

대두 발효식품으로부터 분리한 *Bacillus subtilis* HS 25가 생산한 항균물질의 특성

박석규^{1,3} · 류현순² · 이상원^{1,2,*}

¹한국전통발효식품연구소, ²진주산업대학교 미생물공학과, ³순천대학교 식품영양학과

Characterization of an Antibacterial Substance Produced by *Bacillus subtilis* HS 25 Isolated from Fermented Soybean Foods

Seok-Kyu Park^{1,3}, Hyun-Soon Ryu² and Sang-Won Lee^{1,2,*}

¹Korea Fermented Food Research Institute, Jinju 660-840, Korea

²Department of Microbiological Engineering, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea

³Department of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract

We investigated an antibacterial substance produced by *Bacillus subtilis* HS 25. Antibacterial activity was relatively heat-stable, with no effect caused by heating at 100°C for 10 min, but a gradual decrease in activity after 15 min at 100°C. The antibacterial substance was more stable at pH 7.42-12 than at pH 4.5-5.0. There was strong antibacterial activity against *E. coli* and *P. mirabilis* at pH 12. The minimum inhibition concentration (MIC) of the substance was 5 mg/mL for *E. coli* 7.5 mg/mL for *P. mirabilis* and *S. aureus* and 15 mg/mL for *S. enteritidis*, *K. pneumoniae*, and *V. parahaemolyticus*. When the substance was added to cultures of *E. coli*, *S. enteritidis*, and *P. mirabilis*, the bacterial surfaces became irregular and deeply changed. The substance produced from *B. subtilis* HS 25 was not degraded by Papain but was degraded by a protease from *Aspergillus oryzae*, pancreatin, and pepsin.

Key words : Antibacterial substance, *Bacillus subtilis*, MIC, Papain.

서 론

최근 소비자들은 건강에 대한 관심의 증대와 함께 nitrate 및 sulfite 등과 같은 화학합성 식품보존제에 대한 저항감 등으로 인하여 좀 더 신선하면서 천연 그대로의 식품(natural food)을 원하고 있어 화학방부제의 무첨가 등을 지향하고 있는 실정이다(1,2). 이와 같은 시대적 흐름에 따라 인체에 무독성이며 잔류성이 거의 없는 천연 항균성 단백질인 박테리오신은 식품산업 등에서 최소한의 열처리와 저온유통 등의 방법으로 그 식품의 안정성을 확보할 수 있는 수단으로 인식되어 많은 연구자들의 관심이 집중되고 있다(3,4). 그러나 새로운 박테리오신 생산균주에 대한

탐색은 활발하나 nisin과 같은 산업적으로 응용할 수 있을 만큼 항균범위가 넓은 균주의 개발이 이루어지지 않고, 또한 각종 식품에 관련된 부패미생물과 병원성세균에 대한 항균활성에 대한 검정이 체계적으로 이루어지지 않고 있으므로 천연보존제로서의 박테리오신에 대한 과학적, 산업적 응용기술은 시급하고도 중요한 과제로 생각된다(3). 우리나라는 김치, 젓갈 및 콩 발효식품 등 전통적으로 자연미생물을 이용한 발효식품이 풍부할 뿐만 아니라 이들 식품이 국민건강을 좌우하는 기초식품으로 여겨져 왔다. 특히 전통 장류발효식품은 우리민족의 건강을 지켜온 우수한 단백질 급원으로 인정되고 있으나, 염분의 함량이 높아 현대인의 식생활 흐름과 성인병 등의 예방측면에서 저염화 추세가 요구되고 있다(5,6). 그러나 장류발효식품을 저염화 할 경우 여러 가지 부패미생물의 증식으로 저장성이 낮아지는

*Corresponding author. E-mail : swlee@jinju.ac.kr,
Phone : 82-55-751-3394, Fax : 82-55-751-3399

등 많은 문제점이 대두되기 때문에 이를 해결하기 위해서 본 연구자들은 전보(7)에서 전통 대두 발효식품으로부터 효소활성 및 항균활성이 우수한 *Bacillus subtilis* HS-25균주를 순수분리하여 그 미생물의 생화학적 및 배양학적 특성을 밝히고 항균물질 대량생산을 위한 최적배양조건 등을 보고하였다. 본 연구에서는 *B. subtilis* HS-25균주가 생산한 항균물질의 특성을 더욱더 명확히 밝히기 위하여 항균활성이 우수한 미생물로 보고된 *B. natto*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* 및 *B. megaterium* SMY 212와 그 활성을 비교하였으며, 또한 *B. subtilis* HS-25가 생산한 항균물질의 열안정성 및 pH 안정성 등의 여러 가지 성질을 검토하였다.

재료 및 방법

공시균주

전통 된장으로부터 protease 및 amylase 등의 효소활성 및 항균활성이 우수한 미생물로 분리·동정된 *Bacillus subtilis* HS-25를 사용하였다(7). 항균활성 검토를 위한 유해미생물은 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* KCCM 1202, *Klebsiella pneumoniae* KCCM 11319, *Proteus mirabilis* KCTC 2433 및 *Vibrio parahaemolyticus* 등의 Gram(-)균과 *Staphylococcus aureus* KCTC 1927 등의 Gram(+)균을 한국종균협회에서 분양을 받아 사용하였다.

배지 및 배양

B. subtilis HS 25 균주의 생육 및 항균물질 생산은 soluble starch 1%, yeast extract 0.5%, peptone 0.5% 및 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.05%로 구성된 배지를 사용하였으며, 항균물질 생산을 위한 배양은 35°C에서 180 rpm으로 24시간 행하였다(7).

항균활성 측정

미생물의 항균활성은 agar diffusion법(8)에 준하여 측정하였다. 500 mL의 삼각플라스크에 200 mL의 액체배지를 넣고 살균한 후, 전배양액을 1% 접종하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 그 배양액을 8,000g에서 원심분리한 후 얻은 상정액을 0.2 μm membrane filter로 여과하여 항균활성 측정 시료로 사용하였다. 측정법은 0.6% soft agar가 함유된 Mueller Hinton 배지에 각 유해미생물의 액체배양액 50 μL 씩을 접종하여 잘 혼합한 후 미리 준비해둔 Mueller Hinton 평판배지에 중층 한 다음 항균활성 측정시료 120 μL 씩을 흡착시켜 건조시켜 둔 paper disc (Toyo Rhoishi kaisha, Ltd., 8 mm)를 중층배지 위에 얹어 35°C 항온기에서 배양하면서 유해미생물의 생육저해를 나타내는 clear zone의 직경(mm)을 측정하였다.

미생물의 형태 변화

B. subtilis HS 25 균주가 생산한 항균물질의 처리가 유해미생물의 세포형태 변화에 미치는 영향을 검토하기 위하여 *B. subtilis* HS 25 균주를 24시간 배양한 후 8,000g에서 15분간 원심분리 하여 얻은 상정액을 0.45 μm membrane filter로 여과한 여과액과 7시간 동안 Mueller Hinton 액체배지에 배양한 유해 미생물을 1:1로 혼합한 다음 35°C에서 50 rpm으로 10시간 동안 천천히 진탕 시킨 후 주사전자현미경 (SEM, JEOL T330A)으로 유해미생물의 세포형태 변화를 관찰하였다.

항균물질의 안정성

항균물질의 여러 가지 안정성을 검토하기 위한 시료는 *B. subtilis* HS 25 균주를 액체배양 한 후 그 배양액을 8,000g에서 15분간 원심분리 하여 얻은 상정액을 사용하였다. 열안정성은 시료를 100°C에서 5, 10, 15, 20 및 25분 동안 열처리한 다음 각각의 시료에 잔존하는 항균활성을 측정하였다. pH 안정성은 원심분리 하여 얻은 시료 용액에 0.1 M NaOH 및 0.1 M HCl을 사용하여 pH 4.5~12까지 조절한 다음 상온에서 천천히 흔들면서 2시간 동안 방치한 후 pH 7.5로 중화시켜 항균활성을 측정 측정하였다. 각종 단백질 분해효소에 대한 안정성 검토는 원심분리하여 얻은 시료를 0.45 μm membrane filter로 여과한 다음 기원이 서로 다른 여러 종류의 시판 단백질 분해효소를 200 units씩 처리하여 37°C에서 2시간 방치한 후 잔존하는 항균활성을 측정하였다. 단백질 분해효소로는 *Aspergillus oryzae* 유래의 protease (Sigma, St. Louis, USA), 온혈동물의 췌장에서 분리한 pancreatin (Kanto chemical co., Japan), *Papaya* 유액 유래의 papain (Sigma, St. Louis, USA) 및 돼지의 위 점막 유래의 pepsin (Sigma, St. Louis, USA)을 사용하였다. Pepsin은 0.01 M Na-citrate buffer(pH 2.2)에 용해하여 사용하였으며, 나머지 세 종류의 효소들은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 대조구로는 각 효소를 용해할 때 사용한 완충용액을 사용하였다.

최소저해농도

최소저해농도(minimum inhibitory concentration: MIC)는 박테리옌 생산 균주를 액체배양 한 후 배양액을 8,000 g에서 15분간 원심분리 하여 얻은 상정액을 0.45 μm membrane filter로 여과한 다음 멸균된 paper disc에 여과액을 0, 5, 10, 20, 40, 60 및 80 mg/mL 가 되도록 각각 흡착시킨 후 유해미생물을 중층 한 Mueller Hinton배지 상에 얹어 35°C에서 정지배양하면서 유해미생물의 생육을 억제하는 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 나타내었다.

결과 및 고찰

항균물질의 활성비교

전통 장류 발효식품의 발효도와 저장성을 증진시키기 위하여 전보(7)에서 전통 대두 발효식품으로부터 cellulase, amylase 및 protease 활성과 항균활성이 우수한 *B. subtilis* HS-25 균주를 분리하여 배양학적 특성을 검토하여 보고하였다. 이 배양조건에서 *B. subtilis* HS 25 균주가 생산한 항균물질의 활성 정도를 밝힐 목적으로 이미 항균활성이 높은 미생물로 밝혀져 있는 *B. natto*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* 및 *B. megaterium* SMY 212 균주를 액체배양 한 후 원심분리하여 얻은 상정액을 membrane filter로 여과한 다음 paper disc에 150 μ L씩 흡착시켜 유해미생물에 대한 항균활성을 비교하여 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* 및 *V. parahaemolyticus*의 유해미생물에 대하여 *B. subtilis* HS 25 균주는 아주 높은 항균활성을 나타내었으나 *B. subtilis* 및 *B. licheniformis*는 거의 항균활성을 나타내지 않았으며, *B. natto*와 *B. megaterium* SMY 212 균주에서는 약간의 항균활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 항균 미생물을 배양하는 조건 및 항균활성을 나타내는 대상 미생물의 종류에 따른 차이 때문으로 생각된다. 특히 *B. megaterium* SMY 212의 경우 검정콩 청국장의 제조 시 이 균을 발효균주로 첨가하여 만든 청국장의 추출물은 *Streptococcus mutans*, *B. licheniformis*, *Brevibaeterium linens*, *Proteus vulgaris*에 대하여 높은 항균활성을 나타내는 것으로 보고(9) 하였지만 액체 배양하였을 때 배양액이 직접 나타내는 항균활성에 약간의 차이가 있는 것으로 생각된다.

Table 1. Comparison of antibacterial activities of antibacterial substance producing bacteria

Antibacteria	Antibacterial activity(mm) ¹⁾					
	A-8 ²⁾	A-12	A-14	A-18	A-25	A-26
<i>Bacillus</i> sp. HS-25	21	18	19	18	20	17
<i>B. natto</i>	14	11	13	12	10	12
<i>B. subtilis</i>	10	9	9	9	9	9
<i>B. licheniformis</i>	12	10	10	9	10	10
<i>B. megaterium</i> SMY212	13	12	12	11	9	13

¹⁾Size of clear zone and inhibitory effect of culture broth of the isolated bacterial strains against tested strains by agar diffusion method.

²⁾Tested strains = A-8, *E. coli* ATCC 25922 ; A-12, *S. aureus* KCTC 1927 ; A-14, *S. enteritidis* KCCM 1202 ; A-18, *K. pneumoniae* KCCM 11319 ; A-25, *P. mirabilis* KCTC 2433 ; A-26, *V. parahaemolyticus*.

항균물질의 열 안정성

B. subtilis HS 25 균주가 생산하는 항균물질의 열 안정성을 조사하여 Fig. 1에 나타내었다. 배양액을 100°C에서 5분

및 10분 동안 열처리한 후 *S. aureus*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* 및 *V. parahaemolyticus*의 유해미생물에 대하여 항균활성을 측정 한 a 및 b 시험구는 열처리하지 않은 대조구(f)의 항균활성과 비교하여 조금도 떨어지지 않는 대등한 항균활성을 유지하였다. 그러나 15분 이상을 열처리하였을 때는 항균활성이 약간 떨어지는 경향을 보였지만, 25분 동안 열처리하여도 모든 시험구에서 완전히 실패 되지 않았다. 특히 *E. coli*와 *P. mirabilis*의 유해 미생물의 경우는 약 70% 이상의 항균활성이 유지되었다(Fig. 1-A 및 E의 e). 이와 같은 결과는 *Pediococcus pentosaceus* FB61이 생산한 pediocin A의 물질은 100°C에서 10분간 열처리하면 단지 5% 정도의 항균활성만이 유지되었다는 결과(10)와 비교할 때 상당히 열 안정성이 높은 것으로 판단된다. 그리고 Ali 등(11)은 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis* UL 720에 의해 생산된 diacetin B는 121°C에서 20분간 처리 후에도 항균활성이 안정하다고 보고하였다. 이상의 결과로 미생물이 생산하는 항균물질은 그 미생물의 특성에 따라서 열 안정성에 상당한 차이를 나타내는 것으로 판단된다.

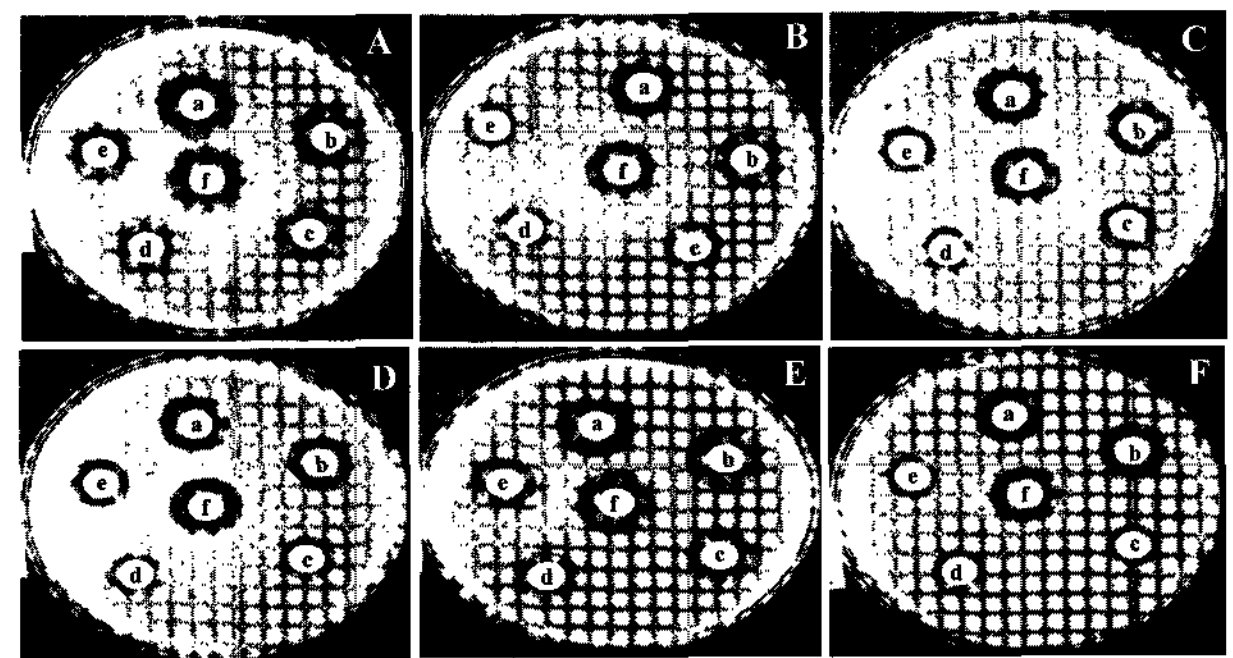


Fig. 1. Heat stability of the supernatant of culture broth obtained from the isolated *B. subtilis* HS 25.

The supernatant was heated at 100°C for 0 min(f), 5 min(a), 10 min(b), 15 min(c), 20 min(d) and 25 min(e). A, *E. coli* ATCC 25922 ; B, *S. aureus* KCTC 1927 ; C, *S. enteritidis* KCCM 1202 ; D, *K. pneumoniae* KCCM 11319 ; E, *P. mirabilis* KCTC 2433 ; F, *V. parahaemolyticus*.

항균물질의 pH 안정성

B. subtilis HS 25 균주가 생산하는 항균물질의 pH를 4.5~12.0범위로 조정 한 후 그 안정성을 검토한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 대조구는 pH를 조정하지 않은 pH 7.42(Fig. 2-A, B, C, D, E 및 F의 c)를 사용하였다. *B. subtilis* HS 25 균주가 생산하는 항균물질은 본 연구에 사용한 모든 유해미생물에 대하여 pH 4.5 및 5.0의 산성 측에서는 거의 항균활성을 나타내지 않았지만, pH 7.42~12.0까지의 알칼리성 범위에서는 매우 안정된 항균활성을 유지하였다. 특히, *E. coli*와 *P. mirabilis*에 대한 항균활성은 pH 12.0의 알칼리 측에서도 대조구와 거의 대등한 활성을 나타내었다. 이상의 결과로 *B. subtilis* HS 25 균주가 생산하는 항균물질은

산성 조건보다는 알칼리성 조건에서 더욱 안정한 것으로 확인되었다. Daeshel 등(12)이 보고한 *Lactobacillus plantarum* C-11이 생산하는 plantaricin A는 pH 4.5~6.5사이의 좁은 항균범위에서만 활성을 유지하며, nisin의 경우 pH 2에서의 용해성이 57 mg/mL인 반면 pH 8~12에서는 0.25 mg/mL의 낮은 용해도를 보여 알칼리영역에서는 매우 불안정하다고 보고한 내용과는 상당한 차이가 있는 것으로 판단된다. 반면 *Lactobacillus casei*가 생산하는 caseicin 80의 경우에는 pH 2~11의 범위에서도 활성을 유지한다는 보고보다는 pH안정성의 영역이 약간 좁지만 piscinolin LV17의 경우에는 알칼리성 조건에도 안정하다고 보고한 내용과는 비슷한 pH의 안정성 영역을 갖고 있는 물질로 생각된다(13).

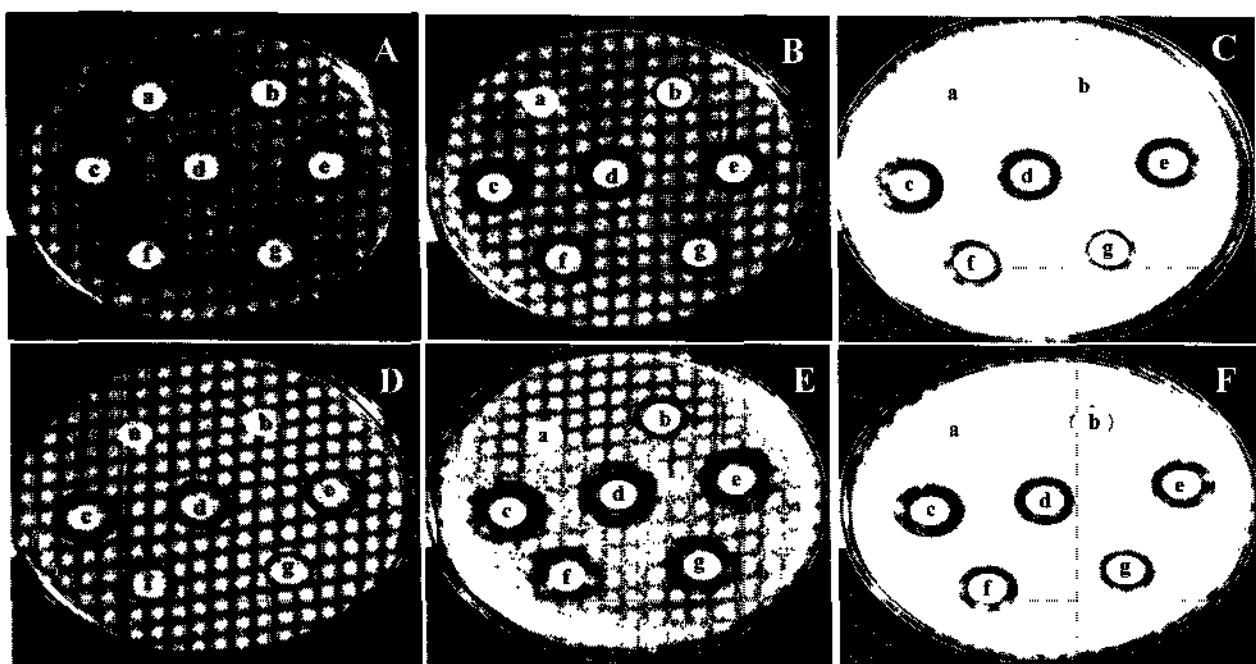


Fig. 2. pH stability of the supernatant of culture broth obtained from the isolated *B. subtilis* HS 25.

A, *E. coli* ATCC 25922 ; B, *S. aureus* KCTC 1927 ; C, *S. enteritidis* KCCM 1202 ; D, *K. pneumoniae* KCCM 11319 ; E, *P. mirabilis* KCTC 2433 ; F, *V. parahaemolyticus*. The supernatant was heated for 2 hrs at pH 4.5(a), 5.0(b), 7.42(c), 10.5(d), 11.0(e), 11.5(f) and 12.0(g), and then was adjusted to pH 7.42.

최소저해농도

B. subtilis HS 25 균주의 항균물질이 유해미생물의 생육 저해에 미치는 최소저해농도(MIC)를 검토한 결과를 Table 2에 나타내었다. 고체배지에서 최소저해농도는 *E. coli*가 5 mg/mL로 가장 낮게 나타났으며, *P. mirabilis*는 7.5 mg/mL, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae* 및 *V. parahaemolyticus* 균주에서는 15 mg/mL를 나타내었다. 이상의 결과로 *B. subtilis* HS 25 균주가 생산하는 항균물질은

Table 2. Minimum inhibition concentration(MIC) of antibacterial substances obtained from the isolated *B. subtilis* HS 25 against food poisoning and pathogenic bacteria

Strains	Treated concentration (mg/mL)							MIC (mg/mL)
	Con.	5	10	20	40	60	80	
<i>E. coli</i> ATCC-25922	+	-	-	-	-	-	-	5
<i>S. aureus</i> KCTC-1927	+	+	±	-	-	-	-	15
<i>S. enteritidis</i> KCCM-1202	+	+	±	-	-	-	-	15
<i>K. pneumoniae</i> KCCM-11319	+	+	±	-	-	-	-	15
<i>P. mirabilis</i> KCTC-2433	+	±	-	-	-	-	-	7.5
<i>V. parahaemolyticus</i>	+	+	±	-	-	-	-	15

+ ; Growth, ± ; Uncertain in growth, - ; No growth.

낮은 농도에서도 그람양성뿐만 아니라 음성 균주의 생육을 저해시킬 수 있는 항균물질을 생산하고 있음을 확인할 수 있었다.

미생물의 형태 변화

B. subtilis HS 25 균주가 생산한 항균물질이 유해미생물에 대하여 항균작용을 나타낼 때 *E. coli* ATCC 25922, *S. enteritidis* KCCM 1202 및 *P. mirabilis* KCTC 2433의 형태 변화에 미치는 영향을 검토하여 Fig. 3에 나타내었다. 각 유해미생물의 형태 변화는 항균물질을 처리하지 않은 시험구(I)인 대조구와 처리한 시험구(II)를 주사전자현미경으로 관찰하였다. Fig. 3의 A는 *E. coli*, B는 *S. enteritidis*, C는 *P. mirabilis*의 균주에 *B. subtilis* HS 25 균주가 생산한 항균물질을 각각 처리한 것으로 대조구인 I은 완전한 균체의 형태를 유지하고 있는데 비하여 항균물질을 처리한 시험구 II는 균체의 표면이 불규칙적이며, 타원형으로 변형되어 3 종류의 균주 모두 표층구조가 손상을 받아 심한 형태적 변화가 일어났음을 관찰할 수 있었다. 이와 같은 현상은 *B. subtilis* HS 25 균주가 생산한 항균물질에 의해 유해미생물의 세포벽 및 세포막이 파괴되었거나 용균현상이 일어나 유해미생물의 세포질 성분이 누출된 것으로 생각되어진다. 박테리오신의 작용기작은 일반적으로 박테리오신이 세균의 세포 안으로 들어가 DNA 파괴 및 단백질 합성에 필요한 효소들의 분자구조를 교란시켜 생체내의 단백질 합성을 저지시키고, 세포막의 능동수송을 저해하거나, 이온의 막 투과성을 증가시키는 등의 작용을 함으로써 세포의 증식을 억제하는 bacteriostatic action과 세포의 사멸과 세포벽을 용해시키는 bacteriolytic action 및 세포를 완전히 사멸시키는 bacteriocidal action 등이 보고되고 있다(6,14).

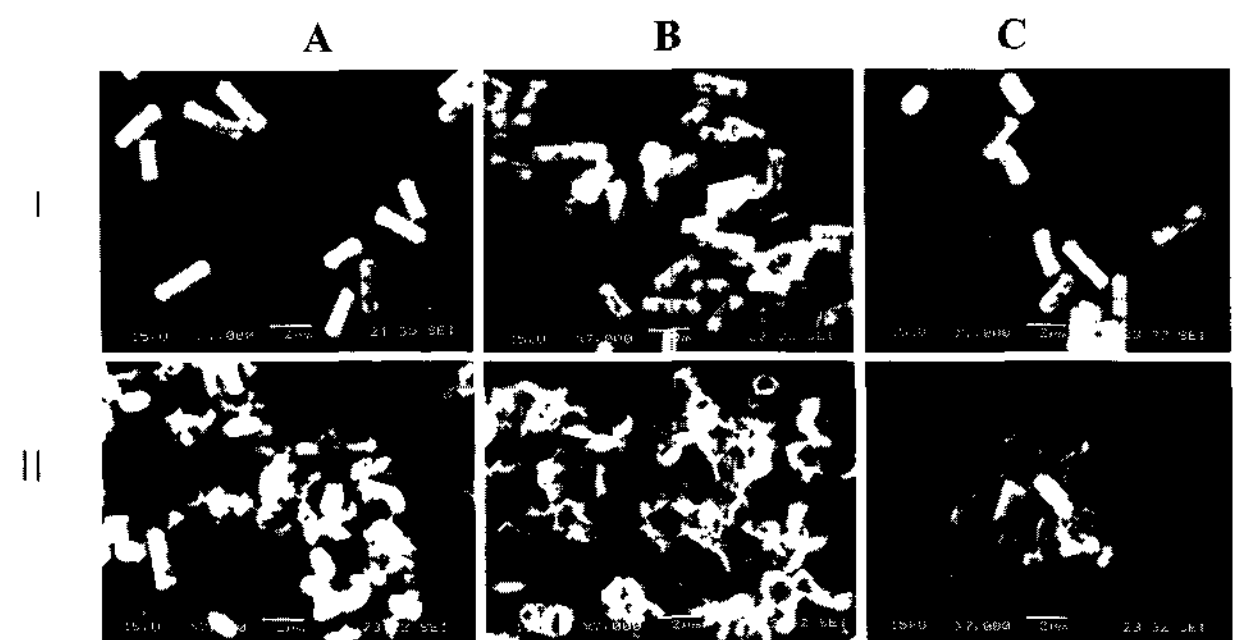


Fig. 3. Morphological change in *E. coli* ATCC 25922(A), *S. enteritidis* KCCM 1202(B) and *P. mirabilis* KCTC 2433(C) treated with the supernatant of culture broth obtained from the isolated *B. subtilis* HS 25 by SEM.

I, Control ; II, Strains treated with supernatant.

각종 단백질 분해효소에 대한 안정성

B. subtilis HS 25 균주의 배양액 중에 존재하는 항균물질이 단백질성 물질인지를 확인하기 위하여 시판중인

pancreatin, pepsin, papain 및 *Aspergillus oryzae* 유래의 protease를 각 200 units/mL씩 첨가하여 2시간 동안 처리한 후 잔존 항균활성을 검토하여 Table 3에 나타내었다. 대조구는 각 효소를 용해할 때 사용한 완충용액을 동량 첨가하여 사용하였다. 효소처리를 하지 않은 대조구에서는 매우 높은 항균활성을 나타내었지만 pancreatin, pepsin 및 곰팡이 유래의 protease를 처리한 시험구에서는 모든 유해미생물에 대하여 전혀 항균활성이 나타나지 않았다. 그러나 papain을 처리한 시험구는 전혀 영향을 받지 않고 대조구의 활성과 동일한 항균활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 *B. subtilis* HS 25균주가 생산한 항균물질은 papain에 의해서는 분해되지 않지만 protease, pancreatin 및 pepsin의 효소에 의해서 완전히 분해되기 때문에 유해미생물에 대하여 항균활성이 전혀 나타나지 않는 것으로 판단되었으며, 또한 *B. subtilis* HS 25 균주가 생산한 항균물질은 단백질성 물질일 가능성이 높은 것으로 추측되었다. 이상의 결과로 *B. subtilis* HS 25 균주는 전통 콩 발효식품에서 발효 균주로 사용할 가치가 있는 것으로 사료된다.

Table 3. Effect of various enzyme on the inhibitory of bacteriocin produced by *B. subtilis* HS 25

Enzymes	Antibacterial activity(mm) ¹⁾					
	A-8 ²⁾	A-12	A-14	A-18	A-25	A-26
Control	21.50	19.00	18.50	18.50	19.50	17.00
Protease	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Pancreatin	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Pepsin	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Papain	21.50	19.00	18.50	18.50	19.50	17.00

¹⁾Size of clear zone and inhibitory effect of culture broth of the isolated bacterial strains against tested strains by agar diffusion method.

²⁾Tested strains = A-8, *E. coli* ATCC 25922 ; A-12, *S. aureus* KCTC 1927 ; A-14, *S. enteritidis* KCCM 1202 ; A-18, *K. pneumoniae* KCCM 11319 ; A-25, *P. mirabilis* KCTC 2433 ; A-26, *V. parahaemolyticus*.

요 약

대두 발효식품으로부터 분리 동정한 *B. subtilis* HS 25가 생산한 항균물질의 특성을 검토하였다. 열안정성을 검토한 결과, 100°C에서 10분 처리에서는 항균활성이 전혀 떨어지지 않았지만 15분 이상의 처리에서는 항균활성이 약간 떨어지는 경향을 보였다. pH 안정성은 pH 4.5~5.0의 산성 측보다 pH 7.42~12.0까지의 알칼리 범위에서 안정된 항균활성을 유지하였다. 특히, *E. coli* 및 *P. mirabilis*에 대한 항균활성은 pH 12.0에서도 대조구와 거의 대등한 활성을 나타내었다. 최소저해농도는 *E. coli*가 5 mg/mL로 가장 낮았으며, *P. mirabilis*는 7.5 mg/mL, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *K. pneumoniae* 및 *V. parahaemolyticus* 균주에서는 15

mg/mL를 나타내었다. *B. subtilis* HS 25 균주가 생산한 항균물질을 *E. coli*, *S. enteritidis* 및 *P. mirabilis*에 각각 처리하였을 때 균체의 표면이 불규칙적으로 변형되어 심한 형태적 변화가 일어났음을 관찰할 수 있었다. *B. subtilis* HS 25균주가 생산한 항균물질은 papain에 의해서는 분해되지 않지만, *A. oryzae* 유래의 protease과 pancreatin 및 pepsin의 효소에 의해서 완전히 분해되어 항균활성이 전혀 나타나지 않았다.

감사의 글

본 연구는 LG연암재단 해외 연구교수 및 농림기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Kim, T.K., Shin, H.D., and Lee, Y.H. (2003) Stabilization of polyphenolic antioxidants using inclusion complexation with cyclodextrin and their utilization as the fresh-food preservation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 35, 266-271.
- Baek, B. S. and Lee, Y. H. (2006) Consumer's awareness and policies directions on food additives-Focusing on consumer information. *Korean Soc. Consumer Studies*, 17, 133-141.
- Lee, S.W., Shin, S.Y. and Yu, T.J. (1985) Effect of the ethanol contents on the preparation of low salt *Doenjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 17, 336-339.
- Park, S.K., Cho, Y.S., Shon, M.Y., Gal, S.W. and Lee, S.W. (2007) Isolation and cultural characterization of antibacterial substance producing microbes. *Korean J. Food Preserv.*, 14, 194-200.
- Kim, J.D., Cheo M. and Ju, J.S. (1995) A study on correlation between blood pressure and dietary Na, K intakes pattern in the family member of normal and cerebrovascular disease patients. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 24, 24-29.
- Kim, S.K., Lee, S.J., Baek, Y.J. and Park, Y.H. (1994). Isolation of Bacteriocin producing *Lactococcus* sp. 449 and its Antimicrobial characteristics. *Kor. J. Appl. Microb. Biotechnol.*, 22, 259-265.
- Ryu, H.S., Shon, M.Y., Cho, S.J., Park, S.K. and Lee, S.W. (2007) Characterization of antibacterial substance-producing *Bacillus subtilis* isolated from traditional *Doenjang*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 50, 87-94.

8. Hurst, A. (1981). Nisin. *Adv. Appl. Microbiol.*, 27, 85-89.
9. Shon, M.Y. (1991). Physicochemical properties and biological activities of *Chungkuk-jang* produced from korean black bean. Ph. D. thesis of Gyeongsang National University, Jinju, Korea.
10. Piva, A. and Hedadon, D.R. (1994). Pediocin A, a bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* FBB61. *Microbiology*. 140, 697-702.
11. Ali, D. and Lacroix, C. (1995). Characterization of diacetin B. a bacteriocin from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv diacetylactis UL720. *Can. J. Microbiol.*, 41, 832-841.
12. Daeshel, M.A., Mckenney, M.C. and McDonald, L.C. (1990). Bacteriocidal activity of *Lactobacillus plantarum* C-11. *Food Microbiol.*, 7, 90-98.
13. Rammelsberg, M., and Radler, F. (1990). Antibacterial polypeptides of *Lactobacillus* sp. *J. Appl. Bacteriol.*, 69, 177-182.
14. Takatsugu, T., Oshimura, M., Umezawa, C. and Kanatani, K. (1996). Isolation partial characterization and Mode of Action of Acidocin J1132, Two Component Bacteriocin Produced by *Lactobacillus acidphillus* JCM1132. *Appl. Environ., Microbiol.*, 62, 892-897.

(접수 2008년 1월 4일, 채택 2008년 3월 28일)