

김치에서 분리한 *Streptococcus* sp. J-C1의 bacteriocin 생산

조영배 · 조영임 · 백형석 · 전홍기†

부산대학교 자연과학대학 미생물학과

Bacteriocin Production by *Streptococcus* sp. J-C1 Isolated from Kimchi

Young-Bae Jo, Young-Im Cho, Hyung-Suk Baik and Hong-Ki Jun†

Department of Microbiology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract

Streptococcus sp. J-C1 producing bacteriocin was isolated from Kimchi. The optimum conditions for bacteriocin production by *Streptococcus* sp. J-C1 were evaluated. For the maximum yield of bacteriocin production by *Streptococcus* sp. J-C1, the cell should be harvested at the late stationary phase and the temperature, pH and NaCl concentration should be 25°C, pH 8 and without the addition of NaCl, respectively. Sucrose should be used as a carbon source and organic nitrogen such as peptone should be used as a nitrogen source for the best yield. The production of bacteriocin is related to the cell growth of *Streptococcus* sp. J-C1. The bacteriocin from *Streptococcus* sp. J-C1 was active for gram positive microorganisms such as *Lactobacillus* sp., *Leuconoctoc* sp., *Lactococcus* sp., *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* and also active for gram negative bacteria such as *Acetobacter aceti*. Antibacterial activity of the bacteriocin was completely disappeared by protease treatment.

Key words : Bacteriocin, *Streptococcus* sp. J-C1, Kimchi

서 론

젖산균은 우리 전통고유의 김치, 된장등의 발효식품에서 뿐만아니라 오래전부터 요구르트, 버터, 치즈와 같은 유가공 식품에서 중요한 역할을 담당하고 있다¹⁾. 또한 젖산균은 각종 동물의 장관내에 서식하며 소화관내에서 점막의 보호 및 장내 이상발효의 개선²⁾, 칼슘의 체내 흡수촉진³⁾등 여러 가지 유의한 생리작용을 나타내기 때문에 정장제와 같은

의약품과 사료첨가제로도 이용되고 있다⁴⁾. 최근에는 젖산균에 의한 혈중 cholesterol 저하작용, 면역기능 부활효과가 밝혀졌으며, 특히 면역기능 부활작용은 병원성 세균에 대한 감염 방어효과⁵⁾, 항암효과⁶⁾등의 약리효능을 갖는다고 알려져 있다.

또한 젖산균에 의한 bacteriocin의 생산이 보고된 이래로 유산균을 대상으로한 bacteriocin에 대해 많은 연구가 진행되어져 왔다. Bacteriocin이란 미생물이 생산하는 항균성

† Corresponding author

물질로서 여러 가지 특성에서 일반 항생물질과는 구분되는 natural antibiotic으로서, Gram 양성세균과 Gram 음성세균 등의 여러 종에 의해 생성되는 저분자의 항균성 peptide나 protein으로 구성 되어 있으며, 오직 유사한 세균의 생육을 저해하는 물질이다^{1,2,7)}. 이들은 단백질 분해효소에 대해 감수성을 나타내기 때문에 단백질 분해효소에 의해 불활성화 된다는 공통점을 가지고 있다. 이와같이 bacteriocin은 항균 범위가 좁기 때문에 의약 항생제만큼 사람에게 효과적이지 못하지만, 항생제 내성 세균이 문제되고 있는 발효식품에 있어서는 가장 적합한 식품 첨가제로서의 그 가치를 인정받고 있다^{8,9)}. Bacteriocin에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 대표적인 유산균종으로는 *Lactobacillus*속의 *L. fermentum*¹⁰⁾, *L. helveticus*¹¹⁾, *L. acidophilus*¹²⁾, *L. plantarum*¹³⁾ 등과 *Pediococcus*속의 *P. acidilactici*와¹⁴⁾ *P. pentosaceus* 등¹⁵⁾이 있다. 한편 bacteriocin을 산업적으로 실용화 하는 방법에는 부분적으로 혹은 완전하게 정제된 bacteriocin^{16,17)}을 사용하는 것과 bacteriocin 생성 균주를 직접 유해균의 존재 가능성이 있는 식품에 접종하는 두 가지 방법이 있다. 전자가 가장 좋은 방법이지만 완전한 정제가 상당히 어려우므로 후자의 방법이 실제적으로 많이 적용되고 있는 실정이다. 이 경우에도 여러 문제점이 야기될 수 있다. 즉 식품에 존재하는 단백질 분해효소로 인한 bacteriocin의 불활성화, bacteriocin 생산 조절의 어려움과 음식물 입자의 흡착으로 인한 확산 속도의 감소 등이 좋은 예이다.

최근 들어 여러 가지 발효식품으로부터 bacteriocin 생산균의 검색 뿐만 아니라 물질의 분리, 정제, 구조해석 및 지표균(indicator strain)에의 증식 저해 작용기작¹⁸⁾, 생합성 유전자와 생합성 분비 process의 분자기구 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재까지 가장 연구가 활발히 진행된 유산균 기원의 bacteriocin은 nisin이다¹⁹⁾. Nisin은 유산균인 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*가 세포외로 생산하는 bacteriocin으로서 특히, 가공식품에 있어서 중대한 식품오염균인 *Clostridium botulinum*(botulinus균)에 대해 항균작용²⁰⁾이 있기 때문에, 유럽에서는 아질산을 대신하는 식품보존제로서 통조림 등에 사용되고 있다²¹⁾. 미국에서도 1988년에 FDA(Food and Drug Administration)가 nisin을 GRAS(Generally Recognized As Safe)로서 인가하여 저온 살균 치즈에 그 사용을 허용하였다²²⁾. 우리나라에서도

Kim 등²³⁾이 김치통조림을 제조하기 위하여 nisin을 첨가한 저온 살균법을 소개하였다. 이와 같이 bacteriocin은 천연 식품첨가제로서 화학적 보존제가 갖고 있는 만성 질병 유발 가능성, 내성 균주의 출현, 소비자의 선호도 감소 등의 문제점을 보완해 줄 수 있는 천연 대체물질로서 그 기능이 인정되어 식품계에서 실용화될 가능성이 크다. 그러나 이러한 실제적 응용 과정에서 bacteriocin의 좁은 항균력과 생산량 조절의 어려움 등의 문제점이 있다.

Bacteriocin 생성균주의 검색은 대개 젖산균과 관련된 식품인 발효유제품과 채소발효식품이나 발효유, 치즈 등의 발효유제품으로부터 bacteriocin 생성균의 screening을 통하여 많은 연구가 이루어졌다. 국내의 경우 채소발효 식품인 김치에 대한 영양학적 연구가 많이 진행되었지만 김치 중의 bacteriocin생산 젖산균에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 김치로부터 광범위한 항균활성을 가지는 bacteriocin 생산균주의 분리와 그 연구는 bacteriocin에 대한 연구가 미흡한 우리나라의 현 상황에서 학문적 측면 외에도 우량균주의 확보와 새로운 천연식품보존제의 개발 등의 산업적 측면에서 상당히 큰 의의를 가질 것으로 기대된다.

따라서 본 연구에서는 미생물 기원의 식품보존제를 개발하기 위한 일환으로 숙성된 김치로부터 bacteriocin 생성균주인 *Streptococcus* sp. J-C1을 분리하였으며, 본 균주의 생육과 bacteriocin 생성에 대한 최적조건을 설정하고 각종 세균들에 대한 항균활성에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주 본 연구에 사용한 균주는 적당하게 숙성된 김치로부터 분리한 *Streptococcus* sp. J-C1이었다.

Bacteriocin 생성능 측정

Streptococcus sp. J-C1의 bacteriocin생성능은 agar well diffusion method²⁴⁾로 검토하였다. 즉, MRS agar plate에 MRS broth에서 37°C, 6시간 동안 전배양된 indicator strain (*Lactobacillus delbrueckii* spp. *delbrueckii*)의 배양액 80 μ l를 섞은 0.5% top agar를 중층하였다. 중층된 plate에 punch(ϕ 0.7cm)로 well을 만들고 적당량의 0.5% top agar로 well의 밑부분을 붓하였다. MRS broth에서 37°C, 16시간 동안 배양한 *Streptococcus* sp. J-C1의 배양액을 1, 2000rpm에서 원심분리(4°C, 10min)한 다음 그 상등액

30 μ l를 MRS agar plate의 well에 점적하여 37 $^{\circ}$ C에서 16시간 동안 배양하였다. 이때 생육저지환의 크기로 bacteriocin 생성능을 판정하였다.

배양시간에 따른 균의 생육과 bacteriocin 생성

Streptococcus sp. J-C1의 전배양액을 MRS배지에 0.5% 농도로 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 간격으로 26시간 동안 균의 생육도 및 bacteriocin 생성능을 조사하였다.

Bacteriocin 생성 조건

Streptococcus sp. J-C1의 생육과 bacteriocin 생성 최적 조건을 검토하기 위해, 각종 탄소원, 질소원, 무기염, 배양 온도, NaCl, 및 초발 pH 등의 영향을 37 $^{\circ}$ C에서 16시간 배양한 후 그 때의 균 생육도와 bacteriocin 생성능을 측정하였다. 접종 균체량은 MRS broth에서 16시간 전배양한 배양액을 본배양 배지에 0.5%씩 되도록 일정하게 접종하였다.

탄소원의 영향: 기본배지인 MRS medium에 glucose를 제외하고 각종 탄소원을 2% 되게 첨가하여 각종 탄소원이 균의 생육과 bacteriocin 생성능에 미치는 영향을 검토하였다.

질소원의 영향: 기본배지인 MRS배지에 peptone, beef extract, yeast extract 및 ammonium citrate를 제외하고 각종 질소원을 2% 되게 첨가하여 질소원의 종류에 따른 공시균주의 생육과 bacteriocin 생성능을 검토하였다.

무기염의 영향: 각종 무기염이 공시균주의 생육과 bacteriocin 생성능에 미치는 영향을 검토하기 위해 기본배지인 MRS배지에 MgSO₄ · 7H₂O와 MnSO₄ · 7H₂O를 제외하고 각종 무기염을 0.005% 되게 첨가하여 각종 무기염이 균의 생육과 bacteriocin 생성능에 미치는 영향을 검토하였다.

NaCl에 따른 영향: 기본 배지인 MRS배지에 NaCl의 농도를 0, 2, 4, 6, 8, 10%로 달리하여 NaCl의 농도에 따른 공시균주의 생육과 bacteriocin 생성능을 검토하였다.

온도 변화에 따른 영향: 배양온도를 15, 25, 30, 37, 42 $^{\circ}$ C로 달리하여 배양온도에 따른 공시균주의 생육과 bacteriocin 생성에 미치는 영향을 검토하였다.

초발 pH에 따른 영향: MRS broth의 초발 pH를 pH 2.0에서 pH 10.0까지 각 단계별로 조절하여 공시균주의 생육과 bacteriocin 생성에 미치는 영향을 검토하였다.

Bacteriocin 활성에 미치는 여러효소의 영향

Protease, amylase, lipase 및 RNase가 *Streptococcus* sp.

J-C1이 생산하는 bacteriocin의 항균활성에 미치는 영향을 검토하였다. *Streptococcus* sp. J-C1의 배양상등액 200 μ l에 효소용액 200 μ l를 각각 첨가하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 반응시켜 bacteriocin의 잔존활성을 측정하였다.

Bacteriocin의 활성 측정

Bacteriocin 활성은 *Streptococcus* sp. J-C1의 배양상등액 50 μ l에 O.D₆₀₀=0.1~0.4 정도로 배양된 indicator strain 전배양액 50 μ l를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 방치시킨 후 MRS broth 900 μ l를 첨가 하였다. 이 혼합액을 37 $^{\circ}$ C에서 5시간 동안 배양한 다음 600nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조구로는 *Streptococcus* sp. J-C1의 배양상등액 대신 MRS broth 50 μ l를 첨가하였다. Bacteriocin 활성은 bacteriocin unit(BU)로 표시하였으며, 1 BU는 indicator strain의 증식을 50% 저해하는 bacteriocin의 양으로 정의하였다.

Bacteriocin activity(BU) =

$$\frac{(\text{Control O.D}_{600} - \text{Sample O.D}_{600})}{\text{Control O.D}_{600}} \times \frac{100}{50} \\ \times \text{희석배수} \times \frac{1000}{50}$$

결과 및 고찰

Streptococcus sp. J-C1의 bacteriocin 생성능 검토

Streptococcus sp. J-C1의 bacteriocin 생성능은 agar well diffusion method로 검토하였다. Fig. 1에서와 같이 indicator strain인 *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*에 대하여 뚜렷한 생육저지환을 나타내어 본 균주는 bacteriocin 생성능이 매우 우수한 것으로 판단되었다.

배양시간에 따른 *Streptococcus* sp. J-C1의 생육 및 bacteriocin 생성

Streptococcus sp. J-C1을 전배양한 배양액 0.5%를 MRS broth에 접종하여 2시간 간격으로 균의 생육 및 bacteriocin의 생성능을 검토한 결과, Fig. 2에서와 같이 대수 증식기는 배양 6시간째에서부터 시작되었으며, 배양후 12시간에서부터 정지기로 접어들었다. *Streptococcus* sp. J-C1의 bacteriocin 생성은 대수증식기 중기에서부터 서서히 시

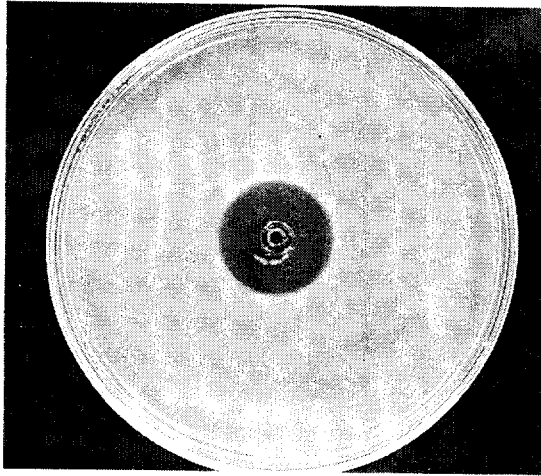


Fig. 1. Antagonistic activity of *Streptococcus* sp. J-C1 overlaid with *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*. The inhibitory zone was shown as clear halo in the center of petri dish.

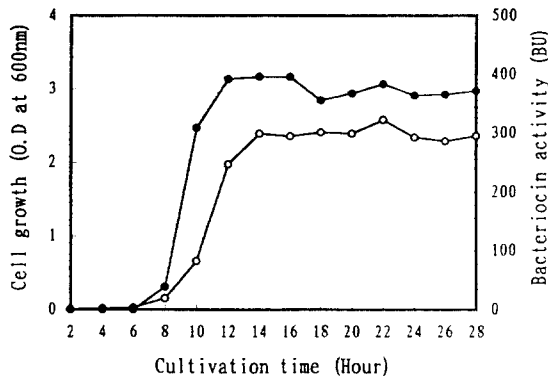


Fig. 2. Time course of the cell growth and bacteriocin production of *Streptococcus* sp. J-C1. MRS broth was used as culture medium. Cultivation was carried out at 37°C on incubator. -○-, Cell growth; -●-, Bacteriocin activity.

작하여 대수증식기 말기에서 정지기 초기에 가장 많이 생성되었으며, 정지기 이후에도 그 활성이 거의 일정하게 유지되었다.

Bacteriocin 생산조건

탄소원

본 실험에서 사용한 MRS medium에 들어 있는 glucose 대신 각종 탄소원을 2% 첨가하여 조사한 *Streptococcus* sp. J-C1의 생육도와 bacteriocin 생성능은 Table 1과 같았다. 여러 가지 탄소원중 *Streptococcus* sp. J-C1가 높은 생육을 보인 것은 glucose, sucrose, maltose, 및 lactose 였으며 이들 중 maltose에서 생육이 가장 양호하였다. 이와는 달리 bacteriocin 생성능은 sucrose, lactose, maltose 및 fructose에서 오히려 높게 나타났으며 이 중 sucrose에서 bacteriocin 생성능이 가장 양호하였다.

Table 1. Effect of carbon source on the cell growth and bacteriocin production by *Streptococcus* sp. J-C1

Carbon source	Growth (O.D at 600nm)	Bacteriocin activity (BU)
Galactose	1.80	374.44
Sorbitol	2.02	366.98
Xylose	1.43	375.78
Mannose	0.67	263.30
Glucose	2.60	375.38
Tryptose	0.87	361.17
Fructose	2.14	377.09
Sucrose	2.32	383.04
Manitol	0.72	371.65
Lactose	2.32	378.30
Raffinose	0.78	297.56
Inositol	0.74	348.67
Dextran	0.73	342.01
Maltose	2.72	378.91

Each carbon source(2% concentration) was added to the MRS medium which was excepted glucose. Seed culture was inoculated into 5ml of medium and cultivated at 37°C, for 16 hours on incubator.

질소원

기본배지인 MRS배지에 들어 있는 질소원인 peptone, beef extract, yeast extract 및 ammonium citrate대신 각종 질소원을 2% 농도로 첨가하여 *Streptococcus* sp. J-C1의

생육 및 bacteriocin 생성능에 대해 검토한 결과, Table 2에서와 같이 *Streptococcus* sp. J-C1은 대체적으로 무기태 질소원보다는 유기태 질소원에서 잘 생육하였으며, yeast extract에서 가장 높은 생육도를 나타내었다. 이와는 달리 bacteriocin 생성능은 peptone에서 가장 양호하였다. 그러나 무기태 질소원중에서 ammonium chloride의 경우 균체생육은 매우 저조하였으나 bacteriocin생성은 peptone 다음으로 많이 질소원으로 고려해 볼만 하다고 생각되었다.

Table 2. Effect of nitrogen source on the cell growth and bacteriocin production by *Streptococcus* sp. J-C1

Nitrogen source	Growth (O.D at 600nm)	Bacteriocin activity (BU)
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.08	198.36
(NH ₄) ₂ NO ₃	0.14	0
Bacto tryptone	2.80	363.36
NH ₄ Cl	0.15	374.26
Peptone	2.17	378.91
Ammonium citrate	0.13	40.59
KNO ₃	0.07	19.82
Ammonium acetate	0.06	0.76
Beef extract	1.26	366.82
Yeast extract	2.62	355.82

Each nitrogen source(2% concentration) was added to the MRS medium which was excepted all nitrogen sources such as peptone, beef extract, yeast extract and ammonium citrate. The culture conditions are the same as Table 1.

무기염

기본배지인 MRS배지에 MgSO₄ · 7H₂O와 MnSO₄ · 7H₂O를 제외하고 각종 무기염을 0.005% 되게 첨가하여 각종 무기염이 균의 생육과 bacteriocin생성능에 미치는 영향을 검토한 결과, Table 3에서와 같이 *Streptococcus* sp. J-C1의 생육 및 bacteriocin 생성에 MgSO₄ · H₂O가 가장 양호하였다.

NaCl

NaCl이 bacteriocin생성에 미치는 영향을 검토하기 위해 기본배지인 MRS배지에 NaCl을 2, 4, 6, 8, 10% 되게 첨

가하여 *Streptococcus* sp. J-C1의 생육 및 bacteriocin 생성능을 조사하였다. NaCl이 적당한 농도로 첨가 되었을 때 bacteriocin생성능이 비례적으로 증가된다는 보고²⁵⁾와는 달리 Fig. 3에서와 같이 NaCl의 첨가농도가 증가할수록 생육과 bacteriocin생성이 감소되었으며 6% 이상의 농도에서는 균체증식과 bacteriocin생성이 전혀 나타나지 않았다.

Table 3. Effect of inorganic salt on the cell growth and bacteriocin production by *Streptococcus* sp. J-C1

Inorganic salt	Growth (O.D at 600nm)	Bacteriocin activity (BU)
FeSO ₄ · 7H ₂ O	2.51	379.37
CdCl · 7H ₂ O	0.02	0
Co(NO ₂) ₂ · 7H ₂ O	2.52	386.97
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2.67	393.91
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	2.58	387.76
MnSO ₄ · 7H ₂ O	2.37	383.32

Each inorganic salt(0.005% concentration) was added to the MRS medium which was excepted MgSO₄ · 7H₂O and MnSO₄ · 7H₂O. The culture conditions are the same as Table 1.

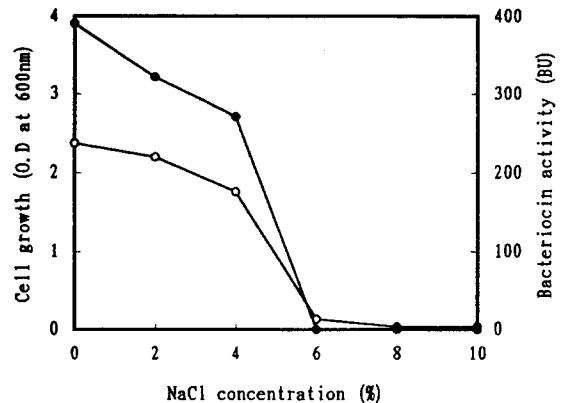


Fig. 3. Effect of sodium chloride concentration on the cell growth and bacteriocin production of *Streptococcus* sp. J-C1.

Sodium chloride as indicated concentrations was added to the MRS medium. The culture conditions are the same as Table 1.

—○—, Cell growth; —●—, Bacteriocin activity.

배양온도

15, 25, 30, 37, 42°C로 배양온도를 변화시켜서 배양온도가 *Streptococcus* sp. J-C1의 생육 및 bacteriocin 생성에 미치는 영향을 검토한 결과, Fig. 4와 같이 25°C에서 가장 양호한 균의 생육 및 bacteriocin생성을 나타내었다. 42°C인 경우 균체증식 및 bacteriocin생성은 전혀 나타내지 않았다.

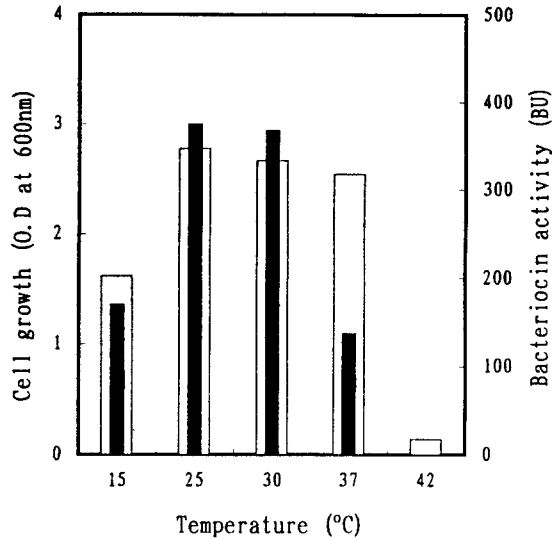


Fig. 4. Effect of temperature on the cell growth and bacteriocin production of *Streptococcus* sp. J-C1. Culture temperature was adjusted to each temperature as indicated. -□-, Cell growth; -■-, Bacteriocin activity.

초발 pH

기본배지인 MRS broth의 초발pH를 2~10까지 단계적으로 변화시켜 *Streptococcus* sp. J-C1의 생육과 bacteriocin 생성을 검토한 결과 Fig. 5에서와 같이 본균주는 pH 6에서부터 pH 10까지 범위에서 잘 생육하였으며 생육 최적 pH는 pH 9부근이었다. 그러나 bacteriocin생성은 pH 8 부근에서 가장 높게 나타났다. 산성영역인 pH 2~6까지의 영역에서는 균체증식과 bacteriocin생성은 매우 미약하였으며 중성영역과 알칼리 영역에서 bacteriocin의 생성능 뿐만 아니라 균체생육이 매우 높게 나타났다.

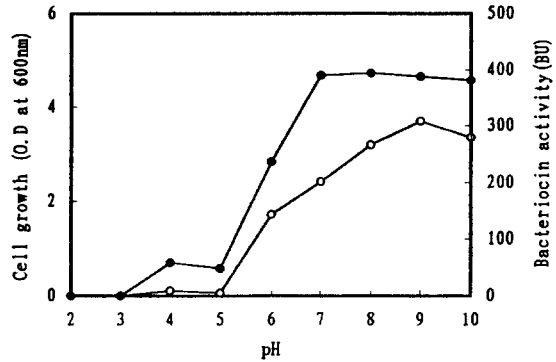


Fig. 5. Effect of initial pH on the cell growth and bacteriocin production of *Streptococcus* sp. J-C1. The initial pH of medium was adjusted with HCl or NaOH to each pH as indicated. -○-, Cell growth; -●-, Bacteriocin activity.

이상의 배양조건을 검토한 결과, bacteriocin의 최적 생산조건을 Table 4와 같이 설정하였다.

Table 4. Optimum conditions for the bacteriocin production

Medium (%)	Sucrose	2.0
	peptone	2.0
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.005
	K ₂ HPO ₄	0.2
	Sodium acetate	0.5
	Tween 80	0.1
	pH	8.0
	Other conditions	Temperature
Culture time		16 hours

항균활성 검토

여러가지 균주를 indicator strain으로 하여 *Streptococcus* sp. J-C1이 생산하는 bacteriocin에 대한 항균활성을 검토하였다. Table 5에서와 같이 *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans* 등의 Gram 양성균에 대해서 항균활성을 나타내었으며 Gram 음성균인 *Acetobacter aceti*에

대해서도 항균활성을 나타내었으나 *E. coli*에 대해서는 항균활성을 나타내지 않았다.

Table 5. Inhibitory spectrum of bacteriocin from *Streptococcus* sp. J-C1 using agar well diffusion test

Indicator strain	Antibacterial activity*
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	+++
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	+
<i>Bacillus subtilis</i> 3111	+
<i>Bacillus subtilis</i> 168	+
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 11088	++
<i>Lactobacillus platarum</i>	++
<i>Acetobacter aceti</i>	++
<i>Pseudomonas synxantha</i> A3	+
<i>Listeria monocytogens</i>	-
<i>Streptococcus mutans</i>	+
<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Lactobacillus casei</i>	+
<i>Lactobacillus helveticus</i> 1096	++
<i>Lactobacillus helveticus</i> 1094	++
<i>Lactobacillus brevis</i>	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	+
<i>Pediococcus acidilactici</i>	+

Antibacterial activity was expressed as inhibitory halo size.

*Halo size(mm) : -, 0~0.1 ; +, 0.1~0.3 ; ++, 0.3~0.5 ; +++, ≥ 0.5.

Table 6. Effect of various enzymes on antibacterial activity of the bacteriocin from *Streptococcus* sp. J-C1

Enzyme	Antibacterial activity*
protease	-
α-amylase	++
β-amylase	+++
lipase	++
control	+++

Antibacterial activity was expressed as inhibitory halo size.

*Halo size(mm) : -, 0~0.3 ; +, 0.35~0.5 ; ++, 0.55~0.65 ; +++, 0.7~0.8.

효소의 영향

Bacteriocin의 물리적 특성을 알아보기 위하여 각종 분해효소와 bacteriocin을 37°C에서 2 시간 반응시킨 후 bacteriocin의 활성을 측정하였다. 그 결과 *Streptococcus* sp. J-C1가 생산하는 bacteriocin은 protease에 의해 완전히 항균력을 상실하였으며 lipase 및 α-amylase에 의해서도 약간의 항균력이 상실되었다(Table 6).

요 약

김치에서 분리한 *Streptococcus* sp. J-C1의 생육 및 bacteriocin생성에 대한 최적조건을 검토하였다. *Streptococcus* sp. J-C1의 bacteriocin생성은 대수증식기 말기에서 정지기 초기에 가장 많이 생성되었으며, 정지기 이후에도 그 활성이 거의 일정하게 유지되었다. *Streptococcus* sp. J-C1의 생육 최적 탄소원 및 질소원은 maltose와 yeast extract였으나 bacteriocin 생성에 대한 최적 탄소원 및 질소원은 sucrose와 peptone이었다. 무기염류로는 균의 생육 및 bacteriocin 생성에 MgSO₄ · 7H₂O가 가장 양호하였으나 NaCl은 오히려 균체증식과 bacteriocin생성을 저해하였다. 또한 균의 생육 및 bacteriocin생성 최적 온도는 25°C였으며 생육 최적pH는 pH 9부근이었으나 bacteriocin생성은 pH 8 부근이었다.

Streptococcus sp. J-C1이 생산하는 bacteriocin의 항균 spectrum을 검토한 결과 *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans* 등의 Gram 양성균에 대해서 항균활성을 나타내었으며 Gram 음성균인 *Acetobacter aceti*에 대해서도 항균활성을 나타내었으나 *E. coli*에 대해서는 항균활성을 나타내지 않았다. 본 bacteriocin은 protease에 의해 완전히 항균력을 상실하였으며 lipase 및 α-amylase에 의해서도 약간의 항균력이 상실되었다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 기초과학연구소 학술연구조성비(과제번호 : BSRI-96-4410)에 의한 연구결과의 일부로서 지원하여 주심에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Reeves, P. : The bacteriocin, *Bacteriol. Rev.*, **29**, 24 (1965).
2. Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W. : Bacteriocins of gram-positive bacteria, *Bacteriol. Rev.*, **40**, 722(1976).
3. Cavard, D. and Lazdunski, C. J. : Purification and molecular properties of a new colicin, *Eur. J. Biochem.*, **96**, 519(1979).
4. Fredericq, P. : Colicins and colicinogenic factors, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **12**, 104(1958).
5. Herschman, H. R. and Helinski, D. R. : Purification and characterization of colicin E1, *J. Biol. Chem.*, **246**, 6318(1971).
6. Inselburg, J. and Johns, V. : Mapping of colicin E2 and colicin E3 plasmid deoxyribonucleic acid *EcoR* 1-sensitive sites, *J. Bacteriol.*, **121**, 381(1975).
7. Marugg, I. D. : Bacteriocins, Their role in developing Natural products, *Food Biotechnol.*, **5**, 305 (1991).
8. Stiles, M. E. and Hasting, J. W. : Bacteriocin production by lactic acid bacteria ; Potential for use in meat preservation, *Trend Food Sci. Tech.*, **2**, 247 (1991).
9. Lewus, C. B., Kaiser, A. and Montville, T. J. : Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1683(1991).
10. de Klerk, H. C. and Smit, J. A. : Properties of *Lactobacillus fermenti* bacteriocin, *J. Gen. Microbiol.*, **48**, 1309(1967).
11. Joeger, M. and Klaenhammer, T. R. : Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481, *J. Bacteriol.*, **167**, 439(1986).
12. Muriana, P. M. and Klaenhammer, T. R. : Cloning, phenotypic expression, and DNA sequence of the gene for lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*, *J. Bacteriol.*, **55**, 1779(1991).
13. Ruiz-Barba, J. L., Piard, J. C., and Jimenez-Diaz, R. : Plasmid profile and curing of plasmid in *Lactobacillus plantarum* stains isolated from green olive fermentations, *J. Appl. Bacteriol.*, **71**, 417(1991).
14. Ray, S. K., Kim, W. J., Johnson, M. C., and Ray, B. : Conjugal transfer of a plasmid encoding bacteriocin production and immunity in *Pediococcus acidilactici* H, *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 393(1989).
15. de Saad, A. M. S. and de Nadra, M. C. M. : Characterization of bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* from wine, *J. Appl. Bacteriol.*, **74**, 406 (1993).
16. Lozano, J. C. N., Meyer, J. N., Sleffen, K., Pelaz, C., and Nes, I. F. : Purification and amino acid sequence of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*, *J. Gen. Microbiol.*, **138**, 1985(1992).
17. Schved, F., Lalazar, A., Henis, Y., and Juven, B. J. : Purification, partial characterization and plasmid-linkage of pediocin SJ-1, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*, *J. Appl. Bacteriol.*, **74**, 67 (1993).
18. Gao, F. H., Abee, T., and Koonings, W. N. : Mechanism of action of the peptide antibiotic nisin in liposomes and cytochrome C oxidase containing proteoliposomes, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 21 64(1991).
19. Hall, R. H. : Nisin and food preservation, *Process Biochemistry*, Dec., 461(1966).
20. Scott, V. N. and Taylor, S. L. : Effect of nisin on the outgrowth of *Clostridium botulinum*, *J. Food Sci.*, **46**, 117(1981).
21. Eapen, K. C., Sankaran, R., and Vijayaghaavan, D. K. : The present status on the use of nisin in processed foods, *J. Food Sci. Technol.*, **20**, 231(1981).
22. FDA, Nisin preparation ; Affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient, *Fedral Resister*, 21 CFR Part, 184, 53, 11247(1988).
23. Kim, C. S., Kim, J. H., and Chung, B. M. : Application of nisin preparation in canned kimchi, Kor. Patent Application 135(1965).
24. Kojic, M., Svircevic, J., Banina, A., and Topisirovic, L. : Bacteriocin-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* S50, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1835(1991)
25. Amechi, O. and Montville, T. J. : Bacteriocin-Mediated Inhibition of *Clostridium botulinum* Spores by Lactic Acid at Refrigeration and Abuse Temperatures, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 3423(1991).