

김치에서 분리한 세균인 *Lactobacillus plantarum* YK-9의 식중독 원인세균에 대한 항균활성 및 특성

송유진 · 박수호 · 유지영 · 조윤석 · 오계현*

순천향대학교 생명공학과

Antibacterial Activity against Food-poisoning Causing Bacteria and Characterization of *Lactobacillus* *plantarum* YK-9 Isolated from Kimchi

You-Jin Song, Su-Ho Park, Ji-Young You, Yun-Seok Cho, and Kye-Heon Oh*

Department of Biotechnology, Soonchunhyang University, P.O.Box 97, Asan, Chung-Nam, 336-600 Republic of Korea.

Abstract The purpose of this work was to investigate the antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* YK-9 isolated from fermented Kimchi. Morphological and biochemical characteristics of *L. plantarum* YK-9 were examined. Phylogenetic analysis using 16S rRNA sequencing was performed to identify the strain, and the strain could be assigned to *Lactobacillus plantarum*, designated as *L. plantarum* YK-9. The strain was registered in GenBank as [FJ669130]. During the incubation period of *L. plantarum* YK-9, the changes of bacterial growth and residual organic acids were monitored. HPLC was used to confirm the organic acids produced in the cultures as metabolites. *L. plantarum* YK-9 produced both lactic acid and acetic acid, which were responsible for the pH decrease during growth. Initial pH 7.0 of the cultures decreased to 3.6 at the incubation after 72 hours, and concentrations of lactic acid and acetic acid increased to approximately 588.7 mM and 255.5 mM, respectively. The antibacterial activities against food-poisoning causing bacteria were examined with 20-fold concentrated culture supernatants from *L. plantarum* YK-9, and the antibacterial effects were clearly observed against all the bacteria tested in this work.

Keywords: Antibacterial activity, Kimchi, *Lactobacillus plantarum* YK-9, organic acid

서 론

식중독은 오염된 음식을 섭취함으로써 발생하는 구토, 설사, 복통 등의 증세를 일으키는 임상 증후군을 말한다. 해마다 국내외적으로 식중독 세균에 의한 식중독 사건이 증가하고 있는 추세이다. 미국의 경우 해마다 약 7천 6백 만 건의 식중독이 발생하고, 그로 인하여 약 5천여 명이 죽는 것으로 보고되었다(1). 과거에는 여름철에만 빈번하게 발생하던 식중독이 점차 계절에 상관없이 발생하고 있다. 특히 대량 급식소에서 발생하는 식중독이 커다란 문제로

대두되고 있으며, 식중독 원인균도 다양화 되어가는 추세이다. 식중독 원인균 가운데 가장 많은 비중을 차지하는 것이 *Salmonella* 종이며, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio*, *Shigella* 속의 균주들도 식중독을 일으키는 것으로 알려져 있다. 이들 식중독 세균은 주로 육류, 채소, 난류, 우유나 유제품 그리고 조리 가공 식품 등의 여러 가지 음식을 오염시킬 수 있으며, 이를 섭취한 사람으로 하여금 심각한 식중독을 유발시킨다(2).

김치는 우리나라 고유의 전통 발효 식품이다. 김치의 발효에는 젖산세균이 관여하는데, 이 젖산균에 의한 각종 암의 억제효과와 면역증강효과 등의 영양학적 가치가 인정되면서 김치에 대한 관심이 국제적으로도 높아지고 있으며, 김치 발효에 대해 많은 연구가 진행되고 있다(3, 4). 김치 발효 과정에 관여하는 젖산균은 프로바이오틱 (probiotics)으로

*Corresponding author

Tel: +82-41-530-1353, Fax: +82-41-530-1350
e-mail: kyeheon@sch.ac.kr

알려져 있으며, 그람양성이고, 일반적으로 통성 혐기성 세균이다. 또한 탄수화물을 발효에 의한 에너지원으로 사용하고 최종산물로 젖산과 아세트산을 생성한다. 이들 젖산균은 장내 상피세포에 부착하여 항균성 박테리오신, 젖산, 유기산, 과산화수소 등을 합성하여 병원균을 죽이거나 병원균에 의한 독소 생산을 억제하고, 독소 수용체를 분해하므로, 장내 유해 세균에 항균작용을 가진다(5-9). 최근에 김치의 발효에 관여하는 젖산 세균들이 감기에 대한 저항력을 증진시킬 뿐만 아니라(10), 이를 배양하여 사료에 첨가함으로써 조류인플루엔자의 조절에도 기여한다는 내용이 보고되면서 점차 관심이 고조되고 있다(11).

본 연구에서는 김치의 발효에서 생성되는 젖산 세균을 분리하여, 여러가지 생화학적 특성 조사와 16S rRNA의 부분 염기서열 분석을 실시하였다. 또한 이 분리세균을 이용하여 식중독을 일으키는 여러가지 병원체에 대한 항균력을 조사하였으며, HPLC를 통하여 이 항균활성에 기여하는 물질을 확인하였다.

재료 및 방법

세균의 분리

발효가 잘 된 김치를 채취하여 100 ml의 생리식염수 (saline)가 담긴 플라스크에 넣고 분당 160회로 회전하는 진탕 배양기에서 10분간 교반시킨 후 꺼내어 실온에서 10분간 정지시킨 후에 시료 상등액 100 μ l를 0.002% BPB (bromophenol blue)가 첨가된 MRS 고체 평판 배지에 도말하고 30°C에서 24시간 배양하였다(12). 균주의 생육 과정에서 산을 형성하여 노란색을 띠는 균주를 선별하여 MRS 고체 평판 배지에 도말 평판법을 통한 순수배양으로 세균 YK-9를 분리하였다. 이 분리 세균 YK-9를 MRS 액체 배지에 접종하고 진탕배양기 (30°C, 160 rpm)에 배양 유지시키면서 본 연구에 이용하였다.

16S rRNA 염기서열의 계통수 분석

YK-9 균주의 계통수 (phylogenetic tree)를 작성하기 위하여 16S rRNA PCR을 수행하였다. YK-9 균주로부터 genomic DNA를 추출하여 16S rRNA 유전자를 PCR을 통하여 증폭하였다. 16S rRNA 유전자의 증폭을 위하여 8F와 1492R primer를 사용하였다. Genomic DNA를 주형으로 하여 PCR Premix (GenDEPOT, USA)를 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR의 수행조건은 denaturation (94°C, 30초), annealing (60°C, 30초), elongation (72°C, 45초) 단계를 33회 반복한 후, 72°C에서 15분동안 유지하였다. PCR에 의하여 증폭된 DNA 단편을 전기영동한 다음 agarose gel extract kit (Intron, Korea)를 이용하여 gel 상에서 회수하고, sequencing하여 1,099 bp의 부분적인

염기서열을 결정하였으며, 이 결과를 GenBank database에 등록하였다(13).

분리 세균의 형태학적 관찰 및 생리 화학적 특성 조사

분리된 세균인 YK-9을 고체 영양배지 (nutrient agar)에 도말하여 단일 집락의 형태를 관찰하였고, 그람염색 후 위상차현미경을 사용하여 세균의 형태학적 특성을 관찰하였다. 분리 세균의 생리 화학적 특성은 알려진 방법(14)에 의하여 실시하였다.

주사전자현미경에 의한 분리 세균의 세포 외부 형태 관찰

분리 세균의 세포 외부 형태를 알아보기 위하여 주사 전자현미경을 이용한 세포의 관찰 실험을 하였다. 대수생 장기인 배양액에서 원심분리하여 얻어진 균체에 100 mM phosphate buffer (pH 7.0)로 희석한 1% osmium tetroxide를 균체가 잠길 정도로 첨가한 후, 1시간 동안 고정을 실시하였다. 13,000 rpm에서 1분간 원심분리를 실시하여 균체를 회수하고, 준비된 다양한 농도 (50%, 60%, 70%, 80%, 95%)의 ethanol로 10분씩 연속적으로 탈수시켰다. 100% ethanol에 30분씩 2회 최종 탈수하고, 100% HMDS (hexamethyldisilazane)에 20분 간 2회 반응시킨 후, slide glass 위에 떨어뜨리고 공기 중에서 건조시켰다. 완전히 건조가 되면 sputter coater (IB-3, Giko Engineering Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 2 mA로 3분간 gold coating하여 주사전자현미경 (Hitachi, Japan)으로 관찰하였다(15).

분리 세균의 생장에 따른 pH 변화

MRS 액체 배지에 분리 세균인 YK-9를 접종하고 30°C에서 분당 160회로 회전하는 진탕배양기에 배양시키면서 세균의 생장과 배양 기간 중에 생산되는 유기산의 양을 12시간 간격으로 측정하였다. 세균의 생장은 분광광도계 (UV/Vis Spectrophotometer, Jenway, U.K.)를 이용하여 파장 660 nm에서의 흡광도를 측정하여 생장곡선을 작성하였다.

HPLC에 의한 유기산 분석

분리 세균 YK-9에 의해 생성되는 유기산을 분석하기 위하여 HPLC를 사용하였다. 분석에 사용된 HPLC system은 SPD-10A UV/Vis detector가 부착된 Shimadzu사의 LC-10AT 제품을 사용하였으며, Supelco사의 Supelcogel C-610H 컬럼 (300 mm × 7.8 mm, 입자크기 9 μ m)을 이용하였다. Mobile phase는 0.1% phosphoric acid를 공극직경이 0.45 μ m membrane filter (Pall-Gelman, East Hills, USA)에 여과하여 사용하였다. HPLC 작동조건에서 mobile phase의 flow rate는 0.5 ml/min이었으며, UV detector의 파장은 210 nm로 맞추어 사용하였다.

유기산은 분석용 표준품과 배양액으로부터 채취한 시료를 대상으로 정량분석하였다. Lactic acid와 acetic acid를 각각 1 : 1의 비율로 혼합하여 표준품을 만들었으며, 0.45 μm syringe filter로 여과한 후, 20 μl Hamilton syringe를 사용하여 HPLC injector 내에 주입하여 정량분석을 위한 표준 곡선을 작성하였다. 배양액 내에 생성된 유기산을 정량하기 위하여 채취한 시료는 13,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 0.45 μm syringe filter로 여과하여 분석하였다(16).

분리 세균 YK-9의 배양상등액 제조

배양 상등액의 다른 병원성 세균에 대한 항균력을 조사하기 위하여 분리 세균 YK-9를 MRS 액체 배지에 접종하여 30°C에서 48시간 동안 배양한 후 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 상등액을 취하여 0.2 μm syringe filter로 여과하여 완전히 균을 제거하였다. 이 배양상등액을 동결건조기를 사용하여 20배로 농축하였다(17).

농축 배양상등액의 항균력 조사

농축 배양상등액의 항균력은 plate diffusion assay 방법(16)을 이용하여 확인하였다. 항균력을 조사하기 위해 식중독의 원인이 되는 세균으로 잘 알려진 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis* 세균을 본 실험에 사용하였다(18-21). 대상세균들은 각각 액체 영양배지(nutrient broth)에 접종한 후 24시간 배양하여 사용하였다. 이들 세균배양액을 멸균된 면봉을 사용하여 각각 고체 영양배지(nutrient agar)에 도말하고, paper disc를 올려놓은 후, 농축 배양상등액 20 μl 를 흡수시켜 37°C에서 24시간 배양시킨 후 disc 주변에 생성된 투명대의 크기를 측정하였다.

결과 및 고찰

세균의 분리 및 배양

가정에서 담근 발효가 잘 된 김치로부터 발효에 관여하는 세균들을 농화(enrichment)시켜, 6개의 세균을 분리하였다. 이들 세균 가운데 0.002% BPB(bromophenol blue)가 첨가된 MRS 배지에서 3회에 걸친 도말 평판법을 통한 순수배양으로 생장이 탁월한 세균인 YK-9을 분리하였다. 이 분리 세균 YK-9를 MRS 액체 배지에 접종하고 진탕배양기(30°C, 160 rpm)에 배양 유지시키면서 본 연구에 이용하였다.

16S rRNA 염기서열의 계통수 분석

분리균주인 YK-9의 phylogenetic tree를 작성하기 위하

여, PCR을 통해 16S rRNA 유전자를 증폭하고, 1099 bp의 부분적인 염기서열을 결정하였으며, 그 결과는 GenBank database에 [FJ669130]로 등록하였다. 이 균주는 *Lactobacillus* 속(genus)에 속하는 *Lactobacillus plantarum*과 99%의 유사성을 나타내었다. 얻어진 결과를 바탕으로 분리세균을 *L. plantarum* YK-9으로 명명하였다. 이 균주와 *L. plantarum*에 속하는 다른 균주들과의 유사성을 Fig. 1에 나타내었다.

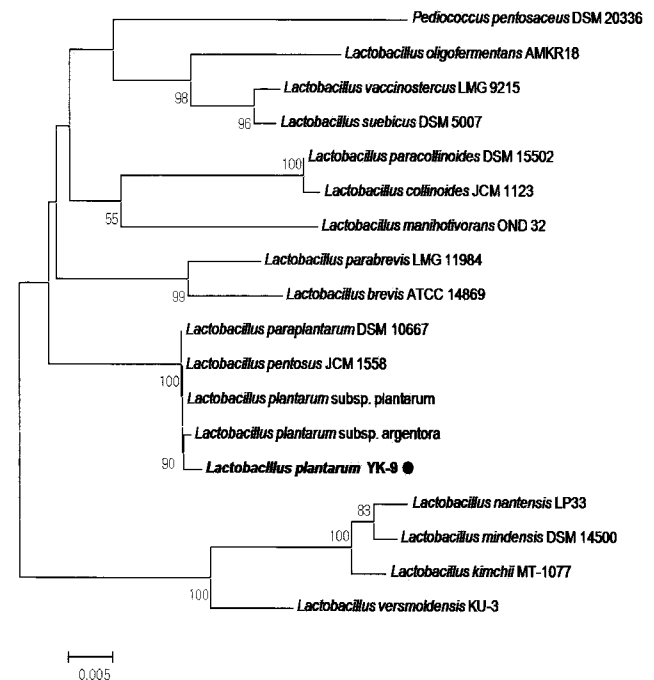


Fig. 1. Phylogenetic analysis of the isolate, YK-9 (●) and related bacteria of the *L. plantarum* group based on 16S rRNA sequence comparisons.

분리 세균의 형태학적 관찰 및 생리화학적 특성 조사

분리된 세균의 세포 외부 형태를 주사전자현미경을 통하여 긴 막대형으로 관찰되었다(Fig. 2). 그람염색을 실시하여 위상차 현미경으로 관찰한 결과, 그람 양성으로 나타났다. 분리 세균 YK-9에 대한 여러 가지 생화학적 특성조사를 실시하였다. 인돌(indole) 생성 시험에서는 음성반응을 나타내는 초록색의 고리를 형성하였으며, glucose를 발효하여 배지의 색이 노랗게 변했다. Methyl red (MR) 시험에서는 양성을 나타내었으며, Voges-Proskauer (VP) 시험에서는 음성을 나타내었다. Gelatin과 녹말 분해 여부는 투명대가 형성되지 않았으므로 모두 음성임을 확인할 수 있었다. Oxidase와 catalase 시험의 결과도 모두 음성을 나타내었고, Simmon's citrate의 이용여부에서는 양성을 나타내었다. KIA 배지로 시험한 disulphydrase에 의한 H₂S의 형성은 음성으로 확인되었으며, litmus milk 시험에서는 펩톤화가 일어나지 않았다(Table 1).

Table 1. Morphological and physiological characteristics of the isolate, *Lactobacillus plantarum* YK-9

Morphological characteristics	
Cell Shape	Rod
Gram stain	Positive
Physiological characteristics	
Indole production	-
Glucose	+
Methyl red	+
Voges-Proskauer	-
Starch hydrolysis	-
Gelatin hydrolysis	-
Catalase	-
Oxidase	-
Simmon's citrate	+
H ₂ S (KIA)	-
Litmus milk (peptonization)	-

+ : Positive reaction, - : Negative reaction.

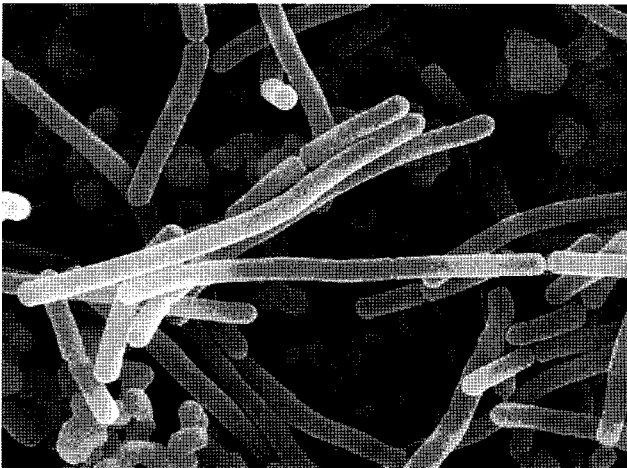


Fig. 2. Scanning electron micrograph of *Lactobacillus plantarum* YK-9.

분리 세균의 생장에 따른 pH 변화

김치에서 분리한 균주 YK-9를 MRS 액체 배지에 접종하고 세균의 생장과 배양기간 중의 pH 변화를 12시간 간격으로 측정하였다(Fig. 3). 분리 균주는 배양 이후부터 60시간까지 지속적으로 성장하였으며, 이와 관련하여 pH도 감소되었다. 배양초기의 pH는 7.0이었으나 72시간이 지난 후 최종 pH는 3.6로 측정되었다. Wilson 등(22)은 야채 발효 식품인 사우어크라우트 (sauerkraut)에서 분리한 *Lactobacillus* 종이 lactic acid를 생성하여 pH가 4.26으로 감소되었다고 보고한 바 있다. 또한 Ma 등(23)은 새우양식장에서 분리한 두 가지의 *Lactobacillus* 종이 lactic acid와 acetic acid의 유기산을 생성하여 pH를 각각 3.8과 5.4로 각각 감소시킨다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 분리된 YK-9도 성장기간 중에 다량의 유기산을 생산하여 pH가 3.6으로 낮아지는 것으로 나타났다.

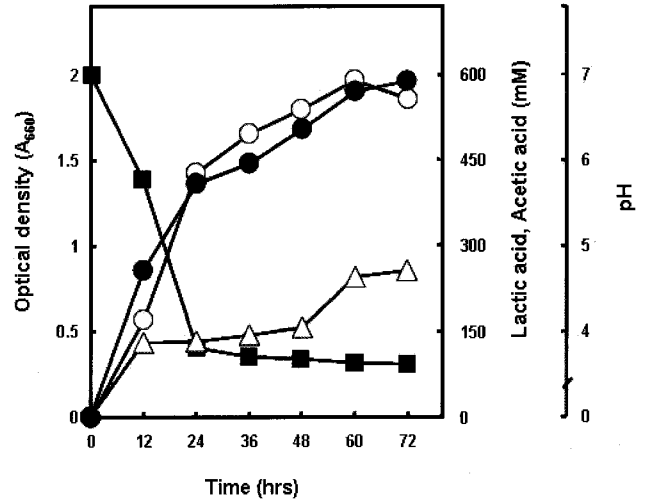


Fig. 3. Growth of the strain YK-9, measured as optical density (○) and associated with the parallel formation of lactic acid (●) and acetic acid (△), and pH changes (■).

HPLC에 의한 유기산 분석

분리세균인 YK-9의 배양 기간 동안 대사물질로서 배양액에서 생성되는 유기산을 분석하였다. 배양초기에는 거의 존재하지 않았던 유기산이 배양이 진행됨에 따라 YK-9 균주의 성장과 비례하여 생성되었다. 얻어진 배양상등액 시료는 HPLC를 이용하여 분석하였으며, lactic acid와 acetic acid가 혼합된 authentic standard와 비교하여 14.66 min 과 17.46 min에서 동일한 peak가 탐침되었다(Fig. 4), 따라서 이들 두 peak는 각각 lactic acid와 acetic acid로 확인되었다. 분리세균인 YK-9의 배양 후 72시간이 경과했을 때, lactic acid와 acetic acid는 각각 588.7 mM과 255.5 mM이 생성되었다. Ma 등(23)은 새우양식장에서 분리한 *Lactobacillus* sp. JK-8에서 배양기간 중에 192 mM lactic acid와 43.6 mM acetic acid를 생성하는 것으로 보고하였는데, 본 연구에서 얻어진 유기산 생산은 이와 비교하여 볼 때, 매우 탁월한 것임이 확인되었다.

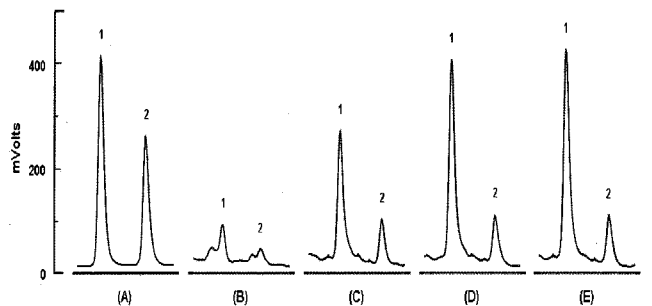


Fig. 4. HPLC chromatograms of a mixture of authentic standards, lactic acid and acetic acid (A) and of culture samples of YK-9 at the beginning (B) and after 12 hrs (C), 24 hrs (D) and 72 hrs of incubation (E); peak 1, lactic acid; peak 2, acetic acid.

분리 세균의 항균력 조사

분리 세균 YK-9의 항균력 확인은 plate diffusion assay 방법(17)을 이용하여 농축된 배양 상등액을 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis* 등의 6가지 대상세균에 노출시켜 배양 24시간 후에 disc 주변에 형성되는 투명대를 통하여 항균 활성 여부를 확인하였다. 본 연구에서 사용된 모든 대상에 대하여 항균 활성을 나타내었으며, 각 균주마다 항균 활성의 정도가 다르게 나타났다(Fig. 5). 본 논문에서 그림으로 제시하지 않았지만, YK-9의 농축 배양 상등액의 pH를 중성으로 조절하여 대상 세균들에 대한 항균력을 측정한 실험에서 pH가 조절된 농축 배양상등액에서는 아주 작은 크기의 투명대가 생성되거나 거의 형성되지 않았다. 이 결과는 YK-9의 항균력이 배양기간 동안 생성되는 유기산에 기인한다는 것을 나타낸다.

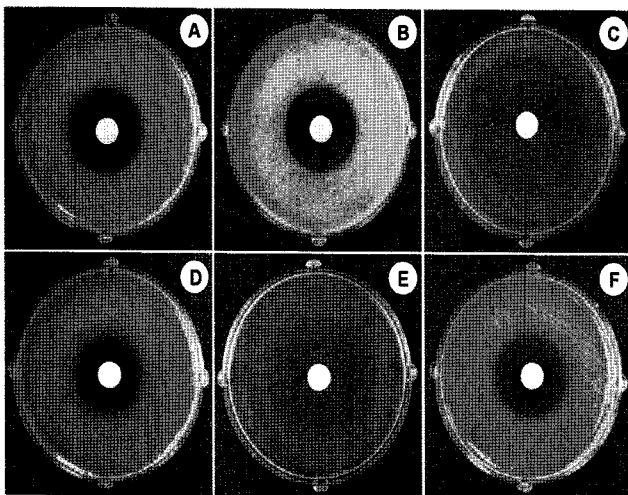


Fig. 5. Antibacterial activity by 20-fold concentrated culture supernatant from *Lactobacillus plantarum*, YK-9. Paper discs soaked with the supernatants were placed onto lawn plates of *S. aureus* (A), *B. cereus* (B), *L. monocytogenes* (C), *E. coli* (D), *E. faecalis* (E), *S. enteritidis* (F).

장내 젖산세균이 숙주에 미치는 유익한 작용은 lactic acid나 acetic acid 등 유기산을 생성하여 이들 산에 예민한 장내 병원성 세균인 *Staphylococcus*, *Salmonella* 등의 세균에 대한 오염 및 번식을 억제함으로써 설사와 같은 장 질환을 예방하고, 아울러 숙주의 면역시스템을 자극하여 감염에 대한 저항력을 높여주는 역할을 한다고 보고된 바 있다(13, 24). 본 연구에서는 다양한 식중독 감염의 원인이 되는 세균을 대상으로 하여 항균 활성을 확인한 결과, 그람양성이나 그람음성에 관계없이 모든 식중독 원인 세균들에 대하여 뚜렷한 항균 효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 따라서 우리나라의 대표적인 전통적 발효 식품인 김치가 식중독 예방에 매우 효과적일 것이라 사료된다.

요 약

본 연구는 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* YK-9의 다양한 특성을 조사하기 위하여 실시되었다. 형태학적 관찰 및 생리화학적 특성에 대하여 조사하였다. 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 균주를 동정하였고, 그 결과 *Lactobacillus plantarum*로 확인되었고, *L. plantarum* YK-9으로 명명하였으며, 이 균주는 GenBank에 [FJ669130]로 등재하였다. 배양 시간에 따른 *L. plantarum* YK-9의 성장과 pH의 변화를 조사하였으며, 대사산물로서 유기산 (lactic acid와 acetic acid)의 생성은 HPLC를 통하여 확인하였다. 유기산의 생성은 *L. plantarum* YK-9의 성장에 따라 증가하는 것을 확인하였다. 초기 pH 7.0은 배양 기간동안 3.6으로 감소하였고, 배양 72시간이 지난 후 생성된 lactic acid와 acetic acid의 농도는 각각 588.7 mM과 255.5 mM이었다. 식중독 원인균인 *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. enteritidis*에 대하여 20배로 농축된 YK-9 배양 상등액에 처리하여 항균력을 조사하였으며, 실험에 사용된 6가지 식중독 원인세균 모두에 대한 항균 효과가 있는 것이 관찰되었고, 이는 유기산 생성에 기인하는 것으로 나타났다.

접수 : 2009년 2월 18일, 게재승인 : 2009년 5월 13일

REFERENCES

1. Oldfield, E. C. (2001), Emerging foodborne pathogens: keeping your patients and your families safe. *Rev. Gastroenterol. Disorders.* 1, 177-186.
2. Jung, H. J., and S. H. Park, H. A. Seo, Y. J. Kim, J. I. Cho, S. S. Park, D. S. Song, and K. S. Kim (2005), Differentiation of four major gram-negative foodborne pathogenic bacterial genera by using ERIC-PCR genomic fingerprinting. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37, 1005-1011.
3. Ahn, S. C., T. K. Kim, H. J. Lee, Y. J. Oh, J. S. Lee, D. O. Kang, W. K. Oh, T. I. Mheen, and J. S. Ahn (2001), Fermentation patterns of leek kimchi and chinese cabbage kimchi. *Kor. J. Microbiol.* 37, 234-238.
4. 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. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 20, 102-109.
5. Aly, S., A. T. Cheik, H. N. Imael, and S. Alfred (2004), Antibacterial activities of lactic acid bacteria strains isolated from burkina faso fermented milk. *J. Nutri.* 3, 174-179.
6. Baek, Y. J. and H. S. Bae (1988), Growth inhibition

- of enteropathogenic *Escherichia coli* A₂ and *Escherichia coli* G₇ by the organic acid producing bacteria. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **16**, 111-118.
7. 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. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 700-706.
 8. Johansson, M. L., G. Molin, B. Jeppsson, S. Nobaek, S. Ahrne, and S. Bengmark (1993), Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: *in vivo* colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 15-20.
 9. Bae, S. S. and C. Ahn (1997), Antibiosis and bacteriocin production of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *J. Food Sci. Nutr.* **2**, 109-120.
 10. Vrese, M., P. Winkler, P. Rautenberg, T. Harder, C. Noah, C. Laue, S. Ott, J. Hampe, S. Schreiber, K. Heller, J. Schrezenmeir (2006), Probiotics bacteria reduced duration and severity but not the incidence of common cold episodes in a double blind, randomized, controlled trial. *Vaccine* **24**, 6670-6674.
 11. Chon, H. S., B. R. Choi, G. J. Jeong, and I. P. Mo (2008), Evaluation system for an experimental study of low pathogenic avian influenza virus (H9N2) infection in specific pathogen free chickens using lactic acid bacteria, *Lactobacillus plantarum* KFCC11389P. *Avian Pathol.* **37**, 593-597.
 12. Jang, S. Y. and Y. J. Jeong (2005), Effect of chitosan-liquid calcium addition on the quality of Kimchi during fermentation. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 715-720.
 13. Ahn, D. K., T. W. Han, H. Y. Shin, I. N. Jin, and S. Y. Ghim (2003), Diversity and antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31**, 191-196.
 14. Krueger, W. B. and B. J. Kolodziej (1986), Laboratory Procedures for General Microbiology, p59, Kendall / Hunt Publishing Company.
 15. Cho, Y. S., N. S. Schiller, and K. H. Oh (2007), Cellular responses and proteomic analysis of *Escherichia coli* exposed to green tea polyphenols. *Curr. Microbiol.* **53**, 501-506.
 16. Chun, J. W., C. W. Ma, and K. H. Oh (2005), Physiological characterization of *Lactobacillus* sp. JK-8 isolated from shrimp aquaculture pond. *Kor. J. Microbiol.* **41**, 18-23.
 17. Schillinger, U. and F. K. Lucke (1989), Antibacterial activity of *Lactobacillus* sake isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 1901-1906.
 18. Sameshima, T., C. Magome, K. Takeshita, K. Arihara, M. Itoh, and Y. Kondo (1998), Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. *J. Food Microbiol.* **41**, 1-7.
 19. Shen, Y., Y. Liu, Y. Zhang, J. Cripe, W. Conway, J. Meng, G. Hall, and A. A. Bhanwat (2006), Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from ready-to-eat foods in Florida. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 5073-5076.
 20. Teuber, M. (1999), Spread of antibiotic resistance with food-borne pathogens. *Cell. Molecul. Life Sci.* **56**, 755-763.
 21. Andersson, A., U. Ronner, P. E. Granum (1995), What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? *Int. J. Food. Microbiol.* **28**, 145-155.
 22. Wilson, A. R., D. Sigee, and H. A. S. Epton (2005), Anti-bacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strain SK1 against *Listeria monocytogenes* is due to lactic acid production. *J. Appl. Microbiol.* **99**, 1516-1522.
 23. Ma, C. W., Y. S. Cho, and K. H. Oh (2009), Removal of pathogenic bacteria and nitrogens by *Lactobacillus* spp. JK-8 and JK-11. *Aquaculture* **287**, 266-270.
 24. Herich, R. and M. Levkut (2002), Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Vet. Med.* **47**, 169-180.