

유산균의 산업적 이용과 제조 기술

김 형 수

Culture Systems, Inc. 3224 N. Home Street, Mishawaka, IN 46545 U.S.A.

개 요

유산균은 식품 보존의 한 방법으로 또한 특이한 맛을 내는 원료로서 사용되어 왔으며 발효유제품 제조에서 종균으로 오랫동안 사용되어 왔다. 최근에는 유산균의 기능성이 밝혀짐에 따라 산업적 이용도가 넓어지기 시작하였으며 축산 식품제조 외에 사료첨가제, 제약 또는 건강 보조 식품으로까지 사용되어지고 있다. 유산균 제조 기술의 발달은 발효 식품의 품질 향상을 이루게 하였고 계속된 균주 개발은 균주의 기능성 범위를 확대시키고 있으며 이용도가 많아지기 시작하였다. 유산균의 생성물질의 이용도가 높아지면서 유전공학의 기여도가 증대되었고 새로운 기능성을 함유한 새로운 균주를 발견하고 상품화하는 방향의 연구가 진행되고 있다. 앞으로 다양한 기능성을 소유한 식품의 종균으로서 유산균이 개발되어져야 하고 또한 기능성 원료로서의 유산균 개발로 인한 유산균 이용이 확대될 것이다.

I. 서 론

유산균 사용은 축산식품중 유가공 분야에서 오래 전에 시작되었다. 유산균 사용의 이야기는 멀리 중동 지방에서 소 위가죽 내에 보관한 우유가 소위에서 나온 효소인 렌넷과 우유에 존재한 유산균에 의해 만들어진 치즈생산으로 까지 거슬러 올라간다. 수 천년 전으로까지 올라간 유산균 사용의 역사는 인류의 주 식품인 치즈와 요구르트 생산의 주역으로서의 역할을 담당하였다. 유산균의 사용은 치즈와 김치 등 식품의 장기 보존의 한 방법으로 이용되었고 나아가 유산균 발효에 의한 독특한 향과 맛을 내는 주 원료가 되었다. 세월이 지남에 따라 유산균 발효 식품의 영양학적인 가치가 인정되어졌고 단백질과 유당분해가 이루어진 요구르트의 영양소로서의 장점이 알려지기 시작하였다. 최근에는 유산균의 특성이 더 알려짐에 따라 인간의 수명을 연장하는 건강유지의 중요한 인자로서의 유산균 사용이 늘어났으며 다양한 형태의 제품으로서 식품의 영역을 넓혀 주고 있다. 유산균이 인간의 수명을 연장할 수 있다는 논문을 Metchnikoff²⁹⁾가 1908년에 발표한 이후 유산균에 대한 활발한 연구가 진행되었으며 본 논문에서는 유산균의 산업적 이용과 역할, 제조기술의 향상, 나아가 유산균의 기능성 이용방향을 제시하려고 한다.

II. 유산균의 분류

Table 1. Classification of lactic acid bacteria

Gram-Positive Cocci(Nonendospore formers):
Genus <i>Lactococcus</i>
Genus <i>Leuconostoc</i>
Genus <i>Pediococcus</i>
Regular, Nonsporing Gram-Positive Rods:
Genus <i>Lactobacillus</i>
Irregular, Nonsporing Gram-Positive Rods:
Genus <i>Bifidobacterium</i>

Bergey's Manual⁵⁾

Table 2. Classification of Lactic acid bacteria on the view of commercialization

A. Product manufacture	B. Functionality
<i>Lactococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>
<i>Lactococcus cremoris</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Pediococcus cereviceae</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Lactococcus diaceylactis</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
	<i>Bifidobacterium infantis</i>
	<i>Bifidobacterium longum</i>

유산균은 Gram positive의 구균 혹은 간균으로서 주로 catalase negative이며 spore를 생성하지 아니하는 특성을 가지고 있으며 주로 유산을 생성하고 4개의 속 (*Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*)으로 이루어졌으며 *Lactobacillus bifidus*로 구분되었던 것이 재분류되어 하나의 속을 이룬 Genus *Bifidobacterium*도 GRAS(generally regarded as safe) 로 간주된 유산균으로 인정되고 있다 (Table 1). 유산균은 산업화의 관점으로 크게 2가지로 구분되며 축산가공 제품을 만드는데 관련한 균주들과 유산균의 기능성을 강조한 균주들로 나눈다(Table 2).

III. 유산균의 산업적 이용

현재 유산균은 식품, 사료 첨가제, 제약과 건강 보조식품등으로 사용되어지고 있으며 이 중 식품을 제외한 다른 분야에서는 유산균의 기능성이 강조된 제품들이 만들어지고 있다. 사료로서는 유산균 사용에 의한 체량 증가, 우유 생산량 증가, 치사율 저하 등에 관한 연구^(12, 27, 33)를 통한 사료 첨가제들이 만들어지고 있으며 제약과 건강보조식품에서는 장내 건강유지, 소화 흡수향상, 유해균 증식억제 등^(2, 9)

Table 3. Functions of Streptococci in milk and milk products

-
1. Concentrate and stabilize the curd by coagulating the protein and expelling moisture
 2. Prevent or discourage growth of undesirable spoilage and pathogenic bacteria by reducing the pH
 3. Contribute to the texture and to the fortification of flavor compounds
-

Sandine⁽⁴¹⁾

Table 4. Functions of Leuconostoc in milk and milk products

-
1. Production of flavors compounds
 2. Responsible for eye formation
-

Cogan⁽⁶⁾

Table 5. Functions of Lactobacilli in milk and milk products

-
1. Production of lactic acid
 2. Production of acetaldehyde
 3. Proteolytic activity
 - surface-bound proteases
 - intracellular peptidase
 4. Lactose hydrolysis
-

Gilliland⁽¹³⁾

Table 6. Factors affecting optimum performance

-
1. Inhibitors in substrate
 2. Strain compatibility/ interaction
 3. Temperature
 4. PH/ acidity
 5. Nutrients/Growth media
 6. Polysaccharide production
 7. Bacteriophage
 8. Handling of cultures/ Storage
 9. Variation
 10. Overproduction of acetaldehyde
-

Gilliland⁽¹³⁾, Sandine⁽⁴¹⁾

^{10, 39)}을 주요 효과로서 주장하는 제품들이 제조되고 있다.

식품 분야에서의 유산균은 종균의 역할이 추가 되어 왔으며 축산 발효식품을 만드는 데의 종균으로서의 유산균사용은 치즈, 요구르트, sausage 제조 등이다. 치즈 종균으로서는 *Lactococci*, *Leuconostoc*, *Lactobacilli*가 각각의 기능을 발휘하고 있다(Table 3, 4 and 5). 또한 유산균들이 치즈나 요구르트제조에서 고려되어야 할 여건들도 제조 기술의 일면으로 중요하다(Table 6). 원료인 우유에 함유된 잔유 향생물질이나 잔유 sanitizer 또는 어떤 *Lactococcus lactis* strain이 만들어 내는 nisin등이 치즈나 요구르트를 제조하는데 문제를 야기시킬 수도 있으며 복합 균주를 종균으로 사용할 때 균주 상호간의 경합이

Table 7. Requirement of a good meat starter culture

1. Salt tolerance
2. Fast growing in 6% brine
3. Ability to grow well in the presence of 80 to 100 ppm nitrite
4. Optimum growth at 32.2 °C with range from 26.7 to 43 °C
5. Homofermentative, producing only lactic acid from dextrose
6. Nonproteolytic
7. Nonlipolytic
8. Not produce off-flavors as by-products of fermentation
9. Not pathogenic
10. Inactivation at 57 to 60 °C

Bacus and Brown⁽⁴⁾

나 우호관계 혹은 동일 배합비율 유지 등의 균주 성격파악도 제품제조에서 고려되어야 할 사항이다. *L. lactis*나 *L. cremoris*들은 동일 species라도 성장 적온이 다르므로 복합균주 사용시의 주의할 점으로 온도 조절이 중요하며 산도를 나타내는 유산등산 생성의 양과 종류에 의한 유산균들의 작용을 고려해야 할 것이다. 우유나 혹은 유산균 성장 배지의 선택과 영양소 이용의 관점은 어떤 균주를 사용하느냐에 따라 다르며 균주가 가지고 있는 단백질 분해 능력도 제품 생산에 중요한 영향을 미친다. 또한 ropy한 제품을 생산하고자 할 때는 polysaccharide 생성 균주의 이용이 중요하며 유산생성을 저해하는 bacteriophage control은 아주 중요한 문제이다. 유산균의 저장 방법과 사용방법 역시 유산균의 활력에 영향을 주므로 plasmid 분실을 초래할 수 있는 손상 세포가 됨을 막아야 할 것이다. 또한 균주 보관 중에 일어나는 균주 특성의 손실과 변화를 최대한 막아 주는 것이 균일한 발효를 이루는 중요한 요인 중의 하나이며 좋은 flavors를 만들어 내기 위해 필요한 diacetyl과 acetaldehyde 생성 비율의 조절 등도 각 균주의 특성을 이해함으로 조절되어야 할 것이다. 가공 육류에서의 유산균은 summer sausage등을 제조할 때 사용되는 *Pediococci* strain들과 *Lactobacilli*이다. 이러한 유산균들은 육류의 산도를 빨리 낮추어 줌으로 식품저장 효과를 내면서 특이한 맛을 내는 방안으로 사용되었으며 *P. acidilactici*, *P. pentosauceus*와 *P. cerevisiae* 등이 주로 사용돼지고 있고 주 관점은 다량의 유산생성과 유해균 성장억제에 있다. 이외에 육류 발효에 사용되는 균주들이 지녀야 할 조건들은 Table 7과 같다.

IV. 유산균 제조와 이용에 관한 진전

축산 가공 제품의 주 제품인 치즈와 요구르트제조에서 유산균에 관한 연구가 많이 이루어졌으며 괄목할 만한 진전으로 phase resistant strain 개발 등 strain 향상방안을 들 수 있다. Phage 오염을 막기 위해 여러 가지 방안이 적용되었고(Table 8) 치즈 제조에서의 큰 문제인 bacteriophage 에 의한 오염을 해결하기 위하여 이중 'Defined-strain system' 이라는 방법의 적용은 치즈제조방법에서 큰 발전을 가져주었다. 이 방법은 phage insensitive 한 균주를 phage 오염 균에서 찾아내어 내역을 아는 여러 개의 single strain들을 모아 놓고 rotation으로 사용하는 방법이다. 그 후에 Multiple-strain culture program을 적용하면서 phage에 대한 문제를 많이 제거하게 되었다. 이 방법은 2~6개의 phage insensitive한 균주들을 적

Table 8. Phage control

1. Use of phage control media
2. starter rotation
3. Defined strain program
4. Direct to vat inoculation
5. Phage- monitoring system
6. Good plant sanitation
7. Phage resistant strain

Sanders⁽⁴⁰⁾

Table 9. Selected examples of Plasmid research on Phage resistant strains

Abortive phage infection - <i>L. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> KR2	38kb plasmid
Interference with adsorption - <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> SK11	54kb plasmid
Restriction/modification - <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ME2	48kb plasmid

Htarlander⁽²¹⁾

용하되 phage가 발견되면 이를 골라내어 phage insensitive 한 mutant를 다시 찾아내어 다시 적용시키는 방법으로 'Defined-strain system'을 더 발전시킨 방안이다(Fig. 1). 또한 Phage resistant 한 strain을 개발하기 위하여 genetic technique 계속 개발되었으며 transduction 과 transfection 등의 방법이 적용되었고 phage에 관한 지식이 얻어짐에 따라 phage resistant strain을 개발하는데 많은 도움이 되었다. Conjugal phage resistance plasmid가 발견된 후⁽²¹⁾ 이러한 plasmid 에 관한 연구가 많이 진행되었고 (Table 9). Transconjugation 이나 transformation 방법을 이용하여 isogenic strain을 형성하여 rotation으로 사용하는 발전도 보이고 있다. 이와 같이 Mesophilic culture에 관한 균주개발은 많은 성과를 거두었으나 아직도 thermophilic culture에 대하여서는 mutation과 screen방법에 의존하고 있으며 thermophilic culture에 관해서는 plasmid 외에 chromozome에 관한 연구가 또한 진행되고 있다.

또한 Nicin등 antimicrobial 한 효과가 있는 특이한 peptides를 대량 생산하는 overproduction에 관한 연구가 많이 진행되고 있으며 요구르트에서 점도를 조절할 수 있는 xanthan 이나 polysaccharide 생성을 하는 균주제조가 이루어지고 있다. 또한 원하는 물질 즉 flavors, texture, health benefits에 관한 특성을 강화할 수 있는 균주 개량의 일을 감당할 수 있는 technique 개발에 관심이 집중되고 있다(Table 10).

Table 10. Utilization of Biotechnology

a) Overproduction of desired protein
Nisin, Plantaricin, lactasin F, Pediocin, Lysozyme
c) Xanthan and polysaccharide biosynthesis
viscosifying agent
d) Pathway engineering
modified flavors, texture, health benefits, phage resistance

Harlander (21), Mainzer et al.(26)

이러한 유전공학의 기술을 이용하여 요구르트 제품저장중 유산생성을 줄이는 방안이 가능하게 되었으며 gene replacement 작업을 통하여 *Lactobacillus bulgaricus*에서 B-galactosidase 효소 생성 능력이 저온 보관 중에 떨어지도록 하는 작업도 가능하게 되었다(Fig. 2). 이러한 유전공학을 이용한 균주 기능성향상과 생산성 향상이 이루어질 수 있음을 보였으나 식품의 일부로서 산업화하여 이용하기에는 각 나라마다 법적인 규제가 다소 틀리기는 하지만 아직 어려운 점이 남아 있다. 먼저 접근할 수 있는 방안은 유전 공학을 이용한 발효 생성 물질의 대량 생산 쪽이라고 볼 수 있다.

또한 유산균제조 기술의 향상에 기여한 개발은 DVI concept을 가능케 한 동결건조 방법의 이용이다. 지난 10 년동안 중균 사용의 기술은 동결 건조방법의 사용으로 괄목할 만한 진전을 보였다. Direct Vat Inoculant의 개념의 적용으로 bulk starter를 사용하는 대신 직접 우유에 동결 농축 유산균을 접종함으로써 요구르트와 치즈제조의 방법을 간소화 시켰다. 그러나 이 방법은 두 종류 이상의 복합균주를 사용하는 요구르트 제조 때 균주 비율의 일관성이 없는 어려움 때문에 flavors와 발효시간의 일관성이 없는 어려움, texture 문제, 또한 synergisis 문제를 해결해 주지 못하였다. 또한 온도에 따른 안정성이 약하여 상업화되는 제품으로서의 가치가 떨어졌다. 새로이 적용된 동결 건조방법은 동결 농축 유산균 사용의 단점을 막아 주는 새로운 방법으로 등장하였다. 급속냉동 방법과 ice crystals이 생기는 것을 막아 주는 보호제를 사용함으로써 균주의 안정성을 높여 주고 vaccum 건조의 방법을 ultra-low 온도를 사용하여 상온에서도 균주 안정화를 가질 수 있게 되었으며 분말로 된 제품형태로 인하여 안정제 사용과 균주혼합을 다양하게 할 수 있게 되었다.

이러한 동결 건조된 유산균을 사용하여 DVI 방법으로 요구르트를 만들 때 단독균주의 성격을 파악할 수 있고 이로 인하여 균주활력 균일하게 조정할 수 있으며 원하는 배합을 할 수 있게 되었다. 또한 제품의 viscosity, texture, syneresis, flavors intensity, tartness 등을 조절할 수 있으며 후 발효를 최대로 조절할 수 있는 여유를 가질 수 있게 되었다. 또한 복합 균주를 사용함으로써 파지에 의한 어려움을 줄일 수 있게 되었다. 수송이나 보관이 용이할 뿐 아니라 상온 보관의 안정성이 현저히 높아짐으로 인하여 경제적 인 이익도 얻게 되는 새로운 기술의 진전이였다.

V. 유산균의 기능성 개발

유산균의 기능성 개발은 유산균 첨가의 새로운 장을 열어 주고 있으며 주요 기능성에 대한 많은 연구가 이루어 졌다(Table 11). 유산균을 이용하여 제조한 발효유나 요구르트는 제품내의 유당함량을 줄여 줄 뿐 아니라 유당 분해효소의 공급원이 된다^(11,20). 유당분해를 못하는 사람이 선정된 *Lactobacillus acidophilus*를 섭취할 때 유당분해효과가 나타남도 보고되었다⁽²³⁾. 특정 유산균으로 만든 요구르트를

Table 11. Main health benefits associated with lactic acid bacteria

- | |
|----------------------------------|
| a) Lactose digestion |
| b) Lowering blood cholesterol |
| c) Antagonistic effects |
| d) Anticarcinogenic effect |
| e) Enhancement of immune systems |

Table 12. Development on possible application of lactic acid bacteria

Fiber digestibility of sesame straw	Ayala et al. ⁽³⁾
Immune response of layers	Reddy et al. ⁽³⁷⁾
Production of menaquinones	Morishita et al. ⁽³¹⁾
High omega 3 fatty acid and low cholesterol eggs	Pheko et al. ⁽³⁵⁾
Tumor preventing effect	Fukui et al. ⁽¹⁰⁾
Reduction of rotavirus infection	Phuapradit ⁽³⁶⁾
Dysfunction responses-allergy	Cross and Gill ⁽⁷⁾

섭취하면 cholesteremia를 줄여 줌이 알려졌고⁽²⁸⁾, *Lactobacillus acidophilus*로 만든 발효유 섭취를 통하여 serum cholesterol 함량이 줄어들음을 사람과 동물모델을 사용하여 보고하였다^(1, 24, 42). 어떤 경로를 통하여 cholesterol 함량이 줄어드는가를 규명하기 위하여 assimilation of cholesterol의 가설이 Gilliland 등에 의해 제시되었다⁽¹⁵⁾. 또한 유해 균에 대한 성장 억제 효과는 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 통해 증명되었으며^(2, 38) 주로 *Lactobacillus acidophilus*을 사용한 실험들이며 대장균과 설사 방지에 관한 자료가 많이 보고되었다^(8, 14, 16, 22, 32). 괄목할 만한 연구는 *Lactobacillus*와 *bifidobacteria*의 항암효과에 대한 보고이다^(18, 25). 장내 폐기물이나 유해 균에 의한 원인을 제거 해줌으로서 장에서의 암세포를 줄여 줄 수 있다는 결과가 보고되었으며 이와 관련된 연구가 활발히 진행되었다^(10, 14, 19). 최근에는 유산균 섭취가 신체의 면역력 향상에 어떤 연관이 있는지를 규명하는 연구도 진행되고 있다⁽³⁰⁾. *Bifidobacterium longum*을 쥐에 투여했을 때 투여구가 치사율이 현저히 적었으며 살아남은 쥐의 면역력이 향상됨을 보이는 CD4+ 세포의 증가를 나타내는 결과가 보고되었다⁽¹⁷⁾. 이러한 연구는 유산균의 기능성에 대한 기작을 규명하는 일과 기능성을 함유하는 특정 유산균 선정에 좋은 방법이 될 것이라고 본다. 현재까지 보고된 유산균의 기능성은 부정적인 결과도 많이 보고되었으며 또한 논란도 많으나 동일한 Genus와 species라도 strain에 따라 능력이 현저하게 다름을 인지하여야 하며 사용방법과 사용정량, 활력보존 등의 문제점을 고려한 해석이 따라야 한다고 본다.

유산균의 기능성은 이외에도 더 다양하게 연구되어지고 있으며 사료첨가제로서의 이용 가능성과 건강 식품으로서의 제품개발 가능성을 제시해 주고 있다(Table 12). 사료 첨가제로서는 장내 소화율을 향상시키는 기작을 규명하려 하고 있으며 이는 장내 미생물 환경을 향상시킴으로 인한 소화율 향상과 면역력 향상으로 인한 건강 유지를 초점으로 연구되어지고 있다. 또한 특이한 물질인 Vitamin K나 omega 3 fatty acid, linoleic acid 생성의 관점인 기능성을 조사하기도 하며 그 동안 강조되지 못했던 tumor 생성 저하의 효과에 대한 연구도 새로운 관심이 되어지고 있다. 이 외에 allergy에 대한 효과, rotavirus inhibition 등 새로운 기능성을 찾아내는 연구도 수행되어지고 있다.

Ⅵ. 식품에서 유산균의 대사물질 이용

유산균을 이용한 발효 식품이 식품 장기 저장의 실용적인 방법이었으며 이는 undissociated 된 유기산(lactic acid, propionic acid, acetic acid)과 2차 대사물질(bacteriocins, peroxides, aldehydes etc)에 의한 저장 효과라고 볼 수 있다. 각 종류의 식품을 유산균 발효를 이용하여 저장하기도 하지만(Table 13) 2

차 대사물질을 첨가하여 저장 효과를 높이는 방안이 연구되어지고 있다. Nisin, pediocin, propionicin 등 bacteriocin을 첨가하여 저장 기간을 늘이기도 하지만 농축된 bacteriocin 사용은 각 나라에 따라서 사용에 대한 규제가 있으므로 인하여 최근에는 유산균의 2차 대사 산물을 이용한 자연 보존제의 개발에 관심을 가지고 있다. 이러한 자연 보존제는 오랜 사용을 통한 GRAS에 해당되는 유산균의 대사물질을 자연적인 방법으로 건조시키고 이를 다른 식품에 보존제의 기능을 나타내도록 개발함으로 새로운 식

Table 13. Preservation of Food by Lactic acid fermentation

Food Groups	Lactic acid bacteria
Dairy	Lactococci, Lactobacilli Pediococci, Propionibacteria Leuconostocs, Bifidobacteria
Meats	Pediococci, Lactobacilli
Breads	Lactobacilli, Lactococci
Vegetables	Pediococci, Lactobacilli

품 보존제의 역할을 담당하고 있다.

Ⅶ. 유산균 이용의 방향

발효 식품의 주 원료로 사용되왔던 유산균은 이제 그 방향을 바꾸어 기능성 발균에 초점을 맞추어 연구가 진행되고 있다. 식품으로서의 유산균의 주 사용 용도였던 증균으로서의 유산균도 유산균의 기능이 많이 밝혀짐에 따라 첨가개념의 유산균으로 사용 영역이 넓어지고 있으며 유산균의 기능성을 중심으로 개발된 제품인 사료 첨가제, 건강보조식품 또는 제약제품의 사용도 증가되어지고 있다.

증균으로서의 유산균은 Proteinase negative strain 개발, Post acidification이 control 되는 유산균의 개발, 기능성이 함유된 유산균의 개발, flavors와 texture 향상이 가능한 균주 개발등 새로운 균주개발에 역점을 두어야 할 것이다. 기능성 원료로서의 유산균 개발은 아직까지 알려지지 않은 새로운 분야에서 기능성을 계속 찾을 수 있으며 무엇보다도 상업화된 제품으로서의 활력을 유지하는 안정성 향상에 관한 연구도 계속되어야 할 것이다. 특히 분말 제품으로서의 이용도가 많아짐에 따라 coating, encapsulation 등 새로운 기술이 적용되어 원하는 기능성이 잘 유지되는 방안에 대한 연구가 있어야 하리라고 본다. 유산균에 의해 생성되는 물질의 이용가능성과 대량 생산방안도 계속 연구되어야 할 것이다.

참고문헌

1. Ahn, Y. T., B. H. Kim, and H. U. Kim. 2000. Effect of acidophilus milk on the reduction of serum cholesterol level of Korea adults. Korea J. Animal Sci. 42:223-234.
2. Attaie, R., P. J. Whalen, K. M. Shahani, and M. A. Amer. 1987. The effect of *Lactobacillus acidophilus* administration upon survival of Salmonella in randomly selected human carriers. Prog.

Food Nutr. Sci. 7:13-17.

3. Ayala, O. J., S. S. Gonzalez, R. Herrera, R. Barcena, and G. D. Mendoza. 1992. Effect of a probiotic and a molasses-urea supplement on fiber digestibility of sesama straw. *J. Animal Sci.* 70(S):307.
4. Bacus, J. N., and W. L. Brown. 1985. The *Pediococci*: meat products in in Bacterial starter cultures for foods. CRP Press, Boca Raton, FA.
5. Bergey's manual of determinative bacteriology. 1994. 9th Ed. Williams & Wilkins. Baltimore, MD.
6. Cogan, T. M. 1985. The *Leuconostoc*: milk products in in Bacterial starter cultures for foods. CRP Press, Boca Raton, FA.
7. Cross, M. L., and H. S. Gill. 2001. Can immunoregulatory lactic acid bacteria be used as dietary supplements to limit allergies? *Int. Arch. Allergy Immunol.* 125:112-129.
8. Enders, G. L., and H. S. Kim. 1987. Changes in ruminant microbial populations and metabolites upon addition of lactic acid bacteria. FEMS Second Symp. on lactic acid bacteria Sep. 22/25 The Netherlands.
9. Fernandes, C. F. and K. M. Shahani and M. A. Amer. 1987. Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacillic fermented dairy products. *Microbial Reviewa* 46:343-356.
10. Fukui, M., T. Fujino, K. Tsutsui, T. Maruyama, H. Yoshimura, T. Shinohara and O. Nada. 2001. The tumor-preventing effect of a mixture of several lactic acid bacteria on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in mice. *Oncol Rep.* Sep-Oct: 1073-1078.
11. Gallager, C. R., A. L. Molleson, and J. H. Caldwell. 1974. Lactose intolerance and fermented dairy products. *J. Am. Dietetic Assoc.* 65:418-419.
12. Garner, B. E. and R. W. Douglas. 1996. Compositions for improving the utilization of feedstuffs by ruminants. US Patent #5,529,793.
13. Gilliland, S. E. 1985. The *Lactobacilli*: milk products in in Bacterial starter cultures for foods. CRP Press, Boca Raton, FA.
14. Gilliland, S. E. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria FEMS Microbiology Review 87:175-188.
15. Gilliland, S. E., C. R. Nelson and C. Maxwell. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:1-6.
16. Gismondo, M. R. 1999. Probiotics in the treatment of diarrhoea. *J. Antimicro. Chemo.* 44(S):35.
17. Go, Y. Y., I. H. Cho, J. B. Lee, T. J. Kim, C. S. Song, H. K. Jang, H. S. Kim, J. I. Lee, J. W. Kim and S. Y. Park. 2002 The protective effects of *Bifidobacterium longum* BL730 against Salmonella infection in mice. Submitted for publication.
18. Goldin, B. R., and S. L. Gorbach. 1884. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am. J. Clin. Nutr.* 39:756-761.
19. Goldin, B., L. Swenson, J. Dwyer, M. Sexton, and S. L. Gorbach. 1980. Effect of diet and *Lactobacillus acidophilus* supplements on human fecal bacterial enzymes. *J. Nat. Cancer Inst.* 64:255-260.

20. Gurr, M. I. 1987. Nutritional aspects fo fermented milk products. *Microbial Reviews* 46:337-342.
21. Harlander, S. K. 1989. Impact of biotechnology on the production and composition of yogurt in Yogurt:Nutritional and health properties. National Yogurt Association, McLean, VA .
22. Hotta, M., Y. Sato, S. Iwata, N. Yamashita, K. Sunakawa, T. Oikawa, R. Tanaka, K. Watanabe, H. Takayama, M. Yajima, S. Sekignchi, S. Arai, T. Sakurai, and M. Mutai. 1987. Clinical effects of Bifidobacterium preparations on pediatic intractable diarrhea. *Keio J. Med.* 36(3):298-314.
23. Kim, H. S., S. E. Gilliland. 1983. *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *J. Dairy Sci.* 66:956-966.
24. Kiyosawa, H., C. Sugawara, N. Sugawara, and H. Miyake. 1984. Effect od skim milk and yogurt on serum lipids and development of sudanophilic leisions in cholestrol-fed rabbits. *Am. J. Clin. Nutr.* 40:479-484.
25. Kohwi, Y., Y. Hashimoto, and Z. Tamura. 1982. Anti-tumor and immunoligical adjunct effect of *Bifidobacterium infantis* in mice. *Bifidobac. Microfl.* 1:61.
26. Mainzer, S. E., S. Yoast, A. Palombella, R. A. Silva, B. Poolman, B. M. Chassy, B. Boizer, and B. F. Schmidt. 1989. Pathway engineering of *Lactobacillus bulgaricus* for improved yogurt in Yogurt: Nutritional and health properties. National Yogurt Association, McLean, VA.
27. Manfredi, E. T., R. E. Miller 1990. Strains of Lactobacillus for enhancing feed conversion efficiency. US Patent #4,980,164.
28. Mann, G. V. 1977. A factor in yogurt which lowers cholesteremia in man. *Atherosclerosis* 26:335-340.
29. Metchnikoff, E. 1908. The prolongation of life. G. P. Putnam and sons, New York
30. Morata de Ambrosini, V., S. Gonzalez, G. Perdigon, A. P. De Ruiz Holgado, and G. Oliver. 1998. Immunostimulating activity of cell walls from lactic acid bacteria and related species. *Food Agric. Immunol.* 10(2):183-191.
31. Morishita, T., S. Kundo, T. Makino, and N. Tamura. 1999. Production of menaquinone by lactic acid bacteria *J. Dairy Sci.* 82:1897-1903.
32. Muralidhara, K. S., G. G. Sheggeby, P. R. Elliker, D. C. England, and W. E. Sandine. 1977. Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets. *J. Food Prot.* 40:288-295.
33. Ramlah, A. H., C. K. Tan. 1995. Effects of probiotic supplementation on broiler performance. *Pertanika J. Tropical Agri. Sci.* 18(2):109-112.
34. Perdigon, G., S. Alvarez, M. Medici, M. Medina, and E. Vintini. 1999. Stuýy of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 82:1108-1114.
35. Pheko, G. L., E. R. Chavez, and P. C. Lague. 1998. Dietary flaxseed and probiotic supplementation to produce high omega-3 fatty acid and low cholesterol. *Poultry Sci.* 77(S):42.
36. Phuapradit, P., W. Varavithya, K. Vathanophas, R. Sangchai, A. Podhipak, U. Suthutvoravut, S. Nopchinda, V. Chantraruksa, and F. Haschke. 1999. Reduction of rotavirus infection in children

- receiving bifidobacteria-supplemented formula. J. Med. Assoc. Thai 82(1):S43-8.
37. Reddy, M. R., S. V. Ramarao, N. K. Paraharaj, and A. K. Panda. 2000. Effect of dietary supplementation of probiotic on performance and immune response of layers in the decline phase of production. Indian J. Poultry Sci. 35:102-104.
 38. Reddy, G. V., K. M. Shahani, B. A. Friend, and R. C. Chandan. 1984. Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. Cult. Dairy Prod. J. 19(2):7-11.
 39. Saavedra, J. 2000. Probiotics and infectious diarrhea. Am. J. Gastroenterol. 95(1S) 16-18.
 40. Sanders, M. E. 1989. Bacteriophage resistance and its applications to yogurt flora in Yogurt: Nutritional and health properties. National Yogurt Association, McLean, VA.
 41. Sandine, W. E. 1985. The Streptococci: milk products in Bacterial starter cultures for foods. CRP Press, Boca Raton, FA.
 42. Yamazaki, K., A. Hosono, H. Hashimoto, F. He, M. Hosoda and M. Kawase. 1999. Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* TMC 0409 strain observed in rats fed cholesterol contained diets. Animal Sci. J. 70:90-97.