

다양한 유산균이 존재하는 발효식품으로 부터 Bifidobacteria의 선별 및 계수

이시경 · 박동기* · 오훈일** · 박중현***

건국대학교 응용생물화학과, *건국대학교 생화학과,
세종대학교 식품공학과, *경원대학교 식품생물공학과

Selection and Enumeration of Bifidobacteria in Fermented Foods with Various Lactic Bacteria

Si-Kyung Lee, Dong-Ki Park*, Hoon-Il Oh** and Jong-Hyun Park***

Department of Applied Biology and Chemistry, Konkuk University

**Department of Biochemistry, Konkuk University*

***Department of Food Science Technology, SeJong University*

****Department of Food and Bioengineering, Kyung Won University*

Abstract

The inhibitory effect of antibiotics on growth of lactobacillus, streptococcus and bifidobacteria was examined to develop the selective media to isolate and enumerate bifidobacteria from the fermented foods containing various lactic bacteria. The growth of lactic bacteria was inhibited seriously but that of bifidobacteria was not inhibited by gentamycin or ripampicin at the concentration of more than 100 µg/mL. However lactic bacteria did not grow in MRS broth containing 50 µg/mL of ampicillin and the growth inhibition of bifidobacteria occurred. The growth inhibition of bifidobacteria was more severe than lactic bacteria in 100 µg/mL of fosfomycin. Therefore, the MRS medium containing 80 µg/mL of neomycin sulfate, 50 µg/mL of gentamycin, 50 µg/mL of rifampicin, 15 µg/mL of nalidixic acid and 3 mg/mL of lithium chloride was concluded selective for bifidobacteria, but restrictive for the other lactic bacteria present in Kimchi and cheese.

Key words: bifidobacteria, selection, fermented food

서 론

일본, 유럽 및 국내에서는 유산균 발효유를 제조하기 위하여 과거에는 lactobacillus와 streptococcus를 주로 이용하여 왔으나, 최근에는 이러한 균주들 뿐만 아니라 편성 혐기성균인 bifidobacteria도 널리 사용하고 있다. Bifidobacteria는 건강한 유아 및 성인 분변의 중요한 균총중의 하나이고, 인체의 건강과 밀접한 관련이 있는 중요한 균으로 알려져 있으며 보통 성인의 장 내에는 bifidobacteria가 lactobacillus나 streptococcus에 비하여 100배 이상 존재한다^(1,5). 이러한 효능 때문에 최근 식품과 영양분야에서 관심이 증대되고 있다⁽⁶⁾.

발효식품인 김치와 cheese 제조시에 건강에 유익한

bifidobacteria를 첨가하므로써 이미, 이취가 없으며 제품의 맛에 영향을 미치지 않거나 또는 그 맛이 상승되고 특히 첨가한 균이 김치의 환경 속에서도 식용 가능 산도범위 내에서 많은 양으로 존재한다면 이는 상품화 되고 있는 식품의 제품차별화와 건강 식품으로서의 상품가치를 인정받을 수 있을 것이다. 그러나 bifidobacteria가 여러 유산균과 함께 혼합되어 존재할 시 이의 선별은 까다로운 것으로 알려져 주로 발효유 내에 첨가된 bifidobacteria의 균수 측정이나 선택적으로 분리 할 수 있는 선택배지의 개발이 연구되어 왔다⁽⁷⁻¹²⁾. 이와같이 bifidobacteria의 선택배지는 발효 유제품내의 생균수 측정⁽⁹⁾, 사람의 분변으로 부터 bifidobacteria 분리⁽¹⁰⁾와 하천의 오염도 측정⁽¹¹⁾ 등에 이용하기도 하였다. 지금까지 보고된 bifidobacteria의 선택배지는 주로 항생제를 첨가하는 방법이었었는데 이들 선택배지에서도 첨가된 항생제에 의해 bifidobacteria

Corresponding author: Si Kyung Lee, Department of Applied Biology and Chemistry, Konkuk University, 93-1 Mojin Dong, Kwangjin Ku, Seoul 143-701, Korea

가 억제되었다고 하였다⁽¹²⁾. 특히 항생제를 이용한 선택배지의 경우 각 균주간에 항생제의 저항성이 다르고 첨가한 항생제의 농도가 높기 때문에 보다 정밀한 항생제의 종류와 첨가농도를 검토해야 할 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 다양한 유산균이 생존하여 발효기간에 따라 다양하게 변화하는 김치나 cheese의 특성을 고려하여 이들 김치와 cheese 유산균의 생육은 억제 시키나, 첨가될 bifidobacteria는 가능한 억제 시키지 않는 항생제를 이용한 선택배지를 제조하여 bifidobacteria가 첨가된 발효식품제조시 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 각종 항생제 및 시약은 Sigma회사로부터 구입하였으나, anaerobic jar와 gas pak은 BBL사, X- α -gal은 Boehringer Mannheim 사 제품을 사용하였으며, Cheddar cheese는 서울시내 H 백화점에서 구입하였다.

사용균주

본 실험에 사용된 균주는 상업용 균주인 Christian Hansen 사의 *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*와 성균관 대학교 낙농학과와 한국식품개발연구원에 보관중인 *B. longum* ATCC 15707, *B. infantis* ATCC 15697, *B. bifidum* ATCC 29521, *B. breve* ATCC 15700, *Str. thermophilus* ATCC 19258, *S. diacetylactis*, *L. plantarum* ATCC 14917, *L. acidophilus* KCTC 3145, *L. brevis* ATCC 14869, *L. helveticus* ATCC 15009, *L. bulgaricus* ATCC 11842를 각각 사용하였다.

시료 김치의 제조

시료김치의 제조는 상법에 따라 배추를 5~10 cm 크기로 자른 후 10-14%의 소금물에 12시간 절인 후 물로 2회 세척하여 탈수시켰다. 또한 마늘 1.2%, 고추 3%, 생강 0.6% 등 부재료를 평량한 후 마쇄, 혼합하여, 탈수가 끝난 배추에 양념을 골고루 버무린 후 용기에 넣어 저장하였다. 김치의 염도는 $2.3 \pm 0.2\%$ 으로 하였다.

산도 측정

숙성중인 김치시료를 일정량 취해 멸균 식칼로 잘 다진 후 멸균 가제로 즙을 내어 이중 20 mL를 취하여 pH가 8.3이 될 때 까지 0.1 N-NaOH로 적정한 후 그 소비 mL를 젖산의 양으로 환산 하였다. 또한 즙의 일

부는 김치의 미생물 균수 측정에 이용하였다. Cheese의 pH는 pH meter (Suntex SP-701, Taiwan)를 이용하여 측정하였다.

균수 측정

김치와 cheese중의 total lactic acid bacteria는 MRS agar를 이용하여 37°C에서 호기적 배양을 하였으며, bifidobacteria의 측정은 각종 항생제를 microfilter (0.45 μ m)로 여과하여 농도별로 첨가한 L-cystein·HCl 0.05% 함유된 MRS agar를 이용하여 anaerobic jar (BBL)에 넣어 37°C에서 혐기적으로 72시간 배양하였다. 이때 시료의 회석액으로는 0.1% yeast extract용액을 사용하여 10진 회석을 하였다. MRS broth를 이용한 bifidobacteria의 생육실험에서는 배지를 CO₂ 가스로 20분간 bubbling 시킨 후 분주하여 멸균하여 37°C에서 36시간 배양한 seed culture 2%가하여 37°C에서 48시간 배양한 후 660 nm에서의 optical density를 측정하였다. 일반 유산균은 MRS broth를 이용 24시간 배양 후 균의 생육을 조사하였다.

결과 및 고찰

항생제의 농도가 유산균의 생육에 미치는 영향

Gentamycin, rifampicin, ampicillin, fosfomycin 등의 항생제가 다양한 유산균의 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 농도별로 L-cystein·HCl 0.05% 함유된 MRS broth에 첨가하여 24~48시간 배양 후의 생육을 측정된 결과는 Table 1 및 2와 같다. Table 1에서와 같이 gentamycin은 150 μ g/mL 까지의 농도에서 bifidobacteria의 생육을 거의 억제하지 않았으나, *L. plantarum*, *L. brevis* 등의 유산균 생육을 완전히 억제시켰다. 특히 200 μ g/mL 농도에서는 *L. helveticus*, *L. bulgaricus*도 완전히 억제됨이 관찰 되었다.

Rifampicin의 경우도 100 μ g/mL를 첨가시에 일반 유산균의 생육을 완전히 억제시키지 못하였으나 150~200 μ g/mL의 농도에서 대부분의 일반 유산균이 성장하지 못하였다. 그러나 150 μ g/mL 첨가시 까지 bifidobacteria의 생육에는 큰 영향을 미치지 않았다.

한편 ampicillin은 50 μ g/mL의 낮은 농도에서도 일반 유산균 뿐만 아니라 *B. longum*과 *B. breve*의 생육도 완전히 억제시킨 것으로 나타났으며, fosfomycin의 경우도 100~300 μ g/mL의 농도에서 bifidobacteria의 생육이 일반 유산균 보다 더 억제된 것으로 나타나 bifidobacteria선택배지에 이용되는 항생제로 적합하지 않은 것으로 생각되었다. 또한 vancomycin을 10~100

Table 1. Effect of gentamycin and rifampicin on the growth of lactic bacteria

Strains	Gentamycin (µg/mL)				Rifampicin (µg/mL)		
	0	100	150	200	100	150	200
<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 19258	++++	+	+	-	+	+	-
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	++++	+	-	-	+	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 14917	++++	-	-	-	+	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i> KCTC 3145	++++	-	-	-	+	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i> ATCC 14869	++++	-	-	-	+	+	-
<i>Lactobacillus helveticus</i> ATCC 15009	++++	+	+	-	+	-	-
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> ATCC 11842	++++	+	+	-	+	-	-
<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC 15707	++++	++++	+++	++	++++	+++	++
<i>Bifidobacterium infantis</i> ATCC 15697	++++	++++	+++	++	+++	+++	++
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 29521	++++	++++	+++	++	+++	+++	++
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700	++++	+++	+++	++	+++	+++	++

++++: 3.5~2.50 in O.D at 660 nm, +++: 2.49-2.0 in O.D at 660 nm, ++: 1.99~1.00 in O.D at 660 nm, +: 0.99-0.1 in O.D at 660 nm, -: <0.09 in O.D at 660 nm.

Table 2. Effect of ampicillin and fosfomycin on the growth of lactic bacteria

Strains	Ampicillin (µg/mL)				Fosfomycin (µg/mL)		
	0	50	100	200	100	200	300
<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 19258	++++	+	-	-	++	++	++
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	++++	-	-	-	++	++	++
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 14917	++++	+	+	-	+	+	+
<i>Lactobacillus acidophilus</i> KCTC 3145	++++	-	-	-	+++	+++	++
<i>Lactobacillus brevis</i> ATCC 14869	++++	-	-	-	++	+	+
<i>Lactobacillus helveticus</i> ATCC 15009	++++	-	-	-	++	++	+
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> ATCC 11842	++++	-	-	-	++	++	+
<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC 15707	++++	-	-	-	++	+	+
<i>Bifidobacterium infantis</i> ATCC 15697	++++	++	+	-	+	+	-
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 29521	++++	++	+	-	++	+	-
<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15700	++++	-	-	-	+	+	-

++++: 3.5-2.50 in O.D at 660 nm, +++: 2.49-2.0 in O.D at 660 nm, ++: 1.99-1.00 in O.D at 660 nm, +: 0.99-0.1 in O.D at 660 nm, -: < 0.09 in O.D at 660 nm.

µg/mL 첨가시에도 일반 유산균의 생육은 좋았으나, bifidobacteria의 생육은 억제되는 것으로 나타났다(자료 생략). 이는 Miller 등⁽¹³⁾이 분변으로부터 bifidobacteria를 분리시 vancomycin 3.1 µg/mL의 농도에서 대부분의 bifidobacteria균의 생육이 억제되었다는 결과와 유사 하였으며, 이들은 대부분의 bifidobacteria균이 neomycin sulfate에 저항성이 있어 선택배지에 이용되는 항생제로 적합하다고 하였다. 박 등⁽⁴⁾은 TPY배지에 neomycin sulfate를 첨가시 사용된 모든 bifidobacteria의 최소저해 농도가 50 µg/mL이었다고 하였으며, 또한 이 실험에서 paromomycin sulfate의 경우는 대부분의 유산균의 최소 저해농도가 50 µg/mL이었으나, *B. infantis*, *B. breve*의 최소저해농도는 100 µg/mL라고 하여 bifidobacteria의 최소저해농도가 일반 유산균의 저해농도보다 월등히 높은 것으로 나타났다. 이는 paromomycin sulfate가

bifidobacteria 선별배지에 적합하지 않은 것임을 시사 해 준다. 이상의 고찰에서와 같이 향후 선택배지의 조 제에서 paromomycin sulfate를 제외하고 neomycin sulfate, gentamycin과 rifampicin을 저농도로 사용하여 조제하였다.

Bifidobacteria 선별배지의 효과

Table 1에서와 같이 bifidobacteria의 생육을 거의 억 제 시키지 않은 gentamycin과 rifampicin을 저농도로 첨가하여 몇가지 항생제와 함께 이용하여 여러 종의 bifidobacteria수를 측정한 결과 Table 3과 같다. 표에서 와 같이 neomycin sulfate 80 µg/mL, gentamycin 50 µg/mL, rifampicin 50 µg/mL, nalidixic acid 15 µg/mL, lithium chloride 3 mg/mL의 조성을 첨가한 선별배지 를 이용시 bifidobacteria는 MRS agar에 나타난 균의

Table 3. Effect of selective media on the growth of bifidobacteria

(unit:cfu/mL)

Strains	MRS	NGRN	NPNL
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 29521	6.4×10^8	1.9×10^8	2.1×10^7
<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC 15707	7.1×10^8	3.0×10^8	1.9×10^7
<i>Bifidobacterium infantis</i> ATCC 15697	6.7×10^8	2.5×10^8	3.8×10^7
<i>Bifidobacterium bifidum</i> B.b-11	9.8×10^8	3.4×10^8	1.2×10^7
<i>Bifidobacterium longum</i> B.b-46	9.4×10^8	1.2×10^8	7.4×10^7
<i>Bifidobacterium infantis</i> B.b-02	6.4×10^8	9.2×10^7	5.8×10^7

NGRN: neomycin sulfate 80, gentamycin 50, rifampicin 50, nalidixic acid 15 ($\mu\text{g/mL}$).NPNL: neomycin sulfate 100, paromomycin sulfate 200, nalidixic acid 15 ($\mu\text{g/mL}$).

수와 거의 유사하였으며, NPNL배지를 사용할 때보다 다소 높은 균의 수를 나타내었다.

Teraguchi 등⁽⁹⁾이 유제품에서 bifidobacteria의 선별을 위하여 사용한 NPNL배지의 항생제 조성은 neomycin sulfate 100 $\mu\text{g/mL}$, paromomycin sulfate 200 $\mu\text{g/mL}$, nalidixic acid 15 $\mu\text{g/mL}$, lithium chloride 3 mg/mL로 구성되어 있으나, neomycin sulfate 100 $\mu\text{g/mL}$, paromomycin sulfate 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 일부 bifidobacteria도 심하게 억제되는 것으로 보고되고 있다^(9,13). 박 등⁽¹⁴⁾은 lithium chloride의 경우 bifidobacteria 균주의 최소저해농도(minimum inhibitory concentration)가 6 mg/mL이었다고 하였으며 nalidixic acid의 최소저해 농도는 실험에 이용한 대부분의 bifidobacteria에서 25 $\mu\text{g/mL}$ 이었다고 하였고, 신 등⁽¹⁵⁾의 유제품으로부터 bifidobacteria 선별에 관한 연구에서는 nalidixic acid를 60 $\mu\text{g/mL}$ 첨가시 까지 *B. bifidum* 및 *B. longum*의 생육을 거의 억제하지 않은 것으로 나타났다. 또한 Miller 등⁽¹³⁾은 nalidixic acid의 다양한 bifidobacteria 최소저해농도는 400 $\mu\text{g/mL}$ 이었다고 하여 본 실험에서 사용한 15 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 bifidobacteria의 생육에 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

한편 김치를 제조 후 산도의 증가에 따라 변화되는 숙성기간에 따른 총 유산균 수를 MRS agar를 이용하여 측정한 결과는 Table 4와 같다. 김치 제조 직후 초기 유산균 수는 2.7×10^5 cfu/g이었으며, 이는 숙성기간이 지남에 따라 2.7×10^8 cfu/g까지 증가되는 것으로 나타났다. 이 표에서와 같은 적정 산도를 갖고 있으며 총 유산균이 존재하는 김치를 이용하여 본 실험에서 이용한 선별배지를 사용하였을 때에 10^{-2} 으로 희석시에도 일반 유산균은 전혀 검출되지 않았다. 또한 총 유산균수가 4.8×10^6 cfu/g로 존재하는 Cheddar cheese를 시료로하여 본 선별배지를 이용하여 유산균 수를 측정한 결과에서도 10^{-2} 희석시에도 선별배지상에 일반 유산균의 생육이 관찰되지 않았다.

김치는 자연발효에 의한 것으로 발효 초기에

Table 4. Effect of selective media on the control of lactic bacteria in Kimchi with age and cheese

	Titrateable acidity (%)	Total lactic bacteria on MRS (cfu/g)	Total lactic bacteria on selective media (cfu/g)
Kimchi	0.15	2.7×10^5	-
	0.36	1.9×10^7	-
	0.65	2.7×10^8	-
	0.71	2.0×10^8	-
Cheese (pH)	5.02	4.8×10^6	-
	5.14	2.5×10^6	-

* - : negetative in selective agar plate at 10^{-2} dilution.

Pseudomonas sp., *Bacillus* sp. 등 호기성 균이 발견되나, 이들은 곧 그 생육이 억제되어 감소하며, 숙성중 주로 *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *Streptococcus* sp. 등의 다양한 유산균이 관여하여 김치가 숙성되는 것으로 알려져 있다⁽¹⁶⁾. 민 등⁽¹⁷⁾은 식염농도와 발효온도를 달리하여 숙성시킨 김치에서 *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, *P. cerevisiae*, *S. faecalis* 및 산생성이 낮은 lactobacilli가 분리되었으며, *L. mesenteroides*는 김치의 완숙기에 가장높은 균수를 나타내었고, *L. brevis*와 *L. plantarum*은 *L. mesenteroides*가 감소할 무렵에 나타났다고 하였다. 또한 cheese의 경우에도 숙성중 다양한 유산균이 생육하는 것으로 알려져 있다. Cheddar cheese의 경우 starter로서 *Lactococcus* sp.가 주로 사용되어지고 있으며, 이는 cheese 제조 직후 $10^7 \sim 10^8$ cfu/g으로 존재하지만 숙성 6개월 후에는 10^5 cfu/g으로 감소되고 있으며, 첨가한 starter 이외의 non starter lactic bacteria가 제조직 후에 소량으로 존재하다 숙성 3개월 이후에는 10^7 cfu/g 이상으로 존재하는 것으로 보고되고 있다⁽¹⁸⁾. 이들 non starter lactic bacteria는 주로 *Lactobacillus* sp.이며 이들은 치즈의 숙성과 flavor 형성에 크게 기여하는 것으로 알려져 있다. 한편 neomycin sulfate 80 $\mu\text{g/mL}$, gentamycin 50 $\mu\text{g/mL}$, rifampicin 50 $\mu\text{g/mL}$, nalidixic acid 15 $\mu\text{g/mL}$, lithium chloride 3 mg/

Table 5. Counts of viable bifidobacteria on selective media and total lactic bacteria on MRS agar in Kimchi and cheese mixed with bifidobacteria respectively (unit: cfu/g)

Samples	Acidity (%)	Total lactic bacteria	<i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 29521	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC 15707	<i>Bifidobacterium infantis</i> ATCC 15697
Kimchi	0.17	7.9×10^5	2.8×10^7	1.2×10^7	5.9×10^7
	0.40	1.9×10^7	7.1×10^7	3.4×10^7	1.6×10^7
	0.69	8.1×10^8	6.2×10^7	8.7×10^7	6.9×10^7
Cheese (pH)	4.95	4.3×10^7	1.9×10^7	3.6×10^7	4.5×10^7
	5.13	1.7×10^7	6.7×10^7	1.4×10^7	3.1×10^7

mL의 조성을 갖는 선택배지를 이용하여 김치를 담근 후 숙성시키면서 적당량 꺼내어 다양한 bifidobacteria를 각각 혼합한 후 총 유산균 수와 bifidobacteria를 선별한 결과는 Table 5와 같다. 표에서와 같이 적정산도 0.15를 나타낸 덜익은 김치에서와 같이 총 유산균 수가 첨가된 bifidobacteria보다 적은 경우는 물론 산도 0.68의 신 김치에서와 같이 총유산균 수(8.1×10^8 cfu/g)가 첨가된 bifidobacteria보다 월등히 많은 경우에도 bifidobacteria를 선별할 수 있었다. 이는 다양한 유산균과 세균이 존재하는 Cheddar cheese에서도 같은 결과를 나타내었다. 지금까지 보고된 bifidus균의 항생제 이용 선택배지로서는 Teraguchi 등⁽⁹⁾에 의해 개발된 BS agar를 비롯하여 NPNL agar 등이 알려져 있으나, 이들 배지는 bifidobacteria도 억제 시키는 것으로 보고되었다. 이는 항생제의 농도가 너무 높은 것에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 propionic acid를 첨가하므로서 bifidobacteria를 선별하려고 하였던 Beerens⁽⁸⁾의 방법은 bifidobacteria 생육에 거의 영향을 미치지 않지만, 혼합배양시 agar 배지상에 나타난 colony의 크기로 구별 해야하는 단점이 있다. 최근 bifidobacteria가 α -galactosidase를 생성하는 생리적 특징을 이용하여 민 등⁽¹⁹⁾과 Chevalier 등⁽²⁰⁾은 X- α -gal을 배지에 사용할 때, bifidobacteria가 blue colony를 나타내는 선별 방법을 보고하였다. 그러나 이는 bifidobacteria가 다른 유산균 보다 월등히 많은 경우에는 시각적으로 확인할 수가 있어 매우 유익한 방법인 것으로 생각되나, 김치나 치즈에서와 같이 이들의 총 유산균 수와 종류의 변화가 많아, 첨가된 bifidobacteria가 총 유산균 수와 동량 또는 총 유산균이 월등히 많은 경우에는 colony의 크기, colony색의 확산 등으로 bifidobacteria를 선별하기에는 어려운 것으로 생각된다. 그러나 본 실험에서 선정된 배지를 사용할 때 김치나 치즈에서와 같이 다양한 유산균이 많은 양으로 존재할 시에도 먼저 일반 유산균의 생육을 억제시켜, 첨가된 bifidobacteria만을 선택적으로 선별할 수 있었다. 이는 선별배지에 X- α -

gal을 100 μ M 가하여 제조시 배지상에 나타난 colony가 모두 진한 청색을 띠고 있어 bifidobacteria로 확인할 수 있었다(자료생략). 이상의 실험에서 bifidobacteria의 선별배지를 제조함에 있어서 bifidobacteria의 생육을 억제하지 않으면서 lactobacillus, streptococcus 등의 유산균 생육을 가능한 거의 억제하는 배지조성을 조절하는 것으로 볼 때 bifidobacteria의 생육을 거의 억제시키지 않는 다양한 항생제를 저농도로 이용하여 neomycin sulfate 80 μ g/ml, gentamycin 50 μ g/mL, rifampicin 50 μ g/mL, nalidixic acid 15 μ g/mL, lithium chloride 3 mg/mL와 X- α -gal 100 μ M를 첨가하는 것이 더 효과적이라 생각된다.

요 약

Bifidobacteria를 다양한 유산균이 함께 공존하는 발효식품에 첨가시 이들을 분리할 수 있는 선택배지를 제조하기 위해 다양한 항생제의 생육저해 효과를 조사하였다. Gentamycin과 ripampicin은 100 μ g/mL의 농도에서 일반 유산균의 생육을 심하게 억제하였으나, bifidobacteria의 생육은 억제하지 않았다. ampicillin은 50 μ g/mL의 농도에서 일반 유산균은 거의 생육하지 못하였으나, bifidobacteria의 생육도 억제되었다. fosfomycin은 100 μ g/mL이상의 농도에서 일반 유산균보다 bifidobacteria의 생육이 더 억제되었다. Neomycin 80 μ g/mL, gentamycin 50 μ g/mL, ripampicin 50 μ g/mL, nalidixic acid 15 μ g/mL, LiCl₂ 3 mg/mL의 항생제가 함유된 MRS배지를 이용하였을 때 김치나 치즈에 존재하는 다양한 유산균의 생육을 억제시키지만 bifidobacteria의 생육을 억제시키지 않아 이를 선택적으로 분리할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 1997년도 교육부 농업과학 분야 거점 연

구소 육성사업에 의한 연구비 지원으로 수행된 연구 결과의 일부임.

문 헌

1. Mitsuoka, T.: Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria and Microbioflora*, **3**, 11-28 (1984)
2. Gilliland, S.E.: Beneficial interrelationship between certain microorganism and humans. *J Food Pro.*, **42**, 164-167 (1979)
3. Kim, H.S.: Characterization of lactobacilli and bifidobacteria as applied to dietary adjuncts. *Cul. Dairy Prod. J.* **234**, 6-9 (1988)
4. Homma, N.: Bifidobacteria as a residence factor in human beings. *Bifidobacteria and Microflora*, **7**, 35-43 (1998)
5. Mitsuoka, T.: Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria and Microflora* **1**, 3-24 (1982)
6. Hughes, D.B. and Hoove, D.G.: Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. *Food Tech.* **45**, 74-80 (1991)
7. Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. and Collins, J. K.: Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* sp. in mixed bacteria population. *Int. J. Food Microbiol.*, **35**, 1-27 (1997)
8. Beerens, H.: An elective and selective isolation media for *Bifidobacterium* spp. *Let. Appl. Microbiol.*, **11**, 155-160 (1990)
9. Teraguchi, S., Uehara, M., Ogasa, K. and Mitsuoka, T.: Enumeration of bifidobacteria in dairy products. *Jpn. J. Bacteriol.*, **33**, 753-761 (1978)
10. Tanaka, R. and Mutai, M.: Improved medium for selective isolation and enumeration of *Bifidobacterium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**, 866-869 (1980)
11. Munoa, F.J. and Rares, R.: Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* spp., *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 1715-1718 (1988)
12. Finegold, S.M., Sugihara, P.T. and Sutter, V.L.: Isolation of Anaerobes. Academic Press, Inc. Ner York, pp.99-108 (1971)
13. Miller, L.G. and Finegold, S.M.: Antibacterial sensitivity of *Bifidobacterium*. *J. Bacteriol.*, **93**, 125-130 (1967)
14. Park, H.K. and Heo, T.R.: Studies on the selective screening method of *Bifidobacteria* used in Yoghurt. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 214-219 (1995)
15. Shin, M.S., Lee, J.J., Suh, I.Y., Na, S.H. and Baek, Y.J.: Selective medium for the isolation and counting of *Bifidobacteria* in dairy products. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **22**, 210-216 (1994)
16. Lee, C.W., Ko, C.Y. and Ha, D.M.: Microbial changes of lactic acid bacteria during Kimchi fermentation and identification of the isolate. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 102-109 (1992)
17. Mheen, T.I. and Kwon, T.W.: Effect of temperature and salt concentration on Kimchi fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **16**, 443-450 (1984)
18. Lee, S.K., Johnson, M.E. and Marth, E.H.: Characteristics of reduced fat Cheddar cheese made with added *Micrococcus* sp. LL3. *Lebensm. Wiss. u-Technol.*, **25**, 552-558 (1992)
19. Min, H.K., Lee, S.K. and Kang, K.H.: Detection of *Bifidobacteria* by α -galactosidase activity. *Kor. Agr. Che. and Biotechnol.*, **36**, 191-196 (1993)
20. Chevalier, P., Roy, D. and Savoie, L.: X- α -gal-based medium for simultaneous enumeration of bifidobacteria and lactic acid bacteria in milk. *J. Microbiol. Methods*, **13**, 75-83 (1991)

(1998년 11월 23일 접수)