

청국장으로부터 *Bacillus cereus*에 대한 길항 균주 분리 및 길항 효과

이남근 · 박정완 · 조일재 · 김병용¹ · 권기옥² · 함영태*

중앙대학교 생명공학과, ¹경희대학교 식품공학과, 생명자원연구소, ²(주)상촌식품

Isolation of *Bacillus* spp. from *Cheonggukjang* and Its Antagonistic Effect against *Bacillus cereus*

Nam Keun Lee, Joung Whan Park, Il Jae Cho, Byung-Yong Kim¹, Ki-Ok Kwon², and Young Tae Hahm*

Department of Biotechnology, Chung-Ang University

¹Department of Food Science & Biotechnology, Institute of Life Sciences and Resources, Kyung-Hee University,

²Sangchon Food

Abstract For the development of a biological control method against *B. cereus* in *cheonggukjang*, 20 *Bacillus* spp. were isolated from the naturally fermented *baektae* and *heuktae cheonggukjang*, identified by using 16S rDNA sequences. Among the isolated strains, *Bacillus* sp. SC-8 was selected using the *B. cereus* lawn cell assay as an antagonistic microorganism against *B. cereus*. The culture medium of *Bacillus* sp. SC-8 after 24 hr of incubation at 37°C also evidenced a high level of antagonistic activity. In *cheonggukjang* fermented with the mixed culture of *Bacillus* sp. SC-8 and *B. cereus*, antagonistic effect against *B. cereus* was maintained during the fermentation of *cheonggukjang*, while its effect was reduced during storage at 4°C due to the decrement of cell population of *Bacillus* sp. SC-8. In *Bacillus* sp. SC-15, which was utilized a control, antagonistic activity against *B. cereus* was not demonstrated on the lawn cell plate assay and culture medium, but its effects were detected in *cheonggukjang*. Therefore, the production of antagonistic substances of *Bacillus* spp. depends on the fermentative environment.

Key words: *cheonggukjang*, *Bacillus* spp., *Bacillus cereus*, antagonistic ability, biological control

서 론

청국장은 대두를 이용한 전통발효식품으로 최근에는 항암, 항산화, 혈당조절, 혈압상승 억제, 면역증강, 혈전용해 및 항균효과 등 각종 유용한 생리활성 기능이 보고됨에 따라 기능성 건강식품으로 관심이 증가하고 있다(1-7). 그러나 청국장은 각 지방 또는 가정마다 제조 방법이 일정하지 않아 품질이 균일하지 못하며, 발효 시 생성되는 암모니아 화합물의 독특한 냄새(8,9), 곰팡이류의 오염 등 저장성 문제로 소비자들이 기피하는 경향이 있다. 볶짚 등을 사용한 종래의 청국장 제조 방법을 개선하기 위해 종균으로 사용할 우수 균주에 대한 연구가 수행되고 있으며(9,10), 종균의 사용에 따라 균일한 품질 및 위생적인 청국장을 생산할 수 있으나, 생활환경에 산재되어 있는 유해균의 오염 문제는 아직 남아 있다. 이러한 식품의 안전성에 대한 문제는 국민 소득이 증가함에 따라 더욱 민감한 부분으로 대두되고 있다.

국내 전통 장류 내의 여러 오염균 중 *Bacillus cereus*는 장류 주발효균인 *B. subtilis* 및 *B. licheniformis*와 같은 속으로, 토양 등

생활환경 주변에 널리 분포하고 있으며, 열처리에 견딜 수 있는 내생포자를 생성하여 일반적인 살균으로는 사멸되지 않으며, 독성 물질을 생성하여 식중독을 유발할 수 있다(11,12). 이에 2006년 식품의약품안전청(KFDA)에서는 장류 식품 중에 유해한 오염균으로 *B. cereus*를 추가하고, 검출 범위를 제품당 10,000마리/g 이하로 제한하는 법령을 제정 고시하였다.

유해한 균으로부터 장류 내 오염억제 및 저장성을 향상시키기 위하여 장류 업체들은 물리적 또는 화학적 방법들을 사용하기도 하지만(13-19), 장류 제품은 그 특성상 발효균의 존재 하에 일정 기간 동안 저장하면서 섭취하는 식품이기에 친환경적인 생물학적 방법이 더 적합하다. 생물학적 방법으로 내성에 문제가 많은 항생제를 대체할 수 있는 길항 미생물 및 이 미생물이 생산하는 길항물질에 대한 연구가 많이 진행되고 있다(20,21).

길항물질로 무독성 항균단백질인 박테리오파지는 항균성 및 안전성으로 미국에서는 1988년 식품첨가물로 승인되었으며, 1990년대 이후 47개국 이상에서 식품보존료제로 승인되어 젓산균에서 뿐만 아니라 *Bacillus* spp.이 생산하는 박테리오파지에 대한 많은 연구들이 활발히 진행되고 있다(22-24). 산업적으로 박테리오파지 생산균주를 발효균주로 이용하거나 박테리오파지를 제품에 첨가하여 *Clostridium* 속 및 *Listeria mesenteroides*의 생육 억제를 유도한 예들 치즈 등의 유제품 생산에서 찾을 수 있으며, 국내에서는 김치 생산에 니신을 첨가한 연구가 보고되고 있으나(25), 장류에서 그 발효균주의 길항효과에 의한 *B. cereus*의 억제에 대한 연구는 보고되고 있지 않다.

이에 본 연구에서는 환경 친화적인 생물학적 제어 방법 개발

*Corresponding author: Young Tae Hahm, Department of Biotechnology, Chung-Ang University, Anseong, Gyeonggi-do 456-756, Korea

Tel: 82-31-670-3064

Fax: 82-31-675-0406

E-mail: ythahm@cau.ac.kr

Received August 15, 2008; revised October 19, 2008;

accepted October 24, 2008

의 일환으로 자연 발효된 청국장으로부터 발효 미생물을 분리 동정하고, *B. cereus*에 길항능이 우수한 균주를 선별하여 청국장을 제조한 후 *B. cereus*에 대한 저지능을 분석함으로써 산업적 장류 생산의 안전성에 대한 자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

균주 분리 및 동정

발효균주의 분리 및 동정을 위해 (주)상촌 식품(Yongin, Korea) 으로부터 제공받은 자연 발효된 백태 및 흑태 청국장 3 g을 시험관에 넣고, 멸균수 30 mL을 가한 후 80°C에서 15분간 증탕하였다. 이 후 상등액을 LB(Difco™ Luria Bertani, Detroit, MI, USA) 고체배지에 도말하고 호기적 조건하 37°C에서 12시간 배양하여 콜로니 형태의 차이를 기준으로 균주를 분리하였다. 분리된 균주들의 염기서열 결정을 위하여 universal primer인 27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')와 1492R(5'-GGYTACCTTGT-TACGACTT-3')을 이용하여 PCR 반응을 실시하였다. PCR 실험 조건은 97°C에서 5분 동안 변성시킨 후 94°C에서 1분, 56°C에서 1분, 72°C에서 1분 30초 동안 DNA 증폭 반응을 30회 실시하고, 마지막으로 72°C에서 4분간 반응시켰다. 증폭된 DNA 밴드는 Gene Clean Kit(WelPrep™ Gel Extraction Kit, Daegu, Korea)를 이용하여 정제하고, (주)마크로젠 유전자 해석센터(Seoul, Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 염기서열 분석을 통하여 얻은 각 균주의 염기서열은 Blast Network Service를 이용하여 NCBI GenBank database의 염기서열과 비교함으로써 계통분류학적 유연 관계를 분석하였다.

B. cereus 대한 길항 균주 선별

B. cereus 대한 길항능이 있는 균주 선별은 청국장으로부터 분리한 *Bacillus* spp.들을 5 mL LB 액체배지에 37°C에서 24시간 동안 전배양을 하고, 1×10^7 cells/mL의 *B. cereus* KCTC 1012가 깔려 있는 LB 한천 고체배지 위에 직경 6 mm 종이 디스크를 올려놓고 여기에 24시간 동안 1×10^7 cells/mL 농도로 전배양된 각 균주 10 μ L를 접종하고 37°C에서 24시간 동안 배양하였으며, *B. cereus*의 생육저지환의 생성 유무에 따라 길항 균주를 선별 하였다.

길항물질의 길항능 분석

선별 균주의 배양액을 이용하여 *B. cereus*에 대한 길항능을 분석하였다. 선별된 균주를 LB 액체배지 50 mL에 접종하여 37°C

에서 12, 24, 36, 48시간 배양한 후, 배양액을 12,000 \times g에서 10분간 원심분리 후 그 상등액을 0.2 μ m membrane filter를 이용하여 여과하였다. 여과한 배양액과 LB 액체배지를 1:1로 혼합하고, 여기에 1×10^7 cells의 *B. cereus* KCTC 1012를 접종하였다. 접종 후 4시간 단위로 600 nm에서 흡광도를 측정하여 길항 미생물이 분비하는 길항물질의 길항능을 분석하였다.

청국장 제조에서의 *B. cereus*에 대한 길항능력 분석

증자된 대두(백태, (주)상촌식품) 30 g에 각각 1×10^7 cells/mL의 선별된 균주와 *B. cereus* KCTC 1012를 10^{-5} 배 희석하여 100 μ L 접종하고, 청국장 발효기(엔유씨 전자, NY-7500, Daegu, Korea)에 넣어 24시간 동안 37°C에서 청국장을 제조하였다. 제조 직후 및 4°C 냉장실에 보관하면서 24시간 간격으로 3일 동안 청국장 3 g 씩을 채집하여 MYP 고체배지(Difco™ MYP Agar 900 mL, Difco™ Egg Yolk 12.5 mL)에 10^{-5} - 10^{-7} 배 희석 도말하고 24시간 배양 후 콜로니 형태를 통해 *B. cereus*에 대한 선별 균주의 길항능을 분석하였다.

결과 및 고찰

청국장 발효균주의 분리 및 동정

수집된 백태 및 흑태 전통발효 청국장들로부터 총 20종류의 균이 분리되었으며, 이 중 백태 청국장에서는 14종, 흑태 청국장에서는 6종이 분리되었다. 분리된 균주들은 1차적으로 400-500 bp의 16S rDNA 부분 염기서열을 분석한 결과 대부분 *B. subtilis*, *B. licheniformis*와 97% 이상의 상동성을 보였으며, 백태 청국장 으로부터 분리된 14종은 *B. subtilis*와 *B. licheniformis*의 비율이 1:1로 나타났으며, 흑태 청국장 으로부터 분리된 6종은 1종을 제외하고는 모두 *B. subtilis*와 높은 상동성을 보였다(Table 1). 이는 같은 발효 장소라 할지라도 재료의 차이에 따라 발효에 관여하는 균의 차이가 있음을 보여주고 있으나, Lee 등(26)에 의한 경기 용인, 안성, 광주 및 강원 오대산 지역의 전통 청국장 으로부터 분리된 발효균 대부분이 *B. subtilis*와 *B. licheniformis*로 분석된 결과에 비추어 볼 때 지역적 차이에 따른 *Bacillus* spp. 종류의 다양성은 크지 않음을 보여주고 있다.

Bacillus sp. SC-8과 *Bacillus* sp. SC-15 두 균주들의 16S rDNA의 염기서열 1400 bp 이상을 분석한 결과, *Bacillus* sp. SC-8은 *B. subtilis* subsp. *subtilis* NBRC 13719와 *Bacillus* sp. SC-15는 *B. subtilis* 보다는 *B. amyloliquefaciens* ATCC 23350과 높은 유사도를 보였으며, 이는 부분 염기서열 분석에 의해 동정된 결

Table 1. Identification of the isolated strains by analysis of partial sequence of 16S rDNA

Strain No.	Species	Similarity (%)	Strain No.	Species	Similarity (%)
SC-1	<i>B. subtilis</i>	99	SC-11	<i>B. subtilis</i>	40
SC-2	<i>B. subtilis</i>	97	SC-12	<i>B. subtilis</i>	99
SC-3	<i>B. subtilis</i>	97	SC-13	<i>B. licheniformis</i>	99
SC-4	<i>B. licheniformis</i>	97	SC-14	<i>B. licheniformis</i>	99
SC-5	<i>B. licheniformis</i>	99	SC-15	<i>B. subtilis</i>	99
SC-6	<i>B. licheniformis</i>	96		<i>B. amyloliquefaciens</i>	99
SC-7	<i>B. licheniformis</i>	100	SC-16	<i>B. subtilis</i>	98
SC-8	<i>B. subtilis</i>	99	SC-17	<i>B. subtilis</i>	99
SC-9	<i>B. subtilis</i>	97	SC-18	<i>B. licheniformis</i>	98
SC-10	<i>B. licheniformis</i>	95	SC-19	<i>B. subtilis</i>	99
			SC-20	<i>B. subtilis</i>	99

*Strains (1-14) were isolated from *baektae cheonggukjang* and strains (15-20), isolated from *heuktae cheonggukjang*.

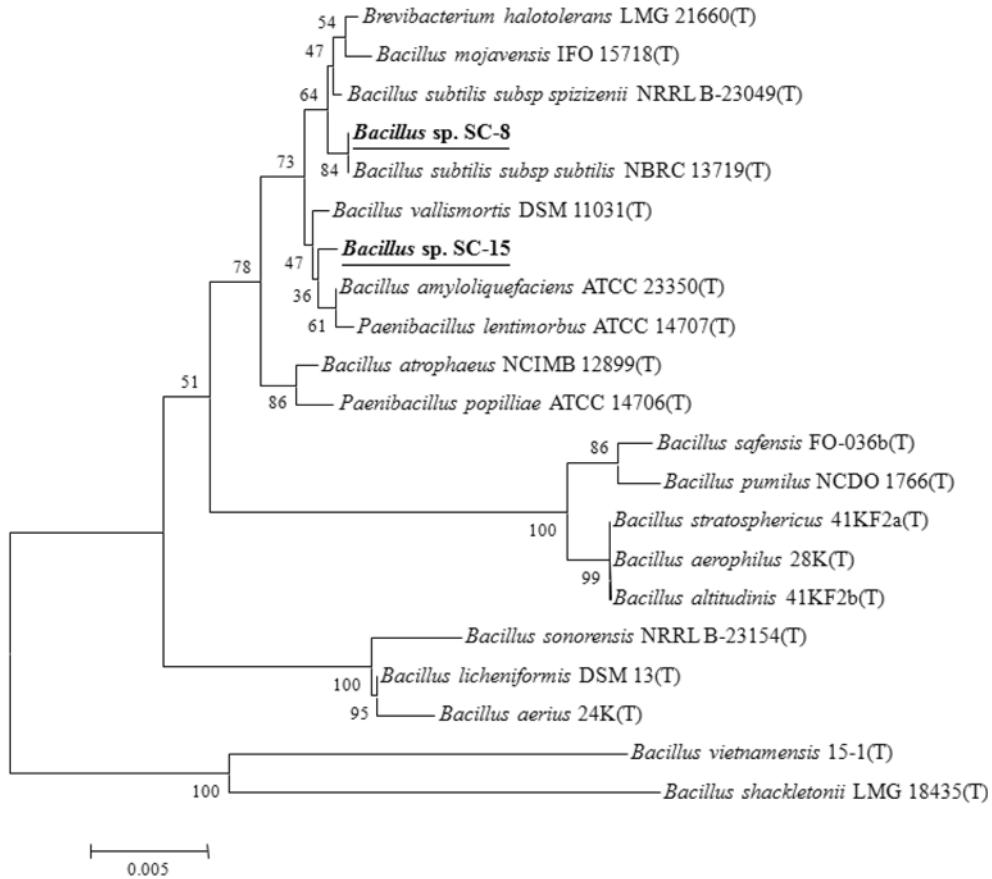


Fig. 1. Phylogenetic tree of 16S rDNA sequence of the selected strains, *Bacillus sp. SC-8* and *SC-15*.

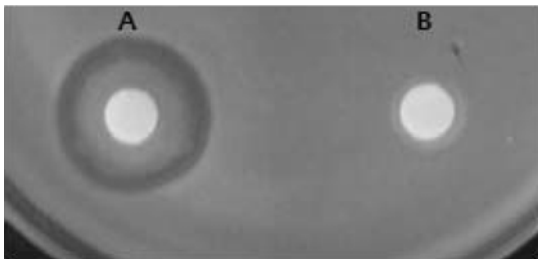


Fig. 2. Antagonistic activity of the selected *Bacillus* spp. on the lawn cell of *B. cereus* KCTC 1012. A, *Bacillus sp. SC-8*; B, *Bacillus sp. SC-15*.

과와 일치함을 보였다. 이들의 계통분류학적 유연관계는 Fig. 1에서 보여 주고 있다.

B. cereus 생육 억제를 위한 길항 균주 선별 및 길항능 분석
 길항 균주 선별에 있어 *B. cereus* KCTC 1012가 lawn cell로 깔려 있는 LB 고체배지에서 분리 균주들을 24시간 배양하고 길항 효과에 따른 생육저지환의 생성 유무를 분석한 결과, *Bacillus sp. SC-8* 균주에서 *B. cereus*에 대한 생육저지환이 관찰되었다(Fig. 2). 그 외 *Bacillus sp. SC-15*를 포함한 대부분의 분리 균주들에서는 뚜렷한 생육저지환이 관찰되지 않았다.

*B. cereus*에 대한 길항능이 있는 선별 균주 *Bacillus sp. SC-8*를 24시간 배양한 배양액을 *B. cereus* 배지에 50% 첨가하여 *B. cereus*의 성장 저지능을 분석한 결과, 배양 12시간까지 *B. cereus* 균의 성장이 저지됨을 알 수 있었다(Fig. 3). *Bacillus sp. SC-8*을

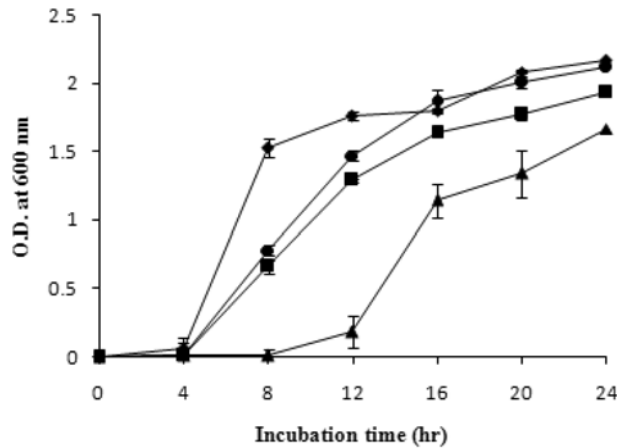


Fig. 3. Antagonistic effect of the culture medium of selected *Bacillus* spp. against *B. cereus*. ◆, *B. cereus* KCTC 1012; ■, *B. cereus* KCTC 1012 + *B. cereus* culture medium; ▲, *B. cereus* KCTC 1012 + *Bacillus sp. SC-8* culture medium; ●, *B. cereus* KCTC 1012 + *Bacillus sp. SC-15* culture medium.

12, 36, 48시간 배양한 배양액에서도 길항 효과를 볼 수 있었으나, 배양 4시간 이후부터 *B. cereus*의 성장이 보였다(자료 미제시). *B. cereus* lawn cell 배지상에서 생육저지환을 볼 수 없었던 *Bacillus sp. SC-15*의 배양액 실험에서도 *B. cereus*에 대한 길항 효과는 낮은 것으로 분석되었다. 배양에 따른 대사 생성물에 의한 생육억제를 관찰하기 위하여 *B. cereus* 자체 배양액을 첨가한 배지에서는 *B. cereus*의 생육억제가 관찰되지 않았으며, *B. cereus*

Table 2. Antagonistic effect of the selected *Bacillus* spp. against *B. cereus* in *cheonggukjang*

Cell population		Cell population (cells/mL)				
		Fermentation (37°C)		Storage (4°C)		
		0 hr	24 hr	24 hr	48 hr	72 hr
A	<i>Bacillus</i> sp. SC-8	9.0×10^1	1.3×10^7	$<1.0 \times 10^7$	$<1.0 \times 10^7$	$<1.0 \times 10^7$
	<i>B. cereus</i>	2.0×10^2	$<1.0 \times 10^7$	6.3×10^7	2.7×10^8	1.7×10^8
B	<i>Bacillus</i> sp. SC-15	1.5×10^2	6.5×10^7	1.8×10^7	4.6×10^7	2.1×10^7
	<i>B. cereus</i>	2.0×10^2	1.0×10^6	$<1.0 \times 10^6$	$<1.0 \times 10^6$	$<1.0 \times 10^6$

*A, *Bacillus* sp. SC-8+B. *cereus* KCTC 1012; B, *Bacillus* sp. SC-15+B. *cereus* KCTC 1012

및 *Bacillus* sp. SC-15의 배양액을 첨가한 균에서 약간 낮은 흡광도 값을 보이는 것은 배양액의 희석 결과에 기인한다.

선별균주로 제조한 청국장에서의 *B. cereus*에 대한 길항능력 분석

선별균주의 *B. cereus*에 대한 길항능이 청국장 제조 시에도 동일한 길항효과가 나타나는지를 분석하기 위하여 선별 균주와 *B. cereus*를 혼합 발효하여 청국장을 제조하였고, 각 균주 수의 변화를 분석하였다. 대조균으로 배양액에서의 길항효과가 낮은 *Bacillus* sp. SC-15 균주를 사용하였다. *Bacillus* sp. SC-8와 *B. cereus* 균주를 혼합 접종시킨 청국장에서는 청국장이 발효되는 동안에는 *B. cereus*의 성장이 저지되었으나, 4°C에서 후숙시키는 기간에는 *Bacillus* sp. SC-8 균주수가 1×10^7 cells/mL 이하로 감소되면서 *B. cereus*의 수가 증가되는 것으로 나타났다(Table 2). 이러한 결과는 *Bacillus* sp. SC-8은 발효 동안에 균수가 증가함과 동시에 분비되는 길항물질의 농도도 증가되어 *B. cereus*의 성장을 억제하지만, 발효 이후 후숙 기간 동안에는 균수의 감소로 인해 길항물질의 농도가 감소하여 *B. cereus*의 성장이 일어나는 것으로 사료되며, 길항효과가 나타나는 생균수의 한계치는 1×10^7 cells/mL로 분석되었다. 반면 *Bacillus* sp. SC-15는 배지와 배양액을 이용한 길항능력 분석에서는 *B. cereus*의 성장을 억제하지 못하였으나, 직접적인 청국장 발효에서는 발효 시점부터 후숙 기간 동안 균수가 1×10^7 cells/mL 이상을 유지되면서 지속적으로 *B. cereus*의 성장을 억제하는 결과를 보였다. 이는 *Bacillus* sp. SC-15균주를 이용한 대두 발효 시에는 실험 균수 이상을 유지하면서 일반적인 실험배지에서 생성되지 않은 *B. cereus*에 대한 길항물질이 생성되는 것으로 사료된다. 이러한 결과를 통해 청국장 발효에 관여하는 균들은 그 생육환경에 따라 길항물질 생성의 차이를 보이고 있다. 따라서 이러한 길항효과가 높은 균주를 이용하여 청국장을 제조한다면, 안전하고 환경 친화적인 생물학적 방법으로 유해균인 *B. cereus*의 성장을 억제할 뿐만 아니라 저장성도 향상시킬 수 있는 것으로 사료된다.

요 약

청국장 내에 *B. cereus*을 효과적으로 저지하기 위한 생물학적 제어 방법의 개발을 위하여 전통적 방법으로 제조한 백태 및 흑태 청국장으로부터 총 20종의 *Bacillus* 속 균주를 분리하였고, 이 중에서 24시간 배양액에서 *B. cereus*에 대한 길항활성이 가장 높은 *Bacillus* sp. SC-8 균주를 선별하였다. 이 균주를 *B. cereus*와 혼합하여 청국장을 제조한 후 길항능을 분석한 결과 청국장 발효 중에는 *B. cereus*에 대한 길항효과가 있었으나, 발효 후 4°C 저장 중에는 균체수가 감소하여 억제효과가 감소하는 것으로 분

석되었다. 또한 대조균으로 사용하였던 *Bacillus* sp. SC-15 균주에서는 배양액에서는 *B. cereus*에 대한 길항 활성이 낮았으나 청국장 내에서는 길항효과를 보임에 따라 청국장 발효에 관여하는 균들은 배양 환경에 따라 길항물질의 생성에 차이가 있음을 보였다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 중소기업청의 산학연 공동기술개발컨소시엄사업과 2007년도 중앙대학교 우수 연구자 연구비 지원에 의해 수행된 연구로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Lee JJ, Cho CH, Kim JY, Kee DS, Kim HB. Antioxidant activity of substance extracted by alcohol form *chungkukjang* powder. Korean J. Microbiol. 37: 177-181 (2001)
- Chang JH, Shim YY, Kim SH, Chee KM, Cha SK. Fibrinolytic and immuno-stimulating activities of *Bacillus* spp. strains isolated from *chungkukjang*. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 255-260 (2005)
- Kim JI, Kang MJ, Kwon TW. Antidiabetic effect of soybean and *chongkukjang*. Korea Soybean Digest 20: 44-52 (2003)
- Matsui T, Yoo HJ, Hwang JS, Lee DS, Kim HB. Isolation of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *chongkukjang*. Korean J. Microbiol. 40: 355-358 (2004)
- Kim IJ, Kim HK, Chung JH, Jeong YK, Ryu CH. Study of functional *chungkukjang* contain fibrinolytic enzyme. Korean J. Life Sci. 12: 357-362 (2002)
- Kwon HY, Kim YS, Kwon GS, Kwon CS. Isolation of immuno-stimulating strain *Bacillus pumilus* JB-1 from *chongkukjang* and fermentational characteristics of JB-1. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 32: 291-296 (2004)
- Youn HK, Choi HS, Hur SH, Hong JH. Antimicrobial activities of viscous substance from *chongkukjang* fermented with different *Bacillus* spp. J. Fd Hyg. Safety 16: 188-193 (2001)
- Allagheny N, Obanu ZA, Cambell-Platt G, Owens JD. Control of ammonia formation during *B. subtilis* fermentation of legumes. Int. J. Food Microbiol. 29: 321-333 (1996)
- Youn KC, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM, Byun MW. Quality characteristics of the *cheonggukjang* fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 204-210 (2002)
- Kim YS, Jung HJ, Park YS, Yu TS. Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 *chungkukjang*. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 475-478 (2003)
- Schoeni JL, Wong AC. *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. J. Food Protect. 68: 636-648 (2005)
- Stenfors Arnesen LP, Fagerlund A, Granum PE. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiol. Rev. 32: 579-606 (2008)
- Coroller L, Leguerinel I, Mafart P. Effect of water activities of heating and recovery media on apparent heat resistance of *Bacil-*

- lus cereus* spores. Appl. Environ. Microb. 67: 317-322 (2001)
14. Leguerinel I, Mafart P. Modelling the influence of pH and organic acid types on thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores. Int. J. Food Microbiol. 63: 29-34 (2001)
 15. Raso J, Gngora-Nieto MM, Barbosa-Cnovas GV, Swanson BG. Influence of several environmental factors on the initiation of germination and inactivation of *Bacillus cereus* by high hydrostatic pressure. Int. J. Food Microbiol. 44: 125-132 (1998)
 16. Pol IE, Mastwijk HC, Bartels PV, Smid EJ. Pulsed-electric field treatment enhances the bactericidal action of nisin against *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microb. 66: 428-430 (2000)
 17. Pol IE, van Arendonk WG, Mastwijk HC, Krommer J, Smid EJ, Moezelaar R. Sensitivities of germinating spores and carvacrol-adapted vegetative cells and spores of *Bacillus cereus* to nisin and pulsed-electric-field treatment. Appl. Environ. Microb. 67: 1693-1699 (2001)
 18. Rowan NJ, MacGregor SJ, Anderson JG, Fouracre RA, McIlvane L, Farish O. Pulsed-light inactivation of food-related microorganisms. Appl. Environ. Microb. 65: 1312-1315 (1999)
 19. Kim C, Hung YC, Brackett RE. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. Int. J. Food Microbiol. 61: 199-207 (2000)
 20. Park SM, Kim HS, Yu TS. Antifungal activity of *Bacillus* sp. KUM-101 against gray mold *Botrytis cinerea*. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 34: 63-69 (2006)
 21. Yi DH, Lee NW, Kwon TJ. Purification and characterization of an antifungal antibiotic from *Bacillus subtilis* LAM 97-44. J. Korean Soc. Agr. Chem. Biotechnol. 46: 69-73 (2003)
 22. He L, Chen W, Liu Y. Production and partial characterization of bacteriocin-like peptides by *Bacillus licheniformis* ZJU12. Microbiol. Res. 161: 321-326 (2006)
 23. Cladera-Olivera F, Caron GR, Brandelli A. Bacteriocin-like substance production by *Bacillus licheniformis* strain P40. Lett. Appl. Microbiol. 38: 251-256 (2004)
 24. Chang JY, Lee HH, Kim IC, Chang HC. Characterization of bacteriocin produced by *Bacillus licheniformis* cy2. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 410-414 (2001)
 25. Choi MH, Park YH. Selective control of Lactobacilli in *Kimchi* with nisin. Lett. Appl. Microbiol. 30: 173-177 (2000)
 26. Lee NK, Jeon EH, Lee HJ, Cho IJ, Hahm YT. Isolation, identification, and characterization of *Bacillus* spp. from the traditionally fermented *cheonggukjangs* in the Gyeonggi and the Gangwon provinces. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49: 276-280 (2006)