

## Lactobacillus sp. Oh-B3로부터 생산되는 박테리오신의 특성

김 동 섭\*  
밀양대학교 식품과학과

**Characteristics of the Bacteriocin from *Lactobacillus* sp. Oh-B3. Kim, Dong-Seob\* .** Department of Food Science, Miryang National University, Miryang, Kyungnam 627-130, Korea - A bacteriocin producing microorganism, which inhibits the growth of *Lactobacillus sake*, was screened and isolated from Kimchi. This microorganism was identified and named as *Lactobacillus* sp. Oh-B3. The maximum amount of bacteriocin was produced when the isolated microorganism was cultured in MRS media(pH 8.0) for 24 hours at 25°C . The bacteriocin from the isolated microorganism was purified through ammonium sulfate precipitation, dialysis and ultrafiltration. The bacteriocin was stable on the wide pH range of 2.0 - 9.0, and showed antimicrobial activity on some of gram positive bacteria, not on gram negative. The antimicrobial activity of bacteriocin was mostly removed by treatment of proteolytic enzymes. But, the bacteriocin was very stable on the heat treatment, and more than 50% of activity was remained at autoclaving. The action mode of the bacteriocin showed bacteriocidal pattern, being same as that of general bacteriocins.

**Key Words :** *Lactobacillus*, bacteriocin, proteolytic enzyme

젖산균은 예로부터 식품에 많이 이용되어 중성 및 알칼리성에서 잘 번식하는 부패성 미생물의 생육을 억제하여 식품의 유용한 보존수단으로 응용되어 왔으며, 방향성 물질을 부여함으로써 식품의 풍미를 증진시켜, 특히 우유, 유제품, 육제품, 침채류 및 각종 젓갈류의 가공에 많이 이용되고 있다. 이들 젖산균의 식품보전성은 젖산균의 대사산물인 각종 유기산에 의해 pH가 감소되어 식품중의 병원성 미생물과 부패균의 생육이 억제되기 때문이다[21]. 일반적으로 젖산과 초산과 같은 유기산들은 대부분 bacteriocidal activity를 가지고 있다[1]. 유기산 이외에 이들의 대사산물인 과산화수소와 박테리오신(bacteriocin) 등이 다른 미생물들의 생육을 저해하는 것으로 알려지고 있다[15]. 효모와 그람음성균이 그람양성균보다 민감하게 영향을 받으며 그람음성균의 arginine-결합단백질과 작용함으로써 arginine의 이용을 방해하는 것으로 알려져 있다[13].

박테리오신은 단백질로서 1925년 *Escherichia coli*로부터 미생물의 생육을 억제하는 단백질을 발견하고, 이 물질이 colicin으로 명명된 이후 여러 연구자들에 의해 비슷한 수많은 단백질성의 화학물질이 보고되었다[10,22]. 박테리오신들은 한결같이 항균물질 생산균주 자신과 계통분류학적으로 유사한 균종으로 제한된 항균 범위를 나타내며, 항생물질과 비슷한 특성을 가지고 있다[15].

한편, *Lactobacillus sake*는 냉장온도(2-4 °C)이하에서도 성장이 가능한 통성혐기성균으로서 sausage와 진공포장육의 제조에 관여하며, 동양에서는 청주의 발효와 김치의 숙성에도 큰 비중을 차지하는 것으로 알려지고 있다[3]. 그러나 *L. sake*는 이들 식품의 제조 과정에서 과도한 발효의 진행으로 식품을 변질시켜 가치를 저하시키기도 한다. Sausage의 제조시 *L. sake*는 포도당을 젖산으로 전환하고, leucine과 valine을 isovaleric acid와 isobutyric acid로 대사시키며, cysteine을 분해하여 H<sub>2</sub>S gas를 발생시킴으로써 불쾌한 냄새와 색깔을 생성한다. 그리고 진공포장육의 저장기간 중에는 외관의 변화와 기포나 액즙을 생성하기도 한다[12,16,20]. 또한 *L. sake*는 청주의 초기발효시 젖산 등을 생산하여 청주 효모가 증식할 수 있는 조건을 조성하기도 하지만, 젖산균의 과도한 증식은 청주의 품질을 변화시킬 수도 있을 것으로 여겨진다. 그리고 김치는 담금시 첨가되는 여러 가지 성분의 맛과 향이 어우러지고, 젖산균이 우세하게 증식할 수 있는 환경이 조성되어 김치 고유의 맛을 내게 된다. 특히 김치의 경우는 소요시간이 오래 걸리더라도 저온에서 발효시키는 것이 더욱 좋은 맛을 내는 것으로 알려지고 있다[5,6,8,14,17,24]. 소 등의 보고에 의하면 김치를 10°C이하의 저온에서 발효시킬 경우 *L. sake*가 우세 미생물인 것으로 밝혀지고 있다[19]. 따라서 김치를 저온 발효시켜 좋은 맛을 오랜 기간동안 유지하기 위해서는 일정기간의 발효가 진행된 후 *L. sake*의 생육을 저지시킬 필요가 있을 것으로 추측되어 진다. 박테리오신은 각종 발효식품에 흔히 존재하고, 젖산균이 생산하는 단백질 분해효소에 의해 쉽게 분해되는 높은 안정성 때문에 최근 많은 연구가 진행 중이다. 그러나

\*Corresponding author  
Tel. 82-55-350-5356, Fax. 82-55-350-5356  
E-mail: dskim@mnu.ac.kr

우리 나라의 대표적인 전통발효식품인 김치에 이용할 수 있는 박테리오신에 관한 보고는 그리 많지 않은 실정이다[4,7].

본 연구는 김치의 저온 숙성과정에서 좋은 맛을 유지하고, 여러 가지 발효식품의 저장기간을 연장하기 위하여 이들 식품의 발효에 관여하는 *L. sake*의 생육을 효과적으로 저지할 수 있는 박테리오신을 생산하는 미생물을 김치로부터 분리·동정하고, 이 균주가 생산하는 박테리오신의 특성에 관하여 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 사용 균주 및 박테리오신 생산균주의 분리

지시균으로 사용한 *L. sake* KCCM 40264는 한국중균협회(KFCC)로부터 분양 받았으며, 박테리오신 생산균주는 김치로부터 분리하였다. *L. sake* KCCM 40264와 박테리오신 생산균주는 모두 MRS배지에서 배양하였다[11]. 김치시료는 시중 대중음식점에서 수집하여 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였다. 시험에 사용하기 위해 김치시료를 생리식염수에 현탁하여 1시간동안 방치한 후, MRS고체배지에 도말하고 30°C에서 colony가 형성될 때까지 배양하였다.

### 박테리오신 생산균주의 선발

박테리오신 생산균주의 선발은 direct antagonism method와 deffered antagonism method를 통하여 선발하였으며, well diffusion assay를 통하여 확인하였다[22,23]. Direct antagonism method는 MRS배지에 형성된 colony를 새로운 MRS배지에 tooth-picking한 후, 하룻밤 배양한 지시균을  $1 \times 10^6$  cfu/ml의 농도로 6 ml의 연한천배지(0.7% agar)에 접종하고, MRS배지에 중층하여 lawn이 형성되도록 배양한 뒤 저해환의 생성여부를 검토하였다.

Deffered antagonism method는 MRS배지에 생성된 colony 위에 direct antagonism method와 같은 방법으로 저해환의 생성여부를 검토하였다.

Well diffusion assay는 고체배지 20ml에 지시균이 함유된 3 ml의 연한천배지를 중층하여 굳히고, 살균된 tip으로 구멍을 내어 well diffusion assay를 준비하였다. Direct antagonism method와 deffered antagonism method의 과정을 통해 박테리오신 생산력이 확인된 균주를 액체배지에서 하룻밤 정지배양한 후 원심분리하여 균체를 제거하고, pH를 6.5로 조정 한 뒤 준비해 놓은 배지의 구멍에 100  $\mu$ l를 첨가하였다. 상온에서 2시간동안 방치하여 상등액이 확산되게 한 후 배양하여 저해환을 검토하였다.

### 조박테리오신의 활성 산출

박테리오신 생산균주를 1 l의 MRS 액체배지(pH 8.0)로 25°C에서 24시간 동안 배양하고, 배양액을 원심분리하여 균

체를 제거한 상등액에 ammonium sulfate를 첨가한 후 하룻밤 동안 방치하여 박테리오신을 침전시켰다. Ammonium sulfate로 침전하여 얻어진 침전물을 투석하고 여과한 뒤, -20°C에 보관하며 조박테리오신 용액으로 사용하였다.

조박테리오신의 활성은 critical dilution method를 변형·실시하여 산출하였다[9]. 2배씩 순차적으로 희석한 조박테리오신 용액 5  $\mu$ l를 *L. sake* KCCM 40264가 함유된 MRS 연한천배지위에 spotting하였다. 25°C에서 하룻밤 동안 배양하여 저해환이 생성된 마지막 희석배수에 200을 곱하여 ml당 arbitrary unit(AU)를 산출하였다.

### 조박테리오신의 pH 안정성

조박테리오신의 pH 안정성을 알아보기 위해 조박테리오신의 pH를 2.0-10.0까지 변화시키며 활성을 검토하였다. 조박테리오신 용액에 각 pH별로 50 mM 농도의 pH 2.0-3.0(Glycine-HCl), 4.0-5.0(acetate), 6.0(citrate), 7.0-8.0(phosphate), 9.0-10.0(Glycine-NaOH) 완충용액을 가하여 pH를 조절하였다. 완충용액 : 조박테리오신용액의 비율을 4 : 1이 되도록 혼합하여 4°C에서 4시간동안 방치한 뒤, 박테리오신의 잔존활성을 검토하였다.

### 단백질 분해효소 및 열처리에 의한 영향

각종 단백질 분해효소의 최종농도를 1 mg/ml로 조박테리오신 용액에 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 잔존활성을 측정하여 단백질 분해효소에 의한 영향을 살펴 보았다. 박테리오신의 열안정성은 조박테리오신 용액을 여러 온도에서 15분간 방치시킨 후 잔존활성을 측정하여 살펴 보았다.

### 박테리오신의 저해 작용

박테리오신의 저해 작용은 Daba 등의 방법으로 실시하였다[18].  $1 \times 10^8$  cfu/ml의 *L. sake* KCCM 40264가 함유된 액체배지에 조박테리오신 용액 100  $\mu$ l를 첨가한 뒤, 30분 간격으로 600 nm에서 흡광도를 측정하여 균체량을 측정하고, 동시에 MRS고체배지에 도말하여 생균수의 변화를 살펴 보았다.

## 결과 및 고찰

### 균주의 선발과 동정

박테리오신을 생산하는 균주를 분리하기 위하여 여러 가지 지시균에 대해 direct antagonism method를 실시하여 30여 균주를 분리하였다. 그 중 *L. sake* KCCM 40264의 생육을 저해하는 활성이 강한 균주를 선택하여 본 실험에 사용하였다(Fig. 1).

API 50 CH kit를 사용하여 당발효실험을 실시한 결과 선

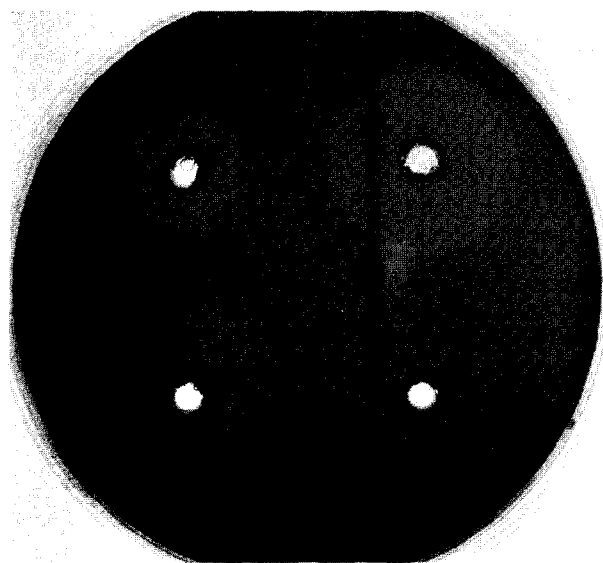


Fig. 1. Well-diffusion showing bacteriocin activity of *Lactobacillus* sp. Oh-B3 against *Lactobacillus sake* KCCM40264. A, sample treated with pepsin; B, untreated; C, sample after heating at 90 ; D, sample treated with trypsin.

Table 1. Carbohydrate fermentation patterns of *Lactobacillus* sp. Oh-B3

Carbohydrate	Result	Carbohydrate	Result
Glycerol	-	Esculine	+
Erythritol	-	Salicine	+
D-araninose	-	Cellobiose	+
L-araninose	+	Maltose	+
Ribose	+	Lactose	-
D-xylose	+	Melibiose	-
L-xylose	-	Saccharose	+
Adonitol	-	Trehalose	+
$\beta$ -methylxyloside	-	Inuline	-
Galactose	-	Melezitose	+
D-glucose	+	D-raffinose	-
D-fructose	+	Amidone	-
D-mannose	+	Glycogen	-
L-sorbose	-	Xylitol	-
Rhamnose	-	$\beta$ -gentiobiose	+
Dulcitol	-	D-turanose	-
Inocitol	-	D-lyxose	-
Mannitol	-	D-tagatose	-
Sorbitol	-	D-fucose	-
$\alpha$ -methyl-D-mannoside	-	D-arabitol	-
$\alpha$ -methyl-D-glucoside	-	L-arabitol	-
N-acetylglucosamine	+	Gluconate	+
Amygdaline	+	2-ceto-gluconate	-
Arbutine	+	5-ceto-gluconate	-

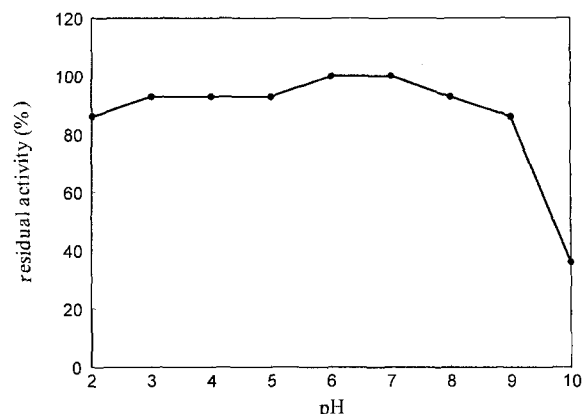


Fig. 2. PH stability of the bacteriocin from *Lactobacillus* sp. Oh-B3.

Table 2. Antimicrobial spectrum of the bacteriocin from *Lactobacillus* sp. Oh-B3.

Indicator species	Strain	Source <sup>a</sup>	Antimicrobial activity <sup>b</sup>
<i>Lactobacillus brevis</i>	14869	ATCC	- <sup>c</sup>
<i>plantarum</i>	8014	ATCC	+
<i>sake</i>	3425	ATCC	+
<i>fermentum</i>	3112	ATCC	-
<i>Leuconostock cremoris</i>	19254	ATCC	-
<i>dextrinicum</i>	8086	ATCC	-
<i>gelidum</i>	49366	ATCC	+
<i>mesenteroides</i>	9135	ATCC	-
<i>Pediococcus acidilactici</i>	8081	ATCC	+
<i>damnosus</i>	29358	ATCC	+
<i>dextrinicus</i>	33087	ATCC	+
<i>pentosaseus</i>	10791	ATCC	+
<i>Carnobacterium divergen</i>	35677	ATCC	+
<i>piscicola</i>	40462	ATCC	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	ATCC	+
<i>faecium</i>	3128	IFO	-
<i>Weissella paramesenteroides</i>	33313	ATCC	-
<i>Listeria monocytogens</i>	serotype1	ATCC	-
<i>Bacillus subtilis</i>	9372	ATCC	-
<i>Escherichia coli</i>	25922	ATCC	-
<i>Propionibacterium acnes</i>	6919	ATCC	-
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	13525	ATCC	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	12529	IFO	-
<i>Streptococcus mutans</i>	25175	ATCC	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	12600	ATCC	-

<sup>a</sup>Abbreviations : ATCC, American Type Culture Collection; KCCM, Korean Culture Center of Microorganisms; KCTC, Korean Collection for Type Cultures; IFO, Institute for Fermentation (Osaka); DSM, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen; NCK, North Carolina State University (Dr. Klaenhammer)

<sup>b</sup> Tested by ammonium sulfate precipitated supernatant.

<sup>c</sup> -, no inhibition zone; +, inhibition zone.

발균주는 *Lactobacillus* 속에 속하지만 일치되는 균주가 없어 *Lactobacillus* sp. Oh-B3로 명명하였다(Table 1).

**박테리오신의 pH 안정성**

최대의 박테리오신을 생산하기 위하여 배지종류, 배지의 초기 pH, 배양온도 그리고 배양시간을 달리하여 최적배양조건을 살펴보았다. 그 결과 분리균을 초기 pH가 8.0인 MRS 배지에서 25 °C로 24시간 동안 배양했을 때 최대의 박테리오신을 생산하였다.

조박테리오신 용액에 완충용액을 가하여 pH를 조절 한 뒤 잔존활성을 측정한 결과, 분리균이 생산하는 박테리오신은 pH 2.0-9.0의 넓은 범위에서 비교적 안정한 활성을 나타내었다(Fig. 2). 따라서 분리균이 생산하는 박테리오신은 pH 4.0 부근의 김치 발효과정에서도 사용이 가능할 것으로 판단되었다.

**항균범위**

여러 종류의 젖산균 및 병원성균에 대하여 well diffusion assay로 항균범위를 확인한 결과 분리균이 생산하는 박테리오신은 그람음성균에 대해서는 항균활성을 보이지 않았고, 일부 그람양성균에 대해서만 활성을 나타내었다(Table 2). 일반적으로 젖산균이 생산하는 박테리오신은 proton motive force의 붕괴를 유발하여 세균의 성장을 저해하므로 outer membrane이 존재하는 그람음성균에는 작용하지 못하는 것으로 알려지고 있다[2,18]. 분리균이 생산하는 박테리오신은 일부 그람양성균에만 작용하는 좁은 범위의 항균활성을 보여 젖산균이 생산하는 일반적인 박테리오신과 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 분리균이 생산하는 박테리오신은 맥주의 맛을 변질시키는 원인균으로 알려지고 있는 *Pediococcus damnosus*의 생육을 저해하는 활성을 보이고 있어, 맥주의 품질보존에도 유용할 것으로 여겨진다.

**단백질 분해효소 처리에 의한 영향**

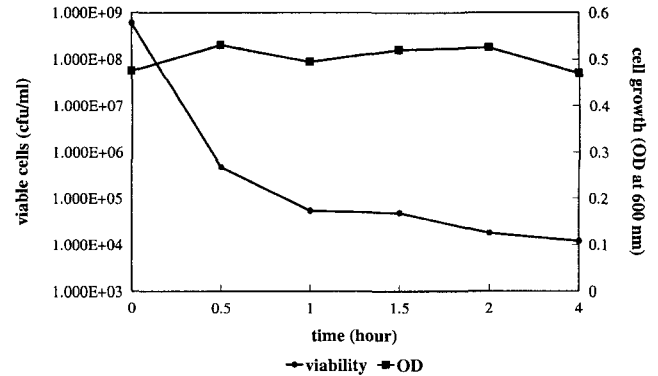
조박테리오신 용액에 각각의 단백질 분해효소를 1 mg/ml의 농도로 첨가하여 37 °C에서 1시간동안 반응을 시킨 뒤, 박테리오신의 잔존활성을 측정한 결과 분리균이 생산하는 박테리오신은 대부분의 단백질분해효소에 의해 활성이 제

**Table 3. Sensitivity of the bacteriocin from *Lactobacillus* sp. Oh-B3 to different proteases.**

Enzymes	Residual activity (%)
Control	100
α-Amylase	80
Lipase	100
α-Chymotrypsin	0
Trypsin	0
Pepsin	20
Protease E	0
Protease K	0

**Table 4. Stability of the bacteriocin from *Lactobacillus* sp. Oh-B3 on heat treatment.**

Temperature	Residual activity (%)
Control	100
37	100
70	88.9
80	88.9
90	88.9
100	77.8
Autoclaving	55.6



**Fig. 3. Antimicrobial action mode of the bacteriocin from *Lactobacillus* sp. Oh-B3 against *Lactobacillus sake*.**

거되었다(Table 3). 따라서 분리균이 생산하는 박테리오신을 김치에 사용할 경우, 장내의 단백질 분해효소에 의해 쉽게 분해되므로 보존제로서의 안전성이 매우 높을 것으로 여겨진다.

**열처리에 의한 영향**

조박테리오신 용액을 각각의 다른 온도로 열처리를 한 뒤 잔존활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 분리균이 생산하는 박테리오신은 100 °C에서도 매우 안정하였으며, 가압 습식멸균 조건하에서도 50 % 이상의 활성이 유지되므로 여러 가지 발효공정에 쉽게 사용할 수 있을 것으로 여겨진다.

**박테리오신의 저해작용**

*L. sake* KCCM 40264에 대한 박테리오신의 저해작용을 알아보기 위해 *L. sake* KCCM 40264이  $6 \times 10^8$  cfu/ml이 함유된 MRS배지에 조박테리오신 용액 100 μl를 첨가하여 30°C에서 배양하면서 30분 간격으로 균체의 증식과 생균수의 양을 측정하였다.

조박테리오신을 첨가한 후 1시간이내에 생균수는 급격히 감소하였고, 1시간 경과 후부터는 생균수의 양이 약간씩 감소하기는 하였으나  $10^4$  cfu/ml 정도의 수준으로 일정하게 유지되었다(Fig. 3). 일반적인 박테리오신과 마찬가지로 분리균이 생산하는 박테리오신은 bacteriocidal action을 하는 것으로 관찰되었다.

## 요 약

*Lactobacillus sake*는 냉장온도(2-4 °C)이하에서도 성장이 가능한 통성혐기성균으로서, sausage와 진공포장육의 제조에 관여하며, 동양에서는 청주의 발효와 김치의 숙성에도 큰 비중을 차지하는 것으로 알려지고 있다. 그러나 *L. sake*는 이들 식품의 제조시 과도한 발효의 진행으로 식품을 변질시켜 가치를 저하시키기도 한다. 본 연구에서는 *L. sake*의 생육을 효과적으로 저지하는 박테리오신을 생산하는 미생물을 김치로부터 분리하여 *Lactobacillus* sp. Oh-B3로 명명하였다. 최대의 박테리오신을 생산하기 위한 분리균의 배양조건은 초기 pH를 8.0으로 조절한 MRS배지에 접종하여 25 °C에서 24시간동안 배양했을 때 최대의 박테리오신을 생산하였다. 분리균의 배양액을 원심분리하여 균체를 제거한 상등액에 ammonium sulfate를 첨가한 뒤, 얻어진 침전물을 투석하고 여과한 뒤, -20 °C에 보관하며 조박테리오신 용액으로 사용하였다. 분리균이 생산하는 박테리오신은 pH 2.0-9.0의 넓은 범위에서 비교적 안정한 활성을 나타내었으며, 그람음성균에 대해서는 항균활성을 보이지 않았고 일부 그람양성균에 대해서만 활성을 나타내었다. 조박테리오신 용액에 각각의 단백질 분해효소를 처리한 후 박테리오신의 잔존활성을 측정한 결과 분리균이 생산하는 박테리오신은 대부분의 단백질분해효소에 의해 활성이 제거되었다. 그리고 조박테리오신 용액을 열처리를 한 뒤 잔존활성을 측정한 결과 분리균이 생산하는 박테리오신은 100 °C에서도 매우 안정하였으며, autoclave를 하여도 50 % 이상의 활성이 유지되었다. 일반적인 박테리오신과 마찬가지로 분리균이 생산하는 박테리오신은 bacteriocidal action을 하는 것으로 관찰되었다.

## 감사의 말

본 연구는 밀양대학교 교내학술연구비의 지원으로 수행되었음.

## REFERENCES

- Barefoot, S. F. and C. G. Nettles. 1993. Antibiosis revisited ; bacteriocin produced by dairy starter cultures. *J. Dairy Sci.* **76**: 2366-2379.
- Bhunia, A. K., M. C. Jhanson, and B. Ray. 1987. Direct detection of an antimicrobial of *Pediococcus acidilactici* in sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Ind. Microbiol.* **2**: 319-322.
- Bibek, R. 1996. *Fundamental Food Microbiol.* CRC press, Boca Raton, FL.
- Broughton, J. 1990. Nisin and its uses as a food preservatives. *Food Technol.* **100**: 110-117.
- Cho, Y. and H. S. Rhee. 1991. Effect of lactic acid bacteria and temperature on Kimchi fermentation (I). *Kor. J. Soc. Food. Sci.* **7**: 15-26.
- Cho, Y. and H. S. Rhee. 1991. Effect of lactic acid bacteria and temperature on kimchi fermentation (II). *Kor. J. Soc. Food. Sci.* **7**: 89-96.
- Choi, H. J. 1996. Characterization and cloning of a bacteriocin produced by *Leuconostoc* sp. J2. Master degree thesis. Yonsei Univ.
- Chyun J. H. and H. S. Rhee. 1976. Studies on the Volatile Fatty Acids and Carbon Dioxide Produced in Different Kimchis. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **8**: 90-100.
- Daba, H., S. Pandian, J. F. Gosselin, R. E. Simard, J. Huang, and C. Lacroix. 1991. Detection and activity of a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides*. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 3450-3455.
- Davis, D. B., R. Dulbecco, N. H. Eisen, and S. H. Ginsberg. 1990. *Microbiol.* 4th ed. Lipponcott comp., Philadelphia.
- De Man, J. C., M. Rogosa, and M. E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacillia*. *J. Appl. Bacteriol.* **23**: 130-135.
- Gill, C. O. 1986. The control of microbial spoilage in fresh meats, pp. 49-88. In Pearson, A. M. and Dutson, T. R. (ed.), *Advances in meat research*, vol. **2**, AVI Publishing, Westport, CN.
- Jay, J. M. 1982. Antimicrobial properties of diacetyl. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**: 525-532.
- Kim, H. O. and H. S. Rhee. 1975. Studies on the nonvolatile organic acids in Kimchis fermented at different temperatures. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **7**: 74-84.
- Klaenhammer, T. R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie.* **70**: 337-349.
- Kraft, A. A. 1992. Psychrotrophic bacteria in food ; *Disease and Spoilage*. CRC press, Boca Raton, FL.
- Mheen, T. I. and T. W. Kwon. 1984. Effect of temperature and salt concentration on Kimchi fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **16**: 443-450.
- Schagger, H. and G. von Jagow. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of protein in the range from 1 to 100KDa. *Anal. Biochem.* **166**: 369-379.
- So, M. H. and Y. B. Kim. 1995. Identification of psychrotrophic lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**: 495-505.
- Sofos, J. N. 1994. Microbial growth in meat, poultry and fish, pp. 353-403. In Pearson, A. M. and Dutson, T. R. (ed.), *Advances in meat research*, vol. **9**, Chapman Hall, NY.
- Sorrells, S. G., R. L. Hendrickson, and H. C. Olson. 1970. Inhibition of *Salmonella gallinarum* by cultured filtrates of *Leuconostoc citrovorum*. *J. Dairy Sci.* **53**: 239-241.
- Tagg, J. R., A. S. Dajani, and L. W. Wannamaker. 1976. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Bacteriol. Rev.* **40**: 722-756.
- Tagg, T. R. and A. R. McGiven. 1971. Assay systems for bacteriocins. *Appl. Microbiol.* **21**: 943.
- Yi, J. H. and H. S. Rhee. 1992. Effect of onion on Kimchi fermentation(I). *Kor. J. Soc. Food. Sci.* **8**: 27-30.

(Received Feb. 20, 2002/Accepted May 30, 2002)