

한국토종닭 소장에서 분리한 *Lactobacillus pentosus* K34가 생산하는 항균성 유기산의 특성

이재연 · 황교열 · 김근^{1*} · 성수일² · 박영식¹ · 백만정³ · 김경례³

(주)바이오토피아, ¹수원대학교 유전공학과,
²수원대학교 생물학과, ³성균관대학교 약학대학

Characteristics of Antimicrobial Organic Acids Produced by *Lactobacillus pentosus* K34 isolated from Small Intestines of Korean Native Chickens. Lee, Jae Yeon, Kyo Yeol Hwang, Keun Kim¹, Su Il Sung², Young Shik Park¹, Man Jeong Paik³ and, Kyoung Rae Kim³. Biotopia Co., Hwasung city, Kyounggido 445-743, Korea, ¹Department of Genetic engineering, The University of Suwon, Suwon P.O. Box 77, Kyounggido 440-600, Korea, ²Department of Biology, The University of Suwon, Suwon P.O. Box 77, Kyounggido 440-600, Korea, ³College of Pharmacy, SungKyunKwan University, Suwon, Kyounggido 440-746, Korea - Seven lactic acid bacteria showing highly inhibitory activities against *Salmonella gallinarum*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* were isolated from Korean native chickens. The inhibitory activities were insensitive to various proteases indicating that the inhibitory substance is not proteinaceous. The culture broths seem to contain other inhibitory substances in addition to lactic acid. The metabolic profile of organic acids produced by *Lactobacillus pentosus* K34 was investigated by GC-MSD and 28 different organic acids were detected in the culture broth. Compared with the prominent lactic acid, acetic acid, formic acid, the thirdly most abundant phenyllactic acid showed high inhibitory activity against *S. gallinarum*. After pHs of the acids were adjusted to 5, the inhibitory activities of lactic acid, acetic acid, formic acid against *S. gallinarum* were greatly reduced while the inhibitory activity of phenyllactic acid was unchanged. The inhibitory activity of the phenyllactic acid was specifically high against *S. gallinarum* and *S. aureus* but very low against yeast and mold.

Key words: Antimicrobial organic acids, chickens, *Lactobacillus pentosus*, phenyllactic acid, probiotics

유산균이 생산하는 항균물질에 대하여 근래에 유산균 함유 건강식품, 생균제 등의 사용의 증가와 더불어 많은 연구가 발표되고 있다. 유산균이 생산하는 항균물질에는 유기산, 박테리오신, 과산화수소 등이 있으며, 상호작용에 의하여 항균활성이 증가한다. 유산균이 생산하는 주된 유기산은 lactic acid, acetic acid 등이 있으며 각각 낮은 pH에서 항균력을 나타내는데 분자 고유의 특성이라기보다는 산성 성질에 기인한다[4]. 유산균에서 생산되는 항균성 대사물질을 크게 두 가지로 분류하면 박테리오신과 같이 분자량이 1000 Da 이상인 고분자 물질과 분자량이 1000 Da 이하인 저분자 물질로 구분될 수 있으며 단백질성이 아닌 작은 분자량을 가진 물질은 대개 그램 양성 및 그램 음성균 그리고 곰팡이 등 넓은 항균력을 나타낸다[3, 6].

박테리오신은 단백질성 항균물질로써 대부분 단백질 분해 효소에 의해서 분해가 되며, 그 중 nisin Z의 항균기작은 세포막에 pore를 형성하여 아미노산, 이온, ATP 등 세포내용

물이 세포밖으로 방출하는 것에 기인한다[1]. 상업적으로 가장 잘 알려진 박테리오신인 *Lactococcus lactis* susp. *lactis*가 생산하는 nisin을 포함하여 *Pedicoccus sp.*로부터 생산된 pediocin과 *Leuconostoc sp.*에서 생산되는 leucocin 등은 *Listeria monocytogenes*을 포함하여 넓은 범위의 그람양성균에 대하여 특이적으로 항균력을 나타낸다[7].

그 외 저분자의 항균물질로써 diacetyl은 버터, 치즈 등에 바람직한 향기성분으로 일부 유산균주(*Lactococcus lactis* susp. *lactis* biovar. *diacetylactis*)가 citrate를 기질로 생산한다[8]. 2종의 *Lactobacillus casei* subsp.에서 생산되는 항균 물질을 정제·동정한 결과 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid (PCA, pyroglutamic acid)가 분리되었고[9], *Lactobacillus plantarum*에서 생산되는 새로운 type의 저분자 항균물질로 benzoic acid, methylhydantoin, mevalonolactone, cyclo(glycyl-L-leucyl) 등이 lactic acid와 상호작용으로 그램음성의 *Pantoea agglomerans*을 저해하는 것으로 보고되었다[14].

살모넬라(*Salmonella sp.*)는 양계산업에서 티프스, 추백리 등을 유발시키는 균주로써 널리 알려져 있으며[15], 포도상 구균(*Staphylococcus aureus*)은 식품부패를 일으키는 장독소 (enterotoxin)를 분비하고, 낙농산업에서는 유방염이 걸린 젖

*Corresponding author
Tel. 082-220-2344, Fax. 082-220-2344
E-mail: ykh@lion.woosong.ac.kr

소에서 많이 발견되는 유해 세균이다[2]. 본 연구에서는 한 국 토종닭 소장으로부터 분리된 유산균 중 내산성 및 내담 즙성이 우수할 뿐만 아니라 살모넬라, 포도상구균 등 소화 기 병원성균에 대한 항균력이 우수한 *Lactobacillus pentosus* K34 균주[12]에서 생산되는 유기산 대사를 조사하였고 그 중 산성 성질에 의한 항균력보다는 분자고유의 특성을 지니며 항균성을 나타내는 물질인 phenyllactic acid의 항균활성의 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

강원도 일대의 농가에서 서식하는 토종닭의 소장내용물로부터 분리한 7주의 유산균[12]을 사용하였다. 유산균 배지로 MRS broth를 사용하여 37°C에서 3일간 혼기적으로 배양하였다. 살모넬라, 포도상구균 배양배지는 Nutrient broth 또는 YM broth(0.3 % yeast extract, 0.3 % malt extract, 0.5 % peptone, 1.0 % dextrose)를 사용하였고, 37 °C에서 1~2일간 호기적으로 배양하여 사용하였다.

항균력 측정

각 분리 유산균의 배양액을 살모넬라, 포도상구균이 증식된 agar plate상에 penicylinder(용량 300 µl, ID 6 mm, OD 8 mm, H 10 mm)를 화염살균하여 일정간격으로 놓은 후 100 µl 혹은 200 µl를 loading하여 저해환의 크기를 비교하는 agar diffusion method를 사용하였다[12].

산도측정

산도측정은 유산균 배양액에 phenolphthalein 지시약을 1~2 방울 떨어뜨린 후 0.1 N NaOH로 적정하는 것에 근거하였고 생성된 유기산은 lactic acid로 환산하여 산도(titratable acidity)를 나타내었다[18].

단백질 분해효소 처리

3일 배양한 유산균 배양액에 0.1 %(w/v) trypsin (Sigma), Fermizyme®(DSM Food Specialities, Netherlands), pancreatin (Sigma)을 각 시료 당 20%가 되도록 첨가하고 37°C에서 24시간 반응시킨 후 살모넬라 증충배지에서 penicylinder를 사용한 agar diffusion 방법으로 항균력을 비교하였다,

Lactic acid와 유산균 배양액의 항균력 비교

Lactic acid 0.0~2.0 %와 유산균 배양액을 5.0 N NaOH로 pH 4.5로 동일하게 조정하여 살모넬라 증충배지에서 agar diffusion 방법을 사용하여 항균력을 비교하였다.

유기산 분석

Lactobacillus pentosus K34에서 생산되는 유기산을 GC-

MSD(HP model 6890, Hewlett Packard, Avondale, PA, USA)를 사용하여 분석하였다. 배양액 0.2 µl가 들어 있는 vial에 증류수 2.8 µl을 넣어 희석한 다음 내부표준물로 사용하는 pentadecanoic acid 50 µg(1 µg/ml in methanol)을 첨가하였다. 이어서 methoxyamine hydrochloride 10 mg을 넣고 5 M NaOH를 사용하여 pH 12이상으로 올려 60°C에서 1시간 methoximation 시킨 후, pH를 9 이상으로 조절하여 diethyl ether 3 ml로 3 번 씻어내었다. 이어서, 농축된 진한 황산으로 pH 1이하로 한 다음 NaCl로 포화시켜 diethyl ether 3 ml로 2 번 추출하고, Na₂SO₄로 수분을 제거하였다. 질소기류 하에서 추출액을 완전히 전조한 후, *N-methyl-N-(tert.-butyldimethylsilyl)trifluoroacetamide*(MTFSTFA)를 이용하여 60°C에서 30분간 *tert.-butyldimethylsilyl*(TBDMS) 유도체화하여 GC-MSD를 이용하여 분석하였다[10].

각 유기산의 항균력 비교

Lactic acid, acetic acid, formic acid, phenyllactic acid의 각 0.05 M 용액을 각각 pH를 조절하지 않은 시료와 pH를 5.0으로 조절한 시료를 살모넬라 증충배지에 200 µl씩 loading하여 항균력을 비교하였다.

Phenyllactic acid의 항균스펙트럼

Phenyllactic acid를 0.0~5.0 %(w/v)의 농도로 희석하여 각 시험균주의 증충배지에 100 µl씩을 loading하여 항균활성을 비교하였다. 사용된 시험균주는 *Staphylococcus aureus*, *Salmonella gallinarum*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus stolonifer*이었다.

결과 및 고찰

항균물질의 단백질분해효소처리

분리균주가 생산하는 항균물질의 단백질성 여부를 조사하기 위하여 유산균 배양액에 단백질분해효소인 trypsin, Fermizyme®, pancreatin을 처리하였다. 그 결과 7주의 모든 분리균주가 24시간의 긴 효소반응에도 불구하고 *Salmonella gallinarum* 증충배지에서 agar diffusion 방법에 의한 항균력 시험결과, 항균력의 변화가 없는 것으로 나타나 항균물질이 단백질성은 아닌 것으로 사료되었다(data not shown).

Lactic acid와 분리 유산균의 배양액의 항균력비교

살모넬라 증충배지에서 동일한 pH 4.5에서 lactic acid의 항균력과 여러 유산균 배양액의 항균력을 비교하였다(Table 1, 2). 먼저 lactic acid 단독의 항균력 조사 결과를 보면, 9 mm의 inhibitory clear zone을 나타내려면 1.8 %(w/v)의 lactic acid가 필요함을 알 수 있다(Table 1). 한편 본 연구에서 사용된 균주의 배양액이 산도가 1.08~1.8 %임에도 불구하고 1.8 %(w/v)

Table 1. Effect of lactic acid concentration on the diameter of clear zone against *Salmonella gallinarum*.

Lactic acid(%, w/v) ^a	Diameter(mm) of inhibitory clear zone
0.0	0
0.5	<8 ^b
1.6	<8 ^b
2.0	10

^aThe pH of each concentration of lactic acid was adjusted to 4.5 and 100 µl of the each lactic acid solution was loaded into the penicylinder to examine the diameter of the inhibitory clear zone.

^bThe bottom of the inside of penicylinder was clear.

Table 2. Acidities of culture broths^a and growth inhibition of *Salmonella gallinarum* by various culture broths^b of selected strains.

Strain	Acidity of culture broth (%,w/v)	Diameter(mm) of inhibitory clear zone
BD14	1.35	10
BD16	1.80	9
BD22	1.80	11
BD33	1.71	11
K34	1.80	10
B63	1.62	11
BL	1.08	11

^aAll the strains were anaerobically cultured for 3 days at 37°C.

^bThe pH of each culture broth was adjusted to 4.5 and 100 µl of the culture broth was loaded into the penicylinder to examine the diameter of inhibitory clear zone.

v) lactic acid의 inhibitory clear zone 크기인 9 mm보다 더 큰 10~11 mm의 성장저해환을 나타내었는데(Table 2). 이는 유산균 배양액내에 lactic acid이외의 다른 항균물질이 존재함을 시사해 주는 것이다.

배양액의 유기산 분석

지금까지 큰 분자량의 박테리오신 또는 박테리오신 유사물질에 대한 다양한 연구가 행하여졌으나 nisin을 제외하고는 화학적인 구조가 드물게 알려져 있으며, 최근에는 적은 분자량의 항균물질에 대한 연구가 보고되고 있다[6, 7]. 유산균 발효에 의한 주요한 항균성 물질은 lactic acid이며 박테리오신에 의한 항균효과보다는 lactic acid와 acetic acid와 같은 저해능이 있는 대사 부산물에 의한 효과일 가능성이 높다[13]. 따라서 본 연구에서는 병원성 균에 대한 항균력에 영향을 미치는 요인은 유기산의 종류 및 생성량에 크게 좌우될 것으로 사료되어 살모넬라, 포도상구균 등 병원성 세균에 대한 저해능과 내산성 및 내담즙성이 가장 우수한 *L. pentosus* K34[12]을 사용하여 균 배양액의 생성된 유기산 대사물 프로파일을 분석하였다(Fig. 1). 그 결과 28종의 유기산을 검출할 수 있었으며 이들 중 lactic acid, acetic acid 다음으로 phenyllactic

Table 3. Various organic acids detected in the culture broth of *Lactobacillus pentosus* K34.

No	Organic acid	Area ratio ^a	
		MRS(Control)	K34
1	Formic	0.452	1.301
2	Acetic	2.400	8.206
3	Propionic	0.022	0.096
4	Isobutyric	0.059	0.187
5	Isovaleric	0.011	0.028
6	Pyruvic	0.511	0.898
7	Lactic	6.137	38.777
8	Glycolic	0.274	0.295
9	2OH-butyric	0.013	0.201
10	3OH-propionic	0.099	0.032
11	2OH-isovaleric	0.015	0.338
12	2OH-isocaproic	0.000	1.131
13	2OH-3-methylvaleric	0.000	0.457
14	Succinic	0.662	1.312
15	Pyroglutamic	0.082	0.115
16	2-ketoglutaric	0.061	0.221
17	Phenyllactic	0.005	2.558
18	Myristic	0.008	0.015
19	4OH-phenylacetic	0.008	0.007
20	Malic	0.015	0.025
21	Phthalic	0.004	0.005
22	2OH-glutaric	0.006	0.039
23	Azelaic	0.006	0.013
24	Palmitic	0.036	0.055
25	Stearic	0.013	0.013
26	4OH-phenyllactic	0.001	1.338
27	Indole-3-lactic	0.000	0.192
28	Citric	0.421	0.019

^aArea ratio relative to the area of internal standard.

acid가 가장 높은 농도로 생산되었다(Table 3).

L. pentosus K34가 생산하는 유기산 중 pyroglutamic acid는 *Lactobacillus casei* subsp.에서 생산되는 항균물질로써 분리·정제된 보고가 있으며[9], *Geotrichum candidum*에서 생산되는 indollacetic acid, phenyllactic acid가 *Listeria monocytogenes*를 저해하는 것으로 보고되었고[4], 특히 phenyllactic acid는 사람과 식품 등에서 발견되는 몇몇 그램 양성 및 음성균 그리고 곰팡이 등에 대한 항균스펙트럼을 나타내는 것으로 알려져 있다[5, 11]. *L. plantarum* strain 21B에서 생산하는 phenyllactic acid, 4-hydroxy-phenyllactic acid 등은 빵의 부패에 관련된 곰팡이인 *Eurotium repens* IBT18000, *Penicillium coryophilum* IBT6978, *Aspergillus flavus* 등 10여주 곰팡이균을 저해함으로써 식품산업에서 화학적인 방부제가 아닌 천연 방부제로써 고려되어지고 있다[11].

Phenyllactic acid는 phenylalanine 대사과정에 관련되어 있는 물질로[16] phenylalanine의 세포내 축적을 피하기 위하여 아미노산인 tyrosine으로 가수분해되거나 phenylpyruvic acid

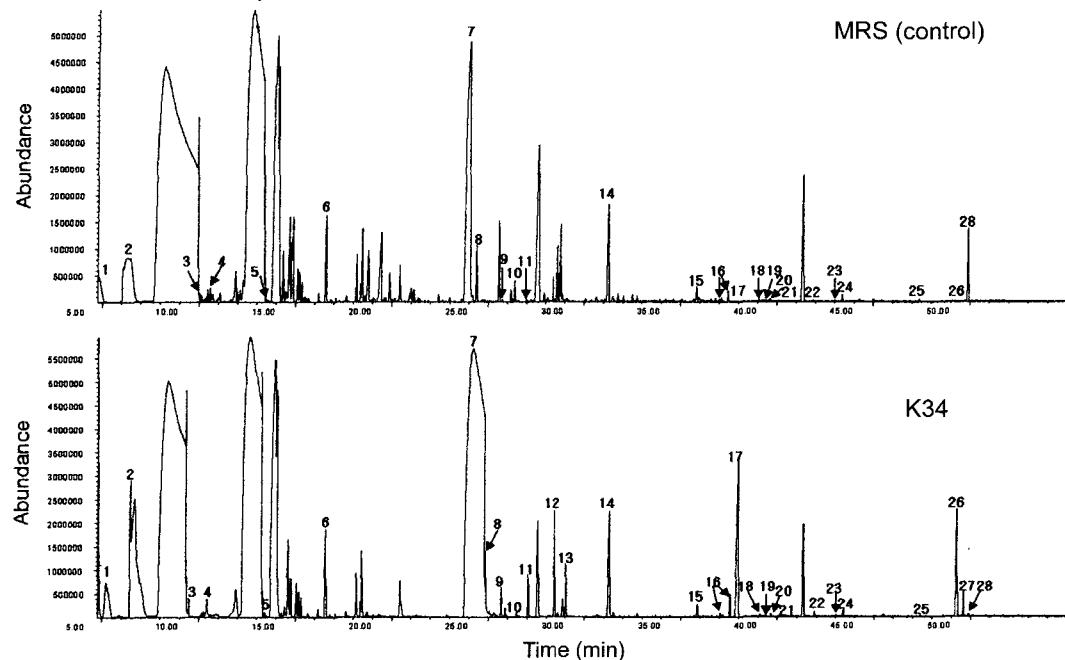


Fig. 1. GC-MS chromatograms of organic acids in MRS medium and culture broth of *Lactobacillus pentosus* K34.
 1; formic, 2; acetic, 3; propionic, 4; isobutyric, 5; isovaleric, 6; pyruvic, 7; lactic, 8; glycolic, 9; 2-hydroxybutyric, 10; 3-hydroxypropionic, 11; 2-hydroxyisovaleric, 12; 2-hydroxyisocaproic, 13; 2-hydroxy-3-methylvaleric, 14; succinic, 15; pyroglutamic, 16; 2-keto-glutaric, 17; phenyllactic, 18; mystic, 19; 4-hydroxyphenylacetic, 20; malic, 21; phthalic, 22; 2-hydroxyglutaric, 23; azelaic, 24; palmitic, 25; stearic, 26; 4-hydroxyphenyllactic, 27; indole-3-lactic, 28; citric.

로 탈아미노기 반응이 되어 phenyllactic acid와 4-hydroxy-phenyllactic acid로 대사 되어지는 것으로 보여진다[11].

Phenyllactic acid와 다른 유기산과의 항균효과

Formic acid, acetic acid, lactic acid, phenyllactic acid의 살모넬라 증증배지에서의 항균활성을 비교하였는데, 각 산용액의 pH를 조정하지 않은 상태에서는 phenyllactic acid와 lactic acid가 살모넬라에 대해 가장 높은 저해활성을 나타냈고 그 다음은 acetic acid였고 formic acid는 비교적 낮은 저해활성을 보였다(Table 4). 한편 이들 유기산용액을 pH 5.0으로 조정한 후에는 formic acid, acetic acid, lactic acid는 항균력이 급격히 감소하였으나 phenyllactic acid는 항균력이 우수한 상태로 유지되었다. Lactic acid와 acetic acid는 분자 고유의 특성이 아닌 산 성질에 기인하는 것으로 *L. monocytogenes*에 대한 항균실험에서 pH 5.6에서 phenyllactic acid는 항균력이 유지되었으나, lactic acid의 경우는 항균활성이 없어졌다는 결과[11]와 같은 결과를 나타냈다. 따라서 phenyllactic acid는 동물 장내 pH의 영향을 적게 받으면서 항균작용이 가능한 물질이라 생각된다. 또한 bacteriocin은 주로 hydrophobic하여 식품내에서 확산이 어려우나 phenyllactic acid은 분자량이 166.2로 저분자이며 hydrophilic하여 식품내로 쉽게 확산될 수 있다[5]. 이러한 특성으로 인하여 phenyllactic acid는 동물 체내에서도 조직침투성이 있는 물질

Table 4. Growth inhibition of *Salmonella gallinarum* by different organic acids^a.

pH	Diameter(mm) of inhibitory clear zone			
	Acetic	Formic	Lactic	Phenyllactic
N.A. ^b	16.0	14.0	17.0	17.0
5.0	9.0	8.0	8.0	18.0

^aThe concentrations of organic acids used were 0.05 M.

^bN.A. means not-adjusted pH.

로 기대되며 가금류의 간, 폐 등 각 장기에 감염되어있는 살모넬라와 같은 유해균의 성장을 억제 또는 사멸시킬 수 있을 것으로 기대된다.

Phenyllactic acid의 항균 스펙트럼

Phenyllactic acid의 *S. gallinarum*, *S. aureus* 등 여러 미생물에 대한 항균스펙트럼을 조사한 결과(Table 5), 공통적으로 *S. gallinarum*, *S. aureus* 및 *Helicobacter pylori* 등 유해세균에 대하여 우수한 항균능력을 나타내었고, 장내 유익한 세균으로 알려진 유산균, 효모 등에는 저해활성이 약하게 나타남으로써 유해세균에 대한 특이성을 가진 저해작용을 보였다. 따라서 *L. pentosus* K34로 제조된 생균제를 동물에 급여하였을 때 장내에 유익한 균총에 영향을 적게 미치며 소화기 병원성 세균을 선택적으로 강력하게 저해하리

Table 5. The diameters of inhibitory clear zones formed by phenyllactic acid at various concentrations against several microorganisms.

Phenyl-lactic acid(%)	Diameter(mm) of inhibitory clear zone						
	<i>S. aureus</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>E. coli</i>	<i>H. pylori</i>	<i>L.rhamnosus</i>	<i>S.cerevisiae</i>	<i>R.stronifer</i>
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.2	8.0	9.0	0.0	10.0	0.0	0.0	0.0
0.6	11.0	18.0	0.0	14.0	0.0	0.0	0.0
1.0	14.0	23.0	0.0	19.0	8.0	0.0	0.0
3.0	17.0	N.D. ^a	0.0	31.0	12.0	0.0	0.0
5.0	25.0	N.D.	8.0	36.0	13.0 ^b	8.0	8.0

^aN.D. means not determined.^brepresents turbid inhibitory zone.

라 예상된다.

요 약

한국 토종닭의 작은창자로부터 살모넬라와 포도상구균의 성장 저해력이 우수한 7주의 유산균을 분리하였다. 분리된 7주의 배양액을 단백질 분해효소로 처리한 결과 저해활성의 변화가 없었다. Lactic acid 1.8 %에 의하여서는 *Salmonella gallinarum*의 성장저해환이 9 mm로 나타났는데, 대부분의 분리 유산균 배양액은 산도가 1.08~1.8 %인데도 불구하고 성장 저해환이 10~11 mm로 나타난 것으로 보아 유산균 배양액내에는 lactic acid 이외의 다른 물질이 있는 것으로 사료된다. GC-MSD를 이용하여 항균성이 우수한 *L. pentosus* K34 배양액내의 생성된 유기산 metabolic profile을 조사한 결과 28종의 유기산이 검출되었으며, 그 중 천연항균물질인 phenyllactic acid가 lactic acid, acetic acid와 더불어 높은 농도로 생산되었다. Phenyllactic acid는 acetic acid, formic acid, lactic acid와 저해활성을 비교하였을 때 우수한 항균활성을 보였으며 acetic acid, formic acid, lactic acid가 pH 5.0에서는 저해활성이 크게 감소함에 비하여 phenyllactic acid는 pH 5.0에서도 저해활성이 그대로 유지되었다. Phenyllactic acid는 살모넬라, 포도상구균에 대한 항균능력이 특이적으로 강력하게 나타났으며 효모, 곰팡이에 대한 항균활성은 매우 낮았다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청 기술혁신과제 연구사업비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Abee, T., L. Krockel, and C. Hill. 1995. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of

- food poisoning. *Intl. J. Food Microbiol.* **28**: 169-185.
- Craven, N. 1987. Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation - a Review. *Br. Vet. J.* **143**: 410-422.
- de Vuyst, L. and E. J. Vandamme. 1994. Bacteriocins of lactic acid bacteria. In L. de Vuyst and E. J. Vandamme (eds.), *Microbiology, Genetics and Applications*. Blackie Academic and Professional. Glasgow.
- Dieuleveaux, V., D. Van der Pyl, J. Chataud, and M. Gueguen. 1998. Purification and characterization of anti-*Listeria* compounds produced by *Geotrichum candidum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 800-803.
- Dieuleveaux, V., S. Lemariner, and M. Gueguen. 1998. Anti-microbiol spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid. *Intl. J. Food Microbiol.* **40**: 177-183.
- Gourama, H. and L. B. Bullerman. 1995. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species. *J. Food Prot.* **58**: 1249-1256.
- Hechard, Y., D. Renault, Y. Cenariempo, F. Letellier, A. Maffat, C. Jayat, P. Bressolier, M. H. Ratinaud, R. Julien, Y. Fleury, and A. Delfour. 1993. Les bactériocines contre *Listeria* : une nouvelle famille de protéines?. *Lait* **73**: 207-213.
- Hugenholtz, J. and M. J. C. Starrenburg. 1992. Diacetyl production by different strains of *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* and *Leuconostoc* spp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 17-22.
- Huttunen, E., K. Noro, and Z. Yang. 1995. Purification and identification of antimicrobial substances produced by two *Lactobacillus casei* strains. *Int. Dairy J.* **5**: 503-513.
- Kim, K. R., H. G. Park, M. J. Paik, H. S. Ryu, K. S. Oh, S. W. Myung, and H. M. Liebich. 1998. Gas chromatographic profiling and pattern recognition analysis of urinary organic acids from uterine myoma patients and cervical cancer patients. *J. Chromatogr. B* **712**: 11-22.
- Lavermicocca, P., F. Valerio, A. Evidente, S. Lazzaroni, A. Corsetti, and M. Gobbetti. 2000. Purification of characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 4084-4090.

12. Lee, J. Y., K. Y. Hwang, H. S. Kim, K. Kim, and S. I. Sung. 2002. Isolation and identification of lactic acid bacteria of domestic animal. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **30**: in press.
13. Lortie, L., R. E. Simard, and M. C. Lavoie. 1992. Characterization of the antimicrobial substances produced by four *Lactobacillus casei* strains. *Microbiol. Aliment. Nutr.* **10**: 389-400.
14. Niku-Paavola, M. -L., A. Laitila, T. Mattila-Sandholm, and A. Haikara. 1999. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.* **86**: 29-35.
15. Pomeroy, B. S. and K. V. Nagaraja. 1991. Fowl typhoid, pp. 87-98. In B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, and H. W. Yoder, (eds.), *Diseases of poultry*, Iowa State University Press. Ames. IA.
16. Sato, K., H. Ito, H. Ei, and G. R. Rao. 1986. Microbial conversion of phenyllactic acid to L-phenylalanine. Brevet. Ajinomoto Co. Inc., Japan. Patent JP 86212293.
17. Talarico, T. L. and W. L. Dobrogosz. 1989. Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **33**: 674-679.
18. Vanderzant, C. and D. F. Splittstoesser. 1992. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3th ed. American Health Association.

(Received May 15, 2002/Accepted June 12, 2002)