

## 백김치 발효중 주요 미생물 군집의 분리 및 동정

소명환 · 김영배\*

부천전문대학 식품영양과, \*고려대학교 식품공학과

### Isolation and Identification of Major Microbial Groups during *Baikkimchi* Fermentation

Myung-Hwan So and Young-Bae Kim\*

Department of Food and Nutrition, Bucheon Junior College

\* Department of Food Technology, Korea University

#### Abstract

The changes in pH, acid contents and microbial counts were investigated during fermentation of *Baikkimchi*, a kind of *Kimchi* without red pepper, and the major microbial groups were also isolated and identified. Immediately after the preparation of *Baikkimchi* (pH 6.15, acid contents 0.03%), its major microbial group was Gram negative rods, and was composed of *Pseudomonas*(55%), *Enterobacter*(40%) and *Erwinia* (5%). After 2 days of fermentation at 15°C, the most predominant microbial group was changed to lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria showed 1st, 2nd and 3rd stationary phase on its growth curve in 4, 12 and 50 days of fermentation, respectively. At the 2nd stationary phase of lactic acid bacteria (pH 3.51, acid contents 0.59%), the group was composed of *Lactobacillus bavaricus*(55%), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*(42.5%) and *Leuconostoc paramesenteroides*(2.5%), while at the 3rd stationary phase (pH 3.40, acid contents 1.10%), that was *Lactobacillus plantarum*(65%) and *Lactobacillus brevis*(35%). The physiological and biochemical characteristics identified as *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* showed good agreement with the current taxonomic system, but those identified as *Lactobacillus bavaricus* showed some disagreements. The number of yeast was decreased with the increase in the number of lactic acid bacteria. Yeast showed stationary phase in 30 days between the 2nd and 3rd stationary phase of lactic acid bacteria, and the group was composed of only genus *Saccharomyces*.

Key words : *Kimchi*, microorganism, identification, lactic acid bacteria

#### 서론

김치는 발효식품이므로 발효에 관여하는 미생물의 종류와 역할이 제품 품질에 큰 영향을 미친다. 김치발효에 관여하는 여러 미생물들 중 가장 중요한 것은 젖산균이며, 이들은 젖산<sup>1,2)</sup>, 초산<sup>2,3)</sup>, 에탄올<sup>2,4)</sup>, 탄산가스<sup>2,3)</sup>, 알데히드<sup>2,4)</sup> 등을 생산하여 김치에 독특한 향미를 부여하지만 지나치게 시어지게 하는<sup>5)</sup> 문제점도 야기시킨다.

지금까지 김치로부터 분리·동정된 젖산균들은 *Le-*

*uconostoc mesenteroides*<sup>5~15)</sup>, *Leu. dextranicum*<sup>13~15)</sup>, *Leu. paramesenteroides*<sup>12,13,15)</sup>, *Leu. cremoris*<sup>12)</sup>, *Leu. lactis*<sup>14,15)</sup>, *Lactobacillus plantarum*<sup>5~13)</sup>, *Lac. brevis*<sup>5~11)</sup>, *Lac. sake*<sup>10~13)</sup>, *Lac. homohiochii*<sup>12~15)</sup>, *Lac. minor*<sup>12,13)</sup>, *Lac. fructosus*<sup>12,13)</sup>, *Lac. curvatus*<sup>16)</sup>, *Lac. coryniformis*<sup>16)</sup>, *Lac. delbrueckii*<sup>9)</sup>, *Lac. maltaromicus*<sup>13)</sup>, *Lac. leichimannii*<sup>11)</sup>, *Lac. fermentum*<sup>11)</sup>, *Lac. farciminis*<sup>12)</sup>, *Lac. yamanashiensis*<sup>12)</sup>, *Lac. viridescens*<sup>14)</sup>, *Lac. confusus*<sup>14)</sup>, *Lac. amylophilus*<sup>14)</sup>, *Lac. bav-*

Corresponding author : Myung-Hwan So

*aricus*<sup>15)</sup>, *Streptococcus faecalis*<sup>5,6,8,10)</sup>, *St. raffinolactis*<sup>12,13)</sup>, *St. lactis*<sup>12,14)</sup>, *St. faecium*<sup>10)</sup>, *St. iniae*<sup>11)</sup>, *Pediococcus pentosaseus*<sup>5,6,11~13,17)</sup>, *Ped. dextrinicus*<sup>9)</sup>, *Ped. inopinatus*<sup>12)</sup> 등 매우 다양하다.

그러나 최근에는 연구자들마다 다른 균종을 보고하고 있고, 김치발효계 내에서 각 젖산균의 역할에 대한 구체적인 연구<sup>11,18~20)</sup>도 부족하여 아직 그 실체를 정확히 파악하지 못하고 있는 실정이다.

김치발효에서 젖산균 다음으로 중요한 것은 효모이며<sup>21~23)</sup>, 이들은 종류에 따라 김치의 연부에 관여하거나<sup>24)</sup> 향미성분의 생산에 관여하는<sup>26)</sup> 것으로 알려지고 있다.

뿐만 아니라 김치는 미숙상태로 먹을 수도 있으며, 이 때에는 김치재료를 통하여 오염된 Gram 음성 세균류가 일시적인 우점 미생물이 된다<sup>27,28)</sup>.

김치가 공장에서 대규모로 생산되고 상품으로 유통되는 데 수반되는 필수적인 구비요건은 제품의 균일성이며, 이를 위해서는 발효에 관여하는 각종 미생물들의 작용을 우리들이 원하는 방향으로 인위적으로 조절하는 기술이 확립되어야 한다. 그리고 이러한 기술 개발을 위해서는 관여하는 각종 미생물들의 종류와 이들의 생리적인 특성 및 발효계 내에서의 역할과 상호작용에 대한 연구가 선행되어야 한다.

본 연구의 목적은 첫째, 고추가루를 사용하지 않는 점과 물을 많이 사용하는 점에서 배추김치와는 다른 특성을 지닌 백김치<sup>29)</sup>에 대하여 발효일수 경과에 따른 이화학적 및 미생물학적 특성의 변화를 파악하고, 둘째 숙성정도별로 미생물 주요 군집의 속(genus) 또는 종(species) 분포를 파악하는 것이다.

이를 위하여 본 연구에서는 백김치를 담근 후 15°C에서 발효시키면서 총균수, 젖산균수, 효모수, pH 및 총산함량의 변화를 조사하였으며, 아울러 담금 즉시 상태에서 총세균 40집락, 젖산균의 제1정상기, 제2정상기 및 제3정상기에서 젖산균 각각 40집락씩, 그리고 효모의 정상기에서 효모 40집락을 각각 분리한 후 동정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

백김치의 제조에 사용된 재료중 배추는 올림픽 품종(서울종묘사)으로 한 포기 무게가 2.0~2.5kg 정도인 것이고, 무는 팔도 품종(서울종묘사)으로 한 뿌리의 무게가 1.2kg인 것이며, 1994년 12월 4일에 경남 밀양의 농가에서 수확한 것을 직접 현지에 가서 구입하였다.

이외에 배, 사과, 마늘, 미나리 및 생강은 부천시장에서 구입하였다. 소금은 정제염을 사용하였고, 물은 수도물을 끓여서 식힌 후에 사용하였다.

### 2. 백김치의 담금 및 발효

백김치는 부천전분대학 식품미생물 실험실에서 직접 제조하였다. 백김치 담금시에 사용된 재료의 사용량은 배추 4,000g, 무 400g, 배 350g, 사과 100g, 마늘 85g, 미나리 62g, 생강 15g, 물 1,800g이었으며 소금은 최종농도가 2%가 되게 하였다.

백김치의 담금은 왕<sup>29)</sup>의 조리백과의 방법에 따랐다. 우선 주재료인 배추는 2등분하고 건염법으로 절여서 물기를 뺐다. 부재료인 무, 배, 마늘 및 생강은 채를 썰고, 사과와 미나리는 5cm의 길이로 절단한 후 앞의 채 썬 것과 함께 혼합하였다. 배추잎의 사이 사이에 혼합된 부재료를 넣고, 겹잎으로 감싼 후 8.7ℓ 들이의 플라스틱 용기에 차곡 차곡 담고, 2% 소금물 1,800ml를 가한 다음 배추 겹잎으로 덮은 후에 뚜껑을 닫아 밀폐하였다. 담금일은 1994년 12월 5일이었고, 15°C의 항온기에서 60일간 발효시켰다.

### 3. 시료의 채취

시료의 채취를 용이하게 하고 균일하게 하기 위하여 김치용기의 중앙에 공간을 만들고, 이 공간에 고인 김치 국물을 상하로 잘 저은 후 15ml를 멸균된 피펫으로 채취하여 pH, 총산함량 및 미생물 검사에 사용하였다.

### 4. pH 및 총산함량의 측정

pH는 pH meter로 측정하였고, 총산함량은 0.1N NaOH로 pH 8.2이 되게 중화적정하여 젖산의 함량(%)으로 나타내었다.

### 5. 미생물수의 측정

총균수의 측정은 standard method agar(pancreatic digest of casein 5g, yeast extract 2.5g, glucose 1g, agar 15g, distilled water 1,000ml, pH 7.0)에 시료원액 또는 시료희석액을 0.1ml 가하고 도달한 후 30°C에서 3일간 배양한 후의 집락수를 계수하였다.

젖산균수의 측정은 membrane filter(0.45um)로 여과한 무균 배추즙 10%와 4% CaCO<sub>3</sub> 현탁액 2%를 가한 tomato juice agar(pancreatic digest of casein 10g, peptonized milk 10g, tomato juice 400ml, agar 12g, distilled water 600ml, pH 6.2)에 시료원액 또는 시료희석액을 0.1ml 가하고 도달한 후 30°C에서 3일간 배양했을 때 나타나는 집락중에서 CaCO<sub>3</sub>의

용해로 인한 투명환을 보이는 집락을 계수하였다. 담금 즉시 김치의 젖산균수 측정시에는 공존하는 Gram 음성균의 증식을 억제하기 위하여 배지에  $\text{NaN}_2$  0.005%를 첨가하였다.

효모수의 측정은 membrane filter(0.45 $\mu\text{m}$ )로 여과한 penicillin 60 $\mu\text{g/ml}$ 와 streptomycin 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 가한 potato dextrose agar(glucose 20g, potato infusion 200ml, agar 20g, distilled water 800ml, pH 5.6)에 시료 일정량을 도말하고 30 $^\circ\text{C}$ 에서 3일간 배양했을 때 나타나는 집락을 현미경으로 검경하여 효모의 집락만을 계수하였다.

## 6. 주요 미생물 군집의 분리 및 보존

세균은 담금 즉시의 김치(총산 0.03%, pH 6.15)를 분리원으로 하여, 총균수 측정이 끝난 agar plate에서 세균 집락 40개를 무작위로 분리하였다.

젖산균은 젖산균의 제1정상기인 4일간 발효된 김치(총산 0.30%, pH 3.60), 젖산균의 제2정상기인 12일간 발효된 김치(총산 0.59%, pH 3.51) 및 젖산균의 제3정상기인 50일간 발효된 김치(총산 1.10%, pH 3.40)를 분리원으로 하여, 젖산균수 측정이 끝난 agar plate에서 젖산균 집락 각각 40개씩, 합계 120개를 무작위로 분리하였다.

효모는 효모의 정상기인 30일간 발효된 김치(총산 0.76%, pH 3.49)를 분리원으로 하여, 효모수 측정이 끝난 agar plate에서 효모 집락 40개를 무작위로 분리하였다.

분리된 모든 미생물은 재차 순수분리를 한 다음 40%의 glycerol 용액에 가하여 영하 20 $^\circ\text{C}$ 에서 보존하면서 동정실험에 사용하였다.

## 7. 미생물의 동정 기준

세균의 동정은 *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*<sup>30,31),</sup> *The Prokaryotes*<sup>32)</sup> 및 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*<sup>33,34)</sup>에 따랐고, 효모의 동정은 *The Yeast*<sup>35)</sup>에 따랐다.

## 8. 세균의 형태 및 생리적 특성 조사

세균의 형태, Gram 염색, 운동성, 포자생성, 산소요구성, catalase, oxidase, 유화수소 생산, 인돌생산, methyl red 반응, VP 반응, citrate 이용성, lysine 탈탄산효소, ornithine 탈탄산효소, DNA 분해효소, 당류 및 당류유도체로부터 가스 발생, 당 및 당류유도체의 발효성, arginine에서 암모니아의 생성, esculin의 가수분해 및 15 $^\circ\text{C}$ 에서의 증식성 검사는 *Laboratory Manual*

*of Experimental Microbiology*<sup>36)</sup>, *Methods for General and Molecular Bacteriology*<sup>37)</sup> 및 *The Prokaryotes*<sup>32)</sup>의 방법을 참고하여 실시하였고, 배양온도는 30 $^\circ\text{C}$ 를 기본으로 하였다.

젖산의 configuration 검사시에는 D형 또는 L형 젖산의 함량을 효소적 분석법<sup>38)</sup>으로 분별정량하여 D형 또는 L형의 젖산이 90% 이상일 때는 D형 또는 L형으로, 80~89%일 때는 D(L)형 또는 L(D)형으로, 20~80%일 때는 DL형으로 각각 판정하였다. 또 설탕으로부터 dextran 생산능의 검사시에는 생성된 점질물을 Jeanes<sup>39)</sup> 및 Guthof<sup>40)</sup>의 방법을 참고하여 1.5배 메탄올 침전부와 3배 메탄올 침전부로 구분하여 회수 및 정제한 후 황산으로 가수분해하여 구성 단당을 효소적 분석법<sup>38)</sup>으로 분별정량하여 점질물질이 포도당만으로 구성되어 있을 때 dextran으로 판정하였다.

## 9. 효모의 형태 및 특성 조사

효모의 형태, 증식방법, 액체배지에서의 배양특성, 고체배지에서의 집락특성, 위균사의 생성, 자낭포자의 생성, 자낭 및 자낭포자의 특성, 포도당의 발효성 및 질산염 자화성의 조사는 *The Yeast*<sup>35)</sup>의 방법을 참고하여 실시하였고, 배양온도는 25 $^\circ\text{C}$ 를 기본으로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 백김치 발효중 미생물수, pH 및 총산함량의 변화

백김치를 15 $^\circ\text{C}$ 에서 발효시킬 때 시간경과에 따른 김치국물의 미생물수 변화는 Fig. 1에 나타난 바와 같았고, pH 및 총산함량의 변화는 Fig. 2에 나타난 바와 같

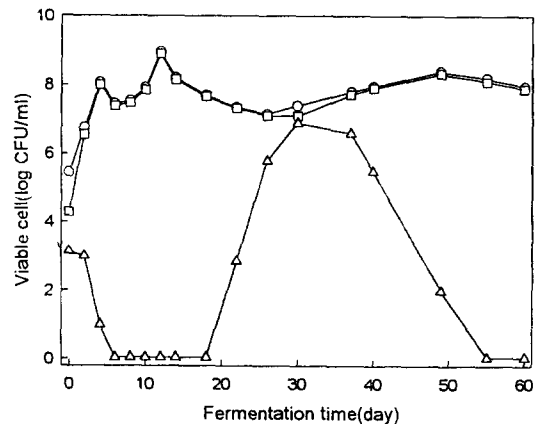


Fig. 1. Changes in the viable cell count of total microorganism(○-○), lactic acid bacteria(□-□) and yeast(△-△) during *Baikkimchi* fermentation at 15 $^\circ\text{C}$ .

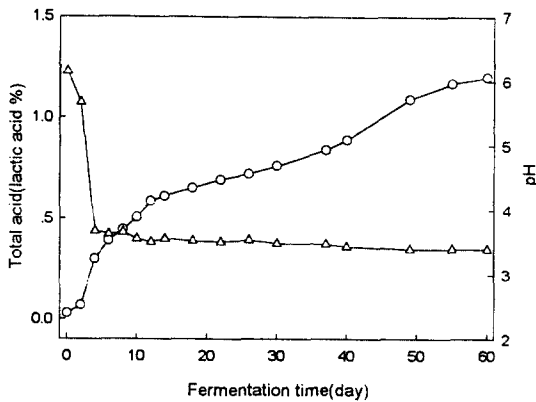


Fig. 2. Changes in pH(△-△) and total acid content(○-○) during *Baikkimchi* fermentation at 15°C.

았다.

담금 즉시에는 젖산균수가  $2.0 \times 10^4$  CFU/ml, 총균수가  $2.9 \times 10^6$  CFU/ml로 젖산균이 우점미생물이 되지 못하였으나, 담금 이후 젖산균이 신속히 증식하여 2일 이후부터는 최우점 미생물이 되었다. 또 젖산균 생균수는 발효시간의 경과에 따라 기복을 보여, 담금 후 4일, 12일 및 50일에 1차, 2차 및 3차 정상기(stationary phase)를 각각 나타내었다.

이와 같은 젖산균수의 기복은 실험오차에 의한 것이 결코 아니며, 젖산균 미생물상의 변화에 의한 것으로 생각한다. 이 등<sup>14)</sup>도 배추김치의 발효시에 젖산균 생균수가 시간경과에 따라 3번의 정상기를 나타내는 것으로 보고한 바 있다.

효모는 담금 즉시에는  $1.4 \times 10^3$  CFU/ml이었으나 발효초기에 급격히 사멸하여 6~18일 간에는 검출되지 않았으며, 20일 이후에 다시 급격히 증가하여 30일에  $1.0 \times 10^7$  CFU/ml로 정상기에 이른 후 다시 급격히 감소하였다.

효모수와 젖산균수의 변화를 비교해 보면 젖산균수가 증가할 때에 효모수가 급격히 감소하고, 젖산균수가 감소할 때에 효모수가 급격히 증가하고 있어 젖산균이 효모의 증식을 억제하는 현상을 보였다. 이러한 현상은 박<sup>19)</sup>, 신<sup>41)</sup>의 연구에서도 나타나고 있는데, 그 원인은 송<sup>18)</sup>이 보고한 바와 같이 김치 젖산균이 생산한 항균성 물질 때문인 것으로 추측된다.

pH는 담금 즉시에는 6.15였으나 2~4일 간에 급격히 감소하여 4일에 3.6에 이른 후 그 이후에는 큰 변동이 없었다. 총산함량은 담금 즉시에는 0.03%였으나 2~12일 간에 급격히 증가하여 젖산균의 제1정상기인 4일에

0.30%였고, 젖산균의 제2정상기인 12일에는 0.59%였다. 총산은 그 이후에도 계속 완만히 증가하여 젖산균의 제3정상기인 50일에는 1.10%였다.

이상의 결과로부터 젖산균수의 변화와 김치의 숙성 정도와의 관계를 보면, 젖산균의 제1정상기는 약간 숙성된 상태이고, 제2정상기는 적숙상태이며, 제3정상기는 과숙상태에 해당되는 것으로 생각된다.

## 2. 담금 즉시 김치에서 분리한 주요 총세균의 동정

담금 즉시의 김치에서 무작위로 분리한 총세균 40개 분리주에 대하여 Gram 염색성, 세포의 형태 및 산소요구성을 조사해 본 결과는 Table 1에 나타낸 바와 같다.

40개의 분리주 중 22주는 Gram 음성 호기성 간균이었고, 18주는 Gram 음성 통성 혐기성 간균이었다. 그리고 속 동정 결과 Gram 음성 호기성 간균 22주(A01~A22)는 모두 *Pseudomonas* 속으로 동정되었고, Gram 음성 통성 혐기성 간균 18주 중 16주(A23~A38)는 *Enterobacter* 속으로, 2주(A39, A40)는 *Erwinia* 속으로 각각 동정되었다.

김치발효 초기의 Gram 음성 세균들로 황<sup>27)</sup>은 *Pseudomonas*, *Flavobacterium* 등을, 윤<sup>28)</sup>은 *Escherichia*, *Klebsiella* 등을 보고한 바 있다.

## 3. 젖산균 정상기에서 분리한 주요 젖산균의 동정

젖산균의 제2정상기인 발효 12일 김치(총산 0.59%, pH 3.51)로부터 무작위로 분리한 젖산균 40주와, 젖산균의 제3정상기인 발효 50일 김치(총산 1.10%, pH 3.40)로부터 분리한 젖산균 40주에 대하여 속 및 종 동정을 한 결과는 Table 2 및 Table 3에 나타낸 바와 같다.

젖산균 제2정상기에서 분리한 40개의 균주(Table 2) 중 22주(C19~C40)는 *Lactobacillus bavaricus*로, 17주(C01~C17)는 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*로, 1주(C18)는 *Leuconostoc paramesenteroides*로 각각 동정되었다.

젖산균 제3정상기에서 분리한 40개의 균주(Table 3) 중 26주(D01~D26)는 *Lactobacillus plantarum*으로, 14주(D27~D40)는 *Lactobacillus brevis*로 각각 동정되었다.

젖산균 제1정상기에서 분리한 젖산균의 동정결과를 위에서 제시하지 못하였는데 이는 젖산균 시료를 냉장고에서 일시적으로 보관하던 중에 상당수의 균주가 사멸되어 실험을 할 수 없었기 때문이다. 이러한 실수를 통하여 알 수 있는 점은 젖산균 제1정상기의 균주들은

**Table 1. Identification of 40 strains of total bacteria isolated from *Baikkimchi* immediately after preparation.**

Characteristics	Strain No.									
	A01 ~ A07	A08	A09 ~ A11	A12 ~ A14	A15 A16	A17	A18 ~ A20	A21 A22	A23 ~ A38	A39 A40
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cell shape	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Oxygen requirement	A	A	A	A	A	A	A	A	FA	FA
Motility	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
Oxidase	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yellow colony	-	+	+	+	-	-	-	-	NT	NT
Red or orange colony	+	-	-	-	+	-	-	-	NT	NT
Fluorescent pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	NT
Growth at pH 3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	NT
Gas from glucose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	-
Acid from glucose	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	+
H <sub>2</sub> S production	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
V-P reaction	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	+
Citrate utilization	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	+
Lysine decarboxylase	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
Ornithine decarboxylase	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	+	-
Deoxyribonuclease	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-	-
Genus identified	Ps	Ps	Ps	Ps	Ps	Ps	Ps	Ps	En	Er

R: Rod, A: Aerobic, FA: Facultative anaerobic, +: Positive, -: Negative, NT: Not tested, Ps: *Pseudomonas*, En: *Enterobacter*, Er: *Erwinia*.

5°C 냉장고에서 보관할 때에도 증식과 산생산이 상당히 활발하며, tomato juice agar에 천자배양(stab culture)하여 5°C 냉장고에서 1주일 정도 생존상태로 보관하기 어렵다는 사실이다.

또 젖산균의 제2 및 제3정상기에서 분리한 균주들을 Table 2 및 Table 3에서 동정할 때에 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* 및 *Lactobacillus brevis*로 동정된 것은 그 특성이 *Bergey's Manual*<sup>(30,31)</sup>의 내용과 비교적 잘 일치하였다. 그러나, *Lactobacillus bavaricus*로 동정된 균주들은 arginine에서 NH<sub>3</sub>의 생성능력과 arabinose, raffinose, rhamnose, salicin 및 trehalose의 발효능에서 일치하지 않는 점을 보였다.

#### 4. 효모 정상기에서 분리한 주요 효모의 동정

효모의 정상기인 발효 30일 김치(총산 0.76%, pH 3.49)로부터 무작위로 분리한 효모 40개 분리주에 대한 속 동정 결과는 Table 4에 나타낸 바와 같다.

40주(E01~E40) 모두 *Saccharomyces*의 특성과 잘 일치하여 *Saccharomyces* 속으로 동정하였다.

고<sup>22)</sup>도 숙성된 김장김치의 주 효모들을 *Saccharomyces servazzii*로 동정한 바 있다.

#### 5. 김치의 숙성 정도와 주요 미생물의 속 또는 종 분포

앞에서 행한 미생물의 분리·동정 결과를 집계하여 백김치의 숙성 정도와 주요 미생물 속 또는 종 분포를 정리하면 Table 5에 나타낸 바와 같다.

담금 즉시 김치의 주요 미생물은 *Pseudomonas* 속(55%)과 *Enterobacter* 속(40%)이었으며, 이 외에 *Erwinia* 속(5%)도 약간 포함되어져 있었다. 담금 즉시에 대장균군의 수가 총균수의 45%를 차지한 점은 위생상의 문제를 내포하고 있다는 의미로 해석할 수 있다. 미숙김치의 대장균군 오염문제는 저자 등<sup>42)</sup>의 다른 연구에서도 지적된 바 있는데, 이러한 대장균군은 김치의 원료인 채소류에서 기인하는 것으로 생각된다.

젖산균의 제2정상기이고 총산함량 0.59%이어서 적 숙성상태로 볼 수 있는 담금 후 12일 김치의 주 미생물은 *Lactobacillus bavaricus*(55%)와, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*(42.5%)였으며, 이 외에 *Leuconostoc paramesenteroides*(2.5%)도 약간 포함되어 있었다.

젖산균의 제3정상기이고 총산함량 1.10%여서 과숙 상태로 볼 수 있는 담금 후 50일 김치의 주 미생물은

**Table 2. Identification of 40 strains of lactic acid bacteria isolated from *Baikkimchi* fermented for 12 days at 15°C(2nd stationary phase of lactic acid bacteria)**

Characteristics	Strain No.															
	C01 ~C08	C09 ~C15	C16 C17	C18	C19 ~C31	C32 C33	C34	C35	C36	C37	C38	C39	C40	Rf	Rf	Rf
Cell shape	C	C	C	C	R	R	R	R	R	R	R	R	R	C	C	R
Cell arrangement	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mortality	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Endospore	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxygen requirement	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gas from glucose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Gas from gluconate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactic acid isomers	D	D	D	D	L	L	L	L	L	L	L	L	D	D	D	L
Dextran from sucrose	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
NH <sub>3</sub> from arginine	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Esculin hydrolysis	+	+	+ <sup>w</sup>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	d	+
Growth at 15°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from																
amygdalin	+ <sup>w</sup>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ <sup>w</sup>	-	d	(d)	-
arabinose	+	+	+	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+	+	+	+	+	d	-
arbutin	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	
cellobiose	+ <sup>w</sup>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	d	(d)	+
fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
galactose	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
gluconate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
lactose	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	(d)	(d)	+
maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(d)	(d)	-
mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
melezitose	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
melibiose	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+
raffinose	+	+	-	-	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	-	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+	d	d	-
rhamnose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
ribose	+	+	+ <sup>w</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
salicin	+	+	-	-	-	-	-	-	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+	+	-	d	-	+
sorbitol	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	+ <sup>w</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
xylose	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	d	d	-
Identified as	Lm	Lm	Lm	Lp	Lb	Lb	Lb	Lb	Lb	Lb	Lb	Lb	Lb	Lm	Lp	Lb

+: Positive, +<sup>w</sup>: Weak positive, -: Negative, C: Cocci, R: Rod, PC: Pairs and chain, FA: Facultative anaerobic, Lm: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, Lp: *Leuconostoc paramesenteroides*, Lb: *Lactobacillus bavaricus*.

**Table 3. Identification of 40 strains of lactic acid bacteria isolated from *Baikkimchi* fermented for 50 days at 15°C (3rd stationary phase of lactic acid bacteria)**

Characteristics	Strain No.							
	D01 ~D24	D25	D26	D27 ~D38	D39	D40	Rf	Rf
Cell shape	R	R	R	R	R	R	R	R
Cell arrangement	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC
Gram stain	+	+	+	+	+	+	+	+
Motility	-	-	-	-	-	-	-	-
Endospore	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxygen requirement	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA	FA
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-
Gas from glucose	-	-	-	+	+	+	-	+
Gas from gluconate	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactic acid isomers	DL	DL	DL	DL	DL	DL	DL	DL
Dextran from sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-
NH <sub>3</sub> from arginine	-	-	-	+	+	+	-	+
Esculin hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth at 15°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth at 45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid from								
amygdalin	+	+	+	-	-	-	+	-
arabinose	+ <sup>w</sup>	+	+ <sup>w</sup>	+	+	+	d	+
arbutin	+	+	+	-	-	-	-	-
cellobiose	+	+	+	-	-	-	+	-
fructose	+	+	+	+	+	+	+	+
galactose	+	+	+	+	+	+	+	d
gluconate	+	+	+	+	+	+	+	+
glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
lactose	+	+	+	-	-	-	+	d
maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	+	+	+	+	+	+	+	-
mannose	+	+	+	-	(+)	(+)	+	-
melezitose	+	+	+ <sup>w</sup>	-	-	-	d	-
melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+
raffinose	+	+	+	-	-	-	+	d
rhamnose	-	+	-	-	-	-	-	-
ribose	+	+	+	+	+	+	+	+
salicin	+	+	+	-	-	-	+	-
sorbitol	+	+	+	-	-	-	+	-
sucrose	+	+	+	-	-	-	+	d
trehalose	+	+	+	-	-	-	+	-
xylose	-	-	-	+	+	+	d	d
Identified as	Lp	Lp	Lp	Lb	Lb	Lb	Lp	Lb

+: Positive, +<sup>w</sup>: Weak positive, (+): Slow positive, -: Negative, PC: Pairs and chain,

R: Rod, FA: Facultative anaerobic, Lp: *Lactobacillus plantarum*, Lb: *Lactobacillus brevis*, Rf: References described in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*<sup>31)</sup>.

**Table 4. Identification of 40 strains of yeast isolated from *Baikkimchi* fermented for 30 days at 15°C (stationary phase of yeast)**

Characteristics	Strain No.	
	E01 ~E40	Rf
Vegetative cell		
shape	G1	G1
occurrence	SP	SP
reproduction mode	MB	MB
pseudomycellium	-	-
Ascospore		
shape	G1	G1
surface	Sm	Sm
number	1	1
Asci	Pe	Pe
In liquid medium		
sediment	+	+
pellicle	-	-
On solid medium		
texture	Bu	Bu
color	Cr	Cr
surface	SG	SG
elevation	Ra	Ra
margin	En	En
Vigorous fermentation	+	+
Assimilation of nitrate	-	-
Starch formation	-	-
Genus identified	Sa	Sa

G1: Globose, SP: Single or pairs, MB: Multilateral budding, Sm: Smooth, Pe: Persistent, Bu: Butyrous, Cr: Creamy, SG: Smooth and glistening, Ra: Raised, En: Entire, Sa: *Saccharomyces*, Rf: References in *The Yeasts*<sup>35)</sup>.

*Lactobacillus plantarum*(65%)과 *Lactobacillus brevis* (35%)였다.

한편 효모의 정상기인 담금 후 30일 김치의 주 효모는 모두 *Saccharomyces* 속(100%)이었다.

## 요 약

백김치를 담근 후 15°C에서 60일간 밀폐상태로 발효시키면서 발효일수 경과에 따른 pH, 총산함량 및 미생물수의 변화를 조사하고, 주요 미생물군집을 분리·동정하였다. 담금 즉시의 김치는 pH 6.15, 총산 0.03%였고, Gram 음성 간균류가 최우점 미생물이었으며 이들의 주요 속 구성은 *Pseudomonas* 55%, *Enterobacter* 40%, *Erwinia* 5%였다. 젖산균은 발효 2일 이후부터 최우점 미생물이 되었으며, 발효 4일, 12일 및 50일에 젖산균의 1차, 2차 및 3차 정상기를 각각 나타내었다. 젖산균 2차 정상기의 김치는 pH 3.51, 총산 0.59%로 적숙상태에 해당되며, 이 때 주요 젖산균의 종 구성은 *Lactobacillus bavaricus* 55%, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 42.5%, *Leuconostoc paramesenteroides* 2.5%였다. 젖산균 3차 정상기의 김치는 pH 3.40, 총산 1.10%로 과숙상태에 해당되며, 이 때 주요 젖산균의 종 구성은 *Lactobacillus plantarum* 65%, *Lactobacillus brevis* 35%였다. 젖산균들을 동정할 때에

**Table 5. Distributions of genus or species of microorganisms isolated from *Baikkimchi* fermented for different time at 15°C**

Fermentation time(day)	Phases on growth curve	pH (Total acid*)	Degree of aging	Results of identification	Frequency(%)
0	Lag phase	6.15 (0.03%)	Not aged	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Enterobacter</i> sp. <i>Erwinia</i> sp. Total	22( 55%) 16( 40%) 2( 5%) 40(100%)
4	1st stationary phase of lactic acid bacteria	3.60 (0.30%)	Aged a little	Not tested	
12	2nd stationary phase of lactic acid bacteria	3.51 (0.59%)	Aged moderately	<i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> <i>Leu. paramesenteroides</i> <i>Lac. bavaricus</i> Total	17(42.5%) 1(2.5%) 22(55%) 40(100%)
30	Stationary phase of yeast	3.49 (0.76%)	Aged slightly over	<i>Saccharomyces</i> sp. Total**	40(100%) 40(100%)
50	3rd stationary phase of lactic acid bacteria	3.40 (1.10%)	Aged too much	<i>Lac. plantarum</i> <i>Lac. brevis</i> Total	26( 65%) 14( 35%) 40(100%)

\* Lactic acid %, \*\* Purposely isolated only yeast to the exclusion of other microorganisms. *Leu.*: *Leuconostoc*, *Lac.*: *Lactobacillus*.



*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* 및 *Lactobacillus brevis*로 동정된 균주들은 기존의 분류체에 비교적 잘 일치하였으나, *Lactobacillus bavaricus*로 동정된 균주들은 일치하지 않는 점들을 많이 나타내었다. 젓산균의 수가 증가할 때에 효모의 수가 감소하였고, 젓산균의 수가 감소할 때에 효모의 수가 증가하였다. 효모의 정상기는 젓산균의 제2정상기와 제3정상기의 사이인 30일에 나타났으며, 이 때 주요 효모의 속은 모두 *Saccharomyces*였다.

### 감사의 말

본 연구는 1994~1995년 과학기술처에서 시행한 선도기술개발과제(G-7 project)의 연구비로 수행된 연구 결과의 일부이며, 이에 깊은 감사를 드립니다.

### 참고문헌

- 김현옥, 이해수 : 숙성온도에 따른 김치의 비휘발성 유기산에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 7(2), 74 (1975).
- 유재연, 이해성, 이해수 : 재료의 종류에 따른 김치의 유기산 및 휘발성 향기성분의 변화. *한국식품과학회지*, 16(2), 169 (1984).
- 천종희, 이해수 : 김치의 휘발성 유기산과 이산화탄소에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 8(2), 90 (1976).
- 윤진숙, 이해수 : 김치의 휘발성 향기성분에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 9(2), 116 (1977).
- Mheen, T. I. and Kwon, T. W. : Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 16, 443 (1984).
- 김호식, 황규찬 : 김치의 미생물학적 연구(제 1보). 혐기성 세균의 분리와 동정. *과연회보*, 4, 56 (1959).
- 김호식, 전재근 : 김치 저장중 세균의 동적 변화에 관한 연구. *원자력원 연구논문집*, 6, 112 (1966).
- 안숙자 : 김치에서 분리한 유산균의 생육에 미치는 식염과 식품보존료의 영향. *한국조리과학회지*, 4(2), 39 (1988).
- 현인환 : 김치에서 분리한 젓산균에 관한 연구. *경북전문대학 논문집*, 8, 211 (1989).
- 이철우, 고창영, 하덕보 : 김치발효중의 젓산균의 경시적 변화 및 분리 젓산균의 동정. *산업미생물학회지*, 20, 102 (1992).
- 심선택, 경규향, 유양자 : 김치에서 젓산균의 분리 및 이들의 배추즙액 발효. *한국식품과학회지*, 22, 373 (1990).
- 박현근 임종락, 한홍의 : 각 온도에서 김치발효중 미생물의 천이과정. *인하대학교 기초과학연구소 논문집*, 11, 161 (1990).
- 임종락, 박현근, 한홍의 : 김치에 서식하는 Gram 양성 세균의 분리 및 동정의 재평가. *한국미생물학회지*, 27, 404 (1989).
- 이현중, 백지호, 양문, 한홍의, 고용덕, 김홍재 : 온도 강하에 의한 김치발효의 유산균 군집의 특성. *한국미생물학회지*, 31, 346 (1993).
- 소명환, 김영배 : 김치에서 분리한 저온성 젓산균의 동정. *한국식품과학회지*, 27(4), 495 (1995).
- 김종근 : 한국의 김치에 있는 유산균의 분리와 동정. *삼육대학 논문집*, 22, 157 (1989).
- 황규찬 : 김치젓산균 *Pediococcus pentosaceus*의 분리와 동정. *서일전문대학 논문집*, 5, 347 (1985).
- 송현주, 박연희 : 젓산균이 물김치에서 분리한 효모의 생육에 미치는 영향. *산업미생물학회지*, 20, 219 (1992).
- 박선영 : 김치에서 분리한 젓산균과 효모의 혼합배양. *고려대학교 석사학위논문*, (1993).
- 소명환, 오현진, 박서영, 김수화 : 김치에서 분리한 저온성 젓산균의 배추즙에서의 배양. *한국식품영양학회지*, 7(4), 392 (1994).
- 노완섭 : 한국산 침채류의 발효숙성에 관여하는 효모에 관한 연구. *동국대학교 박사학위 논문*, (1980).
- 고경옥 : 김장김치의 효모군에 관한 연구. *고려대학교 석사학위논문*, (1993).
- 김혜자 : 김치의 내산성 균주를 이용한 산패지연 및 관능향상에 관한 연구. *한양대학교 박사학위논문*, (1994).
- 하순섭 : Pectin 분해효소 및 산막미생물이 침채류의 연부에 미치는 영향에 관하여. *과연회보*, 5(2), 139 (1960).
- 한홍의, 임종락, 박현근, 문상식, 박영선, 주홍택 : 김치 부패시 *Brettanomyces custersiia*와 *Klebsiella oxytoca*의 편리공생. *인하대학교 기초과학연구소 논문집*, 11, 171 (1990).
- 최국지 : 김치에서 분리한 효모에 관한 연구. *미생물학회지*, 16(1), 1 (1978).
- 황규찬, 장윤수, 김호식 : 김치의 미생물학적 연구(제 2보). 호기성 세균의 분리와 동정. *과연회보*, 5(1), 51 (1960).
- 윤숙경 : 장내세균류의 김치 유산균에 대한 길항작용. *한국영양학회지*, 12, 59 (1979).
- 왕준련 : 한국조리백과Ⅲ. 범헌출판사, p. 12 (1985).
- Garvie, E. I. : The genus *Leuconostoc*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. (ed.), Williams and Wilkins, Baltimore, Vol. 2, p. 1071 (1986).
- Kandler, O. and Weiss, N. : Non sporing Gram-positive rods. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. (ed.), Williams and Wilkins, Baltimore, Vol. 2, p. 1208 (1986).
- Holzappel, W. H. and Schillinger, U. : The genus *Leuconostoc*. In *The Prokaryotes*, 2nd ed., Bslows, A., Truper, H. G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K. H. (ed.), Springer-Verlag, New York, Vol. II, p. 1508 (1993).
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed., Williams and Wilkins, Baltimore, p. 71 (1994).
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed., Williams and Wilkins, Baltimore, p. 527 (1994).
- Rij, N. J. W. K. : *The Yeasts, a Taxonomic Study*. 3rd ed., Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 45 (1984).
- Atlas, R. M., Parks, L. C. and Brown, R. M. : *Lab-*

- oratory Manual of Experimental Microbiology. Mosby, Baltimore, p. 65 (1995).
37. Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A. and Kreig, N. R. : *Methods for General and Molecular Bacteriology*, American Society for Microbiology, Washington, D. C., p. 611 (1994).
38. Boehringer Mannheim : *Method of Biochemical Analysis and Food Analysis*. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, p. 46 (1989).
39. Jeanes, A. : Production of dextran from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-523. In *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Academic Press, New York, Vol. 5, p. 124 (1965).
40. Guthof, O. : Detection of dextrans and levans, In *The Prokaryotes*, Gehring, F. J. (ed.), Springer-Verlag, New York, Vol. II, p. 1604 (1981).
41. 신동화 : 공장김치의 발효온도 및 포장방법별 성분과 미생물의 변화. 김치의 과학, 사단법인 한국식품과학회, p. 82 (1994).
42. 소명환, 신미이, 김영배 : 저온성 젖산균 스타타가 김치 발효에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 28(5), 806 (1996).

---

(1997년 8월 21일 접수)