韓國營養學會誌 : 第12卷 第1號
K.J.N., Volume 12, Number 1, 1979

腸內細菌類의 김치乳酸菌에 對한 拮抗作用

安東大學 家政學科

尹 淑 濠

= Abstract =

A Study on the Antagonistic Activity of Enterobacteria to Lactic Acid Bacteria Accuring Kimchi Fermentation

Suk Kyung Yoon

Dept. of Home Economics, An Dong College

This work was carried out to detect the enterobacterial contamination in summer kimchies and their antagonis tic activity with lactic acid bacteria during kimchi fermentation.

And obtained results were as in the followings.

1) Severe cases of enterobactrial contamination were found in every kimchi material and in the first step of summer kimchi fermention.

2) Some pathogenic or food poisonous strain of Salmonellaspp. was identified among the contaminated enterobacteria.

3) Pathogenic strains of Salmonella typhi, Shigella flexneri or E. coli which were added to kimchi fermention, were contineously detected for 10days at the temperature of 10°C. Food poisonous strain of Vibrio parahemolyticus was more resistant than the above stains in the kimchi fermentation.

4) And in summer condition(over 30°C) the added pathogenic strains of enterobacteria were also detected for 2 day at pH of 4.5 kimchi fermentation.

5) The antagonistic activity of enterobacteria in lactate buffer solution of pH 4.8 was more stron than that in the kimchi fermentation at 30°C of summer condition.

6) According to the above results, sanitary washing processes for every kind of kimchi material(vegitables) are required to reduce the enterobacterial concentration which is usually contaminated.

And some fermentation period is also required to avoid the possible kimchi food poisoning.

Ⅰ. 緖 論

韓國人이 늘 먹고있는 食品中 가장 嗜好的인 김치의 成分이나 營養學的 價値는 이미 알려져 있으며 김치의 발효중에 分離되거나 關係되는 微生物에 關한 究研報告도 대단히 많다.

外國에서 沈菜類의 微生物에 關한 研究로서 最初의 것은 日本의 다구앙(澤庵) 및 糖味噌漬에서 分離한 細菌等에 關한 澤村[1]의 報告가 있었으며 brine pickle의 細菌에 關하여는 Rahn[2]의 報告가 처음 있었다.

또 Pederson은 Saurekraut[3,4]와 brine pickle[5,6]에서 分離한 細菌을 同定한 結果 이들의 乳酸醱酵의 主菌으로 Lactobacillus Plantorum Streptococcus faecalis 등 正常醱酵乳酸菌과 Lactobacillus brevis, Leuconostoc mesenteroides 등 異常발효乳酸菌을 報告하여 이들 漬物乳酸菌의 Bacterial flora를 밝힌바 있었으며 또 好氣性菌으로 Achromobacter[7] Flavobacte-

rium, Pseudomonus 屬의 많은 菌株가 沈菜類 발효초에 分離되었음을 報告한 바 있었다.

그리고 또 Cucumber Pickle의 細菌類와 軟腐에 係되는 乳酸菌等 嫌生物學的 性質규명과 要求 Vitamin, amino산에 對한 Costilow[8]의 報告는 當時 큰 注目을 끌은바 있었다.

沈菜類 中 糖味噌漬와 다꾸앙(澤庵)의 主醱酵菌은 乳酸菌으로 Lact Plantarum, Lact leichmanni, Lact brevis, Lact thermophillus, Lact acidophillus Pediococcus 類 그리고 其他 稈菌類(mesentricus)等을 밝힌 澤村와 宮路의 硏究가 있었으며 韓國에서도 晋[9] 權[10]의 김치類의 細菌을 分離한 바 있었고 그리고 黃[11,12]等도 김치微生物의 嫌氣性 및 好氣性細菌의 同定을 한 바 있었다. 또 鄭[13]은 여른 김치류의 microflora를 밝힌 바 있고 食品添加物인 Furyl furamide [2-(2-furyl)-3-(5-Nitro-2-furyl) acrylamide]가 김치유산균에 미치는 영향을 報告한 많은 硏究가 있었다.

그런데 김치는 材料面에서 볼 때 특히 韓國農村에서는 肥料로서 人糞尿使用이 계속되는 點에서 腸內細菌類가 김치 재료에 汚染될 可能性은 대단히 크며 이들 중에는 病原性인 細菌類도 存在할 것으로 볼 수 있는데 김치중의 腸內세균의 動態나 消長에 關한 硏究는 거의 볼 수가 없었다. 다만 鄭[14]이 김치발효조절제의 微生物學的인 硏究에서 김치젖산균에 大腸菌一株를 접종시켜 그 拮抗結果를 報告한 바 있었을 뿐이었다.

筆者는 김치에 使用되는 各種 자료에 腸內세균이 어느程度 汚染되어 있는가를 調性하고 김치의 발효초기부터 中期 末期에 이를 汚染腸內세균의 消長을 조사하므로서 김치발효중의 microflora를 正確히 알고 김치의 세균학적 위생성을 재확인하기 위하여 몇가지 實驗을 하여 結果를 얻었으므로 이에 報告하는 바이다.

Ⅱ. 實驗材料 및 方法

A) 材　料

(1) **김치試料** : 市販되고 있는 新鮮한 채소로서 배추, 무우, 마늘, 파, 고추, 열무등을 택하였다. 젓갈을 使用한 젓갈김치(Jakal Kimchi)와 물이 많게한 물김치(Juicy Kimchi)을 使用하였고 그 담금은 일반 김치의 제조方法에 依하였으며 그 조성은 다음 表1와 같이 하였다.

(2) **培　地** :

① 細菌分離 및 確認用選擇培地類는 다음과 같으며 특수한 培地의 조성은 다음 表2와 같았다.

1. Nictrient agar(一般細菌分離 및 好氣性細菌總數 확인용)
2. Macconkey agar(Coli form bacteria 분리용)
3. E. M.B. agar(E. Coli 확인용)
4. S. S. agar(Salmonella Shigella 분리용)
5. T. C. B. S. agar(Vibrio 菌 분리 및 확인용)
6. Tomato extract agar(젖산균분리 및 확인용)

② 分離된 세균의 生理的性質을 확인하기 위한 培地로는 Citrate agar, Thioglycolate Broth 등 各種배지는 모두 Difco 社製를 使用하였다.

(3) **김치젖산균과의 拮抗試驗에 使用된 腸內細菌** :

1. E. Coli ATCC 25922(연세의료원 보관주)
2. E. Coli(본교 미생물공학과에서 분리한 균주)

Table 1. Ingredients of Sample Kimchi

Juicy Kimchi(Unit: g)		※ JaKal Kimchi(Unit :g)	
Radish a Sprout	500	Chinese Cabbage	1000
Green Pepper	25	Red Pepper	30
Garlic	10	Garlic	20
Ginger	5	Ginger	9
Green Onion	22	Green Onion	30
Starch	5	Starch	8
M.S.G.	5	M.S.G.	10
NaCl	50	NaCl	90
Water	800 cc	Water	1000 cc
		Jokal	150 cc

※ Jakal: Fermented Korean Seasoning of Salted Fishes

Table 2. Composition of media.

Thioglycolatebroth	
Bacto-yeast extract	5 g
Bacto-Casitone	15 g
Bacto-Dextrose	1 g
NaCl	2.5 g
L-Cystine Difco	0.05 g
Thioglycolic acid	0.3 ml
Distilled water	1000 ml
pH	7.1

Tomato Juice agar	
TomatoJuice	20 g
Bacto-pepton	10 g
Bacto-Peptonised Milk	10 g
Bacto-Agar	11 g
Distilled water	1000 ml
pH	6.1

Phenol red broth	
Bacto-Beef Extract	1 g
Proteosepecton No.3 Difoo	10 g
blacl	5 g
Bacto-Phenol Red	0.018 g
Diatilled water	1000 ml
pH	7.4

T.C.B.S.(Vibparahemoly)tikus	
Yeast ext	5 g
Proteose Pepton	10 g
Na-citrate	10 g
Na-thiosulfate	10 g
Oxygall	8 g
Sucrose	20 g
Nacl	10 g
Ferriocitrate	1 g
Thymol Bule	0.04 g
Bromthymalblue	0.04 g
Agar	15 g

S.S. agar(De Hydrate)	
Bacto-Beet Extract	5 g
Proteosepeptone Ditco	5 g
Bacto-Lactose	10 g
Bacto-Bluesolts No 3	8.5 g
Sodium Thiosulfate	8.5 g
Feerric Citrate	1 g
Bacto-agar	13.5 g
Bacto-Brilliant Green	0.00083 g
Bacto-Neutral Red	0.025 g

3. Vibrio Parahemolyticus(연세의료원에서 분리동정된 균주)

4. Salmonella typhi(연세의료원에서 분리동정된 균주)

5. Shigella flexneri(국립보건원에서 분리동정된 균주)

B) 實驗方法

(1) 腸內細菌의 分離 : Macconkey agar와 S. Sagar를 主로 使用하여 一般法에 따라 37°C에서 好氣性배양을 하였으며 Colony의 특징에 따라서 分離하였다.

(2) 腸內細菌의 同定方法 : 특히 E. Coli의 경우는 推定試驗 確定試驗까지 하였으며 他菌株는 Skermans의 一般細菌同定의 方法과 Bergey's manual에 따라서 生理的 性狀에 對한 試驗을 거쳐 Bergey's manual[16] 7版 및 8版을[17] 기준으로 하여 판정하였다.

(3) 세균의 濃度測定 : 김치 Sample 액즙을 100倍내지 10萬倍로 희석하여 重層배양을 하여 Colony를 計測하고 二回시험을 平均하여 ml當 濃度로 表示하였다.

① Aerobility: Lactose를 1% 添加한 Thioghycolate broth로서 37°C에서 2日間 배양하여 細菌의 生育한 層을 보고 판정하였다.

② Motilily: Lactose bouillon agar에 半고체상태의 Lactore균을 침자배양하여 세균의 生育狀態가 퍼지는 모양으로 확인하였다.

③ Catalase test: 3% H_2O_2용액을 Colony상에 떨어뜨려 거품의 발생상태로서 판정하였다.

④ 질산염 환원. : 멸균한 Nitrate agar에 균을 접종 37°C에서 3~5일간 배양후 0.8% Sulphamillic acid의 5N acetic acid용액을 2~3滴加하고 다시 dimethyl-α-naphthylamine 0.6% 5N acetic acid용액을 2~3滴加한 후 紅色이 되는 如否를 확인하였다.

⑤ gelatin 液化力 : Nutrient broth에 12%의 gelatin을 添加하여 멸균시킨 배지에 균을 접종 適溫에서 10日間 배양하여 培地의 液化如否를 확인하였다.

⑥ lithmus milk 환원 : 加熱멸균된 12%의 Skim milk 용액에 1% Lithmus 용액을 約 8~10%정도 첨가하고 5% Ca-lactate 용액을 10% 첨가한 다음 균을 접종하고 5~8日間 배양한 다음 균의 變化와 응고성 또는 Pepton 化를 확인하였다.

⑦ Citrate 利用性 : 멸균된 Citrate agar 배지에 菌을 접종 5日間 37°C로 배양후 色의 變化를 확인하였다.

⑧ Indol test: Ehrlich 反應을 확인하였다. 즉 Nutrient broth에 菌을 5日間 배양시킨 tube에 1%의 P-Dimethylamino benzaldehyde의 염산용액을 2~3滴 떨어뜨려서 紫變함을 陽性으로 하였다.

⑨ 황화수소 발생 : Nutrient broth Culture에 5%의 Lead acetate 용액을 數滴加하여 黑變함을 陽性으로 하였다.

⑩ 酸生成 및 gas 발생 : Phenol red broth에 各種糖을 1%농도로 添加하고 Duhrum tube를 넣은 다음 멸균한 배지에 接種하고 2日間 배양 후 橙黃色이 된 것을 酸生成 陽性, 紅色이 됨을 陰性으로 하였다. 또 Duhrum 管속에 氣泡가 生기면 Gas 발생 陽性으로 表示하였다.

⑪ 耐鹽性 : 食鹽을 3%부터 단계별로 10%까지 Nutrient broth에 용해한 배지를 균배양 후 투명한 한계점 농도를 表示하였다.

⑫ Urea test: Christensen 배지에 1% Lactose를 넣고 pH 6.8로 조정한 다음 멸균한 배지를 使用했으며 배양후 橙色이 紅色으로 되면 陽性으로 하였다.

⑬ 其他의 生理的 性質에 關한 實驗은 一般的인 方法에[18] 依하였다.

(4) 김치材料中의 汚染腸內細菌의 測定 : 각종의 김치材料를 깨끗한 水道물로 씻은다음 김치를 담그기 直前에 각 채소별로 약 50 g을 500 ml Beaker에 넣고 1%의 食鹽水를 200 ml정도 加하여 김치자료가 충분히 물에 잠기게 한 다음 2時間을 방치하였다. 가끔 Beaker를 흔들어서 細菌이 分散되게 하였고 그 액즙 0.1 ml를 取하여 培地에 접종 배양하였으며 2倍地上의 Colony 數를 計測하였다. 細菌의 濃度가 클 경우에는 10^{-2}~10^{-4}로 희석하였다.

(5) 김치의 汚染腸內細菌의 變化측정 : 一般的 方法에 依하여 담근 김치에 여름 조건은 거의 12時間 간격, 겨울조건의 김치는 每日간격 또는 격일로 김치액즙의 一部를 取하여 경우에 따라서 초기에는 알맞는 배율로 (10^{-2}~10^{-4}) 희석하거나 후기에는 액즙원액을 0.1 ml 취하여 培地에 접종하여 배양 후 Colony를 특징별로 계측하여 ml 當 濃度로 表示하였다.

(6) 김치젖산균에 對한 各種腸內細菌의 拮抗力測定: 김치를 담근 즉시 試料로 使用한 腸內細菌 5가지를 0.5% Pepton 水로 細菌의 濃度가 10^4~10^5/ml 되게 細菌현탁액을 만들어서 김치의 발효槽에 김치量의 5%정도 되도록 添加하였다.

김치발효가 進行됨에 따라서 경시적으로 各細菌의 選擇培地를 使用하여 전기의 方法으로 培養하여 計測한 Colony 數를 ml 當 細菌數로 환산하여 表示하였다. 初期에는 희석법을 썼으며 後期에는 김치원액을 그대로 使用하였다.

(7) 酸의 變化 : 김치경과에 따라서 12時間 간격으로 김치원액을 取하여 pH와 總酸을 測定하였다.

pH 측정 : Mitamula PC 61型, pH meter를 利用하여 정밀히 測定하였다.

(8) 總酸測定 : 김치액즙 5 ml를 取하고 45 ml의 증류水를 加한 다음 Phenolphthalein을 指示藥으로 하여 0.1 N NaOH 용액으로 滴定하였다. 總酸을 다음式에 依하여 젖산濃度를 表示하였다.

$$\text{총산 } \% = (a-b) \times f \times 0.009 \times \frac{100}{5}$$

a: 0.1N NaOH 용액 titer(시료)

b: 0.1N NaOH 용액(Blank 1% 식염수)

f: 0.1N NaOH 용액 factor

Ⅲ. 結果 및 考察

1) 김치材料의 細菌汚染

夏節김치로서 국물김치나 젓갈김치의 主材料로 쓰이고 있는 달랑무우 배추(직예종) 파, 마늘, 고추, 쑥갓 들깻잎을 選擇하여 김치담금 직전에 腸內細菌을 確認하고 그 汚染된 濃度를 調性하였던 바 表 3와 같은 結果이었다.

Coliform bacteria의 汚染이 무우, 배추, 파 등 地下部가 많은 채소가 甚하였으며 어떤 경우에는 10^8/ml를 넘을만큼 無數히 많은 汚染을 볼 수 있었다. 마늘은 比較的 汚染이 적었다. 一般的으로 모든 菜蔬類에서 놀랄만큼 많은 量의 腸內細菌의 汚染을 볼 수 있었다.

今木[19]에 依하면 調理用菜蔬에 汚染된 一般세균의 濃度는 水洗의 回數와 洗劑併用의 方法으로 $\frac{1}{1000}$以下로

Table 3. Contaminated Cases of Enterobacteria in Summer Kimchi Material

material / Test case	Radish	Chinese cabbage	Leek	Garlic	Red hot peper	Perilla Leaf
1	·	·	++	+	++	++
2	++	·	·	−	+	++
3	·	·	·	+	++	++

+: Less than 10^2/ml ++: Less than 10^4/ml ·: Over than 10^5/ml

Table 4. Physiological Characteristics of Isolated Strains(Enteroloacteria) from Vegetables and Kimchies at early fermention

Strain Idened / Exam.	E-1 E. Coli	E-2 E-Coli	E-3 E. Coli	E-4 K. pneu-moniae	S-1 K. pneu-moniae	S-2 S. marc-escens	S-3 Sal. galliharum
Agar Colony	grey	white	w&yellow	white	white shiny	red circular	grey circ
Broth	turbid	grey turb	grey turb	film turb	film	film turb	heavy turb
Rod	0.5~0.8× 1.5~2.0	0.7~1.0× 3.0	0.5~1.0× 3.0	0.5~0.6× 3.0~5.0	0.3~0.5× 3.0~5.0	0.5~0.6× 1.0	0.3~0.6× 1.0~2.0
Sporangia	−	−	−	−	−	−	−
motility	+	+	+	−	−	+	+
Gram's Stain	−	−	−	−	−	−	−
Urease	−	−	−	+	+	+	−
Indol	+	+	+	+	−	−	−
H_2S	+	±	±	−	−	+	−
Nitrate	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+
Aerobility	fac. anaer	aero	aero	fac. anaer	fac. anaer	Aerobic	fac. anaer
Opt. temp.	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	30°C	37°C
max. temp.	50°C	45°C	50°C	50°C	50°C	40°C	55°C
Gelatin liq	+	−	−	−	−	+	−
Citrate	+	−	−	−	−	+	±
Acid & Gas							
from glucose	++	++	++	++	++	++	+−
from maltose	++	++	++	+−	+−	−−	+−
from lactose	++	++	++	++	++	++	−−
from xylose	++	++	++	+−	+−	−−	+−
from arabinose	++	++	+−	+(+)	+−	−−	−−
from mannitol	++	++	++	+−	+−	+−	+−
from sorbitol	++	−−	−−	+−	+−	−−	+−
from fructose	++	++	++	−−	−−	−−	−−

현저히 減少시킬 수 있음을 指摘한 바 있으므로 따라서 김치담금에 있어서도 材料를 洗劑使用, 초음파세척, 또는 鹽水處理등 세척方法을 바꾸어서 그 汚染을 最少限 減少시킬 必要가 있다고 思料되었다.

2) 김치의 汚染腸內細菌類

夏節김치의 醱酵始初에 分離되는 微生物은 매우 많은 種類일 것으로 생각할 수 있지만, 實際로 腸內細菌類의 汚染에 關한 報告는 鄭[14]이 있었을 뿐이었고 鄭

은 김치醱酵中에 Coliform bacteria는 消滅되어 가는 傾向임을 報告한 바 있었으나 汚染된 腸內細菌類를 細菌學的으로 同定한 報告는 아직 없었다. 김치에서 意外로 많은 Coliform 汚染을 볼 수 있어서 김치의 材料別로 檢性한 結果도 前記한 바와 같이 大量汚染을 볼 수 있었으므로 여러가지 種類의 김치를 그 醱酵始初에 汚染된 腸內細菌을 各 培地上에서 Colony의 特徵에 따라서 分離하였다. Macconkey agar에서 얻은 菌株 E-1, E-2, E-3, E-4, 4株를 그리고 Salmonela Shigella agar에서 얻은 菌株 S-1, S-2, S-3, 3株에 關하여 그 細菌形態學的 性質과 生理學的 性質을 檢査하여 同定한 結果는 表4와 같았다.

여기에서 S. S배지상에서 자란 세균은 경우에 따라서 그 Colony의 形態가 다르기는 했지만 左右間 많은 Salmonella나 Shigella群이 汚染된 것으로 보고 追試하였으나 特徵이 뚜렷한 供試菌株中에는 病原性인 Shigella나 Salmonella로 同定되지는 안했지만 問題點이 있는 것으로 나타났다. 즉 S. S배지상에 가장 分布가 컸던 S-1菌株는 두 生理的 性質 特히 Carbohydrate Test結果가 Bergey's manual[16]에 記錄된 標準菌株의 그것과는 몇가지 差異를 보이기는 했으나 여러가지 性狀이 Klebsiella Pneumoniae로 볼 수 있었고 S-2는 Sarratina marcesceus로 同定할 수 있었다. 이들은 S. S培地에서 많이 나타났으나 疫原性은 없고 汚染된 腸內細菌群으로 밖에 볼 수 없었다. 그러나 가끔 나타났던 菌株였다. S-3菌株는 황화수소 飛生을 하였고 Lactose를 分解않는 것으로 S-1, S-2와 全혀 달랐으며 Escherichia屬과도 두性狀이 特異하였으며 Carbohydrate Test와 gas발생실험의 結果가 Salmonella gallinarum으로 判定할 수 있었다. Salmonella gallinarum은 家禽類의 傳染病(鷄티브스) 菌으로 알려져 있으며 경우에 따라서는 사람의 食中毒과도 關係가 있는 것으로 보는 細菌으로 比較的 被害가 적은 것으로 알려져 있다. 그러나 이와같은 Salmonella菌이 김치의 발효始初에 存在하고 있다는 것은 注目할만한 일이다.

Macconkey agar培地에서 分離된 菌株인 E-1은 김치중에 초기에 매우 많았으며 Agar Colony의 表面이 약간 標準균주와 달랐으나 Escherichia freundii로 判定되었고 E-2와 E-3는 Escherichia Coli로 밝힐 수 있었으며 E-2는 特히 比較菌株인 Escherichia Coli ATCC No. 25922菌株와 同一한 生理反應을 보였다. 그리고 E-4菌株는 arabinose醱酵에서 gas를 發生하는 點이 S-1菌株와 다를 뿐 다른 面에서는 同一하였으므로 역시 Klebsiella Pneumoniae로 判定되었다. 따라서 Macconkey Agar培地上에서 分離된 菌株에는 特히 病原性이거나 注意할만한 것은 없었다고 하지만 김치의 衛生이 細菌學的인 面에서 問題點이 있다고 할 수 있었다. 따라서 두가지 培地에서 分離된 菌株策에 關한 試驗結果를 보면 김치 醱酵始初에는 腸內細菌이 大量汚染되어 存在할 뿐 아니라 그 種類도 多樣하다고 볼 수 있고 경우에 따라서는 病原性 또는 食中毒性의 細菌이 存在할 可能性이 있다고 볼 수 있었다.

3) 김치醱酵中 酸의 變化

김치발효중의 酸의 濃度變動에 關하여는 일찌기 金[22]等의 報告에 이어 李[20]等의 김치의 醱酵숙성시의 酸과 Vitamin의 消長에 關한 報告가 있었다. 河[21]도 동치미에 있어서 pH變化와 産膜酵母의 關係를 밝힌 바 있었고 鄭[13]은 夏節김치류에서 揮發性酸과 不揮發性酸의 比率이 발효중에 變動됨을 指摘한 바가 있었다.

그런데 이와같은 김치의 酸濃度는 그 材料에 따라서

Table 5. Changes of acid concentraton during Kimchi fermertation at 30°C±2°C

Jime (hrs)	J Kimchi		W Kimchi	
	Total acids(%)	pH	Total acid(%)	pH
1	0.15	6.0	0.11	5.8
24	0.35	5.2	0.26	5.4
36	0.56	4.8	0.38	4.8
48	0.89	4.2	0.62	4.4
62	1.32	3.9	0.92	4.0
72	1.38	3.7	1.11	3.8
96	1.42	3.7	1.18	3.8

J: JoKal Kimchi W: Juicy Kimchi

Table 6. Changes of acid during Kimchi fermentation at 10°C±1°C

Time (day's)	J-Kimchi		W-Kimchi	
	Total acid (%)	pH	Total acid (%)	pH
0	0.19	6.2	0.22	6.0
1	0.23	5.8	0.21	6.0
3	0.22	5.6	0.28	5.8
5	0.41	5.2	0.28	5.7
7	0.43	5.1	0.41	5.4
9	0.42	5.0	0.56	5.2
11	0.63	4.7	0.63	4.8
13	0.72	4.5	0.63	4.6
15	0.88	4.2	0.67	4.4

다르며 溫度도 關係가 크다는 것은 알려진 事實이며 特히 食鹽의 濃度는 酸의 變動에 큰 因子인 것이다. 그런데 이와같은 김치의 酸의 增加가 여러가지 김치醱酵中의 汚染된 微生物을 저지할 것으로 보고 발효온도 10°C 內外와 30°C 內外에서 前記의 方法으로 담근 김치의 總酸과 pH의 變化는 表 5, 表 6과 鹽度가 2.3%에 達하고 국물이 적은 젓갈김치는 30°C의9高溫에서 36時間에 벌써 酸味가 컸고 먹기에 알맞았으며 72時間에는 벌써 酸敗된 맛이었고 pH도 3.7까지 떨어졌었다. 水分이 많고 鹽度가 1.4%程度인 물김치도 담근 3日후에는 酸敗感이 도는 것이었다.

그런데 겨울 조건이라 볼 수 있었던 10°C상태의 김치의 酸의 變化는 매우 느렸고 담근 15日 경과후에도 젓갈김치나 물김치의 경우가 모두 總酸 1%이하였고, pH도 4.0을 웃돌고 있었으며 酸味도 알맞는 程度였다. 따라서 汚染微生物의 억제도 동절김치의 경우는 매우 둔한 것으로 예측할 수 있었다.

4) 김치발효중의 汚染細菌의 拮抗力

一般的으로 細菌은 酸에 依하여 억제를 받거나 死滅하는 경우가 많으므로 김치발효중의 익은 김치酸의 濃度인 pH 4.8의 상태가 되도록 젖산완충액을 만들고 여기에 一定量의 腸內細酸懸濁液을 滴下하여 잘 混合한 다음 菌濃度를 측정하고 그 腸內細菌의 젖산액중에서 拮抗力을 測定한 結果는 表7과 같았다.

이 實驗에서는 細菌의 濃度는 계속 측정하지 않았으나 P.H의 變動은 없었고 거의 모든 細菌類가 接種後 4日까지는 生存하고 있었다. 그리고 供試된 Shigella flexreri(赤痢菌)와 Salmonella Typhi(腸티브스菌)는

Table 7. Acid tolerence of Enterobacteria in Lactate Buffer Solution(pH 4.8 Temp 30°)

Strain / Bay's Bact.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
E. Coli	+	+	+	+	±	−	−	−	−
Vib-Parahenolyticus	+	+	+	+	+	+	±	−	−
Sal. Typhi	+	+	+	±	−	−	−	−	−
Shi. flexneneri	+	+	+	±	−	−	−	−	−

Initial Conc of each Bacteria
E. Coli. 31×10^4/ml Sal. Typhi.46×10^3/ml Vib. Para. 28×10^5/ml Shi. flex. 17×10^5/ml

Table 8. Antagonistic Changes of Enterobacteria and Lactic acid Bacteria during W-Kimhi fermentation at 30~35°C

Days / Bact. Strain	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E. Coli.	⧺	+	−	−	−	−	−	−	−	−
Vib. Parahem.	⧺	⧺	+	+	−	−	−	−	−	−
Sal. Typhi.	⧺	+	−	−	−	−	−	−	−	−
Shi. flexneri.	⧺	⧺	+	−	−	−	−	−	−	−
Lact. bact.	+	⧺	·	·	⧻	·	·	·	⧺	+

+ Less than 10^2/ml ⧻ Over Than 10^8/ml ⧺ Less Than 10^4/ml − Negative
· OverThan 10^5/ml

Table 9. Antagonistic Changes of Enterobacteria and Lactic acid Bacteria during W-Kimchi fermentation at 10°C±1°C

Strain \ Days	1	3	5	7	9	11	13	15	17
E. Coli.	++	++	·	+	+	−	−	−	−
V. Parahem.	++	++	++	++	++	+	+	−	−
Sal. Typhi.	++	+	+	+	−	−	−	−	−
Shi. flexneri	++	+	+	−	−	−	−	−	−
Lact. bact.	+	+	+	++	++	·	·	·	·

弱化되기 쉬웠고 Vibrio Parahemolyticus(食中毒菌)는 相當한 耐酸性을 갖고 있어서 30°C의 高溫임에도 不拘하고 7日까지 拮抗하고 있었다. 이와같은 結果는 김치에 汚染될 可能性이 있는 微生物菌이 多樣한 耐酸性을 가지고 있다는 것을 示唆하고 있었다. 그리고 夏節의 自然溫度인 30~35°C에서 담근 물김치에 10^5~10^6/ml의 腸內細菌 현탁액을 10 ml/kg정도 添加하여 그 온도에서 계속 발효시켜 經時的으로 젖산균과 腸內細菌을 調査한 結果는 表8과 같았으며 같은 方法으로 처리하여 10°C內外에서 발효시켜 調査한 結果는 表9과 같았다.

表8의 結果는 젖산완충액에서의 腸內細菌類의 拮抗力보다 相當히 弱化되는 경향을 볼 수 있었고 腸內細菌類間의 拮抗力差는 거의 비슷하여 Vibrio Parahemolyticus가 가장 强한 耐性을 보였다.

그리고 젖산균의 濃度는 4~5日에 最高를 보였고 그 이후는 酸도 감소되고 菌濃度도 減少되는 것이었다. 겨울김치 발효조건과 類似한 10°C內外에서 各腸內細菌의 拮抗力도 時日의 長短差는 있었지만 高溫에서의 경우와 비슷하였다. 그리고 이같은 경과중 완전히 腸內細菌이 死滅된 김치液에 다시 약간의 腸內細菌이 生存하지 않았다. 젖산완충액에서 보다 多少弱化되는 현상은 腸內細菌類의 이같은 拮抗力이 단순히 김치중의 젖산에 依하여서 뿐만 아니고 젖산균의 번식으로 因하여 生成되는 젖산이외의 代謝物質에 依한 것이라 생각될 수 있었다.

5) 김치발효중의 腸內細菌의 變動

夏節溫度條件과 冬節溫度條件에서 鹽度가 多少 높고(2.3%) 국물이 적은 젖갈김치 담근때 10^6~10^7/ml농도의 각종腸內 細菌懸濁液을 1%가량 添加하고 經時的으로 菌濃度를 測定한 結果는 그림 1·2와 같았다.

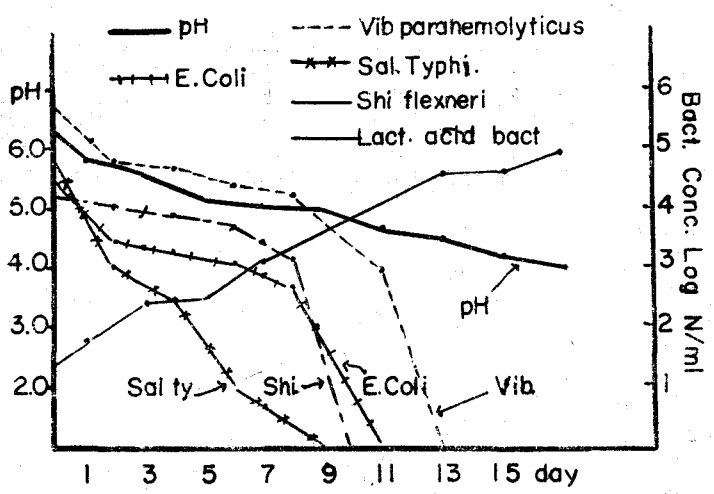

Fig. 1. Changes of P·H and Enterobacterial Concentration during. J. Kimchi fermentation at 9~10°C.

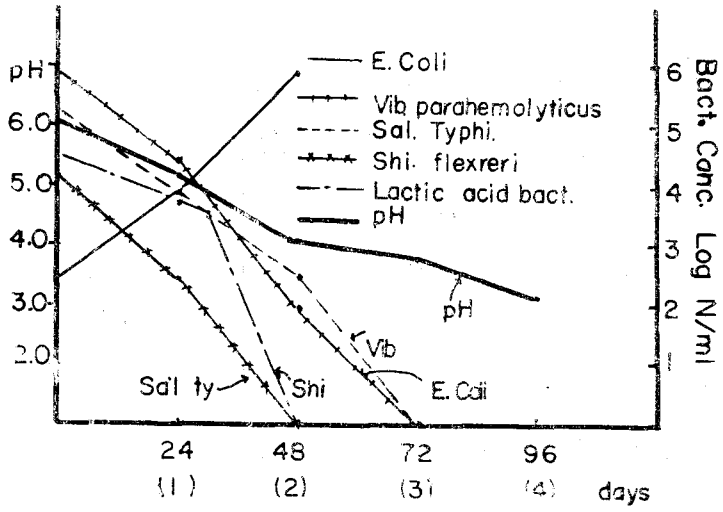

Fig. 2. Changes of P·H and Enterobacterial Concentration during. J. Kimchi fermentation at 30~35°C.

겨울조건인 그림 1에서는 모든 腸內細菌類는 9日에 가서 完滅되었으며 食中毒菌인 Vibrio Parahemolyticus는 前述한 경우에서와 같이 强한 拮抗力을 갖고 있어 13日에야 完全히 없어지는 것이었다. 反面에 pH는 서서히 떨어져가고 있었으나 젖산균은 始終 계속적으로 증식하고 있었다.

그리고 여름조건인 30~35°C에서는 그림 2에서 보는 바와 같이 pH는 急격히 降下되었고 젖산균도 急增하고 있었는데 Sal. typhi와 Shi. flexneri는 매우 쉽게 死滅되어 48時間 후에는 볼 수 없었다. Vibrio Parahemolyticus와 大腸菌은 前述의 경우와 같이 약간 큰 拮抗力이 있어서 48時間時에는 적은 濃度이지만 生菌이 있었다.

이와같은 結果는 지금까지 우리 韓國人들이 常食하여 온 김치는 담근 印時부터 먹어도 큰 被害가 없는 것으로 생각하여온 것이 問題點이 있었다는 것을 말해주는 것이라 할 것이다. 즉 만약에 中毒性이거나 病原性인 細菌이 담근 직후의 김치에 汚染되어 夏節인 경우에는 적어도 2日 多節의 경우에는 적어도 約 10日은 이들 細菌類가 生存하여 있을 可能性이 있어서 김치의 衛生問題를 再認識할 必要가 있다고 보겠다.

Ⅳ. 要 約

古來로 韓國人이 每日 먹고있는 김치의 細菌學的 衛生性을 檢討하기 위하여 夏節의 김치재료와 一般김치에 對하여 腸內細菌의 汚染如何를 調査하였고 김치 담근時에 腸內細菌을 添加하여 醱酵中의 拮抗力을 調査하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 夏節김치의 材料채소나 김치담근의 初期에는 意外로 많은 腸內細菌이 汚染되어 있었다.

2. 汚染된 腸內細菌中에는 病原性이거나 食中毒性인 Salmonella菌이 있었다.

3. 겨울溫度인 10°C內外에서는 김치에 添加된 Salmonella typhi Shigella flexneri, E. Coli등 病原性細菌은 約 10日間 殘存하였고 强力한 食中毒菌인 Vibrio Parahemolyticus는 더 强한 拮抗을 보였다.

4. 여름조건인 30°C이상 온도에서 김치에 첨가된 腸內細菌은 pH가 4.5以下로 된 2日후에 와서야 거의 死滅되는 것이었다.

5. 約 30°C에서 각종 腸內細菌類의 김치발효중에서의 拮抗力은 pH 4.8의 젖산완충액에서 보다 相當히 弱하였다.

6. 이상의 結果로 김치材料는 一般的으로 腸內細菌汚染이 많아서 채소의 洗濯方法改善등이 必要하며 김치 담근 직후의 食用은 非衛生的이라 하겠다.

參 考 文 獻

1) 澤村眞 : 東農學報, *6:83-86, 1904.*

2) Rahn, O.: *The Canner, 37, No.20, 44~45, 1913.*

3) Pederson, C.S.: *New York State Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. No. 168, 1930.*
4) Pederson, C.S.: *New York State Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. No. 216, 1933.*
5) Pederson, C.S.: and Albury, M.N.: *New York. State Agr. Exp. Sta. Bul. No. 744, 1950.*
6) Pederson, C.S. and Albury, M.N.: *Appl. Microbiol4, No. 5 September, 1956.*
7) Pederson, C.S. and Fisher, P.: *New York State Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. No. 273, 1944.*
8) Costilow, R.N.: *Appl. Microbiol. I 320, 1953.*
9) 晋宙鉉 : 朝滿醫界, *92, 1932.*
10) 權肅杓 : 藥學醫誌, *2, 1953.*
11) 黃圭贊, 金浩植 : 과연휘보, *4,1, 56~63, 1959.*
12) 黃圭贊 : 과연휘보, *5,2, 52~56, 1960.*
13) 鄭鎬權 : 韓國濃學會誌, *12,1,57, 1969.*
14) 鄭燐月 : 김치발효제의 미생물학적 性狀 및 김치 醱酵에 미치는 영향. 建大大學院, *1977.*
15) Difco manual 9th edi: *Difco laboratories Detroit Michigan U.S.A, 1968.*
16) Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Smith N.R.: *Bergey's of Determinative Bacteriology 7 th ed Williams and Wilkins Co. Baltimore. Md., 1957.*
17) Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Smith N.R.: *Bergey's of Determinative Bacteriology 8th edi 1974.*
18) Skerman's: *Guilde to the Identification genera of bacteria, 1956.*
19) 今木喬 外 四人 : 日本家政學雜誌, *20, 6, 2, 5~8, 1969.*
20) 李泰寧 外 三人 : 과연휘보. *5, 43, 1960.*
21) 河淳燮 : 과연휘보, *5,2, 140, 1960.*
22) 金點植 外 二人 : 과연휘보, *4,1, 35, 1959.*