

有機酸 生成菌에 의한 病原性 *Escherichia coli* A₂와 *Escherichia coli* G₇의 生育抑制

白永振*·裴炯錫

한국 Yakult 研究所 微生物 研究室

Growth Inhibition of Enteropathogenic *Escherichia coli* A₂ and *Escherichia coli* G₇, by the Organic Acid Producing Bacteria

Baek, Young Jin* and Hyeong Suk Bae

Korea Yakult Institute for Microbiological Research, Siheung, Kyonggi 433-800, Korea

The growth inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* A₂ and *Escherichia coli* G₇, causing the diarrhea in piglets, by the organic acid producing bacteria was studied *in vitro*. The metabolites of the organic acid bacteria, such as lactic acid, acetic acid inhibited the growth of *E. coli* A₂ and *E. coli* G₇ in BL medium. The more the organic acid producing bacteria have ability to produce the organic acids, the higher these bacteria exerted the inhibitory efficacy against enteropathogenic *E. coli*. Among the strains examined, *Lactobacillus casei* Y and *Streptococcus faecium* C showed relatively strong growth inhibition against enteropathogenic *E. coli*. When the organic acid producing bacteria and the enteropathogenic *E. coli* were incubated simultaneously in BL medium, bacteriostasis of *E. coli* was observed when the pH of BL culture was lowered to 5.0, and bacteriocidal effect was observed when the pH became less than 4.5. *E. coli* A₂ was more resistant to the organic acid bacteria than *E. coli* G₇.

유산균은 사람과 동물의 장관속에 정착하여 살고 있는 정상 장내균총 중의 하나로서 숙주 장관의 건강유지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(1-4). 즉 유산균은 장내 균총의 정상적인 균형을 유지(5), 유산과 초산의 생산에 의한 정균작용 및 장관운동 촉진(6, 7), 항균성 물질의 생산(8, 9), 장관벽에 병원균의 부착과 균락형성을 방해하는 세균간섭 현상(10, 11), 균체성분에 의한 장암유발 억제(12, 13) 등, 정장작용에 매우 중요한 기능을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다.

이와 같은 유산균을 섭취함으로써 장관의 정상적인 건강을 유지 또는 회복할 수 있다는 가능성이 의학적인 측면에서 점차 중요하게 인식되고 있다. 최근 국내 축산업 분야에서도 양돈가에게 많은 경제적 손실을 끼치는 자돈의 대장균증 설사병에(14, 15) 대하여 예방 또는 치료 목적으로 유산균 생균제제의

이용에 많은 관심을 기울이고 있다. 왜냐하면 지금 까지 자돈의 대장균증 설사병의 치료는 주로 항생제에만 의존하여 왔는데 해마다 그 병원성 대장균이 갖는 항생제 내성이 심하게 증가되고 있어(16-18), 가축위생 및 공중보건상 심각한 문제점으로 대두되고 있기 때문이다(19). 그래서, 일부 축산업 전문가들은 유산균제제를 항균제 대용으로 사용하였을 때 대장균증 설사예방과 증체효율의 개선이 가능한지를 파악하기 위하여 생체내 또는 시험관내 시험을 시도하였다.

Hale과 Newton(20), Pollman(21) 등은 자돈에 *Lactobacillus acidophilus* 균이 함유된 유산균 제제를 먹이면 설사병 발생율이 감소되고 증체효과도 있다고 하였다. Muralidhara(10) 등은 초유와 *L. acidophilus* 를, Ozawa 등(22)은 *Streptococcus faecalis* 를 자돈에 경구투여 하였을 때 소장내에 유산

Key words: Enteropathogenic *E. coli*, growth inhibition, organic acid bacteria
* Corresponding author

균 수는 급증하였고 유해균 수는 감소하여 설사 발병율이 떨어졌고 증체 효과도 뚜렷하였다고 하였다. Gilliland 등(23)은 송아지 분변에서 분리한 *L. acidophilus*를 송아지에 먹었다니 장내 유산균 수는 급증하였고 대장균 수는 격감되었다고 보고하였다. 국내의 한 등(24)도 *Streptococcus faecium*이 자돈의 사료 효율 증진과 하리방지에 유익한 균임을 주장하였다. 시험관내 시험으로 *Bifidus longum*(25)과 *Lactobacillus casei*(26, 27)가 장내 유해 세균들에 대한 생육저해 능력을 갖고 있음도 보고되었다.

그러나, 아직도 유산균의 정확한 항균기전은 밝혀져 있지 않다. 앞으로 유산균의 자돈하리에 대한 예방적 가치와 항균작용에 대한 정확한 평가를 위해선 이에 대한 연구가 더욱 요구된다고 볼 수 있다. 따라서 저자들은 유기산 생산균인 *Bacillus toyoi*, *Clostridium butyricum*, *Str. faecium*, *Str. faecalis*, 그리고 *L. casei*를 사료 첨가제와 발효유로 부터 순수 분리, 확인(28)하여, 이들 균주가 자돈 설사증 유발 인자(K 88 항원)(29)를 갖고 있는 *Escherichia coli* A₂와 *E. coli* G₇에 미치는 항균효과를 시험관내에서 조사하여 보았다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용한 유기산 생성균은 시판중인 생균 사료첨가제와 발효유에서 분리, 확인(28)한 *Str. faecium* C, *Str. faecalis*, *B. toyoi*, *Cl. butyricum* M, 그리고 *L. casei* Y였다. *E. coli*는 국내 자돈의 대장균증 설사병을 일으키는 주된 혈청형(K 88 항원)(29)을 소유한 *E. coli* A₂(O₁₅₈:K 88 a, c:H₁₉)와 *E. coli* G₇(O₈:K 87, K 88 a, b:H₁₉)이었다. 사용균주의 분리 및 분양처는 Table 1과 같다.

배 지

유기산 생성균과 병원성 *E. coli*를 단독 또는 혼합배양할 때 시험균 상호간 생육 억제영향과 성장상태를 조사하기 위한 액체배지로는 BL broth(30)로 하였다. 공시균 7균주 모두가 BL 액체배지에서 생육저해를 받지 않고 잘 성장하였다. 생균수 측정을 위한 선택배지로서, 유산균(*L. casei* Y, *Str. faecium* C)에는 MRS agar plate(31)를, 대장균(*E. coli* A₂, *E. coli* G₇)에는 Beef extract 0.3%, Peptone 0.5%, agar 1.5% 함유된 Nutrient

Table 1. Source of strains experimented

Strains	Source and Products
<i>Lactobacillus casei</i> Y	Yakult(Kor. Yakult Institute)
<i>Streptococcus faecium</i> C	L.B.C. (Yu Han Corox)
<i>Streptococcus faecalis</i>	Bio-Three(Scientific Feed) Co. LTD)
<i>Bacillus toyoi</i>	Biocerin (Bayer Pharm. Korea Co. LTD)
<i>Clostridium butyricum</i> M	Miyari (Chung Gei Pharmaceutical Co. LTD)
<i>Escherichia Coli</i> A ₂	Institute of Veterinary Research, Office of Rural Development
<i>Escherichia coli</i> G ₇	"

agar 배지를 멸균후 30°C에서 16시간 건조한 agar plate를 사용하였다. 배지의 pH에 따라 병원성대장균의 성장 상태를 조사하기 위한 배지로는 멸균한 BL broth에 6N HCl 또는 6N lactic acid를 적정량 첨가하여 pH가 4.5, 5.0, 5.5로 조정된 것을 사용하였다.

Disc 확산 시험

BL broth 50 ml에 유기산 생성균을 1×10⁴ cells/ml 접종하여 37°C에서 적정시간(1~3일) 배양하였다. 배양균액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 수거한 상층액에 2N HCl 또는 2N NaOH를 가하여 배양액의 pH가 4.0, 5.0, 6.0, 7.0이 되도록 조정하였다. 이들 각각을 멸균된 membrane filter(pore size; 0.45 μm, Milipore Co.)로 여과하여 제공하였다. 여기에 멸균한 Paper disc(size; 8 mm diameter, thick, Tokyo Seisakusho Co. LTD)를 넣어 여과액을 충분히 적신것을 *E. coli*균액(3×10⁸ cells/ml, Nutrient broth culture) 0.2 ml와 멸균된 Nutrient soft agar(Agar 0.6%) 3 ml를 혼합하여 미리 굳힌 agar plate(plate 직경: 9 cm)위에 놓았다. 이와같이 조작된 agar plate를 뒤집어서 37°C에서 16시간 배양한 후 paper disc 주위에 생긴 투명 저지환의 직경(mm)을 Venier Calipers(Mitutoyo)로 측정하였다.

균주 보존

유기산 생성균과 대장균을 10% 탈지유(Difco) 5 ml에 한 loop 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후

5°C 냉장고에 보관(3주 마다 계대)하면서 시험균으로 사용하였다.

혼합 배양

유기산 생성균과 대장균을 각각 BL broth 5 ml에 1백금이 접종하여 37°C에서 16시간씩 3회 계대 배양하여 활력을 증강하였다. 활력이 증강된 이들 균액을 BL broth 50 ml에 혼합 접종하되 초기 접종 균수는 유기산 생성균과 *E. coli*를 동일하게 1×10^4 cells/ml 되게 하였다. 접종 즉시 37°C의 shaking water bath에서 72시간 배양하였다. 그러나 편성 혐기성균인 *Cl. butyricum* M과 *E. coli*를 혼합배양할 때는 혐기조건을 제공할 수 있는 Forma Scientific Anaerobic System(Model 1024)을 이용하였다.

유기산균과 *E. coli* 생균수 측정

단독 또는 혼합 배양액으로부터 생균수를 측정하기 위하여 배양균액을 경시적으로 채취하고 멸균 생리식염수(0.85%)에 십진 희석한 후 그 0.1 ml를 각 균주의 선택 평판배지에 도포하였다. 생균수 측정용 선택배지로는 *L. casei* Y와 *Str. faecium* C에는 MRS agar plate를, *E. coli*에는 30°C에서 16시간 건조시킨 Nutrient agar plate를 사용하였다. 도포한 평판배지를 37°C에서 24시간 배양한 후 각 배지에 나타난 균락의 수를 계수하여 여기에 희석 배율을 곱하여 생균수로 하였다.

pH 측정

Metrohm 654 pH-meter를 사용하여 각 배양액의 pH를 측정하였다.

결과 및 고찰

유기산 생성균의 대사산물이 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 미치는 항균성

유기산 생성균이 BL broth에서 성장할 때 배양액 내 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 대한 항균성 물질의 생성여부를 파악하기 위하여 *L. casei* Y, *Str. faecium* C, *Str. faecalis*, *B. toyoi*, *Cl. butyricum* M을 BL broth에 각각 접종하여 37°C에서 3일간 배양한 다음 각 배양액에 대하여 디스크 확산 시험을 하였다. 각 유기산 균액 주위에 생긴 대장균의 발육저지환이 나타난 한천평판 모양은 Fig.1과 Fig.

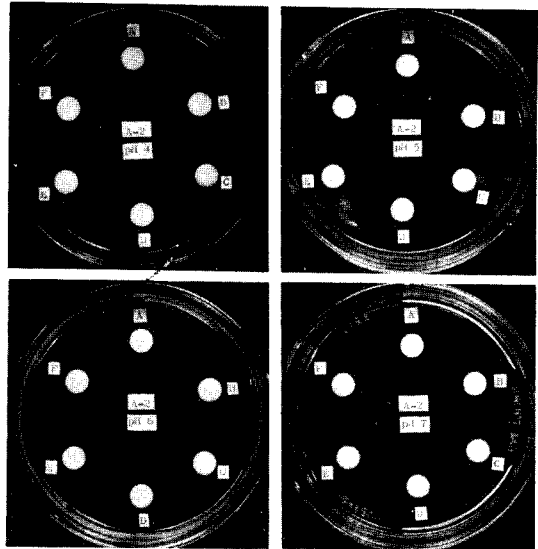


Fig. 1. Photographs of growth inhibition of *E. coli* A₂ on Nutrient agar plates on which have been placed 6 disks, each containing a different BL broth culture filtrate of organic acid bacteria. The culture filtrates were adjusted to pH 4.0 5.0 6.0 and 7.0 with 2N NaOH or 2N HCl.

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| A: <i>L. casei</i> Y | D: Lactic acid |
| B: <i>Str. faecium</i> C | E: <i>Str. faecalis</i> |
| C: HCl | F: <i>B. toyoi</i> |

2와 같았다.

pH를 5.0, 6.0, 7.0으로 조정된 대사산물들은 모두 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 대하여 공통적으로 항균효과를 나타내지 않았다. 그러나 pH 4.0으로 조정된 각 유기산 생성균의 대사산물들은 정도의 차이는 있으나 두 대장균에 대하여 뚜렷한 항균력을 갖고 있음이 확인되었다. 이들 각 대사산물에 의한 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇의 발육 저지환 직경은 유기산 생성균주에 따라 차이가 있었는데, *L. casei* Y는 15 mm와 17 mm, *Str. faecium* C는 14 mm와 15 mm, *Str. faecalis*는 13 mm와 14 mm, *B. toyoi*는 11 mm와 13 mm, *Cl. butyricum* M은 10 mm와 12 mm로 나타났다.

그리고 pH 4.0의 염산은 대장균에 대하여 항균효과를 전혀 나타내지 않았고, pH 4.0의 유산은 대장균에 대하여 생육저해 능력을 갖고 있었다. 유산에 의한 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇의 발육 저지환 직경은 13.5 mm와 14.5 mm였다. 이와같은 결과로 *E. coli* A₂가 유기산 생성균이 생성한 항균성 물질에 대하여 *E. coli* G₇ 보다는 높은 내성을 갖고 있는 것으로 판단된다. 그리고 그 내성의 양상이 위의 5균

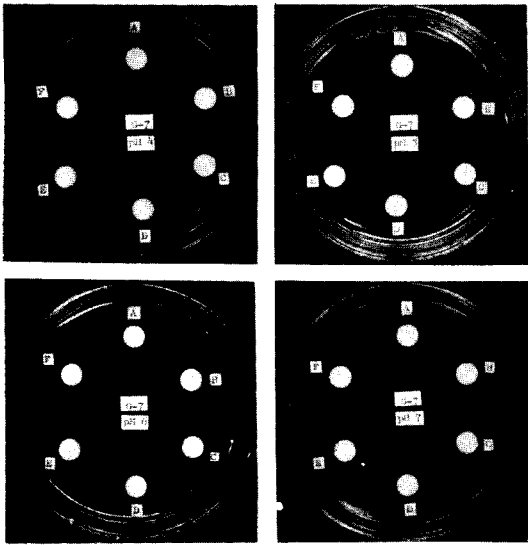


Fig. 2. Photographs of growth inhibition of *E. coli* G₇ on Nutrient agar plates on which have been placed 6 disks, each containing a different BL broth culture filtrate of organic acid bacteria. The filtrates were adjusted to pH 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0 with 2N NaOH or 2N HCl.

- A: *L. casei* Y
- B: *Str. faecium* C
- C: HCl
- D: Lactic acid
- E: *Str. faecalis*
- F: *B. toyoi*

주에 대하여 비슷하게 적용되는 것으로 보아, 5종류의 유기산 생성균이 생성하는 항균성 물질들은 pH 저하에 따라 항균력이 유사하게 증대되는 특성을 갖는 물질일 것으로 추측된다.

이와 같은 항균성 물질의 생산능력을 배양시간 별로 조사하기 위하여 유기산 생성균의 BL broth 배양액을 배양 1일, 2일, 3일 간격으로 채취하여 디스크 확산 시험법으로 비교 검토하였다(Fig. 3, Fig. 4). 유기산 생성균은 배양 1일 부터 *E. coli*에 대한 생육 저해물질을 많이 생산하였을 뿐만 아니라 배양 3일까지도 그 항균성 물질을 계속 생산 축적하는 것으로 나타났다. 여기서 병원성 *E. coli*에 대한 생육 저해 능력면에서 볼때 *L. casei* Y와 *Str. faecium* C가 높은 항균력을 나타내었고 spore를 형성하는 *B. toyoi*와 *Cl. butyricum* M은 다소 낮은 항균력을 보였다.

유기산 생성균에 의한 병원성 대장균의 생육저해

유기산 생성균과 병원성 대장균(A₂ 또는 G₇)을 BL broth에 각각 1×10⁸ cells/ml, 1×10⁴ cells/ml 되게 접종하고 37°C에서 배양하였을 때, 배양시간

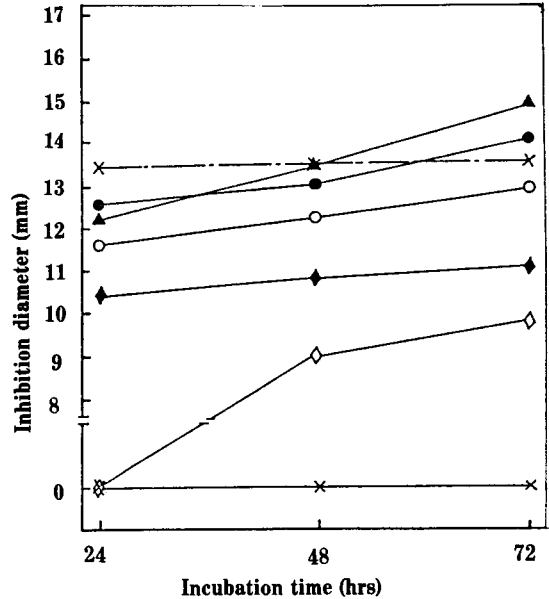


Fig. 3. Growth inhibition zones of *E. coli* A₂ on Nutrient agar plate on which has been placed 7 disks, each containing a different BL broth culture filtrate of organic acid bacteria at various incubation time. The culture filtrates were all adjusted to pH 4.0 with 2N NaOH or 2N HCl.

- ▲-▲: *L. casei* Y
- : *Str. faecium* C
- ×-×: Lactic acid
- ◆-◆: *B. toyoi*
- ◇-◇: *Cl. butyricum* M
- : *Str. faecalis*

별로 대장균의 생육억제 상태를 조사한 결과는 Fig. 5와 Fig. 6과 같았다. *Str. faecium* C, *L. casei* Y, *Str. faecalis* 그리고 *Cl. butyricum* M에 의한 대장균의 증식억제는 배양 초기부터 현저하게 나타났다. 그리고 그 증식억제 경향은 혼합배양한 유기산 생성균주에 따라 많은 차이가 있음이 인정되었다. *E. coli* A₂는 *Str. faecium* C와 *L. casei* Y에 의해서 배양 24시간, *Str. faecalis*에 의해서는 배양 48시간 내에 완전히 사멸되었다. 그러나 *Cl. butyricum* M과 혼합 배양 될 때는 *E. coli* A₂가 배양 72시간까지도 사멸되지 않았으며 생균수를 5×10⁵ CFU/ml로 계속 유지하였다.

Fig. 6에 나타난 바와 같이 *E. coli* G₇도 Fig. 5에서 보여주는 *E. coli* A₂의 생육 억제 결과와 비슷한 경향을 나타냈으나, *Str. faecium* C와 *L. casei* Y에 의해서 배양 16시간, *Str. faecalis*에 의해서는 배양 24시간 내에 완전히 사멸되었다. 따라서 *E. coli* A₂가 *E. coli* G₇ 보다 유기산 생성균이 생산한 항균성 물질에 대하여 더 높은 내성을 갖고 있음이

확인되었고 이 결과는 앞서 제시한 Fig.1, Fig.2의 성적과 일치한다고 보여진다.

특히 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇이 사멸되기 시작하는 배양시간은 배양 8시간째부터 였는데, 이때 배양액의 pH를 살펴보면 공히 4.5 이하였다. 그러나, *E. coli* A₂ 또는 *E. coli* G₇만 단독으로 배양할 때 그 배양액의 pH는 5.0 이하로 저하되지는 않았으며, *E. coli* A₂ 또는 *E. coli* G₇과 *Cl. butyricum* M을 혼합 배양하였을 때도 배양액의 pH는 4.7 이하로 떨어지지 않았다.

이상의 결과로 보면, 병원성 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇의 사멸효과는 혼합배양액의 pH 4.5를 기점으로 하여 그 이하에서 현저하게 나타남을 알 수 있다. 성 등(25)은 *Bif. longum*의 YS 배양액이 pH 4.3에서 *E. coli* A₂를 사멸시킨다고 하였고, Rubin 등(32)도 *Str. thermophilus*와 *L. bulgaricus*의 우유 배양액의 pH 4.54에서 *Sal. typhimurium*에 대한 높은 살균력을 갖는다고 보고하였는데 위의 성적과 일치한다고 보겠다. 이러한 현상은 다

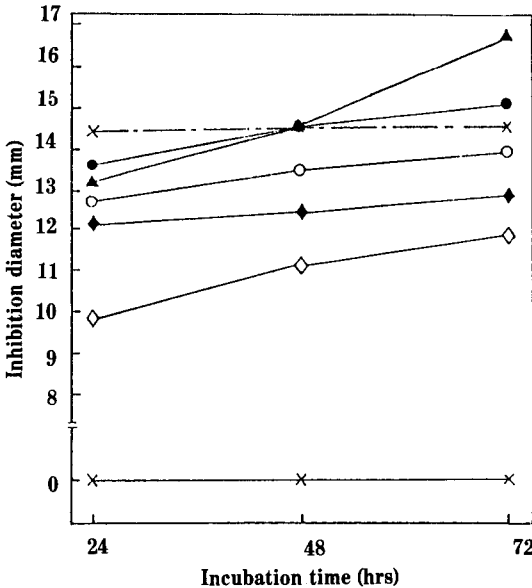


Fig. 4. Growth inhibition zones of *E. coli* G₇ on Nutrient agar plate on which has been placed 7 disks, each containing a different BL broth culture filtrate of organic acid bacteria at various incubation time. The culture filtrates were all adjusted to pH 4.0 with 2N HCl or 2N NaOH.

- ▲-▲ : *L. casei* Y
- : *Str. faecium* C
- x---x : Lactic acid
- ◆-◆ : *B. toyoi*
- ◇-◇ : *Cl. butyricum* M
- x-x : HCl
- : *Str. faecalis*

음과 같이 설명될 수 있다. 유기산 생성균이 생산한 유산, 초산을 비롯한 각종 유기산의 축적으로 인하여 그 배양액의 pH가 저하 될수록 배양액내 불해리 상태의 유기산 농도가 점점 높아지게 되고, 그 불해리 유기산이 유해균 세포막을 통과하는 양은 가속화 된다. 일단 미생물 세포속으로 들어온 유기산은 거의 음이온 상태의 해리 유기산으로 변화되어 세포막 밖으로 배출되지 못하고 계속 축적되어 세포의 대사 과정에 유해인자로 작용하여 정균력 또는 살균력을 갖는 것으로 믿어진다(32, 33). 따라서 유기산 생성균의 대사산물중 병원성 *E. coli*에 대한 중요한 항균성 물질로는 유기산(유산, 초산 등)이며, 유기산 생성 능력이 우수한 균일수록 병원성 대장균에 대한 높은 항균력을 나타낼 것으로 사료된다.

***L. casei* Y, *Str. faecium* C와 병원성 대장균의 상호증식 억제**

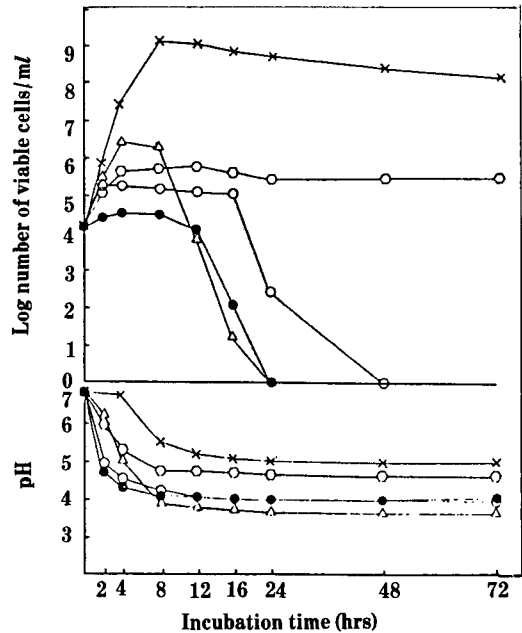


Fig. 5. Effect of each organic acid bacterium on the growth of *E. coli* A₂ in BL broth medium and changes of pH levels of the cultures.

- x-x : Control; *E. coli* A₂ only (10⁴ cfu/ml)
- : Growth of *E. coli* A₂, incubated with *Cl. butyricum* M(10⁸ cfu/ml)
- : Growth of *E. coli* A₂, incubated with *Str. faecalis* (10⁸cfu/ml)
- : Growth of *E. coli* A₂, incubated with *Str. faecium* C(10⁸ cfu/ml)
- △-△ : Growth of *E. coli* A₂, incubated with *L. casei* Y (10⁸ cfu/ml)

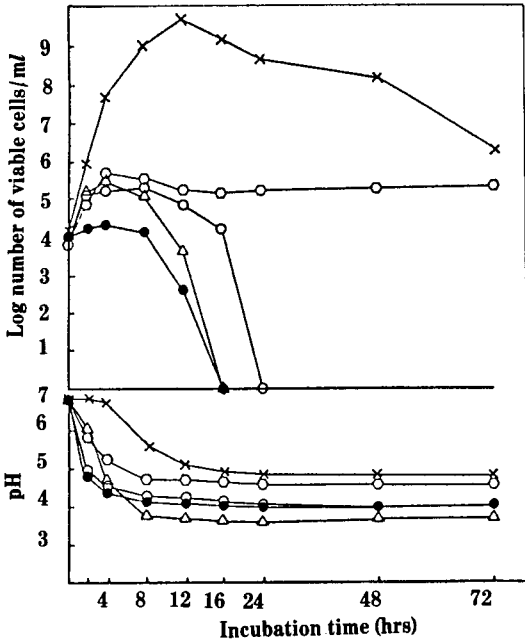


Fig. 6. Effects of each organic acid bacteria on the growth of *E. coli G7* in BL broth medium and changes of pH levels of the cultures.

▲-▲ : Control; *E. coli G7* only (1×10^4 cfu/ml)
 ○-○ : Growth of *E. coli G7*, incubated with *Cl. butyricum* M(10^8 cfu/ml)
 ○-○ : Growth of *E. coli G7*, incubated with *Str. faecalis* (10^8 cfu/ml)
 ●-● : Growth of *E. coli G7*, incubated with *Str. faecium* C(10^8 cfu/ml)
 △-△ : Growth of *E. coli G7*, incubated with *L. casei* Y (10^8 cfu/ml)

유기산 생성균과 대장균이 상호증식에 미치는 영향을 파악하기 위하여 유기산 생성 능력이 우수한 *L. casei* Y와 *Str. faecium* C를 *E. coli A2* 또는 *E. coli G7*과 BL broth에 혼합 배양하였는데, 그 결과는 각각 Fig. 7, Fig. 8과 같았다.

L. casei Y를 *E. coli A2* 또는 *E. coli G7*과 혼합 배양하였을 때, *E. coli A2*와 *E. coli G7*의 생육은 배양 12시간부터 서서히 저해되었고 배양 24시간 이후에는 현저하게 저해되었는데, 그때마다 배양액의 pH는 5.5와 4.5였다. *E. coli G7*은 배양 72시간 이내에 완전히 사멸되었다. 그러나 *E. coli A2*는 사멸되지 않았고 배양 48시간 부터 72시간까지 유사한 생균 수 수준을 유지하였다. 한편 *L. casei* Y의 생육은 *E. coli A2*와 *E. coli G7*에 의해 전혀 저해되지 않는 것으로 나타났다.

Str. faecium C를 *E. coli A2* 또는 *E. coli G7*

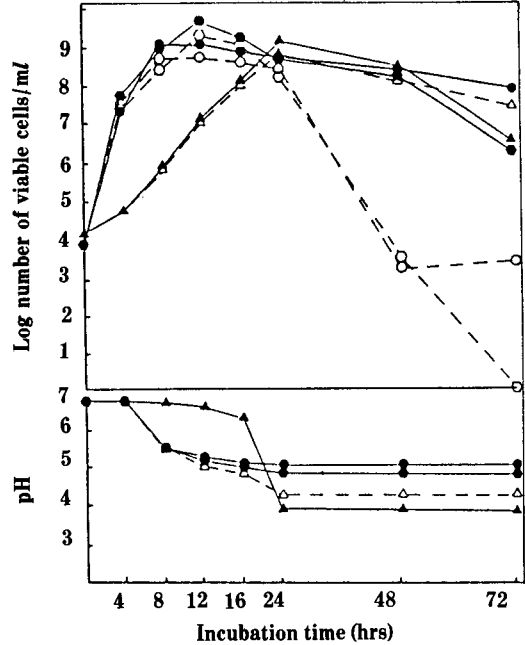


Fig. 7. Competitive and noncompetitive growth between *L. casei* Y and *E. coli* (*A2* or *G7*) in BL broth medium, and changes of pH level in the cultures.

▲-▲ : Non competitive growth of *L. casei* Y
 ●-● : Non competitive growth of *E. coli A2*
 ●-● : Non competitive growth of *E. coli G7*
 △-△ : Competitive growth of *L. casei* Y
 ○-○ : Competitive growth of *E. coli A2*
 ○-○ : Competitive growth of *E. coli G7*

과 혼합 배양하였을 때, *E. coli A2*와 *E. coli G7*은 배양 4시간부터 생육 저해현상을 나타내었고, 배양 8시간부터 사멸되기 시작하여 배양 12시간 부터는 현저히 사멸되었다. 배양 4, 8, 12시간 때마다 그 배양액의 pH는 각각 7.0, 4.3, 4.2였다. *E. coli G7*은 배양 72시간 이내에 완전히 사멸하였으나 *E. coli A2*는 사멸되지 않았다. *Str. faecium* C의 생육도 *L. casei* Y 같이 *E. coli A2*와 *E. coli G7*에 의해 전혀 저해되지 않았다.

유산과 염산의 pH별 항균성

유산과 염산으로 pH를 4.5, 5.0, 5.5로 조정된 BL broth에 *E. coli A2*와 *E. coli G7*이 성장할 때, pH에 따라 유산과 염산이 이들 대장균에 미치는 항균성을 비교하여 보았다.

Fig. 9, Fig. 10에 나타난 바와 같이, BL broth의 pH가 4.5였을 때 유산은 *E. coli A2*를 배양 72시간, *E. coli G7*을 배양 48시간 내에 사멸시켰다. 그

러나 염산은 *E. coli* A₂를 배양 72시간까지 사멸시키지 못하였고 *E. coli* G₇을 배양 72시간째에 사멸시켰다. 배지의 pH가 5.0이었을 때는, 유산은 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 대한 생균 억제력을 뚜렷이 나타내었으나 염산은 이들 두 균주에 대하여 미약한 항균성을 보였다.

지금까지의 성적을 종합하여 볼때, *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇의 생육억제가 BL 배양액의 pH 저하와 함께 나타난 것으로 보아, 본 실험에 사용한 유기산 생성균들이 생산한 대사산물 중 주된 생육 억제 물질은 유기산인 것으로 판단되었다. 그리고, 유산이 염산 보다는 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 대하여 현저히 높은 항균력을 갖고 있었는데 이는 유기산이 배양액의 pH를 저하시킴과 동시에 두 대장균의 생육을 저해하는 독성물질로 직접 작용하였음을 보여준다고 하겠다. 따라서 혐기상태에서 유기산 생산능력이 우수한 균을 선발하여 사료 첨가용 생균제제로 사용하면 자돈의 대장균증 설사병 예방과 치료는 물론 증체 효율도 개선될 것으로 사료된다.

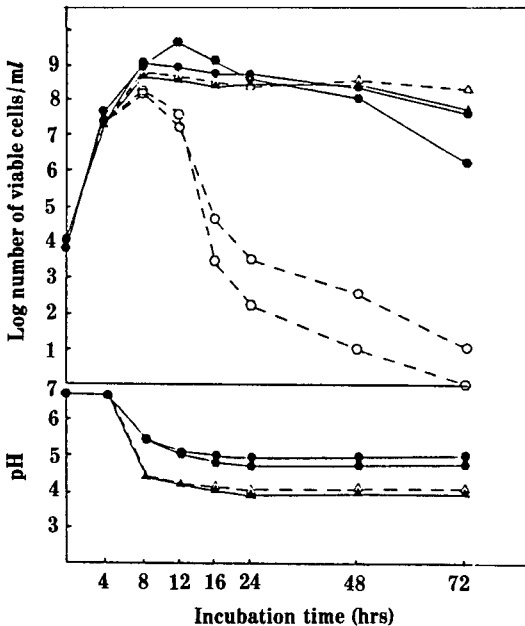


Fig. 8. Competitive and noncompetitive growth between *Str. faecium* C and *E. coli* (A₂ or G₇) in BL broth medium, and changes of pH level in the cultures.

- ▲-▲ : Non competitive growth of *Str. faecium* C
- : Non competitive growth of *E. coli* A₂
- : Non competitive growth of *E. coli* G₇
- △-△ : Competitive growth of *Str. faecium* C
- : Competitive growth of *E. coli* A₂
- : Competitive growth of *E. coli* G₇

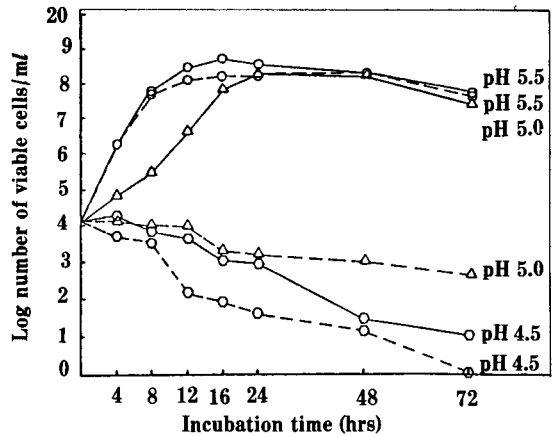


Fig. 9. Growth of *E. coli* A₂ in BL broth medium adjusted to various pH by lactic acid and HCl.

- : Lactic acid
- : HCl

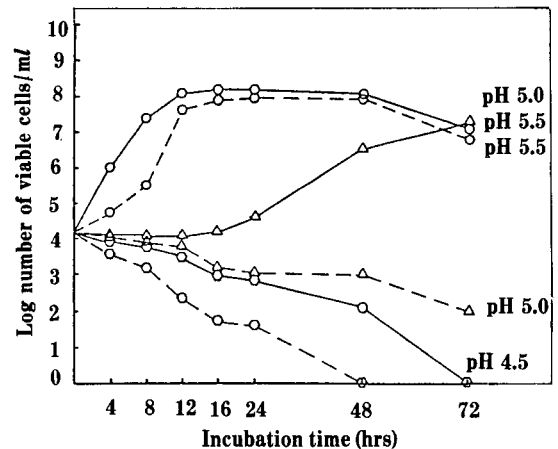


Fig. 10. Growth of *E. coli* G₇ in BL broth medium adjusted to various pH by lactic acid and HCl.

- : Lactic acid
- : HCl

요 약

유기산 생산균인 *L. casei* Y, *Str. faecium* C, *Str. faecalis*, *Cl. butyricum* M, *B. toyoi*를 사료 첨가제와 발효유로 부터 분리 확인하여 이들 균주가 자돈의 대장균증 설사를 유발시키는 *E. coli* A₂, *E. coli* G₇에 대하여 *in vitro*에서는 어떤 항균효과를 나타내는지 조사한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. *L. casei* Y, *Str. faecium* C, *Str. faecalis*, *B. toyoi*, *Cl. butyricum* M을 각각 배양한 BL

broth 3일 배양액은 모두 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 대하여 항균효과를 나타내었고, 이들 배양액을 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 대한 발육 Disc 확산 시험 결과 그 저지환 직경은 각각 15mm와 17mm, 14mm와 15mm, 13mm와 14mm, 11mm와 13mm, 10mm와 12mm 였다.

2. 유기산 생산 능력이 우수한 균일수록 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇에 대한 항균력이 높게 관찰되었으며, *L. casei* Y와 *Str. faecium* C가 이들 두 대장균에 대하여 높은 항균력을 나타내었다.

3. 유기산 생성균과 대장균(A₂, G₇)을 BL broth에 혼합 배양할 때 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇은 배양액의 pH가 5.0 이하일 때 생육억제 되었고, pH 4.5 이하였을 때 사멸되었다.

4. 생성된 유기산은 배양액의 pH를 저하시킴과 동시에 항균성 물질로 직접 작용하여 *E. coli* A₂와 *E. coli* G₇의 생육저해 또는 사멸을 유도하였다.

5. *E. coli* A₂가 *E. coli* G₇보다 유기산 생산균의 대사산물에 대하여 더 높은 내성을 갖고 있었다.

참고문헌

1. 光岡知足 : 야쿠르트 科學性에 關한 研究資料, p. 3(1980).
2. Sandine, W.E.: *J. Food Protect.* **42**(3), 259-262 (1979).
3. 湧口浩也, 工藤力, 小此木成夫 : *New Food Industry* **29**(7), 71(1987).
4. Smith, H.W.: *Annals of the New York Academy of Sci.* **76**, 110 (1971).
5. 장우현 : 야쿠르트 科學性에 關한 研究資料, p. 13(1980).
6. Huhtanen, C.N.: *J. Food Protect.* **41**(4), 289 (1978).
7. Yokokura, T., T. Yajima, and S. Hashimoto: *Life Sci.* **21**, 59 (1977).
8. Hosono, A., Yaszuto K., and Tokita F.: *Milchwissenschaft*, **32**(12), 727 (1977).
9. Shahani, K.M., J.R. Vakil, and A. Kilara: *Cultured Dairy Products J.* **12**, 8 (1977).
10. Muralidhara, K.S., G.G. Sheggeby, P.R. Elliker, D.C. England, and W.E. Sandine: *J. Food Protect.* **40**(5), 288 (1977).
11. Fuller, R., S.B. Houghton, and B.E. Brooker: *Appl. Environ. Microbiol.* **41**(6), 1433 (1981).
12. 口邊乾二 : *New Food Industry* **29**, 61(1987).
13. 高野後明 : 乳技協資料 **37**(2), 1(1987).
14. Kim, B.H.: *J. Kor. Vet. Med. Ass.* **17**(3), 16 (1981).
15. Kim, B.H., Kim D.S., and Lee C.K.: *Korean J. Vet. Res.* **21**(2), 81 (1981).
16. Kim, B.H., Rhee J.C., Kim K.S., and Han T.W.: *Korean J. Vet. Res.* **20**(2), 85 (1980).
17. Choi, C.S.: *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.*, **7**(1), 39 (1983).
18. Corliss, T.L., P.S. Cohen, and V.J. Cabell: *Appl. Environ. Microbiol.* **41**(4), 959 (1981).
19. Sandine, W.E., K.S. Muralidhara, P.R. Elliker, and D.C. England: *J. Milk Food Technol.* **35**(12), 691 (1972).
20. Hale, O.M., and G.L. Newton: *J. Anim. Sci.* **48**, 770 (1979).
21. Pollmann, D.S., D.M. Danielson, and E.R. Peo: *J. Anim. Sci.* **51**, 638 (1980).
22. Ozawa, K., K. Yabu-Uchi, K. Yamanaka, Y. Yamashita, S. Nomura, and I. Oku: *Appl. Environ. Microbiol.* **45**(5), 1513 (1983).
23. Gilliland, S.E., B.B. Bruce, L.J. Bush, and T.E. Staley: *J. Dairy Sci.* **63**, 964 (1980).
24. 한인규, 채병조, 박응복, 이광득 : 한국영양사료 연구회보, **6** (1), 63(1982).
25. Sung, M.H., H.J. Shin, and K.H. Kang: *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **13**(3), 203 (1985).
26. Yoo, Y.H., Lee Y.W., and Yoon K.B.: *J. Kor. Publ. Hlth. Asso.* **9**(2), 61 (1983).
27. Choi, C.S., J.B. Chung, S.I. Chung, and Y.T. Yang: *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.* **8**(1), 49 (1984).
28. Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Williams and Wilkins, 8th ed., Baltimore (1974).
29. Kim, B.H.: *Kor. J. Vet. Res.* **21**(2), 87 (1981).
30. 光岡知足 : 腸内菌の世界, 叢文社(1980).
31. De Man, J.C., M. Rogosa, and M.E. Sharpe: *J. Appl. Bacteriol.* **23**, 130 (1960).
32. Rubin, H.E., and F. Vaughan: *J. Dairy Sci.* **62**(12), 1873 (1979).
33. Rubin, H.E., T. Nerad, and F. Vaughan: *J. Dairy Sci.* **65**(2), 197 (1982).

(Received February 26, 1988)