

## 호상 요구르트 제품에 이용되는 Bifidobacteria의 선택적 검출 방법

박희경 · 허태련\*  
인하대학교 생물공학과

### Studies on the Selective Screening Method of Bifidobacteria Used in Yoghurt

Hee-Kyung Park and Tae-Ryeon Heo\*

Department of Biotechnology, College of engineering,  
Inha University, Incheon 402-751, Korea

**Abstract** — In fermentation of dairy products, bifidobacteria is used in conjunction with other lactic acid bacteria, such as *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*, rendering the enumeration of bifidobacteria difficult. In order to develop optimum conditions for selective enumeration of bifidobacteria, we examined MIC of several antibiotics against various bifidobacteria and other lactic acid bacteria. The growth of *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* were inhibited by lithium chloride at the concentration of less than 4 mg/ml, whereas growth inhibition of bifidobacteria occurred at concentrations over 6~10 mg/ml. Tetracycline and chloramphenicol were also found to selectively inhibit growth of other lactic acid bacteria at the concentration of 1~3 µg/ml. Addition of 6 mg/ml lithium chloride, 1 µg/ml, tetracycline or 3 µg/ml chloramphenicol to medium was found to be optimal for selective enumeration of bifidobacteria. By using these three inhibitory chemicals in the TPY medium, higher number of bifidobacteria were selectively isolated than with NPNL agar and LP agar.

Bifidobacteria는 모유영양아 뿐만 아니라 건강한 성인의 장내에서 우세한 균총으로써 인체의 건강과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다(1-4). Bifidobacteria를 이용한 발효유제품의 장점은 산미가 순하며 유통과정중에 생길 수 있는 후기 산생성의 가능성이 적고 인체에 유용한 L(+)-lactic acid가 생성되는 것이다. 이러한 bifidobacteria의 영양적 효과, 질병의 예방 및 발효유제품 생산시 장점으로 인하여 최근 bifidobacteria는 요구르트, 치즈, 아이스크림 제품 제조에 이용될 뿐만 아니라 인공영양아의 장내균총을 변화시켜 주기 위한 bifidobacteria가 첨가된 분유, 인체 및 가축에 대한 생균제제로써의 가치가 크게 평가되고 있다(6, 8, 11).

그러나 bifidobacteria는 영양요구가 복잡하고 배양 시에는 혐기배양장치가 필요하며(5, 7, 13) 이를 이용한 유제품 제조시 우유배지에서 잘 증식하지 못하고 산생성이 완만하며 낮은 pH에서 급속히 사멸하는 등의 배양에 어려움이 있어 bifidobacteria는 단독으로 이

용되기 보다는 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 등 다른 균주와 함께 사용되고 있으므로 bifidobacteria를 선택적으로 계수해야 할 필요성이 대두되고 있다. Bifidobacteria 단일 균주만 사용시 검출에 어려움이 없으나 발효 유제품 제조시 사용되는 혼합균주에서 선택계수시 다른 균주도 함께 계수되므로 선별계수에 어려움이 수반된다. 선별계수 방법으로 항생제 이용에 의한 방법이 주로 이용되고 있으나 선택배지에 사용되는 항생제는 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 성장을 저해하며 bifidobacteria의 성장도 억제할 수도 있으므로 계수의 정확도가 떨어지는 단점이 있다. Bifidobacteria를 유제품 등에서 다른 유산균으로부터 선택적으로 계수하기 위한 선택배지의 개발에 많은 노력을 하고 있으며(9-16) 지금까지 연구된 선택배지로는 Mitsuoka (13) 등이 BL 배지에 Neomycin sulfate-paromomycin-nalidixic acid-lithium chloride(NPNL)를 첨가한 배지가 bifidobacteria 검출을 위한 최적 선택배지임이 발표되었는데 이 BL 배지는 제조시 여러가지 성분 첨가로 인하여 시간과 비용이 많이 들며 NPNL 또한 여과살균(filter-sterilization)을 해야 하는 번거로움이

**Key words:** Bifidobacteria, Antibiotics, Selective enumeration

\*Corresponding author

수반되므로 간편하게 제조할 수 있고 선택배지로서도 우수한 효과가 있는 배지 개발이 요구되었다. 이러한 단점을 개선하기 위해 Lapierre(9) 등은 Lithium chloride-sodium propionate agar(LP)를 제시하고 있는데, 이 선택배지는 NPNL agar보다 제조가 간편하고 짧은 배양시간의 장점과 믿을 만한 선택계수 능력이 있는 배지임을 보고하고 있으나 NPNL과 LP의 선택배지들은 발효유제품에 사용되는 다른 종류의 bifidobacteria의 정확한 선별계수에 의문점이 제시되고 있다. 그러므로 본 실험에서는 요구르트와 생균제제에 이용하고자 하는 *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*에는 저해가 적고 다른 유산균을 선별계수시 성장을 저해하는 항생제와 이를 이용한 선택배지를 조사하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 사용균주

본 실험에서 사용한 균주는 한국과학기술연구원 유전공학센터 유전자 은행(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 분양받은 *Bifidobacterium bifidum* KCTC 3202, *Bifidobacterium longum* KCTC 3128, *Bifidobacterium infantis* KCTC 3226, *Bifidobacterium breve* KCTC 3220, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164와 Denmark의 CHR. Hansen's Laboratory에서 분양받은 냉동건조형태의 *Lactobacillus bulgaricus* CH-2와 *Streptococcus thermophilus* CH-101606이었다.

### 배지 및 배양방법

*B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*와 *B. breve*는 CO<sub>2</sub> 가스를 이용하여 혐기상태가 유지되는 TPY 배지에서 배양하였고 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는 미호기 상태에서 Lactobacilli MRS broth에 37°C 에서 12~24시간 배양하여 4°C 에서 냉장저장하면서 1주마다 계대배양하여 사용하였다.

### 항생제

실험에 사용된 항생제로는 nalidixic acid, dicloxacillin, tetracycline, chloramphenicol(이상은 Sigma), neomycin sulfate(Showa Chemical INC.), paromomycin sulfate(Ilsung Pharmaceutcals), lithium chloride(Shinyo pure Chemical Co., Ltd), sodium propionate(Showa Chemical INC.), sorbic acid(Junsei Chemical Co, Ltd.) 등이었고, 항생제 용액은 증류수 및 ethanol로 희석하여 0.45 µm membrane에 여과하

여 사용하였다.

### 각 균주에 대한 항생제의 MIC 및 내성 측정

9종류의 항생제에 대한 각 균주의 MIC는 배지에 항생제를 각 농도별로 첨가한 후 균주를 접종하여 37°C 에서 24시간 배양 후 600 nm에서 흡광도 측정과 agar 배지에서 생균수를 측정하였다.

### 선택배지 및 검출방법

*Bifidobacteria*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 균주를 선택배지와 비선택배지에서 동시에 도말하여 혐기상태로 배양한 후 계수하여 bifidobacteria의 선택적 검출을 비교하였다. 비선택배지로는 BL(Glucose-Blood-Liver-Agar)(13), TPY(Trypticase-peptone-Yeast-extract)(14), LCL(Liver-cystein-lactose)(9) agar 배지를 사용하였고 선택배지는 BL 배지에 NPNL(Nalidixic acid 15 mg/ml, Paromomycin sulfate 200 mg/l, Neomycin sulfate 100 mg/l, Lithium chloride 3.0 g/l)과 LCL 배지에 Lithium chloride-Sodium Propionate(2 : 3 g/l) 첨가한 배지와 TPY 배지에 여러 종류의 항생제를 각각 농도별로 첨가한 배지를 사용하였으며 모든 배지는 1.0 N NaOH로 pH 조절 후 121°C 에서 15분간 멸균 후 사용하였다. 희석액으로는 혐기 희석액을 사용하여 CO<sub>2</sub> 가스를 분사하면서 십진 희석을 하였다. 희석액 0.1 ml를 배지에 도말한 후 Lapierre(9) 방법에 따라 혐기배양 후 균락을 계수하였다.

### 현미경 검사

*Bifidobacteria*와 다른 유산균의 혼합 균주를 선택 배지에서 bifidobacteria 선택적 계수의 확인을 위해 각 선택배지에서 혐기배양 후 나타난 colony를 그람 염색하여 현미경으로 검사하였다.

## 결과 및 고찰

### 각 균주에 대한 항생제의 내성

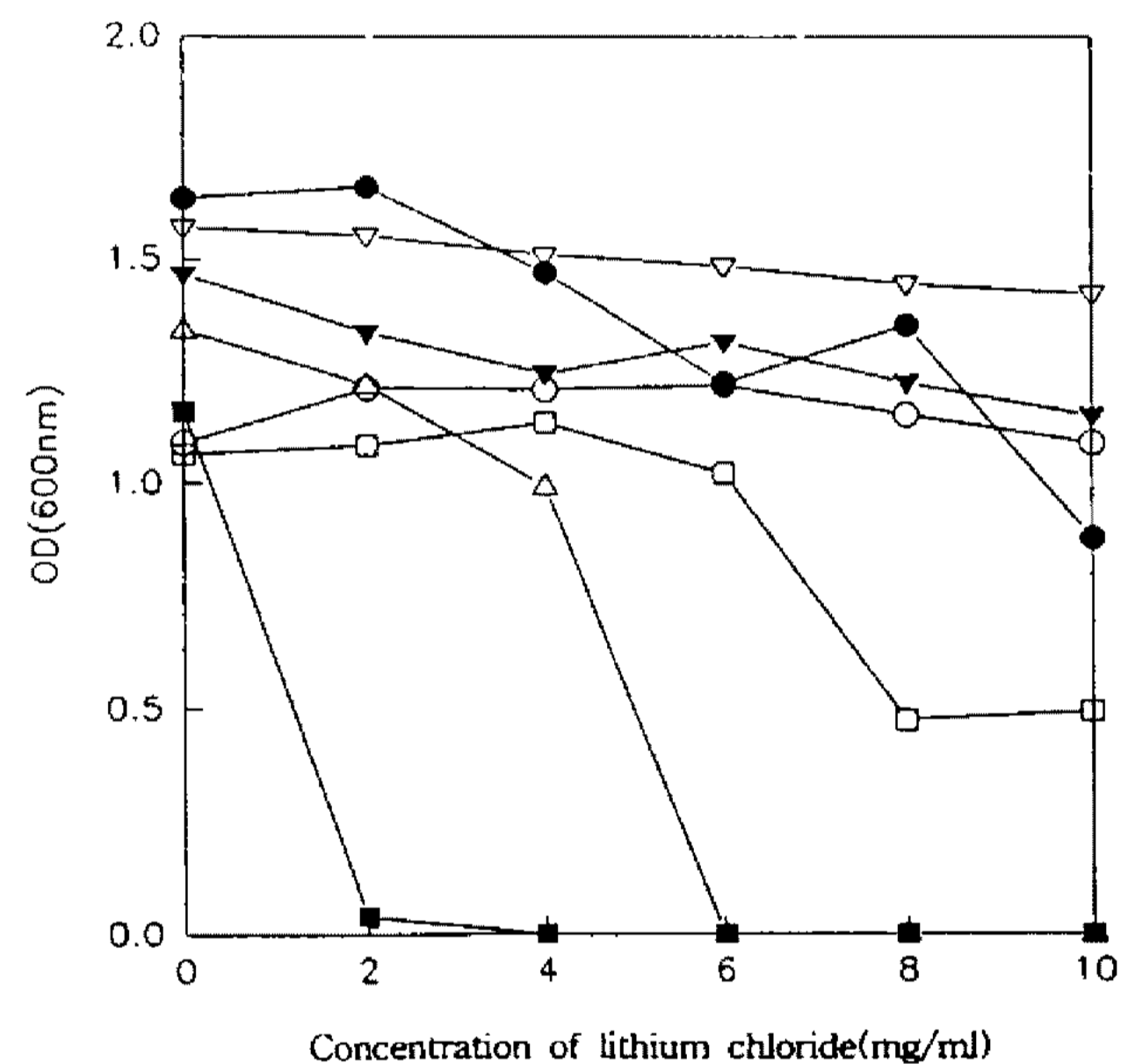
*B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*에 대한 항생제 내성은 Table 1과 같이 나타났다. *Bifidobacteria*에 내성이 있는 항생제로는 neomycin sulfate, paromomycin, nalidixic acid, lithium chloride, sodium propionate, dicloxacillin, sorbic acid, tetracycline과 chloramphenicol 중 lithium chloride, tetracycline과 chloramphenicol 임을 알 수 있었다. Lithium chloride의 경우, bifidobacteria 균주의 최소저해농도(Mi-

**Table 1. Resistance of Bifidobacterium and other lactic acid bacteria to antibiotics in TPY media**

Antibiotics	MIC								
	Ne ( $\mu\text{g/ml}$ )	Pa ( $\mu\text{g/ml}$ )	Na ( $\mu\text{g/ml}$ )	Li ( $\text{mg/ml}$ )	Sp ( $\text{mg/ml}$ )	Di ( $\mu\text{g/ml}$ )	So ( $\text{mg/ml}$ )	Tc ( $\mu\text{g/ml}$ )	Ch ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>B. bifidum</i>	50	50	25	10	10	1	2	5	20
<i>B. longum</i>	50	50	15	8	10	5	2	3	5
<i>B. infantis</i>	50	100	25	6	6	5	2	1.5	3
<i>B. breve</i>	50	100	25	10	10	10	2	1.5	20
<i>L. acidophilus</i>	50	50	45	4	6	6	2	1	1
<i>L. bulgaricus</i>	50	50	30	1	10	2	2	0.5	1
<i>S. thermophilus</i>	50	50	75	4	10	6	2	1	1

Ne: Neomycin sulfate, Pa: Paromomycin, Na: Nalidixic acid, Li: Lithium chloride, Sp: Sodium propionate, Di: Dicloxacillin, So: Sorbic acid, Tc: Tetracyclin, Ch: Chloramphenicol

nimum Inhibition Concentration)는 6 mg/ml 이상이었고, 유제품에 많이 이용되어지는 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 lithium chloride 최소저해농도는 각각 4 mg/ml, 1 mg/ml와 4 mg/ml로 선택계수 배지의 항생제로써 가능성을 나타내었다. Tetracycline은 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*에 최소저해농도가 1  $\mu\text{g/ml}$  이하였고, bifidobacteria 균주에는 최소저해농도가 1.5  $\mu\text{g/ml}$  이상으로 선택계수 배지의 항생제로써 효과가 있었으며, chloramphenicol의 경우에도 *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*와 *B. breve*의 최소저해농도가 20  $\mu\text{g/ml}$ , 5  $\mu\text{g/ml}$ , 3  $\mu\text{g/ml}$ 와 20  $\mu\text{g/ml}$ 이고, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는 모두 1  $\mu\text{g/ml}$ 로 bifidobacteria는 내성이 강하였다. 이러한 결과는 Lim (17) 등의 실험에서 bifidobacteria 균주들의 최소저해농도가 tetracycline은 1.5  $\mu\text{g/ml}$  이상이었고 chloramphenicol은 3  $\mu\text{g/ml}$  이상이라는 결과와 유사한 경향을 나타냈으며, 위의 선택배지의 항생제로써 가능성이 있는 lithium chloride와 tetracycline과 chloramphenicol의 각각의 농도에서 균주들이 어느 정도로 저해를 받는지 조사한 결과 lithium chloride는 Fig. 1에서와 같이 6~8 mg/ml 농도에서 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는 강한 저해를 받는 반면에, bifidobacteria는 동일한 농도에서 저해를 받지 않은 것으로 보아 선택적인 항생제로써 우수한 작용을 나타내었다. Tetracycline은 1~5  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는 저해를 받았지만 *L. acidophilus*에 대한 선택적 저해 효과는 다소 낮았다(Fig. 2). Bifidobacteria 균주는 chloramphenicol 3  $\mu\text{g/ml}$ 에서도 충분히 성장하였으나, 다른 유산균은 성장저해를 받았다(Fig. 3).



**Fig. 1. Growth of Bifidobacterium and other lactic acid bacteria in TPY medium containing various concentration of lithium chloride.**

○: *B. bifidum*, ●: *B. longum*, ▽: *B. infantis*, ▼: *B. breve*, □: *L. acidophilus*, ■: *L. bulgaricus*, △: *S. thermophilus*

#### 선택배지의 효과

Table 2는 lithium chloride, tetracycline과 chloramphenicol이 첨가된 TPY 배지를 bifidobacteria의 선택배지로서의 효과를 조사하였다. Lithium chloride가 첨가된 TPY 배지에서 *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*와 *B. breve*는 각각  $7.1 \times 10^8$ 에서  $7.0 \times 10^8$ ,  $3.7 \times 10^8$ 에서  $1.4 \times 10^8$ ,  $3.6 \times 10^8$ 에서  $1.0 \times 10^9$ 과  $8.8 \times 10^8$ 에서  $5.3 \times 10^8$ 으로 거의 저해를 받지 않고 대조군(항생제를 첨가하지 않은 것)과 동일한 수준으로 검출되는 반면에 *L. acidophilus*는  $1.6 \times 10^9$ 에서  $7.4 \times 10^5$ 으로 낮은 검출결과를 나타내었으며, *L. bulgaricus*와

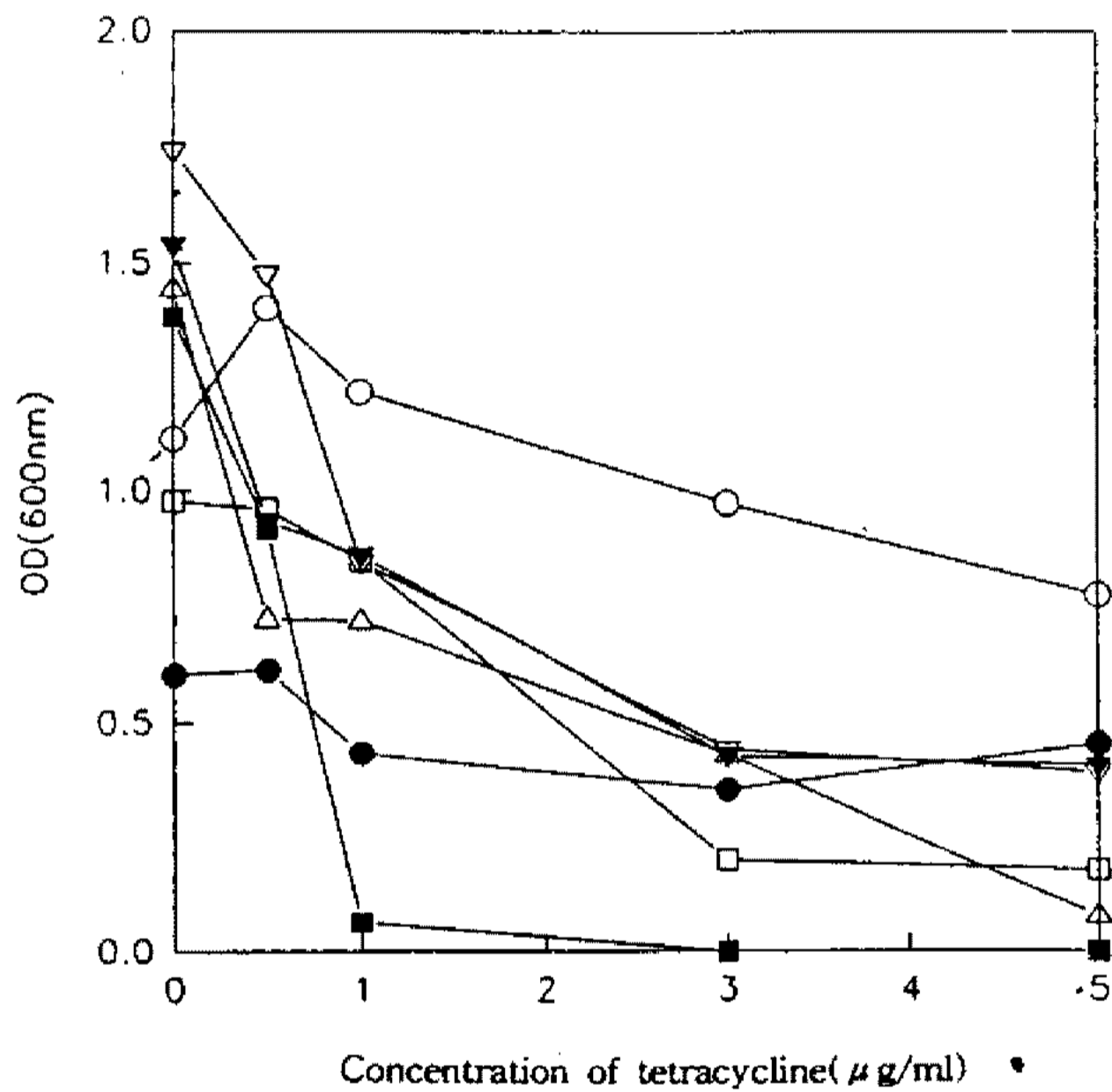
*S. thermophilus*는  $10^3$  수준에서 검출되지 않았으므로 bifidobacteria의 선택배지로써 우수함을 알 수 있었다.

Tetracycline(1  $\mu\text{g/ml}$ )을 첨가한 TPY 배지에서도 bifidobacteria 균주들은  $10^8 \sim 10^7$  수준으로 검출되는 반면에 다른 유산균주들은  $10^4$  수준에서 검출되거나  $10^3$ 에서도 검출되지 않는 것으로 보아 선택계수의 효과가 우수하였으며, 또한 chloramphenicol(3  $\mu\text{g/ml}$ )이 첨가된 배지에서도 tetracycline과 유사한 경향을 나타내어 *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*와 *B. breve*가  $5.8 \times 10^8$ ,  $1.0 \times 10^7$ ,  $7.0 \times 10^7$ 과  $1.6 \times 10^8$ 으로 대조군에 비하여 거의 성장 억제가 없었으며 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는  $10^3 \sim 10^4$  수준으로 검출되어 억제효과가 우수하였으므로 위의

lithium chloride, tetracycline과 chloramphenicol은 선택배지의 항생제로 적합함을 나타내었다.

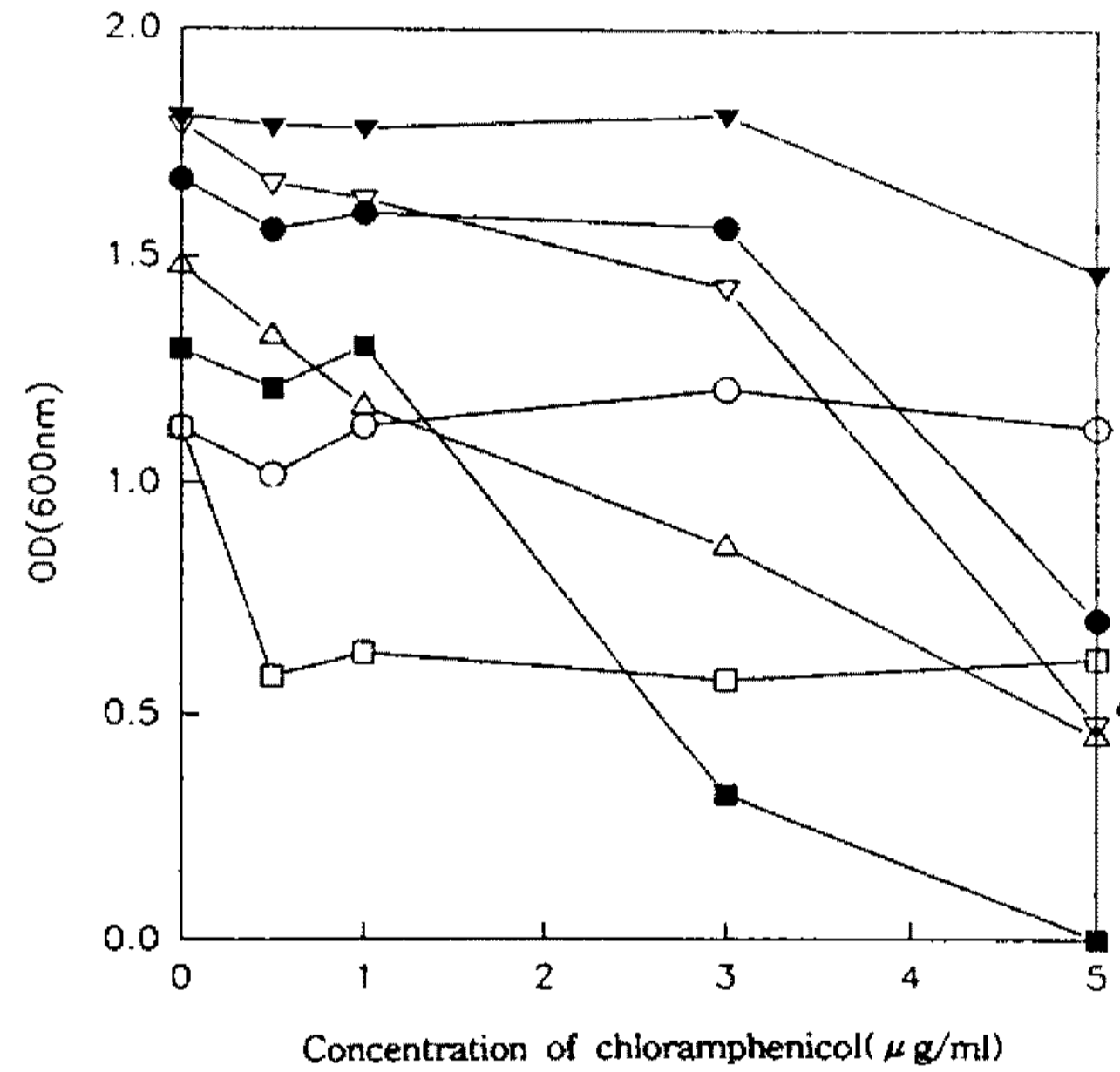
**타선택배지와 비교**

Table 3은 bifidobacteria의 선택계수를 위해 많이 사용되고 있는 NPNL이 첨가된 BL 배지(13), LP가 첨가된 LCL 배지(9)와 lithium chloride, tetracycline과 chloramphenicol 등이 첨가된 TPY 배지에서 선택계수 효과를 비교한 결과이다. NPNL이 첨가된 배지의 경우 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*를  $10^4$  수준에서도 검출되지 않았으므로 저해효과가 크지만 여러 종류의 항생제 복합물로 bifidobacteria 균주에도 저해작용을 하여 *B. longum*와



**Fig. 2. Growth of *Bifidobacterium* and other lactic acid bacteria in TPY medium containing various concentration of tetracycline.**

○: *B. bifidum*, ●: *B. longum*, ▽: *B. infantis*, ▼: *B. breve*, □: *L. acidophilus*, ■: *L. bulgaricus*, △: *S. thermophilus*



**Fig. 3. Growth of *Bifidobacterium* and other lactic acid bacteria in TPY medium containing various concentration of chloramphenicol.**

○: *B. bifidum*, ●: *B. longum*, ▽: *B. infantis*, ▼: *B. breve*, □: *L. acidophilus*, ■: *L. bulgaricus*, △: *S. thermophilus*

**Table 2. Selective effect of *Bifidobacterium* in TPY media containing lithium chloride, tetracycline and chloramphenicol**

Strain	Antibiotics	None	Lithium chloride (6 mg/ml)	tetracycline (1 $\mu\text{g/ml}$ )	Chloramphenicol (3 $\mu\text{g/ml}$ )
<i>B. bifidum</i>		$7.1 \times 10^8$	$7.0 \times 10^8$	$3.0 \times 10^8$	$5.0 \times 10^8$
<i>B. longum</i>		$3.7 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	$1.0 \times 10^8$	$1.0 \times 10^7$
<i>B. infantis</i>		$3.6 \times 10^8$	$1.0 \times 10^9$	$3.0 \times 10^7$	$7.0 \times 10^7$
<i>B. breve</i>		$8.8 \times 10^8$	$5.3 \times 10^8$	$9.7 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$
<i>L. acidophilus</i>		$1.6 \times 10^9$	$7.4 \times 10^5$	$9.7 \times 10^4$	$2.0 \times 10^3$
<i>L. bulgaricus</i>		$7.9 \times 10^8$	$0 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	$0 \times 10^3$
<i>S. thermophilus</i>		$2.5 \times 10^9$	$0 \times 10^3$	$0 \times 10^3$	$2.2 \times 10^4$

**Table 3. Comparison of neomycin-paromomycin-nalidixic acid-lithium chloride agar, lithium chloride-sodium propionate agar, lithium chloride agar, tetracycline agar and chloramphenicol agar for enumeration of *Bifidobacterium***

Selective media Strain	BL (NPNL)	LCL (LP)	TPY (Li)	TPY (Tc)	TPY (Ch)
<i>B. bifidum</i>	$2.0 \times 10^9$ ( $6.1 \times 10^7$ )	$1.4 \times 10^9$ ( $1.5 \times 10^9$ )	$7.1 \times 10^8$ ( $7.0 \times 10^8$ )	$7.1 \times 10^8$ ( $3.0 \times 10^8$ )	$7.1 \times 10^8$ ( $5.0 \times 10^8$ )
<i>B. longum</i>	$6.5 \times 10^9$ ( $1.0 \times 10^4$ )	$1.5 \times 10^8$ ( $1.4 \times 10^7$ )	$3.7 \times 10^8$ ( $1.4 \times 10^8$ )	$3.7 \times 10^8$ ( $1.0 \times 10^8$ )	$3.7 \times 10^8$ ( $1.0 \times 10^7$ )
<i>B. infantis</i>	$1.0 \times 10^7$ ( $0 \times 10^4$ )	$6.8 \times 10^6$ ( $0 \times 10^4$ )	$3.6 \times 10^8$ ( $1.0 \times 10^9$ )	$3.6 \times 10^8$ ( $3.0 \times 10^7$ )	$3.6 \times 10^8$ ( $7.0 \times 10^7$ )
<i>B. breve</i>	$1.2 \times 10^7$ ( $4.0 \times 10^4$ )	$3.3 \times 10^8$ ( $5.1 \times 10^8$ )	$8.8 \times 10^8$ ( $5.3 \times 10^8$ )	$8.8 \times 10^8$ ( $9.7 \times 10^8$ )	$8.8 \times 10^8$ ( $1.6 \times 10^8$ )
<i>L. acidophilus</i>	$2.9 \times 10^8$ ( $0 \times 10^4$ )	$1.3 \times 10^8$ ( $8.0 \times 10^5$ )	$1.6 \times 10^9$ ( $7.4 \times 10^5$ )	$1.6 \times 10^9$ ( $9.7 \times 10^4$ )	$1.6 \times 10^9$ ( $2.0 \times 10^3$ )
<i>L. bulgaricus</i>	$4.4 \times 10^8$ ( $0 \times 10^4$ )	$7.2 \times 10^8$ ( $3.7 \times 10^5$ )	$7.9 \times 10^8$ ( $0 \times 10^3$ )	$7.9 \times 10^8$ ( $4.0 \times 10^3$ )	$7.9 \times 10^8$ ( $0 \times 10^3$ )
<i>S. thermophilus</i>	$1.4 \times 10^8$ ( $0 \times 10^4$ )	$4.7 \times 10^8$ ( $1.2 \times 10^4$ )	$2.5 \times 10^9$ ( $0 \times 10^3$ )	$2.5 \times 10^9$ ( $0 \times 10^3$ )	$2.5 \times 10^9$ ( $2.2 \times 10^4$ )

( ): Antibiotics 첨가한 배지에서의 colony 수, NPNL: Neomycin sulfate-Paromomycin-Nalidixic acid-Lithium chloride ( $100 \mu\text{g/ml}$ – $200 \mu\text{g/ml}$ – $15 \text{mg/ml}$ – $3 \text{mg/ml}$ ), LP: Lithium chloride-Propionate ( $2 \text{mg/ml}$ – $3 \text{mg/ml}$ ), Li: Lithium chloride ( $6 \text{mg/ml}$ ), Tc: Tetracycline ( $1 \mu\text{g/ml}$ ), Ch: Chloramphenicol ( $3 \mu\text{g/ml}$ )

*B. breve*는  $1.0 \times 10^4$ 과  $4.0 \times 10^4$  수준에서 검출되었고 *B. infantis*는  $10^4$  수준에서도 검출되지 않았다. 이러한 결과를 MITSUOKA(13)의 실험에서 NPNL을 이용한 BL 배지에서 검출한 결과와 비교해 보면 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*에 대한 억제효과는 유사한 반면에 본 실험에서는 bifidobacteria가 낮은 수준으로 검출되었는데 이는 실험에 사용된 균주의 차이로 추정되어진다. LP가 첨가된 배지는 *B. infantis* 균주에 저해작용을 하여  $10^4$  수준에서 검출되지 않았으며 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는 모두  $10^5$  수준으로 검출되어 bifidobacteria에도 저해작용을 하므로 선택배지로서 정확도가 낮았다.

그러나 TPY 배지에 lithium chloride, tetracycline과 chloramphenicol이 각각 첨가된 배지에서는 bifidobacteria 균주들은 모두  $10^9$ ~ $10^7$  수준으로 검출되었고 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는  $10^4$  수준으로 검출되거나  $10^3$  이하에서도 검출되지 않은 것으로 보아 우수한 선택계수 배지임을 알 수 있었다.

#### 혼합균주에서 Bifidobacteria의 선택계수

**Table 4. Selective enumeration of *Bifidobacterium* in mixed culture**

Strain Media	Mixed culture			
	<i>B. bifidum</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. breve</i>
TPY	$4.5 \times 10^8$	$5.0 \times 10^7$	$6.9 \times 10^7$	$7.0 \times 10^7$
TPY+Li	$9.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$
TPY+Tc	$1.2 \times 10^8$	$1.5 \times 10^7$	$3.8 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$
TPY+Ch	$7.3 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$	$1.2 \times 10^7$	$7.0 \times 10^7$

Mixed culture: Bifidobacterium+*L. acidophilus*+*L. bulgaricus*+*S. thermophilus*, Li: Lithium chloride ( $6 \text{mg/ml}$ ), Tc: Tetracycline ( $1 \mu\text{g/ml}$ ), Ch: Chloramphenicol ( $3 \mu\text{g/ml}$ ), *L. acidophilus*:  $1.1 \times 10^9$ , *L. bulgaricus*:  $2.4 \times 10^7$ , *S. thermophilus*:  $1.3 \times 10^8$

Bifidobacteria가 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*와 혼합되어 있을 때 선택배지에서 bifidobacteria의 선택계수 능력을 측정하였다. 각 균주를 같은 비율로 혼합하여 희석한 후 선택배지에서 계수한 결과는 Table 4와 같다. Lithium chloride, tetracycline과 chloramphenicol이 첨가된 배지를 사용하여 나타난 colony 수를 비교하여 선택계수능을 확인하였다. *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophi-*

lus가  $10^7 \sim 10^9$  수준으로 존재하였을 경우에도 각각의 *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*와 *B. breve* 모두  $10^7$  수준으로 검출이 되어 bifidobacteria 선택계수가 가능하였다.

Lithium chloride, tetracycline과 chloramphenicol이 첨가된 3가지 선택배지 모두 bifidobacteria를 거의 억제하지 않고 선택계수하였다.

## 요 약

Bifidobacteria를 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus* 등과 같은 다른 유산균과 함께 제조된 유제품에서 정확한 선택계수를 하기 위해 선택배지에 사용되는 효과적인 항생제와 농도를 조사하고 그 효과를 비교하였다. 본 실험에 사용된 여러 종류의 항생제 중 lithium chloride는 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*의 최소 저해농도는 4 mg/ml 이하이고, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*와 *B. breve* 균주들은 6~10 µg/ml로 lithium chloride에 대한 내성이 강하였다. Tetracycline과 chloramphenicol도 다른 유산균에 비하여 bifidobacteria에 최소저해농도가 높아 tetracycline은 1 µg/ml, chloramphenicol은 3 µg/ml를 TPY 배지에 첨가하여 사용하였을 때 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*는 저해 효과가 있었으며, bifidobacteria에는 저해 작용이 거의 없었다.

Lithium chloride(6 mg/ml), tetracycline(1 µg/ml)과 chloramphenicol(3 µg/ml) 항생제가 각각 첨가된 TPY 배지는 다른 유산균의 성장 억제를 하고, bifidobacteria에는 억제작용이 거의 없어 선택계수 능이 있었으며, NPNL과 LP 선택배지에 비하여 우수한 선택계수 효과가 있었다. 또한 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*와 bifidobacteria가 혼합되어 있는 배양액에서 선택계수가 가능하였다.

## 감사의 말

본 연구는 인하대학교 지원으로 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다.

## 참고문헌

1. Rasic, J. and J. Kurmann. 1983 Bifidobacteria and Their role, ED. Birkhauser Verlag, Basel, Boston, Stuttgart.
2. 馬田三夫: ヒフィス菌의 科學, ヤワルト 中央研究

所.

3. Kurmann, J. 1991. A New generation of fermented Milk Products: Microbiological and Healthy Aspect of preprobiotic and probiotic Formulation. 제 7회 국제 학술 세미나, 유산균과 건강, 30-41.
4. Rasic, J. and J. Kurmann. 1979. Fermented fresh milk products and their cultures, Vol. 1, Technical Dairy Publishing House, Jyllingeve 39, DK-2720, Vanlose, Denmark.
5. Roy, D., F. Dussault, and D. Ward. 1990. Growth requirements of *Bifidobacterium* strains in milk. *Milchwissenschaft* 45: 500-502.
6. Collins, E. and B. Hall. 1984. Growth of *Bifidobacterium infantis* for a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.* 67: 1376-1380.
7. Kurmann, J. 1988. Starters for fermented milks. *Bulletin of the IDF* 227, 41-55.
8. Nagawa, M., A. Nakabayashi, and S. Fujino. 1988. Preparation of the bifidus milk powder. *J. Dairy Sci.* 71: 1777-1782.
9. Lapiere, L., P. Undeland, and L. Cox. 1992. Lithium chloride-Sodium Propionate Agar for the Enumeration of Bifidobacteria in fermented dairy products. *J. Dairy Sci.* 5: 1192-1196.
10. Beerens, H. 1990. An eletteive and selective isolation medium for *Bifidobacterium* spp. *Letters in Applied Microbiology*. 11: 155-157.
11. Hekmat, S. and J. Memahon. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *J. Dairy Sci.* 75: 1415-1422.
12. Shimada, K., M. Mutai, A. Suzuki and H. Konuma. 1977. Techniques for viable cell counts of bifidobacteria in fermented milks. *J. Food Hyg. Soc., Jpn.* 18: 537-546.
13. Teraguchi, S., M. Uehara, K. Ogasa, and T. Mitsuoka. 1978. Enumeration of bifidobacteria in dairy products. *Jpn. J. Bacteriol* 33(6): 753-761.
14. Poch, M. and A. Bezkorovainy. 1988. Growth-Enhancing supplements for various species of the Genus *Bifidobacterium*. *J. Dairy Sci.* 71: 3214-3221.
15. Sozzi, T., P. Brigidi, O. Mignot, and D. Matteuzzi. 1990. Use of dicloxacillin for the isolation and counting of bifidobacteria from dairy products. *Lait* 70: 357-361.
16. Onggo, I. and G. Fleet. 1993. Media for the isolation and enumeration of lactic acid bacteria from yoghurts. *Aust. J. Dairy Technol* 48: 89-92.
17. Lim, K., C. Huh, and Y. Baek. 1993. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *J. Dairy Sci.* 76: 2168-2174.

(Received 4 August 1994)