

## 김치에서 박테리오신을 분비하는 *Lactobacillus sakei* 균주의 분리

김한택<sup>1</sup> · 박재용<sup>1</sup> · 이강권<sup>2</sup> · 김정환<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 대학원 응용생명과학부 농업생명과학연구소

<sup>2</sup>삼성 에버랜드(주) 식품연구소

### Isolation of a Bacteriocin-Producing *Lactobacillus sakei* Strain from Kimchi

Han-Taek Kim<sup>1</sup>, Jae-Yong Park<sup>1</sup>, Gang-Gweon Lee<sup>2</sup> and Jeong-Hwan Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Applied Life Science, Graduate School, Institute of Agriculture & Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>2</sup>Food Research and Development Center, Samsung Everland, Gyeonggi-do 449-912, Korea

#### Abstract

Bacteriocin producing lactic acid bacteria (LAB) were isolated from Kimchi by using spot-on-the-lawn method. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Lactobacillus plantarum* were used as indicators. One isolate (P3-1) produced a bacteriocin efficiently inhibiting the growth of *Listeria monocytogenes*. 16S rDNA sequence and sugar utilization test identified that P3-1 was a *Lactobacillus sakei* strain. Accordingly, the isolate was named as *Lactobacillus sakei* P3-1. *L. sakei* P3-1 produced a bacteriocin which efficiently inhibited the growth of *Listeria monocytogenes* but did not inhibit other Gram positive and negative organisms tested. The bacteriocin was stable against heat, organic solvent, and pH variation and it retained 50% of activity after 10 min heat treatment at 100°C. The molecular weight of Sakacin P3-1 was estimated to be 4 kDa by SDS-PAGE.

**Key words:** bacteriocin, *Lactobacillus sakei*, Kimchi, *Listeria monocytogenes*

#### 서 론

박테리오신은 여러 박테리아들이 생산하는 단백질 또는 펩타이드계 항균물질로서 특정 생육환경에서 박테리오신 생산균과 다르거나 혹은 비슷한 미생물들의 생육을 저해할 목적으로 분비되는 것으로 알려져 있다(1). 특히 식품발효에 널리 이용되는 여러 유산균들은 다양한 박테리오신들을 생산하며 이중 nisin은 가장 잘 알려져 있다(2). 유산균 또는 유산균이 생산하는 박테리오신은 여러 Gram 양성균들을 저해하기 때문에 화학보존제를 대체하는 식품보존제로서 개발 가능성은 매우 높다(3). 최근 들어서 식생활이 서구화되면서 주로 유제품과 육제품에서 식중독을 일으키는 *Listeria monocytogenes* 오염 위험성이 증가하고 있다. 현재와 같은 대량 생산과 저온유통 체계 하에서는 식품 제조 및 유통 상의 여러 단계에서 조금만 소홀해도 *L. monocytogenes* 오염이 가능하고 이는 아주 심각한 문제를 야기할 수 있다. *L. monocytogenes* 오염을 줄이는 한 가지 방법은 식품에 박테리오신 생산 유산균 또는 박테리오신을 접종하는 것으로 이는 *L. monocytogenes*에 의한 식품오염을 효과적으로 저지하는 방

안이 될 수 있다(4-6). 현재 몇몇 유산균에서 유래한 박테리오신들은 *L. monocytogenes* 증식을 효과적으로 억제하여서 성공적으로 사용되어지고 있다(7,8).

본 연구에서는 우리의 전통 식품인 김치로부터 *L. monocytogenes*의 성장을 효과적으로 저해하는 유산균을 분리 및 동정하였으며, 분리 균주인 *Lactobacillus sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신을 부분 정제하여 저해범위와 안정성 그리고 분자량을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 김치에서 박테리오신 생산 유산균의 분리

실험에 사용된 김치들은 서부 경남 일대의 슈퍼, 대형 마트 및 재래시장에서 서로 다른 배추김치를 구입하여 사용하였다. 먼저 김치시료를 단계별로 희석하여 MRS 고체 배지에 도말하여 30°C에서 배양하였다. 고체 배지에서 유산균들이 단일 집락을 형성하는 것이 확인되면 5 mL Brain Heart Infusion(BHI) top agar(0.7%, w/v)에 감수성 균주( $1 \times 10^8$  CFU)를 같이 섞어서 중층하였다. *L. monocytogenes* ATCC

\*Corresponding author. E-mail: jeonghkm@nongae.gsnu.ac.kr  
Phone: 82-55-751-5481, Fax: 82-55-753-4630

19111, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 25923 그리고 *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917을 감수성 균주로 사용하여 저해환 형성을 조사하였다. 저해환을 형성하는 단일 균락들을 선별하여 박테리오신 실험에 사용하였다.

#### 박테리오신 검출 및 활성 조사

분리균주들의 박테리오신 생산 여부는 spot-on-the-lawn method(9,10)를 사용하여 판별하였다. 선별된 유산균을 8시간 이상 MRS 배지에서 배양한 다음 원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액 2 µL를 BHI 고체배지에 접종 건조시킨 후, 그 위에 5 mL BHI top agar(0.7%, w/v)에 *L. monocytogenes* ATCC 19111( $1 \times 10^8$  CFU)을 섞어서 증충하였다. 30°C에서 하룻밤 배양한 후 저해환을 관찰하였다. 저해환을 생성하는 균주들의 박테리오신 생성 확인은 상등액을 protease로 처리하여 확인하였다(11). 박테리오신 역가는 AU(activity unit)로 표기하였고 상등액을 순차적으로 2배씩 희석하여 저해환을 형성하는 최대 희석배수의 역을 취하고, 이 값에 1 mL에 대해서 환산해주는 환산계수를 곱하여 AU/mL로 나타내었다.

#### 박테리오신 생성 균주의 동정

박테리오신 생산균 동정을 위하여 형태학적, 생화학적 특성을 Bergey's Manual of Determinative bacteriology에 따라 조사하였다(12). 최적 생육온도, 그람염색, 운동성, catalase test, CO<sub>2</sub> 생성 유무 및 당을 발효하여 여러 가지 유기산들을 생성하는 것은 API 50 CHL kit(BioMerieux, France)를 사용 조사하였고, 최종적인 동정을 위해서는 분리균의 16S rDNA 서열을 결정하여 알려진 균주들과 비교하였다(13). PCR 용 primer들은 Bionics(Seoul, Korea)에서 제작한 것으로 LAB16s-F(5'-TGC CAG CAK CCG CGG TAA TAC-3')와 LAB16s-R(5'-AAC TCG RCA CGA GCT GAC GAC-3')을 사용하였다.

#### 박테리오신의 부분 정제

*L. sakei* P3-1를 MRS 배지에 하룻밤 배양한 후 11,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 배양 상등액을 이온교환 column(SP-Sepharose Fast Flow; Pharmacia Biotech, France)을 통과시켜 정제를 실시하였다(14). 박테리오신은 이온교환수지에 결합하였으며 사용 buffer로는 50 mM phosphate buffer(pH 8.0)를 그리고 용출을 위해 NaCl gradient를 0에서 1 M까지 걸어주었다. 분획은 7 mL씩 받았으며, 분획별로 흡광도 측정(OD<sub>280</sub>)과 함께 감수성 균주(*Listeria monocytogenes*)를 사용하여 박테리오신 역가를 측정하였다. 박테리오신 역가를 보이는 분획들을 모아서 동결 건조하여 얻은 것을 박테리오신 특성실험에 사용하였다.

#### 박테리오신의 특성

여러 Gram 양성균과 음성균들의 박테리오신에 의한 저해 여부를 조사하였다. *L. sakei* P3-1을 MRS 배지에 접종하여 하룻밤 배양한 다음 배양액 2 µL를 MRS 고체배지에 spot

하여 12시간 배양 후 균주들을 top agar(0.7%) 5 mL와 섞어 증충한 다음 각 균주들의 생육 최적 온도에서 12시간 이상 배양하여 저해 여부를 관찰하였다. 박테리오신의 열, 유기용매 및 가수분해 효소처리에 대한 안정성을 조사하였다(15). 박테리오신을 100°C에서 60분, 80°C에서 60분, 121°C에서 15분간 처리한 후 잔존활성을 spot-on-the-lawn method(9,10)로 측정하였다. pH 3~10에서의 안정성 조사를 위해서 다른 pH buffer들에 박테리오신을 현탁한 후 잔존 활성을 측정하였다. 유기 용매에 대한 안정성은 유기용매와 박테리오신을 같은 량씩 섞어서 25°C에서 1시간 방치한 후 잔존활성을 측정하였다. 여러 가수분해 효소들에 대한 안정성은 1 mg enzyme/mL 농도로 37°C에서 1시간 처리 후 잔존 역가를 측정하였다.

#### 박테리오신 생산에 미치는 온도의 영향

*L. sakei* P3-1의 생육온도가 25, 30 및 37°C인 경우 *L. sakei* 생육과 배양액의 박테리오신 역가에 미치는 영향을 조사하였다.

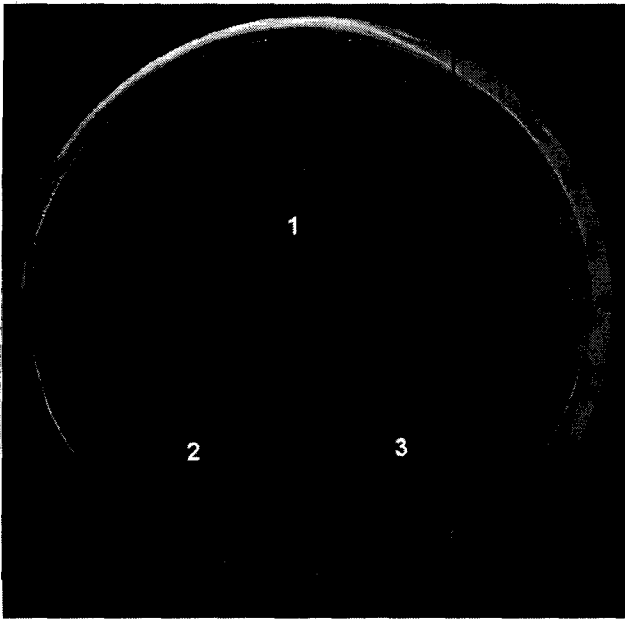
#### SDS-PAGE

SDS-PAGE는 Laemmli(16)의 방법에 준하여 실시하였다. 15% acrylamide gel을 사용하였고 장치로는 Mini-Protein II (Bio-Rad) electrophoresis system을 사용하였다. 전기영동 후 Coomassie Brilliant Blue R-250으로 단백질을 염색하였다. Gel 상에서 Sakacin P3-1 역가 부위 확인은 Bhunia 등(17)의 방법에 준했다. Gel을 3차 증류수로 4시간 동안 교반하여 SDS를 제거한 다음 MRS 고체배지 위에 놓고 그 위를 top agar(0.7%, w/v)와 *L. monocytogenes* ATCC 19111( $1 \times 10^8$  CFU/mL)을 함께 섞은 것을 증충하였다. 그 후 37°C에서 16시간 배양한 후 저해부위를 확인하였다.

## 결과 및 고찰

*L. monocytogenes* ATCC 19111을 저해하는 *L. sakei* 분리 및 동정

김치로부터 박테리오신 생산균 분리를 시도한 결과 *L. monocytogenes* ATCC 19111을 저해하는 한 균주(P3-1)를 선별하였다(Fig. 1). Bergey's Manual of Determinative bacteriology(12)에 따라 분리균주의 형태학적, 생화학적 특성을 조사한 결과 분리균은 Gram 양성, catalase 음성 그리고 포자를 형성하지 않는 비운동성의 bacilli 형태로 관찰되었다. API 50 CHL kit(bioMerieux, France)를 사용하여 분리균의 당 이용성 조사(Table 1)를 통한 균 동정을 시도한 결과, *Lactobacillus plantarum*과 유사한 것으로 판정되었다. 보다 확실한 동정을 위해서 polymerase chain reaction(PCR)을 통해 증폭한 16S rDNA 단편의 염기서열을 결정하고 이를 GenBank에 등록된 여러 유산균들과 비교를 통한 동정을 시도하였다(13). LAB16s-F(5'-TGC CAG CAK CCG CGG



**Fig. 1. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 by a bacteriocin produced by *L. sakei* P3-1.**  
 1: Cell culture of *L. sakei* P3-1.  
 2: Culture supernatant of *L. sakei* P3-1.  
 3: Culture supernatant of *L. sakei* P3-1 treated with proteinase K (2  $\mu$ L, 20 mg/mL) at one side.

**Table 1. Microbiological identification of strain P3-1 by API 50 CHL**

Test item	P3-1	Test item	P3-1
Morphology	bacilli	Catalase	-
Gram staining	+		
API 50 CHL			
Control	- <sup>1)</sup>	Esculine	+
Glycerol	-	Salicine	+
Erythritol	-	Cellobiose	+
D-Arabinose	-	Maltose	+
L-Arabinose	+	Lactose	+
Ribose	+	Melibiose	+
D-Xylose	-	Saccharose	+
L-Xylose	-	Trehalose	+
Adonitol	-	Inuline	+
$\beta$ -Methyl-xyloside	+	Melezitose	+
Galactose	+	D-Raffinose	+
D-Glucose	+	Amidon	-
D-Fructose	+	Glycogene	-
D-Mannose	+	Xylitol	-
L-Sorbose	-	$\beta$ -Genetiobiose	+
Rhamnose	-	D-Turanose	+
Dulcitol	-	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	-
Mannitol	+	D-Fucose	-
Sorbitol	+	L-Fucose	-
$\alpha$ -Methyl-D-manoside	-	D-Arabitol	-
$\alpha$ -Methyl-D-glucoside	-	L-Arabitol	-
N Acetyl glucosamine	+	Gluconate	-
Amygdaline	+	2 Ceto-gluconate	-
Arbutine	+	5 Ceto-gluconate	-

<sup>1)</sup>Data obtained by API 50 CHL kit.  
 +: Positive, -: Negative.

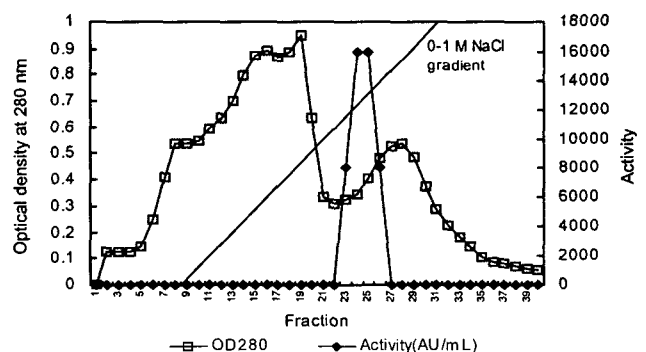
TAA TAC-3')와 LAB16s-R(5'-AAC TCG RCA CGA GCT GAC GAC-3')를 primer로 그리고 분리균에서 얻은 chromosomal DNA 1  $\mu$ g을 주형으로 사용하여 증폭한 결과 예상대로 약 600 bp 크기의 절편을 얻었고(결과미제시), 이를 gel에서 추출한 다음 pEZ-T vector(RNA Inc., Korea)에 cloning한 후 증폭물의 염기서열을 결정하였다. 염기서열을 NCBI(National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)의 blast program을 사용하여 GenBank에 등록된 16S rDNA 유전자들과 상동성을 비교하였다. 그 결과 P3-1의 16S rDNA는 *Lactobacillus sakei* (Accession NO; AF401673) 유전자와 100% 상동성을 보였다. 이는 API 50 CHL kit 결과와 차이가 있는 것으로 당 이용성을 이용한 동정과 16S rDNA 유전자 서열을 이용한 분자유전학적 동정 결과가 꼭 일치하지는 않는 것을 볼 수 있다. 일반적으로 당이용성을 통한 동정 결과보다 16S rDNA 결과가 보다 신빙성이 크기 때문에 최종적으로 *Lactobacillus sakei* P3-1으로 명명하였다.

**박테리오신의 부분 정제**

*L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신의 부분정제를 위해 양이온교환수지인 SP-Sepharose를 사용하여 이온교환 chromatography를 실시하였다(Fig. 2). 배양상등액을 칼럼에 통과시킨 후 칼럼의 15배의 volume에 해당하는 phosphate buffer(pH 8.0)를 흘려주어 resin에 흡착되지 않는 물질들의 washing을 먼저 실시하였다. NaCl 농도구배(0에서 1 M)를 걸어주고 용출된 분획들에 대해 *L. monocytogenes*에 대한 저해 여부를 조사한 결과 박테리오신의 역가는 23~26번 분획에서만 관찰되었다. 네 개 분획에서만 역가가 나타나는 점으로 보아 이온교환 chromatography에 의해 분리가 잘 이루어졌음을 알 수 있었다. 박테리오신 역가를 보이는 분획들만 모아서 동결건조하여 이후 실험에 사용하였다.

**박테리오신의 저해 범위**

Gram 양성균과 음성균 총 25 균주를 대상으로 박테리오



**Fig. 2. Elution profile of the bacteriocin on a cation exchanger column (SP-Sepharose, Fast flow, Pharmacia).** Supernatant containing bacteriocin was loaded onto SP-Sepharose column and eluted with 50 mM sodium phosphate buffer, pH 8.0. After washing, NaCl gradient (0 to 1 M) was applied to elute bound bacteriocin (Each fraction: 7 mL).

신에 의한 저해 여부를 조사하였다. 그 결과 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신은 단지 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111만을 강력히 저해하는 것으로 나타났다(Table 2). Gram 음성균은 저해하지 못하였는데 이는 유산균 박테리오신들의 공통된 특징이다. *Lactobacillus* 속 균들을 포함하여 다른 유산균들도 저해하지 못했고 이 결과에서 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신은 nisin과 같이 저해 범위가 넓은 박테리오신이 아니라 반대로 저해범위가 매우 좁은 종류임을 알 수 있었다. 그리고 *Listeria*를 강력히 저해하는 것으로 보아서는 박테리오신들 중에서도 분류상으로 Class II-a에 속하는 것으로 추정된다(17). 기존에 보고된 다른 Class II-a 박테리오신들은 *Listeria* 이외에 한두 가지 균들만을 저해하는 특성만을 보였다(18,19). 저해범위가 좁은 점 특히 다른 유산균들을 저해하지 못하는 것은 발효식품의 보존제로 사용하는 측면에서는 장점이 될 수 있다. 즉, 종균으로 첨가되거나 식품 중 존재하는 유익한 유산균들은 저해하지 못하지만 오염된 *L. monocytogenes*는 저해하기 때문에 육류나 축산식품의 보존에서는 오히려 바람직할 수 있기 때문이다.

**박테리오신의 안정성**

여러 효소 처리, 열처리 및 유기용매 처리에 대한 박테리오신의 안정성을 조사한 결과를 Table 3에 표시하였다. 121°C, 15분 열처리와 100°C에서 10분 열처리 후 각각 12.5%와 50%

의 잔존 역가를 관찰할 수 있어서 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신의 열 저항성이 상당한 것을 알 수 있었다. 따라서 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신은 식품보존제로 사용하기에 충분한 열 안정성을 가지고 있다고 볼 수 있다. 한편 효소 처리 결과를 보면 β-amylase, lysozyme, RNase, catalase 등의 처리에는 아무런 영향을 받지 않았으나, proteinase K, pepsin, trypsin, protease 처리에는 불활성화되어 역가를 상실하였다. 이는 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신이 단백질 또는 펩타이드로 이루어진 박테리오신임을 확인시켜 주는 결과이다. 한편 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신은 ethanol, methanol, acetone, chloroform 등의 유기용매 처리와 또 pH 3~10에서도 안정하여 박테리오신의 역가 변화가 관찰되지 않았다(20).

***L. sakei* P3-1의 생육온도에 따른 박테리오신 생산**

*L. sakei* P3-1의 생육온도가 박테리오신 생산에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 3). 박테리오신 역가를 배양 시작 후 2시간 간격으로 배양 온도별로 측정하였다. 30°C에서 배양하였을 때 박테리오신의 역가가 가장 높았으며, 배양 후 18시간부터 44시간 사이에 가장 높은 1,000 AU/mL의 역가를 관찰할 수 있었다. 25°C에서 배양하였을 때는 배양 후 28시간부터 48시간 사이에 1,000 AU/mL의 역가를 확인할 수

**Table 2. Inhibitory spectrum of the bacteriocin produced by *L. sakei* P3-1**

Indicator	Antimicrobial activity
<i>Lactobacillus casei</i> YIT 9018	-
<i>Lb. acidophilus</i>	-
<i>Lb. plantarum</i> ATCC 14917	-
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 4797	-
<i>Lb. helveticus</i> KFRI 00347	-
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ATCC 10830	-
<i>Leu. mesenteroides</i> NRRL B-512	-
<i>Leu. mesenteroides</i> ATCC 9135	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 25923	-
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	-
<i>Bacillus coagulans</i> ATCC 7050	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19953	-
<i>Sta. carnosum</i>	-
<i>Lb. pentosus</i> KFRI 481	-
<i>Leu. mesenteroides</i> KFRI 666	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> NRRL B-14009	-
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966	-
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43894	-
<i>E. coli</i> K-12	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 21541	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 7700	-

The radius of the inhibition zone was indicated by the following: -, negative; +, below 1.5 mm; ++, 1.5~3 mm; +++, above 3 mm.

**Table 3. Stability of bacteriocin against various treatment**

Treatment	Residual activity (AU/mL)
Control	8,000
Enzyme <sup>1)</sup>	
β-Amylase	8,000
Lysozyme	8,000
Proteinase K	0
Pepsin	0
RNaseA	8,000
Trypsin	0
Catalase	8,000
Protease	0
Solvents <sup>2)</sup>	
Ethanol	8,000
Methanol	8,000
Acetonitrile	8,000
Acetone	8,000
Chloroform	8,000
pH change	
pH 3~10	8,000
Heat treatment	
60°C, 10 min	8,000
60°C, 30 min	4,000
60°C, 60 min	4,000
80°C, 10 min	8,000
80°C, 30 min	4,000
80°C, 60 min	4,000
100°C, 10 min	4,000
100°C, 30 min	2,000
100°C, 60 min	2,000
121°C, 15 min	1,000

<sup>1)</sup>The enzyme concentration was 1 mg/mL.

<sup>2)</sup>50% (v/v) concentration of solvent was used.

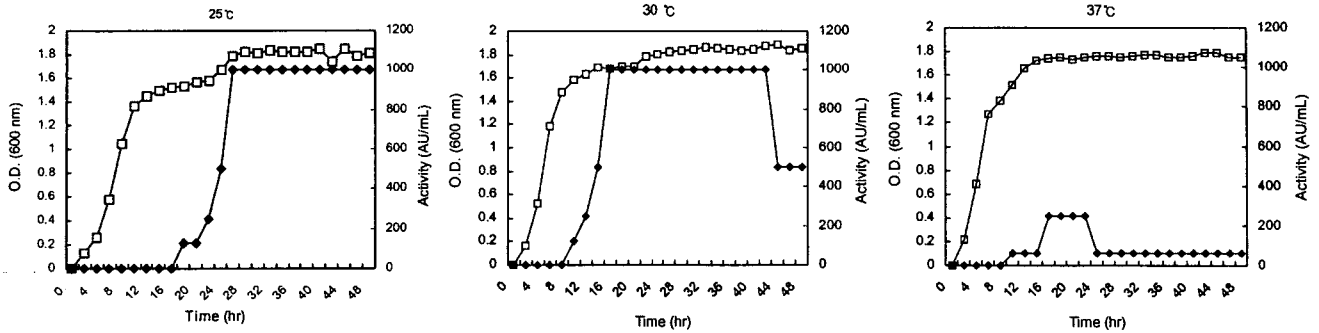


Fig. 3. Growth and bacteriocin production of *L. sakei* P3-1 during growth in MRS broth at different temperatures. Symbols: -□-, Cell growth; -◆-, Bacteriocin activity (AU/mL).

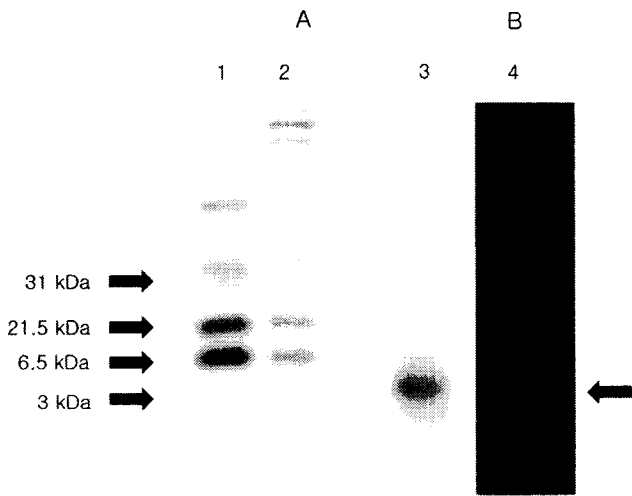


Fig. 4. SDS-PAGE and activity detection of partially purified bacteriocin.

A. Coomassie blue stained SDS-PAGE gel. 1, The size marker (polypeptide SDS-PAGE standards, BIO-RAD #161-0326); 2, The size marker (molecular weight standards, broad range, BIO-RAD #161-0317); 3, Bacteriocin.

B. Gel overlaid with BHI agar containing indicator organism, *L. monocytogenes* ATCC 19111. Inhibition zone is indicated by an arrow in the right.

있었다. 반면 비교적 고온인 37°C에서 배양하였을 경우에는 균 증식속도는 빠르지만 박테리오신 역가는 감소하였고 배양 후 18시간부터 24시간까지 단지 300 AU/mL의 역가만 확인되었다. 이상에서 박테리오신 최적 생산온도는 30°C 그리고 배양시간은 18시간 이상임을 알 수 있었다.

SDS-PAGE

SDS-PAGE와 SDS-PAGE 후 박테리오신 역가 확인실험들의 결과 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신의 분자량은 약 4 kDa임을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 일반적인 Class II-a 박테리오신의 분자량이 12 kDa 이하이고 특히 대부분은 3-5 kDa 범위에 속하며 또 *Listeria*를 강하게 저해한다는 사실과 연관시켜 볼 때 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신은 Class II-a 그룹에 속하는 박테리오신으로 추정된다(17).

요 약

배추김치로부터 식품유해균인 *Listeria monocytogenes*를 저해하는 박테리오신을 생산하는 유산균, *Lactobacillus sakei* P3-1이 분리되었다. 형태학적, 생화학적 특성조사와 최종적으로 PCR로 증폭하여 얻은 16S rDNA 염기서열 결정을 통해서 *L. sakei*로 동정되었다. *L. sakei* P3-1이 분비하는 박테리오신은 여러 그람 양성 및 음성균들 중에서 단지 *L. monocytogenes*만을 저해하는 그래서 저해범위가 매우 좁은 박테리오신으로 확인되었다. 이온교환 크로마토그래피에 의해서 박테리오신은 부분 정제되었으며 박테리오신의 열처리 안정성을 조사한 결과 121°C에서 15분간 그리고 100°C에서 10분간 열처리 후에도 각각 12.5%와 50%의 역가가 잔존하여 상당한 열안정성을 지니고 있음을 알 수 있었다. MRS 배지에서 배양중 배양온도가 박테리오신 역가에 미치는 영향을 조사한 결과 30°C에서 배양할 때 그리고 18시간 이상 배양에서 가장 높은 1,000 AU/mL 역가를 보였다. 한편 SDS-PAGE 및 activity staining에 의해 측정된 박테리오신의 분자량은 4,000이었다. *L. monocytogenes* 생육 억제능, 작은 분자량 및 높은 열안정성 등의 성질들을 종합적으로 고려할 때 *L. sakei* P3-1이 생산하는 박테리오신은 박테리오신들 중에서 class II-a에 속하는 것으로 추정된다.

감사의 글

본 연구는 (주)삼성에버랜드의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다. 김한택과 박재용은 교육부 BK21 사업에 의해 지원되었습니다. 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Klaenhammer TR. 1988. Bacteriocin of lactic acid bacteria. *Biochimie* 70: 337-349.
2. Oh SJ, Lee JH, Kim GT, Shin JG, Baek YJ. 2003. Anticarcinogenic activity of a bacteriocin produced by *Lactococcus* sp. HY 449. *Food Sci Biotechnol* 12: 9-12.
3. Choi YO, Ahn C. 1997. Plasmid-associated bacteriocin pro-

- duction by *Leuconostoc* sp. LAB145-3A isolated from Kimchi. *J Ind Microbiol* 2: 319-322.
4. Stiles ME. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70: 331-345.
  5. Bredholt S, Nesbakken T, Holck A. 2001. Industrial application of an antilisterial strain of *Lactobacillus sakei* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats. *Int J Food Microbiol* 66: 191-196.
  6. Goff JH, Bhumia AK, Johnson MG. 1996. Complete inhibition of low levels of *Listeria monocytogenes* of refrigerated chicken meat with pediocin ACh bound to heat killed *Pediococcus acidilactici* cell. *J Food Prot* 59: 1187-1192.
  7. Foegeding PM, Thomas AB, Pilkington DH, Klaenhammer TR. 1992. Enhance control of *Listeria monocytogenes* by in situ produced pediocin during dry fermented sausage production. *Appl Environ Microbiol* 58: 884-890
  8. Hugas M, Page F, Garriga M, Monfort JM. 1994. Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres. *Food Microbiol* 15: 143-149.
  9. Daeschel M. 1992. Procedures to detect antimicrobial activities of microorganism. In *Food biopreservatives of microbial origin*. CRC Press, Boca Raton. p 57.
  10. Moon GS, Jeong JJ, Ji GE, Kim JS, Kim JH. 2000. Characterization of a bacteriocin produced by *Enterococcus* sp. T7 isolated from humans. *J Microbiol Biotechnol* 10: 507-513.
  11. Lee KH, Moon GS, An JY, Lee HJ, Chang HC, Chung DK, Lee JH, Kim JH. 2002. Isolation of a nisin-producing *Lactococcus lactis* strain from Kimchi and characterization of its *nisZ* gene. *J Microbiol Biotechnol* 12: 389-397.
  12. Holt JG, Krieg NR, Sneath PH, AStaley JT, Williams ST. 1994. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, USA
  13. Escalante A, Wacher C, Farres A. 2001. Lactic acid bacterial diversity in the traditional Mexican fermented dough pozol as determined by 16S rDNA sequence analysis. *Int J Food Microbiol* 64: 21-31
  14. Marianne U, Havard HH, Iliia B, Jon NM, Gunnar F. 2002. Rapid two-step procedure for large-scale purification of pediocin-like bacteriocins and other cationic antimicrobial peptides from complex culture medium. *Appl Environ Microbiol* 68: 952-956.
  15. Ivvanova I, Miteva V, Stefanova T, Pantev A, Budakov I, Danova S, Moncheva P, Nikolova I, Dousset X, Boyaval P. 1998. Characterization of a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus* 81. *Int J Food Microbiol* 42: 147-158.
  16. Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
  17. Bhunia AK, Johnson MC, Ray B. 1987. Direct detection of an antimicrobial peptide of *Pediococcus acidilactici* in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J Ind Microbiol* 2: 319-322.
  18. Kim SY, Lee YM, Lee SY, Lee YS, Kim JH, Ahn C, Kang BC, Ji GE. 2001. Synergistic effect of citric acid and pediocin K1, a bacteriocin produced by *Pediococcus* sp. K1, on inhibition of *Listeria monocytogenes*. *J Microbiol Biotechnol* 11: 831-837.
  19. Kim HT, Park JY, Lee GG, Kim JH. 2003. Isolation of a bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strain from Kimchi. *Food Sci Biotechnol* 12: 166-170.
  20. Klaenhammer TR. 1993. Genetics of bacteriocin produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 34: 145-156.

(2003년 10월 2일 접수; 2004년 1월 30일 채택)