

Lactobacillus sakei 생육저해활성 보유 *Leuconostoc mesenteroides*가 생산하는 Bacteriocin의 특성

이광희 · 이종훈*
경기대학교 식품생물공학과

Received : August 7, 2011 / Revised : October 27, 2011 / Accepted : October 28, 2011

Characterization of the Bacteriocin Produced by a *Leuconostoc mesenteroides* Strain Inhibiting the Growth of *Lactobacillus sakei*. Lee, Kwanghee and Jong-Hoon Lee*. Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea – *Lactobacillus sakei* is known to be the most populous lactic acid bacteria in over-ripened kimchi. Twenty three strains of *Leuconostoc* species inhibiting the growth of *Lb. sakei* were isolated from kimchi and amongst these the *Leuconostoc mesenteroides* strain CK0122 exhibited the highest antagonistic activity against *Lb. sakei*. The culture supernatant of the strain CK0122 was fractionated by a molecular weight cutter and lyophilized. The fraction with a molecular weight of less than 3,000 Da showed antagonistic activity against *Lb. sakei*. The antibacterial activity of the active fraction was sensitive to proteinase K treatment, confirming its proteinaceous nature (bacteriocin). The crude bacteriocin was active in the pH range of 4 to 7 and extremely stable after 15 min of heat treatment at 121°C. The crude bacteriocin inhibited the growth of *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Alcaligenes xylosoxydans*, *Flavobacterium* sp., and *Salmonella typhimurium*.

Keywords: Bacteriocin, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus sakei*, kimchi

유산균이 생산하는 bacteriocin은 분자량 2.5-40 kDa의 비교적 작은 항균성 단백질로 근연관계에 있는 Gram 양성 세균에 대해 선택적으로 생육저해작용을 하고, pepsin, chymotrypsin, trypsin 등의 단백질 분해효소에 의해서 분해되어 인체에 무해하기 때문에 화학적 첨가물을 지양하는 소비자의 요구를 만족시킬 수 있는 천연 식품보존제로 인식되고 있다 [4, 8]. 1953년 *Escherichia coli*로부터 미생물의 생육을 억제하는 단백질을 분리하여 colicin이라 명명한 이후 다양한 미생물 유래의 bacteriocin이 보고되고 있으며 *Lactococcus lactis*가 생산하는 nisin은 여러 나라에서 식품보존제로 상용화 되었다[4].

다양한 유산균이 김치발효에 관여하는 것으로 보고됨에 따라 김치는 국내 연구자들에게 새로운 기능성을 보유한 식품용 미생물의 탐색원이 되어왔으며, 새로운 식품보존제 발굴을 목표로 한 다수의 bacteriocin 연구가 진행되었다. *E. coli* 생육저해능을 보유한 bacteriocin 생성 *Lactobacillus brevis*가 분리되었고[5], *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* 및 *Lactobacillus* 속 유산균들로부터 *Listeria monocytogenes*의 생육을 저해하는 bacteriocin의 존재가 확인되었

으며[14, 16, 17, 32, 35], *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*, *Helicobacter pylori* 등의 위해세균 생육을 저해하는 bacteriocin 생성 김치 유래 유산균이 보고되었다[18-20, 22, 33].

김치는 살균과정 없이 유통되기 때문에 유통과정에서도 발효가 진행되는 특성을 가지고 있어 일정한 품질의 제품 유통이 어렵다. 따라서 품질 표준화와 함께 가식기간 연장은 상업김치의 상품성 및 유통기한과 연관된 가장 큰 문제점으로 대두되었고[15], 상업적 김치 생산이 본격화되면서 김치 발효에 관여하는 미생물을 효과적으로 제어하여 풍미를 향상시키고 가식기간을 연장시키려는 연구가 진행되고 있다. 방사선 조사, 열처리, 고압처리와 같은 물리적 방법이 적용되었고, 자몽종자 추출물과 같은 천연 추출물과 식품보존제, 유기산 등의 첨가가 시도되었으며, 종균을 이용한 김치발효 제어에 대한 연구도 다수 진행되었다[26].

가식기간 연장을 위해 bacteriocin 생성균을 적용한 초기의 연구에서는 다른 유산균주에 대해 항균활성을 보유하고 있고, 산생성이 낮은 bacteriocin 생성 유산균주를 선발하여 종균으로 적용하였다[8, 9]. 그러나 김치발효에 따른 유산균 천이에 대한 결과가 보고됨에 따라 발효 후기에 우점하여 김치 산패의 원인균으로 인식되었던 *Lactobacillus plantarum*의 생육저해를 위한 bacteriocin 생산균주의 선발이 진행되었고[20, 23, 39], *Lb. plantarum* 생육저해활성을 보유한

*Corresponding author

Tel: +82-31-249-9656, Fax: +82-31-253-1165

E-mail: jhl@kyonggi.ac.kr

bacteriocin 생성 *Enterococcus* 속 균주가 분리되어 가식기간 연장에 유효한 것으로 보고되었다[29]. 그러나 *Enterococcus* 속 유산균은 김치발효의 우점종으로 인식되지 않으며, 항생물질 내성에 의한 균주의 안전성이 논란이 되고 있어 김치 발효를 위한 종균으로는 적합하지 않은 것으로 사료된다[30]. 최근에는 *Lb. plantarum*의 생육을 억제하는 bacteriocin 생성 *Leuconostoc* 속 균주를 김치로부터 분리하여 bacteriocin의 특성을 규명한 다음, 우수균주 *Leuconostoc citreum* GJ7을 첨가하여 제조한 김치의 관능적 특성, 가식기간 연장, 첨가한 종균의 발효기간 중 지속적인 우점을 검토한 체계적인 연구결과가 보고되었다[2, 3, 39].

한편, 16S rRNA 유전자(16S rDNA) 염기서열을 이용한 계통발생학적 분류가 일반화되고, 분자생물학적 방법론을 적용한 배양 비의존적 김치 미생물 군집 연구가 진행됨에 따라, *Leuconostoc* 속뿐만 아니라 *Weissella* 속 유산균이 김치 발효 초기와 적숙기에 우점을 차지하고 있으며 적숙기 이후에는 *Lb. sakei*가 우점한다는 연구결과가 보고되었다[24, 25, 34].

이러한 김치발효 관련 미생물 군집의 천이 및 우점종에 대한 패러다임의 변화에도 불구하고, 발효 후기에 성장하는 대표적 유산균 *Lb. sakei*를 억제하는 bacteriocin 생산균주에 관한 연구는 진행되지 않았다. 단순히 *Lb. sakei* 표준균주 (type strain)를 지시균주로 사용하여 bacteriocin을 생산하는 *Leuconostoc mesenteroides* 균주를 선발한 연구 1건이 보고되었지만, 가식기간 연장이 목표가 아닌, bacteriocin 생산 *Leuconostoc* 속 균주의 선발을 목표로 한 연구로 평가된다 [1].

본 연구자들은 최근 들어 발효 후기의 우점종으로 알려진 *Lb. sakei*의 생육을 저해하는 *Leuconostoc* 및 *Weissella* 속 균주들을 선발하여, 이들 hetero 발효형 유산균들의 김치발효용 종균으로의 적용 가능성을 보고한 바 있다[26]. 본 연구에서는 선발된 *Leuconostoc* 속 23 균주들 중, 가장 높은 *Lb. sakei* 생육저해활성을 나타낸 *Lc. mesenteroides* CK0122 균주가 생산하는 생육저해물질의 특성을 검토하였다.

Lc. mesenteroides CK0122 균주의 배양 상징액 분획 및 조항균물질 제조

30°C 미호기 조건에서 24시간 동안 MRS 배지에서 배양한 CK0122 균주 배양액을 원심분리(6,000×g, 20 min)하여 회수한 상징액을 0.45 μm membrane filter(Gelman Science, USA)로 제균한 다음, Amicon Ultra-15 centrifugal filter devices 3K(Millipore, USA)를 이용하여 분자량 3,000 Da 이상과 이하의 분획으로 나누어 농축하였다.

Lc. mesenteroides CK0122가 생산하는 항균물질의 분자량

CK0122 균주가 생산하는 항균물질의 분자량을 agar disk diffusion method[39]를 사용하여 검토하였다. 약 10⁵ CFU/

mL 농도의 공시균주 *Staphylococcus aureus* ATCC 12692 배양액 200 μL를 nutrient agar(Difco, USA)에 도말한 후, 공시균 용액이 건조되면 살균된 paper disk(Ø 6 mm, Whatman, UK)를 올려놓았다. 분자량 3,000 Da를 기준으로 분획한 배양 상징액을 10배 농축하여 각각 paper disk에 20 μL 첨가한 다음, 30°C에서 24시간 배양하여 생육저해환(clear zone)을 확인하였다. 3,000 Da 이하의 분획을 첨가한 경우에는 확실한 생육저해가 나타났지만, 3,000 Da 이상의 분획을 첨가한 경우에는 생육저해활성이 나타나지 않아, CK0122 균주가 생산하는 생육저해물질은 분자량 3,000 Da 이하의 물질로 추정된다(Fig. 1).

조항균물질에 의한 *Lb. sakei* 생육저해활성

배양 상징액을 분자량 3,000 Da 이상과 이하의 분획으로 나누어 동결건조한 조항균물질을 각각 0.01 g/mL의 농도로 첨가한 MRS 배지 50 mL에 30°C에서 24시간 전배양한 *Lb. sakei* CK0155 균주와 표준균주 *Lb. sakei* subsp. *sakei* KCTC 3603^T를 각각 1%(v/v) 농도로 접종한 다음, 30°C에서 배양하면서 조항균물질의 첨가에 따른 생육저해를 흡광도(600 nm)로 측정하였다. CK0155 균주는 본 연구자들이 선형연구에서 김치로부터 분리하여 동정한 균주이고[26], 표준균주는 Korean Collection for Type Culture(KCTC)로부터 구입하였다. 3,000 Da 이하의 분획을 첨가한 경우에는 확실한 생육저해가 나타났지만, 3,000 Da 이상의 분획을 첨가한 경우에는 조항균물질을 첨가하지 않은 대조군과 큰 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2). 3,000 Da 이하의 조항균물질은 김치에서 분리한 CK0155 균주와 표준균주의 생육을 모

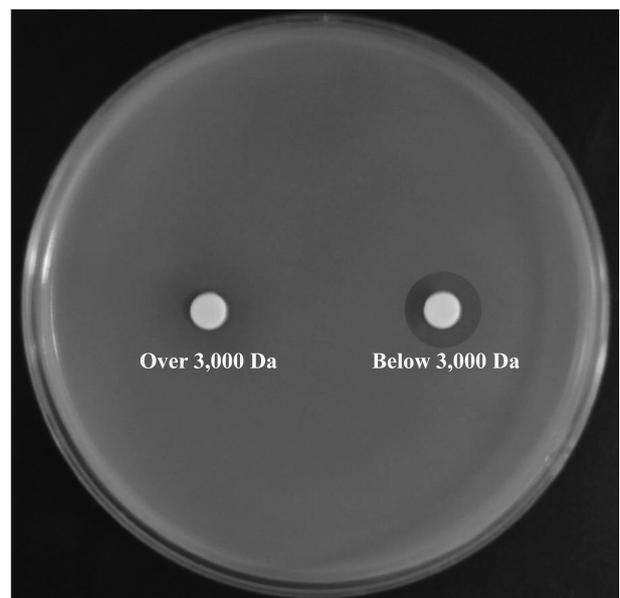


Fig. 1. Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* ATCC 12692 by two cell-free fractions from *Leuconostoc mesenteroides* CK0122 separated by 3,000 Da molecular weight cutter.

두 억제하는 것으로 확인되어 *Lc. mesenteroides* CK0122가 생산하는 *Lb. sakei* 생육저해물질은 분자량 3,000 Da 이하의 물질로 다시 한번 확인되었다. 3,000 Da 이상의 조항균물질도 약한 생육저해를 나타내어, 또 다른 생육저해물질의 존재를 배제할 수 없지만, 분획과정이 완전하게 진행되지 못한 것이 원인으로 추정된다. 조항균물질의 첨가로 CK0155 균주와 표준균주의 생장이 느리게 증가하는 것으로 보아 분자량 3,000 Da 이하의 물질은 bacteriocide라기보다는 bacteriostatic한 항균물질로 추정된다.

Lc. mesenteroides CK0122 균주가 생산하는 항균물질의 안정성

CK0122 균주가 생산하는 항균물질의 효소 및 pH, 온도에 대한 안정성은 분자량 3,000 Da 이하 조항균물질을 이용하여 *Bacillus cereus* KCCM 11341과 *St. aureus* ATCC 12692를 지시균으로 한 agar disk diffusion method[39]에 의해 평가하였고 각 균주는 KCCM(Korean Culture Center of Microorganisms)과 ATCC the global bioresource center로부터 구입하였다. Nutrient agar를 지시균의 생육에 사용하였고, 생육저해활성은 생육저해환의 크기로 측정하였다. Paper disk에 첨가하는 시료는 동일한 농도조건으로 제조하여 20 μ L 첨가하였다.

효소에 의한 조항균물질의 영향을 알아보기 위하여 분획한 배양 상정액에 5 N NaOH를 첨가하여 중성으로 조절한 다음, 냉동건조하여 0.5 g/mL의 농도로 멸균수에 녹였다. 이렇게 농축한 조항균물질에 동량의 50 mM 인산완충용액 (pH 7)에 녹인 α -amylase(EC 3.2.1.1 type VIII, Sigma, USA), lipase(EC 3.1.1.3 type VII, Sigma), proteinase K (EC 3.4.21.64, Sigma), catalase(EC 1.11.1.6, Sigma)를 첨가하고 37°C에서 24시간 처리한 다음, 조항균물질의 활성에 미치는 효소의 영향을 검토하였다. CK0122 균주가 생산하

는 분자량 3,000 Da 이하의 조항균물질은 단백질 분해효소 proteinase K에 의한 항균활성 소실이 확인되어 단백질성 또는 펩타이드성 bacteriocin으로 확인되었다(Table 1).

조항균물질의 안정성에 미치는 pH의 영향을 알아보기 위하여 분획한 배양 상정액을 5 N HCl 또는 5 N NaOH를 사용하여 pH를 2에서 11까지 단계적으로 조절하였고, 4°C에서 24시간 방치한 다음, 냉동건조하여 0.5 g/mL의 농도로 증류수에 녹여 pH 안정성 검토에 사용하였다. 지시균 *St. aureus*를 사용하여 pH 안정성을 확인한 경우, pH 2에서 11까지의 영역에서 항균활성을 확인할 수 있었고 pH 4 이하 및 pH 9 이상에서는 강력한 생육저해활성이 확인되었다. 그러나 *St. aureus*는 중성 pH에서 최적생장을 나타내고 4 이하 및 9 이상의 pH는 성장범위를 벗어나는 것으로 알려져 있다[12]. 따라서 비교적 넓은 pH에서 성장하는 *B. cereus*를 지시균으로 조항균물질의 pH 안정성을 검토한 결과, 8 이하의 pH에서만 지시균에 대한 생육저해활성을 나타내었다. pH 4 이하의 산성영역에서 지시균의 생장이 쉽지 않다는 점을 고려하면, CK0122 균주가 생산하는 bacteriocin은 pH 4에서 7 정도의 영역에서 최적활성을 갖는 것으로 사료된다 (Table 1).

온도에 대한 안정성 검토를 위하여 분획하여 냉동건조한 조항균물질을 0.5 g/mL 농도로 증류수에 녹여 4°C, 30°C, 50°C, 70°C에서 24시간, 100°C에서 5분 및 30분, 121°C에서 15분간 처리하였다. 조항균물질은 121°C, 15분 살균처리에 의해서도 활성의 감소가 나타나지 않는 것으로 보아, 높은 열 안정성을 가지고 있는 것으로 나타났다(Table 1).

Lc. mesenteroides CK0122 균주가 생산하는 항균물질의 항균 스펙트럼

CK0122 균주가 생산하는 조항균물질에 의한 8종 bacteria에 대한 생육저해활성을 agar disk diffusion method[39]를

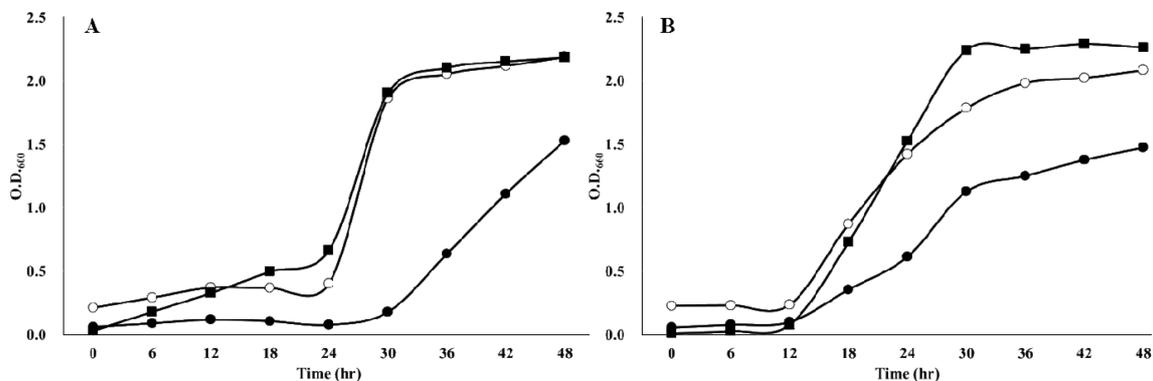


Fig. 2. Growth inhibition of *Lb. sakei* CK0155 (A) and *Lb. sakei* subsp. *sakei* KCTC 3603^T (B) by two cell-free fractions from *Lc. mesenteroides* CK0122. The culture supernatant of strain CK0122 was fractionated by 3,000 Da molecular weight cutter. The growth of *Lb. sakei* was measured in MRS broth supplemented with the cell-free fractions with a molecular weight larger than 3,000 Da (○) and smaller than 3,000 Da (●). The growth of *Lb. sakei* in MRS broth without cell-free fraction (■) was measured as the control. Growth inhibition test was repeated three times independently and the values of each absorbance are mean values of three replicates.

Table 1. Effect of enzymes, pH, and heat treatment on the antibacterial activity present in the fractionated cell-free supernatant from *Lc. mesenteroides* CK0122.

	Treatment	Relative activity (%)
Enzyme	α -amylase	100
	catalase	100
	lipase	100
	proteinase K	0
pH	pH 2	100
	pH 3	100
	pH 4	100
	pH 5	100
	pH 6	100
	pH 7	100
	pH 8	10
	pH 9	0
	pH 10	0
	pH 11	0
Heat	4°C, 24 h (control)	100
	30°C, 24 h	100
	50°C, 24 h	100
	70°C, 24 h	100
	100°C, 5 min	100
	100°C, 30 min	100
	121°C, 15 min	100

The culture supernatant of strain CK0122 was fractionated by molecular weight cutter and the cell-free fraction with a molecular weight smaller than 3,000 Da was used for activity determination. *Bacillus cereus* KCCM 11341 and *Staphylococcus aureus* ATCC 12692 were used as the indicator strains and antibacterial activity was measured by agar disk diffusion method.

사용하여 검토했다. 약 10^5 CFU/mL 농도의 공시균 200 μ L를 고체배지에 도말한 후, 공시균 용액이 건조되면 살균

Table 2. Antibacterial activity spectrum of the cell-free fraction from *Lc. mesenteroides* CK0122.

Indicator organism	Antibacterial activity
Gram-positive bacteria	
<i>Bacillus cereus</i> KCCM 11341	+
<i>Enterococcus faecalis</i> KCTC 2011	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12692	+
Gram-negative bacteria	
<i>Alcaligenes xylosoxydans</i> subsp. <i>xylosoxy-</i> <i>ydans</i> KCCM 40240	+
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	-
<i>Flavobacterium</i> sp. KCCM 11374	+
<i>Salmonella typhimurium</i> KCCM 11862	+

Antibacterial activity was determined by the appearance of growth inhibition zone on agar medium. Cell-free fraction with a molecular weight smaller than 3,000 Da was used for antibacterial activity spectrum test.

The tested strains were purchased from KCTC (Korean Collection for Type Cultures), KCCM (Korean Culture Center for Microorganisms), and ATCC the global bioresource center. *E. coli* O157:H7 933 was kindly provided by Prof. Jong-Hyun Park of Kyungwon University. *St. monocytogenes* was cultured in BHI (brain heart infusion) agar (Difco, USA) and others were cultured in nutrient agar (Difco) for 24 h at 30°C.

된 paper disk(지름 6 mm, Whatman)를 올려놓았다. 분자량 3,000 Da 이하의 농축한 5 g/mL농도의 조항균물질을 paper disc에 20 μ L 첨가한 다음, 30°C에서 24시간 배양하여 생육 저해환(clear zone)을 확인한 결과, *B. cereus*, *Ls. monocytogenes*, *St. aureus*, *Alcaligenes xylosoxydans* subsp. *xylosoxy-*
dans, *Flavobacterium* sp. 및 *Salmonella typhimurium*에 대하여 항균 활성을 나타내었지만, *E. coli* O157:H7와 *Ec. faecalis*에 대한 항균 활성은 나타나지 않았다(Table 2). 따라

Table 3. Characteristics of the bacteriocins from *Leuconostoc mesenteroides*.

Source	Molecular weight (kDa)	Stability		Indicator strain	Reference
		pH	Heat		
Kimchi	< 3	4.0-7.0	121°C, 15 min	<i>Lactobacillus sakei</i>	This study
Spoiled black olives	2.7	2.0-12.0	121°C, 30 min	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[37]
Fermented sausage	2.5-3.5	4.0-9.0	100°C, 60 min	<i>Listeria monocytogenes</i>	[38]
Goat's milk	2.5-3.0	4.5-7.0	100°C, 60 min	<i>Listeria monocytogenes</i>	[11]
Kimchi	3.5	2.5-9.5	121°C, 15 min	<i>Lactobacillus plantarum</i>	[39]
Cheddar cheese	4.5	NT	100°C, 30 min	<i>Listeria monocytogenes</i>	[6]
Processed meat	4.6	2.0-7.0	100°C, 30 min	<i>Listeria monocytogenes</i>	[31]
Kimchi	6	NT	100°C, 30 min	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Lactobacillus sakei</i>	[1]
Raw milk	< 10	4.5-7.0	100°C, 15 min	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Enterococcus</i> sp.	[28]
Wine	32	NT	100°C, 5 min	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	[40]
Boza	NT	2.0-12.0	121°C, 30 min	<i>Listeria innocua</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	[36]
Fermented sausage	NT	2.0-8.0	100°C, 60 min	<i>Listeria monocytogenes</i>	[27]

NT: Not tested.

서 CK0122가 생산하는 항균물질은 Gram 양성균에 특이적으로 작용하는 것이 아닌 종(species) 또는 균주(strain) 특이적인 항균활성을 나타내는 것으로 추정된다.

고 찰

지금까지 보고된 발효 소시지, 치즈, 와인, 보자 등의 다양한 발효식품 유래의 *Lc. mesenteroides*가 생산하는 bacteriocin의 특성을 Table 3에 정리하였다. *Lc. mesenteroides*가 생산하는 bacteriocin은 2.7-32 kDa 크기의 다양한 분자량을 가지고 있지만, 대체로 6 kDa 이하의 저분자 bacteriocin이 주를 이루고 있다. 모두 높은 열 안정성을 가지고 있고, 비교적 넓은 범위의 pH에 대해서도 안정성을 나타내는 것으로 확인되었다. 그러나 지시균으로 사용한 *Ls. monocytogenes*의 생장 pH가 *St. aureus*와 비슷한 4에서 9 정도라는 점을 고려하면[7, 13], 강산 및 강염기 조건에서의 활성은 pH에 의한 영향으로 추정되고, 이들이 활성을 나타내는 영역은 pH 4에서 8 정도로 추정된다.

이들 bacteriocin 중, *Lc. mesenteroides* E131 균주가 생산하는 mesenterocin E131은 분자량 2.5-3.5 kDa의 저분자 bacteriocin으로 *Ls. monocytogenes* 뿐만 아니라 *Lb. sakei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. paraplantarum* 등의 다양한 *Lactobacillus* 속 유산균 생육을 억제하지만, *E. coli*의 생육저해활성은 없는 것으로 보고되었다[38]. CK0122 균주 bacteriocin의 경우에도 *Lb. sakei* 뿐만 아니라 김치발효 후기에 나타나는 *Lactobacillus* 속 유산균들의 생육을 저해하지만, *E. coli*에 대한 생육저해활성은 나타내지 않아, mesenterocin E131은 CK0122 균주의 bacteriocin과 가장 유사한 특성을 가지고 있는 bacteriocin으로 추정된다.

CK0122 균주가 생산하는 bacteriocin은 높은 열 안정성과 넓은 범위의 pH 안정성을 가지고 있을 뿐만 아니라 넓은 항균 스펙트럼을 가지고 있어 다양한 식품 제조의 천연보존제 형태로 적용 가능할 것으로 추정된다. 또한 CK0122 균주가 생산하는 bacteriocin은 다수의 식품 위해세균의 생육을 저해하고, Gram 양성균뿐만 아니라 음성균에도 작용하기 때문에 종균으로 첨가할 경우, 김치 및 발효식품의 저염화 추세로 발생가능성이 높아지고 있는 위해세균의 저감화 및 미생물 제어에도 효과가 있을 것으로 예상된다[10, 21].

요 약

김치발효 후기의 우점종으로 알려진 *Lactobacillus sakei*의 생육을 저해하는 *Leuconostoc* 속 23균주가 김치로부터 분리되었고, 이들 중 가장 높은 생육저해활성을 나타낸 *Leuconostoc mesenteroides* CK0122 균주가 생산하는 생육저해물질의 특성을 검토하였다. CK0122 균주의 배양 상정액을 분자량 3,000 Da을 기준으로 분획하여 동결건조한 분

자량 3,000 Da 이하의 조항균물질로부터 *Lb. sakei* 생육저해가 확인되었고, proteinase K 처리에 의해 항균력이 소실되었기 때문에, CK0122가 생산하는 항균물질은 분자량 3,000 Da 이하의 단백질성 항균물질(bacteriocin)으로 추정된다. 분자량 3,000 Da 이하의 조항균물질은 pH 4에서 7 정도의 영역에서 최적활성을 나타내었고, 121°C, 15분 살균처리에 의해서도 활성이 유지되는 높은 열안정성을 나타내었으며, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Alcaligenes xylosoxydans*, *Staphylococcus aureus* 및 *Flavobacterium* sp.에 대하여 항균 활성을 나타내어 Gram 양성균 및 음성균의 제어에 적용 가능한 것으로 나타났다.

Acknowledgements

This work was supported by the 2011 grant from the Ministry for Food, Agriculture, Forestry, and Fisheries (#311041-3). Kwanghee Lee was supported by the 2010 graduate school fellowship of Kyonggi University.

REFERENCES

1. Cha, D.-S. and D.-M. Ha. 1996. Isolation of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* DU-0608 with antibacterial activity from Kimchi and characterization of its bacteriocin. *J. Microbiol. Biotechnol.* **6**: 270-277.
2. Chang, J. Y., H. J. Lee, and H. C. Chang. 2007. Identification of the agent from *Lactobacillus plantarum* KFRI464 that enhances bacteriocin production by *Leuconostoc citreum* GJ7. *J. Appl. Microbiol.* **103**: 2504-2515.
3. Chang, J. Y. and H. C. Chang. 2010. Improvements 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.
4. Chen, H. and D. G. Hoover. 2003. Bacteriocins and their food applications. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety* **2**: 82-100.
5. Cho, J.-S., S.-J. Jung, Y.-M. Kim, and U.-H. Chun. 1994. Detection of the bacteriocin from lactic acid bacteria involved in Kimchi fermentation. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 700-706.
6. Daba, H., S. Panadian, J. F. Gosselin, R. Simard, H. Huang, and C. Lacroix. 1991. Detection and activity of a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides*. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 3450-3455.
7. Farber, J. M. and P. I. Peterkin. 1991. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **55**: 476-511.
8. Ha, D.-M., D.-S. Cha, and S.-G. Han. 1994. Identification of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from Kimchi and

- partial characterization of their bacteriocin. *J. Microbiol. Biotechnol.* **4**: 305-315.
9. Ha, D.-M. and D.-S. Cha. 1994. Novel starter culture for Kimchi, using bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* strain. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 550-556.
 10. Hahn, Y.-S., J.-Y. Oh, and Y.-J. Kim. 2002. Characteristics of low-salt kimchi prepared with salt replacement during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**: 647-651.
 11. Hechard, Y., B. Derijardfr, F. Tellier, Y. Cenatiempo. 1992. Characterization and purification of mesentericin Y105, an anti-*Listeria* bacteriocin from *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Gen. Microbiol.* **138**: 2725-2731.
 12. Kandler, O. and N. Weiss. 1986. Genus *Staphylococcus* Beijerinck 1901, 212AL, pp. 1013-1035. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
 13. Kandler, O. and N. Weiss. 1986. Genus *Listeria* Beijerinck 1901, 212AL, pp. 1235-1245. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
 14. Kim, J. 1995. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by bacteriocin(s) from lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Arg. Chem. Biotechnol.* **38**: 302-307.
 15. Kim, S.-J. 2001. Difficulty in Korean kimchi industry for modernization. *Food Industry Nutr.* **6**: 34-37.
 16. Kim, H.-T., J.-Y. Park, G. G. Lee, and J. H. Kim. 2003. Isolation of a bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strain from kimchi. *Food Sci. Biotechnol.* **12**: 166-170.
 17. Kim, J.-M., K.-H. Kim, S.-Y. Kim, Y.-S. Park, M. J. Seo, and S.-S. Yoon. 2005. Isolation and characterization of antilisterial lactic acid bacteria from Kimchi. *Food Sci. Biotechnol.* **14**: 503-508.
 18. Kim, M., S.-J. Lee, K.-J. Seoul, Y.-M. Park, and S.-Y. Ghim. 2009. Characterization of antimicrobial substance produced by *Lactobacillus paraplantarum* KNUC25 isolated from kimchi. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 24-32.
 19. Kwak, G.-S., S.-K. Kim, and H.-K. Jun. 2001. Purification and characterization of bacteriocin J105 produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* J105 isolated from Kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **11**: 275-280.
 20. Kwon, D. Y., M. Koo, C. R. Ryoo, C.-H. Kang, K.-H. Min, and W. J. Kim. 2002. Bacteriocin produced by *Pediococcus* sp. in kimchi and its characteristics. *J. Microbiol. Biotechnol.* **12**: 96-105.
 21. Lee, J.-O. and C.-H. Ryu. 2002. Preparation of low salt *doenjang* using by nisin-producing lactic acid bacteria. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**: 75-80.
 22. Lee, H. M. and Y. Lee. 2006. Isolation of *Lactobacillus plantarum* from kimchi and its inhibitory activity on the adherence and growth of *Helicobacter pylori*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 1513-1517.
 23. Lee, K.-H., J.-Y. Park, S.-J. Jeong, G.-H. Kwon, H.-J. Lee, H. C. Chang, D. K. Chung, J.-H. Lee, and J. H. Kim. 2007. Characterization of paraplantaricin C7, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus paraplantarum* C7 isolated from kimchi. *J. Microbiol. Biotechnol.* **17**: 287-296.
 24. Lee, J.-H. 2009. Current studies on the community of lactic acid bacteria in kimchi, a traditional Korean fermented food. *Milk Sci.* **58**: 153-159 (in Japanese).
 25. Lee, M., K. H. Cho, and J.-H. Lee. 2010. Application of 16S rDNA PCR-RFLP analysis for the rapid identification of *Weissella* species. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 455-460.
 26. Lee, K. and J.-H. Lee. 2011. Isolation of *Leuconostoc* and *Weissella* species inhibiting the growth of *Lactobacillus sakei* from kimchi. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **39**: 175-181.
 27. Mataragas, M., J. Metaxopoulos, and E. H. Drosinos. 2002. Characterization of two bacteriocins produced by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442, isolated from dry fermented sausages. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **13**: 433-442.
 28. Mathieu, F., I. Sudirman Suwandhi, N. Rekhif, J.B. Millière, and G. Lefebvre. 1993. Mesenterocin 52, a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* FR 52. *J. Appl. Microbiol.* **74**: 372-379.
 29. Moon, G.-S., C.-H. Kang, Y.-R. Pyun, and W. J. Kim. 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.
 30. Ogier, J.-C. and P. Serror. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *Int. J. Food Microbiol.* **126**: 291-301.
 31. Papathanasopoulos, M. A., F. Krier, A.-M. Revol-junelles, G. Lefebvre, J. P. L. Caer, A. von Holy, and J. W. Hastings. 1997. Multiple bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* TA33a and other *Leuconostoc/Weissella* strains. *Curr. Microbiol.* **35**: 331-335.
 32. Park, E.-J., H.-U. Han, and B.-H. Min. 1999. Isolation of lactococci inhibiting *Listeria monocytogenes* from Kimchi habitat and its identification by 16S rDNA analysis. *Korean J. Ecol.* **22**: 45-50.
 33. Park, S.-H., K. Itoh, E. Kikuchi, H. Niwa, and T. Fujisawa. 2003. Identification and characteristics of nisin Z-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from Kimchi. *Curr. Microbiol.* **46**: 385-388.
 34. Shim, S. and J.-H. Lee. 2008. Evaluation of lactic acid bacterial community in kimchi using terminal-restriction fragment length polymorphism analysis. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 247-259.
 35. Shin, M. S., S. K. Han, J. S. Ryu, K. S. Kim, and W. K. Lee. 2008. Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* K23-2 isolated from Kimchi. *J. Appl. Microbiol.* **105**: 331-339.
 36. Todorov, S. D. and L. M. T. Dicks. 2004. Characterization of mesentericin ST99, a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* ssubsp. *dextrinicum* ST99 isolated from boza.

- J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 323-329.
37. Todorov, S. D. and L. M. T. Dicks. 2005. Characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from spoiled black olives. *J. Basic Microbiol.* **45**: 312-322.
38. Xiraphi, N., M. Georgalaki, K. Rantsiou, L. Cocolin, E. Tsakalidou, E. H. Drosinos. 2008. Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* E131. *Meat Sci.* **80**: 194-203.
39. Yang, E. J., J. Y. Chang, H. J. Lee, J. H. Kim, D. K. Chung, J. H. Lee, and H. C. Chang. 2002. Characterization of the antagonistic activity against *Lactobacillus plantarum* and induction of bacteriocin production. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**: 311-318.
40. Yurdugu, S. and F. Bozoglu. 2008. Effects of a bacteriocin-like substance produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* on spoilage strain *Lactobacillus fructivorans* and various pathogens. *Int. J. Food Sci. Technol.* **43**: 76-81.