

# 발효유(醱酵乳)에서 분리된 *Lactobacillus casei*의 병원성 장내세균에 대한 항균작용

중앙대학교 의과대학 미생물학교실

최철순 · 정재봉 · 정상인 · 양용태

= Abstract =

## Antibacterial Activity of *Lactobacillus casei* Isolated from a Fermented Milk Against Pathogenic Enteric Bacteria

Chul-Soon Choi, Jae-Bong Chung, Sang-In Chung and Yong-Tae Yang

Department of Microbiology, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul 151, Korea

The present study was undertaken to elucidate the antibacterial spectrum of *L. casei* phage type J<sub>1</sub> strain isolated from a fermented milk product against pathogenic enteric bacteria. Growth inhibitory effects and minimum inhibitory concentration (MIC) of culture supernatants of *L. casei* grown in MRS broth were measured by both plate culture method and microplate broth dilution technique against *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, enteropathogenic *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*.

The results are summarized as follows:

1. The MRS broth culture of *L. casei* gave a similar extent of growth inhibitory effects against *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*, respectively.
2. The inhibitory effects of *L. casei* culture were observed either in whole broth culture or in culture supernatant, but neither the bacterial suspension nor the neutralized culture supernatant showed such as antibacterial activities.
3. The MIC titres of the culture supernatants were log<sub>2</sub>5 to log<sub>2</sub>6, whereas those of the neutralized culture supernatant dropped markedly to log<sub>2</sub>2 to log<sub>2</sub>3.

These results indicated that major portion of growth inhibitory effects of MRS broth culture of *L. casei* against enteric bacterial pathogens was possibly due to the acids produced, and minor portion to other antibacterial substances.

### 서 론

*Lactobacillus*는 그람음성장내세균에 대하여 항균 작용이 있다는 것이 생체내검사 또는 시험관내검사에 의하여 밝혀졌다<sup>2, 4, 6, 25, 29</sup>. *Lactobacillus*의 장내세균에 대한 정확한 항균기전은 아직 확실하지 않으나 *Lactobacillus*는 항생물질<sup>18, 21, 26, 27</sup>, 과산화수소<sup>10, 11, 24</sup>, 초산과 유산<sup>22, 28</sup> 및 bacteriocin<sup>13</sup> 등의 항균물질을 생산한다는 것이 보고되었다. 또한 *Lactobacillus*는 다른 병원균에 대한 세균 간섭작용을 통하여 장내감염증을 막는 정상세균총으로서의 중요한 역할을 갖는다는 것도 알려졌다<sup>14, 15, 17, 19</sup>.

이외에도 유산균발효유는 우유에 비하여 영양학

적으로 우수한 식품이라는 것이 알려져 유산균발효유의 국내의 소비량은 매년 증가되고 있다<sup>1, 12, 20</sup>. 즉 1975년에 발효유의 총 소비량은 겨우 8,473 M/t 이던 것이 1983년에는 110,256 M/t으로 증가되었다<sup>3</sup>.

그러므로 국내에서 유산균발효유의 생산에 사용되고 있는 *Lactobacillus* spp의 영양학적 평가는 물론 장내세균에 대한 항균효과의 정확한 평가는 매우 중요하다. 현재 국내의 발효유생산에 사용되고 있는 유산균의 균종으로는 *L. bulgaricus*, *L. helveticus* 및 *L. acidophilus*가 있다<sup>11</sup>.

이중에서 *L. casei* subsp. *casei*는 호기성배양조건에 잘 발육하기 때문에 유발효유산균으로 널리 사용되고 있다.

국내 시판 발효유에서 분리된 *Lactobacillus casei*는 대장균<sup>1,4,6)</sup>, *Salmonella typhimurium*<sup>7)</sup> 및 *Shigella dysenteriae*<sup>8)</sup>에 대하여 항균작용을 나타낸다는 것이 시험관배양검사에서 확인되었다. 그러나 *L. casei*의 여러가지 장내세균에 대한 항균 작용에 대한 정확한 작용기전은 확실히 규명되어 있지 않다.

그러므로 본 연구에서는 *L. casei*의 주요 병원성 장내세균에 대한 항균력을 비교하고, 이들 장내세균에 대한 항균기전을 밝히기 위한 목적으로 시판되고 있는 유산간균 발효유에서 *L. casei*를 분리하고 이 분리균의 MRS broth배양액을 이용하여 각종 병원성장내세균에 대한 항균력을 한천명판확산법과 최소발육저지 농도 측정법으로 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 세 균

이 연구에 사용한 유산간균은 시중에서 판매되고 있는 유산간균 발효유에서 분리한 *Lactobacillus casei subsp. casei*를 사용하였다.

병원성장내세균은 *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *K. pneumoniae* 및 *P. aeruginosa*를 사용하였다. 모든 세균은 skim milk (10% skim milk 90ml + 여과멸균된 우혈청 10ml)에 부유시켜 -40°C에 냉동보존하면서 실험에 사용하였다. 사용균주의 분리 및 분양은 Table 1과 같다.

#### 2. 세균 배지 및 배양액

유산간균유의 증식과 보존을 위하여 MRS Broth와 MRS 한천<sup>9)</sup>을 사용하였다. 즉 MRS broth는 peptone 10.0g, beef extract 10.0g, yeast extract 5.0g, Tween 80 1.0g, dipotassium phosphate hydrate 2.0g, sodium acetate 5.0g, triammonium citrate 2.0g, magnesium sulphate hydrated 0.2g, manganese sulphate hydrated 0.05g을 1 l의 증류수에 녹여서 pH 6.4로 조정한다. 다음 포도당 20.0g을 추가하여 만들었다. MRS 한천은 pH를 조정성한 후 분말한천 10.0g을 가하여 121°C에서 5분간 가온하여 용해시키고 포도당 20.0g을 가하여 녹힌다음 500ml 삼각플라스크에 200ml씩 담아서 121°C에서 15분간 멸균하였다. 장내세균은 Eosin-methylene blue(EMB) 한천, 또는 MacConkey agar (MCA) 한천 평판에 선상 도말하여 37°C에서 24시간 배양후 단일집락을 선발하여 다시 동일 평판에 선상도말 접종한 다음 37°C에서 18시간 증균배양하였다. 발육저지시험과 최소발육저지시험에 사용될 균부유액은 평판에서 정형적인 집락 4-5 개를 선발하여 멸균loop로 따서 Trypticase soy broth 3ml에 옮겨 37°C에 3시간 또는 그이상 배양한다. 다음 배지의 농도를 Macfarland No. 0.5 standard와 같은 농도로 조절하여 사용하였다. 표준 Macfarland No. 0.5 standard는 barium sulfate 0.5ml를 0.36N sulfuric acid 99.5ml에 혼합하여 만들었다.<sup>10)</sup>

Table 1. Isolation and source of strains of bacteria

Bacteria	Strain	Specimen or Source
<i>Lactobacillus casei</i>	Phage type J1	Isolated from a fermented milk Yakult in 1983.
<i>Salmonella typhi</i>	CDC 58-0901(TO)	Department of Bacteriology, National Medical Center, Korea
	CDC Ammont-Stovell(TH)	//
<i>Salmonella typhimurium</i>	TA 1535	Dr. Lee, S.Y., College of Agriculture, Korea University (Ames strain).
<i>Shigella dysenteriae</i> type 1	CUCC 13-1	Chung-Ang University Culture Collection
<i>Shigella flexneri</i>	CUCC 13-2	Chung-Ang University Culture Collection
<i>Escherichia coli</i>	K 12	Dr. Lee, S.Y., College of Agriculture, Korea University.
	P 32	Isolated from feces of a diarrheal piglet
<i>Kelbsiella pneumoniae</i>	JYA-1119	Isolated from peritoneal exudates of a patient with salpingitis.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CUCC 261-1	Chung-Ang University Culture Collection.

감수성 시험용 평판배지는 Mueller-Hinton 한천배지를 사용하였다. Well평판발육저지시험 및 최소발육저지농도시험을 위한 *L. casei*의 MRS broth 배양액은 *L. casei*의 MRS 7 일 배양액을 총배양액(균체 + 배양상청액), 중화처리배양상청액 및 배양세균부유액으로 나누었다(그림 1 참조).

총배양액은 37°C에서 7 일간 배양한 MRS broth 배양액(pH3.6)을 사용하였으며, 배양상청액은 총배양액을 3,000rpm에서 30분간 원심분리하여 균체를 제거한후 원침상청액을 사용하였으며 중화처리한 배양상청액은 배양상청액을 1 N NaOH로 pH 7.0로 조절하여 사용하였다. 세균부유액은 원침세균을 멸균 증류수에 3회 세척하여 얻은 균을 희석하지 않고 그대로 사용하였다. 최저발육저지시험에 사용된 배양액은 배양상청액과 중화처리한 배양상청액을 Visking 투석망에 넣어 polyethylene glycol로 10배로 농축하고, 농축한 것이 원액의 1/10량이 미달될 때는 증류수를 보충하여 조절하였다.

### 3. 발육저지시험

*L. casei*의 MRS broth배양액의 각종 장내세균에 대한 발육저지시험은 well평판법을 사용하는 것을

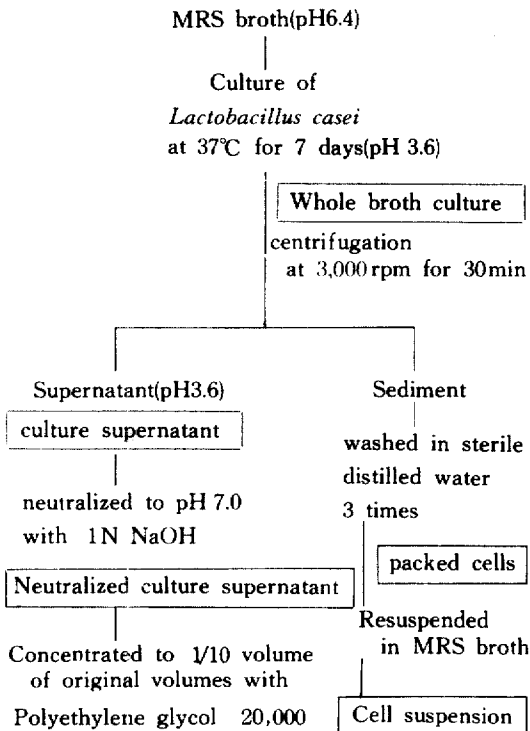


Fig. 1. The division of principal groups of MRS broth culture of *Lactobacillus casei*.

제외하고는 Bauer-Kirby 의 한천확산디스크법에 따라 실시하였다. 즉, Mueller-Hinton agar 10 ml를 멸균된 100mm petri접시에 붓고 굳힌 다음 접시의 뚜껑을 밑으로 향하도록 위치시켜 37°C에서 습기를 증발시켰다. 균부유액을 멸균면봉으로 흡수하여 평판 위에 90° 각도로 3회 회전하여 평판위에 골고루 도말접종하였다. 이것을 37°C부란기내에서 다시 수증기를 증발시킨 다음 멸균 well cutter를 사용하여 접시 변두리에서 10mm, 그리고 well 간격을 20mm로 하여 한천에 구멍을 만들었다. 한천의 구멍 밑면에 생긴 균열을 메꾸기 위하여 멸균 Pasteur 피펫으로 0.1% Nutrient agar를 한 방울씩 well 바닥에 떨어뜨렸다. 각 well에 micropipet 로 일정량의 MRS 배양액 또는 기타처리 배양액을 가하여 37°C 18시간 배양하고 한천 well주위의 발육저지대의 직경을 microcalliper로 측정하였다.

### 4. 최소발육저지 농도 측정

최소발육저지농도(MIC)의 측정은 미량평판 broth희석법<sup>1)</sup>에 의하여 실시하였다. 즉 *L. casei*의 MRS broth 배양액의 상청액과 중화처리액의 10배 농축액을 각각 Nutrient broth에 2배 단계희석을 시험관에서 먼저 실시하고 이것을 높은 희석배수에서부터 시작하여 낮은 희석배수로 향하여 96개 well을 갖는 U형 미량평판에 Microdropper를 이용하여 50 μl씩 횡측으로 분주하였다.

MacFarland 0.5 standard로 마춘 균액 0.5 μl를 멸균증류수 7ml와 혼합하여 microdropper로 각 well에 0.5 μl씩 분주하였다. 멸균평판을 배양할때 증발을 막기위하여 평판을 중층시키고 마지막 평판만을 플라스틱으로 덮었다. MIC는 각 배양평판을 37°C에서 18시간 배양후 균의 발육이 저지된 최고희석배수의 log<sub>2</sub> 값을 *L. casei* MRS broth 배양액의 MIC값으로 표시하였다 (그림 1 참조).

### 성적

#### 1. *L. casei* MRS 배양액의 성분별 항균효과

MRS broth 배양액의 항균 물질의 분포를 파악하기 위하여 *L. casei*를 MRS broth에 접종하여 37°C에서 7일간 배양한 다음 총 배양액, 원침상청액, 배양상청액의 중화액 및 MRS broth(대조군)의 *E. coli* K<sub>12</sub> 및 *S. flexneri* CUCC 13-1에 대한 세균발육저지대의 직경을 well 한천확산법으로 측정한 성적은 Table 2와 같다.

즉 *L. casei*의 총배양액과 배양상청액은 항균저지대를 보였으나 다른 처리군에서는 항균효과를 나타

**Table 2.** Growth inhibition of *E. coli* and *S. flexneri* by MRS broth culture components of *L. casei*<sup>a</sup>

Culture components	<i>E. coli</i>	P	<i>S. flexneri</i>	P
Whole broth culture (pH 3.6)	9.27 ± 0.57 <sup>a</sup>		9.50 ± 0.20	
Culture supernatant (pH 3.6)	7.95 ± 0.35	<0.01 <sup>c</sup>	9.67 ± 1.63	NS <sup>d</sup>
Cell suspension in MRS broth (pH 6.4)	0		0	
Neutralized culture supernatant (pH 7.0)	0		0	
MRS broth (pH 6.4)	0		0	

<sup>a</sup> *L. casei* was grown in MRS broth at 37°C for 7 days and centrifuged at 3,000 rpm for 30 minutes. The culture supernatants were decanted and the packed bacteria were washed three times in sterile distilled water and resuspended in MRS broth. A part of culture supernatant was neutralized to pH 7.0 with 1N NaOH solution.

<sup>b</sup> Mean of diameter of growth inhibition of three tests (in mm)

<sup>c</sup> P = Significance of diameter of growth inhibition between whole broth cultures and culture supernatants.

<sup>d</sup> NS = no significance.

**Table 3.** Growth inhibition of various gram-negative enterobacteria by whole MRS broth culture and culture supernatants of *L. casei*

Species	Whole culture	Culture supernatant	P
<i>E. coli</i> , K12	7.56 ± 0.98 <sup>a</sup>	7.76 ± 0.24	NS
<i>E. coli</i> , P32	6.30 ± 1.10	7.60 ± 0.86	NS
<i>S. typhi</i> , CDC 58-0901	10.50 ± 0.10	8.90 ± 0.40	<0.01
<i>S. typhi</i> , CDC Ammont-Stovell	8.57 ± 0.68	8.63 ± 0.67	NS
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	8.95 ± 0.95	11.05 ± 2.35	NS
<i>S. dysenteriae</i> CUCC 13-1	8.85 ± 0.15	10.95 ± 1.85	<0.05
<i>S. flexneri</i> CUCC 13-2	9.30	11.30	NS
<i>P. aeruginosa</i> CUCC 261-1	8.30 ± 0.05	7.45 ± 0.06	<0.01
<i>K. pneumoniae</i> CUCC JYA 1119	8.10 ± 0.15	7.80 ± 1.40	NS

<sup>a</sup> Numbers show means and standard deviation of the tests (in mm).

내지 않았다. 총배양액과 배양상청액의 *E. coli* 에 대한 발육저지대의 직경은 각각 9.27 ± 0.57mm 와 7.95 ± 0.35mm이었으며, *S. flexneri*에 대한 발육저지대의 직경은 각각 9.50 ± 0.20mm와 9.67 ± 1.63 mm이었다.

총배양액의 *E. coli*에 대한 발육저지는 배양상청액에 비하여 현저히 증강되었으나(p < 0.01), *S. flexneri*에 대한 총배양액과 상청액의 발육저지대 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

## 2. *L. casei*의 총배양액 및 배양상청액의 각종 장내세균에 대한 항균작용

*L. casei* MRS broth배양액의 주요 병원성 장내세균에 대한 항균력을 비교하기 위하여 well 한 천확산법에 의한 균발육저지대의 직경을 측정 한 결과는 Table 3과 같다.

즉, *L. casei*의 총배양액과 배양상청액의 *E. coli* K<sub>12</sub>균주에 대한 발육저지대의 직경은 각각 7.56 ± 0.98mm 및 7.76 ± 0.24mm이었고, P<sub>32</sub>균주에 대한 발육저지대의 직경은 6.30 ± 1.10mm 및 7.60 ± 0.86 mm이었으며, *S. typhi* CDC Ammont-Stovell 균주(8.57 ± 0.68mm, 8.63 ± 0.67mm), *S. typhimurium* TA 1535(8.95 ± 0.95mm, 11.05 ± 2.35mm), *S. flexneri* CUCC 13-2 (9.30 mm 와 11.30 mm) 및 *K. pneumoniae* CUCC JYA 1119(8.10 ± 0.15mm, 7.80 ± 1.40 mm)에 대한 발육저지대의 직경 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 그러나 *S. typhi* CDC 58-0901 균주에 대한 발육저지대는 총배양액(10.50 ± 0.10mm)이 배양상청액(8.90 ± 0.40 mm)에 비하여 증가되고 통계적으로 유의한 항균력을 보였다. *P. aeruginosa* CUCC 261-1 에 대한 총배양액(8.30 ± 0.05mm)의 발육저지대는 배

**Table 4.** Minimum inhibitory concentration of the concentrated culture supernatants and neutralized culture supernatants of *L. casei* against gram negative enterobacteria\*

Species	Reciprocal dilution of (log <sub>2</sub> )	
	Culture supernatants	Neutralized culture supernatant
<i>E. coli</i> K12	5	2
<i>E. coli</i> P32	5	3
<i>S. typhi</i> CDC 58-0901	6	3
<i>S. typhi</i> CDC Ammont-Stovell	6	3
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	5	2
<i>S. dysenteriae</i> type 1 CUCC 13-1	6	3
<i>P. aeruginosa</i> CUCC 262-1	5	2
<i>K. pneumoniae</i> CUCC JYA 1119	5	2
Mean	5.38±0.48	2.5±0.5 <sup>c</sup>

See footnotes Table 2.

\* Bacterial suspension was adjusted to the turbidity of the medium equals that of a MacFarland No. 0.5 standard. This is equivalent to a concentration of about 10<sup>8</sup> organisms/ml. A 0.5μl of this suspension was suspended in 7 ml of sterile distilled water. A 0.5μl of bacterial suspension was mixed with 0.5μl of two-fold dilution of concentrated MRS broth and incubated at 37°C for 18h.

<sup>b</sup> Reciprocal dilution (log<sub>2</sub>) of concentrated MRS broth culture shown complete inhibition of bacterial growth.

<sup>c</sup> p<0.05.

양상청액(7.55±0.006 mm)에 비하여 역시 유의한 차이를 보였다. 반대로 *S. dysenteriae* CUCC\* 13-1에 대한 발육저지대는 배양상청액(10.95±1.85 mm)이 총배양액(8.85±0.15 mm)에 비하여 오히려 낮았다(p<0.05).

총배양액과 배양상청액의 이 실험에 사용된 장내세균에는 배양상청액이 *S. typhimurium*, *S. flexneri* 및 *S. dysenteriae*에 대하여 약간 높은 항균력을 보였으나 발육저지대는 균종간에 큰 차이가 없었다.

### 3. *L. casei*의 배양상청액과 중화처리상청액간의 최소발육저지농도

*L. casei* MRS broth 배양액의 장내세균에 대한 항균물질이 포도당 분해와 기타 분해산물로 생긴 산에 의한 것인지 또는 항생제를 포함한 다른 항균물질에 의한 것인지를 추궁하기 위하여 배양상청액과 중화처리상청액의 10배 농축액의 각종 병원성장내세균에 대한 최소발육저지농도(log<sub>2</sub>)를 비교한 성적은 Table 4와 같다.

즉, 배양상청액의 장내세균에 대한 MIC는 1:32(log<sub>2</sub>,5)-1:64(log<sub>2</sub>,6)로 높은 역가를 보였는데 반하여 중화처리액의 MIC는 1:4(log<sub>2</sub>,2)-1:8(log<sub>2</sub>,3)로 현저히 낮았다. 그러나 배양상청액의 농축액(5.38±0.48)과 중화처리상청액의 농축액(2.5±0.5)의

각종 장내세균에 대한 MIC 간에는 유의한 차이를 보였으나(p<0.05), 각 장내세균의 균종과 균주에 대한 배양상청액과 중화처리액의 MIC 간에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

## 고 찰

시판 Yakult에서 분리된 유산간균(*Lactobacillus casei*)의 MRS broth 7일 배양액(pH 3.6)의 총 배양액(유산간균+배양액)과 배양상청액(유산간균 제거)의 각종 장내세균에 대한 항균력을 비교한 결과 총배양액과 배양상청액 간에는 항균력의 차이가 없었으나, 배양상청액을 pH 7로 조절할 때는 항균력이 크게 감소되거나 완전히 소실되는 것을 관찰하였다. 이 성적은 유산간균의 장내세균에 대한 항균기전은 유산간균의 대사산물인 산에 의한다는 것임을 의미한다.

이 성적은 다른 연구자들의 성적<sup>5, 22, 28)</sup>과 일치한다. 즉 이들은 유산간균의 항균작용은 유산간균발효유 속에 함유된 초산 또는 유산 같은 불해리 상태의 산에 의한다고 보고하였다. 윤영호등<sup>5)</sup>은 *L. casei*의 MRS broth 배양액의 대장균(*E. coli*)에 대한 시험관내 항균작용의 조사에서 pH 4-5의 MRS broth는 강력한 항균작용을 갖지만 pH 5-7의 M

Fig. 1. Photograph of growth inhibition of *B. anthracis* and *S. aureus* on Mueller-Hinton agar plate on which have been made 6 wells, each containing a different component of MRS broth culture of *L. casei*; whole broth culture(1), bacterial suspension in fresh MRS broth(2), bacteria-free culture supernatant(3), neutralized culture supernatant(4), MRS broth(5) and bacterial suspension in saline(6). Photograph of MIC titration of reciprocal dilutions of neutralized culture supernatant(upper row) and culture supernatant(lower row) against *E. coli* K12(I), *S. typhi* CDC 58-0901(II), CDC Ammont-Stovell(III), *S. dysenteriae* CUCC 13-1(IV), *S. typhimurium* TA1535(V) and *K. pneumoniae* JYA 1119(VI).

RS broth는 미약한 항균작용을 나타낸다는 것을 관찰하였다.

그러나 이 실험만으로는 *L. casei* MRS broth 배양액의 장내세균에 대한 항균물질이 산 이외의 항생물질을 포함한 다른 항균물질에 의하여 일어난다는 다른 연구보고를 완전히 배제할 수는 없다. 그러므로 본 실험에서는 *L. casei* MRS broth 7일 배양액을 원침하여 균체를 제거시킨후 상청액(pH 3.6)과 중화 처리한 상청액(pH 7.0)을 각각 10 배로 농축하여 각종 병원성장내세균에 대한 최소발육저지농도(MIC)를 비교하였다. 즉 배양상청액 10배 농축액의 MIC가 1:32(log, 5) - 1:64(log, 6)로 높았으나 중화처리시 배양액 농축액의 MIC는 1:4(log 2) - 1:8(log, 3)로 현저히 감소되었다. 이 실험성적에서 흥미있는 관찰은 중화처리에도 불구하고 MIC가 항균발육저지 시험(완전히 억제되었음)과는

달리 완전히 소실되지 않는다는 점이다. 이 성적은 *L. casei*의 MRS broth 배양액 속에는 산 이외에 항생물질을 포함한 다른 미지의 항균물질이 포함되어 있다는 것을 암시한다.

윤영호등<sup>1)</sup>은 *L. casei* 4주, *L. acidophilus* 3주, 그리고 *L. thermophilus*, *L. plantarum*, *L. johghurti* 및 *L. bulgaricus* 각 1주의 MRS broth 배양액의 *E. coli*에 대한 항균효과를 조사한 결과 배양액 속에 수종의 peptide성상을 갖는 항균물질이 있으며 이 peptide의 생산량과 항균력은 *Lactobacillus* 균종과 균주에 따라 큰 차이가 있다고 하였다. 즉, 이들은 peptide 물질이 시험에 사용된 *E. coli* 3주에 대한 발육저지 시험에서 A, 균주에 관한 항균력은 *L. bulgaricus* B-1(2.04mm)이, G, 균주에는 *L. helveticus*(3.30 mm) 및 *L. bulgaricus* B-1(3.30mm)가, C, 균주에는 *L. acidophilus* L-54(0.92mm)이 높은 항균력을 보였다고 보고하였다. 이 성적은 *L. casei*의 MRS broth 배양액 속에는 산 이외에도 항생물질과 유사한 항균물질이 산출되며 또한 발효유 생산과정에는 유산균의 균종 및 균주의 선발이 매우 중요하다는 것을 알수있다.

이 연구에서 다른 흥미있는 관찰은 시판 발효유에서 분리된 *L. casei*(phage type J<sub>1</sub>)의 배양액이 실험에 사용된 모든 장내세균에 대하여 균종간에 큰 차이없이 매우 유사한 항균력을 발휘하였다는 점이다. 즉 *L. casei*의 MRS broth 배양액은 장티프스균(*S. typhi*), 쥐장티프스균(*S. typhimurium*), 세균성이질(*S. flexneri* 및 *S. dysenteriae*), 폐렴간균(*K. pneumoniae*), 녹농균(*P. aeruginosa*) 및 사람과 동물(돼지)의 설사를 일으키는 장독소성 대장균(enterotoxigenic *E. coli*)에 대하여 균종간에 큰 차이 없이 매우 유사한 발육저지대를 보였다. 항생물질의 장내세균에 대한 내성은 Plasmid를 통한 내성인자(R factor)의 전달에 의하여 빈번히 일어나기 때문에 항생물질 감수성은 균종과 균주간에 큰 차이가 있는 것이 특징이지만 이 실험에서 *L. casei* MRS broth 배양액의 각종 균종과 균주에 대한 감수성간에 큰 차이 없이 균일한 발육저지대를 보이는 점으로 보아, *L. casei*의 장내세균에 대한 항균작용은 항생물질보다는 오히려 산에 의하여 발현된다는 것을 간접적으로 뒷받침해 준다.

## 결 론

*Lactobacillus casei subsp. casei*의 각종 병원성 장내세균에 대한 항균력을 비교하고 항균작용의 기전을 추구하기 위하여, 시판 발효유에서 분리된 *L.*

*casei*(phage type J<sub>1</sub>)의 MRS broth 7일 배양액의 장내세균에 대한 항균효과를 well 한천확산법과 최소발육저지농도 측정법에 의하여 조사하였다. 결과물 요약하면 다음과 같다.

1. *L. casei* MRS broth 7일 배양액은 *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *E. coli*, *K. pneumoniae* 및 *P. aeruginosa*에 대하여 균종의 차이에 관계없이 매우 유사한 발육 억제작용을 보였다.

2. *L. casei*의 MRS broth 배양액(pH3.6)의 성분중에 총배양액(세균포함)과 배양상청액(세균제거)은 유사한 항균력을 보였으나, 균체부유액과 중화처리배양액(pH7.0)은 항균력을 나타내지 않았다.

3. 배양상청액과 중화처리 배양상청액의 10배 농축액의 각종 장내세균에 대한 최소발육저지농도의 비교에서 배양상청액의 최소발육저지농도는  $\log_5 - \log_6$ 이었으나, 중화처리액의 최소발육저지농도는  $\log_2 - \log_3$ 로 현저히 감소되었다.

이 성적은 *L. casei*의 장내세균에 대한 항균작용기전은 산에 의한 발육억제작용이 주가 되며, 일부 미지의 항균물질에 의한 부가작용에 의한다는 것을 의미한다.

## 참 고 문 헌

- 1) 강영제, 윤영호, 김현욱: 국산발효유음료의 미생물학적 및 이화학적 성상에 관한 연구. 한국축산학회지 **21**, 534, 1979.
- 2) 김동신: *Lactobacillus*가 생산한 항균물질에 관한 연구. 박사학위논문. 서울대학교. 1983.
- 3) 농수산부 축산국. 낙농관계자료. 1984.
- 4) 박응진, 윤화중, 이택주, 서부갑: 유산균과 장내병원성세균의 길항 작용에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 **5**, 85, 1981.
- 5) 윤영호, 윤패병, 김현욱: *Lactobacillus casei* YIT 9081의 생존경쟁기작에 관한 연구. 한국축산학회지 **23**, 213, 1981.
- 6) 윤영호, 이용욱, 윤패병: *Lactobacillus spp* MRS 배양액의 peptide 분포특성과 *Escherichia coli*에 관한 억제작용에 관한 연구. 대한보건협회지 **9**, 61, 1983.
- 7) 장우현: 유산균의 병원성세균억제작용(고찰). 제2회 유산균과 건강에 관한 국제학술세미나. p., 59-75. 대한보건협회. 1981.
- 8) Bauer AW, Kirby W, Shrris JC and Turck M: Antibiotic susceptibility testing by a standardized sigle disk method. *Am. J. Clin pathol.* **45**, 493, 1966.
- 9) De Man JC, Rogosa M and Sharpe MD & A medium for the cultivation of *Lactobacilli* *J. Appl. Bacteriol* **23**, 130, 1960.
- 10) Collins EB and Armaki K: Production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* **63**, 353, 1980.
- 11) Dahiya RS and Speak ML: Hydrogen peroxide formation by *Lactobacillus* and its effect on *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.* **51**, 1568, 1968.
- 12) Deeth HC and Taimine AY: Yogurt: nutritive and therapeuti aspects. *Food Protect.* **44**, 78, 1980.
- 13) De Klerk HC: Bacteriocinogeny in *Lctobacillus fermenti*. *Nature* **241**, 609, 1967.
- 14) Drassar BS: The normal microbial flora of man. In F.A. Sinner and J.G. Carr(ed.), Acadmic Press, London, 1974.
- 15) Fuller R: Bacteria that stick in the gut. *New Scientist.* **30**, 506, 1972.
- 16) Gavan TL and Town MA: Microdilution method for antibiotic susceptibility testing. *Bact. Proc.* **73**, 1969.
- 17) Gilliland SE, Speak GF, Nauyok GF and Gissbrecht FG: Influence of consuming nonfermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of healthy males. *J. Dairy Sci.* **61**, 1, 1978.
- 18) Gordon D, Macrae J and Wheater D: A *Lactobacillus* preparation for 'ise with antibiotics. *Lancet.* **1**, 889, 1959.
- 19) Haenel H: Human normal and abdominal gastrointestinal flora. *Am. Clin, Nutrition.* **23**, 1433, 1970.
- 20) Hamada K, Waki Y and Kitagawa T: Studies on the effect of effect of fermented milk by lactobacilli on human health, Summary on the Reports on Yakult. Yakult Hansha Co. Ltd. p.54-56, 1971.
- 21) Hamdan I and Micolajick EM: Acidolin, an antibiotic produced by *Lactobacillus acidophilus* *J. Antibiotics.* **27**, 631, 1974.
- 22) Huhtanen CN: Effect of acids on selenite inhibition of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella dublin*. *J. Food Protection.* **41**, 289, 1978.
- 23) Kang KH, Lee SW, Baek YJ, Youn YH and Kim KW: The antibacterial activity of the fermented milk drink using *Lactobacillus casei* YIT 9018 on the pathogenic bacteria. *Kor. J. Ani. Sci.* **19**, 227, 1977.

- 24) Price RJ and Lee JS : Inhibition of *Pseudomonas* species by hydrogen peroxide producing Lactobacilli. *J. Milk. Food. Technol.* **98**, 1278, 1969.
- 25) Shahani KM and Ayibo AD : Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. *J. Clin. Nutr.* **33**, 2448, 1980.
- 26) Shahani KM, Vakil JR and Kilara A : Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. I Cultural conditions for the production of antibiotics. *Cultured Dairy Products J.* **11**, 14, 1976.
- 27) Shahani TM, Vakil JR and Kilara A : Natural antibiotic activity of *Lactobacillus a cidophilus* and *bulgaricus*. II. Isolation of acidophilin from *Lactobacillus acidophilus*. *Cultured Dairy Products J.* **12**, 8, 1977.
- 28) Subramanian CS and Marth EH : Multiplication of *Salmonella typhimurium* in skim milk with and without added hydrochloric, lactic and citric acid. *J. Milk Food Technol.* **31**, 323, 1969.
- 29) Tramer J : Inhibitory effect of *Lactobacillus acidophilus*. *Nature* **21**, 204, 1966.