

김치의 저장성 향상을 위한 항균활성 우수 유산균 선발

- 연구노트 -

최학종¹ · 김유진¹ · 이나라¹ · 박해웅¹ · 장자영¹ · 박성희¹ · 강미란¹ · 김현주¹
이종희¹ · 이종훈² · 변유량³ · 김태운^{1*}

¹세계김치연구소 미래기술연구단

²경기대학교 식품생물공학과

³(주)바이오벤

Selection of Lactic Acid Bacteria with Antibacterial Activity for Extension of Kimchi Shelf-life

Hak-Jong Choi¹, Yu Jin Kim¹, Na Ra Lee¹, Hae Woong Park¹, Ja Young Jang¹,
Sung-Hee Park¹, Miran Kang¹, Hyun Ju Kim¹, Jong-Hee Lee¹,
Jong-Hoon Lee², Yu-Ryang Pyun³, and Tae-Woon Kim^{1*}

¹Emerging Technology Research Group, World Institute of Kimchi, Gwangju 503-360, Korea

²Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Gyeonggi 443-760, Korea

³R&D Div., Biovan Co., Gyeonggi 421-742, Korea

ABSTRACT A survey was conducted on the isolation of lactic acid bacteria with antibacterial activity to extend kimchi shelf-life. Antibacterial activity was tested against bacteria associated with acidification of kimchi, including *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactobacillus sakei*, using agar-well diffusion assay. Two isolates from kimchi were identified as *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactobacillus brevis* by 16S rRNA gene sequence analysis and API 50 CHL assay, and they showed antibacterial effects against indicator strains. The isolates displayed acid tolerance at pH 3.5, salt tolerance in 5% NaCl, and growth at 4°C. These result imply that the selected strains might be used to extend kimchi shelf-life as a potential starter.

Key words: kimchi, lactic acid bacteria, antibacterial activity, starter

서 론

김치는 절인 배추나 무, 오이 등의 주원료에 각종 양념을 혼합하여 일정기간 발효, 숙성시킨 한국의 중요한 전통 발효 식품으로 우리의 식생활에서 가장 큰 비중을 차지하는 부식이다. 김치는 여러 가지 채소류를 이용하여 제조되는데 이러한 채소류에는 토양, 공기, 물 등으로부터 유래된 세균, 곰팡이, 효모 등의 여러 미생물들이 부착되어 있다. 이들 미생물들은 절임, 세척 등의 공정을 거치면서 일부는 제거되지만 내염성 유산균이 다수 잔존하여 김치발효에 주도적으로 관여하게 된다.

김치 발효단계에 따른 유산균 군집의 변화는 김치 품질을 결정하는 중요한 인자가 된다. *Leuconostoc mesenteroides* 등과 같은 hetero 발효형 유산균의 증식은 김치의 관능적 특성을 향상시켜 주지만 적숙기 이후 homo 발효형 유산균의 증식은 김치의 품질을 저하시키는 것으로 알려져

있다(1-4).

최근 들어 상품김치의 소비가 점차 늘어나고 있으나 김치의 상품화에 있어 품질 균일화나 품질유지기한 연장 문제는 여전히 해결해야 할 문제로 남아 있다. 품질 균일화를 위해서는 품종, 절임 방법, 양념 혼합, 숙성 방법 및 미생물 발효 패턴 조절 등 많은 변수가 조절되어야 한다. 이 중 제조 공정 관리 부분은 현재까지 축적된 산업화 노하우와 연구 데이터가 있기에 산업현장에서 어느 정도의 품질관리가 가능하지만, 미생물 발효패턴 조절 기술은 아직 산업현장에서 현실화된 것이 미비한 실정이다. 또한 김치는 살균공정 없이 유통되기 때문에 유통과정에서도 발효가 진행되는 특성을 가지고 있어 김치의 산도가 계속 증가하여 김치의 상품성이 저하되는 문제점을 안고 있다. 김치의 저장성을 연장하고자 물리적(5,6), 화학적 처리(7,8)를 이용한 김치발효 제어와 함께 종균(starter)을 이용하여 김치발효를 제어하려는 연구가 다수 진행되었다(9-12). Bacteriocin을 생성하는 *Leuconostoc citreum* GJ7을 김치제조에 적용한 결과 발효기간 동안 지속적인 우점을 차지함으로써 우수한 관능적 특성과 가식기간의 연장 효과가 있었다고 보고하였으나 저장온도가 상품김치의 유통온도와 다소 상이하였다(11). 또한

Received 25 July 2013; Accepted 6 January 2014

*Corresponding author.

E-mail: korkimchiman@wikim.re.kr, Phone: +82-62-610-1723

*Lactobacillus plantarum*의 생육 억제를 목적으로 한 기존 연구와는 달리 발효 후기에 우점하는 *Lactobacillus sakei*의 생육을 저해하는 *Leuconostoc* 및 *Weissella* 속 균주의 선발을 시도한 연구도 있었다(12). 그러나 *Lb. plantarum*, *Lb. sakei* 두 균주 모두에 대해 생육억제능을 나타낸 보고는 없었다. 본 연구에서는 기존 종균 관련 연구 결과들을 고려하여 김치의 저장성을 증가시키기 위한 일환으로 김치발효 과정 중 과도한 산생성에 관여하는 균주를 지시균(indicator strain)으로 선정하고 지시균의 성장을 억제할 수 있는 항균활성을 지닌 균주를 적숙기 김치로부터 선발한 다음, 이들 균주 중 김치 환경의 특수성을 고려한 pH, 염도, 저온의 조건에서 잘 생육할 수 있는 균주를 최종적으로 선발하여 김치종균으로 이용하고자 하였다.

재료 및 방법

김치로부터 배양액의 pH가 낮은 유산균의 분리

김치의 pH를 과도하게 저하시켜 김치의 품질을 손상시키는 균주를 분리하고자 20°C와 4°C에서 각각 4일, 3개월간 발효시킨 발효 후기단계의 김치 및 묵은지 시료로부터 유산균을 분리하였다. 거즈를 이용하여 김치국물에 있는 고형분을 제거하고 순차적으로 희석한 뒤 MRS(Lactobacilli MRS agar, BD Difco, Sparks, MD, USA)에 0.2% BPB(bromophenol blue) 지시약 1%를 넣어 제조한 MRS-BPB 배지에 도말하여 30°C에서 48시간 동안 BD GasPak™ EZ(BD Difco)를 사용하여 혐기적 조건으로 배양한 다음 colony를 분리하였다. 분리된 유산균은 MRS broth에 순수배양한 후(30°C, 24시간) 이들의 pH를 측정하여 다른 균들보다 상대적으로 배양액의 pH가 낮았던 균주를 김치의 과숙에 관여하는 균주로 간주하여 지시균으로 실험에 사용하였다. 그리고 김치발효 후기의 우점종으로 알려진 *Lb. sakei* CK0153과 *Lb. sakei* CK0154도 경기대로부터 분양받아 지시균에 포함시켜 실험에 사용하였다.

김치로부터 배양액의 pH가 높은 유산균의 분리

김치 종균으로 사용했을 때 김치의 적숙상태를 오랫동안 유지시키기 위한 일환으로 배양액의 pH가 높고 항균활성이 높은 균주를 선발하고자 적숙기 김치로부터 유산균들을 분리하였다. 김치유산균의 분리방법은 상기 배양액의 pH가 낮은 유산균의 분리방법과 동일한 방법으로 수행하였다. 분리된 유산균은 MRS broth에 순수배양한 후(30°C, 24시간) 배양액의 pH가 높은 균주들을 분리하고 이들의 항균활성 특성을 분석하였다.

항균활성 시험

항균활성 시험은 agar-well diffusion assay 방법(13)을 사용하여 김치 과숙 관련 지시균주에 대해서 분리균주들의 생육저해활성을 확인하였다. 실험에 사용한 균주들은 MRS

broth에 접종한 후 30°C에서 18시간 동안 전배양한 후, MRS 액체배지에 전배양액 1%를 접종하여 30°C에서 18시간 동안 배양한 후 사용하였다. 분리균주의 항균활성을 측정하기 위해 MRS 고체배지에 지시균 배양액 100 µL를 0.7% (v/v) soft agar에 접종하여 중층한 후 구멍을 뚫어 well을 준비하였다. 분리균주 배양액은 0.45 µm membrane filter(Sartorius, Frankfurt, Germany)로 제균한 뒤 100 µL를 준비된 well에 가하였다. 30°C에서 2일간 배양하여 생육 저지환의 생성을 확인하였으며 항균활성의 정도는 배양 후 생성된 clear zone의 크기를 측정하여 나타내었다.

Genomic DNA 추출, 16S rDNA 염기서열 분석 및 API kit를 이용한 균주의 동정

항균활성이 우수하여 선발된 균주는 MRS broth에 배양시킨 후 genomic DNA extraction kit(iNtRON Biotechnology, Daejeon, Korea)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 1% agarose gel을 이용하여 확인하였다.

16S rRNA gene을 증폭하기 위하여 추출된 genomic DNA를 template로 하여 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', forward), 1492R(5'-GGCTACCTTGTTACGACTT-3', reverse) primer를 이용하여 PCR을 진행하였다(14). PCR 조건은 95°C에서 1분간 denaturation, 45°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분 30초간 extension으로 30 cycle을 수행하였다. 얻어진 PCR product는 sequencing을 위하여 purification kit(iNtRON Biotechnology, Daejeon, Korea)를 이용하여 정제하였다. DNA 염기서열은 ABI PRISM 3700 DNA analyzer(Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 염기서열을 결정하였으며, 이것을 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool(BLAST)를 이용하여 분리균주를 동정하였다. 또한, 이들 균주의 생화학적 특성을 알아보기 위하여 API 시스템(API system, bioMérieux, La Balme-les-Grottes, France)을 이용하여 분석하였다. 우선 균체를 McFarland 표준 용액 No.2(McFarland Standard Solution No.2)의 농도로 균질화시킨 후, API 50 CHL kit에 상기 배양액을 넣고 30°C에서 48시간 동안 배양시켜 49종의 탄수화물 발효패턴을 확인하였다.

내산성, 내염성, 저온생육 가능성 시험

항균활성 우수균주의 김치 환경 내 적응 가능성을 알아보고자 내산성, 내염성, 저온생육 가능성을 측정하였다. 내산성 시험은 pH를 3, 3.5, 4로 조절한 MRS배지에 전배양한 균주를 배양액의 1% 농도로 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후 생균수를 측정하였다(15). 내염성 실험은 MRS 액체배지에 1%, 3%, 5%의 NaCl을 첨가한 후 전배양한 균주 배양액을 1% 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후 NaCl을 첨가하지 않은 대조균의 생균수와 비교하여 생존율을 계산

하였다. 저온생육 가능성은 선발한 균주를 MRS 액체배지에 접종하여 4°C에서 배양하며 1일 간격으로 600 nm에서 흡광도를 측정하며 저온 생육성을 살펴보았다.

결과 및 고찰

김치로부터 배양액의 pH가 낮은 유산균의 선발

발효 후기단계의 김치 및 묵은지에서 분리한 유산균들 중에서 배양액의 pH가 낮은 균주를 분리하고자 MRS-BPB 고체배지를 이용하여 100여개의 균주를 분리한 다음, 이들 균주를 MRS broth에 순수배양한 후 pH를 측정하여 다른 균들보다 상대적으로 배양액의 pH가 낮았던 6균주(pH 3.7~3.9)를 김치의 과숙에 관여하는 균주로 간주하여 지시균(indicator strain)으로 선발하였다. 이들 균주들은 16S rDNA 분석을 통해서 동정한 결과 *Lb. plantarum* 20-10, *Lb. plantarum* A-1, *Pediococcus pentosaceus* A-2, *P. pentosaceus* A-5, *Lb. plantarum* A-6, *P. pentosaceus* B-11로 각각 동정이 되었다. 김치 발효 후기에 검출되는 *Lactobacillus* 속 중에서 많은 수가 *Lb. plantarum*으로 동정되어 homo 발효형 유산균인 *Lb. plantarum*은 산패균으로 인식되고 있다(11). 본 연구에서 분리·동정된 *P. pentosaceus* 균들의 경우 배양액의 pH는 3.9~4.0 정도를 나타내어 pH 3.7~3.8을 나타내었던 *Lb. plantarum* 균주들보다는 다소 높았지만 저온에서 발효시킨 김치 적숙기의 pH가 4.2~4.5인 점을 감안한다면 homo 발효형 유산균인 이들 *P. pentosaceus* 균들도 김치를 과도하게 시어지게 하는 데 어느 정도 기여를 할 것으로 생각되었다.

지시균주에 대한 생육억제능을 지닌 균주 선발 및 동정

적숙기 김치에서 분리한 유산균 중에서 배양액의 pH가 상대적으로 높았던(pH 4.3 이상) 200여개의 균주들 중 지시균 *Lb. plantarum* 20-10, *Lb. plantarum* A-1, *P. pentosaceus* A-2, *P. pentosaceus* A-5, *Lb. plantarum* A-6, *P. pentosaceus* B-11, *Lb. sakei* CK0153, *Lb. sakei* CK0154에 대해서 항균활성을 조사한 결과 두 균주가 지시균에 대해서 우수한 항균활성을 나타냄으로써 최종적으로 선발하여 동정을 수행하였다(Fig. 1, Table 1). 지시균에 대한 생육억제능이 우수했던 두 균주에 대해 16S rDNA 염기서열 분석과 API kit를 이용하여 동정한 결과(Table 2), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lb. brevis*로 동정이 되어 *Lc. lactis* WK11, *Lb. brevis* WK12로 각각 명명하였다. 김치발효관련 미생물에 대한 연구가 16S rDNA 염기서열을 이용한 계통발생학적 분류가 일반화되고 분자생물학적 방법론을 적용한 배양 비의존적 김치 미생물 군집연구가 진행됨에 따라 *Leuconostoc* 속뿐만 아니라 *Lactobacillus* 속 유산균이 김치발효에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(16). 또한 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*가 생성해내는 nis인 소규모의 아미노산으로 구성된 단백질 물질이며, 높은 온도에서나 낮은 pH에서 세균을 억제하는 항균활성을 보이고 인체에도 무해하기 때문에 식품보존제로서 활용되고 있다(17,18). 이들 선발균주들은 *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*, *P. pentosaceus* 균주에 대해 생육억제능을 나타냄으로써 기존에 보고된 김치종균들에 비해 우수한 것으로 판단되었다.

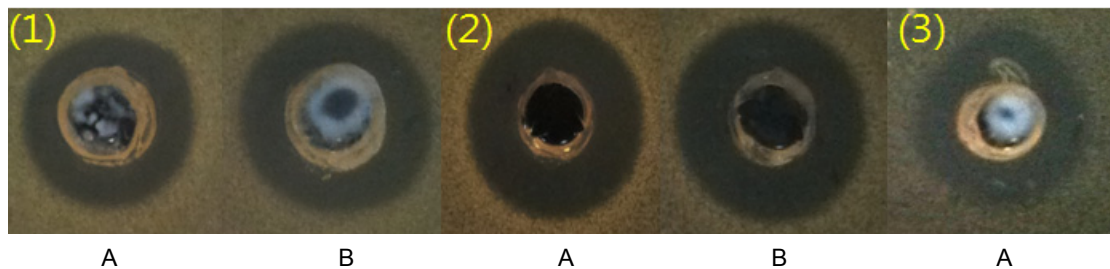


Fig. 1. Antibacterial activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* WK11 (A) and *Lactobacillus brevis* WK12 (B) against indicators by agar-well diffusion assay. Indicator strains: (1), *Lb. plantarum* A-1; (2), *P. pentosaceus* A-2; (3), *Lb. sakei* 0154.

Table 1. Antimicrobial activity of isolates from kimchi

Isolates	Indicator strains							
	<i>Lb. plantarum</i> A-1	<i>P. pentosaceus</i> A-2	<i>P. pentosaceus</i> A-5	<i>Lb. plantarum</i> A-6	<i>P. pentosaceus</i> B-11	<i>Lb. plantarum</i> 20-10	<i>Lb. sakei</i> 0153	<i>Lb. sakei</i> 0154
<i>Lc. lactis</i> WK11	++ ¹⁾	++	+	+	+	+	+	++
<i>Lb. brevis</i> WK12	++	++	+	+	+	+	+	+

Activity was expressed as the diameter of inhibition zone against each indicator strain.

¹⁾Degree clarity of clear zone by growth inhibition: ++, strong inhibition; +, weak inhibition.

Table 2. Characteristics of carbohydrates fermentation patterns of isolates

Carbohydrate	<i>Lc. lactis</i> WK11	<i>Lc. lactis</i> (KCTC 3769)	<i>Lb. brevis</i> WK12	<i>Lb. brevis</i> (KCCM 40399)	Carbohydrate	<i>Lc. lactis</i> WK11	<i>Lc. lactis</i> (KCTC 3769)	<i>Lb. brevis</i> WK12	<i>Lb. brevis</i> (KCCM 40399)
Control	-	-	-	-	Esculine	+	+	-	-
Glycerol	-	-	-	-	Salicine	+	+	-	-
Erythritol	-	-	-	-	Cellobiose	+	+	-	-
D-Arabinose	-	-	-	-	Maltose	+	+	+	+
L-Arabinose	+	-	+	+	Lactose	+	+	-	-
Ribose	+	+	+	+	Melibiose	-	-	+	-
D-Xylose	+	+	+	+	Saccharose	+	-	-	-
L-Xylose	-	-	-	-	Trehalose	+	+	-	-
Adonitol	-	-	-	-	Inulin	-	-	-	-
Methyl-β-xyloside	-	-	-	-	Melezitose	-	-	-	-
D-Galactose	+	+	+	+	D-Raffinose	-	-	-	-
D-Glucose	+	+	+	+	Amidon	+	+	-	-
D-Fructose	+	+	+	+	Glycogene	-	-	-	-
D-Mannose	+	+	-	-	Xylitol	-	-	-	-
L-Sorbose	-	-	-	-	β-Gentiobiose	+	+	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	D-Turanose	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	D-Lyxose	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	D-Tagatose	-	-	-	-
Mannitol	+	-	+	-	D-Fucose	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	L-Fucose	-	-	-	-
Ethyl-α-D-mannoside	-	-	-	-	D-Arabitol	-	-	-	-
Methyl-α-D-glucoside	-	-	+	-	L-Arabitol	-	-	-	-
N-Acetylglucosamine	+	+	+	+	Gluconate	+	-	+	+
Amygdaline	+	+	-	-	2-Keto-gluconate	-	-	-	-
Arbutine	+	+	-	-	5-Keto-gluconate	-	-	+	-

+: positive reaction, -: negative reaction.

항균활성 우수균주의 내산성, 내염성, 저온생육가능 특성 분석

본 연구에서 선발된 항균활성이 우수한 균주가 김치 종균으로 사용되기 위해서는 김치발효 환경에 잘 적응해야 함으로 이들 균주의 내산성, 내염성, 저온생육 가능성을 분석해보았다. 식품공전에 따르면 냉장보관 제품의 보존온도는 0~10°C로 되어 있으며, 보통 상품김치의 유통온도는 10°C 부근으로 알려져 있다. 또한 이 온도에서 발효가 완료된 김치의 경우 pH가 4.0 부근에 도달하였으며, 염도는 일반적으로 2.5~3%를 나타내었다(19). 분리 균주의 특성을 살펴본 결과, 내산성의 경우 pH 3.5에서 *Lc. lactis*는 70.8%, *Lb. brevis*는 91.5%의 생존율을 나타내었다. 내염성의 경우 3% NaCl에서 *Lc. lactis*는 108.5%, *Lb. brevis*는 103.1%의 생존율을 나타내었다. 한편 저온생육성의 경우 *Lc. lactis* 균주가 *Lb. brevis*에 비해 다소 느린 증식율을 나타내었지만 두 균주 모두 증식능이 있는 것으로 판단되었다. 최종 선발된 *Lc. lactis*, *Lb. brevis* 두 균주 모두 pH 3.5에서의 내산성, 3% NaCl에서의 내염성, 4°C에서의 생육가능성을 나타내었다. Lee와 Lee(12)는 김치종균이 갖추어야 할 조건으로 김치발효 초기 및 적숙기의 우점종이어야 하며, 산생성량이 적고 청량감을 부여하는 hetero 발효형 유산균, 내산성 보유, 김치발효 후기에 우점하는 homo 발효형 *Lacto-bacillus* 속 유산균에 대해 생육억제능을 지닌 균주가 적합

하다고 하였는데, 본 연구에서 선발된 항균활성 보유 균주들이 위의 요건들을 일부 갖추고 있는 것으로 나타났다. 향후 본 연구에서 선발된 균주에 대하여 생육저해활성 물질 및 작용기작 구명, 타 균주와 혼합 배양 시 길항작용 여부, 안전성 시험 등을 거쳐 김치 적용 실험을 진행할 예정이다.

요 약

김치는 살균과정 없이 유통되기 때문에 유통과정에서도 발효가 진행되는 특성을 가지고 있어 김치의 산도가 계속 증가하여 김치의 상품성이 저하되는 문제점을 안고 있다. 본 연구에서는 김치발효과정 중 과도한 산생성에 관여하는 균주 선발과 더불어 이들 균주의 성장을 억제할 수 있는 항균활성을 지닌 균주를 김치로부터 선발하고자 하였다. 우선 김치과 숙 관련 균주를 선발한 결과 *Lb. plantarum* 20-10, *Lb. plantarum* A-1, *P. pentosaceus* A-2, *P. pentosaceus* A-5, *Lb. plantarum* A-6, *P. pentosaceus* B-11로 동정이 되었다. 이들 균주를 억제할 수 있는 항균활성을 지닌 균주를 적숙기 김치로부터 선발한 결과 *Lc. lactis*, *Lb. brevis* 두 균주가 항균활성이 우수한 것으로 나타났다. 이들 균주의 김치 종균으로서의 적용 가능성을 살펴본 결과 모든 균주가 pH 3.5에서의 내산성, 3% NaCl에서의 내염성, 4°C에서의 생육가능성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 고부가 식품기술개발사업 연구비 지원에 의해 이루어진 것입니다(#311041-3).

REFERENCES

1. Lee CW, Ko CY, Ha DM. 1992. Microbial changes of the lactic acid bacteria during Kimchi fermentation and identification of the isolates. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 20: 102-109.
2. Lim CR, Park HK, Han HU. 1989. Reevaluation of isolation and identification of gram-positive bacteria in Kimchi. *Korean J Microbiol* 27: 404-414.
3. Mheen TI, Kwon TW. 1984. Effect of temperature and salt concentration on *Kimchi* fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 16: 443-450.
4. So MH, Kim YB. 1995. Identification of psychrotrophic lactic acid bacteria isolated from *Kimchi*. *Korean J Food Sci Technol* 27: 495-505.
5. Park JG, Kim JH, Park JN, Kim YD, Kim WG, Lee JW, Hwang HJ, Byun MW. 2008. The effect of irradiation temperature on the quality improvement of *Kimchi*, Korean fermented vegetables, for its shelf stability. *Radiat Phys Chem* 77: 497-502.
6. Shon KH, Lee HJ. 1998. Effect of high pressure treatment on the quality and storage of kimchi. *Int J Food Sci Technol* 33: 359-365.
7. Han JS, Kang J. 2004. Retardation of *Kimchi* fermentation by addition of glucono- δ -lacton. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 553-559.
8. Kim DH, Hahn YS. 2003. Effect of addition of ethanol and organic acids on the quality of *Mul-kimchi*. *J East Asian Soc Dietary Life* 13: 305-312.
9. Kim YH, Kim HZ, Kim JY, Choi TB, Kang SM. 2005. Strain improvement of *Leuconostoc mesenteroides* as a acid-resistant mutant and effect on *Kimchi* fermentation as a starter. *Korean J Appl Microbiol* 33: 41-50.
10. Moon GS, Kang CH, Pyun YR, Kim WJ. 2004. Isolation, identification, and characterization of a bacteriocin-producing *Enterococcus* sp. from *Kimchi* and its application to *Kimchi* fermentation. *J Microbiol Biotechnol* 14: 924-931.
11. Chang JY, Chang HC. 2010. Improvement in the quality and shelf life of *Kimchi* by fermentation with the induced bacteriocin-producing strain, *Leuconostoc citreum* GJ7 as a starter. *J Food Sci* 75: M103-M110.
12. Lee KH, Lee JH. 2011. Isolation of *Leuconostoc* and *Weissella* species inhibiting the growth of *Lactobacillus sakei* from *Kimchi*. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 175-181.
13. Holder IA, Boyce ST. 1994. Agar well diffusion assay testing of bacterial susceptibility to various antimicrobials in concentrations non-toxic for human cells in culture. *Burns* 20: 426-429.
14. Lane DJ. 1991. 16S-23S rRNA sequencing. In *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. Stackebrandt E, Goodfellow M, eds. Wiley, New York, NY, USA. p 115-175.
15. Park SH, Yang S, Lee JH, Kang M. 2013. Selection of phytate-degrading lactic acid bacteria from *Kimchi* and reaction properties in brown rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 627-632.
16. Cho YR, Chang JY, Chang HC. 2007. Production of γ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from *Kimchi* and its neuroprotective effect on neuronal cells. *J Microbiol Biotechnol* 17: 104-109.
17. Taylor TM, Davidson PM, Zhong Q. 2007. Extraction of nisin from a 2.5% commercial nisin product using methanol and ethanol solutions. *J Food Prot* 70: 1272-1276.
18. Park H, Khang Y. 2010. Simple and rapid extraction of a bacteriocin produced by *Streptococcus parauberis* Z49 from fermented cultures. *Korean J Microbiology* 46: 291-295.
19. Chang JY, Choi YR, Chang HC. 2011. Change in the microbial profiles of commercial *Kimchi* during fermentation. *Korean J Food Preserv* 18: 786-794.