

초청강연 논문 V

발효유의 건강증진 효과와
젖산균의 미세캡슐화

이 경 욱 박사
(서울우유 기술연구소)

발효유의 건강증진 효과와 젖산균의 미세캡슐화

이경욱

서울우유 기술연구소

I. 서론

발효유는 Phoenicia시대 이전부터 동지중해지역에서 유래되어 중동부 유럽지역으로 전파되었으며, 오늘날 전세계적으로 그 가치가 인정되어 소비가 급증하고 있다(Kosikowski, 1977). Metchnikoff(1907)는 신체는 장내균총의 이상 조성에 의해서 서서히 독소가 축적되고 약해져서 죽음에 이른다고 주장하면서 최초로 발효유의 음용이 건강에 유익하다고 하였다. 즉 발효유의 음용으로 장내에 lactobacilli를 증가시켜 산생성을 증가시키므로써 유해균이 사멸되고 유익균의 대사산물 등에 의해 여러 질병이 극복될 수 있다고 주장하였다. 장관내 lactobacilli는 장내균총을 이상으로 유지하는데 중요한 역할을 한다. 이런 장내균총의 조화로운 조성을 위해서는 장관에 살아서 도달될 수 있는 lactobacilli의 공급이 중요하다(Alm, 1991). 젖산발효에 의해 식품의 저장성과 안전성을 증진시켜주는 젖산균은 장내 유해 미생물을 억제하여 장의 건강을 증진시킬 뿐만 아니라 인체건강을 증진시키는 여러가지 생리활성기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 건강한 사람의 장내 미생물균총은 질병이나 항생제 투여 등에 의하여 균형을 잃어버릴 수 있다. 장내에 유해 미생물이 증가하면 소화불량이나 복부 팽만 등의 증상이 나타나며 이러한 증상에 대한 예방 및 치료제로 젖산균제제가 사용되어 왔으며 우유나 젖산균 발효유의 섭취가 권장되어 왔다.

II. 발효유의 종류와 젖산균

발효유는 원료, 고형분, 미생물, 지역 등에 따라 그 형태가 대단히 많으나, 최종발효산물의 종류에 따라 분류하면 2가지로 크게 나눌 수 있으며 Table 1에서 보는 바와 같다(김 등, 1982).

Alm(1991)에 의하면 발효유 제조에 사용되는 젖산균을 Table 2에서 보는 바와 같이 두 가지로 나눌 수 있으며 첫 번째는 단지 우유성분의 분해, 젖산의 생산 및 기호성의 증진 기능만 수행하며, 둘째로는 치료용 젖산균으로서 위산이나 담즙에 대한 내성이 뛰어나고 장에 도달하여 정착하는 생균으로서 건강에 유익한 활동을 하는 종류들이다.

III. 발효유의 건강증진 효과

1. 장내균총에 미치는 영향

소화기관에서 젖산균의 생존에 관해 많은 연구가 이루어졌다(Pacini 등, 1979; Besnier 등, 1983). 요구르트를 섭취한 후 분변에서 살아있는 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*를 확인하였으며(Salvadori 등, 1973), 3~20개월령의 유아 9명에게 하루에 요구르트 100g에 해당하는 *L. bulgaricus* 와 *S. thermophilus* 10^{11} cfu를 15일간 먹인 후 마지막 날에 분변에서 *L. bulgaricus* 와 *S. thermophilus*를 분리하였다(Bianchi Salvadori 등, 1978). Goodenough와 Kleyn(1976)은 rat에 요구르트를 먹인 후 rat을 해

부하여 위, 십이지장, 공장을 조사한 결과, 위에서 1시간만에 10^7 cfu/ml의 젖산균이 발견되었으며, 십이지장에서는 2시간 후에 10^7 cfu/ml, 공장에서는 3시간 후에 10^6 cfu/ml가 발견되었으며 시간이 경과함에 따라 점차 감소되는 경향을 나타내었다. Pacini 등(1979)의 보고에 의하면 mouse에 30일간 하루 2회 1ml의 요구르트를 강제 급여한 결과 급여 중에는 맹장에서 내용물 1g당 10^7 cfu의 *L. bulgaricus*가 확인되었다. 또한 germ-free mouse에서 *L. bulgaricus*를 투여한 경우 Fig. 1에서 보는 바와 같이 장에 잘 정착된 것을 볼 수 있으며, Table 3에서 보는 바와 같이 *L. bulgaricus*의 경우 소장보다 대장에 잘 정착되는 것으로 나타났다(Bianchi Salvadori 등, 1984).

어린 송아지의 사료에 *L. acidophilus* NCFM과 *L. acidophilus* C-28을 급여한 결과 *L. acidophilus* NCFM의 경우에는 대조구에 비하여 1일과 7일에는 분변 내의 수에 차이가 없었으나 14일 후에는 약간 증가하였다. 또한 *L. acidophilus* C-28을 급여한 경우에는 급여 1일째는 차이가 없었으나 7일부터는 급격히 증가하였다(Gilliland와 Bruce, 1980). 성인남자에게 *L. acidophilus*를 첨가한 우유를 먹인 경우, 먹는 중에 분변에서 lactobacilli가 증가한 반면 coliform이나 anaerobic lactobacilli는 변화하지 않았다. 시료의 급여를 중단한 후에 lactobacilli는 감소하였다(Gilliland 등, 1978). Lidbeck 등(1987)의 보고에 의하면 Fig. 2에서 보는 바와 같이 건강한 사람 10명에게 7일간 *L. acidophilus* NCDO1748이 1ml당 $5 \times 10^8 \sim 2 \times 10^9$ cfu 함유된 발효유를 250ml씩 하루 2회 음용시킨 결과, 장내균총이 변화하였다. *E. coli*는 감소한 반면 lactobacilli는 급증하였으며, 공급을 멈춘 후에는 다시 원래 수준으로 환원되었다고 하였다. 또한 Anrné 등(1995)은 Table 4와 같이 *L. rhamnosus* DSM6594를 mouse에 하루 200ml씩 투여한 결과 7일 후에 *L. rhamnosus* DSM6594가 분변에서 급증하였다고 보고하였다. Johansson 등(1993)은 Table 5에서 보는 바와 같이 lactobacilli가 5×10^6 cfu/ml이 들어 있는 시료를 일일 100ml씩 10일간 투여한 경우 공장과 직장에서 lactobacilli가 증가된 것을 보고하였으며, Goldin 등(1992)은 *Lactobacillus* GG를 투여한 결과 Table 6에 나타난 바와 같이 분변에서 *Lactobacillus* GG가 검출되었다.

2. 설사

Niv 등(1963)은 한살 이하의 45명의 어린이를 대상으로 요구르트와 항생제를 복용시켜 회복율을 조사하였다. 요구르트는 100ml씩 하루 3회 복용하였으며 항생제는 neomycin-kaolin-pectin 한 찻숟가락(neomycin sulfate 50ml, kaolin 15g, pectin 0.3g)을 복용시킨 결과 Table 7에서 보는 바와 같이 1일에서 3일 사이에 회복자의 수는 요구르트를 복용한 경우에 21명이었으며, 항생제를 복용한 경우에는 7명이었다. Salvadori와 Bianchi Salvadori(1973)는 성인을 대상으로 하루 250ml의 요구르트를 4주간 복용시킨 결과 장내균총 중에 *E. coli*를 비롯한 enterobacteria가 감소되었으며 중온성 젖산균이 증가되었다고 보고하였다. Bianchi Salvadori 등(1978)에 의하면 3~20개월령의 유아에게 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*를 각각 10^{11} cfu씩 15일간 복용시킨 결과 장내균총 중에 젖산균과 bifidobacteria가 증가한 반면 enterobacteria는 변하지 않았다.

Fig. 3은 Hitchins 등(1985^a)이 *Salmonella enteritidis*를 감염시킨 rat에 우유와 요구르트를 급여한 실험결과로 우유보다 요구르트를 급여한 구에서 폐사율이 감소하였으나 salmonellosis를 예방할 수는 없었다. 또한 사료효율과 증체율에서도 Table 8과 Table 9에서 보는 바와 같이 우유를 급여한 구에 비하여 요구르트를 급여한 구가 우수함을 보고하였다.

또한 Hitchins 등(1985^b)의 보고에 의하면 *Salmonella enteritidis*를 감염시킨 rat에 각각 7일간 우

유와 우유, 우유와 요구르트, 요구르트와 우유 및 요구르트와 요구르트를 급여한 결과 요구르트와 요구르트를 급여한 구에서 생존율이 가장 높았다. *L. bulgaricus*는 anti-*E. coli* enterotoxin 활력을 나타내었으며(Mitchell과 Kenworthy, 1976), *In vitro* 실험결과에 의하면 *S. thermophilus*는 병원균에 대해 시험관에서 억제효과를 나타내었다.(Dubois 등, 1982; Pulusani 등, 1979; Rao 등, 1981).

3. 암과 젖산균

발효유제품을 음용하면 암의 발생을 줄일 수 있으며 암의 진행을 억제할 수 있는 것으로 알려져 있다. 발효유제품이나 젖산균의 항암효과에 대하여 많은 학자들이 다양한 실험을 통하여 그 기작을 밝히고자 하였으나 직접적인 기작을 밝히는 데는 실패하였다. 그러나 간접적인 기작에 대한 연구는 상당한 진척을 이루었다. 일반적으로 암과 젖산균과의 관계는 두 가지 측면에서 살펴볼 수 있다.

먼저 젖산균과 암과의 직접적인 관계와 다음으로는 암을 유발시키는 환경과의 관계이다.

1) 직접적인 관계

암과 젖산균 또는 발효유제품과의 관계는 젖산균이나 발효산물 중의 일부가 암세포의 증식을 억제하거나 암세포를 파괴하는 것으로 알려져 있다. 젖산균의 항암효과는 생균체나 사균체 모두 효과 있는 것으로 나타났다(Kato 등, 1981; Kato 등, 1983). 또한 lactobacilli의 세포벽물질도 효과가 있는 것으로 보고되었다(Bogdanov 등, 1975). Friend 등(1982)은 Table 10에 나타나 바와 같이 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*의 항암실험에서 초음파로 분쇄한 세포의 수용성 부분에서는 효과가 인정되지 않았으나 물에 불용성인 부분에서는 효과가 인정되었다고 보고하였다. 또한 이러한 결과는 *Streptococcus thermophilus*와 *Bifidobacterium infantis*에서도 같은 결과가 나타났다(Friend 등, 1982; Kohwi 등, 1978; Kohwi 등, 1982). 그러나 Ayebo 등(1981)은 요구르트를 투석하여 dialyzate와 retentate에 대하여 항암효과를 실험한 결과 dialyzate에서는 효과가 나타났으나 retentate에서는 효과가 나타나지 않았다. 즉 이 실험에서는 12,000에서 14,000분자량에서 투석을 실시하여 그 이하의 분자량을 가진 물질에서 효과가 인정되었다고 할 수 있었다. 궁극적으로는 세포벽물질의 peptidoglycan의 muramyl dipeptide와 그 유도체들이 암을 억제하는 효과를 발휘하는 것으로 현재까지는 밝혀져 있다(Penn 등, 1985).

Reddy 등(1983)은 Swiss mice에 Ehrlich ascites tumor cell을 발생시켜 요구르트, 우유, 젖산을 투여한 결과, 암의 진행과정을 Table 11에 나타났다. 암의 억제효과는 요구르트에서 월등히 높게 나타났으며 우유와 젖산을 투여한 구에서는 효과가 인정되지 않았다. 젖산균에 의한 항암효과는 단기간에는 효과가 인정되고 있지만 장기간에는 그 효과가 없는 것으로 알려져 있다. 즉 암이 진행되어 악화되는 경우에는 효과가 인정되지 않은 것으로 보고되었다. 장기간의 투여시 Fig. 4에 나타난 바와 같이 궁극적인 치사율에서는 변화를 나타내지 않았다.

2) 환경과의 관계

젖산균과 암과의 관계에서 환경적인 접근방식으로는 체내에서의 carcinogen의 생산에 대한 문제이다. 즉 체내에 존재하는 procarcinogen을 carcinogen으로 변형시키는 각종 효소의 생산을 억제하거나 carcinogen을 흡수하여 체내에서의 암발생을 방지하는 것이다. 여기에 관계되는 효소로는 각종 reductase로서 nitrate reductase, azoreductase, β -glucuronidase, nitroreductase 등을 들 수 있다. 또한 bile salt가 2차 유도체를 형성하여 colon carcinogenesis로 작용을 하여 암을 유발하는데 젖산균은

이 반응을 차단하여 암발생을 억제하는 역할을 한다. Fig. 5는 *Lactobacillus acidophilus*에 의한 반응차단을 보여주고 있다(Fernandes와 Shahani, 1990). 닭을 14일간 사료에 변화를 주어 실시한 Cole 등(1984)은 Table 12와 같이 맹장에서의 β -glucuronidase의 활성이 요구르트를 급여한 구에서 가장 낮게 나타난 실험결과를 보고하였다.

Carcinogen의 흡수에 관하여서는 자세한 기작은 밝혀지지 않았지만 젖산균이 carcinogen을 흡착하는 것으로 추론하고 있다. 이러한 흡착효율은 carcinogen의 종류나 젖산균의 종류에 따라 다르게 나타난다. 또한 반응이 일어나는 환경의 조건도 중요한 요인이다. Fig. 6은 *L. acidophilus*와 *B. longum*의 여러가지 carcinogen의 종류 및 반응 pH에 따른 흡착율을 나타낸 것이다. 젖산균의 종류, carcinogen의 종류 및 반응 pH에 따라 흡착율이 다른 것을 알 수 있다. Zhang과 Ohta(1991)에 의하면 이러한 흡착은 순수하게 물리적인 결합으로 세포벽에 존재하는 peptidoglycan과 polysaccharide가 가장 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다.

4. 콜레스테롤과 젖산균

발효유제품의 음용이 혈중 콜레스테롤 수준을 감소시킨다는 많은 연구가 보고되었다(Grunewald, 1982; Mann과 Spoerry, 1974). 발효유제품의 콜레스테롤 저하기작은 HMG(hydroxymethylglutarate)에 의한 acetate로부터의 콜레스테롤합성의 차단으로 설명되기도 하였으며 또한 Ca, lactose, orotic acid 등이 콜레스테롤의 합성을 차단한다고 주장하기도 하였으나 정확한 기작은 밝혀지지 않았다. 또한 젖산균이 담즙산을 2차담즙산으로 변환시켜 지방의 유화를 방지하므로써 지방의 흡수를 차단한다는 설도 있다.

Mann과 Spoerry(1974)의 보고에서는 사람에게 *Lactobacillus* spp.로 발효한 발효유를 급여한 경우 혈중 콜레스테롤 수준이 감소하였으며, Tortuero 등(1975)은 병아리에 *L. acidophilus*를 급여한 결과 대조구에 비하여 혈중 콜레스테롤 수준이 낮게 나타났다고 보고하였다. *L. acidophilus*를 유아에게 급여한 결과 혈중 콜레스테롤 수준이 감소하였으며, 감소되는 양은 분변 lactobacilli의 증가수준과 비례하였다(Harrison과 Peat, 1975). Mann(1977)은 성인에게 매일 전유로 만든 요구르트를 2 또는 4l 씩 12일간 급여시킨 결과 Table 13에서 나타난 바와 같이 혈중 콜레스테롤 수준은 16일과 20일 사이에 최소로 감소하였으며 28일 이후에는 원래의 수준으로 되돌아갔다. 또한 12일간 탈지유로 만든 요구르트를 급여한 결과 혈중 콜레스테롤 수준은 더욱 낮게 떨어졌으며, 우유를 급여한 경우에는 큰 변화가 없었는데 그 이유로서 요구르트에 acetate로부터 콜레스테롤합성에 관여하는 hydroxymethylglutaryl CoA reductase의 활성을 억제하는 HMG가 존재한다고 주장하였다.

또한 Nair와 Mann(1977)은 albino sprague-Dawley rat으로 실험한 결과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 HMG가 함유된 구에서 혈중 콜레스테롤수준이 저하됨을 알 수 있었으며 그 결과 HMG가 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 인자라고 보고하였다.

또한 탈지유의 경우에는 전유나 요구르트에 비하여 감소된 지방의 함량에 비례하여 콜레스테롤 수준이 감소되었으나, 혈중 triglyceride의 수준은 3구 모두 감소하였다고 보고하였다. *L. acidophilus*로 발효한 우유를 rat에게 급여한 결과 급여하지 않은 대조구에 비하여 혈중 콜레스테롤 수준이 감소하였다(Grunewald, 1982). 16명의 젊은 여성을 대상으로 최초 일주일간은 1%의 지방이 함유된 요구르트 750g를 하루 3회 공급하고 다시 1주일간 일반식을 공급하고 이후 1주일간은 250mg의 탄산칼슘을 하루

3회 공급하였으며 그 후 일반식을 공급하여 실험을 실시한 결과 요구르트를 투여한 구에서는 혈중 콜레스테롤 수준이 감소하였으며, 요구르트와 칼슘을 투여한 구에서는 HDL(high density lipoprotein)-cholesterol이 증가하였으며 HDL-cholesterol/total cholesterol의 비율도 증가하였다 (Bazzarre 등, 1983). Gilliland 등(1985)은 *L. acidophilus*가 소장에서 콜레스테롤을 흡수한다고 보고하였다.

Akalin 등(1977)은 mouse를 대상으로 대조구, 요구르트, acidophilus요구르트를 급여한 결과 Table 14에서 보는 바와 같이 혈중 콜레스테롤 수준이 acidophilus요구르트를 급여한 구에서 가장 낮게 나타났다. De Smet 등(1994)은 BSH(Bile-Salt hydrolase)의 활성을 가진 *Lactobacillus* spp.가 혈중 콜레스테롤 수준을 저하시킨다고 보고하였으며, De Smet 등(1995)은 또한 BSH 활성은 내담즙성의 중요한 요인이라고 주장하였다. Toit 등(1998)은 돼지분변에서 분리한 297종의 lactobacillio로부터 3종의 BSH활성이 높은 균주를 분리하였으며 이 3종의 혼합제품을 급여한 경우 Table 15에서 보는 바와 같이 혈중 총콜레스테롤의 수준이 감소됨을 알 수 있었다.

5. 성장촉진효과

대부분의 연구자들이 실험동물을 이용하여 요구르트의 성장촉진효과에 대한 많은 연구를 수행하였으며, 그의 몇몇 연구자들은 유아를 대상으로 실시하였다. 이들 연구결과에 의하면 *L. acidophilus*를 첨가한 경우에 성장촉진효과가 인정되었다(Deeth, 1984). Rat에게 3% 탈지분유를 첨가하고 철분, 구리 및 비타민을 강화한 우유와 그 우유로 만든 요구르트, 그리고 이들을 각각 동결건조시킨 식이를 4주간 자유급여한 결과 Table 16에 보는 바와 같이 동결건조한 요구르트를 급여한 구가 가장 우수한 성장촉진효과를 나타내었으며 전체적으로 요구르트를 급여한 구가 우유를 급여한 구보다 성장촉진효과가 우수한 것으로 나타났다(McDonough 등, 1982)

Wong 등(1983)은 rat를 대상으로 4주간 실험한 결과 요구르트를 급여한 구에서 우유를 급여한 구보다 증체량과 사료효율이 우수한 것으로 나타났다. 또한 우유에 요구르트의 젖산균을 10^8 cfu/ml 정도로 첨가하여 급여한 경우에도 우유를 급여한 경우보다 우수하였으며, 우유에 *S. thermophilus*를 첨가하여도 유사한 결과가 나타났다. 그러나 이 경우에는 첨가되는 균수가 10^7 cfu/ml 이상이 되어야 성장촉진의 효과가 인정되었다. 또한 우유에 똑같은 방법으로 *L. bulgaricus*를 첨가한 경우에는 성장촉진효과가 인정되지 않았다. 그러므로 *S. thermophilus*가 rat에 가장 우수한 성장촉진효과가 있는 것으로 보고하였다. Broussalian과 Westhoff(1983)은 rat를 대상으로 3주간 실험을 실시하였으며 요구르트와 우유 그리고 유당을 분해한 우유와 요구르트 등을 급여 시험하였다. 우유를 급여한 구보다는 요구르트를 급여한 구에서 성장촉진효과가 우수하였으며 첫 1주간은 요구르트를 급여한 구에 비하여 유당이 분해된 식이를 급여한 구에서 성장촉진효과가 우수하였다. 그러나 2주째는 요구르트를 급여한 구와 유당을 분해한 식이를 급여한 구와 유사한 결과를 나타내었으며, 3주째는 모두 유사한 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 우유를 급여한 구에서 첫 2주간에 설사가 유발되는 경우가 발생한 것과 관계가 있는 것으로 해석하였으며, 요구르트를 급여한 구에서는 유산균에 의해서 유당불내증이 완화된 것으로 해석하였다. Vass 등(1984)의 보고에 의하면 전체적인 단백질, 지방, 탄수화물 등의 영양소를 동일하게 처리하여 rat에게 케이션, 우유, 요구르트를 급여한 경우, 성장촉진효과에 있어서 요구르트를 급여한 구가 가장 우수하였으며 케이션을 급여한 구가 가장 좋지 않았다.

IV. 젖산균의 pH와 담즙산에 관한 내성

Probiotic에 사용되는 미생물로서 가져야할 조건은 먼저 건강한 사람의 장내에 정상균총으로 존재해야 하며 또한 정상적으로 유의한 기능을 발휘하기 위해서는 위와 소장 상부에서 살아남아 소장과 대장에 도달할 수 있어야 한다. 즉 살아서 장에 도달되어 그곳에서 정착하고 성장할 수 있어야 한다. 사람의 장내 미생물 균총이 비정상적으로 되는 것을 방지하기 위하여 미생물의 접근을 조절하는 여러 기구가 있다. 위에서는 염산으로 위의 pH를 조절하여 미생물의 접근을 억제하며 lysozyme과 같은 미생물 세포벽분해 효소를 분비하여 미생물을 사멸시키고 췌장에서는 담즙산을 분비하여 surface tension을 낮추어 미생물을 사멸시킨다. 그러므로 장내 정상균총일 경우 이러한 장요소들을 극복하고 장에 도달될 가능성이 증가한다. Lactobacilli는 사람의 장내 정상균총의 하나이다(Haenel, 1970; Mitsuoka, 1969). 요구르트에 사용되는 주요 젖산균의 pH내성에 관한 연구 결과 37°C에서 pH3에서의 내성은 중간 차이가 있으며, *L. casei*가 가장 강한 내성을 나타내어 3시간 후에도 생존하였으나, *L. acidophilus*와 *L. plantarum*은 유사한 경향을 나타내었고 *L. bulgaricus*는 1시간도 견디지 못하고 사멸되었다(Yakult, 1971). Alm과 Pettersson(1980)의 보고에 의하면 butter milk, 요구르트 및 acidophilus milk에 존재하는 젖산균을 대상으로 위액에서의 생존율을 in vitro 상으로 실험한 결과 acidophilus milk에서 유래된 젖산균이 가장 강한 내성을 나타내었고, 요구르트, butter milk의 순으로 강한 내성을 나타내었다. *Lactobacillus* GG와 *L. bulgaricus*를 위액의 pH를 변화시켜서 내성을 조사한 결과 Table 17에서 나타난 바와 같이 *L. bulgaricus*는 pH3.0에서 0, 30, 60, 120, 180, 240분 실험한 결과 생존수가 지수로 7.43, 6.24, 5.23, 3.17, 2.60, 2.30으로 감소하였으며, pH1.0에서는 최초 4.0이하에서 시간 경과에 따라 완전히 사멸되었다. 그러나 *Lactobacillus* GG의 경우에는 pH3.0에서는 8.51, 8.62, 8.31, 8.30, 8.30, 8.30으로 거의 사멸되지 않고 유지되었으나 pH1.0에서는 *L. bulgaricus*와 동일한 결과를 나타내었다(Goldin 등, 1992). Lankaputhra와 Shah(1995)의 연구에 의하면 *L. acidophilus* 6종류와 bifidobacteria 6종류에 대하여 pH 내성을 실험한 결과 *L. acidophilus*가 전반적으로 bifidobacteria보다 pH내성이 우수하였다. 특히, *L. acidophilus* 2409의 경우에는 pH1.5에서도 log₁₀ 4 이상의 생존을 나타내었다. Fig. 8은 Berrada 등(1991)이 발효유를 섭취한 이후 사람의 위에서 이동하는 시간을 조사한 것으로 이때 90분이 지나면 발효유의 80% 이상이 이동한다고 보고하였으며 이를 기본으로 in vitro 상에서 위액 내 *Bifidobacterium* spp.의 내산성을 조사한 결과 Fig. 9에 나타난 바와 같이 한 종류는 90분간 처리시 10⁸cfu/ml를 첨가하여 10⁷cfu/ml의 생존을 보인 반면, 다른 한 종류는 급격한 사멸을 보였다. 또한 in vivo 실험이 in vitro 실험보다 감소속도가 떨어졌으며 종류별 차이는 비슷하게 나타났다. 또 다른 연구에서는 성인에게 bifidobacteria를 먹인 후 회장에서 조사한 결과, 10.0±0.5 log₁₀의 bifidobacteria를 먹인 후 8시간 후에 회장 말단부에서 9.0±0.1 log₁₀의 bifidobacteria가 나타났었다(Pochart 등, 1992)

Albus(1928)는 lactobacilli의 낮은 표면장력에 대한 내성을 실험하기 위하여 액체배지에 sodium ricinoleate를 첨가하여 표면장력을 45.6, 42.6 및 40.4dyne으로 조절하여 실험을 실시하였는데 *L. bulgaricus*는 17균주 모두 40.4dyne에서 성장하지 못하였으며, *L. acidophilus*는 15균주 모두 40.4dyne에서 잘 성장하였다. 또한 *L. bifidus*는 역시 40.4dyne에서 성장하였고, *L. casei*는 42.6dyne에서도 성장하였다. Gilliland와 Speck(1977)의 보고에 의하면 젖산균을 LBS배지와 0.15%의 Ovgall을 첨가한 LBSO배지에서의 성장을 비교한 결과 *L. bulgaricus*, *L. lactis*는 성장하지 않았으며, *L. acidophilus*, *L. brevis*,

L. casei, *L. plantarum* 및 *L. fermentum*은 성장하여 장내 정상균총임을 보여주었다. Lankaputhra와 Shah(1995)는 *L. acidophilus*와 bifidobacteria 모두 bile salt에 대한 내성이 우수하여 1.5% bile에서도 3시간이상 거의 사멸되지 않고 유지됨을 보고하였다.

V. 젖산균의 미세캡슐화

1. 미세캡슐의 역사

미세캡슐화는 미세한 고체입자나 액체 또는 기체에 얇은 막을 입혀서 외부환경으로부터 보호하거나 원하는 시점에서 방출시키는 것을 목적으로 한다. 미세캡슐화 기술은 1930년대에 미국의 National Cash Register에 의해 carbonless carbon paper의 개발에 최초로 산업적으로 응용되었다(Fanger, 1974). 제약산업에서는 1931년 젤라틴을 이용하여 약품을 미세캡슐로 만들었으며(Deasy, 1984), 1950년대에 Wisconsin대학교의 Dale Wurster박사는 Fluidized bed system을 이용한 미세캡슐화 공정을 개발하였다(Dziezak, 1988). 식품산업에서는 Griffin(1951)이 solid oil concentrate를 제조함으로써 시작되었다.

2. 젖산균의 미세캡슐화

젖산균의 미세캡슐화는 starter culture의 저장성을 증진시킬 수 있다(Kim 등, 1988). Lim(1984)에 의하면 살아있는 생물체의 미세캡슐화에 사용되는 피복물질은 세포에 손상을 주는 독성이 없어야 하며 영양물질이나 세포의 대사산물이 통과할 수 있도록 반투과성이어야 하며, 외부의 물리적인 힘에 대한 내구성이 있어야 한다고 하였다. Lim과 Moss(1981)는 생체세포를 sodium alginate를 이용하여 calcium alginate 캡슐을 제조하였으며 캡슐화된 rat의 pancreatic islet은 캡슐내부에서 인슐린을 분비하였으며, 이들은 적혈구, hepatoma 세포, 정충세포 등을 캡슐화하는데 성공하였다. Tipayan과 Kozaki(1982)는 *Lactobacillus* sp.를 alginate bead로 캡슐화하였으며 이때에도 발효가 진행됨에 따라 점차 캡슐내 미생물 수는 증가한다고 보고하였다. 그리고 Lacroix 등(1990)은 *Lactobacillus casei*를 kappa-carrageenan과 locust bean gum의 혼합액으로 캡슐화하였으며 역시 발효시 캡슐내 미생물이 증가한다고 하였다. *Streptococcus lactis*와 *Streptococcus cremoris*를 calcium alginate를 이용하여 캡슐화한 경우에는 bacteriophage로부터 보호되는 현상이 나타났으며 이는 alginate gel이 bacteriophage로부터 물리적으로 세포를 보호하기 때문이다.(Steenson 등, 1987). 또한 캡슐화된 균주를 이용하여 정치발효시켰을 경우 단백질분해력이 감소하였으며 산생성력도 감소하였으나 배양액을 교반시켰을 때는 기질과의 접촉이 증가하기 때문에 이들 분해력이 증가하였다. 김(1991)의 보고에 의하면 *L. acidophilus* IFO3205를 calcium alginate로 캡슐화한 결과, 실온에서 3주까지 캡슐내 미생물이 생존하였으며 이후 생존율이 점차 감소하여 9주에는 85%의 생존율을 나타내었으며, 10주에는 57%로 감소하여 13주까지 유사한 수준을 유지하였다고 보고하였다. Sheu와 Marshall(1993)은 *L. bulgaricus*를 calcium alginate gel로 미세캡슐화하면 크기는 직경 25~35 μ m의 구형이었으며 캡슐내에 젖산균이 균일하게 분포되어 있었다. 캡슐의 직경은 사용되는 sodium alginate의 농도에 따라 변하였으며 농도가 증가함에 따라 점도가 증가되어 혼합에 따른 유화력의 감소에 기인된 것으로 보고하였다. 이 캡슐을 ice milk의 제조시 사용하였을 때 대조구에 비하여 40% 이상의 생존율 증가를 보고하였다.

Hyndman 등(1993)은 젤라틴을 이용하여 *Lactococcus lactis*를 미세캡슐화 하였다. 이때 캡슐의 크기는 상분리에 따라 상이하였다. 해바라기씨 기름을 사용한 경우에는 124 \pm 74 μ m로, 실리콘오일을 사

용한 경우에는 직경 $271 \pm 168 \mu\text{m}$ 로 나타났다. 또한 발효시험에서 캡슐내에서 미생물의 생장이 관찰되었으며 캡슐내의 미생물농도는 $10^9 \text{cfu}/\text{cm}^3$ 이었다. 그리고 이를 이용하여 우유를 발효시킨 경우 pH5.5까지 도달하는데에 2.8시간이 걸렸으며 캡슐화하지 않은 발효와 거의 차이가 없었다. Kim 등(1988)은 젖산균을 sodium alginate, CMC, PEG 및 PVAP로 피복하였으며 이들을 대조구와 함께 온도별로 보존하면서 생존율을 조사한 결과 캡슐화한 구에서 생존율이 크게 향상되었다고 보고하였다. 또한 *Lactobacillus plantarum*을 polyvinyl acetate phthalate(PVAP)를 이용하여 캡슐을 제조한 경우에는 Table 18에 나타난 바와 같이 낮은 pH에서의 생존력이 향상되었다. 즉 캡슐화하지 않은 경우에는 pH2.0에서 6시간 방치시 최초 $5.0 \times 10^8 \text{cfu}/\text{g}$ 에서 $1.0 \times 10^2 \text{C.F.U}/\text{g}$ 으로 감소하였으나 캡슐화한 경우에는 최초 $4.6 \times 10^{10} \text{cfu}/\text{g}$ 에서 $4.4 \times 10^{10} \text{cfu}/\text{g}$ 으로 생존율이 감소하지 않고 유지되었다. Maharaj 등(1984)은 동결건조된 *Bifidobacterium pseudolongum* 70%에 전분을 30% 첨가하여 내부물질로 사용하고 피복물질로 cellulose acetate phthalate(CAP)를 사용하여 상분리방법을 응용하므로써 캡슐을 제조하였다. 피복물질로 사용된 CAP는 중성에서는 용해되지만 pH5.0이하의 산성에서는 용해되지 않는 성질을 가지고 있었다. 이 캡슐을 pH7.43에서 반응시켰을 때 20~40분 경과시 캡슐은 완전히 용해되었다. 즉 소장에서의 용해가 가능한 물질로 판명되었다. Rao 등(1989)도 *Bifidobacterium pseudolongum*을 CAP로 미세캡슐화하였으며, 캡슐의 크기는 직경 약 1mm로 Fig. 10에 보는 바와 같다. 캡슐화하지 않은 미생물은 Fig. 11에서 보는 바와 같이 pH1.33에서 60분간 노출시켰을 때 완전히 사멸되었으며 pH6.06과 pH7.13에 1시간 노출시켰을 때는 사멸되지 않았다. 또한 캡슐제조에 따른 미생물의 안정성을 조사한 결과 최초 $\log_{10} 8.70 \text{ cfu}/\text{g}$ 을 나타내었지만 최종 캡슐에서는 $\log_{10} 6.63 \text{ cfu}/\text{g}$ 으로 약 100배가 감소된 것으로 나타났다. 제조된 캡슐의 내산성을 조사한 결과 Table 19와 같이 생존율이 180분 처리시에도 $\log_{10} 4.00 \text{ cfu}/\text{g}$ 의 수준을 나타내었다. Audet 등(1988)의 보고에 의하면 *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis*를 κ -carrageenan과 locust bean gum gel을 이용하여 캡슐을 제조하면 제조중 미생물의 활성은 매우 높게 유지되었고 제조후에도 캡슐화하지 않은 것과 유사한 활성을 나타내었다.

Arnadottier(1986)는 *Pencillium roqueforti*의 spore, lipase를 유지방으로 캡슐화하였으며, 이 캡슐에 의해 blue cheese에서 methyl ketone의 생산을 촉진시켰다고 보고하였다. Kim과 Olson(1989)은 유지방을 이용하여 *Brevibacterium linens*와 methioine을 동시에 캡슐화하였으며, 이때 박테리아는 methionine을 이용하여 체다치즈의 고유 향미에 중요한 역할을 하는 methanethiol과 sulfur compounds를 생산하였다. 이 캡슐은 체다치즈에서 숙성숙진에 사용될 수 있다고 보고하였다.

VI. 인용문헌

1. Akalin, A.S., S. Gonc, and S. Duzel. 1997. Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum cholesterol levels in mice. J. Dairy Sci., 80:2721~2725.
2. Anrné, S., M.L. Hohansson, and G. Molin. 1995. Intestinal passage of *Lactobacillus rhamnosus* DSM6594 after oral administration in fermented milk. Neth. Milk & Dairy J., 49:201~206.
3. Albus, W.R. 1928. The effect of surface tension upon the growth of the lactobacilli. J. Bacteriol. 16:197~202.

4. Alm, L. 1991. The therapeutic effects of various cultures—an overview. pp.45~64. In Robinson P.K.(ed.). Therapeutic properties of fermented milks. Elsevier App. Sci. London and New York.
5. Alm, L. and L. Pettersson, 1980. Survival rate of lactobacilli during digestion. An in vitro study. Am. J. Clin. Nutr., 33:2543.
6. Audet, P. C. Paquin, and C. Lacroix. 1988. Immobilized growing lactic acid bacteria with κ -carrageenan-locust bean gum gel. Appl. Microbiol. Biotechnol., 29:11~18.8. Arnadottier, A.T. 1986. Methyl ketones synthesis in milk fat-coated microcapsules to accelerate ripening of blue cheese. M.S. Thesis, WI;University of Wisconsin- Madison(Cited from Jackson and Lee, 1991).
7. Ayebo, A.D., K.M. Shahani, and R. Dam. 1981. Antitumor components of yogurt:Fractionation. J. Dairy Sci., 64:2318~2323.
8. Bazzarre, T.L., S. Kiu Wu, and J.A. Yuhas. 1983. Total and HDL-cholesterol concentrations following yogurt and calcium supplementation. Nutr. Rep. int. 28:1225~1232.
9. Berrada, N., J.F. Lemeland, G. Laroche, P. Thouvenot, and M. Piaia. 1991. *Bifidobacterium* from fermented milks:Survival during gastric transit. J. Dairy Sci., 74:409~413.
10. Besnier, M.O., P. Bourlioux, J. Fourniat, R. Ducluzeau, and A. Aumaitre. 1983. Influence de l'ingestion de yoghurt sur l'activité lactasique intestinale chez des souris axéniques ou holoaxéniques. (Inst. Pasteu) Ann. Microbiol. 124A:219~230.
11. Bianchi Salvadori, B., M. Gotti, F. Brughera, and U. Polinelli. 1978. Etude sur les variations de la flore lactique et bifide intestinale par rapport à l'administration des cellules lactiques du yaourt. Lait, 571/572:17~42.
12. Bianchi Salvadori, B., P. Camaschella, and E. Bazzigaluppi. 1984. Distribution and adherence of *Lactobacillus bulgaricus* in the gastroenteric tract of germ-free animals. Milchwissenschaft, 39:387~391.
13. Bogdanov, I.G., P.G. Dalev, A.I. Gurevich, M.N. Kolosov, V.P. Mal'kova, L.A. Plemyannikova, and I.B. Sorokina. 1975. Antitumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. FEBS Lett. 57:259~261.
14. Bolognani, F., C.J. Rumney, and I.R. Rowland. 1997. Influence of carcinogen binding by lactic acid-producing bacteria on tissue distribution and *in vivo* mutagenicity of dietary carcinogens. Food Chem. Toxicology, 35:535~545.
15. Broussalian, J., and D. Westhoff. 1983. Influence of lactose concentration of milk and yogurt on

- growth rate of rats. J. Dairy Sci., 66:438~443.
16. Cole, C.B., P.H. Anderson, S.M. Philips, R. Fuller, and D. Hewitt. 1984. The effect of yoghurt on the growth, lactose-utilizing gut organisms and β -glucuronidase activity of caecal contents of a lactose-fed, lactase-deficient animal. Food Microbiol., 1:217~222.
 17. Deasy, P.B. 1984. Microencapsulation and related drug processes. Marcel Dekker. Inc., New York. NY.
 18. Deeth, H.C. 1984. Yoghurt and cultures products. Aus. J. Dairy Technol. 39:111~113.
 19. De Smet, I., L. van Hoorde, N. De saeyer, M. vande Woestyne, and W. Verstraete. 1994. In vitro study of bile-salt hydrolase (BSH) activity of BSH isogenic *Lactobacillus plantarum* 80-strains and estimation of cholesterol lowering through enhanced BSH activity. Micro. Ecol. Health Disease, 7:315~329.
 20. De Smet, I., L. van Hoorde, M. vande Woestyne, H. Christiaens, and W. Verstraete. 1995. Significance of bile-salt hydrolytic activities of lactobacilli. J.appl. bacteriol., 79:292~301
 21. Dubois, G., W. Smoragiewicz, R. Charbonneau, and M. Gagnon. 1982. Inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus helveticus*. Lait 621/622:681~687.
 22. Dziezak, J.D. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. Food Technol., 42:136~151.
 23. Fanger, G.O. 1974. Microencapsulation:A brief history and introduction. In:Vandergaer, J.E.(Ed.), Microencapsulation processes and applications, New York, NY:Plenum Press, pp. 1~20.
 24. Fernandes, C.F., and K.M. Shahani. 1990. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary lactobacilli. J. Food Protect., 53:704~710.
 25. Friend, B.A., R.E. Farmer, and K.M. Shahani. 1982. Effect of feeding and intraperitoneal implantation of yogurt culture cells on Ehrlich ascites tumor. Milchwissenschaft, 37:708~710.
 26. Gilliland, S.E., C.R. Nelson, and C. Maxwell. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol., 49:377~381.
 27. Gilliland, S.E., M.L. Speck, G.F. Nauyok, Jr., and F.G. Giesbrecht. 1978. Influence of consuming nonfermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of healthy males. J. Dairy Sci., 61:1~10.
 28. Gilliland, S.E., and B.B. Bruce. 1980. Comparison of two strains of *Lacto- bacillus acidophilus* as

- dietary adjuncts for young calves. *J. Dairy Sci.*, 63:964~972.
29. Gilliland, S.E., and M.L. Speck. 1977. Enumeration and identity of lactobacilli in dietary products. *J. Food Prot.*, 40:760~762.
 30. Goldin, B.R., S.L. Gorbach, M. Saxelin, S. Barakat, L. Gualtieri, and S. Salminen. 1992. Survival of *Lactobacillus* species(strain GG) in human gastroeintestinal tract. *Digestive Diseases & Sci.*, 37:121~128.
 31. Goodenough, E.R., and D.H. Klyen. 1976. Influence of viable yogurt microflora on digestion of lactose by the rat. *J. Dairy Sci.*, 59:601~606.
 32. Griffin, W.C. 1951. Solid essential oil concentrate and process of preparing the same. US Patent 2,556,410.
 33. Grunewald, K.K. 1982. Serum cholesterol levels in ratsfed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. *J. food Sci.*, 47:2078~2079.
 34. Haenel, H. 1970. Human normal and abnormal gastrointestinal flora. *Am. J. Clin. Nutr.* 23:1433~1439.
 35. Harrison, V.C., and G. Peat. 1975. *Am. J. Clin. Nutr.*, 28:1351~1355.
 36. Hitchins, A.D., P. Wells, F.E. McDonough, and N.P. Wong. 1985^a. Amelioration of the adverse effect of a gastrointestinal challenge with *Salmoella enteritidis* on weanling rats by a yogurt diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 41:92~100.
 37. Hitchins, A.D., P. Wells, F.E. McDonough, and N.P. Wong. 1985^b. A gastrointestinal and non-systemic dietary effect of yogurt in alleviation of rat salmonellosis. *Nutr. Rep. int.* 31:601~608.
 38. Hyndman, C.L., A.F. Groboillot, D. Poncelet, C.P. Champagne, and R.J. Neufeld. 1993. Microencapsulation of *Latococcus lactis* within cross-linked gelatin membranes. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*56:259~263.
 39. Johansson, M.L., G. Molin, B. Jeppsson, S. Nobaek, S. Ahrne, and S. Bengmark. 1993. Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup:In vivo colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59:15~20.
 40. Kato, I., S. Kobayashi, T. Yokokura, and M. Mutai. 1981. Antitumor activity of *Lactobacillus*

casei in mice. Gann, 72:517~523.

41. Kato, I., T. Yokokura, and M. Mutai. 1983. Antitumor activation by *Lactobacillus casei* in mice. Microbiol. Immunology, 27:611~618.
42. Kim, H.S., B.J. Kamara, I.C. Good, and G.L. Enders, Jr. 1988. Method for the preparation of stable microencapsulated lactic acid bacteria. J. Ind. Microbiol., 3:253~257.
43. Kim, S.C., and N.F. Olson. 1989. Production of methanethiol in milk fat-coated microcapsules containing *Brevibacterium linens* and methioine. J. Dairy Res., 56:799~811.
44. Kohwi, Y., K. Imai, Z. Tamura, and Y. Hashimoto. 1978. Antitumor effect of *Bifidobacterium infantis* in mice. Gann, 69:613~618.
45. Kohwi, Y., Y. Hashimoto, and Z. Tamura. 1982. Antitumor and immunological adjuvant effect of *Bifidobacterium infantis* in mice. Bifidobact. Microfl., 1:61~66.
46. Kosikowski, F. 1977. Cheese and fermented milk foods. F.V. Kosikowski & Associates. New York.
47. Lacroix, C., C. Paquin, and J.P. Arnaud. 1990. Batch fermentation with entrapped growing cells of *Lactobacillus casei*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 32:403~408.
48. Lankaputhra, W.E.V., and N.P. Shah. 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp in the presence of acid and bile salts. Cultured dairy products J. 30:2~7.
49. Lidbeck, A., J. Gustafsson, and C.E. Nord. 1987. Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplements on the human oropharyngeal and intestinal microflora. Scand. J. Infect. Dis., 19:531~537.
50. Lim, F, and R.D. Moss. 1981. Microencapsulation of living cells and tissues. J. Pharmaceutical Sci., 70:351~353.
51. Lim, F. 1984. Microencapsulation of living cells and tissue—Theory and practice in biomedical applications of microencapsulation. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.
52. Maharaj, I., G.J. Nairn, and J.B. Campbell. 1984. Simple rapid method for the preparation of enteric-coated microspheres. J. Pharm. Sci., 73:39~44.
53. Mann, G.V. 1977. A factor in yogurt which lowers cholesterolemia in man. Atherosclerosis, 26:335~340.
54. Mann, G.V., and A. Spoerry. 1974. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Masaai. Am.

- J. Clin. Nutr. 27:464~469.
55. McDonough, F.E., A.D. Hitchins, and N.P. Wong. 1982. Effect of yogurt and freeze-dried yogurt on growth stimulation of rats. J. Food Sci., 47:1463~1465.
56. Metchnikoff, E. 1907. The prolongation of life. G.P. Putman's Son, New York, NY.
57. Mitchell, I. G., and R. Kenworthy. 1976. Investigations on a metabolite from *Lactobacillus bulgaricus* which neutralizes the effect of enterotoxin from *Escherichia coli* pathogenic for pigs. J. Appl. Bacteriol. 41:163~174.
58. Mitsuoka, T. 1969. Vergleichende Untersuchungen über die Laktobazillen aus den Faeces von Menschen, Schweinen und Hühnern. Zentralbl. Bakteriol. Paraskitenkde. Infektionskr. Hyg. Abt. 1:Orig. 210:32~51.
59. Nair, C.R., and G.V. Mann. 1977. A factor in milk which influences cholesteremia in rats. Atherosclerosis, 26:363~367.
60. Niv, M., W. Levy, and N.M. Greenstein. 1963. Yogurt in the treatment of infantile diarrhea. Clin. Pediat., 2:407~411.
61. Pacini, N., A. Ferrari, E. Canzi, B. Bianchi Salvadori. 1979. Etude sur la microflore intestinale et sur les transformations biliaries chez souris alimentées avec du yaourt. Lait, 589/590:615~624.
62. Penn, R.L., R.D. Maca, and R.D. Berg. 1985. Increased translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of tumor bearing mice. Infect. Immunology, 47:793~798.
63. Pochart, P., P. Marteau, Y. Bouhnik, I. Goderel, P. Bourlioux, and J.C. Rambaud. 1992. Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion. Am. J. Clin. Nutr., 55:78~80.
64. Pulusani, S.R., D.R. Rao, and G.R. Sunki. 1979. Antimicrobial activity of lactic cultures: partial purification and characterization of antimicrobial compounds produced by *Streptococcus thermophilus*. J. Food Sci., 44:575~578.
65. Rao, A.V., N. Shiwnarain, and I. Majaraj. 1989. Survival of microencapsulated *Bifidobacterium pseudolongum* in simulated gastric and intestinal juices. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 22:345~349.
66. Rao, D.R. B.M. Reddy., G.R. Sunki., and S.R. Pulusani. 1981. Influence of antimicrobial compounds extracted from milk fermented by *Streptococcus thermophilus* on keeping quality of

- meat and milk. J. Food Quality, 4:247~258.
67. Reddy, G.V., B.A. Friend, K.M. Shahani, and R.E. Farmer. 1983. Antitumor activity of yogurt componenets. J. Food Protect., 46:8~11.
 68. Salvadori, P., and B. Bianchi Salvadori. 1973. Studio sulle variazioni coprocolturli nell'uomo in rapporto alla somministrazione di yogurt. Minerva diét. 14:8~12.
 69. Sheu, T.Y., and R.T. Marshall. 1993. Microentrapment of lactobacilli in calcium alginate gels. J. Food Sci., 54:557~561.
 70. Steenson, L.R., T.R. Klaenhammer, and H.E. Swaisgood. 1987. Calcium alginate-immobilized cultures of lactic streptococci are protected from bacteriophages. J. Dairy Sci., 1987. 70:1121~1127.
 71. Tipayang, P., and M. Kozaki. 1982. Lactic acid production by a new *Lactobacillus* sp., *Lactobacillus vaccinostercus* Kozaki and Okada sp. nov., immobilized in calcium alginate. J. Ferment. Technol., 60:595~598.
 72. Toit, M. du, C.M.A.P. Franz, L.M.T. Dicks, U. Schillinger, P. Haberer, B. Warlies, F. Ahrens, and W.H. Holzapfel. 1998. Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. Inter. J. Food Microbiol., 40:93~104.
 73. Tortuero, F., A. Brenes, and J. Riopez. 1975. The influence of intestinal(ceca) flora on serum and egg yolk cholesterol levels in laying hens. Poultry Sci., 54:1935~1938.
 74. Wong, N.P., F.E. McDonough, and A.D. Hitchins. 1983. Contribution of *Streptococcus thermophilus* to growth-stimulating effect of yogurt on rats. J. Dairy Sci., 66:444~449.
 75. Yakult Honsha Co., Ltd. 1971. the summary of reports on Yakult. Yakult Honsha Co., Ltd., 1-1-19, Higashi-Shinbashi, Minato-ku, Yokyo, Japan.
 76. Zhang, X.B., and Y. Ohta. 1991. Invitro binding of mutagenic pyrolyzates to lactic acid bacterial cells in human gastric juice. J. Dairy Sci., 74:752~757.
 77. 김영교, 김영주, 김현욱. 1982. 우유와 유제품의 과학. 선진문화사.
 78. 김희수. 1991. Microencapsulation에 의한 *Lactobacillus acidophilus* IFO3205의 생존에 관한 연구. 서울대학교 박사학위논문.

Table 1. Types of fermented milks and their microorganisms

Type of fermentation	Fermented milk	Raw material	Microorganism
lactic acid-fermented milk	Bulgarian butter milk	whole milk	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
	Acidophilus milk	skim milk	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Yogurt	whole milk skim milk	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i>
	Cultured butter milk	skim milk	<i>Streptococcus lactis</i>
	Cultured cream	cream	<i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> <i>Leuconostoc citrovorum</i>
lactic acid-alcohol-fermented milk	Kefir	whole milk	lactic acid bacteria yeast
	Koumiss	horse milk skim milk	lactic acid bacteria yeast

Table 2. Product-type lactic starters used and their properties

Products	Starters used	Properties
Low fat butter milk	Streptococci and <i>Leuconostoc</i> spp.	Technical
Butter milk	Streptococci and <i>Leuconostoc</i> spp.	Technical
Fermented cream	Streptococci and <i>Leuconostoc</i> spp.	Technical
Ropy milk	Streptococci	Technical
Kefir	Lactobacilli, Streptococci and Yeasts	Technical
Koumiss	Lactobacilli, Streptococci and Yeasts	Therapeutic
Acidophilus milk	Lactobacilli	Therapeutic
Bifidus milk	Bifidobacteria	Therapeutic
Yoghurt	Lactobacilli and Streptococci	Therapeutic

Table 3. Analysis of intestinal tracts and faeces 20h after treatment

Mice	Stomach					Small intestine				
	Weight(g)	LBtw(log)	BStw(log)	R(%)	A(%)	Weight(g)	LBtw(log)	BStw(log)	R(%)	A(%)
F	0.78	2.20	3.53	4.90	0.35	2.29	0	3.35	0	0.20
G	0.62	1.57	3.47	1.35	0.25	2.10	0	3.22	0	0.20
H	0.83	3.40	3.91	32.43	0.50	2.5	0	0	0	0.20
I	0.55	2.40	3.52	7.97	0.40	2.8	0	3.52	0	0.20
	Large intestine					Faeces				
	Weight(g)	LBtw(log)	BStw(log)	R(%)	A(%)	LBg ⁻¹ log	BSg ⁻¹ log	E(%)	A(%)	
F	2.1	4.02	4.85	15.9	0.75	3.86	4.60	17.84	0.75	
G	1.88	2.75	4.91	0.74	0.60	3.30	5.11	1.66	0.85	
H	2.31	4.40	5.06	23.78	0.80	3.78	4.91	7.90	0.80	
I	3.28	3.41	5.60	0.72	0.70	3.82	5.00	6.50	0.85	

LB: *L. bulgaricus*

BS: *B. subtilis thermophilus*

LBtw: *L. bulgaricus* (cfu g⁻¹ × weight)

BStw: *B. subtilis thermophilus* (cfu g⁻¹ × weight)

A: Acidity in % fo lactic acid

R: % of retention = (LBtw × 100) / (BStw / BSi × LBi)

E: % of excretion = (LB × 100) / (BS / BSi × LBi)

LBi: number of inoculated *L. bulgaricus* cells

Table 4. Faecal pH and bacterial count in faeces of seventeen volunteers before administration of Prima Liv™, 7d after the start of administration, and 7d after the termination of the administration (the total administration period was 21d)

Sampling time administration	pH		Lactobacilli		Gram-negative anaerobes	
	×	Range	×	Range (log cfu/g)	×	Range (log cfu/g)
Before	7.4	6.5~8.0	7.3	4.8~9.4	10.3	8.8~11.9
7d	6.9	6.0~7.5***	8.4	5.0~9.8**	10.4	8.8~11.8
7d after	7.0	5.8~8.0*	7.3	4.8~9.8	9.5	6.8~11.9

*p<0.05 compared with values obtained before administration

**p<0.01 compared with values obtained before administration

***p 0.005 compared with values obtained before administration

Table 5. Bacterial counts in upper jejunum at the three sampling times

Group	Median bacterial counts(log CFU/g of mucosa)in upper jejunum		
	Before administration (n = 12) ^a	1 day after administration ended(n =12)	11 day after administration ended(n = 10)
Anaerobic bacteria	4.1(3.1-5.9) ^b	4.6(3.4-5.9)	4.6(3.9-5.5)
Aerobic bacteria	3.9(3.4-5.4)	4.3(3.4-5.7)	4.5(3.1-5.7)
Gram-negative anaerobic bacteria	3.8(3.1-5.3) [6] ^{ca}	3.4(3.1-4.4) [5] ^d	3.1(3.1-4.6) [7] ^d
Gram-positive anaerobic bacteria	3.8(3.4-5.2) [3] ^d	4.1(3.1-5.4) [1] ^d	4.2(3.6-5.1) [3] ^d
Gram-positive aerobic bacteria	4.1(3.4-4.6) [3] ^d	3.9(3.1-5.4)	3.8(3.1-4.7)
<i>Lactobacillus</i> ssp.	3.0(2.1-4.1) [3] ^e	3.9(3.1-5.6) ^f	4.0(3.2-5.0) ^f
lactic acid bacteria	3.8(3.1-4.6)	4.3(3.4-5.7)	4.4(3.1-5.4)
Anaerobic bacteria on azide blood agar	3.4(3.1-4.8) [5] ^d	4.2(3.1-5.7) [3] ^d	4.4(3.1-5.3) [3] ^d
Aerobic bacteria on azide blood agar	3.6(3.1-4.0) [6] ^d	4.0(3.6-5.7) [2] ^d	4.0(3.6-5.4) [2] ^d
Sulfite-reducing clostridia	3.1(3.1-5.2) [4] ^d	3.5(3.1-3.9) [7] ^d	- ^g
<i>Enterococcus</i> ssp.	3.8(3.1-4.0) [8] ^d	4.2(3.7-5.6) [2] ^d	4.4(3.6-5.3) [1] ^d
Enterobacteriaceae	-	-	-

a: n is the number of volunteers

b: the values in parentheses are ranges

c: The values in brackets are the numbers of volunteers for whom the bacterial counts were below the limit of detection

d: Limit of detection, 1000cfu/g of mucosa

e: limit of detection, 100cfu/g of mucosa

f: p<0.01 compared with the value before administration

g-: all values were below the limit of detection(1000cfu/g of mucosa)

Table 6. Recovery of *Lactobacillus* GG on feces after feeding frozen concentrates of the organism

Day	Viable GG fecal counts*
0	ND
7	5.9±0.2
21	6.4±0.3
28	6.3±0.3

*Mean (log₁₀)±SE per gram feces

Table 7. Recovery of infantile diarrhea treated with yogurt and neomycin

Days to recovery depending upon treatment	Yogurt	Neomycin	Total
1-3	21	7	28
4 and over	4	13	17
			45

Table 8. Effect of diet on weekly feed efficiency of Salmonella-challenged rats*

		Diet and week number post-inoculation					
		Milk			Yogurt		
		1	2	3	1	2	3
Day1 post-weaning challenge	Inoculated	0.38±0.04	0.22±0.11	0.39±0.06	0.51±0.12	0.26±0.11	0.40±0.08
	Control	0.50±0.07	0.36±0.04	0.34±0.03	0.57±0.04	0.48±0.01	0.38±0.03
Day7 post-weaning challenge	Inoculated	0.17±0.04	0.12±0.04	0.27±0.05	0.32±0.06	0.15±0.09	0.33±0.04
	Control	0.36±0.04	0.34±0.03	0.26±0.02	0.48±0.01	0.38±0.03	0.29±0.02
Day14 post-weaning challenge	Inoculated	0.01±0.06	0.02±0.02	0.25±0.01	0.13±0.03	0.11±0.02	0.26±0.02
	Control	0.34±0.03	0.26±0.02	0.21±0.02	0.38±0.03	0.29±0.02	0.24±0.02
Day21 post-weaning challenge	Inoculated	0.10±0.06	0.10±0.06	0.25±0.05	0.10±0.05	0.23±0.02	0.29±0.04
	Control	0.26±0.02	0.21±0.02	-	0.29±0.02	0.24±0.02	-

* The number of challenged rats decreased during the post-inoculation period depending on the number of deaths. The values(g) are either means±SE of the experimental means(day 7 challenges: number of trials=4_ or means±SE per pool of animals(days 1, 14, 21 challenges: number of trials< 3)

Feed efficiency=weight gain(G) per unit dry feed intake(g)

Table 9. Effect of diet on weekly weight gain of Salmonella-challenged rats*

		Diet and week number post-inoculation					
		Milk			Yogurt		
		1	2	3	1	2	3
Day1 post-weaning challenge	Inoculated	14.6±1.1	13.9±6.4	29.5±4.4	20.6±1.3	16.1±6.1	31.4±8.3
	Control	26.4±2.2	29.0±1.4	31.3±2.1	30.8±1.3	37.7±2.3	37.3±2.3
Day7 post-weaning challenge	Inoculated	12.0±2.3	10.8±2.5	27.9±4.4	22.1±4.5	14.8±6.1	31.8±4.4
	Control	29.0±1.4	31.3±2.1	26.7±1.6	37.7±2.3	37.3±2.3	31.2±2.0
Day14 post-weaning challenge	Inoculated	0.3±6.2	3.3±2.3	29.5±1.7	12.3±2.7	10.2±2.8	30.1±2.4
	Control	31.3±2.1	26.7±1.6	23.9±2.0	37.3±2.3	31.2±2.0	28.7±1.5
Day21 post-weaning challenge	Inoculated	10.6±6.2	15.8±7.8	30.2±4.1	11.6±5.8	26.6±4.4	35.8±4.4
	Control	26.7±1.6	23.9±2.0	-	31.2±2.0	28.7±1.5	-

* The number of challenged rats decreased during the post-inoculation period depending on the number of deaths. The values(g) are either means±SE of the experimental means(day 7 challenges: number of trials=4_ or means±SE per pool of animals(days 1, 14, 21 challenges: number of trials< 3)

Table 10. Effect of intraperitoneal implantation of yogurt culture cells and sonicated cell fractions on the proliferation of tumor cells

Test material		Tumor cells($\times 10^5$ /mouse)		Inhibition(%)
		Control	Test	
Whole cells	Series 1	12.4 \pm 1.7	3.0 \pm 0.8	75.5
	Series 2	16.5 \pm 1.6	10.3 \pm 1.7	37.6
	Series 3	14.2 \pm 1.6	4.9 \pm 0.9	65.5
Sonicate/soluble	Series 1	12.4 \pm 1.7	12.3 \pm 1.7	0
	Series 2	16.5 \pm 1.6	16.5 \pm 3.2	0
	Series 3	14.2 \pm 1.6	14.1 \pm 0.8	0
	Series 4	18.4 \pm 2.5	18.3 \pm 1.5	0
Sonicate/insoluble	Series 1	12.4 \pm 1.7	7.2 \pm 1.3	41.9
	Series 2	16.5 \pm 1.6	10.9 \pm 2.3	33.9
	Series 3	14.2 \pm 1.6	10.0 \pm 1.4	29.5
	Series 4	18.4 \pm 2.5	11.2 \pm 2.7	39.7

Table 11. Effect of feeding yogurt, milk and lactic acid on tumor cell proliferation.^a

Material	Feed	Tumor cell($\times 10^6$ /mouse)		Inhibition(%)
		Control	Test	
Yogurt	Series 1	44.2 \pm 8.6	31.8 \pm 3.9 ^b	28.0
	Series 2	26.3 \pm 5.6	20.0 \pm 5.3 ^b	24.0
Milk	Series 1	26.1 \pm 3.7	30.6 \pm 1.8	0
	Series 2	31.6 \pm 3.8	34.0 \pm 6.7	0
Lactic acid	Series 1	26.5 \pm 2.8	28.1 \pm 3.5	0
	Series 2	46.6 \pm 8.1	45.1 \pm 6.9	0

^aYogurt, grade A pasteurized 2% milk or 1.5% lactic acid was fed ad libitum to test animals for 7d following tumor implantation. Each test series had 6 animals per group.

^bSignificantly different($P < 0.05$) from control groups as determined by Student's test.

Table 12. Effect of yogurt on β -glucuronidase activity of caecal contents
 unit: μ mol of *p*-nitrophenol liberated per 60min

		APF diet+supplement of	
		None	Yogurt
	No. chicks	10	10
Activity	per g wet weight	52.9	9.2
	per g dry weight	293.1	45.2

Table 13. The effects of various intakes of milk on cholesteremia (serum cholesterol in mg/dl)

Subjects male/female			Days									
			Treatment days									
			pre	4	8	12	16	20	24	28	32	36
4 l whole milk yogurt	3/1	Mean	208	220	209	186	<i>173</i>	<i>169</i>	172	190	214	211
		SEM	16.6	23.2	27.6	29.1	18.7	<i>22.7</i>	25.8	30.6	25.5	15.1
2 l whole milk yogurt	4/2	Mean	193	199	<i>165</i>	<i>175</i>	<i>169</i>	<i>177</i>	-	196	-	198
		SEM	34.3	16.1	20.9	16.6	19.6	24.0	-	18.7	-	16.6
2 l skim milk yogurt	3/2	Mean	211	208	196	<i>150</i>	<i>162</i>	-	181	-	202	218
		SEM	21.1	18.7	11.0	40.9	32.5	-	18.3	-	13.3	13.5
2 l fresh milk yogurt	3/1	Mean	196	206	206	177	188	200	179			
		SEM	13.6	21.0	22.5	16.5	20.3	18.7	10.6			

Each sample was dieted daily for 12 days

Values in italics: ≤ 0.05 using paired *t*-test

Table 14. Effect of yogurt and acidophilus yogurt on serum lipids in mice

Dietary treatment group	Cholesterol		HDL Cholesterol		LDL Cholesterol		Triglycerides	
	d 28	d 56	d 28	d 56	d 28	d 56	d 28	d 56
	mg/d							
Control	171.2	168.1	54.6	54.2	97.8	96.6	94.3	90.9
Yogurt	169.6	157.7	52.7	52.0	98.8	88.3	90.7	86.9
Acidophilus yogurt	139.9	116.0	51.0	51.3	70.4	46.9	92.6	88.7

Table 15. Effect of probiotic mixture on total serum cholesterol and triglycerides of minipig fed on a western style diet

Parameter	Before probiotic feeding	After three weeks probiotic feeding	Two weeks after terminating probiotic feeding
Total cholesterol	3.25±0.59 ^a	2.74±0.39	3.39±1.36
Triglycerides	0.59±0.19	0.75±0.22	0.58±0.26

^aMean values in mmol/l±SD

Table 16. 4wk weight gains of rats fed liquid and freeze-dried diets

Product	Weight gain(g)						Overall means
	Trial 1 ^a	Trial 2 ^a	Trial 3 ^a	Trial 4 ^b	Trial 5 ^c	Trial 6 ^c	
Liquid milk	127±4.2 ^d	-	113±6.2	-	102±7.8	117±5.3	115±3.1
Liquid yogurt	154±6.7	133±5.2	141±5.2	148±5.7	137±5.7	144±5.4	143±2.4
FD milk	124±7.8	107±4.2	115±5.4	133±4.4	121±5.4	134±7.2	122±2.6
FD yogurt	146±5.6	154±3.4	149±6.2	147±3.3	155±5.5	158±4.6	152±2.0

^a: 15 rats per diet

^b: 12 rats per diet

^c: 10 rats per diet

^d: Values are means ±S.E.

Table 17. Survival of *Lactobacillus* GG and *Lactobacillus bulgaricus* in gastric juice at various pHs

pH	Time						
	0	30min	1hr	2hr	3hr	4hr	
<i>Lactobacillus</i> GG	7.0	8.45	9.12	8.56	8.59	8.58	8.44
	5.0	8.88	8.93	8.45	8.47	8.47	8.58
	3.0	8.51	8.62	8.31	8.30	8.30	8.30
	1.0	<4.00	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	7.0	8.27	8.32	7.86	7.92	8.02	7.69
	5.0	8.02	8.05	7.83	7.96	7.67	7.47
	3.0	7.43	6.24	5.23	3.17	2.60	2.30
	1.0	<4.00	0	0	0	0	0

* Expressed as log₁₀ cfu/ml

Table 18. Viability of uncoated and PVAP-coated *L. plantarum* particles upon exposure to simulated gastric fluids

Hours in gastric fluid	Viability(cfu/g)	
	PVAP-coated spheres	uncoated spheres
0.0	4.6×10^{10}	5.0×10^8
0.5	3.8×10^{10}	1.3×10^8
1.0	4.4×10^{10}	-
2.0	4.9×10^{10}	9.1×10^7
4.0	6.0×10^{10}	5.1×10^4
6.0	4.4×10^{10}	1.0×10^2

Table 19. Viability of microencapsulated *B. pseudologum* in vitro

Incubation time(min)			$\log_{10} \text{cfu}^1$
Simulated gastric juice, pH1.33	Simulaed intestinal juice, pH7.43		
0	160		7.69 ± 0.59
30	160		4.89 ± 0.35
90	160		4.50 ± 0.70
180	160		4.00

¹Mean \pm standard deviation

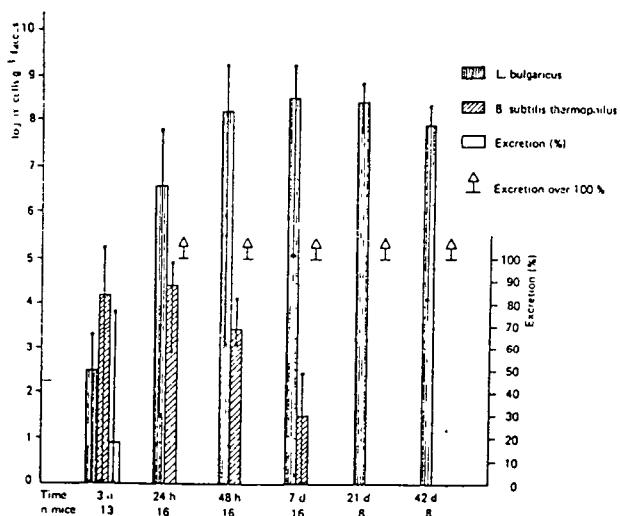


Fig. 1. Growth of *L. bulgaricus* in the feces compared with *B. subtilis thermophilus*.

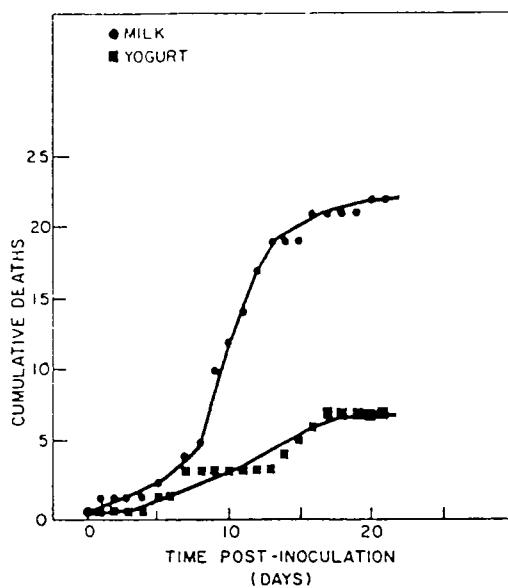


Fig. 3. Pooled cumulative mortalities for rats receiving milk and yogurt after inoculated *Salmonella enteritidis*. The total number for milk fed rat was 104 and that of yogurt fed rat was 107.

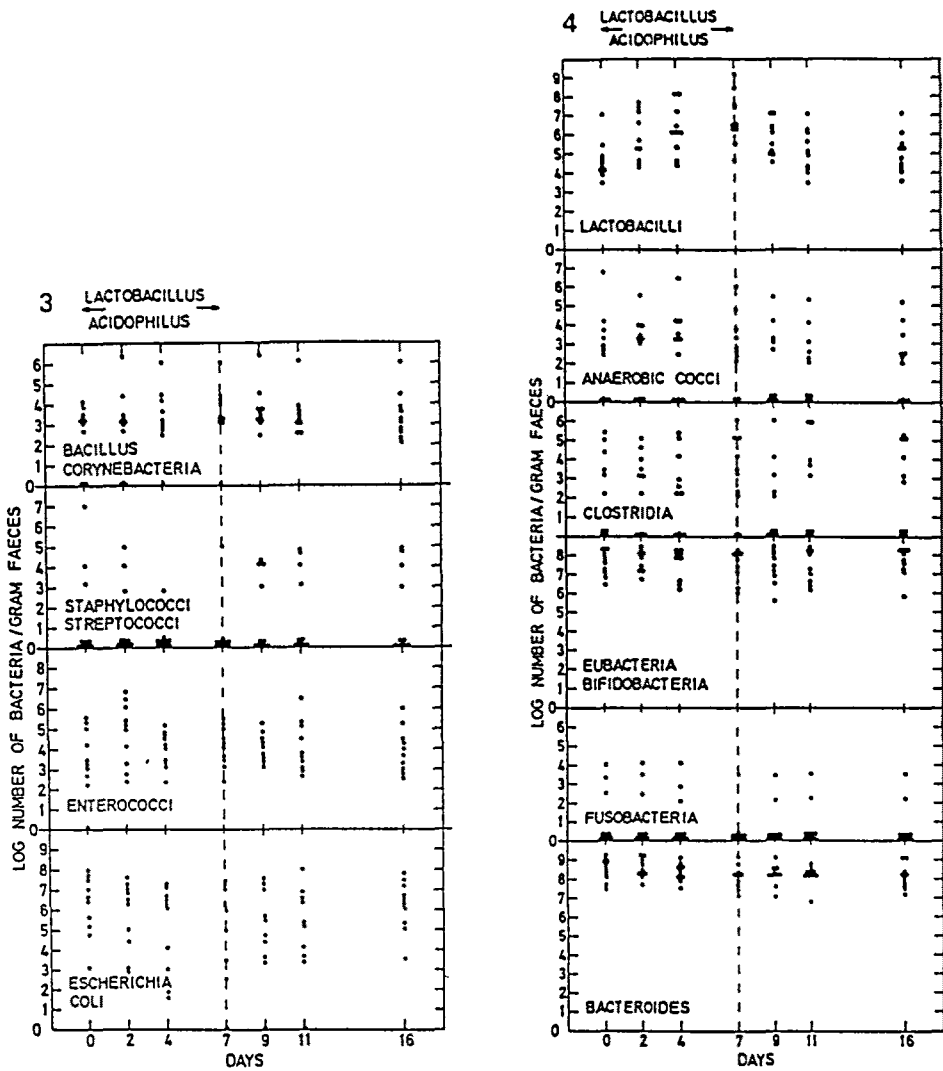


Fig. 2. Effect of *L. acidophilus* on the colonic flora of 10 volunteers receiving *L. acidophilus* supplements for 7 days.

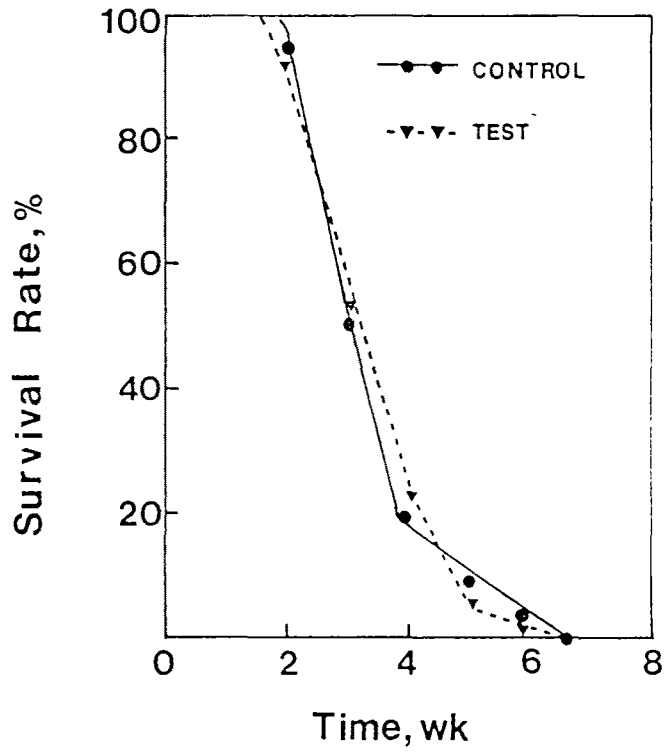


Fig. 4. Effect of prolonged feeding of a yogurt diet on the survival of mice implanted with Ehrlich ascites tumor. A total of 108 mice were implanted with Ehrlich ascites tumor on day 0. Beginning with day 1, animals were given either water(control) of yogurt(test) until death occurred.

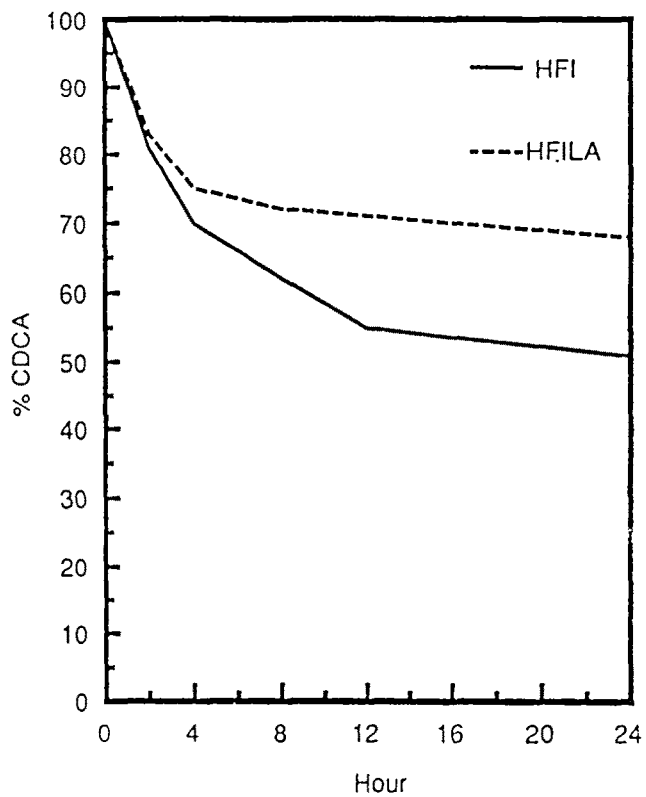


Fig. 5. Kinetic changes in depletion of chenodeoxycholic acid, a primary bile salt, by human fecal inoculum(HFI), and human fecal inoculum plus *Lactobacillus acidophilus*(HFILA).

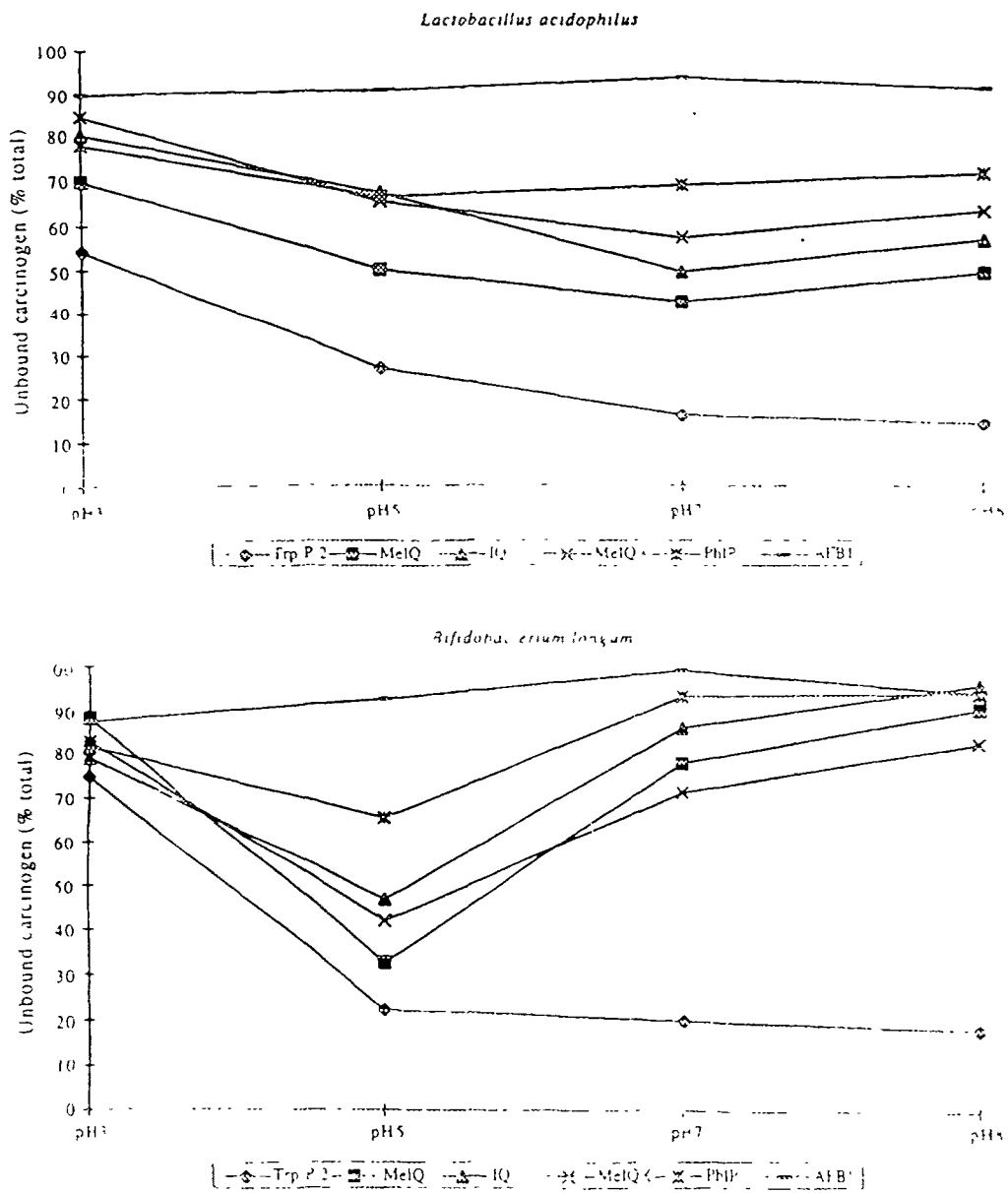


Fig. 6. Binding of carcinogens to cells *L. acidophilus* and *B. longum* *in vitro*.

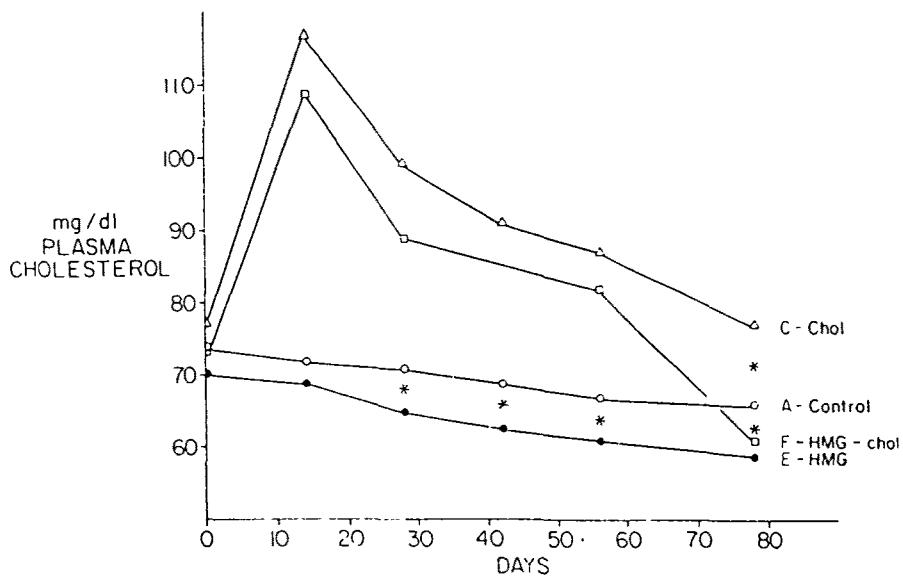


Fig. 7. The cholesteremic responses of groups of six rats each fed chow(○), or diets with cholesterol 0.5%(△), hydroxymethyl glutarate 0.1%(●) of HMG and cholesterol(□). The probability of a chance difference between means of ≥ 0.05 is indicated by an asterisk.

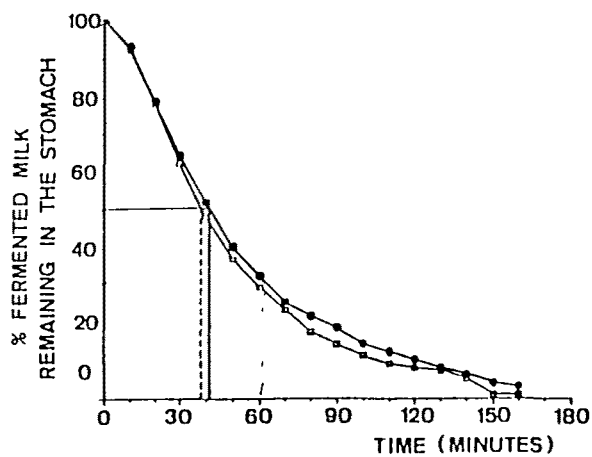


Fig. 8. Gastric emptying rate

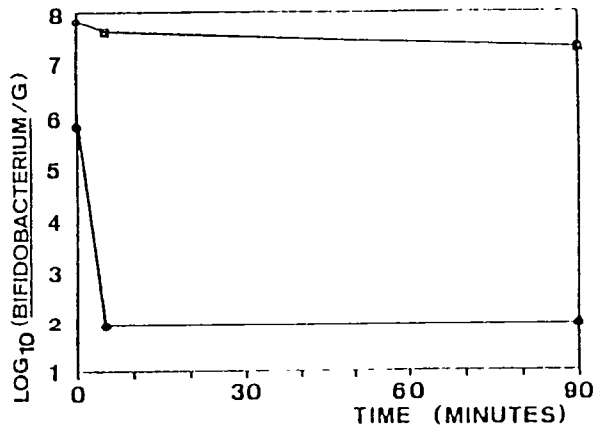


Fig. 9. In vitro study (pH3, 37°C, in darkness).

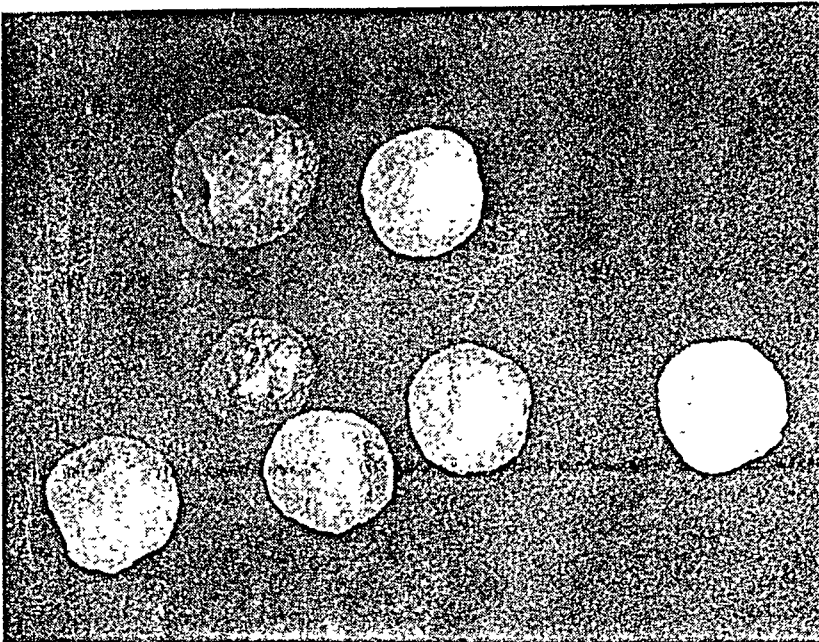


Fig. 10. Photograph of microspheres containing *B. pseudolongum*(Magnification 34×)