

연맥 사일리지에서 분리된 *Lactobacillus plantarum*의 균특성에 관한 연구

정종율 · 임영택 · 석호봉

단국대학교 생명자원과학부
(2000년 5월 15일 게재승인)

Studies on the characteristics of *Lactobacillus plantarum* isolated from oat silage

Jong-yul Jeong, Young-taek Lim, Ho-bong Seok

School of Life Science and Resources, Dankook University
(Accepted by May 15, 2000)

Abstract : The growth characteristics and the cellular protein patterns of the *Lactobacillus plantarum* isolated and identified from oat silage were examined in order to confirm whether it will be used practically as probiotics or not. *L. plantarum* was identified by morphological and biochemical tests including of final conforming by API 50CHL kit. The cultivation in MRS broth of the strain under the condition of different temperature, proved that they grew into 2.0×10^9 in 25°C, into 1.4×10^9 in 35°C but they decreased into 4.5×10^5 growth in 45°C. The comparison of the growth by measurement of O.D600nm value after 24 hour cultivation between *L. plantarum* and commercial probiotics, showed that the strain had a higher growth than commercial as 1.841 : 1.623. The measurement of it under bile acid's existence, indicated that this isolation was not influenced by bile acid and the tolerance was 3.2×10^9 , 3.9×10^9 and 3.2×10^9 , respectively, when each of 0%, 1%, and 2% oxigall existed. The examination of their antibiotics susceptibility by disk diffusion test, proved that *L. plantarum* showed resistance against danofloxacin(5mcg), gentamycin(10mcg), kanamycin(30mcg), neomycin(30mcg) and streptomycin (10mcg). Based upon the test of the bacteriocin formation of this *L. plantarum*, it was found out that the inhibition zone was not formed. In growth of *L. plantarum* and *E. coli* in nutrient broth, all *E. coli* died out within 6 hours after cultures.

Key words : *Lactobacillus plantarum*, growth characteristics, probiotics, oat silage.

서 론

일반적으로 사일리지는 수분함량이 많은 작물을 인위적으로 발효시켜 만들어진 초식동물의 유산균 먹이로서 작물의 생육기간이 짧은 지역에서 겨울동안에 소에게 먹일 조사료로 널리 이용되고 있다. 이용되는 작물의 종류는 나라와 지역에 따라 많은 차이가 있으며 제조과정은 사일로내에 들어있는 작물의 화학적 조성과 재료 속에 들어있는 공기의 양 또는 허용량 그리고 미생물의 활력에 의해 결정된다^{1,2}. 신선한 청예소맥에서 발견되는 젖산균은 주로 *L. plantarum*, *L. cellobiosus*, *Leuc. mesenteroids*, *S. lactis* 균으로 알려져 있으며, 초기 사일리지에서는 주로 *L. plantarum*, *L. curvatus* 와 같은 동형발효 젖산균이 자라고 4일 정도가 되면 젖산균의 약 85%가 이형발효 젖산균으로 대체되며 발효가 진행됨에 따라 *L. buchneri* 와 *L. brevis* 등의 이형발효 젖산균이 주로 자라게 된다. 항생제나 화학요법제의 남용, 오용은 인간이나 동물에게 미생물에 대한 내성을 증가시키고 체내 대사에 영향을 미칠 수 있기 때문에 그 사용량 및 식품에서 잔류허용량은 더욱 엄격해지고 있다. 항생제나 화학요법제의 대안으로 생균제 개발이 중요시 되어지고 있으며 이들은 이미 동물약품, 사료 등에 첨가되고 있다. 이들 작용기전은 유산과 같은 유기산을 생산하여 장내 pH를 낮게 유지함으로써 해로운 미생물을 억제 유지하고 특수항균물질을 생산함으로써 여러가지 병원성 박테리아에 직접적인 억제작용에 의한 것이다³. 유산균은 동물의 장에 정착하여 장내 정상세균총을 유지시키고 유해세균의 증식억제 및 설사예방과 독성물질의 흡수를 저해하는 효과가 있다⁴. 현재 미국, 일본, 유럽제국에서 40여종의 미생물이 생균제로 사용되고 점차로 증가되는 추세이며, 국내에서는 생균제의 원료가 대부분 외국으로부터 수입하여 원료 그대로 또는 일부분을 재포장한 후 판매하고 있어 생균제에 대한 산업기술의 발전 및 축적이 미흡한 실정이다⁵. 국내에서 *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces* spp., *Streptococcus* spp.(*Enterococcus* spp), *Bacillus* spp. 및 *Clostridium* spp. 등이 단세포 영양제 및 소화효소의 생산을 위한 생균제 생산균종으로 널리 이용되고 있으나 사료첨가용 생균제에 사용될 균종은 동물에 병원성이 없어야 하며 보존성, 위장내의 효소 및 담즙에 대한 저항성, 제조시 효능유지, 장내에서 집락형성 등의 특

성을 갖추어야 한다.

따라서 본 연구에서는 현재 외국에서 거의 전량 수입되어 의약품, 동물약품 및 건강보조식품 등 분말제품에 이용되고 있고 국내 유래의 유산균으로 대체개발이 시급한 상황에서 소 먹이용 사일리지에서 분리한 *Lactobacillus* 균에 대한 균특성 즉, pH 및 생장력, 담즙산과 항생물질, 대장균 억제효과 및 항균물질 생성검사 등 생균제로서의 시험관내의 기능과 특성을 조사하여 생체내 효능의 기초자료를 얻고자 실험하였다.

재료 및 방법

사일리지 및 공시균주 : 젖산균주 분리용 사일리지는 농촌진흥청 축산기술연구소 초지과에서 시험제조중인 연맥사일리지를 이용하였으며, 공시균주로는 동 연구소 축산물 이용과에서 분양받은 *L. acidophilus* ATCC 2182, *L. bulgaricus* ATCC 33409, *L. bulgaricus* LB120, *L. casei* ATCC 7230, *L. casei* IFO 3533, *C. kyfer* 와 서울대 동물자원학과 유가공실험실에서 분양받은 *L. acidophilus* ATCC 43121을 연구에 사용하였다.

젖산균주의 분리 및 동정 : 연맥사일리지 시료를 5g씩 채취하여 회석수(0.1% bacto peptone, Difco) 45ml과 무균 비닐백에 넣은 후 stomacher로 1분간 처리하여 얻어진 추출액을 0.02%의 sodium azide가 함유된 MRS agar(Difco)에 도말후 37℃에서 24시간 배양하였다. 배양된 젖산균주의 단일 colony들을 MRS broth(Difco)에 접종한 후 37℃에서 배양시간을 0, 2, 4, 6, 8로 달리하여 산생성도를 측정하였고, 그중 산생도가 우수한 균주를 선발하였다. 선발된 균주는 MRS agar에서 37℃, 24시간 배양후 균주의 집락에 3% H₂O₂를 가한 후 산소생성여부를 확인하였고, gram stain을 통한 현미경(Meiji, Japan) 관찰후 API 50CHL kit(API bioMerieux, France)를 이용하여 당 분해능을 시험하였고, 젖산균의 종과 속은 API LAB PLUS software(bioMerieux, France)로 확인 동정하였다.

대장균의 분리 : 신선한 가급분변을 0.1% peptone 회석수에 혼합후 MacConkey agar에 고르게 도말후 배양한 집락중 pink color의 단일집락을 채취해 nutrient broth에 37℃, 12시간 배양한 배양액을 대장균 측정용 petri film (3M Health care, USA)에 1ml 분주후 배양한 결과 blue color의 집락과 가스의 생성으로 대장균임을 확인하고, 분리된 대장균을 bacteriocin 생성과 대장균 억제시험에

사용하였다.

생장력 비교시험 : 온도에 따른 생장력 시험은 분리균주를 MRS broth에 1% 수준으로 접종한 후 25℃, 35℃, 45℃에서 4, 8, 12, 24시간에 걸쳐 배양후 배양액을 희석수(0.1% bacto peptone)에 희석한 후 MRS agar에 pouring 과 overlaying 방법을 사용하여 37℃에서 48시간 배양후 생균수를 측정하였다⁶. *L. plantarum* 1841과 상업용 생균제(*L. bulgaricus* LB120)와의 생장력 비교는 각각을 MRS broth에 1% 수준으로 접종한 후 37℃에서 4, 8, 12, 16, 20, 24시간 배양하면서 UV-spectrophotometer(Shimadzu, Japan)를 이용 OD600nm에서 생장력을 측정하였다.

담즙산 및 항생제 내성시험 : 담즙산(Oxgall, Sigma)을 0, 1, 2% 첨가한 MRS broth에 분리균주를 37℃에서 24시간 배양후 생균수를 측정하였다. 항생제 내성시험은 Bauer-Kirby disk diffusion 법⁷을 수정하여 분리균주를 MRS broth에 37℃, 24시간 2.0×10^9 cfu/ml 수준으로 배양후 배양액을 MRS agar에 균등도말한 후 디스크를 부착하였다. 디스크가 부착된 배지를 37℃에서 48시간 배양한 후 억제환을 관찰하여 크기에 따라 a, b, c로 구분하였다. 항생제 디스크(Becton Dickinson Microbiology Systems, USA)는 10종이 사용되었다.

젖산균의 대장균 억제효과 : MRS broth와 nutrient broth서 37℃, 24시간 각각 배양한 젖산균 배양액 5ml(2.0×10^9)과 대장균 배양액 5ml(2.0×10^8)을 혼합한 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24시간동안 젖산균과 대장균 수의 변화를 0.02%의 sodium azide가 함유된 MRS agar와 대장균 측정용 petri film을 이용하여 생균수를 측정하였다.

Bacteriocin 생성 : MRS broth에서 37℃, 12시간 배양한 분리균주를 8000rpm에서 15분간 원심분리하여 얻어진 상청액의 pH를 7.0으로 조절후 filter(0.45 μm pore size)로 여과한 것에 Paper disk를 6시간동안 침적시켰다. *E. coli* 배양액을 nutrient agar(Difco)에 균등도말하고 그 위에 디스크를 놓은 후 37℃에서 24시간 배양후 억제환의 크기를 측정하였다⁸.

결 과

젖산균 동정 : 사일리지에서 분리된 젖산균들을 0, 2, 4, 6, 8시간의 시간대로 산생성도를 조사한 결과 4.46-4.35의 pH를 나타내었다(Fig 1). 그중 산생성도가 우수한 시험번호 1841을 catalase 반응과 gram stain한 결과 각각 음

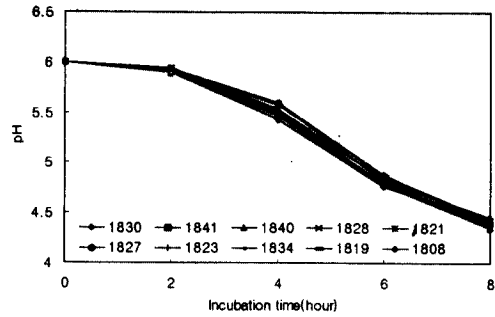


Fig 1. pH changes of lactic acid bacteria isolated from silage.

성과 양성반응을 나타내었고 간균의 형태를 이루고 있었으며 API 50CHL kit(API bioMerieux, France)을 이용한 당 분해능 조사는 L-arabinose, ribose, galactose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, rhamnose, mannitol, sorbitol, α-methyl-D-mannoside, N-acetyl-glucosamine, amygdaline, arbutine, esculine, salicine, cellobiose, maltose, lactose, melibiose, saccharose, trehalose, melezitose, D-raffinose, β-gentiobiose, gluconate 등 25종류에 양성반응을 나타냈으며, API LAB PLUS software(bioMerieux, France)로 동정한 결과 *Lactobacillus plantarum*임을 확인하고 *L. plantarum* 1841로 명명하였다(Table 1).

***L. plantarum* 1841의 생장력 비교:** *L. plantarum* 1841로 명명된 분리균주를 25, 35, 45℃에서 4, 8, 12, 24시간에 걸쳐 배양하면서 생장력을 측정한 결과, 접종후 4시간부터 온도에 따른 생장력 차이를 보였고, 24시간후 각각 2.0×10^9 , 1.4×10^9 , 4.5×10^5 으로 45℃의 고온배양에서 급격한 감소를 나타내었다(Fig 2). *L. plantarum* 1841과 상업용 생균제(*L. bulgaricus* LB120)와의 생장력 비교에서 흡광도

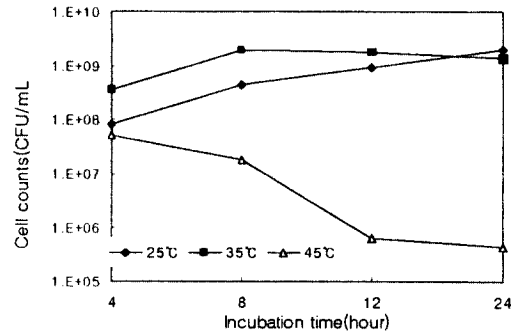


Fig 2. Growth of *Lactobacillus plantarum* 1841 culture in MRS broth.

Table 1. Identical characteristics of the lactic acid bacterial isolated from silage

References : 1841
EXELENT IDENTIFICATION

Strip : API 50 CHL V4.0

profile :

O	- GLY	- ERY	- DARA	- LARA	+ RIB	+ DXYL	- LXYL	- ADG	- MDX	- GAL	+
GLU	+ FRU	+ MNR	+ SBE	- RHA	+ DUL	- INO	- MAN	+ SOR	+ MDM	+ NDG	-
NAG	+ AMY	+ ARB	+ ESC	+ SAL	+ CBL	+ MAL	+ LAC	+ MEL	+ SAC	+ TRB	+
INU	- MLZ	+ RAF	+ AMD	- GLYG	- XLT	- GEN	+ TUR	- LYX	- TAG	- DJUC	-
LFUC	- DARL	- LARL	- GNT	+ 2KG	- 5KG	-					

Significant taxa	% Id.	T	Tests against	
Lacto. plantarum	1	99.9	0.95	0
Next choice				
Lacto. pentosus	0.1	0.46		5

Lacto. plantarum 1 : 0 test(s) against

Next choice

Lacto. pentosus : 5 test(s) against

GLYCEROL	(GLY) 75%	D-XYL	(DXYL) 100%
L-RHAMNOSE	(RHA) 25%	METHYL-D-MANNOSIDR	(MDM) 1%
MELEZITOSE	(MLZ) 25%		

를 측정 한 결과 각각 0.844, 1.309, 1.686, 1.777, 1.802, 1.841 과 0.463, 0.971, 1.075, 1.589, 1.602, 1.623으로 *L plantarum* 1841이 상업용 생균제에 비해 성장속도 및 증식이 우수 하였다(Fig 3).

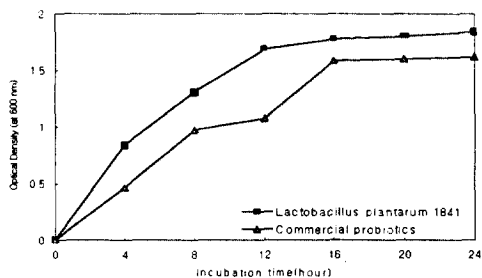


Fig 3. Growth of *Lactobacillus plantarum* 1841 and commercial probiotics in nutrient broth.

담즙산 및 항생제 내성시험 : *L plantarum* 1841을 0, 1, 2%의 oxigall이 함유된 MRS broth에서 24시간 배양후 생 균수를 측정 한 결과, 각각 3.2×10^9 , 3.9×10^9 , 3.2×10^9 으로 나타나 담즙산하에서도 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며(Table 2), 항생제 내성시험에서는 억제환의 크기를 비교해본 결과, *L plantarum* 1841은 danofloxacin(5 mcg)와 gentamicin(10mcg), kanamycin(30mcg)에 저항성이 있었고, neomycin(30mcg)과 streptomycin(10mcg)에도 역시

Table 2. Bile tolerance of *Lactobacillus plantarum* 1841

Oxigall [®] concentration(%)	Cell counts(cfu/ml)
0	3.2×10^9
1	3.9×10^9
2	3.2×10^9

Table 3. Antibiotics susceptibility of *L. plantarum* 1841 and *L. bulgaricus* as a commercial probiotics

Antibiotics	Conc/disc	<i>L. plantarum</i> 1841	<i>L. bulgaricus</i>
Ampicillin	10mcg	b	c
Cephalothin	30mcg	a	c
Danofloxacin	5mcg	n	n
Gentamicin	10mcg	n	n
Kanamycin	30mcg	n	n
Neomycin	30mcg	n	n
Penicillin	10mcg	a	c
Streptomycin	10mcg	n	n
Sulfamethoxazole/trimethoprim	23.75/1.25mcg	b	n
Tetracycline	30mcg	b	b

n : no inhibition, a : inhibition zone ≤ 3mm, b : inhibition zone 3mm-9mm, c : inhibition zone ≥ 9mm.

저항성이 있었으며, 다른 5종의 항생제에는 약한 감수성을 나타내었다. 반면 상업용 생균제는 danofloxacin(5mcg), streptomycin(10mcg), kanamycin(30mcg), gentamicin (10mcg), sulfamethoxazole/trimethoprim(23.75/1.25mcg), neomycin(30mcg)의 6종의 항생제에 저항성을 나타내었으나 다른 4종의 항생제에는 *L. plantarum* 1841 보다 감수성이 높았다. 결국 *L. plantarum* 1841은 commercial probiotics에 비해 항생제에 대한 내성이 비슷하거나 더욱 우수한 것을 알 수 있었다(Table 3).

Bacteriocin 생성 및 대장균 억제효과 : 가급에서 분리한 대장균을 nutrient agar에 도말한 후 MRS broth에서 37℃ 24시간 배양한 젖산균 배양액을 8000rpm으로 원심 분리후 상등액을 paper disk에 침적후 disk를 부착하여 배

양한 결과 억제환이 생성되지 않았다. MRS broth와 Nutrient broth에서 37℃ 24시간 각각 배양한 젖산균 배양액 5ml(2.0×10^9)과 대장균 배양액 5ml(2.0×10^9)을 혼합한 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24시간동안 젖산균과 대장균 수의 변화를 측정 한 결과, 대장균은 배양후 5시간동안 7.7×10^7 , 9.6×10^5 , 8.5×10^4 , 2.0×10^2 , 1.0×10^2 으로 감소하였고, 6시간 후에는 완전히 사멸하였다. 반면 *L. plantarum* 1841의 수에는 변화가 나타나지 않았다(Fig 4).

고찰

동물약품에 사용할 유산균 생균정장제를 개발하기 위하여 연맥사일리지를 분리원으로 하여 silage 유래 *Lactobacillus* 균을 분리동정하였다. 연맥사일리지에는 내산성과 급속한 pH 저하, 생존력과 저장이 쉬운 젖산균으로 *L. plantarum* 과 *P. acidilactici*가 가장 유망한 사일리지 스타터 젖산균으로 알려지고 있다⁹. 최근 연구에서 probiotics의 역할은 병원성균과 위험성이 있는 세균의 억제와 미생물의 효소활동에 의한 대사변화 그리고 면역반응에 대한 자극이라 하였다¹⁰. 젖산균에 의해 사일리지의 pH가 급격히 저하할 때에 대장균군의 수가 이에 따라 급격히 감소하며, 사일리지의 pH가 저하되지 않으면 대장균의 수가 증가하게 된다. *Lactobacilli*는 크기와 형태가 다양한 간균으로서 소수는 구균에 가까운 단간균

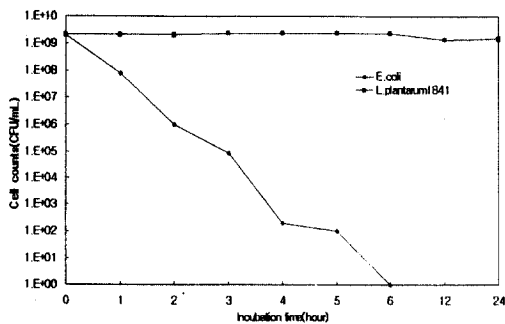


Fig 4. Growth of *L. plantarum* 1841 and *E. coli* in nutrient broth.

으로 단일 또는 연쇄상 형태로 존재하며, 통성 혐기균이며 대부분이 비운동성 중온균으로 동형 또는 이형 발효하는 특징을 가지고 있다. 이들은 식품가공과 생균제로서 널리 이용되고 있으며¹¹ 그중 *L. plantarum* 은 단간균이거나 쌍균의 형태로 관찰되며 때때로 짧은 연쇄형을 나타내기도 한다. MRS agar에서 성장하는 집락은 둥근 원형동의 형태이며 크림색을 나타낸다. 세포는 비운동성이며 그람 양성, catalase 음성이고 통성 혐기성균으로 25℃와 35℃에 잘 자라나며, 45℃와 15℃에는 증식성이 떨어지며 또 MRS 배지의 pH가 5.0에서 7.0일 때 잘 증식하지만 pH 4.0일 때 증식하지 못하는 것으로 알려져 있다¹². 본 실험에 이용된 사일리지에서 분리된 젖산균 또한 산생성도가 우수한 gram 양성의 전형적인 간균형 젖산형성균으로 조사되었으며 생장력 비교 역시 유사한 결과를 얻을 수 있었던 것으로 보아 전형적인 젖산 간균인 것으로 추측하였다. Bae et al¹³은 김치에서 분리한 젖산균을 API 50CHL kit을 이용해 당분해능을 조사하여 *Lactobacilli* 속의 젖산균주를 동정할 수 있었다고 하였다. 본 실험에서도 역시 25종의 당분해능을 통해 분리균주의 동정을 할 수 있었다. 또한 *Latobacillus* 및 장내 미생물들의 장내 생존을 조절하는데 담즙산이 매우 중요한 작용을 하며 또한 이들 미생물의 장내 생장의 중요 특성중 하나가 담즙산 존재하에서도 생존하는 능력이라고 하였다¹⁴. 실험결과 담즙산에 대한 영향력은 거의 받지 않는 것으로 나타났으며, 이는 김¹⁵ 등의 보고와도 일치함을 알 수 있었다. 젖산균 생균제는 젖산, 초산, 과산화수소 등의 대사산물을 통해 유해미생물의 장내 정착과 증식을 억제하는 효과를 가지고 있고 이러한 항미생물 작용은 생성된 젖산의 양과는 상관없이 없고 *L. acidophilus*의 균종에 따라 많은 변이를 보인다고 하며, *E. faecium*은 *E. coli*가 장내 상피세포에 정착하는 것을 막는다고 하였다¹⁶⁻¹⁸. 또 젖산균은 장내의 독성 질소화합물의 생산을 감소하는 것으로 알려지고 있다¹⁹. 젖산균에 의해 생산되는 유기산과 과산화수소는 *in vitro*에서 coliforms, salmonella와 clostridia의 증식을 억제한다는 사실은 이미 증명되고 있으나 *in vivo*에서는 설득력이 여전히 부족하다²⁰. 비록 젖산균의 길항작용에 대한 증명이 다소 불확실하지만 장내에 유효한 작용을 한다는 것은 이미 증명되고 있는 사실이며 현재 가금에서의 젖산균의 probiotics로서의 특별한 역할이 폭넓게 연구되어지고 있다²¹. Tagg et al²²은 길항작용에 특이한 작용을 하는

화합물을 bacteriocin이라 부르는데 이것은 또한 젖산균들에서도 발견되어지고 있으며 bacteriocin의 동정의 기준에는 생물학적 활성성분인 단백질로 살균작용이 있어야 한다고 하였다. Kelly et al²³은 발효 옥수수에서 protease에 감수성이 있는 항균물질을 생산하는 *Lactobacillus plantarum*을 분리하였으며, 이 항균물질을 plantaricin KW 30이라 하였다. Hur et al²⁴은 propionic bacteria에서 생성된 bacteriocin을 가지고 대장균에 대한 항균작용을 실험한 결과 아무런 반응이 없었다고 하였으며, Bae et al¹²은 김치에서 분리한 젖산균주 52주의 항균작용에 대해 시험해본 결과 *Listeria monocytogenes*와 *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* 등의 표지균주에 항균작용이 있음이 확인되었으나 *E. coli*에서는 항균작용이 관찰되지 않았다고 하였다.

본 시험에서는 젖산균의 대장균억제효과가 *L. plantarum* 1841이 산생한 유기산의 영향에 의한 것으로 보여지고 있는데 이것은 Ratchiffe et al²⁵이 신생자돈에 *L. bulgaricus* 등 생균제 투여시 얻어지는 대장균 억제효과가 젖산균이 생산한 젖산에 의해 pH가 감소한 결과로 보고한 것과 일치하였다.

이상의 실험에서 가축의 사료로 저장성과 이용성이 높은 호밀 사일리지에서 젖산균주 *L. plantarum*을 분리 동정하고 담즙산, 항생제 내성시험과 대장균과의 공배양에서의 억제효과 및 bacteriocin 생성시험에 의한 균특성을 조사하였다. 이 *L. plantarum* 1841균에 대한 동물급여에 의한 시험을 현재 추진하고 있다.

결 론

호밀 사일리지에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* 1841의 균특성을 알아보고자 생장특성 및 담즙산 존재하에서의 생존력, 항생제에 대한 내성, bacteriocin의 생성여부, *in vitro*에서의 *E. coli* 억제효과 등을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 사일리지에서 분리한 젖산균은 그람양성의 간균으로서 catalase 시험결과 음성이 었고, API 50CHL kit(API bioMerieux, France) 결과 25종의 당에 양성반응을 나타내어 *Lactobacillus plantarum*임을 알 수 있었다.

2. 사일리지에서 분리한 *L. plantarum* 1841을 MRS broth에서 25℃, 35℃, 45℃로 각각 배양한 결과 2.0×10⁹, 1.4×10⁹, 4.5×10⁵로 생장이 감소하는 결과를 보였다.

3. *L. plantarum* 1841과 상업용 생균제(*L. bulgaricus* LB 120)를 24시간 배양후 성장력을 비교한 결과, 각각 1.841과 1.623으로 *L. plantarum* 1841의 성장력이 상업용 생균제에 비해 우수하였다.

4. 담즙산의 함유정도를 0, 1, 2%로 조절한 성장력 시험결과 각각 3.2×10^9 , 3.9×10^9 , 3.2×10^9 으로 사일리지에서 분리한 *L. plantarum* 1841은 담즙산에 영향을 받지 않는 것을 알 수 있었다.

5. *L. plantarum* 1841의 항생제 내성을 디스크법으로 시험한 결과 danofloxacin(5mcg), gentamicin(10mcg), kanamycin(30mcg), neomycin(30mcg), streptomycin(10mcg)에 저항성이 있었다.

6. *L. plantarum* 1841의 bacteriocin 생성을 시험한 결과 억제환이 생성되지 않았다.

7. *L. plantarum* 1841과 가금의 분변에서 분리한 *E. coli*를 공배양한 결과 6시간 내에 *E. coli*가 모두 사멸함을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. 김희수. Microencapsulation에 의한 *Lactobacillus acidophilus* IFO 3205의 생존에 관한 연구. 서울대학교 박사학위논문, 1991.
2. 한인규, 이영철, 김춘수 등. 사료와 영양. 선진문화사, 1995.
3. Smith HW. Persistence of tetracycline resistance in pig *E. coli*. *Nature*, 258:628, 1975.
4. Shahani KM, Ayebo AD. Role of dietary Lactobacilli in gastrointestinal microbiology. *Am J Clin Nutr*, 33: 2448-2457, 1980.
5. 원송대, 김전기, 연정웅. 돈육에 대한 생균제계의 성장 촉진효과. 연암축산원예전문대학논문집, 205-215, 1988.
6. Houghtby GA, Maturin LJ, Koenig EK. Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, Washington, D.C., 1993.
7. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, et al. Antimicrobial susceptibility testing. In Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. Lippincott, JB Co, 1988.
8. 마준호. 축산환경에서 젓산균의 행동에 관한 연구. 서울대학교석사학위논문, 1996.
9. Henderson AR, McDonald P. The effect of a range of commercial inoculants on the biochemical changes during the ensilage of grass in laboratory studies. *Res Dev Agri*, 1:171-176, 1984.
10. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bact*, 66:365-378, 1989.
11. Ray B. Fundamental food microbiology. CRC press, Inc.
12. Curk MC, Hubert JC, Bringel F. Lactobacillus paraplantarum sp. nov., A new species related to *Lactobacillus plantarum*. *Int J Syst Bacteriol*, 46(2):595-598, 1996.
13. Bae SS, Ahn C. Antibiosis and bacteriocin production of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *J Food Sci Nutr*, 2(2):109-120, 1997.
14. Floch MH, Binder HJ, Filburn B, et al. The effect of bile acids on intestinal microflora. *Amer J Clin Nutr*, 25:1418, 1972.
15. 김현옥, 강영재, 김동신 등. 낙농 및 식품미생물학. 선진문화사, 1991.
16. Price RJ, Lee JS. Inhibition of *Pseudomonas* species by hydrogen peroxide producing lactobacilli. *J Milk Food Technol*, 33:13-18, 1978.
17. Gilliland SE, Speck ML. Antagonistic action of *L. acidophilus* toward intestinal and food-borne pathogens in associative culture. *J Food Prot*, 40:820-823, 1977.
18. Underdahl NR, Torres-Medina A, Doster AR. Effect of *Streptococcus faecium* C68 in control of *E. coli* induced diarrhoea in gnotobiotic pigs. *Am J Vet Res*, 43: 2227-2232, 1982.
19. Hill JR, Kenworthy R, Porter P. Studies of the effect of dietary *Lactobacilli* on intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning and post-weaning diarrhoea. *Res Vet Sci*, 11:320-326, 1970.
20. Nousiainen J, Setälä J. Lactic acid bacteria as animal probiotics In Lactic acid bacteria. Seppo Salminen ed. Marcel Dekker, Inc. New York, 1993.
21. Juven BJ, Meinersmann RJ, Stern NJ. Antagonistic effects of *Lactobacilli* and *Pediococci* to control intestinal colonization of human enteropathogens in live

- poultry. *J Appl Bact*, 70:95-103, 1991.
22. Tagg JR, Dajani AS, Wannamaker LW. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Bacteriol Rev*, 40:722, 1976.
23. Kelly WJ, Asmundson RV, Huang CM. Characterization of plantaricin KW30, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. *J Appl Bacteriol*, 81(6):657-662, 1996.
24. Hur JW, Lee NK, Lee HY, *et al*. Detection and identification of bacteriocins produced by propionic bacteria isolated from commercial swiss cheese products. *J Food Sci Nutr*, 2(4):310-315, 1997.
25. Ratcliffe B, Cole CB, Fuller R, *et al*. The effect of yoghurt and milk fermented with a porcine intestinal strain of *Lactobacillus reuteri* on the performance and gastrointestinal flora of pigs weaned at two days of age. *Food Microbiol*, 3(3):203-21, 1986.
-