

김치의 섭취가 인체의 장내 미생물에 미치는 영향

이기은 · 최언호 · 지근억*

*한림대학교 식품영양학과, 서울여자대학교 식품과학과

Effect of *Kimchi* Intake on the Composition of Human Large Intestinal Bacteria

Ki-Eun Lee, Un-Ho Choi and Geun-Eog Ji*

*Department of Food Science and Nutrition, Hallym University
Department of Food Sciences, Seoul Women's University

Abstract

We have conducted this study to examine effect of *kimchi* intake on the composition of human large intestinal bacteria. Two hundred grams of *kimchi* were administered to 10 healthy young volunteers (20-30 years old) every day for 2 weeks, followed by 2 weeks of non-intake period. The nonintake-intake cycle was repeated for 10 weeks. Except antibiotics and materials which contain live bacteria, subjects were allowed to eat *ad libitum*. The composition of intestinal microflora (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Clostridium perfringens*) was examined at the last day of each period. β -Glucosidase and β -glucuronidase activities, pH and moisture content of the fecal samples were also measured. During the administration of *kimchi*, the cell counts of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* increased significantly ($p < 0.05$), whereas those of other bacteria did not change significantly. The enzyme level of β -glucosidase and β -glucuronidase decreased during *kimchi* intake ($p < 0.05$). Results indicate that a portion of lactic acid bacteria present in *kimchi* can pass human stomach and reside in the large intestinal tract.

Key words: *kimchi*, composition, large intestinal bacteria, human

서 론

인체의 장내에는 100조의 세균이 존재하고 이는 분변 고형물의 약 30%를 차지하고 있다^(1,2). 그 종류는 약 400 여종에 달하며 이들은 서로 공생 또는 길항 관계를 유지하며 장내 균총을 유지한다. 장내 균총의 대사 활성은 인체의 영양, 약효, 생리 기능, 노화, 발암 등 질병의 발생에 지대한 영향을 미친다. 장내 균총이 인체에 미치는 영향에 대해서는 유익한 면과 유해한 작용을 들 수 있다⁽³⁾. *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus* 등과 같은 젖산균은 젖산과 초산 등의 유기산을 생산하고 유해한 물질의 생산이 거의 없기 때문에 인체에 유익한 균주로 여겨지고 있다⁽³⁾. 반면에 *Bacteroides*는 암모니아, 인돌, 아민 등을 생산하고 *Eubacterium*은 2차 담즙산 등의 해로운 물질을 생산하는 것이 보고되

어 유해균주로 분리되고 있다⁽³⁾. 따라서 인체의 건강 증진을 고려해 볼 때 유용균의 장내 증식을 촉진하고 유해균의 증식을 억제하는 것이 바람직하다. 그러나 각 균총들의 유익성과 유해성에 대한 이해는 더욱 연구가 필요한 상황이다. 장내 세균들은 다양한 종류의 효소 작용에 의하여 대사산물을 생산하는데 β -glucosidase, β -glucuronidase, azoreductase, nitroreductase, tryptophanase 등은 대사산물로 발암 성분을 내는 유해 효소로 알려져 있다⁽⁴⁾. 인체 유래의 *L. acidophilus* 를 경구 투여시 종양 형성에 관여하는 β -glucosidase, azoreductase, nitroreductase 3종류의 세균 효소의 활성 및 발암성 아민의 양이 현저히 감소되는 것으로 조사되었다⁽⁵⁾.

우리 나라의 경우 전통적인 젖산 발효 식품으로는 김치를 들 수 있다. 김치는 *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* 등의 젖산균에 의해 발효된 우리나라 특유의 발효식품이다⁽⁶⁾. 예전부터 김치의 정장 작용에 대한 언급이 많이 되어 왔으나 아직까지

Corresponding author: Geun-Eog Ji, Department of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chunchon, Kangwon-do 200-702, Korea

그 근거에 대한 학문적 조사는 미비한 실정이다. 단지 동물 실험을 통해 김치 유산균을 계속 투여시킨 흰쥐의 경우는 대조군에 비하여 장내 유산균수가 증가되고 대장균의 수는 다소 감소되었다는 결과가 보고되어 있을 뿐이다⁽⁹⁾. 따라서, 본 연구에서는 인체 실험을 통한 김치의 섭취가 인체의 장내 조성에 미치는 영향을 조사하여 김치의 장내 미생물에 대한 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

시료용 김치

인체 식이에 사용한 김치의 재료 배합비는 Table 1과 같다. 배추에 12%의 소금을 첨가하여 절이고 물기를 뺀 후 고춧가루, 파, 마늘 등의 양념을 첨가하여 제조한 후 5°C에서 보관하면서 저장 중 김치의 pH 변화 및 균총 변화를 조사하였다. pH는 pH meter (Corning, Ion Analyzer 255)로 측정하였다.

김치 젖산균의 동정

한홍외와 박현근의 방법⁽¹⁰⁾에 따라 *Lactobacillus* MRS broth (Difco)에 bromphenol blue 를 0.002% 첨가한 배지에서 colony의 형상에 따라 구분하여 젖산균을 계수하였다. Api 50 CH , Api 50 CHL 및 Api 20 STREP의 Api System (La Balme-Les-Grottes, France)을 사용하여 균주를 재확인하였다.

인체 실험 계획

인체 실험 대상자는 20-30세의 건강한 성인 10인을 대상으로 생균제, 항생제, 유산균 발효 제품 등 장내 균총에 직접적으로 영향을 줄 수 있는 식품은 제한하였다. 실험 기간은 2주 간격으로 김치 비섭취 기간과 섭취 기간을 반복하여 10주간 실시하였다. 김치 섭취 기간에는 Table 1의 재료 배합비로 제조된 발효 적숙기의 김치(pH 4.5-4.3)를 하루 200 g씩 공급하였다.

Table 1. Composition of kimchi

Composition	Amount (g)
Salted chinese cabbage	1,000
Red pepper powder	25
Garlic	8
Ginger	5
Green onion	20
Monosodium glutamate	1
Fermented anchovy juice (23% NaCl)	10

인체 대장 균총 검사

대장내에 존재하는 균총 조사를 위하여 분변을 시료로 사용하였고 실험 대상으로부터 분변을 받는 즉시 혐기성 희석 용액에 넣어 십진법으로 순차적 희석을 하였다. 희석된 시료를 여러 종류의 선택 및 비선택 배지에 도말하였다. 호기적인 배양인 경우 1-2일, 혐기적인 배양인 경우는 Gas-pak jar (BBL)와 Microprocessor Controlled Anaerobic Chamber (Lab Line Instrument, Inc., U.S.A)를 사용하고 2-3일동안 37°C에서 배양하였다. 각 조사 균주들에 대한 배지는 지⁽¹¹⁾에서 사용된 비선택 및 선택배지를 사용하였다. *Lactobacillus*와 *Leuconostoc*는 앞에서 언급된 김치 젖산균의 계수 배지를 이용하였다.

균주 동정

Mitsuoka⁽⁶⁾ 및 지⁽¹¹⁾의 방법에 따라 집락의 모양과 균의 형태를 조사함으로써 속 또는 종의 수준까지 동정하여 각각의 균수를 측정하였다. 조사된 균주는 1g 습윤 분변당의 CFU (colony forming unit)로 나타내었다. 선발된 균주는 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*⁽⁷⁾에 준하여 형태학적, 생물학적 성질을 조사하였다. 장내 젖산균의 경우 김치 젖산균과 마찬가지로 Api 50 CH, Api 50 CHL Kit의 당 이용성을 조사하여 재확인하였다.

분변의 pH 측정

대장 내용물에 4배의 증류수를 가하여 이를 잘 균질화시킨 후 원심분리하여 상층액의 pH를 측정하였다.

분변의 수분함량 측정

105°C 상압가열건조법에 의해 실시하였다.

분변의 β-Glucosidase 와 β-glucuronidase 활성 측정

Chadwick 등⁽¹²⁾의 방법에 의하여 측정하였다. 변 내용물을 10배의 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.0)로 희석을 한 후 β-Glucosidase는 10 μM의 para-nitrophenyl (PNP)-β-D-glucoside (Sigma Chemical Co., St. Louise) 40 μl를 기질로 사용해 효소액 20 μl와 45°C에서 5분간 반응시켰다. 반응을 중지시키기 위해 800 μl 0.5 M Na₂CO₃ 첨가한 후 입자물질을 제거하기 위해 4,000×g에서 원심 분리를 한 후 흡광 분석기 (Milton Roy Company, Spectronic 20)를 이용하여 400 nm에서 흡광도를 측정하였다.

β-glucuronidase는 10 μM phenolphthalein-β-D-glu-

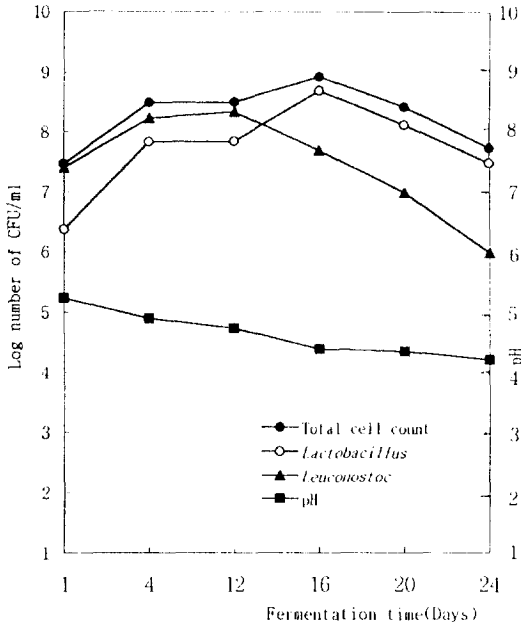


Fig. 1. Change of cell counts of lactic acid bacteria and pH during kimchi fermentation at 5°C

curonic acid (Sigma Chemical Co., St. Louise) 25 μl를 기질로 사용해 효소액 37.5 μl와 45°C에서 15분간 반응을 시켰다. 1.25 ml/ 0.2 M glycine-NaOH buffer를 첨가하여 반응을 중지시키고 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소 역가 1 unit는 1분당 1 μmol의 PNP 또는 phenolphthalein을 생산하는 효소의 양으로 정하였다.

통계분석

실험 결과는 SAS program의 Paired Comparison T-Test로 분석하였다. 실험군의 평균치간의 유의성 검증은 P<0.05에서 행하였다.

결과 및 고찰

김치 발효중의 변화

김치는 발효 단계에 따라 젖산균의 분포와 그 구성이 달라진다. Table 1의 재료로 만든 김치를 5°C에서 보관하면서 발효균의 추이를 살펴 보았다. MRS+BPB 배지⁽¹⁰⁾를 사용하여 김치 젖산균을 종류별로 계수하였으며 Api Kit를 사용하여 각각 Lactobacillus와 Leuconostoc에 속하는 것을 재확인하였다. 발효 초기에는 Leuconostoc이 많이 번식하여 김치를 산성화시켰고 발효가 진행되면서는 Lactobacillus가 점차 증가하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1). 김치의 pH가 4.5에서

Table 2. Effect of kimchi intake on the composition of human fecal bacteria

Microorganisms	Log of CFU per gram wet feces ¹⁾	
	Control	Kimchi intake
Total anaerobic bacteria	10.05 ± 0.55	10.25 ± 0.34
Total aerobic bacteria	7.80 ± 0.84	7.69 ± 0.96
Bacteroides	9.31 ± 0.95	9.47 ± 0.95
Bifidobacterium	9.28 ± 0.82	9.50 ± 0.70
Cl. perfringens	3.52 ± 0.92	3.68 ± 0.81
E. coli	7.13 ± 0.92	6.89 ± 1.15
Streptococcus	7.08 ± 0.93	7.53 ± 0.75
Staphylococcus	2.47 ± 0.76	2.41 ± 0.80
Lactobacillus	4.83 ± 1.23 ²⁾	6.87 ± 1.05 ³⁾
Leuconostoc	4.62 ± 0.94 ⁴⁾	5.78 ± 1.35 ⁵⁾

¹⁾Mean SD of log bacterial counts

²⁾Values with different superscripts in same row differ (p<0.05)

4.3 정도일 때 김치 젖산균의 수가 최대에 도달하였는데 Lactobacillus는 약 10⁸, Leuconostoc은 10⁷수준이었다. 그 이후에는 젖산균의 수가 감소되었다. 따라서 김치의 pH가 4.5에서 4.3 정도일 때를 인체 실험을 위한 김치의 발효 적속기로 보았다. 또한 재료의 배합비에 따라 김치 발효시의 pH와 산도, 미생물학적 특성, 이화학적 특성이 달라질 수 있기 때문에 항상 동일한 배합비로 만든 김치를 지원자에게 공급하였다.

김치 섭취시 장내 균총의 변화

김치 비섭취기와 섭취기를 2주 주기로 반복하여 10주간 실험한 결과 분변의 총균수와 전체 호기성 균수, 장내 우점균종인 Bacteroides는 김치 섭취 유무에 따른 차이는 없었다(Table 2). 장내 유익균으로 알려져 있는 Bifidobacterium의 균수는 김치 섭취기간동안 약간 증가하였지만 유의적인 수준은 아니었다. Streptococcus도 유의적인 차이를 나타내지는 않았지만 김치 섭취기간동안 다소 증가하였다. 그 외 Cl. perfringens와 Staphylococcus, E. coli 등은 김치 섭취와 상관없이 거의 일정하게 유지됨을 관찰할 수 있었다. 그러나, 김치에 많이 함유되어 있는 Lactobacillus의 경우 김치 섭취기에는 분변에서 균수가 증가하였고, 김치 비섭취시 다시 분변 균수가 감소되는 것을 볼 수 있었다(P<0.05, Fig. 2). 이러한 경향은 섭취와 비섭취의 반복주기동안 계속적으로 관찰되었다. Lactobacillus 이외에 Leuconostoc도 김치 섭취 시기에 증가되어 상당수가 장까지 도달할 수 있음을 알 수 있었다 (P<0.05, Fig. 2). 즉, 김치의 섭취 기간에 김치에 들어 있는 젖산균이 장에서 유의적으로 증가하는 것으로 조사되었다. 그러나 위와 장에서의 생존률, 장에서

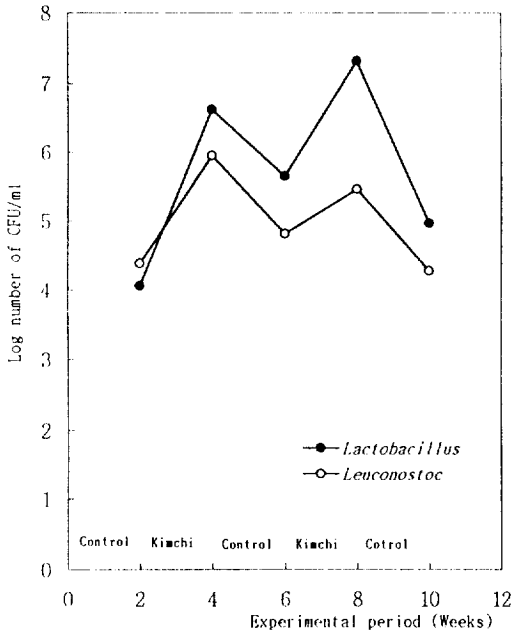


Fig. 2. Change of the viable cell counts of intestinal lactic acid bacteria in fecal samples during kimchi intake

의 정착능과 증식능에 대한 규명은 앞으로 더욱 연구가 진행되어져야 할 것이다. 김치 비섭취기간에도 장내 *Lactobacillus*와 *Leuconostoc*은 10^4 정도까지 검출되어 식이를 중단하더라도 어느 정도의 젖산균은 검출되었다. 김치의 섭취, 비섭취 기간을 각각 2주 이상 유지하였을 때도 동일한 결과가 나타날지는 더욱 연구가 수행되어야만 할 것이다. *Lactobacillus*를 동결건조분말(4×10^9 CFU/day)과 발효유 제품(1.6×10^{11} CFU/day)상태로 공급하였을 때 실험대상자의 장내 균총에서 이들 균이 증가되었고 공급을 중지하면 4일 후에 그 수는 약 81%만이 존재하고 7일 후에는 33%만이 존재한다고 보고되었다⁽¹⁴⁾. 이는 김치 섭취 시기에 *Lactobacillus* 수가 증가하고 비섭취기에는 감소하는 본 연구와 비슷한 경향을 보인다고 하겠다. 인체 장내 균총의 조성을 조사한 대부분의 실험에서 *Lactobacillus*는 10^6 의 수준으로 분포하는 것으로 보고되었고 *Lactobacillus*의 증감은 식이, 연령, 질환의 종류 및 유무에 의하여 영향을 받는 것으로 알려져 왔다⁽¹⁵⁾. 본 연구결과 김치 중의 *Lactobacillus*와 *Leuconostoc* 섭취로 인체의 대장내에서 이들 균들의 수가 증가하는 것으로 관찰되었다. 따라서 한국인에 있어서 김치의 섭취는 장내의 이들 균총의 검출 수준에 어느 정도 기여한다고 할 수 있다. 그러나 본 연구에서 조사된

Table 3. Effect of kimchi intake on the enzyme activity, pH and moisture content in human feces

	Control	Kimchi intake
pH	6.75 ± 0.52	6.59 ± 0.91
Moisture %	76.73 ± 12.13	79.06 ± 7.94
β-Glucosidase activity ¹⁾	2.92 ± 1.05 ²⁾	2.38 ± 1.28 ^b
β-Glucuronidase activity ¹⁾	0.43 ± 0.12 ^a	0.34 ± 0.11 ^b

¹⁾Activity (unit/wet gram feces)

²⁾Values with different superscripts in same row differ ($p < 0.05$)

*Lactobacillus*와 *Leuconostoc*들은 총균수의 약 0.01-0.1% 수준에 불과하기 때문에 이들 균주의 증가가 장내의 균총과 생리적 개선을 도모하였다고 해석하는 것에는 무리가 있다. 김치의 섭취로 인해 김치 중의 젖산균이 장내에서 증가했다는 결과는 본 연구에서 처음 얻어진 의미있는 결과로 볼 수 있다. 앞으로 장내 정착성과 김치 제조 특성이 우수한 균주를 선발하여 probiotic starter 균주로 개발하여 인체 실험을 수행할 경우 더욱 바람직한 결과가 얻어질 것이다.

김치의 섭취가 분변의 효소 수준, pH 및 수분 함량에 미치는 영향

김치의 섭취기간동안 변의 pH가 유의적인 차이는 아니지만 감소되는 경향을 보였다. 김치 섭취기간동안 젖산균이 증가하더라도 젖산균이 장내 우세 균주가 아니고 섭취한 김치중의 식이섬유 또는 발효성당의 수준이 유의적인 pH저하를 일으킬 수 있는 수준은 아니었던 것으로 생각된다. 변의 수분 함량도 유의적인 차이는 아니지만 김치의 섭취 기간에 약간 증가되는 것을 볼 수 있는데 김치에는 젖산균 외에 식이섬유를 다량 함유하고 있어 식이섬유와의 관련성에 기인하였을 가능성이 있다. 장내 유해효소로 알려진 β-glucosidase와 β-glucuronidase는 모두 김치 섭취기에는 유의적인 차이로 감소되었다($p < 0.05$, Table 3). 김치 섭취와 비섭취의 주기별 변화는 Fig. 3에 구분하여 나타내었다. β-Glucosidase는 배당체를 분해하는 효소로 배당체는 분해되어 당과 비배당체 부분으로 나누어지게 되는데 섭취된 식품중의 배당체는 분해되면 반응성이 증가되고 체내 흡수가 증가되는 것으로 알려졌다⁽¹⁶⁾. 특히 amygdalin과 같은 청산 배당체와 쿠마린 배당체 및 페놀성 배당체는 분해 후 이들 독성기가 유리되어 너무 많은 양이 생성되면 좋지 않은 것으로 알려졌다. β-Glucuronidase는 장간 순환 물질의 탈포합에 주로 관여한다. 즉 간에서는 지용성 독성 물질에 글루쿠론산이나 황산 등의 친수성 그룹을 포함시켜 수용성을 증가시킴으로써 장이나 소변으로의 배설을

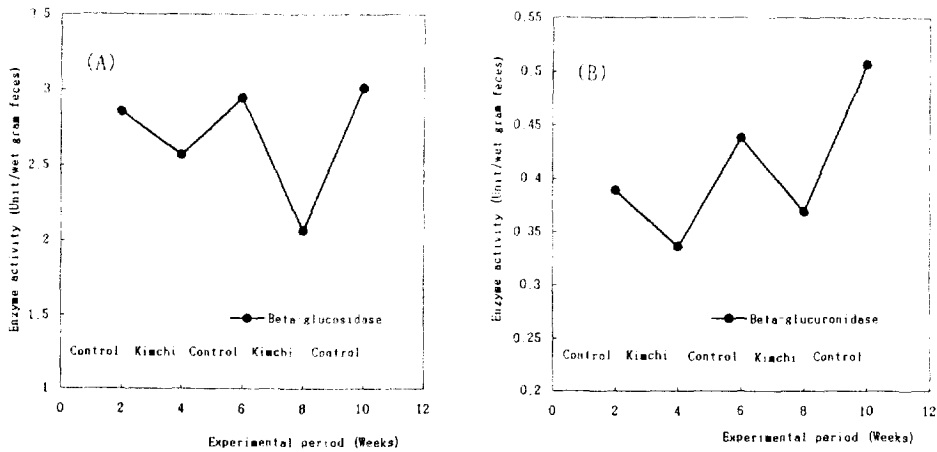


Fig. 3. Effect of kimchi intake on the fecal beta-glucosidase (A) and beta-glucuronidase (B) during experimental period

촉진한다. 이들 β -glucuronidase가 장내에 존재하면 포합된 독성물질이 다시 탈포합되어 지용성이 증가되고 결과적으로 상피 세포를 통한 체내 흡수가 증가되는 것으로 알려져 있다⁽¹²⁾. 오 등⁽¹³⁾은 김치와 사우어크라우트를 섭취한 인체의 분변에서 효소 활성도와 pH를 조사하였는데 β -glucuronidase와 nitroreductase의 활성도가 저하되고 pH가 낮아진다고 보고한 바 있어 본 연구의 결과와 비슷하였다.

본 연구에서는 김치를 섭취한 인체의 장내 세균의 변화와 분변 효소 및 pH, 수분 함량 등을 조사하였다. 앞으로 김치의 국제화를 위하여는 김치 자체의 제조법 및 품질 개량 등이 계속적으로 연구되어야 하겠지만 또한 김치의 섭취가 인체의 장을 비롯한 기타 기관에 미치는 생리적 평가가 더욱 수행되어야 할 것이다.

요 약

김치는 한국인의 대표적인 발효식품으로서 정장 작용이 있다고 여겨져 왔다. 그러나 이를 입증하는 객관적인 자료가 미비한 상태이다. 이에 본 연구에서는 김치의 섭취가 인체의 장내 미생물에 미치는 영향을 조사하였다. 인체 실험대상자는 10명으로 실험기간중의 이들의 식이는 생균제, 항생제, 유산균 발효 제품을 제외한 자유식을 섭취하게 하였다. 실험 기간은 10주로 2주간격으로 김치 비섭취 및 섭취 기간을 반복했으며 섭취 기간 중에는 매일 200g의 김치를 섭취하게 하였다. 각 기간별로 분변의 장내 미생물 균총 분포도 (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*,

Clostridium perfringens), 변의 pH, 수분 함량 및 β -glucosidase, β -glucuronidase 등의 효소활성도를 조사하였다. 조사 결과 김치의 섭취 기간 중 김치에 존재하는 젖산균인 *Lactobacillus*와 *Leuconostoc*의 수가 장내에서 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$) 그 외 조사된 다른 균총수의 변화는 유의적이지 않았다. 장내 유해효소로 알려진 β -glucosidase와 β -glucuronidase의 수준은 김치 섭취시에 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

감사의 글

본 연구는 한림대학교 교내 연구비(1995) 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Cummings, J. H. and Macfarlane, G. T.: The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.*, **70**, 443 (1991)
- Goldin, B. R., Lichtenstein, A. H. and Gorbach, S. L.: The roles of the intestinal flora. In *Modern Nutrition in Health and Disease*, Shils, M.E. and Young, V.R. (Ed.), LEA and FEBIGER, Philadelphia, p.500 (1988)
- 光岡知足: 腸内細菌學. 朝倉書店, 東京 (1990)
- Macfarlane G.T., Gibson G. R. and Cummings J. H.: Extracellular and cell-associated glycosidase activities in different regions of the human large intestine. *Lett. Appl. Microbiol.*, **12**, 3 (1991)
- Gilliland, S. E.: Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 175 (1990)
- Mitsuoka, T.: *A Color Atlas of Anaerobic Bacteria* (2nd ed.), Tokyo (1984)
- Sneath, P. H. A., Nicholas, S. M., Sharpe, M. F. and

- Holt, J. G.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Vol. 2, William and Wilkins, Baltimore (1986)
8. Cheigh, H. S. and Park, K. Y.: Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of *kimchi* (Korean fermented vegetable product). *Critical Rev. Food Sci. Nut.* **34**, 175 (1994)
 9. 박인숙 : 김치 유산균의 생리적 특성과 기능. 중앙대학교 대학원 박사 학위 논문 (1992)
 10. 한홍의, 박현근 : Bromphenol blue 배지상에서 유산균들의 분별 측정. 인하대학교 기초 과학 연구소 논문집, **12**, 89 (1991)
 11. 지근억 : 한국인의 장내 균총 조성 및 분포. 한국산업 미생물 학회지, **22**, 453 (1994)
 12. Chadwick, R. W., George, S. E. and Claxton, L. D.: Role of the gastrointestinal mucosa and microflora in the bioactivation of dietary and environmental mutagens or carcinogens. *Drug. Metabol. Rev.* **24**, 425 (1992)
 13. Laqueur, G. L. and Spatz. M.: Toxicology of cycasin. *Cancer Research*, 2262 (1968)
 14. Goldin, B. R., Gorbach, S. L., Saxelin, M, L., Barakat, S., Gualtieri, L. and Salminen, S.: Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci.* **37**, 121 (1992)
 15. 오영주, 황인주, Claus Leitzmann : 김치의 영양생리학적 평가. 김치의 과학, 226 (1994)

(1996년 8월 5일 접수)