

## 알코올 내성 젖산균 *Pediococcus acidilactici* K3와 S1의 분리 및 생리적 특성

장단비<sup>1</sup>, 박슬기<sup>1</sup>, 이현주<sup>1</sup>, 표상은<sup>1</sup>, 이한승<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>신라대학교 의생명과학대학 바이오식품소재학과

<sup>2</sup>신라대학교 막걸리세계화연구소

Received: August 8, 2013 / Revised: September 25, 2013 / Accepted: October 25, 2013

**Isolation of the Alcohol-Tolerant Lactic Acid Bacteria *Pediococcus acidilactici* K3 and S1 and their Physiological Characterization.** Jang, Danbie<sup>1</sup>, Seulki Park<sup>1</sup>, Hyunjoon Lee<sup>1</sup>, Sangeun Pyo<sup>1</sup>, and Han-Seung Lee<sup>1,2\*</sup>. <sup>1</sup>Department of Bio-Food Materials, College of Medical and Life Sciences, Silla University, Busan 617-736, Korea, <sup>2</sup>Makgeolli Globalization Research Center, Silla University, Busan 617-736, Korea

Lactic acid bacteria (LAB) are a representative group of probiotics and used in many fermented foods and beverages. Several recent studies have shown that LAB are present in *makgeolli* which is a traditional Korean alcoholic beverage. However, most LAB are intolerant of more than 6% (v/v) alcohol concentrations. For this reason, alcohol-tolerant LAB are isolated from *kimchi*, *makgeolli* and *nuruk* using alcohol containing selective media. After being cultured in MRS broth containing 13% (v/v) alcohol, the two strains which showed the highest increasing O.D values, were finally selected. As results of 16S rRNA gene sequencing and biochemical characterization using an API kit, the two species were identified as *Pediococcus acidilactici* K3 and S1. In addition, the identified two strains produced bacteriocins against *Staphylococcus aureus*. When compared with the *P. acidilactici* type strain, the two selected strains possessed two to three time higher growth on 12-13% (v/v) alcohol containing MRS broth. The viability of *P. acidilactici* K3 and S1 when inoculated in *makgeolli* and stored at 10°C did not decrease through a period of one month indicating that the selected strains can be used for LAB containing *makgeolli*.

**Keywords:** Alcohol-tolerant, lactic acid bacteria, *Pediococcus acidilactici*, makgeolli

### 서 론

젖산균(lactic acid bacteria, LAB)은 탄수화물을 혐기적으로 대사하여 젖산을 생성하는 세균으로서 장내 유해 세균의 증식을 억제하고 면역력을 강화하며 배변을 편하게 해주는 등 프로바이오틱스(probiotics) 역할을 한다[8, 14]. 젖산균을 함유한 식품으로는 발효 유제품, 김치로 대표되는 침채류, 그리고 다양한 것갈류 등이 알려져 왔으나 최근에는 발효주인 막걸리에도 다량으로 존재한다는 보고[18, 19]가 잇따르면서 막걸리를 통한 젖산균의 섭취에 관심이 높아지고 있다. 막걸리는 한국의 전통 발효주로서 다른 주류와는 달리 발효 미

생물을 제거하지 않고 그대로 섭취하기 때문에 상당량의 단백질과 식이섬유 및 당질이 함유되어 있고 소량의 비타민과 유기산 및 생리활성 물질이 포함되어 있어 영양과 기능면에서 가치가 높다[20].

전통적인 막걸리 발효는 곰팡이, 효모, 세균 등을 자연적으로 생육시킨 누룩을 사용하여 당화와 알코올 발효를 함께 진행하는 병행발효 과정이기 때문에 발효에 관여하는 미생물들의 정확한 계수와 특징이 어렵고 동일한 품질을 얻기가 쉽지 않다. 와인과 마찬가지로[17] 막걸리 속의 젖산균은 저장 작용 등 probiotics로서는 유익하지만 발효 안정성에는 악영향을 주는 양면성을 갖고 있다. 막걸리 발효 시 젖산균의 생육이 지나치면 산도가 높아지고 신맛을 부여하게 되므로 막걸리 발효에서 지나친 젖산균의 증식은 막걸리의 품질에 악영향을 주는 주요 요인 중 하나로 추정된다[16].

막걸리 발효 후, 희석하기 전 발효 원주의 최종 알코올 농

#### \*Corresponding author

Tel: +82-51-999-6308, Fax: +82-51-999-5458

E-mail: hanslee@silla.ac.kr

© 2013, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

도는 12%(이하 모두 v/v) 이상이다. 그런데 일반적인 젖산균들은 알코올 농도 5% 이상에서 생육하기 어렵기 때문에 전통 누룩을 사용하여 막걸리를 담그는 경우에 발효가 진행되면서 알코올 농도가 10%를 넘어서면 젖산균이 빠르게 감소하게 된다[3, 18]. 게다가 시판되는 대부분의 막걸리는 누룩 대신 고두밥에 백국균을 접종하여 당화하는 입국 방식을 사용하고 있다[13]. 입국을 통해 당화용 곰팡이와 효모만을 이용해서 발효하는 방법은 발효공정을 제어하고 부발효나 이상발효가 일어나지 않도록 조절하는 데는 용이하지만, 막걸리 속의 젖산균 수는 상대적으로 적으며 젖산균에 의한 저장작용 및 다른 효과를 기대하기 어렵다.

따라서 젖산균이 풍부히 함유된 막걸리를 개발하기 위해서는 알코올에 내성을 가진 젖산균주를 탐색, 분리하여 누룩에 첨가하여 발효하는 방식(선첨가)과 일부 효모 첨가 맥주와 같은 방식으로 막걸리 발효 후에 젖산균을 첨가하는 방식(후첨가)을 고려해 볼 수 있는데 이를 위해서는 알코올에 내성을 가진 젖산균을 필요로 한다. 따라서 본 연구에서는 막걸리 원주 발효 농도 이상에서 알코올 내성을 가진 젖산균을 분리, 동정한 후 그 생리적 특성을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 알코올 내성 젖산균주의 1차 스크리닝

알코올 내성 젖산균을 탐색하기 위하여 현재 판매중인 생막걸리, 누룩, 김치, 및 젖산균 발효유 등에서 젖산균의 분리를 실시하였다. 젖산균의 분리 및 확인은 식품공전상의 젖산균 분리 배지인 bromocresol purple (BCP)배지를 사용하였으며, 각 샘플을 연속희석법으로 희석하여 도말 한 후 1시간 배양하여 황색을 띠는 젖산균을 분리하였다.

### 알코올 함유 배지에서의 성장 실험

분리해낸 젖산균주를 알코올(에탄올)이 0%, 10%, 15%가 함유된 MRS 액체 배지에 접종하여 배양하였다. MRS배지는 알코올 농도에 따라 들어가는 알코올 부피를 제외한 만큼 만들어 가압멸균 후 냉각하고 알코올을 첨가하여 혼합한 후 제조하였다. 이렇게 제조한 알코올을 포함한 MRS 배지 10 ml에 seed culture를 1% 접종하여 배양하였다. 배양조건은 37°C에서 150 rpm으로 24시간 진탕 배양한 후 OD<sub>600</sub> 값이 증가하는 균주를 탐색하였다. O.D<sub>600</sub> 값은 24시간 배양한 후 spectrophotometer를 이용하여 600 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

### 선별 균주의 분자생물학 및 생화학적 동정

10%와 15% 알코올이 함유된 배지에서 O.D<sub>600</sub> 값이 증가한 균주 5종을 선별하여 MRS broth에 다시 접종하여 배양

한 후 RBC Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience Co., Taiwan)을 이용하여 Genomic DNA를 추출한 후 이를 template로 균주 동정을 위한 PCR을 수행하였다. PCR은 세균의 27F primer와 1492R primer를 이용하여 16S rRNA 유전자를 증폭하였고 증폭된 DNA의 염기서열은 (주)코스모진텍(Daejeon, Korea)에 의뢰하며 수행하였고 그 결과를 BLAST 프로그램을 이용하여 분석하였다. 또한 선별된 균주의 생화학적 동정을 위하여 젖산균 동정용 Kit인 API 50 CHL Medium (bioMerieux, France)을 사용하여 탄수화물의 발효 여부 및 대사를 비교 분석하였다.

### 알코올 내성 비교

최종 선별한 알코올 내성 젖산균 2종의 알코올 내성 정도를 표준 균주인 *Pediococcus acidilactici* DSM 20284 균주와 비교 실험을 진행하였다. 에탄올이 0%, 6%, 12% 함유된 MRS 액체 배지에서 각각의 균주를 일주일간 배양하며 24시간에 한번씩 시료 채취한 후, 연속희석법으로 희석하고 도말하여 균주수를 측정하였다.

### Bacteriocin Assay

Bacteriocin 생산능력을 확인 하기 위해 well diffusion assay를 수행하였다. Nutrient agar 배지에 식중독균의 하나인 *Staphylococcus aureus*를 1% 접종하여 균한 다음, 멸균한 tip으로 구멍을 낸 후 본 실험을 통해 선별한 알코올 내성 젖산균 2종과 *Pediococcus acidilactici* DSM 20284 배양상등액을 주입하고, 대조군으로는 MRS 배지를 주입한 후 상온에서 2시간 정도 방치하여 상등액이 확산되게 한 후 배양하여 저해 환의 크기를 측정하였다.

### 막걸리의 저장 기간 중 젖산균의 안정성

시중에서 구입한 살균막걸리에 선별된 젖산균주 *P. acidilactici* K3와 S1을 정균 작용이 가능한 수준인  $5 \times 10^6$  CFU/ml로 접종한 후에 냉장고 저장 온도(4°C), 법적 냉장 유통 온도(10°C), 그리고 상온(25°C)에 30일간 보존하면서 샘플링을 한 후 연속희석 후 BCP 배지에서 황색 콜로니를 나타내는 젖산균 수를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 알코올 내성 젖산균주의 스크리닝 및 선별

다양한 종류의 김치, 시판 중인 누룩 4종과 생막걸리 5종으로부터 젖산균 선택 배지인 BCP 배지를 이용하여 황색 콜로니를 생성하는 총 56종의 젖산균을 순수 분리하였다. 순수 분리한 총 56종의 젖산균을 10%와 15% 알코올이 함유된 MRS 배지에 접종한 후 생육시킨 결과, 대부분의 젖산균

은 600 nm에서 흡광도(OD<sub>600</sub>)가 증가하지 않았으나 OD<sub>600</sub>가 가장 많이 증가한 5종(N3-2-2, S1, SN3, K3, K5)을 1차로 선별하였다. 1차 선별된 5 균주를 10% 알코올이 함유된 MRS 배지와 일반적 마걸리 제성 전 발효 원주의 최종 알코올 농도인 13% 알코올이 함유된 MRS 배지에서 48시간 동안 생육시키면서 생육 정도를 측정 한 결과, K3와 S1 균주가 가장 높은 알코올 내성을 가진 것으로 확인하였다(Fig. 1).

선별 균주의 분자생물학 및 생화학적 동정

1차 선별된 젖산균주 5종 중 알코올 내성이 가장 뛰어난 두 균주(K3와 S1)의 16S rRNA 유전자를 PCR로 증폭하여 염기서열을 분석한 결과 모두 *Pediococcus acidilactici* 종과 99% identity를 나타내었고(Fig. 2) 다른 3종(N3-2-2, SN3, K3)도 *Pediococcus* 속 세균과 가장 유사한 것으로 확인되었다. 본 실험에서 1차 선별된 5종의 알코올 내성 젖산균주들

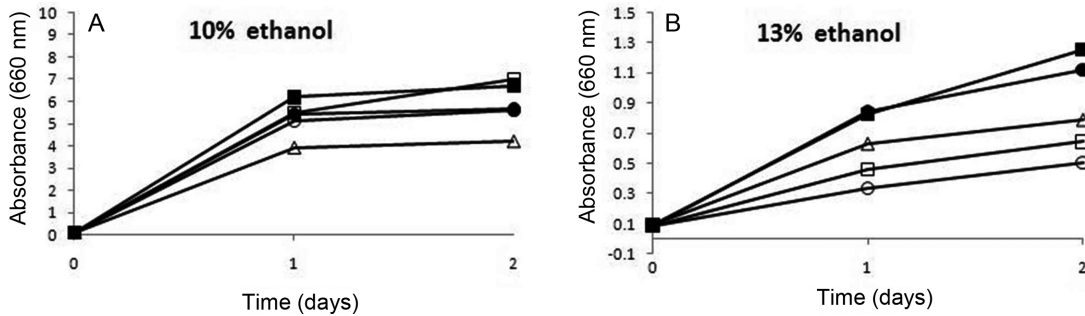


Fig. 1. Growth of selected five lactic acid bacteria on MRS broth containing 10% (A) and 13% ethanol (B). Five strains were designated as followings: N3-2-2, open square □; S1, closed circle ●; SN3, open circle ○; K3, closed square ■; K5, open triangle △.

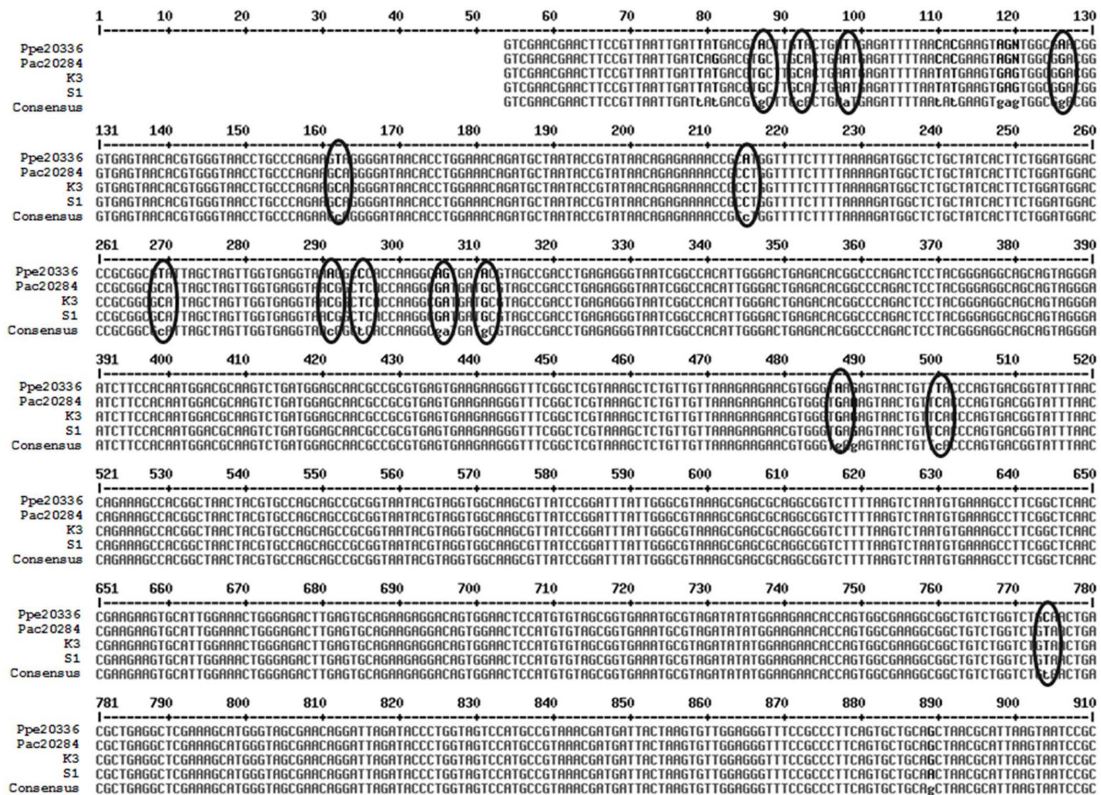


Fig. 2. Multiple alignment of partial 16S rRNA gene sequences of *Pediococcus acidilactici* DSM 20284 (Pac20284), K3, S1, and *Pediococcus pentosaceus* DSM 20336 (Ppe20336). Open ovals designated the differences from *P. acidilactici* and *P. pentosaceus*.

Table 1. Biochemical properties of *Pediococcus acidilactici* DSM 20284 (Pa), S1, and K3.

Tube	Test	Active ingredients	Pa	S1	K3
0	CTRL	CONTROL	+	+	+
1	GLY	GLYcerol	-	-	-
2	ERY	ERYthritol	-	-	-
3	DARA	D-ARAbinose	-	-	-
4	LARA	L-ARAbinose	+	+	+
5	RIB	D-RIBose	+	+	+
6	DZYL	D-XYLose	+	+	+
7	LXYL	L-XYLose	-	-	-
8	ADO	D-ADOnitol	-	-	-
9	MDX	Methyl- $\beta$ D-Xylopyranoside	-	-	-
10	GAL	D-GALactose	+	+	+
11	GLU	D-GLUcose	+	+	+
12	FRU	D-FRUctose	+	+	+
13	MNE	D-MaNosE	+	+	+
14	SBE	L-SorBosE	-	-	-
15	RHA	L-RHAMnose	$\Delta$	$\Delta$	-
16	DUL	DULcitol	-	-	-
17	INO	INOsitol	-	-	-
18	MAN	D-MANnitol	-	-	-
19	SOR	D-SORbitol	-	-	-
20	MDM	Methyl- $\alpha$ D-Mannopyranoside	-	-	-
21	MDG	Methyl- $\alpha$ D-Glucopyranoside	-	-	-
22	NAG	N-AcetylGlucosamine	+	+	+
23	AMY	AMYgdalin	$\Delta$	$\Delta$	$\Delta$
24	ARB	ARButin	+	+	+
25	ESC	Esculin ferric citrate	+	+	+
26	SAL	SALicin	+	+	+
27	CEL	D-CELLobiose	+	+	+
28	MAL	D-MALtose	+	+	+
29	LAC	D-LACtose(bovine origin)	$\Delta$	-	-
30	MEL	D-MELibiose	-	-	-
31	SAC	D-SACcharose(sucrose)	-	-	-
32	TRE	D-TREhalose	+	+	+
33	INU	INUlin	-	-	-
34	MLZ	D-MeleZitose	-	-	-
35	RAF	D-RAFfinose	-	-	-
36	AMD	AmiDon(starch)	-	-	-
37	GLYG	GLYcoGen	-	-	-
38	XLT	XyLiToI	-	-	-
39	GEN	GENTIobiose	$\Delta$	$\Delta$	$\Delta$
40	TUR	D-TURanose	-	-	-
41	LYX	D-LYXose	-	-	-
42	TAG	D-TAGatose	+	+	+
43	DFUC	D-FUCose	-	-	-
44	LFUC	L-FUCose	-	-	-
45	DARL	D-ARabitoL	-	-	-
46	LARL	L-ARabitoL	-	-	-
47	GNT	potassium GlucoNaTe	$\Delta$	$\Delta$	-
48	2KG	potassium 2-KetoGluconate	-	-	-
49	5KG	potassium 5-KetoGluconate	-	-	-

Each symbol designated in the following meaning: +, fully growth; -, not growth;  $\Delta$ , slightly growth.

은 모두 생막걸리와 시판 누룩에서 분리되었는데, 기존에 막걸리로부터 분리된 대부분의 젖산균은 *Lactobacillus* 속 속하는 젖산균이었으나[7, 9] 최근 권 등[11, 12]이 DGGE 분석을 통해 보고한 바에 따르면 *Pediococcus* 속의 젖산균도 누룩과 막걸리에 상당수 함유되어 있는 것으로 알려지기 시작했으며, 최근 누룩과 막걸리에서도 *Pediococcus* 속 세균들이 보고되고 있으나[6, 21, 22] 알코올 내성에 대한 연구는 전혀 없는 실정이다.

13% 알코올 농도에서 최고의 생육을 보인 두 균주(K3와 S1)와 *P. acidilactici* DSM 20284 표준 균주를 API 50 CHL Medium kit를 이용하여 생화학적 동정을 수행한 결과 (Table 1), 세 균주 모두 *Pediococcus pentosaceus*와 가장 유사한 결과(99%)를 나타내었다. 일반적으로 균주의 탄소원 이용 가능성을 보는 생화학적 테스트는 정확한 동정에 한계가 있으며 변종의 경우에는 차이를 보일 수 있고 *P. pentosaceus*와 *P. acidilactici*는 계통적으로 가까운 균이므로[10] 선별한 두 균주(K3와 S1)의 16S rRNA 유전자 염기서열을 *P. acidilactici* DSM 20284와 *P. pentosaceus* DSM 20336 표준균주의 16S rRNA 유전자 염기서열과 비교하였다. 그 결과(Fig. 2), 선별한 두 균주의 서열이 모두 *P. acidilactici*에 더 가까운 것을 확인되었고 선별한 두 균주를 각각 *P. acidilactici* K3와 *P. acidilactici* S1으로 명명하였다.

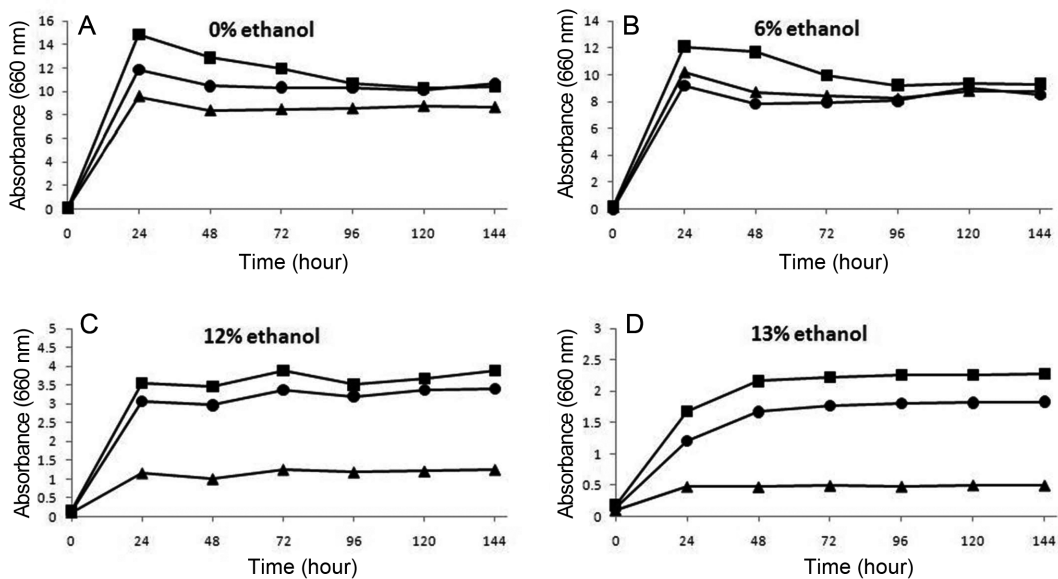
**기존 균주와 선별 균주의 알코올 내성 비교**

본 연구를 통해 선별한 *P. acidilactici* K3와 S1이 기존의 표준 균주 *P. acidilactici* DSM 20284 (KCTC 13734)보다

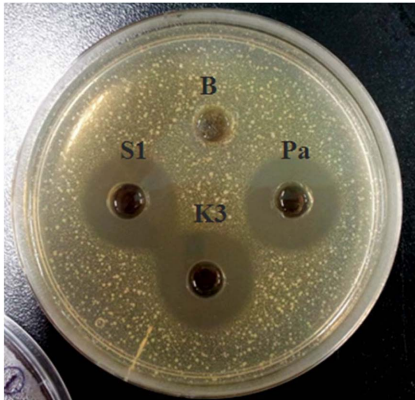
알코올 내성이 뛰어난지 확인하기 위하여 서로 다른 4가지 알코올 농도(0%, 6%, 12%, 13%)의 알코올이 함유된 MRS배지에 접종하여 1주일 동안 생육 정도를 비교하였다. 그 결과(Fig. 3), 저농도 알코올에서는 생육에 큰 차이를 보이지 않았으나 본 연구를 통해 선별된 두 균주 모두 초기 생육 속도가 뛰어났으며 알코올 농도가 높아 질수록 선별된 두 균주가 표준 균주보다 더 잘 생육하였다. 특히 13% 알코올이 포함된 MRS 배지에서는 K3 균주가 표준 균주보다 최대 3배 이상의 생육을 보임으로서 본 연구에서 선별된 *P. acidilactici* K3의 알코올 내성이 가장 뛰어남을 확인하였다. 현재까지 젖산균의 알코올 내성에 대한 연구는 거의 없으나 젖산균 중에서 알코올 내성이 가장 뛰어난 것으로 알려진 균주는 *Oenococcus oeni* 인데 역시 13% 알코올 농도에서 생존이 가능하며 malolactic acid 발효를 통해 와인의 품질에 영향을 주는 것으로 알려져 있다[5].

**선별한 알코올 내성 균주의 Bacteriocin 생산 여부 확인**

*P. acidilactici*는 장에서 집락 형성(colonization)이 가능한 probiotics로 알려져 있으며[4, 23] 박테리오신의 일종인 pediocin을 생성한다는 보고가 있다[1, 2]. *Pediococcus* 속 젖산균이 생산하는 bacteriocin은 천연보존료 등 여러 분야에서 주목을 받고 있고[15] 발효시 잡균 번식을 억제하는 등의 유의한 역할을 기대하고 있기 때문에, 본 실험에서 선별한 알코올 내성 균주들도 bacteriocin을 생산하는지 확인하였다. 대표적인 식중독균인 *S. aureus*를 대상으로 bacteriocin assay를 수행한 결과, K3와 S1 두 균주 모두 bacteriocin을



**Fig. 3. Comparison of alcohol-tolerance of *Pediococcus acidilactici* DSM 20284 (▲), K3 (■), and S1 (●) according to various ethanol concentration (A, 0%; B, 6%; C, 12%; D, 13% v/v).**



**Fig. 4. Bacteriocin production by well diffusion assay with *Staphylococcus aureus*. B stands for MRS Broth as a negative control and each well contains culture broth of K3, S1, and DSM 20284 (Pa).**

생성하여 *S. aureus*의 생육을 저해하였음을 확인하였다(Fig. 4). 따라서 두 균주 모두 probiotics로서의 기능성 뿐만 아니라 발효 식품에 응용할 때 유해균 저해 효과도 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

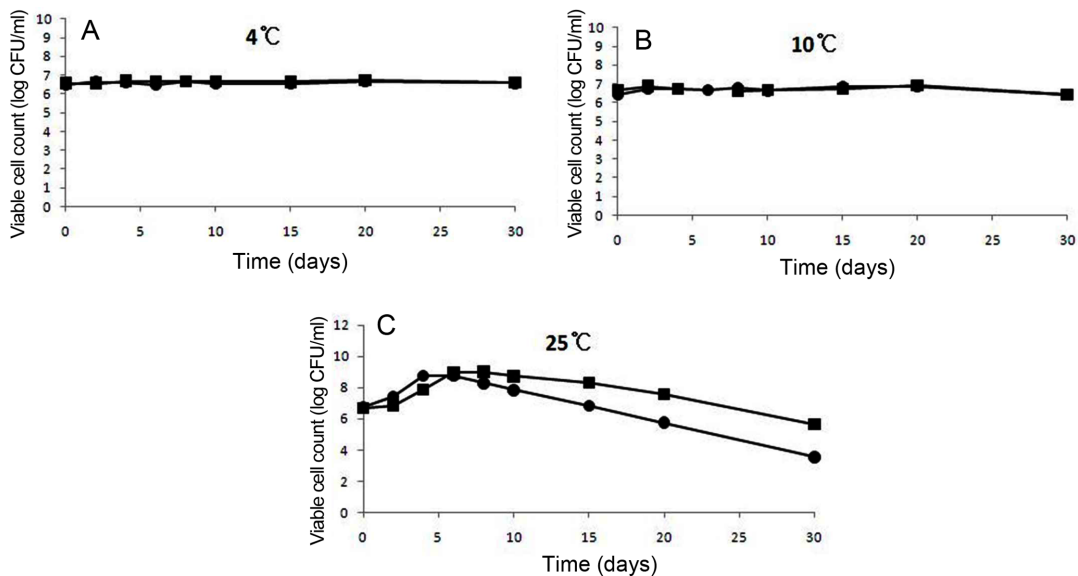
#### 젖산균을 첨가한 막걸리의 저장 기간 중 젖산균의 안정성

알코올 내성 젖산균이 막걸리에서 안정하게 유지되는지 확인하기 위하여 저온 살균 막걸리에 선별된 젖산균주 *P. acidilactici* K3와 S1를 접종한 후 냉장고 저장 온도(4°C), 법적 냉장 유통 온도(10°C), 그리고 상온(25°C)에 한달 간 보존하면서 젖산균 수를 측정된 결과, 4°C와 10°C에서는 30일까

지 초기 접종한 균 수를 일정하게 유지하였고 막걸리 변패 온도인 상온에서는 젖산균이 초기에 급격히 생육하다가 후기에 감소하는 패턴을 보였다(Fig. 5). 이 결과는 본 연구를 통해 선별된 젖산균을 후첨가하여 막걸리를 제조하는 것이 가능함을 시사하며, 향후 이러한 젖산균 후첨가가 막걸리의 품질에 어떠한 영향을 주는지에 대한 연구가 필요하다.

#### 요 약

김치, 막걸리 및 시판되는 누룩으로부터 젖산균을 분리한 후 다양한 농도의 알코올을 함유한 MRS 배지에서 배양하여 생육 여부를 조사하였다. 알코올이 13%(v/v) 포함된 MRS 배지에서 OD<sub>600</sub> 값이 가장 높게 증가한 젖산균 2종을 최종 선별하였고 이 두 균주의 16S rRNA 유전자 염기서열분석 및 API kit를 이용한 생화학적 동정을 실시한 결과 두 종 모두 *P. acidilactici*에 가까운 종인 것을 확인하여 *P. acidilactici* K3와 *P. acidilactici* S1으로 명명하였다. 선별한 *P. acidilactici* K3와 S1의 bacteriocin 생성 여부를 확인한 결과 식중독균인 *S. aureus*의 생육 저해를 일으키는 bacteriocin 생성 능력이 있음을 확인하였다. 선별한 두 균주와 표준 균주(*P. acidilactici* DSM 20284)의 알코올 내성을 비교한 결과 6% 이하의 저농도 알코올이 포함된 배지에서는 균주 생육에 큰 차이가 없었으나 12% 이상의 알코올이 포함된 배지에서는 표준 균주보다 최대 3배 이상 알코올 내성이 뛰어난 것을 확인하였다. 알코올 내성 균주 *P. acidilactici* K3와 S1을 살균 막걸리에 첨가한 후 냉장 온도(4°C와 10°C)에서 저장하며 생균수를 측정된 결과 사멸하지 않고 한 달 간 생균수가 유지



**Fig. 5. Cell viability of *Pediococcus acidilactici* K3 (■) and S1 (●) for 30 days on different temperatures (A, 4°C; B, 10°C; C, 25°C) after adding to pasteurized makgeolli.**

됨을 확인하였다.

## Acknowledgments

This work (Grant # 00041254) was supported by Business for Cooperative R&D between Industry, Academy, and Research Institute funded Korea Small and Medium Business Administration in 2010.

## References

- Albano H, Todorov SD, van Reenen CA, Hogg T, Dicks LMT, Teixeira P. 2007. Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from "alheira", a fermented sausage traditionally produced in Portugal. *Int. J. Food Microbiol.* **116**: 239-247.
- Altuntas EG, Cosansu S, Ayhan K. 2010. Some growth parameters and antimicrobial activity of a bacteriocin-producing strain *Pediococcus acidilactici* 13. *Int. J. Food Microbiol.* **141**: 28-31.
- Bae K, Shin KS, Ryu H, Kwon C, Sohn H. 2007. Identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria isolated from the fermentation broth of Korean traditional liquor, andong-soju. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 310-315.
- Borges S, Barbosa J, Silva J, Teixeira P. 2013. Evaluation of characteristics of *Pediococcus* spp. to be used as a vaginal probiotic. *J. Appl. Microbiol.* **115**: 527-538.
- G-Alegria E, Lopez I, Ruiz JI, Saenz J, Fernandez E, Zarazaga M, et al. 2004. High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. *FEMS Microbiol. Lett.* **230**: 53-61.
- Jeon MJ, Jang MK, Lee SJ, Park SH, Kim M, Sohn JH, et al. 2013. Variations of properties and microbial community during fermentation of makgeolli by isolated yeasts from traditional makgeolli. *J. Life Sci.* **23**: 796-803.
- Jin J, Kim S, Jin Q, Eom H, Han N. 2008. Diversity analysis of lactic acid bacteria in takju, Korean rice wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 1678-1682.
- Khani S, Hosseini HM, Taheri M, Nourani MR, Imani Fooladi AA. 2012. Probiotics as an alternative strategy for prevention and treatment of human diseases: A review. *Inflamm. Allergy Drug Targets* **11**: 79-89.
- Kim S, Yoo K, Kim J, Kim J, Jung J, Jin Q, et al. 2010. Diversity analysis of lactic acid bacteria in Korean rice wines by culture-independent method using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Sci. Biotechnol.* **19**: 749-755.
- Kiran F, Onlu H, Acar SI, Mokrani M, Maden BH, Osmanagaoğlu O. 2012. Differentiation of *Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus* strains by multiplex-PCR method. *New Biotechnol.* **29**: S204.
- Kwon SJ, Sohn JH. 2012. Analysis of microbial diversity in nuruk using PCR-DGGE. *J. Life Sci.* **22**: 110-116.
- Kwon SJ, Ahn TY, Sohn JH. 2012. Analysis of microbial diversity in makgeolli fermentation using PCR-DGGE. *J. Life Sci.* **22**: 232-238.
- Kwon Y, Lee A, Kim H, Kim J, Ahn B. 2013. Quality properties of makgeolli brewed with various rice and koji. *Korean J. Food Sci. Technol.* **45**: 70-76.
- Masood MI, Qadir MI, Shirazi JH, Khan IU. 2011. Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. *Crit. Rev. Microbiol.* **37**: 91-98.
- Parente E, Ricciardi A. 1999. Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **52**: 628-638.
- Park S, Lee S, Jin H. 2012. Isolation and identification of acid-forming bacteria from a fresh wheat makgeolli in Jeonju. *Korean J. Food Nutrition* **25**: 951-956.
- Petri A, Pfannebecker J, Frohlich J, König H. 2013. Fast identification of wine related lactic acid bacteria by multiplex PCR. *Food Microbiol.* **33**: 48-54.
- Seo M, Lee J, Ahn BH, Cha SK. 2005. The changes of microflora during the fermentation of takju and yakju. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**: 61-66.
- Seo D, Jung J, Kim H, Kim Y, Ha S, Kim Y, et al. 2007. Identification of lactic acid bacteria involved in traditional Korean rice wine fermentation. *Food Sci. Biotechnol.* **16**: 994-998.
- Shin M, Kim M, Bae S. 2010. The effect of makgeolli on blood flow, serum lipid improvement and inhibition of ACE *in vitro*. *J. Life Sci.* **20**: 710-716.
- Song SH, Lee C, Lee S, Park JM, Lee HJ, Bai DH, et al. 2013. Analysis of microflora profile in Korean traditional nuruk. *J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 40-46.
- Song YR, Jeong DY, Cha YS, Baik SH. 2013. Exopolysaccharide produced by *Pediococcus acidilactici* M76 isolated from the Korean traditional rice wine, makgeolli. *J. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 681-688.
- Standen BT, Rawling MD, Davies SJ, Castex M, Foey A, Giocacchini G, et al. 2013. Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localised intestinal- and peripheral-immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunol.* **35**: 1097-1104.