

소금의 종류와 농도가 배추김치에서 분리한 유산균의 생육에 미치는 영향

한영숙*

성신여자대학교 식품영양학과

Effect of Salt Type and Concentration on the Growth of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kimchi.

Young-Sook Hahn*

Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

Tests show that the growth of lactic bacteria in *kimchi* varies according to the type and concentration of salt used. *Weissella confusa*, the early stage bacteria in *kimchi* fermentation, increased sharply after 5 hr of induction with 3% light salt and refined salt. However, the induction period lengthened to 12 hr with 3% sea salt and bamboo salt. *Lactobacillus delbrueckii ss lactis* and *L. pentosus* which grow in the middle stage of fermentation, and *L. hamsteri*, which grows at the end stage of fermentation, were found after 12 hr of induction with 3% salt of all kinds. When 5% light salt was added to the culture medium, the induction period of bacteria other than *W. confusa* lengthens to 12 hr. The trend is similar for sea salt, bamboo salt, and refined salt, with a higher NaCl concentration resulting in less growth. *W. confusa* showed salt tolerance, but *L. hamsteri* was affected by the type and concentration of salt. With 5% sea salt, bamboo salt, and refined salt, the growth of bacteria was inhibited by up to 24 hr.

Key words: *kimchi*, lactic acid bacteria, salt

서 론

김치 발효 과정 중 나타나는 미생물들은 발효 초기에 호기성 세균인 *Aeromonas*속과 *Pseudomonas*속 등이 검출되고 이어서 *Leuconostoc*속과 *Lactobacillus*속 등의 유산균이 출현 하다가^(1,2), 발효 말기에는 효모와 곰팡이류가 서식하는 것으로 알려져 있다⁽³⁾. 김치의 발효 과정 중 유산균의 증식 변화는 발효 초기에 *Leuconostoc*속이 우세하게 증식하며 lactic acid, acetic acid 및 탄산가스를 생산하여 김치를 산성화시킴과 동시에 혐기적 상태를 조성함으로써 호기성균의 생육을 억제하고, 발효가 진행되면서 내산성균인 *Lactobacillus*속이 증식하여 김치의 산패를 유도한다⁽⁴⁾. 김치에서 분리되는 유산균 중 *Leuconostoc mesenteroides*는 식염과 산에 대한 저항성이 비교적 약하고 식염농도가 3.0% 이상이 되면 증식이 저하된다⁽⁵⁾. 유산균 중 *Pediococcus*속의 경우는 식염에 대한 저항성이 있어서 식염농도 10%에서도 생육이 가능하며, 정상젖산 발효를 하는 대표적인 균주인 *Lactobacillus plantarum*

이나 *L. brevis* 같은 유산균은 낮은 pH에서 생육하고 생육한 계 식염농도도 *Leuconostoc*속에 비해 높아 식염농도 6.0%에서도 생육이 가능하다⁽⁵⁾. 일반적으로 김치유래 유산균의 경우 소금농도 3.0~4.0% 이내에서 산 생성과 생육이 우세한 것으로 알려져 있는데 김치에서 소금의 역할은 삼투작용에 의한 보존성의 증가로 김치의 유해 미생물 생육을 억제하여 유산균에게 유익한 환경을 제공한다⁽⁶⁾. 이와 같이 김치에서 유산균에 대한 소금의 영향은 각기 다르며 소금의 종류나 농도에 따라서 그 영향이 달라질 수 있다⁽⁷⁾.

현재 국내에서 유통되고 있는 소금은 여러 종류가 있는데 천일염과 정제염이 네간 약 60만톤 생산되고 있고 그 외 재제염과 가공염등이 생산되고 있다. 천일염은 염전에 해수를 유입하여 수분을 증발시킨 후 소금을 결정 석출시킨 것이고, 정제염은 약 3.5%의 해수를 이온 교환막이 장착된 전기 투석조를 거쳐 16~18%의 염수를 만들고 이를 증발 농축시켜 대량생산되고 있다. 재제염은 백염(白鹽) 혹은 꽃소금이라 일컫는 것으로 천일염을 녹여서 여과한 깨끗한 소금을 제결정 시킨 소금으로 부피가 크고 용해속도가 매우 빠른 특징을 갖고 있으며 죽염은 천일염을 대나무 속에 다져 넣고 대나무 입구는 진흙으로 반죽하여 봉하고 1000~1300°C로 가열하여 제조하여 두 소금 모두 NaCl 농도가 높다^(8,9).

본 연구에서는 김치의 발효 숙성 중 총 4종의 유산균을 분리, 동정하였으며, 시판되는 천일염, 재제염, 죽염, 저염(Lite

*Corresponding author: Young-Sook Hahn, Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, 249-1 Dongsun-dong 3ga Sungbuk-ku, Seoul 136-742, Korea

Tel: 82-2-920-7210

Fax: 82-2-921-3197

E-mail: yshan@sungshin.ac.kr

Salt, USA) 4종류의 소금이 김치에서 분리된 *Weissella confusa*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus hamsteri*, *Lactobacillus delbrueckii ss lactis* 4종의 유산균 생육특성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

소금 재료

실험에 사용된 시판소금은 천일염(NaCl 77.4%, 소금사랑), 재제염(NaCl 90.0%, (주) 제일염업, 해표소금), 죽염(NaCl 95.0~97.0%, 개암식품) 및 나트륨 힘량이 50.0% 미만인 저염 소금(Lite Salt, NaCl 49.5%, Morton Inc. USA) 4종류를 실험에 사용하였다.

김치의 제조

김치에 사용한 재료는 2000년 10월 서울 동소문동 소재 시장에서 실험 당일 신선한 것을 구입하여 사용하였다. 배추는 4등분하여 상온에서 10.0% NaCl 염수에 1시간 절인 후 흐르는 물로 3회 세척한 후 1시간 탈수하였다. 탈수된 배추의 염도는 Mohr 법⁽¹⁰⁾으로 측정하여 최종 염도를 2.0%로 조정하였으며, 배추 김치의 배합은 절임배추 88.0%, 파 5.5%, 마늘 3.0%, 고춧가루 2.5%, 생강 1.0%의 비율로 김치를 제조하여 폴리에틸렌 비닐백에 1회 분량으로 200 g씩 담아 20°C에서 발효, 숙성시키면서 시료로 사용하였다.

유산균의 분리

김치는 각 발효일에 채취한 시료 1.0 mL를 0.85% 멸균식 염수로 단계 희석하여 spread culture method를 사용하였으며, 유산균의 분리는 MRS agar(DIFCO, USA)를 사용하여 30°C에서 1~2일간 배양한 후 순수분리 하였으며, 분리한 균은 MRS agar slant에 보관하면서 사용하였다.

유산균의 동정

김치에서 순수 분리한 유산균은 sheep blood를 첨가한 BUA medium를 이용하여 혐기배양(Aerobic glove box, SK-G001, JEIO TECH.)으로 37°C에서 24시간 배양한 후 Microlog system(Biolog Inc. USA)를 사용하여 동정하였으며, 이때 동정된 균주는 %ID(The percentage of identification) 70이상, SIM(Similarity, an estimate of how closely the profile corresponds to the most typical set of reaction for the stated taxon) 0.5이상을 나타내는 균주로 하였다.

유산균의 생육도 측정

실험에 사용된 4종류의 소금은 총량(w/w)기준으로 3.0%, 5.0%의 농도로 각각 MRS broth 5 mL에 첨가한 후 김치에 서 분리, 동정된 4종의 유산균 1 loop(직경 2 mm)를 각각 접종하여 30°C에서 24시간 배양하면서 Microlog ELISA system (Biolog Inc. USA)를 사용하여 660 nm에서 0, 5, 12, 24시간의 흡광도를 측정하여 생육곡선을 그렸다.

Table 1. Identification of lactic acid bacteria isolated from kimchi

Fermentation days	Identification
4	<i>Weissella confusa</i>
10	<i>Lactobacillus delbrueckii ss lactis</i>
12	<i>Lactobacillus delbrueckii ss lactis</i>
14	<i>Lactobacillus delbrueckii ss lactis</i>
16	<i>Lactobacillus pentosus</i>
26	<i>Lactobacillus delbrueckii ss lactis</i>
	<i>Lactobacillus hamsteri</i>

결과 및 고찰

김치에서 분리, 동정된 유산균

김치를 제조하여 20°C에서 숙성시키면서 경시적으로 유산균을 분리하여 동정한 결과는 Table 1과 같다.

김치에서 분리된 유산균은 총 4종의 유산균이 동정, 확인되었다. 김치 초기 생육균으로 김치 발효 4일에 동정된 유산균은 *Weissella confusa*로 *Weissella*속 균주는 sucrose를 발효하여 점질물을 형성하는 균주⁽¹¹⁾이며 *Leuconostoc*속과 *Lactobacillus*속에 속하는 균주였으나 DL-lactate를 생산하고 arginine을 일부 가수분해하는 통성 혐기성 균으로 새로 분류된 균주이다⁽¹²⁾. 김치 발효 10, 12, 14, 16일에 동정된 6균주 중 김치 중기 생육균으로는 동종 유산균인 *Lactobacillus delbrueckii ss lactis*와, 16일에 *L. pentosus* 1균주였으며, 26일인 후기 생육균은 *L. hamsteri* 2균주가 각각 동정, 확인되었다.

김치의 발효에 관여하는 유산균으로는 발효초기에 증식하여 김치환경을 산성화하여 유해세균의 증식을 억제함과 동시에 혐기상태를 조성해 주는 *Leuconostoc*속이 대표적이며 발효 초기부터 말기까지 증식하여 김치의 산폐현상을 가져오는 유산균으로는 *L. plantarum*이 보고된 바 있다⁽¹³⁻¹⁴⁾. *Lactobacillus*속은 gram 양성의 간형 세포를 가지며 다른 유산균에 비해 일반적으로 산에 대한 내성이 강한 편으로 pH 4.0~5.0 부근에서도 잘 생육하는 것으로 알려져 있다⁽¹⁵⁾. *L. delbrueckii ss lactis*는 정상젖산 발효를 통해 당을 발효시켜 젖산을 생산하거나 요구르트, 치즈 발효에 스타터로 이용되는 균주로서 최적 발육온도는 45°C로 중온성 세균 중 발육적온이 다소 높은 편에 속한다⁽⁵⁾.

본 연구에서는 소금의 종류와 농도가 김치 유래 유산균의 생육특성에 미치는 영향을 알기 위해 김치에서 분리, 동정된 12종의 유산균 중 발효 4일에 분리된 *W. confusa*, 12일에 분리된 *L. delbrueckii ss lactis*, 16일에 분리된 *L. pentosus* 및 26일에 분리된 *L. hamsteri*에 대해 소금의 종류와 농도를 달리한 MRS배지에서 각각의 생육특성을 조사하였다.

소금 종류 및 농도에 따른 김치 분리 유산균의 생육특성

실험에 사용된 저염, 천일염, 재제염, 죽염 4종류의 소금이 김치에서 분리된 유산균의 생육특성에 미치는 영향은 Fig. 1~2와 같다.

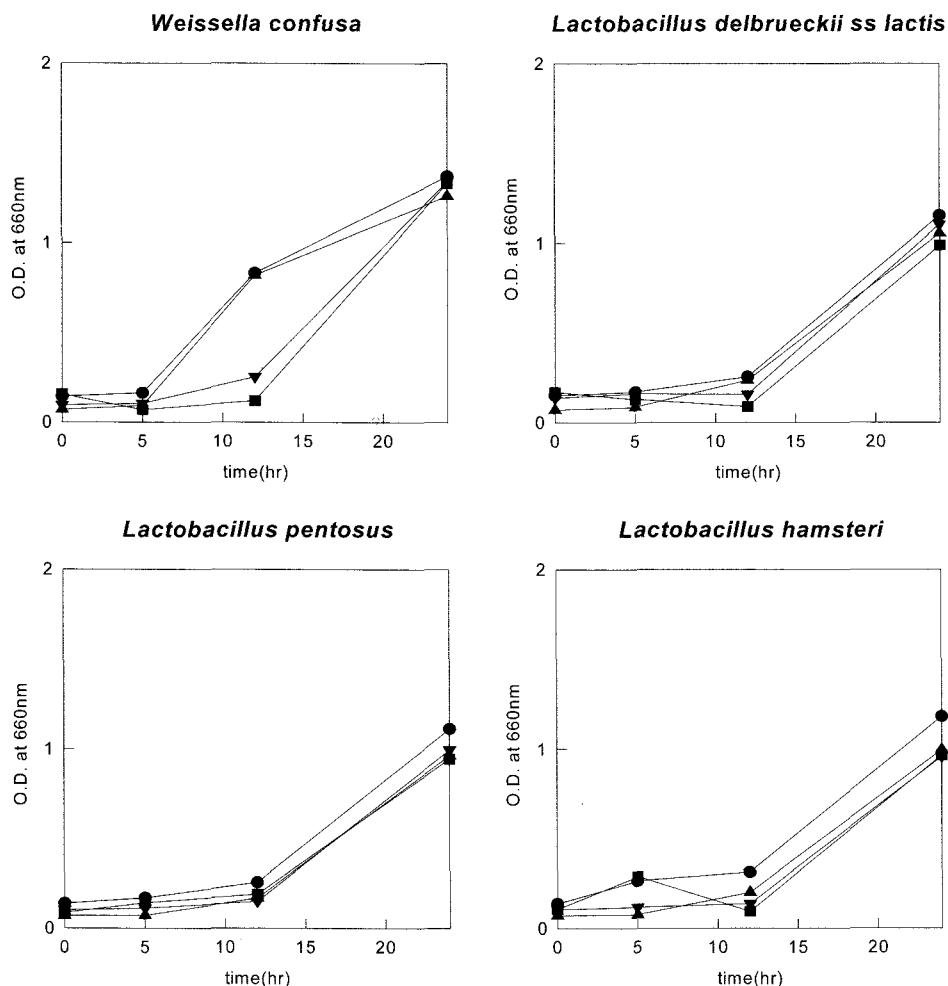


Fig. 1. Effect of salts on the growth of lactic acid bacteria at 3.0% concentration (●: lite salt, ■ : sea salt, ▲ : refined salt, ▼ : bamboo salt).

소금의 농도가 3.0%로 조절되었을 때 김치에서 분리한 유산균의 생육은 소금의 종류에 따라 큰 차이를 보이지 않아 12시간의 유도기간 후 3균주는 대수증식의 패턴을 보였다. 단 *W. confusa*는 저염 소금과 재제염에서 5시간 후부터 대수증식을 하는 것으로 보아 이들 소금에 대해 내염성이 있는 것으로 생각되었다. 일반적으로 김치에서 분리되는 유산균은 3.0~10.0% 식염 농도에서도 생육이 가능한 세균으로 다른 식품에서 보다 침채류에서 내염성이 더 상승되는 것으로 알려져 있다⁽¹⁵⁾. 소금 농도 5.0%인 경우에는 김치에서 분리한 유산균의 생육 특성이 소금의 종류에 따라 차이를 보였다. 시판 소금 중 나트륨의 함량이 50.0% 미만인 저염소금의 경우는 유산균의 생육을 저해하지 못하는 것으로 특히, 김치 초기 생육균인 *Weissella confusa*의 경우 균주 접종 후 24시간의 흡광도가 높아 다른 균주에 비해 저염소금의 저해를 가장 적게 받았다. 천일염은 NaCl 이외에 K, Mg, Ca 등의 미네랄을 함유한 소금으로 재제염이나 죽염에 비해서 김치에서 분리한 유산균의 생육저해에 끼치는 영향이 적은 것으로 나타났다. 유산균 중 *W. confusa*는 *Leuconostoc*속과 *Lactobacillus*속으로부터 새롭게 분류된 균주로 sucrose를 발효하여 점질물을 형성하며⁽¹¹⁾ 이러한 다당류에 의해 세포가 코팅되면서 다른 유산균에 비해 내염성이 큰 것으로 사료되었다.

*W. confusa*와 *Lactobacillus hamsteri* 균주의 경우 저염소금과 유사한 패턴의 생육을 보여 천일염에 의한 생육저해를 보이지 않았으며 김치 중기 생육균인 *L. delbrueckii ss lactis*와 *L. pentosus*, 발효 후기에 분리된 *L. hamsteri*는 천일염에 의해 생육이 저해되었다. 박 등⁽¹⁶⁾의 경우 천일염, 재제염, 구운소금, 죽염이 김치 미생물에 미치는 영향을 조사하였을 때 *L. plantarum*에 대해서 천일염이 다른 시판소금에 비해서 생육저해 효과가 가장 적은 것으로 나타나 본 연구의 결과도 이와 일치하였다. 천일염을 가공시켜 NaCl의 함량이 상대적으로 높은 재제염과 죽염은 김치에서 분리한 유산균에 대해서 균 종류에 관계없이 생육저해 효과가 큰 것으로 나타났다. 재제염 0%와 3.0%에서 *W. confusa*의 경우는 저염소금과 천일염에서의 특성과 유사하게 *Lactobacillus*속 균주들보다 유도기가 짧았고, 죽염의 경우는 4균주의 유산균이 모두 소금 농도 3.0%에서 비슷한 유도기를 거쳐 대수증식기의 성장률을 나타내었다. 재제염과 죽염 농도 5.0%에서는 유산균의 생육이 크게 저해되는 결과를 보였다. 이러한 결과는 박 등⁽¹⁶⁾의 연구에서 시판 소금 중 재제염과 죽염이 유산균이나 효모에 대해서 생육저해가 큰 것으로 나타난 결과와 저자 등의 선행연구⁽¹⁷⁾에서 소금 종류와 농도가 김치에서 분리한 효모의 생육에 미치는 영향을 조사한 경우에도 천일염에 비해

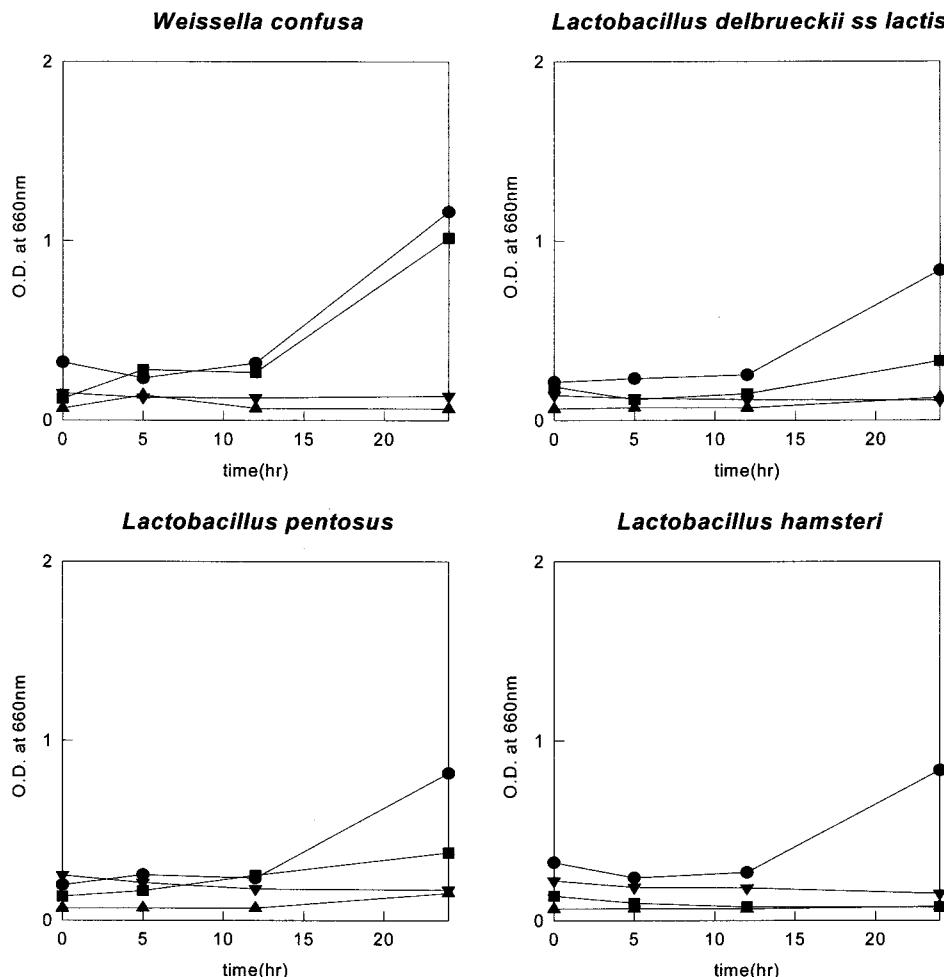


Fig. 2. Effect of salts on the growth of lactic acid bacteria at 5.0% concentration (●: lite salt, ■: sea salt, ▲: refined salt, ▼: bamboo salt).

재제염과 죽염이 효모의 생육을 크게 저해하는 것으로 이는 본 실험에 사용된 저염소금이 NaCl 농도가 49.5%, 천일염이 77.4%, 재제염이 90.0%, 죽염이 95.0~97.0%인 점을 생각할 때 천일염을 정제, 가공하는 과정에서 NaCl의 순도가 높아지면서 Cl⁻ 이온의 유산균에 대한 독작용과 유산균 세포의 효소활성 저해 등이 작용하면서 유산균의 생육이 저해되는 것으로 생각되었다^(1,15).

요 약

소금의 종류에 따른 유산균 생육저해 효과를 보면, 김치 초기 생육균인 *W. confusa*가 3.0%의 저염소금, 제재염에서 5시간의 유도기 후 급격히 증식했으나 3.0%의 천일염, 죽염 첨가시 유도기간이 12시간으로 늘어나 이 소금들에 의해 생육이 약간 저해됨을 알 수 있었다. 중기 생육균인 *Lactobacillus delbrueckii ss lactis*나 *Lactobacillus pentosus*와 말기 생육균인 *L. hamsteri*는 3.0%의 사용된 소금 모두에서 12시간의 유도기 후 증식이 확인되었다. 소금 농도를 달리하여 배지에 첨가했을 때 저염소금인 농도를 3.0%, 5.0%로 증가시킨 경우 *W. confusa*를 제외한 다른 균들의 유도기는 12시간으로 늘어났고 이 효과는 5.0%에서 더 컸다. 천일염, 죽염,

재제염도 같은 경향으로 농도가 커질수록 생육저해 효과가 뚜렷했으며 김치 초기 생육균 *W. confusa*보다는 후기생육균인 *L. hamsteri*가 소금에 의한 생육저해효과가 커서 5.0% 천일염, 죽염, 재제염에서는 24시간까지 증식이 억제된 것을 볼 수 있었다.

문 헌

1. Han, H.K., Lim, C.R. and Park, H.K. Determination of microbial community as an indicator of kimchi fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 22: 26-32. (1990)
2. Shin, D.H., Kim, M.S., Han, J.S., Lim, D.W. and Park, W.S. Changes of chemical composition and microflora in commercial kimchi. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 137-145 (1996)
3. Kim, H.S. and Jeong, Y.S. Identification of the aerobic bacteria isolated from kimchi and laver. Korean Soc. Agri. Chem. Biotechnol. 3: 19-24 (1962)
4. Cho, J.S. Changes of microflora and chemical composition during the kimchi fermentation. Korean J. Diet. Culture 6: 479-501 (1991)
5. Jeong, D.H. Food Microbiology, pp. 373-406, Sun-Jin Press, Seoul, Korea (1999)
6. 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)

7. Oh, J.Y., Hahn, Y.S. and Kim, Y.J. Microbial characteristics of low salt *mul-kimchi*. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 502-508 (1999)
8. Gil, W.S. Application and present conditions of salt processing in Korea. J. East Asian Dietary Life. 9: 247-256 (1999)
9. Kim, Y.S. The application method of bamboo salt and health in the pollution period. J. East Asian Dietary Life. 9: 257-260 (1999)
10. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1980)
11. Hahn, Y. S. Identification of polysaccharide forming bacteria from *kimchi* and its culture condition. Sungshin Women's University, J. Living Culture Res. 12: 119-127 (1998)
12. Koboli, H. and Reilly, P.J. Immobilization and properties of *Leuconostoc mesenteroides* dextranucrase. Biotechnol. Bioeng. 22: 1055-1069 (1980)
13. Ha, J.O. Studies on the development of functional and low sodium *kimchi* and physiological activity of salts. Ph.D. dissertation, Pusan National University, Busan, Korea (1997)
14. 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)
15. Ha, D.M. Food Microbiology, pp. 234-235. Sin-Kwang Press, Seoul, Korea (2000)
16. Park, S.J., Park, K.Y. and Jun, H.K. Effects of commercial salts on the growth of *kimchi*-related microorganisms. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 806-813. (2001)
17. Hahn, Y.S., Kwon, M.K., Hyun, Y.H., Song, J.E. and Oh, Y.J. Effects of salt kinds and concentration on the growth of yeasts isolated from *kimchi*. J. East Asian Dietary Life. 11: 393-399 (2001)

(2003년 1월 21일 접수; 2003년 6월 13일 채택)