Korean J. Food Preserv.
Vol. 12, No. 1. pp. 8-16, February 2005

사단법인 한국식품저장유통학회
THE KOREAN SOCIETY OF FOOD PRESERVATION

식물성 천연항균소재를 첨가한 김치의 숙성 중 품질변화

조성환† · 이승철[1] · 박완수[2]
경상대학교 식품공학과 및 농업생명과학연구원,
[1]경남대학교 공과대학 식품생명공학부, [2]한국식품연구원

Effect of Botanical Antimicrobial Agent-Citrus Products on the Quality Characteristics during *Kimchi* Fermentation

Sung-Hwan Cho† , Seung-Cheol Lee[1] and Wan-Soo Park[2]
Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea
[1]*Division of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea*
[2]*Korea Food Reseach Institute, Songnam 463-746, Korea*

Abstract

To develop natural antimicrobial agents for extending the self-life of *Kimchi*, the effect of botanical antimicrobial agent-citrus products(BAAC) on microorganisms related to *Kimchi* spoilage was investigated. The inhibitory effect of BAAC on microorganisms related to *Kimchi* spoilage was increased according to the concentration of BAAC. Antimicrobial activities of BAAC against microorganisms related to *Kimchi* spoilage were remarkably high. The effect of BAAC on the cellular membrane function of microorganisms showed the perturbation of cells in the presence of BAAC. Direct visualization of microbial cells by using both transmission and scanning electron microscope showed microbial cell membrane was destroyed by treating with BAAC. It could be confirmed that BAAC completely inhibit the growth of the test strains. The pH of BAAC-added *Kimchi* was a little higher than that of the control through the fermentation period. Titratable acidity, vitamin C and viable cells in BAAC-added *Kimchi* were changed more slowly than those in the control. Sensory evaluation did not show any significant difference between 0.01% BAAC-added *Kimchi* and the control that showed the best palatabilities during fermentation.

Key words : *Kimchi* spoilage, antimicrobial agent, transmission electron microscope, scanning electron microscope, palatabilities

서 론

김치는 독특한 방향과 질감, 감칠맛, 상쾌한 산미 등의 조화된 맛을 가지고 있어 식욕을 증진시킬 뿐아니라 풍부한 영양소를 함유하고 있으며, 식이섬유와 발효과정에서 생성된 젖산균 및 유기산에 의한 변비예방 및 정장작용이 있어 순환기계 질환 및 대장암 예방효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다(1). 그러나, 김치는 가열하지 않고 섭취하므로 미생물이 계속 성장하기 때문에 일정기간 후에는 시어지고 조직이 연화되며 불쾌취가 생성되어(2,3) 섭취하기 곤란한 상태로 된다(4). 따라서, 김치산업의 활성화를 위해서는 유통과정 중 과잉발효로 인한 품질저하 방지를 위해 품질유지기간의 연장방법의 개발 등 김치의 보존성을 증대시키 위한 기술개발이 선행되어야 할 것이다(5). 일반적으로 김치의 보존성 증대 또는 선도를 유지할 수 있는 방법으로는 가열처리(6,7), 방사선조사(8), 방부제 첨가(9) 또는 합성보존제(10-12)가 사용되고 있으나, 이들 화학물질의 안전성 등에 대한 우려등으로 인해 그 사용이 제한되며, pH변화를 억제하기 위한 완충제(13-15) 또는 염혼합물첨가(16,17)가 연구되고 있으나 향미에 문제가 있고 효과도 미흡한 것으로 보인다. 따라서, 본 연구에서는 김치의 보존성 증대를 위한

† Corresponding author. E-mail : synghcho@nongae.gsnu.ac.kr, Phone : 82-55-751-5478, Fax : 82-55-753-4630

천연항균소재로 뚜렷한 항균작용 및 항진균작용이 있는 것으로 확인된(18) citrus fruits로부터 추출한 식물성 항균소재(Botanical Antimicrobial Agent-Citrus products : BAAC)를 사용하여 김치제조과정 또는 숙성과정에 오염되어 발효김치의 변패에 관여하는 변패미생물에 대한 항균작용을 검토하고, 김치재료중에 천연항균소재 BAAC를 첨가하고, 숙성중 김치의 품질변화에 관한 영향을 조사하여 김치의 숙도를 조절할 수 있는 방법을 제시하기 위한 기초연구를 실시하였다.

재료 및 방법

식물성 천연항균소재의 조제

식물성 천연항규소재는 전보(18)에 준하여 다음과 같은 방법으로 조제하였다. 즉, 오렌지, 자몽, 감귤 등의 citrus fruits를 세척한 후, 천연항균제 수용액에 침지하여 살균한 다음, G.M.P.(Good Manufacture Practice)에 의거하여 일정 중량으로 계량한 citrus fruits를 밀봉된 Geiger 분쇄기에서 분쇄하였다. 분쇄물을 밀봉된 플라스틱 용기내에서 발효시킨 후, 원심분리기를 이용하여 고체와 액체를 분리하고 자외선 조사하에서 여과한 후, 시럽을 탈수하고 Biomass로 농축하였다. 이와같이 조제된 시럽원액에 천연유기산, Bioflavonoids, 생물학적 발효촉진제 등 항균작용의 상승제를 첨가하여 균일하게 혼합하고 표준화하여 안정화된 액체제품을 제조하였다. 이와같이 G.M.P.법에 준하여 제조된 식물성 천연항균제품(Botanical Antimicrobial Agents-Citrus product : 이하 BAAC라 칭함)은 물리, 화학적 및 관능학적 분석 결과를 토대로 최종 품질관리 공정을 거쳐 실험용 시료로 하였다. 이 때 얻어지는 천연항균제품은 자외선이 조사되는 무균실에서 특정 온도, 압력, 시간 등의 조건 하에서 품질관리 방법에 의한 검사를 실시하여 일정한 규격의 제품이 되도록 하였다.

식물성 천연항균소재 BAAC의 항균력 측정

항균력 시험은 paper disc method(18)에 의해 비교·측정하였다. 항균활성 실험을 위해 사용된 공시균주는 일반적인 식품변패 및 김치산패 미생물로 알려져 있는 Gram 양성균, Gram 음성균, Yeast, Mold, 젖산균 등을 이용하였다. 그리고 항균 효과 실험에 사용한 배지는 젖산균은 *Lactobacilli* MRS agar(Difco, U.S.A), 박테리아는 Nutrient agar(Difco, U.S.A), 효모 및 곰팡이는 potato dextrose agar(Difco, U.S.A)를 사용하였다. 먼저 각 배지를 petri dish에 주입하여 응고시킨 후 공시균주를 평판도말한 다음, paper disc(10 mm, Toyo)를 평판배지의 표면에 놓아 밀착시킨다. Paper disc위에 천연항균소재의 농도별로 조제된 액을 각각 50 μL씩 취하여 흡수시켜 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. Paper disc 주변의 clear zone 직경을 대조구와 비교하여 항균력의 차이를 검토하였다.

BAAC의 미생물 생육저해 곡선 측정

미생물 생육저해곡선 측정은 Turidimetric assay(18)로 하였다. 즉, 각 공시균주의 slant media에서 배양된 균주 1백금이를 취하여 10 mL Tryptic soy broth(TSB)에 접종, 30℃에서 24시간 동안 배양시키고, 이 배양액 0.1 mL를 취해 다시 10 mL TSB에 접종하여 30℃에서 24시간 동안 배양한 배양액 0.1 mL를 여러농도(0, 100, 250, 500 μg/mL)의 BAAC가 함유된 TSB에 접종한후 배양하였다. BAAC의 첨가농도별 항균효과는 미생물의 생육정도를 spectrometer(620 nm)로 흡광도를 측정, 비교하고 천연항균소재인 BAAC를 넣은 TSB를 blank로 사용하였다.

BAAC의 열 및 pH 안정성 검사

Paper disc method에 의하여 항균력이 가장 우수한 것으로 확인된 BAAC를 대상으로 열 및 pH안정성을 검토하였다. 열 안정성을 측정하기 위하여 40, 60, 80, 100, 120, 150℃까지 10분 동안 열처리한 후 처리온도 별로 BAAC를 500 μg/mL 농도가 되게 한 다음 항균력 시험 방법과 동일하게 비교, 측정하였다. 또한 pH안정성을 측정하기 위하여 pH를 4, 6, 7, 8, 10으로 조정한 후 37℃에서 1시간 방치한 다음 다시 pH 7로 중화시켜 열안정성 시험과 같은 방법으로 생육저해환을 측정하였다.

β-galactosidase(β-D-galactoside galactohydrolase; EC 3.2.1.23)의 정량

BAAC가 세포막의 기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 세포를 파쇄하지 않고 Toluene과 BAAC 존재시에 *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epidermidis*의 β-galactosidase가 정량되는가의 여부를 살펴보았다. 본 실험에 앞서, *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epidermidis*가 β-galactosidase를 가지고 있음을 isopropyl-D-thio-galactoside (IPTG)와 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside (X-gal)을 함유한 배지에서 확인하였다. *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epidermidis*를 영양배지에서 접종한 뒤 30℃에서 12시간 배양한 후 M9 medium으로 옮겨주고 600 nm에서의 흡광도가 0.5-0.7이 되도록 배양한 다음, 0℃에 방치하여 성장을 억제하였다. 배양액 1.5 mL에 같은 부피의 Z 완충용액(조성 : 100 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0), 10 mM KCl, 1 mM $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 50 mM β-mercaptoethanol)을 가하고, 최종 농도가 3%가 되도록 각각 증류수, toluene, chloroform을 처리하고, 10초간 세게 흔들어 주었다. Toluene 제거를 위해 37℃에서 40분간 방치하고 28℃로 옮겨 5분간 더 방치한 후, 0.6 mL의 o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG, 4 mg/mL)를 가하여 주었고 28℃에서 18시간 동안 방치하였다. 1 M Na_2CO_3 1.5 mL를 가하

여 반응을 정지시키고, 원심분리하고 상등액의 흡광도를 420 nm에서 측정하였다. 증류수를 넣은 경우를 0으로 하고 toluene을 넣어준 경우를 100으로 하여 BAAC가 미생물의 세포막기능에 미치는 영향을 비교하였다.

BAAC처리에 의한 미생물 세포의 전자 현미경학적 형태 변화 조사

항균력이 뛰어난 BAAC의 처리로 인한 미생물의 세포형태 및 기능성 변화를 알아보기 위해 전자현미경을 이용하여 처리전후의 세포구조를 관찰하였다. 500 μg/mL 농도의 BAAC로 처리한 미생물 세포와 처리하지 않은 대조구 균체 세포의 전자현미경 촬영사진을 비교·검토하여 미생물 세포조직의 변화를 측정(19)하였다. 즉, 투과전자현미경(TEM : Transmission Electron Microscope)의 조직표본 제작은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde용액으로 4℃에서 2-4시간 동안 전고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide(OsO_4)로 4℃에서 2시간 동안 후 고정하였으며, 고정이 끝난 재료는 0.1M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 실온에서 15분 간격으로 단계별로 탈수하여 epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5 μm의 semithin section과 70 ㎚의 ultrathin section을 하였으며, ultrathin section은 copper grid(200 mesh)에 올려 uranyl acetate와 lead citrate용액으로 이중 염색한 것을 촬영시료로 하여 투과전자현미경(TEM : Hitachi H-600, Japan)으로 미생물 세포를 관찰하였다. 한편, 주사전자현미경(SEM : Scanning Electron Microscope)의 조직표본 제작과정 중, 고정과 탈수과정은 TEM 조직 표본제작과 동일하게 처리하였다. 탈수된 조직은 critical point dryer로 건조시킨 후, ion sputter를 이용하여 gold ion particle을 두께 20 nm로 피막을 입힌 후, 주사전자현미경(SEM : DS-130C, ISI ABT, Japan)으로 관찰하였다.

천연항균소재를 첨가한 김치의 숙성중 품질변화

김치재료를 BAAC로 처리하여 부패미생물의 오염방지 및 살균효과를 도모하고 김치제품의 변패를 억제하여 가공제품의 신선도를 유지할 목적으로 BAAC의 적용방법 및 농도수준을 결정하는 실험을 실시하였다. 발효김치제품의 제조공정중에 BAAC를 침지 또는 분무등의 전처리 과정을 거친 후, BAAC처리농도 및 저장기간별로 미생물학적, 화학분석적 및 관능검사 결과치를 중심으로 숙성된 김치제품의 품질변화를 검토하였다. 먼저, 발효김치는 일반 상법의 맛 김치제조공정도(20)에 준하여 제조하였다. 즉, 먼저 배추의 불가식부분을 잘 다음은 11후 4등분으로 절단한 후 뿌리를 제거하고 해체하여 세척하고, 포기내어 5℃에서 15% 소금물에 12시간동안 침지시켰다. 배추가 모두 절여진 뒤 흐르는 물에 3회 세척하여 1시간 동안 물빼기를 하고, 절인 배추는 미리 정선하여 다음과 같은 조성비율의 양념으로 버무려서 숙성원료 김치를 제조하였다. 즉, 배추를 100으로 기준으로 하였을 때 무, 파 1.5%, 미나리 1.0%, 부추 0.5%,고춧가루 2.5%, 마늘 1.5%, 멸치젓 5.0%, 설탕 0.05%과 같은 성분조성으로 버무려서 제조하였다. 앞에서 기술한 김치제조방법에 의한 김치재료에 BAAC를 첨가하여 김치의 선도유지효과를 조사하기 위하여 BAAC를 농도별로 첨가하여 polyetylene 용기에 넣은 후, 5℃에서 15일동안 숙성시키면서 대조구와 비교하여 품질 특성을 조사하였다. 품질변화는 김치의 pH, 산도, 미생물수 및 비타민 C 함량은 AOAC법(21)에 의하여 측정하였고, 색도의 변화는 색차계(Minolta. CR 320 , Japan)로 측정하였으며, 측정값은 Hunter L, a, b값으로 표시하였다. 이들의 측정값은 전과정을 3회 반복하여 측정하고 평균한 값을 숙성기간별 비교·분석치로 하였다. 이때 숙성기간별로 채취한 김치발효 혼합물을 무균상태 Stomcherbag에 넣고 Stomacher blender(IUL. CE 2000, Spain)에서 잘 혼화시킨 후, 거즈로 여과한 김치용액을 수집하여 전체용량을 증류수로 100 mL로 맞추어 분석시료로 하였다.

아울러, 김치제품의 풍미, 조직감, 다즙성을 분석척도로 관능검사를 실시하여 저장중 김치제품의 신선도를 평가하였다. 즉, 관능검사는 무처리 대조구 김치시료와 천연항균소재를 농도별로 처리하여 조제한 김치시료를 10℃에서 15일간 숙성시킨 후, 훈련된 30명의 pannel군을 구성하여 3회 반복, 실시하였다. 김치시료군들의 평가항목은 색도, 맛, 향기 등의 3항목에 대한 관능검사결과를 다음과 같은 5점 평점법을 사용하여 평가하였다. 즉, 5점 : 아주 좋다(exellent), 4점 : 좋다(good), 3점 : 보통이다(moderate), 2점 : 나쁘다(poor), 1점 : 아주 나쁘다(very poor)로 하였다. 관능검사결과는 SAS 통계 프로그램의 분산분석법(Duncan multiple range test)으로 천연항균소재 처리농도별 숙성김치의 유의성을 5%수준으로 검정하였다.

결과 및 고찰

BAAC의 항균력

천연항균소재의 항균력 시험에서 항균력이 확인된 BAAC의 각종 표준 공시균주에 대한 항균력을 측정한 결과는 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. 즉, Fig. 1에서 보는 바와 같이 일반식품 변패미생물인 *B. cereus, E. coli, Fusarium* sp., *Candida albicans*에 대해 광범위한 항균력을 보이며, 500 μg/mL에서 뚜렷한 항균력을 나타내었다. 아울러 농도에 비례하여 항균력이 증가하는 것을 알 수 있었다. 그리고 김치의 발효 및 연구 부패에 관여하는 미생물에 대한 BAAC의 항균성을 측정하기 하기 위하여 김치의 산패에 관여하는 *L. plantarum*, 김치 초기 숙성균이 *Leuconostoc mesenteroides*, 김치 연부에 관여하는 것으로 알려진 *Klebsiella pneumoniae, Pichia membranaefaciens* 등을 사용하여 항균효과를 측정

한 결과, Fig. 2와 같이 BAAC 250 μg/mL 이상의 농도에서 뚜렷한 생육저해환을 확인할 수 있었으며, 500 μg/mL에서는 강한 항균력을 가지고 있는 것으로 나타났다. 또한 모든 균주에 대하여 농도가 증가함에 따라 생육저해환의 직경이 확대되어 항균력이 증가하고 있음을 확인할 수 있었다.

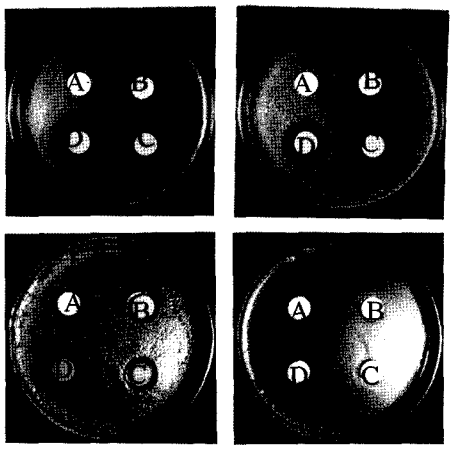

Fig. 1. Inhibitory effect of botanical antimicrobial agent-citrus product on the growth of microorganisms

1. *Bacillus cereus* 2. *Escherchia coli*
3. *Fusarium sp.* 4. *Candida albicans*
A : control, B : 100 μg/mL, C : 250 μg/mL, D : 500 μg/mL.

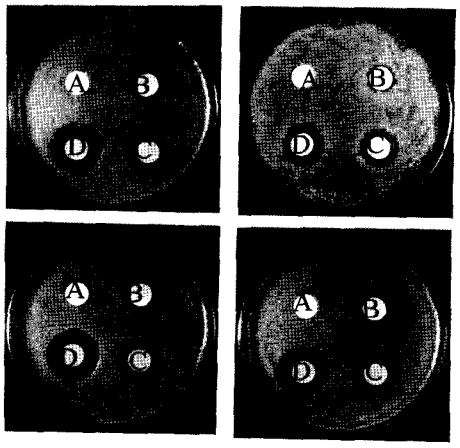

Fig. 2. Inhibitory effect of botanical antimicrobial agent-citrus product on the growth of microorganisms.

1. *Lactobacillus plantarum* 2. *Leuconostoc mesenteroides*
3. *Klebsiella pneumonia* 4. *Pichia membranaefaciens*
A : control, B : 100 μg/mL, C : 250 μg/mL, D : 500 μg/mL.

BAAC의 생육저해곡선

공시균주에 대하여 천연항균소재의 생육억제를 확인하기 위하여 생육저해 농도곡선을 측정하기 위하여, 미생물의 생육배지에 BAAC를 첨가하여 미생물의 성장곡선을 작성한 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. 즉, 대부분의 김치 변패미생물들이 100 μg/mL-500 μg/mL의 천연항균물질 농도에서 거의 생육이 억제되는 것으로 나타났다.

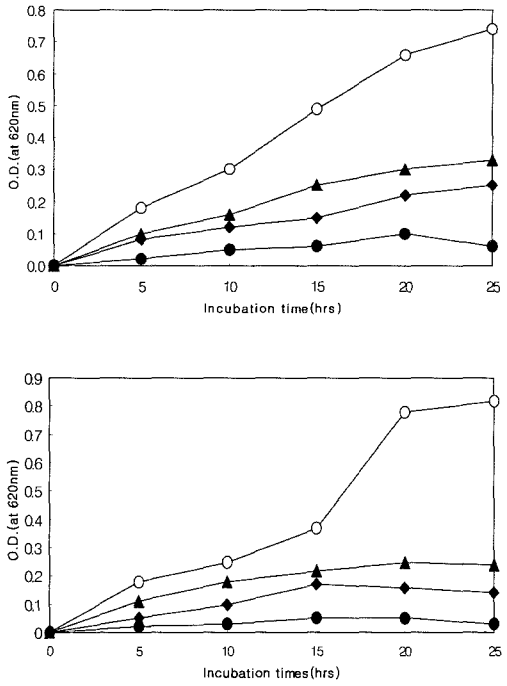

Fig. 3. Growth curves of *Bacillus* cereus(A) and *Escherichia coli* (B) in the medium containing botanical antimicrobial agent-citrus product

○ : control, ▲ : 100 μg/mL, ◆ : 250 μg/mL, ● : 500 μg/mL.

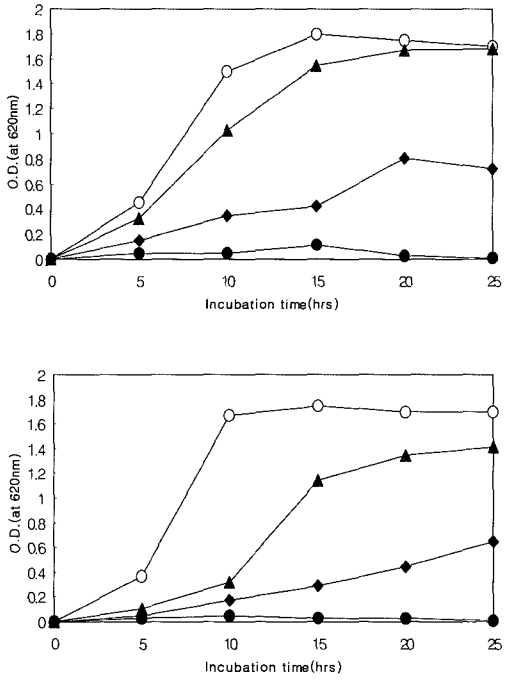

Fig. 4. Growth curves of *Lactobacillus plantarum*(A) and *Leuconostoc mesenteroides*(B) in the medium containing botanical antimicrobial agent-citrus product

○ : control, ▲ : 100 μg/mL, ◆ : 250 μg/mL, ● : 500 μg/mL.

BAAC의 열 및 pH 안정성검사

paper disc method에 의하여 항균력이 가장 우수한 BAAC를 대상으로 열 및 pH안정성를 검토한 결과는 Fig. 5 및 Fig. 6과 같다. 실험 결과, 넓은 범위의 처리온도(40℃-150℃)와 pH(4-10)에서 뚜렷한 항균력을 보임으로써 광범위한 범위의 열과 pH에서 안정한 것으로 나타났다.

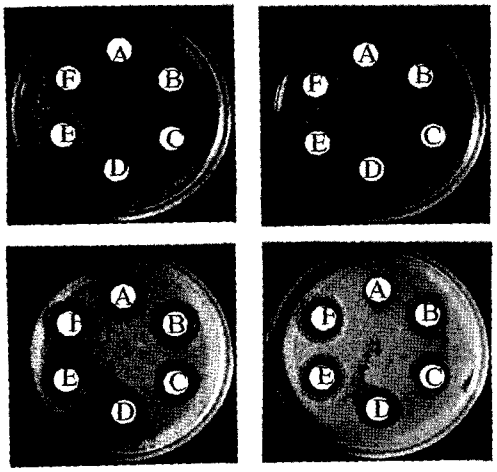

Fig. 5. Thermal stability of botanical antimicrobial agent-citrus product on the growth of microorganisms.

A 40℃, B 60℃, C 80℃, D 100℃, E 120℃, F 150℃
1. *Lactobacillus plantarum* 2. *Leuconostoc mesenteroides*
3. *Klebsiella pneumonia* 4. *Pichia membranaefaciens.*

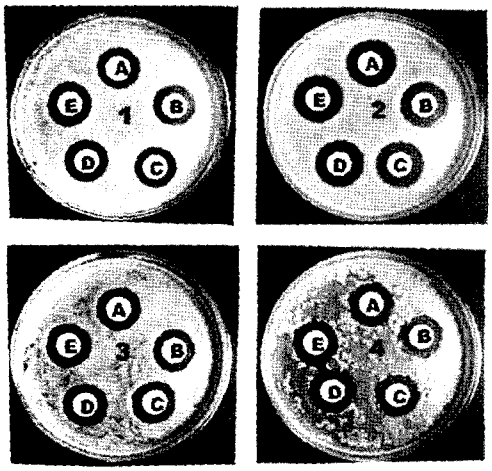

Fig. 6. pH stability of botanical antimicrobial agent-citrus product on the growth of microorganisms.

A. pH 4.0, B. pH 6.0, C. pH 7.0, D. pH 8.0, E. pH 10.0
1. *Lactobacillus plantarum* 2. *Leuconostoc mesenteroides*
3. *Klebsiella pneumonia* 4. *Pichia membranaefaciens.*

BAAC처리에 의한 미생물의 β-galactosidase(β-D-galactoside galactohydrolase : EC 3.2.1.23)의 효소활성의 변화

BAAC가 세포막에 미치는 영향을 알아 보기 위하여 세포를 파쇄하지 않고 toluene과 BAAC 존재시에 *Escherchia coli* 및 *Staphyloccocus epidermis*의 β-*galactosidase*가 정량되는가의 여부를 살펴 보았다. *Escherchia coli* 및 *Staphyloccocus epidermis*가 β-galactosidase를 가지고 있음은 IPTG와 X-gal을 함유한 배지에서 확인하였다. 이를 토대로 하여, BAAC가 *Escherchia coli*의 세포막에 미치는 영향을 조사한 비교실험한 결과, Fig. 7에서 보는 바와 같이, 증류수를 가해준 대조군에서의 값을 0으로하고 toluene을 가하여 준 대조군을 100으로 하였을 때, 0.01% 농도의 BAAC경우, 80%-90%의 활성이 검출되었다. chloroform을 가하여 세포막을 손상하여 얻은 값이 20%내외였는데 이를 토대로 보면, BAAC는 거의 toluene에 준하는 미생물 세포막의 손상율을 초래하는 것으로 판단되었다. 0.05% 농도의 BAAC용액은 toluene을 가하여 준 경우와 거의 동일한 값을 보여 93%-98%의 활성이 관측되었다. 이와 같은 양상은 Fig. 8에서 보는 바와 같이, *Staphylococcus epidermidis*의 경우에서도 잘 일치하였으며, 이 결과는 Fig. 9 및 Fig. 10의 SEM 및 Fig. 11의 TEM촬영사진 결과에서 확인할 수 있었다.

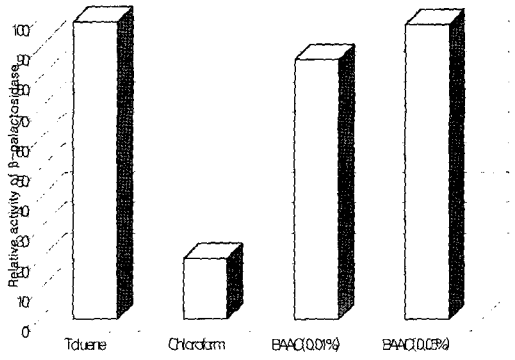

Fig. 7. The effect of botanical antimicrobial agent-citrus product the membrane perturbation of *Escherichia coli.*

The cells were treated with toluene, chloroform and botanical antimicrobial agent-citrus product.

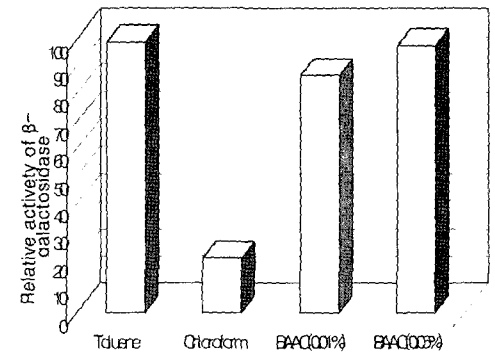

Fig. 8. The effect of botanical antimicrobial agent-citrus product the membrane perturbation of *Escherichia coli.*

The cells were treated with toluene, chloroform and botanical antimicrobial agent-citrus product.

BAAC처리에 의한 미생물세포의 전자현미경적 형태 변화

항균력이 뛰어난 BAAC의 처리로 인한 공시균주의 세포 형태 및 기능성의 변화를 알아보기 위해 전자현미경을 이용하여 처리전후의 세포구조를 관찰하였다. BAAC 500 μg/mL 농도로 처리한 것과, 처리하지 않은 대조구 균체세포의 전자현미경 촬영사진을 비교·검토하여 미생물 세포형태의 변화를 측정하였다. 변패된 김치에서 분리된 미생물들을 사용하여 BAAC의 농도를 500 μg/mL으로 처리한 것을 처리하지 않은 대조구 균주와 함께 전자현미경 촬영시료로 조제하여 SEM과 TEM을 촬영한 결과는 다음과 같다. 즉, SEM의 결과는 Fig. 9와 Fig. 10에서 보는 바와 같이, 항균물질이 처리되지 않은 대조구에 비교해서 처리구에서 미생물의 생리활성효소의 기능이 약화되고 세포벽 또는 세포막이 파손되어 삼투기능이 상실됨으로 해서 미생물의 세포형태가 변화되고, 미생물의 생리가 중단되며, 생육이 억제되는 것을 볼 수 있었다. 또한, TEM의 결과는 Fig. 11에서 보는 바와 같이, 대조구에 비교해서 처리구인 BAAC의 항균물질에 의하여 균체세포는 세포막의 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되며, 균체내부가 빈 형태의 사멸균수가 증대함을 알 수 있었다. 이것은 BAAC가 미생물의 세포내 생리활성효소의 기능을 약화시키고, 그 결과, 미생물의 세포벽 및 세포막의 기능이 상실되어 세포내용물의 소실 등으로 인한 항균작용에 기인한 것으로 생각되었다.

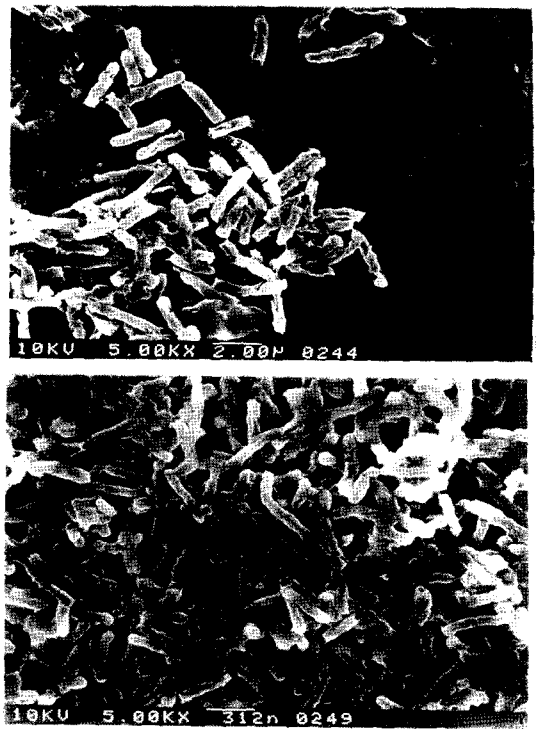

Fig. 9. Scanning electron micrographs of *Escherichia coli* not-treated(A : control) and treated(B : 500 μg/mL) with botanical antimicrobial agent-citrus product(magnification : ×5,000).

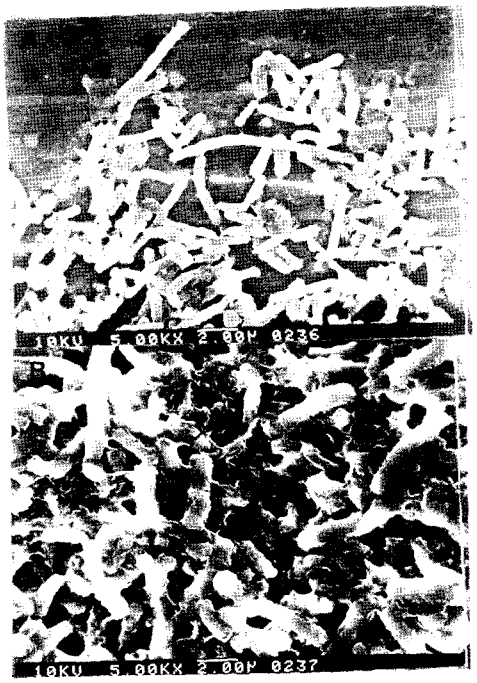

Fig. 10. Scanning electron micrographs of *Lactobacillus plantarum* not-treated(A : control) and treated(B : 500 μg/mL) with botanical antimicrobial agent-citrus product(magnification : ×5,000).

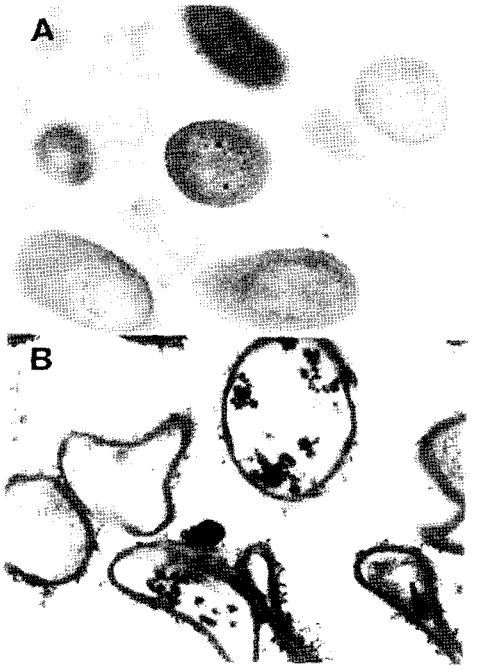

Fig. 11. Transmission electron micrographs of *Klebsiella pneumonia* not-treated(A : control) and treated(B : 500 μg/mL) with botanical antimicrobial agent-citrus product(magnification : × 25,000).

천연항균소재를 첨가한 김치의 숙성중 품질변화

김치재료에 BAAC를 혼합, 처리하여 부패미생물의 오염

방지 및 살균효과를 도모하고 가공김치의 변패를 억제하여 가공제품의 신선도를 유지할 목적으로 항균력이 탁월한 것으로 확인된 BAAC의 적용방법 및 농도수준을 결정하는 실험을 실시하였다. 발효김치 재료를 BAAC에 침지 또는 분무 등의 전처리 과정을 거친 후, BAAC처리농도 및 저장기간별로 미생물학적, 화학분석적 및 관능검사 결과치를 중심으로 숙성된 김치제품의 품질변화를 검토하여 다음과 같은 결과를 획득하였다. 즉, BAAC를 김치 중량에 대하여 100 μg/mL(0.01%), 250 μg/mL(0.025%), 500 μg/mL(0.05%)씩 첨가하여 제조한 김치의 숙성과정 중 pH 변화를 Fig. 12에 나타내었다. 숙성되지 않은 신선한 김치의 pH는 5.2로 나타났으며, 숙성이 진행됨에 따라 급격히 감소하다가 숙성 10일 후에는 pH 3.5를 나타내었다. 김치 숙성 중 pH 변화는 무첨가구에 비하여 BAAC를 첨가한 처리구의 pH 저하가 억제되는 경향이었으며, 첨가량이 증가할수록 그 효과가 큰 것으로 나타나 500 μg/mL을 첨가한 처리구의 pH 저하가 가장 억제되는 것으로 나타났다.

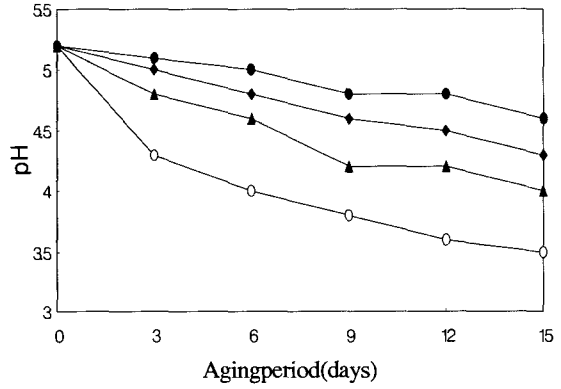

Fig. 12. Changes of pH in BAAC-added *Kimchi* samples during fermentation period at 5℃.

○ : 0(control), ▲ : BAAC 0.01%, ◆ : BAAC 0.025%, ● : BAAC 0.05%.

pH와 상관성이 큰 김치의 산도 변화는 Fig. 13에 나타내었다. 산도의 증가는 발효 중 유기산의 생성에 의한 것으로 발효가 진행되면서 lactic acid 와 acetic acid에 의해 가장 크게 좌우되며, 대조구로 사용된 BAAC 무첨가구의 경우 초기 산도는 0.6%로 나타났고, 숙성 15일경에는 2.0%로 크게 증가한 반면, BAAC 첨가구의 경우 1.1%-1.5%이상의 산도를 나타내었다. 숙성기간이 경과됨에 따라 모든 처리구에서 서서히 산도가 증가하는 경향을 보였으며, 각 처리구간 뚜렷한 차이를 나타내었다. BAAC 첨가량이 클수록 산도 저하가 가장 억제되는 것으로 보아, 대조구에 비해 숙성기간을 연장시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

또한, BAAC를 첨가하여 제조한 김치의 숙성 중 미생물수를 측정하여 Table 2에 나타내었다. 제조 직후 첨가하지 않은 처리구의 초기 미생물수는 102 정도로 나타내었으

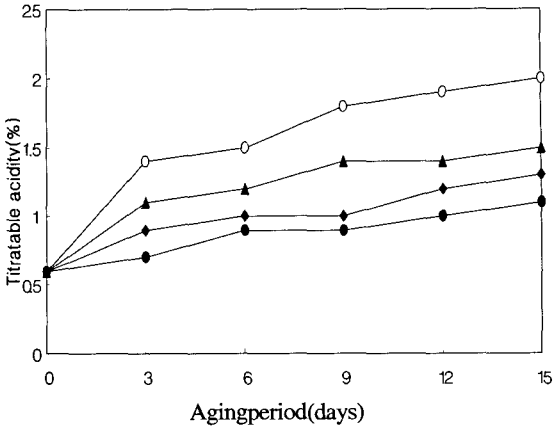

Fig. 13. Changes of titratable acidity(%) in BAAC-added *Kimchi* samples during fermentation period at 5℃.

○ : 0(control), ▲ : BAAC 0.01%, ◆ : BAAC 0.025%, ● : BAAC 0.05%.

며, BAAC를 첨가한 처리구는 이보다 약간 낮은 미생물수를 나타내어 BAAC의 항균 효과가 있음을 추론할 수 있었다. 숙성이 진행됨에 따라 미생물수는 급격히 증가하였고, BAAC 첨가 농도가 증가할수록 미생물 성장이 지연되는 현상이 있음을 알 수 있었다.

Table 2. Changes of total cell number[log CFU/ml] in BAAC-added *Kimchi* during fermentation period at 5℃.

BAAC concentration added to *Kimchi* materials	Fermentation period(days)					
	0	3	6	9	12	15
Control*	1.6	2.4	3.3	3.5	4.7	5.0
0.01 %	1.6	2.0	2.8	3.2	3.0	2.5
0.025 %	1.6	1.6	2.3	1.8	1.5	1.3
0.05 %	1.6	1.6	1.7	1.3	1.1	1.0

*not-added.

아울러, BAAC를 첨가하여 제조한 김치의 숙성 중 미생물 수를 측정하여 Fig. 14에 나타내었다. 제조 직후 첨가하지 않은 처리구의 초기 vitamin C(ascorbic acid)함량은 25mg% 정도로 나타내었으며, 저장 기간이 지나면서 BAAC를 첨가한 처리구는 첨가하지 않은 처리구보다 완만하게 감소하는 경향을 보였다.

한편, 천연항균소재인 BAAC를 농도별로 첨가하여 15일간 숙성시키면서 김치시료에 대한 색상 변화를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 김치의 상품적 가치 결정을 위한 중요한 요인 중 하나인 김치의 색상변화는 김치 숙성 전반에 걸쳐 큰 변화는 보이지 않았다. L값은 김치의 명도를 나타내는 것으로 대조구의 경우 숙성기간이 경과할수록 다소 증가하

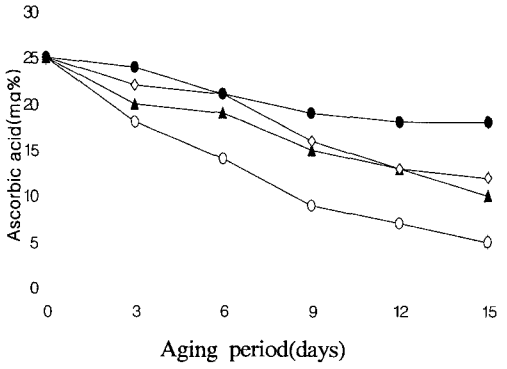

Fig. 14. Changes of ascorbic acid(mg%) in BAAC-added *Kimchi* samples during the fermentation period at 5℃.

○: 0(control), ▲: BAAC 0.01%, ◆: BAAC 0.025%, ●: BAAC 0.05%.

는 경향을 보인 반면에, BAAC 첨가구에서는 일정기간 증가후 감소하는 경향을 나타내었다. BAAC처리구간에는 L값의 변화에 유의성있는 변화를 관찰할 수 없었으나 감소하는 시기가 빨라지는 경향을 나타내었다. Redness(a값)는 대조구의 경우 김치의 숙성이 진행됨에 따라 증가하였으며 BAAC 처리구에서는 a값이 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었으며, yellowness(b값)도 이와 유사한 경향을 나타내었다.

천연항균소재인 BAAC를 첨가하여 15일 숙성시킨 김치시료에 대한 관능검사를 실시한 결과는 Table 4와 같다. 조제김치의 색도는 대조구(무처리구) 4.8점, BAAC 0.01% 처리구 5.0점, BAAC 0.025%처리구 4.6점 및 BAAC 0.05%처리구 3.5점의 순으로 평가되어, BAAC를 0.025% 이상으로 첨가하였을 경우, 김치의 색도가 불량한 것으로 나타났다.

조제 김치의 맛에 대한 관능검사결과, 대조구 4.0점, BAAC 0.01%처리구 3.9점으로 대조구와 차이없는 관능검사값을 나타냈으나, BAAC 0.025%처리구 3.4점, BAAC 0.05%처리구 3.0점으로 낮은 값을 보여 유의성 있는 결과를 보여 주었다.

아울러, 조제 김치의 향기는 대조구 4.4점과 BAAC 0.01%처리구 4.6점으로 우수한 결과를 보여준 반면, BAAC 0.025%처리구 3.8점, BAAC 0.05%처리구 3.5점으로 다소 낮은 값의 관능검사 결과를 보여 기호도면에서 좋지 않은 김치가 제조된 것으로 나타났다. 이상의 결과를 미루어 볼 때, 김치재료에 0.01%이하의 BAAC를 첨가하고 김치를 발효시켜 적절한 숙성기간을 거쳐 제조할 경우, 무처리구인 대조구와 향미 및 색도면에서 관능검사적으로 손색이 없는 김치생산이 가능할 수 있음을 확인할 수 있었다. 아울러, BAAC의 농도 및 첨가시기를 조정함으로써 소비자의 기호에 맞는 숙성도를 가진 맞춤식 김치생산을 예견할 수 있을 것이다.

Table 3. Changes of surface color in BAAC-added *Kimchi* samples during fermentation period at 5℃

Color value	Concnetration of BAAC(%) added to *Kimchi*	Fermentation period(days)					
		0	3	6	9	12	15
L	Control	0.18	0.23	0.31	0.36	0.43	0.44
	0.01	0.18	0.24	0.35	0.37	0.40	0.39
	0.025	0.18	0.27	0.38	0.35	0.36	0.32
	0.05	0.18	0.35	0.43	0.40	0.38	0.33
a	Control	+2.00	+2.11	+2.32	+2.63	+2.70	+2.70
	0.01	+2.00	+2.12	+2.55	+2.75	+3.47	+2.57
	0.025	+2.00	+2.20	+2.41	+2.55	+2.70	+2.28
	0.05	+2.00	+3.14	+3.67	+3.61	+3.44	+2.30
b	Control	+0.33	+0.38	+0.50	+0.59	+0.66	+0.66
	0.01	+0.33	+0.45	+0.70	+0.87	+1.02	+0.59
	0.025	+0.33	+0.56	+0.59	+0.61	+0.65	+0.55
	0.05	+0.33	+1.04	+0.83	+0.73	+0.70	+0.50

Table 4. Results of sensory evaluation test for BAAC-treated *Kimchi* in comparison with normally prepared *Kimchi*

Concentraion of BAAC(%) added to *Kimchi*	Color	Taste	Flavor
Control	4.8	4.0	4.4
0.01	5.0	3.9	4.6
0.025	4.6	3.4	3.8
0.05	3.5	3.0	3.5

요 약

본 연구에서는 김치의 숙도를 조절하여 선도유지기간을 연장할 목적으로 천연항균소재로서 항균작용 및 항진균작용이 탁월한 식물성 천연항균소재(Botanical Antimicrobial Agent-Citrus fruits : BAAC)를 이용하여 김치의 변패에 관여하는 미생물들에 대한 생육억제효과를 관찰하였다. 김치의 산패에 관여하는 *Lactobacillus plantarum, Klebsiella pneumonia, Pichia membranaefaciences* 등에 대하여 뚜렷한 BAAC의 항균력을 확인할 수 있었으며, 항균력은 BAAC의 농도에 비례하여 증대하였다. β-galactosidase활성은 BAAC 처리 미생물 세포의 경우, 무처리구인 대조구 세포보다 훨씬 높게 나타나 BAAC처리에 의하여 미생물 세포막의 기능성이 크게 떨어짐을 확인할 수 있었으며, 전자현미경 촬영사진의 결과 분석을 통하여 BAAC를 처리한 미생물 세포는 세포막 및 세포벽 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체외부로 유출되어 사멸하는 미생물 균수가 크게 증가하였다. 발효김치 재료를 BAAC에 침지 또는 분무등의 전처리 과정을 거친 후, BAAC처리농도 및 저장기간별로 미생물학적, 화학분석적 및 관능검사 결과치를 중심으로 숙성된 김치제품의 품질변화를 검토하였다. 김치 숙성중 pH변화는 BAAC를 첨가한 처리구의 경우, 첨가량이 증가할수록 대조구에 비하여 pH저하가 억제되는 것으로 나타났으며, 산도의 증가도 같은 경향으로 억제되었다. 김치 숙성중 대조구

의 경우, 숙성이 진행됨에 따라 미생물수가 급격히 증가한 반면, BAAC처리 농도가 증가할수록 미생물의 성장이 억제되었다. 숙성기간이 경과할수록 BAAC를 첨가한 시험구는 대조구에 비하여 vitamin C함량은 완만하게 감소하는 경향을 보였다. 관능검사결과 0.01%이하의 BAAC를 첨가하여 김치를 제조할 경우, 대조구와 향미 및 색도면에서 손색이 없는 김치생산이 가능할 수 있음을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Park, K.Y., Cho, E.J. and Rhee, S.H. (1998) Increased antimutagenic and anticancer activities of chinese cabbage *Kimchi* by changing kinds and levels of sub-ingredient. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 625-632
2. Kim, W.J., Ku, K.H. and Cho, H.O. (1998) Changes in some physical properties of *Kimchi* during salting and fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 20, 483-487
3. Hawer, W.D., Ha, J.H., Seog, H.M., Nam, Y.J. and Shin, D.W. (1998) Changes in the taste and flavour compound of *kimchi* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 20, 511-517
4. Moon, K.D., Byun, J.A., Kim, S.J. and Han, D.S. (1995) Screening of natural preservatives to inhibit K*imchi* fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 257-263
5. Chung, D.K. and Yu, R.N. (1995) Antimicrobial activity of bamboo leaves extract on microorgarnisms related to *Kimchi* fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 1035-1038
6. Bun, M.W., Cha, B.S., Kwon, J.H., Cho, H.O. and Kim, W.J. (1989) The combined effect of heat treatment and irradiation on the inactivation of major lactic acid bacteria associated with *Kimchi* fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 21, 185-191
7. Kang, K.O., Ku, K.H., Lee, H.J. and Kim W.J. (1991) Effect of enzyme and inorganic salts addition and heat treatment on Kimchi fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 23, 183-187
8. Cha, B.S., Kim, W.J., Byun, M.W., Kwon, J.H. and Cho, H.O. (1989) Evaluation of gamma irradiation for extending the shelf life of Kimchi. Korean J. Food Sci. Technol. 21, 109-114
9. Park, K.J. and Woo, S.J. (1988) Effect of Na-acetate, Na-mlalate and K-sorbate on the pH, acidity and sourness during Kimchi fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 20, 40-44
10. 최선양(1988) 김치발효와 오존성. 식품과학. 21, 17-21
11. An, S.J. (1985) The effect of sorbic acid on the kimchi fermentation and stability of ascorbic acid. Korean J. Food Sci., 1, 18-26
12. An, S.J. (1988) The effect of salt and food preservatives on the growth of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. Korean J. Soc. Food Sci., 4, 39-50
13. Jang, K.S. (1990) Effect of mono sodium glutamate on the fermentation of korean cabbage kimchi. J. Korean Soc. Food Nutr., 19, 342-348
14. 장근우, 임한백, 이병헌, 김양수 (1990) 저장성이 연장된 김치류의 제조방법. 특허 공보 제 1883호
15. Kim, S.D. (1985) Effect fo pH adjuster on the fermentation of *Kimchi*. J. Korean Soc. Food Nutr., 14, 259-264
16. Hong, W.S. and Yoon, S. (1989) The effects of low temperature heating and mustard oil on the Kimchi fermentation. Korean J. Food Sci, Technol., 21, 331-337
17. Kim, W.J., Kang, K.O., Kyung, K.H. and Shin, J.I (1991) Addition of salts and their mixtures for improvement of storage stability of *Kimchi*. Korean J. Food Sci. Technol., 23, 188-191
18. Jung, J.H. and Cho, S.H. (2003) Antibacterial and antioxidant effect of botanical antimicrobial agent-citrus product on Pollack or Ascidian fishmeat. Korean J. of Food Preserv. 10, 401-405
19. Benmdayam, M. (1984) Protein-A-gold electron microscopic immunocytoche-mistry ; methods, applications and limitations. J. Elect. Microsc. Tech. 1, 236-243
20. 박완수, 구영조, 이명기, 이인선 (1994) 김치제조용 원료의 가공특성 및 역할. 한국 식품과학회 제1회 김치의 과학 심포지움발표논문집, 247, 264
21. A.O.A.C. (1984) Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 14th Ed. Washington, D.C.

(접수 2004년 12월 20일, 채택 2005년 1월 21일)