

닭의 맹장에서 분리된 유산균의 생균제적 특성

김상호* · 김동욱* · 박수영** · 김지혁* · 강근호* · 강환구* · 유동조* · 나재천* · 이상진*

농촌진흥청 축산과학원*, 농협사료**

Characterization of *Lactobacilli* Isolated from Chicken Ceca as Probiotics

Sang Ho Kim*, Dong Wook Kim*, Su Young Park**, Ji Hyuk Kim*, Geun Ho Kang*, Hwan Ku Kang*, Dong Jo Yu*, Jae Cheon Na* and Sang Jin Lee*

National Institute of Animal Science, R.D.A*,
Nonghyup Feed Inc., Korea**

ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate enzyme activity, antimicrobial activity, and antibiotics susceptibility of *Lactobacilli* strain (*Lactobacillus reuteri* BLA5, *Lactobacillus crispatus* BLA7, *Lactobacillus reuteri* BLA9, *Lactobacillus amylovorus* LLA7, *Lactobacillus crispatus* LLA9, *Lactobacillus vaginalis* LLA11) isolated from chicken ceca and were selected by organic acid synthesis, acid tolerance, bile salt tolerance. The enzymes activities were different among strains of *Lactobacilli*. The amylase activity and lipase activity of *Lactobacillus* were high but cellulase activity and protease activity of that were low. *Lactobacillus* culture showed high antimicrobial activity against *E. coli* but low antimicrobial activity against *Salmonella*. The inhibitory factor of *Lactobacilli* isolated from chickens' cecum on *E. coli* was low pH by organic acid. All of *Lactobacillus* isolated from chicken's cecum were susceptible to ampicillin and amoxicillin but weren't susceptible at the optimum level of feed additive antibiotics (virginiamycin and salinomycin).

(Key words : *Lactobacillus*, Enzyme activity, Antimicrobial activity, Antibiotics susceptibility)

I. 서 론

가축 사료 내 항생제의 사용은 가축의 생산성 극대화, 고밀도 사육 및 열악한 사육 환경으로 인한 질병발생 예방 등을 통해 대규모의 집약적 축산을 가능하게 하였다(Hernandez 등, 2004). 그러나 최근 축산물 내 항생제 잔류 및 내성균 출현 등의 문제가 대두되면서 항생제 사용에 대한 논란이 계속되고 있다. EU에서는 성장촉진용 항생제의 사용을 전면 금지하였으나 가축의 생산성 감소 및 치료용 항생제의 사

용량 증가라는 문제점이 나타났다. 이로 인해 생산성 감소 및 질병 발생을 최소화하기 위한 새로운 사양 프로그램 개발, 성장촉진용 항생제 대체제 개발 및 사육 환경 개선을 위한 연구가 요구되고 있다. 생균제란 그리스어로 'for life'를 의미하며 가축의 성장 촉진, 장내 환경 개선 및 장내 미생물 균형 등 긍정적인 영향을 미치는 살아있는 미생물을 말한다(Fuller, 1989; Gibson과 Fuller, 2000). 생균제로 많이 이용되고 있는 미생물은 *Lactobacillus*속, *Streptococcus*속, *Bifidobacterium*속, 유포자 유산균인 *Bacillus*속

Corresponding author : Sang Ho Kim, National Institute of Animal Science, R.D.A, Korea
Tel : 041-580-6709, Fax : 041-580-6719, E-mail : shkim@rda.go.kr

및 효모 등이 있다(Bongaerts, 2005). 이 중 유산균은 그람 양성균으로서 형태적, 대사적, 생리적 특성에 따라 *Lactobacillus*, *Lueconostoc*, *Pediococcus* 및 *Enterococcus* 속으로 분류된다. 이러한 유산균은 장내환경 변화를 통해 *E. coli* 및 *Salmonella* 등의 병원균을 억제하여 장질환 및 내인성 질병을 감소시키고(Fuller, 1973; Dunham 등, 1993), 장관 내에서 단백질, 비타민, 효소, 유기산 및 미지성장인자 등을 합성하여 가축에 긍정적인 영향을 미치며, 영양소 소화율 개선 및 장관 면역 발달에 관여하여 가축의 생산성 및 면역 능력을 향상시킬 수 있다고 보고되어 왔다(Mohan 등, 1996; Watkins 등, 1982; Watkins와 Kratzer, 1983). 유산균의 생체 내 작용기전으로 대표적인 것은 Nurmi와 Rantala(1973)에 의해 소개된 경쟁적 배제로 영양소 및 장관 부착 부위 등의 경쟁을 통해 병원성 미생물의 집락 형성 및 증식을 저해한다고 알려져 있다. 이 외에도 유산균은 장내 미생물에 영향을 미치는 여러 종류의 대사 물질을 생산한다. 이 중 lactic acid는 장관 pH를 낮추고, acetic acid 및 H₂O₂는 다른 미생물에 대한 독소로 작용한다고 알려져 있으며(White 등, 1969), acidophilin, reuterin, nicin 등과 같은 항생물질을 생산한다고 보고되었다(Tagg 등, 1976). 그러나 생균체로서 가치를 발휘하기 위해서는 동일 숙주 기원, 비병원성, 가공 및 저장 용이성, 상피 및 점막 부착 능력, 장관 생존 능력, 위산 및 담즙산 저항성, 유기산 생산 능력, 병원균 저해능, 면역반응 조절 및 장내 미생물 균총 조정 등과 같은 특성을 갖춰야 한다(Fuller, 1989; Gilliland, 1979). 특히 target animal에서 채취한 미생물은 비슷한 환경하에서 생존할 수 있는 능력이 있기 때문에 토양, 식물 및 타 축종 유래 미생물에 비하여 생존력, 적응력 및 효과에서 보다 우수하다고 보고되었으며(Jin 등, 1996), 또한 미생물의 장관 상피세포 및 점막 부착 가능 여부는 숙주 동물 특이성 차이에 의해 결정된다는 보고가 많다. Fuller(1975)는 조류에서 분리하지 않은 유산균은 닭 소낭에 부착하지 못하였다고 하였다. Spencer와 Chesson(1994)은 돼지의 소화 기관에서 채취한

유산균은 돼지의 공장 상피세포에 부착하는 능력이 있었다고 보고하였으며 Barrow 등(1980)도 유사한 보고를 하였다. 또한 Jin 등(1996)은 닭 소화기관에서 분리한 유산균이 닭의 회장벽에 부착하는 능력이 있음을 *in vitro* 상에서 확인하였다. 이러한 부착 능력은 유산균의 경쟁적 배제를 통한 병원성 미생물의 집락 차단 및 저해, 또한 부착 후 대사 활동을 통해 대사 물질을 배출하기 때문에 중요한 요인 중 하나이다. 이에 따라 본 연구에서는 육계 및 산란계의 맹장에서 분리된 유산균 중 유기산 생성 능력, 내산성 및 내담즙성을 통해 1차적으로 생균체로서의 이용 가능성이 있는 유산균을 선별한 후, 동정하였으며 이렇게 분리 동정된 유산균의 생균체적 특성을 구명하고자, 이들의 효소 분비능력, 항균 활성 및 항생제 감수성을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 사용 균주

본 시험에서는 육계 맹장에서 분리한 *L. reuteri* BLA5, *L. crispatus* BLA7(KFCC 11195), *L. reuteri* BLA9(KFCC 11195)와 산란계 맹장에서 분리한 *L. amylovorus* LLA7, *L. crispatus* LLA9(KFCC 11195), *L. vaginalis* LLA11(KFCC 11195)을 사용하였다. 이들은 육계 2계종(Hybro, Ross) 및 산란계 1계종(ISA brown)의 맹장에서 분리하여 유기산 생성 능력, 내산성 및 내담즙성을 토대로 선별하고 16rRNA 분석 방법을 이용하여 동정한 후, 명명한 것이다. 항균 활성을 조사하기 위하여 *Salmonella* 2종(*Salmonella pullorum* KCTC 2932, *Salmonella typhimurium* KCTC 2515)과 *E. coli* 5종(KCCM 40406, KCTC 2618, KCTC 1039, KCTC 1682, KCTC 2593)을 한국생명공학연구원 생물자원센터 및 한국미생물보존센터에서 분양 받아 사용하였다.

2. 효소 활성 조사

닭의 맹장 유래 유산균 6종의 amylase, cellulase,

lipase 및 protease 활성을 분석하였다. 균주를 혐기적 조건에서 배양하고 6, 12, 24, 48 및 72 시간에 배양액을 채취하여 0.22 μm syringe filter를 이용하여 제균한 후 시험에 이용하였다. Amylase의 활성은 Miller (1959)의 dinitrosalicylic acid (DNS)법에 준하여 실시하였다. 기질로는 starch를 이용하였으며, 1% starch 용액에 배양액을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후, DNS를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 이를 가운하여 발색을 시키고 상온에서 5분간 냉각시킨 후 UV spectrophotometer (Genesys™ 2, ThermoSpectronic, NY, USA)를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. Amylase 활성도 1 unit는 37°C에서 1분 동안 1 μmol 에 상응하는 환원당 (glucose)을 생성하는 효소의 양으로 정의하였다. Cellulase 활성 역시 Miller (1959)의 DNS법에 준하여 측정하였으며, 기질로는 carboxymethyl cellulose (CMC)를 이용하였다. 1% CMC 용액에 배양액을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후, DNS를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 이후 amylase와 같은 과정을 거쳐서 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lipase의 활성은 Ransac 등 (1994)의 방법을 응용하여 실시하였다. 합성 기질인 *p*-nitrophenyl caprylate (ρ NPC)를 사용하여 효소의 활성을 측정하였다. 10 mM ρ NPC, 1M Tris-HCl 그리고 배양액을 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 1 M sodium carbonate를 이용하여 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lipase 활성 1 unit는 37°C에서 1분동안 1 μmol 의 *p*-nitrophenol을 생산하는 효소의 양으로 정의하였다. Protease의 활성은 Afrin 등 (2000)의 방법을 응용하여 조사하였다. 0.7% casein 용액에 배양액을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후, trichloroacetic acid (TCA) 용액을 가하여 반응을 정지시켰다. 이를 4°C에서 5000 rpm으로 10분간 원심분리를 하고, 상등액을 취하여 275 nm에서 흡광도를 측정하였다. Protease 활성 1 unit는 37°C에서 1분동안 1 μmol 의 tyrosine을 유리시키는 것을 1 unit로 하였다.

3. 항균 활성

육계 및 산란계 맹장에서 분리된 유산균 6종의 항균 활성 및 이에 영향을 미치는 주요 요인을 구명하기 위하여 디스크 확산법을 이용하여 *Salmonella pullorum* KCTC 2932, *Salmonella typhimurium* KCTC 2515 및 *E. coli* (KCCM 40406, KCTC 2618, KCTC 1039, KCTC 1682, KCTC 2593)에 대한 억제 효과를 조사하였다. 육계 및 산란계 맹장에서 분리된 유산균 6종을 혐기적 조건으로 24시간 배양한 후, 얻어진 배양액에 NaOH, trypsin, pronase, 및 catalase 처리를 하였다. 이렇게 처리된 배양액을 disc paper에 흡수시키고 병원성 미생물이 도말된 고체 배지에 놓고 24시간 동안 배양한 후 clear zone의 직경을 측정하였다. NaOH 처리는 유기산 및 배양액 pH의 효과를 검증하기 위하여 1M NaOH를 첨가하여 배양액을 pH 6.5로 중화시켰으며, Trypsin과 pronase 처리는 bacteriocin과 같은 항균 단백질의 효과 여부를 확인하기 위한 것으로 최종 농도가 1 mg/ml가 되도록 첨가하여 trypsin은 37°C에서 12시간, pronase는 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. Catalase 처리는 H₂O₂의 작용 여부를 확인하기 위한 것으로 최종 농도가 0.5 ml/ml가 되도록 하였다.

4. 항생제 감수성 조사

닭의 맹장에서 분리된 유산균 6종에 대한 항생제 감수성은 Kirby-Bauer 디스크 확산법 (1966)을 이용하여 실시하였다. Sensi disc (BBL®, Becton Dickinson, USA)를 이용하여 penicillin 계열인 amoxicillin/clavulanic acid과 ampicillin, aminoglycoside 계열인 kanamycin 그리고 quinolone 계열인 ciprofloxacin과 norfloxacin에 대한 항생제 감수성을 조사하였으며, 추가적으로 성장 촉진용 항생제로 많이 이용되는 virginiamycin과 항콕시딕제로 사용되는 salinomycin의 농도에 따른 항생제 감수성을 조사하였다. 닭의 맹장에서 분리된 6종의 유산균을 MRS agar 평판 배지에 도말한 후, disk dispenser를 이용하여 sensi disc를 배치하였다. 8 mm disc paper에 virginiamycin 및 salinomycin을 농도별로 흡수시킨 후 멸균된 핀셋을 이용하여 배치하고, 혐기적 조

건으로 24시간 배양한 후 clear zone의 직경을 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 효소 활성

육계 및 산란계 맹장에서 분리된 유산균 6종의 효소 활성은 Table 1 및 Fig. 1에 나타내었다. Table 1에는 최대 생균수에 도달하는 24시간 배양시 효소 활성을 나타냈으며, Fig. 1에는 배양 시간에 따른 효소 활성 변화 추이를 나타냈다. 본 시험에서는 효소 활성과 함께 배양 시간대별로 생균수를 조사하였고, 그 결과 12~24시간 사이에 최대 균수를 보였으며, 균수와 효소 활성은 정의 상관 관계를 보였다. 또한 유산균의 종류에 따라 약간의 차이를 보이긴 하였지만, 일반적으로 amylase와 lipase에서 높은 활성을 보였으며 cellulase 및 protease에서는 낮은 활성을 보였다. Amylase 활성에 있어서는 *L. amylovorus* LLA7가, lipase 활성에 있어서는 *L. reuteri* BLA9가 가장 우수하였다. 닭의 맹장에서 분리된 유산균의 cellulase 활성이 낮고 amylase와 lipase 활성이 높은 것은 사료에 의한 것으로 판단된다. 사료는 장관 내 서식하는 미생물의 종류 및 특성을 결정하는 주요 요인 중 하나로서, Jennson (1993)는 사료 조성이 장관 미생물의 활동을 조절한다고 보고하였으며, Rubio 등 (1998)의 장내 미생물을 조사한 연구에서 단백질 공급원 및 섬유소가 장내 미생물에 영향을 미쳤다고 보고하였으며, Morishita 등

(1982)은 탄수화물 공급원의 종류 및 함량이 맹장 미생물 군중에 영향을 미쳤다고 보고하였다. 일반적으로 가금 사료는 옥수수-대두박을 기초로 하는 곡류 위주의 고에너지 사료로 전분 및 지방의 함량은 높은 반면 섬유질 함량이 매우 낮기 때문에 맹장 내 amylase 및 lipase 분비 능력이 높은 미생물이 서식하고, cellulase 분비 미생물의 형성은 어려웠을 것으로 사료된다.

2. 항균 활성

맹장 유래 유산균 6종의 *E. coli* 및 *Salmonella*에 대한 항균 활성은 Fig. 2에 제시하였으며, 유산균 배양액이 *E. coli* 및 *Salmonella*의 성장에 영향을 미치는 요인에 대해 조사한 결과는 Fig. 3 및 Table 2에 나타내었다. 균주별로 차이는 있었으나 *E. coli*에는 강력한 항균력을 보인 반면, *Salmonella*에서는 약한 항균력을 보였으며 *Salmonella pullarium*의 경우에는 *L. reuteri* BLA5 및 *L. crispatus* BLA7을 제외한 다른 유산균주에서는 항균 활성을 보이지 않았다. 유산균 배양액의 *E. coli* 및 *Salmonella*에 대한 저해 기전을 구명하고자 NaOH, trypsin, pronase 및 catalase 처리한 결과, NaOH를 제외한 다른 효소 처리시 아무것도 처리하지 않은 대조구와 유사한 억제성으로 보인 반면, pH를 중화시킨 NaOH 처리에서는 항균 활성이 감소하는 결과를 보였다. 이를 통해 유산균 배양액 중 낮은 pH가 *E. coli*의 성장을 저해하는 주요 요인임을 알 수 있었다. *Salmonella*의 경우 항균활성이

Table 1. Enzyme activity of cecal *Lactobacilli* of chickens

	Enzyme activity (unit/mL)			
	Amylase	Cellulase	Lipase	Protease
<i>L. reuteri</i> BLA5	0.5143	0.0053	15.556	0.0006
<i>L. crispatus</i> BLA7	0.5795	0.0011	10.842	0.0020
<i>L. reuteri</i> BLA9	0.1183	0.0174	39.125	0.0007
<i>L. amylovorus</i> LLA7	0.7252	0.0009	13.827	0.0026
<i>L. crispatus</i> LLA9	0.4522	0.0017	25.926	0.0025
<i>L. vaginalis</i> LLA11	0.3002	0.0007	32.525	0.0028

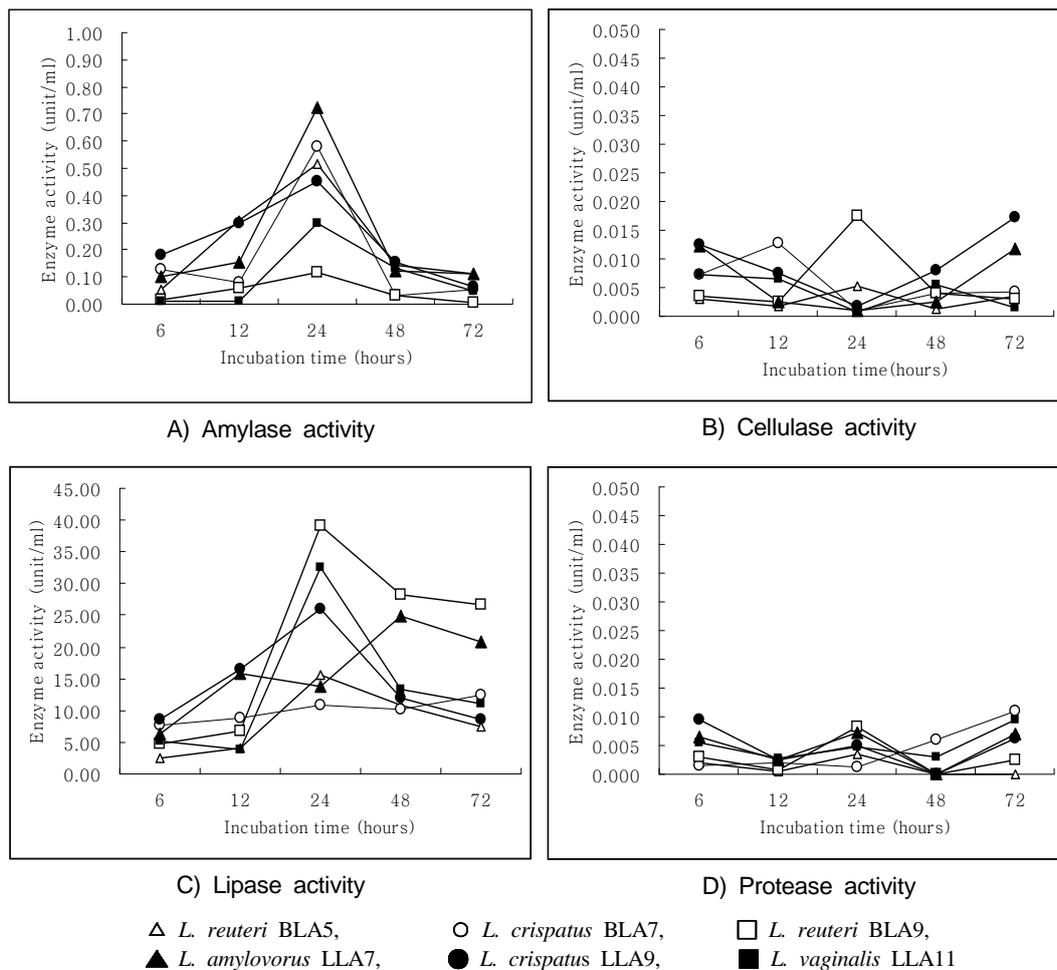


Fig. 1. Enzyme activity of cecal *Lactobacilli* of chickens.

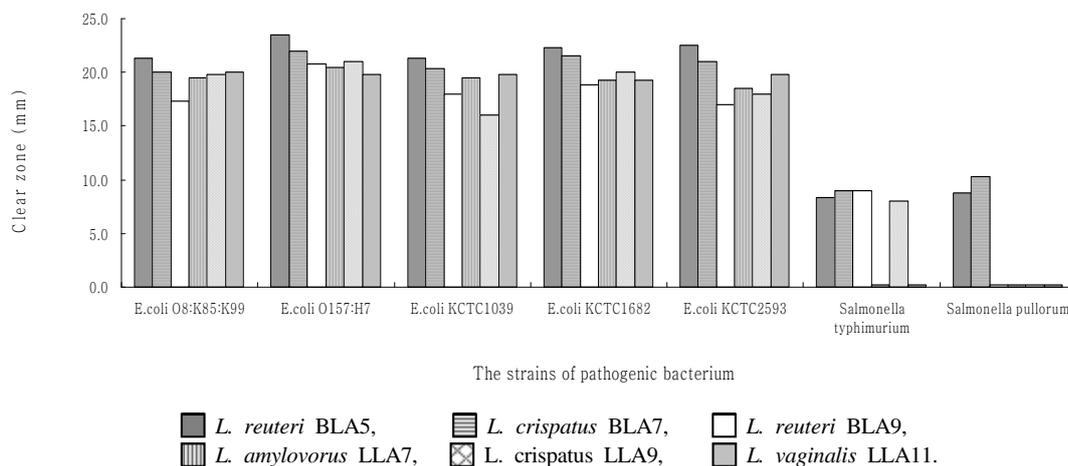
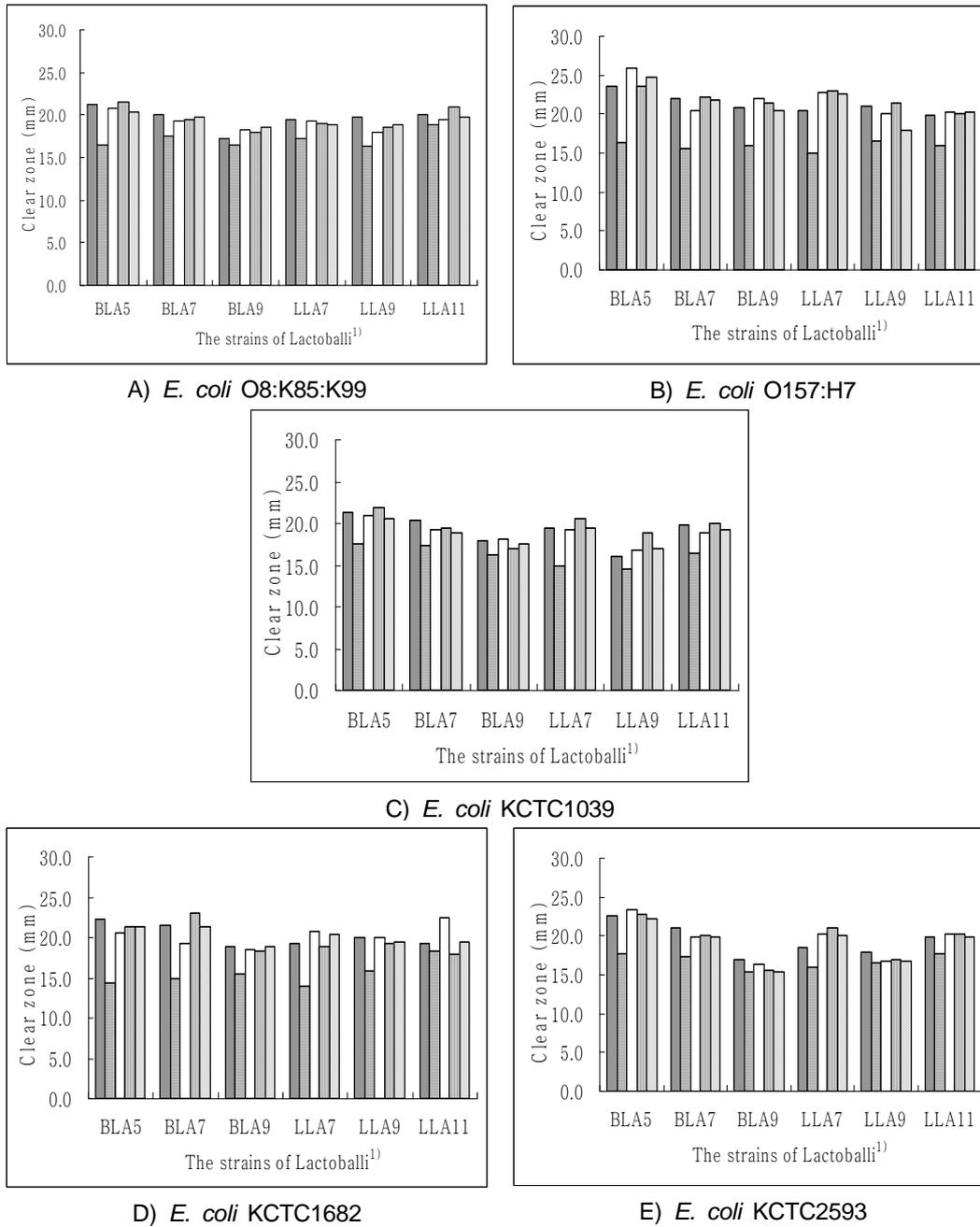


Fig. 2. Antimicrobial effect of cecal *Lactobacilli* of chickens.



Legend: Control, NaOH, Trypsin, Pronase, Catalase.
¹⁾ *L. reuteri* BLA5, *L. crispatus* BLA7, *L. reuteri* BLA9, *L. amylovorus* LLA7, *L. crispatus* LLA9, *L. vaginalis* LLA11.

Fig. 3. Antimicrobial effect of cecal *Lactobacilli* of chickens on *E. coli*.

낮아 처리간 비교가 어려웠으며, pH 중화에 따른 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 유산균은 병원성 미생물의 성장 및 증식을 저해하며,

그 주요 요인은 유산균이 생산하는 유기산, H₂O₂ 및 다양한 종류의 항생물질로 알려져 있다 (Gilliland, 1979; Klaenhammer, 1988). Jin 등

Table 2. Antimicrobial effect of of cecal *Lactobacilli* of chickens on *Salmonella typhimurium* and *Salmonella pullorum*

	<i>Salmonella typhimurium</i> (KCTC 2510)		<i>Salmonella pullorum</i> (KCTC 2932)	
	Culture	NaOH	Culture	NaOH
 Clear zone, mm			
<i>L. reuteri</i> BLA5	8.3	—	8.8	—
<i>L. crispatus</i> BLA7	9.0	9.5	10.3	8.0
<i>L. reuteri</i> BLA9	9.0	9.0	—	—
<i>L. amylovorus</i> LLA7	—	—	—	—
<i>L. crispatus</i> LLA9	8.0	8.0	—	—
<i>L. vaginalis</i> LLA11	—	—	—	—

(1996)은 가금 맹장에서 유래한 유산균을 이용하여 병원성 미생물에 대한 항균 활성을 조사한 결과, *E. coli* 및 *Salmonella*를 억제하였으며 이는 유기산의 작용에 기인 한 것이라고 보고하였다.

3. 항생제 감수성

육계 및 산란계 맹장 유래 유산균 6종에 대한 항생제 감수성 결과는 Table 3, 4 및 5에 나타내었다. Table 3에서는 일반 항생제로 이용되는 ampicillin, amoxicillin, kanamycin, ciprofloxacin

Table 3. A comparison of susceptibility to antibiotics

	Ampicillin	Amoxicillin	Kanamycin	Ciprfloxacin	Norfloxacin
 Clear zone, mm				
<i>L. reuteri</i> BLA5	30.0	33.0	—	—	—
<i>L. crispatus</i> BLA7	29.0	33.5	—	—	—
<i>L. reuteri</i> BLA9	35.0	34.0	—	—	—
<i>L. amylovorus</i> LLA7	—	20.2	—	—	—
<i>L. crispatus</i> LLA9	28.0	30.5	—	—	—
<i>L. vaginalis</i> LLA11	27.5	27.5	—	—	—

Table 4. A comparison of susceptibility to virginiamycin

	Concentration of virginiamycin(ppm)						
	0	5	10	20	50	100	200
 Clear zone, mm						
<i>L. reuteri</i> BLA5	—	—	10.5	12.5	17.0	20.5	27.0
<i>L. crispatus</i> BLA7	—	—	—	10.0	11.5	14.3	19.3
<i>L. reuteri</i> BLA9	—	—	—	—	—	8.8	15.0
<i>L. amylovorus</i> LLA7	—	—	—	—	—	10.5	16.5
<i>L. crispatus</i> LLA9	—	—	—	—	—	8.3	12.8
<i>L. vaginalis</i> LLA11	—	—	—	—	—	—	8.25

Table 5. A comparison of susceptibility to salinomycin

	Concentration of salinomycin (ppm)						
	0	30	60	120	300	600	3000
 Clear zone, mm						
<i>L. reuteri</i> BLA5	—	—	9.0	11.3	11.8	12.3	12.0
<i>L. crispatus</i> BLA7	—	—	—	9.5	10.5	11.0	10.8
<i>L. reuteri</i> BLA9	—	—	—	8.8	9.5	10.5	9.5
<i>L. amylovorus</i> LLA7	—	—	—	—	9.0	10.3	11.5
<i>L. crispatus</i> LLA9	—	—	—	—	8.8	10.0	10.0
<i>L. vaginalis</i> LLA11	—	—	—	9.5	12.0	12.8	12.3

및 norfloxacin에 대한 유산균의 항생제 감수성을 제시하였다. 육계 및 산란계 맹장 유래 유산균 6종은 페니실린 계열인 ampicillin과 amoxicillin에 감수성이 매우 큰 것으로 나타났으며, kanamycin과 ciprofloxacin과 norfloxacin에는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 사료용 항생제로 사용되는 virginiamycin 및 항콕시딕제로 사용되는 salinomycin에 대한 감수성 조사는 Table 4와 Table 5에 나타난 바와 같다. 맹장 유래 유산균은 virginiamycin 및 salinomycin의 사료 내 첨가 수준인 10 ppm 및 60 ppm에서 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며 첨가 수준 이상의 고농도의 경우 영향을 받는 것으로 나타났다. 본 시험 결과, 치료용으로 이용되는 항생제는 병원성 미생물 뿐만 아니라 일반적으로 유익균으로 알려진 유산균의 성장 역시 저해하는 것을 알 수 있었다. 반면 사료용 항생제 및 항콕시딕제의 정상적인 첨가 수준에서는 맹장 유래 유산균의 생장에 영향을 받지 않아 육계 및 산란계 유래 유산균을 사료 내 첨가 급여하여도 큰 문제가 없을 것으로 사료된다.

IV. 요약

본 연구는 육계 및 산란계 맹장에서 분리하여 유기산 생성 능력, 내산성, 내담즙성 및 성장특성을 토대로 선별된 유산균 6종(*Lactobacillus reuteri* BLA5, *Lactobacillus crispatus* avibro1, *Lactobacillus reuteri* avibro2, *Lactobacillus amylovorus* LLA7, *Lactobacillus crispatus*

avihen1, *Lactobacillus vaginalis* avihen2)의 효소, 항균 활성 및 항생제 감수성을 조사하여 생균제로서의 이용 가치를 구명하고자 실시하였다. 육계 및 산란계 맹장 유래 유산균은 효소 활성에 있어서는 균주마다 차이가 있었으나, 일반적으로 amylase와 lipase 활성이 강한 것으로 나타났고 반면, cellulase 및 protease의 활성은 약한 것으로 나타났다. 유산균 배양액은 병원성 *E. coli*에 대하여 강한 항균 활성을 보였으며, 주요 억제 요인으로는 유기산 분비에 의한 pH 저하에 의한 것으로 나타났다. 병원성 *Salmonella*에 대해서는 유산균 배양액의 억제성이 약한 것으로 나타났다. 유산균은 치료용 항생제로 이용되는 ampicillin과 amoxicillin에 대해서는 높은 감수성을 보인 반면 사료용 항생제 (virginiamycin 및 salinomycin)의 경우 정상적인 첨가 수준에서는 영향을 받지 않았다.

(색인어: 유산균, 효소활성, 항균활성, 항생제 감수성)

V. 인용 문헌

1. Afrin, R., Haruyama, T., Yanagida, Y., Kobatake, E. and Aizawa, M. 2000. Catalytic activity of Teflon particle-immobilized protease in aqueous solution. *J. Molecular Catalysis* 9:259-267.
2. Barrow, P. A., Brooker, B. E., Fuller, R. and Newport, M. J. 1980. The attachment of bacteria to the epithelium of the pig and its importance in the microecology of the intestine. *J. Appl. Bact.*

- 48:147.
3. Bauer, A. W., Kirby, W. M. J. C., Sherris, J. C. and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
 4. Bongaerts, G., Severijne, R. and Timmerman, H. 2005. Effect of antibiotics, prebiotics and Probiotics in treatment for hepatic encephalopathy. *Med. Hypotheses.* 64:64-68.
 5. Dunham, H. J., William, C., Edens, F. W., Casas, I. A. and Dobrogosz, W. J. 1993. *Lactobacillus reuteri* immunomodulation of stressor-associated disease in newly hatched chickens and turkeys. *Poult. Sci.* 72(Suppl 1):103(abstract).
 6. Fuller, R. 1973. Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. *J. Appl. Bacteriol.* 36:131-139.
 7. Fuller, R. 1975. Nature of the determinant responsible for the adhesion of lactobacilli to chicken crop epithelial cells. *Journal of General Microbiology.* 87:245-250.
 8. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66:365-378.
 9. Gibson, G. R. and Fuller, R. 2000. Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *J. Nutr.* 130:391-395.
 10. Gilliland, S. E. 1979. Beneficial interrelationships between certain micro-organisms and humans: Candidate micro-organisms for use as dietary adjuncts. *J. Food Protect.* 42:164.
 11. Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J. and Megias, M. D. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and organ size. *Poult. Sci.* 83:169-174.
 12. Jennson, B. 1993. The possibility of manipulation of microbial activity in the digestive tract of monogastric animals. *Proceedings of the 44th annual meeting for animal production.* p 313.
 13. Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., Ali, M. A. and Jalaudin, S. 1996. Antagonistic effects of intestinal *Lactobacillus* isolates on pathogens of chicken. *Letters in Applied Microbiology.* 23:67-71.
 14. Klaenhammer, T. R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* 70:337-349.
 15. Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.
 16. Mohan, B., Kadirvel, R., Natarajan, A. and Bhaskaran, M. 1996. Effect of probiotic supplementation on growth nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. *Br. Poult. Sci.* 37:395-401.
 17. Morishita, Y., Fuller, R. and Coates, M. E. 1982. Influence of dietary lactose on the gut flora of chicks. *Br. Poult. Sci.* 23:349-359.
 18. Nurmi, E. and Rantala, M. 1973. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature.* 241:210-211.
 19. Ransac, S., Blaauw, M., Lesuisse, E., Schanck, K., Colson, C. and Dijkstra, B. W. 1994. *Crystalliza subtilis*. *J. Molecular Biology.* 238:857-859.
 20. Rubio, L. A., Brenes, A., Setien tion and Preliminary X-ray Analysis of a Lipase from *Bacillus*, I., de la Asuncion, G., Duran, N. and Cutuli, M. T. 1998. *Lactobacilli* counts in crop ileum and caecum of growing broiler chickens fed on practical diets containing whole or dehulled sweet lupin *Lupinus angustifolius* seed meal. *Br. Poult. Sci.* 39:354-359.
 21. Spencer, R. J. and Chesson, A. 1994. The effect of *Lactobacillus* spp. on the attachment of enterotoxigenic *Escherichia coli* to isolated porcine enterocytes. *Journal of Applied Bacteriology.* 77:215-220.
 22. Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W. 1976. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriological Reviews* 40:722-756.
 23. Watkins, B. A., Miller, B. F. and Neil, D. H. 1982. *In vivo* effects of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic *Escherichia coli* in gnotobiotic

- chicks. Poul. Sci. 61:1298-1308.
24. Watkins, B. A. and Kratzer, F. H. 1983. Effect of oral dosing of *Lactobacillus* strains on gut colonization and liver biotin in broiler chicks. Poul. Sci. 62:2088-2094.
25. White, F., Wenham, G., Sharman, G. A., Jones, A. S., Rattray, E. A. and McDonald, I. 1969. Stomach function in relation to a scour syndrome in the piglet. Br. J. Nutr. 23:847-858.
- (접수일자 : 2008. 4. 16. / 수정일자 : 2008. 7. 30. / 채택일자 : 2008. 8. 20.)