

## 산란계 맹장 유산균의 특성에 관한 연구

김상호 · 박수영 · 유동조 · 이상진 · 나재천 · 최철환 · 이상진 · 류경선<sup>1</sup>

축산기술연구소 대전지소, 전북대학교 동물자원학과<sup>1</sup>

### Study on Characteristics of *Lactobacillus* Isolated from Hen's Cecum

S.H. Kim, S.Y. Park, D.J. Yu, S.J. Lee, J.C. Na, C.H. Choi and K.S. Ryu<sup>1</sup>

Daejeon Branch, National Livestock Research Institute, 253 Gyesan-dong,  
Yusung-gu, Daejeon, Korea, 305-365

<sup>1</sup> Department of Animal Resource and Biotechnology, Chonbuk National University,  
Chonju, Korea, 561-756

**ABSTRACT** : Present study was carried out to evaluate characteristics of lactic acid producing bacteria(LAB) in hen's cecum as probiotics value. Distribution of LAB in intestinal tracts was investigated using 5~25 weeks - old hens. So, 12 strains to LAB with different morphology were isolated purely. Acid tolerance of LAB tested at pH 1, 2, 3, and 4, and bile resistant also tested at 0, 0.3 % and 0.5 % bile salt concentration. Growth pattern of LAB observed to 60h. All strains of cecal LAB couldn't survive at pH 1, and decreased linearly survival colony after incubation at pH 2 although some strains could survive for 2h. Most of LAB maintained constant number at pH 3 and 4. The bacterial action could increase linearly at 0 % bile salt concentration in all of tested strains. However, only one strain could multiply at 0.3 % bile salt, others were influenced by bile salt. That tendency was similar at 0.5 % bile salt. Growth was peaked at 12 to 18 h after inoculation. After peak, the decreasing pattern of colony was different to strains which some strains decreased rapidly or maintained for long time. The LAB of hen's cecum was similar to intolerance acidity, but different to resistant to bile salt and growth pattern by strain. So, we choose three strains which have probiotics value, and identified as *Lactobacillus amylovorus* LLA7, *Lactobacillus crispatus* LLA9 and *Lactobacillus vaginalis* LLA11.

(Key words: *Lactobacillus*, probiotic value, pH, bile acid, growth pattern)

## 서 론

가금의 장내 세균총은 부화 직후부터 환경의 영향을 받으며 서식하기 시작하여 1 주일 이내에 그 구성이 확립된다(Ochi 등, 1964; Fuller, 1989). 정상적으로 확립된 장내세균총은 사료의 소화 및 흡수를 돕는 역할을 하여, 그 이용성을 향상시키는 것으로 알려져 있다. 생균제는 정상적인 장내 세균총의 유지를 도와주는 역할을 하는데, 그 가운데 유산균의 이용이 강화되고 있다(Havenaar 등, 1992; Chateau 등, 1994).

가금의 생산성에 대한 생균제의 효과는 여러 가지로 입

증되고 있으나, 아직 이론이 제기되고 있는 부분이 있다. 많은 연구결과에서 생균제는 가금의 생산성을 향상시키는 것(Fuller, 1989; Nahashon 등, 1992, 1993; Tortuero와 Fernandez, 1995)으로 나타나지만, 효과가 없다는 상반된 보고도 있다(Watkins와 Kratzer, 1984; Cerniglia 등, 1983; Goodling 등, 1987). 이러한 차이는 생균제로 이용되는 미생물이 숙주동물에 유익하게 작용하는지와 그 미생물이 유익한 효과를 나타낼 수 있는 균수를 소장에서 유지하는지와 관련된다(Jin 등, 1998; 류경선 등, 1999).

미생물을 생균제로서 이용하기 위해서는 소낭, 선위 그리고 근위의 낮은 pH에 저항성이 있어야 하며, antibacte -

rial agent인 담즙산에 대한 저항성도 있어야 한다(Conway 등, 1987; Gilliland 등, 1984; 1987; Haddadin 등, 1996; Vandevoorde 등, 1991).

맹장에서 분리한 유산균이 회장에서 분리한 유산균보다 산에 더 강하다는 보고가 있었으며(Jin 등, 1998), 대부분의 유산균이 담즙에 의하여 성장에 영향을 받지만, 종에 따라서는 담즙에 대한 내성을 갖는 것으로 보고되었다(김상호 등, 2000a; Jin 등, 1998). 김상호 등(2000a)은 육계 맹장내 유산균의 성장특성을 연구한 보고에서 대부분의 유산균은 낮은 pH(<2)에서는 생존이 불가능하며, pH 3 이상에서는 대부분이 증식이 가능하다고 하였다. 그는 내담즙산성 조사에서 대부분의 유산균이 담즙에 대한 영향을 받으며, 유산균은 pH보다는 담즙에 의한 영향이 더 크다고 하였다. 또, 김상호 등(2000b)은 육계 맹장유산균 중 내산성과 내담즙성이 우수하고 성장능력이 우수한 유산균 3종을 선발하여 육계에 급여한 결과 증체량이 증가된다고 하였다. 이러한 것은 target animal에서 채취한 미생물은 비슷한 환경하에서 생존할 수 있는 능력이 있기 때문에 적응력과 역할이 타 미생물에 비하여 우수하였기 때문에 나타난 결과로 사료된다.

따라서 본 연구는 산란계 유산균의 생균제적 가치를 구명하고자 산란계 맹장에서 채취한 유산균에 대한 내산성, 내담즙산성 그리고 성장능력을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 소화기관내 유산균의 탐색

소화기관내 유산균 탐색을 위하여 25주령 ISA brown 산란계 5 수를 이용하였다. 산란계를 경추탈골법으로 희생시켜 십이지장, 회장, 맹장, 결장에서 장내용물을 무균적으로 채취하였다. 채취된 장내용물들은 생리식염수(PBS)에 중량 대 부피로 희석되었으며, 계단희석법으로  $10^{-9}$ 까지 희석하였다. 희석액중  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$ 에서 각각 0.1ml를 분주하여, Rogosa agar(Difco) plate에 접종하였다. 접종된 agar plate를 37 °C에서 48시간 동안 호기적으로 배양한 후, colony 수를 계수하였다.

### 2. 유산균의 분리 및 선발

유산균 탐색을 위하여 배양된 agar plate중 맹장유래 유산균을 형태학적 특성에 따라 각각 분류되었으며, 이들 각각의 균주들은 순수배양하였다. 순수배양된 각각의 균주들을 Gram 염색법에 따라 염색한 후, 현미경하에서 1,000배

로 확대 관찰하여 Gram 양성간균을 선발하였으며, 0.002%의 bromocresol purple(Sigma)이 첨가된 MRS agar plate에 각 균주들을 배양하여 유기산을 생성하는 균주를 선발하였다. 선발된 균주들은 MRS broth(Difco)에 순수 배양한 후, 조사에 이용될 때까지 30% Glycerol 용액과 1:1로 혼합하여 -70 °C에서 동결보관을 하였다.

### 3. 내산성, 내담즙산성 조사

순수분리된 유산 생성균은 모두 12종이었으며, 이를 대상으로 다음과 같은 조사를 실시하였다. 내산성 측정은 Conway 등(1987)의 방법에 따라 조사를 하였다. 각각의 균주를 MRS broth에 24시간 배양한 후, 4 °C에서 2,000g로 10분간 원심분리한 후, 원심분리 tube 하층부의 펠렛을 채취하였다. 이 펠렛을 생리식염수로 2회 씻어낸 후, 1ml의 생리식염수에 다시 녹였다. 0.1N HCl을 이용하여 pH가 각각 1, 2, 3, 4로 조정된 2ml의 PBS가 담겨져 있는 test tube에 균 용해액을 0.1ml씩 접종하였다. 접종후 6시간 동안 매시간 각 tube에서 0.1ml씩을 취하여 계단희석 후, Rogosa agar plate에 골고루 펼쳐 37 °C에서 48시간 배양후 colony수를 측정하였다. 내담성 측정은 Gilliland 등(1984)의 방법에 따라 실시하였다. 0.3 또는 0.5%의 bile salt(Difco)가 첨가된 10ml의 MRS broth에 24시간 MRS broth에서 배양된 각각의 균주들을 0.1ml씩 접종하였다. 접종 후 6시간동안 매시간 분광광도계를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하였다.

내산성 및 내담즙산성 조사에 대한 결과는 동정된 3개의 균주와 나머지 균주중 대표되는 3주의 미동정 유산균을 대비하여 표시하였다.

### 4. 유산균의 동정

유산균의 특성조사를 통하여 우수한 것으로 판정된 3종의 균주를 종균보존협회에서 지방산과 16S rRNA 분석방법으로 동정하였다. 지방산은 GC를 이용하였으며 DNA 분석은 Genomic DNA preparation → PCR → Electrophoresis → Transformation → Plasmid preparation → Sequencing → Sequence analysis → Pyrogenic tree of analysis strains의 순서로 분석하였다. 동정된 3종의 유산균은 *Lactobacillus amylovorus* LLA 7, *Lactobacillus crispatus* LLA9, *Lactobacillus vaginalis* LLA11이었다(Fig. 1, 2, 3). 동정된 균주와 미동정균 2주에 대한 성장곡선을 조사하기 위하여 MRS broth에 60시간 동안 배양하며, 6시간 간격으로 0.1ml를 채취, 희석한 후, Rogosa agar plate에 배양하여 균수를 조사하였다.

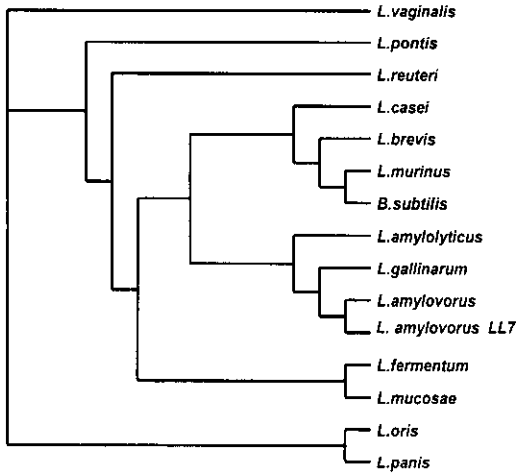


Fig. 1. Pyrogenic tree of *L. amylovorus* LLA7.

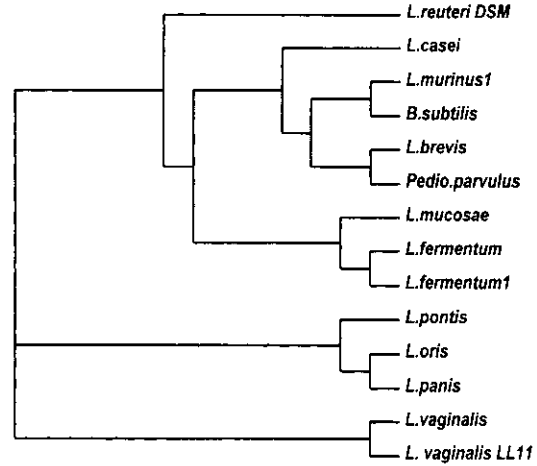


Fig. 3. Pyrogenic tree of *L. vaginalis* LLA11.

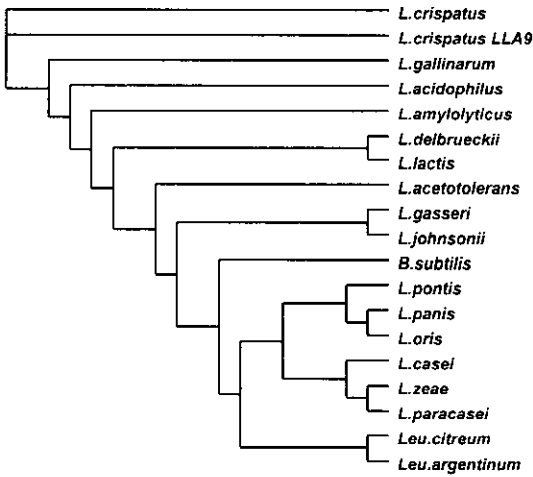


Fig. 2. Pyrogenic tree of *L. crispatus* LLA9.

## 결과 및 고찰

### 1. 내산성

산란계 소화기관내 유산균을 측정된 결과 십이지장, 회장, 맹장, 결장에서 각각 대수치로 7.024<sup>a</sup>, 8.867<sup>b</sup>, 9.331<sup>a</sup>, 8.597<sup>b</sup>로서 맹장내 유산균이 가장 많았고 십이지장이 가장 적은 것으로 나타났다.

내산성 조사 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. pH 1에서는 대부분의 유산균이 배양직후 생존에 영향을 받는 것으로 나타났다. *L. amylovorus* LLA7가 배양후 1시간까

지 생존하는 것으로 관찰되었지만 수가 급격히 감소하였고, 2시간째에는 모든 유산균의 생존이 관찰되지 않았다. pH 2에서는 pH 1과 마찬가지로 양상을 보였는데 생존시간이 배양후 2시간째까지 연장되었지만, colony수는 급격히 감소하였다. pH 3에서는 미동정 유산균 LLA5이 colony가 50% 정도 감소한 것으로 나타났지만 대부분의 유산균이 배양후 4시간째까지 생존이 유지되는 것으로 나타났다. pH 4에서도 pH 3과 동일한 결과를 보였다.

유산균의 내산성에 대한 이전의 연구에서 Conway 등(1987)은 위액상태에서 *Lactobacillus*가 *Streptococcus*보다 생존성이 우수하다고 하여 유산균중에 따른 차이점을 보고하였다. Jin 등(1998)은 회장 유산균보다 맹장 유산균의 내산성이 더 우수하다고 하여 소화기관별 유산균의 차이점을 보고하였고, 맹장내 유산균은 pH 2에서 성장이 완전하였고 pH 3과 4에서 우수하였다고 하여 본 연구결과와 비슷한 보고를 하였다. 또, 김상호 등(2000a)이 보고한 육계 맹장내 유산균의 내산성 특징과 본 연구결과도 동일하게 나타났다.

선위내 pH에 대해서 4.8(Sturkie, 1986), 3.2(Winget 등, 1962)라고 하여 연구자마다 약간의 차이가 있다. 이러한 차이는 측정 개체의 생리적 상태가 다르기 때문인데 예를 들어 장기간 사료를 섭취하지 않게 되면 위액이 histamin의 자극으로 2배 이상 증가하기 때문이다. 선위 분비물은 pH가 0.2~1.2(Ziwilster와 Farnar, 1972)로 매우 낮지만 섭취물과 혼합된 상태에서는 상대적으로 높은 pH를 유지하게 된다(Karasov, 1995). 그러므로 생균제로 급여된 미생물이 사료와 혼합되어 있다면 위액의 낮은 pH에 크

Table 1. Acid tolerance of *Lactobacillus* isolated from cecal content in laying hens<sup>1</sup>

pH	Strains	Incubation time (log <sub>10</sub> cfu)					
		0h	0.5h	1h	2h	3h	4h
1	<i>Unidentified</i> LLA1	4.360 <sup>bc</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>Unidentified</i> LLA3	8.719 <sup>a</sup>	1.742 <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND
	<i>Unidentified</i> LLA5	2.000 <sup>c</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>L. amylovorus</i> LLA7	8.301 <sup>ab</sup>	4.184 <sup>b</sup>	3.110 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
	<i>L. crispatus</i> LLA9	6.693 <sup>b</sup>	2.301 <sup>c</sup>	ND	ND	ND	ND
	<i>L. vaginalis</i> LLA11	8.192 <sup>ab</sup>	4.752 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND
2	<i>Unidentified</i> LLA1	8.519 <sup>ab</sup>	6.034 <sup>c</sup>	ND	ND	ND	ND
	<i>Unidentified</i> LLA3	10.109 <sup>a</sup>	8.600 <sup>a</sup>	7.239 <sup>a</sup>	0.667 <sup>b</sup>	ND	ND
	<i>Unidentified</i> LLA5	4.767 <sup>c</sup>	3.476 <sup>e</sup>	3.026 <sup>c</sup>	ND	ND	ND
	<i>L. amylovorus</i> LLA7	8.583 <sup>ab</sup>	6.094 <sup>c</sup>	2.134 <sup>d</sup>	ND	ND	ND
	<i>L. crispatus</i> LLA9	9.192 <sup>ab</sup>	4.337 <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND
	<i>L. vaginalis</i> LLA11	8.388 <sup>b</sup>	7.894 <sup>b</sup>	4.073 <sup>b</sup>	2.583 <sup>a</sup>	ND	ND
3	<i>Unidentified</i> LLA1	8.401 <sup>c</sup>	8.330 <sup>c</sup>	8.418 <sup>c</sup>	7.446 <sup>c</sup>	6.926 <sup>c</sup>	7.590 <sup>d</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA3	8.949 <sup>ab</sup>	8.761 <sup>b</sup>	8.902 <sup>b</sup>	9.103 <sup>ab</sup>	8.560 <sup>ab</sup>	9.261 <sup>a</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA5	8.401 <sup>c</sup>	6.765 <sup>d</sup>	5.980 <sup>d</sup>	4.693 <sup>e</sup>	4.382 <sup>d</sup>	4.000 <sup>e</sup>
	<i>L. amylovorus</i> LLA7	8.560 <sup>bc</sup>	8.907 <sup>ab</sup>	9.110 <sup>ab</sup>	9.284 <sup>a</sup>	8.566 <sup>ab</sup>	8.848 <sup>b</sup>
	<i>L. crispatus</i> LLA9	9.258 <sup>a</sup>	9.297 <sup>a</sup>	9.820 <sup>a</sup>	8.774 <sup>b</sup>	8.962 <sup>a</sup>	8.301 <sup>c</sup>
	<i>L. vaginalis</i> LLA11	8.764 <sup>b</sup>	8.360 <sup>c</sup>	8.418 <sup>c</sup>	6.201 <sup>d</sup>	8.100 <sup>b</sup>	6.333 <sup>e</sup>
4	<i>Unidentified</i> LLA1	8.615 <sup>b</sup>	8.434 <sup>c</sup>	8.852 <sup>b</sup>	8.259 <sup>c</sup>	8.038 <sup>d</sup>	7.577 <sup>c</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA3	9.130 <sup>a</sup>	9.241 <sup>a</sup>	9.369 <sup>ab</sup>	9.774 <sup>a</sup>	8.884 <sup>ab</sup>	8.396 <sup>b</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA5	6.977 <sup>d</sup>	6.100 <sup>d</sup>	6.867 <sup>d</sup>	3.378 <sup>d</sup>	2.952 <sup>e</sup>	3.752 <sup>e</sup>
	<i>L. amylovorus</i> LLA7	8.752 <sup>ab</sup>	8.577 <sup>bc</sup>	9.424 <sup>ab</sup>	9.586 <sup>a</sup>	9.124 <sup>a</sup>	8.551 <sup>ab</sup>
	<i>L. crispatus</i> LLA9	9.134 <sup>a</sup>	9.163 <sup>ab</sup>	9.798 <sup>a</sup>	8.674 <sup>b</sup>	8.735 <sup>b</sup>	8.625 <sup>a</sup>
	<i>L. vaginalis</i> LLA11	8.774 <sup>ab</sup>	9.000 <sup>b</sup>	8.100 <sup>c</sup>	8.201 <sup>c</sup>	8.301 <sup>c</sup>	6.990 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>. Means different superscripts within columns differ significantly (P<0.05). ND, Not detected.

계 영향을 받지 않는다. 이러한 것은 선위와 근위내에 있는 내용물에서 short chain fatty acid가 높은 농도로 유지된다는 것으로 입증되었다(Swart 등, 1993). 본 연구 결과에서 모든 유산균이 pH 2에서는 생존이 어려웠지만 pH 3과 4에서는 대부분이 생존이 유지되기 때문에 섭취물과 함께 존재한다면 일정한 수효가 선위내에서도 유지될 것으로 판단된다.

## 2. 내담즙산성

내담즙산성 조사 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. Bile salt가 첨가되지 않은 상태에서는 모든 유산균이 배양 후 6시간까지 직선적으로 증가하는 양상을 보였다. 0.3 %에서는 유산균에 따라 차이를 보였는데 동정된 유산균 3종과 미동정 유산균 LLA1은 담즙에 대해서 증식이 영향

을 받았지만, 활력이 유지되거나 증가한 것으로 나타났는데, *L. crispatus* LLA7 균주는 담즙이 첨가되지 않은 상태보다 활력이 증가하는 것으로 나타났다. 미동정 유산균 LLA3과 5 두 종은 배양시간이 경과할수록 활력이 감소되는 것으로 나타났다. 0.5 % 수준에서는 *L. crispatus* LLA7을 제외한 모든 유산균이 담즙에 대해서 활력이 영향을 받는 것으로 나타났다. *L. crispatus* LLA 7은 균의 활력이 약 3배 정도 증가하는 것으로 나타났다. 담즙에 대해서 대부분의 유산균이 영향을 받으며, 담즙의 농도가 증가할수록 활력에 대한 영향은 커지는 것으로 나타났다.

유산균의 생균체적 조건 중 담즙산에 대한 저항성이 강할수록 굵여시 소화기관내 유산균의 수가 유의적으로 증가한다고 하였다(Gilliland 등, 1984). 김상호 등(2000a)과 Jin 등(1998)은 육계 맹장 유래 유산균은 대부분이 담

**Table 2.** Bile salts tolerance of *Lactobacillus* species isolated from cecal content in laying hens<sup>1</sup>

Concentration of bile salt	Strains	Absorbance at 660nm						
		0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
0%	<i>Unidentified</i> LLA1	0.092	0.087	0.096	0.192	0.889	1.468	2.063
	<i>Unidentified</i> LLA3	0.029	0.072	0.135	0.386	1.003	1.309	1.734
	<i>Unidentified</i> LLA5	0.086	0.084	0.219	0.606	0.575	1.745	2.094
	<i>L. amylovorus</i> LLA7	0.039	0.039	0.068	0.177	1.416	1.043	1.735
	<i>L. crispatus</i> LLA9	0.058	0.076	0.117	0.294	0.808	1.234	1.889
0.3%	<i>Unidentified</i> LLA1	0.083 <sup>ab</sup>	0.097 <sup>a</sup>	0.085 <sup>a</sup>	0.086 <sup>a</sup>	0.094 <sup>b</sup>	0.084 <sup>b</sup>	0.087 <sup>bc</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA3	0.045 <sup>c</sup>	0.029 <sup>e</sup>	0.030 <sup>e</sup>	0.024 <sup>d</sup>	0.023 <sup>e</sup>	0.019 <sup>d</sup>	0.023 <sup>d</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA5	0.086 <sup>a</sup>	0.076 <sup>b</sup>	0.070 <sup>b</sup>	0.068 <sup>b</sup>	0.060 <sup>c</sup>	0.053 <sup>c</sup>	0.050 <sup>d</sup>
	<i>L. amylovorus</i> LLA7	0.042 <sup>c</sup>	0.035 <sup>e</sup>	0.042 <sup>d</sup>	0.053 <sup>c</sup>	0.049 <sup>d</sup>	0.053 <sup>c</sup>	0.066 <sup>c</sup>
	<i>L. crispatus</i> LLA9	0.072 <sup>b</sup>	0.062 <sup>c</sup>	0.075 <sup>b</sup>	0.089 <sup>a</sup>	0.109 <sup>a</sup>	0.118 <sup>a</sup>	0.345 <sup>a</sup>
	<i>L. vaginalis</i> LLA11	0.046 <sup>c</sup>	0.044 <sup>d</sup>	0.015 <sup>c</sup>	0.056 <sup>bc</sup>	0.065 <sup>c</sup>	0.078 <sup>b</sup>	0.092 <sup>b</sup>
0.5%	<i>Unidentified</i> LLA1	0.096 <sup>a</sup>	0.113 <sup>a</sup>	0.105 <sup>a</sup>	0.096 <sup>a</sup>	0.086 <sup>a</sup>	0.081 <sup>b</sup>	0.081 <sup>b</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA3	0.035 <sup>e</sup>	0.046 <sup>e</sup>	0.045 <sup>d</sup>	0.036 <sup>d</sup>	0.024 <sup>c</sup>	0.018 <sup>e</sup>	0.019 <sup>e</sup>
	<i>Unidentified</i> LLA5	0.086 <sup>b</sup>	0.092 <sup>b</sup>	0.077 <sup>b</sup>	0.074 <sup>b</sup>	0.086 <sup>a</sup>	0.054 <sup>c</sup>	0.056 <sup>c</sup>
	<i>L. amylovorus</i> LLA7	0.052 <sup>d</sup>	0.064 <sup>c</sup>	0.063 <sup>c</sup>	0.044 <sup>d</sup>	0.037 <sup>c</sup>	0.043 <sup>d</sup>	0.044 <sup>d</sup>
	<i>L. crispatus</i> LLA9	0.067 <sup>c</sup>	0.061 <sup>cd</sup>	0.080 <sup>b</sup>	0.092 <sup>a</sup>	0.080 <sup>a</sup>	0.101 <sup>a</sup>	0.164 <sup>a</sup>
	<i>L. vaginalis</i> LLA11	0.052 <sup>d</sup>	0.058 <sup>d</sup>	0.060 <sup>c</sup>	0.059 <sup>c</sup>	0.053 <sup>b</sup>	0.055 <sup>c</sup>	0.047 <sup>cd</sup>

<sup>1</sup>, Means with superscripts within columns differ significantly (P<0.05).

**Table 3.** Growth pattern of various *Lactobacillus* species isolated from cecal content in laying hens

Incubation time (h)	Counts of Lactobacilli (log <sub>10</sub> cfu/ml)				
	<i>Unidentified</i> LLA1	<i>Unidentified</i> LLA5	<i>L. amylovorus</i> LLA7	<i>L. crispatus</i> LLA9	<i>L. vaginalis</i> LLA11
0	7.083	7.143	7.217	5.301	6.477
6	9.753	9.270	9.340	6.447	8.255
12	9.929	10.542	9.322	7.602	10.079
18	9.724	9.875	9.462	8.204	9.699
24	7.301	9.681	9.301	8.477	9.716
36	6.000	6.000	9.633	8.301	9.000
48	5.845	5.491	9.672	7.623	8.477
60	4.301	5.204	8.000	8.114	8.602

증산에 대한 영향을 받는다고 하였는데 본 연구에서도 비슷한 결과를 나타내었다.

### 3. 성장곡선

유산균의 성장특성은 Table 3에서 보는 바와 같다. 조사된 모든 유산균이 배양직후 급격히 증가되기 시작하였는데, 배양후 12~18시간에 이르러 성장이 최대에 이르렀다. 최대성장후 감소되는 양상은 균주마다 차이를 보였는데,

미동정 유산균 2종은 배양 24시간 후에 급격히 감소하였으며, 동정된 유산균 3종은 60시간째까지 일정한 수효가 유지되었다.

## 적 요

본 연구는 유산균의 생균제적 가치를 구명하기 위하여

산란계 맹장내 유산균의 특성을 조사한 것이다. 산란계 5수를 희생하여 십이지장, 회장, 맹장, 결장내 유산균의 분포 정도를 조사하였으며, 맹장내 유산균 12 종을 형태학적으로 순수 분리하였다. 내산성은 pH 1, 2, 3, 4에서 조사하였고, 내담즙산성은 담즙산염 농도를 0, 0.3, 0.5%로 하여 조사하였다. 성장곡선은 배양 후 60시간까지 조사하였다. 내산성 조사결과 pH 1에서는 배양 직후부터 대부분의 유산균의 생존이 억제되었으며, pH 2에서는 pH 1에서 보다는 생존능력이 있었으나 배양시간이 경과하면서 직선적으로 감소하는 것으로 나타났다. pH 3에서는 대부분의 유산균이 일정한 수효가 유지되면서 생존이 지속되었다. pH 4에서도 동일한 결과를 나타내었다. 내담즙산성 조사에서 담즙산염 농도가 0 %에서는 조사된 유산균이 배양후 직선적으로 증가하였다. 0.3 %에서는 유산균 1 종만이 증식이 되는 것으로 나타났으며, 대부분의 유산균이 생존이 억제되는 것으로 나타났다. 0.5 % 수준에서도 비슷한 경향을 나타내었다. 유산균의 성장은 배양후 12~18시간에 최대성장기에 도달하였는데, 최대성장후 급격히 감소되는 유산균과 지속적으로 일정한 수효를 유지하면서 완만히 감소하는 유산균이 관찰되었다. 이상의 결과에서 산란계 맹장내 유산균은 pH에 대한 저항성은 비슷하였지만, 담즙산에 대한 저항성은 유산균주마다 차이가 있었고 성장특성도 차이가 있었다. 산란계 맹장 유산균중 생균제적 가치가 있다고 판단되는 3 종의 유산균을 선발하여 동정하였는데 *Lactobacillus amylovorus* LLA7, *Lactobacillus crispatus* LLA9 and *Lactobacillus vaginalis* LLA11였다.

(색인어 : 유산균, 맹장, pH, 담즙산, 성장곡선)

## 인용문헌

- Cerniglia GJ, Goodling AC, Hervert JA 1983 The response of layers to feeding *Lactobacillus* fermentation productions. Poultry Sci 62:1339(Abstr).
- Chateau N, Castellanos I, Deschamps AM 1994 Distribution of pathogen inhibition in the *Lactobacillus* isolates of a commercial probiotic consortium. J of Applied Bacteriology 74:36 - 40.
- Conway PL, Gorbach SL, Goldin BR 1987 Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. J of Dairy Sci 70:1 - 12.
- Fuller R 1989 Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 66:365 - 378.
- Gilliland SE, Staley TE, Bush LJ 1984 Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. J of Dairy Sci 67:3045 - 3051.
- Gilliland SE 1987 Importance of bile tolerance in lactobacilli used as dietary adjunct. In Biotechnology in the Feed Industry ed Lyons, T.P. p 149 - 155. Kentucky, USA:Alltech Feed Co.
- Goodling AC 1987 Production performance of White Leghorn layers fed *Lactobacillus* fermentation products. Poultry Sci 66:480 - 486.
- Haddadin MSY, Abdulrahim SM, Hashilamoun EAR, Robinson RK 1996 The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition of hen's eggs. Poultry Sci 75:491 - 494.
- Havenaar R, Ten Brick, B, Huis in't Veld JHJ 1992 Selection of strains for probiotic use, in Probiotics : The scientific Basis (ed R. Fuller), Chapman and Hall. London. p 209 - 224.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Ali MA, Jalaudin S 1996 Effects of adherent *Lactobacillus* spp. on *in vitro* adherence of Salmonellae to the intestinal epithelial cells of chicken. J of Applied Bacteriology 81:201 - 206.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Ali MA, Jalaudin S 1998 Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. Poultry Sci 77:1259 - 1265.
- Karasov WH 1995 Digestive plasticity in avian energetics and feeding ecology. In: Casey C, ed. Avian Energetics and Nutritional Ecology p 61 - 84. New York Chapman and Hall.
- Nahashon SN, Nakaue HS, Mirosh LW 1992 Effect of direct-fed microbials on nutrients on nutrient retention and productivity parameters of laying pullets. Poultry Sci 71(Suppl. 1):111.
- Nahashon SN, Nakaue HS, Mirosh LW 1993 Effect of direct-fed microbials on nutrients on nutrient retention and productivity parameters of Single Comb White Leghorn pullets. Poultry Sci 72(Suppl. 1):87.
- Ochi Y, Mitsuoka T, Segi T. 1964 Untersuchungen bei die darmflora des huhn. III mitteilung: die entwick -

- lung der darmflora von kken bis zum huhn Zentralblatt für Bacteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Abteilung 1, Originale 1, Reihe A 193:80 - 95.
- SAS Institute 1996 SAS/STAT Software for PC, Release 6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- Sturkie PD 1986 Avian physiology. 4th ed. 289 - 302 New York. Springer - Verlag.
- Swart D, Mackie RI, Hayes JP 1993 Fermentative digestion in the ostrich (*Struthio camelus* var. *domesticus*), a large animal avian species that utilizes cellulose. S Afr J Anim Sci 23:127 - 135.
- Tortuero F, Fernandez E 1995 Effects of inclusion of microbial cultures in barley - based diets fed to laying hens. Anim Feed Technol 53:255 - 265.
- Vandevoorde L, Christiaens H, Verstaete W 1991 *In vitro* appraisal of the probiotic value of intestinal lactobacilli. World J of Microbiology and Biotechnology 7:587 - 592.
- Watkins BA, Kratzer FH 1984 Drinking water treatment with commercial preparation of a concentrated *Lactobacillus* culture for broiler chicken. Poultry Sci 63:1671 - 1673.
- Winget CM, Ashton GC and Cawley AJ 1962 Changes in gastrointestinal pH associated with fasting in laying hen. Poultry Sci 41: 115.
- Zwilster V, Farner DS 1972 Digestion and the digestive system. In : DS Farner, Jr King. eds Avian Biology Vol. II p 343 - 430 New York Academic Press.
- 김상호, 박수영, 유동조, 장병귀, 최철환, 박용윤, 이상진, 류경선 2000a 육계 맹장 유산균의 성장특성에 관한 연구. 한국가금학회지 27:31 - 35.
- 김상호, 박수영, 유동조, 나재천, 최철환, 박용윤, 이상진, 류경선 2000b 육계 생산성 및 맹장내 미생물에 대한 유산균의 첨가효과. 한국가금학회지 27:37 - 41.
- 류경선, 박홍석, 류명선, 박수영, 김상호, 송희중 1999 생균제의 급여가 산란계의 생산성과 장내 미생물의 변화에 미치는 영향. 한국가금학회지 26:253 - 259.