

## 동물의 장에서 분리한 *Enterococcus* sp.의 특성 및 분말화

박종진\* · 변정수 · 조윤경 · 홍승서 · 이현수  
삼양제넥스연구소

**Characteristics of *Enterococcus* sp. Isolated from Animal Intestine and Its Powder.** Chong-Jin Park\*, Jeong-Soo Pyeon, Yun-Kyung Cho, Seung-Suh Hong and Hyun-Soo Lee. SamYang Genex Research Institute, Yusung, Taejeon 305-348, Korea - In order to develop a lactic acid bacterial powder which can be used as a probiotic for human and animal, a lactic acid bacteria which has high resistance against low pH and ox-gall, and shows a good growth inhibition against *E. coli*, was isolated from an animal intestine and characterized. The isolated strain was identified as *Enterococcus faecium*. It had more than 90% of survival at low pH for 2 hours and almost 100% of survival in the presence of 0.3% ox-gall. When co-cultured with *E. coli* in MRS broth, all of the *E. coli* cells were killed within 24 hours. The final powdered product of the isolated strain was manufactured after a freeze drying process using an industrial media, and then checked its stability. Its storage stability was 80% for 11 months at 18°C.

유산균은 인류가 오래전 부터 이용한 유익한 미생물의 하나로서 자연계에 널리 분포하고 있으며 유가공, 야채가공, 육가공 및 곡류가공등에 많이 이용되고 있다(1, 2). 최근들어 유산균이 동물의 장에 정착하여 장내 정상세균총을 유지시키고 유해세균의 증식억제 및 설사예방과 독성물질의 흡수를 저해하는 효과가 있다(3, 4)고 밝혀짐에 따라 섭취 유산균의 장내정착에 의한 유산균 고유효과에 대한 기대 때문에 *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*과 같은 장내 유래 유산균을 이용한 제품개발이 활발하게 이루어지고 있다(5, 6). Shahani 등(3)은 섭취 유산균이 장내에 정착하여 유산균이 지니는 고유의 기능을 발휘하기 위해서는 위액 및 담즙산에 대한 내성이 있어야 하고 장내에서 활발한 증식이 이루어져야 하며 유해 세균에 대한 생육억제력이 강해야 한다고 하였는데 이를 위해서는 장내유래 유산균이 가장 적합하다고 생각된다.

Sneath 등(7)은 동물 장내 유래의 *Streptococcus*를 *Streptococcus* 속의 *Enterococcus*로 분류하였으나 Schleifer 등(8)은 이를 *Enterococcus* 속으로 독립하여 분류하였다. *Enterococcus*는 동물의 장내에 서식하는 세균의 일종으로 구형 또는 계란형이며 쌍이나 연쇄상을 형성하는 그람 양성균으로 탄수화물을 이용하여 주로 유산을 생산한다. 특히 *Enterococcus faecium*은 *Lactobacillus acidophilus*와 같이 장내 유래 세균이면서 유산과 bacteriocin을 생산하여 유해세균의 성장을 억제하고 장 점막 부착성이 좋은 것으로 알려져 있어 동물의 설사 예방제나 정장제 또는 가축 성장 촉진제로 사용되고 있다(9, 10).

현재 국내에서는 분말 생균제를 의약품, 동물약품 및 건강보조식품으로 사용하고 있으나 윤 등(11)의 *Lactobacillus casei*에 대한 동결건조 및 저장성에 대한 보고 등 *Lactobacillus*에 관한 연구외에 *Enterococcus*를 분말 생균제로 사용하기 위한 연구는 미흡한 실정이다. 또한 김(6)은 우리나라의 경우 의약품으로 생산 판매하는 극히 일부 회사를 제외하고는 거의 모든 제품이 외국으로 부터 원료를 수입하여 제제화한 후 판매하고 있어 생균제에 대한 산업기술발전 및 축적이 안되어 있다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 현재 외국에서 거의 전량 수입되어 의약품, 동물약품 및 건강보조식품등 분말제품에 이용되고 있는 여러 종류의 유산균 생균제중 *Enterococcus*를 국내 동물 유래의 유산균으로 대체 개발하고자 Shahani 등(3)이 제기한 특성 즉, 산성 pH 및 담즙산에 대한 내성이 강하고 대장균 생육억제력이 뛰어난 *Enterococcus*를 동물의 장에서 분리하고 이에 대한 특성을 조사하였다. 또한 분리된 균주를 분말제품에 이용하기 위하여 고농도의 생균이 함유된 분말 *Enterococcus*의 제조 및 보관 안정성에 대한 연구를 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주와 시약

본 실험에서는 대장균으로 *E. coli* W3110과 본 실험에서 분리, 동정한 *Enterococcus faecium* L20을 사용하였으며, 분리용 배지로는 KF Streptococcus agar(Difco Detroit USA)와 BCP 배지를 사용하였고 분리균의 배양배지로는 Lactobacilli MRS broth(Difco Detroit USA, 이하 "MRS")를 사용하였으며 *E. coli* 배양배지로는 LB broth(이하 "LB")를 사용하였다. 담즙산은 ox-

\*Corresponding author.

Key words: *Enterococcus faecium*, low pH and ox-gall resistance, *E. coli* inhibition, storage stability

gall powder(Sigma Louis USA)를 사용하였고 그외에는 1급이상의 시약을 사용하였다.

### 균주 분리와 동정

도살직후의 돼지의 대장을 구입하여 소독한 가위로 자른 다음 멸균 생리식염수를 첨가하여 믹서기에서 잘게 갈은 현탁액을 균주 분리원으로 사용하였다. 이 액을 멸균 생리식염수로 희석한 후 유산균 배양배지인 MRS 평판배지에 도말하여 37°C 이산화탄소 배양기에서 24~48시간 배양하여 자란 단일균주를 KF Streptococcus agar 배지로 옮겨 다시 배양하였다. 여기에서 자란 균주를 다시 BCP 평판배지에 옮겨 BCP 평판배지의 색을 노란색으로 변화시키는 균주만 선별한 다음, 선별된 균주의 형태적 특성 및 그람염색, catalase 존재 및 유산 생성 여부를 측정하여 *Enterococcus*로 분류하였다. 분류된 균주의 산성 pH(pH=3.0)에 대한 내성을 측정하여 다시 선별한 다음 선별된 균주에 대하여 담즙산에 대한 내성과 대장균 생육억제에 대하여 조사한 후 Bergey's manual(7)에 의거 동정하였다.

### 균수 측정

*Enterococcus* 균수의 측정은 측정하고자 하는 시료를 0.89% 멸균 생리식염수로 10배 또는 100배 연속희석법으로 희석한 후 MRS 평판배지에 도말하여 37°C 이산화탄소 배양기에서 24~48시간 배양하였다. 배양후 평판배지에 나타난 균락수를 계수한 후 희석배수를 곱하여 균수를 산출하였으며 경우에 따라서는 MRS 배지에 Bromocresol purple을 0.004% 첨가한 평판배지를 사용하였다. 대장균수의 측정은 *Enterococcus* 균수측정 방법과 동일하게 희석한 다음 LB 평판배지에 도말한 후 37°C 배양기에서 12~24시간 배양하였다. 배양후 나타난 균락수를 계수한 후 희석배수를 곱하여 대장균수를 측정하였다.

### 내산성 시험

분리된 균주의 산성 pH에 대한 내성시험은 단순 산성 pH에 대한 내성을 측정하기 위하여 pH 3.0인 1/15M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-HCl}$  완충용액과 생체내 소화관 조건과 유사한 환경에서 측정하기 위하여 小林방법(12)인 펩신을 함유한 pH 3.0인 인공위액에서 다음과 같이 실시하였다. 분리된 균주를 MRS 배지에서 12~24시간 동안 배양한 후 위 두 용액에 100배 희석하여 접종한 후 37°C에 보관하면서 30~60분 간격으로 분리 균주 수를 측정하여 분리균주의 산성 pH에 대한 내성을 측정하였다.

### 담즙산 내성 시험

분리된 균주를 MRS 배지에서 12~24시간 배양한 다음 멸균 생리식염수로 희석하였다. 희석액을 담즙산이 0%~0.3% 함유된 MRS 평판배지에 도말하여 37°C  $\text{CO}_2$

배양기에서 48시간 배양한 후 나타난 균락수를 계수하여 담즙산 농도에 따른 내성정도를 측정하였다.

### 대장균 생육억제 시험

분리균주는 MRS 배지에서 대장균은 LB 배지에서 12~24시간 배양한 후 하나의 MRS 배지에는 대장균을 약  $5.0 \times 10^6$  /ml이 되도록 접종하고 다른 하나의 MRS 배지에는 분리균주와 대장균이 각각 약  $5.0 \times 10^6$  /ml의 수가 되도록 혼합 접종하였다. 접종된 배지를 37°C 배양기에서 정지 배양하면서 3시간 또는 6시간 간격으로 배양액을 채취하여 멸균 생리식염수로 희석한 후 LB 평판배지에 도말하여 37°C 배양기에서 배양하였다. 배양 후 LB 평판배지에 나타난 균락으로부터 대장균 수를 측정하였으며 MRS 배지에 단독으로 접종하여 배양한 대장균 수를 기준으로 하여 혼합배양시 분리균에 의한 대장균의 생육억제 정도를 측정하였다.

### 분말화 시험

분리 동정한 균주를 30L 발효조에서 배양 최적배지에서 배양한 후 원심분리기(Kontron H-401B)로 세포를 회수하였다. 회수된 세포는 동결보호제와 혼합한 후 동결시킨 다음 동결건조기(Labconco Lyph. Lock 18)에서 건조하였다. 건조된 균체를 파쇄기를 이용하여 분말화 하여 고농도의 생균이 함유된 분말 균체를 얻었다.

### 분말균체의 저장 안정성 시험

분말화된 균체를 유리 vial에 적량 넣은 다음 밀봉하여 18°C에서 보관하면서 1~2개월 또는 5개월 간격으로 균수 측정방법에 따라 분말 생균수를 측정하였고, 증량제와 혼합한 경우의 저장 안정성은 분말균체의 생균수가 약  $1.2 \sim 1.5 \times 10^{11}$  /g이 되도록 건조말분 및 무수결정포도당과 혼합한 후 균수측정방법으로 분말균체의 생균수를 측정하였다. 저장 안정성의 비교는 첫 보관 시료의 생균수를 기준으로 하였다.

## 결 과

### 균주 분리

돼지 대장 현탁액을 분리원으로 하여 160여개의 단일 colony를 얻었으며 얻어진 colony의 형태, catalase 음성, gram 양성, 유산생성등을 기준으로 하여 유산균으로 추정되는 60여주를 선별하였다. 선별된 균주중 산성 pH (pH=3.0)에 대한 내성이 강한 6주를 분리하였으며 그중에서 담즙산과 대장균 생육억제력이 뛰어난 균주를 최종적으로 1주를 분리하였는데 분리된 균주를 L20으로 명명하였다.

### 균주 동정

최종적으로 선발된 균주는 구형 또는 계란형으로 단일 또는 쌍을 이루고 있는 그람양성균이었고 유산을 생성하였다(Table 1, Fig. 1). 또한 분리된 균은 melibiose를 이용하여 산을 생성하였으나 melezitose와 sorbitol은 이용하지 못한 것으로 부터 *Enterococcus faecalis*와 구별되었다. 분리균에 대한 생리학적 특성을 Bergey's manual과 비교한 결과 *Enterococcus faecium*으로 동정되었고 이를 *Enterococcus faecium* L20으로 명명하였다.

내산성 시험

Table 1. Physiological characteristics of isolated *Enterococcus sp.* L20

Characteristics	
Morphology	cocci
Gram staining	+
Catalase	-
Gas formation	-
Lactate	+
Ammonia from arginine	+
Growth at	
Temp. 45°C	+
15°C	+
10°C	+
pH 9.6	+
40% Bile	+
6.5% NaCl	+
Acid from	
Amygdalin	+
L-Arabinose	+
Cellobiose	+
Esculin	+
Fructose	+
Galactose	+
Gluconate	-
Lactose	+
Maltose	+
Mannitol	+
Mannose	+
Melezitose	-
Melibiose	+
Raffinose	±
Rhamnose	±
Ribose	+
Salicin	+
Sorbitol	-
Sucrose	+
Xylose	+
Myo-inositol	-
Sorbose	-
Xylitol	-

분리된 균주에 대하여 위액에 대한 내성을 알아보기 위하여 간접적인 방법으로 1/15M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-HCl 완충용액과 小林방법(12)에 의해 pepsin이 함유된 인공위액을 제조하여 산성 pH에 대한 내산성 시험을 실시하였다. 그 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 pH 3.0인 인공위액에서 2시간동안 거의 사멸되지 않고 90~100% 살아 있는 것을 확인할 수 있었다.

내 담즙산 시험

MRS 배지에서 12~14시간 배양된 분리 균주를 담즙산이 0~0.30% 함유된 MRS 평판배지에 도말하여 나타난 균수를 측정된 결과 Fig. 3에서와 같이 담즙산이 0.3%까지 함유된 배지에서 사멸하지 않고 살아 있는 것을 확인할 수 있었다.

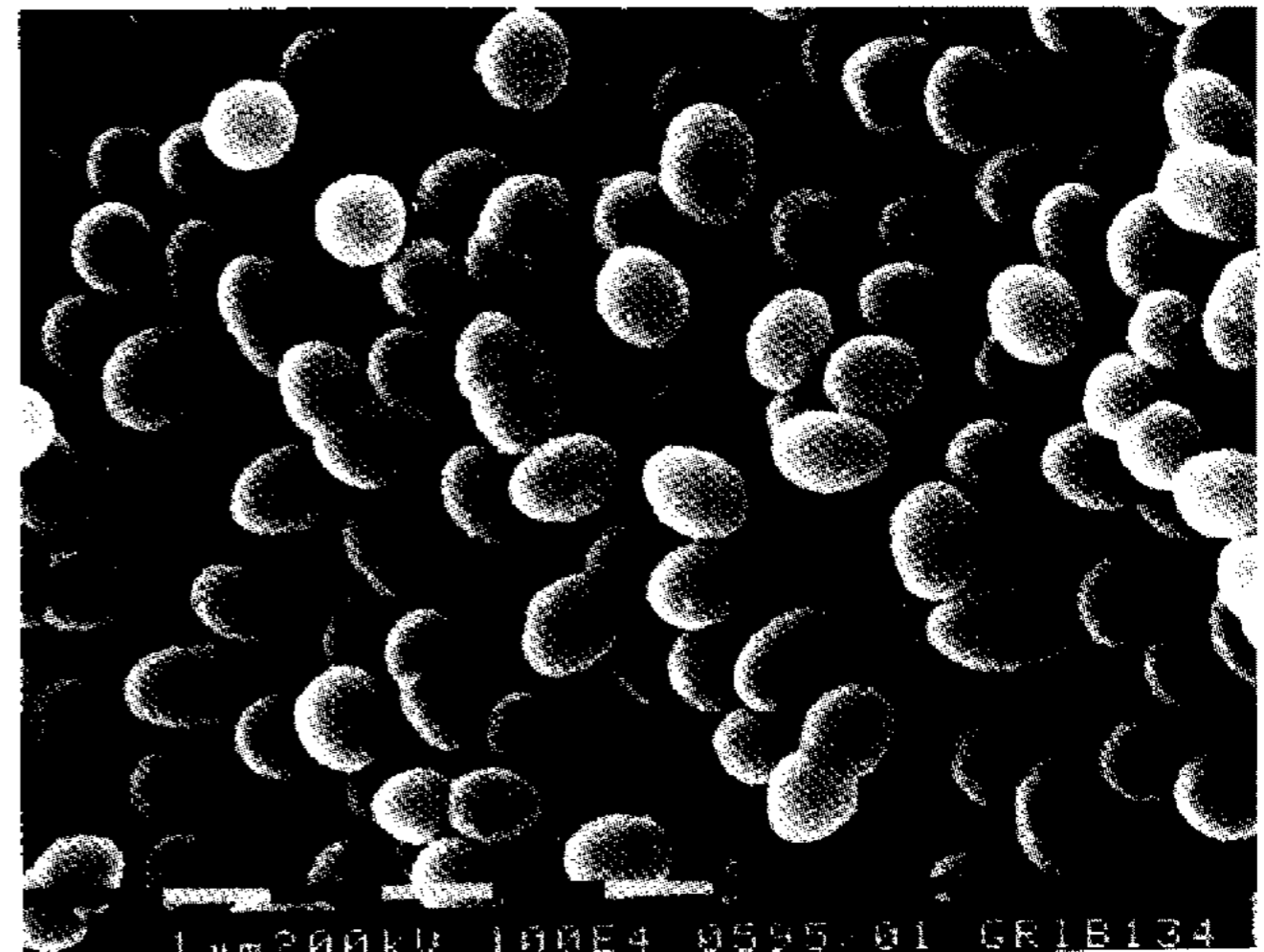


Fig. 1. Scanning electron microscopic photograph of the isolated *Enterococcus sp.* L20 (×10,000).

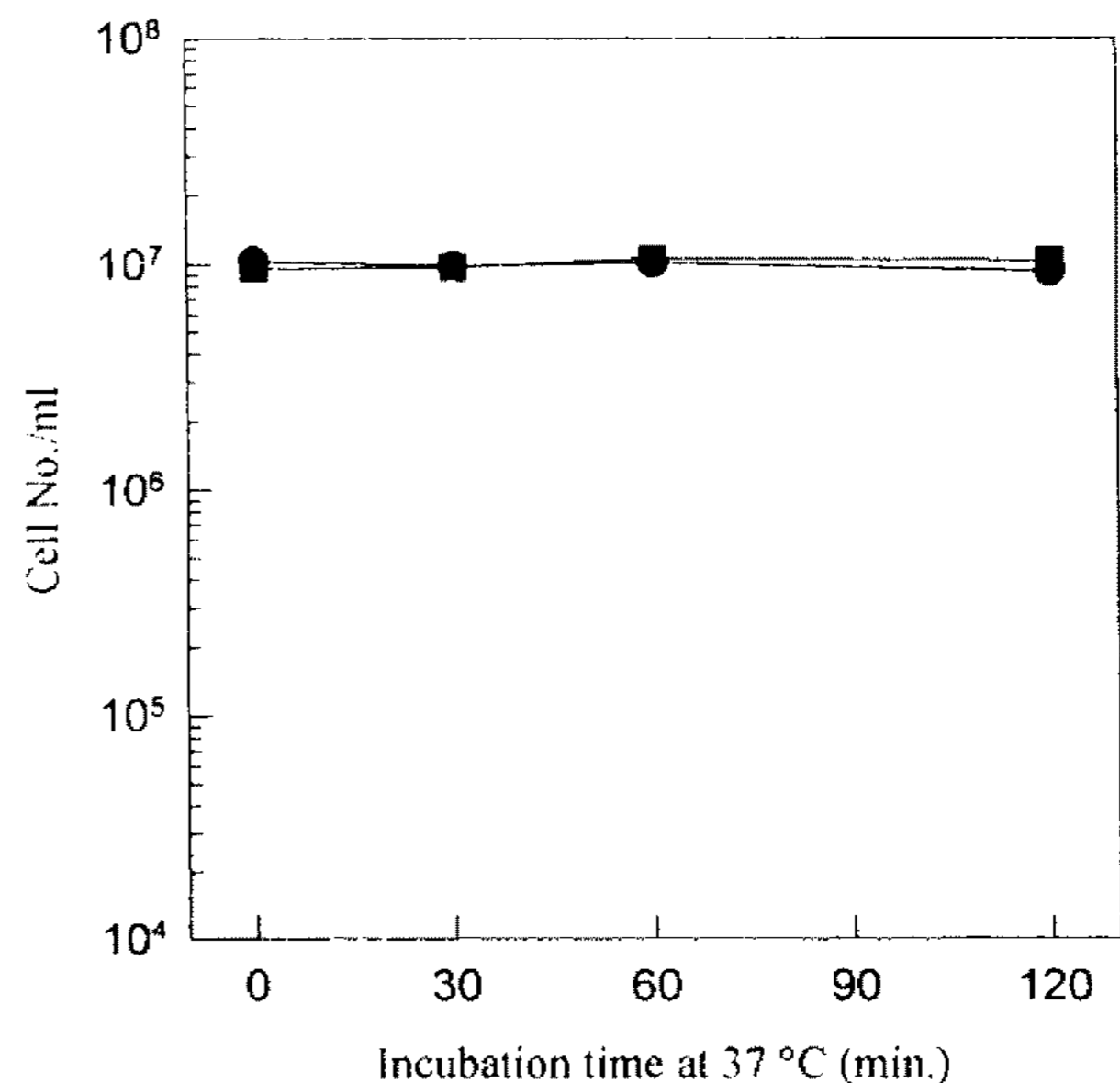


Fig. 2. Survival of isolated *Enterococcus faecium* L20 in artificial gastric juice of pH 3.0.

●: Kobayashi's method, ■: 1/15M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-HCl

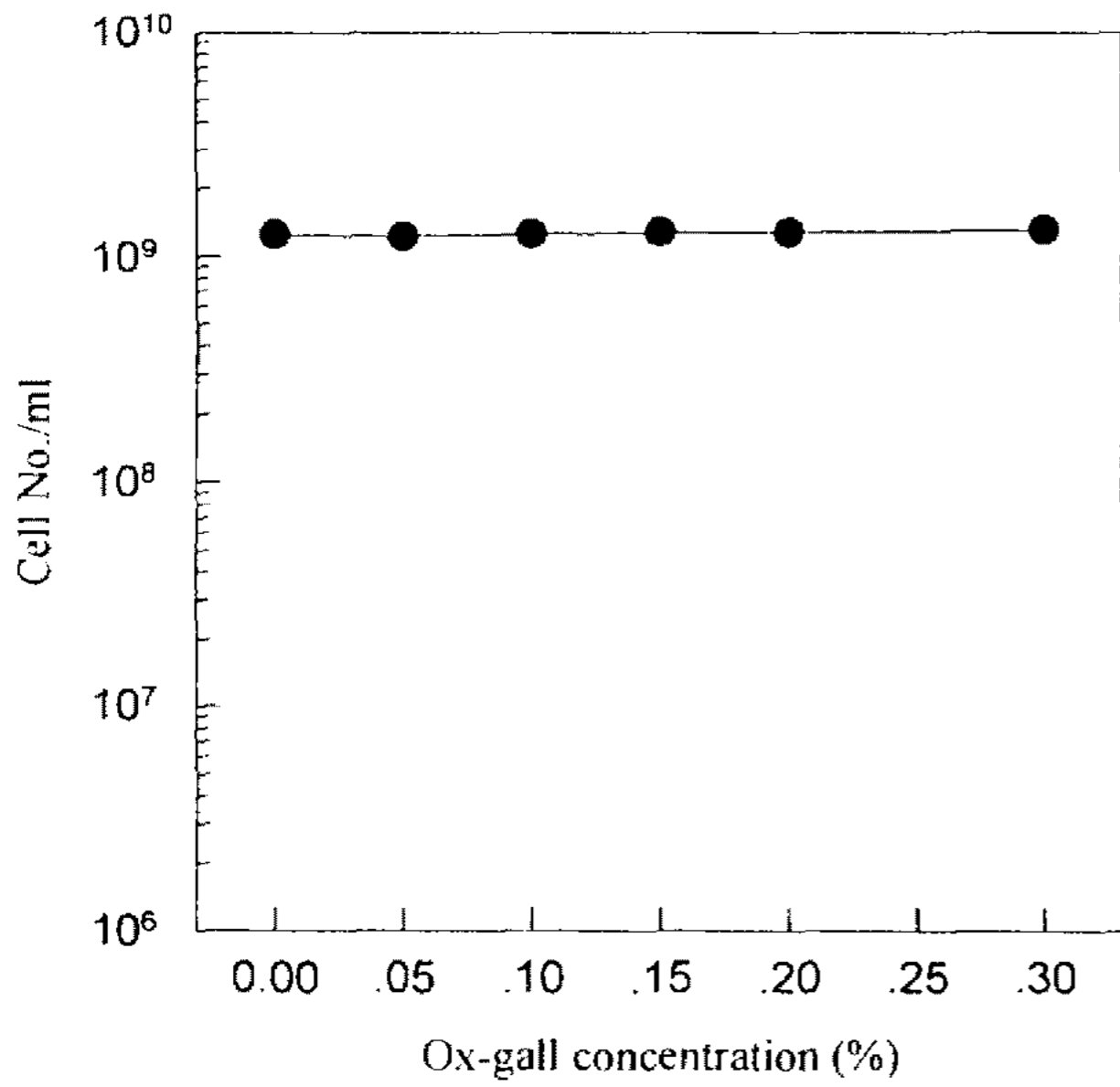


Fig. 3. Resistance of *Enterococcus faecium* L20 against ox-gall.

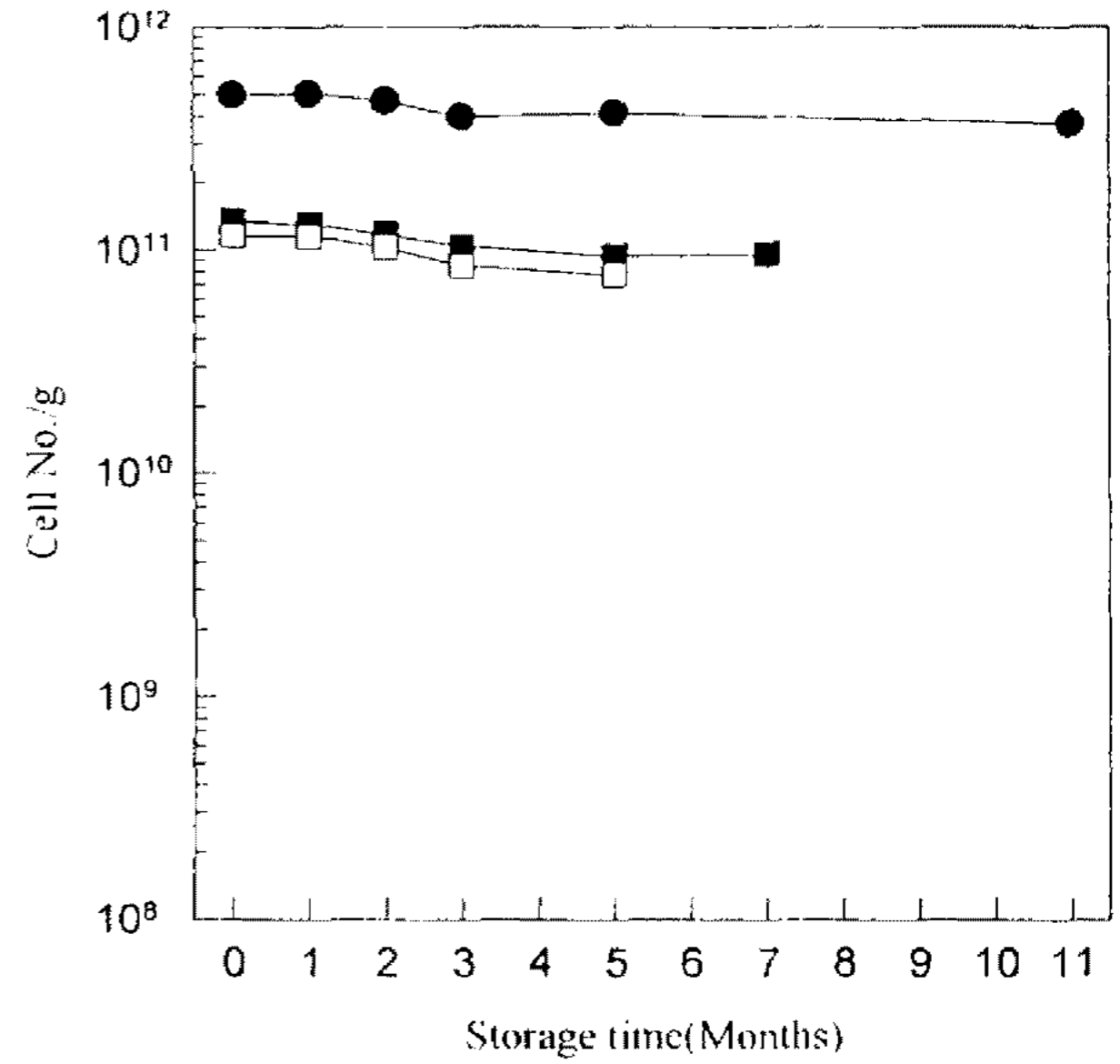


Fig. 5. The storage stability of *Enterococcus faecium* L20 powder at 18°C.

●: *Ent. faecium* L20 powder, ■: Mixed with barley curl, □: Mixed with glucose

동결건조시켜 분말화한 결과 1g당  $5.0 \times 10^{11}$  CFU의 균체를 얻을 수 있었다. 분말 균체는 보관 안정성이 좋아야 하기 때문에 안정성을 측정하고자, 얻어진 균체를 유리 vial에 넣어 밀봉한 다음 18°C에 보관하면서 생균수를 측정된 결과 Fig. 5에서와 같이 1개월 경과후 100%, 2개월 경과후 95% 이상 살아있었으며 11개월 까지 약 80% 살아있었고, 밀기울과 혼합하여 보관할 경우에는 7개월동안 90% 이상 그리고 포도당과 혼합하여 보관할 경우에는 5개월 동안 약 80% 살아있었다.

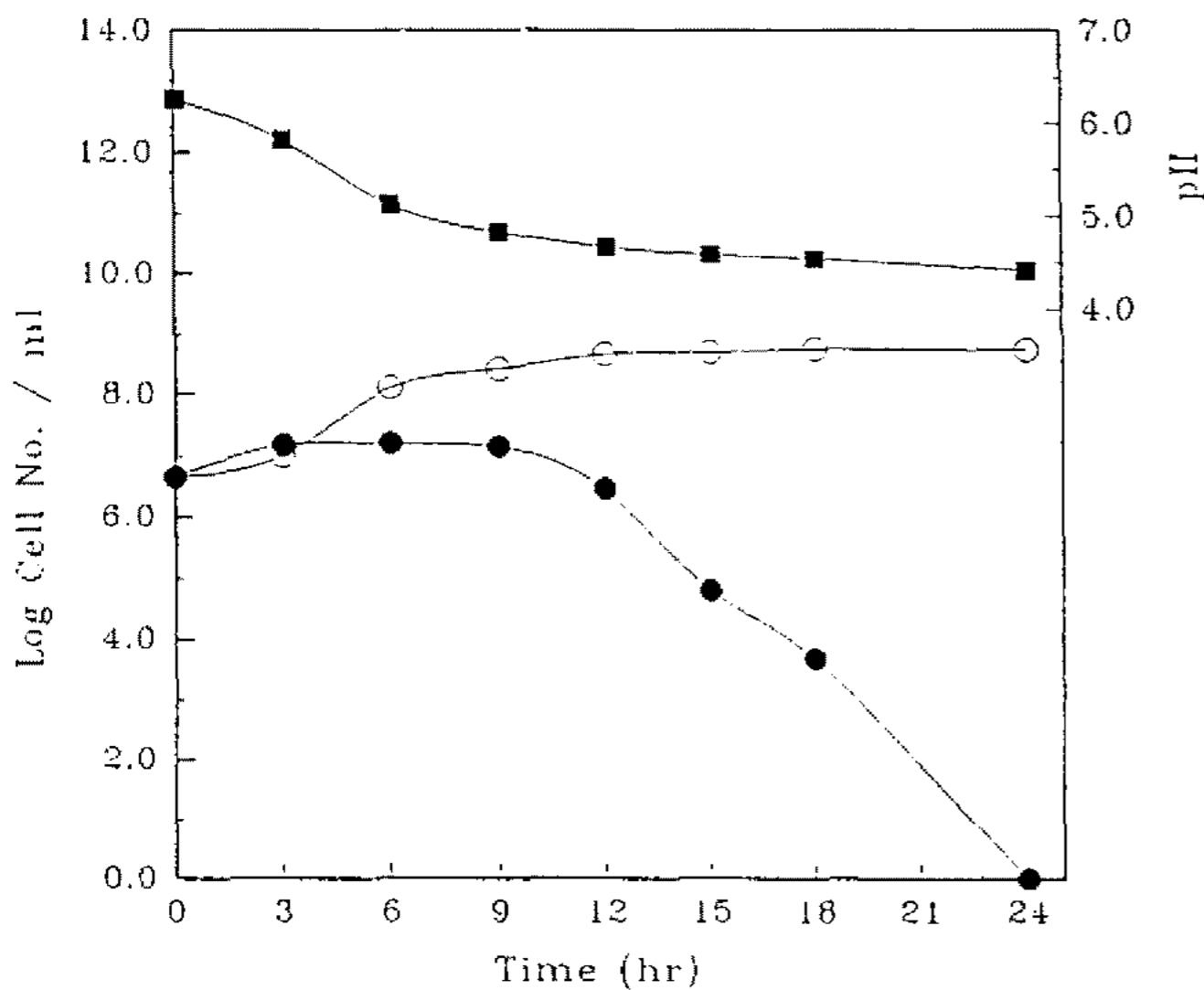


Fig. 4. Growth inhibition of *E. coli* by *Enterococcus faecium* L20 in MRS broth.

○: only *E. coli*, ●: *E. coli* by isolated *Enterococcus faecium* L20, ■: pH of co-culture broth

### 대장균 생육억제 시험

분리된 유산균들의 대장균에 대한 성장 저해능 및 살균력을 측정하기 위하여 MRS 배지에서 대장균 단독 및 유산균과 혼합배양한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 대장균 단독배양의 경우에는 정상적인 성장을 하였으나 혼합배양의 경우 접종후 6~9시간까지는 정상적으로 성장이 진행되다가 9시간 이후부터 균수가 감소하기 시작하여 12시간 이후부터는 급격히 감소하였으며 24시간 이후에는 대장균이 전혀 나타나지 않았다.

### 분말화 및 저장 안정성

분리된 균주를 최적배지에서 배양한 후 회수하여

### 고찰

의약품 및 동물약품에 사용되고 있는 유산균 생균 정장제를 개발하기 위하여 동물의 장을 분리원으로 하며 동물 장(腸) 유래의 *Enterococcus*를 분리동정하였다. 유산균이 생균 정장제로써 그 기능을 발휘하기 위해서는 섭취후 위(胃)와 십이지장을 통하여 장에 정상적으로 도달하여 장점막에 정착한 후 왕성한 번식을 하여야 한다. 이러한 목적을 달성하기 위해서는 사용하고자 하는 유산균을 장에서 직접 분리하는 것이 가장 좋을 것으로 생각되어 본 연구에서는 동물의 분변보다도 장을 직접 사용하였다. 분리된 160여개의 단일 colony중 시험관내 실험에서 산성 pH 및 담즙산에 내성이 강하고 대장균 생육억제력이 강한 균주를 분리하였는데 이를 Bergey's manual과 비교한 결과 *Enterococcus faecium*으로 동정되었고 *Enterococcus faecium* L20으로 명명하였다.

분리된 두 균주는 小林방법(12)에 의한 pH 3.0의 인공위액과 buffer 용액에서 120분 동안 정지하였을 때

공히 90% 이상 생존하였는데 이는 산성에 대한 내성이 있어 위에서도 생존하여 장으로 이동할 수 있다는 것을 암시하고 있다. 음식물을 섭취하였을 때 음식물에 의한 완충효과로 위의 pH가 높아진다는 것을 고려한다면 음식물과 동시에 섭취시에 생존율은 더욱 높아질 것으로 사려된다.

담즙산은 십이지장에서 분비되는 물질로서 세균의 성장을 억제하는 기능을 지니고 있으며 특히 장내 유래 세균이 아닌 경우에는 담즙산이 함유된 배지에서는 자랄 수 없다고 알려져 있다(13). 본 실험에서는 분리동정된 균주를 담즙산이 0~0.3% 함유된 MRS 배지에 도말하여 배양하였을 때 담즙산 함량과 관계없이 모두 성장하였으나 담즙산 함량이 높은 배지에서는 colony 형태가 pinpoint형 인 것으로 보아 이는 분리된 균주가 담즙산에 의해 사멸되지는 않고 성장이 저해되는 것으로 추측되어 진다.

유산균이 지니는 기능중의 하나가 유해세균의 성장 억제이다. 유산균에 의한 유해 세균의 억제는 유산균이 생산하는 bacteriocin에 의해서 이루어지는 것으로 알려져 있다. 본 실험을 통하여 분리된 균주를 대장균과 혼합배양 하였을 때 접종후 6~9시간까지 성장이 저해되다가 12시간 이후부터 대장균수가 급속히 감소하기 시작하여 24시간에는 대장균이 전혀 나타나지 않았다. 이와 같은 대장균의 성장억제가 배양과정에서 유산균이 생성한 유산에 의해 낮아진 pH의 영향인지를 파악하기 위하여 pH 별로 대장균 성장억제 실험을 실시해 본 결과 산성 pH에서는 성장은 억제되었으나 사멸은 되지 않았음을 알 수 있었다(자료생략). 이와같은 사실로 부터 분리 유산균에 의한 대장균의 생육억제는 산성 pH에 의해 성장이 저해되고 미지의 bacteriocin에 의한 사멸 작용으로 대장균의 생육이 억제되는 것으로 생각되어 진다. 조 등(14)은 *L. acidophilus*, *L. casei* 및 *L. bulgaricus*를 이용하여 *E. coli*와 *Salmonella typhimurium*과 *S. choleraesuis*의 증식에 미치는 영향을 조사하였는데 *L. bulgaricus*에 의해서는 33~40시간까지 배양하였을 때 *E. coli*와 *Salmonella*의 증식을 모두 억제하였으나 *L. acidophilus*와 *L. casei*의 경우에는  $10^7$ 의 균수에 대하여 40시간까지  $10^5 \sim 10^3$ 까지 저해하여 *L. bulgaricus*에 비해 저해능이 저조하다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서 사용한 균주는 *E. coli*에 대해 24시간 이후에는 대장균이 나타나지 않는 결과를 보여 조 등(14)의 결과보다 빠른 시간에 대장균의 생육을 억제하는 것으로 나타났으며 *E. coli* Serotypes O138 : K81(B)H14(*E. coli* ATCC23545)를 사용하였을 경우에도 본 실험에서 사용한 대장균의 생육억제와 같은 결과를 나타내었다(자료생략). 이와같은 유산균에 의한 유해세균의 생육억제 차이는 사용한 유산균의 특성, 혼합배양시 사용한 배지의 종류 및 유해세균의 균주에 따라 달라질 것으로 생각된다. 또한 본 실험을 통하여 동물의 장에서 분리한

미동정 *Enterococcus*를 혼합배양하였을 경우 대장균의 성장저해가 각기 달리 나타난 것으로 부터 동일 속이라도 유해세균 억제능은 각기 다르다는 것을 추측할 수 있었다(자료생략).

분리한 균주를 분말화하기 위하여 최적배지에서 배양한 후 회수하여 동결건조기에서 건조시킨 다음 분말화시킨 결과 생균수는 분말 1g당  $5.0 \times 10^{11}$ 이었다. 이 결과는 현재 동물약품으로 수입되어 사용하고 있는 균수인 1g당  $1.5 \times 10^{11}$ 보다 더 높아 증량제와 혼합하여 수입품과 같은 규격으로 제조가 가능하다는 것을 시사하고 있다. 분말균체를 유리 vial에 넣어 밀봉한 후 18°C에서 보관하면서 안정성을 측정한 결과 1개월후에 100%, 2개월후에 95%의 생존율을 나타내었고 11개월 보관하여도 80%의 안정성을 나타내었다. 이러한 결과는 곽 등(15)이 보고한 *Clostridium*의 경우와 김(6)이 보고한 *L. acidophilus*와 *Bifidobacterium longum*의 결과보다 더 좋았는데 이는 균종, 배양방법, 동결건조 보호제 및 보관방법등에 의한 차이로 생각되어 진다. 또한 현재의 안정성을 더 높이기 위해서는 동결과정중에 발생하는 세포손상방지를 위한 동결보존제에 대한 연구와 배양 방법등을 고려해야 할 것으로 사려된다.

분리된 *Enterococcus faecium* L20 이용하여 산업적 규모로 scale-up 하였을 때 배양후 분말화까지의 회수율과 열에 대한 내성은 *Lactobacillus acidophilus*나 *Bifidobacterium longum*보다 더 좋았다(자료생략). 이러한 결과로부터 본 연구에서 분리, 동정된 *Enterococcus faecium* L20은 분말화후 산업적 응용시 더욱 용이하게 이용될 것으로 생각된다.

본 연구에서는 유산균 생균 정장제를 개발하고자 산성 pH와 담즙산에 대한 내성 및 유해세균 생육억제력이 뛰어난 *Enterococcus faecium* L20을 분리 동정하였으며 이를 이용하여 고농도의 생균이 함유된 생균 분말을 얻을 수 있었다. 이러한 결과로 부터 현재 수입되어 사용하고 있는 유산균 생균제와 대응할 만한 제품을 제조할 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

의약품 및 동물약품으로 사용되고 있는 분말유산균을 개발하고자 동물의 장에서 산성 pH 및 담즙산에 대한 내성이 강하고 대장균 생육억제력이 좋은 *Enterococcus faecium* L20을 분리 동정하고 이를 이용하여 고농도의 생균이 함유된 분말 유산균을 제조하였다. 분리된 균주는 pH 3.0에서 90% 이상의 내성과 0.3% 담즙산이 함유된 배지에서 100%의 내성을 나타냈으며 MRS 배지에서 대장균과 혼합배양시 24시간 이내에 대장균을 사멸시켰다. 분리된 균주를 산업용배지에서 배양한 후 동결건조시켜 분말을 만들었을 때 생균수는  $5.0 \times 10^{11}$ /g 이상이였다. 이것을 18°C에 보관하였을 경우 11개월

동안 80%의 생존율을 나타내었다.

### 참고문헌

- Rose, A.H. 1981. The microbiological production of food and drink. *Scientific Amer.* **245**: 95-104.
- 백영진. 1992. 유산균의 산업적 이용. *생물화공* **6**: 21-31.
- Shahani, K.M., and A.D. Ayebo. 1980. Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. *Am. J. Clin. Nutr.* **33**: 2448-2457.
- Speck, M.L. 1975. Our industry today. *J. Dairy Sci.* **59**: 338-343.
- Kim, H.S. 1988. Characterization of Lactobacilli and Bifidobacteria as applied to dietary adjuncts. *Cul. Dairy Prod. J.* Aug. 6-9.
- 김태한. 1994. 유산균을 이용한 의약품 개발. *생물산업* **7**: 28-35.
- Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. 1986. *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. William and Wilkins, Vol. 2, 1063-1065.
- Schleifer, K.H., and R. Kilpper-Bälz. 1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *Int. J. Syat. Bacteriol.* **34**: 31-34.
- N.R. Underdahl, A. Torres-Medina and A.R. Doster. 1982. Effect of *Streptococcus faecium* C-68 in control of *Escherichia coli*-induced diarrhea in gnotobiotic pigs. *Am. J. Vet. Res.* **43**: 2227-2232.
- 김경수, 지규만, 이상진, 조성진, 김삼수, 이웅. 1991. *Streptococcus faecium*의 급여가 육계의 성장과 장내 세균총 변화에 미치는 영향. *한국가금학회지* **18**: 97-119.
- 윤성식, 이해옥, 유주현. 1986. 아미노산 혼합용액이 *Lactobacillus casei* YIT9018의 동결건조 및 저장성에 미치는 영향. *한국산업미생물학회지* **14**: 421-426.
- 小林 洋一, 遠山 清, 寺島 經男. 1974. 乳酸桿菌の生物學的特性について. *日本細菌學會誌* **29**: 691-697.
- Gilliland, S.E. and M.L. Speck. 1977. Enumeration and identity of Lactobacilli in dietary products. *J. Food Prot.* **40**: 760-762.
- 조성근, 강호조, 김용환. 1984. *Lactobacillus* 균속이 설사 자돈에서 유래한 병원성 장내세균의 증식에 미치는 영향. *경상대학교부설 축산진흥연구소보* **11**: 73-81.
- 곽종휘, 이정치, 김태한, 정필근, 이금기. 1989. 장내 항세균성 낙산균의 분리 및 특성. *한국산업미생물학회지* **17**: 56-62.

(Received 15 February 1996)