

Characterization of a Probiotic Candidate Isolated from the Gastrointestinal(GI) track of flounder

정현미 · 박기돈* · 구분탁* · 김진만
여수대학교 생물공학과 · *(주)인바이오투

서론

계절, 서식 환경의 구분없이 발병하는 병원성 미생물로 인하여 어류의 감염피해 및 경제적 손실이 막대하며 병원성 미생물을 저해하기 위해 투여한 항생제의 오남용으로 인하여 내성을 갖는 세균들의 출현 위험성이 상재하고 있다. 따라서 항생제 사용에 대한 효과 감소는 물론 과량 투여에 따른 양식업의 경쟁력 약화로 이루어질 가능성이 높기 때문에 보다 환경 친화적이며 어병의 효율적인 생물학적 제어를 시도하기 위해 어류의 gastrointestinal(GI) track으로부터 수산용 probiotic 유산균을 분리 동정하고 그 특성을 조사하여 앞으로 수산용 probiotic으로서 이용가능성을 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

유산균 분리를 위해 서식환경의 구분없이 광어를 선택하여 GI track 절제 후 파쇄한 회석물을 3% NaCl과 0.01% BCP가 첨가된 MRS 배지에 도말하여 배양하면서 colony 주변에 yellow zone 나타내는 colony들을 1차 선별하였다. 선별된 균주들을 순수배양하여 paper disk 확산법을 이용하여 *Streptococcus* sp.를 비롯한 어병균주에 대해 강한 항균력을 나타내는 균주를 probiotic candidate로 선별하였다. 선별된 균주는 형태학적 및 생리학적 조사, 미생물 자동동정장치를 이용하여 동정과 분류를 하였다. probiotic candidate의 안정성 확인을 위해 인공위액과 인공담즙액 내성, 항생제 감수성 그리고 내열성을 확인하였고 그람음성과 그람양성 미생물에 대해 HM58이 생산하는 항균물질의 항균 spectrum을 확인하였다.

결과 및 요약

광어의 GI track의 현탁액을 분리원으로 하여 BCP가 첨가된 agar 배지에서 yellow zone을 형성하고 *Streptococcus* sp.에 대해 항균력을 나타내는 HM58은 그람양성, 구형, catalase 음성반응을 나타냈고 미생물 자동동정장치를 이용한 95종류의 탄소원 이용성을 확인한 결과 *Tetragenococcus halophilus*에 높은 유사성을 보여주며 *Tetragenococcus halophilus* HM58로 명명하였다. *T. halophilus* HM58은 인공위 (pH2.5)에서 20분 경과 후 80%의 생존율을 나타냈으며 인공담즙액(pH4.0)에서는 낮은 생존율을 나타냈다. 항생제 감수성을 확인한 결과 Amoxycillin clavulanic acid, Doxycycline, Ampicillin 그리고 Erythromycin에 대해 강한 저항성을 나타냈으며 90℃로 처리하였을 때 상대적으로 낮은 내열성을 보여주었다. *T. halophilus* HM58가 생산하는 항균물질에 의한 항균 spectrum 확인 결과 *Streptococcus* sp.에 대한 높은 저해능이 있으며 *Enterococcus faecalis*를 비롯한 대부분 그람 양성균에 대한 항균 특성 나타냈다.

참고문헌

1. Anonymous. 1986. International acceptance of Nisin as a food additive. Aplin & Barrett Ltd.
2. Gilliland, S. E., and M. L. Speck. 1997. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophil* toward intestinal and food borne pathogens in associative culture, J. Food protection 40, 12, pp. 820-823.
3. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
4. Zajdak, J. K., P. Ceglowski, and W. T. Dobrazanski. 1985. Mechanism of action of Lactostrepsin 5, a bacteriocin produced by *Streptococcus cremoris* 202. Appl. a Environ. Microbiol. 49, pp. 965-974.