

혼합 스타터를 이용한 묵은지의 제조 및 발효 특성

김효주 · 신현경 · 양은주[†]

전남식품산업연구소

Production and Fermentation Characteristics of Mukeunji with a Mixed Starter

Hyo Ju Kim, Hyun-Kyung Shin, and Eun Ju Yang[†]

Jeonnam Biofood Technology Center, Jeonnam 520-330, Korea

ABSTRACT To develop a starter culture system for the fermentation of mukeunji, we introduced lactic acid bacteria and yeast isolated from mukeunji into kimchi fermentation as a single or a mixed culture. On evaluating mukeunji flavor, we found that the mixed starter kimchi prepared with two strains, ML17 and MY7, gave the best sensory score. These strains were identified as *Lactobacillus (Lb.) curvatus* ML17 and *Saccharomyces (S.) servazzii* MY7 by molecular identification method. The fermentative characteristics of starter kimchi were investigated by measuring changes in the physicochemical and microfloral characteristics during the fermentation. The decrease in pH and increase in acidity in the starter kimchi were faster compared to respective values of control kimchi. There was a gradual decrease in hardness of starter kimchi, which was still slow compared to hardness decrease in control kimchi. Microbial analysis of starter kimchi revealed that *Lb. curvatus* ML17 and *S. servazzii* MY7 were the dominant organisms during the entire fermentation period. The lactic acid and citric acid contents of starter kimchi were higher than those of the control kimchi after 90 days of fermentation. By sensory evaluation, the starter kimchi scored higher in appearance, mukeunji flavor, sourness, carbonated flavor, savory taste, texture, and overall acceptability, but lower in off-flavor than the control kimchi.

Key words: mukeunji, mixed starter, *Lactobacillus curvatus*, *Saccharomyces servazzii*

서 론

김치는 주식인 밥과 함께 한국인의 식생활에 필수적인 부식으로 배추, 무 등의 여러 가지 채소류를 소금에 절인 다음 마늘, 고추 등의 향신료와 젓갈 등의 부재료를 첨가하여 숙성시킨 우리나라 고유의 전통 발효식품이다(1). 영양적인 측면에서도 식이섬유소, 비타민, 무기질 등의 공급원이며 항산화 물질이 풍부한 고추와 마늘 등을 부재료로 사용하여 항산화, 항비만, 동맥경화 억제효과, 항암효과 등의 건강 기능성 효과가 보고되고 있다(2-5). 김치는 2001년 국제식품규격 채택 및 2006년 미국 건강전문지 Health에서 세계 5대 건강 식품으로 선정되면서 국제적인 식품으로서 위상이 높아지고 있다(6,7).

김치에 대한 연구는 김치 저장성 향상, 김치의 건강 기능성 규명과 기능성 재료를 첨가한 김치의 발효 특성에 대한 연구가 주로 이루어지다가(8-10), 최근에는 김치 미생물의 분리 및 기능성 규명과 김치 스타터로서의 개발에 대한 연구

들이 진행되고 있다(3,11,12). 현재의 김치 발효는 자연발효 방식으로 제조되어 김치의 위생성 및 맛과 품질의 균일화가 제대로 이루어지지 않으므로 이러한 문제점을 해결하기 위하여 구미의 유발효제품과 같이 김치 발효의 종균화가 시급한 실정이다. 김치의 종균화를 위한 연구들은 내산성 *Leuconostoc mesenteroides* 변이주 개발(13), GABA 생성 균주 첨가 김치(14), 박테리옌 생성 균주의 종균 개발(12) 등이 있으며, 대부분 적숙기 김치의 품질 유지 및 가식 기간을 연장하는데 목표를 두고 있다. 그러나 상품김치 시장의 확대에 김치 시장의 세분화와 함께 소비자의 기호도가 다양해지면서 숙성도를 달리한 김치의 수요가 증가하는 추세이며, 특히 웰빙 식품으로써 묵은지 제품과 이를 이용한 다양한 형태의 요리가 개발되고 있다(15).

묵은지는 양념이 많이 들어가지 않고 1년 이상 숙성된 묵은 김치를 뜻하는 말로서 독특한 풍미를 가지는 별미 김치이다. 그러나 숙성하는 기간이 너무 길어 증가하는 수요에 따른 공급이 원활하지 않고 품질이 일정하지 않으며 장기 저장에 따른 비용 부담이 발생하여 일부 김치 제조업체에서는 의도적으로 과하게 숙성된 김치를 상품화하는 문제점이 발생하고 있다(16,17). 본 연구에서는 묵은지 고유의 풍미를 형성하면서 품질을 균일하게 유지할 수 있는 묵은지용

Received 16 May 2013; Accepted 20 June 2013

[†]Corresponding author.

E-mail: rootage@hanmail.net, Phone: 82-61-339-1217

스타터를 개발하였다. 또한 스타터를 첨가한 김치의 발효 특성을 조사하여 묵은지로서의 이화학적 특성 및 관능적 특성을 분석하고, 장기 숙성 기간을 단축시킬 수 있는 제조 공정에 대한 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

묵은지 스타터 선정

본 실험을 위하여 사용된 균주는 묵은지의 우점균으로서 분리된 유산균 ML7, ML11, ML13, ML17과 효모 MY7을 사용하였다. 비교 균주로서 김치 유래의 *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 13374와 *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 13093을 한국생명공학연구원 생명자원센터(Korean Collection for Type Culture, Daejeon, Korea)에서 분양받아 사용하였다.

묵은지 스타터 선정을 위한 김치는 화원농협 김치가공공장(Haenam, Korea)에서 제조한 이맑은 묵은지를 숙성이 되지 않은 상태로 제조 당일 공급받아 사용하였으며, 3~5 cm로 절단하여 준비하였다. 김치에 첨가할 균주인 유산균은 MRS broth(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에서 30°C, 24시간 배양하였고, 효모는 yeast extract-peptone-dextrose(YPD) broth(Difco Laboratories)에서 25°C, 24시간 배양하여 원심분리 한 균체침전물을 생리식염수에 현탁하여 준비하였다. 김치 중량 기준으로 유산균은 1×10^7 CFU/g을, 효모는 1×10^5 CFU/g을 단독 혹은 혼합 형태로 김치에 첨가하여 버무린 후 1 kg 용기에 담아 10°C에서 7일 동안 발효시킨 후 0°C에서 28일 동안 숙성하였다. 발효 종료 후 스타터 선정을 위한 김치의 관능 평가는 훈련된 전남식품산업연구원 연구원 12명이 묵은지 맛과 종합 기호도에 대하여 5점 척도법(5=아주 좋다, 1=아주 나쁘다)으로 평가하였다. 양성 대조균으로 1년 숙성된 이맑은 묵은지(화원농협)를 사용하여 평가하였다.

균주 동정

묵은지 스타터로 선정된 균주의 동정을 위하여 분자생물학적 동정을 시행하였다. 유산균 ML17은 16S rRNA 염기서열을, 효모 MY7은 18S(partial), ITS, 5.8S, 28S(partial)을 포함하는 rRNA의 염기서열을 결정 후 NCBI(National Center for Biotechnology Information)의 blastn program(18)을 이용하여 GenBank에 등록된 염기서열들과 비교하였으며, 표준균주(type strain)와의 상동성은 Clustal X와 Mega 2 program(19)을 이용하여 분석하였다.

묵은지의 제조

배추는 해남 월동 배추를 2등분하여 천일염 염수 16%에서 16시간 절인 후 세척 및 탈수하여 김치 제조에 사용하였다. 재료의 배합 비율은 절임 배추 77.8%, 찹쌀풀 6.64%, 고춧가루 3%, 무 5%, 멸치액젓 1%, 새우젓 1%, 마늘 1.4%,

대파 0.8%, 양파 0.8%, 홍갓 0.5%, 생강 0.22%, 설탕 0.3%, 소금 0.14%, 참깨 0.1%, 표고버섯 0.01%로 하여 제조하였다. 묵은지 스타터는 유산균 ML17과 효모 MY7의 배양액을 각각 준비한 후 원심분리(8,000×g, 15 min, 4°C) 하여 균체를 멸균수로 2회 세척한 후 묵은지 양념에 혼합하였다. 균체 첨가량은 김치 중량 기준으로 유산균 ML17은 1×10^7 CFU/g을, 효모 MY7은 1×10^5 CFU/g을 혼합하여 첨가하였다. 스타터가 첨가된 묵은지 양념으로 버무린 김치는 1 kg씩 pouch pack에 담아 10°C에서 7일간 1차 발효시킨 후 -1°C 김치냉장고(Zipel, Samsung, Suwon, Korea)에서 숙성시키면서 김치의 발효 특성을 조사하였다. 스타터를 첨가하지 않은 일반김치를 대조균으로 하여 발효특성을 비교하였다.

pH 및 산도 측정

pH는 김치를 믹서기(Braun MX2050, Linaset A.S., Bruntal, Czech Republic)로 마쇄하여 거르로 여과한 김치 여과액을 pH meter(Mettler-toledo GmbH 8603, Schwerzenbach, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 총산은 AOAC법(20)에 따라 김치여액 10 mL를 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정한 다음 소비된 NaOH의 부피를 젖산량으로 환산하여 계산하였다.

물성 측정

김치의 물성측정은 rheometer(Sun rheometer compact-100 II, Sun Scientific Co., Ltd, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 시료는 배추 하단으로부터 7 cm 지점의 줄기부위를 3×3 cm로 준비한 후 adaptor No. 4(3 mm)를 이용하여 경도를 측정하였다. 측정 조건은 fixed depth 10 mm, distance 200%, table speed 60 mm/min, road cell max weight 2 kg으로 하였다.

미생물 균총 분석

김치의 미생물 분석을 위해 사용한 배지로는 총균수는 PCA(plate count agar, Merck, Darmstadt, Germany) 배지, 유산균수는 MRS(Difco Laboratories) 고체배지, 효모는 PDA(potato dextrose agar, Merck)와 YPD(Difco Laboratories) 고체배지를 사용하였다. 김치는 마쇄하여 멸균거르로 여과한 김치 여과액을 0.9% saline solution으로 10배씩 연속 희석하여 각각의 평판배지에 100 μL씩 도말한 후 총균은 37°C에서 2일간, 유산균은 30°C에서 2일간, 효모는 25°C에서 2일간 배양하였다. 스타터로 첨가한 유산균 ML17과 효모 MY7의 점유율 확인은 1차적으로 집락의 특이적 형태를 관찰하고 광학현미경(Olympus BX41TF, Olympus Co., Tokyo, Japan)으로 세포의 형태를 관찰한 후 2차적으로 16S rRNA 및 18S rRNA 염기서열 분석을 통하여 스타터의 rRNA 염기서열과 동일함을 확인하였다.

유기산 분석

유기산은 김치 여과액에 증류수 1 mL를 가하여 혼합한 후 원심분리기(Micro 17TR, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Incheon, Korea)를 이용하여 1,600×g에서 10분간 원심분리 하여 얻은 상등액을 0.45 μm membrane filter (DISMIC-13cp, Adventec, Tokyo, Japan)로 여과하였다. 여과액은 10배 희석한 후 HPLC(ICS-3000, Dionex Co., Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 유기산을 분석하였다. 표준물질은 malic acid, succinic acid, acetic acid, lactic acid, citric acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였다. 칼럼은 Capcell pak C18(4.6×250 mm, 5 μm, Shiseido, Tokyo, Japan)을 사용하였고, solvent는 0.02% KH₂PO₄(pH 2.8)를 사용하였으며 flow rate는 0.2 mL/min이었다. UV 조건은 210 nm, injection volume은 20 μL였다.

관능평가

스타터 첨가 김치의 관능평가는 발효 90일 후에 시행하였으며 대조군으로서 스타터를 첨가하지 않은 대조구 김치와 시판중인 1년 숙성 묵은지를 함께 평가하였다. 관능평가는 미리 훈련된 전남식품산업연구센터 연구원과 화원농협 김치가공공장 직원 20명이 시행하였으며, 평가 항목으로는 외관(appearance), 군덕내(off-flavor), 묵은지 맛(mukeyunji flavor), 신맛(sourness), 탄산미(carbonated flavor), 감칠맛(savory taste), 질감(texture), 종합 기호도(overall acceptability)에 대하여 평가자의 기호도를 5점 척도법으로 평가하였다. 각 항목에 대한 점수는 군덕내의 경우 1점(매우 약함), 3점(보통), 5점(매우 강함)으로, 그 외 항목들은 1점(매우 나쁨), 3점(보통), 5점(매우 좋음)으로 평가하였다.

통계처리

실험 결과는 SPSS program(Statistical Package for Social Science, version 17, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 사후 검증하였다 ($P < 0.05$).

결과 및 고찰

묵은지 스타터 선정

묵은지 발효에 적합한 스타터의 선정을 위하여 묵은지 분리 균주 및 김치 유래 공시균주를 포함한 유산균 6종과 효모 1종을 단일 또는 혼합 상태로 김치에 첨가하여 35일 동안 발효시킨 후 관능적 특성을 평가하였으며, 그 결과는 Table 1과 같다. 1년 숙성 묵은지와 함께 묵은지 맛과 종합 기호도를 5점 척도법으로 평가한 결과 유산균 ML17과 효모 MY7을 혼합하여 첨가한 김치가 종합 기호도 항목에서 가장 우수한 점수를 받았으며, 묵은지 맛은 4.42점으로 4.50점을 받은 1년 숙성 묵은지에 비해 약간 낮은 점수였으나 통계적으로 유의적 차이는 없었다. 첨가한 균주의 종류 및 효모와의 혼합 여부에 따라 김치의 숙성도와 풍미가 매우 달랐으나 사용한 균주들 중 묵은지 고유의 맛을 발현시키기에 적합한 스타터로서 유산균 ML17과 효모 MY7을 최종 선정하였다.

묵은지 스타터의 동정

묵은지 스타터의 분자생물학적 동정을 위하여 유산균 ML17은 16S rRNA 염기서열을, 효모 MY7은 18S(partial), ITS, 5.8S, 28S(partial)을 포함하는 rRNA의 염기서열을 결정 후, 이를 GenBank에 등록된 다른 균주들과 염기서열을 비교한 결과 ML17 균주는 *Lactobacillus(Lb.) curvatus*

Table 1. Sensory evaluation of kimchi using lactic acid bacteria and yeast

Kimchi ¹⁾		Mukeunji flavor	Overall acceptability
Control (nonstarter)		3.58±1.16 ^{abcd2)}	3.08±1.00 ^b
Lactic acid bacteria	ML7	3.67±0.98 ^{abc}	3.00±0.85 ^{bc}
	ML11	3.00±0.95 ^{cde}	2.08±0.67 ^{cd}
	ML13	3.25±0.87 ^{cde}	2.67±1.15 ^{bc}
	ML17	3.42±1.08 ^{cd}	2.92±0.90 ^{bc}
	KCTC 13374	2.42±1.00 ^e	2.08±1.08 ^{cd}
	KCTC 13093	3.33±0.89 ^{cde}	3.08±1.00 ^b
Yeast	MY7	3.50±1.38 ^{bcd}	2.75±1.06 ^{bc}
Lactic acid bacteria+yeast	ML7+MY7	2.83±1.34 ^{cde}	2.50±0.80 ^{bcd}
	ML11+MY7	2.67±1.23 ^{cde}	2.42±0.90 ^{bcd}
	ML13+MY7	2.58±1.08 ^{de}	1.75±1.06 ^d
	ML17+MY7	4.42±0.67 ^{ab}	4.58±0.51 ^a
	KCTC 13374+MY7	2.83±0.94 ^{cde}	2.42±1.24 ^{bcd}
	KCTC 13093+MY7	3.50±1.24 ^{bcd}	2.83±1.34 ^{bc}
1 year fermented mukeunji		4.50±0.52 ^a	4.42±0.51 ^a

¹⁾All kimchi samples were fermented at 10°C for 7 days and then stored at 0°C for 28 days.

²⁾Kimchi was evaluated with five score scale test. Score 5 is extremely good. Values are mean±SD (n=12).

^{a-c}Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

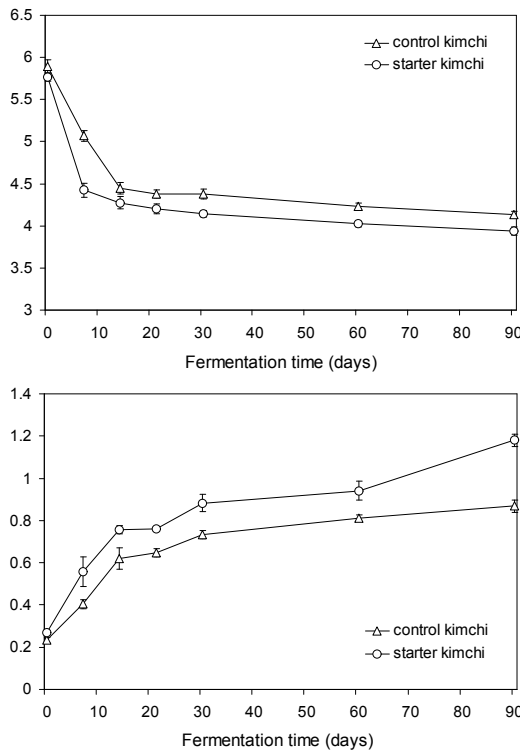


Fig. 1. Changes in pH and acidity of control kimchi and starter kimchi during fermentation. Values are mean±SD (n=3).

NBRC 15884와 99%, MY7은 *Saccharomyces(S.) ser-vazzii* NRRL Y-12661와 99%의 상동성을 나타내었다. 유산균 ML17은 *Lb. curvatus* ML17로, 효모 MY7은 *S. ser-vazzii* MY7로 명명하였으며 ML17의 16S rRNA의 염기서열 및 MY7의 rRNA 염기서열은 GenBank에 JS101631 및 JS101632로 각각 등록하였다.

pH 및 산도 변화

목은지 스타터로 선정된 *Lb. curvatus* ML17과 *S. ser-vazzii* MY7을 첨가하여 제조한 김치를 10°C에서 7일, -1°C에서 90일까지 발효시키면서 pH와 산도의 변화를 측정하였다(Fig. 1). 김치의 숙성에 따라 pH는 저하되고 산도는 증가하는 경향을 나타내었으나 대조구 김치에 비하여 스타터 김치의 pH가 더 빨리 저하되어 발효기간 동안 더 낮은 pH를 유지하였다. 대조구 김치의 경우 제조 당일 pH 5.89에서 1차 발효 종료 시점인 발효 7일에 pH 5.07, 발효 14일에는 pH 4.45를 나타내며 급격히 감소하였다가 이후 완만하

게 감소하여 발효 90일에는 pH 4.13을 나타내었다. 스타터 김치의 경우 제조 당일 pH 5.76에서 1차 발효 종료 시점인 발효 7일에 pH 4.42로 급격히 감소하였다가 이후 완만하게 감소하여 발효 90일에는 pH 3.94를 나타내었다.

산도의 경우 pH 변화와 유사한 경향을 나타내어 발효기간 동안 스타터 김치가 대조구에 비하여 더 높은 산도를 유지하였다. 대조구 김치의 경우 제조 당일 산도 0.23%에서 발효 7일에 0.41%, 발효 14일에 0.62%로 급격하게 증가하였으며, 이후 완만하게 증가하여 발효 90일에는 0.87%를 나타내었다. 스타터 김치의 경우 제조 당일 산도 0.27%에서 발효 7일에 0.56%, 발효 14일에 0.76%를 나타내며 급격하게 증가하였으며, 이후 점차 증가하여 발효 90일에는 1.18%를 나타내었다. pH 및 산도 측정 결과 대조구 김치에 비해 스타터 김치의 발효가 더 빨리 진행되는 것으로 나타났으며, 발효 90일에 스타터 김치의 pH와 산도는 1년 숙성 목은지와 유사한 수준(pH 3.96, 산도 1.25%)을 나타내었다. 이와 같은 결과는 스타터의 첨가에 의하여 김치의 발효가 촉진되었기 때문이며(21), 김치 제조 후 10°C에서 1차 발효과정을 거치면서 김치의 적숙기인 pH 4.2와 산도 0.6~0.8%에 이르는 시간이 단축되고 스타터로 첨가된 유산균과 효모에 의한 발효 및 숙성이 진행되면서 숙성으로 발효된 효과를 나타낸 것으로 보인다.

물성 변화

발효기간에 따른 대조구 김치와 스타터 김치의 경도 변화를 측정하였다(Table 2). 발효가 진행됨에 따라 전반적으로 김치의 경도는 감소하는 경향을 나타내었다. 스타터 김치의 경도는 제조 직후 9,917 g/cm²에서 발효 90일에 8,707 g/cm²로 감소하였고, 대조구 김치의 경도는 제조 직후 9,902 g/cm²에서 발효 90일에 8,179 g/cm²로 감소하여 대조구 김치의 경도 변화가 좀 더 빠르게 진행됨을 알 수 있었다. 김치에서 물성의 변화는 소금의 탈수작용으로 인하여 배추 조직에 함유된 효소들이 활성화 되면서 세포벽 다당류와 단백질 등의 거대분자를 분해시켜 조래된다(22). 이와 더불어 발효 후기에 나타나는 효모가 분비하는 펙틴 분해효소에 의해 세포벽과 펙틴 물질이 분해되어 김치조직이 연화하는 연부현상이 발생하며(23,24), 그 외에도 미생물에 의해 생성된 유기산의 함량에 의하여 조직감의 변화가 발생한다는 보고가 있다(25). 스타터 김치와 대조구 김치는 동일한 농도의 소금 절임으로 제조되었으므로 두 김치의 경도의 차이는 발

Table 2. Changes in texture property of control kimchi and starter kimchi during fermentation

	Kimchi	Fermentation time (days)				
		Fermentation at 10°C		Storage at -1°C		
		0	7	30	60	90
Hardness (g/cm ²)	Control kimchi	9,902±235 ^{a1)}	9,315±112 ^b	8,927±326 ^{bc}	8,554±210 ^c	8,179±173 ^d
	Starter kimchi	9,917±187 ^a	9,474±133 ^{ab}	9,307±331 ^b	8,940±239 ^{bc}	8,707±450 ^c

¹⁾Values are mean±SD (n=5).

^{a-d}Means with the same letter in a row are not significantly different by Duncan's multiple range test (P<0.05).

Table 3. Changes in microbial population in control kimchi and starter kimchi during fermentation

Kimchi	Microbial population (log CFU/mL)	Fermentation time (days)				
		Fermentation at 10°C		Storage at -1°C		
		0	7	30	60	90
Control kimchi	Total viable cells	5.3±0.2 ¹⁾	8.4±0.3	9.2±0.1	8.5±0.2	8.4±0.2
	Lactic acid bacteria	5.2±0.3	8.3±0.4	8.9±0.3	8.3±0.1	7.8±0.2
	Yeasts	1.5±0.4	2.8±0.3	3.9±0.3	4.1±0.1	3.7±0.3
Starter kimchi	Total viable cells	6.8±0.3	8.8±0.2	9.2±0.2	7.3±0.3	7.0±0.1
	Lactic acid bacteria	6.5±0.3	8.6±0.1	9.1±0.3	7.2±0.2	6.8±0.1
	Yeasts	4.2±0.1	6.2±0.2	5.3±0.1	5.8±0.1	5.5±0.2
	Dominance of starter ML17/MY7 (%)	96.1/99.8	92.3/98.7	93.9/96.3	78.0/93.3	75.3/99.8

¹⁾Values are mean±SD (n=3).

효기간 동안 유산균에 의해 생성되는 유기산의 종류 및 함량과 발효 후기에 나타나는 효모의 차이에서 발생한 것으로 보인다.

미생물 균총 변화

묵은지 스타터를 첨가하여 제조한 김치의 총균수, 유산균수, 효모수와 묵은지 스타터(*Lb. curvatus* ML17과 *S. servazzii* MY7)의 점유율 변화를 관찰하였다(Table 3). 총균수 변화는 대조구 김치의 경우 1차 발효기간(10°C, 7일) 동안 5.3 log CFU/mL에서 8.4 log CFU/mL로 급격히 증가하여 발효 30일에 최대 균수(9.2 log CFU/mL)를 나타내었으며 이후 서서히 감소하였다. 스타터 김치에서 총균수의 변화도 유사한 경향으로 진행되었으나 발효 60일 이후에는 대조구 김치에 비하여 더 낮은 균수를 나타내었다. 유산균수는 대조구 김치에서 1차 발효기간 동안 5.2 log CFU/mL에서 8.3 log CFU/mL로 급격히 증가하여 발효 30일에 최대 균수(8.9 log CFU/mL)를 나타내었으며 이후 서서히 감소하여 발효 90일에 7.8 log CFU/mL를 나타내었다. 스타터 김치의 유산균 수는 초기 6.5 log CFU/mL에서 시작하여 발효 30일에 9.1 log CFU/mL로 최대 균수를 나타내었으나 발효 60일 이후에는 급격히 감소하기 시작하여 발효 90일에는 대조구 김치보다 낮은 6.8 log CFU/mL까지 감소하였다. Chang 등(26)의 연구에서 천일염을 사용한 김치의 총균수와 유산균수는 발효 12일에 최고치에 도달한 후 발효 33일까지 지속적으로 감소하였으며, Kim 등(27)의 연구에서도 총 생균수와 유산균수가 발효 초기에 급증하다가 산도가 증가함에 따라 발효 말기에는 감소하는 경향을 나타내었다. 본 연구에서 대조구 김치와 스타터 김치 모두 총균수와 유산균수는 발효 30일에 최고 균수에 도달하여 이후 감소하기 시작하였으며, 스타터 김치의 경우 묵은지 스타터의 첨가로 초기 유산균수가 상대적으로 많으므로 대조구 김치에 비해 산도가 빠르게 증가하면서 호기성 세균 및 내산성이 약한 유산균이 급격히 사멸하여 총균수와 유산균수의 감소가 더 빠르게 진행된 것으로 생각된다.

발효기간 동안 효모수의 변화는 대조구 김치의 경우 초기 1.5 log CFU/mL에서 완만하게 증가하여 발효 60일에 4.1

log CFU/mL까지 증가하였으며, 이후 발효 90일에는 3.7 log CFU/mL로 감소하였다. 스타터 김치의 경우 묵은지 스타터로 첨가된 효모에 의하여 제조 직후부터 4.2 log CFU/mL의 많은 균수로 시작하여 1차 발효 후 6.2 log CFU/mL까지 증가하였다가 발효 90일에 5.5 log CFU/mL로 감소하였으나 전체 발효기간 동안 대조구 김치보다 높은 균수를 유지하였다. Kim 등(27)의 연구에서 효모 스타터를 첨가한 김치를 10°C에서 30일까지 발효시키는 동안 효모수를 측정 한 결과 스타터 김치는 대조군에 비하여 전체 발효기간 동안 높은 효모수를 유지하였으며, 김치 적숙기에는 일정한 균수를 유지하다가 발효 말기에는 효모수가 증가는 경향을 나타내었다. 효모를 김치에 첨가하여 발효한 다른 연구(28)에서는 10°C에서 21일까지의 발효기간 동안 대조군과 효모 첨가 김치에서 효모수는 지속적으로 증가하였으며, 효모 첨가 김치의 효모수가 대조군에 비하여 높은 균수를 유지하였다. 일반적으로 김치에서 효모는 주로 김치 발효 말기에 증식하며 산막효모의 발생으로 김치의 이취와 연부현상이 발생하면서 호기성 세균의 증식으로 김치의 변패가 발생한다고 알려져 있다(29). 그러나 김치로부터 분리한 효모가 김치의 산패 지연 효과뿐만 아니라 김치에 좋은 풍미를 부여하여 전체적인 기호도를 향상시켰다는 보고도 있다(27). 현재까지 김치 발효에 관여하는 효모의 종류 및 역할에 대해서는 정확히 규명되지 않은 상태이다. 본 연구에서 스타터로 첨가한 효모는 비산막효모로서 김치 발효에 관여하여 묵은지 풍미를 형성하는 것으로 생각되나 차후 발효에서의 역할에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

발효기간 동안 스타터 김치에서 묵은지 스타터의 점유율은 *Lb. curvatus* ML17은 초기 96.1%에서 발효가 진행될수록 서서히 감소하였으나 발효 90일 후에도 75.3%의 높은 점유율을 나타내었다. *S. servazzii* MY7의 경우 전체 발효기간 동안 90% 이상의 점유율을 유지하며 다른 효모의 증식은 거의 발생하지 않았다. *Lb. curvatus* ML17 스타터는 김치 발효 초기부터 유산균 균총 내 우점을 유지하면서 주도적으로 발효를 진행하다가 산도가 증가하면서 발효 60일 이후 감소하였으며, *S. servazzii* MY7은 발효 말기까지 효모 균총의 우점을 유지하였다. 두 스타터의 높은 우점율은 이들

Table 4. Contents of organic acids in control kimchi, starter kimchi and 1 year fermented mukeunji

Kimchi ¹⁾	Organic acids (mg%)				
	Malic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Succinic acid
Control kimchi	— ²⁾	612.719 ^b	778.727 ^a	—	—
Starter kimchi	—	815.128 ^a	561.761 ^b	514.730 ^a	—
1 year fermented mukeunji	—	825.260 ^a	563.858 ^b	75.540 ^b	—

¹⁾Control and starter kimchi were fermented at 10°C for 7 days and then stored at -1°C for 83 days.

²⁾—: not detected.

^{a,b}Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

미생물이 김치 내 미생물의 천이를 조절하여 김치의 맛을 일정하게 유지할 수 있는 우수한 종균 특성으로 사료된다.

유기산 함량

김치의 상큼한 신맛은 김치가 숙성됨에 따라 생성되는 유기산의 함량에 큰 영향을 받으며, 김치의 발효는 단순한 젖산만의 생성이 아닌 다른 유기산이 복합적으로 생성되는 발효로서 유기산의 종류와 함량은 김치의 기호도에 상당한 영향을 미친다(30). 발효 90일 후 대조구 김치와 스타터 김치 및 1년 숙성 묵은지의 유기산 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 김치에서 가장 높은 함량을 나타내는 lactic acid의 함량은 스타터 김치(815 mg%)와 1년 숙성 묵은지(825 mg%)가 유사한 수준으로 높게 나타났으며, 대조구 김치는 612 mg%로 유의적으로 낮은 함량을 나타내었다. 반면 acetic acid는 대조구 김치에서 778 mg%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 스타터 김치와 1년 숙성 묵은지는 각각 561 mg%과 563 mg%로 대조구에 비해 낮으면서 유사한 수준의 함량을 나타내었다. Citric acid는 대조구에서는 검출되지 않았으며 1년 숙성 묵은지에서는 75 mg%의 낮은 함량을 나타내었으나 스타터 김치에서는 514 mg%의 높은 함량을 나타내었다. Malic acid와 succinic acid는 모든 김치에서 검출되지 않았다. Yoo 등(17)은 묵은 김치 제조 과정 중 유기산 함량 분석을 통하여 주요 유기산으로 lactic acid, citric acid, acetic acid가 분석되었으며 상대적으로 적으나 malic acid와 succinic acid도 검출되었음을 보고하였다. Cho(31)는 김치 발효에서 lactic acid와 succinic acid가 다른 유기산들에 비하여 주된 발효산이라고 보고한 반면, Kim 등(27)은 발효가 진행될수록 malic acid와 succinic acid의 함량이 감소하였다고 보고하였다. 본 연구에서 김치에 첨가되어 발효를 주도한 유산균 스타터는 *Lb. curvatus* 종으로서 동형 및 이형발효(facultatively heterofermentative) 균주이므로(32) 이형발효 유산균에 비하여 lactic acid의 생성이 많을 것으로 생각된다. 김치 유기산 중 acetic acid의 증가는 이형발효 유산균의 증식에 의한 것으로 보고되고 있으며(33), 본 연구의 유기산 분석에서 스타터 김치와 1년 숙성 묵은지에 비해 대조구 김치에서 acetic acid 함량이 높은 이유는 스타터를 사용하지 않은 대조구 김치에서 발효기간 동안 이형발효 유산균의 증식이 많았기 때문으로 생각된다. Citric acid는 스타터 김치에서 높은 함량으로 검출되었으

며, 이러한 결과는 주요 발효균에 의한 대사의 차이로 유기산의 종류 및 함량이 달라지기 때문이며(34) 묵은지 스타터로 첨가된 유산균과 효모가 citric acid의 생성과 연관성이 있을 것으로 생각된다.

관능적 특성

90일 동안 발효된 스타터 김치의 관능적 특성을 대조구 김치 및 1년 숙성 묵은지와 비교하였다(Fig. 2). 스타터 김치의 외관은 유의적으로 가장 높은 점수(3.9점)를 보였으며 1년 숙성 묵은지는 3.5, 대조구 김치는 3.4점을 나타내었다. 군덕내의 경우 스타터 김치가 2점으로 가장 낮은 강도를 나타내었으며, 대조구 김치(2.9점)와 1년 숙성 묵은지(2.6점)는 더 높은 강도를 나타내었다. 김치에서 군덕내는 발효 후기의 산막효모와 호기성 세균의 번식으로 발생하므로 스타터 김치의 경우 종균에 의한 주도적인 발효로 김치의 변패를 일으키는 미생물이 억제되어 군덕내가 거의 나타나지 않은 것으로 보인다. 묵은지 맛은 1년 숙성 묵은지가 4점으로 가장 높았으며 스타터 김치는 3.9점으로 1년 숙성 묵은지와 유의적 차이는 없었다. 반면 대조구 김치는 2.8점으로 가장 낮은 점수를 나타내었다. 신맛과 탄산미에 대한 기호도는 스타터 김치가 가장 높고 대조구 김치가 가장 낮았다. 스타터 김치가 더 높은 산도에도 불구하고 신맛의 기호도가 높은

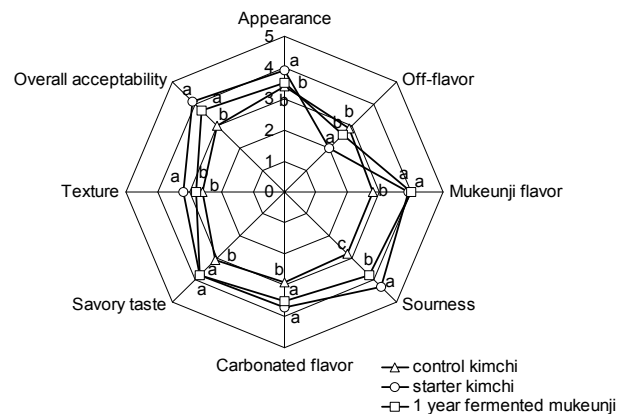


Fig. 2. Sensory evaluation of control kimchi, starter kimchi and 1 year fermented mukeunji. Control and starter kimchi were fermented for 90 days. Kimchi was evaluated with five score scale test. Score 5 is extremely good or extremely strong (off-flavor). Values are mean (n=20). Means with the same letter in a item axis are not significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

이유는 스타터 균주에 의해 생성된 유기산의 종류와 탄산미의 조화에 의한 것으로 생각된다. 감칠맛은 스타터 김치와 1년 숙성 묵은지가 3.8점으로 동일하였으며 대조구 김치는 3.1점을 나타내었다. 김치의 질감은 스타터 김치가 3.2점으로 가장 높았으며 1년 숙성 묵은지는 2.8점, 대조구 김치는 2.6점을 나타내었다. 종합 기호도는 스타터 김치가 가장 높은 점수를 나타내었다.

이상의 관능 결과를 종합하여 90일 동안 발효된 스타터 김치는 1년 숙성 묵은지와 유사한 묵은지 맛을 나타내며 각 관능 항목에서 높은 기호도를 나타내었다. 김치에서 스타터의 첨가는 김치의 고유한 맛과 특성을 향상시키면서 품질을 일정하게 조절할 수 있는 가능성을 부여한다고 알려져 있다 (12,35). 본 연구에서 유산균 *Lb. curvatus* ML17과 효모 *S. servazzii* MY7을 묵은지 스타터로 사용하고 1차 발효와 2차 숙성으로 나누어 김치 발효를 진행하여 숙성기간을 단축시킴으로써 단기간에 묵은지 고유의 풍미가 발현되는 우수한 품질의 묵은지를 생산할 수 있는 가능성을 보여주었다.

요 약

묵은지 발효에 적합한 종균 발효 시스템을 개발하기 위하여 묵은지에서 분리한 유산균과 효모를 단일 또는 혼합 상태로 김치에 첨가하여 발효시킨 후 관능평가를 시행하여 묵은지 품미에서 높은 기호도를 나타낸 유산균 ML17과 효모 MY7을 혼합 스타터로 선정하였다. 묵은지 스타터 균주는 rRNA 염기서열 분석을 통한 균주동정 결과에 따라 *Lactobacillus curvatus* ML17과 *Saccharomyces servazzii* MY7로 명명되었다. 혼합 스타터를 첨가하여 김치를 제조한 후 10°C에서 7일 동안 1차 발효한 후, -1°C에서 90일까지 숙성시키면서 발효 특성을 조사하였다. 대조구 김치에 비하여 스타터 김치의 pH 저하 및 산도의 증가가 빠르게 진행되어 발효 90일 후에는 1년 숙성 묵은지와 유사한 수준을 나타내었다. 물성 변화에서 김치의 경도는 전체 발효기간 동안 스타터 김치가 더 높은 정도 값을 유지하면서 아삭한 특성을 나타내었다. 미생물 균총 변화에서 총균수와 유산균수는 발효 30일에 최대 균수를 나타내었으며, 이후 감소하기 시작하여 발효 90일에는 스타터 김치의 총균수와 유산균수가 대조구 김치에 비해 낮게 나타났다. 효모수는 첨가된 스타터에 의하여 스타터 김치가 대조구 김치보다 전체 발효기간 동안 높은 균수를 유지하였다. 유산균과 효모 스타터는 발효 90일 동안 높은 점유율을 유지하여 발효 종균으로서의 우수한 특성을 나타내었다. 유기산 함량은 스타터 김치에서 lactic acid와 citric acid의 함량이 대조구 김치에 비하여 높게 나타났다. 관능평가 결과 스타터 김치는 1년 숙성 묵은지와 유사한 묵은지 맛과 높은 기호도를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 연구개발과제(110127-3)로 수행한 연구의 일부로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lee HA, Song YO, Jang MS, Han JS. 2013. Effect of *Ecklonia cava* on the quality kimchi during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 83-88.
2. Ko KH, Liu W, Lee HH, Yin J, Kim IC. 2013. Biological and functional characteristics of lactic acid bacteria in different kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 89-95.
3. Kim SY, Kim JD, Son JS, Lee SK, Park MS. 2011. Biochemical and molecular identification of antibacterial lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 43: 446-452.
4. Park KY. 1995. The nutritional evaluation and antimutagenic and anticancer effects of kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 24: 169-182.
5. Kong YH, Cheigh HS, Song YO, Jo YO, Choi SY. 2007. Anti-obesity effects of kimchi tablet composition in rats fed high-fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1529-1536.
6. Codex. 2001. Codex: Alimentarius commission codex standard for kimchi. Codex Stan 223.
7. Raymond J. 2006. World's Healthiest Foods: Kimchi (Korea). Available from <http://www.health.com/health/article/0,,20410300,00.html>.
8. Park HJ, Kim SI, Lee YK, Han YS. 1994. Effect of green tea on kimchi quality and sensory characteristics. *Korean J Soc Food Sci* 10: 315-321.
9. Ku HS, Noh JS, Kim HJ, Cheigh HS, Song YO. 2007. Antioxidant effects of sea tangle added Korea cabbage kimchi *in vitro* and *in vivo*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1497-1502.
10. Kim H, Mo EK, Sung CK. 2010. The effect of red ginseng extract on fermentation of baechu kimchi. *Korean J Food Preserv* 17: 555-562.
11. Bae MO, Kim HJ, Cha YS, Lee MK, Oh SH. 2009. Effects of kimchi lactic acid bacteria *Lactobacillus* sp. OPK 2-59 with high GABA producing capacity on liver function improvement. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1499-1505.
12. Chang JY, Chang HC. 2010. Improvements in the quality and shelf life of kimchi by fermentation with the induced bacteriocin-producing strain *Leuconostoc citreum* GJ7 as a starter. *J Food Sci* 75: 103-110.
13. Kim YH, Kim HZ, Kim JY, Choi TB, Kang SM. 2005. Strain improvement of *Leuconostoc mesenteroides* as an acid-resistant mutant and effect on kimchi fermentation as a starter. *Kor J Microbiol Biotechnol* 33: 41-50.
14. Seok JH, Park KB, Kim YH, Bae MO, Lee MK, Oh SH. 2008. Production and characterization of kimchi with enhanced levels of γ -aminobutyric acid. *Food Sci Biotechnol* 17: 940-946.
15. Lee JJ, Jung HO, Lee MY, Chang HC. 2012. Characteristics of mandu with ripened Korean cabbage kimchi. *Korean J Food Preserv* 19: 209-215.
16. Kim YH. 2012. Evaluation of physico-chemical characteristics and identification of microorganisms from mukeunji. *MS Thesis*. Kyung Hee University, Seoul, Korea. p 7-8.
17. Yoo MJ, Kim HR, Chung HJ. 2001. Changes in physicochemical and microbiological properties in low-temper-

- ature and long-term fermented kimchi during fermentation. *Korean J Dietary Culture* 16: 431-441.
18. National Center for Biotechnology Information. Nucleotide blast search program. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. USA.
 19. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22: 4673-4680.
 20. AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA. ch 33, p 7.
 21. Choi SY, Lee SH, Koo YJ, Shin DH. 1989. Production of rapid-fermented kimchi with starter. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 17: 403-406.
 22. Kim SD, Lee SH, Kim MJ, Oh YA. 1988. Changes in pectic substance of lower salted chinese cabbage kimchi with pH adjuster during fermentation. *J Korean Soc Food Nutr* 17: 255-261.
 23. Rhee HS. 1995. The measurement methods of the textural characteristics of fermented vegetables. *Korean J Soc Food Sci* 11: 83-91.
 24. Chang KS, Kim MJ, Kim SD. 1995. Effect of ginseng on the preservability and quality of chinese cabbage kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 313-322.
 25. Chung HJ, Kim HR, Yoo MJ. 2005. Changes in texture and sensory properties of low-temperature and long-term fermented baechu kimchi during the fermentation. *Korean J Food Culture* 20: 426-432.
 26. Chang JY, Kim IC, Chang HC. 2011. Effect of solar salt on the fermentation characteristics of kimchi. *Korean J Food Preserv* 18: 256-265.
 27. Kim HJ, Kang SM, Yang CB. 1997. Effects of yeast addition as starter on fermentation of kimchi. *Korean J Food Sci Technol* 29: 790-799.
 28. Kim SD, Kim KH, Oh YA. 1998. Effects of yeast addition during salting and preparation on fermentation of kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1077-1085.
 29. 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.
 30. Kim HO, Rhee HS. 1975. Studies on the nonvolatile organic acids in kimchis fermented at different temperatures. *Korean J Food Sci Technol* 7: 74-81.
 31. Cho SH. 1988. Studies on kimchi fermentation added lactic acid bacteria starter. *MS Thesis*. Sungkyunkwan University, Seoul, Korea. p 21-24.
 32. Felis GE, Dellaglio F. 2007. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Curr Issues Intest Microbiol* 8: 44-61.
 33. Choi KS, Sung C, Kim MH, Oh IK. 1999. Fermentation method of *Kimchi* using halophilic *Lactobacillus* sp. HL-48 and lactic acid. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 27: 246-251.
 34. Kim DK, Kim SY, Lee JK, Noh BS. 2000. Effects of xylose and xylitol on the organic acid fermentation of *Kimchi*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 889-895.
 35. Han GJ, Choi HS, Lee SM, Lee EJ, Park SE, Park KY. 2011. Addition of starters in pasteurized brined baechu cabbage increased kimchi quality and health functionality. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 110-115.