기능성 올리고당을 생성하는 새로운 김치제조기술의 개발

한남수

(충북대학교 농과대학 식품공학과)

Development of new kimchi manufacturing technique producing functional oligosaccharides

Han, Nam-Soo

Dept. of Food science and Technology, Chungbuk national University

적 요

Leuconostoc속의 젖산균이 생성하는 덱스트란수크라제가 설탕으로부터 포도당 잔기를 맥아당으로 전이 시켜 기능성 올리고당인 판노스를 생성하는 사실을 이용하여 김치의 주발효균인 Leuconostoc속 젖산균을 이용하여 김치에서도 올리고당을 생성하는 실험을 수행하였다. 동치미김치, 열무김치, 백김치를 제조하여 BPB-MRS 한천배지에서 Leuconostoc 속 예상균주를 각각45균주, 15균주, 20균주를 분리하였고, PES한천배지, 항생제 내성배지인 NLS한천배지에서 각각 13균주, 11균주, 18균주를 선발하였다. 위 선발균주를 2%설탕을 포함하는 Leuconostoc 속 배양배지에서 배양하면서 덱스트란을 합성하는지 TLC 분석을 이용하여 확인하고, 또한 올리고당을 합성하는지를 2%설탕과 2%맥아당을 포함하는 Leuconostoc 속 배양배지를 사용하여 TLC 분석으로 확인하였다. 다시 선발균주를 위의 배양배지(2%설탕과 2%맥아당)에 10℃에서 배양한 결과, 세포분열 도입시간(Lag time)이 짧고, 최대 균체량(Maximum optical density)과 빠른 생육속도(growth rate, 1/hr)를 보임과 동시에 다량의 panose를 생성하는 우수한 균주를 각각의 젖산식품에서 2균주씩 총6균주를 선발하였다. 최종적으로 이 6균주와 공시균주인 *Leuconostoc mesenteroides* B-512F, *Leuconostoc mesenteroides* KCTC3719 2균주를 미생물 신속동정기기인 MIDI를 이용하여 동정하였고 거의 모두가 Leuconostoc 속으로 동정되었다.

그중 저온에서 빠른 생육속도를 보임과 동시에 panose를 다량 생성한 starter용 우수균주를 *Leuconostoc mesenteroides* HJ-B4로 최종 선발하였다. 이 균주를 starter로 첨가하여 2℃, 8℃에서 발효하면서 첨가하지않은 대조구와 10^6CFU/mL, 10^7CFU/mL를 첨가한 실험구에서 pH, 총산, 균수, 및 당의 변화를 확인하였다. 대조구에 비해 panose가 생성하는 농도는 크게 차이가 없었으나 panose가 생성되는 시간에는 발효온도에 따라 2℃발효에서 4일에서 많게는 일주일 정도의 차이가, 8℃에서 발효한 실험에선 2~3일의 차이가 나 스타터로 분리한 *Leuconostoc mesenteroides* HJ-B4가 저온에서 높은 활성을 보임이 확인되었다.

I. 우수균주 선발방법

1. 발효식품의 제조

가. 동치미김치의 제조 - 무(800g)의 껍질을 벗기고 네조각으로 자른 후 김치통에 넣고 40g 의 소금 을 붓고 20°C에서 12시간 정치한다. 마늘(10g)과 생강(3g)을 곱게 다져 넣고, 쪽파(20g)는 크게 짤라 넣은 후 4리터의 물로 채우고 뚜껑을 닫는다.

나. 열무김치의 제조 - 열무잎(400g)을 10% 소금액에서 세시간 절이고 물로 씻어 5 cm 간격으로 자른 후 김치통에 넣는다. 붉은고추(10g)를 채쓸고, 마늘(10g)과 생강(3g)은 다져 넣고, 소금(40g)을 넣은 후 4리터의 물을 채우고 뚜껑을 닫는다.

다. 백김치의 제조 - 통배추를 반으로 분할하고 10% 소금액에 담근후 12시간 절인다. 무(100g)와 표고버섯(10g)은 채썰고 미나리(50g), 쪽파(10g), 대파(10g)는 5cm 크기로 자르고, 밤(10g), 대추(10g)를 굵게 썰어 한데 섞은 후, 마늘(10g), 생강(3g) 다진 것과 소금(30g), 실고추(10g)을 추가하여 "소"를 만든다. 씻어 물을 뺀 배추(500g) 사이사이에 소를 넣고 4리터의 물을 붓고 뚜껑을 닫는다.

2. 배지상에서 선발

가. 0.002% bromophenol blue 함유한 lactobacilli MRS 배지

각각의 김치를 제조 2일후 1mL씩 채취하여 0.002% bromophenol blue를 함유한 lactobacilli MRS 한 천배지에 단계별로 희석하여 100㎕씩을 도말하여 28℃에서 48시간동안 배양한다. 자란 콜로니 중환을 형성하지 않은 미청색의 콜로니를 Leuconostoc 속으로 간주한다.

나. PES 한천배지

가장 일반적인 Leuconostoc 선발배지인 phenlyethanol agar에 2% sucrose를 첨가한 PES배지를 사용하여 위의 환을 형성하지 않은 미청색의 콜로니들을 각각 streaking하여 20℃에서 48시간동안 배양한다. Leuconostoc 속 균주들은 설탕을 분해하여 덱스트란을 형성하므로 끈적끈적한 콜로니를 만들면 Leuconostoc 속으로 간주한다.

다. m-NLS 한천배지

PES 한천배지는 그람음성균과 sucrose를 이용하지

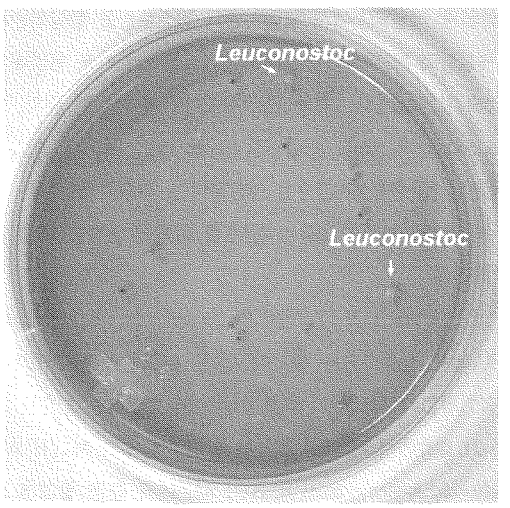


그림 1. 0.002% bromophenol blue 함유한 Lactobacilli MRS 한천배지에서 자라는 Leuconostoc 속의 콜로니

그림 2. phenlyethanol agar와 2% sucrose가 함유한 배지에서 자라는 Leuconostoc 속의 콜로니

못하는 균주에만 영향을 끼치므로 확실한 Leuconostoc 속 선발배지가 될 수 없어 항생제를 이용하여 김치 발효균의 내성 차이를 이용한 배지인 NLS한처배지를 제조하여 위의 PES 한천배지에서 sucrose를 이용한 콜로니들을 다시 streaking하였다. 28℃에서 48시간 배양하면서 콜로니를 확인하였다. 배지에 첨가한 항생제 저항성을 알아보기위한 실험과 배지의 성분은 다음과 같다.

[Basal medium]-/L	
Tryptone(Difco)	10g
Yeast extract(Difco)	1g
Beef extract(BBL)	1g
sucrose	20g
sodium acetate	5g
magnesium sulfate	5g
ammonium phosphate	2g
sorbic acid	0.5g
sodium azide	0.0075g
Tween 80	1g
agar	15g
Filter-sterilized	
vancomycin(sigma)	300ug/mL
novobiocin(sigma)	5ug/mL
cystein HCl	0.5mg/mL

※배지에 첨가한 항생제 저항성

vancomycin은 그람양성균에 대하여 세포벽 생합성을 방해함으로써 생육을 저해하지만 그람음성균에는 저해작용이 없다. 단 Leuconostoc의 경우 vancomycin에 대한 MIC(Minimal Inhibitory Concentration: 최소억제농도)가 500ug/mL이상으로 다른 젖산균주에 비해 매우 큰 것이 특징이지만 또한 김치의 주요한 발효균주인 Lactobacillus속 균주중 *L. plantarum*과 *L. brevis*는 vacomycin에 대한 MIC역시 2000ug/mL으로 높기 때문에 vacomycin 단독으로는 선택적인 효과가 적다.

그래서 *L. plantarum*과 *L. brevis*를 선택적으로 저해하기위해 novobiocin을 같이 제조한 NLS를 Leuconostoc균주를 선발하기위한 배지중 최후의 배지로 선택하였다.(최등, 1996)

NLS배지는 합성배지이며, 또한 배지속에 sucrose를 함유하므로 콜로니가 커서 배지의 탄소원을 sucrose에서 glucose로 대체한 modified NLS배지를 사용하였다.

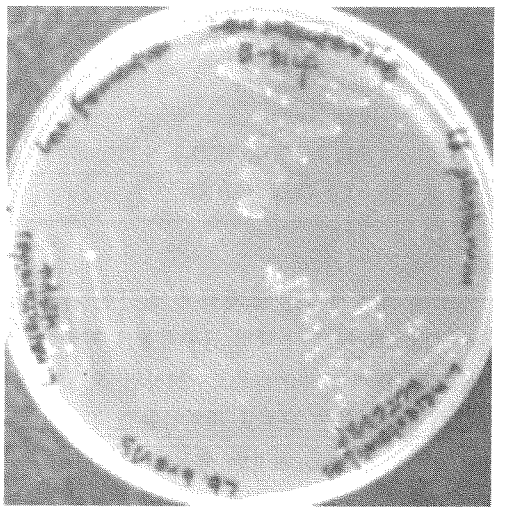


그림3. m-NLS배지에서 자라는 Leuconostoc속의 성상

또한 다른 젖산균과의 선택성을 알아보기위해 대표적인 김치젖산균 중 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* 과 *Leuconostoc mesenteroides* KCTC3719 및 *Leuconostoc mesenteroides* B-512F을 한 plate에 도말하였다.

그림에서 보는바와 같이 Lactobacillus속은 자라지 않고 Leuconostoc만 자라는 것으로 보아 항생제에 대한 내성이 Leuconostoc속에만 있음이 확인되었다.

3. Dextran 생성여부

Leuconostoc 속은 sucrose가 배지에 있을 때 sucrose를 분해하여 dextran이라는 점질의 다당을 합성한다. 위의 3가지 배지에서 분리한 콜로니를 sucrose가 들어있는 합성배지에 접종하여 dextran 합성여부를 보았다. sucrose 합성배지는 아래와 같다.

(The sucrose medium for *Leuconostoc mesenteroides*)
X mL of 0.5% Yeast Extract and 0.5% Peptone, sterile
0.1* XmL of 300 g/L sucrose, sterile
0.1* XmL of 200 g/L K2HPO4, sterile

0.01* XmL of the salt solution, sterile
2g MgSO4 · 7H2O
0.1g NaCl
0.1g FeSO4
0.1g MnSO4 · H2O
0.13g CaCl2 · 2H2O
100mL water

Sucrose 합성배지를 조제하여 살균한 eppendorf tube에 1mL씩 넣고, 선택한 균주들을 1 백금이씩 취하여 28℃에서 120rpm으로 24시간 배양하였다. Dextran 생성여부는 TLC로 확인하였고, TLC plate상에서 움직이지 않고 점적한 원점에 머물러 있는 것이 dextran이다. 선택한 모든 균주에서 dextran을 형성함이 확인 되었다.(data not shown)

4. 올리고당 생성여부

Leuconostoc 속이 분비하는 dextransucrase는 dextran을 생합성과 더불어 효소반응액 중에 sucrose 외의 다른 당이 첨가될 경우 sucrose의 포도당 잔기를 다른 당에 전달하여 올리고당을 생성한다. 이 올리고당 합성을 알기 위해 가장 대표적인 분지올리고당인 panose의 합성능을 알아보기위해 sucrose 외에 다른 당으로 maltose를 사용하였고, 이 합성능을 알아보기 위해 사용한 배지는 maltose-sucrose 합성배지이다. 그 조성은 다음과 같다.

(The maltose-sucrose medium for *Leuconostoc mesenteroides*)
X mL of 0.5% Yeast Extract and 0.5% Peptone, sterile
0.1* XmL of 300 g/L maltose, sterile
0.1* XmL of 300 g/L sucrose, sterile
0.1* XmL of 200 g/L K2HPO4, sterile
0.01* XmL of the salt solution, sterile
2g MgSO4 · 7H2O
0.1g NaCl
0.1g FeSO4
0.1g MnSO4 · H2O
0.13g CaCl2 · 2H2O
100mL water

이렇게 조제한 maltose-sucrose합성배지를 살균한 eppendorf tube에 1mL씩 넣는다. 그곳에 다시 선별한 균주를 1백금이씩 취하여 28℃에서 120rpm으로 24시간 배양한다. Panose의 생성을 알아보기 위해서 역시 TLC를 이용하였다. 선별한 균주에서 함량은 다르지만 대부분 Panose를 형성함을 아래 그림에서와 같이 알 수있다.

5. MIDI를 이용한 미생물의 신속동정

위에서 선발한 6개의 panose 생성 우수균주를 최종적으로 동정하기 위해서 충북대학교 식품공학과에서

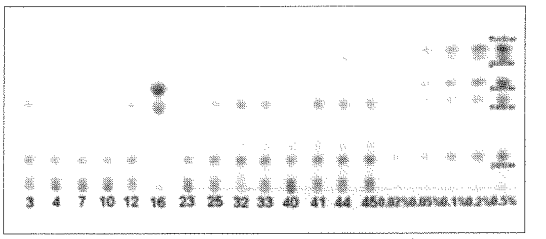


그림4. 동치미에서 분리한 *Leuconostoc mesenteroides*의 panose 생성실험
· 오른편 다섯줄: 표준 당류화합물 - 과당(fructose), 포도당(glucose), 자당(sucrose), 맥아당(maltose), 판노스(panose)
· 왼편 열네줄: 동치미에서 분리한 덱스트란 생성균주

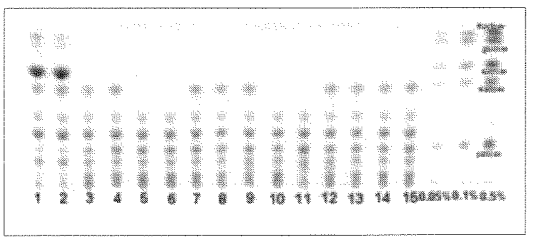


그림5. 열무김치에서 분리한 *Leuconostoc mesenteroides*의 panose 생성실험
· 오른편 세줄: 표준 당류화합물 - 과당(fructose), 포도당(glucose), 자당(sucrose), 맥아당(maltose), 판노스(panose)
· 왼편 열다섯줄: 열무김치에서 분리한 덱스트란 생성균주

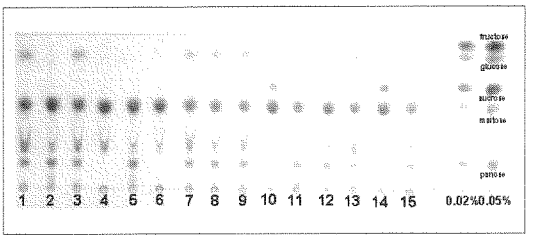


그림6. 백김치에서 분리한 *Leuconostoc mesenteroides*의 panose 생성실험
· 오른편 두줄: 표준 당류화합물 - 과당(fructose), 포도당(glucose), 자당(sucrose), 맥아당(maltose), 판노스(panose)
· 왼편 열다섯줄: 백김치에서 분리한 덱스트란 생성균주

보유하고 있는 미생물 신속동정기(MIDI)를 이용하였다. MIDI는 균체의 지방산 조성을 가스 크로마토그래프를 이용하여 분석한 후 각각의 미생물의 지방산 조성 데이터와 비교하여 일치하는 속(genus)명과 종(species)명을 판명하는 편리한 분석기이다.

MIDI 분석을 위한 미생물의 생장배지는 다음과 같은 Tryticase soy broth 30g, Granulated Agar 15g, D.W 1L의 조성으로 평판배지를 만든 후 동정하고자 하는 균을 streaking한 후 28℃에서 48시간 배양한다. 젖산균일 경우 Lactobacilli MRS Agar에서 배양 가능하다.

전처리 시료는 다음과 같이 준비하여 사용하였다.

Reagent 1 : Sodium hydroxide + D.W + Methanol

Reagent 2 : Methanol + 6N-HCl

Reagent 3 : Hexane + Methyl-tert Butyl Ether

Reagent 4 : Sodium Hydroxide + D.W + Saturated NaCl

시료전처리과정은 다음의 순서를 따랐다.

① Harvesting : plate에 배양된 세포를 loop를 이용하여 40mg정도 채취하여 cap tube의 바닥에 세포를 옮김

② Step 1 (Saponification)

Reagent 1 첨가(1mL) → Vortex → 100℃ 5분 방치→ Vortex 100℃ 25분간 방치→ 찬물에서 냉각

③ Step 2 (Methylation)

Reagent 2첨가(2mL) → Vortex → 80℃ 10분간 방치→ 얼음물에서 급속 냉각

④ Step 3 (Extration)

Reagent 3 첨가(1.25mL) → rotator → 10분 하층액(수용층)제거

⑤ Step 4 (Base Washing)

Reagent 4첨가(3mL) → ratator 5분 층이 완전히 분리될 때까지 방치 → 상층액을 분리하여 GC bial에 전이

가스크로마토그래피를 작동하기위한 conditioning으로 gas valve를 모두 연 후 controller, GC, computer, printer 순으로 작동시켰고, GC 가동조건으로 setting한 후 signal값이 일정할 때까지 방치(30min~2hr)하였다. 시료분석 순서를 간단히 나타내면 다음과 같다.

Sample table을 작성 → autosampler trayer위에 시료가 든 bial 놓기 → quit → start sequance → GC분석

GC분석이 시작되면 처음 Calibration standard kit를 먼저 분석(2회실시)하고 GC최적화상태 점검 및 표준미생물의 지방산 예비분석을 실시하였다. 데이터분석은 MIDI에서 데이터베이스와 비교후 컴퓨터에 의해 수행되고 약 20분 후에 출력되었고 Similarity Index의 수치(Min. 0.5이상)와 균명칭을 확인하였다.

분석한 대부분의 균주가 Leuconostoc속으로 판정되었고 similarity index 값이 0.5이상의 유의성 수치가 나왔으므로 이중 가장 panose 형성활성이 높은 균주 선별을 위해 각각의 생장곡선과 활성실험을 하였다.

6. 선발균주의 생장 곡선과 panose의 생성활성 실험

위에서 3가지의 서로 다른 한천배지와 2가지 합성배지, 그리고 미생물신속동정기기를 이용하여 발효식품에서 분리한 Leuconostoc 속 우수균주를 동치미, 열무김치, 백김치에서 분리한 균주중 각각 2균주씩을 선발하였다. 이 우수균주중 스타터용 우수 1균주를 선발하기위해 위에서 분리한 6균주와 공시균주로서 *Leuconostoc mesenteroides* B-512F와 *Leuconostoc mesenteroides* KCTC3719 총 8균주에 대한 실험을 하

였다. 처음에 분리한 곳이 저온이었고 또 앞으로 스타터로 쓰기위해선 저온에서 잘 자라야 함으로 최종적인 실험은 저온에서 실시하였다. sucrose와 maltose를 첨가한 합성배지에 8균주를 접종하고 8℃에서 120rpm으로 3일간 배양하였다. 배양하는 동안 각각의 균주의 optical density(O.D.)를 통하여 lag phase, 균체의 비성장속도(μ) 및 최대 균체량(maximum O.D.)과 TLC를 통하여 panose 생성여부 및 생성량을 측정하였다. 이 실험에 쓰인 배지는 maltose-sucrose 합성배지를 전체볼륨을 26.2mL에 맞추고 각각 균주의 생장곡선을 알아보기 위해 550nm에서 흡광도를 측정하였다. Panose 활성을 알아보기위해 일정한 간격으로 시료를 채취하여 panose의 생성여부를 TLC로 알아보았다. 각각의 발효식품에서 분리한 균주의 panose 활성시험은 먼저 test tube에 배지 5mL을 넣고 28℃에서 24시간동안 전배양한다. 50mL tube에 maltose-sucrose 합성배지를 26.2mL 넣고 전배양한 것을 100uL 넣어 김치의 저장온도인 8℃에서 120rpm으로 배양하기 시작하였다.

대부분이 20~30시간(약 하루)에서 대수기가 시작되었고 50시간 후에는 균이 최대로 생장하여 정지기(stationary phase)에 도달하였다. 이때 분석한 8균주에 대한 각각의 균체 생장도를 550nm에서 측정한 흡광도와 sucrose, maltose 및 panose의 감소와 생성을 아래의 그림에 나타내었다.

그러나 표준미생물로 선택한 *Leuc. mesenteroides* KCTC3719, *Leuc. mesenteroides* B-512F는 거의 성장하지 않았거나 성장속도가 느림을 알수가 있고, 또한 올리고당의 생성과 농도 또한 낮음을 알수가 있었다.

II. 분리균주의 특성실험

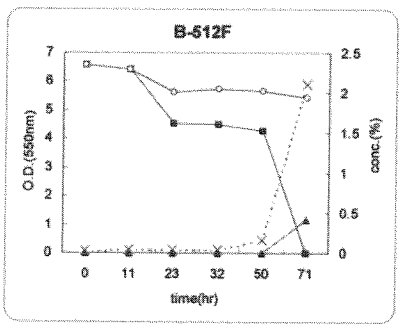
1. 단당분석 및 O-glycosyl bond의 위치확인실험

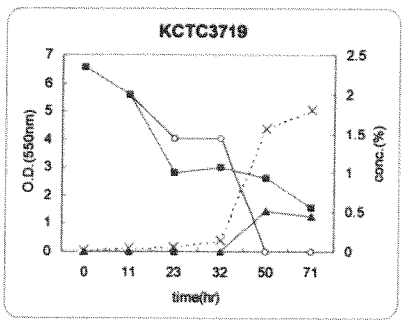
가. 단당분석

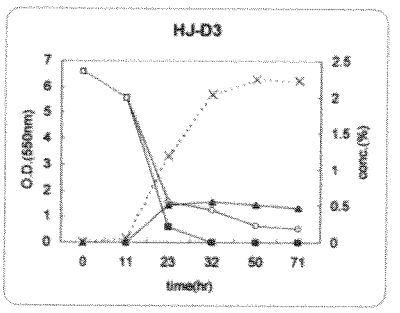
①sucrose합성배지에 균주 접종

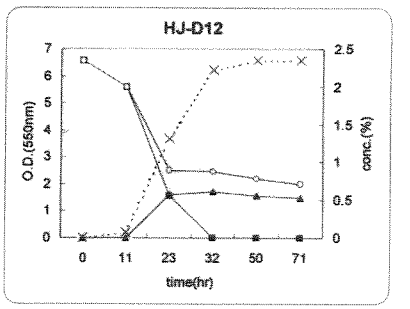
②28℃에서 120rpm으로 1day(다당형성-dextran으로 추측)

③cell제거 (4℃, 10000rpm에서 5분간 centrifuge)-상등액 사용









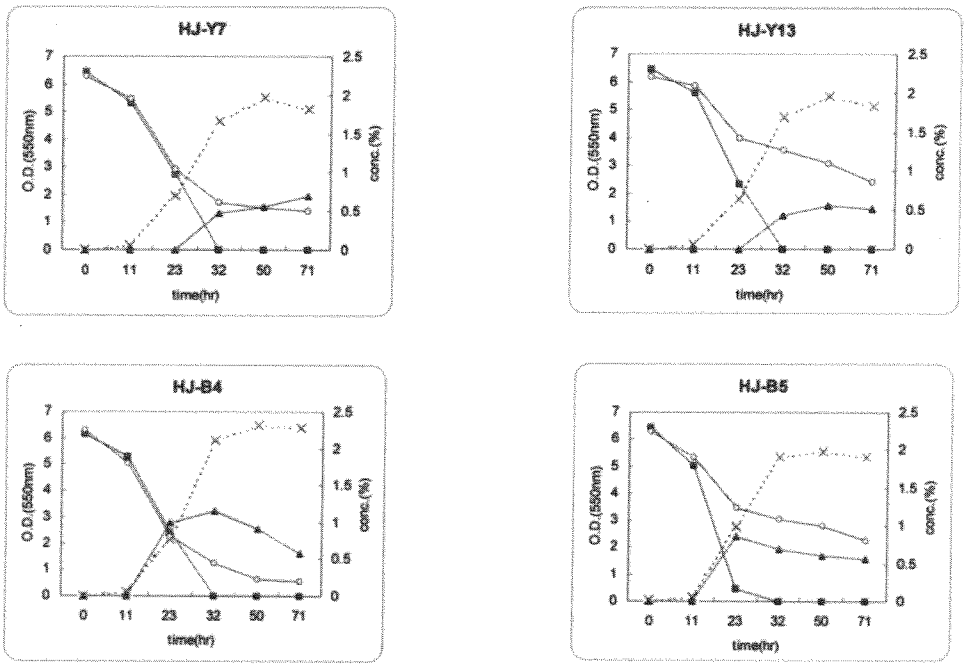


그림7. 각 균주들의 흡광도와 당의 변화양상
■: sucrose, ○: maltose, ▲: panose, ×: O.D.

표 1. 10℃에서 분리된 Leuconostoc 속 균주들의 생육특성과 panose합성 비교

	strains							
	B-512F	KCTC3719	D-3	D-12	Y-7	Y-13	B-4	B-5
Lag time(hr)	71	50	23	23	23	23	23	23
Growth rate(1/hr)	0.10	0.11	0.26	0.25	0.22	0.22	0.24	0.21
Max. O.D(abs 550nm)	5.89	5.05	6.28	6.57	5.52	5.48	6.47	5.52
Panose conc.(%)	0.42	0.52	0.56	0.62	0.70	0.56	1.16	0.86
BPB-MRS medium	+	+	+	+	+	+	+	+
PES medium	+	+	+	+	-	-	+	+
NLS medium	+	+	+	+	+	+	+	+
MIDI test	L.m	L.m	L.m	L.m	L.pm	L.pm	L.m	L.m

④ethanol:상등액=1:1 냉장고에 보관(방치)-overnight

⑤상등액제거

가수분해(M-HCl 첨가하여 90℃에서 1시간 가열)

유리 bial(길이 약 5cm)에 약1~2mL정도가 되게 넣는다.

TLC로 분석

용매는 acetonitrile:DW=85:15를 사용하고 three accent한다.

그림에서 보듯이 각 균주들이 만드는 polymer들은 같은 종류의 단당으로 만들어짐을 알수가 있고, 최종적으로 분리한 균주 또한 같은 종류의 단당을 포함

하는 폴리머를 생성함을 알수가있다.

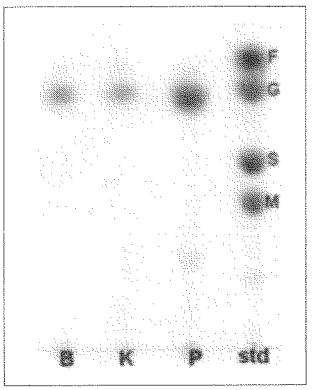


그림8. 각 균주들의 단당의 위치
B: *Leuconostoc mesenteroides* B-512F
K: *Leuconostoc mesenteroides* KCTC3719
P: *Leuconostoc mesenteroides* HJ-P4
0.5%: fructose, glucose, sucrose, maltose가 들어있는 표준용액

나. O-glycosyl bond의 위치확인

①sucrose합성배지에 균주 접종

②28℃에서 120rpm으로 1day(다당형성-dextran으로 추측)

③cell제거 (4℃, 10000rpm에서 5분간 centrifuge)-상등액 사용

④ethanol:상등액=1:1 냉장고에 보관(방치)-overnight

⑤상등액제거

선택한 균주와 시판하는 Dextran과 soluble starch포함 TLC로 분석

용매는 nitromethane:D.W:n-propanol=2:1.5:4 사용하고 one accent한다

그림에서 보듯이 각 세가지 균주들이 만드는 다당 중 특히 저온에서 분리하여 빠른 생육속도를 보인 *Leuconostoc mesenteroides* HJ-B4가 만드는 다당이 Sigma에서 시판하고있는 dextran과 가수분해 산물이 비슷함을 보이는 것으로 보아 스타터용 균주로 분리한 *Leuconostoc mesenteroides* HJ-B4가 생성하는 다당이 dextran이라고 생각할 수 있다.

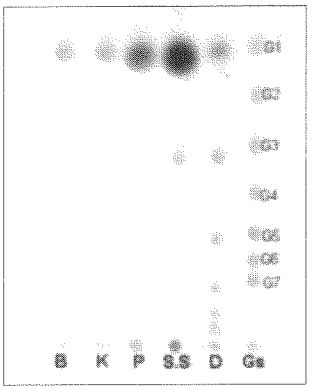


그림9. 각종 다당의 산가수분해
B: *Leuconostoc mesenteroides* B-512F
K: *Leuconostoc mesenteroides* KCTC3719
P: *Leuconostoc mesenteroides* HJ-B4
S.S: soluble starch
D: dextran(시판용- Sigma)
Gs: glucose1～glucose7가 들어있는 표준용액

Ⅲ. 분리균주의 스타터 첨가실험

각각의 발효식품에서 분리한 Leuconostoc 균주 중 저온에서 성장이 빠르고 panose의 생성이 가장 우수한 균주인 HJ-B4를 starter로 첨가하여 첨가한 것과 하지않은 것의 차이를 알아보고자 하였다. 대조구엔 균주를 넣지않고 실험구엔 10^6CFU/mL, 10^7CFU/mL를 각각 첨가하여 발효가 진행되면서 총균수와 Leuconostoc속균주의 변화를 MRS 배지와 PES배지를 알아보고, 당의 변화를 TLC로 확인하였다. 또한 pH와 산도등을 조사하였다.

※HJ-B4를 스타터로 첨가한 실험방법

①MRS배지에 HJ-B4를 전배양한다.

②무를 4×4로 자른 후 소금에 12시간동안 절인다.

③부재료(마늘, 생강, 쪽파)를 준비하고, 설탕과 맥아당을 전체의 볼륨에 2%씩을 준비한다.

④대조구엔 균주를 넣지않고 실험구엔 각각 10mL과 2mL을 넣어준다.

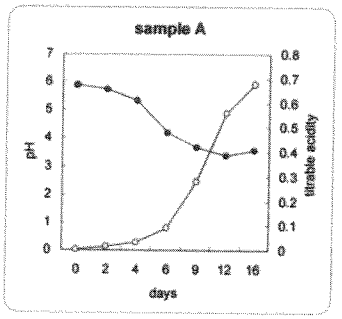
⑤8℃에서 발효한다.

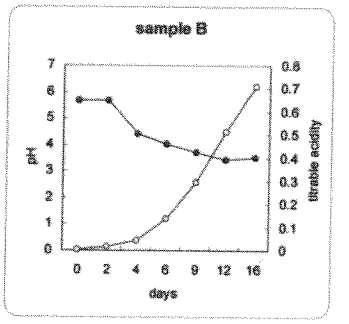
⑥2일 간격으로 sampling한다.

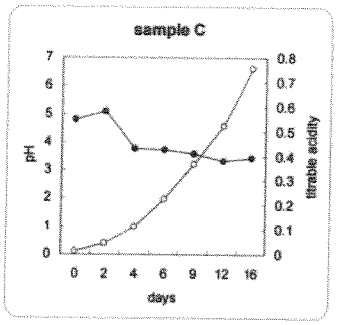
pH, 산도, 총균수, Leuconostoc 속의 균수 및 당의 변화 및 TLC 그림은 아래와 같다.

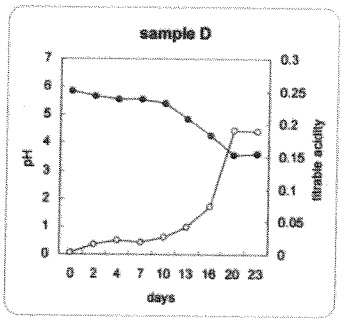
참고 문헌

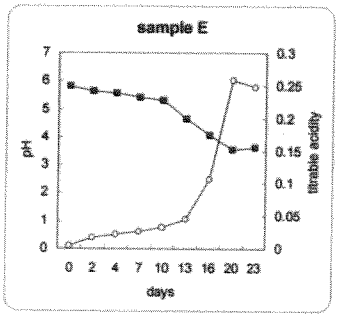
1. 김정희, 김종일(1999), 무 주스 제조를 위한 starter로써 동치미에서 분리한 유산균의 동정 및 발효 특성, The Korean Journal of Micorbiology, 35(4): 307-314
2. 소명환, 김영배(1996), 저온성 젖산균 스타터가 김치발효에 미치는 영향, The Korean Journal of Food Science and Technology, 28(5): 806-813
3. 최학종 외 3명(1996), 식품중에 함유된 Leuconostoc 균주의 새로운 선택배지 개발, The Korean Journal of Food Science and Technology, 28(2):279-284











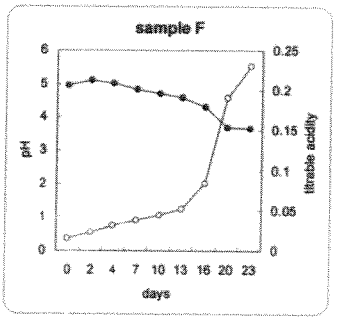
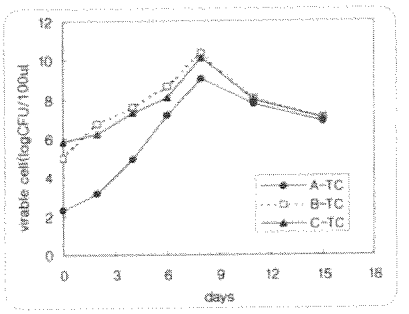
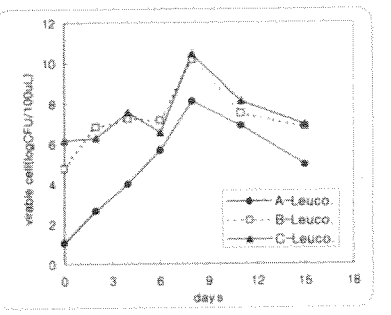
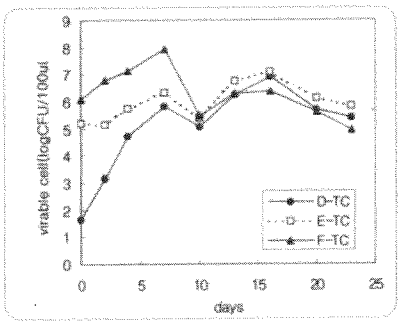


그림10. 발효하는 동안 pH와 총산의 변화
· sample A, B, C: 8℃에서 발효
· A, D: control(starter를 첨가하지 않음)
· C, F: starter 10^7 CFU/mL 첨가
· sample D, E, F: 2℃에서 발효
· B, E: starter 10^6 CFU/mL 첨가







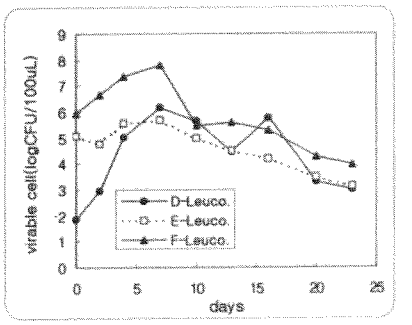


그림11. 발효하는 동안 총균수와 Leuconostoc속의 변화

- sample A, B, C: 8℃에서 발효
- A, D: control(starter를 첨가하지 않음)
- C, F: starter 10^7 CFU/mL 첨가
- sample D, E, F: 2℃에서 발효
- B, E: starter 10^6 CFU/mL 첨가

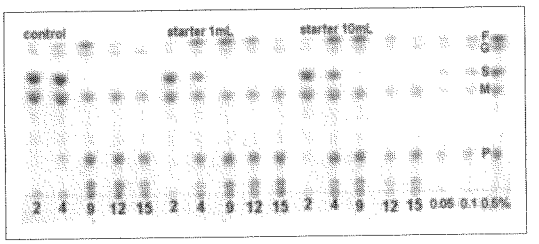


그림12. 8℃에서 발효하는 동안 starter로 Leuconostoc mesenteroides HJ-B4를 첨가한 실험 panose 생성실험

· 오른편 세줄: 표준 당류화합물 - 과당(fructose), 포도당(glucose), 자당(sucrose), 맥아당(maltose), 판노스(panose)

· 왼편 열다섯줄: 발효하는동안 당의 변화

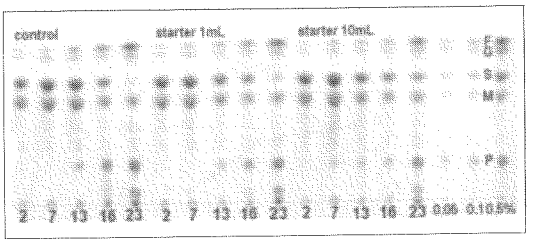


그림13. 2℃에서 발효하는 동안 starter로 Leuconostoc mesenteroides HJ-B4를 첨가한 실험 panose 생성실험

· 오른편 세줄: 표준 당류화합물 - 과당(fructose), 포도당(glucose), 자당(sucrose), 맥아당(maltose), 판노스(panose)

· 왼편 열다섯줄: 발효하는동안 당의 변화

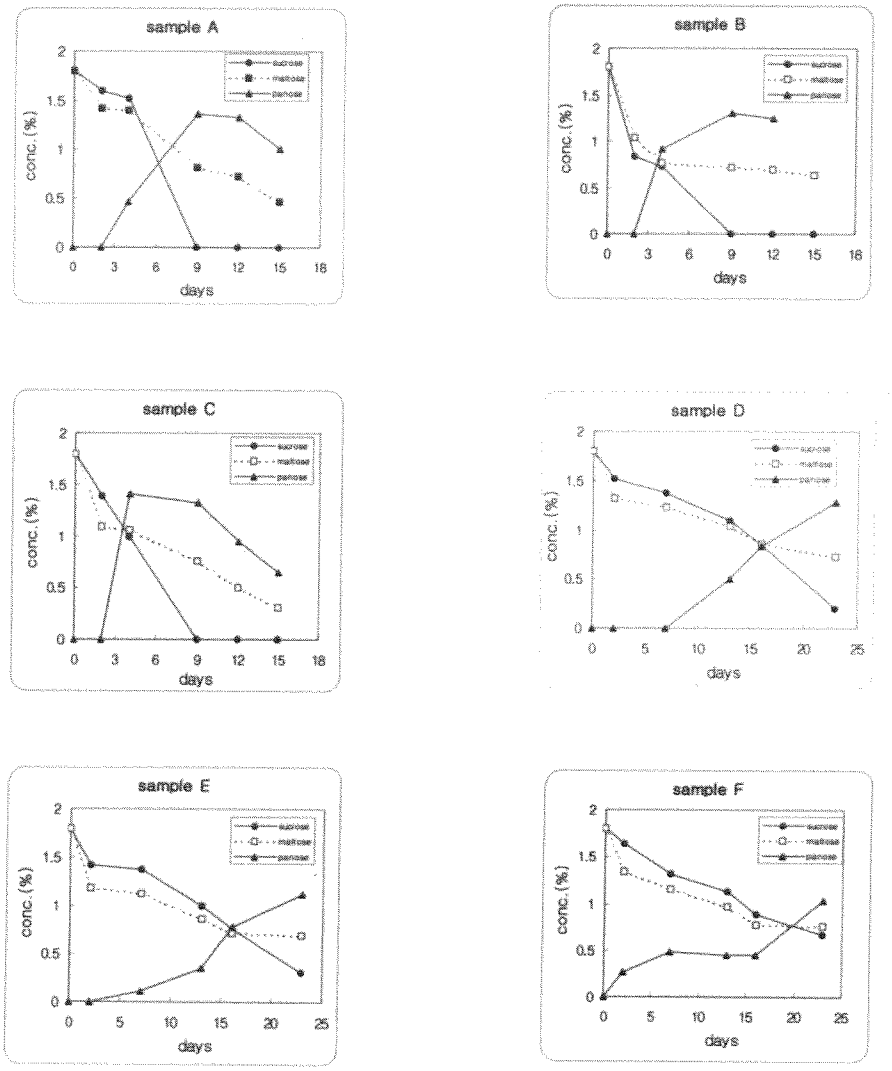


그림14. 발효하는 동안 당의 변화양상
●: sucrose □: maltose ▲: panose
· sample A, B, C: 8℃에서 발효
· A, D: control(starter를 첨가하지 않음)
· C, F: starter 10^7 CFU/mL 첨가
· sample D, E, F: 2℃에서 발효
· B, E: starter 10^6 CFU/mL 첨가

4. Kitaoka,M. and J.F.Robyt(1998), Large-scale preparation of highly purified dextransucrase from a high producing constitutive mutant of *Leuconostoc mesenteroides* B-512FMC. Enzyme Microb Technol, 23:386-391

5. Miyao,S.and Ogawa,T(1988), Selective media for enumerating lactic acid bacteria groups from fermented pickles, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 35(9):610-617