

*Lactobacillus acidophilus*의 산업적 이용과
CLA 생성에 관한 연구

김철현 · 백승천 · 정관섭 · 김현욱*

서울우유(협) 기술연구소 · 서울대학교 농업생명과학대학*

*Lactobacillus acidophilus*의 산업적 이용과 CLA 생성에 관한 연구

김철현 · 백승천 · 정관섭 · 김현욱*
서울우유(협) 기술연구소, 서울대학교 농업생명과학대학*

I. 서 론

1899년 파스티르 연구소의 Tissier는 모유 영양아의 분에서 혐기성 미생물의 일종인 bifidobacteria를 분리하였고, 다음 해에 오스트리아의 소아과 의사인 Moro에 의해 인공영양아의 분변에서 *Lactobacillus acidophilus*를 발견한 이래 유아 영양의 장내 균총에 대한 연구가 1980년대부터 활발히 이루어졌다(Fuller, 1989). Lactobacilli는 인간과 동물의 장내 정상 젖산균 중 다량 분포되어 있으며 내산성을 가진 조건적 혐기성 간균이다. 숙주동물의 장내 정상 균총을 유지하기 위해 발효유 형태로 가장 먼저 이용되었고, 특히 *L. acidophilus*는 장내에 서식하는 토착 균종으로서 장내 정상 균총을 유지하는데 중요한 역할을 하는 젖산균으로 인식되어 왔으며, 내산성과 담즙산 내성이 뛰어나고 건강증진 효과가 우수한 것으로 알려졌다(Gilliland, 1989). 또한 영유아로부터 분리된 *L. acidophilus*의 증식과 산생성이 성인으로부터 분리된 것에 비해 우수하며(Roy, 1993), 인공영양아에 비해 모유영양아의 장내 균총 내 *L. acidophilus*의 정착율이 더욱 높게 나타나는 것으로 보고되고 있다(Benno, 1984).

최근 발효유제조에 사용되는 starter culture와 더불어 *L. acidophilus*와 같은 기능성 젖산균(probiotics)이 함유된 상업적 발효유의 생산이 급증하고 있다(Lourens-Hattingh와 Viljoen, 2001). 이로 인해 기능성 젖산균이 첨가되어 형성되는 발효유의 풍미 및 조직감과 같은 관능적 특성에 미치는 영향에 대해서도 많은 관심을 가지게 되었다(Tamine과 Robinson, 1999; Ostlie 등, 2003). 또한 최근 면역증강, 항암, 항산화, 콜레스테롤 조절 및 골밀도 증가 등의 생리적 효과와 연관이 있는 것으로 밝혀져 주목을 받고 있는 conjugated linoleic acid(CLA)를 젖산균이 linoleic acid로부터 생성할 수 있다는 연구 결과들이 보고되고 있다(Alonso 등, 2003).

따라서 이 논문에서는 내산성과 담즙산 내성이 뛰어나고 건강증진 효과가 우수한 것으로 알려진 *L. acidophilus*의 산업적 이용 시 검토 사항과 *L. acidophilus*에 의한 CLA 생성 등에 관해 알아보 고자 한다.

II. 본 론

1. *L. acidophilus*와 장내 균총

*L. acidophilus*는 조건적 혐기성 간균이며 인간과 동물의 장에 존재하는 토착 우점 균종(Tannock, 1995)으로 소화관내의 낮은 pH, 담즙산 및 lysozyme에 대한 저항성이 있고 장관 상피세포에 흡착할 수 있는 성질 등이 있어서 소화기관 내에서 생존력과 정착성이 우수하며 특히 회장 말단 부위에서의 생장력이 높은 것으로 알려져 있다(Libeck 등, 1987).

*Lactobacillus*는 일반적인 장내미생물 중 하나이지만 일부 종만이 장에서 생존하며 (Ray, 1996), 그 중 *L. acidophilus*는 소장에서 유해 미생물의 장내 정착과 성장 및 활성을 억제함으로써 유익한 정상 균총을 유지하도록 할 뿐만 아니라 일시적으로 감염된 장내 병원균이 장관, 주로 소장에 정착할 기회를 감소시킨다(Collins와 Aramaki, 1980). 또한 발효유 제조에 주로 사용되는 젖산균 중 *L. acidophilus*가 다른 젖산균에 비해 섭취 후 장내 생존율이 높고, 구강과 위의 효소, 위액의 낮은 pH, 소장내의 담즙 및 점액 등에 대한 저항성이 우수하여 생균제로서 다양하게 이용되고 있다(Marteau 등, 1997).

2. *L. acidophilus*의 건강 증진 효과

*L. acidophilus*는 콜레스테롤 동화, 복합담즙산 분해, 젖산균 세포와 콜레스테롤 결합 등에 의한 혈중 콜레스테롤 저하 기능(Gilliland와 Walker, 1990; Buck와 Gilliland, 1994; Ahn, 2000), 혈중 또는 림프절내에서 항체 생성력의 상승과 macrophage와 T-세포 및 natural killer(NK) 세포의 활성 강화에 따른 면역 조절 기능(Kaminogawa, 1990; Perdigon 등, 1993), 숙주의 면역반응 강화와 발암물질과의 결합 및 분해, 발암물질과 발암촉진 물질을 생산하는 장내 유해 미생물의 억제와 대사 활동의 변화 유도, 결장(colon)의 생리화학적 환경 변화 및 숙주에 대한 생리적 조절에 의한 항암효과 등과 같은 다양한 건강증진 작용이 보고되고 있다(McIntosh, 1996; Hirayama와 Rafter, 2000).

3. 산업화를 위한 *L. acidophilus*의 선발

여러 연구자들에 의해 probiotics로서 젖산균의 선발기준이 제시되고 있으며, 발효유제품의 제조에 사용되는 젖산균의 경우 probiotics로서의 선발 기준과 더불어 단백질 분해 능력(Xanthopoulos 등, 2000)과 발효과정을 통해 생성되는 풍미성분(Imhof 등, 1995) 등 역시 부가적으로 매우 중요한 선정 기준이 된다. 따라서 발효유제품 제조 등과 같은 산업적 이용 시 젖산균의 선발조건으로 안전성(safety), 기능성(생존력, 흡착능, 정착성, 인체 유용 효과 작용 및 유용 물질 생성능 등), 기술적 특성(우유에서의 생장, 관능적 특성, 생산공정 및 유통중의 안정성과 생존력 등) 등이 종합적으로 고려되어야 한다(Holzapfel과 Schillinger, 2002).

1) 내산성과 담즙산 내성

젖산균이 장관에서 그 기능을 발휘하기 위해선 장관까지 활력과 기능을 유지한 상태에서 도달하는 것이 선결과제이며 이를 위해 구강과 위의 효소, 위산, 소장 및 점액 등에 대한 저항성이 기본적으로 요구된다(Havenaar, 등, 1992). 사람은 생후 1년 정도가 되면 위액의 pH가 1.4~2.0 수준에 이르러 안정되며, 위에 음식물이 유입되면 침과 음식물 자체의 완충효과에 의해 위 내용물의 pH가 높아지게 되어 젖산균의 생존가능성은 더욱 높아지게 된다(Pettersson 등, 1983; Pochart 등, 1992). 낮은 pH 이외에도 위장 내 음식물의 체류시간도 젖산균의 생존에 중요한 영향을 미치게 되는데, 일반적인 성인이 발효유를 섭취하였을 때 위장을 통과하는 시간을 측정된 결과 섭취 후 45분이 지나면 50%, 90분이 지나면 약 80%, 3시간 후에는 모두 통과하며 이 때까지 위액의 pH는 2.7 미만으로 유지된다(Martoni 등, 1987; Berrada 등, 1991). *Lactobacillus* 중 *L. casei*와 *L. acidophilus* 등의 내산성이 높으며 특히 *L. acidophilus*의 경우 일반적으로 pH 2.0에서는 30~45분 정도 생존하고, pH 3.0에서는 매우 높은 수준이 생존하는 것으로 알려져 있다(Hood와 Zottola, 1988; Shin 등, 1999). 이러한 *L. acidophilus*의 높은 내산성은 이들의 세포벽 지방산 조성에 있어 C_{19:0 cyc}의 비율이 35~39%로 다른 젖산균에 비해 대부분 높게 나타나 세포벽 지방산 내 C_{19:0 cyc}의 함량과 내산성과의 높은 연관성이 제시되고 있다(Rizzo 등, 1987).

유용성 젖산균들은 conjugated bile acid를 free acid로 전환시킬 수 있고 이들 free acid에 의해 장내 미생물 수가 조절됨으로써 장내 정상적인 균총이 유지되며, 따라서 장내에 적용할 젖산균으로 선발하려면 담즙에 대한 내성 유무 역시 기본적으로 요구된다(Lewis와 Gorbach, 1972; Speck, 1975; Gilliland 등, 1984). 담즙산에 대한 내성이 약한 균주는 담즙산이 없는 배지에서도 내성이 강한 균주보다 성장속도가 낮으며(Gilliland 등, 1984), 장내에서 유래하지 않은 lactobacilli의 경우 0.05% 이하의 담즙산이 함유된 배지에서도 생장이 억제되고, 0.15%의 소 담즙(oxgall)이 첨가된 LBS 배지에서는 성장하지 못하는 것이 확인되어 장내에 정착할 수 있는 젖산균의 선택적 배양 방법으로 이러한 방법이 이용되었으며(Gilliland와 Speck, 1977), 여러 연구자들에 의해 *L. acidophilus*의 담즙산 내성이 다른 lactobacilli에 비해 매우 높게 나타나 probiotic으로서의 장내 생존율이 높은 것으로 확인되었다(Chow와 Weimer, 1999; Shin 등, 1999; Kang 등, 2001).

2) 유당대사와 산생성

현재 발효유의 제조에는 *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* 및 *S. thermophilus*로 이루어진 혼합균주가 다수 사용되고 있으며, 그중 상업적 발효 조건에서의 발효는 주로 *S. thermophilus*에 의해 이루어지고 *L. acidophilus*는 probiotics로 사용되었으나, 최근 발효유 제조 시 첨가되는 probiotic 젖산균에 의한 유제품의 관능성에 영향을 미치는 요인에 대해 다양한 연구가 이루어지고 있다(Lourens-Hattingh와 Viljoen, 2001; Ostlie 등, 2003). 발효유 제조에 사용되는 바람직한 젖산균의 특징은 우유에서의 적절한 증식과 산생성 능력으로 이를 통해 비용을 절감하고 오염의 가능성을 감소시키는 것이다. 또한 이러한 산생성은 유해미생물의 생육억제효과 뿐만 아니라 대장세포의 에너지원 및 대장 운동의 촉진 등과도 연관이 있으며 풍미와 조직에 큰 영향을 미치게 된다(Cummings와 Macfarlane, 1991).

일반적으로 유아로부터 분리된 *L. acidophilus*의 증식과 산생성이 성인으로부터 분리된 것에 비해 우수하며(Roy, 1993), 50nmole 이상의 β -galactosidase 활성을 가지고 있어 발효유제품 적용 가

능성이 높으나, 개체에 따른 산생성 능력이 상이하게 나타나는 것으로 알려져 있다(Shin 등, 1999; Kang 등, 2001).

3) 유단백질 분해

유당대사와 더불어 단백질 분해능은 젖산균이 우유에서 생육하기 위해서 필수적인 특성중의 하나로, 그 중에서도 특히 외인성 아미노산이 필요하다고 하였다(Reiter와 Oram, 1962). 그러나 우유내 유리아미노산과 펩타이드의 농도는 젖산균이 빠른 성장을 하기에는 충분하지 않으므로 미생물들은 아미노산원으로서 케이신을 이용하기 위해 유단백질을 펩타이드로 분해해서 세포내로 유입한 후 peptidase에 의해서 아미노산까지 분해하는 일련의 proteolytic system을 가지고 있다(Tamine와 Robinson, 1999). 또한 젖산균은 세포벽의 단백질 분해효소를 이용하여 케이신을 분해하고 세포에 펩타이드와 아미노산을 공급하기 때문에 발효유 스타터로서의 능력으로 젖산균의 단백질 분해능이 중요하다(Salminen 등, 1996). Xanthopoulos 등(2000)이 신생아의 분변에서 분리한 *L. acidophilus*, *L. paracasei* ssp. *paracasei* 및 *L. ramosus* 등은 유단백질 분해 활성을 실험한 결과 뚜렷한 분해활성을 나타내어 발효유 starter로서 사용이 적절하다고 하였다.

유단백질의 분해에 의해서 생기는 펩타이드 및 유리 아미노산은 미생물의 생육뿐만 아니라 유제품의 맛에 영향을 미치는데(Tamine와 Deeth, 1980; Marshall, 1984), 특히 치즈 제조 시에 문제로서 제기되는 쓴맛은 proline, leucine 및 tryptophane 등의 소수성 아미노산을 포함하는 펩타이드에 의하여 나타나는 것으로서, 젖산균의 단백질 분해계에 의해 proline 등을 풍부하게 함유하고 있는 β -케이신의 분해에 의한 결과로 추정되고 있다(Sullivan과 Jago, 1972). Lactobacilli의 단백질분해효소에 관한 연구는 치즈의 제조 시 쓴맛을 내는 펩타이드의 형성을 방지하기 위하여 활발하게 이루어졌으며(El Abboudi 등, 1992; Tan 등, 1993; Sasaki 등, 1995), 젖산균의 단백질분해 특성은 우유에서 유래되는 다양한 생리활성을 가진 성분들의 생성에도 영향을 미치게 된다(Smacchi와 Gobetti, 2000).

4) 저장성 및 농축배양

기능적으로 아무리 우수한 젖산균일지라도 대량생산 조건과 1년 이상 장기 저장 중 생존력이 확보되지 않으면 산업적 활용성은 매우 낮아지게 되며 따라서 젖산균의 대량 생산을 위해선 농축 제조공정과 냉동 또는 냉장 저장 중 일정기간 생존력이 유지되는 것이 매우 중요하다(Fuller, 1989; Salminen 등, 1998). 산업적 이용을 위한 젖산균의 제조는 크게 배양, 농축, 동결 또는 동결건조의 3단계로 구분되며 배양 시 균중식이 용이하고 이미, 이취가 없어야 하며 경제성과 균체회수가 편리한 배양배지의 선정이 중요하다(Gilliland, 1988). 또한 배양 중 생산된 젖산 등에 의해 젖산균의 생장이 억제되므로 이를 중화하여 최대한 균체를 얻기 위한 pH 조절이 요구된다(Hall과 Antonucci, 1988; Thunell, 1988).

젖산균의 산업적 이용에 있어 냉장 또는 냉동 조건에서의 장기 저장 중 생존율은 적절한 동결보호제(cryoprotectant)의 사용이 큰 영향을 미치며(Kim과 Park, 1993), 현재 사용되고 있는 대부분의 산업화된 젖산균의 경우 일반적으로 -18°C 에서 12개월간 10^{10} cfu/g 이상의 생존수를 유지하여야 하는 것으로 알려져 있다(Chr. Hansen Lab. A/S, Denmark).

5) 관능적 특성

다양한 건강증진 효과를 가진 젖산균의 효과적인 섭취방법은 젖산균에 의해 제조된 각종 발효유의 상식이라고 할 수 있다. 따라서 발효유의 적절한 섭취를 유도하기 위해선 맛(taste), 향미(aroma) 및 조직감(texture)등과 같은 관능적인 특성이 우수해야 하며 이러한 요인들은 젖산균의 종류와, 우유의 질 및 가공 처리 조건 등에 의해 좌우되게 된다(Rasic과 Kurmann, 1978).

최근 세계적으로 발효유 제조 시 *L. acidophilus*의 첨가빈도가 급격히 증가하고 있음에 따라 *L. acidophilus*가 발효유의 맛과 향미 및 조직감에 미치는 영향에 관한 연구가 다양하게 이루어지고 있다(Ostlie 등, 2003). 발효유의 풍미는 대부분 비 휘발성 산(non-volatile acid), 휘발성 향미성분(carbonyl 화합물), 아미노산 및 지방산 등에 의해 좌우되며 그 중 발효과정 중 젖산균에 의해 생성되는 휘발성 향미성분이 가장 중요한 영향을 미친다(Kang 등, 1988).

휘발성 향미성분 중 acetaldehyde, diacetyl, acetone, acetoin 및 butanone-2가 주요 향미성분이며 특히 acetaldehyde가 발효유의 향미에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Hamdan 등, 1971; Guerra, 1995). 이러한 acetaldehyde의 생성은 젖산균에 의한 유당 대사 과정 중 glucose로부터 pyruvate와 acetyl-CoA를 형성한 후 acetaldehyde를 생산하거나 threonine aldolase의 작용으로 threonine으로부터 acetaldehyde를 생산하는 것으로 보고되었다(Lees와 Jago 1976; Shankar, 1977).

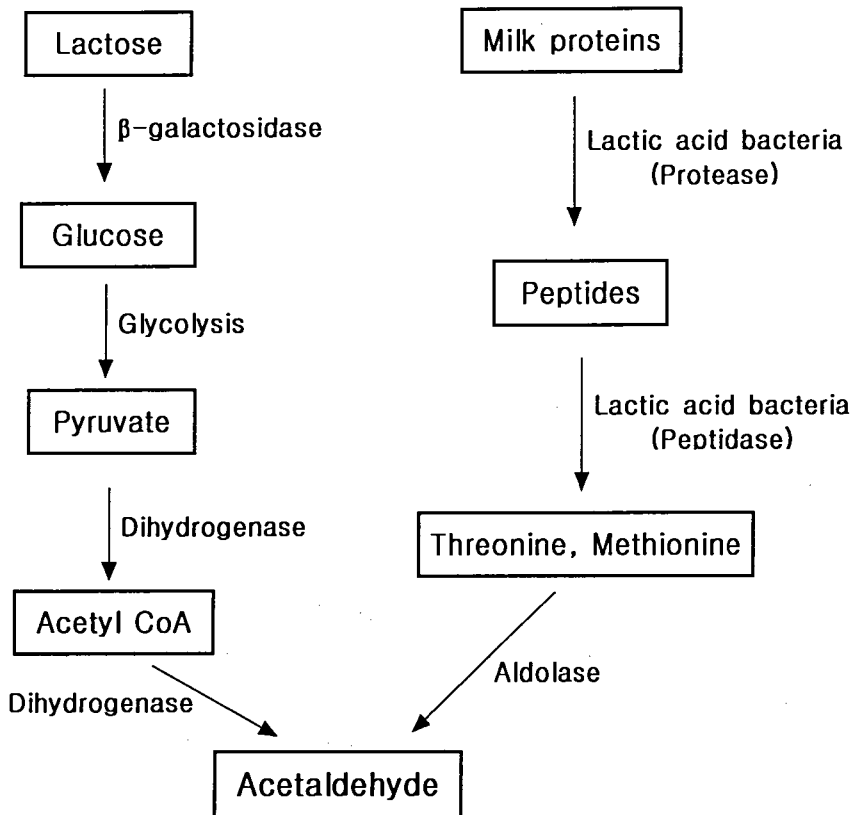


Fig. 1. Pathway to acetaldehyde by lactic acid bacteria(Law, 1981).

그러나 acetaldehyde의 농도가 적당할 경우에는 전체적인 풍미를 좋게 하지만 과다할 경우 green flavor 등과 같은 이미가 유발되며(Hamdan 등, 1971). 이때 발효유의 풍미에 있어 가장 적합한 acetaldehyde의 농도는 23~41ppm 가량으로 제안되었다(Rasic과 Kurmann, 1978). Marshall과 Cole (1983)은 *L. acidophilus*가 threonine aldolase의 활성을 가지고 있어 threonine으로부터 acetaldehyde를 생성하지만, 이와 더불어 acetaldehyde를 환원하여 ethanol을 생성하는 alcohol dehydrogenase를 가지고 있어 *L. acidophilus*를 이용한 발효유 제조시 주요 풍미 성분인 acetaldehyde의 함량이 부족하여 발효유 고유의 향미에 결함이 생긴다고 하였다. 또한 Marshall(1984)은 *L. acidophilus*를 이용한 발효 시 acetaldehyde가 적게 나타나는 이유는 acetaldehyde가 휘발성이 매우 강하여 시료 중에 농축되지 못했거나 diacetyl과 acetoin으로 전환되었을 가능성이 있다고 하였다.

유기산 역시 젖산균에 의한 발효 시 주요한 풍미 성분 중의 하나로 주로 lactic acid와 acetic acid의 함량이 가장 높게 나타나고 butyric, capric, caproic, formic, propionic, caprylic 및 isovaleric acid 등이 존재하며 이들은 휘발성 향미성분보다 풍미 기여도는 낮으나 전체적인 풍미의 조화에 기여하며 이러한 유기산은 유당 대사와 지방 및 단백질의 분해과정에서 생성된다(Beshkova 등, 1998).

발효유의 off-flavor는 젖산균의 종류에 따라 다양하게 분비되는 효소에 따른 유단백질과 유지방의 분해 생성물인 aspartic acid, histidine, arginine, tyrosine, valine, phenylalanine, isoleucine 및 leucine 등과 같은 쓴맛 아미노산(bitter amino acid)의 생성량과 C₄~C₁₂ 체인을 가진 단쇄 지방산 함량에 따라 생성되어 발효유의 풍미에 좋지 않은 영향을 미치게 된다(Fox, 1983). 그 중 C₄~C₈ 지방산은 산패취를 유발하고 C₁₀~C₁₂ 지방산은 쓴 맛과 비누취를 유발하며, C₁₄ 이상의 장쇄 지방산은 풍미에 큰 영향을 주지 않는다고 하였다(Ott 등, 1997).

젖산균에 의한 발효유제품의 조직감은 젖산균에 의해 생성되는 protease와 peptidase에 의한 케이스인의 가수분해와 젖산균에 의한 균체 외 다당류(exopolysaccharide)의 생성량에 따라 많은 영향을 받게 되고, 적정 기호성과 더불어 유청 분리 방지와 같은 발효유의 제품 안정성에도 기여하게 되므로(Laye 등, 1993) 젖산균의 생육특성에 따른 단백질의 가수분해와 젖산균에 의한 점성물질 생성은 발효유제품 제조를 위한 젖산균의 중요한 선정 기준이 된다.

4. *L. acidophilus*에 의한 conjugated linoleic acid 생성

1) CLA의 생리적 기능과 구조

Linoleic acid(LA, octadecadienoic acid, C_{18:2n-6}) 이성체의 존재는 Nichols 등(1950)에 의해 보고되었으나, conjugated linoleic acid(CLA)가 항암 효과가 있는 물질로 보고되면서부터(Ha 등, 1987) 항암 효과(O'shea 등, 2000; Riera 등, 2002), 항돌연변이 효과(Ha 등, 1987; Chin 등, 1992), 항동맥경화 효과(Kritchevsky 등, 2000; Stangl, 2000), 체지방 감소(Bee 등, 2000; Miner 등, 2001), 면역 조절(Liu와 Belury, 1998; Pariza 등, 1999), 유해 미생물 생육 억제(Wang과 Jhonson, 1992), 인슐린 농도 조절(Houseknecht 등, 1998) 및 골격과 관절 대사 조절(Seifert와 Watkins, 1997; Watkins 등, 2001) 등과 같은 매우 다양한 생리활성기능이 밝혀짐에 따라 미국과 일본에서는 식품과 의약품으로 허가되어 널리 사용되고 있다(Hur 등, 2002).

CLA는 LA에 존재하는 이중결합이 기하학적으로 cis(c)와 trans(t)형을 모두 포함하는 이성체

Table 1. Levels of total CLA and cis-9, trans-11 CLA in milk and milk products(Lin et al., 1995)

Product	Total CLA(mg/g fat)	cis-9, trans-11 CLA (% of total)
Milk fat	2.0~30.0	90.0
Yogurt	5.1~9.0	82.0
Natural cheese	0.6~7.1	17.0~90.0
Processed cheese	3.2~8.9	17.0~90.0
Butter	9.4~11.9	91.0
Condensed milk	7.0	90.0
Ice cream	3.8~4.9	73.0~76.0

(isomer)이다(Sehat 등, 1999). LA는 이중결합이 9번과 12번 탄소에 존재하지만 고열처리에 의한 이성화(isomerization)나(Kelper 와 Tove, 1967), 알칼리 촉매를 이용한 화학적 합성방법(Ma 등, 1999) 및 다양한 미생물들에 의해 생산하는 linoleic acid isomerase에 의한 효소적 방법 등에 의해 여러 가지 형태의 공액화된 CLA로 전환된다(Kepler 등, 1996; Jiang 등, 1998; Lin 등, 1999).

현재까지 활성형(active form)으로 c-9, t-11 및 t-10, c-12 이성체를 포함한 8종의 CLA가 주로 알려져 있는데 그 중 c-9, t-11 및 t-10, c-12 이성체가 생리활성이 가장 높으며, 식이 중에는 c-9, t-11 이성체가 주된 형태로 보고되었다(Chin 등, 1992; Parodi, 1997). CLA는 반추동물로부터의 고기와 유제품에 주로 함유되어 있으며 유제품내 주요 CLA는 c-9, t-11 이성체로 유제품 내 CLA 함량은 Table 1에 나타난 바와 같다.

우유 내 CLA 함량은 주로 젖소의 사료 및 목초 내 LA의 함량에 기인하며 이때 LA는 반추동물의 위에서 미생물 lipase에 의해서 에스테르 결합이 가수분해된 뒤 가수소화(biohydrogenation)되는데 c-9, t-11 이성체는 이러한 가수소화반응의 중간 생성물이며 linoleic acid의 c-12결합이 t-11 결합으로 변환된다(Kepler 등, 1996). 이러한 과정을 거쳐 형성된 c-9, t-11 이성체는 반추위 내에서 직접 흡수되거나 또는 반추위 미생물에 의해 vaccenic acid(trans-11-octadecenoic acid)로 전환되어 대사되고(Chin 등, 1994), 흡수된 vaccenic acid는 세포 내에 있는 stearoyl-CoA desaturase에 의해 다시 c-9, t-11 이성체로 전환되어 우유에 존재하게 된다(Pariza 등, 2001). 이러한 경로를 거쳐 우유로 전이된 CLA의 함량은 축종, 사료, 계절 및 가공처리 방법에 따라 다양하게 나타나지만 대부분 함량은 낮은 편으로(Kim과 Liu, 2002), 이로 인해 우유내 CLA 함량을 높이기 위한 사양 시험이 여러 연구자들에 의해 시도되었다(Kelly 등, 1998; McGuir 등, 1998; Dhiman 등, 1999).

현재까지 일반적 식이를 통한 CLA의 섭취량에 대한 명확한 보고는 없으나 미국인의 일일 지방 섭취량(80g/day)과 식이지방에 함유된 CLA함량을 0.5%로 추정할 때 하루에 섭취하는 CLA는 약 0.4g 가량인 것으로 나타났으며(Ha와 Pariza, 1991), Chin 등(1994)은 동물실험 결과 CLA의 일일 섭취 요구량을 3g이라 하였으나 Fritsche와 Steinhart(1998)는 독일인 남녀에게 필요한 CLA 일일섭취량은 각각 350mg 및 430mg으로 보고하여 연구자들에 따라 큰 차이를 나타내었다.

2) *L. acidophilus*에 의한 CLA 생성

현재 CLA의 대량 생산은 가열과 알칼리 처리에 의한 화학적 합성 방법을 통해 주로 이루어지고 있으며(Ma 등, 1999), 식물성 유지의 중성 지방으로부터 에스테르 결합을 가수분해시켜 유리지방산을 생성하고 변형되지 않은 두 개나 그 이상의 적당한 이중결합을 가지는 불포화지방산을 변형시켜 CLA를 얻게 되나, 이 과정에서 CLA 뿐만 아니라 다른 포화지방산과 불포화지방산을 변형시키는 반응이 촉매된다(Berdeaux 등, 1997; Ma 등, 1999). 따라서 이러한 비활성형 CLA를 분리 및 정제하여야 하기 때문에 비경제적이고 또한 화학적 처리에 따른 안전성 문제가 야기될 수 있다. 이를 극복하고자 식품에 적용 시 경제성과 안정성을 가질 수 있는 미생물의 효소적 이성화(isomerization)를 이용한 CLA의 생성에 관한 연구가 시도되었으며(Shantha 등, 1995), 이러한 연구의 일환으로 젖산균의 CLA의 생성능에 관한 연구도 다양하게 이루어지고 있는데(Jiang 등, 1998; Ogawa 등 2001; Lin 등, 2002), Coakley 등(2003)은 사람의 경우 LA로부터 CLA가 유의적으로 생성되지 않으므로 CLA가 함유된 식품을 섭취하거나 장내 probiotics에 의해 섭취된 LA가 CLA로 전환되어 인체에 공급되어야 한다고 하였다.

최근 연구자들에 의해 *L. acidophilus*로부터 분리된 linoleic acid isomerase를 이용하여 LA가 첨가된 우유에서의 CLA 생성능이 확인되었으며(Ogawa 등, 2001; Lin 등, 2002), 이러한 CLA의 생성 경로로서 LA가 linoleic acid isomerase에 의해 C_{18:1} trans-11 vaccenic acid로 전환된 후 delta-9 desaturase에 의해 전환되는 효소적 체계가 제시되었으며(Griinari와 Baumann, 1999), Ogawa 등(2001)과 Mosley 등(2002)도 *L. acidophilus*에 의해 10-hydroxy-trans-12-octadecaenoic acid 및 10-hydroxy-cis-12-octadecaenoic acid와 같은 가수소화 지방산(hydroxy fatty acid)의 생성을 거쳐 CLA가 생성된다고 하였다. 이러한 효소 체계를 확인하기 위해 사전에 linoleic acid isomerase에 의해 C_{18:1}

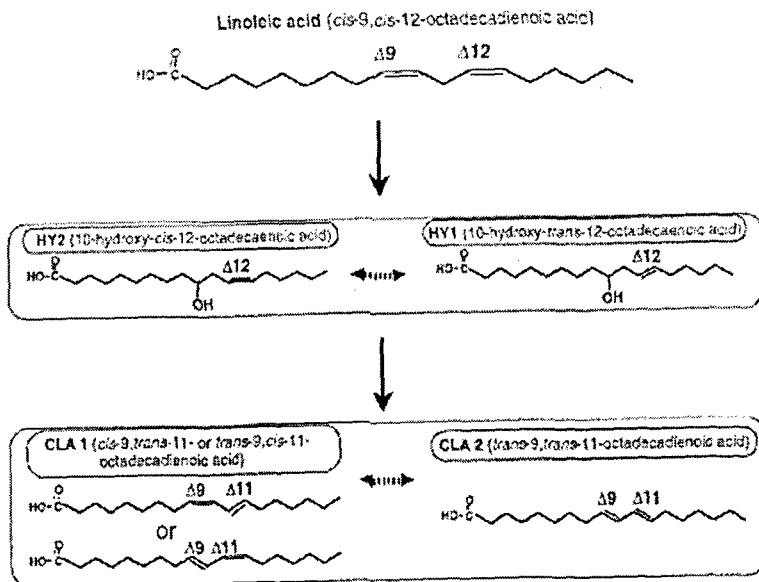


Fig. 2. Proposed synthetic pathway of CLA production from linoleic acid by *L. acidophilus*(Ogawa et al., 2001).

trans-11 vaccenic acid로 전환시킨 후 비유중인 젖소의 사료에 delta-9 desaturase의 활성을 억제하는 cyclopropene 지방산이 풍부한 sterculic oil을 첨가하여 급여한 결과, 첨가하지 않은 처리구에 비해 우유내 c-9, t-11 CLA 함량이 60~65% 가량 감소하였으며 이러한 효소체계가 CLA의 생성과 매우 밀접한 관계가 있다고 하였다(Corl 등, 2001).

또한 Jiang 등(1998)은 젖산균에 의한 LA에서 CLA로의 전환은 일종의 자기방어 개념으로 이를 해독 기작(detoxification mechanism)이라 하였다. 일반적으로 유리지방산은 미생물의 생육을 저해하는 것으로 알려져 있으며, 특히 LA와 같은 불포화지방산은 Gram 양성 미생물의 생육을 저해하고(Wang과 Jonson, 1992; Jiang 등, 1998) 불포화도가 높은 지방산일수록, trans형보다 cis형이 많은 지방산일수록 더욱 생육을 저해하는 것으로 알려져 있다(Raychowdhury 등, 1985; Jenkins와 Courtney 등, 2003).

3) 첨가물에 의한 CLA 생성촉진

젖산균으로 제조된 발효유에서 CLA의 함량은 젖산균의 생육특성, 효소활성, 제조에 사용된 우유의 성분과 첨가물 및 가공처리 방법에 따라 많은 영향을 받는다(Shantha, 1995; Lin, 2000; Jenkins와 Courtney 등, 2003). Shantha와 Decker(1993)는 철분과 butylated hydroxytoluene(BHT), propyl gallate(PG), cystein, ascorbic acid와 같은 항산화제와 sodium caseinate, 탈지유, 유청분말 등을 각각 첨가하여 가공치스를 제조하였을 때 PG 첨가구에서 무첨가구에 비해 1.4~1.6배 가량 높은 함량의 CLA가 생성되었고, sodium caseinate를 첨가하였을 때 유청분말이나 탈지분유에 비해 높은 함량의 CLA가 생성되었으며, 이러한 결과는 sodium caseinate가 linoleic acid radical의 수소 공여체(hydrogen donor)로서 작용함에 따라 CLA의 형성이 촉진되기 때문이라고 하였다. Ha 등(1989)도 linoleic acid radical이 CLA 형성의 중간단계인 conjugated dienyl radical로 전환된 후 BHT, PG 등과 같은 항산화제에 의해 가수소화 작용이 일어나 CLA로 전환된다고 하였다.

Kim과 Liu(2002)는 LA 및 glucose를 첨가하여 반추위 미생물을 탈지유에서 배양하였을 때 탈지유내 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin은 CLA의 산화를 억제해 주고, 첨가된 glucose는 가수소화 반응과 젖산균의 증식에 에너지원으로 작용함에 따라 CLA의 생성량을 증가시켜 준다고 하였다. 또한 Lin(2000)은 LA가 첨가된 탈지유에 sucrose, lactose 및 fructose를 각각 첨가하고 *L. acidophilus*를 배양한 결과 lactose와 fructose에 의해 CLA 생성이 증가하였으며, sucrose 첨가구는 *L. acidophilus*의 생육이 저해되었고 CLA 생성도 다른 처리구에 비해 매우 낮게 나타났다고 하였다.

Ⅲ. 결 론

최근 장내에 서식하는 토착 균종으로서 장내 정상 균총을 유지하는데 중요한 역할을 하며, 내산성과 담즙산 내성이 뛰어나고 건강증진 효과가 우수한 probiotics로 알려진 *L. acidophilus*는 건강보조식품으로서 뿐만 아니라 발효유제품 전반에 걸쳐 매우 다양하게 이용되고 있다. 따라서 주로 정장 효과를 위주로 사용되었던 *L. acidophilus*에 의한 발효유제품 제조 시 형성되는 풍미 및 조직감과 같은 관능적 특성에 미치는 영향 역시 매우 중요한 선발조건으로 인식되어야 하며, 또한 *L. acidophilus*가 가진 기존의 인체유용효과와 더불어 CLA 등과 같은 생리활성(bioactive) 물질의 생성

가능성에 대한 새로운 기능성의 탐색이 요구되고 있다.

IV. 참고문헌

1. Ahn, Y. T. A study on the reduction of cholesterol absorption in intestine by *Lactobacillus acidophilus*. Ph. D. thesis. Seoul National University. Suwon. Korea (2000).
2. Alonso, L., Cuesta, E. P., and Gilliland, S. E. Production of free CLA by *Lactobacillus acidophilus* and *L. casei* of human intestinal origin. J. Dairy sci. 86:11941-1946 (2003).
3. Bee, G. Dietary conjugated linoleic acid consumption during pregnancy and lactation influences growth and tissue composition in weaned pig. J. Nutrition. 130:2292-2298 (2000).
4. Benno, Y., Sawada, K. and Mitsuoka, T. The intestinal microflora of infants, composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. Microbiol. Immunol. 28:975-979 (1984).
5. Berdeaux, O., Christie, W. W., Giunstone, F. D. and Sebedio, J. L. Large-scale synthesis of methyl cis-9, trans-11 octadecadienoate from methyl ricinoleate. J. Am. Oil Chem. Soc. 74:1011-1015 (1997).
6. Berrada, N., Lemeland, J. F. and Piaia, G. L. *Bifidobacterium* from fermented milks: Survival during gastric transit. J. Dairy Sci. 74:409-413 (1991)
7. Beshkova, D., Simona, E., Frengova, G. and Simov, Z. Production of flavor compounds by yogurt starter culture. J. Industrial Microbiol. Biotechnol. 20:180-190 (1998).
8. Buck, M. L. and Gilliland, S. E. Comparison of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth. J. Dairy Sci. 77:2925-2933 (1994).
9. Chin, S. F., Liu, W., Storkson, J. M., Ha, Y. L. and Pariza, M. W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. J. Food Comp. Anal. 5:185-197 (1992).
10. Chow, L. and Weimer, B. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isoates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Sci. 82:23-31 (1999).
11. Coakley, M., Ross, R. P., Nordgren, M., Fitzgerald, G., Devery, R. and Stanton, C. Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived *Bifidobacterium* species. J. Appl. Microbiol. 94:138-145.
12. Collins, E. B. and Aramaki, K. 1980. Production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Sci. 63:353-357 (2003).
13. Corl, B. A., Baumgard, L. H., Dwyer, D. A., Griinari, J. M., Phillips, B. S. and Bauman, D. E. The role of Δ^9 -desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. J. Nutri. Biochem. 12:622-630 (2001).
14. Cummings, J. H. and Macfarlane, G. T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. J. Appl. Bacteriol. 70:443-459 (1991).
15. Dhiman, T. R., Helmink, E. D., McMahon, D. J., Fire, R. L. and Pariza, M. W. Conjugated linoleic acid content milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. J. Dairy Sci. 82:412-419 (1999).

16. El Abboudi, M., Soda, M. El., Pandian, S., Simard, R. E. and Olson, N. Partial purification and characterization of aminopeptidase from debittering and non-bittering strains of *Lactobacillus casei*. *Milchwissenschaft*. 47:366-373 (1992).
17. Fox, P. F. *Developments in dairy chemistry I*. Applied Science Pub., New York. pp. 218~220.
18. Fritsche, J., and H. Steinhart. 1998. Amounts of conjugated linoleic acid(CLA) in German foods and evaluation of dairy intake. *Z. Lebesm. Unters. Forsch.* A206:77-82 (1983).
19. Fuller, R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66:365-378 (1989).
20. Gilliland, S. E. *Bacterial starter cultures for foods* CRC Press, Inc. Boca Ratou. Florida (1988).
21. Gilliland, S. E. Acidophilus milk products: A review of potential benefits to consumers, *J. Dairy sci.* 72:24833-2494 (1989).
22. Gilliland, S. E. and Walker, D. K. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *J. Dairy Sci.* 73:905-911 (1990).
23. Gilliland, S. E., Staley, T. E. and Bush, L. J. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.* 67:3045-3051 (1984).
24. Gilliland, S. E. and speck, M. L. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborn pathogenic associactive culture. *J. Food Prot.* 40:820-823 (1977).
25. Griinari, J. M. and Baumann D. E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and it's incorporation into meat and milk in ruminants. In *Advances in conjugated linoleic acid research*, Vol. I. ed. Yurawecz, M. P., M. M. Mossoba, J. K. Kramer, M. W. Pariza, and G. Nelson. PP. 180~200. Champaign, IL : American Society of Oil Chemists (1999)
26. Guerra Hernandez, E. J.,Garcia Estepa, R. and Rodriguez Rivas, I. Analysis of diacetyl in yogurt by two new spectrophotometric and fluorimetric fluorescence. methods. *Food chemistry.* 53:315-322.
27. Ha, Y. L. and Pariza, M. W. Naturally occurring novel anticarcinogens : conjugated dienoic derivatives of linoleic acid(CLA). *J. Kor. Soc. Food Nutrition.* 24:401-407 (1991).
28. Ha, Y. L., Grimm, N. K. and Pariza, M. W. Anticarcinogens from fried ground beef : heat-altered dervatives of linoleic acid. *Carcinogenesis.* 8:1881-1887 (1987).
29. Ha, Y. L., Grimm, N. K. and Pariza, M. W. Newly recognized anticarcinogenic fatty acid : Identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.* 37:75-81 (1989).
30. Hall, R. J. and Autonucci, W. T. Quantitive evaluation of pH-controlled cheese starter production in skim milk. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 23:291-303 (1988).
31. Hamdan, I. Y., Kunsman, J. E., Jr. and Deaue, D. D. Acetaldehyde production by combind yogurt cultures. *J. dairy Sci.* 54:1080-1088 (1971).
32. Havenaar, R., Brink, B. T. and Huis in't Veid, J. H. J. Selection of strains of probiotic use. *The Scientific basis probiotics.* CHAPMAN & HAULL. London. p.209 (1992).
33. Hirayama, K. and Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes Infection.*

- 2:681-686 (2000).
34. Holzapfel, W. H. and Schillinger, U. Introduction to pre-and probiotics. *Food Res. Int.* 35:104-116 (2002).
 35. Hood, S. K. and Zottola, E. A. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survive and adhere to human intestinal cells. *J. Food Sci.* 53:1514-1520 (1988).
 36. Hur, S. J., Lee, J. I., Ha, Y. L., Park, G. B. and Joo, S. T. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and animal products. *Kor. J. Anim. Sci. Technol.* 44(4):427-442 (2002).
 37. Imhof, R., H. Glatti and Basset J. O. Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic single strain dairy starter cultures. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28:78-85 (1995).
 38. Jenkins, J. K. and Courtney, P. D. *Lactobacillus* growth and membrane composition in the presence of linoleic or conjugated linoleic acid. *Can. J. Microbiol.* 49:51-57 (2003).
 39. Jiang, I., L. Björck and Fonden, R. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.* 85:95-99 (1998).
 40. Kaminogawa, S., Hisatsune, T. and Enomoto, A. Immunomodulation of lactic acid bacteria on the gastrointestinal tract. *Trends in Animal cell Culture.* 1:331-339 (1990).
 41. Kang, D. G., Kang, S. P., Chang, D. H., Kim, S. H. and Yoon, S. S. Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains isolated from Korean feces. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 33(5):567-573 (2001).
 42. Kang, Y. J., Frank, J. F. and Lilard, D. A. Gas chromatographic detection of yogurt flavor compounds and changes during refrigerated storage. *Cultured Dairy Prod. J. Nov.* pp.6-12 (1988).
 43. Kelper, C. R. and Tove, S. B. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. *J. Biochem.* 242:5856-5861 (1996)
 44. Kim, D. S. and Park, S. K. Studies on the lyophilized acidophilus milk culture. *Kor. J. Dairy Sci.* 15(3):195-202 (1993).
 45. Kim, Y. J. and Liu, R. H. Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. *J. Food Sci.* 67(5):1731-1737 (2002).
 46. Kelly, M. L., Berry, J. R., Dwyer, D. A., Griinari, J. M., Chouinard, P. Y., Van Amburgh, M. E. and Bauman, D. E. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128:881-885 (1998).
 47. Kritchevsky, D., Tepper, S. A., Wright, S., Tso, P. and Czarnecki, S. K. Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J. Am. coll. Nutrition.* 19:4725-4775 (2000).
 48. Law, B. A. The formation of aroma and flavor compounds in fermented dairy products. *Dairy Sci. Abs.* 43:143-148 (1981).
 49. Laye, I., Karleskind, D. and Morr, V. V. Chemical, Microbiological and Sensory properties of plain nonfat yogurt. *J. Food Sci.* 58:991-997 (1993).
 50. Lees, G. J. and Jago, G. R. Formation of acetaldehyde from threonine by lactic acid bacteria. *J. Dairy Res.* 43:75-82 (1976).

51. Lewis, R. and Gorbach, S. L. Modification of bile acids by intestinal bacteria. Arch. Intern. Med. 130:545-549 (1972).
52. Libeck, A., Gustafsson, J. and Nord, C. E. Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplements on the human oropharyngeal and intestinal microflora. Scand. J. Infect. Dis. 19:531-537 (1987).
53. Lin, H., Boylston, T. D., Chang, M. J., Luedecke, L. O. and Shultz, T. D. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. J. Dairy Sci. 78:2358-2364 (1995).
54. Lin, T. Y. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and additives. 2000. Food Chem. 69:27-31 (2000).
55. Lin, T. Y., Lin, C. W. and Lee, C. H. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid Food Chem. 67:1-5 (1999).
56. Lin, T. Y., Lin, C. W. and Wang, Y. T. Linoleic acid isomerase activity in enzyme extracts from *Lactobacillus acidophilus* and *Popionibacterium feudenreeichii* sp. *srmanii*. J. Food Sci. 67(4): 502-1505 (2002).
57. Liu, K. L. and Belury, M. A. Conjugated linoleic acid residues arachidonic acid content and PGE₂ synthesis in murine keratinocytes. cancer Lett. 127:15-22 (1998).
58. Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. Int. Dairy J. 11:1-17 (2001).
59. Ma, D. W. L., Wierzbicki, A. A., Field, C. J. and Clandinin, M. T. Preparation of conjugated linoleic acid from safflower oil. J. Am. Oil chem. Soc. 76:729-730 (1999).
60. Marshall, V. M. E. Flavour development in fermented milks. pp. 153-186. In Advance in the microbiology and biochesmstry of cheese and fermented milk. Elsevier Appl. Sci. Pub. London and New York (1984).
61. Marshall, V. M. and Cole, W. M. Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* and their contribution to flavour production in fermented milks. J. Dairy Res. 46:42-57 (1983).
62. Marteau P., Minekus, M., Havenaar, J. H. Huis J. In't Veld, R. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine : Validation and effects of bile. J. Dairy Sci., 80:1031-1037 (1997).
63. Martoni, M. C., Bolleweg, G. L., Levit, M. D. and Savaiano, D. A. Lactose digestion by yogurt β -galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity. Am. J. Clin. Nutr. 45:432-439 (1987).
64. McGuire, M. A., Duckett, S. K., Andrae, G., Giesy, J. G. and Huut, C. W. Effect of high-oil corn on content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef. J. Dairy Sci. 81:301-309 (1998).
65. McIntosh, G. H. 1996. Probiotics and colon cancer preventoin. Asia Pac. J. Clin. Nutr. 5:48-52.
66. Miner, J. L., Cederberg, C. A., Nielsen, M. K., Chen, X. and Baile, C. A. Conjugated linoleic acid (CLA), body fat, and apoptosis. obe. Res. 9:129-134 (2001).
67. Ogawa, J., Matsumura, K., Kishino, S., Omura, Y. and Shimizu S. Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12- octadecadienoic acid during microaerobic transformation of linoleic

- acid by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol. 67:1246-1250 (2001).
68. O'shea, M., Devery, R., Lawless, F., Murphy, J. and Stanton, C. Milk fat conjugated linoleic acid (CLA) inhibits growth of human mammary MCF-7 cancer cell. Anticancer Res. 20:359-364 (2000).
 69. Ostlie, H. M., Helland, M. H. and Narvhus, J. A. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. Int. J. Food Microbiol. 87:17-27 (2003).
 70. Ott, A., L. B. Fay and Chaintreau, A. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. J. Agri. Food Chem. 45:850-856 (1997)
 71. Pariza, M. W., Park, Y. and Cook, M. E. Conjugated linoleic acid and the control of cancer and obesity. Toxicological Sciences. 52:107-110 (1999).
 72. Pariza, M. W., Park, Y. and Cook, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. Progress In Lipid Res. 40:283-287 (2001).
 73. Parodi, P. W. Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. J. Nutrition. 127:1055-1060 (1997).
 74. Perdigon, G., Medich, M., Bibas Bonet de Horrat, M. E., Valverde de Budeguer, M. and Pesce de Ruz Holgado, A. Immunomodulating effects of lactic acid bacteria on mucosal and tumoral immunity. Int. J. Immunotherapy. 19:29-52 (1993).
 75. Pettersson, L., Graf, W. and Sewelin, U. Survival of *Lactobacillus acidophilus* NCDO 1784 in the human gastrointestinal tract. XV. Symp Swed. Nutr. Found. pp. 127-130 (1983).
 76. Pochart, P., Marteau, P., Bouhmik, Y., Goderel, I., Bourlioux, P and Rambaud, J. 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 (1992).
 77. Rasic, J. L. and Kurmann, J. A. Yogurt: Scientific grounds, technology, manufacture and preparations. Technical Dairy Publishing House, Denmark. p.90 (1978).
 78. Ray, B. Probiotics of lactic acid bacteria. In: Lactic acid bacteria: Current advances in metabolism, genetics and applications. Ray, B and T. F Bozoglu(eds) Springer. Germany. pp.101-136 (1996).
 79. Raychowdhury, M. K., R. Goswami and P. Chakrabarti. 1985. Effect of unsaturated fatty acids in growth inhibition of some penicillin-resistant and sensitive bacteria. J. Appl. Bacteriol. 59:183-188.
 80. Reiter, B. and Oram, J. D. Nutritional studies on cheese starters vitamins and amino acid requirements of single strain starters. J. Dairy Res. 29:63-77 (1962).
 81. Riera, J. B., Hontecillas, R. and Beitz, D. C. Colonic anti inflammatory mechanisms of conjugated linoleic acid. Clinical Nutrition. 21(6):451-459 (2002).
 82. Rizzo, A. F., Korkeala, H. and Monomen, I. Gas chromatography analysis of cellular fatty acids and neutral monosaccharide in the identification of lactobacilli. Appl. Environ. Microbiol. 53(12): 2883-2888 (1987).
 83. Roy, D. 1993. Characterization of dairy related bifidobacteria and development of a fermented dairy product. The 8th international symposium on lactic acid bacteria and human health. pp. 32-52
 84. Salminen S., M. A. Deighton, Y. Benmo and S. L. Gorbach. 1998. Lactic acid bacteria in health

- and disease. In: Lactic acid bacteria, salminen S. and Von Wright A. (eds.). Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 211-253.
85. Salminen, S., Laine, M., Wright, A., Vuopio-Varkila, J., Korhonen, T. and Mattila-Sandholm, T. Development of selection criteria for probiotic strains to assess their potential functional foods: a nordic and european approach. *Bioscience Microflora*. 15:61-67 (1996).
 86. Sasaki, M., Bosman, B. W. and Tan, P. S. Comparison of proteolytic activities in various lactobacilli. *J. Dairy Res.* 62:601-610 (1995).
 87. Sehat, N., Rickert, R., Mossoba, M. M., Kramer, J. K., Yurawecz, M. P., Roach, J. A. G., Adolf, R. O., Morehouse, K. M., Fritsche, J., Eulitz, K. D., steinhart, H. and Ku, Y. Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver-ion high performance liquid chromatography. *Lipids*. 34:407-413 (1999).
 88. Seifert, M. F. and Watkins, B. A. Role of dietary lipid and antioxidants in bone metabolism. *Nutr. Res.* 17:1209-1228 (1997)
 89. Shankar, P. A. Dairy starter culture. Ph. D. Thesis, University of Reading (1977).
 90. Shantha, N. C. and E. A. Decker. Conjugated linoleic acid concentrations in processed cheese containing hydrogen donors, iron and dairy-based additives. *Food Chemistry*. 47:257-261 (1993).
 91. Shantha, N. C., Ram, L. N., O'leary, J., Hicks, C. L. and Decker, E. A. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J. Food Sci.* 60:720-726 (1995).
 92. Shin, M. S., Kim, H. M., Kim, G. T. and Baek, Y. J. Selection and Characteristics of *Lactobacillus acidophilus* isolated from Korean feces. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 31(2):495-501 (1999).
 93. Smacchi, E. and Gobbetti, M. Bioactive peptides in dairy products: synthesis and interaction with proteolytic enzyme. *Food Microbiol.* 17:129-141 (2000).
 94. Speck, M. L. Interation among Lactobacilli and man. *J. Dairy Sci.* 59:338-343 (1975).
 95. Stangle, G. I. High dietary levels of a conjugated linoleic acid mixture alter hepatic glycerophospholipid class profile and cholesterol carrying serum lipoprotein of rats. *J. Nutrition. Biochem.* 11:184-191 (2000).
 96. Sullivan, J. J. and Jago, G. R. The structure of bitter peptide and their formation from casein. *Austr. J. Dairy Technol.* 227:98-105 (1972).
 97. Tamime, A. Y. and Deeth, H. C. Yogurt: Technology and biochemistry. *J. Food Prot.* 43:939-977 (1980).
 98. Tamime, A. Y. and Robinson, P. K. Biochemistry of fermentation. In: Tamime, A. Y., R. K. Robinson. ed. *Yoghurt: Science and Technology*. Pergamon. Oxford. England. pp.433-485 (1999).
 99. Tan, P. S., Poolman, B. and Konings, W. N. Proteolytic enzyme of *Lactococcus lactis*. *J. Dairy Res.* 60:269-275 (1993).
 100. Tannock, G. W. Microbiology of the gastrointestinal tract in relation to lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 5:1059-1070 (1995).

101. Thunell, R. K. pH-controlled starter: A decade reviewed. *Cult. Dairy Prod. J.* August. 10-16 (1988).
102. Wang, L. L. and Johnson, E. A. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:624-629 (1992).
103. Watkins, B. A., Lippman, H. E., Le Bouteiller, L., Li, Y and Seifert, M. F. Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. *Prog. In Lipid Res.* 40:125-148 (2001).
104. Xanthopoulos, E., Tazanetaki, L. and Tzanetakis, N. Characterization of *Lactobacillus* isolates from infant feces as dietary adjuncts. *Food Microbiol.* 17:205-215 (2000).