

## Bacillus licheniformis cy2가 생산하는 박테리오신의 특성

장지윤 · 이현희\* · 김인철\* · 장해춘†

조선대학교 식품영양학과  
\*목포대학교 식품공학과

### Characterization of a Bacteriocin Produced by *Bacillus licheniformis* cy2

Ji-Yoon Chang, Hyun-Hee Lee\*, In-Cheol Kim\* and Hae-Choon Chang†

Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Kwang Ju 501-759, Korea.

\*Dept. of Food and Engineering, Mokpo National University, Chonnam 534-729, Korea.

#### Abstract

A new bacteriocin produced by *Bacillus licheniformis* cy2 was partially purified and characterized. The bacteriocin named as BSCY2 was stable in the pH range of 2.5~9.5. BSCY2 was stable below 40°C and it retained its antimicrobial activity during long term storage at -20°C and -70°C. BSCY2 was inactivated by 15 min exposure to temperatures over 80°C and lost 50% of its antimicrobial activity within 2 hr at 70°C. BSCY2 was inactivated by proteinase K treatment, which indicates its proteinous nature. Direct detection of the BSCY2 band showing antimicrobial activity on Tricine-SDS-PAGE suggested an apparent molecular mass of about 6,500 dalton. These characteristics of BSCY2 are considered as potential compounds for use in bioindustry.

**Key words:** *B. licheniformis*, bacteriocin

#### 서 론

*Bacillus* 속은 오랜 세월동안 식품 및 각종 발효산업에서 널리 사용되어진 속주세포로써 산업적으로 중요한 속이다. *Bacillus* 속에는 다양한 종이 있고 이 중 대부분이 비병원성이며 비교적 유전자조작이 용이하며 배양이 간단하고 단백질이나 대사산물을 잘 분리하기 때문에 발효에 의한 물질생산용 속주로 적합한 균주로 사용되어져 왔다(1). 오늘날 상업적으로 생산되는 *Bacillus* 발효산물로는 연간 전체 효소생산의 절반 이상에 이르는 각종 효소(2), 향생제(3), 살충제(4), 식품풍미개선제용 nucleotides와 nucleosides(5), 그리고 아미노산 등(6)이 있다.

*Bacillus* 속이 생산하는 항균물질들은 종에 따라 다양하여 *B. subtilis*가 생산하는 것에는 subtilin, surfactin, rhizoctin, alboleutin, bacillomycin, bacitysin, botycin, fengycin, itunn, mycosubtilin 등으로 *Bacillus* 속 중 가장 많은 보고가 있으며, *B. licheniformis*로부터의 bacitracin, *B. brevis*로부터의 brevistin, edeines, gramicidin, gramicidins 등이, *B. circulans*로부터의 polypeptins, EM-19, *B. mesentericus*로부터의 esperin, *B. polymyxa*로부터의 tridecaptins 등이 있다. 이들 대부분은 peptide antibiotics라고 알려져 있으며 이 물질들의 생물학적, 분자생물학적 특성에 관한 많은 연구들이

보고되고 있다(7)

*Bacillus* 속의 많은 항균물질들 중 *B. licheniformis*로부터는 bacitracin이 보고되고 있는데, 이는 branched cyclic peptide antibiotic으로 D형 아미노산 4개를 지닌 12개의 peptide로 이루어져 있으며, 3개의 subunit로 이루어져 그 분자량이 각각 240, 335, 380 KDa으로 알려져 있다(7). Bacitracin은 분말형(粉末形)의 zinc bacitracin으로 소, 돼지나, 닭 등의 가축사료첨가제로 중국의 Hebei Shenzhou Animal Medicine사에서 시판되고 있다.

본 연구팀은 *B. subtilis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* 등의 그람양성균과 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 대하여도 항균활성을 나타내어 비교적 넓은 항균 spectrum을 나타내는 *B. licheniformis* cy2를 분리 동정하여 그 미생물학적 특징을 보고한 바 있다(8).

따라서 본 연구에서는 *B. licheniformis* cy2가 생산하는 항균물질을 부분정제하여 그 특성을 연구하였다.

#### 재료 및 방법

##### 항균물질의 부분정제

본 실험에 사용된 항균물질은 다음의 방법에 의하여 부분

†Corresponding author. E-mail: hcchang@mail.chosun.ac.kr  
Phone 82-62-230-7345, Fax 82-62-225-7726

정제하여 조항균물질 상태로 준비하였다. 하룻밤동안 전배양된 *B. licheniformis* cy2을 250 mL LB 액체배지(Bactotryptone, 10 g; Yeast extract, 5 g; NaCl, 10 g per liter, Difco Co., USA)에 1% 접종하고, 다시 30°C에서 15시간동안 본배양한 후 4°C에서 24시간 보관하였다. 4°C에서 24시간 냉장보관된 본배양액을 원심분리(5,520×g, 25 min, 4°C)하여 균체를 제거하고, 회수한 상청액을 membrane filter(0.45 µm pore size, Millipore)로 제균하였다. 회수한 상청액은 -20°C에서 냉각된 acetone을 75%(v/v) 첨가한 후, 원심분리(12,100×g, 15 min, 4°C)하여 분획침전시킨 후 농축물을 제조하였다. 진공펌프로 침전물에 잔존하는 소량의 acetone을 완전히 제거한 후, 침전물을 2.5 mL의 10 mM phosphate(pH 7.0) 완충용액에 녹여서 조항균물질로 사용하였다.

#### 항균활성의 검증

본 실험에서의 항균력 측정은 paper disk법(9)에 의해 시행하였다. *B. licheniformis* cy2에 대해 강한 감수성을 나타내는 *B. subtilis* ATCC 6633을(8) 하룻밤 동안 전배양하고 이를 새로운 배지에서 3시간 정도 배양하여 대수기 초기 상태의 균체로 준비하여 LB 평판배지에 도달한 후, 8 mm 직경의 paper disk(Advantec, Japan)를 울리고 항균력 측정을 위한 시료를 일정량(100 µL/paper disk) 가하여 30°C에서 하룻밤 배양하여 지시균주에 대한 생육저지환을 관찰하였다.

#### Tricine-SDS-PAGE

Acetone 침전법에 의해 부분 정제한 시료로부터 항균활성을 나타내는 물질의 분자량을 Tricine-SDS PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)방법을 통하여 결정하였다(10). Gel 조성은 discontinuous gel로 4% stacking gel과 16.5% separating gel을 사용하였다. 이때 표준 분자량물질로는 polypeptide standards marker(Cat. No: 161-0326, Bio-Rad)와 low range standards marker(Cat. No: 161-0304, Bio-Rad)를 사용하였다. 전기영동 후 항균물질을 나타내는 물질의 band 확인은 direct detection 방법(9)에 의하여 Tricine-SDS-PAGE상에서 직접 그 항균활성을 측정하여 확인하였다.

#### 항균물질의 안정성

**온도의 영향:** 온도에 의한 영향을 알아보기 위하여 항균물질을 -70, -20, 4, 20, 37, 40, 50, 60, 70, 75, 80°C에서 처리하였다. 각 온도에서 15분, 30분, 그리고 30분 이후부터는 매 1시간 또는 4시간 간격으로 24시간동안 항균물질을 열처리한 후 잔존하는 항균력을 측정하였다.

**pH의 영향:** 항균물질의 활성이 pH에 의하여 변화되는지를 알아보기 위하여 pH 2.5(50 mM glycine-HCl), pH 4.5(50 mM sodium acetate), pH 6.0(50 mM sodium citrate), pH 9.5(50 mM glycine-NaOH) 완충액을 1 N HCl과 1 N NaOH로 보정하여 만든 다음 부분정제된 항균물질 농축물을 각각의 완충액에 용해시켜 25°C에서 36시간동안 4시간마다 그 상

대활성을 측정하였다.

**각종 효소의 영향:** Trypsin(Sigma EC 3.4.21.4 type I), lipase(Sigma EC 3.1.1.3 type VII), protease(Sigma, type I), lysozyme을 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5), pepsin(Sigma EC 3.4.23.1 type D)은 10 mM citrate buffer(pH 6.0), proteinase K(Sigma EC 3.4.21.64)는 1 M Tris-HCl,  $\alpha$ -amylase(Sigma EC 3.2.1.1 type VIII-A)는 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0), carboxypeptidase A(Sigma EC 3.4.17.1 type II)는 50 mM Tris-HCl(pH 8.0)에 20 mg/mL가 되도록 준비하였다. 조항균물질에 준비된 각종효소를 최종 2 mg/mL 농도로 37°C에서 2시간 30분동안 반응시켜 활성의 변화를 관찰하였다. Aminopeptidase I(Sigma A9934)은 0.2 M Tris-HCl(pH 8.0) buffer를 이용하여 효소를 1 units/mL 농도가 되도록 녹인 다음 25°C에서 2시간 30분동안 작용시킨 후 활성을 측정하였다. 대조구로는 모든 동일한 조건에서 효소의만 빼고 처리한 것으로 사용하였다.

## 결과 및 고찰

#### 항균물질의 분자량

부분정제된 *B. licheniformis* cy2로부터의 항균물질은 16.5% Tricine-SDS-PAGE상에서 몇 개의 주된 band들을 나타내었고 이 중 어느 band가 항균활성을 나타내는지의 확인은 direct detection 방법(9)에 따라 각 band를 잘라 지시균인 *B. subtilis* ATCC 6633을 도달한 배지 위에서 직접 그 항균활성을 측정하였다. 이 band들 중 분자량 6,500을 나타내는 band에서는 항균활성이 뚜렷이 나타났으나(Fig. 1), 나머지 band들에서는 어떠한 항균활성도 관찰되지 않았다. *B. licheniformis* cy2로부터의 항균물질의 분자량은 약 6,500 dalton정도임을 확인하였다.

기존의 보고된 *B. licheniformis*로부터의 항균물질인 bacitracin의 분자량이 subunit 별로 240, 335, 380 KDa에 비하여 본 연구에서의 *B. licheniformis* cy2로부터의 항균물질은 subunit 결합에 의한 이것의 4차원적 구조형성 유무를 본 연구결과로는 알 수 없으나 기존의 bacitracin과는 다른 구조이며 그 단위 분자량이 훨씬 작음을 알 수 있었다.

#### 항균물질의 pH 안정성

항균물질의 활성에 대한 pH 영향을 알아보기 위해 부분정제된 항균물질 농축액을 pH 2.5에서 pH 9.5의 범위까지 25°C에서 36시간 동안 방치하면서 상대활성을 측정하였다. 그 결과 Fig. 2와 같이 pH 2.5~pH 9.5까지 36시간동안 활성의 변화가 없었으므로 넓은 pH 구간에서 매우 안정하였다. pH에 의하여 항균물질이 활성을 상실하는 이유는 pH가 높을 경우 hydroxides ions, deprotonated amines, deprotonated hydroxyl group과 같은 nucleophile은 dehydro residue와 반응하여 분자간 혹은 분자내 cross-linkage를 형성하여 화학적 변형을 일으킨다고 보고하였다(11).

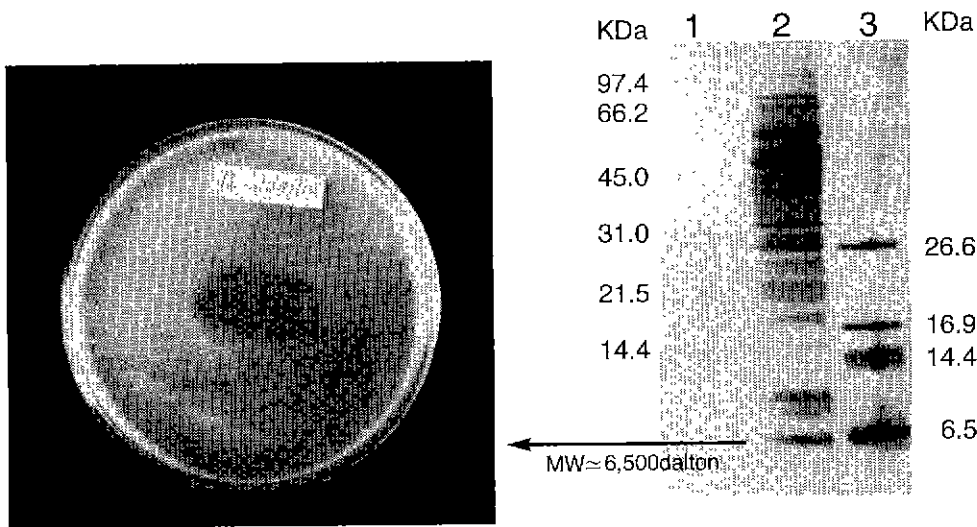


Fig. 1. Determination of molecular weight of BSCY2 by Tricine-SDS-PAGE.

Several bands were cut and were pretreated according to the direct detection method, and were applied onto LB plate and overlaid with spready of *B. subtilis* ATCC 6633 cells (left).

Only one band (M W.  $\approx$ 6,500 dalton) showed antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633. Other bands did not show antimicrobial activity (right).

Lane 1. low-range marker (Bio-Rad, USA), 2. partial purified BSCY2, 3. polypeptide size marker (Bio-Rad, USA)

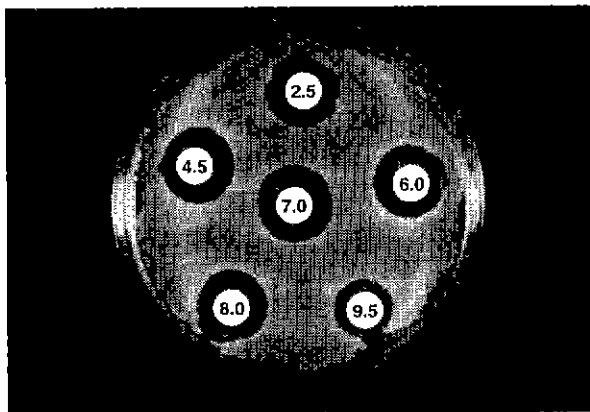


Fig. 2. Effect of pH on the antimicrobial activity of BSCY2.

The sample was treated under pH 2.5~9.5 for 36 hr at 25°C. Residual antimicrobial activity was measured with *B. subtilis* ATCC 6633 as an indicator.

기존의 보고에 의하면 대부분의 미생물 유래의 항균물질이 일정 pH 범위내에서만 안정한 것으로 알려지고 있는데, 세균이 생산하는 박테리옌 중 가장 많은 연구가 이루어졌으며 FDA(Food and Drug Administration)에서 GRAS(Generally Recognized As Safe)로 공인되어 식품산업에서 사용이 허용된 nisin은 pH 안정성이 떨어진다는 문제점이 있다. Nisin은 pH 3에서는 안정하나 pH 5에서는 40%, pH 6.8에서는 90%의 역가 손실이 있어(12) 이 pH 범위를 벗어난 식품에서의 활용이 제한되고 있다. 대부분의 박테리옌은 pH 안정성이 낮아 *Lb. plantarum* C-11이 생산하는 plantarcin A는 pH 4~6.5(13), *Lb. plantarum* LPCO 10의 plantarcin S는 pH 3.0~7.0(14), *Lb. acidophilus* AC<sub>1</sub>의 박테리옌은 pH 2.5~7.5(15), 그리고 *Lb. helveticus* 1829의 hevelticin V-1829는

pH 2.5~6.5(16) 사이의 좁은 범위에서만 활성을 유지하였다. 이에 반해 소수에 불과하나 넓은 pH범위 내에서 안정한 항균물질에 관한 보고들로는 *Carnobacterium piscicola*(17)로부터의 항균물질은 pH 2~11, *Bacillus thuringiensis* subsp. *tochigiensis*(18)로부터의 항균물질은 pH 3~9, 그리고 *Bacillus cereus*(19)로부터의 항균물질은 pH 3~12에서도 항균 활성을 나타내는 것으로 보고되었다. 본 연구에서의 *B. licheniformis* cy2로부터의 항균물질도 pH 2.5~9.5에 이르는 거의 전 pH영역에서 30시간 이상 처리하여도 그 활성을 잃지 않아 비교적 넓은 pH 범위 내에서 안정함을 알 수 있었다.

#### 항균물질의 열 안정성

부분 정제된 항균물질을 -70~-80°C 범위에서 일정 시간동안 열 안정성을 살펴보았다(Fig. 3). 본 항균물질은 40°C까지는 수 시간 처리하여도 100% 그 활성을 그대로 유지하였으나 50°C에서는 4시간 처리 이후 서서히 그 활성이 감소하기 시작하였다. 60°C에서는 처리 30분 이후, 70°C에서는 처리 15분 이후 그 활성이 감소하기 시작하였는데 60°C에서 더 완만하게 감소함을 알 수 있었다. 80°C 이상의 온도에서는 15분 안에 완전히 항균활성이 소실되었고 70°C에서 2시간까지는 초기 항균활성의 50%를 유지하였다. 그러나 저온에서는 극히 안정하여 -20~-70°C에서는 수개월 동안에도 안정하였다.

미생물로부터의 항균물질의 열 안정성은 *Lb. acidophilus*가 생산하는 lactacin B(20)는 120°C에서 60분 동안 열처리에도 안정하며 *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis* S50(21)는 100°C에서 각각 60분과 30분 열처리 시에도 활성을 유지하였으며 *B. thuringiensis* subsp. *tochigiensis*(18)는 90°C에서 30분 열처리 시에도 안정하는 등 그 내열성이 강한 것에서부터 *Lb. acidophilus* AC<sub>1</sub>(15)으로부터 분자량 5,200의 단백물

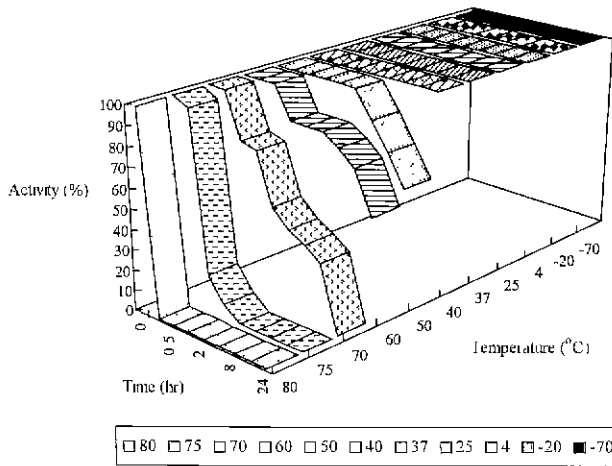


Fig. 3. Effect of heat treatment on the antimicrobial activity of BSCY2.

The sample was treated at different temperatures (-70~80°C) for 0.25~24 hr. Residual antimicrobial activity was measured with *B. subtilis* ATCC 6633 as an indicator.

질인 항균물질은 50°C 처리에서 20분안에 항균활성의 대부분이 상실되는 경우와 같이 열에 약한 경우도 있다.

가수분해효소 처리시의 항균활성의 변화

부분 정제된 항균물질에 여러 종류의 가수분해효소를 2 mg/mL의 농도가 되도록 첨가하여 37°C에서 2시간 30분 동안 반응시킨 후 항균물질의 잔존활성을 측정 한 결과는 Table 1과 같다. *B. licheniformis* cy2로부터의 항균물질은 α-amylase 나 lipase를 처리한 경우 활성이 그대로 유지되어 항균활성을 나타내는 물질에는 당이나 지질결합이 크게 영향을 미치지 않는 것으로 추정할 수 있었다. 각종 단백분해효소나 peptidase 처리 시에는 proteinase K에 의해서만 완전히 실패되었고 나머지 효소들의 처리에는 항균활성을 그대로 유지하였다.

세균이 생산하는 항균물질인 박테리오신의 가장 큰 의의

Table 1. Effect of various enzymes on the antimicrobial activity of BSCY2

Treatment	Activity <sup>1)</sup>
Control <sup>2)</sup>	+++
Proteinase K	-
Protease	+++
Pepsin	+++
Trysin	+++
α-amylase	+++
Lipase	+++
Lysozyme	+++
Aminopeptidase I	+++
Carboxypeptidase A	+++
α-chymotrypsin	+++

<sup>1)</sup>Activity was expressed as the diameter (in millimeter) of inhibition zone against *B. subtilis* ATCC 6633. Degree of clarity of clear zone by growth inhibition 1.6~1.7 cm: +++. No clear zone: -.

<sup>2)</sup>Control: non-enzyme treated sample.

는 단백질이나 peptide분자로 이루어져 인체의 소화기관내의 단백질분해효소에 의해 분해됨으로써 인체에 무독성이고 잔류성이 없다는 특징이 있고(22), 그러므로 이와 같은 특징 때문에 다른 미생물 유래의 antibiotics와 달리 식품에서의 생물학적인 보존제 뿐만 아니라 가축의 질병예방용 사료첨가제, 식물체의 무독성 생체농약으로 개발에 관심이 모아지고 있다.

그런데 본 연구에서 *B. licheniformis* cy2로부터의 항균물질은 대부분의 단백질분해효소나 peptidase에 의해 실패되지 않았고 proteinase K에 의해서만 항균활성이 소실되는 것으로 나타났다. 그러므로 proteinase K에 의해 항균활성이 소실됨이 효소작용에 의한 항균물질의 완전가수분해의 결과인지 가수분해되지 않은 상태에서 항균활성의 실패인지 확인하기 위하여 proteinase K로 처리 후 활성이 실패된 시료를 Tricine-SDS-PAGE상에서 전기영동하여 항균활성을 나타내는 band(분자량 6,500 dalton)를 관찰하였다(Fig. 4). 효소를 처리하지 않은 시료나(lane 3) 각종 효소처리를 하였지만 항균활성이 소실되지 않은 시료들(lane 4~7)에서는 분자량 6,500 근처의 뚜렷한 band가 확인되었으나 proteinase K 처리구는 6,500 근처의 band가 완전히 사라져 본 항균물질의 실패는 단백질가수분해효소의 가수분해작용에 기인하며, 그러므로 본 항균물질이 단백질성 물질임을 확인할 수 있었다.

*Bacillus thuringiensis* HD2로부터의 항균물질인 thuricin은 chymotrypsin, pronase, trypsin의 몇 가지 단백질분해효소처리에 의해 모두 항균활성이 실패되었으나(23), 본 연구 결과에서와 같이 박테리오신 중 다른 단백질분해효소(trypsin, chymotrypsin 등)에는 안정하고 proteinase K에만 실패되는 경우는 *Bacillus thuringiensis* subsp. *tochigiensis* HD868(18)와 *Bacillus thuringiensis* BMG 1.7(24)의 경우에서도 찾아볼 수 있다.

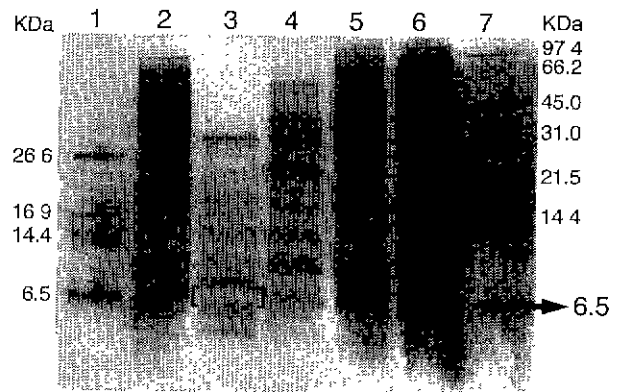


Fig. 4. Tricine-SDS-PAGE of enzyme treated BSCY2.

Lane 1: polypeptide size marker (Bio-Rad, USA), 2: BSCY2, 3: BSCY2/treated with proteinase K, 4: BSCY2/treated with trypsin, 5: BSCY2/treated with pepsin, 6: BSCY2/treated with lipase, 7: low-range marker (Bio-Rad, USA).

The indicated band (M.W. ≈ 6,500 dalton) was disappeared after proteinase K treatment but was not hydrolyzed by other enzymes.

## 요약

*B. licheniformis* cy2가 생산하는 박테리오신(BSCY2)을 부분정제하고 특성을 규명하였다. BSCY2는 분자량 6,500 dalton 정도의 항균물질로 기존에 보고된 *B. licheniformis*로부터의 bacitracin과는 다른 물질임을 알 수 있었다. BSCY2는 pH 안정성이 우수하여 pH 2.5~9.5 구간에서도 안정되게 항균활성을 유지하였다. 열안정성은 80°C 이상의 온도에서는 15분 안에 완전히 항균활성이 소실되었고 70°C에서 2시간까지는 초기 항균활성의 50%를 유지하였으며 40°C 이하에서는 안정하였다. BSCY2를 각 효소로 처리하였을 때 BSCY2는 proteinase K로 처리시에만 항균활성이 완전히 실행되었고 다른 효소에는 항균활성이 소실되지 않았다. Proteinase K에 처리된 BSCY2를 Tricine-SDS-PAGE를 수행하였을 때 항균활성을 나타내는 분자량 6,500에 해당하는 band가 완전히 사라져 본 항균물질은 proteinase K에 의해 가수분해되어 항균활성이 실행되므로 peptide나 단백질로 이루어진 구조임을 확인하였다. 이와 같은 박테리오신 BSCY2의 특성은 실제 생물산업에서의 항균제로서의 개발 가능성을 시사한다.

## 감사의 글

본 연구는 1999년도 조선대학교 교내 학술 연구조성비에 의하여 수행되었으므로 이에 감사드립니다

## 문헌

1. Arbige, M.V., Bulthuis B.A., Schultz, J. and Crabb, D. : Fermentation of *Bacillus subtilis* and Other Gram-Positive Bacteria. Sonenshein, A.L., Hoch, J.A. and Losick, R (eds.), American Society for Microbiology, p 871-895 (1993)
2. Arbige, M.V. and Pitcher, W.H. Industrial enzymology; a look towards the future. *Trends Biotechnol.*, 7, 330-335 (1989)
3. Kleinkauf, H. and von Dohren, H. : Non-ribosomal peptide formation on multifunctional proteins. *Trends Biochem. Sci.*, 8, 281-283 (1983)
4. Bella, L.A., Faust, R.M., Andreus, R. and Goodman, N. : Insecticidal bacilli. In *Molecular Biology of the Bacilli*, Dubnau, D. (ed.), Academic Press Inc., Orlando, Fla., Vol. 2, p 186-210 (1985)
5. Demain, A.L. : Production of nucleotides by microorganism. In *Economic Microbiology Primary Products of Metabolism*. Rose, A.H. (ed.), Academic Press, London, Vol. 2, p.178-208 (1987)
6. Priest, F.G. : Products from bacilli. In *Handbook of Biotechnology*, Hopwood, C.F. (ed.), Plenum Press, NY, Vol. 2, p.293-315 (1989)
7. Zuber, P., Nakano, M.M. and Marahiel, M.A. : Peptide antibiotics. In *Bacillus subtilis and Other Gram-Positive Bacteria Biochemistry, Physiology and Molecular Genetics*, Sonenshein, A.L., Hoch, J.A. and Losick, R (eds.), American Society for Microbiology, p.897-916 (1993)
8. Kim, S.I., Kim, I.C. and Chang, H.C. : Isolation and identification of antimicrobial agent producing microorganisms and sensitive strain from soil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 526-533 (1999)
9. Arun, K.B., Johnson, M.C. and Ray, B. : Direct detection of an antimicrobial peptide of *Pediococcus acidilactici* in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Ind. Microbiol.*, 2, 319-322 (1987)
10. Hermann, S. and Jagow, G.V. : Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 KDa. *Anal. Biochem.*, 166, 368-379 (1987)
11. Liu, W. and Hansen, J.N. : Some chemical and physical properties of nisin, a small-protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2551-2558 (1990)
12. Delves-Broughton, J. : Nisin and its uses as a food preservative. *Food Technology*, 44, 100-117 (1990)
13. Daeschel, M.A. and McKenney, M.C. : Bacteriocidal activity of *Lactobacillus plantarum* C-11. *Food Microbiol.*, 7, 91-98 (1990)
14. Jiménez-díaz, R., Ríos-Sánchez, R.M., Desmazeaud M., Ruiz-Barba, J.L. and Piard, J.C. : Plantaricin S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO 10 isolated from a green olive fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1416-1424 (1993)
15. Mehta, A.M., Patel, K.A. and Dave, P.J. : Purification and properties of the inhibitory protein isolated from *Lactobacillus acidophilus* AC. *Microbiol.*, 38, 73-81 (1983)
16. Vaughan, E.E., Daly, C. and Fitzgerald, G.F. : Identification and characterization of helveticin V-1829, a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 1829. *J. Appl. Biotechnol.*, 73, 299-308 (1992)
17. Ahn, C. and Stiles, M.E. : Plasmid-associated bacteriocin production by a strain of *Carnobacterium piscicola* from meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2503-2510 (1990)
18. Paik, H.D., Bae, S.H. and Pan, J.G. : Identification and partial characterization of tochicin, a bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp. *tochigiensis*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 19, 294-298 (1997)
19. Naclerio, G. and Ricca, E. : Antimicrobial activity of a newly identified bacteriocin of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 4313-4316 (1993)
20. Susan, F.B. and Klaenhamer, T.R. : Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 1808-1815 (1983)
21. Kojic, M., Svircevic, J. and Banina, A. : Bacteriocin producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* S50. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1853-1857 (1991)
22. Tagg, G.R., Dajani, A.S. and Wannamaker, L.W. : Bacteriocin of gram-positive bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 40, 772-775 (1976)
23. Favert, M.E. and Youston, A.A. : Thuricin: the bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 3450-3455 (1989)
24. Cherif, O.H., Daffonchio, D. and Cherif, H. : Thuricin 7, a novel bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* BMG 1.7, a new strain isolated from soil. *Lett. Appl. Microbiol.*, 32, 243-247 (2001)

(2001년 3월 24일 접수)