

김치에서 분리한 *Lactococcus* sp. JC-3 bacteriocin의 특성

김영화, 김미령, 박근영, 전홍기*, 김성구
 부경대학교 생물공학과, 부산대학교 미생물학과*
 TEL (051) 620-6188, FAX (051) 620-6180

Abstract

Bacteriocin-producing lactic acid bacteria was isolated from Kimchi using MRS as selective media and *Lactobacillus delbruekii* subsp. *delbruekii* as an indicator strain. Strain JC-3 was tentatively identified as *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* through the API test and the bacteriocin produced by JC-3 showed the inhibitory activity against Grampositive pathogens and other lactic acid bacteria. The antimicrobial substance was inactivated by Protamax, Aroase AP-10, Neutrased, R-AMANO and was confirmed to be a bacteriocin. The bacteriocin activity remained from pH 2 to 11 and up to 60 min heating at 100°C. However, it was lost at high pH values showed the highest bacteriocin activity at a culture temperature of 30°C. The bacteriocin was partially purified by ammonium sulfate precipitation, Sep-pak C₁₈ cartridge. The apparent molecular mass of the bacteriocin was about 8 Kda, which was determined through the direct detection of bactericidal activity using SDS-PAGE.

서론

김치는 다양한 유산균이 관여하여 발효 숙성되는 식품으로 발효중의 생화학적 변화와 영양학적 변화를 통해 독특한 맛을 형성한다.¹⁾ 그러나 최적 숙성기가 지나면 과도한 유기산의 생성으로 인해 급속한 산패가 일어나게 되므로, 주 발효균주의 생육을 지연시키거나 숙성기에 관여하지 않는 다른 균들의 생육을 저해하여 저장성을 증대시킬 필요성이 대두되고 있다. 따라서 근종의 세균을 저해하는 단백질성 물질인 bacteriocin을 최적숙성기의 김치에서 분리하여 사용한다면 김치의 저장성을 높이고 신선도를 유지하여 상품성을 높일 수 있을 것이다.²⁻⁴⁾ 이에 본 실험에서는 숙성된 김치에서 *Lactococcus* sp. JC-3를 분리하였으며 본 균주의 생육과 bacteriocin생성의 최적조건을 설정하고 제 특성들에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

1)재료

각종김치

사용배지: MRS(Man-Rogasa-Sharpe)

2)방법

Bactericon의 생성활성 검토

온도와 배양시간에 따른 균의 생육과 bacteriocin의 활성정도

Bacteriocin 활성에 미치는 여러효소와 열처리효과

Bacteriocin 활성에 미치는 pH와 온도의 관계
 Indicator strain에 대한 bactericidal effect
 SDS-PAGE에 의한 분자량 및 순도 확인

결과 및 고찰

1) 균의 생육과 bacteriocin 생산조건 및 효소와 열처리 효과

Lactococcus sp. JC-3의 생육 및 bacteriocin 생성에 대한 최적 조건을 검토한 결과 생육 및 bacteriocin 생성 최적 온도는 30°C 였고 대수증식기 말기에서 정지기 초기에 가장 많이 생성되므로 전형적인 2차 대사산물의 특징을 가지는 것으로 나타났다. 또한 JC-3에 의해 생산되는 bacteriocin은 Protamax, Aroase AP-10, Neutrase, R-AMANO에 의해 불활성화 되었으며 100°C, 60분까지 활성이 유지되었다.

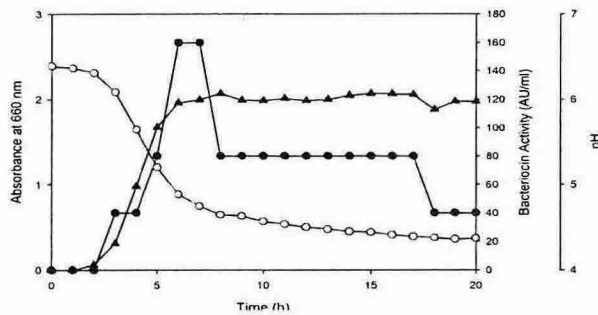


Fig. Batch culture profiles of *Lactococcus lactis* subsp. JC-3 cell growth and bacteriocin production at 30°C

2) pH와 온도와의 관계 및 indicator strain에 의한 bactericidal effect.

pH 2-11 에 걸쳐 안정하였고 100°C, 60분까지 활성이 유지되었다. 그러나 100°C에서 각 pH 별로 잔존활성을 검토한 결과 낮은 pH에서는 비교적 안정하였으나 높은 pH에서는 급격한 활성의 감소를 보였다. *Lactobacillus delbruekii* subsp. *delbruekii*를 indicator strain으로 하여 bacteriocin(640 AU/ml)을 처리한 결과 처리하지 않은 control과 비교시 optical density는 증가하지 않고 생균수는 감소하는 것으로 보아 이 균주에 대해 bactericidal effect를 가지는 것으로 보인다.

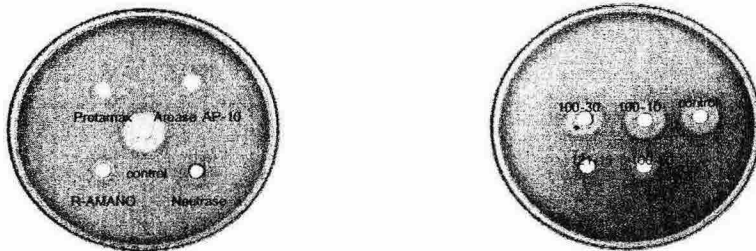


Fig. Antagonistic activity of *Lactococcus lactis* subsp. JC-3 treated with proteases and heating(°C-min)

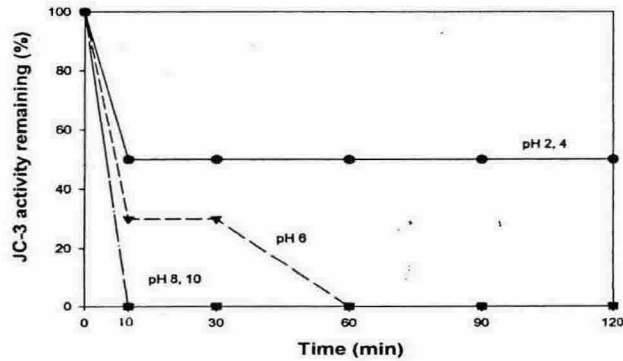


Fig. Effect of pH on the bactericidal activity of bacteriocin JC-3 at 100°C

요약

Bacteriocin을 생산하는 유산균을 김치에서 분리하였고 *Lactococcus latis* subsp. *lactis*로 확인 되었으며 bacteriocin의 최대생산조건은 30°C, 6시간으로 다양한 유산균 및 *Pseudomonas symsantha*, *Acetobacter aceti*의 생육을 저해하였고 여러 peptidases에 의해 불활성화되었다. 또한 다양한 범위의 pH와 열처리에 안정하였고 SDS-PAGE결과 약 8 Kda으로 확인되었다.

참고문헌

- 1) Kim, Sung-Koo, Eun-Ju Lee, Keun-Young Park, and Hong-Ki Jun. Bacteriocin Produced by *Lactobacillus curvatus* SE1 isolated from Kimchi (1998). *J. Microbiol. Biotechnol.*, 8(6) : 588-594.
- 2) Ingolf F.Nes., and Helge Holo. Biosynthesis of bacteriocin in lactic acid bacteria (1996). *Antonie van Leeuwenhoek.* 70 : 113-128.
- 3) Kojic, M., and Topisirovic, L. Bacteriocin producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *Diacetilactis* S50 (1991). *Appl. Environ. Microbiol.* 57 : 1835.
- 4) Young-Bae Jo., and Hong-Ki Jun. Bacteriocin producing by *Streptococcus* J-C1 Isolated from Kimchi (1996). *Korean J. Life Science.* 6(4) : 270-277.