Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 28, No. 5, 279–284 (2000)

가금류 생균제 개발을 위한 *Lactobacillus fermentum* YL-3의 분리 및 생리 특성

조문경 · 김 경 · 김정호[1] · 이태근[2] · 김광엽*
충북대학교 식품공학과, [1]서원대학교 식품영양학과, [2](주) 흙살림

Isolation and Characterization of *Lactobacillus fermentum* YL-3 as a poultry probiotic. Cho, Mun-Kyoung, Kyong Kim, Chung-Ho Kim[1], Tae-Keun Lee[2], and Kwang-Yup Kim*. *Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea, [1]Food and Nutrition, Seowon University, Cheongju 361-140, Korea, [2]Heuksalim Co. LTD Koesangun, Chungbuk, 367-910, Korea* – This study was performed to screen lactic acid bacteria in domestic poultry for the probiotic use. Among the previously obtained acid tolerant, 139 strains, 111 strains were selected with MRS medium containing 0.3% oxgall. 34 strains of 111 was re-selected by Gram-staining and acid producing ability. These strains was identified by MIDI Sherlock Microbial Identification System. Among the identified 34 strains *Lactobacillus fermenum* YL-3 was selected for the final probiotic use because of the good growth and high survival rate at pH 2.0. 60%, 50% and 40% cells of *Lactobacillus fermentum* YL-3 survived at pH 3.0, 2.5 and 2.0, respectively. More than 10^7 CFU/ml survived when exposed with the number of 10^8 CFU/ml at pH 2.0 after 12 hr. *L. fermenum* YL-3 maintained growth in MRS broth containing 0.3, 0.5, 1.0 and 2.0% oxgall for 24 hr. *L. fermenum* YL-3 showed an inhibitory effect against pathogenic strains of *Sal. enteritidis* and *E. coli* O157 : H7. In mixed culture with *L. fermenum* YL-3 *Sal. enteritidis* lost ability completely in 15 hrs and *E. coli* O157 : H7 in 16 hrs.

Key words: Probiotics, *Lactobacillus fermentum*, poultry, *Salmonella enteritidis*, *E. coli* O157 : H7

생균제(Probiotics)란 고대 그리스어에서 유래된 이래로 1965년 Lilley, Stilwall이 처음으로 사용하였고 1989년 Fuller에 의해 장내 미생물의 균형을 개선함으로써 숙주동물에게 유익한 작용을 유도할 수 있는 생균제제로 개념이 확정되었다[8,21]. 인위적인 환경에 오랫동안 사육된 가축은 정상적인 장내 균총이 구성되기 어려운 상황에서 장내 세균들은 사료의 변화, 항생제 투여, 수송, 스트레스, 유해 미생물의 감염 등에 영향을 받게 되어 균총간의 균형이 깨어져 가축에서의 증체율의 저하, 사료의 이용률 감소 등 경제적 피해가 일어나게 되었다[5,24]. 또한 항생제에 대한 장내 내성 균주의 출현과 항생제의 잔류의 문제가 발생되면서 보다 안전한 육류식품에 대한 요구가 증가되면서 항생제 대체물질의 개발이 필요하게 되어 생균제에 대한 연구와 개발이 요구 되고 있다[6]. 이러한 생균제로서의 요건으로 제조 보관이 용이하고 소화관내에서 생존성이 높아야 하며 생균제 속에 적정량의 생균이 존재해야 하고, 안정성이 요구된다. 또한 빠른 활성도와 유용균의 증식을 촉진해야 한다. 가축의 경우 증체율의 개선, 사료 효율의 증가, 가축의 변비, 설사의 예방 및 치료등 가축의 건강 개선을 유도 할 수 있어야 한다. 그리고 투여 방법의 용이성과 함께 가격이 저렴하여야 한다[6,7,16,19]. 현재 국내에서도 유산균을 이용한 생균제들이 시판되고 있으나 이러한 생균제들은 대부분 외국으로부터 유산균 원료를 수입하여 제품화하기 때문에 국내의 생산 기술은 큰 발전을 하지 못하고 있는 실정이다[5,21,24]. 그러므로 국내에서도 가축의 장내에서 분리한 균주들을 가축의 생균제용 균주로 개발함으로써 가축의 질병예방 및 생산성 향상에 이용가치가 매우 높을 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 국내 환경적 요인을 감안하여 우리 나라의 닭에서 젖산균들을 분리하고 선발된 균주의 내산성, 내담즙성, 내열성, 병원성균 성장 억제 능력 등을 조사하여 우수한 균주를 선발하고자 하였다.

*Corresponding author
Tel. 043-261-2568, Fax. 043-271-4412
E-mail: Kimky@trut.chungbuk.ac.kr

재료 및 방법

사용균주

본 연구에서 사용한 *Salmonella enteritidis*는 미국 농무성에서 분양 받았고 *Esherichia coli* O157 : H7 (KCTC 1039)은 생명공학 연구소 유전자 은행에서 분양 받았다. 실험에 사용된 *Lactobacillus fermentum* YL-3는 28~32주령의 산란계에서 직접 분리 동정하여 사용하였다.

균주의 분리

닭의 맹장에서 내산성 및 내담즙성을 가진 균주를 분리하기 위하여 농염산으로 pH 3.5로 조정한 혐기 희석액 A[5]에 무균적으로 절단한 맹장을 넣고 2시간 동안 진탕한 후 0.3% oxgall powder(Sigma)를 첨가한 MRS(Difco), BL(Difco) 배지에 도말한 후 37°C에서 24~48 hr를 호기 배양 및 anaerobic system(Difco)을 이용하여 혐기적 배양을 실시하였다. 배양 후 자란 단일 균주를 다시 MRS, BL 배지에 옮겨 다시 배양하였다. 여기서 자란 균주를 다시 0.004% Bromcresol purple(Sigma)를 첨가한 MRS, BL배지에 도말하여 산 생성 시 노란색으로 변화시키는 균주만을 선별한 다음 형태적 특성 및 그람염색 등을 조사하였다.

균주의 동정

선발된 균주는 미생물 신속동정기(MIDI Sherlock Microbial Identification System, HP 6890 Series GC System, USA)를 이용하여 균체 세포벽의 지방산 조성을 분석하여 동정하는데 separation column(25 m × 0.2 mm × 0.33 μm, Ultra 2.5% phenyl methyl siloxane Capillary column, HP 19091B-102, U.S.A)을 사용하였다[6]. GC분석 조건은 carrier로서 H_2 gas를 사용하고 검출기로는 FID detector, 초기 온도 170°C, 최종 온도 270°C, 검출기 온도는 300°C 그리고 injecter의 온도는 250°C로 하였다. Fatty acid methylesters(FAMEs) profile은 MIS Software를 이용하여 calibration 표준성분의 retention time, peak의 면적 그리고 조성 비율과 비교하여 peak성분을 동정하고 성분의 조성에 따라 균주를 동정하게 된다.

내산성 실험

농염산으로 MRS 액체배지의 pH를 pH 3.0, 2.5, 2.0으로 맞춘 후 시간별로 생존 균수의 변화를 측정하였다. 37°C, 24시간을 호기 배양시킨 최종 선발 균주를 pH를 맞춘 각각의 MRS 액체배지 50 ml에 10^8 CFU/ml을 접종하였다. 접종 후 shaking 배양기에 12시간동안 진탕하면서 3시간 간격으로 0.85% 생리 식염수로 10배 단계 희석 후 MRS배지에 도말하였고 도말한 배지는 37°C, 24시간을 호기 배양하였다. 배양 후 검출된 집락을 계수한 후 희석배수를 곱하여 균수를 측정하여 생존 균수의 변화를 조사하였다.

내담즙성 실험

0.3% oxgall 농도에서의 생존성 및 시간별 생존 균수의 변화를 확인, 측정하기 위하여 37°C, 24시간을 호기 배양시킨 선발 균주를 0.3% oxgall이 첨가된 MRS 액체배지에 10^7 CFU/ml 정도를 접종하여 진탕배양기에 넣고 12시간 동안 진탕하였다 그후 2시간 간격으로 0.85% 생리식염수로 10배 단계 희석한 후 MRS배지에 도말하여 37°C, 24시간을 호기 배양하여 생존한 집락을 계수하여 0.3% 담즙에 대한 생존성 및 생존 균수의 변화를 확인하였다. 또한 담즙의 농도를 0, 0.3, 0.5, 1.0, 2.0%로 달리하여 MRS 액체배지에 첨가하여 37°C, 24시간을 호기 배양시킨 선발 균주를 10^7 CFU/ml 정도를 접종하여 Shaking 배양기에 넣고 24시간 동안 진탕한 후 0.85% 생리식염수로 10배 단계 희석한 후 MRS배지에 도말하여 37°C, 24시간을 호기 배양하여 생존한 집락을 계수하여 농도에 따른 담즙에 대한 내성을 실험하였다

내열성 실험

내열성 실험을 위해서 선발 균주를 MRS 액체배지에 접종하여 37°C, 48시간 배양 후 이 배양액을 멸균한 시험관에 일정량 분주하고 45°C, 50°C, 60°C, 70°C로 조절된 항온수조에 정치시키고 여기서 0분, 30분, 60분, 90분 및 120분에 시료를 취하여 0.85% 생리 식염수로 10배 단계 희석을 한 후 MRS배지에 도말 하여 37°C, 24시간을 호기 배양하였다. 배양 후 생균수를 측정하였다.

병원성균 억제 실험

최종 선발된 균주의 병원성 균에 대한 억제 능력이 있는지를 확인하기 위하여 다음과 같이 측정하였다. 선발 균주는 MRS 액체배지에서, 병원성 균인 *Sal. enteritidis, E. coli* KCTC 1039를 BHI 액체배지에서 각각 37°C, 24시간 배양한 후, 50 ml MRS 액체배지에 선발 균주와 병원성균을 각각 10^7 CFU/ml를 혼합 접종하고 대조구로 선발 균주, *Sal. enteritidis, E. coli*를 각각 MRS 액체배지에 단독 접종하여 37°C, 24시간 호기 배양하였다. 24시간 동안 배양하면서 2시간 간격으로 혼합 배양액과 단독 배양액에서 시료를 취하여 pH를 측정하였고, 0.85% 생리 식염수로 10배 단계 희석한 후 각각의 배양액을 선택 배지를 이용하여 도말 하였다. 37°C, 24시간 배양을 한 후 각각의 생균수를 측정하여 혼합 배양한 것과 단독 배양한 것을 비교함으로써 병원성 균의 생육억제 정도를 조사하였다. *Sal. enteritidis*의 선택배지로는 SS(BBL)배지를, *E. coli*는 EMB (BBL)배지를 사용하였고, 선발 균주의 선택배지로는 0.02% NaN_3(Sigma)가 첨가된 MRS배지를 사용하였다.

결과 및 고찰

균주의 분리

내산성을 가진 균주를 분리하기 위하여 농염산으로 pH 3.5로 조정한 혐기 희석액A에 무균적으로 절단한 맹장을 넣고 2시간 동안 교반한 후 선택, 비선택 배지를 이용하여 호기, 혐기적으로 배양한 결과 내산성을 가진 139 균주를 분리하여 계대하였고, 다시 배양한 분리 균주들의 배양액 1%를 pH 2.5로 조정한 혐기 희석액A에 접종하여 37°C에서 2시간동안 정치시킨 후 0.3% oxgall이 첨가된 배지에

도말 하여 내산성과 내담즙성을 가진 111 균주를 분리하였다. 111 균주들 중 산 생성 여부와 Gram 염색을 실시하고 미생물 신속 동정 기기(MIDI Sherlock MIS)를 이용하여 균주를 동정하였다. 동정된 균주들을 다시 pH 2.0에서 3 hr동안 진탕함으로써 균주들 간의 생존여부를 비교하고 다른 병원성균의 빠른 성장속도에 경쟁할 수 있도록 빠른 성장을 보이는 균주를 중심으로 균주를 선발한 결과 최종적으로 YL-3을 선발하였다.

선발 균주 YL-3의 동정

최종 선발 균주을 동정하기 위하여 지방산을 추출한 후 이 지방산을 가스 크로마토그래피에 의해 분석 한 후 MIDI사의 Sherlock MIS[17]의 소프트웨어를 통해 지방산을 비교함으로써 동정되었다. Similarity index의 수치가 0.5이상이면 동정된 균주로 인정하므로 YL-3의 Similarity index의 수치는 0.778로 *Lactobacillus fermentum*으로 동정하였다.

내산성 실험

YL-3의 각 pH별로 12시간 동안 3시간 간격으로 생존 균수을 확인한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. pH 3.0에서 3시간 경과후의 생균수는 접종 균수(1.1×10^8 CFU/ml)의 60%(6.4×10^7 CFU/ml)정도 생존하였고, pH 2.5에서는 접종 균수의 50%(5.0×10^7 CFU/ml)가, pH 2.0에서는 40% (4.3×10^7 CFU/ml)가 생존하였다. pH 2.0에서는 6시간 이후에 급격히 감소하는 것을 볼 수 있었지만 12시간 경과 후에도 사멸되지 않고 10^7 CFU/ml정도의 생균수를 유지하고 있었다. 유산균의 내산성 실험은 *in vivo*에서 직접 생존율을 확인하는 실험과 인공위액, buffer등을 이용한 간접적인 방법이 수행되어 왔는데[21], 그러나 위액에 위한 미생물 사멸작용의 주요인이 HCl에 의한 낮은 pH인 것으로 밝혀졌으며[7], *in vitro*의 실험결과와 *in vivo*에서의 결과가 거의 유사하다는 것이 보고되었다[4,7,19]. 따라서 본 실험에서 HCl을 이용한 *in vitro* 방법도 균주의 내산성을 확인하는데 충분하다고 생각된다. Shin[21]등은 사람의 분변에서 분리한 *L. acidophilus* KY 2104는 pH 3.0에서 2시간의 정치에서 100%의 생존을 보였고, pH 2.5에서는 초기농도(10^7 CFU/ml)의 90%의 생존율을 보였으나 pH 2.0에서는 1.22×10^4 CFU/ml의 생존하는 것을 보고하고 있고, Hood등[12]에 의하면, *in vitro*에서 실험한 *L. acidophilus* 균주가 pH 2.0에서 30~45분 정도 생존하는 것으로 알려졌으며, Conway[10]도 pH 2.5에서 10^5 CFU/ml이하로 생존하는 것으로 보고하였다. 그러므로 선발된 *L. fermentum* YL-3은 pH 2.0에서 12시간 후에도 10^7 CFU/ml을 유지하고 있고 미생물 사멸 작용이 급격히 일어난다[21]는 pH 2.5에서도 12시간이 지난 후에도 지속적인 생균수를 유지하고 있었다. 닭의 선위(proventriculus)의 pH는 3~4이고, 모래주머니(gizzard)의 pH는 보통 pH 1-2[3]인데, 보통 가축에게 생균제의 투여는 직접 경구 투여하거나 사료 혹은 물에 혼합하여 급여하고 있기 때문에 실제적으로는 장관의 pH보다는 높은 pH에 노출되기 때문에 충분히 생존하여 장에 도달할 것으로 생각되어진다.

내담즙성 실험

최종 선발 균주인 YL-3의 0.3% oxgall이 첨가된 MRS 액체배지에서의 생존성 및 시간별 생존 균수의 변화를 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 대조구에 비해 0.3% oxgall이 첨가된 MRS 액체배지에서 느린 성장속도를 나타내고 있다. 하지만 첨가된 담즙에 의해 균이 저해되거나 사

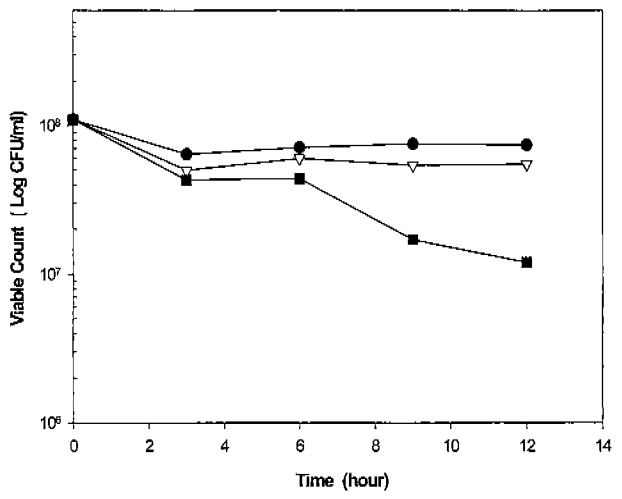

Fig. 1. Acid tolerance of *L. fermentum* YL-3 in MRS broth at various pH for 12 hr.
Symbol: −●−; pH3.0, −▽−; pH2.5, −■−; pH2.0

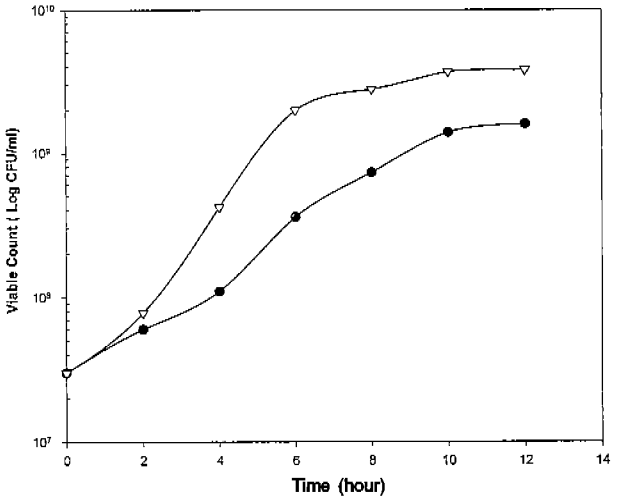

Fig. 2. Growth of *L. fermentum* YL-3 in MRS broth with and without 0.3% oxgall for 12 h at 37°C.
Symbol: −■−; *L. fermentum* YL-3 with 0.3% oxgall, −▽−; *L. fermentum* YL-3 without oxgall

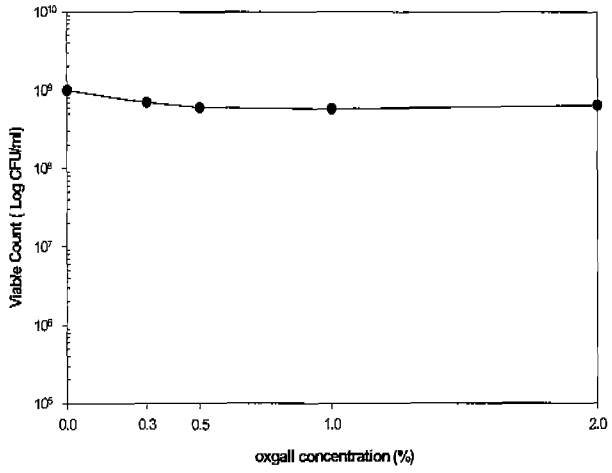

Fig. 3. Bile salt resistence of *L. fermentum* YL-3 in MRS broth containing oxgall for 24 hr at 37°C.

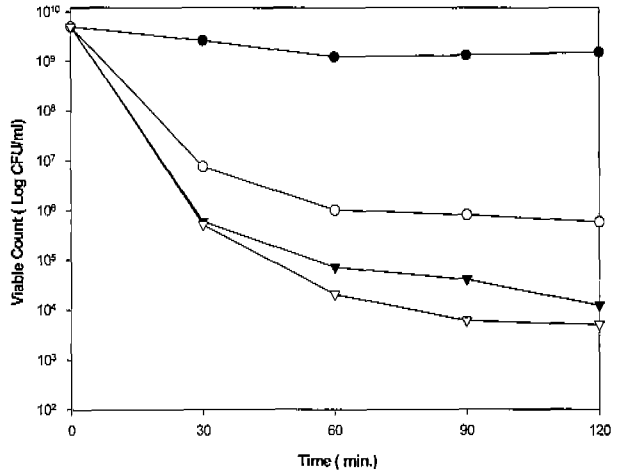

Fig. 4. Survival of *L. fermentum* YL-3 in MRS broth at various temperatures and exposed time.
Symbol: –●–; 45°C, –○–; 50°C, –▼–; 60°C, –▽–; 70°C

멸되지 않고 대조구에 비해 느린 성장을 보였으나 계속적인 성장이 이루어졌다. 또한 담즙의 농도를 달리하여 배양한 결과는 Fig. 3에 나타나 있다. 담즙이 0.5, 1.0, 2.0%가 첨가된 액체배지에서도 0.3%을 첨가했을 때와 거의 같은 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 Gilliland[9]등과 같으며 Shin[21]등에 의하면 장내에서 유래하지 않는 lactobacilli의 경우 oxgall이 0.15%함유된 LBS배지에서 성장하지 못함을 보고하였으며, 장내 유래세균이 아닌 경우는 아주 적은 농도의 담즙에 대해서도 민감하다고 한다[11,19,22]. 따라서 닭의 맹장에서 분리한 *L. fermentum* YL-3은 담즙에 강한 내성을 갖는 균주로서 장에 도달하여 충분히 정착할 가능성이 있는 균주로 여겨진다.

내열성 실험

생균제를 가축에게 급여하는 형태로 파우더, 펠렛, 그래뉼, 알약, 반죽 형태로 가축에게 직접 투여하거나 사료 혹은 물에 혼합하여 급여[24] 하게 되는데 이러한 가공처리를 하기 위해서는 보통 약 60~80°C정도로 열처리가 이루어진다고 한다[11]. 또한 Lee[14]에 의하면 생균제의 내산성을 증가시키기 위한 한 방법으로 미세 캡슐화를 하기 위해서는 균주의 내열성에 대한 실험을 함으로써 균주의 내열성을 고려하여 열처리 온도와 시간을 정하는 것이 바람직하다고 보고하고 있다. 따라서 Lee[14]가 실험한 방법을 기초로 한 YL-3의 내열성에 대한 실험 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 45°C에서는 5.0×10^9 CFU/ml의 초기 균수에서 약 50%인 2.6×10^9 CFU/ml정도의 균수 감소를 나타내고 있지만 120분 동안에 그 균수를 유지한다. 그러나 50°C이상의 온도에서는 급속히 감소함을 나타내었다. 이러한 결과로 이 균을 이용하여 생균제로 가공할 시에는 이러한 균의 내열성을 고려하여야 할 것으로 여겨진다.

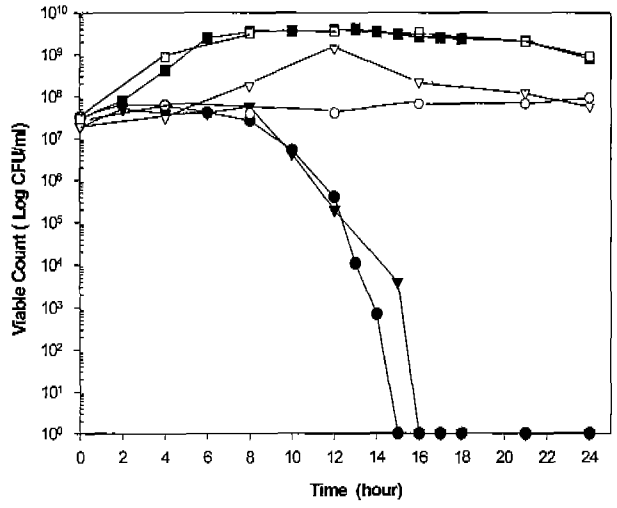

Fig. 5. Growth inhibition of *Sal. enteritidis* and *E. coli* O157 : H7 by *L. fermentum* YL-3 in MRS broth at 37°C.
Symbol: –●–; *Sal. enteritidis* in mixed culture, –▼–; *E. coli* O157 : H7 in mixed culture, –■–; *L. fermentum* YL-3 in mixed culture, –○–; *Sal. enteritidis* in single culture, –▽–; *E. coli* O157 : H7 in single culture, –□–; *L. fermentum* YL-3 in single culture

장내 병원성균 억제 실험

Sal. enteritidis, E. coli O157 : H7과 같은 장내 병원성균에 대한 *L. fermentum* YL-3의 성장 억제 능력을 측정한 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 병원성 균주들을 MRS 액체배지에서 단독 배양했을 때의 증식 균수를 대조구로 정하고 YL-3와 혼합 배양하였을 때의 생균수를 비교하여 병원성균의 성장억제를 나타내었다. 또한 단독 배양과 혼합배양시의 pH를 측정하여 Fig. 6에 나타내었다. 혼합배양 후 8시간 이후로 두 개의 병원성균은 급격히 감소하기 시작하였으며 *Sal. enteritidis*는 혼합 배양 후 15시간만에, *E.*

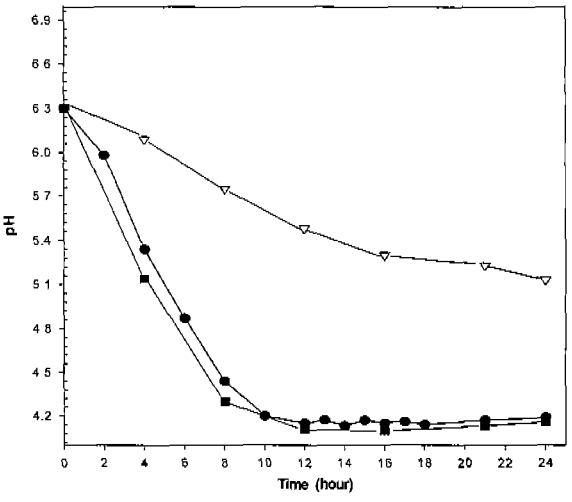

Fig. 6. Changes of pH at mixed culture of *L. fermentum* YL-3 with pathogen in MRS broth at 37°C.
Symbol: −●−; *Sal. enteritidis* + *E. coli* O157 : H7 + *L. fermentum* YL-3, −▽−; *Sal. enteritidis* + *E. coli* O157 : H7, −■ −, *L. fermentum* YL-3

coli O157 : H7는 16시간이후 균이 검출되지 않았다. 8시간 이후 pH는 4.2 이하로 떨어졌고, 그 이후는 pH 4.1 정도를 유지하였다. 유산균에 의한 유해균의 억제 기작으로는 bacteriocin과 같은 항생물질의 생산, 대사 산물인 산 생성에 의한 pH의 감소[16], H_2O_2의 발생, 산화 환원 전위의 감소, 영양원의 소비 등이 보고되고 있다[3]. Park[20]등의 의하면, *L. acidophilus* KCTC 3155와 *E. coli* KCTC 2618과의 혼합배양에서는 14시간만에 균의 사멸이 나타났고, *Sal. choleraesuis*는 24시간 후에 소멸됨을 보고하였다. Shin[21]등은 *L. acidophilus* KY 2104에 의한 병원성균의 억제능력은 16시간의 혼합배양에서 균의 급격한 감소를 보였으나 균의 사멸은 나타나지 않았고 병원균 종류에 따라 유산균에 의한 성장 억제 정도가 다름을 보여주었다. 또한 혼합 배양 후에 pH가 동일함에도 불구하고 성장 억제 정도가 다른 것을 볼 때 pH이외에 다른 기작이 있을 것으로 보고하고 있다. 또한 Park[19]등의 연구에서도 대장균의 생육 억제가 배양과정에서 유산균에 의한 젖산에 의해 낮아진 pH의 영향인지를 파악하기 위하여 pH 별로 대장균 생장 억제 실험을 실시해 본 결과 산성 pH에서는 성장이 억제되기는 하였지만 사멸은 되지 않는 것으로 나타남으로써 pH에 의해서 성장이 저해되고 미지의 bacteriocin에 의한 사멸작용으로 대장균의 생육이 억제된 것으로 보고하고 있다. Antony[2]는 유산균에 의해 발효된 기장의 가루분에 의해서도 유해균의 생육이 억제된다고 하였고, Ouwehand[18]는 pH 4.0인 인공위액에서 *E. coli*는 성장을 했지만 *L. fermentum*을 배양한 배양액에서는 전혀 성장을 하지 못했음을 보고하고 있다. Ahn[1]등에 의하면 보통 *E. coli* O157 : H7의 생장할 수 있는 pH는 4.0~9.0이고 *Salmonlla* 의 최적 pH는 6.5~7.5로 보고하고 있고 실험한 결과 사용한 젖산균과 비피더스균에 의한 *E. coli* O157 : H7과 *Sal. typhimurium*에 대한 생육저해의 가장 큰 원인은 젖산에 의한 pH의 저하 외에 유산균이 생산하는 대사산물과 복합적으로 작용하여 생육을 저해한 것으로 보고하고 있다. 따라서 여러 연구 결과와 비교해 보았을 때 YL-3에 의한 병원성균의 억제 능력은 산 생성에 의한 pH저하 이외에 다른 원인이 있을 것으로 보인다. Yan[23]등은 Gram양성균에 대해서만 저해를 갖는 fermentcin B인 bacteriocin을 *L. fermentum*에서 정제함으로써 다른 bacteriocin이 있을 가능성을 제시한 바 있다.

요 약

국내 환경적 요인을 감안하여 국내의 닭에서 젖산균을 분리하고 각 균주들의 내산성, 내담즙성, 내열성, 병원성균 성장 억제 능력등을 조사하여 가장 성상이 우수한 균주를 선발함으로써 생균제용 균주의 선발과 산업적으로 이용 가능성을 조사하였다. pH 3.5에서 1차적으로 내산성이 있는 139균주를 분리하였으며, 0.3% 담즙에 대한 내성이 있는 111균주를 분리하였다. 산 생성 및 기타 특성을 조사한 후 최종적으로 34 균주를 선발한 후 그 중 24시간에 가장 빠른 성장률을 보이고 pH 2.0에서 3시간동안 정치했을 때 가장 많은 생존율을 나타낸 *Lactobacillus fermentum* YL-3을 생균제 가능 균주로 선발하였다. YL-3의 내산성은 pH 3.0에서 3시간 동안 60%의 생존률을 나타내고, pH 2.5는 50%, pH2.0에서는 40%의 생존율을 나타내었다. 그러나 pH 2.0에서 12시간 동안에도 사멸하지 않고 10^7 CFU/ml의 생균수를 유지하였다. YL-3의 내담즙성은 0.3% 담즙에 대하여 사멸되거나 억제되지 않고 12시간 동안에 성장을 보였다. 또한 0.5, 1.0, 2.0%가 첨가된 액체배지에서 24시간의 배양 후에도 같은 경향을 나타내었다. YL-3의 내열성은 45°C에서는 생균수의 큰 감소 폭을 나타내지 않았지만 그 이상의 온도에서는 급격히 생균수가 감소하는 것을 볼 수 있었다. YL-3의 장내 병원성균의 성장 억제 능력은 우수하였다. *Sal. enteritidis, E. coli*와의 혼합 배양에서 *Sal. enteritidis*는 혼합 배양한지 15시간만에, *E. coli*는 16시간만에 억제효과를 나타내었다.

REFERENCES

1. Ahn, Y. T., P. K. Shin, and H. U. Kim. 1997. Growth inhibition of *E. coli* O157 : H7 and *Salmonella typhimurium* by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Kor. J. Fd Hyg. Safty*, **12**(3): 181–187.
2. Antony, U., L. G. Moses, and T. S. Chandr. 1998. Inhibition of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* by fermented flour of finger millet (Eleusine Coracana). *World J.*

Microbiol. Biotechnol. **14**: 883–886.
3. Barrow, P. A. 1992. Probiotics for chickens, pp. 225–257. In Fullar R.(ed.), *Probiotics, The scientific basis*, Chapman & Hall .
4. Berrada, N., J. F. Lemeland, G. Laroche, P. Thouvenot, and M. Piaia. 1991. *Bifidobactrium* from fermented milks: Survival during gastric transit. *J. Dairy Sci.* **74**: 409–413.
5. Byun, J. W. 1996. Studies on distribution of normal intestinal microflora and development of the bacterial strains for probiotic use in domestic animals. M.S. thesis in Chungbuk National University.
6. Chang, Y. H., J. K. Kim, H. J. Kim, J. H. Yoon, W. Y. Kim, Y. W. Choi, W. J. Lee, Y. B. Kim, and Y. H. Park. 1999. Characteristics of *Lactobacillus reuterii* BSA-131 isolated from swine intestine. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**(1): 23–27.
7. Conway, P., L. Gorbach, and B. R. Goldin. 1987. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J. Dairy Sci.* **70**(1): 1–12.
8. Fuller, R. 1992. History and development of probiotics, pp. 1–8. In Fullar R.(ed.), *Probiotics, The scientific basis*, Chapman & Hall.
9. Gilliand, S. E., T. E. Staley, and L. J. Bush .1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.* **67**: 3045–3051.
10. Gilliland, S. E. and D. K. Walker. 1990. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunt to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *J. Dairy Sci.* **73**: 905–911.
11. Havenaar, R., B. T. Brink, and J. H. J. Huis. 1992. In't veld selection of strains for probiotic use, pp. 209–224. In Fullar R.(ed.), *Probiotics, The scientific basis*, Chapman & Hall.
12. Hood, S. K. and E. A. Zottola. 1988. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cell. *J. Food Sci.* **53**: 1514–1516.
13. Kalantzpoulos, G. 1997. Fermented products with probiotic qualities. *Anaerobe* **3**: 185–190.
14. Lee, K. U. 1998. Studies on the microencapsulation of lactic acid bacteria and their survival. A doctor dissertation in Seoul National University.
15. Maria E. Nader de Macias, Clara S. de Ruiz, Maria E. Lopez de Bocaner, and Aida A. Pesce de Ruiz Hologado. 1996. Preventive and therapeutic effects of *Lactobacilli* on urinary tract in mice. *Anaerobe* **2**: 85–93.
16. Mcdonald, L. C., H. P. Fleming, and H. M. Hassan. 1990. Acid tolerance of *Leuconostoc mensenteroides* and *Lactobacillus plantatum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**(7): 2120–2124.
17. MIDI, Inc. : Operating manual Ver. 6: *Sherlock Microbial Identification System.*
18. Ouewhand, A. C. 1998. Antimicrobial components from lactic acid bacteria, pp. 139-159. In Salminen S.(ed), 2nd., *Lactic acid bacteria, Microbiology and Functional Aspects*, Atte von Wright VIT Biotechnology and Food Research Espoo, Finland.
19. Park, C. J., J. S. Pyeon, Y. K. Cho, S. S. Hong, and H. S. Lee. 1996. Characteristics of *Enterococcus* sp. isolated from animal intestine and powder. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**(4): 393–398.
20. Park, H. S., S. H. Lee, and T. B. Uhm. 1998. Selection of microorganisms for probiotics and their characterization. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.* **27**(3): 433–440.
21. Shin, M. S., H. M. Kim, G. T. Kim, C. S. Huh, H. S. Bae, and Y. J. Baek. 1999. Selection and characteristics of *Lactobacillus acidophilus* isolated from korean feces. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**(2): 495–501.
22. Sim, J. H., S. J. Oh, S. K. Kim, and Y. J. Baek. 1995. Comparative tests on the acid tolerance of some lactic-acid-bacteria species isolated from lactic fermented products. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**(1): 101–104.
23. Yan, T. R. and C. S. Lee. 1997. Characterization of a partially purified bacteriocin, fermentcin B from *Lactobacillus fermentum*. *Biotechnol. Lett.* **19**(8): 741–744.

(Received May 10, 2000)