

프로바이오틱스 연구 보고서

- 김치 유래 유산균 분리 -

Lactobacillus plantarum



Lactobacillus sakei

Lactobacillus brevis

Leuconostoc mesenteroides

2015. 4. 16

바이오원료개발팀 김영후

결 재	담당 연구원	팀 장
		

1. 개요

김치 유래 유산균에 대한 분리 및 동정 결과임.

2. 시험 방법

1) 분리원: 전통 방식에 따라 제조한 종류 별 김치

2) 재료 및 기구 (분리원을 제외한 모든 시약 및 기구는 멸균 상태로 준비)

- 김치 시료: 배추김치, 갓김치, 물김치, 깻잎

- MRS 배지

- BCP 한천배지

- 생리식염수

- 90 mm 페트리접시

3) 시험 방법

[분쇄] 김치 시료들을 100 g씩 취하여 각각 믹서로 분쇄한다.

[여과] 분쇄된 시료들을 멸균된 2 mm 필터를 사용하여 각각 여과한다.

[현탁] Filtrate 1 g을 취하여 펩톤식염완충액 9 mL가 들어있는 시험관에 넣어 현탁한다.

[희석] 현탁액 1 mL를 펩톤식염완충액 9 mL가 든 시험관에 넣어서 10배씩 다단희석 한다.

[분주] MRS 한천배지 30 mL를 직경 90 mm의 페트리접시에 분주하여 굳힌다.

[접종] $10^1 \sim 10^7$ 배 희석액을 농도 별로 100 μ L씩 MRS 한천 평판배지에 붓고 spreader로 도말하여 굳힌다.

[배양] 37°C 배양기에서 3일 동안 배양한 후 싱글콜로니를 확인한다.

[분리] 각 페트리접시에서 노란색 환을 나타내는 싱글콜로니를 분리하여 각각 MRS broth에 접종하고 37°C 배양기에서 18 h 동안 배양한다.

[종균화] Glycerol 농도가 20%가 되도록 각 배양액을 혼합하여 제조한 후 -70°C에 보관한다.

[생산성 확인] 각 균주의 MRS broth에서의 배양 생산성을 확인한다.

[동정] 각 콜로니 균주의 16S rRNA sequence를 동정하여 균종을 확인한다.

3. 시험 결과

1) 균주 동정 및 배양 결과 (총 22개 콜로니)

분리 번호	분리원	균주 모양	배양액 생균수 (CFU/mL)	16S rRNA 동정 결과
1	배추김치1	간균 (rod type)	13억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
2	배추김치1	간균 (rod type)	11억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
3	배추김치1	간균 (rod type)	17억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
4	배추김치1	간균 (rod type)	14억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
5	배추김치1	간균 (rod type)	14억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
6	배추김치1	구균 (cocci type)	4억	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
7	배추김치1	구균 (cocci type)	3억	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
8	배추김치1	구균 (cocci type)	2억	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
9	배추김치1	구균 (cocci type)	7억	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
10	배추김치2	간균 (rod type)	2억	<i>Lactobacillus brevis</i>
11	배추김치2	간균 (rod type)	8억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
12	배추김치2	간균 (rod type)	2억	<i>Lactobacillus brevis</i>
13	배추김치2	간균 (rod type)	3억	<i>Lactobacillus brevis</i>
14	배추김치2	간균 (rod type)	0.5억	<i>Lactobacillus brevis</i>
15	갯김치	간균 (rod type)	15억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
16	갯김치	간균 (rod type)	19억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
17	갯김치	간균 (rod type)	10억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
18	갯김치	간균 (rod type)	12억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
19	갯김치	간균 (rod type)	15억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
20	물김치	간균 (rod type)	3억	<i>Lactobacillus sakei</i>
21	물김치	간균 (rod type)	1억	<i>Lactobacillus sakei</i>
22	물김치	간균 (rod type)	3억	<i>Lactobacillus sakei</i>
23	물김치	간균 (rod type)	2억	<i>Lactobacillus sakei</i>
24	물김치	간균 (rod type)	2억	<i>Lactobacillus sakei</i>
25	물김치	간균 (rod type)	5억	<i>Lactobacillus sakei</i>
26	깻잎	간균 (rod type)	11억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
27	깻잎	간균 (rod type)	12억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
28	깻잎	간균 (rod type)	8억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
29	깻잎	간균 (rod type)	12억	<i>Lactobacillus plantarum</i>
30	깻잎	간균 (rod type)	12억	<i>Lactobacillus plantarum</i>

2) 균주 고유번호 및 GenBank 등재 정보 (16S rRNA sequence)

배양액 생균수 우수하고 동정 결과가 확인된 고시형 균주에 대해 아래와 같이 IDCC 번호를 부여하고, 생산 적용 균주에 대한 16S rRNA 서열을 GenBank에 등재하였다.

콜로니	균주명	IDCC NO.	GenBank Accession No.
3번	<i>Lactobacillus plantarum</i>	3501	KP174109
16번	<i>Lactobacillus plantarum</i>	3502	예정
27번	<i>Lactobacillus plantarum</i>	3503	예정