



티벳산 발효유로부터 분리한 *Candida kefyr* TFP 7의 항균활성 및 항암활성

윤원호 · 나영미¹ · 김창한^{1*}

서일대학 식품가공과, ¹건국대학교 축산가공학과

Antimicrobial and Antitumoral Activities of *Candida kefyr* TFP 7 Isolated from Tibetan Fermented Milk

Won-Ho Yoon, Young-Mi Na¹ and Chang-Han Kim^{1*}

Department of Food Science and Technology, Seoil College, Seoul 131-702, Korea

¹Animal Resources Research Center, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate antimicrobial and antitumoral activities of *Candida kefyr* TFP7 isolated from Tibetan fermented milk. Strains of TFP1~10 were isolated from Tibetan fermented milk by agar diffusion method using potato dextrose agar(PDA). Antimicrobial activities were examined against 18 microorganisms of food-related bacteria, yeast, algae, fungi and actinomycetes isolated from soil. Antitumor activities were examined against 9 human tumor cell lines. Strains of TFP2~10 showed strong antimicrobial activities against *Micrococcus luteus* ATCC 11880, and strains of TFP6~10 to actinomycetes, *Streptomyces murinus* JCM 4333. In antitumor test, all isolated strains(TFP1~10) showed the growth inhibition of SNU-5 and SW-534 by 60% and 70%, respectively. Among those, the strain TFP7 showed the most antitumor activity, which was 77.5% for SNU-5 and 76.5% for SW-534. The strain was identified as *Candida kefyr* by use of API 20C AUX kit and scanning electron micrograph.

Key words : antimicrobial activity, antitumor activity, *candida kefyr*, tibetan fermented milk

서론

발효유는 우유, 산양유, 마유등 포유류의 젖을 원료로 유산균 또는 효모로 발효시킨 것으로 발효유의 형태는 원료, 고형분, 미생물, 지역 등에 따라서 대단히 많으나 발효의 근본이 되는 최종 발효산물의 종류에 따라 순수하게 유산균에 의해 발효되어 만들어진 유산발효유(lactic acid fermented milk)와 유산균과 효모에 의해 일부 알코올 발효를 일으켜 만들어지는 유산-알코올 발효유(lactic acid-alcohol fermented milk)로 분류될 수 있다.

Kefir는 러시아를 비롯한 동유럽을 중심으로 유산-알코올 발효유 중 대표적인 것으로 주로 섭취되어 왔다. Kefir는

grain을 발효시켜 1% 정도의 알코올 농도와 유산을 생성시킨 것으로, Koroleva과 Bavina(1970)은 전유와 탈지분유에 유산균과 유당 이용성 효모를 접종해서 발효한 결과 0.8~1.0%의 산과 1.0%의 알코올을 함유하는 것으로 보고하였다. Nakanishi(1967)는 kefir grain에서 *Streptococcus lactis*, *Bacillus kefir*, *Lactobacillus bulgaricus*의 유산균과 *Saccharomyces fragilis*의 효모를 분리해 냈고, Kandler과 Kunath(1983)은 kefir grain에서 hetero형 유산균을 분리해서 *Lactobacillus kefir*라고 새로운 명명을 하였으며, Bottazzi(1980)은 kefir에서 막대 모양의 유산균과 여러 모양의 효모형태를 광학현미경으로 관찰하였다. Wiseman과 Marth(1983) 뿐만 아니라 Allcroft과 Carnaghan(1962)은 사료를 통해 aflatoxin M₁이 감염된 우유를 이용해서 발효유 제품을 만들었을 때 다른 발효유 제품에는 aflatoxin M₁이 그대로 남아있으나 kefir 제조시는 감소된다고 밝혔으며, Ham 등(1999)은 몽고산 쿠미스에서 젖산균인 *Lactobacillus plantarum*과 효모인 *Candida*

*Corresponding author : C. H. Kim, Animal Resources Research Center, Konkuk University, 1, Hwayang-Dong, Kwangjin-Gu, Seoul 143-701, Korea. Tel: 02-450-3679, Fax: 02-3436-0266, E-mail: chhan@kkucc.konkuk.ac.kr

*kefyr*를 분리하여 약 10^8 의 *Lactobacillus plantarum*과 10^6 의 *Candida kefyr*를 격일로 육계에 급여시 32일 후 체중이 1,433.9 g에 도달하여 대조구 1,274.0 g에 비해 유의적으로 높았으며, 4주 사양 후, *Lactobacillus plantarum*과 *Candida kefyr* 급여군의 분변 내 효모의 수가 다른 군에 비해 높은 경향을 나타내었다고 보고하였다.

발효유는 유산균을 배양시켜 만드는 과정에서 단백질이 분해되어 펩티아미노산의 함량이 증가되고, 동양인에게는 소화성이 나쁜 우유의 유당도 유산 및 glucose와 galactose로 분해되어 소화 흡수가 용이하며, 유산균이 배양 중에 생성한 비타민 B₁₂, folic acid, nicin, 그리고 생리활성물질은 그대로 섭취되어 우리의 건강에 직접·간접적으로 효과를 나타낸다. 뿐만 아니라, 발효유에서 분리한 유산균은 장내 정상 균총의 유지, 장내이상발효의 개선, 장내 부패균에 의해 생성되는 독성물질의 무독화 작용, 설사·변비 개선 이외에 면역기능의 강화 및 항암효과(Nagaoka 등, 1990) 등이 과학적으로 증명되어지고 있다. 또한 Yang 등(1999)의 보고에 의하면 식중독균으로 알려진 대장균 0-157에 대해 유산균 및 발효유에 의한 성장억제 및 장내 감염 예방효능이 입증되었다.

이와 같이 발효유에서 분리한 유산균을 이용하여 건강증진 효과를 밝힌 논문들은 있으나 발효유에서 분리한 효모를 건강증진에 이용하려는 학문적 연구가 부족하여 본 연구에서는 일반 가정에서 음용하는 티벳산 발효유로부터 효모를 분리하여 항균활성과 항암활성을 검토하였고 선정된 활성균주를 동정하였다.

재료 및 방법

티벳산 발효유

본 연구에 사용한 티벳산 발효유(일명 티벳버섯)는 건국대학교 자연과학대학 분자생화학 연구실로부터 분양 받아 사용하였다.

티벳산 발효유 150 mL를 멸균된 유리병에 넣고 시유 250 mL를 주입시킨 다음 상온에서 배양하면서 24시간마다 새로운 시유 250 mL로 교체해 주었다.

검정균주

본 연구에 사용한 18종류의 검정균주는 Gram positive bacteria 3균주(*Bacillus subtilis* IAM 1069, *Staphylococcus aureus* 209P IFO 12732, *Micrococcus luteus* ATCC 11880), Gram negative bacteria 3균주(*Escherichia coli* BE 1186, *Salmonella typhimurium* SL 1102, *Pseudomonas fluorescens* IAM 1201), 효모 3균주(*Candida albicans* IFO 1594, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1008), 곰

팡이 7균주(*Penicillium nalgiovens*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Nannizzia otae*, *Aspergillus niger* ATCC 9642, *Alternaria alternata*, *Glomella cingulata* IFO 9767), 녹조류 1균주(*Chlorella* A2DI), 방선균 1균주(*Streptomyces murinus* JCM 4333)를 사용하였다.

종양 및 정상세포주

본 연구에 사용한 9종류의 종양세포주는 HEp-2, SW-534 (human larynx carcinoma), K-562(human leukemia), SNU-5 (human stomach carcinoma), SW-156(human kidney carcinoma), KB(human epidermoid of mouth carcinoma), SK-MES-1 (human lung carcinoma), Farrow(human melanoma), WiDr (human colon carcinoma)를 사용하였고, 세포독성을 측정하기 위해 사용한 정상세포주는 NIH/3T3(mouse kidney)를 사용하였다.

종양 및 정상세포주 배양

본 연구에 사용한 종양세포주 및 정상세포주의 배양을 위한 배지조성은 Table 1과 같으며 사용한 배지는 모두 Gibco (USA)제품을 구입하여 사용하였다(Choi, 2002).

모든 종양세포는 25 cm² 조직 배양용 플라스크(Corning, N.I., USA)에 37℃에서 5% CO₂를 함유하는 습한 공기 조건 하에서 배양하였다. 매주 2회씩 feeding을 하면서 종양세포가 증식하여 confluency가 되는 시점에서 계대 배양하였다. 플라스크 바닥에 monolayer를 형성하는 세포는 0.25% trypsin/1 mM EDTA용액을 사용하여 단세포로 만들었으며 부유세포인 K-562는 여러 번 pipetting하여 단세포로 만들어 사용하였다(Yan 등, 2001).

티벳산 발효유로부터의 효모 분리

티벳산 발효유를 멸균 증류수를 이용하여 십진 희석법으로 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶배 희석한 후 potato dextrose agar (PDA, DIFCO, USA.)를 사용하여 시료 1 mL씩을 접종한 다음, 37℃에서 24시간 배양 후 10개의 colony를 선별하여 PDA배지에 streaking하여 순수분리하였다. 이 분리 균주의 보존을 위한 계대 배양시, PDA 배지를 이용하여 사면배지를 만들어 37℃ incubator에서 2일 정도 배양한 다음, 냉장상태(4℃ 이하)에 보존하면서 사용하였다.

항균활성 측정

지시균에 대한 *in vitro* 항균활성 검정은 다음과 같이 실시하였다.

티벳산 발효유로부터 분리한 균주의 배양은 potato dextrose broth(PDB, DIFCO, USA.)를 500 mL Erlenmyer flask

Table 1. Cell culture medium

Cell line	Medium
SK-MES-1	MEM(Eagle's) + 10% FBS(HI) + 1% penicillin/streptomycin + 1% Glutamine + 1% nonessential amino acid + 1% sodium pyruvate + 1% MEM vitamin
K-562 SNU-5	
SW-156 SW-534 Farrow	RPMI 1640 + 10% FBS(HI)
KB	MEM(Eagle's) + 10% FBS(HI) + 1% nonessential amino acid
HEp-2, WiDr	MEM(Eagle's) + 10% FBS(HI)
NIH/3T3	DMEM(Eagle's) + 10% FBS(HI) + 1% penicillin/streptomycin

에 100 mL씩 분주하여 멸균한 다음, 분리균주를 1 백금이씩 접종하여 27°C rotary shaker incubator(Model TGR NO.1-D, Iwasha, Japan)에서 3일간 진탕 배양하였다. 그 배양액을 3,000 rpm으로 15분간 원심분리(Union 32R, Hanil Science, Korea)하여, 그 상정액을 rotary evaporator(Heidolph VV 2000, Germany)로 감압 농축한 다음, phosphate buffer solution(PBS)으로 치환하여 사용하였다.

*Bacillus subtilis*는 peptone 배지(37°C), *Staphylococcus aureus*는 bouillon 배지(37°C), *Escherichia coli*는 glucose bouillon 배지(37°C), *Pseudomonas fluorescens*는 bouillon 배지(28°C), 효모 중 *Cryptococcus neoformans*은 potato dextrose agar 배지(27°C), 그리고 나머지 효모는 sabouraud 배지(27°C), 녹조류인 *Chlorella*는 Armon's A-5 배지, 방선균인 *Streptomyces murinus*는 YME(27°C), 곰팡이류는 모두 potato dextrose agar배지(27°C)를 사용하였다(Na, 2003).

검정 plate는 검정균의 종류에 따라 중층 검정 plate와 단층 검정 plate를 조제하여 사용하였으며, 중층 검정 plate의 조제는 배지 20 mL를 petri dish에 부어 응고시켜 하층을 만들고, 정지 배양한 검정균을 동일배지에 접종하여 5 mL를 하층배지 위에 중층으로 만들었고, 단층 검정 plate는 균을 접종한 배지 약 5 mL를 단층으로 하여 plate를 조제하여 사용하였다. 항균활성의 측정은 Koneman 등(1979)의 방법에 따라 cylinder plate법으로 행하였으며 27°C~37°C, 18~24시간 배양하여 평판에 나타난 억제환의 직경을 측정하여 그 항균활성을 나타내었다.

MTT test

항암활성 검정은 MTT test로 다음과 같이 실시하였다.

즉, 각 종양세포주마다의 접종 농도의 세포(Lee, 2000)를 접종하여 24시간 동안 배양한 후, 종양세포 증식억제물질을 처리하고 나서 48시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나기 4시간 전에 종양세포와 종양세포 증식억제물질을 첨가한 well, 배양배지만 든 well(blank well), 배양배지와 종양세포 증식억제 물질이 든 well(drug blank well)에 MTT(0.5 mg/ml)용액 50 µL를 각각 첨가한 후 96 well plate를 37°C에서 4시간 추가 배양하여 formazan 형성을 유도시키고, 추가 배양이 끝난 후 원심분리 후 생긴 blue formazan을 용해시키기 위하여 DMSO를 각 well당 100 µL씩 첨가한 후 plate shaker(Wallac, Finland)에서 20분간 교반한 후 각 well의 흡광도를 multi-well scanning spectrophotometer(microplate autoreader, Bio-Tek instrument, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 종양세포 증식 억제 효과는 $\{1-(OD \text{ of treated cells}/OD \text{ of control cell})\} \times 100$ 을 계산하여 %저해율로 나타내었으며, 저해율이 50% 이상인 경우에 효과가 있다고 판정하였다(Alley 등, 1988; Suganuma 등, 2001).

분리균주의 동정

균체의 형태는 potato dextrose agar(PDA, DIFCO, U.S.A.) 사면배지를 이용하여 2일간 배양하여 전처리 과정을 거쳐 scanning electron microscope(S-800, Hitachi, Japan)으로 관찰하였으며 균주의 동정은 API 20C AUX kit(API bioMerieux, France)를 사용하여 동정하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 항균활성

티벳산 발효유로부터 10개의 균주를 분리하여 TFP1~10으로 명명하였다.

Table 2에서 보는 바와 같이 항균활성 검사에서는 *Micrococcus luteus* ATCC 11880에 대하여 분리균주(TFP2~10)와 방선균인 *Streptomyces murinus* JCM 4333에 대하여 분리균주(TFP6~10)가 뚜렷한 생육억제 효과를 나타내었다. 반면, *Staphylococcus aureus* 209P IFO 12732에 대하여 분리균주(TFP1~10)와 효모인 *Candida albicans* IFO 1594에 대하여 분리균주(TFP1, TFP2, TFP3, TFP4, TFP5, TFP6, TFP7, TFP8, TFP10), *Cryptococcus neoformans*에 대하여 분리균주(TFP1, TFP2, TFP5, TFP6, TFP9, TFP10), *Saccharomyces cerevisiae* IFO 1008에 대하여 분리균주(TFP9, TFP10)와 곰팡이 중 *Penicillium nalgiovens*에 대하여 분리균주(TFP3~10)는 미약한 생육억제 효과를 나타내었다. 한편, *Bacillus subtilis* IAM 1069, *Escherichia coli* BE 1186, *Salmonella typhimurium* SL 1102, *Pseudomonas fluorescens* IAM 1201,

Table 2. Antimicrobial activity¹⁾ of isolated strains of yeast from the Tibetan fermented milk after incubation for 24 hrs

Test organism	Isolated strain									
	TFP1	TFP2	TFP3	TFP4	TFP5	TFP6	TFP7	TFP8	TFP9	TFP10
Gram positive bacteria										
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1069	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P IFO 12732	10 ^{w2)}	11 ^w	11 ^w	10 ^w	10 ^w	11 ^w	11 ^w	11 ^w	12 ^w	12 ^w
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 11880	-	16	17	17	11	11	12	11	12	14
Gram negative bacteria										
<i>Escherichia coli</i> BE 1186	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> SL 1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i> IAM 1201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yeast										
<i>Candida albicans</i> IFO 1594	12 ^w	11 ^w	12 ^w	14 ^w	15 ^w	12 ^w	12 ^w	13 ^w	-	11 ^w
<i>Cryptococcus neoformans</i>	13 ^w	13 ^w	-	-	12 ^w	13 ^w	-	-	10 ^w	11 ^w
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1008	-	-	-	-	-	-	-	-	14 ^w	15 ^w
Algae										
<i>Chlorella</i> A2DI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungi										
<i>Penicillium nalgiovens</i>	-	-	12 ^w	14 ^w	12 ^w	15 ^w	14 ^w	15 ^w	17 ^w	14 ^w
<i>Trichophyton rubrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nannizia otea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Glomella cingulata</i> IFO 9767	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Actinomycetes										
<i>Streptomyces murinus</i> JCM 4333	-	-	-	-	-	15	14	14	12	13

¹⁾Antimicrobial activity was expressed as inhibition zone diameter(mm).

²⁾W ; weak clear zone.

녹조류인 *Chlorella* A2DI, 곰팡이인 *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Nannizia otea*, *Aspergillus niger* ATCC 9642, *Alternaria alternata*, *Glomella cingulata* IFO 9767에 대해서는 분리균 전체에서 생육억제 효과를 나타내지 않았다.

분리균주의 항암활성

티벳산 발효유로부터 10개의 균주를 분리하여 TFP1~10으로 명명하였다.

Table 3에서 보는 바와 같이 분리균주(TFP1~10)는 SNU-5 (human stomach carcinoma)에서 SW-534(human larynx carcinoma)에서 각각 60% 및 70% 이상의 생육억제 효과를 보였다. 그러나 세포 독성을 측정하기 위해 사용한 정상세포인 NIH/3T3(mouse kidney)의 경우 30% 미만의 생육억제 효과를 보여 다른 종양세포들보다 세포 생육억제 효과가 낮은 것으로 보아 분리균주(TFP1~10)는 세포독성이 강하지 않은 것으

로 판단되어진다.

특히, TFP7은 KB(human epidermoid of mouth carcinoma), HEp-2(human larynx carcinoma), SK-MES-1(human lung carcinoma) 및 WiDr(human colon carcinoma)에 대해 각각 52.6%, 64.4%, 62.8% 및 61.6%의 생육억제 효과를 보여 다른 분리 균주들에 비하여 더 높은 항암효과를 나타내었다.

이상 분리균주들의 항균활성과 항암활성의 결과를 종합 검토한 바, TFP7균주를 선정하여 동정하기로 하였다.

분리균주 TFP 7의 동정

분리균주 TFP7을 potato dextrose agar(PDA) 사면배지에서 2일간 배양한 후 scanning electron microscope(Model : S-800, Hitachi, Japan)으로 관찰한 결과 Fig. 1과 같이 균체는 타원형이었으며, 균체의 여러 곳에서 출아된 형태가 관찰되었다.

API 20C AUX kit를 이용하여 동정한 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 %ID값이 99.8이고, T값이 0.47이며, atypical

Table 3. Antitumor activity of isolated strains of yeast from the Tibetan fermented milk after incubation for 24 hrs

Cell line	Isolated strain									
	TFP1	TFP2	TFP3	TFP4	TFP5	TFP6	TFP7	TFP8	TFP9	TFP10
SNU-5	61.3	71.7	60.8	74.6	76.6	73.2	77.5	65.9	81.4	77.5
Farrow	18.8	12.4	15.4	6.2	11	13.4	25.5	3.2	3.4	25.1
KB	13.1	26.7	6.6	28.4	43	54.7	52.6	36.2	57.9	59.6
HEp-2	20.3	32.5	27.7	36.1	51.8	28.6	64.4	15.8	41.1	50
K-562	42.3	70.5	70.7	69.4	68.8	73.3	71.8	69.4	70.1	73
SW-534	74.9	74	74.2	71.9	75.3	75.1	76.5	73.5	73.9	73.6
SW-156	30.8	54.4	40.4	55.8	63.2	42.9	67.3	48.6	60	64.1
SK-MES-1	24.1	33.2	25.2	12.3	38.2	38	62.8	31.6	34.5	40.5
WiDr	10.2	25	26.2	29.6	37.2	33	61.6	26.1	33.1	52.1
NIH/3T3	9.9	15.4	23.2	16.3	23.6	21.3	20.8	24.8	15.2	18.5

Sensitive i.e., % inhibition \geq 50.

**Fig. 1. Scanning electron micrograph of strain TFP 7.****Table 4. Results of strain TFP 7 using API 20C AUX kit**

Item	Strain TFP 7
Taxon	<i>Candida kefyr</i>
% ID*	99.8
T**	0.47
Atypical test	3
Result	Good identification

* ; the percentage of identification.

** ; an estimate of how closely the profile corresponds to the most typical set of reactions for the stated taxon.

한 반응이 3개로 good의 판정을 받아 type strain이 *Candida kefyr*에 해당된다고 판정되었으나 분리균주 TFP7과 type strain인 *Candida kefyr*의 당 이용성을 비교 검토한 결과는 Table 5에서 보는 바와 같이 glucose, glycerol, 2-keto-D-gluconate, D-xylose, adonitol, galactose, inositol, sorbitol, α -methyl-D-glucoside, N-acetyl-D-glucosamine, cellobiose, lactose, maltose, saccharose/sucrose, trehalose, melezitose, raffinose는 일치된 결과를 보인 반면, L-arabinose와 xylitol은 일치하지 않았다. 한편, type strain인 *Candida kefyr*는 hyphae

Table 5. API 20C AUX test for identification of strain TFP 7

Test	<i>Candida kefyr</i>	Strain TFP 7
Glucose	+	+
Glycerol	-	-
2-Keto-D-gluconate	-	-
L-Arabinose	-	+
D-Xylose	-	-
Adonitol	-	-
Xylitol	-	+
Galactose	+	+
Inositol	-	-
Sorbitol	+	+
α -Methyl-D-glucoside	-	-
N-Acetyl-D-glucosamine	-	-
Cellobiose	-	-
Lactose	+	+
Maltose	-	-
Saccharose/sucrose	+	+
Trehalose	-	-
Melezitose	-	-
Raffinose	+	+
Hyphae/pseudohyphae	+	-

Symbols : + ; positive reaction, - ; negative reaction

pseudohyphae에서 양성반응을 보인 반면, 분리균주 TFP7은 hyphae/pseudohyphae에서 음성반응을 보였다.

요 약

티벳산 발효유로부터 분리한 *Candida kefir* TFP7의 항균 활성 및 항암활성을 검토하기 위하여 PDA배지를 이용한 십진 희석법에 의해 10균주(TFP1~10)를 분리하여 몇 종의 병원균과 식중독균, 식품과 관련이 있는 세균, 효모, 곰팡이, 녹조류 및 토양으로부터 분리한 방선균 등 18균주에 대하여 항균활성을 조사하였으며, 또한, 9종류의 인체 암세포주에 대하여 항암활성을 비교하였다. 항균활성 검사에서는 Gram 양성균 중 *Micrococcus luteus* ATCC 11880에 대하여 분리균주(TFP2~10)와 방선균인 *Streptomyces murinus* JCM 4333에 대하여 분리균주(TFP6~10)가 뚜렷한 생육억제효과를 나타내었다. 한편, 항암활성 검사에서는 SNU-5(human stomach carcinoma), SW-534(human larynx carcinoma)에 대하여 분리균주(TFP1~10) 모두 각각 60%, 70%이상의 생육억제효과를 나타내었다. 특히, 균주 TFP7은 SNU-5, SW-534에 대하여 각각 77.5%, 76.5%의 가장 우수한 생육억제효과를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 서일대학 학술연구비 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Allcroft, R. and Carnaghan, R. B. A. (1962) Groundnut toxicity : An examination for toxin in human products from animals fed toxic groundnut meal. *Vet. Rec.* **75**, 259-263.
- Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursley, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mayo, J. G., Shoemaker, R. H., and Boyd, M. R. (1988) Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Research* **48**, 589-601.
- Bottazzi, V. (1980) A note on scanning electron microscopy of micro-organisms associated with the kefir granule. *J. Applied Bacteriology* **48**, 265-268.
- Choi, G. H. and Kim, C. H. (2002) Growth inhibition of extracts from sulfur feed duck meat against various tumor cell lines. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **22**, 348-351.
- Ham, J. S., Jeong, J. Y., Jeong, S. G., Ahn, J. N., Ahn, Y. T., Kim, S. K., and Kim, H. U. (1999) Effects of Feeding with *Lactobacillus plantarum* and *Candida kefir* Isolated from Mongolian Koumiss on the Growth and Fecal Microflora of Broilers. *Korean J. Dairy Sci.* **21**(3) : 241~246.
- Kandler, O. and Kunath, P. (1983) *Lactobacillus kefir* sp. nov., A component of the microflora of kefir. *Systematic and Applied Microbiology* **4**, 286-294.
- Koneman, E. W., Aelen, S. D., Dowell, V. R., and Sommers, H. M. (1979) Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Lippincott Co., Philadelphia. Toronto, pp. 316-349.
- Koroleva, N. S. and Bavina, N. A. (1970) Effects of conditions of kefir fungus cultivation on the microflora and biochemical characteristics of kefir starters. Proc. 8th Int. Dairy Cong 1E., 413.
- Lee, K. H. (2000) Studies on antitumor, antileukemic and apoptosis induction activities of di(2-ethylhexyl)phthalate isolated from *Aloe vera* Linne. *Ph. D. thesis*, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
- Na, Y. M. (2003) Antimicrobial activity and Antitumor activity by *Candida kefir* TFP7 Isolated from Tibetan Fermented Milk. *M. S. thesis*, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
- Nagaoka, M., Muto, M., Nomto, K., Matuzaki, M., Watanabe, T., and Yokokura, T. (1990) Structure of Polysaccharide Peptidoglycan Complex from the Cell Wall of *Lactobacillus casei* YIT 9018. *J. Biochem.* **108**, 568-571.
- Nakanishi, T. (1967) 牛乳と乳製品の微生物. pp. 157.
- Suganuma, M., Ohkura, Y., Okabe, S., and Fujiki, H. (2001) Combination cancer chemoprevention with green tea extract and sulindac shown in intestinal tumor formation in Min mice. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **127**, 69-72.
- Wiseman, D. W. and Marth, E. H. (1983) Behavior of aflatoxin M1 in yogurt, butter milk and kefir. *J. Food Protection* **46**(2), 115-118.
- Yan, M., Lin, H., Shen, Y., and Wang, Q. (2001) Studies on inhibiting activities of five antitumor drugs to human cancer cell in vitro with MTT assay. *Journal of Chinese Medicinal Materials* **24**, 418-419.
- Yang, S. J., Yoon, J. W., Seo, K. S., Koo, H. C., Kim, S. H., Bae, H. S., Baek, Y. and Park, Y. H. (1999) Prophylactic Effects of *Bifidobacterium longum* HY8001 against *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella typhimurium* DT104 Enteric Infection and Evaluation of Vero Cytotoxin Neutralizing Effects. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 27, No. 5, 419~425.

(2003. 1. 29 접수 ; 2003. 3. 10 채택)