

## 김치 유산균의 기능성 탐색 및 발효

김 인 철

목포대학교 식품공학과

### 1. 유산균의 유래

미생물은 발효(fermentation) 과정을 거치면서 여러 가지 대사산물을 만들어 낼 수 있으며, 포도당 등의 당류를 대사하는 과정에서 많은 유기산이 생성되어 배양액내에 축적되게 된다. 특히 당을 대사하는 과정에서 유산(lactic acid)을 50% 이상 만들어 내는 미생물 중에 인간에게 유용한 세균을 유산균(Lactic acid bacteria, 이하 LAB)이라 한다. 유산은 *a-hydroxypropionic acid* 또는 *2-hydroxypropanoic acid*로 불리우며 있으며, 식물, 동물에 존재하는 매우 흔한 유기산일 뿐만 아니라 세계 여러 나라의 전통적인 발효식품에서 발견되는 유기산이다. 유산균의 발견은 술을 발효하는 과정에서 정상적인 경우에는 효모에 의한 알콜발효에 의해 알코올이 생성되나 비정상적인 발효에서 발생하는 이상한 신맛의 원인을 1856년 Monsieur Bigo가 Louis Pasteur에게 요청하는 과정에서 L. Pasteur는 이 신맛의 원인 물질이 길고, 검은 세균이 만들어내는 유산이라고 밝힘으로써 유산균이 처음 알려지게 되었다고 알려져 있다.



Fig 1 Shape of lactic acid bacteria first reported

물론 이러한 유산균의 발견은 당시 Pasteur의 주된 연구 목적은 아니었을 것이고, 알콜발효의 근본적인 기작을 분석하는 과정에서 발견되었으며, Pasteur는 당으로부터 알콜로 전환하는 발효과정에서 호기적조건과 혐기적조건의 차이를 발견하였다. 즉 효모의 경우 혐기적조건에서는 당의 대부분을 무기호흡에 의한 알콜생산이 주된 발효산물로 나타나나, 호기적인 조건에서는 당이 일부는 알콜로 발효되지만, 대부분이 균체 성장 및 기타 호기적 미생물의 대사물질로 이용된다는 “Pasteur effect”를 발표하게 되었다.

유산균이 인간에게 유용한 생균제제(Probiotics)로서의 이용가능성 및 유용성을 나타낸 사람은 프랑스 파리의 파스퇴르 연구소(Pasteur Institute)에 근무하면서 유산균의 유용성을 주장한 러시아인 Elie Metchnikoff 박사(1845-1916)가 시초이며, 그는 1908년 발효 유제품을 먹는 일부 불가리아인 및 러시아인이 장수한다는 것을 발표하였다. 후에 이 발효 유제품에 들어있는 중요 미생물이 *Lactobacillus acidophilus*로 동정되었고, 유산 생성균으로 알려지게 되었고, 이후 유산균에 관한 연구는 100여 년간 많은 연구자에 의하여 이루어져왔다. 그러나 한국에서 유산균의 중요성 및 기능성에 관한 관심은 외국에 비하여는 상당히 늦은 편이다. 유산균에 대한 학문적인 발전에 따른 산업화가 이루어진 것이 아

니고 국내의 경우는 일본에서 기술제휴로 생산된 제품명, 야쿠르트가 1971년 (주) 한국야쿠르트에서 판매됨으로써 유산균에 대한 중요성이 대중에 인식되기 시작하였고, 유산균에 대한 연구도 가속화되기 시작되었다. 그러나 대부분의 유산균에 대한 연구는 외국에서 유래한 유제품 기원의 유산균에서 시작되었고, 우리의 토착 유산균인 김치, 청국장, 된장 등에 함유된 토착 유산균에 대한 연구는 그리 많이 진행되어 있지는 않다.

## 2. 유산균의 기능성

유산균 등을 일컫는 생균제제(probiotic)라는 용어는 1992년 Hanenaar, R과 Huis in't Veld 가 다음과 같이 정의하였다.

“a mono-or mixed-culture of live microorganisms which, when applied to animal or man, affect the host beneficially by improving the properties of the indigenous microflora”.

즉 초기에 생균제제라 함은 1차적으로 인간이나 동물에 투여되었을 때, 장내 미생물 군총의 특성을 개선함으로써 숙주에 이로운 효과를 주는 단독 또는 혼합 미생물 배양액 또는 미생물을 의미하였다. 그러나 최근 들어 미생물에 대한 특성 분석을 할 수 있는 장비의 발달 및 기술적인 지식의 축적에 증가함에 따라 점차 이들 생균제제에 대한 기능성도 세분화되기 시작하였고, 이들 세분화된 특성 하나하나가 유산균의 기능성을 나타내는 지표가 되기 시작하였다.

다음은 일반적으로 probiotics가 나타내는 기능성에 대한 자료를 나타내는 것으로 이는 김치에서 유래한 유산균보다는 일반적인 생균제제로서 사용

되는 유산균의 특성 또는 요구되는 인자에 관한 것이다.

### ① 인간에서 유래한 유산균

종에 따라 숙주에 대한 다양한 효과, 장내에서 생존할 수 있는 특성

### ② 내산성 및 담즙산 내성 유산균

유산균이 생균제제로 사용될 경우 위장관을 통과하여 최종 목적지인 장내에서의 기능성을 발휘하기 위하여는 위에서 분비되는 산 및 담즙산에 대한 내성을 필요로 한다. 이러한 산 및 담즙에 대한 내성이 없는 균주는 기능성이 있어도 체내 이동 과정 중에 대부분이 사멸하므로 기능성을 발휘하기가 어렵기 때문이다. 물론 최근 유산균의 경우 생균일 경우에 기대되는 기능성과 비록 사멸하였다 할지라도 면역활성 기능의 강화 등 유산균자체가 사멸하였다 하여도 발휘된다는 보고가 있지만 생균으로서의 기능을 논한다면 산 및 담즙에 관한 내성이 요구됨

### ③ 장내 부착성

장내에서의 부착함으로써 상대적으로 병원성균에 대한 경쟁적인 배제를 상시 유지할 수 있으며, 또한 장내 점막에 부착하여 주기적인 자극을 줌으로써 면역기능을 조절할 수 있도록 도와줌

### ④ 장관에서의 서식

일시적으로 장내에 부착하여 서식함으로써 균체의 colonization을 시킴으로써 면역활성 기능

### ⑤ 항균물질의 생산

장내에 존재하는 유해 미생물의 저해 및 장관내 미생물 군총의 안정화(normalization)

⑥ 발암물질 및 병원성 세균에 대한 길항작용 (antagonism)

충치 방지 및 병원성균의 흡착 방지 등

⑦ 식품 및 건강기능성 소재로서의 안전성

정확한 균주의 동정, 안전성에 대한 기초 자료 및 임상학적 타당성, 건강 효과에 대한 증거자료 확보

⑧ 제품에 따른 권장 사용량 제시

저장 안정성, shelf-life 등에 관한 과학적 자료의 확보

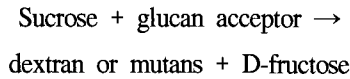
3. 김치 유산균의 기능성 물질 ; EPS

EPS는 exopolysaccharide의 약자로 여러 종의 미생물에서 생산되는 것으로 알려져 있으며, 보통 2가지 형태로 발견되고 있다. 하나는 캡슐(capsule) 형태로 capsular polysaccharide가 세포 표면에 강하게 결합되어 있는 형태이며, 다른 한 형태는 점질물 (slime) 형태의 다당류로 세포 표면에 느슨하게 결합되어 있는 형태이다. 하지만 이러한 두가지 형태는 경우에 따라서는 구분하기가 쉽지 않은 미생물도 있다 [1]. 세균에 있어서 EPS는 건조, 독성물질, 세균성 바이러스, 삼투압 등에 대한 저항성 및 고형물에 대한 세균의 부착성 그리고 biofilm 형성 등 중요한 작용하는 세포 생성물이다[2]. 식품 산업에 있어서 이러한 다당류는 안정성, 유화능 또는 겔화능 때문에 점증제로 사용하고 있다. 세균에서 생산되는 EPS는 다당류의 구성에 따라서도 구분되는데 크게 homopolysaccharide와 heteropolysaccharide로 나뉘고, 전자는 주로 포도당이나 과당 등 한 종류의 당으로 구성되어진 다당류를 말하며, 후자는 두가지 이상의 당으로 구성된 다당류를 의미한다. 경우에 따라

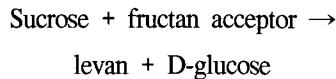
서는 당 이외에 다른 물질, 예를 들면 phosphate, sn-glycerol-3-phosphate, N-acetyl-amino sugar 그리고 acetyl group 등이 존재하기도 한다[3]. 유산균에 의해 생산되는 EPS에 대한 연구는 유산균 자체가 GRAS(generally recognized As Safe) 등급의 안전한 균으로 이들이 생산하는 다당류 역시 그 안전성을 이미 확보한 상태이므로 식품 산업에 적용하기가 용이하기 때문에 많은 연구가 진행되어졌다[4,5,6,7]. 이들 유산균에 의해 생산되는 다당류에 관한 연구는 외국의 경우는 당연히 대부분이 유제품 유래의 유산균에 대하여 연구가 집중되었으나, 국내의 경우에도 발효유제품에서 분리한 유산균에 대한 연구 [8,9] 뿐 아니라 우리의 전통 발효 식품인 김치로부터 유래한 유산균이 생산한 EPS에 대한 연구도 보고 되었다[10].

1) Homopolysaccharide

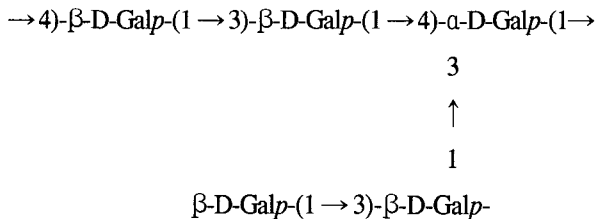
Homopolysaccharide는 하나의 단당으로 구성된 다당류로 몇 종의 유산균은 sucrose를 이용하여 dextran, mutans 그리고 levan을 생산한다[11]. dextran은 *Lactobacillus*, *Leuconostoc* 그리고 *streptococcus* 속 에서 세포외로 생산되는 glucan의 일종이며, 매우 다양한 종류로 생성된다. 특히 *Leuc. mesentroides* 와 *Leuc. dextranicum*은 잘 알려진 dextran 생성균이다. 대부분의 dextran 생성균은 특징적인 형태의 dextran을 생성하지만, 이들이 생산하는 다당류의 공통적인 구조적 특징은 약 95% 정도의 α-1,6-glycosidic linkage를 지니며, 소량의 α-1,2-, α-1,3- 또는 α-1,4-glycosidic linkage를 가져, 결과적으로 고도로 분지된 (highly branched) 구조를 나타내게 된다[12]. Dextran은 세포에 의해서 분비된 dextransucrase에 의해 합성되는데, sucrose가 분해되어 과당과 포도당이 된 후, 포도당이 acceptor에 전이되면서 다당류를 형성하게 된다. 이 과정을 그림으로 나타내면 다음과 같다.



Mutans는 dextran과 유사한 방법으로 *S. mutans*와 *S. sobrinus*에 의해 합성되나 [13], α-1,3-glycosidic linkage를 많이 가지고 있는 점에서 dextran과는 구별되고, 이러한 형태의 polymer는 자연계에서 불용성을 나타낸다. 몇 종의 *S. salivarius*는 2,6-linked β-fructofuranoside residue를 지닌 levan 형태의 다당류인 fructan을 생성하기도 한다[14]. Levansucrase는 sucrose를 가수분해하여 fructose를 fructan chain에 전이시킴으로써 levan을 생합성한다.



또 다른 형태의 homopolysaccharide는 *Lc. lactis ssp. cremoris*에 의해서 생성되는 galactan인데 이는 분지된 pentasaccharide의 반복되는 단위로 구성되어 있다[15].



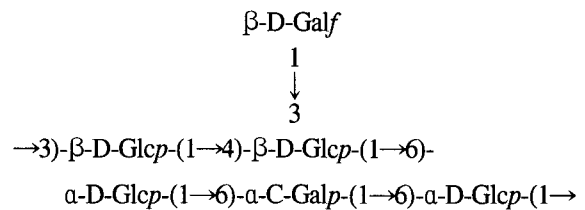
이밖에도 유산균에 의해 생성되는 homopolysaccharide는 *Pediococcus*에 의해 생산되는 반복되는 3당류로 구성된 β-D-glucan[16], *Lactobacillus spp. G-77*에 의해 생산되는 반복되는 3당류로 구성된 α-D-glucanp [17], *Lb. reuteri strain LB121*에 의해 생성되는 fructan 등이 있다[18].

## 2) Heteropolysaccharide

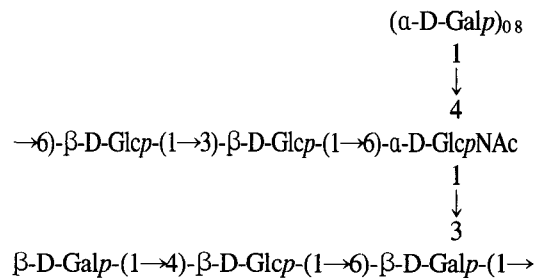
많은 유산균은 반복되는 당 단위로 구성된 hetero

형태의 polysaccharide를 생산하고 있다. 이들 EPS의 주요 구성 단당은 대부분이 galactose와 glucose이며, 소량의 rhamnose, fructose, mannose 그리고 galactosamine을 함유하고 있다[19]. 유산균에 의해서 생산되는 다당류의 생산성을 구조적인 측면에서 보면, homopolysaccharide에 비하여 heteropolysaccharide는 생산성 측면에서 일반적으로 낮다. Heteropolysaccharide는 다당류 chain을 합성하기 위하여 당 핵산(sugar nucleotide)를 전구체로하여 세포질내에서 합성된다. Heteropolysaccharide의 생산 수율은 60에서 400mg/L로 보고되고 있다. 표 1에 알려진 heteropolysaccharide 생성균주 및 생산성을 요약하여 나타내었다. 아래 그림은 유산균이 생성하는 EPS의 반복되는 기본 당 unit를 나타낸다.

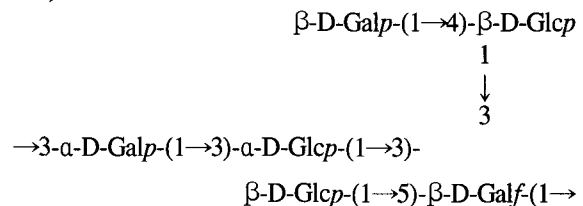
A)



B)



C)



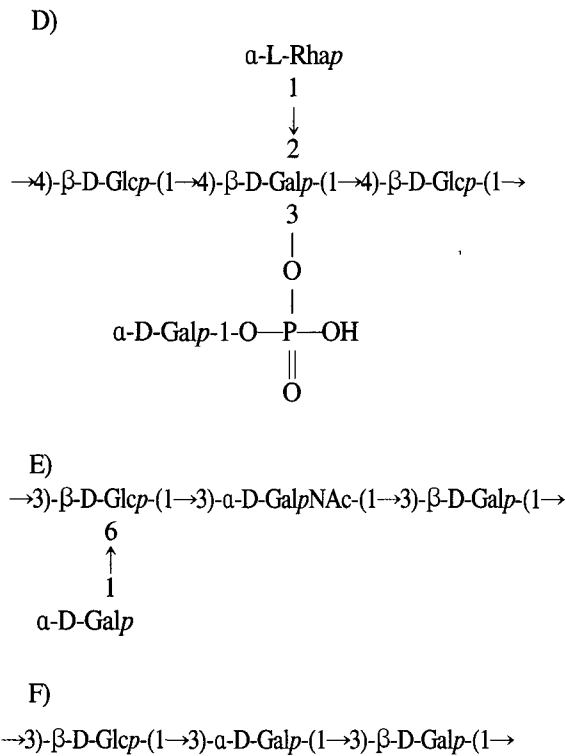


Fig. 2. Structure of the repeating units of exopolysaccharide produced by *Lb. helveticus* strain 766(A); *Lb. helveticus* strain TY1-2(B); *Lb. helveticus* strain TN-4 and Lh59(C); *Lc. lactis* ssp. *cremoris* SBT 0495(D); *S. thermophilus* Sfi6(E); *Lc. lactis* MG1363(F)

#### 4. 김치로부터 EPS 생성 유산균의 분리

##### 4-1. 김치 수집

김치의 종류는 배추김치, 갓김치, 깍두기, 열무김치 등 가정에서 흔히 볼 수 있는 종류를 선택하였다. 김치 수집은 전라도와 다른 지역에서 판매되는 업체와 가정집에서 김치를 수집하였다.

##### 4-2. 김치로부터 젖산균 분리

김치와 김치 국물을 취하여 멸균수로 희석하여 마쇄한 다음, 단계별로 희석 한 후  $10^5$ ,  $10^6$  CFU/ml의 농도가 되도록 도말하였다. 유산균 분리배지로

는 MRS 배지에 1%  $\text{CaCO}_3$ 를 첨가하여 사용하였으며 30°C에서 24-48시간 배양하여 투명한 환이 보이는 균을 유산균으로 간주하여 일차적으로 분리하였다. 김치로부터 분리된 유산균은 갓김치로부터는 38종, 배추김치 26종, 열무김치 11종, 깍두기 5종, 백김치 4종 및 동치미 3종이다.

Table. 1. Heteropolysaccharide produced by lactic acid bacteria.

Strain	EPS production (mg/L)
<i>Lactobacillus</i>	
<i>casei</i> CG11	160
<i>casei</i> CRL 87	121
<i>delbrueckii</i> ssp.	
<i>bulgaricus</i> CNRZ 416	285
<i>bulgaricus</i> CNRZ 737	424
<i>bulgaricus</i> CNRZ 1187	110
<i>bulgaricus</i> NCFB 2772	37
<i>bulgaricus</i> OLL1037R-1	58
<i>bulgaricus</i> rr SDM	354
<i>helveticus</i> TY 1-2	200
<i>helveticus</i> TN-4	180
<i>helveticus</i> Lh59	272
<i>kefiranoferiens</i> K1	63
<i>rhamnosus</i> strain C83	132
<i>sake</i> 0-1 SDM	1400
<i>Lactococcus lactis</i> ssp.	
<i>cremoris</i> SBT 0495	150
<i>cremoris</i> LC330 <i>cremoris</i>	25
<i>cremoris</i> T5	600
<i>cremoris</i> MLS96	220
<i>Streptococcus salivarius</i> ssp.	
<i>thermophilus</i> CNRZ 389	57
<i>thermophilus</i> CNRZ 1068	166
<i>thermophilus</i> CNCMI	42
<i>thermophilus</i> LY03	546
<i>thermophilus</i> Rs	135
<i>thermophilus</i> Sts	127
<i>thermophilus</i> Sfi 6	175
<i>thermophilus</i> Sfi12	105
<i>thermophilus</i> Sfi39	350

김치로부터 분리된 균주는 각각 분리하여 25% glycerol stock에 균주배양액을 1 : 1로 현탁하여 -70°C 초저온냉동고에 보관하여 사용하였다.

Table 2. Number of lactic acid bacteria isolated from various *Kimchi*

Media	갓김치	배추김치	열무김치	깍두기	백김치	동치미	Total
MRS (1% CaCO <sub>3</sub> )	38	26	11	5	4	3	87

4-3. EPS 생성균주 선별

김치로부터 분리된 균주의 EPS 생성능력을 조사하였다. EPS 생성 균을 선별하기 위한 배지로 MRS-sucrose(40 g/L)배지에 유산균을 접종하여 30℃에서 48시간 배양하였다. 배양액으로부터 EPS를 얻기 위하여 12000rpm에서 5분간 원심분리 하여 상등액을 300µl 얻은 후 95% ethanol(4℃)을 900µl 넣어 4℃에서 1시간 방치한 후 원심분리 하여 상등액을 제거하고 900µl 95% ethanol(4℃)으로 2회 washing하여 ethanol을 제거한 후 증류수 300µl에 녹여 crude EPS를 얻었다. 생성된 crude EPS의 glucose를 표준물질로 하여 phenol sulfuric acid 방법을 사용하여 총당을 측정하였다. phenol sulfuric acid 측정은 crude EPS 0.5ml에 5% phenol 0.5ml를 넣고 황산 2.5ml를 넣어 20분간 발색시킨 후 470nm에서 측정하여 glucose 표준곡선에 대입하여 총당함량을 측정하였다. EPS를 생성하는 것으로 선별된 균주는 8종의 유산균을 선별하였다.

4-4. 분리된 EPS 생성 유산균의 특성

두 종류의 배지를 달리하여 분리된 EPS 생성균주의 EPS 생성량을 정성적으로 분석하여 아래 표에 나타내었다. 대조균으로는 *Leu. citreum* GJ7을 사용하였다. 대조균으로 사용한 *Leu. citreum* GJ7은 김치 생산에 종균으로 사용되는 균으로 EPS를 잘 생산하는 것으로 알려져 있으며, 조선대학교 장해춘 교수로부터 분양받아 사용하였다. 분리된 EPS 생성균주

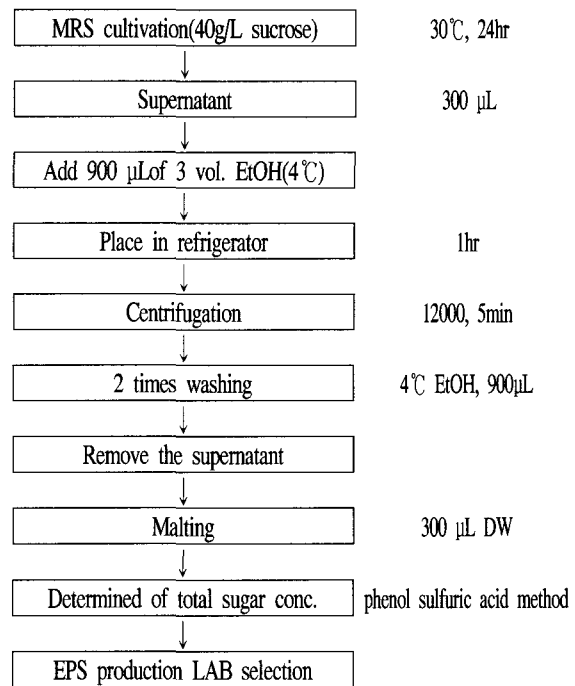


Fig. 3. Selection of EPS production LAB(lactic acid bacteria).

중 JY165와 VY174가 MRS 배지에서 EPS 생성량이 우수한 것으로 나타났다.

Table 3. EPS production of lactic acid bacteria isolated from *Kimchi*

	slimle colony	
	MRS	GYP
Control(GJ7)	++	+
IK100	+	++
CK54	-	-
JY165	+++	+
CC189	++	+
CY174	+++	++
CK84	+++	++
JC136	+	-
CK76	+++	-

#### 4-5. 분리된 EPS 생성균 CY174의 형태 및 EPS 생성

분리된 EPS 생성균중에서 CY174에 대하여 Gram 염색 및 대략적인 EPS생성을 조사하였다. 아래 그림에서 보는 바와 같이 EPS 생성균은 Gram 염색시 균체는 염색이 되지만 균체에 생성된 EPS는 염색이 되지 않기 때문에 균 주변이 하얀 막으로 둘러싸인 것처럼 보이는 것이 특징이다. 마지막 그림은 균 배양이 끝난 배양액에 알콜을 부어 침전된 EPS를 보여주고 있다. 생성된 EPS의 일부는 침전시 실처럼 모여져 침전되기도 하나 많은 부분이 액상에 뜨는 아래에 미세하게 가라앉기 때문에 알콜침전 후 원심분리하여 침전물을 모두 모아 분석에 사용해야 한다.

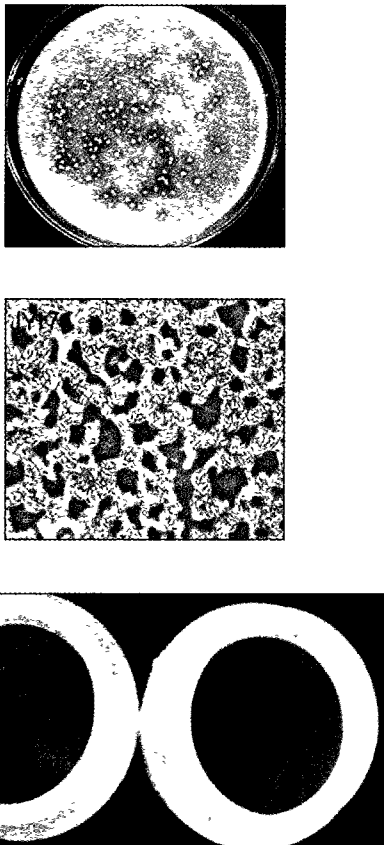


Fig. 4. Morphology of EPS producing microorganism and EPS production.

#### 5. EPS 생성균의 배양 조건 확립

##### 5-1. pH, NaCl 농도, 온도가 EPS 생산 유산균 배양에 미치는 영향

EPS 생성균인 CY174의 배양 특성을 분석하여 아래 그림에 나타내었다. CY174는 28℃ ~ 32℃까지는 큰 차이 없이 잘 성장하였으며, 28℃ 아래에서는 균체 성장이 느려지는 것으로 나타났다. 배지중에 함유된 NaCl의 영향을 분석해본 결과 1%의 NaCl 존재하에서 가장 생육이 우수하였으며, 1% 전후로는 균 성장이 조금 저해 되는 것으로 분석되었다. 그래도 2%까지는 균체 성장이 전반적으로 안정한 것으로 판단된다.

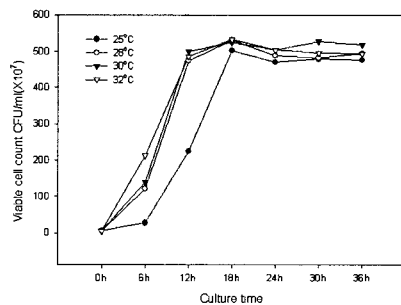


Fig 5 Growth temperature effect of CY 174 in MRS broth

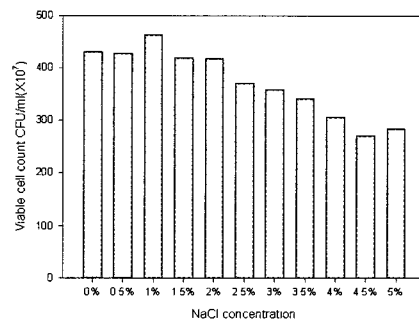


Fig 6 NaCl concentration effect for cell growth of CY 174

CT174는 fructose, xylose, arabinose, ribose를 제외한 대부분의 당은 잘 이용하는 것으로 나타났으며,

특히 lactose를 가장 잘 이용하였다. 배지는 pH를 4.5.5로 buffer를 이용하여 조절하였을 때 가장 좋은 생육을 보여주었다.

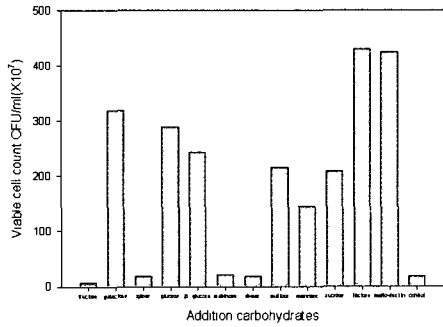


Fig 7 Carbohydrates effect for cell growth of CY 174  
The concentration of carbohydrates was 10g/L. Control is not added to sugar

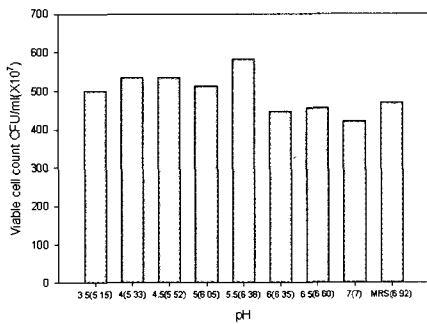


Fig 8 Media buffering effect for cell growth of CY 174  
pH range 3.5~5.5 100mM sodium acetate acetic acid buffer  
6.0~7.0 100mM phosphate buffer

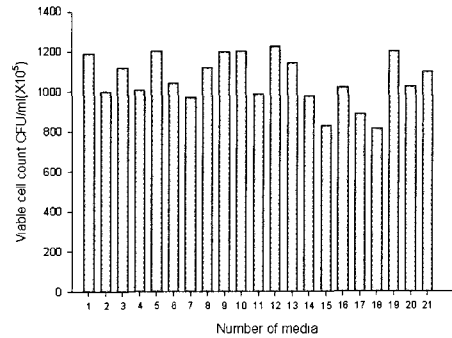


Fig 9 Growth effect of amino acids on CY 174 growth

- 1 Without tylophan 2 Without isoleucine 3 Without asparagine 4 Without proline 5 Without histidin, 6 Without glutamale 7 Without leucine 8 Without cysteine, 9 Without valine, 10 Without lysine 11 Without arginine 12 Without tyrosine 13 Without threonine 14 Without methionine 15 Without glycine 16 Without serine, 17 Without phenylalanine 18 Without aspartate, 19 Without alanine 20 Without glutamine 21 All added to 20 amino acid

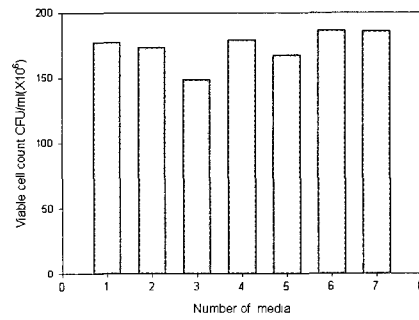


Fig 10 Growth effect of amino acids group sorted by metabolic pathway on CY 174 growth

- 1 Without PA(alanine valine leucine)
- 2 Without c-KG(glutamate glutamine proline arginine)
- 3 Without 3PGA(serine glycine cysteine)
- 4 Without DAla(serine aspartate lysine methionine threonine isoleucine)
- 5 Without RSP(methionine)
- 6 Without PEP(lysophan tyrosine phenylalanine)
- 7 All added to amino acid

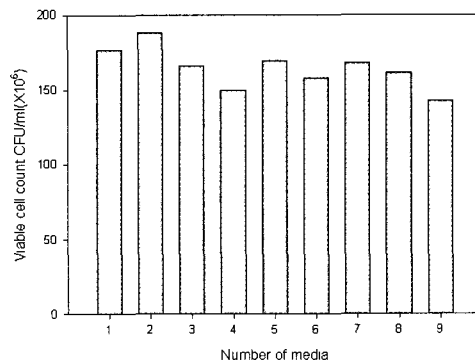


Fig 11 Growth effect of vitamins on CY 174 growth

- 1 All added to 9 vitamin 2 Without riboflavin 3 Without thiamine
- 4 Without pyridoxal HCl 5 Without p-aminobenzoic acid 6 Without calcium pantothenate
- 7 Without V12 8 Without biotin 9 folic acid

## 5-2. EPS 생성 유산균의 영양요구성 인자의 결정

CY174는 일반적으로 유산균이 영양요구성이 많은 것에 비하여 아미노산에 대하여 특별한 영양요구성을 보이지 않는 것으로 분석되었다. 이 결과는 아미노산을 6개의 계열별로 나누어 분석하였을 때 동일하게 나타내었다. 또한 비타민이나 핵산에 대하여도 특이한 요구성을 보이지 않았다. N-source에 대한 영향을 무기질소원과 유기질소원으로 나누어 분석하였다. 무기염으로는 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, 유기질소원으로는 casein을 제외하고는 잘 이용하였으며, 전체적으로 무기질소원보다는 유기질소원을 잘 이용



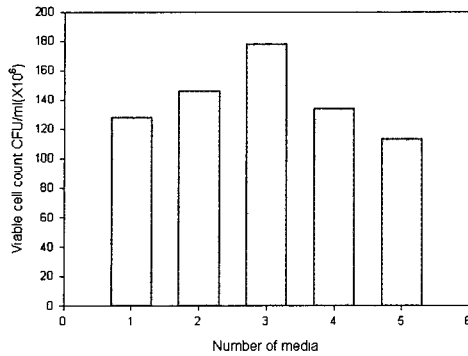


Fig 12 Growth effect of nucleosides on CY 174 growth

1 Without guanine 2 Without uracil  
3 Without adenine, 4 Without thymidine  
5 All added to base

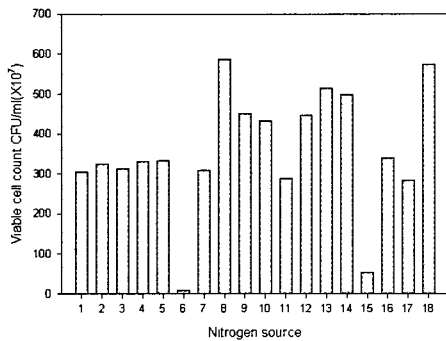


Fig 13 Growth effect of organic and inorganic nitrogen sources on CY 174 growth

1 NaNO<sub>3</sub> 2 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 3 NH<sub>4</sub>Cl 4 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 7 KNO<sub>3</sub>  
8 peptone 9 Malt extract 10 yeast extract 11 Soybean flour 12 TSB 13 soytone  
14 tryptone peptone 15 Casein 16 beef extract 17 no treated 18 MRS

### 참고 문헌

1. C. whitefield., Bacterial extracellular polysaccharide. Can. J. Microbiol. 34(1998) 415-420
2. L. De Vuyst, B. Degeest, Heteropolysaccharide from lactic acid bacteria, FEMS Microbiol. Rev. 23 (1999) 153-177
3. Laws, Y. Gu, V. Marshall, Biosynthesis, characterization and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria, Biotechnol. Adv., 19(2001) 597-625
4. D. Macura, P. M. Townsley, Scandivian Ropy milk -Identification and Characterization of endogenous lactic Streptococci and their extracellular excretion, J. Dairy Sci., 67 (1984) 735-744
5. T. Smitnont, C. Tansakul, S. Tanasupawat, S. Keeratipibul, L. Navarini, M. Bosco, P. Cescutti, Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria strains from traditional thai fermented foods: isolation, identification and exopolysaccharide characterization, Int. J. Food microbiol., 51 (1991) 105-111
6. S. A. Kimmel, R. F. Roberts, Development of a growth medium suitable for exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgarius RR, Int. J. Food Microbiol., 40 (1998) 87-92
7. G. w. Robijn, D. J. C. van den Berg, H. Haas, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, Determination of the structure of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus sake* 0-1, Carbohydrate Res. 276 (1995) 117-136 ;
8. H.M. Kang, I. S. Son, Y. S. Um, C. I. Chung, Comparison of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from fermented foods. Kor. J. Food Sci. Ani. Res., 19 (1999) 121-126
9. I. H. Bae, J. W. Huh, Y. J. Kim, S. H. Choi, Cultural conditions of lactic acid bacteria from raw milk for production of exopolysaccharide, Kor. J. Dairy Sci., 21 ( 1999) 49-58
10. B. J. Kim, B. H. Min, J. H. Kim, H. U. Han, Isolation of dextran-producing *Leuconostoc lactis* from Kimchi, J. Microbiol. 39 (2001) 11-16
11. I. W. Sutherland, Bacterial exopolysaccharides. Adv. Microb. Physiol. 8 (1972), 143-212.
12. G. Franz, Polysaccharides in pharmacy. Adv. Polym. Sci. 76 (1986) 1-30.

13. T.H. Montville, C.L. Cooney, and A.J. Sinskey, *Streptococcus mutans* dextransucrase: a review. *Adv. Appl. Microbiol.* 24 (1978) 55-84.
14. J. Cerning, Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 87 (1990) 113-130.
15. M. Gruter, B.R. Leeftang, J. Kuiper, J.P. Kamerling, and J.F.G. Vliegthart, Structure of the exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris* H414 grown in a defined medium or skimmed milk. *Carbohydr. Res.* 231(1992) 273-291.
16. R.-M. Llauberes, B. Richard, A. Lonvaud, D. Dubourdieu, and B. Fournet, Structure of an exocellular  $\beta$ -D-glucan from *Pediococcus* sp., a wine lactic bacteria. *Carbohydr. Res.* 203 (1990) 103-107.
17. M.T. Duenas-Chasco, M.A. Rodriguez-Carvajal, Tejero-Mateo, P. G. Franco-Rodriguez, J.L. Espartero, A. Irastorza-Iribas, and A.M. Gil-Serrano, Structural analysis of the exopolysaccharide produced by *Pediococcus damnosus* 2.6. *Carbohydr. Res.* 303 (1997) 453-458.
18. G.H. van Geel-Schutten, F. Flesch, B. ten Brink, M.R. Smith, and L. Dijkhuizen, Screening and characterization of *Lactobacillus* strains producing large amounts of exopolysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50 (1998) 697-703.
19. D.J.C. van den Berg, G.W. Robijn, A.C. Janssen, M.L.F. Giuseppin, R. Vreeker, J.P. Kamerling, J.F.G. Vliegthart, A.M. Ledebøer, and T. Verrips, Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide. *Appl. and Environ. Microbiol.* 61 (1995) 2840-2844.