

당뇨병 치료 보조식품으로서의 Kefir의 이화학 특성

이종익 · [†]송광영* · 천정환* · 현지연* · 서건호*

건국대학교 동물생명과학대학 축산식품생물공학전공

^{*}건국대학교 수의과대학 공중보건학전공

Physicochemical Properties of Kefir as Dietary Supplementary for Curing the Diabetic Mouse

Jong-Ik Lee, [†]Kwang-Young Song*, Jung-Whan Chon*, Ji-Yeon Hyeon* and Kun-Ho Seo*

Dept. of Food Science & Biotechnology of Animal Resources, College of Animal Bioscience & Technology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

^{*}Dept. of Public Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the physicochemical properties of Kefir. The general composition of Kefir cultured in skim milk or milk was, respectively, 90.0 and 87.8% water, 3.2 and 3.0% protein, 0.45 and 3.64% lipid, 3.96 and 4.14% lactose, and 0.77 and 0.68% ash. Titratable acidity(TA) and pH of Kefir were 0.77 and 4.55, respectively. The amount of CO₂ production was 6.23%, and the concentration of alcohol was 1.4%. Kefir grain as observed by scanning electron microscope was a complex mixture of lactic acid bacteria and yeast in a symbiotic association.

Key words: Kefir, physicochemical properties, CO₂, alcohol, SEM.

서 론

Kefir는 본래 Caucasus 산간지방의 중앙부에 살고 있는 오세치아인에 의한 자연발효 유제품으로서 구소련에서 많이 소비되고 있는 발효유의 일종으로 유산균 이외에 효모의 알코올 발효로 유산이나 알코올을 비롯한 기타 독특한 취향을 가지고 있는 제품이다(Ismail 등 1983; Kemp N 1984; Guzel-Seydim 등 2000; Wang 등 2008).

Kefir는 Kefir grain을 starter culture로 첨가하여 만들며, *Saccharomyces kefir* 및 *Streptococcus cremoris*와 *Betabacterium caucasicum* 등으로 구성된 미생물과 이들로부터 만들어진 수용성 polysaccharides를 포함하는 것으로 알려져 있다(Duitschaever 등 1987; Assadi 등 2000; Beshkova 등 2002). 우유 이외에도 양유, Bufallo유와 낙타유 등으로도 제조하며, 러시아에서는 1인당 연간 소비량이 약 5 kg 정도 된다고 한다(Ismail 등 1983; Kemp N 1984; Baek YJ 1993; Kang KH 2002;

Lim KS 2002).

Kefir grain은 안쪽으로는 yeast, 밖으로는 유산균이 혼합되어 공생을 이루고 있는 점성의 polysaccharide로서 황백색의 팝콘 모양의 부정형이며 우유의 수분을 흡수하여 부피가 커지는 특성을 가지고 있다(Hirota & Kikuchi 1976; Olsson G 1981). Kefir의 알코올 발효에 관여하는 효모는 그 관능적 이화학적 특성상 매우 중요하며, 대장균에 대하여 항균 작용을 한다. 현재까지 알려진 Kefir의 기능으로는 항암 작용(Shiomi 등 1982), 항균 작용(Cevikbas 등, 1994), 면역 강화 작용(Thoreux & Schmucker 2001), 항스트레스 작용(Kabayama 등 1997), 건강 증진 효과(Otle & Cagindi 2003), 소화 향상 기능(Safonova 등 1979) 등에 관해서 보고는 있었지만, 국내는 물론 해외에서도 Kefir 섭취 요법에 의한 당뇨병의 치료 효과에 관한 연구는 거의 없는 현실이다. 따라서 본 연구의 목적은 Kefir의 특성을 조사하여 당뇨병 치료 보조식품으로서 이용 가능성을 규명하는 데 있다.

[†] Corresponding author: Kwang-Young Song, Dept. of Public Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: +82-2-450-4121, Fax: +82-2-3436-4128, E-mail: drkysong@gmail.com

재료 및 방법

1. 공시 Kefir Grain

Kefir grain은 일본공립여자대학 증택연구실에서 분양 받아 23°C(Incubator, Sanyo, MIR-253, Japan)에서 48시간 계대 배양하여, 활력이 좋은 Kefir grain을 냉장 보관하면서 실험에 이용하였다.

2. Kefir Grain의 배양 조건

탈지유 배지를 무균 처리된 Whirl-pack(Nasco: B01065, MI, USA)에 10% 용액 100 ml를 정량하였으며, 여기에 Kefir grain 5 g을 접종하여 23°C에서 배양하면서 6시간 간격(Guzel-Seydim 등 2000)으로 다음의 항목을 검사비교하였다.

3. Kefir의 일반성분 측정

1) 단백질 측정

A.O.A.C(1995) 방법에 의해서 단백질은 micro-Kjeldahl법을 이용하여 질소 함량을 구한 후 여기에 질소계수 6.38을 곱하여 측정하였다.

2) 지방 측정

A.O.A.C(1995) 방법에 의해서 지방은 Röse-Gottlieb법을 이용하여 측정하였다.

3) 유당 측정

유당 측정은 Waters Alliance System 2690(Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였으며, 분석 조건은 Table 1과 같다. 시료 5 ml를 채취하여 여기에 3차 증류수 20 ml 첨가 후 acetonitrile을 사용하여 50 ml로 맞춘 다음, 35°C에서 10,000 rpm에서 10분간 원심분리(J2-21M/E, Centrifuge, Bekman, Memphis, TN, USA)하여 주사기로 적정량 분취하여 0.45 µm PVDF filter (Gelman laboratory, Ann Harbor, MI, USA)로 여과하여 분석에 사용하였다. 유당표준용액(Sigma, USA)은 0.1%, 0.3%, 0.5% (w/w)로 제조하였으며, 이를 3차 증류수 40 ml에 acetonitrile

Table 1. Operating conditions of HPLC

Items	Condition
Instruments	Waters Alliance System 2690(Waters, USA)
Column	Carbohydrate(Waters, USA)
Detector	RI
Flow rate	1.4 ml/min
Injection volume	250 µg
Mobile phase	Pure water 25%, acetonitrile 75%

으로 100 ml로 맞춘 후 사용하였다.

4) 수분 측정

A.O.A.C(1995) 방법에 의해 칭량용기에 Kefir 발효유 5 g을 넣고 105°C에서 24시간 건조 후 무게를 측정하여 고형분 함량을 산출하였다.

5) 회분 측정

A.O.A.C(1995) 방법에 의해 Kefir 발효유 5 g을 550°C로 회화한 후 회백색의 회분을 측정하여 회분 함량을 산출하였다.

4. 적정 산도 및 pH

1) 적정 산도

적정 산도는 A.P.H.A(1993) 방법에 따라 시료 9 g, 증류수 18 g, phenolphthalein 지시약 0.5 ml를 첨가 후 0.1 N NaOH로 적정하여 계산하였다.

2) pH

pH는 pH meter(HANNA instruments: HI-8418, Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다.

5. 탄산가스 함량

탄산가스의 측정은 탄소분석기(Combi Chec9800-1, Ringsted, Denmark)를 이용하여 측정하였다.

6. 알코올 측정

알코올 농도는 Kefir 100 ml를 Amerine 등(1967)의 방법에 따라 6시간 간격으로 수증기 증류하여 취한 Kefir 증류액을 이용하였으며, 알코올 측정은 Gupta 등(1989)의 산화법을 이용하여 ethanol 농도를 측정하였다. Kefir 100 ml를 취한 후 증류 장치를 이용하여, 증류한 10 ml의 증류액에 0.1 N KMnO₄

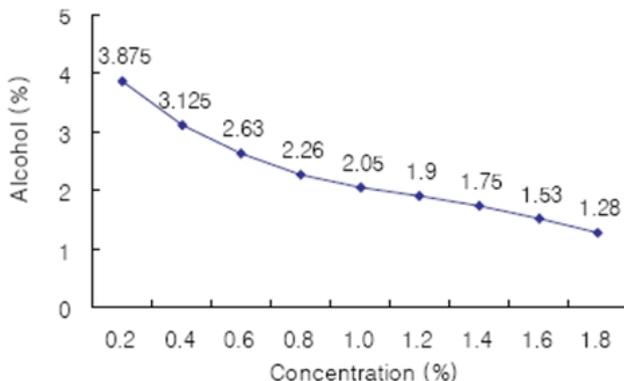


Fig. 1. Standard curve of alcohol concentration.

10 ml, 4 N H₂SO₄ 10 ml를 각각 첨가하고 밀봉하여 암소에서 24시간 정치시킨 후 0.1 N oxalic acid로 KMnO₄를 적정한 다음 표준곡선에 의하여 알코올 함량을 계산하였고, 표준곡선은 Fig. 1과 같다.

7. 지방산 조성 측정

Chloroform과 methanol의 1:1(v/v) 혼합액을 첨가하여 지질을 추출하고, 0.8% KCl 용액으로 chloroform 층을 분리, 농축한 후 지방에 0.5 N NaOH methanol을 첨가하고, 재 순환하여 BF₃ 용액을 첨가한 다음 boiling하고, heptane 용액을 첨가한 다음 boiling 포화 NaCl을 채운 후 혼합하여 heptane층 1 ml를 채취하여 GC(HP-5890series II, Hewlett-Packard Company, USA)로 측정하였다(Table 2).

8. 아미노산 측정

시료 40~80 g을 취하여 6 N HCl 15 ml를 첨가한 다음 heating block에서 110°C로 22~24시간 가열하여 감압 농축한 후 이것을 전처리 시료로 하였으며, SYKAM amino acid analyzer(SC430, KYKAM GmbH, Germany)의 분석 조건은 Table 3과 같다.

9. 단백질 농도 측정

단백질 농도는 Bradford MM(1976)의 방법에 따라, 시료 20

Table 2. Operating conditions of gas liquid chromatography

Items	Condition
Instruments	HP-5890 Series II & Autosampler
Carrier gas	H ₂ (1 ml/min)
Column	OmegaWax-320(30 m×0.32 mm×0.25 μm)
Split ratio	99:1
Injector temperature	240°C
Detector temperature	250°C

Table 3. Operating conditions of amino acid analyzer

Items	Condition
Instruments	SYKAM amino acid analyzer(SC430)
Waiting time	3.0 min
Column dimension	150×4.6 mm(SYKAM LCA K 06/Na)
Reagent flow rate	0.25 ml/min
Buffer flow rate	0.45 ml/min
Reactor temperature	130°C
Reactor insert	0.3×1.6 mm, length: 16 m
Switching reagent/H ₂ O	58.0 min
Analysis time	73 min(Programmed via S5200)

μl에 Dye Reagent Concentrate(Bio-Rad Protein Assay, USA) 1 ml를 첨가한 후에 spectrophotometer(UVIKON 933, Italy)를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량의 계산은 BSA(Bovine Serum Albumin, USA)로 동일한 조건 하에 구한 표준곡선을 이용하여 계산하였다.

10. SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

Kefir 시료의 전기 영동은 Laemmli(1970)의 방법을 수정하여 다음과 같이 실행하였다. Mini-protein 장치(Bio-Rad, USA)에 separating gel(Acryl-amide-Bis 4.16 ml, 1.5M Tris-HCl(pH 8.8) 3.125 ml, SDS 10% 0.125 ml, Ammonium persulfate(1%) 0.425ml, TEMED 5 μl, distilled H₂O 4.65 ml)을 만든 후에 stacking gel(Ammonium persulfate(1%) 0.5 ml, 1.25M Tris-HCl(pH 6.8) 0.5 ml, SDS 10% 0.05 ml, TEMED 5 μl, distilled H₂O 2.5 ml)를 만들었다. 시료 0.1 g을 취하여 가용화용액 1 ml를 섞은 후에 100°C에서 2분간 가열 후 냉각시킨 다음 150 mA로 1시간 전기 영동하였다. 전기 영동 후 gel은 Coomassie Brilliant 염색액에 약 10분간 염색시킨 다음 10% acetic acid와 20% methanol로 된 탈색액으로 단백질이 선명하게 보일 때까지 탈색하였고, UVP Imagestore 7500(VilberLourmat, France)로 촬영하였다.

11. SEM에 의한 Kefir의 유산균과 효모의 관찰

Kefir grain의 주사 현미경(Scanning Electron Microscope, Model S-3000N, Hibachi, Japan)을 이용한 관찰을 위하여 전처리는 0.25%(v/v) glutaldehyde(C₃H₈O₂, diluted with 0.1 M phosphate buffer, Electron Microscopy Sciences, USA)로 10분간 20°C에서 고정하였다. 고정된 Kefir grain은 50, 60, 70, 80, 95%의 ethanol을 사용하여 10분간 1회씩, 다시 100% ethanol에서 10분간 2회에 걸쳐 탈수를 한 다음 HMDS(hexamethyl-disilazane, C₆H₁₉NSi₂, EMS, USA)로 20분간 1회 치환하여 대기 중에서 건조시켰다. 건조된 Kefir grain을 알루미늄 표본대에 도말하고 Ion Sputter(E-1010, Hitachi, Japan)를 사용하여, 0.7 nm 두께로 gold coating(13 mA, 0.7 Torr, 70 s)하여 촬영하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분 분석

환원탈지유와 우유에서 배양한 Kefir 발효유의 일반성분은 Table 4와 같다. 수분이 각각 90.02, 87.84%였고, 단백질은 3.23, 3.00%, 지질은 0.45, 3.64%, 유당은 3.96, 4.14% 그리고 회분은 0.77, 0.68% 포함된 것으로 나타났다. Kefir의 일반성분은 사용한 배지원료의 성분에 따라 달라지는 것으로 고찰되었다.

Table 4. The general composition of skim milk-Kefir and whole milk-Kefir

	Protein	Fat	Lactose	Water	Ash
Skim milk-Kefir	3.23	0.45	3.96	90.02	0.77
Whole milk-Kefir	3.00	3.64	4.14	87.84	0.68

2. 적정 산도 및 pH 측정

1) 적정 산도

적정 산도의 변화는 Fig. 2와 같았다. Kefir grain을 우유에 배양 시 적정 산도는 0.15%에서 서서히 증가하여 배양 후 30 시간에는 약 0.77%로 증가하고, 이후 48시간까지 더 이상 증가하지 않고 일정하게 나타났다.

2) pH 측정

pH의 변화는 Fig. 3과 같았다. Kefir culture의 초기 pH 6.58이 시간이 지남에 따라 감소하여 36시간 후에는 4.55로 감소하였고, 이후 48시간까지 거의 변함이 없었다. 적정 산도와 pH는 48시간 이후에도 일정한 수준을 유지하였으며, 이러한 배양후의 Kefir culture의 산도는 시판 요구르트보다 낮은 것으로 나타났으며, pH는 요구르트의 pH와 거의 같은 정도로 감소한 것으로 분석되었다.

3. 탄산가스 생성

탄산가스의 변화는 Fig. 4에 나타낸 바와 같이, 0시간에는

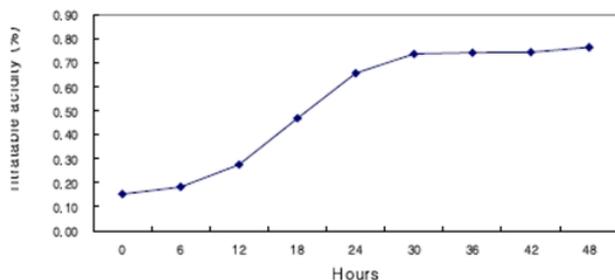


Fig. 2. Change of titratable acidity by Kefir grain.

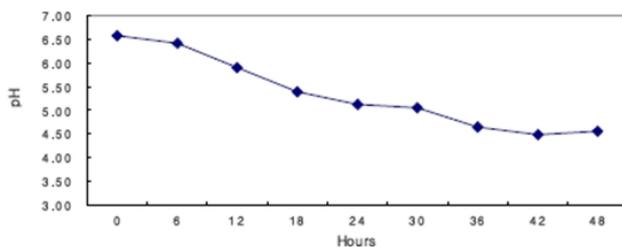


Fig. 3. Changes of pH by milk-Kefir grain during fermentation.

0.55%이었던 것이 배양 시간이 경과함에 따라 비례하여 48시간대에는 62.3%로 증가하였다. 72시간 후에는 탄산가스가 약 80%까지 증가하는 것으로 측정되었으나(data not shown), 일반적으로 배양 시간이 48시간이 지나면 유청의 분리가 발생하고 Kefir grain이 견고하게 되어 기호성이 떨어지므로 48시간까지만을 표시하였다. 이러한 탄산가스의 증가는 효모에 의해서 발생하는 것으로 Kefir를 밀봉한 제품으로 상품화하는데 지장을 초래하는 요인으로 지적되고 있다.

4. 알코올 함량

Kefir의 배양 중에 생성되는 알코올 함량을 측정한 결과는 Fig. 5에 나타낸 바와 같다. 배양을 시작하여 6시간 후부터 알코올 생성이 확인되었고, 시간의 경과와 함께 직선적으로 증가를 하여 48시간에는 1.4%의 농도를 보였으며, 이후는 더 이상 증가하지 않는 일정한 농도를 나타냈다. Marshall& Cole (1985)이 보고한 알코올 농도인 1% 보다는 약간 높은 것으로 나타났으며, 전통적인 Kefir의 평균 알코올 농도인 0.5~1.5%와 같았다. 이상의 배양 시간에 따른 Kefir의 적정 산도, pH, CO₂, 알코올 농도의 결과로부터 판단하여 볼 때 약 30~36시간 정도의 배양 시간이 적합한 것으로 고찰되었다.

5. 지방산 조성

Kefir의 지방산 조성은 Fig. 6에 나타낸 바와 같이 oleic acid

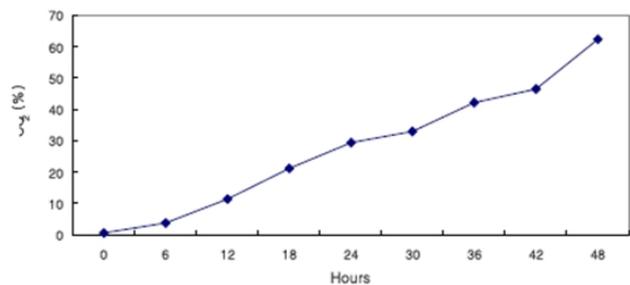


Fig. 4. Changes of CO₂ by milk-Kefir grain during fermentation.

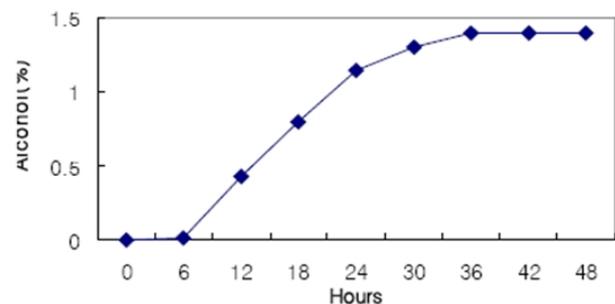


Fig. 5. Changes in alcohol concentration of milk-Kefir grain during fermentation.

와 palmitic acid가 주요 지방산으로 약 50%의 함량을 차지하였으며, stearic acid를 포함하여 이들 지방산은 같이 비교한 skim milk보다 배양 후 증가되었으며, 전체적으로는 탄소수가 14개에서 18개 사이의 지방산이 많이 포함된 것으로 나타났다. 이러한 지방산들의 증가는 Kefir의 독특한 풍미를 증진시키는데 관여하는 것으로 생각된다. Linoleic acid(C-18:2n-6)를 출발 물질로 하는 ω -6계열과 linolenic acid(α -linolenic acid;

C-18:3n-3)를 출발물질로 하는 ω -3계열의 장쇄다가불포화지방산은 세포막 구성물질이고, 또 각종의 생리기능을 갖는 eicosanoids의 전구물질로서 충분하며(Bukhgalter FL 1974; Safonova 등 1979; Shiomi 등 1982), Kefir 중의 필수지방산들도 이러한 기능 작용을 할 것으로 생각된다. Skim milk와 Kefir 배양 액상의 linoleic acid(C-18:2n-6)는 약 2.5% 정도로 동일한 함량을 나타냈고, 여기에 비하여 적은 양이나마 ω -3계열의 linolenic acid(α -linolenic acid; C-18:3n-3) 및 ω -6계열의 arachidonic acid는 skim milk보다 증가한 것으로 나타나, Kefir가 영양학적으로 우수한 지방산들을 포함하고 있는 것으로 판단되었다. 이러한 결과는 Kefir 중에 있는 균체들에 의한 linoleic acid계와 linolenic acid계의 대사기구의 차이에 의한 것으로 고찰된다. Kefir의 불포화지방산의 함량은 Fig. 7에 나타낸 바와 같이 단일불포화 지방산 함량이 약 20%이고, 다중불포화 지방산은 약 3.5%를 차지하였으며, ω -6의 비율이 skim milk보다 많은 것으로 나타났다. Bang 등(1971)에 의해 심근경색이 음식물의 지방 중에 ω -6계열과 ω -3계열의 비율에 관련된다고 지적된 이래 다가불포화지방산과 성인병의 관련이 주목되어 많은 연구가 진행되고 있으며, (ω -6)/(ω -3) 비율은 영양상 중요한 지표로 되어 있다. ESPGAN영양위원회(1991)에서는 조제유의 경우에 (ω -6)/(ω -3) 비율을 5~15로 권장하고 있다. Kefir의 경우는 이 비율이 약 13 정도의 수치로 계산되었으며, 이러한 지질성분의 함량이 높은 결과들은 Kefir가 건강식품으로서의 가치가 있음을 시사하였다(Thoreux & Schmucker 2001).

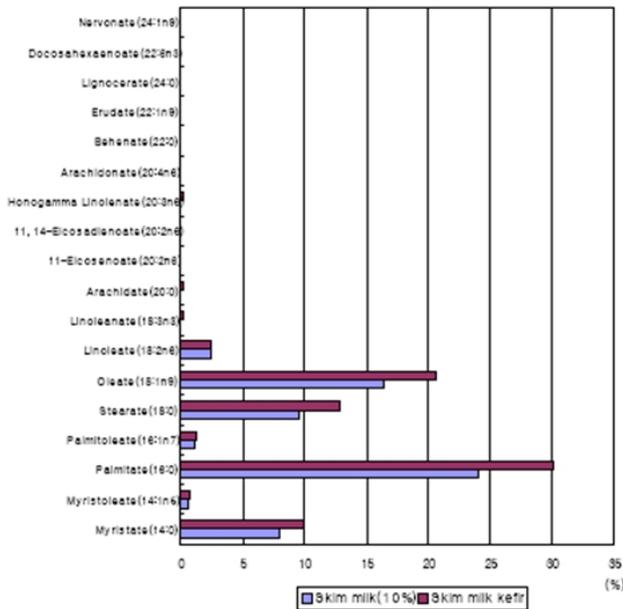


Fig. 6. Fatty acid compositions of skim milk Kefir and skim milk.

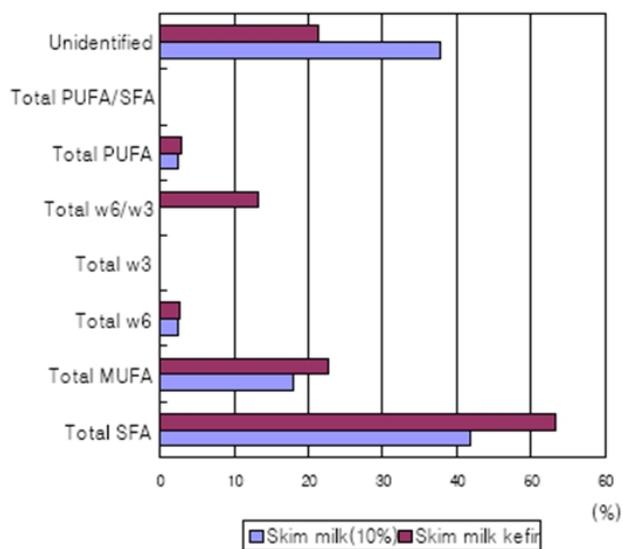


Fig. 7. Fatty acid rate of skim milk Kefir and skim milk. PUFA: polyunsaturated fatty acid, SFA: saturated fatty acid, MUFA: monounsaturated fatty acid, ω : omega.

6. 아미노산 조성

Kefir의 아미노산 조성은 skim milk와 같이 Glu와 Pro이 주요 아미노산으로 나타났으며, Arg은 특히 skim milk에 비하여 배양 후 2배 이상 높은 것으로 나타났고, Lys도 약 1.5배 높은 것으로 나타났다. Skim milk와 비교해 볼 때, 이러한 Glu과 Pro, Arg, Lys은 Kefir의 독특한 풍미와 좋은 맛에 관여할 것으로 판단된다. 기타의 아미노산은 skim milk와 비교할 때 거의 비슷한 함량으로 고른 분포를 나타냈으며, Cys과 Met은 검출되지 않는 정도로 포함된 것으로 관찰되었다(Fig. 8).

7. SDS-Polyacrylamide Electrophoresis

Kefir를 23°C incubator에서 48시간 계대 배양하여 생긴 Kefir grain을 전기 영동 시료로 하였으며, 시료 0.1 g에 가용화용액 1 ml를 섞은 후에 100°C에서 2분간 가열하고 냉각시킨 후 이용하였다. Kefir grain의 단백질을 10% SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 전기 영동한 결과는 Fig. 9와 같다. Kefir grain의 주요 단백질 band는 85kDa, 35kDa, 8kDa 등으로 나타났으며, Kefir grain을 24시간, 36시간, 48시간 배양하였을 때 새롭게 나타난 band는 관찰되지 않았다. Abraham & De Antoni(1999)

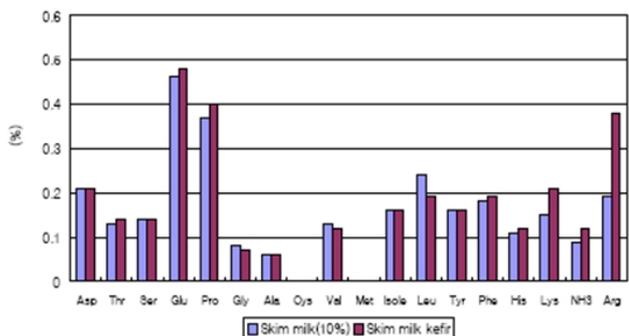


Fig. 8. Amino acid composition of skim milk Kefir and skim milk.

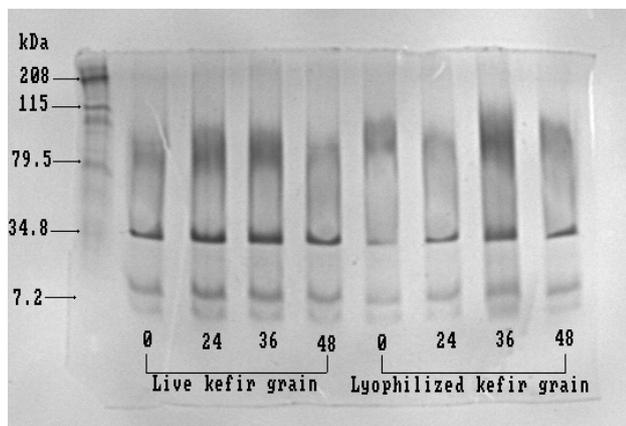


Fig. 9. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis patterns of milk Kefir.

에 의하면 76kDa, 36kDa과 주요 band로 55kDa가 출현하는 것으로 나타났으나, 본 실험에서는 55kDa band가 검출되지 않았다(Fig. 9). 이러한 결과는 배양 조건에 따른 균총 조성의 변화에 따라 단백질의 생성 결과가 틀려질 수 있다는 것을 보여준다. 따라서, 동일한 결과를 얻기 위하여는 동일한 접종균의 종류와 수를 같게 한 위에 배양액 성분과 배양조건이 같아야 동일한 결과를 얻을 수 있다고 생각된다. 또한, Kefir의 배양에 따라 생성하는 band가 Kefir의 기능을 나타내는 단백질로 기대되는 측면도 있으나, 미량으로 전기 영동상에서 검출되지 않을 가능성도 있으므로 이를 위해 acrylamide gel의 농도를 달리한 gradient gel을 만들어 단백질 농도를 증가시켜 다각적으로 검토할 필요성이 있다고 판단되었다.

8. 유산균과 효모균 SEM 관찰

Kefir grain의 유산균과 효모 관찰은 주사현미경(SEM, Scanning Electron Microscope)을 이용하였다. 주사현미경상에 의해 Kefir grain에서 유산균으로 보이는 간균과 효모균이, Kefir grain 내부에는 단간균(Fig. 10)이, 외부에는 장간균(Fig. 11)이 관

찰되었다. 그리고 효모(Fig. 12)는 대부분 Kefir grain 외부에서 관찰되었다. Kefir grain의 외부 구조는 Fig. 13과 같다. Kefir

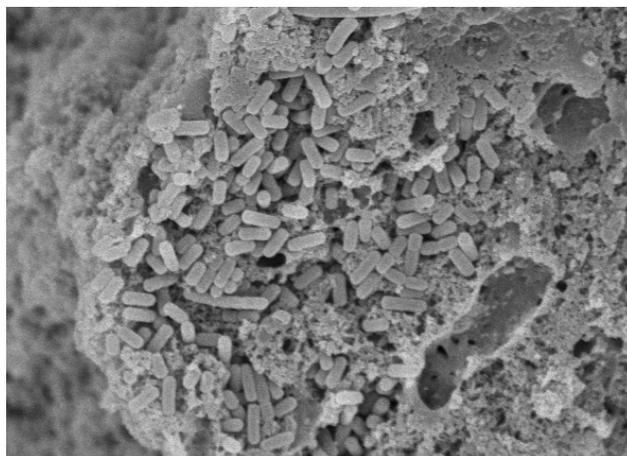


Fig. 10. Scanning electron microscopic image of the inside of Kefir grain(×8,000).

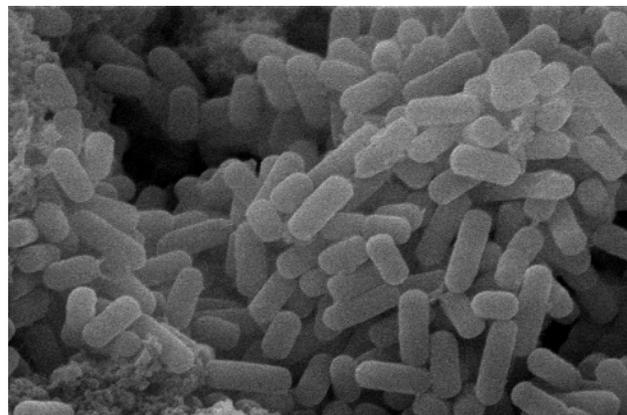


Fig. 11. Scanning electron microscopic image of lactic acid bacteria of Kefir grain(×8,000).

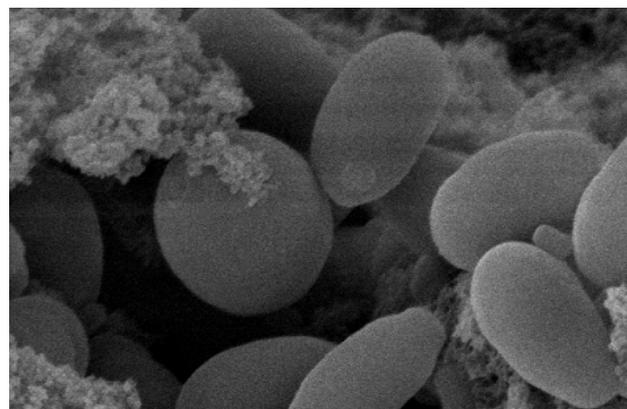


Fig. 12. Scanning electron microscopic image of yeast of Kefir grain(×9,000).

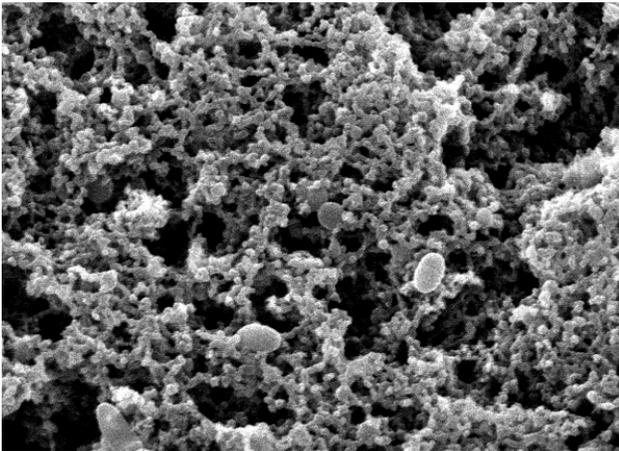


Fig. 13. Scanning electron microscopic image of the outside of Kefir grain($\times 9,000$).

는 유산균과 효모균이 혼합 공생을 이루고 있다고 보고한 Liu & Moon(1983) 결과와 같이 Kefir grain에서는 유산균과 효모균의 혼합 공생하고 있는 것을 쉽게 관찰할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 Kefir의 이화학적인 특성을 측정하여 Kefir가 당뇨병 치료 보조식품으로의 가능성을 규명하고자 Kefir의 이화학적인 특성을 조사하였다. 탈지우유(skim milk)와 우유에서 배양한 Kefir의 일반성분은 수분이 각각 90.02, 87.84%, 단백질은 3.23, 3.00%, 지질은 0.45, 0.64%, 유당은 3.96, 4.14% 그리고 회분은 0.77, 0.68%이었다. Kefir의 48시간 배양시 적정 산도는 0.77%였고, pH는 4.55이었다. CO₂의 생성량은 62.3%였고, 알코올 함량은 1.4%이었다. 주사현미경상에서 Kefir grain에는 유산균과 효모균이 혼합 공생하고 있는 것으로 관찰되었다.

참고문헌

Abraham AG, De Antoni GL. 1999. Characterization of Kefir grains grown in cow's milk and soya milk. *J Dairy Research* 66:327-333

Amerine MA, Berg HW, Cruess WW. 1967. The Technology of Wine Making. 2nd ed. p696. AVI Company Inc

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis 13th ed. pp.125-132. The Association of Official Analytical Chemists

APHA. 1993. Standard Methods for the Examination of Dairy Products 16th ed. pp. 100-105. American Public Health Association

Assadi MM, Pourahmad T, Moazami N. 2000. Use of isolated Kefir starter cultures in Kefir production. *World J Microbiol Biotechnol* 16:541-543

Baek YJ. 1993. Lactic acid bacteria and human health. *Korean J Food & Nutrition* 6:53-65

Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AB. 1971. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic West-Coast Eskimos. *Lancet*: 1143-1146

Beshkova DM, Simova ED, Simov ZI, Frengoca GI, Spasoc ZN. 2002. Pure cultures for making Kefir. *Food Microbiol* 19: 537-544

Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Anal Biochem* 72:248-254

Bukhgalter FL. 1974. Use of Kefir in complex treatment of children with biliary tract diseases associated with diseases of the pancreas. *Pediatr Akus Ginekol* 6:15-17

Cevikbas U, Izzettin FV, Ayca B, Uras F, Uysal V, Yardimci T, Stohs SJ. 1994. Nephrotoxicity of gentamicin and co-trimoxazole combination in rats. *General Pharmacology* 25: 1185-1189

Duitschaever CL, Kemp N, Emmons D. 1987. Pure culture formation and procedure for the production of Kefir. *Milchwissenschaft* 42:80-82

ESPGHAN Committee on Nutrition. Committee Report. 1991. (Aggett PJ, Haschke F, Heine W, Hernell O, Koletzko B, Launiala K, Rey J, Rubino A, Schöch G, Senterre J, Tormo R). Comment on the content and composition of lipids in infant formulas. *Acta Paediatr Scand* 80:887-896

Gupta KKS, Adhikari M, Gupta SS. 1989. Kinetics of oxidation of ethanol by potassium permanganate in perchloric acid medium. *React Kinet Catal Lett* 38:313-318

Guzel-Seydim Z, Seydim AC, Greene AK. 2000. Organic acid and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of Kefir. *J Dairy Sci* 83:275-277

Hirota T, Kikuchi T. 1976. Studies on Kefir grains. I. Isolation and classification of microorganisms from Kefir grains and their characteristics. *Rep Res Lab Snow Brand* 74:63-82

Ismail AA, EL-Nockrashy SA, Khorshid MA. 1983. A beverage from separated Buffalo milk fermented with Kefir grains. *J Dairy Technol* 36:117-118

Kabayama S, Osada K, Tachibana H, Katakura Y, Shirahata S. 1997. Enhancing effects of food components on the production of interferon β from animal cells suppressed by

- stress hormones. *Cytotechnology* 23:119-125
- Kang KH. 2002. Characteristic of lactic acid bacteria and industrial usability. *Proceeding of Korean Journal of Food and Nutrition Conference*. pp.86-92. December
- Kemp N. 1984. Kefir, The champagne of cultured dairy products. *Cultured Dairy Products J* 19:29-30
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685
- Lim KS. 2002. Characteristic of lactic acid bacteria and industrial usability. *Proceeding of Korean Journal of Food and Nutrition Conference*. pp.93-103. December
- Liu JAP, Moon NI. 1983. Kefir a new fermented milk product. *Cultured Dairy Products J* 18:11-12
- Marshall VM, ColeWM. 1985. Methods for making Kefir and fermented milks based on Kefir. *J Dairy Research* 52:451-456
- OlssonG. 1981. Kefir-a miracle of nature. *Lives medelsteknik* 23: 428-429
- Otle S, Cagindi O. 2003. Kefir: A probiotic dairy-composition nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan J Nutrition* 2:54-59
- Safonova TI, Iatsyk GV, Iurkov IA, Volkova LD. 1979. Effect of different types of feeding on the fatty acid makeup of the blood serum in premature infants. *Vopr Pitan* 6:44-49
- Shiomi M, Sasaki K, Murofushi M, Aibara K. 1982. Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from Kefir grain. *Jpn J Med Sci Biol* 35:75-80
- Thoreux K, Schmucker DL. 2001. Kefir milk enhances intestinal immunity in young but not old rats. *Am Soc Nutr Sci* 131: 807-811
- Wang SY, Chen HC, Liu JR, Lin YC, Chen MJ. 2008. Identification of yeasts and evaluation of their distribution in taiwanese Kefir and viili starters. *J Dairy Sci* 91:3798-3805

접 수 : 2010년 8월 22일
최종수정 : 2010년 10월 7일
채 택 : 2010년 10월 29일