

Adipic acid 저항성 균주 첨가가 김치 저장기간 연장에 미치는 효과

이중근 · 이홍석 · 김영찬 · 주현규* · 이시경** · 강상모***
한국보건산업진흥원, *선문대학교 응용생물과학부,
건국대학교 응용생물화학과, *건국대학교 미생물공학과

Effects of Addition of Adipic acid-resistant Strains on Extending Shelf-life of *Kimchi*

Joong-Keun Lee, Hong-Seok Lee, Young-Chan Kim, Hyun-Kyu Joo*,
Si-Kyung Lee** and Sang-Mo Kang***
Korea Health Industry Development Institute,
*Department of Biological Science, SunMoon University,
**Department of Apply Biology and Chemistry, Kun-Kuk University,
***Department of Microbiological Engineering, Kun-Kuk University.

Abstract

The purpose of the study was to investigate effect of addition of mutant strains of both *Leuconostoc mesenteroides* and *Leu. paramesenteroides* on extending shelf-life of *Kimchi*. The mutant strains have an increased adipic acid resistance in comparison with that of their paired wild types. Addition of both strains was more effective than that of one strain alone to extend shelf-life of *Kimchi*. The optimal amount of inoculation was determined as 0.005% of the two mixed mutant strains with a ratio of 1:10, *Leu. mesenteroides* : *Leu. paramesenteroides* based on the results of acidification and organoleptic tests.

Key words : mutated strain, kimchi, lactobacilli

서 론

우리 나라의 대표적인 전통 발효식품인 김치는 소금에 절인 배추나 무, 오이 등에 여러 가지 야채류 및 향신료를 첨가하여 일정기간 숙성, 발효시킨 야채발효 식품이다. 김치는 배추나 무를 주원료로 하고 다양한 향신료를 사용하여 자연발효를 시킴으로써⁽¹⁾ 숙성과정 중 다양한 미생물의 천이현상이 발생하게 되어 발효가 진행되면서 젖산을 비롯한 각종 유기산이 생성되어 맛의 변화와 함께 pH 저하에 따른 산패와 연부현상이 발생하게 된다⁽²⁾.

이러한 발효양상을 기초로 저장성을 높이기 위한 방법으로 냉장 및 냉동, 낮은 온도에서의 가열처리, 간헐살균에 의한 통조림 김치제조, 방부제의 첨가, 방사

선조사, pH 변화를 억제하는 완충제의 첨가, 항균성 향신료 및 인산염 등의 첨가 그리고 포장재 및 포장 방법의 개선 등이 연구된 바 있다^{3,6)}. 그러나 김치는 신선한 야채와 향신료를 사용하여 자연발효를 해야 하고, 김치의 적숙기가 발효 진행중인 발효중기에 한정된다는 점, 또한 신선한 김치를 선호하는 특성상 가열 살균, 보존료 첨가 등이 관능적으로 부적합한 점이 있어 김치 보존성 향상에 장애요인으로 되고 있다. 최근 이러한 장애요인을 해결 또는 개선하기 위한 연구^{3,4)}가 계속되어 어느 정도 효과를 달성하고 있지만, 현재까지도 냉장저장방법 이외에는 아직 실용화가 되고 있지 못한 실정이다. 한편, 김치발효에 있어서 가장 중요한 작용은 젖산균에 의한 젖산발효로서 젖산발효를 행하는 젖산균에는 우유중의 당류를 젖산화하는 것 등의 수종이 있다. 이러한 젖산균은 발효와 동시에 젖산을 생성하지만 이 젖산이 많아지면 만들어진 젖산 때문에 pH가 낮아져 생육이 저해되어 젖산농도가 보통 1.5% 이상이 되면 젖산 생성을 정지한다. 그러나 젖산균은 다른 미생물에 비해 비교적 낮은 pH에서도 잘

Corresponding author : Sang-Mo Kang, 93-1 Mojin-dong, GuangJin-Gu Department of Microbiological Engineering, Kun-Kuk University, Seoul 143-701, Korea.
Tel : 82-2-450-3524
Fax : 82-2-450-3517
E-mail : kangsm@kkucc.konkuk.ac.kr

증식하는 내산성 균종으로서 pH 변화에 따라 적용하는 독특한 생리적 성질을 가지고 있어, 김치와 같은 자연적인 침체류 발효에서는 발효가 진행됨에 따라 주된 균종이 내산성 정도가 강한 젖산균종으로 천이하는 양상을 보이고 있다. 특히 김치발효의 경우 *Leuconostoc mesenteroides*가 먼저 증식을 하여 발효에 따른 이산화탄소가 생성되면서, 김치를 혐기적 산성화시키면 내산성이 강한 *Lactobacillus plantarum*이 주 발효균으로 증식하기 시작하여 김치를 산패에 이르게 한다. 이러한 발효양상으로 볼 때 냉장 상태로 유통되는 상업화된 김치의 산패를 지연하고 보존기간을 보다 더 효과적으로 연장하기 위하여 김치발효의 산패 원인균으로 알려져 있는 *Lac. plantarum* 등의 증식을 억제할 필요가 있다. 따라서 산패균을 억제하기 위해 현재 국내 식품첨가물공전에 등록되어 있고 대량식품과 사용량의 제한이 없을 뿐만 아니라 김치의 산성 pH 영역에서 젖산균에 대해 강한 억제능을 갖고있는 것으로 알려진 adipic acid를⁽⁷⁾ 김치에 첨가함으로써 자연적으로 혼입된 젖산균의 생육을 억제시키는 반면, 김치발효의 이상발효균으로서 풍미향상에 중요한 역할을 하는 *Leu. mesenteroides*와 저온성 젖산균으로서 숙성기 이후 급격히 사멸되는 *Leu. paramesenteroides*가 발효 말기까지 지속적으로 관여할 수 있도록 adipic acid에 저항성이 증진되도록 변이 처리하고, 선별된 변이주를 starter로 첨가하여 가식기간이 연장됨과 동시에 관능적인 향상이 이루어질 수 있는지를 검토하였다.

재료 및 방법

시료 김치의 제조

실험에 사용한 김치의 재료는 서울시 성동구 소재 화양시장에서 구입하였으며, 재료의 중량백분율은 안등⁽⁴⁾과 강등⁽⁸⁾의 방법을 변형하여, 절인 배추 79%, 무우 8.3%, 고춧가루 2.9%, 마늘 0.83%, 생강 0.42%, 파 2.08%, 젓갈 2.6%, 설탕 0.94%, 양파 2.84%, 그리고 조미료(glutamic acid) 0.1%로 하였다. 김치의 제조는 상법에 따라 우선 배추 외엽부분과 근부를 제거하여 5-6 cm 크기로 균일하게 절단한 다음 흐르는 물에 2회 세척하여 염도 60%인 천일염으로 12%의 염용액을 만들어 8시간 침지시킨 후 염도가 약 3%에 해당하는 절인 배추에 위의 구성 비율로 양념과 부재료가 잘 섞이도록 하였다.

사용균주의 배양 및 보관

전국대학교 미생물공학과에 보관중인 김치에서 분리

한 *Leuconostoc mesenteroides*와 *Leu. paramesenteroides*를 야생형으로 하여 adipic acid 저항성 변이 균주로 개량하여 김치 제조시 starter로 사용하였다. 변이 균주의 배양은 MRS broth에 NaCl을 2.5% 첨가하고, adipic acid를 이용하여 pH 5.0으로 조정된 배지를 사용하여 10°C에서 30일 간격으로 계대 배양하면서 실험을 수행하였으며, 균체수는 10⁸ cell/mL이 되도록 조정하여 사용하였다.

변이처리 및 목적균 선별

예비실험결과 adipic acid에 대한 저항성만 갖는 변이주의 경우 실제 김치에 starter로 첨가시 김치의 염농도로 인하여 기대하는 효과를 가질 수 없어 adipic acid에 대한 저항성 및 내염성 확보를 위해 N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine(NTG) 용액을 이용한 Daeschel등⁽⁹⁾과 Renault등⁽¹⁰⁾의 방법을 변형하여 이용하였다. 즉, MRS broth(pH 6.2, 20°C)에서 24시간 전 배양하여 대수 증식기 초기에서 중기에 도달한 세포를 본 배양하여 진탕하면서 10시간 배양한 후 얼음에 10~15분간 방치하였다. 이것을 원심분리(8,000 rpm, 4°C, 5 min.)하여 집균한 후 MRS broth(pH 6.6) 10 mL에 현탁하고, 여기에 포화 NTG 용액 5 mL를 첨가하여 1시간 동안 진탕배양(20°C)하여 돌연변이를 유발시켰다. 이렇게 돌연변이가 유발된 균들 중 목적하는 adipic acid 저항성균과 내염성균의 선별을 위하여 NaCl이 2.5% 첨가되고 adipic acid로 pH를 5.0으로 조정된 배지에 고농도 현탁한 후 15일 간격으로 고농도 계대하여 우수한 성장을 보이는 목적균주를 선발하였다. *Leu. mesenteroides*를 모균주(LMw)로 하는 변이균주를 ANaM100, *Leu. paramesenteroides*를 모균주(LPw)로 하는 변이균주를 ANaP100이라 명명하였다.

조직 강도의 측정

조직 강도의 측정은 Rheometer(Sun Scientific Co. CR-200D, Japan)를 이용해 cutting force를 측정하였으며, 그 조건은 Maximum force:2Kg, Table speed: 60 mm/min, Graph speed: 15 cm/min., Probe type: Knife, Sample size: 2×3 cm, Stroke: 30 mm.이다. 시료는 배추의 최외곽 부분과 배추속을 제외한 부위에서 각 염수별로 밀부분으로부터 5cm위에 줄기의 중앙부분을 2×3 cm로 잘라 얻어진 시료를 이용해 측정하였다^(11,12).

유기산의 분석

김치시료 50 g을 250 mL 비이커에 취한 후, 중류수

80 mL를 넣고 homogenizer(5분, 80 rpm)를 이용하여 균질화 시킨 후, 새로운 비이커에 증류수 80 mL를 담고, homogenizer에 잔류된 시료를 세척하여 상기 시료액과 혼합하였다. 본 시료액을 약 20분간 sonication한 후 메스실린더로 총액량을 측정하였다. 이 액을 10 mL 취한 후 원심분리(10,000 rpm, 10분, 4°C)하여 membrane filter(0.45 µm)로 여과하여 HPLC로 분석하였으며, 분석조건은 Column: Bio Rad AMINEX HPX-87H, solvent: H₂SO₄ pH 2.2, Flow rate: 0.6 mm/min, Column oven temperature: 50°C, Detector: UV 2100nm 으로 하였다⁽¹³⁾. HPLC 분석에 사용된 표준물질은 lactic acid, citric acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid, fumaric acid 및 acetic acid 등이었다.

Adipic acid 내성 변이균주의 조성 및 첨가량 결정

김치의 starter용으로 adipic acid에 대해 저항성을 갖고 염에 대해 내염성을 갖는 ANaM100, ANaP100 및 예비실험에서 높은 효과를 보인 combination(ANaM100 : ANaP100 = 1 : 10)중 김치에 starter로 첨가시 산패지연과 관능향상의 효과가 가장 뛰어난 starter의 조성과 이들의 첨가량을 파악하기 위해 변이된 균주와 adipic acid의 다양한 배합비율로 10개의 시험구를 제조하여 10°C에서 발효시키면서 pH와 총산도의 변화 그리고 관능검사를 실시하였다.

관능검사

관능검사는 다시료 비교법을 이용하였으며, 관능평가원은 약 6개월 전부터 김치맛에 대한 훈련을 실시한 건국대학교 미생물공학과 대학원생 10명으로 구성하였다. 평가 항목은 김치에서 느낄 수 있는 항목 중 크게 향미(flavor), 신맛(sourness), 조직감(texture)등의 3개 항목과 함께 전체적인 기호 항목을 첨가하여 4개 항목으로 평가하였으며, 평가점수는 5점 채점법(⑤매우 좋다, ④좋다, ③보통이다, ②나쁘다, ①매우 나쁘다)으로 실시하였고, 이에 대한 결과의 통계처리는 statistical analysis(SAS)에 의한 평균간의 유의적 검정을 하였으며, 유의성 검토는 Duncan의 다중비교 분석법⁽¹⁴⁾으로 하였다.

결과 및 고찰

조직 강도의 변화

김치에서의 연부현상은 polygalacturonase를 생산하는 효모의 생육이 촉진되어 발생하게 되는데 adipic acid의 첨가는 젖산균의 생육을 억제하는 반면 효모에 대

Table 1. Changes in hardness during the fermentation of kimchi added with various content of starter at 10°C for 30 days

Sample	Hardness (10 ⁶ dyne/cm ²)		
	0 day	15 day	30 day
I	23.5	13.5	8.3
II	23.5	16.9	11.6
III	23.5	13.7	11.3
IV	23.5	16.6	12.1
V	23.5	16.6	10.8
VI	23.5	17.4	11.5
VII	23.5	13.6	11.9
VIII	23.5	15.4	10.2
IX	23.5	21.7	13.8
X	23.5	14.4	12.4
XI	23.5	20.9	17.2

Roman numerals: I, control kimchi; II, adipic acid 0.16%; III, adipic acid 0.16% and ANaM100 0.05%; IV, adipic acid 0.16% and ANaP100 0.05%; V, adipic acid 0.16% and Combination* 0.05%; VI, adipic acid 0.16% and ANaM100 0.01%; VII, adipic acid 0.16% and ANaP100 0.01%; VIII, adipic acid 0.16% and Combination* 0.01%; IX, adipic acid 0.16% and ANaM100 0.005%; X, adipic acid 0.16% and ANaP100 0.005%; XI, adipic acid 0.16% and Combination* 0.005%.

*ANaM100 : ANaP100 = 1 : 10.

해서는 항균력이 거의 없어 오히려 젖산균의 생육이 떨어지게 되면 효모의 생육은 촉진시키는 결과를 가져 올 수 있다.

김치는 저장기간이 경과함에 따라 산패가 되고 결국 효모에 의해 연부현상을 일으키게 되며, 이에 따른 조직감의 변화는 김치의 품질과 매우 밀접한 관계가 있고⁽¹²⁾, 견고성, 응집성, 탄력성이 김치류의 중요한 조직감 요소라 할 수 있다⁽¹⁵⁾.

김치에 adipic acid 및 각 균주들을 starter로 첨가하고 발효과정중의 조직 강도의 변화를 측정할 결과는 Table 1과 같다. 각 시험구별 경도의 차이를 보면 발효 15일째의 경우 발효초기보다 모든 시험구에서 경도가 낮아졌으며, 각 시험구중 adipic acid와 ANaM100을 0.005% 첨가한 구가 21.7(×10⁶dyne/cm²)로서 가장 높은 경도를 보였으며, 그 다음은 adipic acid와 ANaM100과 ANaP100 혼합균주를 0.005% 첨가한 구로서 20.9(×10⁶dyne/cm²)를 나타내었고, 대조구가 13.5(×10⁶dyne/cm²)로서 가장 낮았다. 또한 발효 30일째에도 대조구의 경도가 8.3(×10⁶dyne/cm²)로서 가장 낮았으며, adipic acid와 ANaM100과 ANaP100 혼합균주를 0.005% 첨가한 구가 17.2(×10⁶dyne/cm²)로서 전체 시험구중 가장 높았고, 대조구에 비해 약 2배정도 높은 수치였다.

Table 2. Changes in organic acids during the fermentation of kimchi added with various content of starter at 10°C for 30 days % (w/v)

Day	Sample	Citric acid	Tartaric acid	Malic acid	Lactic acid	Succinic acid	Fumaric acid	Acetic acid
0		0.168	N.D	0.364	0.250	0.131	0.0104	0.235
15	I	0.068	N.D	0.128	2.169	0.326	0.00092	0.356
	II	0.109	N.D	0.303	1.581	0.363	0.00051	0.249
	III	0.039	N.D	0.121	1.742	0.418	0.00168	0.322
	IV	0.114	N.D	0.153	1.723	0.432	0.00165	0.327
	V	0.146	N.D	0.289	1.701	0.411	0.00118	0.313
	VI	0.048	N.D	0.164	1.254	0.407	0.00158	0.329
	VII	0.072	N.D	0.253	1.277	0.425	0.00184	0.347
	VIII	0.065	N.D	0.215	1.332	0.462	0.00162	0.324
	IX	0.162	N.D	0.332	1.271	0.437	0.00151	0.332
	X	0.128	N.D	0.306	1.314	0.453	0.00176	0.336
	XI	0.159	N.D	0.288	1.569	0.527	0.00183	0.317
30	I	0.034	N.D	0.042	1.412	0.135	N.D	0.395
	II	0.107	N.D	0.167	1.283	0.306	N.D	0.298
	III	0.035	N.D	0.056	1.124	0.347	N.D	0.364
	IV	0.030	N.D	0.112	1.263	0.408	N.D	0.353
	V	0.039	N.D	0.110	1.204	0.436	N.D	0.356
	VI	0.035	N.D	0.103	1.402	0.385	N.D	0.346
	VII	0.019	N.D	0.137	1.088	0.383	N.D	0.368
	VIII	0.038	N.D	0.140	1.842	0.429	N.D	0.345
	IX	0.173	N.D	0.307	1.180	0.415	N.D	0.357
	X	0.061	N.D	0.265	1.673	0.424	N.D	0.360
	XI	0.083	N.D	0.249	1.506	0.486	N.D	0.335

Roman numerals: I, control kimchi; II, adipic acid 0.16%; III, adipic acid 0.16% and ANaM100 0.05%; IV, adipic acid 0.16% and ANaP100 0.05%; V, adipic acid 0.16% and Combination* 0.05%; VI, adipic acid 0.16% and ANaM100 0.01%; VII, adipic acid 0.16% and ANaP100 0.01%; VIII, adipic acid 0.16% and Combination* 0.01%; IX, adipic acid 0.16% and ANaM100 0.005%; X, adipic acid 0.16% and ANaP100 0.005%; XI, adipic acid 0.16% and Combination* 0.005%.

*ANaM100 : ANaP100 = 1 : 10.

N.D. : Not detected.

한편 Oh 등⁽¹⁶⁾은 김치에 슬얏 물 추출물을 첨가하고 10°C에서 발효시키면서 조직감을 측정 한 결과 경도가 발효초기보다 14일 이후에는 떨어졌다고 하였는데, 이는 본 실험의 결과와 같은 경향을 보였다.

Kim⁽¹⁷⁾은 *Leu. mesenteroides*와 *Leu. paramesenteroides*의 내산성 변이균주를 각각 또는 혼합하여 *Saccharomyces fermentati*와 함께 starter로 첨가시 젖산에 강한 *Leu. mesenteroides* 변이균주의 지속적인 생육으로 연부현상이 지연되었으며, 이중 혼합균주를 첨가했을 때 가장 지연되는 효과를 나타냈다고 하였는데, 본 실험에서도 ANaM100과 ANaP100 혼합균주의 첨가가 발효말기까지 높은 경도를 유지한 것으로 나타났다.

유기산 함량의 변화

김치를 10°C에서 발효시키면서 발효과정중에 발생하는 유기산의 경시적인 변화를 측정 한 결과는 Table 2와 같다. 발효 전체 기간 중 lactic acid 함량이 가장 많았으며, succinic acid, acetic acid 순이었다. 김치발

효 과정중의 유기산함량은 전체적인 경향으로 볼 때 citric acid, malic acid 및 fumaric acid 등은 발효가 진행됨에 따라 감소추세를 보이는 반면, lactic acid, succinic acid 그리고 acetic acid 등은 증가 추세를 보였다. 이중 succinic acid의 경우 starter 첨가구는 발효 15일에 최고 4배까지 증가하는 경향을 보였으며, 발효 30일째에는 약간 감소를 보였다.

Kim 등⁽¹⁸⁾은 malic acid가 생배추에 가장 많이 존재하다가 발효에 따라 감소되고, 나머지 유기산들은 생배추보다 발효된 김치에 더 많이 존재하며, 특히 lactic acid와 succinic acid의 증가는 현저하다고 하였는데 이는 본 실험의 결과와 같은 경향을 보였다. 또한 succinic acid는 *Leuconostoc*속에 의하여도 생성되는 점에서 볼 때 발효 15, 30일에서 대조구에 비해 srarter 첨가구들이 많은 함량을 보인 것은 발효 30일까지도 이들 균이 더 왕성하게 작용하였기 때문인 것으로 생각된다.

한편 유기산함량과 관능검사 결과를 비교해 볼 때,

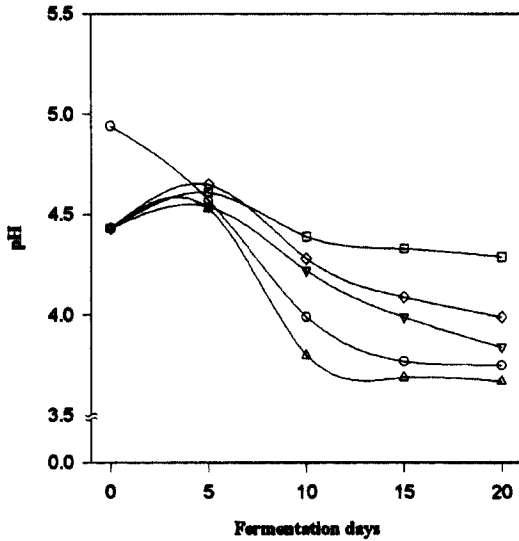


Fig. 1. Changes of pH during the fermentation of kimchi added with various content of combination* at 10°C.

Symbols: (○), control; (□), adipic acid 0.16%; (△), adipic acid(0.16%)+combination*(0.05%); (▽), adipic acid(0.16%)+combination*(0.01%); (◇), adipic acid(0.16%)+combination*(0.005%).

*ANaM100 : ANaP100 = 1 : 10

김치의 감칠맛에 영향을 주는 succinic acid의 함량이 발효 30일째 adipic acid와 ANaM100과 ANaP100 혼합균주를 0.005% 첨가한 구가 가장 높아 관능검사 결과와 같았다.

또한 starter의 첨가량으로 볼 때 0.05%, 0.01% 첨가한 경우는 0.005% 첨가한 경우보다 유기산의 생성이 많았으며, starter 종류별의 경우 단독 첨가는 김치의 감칠맛이 떨어지고, 어떤 특정한 유기산의 맛이 강한 반면, 혼합첨가 중 저농도의 경우가 먹기에 알맞은 정도의 유기산 생성을 하였다. 그리고 혼합 첨가의 경우 ANaP100을 ANaM100 보다 10배 많이 첨가한 것은 예비실험에서 관능상 높은 값을 보였고, 내산성 정도가 ANaP100이 더 약해 생육과 균수의 면에서 떨어지기 때문에 조절한 것으로서 본 실험의 결과가 적절한 수준인 것으로 생각된다.

Starter용 변이균주의 조성 및 첨가량

Adipic acid의 첨가농도는 예비실험을 통하여 첨가에 따른 이취감이 없고, 항균효과를 갖는 수준인 0.16%로 하였으며, Adipic acid로 인한 발효 억제를 보완하기 위하여 변이균주를 starter로 첨가하였다. 또한 변이균주는 selective pressure가 없는 조건에서는 reversion이 일어날 가능성이 있으므로 항상 일정한 조건의 배

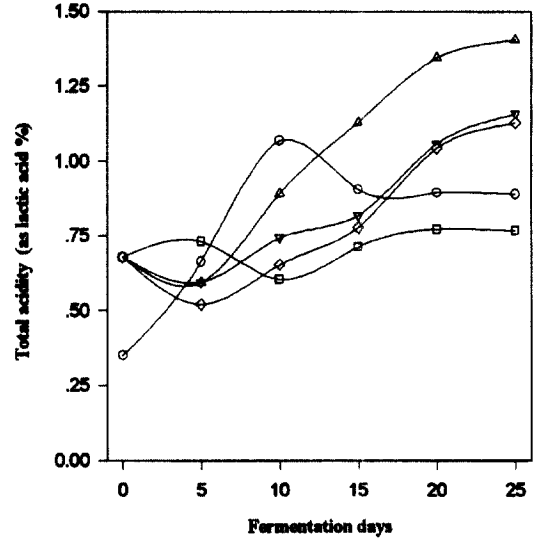


Fig. 2. Changes of total acidity during the fermentation of kimchi added with various content of combination* at 10°C.

Symbols: (○), control; (□), adipic acid 0.16%; (△), adipic acid(0.16%)+combination*(0.05%); (▽), adipic acid(0.16%)+combination*(0.01%); (◇), adipic acid(0.16%)+combination*(0.005%).

*ANaM100 : ANaP100 = 1 : 10

지에서 1개월에 1회 제대배양을 하였으며, starter로 사용시 변이특성을 확인한 후 사용하였다.

Adipic acid 0.16% 존재 하에서 adipic acid 내성 변이균주인 ANaM100과 ANaP100의 혼합첨가량을 (ANaM100 : ANaP100 = 1 : 10) 결정하기 위하여 김치에 대조구, adipic acid 0.16%, 그리고 adipic acid 0.16%를 첨가하고 혼합 변이균주를 0.05%, 0.01% 및 0.005% 첨가하여 pH 및 총산도의 변화를 조사한 결과는 Fig. 1~2와 같다.

ANaM100과 ANaP100의 혼합균주를 starter로 첨가한 경우 pH는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 발효 20일까지 대조구에 비해 대부분의 시험구가 변화폭이 적었으며, 특히 adipic acid만 첨가한 구가 가장 적은 변화를 보였다. 이는 adipic acid만 첨가한 경우 전반적으로 균의 증식이 억제되어 산의 생성이 적었던 반면 adipic acid에 대해 내성을 갖도록 변이시킨 starter를 함께 첨가한 경우 균이 어느 정도는 활성을 갖고 발효가 이루어졌기 때문일 것으로 추정된다. 한편 총산도 측정 결과는 일반적으로 발효과정중 총산도가 최고치를 나타낸 후 저하되면 연부현상이 일어나면서 가식기간이 지난 것으로 볼 때, Fig. 2에서와 같이 대조구의 경우 발효 10일째에 최고치를 기록하고 저하되

Table 3. Sensory evaluation during the fermentation of kimchi added with various content of ANaM100 and ANaP100(1:10) as a starter at 10°C for 30 days

Day	Flavor					Sourness				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
5	4.12	3.85	3.83	3.85	3.87	4.12	3.91	4.13	3.83	3.99
10	4.03	3.90	4.09	3.93	3.97	3.83	3.88	4.03	3.86	4.01
15	3.68	3.77	4.01	3.73	3.87	3.51	3.80	3.69	3.78	4.03
20	3.18	3.65	3.21	3.62	3.72	3.16	3.63	3.13	3.37	3.83
25	2.73	3.47	2.97	3.43	3.67	2.70	3.50	2.88	3.16	3.77
30	2.25	3.19	2.83	3.31	3.31	2.25	3.17	2.73	3.04	3.56
Mean±S.D	3.50±0.76a	3.76±0.38a	3.63±0.59a	3.77±0.37a	3.84±0.34b	3.44±0.75a	3.77±0.39b	3.58±0.64a	3.65±0.47a	3.96±0.27c
Day	Texture					Total acceptability				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
5	4.35	4.20	4.01	3.96	4.17	4.22	3.71	4.09	3.95	4.12
10	4.15	3.90	3.93	4.06	4.09	4.18	3.85	3.99	4.06	4.13
15	3.54	3.86	3.81	3.88	4.03	3.55	3.60	3.63	3.78	3.97
20	3.06	3.72	3.56	3.56	3.91	3.07	3.32	3.11	3.43	3.83
25	2.88	3.51	3.23	3.37	3.73	2.79	3.14	2.83	3.31	3.66
30	2.57	3.25	3.01	3.21	3.43	2.63	2.98	2.93	3.19	3.46
Mean±S.D	3.71±0.83a	3.92±0.53a	3.79±0.61a	3.86±0.56a	4.05±0.46b	3.56±0.70a	3.59±0.48a	3.58±0.60a	3.75±0.44a	3.95±0.32b

Means with the same alphabets are not significantly different at P<0.05.

Roman numerals: I, control kimchi; II, adipic acid 0.16%; III, adipic acid 0.16% and Combination* 0.05%; IV, adipic acid 0.16% and Combination* 0.01%; V, adipic acid 0.16% and Combination* 0.005%.

*ANaM100 : ANaP100 = 1 : 10.

어 효모에 의한 lactic acid의 소모가 생산보다 많아지면서 연부현상이 일어나기 시작한 반면, 나머지 시험구에서는 발효 25일까지 측정할 결과 최고치를 나타내지 않아 adipic acid 첨가에 의한 가식기 연장효과를 확인 할 수 있었다. 또한 각각의 단독균주를 adipic acid와 함께 첨가하였을 경우에도 산도 및 총산도의 변화에 있어서 정도의 차이는 있었으나 비슷한 경향을 나타내었다(Data not shown). 또한 ANaM100, ANaP100 각각의 첨가보다는 ANaM100과 ANaP100을 혼합한 경우가 종합적 관능평가에서 보다 우수한 것으로 나타났었다(Data not shown). 이는 ANaM100과 ANaP100의 각 균들이 생성하는 풍미 물질들이 상이한데 단독 첨가의 경우보다 혼합 첨가시 다양한 풍미 물질의 생성으로 맛의 조화가 더 잘 이루어졌기 때문인 것으로 생각된다.

한편, 1:10 비율의 ANaM100과 ANaP100의 첨가량은 관능검사 결과 0.005%인 경우가 종합적인 기호도에서 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 나타나(Table 3) starter의 첨가량은 0.005%가 가장 적절할 것으로 보이며, 이를 통하여 adipic acid 첨가에 따른 숙성기간의 연장과 개량 starter의 적절한 첨가가 다량의 풍미 향상 물질이 생성되는 것을 확인 할 수 있었다.

요 약

김치발효에 관여하는 균종들에 대해 항균작용이 있는 것으로 알려진 adipic acid를 김치제조시 첨가하고, 동시에 adipic acid 저항성 변이균주인 *Leuconostoc mesenteroides*와 *Leu. paramesenteroides* 두 균주를 김치에 starter로서 첨가하여 발효시키므로써 김치의 저장기간 연장과 풍미증진 효과를 조사하였다. 또한 이를 위한 변이균주의 최적의 첨가량을 조사하였다. 김치발효의 주요 숙성균주로서 산에 약한 *Leu. mesenteroides*와 *Leu. paramesenteroides* 두 균주를 adipic acid에 대한 저항성을 갖도록 변이시킨 후 adipic acid 0.16%와 함께 두 변이균주를 각각 단독으로 또는 두 변이균주의 혼합균주(1:10)로서 김치제조시 starter로 첨가한 경우, 단독첨가 보다는 혼합균주인 경우가 산패지연 효과와 관능특성 면에서 우수하였으며 혼합균주의 최적 첨가량은 0.005%로 조사되었다.

문 헌

1. Lee, C.W., Ko, C.Y. and Ha, D.M. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during kimchi fermentation and identification of the isolates. Korean J. Appl.

- Microbiol. Biotechnol. 20: 102-109 (1992)
2. Moon, K.D., Byun, J.A., Kim, S.J. and Han, D.S. Screening of natural preservatives to inhibit *kimchi* fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 257-263 (1995)
 3. Mheen, T.I., and Kwon, T.W. Effect of temperature and salt concentration on *kimchi* fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 16: 443-450 (1984)
 4. Ahn, S.J. The effect of salt and food preservatives on the growth of lactic acid bacteria isolated from *kimchi*. Korean J. Soc. Food Sci. 4: 39-50 (1988)
 5. Lee, Y.H. and Yang, I.W. Studies on the packaging and preservation of *kimchi*. J. Korean Agric. Chem. Soc. 13: 207-218 (1970)
 6. Cha, B.S., Kim, W.J., Byun, M.W., Kwon, J.H. and Cho, H.O. Evaluation of gamma irradiation for extending the shelf life of *kimchi*. Korean J. Food. Sci. Technol. 21: 109-119 (1989)
 7. Yamamoto, Y., Karube, N., Higashi, K. and Yoshii, H. Inhibitory activity of adipic acid on food spoilage microorganisms. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 34: 88-93 (1987)
 8. Kang, S.M., Yang, W.S., Kim, Y.C., Joung, E.Y. and Han, Y.G. Strain improvement of *Leuconostoc mesenteroides* for *kimchi* fermentation and effect of starter. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23: 461-471 (1995)
 9. Daeschel, M.A., McFeeters, R.F., Fleming, H.P., Klaenhammer, T.R. and Sanozky, R.B. Mutation and selection of *Lactobacillus plantarum* strains that do not produce carbon dioxide from malate. J. Appl. Environ. Microbiol. 47: 419-420 (1984)
 10. Renault, P.P. and Heslot, H. Selection of *Streptococcus lactis* mutants defective in malolactic fermentation. J. Appl. Environ. Microbiol. 53: 320-324 (1987)
 11. Park, K.D., Lee, C., Yoon, S.I., Ha, S.S. and Lee, Y.N. Changes in the textural properties of *kimchi* during fermentation. Korean J. Dietary Culture 4: 167-172 (1989)
 12. Hwang, I.J., Yoon, E.J., Hwang, S.Y. and Lee, C.H. Effects of K-sorbate, salt-fermented fish and CaCl₂ addition on the texture changes of chinese cabbage during *kimchi* fermentation. Korean J. Dietary Culture 3: 309-317 (1988)
 13. Kim, Y.C., Jung, E.Y., Kim, E.H., Jung, D.H., Yi, O.S., Kwon, T.J. and Kang, S.M. Strain improvement of *Leuconostoc paramesenteroides* as a acid-resistant mutant and effect on *kimchi* fermentation as a starter. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26: 151-160 (1998)
 14. Cody, R.P. and Smith, J.K. Applied statistics and the SAS programming language. Third Edition, North-Holland, pp. 122-125 (1991)
 15. Lee, C.H., and Park, S.H. Studies on the texture describing terms of Korean. Korean J. Food Sci. Technol. 14: 21-29 (1982)
 16. Oh, Y.A., Kim, S.D. and Kim, K.H. Effect of addition of water extract of pine needle on tissue of *kimchi*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 461-470 (1998)
 17. Kim, Y.C. Characteristics of the acid-tolerant mutant *Leuconostoc* sp. and its effect as a starter for the acidification-retardation of *kimchi*. Thesis, Kon-Kuk Univ. Seoul, Korea (1997)
 18. Kim, H.O., Rhee, H.S. Studies on the nonvolatile organic acids in *kimchis* fermented at different temperatures. Korean J. Food Sci. Technol. 7: 74-81 (1975)

(1999년 11월 10일 접수)