

## Pepsin에 의한 Zein 가수분해물의 항균활성

강윤정<sup>1</sup> · 이상덕<sup>2</sup> · 이규희<sup>3</sup> · 오만진<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 식품공학과

<sup>2</sup>(주)농협고려인삼

<sup>3</sup>우송대학교 식품공학과

## Antibacterial Activity of Zein Hydrolysate with Pepsin

Yoon-Jung Kang<sup>1</sup>, Sang-Duk Yi<sup>2</sup>, Gyu-Hee Lee<sup>3</sup> and Man-Jin Oh<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Nonghyup Korea Insam Research Institute, Nonghyup Korea Insam Co., LTD., Chungbuk 386-811, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Food Science and Technology, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea

### Abstract

A study was carried out to produce antimicrobial peptides from zein treated with proteases of six kinds. Among the proteases of six kinds, zein hydrolysate treated with pepsin showed the highest antimicrobial activity. The zein hydrolysate with pepsin was fractionated with membrane filter (30,000 10,000 and 3,000 molecular weight cut-off) and antimicrobial activity was measured for each fractions. Antimicrobial activity appeared greatly in the fraction below 3,000 (molecular weight cut-off). The fraction was re-fractionated by HPLC and substances of two peaks collected as a sample to measure antimicrobial activity. All of both peaks showed the antimicrobial activity but 1st peak exhibited a consistently higher antimicrobial activity than 2nd peak. Minimum inhibitory concentrations (MIC) were between 2.5 and 3.0 mg/mL. The peptide was heat-stable since antimicrobial activity was maintained after treated with heat for 20 min at 121°C. N-terminal amino acid sequence of peptide fractionated by HPLC was leucine, glutamic acid, proline, phenylalanine, aspartic acid and argenine. These results indicated that peptide isolated from zein hydrosate with pepsin can use as a natural preservative ingredient in food industry.

**Key words:** zein hydrolysate, pepsin, antibacterial activity

### 서 론

식품 산업이 당면한 문제점 중 하나인 식품 기인성 질병은 미생물의 오염으로 인한 것이 대부분이다(1). 식품은 풍부한 영양소를 함유하고 있어 미생물의 좋은 번식처가 될 수 있고 오염된 미생물은 식품을 변패시키고 여러 가지 유해물질을 생성하기 때문에 미생물의 생육을 억제하여 가공식품의 품질을 유지하고 유통기한을 늘리기 위하여 식품보존제를 오래전부터 사용해오고 있다. 근래 식품 소비 패턴의 변화와 가공식품과 인스턴트식품 소비가 증가함에 따라 식품 보존제가 많이 사용되고 있다(2). 보존제로서는 식염, 유기산류, 당류, 목초, 염소, 오존, 인산염 등과 같은 전통적인 것과 lactoferrin과 같은 lacto-microbial agent, lysozyme과 같은 ovo-microbial agent, catechin과 같은 phyto-phenolic agent, nisin과 같은 bacteriocin류 등(3)이 있다. 합성 보존제로서는 nitrate, sodium benzoate, sodium metabisulfite 등이 사용되어 왔으나 소비자들의 합성 보존제에 대한 거부감이 높아지

고 있어 사용하지 않거나 사용농도를 낮추려고 하고 있으며 안전하면서도 실용적인 천연보존제를 개발하는 것이 요구되어지고 있다.

단백질 효소 가수분해물은 여러 생리활성을 나타내지만 그중에서 항균활성이 있다는 것이 많은 연구자들에 의하여 보고되었다(4-6). 단백질 효소 가수분해물인 antimicrobial peptide는 미생물 생육 억제 효과가 있고 인체에 무해하면서 영양이 될 수 있어 보존제 가운데 가장 이상적인 것이라고 생각된다. 그동안 포유동물(7,8), 양서류(9,10), 절지동물(11-13), 식물(14) 등에서 antimicrobial peptide를 분리, 정제하여 보고한 바 있으며 cathepsin G(15), aprotinin(16), lysozyme(17), lactoferrin(18),  $\alpha$ -lactalbumin(19)로부터 실용적인 항균성 peptide을 얻을 수 있었다.

지금까지의 antimicrobial peptide에 대한 연구는 동물성 단백질을 대상으로 이루어져 왔고 식물성 단백질에 대하여는 이루어진 것이 많지 않아 식물성 단백질로부터 효소 단백질 가수분해물을 제조하여 실용성이 높은 천연보존제의 필요

\*Corresponding author. E-mail: ohmj@cnu.ac.kr  
Phone: 82-42-821-6728. Fax: 82-42-821-6728

하게 되었다.

저자들은 식물성 단백질인 zein에 단백 가수분해효소를 작용시켜 얻어진 peptide의 항균활성을 측정하여 식품보존료로서 이용성을 검토하였으며 한외여과와 HPLC로 부분 정제한 후 아미노산 서열과 MIC을 측정하여 이에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 재료

옥수수 단백질인 zein은 Sigma Aldrich Co. 제품, 단백질 가수분해 효소인 pepsin(EC3.4.23.1)은 porcine stomach mucosa, *Aspergillus sojae* protease, *Aspergillus oryzae* protease, papain(EC3.4.22.2)은 Papaya Latex, bromelain(EC3.4.22.32)은 pineapple stem, *Aspergillus saitoi* protease(EC3.4.23.18)은 Sigma Aldrich Co. 제품을 사용하였다.

항균활성 측정용 paper disc(8 mm)는 Toyo Roshi사 제품, ultrafiltration cell과 ultrafiltration membrane은 millipore사 제품(molecular weight cut-off 3,000/10,000/30,000), 탈염 투석막은 spectrum사 제품(cellulose ester membrane, MWCO: 500), HPLC 용매로는 Tedia사 제품을 사용하였다.

### 공시균주 및 배지

항균활성 측정용 공시균주는 *Bacillus subtilis* KCTC 1021, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Listeria monocytogenes* KCCM 40307, *Escherichia coli* KCTC 2441, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028을 사용하였고 항균활성 측정용 배지는 Difco사의 nutrient agar를 기층용 배지, Mullur-Hinton broth을 중층용 배지, 계대 배양용 액체 배지는 nutrient broth 배지를 사용하였다.

### 단백 효소 가수 분해물의 제조

10% zein 현탁액을 85°C에서 15분간 열처리한 후 각종의 효소제를 1%가 되도록 첨가하여 37°C에서 진탕하여 가수분해시켰다. 효소반응액을 90°C에서 10분간 열처리하고 20,000×g에서 20분간 원심분리하여 상정액만을 취하여 항균활성을 측정하였다.

### 항균활성 및 미생물 생물 저해도 측정

항균활성은 한천배지 확산법(disk-agar plate diffusion method)(20,21)에 따라 측정하였다. 즉, 가수분해액을 0.45 μm membrane filter로 여과, 제균하여 멸균된 filter paper disc에 흡수시킨 후, 37°C에서 48시간 배양한 다음 disc 주변의 저해환의 직경을 측정하여 표시하였으며 최소저해농도(MIC)는 단백 가수분해물을 동결 건조하여 여러 농도로 고체배지에 첨가하여 공시균주 현탁액 0.1 mL을 도말한 다음 37°C에서 48시간 배양시켜 육안으로 증식유무를 판별하여 생육을 저해하는 최소농도를 MIC로 하였다.

항균성 물질의 미생물 생육 저해도 측정은 Amsterdam의

방법(22)에 따라 액체배지 희석법을 사용하였다. 멸균된 Mullur-Hinton broth에 항균성 물질을 3.0 mg/mL와 7.0 mg/mL의 농도가 되도록 첨가한 후, 공시균주를 접종하고 37°C에서 배양하면서 증식정도를 620 nm에서 흡광도를 측정하여 표시하였다.

### 항균성 peptide의 분리 및 정제

효소 단백질가수분해물을 membrane filter(molecular weight cut-off: 3,000/10,000/30,000)가 장착된 ultrafiltration kit (Amicon사 제품)에 넣고, 질소가스로 60 psi 압력을 가하여 분자량 30,000이상, 30,000~10,000, 10,000~3,000, 3,000이하로 분획, 여과하고 분획물의 항균활성을 측정하였다.

항균력이 있는 ultrafiltration분획을 동결 건조하여 HPLC (Younglin), Diode array detector 280 nm, Jupiter C18 column(250×10 mm), 10 mM phosphate buffer(pH 7.0)로 분석하여 각 peak 분취물을 모아 상기와 같은 방법으로 항균활성을 측정하였다.

### 항균성 peptide의 아미노산 서열 분석

항균활성을 나타내는 HPLC로 분취한 가수분해물을 12% SDS-PAGE를 실시한 후 semidry electobltter(Bio-Red, Hercules)를 이용하여 PVDF membrane(Biosystem)에 20 V로 90분간 탈색한 후 transfer하여 membrane를 Coomassie blue R-250으로 염색한 후 50% methanol로 탈색하여 한국 기초과학연구원 단백질 자동서열분석기(model 491A PROSISE, Applied Biosystem)로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 효소 종류에 따른 항균 활성

단백질 가수분해효소의 종류에 따른 zein 가수분해물의 항균활성을 측정된 결과는 Table 1과 같다. Zein 효소 가수분해물은 식품부패의 주원인이 되는 여러 종류의 미생물에 대하여 항균활성을 가지고 있었으며 특히 Gram(+)균이 Gram(-)균보다 항균활성이 높았다. 특히, 여러 단백질 분해 효소 중에서 pepsin에 의한 가수분해물이 Gram(+)인 *Staphylococcus aureus*에 대하여 강한 활성을 나타내었다. 포유동물의 소화과정에서 pancreatic protease가 α-lactoalbumin을 분해하여 3개의 antibacterial peptide(19)를 확인하였고 α<sub>s2</sub>-casein이 pepsin에 의해 생성된 39개 amino acid를 가진 fragment가 발표되었다(23). 타 연구자와 같이 본 실험에서도 pepsin 가수분해물이 항균력이 높았으나 Yi 등(24)은 밀 단백질에 pepsin을 작용시켰을 때 생성된 가수분해물은 항균활성이 전혀 나타나지 않았으며 이는 단백질의 종류에 따라 아미노산 결합순서가 다르므로 일어나는 현상이라 하겠다.

### 가수분해 조건의 최적화

항균활성이 가장 높은 protease인 pepsin을 zein에 첨가하고 10 mM glycine-HCl buffer를 사용하여 pH 2~7로 조정

**Table 1. Antimicrobial activity of pepsin hydrolysate of zein against microorganisms** (zone diameters of inhibition: mm)

Enzyme source	Test microorganism <sup>1)</sup>				
	BS	SA	ST	EC	LM
<i>Asp. saitoi</i> protease	++ <sup>2)</sup>	++	+++	+	+
<i>Asp. sojae</i> protease	+	+	+	-	-
<i>Asp. oryzae</i> protease	+	+	+	-	-
Pepsin (Porcine pancreas)	+++	+++	+++	++	++
Papain (Papaya Latex)	+	+	+	+	+
Bromelain (pineapple stem)	±	±	-	-	-

<sup>1)</sup>BS=*Bacillus subtilis* ATCC 6633, SA=*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ST=*Salmonella* Typhimurium KCTC 1925, EC=*Escherichia coli* ATCC 9637, LM=*Listeria monocytogenes* ATCC 19115.

<sup>2)</sup>-: negative activity, ±: very weak activity (9~10 mm), +: weak activity (10~12 mm), ++: strong activity (12~14 mm), +++: very strong activity (>15 mm).

**Table 2. Antimicrobial activity of hydrolysate of zein reacted with pepsin at various pH** (zone diameter of inhibition: mm)

Test microorganism	pH				
	2	3	4	5	6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6633	20	18	18	17	16

**Table 3. Antimicrobial activity of hydrolysate of zein reacted with pepsin according to reaction time**

(zone diameter of inhibition: mm)

Test microorganism	Incubation (hr)				
	3	6	9	12	24
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6633	18	21	20	21	21

**Table 4. Heat stability of the antimicrobial peptide of zein hydrolysate**

(diameter of inhibition zone: mm)

Strain	Heating treatment			
	Control	80°C 10 min	100°C 10 min	121°C 15 min
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6633	20	20	21	20

하여 37°C에서 반응시키면서 항균활성을 측정 한 결과는 Table 2에서와 같이 pH 2에서 가장 높았으며 이는 pepsin의 효소작용 최적 pH에 기인된 것이며 시간에 따른 항균활성을 측정 한 결과 Table 3에서와 같이 반응 3시간 후부터 항균활성을 나타내기 시작하여 반응 6시간에 가장 활성이 높았으며 그 이후에는 변화가 없었다.

#### 가수분해물의 열안정성

일반적으로 항균제는 식품에 첨가하고 난 후 열처리가 필수적이기 때문에 열에 의하여 항균활성을 잃는다면 이용하기에 어려운 점이 많으므로 열에 대하여 안정하여야 실용성이 있는 것이다. 따라서 zein 단백질 가수분해물의 열안정성을 검토하기 위하여 80°C에서 10분간, 100°C에서 10분간, 121°C에서 10분간 열처리하여 *Staphylococcus aureus*에 대하여 항균성을 측정 한 결과 Table 4에서와 같이 항균활성이 그대로 유지되었으므로 열에 대하여 매우 안정하여 실용적으로 이용할 수 있는 항균제로 생각된다.

#### Antibacterial peptide의 분리 및 정제

**Membrane filter에 의한 분리**: Pepsin에 의한 zein 가수분해물을 Amicon YM-30 membrane(M.W. cut-off: 30,000/

10,000/3,000)에 의하여 분자량별로 분획하고 각 분획물의 항균활성을 측정 한 결과 Table 5에서와 같이 가장 항균활성이 높은 분획물은 M.W. 10,000~30,000인 것으로 확인되었으며 차후의 실험에서는 이 분획물을 이용하여 실험을 행하였다.

Joo 등(25)은 콩 단백질 가수분해물은 M.W. 1,000~3,000, 밀 단백질 가수분해물은 M.W. 3,000이하에서 항균활성이 있었다고 보고한 결과와 비교하여 볼 때 zein 항균성 가수분해물은 분자량이 매우 큰 편이었다.

#### MIC 측정

Pepsin에 의하여 얻어진 zein 가수분해물의 분획물 중 항균력이 가장 높은 M.W. 10,000~30,000을 동결 건조하여 공

**Table 5. Antibacterial activity of zein hydrolysate by ultra-filtration on *Staphylococcus aureus***

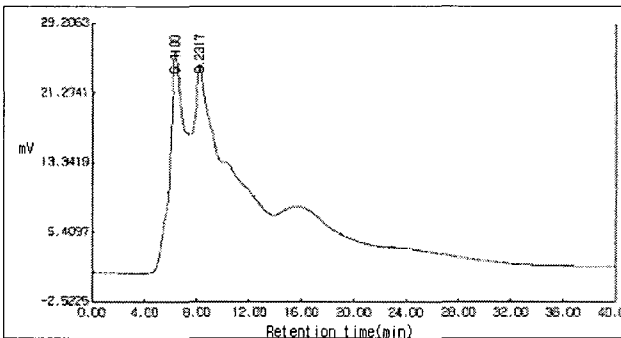
Hydrolyzed fraction	Zone diameter of inhibition (mm)
Supernatant of zein hydrolysate	21
Above M.W. 30,000 of zein hydrolysate	13
M.W. 10,000~30,000 of zein hydrolysate	21
M.W. 3,000~10,000 of zein hydrolysate	11
Below M.W. 3,000 of zein hydrolysate	10

**Table 6. Minimal inhibitory concentration of zein hydrolysates on microorganisms**

Concentration of hydrolysate (mg/mL)	Microorganism <sup>1)</sup>				
	BS	SA	ST	EC	LM
1.5	-	-	-	-	-
2.0	-	-	+	-	-
2.5	+	+	+	+	+
3.0	+	+	+	+	+

The MIC represents the lowest concentration of antibacterial hydrolysate that showed no growth at 37°C after 24 h incubation.

<sup>1)</sup>Refer to the legend of Table 1.



**Fig. 1. High performance liquid chromatogram of fragments obtained from the pepsin hydrolysates of zein (M.W. 10,000 ~30,000).**

시균주에 대하여 MIC를 측정할 결과 Table 6에서와 같이 MIC는 2.5 mg/mL이었다.

Pelligrini 등(19)은 lactoferrin 가수분해물의 MIC가 2 mg/mL였다고 하였고 Joo 등(25)은 콩단백 가수분해물의 MIC가 2.5 mg/mL로서 각기 순도가 달라 단순하게 MIC를 비교하기에는 어려움이 있었다.

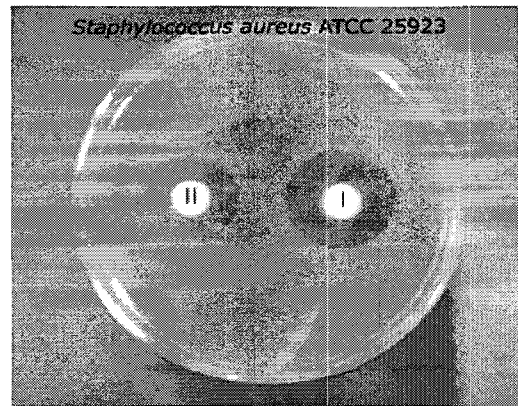
**HPLC에 의한 분리**

항균활성이 가장 높은 M.W. 10,000~30,000 분획을 모아 reverse phase HPLC에 의하여 280 nm에서 검출한 결과 Fig. 1에서와 같이 2개의 주 peak(*tR* 6.4 min, *tR* 9.2 min)가 나타났다. 이들의 peak을 모아 cellulose ester membrane (molecular weight cut-off: 500)을 사용하여 반응액 중에 존재하는 염류를 탈염하여 항균활성을 측정할 결과 Fig. 2에서와 같이 *tR* 6.4 min의 peak가 활성이 높게 나타났으므로 차후의 실험에서는 *tR* 6.4 peak만을 분석하였다.

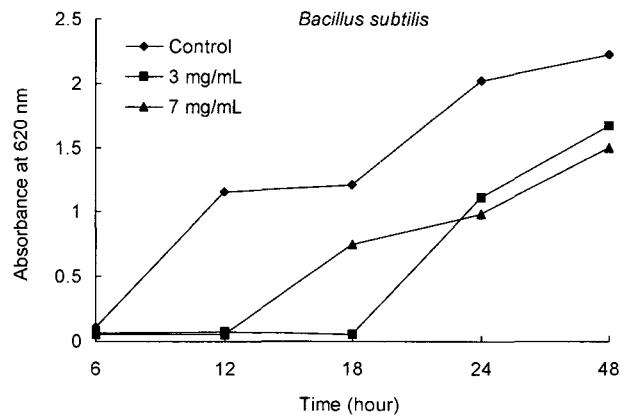
**가수분해물이 균의 생육에 미치는 영향**

Pepsin에 의한 zein 단백질 가수분해물을 membrane filter로 여과하여 M.W. 10,000~30,000 분획의 동결건조물을 nutrient broth 배지에 3 mg/mL 농도로 첨가하여 37°C에서 배양하면서 620 nm에서 생육도를 측정할 결과 Fig. 3, 4와 같다.

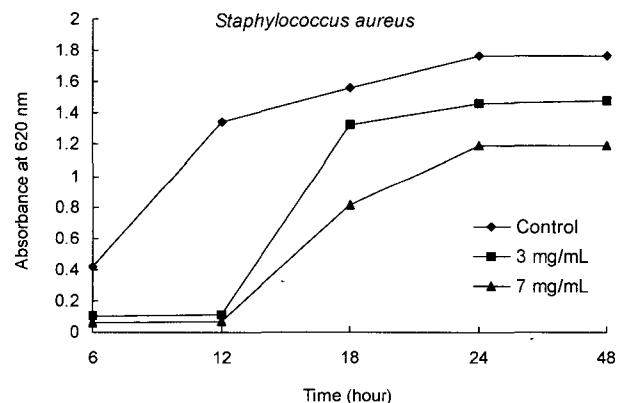
*Bacillus subtilis*에 대하여 생육 저해 효과가 매우 컸으며 *Staphylococcus aureus*에 대하여는 효과가 적었으나 첨가



**Fig. 2. Antibacterial activity of zein hydrolysates fragments purified by RP-HPLC on *Staphylococcus aureus*. I: *tR* 6.4 min fraction of HPLC, II: *tR* 9.2 min fraction of HPLC.**



**Fig. 3. The growth inhibition of zein hydrolysate reacted with pepsin on *Bacillus subtilis*. The control was cultured no addition of zein hydrolysate on Muller-Hinton broth medium at 35°C.**



**Fig. 4. The growth inhibition of zein hydrolysate reacted with pepsin on *Staphylococcus aureus*. The control was cultured no addition of zein hydrolysate on Muller-Hinton broth medium at 35°C.**

농도를 높이면 균 생육 억제에 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 생각되나 완전 방부는 어려웠으므로 다른 방부제와 병용하여 이용하는 것이 바람직하다고 할 수 있다.

## 항균성 HPLC 분획물의 아미노산결합 순서

항균활성이 높은 zein 가수분해물의 HPLC상에서 *tR* 6.4 min의 분획물을 분취하여 아미노산 결합순서를 protein sequencing system으로 분석한 결과 N-말단의 서열이 아래와 같이 밝혀졌으나 분자량이나 아미노산 결합 순서에 대한 추후의 검토가 요망되었다.

H<sub>2</sub>N - Leu - Gln - Pro - Phe - Asn - Arg -

## 요 약

효소에 의한 옥수수 단백질가수분해물의 천연항균제로서의 이용가능성을 조사하기 위하여 zein 단백질에 단백질 가수분해 효소를 작용시켜 얻어진 가수분해물의 항균활성을 측정하고 membrane filter로 한외 여과하여 항균활성이 가장 높은 분획을 HPLC로 분취한 후 항균활성을 측정하고 MIC, 각종 세균에 대한 생육저해농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. Zein 단백질에 6종의 단백질분해효소를 작용시켜 제조한 가수분해물 중 pepsin으로 작용시킨 것이 항균활성이 가장 높았다. Membrane filter에 의하여 여과한 가수분해물의 항균활성은 M.W. 10,000~30,000에서 가장 높았으며 121°C에서 10분간 처리하여도 항균활성에 변화가 없는 열안정성이 매우 높았고 MIC는 2.5 mg/mL이었다. HPLC로 분리한 항균성 peptide의 N-말단 아미노산 조성은 leucine, glutamic acid, proline, phenylalanine, aspartic acid, arginine 순이었다. 분자량 10,000~30,000의 가수분해 동결 건조물을 3 mg/mL 농도로 nutrient broth 배지에 첨가하고 37°C에서 배양하였을 때 크게 생육이 저해되었다.

## 문 헌

- Roller S. 1999. *Natural antimicrobials for the minimal processing of foods*. Boca Raton, Boston, New York, Washington, DC. p 1-10.
- Ahn EY, Shin DH, Baek NI, Oh JA. 1998. Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis* FISCH. *Korean J Food Sci Tech* 30: 680-687.
- Naidu AS. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC press, New York, Washington, DC. p 1-11.
- Kuwata H, Yip TT, Tomita M, Hutchens TW. 1998. Direct evidence of the generation in human stomach of an antimicrobial peptide domain (lactoferricin) from ingested lactoferrin. *Biochim Biophys Acta* 80: 129-141.
- Park CB, Kim HS, Kim SC. 1998. Mechanism of action of the antimicrobial peptide buforin. *Biochem Biophys Res Commun* 244: 253-257.
- Park IY, Park CB, Kim MS, Kim SC. 1998. Parasin an antimicrobial peptide derived from histone H2A in the cat fish, *Parasilurus asotus*. *FEBS Lett* 437: 258-262.
- Lehrer RL, Lichtenstein AK, Ganz T. 1993. Defensins antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells. *Annu Rev Immunol* 11: 105-128.
- Elsbach P, Weiss J. 1993. Bactericidal/permeability increasing protein and host defense against Gram-negative bacteria and endotoxin. *Curr Opin Immunol* 5: 103-107.
- Bevins CL, Zasloff M. 1990. Peptide from frog skin. *Annu Rev Biochem* 59: 395-414.
- Simmaco M, Mignogna G, Barra D, Bossa F. 1994. Antimicrobial peptides from skin secretions of *Rana esculenta*. *J Biol Chem* 269: 11956-11961.
- Boman G. 1995. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu Rev Immunol* 13: 61-92.
- Hoffmann JA, Hetru C. 1992. Insect defense inducible antibacterial peptides. *Immunol Today* 13: 411-415.
- Casteels P, Ampe C, Jacobs F, Tempst P. 1993. Functional and chemical characterization of *Hymenoptaecin*, an antibacterial polypeptide that is infection inducible in honeybee (*Apis mellifera*). *J Biol Chem* 268: 7044-7054.
- Osborn RW, Samblanx RW, Thevissen K, Goderis I, Torrekens S, Leuven F, Attenborough S, Rees SB, Broekaert WF. 1995. Isolation and characterisation of plant defensins from seeds of asteraceae, fabaceae, hippocastanaceae and saxifragaceae. *FEBS Lett* 368: 257-262.
- Bangalore A, Travis J, Onunka VC, Pohl J, Shafer WM. 1990. Identification of the primary antimicrobial domains in human neutrophilcathepsin G. *J Biol Chem* 265: 13584-13588.
- Pellegrini A, Thomas U, Bramaz N, Klauser S, Hunziker P, von Fellenberg R. 1996. Identification and isolation of the bactericidal domains in the preproteinase inhibitor aprotinin. *Biochem Biophys Res Commun* 222: 559-565.
- Pellegrini A, Thomas U, Bramaz N, Klauser S, Hunziker P, von Fellenberg R. 1997. Identification and isolation of a bactericidal domain in chicken egg white lysozyme. *J Appl Bacteriol* 82: 372-378.
- Bellamy W, Takase M, Wakabayashi H, Kawase K, Tomita M. 1992. Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin. *J Appl Bacteriol* 73: 472-479.
- Pellegrini A, Thomas U, Bramaz N, Klauser S, Hunziker P, von Fellenberg R. 1999. Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine  $\alpha$ -lactalbumin molecule. *Biochim Biophys Acta* 1426: 439-448.
- Piddok LJ. 1990. Techniques used for the determination of antibacterial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol* 68: 307-318.
- Jang D, Park KH, Lee JR, Ha TJ, Park YB, Nam H, Yang M. 1990. Antimicrobial activities of sesquiterpene lactones isolated from *Hemistptia lyreta*, *Chrysanthemum zawadskii* and *Chrysanthemum boreale*. *Agric Chem Biotechnol* 42: 176-179.
- Amsterdam D. 1996. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In *Antibiotics in laboratory medicine*. Lorian V, ed. Williams & Wilkins, Baltimore. p 52-111.
- Zucht HD, Raida M, Adermann K, Mägert HJ, Forssmann WG. 1995. Casocidin-I: a casein- $\alpha$ s<sub>2</sub> derived peptide exhibits antibacterial activity. *FEBS Lett* 372: 185-188.
- Yi SD, Joo JH, Lee GH, Lee KT, Oh MJ. 2003. Antimicrobial activity of gluten hydrolysate with *Asp. saitoi* protease. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 745-751.
- Joo JH, Yi SD, Lee GH, Lee KT, Oh MJ. 2004. Antimicrobial activity of soy protein hydrolysate with *Asp. saitoi* protease. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 229-235.

(2005년 10월 18일 접수; 2006년 1월 13일 채택)