존률이 다른 집종균에 비해 가장 높게 나타났으며, 이는 유산균의 생육능이 우수하여 발효가 빨리 진행되어 낮은 pH와 높은 산도를 유지한 것이 한 원인으로 보여진다.

#### 비휘발성 유기산

발효한 무 즙에서 분리 검출한 비휘발성 유기산의 함량변화는 Table 4와 같다. 지금까지 밝혀진 비휘발성 유기산으로는 박(5)은 시트르산(citric acid), 숙신산(succinic acid), 락트산(lactic acid) 등을, 지(13)는 락트산, 옥살산(oxalic acid), 피루브산(pyruvic acid), 말론산(malonic acid), 숙신산, 푸마르산(fumaric acid), 글리콜산(glycolic acid), 말산(malic acid) 글루콘산(gluconic acid), 시트르산 등을, 김과 이(2)은 피루브산, 푸마르산, 락트산, 옥살산, 말론산, 말산, 타르타르산(tartaric acid), 시트르산 등을 분리 검출하였으며, 동치미 중 비휘발성 유기산의 대부분은 시트르산, 숙신산, 락트산으로 알려져 있다. 무 즙만으로 발효한 경우에도 시트르산, 말산, 숙신산, 락트산, 말론산이 분리 검출되었다. 시트르산은 발효 개시 전 24.4~27.0

**Table 3.** Changes in ascorbic acid during fermentation of ultrafiltered radish juice (unit : mg%)

Culture time (day)	Strain <sup>a)</sup>				
	I	II	III	IV	V
0	5.08	5.09	5.11	4.94	5.10
1	4.59	4.65	4.72	3.48	4.77
2	3.78	3.83	4.47	2.96	3.31
3	3.44	3.75	3.41	2.74	2.76
5	2.34	3.01	3.32	2.47	2.70
7	2.10	2.57	2.89	2.32	2.35
9	1.66	1.80	1.78	2.08	1.93

<sup>a)</sup>Refer to footnote in Table 1.

**Table 4.** Changes in nonvolatile organic acid during fermentation of ultrafiltered radish juice (unit : mg%)

Organic acids	Culture time (day)	Strain <sup>a)</sup>					
		I	II	III	IV	V	
Citric acid	0	26.3	24.4	27.0	24.8	26.5	
	1	23.1	19.1	27.2	21.0	29.8	
	2	27.6	23.0	28.0	18.0	29.2	
	3	28.0	28.2	27.9	22.7	31.2	
	5	27.1	30.2	22.9	17.8	30.1	
	7	27.0	30.8	18.5	17.2	29.5	
	9	26.6	32.0	17.3	16.5	28.4	
	Malic acid	0	228.8	238.5	240.6	244.9	221.3
		1	204.3	199.5	195.2	83.6	234.3
2		62.0	235.3	224.4	65.8	226.7	
3		47.6	28.2	178.8	78.4	201.8	
5		53.2	12.0	87.2	59.3	93.2	
7		51.0	9.5	22.5	60.7	72.3	
Malonic acid		0	nd	8.5	31.2	8.0	12.5
		1	16.1	20.7	29.6	11.0	35.4
		2	19.4	10.5	27.6	15.2	33.3
	3	21.1	17.0	31.3	22.4	34.5	
	5	23.1	21.9	23.3	17.0	32.5	
	7	25.2	23.1	27.0	20.3	29.5	
	9	25.9	24.5	27.2	19.1	29.1	
	Succinic acid	0	389.4	393.3	370.2	400.8	381.6
		1	341.3	319.1	328.2	61.4	399.8
2		114.9	54.2	379.0	30.8	388.1	
3		115.8	24.4	285.3	31.7	153.4	
5		115.2	25.3	221.9	28.6	152.1	
7		117.9	24.7	62.6	34.2	149.3	
9		118.5	24.4	41.6	30.7	146.8	
Lactic acid		0	nd <sup>b)</sup>	nd	nd	nd	nd
		1	nd	nd	nd	475.5	nd
	2	580.4	152.9	97.2	1057.8	114.7	
	3	604.7	812.3	195.7	1120.0	135.8	
	5	794.5	994.2	525.2	1134.2	217.0	
	7	1030.0	1048.6	1107.0	1257.4	518.4	
	9	1037.2	1115.2	1048.6	1154.5	575.3	

<sup>a)</sup>Refer to footnote in Table 1, <sup>b)</sup>not detected.

mg%에서 9일째 *Leuconostoc mesenteroides*는 26.6 mg%로 거의 변화가 없었지만 *Lactobacillus fermentum*은 17.3 mg%, *Lactobacillus plantarum*은 16.5 mg%로 감소하였고 *Lactobacillus brevis*는 32.0 mg%, *Lactobacillus sake*는 28.4 mg%로 증가하였다. 말산은 발효 개시 전 221.3~244.9 mg%이던 것이 발효가 진행됨에 따라 모든 구간에서 큰 폭으로 감소하였으며

*Lactobacillus brevis*가 가장 많이 감소하여 9일째 초기 함량의 96.5%가 감소된 8.4 mg%로 나타났다. 말론산은 발효 개시 전 8.5~12.5 mg%로 검출된 유기산중 가장 소량 존재하였으나 발효가 진행되면서 증가하는 경향을 보였다. 숙신산은 발효가 진행됨에 따라 감소하여 발효 개시 전 381.6~400.8 mg%이던 것이 9일째 *Leuconostoc mesenteroides*는 118.5 mg%, *Lactobacillus sake*는 146.8 mg%로 감소의 폭이 크지 않았으나, *Lactobacillus brevis*는 24.4 mg%, *Lactobacillus fermentum*은 41.6 mg%, *Lactobacillus plantarum*은 30.7 mg%로 많은 양이 감소하였다. 숙신산은 *Lactobacillus*속 균주들에 의해 시트르산, 말산, 타르타르산, 푸마르산으로부터 생성되며(18), 김 등(2)은 김치 발효시 숙신산이 락트산과 함께 다량 생성되며 김치의 감칠맛에 관여한다고 보고한 것과는 달리 본 연구결과에서는 숙신산은 대체적으로 큰폭으로 감소하였다. 락트산은 2일까지 *Lactobacillus plantarum*을 제외하고는 검출되지 않았으나 발효가 진행될수록 모든 집종구가 지속적으로 증가하여 9일에는 575.3~1154.5 mg%이었으며 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus sake* 순으로 많은 양의 락트산이 검출되었다. 이는 유산균의 생육속도와도 일치하여 락트산의 함량 변화는 유산균 수와 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었다.

### 참고문헌

1. 김중환, 박영준, 정은지. 1994. 기체 크로마토그래피법에 의한 김치의 휘발성 및 비휘발성 유기산의 신속한 스크리닝. 김치의 과학, 191.
2. 김현옥, 이해수. 1975. 숙성온도에 따른 김치의 비휘발성 유기산에 관한 연구. 한국식품과학회지, 7(20), 74.
3. 민태익. 1988. 김치발효와 미생물. 한국조리과학회지, 4(1), 96.
4. 민태익, 권태완. 1984. 김치발효에 미치는 온도 및 식염농도의 영향. 한국식품과학회지, 16(4), 433.
5. 박세원. 1996. 동치미의 발효와 이에 관여하는 젖산균의 분리 및 동정. 세종대학교 박사 학위 논문.
6. 박우포, 김재욱. 1991. 조미료, 젓갈등이 김치의 발효에 미치는 영향. 한국농화학회지, 34(3), 42.

7. 소명환, 신미이, 김영배. 1996. 저온성 젖산균 스타터가 김치 발효에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 28(5), 806.
8. 신동화. 1994. 공장김치의 발효온도 및 포장방법별 성분과 미생물의 변화. 김치의 과학, p. 82.
9. 심선태, 경규항, 유양자. 1990. 김치에서의 젖산균의 분리 및 이 세균들의 배추즙액 발효. 한국식품과학회지, 22, 373.
10. 안승요. 1970. 김치제조에 관한 연구(제1보)-조미료 첨가가 김치 발효에 미치는 효과. 국립공원연구소 연구보고서, 20, 61.
11. 유재연, 이해성, 이해수. 1984. 재료의 종류에 따른 김치의 유기산 및 비휘발성 향미 성분의 변화. 한국식품과학회지 16, 169.
12. 이태녕, 김점식, 정동효, 김호식. 1977. 김치성분에 관한 연구(제2보)-김치 숙성과정에 있어서의 비타민 함량의 변화. 과학회보, 5, 43.
13. 지옥화. 1987. 염도를 달리한 무 김치(동치미, 짬지)의 숙성기간에 따른 비휘발성 유기산의 변화. 충남대학교 석사학위논문.
14. 최국지. 1970. 김치에서 분리한 효모에 관한 연구. Kor. J. Microbiol. 16(1), 1.
15. 한홍의, 박현근. 1991. Bromophenol blue 배지상에서 유산균들의 분별 측정. 인하대학교 기초과학연구소 논문집, 12, 22.
16. Akira, M., I. Hayami, and U. Yoshiyuki. 1986. Determination of Vitamin C by the  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -Dipyridyl method. Saga university, 61, 9.
17. Bachanan, R.E. and N.E. Gibbous. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th. ed.. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.
18. Carr, J.G., C.V. Cutting, and G.C. Whiting. 1975. Lactic acid bacteria in beverage and food. Academic Press, London, p. 17.
19. Garvie, E.I. 1986. *Genus Leuconostoc*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.(ed.), The Williams & Wilkins, Baltimore, Vol. 2, 1071.
20. Holzapfel, W.H. and U. Schilling. 1992. *The prokaryotes*. Second ed.. Springer-Verlag. New York, vol. 2, 1508.
21. Ro, S.L., M. Woodburn, and W.E. Sandine. 1979. Vitamin B and ascorbic acid in kimchi inoculated with *Propionibacterium freudenreichii*, *Shermanii*. J. Food Sci., 44, 873.
22. Yoo, J.Y., B.Y. Min, K.B. Sah, and D.M. Hah. 1978. Effect of spices on the growth of lactic acid bacteria. Kor. J. Food Sci. Technol. 10(2), 124.

(Received October 8, 1999/Accepted December 1, 1999)

---

**ABSTRACT: Identification and Fermentation Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from *Dongchimi* as Starter for Radish Juice**

**Jung-Hee Kim and Jong-Il Kim**(Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea)

This study was aimed at the investigation of the possibility of the addition of lactic acid bacteria as "starter" for the preparation of radish juice. Forty strains of lactic acid bacteria were isolated from *dongchimi* that was fermented by a traditional method. The isolates were assorted into 5 groups, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (J-9), *Lactobacillus brevis* (J-12), *Lactobacillus fermentum* (J-7), *Lactobacillus sake* (J-20), and *Lactobacillus plantarum* (J-39). *Leuconostoc mesenteroides* was predominated in the sample of *dongchimi* with frequency of 52.5%. Each of the strain, which exhibited the best growth in the species, was selected in the 5 species, and investigation of the fermentation characteristics was carried out. The fermentations were performed for 9 days at 25 °C after the inoculation of 0.3% ( $10^6$  cfu/ml) to each ultrafiltrated radish juice. The pH, total acidity, content of non-volatile organic acids were examined during the fermentation period. *Lactobacillus plantarum* showed the highest growth rate and the growth rate of *Lactobacillus sake* was the lowest. The pH (6.3-6.36) and total acidity (0.09-1.0 %) of the ultrafiltrated radish juice before fermentation were changed to 3.2-4.3 and 0.65-1.2% after 9 days, respectively. The changes of the pH and total acidity were related with the growth of the lactic acid bacteria; the better growth of lactic acid bacteria, the more rapid decrease of pH and increase of the total acidity. When the amount of non-volatile organic acids were estimated during fermentation, citric acid, malic acid, malonic acid, and succinic acid were decreased in all cases. However, the content of lactic acid increased with the progression of fermentation. *L. mesenteroides* (J-9), *L. brevis* (J-12) and *L. fermentum* (J-7) were chosen for the candidates of the starter for the lactic fermentation of radish juice based on the biochemical analysis and sensory evaluation.