

Paenibacillus polymyxa JB115로부터 생산된 항균물질의 특성

정희경 · ¹박승춘 · ²박병권 · ³김상달 · ⁴남두현 · †홍주헌
(주)대구테크노파크, 바이오산업지원센터, ¹경북대학교 수의과대학, ²전진바이오팜(주),
³영남대학교 응용미생물학과, ⁴영남대학교 약학과
(접수 : 2007. 12. 18., 게재승인 : 2008. 1. 29.)

Characteristics of the Antibacterial Substance Produced by *Paenibacillus polymyxa* JB115

Hee-Kyoung Jung, Seung-Chun Park¹, Byung-Kwon Park², Sang-Dal Kim³, Doo-Hyun Nam⁴, and Joo-Heon Hong[†]

Bio-Industry Center, Daegu Technopark, Daegu, 704-801, Korea

¹College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Jeonjin Bio Farm, Dalseo-Gu, Daegu, 704-948, Korea

³Department of Applied Microbiology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

⁴Department of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

(Received : 2007. 12. 18., Accepted : 2008. 1. 29.)

The culture broth of a β -glucan-producing bacterium, *Paenibacillus polymyxa* JB115, was confirmed to show the antibiosis against pathogenic bacteria of livestock disease. The antibacterial substance produced by *P. polymyxa* JB115 exhibited strong bactericidal or bacteriostatic effect on the growth of livestock pathogenic bacteria including *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. This antibacterial substance also showed high stabilities in broad pH range (pH 3-11) and in broad temperature range (40-121°C), which is good enough to apply spray-dry method for the formulation of culture broth. It was also found that the antibacterial substance was very stable in artificial gastric fluid and bile acid, which implies the anticipated antibacterial activity against gastrointestinal bacteria harmful for livestock. In conclusion, the culture broth of *P. polymyxa* JB115 can be developed as a multifunctional feed additive containing immune-enhancing β -glucan as well as antibacterial agent against livestock pathogenic bacteria.

Key Words : Antibacterial agent, feed additive, *Paenibacillus polymyxa*, β -glucan

서론

가축 장내에 서식하는 미생물은 효소나 항균물질과 같이 유익한 물질을 생산하는 것 뿐만 아니라 질병을 유발하는 것들도 있다(1). 특히 가축 질병 세균은 가축의 생산성을 저하시킬 뿐만 아니라 집단으로 가축을 폐사시켜 농장에 막대한 피해를 주기도 한다. 따라서 우리나라 축산 농가들은 가축 질병의 피해를 최소화하기 위해 항생물질을 사료에 첨가하여 먹이고 있다. 그러나 항생물질의 과도한 사용은 육류 식품에서의 항생물질 잔류 문제를 야기할 뿐만 아니라, 항생물질 내성균 출현에 기여함으로써 보건학적 문제점을 가져오고 있다(2). 또한 어류에서는 서로 다른 특성을 가진

병원 세균에 의한 다제 내성 감염증 사례도 늘고 있는 실정이기 때문에(3, 4), 항균범위가 넓고 보건학적 위해성이 없는 새로운 천연 항균물질의 개발이 요구되고 있다.

이에 따라 국내에서도 축산 및 수산업에 이용될 수 있는 천연 항균물질을 식물, 미생물, 해조류 등으로부터 개발하고자 노력하고 있다. 그 결과, 구름버섯 및 노루궁뎅이버섯 배양 추출물(5) 뿐만 아니라 콩과의 한약재인 소목 추출물(1)이 가축 병원성 세균에 대한 항균성을 가지는 것으로 보고되고 있으며, 망태버섯(6)이나 해조류인 모로우북은실(7) 추출물들이 어류질병 세균에 항균성을 나타내는 것으로 보고되고 있다. 또한 류 등(8)은 가금류의 패혈성 가금 티프스 균인 *Salmonella gallinarum*에 대한 길항균으로 *Sphingomonas sanguis* 균을 분리하여 길항 생균체 개발을 시도하였다. 그러나 아직까지 가축병원성 세균의 방제를 목적으로 한 미생물 대사산물을 이용한 연구는 미진한 실정이다.

Paenibacillus sp.는 다당류(9)나 항균물질(10) 등 여러 유용 물질을 생산하는 것으로 알려진 그램 양성 세균이다. 본

† Corresponding Author : Bio-Industry Center, Daegu Technopark, Daegu, 704-801, Korea

Tel : +82-53-602-1823, Fax : +82-53-602-1898

E-mail : betabio@empal.com

연구에서는 가축의 면역증강제로 사용될 수 있는 베타글루칸 생산 균주로 분리한 *Paenibacillus polymyxa* JB115의 배양액에서 항균물질이 생산됨을 확인하고 그 특성을 조사하여 보고하고자 한다. 이에 따라 베타글루칸과 항균물질을 포함한 *P. polymyxa* 배양액을 다기능 사료첨가제로 개발하여, 가축질병 방제와 함께 항생물질 남용에 따른 보건학상 문제점을 해결하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

본 연구에서는 항균물질 생산균주로 (재)대구테크노파크 바이오산업지원센터에서 베타글루칸 생산 균주로 분리한 *P. polymyxa* JB115 (KACC91305P)(11)를 사용하였으며, nutrient agar (Difco, USA) 배지에서 일주일 간격으로 계대 배양하였다.

항균력 측정에 사용된 가축병원성 세균 *Pseudomonas aeruginosa* KCTC11321, *Staphylococcus aureus* KCTC40050, *Salmonella choleraesuis* KCTC40763, KCTC41038 및 KCTC41598, 그리고 *Escherichia coli* KCTC40880 및 KCTC11234는 Korean Collection for Type Cultures (Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. *P. aeruginosa*, *S. aureus* 및 *S. choleraesuis*는 tryptic soy agar 및 tryptic soy broth (Difco, USA)에서 배양하였고, *E. coli*는 nutrient agar 및 nutrient broth (Difco, USA)를 사용하여 배양하였다.

P. polymyxa JB115로부터의 항균물질 생산

항균물질 생산을 위해 tryptic soy broth에 *P. polymyxa* JB115의 전배양액을 5% (v/v) 농도로 접종하고 30°C에서 3일간 180 rpm으로 진탕 배양한 후, 배양액을 6,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상등액을 회수하고 동결건조기 (VFDT 0005-3085, Biocryos, Korea)를 이용하여 동결 건조하였다.

P. polymyxa JB115로부터 생산된 항균물질의 항균성 조사

P. polymyxa JB115로부터 분리한 항균물질의 가축병원성 세균에 대한 항균력을 조사하기 위해, 우선 병원성 세균을 액체배지 5 mL에 한 백금이 접종한 후 37°C에서 24시간 배양하여 전 배양액을 준비하고, 이를 고체배지에 멸균된 면봉으로 도말한 후, *P. polymyxa* JB115를 백금으로 희석을 그어 접종하고 37°C에서 배양하면서 생육 저해환의 생성 유무를 조사하였다. 또한 동결 건조된 *P. polymyxa* JB115의 배양액은 증류수로 희석시켜 0.2 µm membrane filter로 제균하고, 가축병원균 세균의 전배양액을 멸균된 면봉으로 도말한 고체평판배지에 paper disc 당 80 µL씩 분주한 다음, 37°C에서 배양하면서 생육 저해환을 관찰하였다.

P. polymyxa JB115가 생산하는 항균물질의 특성 조사

P. polymyxa JB115가 생산하는 항균물질의 특성을 알아보기 위해, 배양액의 동결건조 분말을 멸균 증류수에 16 mg/mL로 용해시키고, protease K (Sigma, USA), pronase E (Sigma, USA), trypsin (Sigma, USA)과 같은 단백질 분해 효소

를 1 mg/mL로 처리한 후, *E. coli* KCTC11234에 대한 잔존 항균 활성을 상기와 동일하게 paper disc법으로 조사하였다. 또한 상기의 동결건조 분말의 수용액에 동량의 n-butanol을 첨가하여 추출한 후 n-butanol 층을 회수하여 30°C에서 감압 농축하고, 이를 다시 멸균 증류수로 용해하여 항균물질의 활성을 조사하였다.

P. polymyxa JB115 배양액의 동결건조 분말을 16 mg/mL 농도로 증류수에 현탁하고 pH 3에서 pH 11까지 1 N HCl 또는 1 N NaOH를 이용하여 적정한 후, 4°C에서 12시간 방치 후 잔존하는 항균 활성을 상기와 동일하게 측정하여 항균물질의 pH 안전성을 조사하였으며, 40~80°C까지 1시간동안 열 처리 하거나 121°C에서 15분간 멸균한 다음 잔존 항균 활성을 측정하여 항균물질의 열 안전성을 조사하였다. pH 안정성의 경우 pH를 조정하지 않고 4°C에서 12시간 방치한 것을 대조군으로 하였으며, 열안정성의 경우에는 실온에서 1시간 방치한 것을 대조군으로 하여 백분율로 나타내었다.

항균물질의 위액에 대한 안정성을 조사하기 위해, *P. polymyxa* JB115 배양액의 동결건조 분말 용액 (16 mg/mL)에 2배 부피의 인공 위액 (0.05 M 인산 완충액에 0.1% pepsin을 첨가한 액, pH 2.5)을 첨가하고 37°C에서 6시간 반응시킨 후 잔존 항균 활성을 측정하였다. 또한 담즙산 안정성 연구에서도 상기 분말 용액에 2배 부피의 0.3% bile salt solution을 첨가하고 37°C에서 6시간 동안 방치한 후 잔존 항균 활성을 측정하여 분석하였다. 이 때 대조군은 담즙산 또는 위액을 처리하지 않은 시료로 하였다.

결과 및 고찰

P. polymyxa JB115로부터 생산된 항균물질의 항균력

P. polymyxa JB115 배양액의 가축유래 병원성 균주들에 대한 길항능을 조사한 결과, *E. coli* KCTC11234 및 KCTC40880, *P. aeruginosa* KCTC11321, *S. aureus* KCTC40050, 그리고 *S. choleraesuis* KCTC40763, KCTC41038 및 KCTC41598 등 모든 병원성 균주에 대해 생육 저해환을 생성하여 넓은 항균 범위를 나타내었다. 특히 *E. coli* KCTC11234, *S. choleraesuis* KCTC40763 및 KCTC41038는 *P. polymyxa* JB115 배양액에 의해 강력하게 생육이 저해되어 살균 작용을 보였지만, *P. aeruginosa* KCTC11321과 *E. coli* KCTC40880의 생육 저해환은 2일째부터 생육저해가 미약하게 나타나 정균 작용을 나타내었다. 따라서 *P. polymyxa* JB115는 면역증강능을 가진 베타글루칸(11)과 함께 항균물질을 동시에 생산하므로, 이 균의 배양 상등액은 기존 항생물질을 대체할 수 있는 다기능 사료첨가제로 활용 가능할 것으로 판단된다.

P. polymyxa JB115의 배양액이 가축유래 병원성 균주들에 대해 길항능을 보임에 따라, 배양액의 동결건조 분말을 이용하여 상기 7종의 가축 병원성 세균에 대해 paper disc법으로 농도별 항균성을 조사한 결과, 모든 병원성 균주들에 대해 농도 의존적인 항균성을 나타내었다(Table 1). 특히 배양액 동결건조 분말은 10 mg/mL 농도에서 *S. choleraesuis* KCTC40763 및 KCTC41038의 생육을 강력하게 저해하였다.

Salmonella 균은 인수공통 전염병균으로 포유동물 및 가금에서 패혈증, 설사, 폐렴 등을 일으키는데, 현재 tetracycline 및 streptomycin에 높은 내성을 보이고 있어서(12) 대체 사료첨가제 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 그러나 천연 항균물질로 보고된 소목 추출물(1)이나 프로폴리스 추출물(13)은 *Salmonella* 균에 대한 항균 활성이 없는 것으로 알려져 있다. 이러한 관점에서 볼 때, *S. choleraesuis*에 대해 강력한 항균 활성을 나타내는 *P. polymyxa* JB115의 항균물질은 가축 질병을 유발하는 *S. typhurium*, *S. enteritidis*, *S. pullorum* 등 다른 *Salmonella* 균에도 항균 활성을 나타낼 것으로 유추되므로, 항 *Salmonella* 성 물질로 유용성이 있으리라 사료된다.

Table 1. Antibacterial activity of the lyophilized culture broth of *P. polymyxa* JB115 on livestock pathogenic bacteria

Strain	Diameter(cm)			
	Concentration (mg/disc)			
	10	5	2.5	1.25
1 <i>Escherichia coli</i> KCTC11234	1.55±0.07 ¹	1.5±0.01	1.4±0.02	1.3±0.03
2 <i>Pseudomona saeruginosa</i> KCTC11321	1.5±0.02	1.4±0.01	1.3±0.85	0.6±0.85
3 <i>Staphylococcus aureus</i> KCTC40050	1.5±0.14	1.4±0.01	1.3±0.61	1.1±0.2
4 <i>Salmonella choleraesuis</i> KCTC40763	1.6±0.01	1.5±0.12	1.45±0.07	1.35±0.07
5 <i>Escherichia coli</i> KCTC40880	1.45±0.2	1.55±0.07	1.5±0.14	1.5±0.14
6 <i>Salmonella choleraesuis</i> KCTC41038	1.6±0.01	1.5±0.05	1.3±0.07	1.25±0.07
7 <i>Salmonella choleraesuis</i> KCTC41598	1.525±0.03	1.5±0.14	1.4±0.14	1.3±0.14

¹Each value was expressed as mean±standard deviation (n=3).

Table 2. Determination of minimal inhibitory concentration using the lyophilized culture broth of *P. polymyxa* JB115 against *E. coli* KCTC11234

Concentration (mg/mL)	Inhibition activity ¹
16.8	+++ ²
8.3	++
4.15	++
2.08	++
1.04	++
0.52	++
0.26	+
0.13	-

¹Antibacterial activity was determined as the diameter of growth inhibition zone of *E. coli* KCTC11234.

²Diameter of inhibition zone : + , <1.0 cm ; ++, 1.0~1.5 cm ; +++ , >1.5 cm ; -, no inhibition zone.

Every experiment was repeated by three times.

사료첨가제로 개발 시 배양액 자체를 이용하는 것이 생산비용 면에서 효율적이므로, *P. polymyxa* JB115 배양액의 동결건조 분말의 최소저해농도를 조사하여 사료 배합을 위한 사료 첨가량을 결정하였다. 시험 균주로 살균 효과가 나타나지만 항균활성이 가장 낮은 *E. coli* KCTC11234로 하여, 동결건조된 배양액 분말을 연속 희석한 후 paper disc

법으로 생육 저해환을 조사한 결과, *E. coli* KCTC11234에 대한 최소저해농도는 0.26 mg/mL이었다(Table 2). 따라서 *P. polymyxa* JB115 배양액의 동결건조 분말은 *S. aureus* KCTC40050, 그리고 *S. choleraesuis* KCTC40763, KCTC41038 및 KCTC41598에 대한 항균 활성이 더 높기 때문에, 최소저해농도 0.26 mg/mL이하에서 가축유래 병원성 균주의 생육을 저해할 것으로 사료된다.

***P. polymyxa* JB115가 생산하는 항균물질의 특성**

P. polymyxa JB115가 생산하는 항균물질이 단백질 물질인 bacteriocin인지를 조사하기 위해, 동결건조한 배양액을 protease K, pronase E, trypsin과 같은 단백질 분해 효소를 처리한 결과, Fig. 1과 같이 효소 처리 후에도 항균 활성은 그대로 유지하여 단백질성 물질은 아닌 것으로 파악되었다. 또한 *P. polymyxa* JB115의 동결건조한 배양액을 비극성 유기용매인 n-butanol로 추출하여 항균 활성을 조사한 결과, 추출 전에 비해 항균 활성이 다소 약하게 나타났다. 이는 *P. polymyxa* JB115가 생산한 항균물질이 수용성 및 지용성을 모두 지니고 있기 때문으로 추정된다. 이와 같이 n-butanol 추출액보다 배양액 원액이 훨씬 높은 항균 활성을 보이므로, 배양액으로부터 항균물질을 정제하여 처리하기보다 배양액 자체를 사료첨가제로 이용하는 것이 더 바람직할 것으로 판단된다.

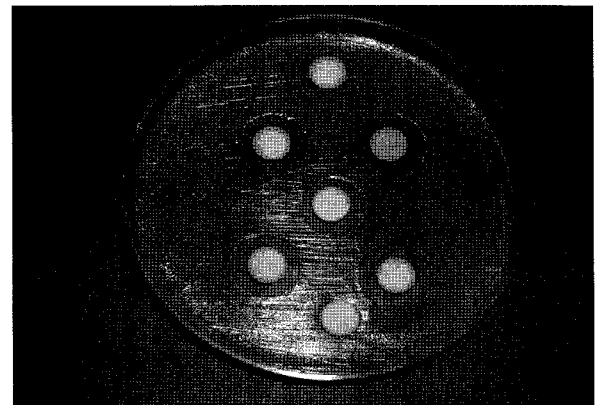


Figure 1. Antibacterial activity of the lyophilized culture broth of *P. polymyxa* JB115 against *E. coli* KCTC11234 after treatment of trypsin (A), pronase E (B), or protease K (C). D, control; E, n-butanol extract.

P. polymyxa JB115 배양액의 동결건조 분말의 pH 안전성을 조사하기 위해, pH 3에서 pH 11까지 24시간 방치 후 잔존 항균 활성을 조사한 결과, pH 3에서 88%, pH 11에서 89%의 잔존 활성이 관찰되었다(Fig. 2). *Bacillus subtilis*(14) 및 *Pseudomonas fluorescens*(15)에서 생산된 항균물질들은 산성에서는 안정하나 알칼리에서 실활되는 것으로 보고되고 있는 것에 반해, *P. polymyxa* JB115에서 생산된 항균물질은 알칼리에서도 활성이 잘 유지되는 것으로 보아 매우 안정한 화합물임을 알 수 있다. 또한 *P. polymyxa* JB115의 동결건조 배양액을 40℃에서 80℃까지 1시간 열처리 후 잔존 항균 활성을 측정한 결과, 70℃까지 항균 활성을 100% 유지하였으며, 80℃에서도 97% 잔존 활성을 나타내었고, 121℃에서 15분간 멸균 처리한 균에서도 83%의 잔

존 활성을 나타내어, 열에 상당히 안정한 화합물로 나타났다(Fig. 3). 일반적으로 액상 물질을 고체화하는 분말 공정인 분무건조법(spray-dry)은 액상 물질을 미세한 방울로 분무시킨 후 뜨거운 기체와 접촉시켜 액체를 증발, 건조시키는 공정으로, 입자의 크기를 감소시킬 수 있고 동결 건조와 비교시 단 시간에 저렴한 가격으로 구형의 고른 분말을 만들 수 있어 널리 이용되고 있다(16). 따라서 *P. polymyxa* JB115에서 생산된 항균물질은 내열성이 높기 때문에, 고온 건조 방법인 분무 건조법에 의해 분말 형태를 단 시간에 제조할 수 있어 사료첨가제로서의 생산 비용을 절감시킬 수 있을 것으로 보인다.

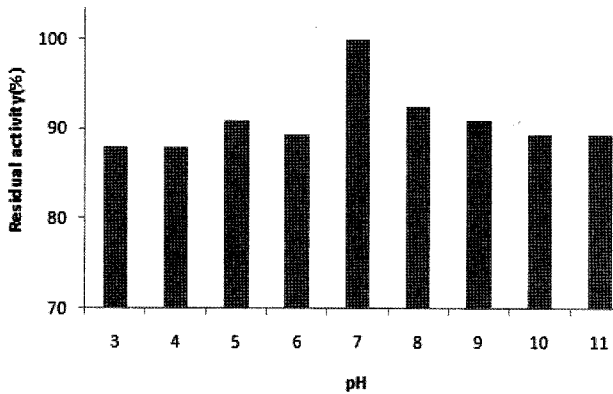


Figure 2. The pH stability of antibacterial substance in the lyophilized culture broth of *P. polymyxa* JB115 against *E. coli* KCTC11234. All data were measured by triplicate, and presented with mean.

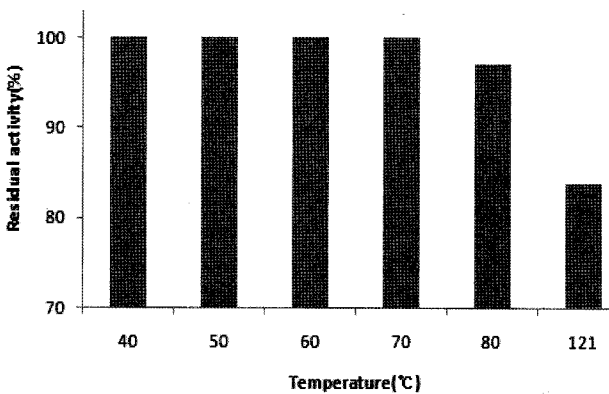


Figure 3. The thermal stability of antibacterial substance in the lyophilized culture broth of *P. polymyxa* JB115 against *E. coli* KCTC11234. All data were measured by triplicate, and presented with mean.

P. polymyxa JB115 배양액의 동결건조 분말을 사료첨가제로 투여 시 소화관 내에서의 안정성을 검토하기 위해, 인공 위액 및 담즙산에서의 안정성을 조사하였다. 그 결과, 상기 동결건조 배양액은 인공 위액으로 6시간 처리하여도 93%의 잔존 항균 활성을 가지고 있어 위액에서 충분히 안정함을 알 수 있었다(Fig. 4). 또한 상기 분말을 장내 담즙 농도 (0.6 mg/mL)(17)보다 높은 인공 담즙산 (1.2 mg/mL)으로 처리하여도 82%의 잔존 항균 활성을 유지하고 있어서 (Fig. 4), 장내에서도 충분히 안정하리라 추정되었다. 따라서 *P. polymyxa* JB115에서 생산된 항균물질은 가축의 소화기관 내에서 충분히 활성을 유지할 수 있을

것으로 사료되므로, 가축의 장내 병원세균의 생육을 충분히 억제할 수 있을 것이라 판단된다.

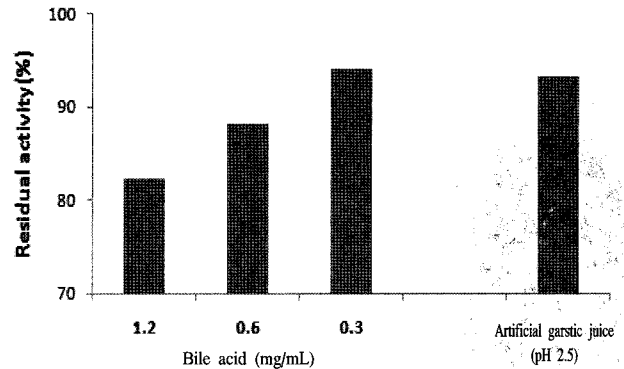


Figure 4. The stability against artificial gastric juice and bile acid of antibacterial substance in the lyophilized culture broth of *P. polymyxa* JB115 against *E. coli* KCTC11234. All data were measured by triplicate, and presented with mean.

이상의 항균물질 특성으로 미루어 보아, *P. polymyxa* JB115에서 생산된 항균물질은 높은 pH 안정성과 내열성을 가져 제형화하기에 적합하며, 가축 질병성 세균에 대해 넓은 항균범위와 소화기관 내 높은 안정성을 가지고 있어서 가축식이 시 장내 병원세균에 대한 높은 항균 활성이 기대되므로, 항생물질을 대체할 수 있는 다기능 사료첨가제로 충분히 활용 가능하리라 판단된다.

요 약

가축 질병의 제어를 위해 면역증강제인 베타글루칸 생성균으로 분리한 *Paenibacillus polymyxa* JB115의 배양액이 가축 병원성 세균에 대한 항균성을 보임에 따라, 배양액의 동결건조 분말을 대상으로 항균물질의 특성을 조사하여 다기능 가축 사료첨가제로의 개발 가능성을 타진하였다. 그 결과, *P. polymyxa* JB115에서 생산된 항균물질은 *E. coli*, *S. aureus*, *S. choleraesuis* 및 *P. aeruginosa* 등 가축 병원성 세균들에 대해 살균 또는 정균 활성을 보였으며, 항균범위도 광범위하게 나타났다. 또한 이 물질은 높은 내열성과 pH 안정성을 지녀 배양액의 제형화에도 적합하였으며, 인공 담즙산 및 인공 위액에서도 안정하여 사료첨가제로 투여시 가축의 장내 병원세균에 대해서 항균 활성을 충분히 나타낼 수 있을 것으로 판단되었다. 상기의 결과로부터 *P. polymyxa* JB115의 배양액은 베타글루칸 이외에도 가축 병원성 세균에 대한 항균물질을 지니고 있어서, 다기능 사료첨가제로 개발 가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역산업기술개발사업 (과제번호: 70000464)의 연구비 지원에 의해 이루어진 연구 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lee, S. G (2003), Antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* against animal husbandry disease. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31**, 242-249.
2. Aarestruo, F. M (2006), Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press, VA, USA.
3. Yoo, M. H., J. B. Jeong, E. H. Kim, H. H. Lee, and H. D. Jeong (2002), Application of a new conjugation method to fish pathogenic bacteria containing R plasmid for the analysis of drug-resistant status in aquaculture. *J. Kor. Fish. Soc.* **35**, 115-121.
4. Jung, S. H., and S. W. Kim (2000), *In vitro* antimicrobial activity in combination of antibacterial against fish-pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.* **13**, 45-51.
5. Park J. W., T. Kim, D. J. Lim, H. B. Lee, Y. S. Joo, and Y. I. Park (2004), Antibacterial activities of mushroom liquid culture extracts against livestock disease-causing bacteria and antibiotic resistant bacteria. *Kor. J. Mycol.* **32**, 145-147.
6. Jo, M. R., J. W. Kim, and D. S. Kim (2002), Antimicrobial effects of natural plant and mushroom, *Dicyophora indusiata* extracts on fish pathogenic bacteria. *J. Kor. Fish. Soc.* **35**, 578-582.
7. Kang, S. Y., M. J. Oh, and J. A. Shin (2005), Antimicrobial activities of Korean marine algae against fish pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.* **18**, 147-156.
8. Lyu, H. S., H. S. Lee, J. H. Im, J. L. Kim, and S. D. Kim (2004), Isolation and Identification of *Sphingomonas sanguis* from wild pheasant and production of antagonistic substance against fowl typhoid causing *Salmonella gallinarum*. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**, 27-32.
9. Seo, W. T., G. G. Kang, S. H. Nam, S. D. Choi, H. H. Suh, S. W. Kim, and Y. H. Park (1999), Isolation and characterization of a novel exopolysaccharide-producing *Paenibacillus* sp. WN9 KCTC 8951P. *J. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 820-825.
10. Jung, K. S., S. I. Nagesh, I. S., Lee, S. Anupama, D. H. Park, J. M. Cho, J. H. Hur, B. S. Kim, and C. K. Lim (2006), Effects of a soil-born *Paenibacillus* spp. strain KPB3 on suppression of bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum*. *Kor J. Pesticide Sci.* **10**, 31-319.
11. Jung, H. K., J. H. Hong, S. C. Park, B. K. Park, D. H. Nam, and S. D. Kim (2007), Production and Physicochemical Characterization of β -Glucan Produced by *Paenibacillus polymyxa* JB115. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **12**, 713-719.
12. Jung, S. C., S. W. Song, S. I. Kim, M. E. Jung, K. H. Kim, J. Y. Lee, and S. K. Lim (2007), Surveillance of antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from slaughterhouse in Korea 2. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from carcasses in slaughterhouse. *Kor. J. Vet. Publ. Health* **31**, 51-56.
13. Son, Y. R (2003), Studies on the antimicrobial effect of extracts of propolis. *J. Food Hyg. Safety* **18**, 189-194.
14. Lee, D. H., N. W. Lee, and T. J. Kwon (2003), Purification and characterization of an antifungal antibiotic from *Bacillus subtilis* LAM 97-44. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **46**, 69-73.
15. Lee, E. T., and S. D. Kim (2001), An antifungal substance, 2,4-diacetyl- phloroglucinol, produced from antagonistic bacterium *Pseudomonas fluorescens* 2112 against *Phytophthora capsici*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **29**, 37-42.
16. Choi, J. Y., J. Y. Yoo, H. Y. Kim, S. Y. Jung, Y. S. Heo, S. C. Hong, and J. H. Lee (2006), Spray drying of polymer-adsorbed drug nanocrystal particles. *J. Kor. Ind. Eng. Chem.* **17**, 106-110.
17. Kim, J. W., K. D. Jun, J. S. Kang, J. S. Jang, B. J. Ha, and J. H. Lee (2005), Characterization of *Bacillus licheniformis* as a probiotic. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **20**, 359-362.