

효모 Starter의 첨가가 김치발효에 미치는 영향

김혜자 · 강상모* · 양차범

한양대학교 식품영양학과, *건국대학교 미생물공학과

Effects of Yeast Addition as Starter on Fermentation of *Kimchi*

Hye-Ja Kim, Sang-Mo Kang* and Cha-Bum Yang

Department of Food and Nutrition, Hanyang University

*Department of Microbiological Engineering, Konkuk University

Abstract

The purpose of this study is to investigate the effects of yeast addition as starter on *kimchi* fermentation. The strains used as starter were *Saccharomyces sp.* YK-17 and *Saccharomyces fermentati* YK-19 isolated from *kimchi*, grew under anaerobic condition and low temperature, which showed the acid and base resistances. Chemical and microfloral changes, as well as the sensory properties of starter added *kimchi* during fermentation were compared with the control fermented without starter. The acidity of *kimchi* juice was lower and pH was higher in starter added *kimchi* than the control. Particularly addition of *S. fermentati* YK-19 prolonged the optimally fermented period (pH 4.0, acidity 0.6~0.8%) up to more than 63%. The content of lactic acid, the major non-volatile organic acid in *kimchi*, was increased rapidly followed by *S. sp.* YK-17 and *S. fermentati* YK-19 group. The microfloral changes were found a little different among the samples. Among the microorganisms, *Leuconostoc sp.* and *Lactobacillus sp.* showed highest change, and *Streptococcus sp.* and *Pediococcus sp.* showed relatively low change. The growth of *Lactobacillus sp.* which was the main acidifying microorganism was inhibited by starter addition, particularly by *S. fermentati* YK-19. The sensory characteristics of acidic and moldy flavor were significantly reduced by the addition, while fresh flavor was increased in starter added group.

Key words: *kimchi* fermentation, starter, *Saccharomyces sp.* YK-17, *Saccharomyces fermentati* YK-19

서 론

김치는 배추, 무우 등의 야채류와 첨가되는 각종 향신료에 부착되어 있는 미생물의 상호 작용에 의해 자연적으로 발효되는 식품으로, 김치발효 중에는 세균, 효모, 곰팡이 군집이 발효대사산물과 산소 등의 환경요인이 도태압(selective pressure)으로 작용하여 천이 일어나는 것이 밝혀졌다⁽¹⁻⁸⁾.

이중 효모에 관한 연구는 주로 김치내에서 이취를 내면서 연부현상에 관여하고 있는 균주와 그 특징에 관하여 이루어졌다. 하⁽⁹⁾는 33주의 효모를 분리하여 효소활성을 측정하여 효모가 분비하는 polygalacturonase에 의해 연부현상이 일어나는 것과, 이 효모들이 젖산균의 대사산물인 유산을 이용하는 성질을 가지고 있다는 것을 밝혔다. 이에 이어 최⁽¹⁰⁾는 김치내의

효모 중 산막을 형성하는 것을 분리동정하여 8속 13종이 존재하고 있음을 보고하였다. 한 등⁽¹¹⁾은 산막 효모 중 연부현상에 관여하는 효모를 분리 동정하였다. 김치에서 효모는 연부현상에 관여하는 것 외에도 김치숙성에서 알코올을 생성하며, 향미에 관여한다. 그러나 이러한 방향물질 생성 효모의 역할과 생성산물을 대상으로 한 연구가 집중적으로 이루어져 있지 않다. 또한 김치발효 말기의 산막효모는 젖산을 기질로하여 연부현상을 일으키고, 호기성 세균을 증식시킨다. 그러나 방향생성능이 높으면서 김치에서 생육 가능한 효모를 발효초기에 starter로 첨가할 경우에는 기질 이용면에서 젖산균 증식에 필요한 영양원을 starter가 이용하므로 산패현상을 지연시킬 수 있으며, 관능적 향미특성도 향상되리라고 여겨진다.

저자 등은 김치의 산패를 지연시킬 수 있는 조건에 맞는 starter 개발을 목적으로 김치로부터 11종의 효모를 분리 동정하였고⁽¹²⁾, 또한 이들 효모들을 김치제조

Corresponding author: Cha-Bum Yang, Department of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

시 starter로 첨가하여 관능검사 통한 김치의 기호도를 조사하였으며, 이들 중 기호도가 가장 우수하다고 판명된 *Saccharomyces fermentati* YK-19 균주가 생성하는 휘발성화합물을 분석하여 보고하였다⁽⁴³⁾.

본 연구에서는 이들 기호도가 우수한 효모 *Saccharomyces* sp. YK-17과 *Saccharomyces fermentati* YK-19를 starter로 첨가시 김치의 이화학적 성분분석, 미생물의 경시적인 변화 및 관능적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주

실험에 사용된 균주는 김치에서 분리 동정한 방향성 물질 생산능이 높은 *Saccharomyces* sp. YK-17과 *Saccharomyces fermentati* YK-19 균주⁽⁴²⁾로서 YM (yeast malt extract: yeast extract 3, glucose 20, malt extract 3, peptone 5)배지에 계대하여 사용하였다.

Starter는 25°C에서 24시간 배양하여 김치 부피에 대하여 0.01% (1.2×10^4 cell/mL) 첨가하였는데, 이는 starter 접종량을 0.1% 내외로 할 경우 김치맛을 느낄 수가 없었고 젖산 생성이 거의 없었다.

시료김치의 제조

본 실험에 사용된 배추는 1993년도에 생산된 통배추로서 잠실동 한화 백화점에서 중량 2~3 kg인 것만을 선별하여 김치를 제조하는 당일에 구입하였다.

배추를 4쪽으로 절단하고 12%의 NaCl (80% 제염)용액에 침지하여 배추조직내의 NaCl 함량이 약 3%정도 될 때까지 12~15시간 염지시킨 후, 흐르는 물에 3회 세척하여 물빼기를 한 다음 잘게 절단하여 전보⁽⁴³⁾에서와 같이 부재료를 넣고 버무려 김치를 제조하였다.

시료김치는 약 300 g씩 starter를 첨가하지 않은 대조군과 starter를 첨가한 김치군으로 나누어 김치용기와 비닐봉지에 담고 잘 밀봉하여 10°C에서 30일간 숙성 발효시키면서 일정기간마다 취하여 시료로 사용하였다. 이 때 대조군은 sample I (control kimchi group)으로, *Saccharomyces* sp. YK-17균주를 첨가한 김치군은 sample II (*Saccharomyces* sp. YK-17 kimchi group)으로, 그리고 *Saccharomyces fermentati* YK-19균주를 첨가한 김치군은 sample III (*Saccharomyces fermentati* YK-19 kimchi group)으로 하였다.

pH 및 산도 측정

시료김치를 waring blender로 마쇄한 후 거즈로 걸

러 그 여액으로 pH는 pH Meter (M-8S, Horiba Co.)로 측정하였고, 산도는 AOAC의 방법⁽⁴⁴⁾에 의하여 10 mL 김치여액을 중화시키는데 소비된 0.1 N NaOH의 양을 lactic acid의 양으로 환산하였다.

환원당 측정

환원당은 dinitrosalicylic acid (DNS)에 의한 비색방법⁽⁴⁵⁾으로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 glucose양으로 환산하였다.

비휘발성 유기산의 분석

김치 100 g을 5분간 마쇄하여 거즈로 짜서 여과한 후 얻어진 액 50 g에 80% methanol 30 g을 가하여 5×10 rpm으로 20°C에서 1시간 동안 진탕시켜 여과한 후 감압 증류하여 완전 건조시킨 다음 100% methanol 5 mL로 3회 반복하여 용해시키고 여과하여 50 mL 원침판에 옮긴 후 105°C dry oven에서 완전히 건조시켰다. 건조시킨 시료에 14% BF₃ methanol 용액 2 mL을 가하고 내부 표준물질로써 methyl laurate가 함유되어 있는 chloroform 용액 2 mL을 가한 후 60°C에서 25분간 반응시켰다. 이것을 4 mL의 포화 ammonium sulfate를 가하여 유기산 methyl ester를 chloroform층으로 이행시키고 소량의 sodium sulfate를 가하여 탈수시킨 후 gas chromatography (GC)로 분석하였다⁽⁴⁶⁾.

GC 기종은 Hewlett Packard 5890 (USA)이고, column은 Supelcowax 10 (30 m \times 0.25 mm i.d.)을 사용하였으며 column의 온도는 70°C에서 210°C까지 분당 4°C로 상승시켰으며, injector 온도는 260°C이고, detector (FID)의 온도는 270°C이었으며, carrier gas는 He를 25 mL/min으로 흘렸으며, split ratio는 1:50이었고, 주입량은 0.2 μ L이었다.

미생물의 경시적 변화

일정기간마다 취한 시료김치 100 g을 blender로 마쇄한 다음 멸균거즈로 여과하고 단계농도로 희석하여 젖산균 및 총균수의 계수를 위한 시료로 하였다.

시료 중의 젖산균을 각 속별로 분리계수하기 위하여 宮尾 등⁽⁷⁾의 방법에 따라 *Leuconostoc*은 phenylethyl alcohol sucrose (PES)배지, *Streptococcus*, *Pediococcus* 및 *M-Enterococcus* agar 배지, *Lactobacillus*속은 M-LBS agar배지를 사용하였고, 총균수는 plate count agar (PCA)배지를 사용하여 평판배양 후 나타난 colony의 수로부터 시료 1 mL 중의 각 균수를 산출하였다.

효모수의 계수⁽⁴⁷⁾는 yeast-malt extract agar (YM)를

사용하여 젖산균의 분리계수와 동일한 방법으로 행하였다.

관능적 특성

관능검사는 다시료 비교 검사법⁽¹⁸⁾에 의하여 시행하였으며, 패널요원은 김치맛에 대한 차이 식별능력이 있는 대학원생 중 예비실험을 거쳐 10명을 최종 선정하여 관능평가를 수행하였다.

관능평가를 통하여 조사한 특성은 신맛(acidic taste), 군덕맛(moldy taste), 생배추맛(fresh cabbage taste), 상큼한 맛(fresh sourness taste)과 이에 상응하는 냄새들, 그리고 사각사각함(fracturability)과 연해짐(tenderness)의 텍스처 및 전체적인 기호도(total acceptability)로써 각각 1에서 5까지로 분류한 등급으로 평가하였으며 1에 가까울수록 그 정도가 약하고 5에 가까울수록 그 정도가 강한 것을 나타내었다.

통계처리는 SAS프로그램 중에서 분산분석(ANOVA test)를 실시하였으며 유의적인 차이가 있는 경우는 Student Newman Kaul의 다중비교법에 의하여 평균값의 유의성 수준에서 검정하였다⁽¹⁹⁾.

결과 및 고찰

pH 및 산도의 변화

김치의 발효중 대조군과 starter 첨가군의 pH 및 산도의 변화는 Fig. 1과 같다.

pH는 당초 5.45이던 것이 발효초기에는 모든 실험군에서 비슷하게 약간의 감소를 보이다가 그 이후 대조군과 *Saccharomyces* sp. YK-17 첨가군은 9일째에 각각 pH 4.37과 4.52로 감소를 나타내었고, 12일 이후에는 완만한 pH변화를 보였으며, 반면에 *S. fermentati*

tati YK-19 첨가군에서는 숙성 6일 이후부터 15일경까지 pH 5.0에서 4.26정도로 완만하게 감소되다가 그 이후는 큰 변화가 없었으며, 발효 30일째에는 대조군은 3.75, *S. sp.* YK-17 첨가군은 3.72, *S. fermentati* YK-19 첨가군은 3.88로 감소되었다.

한편 산도의 변화를 보면 모든 시료가 발효 초기에는 0.25~0.3%정도로 거의 비슷하였으나 대조군은 숙성 3일 이후부터 18일까지 급격히 증가하다가 그 이후 완만하다가 숙성 말기에 다시 급격히 증가하여 30일째에 1.12%를 보였다.

반면에 *S. sp.* YK-17과 *S. fermentati* YK-19 첨가군은 전 숙성기간을 통하여 대조군보다 훨씬 낮은 산 생성을 보였는데, 숙성 9일까지 각각 0.43%와 0.40%로 두 실험군에서 거의 비슷한 산도를 나타내다가 그 이후부터 15일까지 *S. fermentati* YK-19 첨가군이 0.53%로 *S. YK-17*첨가군의 0.68%보다 낮은 산 증가 속도를 보였으며, 숙성 18일 이후는 다같이 완만하다가 27일 이후는 급격히 증가되어 30일째에는 *S. sp.* YK-17첨가군이 1.06%로, *S. fermentati* YK-19 첨가군은 0.96%로 증가하였으나 대조군보다는 산생성이 낮게 나타났다.

민 등⁽²⁰⁾은 염도 3.0인 김치를 5~14°C의 저온에서 발효시켜 pH 4.2, 산도가 0.6~0.8%일 때 적당한 정도로 익었다고 하였고, 구 등⁽²¹⁾은 pH 4.2~4.4일 때가 먹기에 적당한 신맛 범위라고 하였으며, Pederson 등⁽²²⁾은 sauerkraut의 익은 정도는 pH보다는 산도로 비교하는 것이 바람직하다고 하였다. 이들의 실험결과와 비교하여 본 실험에서의 김치 적숙기라고 할 수 있는 pH 4.10~4.35, 산도 0.6~0.8%에 이르는 시간을 각 실험군 별로 비교해 보면 대조군의 경우 김치 숙성 9~16일째의 8일간이 위의 범위에 해당하며 *S. fermentati* YK-19 첨가군의 경우는 13~25일째까지 13일간이며 *S. sp.* YK-17 첨가군의 경우는 대조군과 거의 비슷한 양상으로 나타났다. 결국 *S. sp.* YK-17을 첨가함으로써 산패 지연 효과를 크게 볼 수 없었으나 *S. fermentati* YK-19를 첨가해 줌으로써 대조군보다 숙성 발효기간을 지연시켜 김치 적숙기를 약 1.63배 연장시킬 수 있음을 확인하였다.

그리고 김치의 pH변화에 가장 영향을 미치는 산도의 변화가 숙성 후기에 pH의 변화와 일치하지 않는 것으로 나타났는데 이는 김치에서 유리되어 나오는 유리아미노산의 함량 증가와 관련이 있는 것으로 생각된다⁽²³⁾.

환원당의 변화

김치발효에서 미생물의 성장에 이용되는 에너지원

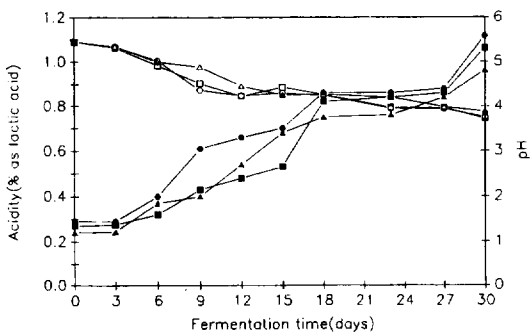


Fig. 1. Changes in pH and acidity during kimchi fermentation at 10°C. (Acidity) ●—●: control group, ■—■: YK-17 group, ▲—▲: YK-19 kimchi group, (pH) ○—○: control group, □—□: YK-17 group, △—△: YK-19 group.

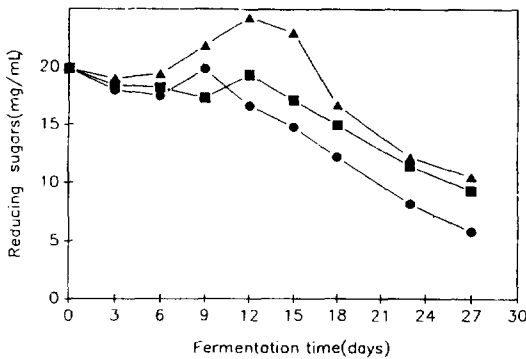


Fig. 2. Change of reducing sugar during kimchi fermentation at 10°C. ●—●: control group, ■—■: YK-17 group, ▲—▲: YK-19 group.

은 주로 배추로부터 발효액으로 용출되는 당이 이용되며 당함량은 배추의 품종, 첨가한 부재료의 종류와 양, 김치 제조방법 등에 따라 상당한 차이가 있을 것이다.

김치발효에 따른 환원당의 변화를 보면 Fig.2와 같다. 즉 김치의 당함량은 19.84 mg/mL이었으며, 발효 초기에는 모든 실험군에서 18~19 mg/mL로 거의 변함 없거나 약간 감소하다가 숙성 9~12일째에 일시적으로 증가를 보이다가 그 이후 감소되어 숙성 18일째까지 대조군은 12.20 mg/mL, *S. sp.* YK-17 첨가군은 14.94 mg/mL, *S. fermentati* YK-19 첨가군은 16.66 mg/mL로 감소하다가 숙성 27일째에는 각각 5.80, 9.30 및 10.50 mg/mL로 크게 감소하였다. 숙성 10일 전후 환원당이 일시적으로 증가하는 것은 배추 또는 양념류에 들어있는 환원성기를 갖는 화합물들이 분해 또는 용출되어 나오는 것으로 추측되며 그 이후 유산균들이 급속하게 성장하면서 lactic acid를 비롯한 acetic acid, alcohol, carbon dioxide 등의 발효산물로 변화시켜 환원당이 감소하는 것으로 볼 수 있다. 윤 등⁽²⁴⁾은 김치를 26°C에서 발효시킬 때 환원당은 발효 1일째 일시적으로 증가하다가 2일째부터 현저하게 감소한다고 보고하였으며, 이 등⁽²⁵⁾은 김치발효가 진행됨에 따라 날김치에 비해 당함량은 계속적으로 감소한다고 보고하였고, 이와 이⁽²⁶⁾는 김치의 당함량은 초기에 서서히 감소되다가 중기 이후부터 급격하게 감소되고 말기에 이르러서는 다시 둔화된다고 하였으며, 또한 노 등⁽²⁷⁾은 깎뚜기에서 초기에는 급격하게 감소되고 중기 이후에는 둔화되었다가 다시 감소한다고 보고하여 본 실험결과와는 약간 다른 경향을 보였다.

한편 starter 첨가군은 대조군보다 전반적으로 환원당의 감소속도가 느리게 나타났는데, 특히 *S. fer-*

mentati YK-19 첨가군은 숙성 12~15일째까지 환원당의 감소속도가 대조군과 *S. sp.* YK-17 첨가군보다 매우 느린 것으로 나타났다. 숙성 중기 이후에는 모든 실험군에서 발효가 급속히 진행되었는데 그 중 *S. fermentati* YK-19 첨가군은 발효말기까지도 당 함량이 10.50 mg/mL로 대조군의 5.80 mg/mL과 *S. sp.* YK-17 첨가군의 9.30 mg/mL에 비해 비교적 많은 환원당이 남아 있는 것으로 보아 당을 덜 이용하여 숙성이 지연됨을 알 수 있었다.

또한 예비실험에서 *S. cerevisiae*와 *S. fermentati* YK-19를 혼합배양했을 때 단일배양보다 *S. cerevisiae*의 생육이 50%정도 저하되는 것을 알 수 있었는데 이로 인해 환원당의 이용속도가 늦어지는 것을 재확인할 수 있었다.

비휘발성 유기산의 변화

김치는 숙성이 진행됨에 따라 상큼한 신맛이 생기고 이러한 신맛은 김치의 숙성과정 중 생성되는 유기산 함량의 증가에 큰 영향을 받으며 김치의 기호도에 상당한 영향을 미친다고 보고되어 있다^(28,29).

본 실험에서 김치 발효기간에 따른 비휘발성 유기산의 함량변화를 보면 Table 1과 같다.

김치에 존재하는 비 휘발성 유기산은 lactic acid, oxalic acid, malonic acid, succinic acid, malic acid, citric acid, pyroglutamic acid 등으로 발효 초기에는 pyroglutamic acid > malic acid > lactic acid > succinic acid의 순으로 1.2 mg/100 g 이상 함유되었다.

김치발효 중 각각의 비 휘발성 유기산 함량의 변화를 보면 lactic acid가 가장 많이 증가되어 거의 대부분을 차지 하였고, 그 함량 변화는 대조군에서 가장 현저하여 발효 초기에 1.71 mg/100 g이던 것이 숙성 3일 이후 급격히 증가되어 9일째에는 40.43 mg/100 g으로 크게 증가되었고, 그 이후에도 계속 증가되어 숙성 말기인 24일에는 77.60 mg/100 g 이나 되었다. 그 다음은 *S. sp.* YK-17 첨가군으로 숙성 24일에 69.24 mg/100 g으로 되었으며 *S. fermentati* YK-19 첨가군에서는 가장 낮아 숙성 24일에 45.22 mg/100 g이었다.

김치에 상쾌한 신맛을 부여해 주는 것으로 알려져 있는 succinic acid의 함량변화는 3처리군간에 큰 차이를 보이지 않았으며, 숙성 초기에 1.29 mg/100 g이던 것이 적숙기(9일째)에 대조군이 2.76 mg/100 g, *S. sp.* YK-17 첨가군이 1.80 mg/100 g, *S. fermentati* YK-19 첨가군이 1.90 mg/100 g으로 약간 증가하다가 숙성 24일에 가서는 각각 0.72, 0.64, 0.42 mg/100 g으로 감소하였다.

Table 1. Changes of non-volatile organic acids during kimchi fermentation at 10°C for 24 days (mg/100 g)

Sample ¹⁾	Day	Lactic	Oxalic	Malonic	Succinic	Malic	Citric	Pyroglutamic
I	0	1.71	0.18	0.17	1.29	1.78	0.78	3.91
	3	5.16	0.20	0.15	2.03	2.51	1.22	5.73
	6	24.06	0.24	0.15	2.40	0.41	0.15	5.93
	9	40.43	0.42	0.24	2.76	0.39	0.13	9.29
	12	49.19	0.35	0.33	2.04	0.20	0.08	5.14
	15	56.62	0.26	0.24	1.48	0.17	0.04	4.92
	18	64.80	0.24	0.22	1.04	0.14	0.02	4.20
	24	77.60	0.12	0.14	0.72	0.12	0.20	2.60
II	0	1.71	0.18	0.17	1.29	1.78	0.78	3.91
	3	2.28	0.18	0.14	1.44	1.06	0.18	4.00
	6	11.68	0.18	0.18	1.48	0.54	0.40	4.12
	9	34.68	0.34	0.22	1.80	0.48	0.10	5.60
	12	41.54	0.20	0.14	1.98	0.26	0.22	6.88
	15	39.76	0.20	0.14	1.80	0.14	0.02	7.60
	18	59.06	0.16	0.16	0.84	0.12	0.02	6.66
	24	69.24	0.14	0.14	0.64	0.12	0.02	5.40
III	0	1.71	0.18	0.17	1.29	1.78	0.78	3.91
	3	2.19	0.19	0.11	1.80	2.04	0.58	5.18
	6	7.26	0.18	0.11	1.81	1.26	0.52	4.82
	9	19.40	0.22	0.14	1.90	0.92	0.22	5.74
	12	26.54	0.14	0.21	1.70	0.30	0.08	5.18
	15	29.20	0.12	0.14	1.20	0.14	0.06	4.18
	18	35.70	0.12	0.12	1.14	0.14	0.04	3.56
	24	45.22	0.06	0.06	0.42	0.14	0.01	3.04

¹⁾I: control group, II: *S. sp.* YK-17 group, III: *S. fermentati* YK-19 group.

김치에 감칠맛을 부여하는 pyroglutamic acid의 경우도 초기에 3.91 mg/100 g 이던것이 적숙기에 대조군은 9.29, *S. sp.* YK-17 군은 7.60, *S. fermentati* YK-19 군은 5.74 mg/100 g으로 증가하다가 숙성 24일에 가서는 각각 2.60, 5.40, 3.04 mg/100 g으로 감소되었다.

그외의 유기산의 함량에 있어서는 3가지 처리군간에 거의 차이가 없었으며 oxalic acid와 malonic acid의 경우 적숙기에 약간 증가하다가 다시 감소하는 경향을 보였고 malic acid와 citric acid의 경우도 점차 서서히 감소하는 경향을 보였다.

김치의 숙성적기에 lactic acid와 pyroglutamic acid, succinic acid의 함량이 높게 나타나는 것은 lactic acid는 신맛에, succinic acid는 감칠맛에 많은 영향을 줄 것이라는 지⁶⁰⁾의 보고로 미루어 이들 유기산이 김치의 맛에 큰 영향을 미칠 것이라고 생각된다. Park 등⁶¹⁾도 김치발효 중 lactic acid는 계속 현저하게 증가되고 malic, citric, tataric, pyroglutamic 및 succinic acid 등은 적숙기에 최고치를 보이다가 그 이후 감소된다고 하여 본 실험 결과와 같은 경향이였다.

한편 허 등⁶²⁾은 이러한 비 휘발성 유기산의 변화를 이용하여 김치의 발효 정도를 구별하기 위한 연구를 검토하였다. 김치의 발효 공정에 관하여 현재까지 여

러 연구가 진행되었으나 김치의 발효 상태에 대한 명확한 지표가 설정되어 있지 않은 상태에서 김치의 국제화에 기초가 될 수 있는 표준화를 이룩하기는 곤란한 일이며 따라서 김치의 발효 정도를 측정할 수 있는 지표를 설정하기 위하여 김치에 존재하는 비 휘발성 유기산의 변화(Table 1)를 이용하여 김치의 숙성 기간에 따른 lactic, succinic 및 pyroglutamic acid의 함량비율을 구한 결과는 Table 2와 같다.

Lactic acid/pyroglutamic acid (L/P)의 비율은 숙성 24일 동안 계속 증가되었고 대조군이 *S. sp.* YK-17과 *S. fermentati* YK-19 첨가군보다 그 비가 훨씬 큰 것으로 미루어 볼 때 starter 첨가로 인해 발효가 지연된 것으로 생각 할 수 있으며, 또한 succinic acid/pyroglutamic acid (S/P)의 비율은 일정기간 동안 약간 증가하다가 숙성 중기 이후는 감소함을 볼 수 있었고 실험군간에 별 차이를 보이지 않았다. 따라서 L/P 비율을 발효의 정도를 나타내는 지표로 삼을 수 있는데 그 이유는 모든 김치의 숙성과정 중에서 lactic acid와 pyroglutamic acid가 가장 많은 양으로 함유되어 lactic acid의 생성량만을 기준으로 하는 것보다 발효 후기까지 존재하는 이 두가지 유기산의 함량비를 비교함으로써 김치 종류에 따른 lactic acid 함량의 차이를 보완

Table 2. Changes in ratio of lactic and succinic acid to pyroglutamic acid during kimchi fermentation at 10°C

Sample ¹⁾	Ratio	Days								
		0	3	6	9	12	15	18	24	
I	L/P ²⁾	0.44	0.90	4.06	4.35	9.57	11.51	15.43	29.85	
	S/P	0.33	0.35	0.40	0.30	0.40	0.30	0.25	0.24	
II	L/P	0.44	0.57	2.83	6.20	6.04	5.20	8.87	12.82	
	S/P	0.33	0.36	0.36	0.32	0.29	0.24	0.13	0.12	
II	L/P	0.44	0.42	1.51	3.40	5.12	6.99	10.03	14.88	
	S/P	0.33	0.35	0.38	0.33	0.33	0.29	0.32	0.21	

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾L/P: Lactic acid/Pyroglutamic acid ratio.

S/P: Succinic acid/Pyroglutamic acid ratio.

할 수 있기 때문이다.

그리고 가식기간(산도 0.6~0.8%) 범위인 대조군의 9~17일, *S. fermentati* YK-19 첨가군의 13~26일에서의 L/P값을 보면 산도 0.6%에서 대조군이 4.35이고, *S. fermentati* YK-19 첨가군이 5.12이었으며, 산도 0.8%에서 L/P값은 대조군이 15.43, *S. fermentati* YK-19 첨가군이 14.88로써 대략 4.50에서 15.0사이가 김치의 적숙기라 할 수 있다.

김치발효 중 미생물의 경시적인 변화

김치의 숙성 발효기간 중 총 생균수의 경시적인 변화는 Fig. 3,4,5와 같다. 총 생균수의 변화를 보면 발효 초기에 급증하여 높은 균수를 나타내 고 발효가 진행되는 전 기간을 통해 거의 일정한 균수($1.9 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^9$ cell/mL)를 유지하다가 산도가 증가함에 따라 발효 말기에 감소하는 경향을 나타내었다. 각 실험군에 있어서 *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* 및 *Pediococcus* 속 젖산균의 경시적인 변화는 실험군간에

차이는 있으나 대체적으로 비슷한 경향을 보였으며, 이들 중 *Leuconostoc* 및 *Lactobacillus* 속이 높은 분포를 나타내었다.

김치를 숙성시켜 맛을 증대시키는 균으로 알려진 *Leuconostoc* 속은 초기부터 급속히 증가하여 발효 중기까지 거의 일정한 균수를 유지하다가 김치 적숙기에 해당하는 기간(pH 4.0, 산도 0.6~0.8%)에는 점차 증가하여 최고 균수(1.1×10^9 cell/mL)에 도달한 후 발효 말기에는 감소하였다.

김치를 산패시키는 균으로 알려진 *Lactobacillus* 속은 대조군의 경우 발효 6일까지 급격히 증가(2.4×10^7 cell/mL)하다가 9일경 일시적인 지체 현상을 일으켰고, 그 이후 다시 점차 증가하여 발효 23일 째에 최고 균수(1.3×10^9 cell/mL)에 도달하고 그 이후에 점차 감소하였다. Starter 첨가군의 경우도 전반적으로 대조군과 유사하였으나 균 분포는 전 발효기간 동안 훨씬 낮게 나타났다. 즉, 대조군의 경우 발효 3일째에 2.4×10^7 cell/mL의 균수를 나타낸 반면에 *S. sp.* YK-17 첨

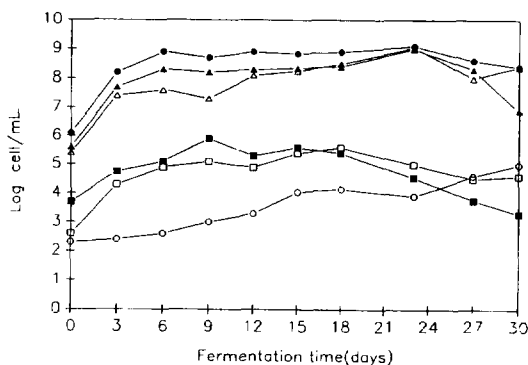


Fig. 3. Microfloral change of lactic acid bacteria and yeast during control group fermentation at 10°C. ●—●: total viable cell count, ■—■: *Streptococcus* sp., ▲—▲: *Leuconostoc* sp., □—□: *Pediococcus* sp., △—△: *Lactobacillus* sp., ○—○: Yeast.

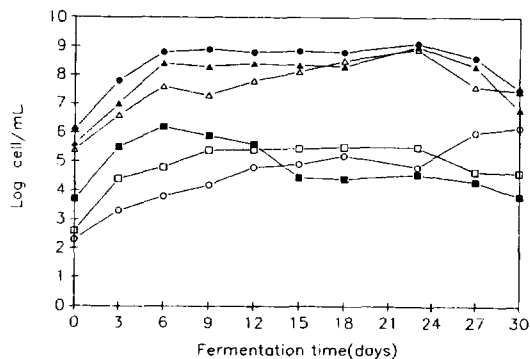


Fig. 4. Microfloral change of lactic acid bacteria and yeast during *Saccharomyces* sp. YK-17 group fermentation at 10°C. ●—●: total viable cell count, ■—■: *Streptococcus* sp., ▲—▲: *Leuconostoc* sp., □—□: *Pediococcus* sp., △—△: *Lactobacillus* sp., ○—○: Yeast.

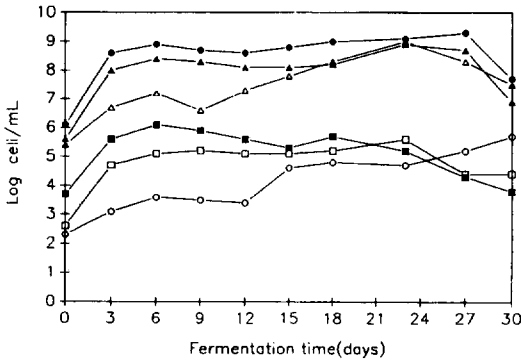


Fig. 5. Microfloral change of lactic acid bacteria and yeast during *Saccharomyces fermentati* YK-19 group fermentation at 10°C. ●—●: total viable cell count, ■—■: *Streptococcus* sp., ▲—▲: *Leuconostoc* sp., □—□: *Pediococcus* sp., △—△: *Lactobacillus* sp., ○—○: Yeast.

가균은 4.0×10^6 cell/mL, 그리고 *S. fermentati* YK-19 첨가균은 5.0×10^6 cell/mL의 낮은 균 분포도를 보였고 발효 3일 이후에도 starter 첨가균에서 계속해서 균수가 감소하였고 최고 균수(1.3×10^9 , 7.8×10^8 , 1.1×10^9 cell/mL)도 starter 첨가균에서 균 분포도가 낮게 나타났다.

*Leuconostoc*속과 같이 김치를 숙성시키는 것으로 알려진 *Streptococcus* 및 *Lactobacillus*속과 같이 김치를 산패시키는 균으로 알려진 *Pediococcus*속은 *Leuconostoc*속과 *Lactobacillus*속 보다 낮은 분포를 나타내었고, 이들 균수의 경시적인 변화는 *Streptococcus*속의 경우 *Leuconostoc*속과 같이 모든 실험군에서 초기에 증가($1.3 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^6$ cell/mL)하고 적숙기 이후에 급속히 감소하였는데 대조군과 *S. fermentati* YK-19 첨가균에 비해 *S. sp.* YK-17 첨가균에서 있어서는 완만하게 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 *S. fermentati* YK-19 첨가균의 경우 다른 실험군에 비해 숙성말기인 23일까지 비교적 높은 균수(2.0×10^5 cell/mL, 대조군의 경우 1.0×10^5 cell/mL)를 유지하였다. *Pediococcus*속은 각 실험군간에 거의 유사한 양상을 나타내었으며 *Streptococcus*속에 뒤이어 계속 증가하다가 숙성말기에 감소하였는데 *Streptococcus*속보다 더 발효가 많이 진행된 후에 완만하게 감소하는 경향을 나타내었다.

한편 효모수의 변화는 젖산균의 변화에서와 마찬가지로 실험군간에 다소의 차이는 있으나 대체적으로 거의 유사한 양상을 나타내었다. 발효초기에는 모든 실험군에서 효모수가 동일하게 나타났는데, 이는 starter균주가 김치에서 유독기를 가지며, 아울러 저온

에서 배양하였으므로 초기에는 잘 나타나지 않는 것으로 추측된다. 대조군의 경우 발효초기에 2.0×10^2 cell/mL이던 것이 중기에 이르기까지 서서히 증가(1.0×10^4 cell/mL)하거나 또는 일정한 수를 유지하다가 발효말기에 다시 서서히 증가(1.2×10^5 cell/mL)하여 젖산균의 경우와는 다른 양상을 나타내었고, starter 첨가균의 경우 발효가 진행되는 전 기간을 통해 대조군보다 다소 높은 균수를 나타내었으며 발효초기에서 중기(*S. fermentati* YK-19 : 6.0×10^4 cell/mL, *S. sp.* YK-17 : 1.6×10^5 cell/mL)에 이르기까지는 대조군에 비해 증가속도가 빠르게 진행되었으며 김치 적숙기에 해당하는 기간동안 거의 일정한 수를 유지하다가 발효말기에 다시 증가하는 경향을 나타내었다.

관능 검사

김치의 품질로서 가장 중요한 것은 무엇보다 맛, 냄새, 텍스처, 색 등 모든 관능적 특성을 포괄적으로 의미하는 맛이라고 여겨진다. 이 중 맛, 냄새, 텍스처가 특히 김치맛을 좌우한다고 믿어져 이들 3가지 품질을 10°C에서 김치를 숙성시키면서 관능적 품질의 변화를 평가한 결과는 Table 3,4와 같다.

관능적 특성 중 신맛, 군덕맛, 생배추맛, 상큼한맛과 이에 상응하는 냄새들, 그리고 사각사각함과 연해짐의 텍스처 등 10개의 관능품질 묘사와 전체적인 기호도를 평가한 결과 숙성기간에 따라 생배추맛과 냄새는 계속 감소한 반면 신내와 군덕내 그리고 이들의 맛은 증가하였다.

각 실험군간의 변화를 살펴보면 신내의 경우 숙성 초기인 6일째까지는 모든 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않다가 숙성 9일째 부터는 대조군에서 가장 높게 나타났고 숙성 9일, 15일, 23일째에 특히 *S. fermentati* YK-19 첨가균에서 대조군보다 유의적으로(각각 $P < 0.05$, $P < 0.001$, $P < 0.05$) 낮았으며 신맛에 있어서는 숙성 6일째 부터 발효 말기에 이를 때까지 대조군과 두 starter 첨가균간에 유의적인 차이($P < 0.01$)를 나타내었으며 신맛의 정도는 대조군, *S. sp.* YK-17 첨가균, *S. fermentati* YK-19 첨가균의 순으로 평가되었다. 이것은 starter 균주들이 젖산을 부분적으로 탄소원으로 이용하였거나 경쟁적 생육으로 *Lactobacillus*속의 균분포도가 낮았기 때문이라 생각된다.

군덕내의 경우 starter 첨가균에서는 김치 숙성동안에도 초기에서와 같이 거의 나타나지 않았으나 대조군에서는 숙성 15일 이전까지는 거의 느껴지지 않다가 그 이후 약간 나타났다. 군덕내가 나지않은 것은 starter 균주들이 사과향 등의 과일향을 생성하기 때문에

Table 3. Statistical analysis of odor and texture evaluation score of kimchi between samples

Day	Sample	Odor				Texture	
		Acidic	Moldy	Freshcabbage	Freshsourness	Fracturability	Tenderness
0	I	1.00	1.00	2.88	1.00 ^b	3.00	1.00
	II	1.00	1.00	2.88	1.25 ^{ab}	3.00	1.00
	III	1.00	1.00	2.50	1.63 ^a	3.00	1.00
	F value	-	-	4.20*	6.33*	-	-
3	I	1.13	1.00	2.63	1.00	3.00	1.00
	II	1.63	1.00	2.50	1.63	3.00	1.00
	III	1.38	1.00	2.25	1.88	3.00	1.00
	F value	2.33	-	1.20	3.07	-	-
6	I	2.25	1.00	1.00 ^b	1.50	2.13	1.00
	II	1.75	1.00	1.13 ^b	1.50	2.25	1.00
	III	1.25	1.13	1.75 ^a	1.50	2.25	1.00
	F value	2.62	1.00	6.58**	-	1.00	-
9	I	2.88 ^a	1.00	1.00	1.75	2.88	1.00
	II	2.63 ^a	1.00	1.00	2.00	3.00	1.00
	III	2.00 ^b	1.00	1.13	2.25	3.13	1.00
	F value	5.57*	-	1.00	2.33	1.00	-
12	I	3.00	1.00	1.00	2.00	2.13	1.38
	II	2.38	1.00	1.00	1.63	2.50	1.13
	III	2.13	1.00	1.00	2.25	2.38	1.13
	F value	3.37	-	-	1.43	0.67	2.33
15	I	3.13 ^a	1.00	1.00	2.00	1.63	1.25
	II	3.00 ^a	1.00	1.00	1.75	1.75	1.13
	III	2.00 ^b	1.00	1.00	1.88	1.75	1.13
	F value	10.87***	-	-	0.17	1.00	1.00
18	I	3.25	1.25	1.00	2.00	1.63	1.13
	II	3.13	1.00	1.00	2.13	1.63	1.13
	III	2.88	1.00	1.00	2.63	1.75	1.13
	F value	2.88	2.33	-	1.28	1.00	-
23	I	3.25 ^a	1.38	1.13	1.75	1.50	1.75
	II	3.25 ^a	1.00	1.13	1.88	1.50	1.63
	III	2.63 ^a	1.00	1.00	1.88	1.38	1.38
	F value	3.72*	2.03	1.00	0.13	0.47	1.48

^{a,b}Means with the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

*: Significant at $P < 0.05$, **: Significant at $P < 0.01$, ***: Significant at $P < 0.001$.

starter 첨가군에서 이취가 감추어진 효과라 생각된다.

상큼한 냄새의 경우도 전 발효기간에 걸쳐 유의적인 차이는 없었으나 약간 증가하는 경향이었고 비교군보다 starter 첨가군에서 높게 평가되었으며, 상큼한 냄새에 있어서도 전 발효기간 동안 비교군보다 starter 첨가군에서 높게 평가되었고 특히 숙성 12일째부터 18일째에 이르기까지 유의적인 차이($P < 0.05$, $P < 0.001$)를 보였으며, *S. fermentati* YK-19 첨가군, *S. sp.* YK-17 첨가군, 대조군의 순으로 평가되었다. 이것 또한 starter 균주들의 방향생성능의 효과로 생각된다.

배추조직을 씹을 때의 관능적 성질인 텍스처 중 사각사각한 성질은 숙성 정도가 진행되면서 계속 감소하는 반면에 이와 더불어 연부현상은 증가하였다. 각 실험군간에 차이를 비교하면 사각사각함은 *S. fer-*

mentati YK-19 첨가군, *S. sp.* YK-17 첨가군, 대조군의 순으로 평가되었으며 연해진 정도는 starter 첨가군보다 대조군에서 더 높은 것으로 평가되었다.

이상에서 살펴본 바와 같이 starter를 첨가함으로써 예상했던대로 김치의 신맛이 지연되는 효과를 얻었으며 이는 starter 첨가군이 대조군보다 전 숙성 기간동안 총산의 생성량이 낮았던 점과 일치하는 결과를 보이며 또한 starter 균주의 우수한 방향 생성능으로 인해 방향성 화합물 중 특히 과실향과 유사한 향미가 김치에 부여됨으로써 관능검사에 참여한 관능 요원들이 사과향과 유사한 냄새 및 맛을 느낄 수 있다고 하였으며 그 결과 평가 항목 중 상큼한 냄새 및 상큼한 맛과 아울러 전체적인 기호도가 starter 첨가군에서 훨씬 높게 평가되었음을 알 수 있었다.

Table 4. Statistical analysis of taste and total acceptability evaluation score of kimchi between samples

Day	Sample	Taste				Total acceptability
		Acidic	Moldy	Freshcabbage	Freshsourness	
0	I	1.00	1.00	3.00	1.00	3.00 ^b
	II	1.00	1.00	3.00	1.00	3.13 ^b
	III	1.00	1.00	2.88	1.25	3.56 ^a
	F value	-	-	2.33	2.33	5.52*
3	I	1.00	1.00	3.00	1.25 ^b	3.00
	II	1.00	1.00	3.00	1.25 ^b	3.13
	III	1.00	1.00	3.00	1.75 ^a	3.31
	F value	-	-	-	7.00**	1.14
6	I	2.00 ^a	1.00	1.38 ^b	1.38	3.25
	II	1.25 ^{ab}	1.00	2.13 ^a	1.13	3.00
	III	1.00 ^b	1.00	2.50 ^a	1.13	2.88
	F value	3.96*	-	6.78**	1.00	2.88
9	I	2.88 ^a	1.00	1.00	1.75	3.56
	II	2.38 ^{ab}	1.00	1.13	2.00	3.88
	III	1.88 ^b	1.00	1.13	2.13	4.13
	F value	7.00**	-	1.00	1.00	2.28
12	I	3.13 ^a	1.00	1.00	1.88 ^a	3.56 ^b
	II	2.50 ^b	1.00	1.13	1.75 ^a	3.88 ^{ab}
	III	2.38 ^b	1.00	1.13	2.50 ^a	4.31 ^a
	F value	8.68**	-	0.47	3.81*	5.19*
15	I	3.50 ^a	1.25	1.00	1.50 ^b	3.06 ^b
	II	2.88 ^b	1.25	1.00	2.25 ^a	3.25 ^b
	III	2.50 ^b	1.00	1.13	2.50 ^a	4.13 ^a
	F value	6.24**	1.00	1.00	5.35*	7.68**
18	I	3.50 ^a	1.38	1.00	1.88 ^b	3.00 ^b
	II	3.13 ^{ab}	1.00	1.00	2.50 ^a	3.50 ^b
	III	2.75 ^b	1.00	1.00	2.88 ^a	4.13 ^a
	F value	5.11*	2.03	-	6.24**	8.37**
23	I	3.38 ^a	1.25	1.00	2.25	2.94
	II	3.25 ^a	1.25	1.00	2.19	3.13
	III	2.63 ^b	1.25	1.00	2.19	3.19
	F value	4.43*	-	-	0.04	0.65

요 약

Lactic acid와 acetic acid를 탄소원으로 이용할 수 있으며, 혐기적 상태에서 생육 가능하고 저온성, 내염성, 내산성의 성질을 가지며 뛰어난 방향성을 갖는, 김치로부터 분리된 효모, 즉 *Saccharomyces sp.* YK-17 균주와 *Saccharomyces fermentati* YK-19 균주를 starter로 첨가하여 발효시켰을 때 김치의 이화학적 성분과 미생물의 경시적인 변화, 그리고 관능적 특성을 비교 평가하였다.

Starter 첨가균 김치가 대조군보다 전 발효기간 동안 산생성량이 낮았고, 특히 *S. fermentati* YK-19 균주를 starter로 첨가할 경우 김치 적숙기(pH 4.0, 산도 0.6-0.8%)를 대조군보다 약 1.63배 연장시킬 수 있었다. 비취

발성 유기산의 변화는 발효가 진행됨에 따라 lactic acid가 가장 많이 생성되었으며, 초기에 1.71 mg/100 g이던 것이 발효 30일째에는 대조군이 77.60 mg/100 g으로, *S. sp.* YK-17 첨가군은 69.24 mg/100 g으로, 그리고 *S. fermentati* YK-19 첨가군은 45.22 mg/100 g으로 3실험군 중에서 YK-19첨가군이 가장 낮았다. 그리고 김치산패의 주 원인균으로 알려져 있는 젖산균인 *Lactobacillus*속 균주의 성장이 starter첨가 김치, 특히 *S. fermentati* YK-19 첨가 김치에서 현저하게 억제되었다. 또한 starter 균주의 산 이용성 및 우수한 방향 생성능으로 인해 starter 첨가균에서 신맛과 신내를 덜 느끼고 아울러 과실향에 유사한 향미가 김치에 부여됨으로써 대조군보다 기호도가 훨씬 높은 김치를 제조할 수 있었다.

문헌

1. 한홍의, 임종락, 박현근 : 김치발효의 지표로서 미생물 군집의 측정. 한국식품과학회지, **22**(1), 26 (1990)
2. 이철우, 고창영, 하덕모 : 김치발효중의 젖산균의 경시적 변화 및 분리 젖산균의 동정. 한국산업미생물학회지, **20**(1), 102 (1992)
3. 김호식, 전재근 : 김치발효중의 세균의 동적 변화에 관한 연구. 원자력연구논문집, **6**, 112 (1966)
4. 임종락, 박현근, 한홍의 : 김치에 서식하는 Gram 양성세균의 분리 및 동정의 재평가. 한국산업미생물학회지, **27**(4), 404 (1989)
5. 山里一英, 宇田川俊一, 兒玉徹, 森地敏樹 : 微生物の分離法 R and D プランニング, 307 (1986)
6. McDonald, L.C., Mcfeeters, R.F., Daeshel, M.A., and Fleming, H.P.: A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *J. Food Sci.*, **53**, 1382 (1987)
7. 宮尾茂雄, 小川敏男 : 醱酵漬物中の各種乳酸菌群의選擇計數. 日本食品工業學會誌, **35**, 610 (1988)
8. Chem K.H., Mcfeeters, R.F., and Fleming, H.P.: Fermentation characteristics of heterolactic acid bacteria in green bean juice. *J. Food Sci.*, **48**, 962 (1983)
9. 하순변 : pectin 분해효소 및 산막미생물이 침채류의 연부에 미치는 영향에 관하여. 과연회보, **5**(2), 139 (1960)
10. 최국지 : 김치에서 분리한 효모에 관한 연구-효모의 분리 동정-. 한국산업미생물학회지, **16**(1), 1 (1978)
11. 한홍의, 임종락, 박현근, 문상식, 박연선, 주홍택 : 김치 부패시 *Brettanomyces custersii*와 *Klebsiella xyloca*의 분리공생. 인하대학교 기초과학논문집, **11**, 171 (1990)
12. 김혜자, 이철수, 김영찬, 양차범, 강상모 : 김치 starter용으로 분리한 효모의 동정. 한국산업미생물학회지, **24**(4), 430 (1996)
13. 김혜자, 양차범, 강상모 : 김치로부터 분리한 효모가 생산하는 휘발성 화합물이 김치의 풍미에 미치는 효과. 한국산업미생물학회지, **24**(4), 512 (1996)
14. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, p.918 (1990)
15. Müller, G.L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, **31**, 426 (1959)
16. 하재호, 허우덕, 박용근, 남영중 : Capillary gas chromatography를 이용한 비휘발성 유기산 분석. 한국분석과학회지, **2**(2), 131 (1988)
17. 노환섭, 허윤행, 오현근 : 김치의 발효숙성에 관여하는 미생물의 소장에 관한 연구. 서울보건전문대학 논문집, **2**(2), 131 (1988)
18. 김광옥, 이영춘 : 식품의 관능검사. p.192 (1989)
19. SAS : *SAS User's Guide : Statistics*. SAS Institute, Cary, NC (1988)
20. 민태익, 권태완 : 김치발효에 미치는 온도 및 식염농도의 영향. 한국식품과학회지, **16**(4), 443 (1984)
21. 구경형, 강근옥, 김우정 : 김치 발효과정 중 품질변화. 한국식품과학회지, **20**(4), 476 (1988)
22. Pederson C.S. and Bagg Initial : The cause of variations in the relationship between titratable acidity and [H] among lactic acid bacteria. *J. Bacteriol.*, **48**, 559 (1970)
23. 허우덕, 남영중, 김영진, 하재호, 김익수 : 전통 고유식품의 향과 맛 성분의 규명 및 개선시험에 관한연구. 한국식품개발연구원 **18**, (1989)
24. 윤석인, 박길동, 김영찬, 임영희, 이철 : 김치 보존성 연구. 한국식품공업협회, 식품연구소, 24 (1987)
25. 이태녕, 김집식, 정동효, 김호식 : 김치숙성 과정에 있어서의 Vitamin 함량의 변화, 과연회보, **5**, 43 (1960)
26. 이희성, 이근배 : 방사선을 이용한 김치저장에 관한 연구. 원자력연구논문집, **5**, 64 (1965)
27. 노창배, 이정숙, 허금 : 한국 발효식품의 생물화학적 연구(제 4보). 동기 침채류 김치에 대한 생물 화학적 연구. 중앙화학연구소 보고, **5**, 32 (1965)
28. 김호식, 조덕현, 이춘녕 : Gas chromatography에 의한 김치의 유기산 검색. 서울대 논문집(생농계), 14 (1963)
29. 김현옥, 이혜수 : 熟成溫度에 따른 김치의 非揮發性有機酸에 關한 研究. 한국식품과학회지, **7**(2), 74 (1975)
30. 지동현 : 숙성기간 중 무우김치의 비휘발성 유기산의 변화. 서울대석사학위논문 (1986)
31. Park, Y.S., Ko, C.Y. and Ha, D.M.: Effect of temperature on the production of free organic acids during kimchi fermentation, *J. Microbiol. Biotech.*, **3**(4). 266 (1993)

(1996년 11월 22일 접수)