

우유와 두유에서 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707의 성장촉진인자 및 α , β Galactosidase의 활성에 관한 연구

최소영 · 김유경 · 윤 신
연세대학교 식품영양학과

Growth Factors and α - and β -Galactosidase Activities of *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 in Milk and Soymilk

So Young Choi, Yoo Kyeong Kim and Sun Yoon
Department of Food and Nutrition, Yonsei University

Abstract

This study was attempted to prepare milk and soymilk containing high number of viable cells of bifidobacteria during the fermentation as well as to establish the optimum condition for bacteria growth. Activity of α - and β -galactosidase produced by bifidobacteria was also determined. Milk and soymilk inoculated with *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 were incubated in a nitrogen-carbon dioxide atmosphere at 37°C for two days, and time courses of pH, acidity, viable cells and effect of growth factors were determined. After two days, pH of milk gradually decreased from 6.81 to 4.84 and pH of soymilk changed from 7.02 to 3.89. The viable cell numbers of bifidobacteria increased constantly in soymilk, while bacterial growth in milk appeared to be delayed after storage of two days. Both of α - and β -galactosidase activities were detected in soymilk, but activity of β -galactosidase was predominant in milk. Fucosyllactose appeared to be a good growth factor in soymilk. During the fermentation of milk, L-cysteine-HCl enhanced growth of bifidobacteria at the early stage and fucosyllactose was a good growth factor in the propagations of bifidobacteria from middle stage.

Key words: *Bifidobacterium*, growth factor, α -galactosidase, β -galactosidase

서 론

발효유에 함유된 유산균이 유해균에 의한 장의 만성 중독을 방지함으로써 노화를 지연시킨다는 이론이 메치니코프에 의해 처음 제안되었다. 그후 인간의 건강과 장수를 위하여 유산균에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다⁽¹⁾. 사람은 출생하자마자 장내에 1조 이상의 세균이 서식하게 되는데 모유 영양일 때 *Bifidobacterium*이 최 우세이고 대장균, 장구균 등은 열 세로서 부패균은 전혀 볼수 없다. 그러나 나이를 먹으면서 장내 균총의 유형이 점차 유해균 우세형으로 변하고 장내에서 생성되는 유해물질의 양은 점점 증가하여 노화를 촉진하게 된다. 따라서 많은 양의 *Bifidobacterium*이 공급된다면 장내에서 미생물은 유산균 우위의 균총을 이룰 것이다^(2,3).

*Bifidobacterium*균 자체에 있는 β -galactosidase는 유당을 분해하는 효소로서 유제품의 낮은 소화율과 유당 불내증을 개선할수 있다⁽⁴⁾. 또한 농축 유제품과 냉동 유제품에서 일어나는 유당 결정화 현상을 감소시킴으로써 유제품의 품질을 보존할 수 있다. 뿐만 아니라 *Bifidobacterium*에 의해 생성된 α -galactosidase는 두유 제품에 다량 함유되어 있는 stachyose와 raffinose를 가수 분해하는 효소로서 이들 비소화성 소당류들에 의한 가스 발생 및 복부 팽만감을 막을 수 있을 것으로 기대된다. 그 밖에 항암 작용, 혈청 콜레스테롤의 저하, 비타민B 복합체 생합성에도 관여하고 있으며 갈습의 흡수를 도와주는 효능도 갖고 있음이 보고되었다^(5,6).

이러한 *Bifidobacterium*이 장내에 유익하다는 사실에 입각하여 발효 유제품에 적용이 시도되고 있으나, *Bifidobacterium*이 함유된 유제품은 극도의 혐기적 조건과 복잡한 영양 조건으로 식품 제조 및 저장기간 동안

Corresponding author: So Young Choi, Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

안 살아있는 *Bifidobacterium*의 유지가 어렵다¹⁷⁾. 이에 *Bifidobacterium*의 생육 촉진인자에 대한 연구가 이루어지고 있으며, 현재 복합 당질과 이당류인 lactulose 같은 저렴한 첨가제에 초점이 모아지고 있다. *Bifidobacterium*은 합성 배지에서는 생장이 잘 되지 않으나 모유 첨가시 증식이 잘되며 이는 모유의 저원충 작용, lactulose mutarotation 그리고 모유내 올리고당의 *Bifidobacterium* 생육촉진 등 여러 이유로 설명되고 있다¹⁸⁾. 또한 L-cysteine·HCl과 ascorbic acid는 산화 환원 전위를 낮추어 *Bifidobacterium* 생육 인자로 작용한다¹⁹⁾.

따라서 본 연구에서는 우유와 두유에 *Bifidobacterium*을 접종시키고 발효시간에 따른 발효 특성, 적정 발효 시간 및 효율적인 증식을 위한 생육 인자를 연구함으로써 *Bifidobacterium*을 함유한 우유 및 두유 제품의 개발을 시도하였다.

재료 및 방법

재료

재료는 시판되고 있는 연세 우유와 두유를 구입하여 사용하였다.

사용균주

Bifidobacterium longum ATCC 15707을 한림 대학교에서 분양 받아 멸균된 modified BHI broth에 접종하여 사용하였다.

Starter 및 발효유와 발효두유의 제조

B. longum 배양액을 1090×g에서 20분동안 원심분리(Centrifuger, Bechman model J2-21)하여 침전된 균체만 회수한 후 멸균된 0.85% NaCl-용액에 분산시켜 각각의 흡광도가 650 nm에서 0.7-1.0이 되도록 조절하였다. 이 starter를 각각 2.5%가 되도록 우유와 두유에 접종하였다. 접종된 우유와 두유를 100 ml씩 부은 유리병과 증류수 10 ml 넣은 Gas Pack Plus (BBL, Cat. No. 71040)를 밀폐된 배양조에 넣어 37°C에서 48시간 동안 배양하여 사용하였다.

pH 및 적정 산도 측정

시료의 pH는 pH meter (Bechman model 3560)를 사용하여 측정하였다. 적정 산도는 10 ml 시료와 동량의 증류수를 함께 담아 균질 혼합 후 0.1 N NaOH로 중화 적정하여 이때 소비된 NaOH용액의 ml 수를 적정 산도로 환산하였다¹²⁾.

Glucose 함량 측정

Glucose 함량을 glucose oxidase-peroxidase chromogen 방법으로 측정하였다¹³⁾.

Bifidobacteria의 생균수 측정

*B. longum*의 생균수는 plate counting method를 사용하였다. 측정방법은 Nakamura¹⁴⁾의 방법에 준하였다.

α-Galactosidase 활성 측정

효소 활성은 Greenberg 등¹⁵⁾의 방법을 변형하여 p-nitrophenyl-α-D-galactopyranoside (PNPG, Sigma Co.)로부터 유리되는 p-nitrophenol의 양을 측정하는 방법을 따랐다.

효소 활성 1단위는 반응시간 분당 PNPG로부터 생성되는 p-nitrophenol의 mole 수로 정의하였다.

β-Galactosidase 활성 측정

효소 활성은 Desjardins 등¹⁶⁾의 방법을 변형하여 o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG, Sigma Co.)로부터 유리되는 o-nitrophenol의 양을 측정하는 방법을 따랐다.

효소 활성 1단위는 반응시간 분당 ONPG로부터 생성되는 o-nitrophenol의 mole 수로 정의하였다.

결과 및 고찰

pH, 적정 산도 및 생균수의 변화

Bifidobacterium longum ATCC 15707을 각각 우유와 두유에 2.5% 접종하여 37°C에서 48시간 배양하여 발효 시간에 따른 pH, 적정 산도 그리고 생균수 변화를 Fig. 1과 2에 나타내었다.

*Bifidobacterium*에 의해 생성된 산의 양을 관찰하기 위하여 pH를 측정하였는데, 우유를 37°C에서 발효시켰을 때, pH는 서서히 감소하여 12시간 경과 후 6.59를 나타내었지만, 이후 현저히 감소하여 24시간과 48시간에서 pH가 각각 5.60, 4.84였다. 이는 Roy¹⁷⁾ 등이 *B. infantis* ATCC 27920로 각각 12, 24, 48시간 발효시킨 탈지분유의 pH가 6.50, 5.51, 5.04였다는 결과와 유사하였다. 두유는 발효 초기에 pH의 빠른 변화로 12시간 후에 5.78 그리고 48시간 후 3.89였다. 이 등¹⁸⁾은 두유에 *B. longum* ATCC 15707을 접종하였을 때 8시간, 16시간 그리고 48시간 경과 후 pH가 5.1, 4.2, 4.1이었다고 보고하였다.

이에 반해 우유와 두유의 적정 산도 증가는 유사하였다. 우유와 두유의 산도 변화는 12시간 후 0.37%,

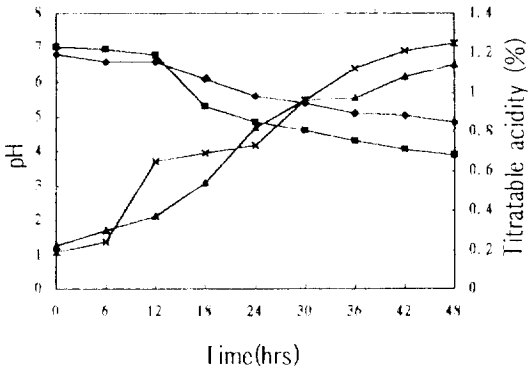


Fig. 1. Changes of pH and titratable acidity during the fermentation of milk and soymilk at 37°C for 48 hours ◆—◆; pH in milk, ■—■; pH in soymilk, ▲—▲; Titratable acidity in milk, ×—×; Titratable acidity in soymilk

0.36%, 24시간 후 0.82%, 0.73% 그리고 48시간 후 1.14%, 1.25%였다. 우유에 *B. bifidum*을 접종하여 24시간 후 Kosikoska⁽¹⁹⁾는 0.77-0.9% 그리고 Collin와 Hall⁽²⁰⁾은 0.78%였다는 결과와 일치하였다. 또한 이 등⁽¹⁸⁾은 우유에 *B. longum*접종시 16시간, 48시간 후 각각 0.81%, 1.01%였으며, *Bifidobacterium*의 생육과의 관계를 보았을 때 정지기(stationary phase)기간 동안에도 산이 꾸준히 생성됨으로써 유기산의 생성과 성장율이 일치하지 않았다 한다.

본 연구 결과에서 발효유와 발효 두유에서 pH와 산도를 비교하였을 때 산도의 변화는 두 배지에서 뚜렷한 차이는 없었으나 pH는 우유에서보다 두유에서 낮게 나타났다.

우유에서 *B. longum*의 증식을 살펴보았을 때 발효 초기부터 12시간 내의 균수가 9.02×10^8 CFU/ml, 32시간 후 6.30×10^8 CFU/ml로 정지기 그리고 48시간 후 2×10^7 CFU/ml의 감량기를 나타내었다. 이는 우유에서 *Bifidobacterium*의 성장이 어려우며 특히 우유에서 lactate와 acetate축적이 성장율과 유기산 생성율을 감소시켜 유기산 생성에 수반되는 탄수화물 대사보다 유기산 농도에 더 많은 영향을 받아, 결국 반응 생성물에 의한 저해 효과를 나타내며⁽²¹⁾, 실제 본 연구에서 pH 5.3에서 균 증식이 억제되었다. 이에반해 두유의 경우 32시간 후의 생균수가 1.05×10^9 CFU/ml로 지속적인 증식이 이루어져, 48시간 후에도 1.0×10^9 CFU/ml의 높은 생균수를 나타냈다. Sakai⁽²²⁾에 의하면 *B. breve* 203을 두유에 접종하였을 때 높은 성장율을 나타내었으며, pH가 4이하로 떨어지는 동시에 두유가 고형화되었을 때에도 10^9 CFU/ml 이상의 생균수를 유

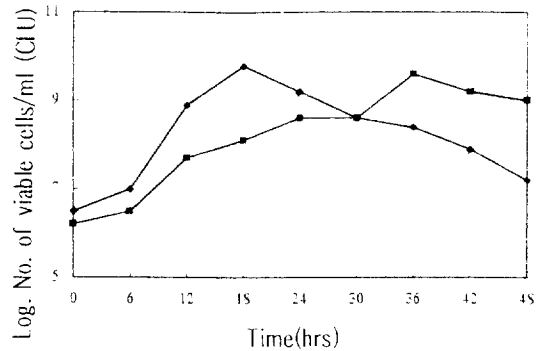


Fig. 2. Growth of *B. longum* during the fermentation of milk and soymilk at 37°C for 48 hours ◆—◆; Milk, ■—■; Soymilk

지하였다고 보고하였다. 또한 이는 두유내에 올리고당이 *Bifidobacterium*의 성장을 촉진하기 때문이라고 설명하였다.

α- & β-Galactosidase 활성 및 glucose 함량 변화

α-galactosidase는 raffinose와 stachyose같은 소당류를 가수분해하는 효소이다. 본 연구에서는 두유에 *B. longum*을 접종하였을 때 α-galactosidase의 역가가 높게 나타났으며 1일 발효 후에도 활성이 보유했었다 (Fig. 3). 이는 두유에 α-galactosidase의 기질이 되는 소당류가 존재하기 때문으로 풀이된다. 박 등의 연구에서도 α-galactosidase가 여러 당 중에서 raffinose의 경우 가장 높은 활성을 나타내어 배양 4일 후에도 효소가 안정한 상태를 유지하였다고 한다⁽²³⁾. 이에반해 우유에는 α-galactosidase의 기질이 되는 소당류가 존재하지 않기 때문에 α-galactosidase의 활성이 미미한 것으로 해석된다.

β-galactosidase는 lactose의 galactose와 glucose의 분자사이의 β-1→4 glycosidic linkage를 가수분해하는 효소이다. *B. longum*을 우유에 배양시 β-galactosidase의 활성이 3시간에서 9시간 사이에는 급격히 증가하였으며 12시간에서 18시간 사이에는 약간 감소 후 다시 증가하는 경향을 나타냈다. 이는 *B. longum* ATCC 15707에는 다른 strain과 달리 2가지 유형의 β-galactosidase가 존재하기 때문으로 풀이된다⁽¹⁶⁾. 두유에서 β-galactosidase 활성이 발효 초기 점진적으로 증가하였으며 9시간 경과시 증가율이 커져 1일 배양시에도 활성 감소는 없었다.

glucose 함량변화는 우유의 경우 발효 초기에 빠르게 증가하였으나 두유에서는 다소 느리나, 꾸준한 증

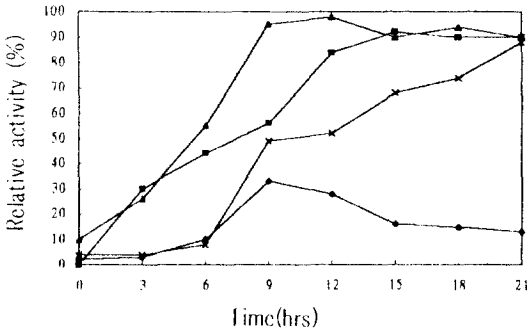


Fig. 3. Changes of α- & β-galactosidase activities during the fermentation of milk and soymilk at 37°C for 21 hours ◆—◆; α-Galactosidase activity in milk, ■—■; α-Galactosidase activity in soymilk, ▲—▲; β-Galactosidase activity in milk, ×—×; β-Galactosidase activity in soymilk

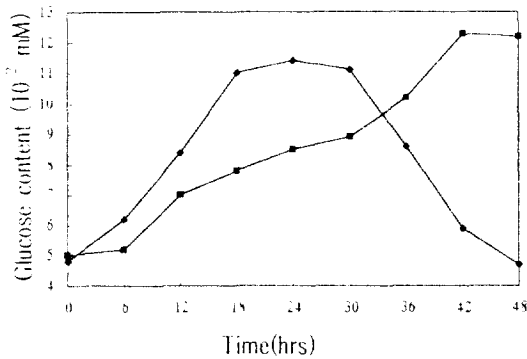


Fig. 4. Growth of glucose content during the fermentation of milk and soymilk at 37°C for 48 hours ◆—◆; Milk, ■—■; Soymilk

가를 나타냈다(Fig. 4). 우유의 glucose 함량은 발효 초기부터 15시간 후 0.1 mM 이상을 나타냈으며, 36시간 후에는 감소하였다. Desjardins 등⁽²⁴⁾이 *B. longum*을 우유에 접종하였을 때 lactose 이용이 가장 컸으며, 50% 이상을 glucose와 galactose로 분해했다고 한다. 또한 발효 후기에 보여지는 glucose 함량 감소는 glucose 이용이 생성보다 컸기 때문으로 추정된다. 두유에서는 glucose 함량이 꾸준히 증가되어 48시간 후에 1.2×10^1 mM 농도의 glucose 함량을 나타내었다. 두유 내의 glucose 함량 증가는 *B. longum*의 α-galactosidase에 의해 생성되는 glucose 함량 때문으로 추측된다. 또한 발효 후기에도 glucose 함량이 증가되고 있는 것은 *B. longum*의 α-galactosidase 활성이 pH 4-5에서 안정하여 두유의 pH가 감소하여도 효소 활성이 유지되어 두유의 stachyose와 raffinose를 가수분해할 수

Table 1. Changes of pH, titratable acidity, viable cell numbers of *Bifidobacteria* and glucose content during the fermentation of milk at 37°C for 48 hours

Hours	pH	TA(%) ¹⁾	VB ²⁾	GC ³⁾
0	6.81	0.22	5.1×10^6	4.8
12	6.59	0.37	9.0×10^8	8.4
24	5.62	0.82	2.1×10^9	11.4
36	5.11	0.97	4.2×10^8	8.6
48	4.84	1.14	2.0×10^7	4.7

¹⁾TA(%); % Titratable acidity

²⁾VB; viable cell numbers of *Bifidobacteria*/ml

³⁾GC; 10^{-7} mM Glucose content

Table 2. Changes of pH, titratable acidity, viable cell numbers of *Bifidobacteria* and glucose content during the fermentation of soymilk at 37°C for 48 hours

Hours	pH	TA(%) ¹⁾	VB ²⁾	GC ³⁾
0	7.02	0.19	2.4×10^6	5.3
12	5.78	0.65	7.1×10^7	7.1
24	4.84	0.73	6.2×10^8	8.5
36	4.33	1.12	6.2×10^9	10.2
48	3.89	1.25	0.5×10^9	12.2

^{1,2,3)}See footnote in Table 1

있기 때문으로 풀이된다⁽²⁵⁾.

일반적으로 발효유를 제조할 때 pH는 4.3-4.6, 산도는 0.6-0.9%가 배양 종결점⁽²⁵⁾이므로 Table 1과 2의 결과는 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707을 각각 우유와 두유에 2.5% 접종하여 37°C에서 발효유의 경우 24-36시간 사이와 발효 두유의 경우 약 24시간 정도로 배양하는 것이 바람직한 것으로 나타났다.

첨가된 생육 인자의 영향

우유의 경우 생육 인자를 첨가하지 않은 대조군의 pH는 그 감소가 일정하였다. 50 ppm fucosyllactose 첨가군의 경우는 대조군과 유사한 감소였으나 일부 높은 pH를 보였다(20시간, 24시간). 그러나 100 ppm fucosyllactose 첨가군은 낮은 pH를 보였다. 또한 0.05% L-cysteine·HCl 첨가군은 대조군에 비하여 높은 pH를 유지하였으며 특히 24시간 후에도 pH 6.4를 나타냈다. 0.05% L-cysteine·HCl과 0.2% ascorbic acid를 첨가한 발효유에서는 점진적인 pH의 감소를 나타냈다(Fig. 5).

두유의 경우 생육 인자를 첨가하지 않은 대조군의 pH는 24시간 동안 pH 4.84까지 지속적인 감소를 보였다. 이에 반해 모유에 함유된 *Bifidobacterium* 생육인자인 fucosyllactose를 각각 50 ppm과 100 ppm 첨가시 pH의 변화는 12시간 후에 가장 컸으며, 농도의 차이

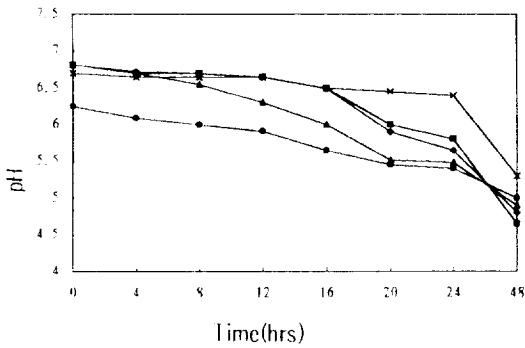


Fig. 5. Effect of additives on the changes of pH during the fermentation of milk at 37°C for 48 hours ◆—◆; control, ■—■; 50 ppm fucosyllactose, ▲—▲; 100 ppm fucosyllactose, ×—×; 0.05% L-cysteine·HCl, ●—●; 0.05% L-cysteine·HCl+0.2% ascorbic acid

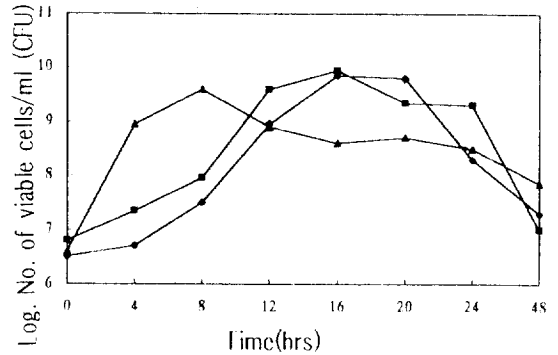


Fig. 7. Effect of additives on the growth of *B. longum* during the fermentation of milk at 37°C for 48 hours ◆—◆; control, ■—■; 50 ppm fucosyllactose, ▲—▲; 0.05% L-cysteine·HCl

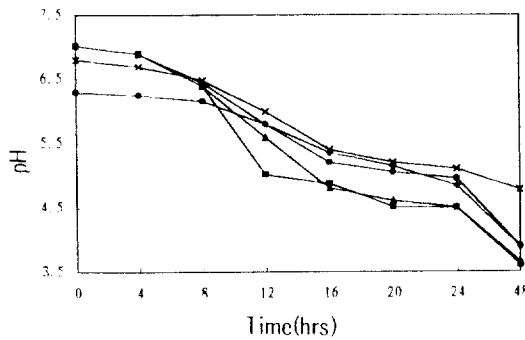


Fig. 6. Effect of additives on the changes of pH during the fermentation of soymilk at 37°C for 48 hours ◆—◆; control, ■—■; 50 ppm fucosyllactose, ▲—▲; 100 ppm fucosyllactose, ×—×; 0.05% L-cysteine·HCl, ●—●; 0.05% L-cysteine·HCl+0.2% ascorbic acid

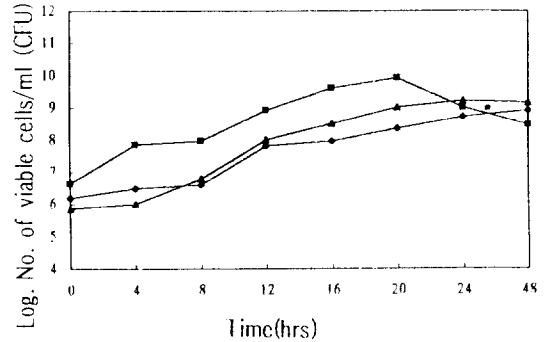


Fig. 8. Effect of additives on the growth of *B. longum* during the fermentation of soymilk at 37°C for 48 hours ◆—◆; control, ■—■; 50 ppm fucosyllactose, ▲—▲; 0.05% L-cysteine·HCl

는 산 생성에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 보여졌다. 0.05% L-cysteine·HCl 단독과 0.05% L-cysteine·HCl과 0.2% ascorbic acid를 함께 첨가한 두유의 경우에서 두 경우 모두 pH에 큰 변화가 없었으며, 특히 대조군에 비하여 그 변화가 작았다(Fig. 6).

우유의 경우 생육인자를 첨가하지 않은 대조군에서 발효 18시간까지 *B. longum*의 생균수가 증가하였으며 그 이후 감소하였다. 50 ppm fucosyllactose 첨가군은 증식이 빨라 대조군의 정지기 기간에서도 지속되었으며, 이는 fucosyllactose가 *Bifidobacterium*의 성장을 효과적으로 촉진하기 때문인 것으로 생각된다(Fig. 7). 두유의 경우 생육 인자를 첨가하지 않은 대조군은 2일 동안 발효에서 점진적인 증식이 이루어졌다. 50 ppm fucosyllactose의 첨가군은 발효 20시간 경과 후 $9.2 \times$

10^9 CFU/ml의 생균수 증식 후 정지되었다(Fig. 8). Fucosyllactose는 *Bifidobacterium*의 proliferation을 촉진하지만 올리고당의 종류와 그 함량에 따라서 생육 증식의 정도는 다르다 한다⁽⁸⁾.

우유에서 0.05% L-cysteine·HCl첨가군은 빠른 성장을 유도하고 있었으며, 16시간 이후 생균수의 감소를 나타내어 50 ppm fucosyllactose 첨가와는 다른 효과를 나타냈다. 이는 L-cysteine·HCl과 ascorbic acid가 산화 환원 전위를 낮추며, 특히 L-cysteine·HCl은 산화 환원 전위의 저하 뿐 아니라 생육인자로 작용하기 때문으로 풀이된다⁽¹⁰⁾. 이에비해 두유에서 0.05% L-cysteine·HCl 첨가군은 대조군과 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

따라서 *Bifidobacterium* 생육 증식을 위하여 발효 두유에서는 fucosyllactose, 그리고 우유에서는 발효 초기

에 L-cysteine·HCl, 일단 발효 진행 중에는 fucosyllactose가 효과적인 것으로 나타났다.

요 약

본 연구에서는 *Bifidobacterium*을 우유와 두유에 접종하여 37°C에서 발효 특성, 적정 발효 기간 및 효율적인 증식을 위한 생육 인자를 찾고자 하였다. 이를 위하여 pH, 산도, glucose함량, 생균수, α -galactosidase활성 그리고 β -galactosidase활성 변화를 조사하였다.

37°C에서 일반 발효 특성을 측정했을때 48시간동안 우유의 발효는 pH의 감소와 산 생성의 증가는 현저한 반면, 세포 증식은 24시간동안 증가하였으나 남은 24시간동안은 감소를 보였다. 또한 효소 반응은 β -galactosidase 활성이 높은 반면, α -galactosidase는 비교적 낮았으며 glucose 함량은 세포 증식기에 높았다.

두유의 경우는 우유에 비해 pH의 감소가 큰 반면 적정산도 증가는 비슷하였다. 세포 증식은 발효 2일동안 이루어졌으며, α -, β -galactosidase 모두 활성이 높게 나타났고, glucose 함량도 1일 동안 지속적인 증가를 나타냈다.

또한 적정 발효기간은 발효유는 24-36시간, 발효 두유는 약 24시간이 바람직한 것으로 나타났다.

*Bifidobacterium*의 성장 촉진 인자의 영향을 발효 시간에 따른 pH와 생균수 변화로 조사한 결과, 두유에서는 fucosyllactose, 그리고 우유에서는 발효 초기에 L-cysteine·HCl, 발효 진행중에는 fucosyllactose가 효과적인 생육 인자로 작용하였다.

감사의 글

본 논문은 1993년 연세 대학교 학술 연구비의 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Metchnikoff, E.: *The Prolongation of Life*. G. P. Putnam's Sons, New York (1908)
2. Yamamoto, T., Morotomi, M. and Tanaka, R.: Species-specific oligonucleotide probes for five *Bifidobacterium* species detected in human intestinal microflora. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 4076 (1992)
3. Norin, K.E., Persson, A.K., Saxerholt, H. and Midtvedt, T.: Establishment of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in germ free mice and their influence on some microflora-associated characteristics. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1850 (1991)
4. Lin, M.Y., Savaiano, D. and Harlander, S.: Influence of nonfermented dairy products counting bacterial starter cultures on lactose maldigestion in humans. *J. Dairy Sci.*, **74**, 87 (1991)
5. Poupard, J.A., Husain, I. and Norris, R.F.: Biology of the bifidobacteria. *Bacteriol. Reviews*, **37**, 136 (1973)
6. 최미진, 허태련 : Beta-D-Galactosidase에 관한 유당의 가수분해. 한국산업미생물학회지, **20**, 46 (1992)
7. Roy, D.: Characterization of dairy-related bifidobacteria and development of a fermented dairy product: Lactic acid and health. Abstract of the 8th International Academic Symposium, p.26 (1993)
8. Yasui, H., Mike, A. and Ohwaki, M.: Immunogenicity of *Bifidobacterium breve* and change in antibody production in peyer's patches after oral administration. *J. Dairy Sci.*, **72**, 30 (1989)
9. Gyorgy, P. and Rose, C. S.: Further observations on the metabolic requirements of *Lactobacillus bifidus* var. *pennsylvanicus*. *J. Bacteriol.*, **69**, 483 (1955)
10. 고준수, 김영옥 : *Bifidobacterium bifidum* ATCC 11863의 우유내 성장에 관한 연구. 한국낙농학회지, **8**, 48 (1986)
11. Kehagias, C., Jao, Y.C., Mikolajcik, E.M. and Hansen, P.M.: Growth response of *Bifidobacterium bifidum* to a hydrolytic product isolated from bovine casein. *J. Food Sci.*, **42**, 146 (1977)
12. 문성명 : 이화학 실험 대사전. 한국사천연구소 (1993)
13. Gerald, R.: *Enzymes in Food Processing*. Academic Press, New York, p.222 (1975)
14. Nakamura, H., Samejima, K. and Zenzo, T.: A capillary tube method for counting viable cells of *Bifidobacterium bifidum* growth in a solid medium. *Japan J. Microbiol.*, **18**, 135 (1974)
15. Greenberg, N.A. and Mahoney, R.R.: Production and characterization of galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci.*, **47**, 1824 (1982)
16. Desjardins, M.L. and Roy, D. and Goulet, J.: β -Galactosidase and proteolytic activities of bifidobacteria in milk: A preliminary study. *Milchwissenschaft*, **46**, 1 (1991)
17. Roy, D. and Chevalier, P. and Ward, P. and Savoie, L.: Sugar fermentation by *Bifidobacterium infantis* ATCC 27920 in relationship to growth and α -galactosidase activity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **34**, 653 (1991)
18. 이세경, 손현수, 지근역 : *Bifidobacterium*과 기타 장내 세균에 의한 두유 배양 비교. 한국식품과학회지, **25**, 694 (1993)
19. Kosikoska, M.: Biochemical activity of *Bifidobacterium*. Internat. Dairy Congr. E, 549 (1978) [DSA 40, 518 (1978)]
20. Collins, E.B. and Hall, B.J.: Growth of bifidobacteria in milk and preparation of *Bifidobacterium infantis* for dietary adjunct. *J. Dairy Sci.*, **67**, 1376 (1984)
21. Vetling, B.L. and Mistry, V.V.: Growth characteristics of bifidobacteria in ultrafiltered milk. *J. Dairy Sci.*, **76**, 62 (1993)
22. Sakai, K., Tachiki, T., Kumagai, H. and Tochikura, T.: Purification and properties of UDP-galactosidase 4-epimerase from *Bifidobacterium bifidum*. *Agric. Biol.*

- Chem.*, **42**, 731 (1977)
23. 박현국, 강동현, 윤석환, 이개호, 이세경, 지근익 : 한국인 분변으로부터 분리한 *Bifidobacterium* sp Int-57의 효소 Pattern. 한국산업미생물학회지, **20**, 647 (1992)
24. Desjardins, M.L., Roy, D., Toupin, C. and Goulet, J.: Uncoupling of growth and acids production in *Bifidobacterium* ssp. *J Dairy Sci.*, **73**, 1478 (1990)
25. Tamime, A.Y. and Robison, R.K.: *Yogurt-Science and Technology*. Pergamon Press (1983)
-
- (1996년 9월 3일 접수)