

## 살균방법 및 pH 조건에 따른 Pepsin-hydrolyzed Bovine Apo-lactoferrin의 항균성 변화에 관한 연구

김종우 · 이조운\* · 금중수\*\* · 유대열\*\*\*

충남대학교 농과대학 낙농학과, \*중부대학교 식품영양학과,

\*\*축협중앙회 유가공사업본부, \*\*\*KIST생명공학연구소

### A Study on Changes in Antibacterial Activity of Pepsin-hydrolyzed Bovine Apo-lactoferrin at Various Method for Pasteurizations and pH Values

J. W. Kim, J. Y. Lee\*, J. S. Keum\*\* and D. Y. Yu\*\*\*

Department of Dairy Science, College of Agriculture, Chungnam National University

\*Dept. of Food & Nutrition, Joong Bu University, \*\*Korea National Livestock Cooperative Federation

\*\*\*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST

#### Abstract

This study was carried out to examine that pepsin-hydrolyzed bovine lactoferrin has applicabilities which are market milk and dairy products. The stability of pepsin-hydrolyzed bovine apo-lactoferrin and the change of its antibacterial character has been studied under various method for pasteurizations(LTLT; 65°C /30 min., HTST; 75°C /15 sec., UHT; 135°C /3 sec.) and pH Values(pH 2.0, pH 4.0, pH 6.8). The heated samples were assayed for minimal bacteriocidal concentrations (MBCs) and bacteriocidal effect against *E. coli*. The results obtained were summarized as follows: After fractionation of pepsin-hydrolyzed bovine lactoferrin by gel filtration, several peptide fractions were found that had strong antibacterial activity. SDS-PAGE showed that the one of these fractions with strong antibacterial activity, which had a molecular mass a range of 30~33KDa. The MBCs for pepsin-hydrolyzed bovine lactoferrin fraction No. 2 against *E. coli* required to cause complete inhibition of growth varied within the range of 200~400 µg/ml, depending on heat treatments and pH conditions. The peptide fraction No. 2 showed strong bacteriocidal activity against *E. coli* at LTLT and HTST treatments under acidic pH conditions, and was reduced activity at UHT treatment under pH 6.8 condition.

Key words : bovine lactoferrin, bacteriocidal concentrations, bacteriocidal effect.

#### 서론

Lactoferricin B는 N-terminal region으로부터 유래된 25개의 아미노산 잔기로 구성되어 있으며 이는 사람으로부터 유래된 47개의 아미노산 잔기로 구성된 lactoferricin H와 상동성을 갖는 부분이 포함되어 있다고 Bellamy 등<sup>(1)</sup>이 보고한 이래 Lactoferricin B 및 bovine

Lf hydrolysates의 생화학적 특성 및 항균 특성에 대하여 많은 연구<sup>(2-5)</sup>가 수행되어 왔다.

특히 최근 들어서 lactoferrin의 안정성과 항균 특성 유지에 대하여 활발한 연구가 진행되고 있는데, 그 중에서 단백질 가수분해효소 처리가 Lf의 기능에 미치는 영향에 대하여 보고된 바에 의하면, bovine apolactoferrin의 항균성과 철 결합능력은 chymotrypsin과 trypsin의 처리에 의해 상실된다고 보고되었으며<sup>(6)</sup>, 그 밖에도 papain, actinase AS, protease P, protease A 및 biopraser와 같은 효소 처리에도

Corresponding author : J. W. Kim, Department of Dairy Science, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea.

bovine apolactoferrin의 항균성과 철 결합능력이 상실되었다고 보고하였다<sup>(7)</sup>.

한편 Lf의 pH 및 열안정성에 관한 연구에서, pH 2, 120°C의 처리에서도 철결합 능력과 항균성을 유지한 가수분해물을 생산했다고 보고하였으며<sup>(8)</sup>, pepsin 효소를 처리한 Lf의 경우 항균력은 유지하였으나 철결합능력이 상실한 가수분해물을 생산하였다고 보고하였다<sup>(9)</sup>. 또한 가수분해물로부터 bovine Lf의 residues 17~41에서 lactoferricin B를 분리하였는데<sup>(10)</sup>, 이 lactoferricin B는 단일 disulfide bond를 가지고 있으며 철결합 능력이 없고 세균을 포함한 yeast, fungi 등의 미생물에 대하여 광범위한 항균 능력을 갖고 있다고 보고하였다<sup>(11, 10~13)</sup>.

이상과 같은 연구 결과들을 고찰해 볼 때, lactoferricin B 및 bovine Lf 효소 가수분해물을 다양한 유제품에 적용하기 위해서는 살균에 따른 다양한 열처리를 필요로 하고 따라서 그에 따른 bovine Lf 가수분해물의 기능 실패 문제가 우선적으로 검토되어야 한다. 아울러 고도의 순수한 분리를 요구하는 lactoferricin B에 대하여 활용성 검토를 하기 전에 bovine Lf 가수분해물을 직접 이용하는 방법 또한 활용 가치가 충분히 있을 것으로 생각된다. 따라서 본 연구는 bovine lactoferrin을 단백질 분해효소인 porcine pepsin으로 분해한 후, 그 가수분해물 분획을 수집하여 동결건조하였고, 다양한 pH 조건 하에서 LTLT, HTST, UHT 등과 같은 살균방법에 따라 열처리하여, 공시균주 *Escherichia coli* O111에 대한 minimal bacteriocidal concentrations(MBCs) test 및 bacteriocidal effect 등의 항균력 시험을 수행하였으며, 추후 시유 및 유제품 등에 적용할 수 있는 결과를 얻는데 그 목적을 두었다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

#### 1) Strains

공시균주 *Escherichia coli* O111 KCTC 1021은 생명과학연구소에서 분양 받아 시험에 사용하였다.

#### 2) Lactoferrin

Bovine apo-Lf은 벨기에 Sodelac Co. (Purity : 90% by HPLC)것을 구입하여 사용하였다.

#### Bovine apo-Lf 가수분해물의 제조

Tomita 등<sup>(7)</sup>의 방법에 따라, Bovine apo-Lf을 증류수에 5% (wt/vol) 농도로 용해하고 pH를 2.5로 조정 한 후, porcine pepsin (10 units/mg, Sigma Chem. Co., USA)을 최종 농도 3% (wt/wt of substrate)가 되도록 첨가한 후, 37°C에서 4시간 반응시키고 80°C에서 15분간 열처리하여 반응을 종료하였다. 반응 종료 후 혼합물에 1N NaOH를 첨가하여 중화하고 15,000 × g로 원심분리하여 침전물을 제거한 뒤 상등액을 모아서 동결건조하여 lyophilized powder를 제조하였다.

#### Lf 가수분해물의 Gel filtration

Porcine pepsin으로 효소 처리한 bovine Lf 가수분해물을 저온실(4°C)에서 120 mg/ml 농도로 PBS 용액에 용해하여 Sephadex G-200 (Sigma Chem. Co. USA) column(2×90cm)을 통하여 pH 6.0, 5mM Na-phosphate buffer로 gel filtration을 수행한 후 fraction collector(Bio-rad 2110, USA)로 각각의 분획을 모아서 동결건조하여 항균성 시험에 이용하였다.

#### SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

Gel filtration을 수행한 후, 회수한 분획의 분자량을 확인하기 위하여 Tomita 등<sup>(7)</sup>의 방법에 따라 SDS-PAGE를 수행하였으며, molecular weight marker는 galactosidase(116,000 Da)~lysozyme(14,000Da) Sigma Co. 제품을 이용하였다.

#### 살균방법에 따른 pepsin-hydrolyzed bovine Lf 용액의 조제

Pepsin-hydrolyzed bovine Lf을 0.1N HCl 또는 0.1N NaOH로 pH 2.0, 4.0 및 6.8로 조정 한 증류수에 농도 별로 용해하고 각각의 용액은 running water bath상에서 저온살균(LT-LT; 65°C/30 min.), 고온살균(HTST; 75°C/15 sec.) 처리하였으며, UHT처리 (135°C/

3 sec.)는 water bath에서 85℃까지 온도가 도달하도록 예비가열을 한 후, oil bath를 이용하여 실험실에서 제작한 UHT lab. system을 통하여 열처리하였다. 이렇게 열처리된 시료는 냉각수에서 급속히 냉각을 시킨 후, 항균성 시험에 사용하였다.

**Pepsin-hydrolyzed bovine Lf의 bacteriocidal activity 측정**

공시균주에 대하여 열처리된 pepsin-hydrolyzed bovine Lf의 bacteriocidal effect를 시험하기 위하여 *E. coli*의 basal medium으로서 1% peptone water를 pH 6.8로 조정하여 Autoclave에서 멸균하여 사용하였다. 멸균된 basal medium에 균주를 접종하여 shaker-incubator water bath에서 37℃로 배양하였다.

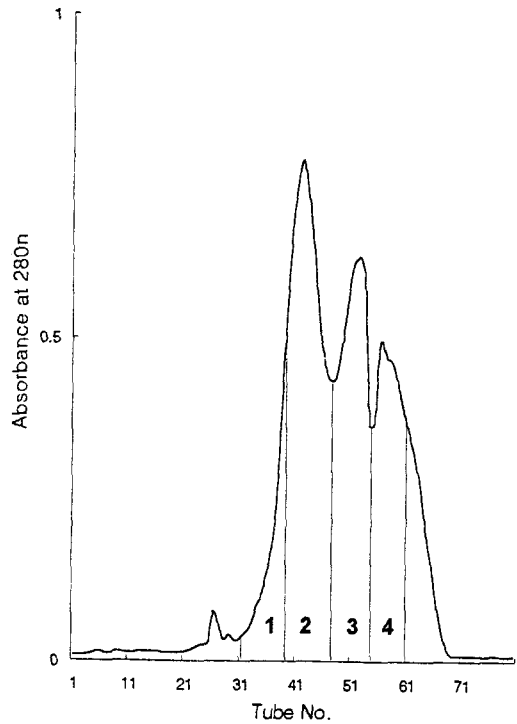
열처리된 pepsin-hydrolyzed bovine Lf용액은 0.45 μm membrane filter로 여과하고 basal medium의 최종 농도가 200, 400, 600 및 800 μg/ml이 되도록 basal medium에 첨가한 다음 미리 배양된 배양액 10<sup>7</sup>/ml을 basal medium에 접종하고 37℃에서 12시간 배양한 후, *E. coli*는 desoxycholate agar (DIFCO Lab. USA) 배지에서 평판계측법으로 생균수를 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**Pepsin-hydrolyzed bovine Lf의 분리 및 확인**

Pepsin으로 효소처리된 Lf 가수분해물을 gel filtration(Sephadex G-200)을 통하여 각 분획을 분리한 결과는 Fig. 1과 같다.

Porcine pepsin으로 효소 처리한 bovine Lf를 Sephadex G-200을 통하여 gel filtration을 수행한 결과는 Fig. 1과 같다. Fig. 1에서 나타난 결과를 4개의 분획으로 나누어 수집한 후, 이를 cellulose tube(Sigma Co.)를 이용하여 24시간 투석한 후, 동결건조하여 항균성 시험에 이용하였다.



**Fig. 1. Gel filtration fractionation of peptides generated by porcine pepsin hydrolysis of bovine lactoferrin.**

**Gel filtration 분획의 항균성 검정**

Porcine pepsin으로 효소 처리한 bovine Lf 가수분해물 분획을 bovine apo-Lf과 항균성을 비교 시험한 결과는 Table 1과 같다. Table 1에서 나타난 것처럼 fraction No. 2와 fraction No. 3에서 대조구에 비하여 강력한 항균력을 갖고 있는 것으로 나타났으며, 또한 bovine apo-Lf보다 항균력이 강한 것으로 나타났다. 따라서 fraction No. 2와 fraction No. 3을 분리 수집하여 본 시험의 항균성 검정에 이용하였다.

**Table 1. Effect of pepsin-hydrolyzed bovine Lf fractions (380 μg/ml) on the growth of *Escherichia coli* strain at 37℃ for 12 hours**

Control	Lactoferrin	Fraction No. 1	Fraction No. 2	Fraction No. 3	Fraction No. 4
5.3×10 <sup>5</sup>	8.67×10 <sup>3</sup>	5.25×10 <sup>5</sup>	ND	1.03×10 <sup>3</sup>	9.25×10 <sup>5</sup>

**Table 2. Viability of *E. coli* O111 strain after incubation with varying concentrations of heat-treated pepsin-hydrolyzed bovine Lf fraction No. 2 for 12 hr. at 37°C**

Heat treatment	pH conditions	CFU /ml <sup>a</sup>				
		Pepsin-hydrolyzed bovine Lf fraction concentration ( $\mu\text{g}$ /ml)				
		Control	200	400	600	800
LTLT <sup>b</sup>	2.0	$4.30 \times 10^7$	$3.80 \times 10^6$	ND	ND	ND
	4.0	$4.30 \times 10^7$	$1.20 \times 10^7$	ND	ND	ND
	6.8	$4.30 \times 10^7$	$2.45 \times 10^7$	ND	ND	ND
HTST <sup>c</sup>	2.0	$4.30 \times 10^7$	$5.80 \times 10^6$	ND	ND	ND
	4.0	$4.30 \times 10^7$	$8.25 \times 10^6$	ND	ND	ND
	6.8	$4.30 \times 10^7$	$1.21 \times 10^7$	$6.20 \times 10^4$	ND	ND
UHT <sup>d</sup>	2.0	$4.30 \times 10^7$	$1.26 \times 10^7$	ND	ND	ND
	4.0	$4.30 \times 10^7$	$1.72 \times 10^7$	$1.05 \times 10^6$	ND	ND
	6.8	$4.30 \times 10^7$	$2.51 \times 10^7$	$2.44 \times 10^6$	$1.22 \times 10^4$	ND

<sup>a</sup> Viable counts (CFU /ml) were determined by plating serial dilutions on desoxycholate agar.

<sup>b</sup> LTLT pasteurization ; 65°C /30 min.

<sup>c</sup> HTST pasteurization ; 75°C /15 sec.

<sup>d</sup> UHT treatment ; 135°C /3 sec.

**Table 3. Viability of *E. coli* O111 strain after incubation with varying concentrations of heat-treated pepsin-hydrolyzed bovine Lf fraction No. 3 for 12 hr. at 37°C**

Heat treatment	pH conditions	CFU /ml <sup>a</sup>				
		Pepsin-hydrolyzed bovine Lf fraction concentration ( $\mu\text{g}$ /ml)				
		Control	200	400	600	800
LTLT <sup>b</sup>	2.0	$5.26 \times 10^7$	$3.80 \times 10^7$	$6.09 \times 10^6$	$1.70 \times 10^5$	ND
	4.0	$5.26 \times 10^7$	$5.69 \times 10^7$	$8.05 \times 10^6$	$2.80 \times 10^6$	ND
	6.8	$5.26 \times 10^7$	$4.88 \times 10^7$	$6.16 \times 10^6$	$1.52 \times 10^5$	$2.95 \times 10^6$
HTST <sup>c</sup>	2.0	$5.26 \times 10^7$	$5.80 \times 10^7$	$8.32 \times 10^6$	$5.24 \times 10^5$	ND
	4.0	$5.26 \times 10^7$	$6.25 \times 10^7$	$9.24 \times 10^6$	$3.85 \times 10^6$	$6.30 \times 10^5$
	6.8	$5.26 \times 10^7$	$4.21 \times 10^7$	$1.03 \times 10^7$	$8.62 \times 10^6$	$3.25 \times 10^6$
UHT <sup>d</sup>	2.0	$5.26 \times 10^7$	$6.42 \times 10^7$	$2.24 \times 10^7$	$9.40 \times 10^6$	$1.36 \times 10^6$
	4.0	$5.26 \times 10^7$	$4.40 \times 10^7$	$3.36 \times 10^7$	$6.70 \times 10^6$	$4.52 \times 10^6$
	6.8	$5.26 \times 10^7$	$2.51 \times 10^7$	$1.22 \times 10^7$	$8.55 \times 10^6$	$5.06 \times 10^6$

<sup>a</sup> Viable counts (CFU /ml) were determined by plating serial dilutions on desoxycholate agar.

<sup>b</sup> LTLT pasteurization ; 65°C /30 min.

<sup>c</sup> HTST pasteurization ; 75°C /15 sec.

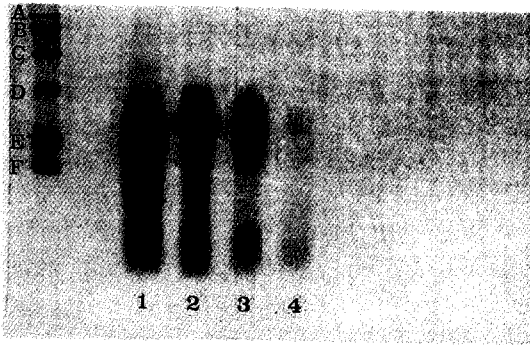
<sup>d</sup> UHT treatment ; 135°C /3 sec

#### SDS-PAGE electrophoresis

Porcine pepsin으로 효소 처리한 bovine Lf 가수분해물 분획을 SDS-PAGE를 수행한 결과는 Fig. 2와 같다.

Fraction No. 2의 경우, 표준단백질에 대한 상대적인 이동거리를 계산한 결과 약 31KDa ~ 33KDa의 band가 나타났으며 이는 다른 분

획에서는 나타나지 않은 물질이다. 또한 fraction No. 3의 경우, fraction No. 2와 함께 약 25KDa~28KDa의 분자량을 가진 물질이 높은 농도로 존재하고 있음을 보여 주었다. 이와 같은 결과는 pH 3.0에서 pepsin 처리에 의해 iron-saturated Lf이 대략 33KDa의 분자량으로 분해되었다는 보고<sup>(14)</sup>와 유사한 결과를 보여 주었는데, 특히 fraction No. 1과 fraction



**Fig. 2.** SDS-PAGE patterns of pepsin-hydrolyzed bovine lactoferrin fractions.

Molecular maker: A; Phosphorylase b (MW; 97,400), B; Bovine serum albumin (MW; 66,200), C; Ovalbumin (MW; 45,000), D; Carbonic anhydrase (MW; 31,000), E; Soybean trypsin inhibitor (MW; 21,500), F; Lysozyme (MW; 14,400)

Lane 1 : fraction 1, Lane 2 : fraction 2, Lane 3 : fraction 3, Lane 4 : fraction 4.

No. 4에서 나타나지 않은 band가 fraction No. 2와 fraction No. 3에서 나타나는 것으로 미루어 보아 Table 2에 나타난 결과와 비교할 때, 이 물질들이 매우 강력한 항균력을 갖고 있는 것으로 보여진다.

#### 열처리 pepsin-hydrolyzed bovine Lf 첨가 용액의 bacteriocidal effect 시험

살균 처리 및 pH 조건에 따른 pepsin-hydrolyzed bovine Lf의 두 분획에 대하여 MBCs 및 bacteriocidal effect를 측정 한 결과는 Table 2와 Table 3과 같다.

Table 2와 Table 3에서 나타난 결과와 같이 우선 두 분획 간의 bacteriocidal effect는 fraction No. 2에서 월등히 높은 것으로 나타났으며, 살균 처리 간에는 fraction No. 3에서 UHT로 살균 처리 했을 경우 bacteriocidal 효과를 상당히 손실하는 것으로 나타났으나, fraction No. 2의 경우 UHT 처리에서도 bacteriocidal 효과를 유지하는 것으로 보여지며, 특히 pH 2의 조건에서 강한 항균활성력을 유지하는 것으로 나타났는데 이와 같은 결과는 Saito 등<sup>(8)</sup>이 pH 2, 120℃ 열처리에서 강한 항균활성력을 유지하는 가수분해물이 생산되었

다는 보고로 미루어 보아 본 시험에서도 동일한 결과가 나타난 것으로 생각된다. 그러나 LTLT 및 HTST 살균 처리 간에는 pH 조건 및 농도에 따라 항균 활성력에 별 차이가 없는 것으로 여겨진다. pH 조건에 따른 bacteriocidal effect는 두 분획 모두에서 pH 2의 조건에서 pH 6.8에 비하여 매우 강력한 bacteriocidal 효과를 보여주었고 pH 4에 비하여 약간 우세한 bacteriocidal 효과를 보여주었다. 또한 이와 같은 결과로 미루어 fraction No. 2의 경우, LTLT 및 HTST 살균 처리를 했을 때 pH 2 및 pH 4의 조건에서 MBCs가 약 200~400  $\mu$ g/ml 이하의 범위에 있는 것으로 보여지나 pH 6.8의 경우, MBCs가 pH 조건에 따라 다소 높게 나타나는 것으로 생각된다. 또한 fraction No. 3의 경우, LTLT방법으로 살균 처리를 했을 때 pH 2 및 pH 4의 조건에서 MBCs가 600~800  $\mu$ g/ml 범위에 있는 것으로 보여지나 UHT의 경우, 농도를 증가시켜도 bacteriocidal 효과가 별로 없는 것으로 나타났다.

이와 같은 결과는 Dionysius<sup>(15)</sup> 등이 bovine Lf의 항균성 peptides를 분리 정제하여 특성을 시험한 결과에서 pepsin 가수분해물의 경우 250  $\mu$ g/ml에서 최저해농도를 나타냈다는 보고와 일치하는 것으로 나타났다.

## 요 약

본 연구는 pepsin-hydrolyzed bovine Lf 수용액을 시유의 살균방법인 L.T.L.T. pasteurization (65℃/30min.), H.T.S.T. pasteurization (75℃/15sec.), ultra-high temperature treatment (135℃/3sec.) 방법으로 열처리하여 *Escherichia coli* O111 (pathogenic type)에 대한 MBCs test 및 항균 특성을 시험하여 pepsin-hydrolyzed bovine Lf의 활용성 여부를 검정하는데 그 목표를 두었으며, 그 결과는 다음과 같다.

Pepsin으로 효소처리 된 Lf 가수분해물을 gel filtration(Sephadex G-200)을 통하여 분리 수집하고 각 분획을 SDS-PAGE로 분자량을 측정 한 결과, 매우 강력한 항균력을 갖고 있는 분획에서 약 33KDa의 분자량을 가진 물질이 있는 것으로 나타났다.

살균 처리 및 pH 조건에 따른 pepsin-hyd-

rolyzed bovine Lf의 두 분획에 대하여 MBCs test 및 bacteriocidal effect를 측정 한 결과, fraction No. 2에서 pH 2의 산성 조건에서 살균방법에 따른 열처리와 관계없이 매우 강력한 항균효과가 있는 것으로 보여지며, LTLT 살균처리의 경우 pH 조건과 관계없이 가수분해물 농도가 200~400 µg/ml의 범위에서 강한 항균활성력을 유지하는 것으로 보여지나, UHT 살균처리의 경우 pH의 조건이 증가하면서 항균활성력이 약화되는 것을 확인할 수 있었다.

fraction No. 3에서는 LTLT 살균처리의 경우 산성 조건에서 가수분해물의 농도를 증가시킬수록 항균 활성력이 증가되는 것으로 보여지나, UHT 살균처리의 경우 가수분해물의 농도를 증가시킬수록 약하게 항균활성력이 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

본 연구 결과를 종합할 때, Lf 가수분해물의 분획에 대한 MBCs의 농도를 설정할 수 있었고 아울러 pH 조건 및 살균방법에 따른 Lf 가수분해물 분획의 안정성을 파악할 수 있었으며, 고도의 정제를 요구하는 lactoferricin B를 활용할 수 없는 경우, pepsin으로 효소처리한 Lf 가수분해물로서 시유 및 유제품 등에 적용할 수 있을 것으로 여겨진다.

### 감사의 글

본 논문은 생명공학연구소 위탁연구비에 의하여 연구되었음.

### 참고문헌

- Bellamy, W., Wakabayashi, H., Takase, M., Kawase, K., Shimamura, S. and Tomita, M. : Killing of *Candida albicans* by lactoferricin B, a potent antimicrobial peptide derived from the N-Terminal region of bovine lactoferrin. *Med. Microbiol. Immunol.*, 182, 97(1993).
- Jones, E. M., Smart, A., Bloomberg, G., Burgess, L. and Millar, M. R. : Lactoferricin, a new antimicrobial peptide. *J. of Appl. Bacteriology*, 77, 208(1994).
- Hoek, K. S., Milne, J. M., Grieve, P. A., Dionysius, D. A. and Smith, R. : Antibacterial activity of bovine lactoferrin-derived peptides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41, 54(1997).
- Shinoda, I., Takase, M., Fukuwatari, Y., Shimamura, S., KoLLer, M. and Komg, W. : Effects of lactoferrin and lactoferricin on the release of interleukin from human polymorphonuclear leukocytes. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 521(1996).
- 한수연 : Pepsin 및 Chymotrypsin 처리에 의한 Bovine lactoferrin fraction의 항균 효과에 관한 연구. 충남대학교 대학원 석사학위논문. (1996).
- Brines, R. D. and Brock, J. H. : The effect of trypsin and chymotrypsin on the *in vitro* antimicrobial and iron-binding properties of lactoferrin in human milk and bovine colostrum. *Biochem. Biophys. Acta.*, 759, 229(1983).
- Todhunter, D., Smith, K. L. and Hogan, J. S. : Growth of Gram-negative bacteria in dry cow secretion. *J. Dairy Science*, 73, 363(1990)
- Saito, H., Miyakawa, H., Tamura, Y., Shimamura, S. and Tomita, M. : Potent bactericidal activity of bovine lactoferrin hydrolysate produced by heat treatment at acidic pH. *J. Dairy Science*, 74, 3724(1992).
- Tomita, M., Bellamy, W., Takase, M., Yamauchi, K., Wakabayashi, H. and Kawase, K. : Potent Antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin. *J. Dairy Science*, 74, 4137(1991).
- Bellamy, W., Takase, M., Wakabayashi, H., Kawase, K. and Tomita, M. : Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *J. Applied Bacteriology*, 73, 472(1992).
- Bellamy, W., Takase, M., Yamauchi,

- K., Wakabayashi, H., Kawase, K. and Tomita, M. : Identification of the bactericidal domain of lactoferrin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1121, 130(1992).
12. Wakabayashi, H., Bellamy, W., Takase, M. and Tomita, M. : Inactivation of *Listeria monocytogenes* by lactoferrin, a potent antimicrobial peptide derived from cow's milk. *J. Food Protection*, 55, 238(1992).
13. Yamauchi, K., Tomita, M., Giehl, T. J. and Ellison III, R. T. : Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment. *Infection and Immunity*, 61, 719(1993).
14. Line, W. F., Sly, D. A. and Bezkorovainy, A. : Limited cleavage of human lactoferrin with pepsin. *Int. J. Biochem.*, 7, 203(1976).
15. Dionysius, D. A. and Milne, J. M. : Antibacterial peptides of bovine lactoferrin : Purification and characterization. *J. Dairy Sci.*, 80, 667(1997).

---

(1998년 8월 3일 접수)