

## Probiotics의 병원성미생물에 대한 길항적 억제효과

육영삼<sup>1</sup>, 이영기<sup>1</sup>, 김가연<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>단국대학교 임상병리학과, <sup>2</sup>단국대학교 치위생학과

### Antagonistic inhibitory effects of probiotics against pathogenic microorganisms *in vitro*

Young Sam Yuk<sup>1</sup>, Young ki Lee<sup>1</sup>, Ga-Yeon Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, Dankook University

<sup>2</sup>Department of Dental Hygiene, Dankook University

**요약** Probiotics와 다양한 병원성 미생물간의 혼합배양에서의 길항적 억제효과를 조사하기 위해 2016년 1월부터 12월까지 국내 김치로부터 다양한 probiotics 균주를 분리하여 16S rRNA sequencing을 통한 계통학적 분석을 통해 140주의 프로바이오틱스를 동정하였다. 이중 항균력이 우수한 probiotics 4종(*Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Lactobacillus reuteri*)과 병원성 미생물 6종 (*Candida albicans*, *Salmonella Enteritidis*, *E. coli O157:H7*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*)간의 혼합배양에서의 길항적 억제시험에서 probiotics 균주들은 대부분 배양 후에 균수가 정상적으로 크게 증가했지만 *C. albicans*를 포함하여 대부분의 병원성미생물들은 *S. Enteritidis*를 제외하고 거의 완전하게 성장이 억제되었다. 이러한 *in vitro*에서의 길항적 억제효과는 생성된 젖산과 유기산등의 낮은 pH에 의한 효과인 것으로 생각된다. 이상의 결과로 한국 김치에서 분리된 probiotics 균주 4종은 여성질환, 대장 및 피부관리 관련 치료제로써의 개발 가능성이 매우 큰 것으로 생각되며 향후 이러한 치료제는 probiotics 관련 국민건강 및 보건향상에 크게 기여할 것으로 생각된다.

**Abstract** To investigate the antagonistic inhibitory effects in a mixed culture between probiotics and various pathogenic microorganisms, 140 probiotics were identified using a 16 rRNA sequencing phylogenetic analysis method, and various probiotics strains were isolated from Korean kimchi from January to December 2016. The antagonistic inhibition test of a mixed culture of four probiotics (*Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Lactobacillus reuteri*) with excellent antimicrobial activity and six pathogenic microorganisms (*Candida albicans*, *Salmonella Enteritidis*, *E. coli O157:H7*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*) showed that the growth of most probiotics strains increased normally after culture, but growth was inhibited almost completely in most pathogenic microorganisms, except for *S. Enteritidis*. This antagonistic inhibitory effect *in vitro* was attributed to the low pH of the lactic acid and organic acid produced during fermentation. As a result, four probiotics strains isolated from Korean Kimchi are very likely to be developed as therapeutic agents for female yeast infections and colon and skin care. In the future, these therapeutic agents will help improve public health related to probiotics.

**Keywords** : Antagonistic Inhibitory Effect, *Enterococcus Faecalis*, *Lactobacillus Plantarum*, *Lactobacillus Rhamnosus*, *Lactobacillus Reuteri*, Mixed Broth Culture, Pathogenic Microorganisms, Probiotics.

\*Corresponding Author : Ga-Yeon Kim(Dankook Univ.)

email: sys-nhj@dankook.ac.kr

Received October 15, 2019

Accepted December 6, 2019

Revised November 11, 2019

Published December 31, 2019

## 1. 서론

Probiotics는 아동의 아토피, 습진, 피부염과 설사 예방 및 치료, 염증성 장염 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다[1, 2]. 건강한 여성의 질내에는 많은 종류의 유산균이 있어 건강한 질내 환경을 유지하는데 중요한 역할을 한다[3-5]. 발효야채와 유제품에서 분리된 많은 종의 probiotics는 박테리옌, 니신과 같은 항균물질을 생산함으로써 항미생물 작용을 갖고 있으며[6-11] 특히 김치에서 분리된 probiotics는 리스테리아, 황색포도상구균, 대장균 및 살모넬라균에 대한 강력한 항미생물 작용을 보인다[12]. 과거에는 유제품에서 기원한 probiotics의 관심이 높았지만 현재는 유당 불내증과 우유 알레르기증 같은 문제가 증가함에 따라 대안으로 과일, 채소 및 곡물을 기본으로 하는 기능성 probiotics 제품이 점증적으로 요구되고 있다. 김치는 100여종 이상의 probiotics가 포함되어 있으며 이중 일부만이 항균효과를 가진 것으로 보고되어 있다. 길항능력은 probiotics 평가에 있어 중요한 요소이며 장에 대한 부착 및 응집 그리고 장에 대한 병원성 박테리아 부착의 감소 및 박테리옌과 같은 항균물질의 생산을 포함한다[13-15]. 본 실험의 선행연구에서 2016년 1월부터 12월까지 국내 유통중인 김치로부터 probiotics 140주를 분리하였고 16S rRNA sequencing을 통한 계통학적 군 동정과 18종의 항균제에 대한 내성 패턴을 조사하였다[16]. 본 연구는 김치에서 분리한 probiotics와 다양한 병원성 미생물간의 혼합배양에서의 길항적 억제효과를 조사하여 향후 여성질염 및 장 질환, 그리고 각종 피부질환의 치료제로 개발하고자 한다. 이에 항균성이 우수한 것으로 알려진 *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* 및 *Lactobacillus reuteri* 4종[16,17]을 선별하여 실험을 수행하였다.

## 2. 연구방법

### 2.1 재료 및 방법

#### 2.1.1 시험 균주

2016년 1월부터 12월까지 국내에서 시판되는 김치로부터 분리-동정하여 본 실험실에서 보관중인 항균력이 우수하게 밝혀진 probiotics 4종과 여성질염 관련 진균 및 식중독균 그리고 피부상재 병원균등 총 6종을 본 실험에 사용하였다(Table 1).

Table 1. Strains and media used in this study

Strains	Medium
<i>Enterococcus faecalis</i>	MRS agar
<i>Lactobacillus plantarum</i>	MRS agar
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	MRS agar
<i>Lactobacillus reuteri</i>	MRS agar
<i>Candida albicans</i> (KCTC 7752)	PDA
<i>Salmonella</i> Enteritidis (ATCC 13076)	XLD agar
<i>Eschericia coli</i> O157:H7 (ATCC 43895)	TSA
<i>Shigella flexneri</i> (ATCC 12022)	XLD agar
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1927)	Baird-Parker agar
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1750)	Cetrimide agar

### 2.1.2 Probiotics와 다양한 병원성 미생물간의 혼합배양에서의 길항적 억제효과

Probiotics와 병원성미생물간 혼합배양에서의 경쟁적 길항 억제시험은 Denkova 등[18]과 Cunha 등[19], Ocana 등[20]의 실험방법을 따랐다.

각 병원성 균주들은 Tryptic soy agar(Difco, MI, USA)에서 균질한 집락 형성 유무를 확인한 후 Tryptic soy broth(Difco, MI, USA)에 재 접종하고 35°C, 24시간 호기성배양을 하고 균액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 균 덩어리를 멸균 생리 식염수로 2차 세척한 후 균 농도를 MacFarland scale 0.5(1.5 x 10<sup>8</sup> CFU/mL)로 조정된 후 10배 단계희석하여 사용하였다. Probiotics 균주는 MRS agar(Difco, MI, USA)에서 균질한 집락 형성 유무를 확인한 후 MRS broth(Difco)에 재 접종하고 35°C에서 24시간 미호기성(10% CO<sub>2</sub>)배양을 하고 균액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 균 덩어리를 멸균 생리 식염수로 2차 세척한 후 균 농도를 MacFarland scale 0.5(1.5 x 10<sup>8</sup> CFU/mL)로 조정된 후 10배 단계희석하여 사용하였다. 병원성미생물과 probiotics 균주를 혼합배양하기 위하여 probiotics용 배지 MRS broth(Difco)와 병원성미생물용 배양배지인 tryptic soy broth(Difco)(한편 유산균배양은 MRS broth(Difco)를 사용함)를 동량 혼합한 후 probiotics 균주를 10<sup>6</sup> CFU/mL 10 µl씩, 병원성균주는 10<sup>6</sup> CFU/mL을 10 µl, 50 µl 및 100 µl를 혼합 접종한 후 35°C에서 24시간 미호기성(10%

CO<sub>2</sub>) 배양을 한 후 24시간 후 병원성미생물과 probiotics를 균수에 맞는 배지를 사용하여 균수를 측정하였다. 혼합배양을 위하여 MRS broth(Difco)와 tryptic soy broth(Difco), Potato dextrose broth(Difco, MI, USA)를 동량 혼합한 후 probiotics는 10<sup>6</sup> CFU/mL 10 μl 씩과 10<sup>6</sup> CFU/mL 병원성미생물을 10 μl, 50 μl 및 100 μl를 접종하고 혼합하였다. 혼합한 배양액은 35°C에서 24시간 미호기성(10% CO<sub>2</sub>) 배양을 하고(단 *C. albicans*는 호기배양), 혼합한 배양액은 즉시 황색포도상구균은 Baird-Parker agar(Difco, MI, USA), 살모넬라균과 쉬겔라균은 XLD agar(Difco, MI, USA), *P. aeruginosa*는 Cetrimide agar(Difco, MI, USA) 그리고 *C. albicans*는 Potato dextrose agar(Difco, MI, USA)를 사용하여 균수를 측정하였다. 균수 측정을 위하여 균 혼합배양액은 10배 단계 희석한 후 100 μl를 배지 평판에 도말한 후 적당한 조건에서 24-48시간 배양한 후 균수를 측정하였다.

### 3. 연구결과

#### 3.1 Probiotics와 병원성미생물간의 혼합배양에서의 길항적 억제효과

Probiotics와 여성질염 원인 효모균인 *C. albicans*를 혼합액체 배지에 접종하고 측정한 결과는 Table 2와 같다. *L. plantarum* (1.8 x 10<sup>9</sup> CFU/mL), *L. reuteri* (9.5 x 10<sup>8</sup> CFU/mL), *L. rhamnosus* (8.2 x 10<sup>8</sup> CFU/mL), *E. faecalis* (1.8 x 10<sup>9</sup> CFU/mL)등은 균수가 크게 증가하였지만 *C. albicans*는 거의 검출되지 않았고 *L. reuteri*와의 경쟁성장에서는 33 CFU/mL로 적게 검출

Table 2. The competitive relationship of probiotics and *C. albicans* after 24 hours in mixed broth culture

Strains	No. of isolates(CFU* /ml)	
	initial inoculum	after 24 hours
<i>L. plantarum</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	1.8×10 <sup>9</sup>
<i>C. albicans</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	0
<i>L. reuteri</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	9.5×10 <sup>8</sup>
<i>C. albicans</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	3.3×10 <sup>1</sup>
<i>L. rhamnosus</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	8.2×10 <sup>8</sup>
<i>C. albicans</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	0
<i>E. faecalis</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	1.8×10 <sup>9</sup>
<i>C. albicans</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	0

\* presents colony forming unit

되었다. 한편, 병원성 미생물인 *S. Enteritidis*를 혼합액체 배지에 접종하고 측정한 결과는 Table 3과 같다.

*L. plantarum*(4.0 x 10<sup>9</sup> CFU/mL), *L. reuteri* (1.3 x 10<sup>7</sup>CFU/mL), *L. rhamnosus* (1.3 x 10<sup>7</sup>CFU/mL), *E. faecalis* (6.1 x 10<sup>8</sup> CFU/mL)등 모두 균수가 크게 증가 하였으며, 각각의 *S. Enteritidis*의 균수도 각각 2.6x10<sup>6</sup>, 1.1x10<sup>8</sup>, 1.1x10<sup>8</sup>, 6.0x10<sup>8</sup>로 크게 증가하는 결과를 나타내었다.

Table 3. The competitive relationship of probiotics and *S. Enteritidis* after 24 hours in mixed broth culture

Strains	No. of isolates(CFU* /ml)	
	initial inoculum	after 24 hours
<i>L. plantarum</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	4.0×10 <sup>9</sup>
<i>S. Enteritidis</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	2.6×10 <sup>6</sup>
<i>L. reuteri</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	1.3×10 <sup>7</sup>
<i>S. Enteritidis</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	1.1×10 <sup>8</sup>
<i>L. rhamnosus</i>	3.0×10 <sup>5</sup>	1.3×10 <sup>7</sup>
<i>S. Enteritidis</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	1.1×10 <sup>8</sup>
<i>E. faecalis</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	6.1×10 <sup>8</sup>
<i>S. Enteritidis</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	6.0×10 <sup>8</sup>

\* presents colony forming unit

또한 probiotics와 *E. coli* O157:H7를 혼합액체 배지에 접종하고 측정한 결과는 Table 4와 같다. *L. plantarum* (2.5 x 10<sup>8</sup> CFU/mL), *L. reuteri* (6.8 x 10<sup>8</sup> CFU/mL), *L. rhamnosus* (6.6 x 10<sup>8</sup> CFU/mL), *E. faecalis* (9.7 x 10<sup>8</sup> CFU/mL)로 유산균수는 배양후 크게 증가하였으나 *E. coli* O157:H7의 경우 *L. plantarum*에 대해서는 1.0 x 10<sup>2</sup>으로 균수가 다소 성장되었으나, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *E. faecalis*에서는 거의 균성장이 발견되지 않았다.

Table 4. The competitive relationship of probiotics and *E. coli* O157:H7 after 24 hours in mixed broth culture

Strains	No. of isolates(CFU* /ml)	
	initial inoculum	after 24 hours
<i>L. plantarum</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	2.5×10 <sup>8</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7	1.0×10 <sup>5</sup>	1.0×10 <sup>2</sup>
<i>L. reuteri</i>	1.0×10 <sup>5</sup>	6.8×10 <sup>8</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7	1.0×10 <sup>5</sup>	0
<i>L. rhamnosus</i>	1.5×10 <sup>5</sup>	6.6×10 <sup>8</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7	1.0×10 <sup>5</sup>	0
<i>E. faecalis</i>	2.0×10 <sup>5</sup>	9.7×10 <sup>8</sup>
<i>E. coli</i> O157:H7	1.0×10 <sup>5</sup>	0

\* presents colony forming unit

그리고 probiotics와 *S. flexneri*를 혼합액체 배지에 접종하고 균수를 측정한 결과는 Table 5와 같다. *L. plantarum*( $3.9 \times 10^9$  CFU/mL), *L. reuteri* ( $2.1 \times 10^8$  CFU/mL), *L. rhamnosus* ( $1.9 \times 10^6$  CFU/mL), *E. faecalis* ( $5.1 \times 10^8$  CFU/mL)등으로 대부분 균수가 크게 증가하였으나 *E. faecalis* 와의 혼합배양을 제외하고는 대부분 *S. flexneri* 성장이 100% 억제되었다.

Table 5. The competitive relationship of probiotics and *S. flexneri* after 24 hours in mixed broth culture

Strains	No. of isolates(CFU* /ml)	
	initial inoculum	after 24 hours
<i>L. plantarum</i>	$2.0 \times 10^5$	$3.9 \times 10^9$
<i>S. flexneri</i>	$1.5 \times 10^5$	0
<i>L. reuteri</i>	$3.0 \times 10^5$	$2.1 \times 10^8$
<i>S. flexneri</i>	$1.5 \times 10^5$	0
<i>L. rhamnosus</i>	$2.0 \times 10^5$	$1.9 \times 10^6$
<i>S. flexneri</i>	$1.5 \times 10^5$	0
<i>E. faecalis</i>	$1.5 \times 10^5$	$5.1 \times 10^8$
<i>S. flexneri</i>	$1.5 \times 10^5$	$4.1 \times 10^8$

\* presents colony forming unit

또한 probiotics와 *S. aureus*를 혼합배양한 후 측정된 균수 결과는 Table 6과 같다. *L. plantarum* ( $2.6 \times 10^9$  CFU/mL), *L. reuteri* ( $9.5 \times 10^6$  CFU/mL), *L. rhamnosus* ( $7.4 \times 10^7$  CFU/mL), *E. faecalis* ( $9.1 \times 10^8$ CFU/mL)등으로 대부분 균수가 크게 증가하였으나, 각각의 probiotics에 대한 *S. aureus*의 균수는 각각  $7.9 \times 10^3$ ,  $3.3 \times 10^3$ ,  $1.7 \times 10^3$ ,  $3.2 \times 10^3$  로 균수가 대부분 크게 억제되었다.

Table 6. The competitive relationship of probiotics and *S. aureus* after 24 hours in mixed broth culture

Strains	No. of isolates(CFU* /ml)	
	initial inoculum	after 24 hours
<i>L. plantarum</i>	$2.0 \times 10^5$	$2.6 \times 10^9$
<i>S. aureus</i>	$1.0 \times 10^5$	$7.9 \times 10^3$
<i>L. reuteri</i>	$3.0 \times 10^5$	$9.5 \times 10^6$
<i>S. aureus</i>	$1.0 \times 10^5$	$3.3 \times 10^3$
<i>L. rhamnosus</i>	$2.0 \times 10^5$	$7.4 \times 10^7$
<i>S. aureus</i>	$1.0 \times 10^5$	$1.7 \times 10^3$
<i>E. faecalis</i>	$2.0 \times 10^5$	$9.1 \times 10^8$
<i>S. aureus</i>	$1.0 \times 10^5$	$3.2 \times 10^3$

\* presents colony forming unit

마지막으로 probiotics와 *P. aeruginosa*를 혼합배양한 후 측정된 균수 결과는 Table 7과 같다. *L. plantarum* ( $1.7 \times 10^9$  CFU/mL), *L. reuteri* ( $8.8 \times 10^8$  CFU/mL), *L. rhamnosus* ( $1.7 \times 10^9$  CFU/mL), *E. faecalis* ( $9.7 \times 10^8$  CFU/mL)등으로 대부분 크게 균수 증가가 관찰되었으나, *P. aeruginosa* 는 전체 유산균에서 100% 억제가 관찰되었다.

Table 7. The competitive relationship of probiotics and *P. aeruginosa* after 24 hours in mixed broth culture

Strains	No. of isolates(CFU* /ml)	
	initial inoculum	after 24 hours
<i>L. plantarum</i>	$2.0 \times 10^5$	$1.7 \times 10^9$
<i>P. aeruginosa</i>	$1.0 \times 10^5$	0
<i>L. reuteri</i>	$3.0 \times 10^5$	$8.8 \times 10^8$
<i>P. aeruginosa</i>	$1.0 \times 10^5$	0
<i>L. rhamnosus</i>	$3.0 \times 10^5$	$1.7 \times 10^9$
<i>P. aeruginosa</i>	$1.0 \times 10^5$	0
<i>E. faecalis</i>	$2.0 \times 10^5$	$9.7 \times 10^8$
<i>P. aeruginosa</i>	$1.0 \times 10^5$	0

\* presents colony forming unit

결과를 요약하면, 분리된 probiotics 4종 (*Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* 및 *Lactobacillus reuteri*) 과 6종의 병원성 미생물간의 경쟁적 길항작용을 살펴보면 *C. albicans*의 경우 *L. reuteri* 균주만이 억제능이 다소 떨어지고 다른 3종의 probiotics는 거의 100% *C. albicans*를 억제하였으며, *S. Enteritidis*의 경우 모든 probiotics가 이 균을 억제하지 못하였으며, *E. coli* O157:H7의 경우 *L. plantarum*를 제외하고 거의 100% 억제능을 나타내었고, *S. flexneri* 경우는 *E. faecalis*를 제외하고 100% 억제능을 나타내었으며, 또한 *S. aureus*의 경우 모든 probiotics가 다소 적은 억제능을 보였으며, 마지막으로 *P. aeruginosa*의 경우 모든 probiotics가 100% 억제 효과를 나타내었다. 결과적으로 *S. Enteritidis* 균을 제외하고 4종의 probiotics는 *in vitro* 혼합배양에서 모든 병원성미생물들에 대해 매우 높은 길항적 억제효과를 나타내었다.

#### 4. 고찰

1994년 세계보건기구(WHO)는 오남용으로 인한 항

생체 내성문제가 심각하게 되었을 경우 probiotics가 차 세대의 가장 중요한 면역방어 기전이 될 것으로 보고 하였다[19,21]. 이러한 probiotics는 *in vitro* 및 동물 모델실험에서 면역 시스템을 개선하고 장내질환을 예방하고 치료하는 큰 능력을 가지고 있음이 점차 알려지게 되었다[18,22]. 본 실험에서는 다양한 병원성 미생물에 대한 강한 억제효과를 보이는 probiotics를 개발하기 위해 여성질염 관련 효모균, 장내세균 및 피부상재병원균등 총 6종의 병원성미생물인 *C. albicans*, *S. Enteritidis*, *E. coli* O157:H7, *S. flexneri*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*에 대한 *in vitro* 길항적 억제효과를 조사한 결과, 대부분의 병원성미생물들은 시험한 probiotics에 의해 성장이 크게 억제되었으나, *S. Enteritidis*의 경우 억제능이 상당히 떨어지는 결과가 나타났다. 대체적으로 본 실험에 사용된 병원성미생물에 대한 probiotics의 억제효과는 균종보다 차이가 있지만 매우 큰 것으로 확인되었다. 선행 해외 연구자들의 보고에 의하면 이러한 probiotics 배양균액이 *in vitro* 에서 포도알구균과 대장균을 포함한 병원성미생물들을 크게 억제하는 결과를 나타냈으며, 특히 *in vivo*에서는 장 상피세포에서의 공동응집과 흡착에 크게 영향을 준다고 하였다[15,23,24]. 또한 이러한 길항적 억제효과는 경쟁적 배제, 면역의 모돌적 조절, 숙주방어 체계 자극, pH를 낮추는 유기산이나 과산화수소의 생성, 박테리옌이나 항산화제 같은 항생제 생성, 또한 유전자발현에 변화를 촉발하는 신호물질의 생성등을 통해 유발될 수 있다고 한다[25-27]. 그러나 다른 일부의 해외 연구자들에 의하면 식품매개 병원성 세균에 대한 무균 상층액의 길항활성 연구에서 박테리옌과 과산화수소에 의한 활성보다는 생성된 젖산과 유기산등에 의한 효과가 더 큰 것으로 보고하였고 *in vivo*의 장 상피세포에서는 probiotics의 경쟁적 흡착과 응집등이 더 효과가 있었다고 하였다[13,15]]. 따라서 *in vitro*에서의 본 길항적 억제효과는 probiotics에 의해 생성된 젖산과 유기산등의 낮은 pH 효과가 크게 우선적으로 작용한 것으로 생각된다. 예외적으로 *S. Enteritidis*의 경우 probiotics에 대해 상당히 떨어지는 억제효과가 나타났는데 이것은 분리된 젖산균과 source 차이에 따라서 다른 길항작용을 나타낼 수 있음을 암시한다.

이상의 연구자료를 종합해 보면, 실험에 사용된 4종의 probiotics 중 *E. faecalis* 균을 제외하고 효모균인 *C. albicans*을 포함하여 모든 병원성미생물에 대해 매우 높은 길항적 억제효과를 나타내었다. 효과적인 치료제 개발을 위해선 추가적인 *in vivo* 관련 연구와 대상 병원성

미생물의 확대도 필요할 것으로 생각된다. 또한 선별된 항균력이 우수한 4종의 probiotics가 향후 건강기능식품으로 인정받기 위해선 항균제 치료후의 probiotics의 효과 및 대사활성, side effects, 독소생성 및 용혈 가능성, 동물연구에서의 감염성 결핍확인 등의 안전성 연구등도 꼭 필요하다고 생각된다. 이를 위해 앞으로 더 많은 기능성 유산균의 분리 및 다양한 항균성 시험과 적절한 probiotics의 치료권장 등이 요구되며 이것은 향후 치료제개발 가능성을 크게 높일 수 있을 것이라 생각된다.

## 5. 결론

probiotics와 다양한 병원성미생물(질염유발 *Candida*속, 식중독균, 기타 병원균)간의 길항적 억제시험에서 probiotics 균주들은 대부분 배양후에 균수가 정상적으로 크게 증가했지만 *C. albicans*를 포함하여 대부분의 병원성미생물들은 *S. Enteritidis*를 제외하고 거의 완전하게 성장이 억제되었다. 이러한 *in vitro*에서 probiotics와 병원성미생물간의 길항적 억제효과는 생성된 젖산과 각종 유기산등의 효과에 의한 것으로 생각된다. 이상의 결과로 김치에서 분리된 probiotics 균주 4종은 여성질염, 대장 및 피부관리 관련 치료제로써 개발 가능성이 매우 높은 것으로 생각되며 향후 발효야채 관련 probiotics의 국민적 요구에 부응하고 국민보건 향상에 기여 할 것으로 생각된다.

## References

- [1] I. A. Rather, V. K. Bajpai, S. Kumar, J. Lim, W. K. Paek, Y. H. Park, "Probiotics and atopic dermatitis: an overview", *Frontiers in Microbiology*, Vol.12, No.7, pp.507, Apr. 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00507>
- [2] E. M. Quigley, "Gut microbiota and the role of probiotics in therapy", *Current Opinion in Pharmacology*, Vol.11, No.6, pp.593-603, Dec. 2011.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/i.coph.2011.09.010>
- [3] J. A. Drisko, C. K. Giles, B. J. Bischof, "Probiotics in health maintenance and disease prevention", *Alternative Medicine Review*, Vol.8, No.2, pp.143-155, May, 2003.
- [4] Y. J. Jung, C. H. Kang, Y. J. Shin, J. S. So, "Characterization and Antifungal Activity against *Candida albicans* of Vaginal Lactobacillus spp. Isolated from Korean Women", *Korean Society for*

- Biotechnology and Bioengineering Journal*, Vol.32, No.2, pp.146-152, 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.7841/ksbbj.2017.32.2.146>
- [5] F. Nomanbhoy, C. Steele, J. Yano, P. L. Fidel, "Vaginal and oral epithelial cell anti-Candida activity", *Infection and Immunity*, Vol.70, No.12, pp.7081-7088, Dec. 2002.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.70.12.7081-7088.2002>
- [6] J. P. Tamang, B. Tamang, U. Schillinger, C. Guigas, W. H. Holzapfel, "Functional properties of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented vegetables of the Himalayas", *International journal of Food Microbiology*, Vol.135, No.1, pp.28-33, Sep. 2009.  
DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008867511369>
- [7] H. Khan, S. Flint, P. L. Yu, "Enterocins in food preservation", *International journal of Food Microbiology*, Vol.141, No.1, pp.1-10, Jun. 2010.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.005>
- [8] F. Gaggia, D. D. Gioia, R. Baffoni, B. Biavati, "The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety", *Trends in Food Science & Technology*, Vol.22, No.1, pp.58-66, Nov. 2011.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.003>
- [9] J. Jiang, B. Shi, D. Zhu, Q. Cai, Y. Chen, J. Li, M. Zhang, "Characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus sakei* L5J618 isolated from traditional chinese fermented radish", *Food Control*, Vol.23, No.1, pp.338-344, 2012.
- [10] S. S. Grosu-Tudor, M. Zamfir, "Functional properties of LAB isolated from romanian fermented vegetables", *Food Biotechnology*, Vol.27, No.3, pp.235-248, Aug. 2013.  
DOI: <https://doi.org/10.1080/08905436.2013.811082>
- [11] J. L. Patterson, A. Stull-Lane, P. H. Girerd, K. K. Jefferson, "Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *Gardnerella vaginalis* relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes", *Microbiology*, Vol.156, No.2, pp.392-399, Feb. 2010.  
DOI: <https://doi.org/10.1099/mic.0.034280-0>
- [12] F. Gaggia, D. D. Gioia, R. Baffoni, B. Biavati, "The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety", *Trends in Food Science & Technology*, Vol.22, No.1, pp.58-66, Nov. 2011.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.003>
- [13] C. M. Peres, C. Peres, H. M. Adrian, F. X. Malcata, "Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria-With an emphasis on table olives", *Trends in Food Science & Technology*, Vol.26, No.1, pp.31-42, Jul. 2012.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.01.006>
- [14] S. Pairat, P. Sudthidol, "Probiotic isolates from unconventional sources: a review", *Tjournal of Animal Science and Technology*, Vol.58, No.26, pp.1-11, Jul. 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.1186/s40781-016-0108-2>
- [15] A. R. Choi, J. K. Patra, W. J. Kim, S. S. Kang, "Antagonistic Activities and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Derived From a Plant-Based Fermented Food", *Frontiers in Microbiology*, Vol.9, No.1, pp.1-12, Aug. 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01963>
- [16] J. S. Kim, Y. S. Yuk, G. Y. Kim, "Inhibition Effect on Pathogenic Microbes and Antimicrobial Resistance of Probiotics", *Korean Journal of Clinical Laboratory Science*, Vol.51, No.3, pp.294-300, Sep. 2019.  
DOI: <https://doi.org/10.15324/kjcls.2019.51.3.294>
- [17] Ministry of Food and Drug Safety. Standards and specifications of health functional foods. Cheongju, KOR: MFDS; Notice 2014-204.  
[https://mfds.go.kr/brd/m\\_211/view.do?seq=8712](https://mfds.go.kr/brd/m_211/view.do?seq=8712)
- [18] R. Denkova, V. Yanakieva, Z. Denkova, V. Nikolova, V. Radeva, "In vitro inhibitory activity of bifidobacterium and lactobacillus strains against *Candida albicans*", *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, Vol.16, No.3, pp.186-197, Sep. 2013.
- [19] A. F. Cunha, L. B. Acurcio, B. S. Assis, D. L. Oliveira, M. O. Leite, M. M. Cerqueira, M. R. Souza, "In vitro probiotic potential of *Lactobacillus* spp. isolated from fermented milks", *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, Vol.65, No.6, pp.1876-1882, Dec. 2013.
- [20] V. S. Ocana, A. A. Holgado, M. E. Nader-Macias, "Selection of vaginal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-generating *Lactobacillus* species for probiotics use", *Current Microbiology*, Vol.38, No.5, pp.279-284, May. 1999.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/PL00006802>
- [21] A. Alok, D. Singh, S. Singh, M. Kishore, P. C. Jha, M. S. Iqbal, "Probiotics: A new era of biotherapy", *Advanced Biomedical Research*, Vol.6, No.1, pp.31, Mar. 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.4103/2277-9175.192625>
- [22] L. Peran, D. Camesco, M. Comalada, A. Nieto, A. Concha, M. P. Diaz-Ropero, M. Olivares, J. Xau, A. Zarzuelo, J. Galvez, "Preventative effects of a probiotic, *Lactobacillus salivarius* ssp. *salivarius*, in the TNBS model of rat colitis", *World Journal of Gastroenterology*, Vol.11, No.33, pp.5185-5192, Sep. 2005.  
DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i33.5185>
- [23] N. A. Soleimani, R. K. Kermanshahi, B. Y. akhchali, T. N. Sattari, "Antagonistic activity of probiotic lactobacilli against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis", *African Journal of Microbiology Research*, Vol.4, No.20, pp.2169-2173, Oct. 2010.
- [24] S. Fijan, Antimicrobial Effect of Probiotics against Common Pathogens, In: Rao V, Rao LG(des) Probiotics and prebiotics in Human Nutrition and Health. InTech, 2016, pp.191-221.
- [25] M. R. Hesari, R. K. Darsanaki, A. Salehzadeh, "Antagonistic Activity of Probiotic Bacteria Isolated from Traditional Dairy Products against *E. coli* O157:H7", *Journal of Medical Bacteriology*, Vol.6,

No.3-4, pp.23-30, 2017.

- [26] C. Prabhurajeshwar, R. K. Chandrakanth, "Probiotic potential of Lactobacilli with antagonistic activity against pathogenic strains: An in vitro validation for the production of inhibitory substances", *Biomedical Journal*, Vol.40, No.5, pp.270-283, Oct. 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/i.bi.2017.06.008>
- [27] T. P. Singh1, G. Kaur, S. Kapila, R. K. Malik, "Antagonistic Activity of Lactobacillus reuteri Strains on the Adhesion Characteristics of Selected Pathogens", *Frontiers in Microbiology*, Vol.21, No.8, pp.1-8, Mar. 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00486>

김 가 연(Ga-Yeon Kim)

[정회원]



- 2005년 2월 : 고려대학교 보건대학원(보건학석사)
- 2012년 2월 : 단국대학교 보건대학원(보건학박사)
- 2015년 3월 ~ 현재 : 단국대학교 치위생학과 교수

<관심분야>

구강미생물학, 보건위생학, 항생제내성

육 영 삼(Young Sam Yuk)

[정회원]



- 1994년 8월 : 단국대학교 일반대학원 미생물학(이학석사)
- 2016년 8월 : 단국대학교 보건대학원(보건학박사)
- 2016년 8월 ~ 현재 : 단국대학교 임상병리학과 교수

<관심분야>

일반미생물, 유전학, 공중보건학

이 영 기(Young Ki Lee)

[정회원]



- 1993년 3월 : 단국대학교 일반대학원 미생물학(이학석사)
- 2000년 8월 : 단국대학교 일반대학원 미생물학(이학박사)
- 2005년 ~ 현재 : 단국대학교 보건과학대학 임상병리학과 교수

<관심분야>

환경미생물, 항생제내성, 보건위생학