



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](#)

2019年 2月  
碩士學位論文

2019年 2月  
碩士學位論文

광센서 측정에 의한 유산균 생육  
측정 방법에 대한 연구

광센서 측정에 의한 유산균 생육 측정 방법에 대한 연구

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

蔡 昭 貞

蔡 昭 貞

# 광센서 측정에 의한 유산균 생육 측정 방법에 대한 연구

A study on a method to determine growth of lactic  
acid bacteria using photodiode

2019年 2月 25日

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

蔡 昭 貞

광센서 측정에 의한 유산균 생육  
측정 방법에 대한 연구

指導教授 張 海 春

이 논문을 理學碩士學位申請 論文으로 提出함

2018년 10월

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

蔡 昭 貞

# 蔡昭貞의 碩士學位論文을 認准함

委員長 조선대학교 교수 김복희 

委員 조선대학교 교수 이주빈 

委員 조선대학교 교수 장해준 

2018년 11월

朝鮮大學校大學院

## 목 차

LIST OF TABLES .....	iv
LIST OF FIGURES .....	v
ABSTRACT .....	vii
제 1장 서론 .....	1
제 2장 실험 재료 및 방법 .....	4
제 1절 측정 장비의 setting measurement height에 따른 광센서 모니터링 .....	4
제 2절 희석 농도에 따른 광센서 모니터링 .....	4
1. 사용균주 및 배지 .....	4
2. 균주 상태에 따른 광센서 측정 .....	5
제 3절 유산균 생육과 광 검출값 상호간의 standard curve 작성 .....	5
1. 사용균주 및 배지 .....	5
2. 배양 온도에 따른 유산균의 생육도 측정 .....	6
가. 유산균 배양액의 이화학적 변화 측정 .....	6
나. 배양학적 방법에 의한 유산균 수 측정 .....	6
다. 비배양학적 방법에 의한 유산균 수 측정 .....	6
제 4절 김치액에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관관계 측정 ...	9
1. 시료 준비 .....	9
2. 배양 온도에 따른 유산균 생육 .....	9
가. 유산균 배양액의 이화학적 변화 측정 .....	9
나. 배양학적 방법에 의한 유산균 수 측정 .....	9
다. 광센서에 의한 유산균수 측정 .....	10

제 5절 김치에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관관계 측정	12
1. 시료 준비	12
2. 배양 온도에 따른 유산균 생육	12
가. 유산균 배양액의 이화학적 변화 측정	12
나. 배양학적 방법에 의한 유산균 수 측정	12
다. 광센서에 의한 유산균수 측정	13
제 6절 지역김치 및 상품김치 Blank 측정	13
제 7절 광 노출에 따른 유산균 안전성 검사	13
1. 사용 균주 및 배지	13
2. 광원 노출 조건	13
3. 평가 항목	16
가. 일반 특성	16
나. 안전성 특성	16
(1) 용혈성 검사	16
(2) 효소 활성	16
(3) 항생제 내성 검사	17
제 3장 실험 결과 및 고찰	19
제 1절 측정 장비의 setting measurement height에 따른 광센서 모니터링	19
제 2절 희석 농도에 따른 광센서 모니터링	19
제 3절 유산균 생육과 광 검출값 상호간의 standard curve 작성	20
1. 배양 온도에 따른 유산균 생육	20
가. 30℃에서의 유산균 생육	20
나. 10℃에서의 유산균 생육	23
다. -1.5℃에서의 유산균 생육	26
제 4절 김치액에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관관계 측정	28

1. 배양 온도에 따른 유산균 생육 .....	28
가. S사 김치액 배양온도에 따른 생육도 .....	28
나. D사 김치액 배양온도에 따른 생육도 .....	34
제 5절 김치에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관관계 측정 ...	38
1. 김치의 보관 온도에 따른 유산균 생육 .....	38
가. S사 김치 보관온도에 따른 생육도 .....	38
나. D사 김치 보관온도에 따른 생육도 .....	42
다. U사 김치 보관온도에 따른 생육도 .....	45
제 6절 지역김치 및 상품김치 Blank 측정 .....	48
제 7절 광 노출에 따른 유산균 안전성 검사 .....	50
1. 일반 특성 .....	50
2. 안전성 특성 .....	53
가. 용혈성 검사 .....	53
나. 효소 활성 .....	53
다. 항생제 내성 검사 .....	53
제 4장 결론 .....	59
제 5장 참고문헌 .....	62

## LIST OF TABLES

Table 1. List of microorganisms used in the study .....	8
Table 2. Temperature and period of lactic acid bacteria culture .....	11
Table 3. Blank measurement of area kimchi and product kimchi .....	49
Table 4. Morphological characteristic in MRS with and without photodiode .....	51
Table 5. Morphological characteristic in kimchi filtrate with and without photodiode .....	52
Table 6. Hemolysis test of lactic acid bacteria in MRS with and without photodiode .....	55
Table 7. Hemolysis test of lactic acid bacteria in kimchi filtrate with and without photodiode .....	56
Table 8. Enzymatic activities of lactic acid bacteria with and without photodiode .....	57
Table 9. Minimum inhibitory concentration(MIC) of various antibiotics against lactic acid bacteria with and without photodiode ..	58

## LIST OF FIGURES

Figure 1. Photodiode used in this experiment .....	15
Figure 2. Growth of lactic acid bacteria at 30°C for 72 hours in MRS ..	22
Figure 3. Growth of lactic acid bacteria 10°C for 10 days in MRS media .....	25
Figure 4. Growth of lactic acid bacteria at -1.5°C for 5 weeks in MRS ..	27
Figure 5. Growth of lactic acid bacteria at 30°C for 48 hours in kimchi filtrate .....	30
Figure 6. Growth of lactic acid bacteria at 15°C for 14 days in kimchi filtrate .....	31
Figure 7. Growth of lactic acid bacteria at 4°C for 98 days in kimchi filtrate .....	32
Figure 8. Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode (at 6.5°C for 117 hours and then at -2.0°C) for 84 days in kimchi filtrate .....	33
Figure 9. Growth of lactic acid bacteria at 30°C for 72 hours in kimchi filtrate .....	35
Figure 10. Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode (at 6.5°C for 117 hours and then at -2.0°C) for 84 days in kimchi filtrate .....	36

Figure 11. Growth of lactic acid bacteria at storage mode (at  $-1.5^{\circ}\text{C}$ )  
for 84 days in kimchi filtrate .....37

Figure 12. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode  
during fermentation mode and storage mode in S kimchi ...40

Figure 13. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode  
during fermentation mode and storage mode in S kimchi  
broth .....41

Figure 14. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode  
during fermentation mode and storage mode in D kimchi ...43

Figure 15. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode  
during fermentation mode and storage mode in D kimchi  
broth .....44

Figure 16. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode  
during fermentation mode and storage mode in U kimchi ...46

Figure 17. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode  
during fermentation mode and storage mode in U kimchi  
broth .....47

## ABSTRACT

### A study on a method to determine growth of lactic acid bacteria using photodiode

Chae So Jung

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

Department of Food and Nutrition,

Graduate School of Chosun University

The measurement method of lactic acid bacteria using photodiode was studied. The photodiode measurement was based on the principle that the fluorescent material was detected at a wavelength of 460 nm when irradiated with UV of 340 nm. The growth of lactic acid bacteria on the light source was investigated in MRS and kimchi filtrate, and the experiment was applied to Kimchi. The wavelength used in this study is UV-A, which is harmless but can be damaged by continuous exposure. Therefore, the morphological characteristics of the lactic acid bacteria and the safety characterization of the lactic acid bacteria were examined when exposed to the light source.

Six strains of lactic acid bacteria isolated from Kimchi were inoculated into MRS broth and cultivated at 30 °C for 72 hours, at 10 °C for 10 days and at -1.5 °C for 5 weeks. Since the photodiode can be detected by measuring at a bacterial cell count of 8 log CFU/mL or more, the number of bacteria is maximized at the optimum culture temperature of 30°C so that the *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Weissella* spp. classification. At 10°C and -1.5°C, the photodiode values of lactic acid bacteria grown well at each temperature were

changed. At  $-1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , *W. koreensis* SK showed more than 8 log CFU/mL and the photodiode values of 6 kinds of lactic acid bacteria were similar even though the number of *W. koreensis* SK increased to the maximum.

In kimchi filtrate, at  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the number of bacteria increased to 8~9 log CFU/mL as the growth of microorganism was similar to that of MRS. At  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the growth of the bacteria slowly developed and showed a growth rate of 8 log CFU/mL. Although the change of the photodiode value was smaller than  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , classification was possible according to the photodiode value in each species. At  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , fermentation mode ( $6.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 117hours  $\rightarrow -2.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) and storage mode ( $-1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), the maximum growth of 5 lactic acid bacteria except *W. koreensis* SK was 5~7 log CFU/mL. Therefore, the difference of the photodiode value according to the bacteria was insignificant.

In D kimchi, the fermentation mode of fermented kimchi was significantly increased at 1 week after storage and then increased again at 12 weeks after fermentation. In the storage mode, there was no significant increase in the photodiode value until 8 weeks of storage, but it increased significantly at 12 weeks of storage.

In S and U kimchi, in the fermentation mode all showed significant increase at 2 weeks of storage and increased again at 8 weeks of storage. In the storage mode, the change of the photodiode value was small until 4 weeks of storage, but the photodiode value increased significantly at 8 weeks of storage.

There was no change in safety test presence or absence of the light source that the hemolytic test, enzyme activity test, and antibiotic resistance test. However, at  $-1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , *Lactobacillus plantarum* HD1 was found to be activated after more initial incubation time after light exposure.

## 제 1장 서론

김치는 배추와 무 등의 각종 채소류를 소금에 절여 젓갈 및 고춧가루를 비롯한 다양한 부재료를 혼합하여 발효, 숙성시킴으로써 독특한 풍미와 영양을 지닌 우리나라의 대표적인 민족 음식이자 독특한 음식이다[6,7,13,24]. 김치 발효는 김치의 원부재료에 존재하는 미생물들에 의해 이루어진다. 보통 김치 담금 직후에는 호기적인 유산균이 증식하고 발효가 진행됨에 따라 혐기적인 유산균이 우점을 하게 된다[32,34,35]. 김치 발효에 관여하는 미생물에는 *Lactobacillus* 속, *Leuconostoc* 속, *Pediococcus* 속, *Weissella* 속 등으로 나뉘는 것으로 보고되었다[8, 16, 17, 18, 19,36]

미생물의 증식을 측정하는 방법에는 건조균체량 측정법, spectrophotometer를 이용한 광학적 측정법, hemacytometer를 이용한 총균 계수법, 한천배지에 균액의 일정량을 가하고 평판 배양하여 형성된 집락을 계수하는 평판 측정법 등이 있다[37]. 미생물의 증식을 측정할 때에 주로 배지를 이용한 배양학적인 방법을 사용하거나 미생물의 군집의 구조와 다양성을 밝히기 위해 비배양학적인 방법이 이용되고 있다[8, 16, 17, 18, 19,36]. 평판배지 측정법은 배지 제조 및 배양으로 3일 이상의 시간이 소모가 되며 정량 분석이 가능하지만 정성 분석을 하려면 특정한 배지를 사용하여야 한다[6,8]. Genomic DNA의 추출 후 PCR (Polymerase chain reaction)의 단계를 거쳐 DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis)를 이용한 측정 방법은 미생물 군집에서 발생하는 변화를 시각적으로 파악하고 모니터링할 수 있다는 장점이 있다 [22,45]. 하지만 서열의 비교 및 확인을 위하여 가능한 한 다른 분류군의 다양성을 알고 있어야 하며 많은 시간이 소모된다[14]. ATP 측정법은 세포 구성물질인 ATP를 측정하는 방식으로, 미생물 뿐 아니라 유기물질까지 계산하기 때문에 정확한 미생물 측정이 어렵다[42]. 미생물을 영상이나 이미지를 통해 계수하는 방법은 빠른 시간 내에 측정할 수 있지만, 콜로니의 모양에 따라 계수가 되므로 정확한 측정이 어렵다[43].

본 연구에서는 배양학적 방법과 PCR-DGGE 등의 측정에 시간이 많이 소요된다는 점과 spectrophotometer 측정 시 정량 분석은 가능하지만 정확한 정성

분석이 어려운 한계와 고형물이 많은 시료에 대한 측정이 어렵다는 점을 보완하기 위하여 NADH를 이용한 형광의 광센서 측정을 사용하여 미생물의 증식을 정량적이고 정성적으로 측정하고자 한다. NADH는 가장 많이 연구된 생물 전기 분석 분야 중 하나이다[31]. NADH는 자외선을 조사하면 가시광선영역에서 형광을 발생시키는 특성을 가지고 있다. NADH 뿐만 아니라 Vitamin A, Vitamin B<sub>12</sub>, ATP, ADP, Histamine, Phenylalanine 등 다양한 물질들이 있으며, 형광발생물질들은 각 물질별로 조사되는 빛과 검출되는 빛의 파장이 서로 다르다[21,25]. 본 연구에서 사용한 형광발생물질인 NADH의 경우 340±10 nm의 UV를 조사하면 460±10 nm의 파장에서 형광물질이 검출되지만, NAD<sup>+</sup>는 형광물질이 검출되지 않는 특성을 가지고 있으며 항산화 방어에 핵심적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다[5,12,20]. NADH와 NAD<sup>+</sup>는 살아있는 세포 내에서 전자 공여체에서 전자 수용체로 이동하는 중요한 역할을 한다. 미생물은 세포의 대사 작용의 변화에 따라 NADH와 NAD<sup>+</sup> 농도의 비율이 달라지며, 340 nm의 빛을 조사함으로써 형광특성을 가지고 있는 NADH의 농도의 변화를 알 수 있게 되어 세포내의 대사 작용의 변화를 알 수 있게 되는 것이다. 이와 같은 특징을 이용하여 간단하게 미생물의 대사과정 변화를 측정 할 수 있게 된다[12,39,40].

광센서에 의한 미생물 측정법은 340±10 nm의 특정파장을 조사하고, 460±10 nm 부근의 형광 발생을 수신하는 방법이다. 주로 생물배양공정에 적용하여 *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* 등의 미생물의 양을 측정함으로써, 미생물을 이용한 제품의 생산이 효율적이고 정확하게 이루어지는데 사용하거나 수질을 정밀하게 분석하여 오염정도를 판단하기 위하여 사용한다 [5,25,33,47,48,49]. 현재 진행된 연구들을 보면 광센서의 특정 값이 측정이 되었을 때, 단순히 미생물 시료의 오염 정도를 측정하는 수준에 있다.

본 연구에서는 속(genus)이 다른 유산균 6종(*Weissella* spp. 2종, *Leuconostoc* spp. 2종, *Lactobacillus* spp. 2종)을 이용하여 각 유산균의 생육에 따른 광센서 값을 측정하여 유산균 속별의 차이를 확인하고자 한다. 즉, 새로운 유산균 생육 측정 방법으로 광센서 측정에 의한 빠르고 정교한 정량, 정성분석을 하고자 한다.

전자기 스펙트럼은 1미터 이상의 파장을 가진 전파에서 10억분의 1미터 이하의 파장을 가진 엑스레이까지 매우 광범위한 범위를 포함한다. 그 중 단파장 자외선은 3개의 밴드로 나뉜다. UV-A는 가장 해롭지 않고 가장 흔하게 발견되는 유형의 자외선으로 형광 물질에 가시광선을 방출시키는 능력을 가지고 있다. UV-B는 대기에 의해 차단되기 때문에 대기에 완전히 흡수되지 못하면 생물학적 조직을 손상시켜 피부암을 일으킬 수 있다. UV-C는 빠르게 흡수되어서 자연에서는 거의 관찰할 수 없다. UV-C 램프는 세균을 죽일 수 있어서 공기와 물을 정화하는 데 주로 사용이 된다[3,4]. 본 연구에서 광센서를 활용한 유산균 수의 측정방법의 개발과 더불어 광원에 노출되는 유산균에 대한 안전성 검사가 요구가 된다. 실험에 사용하고자 하는 파장은 UV-A에 속하며 이 파장은 가장 해롭지 않지만 지속적인 UV-A의 노출은 피부 깊숙이 침투하여 피부 노화 등 피부의 조직을 손상시킬 수 있으므로 광센서를 활용한 유산균 수 측정 시 사용되는 광원이 유산균에 미치는 영향을 확인하여 돌연변이 여부와 그 결과 발생 할 수 있는 유산균의 유해한 특성 발현에 관한 검증이 필요하다.

본 연구에서는 김치에서 주로 검출되는 유산균 6종 (*Weissella* spp. 2종, *Leuconostoc* spp. 2종, *Lactobacillus* spp. 2종)을 MRS (Difco) 액체배지에 접종하여 유산균의 생육에 따른 광센서 값의 변화를 측정하여 상관관계에 대해 규명하고자한다. 그 이후 김치액과 김치에서의 유산균 생육과 광센서 변화를 측정하여 실제 식품 model system에서 유산균의 생육 측정이 가능한 모니터링 방법인지를 검증하고자 한다. 동시에 이러한 광원 노출에 의한 유산균의 변이 발생 가능성과 유해 특성 발현을 검증하는 안전성 검사를 통하여 본 측정법이 식품 적용 시 유·무해 한지를 판단 할 수 있는 기초자료를 제공하고자 한다.

## 제 2장 실험 재료 및 방법

### 제 1절 측정 장비의 setting measurement height 에 따른 광센서 모니터링

본 연구에서는 ELISA(Victor X3, Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA)와 96-well plate(Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA)를 사용하여 광센서를 측정하였다. 사용 균주로는 *Leuconostoc mesenteroides* TA를 사용하였으며, MRS (DeMan Rogosa Sharpe, Difco, Sparks, MD, USA) 액체 배지에 1% (v/v) 접종하여 30°C, 24시간 정치배양한 후 계대한 배양액을 사용하였으며 측정 높이에 따라 광센서 값의 차이를 확인하였다. 계대한 배양액을 MRS (Difco)에 1% (v/v) 접종하여 0~24시간까지 4시간 간격으로 ELISA(Perkin Elmer) 355 nm 흡광 및 460 nm 발광, Spectrophotometer (Ultra spec 2100 pro, Amersham Bioscience, Bristol, UK) A<sub>600</sub> 에서 흡광도를 측정하였다.

### 제 2절 희석 농도에 따른 광센서 모니터링

#### 1. 사용균주 및 배지

본 실험에서는 통성 혐기성균 중 glucose 대사시 hetero fermentation type인 *Leuconostoc mesenteroides* TA와 homo fermentation type인 *Lactobacillus plantarum* HD1 및 호기성균인 *Escherichia coli* 0157:H7을 사용하였다. *Leu. mesenteroides* TA와 *Lb. plantarum* HD1은 MRS (Difco) 액체 배지에 1%(v/v) 접종하여 30°C에서 24시간 정치배양한 후 계대하여 사용하였으며, *E. coli* 0157:H7은 LB (Luria Bertani; 1% NaCl, 1% Bacto-tryptone,

0.5% Yeast extract, Difco) 액체 배지에 1% (v/v) 접종하여 37°C에서 24시간 진탕배양한 후 계대하여 사용하였다.

## 2. 균주 상태에 따른 광센서 측정

측정 높이를 18.00 mm 조정하여 시료를 단계희석법에 따라 원액, 10배 희석액, 100배 희석액을 96 well plate (Perkin Elmer)에 100  $\mu$ L loading 하여 ELISA (Perkin Elmer) 355 nm 흡광 및 460 nm 발광을 측정하였다. 각 균주에 맞는 배지에 1% (v/v) 접종하여 0~24시간 까지 4시간 간격으로 광센서를 측정하였다. 균주는 24시간 배양한 live cell과 24시간 배양 후 48시간 4°C에 보관한 resting cell 및 24시간 배양 후 autoclave (121°C, 15 min) 한 dead cell을 사용하였다.

## 제 3절 유산균 생육과 광 검출값 상호간의 standard curve 작성

### 1. 사용균주 및 배지

본 실험에서는 김치에서부터 분리, 동정된 유산균 6종 (*Weissella* 속 2종, *Leuconostoc* 속 2종, *Lactobacillus* 2종)을 사용하였다(Table 1). 6종 균주는 모두 MRS (Difco) 액체 배지에 1% (v/v) 접종하여 30°C, 24시간 정치 배양 후 계대한 배양액을 본 배양에 사용하였다. 본 배양액은 각 균주를 담금 직후 김치의 유산균 초기균수에 맞추어 초기균수 약 5.0 log CFU/mL가 되게 MRS (Difco) 액체 배지 30 mL에 접종하여 30, 10, -1.5°C에 각각 배양하여 관찰하였다.

## 2. 배양 온도에 따른 유산균의 생육도 측정

배양 온도에 따른 유산균의 생육을 관찰하기 위하여 30℃에서는 72시간까지, 10℃에서는 2주까지 관찰하였으며, -1.5℃에서는 4주까지 관찰하였다.

### 가. 유산균 배양액의 이화학적 변화 측정

각 온도에서 배양한 배양액을 pH meter (510 pH meter, Fisher, Singapore)로 pH를 측정한 후, A.O.A.C (Association of official analytical chemists)법에 의하여 MRS 10 mL를 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.1이 될 때까지 NaOH 용액 소비량으로 정의하여 이것을 젖산함량으로 환산하여 총산 함량으로 표시하였다.

### 나. 배양학적 방법에 의한 유산균 수 측정

시료는 배양액을 단계희석법을 사용하여 10배 단계 희석하여 MRS (Difco), 0.002% (w/v) bromophenol blue와 L-cystein hydrochloride를 첨가한 MRS, PES (Phenyl ethyl alcohol sucrose), m-LBS (modified-*Lactobacillus* selection) 평판배지에 100  $\mu$ L 도말에 따른 colony forming unit 계수 후 CFU/mL로 표기하였다. MRS (Difco) 와 0.002% (w/v) bromophenol blue와 L-Cystein hydrochloride를 첨가한 MRS 평판배지에서는 균의 colony 모양과 색, 크기를 이용하여 *Weissella* spp., *Leuconosotc* spp., *Lactobacillus* spp.을 구별하였다. PES 평판배지는 균주의 성장 유무 및 점질물을 형성하는 colony를 관찰하여 *Leuconosotc* spp.을 선별하는 배지로 사용하였다[2]. m-LBS 평판배지는 *Lactobacillus* spp. 선별배지로 사용하였다.

### 다. 비배양학적 방법에 의한 유산균 수 측정

MRS 액체 배지 30mL에 1% (v/v) 접종하여 각 온도에서 정치 배양시킨 시료

를 측정 높이 18.00 mm에서 시료를 96 well platen에 100  $\mu$ L loading 하여 광센서(Perkin-Elmer의 Victor X3)와 흡광도(Ultrospec 2100 pro) 600 nm 에서 측정하였다.

Table 1. List of microorganisms used in the study

Genus	Specise & Strain	Medium	Incubation temperature
<i>Weissella</i> spp.	<i>Weissella koreensis</i> SK	MRS	30, 10, -1.5°C
	<i>Weissella cibara</i> 37		
<i>Leuconostoc</i> spp.	<i>Leuconostoc citreum</i> GR1	MRS	30, 10, -1.5°C
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TA		
<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Lactobacillus sakei</i> SC1	MRS	30, 10, -1.5°C
	<i>Lactobacillus plantarum</i> HD1		

## 제 4절 김치액에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관 관계 측정

### 1. 시료 준비

본 실험에서는 시중에서 판매되고 있는 S사와 D사의 김치를 구입하여 사용하였다. 김치는 마쇄하여 멸균된 가아제를 이용하여 2번 여과한 김치여액을  $-72^{\circ}\text{C}$ 에 1~2주 동안 보관 후,  $-1^{\circ}\text{C}$ 에서 녹여서 사용하였다. MRS broth 본 배양액을 김치액 30 mL에 초기균수  $5.0 \log \text{CFU/mL}$ 가 되게 접종하여 각각의 배양 온도에 따른 유산균의 변화를 관찰하였다. 사용한 유산균은 상기 실험과 같이 6종을 사용하였다.

### 2. 배양 온도에 따른 유산균 생육

S사 김치는  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 3일까지,  $15^{\circ}\text{C}$ 에서 14일까지,  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 14주까지, 발효모드 ( $6.5^{\circ}\text{C}$  117 hours  $\rightarrow -2.0^{\circ}\text{C}$ )에서 12주까지 배양하였으며, D사 김치는  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 3일까지, 발효모드( $6.5^{\circ}\text{C}$  117 hours  $\rightarrow -2.0^{\circ}\text{C}$ )에서 12주까지, 보관모드 ( $-1.5^{\circ}\text{C}$ )에서 12주까지 배양하였다(Table 2).

#### 가. 유산균 배양액의 이화학적 변화 측정

시료를 pH meter(Fisher)로 pH를 측정한 후, A.O.A.C법에 의하여 총산 함량으로 표시하였다.

#### 나. 배양학적 방법에 의한 유산균 수 측정

시료는 배양액을 단계희석법을 사용하여 10배 단계 희석하여 MRS (Difco),

0.002% (w/v) bromophenol blue와 L-cystein hydrochloride를 첨가한 MRS, PES, m-LBS 평판배지에 100  $\mu$ L 도말에 따른 colony forming unit 계수 후 CFU/mL로 표기하였다.

#### 다. 광센서에 의한 유산균수 측정

상기된 방법과 동일하게 측정 높이 18.00 mm에서 시료를 96 well plate (Perkin-Elmer)에 100  $\mu$ L loading 하여 광센서 (Perkin-Elmer) 355 nm 흡광, 460 nm 발광을 측정하였다.

Table 2. Temperature and period of lactic acid bacteria culture

Sample	Temperature	Period
S Kimchi filtrate	30°C	0, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72 hours
	15°C	0, 1, 3, 5, 7, 11, 14 days
	4°C	0, 2, 4, 6, 8, 14 weeks
	Fermentation mode (6.5°C 117 hours → -2.0°C)	0, 3, 5, 14, 28, 56, 84 days
D Kimchi filtrate	30°C	0, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72 hours
	Fermentation mode (6.5°C 117 hours → -2.0°C)	0, 3, 5, 14, 28, 56, 84 days
	storage mode (-1.5°C)	0, 4, 8, 12 weeks

## 제 5절 김치에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관 관계 측정

### 1. 시료준비

김치는 시중에서 판매되는 D사 김치, S사 김치, U사 김치를 제조사로부터 당일 생산된 것을 배송 받아 사용하였다. 시료는 김치냉장고용 김치통에 눌러 담아 삼중으로 포장하여 보관하였다. 실험 시 시료는 김치를 마쇄하여 멸균 가야제로 거른 김치여액과 김치 고형물을 제외한 자연적으로 스며 나온 김치 국물을 멸균 가야제로 걸러서 각각 사용하였다.

### 2. 보관 온도에 따른 유산균 생육

사용한 냉장고는 L사 김치냉장고로 발효모드 (6.5°C 117 hours → -2.0°C) 와 보관모드 (-1.5°C) 에 시료를 보관하여 0일, 1주, 2주, 4주, 8주, 12주 때에 시료를 꺼내어 측정하였다.

#### 가. 유산균 배양액의 이화학적 변화 측정

상기된 방법과 동일하게 시료를 pH meter (Fisher)로 pH를 측정한 후, A,O,A,C법에 의하여 총산 함량으로 표시하였다.

#### 나. 배양학적 방법에 의한 유산균수 측정

상기된 방법과 동일하게 시료는 배양액을 단계희석법을 사용하여 10배 단계 희석하여 MRS (Difco), 0.002% (w/v) bromophenol blue와 L-cystein hydrochloride를 첨가한 MRS, PES, m-LBS 평판배지에 100  $\mu$ L 도말에 따른

colony forming unit 계수 후 CFU/mL로 표기하였다.

## 다. 광센서에 의한 유산균수 측정

상기된 동일한 방법으로 측정 높이 18.00 mm에서 시료를 96 well platen(Perkin-Elmer)에 100  $\mu$ L loading 하여 광센서(Perkin-Elmer) 355 nm 흡광, 460 nm 발광을 측정하였다.

## 제 6절 지역김치 및 상품김치 Blank 측정

지역별로 구입한 상품김치 17종을 사용하여 pH meter (Fisher)를 이용한 이화학적 특성과 광센서 (Perkin-Elmer) 355 nm 흡광, 460 nm 발광 측정을 하였다.

## 제 7절 광 노출에 따른 유산균 안전성 검사

### 1. 사용 균주 및 배지

*Weissella* spp. 2종, *Leuconostoc* spp. 2종, *Lactobacillus* spp. 2종을 MRS (Difco)에 1%(v/v) 접종하여 계대한 후 사용하였다. 배양배지로는 MRS (Difco)와 autoclave(121°C, 15 min)하여 멸균된 S사 김치액을 사용하였다. 접종 초기균수는 담금직후 김치의 유산균 초기균수에 근거하여 5.0 log CFU/mL을 배양배지 32mL에 접종하여 사용하였다.

### 2. 광원 노출 조건

광원 기기는 가로 20 cm, 세로 15 cm의 크기로 전원부를 제외하고 총 18개

의 광원부를 균일한 간격으로 제작하였다. 광원 노출 시 시료의 투과를 위하여 뚜껑을 제거한 유리 vial을 사용하였으며, 오염방지를 위하여 광원의 투과가 가능한 Borofloat(쥘서울특수유리)를 두께 0.5 cm로 제작하여 사용하였다(Figure 1).

광원 노출 시 발생하는 열에 의하여 유산균의 생육온도에 영향을 미치지 않고, 유도기, 대수기, 정지기에 고루 광원을 노출시키기 위하여 30℃에서는 5분 동안 광원을 켜고, 85분 동안 광원을 꺼서 24시간 동안 총 50분을 광원에 노출시켰다. 보관모드에서는 광원에 의한 열이 보관온도에 영향을 미치지 않기 위하여 10분 동안 광원을 켜고, 2시간 4분 동안 광원을 꺼서 4주 동안 총 3,009분을 광원에 노출시켰다.

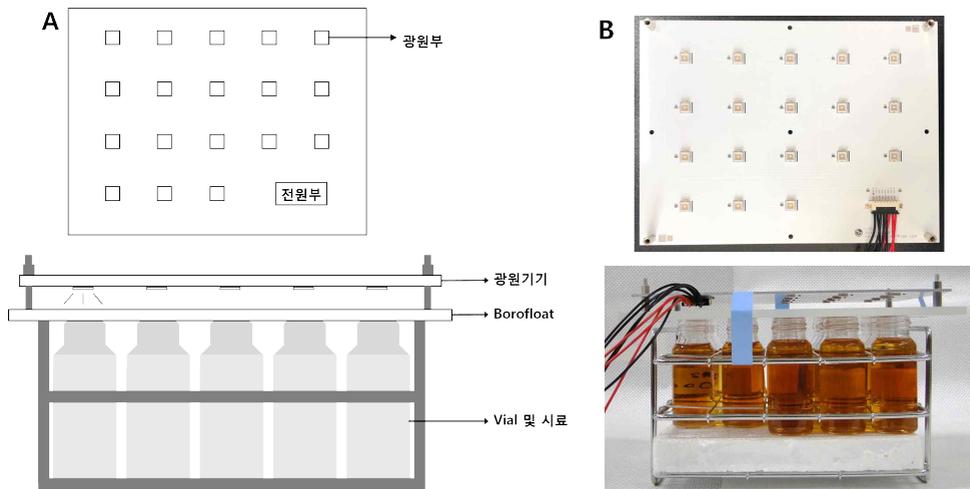


Figure 1. Photodiode used in this experiment

(A) : Photodiode model

(B) : Use acute photodiode

### 3. 평가 항목

#### 가. 일반 특성

생육도 측정을 위하여 단계희석법에 따라 MRS (Difco) 평판배지에 100  $\mu$ L 도말에 따른 colony forming unit 계수 후 CFU/mL로 표기하여 광원 유·무에 따른 변화를 측정하였다. 또한, colony 모양과 색 등 육안검사로 형태학적 특성을 관찰하였다.

#### 나. 안전성 특성

##### (1) 용혈성 검사

광원 노출 유·무에 따라 유산균이 적혈구를 분해하는 현상을 나타내는지 조사하였다. Blood agar base (Oxoid, Hampshire, England) 를 멸균한 후에 7% horse blood (Oxoid) 를 첨가하여 용혈성 배지 (Horse blood agar) 를 만들어서 시료를 백금으로 획선 도말하였다. 배지는 30 $^{\circ}$ C에서 24시간동안 배양 후에 적혈구 용혈에 의한 균체 주위의 투명한 생성 여부를 확인하여 hemolysis 음성, 양성을 판정하였다[15].

##### (2) 효소활성

광원 노출 유·무에 따라 효소 활성에 대한 변화가 있는지 조사하였다. API zym kit (BioMerieux, France)를 사용하였다. 배양액을 원심분리(12,000 rpm, 15 min, 4 $^{\circ}$ C)하여 균체를 회수한 후 멸균수로 현탁액을 준비하였다. 각 cupule에 5 Mcfarland (BioMerieux, France)에 탁도를 맞춘 현탁액을 65  $\mu$ L 씩 떨어뜨린 후, 4시간 동안 37 $^{\circ}$ C에서 암실동안 배양시킨 후, ZYM-A (BioMerieux, France) 시약과 ZYM-B (BioMerieux, France) 시약을 각각 떨어뜨려서 결과를 판독하였다. 판정 방법은 색의 변화 정도를 관찰하여 0~5까지

의 값으로 표시하여 반응이 3이상이면 양성으로 판정하였다(0 = 0 nanomoles, 1 = 5 nM, 2 = 10 nM, 3 = 20 nM, 4 = 30 nM, 5 ≥ 40 nM). 효소는 alkaline phosphatase, esterase, esterase lipase, lipase, leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin, α-galactosidase, N-acetyl-β-glucosaminidase, β-glucuronidase, β-galactosidase, α-fucosidase, α-glucosidase, β-glucosidase, α-mannosidase 로 총 20종이다. 김치액의 경우, 광 노출 처리 후 김치액을 centrifuge 한 뒤 2회에 걸쳐 수세를 했음에도 불구하고 고춧가루(김치여액의 고형물)가 남아있어서 MRS broth에 김치액을 1% 접종하여 30°C에 배양한 후, 균수가 약 8 log CFU/mL가 되었을 때 실험을 진행하였다.

### (3) 항생제 내성 검사

광원 노출 유·무에 따른 항생제 내성의 변화를 측정하기 위하여 액체 배지 희석법 (Broth microdilution method) 을 이용하였다. European Food Safety Authority (EFSA, 2012)에 따라 항생제 8종 (ampicillin, vancomycin, gentamycin, kanamycin, streptomycin, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol) 에 대하여 MIC (Minimum inhibitory concentration) 를 측정하였으며, 항생제는 규정된 용매에 녹인 후 사용하였다[11]. 항생제 내성을 측정하기 위해서 MH (Mueller-Hinton, Difco) 액체 배지에 0.5% dextrose를 첨가한 액체 배지에 각 항생제를 농도별로 준비하였다. 최소 생육 저해 농도 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 를 측정하기 위하여 배양액을 원심분리 (12,000 rpm, 15 min, 4°C) 하였다. 회수한 균체를 0.5% dextrose를 첨가한 MH 액체 배지에 현탁하여 단계별로 준비한 항생제에 접종하여 30°C에서 24시간동안 배양하였다. 항생제에 대한 내성은 Spectrophotometer (Amersham Bioscience) A<sub>600</sub>에서 흡광도를 측정하여 EFSA(2012)의 규정을 참고하여 균주가 증식하지 않는 최소 생육 저해 농도를 결정하였다. *Weissella* spp.은 EFSA(2012)에서 제공하는 항생제 종류별 breakpoint에 대한 guideline이 현재 제공되지 않아서 타 연구논문의 결과를

비교하였다[1, 15]. 김치액의 경우, 광 노출 처리 후 김치액을 centrifuge 한 뒤 2회에 걸쳐 수세를 했음에도 불구하고 고춧가루(김치여액의 고형물)가 남아있어서 MRS broth에 김치액을 10% 접종하여 30℃에 배양한 후, 균수가 약 5~8 log CFU/mL가 되었을 때 실험을 진행하였다.

## 제 3장 실험 결과 및 고찰

### 제 1절 측정 장비의 setting measurement height에 따른 광센서 모니터링

측정 높이에 따라 3차 증류수, MRS (Difco) , LB 액체 배지에서 355 nm 흡광, 460 nm 에서의 발광 값을 측정하였다. 8 mm 높이에서 측정했을 경우 3차 증류수는 63,367, MRS (Difco) 액체 배지는 1,918,761, LB 액체배지는 712,105 값을 나타내었고, 18 mm 높이에서 측정 시 각각 7,629, 197,134, 76,964의 값을 나타내었다. 사용하는 배지에 따라 광센서의 측정값이 달라지며, 8 mm에서 유산균 배양액 측정 시 균에 따른 차이가 없지만 18 mm에서 측정 시에 균에 따른 광센서 값의 차이가 있었다. 이후 18 mm 으로 측정 높이를 설정 후 실험을 진행하였다.

### 제 2절 희석 농도에 따른 광센서 모니터링

460 nm에서 측정 결과 live cell, resting cell, dead cell 모든 시료에서 3~7 log CFU/mL까지 변화를 보이지 않고, 7 log CFU/mL 이후 점차 증가하여 9 log CFU/mL에 최대치에 도달하였다. 균수가 8 log CFU/mL 이상에서 미생물 균수에 의한 광센서 증가를 감지할 수 있었다.

$A_{600}$  에서의 생육과 광센서 460 nm에서의 측정값이 유사한 패턴으로 관찰되었다. 모든 cell 상태에서(live cell, resting cell, dead cell) 광센서 값은 거의 비슷하게 나타났으며 이는 균주에 따라(*Lb. plantarum* HD1, *Leu. mesenteroides* TA, *E. coli* 0157:H7) 광센서 값에 차이가 났다. 광센서의 값 변화폭은 *Lb. plantarum* HD1 > *E. coli* 0157:H7 > *Leu. mesenteroides* TA 순이었다.

## 제 3절 MRS 배지에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관관계 측정

### 1. 배양 온도에 따른 유산균 생육

#### 가. 30℃에서의 유산균 생육

MRS broth에 초기균수 약 5 log CFU/mL가 되게 접종하여 30℃에서 3시간 간격으로 시료를 측정하였으며 72시간까지 배양하였다(Figure 2). *Weissella koreensis* SK는 배양 21시간 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 37,491 증가하였다. 생균수는 배양 12시간 만에 최대 생균수를 나타내었으며 흡광도는 18~21시간 만에 최대 흡광도를 나타내었다. *Weissella cibaria* 37은 배양 15~24시간 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 54,167 증가하였다. 생균수는 배양 9시간 만에 최대 생균수를 나타냈으며 흡광도는 배양 12시간 만에 최대 흡광도를 나타내었다.

*Leuconostoc citreum* GR1은 배양 15~18시간 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 43,009 증가하였다. 생균수는 배양 9~12시간 만에 최대를 나타내었으며 흡광도는 배양 15시간 만에 최대를 나타내었다. *Leuconostoc mesenteroides* TA는 배양 18시간 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 46,402 증가하였다. 생균수는 배양 12~15시간 만에 최대를 나타내었으며 흡광도는 배양 18~21시간 만에 최대로 도달하였다.

*Lactobacillus sakei* SC1은 배양 15~18시간 만에 최대 광센서에 도달하여 초기에 비해 약 77,352 증가하였다. 생균수는 배양 9~12시간 만에 최대 생균수를 나타내었으며 흡광도는 배양 12~15시간 만에 최대를 나타내었다. *Lactobacillus plantarum* HD1은 배양 24시간 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기에 비해 약 117,736 증가하였다. 생균수는 배양 12~15시간 만에 최대로 도달하였으며, 흡광도는 배양 24시간 만에 최대로 도달하였다.

유산균 6종 모두 도달 시간은 다르지만, 생균수가 최대로 먼저 도달한 후에 흡광도 및 광센서 값이 최대로 도달하는 양상을 보였다. 유산균 6종 모두 생균수는  $9 \log$  CFU/mL 까지 도달하였으며 흡광도는 *Lb. plantarum* HD1 > *Lb. sakei* SC1 > *W. cibaria* 37 > *Leu. citreum* GR1 > *W. koreensis* SK > *Leu. mesenteroides* TA 순이었다. 광센서 값은 *Lb. plantarum* HD1 > *Lb. sakei* SC1 > *W. cibaria* 37 > *Leu. mesenteroides* TA  $\geq$  *Leu. citreum* GR1 > *W. koreensis* SK로 나타났다. *W. cibaria* 37이 흡광도 및 광센서 값이 *W. koreensis* SK 보다는 *Leuconostoc* spp.과 더 가까운 이유는 *Leuconostoc* spp.으로 분류되어 있다가 *Weissella* spp. 으로 분류되었기 때문으로 사료된다. 30°C에서 광센서 값은 *Lactobacillus* spp.과 *W. cibaria*를 포함한 *Leuconostoc* spp., *W. koreensis* SK 세 개의 그룹으로 나눌 수 있으며 최대 생균수에 도달하더라도 속에 따라 광센서가 증가하는 값이 다름을 알 수 있었다.

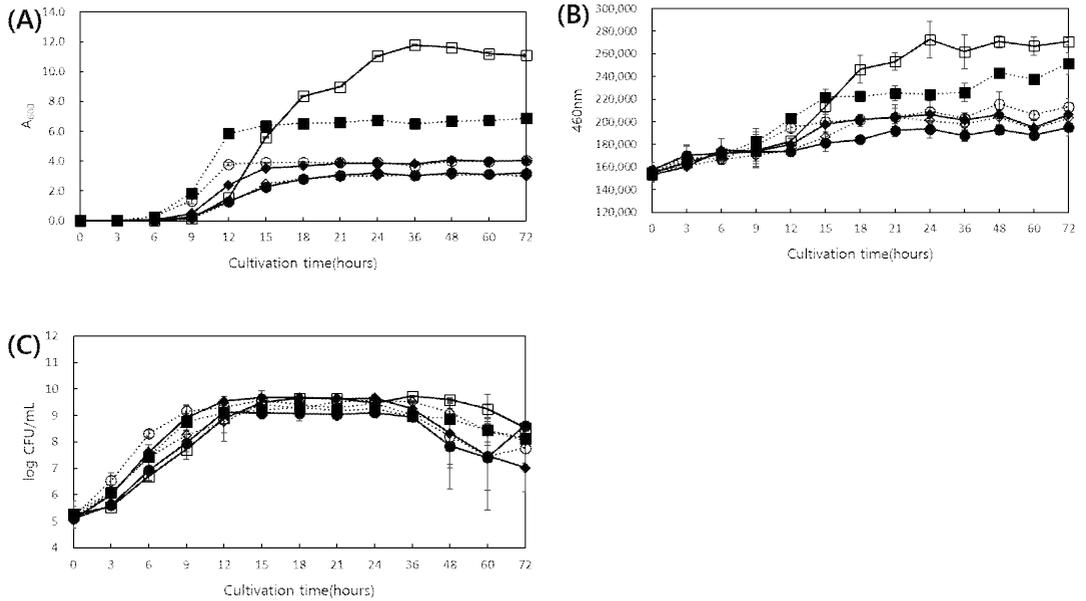


Figure 2. Growth of lactic acid bacteria at 30°C for 72 hours in MRS

(A), Changes in absorbance at 600 nm

(B), Changes in photodiode at 460 nm

(C), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

## 나. 10℃에서의 유산균 생육

MRS broth에 초기균수 약 5 log CFU/mL로 접종하여 10℃에서 10일 동안 배양하면서 1일 간격으로 시료를 측정하였다(Figure 3). *W. koreensis* SK는 배양 5일 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 25,377 증가하였다. 생균수는 배양 5~6일 만에 최대 생균수를 나타내었으며 흡광도는 5~6일 만에 최대 흡광도를 나타내었다. *W. cibaria* 37은 배양 7일 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 22,264 증가하였다. 생균수는 배양 5~6일 만에 최대 생균수를 나타냈으며 흡광도는 배양 7~8일 만에 최대 흡광도를 나타내었다.

*Leu. citreum* GR1은 배양 8일 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 31,505 증가하였다. 생균수는 배양 5~6일 만에 최대를 나타내었으며 흡광도는 배양 6~7일 만에 최대를 나타내었다. *Leu. mesenteroides* TA는 배양 7일 만에 최대 광센서에 도달하였으며 초기 광센서에 비해 약 18,184 증가하였다. 생균수는 배양 5~6일 만에 최대를 나타내었으며 흡광도는 배양 6~7일 만에 최대로 도달하였다.

*Lb. sakei* SC1은 배양 8일 만에 최대 광센서에 도달하여 초기에 비해 약 55,972 증가하였다. 생균수는 배양 4~5일 만에 최대 생균수를 나타내었으며 흡광도는 배양 6~7일 만에 최대를 나타내었다. *Lb. plantarum* HD1은 배양시간에 따라 계속 증가하여 10일에 최대 광센서에 도달하여 초기에 비해 약 48,146 증가하였다. 생균수는 배양 10일 만에 최대로 도달하였으며, 흡광도는 배양 10일 만에 최대로 도달하였다.

30℃와 마찬가지로 생균수가 먼저 최대로 도달하는 시기에도 흡광도 값과 광센서 값은 증가한 후에 최대로 도달하는 양상을 보였다. 유산균 6종 중 *W. cibaria* 37을 제외하고 생균수는 9 log CFU/mL 까지 도달하였으며 유산균의 생육 적온으로 알려진 30℃보다 현저히 낮은 온도이기 때문에 30℃만큼 유산균의 생육이 잘 이루어지지 않는 것이다. 흡광도는 *Lb. sakei* SC1, *Leu. citreum* GR1, *Leu. mesenteroides* TA가 약 9.1~9.2로 비슷한 값을 나타내었으며 *W. cibaria* 37와 *W. koreensis* SK가 약 8.7~8.8을 나타내었다. 30℃에

서는 다른 유산균에 비하여 약 2배 이상의 값을 나타내었던 *Lb. plantarum* HD1이 배양 9~10일이 되어서야 다른 유산균 정도의 흡광도 값을 나타내었다. 광센서 값은 *Lb. sakei* SC1 > *Lb. plantarum* HD1 > *Leu. citreum* GR1 > *W. koreensis* SK > *W. cibaria* 37 ≥ *Leu. mesenteroides* TA로 나타났다. 10℃에서는 *Lb. sakei* SC1과 *W. koreensis* SK, *Leu. citreum* GR1의 생육도가 높았으며, 광센서 값도 *Lb. sakei* SC1이 가장 큰 변화폭을 보였다. *Lb. plantarum* HD1은 배양 6일까지는 다른 유산균들과 비슷한 값을 나타내다가 7일 이후부터는 증가하기 시작했지만 생육 적은인 30℃와 비교하면 증가폭이 작았다. *W. koreensis* SK, *Leu. citreum* GR1이 그 뒤를 이어 생육도가 높았는데 광센서 값의 증가폭이 *Leu. citreum* GR1이 더 큰 이유는 30℃에서 *W. koreensis* SK의 증가폭이 가장 작았던 것과 같은 이유로 볼 수 있겠다. 생육 적은보다 낮은 온도에서 유산균을 배양한 결과 10℃에서 더 잘 생육하는 유산균의 광센서 증가값이 더 크다는 것을 알 수 있었다.

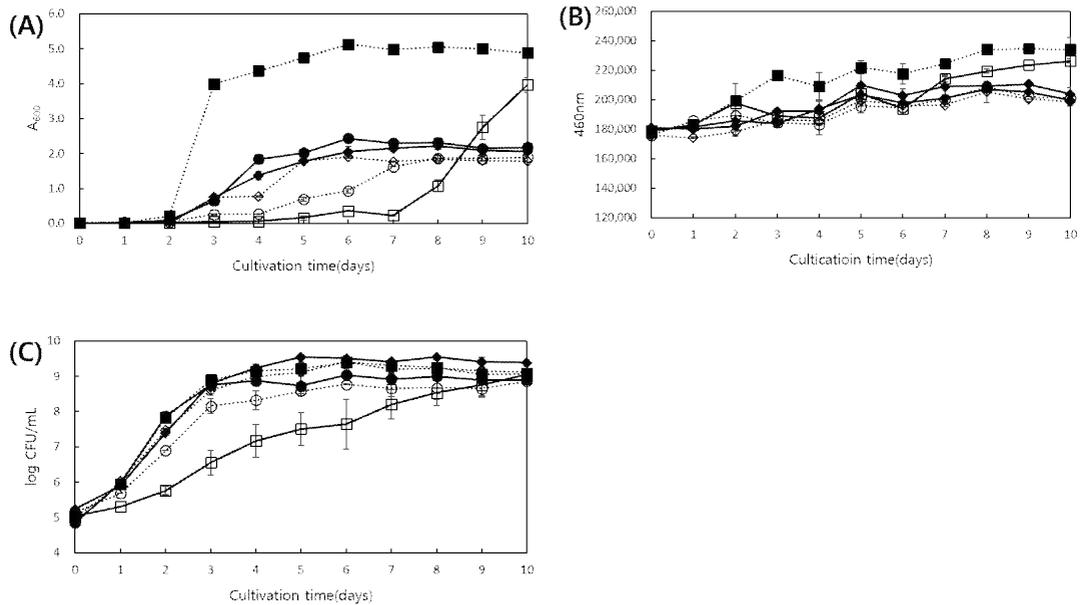


Figure 3. Growth of lactic acid bacteria at 10°C for 10 days in MRS

(A), Changes in absorbance at 600 nm

(B), Changes in photodiode at 460 nm

(C), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

## 다. -1.5℃에서의 유산균 생육

MRS broth에 초기균수 약 5 log CFU/mL로 접종하여 -1.5℃에서 5주 동안 배양하면서 1주 간격으로 시료를 측정하였다(Figure 4). 유산균 6종의 흡광도 값을 측정한 결과 *W. koreensis* SK이 가장 큰 변화를 보였으며 *Lb. sakei* SC1은 초기에 비해 약간 증가하였다. 생균수를 측정한 결과 *Leu. citreum* GR1, *Lb. plantarum* HD1은 초기균수 약 5 log CFU/mL를 유지하였으며, *W. cibaria* 37은 4주 이후 생균수가 약 4 log CFU/mL로 감소하였다. *Leu. mesenteroides* TA는 약 6.5~7 log CFU/mL를 유지하였으며 *Lb. sakei* SC1은 약 7.5 log CFU/mL를 나타내었고, *W. koreensis* SK는 약 8.7 log CFU/mL로 높은 생육도를 나타내었다. 광센서 값을 보면 유산균 6종 모두 비슷한 값을 나타내었다. 이는 -1.5℃에서 *W. koreensis* SK를 제외하고 모두 8 log CFU/mL 이하이기 때문에 광센서 값을 나타내지 못한 것으로 사료된다. 또한, *W. koreensis* SK는 30℃ 및 10℃에서 최대 생육에 도달해도 증가폭이 크지 않았기 때문에 -1.5℃에서 생육도가 높았지만 광센서 값은 큰 증가폭을 보이지 않았다.

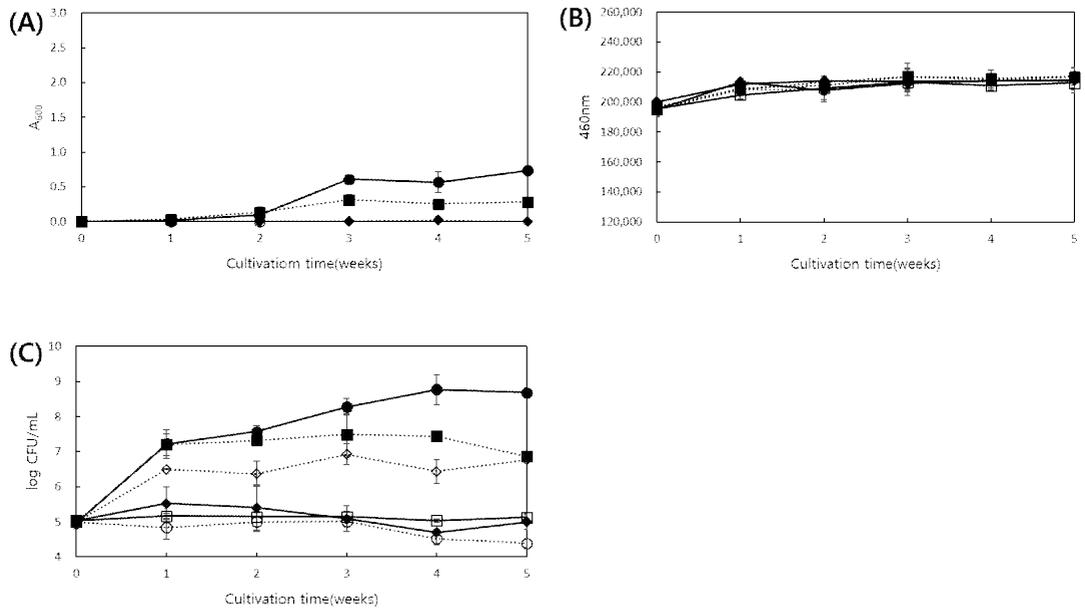


Figure 4. Growth of lactic acid bacteria at -1.5°C for 5 weeks in MRS

(A), Changes in absorbance at 600 nm

(B), Changes in photodiode at 460 nm

(C), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

## 제 4절 김치액에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관관계 측정

### 1. 배양 온도에 따른 생육도

#### 가. S사 김치액 배양온도에 따른 생육도

시중에서 판매되는 S사 김치를 구입하여 김치를 마쇄하여 멸균된 가아제로 여과한 김치액을 약 -72℃에서 1~2주 보관 후 약 -1℃에서 녹여서 실험에 사용하였다.

30℃에서 초기균수 약 5 log CFU/mL를 접종하여 12시간 간격으로 48시간까지 배양하였다(Figure 5). *Lb. plantarum* HD1은 24~36시간 만에 최대 생육도 9.0 log CFU/mL에 도달하였으며 광센서 값은 72시간에 35,683±837로 유산균 6종 중 가장 높은 광센서를 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 24시간 만에 최대 생육도(8.9 log CFU/mL)에 도달하였으며 광센서 값은 72시간에 33,178±304로 나타내었다. *W. koreensis* SK는 12시간 만에 최대 생육도에(8.7 log CFU/mL) 도달하였으며 광센서 값은 72시간에 34,377±631로 나타내었다. MRS (Difco) 액체 배지에서 실험한 결과와 같이 30℃에서는 유산균 6종 모두 최대 생균수가 약 9 log CFU/mL에 도달하여 *Lactobacillus* 속의 광센서값이 가장 높았으며 *Leuconostoc* 속, *Weisslla* 속이 그 뒤를 이었다. MRS (Difco) blank 값과 김치액의 blank값의 차이가 있어서 유산균 속 간의 광센서 차이가 작게 나타났지만 속 별로 구분이 되었다.

15℃에서 초기균수 약 5 log CFU/mL를 접종하여 1일 간격으로 14일까지 배양하였다(Figure 6). *W. koreensis* SK를 제외한 유산균 5종은 최대 생육도 9.0 log CFU/mL에 도달하지 못하였다. *Lb. plantarum* HD1은 11~14일에 생육도 8.4 log CFU/mL에 도달하였으며 광센서 값은 2주에 34,437±38으로 유산균 6종 중 가장 높은 광센서를 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 5일에 생육도 8.1 log CFU/mL에 도달하였으며 광센서 값은 2주에 32,353±424로 나타

내었다. *W. koreensis* SK는 3일에 생육도 8.6 log CFU/mL에 도달하였으며 광센서 값은 2주에 32,675±471으로 나타내었다. *W. koreensis* SK를 제외한 유산균 5종은 9 log CFU/mL에 도달하지 못했지만 최대 생균수 8 log CFU/mL를 도달하였기 때문에 30°C에서처럼 유산균 각각의 광센서값의 변화를 측정할 수 있었다. 최대로 생육하지 못해서 30°C에서만큼 속 간의 차이가 더 작게 나타났지만, 구분은 가능하였다.

4°C에서 초기균수 약 5 log CFU/mL를 접종하여 1주 간격으로 14주까지 배양하였다(Figure 7). 유산균 6종 모두 최대 생육도 9.0 log CFU/mL에 도달하지 못하였다. *Lb. plantarum* HD1은 14주 동안 5.0 log CFU/mL를 유지하였으며 광센서 값은 2~6주 기준 28,358~30,916으로 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 2주에 생육도 6.2 log CFU/mL에 도달하였으며 광센서 값은 2~6주 기준 29,524~31,447으로 나타내었다. *W. koreensis* SK는 2주에 생육도 7.7 log CFU/mL 도달하였으며 광센서 값은 2~6주 기준 29,550~31,330으로 나타내었다.

발효모드 (6.5°C, 117 hours → -2.0°C) 에서 초기균수 약 5 log CFU/mL를 접종하여 1주 간격으로 12주까지 배양하였다(Figure 8). 유산균 6종 모두 최대 생육도(≈9.0 log CFU/mL)에 도달하지 못하였다. *Lb. plantarum* HD1은 12주 동안 5.0 log CFU/mL를 유지하였으며 광센서 값은 2~4주 기준 30,255~31,960으로 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 2주에 생육도 7.0 log CFU/mL에 도달하였으며 광센서 값은 2~4주 기준 30,719~31,903으로 나타내었다. *W. koreensis* SK는 5일에 생육도 8.3 log CFU/mL에 도달하였으며 광센서 값은 2~4주 기준 30,605~32,316으로 나타내었다.

유산균의 최적 생육 온도로 알려진 30°C와 중온인 15°C에서는 유산균의 생육이 이루어져서 유산균 속별로 광센서 값의 차이가 나타났지만, 4°C와 발효모드에서는 *W. koreensis* SK를 제외하고 생균수가 7 log CFU/mL이하를 나타내었고, 광센서 값의 차이가 미미하였다. 이러한 결과는 MRS 액체 배지 실험에서처럼 8 log CFU/mL 이상으로 유산균이 생육했을 때 광센서 값이 측정되어 유산균 속별로 구분이 용이하고, 유산균 6종 중 *W. koreensis* SK는 생육이 높아도 광센서 값에는 큰 변화가 없다는 동일한 결과를 나타내었다.

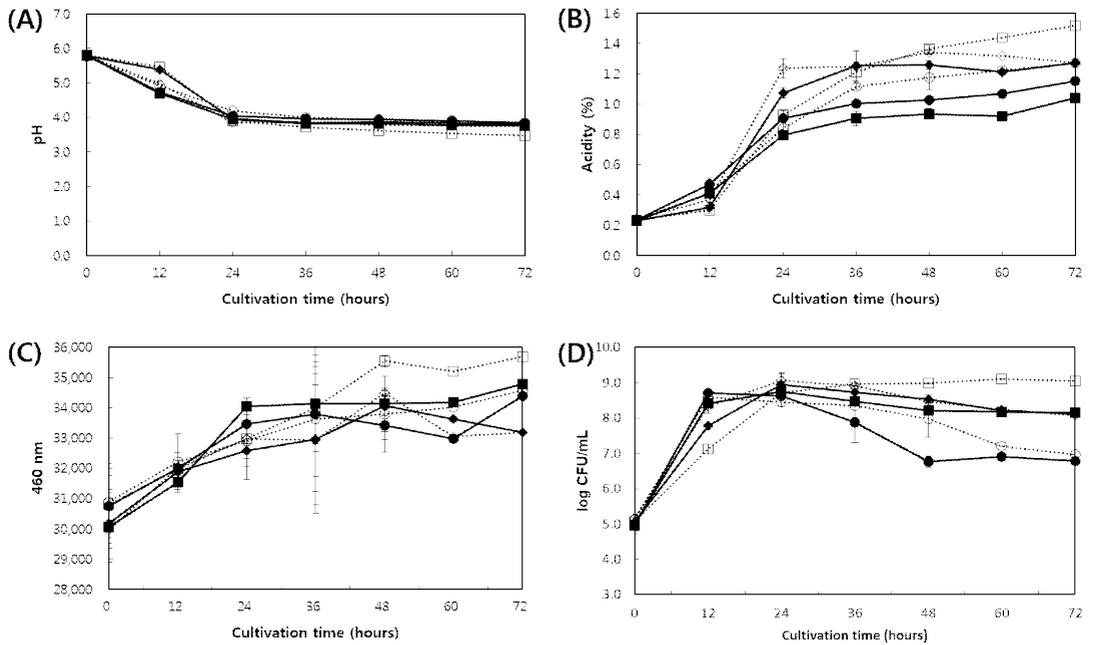


Figure 5. Growth of lactic acid bacteria at 30°C for 48 hours in kimchi filtrate

(A), Changes in pH

(B), Changes in acidity

(C), Changes in photodiode at 460 nm

(D), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

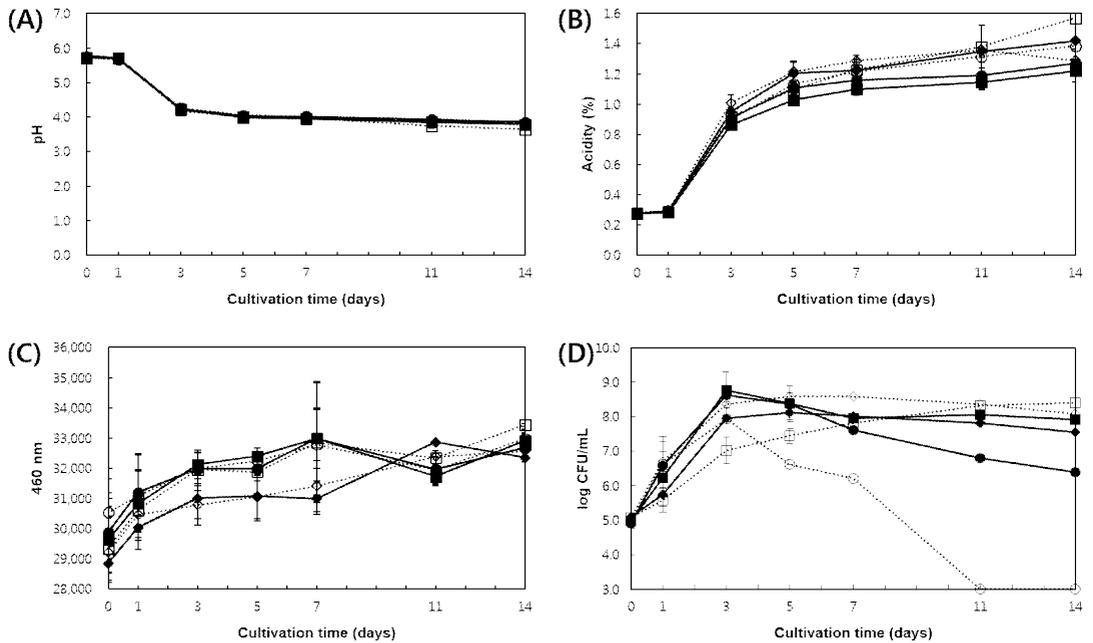


Figure 6. Growth of lactic acid bacteria at 15°C for 14 days in kimchi filtrate

(A), Changes in pH

(B), Changes in acidity

(C), Changes in photodiode at 460 nm

(D), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

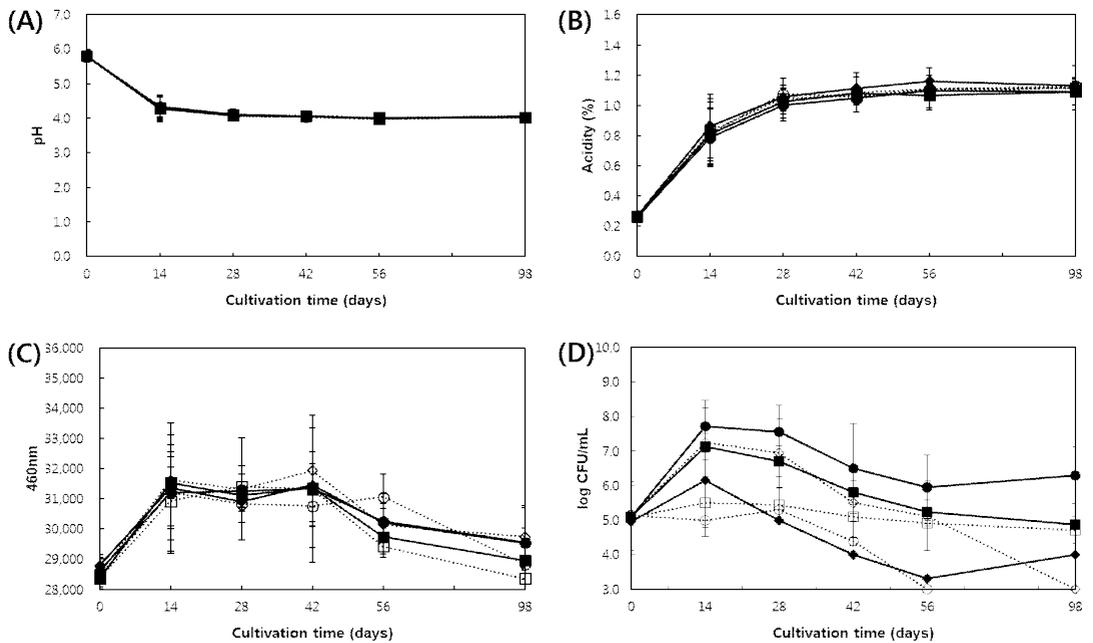


Figure 7. Growth of lactic acid bacteria at 4°C for 98 days in kimchi filtrate

(A), Changes in pH

(B), Changes in acidity

(C), Changes in photodiode at 460 nm

(D), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

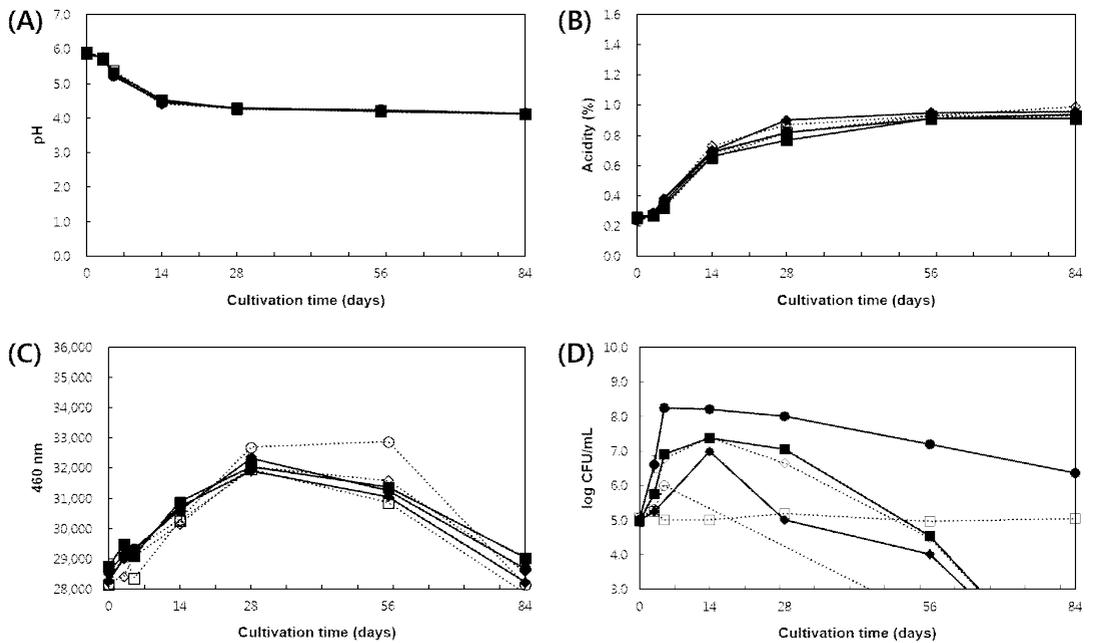


Figure 8. Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode (at 6.5°C for 117 hours and then at -2.0°C) for 84 days in kimchi filtrate

(A), Changes in pH

(B), Changes in acidity

(C), Changes in photodiode at 460 nm

(D), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

## 나. D사 김치액 배양온도에 따른 생육도

시중에서 판매되는 D사 김치를 구입하여 김치를 마쇄하여 멸균된 가아제로 여과한 김치액을 약  $-72^{\circ}\text{C}$ 에서 1~2주 보관 후 약  $-1^{\circ}\text{C}$ 에서 녹여서 실험에 사용하였다.

D사 김치액은 종균을 접종한 김치로 초기 광센서 값이 S사 김치액보다 높게 측정이 되었으나, 광센서 변화값은 S사 김치액으로 실험한 결과와 비슷하게 나타났다

$30^{\circ}\text{C}$ 에서 초기균수 약  $5 \log \text{CFU/mL}$ 를 접종하여 12시간 간격으로 48시간까지 배양하였다(Figure 9). *Lb. plantarum* HD1은 48시간 만에 최대 생육도에 ( $8.3 \log \text{CFU/mL}$ ) 도달하였으며 광센서 값은 72시간에  $39,056 \pm 466$ 으로 유산균 6종 중 가장 높은 광센서를 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 24시간 만에 최대 생육도( $8.0 \log \text{CFU/mL}$ )에 도달하였으며 광센서 값은 72시간에  $36,776 \pm 48$ 으로 나타내었다. *W. koreensis* SK는 12시간 만에 최대 생육도에 ( $8.6 \log \text{CFU/mL}$ ) 도달하였으며 광센서 값은 72시간에  $37,400 \pm 8$ 으로 나타내었다.

발효모드 ( $6.5^{\circ}\text{C}$ , 117 hours  $\rightarrow -2.0^{\circ}\text{C}$ )에서 초기균수 약  $5 \log \text{CFU/mL}$ 를 접종하여 1주 간격으로 12주까지 배양하였다(Figure 10). *W. koreensis* SK를 제외한 유산균 5종은 최대 생육도( $\approx 9.0 \log \text{CFU/mL}$ )에 도달하지 못하였다. *Lb. plantarum* HD1은 12주 동안  $5.0 \log \text{CFU/mL}$ 를 유지하였으며 광센서 값은 2~4주 기준  $35,709 \sim 35,951$ 으로 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 3일 만에 생육도  $7.2 \log \text{CFU/mL}$ 에 도달하였으며 광센서 값은 2~4주 기준  $36,201 \sim 36,329$ 으로 나타내었다. *W. koreensis* SK는 5일에 최대 생육도에( $8.6 \log \text{CFU/mL}$ ) 도달하였으며 광센서 값은 2~4주 기준  $36,643 \sim 36,686$ 으로 나타내었다.

보관모드 ( $-1.5^{\circ}\text{C}$ )에서 초기균수 약  $5 \log \text{CFU/mL}$ 를 접종하여 1주 간격으로 12주까지 배양하였다(Figure 11). *Lb. plantarum* HD1은 12주 동안  $5.0 \log \text{CFU/mL}$ 를 유지하였으며 광센서 값은 4~8주 기준  $33,848 \sim 34,744$ 으로 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 4주에 생육도  $7.0 \log \text{CFU/mL}$ 에 도달하였으며 광센서 값은 4~8주 기준  $33,735 \sim 34,538$ 으로 나타내었다. *W. koreensis* SK는

4주 만에 최대 생육도에(8.5 log CFU/mL) 도달하였으며 광센서 값은 4~8주 기준 35,101~35,204으로 나타내었다.

유산균의 최적 생육 온도로 알려진 30°C에서는 유산균 6종 모두 최대 생균 수 9 log CFU/mL를 나타내어 속별로 차이가 나타났으며, 발효모드, 보관모드에서는 *W. koreensis* SK의 생육만 높았으며 그로 인해 광센서 값은 유산균 6종 모두 비슷하게 나타났다.

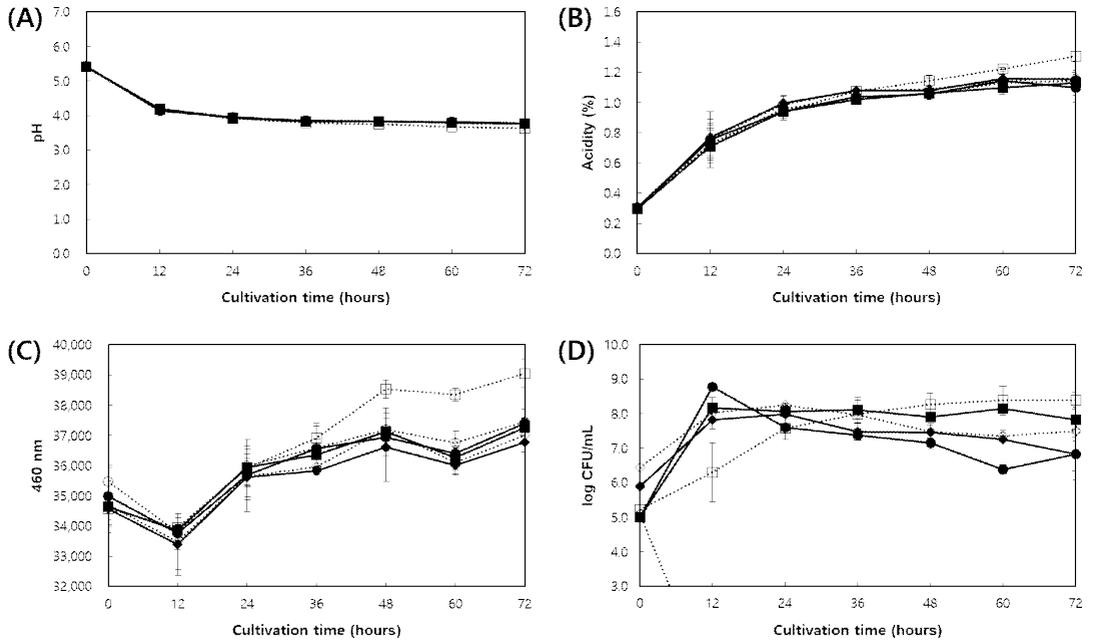


Figure 9. Growth of lactic acid bacteria at 30°C for 72 hours in kimchi filtrate

(A), Changes in pH

(B), Changes in acidity

(C), Changes in photodiode at 460 nm

(D), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

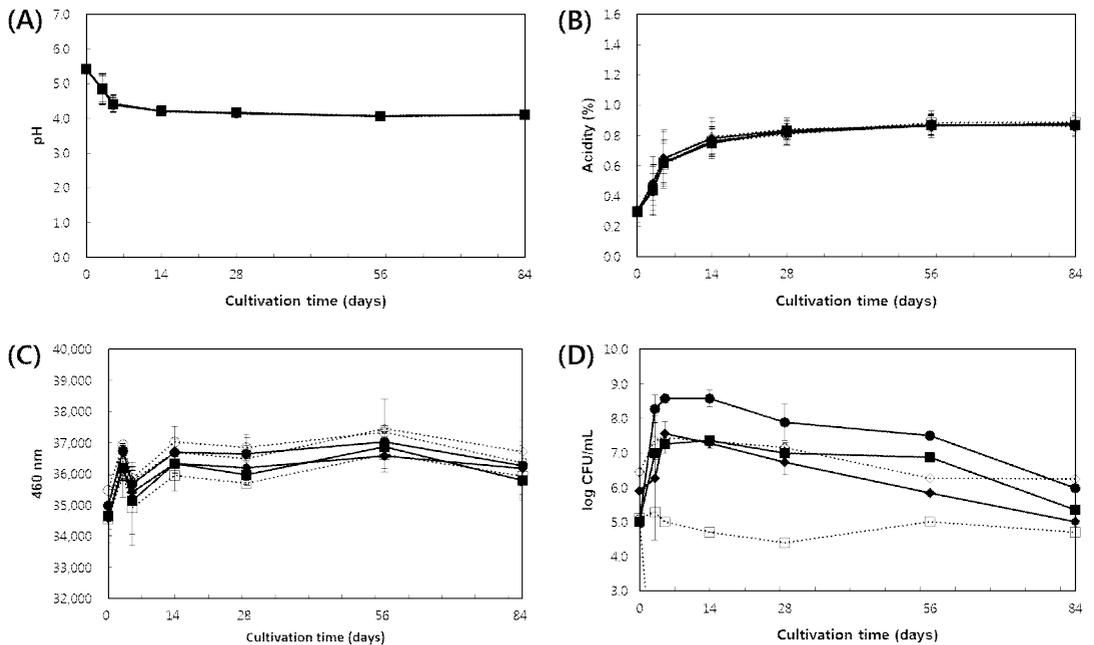


Figure 10. Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode (at 6.5°C for 117 hours and then at -2.0°C) for 84 days in kimchi filtrate

(A), Changes in pH

(B), Changes in acidity

(C), Changes in photodiode at 460 nm

(D), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

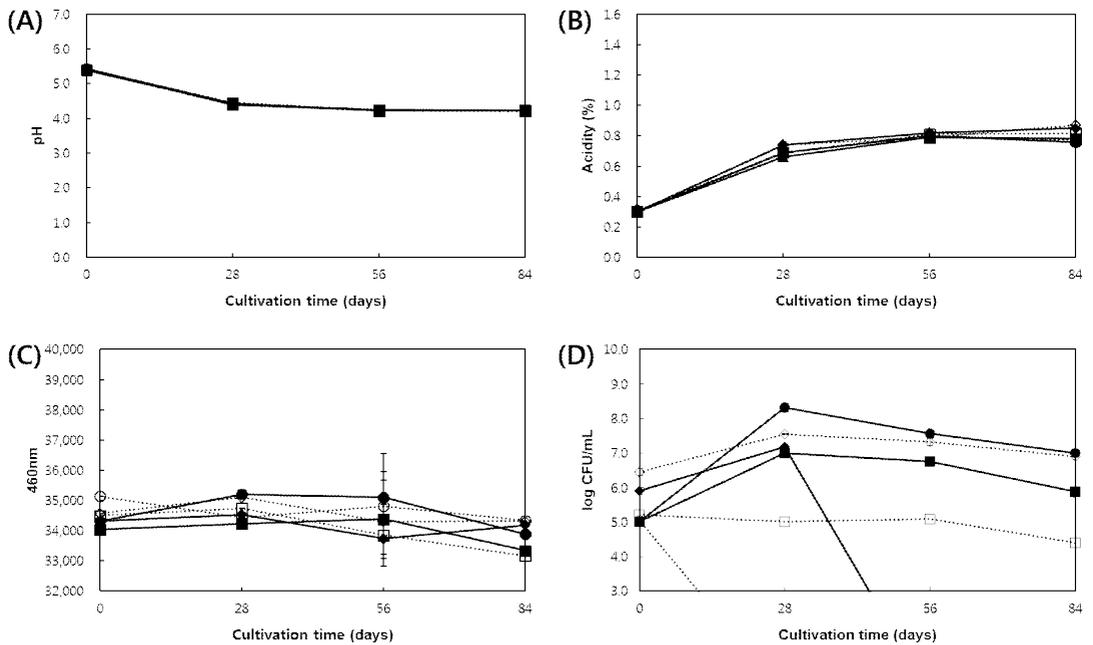


Figure 11. Growth of lactic acid bacteria at storage mode (at -1.5°C) for 84 days in kimchi filtrate

(A), Changes in pH

(B), Changes in acidity

(C), Changes in photodiode at 460 nm

(D), Viable cell counts of lactic acid bacteria

●, *W. koreensis* SK; ○, *W. cibaria* 37; ◆, *Leu. citreum* GR1; ◇, *Leu. mesenteroides* TA; ■, *Lb. sakei* SC1; □, *Lb. plantarum* HD1

## 제 5절 김치에서 유산균의 생육과 광센서 모니터링 상관관계 측정

### 1. 김치의 보관 온도에 따른 유산균 생육

#### 가. S사 김치 보관 온도에 따른 생육도

김치의 초기 광센서(460 nm)는 약  $32,406 \pm 2,537$ 로 나타났다. 발효모드 ( $6.5^{\circ}\text{C}$ , 117 hours  $\rightarrow -2.0^{\circ}\text{C}$ )의 경우, 저장 2주차에  $35,790 \pm 2,729$ 로 초기 광센서에 비해 3,384 증가하였으며 pH는 4.68, 산도는 0.60%로 측정되었다. 저장 8주차에  $40,975 \pm 2,942$ 으로 큰 폭(2주차 대비  $\Delta 5,185$ )으로 증가하였다. pH는 4.24, 산도는 0.86%로 측정되었다. 보관모드 ( $-1.5^{\circ}\text{C}$ )의 경우, 저장 4주차까지  $31,888 \sim 33,879$ 을 유지하였으며 저장 8주차에  $37,780 \pm 1,890$ (2주차 대비  $\Delta 3,901$ )로 증가하였다. pH 및 산도는 8주차에 4.41, 0.73%로 나타내었다(Figure 12).

김치국물의 경우, 초기 광센서(460 nm)는 약  $36,766 \pm 1,909$ 로 나타내었다. 발효모드의 경우, 저장 2주차에  $42,632 \pm 2,419$ 로 초기 광센서에 비해 5,866 증가하였으며 저장 8주차에  $48,375 \pm 3,344$ 으로 큰 폭(2주차 대비  $\Delta 5,743$ )으로 증가하였다. 보관모드의 경우, 저장 4주차까지  $35,739 \sim 36,310$ 을 유지하였으며 저장 8주차에  $40,688 \pm 1,174$ (2주차 대비  $\Delta 4,949$ )로 증가하였다(Figure 13).

총 유산균수는 보관모드의 경우, 저장 4주 만에 약 8 log CFU/mL로 최대 유산균수를 나타내었으며 발효모드의 경우, 저장 2주 만에 최대 유산균수를 나타내었다. *Leuconostoc* 속은 보관모드의 경우, 저장 12주 동안 약 3~4 log CFU/mL로 *Leuconostoc* 속의 수가 변하지 않은 반면, 발효모드의 경우, 저장 1~2주 사이에 약 2~3 log CFU/mL가 증가하여 저장 4주까지 유지되었다가 저장 8주에 약 1 log CFU/mL가 감소되었다. *Lactobacillus* 속은 보관모드의 경우, 저장 4주에 약 2 log CFU/mL가 증가하여 저장 12주까지 유지됨. 발효모

드의 경우, 저장 1주 만에 약 1~2 log CFU/mL가 증가하였으며 저장 12주까지 유지되었다. *Weissella* 속은 보관모드의 경우, 저장 2주 이후 꾸준히 증가하여 저장 4~8주에 최대 8 log CFU/mL를 나타내었다. 발효모드의 경우, 저장 1주 만에 최대 8 log CFU/mL까지 증가하여 저장 8주까지 유지하다가 12주에 약 1 log CFU/mL 감소하였다.

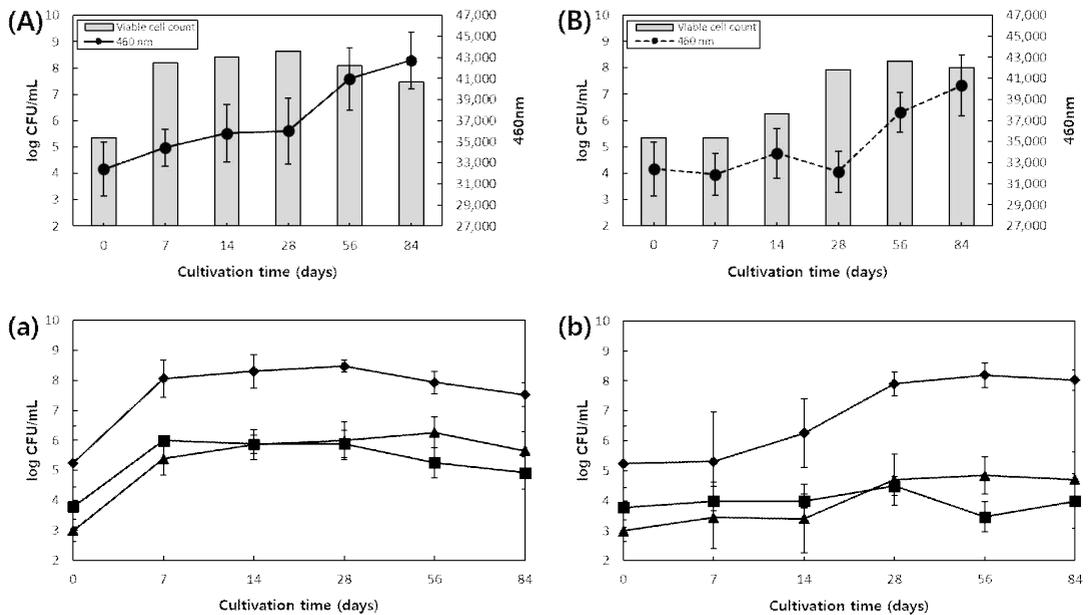


Figure 12. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode during fermentation mode and storage mode in S kimchi

(A), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at fermentation mode

(at 6.5°C for 177 hours and then at -2.0°C)

(a), Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode

(B), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at storage mode  
(at -1.5°C)

(b), Growth of lactic acid bacteria at storage mode

◆, *Weissella* spp.; ■, *Leuconostoc* spp.; ▲, *Lactobacillus* spp.

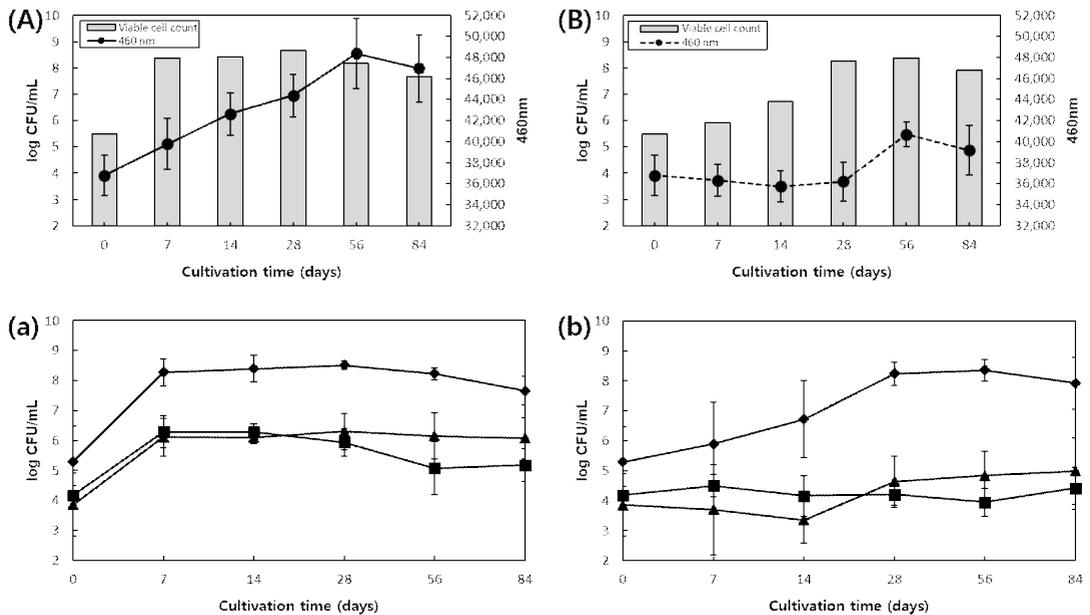


Figure 13. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode during fermentation mode and storage mode in S kimchi broth

(A), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at fermentation mode

(at 6.5°C for 177 hours and then at -2.0°C)

(a), Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode

(B), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at storage mode

(at -1.5°C)

(b), Growth of lactic acid bacteria at storage mode

◆, *Weissella* spp.; ■, *Leuconostoc* spp.; ▲, *Lactobacillus* spp.

## 나. D사 김치 보관 온도에 따른 생육도

D사 김치의 초기 광센서(460 nm)는 약  $37,355 \pm 1,106$ 로 나타내었다. 발효-보관모드의 경우, 저장 1주차에  $41,721 \pm 1,382$ 로 초기 광센서에 비해 4,366 증가하였으며 pH는 4.80, 산도는 0.41%였다. 저장 12주차에  $47,881 \pm 2,683$ 로 큰 폭(2주차 대비  $\Delta 6,160$ )으로 증가하였으며 pH는 4.05, 산도는 0.85%로 측정되었다. 보관모드의 경우, 저장 8주차까지 37,858~40,478을 유지하였으며 저장 12주차에  $44,043 \pm 4,051$ (2주차 대비  $\Delta 6,185$ )로 증가하였으며 pH는 4.17, 산도는 0.80%로 급격히 증가하였다(Figure 14).

D사 김치국물의 경우, 초기 광센서(460 nm)는 약  $40,032 \pm 4,284$ 로 나타남. 발효-보관모드의 경우, 저장 1주차에  $43,407 \pm 5,551$ 로 초기 광센서에 비해 3,375 증가하였으며 저장 12주차에  $54,661 \pm 4,340$ 으로 큰 폭(2주차 대비  $\Delta 11,254$ )으로 증가하였다. 보관모드의 경우, 저장 8주차까지 37,929~40,833을 유지하였으며 저장 12주차에  $46,700 \pm 748$ (2주차 대비  $\Delta 8,458$ )로 증가하였다(Figure 15).

보관모드 김치의 총 유산균수는 서서히 증가하여 저장 4주 만에 최대 8 log CFU/mL를 나타냈으며 발효-보관모드 김치는 저장 7일 만에 최대 8 log CFU/mL를 나타내었다. *Leuconostoc* 속은 보관모드 김치의 경우, 저장 12주간 5~7 log CFU/mL를 유지하였으며 저장 4주에 1~2 log CFU/mL가 증가하였다가 다시 감소하였다. 반면 발효-보관모드 김치의 경우, 저장 7일 만에 2 log CFU/mL가 증가하였으며 저장 8주까지 유지하였다가 저장 12주에 약 1 log CFU/mL가 감소하였다. *Lactobacillus* 속은 보관모드 김치의 경우, 1차 실험에서는 저장 4~8주 사이에 2 log CFU/mL가 증가하여 저장 12주까지 유지되었다. 발효-보관모드의 경우, 저장 7일 만에 2~3 log CFU/mL 증가하고 이후 저장 12주까지 유지되었다. *Weissella* 속은 보관모드 김치의 경우, 저장에 따라 점차 증가하여 8주에 3 log CFU/mL가 증가하였으며 발효-보관모드의 경우, 저장 7일에 약 2~3 log CFU/mL 증가하였다가 저장 12주에 약 1~2 log CFU/mL 감소하였다.

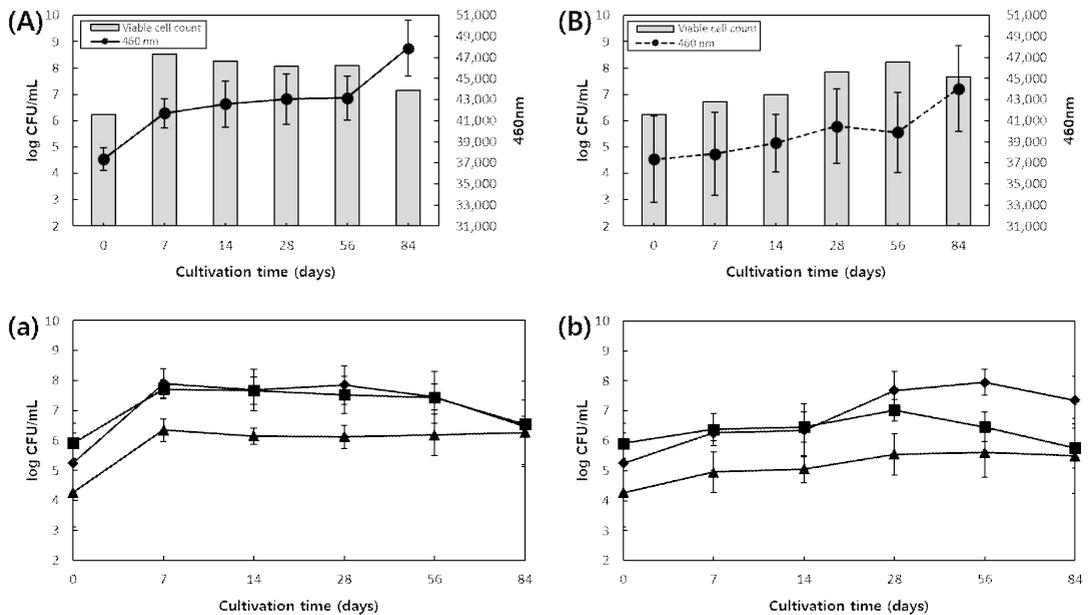


Figure 14. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode during fermentation mode and storage mode in D kimchi

(A), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at fermentation mode

(at 6.5°C for 177 hours and then at -2.0°C)

(a), Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode

(B), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at storage mode (at -1.5°C)

(b), Growth of lactic acid bacteria at storage mode

◆, *Weissella* spp.; ■, *Leuconostoc* spp.; ▲, *Lactobacillus* spp.

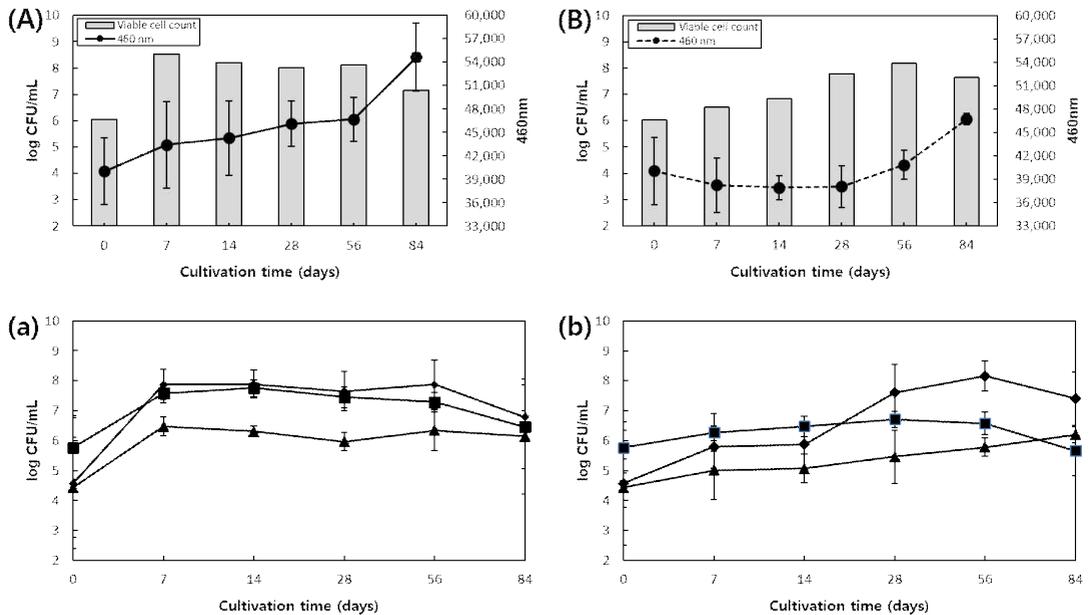


Figure 15. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode during fermentation mode and storage mode in D kimchi broth

(A), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at fermentation mode

(at 6.5°C for 177 hours and then at -2.0°C)

(a), Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode

(B), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at storage mode (at -1.5°C)

(b), Growth of lactic acid bacteria at storage mode

◆, *Weissella* spp.; ■, *Leuconostoc* spp.; ▲, *Lactobacillus* spp.

## 다. U사 김치 보관 온도에 따른 생육도

U사 김치의 초기 광센서(460 nm)는 약  $32,565 \pm 3,236$ 로 나타남. 발효-보관 모드의 경우, 저장 2주차에  $37,114 \pm 3,106$ 로 초기 광센서에 비해 4,549 증가하였으며 pH는 5.35, 산도는 0.30%였다. 저장 8주차에  $38,945 \pm 3,086$ 으로 큰 폭(2주차 대비  $\Delta 1,831$ )으로 증가하였으며 pH는 4.36, 산도는 0.72%로 측정되었다. 보관모드의 경우, 저장 4주차까지 33,268~34,084을 유지하였으며 저장 8주차에  $38,402 \pm 2,610$ (2주차 대비  $\Delta 3,192$ )로 증가하였으며 pH는 4.82, 산도는 0.58%로 측정되었다(Figure 16).

U사 김치국물의 경우, 초기 광센서(460 nm)는 약  $35,173 \pm 2,314$ 로 나타났다. 발효-보관모드의 경우, 저장 2주차에  $38,179 \pm 2,299$ 로 초기 광센서에 비해 3,006 증가하였으며 저장 8주차에  $40,796 \pm 3,620$ 으로 큰 폭(2주차 대비  $\Delta 2,617$ )으로 증가하였다. 보관모드의 경우, 저장 4주차까지 33,937~34,565을 유지하였으며 저장 8주차에  $37,006 \pm 2,869$ (2주차 대비  $\Delta 2,731$ )로 증가하였다(Figure 17).

총 유산균수는 보관모드의 경우, 저장 8주만에 최대 약 8 log CFU/mL로 증가하였다. 발효-보관모드의 경우, 저장 2주만에 최대 약 8 log CFU/mL로 증가하여 저장 12주까지 유지하였다. *Leuconostoc* 속은 보관모드의 경우, 저장 1~12주까지 약 5~6 log CFU/mL를 나타내며 *Leuconostoc* 속이 증가하지 않았고, 발효-보관모드의 경우, 저장 1주만에 약 7 log CFU/mL로 증가하여 저장 12주까지 유지되었다. *Lactobacillus* 속은 보관모드의 경우, 저장 8주에 약 6 log CFU/mL를 나타내며 약 2~3 log CFU/mL가 증가하였다. 발효-보관모드의 경우, 저장 2~8주까지 약 7~8 log CFU/mL를 나타내었다. *Weissella* 속은 보관모드의 경우, 저장 8주 이후 약 8 log CFU/mL를 나타내었으며 발효-보관모드의 경우, 저장 4~8주에 약 8 log CFU/mL를 나타낸 후 점차 감소하였다.

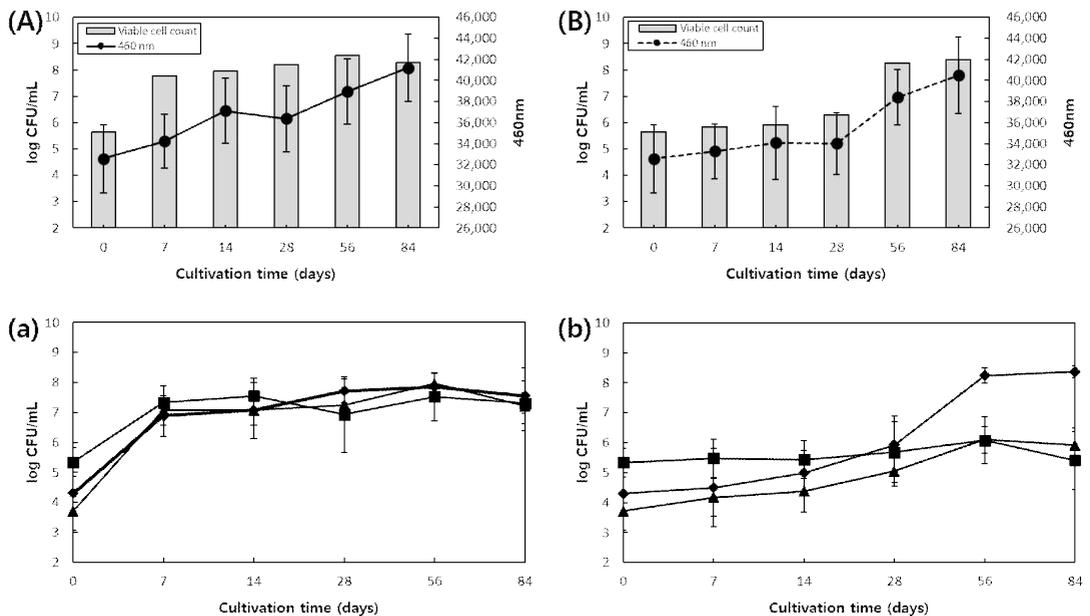


Figure 16. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode during fermentation mode and storage mode in U kimchi

(A), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at fermentation mode

(at 6.5°C for 177 hours and then at -2.0°C)

(a), Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode

(B), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at storage mode (at -1.5°C)

(b), Growth of lactic acid bacteria at storage mode

◆, *Weissella* spp.; ■, *Leuconostoc* spp.; ▲, *Lactobacillus* spp.

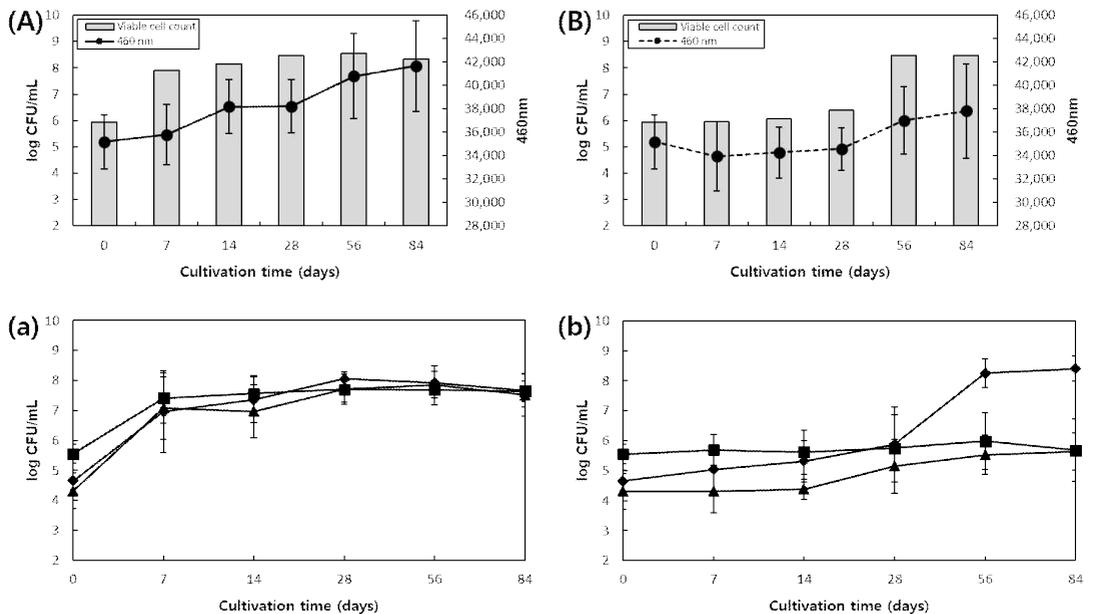


Figure 17. Changes of lactic acid bacteria numbers and photodiode during fermentation mode and storage mode in U kimchi broth

(A), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at fermentation mode

(at 6.5°C for 177 hours and then at -2.0°C)

(a), Growth of lactic acid bacteria at fermentation mode

(B), Growth of viable cell count, Changes in photodiode at storage mode (at -1.5°C)

(b), Growth of lactic acid bacteria at storage mode

◆, *Weissella* spp.; ■, *Leuconostoc* spp.; ▲, *Lactobacillus* spp.

## 제 6절 지역김치 및 상품김치 Blank 측정

시판 김치 시료 22종의 이화학적 특성 및 광센서를 측정한 결과 평균 pH는  $5.72 \pm 0.23$ 이며, 산도는  $0.27 \pm 0.03\%$ 로 나타났다(Table 3). 광센서 값은 460 nm에서 평균  $29,138 \pm 4,776$ 으로 최솟값 19,717, 최댓값 40,006으로 측정되었다. 시판 김치의 종류에 따라 초기 광센서 값이 다양하게 나타났으며, 동일한 브랜드의 김치에서도 김치를 제조한 날짜, 원·부재료 특성, 배송방법 등에 의하여 초기 광센서 값의 차이를 보였다.

Table 3. Blank measurement of area kimchi and product kimchi

NO.	지역김치 및 상품김치	pH	산도(%)	광센서	
				355 nm	460 nm
1	하선정	5.70	0.24	3.585	30,615
2	종가집 전라도 포기김치	5.80	0.27	3.396	33,120
3	올반 김치	5.99	0.23	3.060	27,104
4	경기도 포천 이가네	5.32	0.29	3.569	26,628
5	전남 고흥 정지영의 잘 만든 김치	5.57	0.30	3.629	26,982
6	경남 창녕군 봄나리	5.43	0.29	3.433	31,750
7	충북 단양 깎깎 송도순의 포기김치	5.83	0.26	3.553	24,953
8	피코크 조선히otel	5.80	0.30	3.696	27,317
9	경기도 화성 비가린	6.16	0.23	3.663	23,873
10	경남 밀양 윤미철	5.34	0.28	3.774	25,724
11	전북 진안 전주 찬밤	6.00	0.24	2.715	30,062
12	제주도 전원김치	5.65	0.27	3.686	19,717
13	경기도 부천 찬우물	5.97	0.23	3.668	25,985
14	충북 괴산 이담체	5.85	0.29	3.704	27,762
15	운림김치	5.95	0.34	3.760	25,927
16	경북 청도 도와 김치	5.51	0.33	3.826	30,158
17	선도 농협 김치	5.72	0.26	3.823	28,243
18	선도 농협 김치	5.72	0.26	3.742	38,700
19	웅천 농협 김치	5.69	0.28	3.628	28,732
20	웅천 농협 김치	5.63	0.26	4.035	36,226
21	백두 종가 김치	5.75	0.24	3.846	31,444
22	백두 종가 김치	5.38	0.28	3.633	40,006
평균 ±SD		5.72±0.23	0.27±0.03	3.610±0.277	29,138±4,776

## 제 7절 광 노출에 따른 유산균 안전성 검사

### 1. 일반 특성

배양 온도 30℃에서 배양 24시간 중 총 50분 동안 광원을 노출한 경우와 노출하지 않은 경우 생균수를 측정된 결과, *W. koreensis* SK는 8.94, 8.97 log CFU/mL, *W. cibaria* 37은 9.28, 9.16 log CFU/mL, *Leu. citreum* GR1은 9.57, 9.52 log CFU/mL, *Leu. mesenteroides* TA는 9.50, 9.50 log CFU/mL, *Lb. sakei* SC1은 9.14, 9.10 log CFU/mL, *Lb. plantarum* HD1은 9.65, 9.66 log CFU/mL로 측정되었다. 광원 노출 유무에 따른 생균수 및 형태학적 특성에서 차이는 나타나지 않았다(Table 4).

보관모드에서 배양 4주 동안 평균 온도는  $-1.6 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 를 나타내었고, 3,009분 동안 광원을 노출한 경우 광원에서 발생하는 열로 인하여 평균  $0.8 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ 의 온도를 나타내어 광원에 노출하지 않은 경우보다 약  $2.4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  더 높은 온도로 나타났다. 광원을 노출한 경우와 노출하지 않은 경우 생균수를 측정된 결과, *W. koreensis* SK는 7.73, 8.40 log CFU/mL, *W. cibaria* 37은 3.60, 4.55 log CFU/mL, *Leu. citreum* GR1은 4.09, 4.69 log CFU/mL, *Leu. mesenteroides* TA는 7.66, 6.12 log CFU/mL, *Lb. sakei* SC1은 8.33, 6.75 log CFU/mL, *Lb. plantarum* HD1은 4.51, 5.07 log CFU/mL로 측정되었다. 광원 노출 유무에 따라 *Leu. mesenteroides* TA와 *Lb. sakei* SC1은 광원을 노출한 시료에서 약 1~2 log CFU/mL 높은 생균수를 나타냈으며 *W. koreensis* SK, *W. cibaria* 37, *Lb. plantarum* HD1은 광원 노출하지 않은 시료에서 약 1 log CFU/mL 높게 나타내었다. 이와 같은 차이는 광원 노출에 의한 영향 보다는 온도에 의한 영향으로 사료된다. 또한, 광원 노출 유무에 따른 형태학적 특성에서 차이는 거의 나타나지 않았다(Table 5).

Table 4. Morphological characteristic in MRS with and without photodiode.

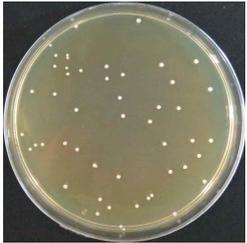
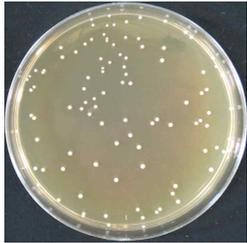
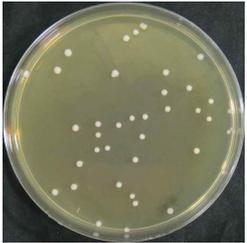
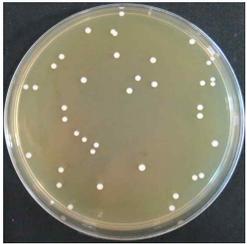
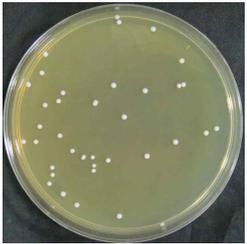
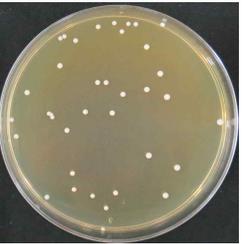
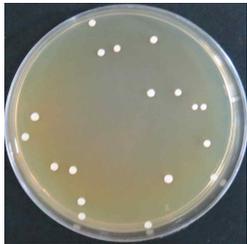
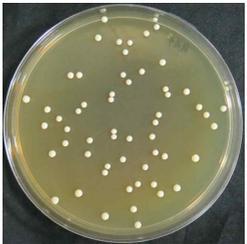
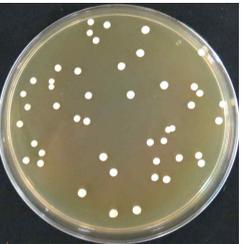
<i>Weissella koreensis</i> SK		<i>Weissella cibaria</i> 37	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Leuconostoc citreum</i> GR1		<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TA	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Lactobacillus sakei</i> SC1		<i>Lactobacillus plantarum</i> HD1	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			

Table 5. Morphological characteristic in kimchi filtrate with and without photodiode

<i>Weissella koreensis</i> SK		<i>Weissella cibaria</i> 37	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Leuconostoc citream</i> GR1		<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TA	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Lactobacillus sakei</i> SC1		<i>Lactobacillus plantarum</i> HD1	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			

## 2. 안전성 특성

### 가. 용혈성 검사

광원 유무에 따른 유산균의 용혈성을 확인하기 위하여 용혈성 배지(Horse blood agar)에 시료를 획선 도말 하였다. 30℃ 및 보관모드 모두에서 광원 노출 유무에 따른 유산균 6종 모두  $\alpha$ -hemolysis 혹은  $\beta$ -hemolysis 용혈반응이 나타나지 않았다(Table 6).

### 나. 효소활성

광원 유무에 따른 유산균의 효소활성 변화를 확인하기 위하여 API zym kit (BioMerieux)를 사용하였다. kit의 각 cupule에 standard 탁도 2에 맞춘 배양액을 65  $\mu$ L씩 떨어뜨린 후, 4시간 동안 37℃에서 암실동안 배양시킨 후, ZYM-A (BioMerieux) 시약과 ZYM-B (BioMerieux) 시약을 각각 떨어뜨려서 결과를 판독하였다. 30℃ 및 보관온도 모두에서 광원 노출에 따른 유산균 6종의 효소활성 변화는 나타나지 않았다. *W. koreensis* SK는 19종의 효소 중에서 leucine arylamidase, *W. cibaria* 37은 acid phosphatase 양성 반응을 나타내었다. *Leu. citreum* GR1은 효소 19종에 대하여 모두 음성을 나타내었고, *Leu. mesenteroides* TA는  $\beta$ -glucosidase 양성 반응을 나타내었다. *Lb. sakei* SC1은 leucine arylamidase, valine arylamidase 양성 반응을 보이고, *Lb. plantarum* HD1은 leucine arylamidase, valine arylamidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase에 대하여 양성 반응을 나타내었다(Table 7).

### 다. 항생제 내성 검사

광원 유무에 따른 유산균의 항생제 내성 변화를 확인하기 위하여 European Food Safety Authority (EFSA, 2012)을 참고하여 ampicillin (Sigma),

vancomycin (Sigma), gentamycin (Sigma), streptomycin (Sigma), erythromycin (Sigma), tetracycline (Sigma), chloramphenicol (Sigma) 항생제 8종에 대하여 MIC(Minimum inhibitory concentration)를 측정하였다. 30℃ 및 보관모드에서 광원 노출 유무에 따른 유산균 6종의 항생제 내성에서 차이가 없었다.

*Weissella* spp.은 EFSA(2012)에서 제공하는 항생제 종류별 breakpoint에 대한 guideline이 현재 제공되지 않아서 *Weissella* spp.의 항생제 종류별 breakpoint에 대한 참고는 타 연구논문의 결과를 비교하였다. 그 결과, 타 연구논문의 *W. cibaria*와 *W. koreensis*의 항생제 저항성을 나타내는 농도보다 더 낮은 농도에서 *W. cibaria* 37와 *W. koreensis* SK가 저해됨을 알 수 있었다(Table 8).

Table 6. Hemolysis test of lactic acid bacteria in MRS with and without photodiode.

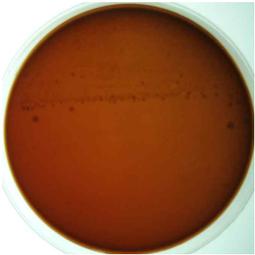
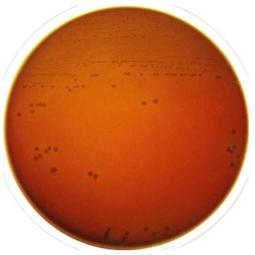
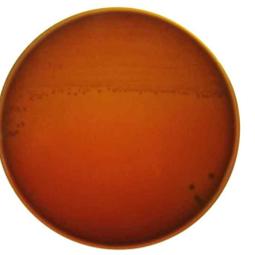
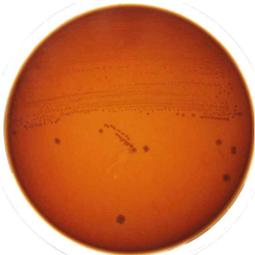
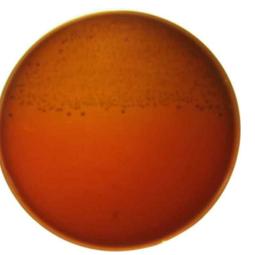
<i>Weissella koreensis</i> SK		<i>Weissella cibaria</i> 37	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Leuconostoc citream</i> GR1		<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TA	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Lactobacillus sakei</i> SC1		<i>Lactobacillus plantarum</i> HD1	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			

Table 7. Hemolysis test of lactic acid bacteria in Kimchi filtrate with and without photodiode.

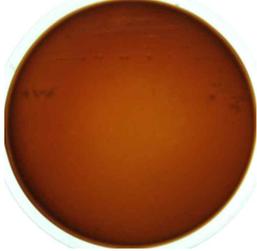
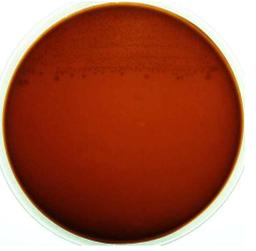
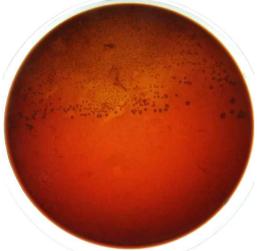
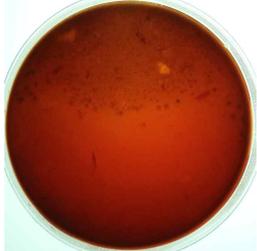
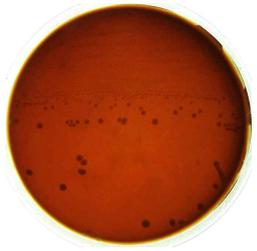
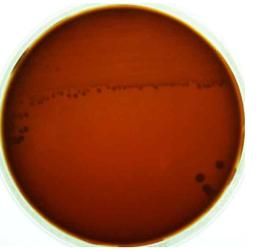
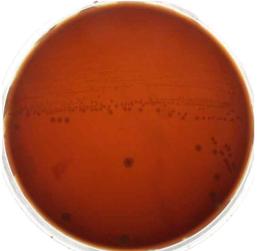
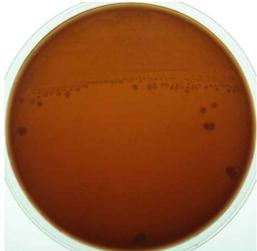
<i>Weissella koreensis</i> SK		<i>Weissella cibaria</i> 37	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Leuconostoc citream</i> GR1		<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TA	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			
<i>Lactobacillus sakei</i> SC1		<i>Lactobacillus plantarum</i> HD1	
광원 0	광원 X	광원 0	광원 X
			

Table 8. Enzymatic activities of lactic acid bacteria with and without photodiode

NO.	Enzyme	SK		37		GR1		TA		SC1		HD1	
		광원X	광원0										
1	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Alkaline phosphate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Esterase(C4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Esterase lipase(C8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Lipase(C14)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Leucine arylamidase	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
7	Valine arylamidase	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
8	Crystine arylamidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Trypsin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	$\alpha$ -Chymotrypsin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Acid phosphatase	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Naphthol-AS-BI-phospho hydrolase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	$\alpha$ -Galactosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	$\beta$ -Galactosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
15	$\beta$ -Glucuronidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	$\alpha$ -Glucosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	$\beta$ -Glucosidase	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
18	N-Acetyl- $\beta$ -glucosaminidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
19	$\alpha$ -Mannosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	$\alpha$ -Fucosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 9. Minimum inhibitory concentration(MIC) of various antibiotics against lactic acid bacteria with and without photodiode

Strain	Antibiotics <sup>1)</sup>							
	MIC( $\mu$ g/mL)							
	AMP	VAN	GEN	KAN	STR	ERY	TET	CHL
Break points for <i>Lactobacillus plantarum</i> <sup>2)</sup>	2	n.r. <sup>3)</sup>	16	64	n.r.	1	32	8
<i>Lactobacillus plantarum</i> HD1	2	>512	0.5	16	4	0.125	16	4
Break points for <i>Lactobacillus</i> facultative heterofermentative <sup>2)</sup>	4	n.r.	16	64	64	1	8	4
<i>Lactobacillus sakei</i> SC1	4	>512	0.25	4	2	1	8	4
Break points for <i>Leuconostoc</i> spp. <sup>2)</sup>	2	n.r.	16	16	64	1	8	4
<i>Leuconostoc citreum</i> GR1	0.5	>512	2	16	32	0.06	1	4
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TA	2	>512	0.125	1	2	0.06	4	4
Break points for <i>Weissella</i> spp.	n.a. <sup>4)</sup>							
Reference data for <i>Weissella cibaria</i> <sup>5)</sup>	0.5~2	256~1024	0.25~1024	4~1024	4~4096	0.25~8	2~16	2~8
<i>Weissella cibaria</i> 37	1	>512	1	8	4	0.12	2	4
Reference data for <i>Weissella koreensis</i> <sup>6)</sup>	>10	1024	32	512	128	>15	1	>30
<i>Weissella koreensis</i> SK	0.5	128	2	8	4	0.25	0.5	1

<sup>1)</sup> AMP: Ampicillin, VAN: Vancomycin, GEN: Gentamycin, KAN: Kanamycin, STR: Streptomycin, ERY: Erythromycin, TET: Tetracycline, CHL: Chloramphenicol

<sup>2)</sup> Breakpoints were according to the guidelines of the EFSA(EFSA, 2012)

<sup>3)</sup> n.r. : not required

<sup>4)</sup> n.a. : not available

<sup>5)</sup> Ref. : Deong, DW; Lee, DH,. Antibiotic resistance, hemolysis and biogenic amine production assessments of *Leuconostoc* and *Weissella* isolates for kimchi starter development. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64.2: 1078-1084. Munoz-Atienza, Estefanía, et al. Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of lactic acid bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. *BMC microbiology*, 2013, 13.1: 15. Chol, AR, et al. Antagonistic Activities and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Derived from a Plant-based Fermented Food. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9

<sup>6)</sup> Ref. : Anandharaj, Marimuthu, et al. Determining the probiotic potential of cholesterol-reducing *Lactobacillus* and *Weissella* strains isolated from gherkins (fermented cucumber) and south Indian fermented koozh. *Research in microbiology*, 2015, 166.5: 428-439. Chol, AR, et al. Antagonistic Activities and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Derived from a Plant-based Fermented Food. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9

## 제 4장 결 론

김치 냉장고 사용이 보편화 되면서 국내 시판 김치 냉장고 시장은 꾸준히 증가하고 있으며 발효 및 보관 시 온도와 시간에 따른 유산균 천이에 대한 연구가 많이 진행되고 있다[8, 15, 16, 18]. 김치에 있는 미생물 균총을 확인하기 위해서 평판배지법, PCR-DGGE(Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), metagenome 분석 등을 사용하고 있다. 기존 연구에서 사용되는 측정방법들의 한계를 극복하기 위해서 본 연구에서는 NADH를 이용하여 광센서 측정에 의한 유산균 생육을 측정하여 배지에서의 상관관계를 규명하고, 김치액 및 김치에서의 상관관계를 규명하고 적용하고자 한다.

미생물의 측정을 위하여 가장 일반적으로 사용하고 있는 평판측정법인 생균수 측정은 agar plate에서 colony 형태로 자란 생균을 측정하는 방법이다. 이 방법은 정량분석은 가능하나, 정성분석은 특정 선택 배지를 사용하여 분류가 가능하다. 그러나 배지를 제조하고 배양하는데 48시간 이상이 소요된다는 단점이 있다. spectrophotometer를 이용한 광학적 측정법은 탁도에 의한 생육도를 측정하는 방법이다. 생균과 사균을 모두 측정할 수 있으며 정량분석이 가능하다. 균의 크기에 따라 흡광도의 값의 차이가 있어서 예측은 가능하지만 정확한 정성분석에는 어려움이 있다. 본 연구에서 사용한 발광센서 측정은 생균수 측정보다 빠르고 광학적 측정법보다 정교한 정성분석이 가능하다.

MRS에서 온도에 따른 유산균의 생육 실험 결과 30°C에서 균수가 9 log CFU/mL까지 자라면서 광센서 증가값에 따라 *Lactobacillus* 속 2종과 *Leuconostoc* 속 2종 및 *Weissella cibaria* 37, *Weissella koreensis* SK로 나눌 수 있다. 최대 생균수 도달 시점에서 최대 광센서에 도달하지 않고, 최대 생균수 도달 3~9시간 후에 최대 광센서에 도달하는 것으로 보아 균의 생육에 따른 효소반응에 의해 광센서 값이 증가하는 것으로 사료된다. 10°C에서는 유산균 배양의 최적 온도 보다 낮기 때문에 생육이 더디며, 흡광도 및 광센서 값이 더 낮게 측정이 되었다. 10°C에서는 *Lactobacillus sakei* SC1, *Weissella koreensis* SK, *Leuconostoc citreum* GR1 순으로 균이 잘 자랐으며 *W. koreensis* SK는 균수가 최대로 도달하여도 낮은 광센서 값을 보이기 때문에 실제 광센서를 측정했을 때 *Lb. sakei* SC1, *Leu. citreum* GR1, *W. koreensis* SK 순서로 나타났다. -1.5°C에서는 *W. koreensis* SK를 제외하고는 8 log CFU/mL 이하의 생균수를 보였

으며 *W. koreensis* SK는 균수가 최대도 올라도 광센서 증가 폭이 작기 때문에 유산균 6종에서 광센서의 차이가 미미하였다.

김치액에서 온도에 따른 유산균의 생육 실험결과 30℃에서는 MRS에서와 마찬가지로 균의 생육이 활발함에 따라 균수가 8~9 log CFU/mL까지 자라면서 속마다 특정 광센서 값을 나타내며 분류가 용이하였다. 15℃에서는 균의 생육이 천천히 자라서 대체적으로 8 log CFU/mL 생육도를 나타내었으며 30℃보다는 광센서 값의 변화폭이 작기는 하지만 속마다 광센서에 따른 분류가 가능하였다. 4℃, 발효-보관모드 및 보관모드에서는 *W. koreensis* SK를 제외한 유산균 5종이 최대 생육도 5~7 log CFU/mL를 나타내었다. 이에 따라 균에 따른 광센서 값의 차이가 미미하였고, 유산균 6종 중 *W. koreensis* SK만 점종균수가 8.0 log CFU/mL 이상에 도달하였다.

김치에서의 보관 온도에 따른 유산균의 생육 실험결과 종균 김치였던 D사의 경우, 발효-보관모드에서는 저장 1주에 큰 폭( $\Delta 4,366$ )으로 상승하였으며 이후 저장 12주에 다시 한 번 큰 폭( $\Delta 6,160$ )으로 상승하였다. 보관모드에서는 저장 8주까지 큰 폭의 광센서값 상승현상이 나타나지 않았으나 저장 12주에 큰 폭( $\Delta 6,185$ )으로 상승하였다. D사의 김치 국물에서의 실험결과 발효-보관모드에서는 저장 1주에 큰 폭( $\Delta 3,375$ )으로 상승하였으며 이후 저장 12주에 다시 한 번 큰 폭( $\Delta 11,254$ )으로 상승하였다. 보관모드에서는 저장 8주까지 큰 폭의 광센서 값 상승현상이 나타나지 않았으며 저장 12주에 큰 폭( $\Delta 8,458$ )으로 상승하였다. 비종균 김치였던 S,U사의 경우, 발효-보관모드에서는 저장 2주에 S( $\Delta 3,384$ ), U( $\Delta 4,549$ ) 김치 모두 큰 폭으로 상승하였으며 저장 8주에 S( $\Delta 5,185$ ), U( $\Delta 1,831$ ) 김치 다시 한 번 광센서 값이 상승하였다. 보관모드에서는 저장 4주까지는 광센서 값의 변화가 미미하였으나 저장 8주에 S( $\Delta 3,901$ ), U( $\Delta 4,318$ ) 김치 광센서 값이 큰 폭으로 상승함. 김치 국물에서의 실험 결과 발효-보관모드에서는 저장 2주에 S( $\Delta 5,867$ ), U( $\Delta 3,006$ ) 김치 모두 큰 폭으로 상승하였다. 이후 저장 8주에 다시 한 번 광센서 값이 S( $\Delta 5,743$ ), U( $\Delta 2,617$ ) 김치 모두 크게 상승하였다. 보관모드에서는 저장 4주까지는 초기 광센서 값에 가까운 광센서를 유지하였으나 저장 8주에 S( $\Delta 4,949$ ), U( $\Delta 2,731$ ) 김치 모두 광센서 값이 큰 폭으로 상승하였다. 비종균 김치와 종균김치에서 광센서 값의 변화의 시점이 다른 이유는 종균 김치에 있는 종균이 발효 및 저장 기간 동안 김치에서의 높은 우점율을 갖고 있기 때문인 것으로 사료된다[13].

광 노출에 따른 안전성 실험 결과 MRS broth에서 30℃, 24시간 배양 중 총 50분 동안 355 nm 광에 노출시켰을 때, *W. koreensis* SK, *W. cibaria* 37, *Leu. citreum* GR1, *Leu. mesenteroides* TA, *Lb. plantarum* HD1, *Lb. sakei* SC1 유산균 6종 모두 광 노출

전·후의 생육도에서 차이가 없는 것으로 나타났으며 용혈성 검사, 항생제 내성 검사, 효소 활성 검사에서 모두 차이가 없는 것으로 나타났다. 멸균김치액에서  $-1.5^{\circ}\text{C}$ , 4주 배양 중 총 3,009분 동안 355 nm 광에 노출시켰을 때 유산균 6종의 용혈성 검사, 항생제 내성 검사, 효소 활성 검사에서 모두 광 노출 전·후의 차이가 없는 것으로 나타났다.  $-1.5^{\circ}\text{C}$ 에서 시료를 광원을 노출하였을 때, 광원에서 발생하는 열로 인하여 평균  $0.8 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ 로 약  $2.4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 의 온도 차이를 보였다. 이러한 온도 차이에 기인하여 광 노출 유·무에 따른 생육도 측정 시 약 1~2 log CFU/mL의 차이를 보였다. *Lb. plantarum* HD1 만이 광 노출 후, 균주 증식에서 초기 활성화 시간이 보다 많이 소요된 후 활성화 되는 것으로 나타났다. 김치의 산도를 빠르게 증가시키는 *Lb. plantarum*이 광 노출 시 돌연변이는 일으키지 않으면서 초기 활성화 시간이 소요되는 부분이 김치의 시어짐을 방지할 수도 있을 것으로 사료되며 광 노출 시간 및 배양배지에 따라서 균의 활성화 시간에 대한 연구가 추가적으로 필요하다.

본 연구에서 시중에서 판매되는 지역김치 및 상품김치의 광센서를 측정하였을 때, 같은 브랜드의 김치에서도 초기 광센서 값이 다르게 나타났으며, 이는 우리나라 김치 제조업에서의 원·부재료 관리 및 생산 공정 관리의 미흡과 일정한 품질의 김치를 생산을 하지 못하기 때문으로 사료 된다. 김치마다 나타내는 초기 광센서 값이 다르기 때문에 실제 적용 시에 절댓값에 의한 변화가 아닌 차이 값에 의한 변화로 결과를 관찰하였다. 또한, 김치에서의 광센서 값과 유산균 생육에 대한 실험 시 김치를 마쇄하여 멸균 가아제로 거른 김치여액과 김치 안쪽에 자연스럽게 스며드는 김치 국물로 실험을 진행하였다. 실제로 김치 냉장고에 적용 시 광센서의 위치 및 측정 깊이에 따라 다르게 측정될 수 있으므로 적용 시에 이에 대한 추가 실험이 필요할 것으로 사료된다.

## 제 5장 참고문헌

1. ANANDHARAJ, Marimuthu, et al. Determining the probiotic potential of cholesterol-reducing *Lactobacillus* and *Weissella* strains isolated from gherkins (fermented cucumber) and south Indian fermented koozh. *Research in microbiology*, 2015, 166.5: 428-439.
2. AN, Duek-Jun; LEW, Kychul; LEE, Kang-Pyo. Effects of Adipic Acid and Storage Temperature on Extending the Shelf Life of Kimchi. *Food Science and Biotechnology*, 1999, 8.2: 78-82.
3. ALEX, Ryer. *Light measurement handbook*. 1998.
4. BASHKATOV, A. N., et al. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2005, 38.15: 2543.
5. BLACKER, Thomas S., et al. Separating NADH and NADPH fluorescence in live cells and tissues using FLIM. *Nature communications*, 2014, 5: 3936.
6. CHANG, Ji-Yoon; CHOI, Yu-Ri; CHANG, Hae-Choon. Change in the microbial profiles of commercial kimchi during fermentation. *Korean Journal of Food Preservation*, 2011, 18.5: 786-794.
7. CHEIGH, Hong-Sik; PARK, Kun-Young; LEE, C. Y. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 1994, 34.2: 175-203.
8. CHO, Jinhee, et al. Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS microbiology letters*, 2006, 257.2: 262-267.

9. CHOI, Ah-Rang, et al. Antagonistic Activities and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Derived From a Plant-Based Fermented Food. *Frontiers in microbiology*, 2018, 9.
10. DE FREITAS, Victor; CARVALHO, Elisabete; MATEUS, Nuno. Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*, 2003, 81.4: 503-509.
11. EFSA(Europeam Food Safety Authority). 2012. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *The EFSA Journal*. 10: 2740.
12. FARABEGOLI, G., et al. Study on the use of NADH fluorescence measurements for monitoring wastewater treatment systems. *Water Research*, 2003, 37.11: 2732-2738.
13. JANG, Dai-Ja, et al. Discussion on the origin of kimchi, representative of Korean unique fermented vegetables. *Journal of Ethnic Foods*, 2015, 2.3: 126-136.
14. JANSE, Ingmar, et al. High-resolution differentiation of cyanobacteria by using rRNA-internal transcribed spacer denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and environmental microbiology*, 2003, 69.11: 6634-6643.
15. JEONG, Do-Won; LEE, Jong-Hoon. Antibiotic resistance, hemolysis and biogenic amine production assessments of *Leuconostoc* and *Weissella* isolates for kimchi starter development. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64.2: 1078-1084.
16. JUNG, Ji Young, et al. Metagenomic analysis of kimchi, the Korean traditional fermented food. *Applied and environmental microbiology*, 2011.

17. JUNG, Ji Young; LEE, Se Hee; JEON, Che Ok. Kimchi microflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production. *Applied microbiology and biotechnology*, 2014, 98.6: 2385-2393.
18. JEONG, Sang Hyeon, et al. Effects of red pepper powder on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation. *International journal of food microbiology*, 2013, 160.3: 252-259.
19. JEONG, Sang Hyeon, et al. Microbial succession and metabolite changes during long-term storage of Kimchi. *Journal of food science*, 2013, 78.5: M763-M769.
20. KIELBASSA, Christopher; ROZA, Len; EPE, Bernd. Wavelength dependence of oxidative DNA damage induced by UV and visible light. *Carcinogenesis*, 1997, 18.4: 811-816.
21. KIM, Han-Lae, et al. NADH Variation and Process Control with NADH Fluorometer in Full Scale Biological Nutrient Removal Process. *Korean Journal of Environmental Health Sciences*, 2008, 34.6: 423-432.
22. KIM, Myungjin; CHUN, Jongsik. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *International journal of food microbiology*, 2005, 103.1: 91-96.
23. 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(3), 641-646.
24. LEE, Myeong-Jae, et al. Bacterial diversity in the initial fermentation stage of Korean and Chinese kimchi. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 2010, 38.2: 207-215.

25. LI, Jain-Ke; HUMPHREY, Arthur E. Use of fluorometry for monitoring and control of a bioreactor. *Biotechnology and bioengineering*, 1991, 37.11: 1043-1049.
  
26. MACLEAN, Michelle, et al. High-intensity narrow-spectrum light inactivation and wavelength sensitivity of *Staphylococcus aureus*. *FEMS microbiology letters*, 2008, 285.2: 227-232.
  
27. MAYEVSKY, Avraham; ROGATSKY, Gennady G. Mitochondrial function in vivo evaluated by NADH fluorescence: from animal models to human studies. *American journal of physiology-Cell physiology*, 2007, 292.2: C615-C640.
  
28. MUÑOZ-ATIENZA, Estefanía, et al. Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of lactic acid bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. *BMC microbiology*, 2013, 13.1: 15.
  
29. OH, Y. J., et al. The effect of *Angelica gigas* water extract on the growth of lactic acid bacteria. *J East Asian Dietary Life*, 2006, 16.3: 344-348.
  
30. PUTMAN, Michael; BURTON, Robert; NAHM, Moon H. Simplified method to automatically count bacterial colony forming unit. *Journal of Immunological Methods*, 2005, 302.1-2: 99-102.
  
31. RADOL, Antonio; COMPAGNONE, Dario. Recent advances in NADH electrochemical sensing design. *Bioelectrochemistry*, 2009, 76.1-2: 126-134.
  
32. SHIN, Dong-Hwa, et al. Changes of chemical composition and microflora in bottled vacuum packed kimchi during storage at different temperature. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 1996, 28.1: 127-136.

33. SHIN, Hang-Sik; JEONG, Hyeong-Seok; NAM, Se-Yong. Determination of active biomass concentrations in sludge by respirometry. *Journal of the Korean Society of Civil Engineers*, 2001, 21.2-B: 165-170.
34. So, M. H., & Lee, Y. S. 1997. Influences of cultural temperature on growth rates of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Korean J. Food Nutr*, 10, 110-116.
35. Song Hee Moon, et al. Development of fermentation storage mode for kimchi refrigerator to maintain the best quality of kimchi during strage. *Food science and technology*, 2018, 50.1: 44-54.
36. Ung, D. Y., Lee, S. H., Kim, D. M., Park, M. S., Bae, D. W., Hahn, Y. & Deon, C. O. 2011. Metagenomic analysis of kimchi, a traditional Korean fermented food. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(7), 2264-2274.
37. WOO, Sang-Min; KIM, Sang-Dal. Confirmation of Non-Siderophore Antifugal Substance and Cellulase from *Bacillus lichemiformis* KII Containing Antagonistic Ability and Plant Growth Promoting Activity. *Journal of Life Science*, 2007, 17.7: 983-989.
38. ZHAO, Luze, et al. A simple and accurate method for quantification of magnetosomes in magnetotactic bacteria by common spectrophotometer. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 2007, 70.3: 377-383.
39. ZHANG, Qinghong; PISTON, David W.; GOODMAN, Richard H. Regulation of corepressor function by nuclear NADH. *Science*, 2002, 295.5561: 1895-1897.
40. ZHAO, Yuzheng, et al. Genetically encoded fluorescent sensors for intracellular NADH detection. *Cell metabolism*, 2011, 14.4: 555-566.

41. ZHAO, Yuzheng, et al. SoNar, a highly responsive NAD<sup>+</sup>/NADH sensor, allows high-throughput metabolic screening of anti-tumor agents. *Cell metabolism*, 2015, 21.5: 777-789.
42. 권영희, et al. 미생물 자동 분류 및 계수를 위한 영상 분석 시스템. In: 2002 제 29 회 한국 정보과학회 춘계 학술발표회. 한국정보과학회, 2002. p. 607-609.
43. 김민영, et al. 콜로니 계수기를 위한 이미지 전처리와 ROI 설정 기법. *정보 및 제어 논문집*, 2012, 181-182.
44. 김은지, 장해춘, 2015, 김치로부터 분리한 *Weissella* 속, *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 특성 규명, 석사학위논문, 조선대학교, 광주
45. 김초롱, 장해춘, 2017, 김치의 저장 온도에 따른 유산균총의 변화와 김치 쓴 맛 원인균 규명, 석사학위논문, 조선대학교, 광주
46. 김한래, 이시진, 2008, 바이오센서를 이용한 하수고도처리공정의 처리특성 및 통계적 관리모델 해석에 관한 연구, 박사학위논문, 경기대학교, 경기
47. 박스텔라, 미생물 탐지 장치 및 이를 이용하는 미생물 탐지 방법, 서울바이오시스 주식회사, 안산, 한국 특허공개번호 10-2015-0050265
48. 이종일, 손옥재, 미생물 형광특성을 이용한 수질 내 미생물 측정용 프로브, 동양 하이테크 산업주식회사, 광주, 한국 특허공개번호 10-2009-0081998
49. 이종래, 최정우, 미생물 활성 측정 장치, 주식회사 아이이아이, 안양, 한국 특허 공개번호 1994-0004049