



## *Lactococcus* sp. CU216이 생산하는 박테리오신을 함유한 pH Sensitive Liposome의 응용

박성수<sup>1</sup> · 김명희<sup>2</sup> · 한경식<sup>3</sup> · 오세종\*

<sup>1</sup>Princeton 대학교 물리학과, <sup>2</sup>한국식품개발연구원, <sup>3</sup>고려대학교 식품과학부,  
전남대학교 동물자원학부 농업과학기술연구소

## Use of Bacteriocin Produced by *Lactococcus* sp. CU216 with pH Sensitive Liposome Entrapment

Sung-Su Park<sup>1</sup>, Myung-Hee Kim<sup>2</sup>, Kyoung-Sik Han<sup>3</sup> and Sejong Oh\*

<sup>1</sup>Department of Physics, Princeton University, USA

<sup>2</sup>Korea Food Research Institute, <sup>3</sup>Division of Food Science, Korea University  
Insti. of Ag. Sci. and Tech. Department of Animal Science, Chonnam National University

### Abstract

The objective of this study was to control Kimchi fermentation using pH sensitive bacteriocin entrapping liposome(bacteriocin-liposome). The liposomes were prepared by the reverse-phase evaporation method from a mixture of DPPC(dipalmitoyl phosphatidylcholine, DPPE(dipalmitoyl phosphatidylethanolamine), DOPC(dioleoyl phosphatidylcholine) and cholesterol in a molar ration of 4:2:1:4. The bacteriocin-liposome was disrupted at pH 4 of buffer and was stable at alkaline pHs(6 and 7). Irrespective of the addition of the bacteriocin-liposomes, the pH of every Kimchi sample decreased to 5 during 5 days storage at 5°C. Kimchi samples treated with bacteriocin-liposomes maintained pH 4 or higher, while Kimchi samples not treated with bacteriocin-liposomes exhibited pH 3.58 or lower. In general, the pH of Kimchi samples stored at 20°C decreased faster, compared to that of Kimchi samples stored at 5°C. The pH of Kimchi samples treated with the bacteriocin-liposomes was 3.9 during 90 days storage, while that of the samples not treated with the bacteriocin-liposomes was 3.68 and 3.32 during 30 days and 90 days storages, respectively. Lactic acid bacteria in Kimchi treated with the bacteriocin-liposome grew relatively slow at 5°C. The viable cell number of lactic acid bacteria increased up to  $4 \times 10^7$  cells/ml and then decreased to  $8 \times 10^6$  cells/ml during 90 days storage at 5°C.

**Key words :** bacteriocin, pH sensitive, liposome, lactic acid bacteria

### 서 론

박테리오신(bacteriocin)은 미생물이 생산하는 천연 항균성 단백질(antimicrobial polypeptide)로서 인체에 무해하고 잔류성이 없으며 plasmid나 chromosome으로부터 직접 생합성되

어 유전자조작 등에 의한 생물공학적 응용이 쉽다는 장점이 있다(Montville and Kaiser, 1993). 최근, 미생물에 대한 유전학적 및 생화학적 연구는 박테리오신에 대한 특성을 좀더 명확하게 밝혀주었으며, Tagg 등(1976)과 Klaenhammer(1993)는 박테리오신을 '생산균과 근접한 species에 항균작용을 하는 단백질성 화합물'로 정의하였다. 그러나 일부 박테리오신은 생산균과 좀더 거리가 먼 박테리아종에게도 항균 효과가 있어 이 정의에 적용되지 않는 예도 있는 것이다. 현재 까지 다양한 원천에서부터 많은 수의 유산균 박테리오신이 분리 동정되어 그 특성들이 규명되었고 이중 일부는 실제적

\* Corresponding author : Se-Jong Oh, Department of Animal Science, Chonnam National University, PukGwangju, P.O. Box 205, Gwangju 500-757, Korea. Tel: 82-62-530-2116, Fax: 82-62-530-2129, E-mail: soh@chonnam.ac.kr.

<sup>1</sup>Present address : Division of Nano Sci., Ewha Womans University.

인 식품에서도 이용이 가능한 것으로 보고되고 있다(Jack et al., 1995; Oh et al., 2000).

*Lactococcus* sp. CU216이 생산하는 박테리오신은 포자를 형성하며 열과 산에 저항성이 매우 높은 *Alicyclobacillus*의 생육 억제에 이용하고자 디자인 되었는데, *Alicyclobacillus* 균주를 포함하여 *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* 등의 Gram 양성 병원성 미생물의 생육을 억제하는 것으로 보고되고 있다(Oh et al., 1999).

기존의 항생제가 안전성과 독성 및 내성 때문에 사용이 제한적이지만, 박테리오신은 인체에 무독성이고 잔류성이 없는 관계로 현재 상업적으로 이용되는 nisin의 경우 미국과 유럽을 포함한 많은 국가에서 식품첨가제로써 사용을 허용하고 있다(Kim, 1993).

국내에서도 오래전부터 nisin을 비롯한 여러 박테리오신을 이용하여 식품의 선도를 유지하는 시도를 하여 왔지만 실제 응용 예는 많지 않다(Han et al., 2002).

요구르트를 포함한 발효식품에의 박테리오신 이용은 일단 첨가된 시점부터 항균 활성을 나타내므로 요구르트와 같은 발효제품에는 적용하기가 어렵다. 그 이유는 법적 유산균수인  $10^7$  CFU/mL(액상발효유)를 유지시켜야 하기 때문에 이들 유산균을 사멸시키는 박테리오신 응용은 매우 제한적일 수 밖에 없다. Weibrenner 등(1997)은 요구르트의 후산발효(post acidification)를 억제시키기 위하여 Jeseniin G를 사용한 결과 배양 9시간에 *L. bulgaricus* 생균수가 4 log 정도 감소하였다고 보고하였다.

한국의 전통 발효 식품인 김치의 산도 억제를 위하여 박테리오신을 적용시킨 연구가 있었으나(Choi and Park, 1998), 박테리오신이 초기 김치 발효에 관여하는 주요 미생물을 사멸시켜 이상발효를 일으킬 수 있으며 박테리오신 자체가 산성 pH에서 높은 활성을 지니므로 김치제조 초기에 첨가한 경우 그 활성이 기대에 못미쳐질 수 있는 가능성이 존재한다는 단점이 있다. 또한 김치발효중에 박테리오신의 첨가는 현실적으로 어려운 점이 많다.

Liposome(리포솜, phospholipid vesicle)은 세포막의 성질을 연구하는 동안 발견되었는데, 인지질이 수용액 상에 분산되어 있을 때 자발적으로 형성되는 1개 이상의 이중 인지질막으로 구성된 구형의 소포이다(Bangham et al., 1965). 수용액에 녹아있는 형광물질, 효소, 약물 등의 분자들은 liposome을 합성하는 과정중에 liposome 내부로 포집될 수 있다. Liposome을 이용한 초기의 연구는 주로 세포막에 관한 것이었으나 최근에는 약물 전달 분야와 유전자를 운반하는 기능으로써 화학 치료법과 유전자 치료법에 응용되고 있으며 면역화학 분야에서 분석 도구로까지 이용범위가 확대되고 있

다(Perrine et al., 2001; Siebert et al., 1993).

Liposome의 안정성은 지질의 종류, 완충용액의 pH 및 ionic strength 등에 영향을 받는데 제조 방법에 따라 특정 pH에서 liposome이 분해되는 pH sensitive liposome과 비교적 큰 giant liposome 등 그 종류가 다양하다(Akashi et al., 1996).

본 연구는 특정 pH에서 분해되는 pH sensitive bacteriocin-liposome을 제조하여 야채발효시 유산균의 생육억제 효과를 조사하여 과도한 산생성을 억제시키는 발효 조절제로서의 가능성을 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 박테리오신의 제조

미국 코넬대학교 식품공학과에 보관중인 박테리오신 생산 균주 중에서 김치에서 분리된 유산균들에 대한 강한 억제를 나타낸 *Lactococcus* sp. CU216을 선발하여 박테리오신을 다음과 같이 정제하였다. MRS(Difco, USA) 배지에 24시간 37°C에서 배양시킨 후 원심분리(8,000 g, 20 min, 4°C) 하여 상등액을 회수한 다음 pH를 6.5로 조정하였다. 여기에 최종농도가 30 %가 되도록  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 첨가한 후 6시간 이상 4°C에서 서서히 교반한 다음 원심분리(12,000 g, 30 min, 4°C)를 실시하고 여기서 얻어진 침전물을 수거한 다음 Octyl-Sepharose CL4B(Pharmacia Biotech AB, Sweden) 칼럼에 통과시켜 얻어진 활성분획을 동결건조시켜 사용하였다.

### 박테리오신의 항균활성

박테리오신을 지시균이 약  $10^7$  CFU/mL 수준으로 접종된 MRS 한천배지 표면에 20  $\mu\text{L}$ 를 접적한 후 이를 37°C에서 24시간 배양하여 지시균의 생육 억제 여부를 관찰하여 항균활성을 평가하였다.

### pH sensitive liposome의 제조

Olson 등(1979)의 방법을 변형하여 다음과 같이 제조하였다.

DPPC(dipalmitoyl phosphatidylcholine), DPPE(dipalmitoyl phosphatidylethanolamine), DOPC(dioleoyl phosphatidylcholine) 및 콜레스테롤을 각각 4:2:1:4(mol ratio)의 비율로 섞어 1 mL 에테르에 녹인 후, 박테리오신이 첨가된 150 mM NaCl 완충 용액(pH 7.5)을 혼합하여 3분동안 sonication을 해서 에멀젼을 제조하였다. 이 에멀젼을 감압 농축기(Haake, Germany)를 사용하여 제거한 다음, polycarbonate filter(0.2  $\mu\text{m}$ ; Millipore, USA)에 용출시켰다. Liposome 안으로 들어가지 않은 박테리오신은 Sepharose column(Pharmacia Biotech AB, Sweden)을 이용하여 제거시킨 후 동결 건조시켰다.

### 시료 김치의 제조

김치의 제조는 Lee 등(1992)이 사용한 방법으로 제조하였다. 배추에 12%의 소금을 첨가하여 절이고 물기를 제거한 후 고춧가루, 파, 마늘 등의 양념과 제조된 pH sensitive bacteriocin liposome을 g당 100 AU(Arbitrary units)의 농도로 첨가하여 제조한 후 비닐봉지에 담고 밀봉하여 각 온도에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

### pH 및 유산균수의 측정

시료 김치 봉지 한 개의 내용물 전체를 분쇄하여 멸균된 거어즈(cheese cloth)로 거른 여과액의 pH를 측정하였으며 (Orion, USA), 나머지 시료는 0.1% peptone 수로 희석하여 유산균수를 측정하기 위한 시료로 사용하였다. 유산균수는 0.02% sodium azide, 0.004% bromocresol purple이 함유된 MRS 한천배지에서 도말한 다음 37°C에서 48시간 배양한 후에 노란색을 띠는 집락만을 계수하였다.

### 결과 및 고찰

#### Lactococcus sp. CU216의 항균 spectrum

Table 1은 *Lactococcus sp. CU216*이 생산하는 박테리오신의 항균 spectrum을 나타낸 것으로 주로 발효유 제조에 사용되는 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 균주 및 김치발효에 관여

하는 *L. brevis*, *L. sake*, *L. plantarum* 및 *Leuconostoc* 균주들을 포함하여 총 18균주에 대하여 조사하였다. 본 실험에 사용된 18종의 유산균 중에서 *L. acidophilus* 균주를 제외하고 나머지 유산균에 대하여서는 모두 생육억제를 시키는 것으로 확인되었다.

김치의 발효에 영향을 주는 미생물로는 *L. plantarum*, *L. brevis*, *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus cerevisiae*(*P. damnosus*) 등을 들 수 있으며 이들 유산균을 김치로부터 분리 동정하고 이를 미생물들이 김치의 주된 미생물이라고 보고하였다(Lee et al., 1996). 본 실험 결과 *Lactococcus sp. CU216*이 생산하는 박테리오신은 김치발효에 관여하는 균주 대부분을 억제시킬 수 있음이 확인되었다.

#### pH sensitive bacteriocin-liposome의 특성

완충요액의 pH에 따른 liposome의 분해정도는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. pH 4~4.5부근에서 90% 이상의 박테리오신이 방출되는 것으로 나타났으나, pH 6 이상에서는 거의 발생하지 않았다. 이와 같은 결과는 낮은 pH에서 박테리오신이 작용하여 유산균으로 인한 후산발효를 억제시킬 수 있음을 시사하는 것이다. 요구르트의 경우 pH 4.2이하로 되면 판농적 품질이 저하되며, 김치의 경우에서도 pH 4.3 부근이 식용에 적절한 것으로 보고되고 있다. 따라서 pH 4 부근에서 유산균의 발효를 억제시킬 수 있는 본 liposome은 발효식품의 상

Table 1. Inhibitory activity of bacteriocin against lactic acid bacteria

Bacteria	Media	°C	Inhibition
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 30SC	MRS	37	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 43121	MRS	37	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	MRS	37	+
<i>Lactobacillus sake</i>	MRS	37	+
<i>Lactobacillus casei</i> Y1	MRS	37	+
<i>Lactobacillus casei</i> Y2	MRS	37	+
<i>Lactobacillus casei</i> 911	MRS	37	+
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> ATCC 7469	MRS	37	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 4797	MRS	37	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> Mar1	MRS	37	+
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> CH	MRS	37	+
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 11931	MRS	37	+
<i>Lactobacillus helveticus</i> 1213	MRS	37	+
<i>Lactobacillus plantarum</i>	MRS	37	+
<i>Leuconostoc</i> sp. K2	MRS	37	+
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> M1	M17	43	+
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> Y1	M17	43	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	M17	37	+

+, Inhibited by crude bacteriocin; - not inhibited.

미기간을 연장시킬 수 있을 것으로 생각되었다.

#### 저장온도에 따른 pH의 변화

Fig. 2와 3은 상기방법으로 제조된 pH sensitive bacteriocin-liposome를 (100 AU/g) 첨가하여 저장온도별 pH를 측정한 결과이다.

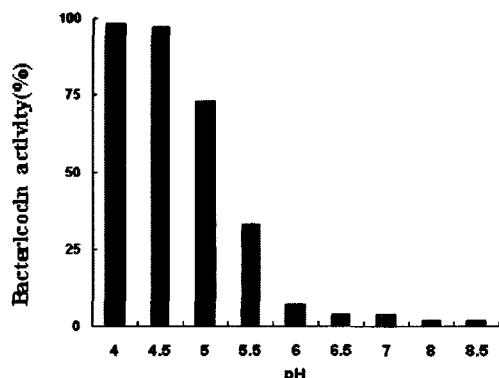


Fig. 1. The bacteriocin activity of pH sensitive bacteriocin-liposomes composed of (DPPE/DPPC/DOPC/Cholesterol = 4/2/1/4 mmol) at different pHs. The bacteriocin activity is expressed as a % of the original activity.

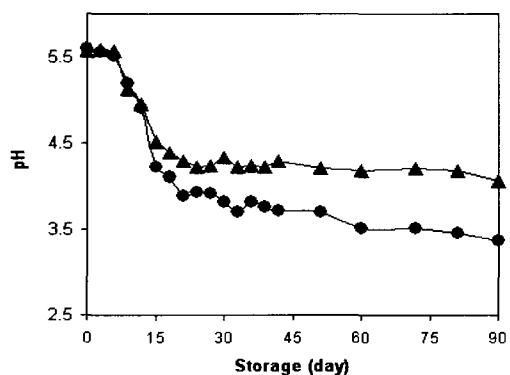


Fig. 2. Change of pH during storage of Kimchi at 5°C (-▲-, added bacteriocin-liposome; -●-, control).

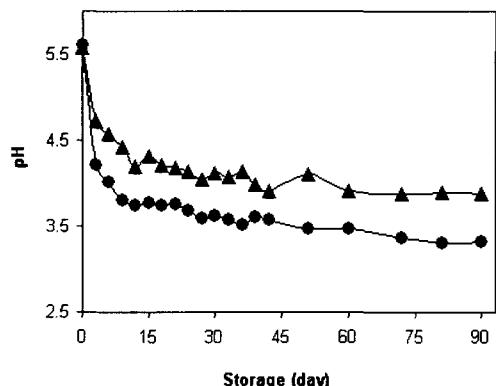


Fig. 3. Change of pH during storage of Kimchi at 20°C (-▲-, added bacteriocin-liposome; -●-, control).

저장온도가 5°C에서는 pH sensitive bacteriocin-liposome의 첨가와 관계없이 저장 7일에 산도가 pH 5 정도까지 동일하게 저하되는 것으로 나타났다. pH sensitive bacteriocin-liposome 첨가한 경우 저장 90일까지 pH 4이상으로 유지되었으나, pH sensitive bacteriocin-liposome를 첨가하지 않은 대조구의 경우 pH 3.58까지 저하되었다.

저장온도가 20°C인 경우 pH 저하속도는 다소 빠르게 진행되는 것으로 나타났으며 pH sensitive bacteriocin-liposome를 첨가한 실험구는 저장 90일에 pH가 3.9이었으나, 대조구는 저장 30일에 pH 3.68, 90일에는 pH 3.32로 각각 나타났다.

발효의 진행에 따라 pH는 낮아지는데, 이때 pH 저하 속도는 온도와 첨가되는 재료의 종류에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다. Lee 등(1992)은 맛이 가장 좋은 상태(pH 4.2, 산도 0.6~0.8%)까지의 도달하는데 걸리는 시간은 30°C에서 1~2일, 20°C에서는 3~4일 정도가 소요되며 5°C에서는 20~30일 정도 소요되었다고 하여, 본 실험에서 나타난 대조구의 pH 저하 속도와 유사한 결과를 보고하였다.

#### 저장온도에 따른 유산균수의 변화

Fig. 4와 5는 저장중 김치의 유산균 변화를 예시한 것으로 저장온도는 5°C와 20°C에서 각각 수행하였다. 5°C에서 저장한 경우 유산균은 서서히 증식하기 시작하여 pH sensitive bacteriocin-liposome첨가구는 저장 48일에  $4.15 \times 10^7$  CFU/g으로 최대의 생균수를 나타낸 이후 점차 저하되기 시작하여 저장 90일에는  $7.6 \times 10^6$  CFU/g으로 감소하였다. 그러나 대조구는 저장 24일에 최대 생균수를 보였으며 저장 90일에는  $1.32 \times 10^6$  CFU/g으로 나타났다.

20°C에서 저장한 경우 대조구는 발효 15일에  $8.8 \times 10^8$  CFU/g으로 최대의 생균수를 보였으나 점차 감소하기 시작하여 저장 90일에는  $2.4 \times 10^4$  CFU/g의 생균수를 나타내었다. 실험구는 발효 초기에는 pH sensitive bacteriocin-liposome

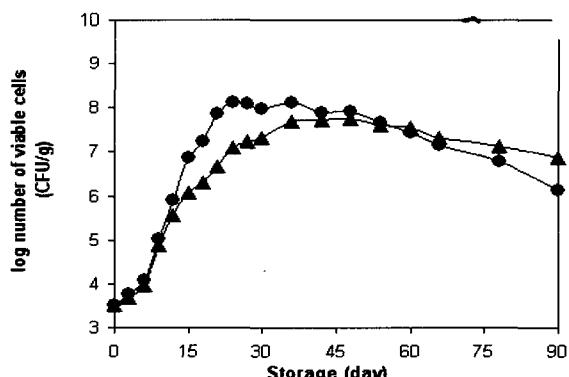


Fig. 4. Change of viable cells of lactic acid bacteria during storage of Kimchi at 5°C (-▲-, added bacteriocin-liposome; -●-, control).

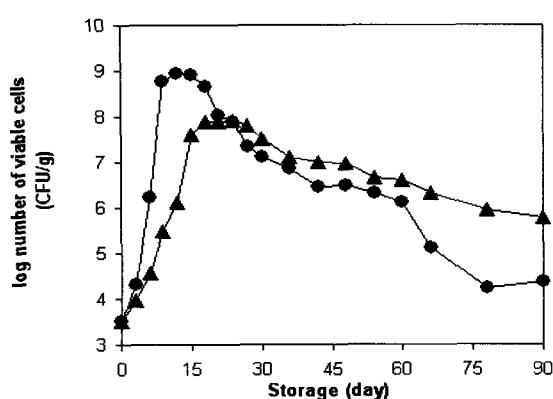


Fig. 5. Change of viable cells of lactic acid bacteria during storage of Kimchi at 20°C.

(-▲-, added bacteriocin-liposome; -●-, control).

의 영향으로 생균수가 대조구보다 적은 유산균수를 보였으나 발효 30일 이후부터는 대조구보다 다소 높았으며 저장 90일에는  $6.1 \times 10^5$  CFU/g의 생균수를 보였다.

김치 숙성에 관여하는 주된 미생물은 *Leuconostoc mesenteroides*이며 *L. plantarum*은 숙성보다 산패에 관련이 있는 것으로 보고되고 있는데(Lee et al., 1992), 본 실험에서 조사한 생균수는 유산균의 총 생균수로 어떠한 유산균이 억제되었는지는 알 수 없었다. 그러나 *Lactococcus sp. CU216*이 생산하는 박테리오신이 Table 1에 나타난 바와 같이 대부분의 유산균을 억제시키는 것으로 보아 어떤 특정 미생물만을 선택적으로 억제시키지 않고 전체적인 유산균주의 생육을 억제시킨 결과로 생각되었다. 따라서 발효에 관여하는 유산균들을 선택적으로 조사할 필요가 있었으며 이는 추가적인 실험으로 보완되어야 할 것으로 사료되었다.

본 실험결과 pH sensitive bacteriocin-liposome을 첨가하지 않은 대조구의 경우 발효 초기에 급격한 산생성으로 인하여 pH 가 많이 낮아져 유산균의 생육에 영향을 많이 미친 것으로 생각되었고, pH sensitive bacteriocin-liposome을 첨가한 실험구는 초기 유산균의 생육을 다소 지연시켜 산생성이 상대적으로 적어 김치의 선도 유지에 좋은 역할을 한 것으로 나타나 본 실험에 사용된 pH sensitive bacteriocin-liposome이 발효식품의 후산발효 억제에 적절하게 이용될 수 있음을 확인하였다.

따라서 요구르트의 후산발효나 김치의 발효를 효과적으로 조절하여 발효 식품의 상미기간을 연장할 수 있음을 입증한 것으로 김치를 포함한 각종 발효 식품의 선도유지에 이용이 가능할 것으로 생각되었다.

## 요 약

발효식품의 후산발효를 조절하기 위하여 pH sensitive

liposome의 이용 가능을 검토하였다. *Lactococcus sp. CU216*이 생산하는 박테리오신은 *L. acidophilus*를 제외하고는 대부분의 유산균주들에 생육억제 효과가 있는 것으로 확인되었으며, 이를 Octyl-Sepharose column으로 분획하여 정제하였다. 정제된 박테리오신을 dipalmitoyl phosphocholine, dipalmitoyl phosphoethanolamine, dioleoyl phosphocholine 및 콜레스테롤을 각각 4:2:1:4(mol ratio)의 비율로 섞은 liposome을 제조하여 최종적으로 pH sensitive bacteriocin-liposome을 제조하였다. 이렇게 제조된 liposome은 pH 4부근에서 대부분 유리되는 것으로 확인되었으나 pH 6이상에서는 일어나지 않았다. 또한 pH sensitive bacteriocin-liposome 한국의 전통 발효식품인 김치에 적용하여 저장시 pH의 저하를 억제시키는 것으로 확인되었다. 본 실험 결과, pH sensitive bacteriocin-liposome은 발효식품의 후산발효 억제에 적용될 수 있으며 추후에 요구르트를 포함한 다른 발효식품에 대한 추가적인 실험이 필요한 것으로 생각되었다.

## 참고문헌

1. Akashi, K. I., Miyata, H., Itoh, H., and Kinoshita, K. (1996) Preparation of giant liposomes in physiological conditions and characterization under an optical microscope. *Biophys. J.* **71**, 3242-3250.
2. Bangham, A. D., Standish, M. M., and Watkins, J. C. (1965) Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J. Mol. Biol.* **13**, 238-252.
3. Choi, M. H. and Park, Y. H. (1998) Inhibition of lactic acid bacteria in Kimchi fermentation by nisin. *J. Microbiol. Biotechnol.* **8**, 547-551.
4. Han, K. S., Oh, S. J., Moon, Y. I., and Kim, S. H. (2002) Antimicrobial effects of a bacteriocin mixture from lactic acid bacteria against foodborne pathogens. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **22**, 164-171.
5. Jack, R. W., Tagg, J. R., and Ray, B. (1995) Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiol. Rev.* **59**, 171-200.
6. Kim, W. J. (1993) Bacteriocins of lactic acid bacteria: Their potentials as food biopreservative. *Food Rev. Int'l.* **9**, 299-313.
7. Klaenhammer, T. R. (1993) Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **12**, 39-86.
8. Lee, C. W., Ko, C. Y., and Ha, D. M. (1992) Microfloral changes of the lactic acid bacteria during Kimchi

- fermentation and identification of the isolates. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 102-109.
9. Lee, J. S., Jung, M. C., Kim, W. S., Lee, K. C., Kim, H. J., Park, C. S., Lee, H. J., Joo, Y. J., Lee, K. J., Ahn, J. S., Park, W., Park, Y. H., and Mheen, T. I. (1996) Identification of lactic acid bacteria from Kimchi by cellular FAMEs analysis. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 234-241.
10. Montville, T. J., and Kaiser, A. L. (1993) Antimicrobial proteins: classification, nomenclature, diversity, and relationship to bacteriocins. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria*, Hoover, D. G. and Steenson, L. R.(eds.), Academic Press, NY, pp. 1-22.
11. Oh, S., Churey, J. J., and Worobo, R. W. (1999) Inhibitory activity of *Alicyclobacillus* strains by bacteriocin of *Lactococcus* sp. CU216. *Abstracts*, Annual Meeting of Institute of Food Technologists, Chicago, USA.
12. Oh, S., Kim, S., and Worobo, R. W. (2000). Characterization and purification of a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 30SC: Human isolate for potential use as a probiotic strains. *J. Dairy Sci.* **83**, 2747-2752.
13. Olson, F., Hunt, C. A., Szoka, F. C., Vail, W. J., and Papahadjopoulos, D. (1979) Preparation of liposomes of defined size of distribution by extrusion through polycarbonate membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **557**, 9-23.
14. Perrie, Y., Frederik, P. M., and Gregoriadis, G. (2001) Liposome-mediated DNA vaccination: the effect of vesicle composition. *Vaccine* **19**, 3301-3310.
15. Siebert, S. T. A., Reeves, S. G., and Durst, R. A. (1993) Liposome immunomigration field assay device for alachlor determination. *Anal. Chim. Acta* **282**, 297-305.
16. Tagg, J. R., Dajani, A. S., and Wannamaker, L. W. (1976) Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriol. Rev.* **40**, 722-756.
17. Weinbrenner, D. R., Barefoot, S. F., and Grinstead, D. A. (1997) Inhibition of yogurt starter cultures by jensenin G, a *Propionibacterium* bacteriocin. *J. Dairy Sci.* **80**, 1246-1253.

---

(2003. 12. 4. 접수 ; 2004. 2. 10. 채택)