

H-7

어병미생물을 저해하는 Probiotic bacteria인 Lactic acid bacteria의 분리와 특성

양병규* · 정용욱 · 전유진 · 허문수

제주대학교 해양생산과학부 해양생물공학과

서론

유산균은 숙주의 장내에 정착함으로써 숙주의 건강을 유지하게 하는 중요한 미생물로써 사람의 장내는 물론 김치발효, 유제품 그리고 젓갈에서 많이 분리되고 있다. 이들 유산균은 병원성 세균인 *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Sallmonella spp.* 의 성육을 저해한다고 보고되고 있다.(Frederique et al., 1999) 이 항균능력은 유산균이 분비하는 organic acid, hydrogen peroxide, bacteriocin에 의해 이루어 진다. (Kwark et al., 1999)

유산균의 항균실험은 근연종인 Gram-positive bacteria에 대하여 많이 이루어졌고 사람의 질병세균과 부패세균에 대하여 많은 연구가 진행되어있다.(S .Gomez et al., 1997)

본 연구는 어류의 병원성세균인 *Vibrio spp.* *Edwardsiella tarda* 및 *streptococcus spp.* 에 대한 항균활성을 나타내는 유산균을 분리하고 이들이 생성하는 antibacterial substance의 특성을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

균주분리 및 배양 : 시판되고 있는 김치와 젓갈 그리고 넙치와 복어의 장내에서 MRS broth를 이용하여 유산균을 분리하고 *Vibrio spp.*는 TSB, *Edwardsiella tarda* 및 *streptococcus spp.*는 BHIbroth를 이용하여 배양하였고 배양균주는 -80℃에서 보관하며 실험하였다.

항균성균주의 분리 : test-organism인 *Vibrio spp.* 와 *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus sp.* 에 대한 항균활성은 spot-on load method를 이용하여 가장 항균성이 강한 유산균을 선별하였다.

Cell-free supernatant 제조 : MRS broth에서 24 ~ 48시간 배양을 한 후 pH를 6.5~7.0으로 조절하여 organic acid에 대한 영향을, Catalase를 처리하여 hydrogen peroxide에 의한 영향을 배제하여 0.2 μ m pore size filter로 여과한 후 본 실험을 하였다.

항균성물질의 특성 : Cell-free supernatant는 agar-well diffusion assay를 이용하여 유산

균이 분비하는 항균성물질의 효소 및 열처리 등에 따른 영향을 확인하였다.

Carbon source에 의한 유산균의 유산최적화 : Nutreint broth에 mannitol, sucrose, maltose, glucose, fructose, xylose, lactose 등 당을 1%가 되게에 첨가한 후 유산균의 유산 생성능과 pH 변화를 확인하였다.

결과 및 요약

김치, 젓갈 그리고 어류의 장내에서 수 십종의 유산균을 분리하였고, 이 중 어병세균에 대한 항균성 특성을 보이는 유산균 5 strain을 확인하였다. *Vibrio* spp.의 생존범위는 pH 4.5 이상에서 생존이 가능하였으며 유산균에 의한 pH 변화는 최저 3.8로서 Co-culture에서 완전히 *Vibrio* spp.의 생육을 억제하였으며 Carbone source에 따른 유산균의 유산생성능의 차이를 보였고, 질소원중심의 Nutreint broth에서의 유산균 성장을 확인함으로써 최적의 유산균 생성능과 사료화에 대한 응용이 가능할 것으로 보인다. Cell-free supernatant를 이용한 agar - well diffusion assay에서는 antibacterial substance의 항균활성이 열처리에 대하여 안정하였고, Catalase, amylase 등의 효소에 대하여 안정된 반면, pepsine과 같은 단백질분해효소에 의해서는 항균활성이 상실됨으로써 항균성물질이 단백질을 알수 있었다. 기존의 유산균제재들은 근연종인 Gram-positive bacteria에 대하여 항균활성이 높았으나 본 실험균주는 Gram-nagative bacteria에 대한 항균 spectrum이 좋게 나와 그 항균물질의 특성을 좀더 연구하여야 하겠다.

참고문헌

- Ganzle, M., Hertel, C. and Hammes, W. P. 1995. Antimicrobial activity of lactobacilli isolated from sourdough. In *Proceedings of the Lactic Acid Bacteria Conference* p. 134, Cork.
- Gobbetti, M., Corsetti, A. and Rossi, J. 1994. The sourdough microflora. Interactions between lactic acid bacteria and yeasts: metab- London, Academic Press.
- Gobbetti, M., Corsetti, A. and Rossi, J. 1994 The sourdough microflora. Interactions between lactic acid bacteria and yeasts: metabolism of amino acids. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 275-279.
- Schillinger, U. and Lu'cke, F. K. 1989 Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 1901-1906.
- Klaenhammer, T. R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* **70**, 337-349.