

## 축산업 분야에서의 박테리오신의 산업적 이용 및 향후 전망

이나경 · 이주연<sup>1</sup> · 광형근<sup>1</sup> · 백현동\*

건국대학교 축산식품생물공학전공, <sup>1</sup>축산물HACCP기준원

### Perspectives for the Industrial Use of Bacteriocin in Dairy and Meat Industry

Na-Kyoung Lee, Joo-Yeon Lee<sup>1</sup>, Hyung-Geun Kwak<sup>1</sup>, and Hyun-Dong Paik\*

Department of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

<sup>1</sup>Korea Livestock Products HACCP Management Institute, Anyang 430-731, Korea

#### ABSTRACT

More safe and natural food was recently needed by consumers. Antimicrobials including sodium azide, penicillin, and vancomycin were used for therapeutic agents against pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157: H7 in dairy and meat industry. These antimicrobials and preservatives were prohibited in stock farm and food because they were caused resistant strain and side effects. Bacteriocins are proteinaceous compounds that may present antimicrobial activity towards important food-borne pathogens and spoilage-related microflora. Therefore, bacteriocins were reported as an alternative of antimicrobials. Due to these properties, bacteriocin-producing strains or purified bacteriocins have a great potential of use in biologically based food preservation systems. Despite the growing number of articles regarding on the isolation of bacteriocinogenic strains, genetic determinants for production, purification and biochemical characterization of these inhibitory substances, there are only limited reports of successful application of bacteriocins to dairy and meats. This review describes bacteriocins related to dairy and meat products for the further use.

**Key words** : antibiotics, bacteriocin, lactic acid bacteria, industrial production, scale-up

#### 서론

소비자들의 생활수준 향상으로 인해, 식품의 양보다 품질과 위생적인 면에 대해 더 많은 관심을 가지게 되었다. 식품의 품질을 향상시키기 위해서는 축산식품의 안전성을 고려하여야 하며, 이는 위해미생물과 잔류성을 생각할 수 있다. 이들의 위해요인은 축산현장, 가공장 또는 유통과정 중에 있으며, 이들이 축산식품을 오염시킨다. 오염 미생물의 대표적인 예로는 *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* 등이 있다. 또한, 잔류성 문제를 야기시키는 요인으로는 동물용 의약품인 베타락탐계 항생제(페니실린 등), 테트라사이클린계 항생제(클로로테트라사이클린 등), 설펜아미드계 항생제(설파메타진 등), 플루오로퀴놀론계 항생제(엔

로플록사신 등) 등 항균제의 사용과 농약, 중금속 물질이 있다(Joerger, 2003). 항생제의 무분별한 사용으로, 기존의 항생제에 대한 내성균의 출현으로 인하여 이러한 항생제의 약리작용이 저하된다. 아울러 슈퍼박테리아의 탄생 등으로, 새로운 항생제의 개발, 또는 대체방안으로 이들의 문제점을 극복할 항균성 펩타이드나 천연 보존제 등이 요구되고 있다. 이들 중 유산균은 GRAS(Generally Recognized As Safe) 미생물로서 젖산, diacetyl, 과산화수소, 박테리오신과 같은 항균성 펩타이드 등을 생산하는 것으로 알려져 있다.

유산균은 각종 동물의 장관 내에서 점막의 보호 및 장내 이상발효의 개선, 칼슘의 체내 흡수촉진 등 여러 가지 유익한 생리작용을 나타내기 때문에 정장제와 같은 의약품 및 사료첨가제로도 이용되고 있다(Benkerroum *et al.*, 2002; Daeschel, 1989; 이나경 등, 2001). 최근에는 유산균에 의한 혈중 콜레스테롤 저하작용, 면역기능 증진효과가 밝혀졌으며, 특히 면역기능 증진작용은 병원성 세균에 대한 감염 방어효과, 항암효과 등의 약리효능을 갖는다고 알

\*Corresponding author : Hyun-Dong Paik, Department of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-2049-6011, Fax: 82-2-455-3082, E-mail: hdpaik@konkuk.ac.kr

려져 있다. 유산균 유래 박테리오신은 첫째, GRAS 물질이며, 둘째, 소화기관의 protease에 의해 분해되어 인체에 영향을 미치지 못하며, 셋째, 비교적 pH와 열에 안정하고, 넷째, 주로 세포질에 bactericidal mode of action을 가짐으로써 화학합성 항생제에서 문제시되는 cross resistance(교차 내성)를 일으키지 않으며, 다섯째, 주로 관련 유전자가 plasmid 상에 존재함으로 유전자 조작이 쉽다는 장점을 가지고 있다. 하지만 식품유래 부패균에 대해 비교적 좁은 항균 스펙트럼을 가지고 있는 점이 단점으로 지적되고 있다.

박테리오신의 식품유래 부패 및 식중독 미생물에 대한 항균효과는 지금까지 많은 연구결과에 의해 입증되어져 왔다(Montville *et al.*, 1995). 현재까지 nisin은 전 세계적으로 40개 이상의 나라에서 식품보존제로서 승인되었으며, 우리나라에서도 식품첨가물로 인정되어 있다. Pediocin PA-1의 식품에의 이용도 미국, 유럽의 특허에 의해 가능하게 되었으나 현재 nisin과 같이 널리 유통되고 있지는 않다. Nisin과 pediocin PA-1 모두 낙농 및 통조림 제품에 이용될 수 있다. 그러나 다양한 식품을 대상으로 수행된 응용 실험결과에 의하면 pediocin과 유사한 박테리오신들은 육류제품에 들어 있는 식중독 유발 미생물들의 증식억제에 보다 더 효과적인 반면, nisin은 덜 효과적인 것으로 밝혀졌다(Coventry *et al.*, 1995; Montville and Winkowski, 1997).

본 논문을 통해, 육제품 및 육제품 유래 박테리오신 생산균주 및 박테리오신을 이용한 저장성에 관한 연구를 통해, 축산업에서의 박테리오신의 항생제 대체물질로서의 이용 가능성을 알아보고자 한다.

## 축산업 위생 및 안전실태

축산업에서 가장 중요한 것으로 '안전'을 들 수 있고, 안전성 확보를 위해 HACCP(위해요소중점관리기준; Hazard Analysis Critical Control Point)을 도축장에서부터 제조업, 유통업에 이르기까지 시행하고 있는 실정이다. 그러나, 위험의 빈도는 줄어들었지만 잔류성 및 항생제 검출, 식중독 병원성 균의 출현 등 여전히 다양한 사례들이 보고되고 있다(Table 1).

축산업에서 생산수율을 향상시키기 위해, penicillin, streptomycin, vancomycin 등의 항생제가 사용되고 있는 것도 현실이다. 항생제는 가축의 성장을 촉진시키고, 사료 효율성을 증가시키고 치료의 목적으로 사용되어 왔다. 항생제의 지속적인 사용에 의한 내성균주의 발생으로 인해 항생제 사용량의 증대 또는 다른 항생제의 투여와 같은 결과가 초래되었다. 이에 우리나라에서도 1990년에 클로람페니콜의 사용을 금지하였고, 1997년에는 vancomycin resistant enterococci(VRE)의 출현에 대한 우려로 avoparcin의 수입금지, 2003년에는 스피라마이신, 스펙티노마이신, 아보파신, 올라퀸독스, 플루벤다졸, 아프리노시드 등 6종을 배합사료 제조용으로 사용하는 것을 금지시켰다(Ha *et al.*, 2003). 하지만, 농가의 다른 대체제의 비용과 효율성 측면과 관련하여 많은 문제가 있으므로, 그 사용량의 감소시키는 것과 함께 다른 대체방안도 검토되어야 할 것이다.

또한 소시지와 같은 육제품에서도 저장성 향상을 위해 발암성을 나타내는 sodium azide와 같은 보존제가 사용되고 있다. 이들은 인체에 해로운 영향을 끼치므로 대체방안으로 무독성, 무잔류성의 천연물질로서 grapefruit seed extract, rosemary, sage extract, vitamin E, chitosan, 마늘

Table 1. Major cases of safety breaks of livestock products from 1999 to 2007

| Date         | Cases  |
|--------------|--|
| 2007. 8. 17  | Detection of bone and dioxin banned in US beef   |
| 2007. 6. 28  | Exposure of frozen beef-rib soup with <i>Escherichia coli</i> exceeding the legal criterion                |
| 2006. 12     | Finding of dioxin-contaminated US beef   |
| 2006. 9. 7   | Finding of milk formula contaminated with <i>Enterobacter sakazakii</i>                                    |
| 2006. 8. 31  | Finding of retail meats containing antibiotics   |
| 2006. 4. 18  | Control of the cases against the date codes  |
| 2005. 8. 5   | Alert of milk gone bad in summer   |
| 2004. 12. 24 | Finding of tricking labelling of meats from several retailers in large scale                               |
| 2004. 11. 3  | Detection of antibiotics exceeding the legal criterion in the several pork and chicken meats               |
| 2004. 9. 24  | Identification of tricking for 'Maenga Uhchan Korean steamed beef-rib cook' distributed on internet        |
| 2004. 6. 16  | Finding of no difference between normal eggs and fortified eggs : Rising of the need for content labelling |
| 2003. 12. 24 | Suspension of quarantine of US beef after the BSE discovery in US  |
| 2003. 6. 11  | Detection of dioxin exceeding the legal criterion in Chilian pork meats                                    |
| 2002. 1. 5   | Metal detection in milk formula  |
| 1999. 6. 2   | Upheaval of dioxin-contaminated pork meat imported from Belgium  |

Sources: Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries(<http://www.maf.go.kr/index.jsp>), Korea Consumer Agency([www.kca.go.kr/jsp/eng/main.jsp](http://www.kca.go.kr/jsp/eng/main.jsp))

등의 사례가 보고된 바 있다(Cho *et al.*, 1990; Wong *et al.*, 1995; Byun *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2001). 또한 pediocin과 nisin과 같은 유산균 유래 박테리오신에 대한 많은 사례들도 있다(Coventry *et al.*, 1995; Jacobsen *et al.*, 2003; Paik *et al.*, 2006).

### 박테리오신의 정의 및 분류

박테리오신은 미생물이 생산하는 항균성 단백질로서 기존의 항생제가 2차 대사산물인테 반하여 자신의 유전자로부터 직접 생합성되는 것이 특징이며, 분자가 단백질로 이루어져 있으므로 인체에 섭취되는 즉시 소화기관의 단백질분해효소에 의해 분해됨으로써 인체에 무독성이고 잔류성이 없다는 측면에서 식품 등의 생물학적 보존제(biopreservative) 내지는 발효식품 등의 생물제어제로서 그 효용이 기대되고 있다. 식품보존제로서 사용되고 있는 박테리오신으로는 nisin이 가장 대표적이다. Nisin은 그람양성균인 *Listeria*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Bacillus*와 *Clostridium*의 영양세포에 bactericidal한 영향을 미치나, *Bacillus*, *Clostridium*의 포자에 대해서는 sporecidal이 아닌 sporestatic한 영향을 미친다. 또한 nisin은 열, 산에 대해 비교적 안정하므로 통조림 식품의 보존에 효과적이다. 이 메커니즘은 단백질 잔기의 sulfhydryl group을 가지고 있기 때문이다(Morris *et al.*, 1984). 국가별 차이는 있지만, 현재 사용 중인 범위로는 생선의 저장(Bulgaria), 유아용 식품과 베이커리, 마요네즈(Czech Republic), milk shake (Spain)까지 확대되어 있다(Chen and Hoover, 2003). 그러나 대부분의 국가에서 낙농식품과 통조림 식품에서 nisin의 사용을 허용하고 있으며, 미국에서 nisin 생산균주인 *Lactococcus*를 GRAS 물질로 인증하고 있다(FDA code, 1988).

유산균 유래 대부분의 박테리오신은 양이온성, 소수성 또는 양친매성으로 20-60개의 아미노산 잔기를 가지고 있으며(Nes and Holo, 2000), 분류는 Table 2에 나와 있듯이, 크게 Class I, Class II, Class III로 나눌 수 있다(Ahn, 1993; Chen and Hoover, 2003). 1) Class I은 lantibiotic들로서, 이들은 작은 펩타이드(<5 kDa)들로 구성되어 있으며, 그들 분자 내에 lanthionine이나  $\beta$ -methyl lanthionine과 같은 thioether 고리를 갖는 아미노산을 함유하고 있다. 대표적인 예로는 nisin, lactacin 481, carnocin UI49, lactocin S가 있다. 2) Class II는 작고(<10 kDa), 열에 안정하며 lanthionine을 함유하고 있지 않은 펩타이드들이다(Ingolf and Holo, 2000). Subclass IIa는 N-말단에 Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys의 서열을 가지고 있으며 *Listeria*에 특이적으로 활성을 갖는 펩타이드들을 지칭하고, pediocin PA-1, sakacin P, leucocin A, curbacin A가 포함된다. Subclass IIb는 두개의 펩타이드 구성단위로 이루어져 있으며,

Table 2. Classification of bacteriocin from lactic acid bacteria

| Bacteriocins   | Producer                        |
|--|---------------------------------|
| <b>Class I: Lantibiotics</b>                         |                                 |
| Nsin (A and Z)                                       | <i>Lactococcus lactis</i>       |
| Lactacin 481   | <i>Lactococcus lactis</i>       |
| Lactocin S   | <i>Lactobacillus sake</i>       |
| Carnosin U149  | <i>Carnobacterium piscicola</i> |
| <b>Class II: Non-lantibiotics, small heat stable</b> |                                 |
| Diplococcin  | <i>Lactococcus lactis</i>       |
| Lactococcin A  | <i>Lactococcus lactis</i>       |
| Lactococcin B  | <i>Lactococcus lactis</i>       |
| Lactococcin M  | <i>Lactococcus lactis</i>       |
| Lactacin F   | <i>Lactobacillus johnsonii</i>  |
| Sakacin A  | <i>Lactobacillus sake</i>       |
| Curvacin A   | <i>Lactobacillus curvatus</i>   |
| Sakacin P  | <i>Lactobacillus sake</i>       |
| Pediocin AcH   | <i>Pediococcus acidilactici</i> |
| Pediocin PA-1  | <i>Pediococcus acidilactici</i> |
| <b>Class III: Large, heat-labile</b>                 |                                 |
| Helveticin J   | <i>Lactobacillus helveticus</i> |

lactococcin G, M, F가 있다. Subclass IIc는 sec(세포내 단백질의 합성 및 분비에 관련하는 단백질들 및 그들의 유전자)에 의존하며 세포 외로 분비되는 박테리오신을 지칭하며, lactococcin B가 있다. Subclass IId는 위의 다른 subclass에 속하지 않으나 이러한 두 번째 class에 속하는 기타 다른 박테리오신들이 이에 해당된다. 3) Class III는 비교적 큰 분자량(>30 kDa)을 가지며 열에 민감하나 항균성을 갖는 단백질들이 이에 해당되며, helveticin J, V-1829와 acidophilucin A, lactacin A, B가 있다. 4) Class IV는 complex 박테리오신으로 당이나 지질 성분이 단백질과 결합되어 있으며, plantaricin S, leucocin S, lactocin 27, pediocin SJ-1가 있다. 이들 중 식품보존제로서 개발되고 있는 박테리오신은 주로 Class I과 Class IIa이다.

### 유제품 및 육제품에서 박테리오신 생산균주의 분리 및 확보

육제품인 소시지에서 박테리오신 생산균주인 *Lactobacillus buchneri*가 분리되어졌다(Hugo *et al.*, 2005). 분리된 박테리오신은 *L. monocytogenes* 뿐만 아니라 다른 병원성 세균에서도 항균력을 확인할 수 있었다. 원유로부터 분리한 *Lactococcus garvieae*에 의해 생산된 garviecin L1-5는 *L. monocytogenes*와 *Clostridium spp.*를 포함한 다양한 균에 대해 항균효과를 나타내었고, 분자량은 2.5 kDa이었다(Villani *et al.*, 2001). 유제품인 터키의 전통 치즈인 Tulum cheese에서 *Lactococcus lactis ssp. lactis* MC38이라는 박테리오신 생산균주를 분리, 정제하였으며 이 박테리오신은 분자량이 8 kDa으로 Class II 박테리오신임이 확인되

었다(Tkel *et al.*, 2007). 스위스 치즈로부터 lacticin JW3 이 분리되었고, nisin과 유사한 항균효과를 보였으며, 열과 pH에 매우 안정함을 확인하였고, 우유에 lacticin JW3와 nisin을 첨가하여 *L. monocytogenes*에 대해 저해효과를 확인한 결과도 있다(Jung and Paik, 2000; Yoon *et al.*, 2006). Meat에서 pediocin PA-1 유전자를 이용하여 *Pediococcus acidilactici* 균주 중 박테리오신 생산균주를 얻었다(Martnez *et al.*, 2000).

Houlihan 등(2004)과 Xavier와 Russell(2006)에 의해 장내세균인 *Streptococcus bovis* HC5로 부터 박테리오신이 분리되었고, 생산된 bovicin HC5에 대해 생산 및 pH에 의한 영향에 대한 연구가 이루어졌다. Lee 등(2002)은 같은 균주를 이용하여 사양실험으로 bovicin HC5를 첨가했을 때, 메탄가스 생산의 감소로 사료의 이용률을 늘리고, 육우로서의 생산성을 늘릴 수 있다는 것을 확인하였다.

젖소 유방염과 관련 있는 총 50균주의 *Staphylococcus* spp. 중에서 박테리오신을 생산하는 균주를 확인하였고 *Staphylococcus aureus*로 동정되었다(Santos Nascimento *et al.*, 2002). 그러나, 이들 박테리오신은 면역체계와 관련하여 유방염 원인균인 *S. aureus*에 대해 항균효과를 얻을 수 없었다. 또한, 대표적 유방염 원인균인 *Streptococcus uberis* 로 부터 새로운 박테리오신을 얻었고, 이는 nisin A와 nisin U와 유사하였음을 보고하였다(Wirawan *et al.*, 2006).

### 박테리오신의 산업적 생산

박테리오신의 산업화를 위해 분자생물학 및 대사공학을 이용하거나 배지와 생산조건에 의한 대량생산에 관한 최적화 연구가 진행되고 있다. 박테리오신의 장점은 단백질로서 자신의 유전자를 가지고 있으며, 이를 이용하여 유전자 클로닝함으로써 박테리오신을 대량생산할 수 있다는 것이다. 유전자 클로닝한 사례로 Kim 등(2006)에 의해 lactococcin A가 *Escherchia coli*에서 생산되었고, Martn 등(2007)에 의해 *L. lactis*에서 enterocin A를 발현시킨 바 있다. 또한 Kotelnikova와 Gelfand(2002)는 박테리오신의 생합성을 전사과정에서 조절하여 산업적 이용 가능성을 확인하였다. 그러나, 분자생물학 및 유전공학을 이용하여 높은 생산 가능성은 확인할 수 있었으나, 아직도 연구가 미흡하고, 하부공정(downstream)으로 발효 및 정제에 대한 연구가 함께 진행되어야 한다. 특히 scale-up 공정은 박테리오신의 산업화를 위해 충분한 검토가 이루어져야 한다.

Scale-up의 단계로서 배지 최적화와 생산조건의 최적화도 중요하다. 대부분의 박테리오신의 생산은 1차 대사산물로 성장 관련형(Aasen *et al.*, 2000)을 나타내므로, 균수의 증가를 위해 우선적으로 탄소원이 고려되어지고, 펩타이드 성분의 생산을 위해 질소원이 고려되어진다. 일부 연구의 경우에는, 박테리오신의 생산 후 분비를 원활하게

하기 위해 무기염류( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NH}_4^+$  등), Tween 80과 같은 계면활성제에 대한 검토가 이루어졌다(Verellent *et al.*, 1998). 대표적 박테리오신인 nisin의 경우, 반응표면분석법에 의해 배지성분을 비율 별로 비교하여 최적화하여 peptone과  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 에 대해 유의성을 확인하였으며, peptone에 대해서는 positive effect를  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 에 대해서는 negative effect를 나타내었다고 보고한 바 있다(Li *et al.*, 2002). 유전자 재조합 균주인 *L. lactis* subsp. *lactis* F-116의 대량생산을 위해  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NH}_4^+$ 의 비와 탄소원, 질소원을 조절하여 박테리오신의 생산을 2.4배 증가시킬 수 있었다(Stoyanova and Leveina, 2006). 그러나 Cheigh 등(2002), Kim 등(1997), Drosinos 등(2005)에 의한 사례에서는 균수의 성장과는 관련을 확인할 수 없었음이 보고되었다. 또한 *Lactobacillus plantarum* 17.2b로부터 박테리오신 생산에서는 NaCl, 배양온도, pH의 세 가지 조건을 이용하여 central composite design을 수행하였다. 이 연구의 결과, NaCl을 첨가하지 않았을 때, 대략 pH 7.0, 24°C에서 박테리오신의 최대생산을 확인하였으며, 이는 세포성장과는 유의적인 차이가 있었다고 보고되었다(Delgado *et al.*, 2007).

### 유제품 및 육제품에서 박테리오신의 응용

식품에서의 응용은 세 가지 형태로 이뤄지고 있다(Schillinger *et al.*, 1996). 첫째, 제품에 박테리오신 생산균주를 첨가하거나, 둘째, 정제 또는 부분정제된 박테리오신을 식품보존제로서 첨가하거나, 셋째, 식품가공 중에 박테리오신과 박테리오신 생산균주를 함께 첨가하는 방법이 사용되고 있다.

유제품 및 육제품에서 문제시되는 대표적인 식중독 균으로 *L. monocytogenes*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*를 들 수 있다. 육제품의 대표적인 보존제로는 nitrite가 사용되어지고, 이는 육제품의 발색제, 병원성 세균에 대해 항균효과를 나타낸다. 그러나 nitrite는 아민과 함께 nitrosamine이라는 발암물질을 형성하는 것으로 알려져 있으므로 사용량이 제한되고 있다. *L. monocytogenes*는 그람양성균주로서 아포를 형성하지 않는 통성혐기성균으로서 많이 분포되어 있다. pH 4.0-9.6, 온도 0-45°C, 수분활성도  $a_w$  0.90에서도 자랄 수 있다. 그러므로 도축에서부터 가공의 모든 과정에서 쉽게 발견될 수 있고, *L. monocytogenes*에 의해 단순한 설사와 복통을 수반하고, 심한 경우 죽음에까지 이를 수 있으므로 철저한 관리가 필요하다. *L. monocytogenes*와 관련한 박테리오신의 응용으로 다음과 같이 여러 사례들이 보고되고 있다. 박테리오신 분류에서 나타난 것처럼, sakacin과 pediocin과 같은 antilisterial 박테리오신은 많이 보고된 바 있다(Holck *et al.*, 1994). 이는 두 가지 형태로 실험되어졌는데, 박테리오신 자체뿐만 아니라, *Pediococcus*나 *Lactobacillus*를 직접 접종하는 형

태로 이뤄지고 *Listeria* 뿐만 아니라 그람양성의 식중독 세균의 증식을 억제하는데 매우 효과적인 것으로 보고되었다(Yousef *et al.*, 1991). 또한, 우유에서 *L. monocytogenes*의 생육저해 모델에 관해 박테리오신을 사용하였다(Benkerroum *et al.*, 2002). *Leuconostoc carnosum* 4010에 의해 생산되는 박테리오신인 leucocin 4010을 pilot plant scale에서 sliced meat products에 첨가하고, 약  $10^7$ - $10^8$  CFU/g의 *L. monocytogenes*를 인위적으로 넣은 후, 생육저해를 확인함으로써 새로운 천연보존제로서의 가능성을 확인하였다(Jacobsen *et al.*, 2003). 또한 Park 등(2003)에 의하면, ground beef에서 vacuum packaging과 modified atmosphere packaging에서 100 AU/g의 nisin과 lacticin NK24를 첨가했을 때, *L. monocytogenes* ATCC 15313의 생육저해를 보였는데, bactericidal이 아닌 bacteriostatic한 저해효과를 나타내었다. 박테리오신 첨가하지 않은 상태에서 vacuum packaging과 modified atmosphere packaging을 했을 때는 *L. monocytogenes* ATCC 15313의 성장이 확인되었다. 그러나, Hugas 등(1998)에 의하면, 포장과 함께 sakacin K의 상승효과는 확인할 수 없었다. 한편, 돼지고기에서 *Lactobacillus curvatus*가 생산한 박테리오신을 이용하여 *L. monocytogenes*를 첨가한 hurdle 실험을 한 사례가 있다(Ghali *et al.*, 2007). Oregano와 savory essential oil과 함께 pH로 고정화 박테리오신(CAB)을 첨가하여 *L. monocytogenes*의 농도를 감소시킴으로써 저온에서 저장기간을 늘려 산업화 가능성을 보여 주었다. 초기 균수를 약  $10^2$  CFU/g을 첨가했을 때, oregano essential oil과 CAB과 함께 첨가했을 때, 6주까지도 *L. monocytogenes*가 검출되지 않았다. 또한, 포장재의 재료로서 nisin과 lacticin NK24를 이용하여 굴과 육제품인 ground beef의 저장기간을 연장한 사례도 있다(Kim *et al.*, 2002). Semihard cheese에 박테리오신 생산균주를 첨가하여 *L. monocytogenes*의 농도를 감소시켜 저온에서 저장기간을 연장시켰다(Rodriguez *et al.*, 2001). 폴리에틸렌 포장재에 *L. curvatus* 32Y로부터 생산되는 박테리오신을 첨가하여 항균 포장재로 개발하고, *L. monocytogenes*에 대한 항균효과를 확인하였다(Mauriello *et al.*, 2004). 이들 사례들로 봤을 때, 박테리오신의 첨가는 이화학적인 영향보다는 미생물적인 측면에서 볼 때 유효성을 확인할 수 있었다. 축산농가의 환경에 따른 질병을 예방하기 위해 박테리오신의 첨가한 사례도 있다(Laukovet *et al.*, 2000). 사용한 대상균은 *L. monocytogenes* Ohio, *Yersinia enterocolitica* YE85로 박테리오신 생산균주인 *Enterococcus faecalis* V24에 의해 생산된 박테리오신에 의해 저해됨이 확인되었다.

*Clostridium*에 의한 식중독으로는 *Clostridium perfringens*와 *Clostridium botulinum* 등이 대표적이다. 또한 치즈생산에서 *Clostridium*의 경우, 식중독뿐만 아니라 butyric acid의 생산과 관련 있다. *Clostridium*의 저해에 관련된 예들

은 다음과 같다. 치즈를 생산하는 공정에서, nitrate를 첨가하는 대신에 nisin A의 생산균주를 starter culture에 첨가하였을 때 *Clostridium tyrobutyricum*의 바람직하지 못한 포자가 생산될 수 있는데, 이의 증식이 완전하게 방지되었다(Benkerroum and Sandine, 1988). Nisin을 가공된 cheese spread에 첨가했을 때, *C. tyrobutyricum*의 clostridia spore의 성장이 저해되었다(Schillinger *et al.*, 1996). Lacticin 3147은 아일랜드의 kefir와 유사한 곡류로부터 분리된 균주가 생산하는 2개의 펩타이드로 구성된 박테리오신이다. Lacticin 3147은 다양한 그람양성균에 대해 항균효과를 가지고 있고 치즈와 같은 발효식품에 이용할 수 있는 잠재력을 가지고 있다(Ross *et al.*, 1999). 발효유에서 캡슐화한 박테리오신을 이용하여, 산성상태에서 박테리오신이 용해되어 나오게 하여 저장성 향상을 확인할 수 있었다(Oh *et al.*, 2006). 또한, 장조림에 nisin의 항균효과로 인위적으로 첨가된 *Bacillus cereus*와 *C. perfringens*에 항균력이 입증되었다(Paik *et al.*, 2006).

*Escherichia coli* O157:H7은 장관출혈성 대장균으로 우리나라에서 제1종 전염병으로 지정되어 있으며, 혈변과 심한 복통 등을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한, 그람음성균인 *E. coli* O157:H7에 대해서 유기산인 젖산, 초산과 *Pediococcus acidilactici* K10이 생산하는 박테리오신과의 상승효과를 확인하여 보고하였다(Moon *et al.*, 2002). 박테리오신은 주로 그람양성균에 항균효과를 나타내는 것으로 알려져 있는데, 이는 세포막의 proton motive force에 의한 것이므로 유기산에 의한 막의 파괴로 인해 항균력이 있어 상승효과를 확인하였다. Alpase와 Bozoglu(2002)의 연구결과에 의하면, 우유, 치킨 스프의 크림에서 고압과 함께 박테리오신을 첨가하여 *E. coli* O157:H7과 *Salmonella*에 의해 문제시되던 저장기간이 연장되었다.

*B. cereus*는 포자형성균으로 가공된 곡물, 야채, 육류, 및 낙농제품에 발견되어 왔으며, 열에 안정한 장내독소를 형성하며 식중독으로 알려져 있다. Beuchate 등(1997)에 의해 beef gravy에 nisin을 첨가하여 저장하는 동안 *B. cereus*의 영양세포의 수와 포자를 감소시킨 것을 확인할 수 있었다.

이 외에도, 젖소유방염과 관련하여 항균효과를 확인한 사례들이 있다. 젖소유방염 관련 균으로는 *S. aureus*, coagulase negative staphylococci(CNS), *Enterococcus* 등이 알려져 있으며, 항생제 내성과 관련하여 문제시 되고 있다. *Lactobacillus bulgaricus*에 의해 생산된 박테리오신은 유방염 원인균인 *S. aureus*와 *S. agalactiae*에 대해 항균효과를 나타낸 사례가 있다(Kim *et al.*, 2004). Lacticin 3147을 함유하는 teat seal은 유방염 원인균인 *S. aureus*, *S. uberis*, *S. agalactiae*에 저해효과를 나타내었으며, lacticin 3147만으로 bactericidal effect를 확인할 수 있었다(Ryan *et al.*, 1998). *In vivo* 실험으로 *S. aureus*을 젖소의 유방에 접종한 다음 lacticin 3147을 첨가한 teat seal을 이용하였다

(Twomey *et al.*, 2000). 32,768 AU/4 g의 높은 농도로 첨가했을 때 *S. aureus*에 대해 55% 감염된 반면, 대조구가 80%로 높은 비율을 나타내었으며, 이에 대한 분명한 유의성을 확인할 수 있었다( $p < 0.05$ ). 이러한 연구를 통해 lacticin 3147의 유방염 치료제로서 가능성을 확인하였다.

## 요 약

최근까지 박테리옌 생산균주의 분리, 분자생물학적 메커니즘, 정제, 구조 및 작용기작, 산업적인 적용 등의 논문 등이 보고되고 있다. 또한 50개국 이상에서 치즈, 통조림식품 등에서 식품보존제로서 승인되어 있다. 박테리옌의 여러 장점으로 인해 현재 추진되고 있는 축산업 분야의 HACCP의 범위인, 사육장에서부터 식품제조에 이르기까지 항생물질, 인공적인 방부제나 식품첨가물이 적게 들어가거나 첨가되지 않은 자연식품을 선호하고 있는 실정에 적합하다. 향후 축산업에서 항생제 대체방안의 하나로 박테리옌의 사용은 확대되리라 기대된다. 경제적인 가격 경쟁력을 갖기 위해, 대량생산에 대한 연구가 이루어져야 하며, 적절한 제형으로 보다 구체적인 적용실험이 수행되어 산업화를 앞당겨야 한다.

## 참고문헌

- Aasen, I. M., Møretrø, T., Katla, T., and Axelsson, L. (2000) Influence of complex nutrients, temperature and pH on bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CCUG 42687. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **53**, 159-166.
- Ahn, C. (1993) Molecular genetics of bacteriocin production in lactic acid bacteria. *Bioindustry* **6**, 12-23.
- Alpas, H. and Bozoglu, F. (2002) Recovery of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in milk and cream of chicken soup from high hydrostatic pressure (HHP) and bacteriocin application upon storage. *High Pressure Res.* **22**, 685-687.
- Benkerroum, N., Ghouati, Y., Ghalfi, H., Elmejdoub, T., Roblain, D., Jacques, P., and Thonart, P. (2002) Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in a model cultured milk (lben) by *in situ* bacteriocin production from *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*. *Int. J. Dairy Technol.* **55**, 145-151.
- Benkerroum, R. and Sandine, W. E. (1988) Inhibitory action of nisin against *Listeria monocytogenes*. *J. Dairy Sci.* **71**, 3237-3254.
- Beuchat, L. R., Clavero, M. R. S., and Jaquette, C. B. (1997) Effect of nisin and temperature on survival, growth, and enterotoxin production characteristics of psychrotrophic *Bacillus cereus* in beef gravy. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 1953-1958.
- Byun, P. H., Jung, J. H., Kim, W. J., and Yoon, S. K. (2001) Effects of garlic addition on lipid oxidation of ground pork during storage. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* **17**, 117-122.
- Cheigh, C.-I., Choi, H.-J., Park, H., Kim, S.-B., Kook, M.-C., Kim, T.-S., Hwang, J.-K., and Pyun, Y.-R. (2002) Influence of growth conditions on the production of a nisin-like bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from kimchi. *J. Biotechnol.* **95**, 225-235.
- Chen, H. and Hoover, D. G. (2003) Bacteriocins and their food applications. *Compr. Rev. Food Sci. F.* **2**, 82-100.
- Cho, S. H., Seo, I. W., Choi, J. D., and Joo, I. S. (1990) Antimicrobial and antioxidant activity of grapefruit and seed extract on fishery products. *Bull. Korean Fish Soc.* **23**, 289-296.
- Coventry, M. J., Muirhead, K., and Hickey, M. W. (1995) Partial characterisation of pediocin PO2 and comparison with nisin for biopreservation of meat products. *Int. J. Food Microbiol.* **26**, 133-145.
- Daeschel, M. A. (1989) Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol.* **43**, 164-167.
- Delgado, A., Lopez, F. N. A., Brio, D., Peres, C., Fevereiro, P., and Garrido-Fernandez, A. (2007) Optimum bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* 17.2b requires absence of NaCl and apparently follows a mixed metabolite kinetics. *J. Biotechnol.* **130**, 193-201.
- Drosinos, E. H., Mataragas, M., Nasis, P., Galiotou, M., and Metaxopoulos J. (2005) Growth and bacteriocin production kinetics of *Leuconostoc mesenteroides* E131. *J. Appl. Microbiol.* **99**, 1314-1323.
- Ghali, H., Benkerroum, N., Doguiet, D. D. K., Bensaid, M., and Thonart, P. (2007) Effectiveness of cell-adsorbed bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 and selected essential oils to control *Listeria monocytogenes* in pork meat during cold storage. *Let. Appl. Microbiol.* **44**, 268-273.
- Ha, J.-I., Hong, K.-S., Song, S.-W., Jung, S.-C., Min, Y.-S., Shin, H.-C., Lee, G.-O., Lim, K.-J., and Park, J.-M. (2003) Survey of antimicrobial agents used in livestock and fishes. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.* **27**, 205-217.
- Holck, A. L., Axelsson, L., Hhne K., and Krcel L. (1994) Purification and cloning of sakacin 674, a bacteriocin from *Lactobacillus sake* LB674. *FEMS Microbiol. Lett.* **15**, 143-149.
- Houlihan, A. J., Mantovani, H. C., and Russell, J. B. (2004) Effect of pH on the activity of bovicin HC5, a bacteriocin from *Streptococcus bovis* HC51. *FEMS Microbiol. Lett.* **231**, 27-32.
- Hugas, M., Pags, F., Garriga, M., and Monfort, J. M. (1998) Application of bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC 494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres. *Food Microbiol.* **15**, 639-650.
- Hugo, M. P., Edith, P. A., Carlos, R. G., Amelia F. G. S., and Isabel, G. L. (2005) Effect of extrinsic parameters on the production of bacteriocin by *Lactobacillus buchneri*, isolated from Mexican raw sausages. *Int. J. Food Prop.* **8**, 69-78.
- Ingolf, F. N. and Holo, H. (2000) Class II antimicrobial peptides from lactic acid bacteria. *Biopolymers* **55**, 50-61.

22. Jacobsen, T., Budde, B. B., and Koch, A. G. (2003) Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. *J. Appl. Microbiol.* **95**, 242-249.
23. Joerger, R. D. (2003) Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptide and bacteriophages. *Poultry Sci.* **82**, 640-647.
24. Jung, M.-Y. and Paik, H.-D. (2000) Identification and partial characterization of lacticin JW3, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* JW3 isolated from commercial swiss cheese products. *Food Sci. Biotechnol.* **9**, 116-123.
25. Kim, H.-J., Kim, J.-H., Son, J. H., Seo, H.-J., Park, S.-J., Paek, N.-S., and Kim, S.-K. (2004) Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**, 503-508.
26. Kim, W. S., Hall, R. J., and Dunn, N. W. (1997) The effect of nisin concentration and nutrient depletion on nisin production of *Lactococcus lactis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **48**, 449-453.
27. Kim, Y. M., Paik, H.-D., and Lee, D. S. (2002) Shelf-life characteristics of fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin-coated plastic packaging film. *J. Sci. Food Agric.* **82**, 998-1002.
28. Kim, Y. S., Kim, M. J., Kim, P., and Kim, J. H. (2006) Cloning and production of a novel bacteriocin, lactococcin K, from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MY23. *Biotechnol Lett.* **28**, 357-362.
29. Kotelnikova, E. A. and Gelfand, M. S. (2002) Transcriptional regulation in the system of genes responsible for bacteriocin production in *Streptococcus equi*. *Russ. J. Genet.* **38**, 761-765.
30. Laukov, A., Juri, P., Vasilkov, Z., and Papajov, I. (2000) Treatment of sanitary-important bacteria by bacteriocin substance V24 in cattle dung water. *Lett. Appl. Microbiol.* **30**, 402-405.
31. Lee, J. R., Hur, S. J., Joo, S. T., and Park, G. B. (2001) The effect of chitosan supplementation on pH, shear force, moisture, and color of pork. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **21**, 200-207.
32. Lee, S. S. Hsu, J. T., Mantovani, H. C., and Russell, J. B. (2002) The effect of bovicin HC5, a bacteriocin from *Streptococcus bovis* HC5, on ruminal methane production *in vitro*. *FEMS Microbiol. Lett.* **217**, 51-55.
33. Li, C., Bai, J., Cai, Z., and Ouyang, F. (2002) Optimization of a cultural medium for bacteriocin production by *Lactococcus lactis* using response surface methodology. *J. Biotechnol.* **93**, 27-34.
34. Martnez, J. M., Martnez, I. M., Herranz, C., Surez, A. M., Cintas, L. M., Fernez, M. F., Rodriguez, J. M., and Hernandez, P. E. (2000) Use of genetic and immunological probes for pediocin PA-1 gene detection and quantification of bacteriocin production in *Pediococcus acidilactici* strains of meat origin. *Food Agric. Immunol.* **12**, 299-310.
35. Martn, M., Gutierrez, J., and Criado, R., Herranz, C., Cintas, L. M., and Hernandez, P. E. (2007) Cloning, production and expression of the bacteriocin enterocin A produced by *Enterococcus faecium* PLBC21 in *Lactococcus lactis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **76**, 667-675.
36. Mauriello, G., Ercolini, D., La Stora, A., Casaburi, A., and Villani, F. (2004) Development of polythene films for food packaging activated with an antilisterial bacteriocin from *Lactobacillus curvatus* 32Y. *J. Appl. Microbiol.* **97**, 314-322.
37. Montville, T. J., Winkowski, K., and Ludescher, R. D. (1995) Models and mechanisms for bacteriocin actions and application. *Int. Dairy J.* **5**, 797-814.
38. Montville, T. J. and Winkowski, K. (1997) Biologically-based preservation systems and probiotic bacteria. In: Food microbiology: fundamentals and frontiers. Doyle, M. P., Beuchat, L. R. and Montville, T.J. (eds) American Society for Microbiology Press, Washington, DC, pp 557-577.
39. Moon, G.-S., Kim, W. J., and Kim, M. H. (2002) Synergistic effects of bacteriocin-producing *Pediococcus acidilactici* K10 and organic acids on inhibiting *Escherichia coli* O157:H7 and applications in ground beef. *J. Microbiol. Biotechnol.* **12**, 936-942.
40. Morris, S. L., Walsh, R. C., and Hansen, J. N. (1984) Identification and characterization of some bactericidal membrane sulfhydryl groups which are targets of bacteriostatic and antibiotic action. *J. Biol. Chem.* **201**, 581-585.
41. Nes, I. F. and Holo, H. (2000) Class II antimicrobial peptides from lactic acid bacteria. *Biopolymers* **55**, 50-61.
42. Oh, S. J., Heo, H. J., Park, D. J., Kim, S. H., Lee, S. J., and Imm, J. Y. (2006) Effect of encapsulated bacteriocin on acid production and growth of starter cultures in yoghurt. *Food Sci. Biotechnol.* **15**, 903-907.
43. Paik, H.-D., Kim, H.-J., Nam, K.-J., Kim, C.-J., Lee, S.-E., and Lee, D.-S. (2006) Effect of nisin on the storage of *sous vide* processed Korean seasoned beef. *Food Control* **17**, 994-1000.
44. Park, H. J., Lee, N.-K., Kim, K.-T., Ha, J.-U., Lee, D. S., and Paik, H.-D. (2003) Inhibition of *Listeria monocytogenes* in vacuum or modified atmosphere-packed ground beef by lactococcal bacteriocins. *Nutraceut. Food* **8**, 196-199.
45. Rodriguez, E., Arqus, J. L., Gaya, P., Nuez, M., and Medina, M. (2001) Control of *Listeria monocytogenes* by bacteriocin-producing lactic acid bacteria by colony hybridization in semi-hard raw milk cheese. *J. Dairy Res.* **68**, 131-137.
46. Ross, R. P., Galvin, M., McAuliffe, O., Morgan, S. M., Ryan, M. P., Twomey, D. P., Meaney, W. J., and Hill, C. (1999) Developing applications for lactococcal bacteriocins. *Anton. van Leeuw.* **76**, 337-346.
47. Ryan, M. P., Meaney, W. J., Ross, R. P., and Hill, C. (1998) Evaluation of lacticin 3147 and a teat seal containing this bacteriocin for inhibition of mastitis pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 2287-2290.
48. Santos Nascimento, J., Santos, K. R. N., Gentilini, E., Sordelli, D., and Bastos, M. C. F. (2002) Phenotypic and genetic characterisation of bacteriocin-producing strains of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* **85**, 133-144.
49. Schillinger, U., Geisen, R., and Holzappel, W. H. (1996) Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends Food Sci.*

- Technol.* **7**, 158-222.
50. Stoyanova, L. G. and Levina, N. A. (2006) Components of fermentation medium regulate bacteriocin synthesis by the recombinant strain *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* F-116. *Microbiology* **75**, 286-291.
  51. Tkel, Ç., Avrolu, M. D., Şimek, Ö., and Akwlik, M. (2007) Isolation and partial characterization of novel bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* MC38. *J. Food Safety* **27**, 17-29.
  52. Twomey, D. P., Wheelock, A. I., Flynn, J., Meaney, W. J., Hill, C., and Ross, R. P. (2000) Protection against *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cow using a bismuth-based teat seal containing the bacteriocin, lacticin 3147. *J. Dairy Sci.* **83**, 1981-1988.
  53. Verellen, T. J., Bruggeman, G., Van Reenen, C. A., Dicks, L. M. T., and Vamdamme, E. J. (1998) Fermentation optimization of plantaricin 423, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 423. *J. Ferment. Bioeng.* **86**, 174-179.
  54. Villani, F., Aponte, M., Blaitta, G., Mauriello, G., Pepe, O., and Moschetti, G. (2001) Detection and characterization of a bacteriocin, garviecin L1-5, produced by *Lactococcus garvieae* isolated from raw cow's milk. *J. Appl. Microbiol.* **90**, 430-439.
  55. Wirawan, R. E., Klesse, N. A., Jack, R. W., and Tagg, J. R. (2006) Molecular and genetic characterization of a novel nisin variant produced by *Streptococcus uberis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 1148-1156.
  56. Wong, J. W., Hashimoto, K., and Shibamoto, T. (1995) Antioxidant activities of rosemary and sage extract and vitamin E in a model meat system. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 2707-2712.
  57. Xavier, B. M. and Russell, J. B. (2006) Bacterial competition between a bacteriocin-producing and a bacteriocin-negative strain of *Streptococcus bovis* batch and continuous culture. *FEMS Microbiol. Ecol.* **58**, 317-322.
  58. Yoon, Y. C., Park, H.-J., Han, J.-J., Chung, C.-I., and Paik, H.-D. (2006) Control of *Listeria monocytogenes* in milk by lacticin JW3, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* JW3 isolated from cheese. *Milk Sci. Int.* **11**, 6-10.
  59. Yousef, A. E., Luchansky, J. B., Degnan, A. J., and Doyle, M. P. (1991) Behavior of *Listeria monocytogenes* in wiener exudates in the presence of *Pediococcus acidilactici* H or pediocin AcH during storage at 4 or 25°C. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**, 1461-1467.
  60. 이나경, 김성미, 백현동 (2001) 한국전통발효식품에 관련된 박테리오신의 연구동향. *미생물과 산업* pp. 23-28.

(2008. 1. 8. 접수/ 2008. 3. 19. 채택)