

저장김치의 *Leuconostoc mesenteroides* IFO 12060 및 Nisin 첨가에 의한 *Escherichia coli* 의 소장

최신양[†] · 이한웅* · 정건섭

한국식품개발연구원
*셰라톤 워커힐

Fluctuation of *Escherichia coli* on the storage of Kimchi treated with *Leuconostoc mesenteroides* IFO 12060 and Nisin

Shin-Yang Choi[†], Han-Woong Lee* and Kun-Sub Chung

Korea Food Research Institute, Songnam, Kyonggi 463-420, Korea
*Sheraton Walker Hill, Seoul 133-210, Korea

Abstract

In order to study the addition effect of *Leuconostoc mesenteroides* and nisin on *Escherichia coli* and lactic acid bacteria during fermentation and storage of Kimchi, Kimchi was stored at 4°C for 7 days and then increased the temperature to 25°C. Lactic acid content on Kimchi fermentation at 4°C was maintained initial content which was increased upto 0.9% and lactic bacteria was also increased after switching to 25°C. *E. coli*, on the other hand, was a little decreased from the initial level, but a significant decrease was found for the those Kimchi of *Leuconostoc mesenteroides* added and nisin treated group when the fermentation temperature was switched to 25°C.

Key words : Kimchi, *Escherichia coli*, *Leuconostoc mesenteroides*, Nisin

서 론

김치는 우리나라의 전통고유식품이자 세계에 자랑할 수 있는 좋은 야채 산발효식품이다. 이러한 김치가 국제적인 식품으로서의 발전을 할려면 얼마만큼 수출이 활성화 되는가와 무관하지 않다. 김치의 발효숙성은 배추, 무우 등 사용되는 채소류와 양념들에 부착되어 있는 미생물의 상호작용에 의해 진행되며 생성되는 산과 pH에 의해 병원균을 비롯한 일반세균들은 사멸하므로 숙성된 김치는 위생적으로 문제가 되지 않는다. 김치는 우리의 입맛을 돋구는 맛이 잘 배합된 좋은

식품이나 원료처리에 수반되는 위생적 제반조건으로 보아 숙성하지 않는 상태에서 수출하는 경우 대장균군이 검출되는 등 위생적인 측면에서 문제점이 야기되고 있다.

김치는 재료면에서 볼 때 토양 및 분변계 미생물의 오염가능성이 큼에도 불구하고 위생학적 측면에서 대장균 등의 동태나 소장에 관한 연구는 거의 없는 형편이다. 단지 김 등¹⁾이 하절기 김치의 위생적 사전처리시 장기 저장성에 관한 연구, 정 등²⁾의 김치숙성중 coliform group의 사멸성에 관한 연구와 윤³⁾의 장내 세균류의 김치젖산균에 대한 길항작용을 본 것이 있을 뿐이다. Muralidhara 등⁴⁾은 *Lactobacillus lactis*를 폐지에 주었을 때 분변 coliforms가 감소됨을 보고한 바 있으

[†]To whom all correspondence should be addressed

며 Sandine 등⁵⁾은 enteropathogenic *E. coli*에 항생물질과 lactic acid bacteria를 처리하였을 때의 효과를 보았으며 Tomic-Karovic과 Fanjek⁶⁾은 *Lactobacillus acidophilus* milk가 생체내 및 시험관내에서 *E. coli*를 사멸시키는 효과를 보고한 바 있다. 한편 시중 김치유통과정을 보면 제조직후 저온에서 보관 유통되다가 저장온도의 상승에 따라 익은 김치로 변하여 최종소비자에게 전달되고 있다. 또한 수출용김치는 -5~0°C 컨테이너로 운송되어 익지않은 상태에서 현지 분포장하여 판매되고 있다. 특히 수출시의 통관과정은 김치가 익지않은 상태이므로 이때 오염지표균인 *E. coli*의 문제가 가끔 대두되고 있다. 따라서 이러한 유통형태를 모델화하여 김치를 4°C에서 7일간 저장한 후 25°C로 저장온도를 변화시켜 주며 김치중의 젖산함량, 젖산균 및 *E. coli*의 변화를 경시적으로 조사하여 몇가지 결과를 얻었으므로 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 김치제조

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. 김치제조는 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. 이때 재료의 혼합은 배추 1kg당 파 45g, 마늘 20g, 생강 8g, 고추가루 25g, 설탕 10g의 비율로 하였으며 김치의 최종염농도는 1.5%로 하였다. 제조한 김치는 1.5kg씩 김치통에 담고 생리식염수 100ml에 현탁시킨 nisin(100IU/g) 및 *Leuconostoc mesenteroides* (약 10⁸ cells/ml)를 첨가(10% v/w)하였으며 대조구는 동량의 생리식염수만을 첨가하였다. 김치통(직경 21cm, 높이 14cm의 PVC용기)은 하단에서 김치액즙을 채취할 수 있도록 유리관(길이 3 cm, 직경 0.5cm)을 설치하였으며, 상부는 페트리접시(3 × 18cm, 375g)를 올려놓아 누름효과가 있도록 하고 뚜껑을 덮었다.

젖산량 측정

김치중의 젖산량측정은 김치를 마쇄한 후 여과하여 그 여과액에 pH meter (Orion SA 520pH meter)의 전극

을 담고 0.1N NaOH용액으로 pH7.0이 될 때까지 적정하여 소비량을 젖산량으로 환산하였다⁷⁾.

Escherichia coli 및 젖산균수 측정

김치발효중의 *E. coli* 측정은 경시적으로 김치통의 하단부에서 김치액즙을 채취하여 10배 희석방법을 이용, 1% peptone수로 단계별 희석한 다음 VRB한천배지에, 젖산균수 측정은 MRS배지를 사용하여 37°C에서 24~48시간 배양 후 형성된 colony를 Quebec colony counter를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

젖산함량의 변화

김치를 담금하여 *Leuconostoc mesenteroides* 10% (v/w)와 nisin(100 IU/g)을 각각 첨가하고 4°C에서 7일간 발효숙성 후 이어서 25°C에서 3일간 발효시키면서 경시적으로 산생성량(젖산%)을 측정할 결과 Fig. 1과

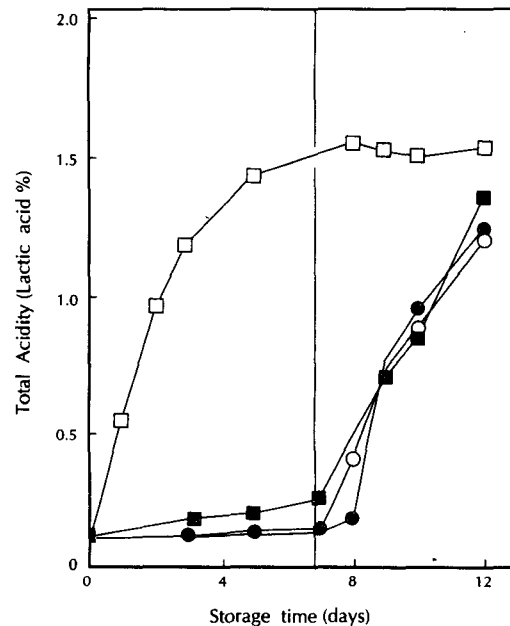


Fig. 1. The storage temperature was raised from 4°C to 25°C after initial 7 days of storage except control A. Control A, without addition of *L. mesenteroides* and Nisin, was stored at 25°C throughout. Control B and the other two Kimchi were changed the storage temperature as above.
 □ : Control A, ○ : Control B, ■ : Kimchi + *L. mesenteroides* (10% v/w), ● : Kimchi + Nisin 100 IU/g

같았다. 대조구는 *Leuconostoc mesenteroides* 및 nisin을 첨가하지 않고 동일하게 발효시킨 대조구 B와 역시 첨가하지 않은 것을 처음부터 25°C에서 발효숙성시킨 대조구 A로 구분하여 실험하였다. 4°C에서 7일간 저장하는 동안 대조구 B 및 nisin처리구 모두 초기 젖산함량을 유지하였으며 *Leu. mesenteroides*첨가구는 3일째 0.18%, 5일째 0.20%, 7일째 0.25%의 젖산함량을 나타내어 다른 처리구에 비해 약간의 산도증가를 보였다. 25°C로 발효온도를 변화함에 따라 이들 처리구 모두의 젖산생성량은 3일만에 0.90%에 도달하여 높은 산도를 유지하였다.

젖산균의 변화

김치를 발효시키면서 경시적으로 조사한 젖산균의 동적변화는 Table 1과 같다. 4°C에서 7일간 저장하는 동안 김치발효종의 젖산균소장은 *Leu. mesenteroides* 첨가구만이 $3.5 \sim 3.9 \times 10^8$ CFU/ml를 나타내어 초기 접

종량보다 약간 높았을 뿐, 대조구 B 및 nisin처리구는 초기보다 약간 감소하여 각기 7.2×10^5 , 7.7×10^4 CFU/ml를 나타내어 저온에서 젖산균의 증식이 되지 않음을 알 수 있었으며 이는 앞서의 젖산함량변화의 결과와 일치하였다. 25°C로 환경이 변화됨에 따라 대조구 B와 *Leu. mesenteroides* 첨가구는 24시간만에 젖산균이 최대로 증식하여 대조구 A와 유사한 수준으로 나타났으나 nisin첨가구는 다른 처리구에 비해 48시간만에 1 log cycle이 낮은 최대균증식을 보여 24시간 정도 발효기간이 늦어지는 결과를 보였다. 최 등⁷⁾은 15°C에서 김치발효에 대한 nisin의 저해를 본 결과 1 log cycle이 낮은 최대균증식을 보이면서 2일간의 발효기간연장효과를 나타내어 온도의 영향을 감안한다면 본 연구결과와 비슷한 결과를 나타내었다고 볼 수 있었다.

*E. coli*의 변화

김치발효시 *E. coli*의 경시적변화는 Table 2와 같았

Table 1. Changes of lactic acid bacteria during the storage of Kimchi

(Unit : CFU/ml)

Day	0	1	3	5	7	8	9	10
Control A	1.7×10^6	1.0×10^9	1.3×10^8	1.0×10^8	3.3×10^7	NT	5.8×10^7	3.3×10^7
Control B	1.9×10^6	NT	2.3×10^6	7.0×10^5	7.2×10^5	5.8×10^6	5.3×10^6	1.9×10^6
Kimchi + <i>L. mesenteroides</i> (10% v/w)	6.5×10^7	NT	3.7×10^8	3.5×10^8	3.9×10^8	1.6×10^9	6.4×10^8	1.3×10^8
Kimchi + Nisin 100 IU/g	4.1×10^5	NT	1.2×10^5	8.3×10^4	7.7×10^4	6.6×10^7	3.3×10^8	1.1×10^8

The storage temperature was raised from 4°C to 25°C after initial 7 days of storage except control A. Control A, without addition of *L. mesenteroides* and Nisin, was stored at 25°C throughout. Control B and the other two Kimchi were changed the storage temperature as above. NT : Not tested

Table 2. Changes of *E. coli* during the storage of Kimchi

(Unit : CFU/ml)

Day	0	3	5	7	8	9	10
Control A	2.2×10^4	NT	2.8×10^2	-	-	2.0×10^2	1.8×10^2
Control B	3.5×10^4	4.1×10^3	2.6×10^3	2.3×10^3	2.3×10^2	-	-
Kimchi + <i>L. mesenteroides</i> (10% v/w)	8.2×10^3	3.3×10^3	3.3×10^3	1.7×10^3	-	-	-
Kimchi + Nisin 100 IU/g	1.3×10^4	3.7×10^3	3.2×10^3	1.7×10^3	-	-	-

The storage temperature was raised from 4°C to 25°C after initial 7 days of storage except control A. Control A, without addition of *L. mesenteroides* and Nisin, was stored at 25°C throughout. Control B and the other two Kimchi were changed the storage temperature as above. NT : Not tested

다. 4°C에서 김치발효중 *E. coli*의 소장은 초기균수 10⁴ CFU/ml정도에서 7일째에도 10³ CFU/ml을 보여 저온에서는 대장균이 쉽게 사멸하지 않음을 나타내었다. 정 등²⁾의 김치발효온도 30°C에서 48시간 후, 20°C에서는 72시간 후 대장균군이 각각 사멸하고 5°C에서는 48시간 후 약간 변화가 있었을 뿐 10⁴ cells/ml를 계속 유지한다는 보고와 유사한 경향을 보였다. 발효 8일째 발효온도를 25°C로 변화시킨 대조구 B 및 *Leu. mesenteroides*첨가구에서 *E. coli*가 현저히 줄어들음을 나타내었는데 이는 젖산균이 생성한 젖산의 증가에 따라 *E. coli*의 생육이 저해된 것으로 생각되며 nisin첨가구 역시 25°C로 발효온도를 상승시켜 줌에 따라 bacteriocin에 의한 *E. coli* 생육저해현상이 나타났다.

저온(4°C)에서 김치에 nisin이나 젖산균의 첨가는 *E. coli*의 변화에 효과가 없었으며 25°C에서 발효속성시킨 대조구 A는 5일이 지난 후 대장균이 소멸되다 다시 나타나는 현상을 보여 김치과속에 의한 효모 및 일반세균이 번식된 결과로 해석할 수 있었다. 한 등³⁾은 15°C에서 김치발효중 Gram 음성균의 소장을 본 결과 하부층에서는 발효 10일째 감소하다가 다시 증가와 감소를 반복함으로써 불규칙적인 군집변동을 나타내어 김치의 이취와 변패를 초래하며 저온(5°C)김치발효에서는 Gram음성균군집이 발달되지 않았다고 보고하였다.

이상의 모델실험결과는 김치가 발효속성되어 감에 따라 저온(4°C)에서는 유해미생물의 지표균인 *E. coli*가 쉽게 사멸하지 않았으나 25°C에서는 *E. coli*가 현저히 감소하다가 과숙김치에서는 다시 나타날 수 있음을 시사하였으며 이러한 후기발효의 *E. coli*재출현은 이상젖산발효균인 *Leu. mesenteroides*나 nisin의 첨가에 의해서 효과적으로 억제할 수 있음을 제시하여 주었다.

요 약

수출용김치의 유통형태를 모델화하여 김치를 4°C에서 7일간 저장한 후 25°C로 저장온도를 변화시켜 주며

*E. coli*와 젖산균에 대한 *Leuconostoc mesenteroides*와 nisin의 첨가효과를 검토한 결과, 김치가 발효속성되어 감에 따라 4°C에서는 *E. coli*가 쉽게 사멸하지 않았으나 25°C에서는 *E. coli*가 현저히 감소하다가 과숙김치에서는 다시 나타나며 후기 *E. coli* 재출현은 *Leu. mesenteroides*나 nisin의 첨가에 의해서 효과적으로 억제할 수 있음을 제시하여 주었다.

문 헌

1. 김병기, 손득명, 정용, 윤명조 : 하절김치의 위생적 사전처리가 그 장기저장성에 미치는 영향. 현대의학, **5**, 441(1966)
2. 정윤수, 박근창, 유상렬, 김정훈 : 김치의 세균학적 표준연구 - 김치의 숙성미와 관련된 coliform group의 사멸성에 대하여 -. 기술연구보고, **6**, 5(1967)
3. 윤숙경 : 장내 세균류의 김치유산균에 대한 길항작용. 한국영양학회지, **12**, 59(1979)
4. Muralidhara, K. S., Sheggeby, G. G., Elliker, P. R., England, D. C. and Sandine, W. E. : Effect of feeding Lactobacilli on the coliform and Lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets. *J. Food Prot.*, **40**, 288(1977)
5. Sandine, W. E., Muralidhara, K. S., Elliker, P. R. and England, D. C. : Lactic acid bacteria in food and health : A review with special reference to enteropathogenic *E. coli* as well as certain enteric diseases and the treatment with antibiotics and Lactobacilli. *J. Milk Food Technol.*, **35**, 691(1972)
6. Tomic-Karovic, K. and Fanjek, J. J. : Acidophilus milk in therapy of infantile diarrhea caused by pathogenic *Escherichia coli*. *Dairy Sci. Abstracts*, **25**, 1697(1962)
7. 최신양, 이인선, 유진영, 정건섭, 구영조 : 김치발효에 대한 Nisin의 저해효과. 한국산업미생물학회지, **18**, 620(1990)
8. 한홍의, 임종탁, 박현근 : 김치발효의 지표로서 미생물군집의 측정. 한국식품과학회지, **22**, 26(1990)
(1992년 3월 2일 접수)