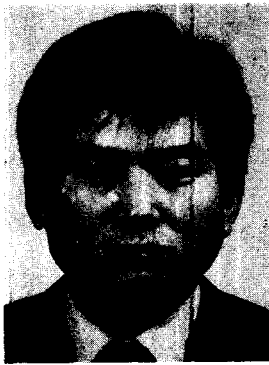


# 젖산균의 特性 및 機能과 酒類産業에의 이용



曹 哉 銑

<慶熙大學校 教授>

## 目 次

### I. 머리말

1. 젖산균이란
2. 젖산균의 종류
3. 젖산균의 기능
4. 젖산균의 식품에의 응용
5. 젖산균과 주류음료
6. 젖산균의 화장품에 응용
7. 젖산균의 개량과 보존기술

### II. 맺는말

## I. 머리말

미생물은 대개 당을 분해하여 에너지를 획득하는 과정에서 젖산을 생성하지만 이 산을 특히 많이 생산하는 균을 젖산균이라 한다. 다른 미생물도 마찬가지로 있지만 우리가 젖산균의 존재를 밝혀내기 이전부터 요구르트나 김치등을 통하여 젖산발효식품을 이용해 왔다. 젖산균이 생육하는데에는 여러가지 까다로운 영양소를 요구하는 바 식품은 물론 목초나 동물의 내장에도 번식하고 있다.

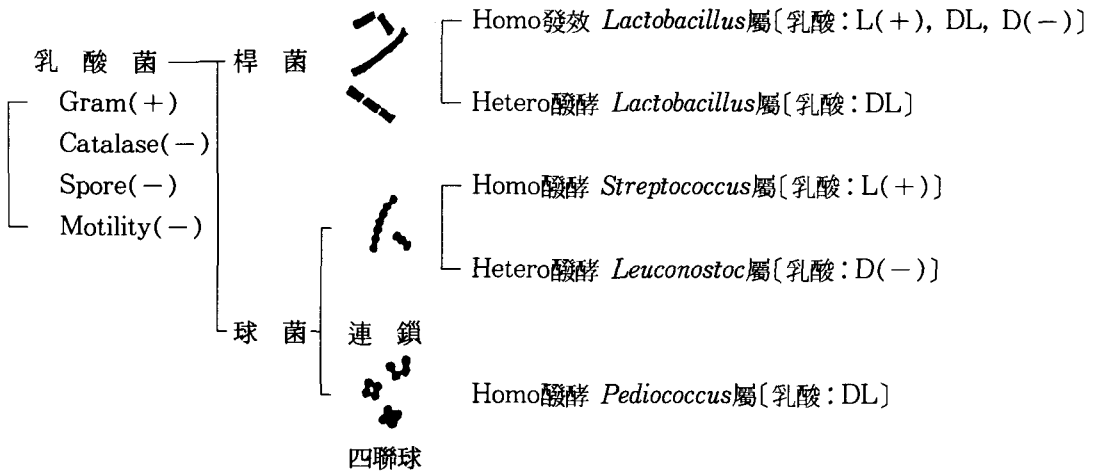
젖산균이 자라게 되면 젖산과 그밖의 유기산에 의해서 pH가 내려가고 젖산 자체의 항균력에 의해서 부패균이나 병원균을 억제하여 식품을 오래 보존할 수 있게하고 젖산의 신맛은 청량감을 준다. 또 장내에 들어간 젖산은 좋지못한 이상발효를 억제하여 장내를 정상으로 유지하는 정장작용을 한다. 한편 젖산은 알콜과 반응하여 향기성분인 에스테르를 생성한다. 최근에는 젖산균 세포의 表戶의 세포벽 성분이 항암·항종양·면역부활의 활성이 있다고 알려지고 있어서 젖산균의 건강에 관한 기능성연구가 활발히 진행되고 있다.

여기서는 젖산균의 특성과 종류, 그외 응용, 그리고 주류산업에의 이용등을 살펴 보기로 하자.

### 1. 젖산균이란

젖산균은 젖산을 특히 많이 생산하는 균으로서 형태학적으로는 간균 또는 구균이고 그람양성이며 内生胞子を 생성하지 않고 운동성은 대부분이 갖지 않는다. 생리적 성질로서는 통성혐기성, Catalase 음성, 당을 유일한 에너지원으로 사용하고 소비된 당을 50% 이상 젖산으로 전환하며 비타민중 Niacin을 필수적으로 요구하는 것을 특징으로 한다.

젖산균이라는 명칭은 관용적인 것이기 때문에 분류학적으로는 여러 종류가 있다. 현재 280여屬에 이르는 세균중 *Lactobacillus*속, *Leuconostoc*속, *Pediococcus*속, 그리고 *Streptococcus*속 등이 있다. 이들 4속의 차이는 세포의 형태(관상, 구상, 연쇄상등)와 포도당의 발효형식(Homo 또는 Hetero)에 따라 구분된다.



[그림 1] 젖산균의 특징

2. 젖산균의 종류

<표 1>

Lactobacillus 속의 젖산균들

Homo 醱酵 Lactobacillus 屬		Hetero 醱酵 Lactobacillus 屬
1. <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	subsp. <i>rhamnosus</i>	27. <i>L. bif fermentans</i>
subsp. <i>lactis</i>	subsp. <i>tolerans</i>	28. <i>L. brevis</i>
subsp. <i>bulgaricus</i>	20. <i>L. coryniformis</i> subsp.	29. <i>L. buchnerii</i>
2. <i>L. acidophilus</i>	subsp. <i>coryniformis</i>	30. <i>L. collinoides</i>
3. <i>L. amylophilus</i>	subsp. <i>torquens</i>	31. <i>L. confusus</i>
4. <i>L. amylovorus</i>	21. <i>L. curvatus</i>	32. <i>L. divergens</i>
5. <i>L. onimalis</i>	22. <i>L. homohiochii</i>	33. <i>L. fermentum</i>
6. <i>L. crispatus</i>	23. <i>L. maltaromicus</i>	34. <i>L. fructivorans</i>
7. <i>L. ferciminis</i>	24. <i>L. murinis</i>	35. <i>L. fructosus</i>
8. <i>L. gasseri</i>	25. <i>L. plantarum</i>	36. <i>L. halotolerans</i>
9. <i>L. helveticus</i>	26. <i>L. sake</i>	37. <i>L. hilgardii</i>
10. <i>L. jensenii</i>	<i>L. catenaform</i>	38. <i>L. handleri</i>
11. <i>L. ruminis</i>	<i>L. mali</i>	39. <i>L. kefir</i>
12. <i>L. salivarius</i>	<i>L. minutus</i>	40. <i>L. minor</i>
13. <i>L. sharpeae</i>	<i>L. rogosae</i>	41. <i>L. ruteri</i>
14. <i>L. vitulinus</i>	<i>L. piscicola</i>	42. <i>L. sanfrancisco</i>
15. <i>L. yamanashiensis</i>	<i>L. aviaris</i>	43. <i>L. vaccinostercus</i>
16. <i>L. agilis</i>	<i>L. acetotolerans</i>	44. <i>L. viridescens</i>
17. <i>L. alimentarius</i>	<i>L. odontolyticus</i>	<i>L. halotolerani</i>
18. <i>L. bavaricus</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. carnis</i>
19. <i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	<i>L. kefiranofaciens</i>	<i>L. oris</i>
subsp. <i>pseudoplantarum</i>		

1~44 : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2에 記載菌種. 그밖의 것은 그후에 밝혀진 것.



lactic streptococci [ <i>Lactococcus</i> ]	<i>Lc. raffinolactis</i>
	<i>Lc. plantarum</i>
	<i>Lc. garviege</i>
Anaerobic streptococci [ <i>Streptococcus</i> ]	<i>Stc. morbillorum</i>
	<i>Stc. hansenii</i>
	<i>Stc. pleomorphus</i>
	<i>Stc. parvalus</i>
Other streptococci [ <i>Streptococcus</i> ]	<i>Stc. acidominimus</i>
	<i>Stc. uberis</i>
	<i>Stc. bovis</i>
	<i>Stc. equinus</i>
	<i>Stc. cecorum</i>
	<i>Stc. Saccharolyticus</i> <i>Stc. alactolyticus</i>

그밖에도 *Bacillus*속중 일부 균종인 *Bacillus coagulans*나 *Sporolactobacillus*속중 *Sporolactobacillus inulinus*는 간상, Homo발효균이다. 또 인체의 장내 서식하는 *Bifidobacterium*속도 젖산균에 포함시키고 있다.

### 3. 젖산균의 기능

젖산균은 젖산과 각종 유기산을 생성하므로 식품의 풍미, 저장성, 그리고 물성등을 개선하는 역할을 하는 이외에도 체내에 들어가 정장작용을 하는 것은 널리 알려진 사실이다.

최근에는 장내 젖산균의 역할에 관심이 모아지고 있다. 인체의 내장중 소장의 하부에서 주로 검출되는 것은 젖산간균인 *Lactobacillus acidophilus*, *L. Casei* 및 장구균속의 *Enterococcus faecalis* 등 통성혐기성 Group과 대장에서 주로 검출되는 *Bifido-bacterium bifidum*, *B. breve* 등 편성혐기성균 Group이 있는데 젖산균을 이용한 발효유와 젖산음료를 섭취시 살아 있는채로 장내에 도달한다.

○ 장내 젖산균의 기능: 인체의 피부, 상부기도,

소화관등 외계와의 접촉부위에는 고유한 세균군이 인간과 공생하는 생태계를 형성하고 있다. 공생세균은 그 대부분이 소화관내에 존재하면서 고유한 flora를 이루고 있다. 건강한 사람의 장내세균은  $10^6 \sim 10^7$ /g으로 젖산간균, 장구균, *Bifidus*균이 우세한 소장하부와  $10^{10} \sim 10^{11}$ /g으로 *Bacteriodes*, *Bifidus*균, *Eubacterium* 등이 우세한 대장 flora로 성립되어 있다.

이와 같은 장내세균의 부위별 분포를 결정하는 요인으로는 소화관내의 pH, 산화환원전위, 영양원, 소화관의 연동운동, 균의 상피세포에 대한 점착성, 생체 및 세균의 장내 분비물과의 관계등을 고려할 수 있다. 같은 부위라도 장내 flora의 구성이 그 부위의 미세환경의 조건에 따라 다르다.<sup>1)</sup> 즉, 쥐의 내장을 절개해보면 *Bacteriodes*나 대장균군은 중심부보다 주변에 많다. 장내 flora는 생후 식생활 등 환경요인, 생체측의 내적요인 및 구성균간의 상호작용등에 의해서 생태학적 천이를 거쳐서 성립한다. 신생아에서는 대장균군이나 장구균이 一過的으로 가장 우세할 수 있지만 생후 5일 쯤에는 *Bifido*균이 우세하고 그 이후 유아기까지 계속된다.<sup>2)</sup> 특히 모유영양환경에서는 *Bifidus*균이 다른 균을 압도하여 소위 「*bifidus flora*」를 형성한다.

이유기에 들어가면 유아형(*B. breve*, *B. infant* 등), 그 다음에는 성인형(*B. longum*, *B. adoleccenlis*)으로 바뀐과 동시에 *Bacterinodes*가 증가하여 가장 우세해 진다.

장내세균은 통과균으로 침입된 병원균의 증식을 억제하는 *Microbarrier*를 형성하고 있다. 그러나 영양의 불균형, 과로, 스트레스, 면역력저하등에 의해서 평형상태가 붕괴되면 병원균의 일부가 이상증식하여 장내 flora의 혼란을 유도하여 감염된다.

예를 들면 항생물질 투여에 따른 소아의 난치성 설사는 편성혐기성균, 특히 *Bifidus*균의 감소와 대장균과 장구균등의 증가를 특징으로 하는 장내 flora의 이상으로서 설사증에 대한 일반적인 치료

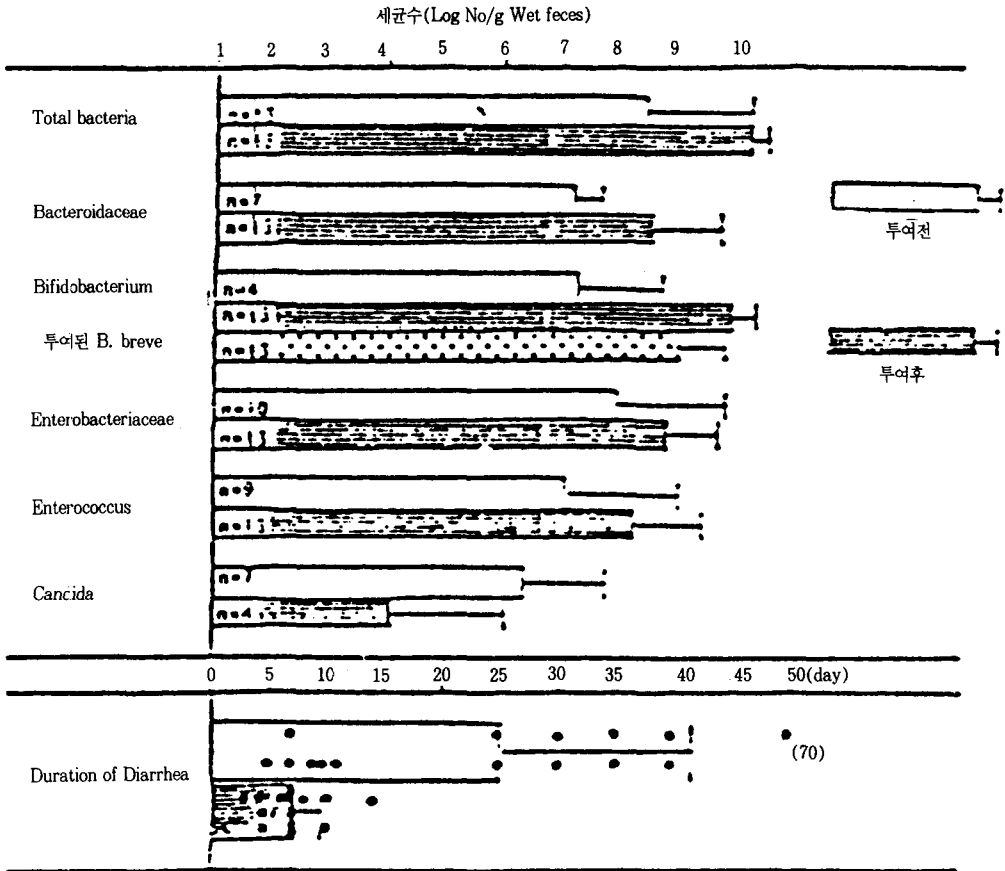
방법은 효과가 없지만 Bifidus균 제재 및 Bifidus 발효유를 투여시 배변회수, 변의性状등이 현저히 개선되고 장내 flora도 Bifidus균의 투여에 의해서 이 균이 가장 우세하게 되어 정상화 된다.<sup>3)</sup>

즉, Bifidus균의 투여로 감염균을 억제하거나 배제하여 설사증이 치료되고 장내 flora의 유지나 혼란이 정상화 됨을 알 수 있는데 *L. casei*도 같은 정상 작용을 한다고 한다.

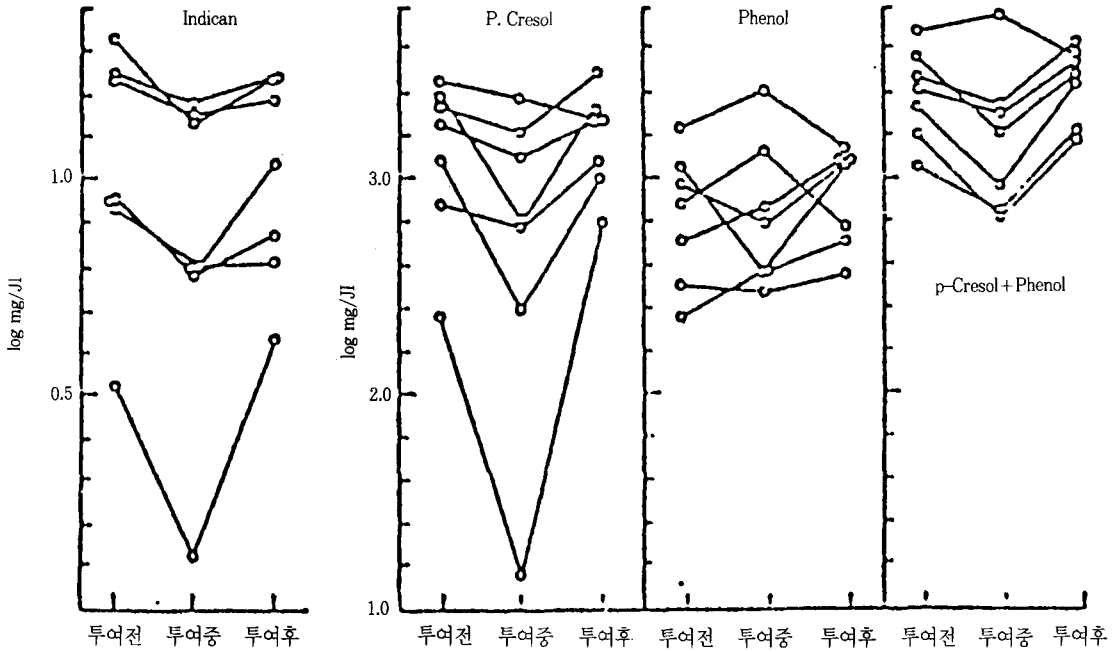
장내 flora 중에는 발암가능성 인자인 아미노산 대사산물(Indole, Phenol, P-cresol 등) Nitroso화합물(Nitrosoamine), 담즙산대사산물(Deoxy colic acid등) 및 암모니아, 황화수소등의 장내 부배산물들을 생성하는 유해균들(Bacteriodes, Pep-

tostreptococcus, 대장균군)이 있다. 젖산균들은 이들 유해균들의 작용을 억제한다. 즉, 건강한 사람에게 젖산간균인 *L. casei*를 연속 섭취시켜 대변 flora의 변화와 오줌중의 Indican(간장에서 Indole이 해독된 물질) 및 Phenol의 영향등을 조사한 바에 의하면 그림 3에서 보는 바와 같이 섭취기장중 젖산간균은 10<sup>6</sup>/g에서 10<sup>8</sup>/g으로 증가하는데 이들 균 중에서는 *L. casei*가 가장 우세하다.

장내 flora의 변화는 Bifidus균의 증가와 안정화가 특징적이고 오줌중 Indican과 Phenol류는 유적으로 감소하였다.<sup>4)</sup> [그림 3] 또 건강한 어린이와 성인에게 *B. breve*를 연속적으로 섭취시켜 같은 조사를 행한 결과 총균수 Bacteriodes, Clostridi-



[그림 2] 소아난치성 설사증에 대한 Bifidus균(*B. breve*)투여 효과<sup>3)</sup>

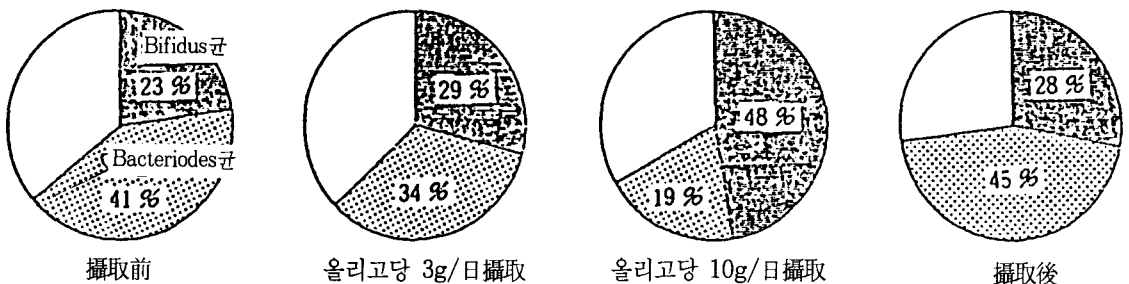


[그림 3] 건강인(7인)의 오줌중 Indican과 Phenol류에 대한젖산균(*L. casei*)의 영향<sup>4)</sup>

um, 대장균군이 유의적으로 감소하고 오줌중 Indican이 감소하는 반면 대변중의 수분함량이 증가하고 암모니아가 감소하였다. 이것은 Bifidus균의 섭취에 의해서 장내균총·장내대사 및 대변의 성상이 개선됨을 암시하고 있다. 이러한 개선효과는 섭취된 젖산균이 살아 있는 채로 소장에도달되고 대장을 통과하여 대변으로부터  $10^7 \sim 10^8/g$ 의 수준으로 회수될때 나타났다. 따라서 젖산균을 식품소재로

섭취시 이들의 기능이 충분히 발휘할 수 있는 제조방법이 필요하다.

○ 젖산균 증식인자에 의한 장내 균총의 제어: 모유중의 올리고당은 옛날부터 Bifidus증식인자로 알려져 있지만 최근 그 일종인 갈락토올리고당을 효소반응에 의해서 만드는 방법을 개발하였다.<sup>5)</sup> 이 당은 장내에서 Bifidus균에 의해 우선적으로 에너지원으로 이용되므로서 건강한 성인에의 섭취효과가



[그림 4] 건강인(11명)의 대변 flora에 미치는 갈락토 올리고당의 영향<sup>5)</sup>

보고되었다.<sup>5)</sup> 즉 *B. breve*와 올리고당을 함께 섭취 하면 건강한 성인의 장내flora에 있어서 섭취된 *B. breve*의 수준이 증가하고 그의 효과가 증진되었다. 또 [그림 4]에서 보는 바와 같이 올리고당 단독섭 취에 의해서도 Bacteriodes의 감소와 Bifidus균의 증가에 의해서 장내flora가 개선되고 Bifidus균 증 식인자로서 올리고당 기능이 인정되어 식품소재로 의 활용이 기대된다.

○ 젖산균에 의한 생체방어효과(감염방어효과) : 전술한 바와 같이 젖산균은 정장작용은 물론 병원

성세균의 증식을 억제하는 생체 방어기능이 밝혀졌다. 이러한 작용을 하는 젖산균으로는 *L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *B. bifidum* 및 *B. longum*등의 균에서 볼 수 있다.<표 5> 이들 젖산균 균체(생균 또는 熱死菌)을 실험동물에 비경 구(정맥, 복강, 피하) 투여하므로써 *Listeria* 병원성 대장균, 녹농균, Virus에 대한 감염방어 효과를 얻었다. 또 쥐의 방광에 *L. Casei*를 접종하므로써 병원성 대장균에 의한 실험에서 尿路감염이 방지되었다고 한다.

<표 5> 젖산균의 쥐에 대한 감염 방어 효과<sup>6)</sup>

젖산균	병원균	방어효과
<i>L. plantarum</i>	리스테리아균	In vivo, Clearance능의 증강
<i>L. casei</i>	"	In vivo, Resistance능의 증강
<i>L. casei</i>	병원성대장균	尿路감염방어
<i>L. casei</i>	리스테리아균	In vivo, Resistance능의 증강
<i>L. casei</i>	綠膿菌	감염저항성증강
<i>L. casei</i>	헬페스	"
<i>L. B. bifidum</i>	병원성대장균	대장균의 장관 침입저지
<i>L. acidophilus</i>		
<i>S. faecalis</i>		
<i>B. longum</i>	"	감염저항성의 증강

○ 젖산균에 의한 항암작용 : 암은 숙주의 면역감 지기구를 피해 증식하고 마침내는 숙주를 죽인다. 그러나 그 메카니즘에 대해서는 여러가지 설이 있고 아직도 정확히 구명되지 않았다. 발암위험인자로서 식품, 흡연, 대기오염, 발암성 화학물질, 발암 Virus등의 외계환경인자와 유전적 요소, 노화, 면역증, 흡몬대사등의 이상에 의해서 일어난다고 한다. 그중에서도 일상 섭취하는 식품은 발암요인으로 가장 중요하고 때로는 항암작용을 하기도 하는데 현재까지 식품과 발암의 관계는 지방의 과잉섭 취에 의한 발암, 비타민섭취에 의한 항암, 채소나

해조등 식물성 섬유질에 의한 장관내의 발암물질의 흡착이나 배설촉진등이 보고되었다. 그중 장내세균은 장관에서 각종 대사활성을 발현하지만 동시에 균종에 따라서는 자가암발생에 영향을 미치는것이 밝혀졌다. 장내세균은 섭취된 발암물질이나 변이원 물질의 대사에 관여하여 그의 변이원성을 변화시킨다. 이와 같이 장내세균의 존재는 발암이나 숙주의 항상성(Homeostasis)에 깊게 관여한다. 또 장내 세균중에서도 젖산간균이나 Bifidus균은 식물섬유와 마찬가지로 발암성이나 변이원성을 나타내는 물질을 흡착하고 그 활성을 약화시킨다는 것이 알려

졌다.<sup>7)</sup>

현재까지 젖산균이나 Bifidus균에 의한 항암효과도 *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve* 및 이들의 발효산물에서 발견된다고 한다.

젖산균의 항암작용은 *L. casei*에 대한 것이 상세히 연구되었다. 그 메카니즘은 비특이적 항암활성을 가지는 Macrophage가 활성화되어 Natural killer Cell이나 암에 특이적인 Killer T-Cell이 유도되고 항암활성이 발효된다고 한다. 이와 같은 세포성 면역의 부활화가 젖산균을 비롯한 세균성 부활제의 역할이라고 추정하고 있다. 이러한 항암 활성은 *B. infantis*나 *B. longum*에서도 볼 수 있다. 또 젖산균이나 그 발효산물의 경구섭취에서도 항암

활성이 발현되었다. 이와 같이 젖산균은 비경구투여나 경구섭취에 의해서 항암작용을 하는 젖산균을 의약품이나 기능성 식품에 도입하는 것이 기대된다.

○ 그밖의 생체방어 효과: 젖산균의 혈압강화작용이나 콜레스테롤대사 및 지질대사개선에 관한 연구가 되었고 방사선 장애의 방어에 *L. acidophilus*나 *B. breve*의 경구투여에 의한 효과가 있음을 보고 하였다. 이것은 장관상의 조직의 상처나 그로 인한 감염을 젖산균이 방해한다는 것이다. 또 방사선에 의해서 장애를 받은 조혈세포(적혈구계, 백혈구계, 점착구계)의 활성화도 젖산균의 영향에 의한 것으로 추정되고 있다.

<표 6>

乳酸菌의 種類와 應用食品

乳 酸 菌	應 用 食 品
Streptococcus屬(連鎖球菌) <i>S. thermophilus, lactis, cremoris</i>	醱酵乳, 乳酸菌飲料, 醱酵豆乳, 치즈, 醱酵버터
Pediococcus屬 <i>P. halophilus, acidilactis, cerevisiae</i>	된장, 간장, 醱酵, 소시지
Leuconostoc屬 <i>Leuc. mesenteroides, cremoris, oenos</i>	清酒, 절임류, 버터, 포도주
Lactobacillus屬(乳酸桿菌) <i>L. bulgaricus, jugurti, acidophilus*, casei*, helveticus, lactis* sake, plantarum*, brevis*</i>	醱酵乳, 乳酸菌飲料, 醱酵豆乳, 치즈, 소시지, 清酒 절임류, 포도주
Bifidobacterium屬(비피디스균) <i>B. infantis*, breve*, bifidum*, longum*</i>	醱酵乳, 乳酸菌飲料

\* 장내세균

#### 4. 젖산균의 식품에의 응용

젖산균은 인류의 역사와 더불어 요긴하게 이용되었음은 전술한바와 같다.

이들은 특유한 풍미, 젖산에 의한 보존성 향상, 단백질의 부분가수분해에 의한 소화흡수성의 향상

등에 관여한다.

야채류가 생산되지 않는 겨울철에 대비하여 야채류를 소금에 절여 저장하는 동안 내염성 젖산균이 자라서 보존성은 더욱 증진되고 신선미를 주는것이



우리나라의 김치류이고, 서구에서는 양배추를 원료로 한 Sauer Krout가 있으며 또 오이 피클이나 올리브절임등이 있다. 김치의 숙성은 *Leuc. mesenteroides*로 부터 시작되고 이것은 채소류의 당을 이용하여 아세트산, 락트산, 알콜, 탄산가스, 그밖의 향미물질을 생성한다. 이 탄산가스가 산소를 치환하여 혐기적으로되고 젖산이 축적되면 *Leuc. mesenteroides*는 저해되고 *Lact. brevis*, *Ped. cerevisiae*, *Lact. plantarum* 등이 순차적으로 자란다. 이들은 비교적 저온인 18~22°C가 좋고 식염농도는 2% 전후가 적당하다. 소금농도가 너무 높으면 젖산균이 자라지 못하고 효모가 자라서 향미나 빛깔이 좋지 않고 또 공기가 들어가면 곰팡이가 자라서 조직이 물러지고 불쾌취를 발생한다.

육제품에도 옛날부터 젖산균이 관여한다. 즉 건조 소시지 제조시 향신료, 소금, 설탕, 질산염등을 분쇄된 고기와 혼합하는데 이때 *Pediococcus*와 *Lactobacillus*가 작용하여 당으로부터 젖산을 생성하여 보존성과 향미가 증진된다. 또 조직감을 개선하고 pH를 떨어뜨려 가공시간을 단축한다. 옛날부터 야생의 젖산균이 작용하였지만 냉동이나 냉동건조된 Ster를 첨가한다.

젖산균을 이용한 대표적인것으로 요구르트나 치즈등 발효유 제품을 들 수 있다. 주로 쓰이는 균은 Homo형의 Streptococci인 *S. lactis*, *S. cremoris*이다. 이들균은 젖산은 물론이고 시트르산을 분해하여 유제품에서 가장 중요한 향기성분인 Diacetyl을 생성한다. 그밖의 향미를 생성하는 젖산균으로 *Leuc. cremoris*, *Leuc. dextranicum*, *L. meceuteroides* 등이 있는데 이들 균은 Streptococci에 비해서 발효작용이 더디다. 또 *Lact. lactis*도 젖산을 약 1.6%까지 생성하여 산에 의한 우유의 응고를 도와준다. 이런 작용을 하는 것으로 *L. lactis*이외에 *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei* 등이 있다.<sup>8)</sup> 발효유제품별로 보면 먼저 발효버터우유와 발효크림에서 산생성균으로 *S. lactis*나 *S. cremoris*, 향미생성균으로 *L. de-*

*S. lactis*var *diacetylactis*를 사용하고 버터의 경우도 풍미개선을 위해서 젖산균을 첨가 한다. 정장작용을 도와준다는 아시도필루스 유유에는 물론 *L. acidophilus*를 첨가한다.

요구르트에는 대개 *Streptococcus thermophilus*와 *Lac. bulgaricus*로 1:1로 접종하는데 이때 생성된 Acetaldehyde가 향미의 주된 역할을 한다. 이들 균은 젖산을 생성하여 보존성을 주지만 단백질을 분해하여 소화를 돕고 지방질을 분해하여 향미를 증진시키는 역할을 한다. 그리고 이들 균이나 생성물들이 정장작용을 하고 그밖에 건강증진에 역할을 한다는 것은 전술한 바와 같다.

치즈의 경우 우유의 응고와 향미증진을 위해서 *S. lactis*와 *S. cremoris*를 단독 또는 병용하는데 스위스치즈에는 젖산생성을 위해서 *S. thermophilus*와 *L. bulgaricus*를 첨가하고 숙성시에 독특한 풍미 발생과 내부에 구멍을 내기 위해서 *Propio nibacterium*등 젖산균이외의 세균을 접종하고, Roquefort 치즈와 Camembert 치즈에는 각각 *Penicillium roqueforti*와 *Pen camemberti*등의 곰팡이를 숙성시에 사용한다.

장류를 숙성시 발효덕에 야생의 젖산균이 자라서 젖산을 생성하므로서 향미를 증진시킨다. 그래서 요즈음에는 *L. delbruekii*등의 젖산균과 효모인 *S. rouxii*를 첨가하고 있다.

## 5. 젖산균과 주류음료

주류음료는 원료인 당으로부터 알콜을 생성시켜 이 알콜을 이용하는 음료이지만 원료 자체나 발효 및 숙성중에 생성되는 향기 성분이 독특한 특성을 나타낸다. 전분질원료를 사용하는 경우 우선 당화가 일어나야 하고 그 다음에 이 당에 효모를 작용시켜 순조롭게 알콜발효가 진행되어야 한다. 이러한 발효작용이 원만하게 이루어지고 독특한 향미를 부여하는데 젖산균이 관여한다.

맥주의 경우 호모를 접종하기전 담금액에 *L. de-*

*lbruekii* 등의 젖산균을 접종하여 젖산을 생성하므로서 pH를 낮추어 원료중의 유효성분을 많이 침출할 수 있도록 해 준다. 그러나 *Lactobacillus pastorianus*, *L. lindneri*, *Pediococcus damnosus* 등은 과량의 Diacetyl을 생성하여 혼탁을 일으키거나 이취를 생성하는 변패균으로 취급되고 있다.

사과주의 경우는 많은 젖산균들이 관여 한다. 즉 발효초기에는 *Lactobacillus plantarum*과 *L. mali*, 후기에는 *L. collinoides*가 자라서 당을 젖산으로 바꾸고 또 말산을 분해하여 탄산가스와 알콜을 생성한다. 저장중에도 *Leuconostocs spp.*가 자라서 남아있는 당이나 당알콜을 분해한다.

포도주에서도 젖산균이 관여한다. 소규모 가내제조시 *Leuc. lactobacillus*, *Pediococcus* 등의 균이 자라서 Malo-lactic 발효를 하여 말산을 젖산으로 바꾼다. 그리하여 산도를 낮추고 풍미를 변화시켜서 때로는 품질을 개선하고 때로는 저하시킨다. 만일 필요하다면 *Leuconosto oenos* 등을 사용하여 조절된 조건으로 Malo-lactic 발효를 시키는 것이 바람직하다고 한다.

<표 7> 사과즙과 사과주 숙성중 젖산균의 소장<sup>9)</sup>

숙성기간(일)	미생물 성장(%)			
	A	B	C	D
0	100	100	100	100
5	33	36	27	67
16	33	36	18	42
57	67	43	42	50
113	100	50	68	33

- A : *Leuc. mesenteroids*
- B : *Lactobacillus collinoides*
- C : *Lactobacillus pastorianus var quinicus*
- D : *Lactobacillus plantarum*

청주의 경우 산미성분의 일부는 젖산에 의해서 생성된 것이다.

최근에 쌀을 이용하여 과일주와 유사한 술류 Rice wine을 만드는 시험을 행한 바 있는데 여기서

산 생성을 위하여 젖산균을 사용하였다.<sup>10)</sup> 즉, 청주 주모에서 분리된 *Leuc. mesenteroides var sake*와 *Lact, sake*를 당화시킨 여액에 접종하여 산 생성량을 검토한 결과는 <표 8>과 같다. <표 8>에서 보는 바와 같이 현미와 울무를 사용시는 산이 생성되었지만 백미의 여액에서는 생성되지 않았다.

한편 여과하지 않은 당화액에 젖산균 접종시 산도 변화도 <표 9>와 같다. 역시 현미와 울무에서는 현저히 산도가 증가하였는데 백미는 약간 증가했을 뿐이지만 백미에 쌀 고오지를 사용시는 산을 생성하였다.

이것은 젖산균의 영양원이 되는 아미노산, 비타민, 무기질등이 백미보다는 현미와 울무에 많은 것을 알 수 있다. 현미 술덧을 사용하여 Rice wine의 담금비율을 <표 10>과 같이 하였다.

<표 8> 효소당화여액에 *Leu. menteroides*의 증식과 산도변화<sup>10)</sup>

원료	여 액 성 분			43°C 배양 시간			
	당분 (%)	아미노산도 (ml)	산도 (ml)	24시간		48시간	
				생육	산도 (ml)	생육	산도 (ml)
현미	15.2	0.2	0.2	+	0.5	+	0.7
백미*	16.0	0.1	0.1	-	0.1	-	0.1
울무	7.4	0.1	0.2	+	0.6	+	0.6

\* 정백도 90%

<표 9> 酵素劑糖化술덧에 첨가한 乳酸菌(207)의 生酸<sup>10)</sup>

原 料	酸度 (ml) (初發)	培養時間 43°C	
		16hr	24hr
		酸度 (ml)	酸度 (ml)
玄 米	0.3	2.7	3.2
白米 (90%)	0.1	0.6	0.8
白米 + 米麴	0.4	2.1	2.4
울 무	0.3	1.7	3.3

<표 10> Rice Wine의 담금비율<sup>10)</sup>

原 料	1 次 (高温糖化)	酵母添加	2次	甘酒	計
玄米(kg)	800		800		1,600
白米(kg)				400	400
배아(kg)			10		10
酵素劑(g)	(320)		(320)	(160)	
水 (ℓ)	1,500	200	580	480	2,760
乳酸菌(207)	(1,000ml)				
酵母菌(2300)		(1,000ml)			

1차 담금에서 현미를 50~55℃에서 6~18시간 고온당화하고 43℃로 냉각한 다음 *Leuc. mesenteroides var sake*를 첨가하여 15시간 정도 보온하면 산이 생성된 후에 30~35℃로 냉각하여 효모를 첨가하여 15~20시간 발효시키면 가스가 발생한다. 이때 2차 담금을 행하고 20℃전후의 온도에서 18~20일 발효시키고 감미조정용으로 감주를 첨가하여 Rice wine을 제조하였다.

술덧에서 젖산균과 효모 및 일반성분변화를 보면 <표 11>과 같다.

<표 11> 乳酸菌(207)添加 술덧의 經過<sup>10)</sup>

月 日	日 順	品溫	비중(Bé)	酸度(ml)	酒精(%)	乳酸菌/ml	酵母/ml
11/21 PM 5:00	糖化終了 乳酸菌添加	43				(8.7×10 <sup>4</sup> )	
11/22 PM 9:00	冷却酵母添加	30	10.4	1.4		1.4×10 <sup>8</sup>	(1.0×10 <sup>4</sup> )
11/23 PM 5:00	2 次 (前)	33	10.0	2.2		1.7×10 <sup>8</sup>	1.7×10 <sup>7</sup>
11/24	2	32	8.9	3.3		2.7×10 <sup>8</sup>	1.8×10 <sup>8</sup>
	4	23	3.4	4.3	8.5	3.7×10 <sup>7</sup>	1.3×10 <sup>8</sup>
	7	23	-11.0	5.3	12.1	8.0×10 <sup>2</sup>	2.1×10 <sup>8</sup>
	10	19	- 2.0	5.8	13.3	6.0×10 <sup>2</sup>	2.2×10 <sup>8</sup>
	13	20	+ 6.0	6.4	13.9	0	2.3×10 <sup>8</sup>
	16	20	+10.5	6.5	15.4		1.9×10 <sup>8</sup>
	20(上槽)	20	+13.5	6.7	16.1		

즉 젖산균은 초기에 2.7×10<sup>8</sup>/ml까지 증가하지만 4일째의 알콜농도 8.5%에서 감소되기 시작하여 알콜 12.1%의 7일째로 8.0×10<sup>2</sup>/ml로 감소하여, 거의 사멸한다. 젖산균이 존재하지 않아도 산이 약간 증가한 것은 효모에 의해서 생산된 것으로 추정된다.

이렇게 만든 Wine의 유기산 함량은 젖산 4,400

~4,900ppm, 숙신산 580~799ppm, 말산 238~358ppm, 아세트산 87~286ppm, 시트르산 23~105ppm, 피브르산 26~43ppm이었다.

Wine은 산미와 감미가 균형을 이루어야 되는데 감미는 감주를 첨가하여 조정할 수 있다. 젖산균의 발효이용은 청주양조의 주모에 응용되고 있으나 이 경우는 백미를 사용하므로 米麴을 가하고 젖산균의

영양분을 보충해야 하지만 Rice wine의 경우 현미를 사용하므로서 영양분을 보충할 수 있다. 이렇게 만든 술의 알칼리도와 무기성분 함량은 <표 12>와 같다. Rice wine은 과일주나 매실주와 마찬가지로

알칼리성이고 같은 쌀이라도 정백미와 미국을 사용한 경우 산성을 나타낸다.

본 시제품에는 무기질중 Mg과 K등이 특히 많기 때문에 알칼리성을 나타낸다.

&lt;표 12&gt;

양조주의 알칼리도와 무기질 함량<sup>10)</sup>

(ppm)

		알칼리도*	무기질(%)	P	Mg	K	Na	Ca	Fe
Rice wine	A (548)	+ 8.0	0.299	102.3	422.0	758.0	38.0	33.6	1.55
	B (550)	+10.6	0.258	145.2	506.0	810.0	34.3	36.1	1.55
	C (550)	+13.6	0.260	116.4	278.0	458.0	30.0	21.0	1.03
포도주	市 販(白)	+ 6.6	0.161	102.3	110.0	340.0	16.0	70.5	2.88
	市 販(赤)	+11.0	0.235	148.5	108.5	616.0	26.0	65.0	3.95
梅 酒	研 究 室	+15.6	0.150	67.6	39.6	745.0	10.8	14.2	0.91
清 酒	A (特 級)	-15.4	0.028	37.9	5.3	25.8	12.5	26.4	0.09
	B (一 級)	-14.0	0.020	71.4	3.6	33.0	32.0	10.0	0.19
	C (一 級)	-15.3	0.020	85.7	7.0	30.0	30.0	12.6	0.23
	D (純 米)	-14.8	0.042	110.5	16.3	86.6	9.5	13.5	0.23
味 淋	市 販	- 6.8	0.043	115.5	28.8	100.0	19.5	20.6	1.13
麥 酒	市 販	- 5.0	0.111	128.7	90.0	385.0	27.9	16.5	0.23

※ (+)알칼리성 (-)산성

## 6. 젖산균의 화장품에 이용

인체의 피부는 진피와 표피로 되어 있고 표피의 표면은 Keratin으로 덮여 있다. 이것은 수분의 증발을 막아주는 역할을 하는데 각질층에는 Natural moisturizing factor(NMF)가 있는데 젖산균 배양액중에는 NMF성분인 젖산, 펩티드, 아미노산, 무기질등이 들어 있어 이것을 바르면 보습작용을 한다. 또 인체의 피부에는 각종 불포화 지방산이 존재하는데 이것은 자외선이나 산소등 외계물질과 접촉하여 산화되어 피부의 장애나 색소의 침착등의 원인물질이 되고 노화와 관련되는 주름등 살의 생성원인이 된다. 젖산균 배양 여액은 항산화작용을 하여 피부에 바르면 과산화지질의 생성을 억제한다. 그 작용은 비타민E를 함께 사용하면 상승작용

을 한다. 젖산배양액중의 다량의 젖산은 약산성영역에서 완충작용을 하지만 인체피부의 pH는 약 4.5~5.5로 완충범위에 들어간다. 비누를 사용하면 pH가 올라가는데 젖산균배양액을 바르면 정상pH가 유지된다.

그밖에도 빛의 방어 효과 균총을 제어하고 배양액중에 들어 있는 Hyaluronic acid는 피부에서 높은 보습성과 피부친화성을 갖는다.<sup>6)</sup>

## 7. 젖산균의 개량과 보존기술

젖산균은 산업적으로 매우 중요한 세균이므로 유전조작에 의해서 우량균주를 육성하는 연구가 일찍부터 수행되었다. 1970년대에 들어와 미국에서 젖산균의 유전형질과 Plasmid의 관계를 규명한 이

래 활발한 연구가 진행되어 소위 「分子육종」이 가능하게 되었다. 그러나 이것은 젖산균에 관한 것이고 *Lactobacillus*나 *Leuconostoc*에 있어서 분자유전학적 기법은 제한되어 있다.

○ 젖산균과 Plasmid: 대부분의 젖산균은 Plasmid를 보유하고 특히 우유에 사용되는 *Streptococcus*속은 모두 보유하며 균주당 1~12종류의 P-

lasmid가 있으며 분자량도 1~80Mdal로 다양하다. 젖산균의 유전형질이 Plasmid에 의해 지배됨이 밝혀졌다. 특히 이 균종에 대해서는 유당발효성이나 Protease생산능등 유가공상 중요한 성질이 Plasmid를 매개로 유전되고 있어서 그 기능이 중요하다.

<표 13>

젖산균 plasmid의 기능

機 能	菌 株	크 기(Mdal)
乳糖發酵性	<i>S. lactis</i> <i>S. diacetyllactis</i> <i>S. cremoris</i>	30~45
Protease 생산능	<i>S. lactis</i> 712/C2 <i>S. cremoris</i> HP <i>S. cremoris</i> Wg2	Lac Plasmid에 付隨 8.5 16
시트르산분해능 (Diacetyl생산능)	<i>S. diacetyllactis</i>	5.5
Nicin 生産能	<i>S. lactis</i> 11454 <i>S. diacetyllactis</i> DRC3	28 40
Phage 耐性	<i>S. lactis</i> ME2 <i>S. lactis</i> KR5	30 29
重金屬耐性	<i>S. lactis</i> C2	Lac Plasmid에 付隨
칼락토오스 發酵性	<i>S. lactis</i> C2	Lac Plasmid에 付隨
Sucrose 發酵性	<i>S. lactis</i> 11454	28
Glucose, Mannose 發酵性	<i>S. lactis</i> 354-07	23
Bacteriocin 生産能	<i>S. diacetyllactis</i> WM4	79
細胞의 凝集	<i>S. lactis</i> ML3	32

○ 세포융합: 복수균주의 원형질체를 Polyethylene glycol중에서 세포융합시켜 유전적 변형체를 얻는 방법으로서 서로 다른 균종간에도 가능하기 때문에 균주개량의 유리한 방법이다. 그러나 젖산균중에는 원형질체를 만들기 어렵거나 세포벽재생이 어려운 균주가 많아서 광범위한 균주에 적용할

수 있는 조건을 확립하는 것이 필요하다.

젖산균의 경우 1980년에 Gasson<sup>11)</sup>이 Lysozyme을 사용하여 원형질체를 만들고 *S. lactis*유래의 균주간 원형질체 융합을 시도한 바 있지만 또 다른 보고에 의하면 깨끗한 원형질체를 얻지 못하였다고 한다. 원형질체를 만드는 데에는 Lysozy-

me농도를 최적으로 맞추고 Crude  $\alpha$ -amylase를 병용하므로써 여러 균주에 대하여 광범위하게 적용될 수 있다고 하였다.<sup>12)</sup> Lysozyme이외의 용균효소로는 K-ondo등<sup>13)</sup>이 *Streptomyces globisporus*의 Mutanolicin으로 처리하여 원형질체를 얻었다고 한다. 이 Mutanolicin은 Lysozyme에 비감수성인 Gram양성균에 매우 효과적인 용균효소이지만 균주와의 상성이 있고 처리주에 따라서는 세포벽의 재생율이 현저히 저하되는 경향이 있다.

이렇게 해서 얻은 원형질체는 원형질체 융합이나 형질전환조작후 세포벽을 재생해야 한다. 젖산균의 경우 이미 조제된 배지에 침투압안정제로 0.5M sucrose를 가하여 배양하면 어느정도 재생된다.

젖산균은 일반적으로 Lysozyme에 비감수성이어서 Mutanolicin에 의한 원형질체 조제법이 검토되었다. 일반적으로 이효소단독보다는 Lysozyme을 병용처리하는 경우가 많고 이미 *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. salivarius*등으로 부터 이들을 사용하여 원형질체를 얻고 있다. 그러나 젖산균에서는 균주마다 효소를 조합하여 효소의 최적농도 처리시간등이 다르고 여러 균주에 적용할 수 있는 방법은 확립되지 않았다. 원형질체의 재생 조건에 대하여 연구되었지만 아직 만족스런 조건을 확립하지 못하였다.

*L. casei*<sup>14)</sup>, *L. fermentum*<sup>15)</sup>의 경우 약제내성이나 젖당발효성의 Marker를 사용하여 같은 종균내의 세포융합에 성공하였다고 한다. 또 당의 발효성 선택형질로서 *L. casei*와 *L. plantarum*간의 융합균주를 얻었고 이 균주는 변형된 당의 발효특성을 유지하였다고 한다.

또한 *S. lactis*와 *L. reuteri*와의 속간 세포융합에서 얻은 융합균주는 선택의 조건으로 *S. lactis*의 Trehalose발효성(염색체 DNA 지배) 및 약제내성(plasmid 지배)이 *L. reuteri*균체내에서 서로 교환되는 것으로 추정된다. 또 *S. lactis*와 고초균의 세포융합<sup>16)</sup>에서 고초균내의 약제내성 Plasmid를 보

유한 *S. lactis*가 얻어졌으므로 속간 세포융합으로 Plasmid의 채취가 가능하게 되었다.

이상과 같이 세포융합은 염색체DNA상의 광범위한 유전적 변환을 일으키는 이외에 Plasmid를 전달하는 수단으로도 유리하여 균주개량의 유리한 방법이라고 할 수 있다. 그러나 젖산균에 있어서는 광범위하게 제현성을 가진 방법은 아직 확립되어 있지 않으므로 앞으로 이러한 조건을 충족할 수 있는 원형질체의 조제와 그 재생방법이 확립되어야 하겠다.

○ 형질전환: 형질 전환은 유리된 DNA를 직접 세균세포중에 집어 넣는 방법이다. DNA를 시험관내에서 절단하여 세포내에 넣고 증식과 발현을 시키는 유전자 조작에 필수적인 방법이다. 고전적인 방법은 직접 DNA를 집어넣는 상태로된 세포를 이용하였으나 적용가능한 균주가 한정되어 있고 젖산균역시 이 방법에 의한 형질전환이 성공하지 못하고 있다.

형질전환의 또 다른 방법은 용균효소로 원형질체를 만들고 Polyethylene glycol의 존재하에서 DNA를 강제적으로 집어 넣는 방법으로서 많은 균주에 적용하고 있다. 기술적으로는 세포융합법과 유사하고 복수균주의 원형질체를 혼합하는것이므로 원형질체와 DNA를 혼합하는 조작은 치환만을 한 것이다.

젖산균의 경우 *S. lactis*를 수용균으로하여 젖당 발효성의 Plasmid의 형질전환에 성공하였다.<sup>16)</sup> 그러나 그 전환빈도가 1 $\mu$ g DNA당 8.5로 아주 낮아 원형질체 현탁액의 안정제로서 송아지 혈청 알부민을 가하고 Polyethylene glycol의 처리시간을 길게 하며, 원형질체의 재생을 묶은 한천중에서 행하는 등의 개량법을 통하여 형질전환빈도를  $5 \times 10^3 \sim 4 \times 10^4 / \mu$ g DNA로 개선하였다. 그밖에 완충액중의 2가 이온인  $Ca^{2+}$ 를  $Mg^{2+}$ 로 치환하거나 대수증식기의 세포를 원형질체로 하도등의 개선된 방법이 시도되고 있다.

최근 새로운 형질전환법으로서 전기충동에 의한 유전자 도입법이 주목되고 있다. 이 방법은 특별한 장치를 필요로 하지만 간편하고 특히 원형질체의 조제와 재생이 어려운 균주라도 형질전환가능성이 있다. 젖산균에서는  $1\mu\text{g}/\text{DNA}$ 당 *S. lactis*  $2 \times 10^4$ , *L. casei*  $1.1 \sim 8.5 \times 10^4$ 의 빈도로 형질전환이 되었다고 한다.

전술한 바와 같이 형질전환에 의해서 유리 DNA를 세포안에 직접 넣을 수 있으므로 근래에 젖산균도 DNA를 절단하여 원하는 유전자를 운반DNA에 연결하는 유전자 조작이 활발히 연구되어 왔다. 그러나 많은 경우 젖산균의 유전자를 대장균중에 넣어 증폭, 발현시켜 유전자의 구조와 기능등 유전자 발현의 제어등의 연구를 하는 목적으로 쓰이고 균주개량을 위한 경우는 거의 없다.

○ 젖산균의 보존법: 선발된 균주를 수순 배양한 것을 Starter로 사용하는 것이 일반적인 방법이며서 우량균주를 안전하게 관리하는 것은 중요하다. 그러나 젖산균은 죽기 쉽고 균종의 보존에도 세심한 주의가 요구된다.

일상 보존에는 Litmus milk를 사용한 계대배양법이 편리하다. 즉 작은 시험관에 Litmus milk를 4~5cm의 깊이가 되도록 넣은 후에 균주 1 loop를 접종하고 30°C~37°C에서 응고할 때까지 배양하여 곧 냉장고에 넣어 보존한다. 이 경우 번식기간은 2주정도이다. 시험관 바닥에 침강성 탄산칼슘을 넣으면 번식기간이 연장된다.

*L. casei*, *L. plantarus*등 일부 간균은 발육이 느린 경우가 있지만 이때 Litmus milk에 0.1~0.3% 효모 추출물을 넣어서 개선한다.

보다 장기 보존을 위해서는 동결하거나 동결건조하여 보존하는 것이 좋다. 동결보존의 경우 Screw cap의 작은 Bial에 Litmus milk 1ml 정도를 넣고 신선한 Litmus milk배양으로부터 一白金耳를 접종하고 배양하지 않은채 직접 Freezer에 넣어서 보존한다. 보존온도는 -20°C 이하면 되지만 가능하

면 -70°C 정도가 바람직하다. 사용시에는 Bial을 온수에 담가 급속해동하고 그대로 30°C 또는 37°C에서 응고시까지 배양한다. 처음에는 산용도가 늦어지기도 하지만 다시 배양하면 정상적인 생리활성을 가지게 된다. 이 방법으로 적어도 2년은 확실하게 보존할 수 있다. 만일 pH가 낮으면 사멸하기 쉬우므로 응고된 Litmus milk배양액을 희석하지 않고 그대로 동결하는 것은 좋지 않다. 한편 동결건조는 비교적 특수한 장치와 기술을 요하지만 장기 보존법으로는 확실한 방법이다. 간편한 방법으로는 신선한 Litmus milk배양액을 Litmus milk 또는 멸균탈지유로 약 10배희석하여 Bial에 넣고 상법으로 동결건조한다. 젖산균은 산소의 영향을 크게 받지 않으므로 탈기하지 않고 Screw cap을 하고 보존해도 되며 방습에 주의하면 실온에서 수년간 보존된다.

이렇게 보존된 젖산균은 필요에 따라 같은 양의 멸균수를 가하여 復水하고 적온으로 응고시까지 배양하면 신선한 Litmus milk처럼 사용할 수 있다. 다만 보존기간이 길어지면 응고에 요하는 시간이 연장된다. 이런 현상은 주로 유도기의 연장에 의한 것으로 다시한번 새로운 배지에 계대배양하면 처리하지 않은 균과 마찬가지로 속도로 Litmus milk를 응고시킬 수 있다.

## II. 맺 는 말

지금까지 젖산균의 특성과 기능, 이용 그리고 개량 및 보존법에 대하여 살펴보았다. 젖산균은 과일, 채소, 그리고 우유등에 자연 번식하고 있으며 따라서 이들을 원료로 한 전통 발효식품이 상품화되어 이용되고 있다. 주류의 경우도 원료나 Koji등에 번식하여 산도를 낮추고 잡균을 저해하며 최종 제품의 향미에 영향을 미친다. 때로는 품질저하의 원인균으로 취급되기도 하지만 적절히 활용하는 것은 주류의 품질은 물론 근래에 밝혀지고 있는 건강

지향 소재로서 주목된다는 점에서 적극적인 활용이 요망된다. 그런 점에서 쌀을 원료로 하여 젖산발효로 산을 증가시킨 후 알콜발효를 시켜 과일주 유사 음료를 개발하려는 시도는 매우 흥미로운 것이다.

개방화시대를 맞이하여 전통적으로 제조되고 있는 주류산업에도 획기적이고 다양한 제품들이 개발되어 까다로운 소비자의 욕구를 충족시킬 수 있기를 바란다.

#### 인용문헌

1. 渡迅次男: 化學と生物 22(6) 352(1984)
2. 田中降一郎外: 腸内 Floraと發癌(學會出版Center) 79(1981)
3. 田中降一郎外: 腸内 Floraと感染症(學會出版Center) 43(1980)
4. K. Tohyama et al: Microbial, Immunology, 25(2) 101(1981)
5. 住原泰雄: Food Chemical, 6月號, 87(1987)
6. 尾崎洋外: Food Chemical, 2月號 47(1989)
7. Morotomi, M. et al: J. Natl, Cancer Inst, 77 (1) 195(1986)
8. George J. Banwart: Basic Food Micorbiology (AVI) 453(1979)
9. Beech, F. W, and J. G. Carr, Cider and Perry in Alcoholic Beverages,(ROSE, A. H. ed.) Academic Press, 192(1977)
10. 竹田正久, 中里厚實: 食品工業, 12月(下)號 20(1985)
11. M. J. Gasson: FEMS Microbiol. Lett, ,9 99 (1980)
12. Y. Fujita, et al: Agric, Biol, Chem. 47 2103 (1982)
13. J. K Kondo and L. L. McKay: J. Dairy S'ci 65, 1428(1982)
14. Y. Khang, J. Kim and D. D. Y. Ryu: Agri, Biol, Chem. 51. 2221(1987)
15. M. Iwata, M. Mads and H. Ishiwa: Appl. Environ, Microbiol. 52 392(1986)
16. M. Baigori et al: Appl. Environ Microbiel, 54 1309 (1988)