



비피도박테리아의 Caco-2 세포에 대한 부착성과 세포 표면 소수성

임 광 세 · 허 철 성
한국야쿠르트 중앙연구소

Adhesion of Bifidobacteria to Caco-2 Cells and in Relation to Cell Surface Hydrophobicity

Kwang Sei Lim* and Chul Sung Huh
R & D Center, Korea Yakult Company Limited

Abstract

The adhesion of 16 bifidobacterial strains, including 10 isolates from Korean infants, to Caco-2 cells and their cell surface hydrophobicity were tested. The results of adhesion and cell surface hydrophobicity of for various bifidobacterial strains were obtained and correlations between adhesion and hydrophobicity were strain-dependent properties. Any correlations between species of tested strains were not observed. Among the tested strains, *Bifidobacterim longum* D6, *B. longum* H4, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, and *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 had higher adherent properties and *B. bifidum* B3, *B. longum* D6, *B. longum* H4, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, *B. animalis* subsp. *lactis* BB12, and *B. longum* 2 had stronger hydrophobicity, respectively. Due to the strain-dependant correlation between adhesion to Caco-2 cells and cell surface hydrophobicity of bifidobacteria, these results provide a possible method for preliminary selection of bifidobacteria potentially adherent to Caco-2 cells by means of cell surface hydrophobic properties.

Key word : bifidobacteria, cell surface hydrophobicity, adhesion, Caco-2 cell

서 론

Bifidobacteria는 1899년 파스퇴르연구소의 Tissier에 의해 모유 영양아의 분변에서 처음 분리되었으며, 인체의 정상 장내 균총 중에서 *Bacteroides*, *Eubacterium*에 이어서 3번째로 많이 발견되고 있다.(Mitsuoka, 1978; Ishibashi와 Shimamura, 1993). 또한 Tissier는 부패균에 의한 장 질환에 젖산균 섭취를 통해서 장내 균총을 정상화할 수 있다고 생각하여 유아 설사의 치료방법으로 bifidobacteria의 섭취를 권장하였다(O'Sullivan 등, 1992).

인체의 소화기관에는 400종 이상의 미생물이 존재하며 그 숫자는 약 100조에 이르는데, 이들 미생물들이 상호작용이나 길항작용을 하며 균형을 이루고 장내 균총을 형성하고 있다

(Finegold 등, 1977; Mitsuoka, 2000). Bifidobacteria는 정상 장내 균총의 하나로서 출생 직후부터 일생 동안 생존하며, 구강, 회장, 결장, 질, 자궁경부 등의 다양한 장기에서도 서식하고 있다. 또한 bifidobacteria는 *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* 등과 더불어 결장의 우점종으로 이들 균총은 결장 내용물 1g당 $10^8 \sim 10^{11}$ 수준으로 존재한다(Mitsuoka, 1978). 구강에서 발견되는 3종을 제외한 사람 유래의 bifidobacteria, 특히 장내에서 유래된 bifidobacteria는 장내 균총 정상화 기능이 알려지고 있다. 이러한 젖산균의 건강 증진 효과가 밝혀지면서 식품 산업뿐만 아니라 제약 산업에서도 그 사용 예가 늘고 있다(Saxelin 등, 2005). 주로 인체에 서식하는 *B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis* 등을 사용하며, 생산 공정상 발효시간 단축 등의 목적으로 *Lactobacillus acidophilus*나 yogurt culture인 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*와 *Streptococcus thermophilus*를 함께 사용하기도 한다.

식품의 원료로 사용되는 bifidobacteria나 probiotics는 숙주

* Corresponding author : Kwang Sei Lim, R & D Center, Korea Yakult Co., Ltd., #418-12 Komac-dong, Kiheung-gu, Yongin-si, Kyunggi-do, 446-901, Korea. Tel: 82-31-899-7811, Fax: 82-31-899-7710, E-mail: kslim@re.yakult.co.kr

특이성이나 섭취시 장내 정착성 등을 고려할 때 인체에서 분리한 균종을 사용해야 하며(Huis in't Veld 등, 1994), 안전성이 확보된 GRAS(Generally Regarded As Safe) 상태의 비병원성 균주를 사용해야 한다. Probiotics로 사용할 젖산균을 선발할 때는 안전성, 기능성(생존력, 부착성, 정착성, 항균물질 생성능, 면역력 강화능, 유해균 억제능 등), 관련 기술(우유에서의 성장, 관능적 특성, 생산 공정 및 유통 중의 안정성과 생존력 등)을 고려해야 한다(Holzappel과 Schillinger, 2002).

Bifidobacteria를 포함한 probiotics 균주의 선발기준 중에서 장관세포에 대한 부착성은 매우 중요한 선발기준이 되며 이러한 특성은 섭취시의 장내 정착성이나 정상작용 효과에 많은 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 미생물의 세포 부착성은 세포 표면의 구조와 조성에 많은 영향을 받는데, 특히 세포 표면의 소수성(hydrophobicity)이 주요한 영향 요인으로 알려져 있다(Kirjavainen, 등, 1998; Pérez 등, 1998).

본 연구에서는 probiotics 균주의 주요한 선발기준인 세포 부착성을 보다 신속하고 간편하게 선발하는 방법을 개발하기 위하여 다양한 분리원에서 분리한 bifidobacteria 균주의 Caco-2 세포에 대한 부착성과 이 균주들의 세포 표면 소수성을 측정하여 이에 대한 상관관계를 밝히고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

사용 미생물과 배지

본 연구에 사용된 bifidobacteria는 경인 지역에서 출생한 12개월령 이하의 건강한 유아 15명의 분변으로부터 분리하여 한국야쿠르트 중앙연구소에 보관중인 10개 균주와 공시균주 4개 균주 및 상업용으로 판매되는 2개 균주 등 총 16개 균주를 실험에 사용하였다(Table 1). 공시균주로는 *Bifidobacterium asteroides* ATCC 25910, *Bifidobacterium longum* ATCC 15707, *Bifidobacterium suis* ATCC 27533, *Bifidobacterium thermophilum* ATCC 25525를 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA)에서 구입하여 사용하였다. 또한 상업적으로 판매되고 있는 *B. animalis* subsp. *lactis*(formerly *Bifidobacterium lactis*) BB12(Chr. Hansen A/S, Hørsholm, Denmark)와 *B. longum* 2(Wiesby Laboratorium, Niebüll, Germany) 등을 각 종균사로부터 분양 받아서 사용하였다.

실험에 사용된 bifidobacteria는 paraffin oil이 중층된 modified BL broth(Teraguchi 등, 1978)를 사용하여 37°C에서 18~24시간 배양하였으며, 실험 전에 2회 이상의 계대 배양을 통해 활력을 충분히 높인 후에 사용하였다. 순수분리 및 동정이 완료된 bifidobacteria는 paraffin oil이 중층된 modified BL broth에 18시간 배양한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리(Union 32R, Hanil Science Industrial, Korea)하고 상정

Table 1. Bifidobacterial strains used in this study

Species / strains	Source
<i>Bifidobacterium bifidum</i> A1	Korean infants feces
<i>Bifidobacterium infantis</i> B1	Korean infants feces
<i>B. bifidum</i> B3	Korean infants feces
<i>Bifidobacterium longum</i> D2	Korean infants feces
<i>B. longum</i> D6	Korean infants feces
<i>Bifidobacterium breve</i> E1	Korean infants feces
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> F1	Korean infants feces
<i>B. longum</i> H4	Korean infants feces
<i>B. breve</i> M1	Korean infants feces
<i>B. bifidum</i> N3	Korean infants feces
<i>B. longum</i> ATCC 15707	Adult intestine
<i>Bifidobacterium thermophilum</i> ATCC 25525	Swine feces
<i>Bifidobacterium suis</i> ATCC 27533	Swine feces
<i>Bifidobacterium asteroides</i> ATCC 25910	Hindgut of honeybee
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB12	Commercial culture
<i>B. longum</i> 2	Commercial culture

액을 3% sodium glutamate가 함유된 12% 멸균 환원탈지유로 치환하여 -70°C deep freezer(MDF-U6086S, Sanyo Electronic Co., Ltd. Japan)에 보관하면서 실험에 사용하였다.

동물 세포

실험실에 사용한 Caco-2 세포는 American Type Culture Collection(ATCC)에 구입하였으며, passage number 50~70의 세포를 실험에 이용하였다. Caco-2 세포는 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium, Gibco-BRL, Rockville, MD) 배지에 10%의 불성화된 fetal bovine serum (FBS, Gibco-BRL)과 1%의 비필수 amino acid(Gibco-BRL)가 함유된 배지를 사용하였다. 모든 배양은 CO₂ 배양기(Sanyo, Japan)에서 5%의 CO₂와 95% air 조건으로 37°C에서 실시하였으며, 완전한 세포 단층이 형성될 때까지 매일 배지를 교환하면서 현미경으로 관찰을 실시하였다. 세포의 계대 배양은 세포 단층이 형성된 후 PBS buffer로 3회 세척하고 0.25% Trypsin-EDTA 용액 10 mL를 첨가하여 CO₂ incubator에 5분간 배양하여 분리시킨 뒤, DMEM 배지와 혼합하여 회수하였다. 회수된 세포는 1,300 rpm에서 3분간 원심분리하고 DMEM 배지로 4회 세척한 후 계대 배양하였다.

세포 표면 소수성(Cell Surface Hydrophobicity, CSH)

실험 균주의 세포 표면 소수성 검사는 Pérez 등(1998)의 방법을 응용하여 실시하였다. 회수된 실험 균주를 PBS buffer에 재현탁하여 600 nm에서의 흡광도를 1.0 ± 0.05 로 조정하였다. 실험 균주의 현탁액 3 mL에 동량의 hexadecane (Sigma)을 넣고 1분간 vortexing한 후에 상온에서 20분간 방치하여 층이 분리되도록 하였다. 분리된 층중에서 하층의 수용성 층의 흡광도를 600 nm에서 측정하여 세포 표면 소수성을 아래와 같이 계산하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 수행하였다.

$$\% \text{ of hydrophobicity} = \frac{(OD_{600} \text{ before} - OD_{600} \text{ after})}{OD_{600} \text{ before}} \times 100\%$$

OD₆₀₀ before = 초기 흡광도(OD₆₀₀ = 1.0),
 OD₆₀₀ after = 최종 흡광도

직접계수법에 의한 부착성 측정

실험 조건에 따른 부착성의 변화를 측정하기 위하여 bifidobacteria의 균수와 Caco-2 세포 부착 반응 시간에 따른 부착성의 변화를 측정하였다. 부착성 측정은 직접계수법(Direct counting)으로 실시하였다. Bifidobacteria의 균수에 따른 부착성의 변화를 측정하기 위하여, 균 현탁액을 희석 또는 농축하여 $10^3 \sim 10^9$ CFU/well의 범위에서 반응 균수를 조정하였을 때의 부착성을 측정하였다. Bifidobacteria의 Caco-2 세포 부착 반응시간에 따른 부착성의 변화는 10^6 CFU/mL의 실험 균주를 첨가하고 CO₂ 배양기에서 배양하면서 2시간 간격으로 24시간 동안 관찰하였다

실험 균주의 부착성 실험은 24 well plate에 멸균된 glass cover slip(12×12 mm, Corning)을 장착하고, 여기에 Caco-2 세포를 배양하여 세포 단층이 형성된 것을 Tuomola와 Salminen(1988)의 방법을 개선하여 사용하였다. 원심분리로 회수된 균체를 PBS buffer로 3회 세척한 후, 세포 현탁액을 제조하여 610 nm에서 동일한 buffer를 이용하여 흡광도를 1.0으로 조정하고 동시에 실험 균주의 생균수도 측정하였다.

Caco-2 cell이 세포 단층을 형성하여 glass cover slip이 들어 있는 24 well plate를 PBS buffer로 3회 세척한 후, 미리 준비된 균 현탁액 200 μL와 FBS와 streptomycin/penicillin G가 함유되지 않은 불완전 DMEM 배지 1.8 mL를 혼합하여 접종하였다. 접종된 24 well plate는 CO₂ 배양기에서 2시간 배양한 후, PBS buffer로 5회 세척하고 methyl alcohol로 5분간 고정화 시킨 후에 Gram 염색을 하여 현미경으로 실험 균주의 부착성을 확인하였다. 현미경으로 검경할 때 무작위로 20부위를 선정하여 100개의 Caco-2 세포에 부착되어 있는

bifidobacteria의 수를 계수하고 그 평균치를 부착성으로 계산하였다.

결과 및 고찰

세포 표면 소수성

한국인 유아의 분변에서 분리한 10종의 분리 균주와 4종의 공시 균주(*B. longum* ATCC 15707, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, *B. asteroides* ATCC 15910) 및 2종의 상업용 종균(*B. animalis* subsp. *lactis* BB12, *B. longum* 2)의 세포 표면 소수성을 측정한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 균주에 따라 매우 다른 결과를 나타냈으며, 균종간의 일정한 경향은 관찰되지 않았다.

실험 균주 중에서 *B. longum* D6, *B. longum* H4, *B. breve* M1, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 등의 균주가 세포 표면 소수성이 80% 이상으로 높게 나타났다. 미생물의 장 상피세포 부착성은 세포 표면 소수성이 85% 이상이 되어야 장 상피세포 부착성이 있다고 보고되었다(Pérez 등, 1998).

Caco-2 세포에 대한 부착성

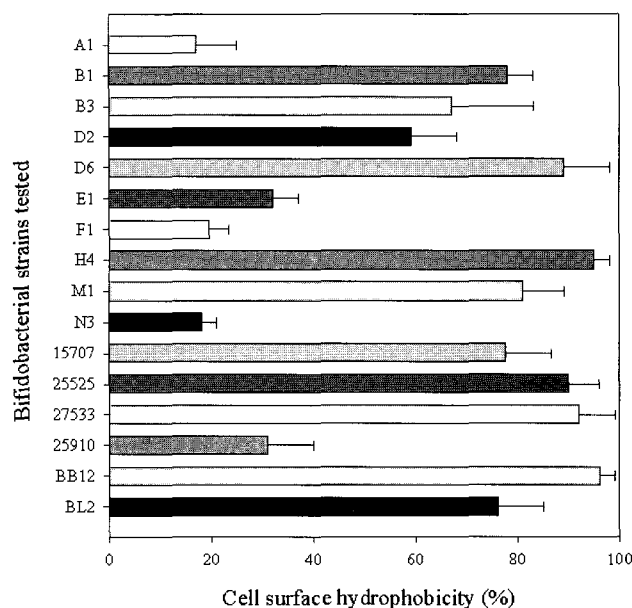


Fig. 1. Cell surface hydrophobicity of bifidobacterial strains. Error bars indicate standard errors.

A1 : *B. bifidum* A1, B1 : *B. infantis* B1, B3 : *B. bifidum* B3, D2 : *B. longum* D2, D6 : *B. longum* D6, E1 : *B. breve* E1, F1 : *B. adolescentis* F1, H4 : *B. longum* H4, M1 : *B. breve* M1, N3 : *B. bifidum* N3, 15707 : *B. longum* ATCC 15707, 25525 : *B. thermophilum* ATCC 25525, 27533 : *B. suis* ATCC 27533, 25910 : *B. asteroides* ATCC 25910, BB12 : *B. animalis* subsp. *lactis* BB12, BL2 : *B. longum* 2.

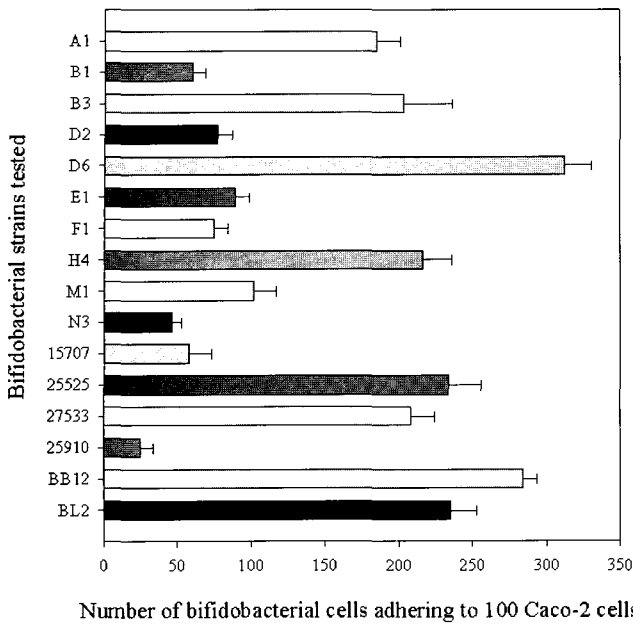


Fig. 2. Adherence abilities of bifidobacterial strains to Caco-2 cells by direct counting method. Error bars indicate standard errors.

A1 : *B. bifidum* A1, B1 : *B. infantis* B1, B3 : *B. bifidum* B3, D2 : *B. longum* D2, D6 : *B. longum* D6, E1 : *B. breve* E1, F1 : *B. adolescentis* F1, H4 : *B. longum* H4, M1 : *B. breve* M1, N3 : *B. bifidum* N3, 15707 : *B. longum* ATCC 15707, 25525 : *B. thermophilum* ATCC 25525, 27533 : *B. suis* ATCC 27533, 25910 : *B. asteroides* ATCC 25910, BB12 : *B. animalis* subsp. *lactis* BB12, BL2 : *B. longum* 2.

Glass cover slip에 형성된 Caco-2 세포의 세포 단층에 610 nm에서 흡광도 1.0으로 조정된 실험 균주의 세포 현탁액 100 μ L를 접종하여 2시간 배양한 후에 Gram 염색하여 현미경을 이용하여 직접계수법(direct counting)으로 실험 균주의 Caco-2 세포 부착성을 측정할 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

실험 균주 16개 중에서 Caco-2 세포 100개당 200개 이상의 균수가 측정된 균주는 *B. bifidum* B3, *B. longum* D6, *B. longum* H4, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, *B. animalis* subsp. *lactis* BB12, *B. longum* 2 등으로 세포 표면 소수성과 마찬가지로 균종간의 경향은 관찰되지 않았다. 부착성이 우수하고 세포 표면 소수성이 80% 이상인 균주는 *B. longum* D6, *B. longum* H4, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 등 5개 균주로 확인되었다. *B. thermophilum* ATCC 25525와 *B. suis* ATCC 27533의 경우 분리원이 사람이지만 돼지에서 분리한 균주로서 Caco-2 세포에 대한 부착성이 높게 나타난 반면, 꿀벌에서 분리한 *B. asteroides* ATCC 28910은 매우 낮은 부착성을 나타내었다. 일반적으로 장 상피세포에

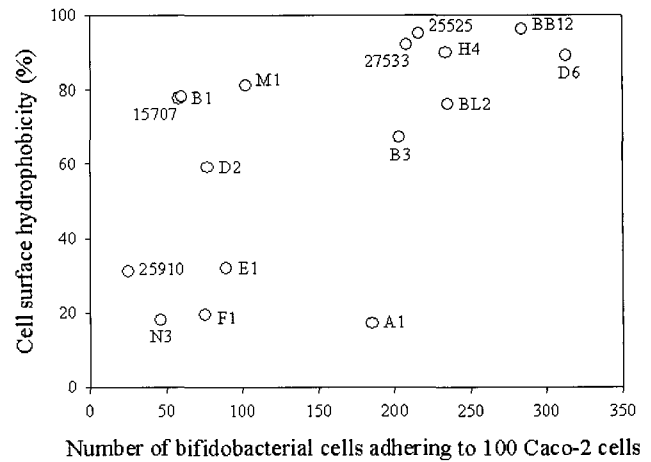


Fig. 3. Adhesion of bifidobacterial strains to Caco-2 cells and their cell surface hydrophobicity.

A1 : *B. bifidum* A1, B1 : *B. infantis* B1, B3 : *B. bifidum* B3, D2 : *B. longum* D2, D6 : *B. longum* D6, E1 : *B. breve* E1, F1 : *B. adolescentis* F1, H4 : *B. longum* H4, M1 : *B. breve* M1, N3 : *B. bifidum* N3, 15707 : *B. longum* ATCC 15707, 25525 : *B. thermophilum* ATCC 25525, 27533 : *B. suis* ATCC 27533, 25910 : *B. asteroides* ATCC 25910, BB12 : *B. animalis* subsp. *lactis* BB12, BL2 : *B. longum* 2.

대한 부착성은 probiotic 균주 선발의 중요한 기준 중의 하나이며, 이러한 특성은 유해균의 장내 정착을 억제하거나 섭취된 probiotic 균주의 정착이나 체류시간 연장과도 관련이 있다(Simmering과 Blaut, 2001; Tuomola 등, 2001).

세포 표면 소수성과 부착성

Caco-2 세포에 대한 부착성과 세포 표면 소수성간의 상관관계를 측정할 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 실험 균주의 부착성과 소수성간의 상관관계가 확인이 되었다. Caco-2 세포에 200개 이상이 부착되는 실험 균주는 모두 60% 이상의 세포 표면 소수성을 나타내고 있으므로, 부착성이 우수한 균주 선발 시 1차적으로 분리 균주의 세포 표면 소수성을 측정하여 선발하는 것이 가능하다고 판단되었다.

Pérez 등(1998)은 유아의 분변과 발효유제품에서 분리한 bifidobacteria 19 균주를 대상으로 Caco-2 세포에 대한 부착성, autoagglutination, hem-agglutination 및 hydrophobicity를 측정할 결과, 부착성이 우수한 균주는 hydrophobicity와 autoagglutination이 높게 나타나서 이들 특성간의 상관관계를 보고하였으며, Del Re 등(2000)은 13개 균주의 *B. longum*을 이용하여 Caco-2 세포에 대한 부착성, autoagglutination 및 hydrophobicity를 측정할 결과, 부착성이 우수한 균주는 hydrophobicity와 autoagglutination이 높게 나타났다고 보고하였다. 그러나 Ouwehand 등(1999)은 17 균주의 젖산균(*L. rhamnosus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii*

subsp. *bulgaricus*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Enterococcus*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*)의 Caco-2 세포에 대한 부착성과 cell surface hydrophobicity를 측정할 결과, 균주에 따라 매우 상이한 부착성을 나타내며, 부착성과 hydrophobicity 사이에는 아무런 상관관계를 발견하지 못했다고 보고하였다.

실험 균주가 부착된 Caco-2 세포를 Gram 염색하여 관찰할 경우 Fig. 4에서 보는 것과 같이 실험 균주가 대부분 Caco-2 세포와 세포 사이의 tight junction에 주로 부착되어 있는 것을 확인할 수 있었다.

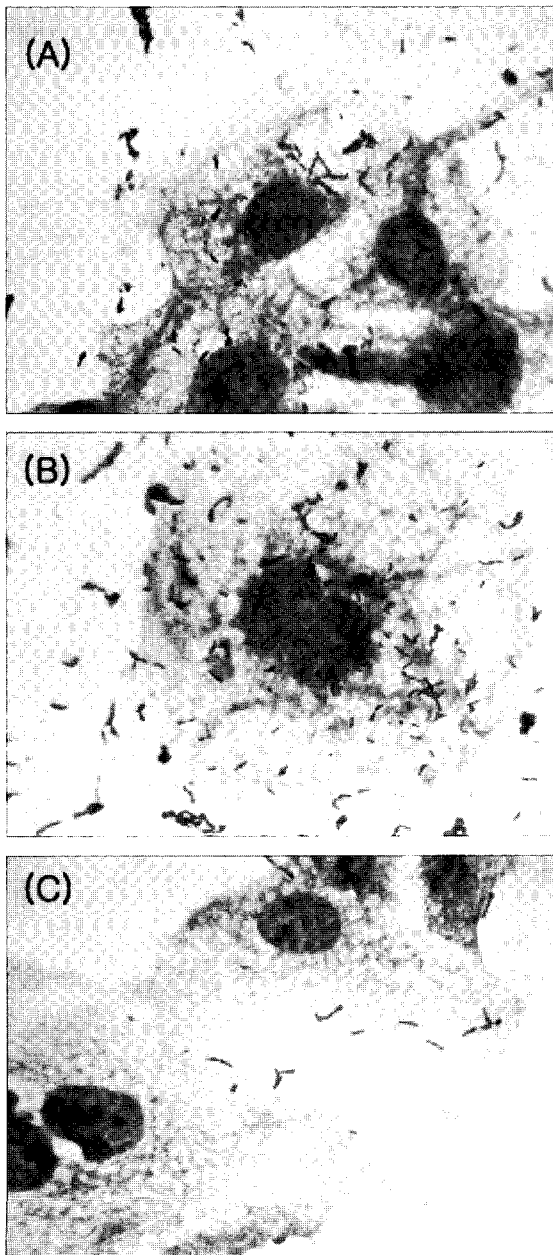


Fig. 4. Adhesion of bifidobacterial strains to Caco-2 cells. (A) *B. longum* D6, (B) *B. longum* H4, (C) *B. bifidum* N3.

요 약

한국인 유아의 분변에서 분리한 10종의 분리균주를 포함하여 총 16종의 bifidobacteria에 대한 Caco-2 세포에 대한 부착성과 세포 표면 소수성을 측정하였다. 부착성과 세포 표면 소수성 모두 균주에 따라 상이한 결과를 나타내었으며 균종에 따른 경향은 관찰되지 않았다. 실험 균주 중에서 *B. longum* D6, *B. longum* H4, *B. breve* M1, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 균주가 세포 표면 소수성이 높게 나타났으며, Caco-2 세포에 대한 부착성은 *B. bifidum* B3, *B. longum* D6, *B. longum* H4, *B. thermophilum* ATCC 25525, *B. suis* ATCC 27533, *B. animalis* subsp. *lactis* BB12, *B. longum* 2 등이 우수하였다. 또한 Caco-2 세포에 200개 이상이 부착되는 실험 균주는 모두 60% 이상의 세포 표면 소수성을 나타내고 있으므로, 부착성이 우수한 균주 선발 시 분리 균주의 세포 표면 소수성을 측정하여 선발하는 것이 가능하다고 판단되었다.

참고문헌

1. Del Re, B., Sgorbati, B., and Palenzona, D. (2000) Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett. Appl. Microbiol.* **31**, 438-442.
2. Finegold, S. M., Shutter, V. L., Sugihara, P. T., Elder, H. A., Lehmann, S. M., and Phillips, R. L. (1977) Fecal microbial flora in seventh day against populations and control subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **30**, 1781-1792.
3. Holzapfel, W. H., and Schillinger, U. (2002) Introduction to pre- and probiotics. *Food Res. Int.* **35**, 109-116.
4. Huis in't Veld, J. H. H., Havenaar, R., and Marteau, P. (1994) Establishing a scientific basis for probiotics R & D. *Tibtech.* **45**, 74-83.
5. Ishibashi, N., and Shimamura, S. (1993) Bifidobacteria: Research and development in Japan. *Food Technol.* **47**, 126-134.
6. Kirjavainen, P. V., Ouwehand, A. C., Isolauri, E., and Salminen, S. J. (1998) The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. *FEMS Microbiol. Letters* **167**, 185-189.
7. Mitsuoka, T. (1978) Intestinal bacteria and health. An Introductory Narrative. Iwanami Shoten Publ. Tokyo. Jpn.
8. Mitsuoka, T. (2000) Significance of dietary modulation of intestine flora and intestinal environment. *Biosci. Micro-*

- flora*. **19**, 15-25.
9. O'Sullivan, M. G., Thornton, G., O'Sullivan, G. C., and Collins, J. K. (1992) Probiotic bacteria: Myth or reality? *Trends Food Sci. Technol.* **3**, 309-314.
 10. Ouwehand, A. C., Kirjavainen, P. V., Shortt, C., and Salminen, S. (1999) Probiotic: mechanisms and established effects. *Int. Dairy J.* **9**, 43-52.
 11. Pérez, P. F., Minnard, Y., Disalvo, E. A., and Antoni, G. L. (1998) Surface properties of bifidobacteria strains of human origin. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 21-26.
 12. Saxelin, M., Tynkkynen, S., Mattila-Sansholm, T., and de Vos, W. M. (2005) Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Curr. Opinion Biotechnol.* **16**, 204-211.
 13. Simmering, R. and Blaut, M. (2001) Pro- and prebiotics- the tasty guardian angels? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **55**, 19-28.
 14. Teraguchi, S., Uehara, M., Ogasa, K., and Mitsuoka, T. (1978) Enumeration of bifidobacteria in dairy products. *Jpn. J. Bact.* **33**, 753-761.
 15. Tuomola, E. M., and Salminen, S. J. (1988) Adhesion of some probiotic and dairy Lactobacillus strains to Caco-2 cell cultures. *Int. J. Food. Microbiol.* **41**, 45-51.
 16. Tuomola, E., Crittenden, R., Playne, M., Isolauri, E., and Salminen, S. (2001) Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *Am. J. Clin. Nutr.* **73**, 393S-398S.
-
- (2006. 8. 18. 접수 ; 2006. 11. 3. 채택)