

김치로부터 분리한 젖산균의 다양성과 항균성

안대경 · 한태원 · 신현영 · 진익렬 · 김사열*
경북대학교 미생물학과

Diversity and Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kimchi. Ahn, Dae-Kyong, Tae-Won Han, Hyun-Young Shin, Ing-nyol Jin, and Sa-Youl Ghim*. *Department of Microbiology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea* – This study was carried out to investigate the isolation, identification, and antibacterial activity of lactic acid bacteria related to kimchi fermentation. Diluted kimchi soup was plated on the MRS agar media with CaCO₃ and incubated at 25°C for 2 days. A total of 27 strains of lactic acid bacteria from various indigenous, spontaneously fermented vegetables (kimchi) were isolated. Combined methods of Bergey's manual of systematic bacteriology, BPB media analysis and 16S rDNA sequence analysis were applied for identification, however, their results did not coincide in several cases. Isolated lactic acid bacteria could be classified by the 16S rDNA sequence analysis as *Leuconostoc mesenteroides*, *Leu. carnosum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lac. pentosus*, *Weissella kimchii*, *W. cibaria*, and *Pediococcus pentosaceus*. *Leu. carnosum* has not been reported in kimchi lactic acid bacteria. In addition, antibacterial activities of the isolates were tested with *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *S. paratyphica*, *S. typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella boydii*, and *S. sonnei*. Some of isolates showed significant antibacterial activities to those pathogens.

Key words: Lactic acid bacteria, kimchi, antibacterial activity

김치는 우리나라의 대표적인 전통적 발효 식품으로써 식이 섬유소, 비타민, 무기질 등을 공급 해 주는 우수한 식품이다. 김치의 종류로는 배추김치, 깍두기, 파김치, 고추김치, 갓김치, 동치미, 나박김치, 열무김치 등이 있고, 같은 김치라도 지역마다 그 담그는 과정과 맛이 다르다. 이렇게 지역마다 맛이 다른 이유는 김치의 발효과정이 다르기 때문이다. 발효과정에서 미생물의 효과적인 반응에 의해 다양한 맛이 생성되는 것이다. 김치 발효 과정의 차이는 김치의 재료, 소금의 농도, 당의 양, 산소의 농도, 미생물의 수와 종, 발효 온도와 시간 등에 의해 결정된다[4].

김치 발효과정에 관여하는 젖산균은 젖산과 단백질 분해 효소에 의해 쉽게 분해되는 안정성이 높은 bacteriocin, H₂O₂ 및 diacetyl 생성으로 인한 항균 작용을 가진다[11, 16, 22]. 또한 이들 젖산균은 약물대사, 항돌연변이성, 항암성, 위액 분비 촉진 및 방사선 저항성 등의 특징을 가지는 것으로 알려져 있다[23]. 한편, 젖산균은 Gram 양성이며 탄수화물을 발효에 의한 에너지원으로 사용하며 최종산물로 젖산과 초산을 생성한다. 이러한 젖산균에는 포도당 발효 시 젖산만을 생성하는 동종 발효 젖산균(homo fermentative lactic acid bacteria)과 젖산 이외에 알코올과 이산화탄소, 초산 등

을 함께 생성하는 이종 발효 젖산균(hetero fermentative lactic acid bacteria)으로 대별되며, 일반적으로 통성 혐기성 세균이다[10, 21, 24].

최근에는 김치에 관여하는 젖산균에 대한 다양한 연구가 수행되고 있으나 주로 배추김치를 대상으로 하거나 세균의 부분적인 특징이나 일부분만의 세균을 대상으로 하여 계수 또는 동정하였으므로 여러 종류의 김치에서 분리되는 젖산균에 대한 전체적이며 체계적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 몇 가지 김치에서 여러 종류의 젖산균들을 분리하고 생화학적인 방법과 16S rDNA의 부분 염기서열 분석을 통하여 분류를 시도하였다. 아울러 이들 김치에서 분리한 균주들의 항균성을 검사 해 보았다.

재료 및 방법

배지 및 배지 조성

김치에서 젖산균을 분리하기 위해서 MRS 배지([6]; Difco, France)를 사용하였다. 그 조성은 pancreatic digest of gelatin, beef extract, yeast extract, dextrose, dipotassium phosphate, polysorbate 80, sodium acetate, ammonium citrate, magnesium sulfate, manganese sulfate 등으로 되어 있다. 고체 배지는 동일한 조성으로 agar를 1.5% 첨가하여 만들었다. 또한 분리 균주를 보관하기 위하여 MRS 배지를

*Corresponding author
Tel: 82-53-950-5374, Fax: 82-53-955-5522
E-mail: ghimsa@knu.ac.kr

사용하였다. 항균성 검사를 위해 사용된 시험 균주들의 배지로는 LB 배지[2]를 사용하였다.

시료 김치

대구지역 가정에서 담근 김치를 4°C에 보관하며 시료로 사용하였다. 그 종류로는 배추김치, 콩잎물김치, 파김치, 숙성정도가 오래된 김장 배추김치, 갓김치 등이다.

균주 분리

배추김치는 김치 국물에서 균들을 분리하기 위해서 MRS 액체 배지로 10³과 10⁶ 희석하여 CaCO₃가 첨가된 MRS 고체 배지에 도말 했다[19]. 그것을 2일 동안 25°C에서 배양해서 집락을 순수 분리 시켰다. 젖산균의 순수 분리를 위해 12일 동안 처음 6일은 매일, 나머지 6일은 격일로 반복해서 도말 하였다. CaCO₃가 첨가된 MRS 배지는 젖산균만을 분리 할 수 있는 일종의 선택 배지이다. 나머지 콩잎물김치, 파김치, 숙성 정도가 오래된 김장김치, 갓김치 등은 김치 국물에서 균들을 분리하기 위해서 MRS 액체 배지로 10³과 10⁶ 희석해서 CaCO₃가 첨가된 MRS 고체 배지에 도말 한 후 집락의 모양과 크기에 따라서 몇 가지 종류로 분리하였다.

젖산균의 형태 관찰

MRS 액체 배지에 김치에서 분리한 균을 접종한 후 25°C에서 16시간 동안 정체배양 하였다. 배양액을 13 mm disk (pore size 0.45 μm; Seoul Science, Korea)에 20 μl씩 부가 한 후 실온에서 7시간 동안 건조시켜 시료로 사용하였다. 준비한 시료를 Scanning Electron Microscope(Hitachi S-570, Japan)를 이용하여 촬영하였다.

균주의 분류

MRS 배지로 집락이 작고 흰 것으로 분리해서 젖산균이라고 추정하고 이 균을 Bergey 분류법[9]과 BPB(bromphenol blue) 배지[8] 분석을 통한 생화학적인 방법과 16S rDNA 염기배열 정보를 이용한 분자 생물학적인 방법으로 동정하였다. Bergey 분류법에서는 *L. mesenteroides*의 경우 NaCl 3% 배지에서는 생육이 왕성하고, NaCl 6.5% 배지에서는 생육이 지연되며, pH 4.8 배지에서는 생육이 억제되는 기준으로써 추정 균을 분리하였다.

이렇게 분류한 집락을 더 정확하게 분류하기 위해서 BPB 배지에서 검사를 하였다. 이 검사는 BPB 배지에서의 표준 균주들의 특징과 비교해서 분리 균이 어떤 균인지를 알아보는 것이다. 그 기준부터 살펴보면 젖산균 집락을 구분 측정 할 수 있는 최적의 BPB 농도를 0.002%로 하여 25°C에서 배양하면 집락의 특징을 알 수 있다. BPB 배지에서는 *L. mesenteroides*가 짙은 청색을 나타내므로 이런 색깔을 띤 집락에 대해서는 *L. mesenteroides*라고 추정할

수 있다.

Bergey 분류법과 BPB 배지를 이용해 동정한 균주들을 좀 더 정확하게 동정하기 위하여 16S rDNA PCR을 수행하였다[5, 12, 18]. CaCO₃가 첨가된 MRS 배지에서 분리한 균주로부터 genomic DNA를 추출하여 각각의 16S rRNA 유전자를 PCR을 통하여 증폭하였다. 16S rRNA 유전자의 증폭을 위하여 GF1(5'-TAACACATGCAAGTCGACG-3')과 GR1 (5'-GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAG-3') primer를 사용하였다. Genomic DNA 30 ng을 주형으로 하여 PCR Premix(Bioneer, Korea)를 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR의 수행조건은 denaturation(94°C, 30초), annealing(60°C, 30초), elongation(72°C, 45초) 단계를 35 회 반복한 후 incubation(72°C, 15분)하였다. PCR에 의하여 증폭된 DNA 단편은 PCR Purification Kit(Qiagen, Germany)로써 정제한 후 바로 염기서열을 결정하거나, 증폭된 단편을 전기영동 한 다음 DNA PrepMatetm(Bioneer, Korea)를 이용하여 gel 상에서 회수하고 pGEM-T Easy Vector systems (Promega, USA)에 클로닝하여 *Escherichia coli* XL1-Blue에 형질전환 하였다. AccuPrep Plasmid Extraction Kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 분리된 재조합 plasmid에 삽입되어 있는 DNA 단편에 대한 염기서열을 결정하였다.

항균작용 활성 측정

김치에서 분리된 균들이 몇 가지 종류의 시험균주에 대하여 항균작용을 하는지의 활성 유무를 검사하였다. 김치에서 분리 동정한 균주의 상등액 조제는 20 ml의 MRS 배지에 균을 접종한 후 25°C에서 OD₄₃₆에서 약 1.2까지 배양 한 후 원심분리하여 상등액을 따로 모았다. 0.22 μm filter(Millipore, USA)를 사용하여 상등액으로부터 세포를 완전히 제거한 다음, Speed Vac Concentrator(Savant AS-260, USA)를 이용하여 최종 부피가 1 ml가 될 때까지 농축하였다. 농축된 상등액은 PBS로써 pH 7.0으로 맞춘 후, -20°C에 보관하며 실험에 사용하였다.

항균성을 알아보기 위해 사용된 시험균주는 *Bacillus subtilis* 168, *E. coli* s0 990, *Lactobacillus plantarum*, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *S. paratyphica* ATCC 11511, *S. typhi* ATCC 19430, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Shigella boydii* ATCC 9207, *S. sonnei* ATCC 25931 등이다. 시험균주는 5 ml LB 배지에 접종하여 37°C에서 OD₄₃₆에서 약 0.5까지 배양한 다음 0.85% saline 용액에 10³배 희석한 후 LB 고체 배지에 50 μl씩 도말 하였다. 도말한 고체 배지 상에 멸균처리한 6 mm disk(Toyo Roshi Kaisha, Japan)를 떨어뜨리고 disk 위에 농축된 상등액 시료를 15 μl씩 부가하였다. 시료가 포함된 고체 배지를 37°C에서 16시간 동안 배양시킨 다음 시험균주에 대한 투명한 형성 유무를 조사하여 항균 활성을 측정하였다[14, 20].

결과 및 고찰

젖산균의 성장과 분리

배추김치의 경우 김치를 담근 첫날에 분리된 균들은 대부분 회고 작은 집락이 관찰되었다. 김치 담근 첫날부터 3일 동안에는 주로 흰색 집락이 관찰되었다. 그 후 시간이 지날수록 흰색 집락의 숫자가 줄어들고 노란색 집락의 숫자가 늘어났다. 이렇게 나타난 균들의 총 숫자는 Fig. 1에 표시하였다. 12일 동안 처음 6일은 매일, 나머지 6일은 격일로 균수를 세이본 결과 발효 일 수가 2일째 되는 날 최고 균수를 나타냈다. 그 이후로 감소하다가 발효 일 수가 8일째 되는 날 증가하였다가 다시 감소하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 Lee 등[17]이 보고한 적숙기에 최고 균수에 도달하고 그 이후에도 비교적 높은 균수를 유지한다는 결과와 유사하게 나타났다. 본 연구에서 배추김치에서 발효 일 수가 2일째 되는 날 분리된 균들은 KNUC01~KNUC09, 4일째 분리된 균들은 KNUC10~KNUC19로 표시하였다. 그리고 콩잎물김치에서 분리된 균들은 KNUC20과 KNUC21, 파김치에서 분리된 균은 KNUC22, 숙성 정도가 오래된 김장김치에서 분리된 균들은 KNUC23~KNUC25, 마지막으로 갓김치에서 분리된 균들은 KNUC26과 KNUC27으로 각각 표시하였다.

SEM 측정

이렇게 분리된 균주를 전자 현미경으로 관찰한 결과 세포의 형태가 Fig. 2와 같이 나타났다. Fig. 2-A는 배추김치에서 발효 일 수가 2일째 되는 날, Fig. 2-B는 배추김치에서 발효 일 수가 4일째 되는 날 분리된 균의 사진이다. Fig. 2-A와 Fig. 2-B는 둘 다 형태가 비슷한 구균임을 관찰할 수 있었다. Fig. 2-C와 Fig. 2-D는 콩잎 물김치에서, Fig. 2-E는 파김치에서, Fig. 2-F는 숙성 정도가 오래된 김장김치에서, 그리고 마지막으로 Fig. 2-G는 갓김치에서 각각 분리된 균의 주사 전자 현미경 사진으로써 대부분이 구균의 형태를 띠고 있음을 볼 수 있었다.

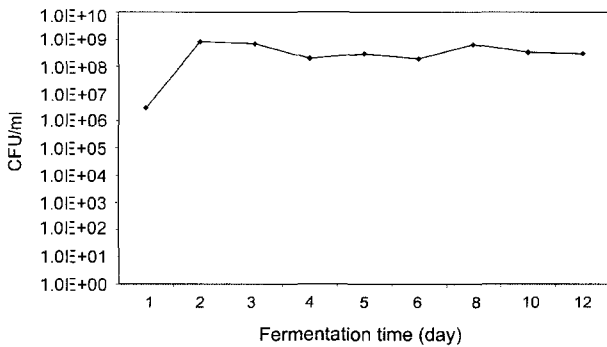


Fig. 1. Microfloral change of lactic acid bacteria during kimchi fermentation incubated at 25 for 12 days.

균주의 분류

Bergey 분류법과 BPB 배지 분석을 통한 결과는 Table 1과 같이 나타났다. NaCl 3% 배지와 NaCl 6.5% 배지, 그리고 pH 4.8 배지에서 생육의 유무에 따라서 균을 분석하였다. 이런 기준을 가지고 NaCl 3% 배지와 NaCl 6.5% 배지, 그리고 pH 4.8 배지에서 검사를 한 집락들 중에 *L. mesenteroides*이라고 추정되는 균들을 BPB 배지에 접종을 한 결과 그 균집의 색이 모두 암청색으로 나타났다. 이렇게 분류한 균주들은 각각 glycerol 처리 후 질소 탱크에 냉동 보관하였다.

Bergey 분류법과 BPB 배지를 이용한 균주의 1차적 동정의 결과를 분자생물학적인 방법으로 보완하기 위하여 16S rDNA PCR을 수행하였다. PCR을 수행한 결과, 1.4 kb 정도 크기의 증폭된 DNA 단편을 각각 확인 할 수 있었다. 이

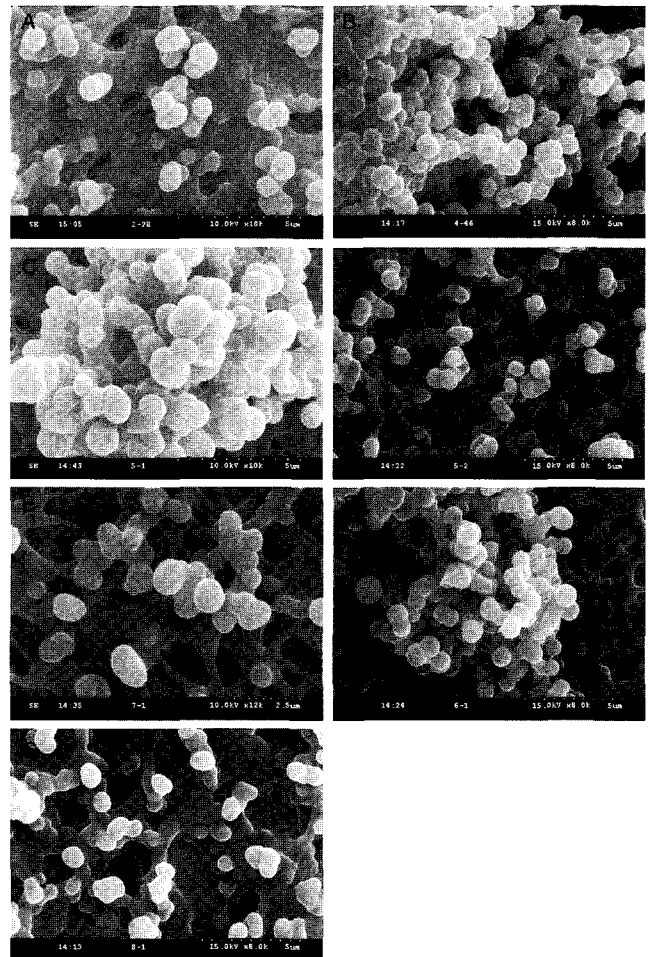


Fig. 2. Scanning electron micrograph of isolates from kimchi. A, shows KNUC06 isolated from cut Chinese cabbage kimchi fermented for 2 days; B, shows KNUC18 isolated from cut Chinese cabbage kimchi fermented for 4 days; C, shows KNUC20 isolated from bean leaf kimchi with added water; D, shows KNUC21 isolated from bean leaf kimchi with added water; E, shows KNUC22 isolated from green onion kimchi; F, shows KNUC23 isolated from whole Chinese cabbage kimchi fermented for a while; G, shows KNUC26 isolated from leaf mustard kimchi.

Table 1. Biochemical characteristics of the 19 isolates from cut Chinese cabbage kimchi.

Strain	Bergey's manual of systematic bacteriology			colony (color)	BPB medium (color)
	NaCl 3%	NaCl 6.5%	pH 4.8		
KNUC01	+ ^a	-	-	white	NT ^b
KNUC02	+	-	-	white	NT
KNUC03	+	-	-	white	NT
KNUC04	+	-	-	white	NT
KNUC05	+	-	-	white	NT
KNUC06	+	-	+	white	dark blue
KNUC07	+	+	+	white	NT
KNUC08	+	-	+	white	NT
KNUC09	+	+	+	white	NT
KNUC10	+	-	+	opacity	NT
KNUC11	+	+	+	opacity	NT
KNUC12	+	-	-	opacity	NT
KNUC13	+	+	-	white	dark blue
KNUC14	+	-	-	white	NT
KNUC15	+	-	-	white	NT
KNUC16	+	+	+	yellow	NT
KNUC17	+	+	-	white	dark blue
KNUC18	+	-	+	white	NT
KNUC19	-	-	+	white	NT

^a+, positive; -, negative; ^bNT, not tested.

각각의 DNA 단편을 대상으로 하여 16S rDNA 부분 염기 서열을 결정된 결과 Table 2와 같이 나타났다. 이들 젓산균은 *Leu. mesenteroides*(11균주), *Leu. carnosum*(3균주), *Lac. curvatus*(8균주), *Lac. pentosus*(2균주), *Weissella kimchii* (1균주), *W. cibaria*(1균주), *Pediococcus pentosaceus*(1균주) 등과 매우 유사한 것으로 분석되었다. 이들 중 *Leu. carnosum*은 이전에 김치에서 분리되었다고 보고 된 바가 없다. 또한, 콩잎물김치는 주로 경상도 지방에서 어린 콩잎과 줄기를 사용하여 담그는 물김치의 일종으로서, 이전에 젓산균에 관한 어떠한 연구도 이뤄진 적이 없었다.

그리고 김치의 종류에 따라서 분석된 균주의 종류가 다른 것으로 보아 이들 김치의 종류에 따라서 우점종이 다른 것으로 사료된다. 앞에서 살펴보았듯이, 16S rDNA 부분 염기 서열을 통한 분석 결과는 Bergey 분류법과 BPB 배지를 통해 추정된 결과와 상당히 다르게 나타났다. 아마도 그 이유는 Bergey 분류법과 BPB 배지를 통한 분류는 유제품의 젓산균을 대상으로 실험한 결과이므로 김치에서 분리한 젓산균의 분류학적 특성과는 다르기 때문일 것으로 추정된다. 그래서 김치에서 유래되는 젓산균을 동정하는데 있어서는 기존의 Bergey 분류법에 대한 체계적인 보완이 필요 할 것으로 보인다.

분리균주의 명명과 염기배열 등록

본 연구에서 사용했던 3가지 분류방법에 의한 결과의 불

Table 2. Comparison of 16S rDNA sequences of the isolates with those of other known strains.

Source	Strain	16S rDNA sequence homology (%)	Accession number in GenBank ^a
Cut Chinese cabbage kimchi	KNUC01 KNUC02 KNUC03 KNUC06 KNUC07 KNUC08 KNUC10 KNUC11 KNUC12 KNUC13 KNUC19	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (99%)	AY264850
	KNUC04 KNUC05 KNUC09 KNUC14 KNUC15 KNUC16 KNUC17 KNUC18	<i>Lactobacillus curvatus</i> (99%)	AY281292
	KNUC20	<i>Weissella kimchii</i> (99%)	AY281294
	KNUC21	<i>Weissella cibaria</i> (99%)	Bankit 530994
	KNUC22	<i>Pediococcus pentosaceus</i> (98%)	Bankit 540191
	KNUC23 KNUC24 KNUC25	<i>Leuconostoc carnosum</i> (98%)	Bankit 530898
Leaf-mustard kimchi	KNUC26 KNUC27	<i>Lactobacillus pentosus</i> (98%)	Bankit 530906

^aBankit numbers indicate temporal submission number at the GenBank Database.

일치로 인하여, 우리는 16S rDNA 염기배열 분석 결과를 1차적 동정의 기준으로 받아 들였다. 그 분류 균주의 명명은 Table 2에 GenBank에 등록된 각 분리 균주의 16S rDNA 염기배열 정보와 함께 실었다.

항균작용 활성

김치에서 분리 동정한 균들의 항균작용 활성을 측정 해 본 결과 Table 3과 같이 나타났다. Gram 염색 특성에 상관 없이 항균작용 활성이 나타났다. 반면에 같은 계통의 균주인 *L. plantarum*에 대해서는 전혀 활성이 나타나지 않은 것으로 보아 이 항균물질이 bacteriocin이 아닐수 있음을 보여 주었다[3, 7, 13, 15]. 또 각 균주 마다 항균작용 활성의 정도가 달랐으며(Fig. 3), 시험균주의 종류에 따라서도 시험균주에 대한 저해작용 정도가 다르게 나타났다. 구체적으로 *B. subtilis*, *E. coli*, *S. boydii* 등의 성장을 크게 억제하였으며, 분리균주 KNUC14, KNUC20, KNUC22, KNUC24, KNUC25, KNUC27 등의 농축 배양 상등액(pH 7.0으로 조정)이 각 시험균주에 대해서 높은 항균성을 보였다. 또한, 같은 *Lac. curvatus*로 분류된 균주라도 항균 활성 정도가 다르게 나타났다.

Anand 등[1]에 따르면, 장내 젓산균이 숙주에 미치는 유

Table 3. Antibacterial activity of the 27 isolates from kimchi.

Strain ^a	Test organism ^b								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
KNUC01	+ ^c	+	-	+	-	-	-	+	-
KNUC02	+	+	-	+	-	-	-	+	-
KNUC03	+	+	-	-	-	-	-	+++	-
KNUC04	-	+	-	-	-	-	-	+	-
KNUC05	+	+	-	-	-	-	-	+	-
KNUC06	-	-	-	-	-	-	-	+	-
KNUC07	+	+	-	+	-	-	-	+	-
KNUC08	+	-	-	+	-	-	-	+	-
KNUC09	+	+	-	-	+	+	+	+	+
KNUC10	-	+	-	+	-	-	-	+	-
KNUC11	-	+	-	-	-	-	-	+	-
KNUC12	+	+	-	+	-	-	-	+++	-
KNUC13	-	-	-	+	+	-	-	+	-
KNUC14	+	-	-	+	+	+	+	+	+
KNUC15	-	-	-	+	-	-	-	+	-
KNUC16	+	+	-	+	-	-	+	+	+
KNUC17	-	-	-	+	-	-	-	+	-
KNUC18	+	+	-	+	-	-	-	+	-
KNUC19	+	+	-	+	-	-	-	-	-
KNUC20	-	+	-	+	-	-	+	+++	+
KNUC21	-	+	-	+	-	-	+	+	-
KNUC22	+	+	-	+	+	-	+	+++	+
KNUC23	+	+	-	+	-	-	+	-	-
KNUC24	+	+	-	+	+	-	+	+++	+
KNUC25	+++	+++	-	+++	-	+	+++	+++	+
KNUC26	+	+	-	+	-	-	-	+	+
KNUC27	+	+	-	+	+++	+	+	+++	+

^aLactic acid bacteria isolated from various kimchi

^bTest organism: A, *Bacillus subtilis* 168; B, *Escherichia coli* s 990; C, *Lactobacillus plantarum*; D, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076; E, *Salmonella paratyphica* ATCC 11511; F, *Salmonella typhi* ATCC 19430; G, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; H, *Shigella boydii* ATCC 9207; I, *Shigella sonnei* ATCC 25931

^cAntibacterial activity: +++, high positive; +, moderate positive; -, negative.

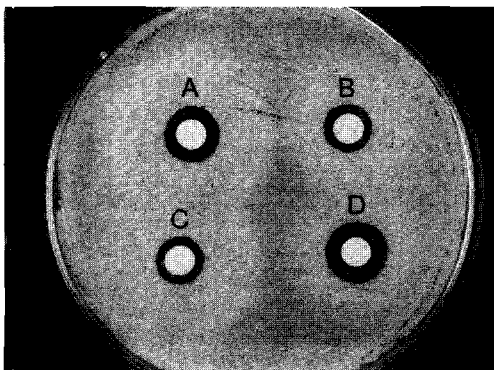


Fig. 3. Antibacterial activity of isolated strains from kimchi against *Shigella boydii* ATCC 9207. A, KNUC03; B, KNUC10; C, KNUC18; D, KNUC25.

익한 작용은 유산 및 초산 등 유기산을 생성하여 이들 산에 예민한 장내 병원성 세균인 *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Shigella* 등의 세균에 대한 오염 및 번식을 억제함으로써 설사와 같은 장 질환을 예방하고 아울러 숙주의 면역시스템을 자극하여 감염에 대한 저항력을 높여주는 역할을 한다고 하였다. 그러한 젖산균의 기능을 바탕으로 하여 김치로부터 분리한 젖산균의 생리와 항균물질의 특성을 연구함으로써, 이 특성을 김치 제조에 이용할 수 있는 기능성 식품으로서의 김치에 관한 연구가 체계적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 김치로부터 분리한 젖산균의 다양성과 항균성을 조사하기 위하여 수행되었다. 희석한 김치 국물을 CaCO_3 가 첨가된 MRS 고체 배지에 도말 한 후, 25°C 에서 2일 동안 배양하여 여러 가지 김치로부터 27가지의 젖산균을 분리하였다. 이렇게 분리한 젖산균들을 Bergcy 분류법과 BPB 배지를 통한 생화학적인 방법과 16S rDNA PCR을 이용한 분자 생물학적인 방법으로 분석하였다. 그러나 이들 방법으로 분석한 결과가 일치하지 않은 경우가 많았다. 이들 분리 젖산균은 16S rDNA 부분 염기서열을 결정된 결과 *Leuconostoc mesenteroides*(11균주), *Leu. carnosum*(3균주), *Lactobacillus curvatus*(8균주), *Lac. pentosus*(2균주), *Weissella kimchii*(1균주), *W. cibaria*(1균주), *Pediococcus pentosaceus*(1균주) 등의 것과 각각 매우 유사한 것으로 분석되었다. 이들 중 *Leu. carnosum*은 이전에 김치에서 분리되었다고 보고된 바가 없다. 그리고 이들 김치에서 분리 동정한 균들의 항균작용 활성을 검사 해 본 결과 균주에 따라서 활성의 정도는 다르게 나타났으나 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *S. paratyphica*, *S. typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella boydii*, *S. sonnei* 등에 대해 뚜렷한 항균효과를 나타내었다.

REFERENCES

- Anand, S. K., R. A. Srinirasan, and L. K. Rao. 1985. Antibacterial activity associated with Bifidobacterium. *Cultured Dairy Products* 6: 172-175.
- Bertani, G. 1951. Studies of lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 62: 290-300.
- Bizani, D. and A. Brandelli. 2002. Characterization of a bacteriocin produced by newly isolated *Bacillus* sp. Strain 8 A. *J. Appl. Microbiol.* 93: 512-519.
- Cheigh, H. C. and K. Y. Park. 1994. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of Kimchi. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 34: 175-203.
- Choi, J. Y., M. K. Kim, and J. H. Lee. 2002. Reevaluation of the change of *Leuconostoc* sp. and *Lactobacillus plantarum*

- by PCR during Kimchi fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* **12**: 166-171.
6. Deman, J. C., M. Rogosa, and M. E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol.* **23**: 130-135.
 7. Eijsink, V. G. H., M. Skeie, P. H. Middelhoven, M. B. Bruberg, and I. F. Nes. 1998. Comparative studies of class a bacteriocin of lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 3275-3281.
 8. Han, H. U. and H. K. Park. 1991. Differential counts of lactic acid bacteria genera on bromphenol blue medium. *J. Basic Sci. Institute (Inha Univ.)* **12**: 89-94.
 9. John, G. H., R. K. Noel, H. S. Sneath, T. S. James, and T. W. Stanely. 1994. BERGEY's manual of systematic bacteriology. *Williams & Wilkins, Baltimore, MD.*, 9th ed.
 10. Kang, S. M., W. S. Yang, Y. C. Kim, E. Y. Jung, and Y. G. Han. 1995. Strain improvement of *Leuconostoc mesenteroides* for Kimchi fermentation and effect of starter. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 461-471.
 11. Kim, B. J., B. H. Min, J. H. Kim, and H. U. Han. 2001. Isolation of dextran-producing *Leuconostoc lactis* from Kimchi. *J. Microbiol.* **39**: 11-16.
 12. Kim, B. J., H. J. Lee, S. Y. Park, J. H. Kim, and H. U. Han. 2000. Identification and characterization of *Leuconostoc gelidum*, isolated from Kimchi, a fermented cabbage product. *J. Microbiol.* **38**: 132-136.
 13. Kim, D. S.. 2002. Characteristics of the bacteriocin from *Lactobacillus* sp. Oh-B3. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **30**: 184-188.
 14. Kim, O. M., M. K. Kim, S. O. Lee, K. R. Lee, and S. D. Kim. 1998. Antimicrobial effect of ethanol extracts from spices against *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**: 455-460.
 15. Klaenhammer, T. R.. 1988. Bacteriocin of lactic acid bacteria. *Biochimie* **70**: 337-349.
 16. Kwon, D. Y., M. S. 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.
 17. Lee, C. W., C. Y. Ko, and D. M. Ha. 1992. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during Kimchi fermentation and identification of the isolates. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **20**: 102-109.
 18. Lee, H. J., S. Y. Park, and J. H. Kim. 2000. Multiplex PCR-based detection of *Leuconostoc* species. *FEMS Microbiol. Lett.* **193**: 243-247.
 19. Lee, M. K., W. S. Park, and K. H. Kang. 1996. Selective media for isolation and enumeration of lactic acid bacteria from Kimchi. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **25**: 754-760.
 20. Lee, S. H. and M. J. No. 1997. Viability in Artificial gastric and bile juice and antimicrobial activity of some lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 617-622.
 21. Lee, Y. J., J. Y. Choi, H. J. Lee, H. C. Jang, J. H. Kim, D. K. Chung, Y. S. Kim, S. M. Kim, and J. H. Lee. 2002. Identification of the cell-envelope proteinase of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **30**: 116-122.
 22. Niku-Paavola, M.-L., A. Laitila, T. Mattila-Sandholm, and A. Haikara. 1999. New types of antimicrobial produced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.* **86**: 29-35.
 23. Rhee, C. H. and H. D. Park. 1999. Isolation and characterization of lactic acid bacteria producing antimutagenic substance Korean Kimchi. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 15-22.
 24. Tumerman, L., H. Farm, and K. W. Conely. 1954. The effect of lactose crystallization on protein stability in frozen concentrated milk. *J. Dairy Sci.* **37**: 830-837.

(Received Feb. 20, 2003/Accepted June 2, 2003)