

Research Article

김치 종균 배양용 식용 배지 개발 및 이를 이용한 김치 숙성도 제어 방법

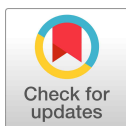
정창희 · 고혜인 · 김태운*

세계김치연구소 녹색공정연구단

Development of Edible Medium for Kimchi Starter, and Application of Kimchi Fermentation Control

Chang Hee Jeong, Hye In Ko, and Tae Woon Kim*

Eco-Friendly Process Technology Research Group, World Institute of Kimchi, Gwangju 61755, Republic of Korea



Received: Nov. 29, 2021

Revised: Dec. 24, 2021

Accepted: Dec. 27, 2021

*Corresponding author :

Tae Woon Kim

Eco-Friendly Process Technology
 Research Group, World Institute
 of Kimchi, Gwangju 61755,
 Republic of Korea.

Tel: +82-62-610-1723

Fax: +82-62-610-1850

E-mail: korkimchiman@wikim.re.kr

ORCID

Chang Hee Jeong

<https://orcid.org/0000-0003-3083-0614>

Hye In Ko

<https://orcid.org/0000-0002-7408-736X>

Tae Woon Kim

<https://orcid.org/0000-0001-8722-9980>

Abstract

To control the fermentation rate of kimchi, we studied the composition of an edible medium for co-culturing of mixed starter including *Lactococcus lactis* WiKim0098 and *Leuconostoc citreum* WiKim0096. The effect of kimchi broth ingredients such as dried pollack, seaweed, onion, radish, dried red pepper, green onion, dried mushroom, and dried shrimp on the growth of *L. lactis* WiKim0098 and *Leu. citreum* WiKim0096 were evaluated. All ingredients except for dried shrimp inhibited the growth of bacteria. By comparing the bacterial growth and antibacterial activity of M17 medium in which *L. lactis* grows well, the final edible medium composition was determined as yeast 3% extract, 0.05% ascorbic acid, 1% potassium citrate, and 3% lactose in 1% dried shrimp broth (namely, edible medium 1). Subsequently, to mix-culture *Leu. citreum* with excellent mannitol-producing ability, various carbon sources were added to edible medium 1, and the growth of *Leu. citreum* was then measured. *Leu. citreum* grew well at a concentration of 0.1 to 1% of maltose or fructose in a dose-dependent manner. Based on these results, different concentrations of maltose (0.1, 0.2, or 0.3%) were added to the edible medium to control the growth rate of *Leu. citreum*. Each of these was added to kimchi and fermented at 10°C for 5 days, and the pH was measured. The kimchi added only *L. lactis* showed a pH of 5.3, while each treatment group showed a tendency to decrease the pH as the maltose concentration increased to pH 4.9, pH 4.7, and pH 4.5. Consequently, the use of the edible liquid medium developed in this study was able to control the ratio of *L. lactis* WiKim0098 and *Leu. citreum* WiKim0096 in co-culturing of kimchi starter. Moreover, the fermentation rate of kimchi was controlled by mixing *L. lactis* and *Leu. citreum*, resulting in could control the kimchi ripening.

Keywords

kimchi, starter culture, edible medium, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc citreum*

서론

김치는 한국의 전통 발효 식품으로, 주로 배추, 무와 같은 채소를 양념에 버무린 후 발효시켜 생산된다(Jung *et al.*, 2012; Jung *et al.*, 2018). 김치의 발효에는 세균과 효모를 포함한 수십 종 이상의 미생물이 관여한다고 알려져 있으며, 이러한 미생물들은 김치의 품질에도 영향을 준다(Chang and Chang, 2010). 특히, 김치 발효 중에 *Leuconostoc* spp., *Lactobacillus* spp. 및 *Weissella* spp.와 같은 유산균들의 군집 변화는 김치의 관능적 특성에 매우 중요한 요소로 작용한다(Park *et al.*, 2019). 따라서 김치의 품질 및 관능적 특성을 표준화하기 위해선 이러한 미생물 군집을 일정하게 조절하는 것이 중요하다. 그러나 비살균 원부재료로부터 이입되는 미생물들에 의한 자연적인 김치 발효는 이러한 조절이 불가능하다(Jung *et al.*, 2012). 이러한 문제점을 해결하기 위해 발효 초기에 종균을 접종하여 품질이 균일하며, 품질 유지 기한이 연장된 고품질 김치를 개발하는 방법에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Lee *et al.*, 2015).

김치에 종균을 첨가하는 방법에는 분말형 또는 액상형으로 첨가하는 두 가지 방법이 널리 이용되고 있다. 분말형 종균 첨가 방식은 균체를 동결건조 등을 통해 분말 형태로 만들어 김치에 첨가하는 방법으로 장기 보관이 가능하며, 필요 시마다 사용할 수 있다는 장점이 있다. 그러나 보관 기간이 경과함에 따라 종균의 생존율이 저하되고, 액상형 종균에 비해 활성이 낮다는 단점이 있다. 액상형 종균은 배추즙과 같은 식용가능한 배양액에 종균을 배양한 후 배양액과 균체를 함께 첨가하는 방법으로 필요시마다 배양해야 하는 번거로움이 있지만, 분말형에 비해 종균의 활성이 높아 김치에 첨가되었을 때 종균이 지닌 기능을 발휘하고 우점을 차지할 확률이 높다는 장점을 지니고 있다(Hansen, 2014). 그러나, 종균마다 증식 및 생장에 필요한 영양 요구성이 다르고, 각 종균의 사용 목적에 맞는 식용 가능한 배양액이 필요하나, 이에 대한 기술은 미비한 실정이다. 또한 김치 종균을 사용하여 김치의 품질 유지 기한을 연장하고, 품질을 균일화하려는 기술은 일부 시도되었으나, 발효속도를 단계적으로 조절함으로써 숙성도 맞춤형 김치를 제조하고자 한 기술은 거의 없는 실정이다.

김치의 종균으로 사용되는 *Lactococcus lactis* 균주는 nisin과 같은 항균물질을 생성하는 균으로서 김치에 첨가했을 때 다른 유산균들의 생육을 억제함으로써 김치 발효를 지연시켜 김치가 빨리 시어지는 것을 방지할 수 있다(Jang *et al.*, 2015). 그러나 *L. lactis*는 주요 김치 발효균이 아니므로 분말형 종균의 첨가는 그 효과를 기대하기가 힘들다. 따라서 식용 가능한 배지에 미리 배양하여 항균 물질을 함유하고 있는 배양액과 같이 김치에 첨가하는 액상형 종균

첨가가 바람직한 것으로 사료된다. 이러한 액상형 첨가는 많은 수의 종균을 저비용으로 첨가할 수 있고, 활성화 된 종균이 김치에 첨가되기 때문에 김치 내에서 우점균이 될 확률이 높아진다. 게다가 배양액 내에는 종균이 생산한 많은 대사산물이 포함되어 있어 그 효과를 극대화시킬 수 있다. *L. lactis*의 증식에는 주로 M17 배지가 널리 사용되어 오고 있지만, M17 배지는 식용으로 사용될 수 없어 이를 대체할 수 있는 종균 증균용 식용배지를 개발하고자 하였다. 그리고 *L. lactis*가 생산하는 항균물질에 성장 저해를 받지 않으면서 우수한 만나톨 생성능을 갖는 *Leuconostoc citreum* 균주를 함께 혼합 배양할 수 있는 식용 배지도 개발하고자 하였다. 이를 통해 본 연구에서는 두 균주의 혼합배양 시, 배양 중 두 균주의 생육정도를 조절할 수 있는 배양 기술을 이용하여 김치의 발효 속도를 조절할 수 있는 기술을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 선별

Lactococcus lactis WiKim0098 및 *Leuconostoc citreum* WiKim0096 균주는 김치에서 분리되었으며, 이전 논문에서 설명되었던 방식을 통해 선별되었다(Choi *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2019). *L. lactis* WiKim0098은 숙성된 김치에서 분리된 12 균주(*Lactiplantibacillus plantarum* KCKM 0106, *Lactiplantibacillus paraplantarum* KCKM 0564, *Latilactobacillus curvatus* KCKM 0015, *Pediococcus inopinatus* KCKM 0374, *Levilactobacillus brevis* KCKM 0551, *Leuconostoc carnosum* KCKM 0028, *Weissella confusa* KCKM 0330, *Weissella koreensis* KCKM 0025, *Pediococcus pentosaceus* KCKM 0620, *Latilactobacillus sakei* KCKM 0026, *Leuconostoc mesenteroides* KCKM 0014 및 *Leuconostoc citreum* WiKim0096)에 대한 항균활성 평가를 통해 선별되었다. 또한 *Leu. citreum* WiKim0096 균주는 이전 논문에서 만나톨 생성능이 우수하다고 보고되어 있어 종균으로 사용하였다(Kim *et al.*, 2019).

식용 배지 제조

L. lactis WiKim0098 배양을 위한 식용배지를 제조하였다. 식용 배지에 사용된 성분들은 모두 식품첨가물 등급이며, 물 또는 건새우 육수에 0.5% casein peptone + 0.5% soy peptone + 0.25 또는 3% yeast extract + 0.05% ascorbic acid + 1% potassium citrate + 0.5 또는 3% lactose를 첨가하여 제조하였다. *Leu. citreum* WiKim0096 혼합 배양을 위하여 위의 식용 배지에

glucose, maltose, fructose 또는 sucrose를 0.1-1% 농도로 첨가하였다.

김치 제조

김치 제조에 필요한 재료들은 광주광역시 남구 대형마트에서 구입하였다. 2%의 염 농도를 지닌 절임 배추에 다른 재료들을 버무려 제조하였으며, 절임 배추, 고춧가루, 무, 마늘, 생강, 파, 젓갈, 참쌀풀 그리고 물 또는 식용배지를 각각 75 : 3.7 : 2 : 3.2 : 0.8 : 1 : 3.3 : 1 : 10 비율로 첨가하였다. 식용 배지에 배양한 9.5 log CFU/ml의 *L. lactis* WiKim0098 및 *Leu. citreum* WiKim0096을 김치 무게의 10%가 되게 첨가하였으며, 음성 대조군에는 균을 배양하지 않은 배지만 첨가하여 제조하였다. 각각의 김치 샘플들은 1 kg씩 비닐백에 넣어 10℃에 저장하면서 균수, pH 및 항균활성을 측정하였다.

균수 및 pH 측정

식용 배지 및 김치의 pH는 Orion 3-star pH meter(Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 제조한 실험군 김치와 대조군 김치의 유산균 수를 측정하기 위해 25 g의 김치를 스토마커 처리한 후 순차적으로 희석하고, 희석액 100 µL를 취해 MRS 배지에 도말하여 30℃에서 48시간 동안 혐기배양한 후 계수하였다.

항균 활성 측정

Well diffusion assay를 이용하여 김치 과숙 관련 지시균주에 대한 분리 균주의 생육저해활성을 확인하였다. 분리된 균주의 항균활성을 측정하기 위해 김치 과숙 관련 지시균주로 *Lb. sakei*를 사용하였다. 지시균주 배양액을 0.7%(v/v) soft MRS agar에 접종하여 MRS plate에 overlay하여 굳힌 다음, cork borer를 이용하여 직경 5 mm의 구멍을 내고 분리 균주의 상등액 30 µl를 접종하였다. 30℃에서 24시간 배양한 후, 저해환의 생성 여부를 확인하였다.

결과 및 고찰

L. lactis 최적 배양을 위한 식용 액체 배지 제조

*L. lactis*는 일반적으로 유산균 분리 및 계수에 많이 사용되는 MRS 배지에서도 잘 증식하지만, 0.5% lactose가 포함된 M17에서 보다 더 잘 증식한다. M17배지는 치즈나 요구르트 등 유제품에서 lactic streptococci를 분리하거나 계수하는데 사용하고 있다(Ruggirello *et al.*, 2014). 이들 균들의 성장에는 탄소원, 질소원을 비롯한 비타민, 무기질 등 다양한 영양성분들이 요구된다. M17배지는 이러

한 성분들을 포함하고 있으며, 주요 성분으로 tryptone, peptone, beef extract, yeast extract 등이 있고, magnesium sulfate는 성장에 필요한 필수이온을 제공하며 ascorbic acid는 성장을 촉진시키는 인자로 사용되고 있으며, pH 완충제로서 disodium-β-glycerophosphate가 사용되고 있다. 이중 tryptone, peptone, yeast extract, ascorbic acid 등은 식품첨가물 등급의 동일 성분으로 대체가 가능하나, pH 완충제로서 사용되고 있는 disodium-β-glycerophosphate는 동일 성분의 식품첨가물이 없다. *L. lactis*는 homofermentative lactic acid bacteria로 증식과 더불어 많은 양의 젖산을 생성하여 배양액의 pH를 낮추는데, 이는 역으로 *L. lactis*의 증식을 억제하는 요인이 된다(Parente *et al.*, 1994). 따라서 pH 완충제로서 disodium-β-glycerophosphate를 대체할 수 있는 식품첨가물 등급의 pH 완충제가 필수적으로 필요하다. 식품첨가물로 사용되고 있는 여러 가지 pH 완충제 중에서 식용 배양액에 적용했을 때 침전 여부, 사용량, 이미 등을 고려하여 사용 가능한 성분을 알아본 결과, disodium-β-glycerophosphate보다도 potassium citrate가 더 효과적인 것으로 나타났다(Table 1). Potassium citrate 농도에 따른 균수를 측정한 결과, 0.5% 이하의 농도에서는 균수가 감소하였고, 1.0%의 농도에서는 0.5% 농도보다 약 1.2배 균수가 증가하여 1.0%를 최종농도로 선정하였다. 한편 CaCO₃, ark shell(비소성 꼬막껍질), calcium citrate는 침전이 발생하여 사용하기에 적절하지 않았다.

김치에 첨가하는 중균 배양액의 경우, 첨가 시 이미 및 이취를 포함하여 김치에 미칠 수 있는 여러 관능적 특성을 고려해야 한다. 따라서 배지 제조 시 사용되는 물 대신 김치 양념 제조에 사용되는 김치 육수를 사용하여 이를 대용할 수 있을지를 조사하였다. 액체 배지의 기본 조성은 casein peptone, soy peptone, beef extract, yeast extract, ascorbic acid, MgSO₄, potassium citrate, lactose를 이용하였다. 우선 김치 육수 제조에 사용되는 복어, 양파, 무, 다시마, 건고추, 건새우, 대파, 건표고를 이용하여 육수를 제조한 다음,

Table 1. Effect of pH buffer on the growth of *L. lactis*

Strain	Medium	CFU/mL
<i>Lactococcus lactis</i>	M17	4.6×10 ⁹
	Disodium-β-glycerophosphate (1.9%) ¹⁾	1.1×10 ⁸
	Potassium citrate (0.5%) ²⁾	6.7×10 ⁸

¹⁾ 2% glucose+2% yeast extract+0.5% soy peptone+0.05% ascorbic acid+1.9% disodium β-glycerophosphate.

²⁾ 2% glucose+2% yeast extract+0.5% soy peptone+0.05% ascorbic acid+0.5% potassium citrate.

이들 재료가 *L. lactis* 균주의 증식에 미치는 영향을 평가하였다. 그 결과 Table 2에서 보듯이 물을 사용했을 때보다 육수를 사용했을 때 균수도 적고 항균 활성도 낮았다. 따라서 육수를 제조할 때 사용되는 재료들 중 어느 성분이 이와 같은 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 단일 재료별로 육수를 제조한 후 이들 재료가 *L. lactis*의 증식에 미치는 영향을 살펴보았다. 북어, 다시마, 무, 건고추, 양파, 대파, 건표고, 건새우 등 육수 재료별로 살펴본 결과, 건새우를 제외한 모든 재료가 *L. lactis*의 증식에 좋지 않는 영향을 미치는 것으로 나타나, 액체 배지용 육수 재료로서 건새우 육수를 최종적으로 선정하였다(Table 3).

김치 육수를 기본 배양액으로 하고 여기에 M17에 사용된 성분들을 식품첨가물 등급의 성분으로 대체하여 식용배지(0.5% casein peptone + 0.5% soy peptone + 0.5% beef extract + 0.25% yeast extract + 0.05% ascorbic acid + 0.025% $MgSO_4$ + 1% potassium citrate + 0.5% lactose)를 제조한 후 비교 실험을 한 결과, M17에 못 미치는 결과가 나타났다 (Table 3). 이러한 문제점을 보완하고자 식용배지에 사용된 성분들의 조성비를 달리하여 *L. lactis*의 균수 및 항균 활성도를 높이기 위한 실험을 진행하였다. Lactose 농도를 0.5%, 1%, 2%, 3%로, yeast extract 농도를 0.25%, 1%, 2%, 3%로 각각 달리하여 실험을 한 결과, lactose와 yeast extract를 3% 농도로 동시에 첨가했을 때 가장 균수도 많고 항균활성도 우수하였다(Table 4).

결론적으로 물 또는 건새우 육수에 casein peptone 0.5%, soy peptone 0.5%, yeast extract 3%, ascorbic acid 0.05%, potassium citrate 1%, lactose 3%를 첨가하여 제조한 결과, 균수

Table 2. Effect of kimchi broth on the growth and antibacterial activity of *L. lactis*

Strain	Medium	Antibacterial activity		CFU/mL	pH
		<i>Lb. sakei</i> 1	<i>Lb. sakei</i> 2		
<i>Lactococcus lactis</i>	M17	+++ ³⁾	+++	4.5×10^9	5.59
	Broth ¹⁾	+++	++	1.2×10^9	5.08
	Water ²⁾	+++	++	3.4×10^9	4.95

¹⁾ 0.5% casein peptone+0.5% soy peptone+0.5% beef extract+0.25% yeast extract+0.05% ascorbic acid+0.025% $MgSO_4$ +1% potassium citrate+0.5% lactose+broth 95 mL; kimchi broth was prepared using water, dried pollack, seaweed, onion, radish, dried red pepper, green onion, dried mushroom, and dried shrimp.

²⁾ 0.5% casein peptone+0.5% soy peptone+0.5% beef extract+0.25% yeast extract+0.05% ascorbic acid+0.025% $MgSO_4$ +1% potassium citrate+0.5% lactose+water 95 mL.

³⁾ ≥ 15 mm: +++, 12-15 mm: ++.

Table 3. Effect of each ingredient of kimchi broth on the growth and antibacterial activity of *L. lactis*

Strain	Medium	Antibacterial activity		CFU/mL	pH
		<i>Lb. sakei</i> 1	<i>Lb. sakei</i> 2		
<i>Lactococcus lactis</i>	M17	+++ ²⁾	+++	4.4×10^9	5.35
	Dried pollack ¹⁾	+	-	1.4×10^8	6.26
	Seaweed ¹⁾	++	+	1.1×10^8	5.25
	Radish ¹⁾	++	++	9.2×10^8	4.54
	Dried red pepper ¹⁾	++	++	2.1×10^9	5.19
	Onion ¹⁾	++	++	2.1×10^9	4.79
	Green onion ¹⁾	++	++	1.8×10^9	4.94
	Dried mushroom ¹⁾	+++	++	1.6×10^9	5.39
	Dried shrimps ¹⁾	+++	++	4.2×10^9	4.99

¹⁾ 0.5% casein peptone+0.5% soy peptone+0.5% beef extract+0.25% yeast extract+0.05% ascorbic acid+0.025% $MgSO_4$ +1% potassium citrate+0.5% lactose+each broth 95 mL.

²⁾ ≥ 15 mm: +++, 12-15 mm: ++, ≤ 12 mm: +, No inhibition zone: -.

Table 4. Growth and antibacterial activity of *L. lactis* according to medium composition

Strain	Medium	Antibacterial activity		CFU/mL	pH
		<i>Lb. sakei</i> 1	<i>Lb. sakei</i> 2		
<i>Lactococcus lactis</i>	M17	+++ ⁴⁾	+++	4.5×10^9	5.39
	Medium A ¹⁾	++	++	3.9×10^9	4.98
	Medium B ²⁾	+++	+++	4.7×10^9	4.76
	Medium C ³⁾	+++	+++	4.9×10^9	4.85

¹⁾ 0.5% casein peptone+0.5% soy peptone+0.25% yeast extract+0.05% ascorbic acid+1% potassium citrate+0.5% lactose+dried shrimp broth.

²⁾ 0.5% casein peptone+0.5% soy peptone+3% yeast extract+0.05% ascorbic acid+1% potassium citrate+3% lactose+water.

³⁾ 0.5% casein peptone+0.5% soy peptone+3% yeast extract+0.05% ascorbic acid+1% potassium citrate+3% lactose+dried shrimp broth.

⁴⁾ ≥ 15 mm: +++, 12-15 mm: ++.

및 항균 활성 측면에서 M17 배지와 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 식용 배지의 제조 편의성과 김치 관능에 미칠 수 있는 영향을 감안하여 일부 성분들의 사용량을 줄이고자 각각의 성분들이 균수나 항균활성에 미치는 영향을 조사한 결과, casein peptone과 soy peptone은 *L. lactis*의 증식이나 항균활성에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 나타나 (data not shown), 물 또는 건새우 육수에 yeast extract 3%, ascorbic acid 0.05%, potassium

citrate 1%, lactose 3%를 함유하는 액체 배지를 *L. lactis* 최적 배양을 위한 액체 배지로 결정하였으며, 이를 *L. lactis*용 식용 배지 1이라고 명명하였다.

*L. lactis*와 *Leu. citreum* 균주 혼합 배양을 위한 식용 액체 배지 제조

L. lactis 균주는 nisin과 같은 항균물질을 생산하는 균주로서 김치에 첨가했을 때 김치 발효에 관여하는 주요 유산균들의 생육을 억제함으로써 김치 발효를 지연시켜 김치의 품질유지기간을 연장시킬 수 있다(Kim *et al.*, 2019). 그러나 김치 맛에 긍정적인 영향을 줄 수 있는 다른 유산균들의 생육도 억제함으로써 김치의 관능품질에는 부정적인 영향을 줄 수도 있다. 이러한 단점을 보완하고자 김치발효에 관여하는 주요 균주 중 *L. lactis*에 의해 생장에 저해를 받지 않는 균주를 선별하기 위하여 숙성된 김치에서 분리된 12 균주에 대한 *L. lactis*의 항균 활성을 평가하였다. 그 결과, *Leu. citreum* WiKim0096에 대해서는 항균 활성을 나타내지 못했다(Fig. 1). 이러한 결과와 더불어 이전 논문에서 *Leu. citreum* WiKim0096은 만니톨 생성능이 우수하다고 알려져 있어 종균으로 *Leu. citreum*과 *L. lactis*를 혼합 배양하여 사용하였다(Kim *et al.*, 2019). 그러나 식용 배지 1의 경우, 잘 증식하는 *L. lactis*와는 달리 *Leu. citreum*은 잘 증식되지 않았다. 이를 해결하고자 식용 배지 1에 glucose, maltose, fructose, sucrose 등 여러 가지 탄소원을 달리하여 *Leu. citreum*의 생육 정도를 살펴본 결과, maltose 또는 fructose를 첨가했을 때 특이적으로 잘 증식하였다. 특히, 0.1%-1%의 농도로 maltose 또는 fructose를 첨가했을 때 *L. lactis* 균주의 증식에

도 영향을 미치지 않아 이를 *L. lactis*와 *Leu. citreum* 균주의 혼합배양을 위한 최적 식용 배지 2로 명명하였다.

김치 발효 속도 조절을 통한 숙성도 맞춤형 김치 제조 기술 개발

김치는 발효가 진행되면서 유산균의 수가 점점 많아지게 되고 이로 인해 유산균이 생성한 젖산에 의해 pH가 낮아지고 신맛이 점점 강해진다(Choi *et al.*, 2019). 김치의 신맛은 김치의 관능적 특성에 있어서 가장 중요한 인자 중 하나로 알려져 있으나, 각 개인별로 선호하는 신맛의 정도에는 차이가 존재한다. 따라서 동일 시점에 제조한 김치가 일정 시간 발효 후 서로 다른 신맛을 지닌다면 각 개인별 기호도에 부합하는 숙성도 맞춤형 김치를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 이와 같은 숙성도 맞춤형 김치를 제조하기 위하여 김치 종균으로 첨가되는 *Leu. citreum* 균주의 균수를 달리하여 김치를 제조하였다. 우선 식용 배지 1에 *Leu. citreum* 균주가 *L. lactis* 균주와 혼합배양 시 잘 증식할 수 있도록 maltose 농도를 0%, 0.1%, 0.2%, 0.3%로 달리 첨가하여 식용 배지 2를 제조한 다음, *L. lactis*와 *Leu. citreum* 균주를 0.1%씩 접종한 후 30℃에서 16시간 배양하였다. 여러 maltose 농도의 식용 배지에 두 균주를 혼합 배양시킨 다음 김치 무게의 10% 만큼 첨가하여 김치를 제조한 후 10℃에서 발효시키면서 유산균수 및 pH 변화를 살펴보았다(Fig. 2). Maltose 농도가 높아짐에 따라 식용 배지 2에서 증식한 유산균수도 maltose 농도에 비례하여 증가하였다(Fig. 2A). Maltose 농도를 달리한 *L. lactis*와 *Leu. citreum* 혼합배양액을 김치에 첨가하여 pH를 측정한 결과, 10℃에서 5일간 발효시켰을 때 각 김치별로 pH 5.3, pH 4.9, pH 4.7, pH 4.5를 나타내어

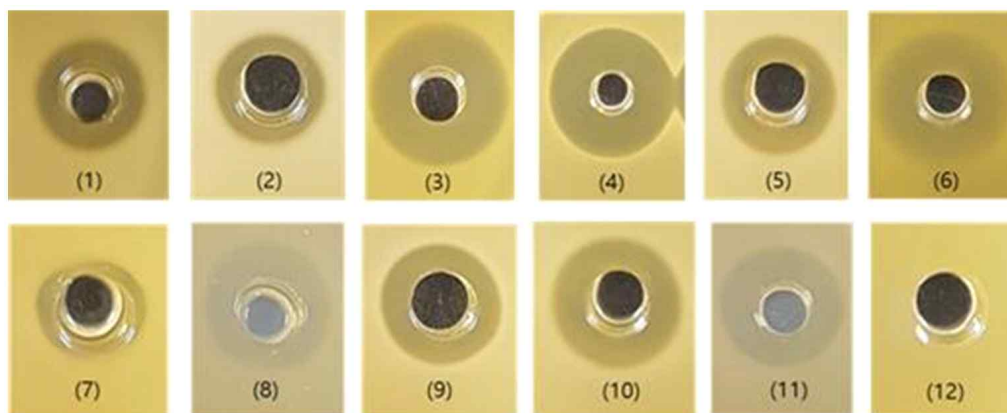


Fig. 1. Antibacterial activity of *Lactococcus lactis* against different strains isolated from well-riped kimchi. (1), *Lactiplantibacillus plantarum* KCKM 0106; (2), *Lactiplantibacillus paraplantarum* KCKM 0564; (3), *Latilactobacillus curvatus* KCKM 0015; (4), *Pediococcus inopinatus* KCKM 0374; (5) *Levilactobacillus brevis* KCKM 0551; (6), *Leuconostoc carnosum* KCKM 0028; (7), *Weissella confusa* KCKM 0330; (8), *Weissella koreensis* KCKM 0025; (9), *Pediococcus pentosaceus* KCKM 0620; (10), *Latilactobacillus sakei* KCKM 0026; (11), *Leuconostoc mesenteroides* KCKM 0014; (12), *Leuconostoc citreum* WiKim0096.

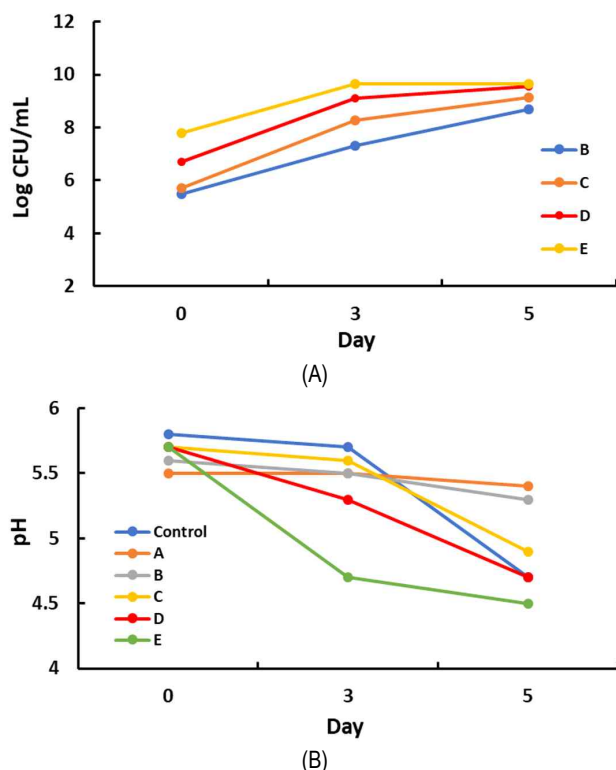


Fig. 2. (A) the number of lactic acid bacteria and (B) pH of kimchi during fermentation. Control: Kimchi supplemented with edible medium 1, A: Kimchi supplemented with a culture of *L. lactis* (edible medium 1), B: Kimchi supplemented with a mixed culture of *L. lactis* and *Leu. citreum* (edible medium 1), C: Kimchi supplemented with a mixed culture of *L. lactis* and *Leu. citreum* (edible medium 1 added with 0.1% maltose), D: Kimchi supplemented with a mixed culture of *L. lactis* and *Leu. citreum* (edible medium 1 added with 0.2% maltose), E: Kimchi supplemented with a mixed culture of *L. lactis* and *Leu. citreum* (edible medium 1 added with 0.3% maltose).

각기 숙성도가 다르게 나타났다(Fig. 2B). 이는 maltose의 농도가 낮았던 실험군보다 maltose의 농도가 높았던 실험군, 즉 *Leu. citreum* 초기 접종 군수가 높았던 김치가 pH가 더 빨리 저하되어 더 빠르게 숙성되는 것을 보여주었다. 이를 통해서 maltose 농도를 달리한 액체 배지를 사용하여 김치를 제조할 경우, 동일 시점에 숙성도가 서로 다른 숙성도 맞춤형 김치를 제조할 수 있을 것으로 판단되었다. 또한 고온에서 발효시킨 김치보다 저온에서 발효시킨 김치가 관능적으로 우수하다고 알려져 있어(Hong *et al.*, 2016) 저온에서 발효시키면서 적숙기에의 도달시간을 단축시킬 수 있다는 장점을 제공할 수 있어 단체 급식 등 대량의 김치를 짧은 시간 내에 소비하는 분야에 적용할 수 있을 것으로 기대되었다.

요 약

본 연구의 목적은 *L. lactis*와 *Leu. citreum* 균주를 혼합 배양할 수 있는 배지 조성을 개발하여 이를 통해 김치의 발효 속도 조절을 통한 숙성도 맞춤형 김치를 제조하는 것이다. 먼저 김치 육수의 재료인 북어, 양파, 무, 다시마, 건고추, 건새우, 대파, 건표고 등을 혼합 또는 단일로 하여 육수를 제조한 후, 이들이 *L. lactis* 증식에 미치는 영향을 알아본 결과, 건새우를 제외한 모든 재료가 증식을 억제하는 결과를 나타내었다. 질소원, 탄소원 및 성장 촉진 인자로 tryptone, peptone, yeast extract, lactose, ascorbic acid 등을 이용하였고 pH 완충제로는 potassium citrate를 사용하였다. *L. lactis*가 잘 생장하는 M17배지와 균 생장 및 항균활성을 비교 평가하여 최종적으로 배지 조성은 건새우 육수에 yeast extract 3%, ascorbic acid 0.05%, potassium citrate 1%, lactose 3%로 하였다(식용 액체배지1). 개발된 식용 액체배지 1에 *L. lactis*에 의해 생장 및 증식에 저해를 받지 않고 만나톨 생성능이 우수한 *Leu. citreum*을 혼합 배양하고자 glucose, maltose, fructose, sucrose 등 여러 가지 탄소원을 달리하여 *Leu. citreum*의 생육 정도를 살펴본 결과, 0.1-1%의 농도로 maltose 또는 fructose를 첨가했을 때 선택적으로 잘 증식하였다. 이어서 발효 조절을 통한 숙성도 맞춤형 김치를 제조하기 위하여 식용배지 1에다 maltose를 0%, 0.1%, 0.2%, 0.3%의 농도로 달리 첨가한 식용배지 2를 제조하였다. 여기에 *L. lactis*와 *Leu. citreum*을 혼합 배양한 후 김치에 첨가하여 10℃에서 5일간 발효시킨 결과, 각 김치별로 pH 5.3, pH 4.9, pH 4.7, pH 4.5를 나타내어 각기 숙성도가 다른 특징을 보여주었다. 결론적으로 본 연구에서 개발한 식용 액체 배지를 사용하여 *L. lactis*를 배양한 후 그 배양액을 김치에 첨가함으로써 종균의 활성 및 생장을 극대화시킬 수 있었다. 또한 액체 배지 조성의 조절을 통해 *Leu. citreum* 균주와의 혼합 배양이 가능하였고, 이를 이용하여 김치 발효 속도 조절을 통한 숙성도 맞춤형 김치를 제조할 수 있었다.

감사의 글

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 기술사업화지원사업(과제번호: 821001-2) 및 수출전략기술개발사업(117036-2)의 지원을 받아 연구되었음.

References

1. Chang JY and Chang HC (2010) Improvements in the quality and shelf life of kimchi by fermentation with



- the induced bacteriocin-producing strain, *Leuconostoc citreum* GJ7 as a starter. *J. Food Sci.* **75**, M103-M110.
2. Choi HJ, Kim YJ, Lee NR, Park HW, Jang JY, Park SH, Kang M, Kim HJ, Lee JH, and Lee JH (2014) Selection of lactic acid bacteria with antibacterial activity for extension of kimchi shelf-life. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **43**, 328-332.
 3. Choi YJ, Yong S, Lee MJ, Park SJ, Yun YR, Park SH, and Lee MA (2019) Changes in volatile and non-volatile compounds of model kimchi through fermentation by lactic acid bacteria. *LWT* **105**, 118-126.
 4. Hansen EB (2014) Starter Cultures: Uses in the Food Industry, Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier, pp. 529-534.
 5. Hong SP, Lee EJ, Kim YH, and Ahn DU (2016) Effect of fermentation temperature on the volatile composition of Kimchi. *J. Food Sci.* **81**, C2623-C2629.
 6. Jang JY, Lee ME, Lee HW, Lee JH, Park HW, Choi HJ, Pyun YR, and Kim TW (2015) Extending the shelf life of kimchi with *Lactococcus lactis* strain as a starter culture. *Food Sci. Biotechnol.* **24**, 1049-1053.
 7. Jung JY, Lee SH, Lee HJ, Seo HY, Park WS, and Jeon CO (2012) Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **153**, 378-387.
 8. Jung MY, Kim TW, Lee C, Kim JY, Song HS, Kim YB, Ahn SW, Kim JS, Roh SW, and Lee SH (2018) Role of jeotgal, a Korean traditional fermented fish sauce, in microbial dynamics and metabolite profiles during kimchi fermentation. *Food Chem.* **265**, 135-143.
 9. Kim MJ, Lee HW, Lee ME, Roh SW, and Kim TW (2019) Mixed starter of *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc citreum* for extending kimchi shelf-life. *J. Microbiol.* **57**, 479-484.
 10. Lee ME, Jang JY, Lee JH, Park HW, Choi HJ, and Kim TW (2015) Starter cultures for kimchi fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 559-568.
 11. Parente E, Ricciardi A, and Addario G (1994) Influence of pH on growth and bacteriocin production by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 14ONWC during batch fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **41**, 388-394.
 12. Park SE, Seo SH, Kim EJ, Byun S, Na CS, and Son HS (2019) Changes of microbial community and metabolite in kimchi inoculated with different microbial community starters. *Food Chem.* **274**, 558-565.
 13. Ruggirello M, Dolci P, and Coccolin L (2014) Detection and viability of *Lactococcus lactis* throughout cheese ripening. *PLoS One* **9**, e114280.