

당발효에 미치는 *Lactobacillus helveticus* YM-1과 *Streptococcus lactis* ML₃의 상호작용

박정길* · 류인덕 · 윤성식 · 유주현

연세대학교 공과대학 식품공학과 · *충주공업전문대학 식품공업과

Interaction of *Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus lactis* ML₃
on the Sugar Fermentation in Skim Milk

Chung-Kil Park*, In-Deok Lew, Sung-Sik Yoon and Ju Hyun Yu

Department of Food Engineering, Yensei University, Seoul

*Department of Food Technology, Chung-Ju National Technical College, Chung-Ju

Abstract

The acid production and sugar utilization of *Lactobacillus helveticus* YM-1 between *Streptococcus lactis* ML₃ were investigated in skim milk, cultured broth filtrate and semi-synthetic medium. The effect of acid production by mixed culture and in cultured broth filtrate of the other party were more than that of single culture and self-cultured broth filtrate. When the two strains were cultured 12 hrs, *Streptococcus lactis* ML₃ utilized with 0.4% lactose, *Lactobacillus helveticus* YM-1 with 0.85%, and mixed strains with 1.05% respectively. In 8 hrs fermentation *Lactobacillus helveticus* YM-1 and mixed strains accumulated 0.22%, 0.10% glucose in the medium respectively, and then decreased gradually. The glucose released by *Lactobacillus helveticus* YM-1 was stimulated the acid production of *Streptococcus lactis* ML₃.

서 론

Yogurt는 전통적으로 40~50°C에서 주로 *L.bulgaricus*와 *Str.thermophilus*를 starter로 사용하였지만 이 외에 *L.helveticus*, *L.casei*, *L.acidophilus*, *Str.lactis* 등도 사용되고 있다.⁽¹⁻⁴⁾ 특히 *L.bulgaricus*와 *Str.thermophilus*은 상호 symbiosis 관계를 이루면서 산생산을 촉진하는 것으로 알려져 왔다.⁽⁵⁻⁸⁾

우유속의 주 탄소원은 lactose이며 평균적으로 약 5% (wt/vol) 정도 함유하고 있다.⁽⁹⁾ 우유 발효시 젖산균 starter로써 필수요건은 lactose를 신속하게 발효하여 homolactic type으로 젖산을 생산하여야 한다.⁽¹⁰⁾⁻⁽¹²⁾ 젖산균에 의한 lactose의 대사는 일반적으로 두 가지 경로가 알려졌으며, 한 경로는 phosphoenolpyruvate(PEP)-dependent phosphotransferase system(PTS)에 의해서 lactose-6-phosphate로 세포내로 흡수되어 phospho-β-D-galactosidase의 작용으로 D-glucose와 D-galactose-6-phosphate로 가수분해된다. 이들은 EMP P와 D-tagatose-6-phosphate 경로를 거쳐 각각 대사된다.^(10,12-15) 또 다른 경로는 free sugar로써 lactose를 흡수하여 β-galactosidase로 D-glucose와 D-galactose로 가수분해한 후 EMP와 Leloir 경로를 통해서 대사된다.

고 한다.^(10,15-17)

그러므로 대사경로에 따라서 생육속도와 젖산 생산량에 차이가 있을것으로 생각된다. 제1보에서는 *L.helveticus* YM-1과 *Str.lactis* ML₃의 혼합배양에 관한 생육특성을 연구보고 하였으며 계속해서 본연구에서는 두균의 단독 및 혼합배양시 당이용에 관한 상호작용을 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주

본실험에 사용한 균주는 한국종균협회에서 분양받은 *Str.lactis* ML₃와 *L.helveticus* YM-1을 사용하였다. 사용균은 121°C, 15분간 가압멸균한 10% (w/v) 환원탈지유 배지에서 2일 간격으로 계대 배양하였으며, 필요에 따라 냉장고에 보존하였다.

생육측정용 배지

Skim milk(Difco)를 중류수에 녹여 10% (w/v)로 만든후 100°C에서 30분간 멸균하여 사용하였다.

Starter의 접종과 배양

L. helveticus YM-1은 37°C에서 8시간, *Str. lactis* ML₃는 35°C에서 10시간 동안 배양하여 사용하였으며, 단독배양인 경우는 1.0%씩을, 혼합배양인 경우는 각각 0.5%씩 접종하여 전체 접종량이 1.0%가 되도록 체가하였다. 혼합배양의 경우 배양온도는 37°C에서 행하였다.

적정산도의 측정⁽¹⁸⁾

시험관(1.5×12cm)에 배지 10ml를 분주하여 배양한 다음 100ml 삼각 flask에 옮겨 넣고 40ml의 중류수와 0.5% phenolphthalein 3방울을 적가해서 혼합한 후 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.3까지 automatic titrator를 이용하여 중화적정하고 이때에 소비된 0.1N NaOH 용액의 ml 수를 적정산도(titratable acidity)로 표시하였다.

포도당과 유당의 정량

Warthesen의 방법⁽¹⁹⁾에 따라서 실시하였다. 시료 10g에 ethanol 10ml를 가하여 1분 동안 진탕한 후 34,000×g에서 10분간 원심분리(Hitachi model 55p ultracentrifuge)하여 상등액을 모으고, pellet에 80% ethanol 10ml를 부어 혼합한 후 위와 같은 방법으로 원심분리 했다. 다시 처음의 상등액과 합하여 25ml volumetric flask에 넣어 80% ethanol로 정용한 다음 clarification Kit(Waters 社 제품)을 통과시켜 여액을 얻었다. 이 여액을 SEP-PAK C₁₈(Waters 社 제품)⁽²⁰⁾으로 단백질, 지방등을 제거한 후 HPLC(고성능 액체 크로마토그래피)방법으로 분석하였다.

배양여액의 조제⁽²¹⁾

배양여액을 배지로 하였을 때 산생성 효과를 검토하기 위해서 *L. helveticus* YM-1과 *Str. lactis* ML3를 각각 10% 탈지유 배지에서 37°C로 각각 8시간과 12시간 동안 배양시킨 다음 12,000×g에서 30분 동안 냉동원심분리기 (IEC model)로 4°C에서 원심분리하였다. pellet는 제거하고 상등액을 모은 후 1N NaOH 용액으로 pH 6.6이 되도록 조정하였다. 이것을 다시 34,000×g에서 25분 동안 재 원심분리하고 상등액을 조심스럽게 취한 다음 millipore membrane filter(pore size, 0.45 μm)로 여과한 것을 배양여액으로 하였다.

결과 및 고찰

산생성에 미치는 각 발효여액의 영향

L. helveticus 와 *Str. lactis* 를 탈지유 배지에 각각 접종하여 각 시간별로 배양한 것을 여과한 다음 배양여액에 상대방의 균을 각각 배양하여 산생성에 대한 최적 조건을 검토한 결과는 Table 1과 같았다.

L. helveticus 를 8시간 발효시킨 여액에 *Str. lactis* 를 배양할 때와 *Str. lactis* 를 24시간 발효시킨 여액에 *L. helveticus* 를 배양할 때의 상대적인 산생성 효과는 각각 120%와 130%로 제일 높은 값을 나타냈다. *Str. lactis* 의 발효여액의 경우는 12시간과 24시간 사이에 약간의 차가 있었지만 시간차 관계로 이후의 실험에서는 12시간 배양여액을 사용하였다.

위에서 얻어진 결과에 따라 8시간 발효시킨 *L. helveticus* 의 발효액과 12시간 발효시킨 *Str. lactis* 의 발

Table 1. Effect of each cultured broth filtrate on acid fermentation by *L. helveticus* YM-1 and *Str. lactis* ML₃

Cultured Strains	Strains of Cultured broth filtrate	Culture time of cultured broth filtrate (hrs)	Relative acid production (%)
<i>Str. lactis</i> ML ₃	<i>L. helveticus</i> YM-1	0	100
		4	105
		8	120
		12	110
		24	100
<i>L. helveticus</i> YM-1	<i>Str. lactis</i> ML ₃	0	100
		4	109
		8	113
		12	121
		24	130

Incubated at 37°C for 8 hrs.

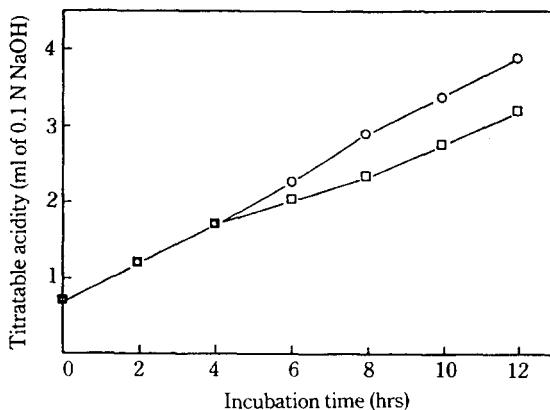


Fig. 1. Effect of each cultured broth filtrate on acid fermentation by *L. helveticus* YM-1 at 37°C

□ : Cultured broth filtrate of *L. helveticus* YM-1
○ : Cultured broth filtrate of *Str. lactis* ML₃

효여액에 *Str. lactis* 와 *L. helveticus* 를 37°C에서 단독배양 또는 혼합배양한 때 산생성의 영향을 검토한 결과는 Fig.1~5와 같았다.

각 밸효여액에 *L. helveticus* 를 12시간 배양하였을 경우 산생성량은 *L. helveticus* 의 밸효여액은 3.2, *Str. lactis* 의 밸효여액은 3.9를 나타냈다 (Fig.1). 또한 각 밸효여액에 *Str. lactis* 를 12시간 배양한 경우 자신의 배양여액에서는 1.7, *L. helveticus* 의 배양여액에서는 3.6 이었고 (Fig.2), 혼합배양시에는 *L. helveticus* 배양여액에서 4.1, *Str. lactis* 의 배양여액에서는 5.3이었다 (Fig.3).

L. helveticus 와 *Str. lactis* 의 배양여액에 이 두 균을 혼합배양하였을 때 *L. helveticus* 의 배양여액에서는 12시간 배양하면 적정산도는 *L. helveticus* 는 3.1, *Str. lactis*

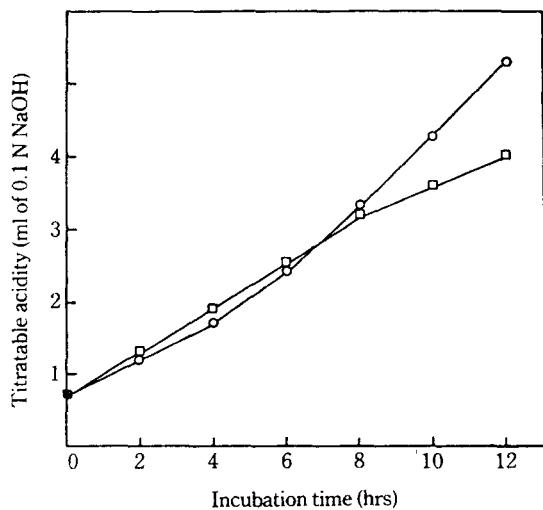


Fig. 3. Effect of each cultured broth filtrate on acid fermentation by mixed culture at 37°C

□ : Cultured broth filtrate of *L. helveticus* YM-1
○ : Cultured broth filtrate of *Str. lactis* ML₃

는 3.6, 혼합배양시에는 4.0을 나타냈다 (Fig.4). 반대로 *Str. lactis* 의 배양여액에서 *Str. lactis* 는 1.7, *L. helveticus* 는 3.8, 혼합배양시에는 5.2를 각각 나타냈다 (Fig.5).

이상의 결과로 부터 자기자신의 배양여액보다 상대편의 배양여액에서, 단독배양보다 혼합배양의 경우가 산생성 촉진효과가 증가하였음을 알 수 있으며, 각각의 균 배양여액에는 상대편의 산발효를 촉진하는 물질이 존재한다는 것을 생각할 수 있었다.

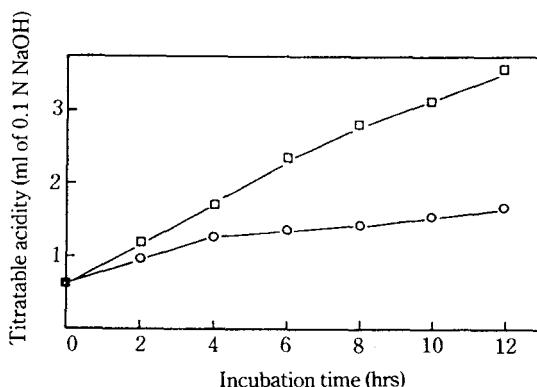


Fig. 2. Effect of each cultured broth filtrate on acid fermentation by *Str. lactis* ML₃ at 37°C

□ : Cultured broth filtrate of *L. helveticus* YM-1
○ : Cultured broth filtrate of *Str. lactis* ML₃

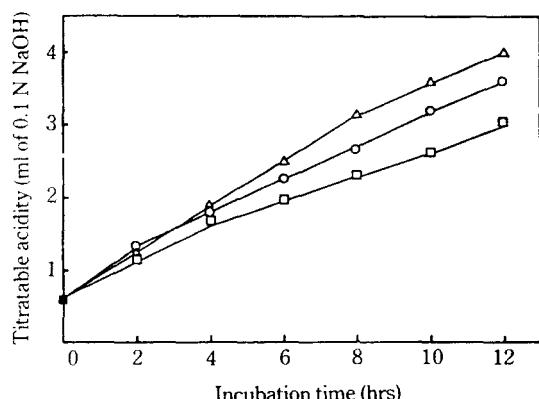


Fig. 4. Effect of single and mixed culture on acid fermentation in clutered broth filtrate of *L. helveticus* YM-1 at 37°C

□ : *L. helveticus* YM-1
○ : *Str. lactis* ML₃
△ : *L. helveticus* YM-1 plus *Str. lactis* ML₃

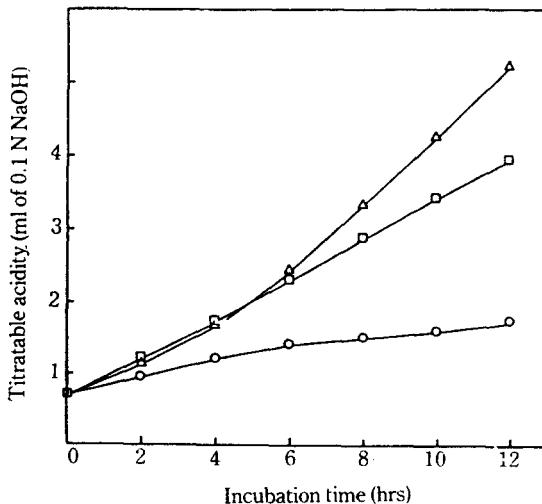


Fig. 5. Effect of single and mixed culture on acid fermentation in cultured broth filtrate of *Str. lactis* ML₃ at 37°C

△ : *L. helveticus* YM-1

○ : *Str. lactis* ML₃

△ : *L. helveticus* YM-1 plus *Str. lactis* ML₃

탈지유 배지에 젖산균을 배양하여 3시간 되었을 때, 각각 상대편의 배양액을 첨가하여 계속 배양한 다음 산생성량에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig.6,7과 같았다. *Str.lactis*의 경우 배양 10시간 되었을 때 산생성량이 탈지유 배지에서는 3.3, *L.helveticus*의 배양액에서는 5.1로 155%의 촉진효과를 나타냈다. *L.helveticus*의 경우에는 탈지유 배지에서 7.8, *Str.lactis*의 배양액 첨가시는 8.3으로 107%의 촉진효과를 나타냈다. 이상의 결과로 부터 사용한 각 젖산균의 상대 배양액에 중에는 상대방의 젖산균의 산생성을 촉진하는 물질이 존재하고, 그중에서도 *L.helveticus*의 배양액 중에는 *Str.lactis*의 발효효率를 촉진시키는 물질이 있다고 생각된다.

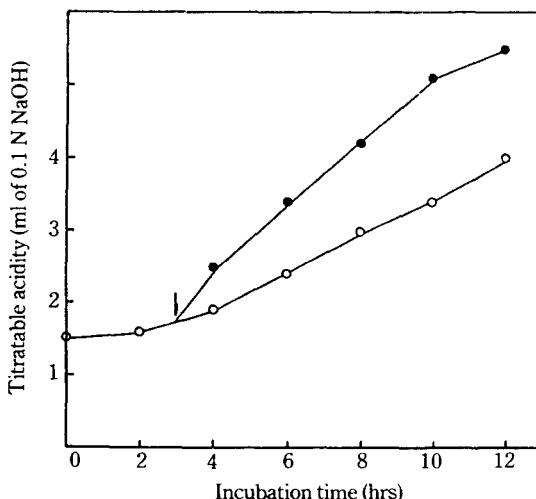


Fig. 6. Effect of addition of cultured broth filtrate of *L. helveticus* YM-1 on acid fermentation by *Str. lactis* ML₃ at 37°C

↓ : Addition time of cultured broth filtrate

● : Titratable acidity, 10% addition

○ : Titratable acidity, non-addition

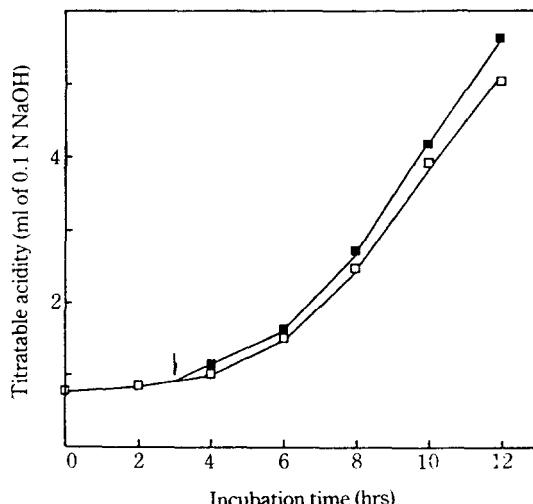


Fig. 7. Effect of addition of cultured broth filtrate of *Str. lactis* ML₃ on acid fermentation by *L. helveticus* YM-1 at 37°C

↓ : Addition time of cultured broth filtrate

■ : Titratable acidity, 10% addition

□ : Titratable acidity, non-addition

첨가분은 5.1로 155%의 촉진효과를 나타냈다. *L.helveticus*의 경우에는 탈지유 배지에서 7.8, *Str.lactis*의 배양액 첨가시는 8.3으로 107%의 촉진효과를 나타냈다. 이상의 결과로 부터 사용한 각 젖산균의 상대 배양액에 중에는 상대방의 젖산균의 산생성을 촉진하는 물질이 존재하고, 그중에서도 *L.helveticus*의 배양액 중에는 *Str.lactis*의 발효효率를 촉진시키는 물질이 있다고 생각된다.

Skim milk 중의 유당의 이용과 포도당의 생성

탈지유 배지중에 존재하는 당의 구성과 탈지유 배지에 젖산균을 배양하여 경시적으로 발효액중에 존재하는 당을 HPLC로 분석한 결과는 Fig.8과 같았다. 탈지유 배지중에는 유당이 4.9% 존재하였고 그외의 당은 없었다. 8시간 배양한 *L.helveticus*의 발효액에는 유당이 4.39%로 감소하였고, 포도당이 0.22% 생성되었다. 그러나 *Str.lactis*는 *L.helveticus*와 다르게 유당이 4.63%로 감소하였고 포도당은 나타내지 않았다. 혼합배양을 하였을 경우는 유당이 4.20%로 감소한 반면 포도당은 0.10%밖에 되지 않았다. 두 젖산균은 당의 대사가 서로 다르며 *L.helveticus*는 *Str.lactis*보다 유당의 이용속도가 빨랐고, 혼합배양을 하였을 경우는 더욱더 빨랐다. 포도당은 배양 8시간후 최대의 축적량을 나타낸 다음 그후부터는 감소하는 경향을 나타냈다.

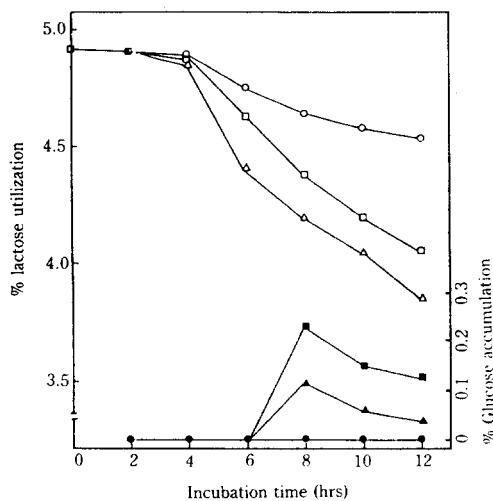


Fig. 8. Utilization of lactose and accumulation of glucose during the growth of *L. helveticus* YM-1 and *Str. lactis* ML₃ in 10% reconstituted skim milk at 37°C

Utilization of lactose

□ : *L. helveticus* YM-1

○ : *Str. lactis* ML₃

△ : *L. helveticus* YM-1 plus *Str. lactis* ML₃

Accumulation of glucose

■ : *L. helveticus* YM-1

● : *Str. lactis* ML₃

▲ : *L. helveticus* YM-1 plus *Str. lactis* ML₃

이상의 결과로 부터 *L. helveticus*는 유당을 흡수하여 분해한 후 일부의 포도당을 “지속으로 방출한다는 것을 알게 되었으며, 혼합배양시는 *L. helveticus*에 의해서 생성한 포도당을 *Str. lactis*가 이용하기 때문에 *L. helveticus*의 단독배양보다는 포도당이 적게 축적된다고 생각된다.

Alm⁽⁹⁾은 yogurt 발효시 배지중에 포도당을 소량 축적한다고 하며, O'leary 등⁽²²⁾은 *L. bulgaricus*와 *Str. thermophilus*를 혼합배양하면 배지중에 galactose를 생성한다고 하였다.

본 실험 결과와 Alm의 보고는 일치하였으나 O'leary의 보고와는 상반된 경향을 나타냈다.

젖산균에 의한 유당의 대사는, 첫째 유당이 cell membrane을 통과할 때 phosphotransferase에 의해서 lactose-6-phosphate가 되며, 이것은 세포내에서 phospho- β -galactosidase의 작용을 받아 D-glucose와 D-galactose-6-phosphate로 분해된 다음 계속해서 D-glucose는 EMP 경로로, D-galactose-6-phosphate는 D-tagatose-6-phosphate 경로로

대사되거나, 둘째 세포내로 흡수된 lactose는 β -galactosidase의 작용을 받아 D-glucose와 D-galactose로 분해된 다음 D-glucose는 EMP 경로로, D-galactose는 Leloir 경로로 대사된다고 하였다.^(10, 12, 17, 23-26)

Premi 등⁽¹⁷⁾은 *Lactobacillus* 속은 대체적으로 β -galactosidase와 phospho- β -galactosidase 두 효소를 함유하고 있다고 하였으며, Crow 등⁽¹⁰⁾과 Thompson 등⁽²⁷⁾은 *Str. lactis*가 유당을 이용해서 신속하게 생육하면서 phospho- β -galactosidase 활성이 β -galactosidase 활성보다 크며, 생육이 느리면 효소활성이 위의 반대 현상을 나타낸다고 하였고, 이 두 효소가 젖산균의 산생성과 생육의 특징을 결정짓는 인자일런지 모른다고 하였다. 이상의 결과로 부터 *L. helveticus*의 배양시 포도당의 축적은 이러한 대사기능의 차이 때문에 생긴 현상으로 생각할 수도 있으며, 또는 세포내에서 생성된 D-galactose-6-phosphate가 포도당의 이용을 저해하기 때문에 포도당을 배지속으로 방출한다고 생각할 수도 있었다. 배양시 배지속에 포도당의 축적은 혼합배양의 경우 산생성에 영향을 주는 것으로 생각되었다.

합성배지에서 산생성과 생육의 영향

L. helveticus 배양시 생성된 glucose가 산생성과 생육에 미치는 영향을 검토하기 위하여 Elliker 배지에 탄소원으로써 glucose, lactose 및 galactose를 첨가하여 배양한 결과는 Fig.9~12와 같았다.

두균은 모두 다른 탄소원보다 glucose를 먼저 이용하여 산생성과 생육속도가 빨랐으며 일반적으로 galactose와 lactose를 함유하고 있을 경우가 제일 저조했다. 또한 두균의 산생성과 생육속도는 *Str. lactis* 쪽이 *L. helveticus* 보다 약간 우세하였으며, *Str. lactis*는 *L. helveticus* 쪽보다 lag period가 더 짧았다. 이상의 결과는 *Str. lactis*와 *L. helveticus*의 혼합배양시 생성된 glucose를 *Str. lactis*가 *L. helveticus* 보다도 우선적으로 먼저 이용하며 경쟁 단계에서도 *Str. lactis* 쪽이 우세한 것으로 판단되므로 *L. helveticus*에서 생성된 glucose가 *Str. lactis*의 생육과 산생성을 촉진하는 것으로 볼 수 있었다.

Mansen 등⁽²⁸⁾은 glucose, galactose 및 유당이 배지 중에 공존한 상태에서 *L. plantarum*을 배양하면 glucose를 우선적으로 이용한다고 하였으며, 몇몇 연구자들도 젖산균 배양시 glucose가 존재하면 다른 탄소원의 이용을 저해한다고 하였다.^(28, 29) McGinnis 등⁽³⁰⁾은 이와 같은 현상을 catabolite inhibition이라고

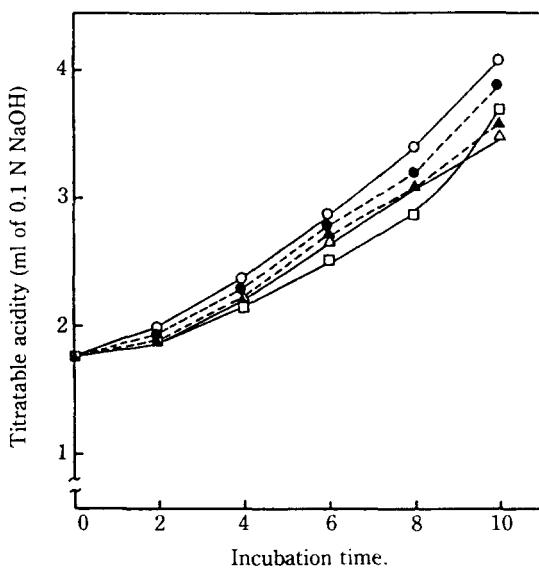


Fig. 9. Effect of sugar addition on acid fermentation by *Str. lactis* ML₃ at 37°C

○ : Glucose (2%)
 □ : Lactose (2%)
 △ : Galactose (2%)
 ● : Glucose plus lactose (1 + 1 %)
 ▲ : Galactose plus lactose (1 + 1 %)

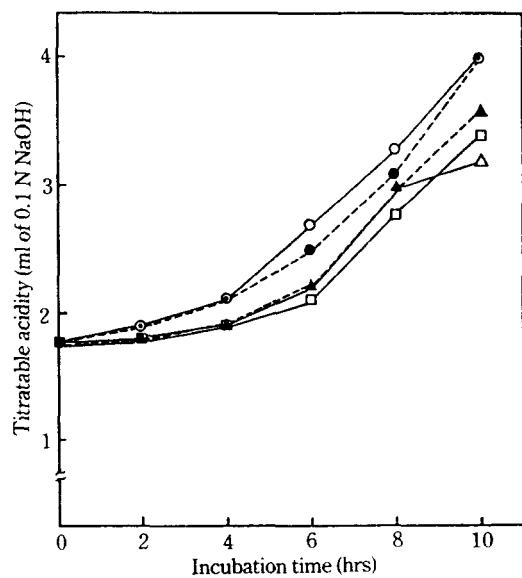


Fig. 11. Effect of sugar addition on acid fermentation by *L. helveticus* YM-1 at 37°C

○ : Glucose (2%)
 □ : Lactose (2%)
 △ : Galactose (2%)
 ● : Glucose plus Lactose (1 + 1 %)
 ▲ : Galactose plus lactose (1 + 1 %)

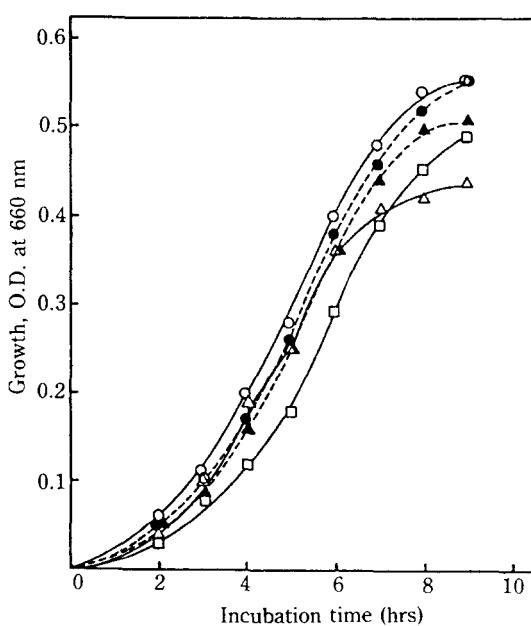


Fig. 10. Effect of sugar addition on growth curve by *Str. lactis* ML₃ at 37°C

○ : Glucose (2%)
 □ : Lactose (2%)
 △ : Galactose (2%)
 ● : Glucose plus Lactose (1 + 1 %)
 ▲ : Galactose plus lactose (1 + 1 %)

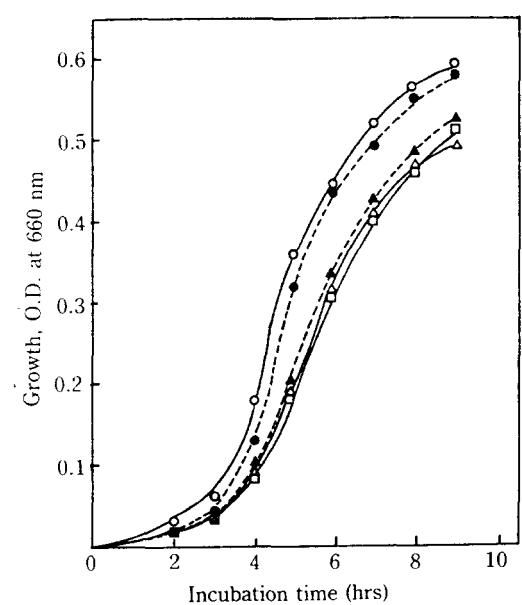


Fig. 12. Effect of sugar addition on growth curve by *L. helveticus* YM-1 at 37°C

○ : Glucose (2%)
 □ : Lactose (2%)
 △ : Galactose (2%)
 ● : Glucose plus Lactose (1 + 1 %)
 ▲ : Galactose plus lactose (1 + 1 %)

하였으며, 이것은 여러 탄소원이 혼합되어 있을 때 자기 자신에 가장 유익한 기질만을 이용하게 되는 조절기 구라고 하였다.

O'leary 등⁽²²⁾은 lactase로 처리한 우유에 *Str.thermophilus*를 배양하면 포도당과 유당을 거의 동량 이용하지만 broth culture에서는 유당만을 이용한다고 하였다. Gilliland 등⁽³¹⁾은 포도당과 galactose와 유당을 각기 함유한 broth에 첫 산균을 배양하면 포도당을 함유한 배지쪽이 산생성 속도가 빨랐으며, 이것은 lag period가 단축되었기 때문이라고 하였다. 위의 보고들과 본 실험 결과와는 유사한 경향을 나타냈지만, O'leary 등이 보고한 broth culture에서 유당만을 우선적으로 이용하였다는 점과는 상반된 결과를 나타냈다.

Skim milk에 포도당 첨가에 따른 산생성의 영향

Skim milk에 포도당을 첨가했을 때 산생성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 skim milk 배지에 배양전과 배양중에 포도당을 넣고, *Str.lactis*와 *L.helveticus*를 단독 및 혼합배양하여 얻은 결과는 Table 2와 같았다.

처음부터 포도당을 배지에 첨가하고 배양하였을 경우 적정산도 면에서 *L.helveticus*는 control보다 0.3, *Str.lactis*는 0.5, 혼합배양시는 0.6 정도 더 높은 값을 나타냈으며, 배양4시간 후 첨가하였을 경우 *L.helveticus*는 control보다 0.2, *Str.lactis*는 0.3, 혼합배양시는 0.4 정도 산생성 촉진효과를 나타냈다. 이상의 결과로부터 포도당을 첨가한 쪽이 첨가하지 않는 쪽보다, 그리고 *Str.lactis* 쪽이 *L.helveticus* 보다 산생성 촉진효과가 크다는 것을 알 수 있었다. 또한 *L.helveticus*와 *Str.lactis*를 혼합배양 했을 때 *L.helveticus*에 의해서 생성한 포도당을 *Str.lactis*가 이용하므로써 산생성이 증

가된다고 생각되었다.

요 약

*L.helveticus YM-1*과 *Str.lactis ML₃*를 탈지유, 배양여액 및 혼합배지에 단독 및 혼합배양 하였을 때 산생성과 당이용성 그리고 상관관계를 검토하였다.

자기 자신의 배양여액보다 상대편의 배양여액에서, 단독배양보다 혼합배양의 경우가 산생성 촉진효과가 컸었다.

유당의 이용성은 12시간 배양했을 때 *Str.lactis ML₃*의 경우 0.4%, *L.helveticus YM-1*은 0.85%, 혼합배양시는 1.05%였다. *L.helveticus YM-1*의 단독배양과 두균의 혼합배양의 경우 8시간 후 배지에 생성된 포도당은 0.22%와 0.10%를 나타낸 다음 점차 감소하였다. *L.helveticus YM-1*에 의해서 생성된 포도당은 *Str.lactis ML₃*의 산생성을 촉진한다고 생각된다.

문 헌

1. Tamine, A.Y. and Deeth, R.D.: *J. Food Protection*, **43** (12), 939 (1980)
2. Carr, J.G., Cutting, C.V. and Whiting, G.C.: *Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food*, Academic Press, p. 253 (1975)
3. 강국희: 성대과학기술연구, **9**, 181 (1981)
4. 윤성식, 박정길, 유주현: 한국산업미생물학회지, **13**(2), 151 (1985)
5. Bautista, E.S., Dahiya, R.S. and Speck, M.L.: *J. Dairy Res.*, **33**, 299 (1966)
6. Moon, N.J. and Reinbold, G.W.: *J. Milk Food Technol.*, **39**(5), 37 (1976)
7. Singh, J., Khanna, A. and Chander, H.: *J. Food Protection*, **43**(5), 399 (1980)
8. Cousin, M.A. and Marth, E.H.: *J. Food Protection*, **40**(7), 475 (1977)
9. Alm, L.: *J. Dairy Sci.*, **65**, 346 (1982)
10. Crow, V.L., and Thomas, T.D.: *J. Bacteriol.*, **157**, 28 (1984)
11. Thomas, T.D., Turner, K.W., and Crow, V.L.: *J. Bacteriol.*, **144**, 672 (1980)
12. Thompson, J.: *J. Bacteriol.*, **140**, 774 (1979)
13. McKay, L., Miller III, A., Sandine, W.E. and Elliker, P.R.: *J. Bacteriol.*, **102**, 804 (1970)
14. Johnson, K.K. and McDonald, I.J.: *J. Bacteriol.*, **117**, 667 (1974)

Table 2. Effect of glucose addition on acid fermentation by *L. helveticus YM-1* and *Str. lactis ML₃* at 37°C for 8 hrs

Subjects	Titratable acidity (ml of 0.1 N NaOH)		
	<i>L. helveticus YM-1</i>	<i>Str. lactis ML₃</i>	Mixed culture
Initial-addition	Control	4.6	2.9
	Sample	4.9	3.4
Intermediate-addition	Control	4.4	2.7
	Sample	4.6	3.0
			5.7
			6.4
			6.1

The control: distilled water except glucose soln
The concentration of glucose: 0.5%

The addition time of glucose: at 4 hrs

15. Bissett, D.L. and Anderson, R.L.: *J. Bacteriol.*, **117**, 318 (1974)
16. Thompson, J.: *J. Bacteriol.*, **144**, 683 (1980)
17. Premi, L., Sandine, W.E. and Elliker, P.R.: *Appl. Microbiol.*, **24**, 51 (1972)
18. Koburger, J.A., Speck, M.L. and Aurand, L.W.: *J. Bacteriol.*, **85**, 1051 (1963)
19. Warthesen, J.J. and Kramer, P.L.: *J. Food Sci.*, **44**, 626 (1979)
20. Richmond, M.L., Barfuss, D.L., Hrue, B.R., Gray, J.I. and Stine, C.M.: *J. Dairy Sci.*, **65**(8), 1394(1982)
21. Monk, P.R.: *J. Dairy Res.*, **46**, 485 (1979)
22. O'leary, V.S. and Woychik, J.H.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**(1), 89 (1976)
23. Postma, P.W. and Roseman, S.: *Biochim. Biophys. Acta*, **457**, 213 (1976)
24. Roseman, S.: *J. Gen. Physiol.*, **54**, 138 (1869)
25. Nansen, N. and Durr, I.F.: *J. Bacteriol.*, **120**(1), 66(1974)
26. Thompson, J. and Chassy, B.M.: *J. Bacteriol.*, **147**(2), 543 (1981)
27. Thompson, J., Turner, K.W. and Thomas, T.D.: *J. Bacteriol.*, **133**(3), 1163 (1978)
28. Bag, J.: *J. Bacteriol.*, **118**, 764 (1974)
29. Lee, R., Molskness, T., Sandine, W.E. and Elliker, P.R.: *Appl. Microbiol.*, **26**, 951(1973)
30. McGinnins, J.F. and Paigen, K.: *J. Bacteriol.*, **100**, 902 (1969)
31. Gilliland, S.E., Speck, M.L. and Woodard, J.R.: *Appl. Microbiol.*, **23**, 21 (1972)

(1986년 10월 2일 접수)