

蛋白質 給源 食品이 김치의 발효와 Ascorbic Acid의 安定度에 미치는 影響

李希純・高榮泰・林淑子

德成女子大學 食品營養學科

Effects of Protein Sources on Kimchi Fermentation and on the Stability of Ascorbic Acid

Lee, H.S., Ko, Y.T., Lim, S.J.

Dept. of Foods and Nutrition, Duksung Women's College

= ABSTRACT =

Effects of protein-sources on Kimchi fermentation and on the stability of ascorbic acid were investigated at $7\pm 1^{\circ}\text{C}$. Kimchi samples with various protein sources showed the higher pH and total acidity through the fermentation period than kimchi without the proteins. The results revealed that the proteins have acted as good buffer and lactobacilli-growth enhancer in the fermentation, and the milk proteins showed the most significant effect among the samples. The lactobacilli were at the highest growth at 15th day in all the samples.

The amounts and changes in ascorbic acid content during the fermentation did not differ significantly between the control and protein added samples. The fresh, unfermented kimchi contained 14.5-15.7mg of ascorbic acid per 100g of sample and decreased continuously by the 12th day of fermentation. After then the vitamin increased in all the samples and then again decreased slowly after 18th day. The contents of ascorbic acid at the end of the 3 weeks-fermentation (16.3-17.3mg/100g) were still higher than the contents of fresh, unfermented kimchi.

緒 論

김치의 독특한 맛과 상쾌한 酸味의 조화는 발효 과정에서 여러 미생물에 의해 생성된 유기산들이 중요한 역할을 한다. 접수일자 : 1984. 2. 20.

할을 함으로 이에대한 연구가 계속 되어져 왔으며¹⁻⁴⁾ 그중 金등 (1975)⁴⁾에 의하면 6~7°C에서 숙성한 김치가 22~23°C에서 발효된 김치보다 더 상큼한 산미가 있고 맛이 좋으며 이는 많이 생성된 latic acid와 succinic acid가 관련된 것으로 추측했다.

김치 발효에 관여하는 혐기성균은 발효가 진행됨에 따라 급격한 증가를 보여주며 醱酵適期の 혐기성균은 대부분 유산균으로서 이들에 대한 연구로는 權(1955)⁵⁾, 金등(1959)⁶⁾, 黃등(1960)⁷⁾, 金등(1966)⁸⁾의 연구 보고가 있다.

김치 숙성중 vitamin의 변화를 보면 B-group이 맛이 좋은 상태 (pH 4.3~4.5)에서 처음량의 2배정도로 최고치에 달했다가 다시 감소하며 ascorbic acid는 숙성적기에 약간의 증가를 보인후 점차 감소하여 산패시에는 약 30%가 남아있었다고 하였는데¹⁾ Ro등(1979)⁹⁾은 숙성 초기부터 계속 감소하는 경향을 보여 4℃에서 5주후에는 처음량의 약 45%가 남아있었다고 보고하였다. 牛(1968)¹⁰⁾의 연구에서는 김치를 aerobic fermentation시킬 때 anaerobic condition에서보다 ascorbic acid의 양이 높았다고 하였다.

김치는 ascorbic acid의 좋은 급원으로 손꼽혀 겨울철 김장 김치에서 얻어지는 ascorbic acid의 섭취량은 1일 권장량의 80%로 추산하고 있는데¹¹⁾ 온도, pH 그리고 Fe, Cu 등의 metal catalyst가 ascorbic acid 용액의 안정도에 미치는 영향에 대해서는 이미 보고된 바가 있고¹²⁾⁻¹⁵⁾, 黃(1974)¹⁶⁾은 조미료나 향신료가 식품중의 ascorbic acid에 미치는 영향에 대해서 연구한 바 있으며 韓(1980)¹⁷⁾은 ascorbic acid 수용액중에 6종류의 amino acid와 당류를 첨가하여 glycine, methionine, phenylalanine과 6탄당, 이당류, 다당류가 안정 효과를 보여 ascorbic acid의 잔존율을 높였다고 보고한 바 있다. 또한 黃(1982)¹⁸⁾은 ascorbic acid 용액에 amino acid를 가하였을 때 monoamino-, mono- 혹은 di-carboxylic amino acid 및 aromatic amino acid가 diamino-monocarboxylic amino acid 및 sulfur amino acid보다 ascorbic acid의 잔존율을 높였다고 하였으며 당질 용액을 첨가하였을 때 sorbose, rhamnose, mannose를 제외한 대부분의 당질 용액을 가하였을 때 ascorbic acid의 잔존율을 저하시켰다고 보고하였다.

김치의 발효 과정에서 발생하는 여러가지 영양소의 변화에 대한 연구는 계속 되어져 왔으나 아직 김치 제조에 첨가되는 재료와의 관계는 그 연구가 미비하며 김치의 영양가를 개선하기 위한 연구에 있어서도 처음으로 Ro등⁹⁾의 vitamin B₁₂의 activity를 증가시키기 위한 연구 이외에는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 양질의 단백질 급원 식품을 김치에 첨가시켜 발효에 관여하는 유산균의 성장과 산의 생성에 미치는 영향을 관찰하고 이들 단백질 급원식품이 ascorbic

acid의 안정도에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

實驗材料 및 方法

1. 실험재료

가) 김치 sample의 제조 :

Ro 등(1979)⁹⁾에 의한 방법을 이용하여 Table 1과 같은 재료로 sample을 제조하였다.

위와 같은 재료로 김치를 제조할 때 sample의 표준화를 위해 잎과 줄기를 따로 처리하여 同量씩 정량하여 1회용 sample size가 200g이 되도록 미리 준비한 유리병에 넣었다. 잎, 줄기 그리고 김치국의 비율은 7:7:6이 되었으며 7±1℃의 냉장고에서 3주간 발효시켰다.

나) 단백질 급원 식품의 첨가 :

위에서 김치를 버무릴 때 잎, 줄기를 모두 5 group씩으로 나누워 skim milk powder (서울우유 협동조합) soy protein isolate(미국 ADM사), beef extract(영국 Oxide사) 및 fish protein(생대구)을 단백질 함량으로 계산하여 예비 실험 결과 적절한 양으로 사려되는 0.8%씩을 잎과 줄기 sample에 첨가하였으며 이때 첨가한 단백질 급원 식품의 양은 Table 2에 나타난 바와 같다.

2. 실험방법

가) 산도 및 pH 측정 :

발효중 생성된 산을 3일 간격으로 0.1N-NaOH로 적정하여 lactic acid의 함량 %로 산출하였으며 lactic acid 함량 %의 산출식은 다음과 같다.

$$\text{Lactic acid (\%)} = \frac{\text{ml of 0.1N-NaOH} \times 0.09}{\text{Weight of sample}} \times 100$$

pH 역시 3일 간격으로 pH meter (Corning pH meter model 10)를 이용하여 측정하였다.

Table 1. Formulas for Kimchi

Ingredients	Distribution %
Korean cabbage	85.0
Radish roots	5.0
Salt	3.5
Green onin	2.7
Red pepper powder	1.5
Garlic	1.0
Ginger	0.5

Table 2. Amounts of protein-sources added to Kimchi sample

Protein Sources	Protein Content %	Added Amounts g/100g sample
Skim milk powder	34.9	2.29
Soy protein isolate	86.0	0.93
Beef extract	74.6	1.07
Fish protein (Codfish)	17.5	4.57

나) 유산균수의 측정 :

발효중인 김치 sample로부터 3일 간격으로 일정량의 액을 취하여 멸균 peptone 水에 의한 10배 희석법으로 희석하여 tomato juice agar¹⁹⁾를 이용하여 pour plate (double layer)를 만들어 37±1℃에서 72±2 시간 배양한 후 colony 數를 산출하였다.

다) Ascorbic acid의 측정 :

3일 간격으로 200g의 김치 sample을 취하여 2,4-dinitrophenylhydrazine method²⁰⁾에 의하여 ascorbic acid를 측정하였다.

① Standard curve의 작성

L-ascorbic acid standard (Merck 제) 250±0.1mg을 정확히 평량하여 5% HPO₃ 용액에 녹여 250ml로 만든 다음 이 용액에서 다시 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 및 2.5ml를 각각 volumetric flask에 취하여 5% HPO₃ 용액으로 100ml이 되게하여 6종류의 ascorbic acid 표준액을 만들었다. 각각의 표준액에서 2ml씩을 시험관에 취하여 oxidation, osazone 형성, osazone용해, O. D. 측정의 순서로 조작하여 520nm에서 optical density를 측정하였다. 5회 반복 실험에 의해 작성한 표준

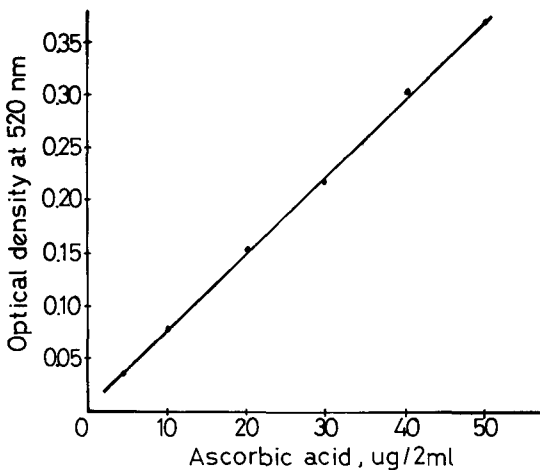


Fig. 1. Standard curve of the ascorbic acid.

곡선은 Fig. 1과 같다.

② Ascorbic acid의 측정

김치 sample 200g을 同量의 5% HPO₃-HOAC 용액과 혼합하여 3분간 osterizer (Oster Corporation, Milwaukee, Wisconsin)로 blending하고 그 slurry 10g을 정확히 평량하여 100ml volumetric flask에 넣고 5% HPO₃-HOAC 용액을 가하여 잘 흔들어 TOYO filter paper No. 6을 이용하여 여과한 뒤 처음 몇 ml의 여과액을 버린후 나머지를 시료로 사용하였다. 여과액 2ml씩을 시험관에 취하여 standard ascorbic acid와 같은 방법으로 oxidation, osazone 형성, osazone용해의 순서로 조작한 후 spectronic 20 (Bausch & Lomb)를 이용하여 520nm에서 optical density를 측정하고 standard curve에 적용하여 sample 100g당 ascorbic acid의 양을 계산하였다.

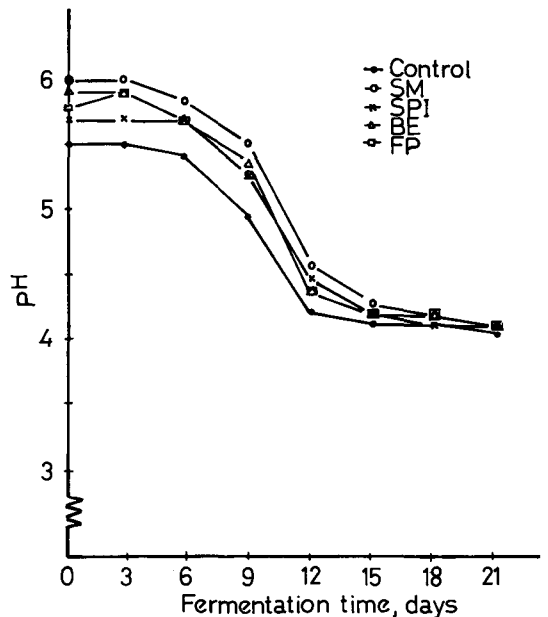


Fig. 2. The pH-changes of Kimchi without and with various protein-sources, fermented at 7±1°C.

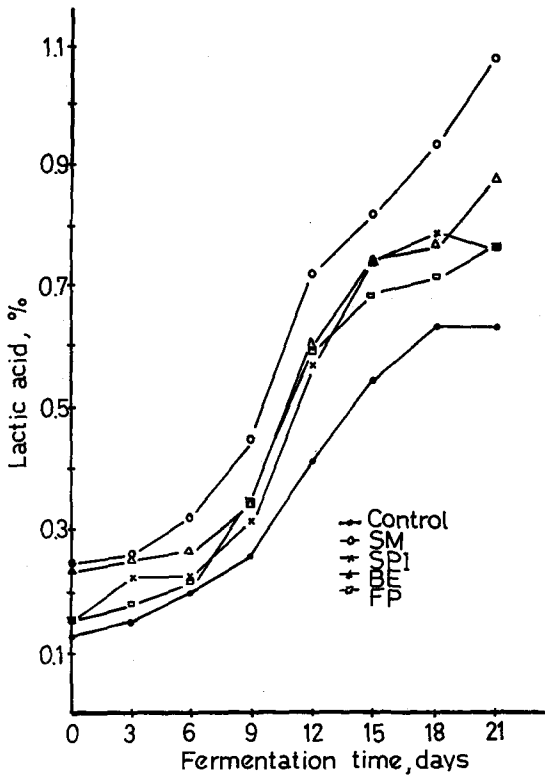


Fig. 3. The total acidity of Kimchi without and with various protein-sources, fermented at $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

라) Sensory Evaluation :

10명의 panel member를 예비 실험을 통해 미리 훈련 시킨 후 발효 최적기로 김치의 맛이 제일 좋을 때로 생각되어지는 발효 12일째(pH 4.3~4.5)의 김치 sample를 multiple comparison difference analysis²¹⁾를 실시하였다.

마) 통계적 고찰

이상의 모든 실험 data는 F-test를 하여 sample간의 유의성을 검토하였다.

結果 및 考察

1. 단백질 給源 식품이 김치 발효에 미치는 영향

가) 산도 및 pH의 변화

Fig. 2에서 보는 바와 같이 모든 sample의 pH는 발효 진전에 따라 감소하였으며 발효 최적기로 여겨지는 시기는 12일째로 이때의 pH는 4.2~4.7이었다. 9~12일 사이에는 급격한 pH 감소율을 보였으며 이것

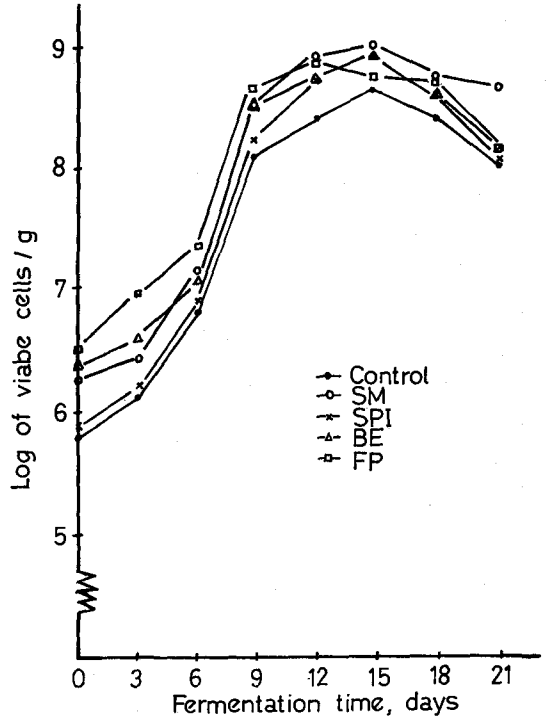


Fig. 4. The total counts of lactobacilli per gram of Kimchi without and with various protein-sources, fermented at $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

은 이시기의 높은 유산균의 생육에 의한 결과라고 할 수 있으며 그 이후 21일까지 안정된 상태로 느린 감소율을 보였다.

Control sample은 단백질 첨가 group들과 비교해 볼 때 발효 처음부터 pH가 가장 낮았으며 이러한 현 발효 21일째까지 계속되었다.

Total acidity는 Fig. 3에 나타나 있으며 pH가 내려감에 따라 발효도중 계속 증가하였으며 control sample은 발효 첫날부터 가장 낮은 산도를 생성하였다.

이상과 같은 pH 변화와 total acidity의 결과에서 control group보다 단백질 급원 식품 첨가 group이 높은 pH를 나타냈음에도 불구하고 acidity면에서 오히려 높았다는 사실은 단백질의 완충작용이 pH의 급격한 감소를 억제하는 반면 김치내에서의 더 빠른 발효 진전에 의한 lactic acid의 축적의 결과라는 것을 알 수 있었으며 단백질 급원 식품중 skim milk powder의 첨가 효과가 가장 뚜렷하였다.

나) 유산균의 발육 과정

유산균은 김치의 발효 과정에 관여하는 가장 중요한 혐기성균으로 본 실험에 나타난 유산균의 성장 형태는 Fig. 4에 제시된 바와 같다. 단백질 급원 첨가 sam-

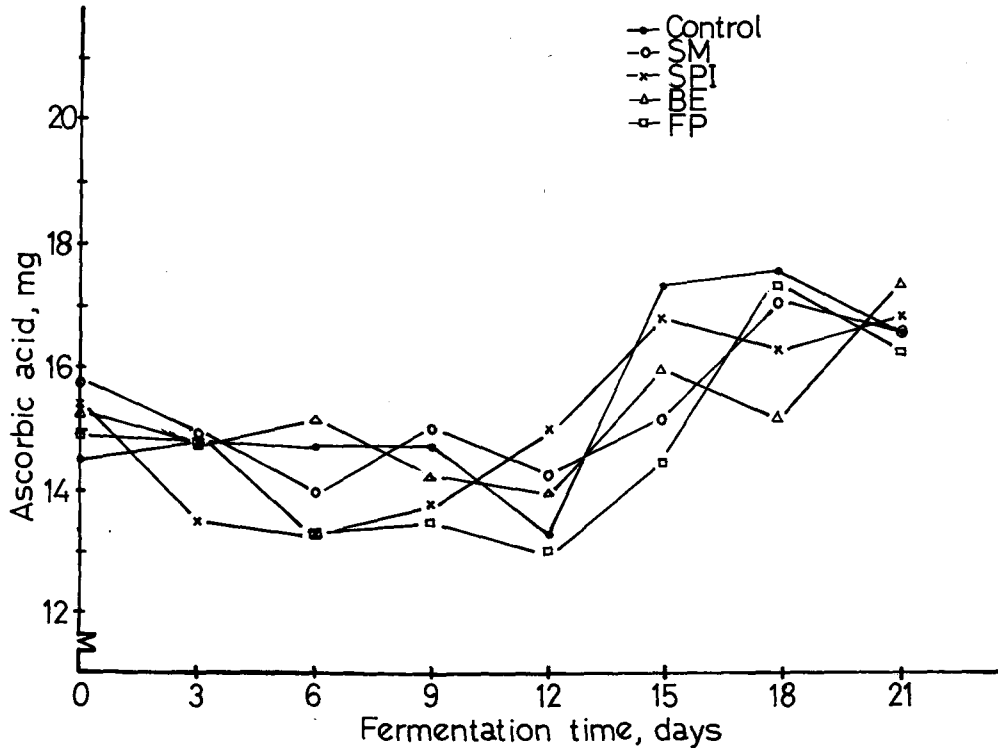


Fig. 5. The contents of ascorbic acid of Kimchi without and with various protein-sources, fermented at $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

Table 3. ANOVA table for sensory evaluation

Source of variance	df	SS	MS	F
Samples	4	7.53	1.88	1.11
Panelists	29	27.70	0.96	0.56
Error	116	197.60	1.70	
Total	149	232.83		

ple들에 비해서 control 김치가 발효 초기부터 계속 가장 낮은 성장을 보였으며 skim milk 첨가 group이 가장 높은 유산균 발육을 보였는데 이는 skim milk의 단백질 효과뿐만 아니라 그속에 존재하는 lactose의 영향도 있었으리라 사려된다.

유산균의 증가 속도에 있어 발효 초기부터 점진적으로 증가하다가 6~9일 사이에 급속한 성장을 보여주고 있는데 이 결과는 이 시기의 pH의 급격한 감소의 원인이 되고 있으며 pH 4.2 이하를 유지하는 15일째부터는 일제히 유산균수가 감소하는 경향을 나타내었다.

2. Ascorbic acid의 함량 변화

Control과 단백질 급원 첨가 group들의 ascorbic acid 함량은 Fig. 5에 나타난 바와 같다.

발효에 따른 ascorbic acid의 함량 변화를 보면 신선한 김치에서 발효 12일까지 계속 감소하는 경향을 보였으며 그 이후 점차 증가하였고 18일을 기점으로 beef extract 첨가군을 제외하고는 다시 약간 감소하는 경향을 보였는데 李 등(1960)¹¹에 의하면 $2\sim 7^\circ\text{C}$ 로 발효시킨 김치의 ascorbic acid 함량이 처음 일주일동안 감소하고 2주말까지 약간 증가한 후 다시 점차 감소하였다고 하였다. 이러한 결과에 대한 원인을 규명하기 위해서는 좀더 깊은 연구가 있어야 할 것으로 본다.

신선한 김치에서 ascorbic acid의 함량은 100g sam-

ple 당 전체 평균 15.2mg 이었고 발효 21 일에 16.7mg 으로 더 높은 경향을 보였으며 본 실험에서 발효 기간 중 control group 과 단백질 첨가 group 사이의 유의성있는 차이는 나타나지 않았다.

3. Sensory Evaluation

pH 4.3~4.5 를 유지하는 발효 최적기의 김치 sample 을 10 명의 panel member 에 의해 실시한 결과는 Table 3 에 제시된 바와 같다.

단백질 급원을 첨가한 김치의 flavor 에 더 좋은 응답을 나타내었지만 control 김치와 단백질 급원을 첨가한 김치 사이에 flavor 의 유의성있는 차이는 나타나지 않았다.

結 論

김치에 단백질 급원(skim milk powder, soy protein isolate, beef extract, fish protein) 을 첨가하여 7±1°C 의 온도에서 3주간 발효시켰을 때 total acidity 및 pH의 변화에 있어 단백질 급원을 첨가한 김치에서 control 김치보다 높은 산도를 나타내었음에도 불구하고 pH가 유의적으로 높은 것은 단백질 고유의 완충작용에 의한 결과로 사려되며 단백질 급원 식품중 skim milk powder 첨가 김치에서 가장 뚜렷한 효과를 나타내었다.

유산균의 생육에 있어 단백질 급원을 첨가한 김치는 control 김치보다 발효 전반에 걸쳐 유의성있게 높은 발육을 나타내어 단백질 급원 식품이 김치의 발효 과정 중 중요 성장 영양소로 이용되었다는 것을 알 수 있었으며 그중 skim milk powder의 영향이 더욱 뚜렷하였다.

발효에 따른 ascorbic acid의 변화는 12일까지 제속적인 감소를 보였으며 12일 이후 그 함량이 약간씩 증가하였고 그후 모든 sample에서 다시 감소하는 경향을 보였으나 발효 마지막 날인 21일째에도 처음 신선한 김치의 ascorbic acid 함량보다 더 높은 수치를 보였다.

10명의 훈련된 panel member들이 pH 4.3~4.5의 김치 sample을 이용하여 multiple comparison tests 로 sensory evaluation을 실시한 결과 단백질 급원 첨가 김치의 flavor가 더 좋다고 지적하였으나 control 김치와의 사이에 뚜렷한 유의성은 없는 것으로 나타났다.

REFERENCES

- 1) Lee, T.Y., Kim, J.S., Chung, D.H. & Kim, H.S.: *Studies on the composition of kimchi, 11. variations of vitamins during kimchi fermentation.* Bull. Sci. Res. Inst. 5(1): 43-50, 1960.
- 2) Kim, H.S., Cho, D.H. & Lee, C.Y.: *Identification of organic acids in kimchi by Gas Chromatography.* Seoul National Univ. J. 14: 1-4, 1963.
- 3) Kim, D.S., Cho, I.S. & Lee, K.B.: *Organic acids and vitamin contents in kimchi.* Korean Biochem. J. 1: 111-112, 1964.
- 4) Kim, H.O. & Rhee, H.S.: *Studies on the nonvolatile organic acids in kimchies fermented at different temperatures.* Korean J. Food Sci. and Technol. 7(2): 74-81, 1975.
- 5) Kwon, S.P.: *Microbiological studies on kimchi, 1. On the separated bacterial strains.* Report of National Chemistry Laboratories 4: 42-46, 1955.
- 6) Kim, H.S. & Whang, K.C.: *Microbiological studies on kimchies, 1. Isolation and identification of anaerobic bacteria.* Bull. Sci. Res. Inst. 5: 56-62, 1959.
- 7) Whang, K.C., Chung, Y.S. & Kim, H.S.: *Microbiological studies on kimchies, 11. Isolation and identification of aerobic bacteria.* Bull. Sci. Res. Inst. 5: 51-55, 1960.
- 8) Kim, H.S. & Chun, J.K.: *Studies on the dynamic changes of bacteria during the kimchi fermentation.* J. Nuclear Sci. 6: 112-118, 1966.
- 9) Ro, S.J., Woodburn, M. & Sandine, W.E.: *Vitamin B₁₂ and ascorbic acid in kimchi with Propionibacterium freudenreichi ss. shermanii.* J. Food Sci. 44: 873-877, 1979.
- 10) Woo, K.J.: *Environmental effects on the biosynthesis of ascorbic acid in kimchi. Thesis for the Degree of Master, Seoul National Univ. 1968.*
- 11) 윤서석: 서울 시내의 김장 소비상황 실태 조사보

- 교. 중대사대학보, 4:5-14, 1968.
- 12) Lee, Y.C., Kirk, J.R., Bedford, C.L. & Heldman D.R.: *Kinetics and computer simulation of ascorbic acid stability of tomato juice as functions of temperature, pH and metal catalyst. J. Food Sci.* 42 (3): 640-678, 1977.
 - 13) Kirk, J.R. Dennison, D., Kokoczka, P. & Heldman, D.R.: *Degradation of ascorbic acid in a dehydrated food system. J. Food Sci.* 42 (5): 1274-1279, 1977.
 - 14) Deng, J.C., Watson, M., Bates, R.P. & Schroeder, E.: *Ascorbic acid as an antioxidant in fish flesh and its degradation. J. Food Sci.* 43(2): 457-460, 1978.
 - 15) Laing, B.M., Schlueter, D.L. & Labuza, T.P.: *Degradation kinetics of ascorbic acid at high temperature and water activity. J. Food Sci.* 43 (5): 1440-1443, 1978.
 - 16) Hwang, H.Z.: *Studies on the effect of spices and flavoring on ascorbic acid content. Korean J. nutr. Soc.* 7(1): 37-43, 1974.
 - 17) Han, Y.S.: *Effects of amino acids on ascorbic acid stability. Kon Kuk Univ. Report* 33: 197-203, 1980.
 - 18) Hwang, H.Z.: *Stability of ascorbic in the solutions of sugars and amino acids. Korean J. Nutr. Soc.* 15(1): 22-29, 1982.
 - 19) Kim, O.S. & Kim, C.H.: *Studies on the growth of lactic acid bacteria and acid production in soy milk. Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 7(4): 205-209, 1979.
 - 20) 일본약학회: *위생시험법주해. 금원출판사, pp. 157-158, 1957.*
 - 21) Amerine, M.A., Pangborn, R.M. & Roessler, E. B.: *Principles of sensory evaluation of food. Food Sci. and Technology, A Series of Monographs, Academic press, New York and London. 1965.*