

김치발효에 대한 Nisin 의 저해효과

최신양* · 이인선 · 유진영 · 정건섭 · 구영조

한국식품개발연구원 미생물연구실

Inhibitory Effect of Nisin upon Kimchi Fermentation

Choi, Shin-Yang, In-Seon Lee, Jin-Young Yoo, Kun-Sub Chung and Young-Jo Koo

Microbiology Laboratory, Korea Food Research Institute, Banwol, Kyonggi 445-820, Korea

To examine the inhibitory effect of nisin on Kimchi, comparison of the fermentation pattern was studied between the Kimchi added nisin (100 IU/g) and the control Kimchi at 15°C. The Kimchi added nisin was showed pH 4.03 at 7 days fermentation, on the other hand the control Kimchi showing pH 4.04 at 5 days. And total acidity (lactic acid%) showed 0.47, 0.69, 0.88 at 5, 9, 14 days fermentation compared with the control Kimchi showing 0.57, 0.93, 1.13 respectively. Maximum growth of lactic acid bacteria on the control Kimchi indicated 1.8, 1.6×10^8 CFU/ml at 7 days but on presence of nisin indicated 9.5, 6.4×10^7 CFU/ml at 5 days. In conclusion, nisin showed inhibitory action to Kimchi fermentation from pH, total activity and lactic acid bacteria count results.

식품의 가공과 저장에 관련된 균에 의하여 생성되는 항균성물질 중 젖산균이 생산하는 저분자량의 단백질로 구성된 bacteriocin 은 일반 항생물질이나 보존제보다 식품보존제로서의 안정성이 효과적인 것으로 알려져 있다. 그 중 실제 식품산업에 이용되고 있는 것은 nisin 뿐으로 이것은 cheese starter 로 사용되는 *Streptococcus lactis* 가 생산하는 bacteriocin 으로서 주로 유제품 및 육류제품의 품질보존제로서 많이 이용되고 있다(1-3). Nisin 은 Mattick 등(4)에 의하여 명명된 분자량이 7,000 정도인 dimer 의 형태로 존재하는 polypeptide 물질이다(5). 현재 세계 37 개국에서 식품첨가제로 허용하고 있으며 최대허용량은 각 나라마다 다르나 최저 100 mg/kg 에서 4,000 mg/kg 까지이며 볼리비아, 페루 및 영국을 중심으로 한 영연방국가 등 17 개국에서는 첨가량의 제한을 두고 있지 않다.

한편 김치는 한국인의 식탁에서 가장 흔히 볼 수 있는 대표적인 전통발효식품의 하나이다. 이러한 김치는 저장 중에 일련의 관여미생물과 효소 등에 의하여 성분변화가

계속적으로 일어나는 발효가 진행되어 품질이 변화되고 일정기간이 지나면 식용할 수 없는 상태가 되어 저장성을 잃게 된다. 김치의 장기보존을 위한 연구로는 주로 저온저장, 가열처리, 효소의 불활성화, 방부제의 첨가 및 이들 방법의 혼용 등이 있다(6-10). 특히 김 등(11)은 김치통조림제조시에 nisin 을 첨가하여 가열처리하는 방법을 특허로 발명한 바 있다.

김치와 같은 발효식품과 이들 발효에 관여하는 미생물에 대한 여러 가지 젖산균 및 젖산균이 생산하는 물질의 미생물저해효과에 관한 연구는 국내외적으로 여러편이 보고되어 있다. 윤(12)은 장내 세균류의 김치젖산균에 대한 길항작용으로 보고하였으며, 박 등(13)은 김치에서 분리한 젖산균이 *E. coli*, *B. cereus* 및 *Staphylococcus aureus* 에 대하여 생육억제작용을 나타낸다고 보고하였다. 계속된 연구에서 이들은 김치에서 분리한 *Pediococcus cerevisiae* 가 *E. coli* 와 젖산균에 대하여 저해작용을 나타냄을 보고한 바 있다(14). 그러나 김치발효에 미치는 nisin 의 효과를 본 실험은 아직 없는 형편이다. Fleming 등(15)은 cucumber brines 에서 분리한 *Pediococcus* sp. 가 여러 Gram 양성균의 생육저해작용을 나타낸다고 보고하였으며, Ashenafi 와 Busse(16)는

Key words: Nisin, Kimchi fermentation

*Corresponding author

Tempeh 발효시 *Lactobacillus plantarum* 의 병원성세균들에 대한 저해효과를 보고하였다. 또한 Sinahani(17)는 여러 가지 미생물에 대한 nisin의 저해효과를 검토하였으며, 이외에도 맥주, 난제품, 우유, bacon에서의 nisin의 저해효과를 검토한 연구가 보고되어 있다(18-20). 따라서 본 연구에서는 구미에서 산업적으로 응용되고 있는 nisin이 김치의 발효에 미치는 영향을 조사하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 김치재료들은 수원시중에서 구입하였으며, 일반분석용 시약은 특급시약을, 배지는 Difco사의 제품을 사용하였다. Nisin 표준시약은 영국 Applin & Barrett사의 nisaplin(10⁶ IU/g)을 구입하여 사용하였다.

김치제조

시판용 결구배추를 약 3×4cm 크기로 절단한 다음 천일염을 첨가(7% w/w)하여 실온에서 2시간 절인 후에 세척하고 여기에 미리 제조한 양념혼합물을 골고루 섞어 김치를 제조하였다. 이 때 재료의 혼합비는 Table 1과 같으며 김치의 최종 염농도는 1.5%로 하였다. 만들어진 김치는 1.5kg씩 김치통에 담고 생리식염수 100ml에 현탁시킨 nisin(100IU/g)을 첨가하였으며 대조구는 nisin 무첨가 생리식염수를 가하였다. 김치통(직경 21cm, 높이 14cm의 PVC 용기)는 하단에서 김치액즙을 채취할 수 있도록 유리관(길이 3cm, 직경 0.5cm)을 설치하였으며, 상부는 페트리접시(3×18cm, 375g)를 올려놓아 누름효과가 있도록 하고 뚜껑을 덮었다.

일반성분의 분석

김치발효 중의 pH는 김치를 마쇄 후 여과하여 직접 pH meter(Orion SA 520 pH meter)로 측정하였다. 젖산량 측정은 여과액에 상기 pH meter의 전극을 담고 0.1N NaOH 용액으로 pH7.0이 되도록 적정하여 젖산량으로 환산하였다.

젖산균수의 측정

김치발효 중의 젖산균수 측정은 경시적으로 김치통의 하단부에서 김치액즙을 채취하여 10배 희석방법을 이용, 1% peptone 수로 단계별 희석하고 bacilli와 cocci가 동시에 잘 자라는 Elliker 배지와 bacilli만 잘 자라는

Table 1. Composition of Kimchi materials

Materials	Amounts (g)
Raw chinese cabbage	1000
Red pepper powder	25
Garlic	20
Ginger	8
Stone-leek	45
Sugar	10

Final salt concentration adjust to 1.5% NaCl

Rogosa 배지를 사용하여 37°C에서 24~48시간 배양 후 형성된 colony를 Quebec colony counter를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

pH의 변화

제조한 김치를 15°C에서 발효시키면서 경시적으로 pH변화를 본 결과를 Fig.1에 나타내었다. 김치대조구에 비하여 nisin 첨가구는 pH가 천천히 떨어져 발효 5일에 pH4.24, 7일에 pH4.03을 나타냈으나 대조구는 5일만에 pH4.04에 도달하여 7일에는 pH3.81로 nisin의 김치발효억제효과를 보였다. Grewal 등(21)은 인도의 전통 유제품인 Khoa에 nisin을 첨가하고 실온에서 저장시 대조구는 7일에 pH6.3, 14일에 6.0, 4주 후 4.3을 나타내었으나 0.02%의 nisin 첨가구는 각각 6.4, 6.1, 4.7을 나타내어 본 실험과 같은 nisin의 억제효과를 보였다.

산도의 변화

김치를 제조하여 15°C에서 발효시키면서 경시적으로 산생성량(젖산 %)을 측정한 결과 Fig.2와 같았다. 김치대조구는 발효 5일째에 0.57, 9일째에 0.93, 14일째에는 1.13의 산생성량을 보였으나 nisin 첨가구는 각각 0.47, 0.69, 0.88의 젖산을 생성하여 pH변화에서의 차이보다 큰 차이를 나타내었다. Grewal 등(21)도 Khoa에 nisin 첨가효과를 실험한 결과 대조구는 실온에서 7일에 0.42, 14일에 0.68, 4주 후 1.65의 산생성을 보인 반면 0.02%의 nisin 첨가구는 각기 0.38, 0.50, 1.27의 산생성을 보여 pH의 차이보다도 큰 차이를 보였다고 하였으며, 김치의 발효지표로서 pH보다는 산도의 측정이 정확하다고 볼 때 nisin의 첨가는 김치발효를 효과적으로 억제할 수 있었다. 또한 Gupta 등(22)은 yogurt에 nisin

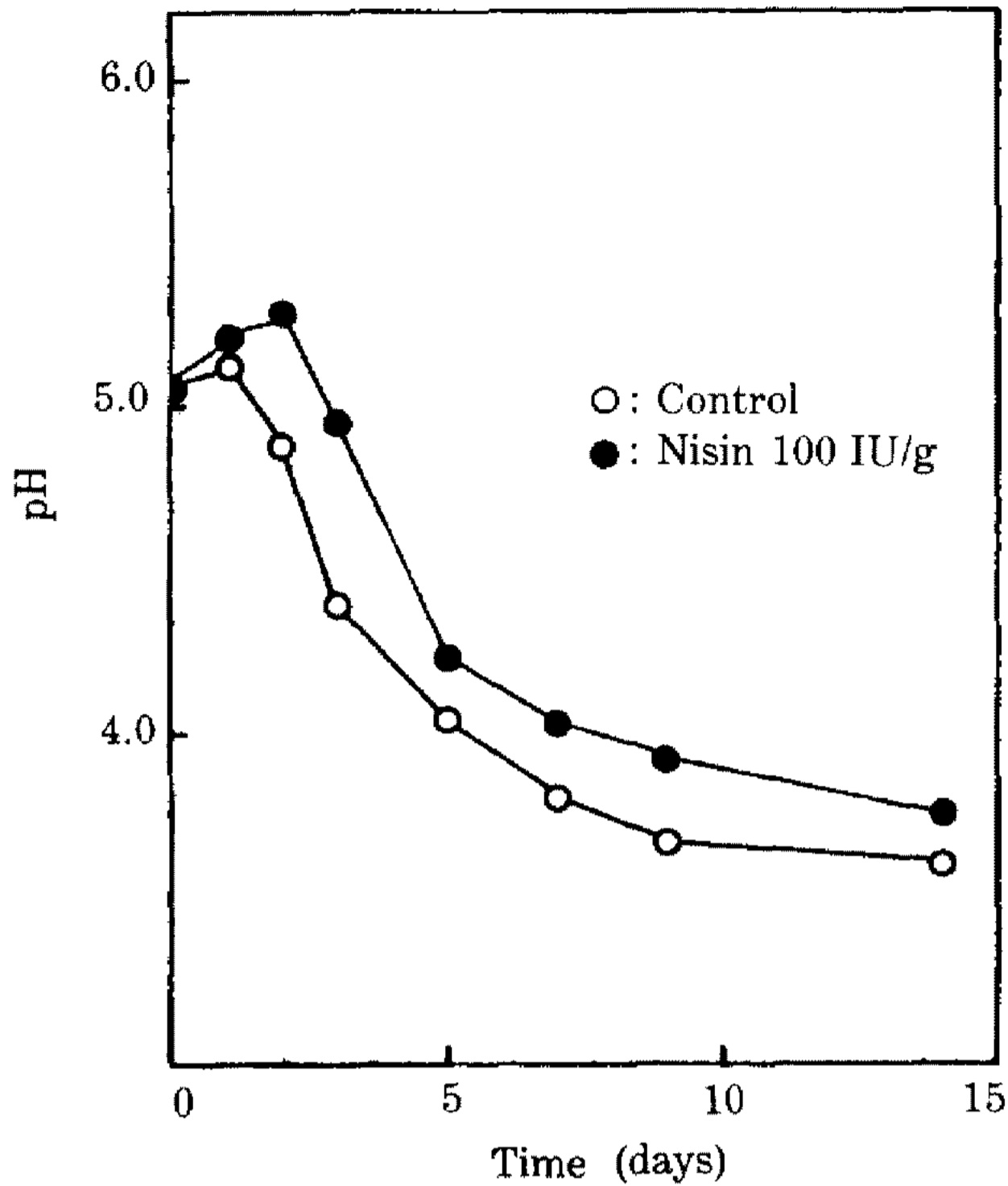


Fig. 1. Changes of pH on Kimchi fermentation at 15°C

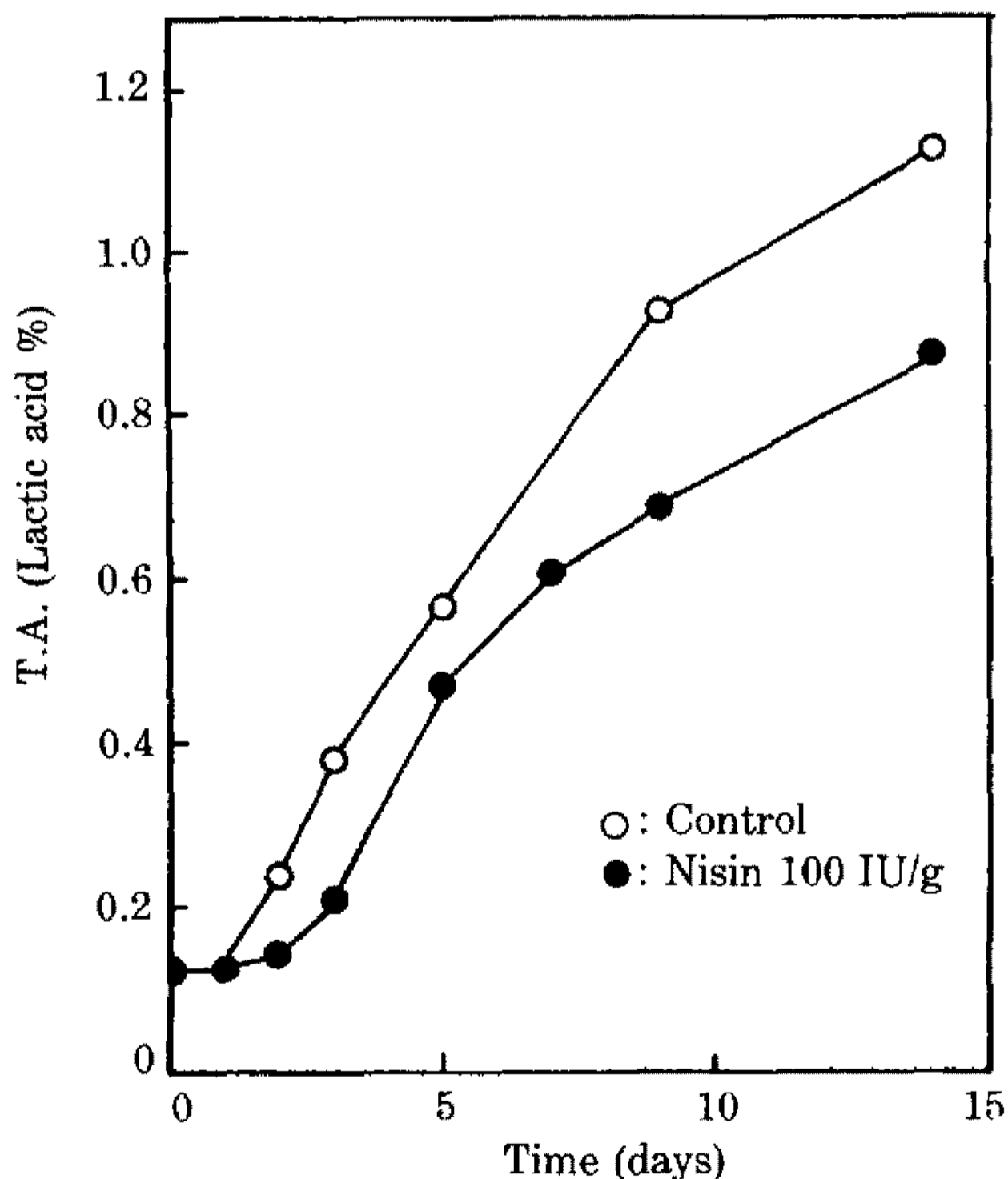


Fig. 2. Changes of lactic acid content on Kimchi fermentation at 15°C

을 첨가하고 6~8°C에서 10일간 저장하면서 산생성을 본 결과 nisin 25RU/ml 첨가시 1.30%의 젖산량을 생성하였으나 대조구는 1.61%의 높은 산생성을 보여 nisin의 첨가효과를 보고하였다.

Table 2. Changes of lactic acid bacteria on the Kimchi fermentation with presence or absence of nisin (CFU/ml)

Days	Elliker medium		Rogosa medium	
	Control	Nisin*	Control	Nisin*
2	5.8×10^7	8.0×10^6	3.9×10^7	2.0×10^6
3	1.3×10^8	3.4×10^7	4.8×10^7	2.6×10^7
5	1.7×10^8	9.5×10^7	9.8×10^7	6.4×10^7
7	1.8×10^8	7.8×10^7	1.6×10^8	5.9×10^7
9	1.1×10^8	8.2×10^7	8.9×10^7	5.3×10^7
14	1.2×10^8	7.2×10^7	1.0×10^8	6.4×10^7

*Nisin was added 100 IU/g of Kimchi

젖산균수의 변화

김치를 15°C에서 발효시키면서 경시적으로 본 젖산균의 동적변화는 Table 2와 같았다. 김치발효 중의 젖산균은 대조구나 nisin 첨가구에 관계없이 bacilli만 잘 생육하는 Rogosa 배지보다 bacilli와 cocci가 동시에 잘 증식하는 Elliker 배지에서 높은 균수를 보여 김치내에서 Streptococci도 증식함을 보여주고 있다. 또한 대조구는 양쪽 배지 모두 발효 7일째에 최대 균증식을 보여 각기 $1.8, 1.6 \times 10^8$ CFU/ml를 나타냈으며, nisin 첨가구는 5일째에 대조구의 최대 균증식보다 1 log cycle이 낮은 $9.5, 6.4 \times 10^7$ CFU/ml을 나타내어 nisin의 첨가에 의한 젖산균의 생육억제효과를 보였다. Stankiewicz-Berger (23)는 저장 육제품의 녹변을 일으키는 젖산균 중 *Lactobacillus* sp. No.20, *L. viridescens* No.13, *L. cellobiosus* No.30 균주에 대한 nisin의 저해효과를 본 결과, No.13과 No.30 균주는 nisin을 100 RU/g 첨가하였을 때 $10^4, 10^5$ cells의 감소를 보였으나, No.20 균주는 500 RU/g 첨가시 10^2 cells이 감소됨을 보여 젖산균주에 따라 nisin의 저해 정도가 다름을 보고하였다.

요 약

김치발효시 nisin의 저해효과를 보기 위해 김치 g당 100 IU의 nisin을 첨가하여 대조구와의 발효양상을 비교하였다. 김치를 제조하여 15°C에서 발효시킬 때 pH의 변화는 대조구가 발효 5일에 pH 4.04인 반면 nisin 첨가구는 7일째에 pH 4.03으로 떨어졌으며, 산도는 대조구가 발효 5일, 9일, 14일에 각각 0.57, 0.93, 1.13이었으나 nisin 첨가구는 0.47, 0.69, 0.88의 낮은 산생성량을 보였다. 젖산균의 최대 증식은 대조구가 발효 7일째에 $1.8, 1.6 \times 10^8$ CFU/ml을 나타냈으며, nisin 첨가구는 5

일째에 $9.5, 6.4 \times 10^7$ CFU/ml 를 나타내어 nisin 에 의한 젖산균의 생육저해를 보였다.

참고문헌

1. Heinemann, B., L. Voris and C.R. Stumbo: *Food Technol.* **19**, 592 (1965).
2. Goel, M.C., H.E. Calbert and E.H. Marth: *J. Milk Food Technol.* **32**, 312 (1967).
3. Mahmoud, S.A.Z., G.M. El-Sadek and A.H.M. Dawood: *Zbl. Bakt. Abt. II, Bd.* **131**, S, 277 (1976).
4. Mattick, A.T.R. and A. Hirsch: *Lancet.* **II**, 5 (1947).
5. Cheeseman, G.C. and N.J. Berridge: *Biochem. J.* **71**, 18 (1959).
6. 이양희, 양익환: 한국농화학회지, **13**, 207(1970).
7. 최신양, 김영봉, 유지영, 이인선, 정진섭, 구영조: 한국식품과학회지, **22**, 707(1990).
8. 이윤영, 김호식, 신재근: 한국농화학회지, **10**, 33(1968).
9. 송식훈, 조재선, 김 관: 기술연구보고, **5**, 5(1966).
10. 백형희, 이창희, 우덕현, 박관화, 백운화, 이규순, 남상봉: 한국식품과학회지, **21**, 149(1989).
11. 김창식, 김정호, 정병호: 특허공보, 제 135 호(1966).
12. 윤숙경: 한국영양학회지, **12**, 59(1979).
13. 박연희, 권정주, 조도현, 김수일: 한국농화학회지, **26**, 35(1983).
14. 박연희, 조도현: 한국농화학회지, **29**, 207(1986).
15. Fleming, H.P., J.L. Etchells and R.N. Costilow: *Appl. Microbiol.* **30**, 1040 (1975).
16. Ashenafi, M. and M. Busse: *J. Food Prot.* **52**, 169 (1989).
17. Shahani, K.M.: *J. Dairy Sci.* **45**, 827 (1962).
18. Ogden, K. and R.S. Tubb: *J. Inst. Brew.* **91**, 390 (1985).
19. Niewiarowicz, A.: *Poultry Int.* **19**, 64 (1980).
20. Taylor, S.L. and E.B. Somers: *J. Food Prot.* **48**, 949 (1985).
21. Grewal, K.S. and S.C. Jain: *J. Res. Punjab Agric. Univ.* **14**, 460 (1977).
22. Gupta, R.K. and D.N. Prasad: *Cultured Dairy Products J.* **24**, 9 (1989).
23. Stankiewicz-Berger, H.: *Acta Microbiologica Polonica Ser. B.* **1**, 117 (1963).

(Received October 15, 1990)