

## 개발된 *Bifidobacterium*의 선택배지 개발

지근억 · 이세경 · 김인희  
한림대학교 식품영양학과

### Improved Selective Medium for Isolation and Enumeration of *Bifidobacterium* sp.

Geun-Eog Ji, Se-Kyung Lee and In-Hee Kim

Department of Food Science and Nutrition, Hallym University

#### Abstract

In order to develop a new improved selective medium for the *Bifidobacterium* sp. from the human fecal samples, one hundred eight *Bifidobacterium* strains were isolated and identified. Sensitivity test for the antibiotics and antimetabolites and test for the specific substrate were performed to obtain basic data for the development of the *Bifidobacterium* selective medium. TOS(transgalactosylated oligosaccharide) was shown to be preferentially used by *Bifidobacterium* sp.. Sodium propionate promoted the growth of *Bifidobacterium* while inhibiting other intestinal bacteria. Upon these results, TP medium was designed and shown to be very effective for the selection of *Bifidobacterium* and better than Mitsuoka BS medium.

Key words: *Bifidobacterium*, selective medium, TP medium

#### 서 론

일본과 유럽 및 우리나라에서는 유산균 음료를 제조하기 위하여 과거에는 *Lactobacillus*와 *Streptococcus*를 주로 이용하여 왔으나 최근에는 위의 균주들 뿐만 아니라 편성 혐기성균인 *Bifidobacterium*도 널리 사용하는 추세로 변화하였다. 보통 성인의 장내에는 *Bifidobacterium*이 *Lactobacillus*와 *Streptococcus*에 비하여 100배 이상의 균수로 존재한다<sup>(1-3)</sup>. 모유를 먹는 아기에는 *Bifidobacterium*이 우세하나, 인공유를 먹는 아기는 대장균, *Clostridium* 등의 숫자가 증가하며 병의 이환율, 설사 등이 아울러 증가한다<sup>(1-3)</sup>. 이 외에도 *Bifidobacterium*은 acetic acid와 lactic acid를 3:2로 생산하여 정장효과가 *Lactobacillus* 보다 크며, 생산하는 lactic acid도 L(+)-lactic acid만을 생산하기 때문에 D(-)-lactic acid의 위해성이 없다<sup>(4)</sup>. 일본의 경우, 식이섬유, 올리고당 등 변비 완화 및 정장작용에 관련된 소재가 기능성 식품 시장중 중요한 부분을 차지하고 있다. 이와 같은 이유에서 *Bifidobacterium* 증식 촉진 작용이 있는 것으로 알려진 fructo 올리고당도 새로운 기능성 식품으로 수요가 현저하게 증가되어 많은 판매가 이루어지고 있다. 그러나 현재 우리나라에서 형성되어지고 있는 유산균 음료시장은 외국의 기술에 전적으로 의존하고 있는 실정이고 기능성 식품

들이 대장균의 균총에 미치는 영향에 관한 자료도 전적으로 외국에서의 연구 결과들이다. 앞으로 우리나라에서 자체적으로 1) 한국인의 대장 상재 균총조사, 2) 식품, 의약품 및 환경 인자들이 장내의 상재 균총에 미치는 영향 평가, 3) 다양한 질병과 장내균총과의 상관관계 평가, 4) 장내로부터의 유용 균주를 효율적으로 탐색 및 선발할 수 있어야 할 것이다. 이를 위하여는 효율적인 장내균 선택 배지를 개발하여야 하는데 *Bifidobacterium* 선택배지 중 Mitsuoka<sup>(5)</sup>에 의하여 개발되었고 가장 일반적으로 이용되고 있는 BS(*Bifidobacterium* selective medium)배지에 대하여 문제점이 제기된 바 있다<sup>(6,7)</sup>. 이에 본 연구에서는 대장 상재 균총중 *Bifidobacterium*을 효율적으로 선택하는 배지를 조사하여 장내균총 조사 및 효율적인 유용 *Bifidobacterium* 분리의 기초로 활용하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

실험에 사용된 각종 항생제 및 대사저해제는 Sigma 회사로부터 구입하였다. 또한 여러 종류의 PNP(para-nitrophenol)-glycoside들도 Sigma 회사로부터 구입하였다. TOS(Transgalactosylated oligosaccharide)는 일본의 야쿠르트 주식회사로부터 구입하였다. 항생제 및 대사저해제에 대한 내성 검사시 사용된 *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Bifidobacterium adolescentis* ATCC 15703, *B. longum* ATCC 15707, *B. infantis* ATCC 15697, *B.*

Corresponding author: Geun-Eog Ji, Department of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chunchon, Kangwondo 200-702, Korea

*breve* ATCC 15700, *B. bifidum* ATCC 29521, *Eubacterium limosum* ATCC 8486, *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Cl. ramosum* ATCC 25582, *Cl. butyricum* ATCC 19398, *Escherichia coli* ATCC 11775 등은 ATCC (American Type Culture Collection)로부터 구입하였고 *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3145는 한국과학 기술 연구원 유전자 은행으로부터 분양받았다.

균주의 분리

여러 연령층의 지원자로부터 대변을 받는 즉시 혐기성 회석용액으로 십진 회석을 하고 평판 배지에 도달후 배양하여 나타난 colony를 분리하였다. 혐기성 배양은 Anaerobic Jar(BBL), Anaerobic Controlled Glove Box (Lab Line Instrument, Inc., U.S.A), Steel-Wool Method<sup>(5)</sup>에 의하여 실시하였다. *Bifidobacterium*을 분리하기 위하여 비선택배지 및 선택배지로는 BL(Briggs liver)과 EG, BS배지를 사용하였다<sup>(5)</sup>. *Bifidobacterium* 이외의 균주들의 분리도 Mitsuoka의 방법에 따랐다<sup>(5)</sup>. 분리된 균주들은 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology<sup>(8)</sup>와 Mitsuoka의 'A Color Atlas of Anaerobic Bacteria'에 준하였다<sup>(5)</sup>. 분리된 균주에 대한 액체 배양을 위하여는 BHI(Brain Heart Infusion) 배지를 사용하였고 발효능 실험용 배지로는 PYF배지를 사용하였다<sup>(7)</sup>. 이때 사용된 당들은 10% 용액을 0.45 µm membrane filter(Gelman Sciences)으로 여과하여 최종 농도가 0.5% 되도록 조정하였다. TOS배지의 조제는 Koichiro의 방법을 따랐다<sup>(9)</sup>. 발효산물중 휘발성 지방산과 젖산의 조성을 조사하기

위해 glucose가 첨가된 PYF배지에서 생산된 산을 gas chromatography(Hewlett Packard HP 5890 A GC, 530 µm HP-20M column)을 사용하여 분석하였다.

분리균주의 효소 spectrum비교

각 분리 균주의 효소 spectrum은 지와 이의 방법<sup>(10)</sup>을 이용하여 조사하였다.

결과 및 고찰

*Bifidobacterium*균주의 분리

*Bifidobacterium*은 BL 비선택배지에서 갈색으로 자라고, 기존의 BS 선택배지에서 자라는 균은 대부분 *Bifidobacterium*이므로 이들을 배지상에서 분리하였다. 분리된 균주들은 그림양성 간균으로 포자를 형성하지 않으며 fructose-6-phosphoketolase(F6PPK) 양성으로 acetic acid와 lactic acid를 주 발효산물로 생산하였을 때 최종적으로 *Bifidobacterium*에 속하는 것으로 확정하였다. 분리된 균주들중 몇 가지의 *Bifidobacterium*에 대한 특징을 Table 1-2에 예로써 나타내었다. 당 발효능에 있어서는 다양한 능력을 보였지만 효소 보유 패턴에 있어서는 비슷하였다. 당 발효능은 2일 후에 측정하였다. 종의 수준까지 동정하기 위하여는 보완적인 실험이 필요하나 본 연구에서는 *Bifidobacterium* 균주들을 속의 수준에서 선택적으로 분리하는 배지를 개발하려고 하였기 때문에 *Bifidobacterium*속에 속하는 것을 확인하고 종 수준의 동정에 필요한 세부적인 실험을 수행하지는 않

Table 1. Fermentation of carbohydrates by the isolated *Bifidobacterium* strains

Strain carbohydrate	Int-57	KH Hal	KH Hoi2	Chan2	Chan5	LSK-3	BL27	BL29	BL60	BL70
arabinose	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
cellobiose	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
esculin	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
fructose	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
gluconate	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
inulin	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
maltose	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
mannitol	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+
mannose	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-
raffinose	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
salicine	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-
sorbitol	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
starch	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
trehalose	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
xylose	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-

**Table 2. Glycosidase pattern of the isolated *Bifidobacterium* strains**

	Int57	KH Hal	KH Hoi2	Chan2	Chan5	LSK3	BL27	BL29	BL60	BL70
$\alpha$ -glucosidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$\beta$ -glucosidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$\alpha$ -galactosidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$\beta$ -galactosidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$\alpha$ -arabinofuranosidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$\beta$ -xylosidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
$\beta$ -glucuronidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -fucosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PNPCase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -mannosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
chitobiase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -galacturonidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Table 3. Susceptibility of intestinal bacteria to antimicrobial agents using BL as basal medium**

Antimicrobial agents		LiCl (30g/l)	paromomycin (50 mg/l)	vancomycin (5 mg/l)	neomycin (200 mg/l)
Bacterial strains					
<i>Bifidobacterium</i> isolated from non-selective media		28/28*	28/28	0/28	21/28
<i>B. adolescentis</i>	ATCC 15703	+	+	-	+
<i>B. longum</i>	ATCC 15707	+	+	-	+
<i>B. infantis</i>	ATCC 15697	+	+	-	+
<i>B. bifidum</i>	ATCC 29521	+	+	-	+
<i>Bifidobacterium</i> isolated from selective media		19/19	19/19	2/21	18/20
<i>Bac. fragilis</i>	ATCC 25285	+	-	+	+
<i>Eu. limosum</i>	ATCC 8486	+	+	-	+
<i>Cl. perfringens</i>	ATCC 13124	+	-	-	+
<i>Cl. ramosum</i>	ATCC 25582	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	ATCC 11775	+	-	+	-
<i>Cl. butyricum</i>	ATCC 19398	+	-	-	+
<i>L. acidophilus</i>	KCTC 3145	+	-	-	+
Bacterial strains	(15 g/l) (pH 7.0)	sodium propionate (15 g/l) (pH 5.0)	sodium propionate (100 mg/l)	kanamycin	
<i>Bifidobacterium</i> isolated from non-selective media		24/24	25/27	5/6	
<i>B. adolescentis</i>	ATCC 15703	+	+	+	
<i>B. longum</i>	ATCC 15707	+	+	+	
<i>B. infantis</i>	ATCC 15697	+	+	-	
<i>B. bifidum</i>	ATCC 29521	+	+	+	
<i>Bifidobacterium</i> isolated from selective media		27/27	27/29		
<i>Bac. fragilis</i>	ATCC 25285	-	-	+	
<i>Eu. limosum</i>	ATCC 8486	+	-	+	
<i>Cl. perfringens</i>	ATCC 13124	+	-	+	
<i>Cl. ramosum</i>	ATCC 25582	+	-	-	
<i>E. coli</i>	ATCC 11775	+	-	-	
<i>Cl. butyricum</i>	ATCC 19398	+	+	-	
<i>L. acidophilus</i>	KCTC 3145	+	+	-	

\*represents the number of strains resistant (numerator) out of strains tested(denominator)

+: growth occurred

**Table 4. Susceptibility of intestinal bacteria to antimicrobial agents using EG as basal medium**

Antimicrobial agents Bacterial strains	neomycin (200 mg/l)	kanamycin (100 mg/l)	oleandomycin (10 mg/l)	streptomycin (500 mg/l)	nalidixic acid (200 mg/l)
<i>Bifidobacterium</i> isolated from non-selective media	26/58	38/53	12/56	3/51	44/47
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15703	—	+	—	—	+
<i>B. longum</i> ATCC 15707	—	+	—	—	—
<i>B. infantis</i> ATCC 15697	—	—	—	—	+
<i>B. bifidum</i> ATCC 29521	—	—	—	—	+
<i>Bifidobacterium</i> isolated from selective media	12/29	25/32	5/36	2/29	32/35
<i>Bac. fragilis</i> ATCC 25285	+	+	—	w	+
<i>Eu. limosum</i> ATCC 8486	+	—	—	+	+
<i>Cl. perfringens</i> ATCC 13124	+	+	+	—	—
<i>Cl. ramosum</i> ATCC 25582	—	—	—	—	—
<i>E. coli</i> ATCC 11775	—	—	+	—	—
<i>Cl. butyricum</i> ATCC 19398	—	—	—	—	—
<i>L. acidophilus</i> KCTC 3145	—	—	—	—	—

Bacterial strains	crystal violet (7 mg/l)	taurocholate (100 mg/l)	vancomycin (5 mg/l)	brilliant green (4 mg/l)	lincomycin (1 mg/l)
<i>Bifidobacterium</i> isolated from non-selective media	20/47	55/55	3/59	23/52	7/28
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15703	—	+	—	+	—
<i>B. longum</i> ATCC 15707	—	+	—	—	—
<i>B. infantis</i> ATCC 15697	—	+	—	—	—
<i>B. bifidum</i> ATCC 29521	—	+	—	—	—
<i>Bifidobacterium</i> isolated from selective media	20/36	49/49	2/49	21/32	4/30
<i>Bac. fragilis</i> ATCC 25285	—	+	+	—	—
<i>Eu. limosum</i> ATCC 8486	+	+	—	+	—
<i>Cl. perfringens</i> ATCC 13124	+	+	—	+	—
<i>Cl. ramosum</i> ATCC 25582	—	—	—	—	—
<i>E. coli</i> ATCC 11775	+	+	+	+	+
<i>Cl. butyricum</i> ATCC 19398	+	+	—	+	+
<i>L. acidophilus</i> KCTC 3145	—	—	—	—	—

W: weak

았다.

**분리된 *Bifidobacterium*에 대한 항생제, 대사저해제 및 선택적 기질의 작용검사**

10여명의 한국인들로부터 분리 동정한 *Bifidobacterium*을 대상으로 neomycin sulfate(200 mg/l)와 kanamycin(100 mg/l)에 대한 감수성을 BL과 EG를 기본배지로 하여 조사하였을 때 EG배지에서 감수성이 큰 것으로 나타났다(Table 3, 4). Mitsuoka가 개발한 BS배지는 BL배지에 neomycin과 paromomycin을 첨가한 것인데 neomycin이 일부의 *Bifidobacterium*을 사멸시키는 것으로 나타났다. Paromomycin과 sodium propionate는 *Bifidobacterium*은 저해하지 않았고 *Bac. fragilis*, *Eu. limosum*, *Cl. ramosum* 등 다른 종류의 균들을 저해하였다. 특히 propionate가 첨가된 경우는 첨가되지 않았을 때

보다 *Bifidobacterium* colony가 더욱 크게 나타났다. Ryuichiro와 Masahiko에 의하여 발표된 PSM배지도 nalidixic acid 항생제를 사용한 문제점을 갖고 있었다<sup>(11)</sup>. 그 동안 BS배지의 문제점에 대하여 지적되어 왔으므로<sup>(6,7,12)</sup> 본 연구에서는 항생제를 사용하는 배지의 문제점을 극복할 수 있는 선택배지를 조사하기 위하여 유산균 제품의 *Bifidobacterium* 선택배지로 개발된 TOS배지에 대하여 기준 균주들을 사용하여 조사하여 보았다. 그 결과 분리된 모든 *Bifidobacterium*이 TOS배지에서 사멸하지 않고 잘 자라는 것으로 나타났고 분양받은 *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, 대장균 등은 대부분 자라지 않거나 미세한 colony를 만드는 것으로 나타났다. 그러나 TOS배지를 사용하여 분변의 균총을 배양하였을 때는 *Bacteroides*와 *Streptococcus*의 일부가 자랐고 *Bifidobacterium*도 colony의 크기에 있어서 다양하였다. Propio-

nate는 *Bifidobacterium*의 증식을 촉진시키지만 다른 여러 종류의 균들에 대하여는 증식을 억제하기 때문에 Kochiro 등<sup>(9)</sup>은 propionate(1.5 g/l)를 첨가하고 pH를 5.0으로 조절한 배지를 발표하였다. 이 배지는 *Bifidobacterium*만이 선택적으로 배양하였을 때 비선택배지에서 자라는 *Bifidobacterium* colony 숫자의 20% 이하만이 위 배지에서 자란다. 본 연구에서는 이상의 연구자들에 의한 *Bifidobacterium* 선택배지의 한계를 극복하고 단점을 보

완하기 위하여 *Bifidobacterium*에 의하여 선택적으로 이용되는 TOS와 다른 장내 세균들에 대하여는 사멸 능력이 있지만 *Bifidobacterium*에 대하여는 증식 촉진 작용이 있는 propionate의 이용, 그리고 *Bifidobacterium*의 증식을 방해하지 않는 중성부근의 pH를 갖는 배지로서 TP (Transgalactooligosaccharide-propionate)배지를 고안하였다(Table 5). TP배지에서 *Bacteroides*는 전혀 자라지 못하였고 *Bifidobacterium*의 colony는 TOS배지에 비하여 크고 균일하여 졌으며(2일 배양후 약 1.5 mm의 콜로니 크기가 되었음) 일부의 *Eubacterium*와 *Streptococcus*가 자라는 경우가 있었지만 이들은 콜로니가 매우 적어서 *Bifidobacterium*의 균수 counting과 선택적 배지로서의 역할에 문제가 되지 않았다. 다양한 종류의 기준 균종 및 분리 균주에 대한 TP배지의 선택성 실험 결과는 Table 7에 나타내었다. Table 6에서 보는 바와 같이 *Bifidobacterium*은 모두 TP배지에서 잘 자랐고 사용된 다른 종류의 세균들은 전혀 자라지 못하였다. TP를 이용하여 7인의 분변중의 *Bifidobacterium* 숫자를 조사한 결과는 Table 7에 나타내었다. TP 배지는 Mitsuoka의 BS 보다 유의적으로 높은 CFU(colony forming units)를 나타내었을 뿐만 아니라 BL 비선택배지에서 셀 수 있는 *Bifidobacterium*의 균수에 근접함을 알 수 있었다. Hirokazu 등은 최근 *Bifidobacterium*이 첨가된 유산균 제품을 분석하기 위한 배지로서 GL(galactose)배지<sup>(14)</sup>를 사용하여 유럽시장의 유산균 제품 중 *Bifidobacterium* 균수를 측정하여 발표한 바 있다. 본 실험실에서는 Mitsuoka의 GL배지와 본 실험실에서 개발한 TP배지를 사용하여 유산균 제품에서의 선택적 *Bifidobacterium* counting을

**Table 5. Composition of TP medium**

Component	Amount
Trypticase (BBL)	10g
Proteose Peptone No.3 (Difco)	5g
Ammonium sulfate	3g
Potassium phosphate, monobasic	2g
Potassium phosphate, dibasic	1g
L-cysteine·HCL	0.5g
Magnesium sulfate	0.2g
Agar	15g
Filter-sterilized 20% TOS(Yakult)	50 ml
Filter-sterilized 30% sodium propionate pH 7.0	50 ml(pH 7.0)/liter.

**Table 6. Growth of intestinal bacteria on TP medium**

strain	Growth
<i>Bifidobacterium</i> isolated in this lab	100% growth(108/108)
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15703	+
<i>B. longum</i> ATCC 15707	+
<i>B. infantis</i> ATCC 15697	+
<i>B. bifidum</i> ATCC 29521	+
<i>B. breve</i> ATCC 15700	+
<i>Bac. fragilis</i> ATCC 25285	-
<i>Bacteroides</i> isolated in this lab	none (0/38)
<i>Eu. limosum</i> ATCC 8486	-
<i>Cl. perfringens</i> ATCC 13124	-
<i>Cl. ramosum</i> ATCC 25582	-
<i>Cl. butyricum</i> ATCC 19398	-
<i>E. coli</i> ATCC 11775	-
<i>L. acidophilus</i> KCTC 3145	-

**Table 8. Counts of viable Bifidobacteria on TP-agar medium and total bacteria on BL-agar medium in commercial yogurt sold in Korea**

Sample	Bifidobacteria counts (cfu/ml)	Total bacterial counts (cfu/ml)
A	1.0×10 <sup>5</sup>	5.5×10 <sup>8</sup>
B	1.5×10 <sup>5</sup>	4.8×10 <sup>8</sup>
C	7.4×10 <sup>6</sup>	4.5×10 <sup>8</sup>
D	<10 <sup>3</sup>	2.5×10 <sup>8</sup>
E	<10 <sup>3</sup>	8.1×10 <sup>8</sup>
F	<10 <sup>3</sup>	2.9×10 <sup>8</sup>

**Table 7. Enumeration of Bifidobacterium spp. in the human fecal samples using non-selective and selective media (CFU/g, wet feces)**

Subjects	3 years male	9 years male	26 years female	34 years female	37 years male	59 years female	64 years male
Non-selective medium	BL 2.1×10 <sup>10</sup>	3.2×10 <sup>10</sup>	1.2×10 <sup>10</sup>	2.8×10 <sup>10</sup>	5.0×10 <sup>10</sup>	1.7×10 <sup>10</sup>	2.6×10 <sup>10</sup>
Selective medium	TP 1.9×10 <sup>10</sup>	2.0×10 <sup>10</sup>	9.0×10 <sup>9</sup>	2.5×10 <sup>10</sup>	5.1×10 <sup>10</sup>	1.6×10 <sup>10</sup>	2.2×10 <sup>10</sup>
	BS 4.2×10 <sup>9</sup>	1.2×10 <sup>10</sup>	3.0×10 <sup>9</sup>	1.9×10 <sup>10</sup>	1.5×10 <sup>10</sup>	4.7×10 <sup>9</sup>	9.3×10 <sup>9</sup>

시도하였다. 두 배지 모두 대부분의 유산균 제품에서 선택적 계수를 가능하게 하였지만 일부의 제품중에 있는 그람 양성 구균의 일부가 자라는 한계를 갖고 있는 것으로 나타났다. TP 배지를 이용하여 국내의 비피더스 첨가 발효유중의 *Bifidobacterium* 균수를 측정된 결과를 Table 8에 나타내었다. 앞으로 *Bifidobacterium*이 첨가된 요쿠르트 분석을 위한 *Bifidobacterium* 선택배지 조제를 위하여는 GL과 TP배지의 한계를 극복하는 배지의 개발이 요구된다고 하겠다.

**TP배지를 이용한 분변의 *Bifidobacterium* 균수 측정**

Table 7에서 알 수 있는 바와 같이 TP배지는 Mitsuoka의 BS보다 높은 CFU(colony forming units)를 나타내었을 뿐만 아니라 비선택배지에서 셀 수 있는 *Bifidobacterium*의 총균수에 근접함을 알 수 있었다. 이로써 TP는 BS보다 우수함을 알 수 있었으며 또한 colony의 형성속도가 빠른 것으로 나타났다. 현재까지 *Bifidobacterium*에 대한 선택배지를 개발한 경우는 유제품의 균수 측정, 해수의 오염도 측정 및 사람의 분변으로부터의 *Bifidobacterium* 균수 측정을 위한 경우이었다. 이들중 사람에게 대한 여러 연령, 식이, 환경 상태에서의 *Bifidobacterium* 균수 측정은 주로 Mitsuoka에 의하여 이루어 졌고 사용된 배지는 BS배지였다. 그러나 본 연구 결과 BS 배지에서는 TP배지에 비하여 생존하는 *Bifidobacterium* 수가 적으므로 TP배지를 기본적으로 사용하여야 할 것이며 BS배지는 필요할 경우 보조적으로 사용할 것을 권장한다. 특히 우리나라에서 인체의 장내 균총에 대한 연구가 아직 초기단계에 있기 때문에 현시점에서 적절한 배지를 선택하여 사용하는 것이 앞으로 축적될 연구결과를 일관성 있게 해석하는데 도움이 될 것이다.

**요 약**

한국인의 장내 균총 조사를 하던 중 *Bifidobacterium* 선택배지로 개발된 Mitsuoka의 BS배지에서 상당수의 *Bifidobacterium*이 사멸되는 것으로 나타났다. 이에 보다 개량된 *Bifidobacterium*의 선택배지를 조제하기 위하여 한국인들로부터 *Bifidobacterium*들을 비선택 배지 및 기존의 선택배지에서 분리한 뒤 동정하였다. 분리 동정된 균주들에 대하여 항생제와 대사저해제에 대한 감수성 조사 및 특이 기질검사를 하여 선택배지 조제의 기초 자료로 활용하여 *Bifidobacterium*이 선택적으로 자랄 수 있는 배지로 TP배지를 고안하였다. TP배지는 상용되는 Mitsuoka의 BS배지보다 *Bifidobacterium* 선택성이 우수하였고 colony 성장속도도 빨랐다.

**감사의 말**

본 논문은 1992년 과학재단 특정 기초 연구비(92-50-00-02)의 지원에 의하여 이루어진 결과의 일부로써 이에 감사드립니다.

**문 헌**

1. Goldin, B.R., Lichtenstein, A.H. and Gorbach, S.L.: The roles of the intestinal flora in "Modern Nutrition in Health and Disease" ed. by Maurice E. Shils and Vernon R. Young. pp.500-515(1988)
2. Homma, N.: *Bifidobacteria* as a residence factor in human beings. *Bifidobact. Microfl.*, 7, 35(1988)
3. Mitsuoka, T.: Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobact. Microfl.*, 1, 3(1992)
4. Wytke, V. and Stouthamer, A.H.: Fermentation of glucose, lactose, galactose, mannitol, and xylose by *Bifidobacteria*. *J. Bacteriol.*, 96, 472(1968)
5. Mitsuoka, T.: A Color Atlas of Anaerobic Bacteria(2nd ed.). 東京(1984)
6. 지근역: 한국인의 장내 균총 조성 및 분포. 한국산업미생물학회지, 22, 453(1994)
7. 민해기, 이시경, 강국희:  $\alpha$ -galactosidase의 활력 차이에 의한 *Bifidobacteria*의 선별. 한국 농화학회지, 36, 191(1993)
8. Sneath, P.H.A., Nicholas, S.M., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, vol.2. William and Wilkins, Baltimore(1986)
9. Kochiro, S., Mitsuo, M. and Masahiko, M.: Selective agar medium for counting viable cells of *Bifidobacteria* in fermented milk. 日本 食品衛生學會誌, 27, 238(1986)
10. 지근역, 이세경: 한국인 분변으로부터 분리된 *Bacteroides fragilis* Roid 8의 Glycosidase 패턴. 한국식품과학회지, 25, 191(1993)
11. Ryuichiro, T. and Masahiko, M.: Improved medium for selective isolation and enumeration of *Bifidobacterium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 866(1980)
12. Chevalier, P., Roy, D. and Ward, P.: Detection of *Bifidobacterium* species by enzymatic methods. *J. Appl. Bacteriol.*, 68, 619(1990)
13. Beerens, H.: An elective and selective isolation medium for *Bifidobacterium* spp. *Lett. Appl. Microbiol.*, 11, 155(1990)
14. Hirokazu, I., Masuda, H., Fujisawa, T., Suzuki, H. and Mitsuoka, T.: Isolation and identification of *Bifidobacterium* spp. in commercial yogurts sold in Europe. *Bifidobact. Microfl.*, 12, 39(1993)

(1994년 4월 25일 접수)