

## Lysozyme, Glycine 및 EDTA의 첨가가 김치 발효에 미치는 영향

이성기\* · 김인호† · 최신양 · 전기홍

한국식품개발연구원

\*강원대학교 축산가공학과

## Effect of Lysozyme, Glycine and EDTA on the Kimchi Fermentation

Sung-Ki Lee\*, In-Ho Kim†, Shin-Yang Choi and Ki-Hong Jeon

Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

\*Dept. of Animal Products Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

### Abstract

Effects of addition of 120ppm lysozyme and 0.12% glycine into Kimchi liquid on the growth of lactic acid bacteria (LAB) were investigated. The results showed that the growth of LAB was significantly reduced as much as  $10^1$ ~ $10^4$ cfu/ml for the liquid having pH 5.5 during storage at 32°C while the liquid of pH 4.4 showed a reduction of LAB growth by  $10^1$ ~ $10^2$ cfu/ml. Combined addition of lysozyme and glycine was found to be more effective than those of individual additions. The decrease in pH of Kimchi added with 100, 200 and 1,000ppm lysozyme was slower than that of control, but there was no significant pH difference at late stage of fermentation. However Kimchi added with 100ppm lysozyme and 1% glycine decreased in the rate of pH change. Change in titratable acidity was also slowed up for Kimchi added lysozyme and glycine. The growth of LAB could be inhibited as much as  $10^1$  to  $10^2$  cfu/ml in the Kimchi sample added with 120ppm lysozyme and 2mM EDTA compared with other treatments including control.

Key words : Kimchi, lysozyme, EDTA, glycine, lactic acid bacteria

### 서 론

Lysozyme은 자연계의 동식물 조직이나 기관에 소량 씩 널리 분포되어 있는 용균성 효소로서 그람양성균을 선별적으로 파괴하기 때문에 식품산업에서는 천연 보존제로 쓰인다. 일본에서는 유아용 분유에 약 20mg%의 lysozyme을 첨가하여 유해한 균에 의한 생체내 감염을 막고 소화흡수를 도와 줄 목적으로<sup>1)</sup>, 유럽에서는 치즈 숙성시 불필요한 butyric acid 생성 박테리아를 억제시키거나<sup>2)</sup> 갈변 현상을 방지할 목적으로 널리 이용하기도 하였다. 또한 일본 청주에 lysozyme을 1ppm 부터 100ppm까지 첨가하여 청주 부페 원인균인 Hio-chi균의 성장을 억제시켰으며<sup>3)</sup>, lysozyme과 함께  $\beta$ -glycopyranose aerodehydrogenase나  $p$ -hydroxybenzoic esters 등의 보존제를 혼합 첨가하여<sup>4)</sup> 저장기간을

증가시켰다. 그 밖에도 육제품, 절임류, 수산물<sup>5)</sup>을 대상으로 연구가 진행중이나, 우리나라 전통발효 식품인 장류, 김치, 막걸리에 대하여는 송 등<sup>6)</sup>과 이 등<sup>7)</sup>이 막걸리에 적용한 것 외에 별로 없는 실정이다.

김치 저장 방법에 대한 실험으로는 열처리에 의한 방법<sup>8)</sup>, 솔비산 첨가법<sup>9)</sup>, 위생적 전처리<sup>10)</sup>, pH 처리<sup>11)</sup> 등이 시도 된 바 있으나, lysozyme을 첨가한 실험은 보고된 바 없고 다만 Yashitake와 Sinichiro<sup>12)</sup>에 의하여 그 가능성이 제시 된 바 있다. 따라서 본 연구에서는 김치 발효 중 lysozyme과 lysozyme의 세포벽 분해작용시 직접 또는 간접적으로 관여하는 glycine 및 EDTA 등을 첨가하여 저장성 증진효과를 구명하고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 공시재료

본 실험에 사용된 lysozyme(Canada, Brookside社)은

\* To whom all correspondence should be addressed

순도 98% 이상의 등전점형 추출물을 사용하였고 glycine (Japan, Showa Denko社)은 순도 99% 이상의 제품을 사용하였다.

### 배추김치 제조

소금(7%, w/w)으로 3~4시간 동안 절여 물기를 제거한 절임배추 100g에 고추가루 3.0g, 부추 2.0g, 마늘 0.7g, 생강 0.7g, 설탕 0.7g의 양념을 첨가하여 균일하게 버무린 다음 발효시켰다. 이 때 최종적인 염의 농도<sup>14)</sup>는 2.1%(w/v)이었다.

### 김치 젖산균의 성장억제 효과

제조한 배추김치의 숙성 과정별로 lysozyme과 glycine의 김치 젖산균 성장억제 효과를 검토하기 위하여 32°C에서 숙성 발효시키면서 발효시작으로부터 각각 0hr, 3hr, 5hr, 15hr, 24hr에 pH 5.5, 5.3, 5.1, 4.4, 4.0 별로 수거하여 미생물이 10<sup>3</sup>~10<sup>6</sup>cfu/ml 만큼 함유된 김치국물을 1ml을 MRS broth<sup>14)</sup>에 접종한 후, 120ppm lysozyme과 0.12% glycine을 혼합 첨가하여 역시 32°C에서 성장억제 효과를 검토하였다.

### Lysozyme, glycine 및 EDTA 첨가

Lysozyme, glycine 및 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)는 배추를 절인 후 양념을 혼합시에 첨가하였다. Lysozyme의 단독효과를 알아보기 위해 각각 100, 200, 1,000ppm을 첨가하여 15°C에서 1주일간 저장하면서 pH 변화를 조사하였다. 또한 1% glycine 처리구, 100ppm lysozyme과 1% glycine 혼합처리구로 나누어 pH 변화와 산도를 실험하였으며 EDTA와 병용효과를 규명하기 위해 2mM EDTA, 120ppm lysozyme, 120ppm lysozyme과 2mM EDTA 혼합구로 나누어 15°C에서 1주일간 숙성시키면서 젖산균의 변화로 써 고찰하였다.

### 결과 및 고찰

#### Lysozyme에 의한 김치 젖산균의 성장억제

숙성기간 별로 pH 4.0부터 pH 5.5까지의 김치 국물을 MRS 배지에 넣고 120ppm lysozyme과 0.12% glycine을 혼합한 후 32°C에서 18시간 배양하면서 젖산균의 성장경향을 조사한 것은 Fig. 1과 같다. 발효가 시작되지 않은 pH 5.5의 김치액에 lysozyme과 glycine을 넣었을 때 배양하는 동안 다른 처리구에 비하여

10<sup>1</sup>~10<sup>4</sup>cfu/ml 만큼의 젖산균 성장억제를 나타내었으나 반면 이미 발효가 진행되어 상당한 젖산균이 자랐을 것으로 여겨지는 낮은 pH구에서는 그 효과가 미약하였다. 이는 김치제조 초기에 lysozyme 및 glycine을 첨가하는 것이 바람직함을 암시하는 것이었다. Lysozyme의 활성도는 산성 조건일수록 안정적으로 유지된다고 하였으므로<sup>15)</sup> 숙성중인 김치국물에서도 lysozyme의 역할이 유지되는지를 확인하기 위하여 pH 4.4의 김치국물을 MRS 배지에 접종하여 32°C에서 24시간 배양하면서 대조구, 120ppm lysozyme 첨가구, 120ppm lysozyme에 0.12% glycine 혼합첨가구로 나누어 젖산균 성장정도를 고찰한 것은 Fig. 2와 같다. Lysozyme 첨가구는 발효초기부터 lysozyme과 glycine을 혼합 첨가하는 것 보다는 젖산균의 성장억제 효과가 적었지만 배양 24시간에 대조구에 비하여 lysozyme 단독 첨가구는 10<sup>1</sup>cfu/ml, lysozyme-glycine 혼합첨가구는 10<sup>2</sup>cfu/ml 만큼 젖산균의 성장이 억제 되었다.

#### 김치의 숙성에 미치는 영향

배추 김치 제조시 100, 200, 1,000ppm의 lysozyme을 단독으로 각각 첨가하여 15°C에 7일간 저장하면서 pH 변화를 조사한 바는 Fig. 3과 같다. 대조구에 비하

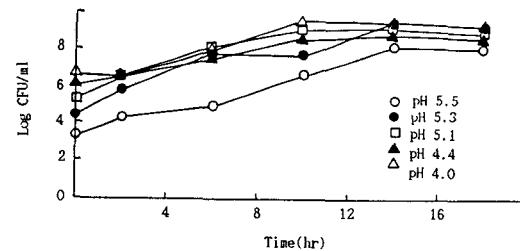


Fig. 1. Effects of various pH of Kimchi juice on the growth of lactic acid bacteria in MRS broth with 120ppm lysozyme and 0.12% glycine mixture during 18hr stored at 32°C.

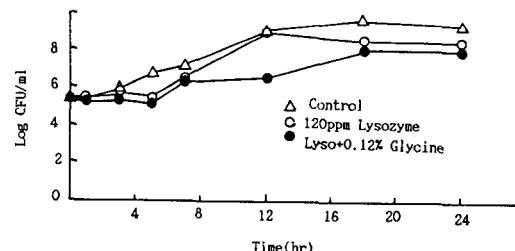


Fig. 2. Effects of 120ppm lysozyme and 120ppm lysozyme with 0.12% glycine on the growth of lactic acid bacteria in MRS broth with matured Kimchi juice(pH 4.4) during 24hr stored at 32°C.

여 lysozyme 첨가구가 다소 높은 pH 값을 나타냈지만 현저한 차이는 보이지 않았으며, 특히 저장 5일 이후에는 모든 첨가구간에 큰 차이가 없었다. 김치 발효시 200ppm과 1,000ppm의 lysozyme 첨가가 다같이 pH를 감소시키는데 자연효과가 현저하지 못했으므로 다른 lysozyme 첨가보다는 그 효과를 상승시킬수 있는 glycine, EDTA 등의 첨가제를 함께 사용하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

김치 제조시 1% glycine 및 100ppm lysozyme에 1% glycine을 혼합첨가하여 15°C에서 7일간 저장하면서 pH 변화 및 산도를 비교한 것은 Fig. 4 및 5와 같다. pH 변화는 모든 첨가구에서 감소하는 경향을 보였으며, 대조구가 가장 빠르게 감소하였다. 1% glycine 단독 첨가구는 서서히 감소하였지만 대조구에 비해 커다란 차이가 없었다. 이에 비하여 100ppm lysozyme에 1% glycine 혼합첨가구는 대조구에 비하여 저장 1일에서 4일 사이에 뚜렷한 pH의 감소 둔화경향을 보여 주었다. 산도 역시 pH와 같은 경향으로 증가하는데, 저장 3일째 대조구의 적정 산도가 0.86% 인데 비하여 lysozyme과 glycine 혼합첨가구는 0.67%로 0.19% 정도 낮게 나타났으며, 저장 7일째에도 대조구의 1.55%에 비하여 lysozyme-glycine 혼합첨가구는 1.31%로 0.24% 만큼 낮게 나타나 첨가구간의 차이를 확인할 수 있었다. 이는 glycine이 페니실린과 같이 일부 세균의 세포벽 합성을 억제 시키면서 스피로플라스트(spheroplast) 생성을 유도하기 때문에 lysozyme가 세포벽을 분해할 때 가장 상

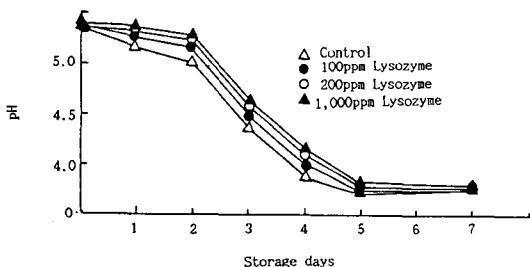


Fig. 3. Effects of lysozyme on the change of pH in Kimchi fermentation during 7 days stored at 15°C.

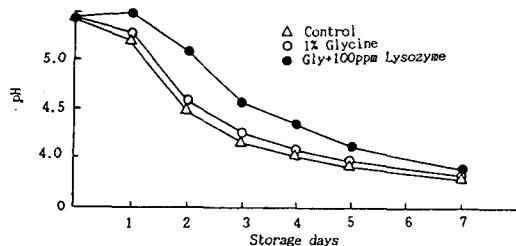


Fig. 4. Effects of lysozyme and glycine on the change of pH in Kimchi during storage at 15°C.

승 효과의 가능성 있는 아미노산이라는 Komagata 등<sup>[16]</sup>의 연구에 부합되는 결과이다. EDTA의 첨가가 lysozyme의 역할에 미치는 영향을 검토하기 위해 대조구, 120ppm lysozyme, 2mM EDTA 및 120ppm lysozyme에 2mM EDTA 혼합첨가구로 나누어 15°C, 7일간 저장하면서 젖산균의 성장억제 정도를 고찰한 것은 Fig. 6과 같다. 저장 3일을 제외하면 저장기간중 대조구 및 lysozyme이나 EDTA 단독 첨가구에 비해 lysozyme-EDTA 혼합 첨가구에서 김치국물 ml당 약 10<sup>1~2</sup>cfu의 젖산균 성장 억제효과를 보였는데 이는 lysozyme과 함께 EDTA가 그램 양성균의 세포벽 분해에 관여할 뿐만 아니라 음성균까지도 spheroplast 생성을 유도할 수 있다는 보고<sup>[17,18]</sup>와 같이 미생물 억제 적용범위가 그만큼 넓다는 것을 의미하는 것이다.

그러나 김치를 숙성시키는 군이 주로 그램 양성균이며, 일부 그램 음성균도 포함되어 있으므로 lysozyme의 강력한 첨가는 숙성의 지나친 저연을 야기할 수도 있으며, 또한 EDTA도 역시 일종의 산인 동시에 모든 식품에 허용되는 첨가물이 아니므로 기호성과 합법성을 고려하여 실제 적용여부가 결정되어야 할 것이다.

이상과 같은 결과로 볼 때 lysozyme을 각각 단독으로 첨가하는 것 보다는 glycine이나 EDTA를 혼합 첨가하는 것이 김치발효의 자연 효과가 있었는데 향후 김치

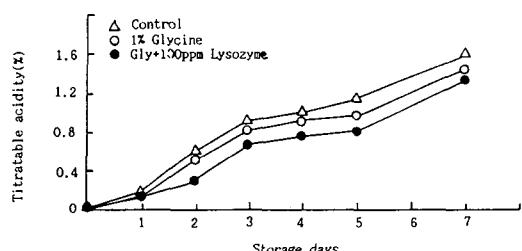


Fig. 5. Effects of lysozyme and glycine on the change of titratable acidity in Kimchi during storage at 15°C.

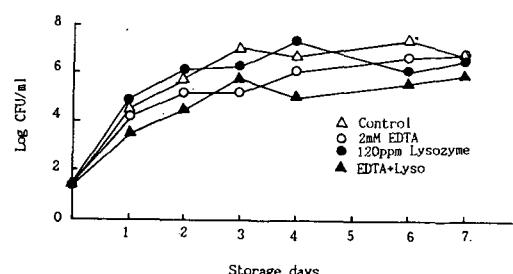


Fig. 6. Effects of lysozyme and EDTA on the growth of lactic acid bacteria in Kimchi fermentation during 7 days stored at 15°C.

에 관여하는 미생물별 억제기작과 효과에 대해서도 계  
속적인 연구가 기대된다.

## 요 약

Lysozyme, glycine, EDTA의 혼합첨가가 김치발효에  
미치는 영향을 고찰하였다. 숙성기간별로 pH 4.0에서  
pH 5.0까지 김치액에 각각 120ppm lysozyme과 0.  
12% glycine을 첨가하였을 때 첨가구가  $10^1\sim10^4$   
cfu/ml 만큼 젖산균의 성장이 억제되었고 lysozyme 단  
독 첨가구에 비해 lysozyme-glycine 혼합첨가구가  
 $10^1\sim10^2$ cfu/ml 만큼 더 많은 젖산균의 성장이 억제되  
었다. Lysozyme 단독으로 100, 200, 1,000ppm을 배추  
김치에 첨가하면 대조구에 비해 발효기간에 따라 pH  
의 감소는 둔화되었지만 말기에는 처리구간 현저한 차  
이는 없었다. 따라서 lysozyme-glycine 혼합첨가하므  
로써 적정산도와 pH 변화가 지연되었다. 120ppm과  
2mM EDTA로 나누어 첨가한 김치에 대해서도 단독구  
에 비해 혼합첨가구에서  $10^1\sim10^2$ cfu/ml의 젖산균이  
억제되었다.

## 문 헌

1. Dubois-Preyost, R. : Dietary uses of lysozyme. *Aliment. Vie.*, **58**, 44 (1970)
2. Aarnes, G. : Substances with antimicrobial effect of importance in cheese making. *Meieriposten*, **63**, 415 (1974)
3. Yajima, M., Hidaka, Y. and Matsuoka, Y. : Studies on egg white lysozyme as a preservative of sake. *J. Ferment. Technol.*, **46**, 782 (1968)
4. Yajima, M., Hidaka, Y. and Matsuoka, Y. : Studies on egg white lysozyme as a preservative of sake (part II). *J. Ferment. Technol.*, **49**, 693 (1971)
5. 김영만, 이병호, 이상훈, 신일식, 이태식 : 난백

lysozyme에 의한 연제품의 방부 효과. *한국수산학회지*, **21**, 269(1988)

6. 송미라 : 난백 lysozyme 첨가에 의한 탁주 보존성에  
관한 연구. 고려대학교 석사학위 논문(1985)
7. 이성기, 김인호, 민병용 : Lysozyme 및 glycine의 첨  
가가 막걸리의 품질에 미치는 영향. *한국농화학회지*,  
**33**, 252 (1990)
8. 육철, 장금, 박관화, 안승호 : 예비 열처리에 의한 무  
우 김치의 연화 방지. *한국식품과학회지*, **17**, 447  
(1985)
9. 송석훈, 조재선, 김관 : 김치 보존에 관한 연구. 제 1  
보. 김치 발효에 미치는 방부제에 관하여. *국방과학  
연구소 보고서*, **5**, 5 (1966)
10. 이남진, 전재근 : 김치의 간이 살균 방법. 제 1보. 배  
추 김치의 간이 살균 방법과 살균 효과. *한국농화학  
회지*, **24**, 213 (1981)
11. 김순동 : 김치 숙성에 미치는 pH 조정제의 영향. *한  
국영양식량학회지*, **14**, 259 (1985)
12. Yashitake, S. and Sinichiro, A. : Use of egg white  
lysozyme in the food industry. *New Food Ind.*, **19**, 17  
(1977)
13. 민태익, 권태완 : 김치 발효에 미치는 온도 및 식염  
농도의 영향. *한국식품과학회지*, **16**, 443 (1984)
14. Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt,  
J. G. : *Bergy's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins, Vol. 2, p.988 (1986)
15. Smolelis, A. N. and Hartsell, S. E. : Factors affecting  
the lytic activity of lysozyme. *J. Bacteriol.*, **63**, 665  
(1952)
16. Komagata, K., Ogawa, M., Fukushima, K. and Ito,  
T. : Inhibitory effect of glycine on microorganisms. *J.  
Food Hyg. Soc. Japan*, **9**, 289 (1968)
17. Vakil, J. R., Chadan, R. C., Parry, R. M. and Shahani,  
K. M. : Susceptibility of several microorganisms to  
milk lysozymes. *J. Dairy Sci.*, **52**, 1192 (1969)
18. Singleton, P. and Stainabury, D. : Dictionary of  
microbiology and molecular biology. In "Sphaerop-  
last," The Bath Press Ltd., Bath, Avon, p.826 (1987)

(1992년 10월 15일 접수)