

Phylogenetic Diversity and Antibacterial Activity of Bacteria from *Shindari* of Jeju Traditional Fermented Food

Young-Soo Ryu and Moon-Soo Heo*

Department of Aquatic Biomedical Sciences and Marine and Environment Research Institute, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

Received September 24, 2020 / Revised November 9, 2020 / Accepted December 7, 2020

Throughout history, barley was the typical crop of the soils of Jeju Island due to its topographical features. People in Jeju eat *Shindari* or *Dansul*. *Shindari* or *Dansul* is a fermented drink of Jeju, made from the leftovers of cooked barely and nuruk of short fermentation periods. Although *Makgeolli* and *Shindari* share a similar fermentation period and materials, research on *Shindari* or *Dansul* is still in its early stages. In this study, we examined major bacterial species of *Shindari* or *Dansul*. In addition, we confirmed the antibacterial activities of an isolated strain against fish and human-harmful bacteria. Among the isolates, Firmicutes consisted of 73% and the Proteobacteria of 27%, indicating that the Firmicutes phylum was the dominant one. In addition, the *Pediococcus* genus and the *Bacillus* genus were the most prevalent consisting of 25%, followed by the *Cronobacter* genus (25%), the *Enterococcus* genus (16%), the *Aneurinibacillus* genus (5%), the *Klebsiella* genus (4%), and the *Paenibacillus* genus (2%). We conclude that the *Lactobacillus* genus predominated in *Makgeolli*, but the *Pediococcus* genus predominated in *Shindari*. In a study of the antibacterial activity, growth inhibition was observed for all bacteria, except for the fish disease bacterium *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and the human-harmful bacterium *Streptococcus mutans*.

Key words : 16S rDNA, antibacterial activity, Jeju traditional fermented food, phylogenetic analysis, *Shindari*

서 론

막걸리는 우리나라 고유의 대표적인 발효주로, 쌀, 보리, 찹쌀 등 다양한 전분질의 곡류에 물과 함께 누룩과 같은 발효제를 첨가하여 일정 온도에서 발효시킨 발효 식품이다[7]. 최근 발효식품 대한 관심이 높아지면서 막걸리에 대한 연구는 활발하게 이루어지고 있고, 발효 과정 동안 생성되는 생산물로부터 다양한 생리활성들이 밝혀지면서 이용 가치가 있다고 평가되고 있다. 전분인 곡물의 종류에 따라 차이는 있지만, 막걸리에는 식이섬유, 단백질 등이 풍부하게 존재하고, 효모와 유산균의 발효 과정에서 리보플라빈, acetylcholine, inositol 등 각종 유용한 생리활성 물질과 비타민 B 복합체, 다양한 유기산과 필수 아미노산을 함유하고 있다고 보고되어 있다[27, 37]. 또한, 발효 과정 동안에 1H-indole-3-ethanol (tryptophol), trans-ferulic acid, cisferulic acid 등의 항산화 물질이 분리되었고 [51, 61, 24], 항암물질인 파네졸(farnesol)이라는 물질이 강한 항종양, 항염 효과를 가졌다고 밝혀졌다[18, 19]. 특히, 이전

연구 중 막걸리에서 분리된 *Pediococcus acidilactici* M76는 acetyl CoA carboxylase, fatty acid synthase 및 PPARG (peroxisome proliferator-activated receptor gamma)의 활성 억제를 통하여 체지방 감소 효과를 나타내었다[44, 58]. 이전에 막걸리에서 나온 생리활성물질은 어류의 사료로도 이용되며, 사료 섭취량 증가, 소화율 개선 및 항 영양인자 감소의 효과가 보고되어 있다[5, 13, 34].

제주도는 토양 등 지형적인 특성으로 인해 벼농사가 어려웠고, 보리를 주식으로 많이 사용하였다. 그 때문에 보관이 어려운 식은 보리밥을 이용하기 위해 누룩을 첨가하여 단기간 발효 시켜 그대로 음용하거나, 단맛을 첨가하여 발효식품을 만들어 먹었다. 이렇게 만들어진 전통 발효식품을 단술 또는 순다리라 불리는데, 알코올 도수가 1~2% 내외로 낮으며 신맛과 단맛이 함께 첨가된다[46]. 현재까지 순다리 제조 중 성분변화, 감귤을 첨가하여 제조한 순다리 특성 분석, 당근을 첨가한 순다리 발효 특성 등이 연구되어 있다. 막걸리와 비슷한 원료로 짧은 시간 발효하여 만들어지는 순다리에는 막걸리에 포함되어 있는 각종 유용한 생리활성 물질이 유사하게 함유되어 있을 것이라고 예상되지만, 순다리에 대한 연구는 미비한 실정이다[31].

이에 따라 본 연구에서는 제주 발효 식품인 순다리를 이용하여 순다리 내의 세균을 파악하고자 하였고, 이를 그룹 중 어류질병 세균들이나 인체 유해세균들을 억제하는 항균 활성을 지닌 군들을 확인하고자 하였다. 또한, 추후 질병에 대한

*Corresponding author

Tel : +82-64-754-3473, Fax : +82-64-756-3493

E-mail : msheo@jejunu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

예방 및 치료의 활용에 있어서 필요한 기초 자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 pH와 산도

본 연구에 사용된 순다리 막걸리는 제주도 제주시 민속 오일장에서 구매하여 사용하였다. pH는 pH meter (HM-30V, Toa, Japan)를 사용하여 측정하였고, 산도는 phenolphthalein 지시약을 5배 희석한 시료 20 ml에 2-3방울 떨어뜨리고, 0.1 N NaOH로 적색이 나타날 때까지 적정하여 산도를 측정하였다. 이때 소비된 NaOH량을 환산하여 계산하였고, 식은 다음과 같다.

$$\text{총 산도}(\%) = \frac{\text{산도} \{V(\text{적정량}) \times F(0.1\text{N NaOH 역가})\}}{0.009 \times \text{희석 배수} / \text{시료 채취량}} \times 100$$

순다리 균주의 분리

구매한 순다리 시료는 적정량을 50 ml Conical tube에 나누어 사용하였다. 0.85% 멸균된 생리식염수에 1 ml씩 옮겨 vortexing 해준 뒤 단계별($10^1 \sim 10^5$)로 희석하는 연속 희석법을 사용하여 평판배지에 도말하였다. 영양성분의 증식배지 Tryptic soy agar (TSA, Difco., USA), 젖산균 선택배지 MRS agar (MRS, Difco., USA), 빈영양세균 증식배지 R2A agar (Difco., USA), 효모와 진균을 분리 배양하기 위한 Yeast malt agar (YM, Difco, USA) 배지를 사용하였고, TSA agar와 MRS agar 배지는 37°C에서 R2A agar와 YM agar 배지는 25°C에서 일주일 동안 배양하였다. 그 후 colony-forming units per gram (CFU/g) 값을 측정하였고, 각각의 배지에서 자라난 colony를 Color, Size, Shape 등 형태적인 특징에 따라 선별하여, 동일한 균을 제외하면서 순수 분리를 위한 3회 이상의 계대배양을 실시하였다. 각각의 배지에서 분리된 균체는 20% (v/v) Glycerol로 -80°C에서 동결 보관하여 실험에 사용하였다.

16S rRNA 유전자의 염기서열 계통 분석

Color, Size, Shape 등 형태적인 특징에 따라 선별, 분리된 균주는 Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea)로 DNA를 추출하였다. 그 후, genomic DNA 1 μl와 27F/1492R universal primer를 각각 0.5 μM primer와 Taq DNA polymerase (Bioneer, Korea), dNTPs, reaction buffer가 포함되어 있는 20 μl Premix (Bioneer, Korea)를 사용하여 PCR을 수행하였다.

PCR 반응 조건은 Initial denaturation (95°C, 5분), Denaturation (95°C, 30초), Annealing (55°C, 30초), Extension (72°C, 30초)으로 총 30 cycle로 수행한 후 Final Extension (72°C, 5분)을 실시하였다. 증폭된 PCR products는 Red safe (Intron, USA)가 첨가되어 있는 1% agarose (promega Co., USA) gel에

서 전기영동을 하여 Band를 확인하였다. 그 후, AccuprepTM PCR purification Kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 PCR products에 남아있는 primers, nucleotides, polymerase, salts를 정제 및 제거를 하였고, elution buffer (10 mM Tris-Cl, pH 8.5) 30 μl로 elution 하였다. PCR products의 염기서열의 분석은 (주)슬젠티(Daejeon, Korea)에 의뢰하였다. 분석이 완료된 염기서열은 EzBioCloud (<http://eztaxon.ezbiocloud.net/>)와 미국 국립생물정보센터 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) search program에서 Genbank database의 염기서열의 quality를 비교한 후 homology를 확인하였다. 그 후, ClustalX program [20]으로 multiple alignment를 수행한 뒤 MEGA 6.0 software program을 이용하여 계통도(Neighbor joining phylogenetic tree)를 작성하였고, 계통수의 신뢰성 조사는 1,000 회 replication을 적용한 bootstrap 분석으로 진행하였다[59].

순다리 세균의 항균 활성

순다리에서 순수 분리한 균주를 대상으로 인체 유해세균과 어류질병 세균에 대하여 agar spotted method [17, 54]와 paper disc method [60]를 이용하여 항균 활성 실험을 수행하였다. 미생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)와 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM)에서 인체 유해 세균과 어류 질병 세균을 분양받아서 사용하였고(Table 1), 병어와 인체의 피부에서 각각 wild type을 분리하여 사용하였다. 어류질병 세균과 인체 유해세균은 25% glycerol에 혼탁 시켜 -80°C에서 보관 후 사용하였다. 또한, 순수 분리된 균주를 각각 TSA, MRS, R2A, YM에 접종 시켜 37°C와 25°C에서 48시간 동안 배양하였다.

먼저, 항균 활성을 가지고 있는 균주를 선별하기 위하여 Muller Hinton Agar (MHA, Difco, USA) 배지 상에서 spotted method [17, 54]를 이용하여 1차 항균능을 조사하였다. MHA 배지에 준비된 병원균을 도말한 후, 배지 표면에 순수 분리된 균주를 5 μl 적하하였다. 균주의 각 배양 온도에 따라 24-48시간 배양 후에 억제 환을 확인하였다. 1차 항균 실험에서 억제 환이 생성된 균주를 가지고 2차 항균 실험을 진행하였다. 각각의 균주들을 1.5 ml tube 안에 넣어 12,000 rpm으로 10분 동안 원심 분리하여 상등액과 균체를 분리하였다. 상등액은 1N NaOH와 HCl를 이용하여 최종 pH를 7.0으로 조정한 후에 0.45 μm syringe filter (Whatman, UK)를 통해 여과시켰고, 균체는 0.85% 생리식염수 50 μl을 넣어 풀어냈다. 다음 여과된 상등액과 혼탁 된 균체는 각각 멸균된 8 mm paper disc (ADVANTEC, Japan)에 100 μl 씩 분주하고 25°C 배양기에서 24~30시간 동안 건조하였다. 항균 활성에 사용한 병원성 세균은 각각의 최적 배지와 온도에서 배양되었고, 병원균은 Mac Farland turbidity 0.4로 조절한 후 MHA에 도말하였다. 건조된 paper disc를 도말된 MHA 배지에 올린 후, 적정 배양 온도

Table 1. List of strains used for antibacterial activity of *Shindari*

Information	Strain	No.	Medium	Temperature (°C)	Type
Fish pathogen	<i>Straptococcus iniae</i>	KCTC3657	1.5BHIA	25	-
	<i>Streptococcus parauberis</i>	KCTC3651	1.5BHIA	25	-
	<i>Vibrio alginolyticus</i>	KCCM40513	MA	37	-
	<i>Vibrio harveyi</i>	KCTC12724	MA	24	-
	<i>Edwardsiella tarda</i>	KCTC12267	1.5BHIA	25	-
	<i>Photobacterium damsela subsp. Damselae</i>	-	MA	25	Wild type
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	KCCM32586	NA	26	-
Human pathogen	<i>Hydrophila Listonella anguillarum</i>	KCTC2711	MA	25	-
	<i>Escherichia coli</i>	KCTC1682	TSA	37	-
	<i>Micrococcus luteus</i>	KCCM11211	NA	26	-
	<i>Streptococcus mutans</i>	KCCM40105	BHIA	37	-
	<i>Salmonella enterica</i>	-	BHIA	37	Wild type
	<i>Listeria monocytogenes</i>	KCCM40307	BHIA	37	-

에 맞추어 48시간 동안 배양하였다. 그 후, paper disc 주변부에 형성된 생육저해환(mm)을 측정하였다.

결과 및 고찰

pH와 산도 및 순다리 세균의 순수 분리

본 실험에서 사용된 순다리의 pH는 4.94로 측정되었으며, 산도는 1.9%로 측정되었다. 평균적으로 순다리 발효 후 pH는 3~4 정도이며, 제조를 위한 적정 발효 온도는 30~40°C, 적정 산도는 1.8%로 알려져 있다[29, 31]. 이를 통하여 순다리에는 호기성, 미호기성, 통성 혐기성의 여러 종온균이 존재할 것이라 예상할 수 있었다. 세균 중에서도 특히 낮은 pH에서도 잘 성장하는 *Lactobacillus*에 포함되는 균주들이 다수 존재할 것이라고 예상할 수 있었다. 또한, 순다리 세균의 군집 확인을 위해 각각의 평판 배지 위에서 colony를 계수한 결과는 Table 2와 같다. 평균 계수는 MRS 1.8×10^6 CFU/g, YM 2.2×10^6 CFU/g, TSA 3.0×10^6 CFU/g 및 R2A 2.7×10^6 CFU/g로 TSA에서 가장 많은 colony 수가 관찰되었다. 또한, 젖산균을 확인할 수 있는 MRS 배지와 효모, 곰팡이를 확인할 수 있는 YM 배지에서도 colony가 관찰되었다. 기존의 연구에서 다양한 종류의 발효식품에서 여러 젖산균을 분리한 것을 확인할 수 있다[6, 36, 39, 53]. 젖산균은 GRAS (Generally Recognized As Safe) 미생물로 과산화수소와 bacteriocin 같은 항균성 단백질을 생성하여

자신과 가까운 다른 미생물의 생장을 억제하고, 면역력을 증가시킨다고 알려져 있다[26, 43, 62]. 이를 통해, 발효식품에서 분리된 젖산균들은 인체뿐만 아니라 어류 병원균에서의 다양한 항균 효과가 나타난다고 보고되어 있다[28, 35, 40, 45, 57, 65]. 순다리에서는 2일이라는 짧은 발효 기간을 가짐에도 불구하고, 여러 젖산균이 존재한다는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 봤을 때, 인체 질병, 어류 병원균에서 항균 활성을 나타낼 것을 기대해 볼 수 있었다. 또한, 추후 연구에서 분리 균주를 이용하여 실제 양식장 내에서의 대체 항생제로의 이용에 대한 기초연구 자료가 될 것이라고 사료된다.

16S rRNA 유전자 염기서열의 계통학적 분석

순다리에서 분리한 균의 16S ribosomal RNA 유전자의 염기서열을 NCBI와 EZbiocloud를 이용하여 분석한 결과 2문(Phylum) 2강(Class) 3목(Order) 5과(Family) 7속(Genus)으로 총 112 균주로 분석되었다(Table 3). 그리고 염기서열을 분석하여 가장 가까운 속, 종의 계통수를 작성하였다(Fig. 1).

순다리에서 분리한 균주는 Firmicutes 문 73%와 Proteobacteria 문 27%로 Firmicutes 문이 우점문인 것으로 나타났다. Firmicutes 문에서 Bacilli 강은 98.6-100%의 상동성을 나타내었다. 그 중 Lactobacillales 목 Lactobacillaceae 과 *Pediococcus* 속은 99.4-99.8%의 상동성으로 Firmicutes 문과 Proteobacteria 문 전체에서 25%를 차지하였고, Lactobacillales 목 Enterococcaceae 과 *Enterococcus* 속은 98.7-99.8%의 상동성으로 16%를 차지하였다. 또한, Firmicutes 문의 Bacilli 강 Bacillales 목 Bacillales 과 *Bacillus* 속은 98.8-99.8%의 상동성으로 25%를 차지하였고, Paenibacillaceae 과 *Aneurinibacillus* 속은 99.9-100%의 상동성으로 5%, *Paenibacillus* 속은 98.5-99.7%의 상동성으로 전체의 2%를 차지하는 것으로 나타났다. Proteobacteria 문에서 Gammaproteobacteria 강은 98.6-99.9%의 상동성을 나타내었다. 그 중 Enterobacteriales 목 Enterobacteriaceae 과 *Klebsiella* 속은 99.5-99.7%의 상동성으로 전체의 4%를 차지하였고, Cro-

Table 2. Counts of the viable cells isolated from the *Shindari*

No.	Medium (CFU/g)			
	MRS	YM	TSA	R2A
1	1.4×10^6	2.8×10^6	3.3×10^6	2.4×10^6
2	1.8×10^6	1.2×10^6	2.6×10^6	3.1×10^6
3	2.3×10^6	2.6×10^6	3.1×10^6	2.7×10^6
Average count	1.8×10^6	2.2×10^6	3.0×10^6	2.7×10^6

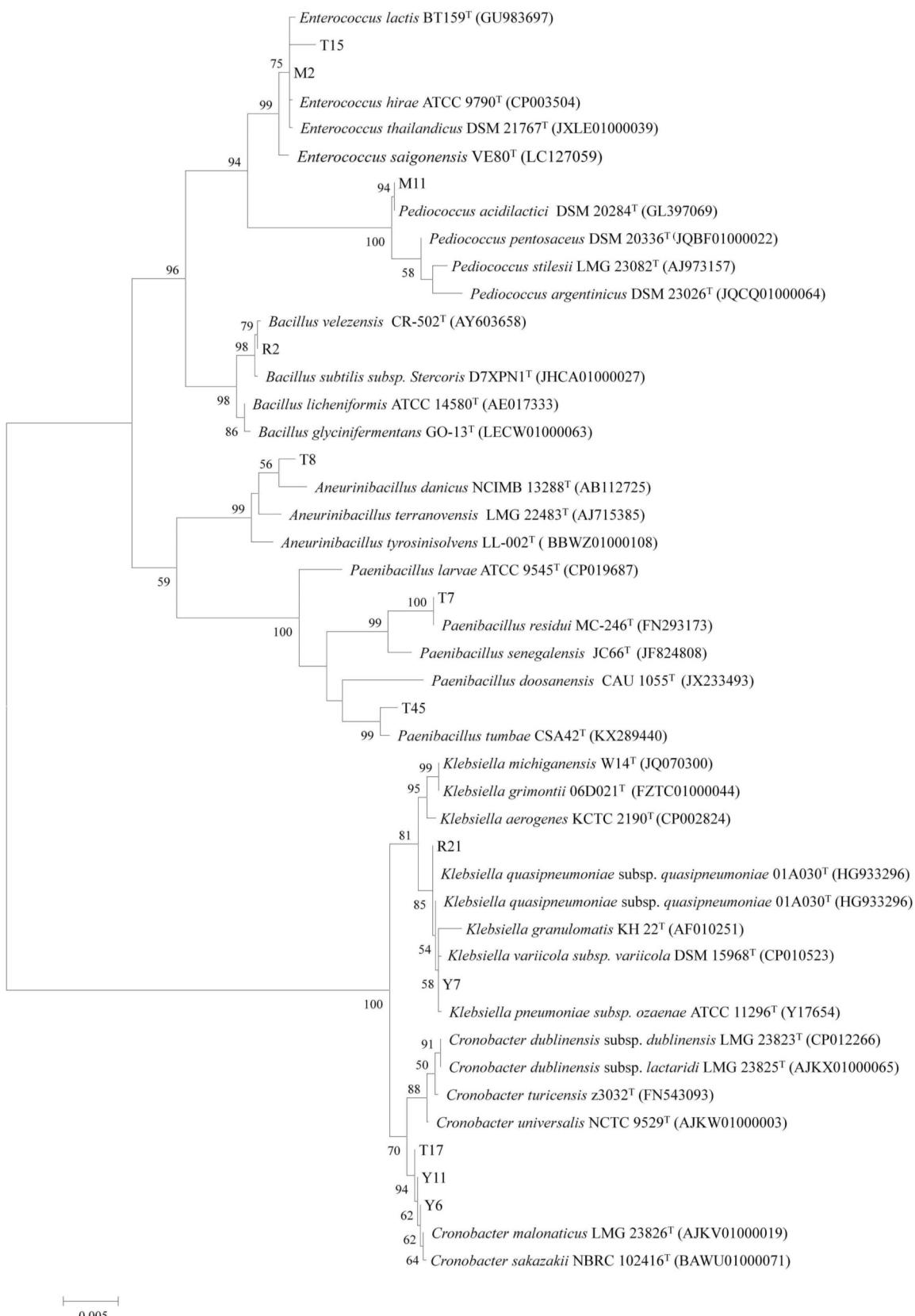


Fig. 1. Neighbour-joining phylogenetic tree determined from the 16S rDNA sequences of bacteria from the *Shindari*. GenBank accession numbers given in parentheses. Bootstrap values (>50%) based on 1,000 replications are shown.

Table. 3. Bacterial diversity associated with *Shindari*

Phylum	Class	Order	Family	Genus	No.
Proteobacteria	Gammaproteobateria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Klebsiella</i>	5
				<i>Cronobacter</i>	25
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	<i>Pediococcus</i>	28
			Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i>	18
		Bacillales	Bacillales	<i>Bacillus</i>	28
			Paenibacillaceae	<i>Aneurinibacillus</i>	6
				<i>Paenibacillus</i>	2

*nobacter*는 98.6-99.9%의 상동성으로 전체의 22%를 차지하였다. 따라서, 염기서열 분석 결과 *Pediococcus* 속, *Bacillus* 속이 각각 25%로 가장 우세함을 알 수 있었고, 다음으로 *Cronobacter* 속 25%, *Enterococcus* 속 16%, *Aneurinibacillus* 속 5%, *Klebsiella* 속 4%, *Paenibacillus* 속이 2% 순으로 구성되어 있는 것으로 나타나 있는 것을 알 수 있었다. 가장 우세했던 *Pediococcus* 속에서는 *Pediococcus acidilactici* (GL397069), *Pediococcus pentosaceus* (JQBFO1000022), *Pediococcus argentinicus* (JQCQ0100064), *Pediococcus stilesii* (AJ973157) 등 중에서 *Pediococcus acidilactici* (GL397069) 종이 40%를 차지했다. 또한 *Bacillus* 속에서는 *Bacillus velezensis* (AY603658), *Bacillus licheniformis* (AE017333), *Bacillus subtilis* subsp. *stercoris* (JHCA01000027) 등 중에서 *Bacillus subtilis* subsp. *stercoris* (JHCA01000027) 종이 25%를 차지하였다. *Cronobacter* 속 중에서는 *Cronobacter sakazakii* (BAWU01000071) 종, *Enterococcus* 속 중에서는 *Enterococcus lactis* (GU983697) 종, *Aneurinibacillus* 속 중에서는 *Aneurinibacillus aneurinilyticus* (KE952670) 종, *Klebsiella* 속 중에서 *Klebsiella pneumoniae* subsp. *Pneumoniae* (HG933296), *Paenibacillus* 속 중에서는 *Paenibacillus residui* (FN293173) 종과 *Paenibacillus tumiae* (KX289440) 종이 가장 우세하였다.

이러한 결과는 기존의 생 막걸리의 주된 세균 군과 다른 결과임을 확인할 수 있다. 막걸리에 관한 이전 연구에서는 국내에서 판매되는 생 막걸리 7종에서 젖산균을 분리한 결과 *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus arizonicensis*가 우세하게 나타났고, 시중에서 판매되는 막걸리에서 공통적으로 *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *L. paracasei* 등이 주요 우점종으로 보고되어 있다[21, 33, 38, 56]. 그 외 *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus brevis*, *L. harbinensis*, *L. paracasei* 및 *L. plantarum* 가 열세하게 보고되면서 *Lactobacillus*가 공통적으로 우점종임을 확인할 수 있었다[21, 33, 38, 56]. 또한, 4°C에 저장한 후 분리 동정 된 시판 막걸리에서는 *Pediococcus sp*이 우점하였으나, 20°C에 저장하면서 분리 동정한 젖산균은 *L. plantarum*, *L. brevis* 가 우세하다고 보고되었다[30, 32]. 일반 막걸리의 우점균이 *L. casei*, *L. plantarum*, *L. paracasei*인 것과는 다르게 본 실험의 결과에서는 *Pediococcus* 속이 가장 우세하게 우점하는 것으로 나타냈다. 이는 일반 막걸리보다 첫다리에서는 비교적 낮은 온도에서 짧은 시간 발효되는 점이 다르기 때문에 우점

종에 차이가 나타난 것으로 사료된다.

첫다리는 짧은 발효이지만 막걸리에서 분리 동정한 젖산균 및 세균의 군집이 유사하게 형성되어 있는 것으로 보아, 이전의 막걸리의 미생물 활용 등[38]과 같이 첫다리 역시 인체 및 어류 등에서 천연대체항생제 및 면역증강제 등 다양한 활용을 기대해 볼 수 있다. 다만, 첫다리는 정량화 된 만드는 방법이 있는 것이 아니라 집집마다 첨가물을 더하기도 하고, 정해진 온도와 시간으로 일정하게 발효시키는게 아니기 때문에 과학적 시료로 이용하기 위해서는 발효 시간과 온도, 첨가물을 정량화하여 통합하는 것이 먼저 필요하다고 사료된다.

첫다리 세균의 항균 활성 탐색

첫다리 분리 군주의 항균 활성은 2종의 그람양성균 *Streptococcus iniae*, *Streptococcus parauberis*와 6종의 그람음성균 *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi* 및 *Edwardsiella tarda* 등 어류 질병 세균과 2종의 그람음성균 *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*와 3종의 그람양성균 *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Listeria monocytogenes* 군에 대한 디스크 확산 법(paper disc diffusion)을 이용하여 측정하였다.

첫다리 분리 군주의 1차 항균 실험인 agar spotted method 결과 대부분의 피검 군주에 대해 저해 환을 형성하는 것은 *Bacillus* 속이였다. *Bacillus* 속은 bacteriocin을 포함한 다양한 항균물질들의 생산함으로써 항균 활성이 뛰어나다는 것과 함께 이미 전반적인 분야의 생균제로써 박테리오신의 활용에 관한 연구가 진행되고 있다[1, 12, 22, 25, 41]. 추후 양식장에서의 첫다리 군주가 생균제로서의 사용 가능성을 알아보기 위하여 *Bacillus* 종과 함께 항균 활성을 보인 군주를 가지고 2차 항균 실험을 진행하였다.

선별된 분리 군주의 2차 항균 실험인 paper disc method 결과 어류질병 세균 *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*와 인체 유해세균 *S. mutans*를 제외한 모든 군에 대해서 생육저해 환을 형성하였다(Table 4, Table 5). 그 중 어류질병 세균에서는 넙치, 강도다리를 포함한 다양한 어종에서 어류의 대량 폐사를 초래하며 국내에서 다양한 지역의 양식 넙치로부터의 검출이 지속적으로 증가하고 있는 그람 양성의 *S. parauberis*에서 가장 다양하게 항균 활성을 나타냈다[8, 48]. 인체 유해세균에서는 비병원성으로 사람의 피부, 토양, 우유와 치즈 등에서

Table 4. Origin and direct antibacterial activity against various fish pathogens of selected strains isolated from *Shindari*

Selected strains	Origin	Diameter of inhibition zone (mm)													
		1		2		3		4		5		6		7	
		supernatant	pellet	supernatant	pellet	supernatant	pellet	supernatant	pellet	supernatant	pellet	supernatant	pellet	supernatant	pellet
M28	<i>Pediococcus acidilactici</i>	9.6	15.8	-	-	9	12	-	-	-	-	-	-	-	-
R2	<i>Bacillus velezensis</i>	-	11.2	-	11.7	-	-	-	-	-	20.5	-	-	-	-
R5	<i>Bacillus velezensis</i>	-	-	-	28	-	-	-	-	-	19.4	6	-	-	-
R7	<i>Bacillus velezensis</i>	-	-	22.5	31.9	-	16.1	-	-	10.9	-	8.8	13	-	-
R8	<i>Bacillus velezensis</i>	-	-	-	-	-	18.8	8	-	-	-	-	-	-	-
R10	<i>Bacillus siamensis</i>	16.5	17.9	-	10.2	-	17.6	-	-	-	-	-	-	-	-
R15	<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	-	-	32.5	-	-	11.5	-	-	25.6	-	15.1	-	-
T16	<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	-	-	-	-	-	-	15.5	-	-	-	-	-	-
T19	<i>Bacillus siamensis</i>	-	-	-	33.7	-	12.5	-	-	-	-	20.3	14.8	-	-
T21	<i>Bacillus siamensis</i>	-	-	-	32.65	-	-	-	-	-	22.4	4	-	-	-
T25	<i>Bacillus siamensis</i>	-	-	-	33.55	-	11.3	-	-	-	-	-	-	-	-
T40	<i>Bacillus velezensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.5	-	-
Y8	<i>Bacillus siamensis</i>	-	-	29.5	29.9	11.8	16.5	-	22.9	-	-	-	13.5	-	-
Y16	<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	-	-	-	-	-	-	17.5	-	-	-	-	-	-
Y19	<i>Bacillus siamensis</i>	21	22.6	26.5	36.8	-	13.6	18	19.8	21	21.7	9.9	15.7	11.2	11.7

1, *S. iniae*; 2, *S. parauberis*; 3, *V. alginolyticus*; 4, *V. harveyi*; 5, *E. tarda*; 6, *A. hydrophila*; 7, *L. anguillarum*.

분리되며, 면역력이 저하된 사람에게 기회 병원체로 작용하여 폐혈증 등을 포함한 다양한 질병을 일으키는 *M. luteus*에서 가장 다양하게 항균 활성을 나타냈다[49]. 어류질병 세균인 *S. parauberis*에서 Y19 (*Bacillus siamensis*)가 균체에서 36.8 mm로 가장 큰 생육저해 환을 나타냈다. 그 외에도 T19, T25, T21 (*Bacillus siamensis*)가 33.7 mm, 33.6 mm, 32.7 mm 순으로 눈에 띄는 생육저해 환을 확인할 수 있었다. 본 실험에서 항균 활성을 보인 첫다리 분리 균주는 *Pediococcus acidilactici*, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus siamensis*로 총 4가지 종으로 나타났다.

기회주의적 인간 병원체로 영아의 생명을 위협하는 박테리아 감염의 원인으로 간주되는 그람 음성 간균인 *Cronobacter sakazakii*는 다양한 환경이나 음식에서 발견되었으나, *Cronobacter sakazakii* 균주가 다른 병원균에서의 항균 효과에 대한 연구는 미비한 실정이다[23]. 그러나, 흥미롭게도 본 실험에서 사용된 어류질병 세균과 인체 유해세균에 대하여 항균 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 기회 병원균인 *Cronobacter sakazakii*가 어떻게 다른 어류질병 균에 대하여 항균효과를 나

타내었는지에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다. 발효 야채, 유제품 및 육류에서 흔히 발견되는 그람 양성 구균인 *Pediococcus acidilactici*는 pediocin으로 알려진 bacteriocin의 분비를 통해 장내 병원체를 포함한 다른 미생물에 대해 다양한 항균 활성을 나타낸다고 알려져 있다[2, 4, 55]. 발효식품에는 유용한 생리활성물질과 다양한 항균 활성 물질이 존재한다. 그 중 대표 항균 물질 bacteriocin은 항균 범위가 광범위하며, 자신을 제외한 다른 미생물의 세포막 및 DNA에 손상을 일으켜 성장을 억제하거나 사멸 시켜 항균효과를 나타낸다. 또한, bacteriocin은 단백질로 구성되어 있어 인체 내 가수분해 효소에 의해 쉽게 분해될 수 있기 때문에 인체에 독성이 거의 없으며 생체 내 진류의 위험 또한 거의 없다[9-11]. *Bacillus* 종은 중요한 세균으로 간주되며, 낮은 독성으로 광범위하고 높은 항균효과를 가지는 것으로 알려진 CLP (cyclic lipopeptides)를 생산한다[42]. CLP는 sufactin, iturin, fengycin 등의 항균활성물질을 생산하며 생물학적 막을 직접 파괴함으로써 기존의 항생제보다 병원성 세균에 치명적인 영향을 미친다는 보고가 있다[3, 14-16, 47, 63, 64]. *Bacillus velezensis*와

Table 5. Origin and direct antibacterial activity against various human pathogens of selected strains isolated from fermented foods

Selected strains	Origin	Diameter of inhibition zone (mm)							
		1		2		3		4	
		Supernatant	Pellet	Supernatant	Pellet	Supernatant	Pellet	Supernatant	Pellet
R2	<i>Bacillus velezensis</i>	-	-	-	9.45	-	-	5	-
R5	<i>Bacillus velezensis</i>	-	-	-	15.2	-	-	7.5	-
R7	<i>Bacillus velezensis</i>	-	11.7	13.4	18.9	-	10.7	-	-
R8	<i>Bacillus velezensis</i>	-	-	-	18.3	6	-	-	-
R9	<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	-	-	15.1	-	11.1	-	11.5
R10	<i>Bacillus siamensis</i>	-	-	-	11.4	-	-	-	-
R15	<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	-	-	21.6	-	9.2	-	-
T8	<i>Cronobacter sakazakii</i>	7.8	-	-	16.9	-	-	-	-
T19	<i>Bacillus siamensis</i>	-	11.1	-	19.8	10.2	-	-	-
T21	<i>Bacillus siamensis</i>	-	13	-	-	-	10.6	-	-
T25	<i>Bacillus siamensis</i>	-	-	9	-	-	-	-	12.8
T40	<i>Bacillus velezensis</i>	-	10.2	-	22.8	-	13.5	-	-
Y16	<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	-	-	17.6	-	-	-	-
Y19	<i>Bacillus siamensis</i>	4.2	-	16.7	19.9	11.9	14	-	-
Y20	<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	12.9	-	16.7	-	-	-	-
M28	<i>Pediococcus acidilactici</i>	11.5	16.5	-	20.5	-	-	-	-

1, *E. coli*; 2, *M. luteus*; 3, *S. enterica*; 4, *L. monocytogenes*.

*Bacillus siamensis*는 식물의 성장을 촉진하는 그람 양성, 내생 포자 형성 세균으로서, 2차 대사산물의 생합성과 관련된 균주의 특이적 유전자 클러스터를 가지고 있으며, 이를 통해 식물 병원체 성장 촉진과 유해한 뿌리줄기 미생물 병원체의 억제에 중요한 역할을 한다[50, 51].

본 연구 결과에서 또한 *Bacillus velezensis*와 *Bacillus siamensis*는 가장 다양하고 큰 항균 활성을 보였다. 따라서 면역 증강제, 대체 항생제 및 프로바이오틱스로의 제주 전통 식품인 순다리의 이용 가능성에 대한 추가 연구가 이루어져야 할 것이며, 그 이후에 다양한 방면에서의 순다리의 활용 가능성을 기대해 볼 수 있을 것으로 사료된다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Abriouel, H., Franz, C. M., Omar, N. B. and Gálvez, A. 2011. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiol. Rev.* **35**, 201-232.
- Albano, H., Todorov, S. D., van Reenen, C. A., Hogg, T., Dicks, L. M. and Teixeira, P. 2007. Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from "Alheira", a fermented sausage traditionally produced in Portugal. *Int. J. Food Microbiol.* **116**, 239-247.
- Aspri, M., O'Connor, P. M., Field, D., Cotter, P. D., Ross, P., Hill, C. and Papademas, P. 2017. Application of bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* isolated from donkey milk, in the bio-control of *Listeria monocytogenes* in fresh whey cheese. *Int. Dairy J.* **73**, 1-9.
- Bhunia, A. K., Johnson, M. C. and Ray, B. 1988. Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *Lett. Appl. Microbiol.* **65**, 261-268.
- Borges, T. L., Racz, V. J., Wilkie, D. C., White, L. J. and Drew, M. D. 2006. Effect of replacing fishmeal and oil with simple or complex mixtures of vegetable ingredients in diets fed to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.* **12**, 141-149.
- Chang, J. H., Shim, Y. Y., Cha, S. K. and Chee, K. M. 2010. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *J. Appl. Microbiol.* **109**, 220-230.
- Chang, K. J. and Yu, T. J. 1981. Studies on the components of sokokju, and commercial yakju. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **13**, 307-313.
- Cho, M. Y., Lee, J. I., Kim, M. S., Choi, H. J., Lee, D. C. and Kim, J. W. 2008. Isolation of *Streptococcus parauberis* from starry flounder, *Platichthys stellatus* Pallas. *J. Fish. Pathol.* **21**, 209-217.
- Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F. and Chikindas, M. L. 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* **71**, 1-20.
- Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, R. P. 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 777-788.
- De Vuyst, L. and Leroy, F. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **13**, 194-199.
- Diez-Gonzalez, F. 2007. Applications of bacteriocins in

- livestock. *Curr. Issues Mol. Biol.* **8**, 15-24.
13. El-Saidy, D. M. and Gaber, M. M. 2003. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. *Aquac. Res.* **34**, 1119-1127.
 14. Falardeau, J., Wise, C., Novitsky, L. and Avis, T. J. 2013. Ecological and mechanistic insights into the direct and indirect antimicrobial properties of *Bacillus subtilis* lipopeptides on plant pathogens. *J. Chem. Ecol.* **39**, 869-878.
 15. Galica, T., Hrouzek, P. and Mareš, J. 2017. Genome mining reveals high incidence of putative lipopeptide biosynthesis NRPS/PKS clusters containing fatty acyl-AMP ligase genes in biofilm-forming cyanobacteria. *J. Phycol.* **53**, 985-998.
 16. Galica, T., Hrouzek, P. and Mareš, J. 2017. Genome mining reveals high incidence of putative lipopeptide biosynthesis NRPS/PKS clusters containing fatty acyl-AMP ligase genes in biofilm-forming cyanobacteria. *J. Phycol.* **53**, 985-998.
 17. Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A. and Di Cagno, R. 2005. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends Food Sci. Technol.* **16**, 57-69.
 18. Ha, J., Shim, Y. S., Cho, Y., Seo, D., Jang, H. and Jang, H. 2014. Analysis of E, E-farnesol and squalene in Makgeolli using stir bar sorptive extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Sci. Technol.* **27**, 60-65.
 19. Ha, J., Wang, Y., Jang, H., Seog, H. and Chen, X. 2014. Determination of E, E-farnesol in Makgeolli (rice wine) using dynamic headspace sampling and stir bar sorptive extraction coupled with gas chromatography - mass spectrometry. *Food Chem.* **142**, 79-86.
 20. Jeanmougin, F., Thompson, J. D., Gouy, M., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1998. Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends Biochem. Sci.* **23**, 403-405.
 21. Jin, J., Kim, S. Y., Jin, Q., Eom, H. J. and Han, N. S. 2008. Diversity analysis of lactic acid bacteria in Takju, Korean rice wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **18**, 1678-1682.
 22. Jin, S. R., Lee, H. M., Nam, K. W. and Park, K. S. 2018. Biological control of White Stain Symptom on Grape Fruit by *Bacillus velezensis* MWS28. *Kor. J. Pestic. Sci.* **22**, 345-355.
 23. Joseph, S. and Forsythe, S. J. 2011. Predominance of *Cronobacter sakazakii* sequence type 4 in neonatal infections. *Emerg. Infect. Dis.* **17**, 1713.
 24. Kang, S. M., Kim, S. J., Ko, K. H. and Nam, S. 2016. Formation of biogenic amines and bioactivities of Makgeolli under different fermentation conditions. *Kor. J. Food Preserv.* **23**, 402-412.
 25. Karthikeyan, V. and Santhosh, S. W. 2009. Study of bacteriocin as a food preservative and the *L. acidophilus* strain as probiotic. *Pak. J. Nutr.* **8**, 335-340.
 26. Kelly, W. J., Asmundson, R. V. and Huang, C. M. 1996. Isolation and characterization of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from ready-to-eat food products. *Int. J. Food Microbiol.* **33**, 209-218.
 27. Kim, J. Y., Sung, K. W., Bae, H. W. and Yi, Y. H. 2007. pH, acidity, color, reducing sugar, total sugar, alcohol and organoleptic characteristics of puffed rice powder added Takju during fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **39**, 266-271.
 28. Kim, M. S., Moon, S. W., Lee, Y. D., Kim, S. J., Kim, Y. J., Lee, J. W. and Ahn, S. C. 2007. Effect of citrus fermented by *lactococcus lactis* W-44 isolated from Kimchi on growth of cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Kor. J. Microbiol.* **43**, 124-129.
 29. Kim, S. C., Kim, H. S. and Kang, Y. J. 1999. Changes of components in the rice-porridge fermented by Nuruk. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1017-1021.
 30. Kim, S. Y., Yoo, K. S., Kim, J. E., Kim, J. S., Jung, J. Y., Jin, Q., Eom, H. J. and Han, N. S. 2010. Diversity analysis of lactic acid bacteria in Korean rice wines by culture-independent method using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Sci. Biotechnol.* **19**, 749-755.
 31. Kim, S. and Park, E. J. 2015. Fermentation characteristics of Shindari added with Carrot. *Kor. J. Food Cook. Sci.* **31**, 9-17.
 32. Kim, Y. H., Min, J. H., Kang, M. G., Kim, J. H., Ahn, B. H., Kim, H. K. and Lee, J. S. 2012. Physicochemical properties, lactic acid bacteria content and physiological functionalities of Korean commercial makgeolli. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **40**, 325-332.
 33. Kwon, S. J., Ahn, T. Y. and Sohn, J. H. 2012. Analysis of microbial diversity in makgeolli fermentation using PCR-DGGE. *J. Life Sci.* **22**, 232-238.
 34. Lanari, D. and D'Agaro, E. 2005. Alternative plant protein sources in sea bass diets. *Ital. J. Anim. Sci.* **4**, 365-374.
 35. Lee, A. R., Niu, K. M., Kang, S. K., Han, S. G., Lee, B. J. and Kim, S. K. 2017. Antioxidant and antibacterial activities of *Lactobacillus*-fermented *Artemisia annua* L. as a potential fish feed additive. *J. Life Sci.* **27**, 652-660.
 36. Lee, H. L., Kang, K. W., Seo, D. H., Jung, J. H., Jung, D. H., Kim, G. W., Park, S. Y., Shin, W. C., Shim, H. S. and Park, C. S. 2015. Diversity of lactic acid bacteria (LAB) in makgeolli and their production of γ -aminobutyric acid. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **47**, 204-210.
 37. Lee, S. J., Kim, J. H., Jung, Y. W., Park, S. Y., Shin, W. C., Park, C. S., Hong, S. Y. and Kim, G. W. 2011. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial Makgeolli. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **43**, 206-212.
 38. Lee, Y., Seol, J., Jeong, D. and Kim, S. R. 2016. Application of functional microbial strains isolated from traditional rice wine in Korea. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **44**, 229-235.
 39. Liu, S. N., Han, Y. and Zhou, Z. J. 2011. Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Res. Int.* **44**, 643-651.
 40. Mezaini, A., Chihib, N. E., Dilmi Bouras, A., Nedjar-Arroume, N. and Hornez, J. P. 2009. Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2009**, 1-6.
 41. Mills, S., Stanton, C., Hill, C. and Ross, R. P. 2011. New developments and applications of bacteriocins and peptides in foods. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2**, 299-329.
 42. Mnif, I., Grau-Campistany, A., Coronel-León, J., Hammami, I., Triki, M. A., Manresa, A. and Ghribi, D. 2016. Purification and identification of *Bacillus subtilis* SPB1 lipopeptide biosurfactant exhibiting antifungal activity against *Rhizoctonia*

- bataticola and Rhizoctonia solani. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**, 6690-6699.
43. Moon, G. S., Kang, C. H., Pyun, Y. R. and Kim, W. J. 2004. Isolation, identification, and characterization of a bacteriocin-producing Enterococcus sp. from kimchi and its application to kimchi fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**, 924-931.
44. Moon, Y. J., Baik, S. H., and Cha, Y. S. 2014. Lipid-lowering effects of Pediococcus acidilactici M76 isolated from Korean traditional makgeolli in high fat diet-induced obese mice. *Nutrients* **6**, 1016-1028.
45. Muñoz-Atienza, E., Gómez-Sala, B., Araújo, C., Campanero, C., Del Campo, R., Hernández, P. E., Herranz, C. and Cintas, L. M. 2013. Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of lactic acid bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. *BMC Microbiol.* **13**, 15.
46. Oh, Y. J. 2009. Jeju Traditional Food Fermentation culture in environment of east asia. *J. Cheju Studies* **32**, 157-203.
47. Ołdak, A. and Zielińska, D. 2017. Bacteriocins from lactic acid bacteria as an alternative to antibiotics. *Postepy Hig. Med. Dosw.* **71**, 328-338.
48. Park, Y. K., Nho, S. W., Shin, G. W., Park, S. B., Jang, H. B., Cha, I. S. and Jung, T. S. 2009. Antibiotic susceptibility and resistance of Streptococcus iniae and Streptococcus paraberberis isolated from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Vet. Res.* **136**, 76-81.
49. Pece, R., Gago, E., Tejada, F., Laures, A. S. and Alvarez-Grande, J. 1997. Relapsing bacteraemia due to *Micrococcus luteus* in a haemodialysis patient with a perm-cath catheter. *Nephrol. Dial. Transplant.* **12**, 2428-2429.
50. Qian-Qian, C., Bo, L., Jie-Ping, W., Jian-Mei, C., Guo-Hong, L., Hai-Yan, G. and Xiong, G. 2016. Anti-fungal lipopeptides produced by *Bacillus siamensis* FJAT-28592. *J. Agric.* **24**, 261-269.
51. Rabbee, M. F., Ali, M., Choi, J., Hwang, B. S., Jeong, S. C. and Baek, K. H. 2019. *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes. *Molecules* **24**, 1046.
52. Rhee, S. J., Lee, C. Y. J., Kim, M. R. and Lee, C. H. 2004. Potential antioxidant peptides in rice wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**, 715-721.
53. Rhee, S. J., Lee, J. E. and Lee, C. H. 2011. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods. *Microb. Cell Fact.* **10**, 55-68.
54. Schillinger, U. and Lücke, F. K. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 1901-1906.
55. Schved, F., Lazar, A., Henis, Y. and Juven, B. J. 1993. Purification, partial characterization and plasmid-linkage of pediocin SJ-1, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *J. Pure Appl. Microbiol.* **74**, 67-77.
56. Seo, D. H., Jung, J. H., Kim, H. Y., Kim, Y. R., Ha, S. J., Kim, Y. C. and Park, C. S. 2007. Identification of lactic acid bacteria involved in traditional Korean rice wine fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **16**, 994-998.
57. Sim, H. S. and Kim, M. D. 2016. Antipathogenic activity of *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from Korean traditional rice wine. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **44**, 98-105.
58. Song, Y. R., Jeong, D. Y., Cha, Y. S. and Baik, S. H. 2013. Exopolysaccharide produced by *Pediococcus acidilactici* M76 isolated from the Korean traditional rice wine, Makgeolli. *J. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 681-688.
59. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* **30**, 2725-2729.
60. Valgas, C., Souza, S. M. D., Smânia, E. F. and Smânia Jr, A. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Braz. J. Microbiol.* **38**, 369-380.
61. Wang, S. J., Lee, H. J., Cho, J. Y., Park, K. H. and Moon, J. H. 2012. Isolation and identification of antioxidants from makgeolli. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **44**, 14-20.
62. Welman, A. D. and Maddox, I. S. 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends Biotechnol.* **21**, 269-274.
63. Xu, B. H., Lu, Y. Q., Ye, Z. W., Zheng, Q. W., Wei, T., Lin, J. F. and Guo, L. Q. 2018. Genomics-guided discovery and structure identification of cyclic lipopeptides from the *Bacillus siamensis* JFL15. *PLOS One* **13**, e0202893.
64. Xu, H. M., Rong, Y. J., Zhao, M. X., Song, B. and Chi, Z. M. 2014. Antibacterial activity of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* M1 against multidrug-resistant *Vibrio* spp. isolated from diseased marine animals. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **98**, 127-136.
65. Yoshiyama, M., Wu, M., Sugimura, Y., Takaya, N., Kimoto-Nira, H. and Suzuki, C. 2013. Inhibition of *Paenibacillus larvae* by lactic acid bacteria isolated from fermented materials. *J. Invertebr. Pathol.* **112**, 62-67.

초록 : 제주 전통 발효식품 순다리에서 분리한 세균의 군집 조사 및 어류질병세균과 인체유해세균에 대한 항균활성효과

유영수 · 허문수*

(제주대학교 해양과학대학 수산생명의학과)

옛날부터 제주도는 지형적인 특징으로 인하여 보리를 주식으로 사용하였다. 식은 보리밥을 누룩과 함께 단기간 발효시켜 그대로 음용 또는 단맛을 첨가하여 단술 또는 순다리라 불리는 제주 발효음료를 만들어 먹었다. 막걸리와 비슷한 원료로 짧은 시간 발효하여 만들어지는 순다리는 막걸리의 연구에 비해 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 제주 전통 막걸리인 순다리에 군집되어있는 세균을 파악하였다. 또한, 분리 균주로부터 어류와 인체 유해 세균에 대한 항균 활성을 확인하였다. 분리 균주에서 Firmicutes 73%와 Proteobacteria 27%로 Firmicutes문이 우점문으로 나타났다. 또한, *Pediococcus*속, *Bacillus*속이 각각 25%로 가장 우세하였고, 다음으로 *Cronobacter*속 22%, *Enterococcus*속 16%, *Aneurinibacillus*속 5%, *Klebsiella*속 4%, *Paenibacillus*속이 2% 순으로 나타났다. 항균 활성 결과에서는 어류질병 세균 *P. Damselae*와 인체 유해세균 *S.mutans*를 제외한 모든 균에 대해서 생육저해 환을 나타냈다.