

백합(*Meretrix meretrix*) 식해에서 분리한 *Pediococcus pentosaceus* SH-10에 의한 병원성 세균의 억제 기작

신동민 · 김희대¹ · 구재근 · 박권삼*

군산대학교 식품생명공학과, ¹충북도립대학 바이오생명의약과

Inhibition of Pathogenic Bacteria by *Pediococcus pentosaceus* Strain SH-10 Isolated from Hard Clam *Meretrix meretrix* Sikhae

Dong-Min Shin, Hee-Dai Kim¹, Jae-Geun Koo and Kwon-Sam Park*

Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

¹Department of Biotechnology and Biomedicine, Chungbuk Provincial College, Okcheon 373-807, Korea

In this study, we investigated the mechanism of inhibition of pathogenic bacteria by *Pediococcus pentosaceus* strain SH-10 isolated from hard Clam *Meretrix meretrix* sikhhae. When *P. pentosaceus* SH-10 was co-cultured in MRS broth with pathogenic bacteria, including *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis* and *Staphylococcus aureus*, no viable pathogenic cells were detected after 18 h of incubation. However, pediocin or a pediocin-like bacteriocin was not detected in cultures of *P. pentosaceus* SH-10 by the agar diffusion method. Organic acids were produced in MRS broth in proportion to the incubation time of *P. pentosaceus* SH-10. These results indicate that *P. pentosaceus* SH-10 inhibited the growth of pathogenic bacteria by lowering the pH of the growth medium through the production of organic acids, including sodium lactate, sodium acetate, and sodium citrate.

Key words: Probiotics, *Pediococcus pentosaceus* SH-10, Pathogenic bacteria, Organic acids

서론

생균제(probiotics)란 사람과 가축의 장내 균총의 능력을 개선하여 숙주 건강에 유익한 효과를 주는 살아있는 미생물이라고 R. Fuller에 의해 정의가 제안되었다(Fuller, 1989). 생균제로 개발되어 사용되고 있는 미생물에는 *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Enterococcus* spp. 및 효모 등이며(Guarner and Schaafsma, 1998), 이들 미생물은 위산 및 담즙산에 비교적 잘 견딜 뿐만 아니라 병원성 세균에 대한 길항작용을 가지는 경우가 많기 때문이다(Fuller, 1989). 생균제는 장내 균총의 균형유지라는 일차적인 기능과 함께 다음과 같은 몇 가지 특성도 요구된다. 위와 십이지장 등의 소화기관을 통과하는 과정에서 위산 및 담즙산 등에 의해 죽지 않고 살아서 장까지 도달한 다음

장에서 정착하고 증식하여야 한다. 또한 장관 내에서 유용한 효과를 나타내어야 하며 다양한 항생제에 대한 내성이 있으며 독성이 없는 비 병원성 미생물이어야 한다.

지금까지 알려진 생균제의 주요 기능에는 숙주에 대한 장내 세균수의 안정화(Lidbeck and Nord, 1987), 위장관내 병원균의 증식억제(Fernandes et al., 1992), 혈중 콜레스테롤의 저하(Suzuki and Kaizu, 1991), 특이 및 비특이 면역반응의 유도 및 영양소 이용성의 향상(Fernandes et al., 1992), 암 퇴화 및 장내 효소 활성감소에 의한 결장암의 예방효과(Goldin and Gorbach, 1984) 및 비타민과 같은 인체 유용물질의 합성 등이 보고되어 있다.

국내의 경우, 생균제는 인체 의약품인 정장제나 유산균제제, 사료첨가제로서의 생균제 그리고 식품공전에서 정의한 건강 식품의 일종인 유산균 식품으로 사용하고 있는데 어느 경우든

Article history;

Received 8 October 2012; Revised 23 October 2012; Accepted 21 November 2012

*Corresponding author: Tel: +82. 63. 469. 1822 Fax: +82. 63. 469. 1821

E-mail address: parkks@kunsan.ac.kr

Kor J Fish Aquat Sci 45(6) 600-605, December 2012

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0600>

pISSN:0374-8111, eISSN:2287-8815

© The Korean Society of Fishereis and Aquatic Science. All rights reserved

생균제 미생물은 유산균이 주종을 이루고 있는 실정이다. 국내의 생균제에 대한 최근 연구는 한국인의 장 내용물 또는 전통 발효식품으로부터 우수한 유산균을 분리하여 이를 식품이나 의약품으로 이용하고자 하는 노력이 활발하게 진행되고 있는 실정이다 (Kang et al., 2001; Ha et al., 2004; Kim et al., 2005; Shin et al., 2008; Lim and Im, 2009). 최근 농림수산식품부에서는 축산물에 대한 소비자의 신뢰 제고를 위해 2011년 하반기부터 축산용 사료에 항생제 첨가를 전면 금지한다고 발표하였다 (MIFAFF, 2010). 따라서 축산업계에서는 항생제 대체물질로서 동물에게 유익한 미생물을 계획적으로 투여할 수 있는 생균제의 개발 및 이용분야의 관심과 연구가 활발하게 진행되고 있는 실정이다 (Lee et al., 2008; Kim et al., 2010; Park et al., 2010). 생균제가 항생제 대체물질로서 각광을 받는 이유에는 항생제는 장내 정상적인 균총 형성을 억제하는데 비해 생균제는 장내 정상적인 균총 형성에 도움이 될 뿐만 아니라 병원성 미생물의 항생제 내성 획득에도 관계가 없기 때문이다 (Isolauri et al., 2001).

최근 Song et al. (2011)은 백합식해에서 분리한 유산균을 대상으로 생균제로서의 가능성을 검토한 결과 *Pediococcus pentosaceus* SH-10 균주는 내산성, 담즙내성, 다양한 항생제에 대한 내성, biofilm 형성능 및 병원성 세균의 발육 억제능 등이 뛰어나 생균제로서 개발 가치의 가능성을 보고하였다. *P. pentosaceus*는 김치 또는 젓갈 발효에 관여하는 그람 양성균의 호염성, 사린쇄상 구균으로 주로 항균성 peptide인 pediocin 을 생산하며, pediocin은 병원성 세균 중에서도 그람 양성균의 *Listeria monocytogenes* 및 *Staphylococcus aureus* 에 효과적으로 작용한다고 보고되어 있다 (Fleming et al., 1975; Cintas et al., 1998; Osmanagaoglu et al., 2001; Wu et al., 2004). Pediocin은 저분자의 내열성을 지니는 Class IIa bacteriocin으로 표적 세균의 세포벽 합성을 억제하거나 세포막에 구멍을 형성하여 살균 효과를 나타내며 (Sablon et al., 2000; Hechard and Sahl, 2002; Bauer and Dicks, 2005), pediocin을 암호화하는 유전자는 일반적으로 plasmid DNA에 operon 형태로 존재한다고 보고되어 있다 (Miller et al., 2005). 본 연구는 백합식해에서 분리한 *Pediococcus pentosaceus* SH-10 균주의 병원성 세균에 대한 발육 억제 기작에 관하여 검토하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

사용 균주는 백합식해에서 분리한 *Pediococcus pentosaceus* SH-10 균주를 사용하였으며 (Song et al., 2011), 한국 미생물보존센터에서 구입한 *Bacillus cereus* KCCM40138, *Enterobacter aerogenes* KCCM12177, *Listeria monocytogenes* KCCM40307, *Salmonella choleraesuis* KCCM11806,

Staphylococcus aureus KCCM12214 및 *Vibrio cholerae* KCCM41626 등의 병원성 균주는 *P. pentosaceus* SH-10에 의한 발육억제능을 검토하기 위한 대조균으로 사용하였다. 유산균의 배양 배지로는 Lactobacilli MRS (Difco, USA) 평판배지 또는 액체배지를 사용하였으며, 병원성 균주의 배양에는 Brain heart infusion (Difco, USA), Brilliance Bacillus cereus agar (Oxoid, UK), LPM agar (Fluka, Switzerland), XLD agar (Difco, USA), Staphylococcus 110 agar (Difco, USA) 및 TCBS agar (Difco, USA)를 사용하였다. 각 균주는 35°C에서 정치 또는 진탕 배양하였다.

병원성균 억제능 측정

유산균에 의한 병원성 균의 억제능 실험은 MRS broth에 병원성 균과 유산균을 혼합배양 후 병원성 균의 변화를 측정하여 검토하였다. 유산균과 4종의 병원성 균은 각각의 적절한 배지에서 하룻밤 배양한 후 유산균과 병원성 균의 농도를 대략 $10^6 - 10^7$ CFU/mL가 되도록 조정하여 MRS broth에 혼합 접종하면서 0, 6, 12, 18 및 24 시간 배양 후의 병원성 세균의 변화는 생균수로 측정하였다. 대조구는 병원성 세균만을 MRS broth에 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 각각의 선택배지에서 균수를 측정하여 비교하였다.

Pediocin 유전자 확인

Pediocin 유전자 확인을 위한 primers는 기존의 보고 (Shin et al., 2008)를 참고하여 Bioneer (Daejeon, Korea)에 의뢰 합성하였다 (Ped-F, 5'-TTGTGATGAAAAAATTGAAAAATTA-3' 및 Ped-R, 5'-GCATTTATGATTACCTTGATGTCC-3'). PCR 반응에는 Takara kit (Japan)를 사용하였으며, PCR 반응액은 0.5 µL (2.5 U) Taq polymerase, 5.0 µL Taq polymerase buffer (10×), 4.0 µL 2.5 mM dNTP, 34.5 µL dH₂O에 20 pmol의 각 primer 2.0 µL와 2.0 µL의 주형 DNA를 첨가하였다. DNA 증폭은 95°C 5분간 1회 변성하고, 95°C 30초, 55°C 30초 및 72°C에서 1분을 30회 반복하였다. PCR 증폭산물은 1.5% agarose gel (Sigma, USA)에서 전기영동 후 ethidium bromide로 염색하여 DNA의 증폭여부를 확인하였다.

효소활성 조사

P. pentosaceus SH-10 균주가 생산하는 효소 및 효소활성을 조사하기 위하여 API ZYM kit (BioMerieux, France)를 사용하였다. 균주는 Lactobacilli MRS 고체배지에서 하룻밤 배양한 후 균체를 회수하여 PBS (phosphate buffered saline, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄·2H₂O, 2.0 mM KH₂PO₄, pH 7.4)로 현탁하여 Mcfarland 탁도 5-6으로 조정하였다. 현탁한 균은 ZYM kit 각 cupule에 65 µL씩 분주하고 37

Table 1. HPLC instruments and analysis conditions for organic acids

Item	Analysis condition
HPLC system	Waters 515 HPLC
Detector	Waters 2489 UV/visible detector
Column temperature	40°C
Flow rate	0.6 mL/min
Column	Aminex HPX-87H 300×7.8 mm (Bio-Rad)
Injection volume	20 µL
Mobile phase	4 mM sulfuric acid

°C에서 4시간 배양한 후 색깔 변화로 효소활성을 조사하였다.

유기산 분석

Lactobacilli MRS broth에 *P. pentosaceus* SH-10을 접종 후 35°C에서 정지 배양하면서 배양개시 0, 6, 12 및 24시간 후의 배양액을 8,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 회수하여 0.45 µM membrane filter로 여과하고 그 여액을 high performance liquid chromatography (515 series, Waters, USA)로 유기산을 분리 및 정량하였다. 사용기기, 컬럼 및 분석조건은 Table 1에 제시하였다. 유기산 분석을 위한 표준물질로 사용한 sodium acetate, sodium citrate 및 sodium lactate 은 Sigma (USA) 제품을 사용하였다.

Pediocin 생산능 검토

Pediocin생산은 기존의 방법(Shin et al., 2008)을 약간 변형하여 검토하였다. Lactobacilli MRS broth에 *P. pentosaceus* SH-10균주를 접종하여 35°C에서 정지 배양하면서 배양 12, 24 및 48시간 후의 배양액을 8,000 rpm에서 2분간 원심 분리하여 상층액을 회수하였다. 상층액은 1 N NaOH를 사용하여 pH를 6.5로 조정하고 0.45 µM membrane filter로 여과한 다음 적절한 단계까지 희석하였다. 하룻밤 배양한 병원성 시험 균주는 10^6 - 10^7 CFU/mL의 농도가 되도록 배지에 섞은 후 고체화하였다. 제조된 고체배지는 화염 멸균된 punch를 사용하여 직경 3 mm 크기의 구멍을 만들고 여기에 희석한 상층액 20 µL를 접종하여 35°C에서 24시간 배양 후 병원성 세균의 억제대로 pediocin 생산 및 활성을 검토하였다.

결과 및 고찰

P. pentosaceus SH-10 균주의 병원성 세균 억제능 검토

유산균에 의한 병원성 세균의 억제 기작에는 대사산물(각종 유기산, H₂O₂ 등)의 생성, 박테리옌과 같은 항균물질의 생산,

Table 2. Inhibitory of pathogenic bacteria by co-incubation with *Pediococcus pentosaceus* strain SH-10

Strain	Co-incubation (h) ¹					Control ²
	0	6	12	18	24	
<i>B. cereus</i>	2.2×10 ⁵	3.9×10 ⁵	7.2×10 ⁴	<30	<30	3.4×10 ⁷
<i>L. monocytogenes</i>	1.1×10 ⁵	2.8×10 ⁵	1.2×10 ⁴	<30	<30	8.2×10 ⁸
<i>S. choleraesuis</i>	2.7×10 ⁵	7.3×10 ⁵	4.3×10 ⁴	<30	<30	3.2×10 ⁹
<i>S. aureus</i>	6.5×10 ⁵	1.3×10 ⁷	4.3×10 ³	<30	<30	4.8×10 ⁹

¹Each strain was grown with pathogenic bacteria in MRS broth.

²Only pathogenic bacteria were grown in MRS broth after 24 h.

장내 상피세포의 부착장소 경쟁 등이 알려져 있다(Reid and Burton, 2002). *P. pentosaceus* SH-10에 의한 병원성 세균(*B. cereus* KCCM40138, *L. monocytogenes* KCCM40307, *S. choleraesuis* KCCM11806 및 *S. aureus* KCCM12214)의 성장억제 능력은 *P. pentosaceus* SH-10와 각각의 병원성 세균과의 혼합 배양 후 병원성 세균의 균수 변화로 측정하였다. Table 2에 나타난 바와 같이 각각의 병원성 세균을 MRS broth에서 24시간 단독 배양하였을 경우, 균수는 3.4×10^7 CFU/mL에서 4.8×10^9 CFU/mL의 범위로 측정되었다.

그러나 *P. pentosaceus* SH-10와 혼합 배양할 경우 4종의 병원성 세균은 배양시간 경과에 따라 감소하다가 배양 18시간 후에는 검출되지 않았다(Table 2). 이는 *P. pentosaceus* SH-10이 생산하는 살균활성을 나타내는 물질(박테리옌, 각종 유기산, 과산화수소수 등)에 의해 병원성 세균은 사멸한 것으로 판단된다.

P. pentosaceus SH-10의 효소활성

병원성 세균의 발육억제 기작을 검토하기 위한 예비실험으로 *P. pentosaceus* SH-10균주가 어떤 효소 활성을 나타내는지는 API ZYM kit를 사용하여 검토하였다. Table 3에 나타난 바와 같이 *P. pentosaceus* SH-10균주는 19종류의 효소 중 8종류의 효소 활성이 관찰되었다. Leucine arylamidase와 valine arylamidase는 다른 효소들에 비해 생산량이 높아 약 40 nmol 정도를, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase는 30 nmol, cystine arylamidase, β-glucuronidase, lipase 및 N-acetyl-β-glucosaminidase는 10 nmol을 생산하는 것으로 파악되었다. 그리고 acid phosphatase 는 약 5 nmol을 생산하는 것으로 분석되었다. API ZYM kit를 사용하여 *P. pentosaceus*의 효소활성을 측정 한 기존의 연구 결과가 없기 때문에 *P. pentosaceus* SH-10와 비교할 수는 없으나 서로 유사할 것으로 예상된다. Lim et al. (2007)이 보고한 *Lactobacillus salivarius* CPM-7와 비교해 보면, *P. pentosaceus* SH-10 균주가 생산하는 효소의 종류는 *L. salivarius* CPM-7에 비해 적고 효소활성에도 차이가 많았다.

Table 3. Enzyme activities of *Pediococcus pentosaceus* strain SH-10 by API ZYM analysis

Enzyme	Result ¹
Control	0
Alkaline phosphatase	0
Esterase (C4)	0
Esterase lipase (C8)	0
Lipase (C14)	2
Leucine arylamidase	5
Valine arylamidase	5
Crystine arylamidase	2
Trypsin	0
α-chymotrypsin	0
Acid phosphatase	1
Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase	4
α-galactosidase	0
β-glucuronidase	2
β-glucosidase	0
α-glucosidase	0
N-acetyl-β-glucosaminidase	2
α-mannosidase	0
α-fucosidase	0

¹0, 0 nmol; 1, 5 nmol; 2, 10 nmol, 3, 20 nmol; 4, 30 nmol; 5, 40 nmol.

Table 4. Production of organic acids in MRS broth by incubation time

Time (h)	Concentration of organic acids (mg/100 mL)		
	Sodium citrate	Sodium lactate	Sodium acetate
0	252.9	224.2	843.8
6	271.6	780.7	889.1
12	311.4	1518.4	909.3
24	265.5	1822.1	1424.2

P. pentosaceus SH-10균주의 pediocin 생산능의 검토

*P. pentosaceus*는 박테리옌의 일종인 pediocin을 생산한다고 보고되어 있으며(Fleming et al., 1975; Wu et al., 2004; Shin et al., 2008), pediocin은 *L. monocytogenes* 및 *S. aureus*와 같은 일부 병원성 세균에 대하여 항균활성을 나타낸다고 보고되어 있다(Clintas et al., 1998). *P. pentosaceus* SH-10균주의 pediocin 생산 여부 및 활성을 검토하기 위하여 MRS broth에 *P. pentosaceus* SH-10균주를 접종하여 35°C에서 정지 배양

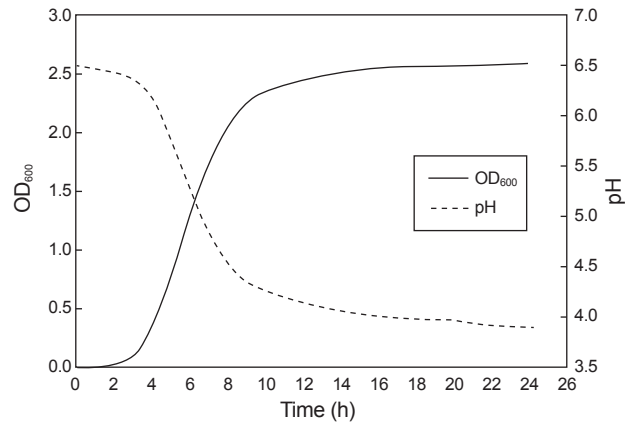


Fig. 1. Relation of cell growth and pH of *Pediococcus pentosaceus* strain SH-10.

하면서 배양개시 12, 24시간 및 48시간 후의 배양액을 회수하여 6종의 병원성 세균에 대한 생육저지대 생성여부로 pediocin의 활성을 확인하였다. 배양 12, 24시간 및 48시간 배양액의 원액 및 희석액 공히 6종의 모든 병원성 균주(*B. cereus*, *E. aerogenes*, *L. monocytogenes*, *S. choleraesuis*, *S. aureus* 및 *V. cholerae*)에 대한 억제능력이 전혀 관찰되지 않았다(결과 미제시). 따라서 PCR assay로 pediocin유전자의 확인을 검토하였으나 예상 크기의 DNA 산물은 증폭되지 않았다. 이는 *P. pentosaceus* SH-10 균주는 pediocin 유전자 미보유 균주이기 때문에 pediocin이 생산되지 않는 것으로 확인되었다(결과 미제시). *P. pentosaceus*는 균주에 따라 pediocin의 생산량이 매우 적거나 없는 경우가 있는데 그 원인은 관련 유전자의 소실에 의한다는 기존의 연구 결과(Diep et al., 2006)와 일치한다.

P. pentosaceus SH-10의 배양시간에 따른 pH의 변화

P. pentosaceus SH-10 균주는 pediocin을 생산하지 않음에도 불구하고 병원성 세균에 대한 발육억제 능력이 우수한 이유는 각종 유기산 생산에 따른 배지의 pH저하일 가능성이 높다고 판단되어 배양시간에 따른 pH 변화를 검토하였다. MRS broth에 *P. pentosaceus* SH-10균주를 접종하여 35°C에서 정지 배양하면서 2시간 간격으로 24시간까지 균 증식과 pH 변화를 검토하였다(Fig. 1). 균 증식은 배양 4시간부터 대수적으로 증식하기 시작하여 10시간 후에는 정점에 도달한 다음 거의 일정한 농도를 유지하였다. 균 증식에 따른 pH 변화는 초기 배지의 pH는 6.5에서 시작하여 균 증식과 비례하여 pH는 감소하여 배양 6시간 후 pH는 5.30를, 12시간 후에는 4.13의 pH를 나타내었으며, 배양 24시간 후 배지의 pH는 3.90였다. 배양시간 경과에 따른 pH 저하는 *P. pentosaceus* SH-10가 생산하는 각종 유기산에 의한 결과로 판단된다.

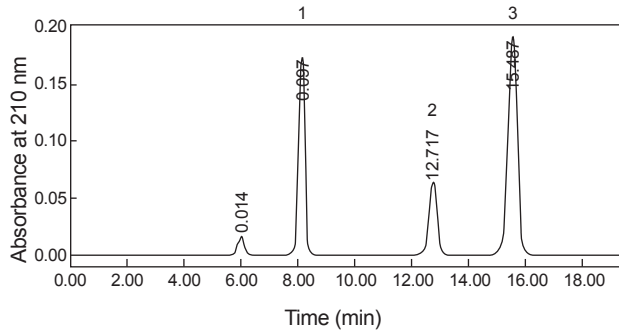


Fig. 2. HPLC chromatogram of organic acids.

P. pentosaceus SH-10이 생산하는 유기산의 정량

P. pentosaceus SH-10균주가 생산하는 유기산의 종류 및 양은 MRS broth에 *P. pentosaceus* SH-10을 배양하면서 배양 0, 6, 12 및 24시간 후의 배양액 중에 존재하는 sodium citrate, sodium lactate 및 sodium acetate 함량을 HPLC로 측정하였다. 재료 및 방법에 제시한 조건으로 분석한 결과 sodium citrate, sodium lactate 및 sodium acetate 표준물질의 검출시간은 8.097, 12.717 및 15.487분에 검출되었다(Fig. 2). 배양액 중의 sodium citrate는 배양시간이 경과하여도 초기농도인 252.9 mg/100 mL와 비교하면 6, 12 및 24시간 배양액에서의 sodium citrate 증가량은 매우 미미하였다. Sodium acetate의 배지중의 초기농도는 843.8 mg/100 mL이며, 배양 6 및 12시간 후 배양액에서의 농도는 초기농도와 크게 차이가 없었으나 24시간 배양액에서의 농도는 초기농도와 비교하여 1.7배 증가하였다. 따라서 sodium acetate는 *P. pentosaceus* SH-10의 배양초기에는 생성량이 적으나 배양후기(정지기)에 증가하는 유기산으로 판명되었다. Sodium lactate의 배지중의 초기농도는 224.2 mg/100 mL이었으나 배양시간에 비례하여 지속적으로 증가하는 경향을 보이며 배양 24시간 후에는 1822.1 mg/100 mL로 초기농도의 약 8배 이상의 증가를 보였다(Table 4). 결과적으로 *P. pentosaceus* SH-10가 생산하는 유기산 중 sodium lactate는 배양초기부터 후기에 이르기까지 가장 많이 생성되며 배지의 pH 저하에 가장 중요하게 작용한다고 판단된다.

백합식해에서 분리한 *P. pentosaceus* SH-10균주는 pediocin을 생산하지 않음에도 불구하고 병원성 세균과 혼합 배양하였을 때 병원성 세균에 대한 발육억제 능력이 우수한 이유는 sodium lactate 등의 유기산 생산에 의한 배지 중 pH의 산성화에 의해 병원성 세균이 사멸하는 것으로 확인되었다.

사 사

본 연구는 2012년 군산대학교 수산과학연구소 학술연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Bauer R and Dicks LM. 2005. Mode of action of lipid II-targeting lantibiotics. *Int J Food Microbiol* 101, 201-216.
- Clintas LM, Casaus P, Fernandez MF and Hernandez PE. 1998. Comparative antimicrobial activity of enterocin L50, pediocin PA-1, nisin A and lactosin S against spoilage and food borne pathogenic bacteria. *Food Microbiol* 62, 1764-1769.
- Diep DB, Godager L, Brede D and Nes IF. 2006. Data mining and characterization of a novel pediocin-like bacteriocin system from the genome of *Pediococcus pentosaceus* ATCC 25745. *Microbiol* 152, 1649-1659.
- Fernandes CF, Chandan RC and Shahani KM. 1992. Fermented dairy products and health In: *the Lactic acid Bacteria*, Volume1, Wood, BJB(ed), London, NewYork: Elsevier Applied Science, 297-342.
- Fleming HP, Etohells JL and Costilow RN. 1975. Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Appl Microbiol* 30, 1040-1042.
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animal. *J Appl Bacteriol* 66, 365-378.
- Goldin BR and Gorbach SL. 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am J Clin Nutr* 39, 756-761.
- Guarner F and Schaafsma GJ. 1998. Probiotics. *Int J Food Microbiol* 39, 237-238.
- Ha CG, Cho JK, Chai YG and Heo KC. 2004. Isolation and identification of lactic bacteria containing superior activity of the bile salts deconjugation. *Korean J Food Sci Ani Resour* 24, 164-170.
- Hechard Y and Sahl H G. 2002. Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram positive bacteria. *Biochimie* 84, 545-557.
- Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H and Salminen S. 2001. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 73, 444S-450S.
- Kang DG, Kang SP, Chang DH, Kim SH and Yoon SS. 2001. Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains isolated from Korean feces. *Korean J Food Sci Technol* 33, 567-573.
- Kim JD, Chung HW, Shim KS, Park SY, Ju JC, Song JJ, Lee KH, Park JK, Park DY and Kim CH. 2010. Effects of probiotics as an alternative for antibiotics on growth performance, nutrient digestibility, noxious gas emission and fecal microbial population in growing piglets. *Korean J Org Agri* 18, 527-539.
- Kim SJ, Ma SJ and Kim HL. 2005. Probiotic properties of lactic acid bacteria and yeasts isolated from Korean traditional food, Jeot-gal. *Kor J Food Preserv* 12, 184-189.
- Lee NK, Park YL, Kim HW, Rhim SL, Kim JM, Kim JM, Nam HM, Jung SC and Paik HD. 2008. Purification and characterization of lactacin NK34 produced by *Lactococcus*

- lactis* NK34 against bovine mastitis. Korean J Food Sci Ani Resour 28, 457-462.
- Lidbeck GJ and Nord CE. 1987. Impact of *Lactobacillus acidophilus* on the normal intestinal flora after administration of two antibiotic agents. Infection 16, 329-335.
- Lim SJ, Jang SS and Kang DK. 2007. Probiotic properties of *Lactobacillus salivarius* CPM-7 isolated from chicken feces. Kor J Microbiol Biotechnol 35, 98-103.
- Lim SM and Im DS. 2009. Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. J Microbiol Biotechnol 19, 178-186.
- Miller KW, Ray P, Steinmetz T, Hanekamp T and Ray B. 2005. Gene organization and sequences of pediocin AcH/PA-1 production operons in *Pediococcus* and *Lactobacillus* plasmids. Lett Appl Microbiol 40:56-62.
- Ministry for food, agriculture, forestry and fisheries. 2010. Bulletin 2010-4.
- Osmanagaoglu O, Beyatli Y and Gudu U. 2001. Isolation and characterization of pediocin producing *Pediococcus pentosaceus* Pep1 from vacuum-packed sausages. Tr J Biol 25, 133-143.
- Park SH, Choi JS, Jung DS, Auh JH and Choi YI. 2010. Effects of complex probiotics and antibiotics on growth performance and meat quality in broilers. Korean J Food Sci Ani Resour 30, 504-511.
- Reid G and Burton J. 2002. Use of *Lactobacillus* to prevent infection by pathogenic bacteria. Microbes Infect 4, 3119-3124.
- Sablon E, Contreras and Vandamme E. 2000. Antimicrobial peptides of lactic acid bacteria: mode of action, genetics and biosynthesis. Adv Biochem Eng Biotechnol 68, 21-60.
- Shin MS, Han SK, Ryu JS, Kim KS and Lee WK. 2008. Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* K23-2 isolated from kimchi. J Appl Microbiol 105, 331-339.
- Song HJ, Kim KJ, Kim HD, Yoo JH, Koo JG and Park KS. 2011. Probiotic properties of *Pediococcus pentosaceus* SH-10 isolated from the Hard Clam (*Meretrix meretrix*) shikhae. Kor J Fish Aquat Sci 44, 605-611.
- Suzuki Y and Kaizu H. 1991. Effect of cultured milk on serum cholesterol concentration in rats which were fed high cholesterol diets. Anim Sci Technol 62, 565-576.
- Wu CW, Yin LJ and Jiang ST. 2004. Purification and characterization of bacteriocin from *Pediococcus pentosaceus* AC-CEL. J Agric Food Chem 52, 1146-1151.