

울릉도 토양에서 분리한 *Bacillus* 속 균주의 프로바이오틱 잠재성 평가

심명욱¹ · 한덕기^{2*}

¹강릉원주대학교 웰니스바이오산업학과

²강릉원주대학교 해양생명과학과

Assessment of Probiotic Potential of *Bacillus* spp. Isolated from Ulleungdo, Korea

Myeong Uk Sim¹, Dukki Han^{2*}

¹Department of Wellnessbio Industry, College of Life Sciences, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea

²Department of Marine Bioscience, College of Life Sciences, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea

Corresponding Author

Dukki Han

Department of Marine Bioscience,
College of Life Sciences, Gangneung-
Wonju National University, Gangneung
25457, Korea

E-mail : dukkihan@gwnu.ac.kr

Received : April 19, 2023

Revised : May 01, 2023

Accepted : May 08, 2023

프로바이오틱스는 다양한 환경에서 분리되어 왔으며, *Bacillus* 균주는 유산균과 같은 일반적인 프로바이오틱스의 한계를 보완할 수 있는 내생포자 형성 능력으로 인해 프로바이오틱스 균주 중에서 유리하다. 본 연구의 목적은 한국에서 오염되지 않은 환경으로 알려진 울릉도 토양에서 분리된 *Bacillus* 균주의 프로바이오틱스 잠재성을 조사하는 것이다. 토양 시료는 울릉도 각지에서 채취하였으며, 항생제 내성과 효소 활성을 평가하였다. 항생제에 내성을 나타내지 않는 6개의 *Bacillus* 균주를 확보하였고 이후에 효소 활성을 검사하였다. 인체에 악영향을 미칠 수 있는 β -glucuronidase 효소는 활성이 나타나지 않았으며, 시중에서 판매되고 있는 *Bacillus* 프로바이오틱스와 유사한 효소의 활성과, 추가적으로 펩타이드 가수분해효소인 Leucine arylamidase의 활성이 나타난 NB-1 균주가 확인되었다. 이에, 추가적인 효능 연구 및 안정성 실험을 통해 프로바이오틱스 균주로서의 가능성을 모색해야 할 필요가 있다고 판단된다.

Probiotics have been isolated from various environments and *Bacillus* species are advantageous among the probiotic bacteria due to their ability to form endospores that can compensate for the limitation of typical probiotics such as lactic acid bacteria. The aim of this study is to investigate the probiotic potential of *Bacillus* species from Ulleungdo soil, known as an unpolluted environment in Korea. Soil samples were collected from various areas of Ulleungdo, and *Bacillus* spp. were isolated, and assessed for antibiotic resistance and enzymatic activity. Six *Bacillus* spp. were not resistant to all tested antibiotics and subsequently tested for enzyme activity. We found the six *Bacillus* spp. were all inactive β -glucuronidase enzyme, which can have detrimental effects on human health, and one of *Bacillus* spp. showed an activity of Leucine arylamidase suggesting its probiotic potential.

Keywords: Antibiotic resistant bacteria(항생제 내성균), Ulleungdo(울릉도), Probiotics(프로바이오틱스)

서론

최근 COVID-19으로 인한 만성폐로증후군과 함께 면역력을 높여주는 건강 기능성 식품에 대한 관심이 증가하고 있다(Hong, 2020). 이중 섭취를 통해 숙주의 장속 환경을 개선하여 건강을 증

진시키는, 유익한 미생물들을 프로바이오틱스(Probiotics)라 한다(Hill et al., 2014). 유익균들은 섭취 후 소화관을 통해 장에 도달하여 장 점막에서 생육할 수 있으며, 유기산, 비타민 등을 생성해 영양소를 보충하여 숙주의 면역력 증진에 기여한다(Kerry et al., 2018). 아울러 프로바이오틱스는 건강한 상태의 장내 미생물 집단



Fig. 1. Map of sampling sites in Ulleungdo.

을 안정화 시키고 유해 미생물의 증식을 억제하여, 장내미생물 생태계의 불균형 상태인 Dysbiosis를 예방하여 건강상 이점을 제공한다(Park et al., 2014; Seo et al., 2019).

프로바이오틱스의 효능을 위해서는, 섭취 후 위장관에서 장까지 도달하여 증식이 가능해야 하기 때문에 위장의 낮은 pH(공복 시: pH 1~2; 식후: pH 3.5~5.0)와 소화효소에 대한 내성이 필요하며 유해균들에 대한 항균 활성이 있어야 하며, 이외 프로바이오틱스는 건강 기능성 식품의 소재이기에 항생제 내성이나 독성 유전자, 용혈 활성 등의 안정성 평가 역시 중요하다(Saarela et al., 2000; Gueimonde and Salminen, 2006). 현재 프로바이오틱스 제품에 사용되는 균주로는 숙주에게 유용한 대사물질과 효소 능력을 가진 것으로 알려진 *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus* 등이 있으며(Seong and Park, 2019) 이중 *Bacillus* 속의 균주는 당류를 분해하는 효소를 분비하고 항생물질과 아미노산 등의 대사산물을 생합성 하여 숙주의 면역 활성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다(Schallmeyer et al., 2004).

Bacillus 속의 균주는 막대 모양의 형태를 가진 그람 양성균이며 토양이나 하천에서 흔하게 발견된다. 종에 따라 식품의 발효부터 병원성을 비롯한 자연계의 물질순환에 이르기까지 다양한 기능을 가지고 있으며, 고온, 건조, 자외선 등의 외부 스트레스와 생장에 필요한 영양분이 부족한 환경에서는, 내생포자(endospore)를 형성하여 자신을 보호할 수 있는 저항성을 가진다. 이는 프로바이오틱스로서 *Bacillus* 속의 균주를 섭취하였을 경우, 위장관의 낮은 pH와 담즙에서 *Bacillus* 균주의 생존을 증진에 기여할 수 있다(Schallmeyer et al., 2004; Cutting, 2011).

지구 환경에서 미생물이 존재하지 않는 곳은 거의 없으며 환경을 비롯한 주변의 생물권과 긴밀하게 연결되어 있지만, 우리는 그 생리와 생육 기능들을 아직 제대로 파악하지 못하고 있

Table 1. Sampling sites in Ulleungdo

Site	Latitude (N)	Longitude (E)	Date
A (Taeha-ri)	37° 30' 38"	130° 47' 58"	21. 07. 19
B (Hyeonpo-ri)	37° 31' 07"	130° 48' 51"	21. 07. 19
C (Nari-Basin)	37° 31' 14"	130° 52' 03"	21. 07. 20
D (Nari-Basin)	37° 31' 14"	130° 52' 14"	21. 07. 20
E (Nari-Basin)	37° 31' 12"	130° 52' 17"	21. 07. 20
F (Dodong-ri)	37° 28' 53"	130° 54' 32"	21. 07. 20

다. 미생물은 환경에 적응하여 성장하는 과정에서 다양한 효소들을 생산하며, 우리는 오랜 기간 경험적으로 그 산업적 유용성을 파악하여 활용하고 있다. 현대의 생명과학에서는 다양한 환경에서 미생물을 발굴하여 산업분야에서 활용하고자 노력하고 있다(Mongkolthananaruk, 2012; Nagórska et al., 2007; Sugita et al., 1998). 본 연구에서는 국내의 청정지역으로 알려진 울릉도 토양에서 *Bacillus* 속의 균주들을 선별한 뒤, 효소 활성과 항생제 내성 유무를 확인하여 프로바이오틱스 활용 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 미생물 분리

울릉도의 토양에서 박테리아 균주를 탐색하기 위하여 2021년 7월 울릉도 일대의 6 지점을 선정하여 토양을 채집하였다(Fig. 1, Table 1). 각 채집 지점에서 70% 에탄올로 소독한 삽을 이용하여 토양 표면 5 cm 아래의 흙을 채집한 후, 24시간 동안 60°C에서 건조하였다. 건조한 토양 1 g을 Phosphate Buffer Saline (PBS) 용액으로 10배씩 연속 희석한 뒤, 항진균제인 Cycloheximide (20 mg/l)를 첨가한 R2A agar (Kisan Bio Co., Ltd., Korea) 배지에 도말하여 25°C에서 하루 동안 배양하였다. 각 시료의 배양 배지에서 색상과 크기가 서로 다른 12개의 단일 콜로니들을 선별하여 2차레 계대 배양을 수행한 뒤, 총 73개의 균주들을 확보하여 이후의 실험에 사용하였다.

2. 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 통한 분리균의 동정

울릉도의 토양에서 분리한 73개의 균주를 동정하기 위하여, 각각의 genomic DNA (gDNA)를 추출한 뒤 16S rRNA 유전자의 염기서열을 분석하였다. 먼저, 각 균주로부터 AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer Co., Korea)를 이용하여 gDNA를 추출하고 16S rRNA 유전자(27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG; 1492R:

TACGGYTACCTTGTTACGACTT) 구간을 Solg™ 2X Taq PCR Pre-Mix (SolGent Co., Ltd. Korea)를 사용해 Polymerase Chain Reaction (PCR) 30 cycle (denaturation: 95°C, 2분; annealing: 55°C, 40초; extension: 72°C, 1분) 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 AccuPrep® PCR/Gel Purification Kit (Bioneer Co., Korea)를 사용하여 정제한 뒤, agarose gel (1%) 전기영동으로 확인하였다. 이후, 염기서열 분석(MacroGen Co. Ltd., Korea) 의뢰하였으며, 염기서열의 균 동정은 NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLASTn에서 수행하였다.

3. 항생제 내성 측정

울릉도 토양에서 분리된 균주들에서 *Bacillus* 속을 선별한 뒤, 항생제 내성을 디스크 확산법으로 확인하였다. Clinical laboratory Standards Institute (CLSI) 프로토콜에 따라 Mueller-Hinton agar 배지에 균주를 도말한 뒤, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Streptomycin, Tetracycline, 그리고 Erythromycin의 항생제 디스크를 사용하여 실험을 진행하였다. 균주가 도말된 배지 위의 항생제 디스크들은 37°C에서 24시간 배양 후, 생육 저지환의 크기를 AntibioGram J (v1.0) 프로그램(Alonso et al., 2017)을 이용하여 측정하였다. 이때 항생제 내성의 표준 균주는 그람 양성균인 *Enterococcus faecalis* KCTC5191 균주를 선정하여 CLSI의 내성 허용범위와 비교하였으며, 추가로 *Bacillus* 프로바이오틱스 제품인 Biscanen Cap. (Binex, Korea)의 *B. licheniformis*를 대조균으로 내성 평가를 진행하였다.

4. 효소 활성 측정

항생제 내성이 나타나지 않은 균주들을 선별한 뒤, API ZYM kit (Biomérieux, Co.)를 사용하여 18가지 효소반응(Alkaline phos-

phatase, Esterase (C4), Esterase lipase (C8), Lipase (C14), Leucine arylamidase, Valine arylamidase, Cystine arylamidase, Trypsin, α-chymotrypsin, Acid phosphatase, Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, α-galactosidase, β-galactosidase, β-glucuronidase, α-glucosidase, β-glucosidase, N-acetyl-β-glucosaminidase, α-mannosidase, α-fucosidase)에 대한 활성을 측정하였다. 멸균된 증류수 2 ml을 사용하여 균체를 희석한 뒤, OD 값을 McFarland standard (bioMérieux Co.) 5~6으로 맞추었다. 균주 현탁액을 API ZYM kit에 65 µl씩 접종하여 현탁액이 마르는 걸 방지하기 위해 트레이에 멸균 증류수를 5 ml을 넣은 후 37°C의 암실에서 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 API ZYM kit의 사용 매뉴얼에 따라 보조 시약을 접종하면서 색의 변화를 관찰하였으며, 색상의 차이를 사용 매뉴얼에서 명시한 0~5까지의 값으로 측정하였다. 효소반응의 실험 대조균으로는 *Bacillus* 프로바이오틱스인 *B. licheniformis*를 사용하였다.

결 과

1. 미생물의 분리 및 동정

울릉도 토양에서 분리한 73개의 균주들의 DNA를 추출하여 16S rRNA sequencing을 수행한 결과 총 56개의 균주가 *Bacillus* 속으로 동정 되었으며, 나머지 18개의 균주들은 각각 *Priestia* (N=7), *Pseudomonas* (N=3), *Stenotrophomonas* (N=3), *Flavobacterium*

Table 2. 56 *Bacillus* spp. isolated from Ulleungdo soil

<i>Bacillus</i> spp.	Number of isolate
<i>Bacillus pseudomycooides</i>	12
<i>Bacillus toyonensis</i>	10
<i>Bacillus cereus</i>	7
<i>Bacillus zanthoxyli</i>	5
<i>Bacillus mycooides</i>	4
<i>Bacillus butanolivorans</i>	3
<i>Bacillus thuringiensis</i>	3
<i>Bacillus wiedmannii</i>	3
<i>Bacillus sanguinis</i>	2
<i>Bacillus mobilis</i>	2
<i>Bacillus safensis</i>	2
<i>Bacillus hominis</i>	1
<i>Bacillus pacificus</i>	1
<i>Bacillus paranthracis</i>	1

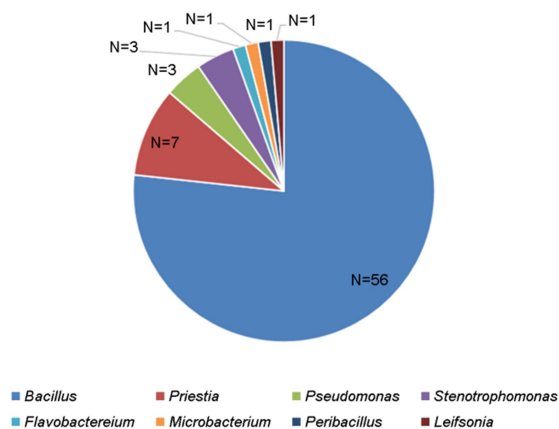


Fig. 2. 73 Isolated bacteria from Ulleungdo soil (Genus level).

Table 3. Antibiotic susceptibility test using disk diffusion method for *Bacillus* spp.

Antibiotics ^a	Disk conc. (µg)	<i>E. faecalis</i> (mm) ^b	DS-14 (mm)	NB-1 (mm)	NB-3 (mm)	NB-7 (mm)	NB-11 (mm)	NC-14 (mm)	Biscanen Cap. (mm)
CHL	30	≤12	27.0	21.5	24.5	25.5	26.0	25.5	22.0
TRI/SUL	1.25/23.75	–	20.0	28.5	29.0	24.5	26.5	24.0	35.0
STR	10	–	19.0	24.0	21.5	20.5	21.5	20.5	19.5
TET	30	≤14	24.5	24.5	21.5	22.5	22.0	22.0	28.5
ERY	15	≤13	27.0	27.5	26.5	25.0	25.0	18.3	16.5

a: Chloramphenicol (CHL), Trimethoprim-sulfamethoxazole (TRI/SUL), Streptomycin (STR), Tetracycline (TET), Erythromycin (ERY)

b: Zone diameter

Table 4. Enzyme activity test using API ZYM Kit

Enzyme assayed for	Activity*						
	NB-1	NB-3	NB-11	NB-7	NC-14	DS-14	Biscanen Cap.
Control	--	--	--	--	--	--	--
Alkaline phosphatase	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Esterase (C4)	++	++	++	++	++	+	+
Esterase lipase (C8)	+	++	++	+	–	+	+
Lipase (C14)	--	--	--	--	--	--	--
Leucine arylamidase	+	--	--	--	--	++	–
Valine arylamidase	--	--	--	--	--	--	--
Cystine arylamidase	--	--	--	--	--	--	--
Trypsin	--	--	--	--	--	--	--
α-chymotrypsin	–	--	--	--	--	--	--
Acid phosphatase	+	–	+	+	–	+++	+++
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	+	+	+	+	–	++	++
α-galactosidase	–	--	--	--	--	--	--
β-galactosidase	+	--	--	--	--	--	+++
β-glucuronidase	--	--	--	--	--	--	--
α-glucosidase	++	--	--	--	--	–	+++
β-glucosidase	--	--	--	--	--	--	–
N-acetyl-β-glucosaminidase	--	--	--	--	--	--	--
α-mannosidase	--	--	--	--	--	--	--
α-fucosidase	–	--	--	--	--	--	--

*Activity level [0: (--); 1~2: (–); 3: (+); 4: (++)]; 5: (+++)]

(N=1), *Microbacterium* (N=1), *Peribacillus* (N=1) 그리고 *Leifsonia* (N=1)의 균주들로 확인되었다(Fig. 2). *Bacillus* 속의 균주들은 *B. pseudomycooides* 균주가 12개로 가장 많았으며, 순서대로 *B. toyonensis* 10균주, *B. cereus* 7균주, *B. zanthoxyli* 5균주, *B. mycooides* 4균주, *B. butanolivorans* 3균주, *B. thuringiensis* 3균주, *B. wiedmannii* 3균주, *B. sanguinis* 2균주, *B. mobilis* 2균주, *B. safensis* 2균주, *B. hominis* 1균주, *B. pacificus* 1균주, *B. paranthracis* 1균주로 각각 동정 되었다(Table 2).

2. 항생제 내성 검사

선별된 56개의 *Bacillus* 속 균주들의 항생제 내성을 확인한 결과 6개의 균주 *B. pseudomycooides* (N=1), *B. zanthoxyli* (N=5)가 모든 항생제에 내성을 보이지 않았고, 이들 균주를 DS-14, NB-1, NB-3, NB-7, NB-11, NC-14로 각각 명명하였다(DS-14: *B. pseudomycooides*, NB-1: *B. zanthoxyli*, NB-3: *B. zanthoxyli*, NB-7: *B. zanthoxyli*, NB-11: *B. zanthoxyli*, NC-14: *B. zanthoxyli*) 대조균으로 사용된 프로바이오틱스 *B. licheniformis* 균주 또한 항생제 내성을 나타내지 않았다(Table 3).

3. 효소 활성 검사

선별된 DS-14, NB-1, NB-3, NB-7, NB-11, NC-14의 *Bacillus* 속 균주들과 대조균인 *B. licheniformis* 균주의 효소 활성 검사 결과, 실험 균주들 모두 Alkaline phosphatase의 활성이 강하게 나타났으며 Esterase (C4) 반응에서도 양성반응을 나타냈다. Esterase lipase (C8) 활성은 NC-14 균주 이외에 모두 활성이 나타났다. 그 외 Esterase lipase (C8) 반응에서 NC-14를 제외한 균주에서 양성반응이 나타났으며 NB-3, NC-14를 제외한 균주에서 Acid phosphatase 활성이 나타났고, NC-14를 제외한 균주에서 Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase 활성이 나타났다. 또한 *B. licheniformis* 균주에서 양성반응이 나오지 않았던 Leucine arylamidase의 활성이 나타난 NB-1, DS-14 균주가 확인되었다(Table 4).

고 찰

환경에는 다양한 미생물들이 존재하며, 자연계의 물질순환 외 인간활동에도 유익한 발효 대사와 해로운 감염성 질병 등의 영향을 주고 있다. 본 연구에서는 청정지역인 울릉도의 토양 환경에서 내생포자를 형성하는 *Bacillus* 속 균주를 분리·동정하여, 산업적으로 활용할 수 있는 프로바이오틱스의 가능성을 평가하였다. 내생포자를 형성하는 *Bacillus* 속 균주는 내열성이 있기 때문에 고온에서도 생존이 가능할 것으로 판단하였고, 이에 토양 시료에 존재하는 다양한 균주들로부터 내열성 균주를 일차적으로 선별하고자 배양 전 토양 시료들을 모두 60°C에서 하루 동안 건조하였다.

그 결과 울릉도 토양 시료에서 분리한 총 73개의 균주들 중 56개가 *Bacillus* 속의 균주로 동정되었으며, 이를 통해 환경 시료에서 *Bacillus* 속의 균주를 선택적으로 배양하기 위해서는 고온·건조 등의 적절한 전처리 과정이 수반되어야 함을 확인하였다.

상기의 *Bacillus* 속의 균주들을 대상으로 프로바이오틱스의 안정성을 확인하고자 항생제 내성 테스트를 진행하였다. 환경에는 산업적으로 유용한 균주들이 다수 존재하지만, 최근 오염과 항생제 남용으로 인하여 청정지역에 대한 환경위해성 확산이 우려되고 있다(Lee et al., 2022). 항생제 내성의 경우 미생물들 간 서로 내성 유전자의 전달이 가능하기에(Blair et al., 2015), 산업적으로 유용한 미생물들을 인구밀도가 낮은 청정지역에서 확보하였더라도 다른 경로로 항생제 내성을 확보할 가능성이 있다. 실제 본 연구에서 확보한 56개의 *Bacillus* 속의 균주들 중에서 50개의 균주들이 한 개 이상의 항생제에 내성을 가지고 있었으며, 6개의 균주만이 모든 항생제들에 내성을 가지고 있지 않았다. 이외 현재 시중에서 판매되고 있는 *Bacillus* 프로바이오틱스 제품인 Biscanen Cap.의 *B. licheniformis* 또한 본 연구에서 사용한 항생제들에 내성을 가지지 않았다. 전 세계적으로 항생제 내성에 대한 우려가 높아지고 있는 상황임을 고려할 때(Aslam et al., 2018), 환경 내 미생물자원 발굴에서도 항생제 내성 확인은 필수적인 요소라고 판단된다.

항생제 내성이 없는 6개의 *Bacillus* 균주들을 대상으로 효소 활성 능력을 확인한 결과, 실험대상인 6개의 *Bacillus* 균주와 대조균인 *B. licheniformis* 모두 Alkaline phosphatase의 활성을 보였으며, 이는 실험 균주들이 기존의 프로바이오틱스와 유사하게 생체 내 장에서 지방 소화에 관여가 가능할 것이라는 것을 의미한다. 아울러 지질(lipid) 성분에 대한 가수분해효소인 Esterase (C4) 역시 6개의 *Bacillus* 균주들에서 활성을 나타냈으며, DS-14를 제외한 균주들에서 *B. licheniformis*를 상회하는 효소 활성을 나타내었다. 이는 음식을 섭취 시 기존의 프로바이오틱스 제품에 비하여 보다 개선된 소화 능력을 숙주에게 제공할 것이라 예상된다. 아울러 펩타이드 가수분해효소인 Leucine arylamidase의 활성의 경우, *B. licheniformis*에서는 관찰되지 않았으나 NB-1와 DS-1 균주에서는 효소 활성을 확인할 수 있었다. 특히 NB-1 균주의 경우 lactose를 glucose와 galactose로 가수분해하는 효소인 galactosidase에 대한 활성이 유일하게 관찰되었기에 해당 균주를 사용한 프로바이오틱스의 제품 개발을 통하여, 기존의 *B. licheniformis* 기반 프로바이오틱스에서는 존재하지 않는 유당 불내증(Lactose intolerance) 개선 효과가 가능할 것으로 예상된다. 이외, 암 발생 가능성을 증가시키는 것으로 알려진 β -glucuronidase 효소(Myung and Joo, 2012; Rhee et al., 1998)에 대한 활성은 본 연구에서 사용한 *Bacillus* 균주들과 *B. licheniformis*에서 모두 관찰되지 않았다.

본 연구에서 선별된 6개의 *Bacillus* 균주들 중, NB-1은 기존 상용화된 프로바이오틱스인 *B. licheniformis*와 유사한 효소 활성을 가지며, 추가적으로 유당 불내증 개선에 대한 잠재적 기능을 암시하고 있다. 본 연구에서는 NB-1을 비롯한 NB-3, NB-7, NB-11,

그리고 NC-14의 균주들이 작물에 질병 저항성을 제공하는 것으로 보고된 *B. zanthoxyli* 균주(Li et al., 2017; Usmonov et al., 2021)로 동정 되었으며, 이중 NB-1의 경우 프로 프로바이오틱스로서의 잠재성을 기대할 수 있는 *B. zanthoxyli* strain으로 확인되었다. 이후의 연구에서는 NB-1에 대한 추가적인 안정성 테스트와 효능 연구를 비롯한 전장유전체 분석을 수행하여 프로바이오틱스로서의 가치창출과 자원화 방안을 모색해야 할 필요가 있다고 판단 된다.

사 사

This study was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant (2022R1F1A1065719) funded by the Korea government (MSIT) and Marine Biotics project (20210469) funded by Ministry of Ocean and Fisheries, Korea.

참고문헌

- Alonso C, et al. 2017. Antibigramj: A tool for analysing images from disk diffusion tests. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 143: 159-169.
- Aslam B, Baloch Z, et al. 2018. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance* 11: 1645.
- Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 13: 42-51.
- Cutting SM. 2011. *Bacillus* probiotics. *Food Microbiology* 28: 214-220.
- Gueimonde M, Salminen S. 2006. New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digestive and Liver Disease* 38: S242-S247.
- Hill C, et al. 2014. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 11: 506-514.
- Hong SW. 2020. Postbiotics: Next-generation of lactic acid bacteria. *Korean Society for Food Science of Animal Resources* 9: 11-19.
- Kerry RG, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. 2018. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis* 26: 927-939.
- Lee JH, Hong HW, Han D. 2022. Survey of Antibiotic Resistant Bacteria in Ull eungdo, Korea. *Korean Journal of Environmental Agriculture* 41: 344-354.
- Li M, et al. 2017. *Bacillus zanthoxyli* sp. nov., a novel nematocidal bacterium isolated from Chinese red pepper (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim) leaves in China. *Antonie van Leeuwenhoek* 110: 1179-1187.
- Mongkolthananaruk W. 2012. Classification of *Bacillus* beneficial substances related to plants, humans and animals. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 22: 1597-1604.
- Myung DS, Joo YE. 2012. Gut microbial influence and probiotics on colorectal cancer. *The Korean Journal of Gastroenterology* 60: 275-284.
- Nagórska K, Bikowski M, Obuchowski M. 2007. Multicellular behaviour and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta Biochimica Polonica* 54: 495-508.
- Park J-M, Lee J-H, Hong S-I. 2014. A research trend analysis of probiotics and prebiotics. *Food Science and Industry* 47: 54-66.
- Rhee YK, Kim DH, Han MJ. 1998. Inhibitory effect of *Zizyphi fructus* on β -glucuronidase and tryptophanase of human intestinal bacteria. *Korean Journal of Food Science and Technology* 30: 199-205.
- Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* 84: 197-215.
- Schallmeyer M, Singh A, Ward OP. 2004. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Canadian Journal of Microbiology* 50: 1-17.
- Seong Y-J, Park MS. 2019. Trends in probiotics product. *Food Science and Industry* 52: 229-240.
- Seo Y, Yoon Y, Kim S. 2019. Functionality and safety of probiotics. *Journal of Dairy Science and Biotechnology* 37: 94-101.
- Sugita H, et al. 1998. Production of the antibacterial substance by *Bacillus* sp. strain NM 12, an intestinal bacterium of Japanese coastal fish. *Aquaculture* 165: 269-280.
- Usmonov A, Yoo SJ, Kim ST, Yang JS, Sang MK, Jung HW. 2021. The *Bacillus zanthoxyli* HS1 strain renders vegetable plants resistant and tolerant against pathogen infection and high salinity stress. *The Plant Pathology Journal* 37: 72.