

발효 초기 한국산 및 중국산 김치의 Bacteria 다양성 평가

이명재¹ · 조경희¹ · 한응수² · 이종훈^{1*}
¹경기대학교 식품생물공학과, ²농협식품안전연구원

Bacterial Diversity in the Initial Fermentation Stage of Korean and Chinese Kimchi. Lee, Myeongjae¹, Kyeung Hee Cho¹, Eung Soo Han², and Jong-Hoon Lee^{1*}. ¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea, and ²Nonghyup Food Research Institute, Seoul 137-130, Korea – The purpose of this research is to draw the bacterial community difference between Korean and Chinese kimchi for future use in the confirmation of kimchi origin. Initial fermentation stage kimchi samples (above pH 5) were used for the analysis of bacterial diversity. From 26 Korean kimchi samples, 1,017 strains in the 45 genera and from 22 Chinese kimchi samples, 842 strains in the 54 genera were isolated with use of marine medium, nutrient medium, succinate minimal medium (SMM), leuconostocs selective medium (LUSM) agars. In the order of isolated numbers, *Bacillus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, and *Lactobacillus* genera and *Bacillus*, *Weissella*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, and *Enterobacter* genera were predominated in Korean and Chinese kimchi, respectively. Among the isolated lactic acid bacteria, *Weissella* spp. were isolated most dominantly owing to the biased growth of *Weissella* spp. on LUSM agar. Species in the genera *Leuconostoc* and *Lactobacillus* were the next frequently isolated LAB from Korean and Chinese kimchi, respectively. *Weissella confusa* was isolated only from Korean kimchi and *W. soli* and *Serratia proteamaculans* were isolated only from Chinese kimchi. They have a possibility to be used as target bacteria to differentiate Korean kimchi from Chinese kimchi.

Key words: Kimchi, bacterial community, *Weissella*, *Serratia*

서 론

김치는 각종 채소를 소금에 절여 젓갈 및 고추를 비롯한 다양한 부재료를 혼합하여 발효, 숙성시킴으로써 독특한 풍미와 물성이 만들어지는 우리나라 고유의 전통 발효식품이다. 1988년 서울올림픽에서 소개된 이후, 지속적인 올림픽 및 2002년 한일월드컵축구에서의 홍보, 그리고 2001년 7월 국제식품규격위원회에서 한국의 배추김치가 Codex 규격으로 채택됨에 따라 세계에 알려지기 시작했다. 뿐만 아니라 2006년 올리브유, 대두, 요구르트, 렌즈콩과 함께 미국의 Health Magazine(<http://www.health.com/>)에서 세계적 건강식품의 하나로 거론됨에 따라 김치에 대한 세계적 관심이 증가하고 있다[9].

우리나라는 경제 성장에 따른 주거환경의 변화, 가공식품 산업의 발달, 여성의 사회참여 증가 및 김치냉장고 보급 확대 등의 사회적 변화에 의해 상품김치의 수요는 지속적인 증가 추세에 있다[10]. 한국 농촌경제연구원에서 발행한 농협 김치사업 활성화를 위한 컨설팅 결과 보고서에 따르면 2008

년 국내 김치의 수요는 144만 톤으로 추정되며, 이중 상품 김치의 공급량은 국내산 45만 톤(포장김치 41만 톤, 즉석김치 4만 톤), 수입김치 22만 톤으로 총 67만 톤에 달한다. 수출을 제외한 국내 김치시장 규모는 상품김치가 소비자 구매 가격 기준으로 2조 원이고, 공장 매출액과 수입가 기준으로는 약 1조원 규모로, 이중 공장김치가 7,840억 원, 즉석제조 김치가 780억 원, 수입김치가 1,100억 원 정도로 추정된다.

최근 수입개방 확대와 외식산업의 발달로 중국산 김치의 수입량이 급증하고 있으며, 수출량은 한계를 나타내고 있다. 중국산 김치의 수입은 2004년도에 물량면에서 수출을 넘어섰고, 2006년에는 금액면으로도 수출액을 초과하여 물량과 금액면에서 모두 김치의 수입이 수출을 초과하였다. 저가의 중국산 김치의 수입이 급증함에 따라 국내 김치산업은 물론 김치의 원료 및 부재료 농산물의 생산, 공급 및 가격에도 큰 영향을 미치고 있다. 특히 수입김치의 국내유통 과정에서 국내산 둔갑으로 인한 유통질서 혼란과 안전성 부분에서 큰 문제를 야기하고 있다. 식품의약품안전청의 보고에 따르면 2007년 중국산 김치에서 사이클라메이트 등 금지 감미료가 검출된 사례가 모두 30건에 달하고, 삭카린나트륨, 타르색소 등 미신고 첨가물 검출 31건, 비위생적인 작업 환경과 생산과정으로 인한 이물질 검출 18건, 첨가물 사용 기준위반 3건, 부적합품 재수입 1건 등으로 나타났고, 수입김치 부적합 판

*Corresponding author

Tel: 82-31-249-9656, Fax: 82-31-253-1165

E-mail: jhl@kyonggi.ac.kr

정진수도 2005년 279 톤, 2006년 282 톤, 2007년 1637 톤으로 매년 증가하고 있다. 또한 김치 수입량이 증가할수록 배추, 무, 마늘, 고추 등 주·부재료의 재배면적 감소와 함께 타 작목으로의 전환이 증가해 전체 농산물 수급 및 가격에까지 영향을 미치는 것으로 보고되었다[10].

수입김치의 지속적인 증가 및 저질 중국산 김치의 국내산 김치로의 둔갑 판매로 인해 발생하는 생산자와 소비자의 피해의 방지, 김치에 대한 소비자의 신뢰회복 그리고, 한국산 김치의 국가 경쟁력 강화를 위해서는 신속, 정확한 원산지 판별기술이 시급히 개발되어야 한다. 2008년 12월 28일부터 시행중인 김치류 원산지표시제는 소규모음식점까지 확대시행하고 있지만 중국산 김치와 한국산 김치를 과학적으로 판별할 수 있는 기술이 없어 충분한 효과를 거두지 못하고 있다.

한편, 김치는 원료에서 유래하는 미생물의 증식에 의하여 풍미가 형성되는 천연발효식품으로, 국내에서 진행된 많은 김치 관련 미생물 연구를 통하여 *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Weissella* 속 등의 다양한 유산균이 발효에 관여하는 것으로 알려져 있다[1, 3-5, 9, 11, 12, 15, 16]. 이와 같이 김치의 주발효 미생물이 유산균이라는 사실이 이미 잘 알려져 있기 때문에 김치에 존재하는 다른 미생물에 대한 연구는 거의 보고되지 않았다. 그러나 원료에서 유래하는 다양한 미생물이 발효 초기에 존재할 것이고, 이들 미생물은 원재료가 재배된 원산지의 환경을 반영할 것으로 추정된다. 따라서 한국산 및 중국산 김치에 존재하는 bacteria의 종류에 차이가 있을 것으로 추정되고, 그 차이는 발효가 진행되어 유산균이 증가하기 전 단계에서 현저하게 나타날 것으로 추정하였다.

본 연구에서는 한국산 및 중국산 김치에 존재하는 bacteria의 차이를 이용한 김치 원산지 판별의 가능성을 평가하기 위하여 발효 초기의 한국산 및 중국산 김치에 존재하는 bacteria의 다양성을 검토해 보았다.

재료 및 방법

한국산 및 중국산 김치시료 수집

원산지에 따른 김치 유래 bacteria의 다양성 평가를 위해 사용된 김치시료는 총 5회에 걸쳐 57종이 수집되었다. 한국산 김치 28종은 경기도 연천, 충청남도 아산, 전라북도 해남, 경상북도 안동의 농협협동조합으로부터 공급받아 사용하였고, 29종의 중국산 김치는 중국 산둥성의 청도시, 연태시, 위해시 지역에서 제조되어 수입된 것을 구입하거나 현지의 공장에서 수집하였다. 이들 김치 중, 김치국물의 pH가 5.0 이상이 되는 발효 초기의 한국산 김치 26종, 중국산 김치 22종만을 bacteria 분리원으로 사용하였다(Table 1).

김치 유래 bacteria 분리 및 배양조건

김치 유래 bacteria의 분리를 위한 김치시료 국물은 멸균한 거즈로 여과하였고, 고형물은 무게대비 2배의 생리식염수를 가하여 혼합한 후에 여과하였다. 얻어진 여액을 동량 혼합한 다음, bacteria의 분리가 가능한 농도로 생리식염수로 희석하여 marine medium(Difco, USA), nutrient medium(Difco), succinate minimal medium(SMM)[14], leuconostocs selective medium(LUSM)[2]에 1.5% (w/v) 한천을 첨가한 고체배지에 도말하여 30°C, 미호기 조건에서 24시간 배양하였다. 가능한 다양한 집락의 선발을 위하여 각 배지에서 생장한 집락들 중, 외관상 색깔과 모양이 차이가 나는 집락들 각 배지별 10개씩 총 40개를 선발 과정에서 사용하듯 동일 배지를 이용하여 순수분리하였다.

16S ribosomal RNA 유전자 분석을 통한 bacteria 동정

각 배지에서 분리된 bacteria의 16S rRNA 유전자(16S rDNA) 증폭은 DNeasy[®] tissue kit(Qiagen, Germany)을 이용하여 추출된 DNA를 PCR 하거나, colony PCR을 통하여 수행하였다. 16S rDNA PCR 증폭에는 다양한 bacteria의 증폭에 많이 사용되는 eubacterial universal primer 27F(5'-

Table 1. The pHs of Korean and Chinese kimchi samples.

Sample ^a	Korean kimchi					Chinese kimchi				
	1st	2nd	3rd	4th	5th	1st	2nd	3rd	4th	5th
1	5.65	5.63	5.69	5.65	5.44	4.23	6.08	5.53	5.82	5.46
2	5.41	5.26	5.68	5.66	5.43	5.39	5.72	5.42	5.50	5.32
3	5.52	5.35	5.75	5.81	5.72	5.43	4.47	5.50	5.68	4.57
4	5.82	4.95	5.43	5.60	5.95	4.62	6.03	5.65	5.39	4.56
5	5.33	5.05	5.56	5.29	5.39	4.53	5.64	5.47	5.66	5.58
6	4.70								5.58	4.89
7	5.41								5.80	
8	5.69								5.63	
Total				28					29	

^aSample number was arbitrarily mentioned.

AGA GTT TGA TCC TGG CTC A-3')와 1492R(5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')을 사용하였다[16]. PCR 반응에는 UNOII Thermocycler(Biometra, Germany)를 사용하였으며, 50 μ L PCR 반응계에는 template DNA, 100 mM dNTP, 1 U *Taq* polymerase(Roche, Germany), 20 pmol의 primer를 첨가하였다. 반응조건은 95°C에서 5분 예비가열 후, 95°C 1분간 변성, annealing 57°C 1분, 72°C 1분 중합반응의 과정을 30회 반복하고, 마지막에 72°C에서 5분간 처리한 후 반응을 중단시켰다. PCR 반응산물은 0.8% agarose gel을 이용한 전기영동으로 확인하였으며, 16S rDNA 크기에 해당하는 DNA band를 Gel & PCR purification system(SolGent, Korea)으로 회수, 정제한 후 -20°C에서 보존하였다. 정제된 단편의 염기서열 결정은 수탁업체(SolGent)에 의뢰하여 수행하였고, 결정된 염기서열은 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)와 EzTaxon server 2.1[7]에

등록된 염기서열 정보를 대상으로 nucleotide blast search를 통해 계통발생학적 분석을 수행하였다. Database에 등록된 표준균주와 가장 높은 상동성을 나타내는 분류군(Taxon)을 해당 염기서열에 해당하는 bacteria로 동정하였다.

결과 및 고찰

한국산 및 중국산 김치로부터 분리된 bacteria의 다양성

김치국물과 고형분의 혼합여액 pH가 5.0 이상인 발효 초기의 한국산 김치 26종으로부터 1017 균주가, 중국산 김치 22종으로부터는 842 균주가 순수분리되어, 16S rDNA 염기서열 분석에 의해 계통발생학적으로 동정되었다. 한국산으로부터는 45속, 중국산에서는 54속이 분리되어 한국산보다는 중국산 김치에서 다양한 속 bacteria의 존재가 확인되었다(Table 2). *Actinobacteria*, *Bacilli*, β -*Proteobacteria*, γ -

Table 2. Numbers of the isolated genera from Korean and Chinese kimchi samples.

Class	Genus	Korean kimchi					Total ^a	Chinese kimchi					Total ^a
		1st	2nd	3rd	4th	5th		1st	2nd	3rd	4th	5th	
		7	4	5	5	5	26	2	4	5	8	3	22
<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter</i>				1	1	2						
	<i>Brevibacterium</i>										1		1
	<i>Cellulosimicrobium</i>									1			1
	<i>Corynebacterium</i>							1	1				2
	<i>Curtobacterium</i>	1	1				2						
	<i>Kocuria</i>	1	1	3			5		1				1
	<i>Microbacterium</i>	10	10	2	1	7	30	2	7	9	6	11	35
	<i>Ochrotrichum</i>				1	1	2				1		1
	<i>Paracoccus</i>				1		1			2	3		5
	<i>Plantibacter</i>	2					2						
	<i>Rhodococcus</i>										1	1	
<i>Bacilli</i>	<i>Aerococcus</i>								2	1			3
	<i>Bacillus</i>	133	77	72	108	74	464	11	17	40	114	26	208
	<i>Brochothrix</i>								1				1
	<i>Carnobacterium</i>								3				3
	<i>Enterococcus</i>				1		1		1			6	7
	<i>Exiguobacterium</i>				2		3	5	2	1			3
	<i>Lactococcus</i>			2	7		11	6	13	7			26
	<i>Latobacillus</i>	16	2	2		17	37	7	13	18	35	3	76
	<i>Leuconostoc</i>	49	9	4	9	10	81		8	10	16	3	37
	<i>Lysinibacillus</i>			1			1				2		2
	<i>Marinilactibacillus</i>				2		2				1		1
	<i>Paenibacillus</i>				1		1			1			1
	<i>Pediococcus</i>										3		3
	<i>Staphylococcus</i>			4	2		6	2	1		29		32
	<i>Thalassobacillus</i>											1	1
<i>Weissella</i>	47	33	53	41	20	194	15	24	30	29	24	122	
α - <i>Proteobacteria</i>	<i>Azospirillum</i>											1	1
	<i>Rothia</i>										1		1
	<i>Sanguibacter</i>									1			1
	<i>Sphingomonas</i>								1				1

Table 2. Continued

Class	Genus	Korean kimchi						Chinese kimchi					
		1st	2nd	3rd	4th	5th	Total ^a	1st	2nd	3rd	4th	5th	Total ^a
		7	4	5	5	5	26	2	4	5	8	3	22
<i>β-Proteobacteria</i>	<i>Achromobacter</i>		1	2			3		1			1	2
	<i>Comamonas</i>			2		1	3						
	<i>Delftia</i>			2			2		1				1
	<i>Herbaspirillum</i>				1		1						
<i>γ-Proteobacteria</i>	<i>Acinetobacter</i>			2			2						
	<i>Buttiauxella</i>	1					1						
	<i>Cedecea</i>							1					1
	<i>Citrobacter</i>							4	1				5
	<i>Cobetia</i>					3	3						
	<i>Enterobacter</i>		2	5	3	1	11	8	10	14	6	1	39
	<i>Erwinia</i>				1		1	2	2	1	1		6
	<i>Ewingella</i>				1		1		2		3		5
	<i>Flavimonas</i>				1		1				1		1
	<i>Klebsiella</i>			1			1	1	1				2
	<i>Kluyvera</i>				2		2		1	1	3		5
	<i>Leclercia</i>			1			1	3		1			4
	<i>Moraxella</i>	1					1						
	<i>Pantoea</i>		2	2	3	3	10	3	3	2	4	8	20
	<i>Pectobacterium</i>							1					1
	<i>Proteus</i>							2			1		3
	<i>Providencia</i>							1		1			2
	<i>Pseudomonas</i>	2	10	13	6	22	53		17	10	23	21	71
	<i>Psychrobacter</i>	1			2	4	7		1	1	2		4
	<i>Rahnella</i>		1			7	8		4	4	3	2	13
	<i>Raoultella</i>							1					1
	<i>Rhizobium</i>	6		8	1	9	24			4	8	3	15
	<i>Serratia</i>	1	3		5		9	6	9	16	7	2	40
<i>Shewanella</i>								2				2	
<i>Stenotrophomonas</i>	2		1	5	4	12	1	3	4	3	1	12	
<i>Vibrio</i>			1			1				1		1	
<i>Yersinia</i>	1					1		2		1	1	4	
<i>Flavobacteria</i>	<i>Chryseobacterium</i>			3	1	5	9			2	2	1	5
	<i>Elizabethkingia</i>			1			1						
<i>Sphingobacteria</i>	<i>Sphingobacterium</i>				1		1						
Total		274	159	197	193	194	1017	80	155	183	307	118	842

^aNumber of kimchi samples.

Proteobacteria, *Flavobacteria* 강(class)에 속하는 bacteria가 한국산 및 중국산 김치 모두에서 분리되었고, *α-Proteobacteria* 강 bacteria는 중국산 김치에서만 분리되었다. *Bacillus*, *Microbacterium*, *Weissella* 속 bacteria는 수집된 모든 김치시료에서 분리되었고, *Arthrobacter*, *Curtobacterium*, *Plantibacter*, *Comamonas*, *Herbaspirillum*, *Acinetobacter*, *Buttiauxella*, *Cobetia*, *Moraxella*, *Elizabethkingia*, *Sphingobacterium* 속은 한국산 김치에서만 검출되었으며, *Brevibacterium*, *Cellulosimicrobium*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Aerococcus*, *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Thal-*

assobacillus, *Azospirillum*, *Rothia*, *Sanguibacter*, *Sphingomonas*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Pectobacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Raoultella*, *Shewanella* 속은 중국산 김치에서만 검출되었다.

한국산과 중국산 김치시료에서 우점으로 검출되는 bacteria는 한국산 김치에서 *Bacillus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus* 속의 순으로, 중국산 김치에서는 *Bacillus*, *Weissella*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter* 속의 순으로 확인 되었다(Table 2). *Bacillus* 속과 유산균을 제외하면 *Pseudomonas* 속이 한국산과 중국산

김치 모두에서 높은 빈도로 검출되었다. *Pseudomonas* 속 다 음으로는 한국산 김치에서 *Microbacterium* 속이 다수로 검 출되었지만, 한국산 김치와 달리 *Enterobacter* 속과 *Serratia* 속이 중국산 김치의 우점으로 검출되었다(Table 2).

김치발효 초기에는 유산균보다 *Bacillus* 속 bacteria의 검 출이 가장 높게 나타난 것으로 보아, 발효 초기에는 원료에 서 유래하는 토양 유래 bacteria가 우점하는 것으로 사료된다.

Bacteria의 분리에 미치는 배지의 영향

현재까지 보고된 김치 유래 미생물 연구에서는 MRS 배 지가 주 발효균인 유산균의 선택적 선발에 이용되었지만, 본 연구에서는 유산균 외의 다양한 bacteria의 분리를 위해 marine, nutrient, SMM, LUSM 한천배지를 사용하였다 (Table 3). marine 배지에서 한국산 김치로부터 27속, 중국

Table 3. Numbers of the isolated genera from Korean and Chi- nese kimchi according to media.

Genus	Marine medium		Nutrient medium		SMM ^a		LUSM ^b	
	KK ^c	CK ^d	KK	CK	KK	CK	KK	CK
<i>Achromobacter</i>		2		3				
<i>Acinetobacter</i>						2		
<i>Aerococcus</i>		2		1				
<i>Arthrobacter</i>	1		1					
<i>Azospirillum</i>				1				
<i>Bacillus</i>	166	80	123	65	174	63	1	
<i>Brevibacterium</i>						1		
<i>Buttiauxella</i>					1			
<i>Brochothrix</i>		1						
<i>Catnobacterium</i>		2		1				
<i>Cedecea</i>						1		
<i>Cellulosimicrobium</i>				1				
<i>Chryseobacterium</i>	1			8		5		
<i>Citrobacter</i>		2		1			2	
<i>Cobetia</i>		3						
<i>Corynebacterium</i>		2						
<i>Comamonas</i>	1			2				
<i>Curtobacterium</i>		2						
<i>Delftia</i>				2		1		
<i>Elizabethkingia</i>				1				
<i>Enterobacter</i>	2	8	4	6	5	25		
<i>Enterococcus</i>	1	5		2				
<i>Erwinia</i>		2		3	1	1		
<i>Ewingella</i>		2			1	3		
<i>Exiguobacterium</i>	5	2		1				
<i>Flavimonas</i>				1		1		
<i>Herbaspirillum</i>						1		
<i>Klebsiella</i>	1	1				1		
<i>Kluyvera</i>	1	4		1	1			
<i>Kocuria</i>		2		3	1			
<i>Lactobacillus</i>		1		1	2		36	71
<i>Lactococcus</i>	10	15		8	1	3		

Table 3. Continued.

Genus	Marine medium		Nutrient medium		SMM ^a		LUSM ^b	
	KK ^c	CK ^d	KK	CK	KK	CK	KK	CK
<i>Leclercia</i>			1		2		1	1
<i>Leuconostoc</i>	28	13			15	1	7	
<i>Lysinibacillus</i>	1	1				1		
<i>Marinilactibacillus</i>	2	1						
<i>Microbacterium</i>	8	7			18	23	4	5
<i>Moraxella</i>	1							
<i>Ochrobactrum</i>					2			1
<i>Paenibacillus</i>	1					1		
<i>Pantoea</i>	2	5			3	2	5	13
<i>Plantibacter</i>					2			
<i>Paracoccus</i>	1	5						
<i>Pectobacterium</i>								1
<i>Pediococcus</i>						1		2
<i>Proteus</i>		1						2
<i>Providencia</i>		1						1
<i>Pseudomonas</i>	3	3			25	38	25	30
<i>Psychrobacter</i>	7	4						
<i>Rahnella</i>					4	3		5
<i>Raoultella</i>								1
<i>Rhizobium</i>						7	3	17
<i>Rhodococcus</i>							1	
<i>Rothia</i>					1			
<i>Sanguibacter</i>							1	
<i>Serratia</i>	2	12			5	13	2	14
<i>Shewanella</i>					2			
<i>Sphingomonas</i>								1
<i>Sphingobacterium</i>						1	1	
<i>Staphylococcus</i>	1	12			2	13	3	7
<i>Stenotrophomonas</i>						11	9	1
<i>Thalassobacillus</i>							1	
<i>Vibrio</i>	1	1						
<i>Weissella</i>	3	1			10	1		
<i>Yersinia</i>					1	1		3
Total	257	207	254	212	257	205	249	218

^aSMM: succinate minimal medium.

^bLUSM: leuconostocs selective medium.

^cKK: Korean kimchi.

^dCK: Chinese kimchi.

산 김치로부터 35속의 bacteria가 분리되었고, nutrient 배지 에서는 한국산 김치로부터 25속, 중국산 김치로부터 33속의 bacteria가 분리되었다. SMM에서 한국산 김치로부터 19속, 중국산 김치로부터 25속의 bacteria가 분리되었고, LUSM에 서 한국산 김치로부터 4속, 중국산 김치로부터 6속의 bacteria 가 검출되었다. 본 실험에 사용한 모든 배지에서 한국산에 비해 중국산 김치로부터 많은 속의 bacteria가 검출되었지만, 각 배지에서 분리된 bacteria의 종류는 김치산지에 따른 현 저한 차이가 발견되지 않았다.

높은 빈도로 검출되었지만, 중국산에서는 *Leu. mesenteroides* 가 우점균으로 나타났다. 가장 많이 검출된 *Weissella* 속의 경우, 한국산과 중국산 모두에서 *W. cibaria*와 *W. koreensis* 가 우점으로 검출되었다. 중국산에서 1종이 검출된 *W.*

*confusa*는 한국산에서는 우점을 형성하고 있었고, *W. soli*는 중국산에서만 특이적으로 검출되었다. LUSM에서는 *Weissella* 속이 선택적으로 분리되고 있어 *W. confusa*, *W. soli*의 신속한 검출에 도움을 줄 수 있는 배지로 사료된다.

Table 5. Commonly isolated dominant genera from Korean and Chinese kimchi.

Genus	Species	Korean kimchi					Chinese kimchi				
		1st	2nd	3rd	4th	5th	1st	2nd	3rd	4th	5th
<i>Bacillus</i>	<i>B. aerius</i>		2		1	5				2	
	<i>B. altitudinis</i>				1						
	<i>B. amyloliquefaciens</i>	19	10	8	24		2	3	1	10	
	<i>B. anthracis</i>									1	
	<i>B. atrophaeus</i>	2		11				1	1	3	2
	<i>B. aryabhatai</i>				1					2	
	<i>B. cereus</i>									3	
	<i>B. flexus</i>									1	
	<i>B. gibsonii</i>					1					1
	<i>B. licheniformis</i>	16	5	16	1	2		3	2	2	
	<i>B. infantis</i>						1			1	
	<i>B. marisflavi</i>						1	1			
	<i>B. mojavensis</i>								3	3	
	<i>B. methylotrophicus</i>					16					3
	<i>B. niacini</i>									1	
	<i>B. safensis</i>	21	8	6	9	4	3	2	14	47	12
	<i>B. simplex</i>									1	
	<i>B. sonorensis</i>		2							1	
	<i>B. stratosphericus</i>	37	22	14	21	24	1	4	7	25	3
	<i>B. subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>			1				2	1	8	3
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	38	9	5	10	22	2		1	1	2	
<i>B. tequilensis</i>		18	11	35			1	2	5		
<i>B. thuringiensis</i>									1	1	
<i>B. vallismortis</i>		1		5		1		1	2		
<i>Weissella</i>	<i>W. cibaria</i>	7	23	24	30	2	15	21	17		
	<i>W. koreensis</i>	40	2			8			9	21	24
	<i>W. soli</i>							3	2	8	
	<i>W. confusa</i>		6	27	11	10			1		
	<i>W. hellenica</i>		2	1							
	<i>W. paramesenteroides</i>			1							
	<i>W. viridescens</i>								1		
<i>Serratia</i>	<i>S. fonticola</i>		1		1			2			
	<i>S. glossinae</i>				4						
	<i>S. grimesii</i>		1				2	2			
	<i>S. marcescens</i>						2			2	
	<i>S. nematodiphila</i>									1	
	<i>S. plymuthica</i>	1	1							3	2
	<i>S. proteamaculans</i>						2	5	16	2	
<i>Enterobacter</i>	<i>E. aerogenes</i>							1			
	<i>E. amnigenus</i>		2		2		1	4	12	1	1
	<i>E. asburiae</i>						4		2		
	<i>E. cancerogenus</i>						1	2			
	<i>E. cowanii</i>				1						
	<i>E. kobei</i>						1				
	<i>E. ludwigii</i>			1			1	3		5	

한국산 및 중국산 김치에서 특이적으로 검출된 bacteria

Bacillus, *Weissella* 속은 모든 김치시료에서, *Serratia*, *Enterobacter* 속은 모든 중국산 김치시료에서 높은 빈도로 검출되어, 특정 김치시료에서의 1회성 검출이 아닌 것으로 확인되었다(Table 2, Table 5). 따라서 이들 속의 bacteria 중 한국산 또는 중국산에서 특이적으로 검출되는 종(species)이 존재한다면, 이들 종은 한국산 및 중국산 김치의 구분에서 사용될 지표미생물로 선정될 가능성을 가지고 있다.

한국산에서 분리·동정된 1017 균주 중, *Bacillus* 속에서는 15종의 464 균주가 분리되어 전체 분리균의 45%에 해당하는 것으로 나타났고, 중국산의 경우 전체 842 분리균 중, *Bacillus* 속에서 23 종의 208 균주가 분리되어 25%에 달하는 것으로 나타났다. *B. safensis*와 *B. stratosphericus*는 한국산 및 중국산 김치 모두에서 검출되었다(Table 5).

한국산 및 중국산 김치에서 분리된 *Weissella* 속 중, *W. cibaria*와 *W. koreensis*는 한국산과 중국산 모두에서 가장 많이 검출되었고, 한국산에서는 *W. confusa*가 중국산에서는 *W. soli*가 특이적으로 검출되었다. 따라서 이들 균주는 한국산 및 중국산 김치의 판별에 적용 가능한 지표균 후보로 사료된다(Table 5).

토양이나 물에서 많이 검출되는 *Serratia* 속 bacteria는 대부분의 종이 중국산 김치에서 높은 빈도로 검출되었지만, 한국산에서도 낮은 빈도로 검출되었다. 그러나 *Serratia* 속 중, 중국산 김치에서 가장 높은 빈도로 검출된 *S. proteamaculans*는 한국산 김치에서는 검출되지 않았다. 따라서 중국산 김치의 판별을 위한 지표균으로 사용될 높은 가능성을 가진 종으로 사료된다(Table 5).

Enterobacter 속의 *E. amnigenus*는 중국산 김치에서는 많이 검출되었지만 한국산 김치에서도 낮은 빈도로 검출되어 지표균으로 선발되기에는 좀 더 많은 시료의 분석이 필요하다.

위해세균의 검출

pH 5 이상의 발효 초기 김치에서는 토양 및 오염된 물에서 검출되는 병원성 미생물을 포함하는 *Enterobacter*, *Erwinia*, *Serratia* 속 bacteria가 한국산 및 중국산 모두에서

검출되었지만, 검출빈도는 중국산이 높은 것으로 나타났다(Table 6)[8, 13]. 대체로 식물병원균이 주를 이루고, 식중독균으로 알려진 *B. cereus*와 *E. aerogenes*가 중국산 일부에서 검출되었다. 2008년에 발간된 식품공전에 따르면 *B. cereus*의 검출은 식품에 따라 한도가 다르게 적용되고, 절임식품의 경우 10,000 CFU/g 이하로, 신선편의식품의 경우 1,000 CFU/g 이하로 규정되어 있다. 김치류의 경우, *B. cereus*에 대한 규격이 정해지지 않았지만, 본 연구에서 검출된 수준은 기준 이하로 식품의 안전에는 문제가 되지 않는다. 살균 포장제품 형태의 김치류의 경우, 대장균군 검출이 음성으로 규정되어 있다. 그러나 본 연구의 시료의 경우 살균포장제품에 해당하지 않고, 1건의 *E. aerogenes* 또한 문제로 제기될 수준은 아니다. 중국산 김치에서만 검출된 식물병원균인 *S. marcescens*의 경우, 일본에서는 감염성 병원균으로 분류되어 있다(<http://www.nih.go.jp/>). 식물병원균이 소수로 검출된 결과는 김치가 다소 비위생적인 환경에서 제조되거나, 신선도가 떨어지는 재료를 사용하여 나타난 결과로 추측된다. 중국산 김치에서 한국산에 비해 높은 빈도로 위해세균이 검출되는 것으로 보아 중국산의 제조환경이 한국에 비해 좋지 못하다는 점이 예상된다. 발효 초기의 김치에서 검출된 토양 및 물 유래 위해세균들은 발효의 진행에 따른 유산균의 증식으로 유산균이 생산하는 유기산과 bacteriocin에 의해 모두 생장이 억제될 것으로 사료된다. 따라서 소수의 위해세균이 검출되었다 하여도 섭취한 김치에 의해 식중독이 발생할 가능성은 희박할 것으로 사료된다.

요 약

미생물 군집의 차이를 이용한 한국산 및 중국산 김치의 판별 가능성을 평가하기 위해 pH 5 이상의 발효초기 김치에 존재하는 bacteria의 다양성을 검토하였다. marine medium, nutrient medium, succinate minimal medium (SMM), leuconostocs selective medium(LUSM)의 환천배지를 이용하여 한국산 26종, 중국산 22종의 김치시료로부터 각각 45 속의 1017 균주, 54 속의 842 균주가 분리동정되었다. 한국산 김치에서는 *Bacillus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus* 속 순으로, 중국산 김치에서는

Table 6. Potential pathogenic species isolated from Korean and Chinese kimchi.

Pathogenic character	Species	Korean kimchi					Chinese kimchi				
		1st	2nd	3rd	4th	5th	1st	2nd	3rd	4th	5th
Food pathogens	<i>Bacillus cereus</i>								3		
	<i>Enterobacter aerogenes</i>							1			
Plant pathogens	<i>Enterobacter amnigenus</i>		2		2		1	4	12	1	
	<i>Enterobacter cancerogenus</i>							1	2		
	<i>Erwinia perscina</i>	1					2	2		1	
	<i>Serratia marcescens</i>						2			2	

Bacillus, *Weissella*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter* 속의 순으로 우점하는 것으로 나타났다. 유산균의 경우, LUSM의 이용으로 한국산, 중국산 모두에서 *Weissella* 속이 편중되어 검출되었지만, 한국산은 *Leuconostoc* 속이, 중국산은 *Lactobacillus* 속이 *Weissella* 속 다음으로 우점하는 것으로 나타났다. *Weissella confusa*는 한국산 김치에서 특이적으로 검출되었고, *W. soli*, *Serratia proteamaculans*는 중국산 김치에서 특이적으로 검출되어 향후 김치의 원산지 판별을 위한 지표미생물로 사용될 가능성을 가지고 있다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 농림기술개발사업(과제번호: 109175-2)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Bae, J.-W., S.-K. Rhee, J. R. Park, W.-H. Chung, Y.-D. Nam, I. Lee, H. Kim, and Y.-H. Park. 2005. Development and evaluation of genome-probing microarrays for monitoring lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 8825-8835.
- Benkerroum, N., M. Misbah, W. E. Sandine, and A. T. Elarki. 1993. Development and use of a selective medium for isolation of *Leuconostoc* spp. from vegetables and dairy products. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 607-609.
- Chang, H.-W., K.-H. Kim, Y.-D. Nam, S. W. Roh, M.-S. Kim, C. O. Jeon, H.-M. Oh, and J.-W. Bae. 2008. Analysis of yeast and archaeal population dynamics in kimchi using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* **126**: 159-166.
- Cho, J., D. Lee, C. Yang, J. Jeon, J. Kim, and H. Han. 2006. Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol. Lett.* **257**: 262-267.
- Cho, K. M., R. K. Math, S. M. Asraful Islam, W. J. Lim, S. Y. Hong, J. M. Kim, M. G. Yun, J. J. Cho, and H. D. Yun. 2009. Novel multiplex PCR for the detection of lactic acid bacteria during *kimchi* fermentation. *Mol. Cell. Probes.* **23**: 90-94.
- Choi, H.-J., Y.-J. Shin, J.-H. Yu, and S.-S. Yoon. 1996. A new selective medium for the isolation and the detection of leuconostocs in foodstuffs. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**: 279-284.
- Chun, J., J.-H. Lee, Y. Jung, M. Kim, S. Kim, B. K. Kim, and Y.-W. Lim. 2007. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **57**: 2259-2261.
- Grimont, P. A. D. and F. Grimont. 1978. The genus *Serratia*. *Ann. Rev. Microbiol.* **32**: 221-248.
- Lee, J.-H. 2009. Current studies on the community of lactic acid bacteria in *kimchi*, a traditional Korean fermented food. *Milk Sci.* **58**: 153-159.
- Jeon, C.-G. 2009. Marketing analysis of the imported kimchi and challenges for the domestic kimchi industry. *Korean J. Food Marketing Economics* **26**: 79-101.
- Kim, M. and J. Chun. 2005. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *Int. J. Food Microbiol.* **103**: 91-96.
- Lee, J.-S., G.-Y. Heo, J. W. Lee, Y.-J. Oh, J. A. Park, Y.-H. Park, Y.-R. Pyun, and J. S. Ahn. 2005. Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* **102**: 143-150.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, P. V. Dunlap, and D. P. Clark. 2009. *Brock Biology of Microorganisms*, pp. 419-423. 13th ed. Pearson Education Inc., San Francisco, CA, U.S.A.
- Monna, L., T. Omori, and T. Kodama. 1993. Microbial degradation of dibenzofuran, fluorene, and dibenzo-*p*-dioxin by *Staphylococcus auriculans* DBF63. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 285-289.
- Park, J. A., G.-Y. Heo, J. S. Lee, Y. J. Oh, B. Y. Kim, T. I. Mheen, C. K. Kim, and J. S. Ahn. 2003. Change of microbial communities in kimchi fermentation at low temperature. *Korean J. Microbiol.* **39**: 45-50.
- Shim, S. and J.-H. Lee. 2008. Evaluation of lactic acid bacterial community in *kimchi* using terminal-restriction fragment length polymorphism analysis. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 247-259.

(Received April 27, 2010/Accepted June 11, 2010)