



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2015年 2月

碩士學位 論文

김치로부터 분리한 *Weissella* 속,
Leuconostoc 속, *Lactobacillus* 속
특성 규명

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

金 恩 智

2015年2月 碩士學位論文

김치로부터 분리한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속
특성 규명

金 恩 智

김치로부터 분리한 *Weissella* 속,
Leuconostoc 속, *Lactobacillus* 속
특성 규명

Characterization of *Weissella* sp., *Leuconostoc* sp. and
Lactobacillus sp. isolated from Kimchi

2015年 2月 25日

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

金恩智

김치로부터 분리한 *Weissella* 속,
Leuconostoc 속, *Lactobacillus* 속
특성 규명

指導教授 張 海 春

이 論文을 理學碩士學位申請 論文으로 提出함.




2014年 10月

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

金 恩 智

金恩智의 碩士學位論文을 認准함

委員長	조선대학교 교수	<u>김복희</u>	
委員	조선대학교 교수	<u>이주환</u>	
委員	조선대학교 교수	<u>장래훈</u>	

2014 年 11 月

朝鮮大學校 大學院

목 차

ABSTRACT	VIII
LIST OF TABLES	IV
LIST OF FIGURES	VI
제 1 장 서 론	1
제 2 장 실험 재료 및 방법	4
제 1 절 시판 김치로부터 유산 균주 분리 및 동정	4
1. 김치 시료의 준비	4
2. 일반 분석	4
가. pH 및 산도의 측정	4
나. 염도 및 당도 측정	5
3. 유산 균주 분리	5
4. 분리 균주의 동정	5
제 2 절 김치로부터 분리한 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속 유산 균주의 일반적 특성	6
1. 사용 균주 및 배지	6
2. 김치 유산균 배양 pH 측정	6
3. 배양 시간에 따른 생육도	6
4. Scanning Electron Microscopy (SEM)	7

제 3 절 선발된 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속별 유산균 생육저해 활성	9
1. 선발된 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속별 유산균 생육저해 활성조사	9
2. 조항균 물질에 의한 생육저해 활성조사	9
가. 조항균 물질의 준비	9
나. 조항균 물질에 의한 생육저해 활성 측정	10
제 4 절 선발된 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속 유산 균주의 조건별 특성	11
1. 배양 온도에 따른 생육도	11
가. 김치냉장고 발효온도에 따른 생육도	11
나. 김치냉장고 보관온도에 따른 생육도	12
2. 김치 pH에 따른 생육도	14
3. 선발 유산 균주에 대한 내산성 평가	14
제 3 장 결과 및 고찰	15
제 1 절 시판 김치로부터 유산 균주 분리 및 동정	15
1. 일반 분석	15
가. pH 및 산도의 변화	15
나. 염도 및 당도	15
2. 분리 균주의 동정	17
가. 형태 및 배양학적 특성	17
나. 16s rRNA gene 염기서열 분석	17

제 2 절 김치로부터 분리한 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속 유산 균주의 일반적 특성	21
1. 김치 유산균 배양 pH 측정	21
2. 배양 시간에 따른 생육도	25
3. Scanning electron microscopy (SEM)	29
제 3 절 선발된 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속별 유산균 생육저해 활성	33
1. 선발된 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속별 유산균 생육저해 활성조사	33
2. 조항균 물질에 의한 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속별 생육저해 활성조사	39
제 4 절 선발된 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속 유산 균주의 조건별 특성	52
1. 배양 온도에 따른 생육도	52
가. 김치냉장고 발효온도에 따른 생육도	52
나. 김치냉장고 보관온도에 따른 생육도	58
2. 김치 pH에 따른 생육도	60
3. 선발 유산 균주에 대한 내산성 평가	64
 제 4 장 결 론	 66
 제 5 장 참 고 문 헌	 69

LIST OF TABLES

Table 1. Different temperature range used as the storage mode and fermentation mode for the three companies kimchi refrigerators.....	13
Table 2. Characteristic of the four different commercial kimchi.....	16
Table 3. Pre-screening(culture medium pH) on 48 selected Lactic acid bacteria.....	23
Table 4. Antagonistic activity of the <i>Leuconostoc</i> and <i>Lactobacillus</i> strains isolated from kimchi against <i>Weissella</i> spp.....	36
Table 5. Antagonistic activity of the <i>Weissella</i> and <i>Lactobacillus</i> strains isolated from kimchi against <i>Leuconostoc</i> spp.....	37
Table 6. Antagonistic activity of the <i>Leuconostoc</i> and <i>Weissella</i> strains isolated from kimchi against <i>Lactobacillus</i> spp.....	38
Table 7. Antagonistic activity of the <i>Weissella</i> strains isolated from different kimchi against <i>Leuconostoc</i> spp. by using the paper disk method.....	40
Table 8. Antagonistic activity of the <i>Weissella</i> strains isolated from different kimchi against <i>Lactobacillus</i> spp. by using the paper disk method.....	42
Table 9. Antagonistic activity of the <i>Leuconostoc</i> strains isolated from different kimchi against <i>Weissella</i> spp. by using the paper disk method.....	44
Table 10. Antagonistic activity of the <i>Leuconostoc</i> strains isolated from different kimchi against <i>Lactobacillus</i> spp. by using the paper disk method.....	46

Table 11. Antagonistic activity of the <i>Lactobacillus</i> strains isolated from different kimchi against <i>Weissella</i> spp. by using the paper disc method.....	48
Table 12. Antagonistic activity of the <i>Lactobacillus</i> strains isolated from different kimchi against <i>Leuconostoc</i> spp. by using the paper disc method.....	50
Table 13. Effects of acid tolerance of <i>Weissella</i> 3 strains, <i>Leuconostoc</i> 3 strains, and <i>Lactobacillus</i> 3 strains (log CFU/mL).....	65

LIST OF FIGURES

Figure 1. Scanning electron microscopy (SEM) preparation protocol.....	8
Figure 2. Gram staining of the isolated strain SJ.....	18
Figure 3. 16s rRNA gene sequence of the isolate strain SJ.....	19
Figure 4. Phylogenetic relationship between <i>W. koreensis</i> SJ and other <i>Weissella</i> species and other related bacteria based on 16s rRNA gene sequence...	20
Figure 5. Growth of <i>Weissella</i> sp. 7 strains at 30°C in MRS media.....	26
Figure 6. Growth of <i>Leuconostoc</i> sp. 7 strains at 30°C in MRS media.....	27
Figure 7. Growth of <i>Lactobacillus</i> sp. 7 strains at 30°C in MRS media.....	28
Figure 8. SEM micrograph of <i>Weissella</i> sp. growing cell stage in MRS broth (×15,000).....	30
Figure 9. SEM micrograph of <i>Leuconostoc</i> sp. growing cell stage in MRS broth (×15,000).....	31
Figure 10. SEM micrograph of <i>Lactobacillus</i> sp. growing cell stage in MRS broth (×15,000).....	32
Figure 11. Antagonistic activity of the LAB isolated from kimchi against the other LAB isolated from kimchi by using direct assay.....	35

Figure 12. Growth of LAB 9 strains at 30°C for 2 days in MRS media (initial about 5 log CFU/mL)..... 54

Figure 13. Growth of LAB 9 strains at 15°C for 7 days in MRS media (initial about 5 log CFU/mL)..... 55

Figure 14. Growth of LAB 9 strains at 6.5°C for 28 days in MRS media (initial about 5 log CFU/mL)..... 56

Figure 15. Growth of LAB 9 strains at 4°C for 28 days in MRS media (initial about 5 log CFU/mL)..... 57

Figure 16. Growth of LAB 9 strains at -1~-2°C for 12 weeks (initial about 5 log CFU/mL)..... 59

Figure 17. Effects of initial pH of the growth media on the growth of *Weissella* 3 strains..... 61

Figure 18. Effects of initial pH of the growth media on the growth of *Leuconostoc* 3 strains..... 62

Figure 19. Effects of initial pH of the growth media on the growth of *Lactobacillus* 3 strains..... 63

ABSTRACT

Characterization of *Weissella* sp., *Leuconostoc* sp., and *Lactobacillus* sp. isolated from Kimchi

Kim, Eun Ji

Advisor : Prof. Chang, Hae Choon, Ph. D.

Department of Food and Nutrition,

Graduate School of Chosun University

The four different commercial kimchi (medium enterprises kimchi) were used as samples, which were fermented at 6.5°C for 7~9 days. SJ was isolated from these kimchi. It was identified using morphological and nucleotide sequence determination of 16s rRNA gene. It was identified as *Weissella koreensis* SJ. General characteristics of Kimchi lactic acid bacteria (LAB), LAB 9 strains were selected; *Weissella koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 31, *Leuconostoc citreum* GR1, *Leu. kimchii* 2 strains, *Leu. mesenteroides* 2 strains, *Lactobacillus sakei* 4 strains, *Lb. plantarum* 2 strains, *Lb. curvatus* BU1 strain were investigated.

To investigate the antagonistic activity of kimchi lactic acid bacteria (LAB) against kimchi LAB, 29 LAB strains were selected; *W. koreensis* 5 strains, *W. cibaria* 2 strains, *W. confusa* 2 strains, *Leu. citreum* 4 strains, *Leu. kimchii* 2 strains, *Leu. mesenteroides* 4 strains, *Lb. sakei* 7 strains, *Lb. plantarum* 2 strains, *Lb. curvatus* 1 strain. Antagonistic activity of LAB were examined using paper disc method and direct method. *W. koreensis* did not inhibit the growth of most of *Leuconostoc* and *Lactobacillus* species, while *W. confusa* and *W. cibaria* weakly inhibited the growth of *Leuconostoc* and *Lactobacillus* species. *Leuconostoc* species inhibited only the growth of *Lb. curvatus* among *Lactobacillus* species. Most of *Leuconostoc* species did not inhibit the growth of *W. koreensis*. *Lactobacillus* species inhibited the growth of all *Leuconostoc* and *Weissella* species, and *Lb.*

plantarum showed the strongest antagonistic activity against all tested LAB strains.

The growth of the LAB were measured; *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37 and *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1 rapidly reached stationary phase at 12 h. *W. koreensis* SK, *Lb. plantarum* HD1 reached stationary phase at 24 h.

To investigate the growth of the kimchi refrigerator's different temperature (-1~-2°C, 6.5°C, 15°C) and the general refrigerator's temperature (4°C), LAB 9 strains were selected. Growth of the selected LAB 9 strains were measured at -1~-2°C for 8 weeks; the selected LAB 9 strains was initial the viable cells about 5.0 log CFU/mL. *W. koreensis* SK rapidly reached 9.3~9.4 log CFU/mL at 3 weeks. Also *Leu. kimchii* GJ2 and *Leu. mesenteroides* TA reached 6.8~7.9 log CFU/mL, *Lb. sakei* SC1 and *Lb. sakei* YY1 steadily increased to 8.0~8.4 log CFU/mL at 8 weeks. Interestingly, *W. confusa* GJ6 and *W. cibaria* 31 slowly decreased to 3.4~3.9 log CFU/mL for 6 weeks but they increased to 5.3~6.7 log CFU/mL at 8 weeks. *Lb. plantarum* HD1 slowly decreased to 4.4 log CFU/mL for 8 weeks. and *Leu. citreum* GR1 maintained for 3 weeks, after weakly decreased to 4.4 log CFU/mL at 8 weeks. Therefore, *Lb. plantarum* was restricted at psychrophilic temperature.

Growth of the selected LAB 9 strains were measured at 15°C for 7 days; the most of selected LAB reached stationary phase at 2~3 days except *Lb. plantarum* HD1. *Lb. plantarum* HD1 slowly reached stationary phase at 5 days. The overall growth rates at 15°C were similar the growth rate at 30°C.

The effect of initial pH (pH 4, 5) of the growth medium on the growth was observed. Also, the effect of acids on the growth rate of LAB 9 strains were observed. Among these LAB 9 strains, *Lactobacillus* spp. exhibited a relatively high survival rate in MRS medium, which was adjusted to pH 4.0.

It is important to understand at detail the properties and roles of *Weissella* sp. *Leuconostoc* sp. *Lactobacillus* sp. during kimchi fermentation if desirable properties of Lactic acid bacterium are fully utilized for the production of high quality kimchi with good taste and enhanced biofunctionalities. These results indicate that a more systematic kimchi production manual should be developed to industrialize and globalize kimchi.

제 1 장 서 론

김치는 각종 채소류를 소금에 절여 젓갈류 및 마늘, 생강, 파, 고춧가루 등 다양한 부 재료를 혼합하여 발효, 숙성시킴으로써 독특한 향미와 질감을 가지게 하는 우리나라 고유의 전통 발효 식품이다[5]. 김치는 미국의 건강전문 월간지 “Health ”는 한국의 김 치, 일본의 나또, 스페인의 올리브유, 그리스의 요구르트, 인도의 렌즈콩을 세계 5대 건 강식품으로 선정하바 있으며, 영양공급 및 건강 유지를 위한 중요한 역할을 하고 있다 [49].

다양한 원부 재료에 있는 미생물의 상호작용에 의해 김치의 발효 과정은 자연적으로 진행된다. 김치에는 호기성 세균과 혐기성 세균 (주로 젖산균) 그리고 효모 등의 다양 한 미생물이 관여하여 복잡한 발효과정을 거치면서 유기산, 이산화탄소 등의 여러 생 리활성 물질들을 생성한다[14, 24]. 초기에는 그람 음성균인 *Aeromonas* 속, *Achromobacter* 속과 그람 양성균인 *Bacillus* 속이 가장 많이 발견되며, 그람 양성균인 젖산균이 김치 발효에 주를 이룬다[1, 9].

김치숙성의 주 발효균인 젖산균 (lactic acid bacteria)은 자연계에 널리 존재하며, 탄 수화물을 이용하여 젖산을 생성하는 미생물로서 유제품, 육류, 채소 등의 발효가공에 종균으로 널리 사용되고 있으며, 식품의 보존성 향상 및 향기 등의 관능적 특성과 영 양학적 가치에도 기여하고 있다. 식품에서 젖산균에 의한 젖산 발효는 상큼한 향과 맛 을 내게 하고 나아가 당, 유기산, 단백질 및 지방성분을 이용하여 독특한 향과 풍미성 분으로 전환시켜 제품의 질 향상에 바람직한 역할을 하게 된다[3, 4].

김치 발효에 관여하는 젖산균의 종류는 매우 다양하다. 보통 김치에는 크게 *Lactobacillus* 속, *Leuconostoc* 속, *Pediococcus* 속 그리고 *Weissella* 속 등이 김치 발 효에 관여하고 있다. 대표적으로 *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc kimchii*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc. inhae*, *Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc carnosum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei*, *Lactococcus lactis*, *Weissella confusa*, *Weissella cibaria*, *Weissella koreensis* 등으로 알려져 있다[15, 25]. 김치에서 발견되는 주를 이루는 유산 균은 *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속 그리고 *Leuconostoc* 속 균의 분포는 김치의 재료 와 숙성 시간 및 온도 그리고 저장조건에 따라서 크게 달라진다[7, 17, 23]. 김치 발효

과정에 관여하는 유산균들의 경시적 변화에 의해 발효 초기에는 *Leuconostoc* 속, *Weissella* 속 등과 같은 저온에서 생육이 활발한 이상젖산균 (heterofermentative lactic acid bacteria)으로 젖산, 초산, 에탄올, 덱스트란, 이산화탄소 등을 생산한다. 김치의 적숙기 이후 pH가 낮아지면 내산성이 강한 정상젖산균 (homofermentative lactic acid bacteria)인 *Lactobacillus* 속 등이 빠르게 증식하면서 젖산생성이 강하게 일어나고, 지나치게 시어지게 하여 과숙 김치의 발효에 관여하여 김치의 품질을 저하시키는 것으로 알려져 있다[22].

김치의 발효 및 숙성은 초기 보관온도에 가장 크게 영향을 받는다. 김치는 일반적으로 적당한 익힘과 맛이 좋은 상태를 유지하기 위해 저온에서 발효시킨다. 김치 발효과정 중 발효 초기에 관여하는 주요 젖산균인 *Leuconostoc* 속은 저온 (5°C)에서 생육이 활발한 균으로 잔존하는 산소를 제거하여 이산화탄소를 생성하고, 유기산을 생성하여 김치에 시원하게 톡 쏘는 맛을 부여하고 신맛이 적당하여 매우 부드러워 관능특성이 우수하다고 알려져 있어 종균 김치의 스타터로 연구된 바 있다[3]. *Weissella* 속은 Collins 등(1993)이 *Leuconostoc* 속의 다른 종들과 차이를 보이는 *Leuconostoc paramesenteroides*와 *Lactobacillus* 속 5종을 모아서 6종으로 *Weissella* 속이 새롭게 동정되었다[12]. *Weissella* 속 균들은 김치와 같은 발효 소채류 등에서 많이 검출된다[32]. 이에 김치에서 *Weissella* 속에 대한 관능적 연구는 아직 미비한 실정이다. 이어서 발효에 관여하는 *Lactobacillus* 속은 중·고온 (15°C)균으로 김치의 후기에 검출되는데 김치 발효 중기 이후 pH가 낮아지면 내산성 강한 *Lactobacillus* 속이 빨리 증식하면서 많은 유기산을 생성하여 김치를 시어지게 한다.

Cho 등(2006)은 김치냉장고 내 온도를 다르게 하여 미생물의 천이를 조사하였다. 15°C에서 2일간 발효시킨 후 -1°C로 온도를 낮춰 보관한 김치와 10°C에서 4일간 발효시킨 후 -1°C로 낮춰 보관한 김치의 유산균을 분리하여 비교하였다. 15°C 김치는 *Leuconostoc citreum*이 초기에 우점을 이루다가 중기, 후기에는 *W. koreensis*이 계속 검출되었다. 10°C 김치에는 전 기간에 걸쳐 *W. koreensis*가 나타났다. 이는 *W. koreensis*가 다른 *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속에 비하여 저온에서 더 잘 생육하기 때문이라고 보고하였다[5].

김치 발효 관련 미생물에 대한 연구가 본격적으로 진행됨에 따라 최근에는 생태학 연구에 적용되는 비배양 방법 (culture independent method)이 발효식품들도 고유의 미생물 생태계로 간주되어 발효식품들에도 많이 사용되고 있다. 발효식품인 김치 중 미생물학적 다양성 (bacterial diversity) 및 천이현상 (microbial succession)이 규명되고

있다. 이러한 분자생물학적 방법을 이용하여 유산균을 동정한 연구로는 SDS-PAGE 분석, 16s rRNA 유전자를 제한효소로 절단하여 얻는 DNA 절편들의 패턴을 비교하는 T-RFLP (terminal-restriction fragment length polymorphism) 그리고 ARDRA (amplified ribosomal DNA restriction analysis)[22]등의 다양한 방법을 동원하여 분석하였으며[15, 17, 22], 균의 분리과정 없이 DNA를 추출하고, PCR법으로 증폭하여 변성제 농도에 따른 핵산의 이중나선구조와 변성구조가 T_m 값의 차이에 의해 핵산의 이동속도가 달라지는 점을 이용한 DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis)[2, 13, 31, 33]를 이용한 연구를 이용하여 미생물의 다양성과 변화 양상을 분석하였다. 메타지노미 (metagenome) 분석방법인 파일로시퀀싱 기술[19, 38]을 사용하여 발효 미생물에 대한 유전 분석을 하였다[18].

지금까지 김치 발효 전 기간에 걸쳐 김치속의 다양한 미생물을 분석되는 방법을 도입하여 축적된 연구 데이터는 광범위하나[18, 19], 미생물 발효패턴 조절 기술은 아직 연구 보고가 미비한 실정이다. 김치의 장기 보존에서 발생하는 산패현상은 지속적으로 문제되고 있어 김치의 저장성 유지 또는 향상시키는 방법에 대한 연구가 진행되고 있다. 김치 미생물 천이가 일어나면서 생성하는 물질, 관능적 특성 등 여러 변화에 영향을 주는 요인에는 발효온도, 원부재료(채소 종류, 수확지역, 계절, 품종)[29], 김치의 종류, 절임 방법, 염도, 갖은 양념의 혼합, 스타터 첨가 등이 주요 요인이다[3, 13, 14].

따라서 본 연구에서는 김치에서 다양한 유산균을 분리, 동정하여 그에 기본 특성을 조사하였다. 또한 김치 환경을 배지 내에서 각각의 요인을 변화하여 김치로부터 분리된 29종의 유산균 (*Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속)이 속별 생육 저해 활성을 조사하여 유산균 속별로 다른 유산균에 어떠한 영향을 미치는지 관찰하였다. 또한 김치 환경을 배지 내에서 각각의 조건 (배양온도, 초기 pH, 산성)을 변화하여 생육도를 분석하였다. 이는 김치냉장고 발효 및 보관 온도에 따라 미생물의 천이의 변화에 대한 원인 규명의 가능성을 제시하였으며, 산성 환경에서의 생존 능력을 확인하여 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 유산균의 특성을 탐색하였다.

제 2 장 실험 재료 및 방법

제 1 절 시판 김치로부터 유산 균주 분리 및 동정

1. 김치 시료의 준비

본 연구에 사용한 김치는 시판 김치 중 종균이 첨가되지 않은 김치 4종류 (H사, M1사, M2사, Y사)에서 시료로 사용하였다. 제조회사별 시판김치는 당일 제조된 김치로서 구입해온 즉시 6.5℃에서 발효시키며 pH와 산도를 측정하였으며, 산도가 0.5~0.8%가 되는 적당히 발효취가 나는 김치에서 pH, 산도, 염도, 당도, 색도를 측정하여 일반 분석하였으며, 미생물 균총을 조사하여 가장 우점하는 유산 균주를 분리하였다.

2. 일반 분석

가. pH 및 산도의 측정

김치는 마쇄하여 멸균거즈로 여과한 김치여액으로 pH와 산도를 측정하였다. pH는 pH meter (510 pH meter, Fisher, Singapore)를 사용하여 실온에서 측정하였으며, 산도는 A.O.A.C (Association of official analytical chemists) 표준 시험법[6]에 따라 김치여액 10 mL를 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.1이 될 때까지의 NaOH 용액 소비량으로 정의하였으며, 이것을 아래 식에 의하여 젖산함량으로 환산하여 총산함량(%)으로 표시하였다.

$$\text{총산 (\%)} = a \times f \times F \times 10$$

a : 0.1 N NaOH 용액의 소비 mL수

f : 0.1 N NaOH 용액의 factor (1.001)

F : 0.1 N NaOH 용액의 1 mL에 상당하는 유기산 계수 (젖산인 경우 0.009)

나. 염도 및 당도 측정

김치의 염도 측정은 김치를 마쇄하여 멸균거즈로 여과한 김치여액으로 염도계 (ES-421, ATAGO, Tokyo, Japan)를 사용하여 김치의 염도를 측정하였다.

김치의 당도 측정은 김치여액으로 당도계 (Digital probe refractometer WM-7, ATAGO, Tokyo, Japan)를 사용하여 김치의 당도를 측정하였다.

3. 유산 균주 분리

발효되어 산도가 0.5~0.8% 되는 적당히 익은 김치를 마쇄하여 멸균거즈로 여과한 김치여액을 멸균수로 이용하여 단계적으로 희석한 후 0.1 mL를 취하여 MRS (Difco)고체배지에 도말하여 48시간 배양한 후에 형성된 colony를 그람 염색하여 현미경 관찰한 후 계수하였다. 시료에서 유산 균주 선별하여 분리 하였다.

4. 분리 균주의 동정

시판 김치로부터 분리한 균주의 동정을 위하여 먼저 형태학적 특성을 조사하였다. 그람염색 (Gram stain kit, BD, Sparks, MD, USA) 후, 현미경 관찰하였다. 최종적인 동정을 위하여 분리 균주의 16s rRNA gene의 염기서열을 결정하여 표준균주와 비교하였다. 분리균주의 16s ribosomal RNA gene sequencing은 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 분리균주의 Chromosomal DNA를 DNeasy blood & tissue kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA)을 이용하여 분리한 후, 16s rRNA gene sequencing을 결정하였다. 결정한 염기서열의 상동성 검사는 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)에 등록된 표준균주 (type strain)와의 상동성을 비교하였다. sequence alignment는 CLUSTAL W 알고리즘으로 정렬한 후 MEGA 6.0 program[47]으로 neighbor-joining tree에 의해 계통도를 작성하여 유전적 유사성을 확인하였다.

제 2 절 김치로부터 분리한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 유산 균주의 특성

1. 사용 균주 및 배지

실험에 사용한 균주들은 여러 지역의 다양한 배추김치로부터 분리, 동정하여 본 실험실에서 보유하고 있는 유산균 및 한국농업미생물은행 (KACC)로부터 분양받은 *W. koreensis* KACC 11853^T, 한국생명공학연구원 유전자은행 (KCTC)로부터 분양받은 *W. cibaria* KCTC 3746^T, 그리고 이 실험에서 시판김치로부터 분리한 유산균으로 실험하였다. 모든 균주는 De Man Rogosa Sharpe (MRS; Difco, Sparks, MD, USA) 액체 배지에 배양한 후 대수기를 거쳐 정지기에 있는 각각의 배양액에 glycerol이 25% (v/v)가 되게 넣어준 다음 -70℃에서 보관하였으며, 실험에 사용할 경우 유산균주 MRS (Difco)액체배지에 1% (v/v) 접종하여 30℃에서 24시간 배양한 후 계대하여 사용하였다.

2. 김치 유산균 배양 pH 측정

균주의 screening을 위해서 MRS (Difco) 액체배지에 1% (v/v) 접종하여 30℃에서 24시간동안 정치배양한 다음 배양액의 pH를 측정하였다. 단, *Lb. buchneri* MS는 48시간동안 정치배양 후 pH를 측정하였다. pH 측정값은 3번씩 측정 하여 평균치로 나타내었다.

3. 배양 시간에 따른 생육도

선발한 분리 균주 *Weissella* 속 7종, *Leuconostoc* 속 7종, *Lactobacillus* 속 7종에 대하여 배양 시간에 따른 생육도를 조사하였다. MRS (Difco) 액체배지에 1% (v/v) 접종하여 30℃에서 48시간동안 정치배양하면서 0~24시간동안은 6시간 간격으로 흡광도 (Ultrospec 2100 pro, Amersham, Uppsala, Swaeden)를 600 nm에서 측정하였으며, 24시간이후에는 48시간까지 12시간 간격으로 측정하였다.

4. Scanning Electron Microscopy (SEM)

선발 균주 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2[42], *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1[43]의 형태학적 모양과 크기를 Scanning electron microscopy (SEM)으로 확인하기 위해 전처리 과정을 시행하였다(Figure 1). MRS (Difco) 액체배지에 전배양액 1% 접종하여 24시간 정치배양한 본 배양액을 각각 원심분리(9,950 ×g, 5 min, 4°C)하여 얻어진 균체를 PBS로 3회 세척한 후 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.4)에 희석된 2.5% (v/v) glutaraldehyde (pH 7.4, Sigma, Buchs, Switzerland)로 4°C에서 4시간동안 전 고정하였다. 전 고정된 시료를 0.1 M sodium cacodylate (pH 7.4)로 녹인 1% (w/v) osmium tetroxide (OsO₄, Sigma, Saint Louis, USA)를 넣어 4°C에서 2시간동안 후 고정하였다. 다시 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.4)로 15분씩 3회 세척하였으며, 그 후 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%까지 에탄올 농도를 순차적으로 높여 탈수과정을 각 15분씩 거친 다음 최종 100% 에탄올로 3번의 탈수과정을 거쳤다. 마지막으로 tert-butanol을 20분씩 3번 치환한 다음, 건조과정을 거쳐 진공상태에서 platinum으로 120~150초 코팅하였다. FE-SEM (Field emission scanning electron microscope S-4700, Hitachi, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

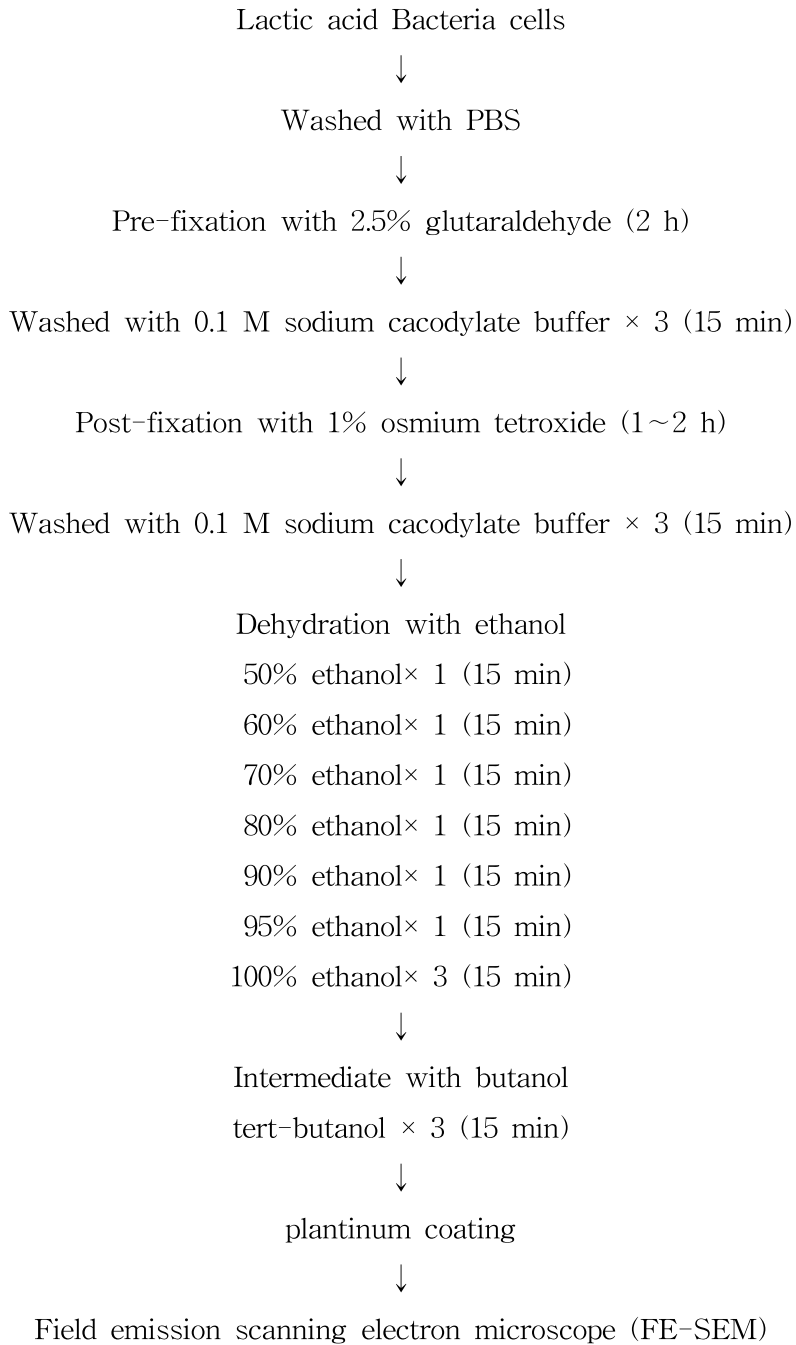


Figure 1. Scanning electron microscopy (SEM) preparation protocol

제 3 절 선발된 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속별 유산균 생육저해 활성

1. 선발된 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속별 유산균 생육저해 활성조사

본 실험에 사용한 균주는 선발 유산 균주 29종 (*W. koreensis* 5종, *W. confusa* 2종, *W. cibaria* 2종, *Leu. citreum* 4종, *Leu. kimchii* 2종, *Leu. mesenteroides* 4종, *Lb. sakei* 7종, *Lb. plantarum* 2종 그리고 *Lb. curvatus* 1종)이며, 본 실험은 균체를 직접 가하는 direct method를 사용하였다. 각각의 지시균은 배지에 1.0×10^6 CFU/mL가 되게 도달하여 준비하였다. 지시균이 도달된 평판배지 위에 배양액 (약 1.0×10^9 CFU/mL)을 1.5 cm 길이로 그어준 다음 30°C에서 24시간 배양한 다음 각각의 유산 균주에 대한 생육 저해 여부를 관찰하였다.

유산 균주 속별로 *Weissella* 속 9종에 대하여 *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 생육 저해활성, *Leuconostoc* 속 10종에 대하여 *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속 생육저해활성, *Lactobacillus* 속 10종에 대한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 생육저해활성을 조사하였다.

2. 조항균 물질에 의한 생육 저해 활성조사

가. 조항균 물질의 준비

선발 유산 균주 29종 (*W. koreensis* 5종, *W. confusa* 2종, *W. cibaria* 2종, *Leu. citreum* 4종, *Leu. kimchii* 2종, *Leu. mesenteroides* 4종, *Lb. sakei* 7종, *Lb. plantarum* 2종 그리고 *Lb. curvatus* 1종)을 MRS (Difco) 액체배지 5 mL에 접종하여 30°C에서 24시간동안 전배양하였다. 30 mL MRS (Difco) 액체배지에 1%의 전배양액을 접종하고, 다시 30°C에서 24시간동안 본배양하였다. 본배양액을 4°C에서 원심분리 (9,950 ×g, 15 min, 4°C)하여 얻은 배양 상정액을 0.45 μm membrane filter (Advantec MFS, Inc., Japan)로 제공하였다. 제공된 상정액을 동결건조 (freeze dry system, SFDSM12,

Samwon Co., Korea)한 후에 25배 농축이 되게 멸균된 3차 증류수에 녹여 준비하였다.

나. 조항균 물질에 의한 생육저해 활성 측정

조항균 물질에 의한 생육저해 활성은 paper disk method[46]를 사용하여 조사하였다. 각각의 지시균은 MRS (Difco) 고체배지에 1.0×10^6 CFU/mL가 되게 도말하여 준비하였고, 지시 균주가 도말된 평판배지 위에 8 mm 직경의 paper disc (Advantech, Tokyo, Japan)를 놓고 조항균 물질을 50 μ L씩 가한 후에 배양하여 각각의 지시균에 대한 생육저해 활성을 측정하였다. 생육저지환은 digimatic caliper (CD-15CPX, Mitutoyo, Kawasaki, Japan)를 사용하여 지름을 3회씩 측정하여 평균값을 나타내었으며, 실험은 총 3회 반복하였다.

제 4 절 선발된 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 유산균주의 조건별 특성

1. 배양 온도에 따른 생육도

본 실험을 위해 현재 국내에 시판하고 있는 김치냉장고 3사 (A, B, C사)의 발효 모드와 보관 모드의 온도를 조사하였다(Table 1). A, B사 김치냉장고 발효온도는 15°C였으며, C사 김치냉장고는 더 낮은 온도 6~7°C에서 발효하였다. 김치냉장고의 3사 발효온도를 토대로 6.5°C와 15°C에서의 유산균 생육도를 관찰하였으며, A, B, C사 김치냉장고 보관온도가 모두 -1~-2°C로 비슷하였다. 이를 토대로 -1~-2°C에서 유산균 생육도를 관찰하였다.

그동안의 연구들에서는 SDS-PAGE 분석, T-RFLP (terminal-restriction fragment length polymorphism) 그리고 ARDRA (amplified ribosomal DNA restriction analysis), metatranscriptomic 분석 등의 다양한 방법을 동원하여 김치의 발효과정 중의 미생물 천이를 일반 냉장고 온도 4°C에서 장기적으로 관찰하여 보고하였다[18, 22]. 본 실험에서는 이를 토대로 4°C에서의 유산균 생육도를 관찰하였다.

가. 김치냉장고 발효온도에 따른 생육도

선발된 유산균 9종 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1의 온도에 따른 생육도를 확인하였다. MRS (Difco)액체배지 30 mL에 김치의 유산균 수와 동일한 조건으로 초기 균수가 약 5.0 log CFU/mL가 되게 접종하여 4°C, 6.5°C, 15°C 그리고 대조구 30°C에서 정치배양하면서 측정 간격은 4°C, 6.5°C에서는 1주 간격으로 측정하였고, 15°C에서는 1일 간격으로 흡광도 (Amersham)를 600 nm에서 측정하였다.

나. 보관온도에 따른 생육도

선발된 유산균 9종 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1의 김치냉장고 보관온도[11, 41]에 따른 생육도를 확인하였다. A, B, C 사 김치냉장고 보관온도가 모두 $-1\sim-2^{\circ}\text{C}$ 로 비슷하였다. 이를 토대로 $-1\sim-2^{\circ}\text{C}$ 에서 유산균 생육도를 관찰하였다. $-1\sim-2^{\circ}\text{C}$ 에서는 균주가 잘 자라지 못하여 흡광도값이 미미하여 정확한 결과를 나타내기 위해, 1주 간격으로 4주까지, 2주 간격으로 8주까지 그리고 배양 12주까지 생균수를 관찰하여 나타내었다.

Table 1. Different temperature range used as the storage mode and fermentation mode for the three companies kimchi refrigerators

Company	Storage mode	Fermentation mode
A	-1.4~-1.8°C	15°C (36 hr) ↓ -1.3°C (60 hr) ↓ -5°C (1 hr) ↓ -1.3°C
B	-0.5~-1.2°C	15°C (72 hr) ↓ -1~-2°C
C	-1.5°C	-1.5°C (6~11 hr) ↓ 12°C (7~25 hr) ↓ 5°C (30 hr) ↓ -1.5°C
	-1.8°C	-1.5°C (9~14hr) ↓ 6°C (58~111 hr) ↓ -1.8°C

2. 김치 pH에 따른 생육도

선발된 유산균 9종 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1의 김치의 pH가 성장에 미치는 영향을 조사하기 위해 김치 초기부터 적숙기, 후기의 김치 pH (4.0 그리고 5.0)에서 생육도를 확인하였다. 5 N HCl 용액으로 pH 4.0과 pH 5.0으로 조정된 MRS (Difco)액체배지 30 mL에 초기 균수가 1.0×10^5 CFU/mL가 되게 접종하여 30°C에서 24시간, 48시간 흡광도 (Amersham)를 600 nm에서 측정하였으며, 그에 따른 생균수를 확인하였다.

3. 선발 유산 균주에 대한 내산성 평가

선발된 김치 유산균 9종 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1를 대상으로 본 실험을 진행하였다. 본 실험은 산성 환경에서의 생존 능력을 확인하기 위해 pH 4.0 그리고 5.0의 배지에서 내산성을 평가하였다.

선발 균주를 MRS (Difco)액체배지 30 mL에 1% (v/v) 접종하여 30°C에서 24시간 배양하여 균체 회수를 위해 원심분리 (9,950 ×g, 15 min, 4°C)하였다. 그 후 상정액을 제거하여 균체만 회수하였다. 5 N HCl 용액으로 pH 4.0과 pH 5.0으로 조정된 MRS (Difco)액체배지 30 mL와 대조구 pH 6.5 MRS (Difco)액체배지에 회수한 균체를 첨가하여 30°C에서 24시간, 48시간, 72시간 배양하면서 생균수를 측정하였다.

제 3 장 결과 및 고찰

제 1 절 시판 김치로부터 유산 균주 분리 및 동정

1. 일반 분석

가. pH 및 산도의 변화

제조회사별 시판김치는 당일 제조된 김치로서 구입 당일에 샘플 A (H사 김치)의 경우 pH 6.04로 가장 높았고, 샘플 B (M1사 김치)와 샘플 C (M2사 김치)의 pH는 각각 5.89와 5.83으로 비슷한 수치를 보였다. 구입 당일의 김치의 pH는 5.5~6.0 값을 나타내었다. 각 김치는 6.5°C의 저온에서 발효가 진행되는 동안 모든 샘플의 pH가 서서히 감소하였다. 샘플 A (H사 김치)는 6.5°C에서 숙성 9일째에 5.09까지, 샘플 C (M2사 김치)는 숙성 9일째에 4.39까지 가장 크게 감소하였다(Table 2).

시판 김치의 제조회사별 6.5°C에서 숙성하는 과정 중 산도의 변화를 나타내었다. 구입 당일의 김치의 산도는 샘플 C (M2사 김치)의 산도가 0.36%로 가장 높았으며, 샘플 A (H사 김치)의 산도가 0.21%로 가장 낮은 산도를 나타내었다. 6.5°C에서 숙성 7~9일째에 산도가 0.5~0.8%에 도달하였다(Table 2).

나. 염도 및 당도

제조 회사별 시판 김치의 염도 측정 결과 샘플 A (H사 김치), 샘플 B (M1사 김치), 샘플 C (M2사 김치) 그리고 샘플 D (Y사 김치)의 염도는 각각 1.88~2.26%, 2.49~3.10%, 1.87~2.69%, 1.88~1.89%를 나타내었다(Table 2).

제조 회사별 시판 김치의 당도 측정 결과 샘플 A (H사 김치), 샘플 B (M1사 김치), 샘플 C (M2사 김치) 그리고 샘플 D (Y사 김치)의 당도는 각각 11.2~11.3 brix, 10.2~11.3 brix, 10.2~10.3 brix, 9.3~9.4 brix를 나타내었다(Table 2).

Table 2. Characteristic of the four different commercial kimchi.

sample General characteristics	A (H company)	B (M1 company)	C (M2 company)	D (Y company)
Fermented temperature	6.5°C			
Fermented time	9 days	7 days	9 days	9 days
pH	5.09	4.93	4.39	4.53
Acidity (%)	0.47	0.49	0.83	0.59
Salinity (%)	2.26	3.1	2.69	1.88
Sugar contents (brix)	11.2	11.3	10.3	9.3

2. 분리 균주의 동정

가. 형태 및 배양학적 특성

시판 김치에서 발효시킨 다음 적당히 익었을 때, 분리한 균주를 MRS (Difco)액체배지에 접종하여 24시간 배양한 후 Gram-staining을 하여 광학현미경으로 관찰한 결과 분리 균주의 4종은 그람 양성균의 단간균으로 확인되었다. 형태학적, 배양학적 특성 및 16s rRNA gene 염기서열 분석을 통한 분자생물학적 특성을 살펴보았다. MRS (Difco)액체배지에 접종하여 24시간 배양한 후 gram-staining을 하여 광학현미경으로 관찰한 결과(Figure 2), SJ은 그람양성균의 간균이었고, colony는 둥근형이며, colony색은 불투명하고, 밝은 아이보리 빛을 나타내었으며, 크기는 매우 작고, 표면은 윤기가 흐르고 매끈하였다.

나. 16s rRNA gene 염기서열 분석

SJ의 16s rRNA gene 염기서열 분석을 통한 균주동정을 위하여 SJ로부터 chromosomal DNA를 분리하였다. SJ은 총 1527 bp로 결정한 후(Figure 3), 읽어진 16s rRNA 서열분석은 Blast program을 사용하여 상동성을 검색하였다. 분리균주 SJ은 표준균주인 *Weissella koreensis* S-5623^T과 99.9%의 높은 상동성을 나타내었으며, Figure 4에 16s rRNA gene 염기서열을 기초로 한 다른 bacteria와의 계통 발생론적 관계를 나타냈었다.

분리균주 SJ은 일반적인 특성과 16s rRNA gene 염기서열을 분석한 결과 *Weissella koreensis*의 표준균주인 *Weissella koreensis* S-5623^T과 비교하여 99.9%의 상동성을 갖는 결과로서, *Weissella koreensis* SJ으로 명명하였다.

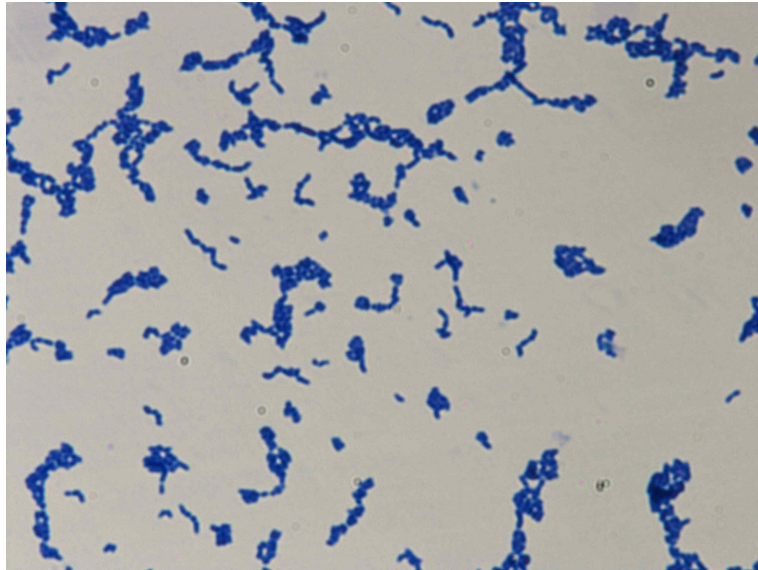


Figure 2. Gram staining of the isolated strain SJ

```

1 TCAGGATGAA CGCTGGCGGC GTGCCTAATA CATGCAAGTC GAACGCATTG TGGTTGAAAT 60
61 GATATGAAGA ACTTGTTTCCAG ATTTGATTTT CAACATTGCA ATGAGTGGCG AACGGGTGAG 120
121 TAACACGTGG GAAACCTACC TCTTAGCAGG GGATAACATT TGGAAACAAA TGCTAATACC 180
181 GTATAATAAT TAAAACCGCA TGGTTTTAGT TAAAAGATG GTCTTGCTAT CACTAAGAGA 240
241 TGGTCCCXCG GTGTATTAGT TAGTTGGTGA GGTAATGGCT CACCAAGACA ATGATACATA 300
301 GCCGAGTTGA GAGACTGACC GGCCACAATG GGAAGTGGCT ACAGCCATA CTCCTACGGG 360
361 AGGCAGCAGT AGGGAATCTT CCACAATGGA CGAAAGTCTG ATGGAGCAAC GCCGCGTGTG 420
421 TGATGAAGGG TTTCGGCTCG TAAAACACTG TTGTAAGAGA AGAATGACAT TGAGAGTAAC 480
481 TGTTCAATGT GTGACGGTAT CTTACCAGAA AGGAACGGCT AAATACGTGC CAGCAGCCGC 540
541 GGTAATACGT ATGTTCCAAG CGTTATCCGG ATTTATTGGG CGTAAAGCGA GCGCAGACGG 600
601 TTATTTAAGT CTGAAGTGAA AGCCCTCGGC TCAACCGAGG AATTGCTTTG GAAACTGGAT 660
661 AACTTGAGTG CAGTAGAGGA AAGTGGAACT CCATGTGTAG CGGTGAAATG CGTAGATATA 720
721 TGGAAGAACA CCAGTGGCGA AGGCGGCTTT CTGGACTGTA ACTGACGTTG AGGCTCGAAA 780
781 GTGTGGGTAG CAAACAGGAT TAGATACCCT GGTAGTCCAC ACTGTAAACG ATGAGTGCTA 840
841 GTTGTTCGAG GTTTCCGCC CTTGAGTGAC GAAGCTAACG CATTAGCAC TCCGCCTGGG 900
901 GAGTACGACC GCAAGGTTGA AACTCAAAGG AATTGACGGG GACCCGCACA AGCGGTGGAG 960
961 CATGTGGTTT AATTCGAAGC AACCGAAGA ACCTTACCAG GTCTTGACAT CCTTTGACCA 1020
1021 CTCCAGAGAT GGAGCTTTC CTTGGGGGAC AAAGTGACAG GTGGTGCATG GTTGTCTGCA 1080
1081 GCTCGTGTG TGAGATGTTG GGTTAAGTCC CGCAACGAGC GCAACCCTTA TTGTTAGTTG 1140
1141 CCAGCATTTA GTTGGGCACT CTAGCAAGAC TGCCGGTGAC AAACCGGAGG AAGGCGGGGA 1200
1201 TGACGTCAA TCATCATGCC CCTTATGACC TGGGCTACAC ACGTGCTACA ATGGCAAGTA 1260
1261 CAACGAGTGC CCAACCCGCG AGGCTGGCGA AATCTCTTAA AGCTTGCTC AGTTCCGACT 1320
1321 GTAGGCTGCA ACTCGCCTAC ACGAAGTCGG AATCGCTAGT AATCGCGGAT CAGCACGCCG 1380
1381 CGGTGAATAC GTTCCCGGGT CTTGTACACA CCGCCGTC CACCATGAGA GTTTGTAACA 1440
1441 CCCAAAGTGC GTGAGGTAAC CTTTATTAG GAGCCAGCCG CTAAGGTGG GACAGATGAT 1500
1501 TAGGGTGAAG TCGTAAAAAG GGTAAACC 1527

```

Figure 3. 16s rRNA gene sequence of the isolate strain SJ

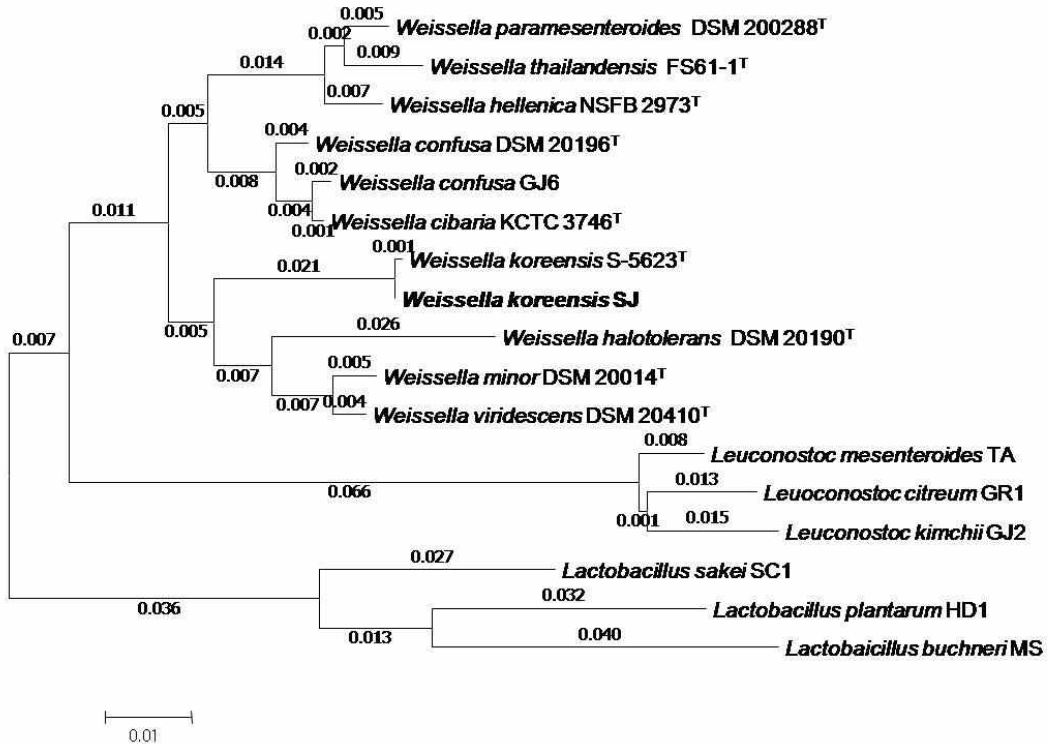


Figure 4. Phylogenetic relationship between *W. koreensis* SJ and other *Weissella* species and other related bacteria based on 16s rRNA gene sequences

제 2 절 김치로부터 분리한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 유산균주의 특성

1. 김치 유산균 배양 pH 측정

김치로부터 분리한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 47종의 유산균주를 MRS (Difco)액체배지에 1% (v/v) 접종하여 30°C에서 24시간동안 정치 배양한 다음 배양액의 pH를 측정하였다. 단, *Lb. buchneri* MS는 48시간동안 정치배양 후 pH를 측정하였다. pH 측정값은 3번씩 측정하여 평균치로 나타내었다(Table 3).

배양액의 pH를 관찰하였을 때, *W. koreensis* 5종은 pH 4.6~4.7으로 다른 유산균주에 비해 가장 높았다. 한편 *W. cibaria* 2종과 *W. confusa* 2종은 pH 4.3을 측정되어 *W. koreensis*보다 *Leuconostoc* 속과 배양액 pH 범위가 더 유사함을 확인하였다. *Leuconostoc* 속의 배양액 pH는 *Leu. kimchii* 3종이 pH 4.5으로 가장 높았으며, 그 다음 *Leu. mesenteroides* 7종이 pH 4.4~4.5, *Leu. citreum* 7종이 pH 4.3~4.4을 나타내었다. *Lactobacillus* 속의 배양액 pH 값은 *Weissella* 속과 *Leuconostoc* 속에 비하여 가장 낮았다. *Lb. sakei* 17종의 배양액 pH 측정 결과 pH 3.9~4.2을 확인하였다. *Lb. plantarum* 3종의 배양액 pH가 pH 3.8로 가장 낮은 수치를 보였다. *Lb. plantarum*이 김치가 과숙되게 하는 산패에 관여한다고 알려져 있다[35]는 보고가 있는데 *Lb. plantarum*이 자라면서 생성하는 많은 산이 원인으로 여겨진다.

김치의 초기 (pH \geq 5.2), 중기 (pH 4.5~5.2)에서 *Leu. citreum*, *Leu. mesenteroides*, *Leu. kimchii*, *W. confusa*, *W. cibaria*가 많이 검출된다고 밝혀졌다[16]. 이 실험에서는 김치 초기, 중기에 많이 검출되는 유산균의 정지기에 이른 배양액 pH가 pH 4.3~4.5임을 확인하였다. 이는 배지환경이 김치환경보다 훨씬 더 영양원이 풍부하고, 생육하기 더 좋은 조건임을 감안하고, 김치의 초기, 중기 pH를 결정하는 유산균이 *Leu. citreum*, *Leu. mesenteroides*, *Leu. kimchii*, *W. confusa*, *W. cibaria*임을 알 수 있었다.

김치 후기 (pH \leq 4.5)에 많이 검출되는 유산균으로는 *Lb. sakei*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. curvatus* 그리고 *W. koreensis*가 많이 검출된다고 알려져 있다[12]. *Lactobacillus* 속의 배양액 pH는 pH 3.8~4.2까지 다른 *Weissella* 속과 *Leuconostoc* 속에 비해 젖산 생성능이 강해서 배양액 pH가 더 낮았으며, 김치 후기 pH를 결정하는

유산균임을 관찰하였다. 그러나 김치 전 기간에 걸쳐 발견되는 *W. koreensis*의 배양액 pH는 pH 4.6~4.7으로 본 실험에서 가장 높은 pH 측정값을 나타내었는데. *W. koreensis*가 후기의 김치에서 검출될 수 있는 이유로는 산성에 견딜 수 있는 내산성이 강할 수 있다고 추측하였으며, 김치의 환경 (온도, 영양원)등의 다른 원인에 의한 것으로 사료된다.

Table 3. Pre-screening (culture medium pH) on 48 selected Lactic acid bacteria

Species	Strains	Pre-screening (culture medium pH)
<i>Weissella koreensis</i>	KACC 11853	4.70±0.03
<i>Weissella koreensis</i>	MG	4.63±0.02
<i>Weissella koreensis</i>	SK	4.63±0.01
<i>Weissella koreensis</i>	SJ	4.69±0.04
<i>Weissella koreensis</i>	HB	4.64±0.02
<i>Weissella confusa</i>	GJ6	4.31±0.02
<i>Weissella confusa</i>	31	4.31±0.01
<i>Weissella cibaria</i>	37	4.29±0.00
<i>Weissella cibaria</i>	KCTC 3746	4.34±0.02
<i>Leuconostoc citreum</i>	GJ7	4.39±0.02
<i>Leuconostoc citreum</i>	C3	4.40±0.02
<i>Leuconostoc citreum</i>	C4	4.28±0.01
<i>Leuconostoc citreum</i>	C8	4.26±0.02
<i>Leuconostoc citreum</i>	C11	4.30±0.02
<i>Leuconostoc citreum</i>	C16	4.28±0.01
<i>Leuconostoc citreum</i>	GR1	4.32±0.04
<i>Leuconostoc kimchii</i>	GJ2	4.46±0.05
<i>Leuconostoc kimchii</i>	GJ3	4.58±0.04
<i>Leuconostoc kimchii</i>	C1	4.53±0.01
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	PH1	4.42±0.05
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	PH2	4.44±0.01
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	C12	4.45±0.02
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	C14	4.45±0.01
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	DM1	4.39±0.03

(continued on next page)

(continued from the previous page)

Species	Strains	Pre- screening (culture medium pH)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	봉 선5	4.38±0.00
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	TA	4.49±0.01
<i>Lactobacillus sakei</i>	SC1	3.92±0.01
<i>Lactobacillus sakei</i>	YY1	4.01±0.01
<i>Lactobacillus sakei</i>	WJ1	4.16±0.02
<i>Lactobacillus sakei</i>	JH2	4.00±0.02
<i>Lactobacillus sakei</i>	현C2	3.93±0.00
<i>Lactobacillus sakei</i>	불C1	3.92±0.02
<i>Lactobacillus sakei</i>	HJC	4.00±0.05
<i>Lactobacillus sakei</i>	NJ2	4.04±0.08
<i>Lactobacillus sakei</i>	배추C	3.92±0.06
<i>Lactobacillus sakei</i>	HJ5	3.95±0.03
<i>Lactobacillus sakei</i>	대C3	4.11±0.01
<i>Lactobacillus sakei</i>	SI3	4.08±0.03
<i>Lactobacillus sakei</i>	불C4	4.15±0.01
<i>Lactobacillus sakei</i>	불M5	4.14±0.01
<i>Lactobacillus sakei</i>	D2	4.06±0.01
<i>Lactobacillus sakei</i>	D3	3.96±0.03
<i>Lactobacillus sakei</i>	D5	4.05±0.02
<i>Lactobacillus plantarum</i>	HD1	3.77±0.03
<i>Lactobacillus plantarum</i>	AF1	3.83±0.04
<i>Lactobacillus plantarum</i>	EM	3.80±0.00
<i>Lactobacillus buchneri</i>	MS	4.34±0.02
<i>Lactobacillus curvatus</i>	BU1	4.20±0.01

2. 배양 시간에 따른 생육도

선발한 분리 균주 *Weissella* 속 7종, *Leuconostoc* 속 7종, *Lactobacillus* 속 7종에 대하여 배양 시간에 따른 생육도를 조사하였다. MRS (Difco) 액체배지에 1% (v/v) 접종하여 30°C에서 48시간동안 정치배양하면서 흡광도 (Amersham)를 600 nm에서 0~24시간동안은 6시간 간격으로 측정하였으며, 24시간 이후에는 48시간까지 12시간 간격으로 측정하였다.

Weissella 속 7종에 대한 배양 시간에 따른 생육도를 나타내었다(Figure 5). *W. confusa* 2종과 *W. cibaria* 2종은 배양 후, 빠르게 대수기에 이르렀고, 12시간만에 정지기에 도달하였다. 그러나 같은 *Weissella* 속인 *W. koreensis* 3종은 배양 6시간부터 대수기, 18~24시간만에 정지기에 도달한 것을 관찰할 수 있었다. 그리고 같은 *Weissella* 속임에도 *W. koreensis*에 비교하여 *W. confusa*나 *W. cibaria*의 최대치에 이르는 흡광도 수치가 훨씬 높음을 알 수 있었다.

Leuconostoc 속 7종에 대한 생육도를 관찰하였다(Figure 6). 그 결과 *Leuconostoc* 속 7종 대부분 배양 6시간부터 급격하게 생육하여 18시간에 정지기에 도달하였다. *Leu. citreum* 3종과 *Leu. mesenteroides* 2종은 *Leu. kimchii* 2종보다 더 높은 흡광도 수치를 나타내었다.

Lactobacillus 속 7종에 대한 생육도를 관찰하였다(Figure 7). *Lactobacillus* 속 7종 모두 배양 18시간만에 정지기에 도달하였다. *Lactobacillus* 속 모두 *Weissella* 속과 *Leuconostoc* 속에 비해 높은 흡광도를 나타내었다. *Lb. plantarum* 2종은 전체 유산균 21종을 통틀어 가장 높은 흡광도 11.24~12.94까지 올랐으며, 이는 균의 크기, 생균수 그리고 색깔 등의 원인으로 보인다.

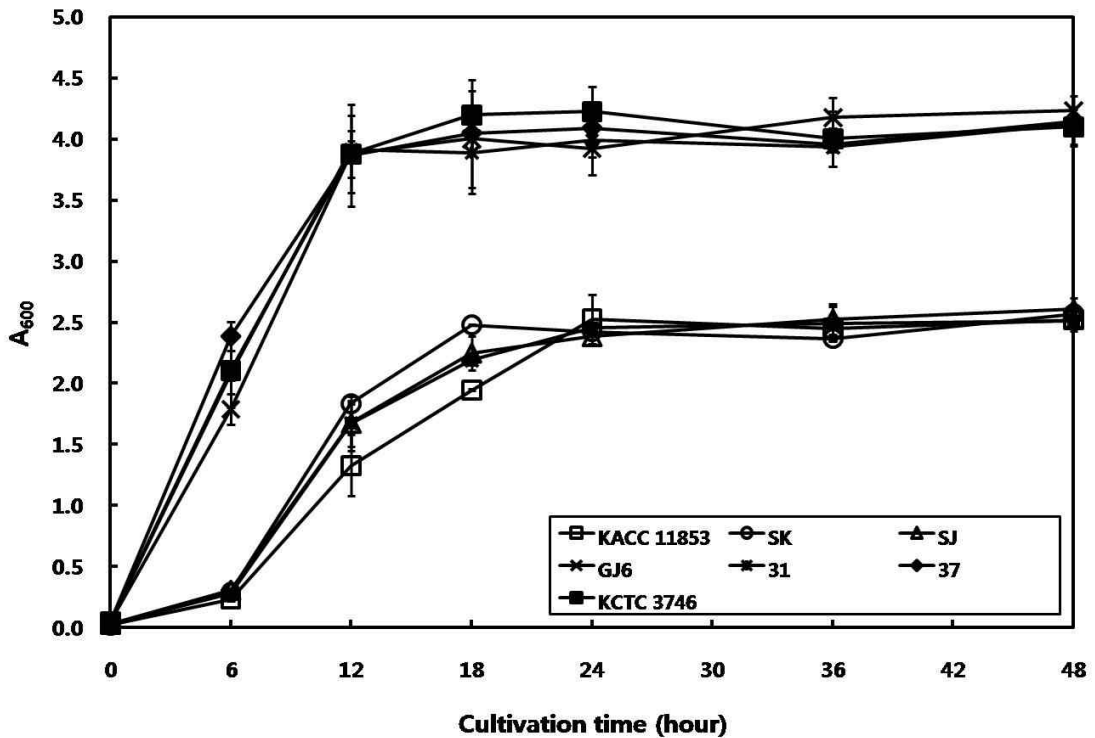


Figure 5. Growth of *Weissella* sp. 7 strains at 30°C in MRS media

□, *W. koreensis* KACC 11853; ○, *W. koreensis* SK; △, *W. koreensis* SJ; ×, *W. confusa* GJ6; *, *W. confusa* 31; ◆, *W. cibaria* 37; ■, *W. cibaria* KCTC 3746

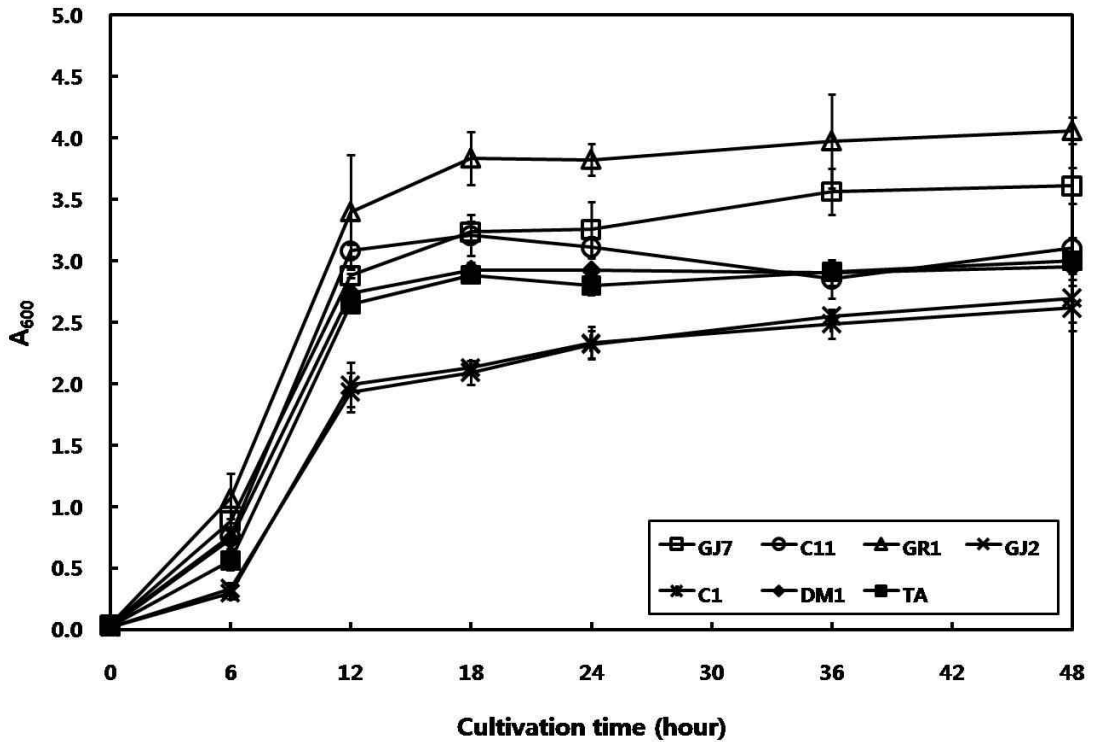


Figure 6. Growth of *Leuconostoc* sp. 7 strains at 30°C in MRS media

□, *Leu. citreum* GJ7; ○, *Leu. citreum* C11; △, *Leu. citreum* GR1;
 ×, *Leu. kimchii* GJ2; *, *Leu. kimchii* C1; ◆, *Leu. mesenteroides* DM1; ■, *Leu. mesenteroides* TA

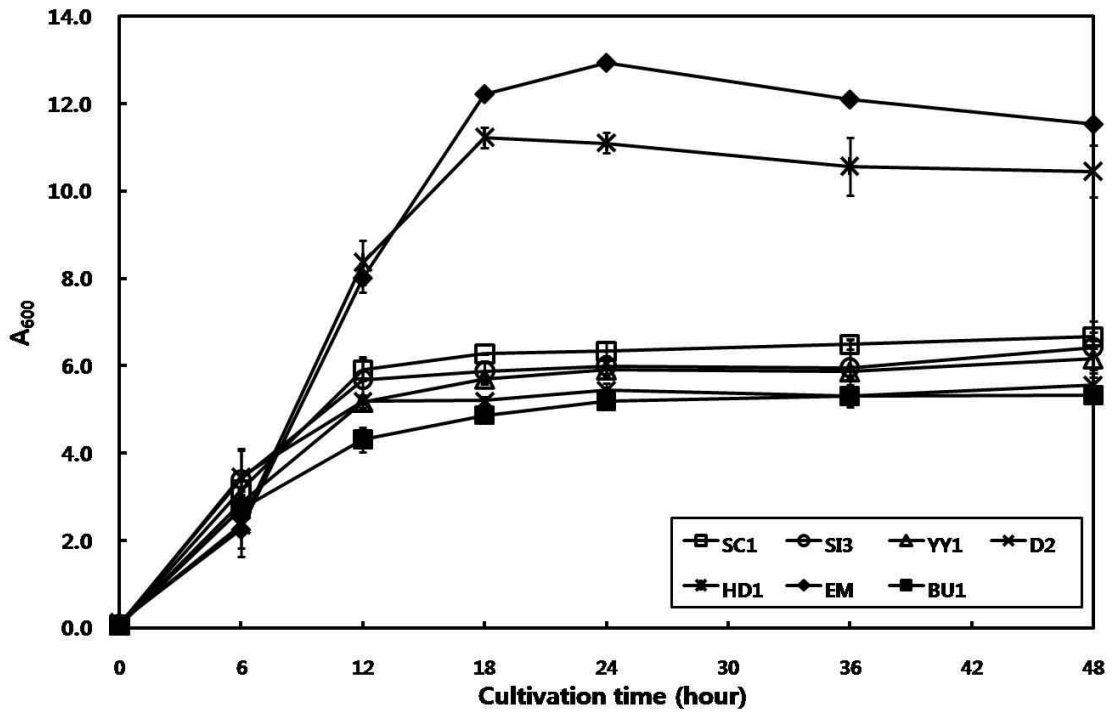


Figure 7. Growth of *Lactobacillus* sp. 7 strains at 30°C in MRS media

□, *Lb. sakei* SC1; ○, *Lb. sakei* SI3; △, *Lb. sakei* YY1; ×, *Lb. sakei* D2; *, *Lb. plantarum* HD1; ◆, *Lb. plantarum* EM; ■, *Lb. curvatus* BU1

3. Scanning electron microscopy (SEM)

분리 유산균 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1의 세포 모양과 크기를 자세히 관찰하기 위해 Scanning Electron Microscopy (SEM)으로 촬영하였다. 그 결과 *Weissella* 속은 모두 단간균이었으며 (Figure 8), 세포의 길이는 1.5~2.0 μm 정도이며, 폭은 0.8~1.0 μm 정도이다[21]. *Leuconostoc* 속은 구균으로(Figure 9), 길이는 0.7~1.2 μm 정도이며 폭은 0.7~1.2 μm , *Lactobacillus* 속은 간균이며(Figure 10), 길이는 3.7~8.0 μm 정도이며 폭은 0.7~1.0 μm 이었다.

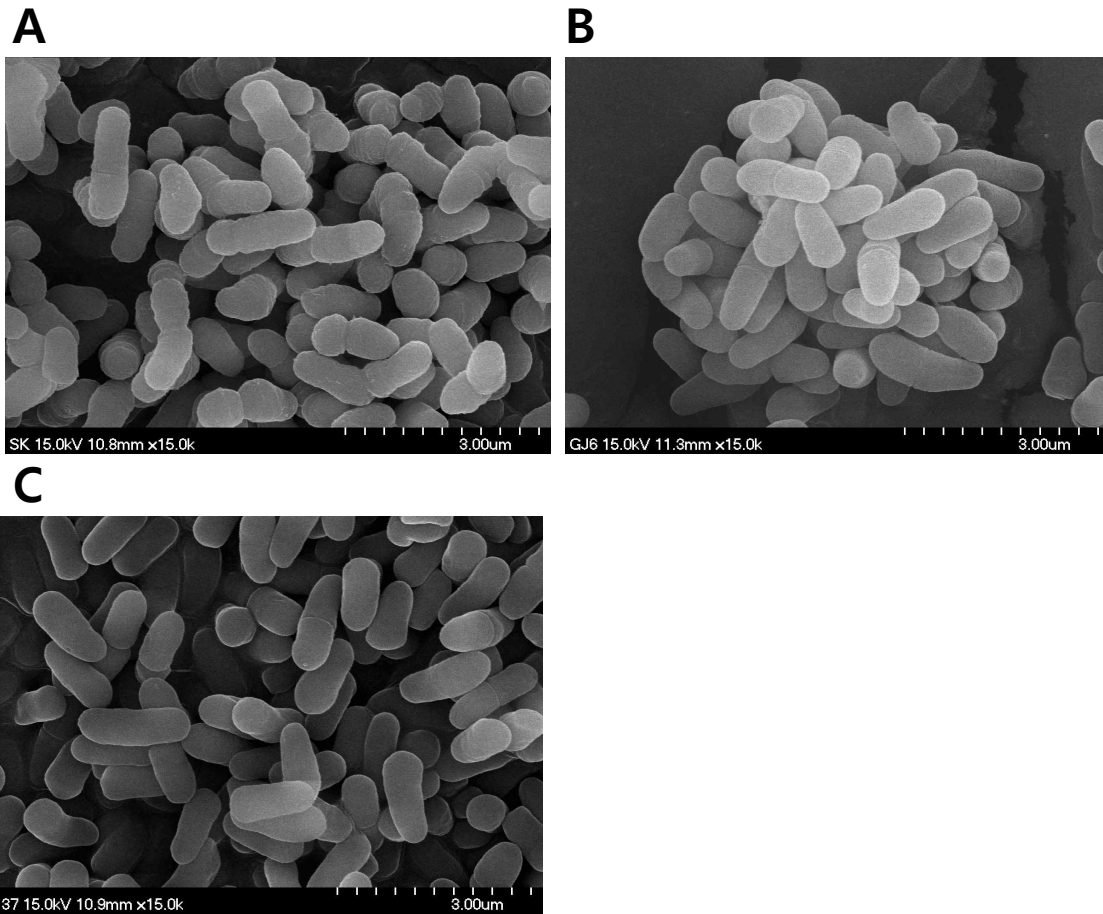


Figure 8. SEM micrograph of *Weissella* sp. growing cell stage in MRS broth ($\times 15,000$)

A, *W. koreensis* SK; B, *W. confusa* GJ6; C, *W. cibaria* 37

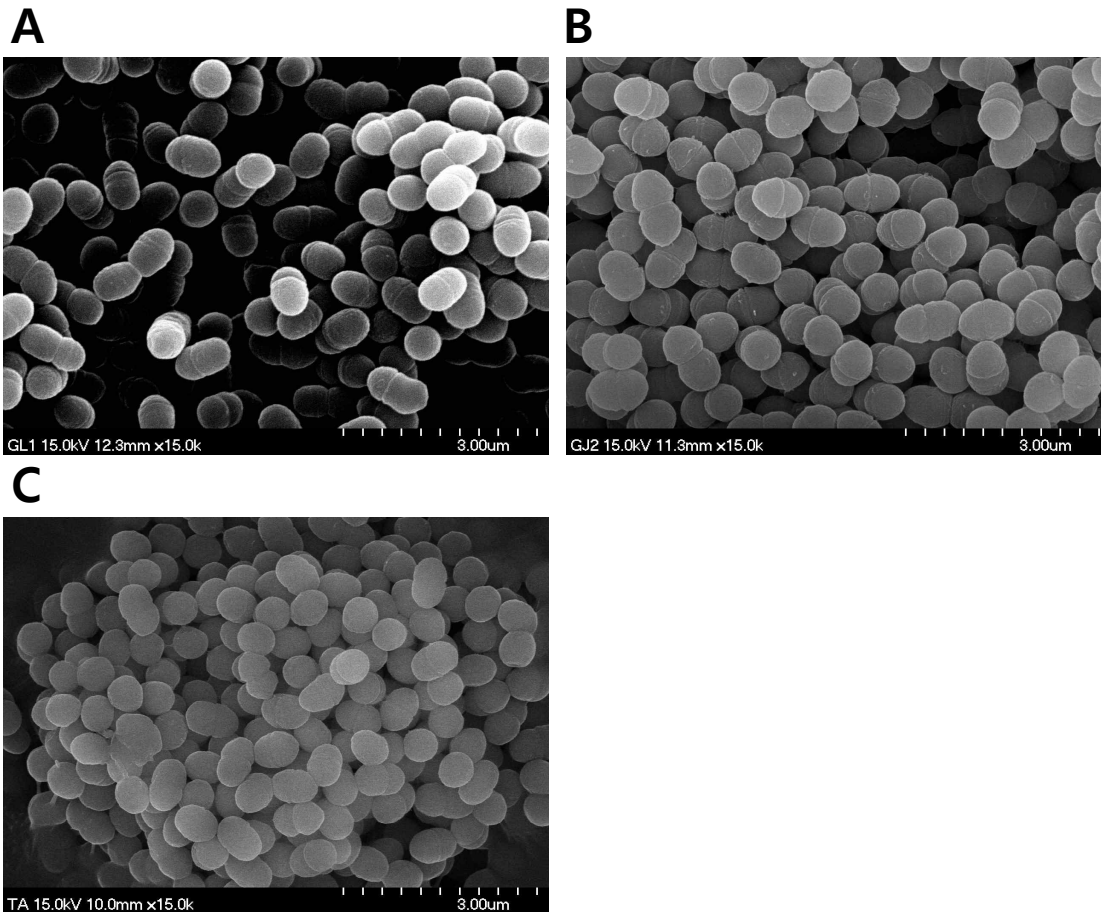


Figure 9. SEM micrograph of *Leuconostoc* sp. growing cell stage in MRS broth ($\times 15,000$)

A, *Leu. citreum* GR1; B, *Leu. kimchii* GJ2; C, *Leu. mesenteroides* TA

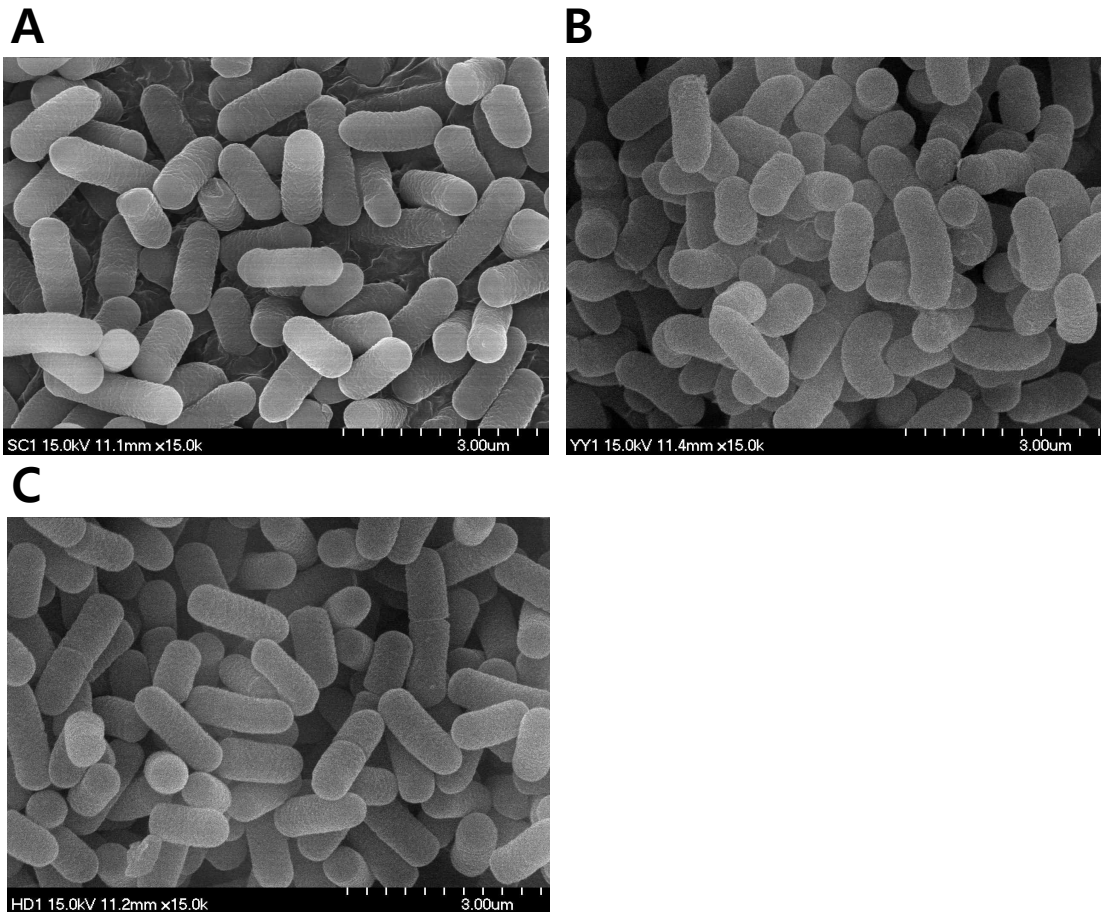


Figure 10. SEM micrograph of *Lactobacillus* sp. growing cell stage in MRS broth ($\times 15,000$)

A, *Lb. sakei* SC1; B, *Lb. sakei* YY1; C, *Lb. plantarum* HD1

제 3 절 선발된 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속별 유산균 생육저해 활성

Weissella 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속은 김치 발효에 관여하는 대표적인 유산균이다. 김치가 익어감에 따라 미생물 천이가 일어나는데, 발효 초기에는 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속이 우점하다가 발효 적숙기 이후부터는 *Lactobacillus* 속이 우점이 되는 것으로 알려져 있으며, *W. koreensis* 같은 경우 발효 전 기간에서 검출되어졌다고 보고되어 있다[7,17].

본 실험에서는 유산균 서로 다른 속끼리 항균활성을 조사하여 이에 김치 안에서 미생물 천이가 일어나는 원인을 규명하고자 유산 균주 속별로 *Weissella* 속 9종에 대하여 *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 생육저해활성, *Leuconostoc* 속 10종에 대하여 *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속 생육저해활성, *Lactobacillus* 속 10종에 대한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 생육저해활성을 관찰하였다.

1. 선발된 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속별 유산균 생육저해 활성조사

이 실험은 균체를 직접 가하는 direct method를 사용하였다. 각각의 지시균은 배지에 1.0×10^6 CFU/mL가 되게 도말하여 준비하였다. 지시균이 도말된 평판배지 위에 배양액 (약 1.0×10^9 CFU/mL)을 1.5 cm 길이로 그어준 후 30°C에서 24시간 배양하여 각각의 유산 균주에 대한 생육 저해 여부를 관찰하였다(Figure 11).

선발 유산균주 *Leuconostoc* 속 10종, *Lactobacillus* 속 10종이 지시균 *Weissella* 속 9종에 대해 생육저해 활성 여부를 Table 4에 나타내었다. *Leu. kimchii* 2종을 제외한 나머지 *Leuconostoc* 속에서 모두 저해활성이 나타났고, 지시균 *W. koreensis* 2종에 대하여 *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. kimchii* C1이 약하게 저해하였다. 이 결과를 보아 *Weissella* 속 대부분은 *Leuconostoc* 속과 *Lactobacillus* 속에 의해 저해되었다.

선발 유산균주 *Weissella* 속 9종, *Lactobacillus* 속 10종의 지시균 *Leuconostoc* 속 10종에 대한 생육저해 활성여부를 조사하여 나타내었다(Table 5). *W. koreensis* 5종 모두 지시균 *Leuconostoc* 속 10종을 저해하지 못하였다. 그러나 *W. confusa* 2종, *W. cibaria* 2종 같은 경우 지시균 *Leuconostoc* 속 10종에 대하여 저해활성을 나타내었다.

Lactobacillus 속 10종 모두 지시균 *Leuconostoc* 속 10종을 저해하였다.

선발 유산균주 *Weissella* 속 9종, *Leuconostoc* 속 10종의 지시균 *Lactobacillus* 속 10종에 대한 생육저해활성을 Table 6에 나타내었다. 그 결과 *W. koreensis* 5종은 모두 지시균 *Lactobacillus* 속 10종에 대해 활성이 나타나지 않았으며, 마찬가지로 *Leu. kimchii* 2종 모두 *Lactobacillus* 속 10종에 대해 활성이 나타나지 않았다.

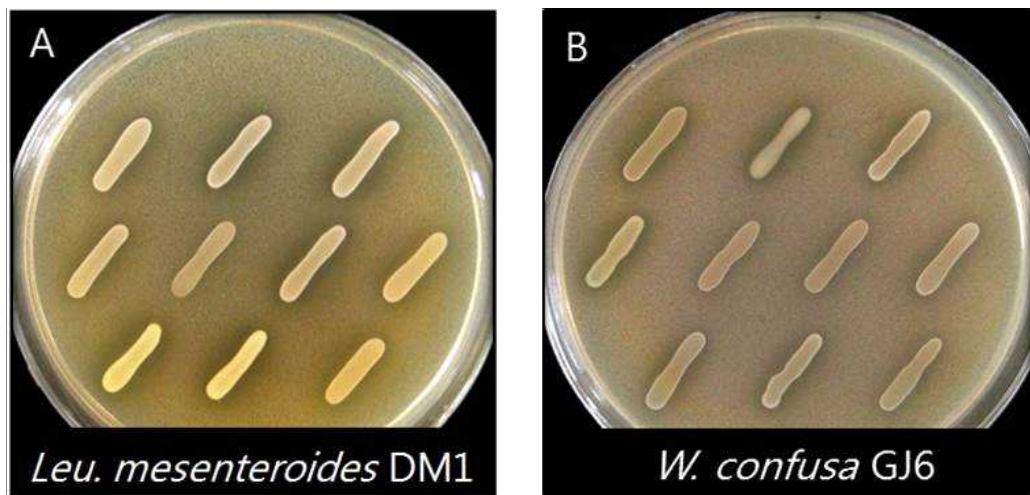


Figure 11. Antagonistic activity of the LAB isolated from kimchi against the other LAB isolated from kimchi by using direct assay

A, antagonistic activity of the *Lactobacillus* 10 strains against *Leu. mesenteroides* DM1; B, antagonistic activity of the *Leuconostoc* 10 strains against *W. confusa* GJ6

Table 4. Antagonistic activity of the *Leuconostoc* and *Lactobacillus* strains isolated from kimchi against *Weissella* spp.

Identification	Strain	Indicator strain									
		<i>W. koreensis</i>				<i>W. confusa</i>		<i>W. cibaria</i>			
		KACC 11853	MG	SK	SJ	HB	GJ6	31	37	KCTC 3746	
<i>Leu. citreum</i>	GJ7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	C3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	C11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	GR1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Leu. kimchii</i>	GJ2	w	-	w	-	-	-	-	-	-	
	C1	w	-	w	-	-	-	-	-	-	
<i>Leu. mesenteroides</i>	PH1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	PH12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	DM1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Lb. sakei</i>	TA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	SC1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	YY1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	WJ1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	JH2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	NJ2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	SI3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	D2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	<i>Lb. plantarum</i>	HD1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		EM	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Lb. curvatus</i>	BU1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Antagonistic activity: +, positive; -, negative; w, weak.

Table 5. Antagonistic activity of the *Weissella* and *Lactobacillus* strains isolated from kimchi against *Leuconostoc* spp.

Identification	Strain	Indicator strain									
		<i>Leu. citreum</i>				<i>Leu. kimchii</i>			<i>Leu. mesenteroides</i>		
		GJ7	C2	C11	GR1	GJ2	C1	PH1	PH12	DM1	TA
<i>W. koreensis</i>	KACC 11853	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SJ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	HB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>W. confusa</i>	GJ6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>W. cibaria</i>	37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	KCTC 3746	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Lb. sakei</i>	SC1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	WJ1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	SI3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	YY1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	JH2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	NJ2	+	+	+	+	+	+	w	+	w	+
	D2	+	+	+	+	+	+	w	+	w	+
<i>Lb. plantarum</i>	HD1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	EM	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Lb. curvatus</i>	BU1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Antagonistic activity: +, positive; -, negative; w, weak.

Table 6. Antagonistic activity of the *Leuconostoc* and *Weissella* strains isolated from kimchi against *Lactobacillus* spp.

Identification	Strain	Indicator strain									
		<i>Lb. sakei</i>					<i>Lb. plantarum</i>			<i>Lb. curvatus</i>	
		SC1	WJ1	SI3	YY1	JH2	NJ2	D2	HD1	EM	BU1
<i>W. koreensis</i>	KACC 11853	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SJ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	HB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>W. confusa</i>	GJ6	+	+	+	+	+	+	+	w	w	+
	31	+	+	+	+	+	+	+	w	w	+
<i>W. cibaria</i>	37	+	+	+	+	+	+	+	w	w	+
	KCTC 3746	+	+	+	+	+	+	+	w	w	+
<i>Leu. citreum</i>	GJ7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	C3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	C11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	GR1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Leu. kimchii</i>	GJ2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Leu. mesenteroides</i>	PH1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	PH12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	DM1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	TA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Antagonistic activity: +, positive; -, negative; w, weak.

2. 조항균 물질에 의한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속별 생육저해 활성 조사

조항균 물질 *Weissella* 속 10종이 지시균 *Leuconostoc* 속의 생육저해활성을 조사한 결과는 Table 7에 나타내었다. 조항균 물질 *W. koreensis* 5종은 지시균 *Leuconostoc* 속에 대하여 저해환의 크기가 10.35~11.43 mm으로 낮은 수치를 보이거나 활성을 보이지 않았다. 또한 조항균 물질 *Weissella* 속 10종 모두 지시균 *Leu. kimchii* GJ2와 *Leu. kimchii* C1에 대하여 활성이 전혀 관찰되지 않았다.

조항균 물질 *Weissella* 속 10종이 지시균 *Lactobacillus* 속에 대한 생육저해활성을 Table 8에 나타내었다. 조항균 물질 *W. koreensis* 5종 모두 지시균 *Lactobacillus* 속에 대해 전혀 활성이 보이지 않았다. 조항균 물질 *W. confusa* 2종과 *W. cibaria* 2종은 *Lb. sakei* 7종 중 4종에 대해서만 활성을 저해하였다. *Lb. plantarum*에 대해서는 활성이 없었으며, 조항균물질 *Weissella* 속 10종 모두 전혀 저해하지 못하였다.

조항균 물질 *Leuconostoc* 속 10종이 지시균 *Weissella* 속에 대한 생육저해활성 결과를 Table 9에 나타내었다. 조항균 물질 *Leuconostoc* 속 10종은 지시균 *Weissella* 속 5종에 대하여 매우 약하게 생육 저해하거나 활성을 보이지 않았다. 전체적으로 *Leuconostoc* 속 10종 모두 지시균 *Weissella* 속 10종에 대하여 저해환 크기가 10.41~12.74 mm로 약한 활성을 보였다.

조항균 물질 *Leuconostoc* 속 10종이 지시균 *Lactobacillus* 속에 대한 생육저해활성 결과를 Table 10에 나타내었다. 조항균 물질 *Leuconostoc* 속 10종 모두는 지시균 *Lactobacillus* 속 10종 중 9종에 대하여 전혀 활성을 보이지 않았으며, 지시균 *Lb. curvatus* BU1에 대해서만 저해하였다.

조항균 물질 *Lactobacillus* 속 10종이 지시균 *Weissella* 속에 대한 생육저해활성 결과를 Table 11, 지시균 *Leuconostoc* 속에 대한 생육저해활성 결과를 Table 12에 나타내었다. 조항균 물질 *Lactobacillus* 속 10종은 지시균 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 20종 모두 저해하였고, 조항균 물질 *Lb. plantarum* 속 2종은 지시균 *Weissella* 속 10종, *Leuconostoc* 속 10종 모두에 대하여 저해환의 크기가 16.39~20.95 mm로 매우 큰 활성을 가졌다. 조항균 물질 *Lactobacillus* 속 10종은 지시균 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 20종 모두 저해하였다. 지시균 *Weissella* 속보다 *Leuconostoc* 속에 대한 활성이 전체적으로 더 큰 것을 관찰하였다.

Table 7. Antagonistic activity of the *Weissella* strains isolated from different kimchi against *Leuconostoc* spp. by using the paper disk method

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)								
		<i>W. koreensis</i>					<i>W. confusa</i>		<i>W. cibaria</i>	
		KACC 11853	MG	SK	SJ	HB	GJ6	31	37	KCTC 3746
<i>Leu. citreum</i>	GJ7	0.00±0.00 ^{e-}	0.00±0.00 ^c _B	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^c _D	0.00±0.00 ⁰ _D	11.25±0.127 ^b _C	11.55±0.11 ^a _C	11.38±0.16 ^{ab} _B	11.39±0.12 ^{ab} _C
	C3	0.00±0.00 ^{d-}	0.00±0.00 ^d _B	10.51±0.23 ^c _{CD}	10.95±0.12 ^b _C	10.62±0.045 ^{bc} _C	12.12±0.110 ^a _B	12.39±0.18 ^a _B	12.39±0.25 ^a _A	12.45±0.18 ^a _B
	C11	0.00±0.00 ^{e-}	0.00±0.00 ^e _B	10.66±0.12 ^d _{BCD}	11.22±0.11 ^c _B	10.93±0.938 ^d _B	12.10±0.130 ^a _B	11.63±0.23 ^b _C	12.23±0.11 ^a _A	12.17±0.09 ^a _B
	GR1	0.00±0.00 ^{d-}	10.56±0.24 ^c _A	10.84±0.22 ^{bc} _B	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ⁰ _D	11.51±0.082 ^a _C	11.68±0.33 ^a _C	11.50±0.42 ^a _B	11.30±0.168 ^{ab} _C
<i>Leu. kimchii</i>	GJ2	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _E	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _D
	C1	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _E	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _D

(continued on next page)

(continued from the previous page)

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)								
		<i>W. koreensis</i>				<i>W. confusa</i>			<i>W. cibaria</i>	
		KACC 11853	MG	SK	SJ	HB	GJ6	31	37	KCTC 3746
<i>Leu. mesente -roides</i>	PH1	0.00±0.00 ^d	10.50±0.06 ^c _A	10.35±0.19 ^c _D	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^d _D	12.55±0.10 ^b _A	12.53±0.13 ^b _B	12.74±0.14 ^{ab} _A	12.86±0.10 ^a _A
	PH12	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^c _B	10.76±0.09 ^b _{BC}	11.15±0.13 ^{ab} _B	11.23±0.21 ^{ab} _A	11.19±0.44 ^{ab} _C	11.53±0.30 ^a _C	11.11±0.17 ^{ab} _B	11.46±0.21 ^a _C
	DM1	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^c _B	0.00±0.00 ^c _E	0.00±0.00 ^f _D	0.00±0.00 ^c _D	11.16±0.14 ^b _C	11.78±0.25 ^a _C	11.51±0.53 ^{ab} _B	11.23±0.21 ^b _C
	TA	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^c _B	11.23±0.09 ^c _A	11.46±0.14 ^c _A	10.93±0.06 ^d _B	12.36±0.16 ^b _{AB}	13.38±0.11 ^a _A	12.21±0.11 ^b _A	12.20±0.09 ^b _B

*Means in each *Weissella* spp. with different superscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$). Means in each row with different subscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 8. Antagonistic activity of the *Weissella* strains isolated from different kimchi against *Lactobacillus* spp. by using the paper disk method

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)								
		<i>W. koreensis</i>					<i>W. confusa</i>		<i>W. cibaria</i>	
		KACC 11853	MG	SK	SJ	HB	GJ6	31	37	KCTC 3746
<i>Lb. sakei</i>	SC1	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.000 ^d	12.67±0.16 ^a _A	11.57±0.06 ^c _B	11.57±0.83 ^c _C	11.84±0.06 ^b _B
	YY1	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.000 ⁻	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^c _C	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^e _E
	WJ1	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.000 ⁻	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^c _C	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ^e _E
	JH2	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.000 ⁻	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^c _C	0.00±0.00 ⁻ _D	0.00±0.00 ^e _E
	NJ2	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.000 ^c	12.01±0.06 ^a _{BC}	11.72±0.16 ^b _B	11.99±0.16 ^a _B	11.97±0.79 ^a _B
	SI3	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.000 ^d	11.80±0.010 ^b _C	12.31±0.15 ^a _A	11.83±0.09 ^b _B	11.47±0.10 ^c _C
	D2	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^e	12.13±0.47 ^d _B	12.37±0.10 ^a _A	12.83±0.95 ^b _A	13.88±0.12 ^a _A

(continued on next page)

(continued from the previous page)

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)								
		<i>W. koreensis</i>					<i>W. confusa</i>		<i>W. cibaria</i>	
		KACC 11853	MG	SK	SJ	HB	GJ6	31	37	KCTC 3746
<i>Lb. plantarum</i>	HD1	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^c _C	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^e _E
	EM	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ⁻	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^c _C	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^e _E
<i>Lb. curvatus</i>	BU1	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	11.39±0.12 ^b _D	11.59±0.80 ^a _B	11.60±0.09 ^a _C	11.21±0.07 ^c _D

*Means in each *Weissella* spp. with different superscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$). Means in each row with different subscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 9. Antagonistic activity of the *Leuconostoc* strains isolated from different kimchi against *Weissella* spp. by using the paper disk method

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Leu. citreum</i>				<i>Leu. kimchii</i>			<i>Leu. mesenteroides</i>		
		GJ7	C3	C11	GR1	GJ2	C1	PH1	PH12	DM1	TA
<i>W. koreensis</i>	KACC 11853	11.41±0.18 ^a _C	11.30±0.17 ^{ab} _{DE}	11.17±0.22 ^{abc} _C	10.97±0.22 ^{bc} _C	11.16±0.16 ^{abc} _{AB}	11.19±0.20 ^{abc} _{AB}	11.09±0.11 ^{abc} _C	10.86±0.08 ^c _E	11.15±0.101 ^{abc} _D	11.42±0.17 ^c _C
	MG	11.49±0.27 ^b _C	12.42±0.32 ^a _A	12.25±0.28 ^a _A	12.32±0.16 ^a _A	11.48±0.24 ^b _A	0.00±0.00 ^f _E	11.44±0.30 ^b _{BC}	11.40±0.03 ^b _{CD}	11.67±0.30 ^b _{BC}	0.00±0.00 ^f _D
	SK	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^f _F	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^c _C	0.00±0.00 ^e _E	10.59±0.35 ^b _D	11.47±0.27 ^a _{CD}	11.79±0.20 ^a _B	0.00±0.00 ^f _D
	SJ	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^f _F	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^d _D	0.00±0.00 ^c _C	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^f _F	0.00±0.00 ^e _E	0.00±0.00 ^d _D
	HB	11.34±0.08 ^a _C	11.58±0.30 ^a _{CD}	11.56±0.15 ^a _{BC}	11.42±0.20 ^a _B	11.17±0.24 ^a _{AB}	0.00±0.00 ^e _E	10.60±0.12 ^b _D	11.46±0.18 ^a _{CD}	11.26±0.16 ^a _D	0.00±0.00 ^f _D

(continued on next page)

(continued from the previous page)

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Leu. citreum</i>				<i>Leu. kimchii</i>			<i>Leu. mesenteroides</i>		
		GJ7	C3	C11	GR1	GJ2	C1	PH1	PH12	DM1	TA
<i>W. confusa</i>	GJ6	12.06±0.08 ^{cb} _B	11.04±0.08 ^d _E	11.23±0.08 ^{cd} _{BC}	11.41±0.19 ^c _B	11.15±0.11 ^{cd} _{AB}	11.46±0.17 ^c _A	12.28±0.21 ^b _A	12.31±0.20 ^b _A	12.74±0.10 ^a _A	12.37±0.06 ^b _A
	31	12.02±0.14 ^a _B	11.96±0.08 ^a _{BC}	11.73±0.47 ^{ab} _{AB}	12.05±0.150 ^a _A	11.62±0.35 ^{ab} _A	10.41±0.16 ^c _D	12.01±0.08 ^a _A	11.92±0.18 ^{ab} _{AB}	12.03±0.09 ^a _B	11.41±0.17 ^b _C
<i>W. cibaria</i>	37	12.55±0.07 ^a _A	12.15±0.16 ^{ab} _{AB}	11.35±0.12 ^{ef} _{BC}	12.12±0.17 ^{bc} _A	11.64±0.29 ^{de} _A	10.59±0.29 ^g _{CD}	11.32±0.11 ^{ef} _C	11.19±0.15 ^f _{DE}	12.02±0.14 ^{bcd} _B	11.72±0.41 ^{cde} _B
	KCTC 3746	11.54±0.12 ^b _C	11.75±0.15 ^b _{BC}	11.43±0.29 ^{bc} _{BC}	12.30±0.21 ^a _A	10.94±0.14 ^c _B	10.99±0.31 ^c _{BC}	11.84±0.15 ^{ab} _{AB}	11.65±0.32 ^b _{BC}	11.39±0.11 ^{bc} _{CD}	11.36±0.07 ^{bc} _C

*Means in each *Leuconostoc* spp. with different superscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).
 Means in each row with different subscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 10. Antagonistic activity of the *Leuconostoc* strains isolated from different kimchi against *Lactobacillus* spp. by using the paper disk method

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Leu. citreum</i>				<i>Leu. kimchii</i>			<i>Leu. mesenteroides</i>		
		GJ7	C3	C11	GR1	GJ2	C1	PH1	PH12	DM1	TA
<i>Lb. sakei</i>	SC1	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C
	YY1	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C
	WJ1	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C
	JH2	0.00±0.00 ^b _B	0.00±0.00 ^b _B	0.00±0.00 ^b _B	0.00±0.00 ^b _B	0.00±0.00 ^b _B	0.00±0.00 ^b _B	0.00±0.00 ^b _B	0.00±0.00 ^b _B	11.30±0.20 ^a _B	11.40±0.06 ^a _B
	NJ2	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C
	SI3	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C
	D2	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C

(continued on next page)

(continued from the previous page)

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Leu. citreum</i>				<i>Leu. kimchii</i>			<i>Leu. mesenteroides</i>		
		GJ7	C3	C11	GR1	GJ2	C1	PH1	PH12	DM1	TA
<i>Lb. plantarum</i>	HD1	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C
	EM	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.0±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _B	0.00±0.00 ⁻ _C	0.00±0.00 ⁻ _C
<i>Lb. curvatus</i>	BU1	12.40±0.09 ^a _A	11.64±0.12 ^b _A	11.26±0.12 ^c _A	12.20±0.05 ^a _A	12.42±0.31 ^a _A	11.54±0.10 ^b _A	11.21±0.13 ^c _A	11.20±0.02 ^c _A	11.65±0.08 ^b _A	12.22±0.01 ^a _A

*Means in each *Leuconostoc* spp. with different superscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).

Means in each row with different subscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 11. Antagonistic activity of the *Lactobacillus* strains isolated from different kimchi against *Weissella* spp. by using the paper disk method

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Lb. sakei</i>					<i>Lb. plantarum</i>			<i>Lb. curvatus</i>	
		SC1	WJ1	SI3	YY1	JH2	NJ2	D2	HD1	EM	BU1
<i>W. koreensis</i>	KACC	12.69±0.17 ^{ef} _{DE}	12.59±0.31 ^f _{BC}	13.99±0.14 ^f _B	11.80±0.08 ^g _{DE}	12.72±0.12 ^f _{CD}	13.26±0.22 ^f _{BCD}	15.17±0.14 ^f _A	18.76±0.22 ^b _{AB}	19.87±0.49 ^f _{AB}	14.06±0.23 ^f _{AB}
	11853										
	MG	13.68±0.18 ^{cd} _{BC}	13.09±0.25 ^{cd} _{AB}	12.61±0.36 ^{ef} _D	13.44±0.58 ^{cd} _{AB}	13.36±0.26 ^{cd} _B	14.07±0.55 ^f _{AB}	12.36±0.20 ^f _E	18.61±0.44 ^b _B	20.54±0.28 ^a _A	13.77±0.33 ^{cd} _{ABC}
	SK	13.42±0.34 ^{cd} _{BC}	12.27±0.19 ^g _C	13.73±0.12 ^c _{BC}	11.82±0.20 ^g _{DE}	12.61±0.26 ^{ef} _D	12.97±0.10 ^{cd} _{CD}	13.19±0.29 ^{cd} _{CD}	16.79±0.14 ^b _C	17.44±0.23 ^c _C	13.25±0.53 ^{cd} _{BCD}
	SJ	12.27±0.05 ^e _E	12.54±0.12 ^c _C	12.70±0.18 ^d _D	12.29±0.12 ^c _{CDE}	12.18±0.01 ^c _D	13.57±0.30 ^b _{ABC}	12.70±0.53 ^c _{DE}	19.55±0.27 ^a _A	20.19±0.53 ^a _{AB}	14.05±0.16 ^b _{AB}
	HB	12.56±0.31 ^d _E	12.40±0.32 ^d _C	12.41±0.15 ^d _D	12.42±0.17 ^d _{CDE}	13.20±0.18 ^c _{BC}	13.54±0.21 ^c _{BCD}	13.65±0.119 ^c _C	18.43±0.11 ^b _B	19.62±0.24 ^a _B	13.69±0.19 ^c _{BC}

(continued on next page)

(continued from the previous page)

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Lb. sakei</i>					<i>Lb. plantarum</i>			<i>Lb. curvatus</i>	
		SC1	WJ1	SI3	YY1	JH2	NJ2	D2	HD1	EM	BU1
<i>W. confusa</i>	GJ6	12.81±0.10 ^d _{DE}	13.11±0.08 ^{cd} _{AB}	13.75±0.05 ^b _{BC}	12.76±0.25 ^d _{BC}	12.65±0.04 ^d _D	13.44±0.37 ^{bc} _{BCD}	12.85±0.23 ^{cd} _{DE}	17.34±0.37 ^a _C	17.63±0.43 ^a _C	13.20±0.14 ^{bcd} _{CD}
	31	13.16±0.47 ^{bc} _{CD}	12.34±0.24 ^{dk} _C	13.45±0.22 ^b _C	11.66±0.14 ^e _E	12.38±0.08 ^d _D	12.86±0.11 ^{bcd} _{CD}	12.55±0.16 ^{cd} _E	17.41±0.57 ^a _C	17.76±0.34 ^a _C	12.67±0.23 ^{cd} _D
<i>W. cibaria</i>	37	13.85±0.01 ^{bcd} _B	13.42±0.17 ^{cdk} _A	14.74±0.23 ^b _A	14.08±0.70 ^{bc} _A	12.66±0.29 ^e _{CD}	12.63±0.81 ^c _D	12.94±0.20 ^{dk} _{DE}	17.56±0.39 ^a _C	17.91±0.48 ^a _C	14.61±0.49 ^b _A
	KCTC 3746	15.20±0.23 ^c _A	13.55±0.25 ^f _A	15.11±0.36 ^{cd} _A	12.56±0.09 ^g _{CD}	14.17±0.45 ^{ef} _A	14.48±0.29 ^{cdk} _A	14.43±0.12 ^{kc} _B	18.38±0.29 ^b _B	20.16±0.12 ^a _{AB}	13.98±0.55 ^{ef} _{ABC}

*Means in each *Lactobacillus* spp. with different superscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$). Means in each row with different subscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).

Table 12. Antagonistic activity of the *Lactobacillus* strains isolated from different kimchi against *Leuconostoc* spp. by using the paper disk method

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Lb. sakei</i>					<i>Lb. plantarum</i>			<i>Lb. curvatus</i>	
		SC1	WJ1	SI3	YY1	JH2	NJ2	D2	HD1	EM	BU1
<i>Leu. citreum</i>	GJ7	15.10±0.08 ^d _{BC}	14.07±0.15 ^c _{CD}	15.75±0.10 ^c _D	12.66±0.39 ^f _{DE}	13.71±0.12 ^c _C	15.28±0.03 ^{cd} _B	13.70±0.11 ^c _C	16.75±0.24 ^b _{CD}	18.54±0.50 ^b _C	12.71±0.23 ^f _E
	C3	13.64±0.30 ^d _F	13.73±0.14 ^d _D	13.82±0.03 ^d _E	11.79±0.13 ^f _{FG}	12.75±0.16 ^c _D	14.51±0.23 ^c _C	13.56±0.25 ^d _C	16.39±0.26 ^b _{DE}	17.14±0.20 ^b _D	13.35±0.13 ^d _D
	C11	14.47±0.31 ^c _{CDE}	13.51±0.39 ^{cd} _D	13.73±0.08 ^d _E	12.18±0.39 ^f _{EF}	13.38±0.17 ^{cd} _C	13.76±0.14 ^d _D	13.56±0.15 ^d _C	17.33±0.26 ^b _C	18.35±0.35 ^b _C	12.84±0.39 ^f _{DE}
	GR1	14.14±0.59 ^{ef} _{EF}	12.77±0.27 ^e _E	13.96±0.33 ^{cd} _E	11.57±0.13 ^f _G	11.66±0.08 ^f _E	14.13±0.19 ^c _{CD}	13.36±0.12 ^{cd} _C	15.76±0.30 ^b _E	17.69±0.20 ^b _D	12.81±0.15 ^e _{DE}
<i>Leu. kimchii</i>	GJ2	15.67±0.16 ^c _{AB}	13.78±0.44 ^d _D	15.70±0.17 ^c _D	13.91±0.18 ^d _B	15.25±0.47 ^c _A	15.31±0.30 ^c _B	15.16±0.14 ^c _B	18.53±0.45 ^b _B	19.54±0.16 ^b _B	15.32±0.12 ^c _B
	C1	16.24±0.08 ^c _A	15.55±0.33 ^{cd} _A	17.68±0.11 ^b _A	14.86±0.25 ^d _A	14.92±0.13 ^d _{AB}	15.27±0.16 ^d _B	14.08±0.26 ^c _C	17.11±0.74 ^b _{CD}	19.21±0.08 ^b _B	15.08±0.11 ^d _{BC}

(continued on next page)

(continued from the previous page)

Indicator	Strain	*Inhibitory zone (mm)									
		<i>Lb. sakei</i>					<i>Lb. plantarum</i>			<i>Lb. curvatus</i>	
		SC1	WJ1	SI3	YY1	JH2	NJ2	D2	HD1	EM	BU1
<i>Leu. mesenteroides</i>	PH1	15.80±0.10 ^{cd} _A	15.24±0.27 ^{ck} _A	16.67±0.21 ^b _B	13.25±0.18 ^f _{CD}	14.66±0.23 ^g _B	16.46±0.23 ^b _A	16.28±0.15 ^{bc} _A	20.15±0.57 ^a _A	20.70±0.22 ^a _A	15.18±0.16 ^{cd} _{BC}
	PH12	14.90±0.26 ^d _{CD}	14.59±0.18 ^d _{BC}	15.93±0.45 ^c _{CD}	12.92±0.27 ^d _D	13.44±0.15 ^e _C	15.27±0.27 ^{cd} _B	15.31±0.69 ^{cd} _B	18.54±0.29 ^b _B	20.76±0.15 ^a _A	15.28±0.09 ^{cd} _{BC}
	DM1	14.31±0.17 ^e _{DE}	15.21±0.01 ^d _{AB}	16.38±0.20 ^f _{BC}	13.55±0.20 ^f _{BC}	13.49±0.24 ^f _C	16.66±0.26 ^c _A	15.27±0.26 ^d _B	19.93±0.07 ^b _A	20.95±0.26 ^a _A	16.39±0.54 ^f _A
	TA	15.69±0.24 ^c _{AB}	15.69±0.16 ^c _A	15.81±0.13 ^c _D	12.67±0.23 ^f _{DE}	13.80±0.15 ^e _C	15.30±0.25 ^c _B	15.33±0.39 ^c _B	18.79±0.16 ^b _B	19.47±0.22 ^a _B	14.61±0.30 ^d _C

*Means in each *Lactobacillus* spp. with different superscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).
 Means in each row with different subscripts letters are significantly different at Tukey's test ($p < 0.05$).

제 4 절 선발된 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 유산균주의 조건별 특성

1. 배양 온도에 따른 생육도

가. 김치냉장고 발효온도에 따른 생육도

대부분 유산균의 생육적정온도는 29~33℃범위로 *Lb. plantarum*은 37℃, *Lb. sakei*는 30℃, *Leuconostoc* 속과 *Weissella* 속은 26℃로 알려져 있다. 그러나 김치는 일반적으로 적당한 익힘과 맛이 좋은 상태를 유지하기 위해 저온에서 발효 시킨다[14, 44].

선발된 유산균 9종 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1의 온도에 따른 생육도를 확인하였다.

유산균 생육 적정온도인 30℃에서 초기균수 약 5.0 log CFU/mL를 접종하여 생육도를 Figure 12에 나타내었으며, 김치냉장고 발효온도 15℃, 6.5℃, 4℃에 따른 생육도와 비교하였다.

15℃에서 초기균수 약 5.0 log CFU/mL를 접종하여 1일 간격으로 7일 동안 배양하여 생육도를 Figure 13에 나타내었다. 그 결과 *Lb. plantarum* HD1을 제외한 나머지 종 모두 2~3일에 정지기에 도달하였고, *Lb. plantarum* HD1는 다른 유산균에 비하여 생육이 더디게 5일 만에 정지기에 도달하였다. Figure 12와 비교하였을 때, 정지기에 이르는 시간은 느려졌으나, 값은 크게 차이 나지 않았다.

6.5℃에서 초기균수 약 5.0 log CFU/mL를 접종하여 7일 간격으로 28일 동안 배양하여 생육도를 Figure 14에 나타내었다. 6.5℃에서의 유산균 생육도와 30℃에서의 생육도를 비교하였을 때, 6.5℃에서 흡광도값이 전반적으로 더 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 *W. koreensis* SK는 30℃에서 최대 2.41~2.69에 비교하여 6.5℃에서 1.81~1.94에 이르러 다른 균주들에 비하여 저온에서도 잘 자라는 것을 관찰할 수 있었다. *W. confusa* GJ6와 *W. cibaria* 37은 1.73~1.84로 매우 미미하였다. *Leuconostoc* 속은 전반적으로 6.5℃에서 왕성하게 자라지는 못하나 다른 균주보다 먼저 자라기 시작하여 3종 모두 1.15~1.40에 이르렀다. *Lb. sakei* SC1과 *Lb. sakei* YY1은 30℃에서 흡광도값이

최대 5.42~6.25까지 이른 것에 비하여 6.5℃에서는 최대 2.36~3.71까지 도달한 것으로 보아 저온에서 왕성하게 자라지는 못하나 어느 정도 생육하고 있음을 알 수 있었다. *Lb. plantarum* HD1은 14일까지 자라지 못하다 28일째에 최대 2.19~2.25까지 이르면서 매우 낮은 값을 보이며, 가장 저온에서 낮은 생육도를 관찰하였다.

4℃에서 초기균수 약 5.0 log CFU/mL를 접종하여 7일 간격으로 28일동안 배양하여 생육도를 Figure 15에 나타내었다. 전체적으로 Figure 14와 비슷한 양상의 생육도를 관찰할 수 있었으며, *W. koreensis* SK는 배양 7일차에 정지기에 이르러 최대 1.89~1.90으로 6.5℃보다는 약간 낮았으나, 4℃에서도 잘 자라는 것으로 관찰되었다. *Lb. sakei* SC1과 *Lb. sakei* YY1은 배양 28일까지 서서히 올라가는 것을 확인하였으나 *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1 그리고 *Lb. plantarum* HD1은 4℃에서 거의 자라지 못하는 것을 확인하였다.

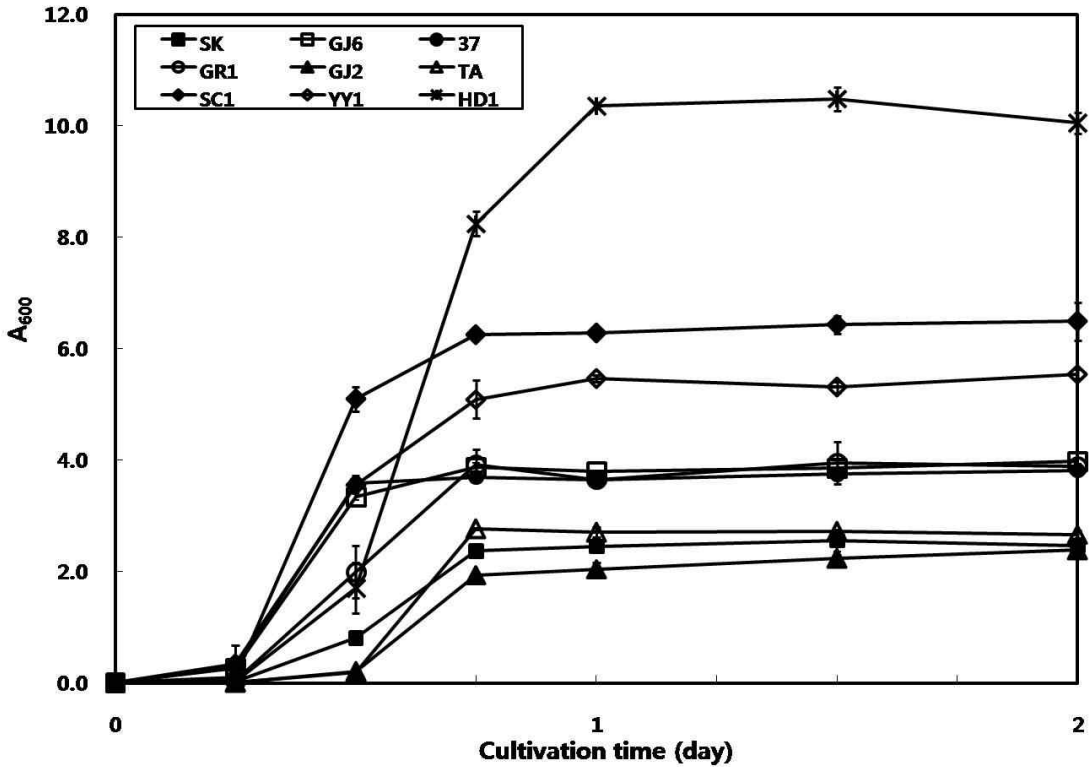


Figure 12. Growth of LAB 9 strains at 30°C for 2 days (initial about 5 log CFU/mL)

■, *W. koreensis* SK; □, *W. confusa* GJ6; ●, *W. cibaria* 37; ○, *Leu. citreum* GR1; ▲, *Leu. kimchii* GJ2; △, *Leu. mesenteroides* TA; ◆, *Lb. sakei* SC1; ◇, *Lb. sakei* YY1; *, *Lb. plantarum* HD1

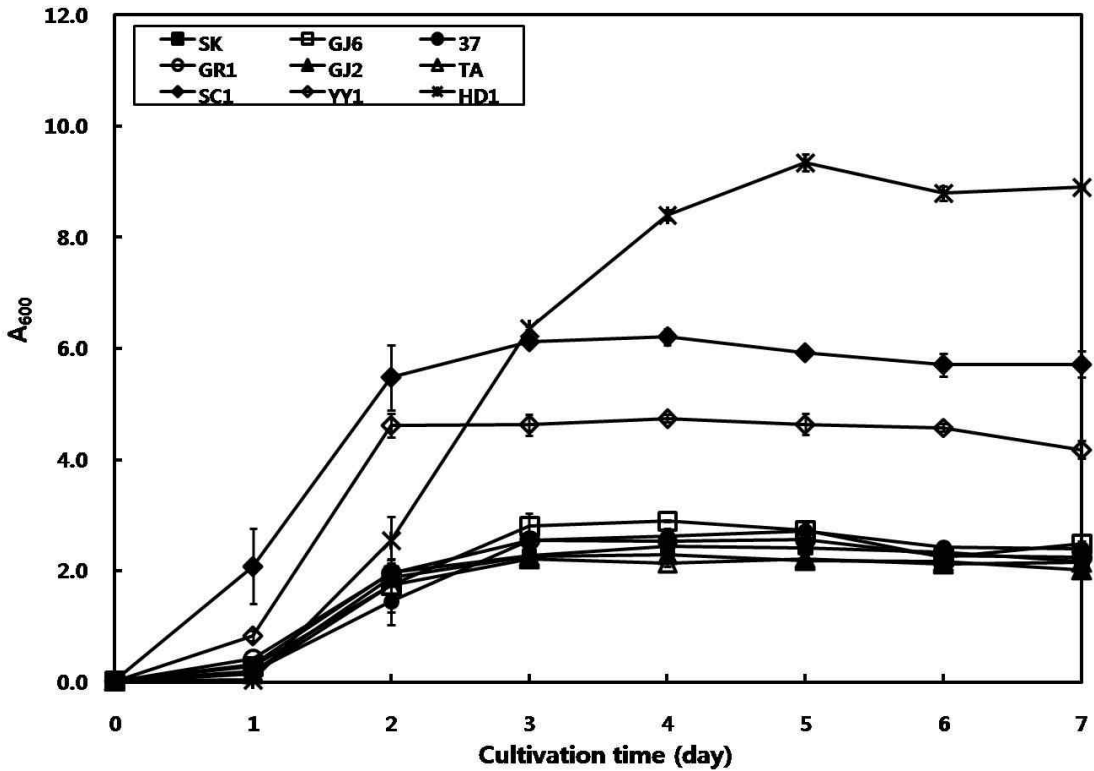


Figure 13. Growth of LAB 9 strains at 15°C for 7 days in MRS media (initial about 5 log CFU/mL)

■, *W. koreensis* SK; □, *W. confusa* GJ6; ●, *W. cibaria* 37; ○, *Leu. citreum* GR1; ▲, *Leu. kimchii* GJ2; △, *Leu. mesenteroides* TA; ◆, *Lb. sakei* SC1; ◇, *Lb. sakei* YY1; *, *Lb. plantarum* HD1

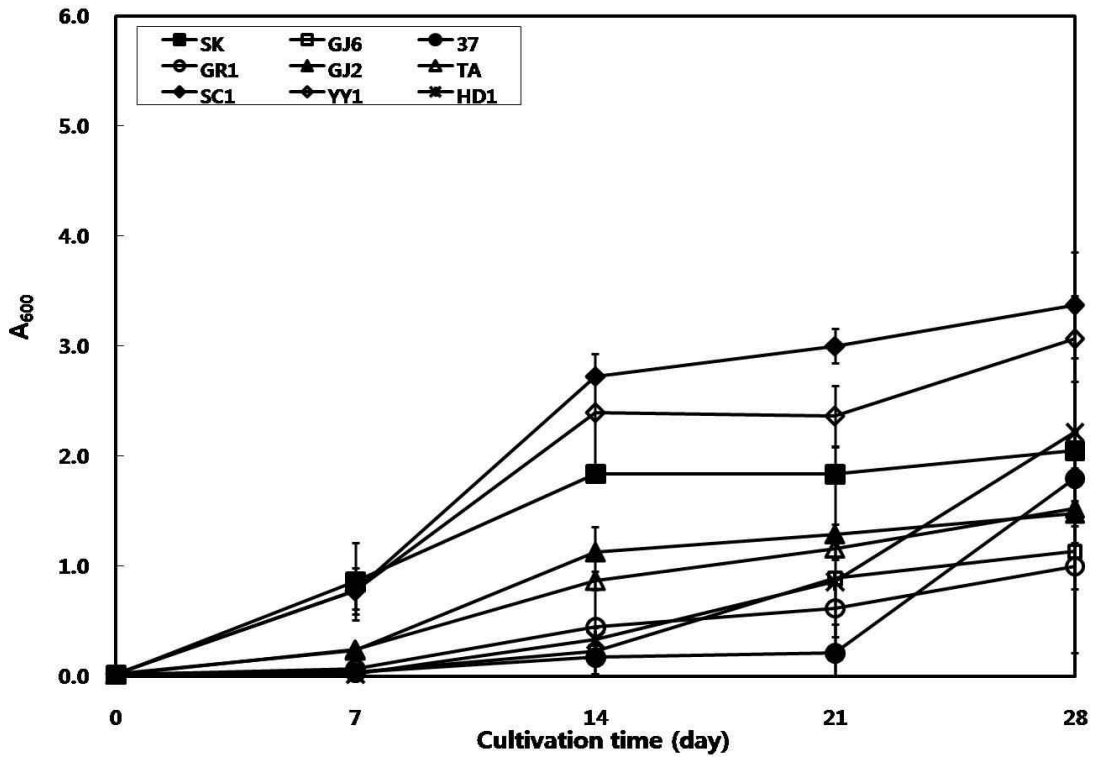


Figure 14. Growth of LAB 9 strains at 6.5°C for 4 weeks in MRS media (initial about 5 log CFU/mL)

■, *W. koreensis* SK; □, *W. confusa* GJ6; ●, *W. cibaria* 37; ○, *Leu. citreum* GR1; ▲, *Leu. kimchii* GJ2; △, *Leu. mesenteroides* TA; ◆, *Lb. sakei* SC1; ◇, *Lb. sakei* YY1; *, *Lb. plantarum* HD1

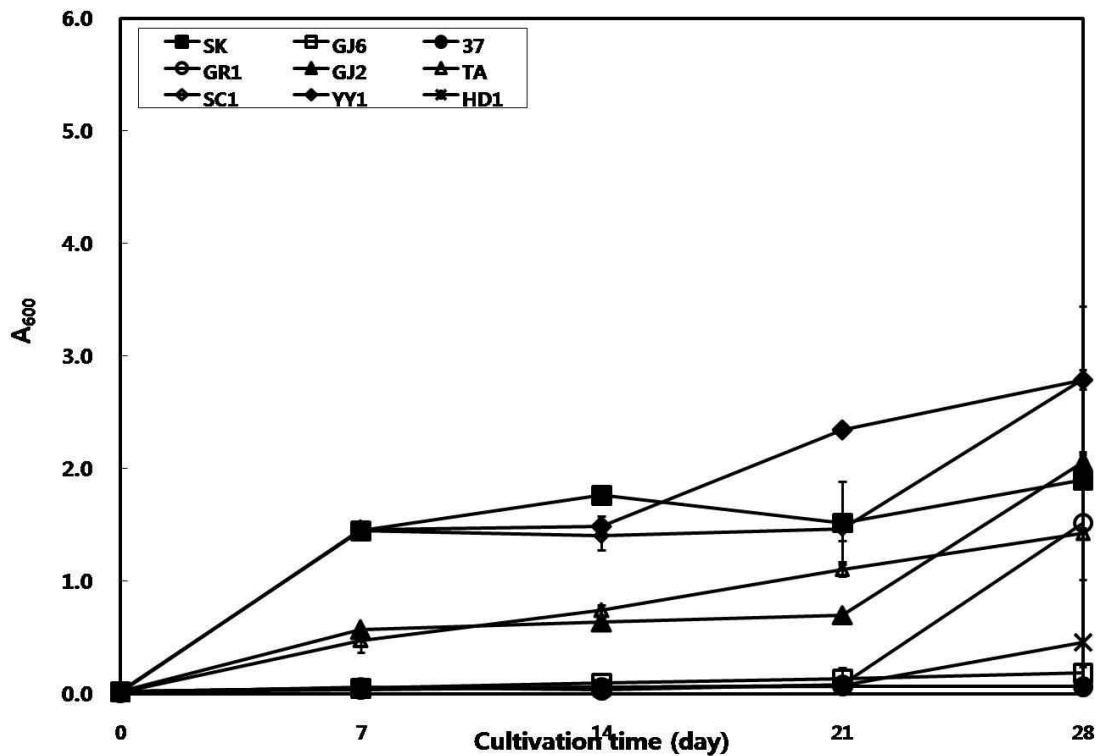


Figure 15. Growth of LAB 9 strains at 4°C for 4 weeks in MRS media(initial about 5 log CFU/mL

■, *W. koreensis* SK; □, *W. confusa* GJ6; ●, *W. cibaria* 37; ○, *Leu. citreum* GR1; ▲, *Leu. kimchii* GJ2; △, *Leu. mesenteroides* TA; ◆, *Lb. sakei* SC1; ◇, *Lb. sakei* YY1; *, *Lb. plantarum* HD1

나. 김치냉장고 보관온도에 따른 생육도

김치의 보관온도인 $-1\sim-2^{\circ}\text{C}$ 에서는 균주가 잘 자라지 못하여 정확한 측정을 위해 배양 4주까지 1주 간격으로, 그 후부터 2주 간격으로 배양 8주 그리고 배양 12주의 생균수를 나타내었다(Figure 16). 보관온도인 $-1\sim-2^{\circ}\text{C}$ 에서 *W. koreensis* SK는 배양 4주째까지 급격하게 생육하여 $8.4\sim 8.5 \log \text{CFU/mL}$ 까지 도달하였으며, 그 후 12주까지 생균수를 거의 유지하였다. 이를 보아 *W. koreensis*가 저온에서 발효한 김치에서 자주 검출되는 보고를 확인할 수 있었다. *W. confusa* GJ6와 *W. cibaria* 37은 6주 동안 천천히 $3.4\sim 3.9 \log \text{CFU/mL}$ 까지 감소하다가 그 후 2주 동안 증가하여 $5.3\sim 6.7 \log \text{CFU/mL}$ 까지 도달하였다.

Leu. kimchii GJ2 그리고 *Leu. mesenteroides* TA는 8주까지 천천히 생육하여 $7.9 \log \text{CFU/mL}$, $6.8 \log \text{CFU/mL}$ 까지 도달하였으며, *Leu. citreum* GR1은 배양 3주까지 유지하다가 약하게 감소하였다. *Lb. sakei* SC1과 *Lb. sakei* YY1은 계속해서 증가하여 배양 8주째에 $8.0\sim 8.4 \log \text{CFU/mL}$ 까지 도달하였으나, *Lb. plantarum* HD1은 서서히 감소하여 배양 8주째에 $4.4 \log \text{CFU/mL}$ 가 되었다. 이는 저온 발효 김치에서는 발효 후기에 *Lb. plantarum*이 검출되지 않는다는 최근의 연구보고가 있는데[22], 이에 원인은 다른 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속이 저온에서 활발하게 자라는데 반해, *Lb. plantarum*은 저온에서 더디게 자라므로, 저온에서 발효한 김치에서 발견되기 어려운 것으로 사료된다.

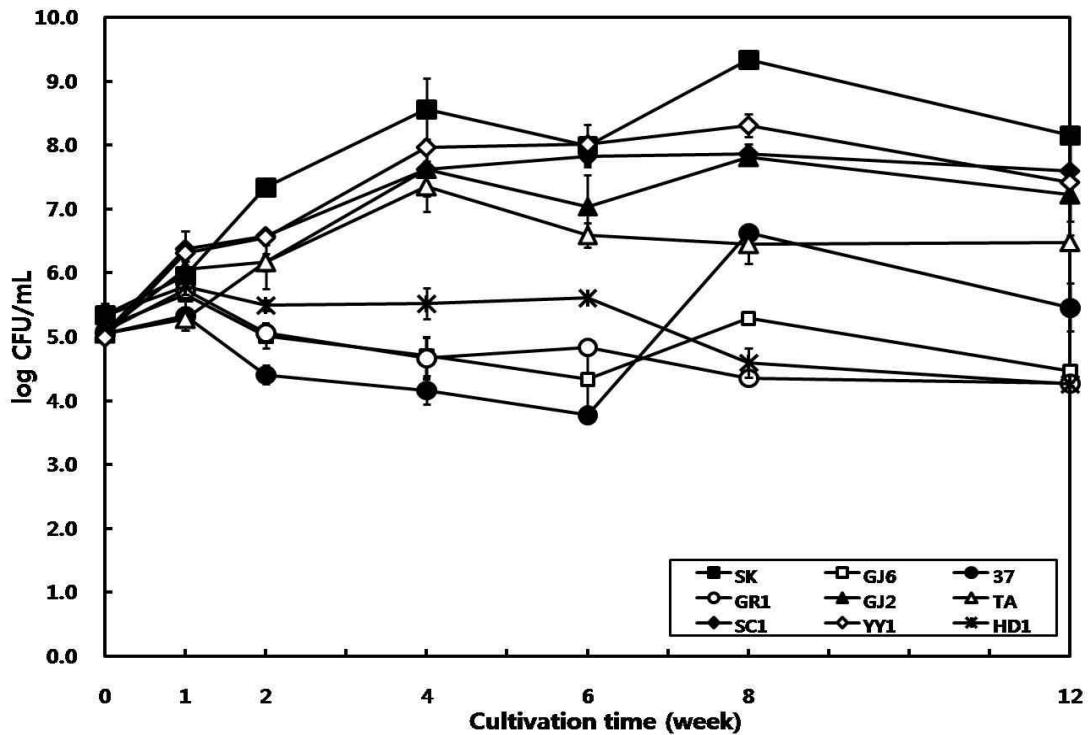


Figure 16. Growth of LAB 9 strains at $-1 \sim -2^{\circ}\text{C}$ for 12 weeks (initial about 5 log CFU/mL)

■, *W. koreensis* SK; □, *W. confusa* GJ6; ●, *W. cibaria* 37; ○, *Leu. citreum* GR1; ▲, *Leu. kimchii* GJ2; △, *Leu. mesenteroides* TA; ◆, *Lb. sakei* SC1; ◇, *Lb. sakei* YY1; *, *Lb. plantarum* HD1

5. 김치 pH에 따른 생육도

선발된 유산균 9종 *W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leuconostoc citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1의 김치의 pH가 성장에 미치는 영향을 조사하기 위해 김치 초기부터 적숙기, 후기의 김치 pH (4.0 그리고 5.0)에서 생육도를 확인하였다. 5 N HCl 용액으로 pH 4.0과 pH 5.0으로 조정된 MRS (Difco)액체배지 30 mL에 초기 균수가 1.0×10^5 CFU/mL가 되게 접종하여 30°C에서 24시간, 48시간 흡광도 (Amersham)를 600 nm에서 측정하였으며, 그에 따른 생균수를 확인하였다.

Figure 17에 *Weissella* 속 3종의 pH 4.0과 pH 5.0으로 조정된 MRS (Difco)액체배지 30 mL에 초기균수 약 5.0 log CFU/mL를 접종하여 30°C에서 24시간, 48시간 흡광도와 생균수를 나타내었다. pH 4.0으로 조정된 배지에서 *W. koreensis* SK는 배양 24시간 때, 생균수가 4.8 log CFU/mL로 낮아졌으며, 48시간에 더 낮아져 3.2~3.6 log CFU/mL를 나타내어 초기 pH가 산성일 경우 *W. koreensis* SK는 살아남지 못하는 것으로 관찰되었다. *W. confusa* GJ6와 *W. cibaria* 37는 pH 4.0으로 조정된 배지에서 7.7~8.4 log CFU/mL까지 자랄 수 있음을 확인하였다. *Weissella* 속 3종 모두 pH 5.0으로 조정된 배지에서는 pH를 조정하지 않은 배지에서의 9.4~10.6 log CFU/mL로 비슷하게 유지하였다.

Figure 18에 *Leuconostoc* 속 3종의 초기 pH에 따른 생육도를 나타내었다. *Leuconostoc* 속 3종 모두 pH 4.0으로 조정된 배지 내에서 거의 생육하지 못하는 것을 확인하였으며, pH 5.0으로 조정된 배지와 pH를 조정하지 않은 배지에서 *Leuconostoc* 속 모두 9.2~10.4 log CFU/mL로 잘 자라는 것을 관찰하였다.

마지막으로 *Lactobacillus*속 3종에 대한 결과는 Figure 19에 나타내었다. *Lb. sakei* SC1과 *Lb. sakei* YY1은 pH 4.0으로 조정된 배지 내에서 48시간에 6.3~7.3 log CFU/mL까지 생육하였다. 그러나 *Lb. plantarum* HD1은 24시간에 7.3~7.9 log CFU/mL에 이르렀으며 배양 48시간에는 9.8~10.1 CFU/mL까지 도달하여 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 그리고 *Lactobacillus* 속 유산 균주들을 통틀어 pH 4.0으로 조정된 배지에서 가장 잘 자라는 것을 확인하였다.

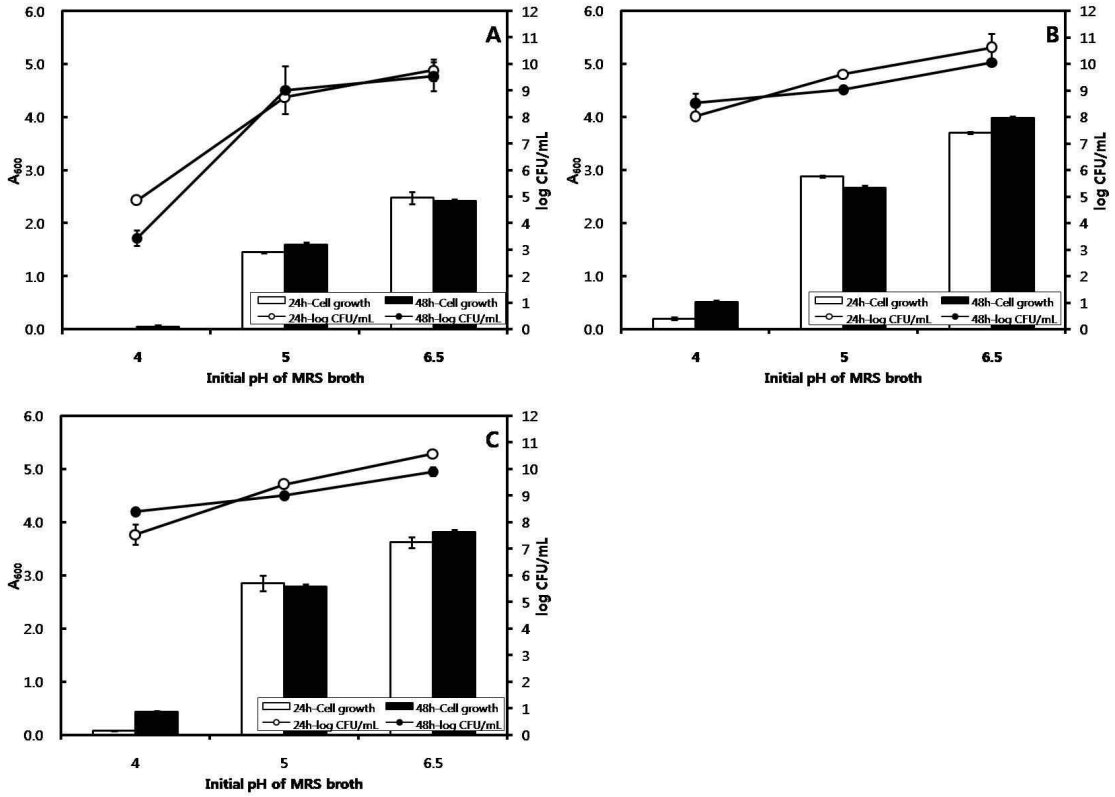


Figure 17. Effects of initial pH of the growth media on the growth of *Weissella* 3 strains

A, *W. koreensis* SK; B, *W. confusa* GJ6; C. and *W. cibaria* 37

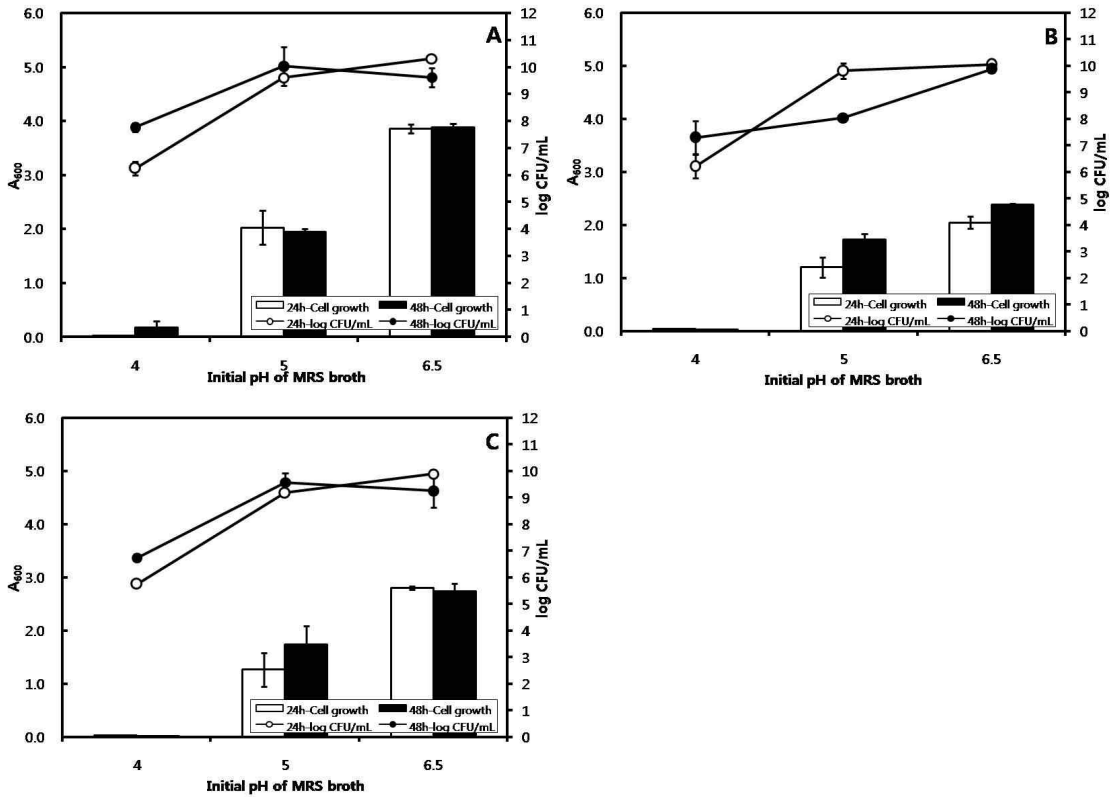


Figure 18. Effects of initial pH of the growth media on the growth of *Leuconostoc* 3 strains

A, *Leu. citreum* GR1; B, *Leu. kimchii* GJ2; C, *Leu. mesenteroides* TA

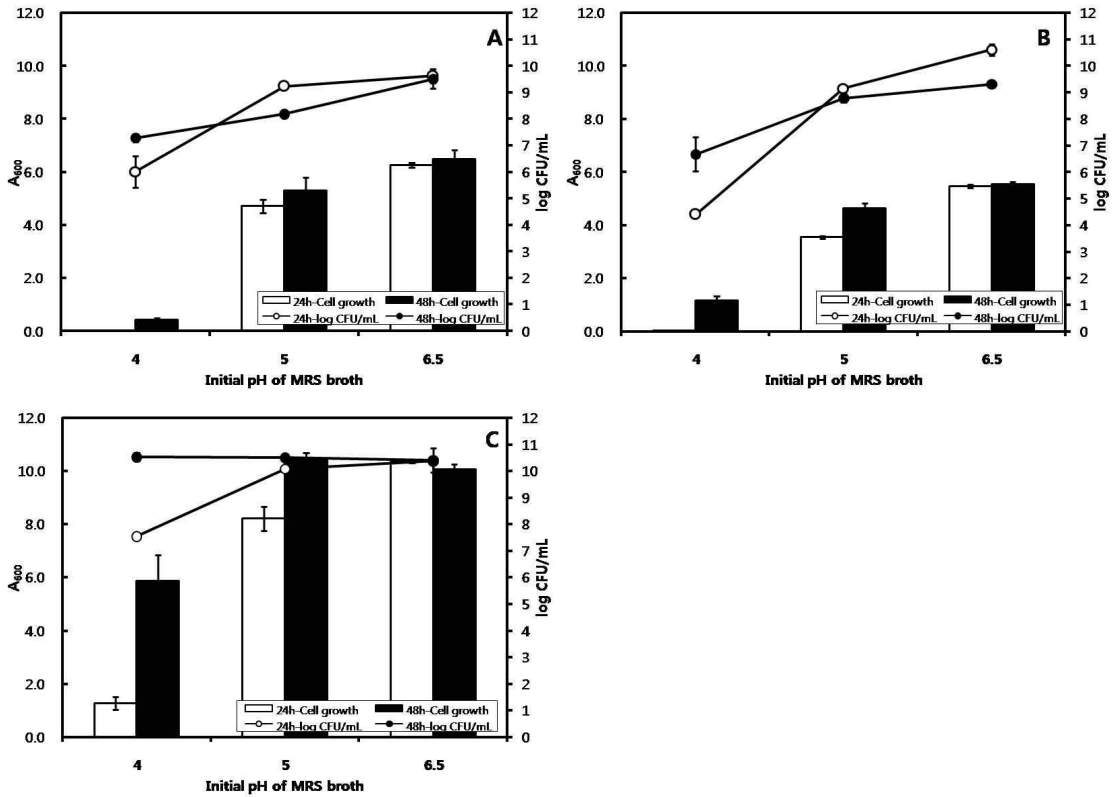


Figure 19. Effects of initial pH of the growth media on the growth of *Lactobacillus* 3 strains

A. *Lb. sakei* SC1; B, *Lb. sakei* YY1; C, *Lb. plantarum* HD1

3. 선발 유산균주에 대한 내산성 평가

일반적으로 유산균의 내산성 평가는 프로바이오틱으로서 역할을 수행하기 위한 기본 특성으로 pH 3.0 이하의 강한 산성조건의 위장관을 통과하여 생존해야하므로 그에 대한 산성 pH에 대한 내성을 측정하기 위하여 실시한다[23].

본 실험은 김치에서의 산성 환경에서 유산균의 생존 능력을 확인하기 위해 pH 4.0 그리고 5.0의 배지에서 내산성을 평가하였다.

선발된 김치 유산균 9종 (*W. koreensis* SK, *W. confusa* GJ6, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. kimchii* GJ2, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. sakei* SC1, *Lb. sakei* YY1, *Lb. plantarum* HD1)를 대상으로 본 실험을 진행하였다.

선발 균주를 MRS (Difco)액체배지 30 mL에 1% (v/v) 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후, 균체 회수를 위해 원심분리 (9,950 ×g, 15 min, 4°C)하였다. 그 후 상정액을 제거하여 균체만 회수하였다. 5 N HCl 용액으로 pH 4.0과 pH 5.0으로 조정된 MRS (Difco)액체배지 30 mL와 대조구 pH를 보정하지 않은 MRS (Difco)액체배지 30 mL에 회수한 균체를 첨가하여 30°C에서 24시간, 48시간, 72시간 배양하면서 생균수를 측정하여 Table 13에 나타내었다.

W. koreensis SK는 pH 4.0에서 24시간까지는 생균수를 유지하였으나, 48시간 이후로는 4.3~4.4 log CFU/mL로 감소하였으며, 이에 *W. koreensis* SK는 산에 대한 내구성이 낮음을 확인하였다. *W. confusa* GJ6와 *W. cibaria* 37은 pH 4.0, 5.0에서 72시간까지 5.4~6.9 log CFU/mL까지 생존하였다.

Leu. citreum GR1의 경우, pH 4.0, 5.0에서 72시간에 약 5.3 log CFU/mL으로 감소하는 것으로 보아 *Leu. kimchii* GJ2와 *Leu. mesenteroides* TA보다 산성 배지에서의 생존율이 낮음을 확인하였다.

Lactobacillus 속 3종 모두 *Weissella* 속과 *Leuconostoc* 속에 비하여 높은 생존율로 내산성이 높은 것으로 평가되었다. 이는 다른 유산균 속보다 산 생성능이 높은 것이 원인으로 생각된다. *Lb. plantarum* HD1은 pH 4.0 그리고 5.0에서 48시간까지 9.3~9.4 log CFU/mL까지 높은 값을 보여 실험 균주 9종 중 산에 대한 내구성이 가장 높은 것으로 평가된다.

Table 13. Effects of acid tolerance of *Weissella* 3 strains, *Leuconostoc* 3 strains and *Lactobacillus* 3 strains (log CFU/mL)

Strain	pH	Cultivation time (hour)			
		0	24	48	72
<i>W. koreensis</i> SK	4.0		9.47±0.15	4.41±0.25	4.30±0.03
	5.0	9.81±0.128	9.38±0.45	6.28±0.76	5.62±0.04
<i>W. confusa</i> GJ6	4.0		8.39±0.16	7.40±0.20	6.29±0.01
	5.0	10.04±0.340	9.63±0.05	7.36±0.09	5.45±0.08
<i>W. cibaria</i> 37	4.0		9.78±0.01	7.43±0.21	6.98±0.19
	5.0	10.30±0.099	10.00±0.27	8.50±0.27	6.41±0.17
<i>Leu. citreum</i> GR1	4.0		7.32±0.16	6.35±0.33	5.32±0.39
	5.0	9.48±0.162	8.80±0.74	7.13±0.63	5.36±0.03
<i>Leu. kimchii</i> GJ2	4.0		8.19±0.13	8.15±0.21	7.72±0.13
	5.0	9.49±0.088	9.78±0.17	7.51±0.43	7.74±0.07
<i>Leu. mesenteroides</i> TA	4.0		8.18±0.14	7.74±0.21	7.41±0.03
	5.0	9.45±0.022	10.03±0.55	7.86±0.05	7.34±0.55
<i>Lb. sakei</i> SC1	4.0		9.01±0.41	8.27±0.04	7.16±0.17
	5.0	9.17±0.085	9.17±0.43	7.79±0.41	7.19±0.06
<i>Lb. sakei</i> YY1	4.0		9.19±0.16	8.67±0.01	7.71±0.47
	5.0	9.22±0.106	9.33±0.39	7.94±0.37	7.37±0.05
<i>Lb. plantarum</i> HD1	4.0		10.01±0.31	9.43±0.00	7.02±0.14
	5.0	10.60±0.107	10.06±0.47	9.32±0.27	8.81±0.10

Values are means ±SD from triplicate determinations.

제 4 장 결 론

최근에는 생태학 연구에 적용되는 비배양 방법 (culture independent method)이 발효 식품들도 고유의 미생물 생태계로 간주되어 발효식품들에도 많이 사용되고 있다.

발효식품인 김치 중 미생물학적 다양성 (bacterial diversity) 및 천이현상 (microbial succession)이 규명되고, 발효 단계별 우점 미생물을 확인하는 연구가 집중적으로 수행되고 있다[2, 17, 18, 40]. 실질적으로 김치의 발효 및 저장특성에 따라 품질, 맛 등이 달라진다. 김치를 어떤 온도, 어떤 환경에서 발효시키고 보관하여야 가장 맛 좋고, 그 상태를 장기간 유지할 수 있는지에 대한 발효 및 저장 특성에 대한 연구는 부족하다.

Weissella 속, *Leuconostoc* 속 그리고 *Lactobacillus* 속 등의 김치 발효 중 가장 흔히 검출되는 유산균들의 특성과 김치 발효 중 역할을 상세히 이해하는 것이 중요하다.

이에 따라 본 연구에서는 김치 맛에 영향을 미치는 유산균들을 토대로 종에 따른 기본 특성을 조사하였다. 그 결과 김치 후기 (pH ≤4.5)에 많이 검출되는 유산균으로는 *Lb. sakei*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. curvatus* 그리고 *W. koreensis*가 많이 검출된다고 알려져 있다[7, 17]. *Lactobacillus* 속의 배양액 pH는 pH 3.8~4.2까지 다른 *Weissella* 속과 *Leuconostoc* 속에 비해 젖산 생성능이 강하여 배양액 pH가 더 낮았으며, 김치 후기 pH를 결정하는 유산균임을 관찰하였다.

유산 균주 속별로 *Weissella* 속 9종에 대하여 *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 생육 저해활성, *Leuconostoc* 속 10종에 대하여 *Lactobacillus* 속, *Weissella* 속 생육저해활성, *Lactobacillus* 속 10종에 대한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 생육저해활성을 direct method, paperdisk method를 통해 조사하였다. *W. koreensis* 5종 모두 지시균 *Leuconostoc* 속 10종을 저해하지 못하였다. 그러나 *W. confusa* 2종, *W. cibaria* 2종 같은 경우 지시균 *Leuconostoc* 속 10종에 대하여 저해활성을 나타내었다. *Lactobacillus* 속 10종 모두 지시균 *Leuconostoc* 속 10종을 저해하였다. 선발 유산균주 *Weissella* 속 9종, *Leuconostoc* 속 10종의 지시균 *Lactobacillus* 속 10종에 대한 생육 저해활성을 Table 6에 나타내었다. 그 결과 *W. koreensis* 5종은 모두 지시균 *Lactobacillus* 속 10종에 대해 활성이 나타나지 않았으며, 마찬가지로 *Leu. kimchii* 2종 모두 *Lactobacillus* 속 10종에 대해 활성이 나타나지 않았다.

김치냉장고 발효온도 6.5°C에서의 유산균 생육도와 30°C에서의 생육도를 비교하였을 때, 6.5°C에서 전반적으로 더 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 *W. koreensis* SK는 다른 균주들에 비하여 저온에서도 잘 자라는 것을 관찰할 수 있었다. *Lb. sakei* SC1과 *Lb. sakei* YY1은 저온에서 왕성하게 자라지는 못하나 어느 정도 생육하고 있음을 알 수 있었다. *Lb. plantarum* HD1은 14일까지 자라지 못하여 가장 저온에서 낮은 생육도를 나타내었다. 또한 김치냉장고 보관온도인 -1~-2°C에서 *Lb. plantarum* HD1은 서서히 감소하여 배양 8주째에 약 4.4 log CFU/mL가 되었다. 이는 저온 발효 김치에서는 발효 후기에 *Lb. plantarum*이 검출되지 않는다는 최근의 연구보고가 있는데[7, 22], 이에 원인은 다른 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속이 저온에서 활발하게 자라는데 반해, *Lb. plantarum*은 저온에서 더디게 자라므로 저온에서 발효한 김치에서 발견되기 어려운 것으로 사료된다. 또한 *W. koreensis* SK는 배양 3주까지 급격하게 생육하여 9.3~9.4 log CFU/mL까지 도달하여 배양 12주까지 약 8.3 log CFU/mL까지 유지하였다. 그리고 *Lb. sakei* SC1과 *Lb. sakei* YY1은 계속해서 증가하여 배양 8주째에 8.0~8.4 log CFU/mL까지 도달하였다.

Cho 등(2006)은 10°C에서 4일간 발효시킨 후 -1°C로 온도를 낮춰 보관한 김치에서 *Leu. citreum*이 초기에 우점을 이루다가 중기, 후기에는 *W. koreensis*와 *Lb. sakei*가 계속 검출되었다. 이는 *W. koreensis*가 저온에서 잘 생육하기 때문이라고 보고하였다 [7].

유산균의 산에 대한 내구성을 평가하였을 때, *Lactobacillus* 속 3종 모두 *Weissella* 속과 *Leuconostoc* 속에 비하여 높은 생존율로 내산성이 높은 것으로 평가되었다. 이는 다른 유산균 속보다 산 생성능이 높기 때문이라고 사료된다. 또한 *Lb. plantarum* HD1이 실험 균주 9종 중 가장 산에 대한 내구성이 높았다. 김치의 적숙기 이후에 pH가 낮아지면 *Lb. plantarum*이 빠르게 증식이 가능하여 김치를 지나치게 시어지게 하는 것의 원인으로 볼 수 있었다.

본 연구에서는 배지 내에서 김치의 미생물 전체적 패턴에 영향을 미칠 수 있는 각각의 요인 (발효 및 저장 온도, pH 등)을 변화하여 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속 그리고 *Lactobacillus* 속 유산균의 종별 그리고 속별 특성을 관찰하였다. 이러한 유산균 속별 특성들을 파악하여 김치에서 발효 및 보관온도 및 시간 등의 조건에 따라 유산균 속의 분포 조절이 가능할 것으로 기대된다. 김치는 살균공정 없이 제조되는 특성을 가지고 있어, 배지 환경과는 다르게 여러 미생물 균총이 다양하게 존재하며, 영양원 조성이 다를 뿐만 아니라 김치에는 양념이 들어있어 복합적으로 작용하기 때문에 이와 같

은 한계를 극복하여 유산균 속의 분포에 따른 관능적 특성까지 조사하여 맞춤형 김치 개발이 가능할 것으로 판단되며, 김치의 세계화와 김치의 산업화를 위해서는 김치의 제조관리에 체계적으로 메뉴얼화된 생산공정 확립과 관리가 필요함을 알 수 있다.

제 5 장 참 고 문 헌

1. Chang J. Y., Choi Y. R., & Chang H. C. 2011. Change in the Microbial Profiles of Commercial Kimchi during Fermentation. *Korean Journal of Food Preservation*, **18**: 786-794.
2. Chang, H. W., Kim, K. H., Nam, Y. D., Roh, S. W., Kim, M. S., Jeon, C. O., ... & Bae, J. W. 2008. Analysis of yeast and archaeal population dynamics in kimchi using denaturing gradient gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*, **126**: 159-166.
3. Chang, J. Y., & Chang, H. C. 2010. Improvements in the Quality and Shelf Life of Kimchi by Fermentation with the Induced Bacteriocin Producing Strain, *Leuconostoc citreum* GJ7 as a Starter. *Journal of food science*, **75**: 103-110.
4. Chang, J. Y., Lee, H. J., & Chang, H. C. 2007. Identification of the agent from *Lactobacillus plantarum* KFRI464 that enhances bacteriocin production by *Leuconostoc citreum* GJ7. *Journal of Applied Microbiology*, **103**: 2504-2515.
5. Cheigh, H. S., Park, K. Y., & Lee, C. Y., 1994. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **34**: 175-203.
6. Chemists, A. A. 1990. Official methods of analysis. Vol. I. 15th ed. AOAC, Arlington, VA.
7. Cho, J. H., Lee, D. Y., Yang, C. N., Jeon, J.I. , Kim, J. H. & Han, H. I., 2006. Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiology Letters*, **257**: 262-267.

8. Cho, Y. R., Chang, J. Y., & Chang, H. C. 2007. Production of γ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. **17**: 104-109.
9. Choi, H. J., Cheigh, C. I., Kim, S. B., Lee, J. C., Lee, D. W., Choi, S. W., ... & Pyun, Y. R. 2002. *Weissella kimchii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium from kimchi. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, **52**: 507-511.
10. Choi, H. J., Lee H.S., S. Her, D.H. Oh, & S.S. Yoon. 1999. Partial characterization and cloning of leuconocin J, a bacteriocin produced by *Leuconostoc* sp. J2 isolated from the Korean fermented vegetable Kimchi. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. **86**: 175-181.
11. Choi, S. Y., Kim, Y. B., Yoo, J. Y., Lee I. S., Chung, K. S., & Koo, Y. J. 1990. Effect of temperature and salts concentration of kimchi manufacturing on storage. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **22**: 707-710
12. Collins, M. D., J. Samelis, J. Metaxopoulos & Wallbanks, S. 1993. Taxonomic studies on some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *Journal of Applied Bacteriology*. **75**: 595-693.
13. Hahn, Y. S., 2003. Effect of salt type and concentration on the growth of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **35**: 743-747.
14. Hong, Y., & Chang, H. C. 2013. Comparison of bacterial community changes in fermenting kimchi at two different temperatures using a denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **23**: 76-84.

15. Jeong, S. H., Lee, H. J., Jung, J. Y., Lee, S. H., Seo, H. Y., Park, W. S., & Jeon, C. O. 2013. Effects of red pepper powder on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, **160**: 252-259.
16. Jeong, S. H., Lee, S. H., Jung, J. Y., Choi, E. J., & Jeon, C. O. 2013. Microbial Succession and Metabolite Changes during Long Term Storage of Kimchi. *Journal of food science*, **78**: 763-769.
17. Jung, J. Y., Lee, S. H., & Jeon, C. O. 2014. Kimchi microflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production. *Applied microbiology and biotechnology*, **98**: 2385-2393.
18. Jung, J. Y., Lee, S. H., Jin, H. M., Hahn, Y., Madsen, E. L., & Jeon, C. O. 2013. Metatranscriptomic analysis of lactic acid bacterial gene expression during kimchi fermentation. *International journal of food microbiology*, **163**: 171-179.
19. Jung, J. Y., Lee, S. H., Kim, J. M., Park, M. S., Bae, J. W., Hahn, Y., ... & Jeon, C. O. 2011. Metagenomic analysis of kimchi, a traditional Korean fermented food. *Applied and environmental microbiology*, **77**: 2264-2274.
20. Kang, J. H., Kang, S. H., Ahn, E. S., Yoo, M. J., & Chung, H. J. 2004. Effect of the combination of fermentation temperature and time on the properties of baechu kimchi. *Journal of the Korean Society of Food Culture*, **19**: 30-42
21. Kim, J. H., Lee K. W., Han N. S., Park J. Y. & Chun J. Y. 2010. Importance of *Weissella* species during Kimchi Fermentation and Future Works. *The Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, **38**: 341-348

22. Kim, M. J., & Chun, J. S. 2005. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16s rRNA gene analysis. *International journal of food microbiology*, **103**: 91-96.
23. Kim, Y. H., Kim, H. Z., Kim, J. Y., Choi, T. B. & Kang, S. M. 2005, Strain improvement of *Leuconostoc mesenteroides* as a acid-resistant mutant and effect on kimchi fermentation as a starter. *Korean journal of microbiology and biotechnology*, **33**: 41-50
24. Ko, K. H., Liu, W., Lee, H. H., Yin, J. & Kim, I. C. 2013. Biological and functional characteristics of lactic acid bacteria in different kimchi. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **42**: 89-95
25. Ko, Y. D., Kim H. J., Chun, S. S. & Sung, N. K. 1994. Development of control system for kimchi fermentation and storage using refrigerator. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **26**: 199-203
26. Lee, J. H. & Lee, K. H., 2011. Isolation of *Leuconostoc* and *Weissella* Species Inhibiting the Growth of *Lactobacillus sakei* from Kimchi. *The Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, **39**: 175-181
27. Lee, E. H., Lee, M. J. & Song, Y. O. 2012. Comparison of fermentation properties of winter kimchi stored for 6 months in a kimchi refrigerator under ripening mode or storage mode. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **41**: 1619-1625
28. Lee, H. J., Yoon, H. S., Ji, Y. S., Kim, H. N., Park, H. J., Lee, J. E., ... & Holzapfel, W. 2011. Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi. *International journal of food microbiology*, **145**: 155-161.

29. Lee, I. S., Park, W. S., Koo, Y. J. & Kang K. H. 1994. Changes in some characteristics of brined Chinese cabbage of fall cultivars during storage. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **26**: 239-245
30. Lee, J. H. 2009. Current studies on the community of lactic acid bacteria in kimchi—a *traditional Korean fermented food*. *Milk Science*, **58**: 153-159.
31. Lee, J. S., Heo, G. Y., Lee, J. W., Oh, Y. J., Park, J. A., Park, Y. H., ... & Ahn, J. S. 2005. Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. *International journal of food microbiology*, **102**: 143-150.
32. Lee, J. S., Lee, K. C., Ahn, J. S., Mheen, T. I., Pyun, Y. R., & Park, Y. H. 2002. *Weissella koreensis* sp. nov., isolated from kimchi. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, **52**: 1257-1261.
33. Lee, K., & Lee, Y. 2010. Effect of *Lactobacillus plantarum* as a starter on the food quality and microbiota of kimchi. *Food Science and Biotechnology*, **19**: 641-646.
34. Lingren, S. E. & W. J. Dobrogosz. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation. *FEMS Microbiology Letters Rev.*, **87**: 149-163.
35. Mheen, T. I., & Kwon, T. W. 1984. Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **16**: 443-449.
36. Nam, Y. D., Chang, H. W., Kim, K. H., Roh, S. W., & Bae, J. W. 2009. Metatranscriptome analysis of lactic acid bacteria during kimchi fermentation with genome-probing microarrays. *International journal of food microbiology*, **130**: 140-146.

37. Noh, J. S., Seo, H. J., Oh, J. H., Lee, M. J., Kim, M. H., Cheigh, H. S., & Song, Y. O. 2007. Development of auto-aging system built in Kimchi refrigerator for optimal fermentation and storage of Korean cabbage Kimchi. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **39**: 432-437.
38. Park, E. J., Chun, J., Cha, C. J., Park, W. S., Jeon, C. O., & Bae, J. W. 2012. Bacterial community analysis during fermentation of ten representative kinds of kimchi with barcoded pyrosequencing. *Food microbiology*, **30**: 197-204.
39. Park, J. A., Heo K. Y., Lee, J. S., Oh, Y. J, Kim, B. Y., Min, T. I., ... & Ahn, J. S. 2003. Change of Microbial Communities in Kimchi Fermentation at Low Temperature. *The Korean journal of microbiology*, **39**: 45-50.
40. Park, J. M., Shin, J. H., Lee, D. W., Song, J. C., Suh, H. J., Chang, U. J., & Kim, J. M. 2010. Identification of the lactic acid bacteria in kimchi according to initial and over-ripened fermentation using PCR and 16s rRNA gene sequence analysis. *Food Science and Biotechnology*, **19**: 541-546.
41. Park, K. B., Kim, S. G., Yu, J. H., Kim, J. S., Kim E. S., Jeon J. I. & Oh, S. H. 2013. Changes in fermentation properties and ornithine levels of Baechu Kimchi by storage condition. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, **26**: 945-951.
42. Ryu, E. H., & Chang, H. C. 2013. In vitro study of potentially probiotic lactic acid bacteria strains isolated from kimchi. *Annals of Microbiology*, **63**: 1387-1395.
43. Ryu, E. H., Yang, E. J., Woo, E. R., & Chang, H. C. 2014. Purification and characterization of antifungal compounds from *Lactobacillus plantarum* HD1 isolated from kimchi. *Food microbiology*, **41**: 19-26.

44. So, M. H. & Lee, Y. S. 1997, Influences of cultural temperature on growth rates of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, **10**: 110-116.
45. Steiles, M. E. & J. W. Hastings. 1991. Bacteriocin producing by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. *Trends in Food Science and Technology*, **2**: 247-251.
46. Tagg, JR., Dajani, AS. & Wannamaker., L. W. 1971. Assay system for bacteriocin. *Applied Microbiology*, **21**: 943.
47. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, **30**: 2725-2729.
48. <http://www.health.com/>

감사의 글

아쉬움이 많이 남는 2년 동안의 석사 생활을 마치며 이 짧고도 긴 시간동안 부족한 저에게 도움을 주시고, 격려해주신 많은 분께 감사한 마음을 전하고 싶습니다.

학부 때부터 지금까지 한결같은 마음으로 배려해주시고, 학문에 대한 열정으로 세심한 지도를 해주신 장해춘 지도교수님께 대단히 감사합니다. 그리고 바쁘신 와중에도 저의 논문을 다듬어주시기 위해 논문 심사를 맡아주신 김복희 교수님 그리고 이주민 교수님께 감사드립니다. 학부 때부터 전공 분야의 학문적 지식을 넓혀 주신 이명렬 교수님, 노희경 교수님, 김경수 교수님 그리고 이재준 교수님께도 감사의 말씀을 전합니다.

지난 3년동안 가족보다 더 함께 지냈던 우리 실험실 식구들 정말 너무 고맙고, 사랑합니다. 항상 따뜻한 마음으로 걱정해주시고, 가족같이 챙겨주셨던 장지운 박사님.. 그리고 세심하지만 무심한 듯 챙겨주는 지금은 실험실의 캡틴이 되어 전체를 이끌고 있는 송희언니, 힘들 때마다 마음 알아주고 다독여주었던 슬기언니, 경험으로 조언해주었던 윤세언니, 꼼꼼함으로 동생을 이끌어주었던 은아언니, 함께 실험하면서 정이 많이 들었던 웅자언니, 그리고 내 동기 힘들 때도 먼저 웃어주고, 마음 공감해주는 우리 설화, 글씨체처럼 반듯하지만 맘은 누구보다 여린 귀여운 성경이, 동생이지만 듬직하니 묵묵히 챙겨주는 해비, 서로 부부 같은 혜란이, 초롱이 막내들까지 정말 모든 이들에게 너무너무 감사합니다.

같이 대학원 생활하면서 자주는 못 봤지만 그냥 존재만으로 힘이 되어준 엄마같이 따뜻한 인우, 힘들어도 항상 웃는 은영이, 같이 있으면 즐거운 정욱이 그리고 내 맘을 다 들여다보고 있는 듯한 혜민이 정말 고맙고 항상 너희를 응원할게!

내 인생의 동반자이자, 나를 그 누구보다 생각해준 내 사람.. 수림이 서영이 예전처럼 자주자주 보지는 못하고, 맨날 힘들다고 징징대는 나를 항상 옆에서 응원해주는 가장 소중한 내 친구들, 너희가 있어 너무 너무 행복하다!

맨날 언제 볼 수 있냐구 서로 보고싶다고 외치던 초롱이, 소현이, 그리고 서로를 엄청 생각했기에 오해도 있었 우리 가현이, 작지만 언니같이 세심하게 날 챙겨주던 우리 지현이, 힘들 때마다 항상 잘될꺼라며 웃음으로 힘이 되어준 우리 동네주민 기찬오빠, 멀리서도 응원해주던 경민오빠 모두 모두 정말 감사합니다.

마지막으로 존재만으로 따뜻하게 해주는 내가 제일 사랑하는 우리 가족, 힘들고 지칠 때마다 든든한 어깨를 내어주신 우리 아빠, 항상 나를 믿고 잘될 것이라 긍정의 힘을

주신 우리 엄마, 은근히 신경 많이 써준 우리 은미, 동생이지만 누구보다 날 따르고 잘 챙겨주는 준석이, 정말 감사하고, 무지 무지 사랑합니다.

항상 격려해주시고 응원해주신 모든 분들께 진심으로 감사드리며, 항상 건강하고 행복 하시길 바랍니다.

저작물 이용 허락서					
학 과	식품영양학과	학 번	20137041	과 정	석사
성 명	한글 김은지		한문 金恩智		영문 Kim Eun Ji
주 소	광주 광역시 북구 운암동 벽산메가시티 203동 103호				
연락처	e-mail : kimej7u7@naver.com				
논문제목	한글: 김치로부터 분리한 <i>Weissella</i> 속, <i>Leuconostoc</i> 속, <i>Lactobacillus</i> 속 특성 규명 영문: Characterization of <i>Weissella</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp., and <i>Lactobacillus</i> sp. isolated from Kimchi				
<p>본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.</p> <p style="text-align: center;">- 다 음 -</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함 2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함. 3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함. 4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함. 5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함. 6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음 7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함. <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">동의여부 : 동의(○) 반대()</p> <p style="text-align: center; margin-top: 10px;">2014년 11월</p> <p style="text-align: right; margin-top: 10px;">저작자: 김은지 (인)</p> <p style="text-align: center; font-size: 1.2em; font-weight: bold; margin-top: 20px;">조선대학교 총장 귀하</p>					