

## 항암 활성능이 우수한 *Bifidobacterium infantis* Maeil-K9과 *Lactobacillus plantarum* KCTC3099의 기초 생리활성

김응률\* · 정병문 · 김지연<sup>1</sup> · 김서영<sup>1</sup> · 정후길 · 이형주<sup>1</sup> · 전호남  
매일유업(주) 중앙연구소, <sup>1</sup>서울대학교 식품공학과

**Basic Physiological Activities of *Bifidobacterium infantis* Maeil-K9 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3099 Selected by Anticarcinogenic Activities.** Kim, Eung-Ryool\*, Byung-Moon Jung, Ji-Yeon Kim<sup>1</sup>, Seo-Young Kim<sup>1</sup>, Hoo-Kil Jung, Hyong-Joo Lee<sup>1</sup>, and Ho-Nam Chun. R&D Center, Mael Dairy Industry Co., Ltd., Kyonggi-do, #451-861, Korea, <sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea – This study was conducted to confirm the availability of lactic acid bacteria as probiotics having inhibitory effects to cancer cell line. Five lactic acid bacteria showing anti-cancer activity were compared by acid tolerance, bile tolerance, antibiotics resistance, milk fermentation, stability, and cell adherence activity to colon epithelial cell. The results obtained are as follows : In acid tolerance, all strains did not have a resistance below pH 3.0 and 3.5 except *Lactobacillus plantarum* KCTC3099. In antibiotics resistance, *Lactococcus lactis* and *L. plantarum* KCTC3099 were resistant to cotrimoxazol (128 mg/l), and *Bifidobacterium adolescentis* Maeil-K8 and *B. infantis* Maeil-K9 were resistant to doxycycline and gentamycin (4 mg/l). In case of cell adherence ability to Caco-2 cell, *B. infantis* Maeil-K9 was found to be superior to others as 3.1%, while the others were less than 0.5%. When the strains were cultured to milk base, viable counts of the strains tested increased more 1 log cycle than inoculation, but acid production was very low except *L. plantarum* KCTC3099. Also, *L. plantarum* KCTC3099, *B. adolescentis* Maeil-K8, and *B. infantis* Maeil-K9 were stable in fermented milk base during storage. In conclusion, *L. plantarum* KCTC3099 and *B. infantis* Maeil-K9 were confirmed to be superior for the availability as probiotics.

**Key words:** *Bifidobacterium infantis* Maeil-K9, *Lactobacillus plantarum* KCTC3099, anticarcinoma, probiotics

### 서 론

유산균의 생리활성을 비롯한 건강기능성에 관한 연구는 매우 다양하고 포괄적인 분야에서 진행되고 있다. 유산균의 기능성을 분류해 보면, 기초적인 생리활성, 콜레스테롤 저하능, 성장작용, 항돌연변이능, 항암, 면역증강 등으로 대별될 수 있으며, 다양한 균주가 개발되어 종균화되고 있다.

유산균의 항암작용은 장내 미생물 균총의 개선에 의한 발암물질의 생성 억제와 장내 면역기능의 활성화에 의한 암세포 증식 억제에 의한 것으로 동물실험 등에서 입증되고 있다. 동물에 종양세포를 이식시킨 다른 연구 결과에 의하면 발효유 제품은 종양을 감소시키거나 억제하는 것으로 밝혀졌다[8, 21, 24]. 이러한 항암효과는 면역 반응을 통해서 매개된다고 보고되어 있다[20]. 또한 *Lactobacillus bulgaricus* 균주의 항종양 활성 성분은 세포벽에 존재하는 것으로 알려져 있으며[2], 다른 연구 결과에 의하면 *Bifidobacterium*

*infantis*와 *Streptococcus thermophilus* 균주의 전세포나 세포벽 추출물이 항종양 활성을 나타낸다는 보고도 있다[4, 14] 또한 유산균의 사균 자체가 항종양 활성을 나타내는 것으로도 밝혀졌다[12].

이러한 유산균의 장내 미생물 균총의 개선에 의한 발암물질의 생성 억제능과 장내 면역계의 활성화에 의한 암세포 증식 억제능 이외에도 기초적인 생리활성은 유산균 세포 구성물질의 활용성 및 생균으로서의 적용 범위를 넓히는데 중요한 요소가 된다.

따라서 본 연구에서는 내산성, 내담즙성, 항생제 내성, 우유 배양능, 우유 배양액 내에서의 안정성, Caco-2세포 정착성, 유산균 세포 구성물질의 정착 증강능 등을 조사하므로써, 항암 활성능이 우수한 유산균주의 살아있는 균주로서의 이용성을 확인하는 데에 그 목적이 있다.

### 재료 및 방법

#### 공시균주 및 암세포주

본 연구에서는 전체 28균주의 유산균종을 이용하였으며, 그 중 상용균주는 9균주, 분리균주는 10균주, 표준균주는 9

\*Corresponding author

Tel: 82-31-660-9144, Fax: 82-31-668-0247

E-mail: eungryooll@maeil.com

균주이었다. 이러한 28균주를 대상으로 하여 항암역가가 우수한 5균주에 대해서 기초 생리활성능을 조사하였다. 항암역가가 우수한 본 실험에 이용된 균주는 *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* KCTC3099, *Bifidobacterium longum* ATCC15707, *B. infantis* Maeil-K9, *B. adolescentis* Maeil-K8이었다. 암세포주로서는 한국세포주은행(KCLB)에서 분양 받은 대장암 세포주 SNU-C2A(KCLB0000C2A)와 위암 세포주 SNU-1(KCLB00001)을 이용하였다.

### 내산성 및 내담즙성

내성 확인을 위한 기초 배지로는 modified MRS broth(L-cysteine-HCl, calcium chloride, sodium carbonate 함유)를 이용하였으며, 내산성은 HCl과 유산을 이용하여 각각 pH 3.0, 3.5, 4.0, 4.5로 조정된 것을 이용하였고, 내담즙성은 0.5%와 1.0% bile acid가 함유된 것을 이용하였다. 내산성과 내담즙성은 배지에 균 현탁액(OD<sub>610nm</sub> 1.0)을 0.1% 접종하여 37°C에서 배양하면서 분광광도계(Beckman, USA)를 이용하여 OD<sub>610nm</sub> 값을 측정하였다.

### 항생제 내성

항생제의 내성은 Micronaut(Merlin, Germany)의 MIC kit를 이용하여 MIC 농도를 측정하였으며, 검사에 이용된 12종의 항생제는 doxycycline, erythromycin, cotrimoxazol, ampicillin, linezolid, teicoplanin, vancomycin, imipenem, streptomycin, gentamycin, moxifloxacin, ciprofloxacin이었다.

### 우유 배양능 및 보존 안정성

우유의 배양능을 확인하기 위하여 11% 멸균환원탈지유, 1% glucose가 함유된 11% 멸균환원탈지유, 현재 매일유업에서 시판하고 있는 호상요구르트 base와 드링크요구르트 base를 이용하였다. 4종의 다양한 우유 base에 균 현탁액(OD<sub>610nm</sub> 1.0)을 2% 접종하여 37°C에서 15시간 호기배양하였으며, 이 때의 pH, 적정산도, 유산총균수를 측정하였다. 시험균주의 우유 base에서의 안정성을 확인하기 위하여 호상요구르트에 배양하여 시료를 냉각한 후 4°C와 20°C에 보존하면서 0, 3, 6, 9일차에 pH, 적정산도, 유산총균수를 측정하였다.

### Caco-2 세포 배양

Caco-2 세포는 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium)에 10% 불활성화된 FCS(fetal calf serum, JRH, USA), 1% non-essential amino acid(GibcoBRL, USA), 1% streptomycin/penicillin(5,000 IU/ml, GibcoBRL, USA)이 함유된 배지를 이용하여 배양하였다. 모든 배양은 37°C, CO<sub>2</sub> incubator(Forma 3546, Forma Scientific, USA)에서 5% CO<sub>2</sub>/95% air 조건으로 배양하였다. 완전한 monolayer가 형성될 때까지 매일 배지를 교환하

면서 현미경 관찰을 실시하였다.

### 정착능과 정착 증강능

Caco-2 세포에 대한 정착능 실험법은 24-well plate에 Caco-2 세포를 접종 배양하여 monolayer가 형성된 것을 Konishi 등[15]의 평판배양법(plating)을 응용하여 실험하였다. 균 현탁액의 준비는 직검법과 동일하게 하였다. 24-well plate에 monolayer가 형성된 Caco-2 세포를 PBS로 2회 세척한 후, 균 현탁액 100 µl에 FCS와 streptomycin/penicillin이 함유되지 않은 incomplete DMEM 0.4 ml를 혼합 첨가하였다. 접종된 well plate는 CO<sub>2</sub> 배양기에서 2시간동안 배양하였다. 배양 종료 후 PBS로 4회 세척하고 1% Triton X-100(Sigma, USA) 용액을 200 µl 첨가하여 10분간 교반한 후 다시 800 µl의 PBS를 첨가하였다. 전체 1 ml의 용액을 이용하여 0.85% saline 용액으로 침전희석하여 유산총균수를 측정하였다. Caco-2 세포에 대한 정착율은 다음과 같이 계산하였다.

시험균주의 정착율(%)

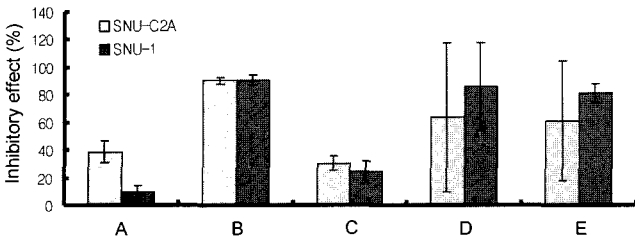
$$= (\text{정착후 잔여하는 유산총균수}/\text{초기 유산총균수}) \times 100$$

Caco-2 세포 monolayer에서의 정착 증강능은 균 현탁액 반응시에 공시시료 유래의 항암소재를 일정농도로 동시 반응시켰을 때의 정착균수를 측정하여 정착 증강의 유무를 판단하였다.

## 결과 및 고찰

### 항암 효과가 우수한 균종의 선발

시험에 이용된 균종을 선정하기 위하여 전체 28 균종 각각의 전세포 파쇄물, 세포벽, cytoplasm을 분리하여 대장암 세포(SNU-C2A)와 위암세포(SNU-1)에 대한 항암효과를 확인하였다. 전체 28 균종 중에서 특히적으로 우수한 성상을 보이는 5균종 유래 세포파쇄물의 항암효과를 재확인하였으며, 그 결과는 Fig. 1에 나타났다. 물리 및 효소처리된 전세포 파쇄물의 항암역가가 우수한 균주로는 *Lb. plantarum* KCTC3099와 *B. adolescentis* Maeil-K8 및 *B. infantis* Maeil-K9이었으며, 대부분이 암세포주 배양배지에 500 ppm 함유시 70% 이상의 항암역가를 가지는 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 *B. infantis*와 *Str. thermophilus* 균주의 전세포나 세포벽 추출물이 항종양 활성을 나타낸다고 보고한 Friend 등[4]의 결과와 일치하였다. 또한 이외에 Park 등[13]도 *Enterococcus faecalis*의 세포벽 성분인 중양세포 증식억제 효과가 있음을 보고한 바 있다. *L. lactis*와 *B. longum* ATCC15707의 항암역가가 처음보다 저조한 것은 특정 생산 공정에서의 cell mass 수집 및 사용 효소의 부적합에 의한 것으로 판단되어 진다. 또한 *L. lactis*와 *B. longum* ATCC15707은 생육이 어려우며, 대량생산시의 cell mass 수



**Fig. 1. Inhibitory effect of bacterial cell debris(500 ppm) to cancer cell line.**

A: *Lactococcus lactis*, B: *Lactobacillus plantarum* KCTT3099, C: *Bifidobacterium longum* ATCC15707, D: *Bifidobacterium adolescentis* Maeil-K8, E: *Bifidobacterium infantis* Maeil-K9.

집에 용이하지 않으므로 상용화에는 부적합한 것으로 판단되었다.

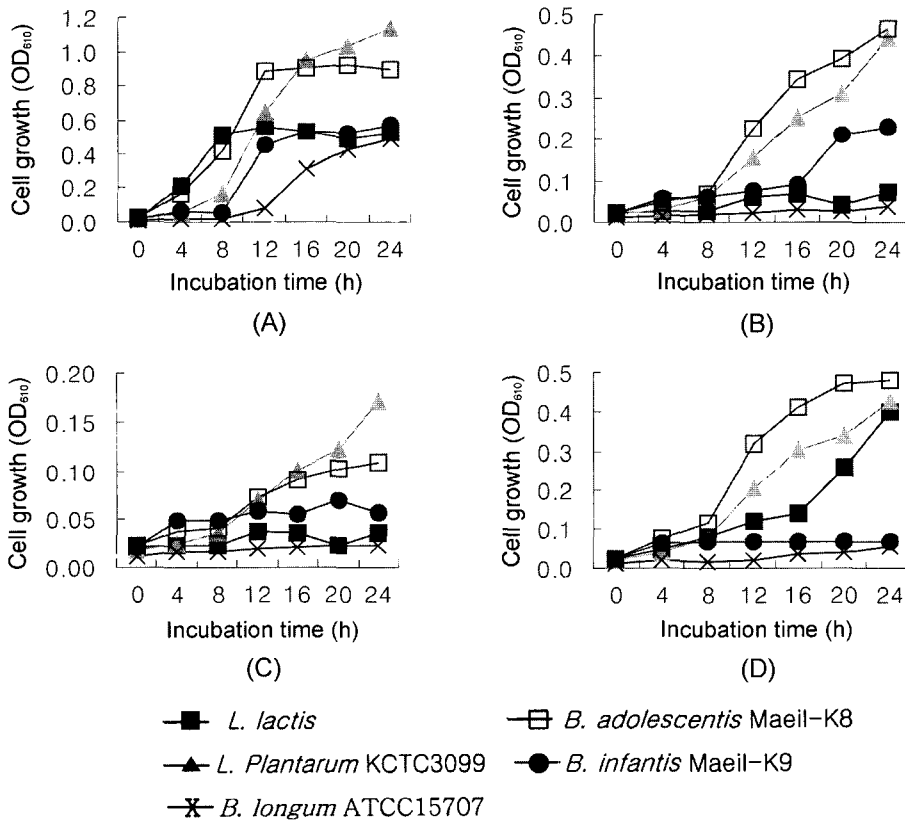
**내산성 및 내담즙성**

암세포주 억제능이 우수한 5 균주에 대한 내산성과 내담즙성은 Fig. 2에 나타냈다. 유산과 HCl을 이용하여 pH 3.0, 3.5, 4.0, 4.5로 조정된 액상배지에서의 내산성을 확인한 결과, pH 3.0의 조건에서 24시간 반응시에는 모든 시험균주에서 생육을 확인할 수 없었으며, *L. plantarum* KCTC3099,

*B. adolescentis* Maeil-K8, *B. infantis* Maeil-K9이 우수하였으며, *L. lactis*와 *B. longum* ATCC15707은 pH 4.5에서도 생육을 확인할 수 없었다. 또한 전반적으로 pH 4.5에서 HCl 보다는 유산의 OD 측정값이 낮은 것으로 보아 HCl보다는 유산에 의한 피해가 높은 것으로 판단되었다.

담즙산에 대한 내성을 비교한 결과에서는 내산성의 결과와 유사하게 나타났다. 담즙산에 대한 내성은 미생물이 생존한 상태로 장관에 도달하기 위한 기초적인 특성이며[3], Gilliland 등[9]은 유산균이 프로바이오틱 균주로서의 기능을 수행하려면 장내 담즙의 농도(0.6 g/l)보다 높은 함량의 담즙산이 함유된 배지에서 성장할 수 있는 내성을 가지고 있어야 한다고 보고하였다. 따라서 담즙산 농도 1.0%의 배지에서도 생육을 보이는 시험균주인 *L. plantarum* KCTC3099, *B. adolescentis* Maeil-K8, *B. infantis* Maeil-K9는 프로바이오틱 균주로서의 기본적 특성을 가지는 것으로 확인되었다.

내산성과 내담즙성에 대한 반응시간대별 흡광도 변화를 측정된 결과, 배양 24시간 경과후의 흡광도에서 대조구는 최고 OD<sub>610</sub> 1.1을 보인 반면, 처리구들은 OD<sub>610</sub> 0.5 정도의 수치를 나타낸 것으로 볼 때, 전반적으로 산성 물질 및 담즙산에 의해 저해를 받은 것을 알 수 있었다. 또한 대조구에



**Fig. 2. Acid and bile tolerance of selected strains depending upon incubation time.** (A) pH 6.0 medium, (B) pH 4.5 (HCl), (C) pH 4.5 (Lactic acid), (D) 0.5% bile acid.

**Table 1. Susceptibility of selected strains to broad spectrum antibiotics**

Antibiotics	Strains				
	<i>L. lactis</i>	<i>L. plantarum</i> KCTC3099	<i>B. longum</i> ATCC15707	<i>B. adolescentis</i> Maeil-K8	<i>B. infantis</i> Maeil-K9
Doxycyclin	<0.25*	<0.25	<0.25	≤4	≤1
Erythromycin	≤0.5	<0.5	<0.25	<0.5	<0.25
Cotrimoxazol	≤128	128<	<1	≤2	≤1
Ampicillin	≤1	<1	<1	<1	<1
Linezolid	≤0.5	≤1	<0.25	≤0.5	≤0.25
Teicoplanin	<0.25	32<	<0.25	≤0.5	≤0.5
Vancomycin	≤0.5	32<	<0.25	≤1	≤1
Imipenem	<0.25	≤2	<0.25	≤0.25	<0.25
Streptomycin	≤0.5	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25
Gentamycin	≤8	≤4	<0.25	≤16	≤16
Moxifloxacin	≤0.25	≤0.5	<0.0625	≤4	≤2
Ciprofloxacin	≤1	≤2	<0.125	≤4	≤4

\*Minimum inhibitory concentration (mg/l)

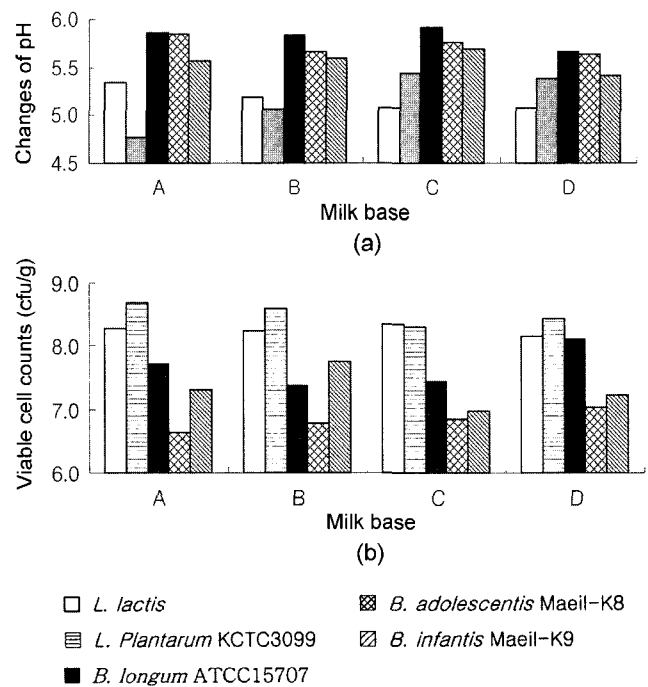
비해 처리구들의 유도기가 전반적으로 지연되는 것으로 확인되었다.

**항생제 내성**

치료 목적으로 섭취된 항생제에 의해서 프로바이오틱 균주가 사멸될 경우에 생체 내에서의 기능성이 낮아지게 되는데, 이러한 측면에서 항생제에 대한 내성은 매우 중요한 요소로 인식되고 있는 실정이다. 따라서 시중에서 이용되고 있는 12가지의 항생제에 대한 시험균주들의 MIC농도를 확인한 결과는 Table 1에 나타났다. *B. longum* ATCC15707균주를 제외하고는 *L. lactis*와 *L. plantarum* KCTC3099, 그리고 *B. adolescentis* Maeil-K8과 *B. infantis* Maeil-K9가 상호 보완적인 항생제 내성을 보유하고 있는 것으로 확인되었다. *B. adolescentis* Maeil-K8과 *B. infantis* Maeil-K9은 doxycyclin, gentamycin, moxifloxacin, ciprofloxacin에 대한 MIC농도가 높은 것으로 확인되었으며, *L. lactis*와 *L. plantarum* KCTC3099는 cotrimoxazol, teicoplanin, vancomycin 등에서 MIC 농도가 높은 것으로 확인되었다. 또한 이러한 상호 보완적인 연관성을 고려하여 혼합균주로서의 사용시에는 적용범위와 활용성이 극대화를 이룰 수 있을 것으로 판단되며, 항생제 내성을 이용한 선택배지를 개발하는 데에도 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

**우유 배양능 및 보존 안정성**

선정된 항암역가가 우수한 균주의 발효유 제품에서의 활용성을 확인하기 위하여 11% 멸균환원탈지유, 1% glucose가 함유된 11% 멸균환원탈지유, 현재 매일유업(주)에서 시판하고 있는 호상요구르트 base와 드링크요구르트 base를 이용하여 우유 배양능을 확인하였으며, 그 결과는 Fig. 3에 나타났다. 11% 멸균환원탈지유에서의 pH 변화는 *L. plantarum*



**Fig. 3. Fermentation of various milk base by strains tested.** A: 11% skim milk, B: 11% skim milk+1% glucose, C: Yoghurt base, D: Drink yoghurt base. (a) changes of pH during fermentation. (b) changes of viable cell counts.

KCTC3099가 배양 완료시점에서 pH 5.0 이하를 나타내므로 발효종균으로의 활용이 가능한 균주로 확인되었다. 또한 발효 base에 따라서 많은 차이를 보였으며, 이러한 현상은 균주의 당발효 패턴과 기초 특성에 따른 배양능의 차이인 것으로 사료된다. 배양 완료시점에서의 유산균수 변화를 측정된 결과, *L. plantarum* KCTC3099와 *L. lactis*가 2 log cycle 이상 증가된 것으로 확인되었으며, 실험에 이용된 모

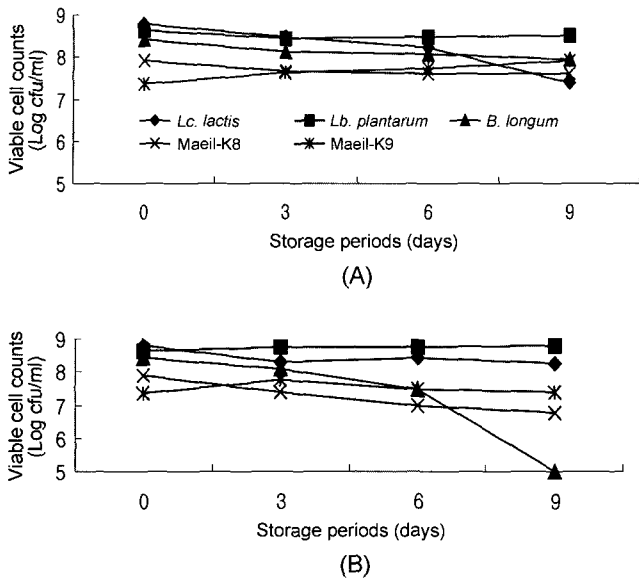


Fig. 4. Stability of selected strains on fermented milk base.

든 bifidobacteria는 초기 집중균수를 유지하거나 약 1 log cycle정도 증가된 것으로 확인되었다. 이러한 현상은 배양시의 대기 조건이 호기배양 조건이었기 때문에 균체 증식이 빨라진 것에 기인하는 것으로 사료된다.

배양된 호상요구르트 base에서의 유산균주의 생육 안정성을 확인하기 위하여 4°C와 20°C에 9일간 보존하면서 유산균수를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 4에 나타냈다. 냉장보관에서는 모든 실험균주들이 보존 9일동안 배양액에서 0.5 log cycle 이하의 균수 감소율을 보이므로서 대부분이 안정한 것으로 확인되었다. 또한 20°C 보존에서는 *B. longum* ATCC15707과 *B. adolescentis* Maeil-K8은 1 log cycle 이상이 감소되므로서 우유 배양액에서의 보존 중 생존성이 낮게 나타났으며, 이러한 균주들을 제외한 실험균주는 생존성이 우수한 것으로 확인되었다. 현재 시판되고 있는 발효유제품의 유산총균수 규격은 10<sup>8</sup> cfu/ml 이상으로 규정되어 있으므로[19] 정상적인 유통에서는 모든 균주의 발효유 활용이 가능할 것으로 판단되지만, 국내 유통 상황을 고려해 볼 때, 우유 배양액에서의 안정성이 낮은 균주는 활용 가치가 떨어질 것으로 판단되었다.

**Caco-2 세포 정착능과 함암물질의 정착 증강능**

프로바이오틱 유산균의 유용 효과는 이들 유산균이 장내에 정착하여 증식 및 서식할 수 있을 때 더욱 효율적이다[5, 25]. 따라서 인체 장상피세포와 매우 유사한 Caco-2 cell에 대한 정착능을 확인한 결과는 Fig. 5에 나타냈다. 실험균주 대부분의 정착능은 1% 이하로 매우 낮게 밝혀졌으나, *Bif. infantis* Maeil-K9의 Caco-2 cell에 대한 정착능은 3% 이상으로서 특이적으로 높은 것으로 확인되었다. 정착능이 낮은

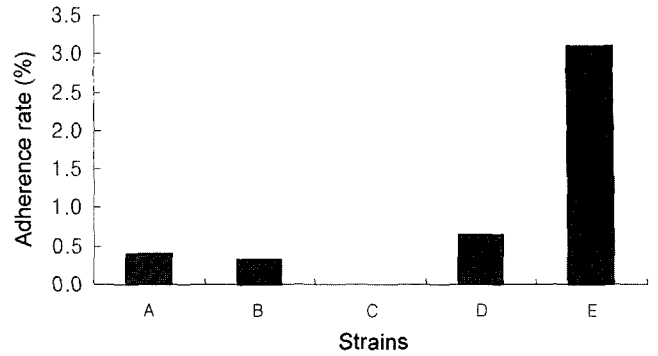


Fig. 5. Adherence ability of selected strains (1×10<sup>7</sup> cfu/well) to Caco-2 cell. A: *Lactococcus lactis*, B: *Lactobacillus plantarum* KCTT3099, C: *Bifidobacterium longum* ATCC15707, D: *Bifidobacterium adolescentis* Maeil-K8, E: *Bifidobacterium infantis* Maeil-K9.

유산균보다 우수한 유산균은 장내에서 유해균의 정착을 억제하고 면역체계를 증강시키는 능력이 높은 것으로 확인되고 있다. Bernet 등[1]은 유산균이 장상피세포에 부착하므로서 병원성균의 부착을 억제시킨다고 보고하였으며, Kaila[11]는 장상피세포에서의 거대분자 투과 억제효과를 보고하였다. 이러한 기작을 통하여 장 정착능이 우수한 균주들은 장내 부패성 세균의 생육에 의한 대장 내 발암 인자의 함량을 감소시킨다[17]. 따라서 이러한 정착능이 우수한 균주를 함암물질과 생균으로서 혼합 사용시에 그 효과는 극대화될 수 있을 것으로 판단된다.

세포 유래 물질 중에서 세포벽 성분을 포함한 peptidoglycan은 항균, 항암, 면역증강, 정착증강효과 등과 같은 많은 기능성을 가지는 것으로 확인되고 있다[6, 7, 22, 23]. 시험균주 유래 세포 파쇄물 대한 정착증강능을 확인한 결과는 Fig. 6에 나타냈다. 시험균주 유래 물질을 농도별로 반응시켰을 때의 정착능을 비교해 보면, *L. plantarum* KCTC3099는 500 ppm 농도까지 물질을 반응시켜도 정착능의 증가를 보이지 않았으며, *B. infantis* Maeil-K9은 매우 높은 증가폭을 나타냈다. 따라서 *Lb. plantarum* KCTC3099는 시험균주 유래 세포 파쇄물을 정착증강 인자로 이용하지 않는 반면, *B. infantis* Maeil-K9는 시험균주 유래 세포 파쇄물을 정착증강 인자로 이용하는 것으로 확인되었다. 이러한 현상은 여러 정착인자 중 균주 특이성에 의한 것으로 판단되어진다.

결론적으로, 유산균 세포 파쇄물의 항암 억제능이 우수한 유산균주를 프로바이오틱 균주로 활용하기 위한 기초 특성을 조사하기 위하여 각 시험균주의 내산성, 내담즙성, 항생제 내성, 우유 배양능, 우유배양액 안정성, 정착능, 정착증강능을 비교한 결과, *Lb. plantarum* KCTC3099과 *B. infantis* Maeil-K9 균주가 프로바이오틱 균주 및 세포 파쇄물의 함암소재로 이용이 가능한 것으로 확인되었다.

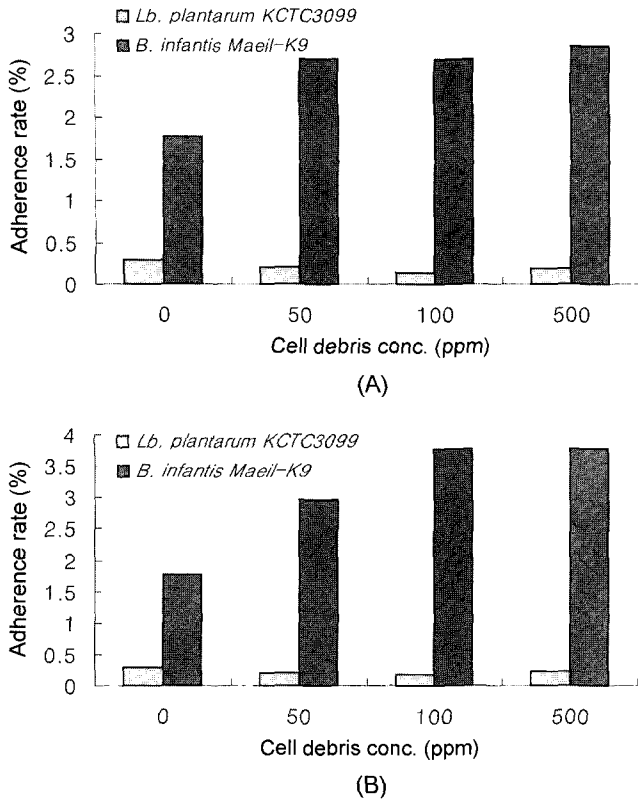


Fig. 6. Changes of adherence of selected strains ( $1 \times 10^7$  cfu/well) by cell debris sources. (A) cell debris from *Lb. plantarum* KCTC3099, (B) cell debris from *B. infantis* Maeil-K9.

요 약

항암 활성 유산균이 상용화되기 위해서는 장내 미생물균총의 개선에 의한 발암물질의 생성 억제능과 장내 면역계 활성화에 의한 암세포 증식 억제능 외에도 기초적인 생리활성능을 겸비하여야 한다. 본 연구는 항암 활성능이 우수한 유산균에 대한 기초 생리활성을 비교하므로써 살아있는 균주로서의 이용성을 확인하는데 그 목적이 있다. 암세포 억제율이 60% 이상인 5 균주를 이용하여 내산성, 내담즙성, 항생제 내성, 우유 적응능, 안정성, 정착능을 확인하였으며, 그 결과는 다음과 같다. 내산성은 *Lb. plantarum* KCTC3099를 제외하고는 pH 3.5 이하에서는 내성이 없었으며, 유산보다는 HCl에 대한 내성이 강한 것으로 나타났다. 항생제 MIC에서 *Lc. lactis*와 *Lb. plantarum* KCTC3099는 cotrimoxazol (128 mg/l), *B. adolescentis* Maeil-K8과 *B. infantis* Maeil-K9는 doxycylin과 gentamicin(4 mg/l)에서 내성이 높았다. Caco-2 세포에 대한 정착률은 *B. infantis* Maeil-K9 균주가 3.1%로서 가장 우수하였으며, 나머지 균주들은 0.5% 이하로 매우 낮았다. 우유 배양능은 모든 균주가 1 log cycle 이상의 균수 증가를 보였으나, *Lb. plantarum* KCTC3099를 제

외하고는 산 생성능이 낮게 나타났다. 또한 우유 base에서의 안정성은 *Lb. plantarum* KCTC3099와 *B. adolescentis* Maeil-K8 및 *B. infantis* Maeil-K9이 우수한 것으로 확인되었다. 따라서 *Lb. plantarum* KCTC3099와 *B. infantis* Maeil-K9 균주가 항암 활성을 가지는 살아있는 균주로서의 활용성이 우수한 것으로 확인되었다.

REFERENCES

- Bernet, M.F., D. Brassart, J.R. Neeser, and A.L. Servin. 1993. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 4121-4128.
- Bogdanov, I.G., P.G. Dalev, A.I. Gurevich, M.N. Kolosov, V.P. Mal'kova, L.A. Plemyannykova, and I.B. Sorokina. 1975. Antitumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. *FEBS Lett.* **57**: 259-261.
- Chung, H.S., Y.B. Kim, S.L. Chun, and G.E. Ji. 1999. Screening and selection of acid and bile resistant bifidobacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **47**: 25-32
- Friend, B.A., R.E. Farmer, and K.M. Shahani. 1982. Effect of feeding and intraperitoneal implantation of yogurt culture cells on Ehrlich ascites tumor. *Milchwissenschaft.* **37**: 708-710.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 365-378.
- Dziarski, R. 1986. In : *Biological Properties of Peptidoglycan*. H.P. Seidl and K.H. Schleifer (eds). pp.229-247, Walter De Gruyter, Berlin.
- Dziarski, R. 1991. Demonstration of peptidoglycan-binding sites on lymphocytes and macrophages by photoaffinity cross-linking. *J. Biol. Chem.* **266**: 4713-4718.
- Fernandes, C.F., K.M. Shahani, and M.A. Amer. 1987. Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacillic fermented dairy products. *FEMS Microbiol. Rev.* **46**: 343-356.
- Gilliland, S.E., T.E. Staley, and L.J. Bush. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.* **67**: 3045
- Hatcher, G.E. and R.S. Lambrecht. 1993. Augmentation of macrophage phagocytic activity by cell-free extracts of selected lactic acid-producing bacteria. *J. Dairy Sci.* **76**: 2485-2492.
- Kaila, M. 1993. Immune responses evoked by cow milk products in health and during rotavirus diarrhea. Univ. of Tampere. Acta uiversitatis Tamperensis ser A Vol 376.
- Kato, I., T. Yokokura, and M. Mutai. 1983. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Microbiol. Immunol.* **27**: 611-618.
- KFDA. 2002. Food code, *Korea Food and Drug Administration*, Seoul, Korea
- Kohwi, Y., Y. Hashimoto, and Z. Tamura. 1982. Antitumor and immunological adjuvant effect of *Bifidobacterium* in mice. *Bifidobacteria Microflora.* **1**: 61-66.

15. Konishi, Y.S., K. Shibata, S.S. Yun, Y.H. Kudo, K. Yamaguchi, and S. Kumagai. 1996. Immune functions of immunoglobulin Y isolated from egg yolk of hens immunized with various infectious bacteria. *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**: 886-888.
16. Miettinen, M., J.V. Varkila, and K. Varkila. 1996. Production of human tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, and interleukin-10 is induced by lactic acid bacteria. *Infect. Immun.* **64**: 5403-5405.
17. Mizota, T., Y. Tamura, M. Tomita, and S. Okonogi. 1987. Lactulose as a sugar with physiological significance. *Int. Dairy Fed. Bull. Doc. No.212*.
18. Namioka, S., T. Sasaki, and Y. Maede. 1991. Immunopotential of the small intestine of weaning piglets by peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *Bifidobacteria Microflora.* **10**: 1-9.
19. Park, S.J., C.H. Kim, Y.J. Baek, D.S. Lim, and S.K. Yoo. 1998. Isolation and identification of *Enterococcus faecalis* 2B4-1 containing antitumor substances. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.* **26**: 471-475.
20. Perdigon, G., M.E. Nader de Macia, S. Alvarez, G. Oliver, and A.A. Pesce de Ruiz Holgado. 1987. Enhancement of immune responses in mice fed with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* **70**: 919-926.
21. Reddy, G.V., K.M. Shahani, and M.R. Banerjee. 1973. Inhibitory effect of yoghurt on Ehrlich ascites tumor cell proliferation. *J. Natl. Cancer Inst.* **50**: 815-820.
22. Sasaki, T., Y. Maede, and S. Namioka. 1987. Immunopotential of the mucosa of the small intestine of weaning piglets by peptidoglycan. *Jap. J. Vet. Sci.* **49**: 235.
23. Sasaki, T., S. Fukami, and S. Namioka. 1994. Enhanced resistance of mice to *Escherichia coli* infection induced by administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *J. Vet. Med. Sci.* **56**: 433-437.
24. Shahani, K.M., B.A. Friend, and P.J. Bailey. 1983. Antitumor component(s) of fermented colostrum and milk. *J. Food Protect.* **46**: 385-393.
25. Simon, G.L. and S.L. Gorbach. 1986. The human intestinal microflora. *Dig. Dis. Sci.* **31**: 1475-1625.

(Received Sep. 15, 2003/Accepted Nov. 20, 2003)