

Lactobacillus sp. GM7311이 생산하는 박테리오신의 Gram 양성균에 대한 작용형태

강지희 · 이명숙
부경대학교 미생물학과

Mode of Action of the Bacteriocin from *Lactobacillus* sp. GM7311 against Gram Positive Bacteria

Ji Hee KANG and Myung Suk LEE

Dept. of Microbiology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

The bacteriocin produced by *Lactobacillus* sp. GM7311 showed strong inhibitory activity against the growth of three Gram positive bacteria, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*. When the bacteriocin was added to the culture at different phases, viable cells of all of the tested strains were decreased, although the most inhibited phase was different. Thereby, when the bacteriocin (100 BU/ml) was added to exponential and stationary phase of *L. monocytogenes*, the rapid reduction of viable cell counts occurred. And, in the case of *B. subtilis*, the highest inhibitory effect occurred at lag phase and mid-exponential phase by the addition of the bacteriocin under same condition as mentioned above. Also, we can observe the accelerated reduction of survivors counts for the all of the phase except stationary phase in the *S. aureus*.

Transmission electron microscopic observation of *L. monocytogenes* and *B. subtilis* treated with bacteriocin revealed apparent lysis of the cell wall and excretion of the cell contents, indicating bacteriolysis. Also, the amino acids and fatty acids compositions were different from controls. However, the lysis of cell wall didn't occur in *S. aureus*, though the cytoplasmic materials were reduced. This result indicates that the bacteriocin inhibits the synthesis of nuclear materials such as DNA, RNA and proteins.

Key words: bacteriocin, *Lactobacillus* sp. GM7311, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*

서 론

미생물이 생산하는 여러 대사산물 중 길항 작용을 가진 물질을 박테리오신 (bacteriocin)이라 하는데, 이는 저분자의 peptide성 항균 물질이며 흡수시 체내에서 쉽게 분해되기 때문에 일반 항생물질이나 화학 합성보존제보다 안전성이 높은 것으로 평가받고 있다 (Yoo et al., 1991). 특히 젖산균이 생산하는 박테리오신은 그의 항균 범위와 작용기작 및 정제, 그리고 식품 등에서의 응용 가능성에 대한 연구가 계속되고 있다 (Abee, et al., 1995; Bruno et al., 1992; Chikindas et al., 1993).

현재까지 알려진 박테리오신의 공통적인 작용 기작은, 세포의 일차적 작용부위인 cytoplasmic membrane에 결합하여 막전위 (membrane potential ; $\Delta\phi$)나 pH gradient (ΔpH)를 분산시키므로써 양자 운동력 (proton motive force ; PMF)을 소멸시키거나 (Bruno et al., 1992; Okereke et al., 1992), membrane에 hydrophilic pore를 형성해 세포내 주요 성분들을 유출시키는 것 (Chikindas et al., 1993)이며, 주로 bactericidal action에 의해 작용하는 것으로 보고 (Venema et al., 1993)되어

왔으나, 최근에는 bacteriolytic action을 가지는 박테리오신에 대한 연구가 증가하고 있다 (Kim et al., 1994; Bhunia et al., 1991).

이러한 젖산균 박테리오신을 식품 보존제로 사용하기 위해서는 그 작용기작을 알아야 할 필요가 있다. 따라서 본 연구에서는 유제품으로부터 분리 (Lee et al., 1997)한 *Lactobacillus* sp. GM7311이 생산하는 박테리오신을 세 가지 Gram 양성 균주의 TSB 배양액에 일정 시간 간격 별로 첨가했을 때의 균수 변화와 함께 전자현미경 사진, 아미노산 및 지방산 조성 변화를 조사하므로써 박테리오신을 처리했을 경우 균체에 미치는 직접적인 작용 특성을 관찰하였다.

재료 및 방법

1) 조박테리오신의 생산과 항균력 측정 방법

유제품으로부터 분리 (Lee et al., 1997)한 *Lactobacillus* sp. GM7311을 MRS broth에서 37°C, 24시간 배양한 후 이를 원심분리 (4,000×g, 30분)한 다음 상등액을

rotary evaporatory (EYELAN-1, Japan)로 초기량의 1/10로 감압 농축하여 (55°C, 100rpm) -80°C의 동결고 (RE-VCO, ULT 2586-7-D12)에 보관한 것을 조박테리오신으로 하여 실험에 사용하였다.

박테리오신의 항균력은 microdilution method (Toba et al., 1991)를 이용하여 측정하였다. 즉, 96 well microdilution plate를 이용하여 2진 희석한 박테리오신 100 µl에 본 박테리오신에 가장 민감한 시험균주인 *P. mirabilis*를 20 µl, 그리고 Tryptic Soy Broth (TSB) 80 µl를 넣어 37°C에서 6시간 배양한 후 ELISA reader (Bio-Tek, UV 900C, Pharmacia)를 사용하여 620 nm에서의 OD값을 측정하였다. 박테리오신 시료액 대신 멸균 증류수를 사용한 것을 대조구로 하여 대조구의 1/2에 해당하는 흡광도를 나타내는 값에 희석배수를 곱한 값을 bacteriocin unit (BU)로 표시하였다.

2) 박테리오신의 첨가시기에 따른 생균수 측정

Lactobacillus sp. GM7311이 생산하는 박테리오신이 Gram 양성균의 생육에 미치는 영향을 tryptic soy broth (TSB, Difco)에서 조사하였다. 시험균주로는 저온성 식중독균으로 알려진 *Listeria monocytogenes*와 포자형성 균인 *Bacillus subtilis*, 그리고 독소형성 식중독균인 *Staphylococcus aureus*를 사용하였다.

TSB에 시험균주를 약 10³ cfu/ml로 접종하여 배양하면서 여기에 박테리오신의 최종농도가 100 BU/ml 되도록 배양이 진행중인 각 균주의 배양액에 일정한 시간 간격별로 첨가하였다. 첨가 후 37°C, 24시간 배양한 다음 APHA (American Public Health Association, 1992) 방법에 따라 잔존 생균수를 측정하였다.

3) 전자현미경 (TEM) 관찰

원래의 cell과 박테리오신 처리 cell의 상태 변화를 transmission electron microscope (TEM)를 사용하여 관찰하였는데, 2-2)항의 실험 결과 박테리오신 처리에 의해 각 균주별로 가장 균수 감소가 큰 시기를 선택하여 실험하였다. 즉, *L. monocytogenes*의 경우는 21시간, *B. subtilis*는 9시간, 그리고 *S. aureus*는 12시간 배양한 액에 각각 100 BU/ml의 박테리오신을 첨가하여 24시간 배양한 후 cell을 회수하였다. 회수된 cell을 먼저 2.5% glutaraldehyde와 1% osmium tetroxide로 이중 고정한 후 탈수하여 Epon 812로 고정해서 LKB ultramicrotome (Nova, Sweden)을 이용하여 세절한 후, uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 것을 JEM 1200EX-II (JEOL, Japan) 전자 현미경으로 가속전압 80 kv에서 관찰하였다.

4) 아미노산 분석

Lactobacillus sp. GM7311이 생산하는 박테리오신 이 균체의 아미노산 조성에 끼치는 영향을 알아보기 위해 2-3)항과 동일한 방법으로 박테리오신을 처리한 각 균주의 배양액을 준비하여 아미노산 성분의 조성 변화를 살펴 보았다.

먼저 배양액을 원심분리 (2,260×g, 10분)하여 균체를 집균한 다음, 시료 일정량에 6N HCl 10 ml를 가한 후 N₂ gas로 공기를 치환시키면서 밀봉하여 110°C의 건조 멸균기에서 24시간 동안 가수분해시켰다. 분해액을 여과지 (0.22 µm)로 여과하고 rotary-evaporatory (EYELA N-1, Japan)로 감압농축하여 HCl을 완전 제거한 다음 0.02N HCl로 10 ml 정용하여 Biochrom 20 auto-amino acid analyser (Pharmacia)로 분석하였다.

5) 지방산 분석

2-2)항과 동일한 방법으로 균체를 회수한 후 Abel et al. (1963)의 방법을 이용해 Fig. 1에서 보여주는 실험 과정을 통하여 분석하였다.

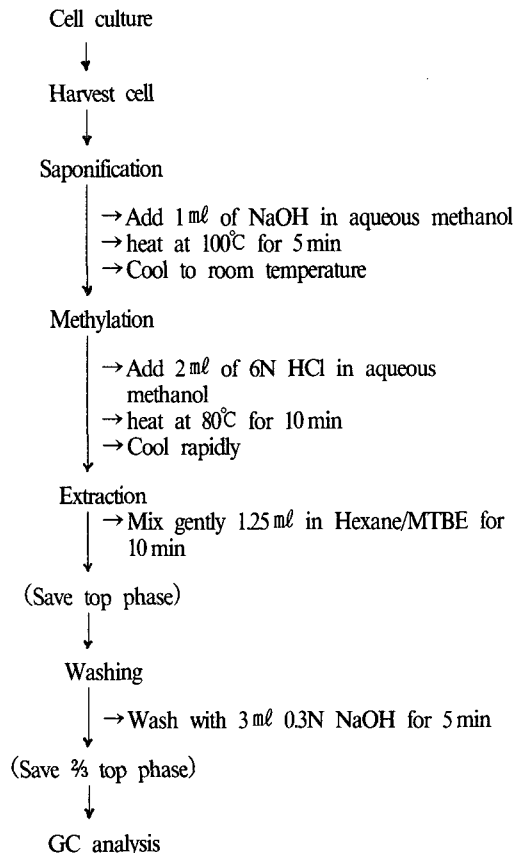


Fig. 1. Sample processing procedure for bacterial fatty acid analysis.

분석은 Microbial identification system (MIS), Hewlett-Packard 6890으로 Supelco SPBTRM-5, fused silica capillary column (30×0.2 mm)이 장치된 gas chromatography를 이용하였다. 분석 조건은 Air 40 psig, H₂ 30 psig, N₂ 20 psig, 평균속도 각각 400 ml/min, 30 ml/min, 30 ml/min였으며, oven temperature 170°C, detection temperature 300°C, injection temperature 250°C에서 FID 검출기로 분석하였다.

결 과

1) 박테리오신의 첨가시기에 따른 균수 변화

박테리오신 첨가에 따른 세 균주의 증식 시기별 영향을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다.

*L. monocytogenes*의 경우 (Fig. 2A), 균 접종 직후 및 6시간 배양 후 박테리오신을 첨가한 시험구에서는 균수 변화가 거의 없이 초기 균수를 그대로 유지하였고, 15시간 배양 후 박테리오신을 첨가한 경우에 있어서도 첨가 후 12시간 동안 약 10⁵ cfu/ml 정도까지의 감소만 보였을 뿐 이후로는 일정하였다. 한편 21시간 및 27시간 배양 후 박테리오신을 첨가했을 때는 21시간 내에 10² cfu/ml까지 균수가 급격히 감소하였는데, 그러나 이 경우 사멸하는 수준에까지 이르지 못했다. *B. subtilis* (Fig. 2B)는 균 접종 직후 및 3시간, 9시간 배양 후 박테리오신을 첨가했을 때, 첨가 즉시 급격한 생균수 감소를 보여 6시간 이내에 모두 균락을 형성하지 못하는 수준까지 감소하였다. 그러나 12시간 및 21시간 배양 후 박테리오신을 첨가했을 때는 첨가 후 각각 12시간 및 9시간 동안은 균수 감소를 보였으나 이후에는 일정하였다. *S. aureus* (Fig. 2C)는 21시간 배양 후 첨가한 경우를 제외하면 어느 시기에 첨가하더라도 모두 12시간 이내에 완전히 사멸하는 수준으로까지 균수가 감소하였다. 그러나 15시간째에 첨가했을 때는 24시간만에야 사멸되었으며, 21시간 배양 후 첨가했을 경우는 10⁴ cfu/ml까지만 감소되었다.

2) 박테리오신 처리 cell의 형태 변화

박테리오신을 처리한 *L. monocytogenes*, *B. subtilis* 및 *S. aureus*의 형태 변화를 TEM을 이용하여 관찰한 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

L. monocytogenes (Fig. 3A)는 박테리오신을 처리하지 않은 대조구 (a)에 비하여 박테리오신을 처리했을 경우 (b), 세포벽의 일부가 파괴되어 세포 내용물이 유출되는 것이 관찰되었다. 또한, *B. subtilis* (Fig. 3B) 경우도 박테

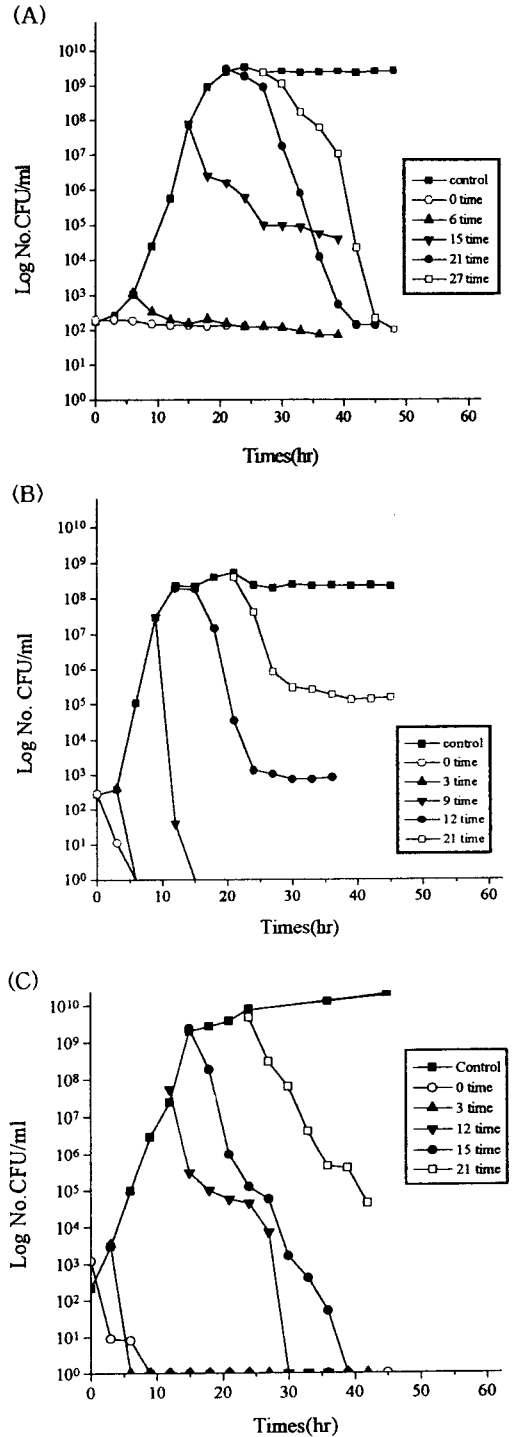
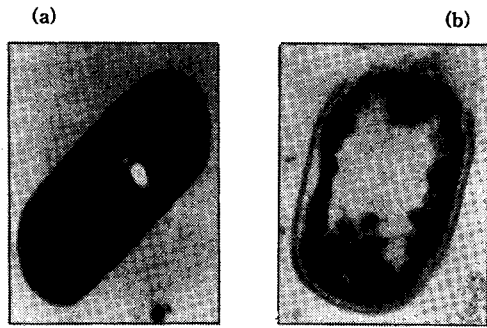
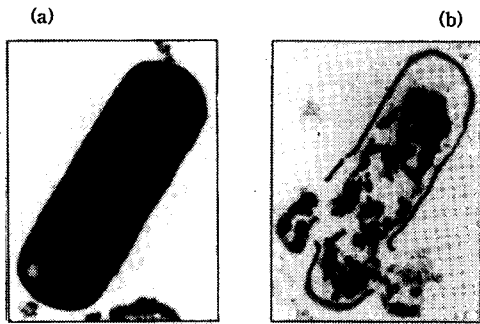


Fig. 2. Survival curves of Gram positive bacteria by the addition of bacteriocin (100BU/ml) to growing cultures at different phase. (A) *Listeria monocytogenes* (B) *Bacillus subtilis* (C) *Staphylococcus aureus*



(A) *Listeria monocytogenes*



(B) *Bacillus subtilis*



(C) *Staphylococcus aureus*

Fig. 3. Transmission electron micrographs of Gram positive bacteria treated with bacteriocin produced by *Lactobacillus* sp. GM7311. (a) Untreated cells (b) Treated cells.

리오신을 처리했을 때 세포벽의 일부 또는 전체가 벗겨져 나가 세포 모양이 많이 손상된 상태를 뚜렷하게 관찰할 수 있었다. 그러나 *S. aureus* (Fig. 3C)는 대조구에 비해 세포벽 전체가 얇아졌을 뿐 *L. monocytogenes*나 *B. subtilis*에서의와 같은 세포벽 파괴로 인한 용출 현상은 볼 수가 없었지만 세포내 물질은 크게 감소한 것을 볼 수 있었다.

3) 박테리오신 처리 cell의 아미노산 조성 변화

Lactobacillus sp. GM7311이 생산하는 박테리오신에 의한 균체의 아미노산 조성 변화를 살펴본 결과 (Table 1), *L. monocytogenes*의 경우는 proline이 크게 감소하여 박테리오신 처리 cell에서는 검출되지 않았으며 cystine은 약간 증가하였다. *B. subtilis*는 아미노산 성분 변화가 심해서 serine과 cystine 및 tyrosine의 감소는 적었지만 대부분의 아미노산 성분이 50% 이상의 함량 감소를 보였다. 특히 proline과 methionine은 박테리오신 처리 cell에서 검출되지 않았다. *S. aureus*는 methionine을 제외한 모든 아미노산 성분의 함량이 감소하였으나 그 정도가 *L. monocytogenes*나 *B. subtilis*에 비해 적었다.

4) 박테리오신 처리 cell의 지방산 조성 변화

박테리오신을 처리하기 전·후의 시험균주에 대해 지방산 조성 변화를 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다.

*L. monocytogenes*는 C15:0 iso와 C15:0 anteiso, C14:0 iso 3OH, C17:0 iso, C17:0 anteiso가 감소하였으며, 반면 C14:0, C16:0, C18:2 w6c, 9c/18:0 ante, C18:1 w9c, C18:0, C19:1 w12r에서는 큰 증가를 보였다. *B. subtilis*는 C12:0, C14:0, C15:0 iso, C16:0 iso, C16:0, C17:0 iso가 감소하였으며, C18:2 w6,

Table 1. Amino acids composition (nM) of Gram positive bacteria treated with the bacteriocin (100BU/ml, 24 hrs) from the *Lactobacillus* sp. GM7311

Amino Acid	<i>L. monocytogenes</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>	
	Control	Treated	Control	Treated	Control	Treated
Aspartic acid	4.538	2.924	6.055	2.717	4.189	2.927
Threonine	2.877	1.825	3.304	1.686	1.962	1.903
Serine	2.268	1.666	2.725	1.692	1.833	1.891
Glutamic acid	5.218	3.695	7.076	3.614	5.888	3.686
Proline	3.197	—*	2.297	—	0.610	—
Glycine	4.235	2.941	5.301	2.748	6.719	4.291
Alanine	6.195	3.642	6.456	3.172	6.326	4.106
Cystine	—	0.275	0.215	0.147	0.175	0.158
Valine	3.319	2.073	3.966	1.958	2.163	1.775
Methionine	0.737	0.534	0.207	—	0.149	0.156
Isoleucine	2.709	1.689	3.072	1.504	1.886	1.508
Leucine	3.455	2.084	4.366	1.919	2.509	1.998
Tyrosine	3.049	1.891	2.600	1.715	0.400	0.292
Phenylalanine	2.078	1.160	2.398	1.250	2.490	1.747
Histidine	1.185	0.675	1.082	0.558	0.663	0.550
Lysine	4.570	2.365	3.884	1.988	3.957	2.737
Ammonia	16.186	3.781	5.329	2.686	17.556	22.419
Arginine	1.898	1.290	2.570	1.080	1.271	1.150

*— ; not detected

Table 2. Fatty acids composition (%) of Gram positive bacteria treated with the bacteriocin (100BU/ml, 24 hrs) from the *Lactobacillus* sp. GM7311

Fatty acid	<i>L. monocytogenes</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>	
	Control	Treated	Control	Treated	Control	Treated
C12:0	—*	—	211	—	—	—
C12:0 iso	—	—	201	214	—	—
C13:0 iso	—	—	919	1094	—	—
C13:0 anteiso	—	—	248	353	—	—
C14:0	0.59	233	8.63	6.86	0.67	2.39
C14:0 iso	0.61	—	4.30	5.30	2.66	3.58
C14:0 2OH	0.38	—	—	—	—	—
C14:0 iso 3OH	1.32	—	—	—	—	—
C14:0 3OH/16:1 iso I	0.37	—	—	—	—	—
C15:0	0.56	—	—	—	—	—
C15:0 iso	10.42	7.05	11.48	10.16	16.24	12.03
C15:0 anteiso	52.19	34.35	3.74	3.91	35.59	27.17
C16:0	2.99	11.22	48.82	37.72	2.88	10.49
C16:0 iso	0.95	—	2.49	—	2.61	—
C16:0 2OH	—	0.43	—	—	—	—
C17:0	0.29	—	—	—	0.64	1.82
C17:0 iso	1.27	—	2.26	—	6.03	3.00
C17:0 anteiso	22.42	18.97	—	—	8.12	5.11
C17:1 w7c	0.40	—	—	—	—	—
C18:0	2.84	10.05	2.49	3.21	8.83	14.57
C18:0 iso	—	—	—	—	1.11	—
C18:1 w9c	0.75	11.22	—	6.67	—	7.23
C18:2 w6, 9c/18:0 ante	0.88	2.65	—	2.86	—	3.42
C19:0	—	—	—	—	1.22	—
C19:0 iso	—	—	—	—	2.02	2.04
C19:0 anteiso	—	—	—	—	3.48	—
C19:1 w12t	0.43	1.74	—	7.21	—	—
C20:0	—	—	—	—	3.90	7.16

*— : not detected

9c/18:0 ante와 C18:1 w9c, C19:1 w12t가 크게 증가하였다. *S. aureus*의 경우는, C15:0 iso 및 C15:0 anteiso, C16:0 iso, C17:0 iso, C17:0 anteiso, C18:0 iso, C19:0 anteiso 그리고 C19:0이 감소하였으며, C14:0 iso, C14:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1 w6, C18:2 w6, 9c/18:0 ante 및 C20:0은 증가한 것으로 나타났다.

고 찰

Lactobacillus sp. GM7311이 생산한 박테리옌 100 BU/ml를 *L. monocytogenes*와 *B. subtilis*, 그리고 *S. aureus*의 세 가지 Gram 양성균의 배양액에 첨가한 후 그

생육에 미치는 작용상의 특성을 알아보았다.

증식시기별 박테리옌 첨가 실험에서 *L. monocytogenes*는 대수증식기 후기와 정지기의 배양액에 박테리옌을 첨가했을 때 가장 큰 균수 감소를 보였지만, *B. subtilis*의 경우는 이시기에 박테리옌에 대한 감수성이 적어지는 것으로 나타났으며, 오히려 대수증식기 중기 이전까지의 배양액에서 균수가 크게 감소하는 경향을 보였다. 그러나 *S. aureus*는 *L. monocytogenes*나 *B. subtilis*와는 상당히 다른 결과를 나타냈는데, 증식 시기별 박테리옌 첨가 실험에서 정지기를 제외한 모든 첨가 시점에서 급격한 균수 감소를 보였다. Kim et al. (1994)은 *Lactococcus* sp. HY449가 생산하는 박테리옌의 *Lactobacillus fermentum* IFO 3023에 대한 작용 형태를 조사했을 때, 대수증식기까지의 지시균은 강하게 억제하지만 정지기 이후의 분열이 왕성하지 못한 세포들은 억제하지 못한다고 보고하여 상대 균종에 따라서 박테리옌의 생육 저해경향이 다른 것으로 나타났다.

따라서 각 시험균주에 대한 박테리옌의 구체적인 작용 특성을 알아보기 위하여 박테리옌 처리 균주의 전자 현미경 사진과 아미노산 및 지방산 성분의 변화를 관찰한 결과, *L. monocytogenes*와 *B. subtilis*는 세포벽 파괴로 인한 세포 내용물의 유출을 뚜렷하게 볼 수 있었으며, 또한 각 아미노산 성분들의 함량을 조사했을 때도 박테리옌을 처리하지 않은 대조구에 비하여 상당히 감소한 것으로 나타났다. 그러나 두 균주의 세포내 지방산 성분의 변화 정도는 아미노산에 비해 적은 것으로 나타나, 함량이 크게 감소한 지방산 성분은 없었으며 다만 각 성분들의 함량이 골고루 증감하는 경향을 보였다. 따라서 두 균주에 대한 생육저해의 주요 요인은 박테리옌의 bacteriolytic action에 의한 세포벽 파괴와 세포내 물질의 유출때문인 것으로 볼 수 있었다.

최근 몇몇 연구에서는 박테리옌이 활성을 나타내기 위해서는 cell wall과의 반응이 필요하며, 여기에 관여하는 것이 cell surface에 존재하는 proteinous receptor라고 보고하였다 (Montville and Bruno, 1994; van Belkum et al., 1991). 즉, 이 receptor와 결합하므로써 박테리옌은 세포벽 표면에 pore를 형성할 수 있고 곧이어 세포내 물질의 유출을 유도할 수 있다는 것이지만 그 정확한 과정에 대해서는 아직 밝혀지지 않고 있다. 본 실험에서도 TEM 관찰 중 세포 내부물질의 유출을 볼 수 있었고 아미노산 성분의 함량도 크게 감소한 것으로 나타났지만, 세포벽의 주요 구성성분인 지방산의 함량상 큰 변화가 없고 세포벽의 파괴도 일부에서만 일어난 것으로 보아, 박테리옌이 세포벽 전체에 영향을 끼치기보다는 세포

벽의 어느 한 부분에 직접 작용하는 것으로 생각할 수 있었다.

그러나 *S. aureus*의 전자 현미경 관찰에서는 *L. monocytogenes*나 *B. subtilis*에서 볼 수 있었던 세포벽 파괴로 인한 세포내 물질의 용출이 관찰되지 않았으며, 아미노산과 지방산 성분의 함량 감소도 다른 두 균주에 비해 적은 것으로 나타났는데, 다만 세포벽이 얇아졌으며 세포 내용물이 많이 감소된 상태를 볼 수 있었다. 따라서 *S. aureus*의 생육을 저해시키는 주요 기작은 세포내의 물질 합성 저해인 것으로 생각된다. Zajdel et al. (1985)은 *Streptococcus cremoris* 202가 생산하는 lactostrepcin 5를 sensitive cell에 처리하였을 경우 세포내의 DNA와 RNA, 그리고 protein 합성이 저해됨을 보고한 바 있다.

이상의 결과와 같이, *Lactobacillus* sp. GM7311이 생산하는 박테리오신은 *L. monocytogenes*와 *B. subtilis*에 대해서는 bacteriolytic action에 의한 세포내 물질의 유출을 통해 세포 생육을 저해시켰으며, *S. aureus*에 대해서는 세포내 물질 합성을 저해시키는 것으로 관찰되어 상대 균주에 따라 그 작용 형태가 다른 것으로 나타났다.

요 약

Lactobacillus sp. GM7311이 생산하는 박테리오신의 Gram 양성균에 대한 작용 형태를 알아보기 위하여, 세 가지 시험균주의 TSB 배양액에 일정한 시간 간격별로 100 BU/ml 되도록 박테리오신을 첨가한 후 그 균수 변화와 작용 특성을 살펴보았다.

우선, 시험 균주의 증식 시기별로 박테리오신을 첨가한 경우 *Listeria monocytogenes*는 대수증식기 후기 이후에 억제작용을 나타낸 반면, *Bacillus subtilis*의 경우는 대수증식기 중기 이전까지의 시험균에 대해서 강한 억제작용을 보였으며, *Staphylococcus aureus*는 정지기 이전의 시험균에 대해 큰 항균 효과를 나타냈다.

또한 박테리오신을 처리한 세 가지 시험 균주를 전자 현미경으로 관찰했을 때, *L. monocytogenes*와 *B. subtilis*는 세포벽 파괴에 의한 세포내 물질의 유출이 관찰되었으나, *S. aureus*는 다른 두 균주와 달리 박테리오신에 의한 세포벽의 파괴 현상은 없었으며 다만 세포벽이 대조구에 비해 얇아진 것이 관찰되었다.

아미노산 및 지방산 조성의 변화를 조사하여 박테리오신을 처리하지 않은 대조구와 비교하였을 때, 아미노산의 경우는 세 균주 모두에서 대부분의 성분이 감소하는 경향을 보였고 지방산은 큰 조성상의 변화나 공통된 특정 지방산 성분의 감소 등은 나타나지 않았으며 각 성분들

의 함량이 증감하는 경향을 보였다.

사 사

본 연구의 일부는 1996년도 농림부 현장애로 기술개발 연구비의 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Abee, T., L. Krockel and C. Hill. 1995. Bacteriocins : Modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Inter. J. Food Microbiol.*, 28, 169~185.
- Abel, K., H. De Schmertzling and J. I. Peterson. 1963. Classification of microorganisms by analysis of chemical composition. I. Feasibility of utilizing gas chromatography. *J. Bacteriol.*, 85, 1039~1044.
- APHA. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd. 75~95.
- Bruno, M. E. C., A. Kaiser and T. J. Montville. 1992. Depletion of proton motive force by nisin in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58 2(7), 2255~2259.
- Bhunja, A. K., M. C. Johnson, B. Ray and N. Kalchayanand. 1991. Mode of action of pediocin ACh from *Pediococcus acidilactici* H on sensitive bacterial strains. *J. Appl. Bacteriol.*, 70, 25~33.
- Chikindas, M. L., M. J. Garcia-garcera, A. J. M. Driessen, A. M. Ledebuer, J. Nissen-meyer, I. F. Nes, T. Abee, W. N. Konings and G. Venema. 1993. Pediocin PA-1, a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1.0, forms hydrophilic pores in the cytoplasmic membrane of target cells. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (11), 3577~3584.
- Kim, S. K., S. J. Lee, Y. K. Baek and Y. H. Park. 1994. Mode of action of bacteriocin produced by *Lactococcus* sp. HY449 against *Lactobacillus fermentum* IFO 3023. *Kor. K. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 22 (3), 266~270.
- Lee, M. S., D. S. Chang and J. H. Kang. 1997. Cultural conditions of *Lactobacillus* sp. GM7311 for the production of bacteriocin. *J. Korean Fish. Soc.*, 30 (5), 834~841.
- Montville, T. J. and M. E. C. Bruno. 1994. Evidence that dissipation of protein motive force is a common mechanism of action for bacteriocins and other antimicrobial proteins. *Inter. J. Food Microbiol.*, 24, 53~74.
- Okereke, A. and T. J. Montville. 1992. Nisin dissipates the proton motive force of the obligate anaerobe *Clostridium sporogenes* PA 3679. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58 (8), 2463~2467.

- Toba, T., S. K. Samant and T. Itoh. 1991. Assay system for detecting bacteriocin in microdilution wells. *Lett. Appl. Microbiol.*, 13, 102~104.
- Van Belkum, M. J., J. Kok, G. Venema, H. Holo, I. F. Nes, W. N. Konings and T. Abee. 1991. The bacteriocin Lactococcin A specifically increases permeability of lactococcal cytoplasmic membranes in a voltage-independent, protein-mediated manner. 1991. *J. Bacteriol.*, 173 (24), 7934~7941.
- Venema, K., T. Abee, A. J. Haandrikman, K. J. Leenhouts, J. Kok, W. N. Konings and G. Venema. 1993. Mode of action of Lactococcin B, a thiol-Activated Bacteriocin from *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (4), 1041~1048.
- Yoo, J. Y., I. S. Lee., K. S. Chung and Y. J. Nam. 1991. Isolation and properties of bacteriocin-producing Microorganisms. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 19 (1), 8-13.
- Zajdel, J. K., P. Ceglowski and W. T. Dobrzanski. 1985. Mechanism of action of Lactostrepcin 5, a bacteriocin produced by *Streptococcus cremoris* 202. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49 (4), 969~974.

1998년 3월 12일 접수

1998년 7월 8일 수리