

Change in the Microbial Profiles of Commercial Kimchi during Fermentation

Ji Yoon Chang, Yu Ri Choi and Hae Choon Chang[†]

Department of Food and Nutrition, Kimchi Research Center, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

국내 시판김치의 김치담금부터 숙성까지의 미생물 군총 변화

장지윤 · 최유리 · 장해춘[†]

조선대학교 식품영양학과 · 김치연구센터

Abstract

To investigate the sanitary-quality level of commercial kimchi in South Korea, the pH, acidity, and microbial-flora changes in the kimchi were determined. Samples of kimchi produced by three different manufacturers (a small grocery store, a small/medium-sized enterprise, and a large food company) were collected. Freshly made kimchi was purchased and fermented at 10°C for 10 days. The pH of the commercial kimchi on the purchased day was approximately pH 5.8, and that on the 10th day of fermentation was ≈pH 4.1. The kimchi purchased from a large company showed a more rapid decline in pH level during fermentation. The saltiness of the kimchi purchased from a medium-sized company was slightly higher than those of the other commercial kimchi samples. The saccharinity index of the kimchi produced by a small grocery store was higher than those of the other samples, and its value deviation was also higher than those of the other commercial kimchi samples. A higher total viable-cell count and a higher lactic-acid bacteria (LAB) count were detected in the kimchi from the large food company at the beginning of fermentation compared to the samples of the two other kimchi manufacturers. The highest cell numbers of gram-positive bacteria (except LAB) and coliform bacteria were detected from the small-grocery-store kimchi, but the coliform bacteria count gradually decreased during fermentation although such bacteria were still detected until the 10th day of fermentation. In contrast, coliform bacteria were not detected in the samples from the medium-sized and large food companies. Yeast, which is detected in over-ripened kimchi, was detected in the unfermented kimchi from the small grocery store, which had a below-0.36% acidity level. The gram-positive bacteria (except LAB) that were detected in all the tested commercial kimchi samples were determined to be *Bacillus* spp., and the gram-negative bacteria were determined to be *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Sphingomonas* spp., and *Strenophomonas* spp. The proportions of all the aforementioned bacteria in the kimchi samples, however, were different depending on the samples that were taken. These results indicate that a more sanitary kimchi production process and a more systematic kimchi production manual should be developed to industrialize and globalize kimchi.

Key words : commercial kimchi, microbial community, microbial sanitation, fermentation

서 론

김치는 배추와 무 등의 채소류와 마늘과 고춧가루 등 각종 향신재료가 어우러진 우리나라 고유의 전통식품이며, 유산균에 의한 젖산발효작용으로 독특한 맛과 영양을 지닌 채소발효식품이다(1,2). 김치는 2001년 Codex 국제식품규격 채택(3) 이후 2006년 미국의 건강잡지인 'Health'에서

세계 5대 건강식품으로 선정(4) 되는 등 이제는 우리나라 전통식품에서 더 나아가 국제적인 식품으로도 관심이 점차 높아지고 있다(5). 또한 급속한 경제발전과 핵가족화 그리고 외식 및 단체급식의 증가 등으로 국내에서는 상품김치의 수요가 증가하고 있는 추세이다(6,7).

김치발효는 김치의 원부재료에 존재하는 미생물들에 의하여 발효되는 비살균 자연발효식품이다. 그러므로 김치의 담금 직후부터 발효 및 숙성 과정 동안 김치 환경 내의 미생물의 천이가 일어나, 김치담금 직후에는 호기성 미생

[†]Corresponding author. E-mail : hcchang@chosun.ac.kr
Phone : 82-62-230-7345, Fax: 82-62-222-8086

물이 주종을 이루지만 발효가 진행됨에 따라 점차 혐기적인 유산균이 우점종으로 변하게 된다(8). 김치 발효에 관여하는 미생물은 약 200여종 이상으로 알려져 있으며(8,9) 김치의 주된 발효미생물이 유산균이며 이와 같이 살아있는 유산균을 비타민, 무기질이 풍부한 채소와 함께 섭취할 수 있는 식품이라는 사실이 김치의 차별화된 우수성으로 설명되고 있다(10,11).

Codex의 김치규격에는 미생물학적 기준규격이 별도로 존재하지 않으며 식품위생에 관한 일반원칙에 따라 제조되고 그 기준(CAC/GL21-1997)을 준용하도록 하고 있다(3). 그러나 우리의 김치 수출 대상국 중 중국의 경우에는 자국의 절임 채소류 규정인 ‘중화인민공화국 절임채소 위생기준/GB2714-2003’에 의거하여 김치를 중국에 수출시 100 g당 30마리 이하의 대장균군이 검출되어야 한다고 정하고 있다(12). 중국의 절임채소의 경우 채소를 오랜 기간 소금 절임을 하고 이에 따라 완전히 발효가 종결된 채소를 다시 세척, 절간, 조미 양념, 포장, 살균 등의 과정을 거치므로 우리나라의 장아찌의 제조공정과 유사하다. 그러나 김치는 채소의 과다한 수분을 제거할 만큼만 소금 절임을 시행하고, 이를 세척 후 조미양념을 하여 비타민과 무기질이 풍부한 상태의 채소를 바로 먹거나 발효 숙성하여 먹는 식품이다. 잘 발효된 김치 내에는 살아있는 유산균이 풍부하게 존재한다는 점(13-15)에서 중국의 절임채소나 우리나라 장아찌와는 차별화된 식품이라 할 수 있다. 그러므로 중국의 절임채소 위생기준을 김치에 그대로 적용함은 적합하지 못하다. 김치의 산업화와 그 수출물량이 증가함에 따라 우리의 김치 수출대상국들에서는 김치의 위생성 및 안전성에 대한 관심이 높아지고 중국처럼 자국의 김치 유사식품(절임채소)의 위생기준을 도입시키려 하거나 일본의 과학자는 김치에서 식중독균이 검출되어 인체에 심각한 유해요소가 될 수 있다고 보고(16)한 바 있다.

그동안 김치 내 미생물 분포에 관한 보고로는 미생물 다양성 및 숙성기간에 따른 변화양상(8,13,17-29), 유해세균(식중독균)의 조사(16,30-34) 및 오염지표 미생물(35-37) 등 많은 연구가 있으며, 이 때 사용된 실험적 방법도 미생물 배양방법, 분자생물학적 방법(PCR, 16S rRNA gene 분석법,

PCR-DGGE, T-RFLP 분석기법 등) 등 다양한 분석기법이 사용되었다(13,14,21,24,25,29).

기존의 김치 내 미생물 관련 연구에서 발효숙성 중 미생물학적 변화에 관련된 연구는 주로 유산균의 변화 중심으로 이루어져 있고(10,11,14,25,27,34), 김치 내 유해세균은 주로 식중독균 중심으로 이루어져 있으며(16,30-34,38), 김치 내 미생물학적 연구는 김치 내에서 분리·동정될 수 있는 미생물군중에 대한 연구들(13,24,26)로 이루어져 있다. 국내 시판김치와 관련된 연구로는 시판김치중의 유해세균 조사(34) 및 시판포장김치의 미생물 평가(15,22) 등이 있으며, 이들은 5~9종의 김치를 구입하여 2°C~25°C 등의 온도에서 발효에 따른 미생물 변화를 조사한 바 있다.

그러나 김치는 자연발효 식품으로서 담금시마다 김치 내의 미생물 분포에 차이가 있다. 그러므로 무작위로 한번 시료채취에 의한 시판김치의 미생물조사보다는 특정 시판김치에 대한 반복적 시료채취와 이를 유통과정 중의 온도에 준하여(10°C 내외) 보관하였을 때 김치 내 미생물 평가에 관한 연구가 보다 더 정확한 시판김치의 위생적 측면에서의 미생물학적 수준을 설명할 수 있을 것이다. 식품공전에 따르면 냉장보관 제품의 보존온도는 0°C~10°C로 되어있으며(39), 보다 정확한 김치의 유통온도를 알아보기 위하여 (중)대형마트 5곳의 김치판매대 온도를 측정된 결과 10°C 내외의 온도를 나타내어 본 연구에서 김치발효의 실험온도를 10°C로 설정하였다. 이제 김치는 대량 생산 및 유통이 이루어지는 김치산업으로 거듭 성장하고 있다. 그러므로 현 단계에서 김치 유통에 준한 온도에서 발효초기부터 숙성완료까지의 시판김치의 미생물 분포를 점검해보고 이것과 김치 위생상태 및 안전성과의 상관관계를 유추할 수 있는 객관적 자료를 확보할 필요가 있다.

이에 본 연구에서는 HACCP 인증을 받은 종업인 300인 이상의 대기업김치와 종업인 20여명의 중소기업김치 그리고 동네만찬가게(1인 제조업장)의 김치를 제조사별로 각각 1주 간격으로 3회 구입하여 시료로 확보하고 담금 직후부터 숙성에 이르기까지 김치의 산도변화와 김치 내 미생물의 군총 변화를 조사하였다.

Table 1. Kimchi samples used in this experiment

Manufacturing company	Product name	Unit/ Packing material	Material
Small grocery store	Chinese cabbage pogi-kimchi	4 kg/ transparent vinyl bag	Chinese cabbage, red pepper power, shredded radish, fermented-shrimp sauce, fermented-anchovy sauce, garlic, ginger, green onion, carrot, glutinous rice, salt
Medium sized enterprise	Chinese cabbage pogi-kimchi	4 kg/ Polyethylen bag	Chinese cabbage 70%, red pepper power, shredded radish, fermented-shrimp sauce, sugar, green onion, garlic, onion, fermented-anchovy sauce, salted anchovies, starch syrup, apple, ginger, pear, red-leaf mustard, glutinous rice, sesame, carrot, seatangle extract 0.2%
Large food company	Chinese cabbage pogi-kimchi	4.5 kg/ Polyethylen bag	Chinese cabbage 68.1%, radish, fermented-anchovy sauce, fermented-shrimp sauce, mild-seatangle base, red pepper power, garlic, ginger, green onion, onion, leek(or leaf mustard), rice broth, purified salt, <i>Leuconostoc</i>

재료 및 방법

김치의 준비

본 연구에 사용한 김치는 시중에 판매되는 반찬가게김치, 중소기업김치 그리고 대기업김치 총 3종을 시료로 사용하였다(Table 1). 제조회사별 시판김치는 당일 제조된 김치(4~4.5 kg)로서 구입해온 즉시 500 g씩 멸균된 플라스틱용기(1 L, Nalgene, Rochester, NY, USA)에 나누어 담아 10°C의 저온배양기(HB-103S, Hanbaek, Bucheon, Korea)에서 10일간 발효 특성을 분석하였다. 모든 실험은 구입 시료별로 각각 3번씩 반복 실험을 수행하였다.

pH 및 산도의 측정

김치는 hand blender (HHM-600, Hanil, Seoul, Korea)로 김치 내용물 전체를 마쇄하여 멸균거즈로 여과한 김치여액을 실험에 사용하였다. 김치의 pH는 김치여액을 pH meter (Denver, Arvada, CO, USA)를 사용하여 측정하였고, 산도는 AOAC법(40)법에 의해 김치여액 10 mL에 0.1 N NaOH 용액을 적정하여 pH 8.3이 되도록 하여 0.1 N NaOH의 적정 소비량(mL)를 측정 후, 다음 계산식에 의해 총산량(total acidity, %, w/w)을 구하였다. 총산(%) = 0.1 N NaOH 용액의 소비량(mL) × 0.1 N NaOH 용액의 factor × 0.1 N NaOH 용액의 1 mL에 상당하는 유기산 계수(젓산인 경우 0.009).

염도 및 당도의 측정

김치의 염도는 김치여액을 염도계(ES-421, Atago, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였고, 김치당도는 당도계(Misco, Cleveland, OH, USA)를 사용하여 측정하였다.

미생물의 분리

김치시료는 각각 1주 간격으로 3회 구입하고 모든 실험은 구입 시료별로 각각 3번씩 반복 실험을 수행하였으며, 실험구당 2번씩 각각 희석하여 아래의 6종류의 평판배지에 도말하였다(시료 3종 × 구입횟수 3회 × 3회 반복 실험 × 희석 2회 반복(×10¹~10⁷ 희석배율) × 6 종류 배지 = 총 2,268 plates). 김치시료는 마쇄하여 멸균거즈로 거른 김치여액을 멸균수로 10배씩 희석하여 각각의 평판배지에 도말하여 30°C와 37°C에서 2~3일간 배양하였다. 배양된 배지 중 집락의 모양이 명확히 분리되어 100개 이하의 집락을 형성한 각 평판배지에서, 외관상 색깔과 모양이 차이가 나는 집락을 plate당 약 30개씩 총 9,720개를 순수 분리하여 미생물 분석 및 동정을 수행하였다.

미생물 분석 및 동정

김치 내 미생물을 분석하기 위해 6종의 배지를 사용하였다. 총균수는 PCA (Plate Count Agar, Merck, Darmstadt, Germany)배지, 젓산균수는 MRS (de Man, Rogosa and

Sharpe: Difco, Sparks, NV, USA)고체배지와 CaCO₃가 2% (w/v) 첨가된 MRS 고체배지를, 대장균 및 대장균군을 포함한 gram-negative 세균수는 Chromocult agar (Coliform Agar, Merck, Darmstadt, Germany)배지, 그리고 효모수는 YPD (Yeast extract-Peptone-Dextrose: Difco, Sparks, NV, USA)고체배지를 사용하였다. 또한 김치 내 유산균 외 gram-positive 세균수는 LB (Luria-Bertani: Difco, Sparks, NV, USA) 고체배지를 사용하였다. 각각의 배지에서 분리된 집락은 각각의 배지에서 배양학적 특성, 그람염색, catalase 반응, 광학현미경(Nicon, Tokyo, Japan)하에서 형태학적 관찰 등을 통하여 최종 젓산균, 대장균군을 포함한 그람음성균, 효모, 젓산균 외 그람양성균 등으로 판정하였다. 김치의 발효 속성 과정 중 나타나는 유산균 외 그람양성 세균과 대장균 및 대장균군을 포함한 그람음성 세균의 동정을 위하여 16S rRNA 염기서열을 결정하고(Macrogen, Seoul, Korea), 결정된 염기서열은 NCBI (National Center for Biotechnology Information)에 등록된 염기서열 정보를 대상으로 nucleotide blast search program (41)을 통해 분석을 수행하였다.

통계처리

자료분석은 SPSS 17.0 statistics 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며, 각 변수에 대해 One-way ANOVA를 이용하였다. 사후검정으로 Duncan's multiple range test를 적용하였으며, 가설검증 수준은 p<0.05로 하였다.

결과 및 고찰

pH 및 산도의 변화

대형유통마트에서 시판김치의 김치판매대의 온도가 10°C 내외인 점을 감안하여 제조회사별 시판김치는 구입 후 10°C에서 저장하면서 김치의 pH와 산도의 변화를 관찰하였다(Fig. 1). 반찬가게김치, 중소기업김치, 대기업김치 3종 모두 구입당일 pH는 각각 5.87, 5.82, 5.88로 비슷한 수치를 나타내었다. 시판김치 3종 모두 10°C에서 발효시간이 경과됨에 따라 pH는 감소하는 경향을 나타내었다. 반찬가게김치와 중소기업김치는 발효 2일에 pH가 5.63, 5.80으로 pH 변화가 완만하였으나 이후 급격히 감소하여 발효 10일에 pH 4.14와 4.08을 나타내었다. 그러나 대기업김치는 발효 2일부터 pH가 급격히 감소하는 경향을 나타내었다가 발효 6일부터는 다소 완만한 pH 저하를 나타내어 발효 10일에는 pH 4.08를 나타내었다. 발효가 완료된 후(10일 경과)의 모든 시판김치의 pH는 4.1 부근으로 나타남을 알 수 있었다.

김치의 구입당일 산도는 대기업김치가 0.27%로 가장 낮았고, 반찬가게김치와 중소기업김치는 각각 0.36%, 0.33%

로 비슷한 수치를 나타내었다. 시판김치 3종 모두 10°C에서 발효시간이 경과됨에 따라 산도는 모두 증가하는 경향을 나타내었다. 대기업김치가 다른 시판김치에 비해 발효초기에 다소 빠른 산도증가를 나타내지만 발효 6일경부터는 모두 비슷한 산도에 이르러 발효 10일에 반찬가게김치, 중소기업김치, 대기업김치의 산도는 1.10%, 1.12%, 1.07%로 모두 1.1% 정도의 산도를 나타내었다. 이와 같은 김치의 pH와 산도의 변화는 김치유산균의 증식과 관련된 것으로 대기업김치는 발효초기 다소 빠른 pH와 산도 변화를 보이거나 발효중기(6일차)부터 완만한 변화를 나타내었으며, 다른 시판김치는 처음에는 다소 완만한 pH와 산도변화를 일으키나 이후 급격히 변화를 나타내어 발효가 완료된 최종 pH와 산도는 모두 비슷한 수치를 보이는 차이를 나타내었다.

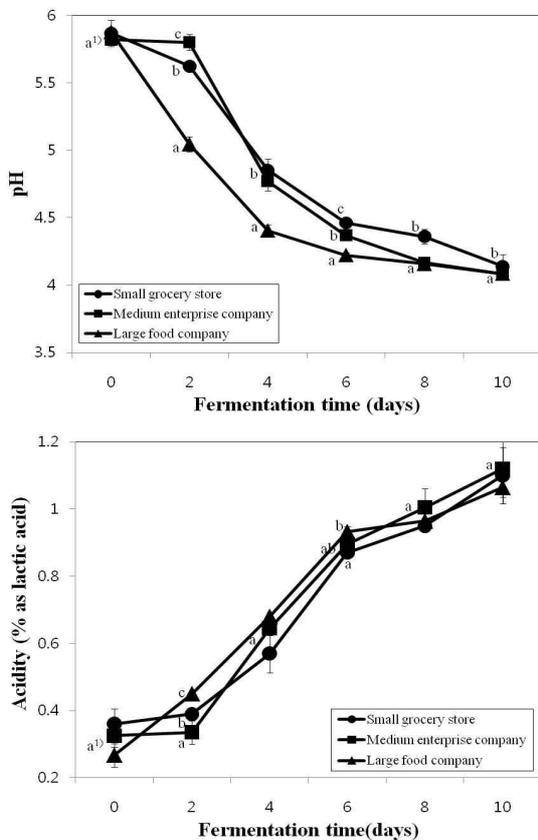


Fig. 1. Changes of pH and acidity of the commercial kimchi.

All kimchi samples were fermented at 10°C.

Values are means±SD (n≥9).

^{1)a,b,c} Different superscripts indicate significant differences at p<0.05 on the same day by Duncan's multiple range test.

염도 및 당도

제조회사별 시판김치의 염도 측정 결과 반찬가게김치, 중소기업김치 그리고 대기업김치의 염도는 각각 2.72±0.28%, 2.90±0.21%, 2.66±0.21%를 나타내어 중소기업김치가 다른 시판김치보다 다소 높은 염도를 나타내

었다.

제조회사별 시판김치의 당도 측정 결과 반찬가게김치, 중소기업김치, 대기업김치의 당도는 각각 15.15±2.43 brix, 12.37±1.56 brix, 13.50±1.57 brix로서 반찬가게김치가 다소 높은 당도를 나타내고 시료별 당도의 차이도 가장 크게 나타났다.

총 균수의 변화

제조회사별 시판김치를 10°C에서 10일간 저장하는 동안 김치 내 총균수의 변화는 Fig. 2에 나타내었다. 반찬가게김치, 중소기업김치의 총균수는 구입당일에 각각 6.48 log CFU/mL와 5.93 log CFU/mL였으며, 대기업김치는 구입당일 6.95 log CFU/mL가 검출되었다. 김치제조 시 김치유산균을 사용하지 않은 반찬가게김치와 중소기업김치는 발효 후 2~4일 사이에 총균수의 증가가 가장 왕성하여(8.45~8.86 log CFU/mL), 발효 후 6~8일경 최고 균수에(9.07~9.12 log CFU/mL) 도달하였으며 그 후 점차 감소하는(8.78~8.82 log CFU/mL) 경향을 나타내었다. 김치제조 시 김치유산균을 사용한 대기업김치는 발효 2일까지 총균수 증식이 가장 빨리 일어났으며(8.55 log CFU/mL) 그 후 서서히 증가하여 발효 6일에 최고 균수에(8.94 log CFU/mL) 도달하였으며 그 후 약간의 감소 경향을 나타내었다.

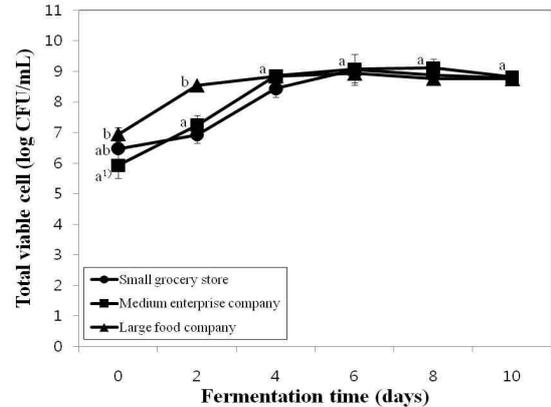


Fig. 2. Changes of total viable cell counts in the commercial kimchi samples.

All kimchi samples were fermented at 10°C.

Values are means±SD (n≥9).

^{1)a,b,c} Different superscripts indicate significant differences at p<0.05 on the same day by Duncan's multiple range test.

유산균 수의 변화

반찬가게김치, 중소기업김치의 유산균수는 구입당일에 각각 5.32 log CFU/mL와 4.78 log CFU/mL였으며, 대기업김치는 6.30 log CFU/mL로 3종의 시판김치 중 대기업김치가 가장 높은 유산균수를 나타내었다(Fig. 3). 이는 대기업김치의 김치 유산균 사용에 따른 결과로 보여진다. 발효에 따른 유산균수의 변화를 살펴보면 대기업김치는 발효 시작부터 시간이 경과함에 따라 급속히 증식하여 발효 2일째

7.77 log CFU/mL, 발효 6일째 8.81 log CFU/mL로 최대 유산균수를 나타내다 이후 아주 서서히 감소하였다. 반찬가게김치는 발효 2일째는 6.06 log CFU/mL, 발효 8일째 최대 유산균수 8.65 log CFU/mL를, 중소기업김치는 발효 2일째 6.45 log CFU/mL, 발효 6일째 최대 유산균수 8.79 log CFU/mL를 나타내었으며 이후 다소 감소하였다(Fig. 3). 이상의 결과로부터 김치에 유산균을 접종 시 김치 발효 초기부터 보다 더 빠른 유산균의 증식이 일어나지만 발효가 종결된 최종단계에는 김치유산균을 사용하여 발효된 김치이든 자연발효김치이든 유산균의 숫자가 거의 일정함을 알 수 있다.

이와 같은 결과는 pH 및 산도변화 실험결과와 일치하는 것으로서 대기업김치는 김치유산균을 사용함으로써 초기 첨가된 김치유산균의 빠른 증식에 의한 결과로 다른 시판김치 보다 발효초기 다소 빠른 산도와 pH 변화를 일으키며, 이후 김치 발효말기(발효 10일경)에 접어들어서는 자연발효된 균주를 사용한 발효된 모든 김치의 유산균 증식이 정지기에 도달함으로써 유산균의 숫자가 거의 일정하여지고 이에 따라 3종의 시판김치의 최종 pH와 산도가 모두 비슷한 수치를 보이는 것으로 설명할 수 있다.

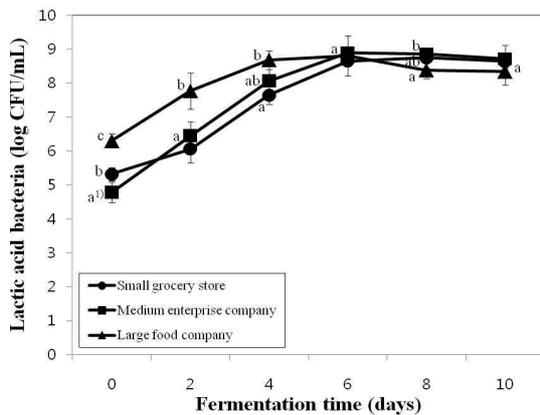


Fig. 3. Changes of the lactic acid bacteria cell number in the commercial kimchi samples.

All kimchi samples were fermented at 10°C.

Values are means±SD (n≥9).

^{1)a,b,c} Different superscripts indicate significant differences at p<0.05 on the same day by Duncan's multiple range test.

유산균 외 그람양성 세균수의 변화 및 동정 결과

김치에 존재하는 유산균 외 그람양성 세균수를 측정하기 위하여 일차적으로 LB배지에서 자란 집락을 그람염색하고 현미경으로 관찰하여 그람양성인 집락 중 catalase 양성인 균주를 계수하였다(Fig. 4). 반찬가게김치의 유산균 외 그람양성 세균수는 구입당일과 발효 2일에 각각 6.45, 6.49 log CFU/mL를 나타내어 3종류의 시판김치 중 가장 높은 수치를 나타내었으며 이후 서서히 감소하여 발효 10일에 4.67 log CFU/mL를 나타내었다. 중소기업김치의 유산균 외 그람양성 세균수는 구입당일 5.87 log CFU/mL, 발효 10일에

는 5.85 log CFU/mL로 거의 비슷한 수준의 균수를 나타내었다. 대기업김치의 구입당일 유산균 외 그람양성 세균수는 4.36 log CFU/mL로 시판김치 중 가장 낮은 수치를 나타내었으며, 발효 10일에는 4.17 log CFU/mL로 발효진행에 따른 변화는 미미한 것으로 나타났다. 시판김치에 존재하는 유산균 외 그람양성세균은 16S rRNA 염기서열 분석(약 1,450 bp)을 통한 동정결과 약 97~99% 상동성으로 모두 *Bacillus* 속으로 규명되었다. 규명된 *Bacillus* 속의 종(genus) 까지 동정하였을 때 시판김치제조사에 따라 그 분포는 다소 상이하나, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. altitudinis* 그리고 *B. pumilus*가 공통적으로 검출되었다. 반찬가게김치에서는 구입당일에서 발효가 완료된 후 유산균 외 그람양성세균의 세균수가 약 2 log CFU/mL 감소되었다, 이는 김치발효숙성 중 생성된 김치유산균과 유기산에 의한 초기 그람양성세균의 사멸에 의한 감소현상으로 보여 진다(13). 중소기업김치와 대기업김치에서는 이들 *Bacillus* 속 균들은 구입 당일 김치시료에서부터 10일간 발효가 진행되는 동안에도 균수의 감소현상 없이 거의 비슷한 수준의 균수가 검출되는 경향을 나타내었다.

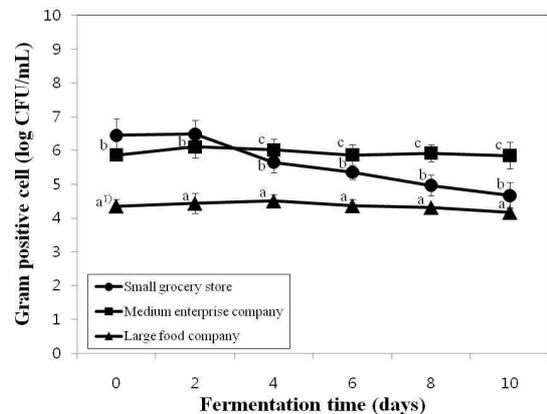


Fig. 4. Changes of gram-positive bacteria counts in the commercial kimchi samples.

All kimchi samples were fermented at 10°C.

Values are means±SD (n≥9).

^{1)a,b,c} Different superscripts indicate significant differences at p<0.05 on the same day by Duncan's multiple range test.

이와 같이 김치에서 검출되는 유산균을 제외한 그람양성균의 대부분이 *Bacillus*라는 결과는 Lee 등(23)의 연구에서도 보고된바 있다. Lee 등(24)은 16S rRNA 유전자 분석을 통하여 pH 5.0 이상의 발효초기 김치에 존재하는 미생물의 분포를 조사하였을 때, 그람음성균은 17.0%, 그람양성균은 83.0%를 차지하며, 그람양성균의 분포를 세분화해보면 유산균 31.9%, *Bacillus* 속 45.6%, 기타 5.5%로 조사되었다. Lee 등(24)은 이와 같이 김치발효 초기에 유산균보다 *Bacillus* 속이 검출빈도가 가장 높은 것은, 원료에서 유래하는 토양 유래 세균이 발효초기 우점하는 것으로 평가하였다. 그러나 본 연구 결과를 살펴보면, 유산균을 종균으로

사용하는 대기업김치는 발효초기에는 유산균의 분포가 유산균 외 그람양성균(*Bacillus* 속)수보다 더 높으며, 중소기업 및 동네반찬가게 김치에서는 Lee 등(24)의 연구결과와 유사하게 유산균보다 *Bacillus* 속의 검출빈도가 더 높게 나타났다(Fig. 3,4). 그러나 김치의 산도가 pH 5.0이하로 떨어지는 발효중기로 들어서면 모든 김치시료에서의 유산균이 가장 높은 빈도로 검출(Fig. 3,4)됨을 알 수 있었다.

대장균 및 대장균군을 포함한 Gram-negative 세균수의 변화 및 동정 결과

김치에 존재하는 그람음성세균의 분리 및 동정을 위하여 일차적으로 대장균 및 대장균군 검출배지인 chromocult agar에서 자란 집락을 그람염색 및 현미경 관찰을 통한 형태학적 특성을 조사하여 분리한 후 계수하였다. 제조사별 시판김치를 10°C에서 10일간 저장하는 동안 김치 내 대장균 및 대장균군을 포함한 그람음성 세균수의 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 구입당일 반찬가게김치에서 그람음성 세균수는 5.61 log CFU/mL로 가장 높은 수가 검출되었고, 중소기업김치와 대기업김치에는 각각 4.72 log CFU/mL, 4.64 log CFU/mL로 비슷한 수가 검출되어 반찬가게김치가 중소기업김치나 대기업김치보다 약 1 log CFU/mL 정도 더 높은 그람음성 세균수가 검출됨을 알 수 있었다. 3종류의 시판김치 모두 그람음성 세균수는 발효시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 반찬가게김치의 그람음성 세균수는 발효시간이 경과함에 따라 서서히 감소하였으나 발효 10일에도 2.83 log CFU/mL가 검출되었다. 그러나 중소기업김치 내 그람음성 세균수는 발효 4일 이후 급격히 감소하여 발효 6일에 2.72 log CFU/mL, 발효 8일부터는 검출되지 않았다. 또한 대기업김치 내 그람음성 세균수는 발효 2일째 3.01 log CFU/mL로 급속히 감소하였으며 이후 계속 감소되어 발효 8일부터는 검출되지 않았다.

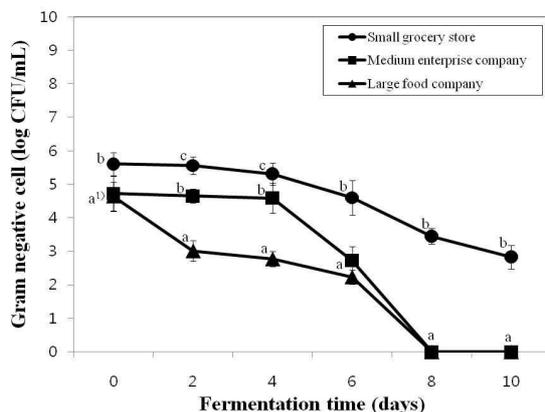


Fig. 5. Changes of total gram-negative bacteria counts in the commercial kimchi samples.

All kimchi samples were fermented at 10°C.

Values are means±SD (n≥9).

^{1)a,b,c} Different superscripts indicate significant differences at p<0.05 on the same day by Duncan's multiple range test.

기존의 연구(15,31)에서와 마찬가지로 본 연구에서도 발효기간의 경과와 김치산도의 상승에 따라 대장균 및 대장균군을 포함한 그람음성균수의 급격한 감소를 관찰할 수 있었다. 그러나 반찬가게김치는 구입당일 두 제조회사(중소기업김치, 대기업김치)의 김치보다 대장균 및 대장균군의 초기균수가 더 많이 존재함으로써 발효기간이 경과함에 따라 감소하기는 하였으나 발효 10일에도 여전히 검출되었다. 이는 결국 생산자에 따른 담금초기의 청결수준 즉, 원·부재료의 세척 및 위생적관리, 작업환경의 위생관리 등에 차이가 있음을 추정할 수 있다.

시판김치에 존재하는 대장균 및 대장균군을 포함한 그람음성세균의 16S rRNA 염기서열(약 1,450 bp) 분석을 통한 동정결과 99% 상동성으로 *Escherichia coli*, *Enterobacter* 속, *Shingomonas* 속, *Stenotrophomonas* 속 등이 모든 김치시료에서 공통적으로 검출되었으며, 그 분포는 시판김치에 따라 다소 상이하였다(Table 2). 앞선 총균수 실험(Fig. 2)에서 대기업김치에서 초기균수가 다른 김치보다 높은 이유는 대기업김치에서는 김치유산균을 사용하기 때문이지만, 반찬가게김치의 총균수가 높은 이유는 유산균 외 그람양성균과 그람음성균의 초기균수가 타사의 김치시료보다 높은 것 때문으로, 이와 같은 유산균 외 총균수의 높은 검출은 김치 원부재료의 위생적 관리가 다른 김치에서보다 떨어지기 때문으로 생각되어 진다. Kwon과 Kim (15) 역시 6종의 시판김치를 4°C에서 15일 동안 pH 3.9~4.3에 도달할 때까지 보관하며 미생물의 분포를 조사하였을 때 모든 시료에서 식중독균은 검출되지 않았으나 6종의 시료 중 2종의 시료에서 *E. coli*가 검출되어 김치의 위생적 관리가 개선되어야 한다고 보고한 바 있다.

Table 2. Identification of the gram-negative bacteria including coliform-bacteria from the freshly made commercial kimchi using 16S rRNA sequence determination.

Proportion of the isolated genera	Manufacturing company (%)		
	Small grocery store	Medium sized enterprise	Large food company
<i>Shingomonas</i> ssp.	16.61±2.82	8.45±1.48	4.05±0.35
<i>Stenotrophomonas</i> ssp.	28.92±2.12	34.10±9.33	37.95±8.84
<i>Enterobacter</i> ssp.	33.19±0.35	35.57±6.15	38.05±6.71
<i>Escherichia coli</i>	5.95±0.35	5.12±1.69	2.40±0.14
Others	15.33±1.45	16.76±2.33	17.55±2.76

This experiment was carried out as soon as the kimchi samples were bought without fermentation.

Values are means±SD (n≥3).

효모수의 변화

제조회사별 시판김치를 10°C에서 10일간 저장하는 동안 김치 내 효모수의 변화는 Fig. 6에 나타내었다. 구입당일 중소기업김치와 대기업김치에서는 효모가 검출되지 않았

으나 반찬가게김치에서는 1.31 log CFU/mL가 검출되었다. 10°C에서 발효기간이 경과함에 따라 반찬가게김치의 효모는 초기 1.31 log CFU/mL에서 점차 증가하여 발효 10일에 5.64 log CFU/mL를 나타내었다. 중소기업김치는 발효 2일에 1.89 log CFU/mL가 검출되었으며, 이후 증가하여 발효 10일에 6.65 log CFU/mL를 나타내었다. 대기업김치는 발효 6일까지 효모가 검출되지 않았으나 발효 8일과 발효 10일에는 각각 2.45, 2.97 log CFU/mL가 검출되었다. 김치가 익어감에 따라 산도저하와 함께 효모가 검출되는 대기업김치의 효모수의 변화와 달리 반찬가게김치와 중소기업김치에서는 산도 0.36%이하인 익지 않은 김치에서도 효모가 검출되었다.

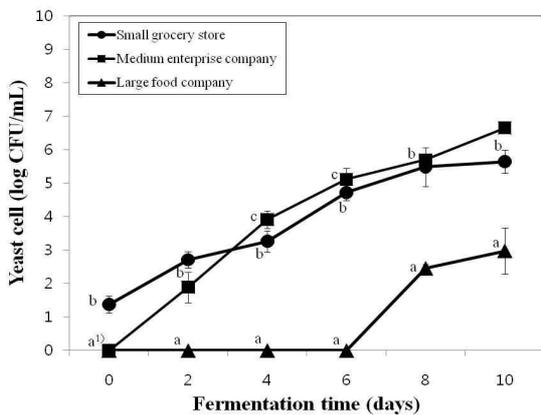


Fig. 6. Changes of yeast counts in the commercial kimchi samples.

All kimchi samples were fermented at 10°C.

Values are means±SD (n≥9).

^{1a,b,c} Different superscripts indicate significant differences at p<0.05 on the same day by Duncan's multiple range test.

김치는 발효숙성에 따라 알맞게 익었을 때는 heterofermentative type의 유산균이 우점을 이루며 homofermentative type의 유산균이 우점으로 바뀌면서 보다 더 신 김치맛을 나타내며 (8), 이후 김치발효 말기에는 산막효모가 검출되면서 김치 표면에 흰 반점에서부터 더 나아가 흰 피막이 형성되고 이때 김치연부현상과 이취가 동시에 생성되게 된다(8). 본 실험에서는 1주 간격으로 3회에 걸쳐 김치시료를 구입하였다. 반찬가게김치의 미생물 분석시 익지 않은 김치에서 김치발효 말기에 검출되는 산막효모가 반복적으로 검출된다는 것은 김치제조 사용 후 남은 김치양념을 보관하였다가 다음 번 김치제조 batch에 다시 혼합하여 사용하는 것 때문으로 추정된다. 즉 숙성정도가 다른 김치양념을 김치제조 시 혼합하여 사용함으로써 이와 같은 결과가 발생한 것으로 보여진다. 이와 같은 결과는 김치의 위생 상태와 유관한 부분으로 반찬가게김치나 중소기업김치의 원·부재료 관리 및 그 위생상태가 다소 떨어짐을 의미한다.

이상의 실험결과로부터 제조사별 김치의 위생상태를 살펴보면 반찬가게김치의 위생상태가 가장 떨어지며 김치의

당도 및 염도 차이도 시료별로 가장 큼을 알 수 있었다. 그러므로 관능적으로 우선 맛이 있다고 느끼는 부분과 실제 위생상태는 일치하지 않을 수도 있다는 사실을 소비자가 무심히 인지하지 못할 수도 있으며, 이러한 부분은 소규모 생산 판매시에는 허용될 수 있으나 대량 생산 및 유통 시스템하에서는 용인될 수 없는 부분이다. 우리가 간혹 생김치를 구매하여 냉장고에 보관하였을 때 불과 1주일 이내에 곰팡이처럼 김치위에 흰 반점이 생기는 현상을 관찰할 수 있다. 이와 같은 흰 반점은 산막효모로서 김치의 상품가치를 크게 손상시킬 수 있으며, 수출물량에서 이와 같은 효모가 김치에서 검출 시 전량 반품으로 이어진다. 그러므로 소규모 김치 생산자가 대규모 김치 생산 및 유통으로 발전하고자 할 때는 관능적으로 당장 소비자가 느낄 수 없는 부분이라 하더라도 보다 체계적이고 매뉴얼화된 객관적 김치생산 시스템을 도입해야 함을 알 수 있었다.

본 실험에 사용된 김치시료가 우리나라 반찬가게김치, 중소기업김치, 대기업김치의 대표나 평균이 되는 것은 아니다. 다만 본 연구결과에서 김치산업체 규모별 한국적 무작위로 김치제조사를 선정하여 실험을 수행하였으며, 본 연구결과는 우리나라 김치산업의 김치 품질수준의 단면을 보여주는 것에 그 의의가 있다고 할 것이다. 일본의 Inatsu 등(16)은 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* 등의 식중독균이 10°C에서 7일간 발효된 김치에서도 잘 생존할 수 있으므로 김치의 제조과정 중 이들 유해 식중독 세균이 교차감염될 수 있어 잠재적 유해요소가 될 수 있다고 보고한 바 있다. 그러나 본 실험결과에서와 Kwon과 Kim (15)의 보고에서는 우리나라 시판김치에서 어떠한 식중독균도 검출되지 않아 김치산업체의 위생현황이 식중독균이 검출될 수 있을 정도로 열악하지는 않다고 판단된다. 이제 김치가 집안의 반찬에서 국제화를 꾀하는 김치산업으로 도약하려 한다. 김치가 산업으로 자리매김하기 위하여는 품질의 일정성, 보다 강도 높은 위생적 관리 및 제조시스템의 확립이 꼭 필요하며 이와 같은 관리는 주먹구구식의 생산관리가 아닌 매뉴얼화된 전 제조공정 확립과 관리가 꼭 필요함을 본 실험결과가 제시하고 있다.

요 약

국내 김치 산업체의 김치위생상태 현황을 조사하기 위하여 반찬가게김치, 중소기업김치, 대기업김치를 10°C에서 10일간 발효하면서 발효시간에 김치의 일반특성 및 미생물 균총 변화를 조사하였다. 3종류 시판김치의 구입당일 pH는 평균 5.8에서 발효 10일에는 pH 4.1 부근으로 감소하였으나, 대기업김치가 다른 시판김치에 비해 발효초기 급격한 pH 감소를 나타내었다. 시판김치의 구입당일 산도는 대기

업김치가 다른 두 종류의 시판김치보다 낮았으나, 발효 10 일에는 세 종류의 시판김치 모두 1.1% 정도의 산도를 나타내었다. 시판김치의 염도는 중소기업김치가 다른 두 시판김치보다 다소 높은 농도를 나타내었으며, 시판김치의 당도는 반찬가게김치가 중소기업김치와 대기업김치보다 다소 높은 당도를 나타내고 시료별 당도 차이도 크게 나타났다. 시판김치의 구입당일 총균수와 유산균의 수는 대기업김치가 다른 두 시판김치에 비해 높은 수가 검출되었으며 발효 초기에 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. 구입당일 시판김치 내 유산균외 그람양성 세균수는 반찬가게김치가 가장 많이 검출되었으며 중소기업김치, 대기업김치 순이었으며, 발효 10일까지 거의 비슷한 수준의 균수가 검출되었다. 시판김치의 구입당일 대장균 및 대장균군을 포함한 그람음성 세균수는 반찬가게김치가 가장 높게 검출되었으며 중소기업김치, 대기업김치 순으로 나타났다. 반찬가게김치의 그람음성 세균수는 발효가 진행됨에 따라 서서히 감소하였으나 발효 10일까지도 검출된 반면, 중소기업김치와 대기업김치는 발효 8일부터는 검출되지 않았다. 김치가 과숙됨에 따라 산도 저하와 함께 검출되는 효모는 산도 0.36%이하의 익지 않은 반찬가게김치(구입당일)와 중소기업김치(발효 2일차)에서도 검출되었으나, 대기업김치는 산도가 0.96% 이상인 발효 8일째부터 검출되었다. 제조회사별 김치에 존재하는 유산균을 제외한 그람양성균으로는 *Bacillus* 속이, 그람음성균으로는 *E. coli*, *Enterobacter* 속, *Sphingomonas* 속, *Stenotrophomonas* 속 등이 공통적으로 검출되었으며 그 분포는 시판김치에 따라 다소 상이하였다. 이상의 결과로부터 김치의 세계화와 김치의 산업화를 위해서는 김치의 제조관리에 보다 위생적이며 체계적으로 매뉴얼화된 생산공정 확립과 관리가 필요함을 알 수 있다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 식품기술개발사업에 의한 연구비로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Lee CH (1986) Kimchi; Korean fermented vegetable foods. Korean J Dietary Culture, 1, 395-402
- Ku KH, Sunwoo JY, Park WS (2005) Effects of ingredients on the its quality characteristics during kimchi fermentation. J Korean Soc. Food Sci Nutr, 34, 267-276
- Codex. Codex: Alimentarius Commission Codex standard for kimchi. Codex Stan 223. (2001)
- USA. Health magazine: Available from <http://eating.health.com>. Updated Feb. 1, (2008)
- Jeon CG (2009) Marketing analysis of the imported kimchi and challenges for the domestic kimchi industry. Korean J Food Marketing Economics, 26, 79-101
- Kim OS, Joo NM (2007) A study on purchasing current status and promotion factors for commercial kimchi of women in seoul area. Korean J Food Culture, 22, 167-175
- You JH, Shin MJ, and Choi SK (2008) Importance and satisfaction with selection attributes when purchasing kimchi. J East Asian Soc Dietary Life, 18, 624-632
- Shin DH, Kim MS, Han JS, Lim DK, Bak WS (1996) Changes of chemical composition and microflora in commercial kimchi. Korean J Food Sci Technol, 28, 137-145
- Han HU, Lim CR, Park HK (1990) Determination of microbial community as an indicator of kimchi fermentation. Korean J Food Sci. Technol, 22, 26-32
- Jeon YS, Kye IS, Cheigh HS (1999) Changes of vitamin C and fermentation characteristics of kimchi on different cabbage variety and fermentation temperature. J Korean Soc Food Sci Nutr, 28, 773-779.
- Rhee HS, Lee CH, Lee GJ (1987) Changes in the chemical composition and textural properties of Korean cabbage during salting. Korean J Soc Food Sci, 3, 64-70
- Korea. Nongmin newspaper: Available from http://www.nongmin.com/article/ar_detail.htm?ar_id=164547&subMenu=articletotal. Accessed July. 31 (2009)
- Kim MJ, Chun JS (2005) Bacterial community structure in kimchi, a korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. Int J Food Microbiol, 103, 91-96
- Ko JL, Oh CK, Oh MC, Kim SH (2009) Isolation and identification of lactic acid bacteria from commercial kimchi. J Korean Soc Food Sci Nutr, 38, 732-741
- Kwon EA, Kim MH (2007) Microbial evaluation of commercially packed kimchi products. Korean Food Sci Biotechnol, 16, 615-620
- Inatsu Y, Bari ML, Kawasaki S, Isshiki K (2004) Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* in kimchi. J Food Prot, 67, 1497-1500
- Shin DH, KIM MS, Han JS, Lim DK, Park WS (1996) Changes of chemical composition and microflora in commercial kimchi. Korean J Food Technol, 28, 137-145
- Ahn DK, Han TW, Shin HY, Jin IN, Ghim SY (2003) Diversity and antibacterial activity of lactic acid bacteria

- isolated from kimchi. Korean J Microbiol Biotechnol, 31, 191-196
19. Choi EH, Kim YB, Lee SR (1977) Isolation of microorganisms from red pepper powder and their radiosensitivity. Korean J Food Sci Technol, 9, 205-210
 20. Choi KC (1978) Studies on the yeasts isolated from kimchi. Korean J Microbiol, 16, 1-10
 21. Kim HS, Jeong YS (1966) Identification of the aerobic bacteria isolated from kimchi and laver. J Korean Soc Appl Biol Chem, 3, 19-24
 22. Ko JL, Oh CK, Oh MC, Kim SH (2009) Isolation and identification of lactic acid bacteria from commercial kimchi. J Korean Soc Food Sci Nutr, 38, 732-741
 23. Lee CW, Ko CY, Ha DM (1992) Microfloral changes of the lactic acid bacteria during kimchi fermentation and identification of the isolates. Korean J Appl Microbiol Biotechnol, 20, 102-109
 24. Lee MJ, Cho KH, Han ES, Lee JH (2010) Bacterial diversity in the initial fermentation stage of Korean and Chinese kimchi. Korean J Microbiol Biotechnol. 38, 207-215
 25. Lee JS, Heo GY, Lee JW, Oh YJ, Park JA, Park YH, Pyun YR, Ahn JS (2005) Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. Int J Food Microbiol, 102, 143-150
 26. Lim CR, Park HK, Han HU (1989) Reevaluation of isolation and identification of gram-positive bacteria kimchi. Korean J Microbiol, 27, 404-414
 27. Park JA, Heo GY, Lee JS, Oh YJ, Kim BY, Mheen TI, Kim CK, Ahn JS (2003) Changes of microbial communities in kimchi fermentation at low temperature. Korean J Microbiol, 39, 45-50
 28. Shim SM, Lee JH (2008) PCR-based detection of lactic acid bacteria in Korean fermented vegetables with recA gene targeted species-specific primers. Korean J Microbiol Biotechnol, 36, 96-100
 29. Shim SM, Lee JH (2008) Evaluation of lactic acid bacteria community in kimchi using terminal-restriction fragment length polymorphism analysis. Korean J Microbiol Biotechnol, 36, 247-259
 30. Kim YS, Zheng ZB, Shin DH (2008) Growth inhibitory effects of kimchi(Korean traditional fermented vegetable product) against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*. J Food Prot, 71, 325-332
 31. Lee JK, Jung DW, Kim YJ, Cha SK, Lee MK, Ahn BH, Kwak NS, Oh SW (2009) Growth inhibitory effect of fermented kimchi on food-borne pathogens. Korean Food Sci Biotechnol, 18, 12-17
 32. Lee SH, Kim MK, Frank JS (1995) Growth of *Listeria monocytogenes* Scott A during kimchi fermentation and in the presence of kimchi ingredients. J Food Prot, 58, 1215-1218
 33. Park YS, Lee SR, Kim YG (2006) Detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in kimchi by multiplex polymerase chain reaction(mPCR). J Microbiol, 44, 92-97
 34. Shin SM, Park JY, Kim EJ, Hahn YS (2005) Investigation of some harmful bacteria in commercial kimchi. Korean J Food Cookery Sci 21, 195-200
 35. Kim ID, Park MJ, Kim SD (1997) Changes in coliform bacteria during fermentation of kimchi. Korean J Food Sci Technol, 9, 71-73
 36. Kim JG, Yoon JS (2005) Changes of index microorganism and lactic acid bacteria of Korea fermented vegetables (kimchi) during the ripening and fermentation-part 1. Korean J Env Hlth, 30, 79-85
 37. Park MJ, Kim SD, Kim MK, Kim ID (1997) Microbial contamination of materials, washing of Chinese cabbage by ozon treatment and fermentation of kimchi. Korean J Food Sci Technol, 9, 25-32
 38. Chung CH, Kim YS, Yoo YJ, Kyung KH (1997) Presence and control of coliform bacteria in kimchi. Korean J Food Sci Technol, 29, 999-1005
 39. KFDA (2011) Food code. Korean Food & Drug Administration, Seoul, Korea
 40. AOAC (1995) Official Methods of Analysis. 16th ed, Association of official analytical chemists, Washington DC, USA.
 41. USA (2010) National Center for Biotechnology Information: Nucleotide Blast Search Program, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>