

## 동치미에서 분리한 *Lactobacillus* sp. FF-3가 생산하는 bacteriocin의 최적 생산조건

박진철 · 차재영 · 권오창 · 조영수  
동아대학교 응용생명공학부 생명공학과

### The Optimal Producing Conditions of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus* sp. FF-3 Isolated from Korean Dongchimi

Jin-Chul Park, Jae-Young Cha, Oh-Chang Kwon and Young-Su Cho

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Bioscience, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

#### Abstract

The optimal culture conditions on bacteriocin producing of *Lactobacillus* sp. FF-3 isolated from Korean Dongchimi, were studied for enhancing its production with regard to environmental and nutritional factors. The optimal cultivation time, initial pH and temperature were 21 hours, pH 7.0 and 30~37°C respectively. Optimal compositions of culture medium for bacteriocin production were glucose 3% as carbon source, tryptone 4% as nitrogen source, and manganese sulfate 0.005% as inorganic salt with other basal components. The maximum antimicrobial activity was 484 BU/mL under the optimal culture condition.

Key words : bacteriocin, *Lactobacillus* sp., antimicrobial activity

## 서 론

저장성 및 안정성이 뛰어난 유산균 발효식품에서 유산균에 의한 다른 세균의 생육 억제 기작은 유산균이 생성하는 유기산에 의한 pH 저하와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 생성(1)에 의한 것으로 알려졌으나 bacteriocin을 포함한 항균물질의 생성에 의한 작용(2)도 인정되고 있다. bacteriocin은 여러 가지 특성에서 일반 항생물질과는 구분이 되는 천연 항생물질로 유사한 계통의 종에만 작용을 하는 단백질성 항생물질이라 정의를 내렸으나 nisin과 같이 항균 범위가 생산균과 다른 속의 세균까지 큰 경우가 있기 때문에 일반적인 정의가 되지 못하고 있다(3).

지금까지 알려진 bacteriocin은 수십 여종이 있으며, 같은 유산균 속의 균종일지라도 활성 범위가 서로 다른 형태의 bacteriocin을 생산하는 것으로 알려져 있는데(4), *L. acidophilus*의 lactocin B(5), *L. casei* B80의 caseicin 80(6) 및 *L. sake* L45의 lactosin S(7) 등이 있다. 특히 1951년 Hirsh 등(8)에 의해 발견된 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*가 생산하는 항균물질 nisin은 아미노산 34개로 구성된 폴리펩타이드로 섭취되었을 때 인체 내의 효소에 의해 분해되어 독성이 없는 것으로 나타나 식품보존

제로 그 적용이 확대되어 왔고, 영국, 미국, 프랑스, 이탈리아 등 여러 나라에서 식품 첨가제로 허용되고 있다(9). 국내에서는 박 등(10)이 김치에서 bacteriocin을 생산하는 유산균을 분리하여 여러 유해세균에 대한 저해 양상을 조사하였으며, 정 등(11)은 *Lactobacillus acidophilus*의 bacteriocin 특성에 관하여, 유 등(12)은 nisin 생산의 kinetics에 대하여 보고하였다.

한편, bacteriocin은 생성균주 내에서 유전적 기반이 안정한 것으로 알려져 있지만 배양방법에 따라 그 생산이 많이 좌우되는 것으로 보고되고 있다(13-15). *Lactobacillus bulgaricus*가 생산하는 항균성물질인 bulgarican은 우유 배지에서 45°C, 48시간 배양했을 때 최대의 역가를 나타내며 pH 2.2에서 최대의 안정성을 보인 반면(16), *Streptococcus lactis*가 생산하는 bacteriocin은 pH를 중성 부근으로 조절할 경우 높은 수율로 생산됨이 확인되었다(17).

따라서 본 연구에서는 전보(18)의 동치미에서 분리한 유산균으로부터 bacteriocin의 최적 생산조건을 검토하고 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 사용배지

본 연구에 사용된 bacteriocin 생산 균주는 동치미에서 분

Corresponding author : Young-Su Cho, Department of Biotechnology, Faculty of Applied Bioscience, Dong-A University, Busan 604-714, Korea  
E-mail : choys@daunet.donga.ac.kr

리하여 동정한 *Lactobacillus* sp. FF-3이며, 항균활성 측정용 균주는 항균 spectrum으로 확인된 *Bacillus cereus* JCM 2152를 사용하였다(18). *Lactobacillus* sp. FF-3의 보관을 위하여 멸균된 glycerol stock solution을 사용하여 동결건조 시킨 후 ample 형태로 보관하였으며, 균주의 일반적인 계대 배양은 MRS 배지를 사용하였다. 또한 bacteriocin 생산을 위한 최적 배지조성 검토는 MRS(proteose peptone 1%, beef extract 1%, yeast extract 0.5%, glucose 2%, polysorbate 80 0.1%, ammonium citrate 0.2%, sodium acetate 0.5%, magnesium sulfate 0.01%, manganese sulfate 0.005%, dipotassium phosphate 0.2%) 배지를 기본으로 하여 각종 영양원의 종류와 농도를 구하였다.

### 균체 생육 측정

*Lactobacillus* sp. FF-3 균주를 배양한 후 배양액 10 mL을 4°C, 10,000×g로 원심분리(Mega 17R, Hanil, KOREA)하였다. 분리되어진 균체를 증류수로 2회 세척한 후 650nm에서 흡광도(UVmini-1240, Shimadzu, JAPAN)를 측정하였다.

### 항균활성 측정

항균 활성은 *Bacillus cereus* JCM 2152를 target organism으로 하여 Toba 등(19)의 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 96 well micro-dilution plate에 *Lactobacillus* sp. FF-3 균주를 배양하여 2배씩 희석한 조 bacteriocin 시료액 100 µL에 indicator 균을 약 10<sup>7</sup> 농도로 접종한 Mueller Hinton broth (Difco Lab., Detroit, USA) 배지 200 µL를 넣어 37°C에서 약 6시간 배양한 후 ELISA reader (Molecular device, USA)를 사용하여 650 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 조 bacteriocin 시료액 대신 Mueller Hinton broth 배지를 사용한 것을 대조구로 하여 대조구의 절반에 해당하는 흡광도값을 나타내는 희석배수를 구하여 희석배수에 200을 곱한 값을 bacteriocin unit (BU)로 표시하였다.

### 배양 시간에 따른 생육 및 항균 활성

배양 시간에 따른 *Lactobacillus* sp. FF-3 균주의 변화를 검토하기 위해 MRS broth 배지에 백금이로 1회 접종한 후 37°C에서 하룻밤 배양하였다. 동일한 배지에 전배양액을 2% 접종하여 3시간 간격으로 배양액을 취해 균체의 생육 및 bacteriocin 생산량을 측정하였다.

### 초기 pH 및 온도에 따른 생육 및 항균 활성

*Lactobacillus* sp. FF-3 균주의 초기 pH에 따른 변화를 검토하기 위해 1N NaOH와 HCl 용액을 사용하여 MRS broth 배지를 pH 4.0~10.0로 각각 조정한 후 37°C에서 21시간 배양하였다. 온도에 따른 변화는 25, 30, 37, 40 및 45°C에서

21시간 배양한 후 균체의 생육 및 bacteriocin 생산량을 측정하였다.

### 탄소원의 종류 및 농도에 따른 생육 및 항균 활성

*Lactobacillus* sp. FF-3 균주의 탄소원 종류에 따른 변화를 검토하기 위해 MRS broth 배지의 탄소원으로 glucose, galactose, mannose, lactose, maltose 및 sucrose를 각각 2% 농도로 첨가하고 배양액 초기 pH를 7.0으로 조정하였다. 전배양액 2%를 각각 접종하여 37°C에서 21시간 배양한 후 균체 생육 및 bacteriocin 생산량을 측정하였다. 또한, 첨가한 탄소원 중 *Lactobacillus* sp. FF-3 균주의 생육 및 항균 활성이 가장 우수한 glucose를 1, 2, 3, 4, 및 5% 농도로 함유되도록 하여 전배양액 2%를 접종 후 37°C에서 21시간 배양한 후 균체 생육 및 bacteriocin 생산량을 측정하였다.

### 질소원의 종류 및 농도에 따른 생육 및 항균 활성

*Lactobacillus* sp. FF-3 균주의 질소원 종류에 따른 변화를 검토하기 위해 MRS broth 배지의 질소원으로 proteose peptone, yeast extract, malt extract, tryptone, casein, NH<sub>4</sub>Cl 및 KNO<sub>3</sub>를 각각 2% 농도로 첨가하고 배양액 초기 pH를 7.0으로 조정하였다. 전배양액 2%를 각각 접종하여 37°C에서 21시간 배양한 후 균체 생육 및 bacteriocin 생산량을 측정하였다. 탄소원과 마찬가지로 첨가한 질소원 중 *Lactobacillus* sp. FF-3 균주의 생육 및 항균 활성이 가장 우수한 tryptone을 1, 2, 3, 4, 5 및 6% 농도로 함유되도록 하여 전배양액 2% 접종 후 37°C에서 21시간 배양한 후 균체 생육 및 bacteriocin 생산량을 측정하였다.

### 무기염류의 종류 및 농도에 따른 생육 및 항균 활성

무기염류는 bacteriocin 최적 생산조건의 탄소원과 질소원 배지에서 ammonium citrate, sodium acetate, magnesium sulfate, manganese sulfate 및 dipotassium phosphate 염류를 각각 단독으로 제거한 후 탄소원, 질소원과 같은 방법으로 균체 생육 및 bacteriocin 생산량을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 배양 시간에 따른 생육 및 항균 활성

*Lactobacillus* sp. FF-3 균주의 배양 시간에 따른 균체 생육 및 bacteriocin 생산량의 변화를 검토하기 위하여 3시간 간격으로 시료를 채취한 결과는 Fig. 1과 같다. 균체의 생육은 약 3시간 후부터 대수증식을 하여 21시간에서 가장 높은 증식을 보였으며, bacteriocin 생산도 3시간째부터 관측되기 시작하여 균체의 대수성장기인 6시간 이후로 급격히 증가하여 21시간

재에는 최대 생산량을 나타내었다. 이는 이 등(3)이 분리한 *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*에 의한 bacteriocin 생산에서 배양 22시간에 최대 생산량을 나타내었다는 보고와 같이 균주의 대수성장기가 지난 후 bacteriocin 생산이 최대 생산량을 나타내었다는 점에서 유사한 결과를 나타내었다. pH와 생육과의 관계는 유산균의 특성으로 생육과 동시에 생성하는 유산으로 인해 반비례하는 것으로 나타났다.

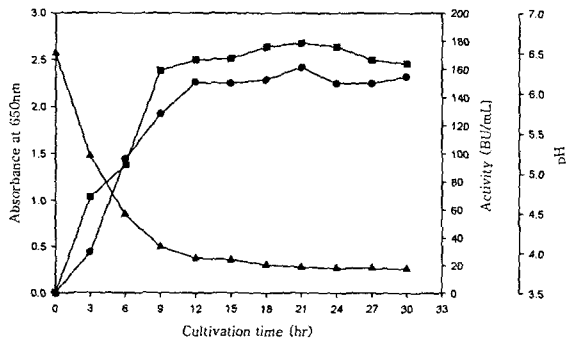


Fig. 1. Time course of the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3.

(-●- : cell growth, -■- : antimicrobial activity, -▲- : pH)

배지 pH의 영향

균체의 생육 및 bacteriocin 생산을 위한 적정 pH를 결정하기 위하여 MRS 배지의 초기 pH를 변화시키면서 검토한 결과는 Fig. 2와 같다. 균체의 생육을 위한 배지의 최적 초기 pH는 7이었으며, 증식을 위한 적정 pH범위는 5.0~9.0으로 넓은 범위를 나타내었다. bacteriocin 생산을 위한 최적 초기 pH는 5.0이었으며, 적정 pH범위는 4.0~8.0으로 대체로 산성에서 높은 생산량을 나타내었다. 이러한 pH범위는 Hirsch(17)의 *Streptococcus lactis*에 의한 nisin 생산시험과 Ryman 등(20)의 시험보다 넓은 범위에서 증식 및 bacteriocin 생산을 하는 것으로 나타났다.

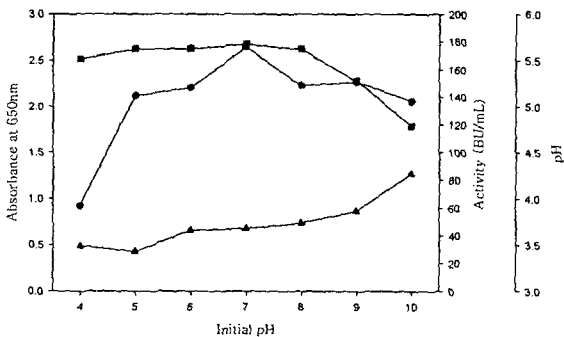


Fig. 2. Effect of initial pH on the cell growth and the antimicrobial activity of *Lactobacillus* sp. FF-3.

(-●- : cell growth, -■- : antimicrobial activity, -▲- : pH)

온도의 영향

균체의 생육 및 bacteriocin 생산을 위한 최적 온도를 결정하기 위해 배양 온도를 변화시키면서 검토한 결과는 Fig. 3과 같다. 균체의 생육과 bacteriocin 생산량은 25℃에서 40℃까지 비교적 넓은 범위에서 높게 나타났으며, 37℃에서 균체의 생육과 bacteriocin 생산의 최적 온도로 나타났다. 하지만 40℃ 이상의 온도에서는 균체의 생육 및 bacteriocin 생산량이 급격하게 감소하였다. Grushina 등(21)은 *Streptococcus lactis*의 경우 nisin 생성의 최적 온도로 28~30℃라고 보고한 바 있으며 발효온도에 따라 nisin 생성 패턴이 변화된다는 것을 발견하였다. 이는 본 균주가 bacteriocin 생산시 적정 온도 이상에서는 저해되는 합성조절 기작을 갖는다고 볼 수 있다.

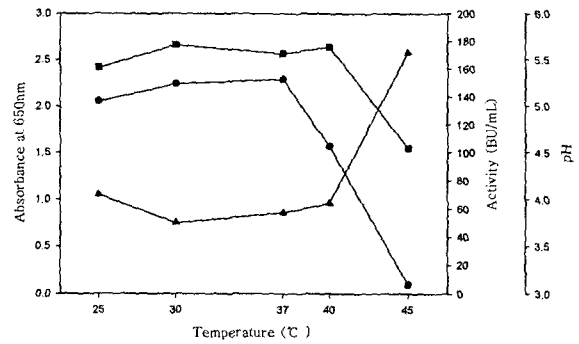


Fig. 3. Effect of fermentation temperature on the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3.

(-●- : cell growth, -■- : antimicrobial activity, -▲- : pH)

항균활성에 미치는 탄소원의 영향

*Lactobacillus* sp. FF-3의 생육 및 bacteriocin 생산량에 미치는 탄소원의 영향을 검토한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같이 lactose를 첨가한 경우에는 균체의 생육 및 bacteriocin 생산량이 낮게 나타났지만 그 외의 탄소원에서는 비교적 높은 생육과 생산량을 나타내었다. 균체의 생육은 maltose에서 가장 높게 나타났으며 bacteriocin 생산량은 glucose에서 최대량을 나타내었다. 이에 따라 glucose를 농도별로 검토해 본 결과, Fig. 4에 나타난 바와 같이 glucose의 농도가 증가함에 따라 균체의 생육이 증가하였고, pH는 감소하는 것으로 나타났다. bacteriocin 생산량은 3%로 첨가하였을 때 최대 생산량을 나타내었으며 그 이상의 경우에는 급격하게 감소하였다. Baranova 등(22)은 *Streptococcus lactis*의 경우 glucose가 bacteriocin의 생산에 좋은 탄소원임을 보고한 바 있으며, Kozlova 등(23)도 *Streptococcus lactis*의 경우 glucose 2%의 첨가가 적합하다고 보고하였다. 이는 탄소원의 과다는 bacteriocin 생산에 오히려 저해를 주는 것으로 본 실험의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

Table 1. Effect of carbon sources on the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3

Carbon source	Cell growth (Absorbance at 650nm)	Antimicrobial activity (BU/mL)	pH
Glucose	2.311	257.01	3.53
Galactose	2.100	256.04	3.86
Mannose	2.451	246.28	3.51
Lactose	1.685	195.25	4.55
Maltose	2.533	237.65	3.51
Sucrose	2.411	244.50	3.52

Table 2. Effect of nitrogen sources on the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3

Nitrogen source	Cell growth (Absorbance at 650nm)	Antimicrobial activity (BU/mL)	pH
Proteose peptone	2.408	310.63	3.49
Yeast extract	2.422	305.98	3.62
Malt extract	1.693	270.84	3.64
Tryptone	2.422	326.92	3.65
Casein	1.329	239.51	4.71
NH <sub>4</sub> Cl	1.137	266.02	4.78
KNO <sub>3</sub>	1.113	269.07	5.01

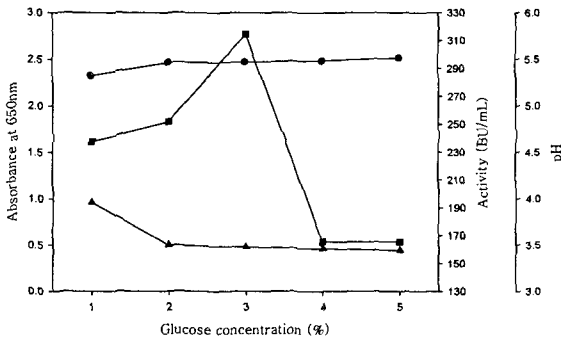


Fig. 4. Effect of glucose concentration on the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3.

(-●- : cell growth, -■- : antimicrobial activity, -▲- : pH)

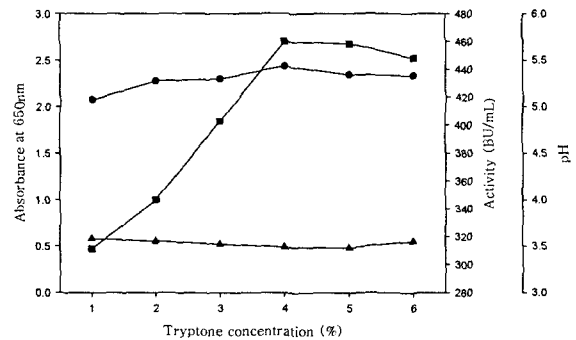


Fig. 5. Effect of tryptone concentration on the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3.

(-●- : cell growth, -■- : antimicrobial activity, -▲- : pH)

질소원의 영향

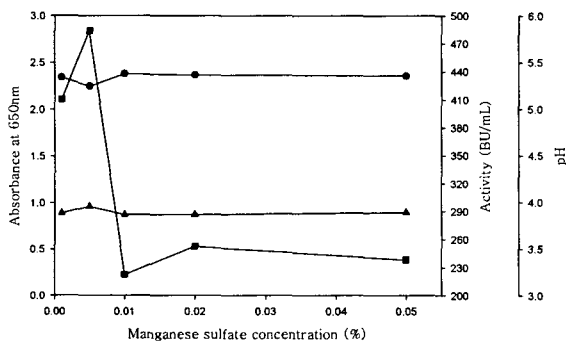
*Lactobacillus* sp. FF-3의 생육 및 bacteriocin 생산량에 미치는 질소원의 영향을 보기 위하여 유기태 질소원과 무기태 질소원을 첨가하여 실험한 결과는 Table 2에 나타난 바와 같이 무기태 질소원인 NH<sub>4</sub>Cl과 KNO<sub>3</sub>의 첨가는 균체 생육과 bacteriocin 생산량이 낮게 나타났으며, 유기태 질소원은 대체적으로 무기태 질소원에 비해 균체 생육 및 bacteriocin 생산량이 높게 나타났다. 균체 생육 및 bacteriocin 생산량이 가장 높은 질소원은 tryptone으로 나타났으며, 유기태 질소원 중 casein이 가장 낮은 결과를 가져왔다. 이는 유 등(24)이 보고한 *Lactococcus* sp.를 이용한 bacteriocin 생산시 casein acid hydrolyzate가 가장 좋았다는 결과와 Kozlova 등(23)의 *Streptococcus lactis*의 경우 casein acid hydrolyzate가 적당하다는 보고와는 상반된 결과를 나타내었다. 또한, tryptone의 농도별 실험에서는 Fig. 5에 나타난 바와 같이 glucose와 마찬가지로 첨가농도가 증가할수록 균체 생육은 증가하는 것으로 나타났다. 하지만, bacteriocin 생산량은 4%에서 최대 생산량을 나타내었고 그 이상에서는 큰 변화를 보여주지 않아 glucose와는 다른 경향을 보였다. 이는 bacteriocin이 폴리펩타이드라는 점에서 많은 양의 질소원을 첨가하여도 탄소원의 경우처럼 큰 영향은 주지 않는 것으로 사료된다.

항균활성에 미치는 무기염류의 영향

기본배지에 함유되어 있는 ammonium citrate, sodium acetate, magnesium sulfate, manganese sulfate 및 potassium phosphate를 각각 단독으로 제거한 후 무기염류의 효과를 검토한 결과(Table 3), 가장 많은 영향을 주는 것은 manganese sulfate로 나타났다. 또한 적정 농도를 확인한 결과(Fig. 6), 0.005%에서 bacteriocin 생산 역가가 약 484 BU/mL로 최대 생산량을 나타내었으며 그 이상에서는 균체 생육은 큰 변화가 없으나 bacteriocin 생산량은 크게 감소하였다. 이와 같은 결과는 magnesium sulfate가 nisin의 생산수율을 높여준다고 한 Rayman 등(20)의 보고, nisin의 생산수율이 potassium phosphate에 의하여 영향을 받을 뿐만 아니라 완충작용에도 관련되어 있다고 한 Kzlova 등(25)의 보고 및 bacteriocin 생성이 유기산과 potassium phosphate에 의하여 상당한 영향을 받는다고 한 Baranova 등(22)의 보고와 같이 본 물질 생산도 무기 염류의 종류와 양에 의하여 상당부분 영향을 받는 것으로 확인되었다.

**Table 3. Effect of lack of certain salt on the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3**

Salt omitted	Cell growth (Absorbance at 650nm)	Antimicrobial activity (BU/mL)	pH
Ammonium citrate	2.408	356.88	3.83
Sodium acetate	2.357	401.03	3.65
Magnesium sulfate	2.301	454.09	3.85
Manganese sulfate	2.010	287.44	4.21
Dipotassium phosphate	2.322	391.61	3.82



**Fig. 6. Effect of manganese sulfate concentration on the cell growth and the antimicrobial activity by *Lactobacillus* sp. FF-3.**

(-●- : cell growth, -■- : antimicrobial activity, -▲- : pH)

## 요 약

동치미로부터 분리된 *Lactobacillus* sp. FF-3의 Bacteriocin 생산에 대한 최적 배양조건과 배양 특성을 조사하였다. Bacteriocin 생산을 위한 최적 생산조건은 MRS(proteose peptone 1%, beef extract 1%, yeast extract 0.5%, glucose 2%, polysorbate 80 0.1%, ammonium citrate 0.2%, sodium acetate 0.5%, magnesium sulfate 0.01%, manganese sulfate 0.005%, dipotassium phosphate 0.2%) 배지를 기본으로 하여 21시간 배양한 결과, 배양온도는 30~37°C, 초기 pH는 7.0 으로 확인되었다. 최적 생산배지조성으로 탄소원은 glucose 3%, 질소원은 tryptone 4%, 무기염류는 manganese sulfate 0.005%가 bacteriocin 생성에 최적 조성으로 나타났으며, 최적 배지상에서 항균활성은 최대 484 BU/mL로 나타났다.

## 감사의 글

이 논문은 2002학년도 동아대학교 학술연구비(공모과제) 지원에 의하여 연구 되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Dahiya, R.S. and Speck, M.L. (1968) Hydrogen peroxide formation by *Lactobacilli* and its effect on *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.*, 51, 1568-1572
- Reeves, P. (1965) The Bacteriocins. *Bacteriol. Rev.*, 29, 24-45
- Lee, J.H. and Chang, H.I. (1994) Characteristics of the bacteriocin produced from *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 7-12
- Yoo, J.Y., Lee, I.S., Chung, K.S. and Nam, Y.J. (1991) Isolation and properties of bacteriocin-producing microorganisms. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 19, 8-13
- Barefoot, S.F. and Klaenhammer, T.R. (1984) Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, lactacin B. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 26, 328-334
- Rammelsberg, M., Muller, E. and Radler, F. (1990) Caseicin 80: purification and characterization fo a new bacteriocin from *Lactobacillus casei*. *Arch. Microbiol.*, 154, 249-252
- Mortvedt, C.I., Nissen-Meyer, J., Sletten, K. and Nes, I. F. (1991) Purification and amino acid sequence of lactocin S, a bacteriocin produced by *Lactobacillus sake* LA5. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1829-1834
- Hirsch, A. (1951) Growth and nisin production of a strain of *Streptococcus lactis*. *J. Gen. Microbiol.*, 5, 208-221
- Kim, S.K., Lee, S.J., Baek, Y.J. and Park Y.H. (1994) Isolation of bacteriocin-producing *Lactococcus* sp. HY 449 and its antimicrobial characteristics. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 259-265
- 박연희, 권정주, 조도현 (1983) 한국농화학회지, 26, 35-39
- 정영건, 안장연, 권오진, 강주희 (1989) *Lactobacillus acidophilus* Bacteriocin 의 성상에 관한 연구. 한국산업미생물학회지, 17, 94-98
- 유진영, 최신양, 진영옥, 구영조, 정건섭 (1989) 회분식 및 연속식 배양시 Nisin 의 생산 특성. 한국산업미생물학회지, 17, 504-508
- Hertman, I. and Ben-Gurion, R. (1958) A study of pesticin biosynthesis. *J. Gen. Microbiol.*, 21, 135-143
- Shahani, K.M., Vakil, J.R. and Kilara, A. (1977) Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. II. Isolation of acidophilin from *Lactobacillus acidophilus*. *Cultured Dairy Productis J.*, 12, 8-11
- Fernandes, C.F., Shahani, K.M. and Amer, M.A. (1988)

- Effect of nutrient media and bile salts on growth and antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, 71, 3222-3229
16. Reddy, G.V., Shahani, K.M., Friend, B.A. and Chandra, R. C. (1983) Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. III. Production and partial purification of bulgarican from *Lactobacillus bulgaricus*. *Cultured Dairy Products J.*, 18, 15-19
17. Hirsch, A. (1951) Various antibiotics from one strain of *Streptococcus lactis*. *Nature*, 167, 1031-1032
18. Chung, W.B., Soe, W.S., Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (2003) Isolation and characterization of *Lactobacillus* sp. FF-3 for probiotics production from *Korean Dongchimi*. *Korean Journal of Food Preservation*, 10, 406-410
19. Toba, T., Samant, S.K. and Itoh, T. (1991) Assay system for detecting bacteriocin in microdilution wells. *Letters in Appl. Microbiol.*, 13, 102-104
20. Rayman, K. and Hurst, A. (1984) Nisin: Properties, biosynthesis and fermentation, Vandamme, E.J. (Editor), *Biotechnology of Industrial Antibiotics*, Marcel Dekker Inc., p. 607-628
21. Grushina, V.A. Baranova, I.P. and Egorov, N.S. (1979) Nisin accumulation dynamic in a *Streptococcus lactis* culture. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 9, 44-47
22. Baranova, I.P. and Egorov, N.S. (1969) Effect of composition of medium and cultivation conditions on growth of *Streptococcus lactis* and nisin biosynthesis. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 5, 137-143
23. Kozlova, Y.I., Egorov, N.S., Baranova, I.P. nad Maksimov, V.N. (1972) Metabolic kinetics of *Streptococcus lactis* on initial and optimal media. *Microbiology*, 41, 893-897
24. Yoo, J.Y., Lee, I.S., Chung, K.S., Choi, S.Y., Koo, Y.J. and Kwon, D.J. (1992) Cultural conditions of *Lactococcus* sp. 1112-1 for production of bacteriocin-like substance. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 183-189
25. Kozlova, Y.I., Golikova, T.I., Baranova, I.P. and Egorov, N.S. (1979) Investigation on the influence of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on the growth of *Streptococcus lactis* and nisin synthesis at constant pH values of the medium. *Mikrobiologiya*, 48, 443-446

---

(접수 2003년 10월 25일, 채택 2003년 11월 21일)