

## 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* KLAB21의 배양조건에 따른 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine과 4-nitroquinoline-1-oxide에 대한 항돌연변이 효과

이창호 · 박희동  
경북대학교 식품공학과

### Culture Conditions on the Antimutagenic Effects of *Lactobacillus plantarum* KLAB21 isolated from *Kimchi* against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and 4-nitroquinoline-1-oxide

Chang-Ho Rhee and Heui-Dong Park

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

#### Abstract

*Lactobacillus plantarum* KLAB21 isolated from *Kimchi* has been reported to produce antimutagenic substance(s) in the culture medium. In this study, antimutagenic effects of the strain KLAB21 were investigated to under various culture conditions maximize the production of antimutagenic substance(s) against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) on *Salmonella typhimurium* TA100 and 4-nitroquinoline-1-oxide(NQO) on *S. typhimurium* TA98. Glucose(2%) as a carbon source and yeast extract(1%) as a nitrogen source resulted in the highest production of the antimutagenic substance(s) against both mutagens in the culture supernatant of *L. plantarum* KLAB21. The most effective concentrations of bactopeptone as a nitrogen source were 1% against MNNG and 1.5% against NQO. Optimal pH of the medium, culture temperature, and shaking speed for the antimutagenic substance(s) production were pH 7.0, 37°C and 150 rpm, respectively. Under the optimal condition, the antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 culture supernatant were 98.4% against MNNG on *S. typhimurium* TA100 and 57.3% against NQO on *S. typhimurium* TA98.

Key words : *Lactobacillus plantarum* KLAB21, antimutagenic effects, *Kimchi*, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), 4-nitroquinoline-1-oxide(NQO)

#### 서 론

유산균은 인간에 의해 오랜 세월동안 산업적으로 이용되어온 매우 중요한 세균의 하나로서 발효유, 치즈, 버터 등의 우유 가공품과 우리나라 김치, 간장, 된장 등의 자연 발효식품에서 매우 중요한 역할을 담당하고 있다. 또한 인간의 장, 구강 등에 존재하는 미생물군으로 인간과 밀접한 관계가 있으며 장내에서 인간에게 유익한 작용을 나타내어 건강 유지에도 큰 역할을 담당하고 있다<sup>(1,2)</sup>. 특히 유산균은 항암 활성, 정장

작용, 부폐 세균 억제 작용, 숙주의 면역 작용 활성화 등 각종의 건강 증진 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다<sup>(3,9)</sup>. 유산균의 항암 활성에 관한 기초 연구는 발효유를 사용하여 이미 오래전부터 수행되어 왔다. 발효유가 생쥐의 Ehrlich acsites tumor의 종식 억제 작용이 있으며, 발효유를 투석하여도 그 활성이 제거되지 않음이 밝혀졌고<sup>(10,11)</sup>, 요구르트 발효균의 무세포 추출액 역시 생쥐에 경구 또는 복강 투여시 항종양 활성을 나타내었으며 sarcoma 180과 Ehrlich carcinoma 57 세포의 종식을 효과적으로 억제하였는데 이 물질은 열에 불안정하고 비세포외적인 인자로 추정되었다<sup>(12-14)</sup>.

최근 전강에 대한 관심의 증가와 함께 식이를 이용한 암의 예방과 치료에 많은 연구자들의 관심이 집중되고 있다. 유산균이 인간의 전강을 증진시킬 수 있다

Corresponding author : Heui-Dong Park, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, 1370, Sankyuk, Taegu 702-701, Korea  
Tel : 82-53-950-5774  
Fax : 82-53-950-6772  
E-mail : hpark@kyungpook.ac.kr

는 것은 최초로 Metchnikoff<sup>(15)</sup>의 연구에 의해 밝혀졌다. 요구르트 제조에 관여하는 유산균이 대장내에서 혐기성 세균, 포자 형성 세균 및 독소 생성 세균들의 증식을 억제하기 때문에 장내에 *Lactobacillus bulgaricus*를 이식하여 종으로써 장수에 매우 중요한 역할을 한다고 주장하였다. Bogdanov 등<sup>(13)</sup>에 의해 *L. bulgaricus*가 강력한 항암 효과를 가지고 있다는 사실이 밝혀짐에 따라 실험 동물을 이용한 유산균의 항암 효과 및 유산균의 세포를 이용한 항돌연변이 효과에 관한 연구가 이루어져 왔다<sup>(13,16)</sup>.

유산균의 항암 활성 및 항돌연변이 효과의 기작에 관한 최근의 연구 결과 두 가지의 기작이 밝혀졌다. 첫째, 유산균은 돌연변이원 전구체를 돌연변이원으로 전환시키는 효소를 저해함으로써 항암 및 항돌연변이 작용을 가진다. 장내 세균의  $\beta$ -glucosidase와  $\beta$ -glucuronidase는 glucoside나 glucuronide 화합물로부터 발암성의 배당체를 형성하고, nitroreductase와 azoreductase는 여러 조직에서 발암 물질로 알려진 nitroso 화합물로 전환될 수 있는 방향족 아민 형성에 관여하는데 유산균은 이들 효소의 작용을 억제한다고 하였다<sup>(17-19)</sup>. 둘째, 유산균은 개체의 방어체계, 즉 면역계를 활성화<sup>(20)</sup>시킴으로써 interferon 유도, 항체 생성 및 세포성 면역 활성화 등의 기작에 의해 항암 작용을 하는 것이 밝혀졌다<sup>(21-24)</sup>. 특히, 유산 간균은 대식세포와 임파구의 활성을 크게 증진<sup>(9)</sup>시킴으로써 발효유 생산에 있어 유산균을 이용하는 것이 항암 기능, 항종양 그리고 영양과 치료 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다<sup>(11,25,26)</sup>. 그 후 유산균은 nitrosamine류를 비롯한 많은 돌연변이원에 대하여 결합능<sup>(27-31)</sup>이 있으며, 유산균중의 일부는 아미노산 피를 화합물과의 높은 결합 능력을 가지고 있는 것으로 보고되었다<sup>(32)</sup>.

이러한 유산균의 항암 및 항돌연변이 효과에 관한 연구는 대부분 유럽을 중심으로 발달한 발효 유제품으로부터 분리한 유산균을 대상으로 하여 진행되었을 뿐 우리 나라 전통 발효 식품인 김치에 관여하는 유산균의 항돌연변이 효과에 관한 연구 보고는 거의 없는 실정이다. 따라서 본인 등은 김치로부터 항돌연변이 효과가 강한 유산균 *Lactobacillus plantarum* KLAB21을 분리하여 이 균의 항돌연변이 효과를 보고한 바 있다<sup>(33)</sup>. 본 연구에서는 Ames test를 이용하여 변이원 MNNG와 NQO에 대한 *L. plantarum* KLAB21의 항돌연변이원성 물질 생산을 위한 최적 조건을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주

본 실험에 사용한 균주는 김치로부터 분리한 유산균 중 항돌연변이 효과가 가장 우수하며, 돌연변이 효과가 없는 *L. plantarum* KLAB21 균주를 사용하였다<sup>(33)</sup>. 항돌연변이 효과 측정을 위하여 히스티딘 영양 요구주인 *S. typhimurium* TA100(*hisG46*, *rfa*, *ΔuvrB*)과 *S. typhimurium* TA98(*hisD3052*, *rfa*, *ΔuvrB*)을 사용하였다<sup>(34)</sup>.

### 균의 배양 및 배양 상징액의 조제

*L. plantarum* KLAB21의 배양은 MRS 배지(glucose 2%, bactopeptone 1%, meat extract 1%, yeast extract 0.5%, tween80 0.1%, sodium acetate 0.5%, tri-ammonium citrate 0.2%,  $K_2HPO_4$  0.2%,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.02%,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0.005%)를 사용하여 종 배양액을 5%(v/v)되게 접종한 후, 37°C에서 36시간 150 rpm으로 진탕 배양하였다. 배양 상징액은 배양액을 25,000×g에서 10분간 원심 분리한 후 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

### Ames test에 의한 항돌연변이 효과 조사

시료의 항돌연변이 효과 조사는 Ames test를 개량한 preincubation method<sup>(34-36)</sup>에 따라 히스티딘 영양 요구주로서 point mutant인 *S. typhimurium* TA100과 frame shift mutant인 *S. typhimurium* TA98을 사용하여 시료에 의한 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 정도를 조사하여 행하였다. 변이원으로서는 *S. typhimurium* TA100인 경우 MNNG를 5 µg/plate, *S. typhimurium* TA98인 경우 NQO를 0.25 µg/plate를 사용하였다. 항돌연변이 효과는 건열 멀균시킨 glass cap tube에 시료 용액을 일정 농도로 첨가하고 변이원을 50 µl 첨가한 다음, 영양 배지에서 16시간 배양한 *S. typhimurium* 배양액 100 µl와 0.2 M sodium phosphate 완충 용액 0.5 ml를 첨가하였다. 이것을 37°C에서 30분간 반응을 한 후, 소량의 histidine/biotin이 함유된 top agar 3 ml 혼합하여 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar 배지상에 중층하여 고화 시킨 다음 37°C에서 48시간 배양 하였다. 항돌연변이 효과는 상기의 고체배지에 생육하는 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니를 계수한 다음 아래식으로 환산하여 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 저해율(inhibition ratio)로서 나타내었다.

$$\text{Inhibition ratio}(\%) = 100 \times [(a - b)/(a - c)]$$

a : 변이원에 의해 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수

**Table 1. Antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) and 4-nitroquinoline-1-oxide(NQO) based on its carbon sources**

Carbon sources (2%)	<i>S. typhimurium</i> TA100		<i>S. typhimurium</i> TA98	
	Revertant number (CFU)	Inhibition ratio (%) <sup>1)</sup>	Revertant number (CFU)	Inhibition ratio (%)
Glucose	152 <sup>2)</sup>	98.7	94	59.0
Fructose	241	91.1	123	42.7
Galactose	650	56.0	112	48.9
Sucrose	243	90.9	137	34.8
Lactose	213	93.5	127	40.5
Positive control	1303		199	
Negative control	137		21	

The bacteria were cultured at 37°C for 36 hours in a liquid medium containing 2% various carbon sources instead of 2% glucose in MRS broth(glucose 2%, bactopeptone 1%, meat extract 1%, yeast extract 0.5%, tween 80 0.1%, sodium acetate 0.5%, tri-ammonium citrate 0.2%, K2HPO4 0.2%, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.02%, MnSO<sub>4</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.005%). Antimutagenic effects of the bacterial culture supernatant (100 µl/plate) were determined using *S. typhimurium* TA100 and TA98 and are expressed as inhibition ratio(%) of His<sup>+</sup> reversion. For the reversion of His<sup>+</sup> mutation of *S. typhimurium*, MNNG(5 µg/plate) was used for *S. typhimurium* TA100 and NQO(0.25 µg/plate) was used for *S. typhimurium* TA98. Positive and negative controls represent the revertant number(CFU) per plate with or without mutagen, respectively.

<sup>1)</sup>Significantly different from the control at the P<0.05 level

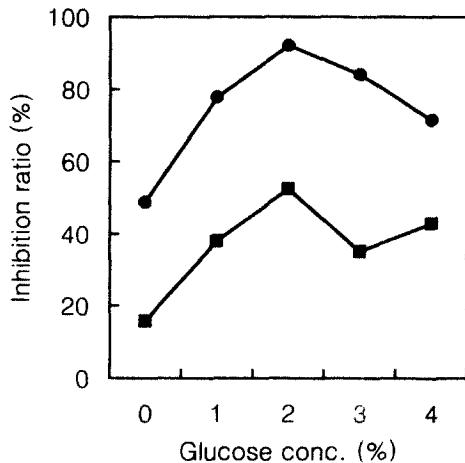
<sup>2)</sup>The means represent the average of at least three trials that were performed in triplicate.

b : 변이원과 시료 처리시 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수

c : 변이원과 시료 무처리시 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수

#### 항돌연변이원성 물질의 생산을 위한 최적 조건의 조사

*L. plantarum* KLAB21의 항돌연변이원성 물질 생산을 위한 배지 조성의 최적 조건을 규명하기 위하여 MRS 배지를 기본 배지로 하여 각각의 조성을 달리 첨가하여 사용하였다. 또한 항돌연변이원성 물질의 생산에 미치는 초기 pH의 영향을 검토하기 위하여 배양 온도 37°C, 진탕 속도 150 rpm으로 하여 초기 pH를 4.0에서 8.0까지 1.0 간격으로 조절하여 항돌연변이 효과를 비교하였으며, 배양 온도의 영향은 초기 pH 7.0, 진탕 속도 150 rpm으로 하여 배양 온도를 27, 32, 37 및 42°C에서 배양하여 항돌연변이 효과를 비교하였다. 진탕 속도의 영향을 조사하기 위하여 회전 진탕



**Fig. 1. Effects of glucose concentration as a carbon source on the antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against MNNG and NQO.**

Bacteria were cultured in a liquid medium containing various concentrations of glucose instead of 2% in MRS broth. ●-● : MNNG on *S. typhimurium* TA100, ■-■ : NQO on *S. typhimurium* TA98

속도를 0, 50, 100, 150 및 200 rpm으로 각각 달리하여 초기 pH 7.0, 배양 온도 37°C에서 배양한 후 상징액의 항돌연변이 효과를 비교하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 탄소원의 영향

김치로부터 분리한 유산균 *L. plantarum* KLAB21의 항돌연변이원성 물질의 생산을 위한 탄소원의 효과를 조사하기 위하여 MRS 배지를 기본 배지로 하여 glucose, galactose, fructose, sucrose, lactose를 각각 2.0%가 되도록 첨가하여 배양한 후 배양 상징액을 100 µl/plate를 첨가하여 항돌연변이 효과를 측정하였다(Table 1). Glucose를 첨가한 실험구에서 변이원으로 MNNG를 사용한 경우, point mutant인 *S. typhimurium* TA100에 대한 효과가 98.7%, NQO를 사용한 경우, frame shift mutant인 *S. typhimurium* TA98에 대한 효과가 59.0%로 가장 높게 나타났다. *S. typhimurium* TA100인 경우에는 galactose를 2% 첨가시 다른 종류의 탄소원보다 효과가 미약하였으며, *S. typhimurium* TA98에서는 sucrose를 2% 첨가시 효과가 미약하였다. 또한 효과가 가장 높게 나타난 glucose 농도의 영향을 조사하기 위하여 glucose의 최종농도가 0%, 1%, 2%, 3% 및 4%되게 첨가하여 항돌연변이 효과를 측정한 결과(Fig. 1), glucose의 최종농도를 2% 첨가한 실험구

**Table 2. Antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) and 4-nitroquinoline-1-oxide(NQO) based on its nitrogen sources**

Nitrogen sources(1%)	<i>S. typhimurium</i> TA100		<i>S. typhimurium</i> TA98	
	Revertant number (CFU)	Inhibition ratio (%) <sup>1)</sup>	Revertant number (CFU)	Inhibition ratio (%)
Yeast extract	318 <sup>2)</sup>	77.2	119	50.8
Bactopeptone	372	72.2	138	41.1
Polypeptone	541	56.3	167	26.4
Beef extract	383	71.1	151	34.5
Tryptone	583	52.3	168	25.9
Positive control	1139		219	
Negative control	76		22	

The bacteria were cultured in a liquid medium containing 1% various nitrogen sources instead of 1% bactopeptone, 1% meat extract and 0.5% yeast extract in MRS broth shown in Table 1.

<sup>1)</sup>Significantly different from the control at the P<0.05 level

<sup>2)</sup>The means represent the average of at least three trials that were performed in triplicate

에서 각 변이원에 대한 항돌연변이 효과가 가장 높게 나타났다.

#### 질소원의 영향

항돌연변이원성 물질의 생산을 위한 질소원에 대한 영향을 조사하기 위하여 질소원을 각각 1%되게 첨가하여 배양한 후 배양 상정액을 100 μl/plate를 사용하여

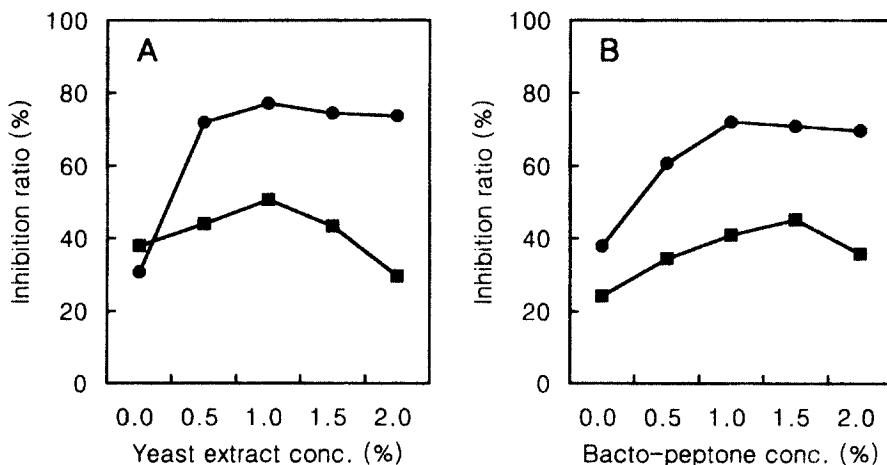
항돌연변이 효과를 측정하였다(Table 2). 그 결과, *S. typhimurium* TA100과 *S. typhimurium* TA98 모두 yeast extract와 bactopeptone 첨가시 효과가 높게 나타났다. 그리고 활성이 두 균주에 공통적으로 높게 나타난 yeast extract와 bactopeptone의 농도별 영향을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. Yeast extract 농도별 항돌연변이 효과는 *S. typhimurium* TA100인 경우 1.0% 첨가시 77.2%로 가장 높았으며, *S. typhimurium* TA98인 경우에도 1.0% 첨가시 활성이 50.6%로 가장 높게 나타났다(Fig. 2A). Bactopeptone 농도별 항돌연변이 효과는 *S. typhimurium* TA100인 경우에는 1% 첨가시 활성이 72.0%로 가장 높았으며, *S. typhimurium* TA98인 경우에는 1.5% 첨가시 45.1%로 가장 높게 나타났다(Fig. 2B).

#### 초기 pH의 영향

초기 pH를 4.0에서 8.0까지 1.0간격으로 조절한 배지에서 *L. plantarum* KLAB21 균주를 36시간 배양한 후 배양 상정액을 100 μl/plate를 첨가하여 항돌연변이 효과를 측정하였다. 그 결과 실험에 사용한 두 균주 *S. typhimurium* TA100과 *S. typhimurium* TA98에 대하여 초기 pH가 7.0일 때 사용한 변이원에 대한 활성이 각각 94.5%와 57.2%로 가장 높게 나타났다(Fig. 3).

#### 배양온도의 영향

항돌연변이 효과에 미치는 배양온도의 영향을 조사하기 위해 배양온도를 27°C에서 42°C까지 변화시키면



**Fig. 2. Effects of yeast extract (A) or bacto-peptone (B) concentration as a nitrogen source on the antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against MNNG and NQO.**

Bacteria were cultured in a liquid medium containing various concentrations of yeast extract or bacto-peptone instead of 1% bactopeptone, 1% meat extract and 0.5% yeast extract in MRS broth. ●●: MNNG on *S. typhimurium* TA100, ■■: NQO on *S. typhimurium* TA98

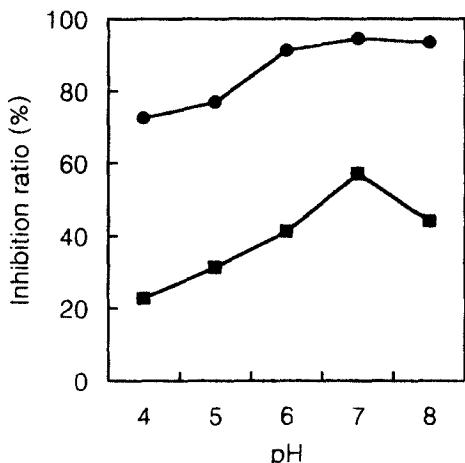


Fig. 3. Effects of initial pH of the culture medium on the antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against MNNG and NQO.

●-●: MNNG on *S. typhimurium* TA100, ■-■: NQO on *S. typhimurium* TA98

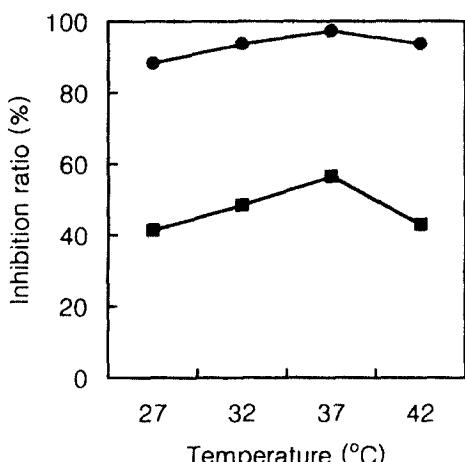


Fig. 4. Effects of culture temperature on the antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against MNNG and NQO.

●-●: MNNG on *S. typhimurium* TA100, ■-■: NQO on *S. typhimurium* TA98

서 *L. plantarum* KLAB21 균주를 36시간 배양한 후 배양 상징액을 100 µl/plate를 첨가하여 항돌연변이 효과를 측정하였다(Fig. 4). 그 결과 실험에 사용한 두 균주 *S. typhimurium* TA100과 *S. typhimurium* TA98에 대하여 배양 온도가 각각 37°C일 때 각각 97.2%와 56.5%로 가장 높게 나타났다.

#### 진탕속도의 영향

진탕속도가 항돌연변이 효과에 미치는 영향을 검토

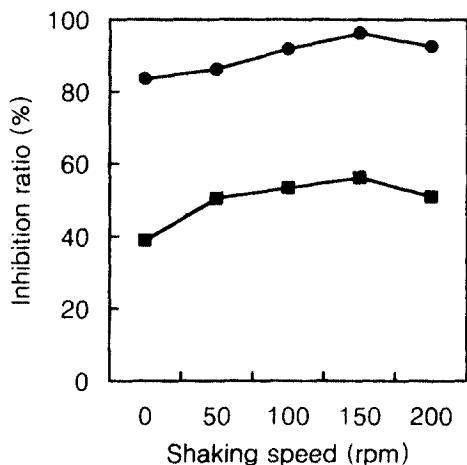


Fig. 5. Effects of shaking speed on the antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against MNNG and NQO.

●-●: MNNG on *S. typhimurium* TA100, ■-■: NQO on *S. typhimurium* TA98

하기 위하여 초기 pH 7.0, 배양 온도 37°C에서 진탕 속도를 0, 50, 100, 150 및 200 rpm으로 조절하여 배양한 후 배양 상징액을 100 µl/plate를 첨가하여 항돌연변이 효과를 측정한 결과 진탕속도가 150 rpm일 때 항돌연변이 효과가 각각 96.2%와 56.2%로 가장 높게 나타났다(Fig. 5).

#### 배양시간에 따른 항돌연변이 효과의 변화

이상의 실험에서 얻어진 최적조건에서 *L. plantarum* KLAB21의 배양시간에 따른 항돌연변이 효과를 경시적으로 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. 항돌연변이 효과에 사용한 두 균주 모두 배양시간에 따라 항돌연변이 효과가 증가하였으나 36시간 배양시 각 균주에 대하여 98.4%와 57.3%로 최대 활성을 나타내었으며 그 이상의 배양시간에서는 활성이 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 본 실험의 조건에서 *L. plantarum* KLAB21을 사용하여 항돌연변이원성 물질의 생산은 36시간이 가장 적합할 것으로 생각된다. 현재까지 알려진 젖산균이 대사산물로 생산하는 항암 물질은 대부분 glycopeptide 또는 다당류로 알려져 있으며<sup>(16)</sup> 본 실험에서 분리한 균주가 대사산물로 생산하는 항돌연변이원성 물질과 어떤 차이가 있는지 좀더 연구해야 할 과제이다.

## 요약

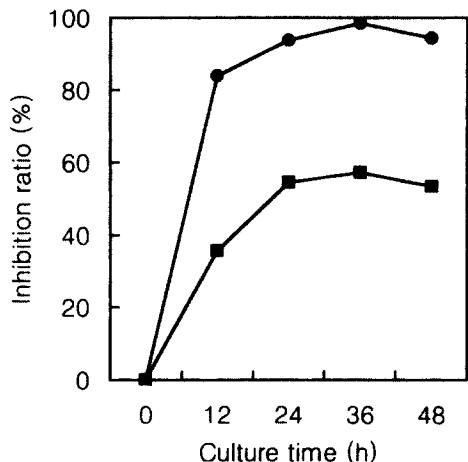


Fig. 6. Effects of culture time on the antimutagenic effects of *L. plantarum* KLAB21 against MNNG and NQO.  
 ●-●: MNNG on *S. typhimurium* TA100, ■-■: NQO on *S. typhimurium* TA98

균주에 있어서 MNNG와 NQO에 대한 항돌연변이원성 물질 생산을 위한 최적 조건을 조사하였다. 탄소원으로 glucose를 첨가시 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었으며, 질소원으로서는 yeast extract와 bactopeptone 첨가시 항돌연변이 효과가 우수하였다. 탄소원으로 glucose의 농도를 2% 첨가시 MNNG와 NQO에 대한 항돌연변이 효과가 가장 우수하였으며, 질소원으로서 yeast extract는 1%의 bactopeptone의 농도는 MNNG인 경우 1%, NQO인 경우 1.5%에서 가장 우수한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 항돌연변이원성 물질 생산을 위한 최적 배양 조건은 초기 pH, 배양 온도, 배양 속도가 각각 7.0, 37°C 및 150 rpm이었다. 상기의 최적 조건에서 36시간 배양시 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었는데 *S. typhimurium* TA100과 TA98을 이용한 경우 항돌연변이 효과가 각각 98.4%와 57.3%이었다.

## 문 헌

1. Carr, J.G. Lactic acid bacteria in beverage and foods. Academic press, New York, USA (1975)
2. Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki, T. and Hara, T. Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens : A case of the green tea factor. Mutat. Res. 150: 127-132 (1985)
3. Dodds, K.L. and Collins-Thompson, D.L. Characteristics of nitrite reductase activity *Lactobacillus lactis* TS4. Can. J. Microbiol. 31: 558-562 (1985)
4. Hill, M.J. The role of colon anaerobes in the metabo-
- lism of bile acid steriodes and its relation to colon cancer. Cancer 36: 2387-2395 (1975)
5. Kato, L., Kobayashi, S., Yokokura, T. and Mutai, M. Antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice. Gann 72: 517-524 (1981)
6. Kimura, N.T., Tanguchi, S., Aoki, K. and Baba, T. Selective localization and growth of *Bifidobacterium bifidum* in mouse tumors following intravenous administration. Cancer Res. 40: 2061-2068 (1980)
7. Kohwi, Y., Imai, K., Tamura, Z. and Hashimoto, Y. Antitumor effect of *Bifidobacterium infantis* in mice. Gann 69: 613-620 (1978)
8. Penn, R.L., Maca, R.D. and Berg, R.D. Increased translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of tumor-bearing mice. Infect. Immun. 47: 793-801 (1986)
9. Perdigon, G., de Macias, M.E.N., Alvarez, S., Medici, G., Oliver, M. and de Ruiz Holgado, A.P. Effect of a mixture of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* administered orally on the immune system in mice. J. Food Prot. 49: 986-989 (1986)
10. Reddy, G.V., Friend, B.A., Shahani, K.M. and Farmer, R.E. Antitumor activity of yoghurt components. J. Food Prot. 46: 8-11 (1983)
11. Reddy, G.V., Shahani, K.M. and Banerjee, M.R. Inhibitory effect of Yoghurt on Ehrlich ascites tumor-cell proliferation. J. Natl. Cancer Inst. 50: 815-820 (1973)
12. Bogdanov, I.G., Dalev, P.G., Gurevich, L.A., Kolosov, M.N., Malkove, V.P., Plemyannikova, L.A. and Sorokina, I.B. Antitumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. FEBS Lett. 57: 259-261 (1975)
13. Bogdanov, I., Popkhristov, G.P. and Marinov, L. Abstract 364 presented at 8th Int. Cancer Congress., Moscow, Russia (1962)
14. Friend, B.A., Farmer, R.E. and Shshani, K.M. Effect of feeding and intraperitoneal implantation of yoghurt culture cells of Ehrlich ascites tumor. Milchwissenschaft 37: 708-714 (1982)
15. Metchnikoff, E. The prolongation of life. C. P. Putanama's sons pp. 161-183 New York, USA (1908)
16. Adachi, S. Lactic acid bacteria and the control of tumors, pp. 233-247. In: the lactic acid bacteria: The lactic acid bacteria in health & disease. Wood B. J. B. (ed). Elsevier Applied Science, London, U.K. (1992)
17. Kinoshita, N. and Gelcoin, H.V.  $\beta$ -Glucuronidase catalyzed hydrolysis of benzo( $\alpha$ )pyrene-3-glucuronide and binding to DNA. Science 199: 307-314 (1978)
18. Laqueur, G.L. and Spatz, M. Oncogenicity of cycasin and methylazoxymethanol. Gann Mono. Cancer Res. 17: 189-196 (1975)
19. Macdonald, I.A., Bussated, R.G., Hutchinson, D.M. and Holdeman, L.V. Rutin-induced  $\beta$ -glucosidase activity in *Streptococcus faecium* VGH-1 and *Streptococcus* sp. strain FRP-17 isolated from human feces. Appl. Environ. Microbiol. 47: 350-357 (1984)
20. Fernandes, C.F. and Shahani, K.M. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary lactobacilli. J. Food Prot. 53: 704-710 (1990)

21. Kato, I., Yokokawa, T. and Mutai, N. Augmentation of mouse natural killer cell activity by *Lactobacillus casei* and its surface antigens. *Microbiol. Immunol.* 28: 209-217 (1984)
22. Kato, I., Yokokawa, T. and Mutai, N. Induction of tumoricidal peritoneal exudate cells by administration of *Lactobacillus casei*. *Inter. J. Immunopharmacol.* 7: 103-113 (1985)
23. Perdigon, G., Nacer, M.E., Alvarez, S., Oliver, G. and de R. Golgodo P. Systematic augmentation of the immune response in mice feeding fermented milks with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Immunol.* 63: 17-24 (1988)
24. Perdigon, G., Alvarez, S., Nadar, M.E., de Macias, M.E. and Medidi, M. Effect of lactic acid bacteria orally administration and of yoghurt on the immune system, pp.77-84. In: *Les lactis fermentes, Actualite de la recherche*. John Libbery Eurotext Ltd, Oaris, France (1989)
25. Ayebo, A.D., Shahani, K.M. and Dam, R. Antitumor components of yoghurt : fractionation. *J. Dairy Sci.* 64: 2318-2323 (1981)
26. Ayebo, A.D., Shahani, K.M. and Dam, R. Ion exchange separation of the antitumor component of yogurt dialyzate. *J. Dairy Sci.* 65: 2388-2394 (1982)
27. Hosono, A., Yoshimura, A. and Qtani, H. Desmutagenic property of cell wall of *Streptococcus faecalis* on the mutagenicities induced by amino acid pyrolyzates. *Milchwissenschaft* 43: 168-170 (1988)
28. Hosono, A., Wardjojo, R. and Qtani, H. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. *Agric. Biol. Chem.* 54: 1639-1643 (1990)
29. Hosono, A., Wardjojo, R. and Qtani, H. Binding of amino pyrolyzates by lactic acid bacteria isolated from "Dadhi". *Lebensm-Wiss. U.-Technol.* 23: 149-156 (1990)
30. Hosono, A., Sagae, S. and Tokita, F. Desmutagenic effect of cultured milk on chemically induced mutagenesis in *Escherichia coli* B/r WP2 trp<sup>her</sup>. *Milchwissenschaft* 41: 142-145 (1986)
31. Hosono, A., Kashina, T. and Kada, T. Antimutagenic properties of lactic acid-cultured milk on chemical and fecal mutagens. *J. Dairy Sci.* 69: 2237-2242 (1986)
32. Zhang, X.B., Ohta, Y. and Hosono, A. Antimutagenicity and binding of lactic acid bacteria from a Chinese cheese to mutagenic pyrolyzates. *J. Dairy Sci.* 73: 2702-2707 (1990)
33. Rhee, C.H. and Park, H.D. Isolation and Characterization of lactic acid bacteria producing antimutagenic substance from Korean Kimchi. *Kor. J. Applied Microbiol. Biotechnol.* 27: 15-22 (1999)
34. Maron, D. M. and Ames, B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.* 113: 173-219 (1983)
35. Yaghai, T., Degawa, M., Seino, Y., Matsushima, T., Nagao, M., Sugimura, T. and Hashimoto, Y. Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives. *Cancer Lett.* 1: 91-98 (1975)
36. Yaghai, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M. Mutagenicities of N-nitrosamines on *Salmonella*. *Mutat. Res.* 48: 121-126 (1977)

(1999년 6월 21일 접수)