

산소와 염농도가 한국전통 발효식품에서 성장하는 혐기성 세균과 Bifidus균의 생육에 미치는 영향

정은영 · 이진성 · 배재근¹ · 이완규² · 김병홍*

한국과학기술연구원 환경연구센터, ¹서울산업대학교 환경공학과, ²충북대학교 수의과대학

Effects of Oxygen and Salt on the Growth of Bifidus and Anaerobic Bacteria Isolated from Korean Traditional Fermented Foods

Chung Eun-Young, Jin-Sung Lee, Chae-Gun Phae¹,
Wan-Kyu Lee² and Byung-Hong Kim

Environmental Research Center, Korea Institute of Science and Technology,
39-1 Hawolgok-dong Sungpook-ku, Seoul 136-791, Korea

Abstract — Fourteen samples of kimchies and soy bean pastes were used to isolate strictly anaerobic bacteria on complex BL agar and on a selective BS agar for bifidus bacteria. About $10^7 \sim 10^8$ colonies per g sample were developed on BL agar under strictly anaerobic conditions, while BS agar supported the growth of $10^3 \sim 10^6$ colonies per gram sample at the same condition. All colonies developed on BS agar at anaerobic conditions grew in aerobic conditions and did not show fructose-6-phosphate phosphoketolase activity. Type cultures of *Bifidobacterium* did not grow in PYG medium containing more than 3% NaCl. From these results it is concluded that salted fermented food cannot support the growth of strictly anaerobes including *Bifidobacterium*.

발효 식품의 제조 과정에서 미생물의 생장이 그 식품의 기능성은 물론 향미와 기호성을 결정한다. 우리나라에서 발효식품은 주식인 곡류 자체에 결여되어 있는 맛과 영양을 보완하기 위한 수단으로 자연스럽게 등장하게 되었다(5). 우리나라 전통 발효 식품의 제조에는 starter culture를 이용하지 않고 자연 상태의 발효법이 채택되기 때문에 사용하는 원료와 발효 조건에 따라 성장하는 미생물의 종류가 결정된다.

우리나라 발효 식품을 대표하는 김치의 숙성 과정에서 이루어지는 미생물의 성장에 관한 연구에서(3, 4, 7) 숙성 초기에는 원료에 오염된 각종 호기성 세균이 번식하지만 식염을 첨가함으로써 내염성인 균이 우세하게 되며, 발효가 진행되면서 내염성 젖산균이 생육하기 시작하면 생성된 산에 의해서 잡균이 사멸되고, 산패기가 되면 곰팡이나 효모가 자라서 불쾌취와

연부 및 변색을 일으키는 것으로 알려졌다. 김치에서 분리되는 미생물 중에서 호기성 세균 *Pseudomonas mira*, *Pseudomonas nigrifaciens*, *Bacillus macerans* 등, 젖산균 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* 등, 그리고 효모 *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces proteoriensis*, *Saccharomyces salmanthi*, *Saccharomyces bayanus* 등이 보고되었다. 김과 황(2)은 서울 시내의 한 가정에서 담근 김치속에서 세균 200균주, 효모 2균주를 분리하였다고 보고하였다.

한편 장류 제조 원료인 재래식 메주에서 곰팡이 *Mucor abundans* 등 20종, 세균으로 *Bacillus pumilus*, 효모 *Rhodotorula flava*와 *Torulopsis datila* 등을 분리 검출하였고, 재래식 간장 덧에서 내염성 젖산균으로 *Pediococcus halophilus* 등 3균주와 많은 수의 세균을 분리하였고, 고추장 숙성 중에는 *Saccharomyces cerevisiae* 등 10여종의 미생물을 분리할 수가 있었다고 조(7, 8)는 보고하였다.

산소가 계속해서 공급되지 않는 생태계에서 초기에

Key word: fermented food, anaerobic bacteria, *Bifidobacterium*

*Corresponding author

호기성 미생물이 성장하면서 산소를 완전히 소비하고 나면 통성혐기성 미생물과 절대 혐기성 세균의 생장이 이어지게 된다. 우리나라 발효 식품은 풍부한 영양 물질의 원료를 밀폐된 용기에 담아 숙성시키는 과정을 거쳐 제조된다. 원료 혼합 과정에서 공급되는 산소는 초기에 호기성 미생물의 생장으로 소비되어 대부분의 숙성 과정이 혐기적 상태로 유지될 것으로 추측된다. 우리나라 전통 발효식품인 김치류, 장류의 숙성에 관여하는 미생물에 관한 연구는 많이 수행되었으나 절대 혐기성 세균이 관여하는지에 대해서는 보고된 바가 거의 없다.

식품과 관련하여 중요한 절대 혐기성 세균으로 병원성의 *Clostridium*속 세균과 장내에서 유익한 작용을 하는 것으로 알려진 *Bifidobacterium*속 세균을 들 수 있다. 이 중 *Clostridium*속 세균은 발효 식품에 이용하는 식염 농도에서는 자라지 못하는 것으로 알려져 있다(13).

*Bifidobacterium*속 세균들은 장내 유익한 효과로써 항암 효과와 장내 부패균의 억제 효과를 가지므로 산업적으로 이용하기 위해 발효유로써 Bifidus균 이용 식품이 개발되고, Bifidus 생균 제제가 의약품으로 이용되고 있다(1, 10, 14).

본 연구에서는 우리나라 전통 발효식품인 김치류와 장류에서의 절대 혐기성 세균이 어느 정도 분포되고 있는지와 그 중 장내 유익 세균중의 하나인 *Bifidobacterium*속 세균이 생육하고 있는지를 조사하였다.

재료 및 방법

Table 1. Fermented Foods Used in the Study

Sample Number	Description
1	Kimchi, young radish, medium maturity(열무김치)
2	Kimchi, chinese cabbage, initial maturity(배추김치)
3	Kimchi, chinese cabbage, medium maturity(배추김치)
4	Chopped radishes pickled in salt water(동치미)
5	Kimchi, scallion, initial maturity(부추김치)
6	Kimchi, chinese cabbage, initial maturity(배추김치)
7	Kimchi, young radish, medium maturity(열무김치)
8	Kimchi, pickle juice, medium maturity(불김치)
9	Kimchi, scallion, initial maturity(부추김치)
10	Chopped radishes pickled in salt water(무우동치미)
11	Natto(청국장)
12	Soy bean paste(된장)
13	Kimchi, initial maturity(김치)
14	Dried radish slice(무우장아찌)

사용 시료

서울 시내 가정 집에서 담근 김치류와 장류를 시료로 사용하였다. 사용한 시료의 종류와 이들의 숙성도는 Table 1과 같다.

표준 균주와 배양조건

사용균주 : Bifidus 표준균주는 일본 이화학연구소에서 분양받은 다음과 같은 균주를 사용했으며, 균주보존을 위해 냉장고에 slant로 계대배양하면서 사용하였다.

<i>Bifidobacterium infantis</i>	iv-8 ^T
<i>Bifidobacterium longum</i>	iv-51 ^T
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	iv-39 ^T

배지 및 배양조건 : 표준 균주배양에는 PYG배지, 절대 혐기성 균주분리에는 BL배지, BS배지를 사용하였다(Table 2, 3).

혐기성 생리 식염수와 배지의 제조

혐기적 멸균 생리 식염수는 N₂ gassing system의 긴 바늘을 통하여 pressure tube(Belco Glass Inc., Vineland, NJ)에 미리 질소를 공급하고 끓인 생리 식염수액을 4.5 ml씩 분주한다. Butyl 고무 마개를 질소 공급하는 긴 바늘위로 막고 1~2분간 더 질소

Table 2. Composition of PYG medium

Yeast extract	10 g	Salts solution*	40 ml
Proteose peptone	5 g	L-cysteine HCl	0.5 g
Trypticase peptone	5 g	Glucose	10 g
Distilled water	960 ml	pH	7.5

*Salts solution: CaCl₂ 0.2 g·l⁻¹, MgSO₄·7H₂O 0.2 g·l⁻¹, K₂HPO₄ 1 g·l⁻¹, KH₂PO₄ 1 g·l⁻¹, NaHCO₃ 10 g·l⁻¹, NaCl 2 g·l⁻¹.

Table 3. Composition of the BL Agar Used for Isolation of Anaerobic Bacteria

Meat extract	3 g	MgSO ₄ ·7H ₂ O	1 g
Liver extract	5 g	NaCl	0.01 g
Yeast extract	5 g	MnSO ₄	0.00674 g
Proteose peptone	10 g	L-cysteine HCl	0.5 g
Tryptone	5 g	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01 g
Soypeptone	3 g	Poly-solvate 80	1 g
Soluble starch	0.5 g	Agar	15 g
Glucose	10 g	Distilled water	1l
KH ₂ PO ₄	1 g	pH	7.2
K ₂ HPO ₄	1 g		

가스를 주입한 후 긴 바늘을 빼고 마개를 완전히 막는다. 알루미늄 뚜껑을 butyl 고무 마개에 씌운 후, capper로 최고 121°C 15기압하에서 15~20분간 고압증기로 멸균함으로써 준비하였다.

절대 혐기성 조건에서 세균을 분리하기 위한 배지는 비선택배지로 BL agar 배지와 *Bifidobacterium*의 분리에 이용되는 선택배지인 BS agar를 사용하였다. BL agar 배지는 일본 Eiken chemical Co., LTD(Tokyo, Japan)에서 조제하여 발매하는 것을 구입하여 이용하였다. BS agar 배지는 BL agar 배지에 BS 용액을 조제하여서 사용하였다.

BL agar 배지 1l당 BS 용액 50 ml을 가하여 사용한다. BS 용액은 다음과 같이 제조한다. 먼저 100 ml의 멸균 비이커를 준비하고, 여기에 sodium propionate 30 g을 평량하고 약 80 ml의 증류수를 가하여 용해시킨다. 완전히 용해 시킨 다음 neomycin sulfate 400 mg과 lithium chloride 6 g을 가하여 용해시킨다. 100 ml의 멸균 mess flask에 용해액을 옮겨 증류수로써 총량을 100 ml로 한다(1, 11).

혐기성 조건에서 사용할 배지는 125 ml serum vial (Wheaton Scientific Co., Millville, NJ)에 70 ml의 배지를 생리 식염수 제조와 같은 방법으로 담고 멸균 후에 anaerobic glove box(Coy Lab., Ann Harbor, MI) 안에서 petri dish에 깔았다.

혐기성 세균의 분리

각 시료를 믹서기에 넣어서 2분 동안 교반한다. 교반된 시료를 1 ml 주사기로 0.5 ml씩 취하여 혐기성 멸균 생리 식염수(0.85% NaCl 용액) 4.5 ml에 넣고 잘 교반한다. 충분히 시료를 멸균수에 교반시킨 다음 10^{-1} ~ 10^{-6} 배로 희석하여 희석액 0.1 ml을 혐기적 상태의 glove box내에서 petri dish상의 절대 혐기성 균주 분리배지인 BL(10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6})와 BS(10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5})에 2개씩 도말한 후 35°C의 glove box안에서 2~3일간 배양시킨다.

분리균의 산소에 대한 반응 조사

생육된 colony는 통성 혐기성 균인지 절대 혐기성 균인지를 확인하기 위해 tooth-pick법과 replica plate법으로 BL배지에 한 colony당 2개씩 이식하여 하나는 혐기상태의 35°C glove box내에서 2일간 배양하고 다른 하나는 호기적 상태의 37°C 배양기에서 2일간 배양하였다. 그 결과 호기적 조건과 혐기적 조건 모두에서 생육하면 통성 혐기성 혹은 내기성

혐기성 세균으로 분류하고, 혐기적 조건에서만 생육하는 균들은 절대 혐기성 세균으로 분류하였다.

내염성 조사방법

PYG액체 배지에 NaCl농도를 각기 0%, 1%, 2%, 3% 가한 다음 각 표준균주를 9 ml 배지에 0.3 ml씩 접종하고 37°C에서 배양하였다. 생육정도를 확인하기 위해 6시간별로 배양액을 취하여 30시간까지 Spectrophotometer(Jasco UVDEC-610, Tokyo Japan)에서 660 nm로 흡광도를 측정하였다.

Fructose-6-phosphate Phosphoketolase(F6PPK) 활성 측정

절대 혐기성 세균중 Bifidus균 확인을 위한 F6PPK 활성측정은 Bifidus균만이 이 효소를 가지고 있으므로 이 효소의 존재 유무로써 Bifidus균임을 확인할 수 있다(12). 이 효소의 활성 측정에 필요한 시약은 다음과 같다.

1. 0.05 M phosphate buffer(pH 6.5) containing 500 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ cysteine
2. NaF 6 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ and K iodoacetate 10 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$
3. Hydroxyl amine-HCl 13.9 $\text{g}\cdot 100\text{ ml}^{-1}$ freshly neutralized with NaOH(pH 6.5)
4. Trichloro acetic acid(TCA) 15%(wt/vol) solution in water
5. 4 N HCl
6. Ferric chloride $\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5%(wt/vol) in water
7. Fructose-6-phosphate(sodium salt : 70% purity) 80 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ in water

소 활성은 F6PPK가 fructose-6-phosphate로부터 acetyl phosphate를 생산하고 여기에 hydroxamate의 ferric chelate가 작용하여 reddish-violet 색으로 발색하는 것으로 확인하였다.

시험 균주를 배양한 배양액 10~20 ml을 원심분리하여 상등액은 버리고 모은 균체를 1번 시약으로 2번 씻어낸다. 이어 균체에 1번 시약을 1.0 ml 가하여 잘 섞는다. 균체를 차게하여서 주의깊게 sonicator로 15초에서 5~6번 정도로 처리하여 균체를 깬다(본 실험에서는 sonicator를 사용하지 않아도 Bifidus 표준균주로 확인하여 본 결과 효소 활성을 확인할 수 있었다).

균체 현탁액에 2번 시약(0.25 ml)과 7번 시약(0.25 ml)을 가한다. 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 3번 시약(1.5 ml)을 가하여 반응을 멈추게 한다. 실온에서

10분간 정지한 다음 4번 시약(1.0 ml)과 5번 시약(1.0 ml)을 가한다. 이 혼합액을 잘 흔들어서 10분 정도 방치한 다음 6번 시약(1.0 ml)을 가하여 발색시킨다. 잘 섞기 위해 혼합액을 거꾸로 뒤집는다. 양성반응이면 즉시 반응액의 색이 reddish-violet을 나타낸다. Blank로는 7번 시약만을 첨가하지 않고 방법을 같게 한다. 주의해야 할점은 F6PPK enzyme이 열에 민감하므로 sonicator를 사용할 때 발열을 피해야 한다.

결과 및 고찰

전통 발효식품에서 혐기성 세균의 분리

시료를 파쇄하고 혐기성 생리 식염수로 희석하여 비선택 배지 BL agar와 선택 배지 BS agar에 혐기적으로 도말하고 배양했을 때 나타나는 colony를 조사하여 Table 4의 결과를 얻었다.

표에서 보는 바와 같이 김치류의 경우 혐기 상태의 비선택 배지 BL agar에서 자라는 세균이 시료 g당 10^8 colony 정도로 생육하였고, 장류에서는 혐기성 세균이 김치류보다 적은 g당 10^7 colony 정도로 관찰되었다. 이는 식염의 농도가 상대적으로 높은 장류에서 혐기성 세균의 생육이 제한받기 때문으로 생각된다. 그리고, Neomycin을 함유하는 BS agar에서는 BL agar보다 나타나는 colony수가 적어 $10^4 \sim 10^5$ 정도이었다. 이 결과는 항생물질에 의해 혐기성 세균의 생육이 억제되고, 또한 우리 발효식품에 상기 항생

물질에 대한 내성균이 상당히 존재하는 것을 뜻한다.

또한 김치류와 장류의 시료에서 모두 효모가 생육되지 않았다. 이는 배양조건이 절대 혐기성 조건이기 때문에 효모는 생육되지 못하고 혐기성 세균만이 생육된 것으로 판단된다. 그리고, 선택배지인 BS agar 배지에서 생육된 274개의 colony들을 BS agar 배지에서 호기적 조건과 혐기적 조건으로 재차 배양시 호기적 조건에서는 생육이 억제되고 혐기적 조건에서 생육하였다.

분리균의 산소에 대한 반응 조사

이들 균주들을 tooth-pick 방법과 replica plate 방법으로 다시 한번 절대 혐기성 또는 통성 혐기성 여부를 확인하였다. BL agar 배지에 균주들을 2개씩 이식하여 혐기적 조건과 호기적 조건에서 각기 배양시 2군데 모두 생육되었다. 이 결과는 분리된 균주들이 처음 분리배양에 사용된 배지의 BS 용액에 의해 호기적 조건에서는 생육이 제한받고 혐기적 조건에서는 생육한다고 판단된다. 그리고, BS 용액이 없는 배지에서 재차 배양시 생육억제인자인 항생물질이 없으므로 호기적 조건에서도 생육하게 되었다고 생각된다.

2차에 걸친 산소 요구성 여부의 확인 실험에서 혐기성 조건에서 생육된 균주들은 호기성 조건에서도 생육은 하지만 혐기성 조건에서 훨씬 더 생육이 좋음을 관찰할 수 있었다. 이들 분리 균주들은 내기성 혐기성 세균으로 판단된다. 특히 BS agar를 이용할 때 혐기적 조건에서는 잘 생육하였으나 호기적 조건에서 저해를 받는 이유를 설명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다.

Table 4. Number of Anaerobic bacteria per gram of sample on BL agar and BS agar

Sample	BL agar	BS agar
1	5.9×10^8	1.1×10^6
2	1.2×10^8	2.3×10^6
3	7.2×10^8	
4	2.8×10^8	
5	2.0×10^8	1.0×10^4
6	1.6×10^8	
7	9.6×10^8	6.1×10^5
8	5.6×10^8	8.5×10^4
9	3.0×10^8	
10	3.4×10^6	1.0×10^3
11	1.2×10^8	1.0×10^3
12	2.0×10^7	
13	7.1×10^7	2.5×10^5
14	3.8×10^6	5.6×10^4

혐기 조건에서 더 잘 성장하는 세균의 phosphoketolase 활성 측정

BS agar에서 생육하는 내기성 혐기성 분리균들이 *Bifidobacterium*속 세균인지를 조사하기 위해 BL 액체배지에서 배양하여 F6PPK 활성을 측정한 결과 표준 *Bifidobacterium*속 균주들은 양성 반응을 보였으나 김치와 장류에서 분리한 균주들로 colony 모양이 약간씩 다른 23개의 균주는 모두 음성 반응을 보였다.

선택배지인 BS agar 배지에서 생육하는 분리균주들은 *Bifidobacterium*속 세균이 아닌 내기성 혐기성 균주인 것으로 판단하였다.

표준 *Bifidobacterium*의 내염성 조사

김치 등의 발효식품 제조 과정에서는 많은 양의

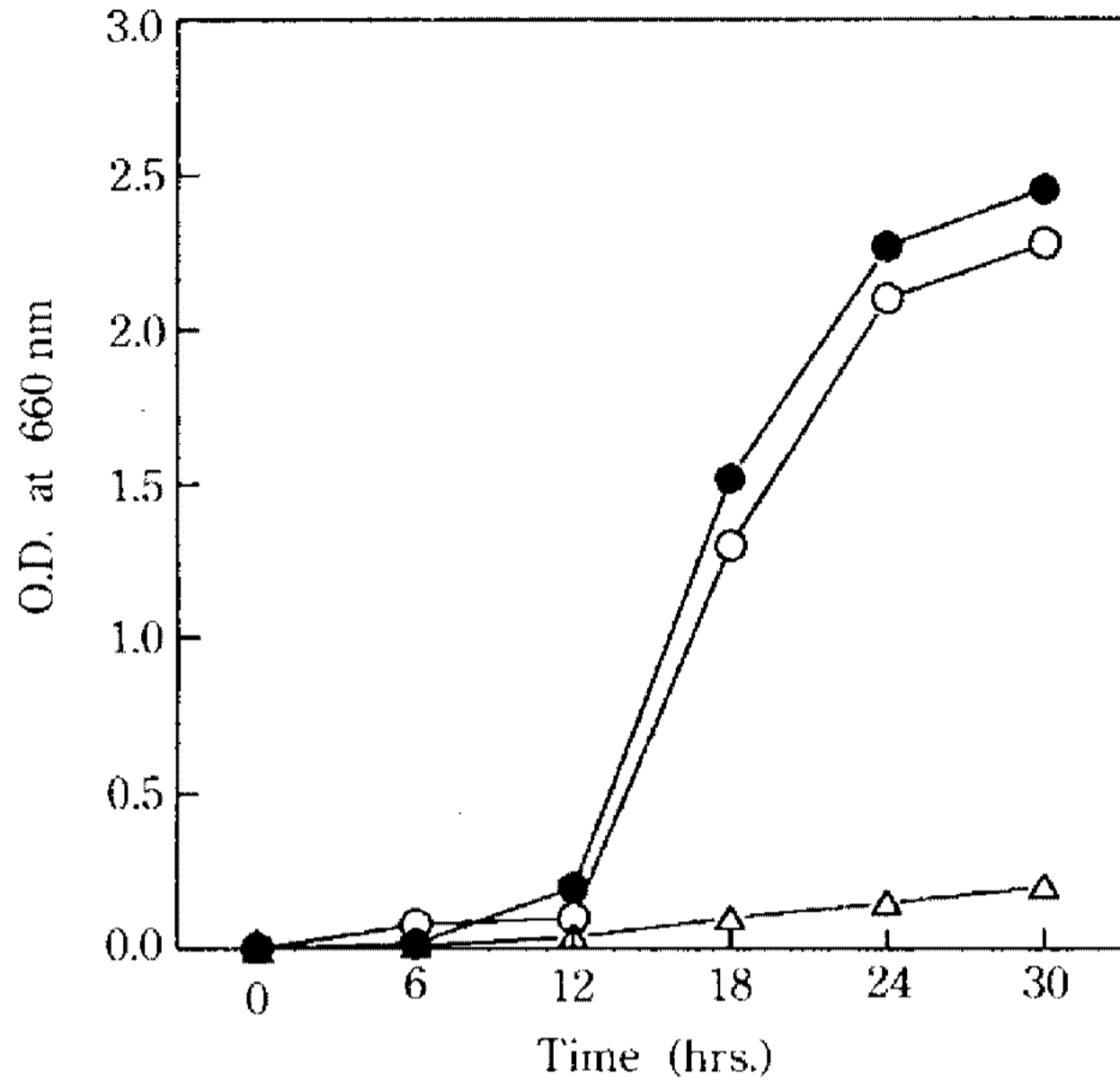


Fig. 1. Growth of *Bifidobacterium infantis* iv-8^T in the presence of NaCl.

○: control, ●: NaCl 1%, △: NaCl 2%

식염을 사용하게 된다. 이는 김치가 본래 겨울철에 채소를 보관하기 위해 개발된 식품으로 김치 발효속도의 속도를 식염 농도로서 조절하기 때문이다. 식염농도가 높고 낮은 온도에서는 김치의 신선도를 유지하면서 오래 저장할 수가 있다. 염의 농도가 높은 발효식품 제조에 bifidus균의 생육이 가능한가를 보기 위해 NaCl(0%~3%)을 함유하는 배지에서 *Bifidobacterium* 표준 균주를 배양하여 그 성장정도를 측정하였다(Fig. 1~3).

Fig. 1에서 보는 바와 같이 *B. infantis*는 염을 첨가하지 않은 대조구와 NaCl 1% 조건에서 생육이 12시간까지 미약하다가 그 이후부터 급격히 성장하였고, NaCl 2%에서는 30시간까지 자라지 못하였다. Fig. 2의 *B. longum*의 배양 실험 결과는 유도기가 짧은 것이외에는 *B. infantis*와 비슷한 생육곡선을 나타내고 있다. NaCl 2% 농도에서는 마찬가지로 생육이 저해되었다.

표준균주 *B. adolescentis*는 다른 균주보다 유도기가 짧았으며, 2% NaCl을 첨가한 배지에서 다른 균주와 달리 유도기가 약간 길 뿐 생육 속도나 균체 수율이 대조구와 비슷한 결과를 보였다. 그러나 NaCl 3%에서는 완전히 생육이 억제되었다.

이 결과는 *Bifidobacterium* 표준 균주들이 2~3% NaCl 농도 이상에서는 모두 생육이 억제되고, 이들 *Bifidobacterium* 균주들은 생육이 염 농도에 의해 크게 영향 받는다는 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 *B.*

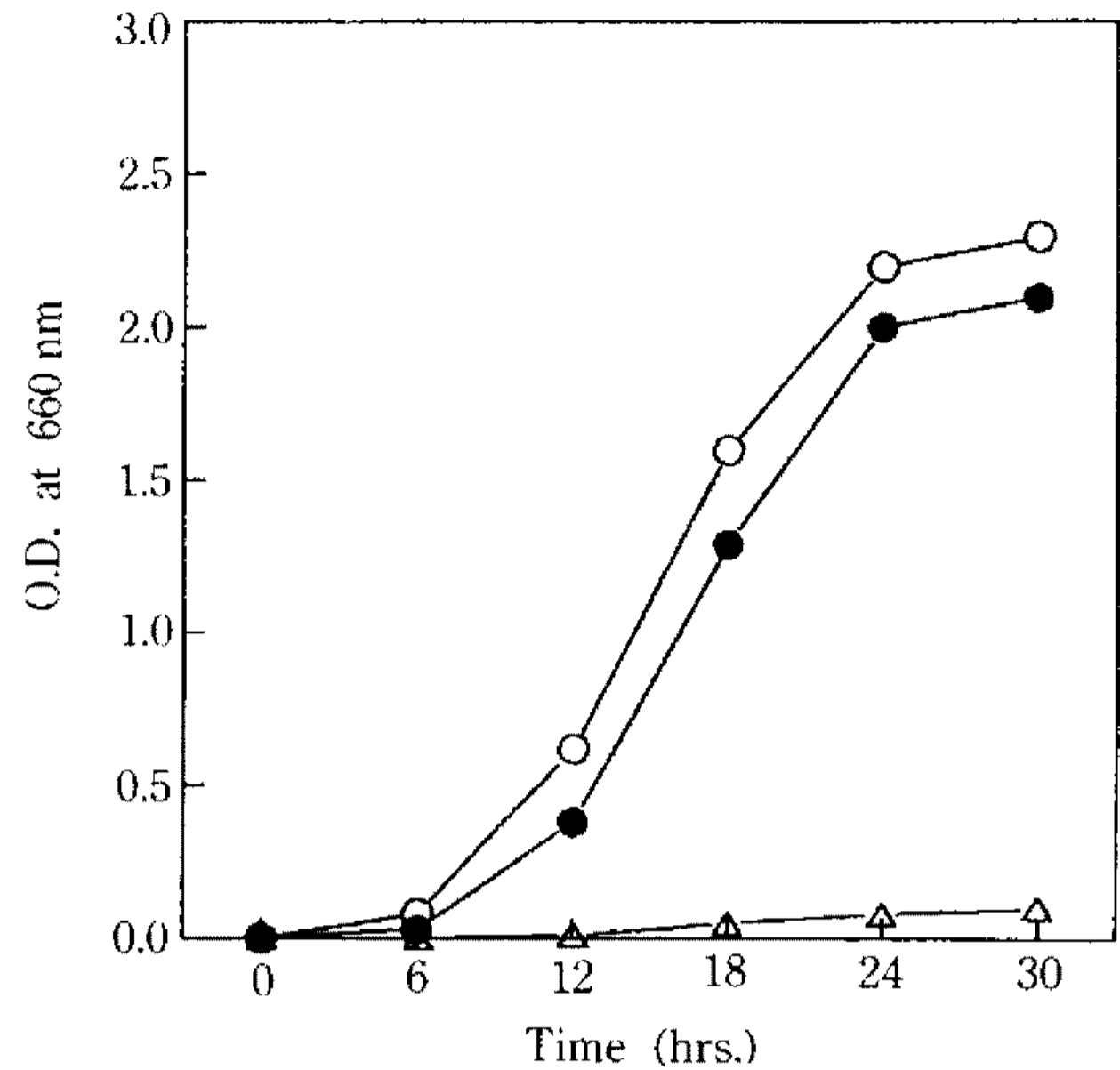


Fig. 2. Growth of *Bifidobacterium longum* iv-51^T in the presence of NaCl.

○: control, ●: NaCl 1%, △: NaCl 2%

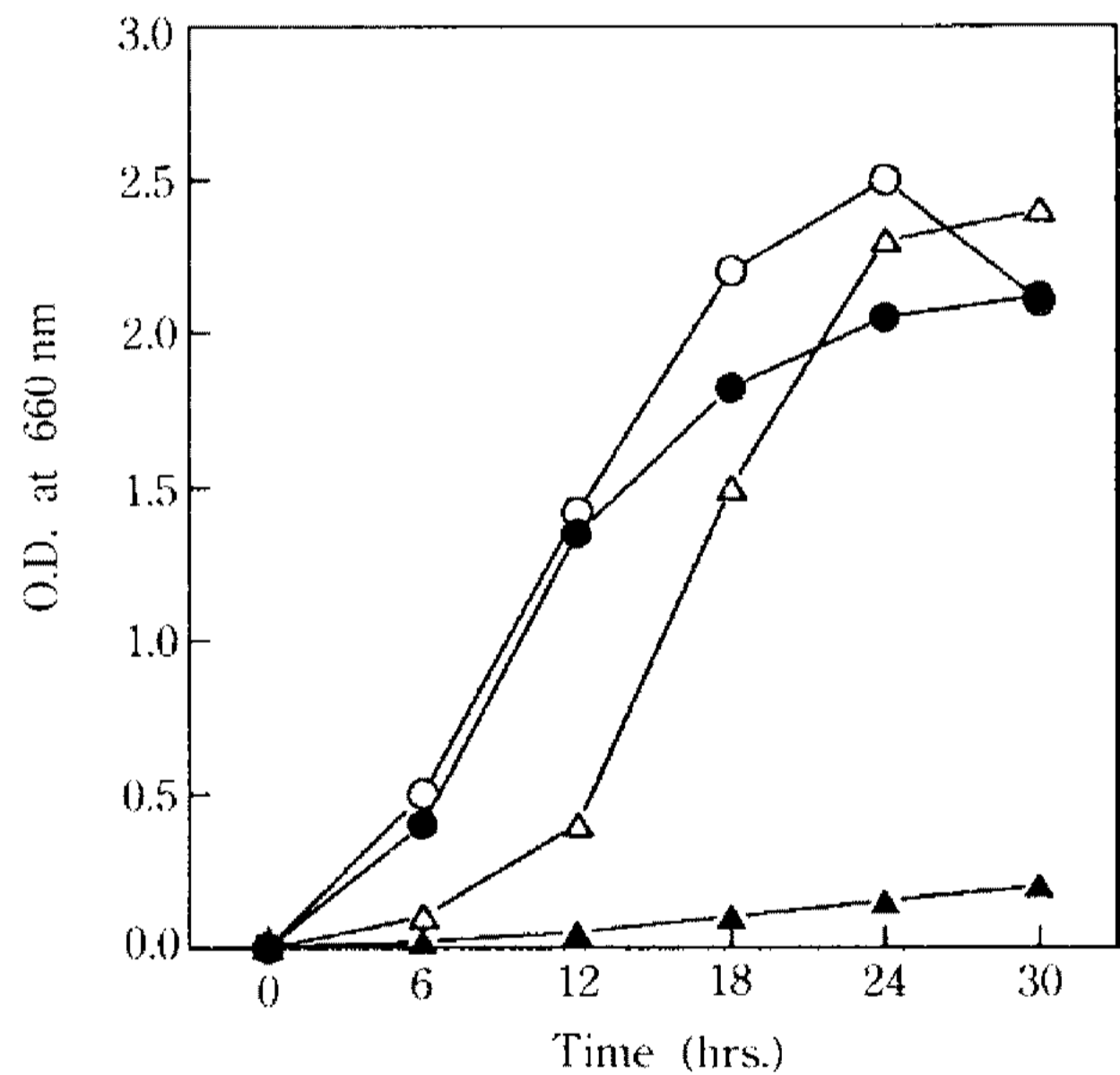


Fig. 3. Growth of *Bifidobacterium longum* iv-39^T in the presence of NaCl.

○: control, ●: NaCl 1%, △: NaCl 2%, ▲: NaCl 3%

liberoum 등 bifidus균이 NaCl 2% 농도에서 성장이 억제된다는 보고와 일치한다(6).

서론에서 언급한 바와 같이 발효 식품은 풍부한 영양물질의 원료를 밀폐된 용기에 담아 숙성시키는 과정을 거쳐 제조된다. 원료 혼합 과정에서 공급되는 산소는 초기에 호기성 미생물의 생장으로 소비되어 대부분의 숙성 과정이 혐기적 상태로 유지될 것으로 추측할 수 있다. 따라서 우리나라 전통 발효 식품의

숙성에도 절대 혐기성 세균이 관여할 것으로 생각하였으나 본 연구에서 사용한 BL agar에서 생육할 수 있는 절대 혐기성 세균 중 bifidous균은 김치나 장류에는 없다는 것을 알 수 있다. 이는 발효식품에 비교적 높은 농도의 식염을 사용하기 때문으로 판단된다.

요 약

한국 전통 발효식품의 숙성에 절대 혐기성 세균이 관여하는지를 보기 위해 김치류와 장류 14종의 시료를 복합 BL 배지 혹은 bifidus 세균 선택 배지인 BS agar에 접종하여 절대 혐기적으로 배양한 결과 복합 BL 배지에서 $10^7 \sim 10^8/g$ 시료의 세균이 성장하였으며, BS agar에서는 $10^3 \sim 10^6/g$ 시료의 colony가 형성되었다. 이들은 모두 호기성 조건에서도 성장할 수 있었으며, BS 배지에서 성장하는 세균은 fructose-6-phosphate phosphoketolase를 합성하지 않는 것으로 나타났다. 또한 표준 *Bifidobacterium*속 세균은 3% NaCl을 함유하는 배지에서는 성장할 수 없었다. 이상의 결과로부터 김치류와 장류 등 염 농도가 높은 발효식품에는 bifidus균은 성장할 수 없다고 판단된다.

참고문헌

1. 강국희. 1990. 유산균 식품학, Pp. 139-144. 성균관대학교 출판부, 서울.
2. 김호식, 황규찬. 1959. 김치의 미생물학적 연구(제 1보), 혐기성 세균의 분리와 동정, 과연회보 4(1): 54-56.
3. 이서래, 전향숙. 1988. 한국 고유의 발효식품에 관한

- 연구-발효식품의 소비 실태 및 미래 예측, 한국음식문화연구원논총 987: 137-156.
4. 이춘녕, 조재선. 1988. 김치 제조 및 연구사, 한국음식문화연구원논총 987: 193-256.
 5. 임번삼. 1989. 우리나라 전통 발효식품의 연구 개발 동향, *Kor. J. Dietary Culture*, 4(3): 265-269.
 6. 장준환, 권일경, 김현옥. 1983. 한국 모유아 장내에 분포하는 *Bifidobacteria*에 관한 연구, *Kor. J. Dairy Sci.* 5(2): 111-120.
 7. 조재선. 1989. 한국의 전통 발효식품 연구 동향에 관한 분석 고찰, *Kor. J. Diet. Culture*, 4(4): 375-382.
 8. 조재선, 황성연. 1988. 김치류 및 절임류의 표준화에 관한 조사 연구(2), *Kor. J. Diet. Culture*, 3(3): 301-307.
 9. 한경석, 윤서석. 1991. 사회 변동에 따른 한국 고유의 발효식품의 관리의 변화에 관한 연구-1950년대 이후의 문헌조사를 중심으로, *Kor. J. Soc. Food Sci.* 7(1): 1-9.
 10. 허철성, 이수원, 윤결병. 1989. 한국 유아 분변에 분포하는 *Bifidobacteria*에 관한 연구, *Kor. J. Dairy Sci.* 11(1): 16-25.
 11. Beerens, H. 1990. An elective and selective isolation medium for *Bifidobacterium spp.* *Let. Appl. Microbiol.* 11: 155-157.
 12. DesJardins, M.L., D. Roy and J. Goulet. 1990. Growth of *Bifidobacteria* and their enzyme profiles, *J. Dairy Sci.* 73: 299-307.
 13. Hill, E.O. 1981. The Genus *Clostridium*, Pp. 1756-1766. In Starr, M.P., H. Stolp, H.G. Trueper, A. Balows and H.G. Schlegel(eds.), *The Prokaryote*, Vol. 2, Springer-Verlag, New York.
 14. Shima, H. 1986. Foods containing *Bifidobacterium* and pantothenates. *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, PAT. NO 8688859. 431-434

(Received December 1, 1992)