

코팅된 젓산세균 분말의 저장 안정성에 미치는 효과

김수진 · 이상윤 · 한종권¹ · 이재권² · 최미정*

건국대학교 생명자원식품공학과, ¹(주)미래자원ML, ²경기대학교 식품생물공학과

Effect of Coating Materials on the Stability of Spray-Dried *Lactobacillus* Powder during Storage

Soojin Kim, SangYoon Lee, Jong-Kwon Han¹, Jae-Kwon Lee², and Mi-Jung Choi*

Department of Bioresources and Food Science, Konkuk University

¹MILAE Resources ML Co., Ltd.

²Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University

Abstract *Lactobacillus* is a probiotic that suppresses the growth of pathogens while preventing constipation, diarrhea, and intestinal inflammation. However, various environmental conditions such as pH and temperature affect the growth of *Lactobacillus*. In this study, *Lactobacillus plantarum* was encapsulated with starch using a spray dryer to protect the viability of the organism during storage and to increase its acid tolerance. The lower water activity and storage temperature resulting from this method influenced the survival of *L. plantarum*. In encapsulated *Lactobacillus* powders, viability of *Lactobacillus* was increased during storage at 20°C relative to that of *L. plantarum* stored at 35°C in the same water activity conditions. Furthermore, *L. plantarum* encapsulated in starch with ginger showed increased viability when compared to non-encapsulated *L. plantarum* stored without treatment. Finally, based on a simulated digestion test, encapsulated *L. plantarum* survived at a pH of 2, whereas the non-encapsulated *L. plantarum* did not. Thus, coating the encapsulated powder with these materials was effective in maintaining *Lactobacillus* viability.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, coating materials, encapsulation, storage stability, spray-dried powder

서 론

최근 들어 식품과 인체, 장내 미생물의 상관성 규명에 대한 관심이 증가함에 따라 프로바이오틱스(probiotics)와 프리바이오틱스(prebiotics)에 관련된 연구들이 증가하는 추세이다. 프로바이오틱스는 숙주의 장내 미생물 균형을 향상시킴으로써 건강 증진 효과를 나타내는 활성 미생물 보충제를 의미하고, 프리바이오틱스는 이러한 세균의 성장을 돕는 영양분을 의미한다(1). 현재 프로바이오틱스 생균제로 사용되고 있는 것은 *Bifidobacterium* 속, *Lactobacillus* 속, *Enterococcus* 속 등이 있으며 이들의 면역조절 및 항암기능에 대한 연구들이 보고되고 있다(2,3). 그 중 *Lactobacillus* 균은 사람과 동물의 장내 환경 변화를 통해 *E. coli* 및 *Salmonella* 등의 병원균을 억제하여 장 질환 및 내인성 질병을 감소시키고, 장관 내에서 단백질, 비타민, 효소 등을 합성하며 영양소 소화율 개선 및 장관 면역 발달에 관여할 수 있다고 보고되어 왔다(4,5). 또한 변비, 설사, 장염의 개선 및 치료, 혈중 콜레스테롤 감소, 암 예방, 정장작용 등의 효과로 인해 건강기능식품, 정장용 의약품으로 사용되고 있으며 항생제를 대신하여 사료 첨가제 등으로 널리

사용되고 있다(6,7).

주로 발효 산물을 이용하는 다른 산업용 미생물과는 달리 생균 자체를 이용하기 때문에 저장 및 유통 과정에서 젓산세균의 생존율을 유지해야 할 필요가 있다. 하지만 온도, 습도, pH 등 외부 환경에 의해 생존율이 크게 감소되어 산업적 활용이나 경구 섭취 시 효능 발휘에 장애가 되고 있다(8). 젓산세균이 장내에 도달하여 정착하기 위해서는 위를 통과하면서 위액의 낮은 pH에서 대부분의 세균이 사멸하게 되는 문제점이 해결되어야 한다(9-11). 이러한 해결책으로 젓산세균을 캡슐화하는 방안이 대두되었으며, 캡슐은 높은 온도와 산화적인 외부 환경 등으로부터 세균을 보호할 수 있고, 안정성과 견고성을 부여할 수 있다(12-14). 세균을 캡슐화하는 코팅 물질로 녹말(starch), 알기네이트(alginate), 유청 단백질(whey protein), 탈지분유(skim milk powder) 등을 사용하여 압출 코팅, 에멀션(emulsion) 및 유동층 코팅, 분무 건조, 동결건조 등의 방법을 이용한다(15).

저장 및 유통과정에서 발생하는 젓산세균의 사멸을 방지하기 위해 건조 건조를 통한 분말 형태로 보관해야 한다(16). 건조에 의한 식품의 저장은 식품 내의 수분을 감소시킴으로써 용질의 상대적 농도를 높여 식품 내의 수분활성도를 저하시켜 미생물 및 효소에 의한 부패나 변패 및 변질을 방지할 수 있다는 장점이 있다. 건조 식품의 저장성은 수분활성도, 제품의 종류, 저장 온도 등 다양한 요인들에 영향을 받으며, 특히 수분활성도에 따라 비효소 갈색 반응, 지방의 산패, 미생물의 발생 정도가 달라진다(17). 따라서 건조 식품의 등온흡습곡선을 작성하는 것이 중요하다(18,19).

*Corresponding author: Mi-Jung Choi, Department of Bioresources and Food Science, Konkuk University, Seoul 05029, Korea
Tel: +82-2-450-3048
Fax: +82-2-450-8043
E-mail: choimj@konkuk.ac.kr
Received August 11, 2015; revised September 3, 2015;
accepted September 8, 2015

따라서 본 연구에서는 동물 및 사람이 섭취하였을 때 위액의 낮은 pH를 견디며, 저장 및 유통 과정에서 이를 안정하게 보호하고자 분무건조법을 이용하여 젯산세균을 녹말로 캡슐화한 분말을 제조하고자 한다. 제조한 젯산세균 코팅 분말을 이용하여 다양한 수분활성도에 따른 평형수분함량을 측정하여 등온흡습곡선을 확립하고, 상대습도와 온도에 따른 젯산세균의 보호 효과를 알아보하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에서 사용한 균주 *Lactobacillus plantarum*은 (주)미래자원ML (Seoul, Korea)에서 제공받았으며 감태는 아쿠아그린텍(Jeju, Korea)에서 구입하였고, 생강은 경동시장(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 상대습도를 설정하기 위한 포화 염 용액 제조에 사용한 염화 리튬(LiCl)과 염화 마그네슘(MgCl₂)은 Daejung Chemicals & Metals co., Ltd. (Siheung, Korea)에서, 탄산 칼륨(K₂CO₃), 브로민화 나트륨(NaBr), 염화 나트륨(NaCl), 염화 칼륨(KCl)은 Duksan Pure Chem. Co. (Ansan, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

젯산세균 코팅 분말 제조

MRS 액체 배지(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에서 배양된 *Lactobacillus plantarum* 균주는 원심분리(4,000 rpm, 4°C, 10 min) 하여 멸균 식염수로 두 번 세척하여 분리하였고, 멸균 식염수 150 mL로 희석하여 8.7 log CFU/mL 농도의 젯산세균 현탁액을 준비하였다. 녹말 50 g을 증류수 450 mL로 수화시킨 후 고압증기살균기(AC-11, Jeio-tech, Daejeon, Korea)를 이용하여 호화시켜 준비하였다. 호화된 녹말이 60°C로 냉각된 후 젯산세균 현탁액 50 mL를 첨가하였고 1% (w/v) 감태(*Ecklonia cava*) 현탁액 50 mL 또는 1% (w/v) 생강 현탁액 50 mL를 각각 첨가한 후, 증류수를 이용하여 총 부피를 1,000 mL로 정량하였다. 초고속 균질기(ULTRA-TURRAX® T25, IKA® Labortechnik, Staufen, Germany)로 11,000 rpm에서 5분 동안 균질한 후 분무건조하여 분말화하였다. 분무건조는 160°C의 온도에서 0.7 m³/min의 분출 속도(blower), 500 mL/h의 주입 속도(feeding rate) 및 200 kPa의 분사압력(atomizing power)으로 실시하였다.

포화 염용액 제조

상대습도는 염화 리튬, 염화 마그네슘, 탄산 칼륨, 브로민화 나트륨, 염화 나트륨, 염화 칼륨의 포화 용액을 사용하여 항온기(HB-103M, Vision lab & instrument, Incheon, Korea)에서 각각 20, 30, 40°C로 유지하였다. 각 포화 용액의 온도에 따른 상대습도를 Table 1에 나타내었다(20).

Table 1. Relative humidity of binary saturated aqueous solution

Salts	Relative humidity (%)			Amount	
	20°C	30°C	40°C	Salt (g)	Water (mL)
LiCl	11.31	11.28	11.21	150	85
MgCl ₂	33.07	32.44	31.60	200	25
K ₂ CO ₃	43.18	43.17	43.13	200	90
NaBr	59.14	56.03	52.83	200	80
NaCl	75.47	75.09	74.68	200	50
KCl	85.11	83.62	82.32	200	80

평형수분함량 측정

젯산세균 코팅 분말의 평형수분함량을 측정하기 위해 각각의 시료 0.3 g을 칭량병에 넣은 다음 포화 염 용액을 이용하여 상대습도를 조절한 용기에 저장하였다. 평형수분함량은 매 2시간마다 꺼내어 데시케이터에서 30분간 방냉 후 무게를 측정하였고, 평형 상태에 도달할 때까지(±0.5 mg) 반복하는 단계적 측정 방법을 이용하였다.

단분자층 수분함량 산출

적정 저장 안정 수분함량인 단분자층 수분함량을 산출하기 위하여 다음과 같은 Brunauer-Emmett-Teller (BET) 식을 이용하였다.

$$\text{BET equation: } \frac{Aw}{m(1-Aw)} = \frac{1}{m_1C} + \frac{C-1}{m_1C} \cdot Aw$$

Aw: Water activity

m: Equilibrium moisture content (g)

m₁: Monolayer moisture content (g)

C: Constant for heat of absorption

상대습도에 따른 젯산세균 코팅 분말의 젯산세균 보호 효율 측정

저장 온도, 상대습도 및 저장 기간에 따른 젯산세균 코팅 분말의 젯산세균 수를 측정하기 위해 멸균 식염수에 분말을 현탁하였고, 이를 MRS 고체 배지(Difco)에 도말하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 계수하였다.

저장 기간에 따른 젯산세균 코팅 분말의 저장성 실험

우리나라의 연평균 상대 습도인 약 75%의 환경에서 20°C와 35°C의 저장 온도에 따른 젯산세균 코팅 분말의 젯산세균 보호 효과를 알아보하고자 4주간 저장 실험을 수행하였다. 저장한 젯산세균 코팅 분말을 멸균 식염수로 현탁한 후 MRS 고체 배지(Difco)에 도말하여 세균수를 측정하였다.

젯산세균 코팅 분말의 모방 소화 실험

젯산세균 코팅 분말의 모방 소화 실험을 수행하기 위해 pH 2인 위의 환경을 모방하고자 각 시료 0.1 g에 0.01 N 염산(HCl) (Duksan Pure Chemical Co., Ltd.) 9.9 mL를 첨가하여 완전히 녹인 다음, 10분 동안 교반한 후 MRS 고체 배지(Difco)에 도말하여 배양하였다. 이후 소장의 환경을 모방하고자 2N 수산화 나트륨(NaOH) (Duksan Pure Chemical Co., Ltd.)를 이용하여 pH를 7로 보정한 후 시간에 따라 MRS 고체 배지(Difco)에 도말하여 세균수를 측정하였다.

결과 및 고찰

젯산세균 코팅 분말의 평형수분함량

녹말로 코팅한 젯산세균의 흡습 특성을 알아보하고자 20, 30, 40°C의 온도에서 수분활성도에 따른 평형수분함량을 Fig. 1에 나타내었다. 일반적으로 대부분의 식품의 등온흡습곡선은 sigmoid 형을 나타내는데 본 연구에서도 수분활성도에 따라 평형수분함량이 빠르게 증가하는 형태로 corn starch 등과 같은 분말 식품에서 보고된 결과와 유사하였다(21). 20, 30, 40°C 온도에서 감태 추출물을 첨가한 젯산세균 코팅 분말(*L. plantarum* encapsulated by starch with *Ecklonia cava*, S+E+L)의 평형수분함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 그 다음으로 생강 추출물을 첨가한 젯산

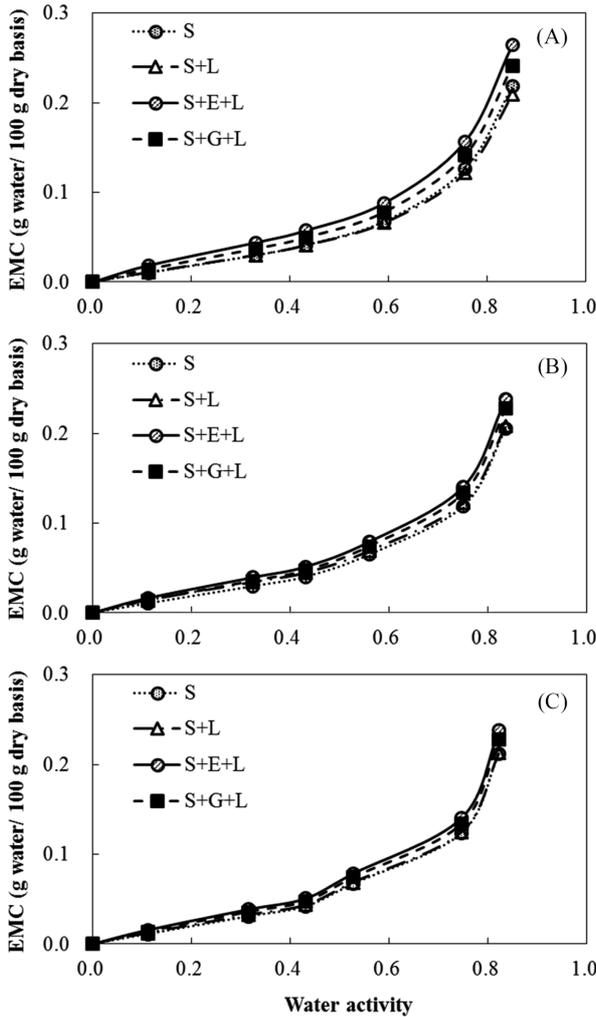


Fig. 1. Moisture adsorption isotherms of coated *L. plantarum* powder at different temperatures. A, *L. plantarum* encapsulated by starch; B, *L. plantarum* encapsulated by starch with *Ecklonia cava*; C, *L. plantarum* encapsulated by starch with ginger.

세균 코팅 분말(*L. plantarum* encapsulated by starch with ginger, S+G+L)의 평형수분함량이 높았다. 하지만 녹말 분말과 녹말만 넣은 젖산세균 코팅 분말의 평형수분함량은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 젖산세균 코팅 분말을 저장할 때 흡습으로 인한 변질을 최소화하기 위해 단분자층 수분함량이 고려되어야 하므로, 등온흡습곡선을 통해 각 온도 별 수분활성도에 따른 젖산세균 코팅 분말의 평형수분함량을 제시하고 있다.

*Lactobacillus paracasei*를 알기네이트로 캡슐화한 Jiménez 등(22)의 연구에서 25, 35, 45°C에서 등온흡습곡선을 측정한 결과, 수분활성도에 따라 평형수분함량이 증가하는 형태를 나타냈으며, 온도가 낮을수록 같은 수분활성도에 대한 평형수분함량이 높았다고 보고하여 본 연구와 유사하다.

상대습도에 따른 젖산세균 코팅 분말의 젖산세균 보호 효과

각각의 상대습도에서 젖산세균 코팅 분말의 수분함량의 평형이 완료된 후 일주일 동안 저장하여 젖산세균 수를 측정한 결과를 Fig. 2, 3, 4에 나타내었다. 20°C에서 저장한 분말은 수분활성도에 따른 젖산세균 수의 차이가 없었고, 일주일 동안 저장 후 다소 감소하였으나 약 6 log CFU/g을 유지하였다. 하지만 40°C

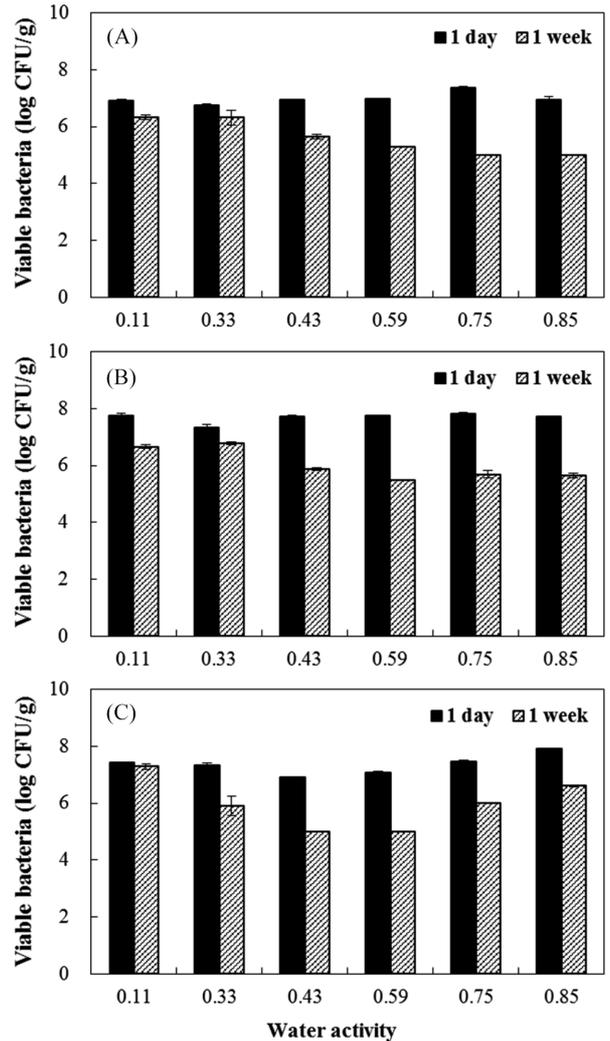


Fig. 2. Survival rate of *L. plantarum* in different water activity stored at 20°C. A, 20°C; B, 30°C; C, 40°C. S, starch without *L. plantarum*; S+L, *L. plantarum* encapsulated by starch; S+E+L, *L. plantarum* encapsulated by starch with *Ecklonia cava*; S+G+L, *L. plantarum* encapsulated by starch with ginger.

에서 저장하였을 경우, 수분활성도가 가장 낮은 경우를 제외하고 모든 분말의 젖산세균이 검출되지 않았다. 분무건조와 동결건조를 이용하여 *Lactobacillus rhamnosus* GG를 유청 단백질과 녹말로 캡슐화한 Ying 등(23)의 연구에서 수분활성도가 0.70인 환경에서 저장했을 시 3주 후 젖산세균의 수가 약 7 log CFU/g만큼 감소한 반면, 수분활성도가 0.32인 환경에서는 저장 5주 동안 젖산세균의 수가 유지되었다고 보고하였다. 이는 높은 상대습도와 온도에서 젖산세균 캡슐을 저장하는 것이 시간이 지남에 따라 프로바이오틱스의 활성을 감소시키는 것이라 보고하였다.

30°C에서 일주일 동안 저장하였을 때 녹말로만 코팅한 젖산세균 분말(S+L)과 감태 추출물을 첨가한 젖산세균 코팅 분말(S+E+L)의 경우 수분활성도가 높은 환경에서 젖산세균이 검출되지 않은 반면, 생강 추출물을 첨가한 젖산세균 코팅 분말(S+G+L)의 젖산세균은 약 5-6 log CFU/g을 유지하여 가장 높은 보호 효과를 나타내었다. 이는 Edward와 Ohaegbu(24)의 Kunun-zaki의 저장성 연구에서 아무것도 첨가하지 않았을 경우 10일 동안 저장한 후 젖산세균이 검출되지 않은 반면, 생강을 첨가하였을 경우 젖산세균

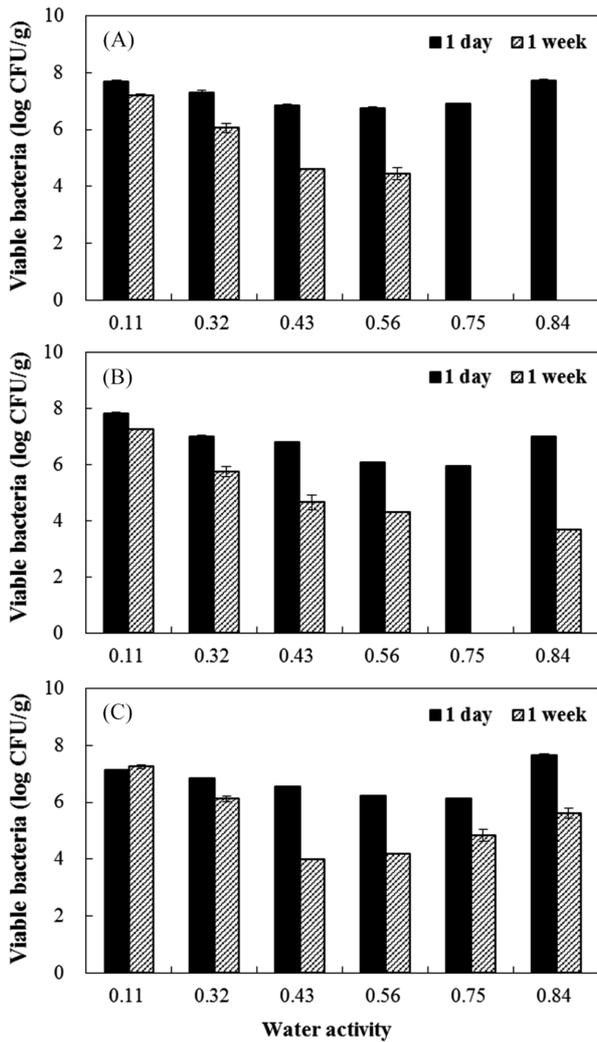


Fig. 3. Survival rate of *L. plantarum* in different water activity stored at 30°C. A, *L. plantarum* encapsulated by starch; B, *L. plantarum* encapsulated by starch with *Ecklonia cava*; C, *L. plantarum* encapsulated by starch with ginger.

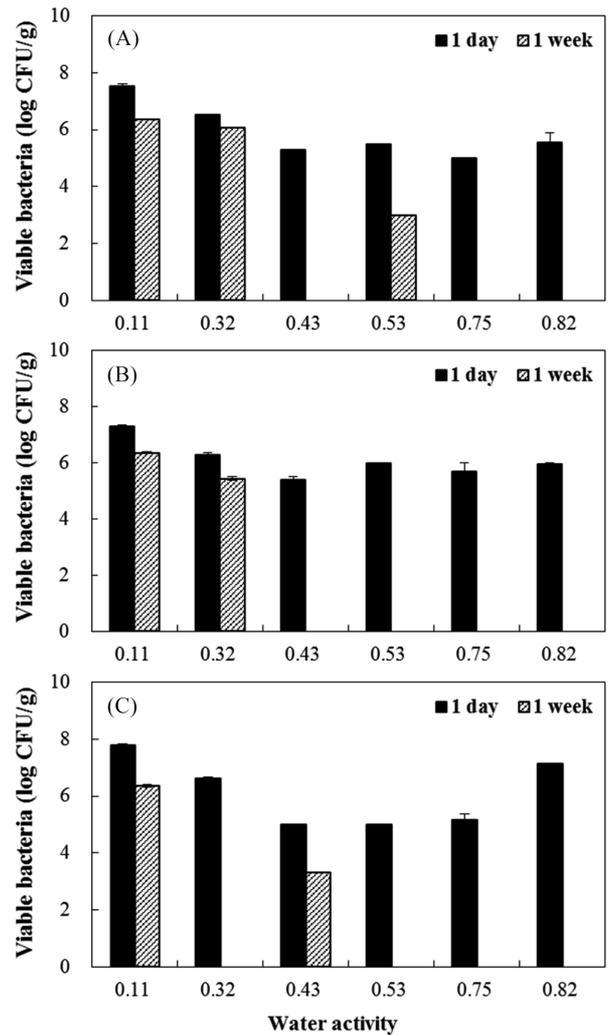


Fig. 4. Survival rate of *L. plantarum* in different water activity stored at 40°C. A, *L. plantarum* encapsulated by starch; B, *L. plantarum* encapsulated by starch with *Ecklonia cava*; C, *L. plantarum* encapsulated by starch with ginger.

이 약 20×10^4 CFU/mL로 유지되었다고 보고한 것과 유사하다.

저장 온도와 기간에 따른 젯산세균 코팅 분말의 저장성

젯산세균 코팅 분말을 상대습도가 약 75%인 환경에서 20°C와 35°C로 각각 4주간 저장하여 젯산세균 수를 측정된 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 저장 온도에 관계없이 저장 1주 후 코팅하지 않은 젯산세균 분말(L)의 젯산세균은 사멸되어 검출되지 않았고, 녹말로 코팅한 젯산세균 분말(S+L)의 젯산세균은 35°C에서 저장 시 2주 후 검출되지 않았다. 생강을 첨가해 코팅한 젯산세균 분말(S+G+L)의 젯산세균 수도 저장 기간에 따라 감소하였으나, 다른 분말에 비해 가장 높은 생존율을 나타내었다. Kang과 Joo(25)의 연구에서 김치의 양념에 포함되는 생강이 젯산세균을 제외한 다른 유해한 미생물의 증식을 억제하며 젯산세균의 선택적 발효에 효과가 있다고 보고하였으며, 이는 생강 성분 중 페놀 화합물인 진제론(gingerone), 쇼가올(schogaol), 진제론(zingerone)에 의한 것으로 보고되었다(26). 따라서 본 연구에서도 생강의 활성이 젯산세균의 보호에 도움을 준 것으로 생각된다.

저장 기간과 관계없이 온도가 낮은 20°C에서 보관한 분말의

젯산세균 수가 더 많은 것으로 나타났는데, 이는 아카시아검(gum acacia)을 첨가한 *Lactobacillus paracasei*를 분무건조하여 제조한 분말을 4, 15, 30°C에서 8주 동안 저장한 Desmond 등(27)의 연구에서 저장 온도가 낮을수록 젯산세균의 수가 유지되고, 저장 온도가 높을수록 젯산세균 수의 감소 비율이 증가한다는 보고와 유사하다.

젯산세균 코팅 분말의 소화 모방 실험

사람의 소화 모방 실험을 위한 pH에 따른 젯산세균 수의 변화 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 코팅하지 않은 젯산세균(L)은 섭취 시 위에서 머무는 10분 동안 위액의 강산(pH 2)에 의해 사멸되는 결과를 보인 반면, 젯산세균 코팅 분말(S+L, S+E+L, S+G+L)의 젯산세균은 약 5-6 log CFU/g로 감소하였다. 소화 과정에 따라 위를 거쳐 pH 7인 소장으로 가게 되는데 pH 7인 소장 환경에서 S+L와 S+G+L의 젯산세균은 그대로 유지되는 반면, S+E+L의 젯산세균은 소화 30분 후 약 4 log CFU/g로 감소하였다. Picot과 Lacroix (12)의 연구에서는 분무건조법을 이용하여 유청 단백질로 캡슐화한 *Bifidobacterium longum* R023의 소화 모방 실험을 실시

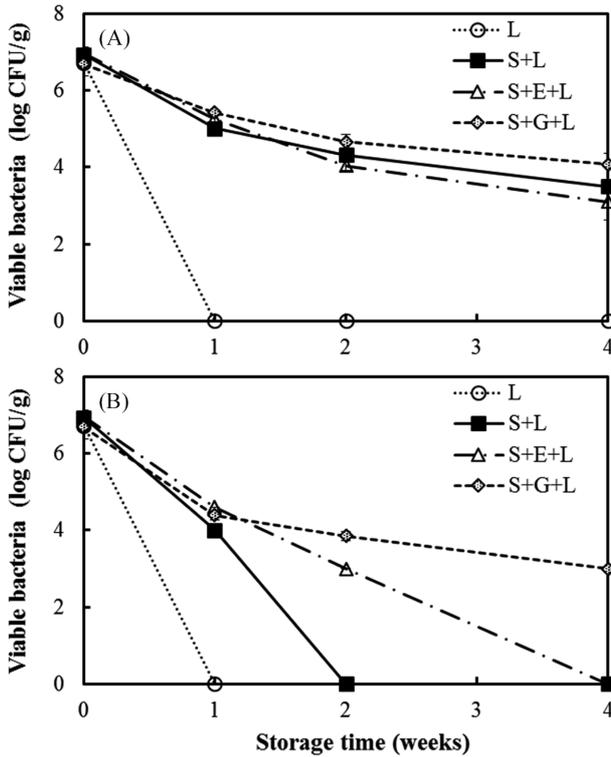


Fig. 5. Survival of *L. plantarum* during storage at (A) 20°C and (B) 35°C. L, *L. plantarum*; S+L, *L. plantarum* encapsulated by starch; S+E+L, *L. plantarum* encapsulated by starch with *Ecklonia cava*; S+G+L, *L. plantarum* encapsulated by starch with ginger.

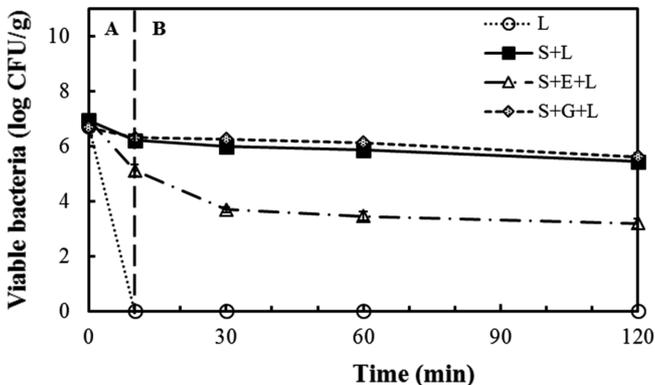


Fig. 6. Effect of pH on the viability of *L. plantarum* stored at (A) pH 2 and (B) pH 7. S, starch without *L. plantarum*; S+L, *L. plantarum* encapsulated by starch; S+E+L, *L. plantarum* encapsulated by starch with *Ecklonia cava*; S+G+L, *L. plantarum* encapsulated by starch with ginger.

한 결과, pH 1.9에서 30분 동안 처리한 세균은 1 log CFU/mL 이하로 검출되었고, pH 7.5에서 360분 동안 처리 후 약 4 log CFU/mL로 감소하여 캡슐화 하지 않은 세균과 유의적인 차이를 나타내었으며 이를 통해 캡슐이 세균의 보호막 역할로 가능하다고 보고하였다. 또한 Ortakci와 Sert(28)의 연구에서 압출 코팅 방법으로 *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356를 캡슐화하여 인공적으로 제조한 위와 담즙의 환경에서 생존수를 측정된 결과, 위의 환경 (pH 2)에서 120분 동안 배양했을 때 캡슐화한 세균은 약 62%가 생존한 반면, 캡슐화하지 않은 세균의 경우 60분이 되자 모두 사

멸하였다. 이를 통해 젖산세균의 캡슐이 pH의 변화에 대해 안정성을 부여하여 세균의 보호막 역할이 가능함을 확인할 수 있다.

요약

본 연구에서는 분무건조법을 이용하여 젖산세균을 녹말로 캡슐화한 분말을 제조하고, 제조한 젖산세균 코팅 분말을 이용하여 다양한 수분활성도에 따른 평형수분함량을 측정하여 등온흡습곡선을 확립하고, pH 및 상대습도, 온도에 따른 젖산세균의 보호 효과를 알아보려고 하였다. 젖산세균 코팅 분말의 등온흡습곡선은 수분활성도에 따라 평형수분함량이 빠르게 증가하는 sigmoid형을 나타내었으나 시료간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 상대습도에 따라 20, 30, 40°C에서 저장하였을 때, 상대습도가 낮을수록, 저장 온도가 낮을수록 젖산세균의 생존율이 높았으며, 시료들 중 생강을 첨가하여 코팅한 젖산세균 분말의 생존율이 가장 높았다. 75%의 상대습도에서 20°C와 35°C에서 각 4주간 저장 실험한 결과, 코팅하지 않은 젖산세균은 1주 후 사멸한 반면, 코팅한 젖산세균은 유지되었으며 특히 생강을 첨가하였을 경우 젖산세균 보호 효과가 가장 높았다. 소화 모방 실험을 통해 위액의 낮은 pH에서 녹말 코팅의 보호막 효과를 확인하였다. 이를 통해 녹말로 코팅한 젖산세균 분말은 식품 조성물, 식품 첨가용 조성물로 이용 가능하다. 한편, 프로바이오틱스 제품 제조 시 젖산세균이 8-10 log CFU/g 이상 존재해야 하는데, 본 연구에서는 분무건조 후 약 7-8 log CFU/g로 다소 감소하였지만 이는 사료 조성물 또는 사료 첨가용 조성물로 응용이 가능하다고 생각된다.

감사의 글

본 연구 결과는 농림부 농수산식품기술기획평가원(IPET)의 연구비지원(과제번호 112022-3)의 일부 결과이며, 연구비 지원에 감사 드립니다. 연구에 도움을 주신 ㈜미래자원ML에 감사 드립니다.

References

- Lee IH, Lee SH, Lee IS, Park YK, Chung DK, Choue RW. Effects of probiotic extracts of kimchi on immune function in NC/Ng a mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 82-87 (2008)
- Kopp-Hoolihan L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: A review. *J. Am. Diet. Assoc.* 101: 229-241 (2001)
- Furrie E. Probiotics and allergy. *P. Nutr. Soc.* 64: 465-469 (2005)
- Fuller R. Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. *J. Appl. Bacteriol.* 36: 131-139 (1973)
- Kornegay ET, Rhein-Welker D, Lindemann MD, Wood CM. Performance and nutrient digestibility in weanling pigs as influenced by yeast culture additions to starter diets containing dried whey or one of two fiber sources. *J. Anim. Sci.* 73: 1381-1389 (1995)
- Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias MD. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.* 83: 169-174 (2004)
- Kang GH, Kim SH, Kim JH, Kang HK, Kim DW, Cho SH, Seoung PN, Park BY, Kim DH. Effects of environmental temperature and antibiotic substitute on quality of chicken breast meat. *Korean J. Food Sci. An.* 30: 261-268 (2010)
- Choi CY, Kang SK, Park SK, Jang MK, Nah JW. Preparation and characterization of lactic acid bacteria encapsulated with alginate microspheres. *J. Life Sci.* 17: 1754-1759 (2007)
- Heo KC, Yoon YH. Antibiotics, simulated digestive fluid tolerances of *Bifidobacterium* species and *Lactobacillus acidophilus* from commercial starter and their enzymatic activities. *Korean J. Dairy Sci.* 17: 333-341 (1995)

10. Shin YS, Kim SH, Lee KS. Survivals of lactic acid bacteria and its characteristics under the acidic and anaerobic condition. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 23: 373-377 (1995)
11. Cho YH, Shin DS, Park JY. Optimization of emulsification and spray drying process for the microencapsulation of flavor compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 132-139 (2000)
12. Picot A, Lacroix C. Encapsulation of *Bifidobacteria* in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. Int. Dairy J. 14: 505-515 (2004)
13. Park BG, Lee JH, Shin HK, Lee JH, Chang PS. Optimization of conditions for the double layer microencapsulation of lactic acid bacteria. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 767-772 (2006)
14. Anal AK, Singh H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends Food Sci. Tech. 18: 240-251 (2007)
15. Petrovic T, Nedovic V, Dimitrijevic-Brankovic S, Bugarski B, Lacroix C. Protection of probiotic microorganisms by microencapsulation. Chem. Ind. Chem. Eng. Q. 13: 169-174 (2007)
16. Park CJ, Pyeon JS, Cho YK, Hong SS, Lee HS. Characteristics of *Enterococcus* sp. isolated from animal intestine and its powder. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 24: 393-398 (1996)
17. Lee SD, Kim JS, Kim JH, Ha YS. Adsorption characteristics of soybean curd powder prepared with various drying methods during storage. J. East Asian Soc. Dietary Life 14: 457-462 (2004)
18. Kim DW, Chang KS, Lee UH, Kim SS. Moisture sorption characteristics of model food powders. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 1146-1150 (1996)
19. Shin HK, Hwang SH, Youn KS. Absorption characteristics and prediction model of ginger powder by different drying methods. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 211-216 (2003)
20. Min SG, Choi MJ, Lee S. Adsorptions isotherm of water vapor for infant formula milk powders and calculation of isosteric heat. Korean J. Food Sci. An. 18: 285-291 (1998)
21. Peng G, Chen X, Wu W, Jiang X. Modeling of water sorption isotherm for corn starch. J. Food Eng. 80: 562-567 (2007)
22. Jiménez M, Flores-Andrade E, Pascual-Pineda LA, Beristain CI. Effect of water activity on the stability of *Lactobacillus paracasei* capsules. LWT-Food Sci. Technol. 60: 346-351 (2015)
23. Ying DY, Phoon MC, Sanguansri L, Weerakkody R, Burgar I, Augustin MA. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powders: Relationship of powder physical properties to probiotic survival during storage. J. Food Sci. 75: E588-E595 (2010)
24. Edward KC, Ohaegbu CG. The effect of ginger and garlic on the microbial load and shelf life of *Kunun-Zaki*. J. Appl. Pharm. Sci. 2: 150-153 (2012)
25. Kang SY, Han MJ. Effect of kimchi ingredients on the growth of pathogenic and lactic acid bacteria. Korean J. Food Cook. Sci. 21: 838-843 (2005)
26. Sheo HJ. The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 94-99 (1999)
27. Desmond C, Ross RP, O'Callaghan E, Fitzgerald G, Stanton C. Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFB 338 in spray-dried powders containing gum acacia. J. Appl. Microbiol. 93: 1003-1011 (2002)
28. Ortakci F, Sert S. Stability of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 in yogurt and in an artificial human gastric digestion system. J. Dairy Sci. 95: 6918-6925 (2012)