

## 온도강하에 의한 김치발효의 유산균 군집의 특징

이현중 · 백지호 · 양 문 · 한홍의\* · 고용덕<sup>1</sup> · 김홍재<sup>1</sup>

인하대학교 이과대학 생물학과, 서울대학교 분자미생물학 연구센터

<sup>1</sup>금성사, 생활시스템연구소

현재 가정에서 널리 사용하고 있는 온도강하에 의한 김치발효법의 조건을 찾기 위하여 각 온도에서의 발효특성을 연구하였다. 그 결과, 일반적으로 김치발효는 5~20°C 온도에서 전형적인 이중 군집생장곡선을 나타내었다. 1, 2차 군집생장은 김치의 숙성을 예측할 수 있는 간접적인 지표가 될 수 있었다. 모든 시험온도에서 김치발효는 *Leuconostoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *Lactobacillus confusus*, *L. viridescens*로 구성된 *dextran* 생성균주에 의하여 이루어졌다. 그 중에서 *L. mesenteroides*가 높은 빈도로 증식하였고, 호냉성과 저온성 균주로 구별되었다. 김장김치의 특징인 저온발효(5°C에서 15일간)는 호냉성 *L. mesenteroides*에 의하여 이루어졌고, 2차 군집생장이 최대로 될 때 총산도가 0.5% 정도이었다. 따라서 김장김치의 특성을 유지하면서 신속하게 발효시킬 수 있는 온도강하 발효법은 20°C에서 약 48시간 발효 후 0°C로 온도를 낮춤으로써 가능하였다. 온도강하시간은 약 25시간이 소요되었으며, 이때 총 군집의 크기와 총 산도는 거의 변하지 않았다.

KEY WORDS □ kimchi, *Leuconostoc mesenteroides*, community, fermentation

전통적으로 김치는 배추가 수확되는 초겨울에 담구어 김장독을 땅속에 묻어 겨우내 먹어왔으나, 근래에 들어 상온에서 발효시켜 알맞게 신맛이 나면 냉장고에 보관하여 두는 습관이 가정에서 상당히 늘고 있다. 이것은 1970년대 이후 단독주택에서 아파트 생활로 주택구조의 변화와 냉장고의 보급에 기인되는 것으로 믿어진다(1). 김치발효 온도를 기준하여 분류하면 겨울에 담은 김장김치는 저온에서 발효와 보존을 병행하는 저온발효법으로 그 온도는 15°C 이하로 추정된다. 반면에 최근에 유행하는 김치제조는 사철을 통하여 상온에서 발효시킨 후 온도를 내려 저온에서 보존하는 2단계 발효과정으로 “온도강하 발효법”이라고 할 수 있다. 후자의 방법을 널리 사용하는 이유는 저온발효법보다 김치를 알맞게 빨리 숙성 시킨 후 저온에서 장기간 보존하며 먹을 수 있는 장점이 있기 때문이라고 볼 수 있다. 따라서 김치의 발효 및 저장온도 그리고 그에 따른 시간을 파악하여 전통적인 김장김치 제조법을 계승할 수 있는 온도강하발효의 조건을 규명하고자 하였다. 본 연구를 통하여 “온도강하 발효법”으로도 김장김치와 같은 유산균의 발달과 산도를 유지할 수 있음을 제안하였다.

## 재료 및 방법

## 김치제조

양념은 배추 1 kg에 대하여 파, 마늘, 고추가루를 각각 15g, 양파 30g을 혼합하여 첨가하되 파, 마늘,

양파는 분쇄기(chopper)로 갈아서 사용하였다. 배추의 절임은 깨끗이 씻은 배추를 7% 소금물에서 13시간 절인 후 탈수하였다. 배추 잎사귀 사이사이에 위의 준비된 양념을 첨가한 다음 약 2 kg들이 polypropylene사각형 그릇에 넣어 발효시켰다. 만약 김치국물이 적은 경우, 2.5% 소금물을 약 150 ml/씩 넣어 양념된 배추가 잠기도록 누르개로 눌러둔 상태로 발효시켰다. 발효온도는 5~30°C로 5°C 간격으로 하였고, 배추와 양념은 해당되는 발효온도에서 하룻밤을 재워서 발효 온도와 동일하게 하였다. 김치발효중 발효열의 발생으로 정확한 품온의 온도조절은 곤란하였다. 품온은 발효시간에 따라 0~2°C 정도의 변화가 있으므로 별도로 제작한 온도의 차이가  $\pm 1^\circ\text{C}$ 인 온도조절용 냉장고(multi-temperature refrigerator) 내부의 온도를 기준으로 하였다.

## 총 생균수(총 군집)

김치를 각 온도에서 발효시키면서 시료의 채취는 30°C에서 3시간, 25°C에서 4시간, 20°C에서 6시간, 15°C와 10°C에서 8시간, 5°C에서 24시간 마다 실시했으며, 총 생균수가 최대로 도달할 때 까지 측정하였다. 시료는 평판배지에 150~300개 정도의 집락이 생장하도록 살균생리수로 십배수 희석법에 따라 희석하였으며, 그 희석액 0.1 ml를 취하여 집락 분리용 배지인 MRS-BPB(5) 한천배지에 도말 한 후 25°C에서 2~3일간 배양하였다. 배양 후 나타난 집락수를 세어 ml/당 총 생균수로 계수하여, 그 수를 대수값으로 표시하였다. 이때 MRS-BPB한천배지에 나타난 형태,

크기, 색도가 서로 다른 집락들은 가능한 모두 분리하여 bromphenol blue(BPB)를 뺀 MRS 사면배지에 보관하면서 사용하였다. 계대배양시 생장하지 못한 균주는 혐기성으로 배양하여 재생시켜 다시 보존하였다.

#### Dextran 생성 균주의 계수 및 동정

저온발효김치에는 *Leuconostoc*속, *Lactobacillus confusus*, *L. viridescens* 등이 dextran 생성균주로 알려져 있다(6, 13). 따라서 분리균주(isolates)들을 5% 설탕한천배지(6)에 접종하여 dextran 생성 유무를 검사하였다. Dextran 생성을 용이하게 구별하고, 한 개의 petri-dish에 많은 수의 균주를 접종하기 위하여 21개의 구멍(직경 1.2 cm)을 뚫은 실리콘판(7.5×7.5×0.4 cm)을 제작하여 사용하였다. 사용법은 먼저 각 petri-dish에 실리콘판을 한개씩 넣어 121°C에서 15분간 고압 살균하였다. 그 다음 이 petri-dish에 위와 같은 방법으로 따로 살균한 5% 설탕한천배지를 15 ml/씩 무균적으로 붓고 실온에서 고화시켰다. 그리고 각 구멍에 분리균주를 접종하여 25°C에서 1~2일간 배양하면서 dextran 생성과 집락의 가장자리의 형태를 관찰하여 dextran 생성균주를 파동형(undulate), 매끈형(entire), 열편형(lobate)으로 구분하여 계수하였다(8).

Dextran 생성 균주들의 종(species)을 확인하기 위하여, 각 분리균주들을 arabinose 이용 시험에, 그리고 arginine 액체배지(tryptone, 5.0g; yeast extract, 5.0g;  $K_2HPO_4$ , 2.0g; glucose, 0.5g; L-arginine·HCl, 3.0g; sodium acetate, 5.0g; sodium citrate, 2.0g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.5g;  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ , 0.2g; Tween 80, 1.0g; 증류수, 1.0 l)에 접종하여 25°C에서 2~3일간 배양한 후  $NH_3$  생성을 측정하였다. 암모니아 생성을 확인하기 위하여 배양액 한방울을 흰색 plastic판에 떨어뜨린 후 Nessler용액(9)을 한 방울 떨어뜨려 대조구(arginine 액체배지에서 arginine이 제외된 배지)에 비하여 노란색이거나 오렌지색으로 변하면 양성반응으로 하였다(8). 김치유산균 중에서 dextran을 생성하는 균주는 *L. confusus*, *L. viridescens*, *L. mesenteroides*, *L. dextranicum*의 4종이 알려져 있다(13). 그러므로 암모니아 생성이 양성반응이면 *L. confusus*이고, 음성반응이면 *L. viridescens*, *L. mesenteroides*, *L. dextranicum*이었다. 후자의 경우 arabinose를 이용하면 *L. mesenteroides*이었으며, 나머지 균주는 다음의 서술한 동정법에 의하여 구별되었다. 특이한 사항은 dextran을 생성하는 형태는 petri-dish상에 도달하여 배양했을 때보다 실리콘판의 구멍에서 배양했을 때 더 잘 구별되었다.

#### 유산균 분리균주의 동정

김치의 발효온도 25°C에서 분리하여 MRS 한천 사면배지에 보관한 분리균주들은 동일 배지에서 2~3번 계대배양하여 활성화시킨 후 동정에 사용하였으며, 동정은 Bergey's manual을 이용하여 작성한 이분 동정법에 의하여 실행하였다(2, 13). 형태 및 생화학적

시험은 ASM(American Society for Microbiology)의 지침서에 따라서 시험하였다(8). 그 내용은 Gram염색, 구균과 간균의 형태관찰, 그리고 생화학적 시험은 Esculin 가수분해, catalase 시험, 혐기성 생장, 온도별 생장, pH 4.2에서의 생장, 포도당으로부터 가스( $CO_2$ )생성, arginine으로부터의  $NH_3$  생성 등과, 탄수화물을 이용한 산 생성 시험이었다. 시험당(arabinose, fructose, galactose, gluconate, lactose, maltose, mannitol, mannose, melezitose, melibiose, raffinose, rhamnose, ribose, salicine, sorbitol, starch, sucrose, trehalose, xylose)은 막여과 살균을 하여 최종농도가 1%되게 첨가하였다. 산 생성 시험에서는 beef extract를 뺀 MRS배지에 CPR(chlorophenol red)을 0.03%되게 첨가하여 사용하였고, 많은 분리균주들을 짧은 시간내에 다룰 수 있도록 구멍뚫린 실리콘판을 사용하였다.

#### 총 산도 및 pH 측정

김치국물을 20 ml/ 취하여 먼저 pH meter로 최초의 pH를 측정한 후, 0.1 N NaOH로 적정하여 pH가 7.0이 될 때까지 소요된 0.1 N NaOH의 양을 젖산의 양으로 환산하여 총 산도로 표시하였다. pH를 8.2로 기준으로 할 때는 총 산도가 0.05% 정도 증가하였다.

## 결 과

#### 발효특징

김치발효는 5~30°C까지 5°C 간격으로 하였으며, 총 생균수가 최대될 때까지 측정하였다. Fig. 1에서와 보는 바와 같이 발효과정에서 유도기, 총 생균수, 총 산도를 비교하였다.

김치내 자연균총(군집)의 유도기는 5°C에서 120시간, 10°C에서 72시간, 15°C에서 18시간, 20°C에서 12시간, 25°C에서 6시간, 그리고 30°C에서 3시간 정도로 온도가 높을수록 그 시간이 단축되었다.

총 생균수(군집)의 변화는 20°C 이하에서 3번의 생장 정점이 뚜렷하게 나타났다. 그러나 25°C 이상의 온도에서는 세번째 생장정점이 나타나지 않았다. 이를 편의상 1차, 2차, 3차 군집생장( $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ )이라고 한다면, 김치유산균 군집의 공통적인 특징은 1, 2차 군집이 발달하는 이중 생장곡선이었다.

총 산도와 각 군집의 생장을 비교해 보면, 5~10°C에서 산 생성은 유도기를 포함해서 뚜렷하게 3단계로, 그리고 15~20°C에서 유도기가 없이 2단계로 구분되어 산이 생성됨을 알 수 있었다. 그러나 25~30°C에서 유도기가 없이 1단계로 생성되었다. 유산균의 증식이 최대로 도달한 후 유산의 생성이 증가하는 사실에 의하여(7) 산 생성 단계를 1, 2차 군집생장과 비교하면 1차 군집생장 이후의 총 산도는 5°C에서 0.13%, 10°C에서 0.10%, 15°C에서 0.35%, 20°C에서 0.48%, 25°C에서 0.50%, 그리고 30°C에서 0.55%로 증가하였다. 그 다음 2차 군집생장 이후의 총산도는 5°C에서 0.42%, 10°C에서 0.45%, 15°C에서 0.45%,

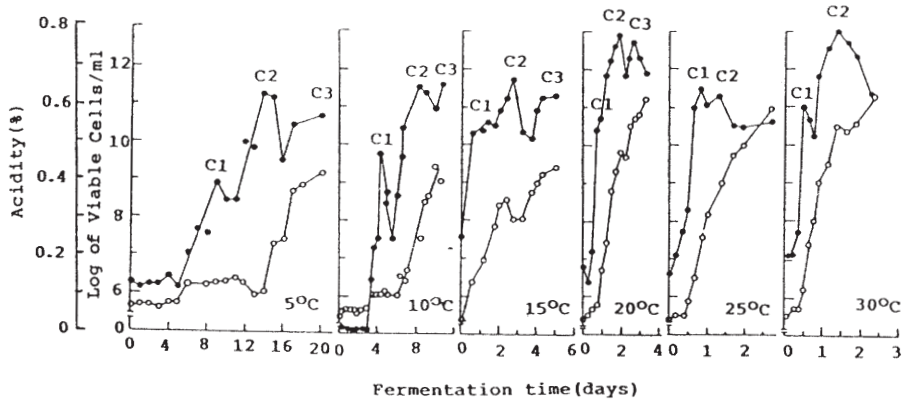


Fig. 1. Profiles of community development (—●—) and total acidity (---○---) during the kimchi fermentation at different temperatures (5~30°C).

The size and development of community represent total viable cells per milliliter, and C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> peaks, respectively. The figures show the common fermentation patterns between 5 and 10°C, 15 and 20°C, and 25 and 30°C. Double growth curves (the first and second growth of community) appear below 20°C.

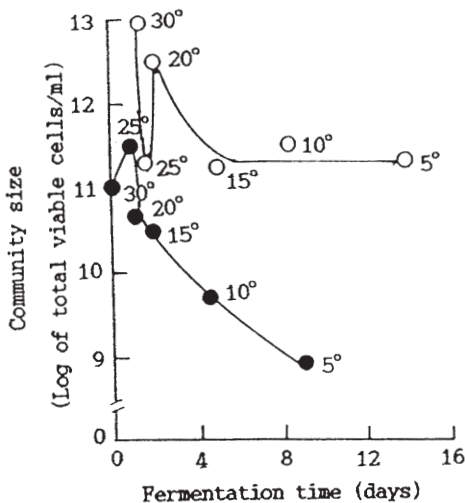


Fig. 2. Community size and fermentation time plot of the first (—●—) and second (---○---) community growth at different temperature during kimchi fermentation.

The figure shows the presence of psychrophiles or/and psychrotrophs.

20°C에서 0.62%, 25°C에서 0.60%, 그리고 30°C에서 0.62%로 증가하였다. 그리고 1, 2차 군집생장이 최대치를 갖는 시점에서의 총 산도는 위에 서술된 결과와 다르게 나타났다. 즉, 5, 10, 15, 20, 25, 30°C에서 1차 군집생장시의 총 산도는 각각 0.13, 0.10, 0.20, 0.17, 0.25, 0.12%이었고, 2차 군집생장시의 총 산도는 0.23, 0.25, 0.30, 0.48, 0.40, 0.45%이었다.

### 총 군집의 온도특징

각 군집이 온도에 따라 어떻게 발달하는가를 알아보기 위하여, Fig. 1에서 1, 2차 군집생장을 온도별로 발효일수와 총 생균수로 비교하여 보았다(Fig. 2). 1차 군집생장은 5°C에서 30°C까지 온도를 증가시킴으로써 생균수의 대수값으로 8.8에서 11로 점차적으로 증가하였다. 그리고 2차 군집생장은 5~15°C까지의 발효온도에서 총 생균수는 대수값으로 11.25로 그 수를 유지하였고, 20~30°C까지는 그 값이 11.25로부터 13까지 점진적으로 증가하였다. 이로부터 Jay (11)에 의한 온도특징을 비교하면 1차 군집은 호냉성(psychrophilic)과 저온성(psychrotrophic) 유산균이 혼합되어있고, 2차 군집은 저온성으로 구성되었다고 볼 수 있다. 이러한 사실로부터 김치에는 온도특성이 다른 2종류의 유산균 군집이 존재하고 있음을 증명해주고 있다. 예외적으로 25°C 발효에서는 모든 발효 실험군과 동일한 조건을 주었음에도 불구하고 1차 군집은 생장이 급격히 증가하였고, 2차 군집의 생장은 감소되었다.

### 총 군집의 생장시간과 발효온도

각 발효온도에서 두 군집의 수가 최대에 도달하는데 필요한 시간을 알아보기 위하여 발효시간에 대수값을 취함으로써, 실험적으로 직선식을 얻었다(Fig. 3). 그 실험식은 다음과 같다.  $\log h_1 = -0.05t_1 + 2.52$  (1차생장),  $\log h_2 = -0.05t_2 + 2.78$  (2차생장) ( $r_1 = -0.982$ ,  $s_1 = \pm 0.10$ ,  $r_2 = -0.954$ ,  $s_2 = \pm 0.14$ ) 여기서  $h$ 는 군집이 최대에 되는데 필요한 시간,  $t$ 는 발효온도,  $r$ 는 상관계수,  $s$ 는 잔차분산이다. 식으로부터 군집의 생장시간과 발효온도와의 비는 일정하며, 절편의 수치만 차이가 있음을 알 수 있다. 이로부터 발효온도에 따른 군집생장이 최대에 되는 시간을 예측할 수 있으며,

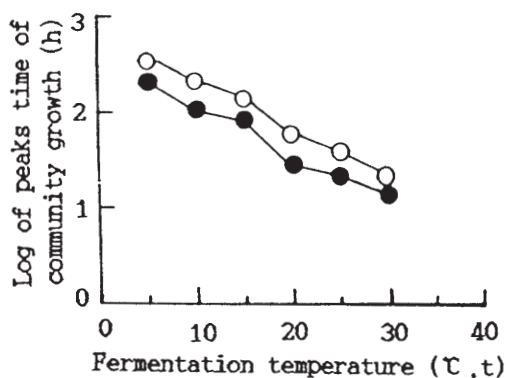


Fig. 3. Relationship between temperatures and logarithm of peak times of the first (—●—) and second (---○---) community growth during kimchi fermentation.

The figure shows a linear relationship. The formulae of 1st and 2nd growth of community are  $\log h_1 = -0.05 + 2.52$  ( $r = -0.982$ ,  $s = \pm 0.10$ ) and  $\log h_2 = -0.05t + 2.72$  ( $r = -0.954$ ,  $s = \pm 0.14$ ), respectively.

Table 1. The comparison of experimental and calculated time values required for the first and second growth of community in kimchi fermentation at different temperatures.

Temp. (°C)	1st growth(hr)		2nd growth(hr)	
	E	C	E	C
30	12	10	34	19
25	20	19	32	34
20	24	33	48	60
15	46	59	72	107
10	96	105	192	191
5	216	186	336	338

E, experimental values; C, the values as calculated by the formulae in Fig. 3.

실험치와 계산치를 비교하면, Table 1에서 보는 바와같이, 2차 군집성장시 15°C와 30°C 발효에서 군집이 최대에 도달되는 시간의 오차가 심한 예를 제외하고는 대략적으로 근사값을 가짐을 알 수 있다. 이러한 오차는 시료채취를 적시에 하지 못함으로써 생기는 시간 간격의 차이로부터 발생되었을 것으로 본다.

#### Dextran 생성 균집의 빈도

각 온도에서 즉, 10, 15, 20, 25, 30°C에서 각각 분리된 116, 132, 119, 80, 114개의 유산균 집락을 5% 설탕한천배지에 접종하여 dextran 생성 여부를 측정하였다. Dextran 생성과 arginine으로부터  $\text{NH}_3$  생성 여부로 *L. mesenteroides*, *L. confusus*, *L. viridescens*로 동정하여 백분율 빈도를 Fig. 4에 각각 나타내었다.

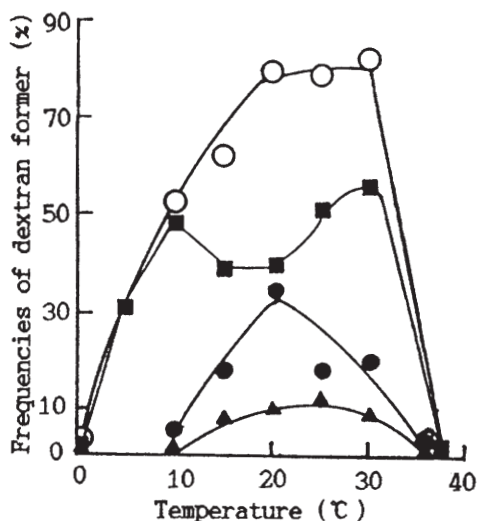


Fig. 4. Distributions of dextran-forming lactic acid bacterial community (—○—) including *L. mesenteroides* (—■—), *L. confusus* (—●—), and *L. viridescens* (—▲—) at different temperatures of kimchi fermentation.

The figure indicates that *L. mesenteroides* responds to the different range of temperatures in the same habitat.

0°C와 37°C에서는 뚜렷한 발효가 진행되지 않았으므로 그들의 빈도는 영점으로 표시하였다.

각 온도에서 분리된 집락 중에서 dextran 생성균 수가 차지하는 빈도는 10, 15, 20°C까지 각각 53.2, 62.1, 80.7%로 점진적으로 증가하여 최대값으로 된 다음, 25, 30°C 사이에 80.7, 79.3%로 그 값을 그대로 유지하였고, 37°C에서는 거의 나타나지 않았다(Fig. 4).

Fig. 4에서 보는 바와같이, dextran 생성 균주 중에서 *Leuconostoc mesenteroides*가 차지하는 빈도는 5, 10, 15, 20, 25, 30°C 발효에서 각각 30, 48, 38.6, 39.5, 50.6, 55.3%로 나타났으며, 15~20°C를 전후로 하여 10°C와 30°C에서 최대빈도를 갖는 형태를 나타냈다. 이것은 Fig. 2에서 본 바와 같이, 균집의 온도에 대한 반응이 호냉성과 저온성으로 구별되는 점과 일치하였다. 따라서 *L. mesenteroides*는 온도에 대하여 두 가지 반응성질이 존재한다는 것을 알 수 있었다. 그리고 *L. confusus*가 차지하는 빈도는 10, 15, 20, 25, 30°C에서 각각 4.3, 16.7, 33.6, 17.2, 20.2% 정도로 20°C에서 최대값을 나타내었다. *L. viridescens*는 위의 온도에서 각각 0.9, 6.8, 7.6, 11.5, 7.9% 정도로 25°C에서 최대값을 나타내었다. 전체 집락 중에서 dextran을 생성하지 않는 유산균이 차지하는 빈도는 10, 15, 20, 25, 30°C에서 각각 46.8, 37.9, 19.3, 20.7, 16.6%로 온도가 높을수록 감소되었다.

#### 유산균의 동정



**Table 2.** Percentage positive results matrix for lactic acid bacteria in kimchi fermentation at 25°C.

Strains studied	<sup>a</sup> L.m	L.d	L.l	S.l	S.i	L.v	L.c	L.a	L.h
	35	8	2	3	1	4	15	5	1
Gram positive	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Morphology <sup>b</sup>	C	C	C	C	C	R	R	R	R
Growth at 10°C	100	100	100	100	100	100	100	100	100
15°C	100	100	100	100	100	100	100	100	100
35°C	100	100	100	100	100	100	100	100	100
45°C	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dextran formation	100	100	0	0	0	100	100	0	0
NH <sub>3</sub> from arginine	0	0	0	0	0	0	100	100	0
Growth pH 4.2	89	78	0	0	0	100	100	100	100
Esculin hydrolysis	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Glucose anaerobic acid	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Gas	100	100	100	0	0	100	100	20	0
Catalase	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Acid from Arabinose	100	0	50	67	0	25	86	20	0
Fructose	100	100	100	100	100	50	100	0	0
Galactose	20	33	0	0	0	25	36	0	0
Gluconate	77	22	0	33	100	0	64	0	0
Lactose	6	22	0	0	0	0	0	0	0
Maltose	97	100	100	100	0	100	100	20	0
Mannitol	63	33	50	0	0	25	50	0	0
Mannose	89	100	50	67	100	100	100	20	100
Melibiose	26	67	0	0	0	25	0	0	0
Melizitose	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Raffinose	20	33	0	0	0	25	0	0	0
Rhamnose	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ribose	9	11	100	100	100	0	100	0	100
Salicin	83	33	50	67	100	0	100	0	100
Sorbitol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Starch	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sucrose	100	100	100	67	100	100	100	20	0
Trehalose	77	78	0	67	100	75	93	20	0
Xylose	54	89	50	67	100	25	100	20	0

<sup>a</sup>L.m., *Leuconostoc mesenteroides*; L.d., *L. dextranicum*; L.l., *L. lactis*; S.l., *Streptococcus lactis*; S.i., *S. iniae*; L.v., *Lactobacillus viridescens*; L.c., *L. confusus*; L.a., *L. amylophilus*; L.h., *L. homiochii*.

<sup>b</sup>C, Coccus; R, Rod.

균집내의 유산균의 동정은 25°C의 발효를 선택하여 80개 집락을 분리 동정하였다. Table 2에서 보는 바와 같이, 시험중 양성반응을 나타내는 집락수를 백분율로 표시하였다. *Leuconostoc mesenteroides*(Lm) 35균주, *L. dextranicum*(Ld) 8균주, *L. lactis*(Ll) 2균주, *Streptococcus lactis*(Sl) 3균주, *S. iniae*(Si) 1균주, *Lactobacillus viridescens*(Lv) 4균주, *L. confusus*(Lc) 15균주, *L. amylophilus*(La) 5균주 그리고 *L. homiochii*(Lh) 1균주로 분리균주 모두가 유산균이었으며, 3속 9종 74균주가 동정되었고 6균주는 동정하지 못하였다. Dextran을 생성하는 유산균은 *L. mesenteroides*, *L. dextranicum*, *L. confusus*, *L. viridescens*로 동정되었다.

분리 유산균은 모두 10~35°C에서 생장할 수 있었고, 45°C에서는 생장하지 못하였으며, Gram양성이고, catalase가 없고, esculin을 가수분해하며, 포도

당을 발효하며, melezitose, rhamnose, sorbitol, 전분으로부터는 산을 생성하지 못하는 특징이 공통적이었다. 그리고 37°C에서 김치가 거의 발효되지 못하나 분리된 단일균으로 35°C에서 증식할 수 있는 상위성은 앞으로 연구할 과제이다.

#### 온도강하

김치를 25°C에서 발효시킨 후, 저장온도인 0°C로 온도를 내렸을 때 소요되는 시간, 균집의 증식, 그리고 산도의 변화를 관찰하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이, 김치의 발효를 25°C에서 22시간 유지하여 2차 균집이 생장한 시점에서 김치용기를 저장온도인 0°C로 옮긴 후 김치의 품온이 0±1°C에 도달될 때까지, 2차 균집의 생장은 매우 낮으로 0.2정도로 변화가 거의 없었으며, 총 산도는 0.26%에서 0.33%로 증가하였다.

Fig. 6에서 보는 바와 같이, 온도는 1시간 이내에 16°C로 빨리 내려갔으나 그 후로는 서서히 낮아졌다.

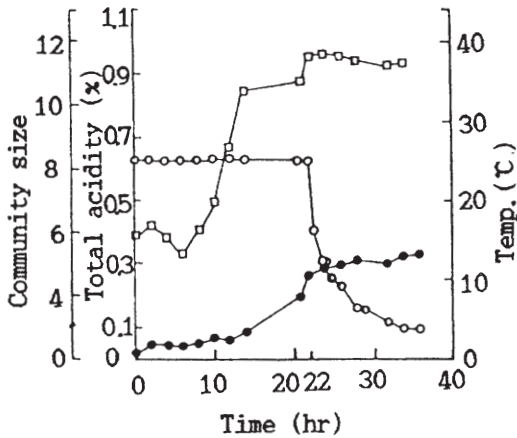


Fig. 5. Changes of total acidity (—●—) and the size of community (—□—) in kimchi fermentation by temperature downshift from 25°C to 0°C after 22 hours.

The size of community represents logarithm of total viable cells per milliliter. The figure shows that the parameters did not change after temperature downshift.

온도강하는 포물선을 그렸으며, 강하시간을 대수값으로 취하여 온도에 따라 좌표를 그리면 직선관계가 성립되었다. 그 실험식은  $\log h = -0.09t + 1.396$ 이었다( $r$ , 상관계수 =  $-0.994$ ;  $s$ , 잔차분산 =  $0.05$ ;  $h$ , 주어진 온도로 강하 하는데 소요되는 시간;  $t$ , 강하시간에 도달한 온도). 이 식으로부터 0까지 도달되는 시간은 약 25시간 정도였다(Fig. 6의 점선이 강하시간과 만나는 점).

## 고 찰

김치발효는 온도 구간별로 독립적이며 전형적인 발효형을 나타내었다. 그 예로 군집이 발달하여 생기는 생장곡선의 양상으로 비교 분석하면, 5~10°C, 15~20°C, 25~30°C의 온도구간에는 그 양상이 다르나 온도구간별로 공통적인 군집발달을 보여주었다. 즉, 5~10°C 사이 발효에서는 1, 2, 3차 군집생장의 정점(peak)이 잘 구별되었으나 15~20°C 발효에서는 1차 군집생장의 정점만이 완만한 턱(shoulder)을 이룬 모양의 차이를 보였으며, 군집생장이 세번 발달한 공통점을 가졌다. 그러나 25~30°C 사이에서는 3차 군집생장의 정점이 사라져 버렸으며, 20°C 이하의 군집생장 곡선과는 전혀 다른 양상이었다. 이러한 사실은 총 산도 곡선에서도 잘 보여주고 있다. 그 예로 유도기를 무시할 경우 산 생성 과정은 20°C 이하에서 2단계로 구별되는 유사성이 있었으나 25°C 이상에서는 1단계밖에 나타나지 않았다. 이것은 온도가 높을수록 1차 군집생장만이 신속하게 발달함으로 총

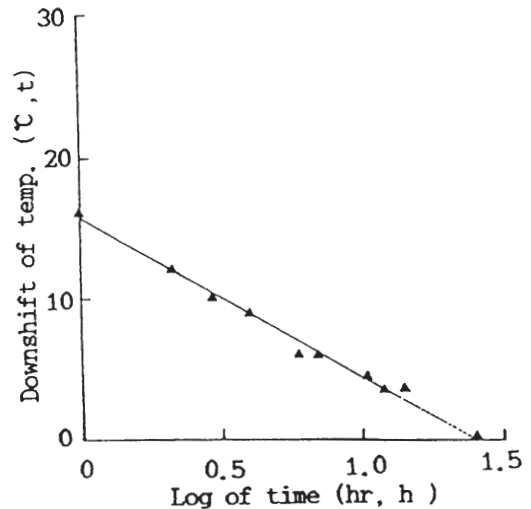


Fig. 6. Relationship between down-shifted temperature and its time in kimchi fermentation.

Experimental formula is  $\log h = -0.09t + 1.396$  ( $r = -0.994$ ,  $s = \pm 0.046$ ).

생균수가 증가하여 2차 군집생장과 겹쳐지는(overlapped) 결과로 해석할 수 있다.

결론적으로 25°C 이상의 발효는 20°C 이하의 발효와는 전혀 다른 군집생장의 양상과 성질을 가졌다고 볼 수 있다. 전통적인 김장김치의 발효온도가 저온임을 감안할 때, 그 온도는 20°C 이하였을 것으로 추정할 수 있으며, 그 발효형도 이중생장곡선을 갖는다고 할 수 있을 것이다.

김치발효형으로서 이러한 이중생장곡선은 절입조건, 양념의 종류와 양에 크게 영향을 받지 않으므로(3), 발효온도와 군집발달 과정과의 상호관계는 김치숙성도를 예측할 수 있는 기준으로 사용할 수 있다. 이를 입증하기 위하여 1, 2차 군집생장이 최대에 도달되는 시간과 온도와의 관계를 보면, 직선으로 나타나고  $r_1 = -0.982$ ,  $r_2 = -0.954$ 이므로 각 정점은 군집의 발달결과로 인하여 생기며 총 생균수의 계수에 의한 오차로 생기는 것이 아님을 알 수 있었다(Fig. 3, Table 1).

일반적으로 수궁하고 있는 먹기 좋은 총 산도를 0.4~0.5%로 기준한다면 1차 군집생장이 최대치로 되는 시점에서 총산도가 0.25%로 낮고 시간에 따라 불규칙하기 때문에 숙성도의 기준으로 사용하기가 곤란하였다. 그리고 2차 군집생장이 최대치로 되는 시점에서 총산도는 규칙적으로 0.48%까지 증가됨으로(Fig. 1), 후자를 기준으로 하여 발효숙성도를 예측하는 것이 상대적으로 좋았다. 이 때 발효온도와 시간과의 관계식은  $\log h = -0.05t + 2.78$ 이었고, 이 식으로부터 온도에 따른 발효시간을 예측할 수 있었다.

군집발달 중 우점종은 *L. mesenteroides*였으며 발

효온도가 높을수록 그 빈도가 증가하였다(Fig. 4). *L. confusus*와 *L. viridescens*는 낮은 빈도로 부수적으로 출현하였다. *L. mesenteroides*는 10°C와 30°C에서 최대빈도를 나타냄으로서 온도반응이 다른 호냉성과 저온성의 두 집단으로 구별되었으며(12, Fig. 2, Fig. 4), 30°C에 적응된 *L. mesenteroides*는 산내성이 있는 것으로 추정된다. 그 이유는 표준균주가 pH 4.8 이하에서 성장하지 못하는 성질을 가지고 있으나(13), 김치의 경우 계속 성장하여 산을 생성하기 때문이다. 일반적으로 25°C 이상 발효에서는 *L. plantarum*이 성장하여 산 생성이 높아지는 것으로 알려져 왔다(10). 그러나 본 실험에서는 이 균주가 검출되지 않은 것으로 보아 *L. plantarum*이 성장하지 않을 때에는 *L. mesenteroides*로 대체되어 증식될 수 있음을 보여준다(10, Fig. 4). 이와 같은 차이는 확실히 알 수 없으나 품종의 차이에 기인될 수 있을 것으로 추정된다. 김치발효에서는 품종개량이 중요하므로 앞으로 연구되어야 할 문제임을 제안한 바 있다(4).

저온발효에 속하는 김장김치의 특징은 주로 호냉성 *L. mesenteroides*가 높은 빈도로 증식하며, 상대적으로 산에 대한 내성이 약하고 산 생성도 낮았다. 반면에 발효가 진행됨에 따라 산에 대한 내성이 강한 저온성 균주가 출현함으로써 산 생성이 높아졌다. 비록 저온발효라 할지라도 발효시간이 길어지면 총 산도가 0.5%를 초과하게 되므로 저온발효의 특성을 상실하는 단점이 있다. 그리고 현재 일반화되고 있는 "온도강하 발효법"은 신속히 숙성시키는 장점이 있으나 저온발효의 초기 특성을 보존할 수 있는 발효온도와 시간이 규명되지 않았기 때문에 숙성정도를 조절하기가 곤란하였다. 이러한 장단점을 보완하여 저온발효에 의한 김장김치의 초기 발효조건을 온도강하발효에 적용하려면, 2차 균집생장이 최대로 되는 시점과 총 산도가 0.5% 정도 될 때를 기준으로 정하여 발효온도는 20°C 이하로 설정하고(Fig. 1, 4), 발효시간은 20°C에서 48시간, 15°C에서 72시간 정도가 적당하였다(Table 1). 특히 20°C 이상의 발효는 *L. confusus*, *L. viridescens*와 산내성이 강한 *L. mesenteroides*가 증식하여 총 산도를 증가시키며, 저온발효시의 유산균 분포와 차이가 있으므로 이 문제는 보다 더 연구되어야 할 것으로 생각한다.

## 사 사

본 연구는 (주)금성사로부터 연구비를 지원받아 과학재단 우수연구센터(서울대학교 분자미생물학 연구센터)와 공동으로 수행하였다.

## 참 고 문 헌

1. 구영조, 최신양, 1990. 김치의 과학기술. 한국식품개발연구원, p. 5-6.
2. 임종락, 1991. 김치에서 내적물질호흡에 의한 미생물의 진이. 박사학위논문, 인하대학교.
3. 한홍의, 양 문, 이현중, 백지호, 1993. 김치냉장고용 software개발을 위한 맛있는 김치의 발효조건에 관한 연구. 인하대학교, 금성사 연구보고서.
4. 한홍의, 김재명, 권민수, 1992. 김치 수출 확대를 위한 품종 규격화 및 보존성 증대 연구; 김치 양념내 화합물에 의한 미생물 생장의 억제와 산패조절. 인하대학교, 농촌진흥청 연구보고서, p. 43-100.
5. 한홍의, 박현근, 1991. Bromophenol blue배지상에서 유산균의 분별추정. 인하대학교 기초과학연구소 논문집, 12, 89.
6. Garvie, E.I., 1984. Separation of species of the genus *Leuconostoc* and differentiation of the *Leuconostocs* from other lactic acid bacteria, p. 147-178. In T. Bergan (ed.), Methods in microbiology, vol. 16, Academic Press, London.
7. Crueger, W. and A.C. Crueger, 1982. Biotechnology: A textbook of industrial microbiology, p. 60-61. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA 01875, USA.
8. Gerhardt, P.R., G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg, and G.B. Phillips, 1981. Manual of methods for general bacteriology, p. 409-443. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
9. Greenberg, A.E., J.J. Counors, and D. Jenkins, 1981. Standard methods for the examination of water and wastewater, 15th ed. p. 356-360. APHA-AWWA-WPCF, Wasington, D. C.
10. Han, H.U. and M. Yang, 1992. Ecology of lactic acid bacteria in kimchi, p. 174-185. Proceedings of UNIDO workshop on lactic acid fermentation of nondairy food and beverages, Korea Food Research Institute, UNIDO, Korea University.
11. Jay, M.J., 1986. Modern food microbiology, 3rd ed., p. 317-330. Van Nostrand Reinhold Co. Inc., New York.
12. Shigeo, M. and T. Ogawa, 1988. Selective media for enumerating lactic acid bacteria groups from fermented pickles. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 35, 610-617.
13. Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Share, and J.G. Holt, 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 2, p. 999-1259. Williams & Willkins, Baltimore.

(Received July 7, 1993)

(Accepted July 24, 1993)

---

**ABSTRACT: Characteristics of Lactic Acid Bacterial Community during Kimchi Fermentation by Temperature Downshift**

**Lee, Hyun-jung, Ji-ho Baek, Moon Yang, Hong-ui Han\*, Yong-duk Ko<sup>1</sup>, and Heung-jae Kim<sup>1</sup>** (Department of Biology, College of Science, Inha University, Inchon 402-751, and Research Center for Molecular Microbiology, Seoul National University, Seoul 151-742, and <sup>1</sup>Living System Laboratory, Goldstar Co., Ltd., Changwon 641-110, Korea)

The characteristics of kimchi fermentation at different temperatures were studied to find the conditions of temperature-downshift fermentation that has been used by Korean families. As the results, kimchi fermentation showed a common and typical pattern of which lactic acid bacterial community depicts the double growth curve between 5 and 20°C. The first and second growth of the community could be used as an indirect indicator for the prediction of maturity or total acidity. At test temperatures, kimchi was fermented by dextran-forming lactic acid bacterial community which consisted of *Leuconostoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *Lactobacillus confusus*, and *L. viridescens*. Among these species, *L. mesenteroides* was predominant and discriminated from psychrophilic and psychrotrophic strains. As a property of "kimjang" kimchi, low temperature fermentation (for 15 days at 5°C) was performed by psychrophilic *L. mesenteroides*, and total acidity was about 0.5%, when the second growth of community reached maximum viable counts. Thus, temperature-downshift fermentation, by which characteristics of "kimjang" kimchi could be maintained and fermented rapidly, was possible when the temperature was lowered to 0°C, after fermentation for 48 hr at 20°C as maximum temperature. The time required for downshift took 25 hr, and thereby the size of community and total acidity were not changed.