

## 실시간 정량 PCR을 통한 김치 유래 *Weissella* spp.에 의한 *Listeria monocytogenes* 생육 억제

이영덕<sup>1</sup> · 김대용<sup>2</sup> · 박종현<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>서원대학교 식품공학과, <sup>2</sup>서원대학교 제약공학과, <sup>3</sup>가천대학교 식품생물공학과

### Growth Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Weissella* spp. from Kimchi Through Real-time PCR

Young-Duck Lee<sup>1</sup>, Dae-Yong Kim<sup>2</sup>, and Jong-Hyun Park<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Engineering, Seowon University, Chungju 362-742, Korea

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Science and Engineering, Seowon University, Chungju 362-742, Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Gachon University, Seongnam 461-701, Korea

(Received November 4, 2014/Revised November 15, 2014/Accepted November 19, 2014)

**ABSTRACT** - *Weissella* spp. from traditional Korean foods of *Kimchi* were isolated and characterized against food-borne pathogenic *Listeria monocytogenes*. The isolates were identified as *W. cibaria* 0D17 and *W. confusa* 0D23 from *Kimchi* by the biochemical characteristics and 16S DNA sequencing. The culture solutions of the isolates adjusted to pH 7.0 showed *L. monocytogenes* inhibition. To analyze the quantitative detection of *L. monocytogenes*, real-time PCR was performed according to the SYBR Green I method. The isolates grew well and *L. monocytogenes* did not grow during the co-culture with those strains at 37°C. Therefore, *W. cibaria* 0D17 and *W. confusa* 0D23 might be the candidates as the functional lactic acid bacteria for improving food safety.

**Key words** : *Weissella* spp., *L. monocytogenes*, *Kimchi*, Real-time PCR, Inhibition

유산균은 과거부터 현재까지 오랜 시간 동안 식품 발효에 사용되어 왔으며, 발효 동안 생산되는 다양한 영양 물질, 향기 성분, 항균 물질 등 식품의 풍미와 제품 수명에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 그리고 probiotics로서 사람의 장내에 서식하면서 장내 균총 개선, 면역 조절 작용, 콜레스테롤 저하, 병원성 세균들의 생육 억제, 유당 불내증 개선 등의 다양한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>1,2</sup>. 또한, 최근 다양한 임상 결과를 통해 probiotics와 이것들이 생산하는 bacteriocin 등의 물질들이 다양한 질환들에 대해 예방적 효과와 치료적 효과가 있는 것으로 알려져 있다<sup>3,4</sup>.

Collins 등은 최근 다양한 유산균들 중 *Weissella* spp.를 *Leuconostoc* spp.로부터 *Leuconostoc paramesenteroides*으로 분류하였다. *Weissella* spp.는 약 14종이 알려져 있고 김치 등 다양한 발효식품으로부터 분리되고 있다<sup>5,6</sup>. 특히, 김치의 발효에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이

러한 *Weissella* spp.는 catalase 음성으로 포자를 형성하지 않는 Gram 양성 세균으로 상대적으로 적은 양의 유산을 생성하고, 포도당을 발효하여 젖산과 이산화탄소를 생성하는 이상발효를 하는 것으로 알려져 있다. *Weissella* spp.는 다른 유산균과 마찬가지로 젖산 등의 다양한 유기산 이외에 bacteriocin을 생성하여 다른 세균에 대한 항균 활성이 있는 것으로 보고되어 있다<sup>7</sup>. 대표적인 *Weissella* spp.의 bacteriocin에 대한 연구는 다른 유산균이 생성하는 bacteriocin에 비해 상대적으로 많이 진행되지 않고 있으나, 최근 weissellicin 110 등이 보고되어 있다<sup>8,9</sup>. 또한, 최근 *Weissella* spp.의 *Listeria monocytogenes* 등의 식중독 세균에 대한 항균 활성에 대한 연구가 보고되고 있다.

*L. monocytogenes*는 식중독 세균으로 우유, 쇠고기, 돼지고기, 닭고기 같은 다양한 식품으로부터 분리되었으며 이에 감염된 식품 또는 식품 원료 물질을 섭취하면 수막염, 심내막염 및 괴저성육아종을 유발하고 임산부의 경우 유산, 사산, 조산 등을 일으킬 수 있는 리스테리아증(listeriosis)이 유발될 수 있다<sup>10,11</sup>. 특히, 저온에서도 생육이 가능하여 미국과 유럽 등의 식품 제조업체에서 매우 중요한 식중독

\*Correspondence to: Jong-Hyun Park, Department of Food Science and Biotechnology, Gachon University, Seongnam 461-701, Korea  
Tel: 82-31-750-5523, Fax: 82-31-750-5501  
E-mail: p5062@gachon.ac.kr

세균으로 인식되고 있다. 국내에서도 *L. monocytogenes*에 대한 관리를 위해 농산물, 축산물, 수산물 및 식품에 오염 현황에 대한 연구와 함께 *L. monocytogenes*의 제어를 위해 고압이나 가열처리, 수분활성도 조절, 방사선 조사 등의 물리적인 방법 이외에도 여러 가지 유기산과 각종 유산균을 활용한 연구가 진행되고 있다<sup>12,13</sup>. 특히 몇몇 유산균들은 *L. monocytogenes*에 대한 항균 활성이 탁월한 것으로 알려져 있다. 하지만, 국내에서는 *Weissella* spp.를 활용해 *L. monocytogenes*의 제어에 적용한 연구는 상대적으로 미흡하다. 따라서, 본 연구에서는 김치로부터 *Weissella* spp.를 분리 및 동정하고 정량 PCR을 통해 *L. monocytogenes*의 생육 억제 효과를 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 사용 균주 및 유산균 분리

본 실험에 사용된 *L. monocytogenes* KCTC3710을 미생물자원센터에서 분양 받았으며, *Listeria* selective agar (Oxoid, UK)에서 배양한 후 BHI agar 또는 broth로 옮겨 37°C, 호기적으로 24 시간 배양하였다. 유산균의 배양은 0.05% L-cystein을 첨가하여 만든 *Lactobacilli* MRS broth 또는 MRS agar (Difco Laboratory, Detroit, MI, US)에서 37°C, 24 시간 혐기적으로 배양하였다. 김치로부터 *Weissella* spp.를 분리하기 위해 김치 제조 회사로부터 김치를 수집하였다. 이들 시료 25 g을 225 mL의 0.1% peptone water에 혼합하고, stomacher를 이용하여 균질화한 후 10진 희석을 하여 MRS agar에 도말 후 37°C에서 48~72 시간 배양하였다. 그리고 배양된 집락들 중 형태학적으로 상이한 것을 선택하여 MRS agar에 평판 희석하여 배양하여 순수 분리하였다. 그 후 분리된 유산균들을 대상으로 현미경을 통한 형태학적 특성 확인, Gram test, catalase test를 수행 후 API kit 50CHL (Biomérieux Co., France)을 이용하여 당자화성 등의 생화학적 특성 분석을 통해 *Weissella* spp.를 분리하였다.

### 16s rRNA 염기서열 분석을 통한 동정

분리된 *Weissella* spp.를 API kit 50CHL을 이용해 당자화성 특성 및 1차적으로 동정하고 최종적인 동정을 위해 16s rRNA 서열분석을 수행하였다. 서열 분석을 위해 분리된 젖산균을 MRS broth에 배양하고 배양액 1 mL을 취해 원심 분리한 후 0.8% 멸균생리식염수로 수세하였다. 그리고 genomic DNA kit를 사용하여 DNA를 추출하여 PCR을 위한 template DNA로 이용하였으며, 세균의 16s rRNA에 대한 universal primer인 F-341 (CCTACGGGAG-GCAGCAG)와 786-R (GACTACCAGGGTATCTAATC)을 사용하였다. PCR 수행 후 전기영동을 통해 450 bp의 증폭 산물을 확인하고 QIAquick PCR purification kit (QIAGEN,

Hilden, Germany)를 사용하여 정제하였다. 염기서열은 Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Biosystems, CA, USA)와 ABI 3700 sequencer (Biosystems, CA, USA)에 의해 수행하였으며, primer는 위와 동일하게 사용하였다. 16S rRNA sequence의 homologous의 분석은 National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)의 BLAST search program을 이용하여 DNA database와 비교하였다. 그리고 계통학적 분석은 Clustal X, BioEdit, MEGA 4 ([www.megasoftware.net/](http://www.megasoftware.net/))를 이용하여 염기서열간의 유전적 거리와 phylogenetic tree를 확인하였다.

### 김치유래 *Weissella* spp.의 *L. monocytogenes*에 대한 항균효과

분리된 *Weissella* spp.가 *L. monocytogenes*에 대한 항균 작용을 하는지의 활성 유무를 확인하였다. *Weissella* spp.를 20 mL의 MRS broth에 접종한 후 37°C에서 OD560에서 약 1.0까지 배양하고, 원심분리(10,000 × g, 5 min) 후 상등액을 1 N NaOH를 이용하여 pH 7.0으로 조정하고 0.22 µm Syringe filter (Millipore, Billerica, MA)를 이용하여 제균하였다. 그리고, 제균액을 *L. monocytogenes*가 도말된 배지 위에 spot on the lawn 방법으로 10 µL 분주하고 배양한 뒤 억제환을 확인하여 생육 저해효과를 확인하였다.

### *L. monocytogenes*의 실시간 정량 PCR

*L. monocytogenes*의 정량분석은 LightCycler 2.01 (Roche, Mannheim, Germany)를 사용하였으며, 이를 위해 BHI broth에서 18~24 시간 동안 배양한 *L. monocytogenes*를 *Listeria* selective agar에 단계 희석하여 도말한 후 37°C에서 18~24 시간 동안 다시 배양하였다. 배양된 균수를 바탕으로 standard plate count법을 이용하여 colony forming unit (CFU) 값을 구하였다. 구해진 CFU값을 기준으로 앞서 추출한 genomic DNA를 10진 희석하여 real-time PCR assay을 실행한 후, 각 희석 단계의 CFU값과 crossing point (Cp)값으로 표준 곡선을 작성하여 정량 분석하였다.

사용한 primer는 *L. monocytogenes*의 16s rRNA를 목적으로 하는 16s forward (GGCTAATACCGAATGATGAA)와 16s reverse (AAGCAGTACTCTTATCCT)를 사용하였다. Capillary PCR tube에 1 µL의 DNA와 10 pmol의 primer, 100 mM KCl, 40 mM Tris-HCl (pH 8.4), 0.4 mM each dNTP, 50 U/mL of iTaq DNA polymerase, 6 mM MgCl<sub>2</sub> and 20 nM SYBR Green I을 혼합한 후 실시간 정량 PCR을 수행하였다. 반응 조건은 95°C 5분 간 진행 후, 95°C 1분, 55°C 1분, 72°C 1분 세 단계를 45회 반복하여 목적 유전자를 증폭하였다. 그리고, temperature transition rate는 20°C/s였고 증폭된 DNA는 SYBR Green I의 결합으로 특유의 형광을 발하게 되어 이 형광의 발생 정도를 분석하

였다. Melting peak 분석은 16s rRNA 유전자 증폭 후 95°C 0초, 65°C 15초, 95°C 0초로 하였으며 온도변화율은 20°C/s이었고 마지막 3번째 단계만 0.1°C/s로 수행하였다.

**김치유래 *Weissella* spp.의 *L. monocytogenes*와 동시 배양에 따른 생육 억제**

분리된 *Weissella* spp.와 *L. monocytogenes*를 각각 OD560이 약 1.0 수준이 되도록 배양한 후 10 mL의 MRS broth에 약 3 log CFU/mL 수준으로 동시에 접종하고 37°C와 4°C에서 배양하였다. 그리고, 시간에 따른 생육 억제를 확인하기 위해 24 시간 후에 배양액 1 mL을 취해 DNA를 추출하여 실시간 정량 PCR을 수행하여 *L. monocytogenes*의 생육 정도를 확인하였다.

**결과 및 고찰**

김치로부터 *Weissella* spp.를 분리하기 위해 MRS agar에서 배양된 집락의 형태학적인 특성에 따라 분리한 후 Gram test, catalase test, 현미경 관찰을 통한 형태학적 특성 확인 등을 통해 유산균으로 의심되는 균을 분리하였다. 그리고 API 50 CHL kit를 이용하여 당 발효특성 등의 생화학 적 특성을 확인하고, 그 결과를 동정 프로그램을 통해 확인하였으며, 동정 결과(%)가 90% 이상인 균주 *Weissella* spp.를 분리하였다. 또한, 확인된 *Weissella* spp.를 16s rRNA 염기 서열 분석한 결과 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23으로 최종 동정되었다(Fig. 1). 최근 DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis), ARDRA법 (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis), T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism), metagenomics 분석 등의 다양한 분자생물학적 연구를 통해 김치의 유산균 층에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다<sup>14-16</sup>. 보통 김치

발효 초기와 중기에는 이상유산발효 유산균인 *L. mesenteroides* 등이 우점종으로 생육하여 김치의 적숙을 유도하다가, 발효 후기에 들어서면 내산성이 약한 *L. mesenteroides*가 감소하게 된다. 반면에 내산성이 우수한 *L. plantarum*이나 *L. brevis* 등이 급격히 증가하고 그 결과 더 많은 산이 생성되어 김치 산패를 일으킨다고 알려져 왔다. 하지만, 최근 보고되는 연구 결과들은 *Weissella* spp.가 김치 발효에 있어서 매우 중요한 역할을 할 것으로 예측하고 있다<sup>6</sup>. 하지만, *Weissella* spp.의 생육과 김치 품질에 미치는 영향에 관한 연구는 아직 미흡한 실정으로서 김치 유래 *Weissella* spp. 특성, 발효 조건, 스타터로서의 가능성, 김치 발효와 *Weissella* spp.의 대사산물과의 연관성 등에 대한 연구 결과가 보다 많이 필요할 것으로 판단된다.

본 연구를 통해 분리된 김치 유래 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23이 식중독 세균인 *L. monocytogenes*에 대한 항균 활성 유무를 확인하고자 하였다. *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23의 배양 상등액을 pH 7.0으로 조정했을 때와 그렇지 않을 경우 모두 *L. monocytogenes*에 대해 억제함을 나타내어 항균 효과가 있음을 확인하였다(data not shown). 이러한 결과는 pH를 조정하지 않았을 경우는 *Weissella* spp.가 생성하는 다양한 유기산과 항균물질 등에 의한 것으로 보이며, pH를 중성으로 조정하였을 때는 *Weissella* spp.가 형성하는 bacteriocin 등의 항균물질에 의한 것으로 사료된다. 하지만, *L. monocytogenes*를 생육을 저해하는 유기산과 bacteriocin 등의 항균 물질과의 상호 작용에 대한 추후 연구가 진행 되어야 할 것으로 판단된다. 안 등은 김치에서 분리한 *W. cibaria* JW15의 배양 상등액이 *L. monocytogenes*에 대한 항균 활성이 있다는 보고와 유사하였다<sup>17</sup>. 그리고, 분리된 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23가 각각 *L. monocytogenes*와 공동 배양 시 온도에 따른 생육 억제 효과를 SYBR Green I을 이용해

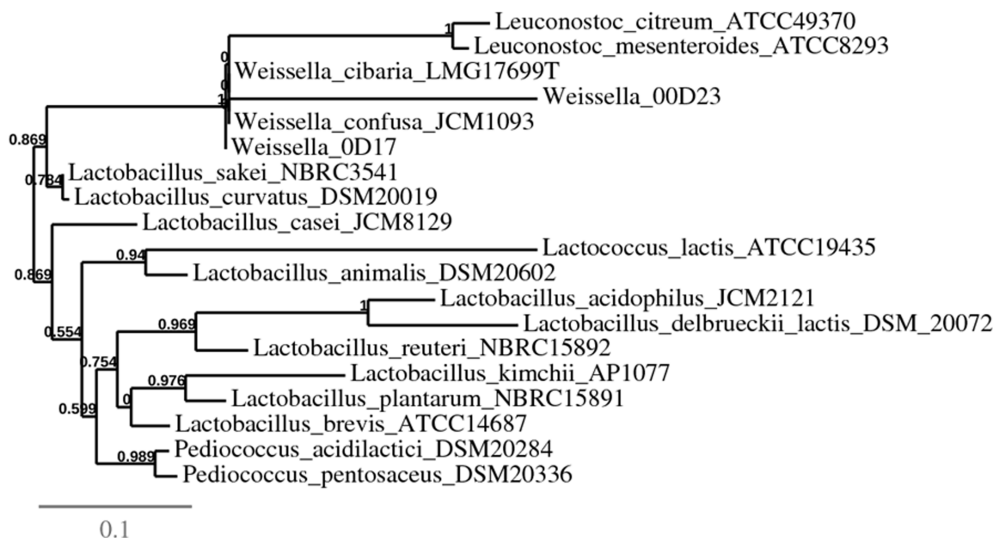
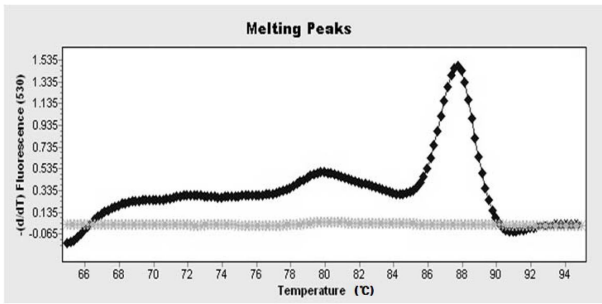
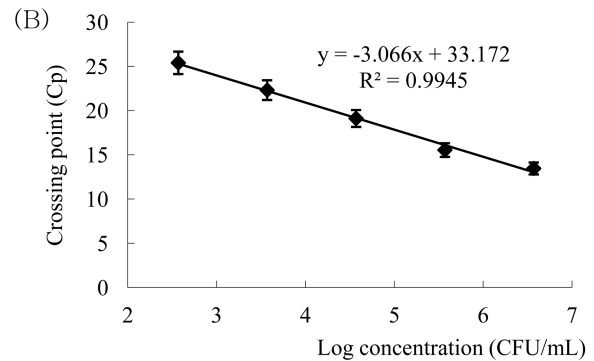
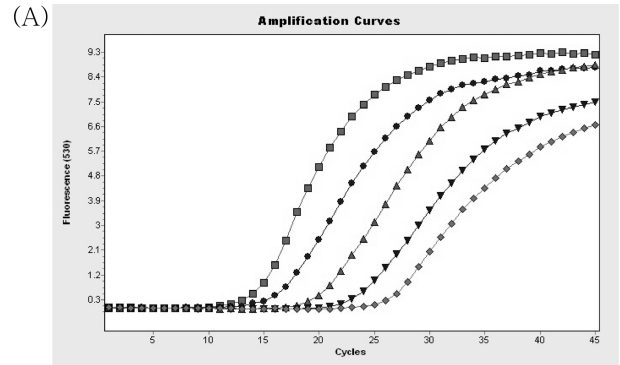


Fig. 1. Phylogenetic relation between *Weissella* spp. and other LAB based on 16s rRNA sequence.



**Fig. 2.** Specificity of real-time PCR for amplification of 16s rRNA as determined by melting peak analysis. ◆ : *L. monocytogenes*, X: *W. cibaria* 0D17, | : *W. confusa* 0D23.

실시간 정량 PCR을 통해 확인하였다. 실시간 정량 PCR은 다양한 형광 색소를 활용해 형광의 강도를 측정해 목적 유전자의 증폭을 확인하는 방법으로, 이중 SYBR Green I은 DNA 이중나선 사이로 결합되어 나타나는 형광을 측정함으로써 Cp 값과 Tm값을 알 수 있고 이를 통해 시료의 농도, 증폭여부 및 종을 확인할 수 있다<sup>18)</sup>. Cp 값은 증폭물이 나타나면서 형광이 증가하기 시작하는 점으로 주형의 농도가 많을수록 빠른 시간 내에 나타난다. Tm 값은 반응이 끝난 후 60~95°C까지 온도를 올려주게 되면 DNA의 이중나선이 단일 가닥으로 떨어지면서 SYBR Green I이 방출되는데 염기서열의 길이 및 구성에 따라 방출되는 온도가 다르다. 이 특정 온도를 이용하여 목적 유전자가 맞는지 확인할 수 있다<sup>18)</sup>. 본 연구에서도 *L. monocytogenes*의 정량 분석을 위해 melting peak를 확인한 결과 *L. monocytogenes*의 경우 Tm값이 약 87°C로 고유의 melting peak가 나타나는 반면에 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23는 확인되지 않았다. 이를 통해 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23와 공동 배양 시에 *L. monocytogene* 만을 정량적으로 분석이 가능한 것을 확인하였다(Fig. 2). 그리고, 정량 분석을 위한 표준 곡선은 배양된 *L. monocytogenes*를 약 2~6 log CFU/mL로 10진 희석하여 실시간 정량 PCR을 통해 유전자를 증폭하여 Cp 값과 농도와의 선형분석 결과, 상관계수 0.994, 기울기는 -3.006으로 나타났다(Fig. 3). 표준 곡선에 위생처리를 3반복 실험한 Cp값의 평균을 대입하여 *L. monocytogenes*의 농도를 산출하였다. 이를 통해 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23가 *L. monocytogenes*와 공동 배양 시 생육 억제 효과를 확인한 결과는 Table 1과 같다. 37°C의 경우, *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23는 *L. monocytogenes*에 대한 생육 억제 효과가 공동 배양하지 않은 때와 비교해 약 4 log CFU/mL 수준으로 확인되었다. 또한, 4°C에서는 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23 모두 *L. monocytogenes*의 생육 억제에는 효과가 크게 나타나지 않는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 *Weissella* spp.가 4°C에서는 생육이 거의 되지 않으나, 37°C에서는 왕성하게 생육하면서 유기산,



**Fig. 3.** Real-time PCR for quantitative detection of *L. monocytogenes*.

A) Amplification profiles of 10 fold serial dilution of *L. monocytogenes*. ■ : 6 log CFU/mL, ● : 5 log CFU/mL, ▲ : 4 log CFU/mL, ▼ : 3 log CFU/mL, ◆ : 2 log CFU/mL.

B) Standard curve showing correlation between Cp and log concentration.

**Table 1.** Quantitative analysis of *L. monocytogenes* co-cultured with *W. cibaria* 0D17 and *W. confusa* 0D23 after 24 h

	37°C (CFU/mL)	4°C (CFU/mL)
<i>L. monocytogenes</i>	8.71	4.08
<i>L. monocytogenes</i> cocultured with <i>W. cibaria</i> 0D17	3.85	3.90
<i>L. monocytogenes</i> cocultured with <i>W. confusa</i> 0D23	4.61	4.20

bacteriocin 등의 다양한 항균 물질을 생산할 수 있기 때문으로 보인다. 따라서, 저온성 식중독 세균인 *L. monocytogenes*의 제어를 위해서 *Weissella* spp. 또는 다른 유산균이 생산하는 bacteriocin과의 병행 처리를 통해 저온 발효에서도 효과적인 제어가 가능할 것을 판단된다. 최근 *L. monocytogenes*에 대한 위해성이 높아짐에 따라 anti-Listeria 활성이 있는 *E. faecium*, *L. sake*, *L. mesenteroides*, *P. pentosaceus* 및 *P. acidilactici* 등<sup>19-22)</sup>의 bacteriocin 등의 항균 물질과 다양한 식품 저장 조건에 대한 연구가 진행되어 왔다<sup>23-25)</sup>. 하지만, *Weissella* spp.에 의한 *L. monocytogenes*에 생육 억제에 대한 연구는 상대적으로 많이 이루어지지 않았으나, 근래에 *Weissella* spp.가 생산하는 weissellicin에

대한 분리와 항균 활성 특성에 대한 연구 결과가 보고되었 으며, *L. monocytogene*에 대한 항균효과가 있는 bacteriocin과 항균효과가 없는 bacteriocin도 있는 것으로 알려져 있다<sup>8,9)</sup>. 따라서, 추후에 김치 유래 *Weissella* spp.에 대한 항균 물질과 유기산 등의 특성 규명과 더불어 상호 작용에 관한 연구를 통해 *L. monocytogenes* 이외에 다양한 식중독 세균에 제어를 위한 생균제 또는 항균제로서 사용이 가능할 것으로 판단된다. 본 연구에서 분리된 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23가 *L. monocytogenes*와 공동 배양 시 생육 억제 효과는 이들이 생산하는 유기산 등의 항균 효과를 갖는 물질과 함께 bacteriocin에 의해 생육 억제가 있었을 것으로 판단된다. 따라서, *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23가 생성하는 weissellicin 등의 bacteriocin에 대한 특성 규명에 대한 연구가 필요할 것이며, 다양한 식품 내에서 *L. monocytogenes*와 *Weissella* spp.가 함께 존재하였을 때 각각의 생리 특성, 발효 식품의 특성 변화 등에 대한 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다. 또한, 공동 배양 시 분자 수준에서 변화를 metagenomics 분석이나 transcriptomics 분석 등을 통해 규명되어야 할 것이다.

## 요 약

본 연구에서는 김치로부터 *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23를 생화학적 특성 분석과 16s rRNA 염기서열 분석을 통해 분리, 동정하였으며, *W. cibaria* 0D17와 *W. confusa* 0D23 배양 상등액이 *L. monocytogenes*에 대한 항균 효과가 있는 것으로 나타났다. 또한, 실시간 정량 PCR을 통해 *W. cibaria* 0D17 및 *W. confusa* 0D23가 *L. monocytogenes*를 공동 배양했을 때의 생육억제 효과를 분석한 결과, 37°C에서는 생육 억제 효과가 있는 것으로 확인되었다. 따라서, 김치 유래 *Weissella* spp.가 갖는 *L. monocytogenes*에 대한 항균 활성에 대한 기초 자료로 활용가능 할 것으로 판단되며, *W. cibaria* 0D17 및 *W. confusa* 0D23가 생산하는 bacteriocin 등의 항균 물질 특성에 대한 연구가 추가적으로 진행될 필요가 있을 것이다.

## 감사의 말씀

본 논문은 농촌진흥청 연구사업 (과제번호: PJ009799)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## 참고문헌

1. Leroy, F. and De Vuyst, L.: Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* **15**, 67-78 (2004).

2. Vyas, U. and Ranganathan, N.: Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Gut and beyond. *Gastroenterol. Res. Pract.* **2012**, 1-16 (2012).
3. Jeppsson, B., Mangell, P., and Thorlacius, H.: Use of probiotics as prophylaxis for postoperative infections. *Nutri.* **3**, 604-612 (2011).
4. Wallace, T.C., Guarner, F., Madsen, K., Cabana, M.D., Gibson, G., Hentges, E., and Sanders, M.E.: Human gut microbiota and its relationship to health and disease. *Nutr. Rev.* **69**, 392-403 (2011).
5. De Bruyne, K., Camu, N., De Vuyst, L., and Vandamme, P.: *Weissella fabaria* sp. nov., from a Ghanaian cocoa fermentation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **60**, 1999-2005 (2010).
6. Collins, M.D., Samelis, J., Metaxopoulos, J., and Wallbanks, S.: Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol.* **75**, 595-603 (1993).
7. Kim, J.H., Lee, K.W., Han, N.S., Park, J.Y., and Chun, J.Y.: Importance of *Weissella* Species during Kimchi Fermentation and Future Works. *J. Microbiol. Biotechnol.* **38**, 341-348 (2010).
8. Sriornual, S., Yanagida, F., Lin, L.H., Hsiao, K.N., and Chen, Y.S.: Weissellicin 110, a newly discovered bacteriocin from *Weissella cibaria* 110, isolated from plaasom, a fermented fish product from Thailand. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 2247-50 (2007).
9. Leong, K.H., Chen, Y.S., Lin, Y.H., Pan, S.F., Yu, B., and Wu, H.C., Yanagida, F.: Weissellicin L, a novel bacteriocin from sian-sianzih-isolated *Weissella hellenica* 4-7. *J. Appl. Microbiol.* **115**, 70-76 (2013).
10. Dieterich, G., Karst, U., Fischer, E., Wehland, J. and Jansch, L.: LEGER: knowledge database and visualization tool for comparative genomics of pathogenic and non-pathogenic *Listeria* species. *Nucleic Acids Res.* **34**, D402-D406 (2006).
11. Farber, J.M. and Peterkin, P.I.: *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.* **55**, 476-511 (1991).
12. Gravesen, A., Z. Diao, J. Voss, B.B. Budde, and S. Knochel.: Differential inactivation of *Listeria monocytogenes* by D- and L lactic acid. *Lett. Appl. Microbiol.* **39**, 528-532 (2004).
13. Lu, Z., Sebranek, J.G., Dickson, J.S., Mendonca, A.F. and Bailey, T.B.: Application of predictive models to estimate *Listeria monocytogenes* growth on frankfurters treated with organic acid salts. *J. Food Prot.* **68**, 2326-2332 (2005).
14. Bae, J.W., Rhee, S.K., Park, J.R., Chung, W.H., Nam, Y.D., Lee, I., Kim, H. and Park, Y.H.: Development and evaluation of genome-probing microarray for monitoring lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 8825-8835 (2005).
15. Kim, M.J., and Chun, J.S.: Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *Int. J. Food Microbiol.* **103**, 91-96 (2005).
16. Lee, J.S., Heo, G.Y., Lee, J.W., Oh, Y.J., Park, J.A., Park, Y.H., Pyun, Y.R., and Ahn, J.S.: Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J.*

- Food Microbiol.* **102**, 143-150 (2005).
17. Ahn, S.B., Park, H.E., Lee, S.M., Kim, S.Y., Shon, M.Y., and Lee, W.K.: Characteristics and immuno-modulatory effects of *Weissella cibaria* JW15 isolated from Kimchi, Korea traditional fermented food, for probiotic use. *J. Biomed. Res.* **14**, 206-211 (2013).
  18. Maurer, J.: The methodology of PCR. pp 27-40: In: PCR methods in foods. Maurer J (ed.), Springer, Inc., New York, NY, USA (2006).
  19. Heo, S., Lee, S.K., Lee, C.H., Min, S.G., Park, J.S., and Kim, H.Y.: Morphological changes induced in *Listeria monocytogenes* V7 by a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 663-667 (2007).
  20. Iseppi, R., Pilati, F., Marini, M., Toselli, M., Niederhausern, D.S., Guerrieri, F., Messi, P., Sabia, C., Manicardi, G., Anacarsio, I., and Bondi, M.: Anti-listerial activity of a polymeric film coated with hybrid coatings doped with Enterocin 416K1 for use as bioactive food packaging. *Int. J. Food Microbiol.* **30**, 281-287 (2008).
  21. Shin, M.S., Han, S.K., Ryu, J.S., Kim, K.S., and Lee, W.K.: Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* K23-2 isolated from Kimchi. *J. Appl. Microbiol.* **105**, 331-339 (2008).
  22. Trias, R., Badosa, E., Montesinos, E., and Baneras, L.: Bio-protective *Leuconostoc* strains against *Listeria monocytogenes* in fresh fruits and vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* **127**, 91-98 (2008).
  23. Boyer, R.R., Matak, K., Sumner, S.S., Meadows, B., Williams, R.C., Eifert, J.D., Birbari, W.: Survival of *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, and lactic acid bacteria in chill brines. *J. Food Sci.* **74**, M219-M23 (2009).
  24. Aguilar, C., and KLOTZ, B.: Effect of the temperature on the antagonistic activity of lactic acid bacteria against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *J. Food Safety.* **30**, 996-1015 (2010).
  25. de Carvalho, A.A., de Paula, R.A., Mantovani, H.C., and de Moraes, C.A.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a lactic acid bacterium isolated from Italian salami. *Food Microbiol.* **23**, 213-219 (2006).