

## 양식업에서 바실러스 폴리퍼멘티쿠스 콩발효물의 상업적 응용

이진영 · 김강민 · 강재선\*

인제대학교 제약공학과

Industrial Application for Aquaculture of Fermented Soybean with *Bacillus polyfermenticus* SCD. Jin Young Lee, Kang Min Kim and Jae Seon Kang\*. Department of Pharmaceutical Engineering, College of Engineering, Inje University, Obang-Dong, Gimhae, Gyeongnam, 621-749, Korea

**Abstract** *Bacillus polyfermenticus* SCD (*B. polyfermenticus* SCD) has been appropriately used for the therapy of long-term intestinal disorders, because live strains in the form of active endospores can successfully reach the target intestine in humans. *B. polyfermenticus* SCD produces the most antibiotic-related materials. In the present study, *B. polyfermenticus* SCD was fermented with soybeans (BPFS) and its probiotic properties were investigated. *B. polyfermenticus* SCD and BPFS showed a broad spectrum of antimicrobial activity against pathogenic Gram-positive (*Streptococcus parauberis*, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garviae*) and Gram-negative (*Flexibacter tractuosus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio ordalii*) bacteria and moulds (*Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*). *Sebastes schlegeli* were used to examine survival rate and cleanup action by BPFS. Bacterial infection resulted in a mortality of up to 99% in the commercial fodder fed groups. BPFS both enhanced the growth rate of fry by improving their appetite and had cleaned by decreased eutrophication. Therefore, it seems appropriate that BPFS should be developed as an antibiotic replacement, favorable fodder additive, and antifungal material in fish farming systems.

**Key words** : *Bacillus polyfermenticus*, fry, mortality, cleanup action, attractive effect

## 서 론

현재까지 어류용 사료 첨가제로는 정화의 목적으로 미생물을 사용한 예는 있으나 미생물 발효물을 이용하여 폐사율 개선과 유인작용 및 사료효율을 개선하기 위해 물고기에 사용된 예는 없다. 또한 기존의 병원성 균에 대한 항균제의 사용은 유해균의 내성 증가와 항균제의 남용, 잔류성으로 인해 인체에 유해를 일으키는 등 사용상 제약이 많았으며 각종 규제 강화와 내성균의 증가로 효과를 기대하기가 어려워지고 있다.

*Bacillus*속 생균제들은 활성 아포를 형성하여 대부분의 생균이 장에 도달되어 장 질환에 대한 치료효과를 보인다고 보고되고 있다 [1,2]. 특히 *Bacillus*

*polyfermenticus* SCD (*B. polyfermenticus* SCD)는 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>, K를 합성하여 영양을 공급하고, 여러 가지 효소를 분비하여 3대 영양소 및 섬유소를 소화, 흡수시켜 영양 효율을 증대시킬 뿐만 아니라, 병원성 균들의 증식을 억제하는 기능을 가지고 있다 [3,4]. 또한 다른 *Bacillus*속 생균제들보다 환경적응력이 뛰어나 설사 유발 대장균 및 *salmonella*에 대한 생육 억제력도 우수하다 [5,6]. 최근들어 이에 대한 산업적인 유용성이 증대되고 있으며, 특히 *B. polyfermenticus* SCD는 식품용 생균제로서도 주목받고 있다.

한편, *B. polyfermenticus* SCD를 37°C 액체 발효한 것을 멸균한 콩을 고형배지로 사용하여 40°C에서 배양하여 항균성 물질 및 균주의 1차 2차 대사산물을

\* Corresponding author

Phone: +82-55-320-3918, Fax: +82-55-327-4955

E-mail: jskang@inje.ac.kr

생성토록 발효를 하고 그 생산물을 동결건조한 것을 사료 첨가제로 사용한다면 균 자체보다 단위 그램당 유익한 물질을 더욱 많이 생산할 것이다. 이 경우에 대사산물 중에 고농도로 발효에 의하여 만들어지는 생리 활성물질이 함유된 발효제품이 사료 첨가제로 사용되어지는 효과를 가져올 수 있을 것이다. 뿐만 아니라 유인제 (Attractive action)의 효과를 보여 사료 효율을 향상시키는 작용을 할 것이다.

본 연구의 목적은 *B. polyfermenticus* SCD를 이용하여 콩을 배지로 발효를 하고 그 발효물질을 동결건조하여 어류용 사료첨가제로 사용함으로써 유인 효과로 사료효율을 증대시키며 오염된 물에 대한 정화작용을 가지고 또한 폐사율을 낮춤으로 어민의 소득개선과 환경오염을 줄이는 것을 목적으로 상업화 하기 위한 것이다.

## 재료 및 방법

### 사용균주

본 연구에 사용한 *B. polyfermenticus* SCD는 3-4회에 걸친 계대배양으로 활성화 하였으며 glycerol stock법으로 사용시까지 -70℃에서 보존하였고, TSB (Difco Laboratory, Detroit, USA)를 배양배지로 사용하였다. 항균활성의 측정 및 challenge test를 위해 사용된 균주는 *Flexibacter tractuosus* ATCC 23168, *Vibrio harveyi* KCCM 40866, *Vibrio vulnificus* ATCC 27562, *Vibrio ordalii* KCCM 41669, *Streptococcus parauberis* DSM 6631, *Streptococcus iniae* ATCC 29178, *Lactococcus garviae* KCCM 40698, *Aspergillus niger* ATCC9642, and *Aspergillus oryzae* ATCC 14156 이다. 모든 균주는 ATCC (American Type Culture Collection)와 KCCM (the Korea Culture Center of Microorganisms)으로부터 분양받아 사용하였다.

### *B. polyfermenticus* SCD의 배양조건

고체배지로부터 colony를 3 ml의 TSB (15 ml tube) 배지에 접종하여 37℃에서 교반속도 200 rpm으로 12시간 전배양한 뒤, 이를 100 ml의 배지 (250 ml 플라스크)에 2차 접종하여 흡광도 (600 nm) 1.5가 될 때까지 배양하였다. 어류 실험에 사용하기 위해서는 이를 7일간 배양하여 내세포자를 완전히 생성시켜 실험에 사용하였다 [7].

### *B. polyfermenticus*의 콩 발효물 제조

*B. polyfermenticus* SCD를 TSB 배지에 접종하여 37℃에서 12시간 교반배양하여 접종원으로 하였다. 접종원 3 ml을 TSB 100 ml에 접종하여 12시간 액상 배양 (이하 이를 2차 배양이라 함)한 것을 300 g 멸균 콩 (증류수 700 ml의 수분을 미리 흡수시켜 121℃에서 20분간 2회 멸균한 것)과 함께 40℃에서 72시간 동안 배양한 후 4℃에서 충분히 식혀 동결건조한 뒤 일정한 크기로 분쇄하여 *B. polyfermenticus* SCD 콩 발효물 (이하 BPFs라 함)을 얻었다.

### *B. polyfermenticus* SCD와 BPFs의 항균활성 측정

#### top agar method

*B. polyfermenticus* SCD를 TSB에서 37℃, 16h 배양한 후 최종 10<sup>8</sup> cfu/ml로 희석하여 tryptic soy agar (TSA, containing 1.5% agar with 2.5% NaCl) 배지에 백금으로 1회 도말 후 37℃에서 16시간 동안 배양한 다음 10<sup>8</sup>의 병원성 세균 (*Flexibacter tractuosus* ATCC 23168, *Vibrio harveyi* KCCM 40866, *Vibrio vulnificus* ATCC 27562, *Vibrio ordalii* KCCM 41669, *Streptococcus parauberis* DSM 6631, *Streptococcus iniae* ATCC 29178, *Lactococcus garviae* KCCM 40698, *Aspergillus niger* ATCC 9642, and *Aspergillus oryzae* ATCC 14156)이 들어 있는 soft TSA (0.75% agar, 2.5% NaCl) 10 ml을 각각 중층하여 굳힌 후 37℃에서 배양하여 세균의 성장 억제력을 확인하였다. 항균활성의 정도는 고체배지상의 투명지역의 형성으로 판단하였고 2 번의 반복실험으로 확인하였다 [8,9]

#### Spot on lawn method

*B. polyfermenticus* SCD를 TSB에서 37℃, 16h 배양한 후 최종 10<sup>8</sup> cfu/ml로 희석하여 TSA 배지에 500ul overlay 하여 완전히 말린다. 그 위에 50% acetone에 녹인 BPFs를 농도별로 loading한 후 각 병원성 세균 (*Flexibacter tractuosus* ATCC 23168, *Vibrio harveyi* KCCM 40866, *Vibrio vulnificus* ATCC 27562, *Vibrio ordalii* KCCM 41669, *Streptococcus parauberis* DSM 6631, *Streptococcus iniae* ATCC 29178, *Lactococcus garviae* KCCM 40698, *Aspergillus niger* ATCC 9642, and *Aspergillus oryzae* ATCC 14156)의 배양 온도에서 배양 후 세균의 성장억제를 확인하였다. 항균활성의 정도는 고체배지상의 투명지역의 형성으로 판

단하였고 2번의 반복실험으로 확인하였다 [10,11].

### 조피볼락에서 BPFs의 생명연장 효과

1 g의 조피볼락 (*Sebastes schlegeli*) 각 200 마리를 해양성 병원균인 *Vibrio vulnificus*와 *Streptococcus parauberis*를 각각  $10^3$  cfu/ml의 농도로 하여 침지법으로 감염시킨 다음 일반사료만 먹인 군을 대조군으로 하고 일반사료와 BPFs를 사료 1kg당 30그램을 넣어 함께 먹인 군을 실험군으로 하여 시간에 따른 폐사율을 관찰하였다. 실험군은 다음과 같이 4개의 군으로 나누었다.;  $10^3$  cfu/ml의 *Vibrio vulnificus*를 감염시키고 일반사료만 투여한 군 (V3CON),  $10^3$  cfu/ml의 *Vibrio vulnificus*를 감염시키고 일반사료와 BPFs를 복합투여한 군 (V3BPFs),  $10^3$  cfu/ml의 *Streptococcus parauberis*를 감염시키고 일반사료만 투여한 군 (S3CON),  $10^3$  cfu/ml의 *Streptococcus parauberis*를 감염시키고 일반사료와 BPFs를 복합투여한 군 (S3BPFs).

### 조피볼락에서 BPFs의 병원성 균 감염예방 효과

BPFs의 해양 병원성균에 대한 예방효과를 알아보기 위해서 병원성균주 감염 전에 3일 동안 BPFs를 복용시킨 후 *Vibrio vulnificus* ( $10^6$  cfu/ml)와 *Streptococcus parauberis* ( $10^6$  cfu/ml)를 각각 침지법으로 감염시킨 다음 일반 사료만 복용시킨 군과 BPFs가 첨가된 사료를 복용시킨 군으로 나누어 활동성을 관찰

하였다. 예방효과에 대한 대조군으로 3일 동안 사료만 복용시키다가 각각의 병원성 균으로 감염시킨 군과 비교하였다. 시험이 끝난 다음 각 어류의 소장을 분리하여 장내 미생물의 순수배양을 실시하였다. 4마리의 치어 소장을 이용하여 무게를 측정하고 멸균 생리식염수로 씻어낸 다음, 필요에 따라 10, 100, 1000배 희석하여 페트리 디쉬에  $100 \mu\text{l}$ 씩 분주하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 16시간 배양하여 콜로니를 확인하였다.

## 결 과

### BPFs의 항균활성

*B. polyfermenticus* SCD 균주와 BPFs 각각을 다양한 유해균주 (그램 양성, 그람 음성, 곰팡이)에 대해 항균성 시험을 한 결과 Table 1과 같은 결과를 나타내었다. Top agar 방법에 의한 *B. polyfermenticus* SCD 균주의 항균활성을 확인한 결과 *Streptococcus iniae*와 *Latococcus garviae*에 대해서는 항균활성을 나타내는 투명지역이 다소 명확하지 않았지만, 대부분의 유해균주에 대해서는 강력한 항균활성이 있는 것이 관찰 되었고, spot on lawn 방법에 의한 BPFs의 항균활성은 *Streptococcus parauberis*에 대해서 다소 낮았으나, 다른 유해균주에 대하여 강력한 항균활성을 가지는 것으로 나타났다. 이 결과로 볼 때 균 자체만으로도 좋은 항균활성을 나타내었으나, 콩 발효에 의해 더욱 확장된 스펙트럼의 항균활성을 가지는 것을 알 수 있었다.

**Table 1.** Antimicrobial activity of *B. polyfermenticus* SCD and BPFs using the top agar and spot-on-lawn method. TSA, tryptic soy agar; ME, malt extract agar #, not significantly inhibited

Pathogenic Microorganisms	Culture Medium	Incubation Temperature (°C)	Inhibition	
			<i>B. polyfermenticus</i> (Top agar method)	BPFs (Spot on lawn)
<b>Gram-positive bacteria</b>				
<i>Streptococcus parauberis</i> DSM 6631	TSA + 2.5% NaCl	37	+	+
<i>Streptococcus iniae</i> ATCC 29178	TSA + 2.5% NaCl	25	+/-#	+
<i>Lactococcus garviae</i> KCCM 40698	TSA + 2.5% NaCl	25	+/-#	+
<b>Gram-negative bacteria</b>				
<i>Flexibacter tractuosus</i> ATCC 23168	TSA + 2.5% NaCl	25	+	+
<i>Vibrio harveyi</i> KCCM 40866	TSA + 2.5% NaCl	25	+	+
<i>Vibrio vulnificus</i> ATCC 27562	TSA + 2.5% NaCl	25	+	+
<i>Vbriio ordalii</i> KCCM 41669	TSA + 2.5% NaCl	25	+	+
<b>Moulds</b>				
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642	ME	25	+	+
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 14156	ME	25	+	+

**Table 2.** Survival rate by BPFS in *Sebastes schlegeli* challenged with *Vibrio vulnificus* and *Streptococcus parauberis*, respectively

Experimental Group	Species of Fish (number)	Infection		Mortality Rate (%)	Mortal Time (h)
		Infectious Bacteria	Cell Concentration (CFU/ml)		
V3CON	<i>Sebastes schlegeli</i> (each 200 fries)	<i>Vibrio vulnificus</i>	$10^3$	> 99	36
V3BPFS		<i>Vibrio vulnificus</i>	$10^3$	> 99	96
S3CON		<i>Streptococcus parauberis</i>	$10^3$	> 99	36
S3BPFS		<i>Streptococcus parauberis</i>	$10^3$	> 99	96

### BPFS의 생명연장효과

임상 (Field work) 결과는 경남통영에 있는 세보수산에서 실시하였다. 실험의 결과로 병원균을 FRP 수조 (물 400 L)에서 200마리의 조피볼락에  $10^3$  cfu/ml의 농도로 각 균 (*Vibrio vulnificus*와 *Streptococcus parauberis*)을 오염시킨 결과 (이때 물을 환수하지 않고 실험을 함) V3CON 군과 S3CON 군은 시험 시작 36시간째에 약 10여분 만에 모두 폐사하였으며, V3BPFS군과 S3BPFS군은 96시간 후 약 10여분 만에 모두 폐사를 일으켜 약 60시간 정도의 생명연장 효과를 보였다.

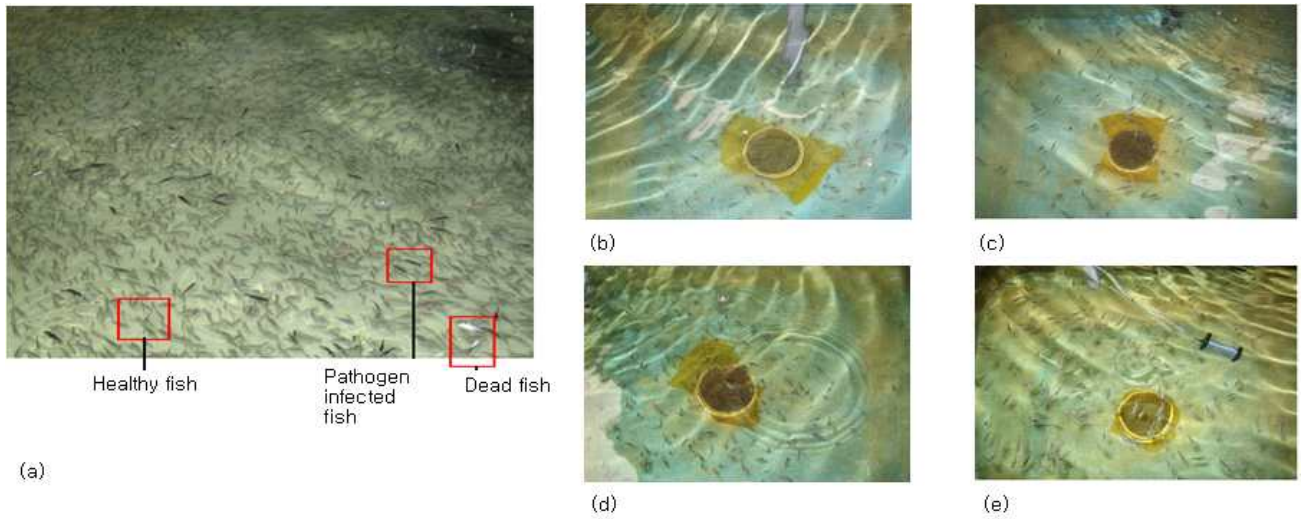
### BPFS에 의한 해양 병원성 균주 감염예방 효과

예방효과를 보기 위해서 3일 동안 BPFS를 먹이고 난 뒤, 해양 병원성 균주인 *Vibrio vulnificus*와 *Streptococcus parauberis* 각각을  $10^6$  cfu/ml의 농도로 하여 침지법으로 감염 시키고 시험을 시작하였다. 구체적으로는 BPFS의 사전 복용 없이 *Vibrio vulnificus* 감염시킨 군 (V6\_CON), BPFS의 사전 복용 없이 streptococcus만 감염시킨 군 (S6\_CON), BPFS를 3일간 사료와 함께 복용시키고 *Vibrio vulnificus* 감염 후 사료만 복용시킨 군 (BPFS6V\_CON), BPFS를 3일간 사료와 함께 복용시키고 *Vibrio vulnificus* 감염 후 사료와 BPFS를 복합으로 복용 시킨 군 (BPFS6V\_BPFS), BPFS를 3일간 사료와 함께 복용시키고 *Streptococcus parauberis* 감염 후 계속하여 사료만 복용 시킨 군 (BPFS6S\_CON), BPFS를 3일간 사료와 함께 복용시키고 *Streptococcus parauberis* 감염 후 사료와 BPFS를 복합으로 복용 시킨 군 (BPFS6S\_BPFS)으로 나누어서 활동성을 관찰하였다. Fig. 1. (a)는 건강한 상태의 치어와 병원성 균에 감염된 후의 치어, 폐사한 치어의 예를 각각 보여준다. 사료만 복용시키다가 병원성 균에 노출된 V6\_CON군과 S6\_CON군은 7시간 만에 모두 폐사 하였다. 뿐만 아니라, BPFS6V\_CON군과

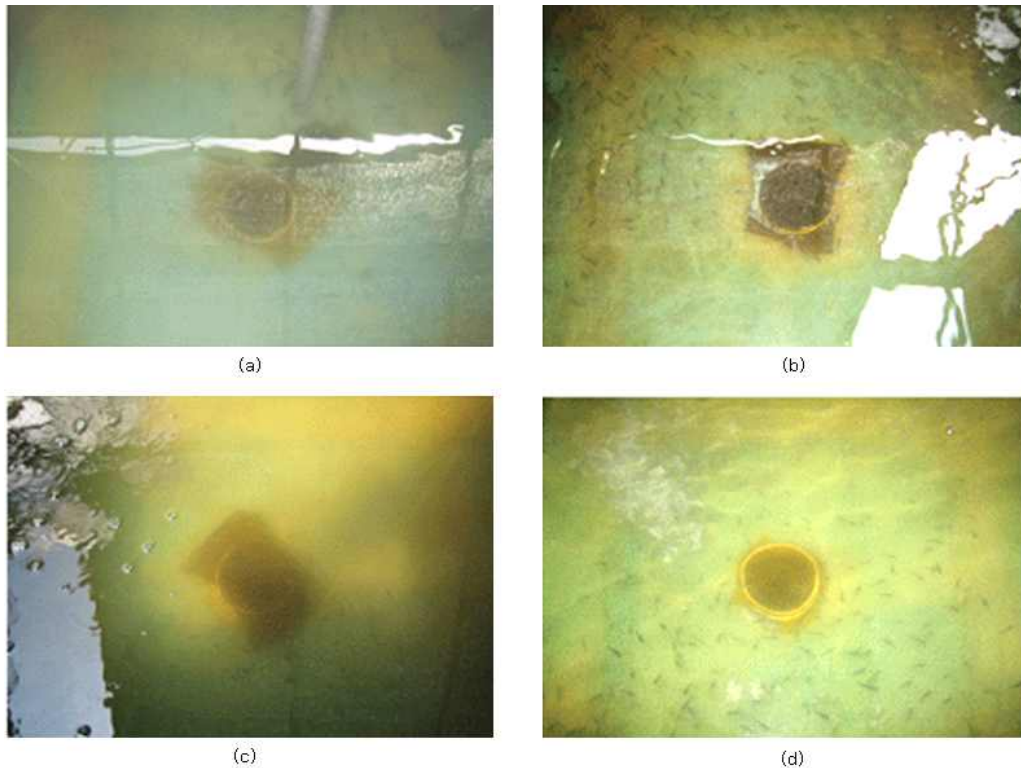
BPFS6S\_CON군은 모두 활동성이 낮았고, 주로 FRP수조 바닥에서 생활하는 것으로 관찰된 반면 (Fig. 1 (b), (d)), 시험군인 BPFS6V\_BPFS군과 BPFS6S\_BPFS군은 활동성이 매우 우수하여 수조의 표면에서 활발하게 활동하였다 (Fig. 1. (c), (d)). 그러나 3일 경과 후 시험군과 대조군의 상태는 비슷하였다. 이 결과로 미루어 볼 때 BPFS는 유해성 병원균의 침투를 지연 억제하는 효과가 있음을 예상할 수 있고, 감염 후 BPFS 복용을 중단할 경우 감염 전에 복용한 잔여 BPFS의 장내 생존에 의해 어느 정도 치료 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

### BPFS의 장내 생존능력

$10^2$  cfu/ml의 농도로 *Vibrio vulnificus*와 *Streptococcus parauberis* 각각을 조피볼락에 오염시키고 장내 균의 상태를 관찰하였다. *B. polyfermenticus* SCD의 생존여부 관찰을 위하여 사료만 복용시킨 군 (CON)과 *Vibrio vulnificus* 감염 후 사료만 복용시킨 군 (V2\_CON), *Vibrio vulnificus* 감염 후 사료와 BPFS를 복합 복용시킨 군 (V2\_BPFS), *Streptococcus parauberis* 감염 후 사료만 복용시킨 군 (S2\_CON), *Streptococcus parauberis* 감염 후 사료와 BPFS를 복합 복용시킨 군 (S2\_BPFS)으로 시험하여, 시험이 끝난 뒤 각각의 소장을 분리하여 장내 미생물의 순수 배양을 실시하였다. 그 결과 대조군은 각종 잡균이 자라고 *Vibrio vulnificus* 감염군에서는 *Vibrio vulnificus*가, *Streptococcus parauberis*에서는 *Streptococcus parauberis*가 자라고 있음을 알 수 있었다. 또한 BPFS 투여군에서는 *B. polyfermenticus* SCD가 많이 자라고 있음을 알 수 있었다. *B. polyfermenticus* SCD의 colony는 평균 10개였으며, 희석 배수로 환산하면 1마리당 약 300여개의 *B. polyfermenticus* SCD의 colony가 확인되었다 (테이타 미첨부).



**Fig. 1.** The change of movement by BPFS additives in pathogen bacteria infected fish (a) The examples on morphology of healthy fish, pathogen infected fish, and dead fish (b) BPFSV6\_CON: BPFS additives (3days) + *Vibrio vulnificus* infection + commercial fodder administered group (c) BPFS6V\_BPFS: BPFS additives (3days) + *Vibrio vulnificus* infection + BPFS additives administered group (d) BPFS6S\_CON: BPFS additives (3days) + *Streptococcus parauberis* infection + commercial fodder administered group (e) BPFS6S\_BPFS: BPFS additives (3days) + *Streptococcus parauberis* infection + BPFS additives administered group.



**Fig. 2.** The cleanup effects of BPFS. (a) Water contaminated by eutrophication in V2\_CON group (commercial fodder administered group after *Vibrio vulnificus* infection) (b) The cleanup action in BPFSV2\_BPFS group (BPFS additives administered group after *Vibrio vulnificus* infection) (c) Water contaminated by eutrophication in S2\_CON group (commercial fodder administered group after *Streptococcus parauberis* infection) (d) The cleanup action in BPFSV2\_BPFS group (BPFS additives administered group after *Streptococcus parauberis* infection).

## BPFS에 의한 수질정화 효과

정화효과를 시험과정 중에 관찰할 수 있었으며,  $10^4$  cfu/ml의 *Vibrio vulnificus*와 *Streptococcus paruberis*를 각각 조피볼락에 오염시킨 후 BPFS를 투여한 후 3일 경과 시 실험 수조에서는 물이 맑아지는 현상을 육안으로 뚜렷이 관찰 할 수 있었다 (Fig. 2 (b), (d)). 이러한 현상으로 볼 때 BPFS는 병원성균과 부영양화와 같은 환경에 의한 수질오염을 정화하는 능력이 뛰어난 것을 알 수 있었다.

## 고 찰

본 연구는 *B. polyfermenticus* SCD의 콩발효물질을 이용한 어류용 사료첨가제, 그 제조방법 및 이를 포함하는 어류용 사료를 개발하기 위하여 고안되었다. 보다 상세하게는 콩을 멸균하여 콩에 내재된 균을 완전히 제거 후, *B. polyfermenticus* SCD를 일정량 멸균정제수와 혼합하여 콩에 붓고, 이를 고형 배지로 하여 40°C에서 배양함으로써 *B. polyfermenticus* SCD에 의해 1차 및 2차 대사산물을 생성시키고, 그 콩발효물을 동결건조하여 사료첨가제로 이용하는 것이다. 한편, 일반적인 사료 첨가제의 양은 사료 1톤당 10 내지 1000 그램 첨가하여 사용하는 것이 바람직하며, 경제성에 문제가 없다면 많이 사용하는 것이 효과적이지만, 실제 적용을 위해서는 사료첨가제의 효과와 경제성이 적절히 조화를 이룰 수 있는 범위에서 첨가량을 결정할 필요가 있다 [12-14]. 본 연구에서, 경남 통영의 세보수산에서 실시하여 얻은 임상 (field work)결과 고형 BPFS를 투여하던 중 사료의 복용 효율을 증가시키는 유인작용 (attractive action)을 조피볼락에서 관찰할 수 있었다. 사료를 뿌려 줄 경우에 시험군에서는 대조군에 비해 사료의 요구성이 높아 사료 부위에 모이는 경향성이 매우 높았다 (Fig. 1). 또한 사료 복용 후 침전된 사료를 채취하여 무게를 재어 복용량을 계산하였다. 이때 사료는 변과 육안으로 구분이 되며 물을 계속해서 갈아주는 환수통구를 이용하여 고형물을 모아 비교한 결과로 시험군의 사료효율은 80%로서 대조군의 40%에 비하여 2배나 높은 결과를 보였다 (데이터 미첨부). 이런 결과는 사료의 효율을 높여 사료가격의 부담을 낮추는 동시에 가라앉은 물질의 부패로 환경오염과 2차적인 오염을 막을 수 있어 이러한 유

인작용은 대단히 중요한 것이다. 따라서, *B. polyfermenticus* SCD의 콩 발효를 통한 동결건조물은 어류용 사료에 첨가하여 복용시킴으로써 유인작용 (attractive action), 사료효율 증가 및 폐사율을 낮추는 작용을 가져오고 양식 환경에 의한 여러 가지 원인의 부영양화로 야기되는 수질오염을 개선함으로써 궁극적으로 환경보호와 농가소득 증대에 기여할 수 있을 것이라 보여진다.

## 국 문 요 약

바실러스 폴리페멘티쿠스 에스씨디는 활성아포를 형성하여 장까지 도달하는 특성 때문에 장기적인 장 질환 치료에 사용되어져 왔다. 뿐만 아니라 강력한 항생물질을 생산하는 장점을 가지고 있다. 현 연구는 바실러스 폴리페멘티쿠스 에스씨디와 콩을 함께 발효시킨 것 (BPFS)과 그것의 생균제 특성에 관하여 조사하였다. 바실러스 폴리페멘티쿠스 에스씨디는 와 BPFS는 병원성 그람양성 (스트렙토코커스 파라우베리스, 스트렙토코커스 이니에, 락도코커스 가르비에), 그람 음성 (플렉시박터 트렉투오서스, 비브리오 하베이, 비브리오 불니피쿠스, 비브리오 오다리), 곰팡이 (아스파라질러스 니거, 아스파라질러스 오리자에)에 이르기까지 넓은 범위의 항균성을 가졌다. BPFS에 의한 생존율 증가와 부영양화로 인한 수질오염의 정화작용을 관찰하기 위해서 통영 앞 바다 양식장에서 조피볼락을 사용해서 현장 실험을 하였다. 그 결과, 해양 병원성 유해 박테리아에 노출시키고 일반 사료만 복용시킨 군에서는 99%의 폐사율을 보였으나, BPFS를 사료와 함께 복용시킨 군에서는 먹이 유인효과에 의한 성장률의 증가와 부영양화에 의한 수질오염을 정화하는 작용이 관찰되었다. 따라서 BPFS는 양식업에서 항생물질 대체제, 사료 첨가제, 부영양화에 의한 정화제로서 개발하여 산업화하기 용이한 후보물질이라고 사료된다.

## 감사의 글

본 논문은 2004년도 인제대학교 학술연구조성비 보조에 의한 것임(This work was Supported by the 2004 Inje University research grant). 이에 감사를 드립니다.

## 참 고 문 헌

1. Bisailon J. G., Beaudet R., Lafond L., Saheb S. A., Sylvestre M. 1981. Antigonococcal and antibacterial spectra of some bacterial isolates of the urogenital flora. *Rev. Can. Biol.* 40, 215-227.
2. Bisailon J. G., Beaudet R., Saheb S. A., Morisset R. 1980. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by aerobic bacterial representatives of the urogenital flora. *Rev. Can. Biol.* 1980. 39, 201-208.
3. Cho S. H., I. S. Park. 2004. Effect of Feeding on Different days of the week on growth and body composition of Juvenile Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Kor. J. Ichtyol.* 16. 210-214.
4. Green, D. H., P. R., Wakeley, A. Page, A. Narnes, L. Baccigalupi, E. Ricca, and S. M. Cutting. 1999. Characterization of two *Bacillus* probiotics. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 4288-4291.
5. Jun J. D., K. H. Lee, W. S. Kim, H. D. Paik. 2000. Microbial Identification of Medical Probiotic Bifidobacterium Strain. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28, 124-127.
6. Jun K. D. 1998. Microbial identification, antimicrobial activity and enhanced production of Bifidobacterium strain. MS thesis. Kyungnam University, Korea.
7. Kang J. C., J. H. Ji, S. Y. Song, S. U. Mun, J. U. Kang, Y. D. Lee, S. J. Kim. 2004. Effect of Oral Administration with Fermented Product from Sewage in Land-based Seawater Fish Farm on Hematological Factors Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish. Pathol.* 17, 57-66.
8. Kang J. S., K. D. Jun, W. S. Kim, W. S. Jo, J. Y. Kwon, K. H. Moon. 2004. Antibacterial activities of *B. polyfermenticus* SCD against pathogenic bacteria and effects on animals and humans. *Yakhak Hoeji.* 48, 70-74.
9. Kim T. H., N. K. Lee, K. H. Chang, E. J. Park, S. Y. Choi, H.D. Paik. 2006. Antioxidant Activity of partially purified extracts isolated from *Bacillus polyfermenticus* SCD culture. *Food Sci. Biotechnol.* 15, 482-484.
10. Lee N. K., Park J. S., Park E. j., Paik H. D. 2007. Adherence and anticarcinogenic effects of *Bacillus polyfermenticus* SCD in the large intestine. *Lett. Appl. Microbiol.* 44. 274-278.
11. Nam T. J. M. J. Kwon, S M. Lee, K. Y. Park, Y. Kim, S. R. Park, J. H. Pyeun. 2001. Effect of Dietary protein on serum Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF - binding protein-3 in Korean rockfish, *Sebastes schlegali*. *J. Kor. Fish. Soc.* 34. 550-555.
12. Paik H. D., N. K. Lee, K. H. Lee, Y. I. Hwang, J. G. Pan. 2000. Identification and partial characterization of cerein BS299, a bacteriocin produced by *Bacillus cereus* BS299. *J. Microbiol. Biotechnol.* 10, 195-200.
13. Park. H. S., S. H. Lee and T. B. Uhm. 1998. Selection of microorganisms for probiotics and their characterization. *J. Kor. Soc. Food.Sci. Nutr.* 27, 433-440.
14. Välimaa AL, Honkalampi-Hämäläinen U, Pietarinen S, Willför S, Holmbom B, von Wright A. 2007. Antimicrobial and cytotoxic knotwood extracts and related pure compounds and their effects on food-associated microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 115, 235-243.