



Kefir에서 추출한 Exopolysaccharide의 Rotavirus의 저해효과

송진옥* · 김태진¹ · 김용휘²

중부대학교 원격대학원 과학기술교육학과, ¹매일유업(주) 중앙연구소, ²중부대학교 호텔외식산업학과

Inhibitory Effect on Rotavirus by Exopolysaccharides Extracted from Kefir

Jin-Ook Song*, Tae-Jin Kim¹, and Yong-Hui Kim²

Department of Science and Technology Education, Cyber Graduate School, Joongbu University, Chungnam 312-702, Korea

¹R&D Center, Mael Dairy Industry CO., LTD., Pyeongtaek 451-861, Korea

²Department of Hotel and Foodservice Industry, Joongbu University, Chungnam 312-702, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the toxicity of exopolysaccharides (EPS) from kefir toward MA104 cells and evaluate the inhibitory effects of kefir EPS on rotavirus infection. The results obtained are summarized as follows: Lactic acid bacteria (*Lactobacillus fermentum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*) and yeasts (*Candida kefir*, *Cryptococcus albidus*, *Pichia ohmeri*) were isolated and identified from kefir grain and culture. At 1% EPS, the inhibitory effects of EPS on the infection of MA-104 cells using the MTT assay were 72.52±6.48% for human rotavirus (KU), 36.06±7.63% for bovine rotavirus (NCDV), and 81.66±1.11% for porcine rotavirus (OSU). At 1/128% EPS, the effects were 24.98±4.58% for human rotavirus (KU), 4.71±6.16% for bovine rotavirus (NCDV), and 4.05±14.90% for porcine rotavirus (OSU). EPS isolated from kefir have inhibitory effects on rotaviruses of various serotypes and rotaviruses from different animals.

Key words : kefir, exopolysaccharide (EPS), rotavirus, MTT assay

서 론

Kefir는 북 Caucasia의 산악지방에서 유래되어 러시아 및 동구유럽국가에서 많이 소비되고 있는 산과 알코올 발효 유로서 미국을 포함한 많은 국가에서 상업적으로 제조 소비되고 있고(Kosikowski and Mistry, 1999), 다른 발효유와 달리 유산균 스타터가 아닌 Kefir grain을 이용하여 제조하게 되는데, 이 Kefir grain의 외피에는 bacteria, 내부는 yeast가 혼합되어 공생하고 있으며 모양은 황백색의 팍콘 모양의 부정형으로 우유의 수분을 흡수하여 부피가 커지는 특성을 가지고 있다(Olsson, 1981; Hirota and Kikuchi, 1976).

김 등(1994)은 Kefir grain에서 9종의 *Lactobacillus* 속, 6종의 *Lactococcus* 속, 3종의 *Leuconostoc* 속을 분리동정하였으며, 또한 효모로는 유당을 분해하는 *Kluyveromyces*

lactis, *K. marxianus*, *K. fragilis*, *Tolura kefir*, *Saccharomyces kefir*와 유당을 분해하지 못하는 *S. cerevisiae*, *S. calshbergensis* 등을 분리동정하였다.

세포외 다당체(exopolysaccharide : EPS)는 세포벽 주위에 협막 형태를 형성하거나, 세포벽 외부에 점질물로서 발효 중에 축적되는 다당류로 1차 또는 2차 대사산물이다(Wiseman, 1983; Beveridge and Graham, 1991). 유산균이 생성하는 EPS가 식용 다당류로서 제품의 점도를 높이고 안정제, 유화제, gel화 및 수분결합물질 등 다양한 용도로서의 사용이 가능하다는 장점(Dick *et al.*, 1995)과 EPS 생성 미생물은 탈수, 마크로파지, 박테리오파지, 원생동물, 항생물질과 독성물질에 대한 저항성을 가진다는 보고도 있어(Whitfield, 1988; Weiner *et al.*, 1995; Roberts, 1996) EPS를 생성하는 유산균에 대한 관심이 점차 높아지고 있다.

본 연구는 Kefir 내에 존재하는 미생물들을 규명하고, 이러한 복합미생물에 의해 생성된 EPS를 추출하여 각종 동물에게 감염을 일으키는 여러 가지 표준 rotavirus(human, bovine, porcine rotavirus)에 EPS를 농도 별로 첨가하여 그 저해 효과를 확인함으로써, rotavirus로 인한 질병 및 설사 증 예방 가능성을 알아보고자 수행하였다.

*Corresponding author : Jin-Ook Song. Department of Science and Technology Education, Cyber Graduate School, Joongbu University, #101 Daehak-ro, Chubu-myun, Kumsan-kun, Chungnam 312-702, Korea. Tel: 82-41-750-6717, Fax: 82-41-752-3255, E-mail: jinook@joongbu.ac.kr

재료 및 방법

공시 Kefir

Kefir는 건국대학교 유가공학연구실에서 분주받아 사용하였으며, 멸균용기에 우유 180 g을 넣고 여기에 Kefir grain 20 g을 무균적으로 접종하고, 23°C에서 24시간 동안 배양한 것을 실험에 이용하였다.

Kefir로부터 유산균의 분리동정

Kefir로부터 유산균의 분리동정은 24시간 배양된 Kefir culture 10 g과 Kefir grain 10 g을 각각 90 mL의 멸균 희석수와 함께 stomacher로 파쇄 균질시킨 것을 적정비율 희석하여 BCP agar(Eliken Chem., Japan), MRS agar(Difco, Laboratories, MI, USA), M17 agar(Difco)에 도말하고, Gas Pak(BBL, USA)을 혐기자(Difco)에 넣어 37°C에서 혐기조건을 유지하면서 배양하였다. 각각의 배지에서 특징적인 colony를 선발, 순수분리하여 Gram Positive이면서 catalase 음성 반응을 보이는 미생물을 API 50 CHL kit(Biomerieux, France)의 당 발효실험을 이용하여 동정하였다.

Kefir로부터 효모의 분리동정

Kefir로부터 효모의 분리동정은 희석액을 항생제[chlorotetracycline · HCl(Sigma) 500 mL, chloramphenicol(Sigma, USA) 500 mg, phosphate solution 100 mL]를 2% 첨가한 PD agar(Difco)에 도말하고, 25°C에서 5일간 배양한 후에 특징적인 colony를 선발, 순수분리하여 API 20C AUX kit(Biomerieux)의 당 발효실험을 이용하여 동정하였다.

Exopolysaccharide(EPS)의 추출

EPS의 추출은 Kefir culture를 100°C에서 15분간 열처리하여 미생물 및 효소를 불활성화 한 후 원심분리(11,000×g, 30 min, 4°C)하여 균체를 제거하고, 상등액에 3배량의 4°C의 99.5%-에탄올을 가하여 4°C에서 24시간동안 다당류를 침전시킨 후, 4°C의 99.5%-에탄올로 2번 세척하고 원심분리(7,000×g, 15 min, 4°C)하여 침전분획을 회수하였다. 침전분획은 50°C의 증류수에 분산시킨 다음, 재차 동일한 조건으로 원심분리하여 24시간 투석(molecular weight cut off : 13,000)한 다음 동결건조한 것을 crude EPS로 사용하는 Zakaria 등(1998)과 배와 허(2002)의 방법을 응용하여 실시하였다.

공시 rotavirus

본 실험에 사용된 rotavirus는 표준 human rotavirus인 KU, 표준 bovine rotavirus인 NCDV, 표준 porcine rotavirus인 OSU를 함께 사용하였다(Table 1).

Table 1. List of rotavirus strains used in this study

Strains	Host species	G serotype	P serotype	Source
KU	Human	G1	P1A	Sapporo Univ., Japan
NCDV	Calf	G6	P6	Stanford Univ., USA
OSU	Pig	G5	P9	Stanford Univ., USA

공시 세포

Rotavirus를 증식시키기 위해 사용된 MA-104 세포의 계대배양은 Feng 등(1994)의 방법에 따라 시행하였다. 조직 배양용 T-flask를 이용하여 5% 농도의 CO₂를 공급한 37°C 배양기(Johnsam, Korea)에서 5일 동안 배양한 후, MA-104 세포의 단층이 형성되면 멸균된 생리적 식염수(0.85%-NaCl)로 2번 세척하고, 10배 희석된 0.25%-trypsin EDTA (GIBCO, USA)로 세포를 분리시켰다. 56°C에서 20분간 불활성화시킨 7% 어린 송아지 혈청(fetal bovine serum : FBS : Hyclone Laboratories, Inc., Logan, UT, USA)과 1%-L-glutamin penicillin streptomycin(L-GPS : Irvine Scientific, Santa Anna, CA, USA)이 첨가된 M199를 첨가하여 T-flask에 세포를 분주시킨 후 세포를 계대배양하여 사용하였다.

Rotavirus 배양

공시 rotavirus를 Chiarini 등(1983)의 방법에 의하여 0.2%-acetylated trypsin(10 µL/mL)을 넣어 5% 농도의 CO₂를 공급한 37°C 배양기에서 30분 동안 활성화시켰고, MA-104 세포의 단층이 형성된 T-flask는 무혈청 M199로 2번 세척하여 활성화시킨 바이러스를 넣고, 37°C 배양기에서 1시간 동안 흡착시킨 후, mL당 trypsin 1 µL가 함유된 무혈청 M199를 3 mL 첨가하여 flask에 넣고 5% 농도의 CO₂를 공급한 37°C 배양기에서 배양하였다. 배양 중 현미경으로 세포변성효과(CPE : cytopathic effect)를 관찰하면서 세포변성효과가 완전히 일어났을 때 -80°C 동결과 상온 해동을 3번 반복하여 바이러스를 수확한 후 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

Rotavirus의 역가분석

Rotavirus의 역가분석은 Ruggeri와 Greenberg(1991), Kaljot 등(1988)의 방법으로 측정하였다. 바이러스는 mL당 0.2% trypsin 5 µL를 첨가하여 37°C 배양기에서 30분간 활성화시킨 후 무혈청 M199로 10¹에서 10⁸까지 희석하였고, MA-104 세포의 단층이 형성된 6 well plate는 무혈청 M199로 2번 세척 후 희석한 바이러스 액을 각 well에 0.5 mL씩 넣어 5% 농도의 CO₂를 공급한 37°C 배양기에서 1시간 동안 흡착시켰다. 그 다음 1.1% agarose (Seakem ME agarose; FMC Corp., USA)를 용해시켜 2배 농도의 M199를 1:1로 섞고 37°C로 낮아졌을 때 각 well에 남아있는 바이러스를 피펫으로 제거한 후 agarose가 첨가된 배지 4

mL씩 증충하여 37°C 배양기에서 6일간 배양하였다. 배양 후 neutral red(GIBCO, USA)를 무혈청 M199와 1:20으로 희석한 다음 1 mL씩 각 well에 넣어 배양기에서 7시간 동안 염색하여 plaque forming unit(PFU)를 계수하였다.

EPS의 MA-104 세포독성 측정

EPS의 MA-104 세포독성 측정은 Weber 등(2003)의 방법을 응용한 MTT(3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) assay로 측정하였다. MA-104 세포를 96-well plate의 각 well에 200 µL씩 넣고 3일 동안 배양하고 1%-EPS를 계속적으로 2진 희석법으로 희석(1-128배까지 희석: 1-1/128%)하여, 각 농도의 EPS를 각 well 당 100 µL를 넣은 후 5% 농도의 CO₂를 공급한 37°C 배양기에서 24시간 배양하였다. 감염된 세포에 well당 0.2%-MTT를 50 µL첨가하고, 부드럽게 흔들어준 후 5% 농도의 CO₂를 공급한 37°C 배양기에서 4시간 정치시켰다. 4시간 정치 중 formazan이 침전되면, 상등액을 제거하고, 기 형성된 짙은 청색의 결정체인 formazan 용해를 위해 DMSO 150 µL를 첨가한 후 가볍게 진탕하였다. Formazan이 완전히 용해되면 ELISA plate reader(Model : EL311, Bio-TEK Instruments, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 MA-104 세포 독성 효과는 EPS를 첨가하지 않은 rotavirus에 감염된 세포군을 기준으로 하여 세포 독성 효과를 결정하였다.

EPS의 anti-rotavirus 효과 측정

EPS의 anti-rotavirus 효과는 세포독성 측정과 동일한 방법으로 측정하였다. EPS의 rotavirus 감염 억제율은 EPS를 첨가하지 않은 rotavirus에 감염된 세포군과 rotavirus를 첨가하지 않은 비감염 대조 세포군의 흡광도 값을 기준으로 하여 EPS 농도별 감염 세포군의 흡광도 값과 비교하여 결정하였다.

결과 및 고찰

유산균 및 효모의 분리동정

Kefir culture 및 grain 파쇄입자에서 *Lactobacillus fermentum*, *L. acidophilus*, *L. brevis* 등이 주요 유산균으로 분리 동정되었고(Table 2), *Candida kefyri*, *Cryptococcus albidus*, *Pichia ohmeri* 등의 효모가 동정되었다(Table 3).

Rotavirus의 역가 측정

실험에 사용된 rotavirus의 역가는 KU는 2.8×10⁷ PFU/mL, NCDV는 2.6×10⁷ PFU/mL, OSU는 2.4×10⁷ PFU/mL를 각각 나타내, 억제능력을 측정하기 위한 기본적인 활력을 갖춘 것으로 나타났다.

Table 2. Fermentation characteristics of selected lactic acid bacteria from Kefir grain and culture

Carbon source	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
Ribose	+	-	+
D-Xylose	+	-	-
Galactose	+	+	-
Glucose	+	+	-
Fructose	-	+	+
Amygdaline	+	+	-
Esculin	-	+	+
Salicin	+	+	-
Maltose	-	-	+
Inulin	-	+	-
Raffinose	-	+	-
Gentiobiose	-	-	+
L-Arabitol	-	-	+

*No strains fermented β-methyl-D-mannoside, melibiose, D-turanose, glycerol, β-methyl-D-glucoside, sucrose, D-lyxose, erythritol, N-Acetyl-Glucosamine, Trehalose, D-Tagatose, D-Arabinose, Mannose, D-fucose, L-arabinose, sorbose, arbutin, melezitose, L-fucose, rhamnase, D-arabitol, dulcitol, starch, L-xylose, inositol, cellobise, glycogen, gluconate, adonitol, mannitol, maltose, xylitol, 2-keto-gluconate, α methyl-D-xyloside, sorbitol, lactose, 5-keto-gluconate.

Table 3. Fermentation characteristics of selected yeast from Kefir grain and culture

Carbon source	<i>Candida kefyri</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Pichia ohmeri</i>
Glucose	+	+	+
Glycerol	+	-	+
L-Arabinose	+	+	-
Galactose	+	+	-
Sorbitol	+	-	+
Lactose	+	+	-
Saccharose	+	+	+
Raffinose	+	-	-
Xylitol	-	+	-
Cellobiose	-	+	+
Maltose	-	+	+
Trehalose	-	+	-
Melezitose	-	+	-
β-Methyl-D-Glucoside	-	-	+
N-Acetyl-D-Glucosamin	-	-	+

*All strains fermented glucose, saccharose.

No strains fermented 2-keto-D-gluconate, D-xylose, adonitol, inositol.

EPS의 MA-104 세포 독성 효과

EPS가 숙주 세포의 성장에 영향을 미쳐 rotavirus의 억제율을 측정 시 발생될 수 있는 오차 여부를 검증하기 위하여 EPS가 MA-104 세포에 대한 독성 유무를 측정한 결과는 Table 4와 같았다.

Table 4. Toxic effect of EPS¹⁾ on the MA-104 cell²

		Toxicity rate (Means±SD ⁴⁾ %)
EPS concentration (%) ³⁾	1	-1.77±2.26 ^a
	1/2	-0.65±2.54 ^a
	1/4	0.52±2.84 ^a
	1/8	-0.60±4.12 ^a
	1/16	0.44±4.85 ^a
	1/32	0.17±3.05 ^a
	1/64	0.85±2.34 ^a
	1/128	0.95±2.90 ^a

¹⁾ EPS : Exopolysaccharide.

²⁾ Means of three replicated trials.

³⁾ Means in the column with different superscripts differ significantly ($p < 0.01$).

⁴⁾ SD : Standard deviation.

독성의 유무를 알아보기 위하여 SAS를 통한 분산 분석을 실시한 결과 유의차가 없는 것으로 나타나($p < 0.01$), EPS는 1% 이하의 농도에서는 독성이 없는 것으로 나타났다. 이로 미루어 EPS는 1% 이하의 농도에서는 MA-104 세포에 대한 독성이 없어, 본 실험을 수행하는데 세포 독성에 의한 결과의 오차는 없는 것으로 판정되었다. 또한 이는 송과 김(2006)이 보고한 *Streptococcus thermophilus* BODY1에서 추출한 EPS의 MA-104 세포 독성효과와 일치하는 결과를 보여주었다.

Human rotavirus KU 감염 억제 효과

EPS의 농도별 human rotavirus KU의 세포 감염 억제 효과를 Fig. 1에 나타내었다.

Human rotavirus KU에 대한 EPS의 감염억제효과는 가장 높은 농도인 1%일 때 72.52±6.48%로 나타났고, 가장 낮은 농도인 1/128%에서는 24.98±4.58%의 억제율을 나타내었으며, EPS의 농도가 1/64, 1/32, 1/16, 1/8, 1/4, 1/2%로 점점 높아짐에 따라 억제율도 23.59±15.75, 24.98±4.58, 39.00±3.65, 45.23±5.00, 50.88±12.46, 62.96±9.27%로 점점 높아짐을 알 수 있었다. 또한 이는 송과 김(2006)이 보고한 *S. thermophilus* BODY1에서 추출한 EPS가 0.1%의 농도에서 human rotavirus KU에 대하여 63.09%의 억제율을 보였다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

Bovine rotavirus NCDV 감염 억제 효과

EPS의 농도별 bovine rotavirus NCDV의 세포 감염 억제 효과를 Fig. 2에 나타내었다.

Bovine rotavirus NCDV에 대한 EPS의 감염억제효과는 가장 높은 농도인 1%일 때 36.06±7.63%로 나타났고, 가장 낮은 농도인 1/128%에서는 4.71±6.16%의 억제율을 나타내었으며, EPS의 농도가 1/64, 1/32, 1/16, 1/8, 1/4, 1/2%로 점점 높아짐에 따라 억제율도 5.00±3.72, 6.42±2.75,

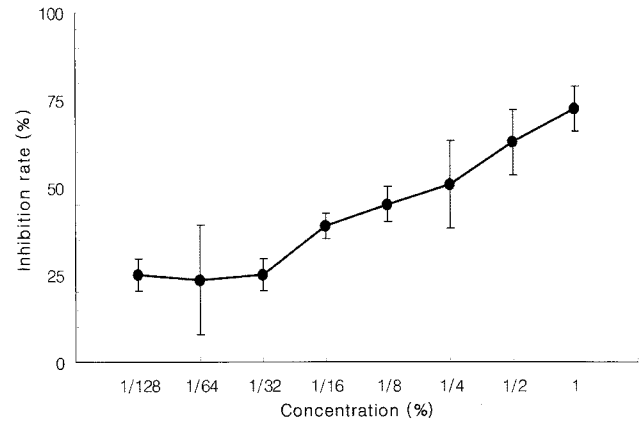


Fig. 1. Inhibitory effect of EPS on the infection of human rotavirus KU in MA-104 cell.

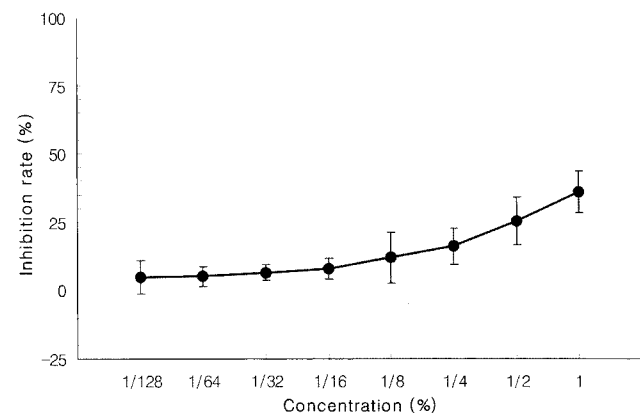


Fig. 2. Inhibitory effect of EPS on the infection of bovine rotavirus NCDV in MA-104 cell.

7.88±3.89, 11.84±9.29, 16.00±6.82, 25.31±8.68%로 점점 높아짐을 알 수 있었다. 또한 이는 송과 김(2006)이 보고한 *S. thermophilus* BODY1에서 추출한 EPS가 0.1%의 농도에서 bovine rotavirus NCDV에 대하여 57.50%의 억제율을 보였다는 보고보다는 조금 낮은 억제율을 나타내었다.

Porcine rotavirus OSU 감염 억제 효과

EPS의 농도별 porcine rotavirus OSU의 세포 감염 억제 효과를 Fig. 3에 나타내었다.

Porcine rotavirus OSU에 대한 EPS의 감염억제효과는 가장 높은 농도인 1%일 때 81.66±1.11%의 억제율을 나타내었고, 가장 낮은 농도인 1/128%에서는 4.05±14.90%의 억제율을 나타내었으며, EPS의 농도가 1/64, 1/32, 1/16, 1/8, 1/4, 1/2%로 점점 높아짐에 따라 억제율도 25.02±16.88, 37.26±6.01, 40.87±11.46, 52.27±7.10, 60.90±8.41, 66.78±10.51%로 점점 높아짐을 알 수 있었다. 또한 이는 송과 김(2006)이 보고한 *S. thermophilus* BODY1에서 추출한 EPS가 0.1%의 농도에서 human porcine rotavirus OSU에 대하여 55.48%의 억제율을 보였다는 보고와 유사한 결과

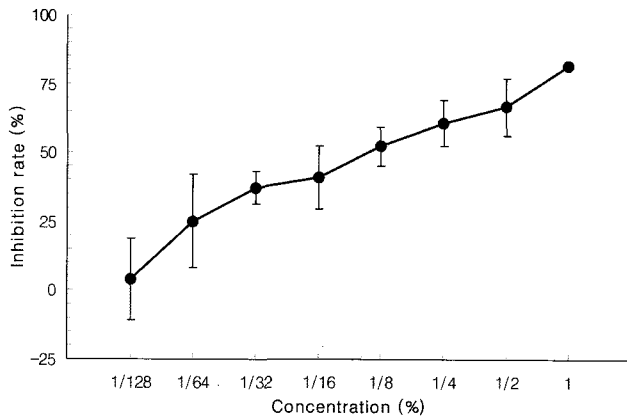


Fig. 3. Inhibitory effect of EPS on the infection of porcine rotavirus OSU in MA-104 cell.

를 나타내었다.

요 약

본 연구는 kefir로부터 EPS를 분리하여 MA104 세포에 대한 독성과 rotavirus에 대한 저해효과를 확인하기 위하여 수행하였다. Kefir culture 및 grain 파쇄입자에서 *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* 등의 유산균과 *Candida kefyr*, *Cryptococcus albidus*, *Pichia ohmeri* 등의 효모가 분리 동정되었다. EPS의 1% 농도에서, MTT assay에 의한 EPS의 rotavirus에 대한 억제 효과는 human rotavirus(KU)가 $72.52 \pm 6.48\%$, bovine rotavirus(NCDV)가 $36.06 \pm 7.63\%$, porcine rotavirus(OSU)가 $81.66 \pm 1.11\%$ 로 나타났으며, EPS의 1/128% 농도에서, human rotavirus(KU)가 $24.98 \pm 4.58\%$, bovine rotavirus(NCDV)가 $4.71 \pm 6.16\%$, porcine rotavirus(OSU)가 $4.05 \pm 14.90\%$ 로 나타났다. Kefir에서 분리한 EPS는 다양한 혈청 형과 유래 동물의 rotavirus 모두에게 억제 효과가 있는 것으로 확인되었다.

참고문헌

- Beveridge, T. J. and Graham, L. L. (1991) Surface layers of bacteria. *Microbiol. Rev.* **55**, 684-705.
- Chiarini, A., Arista, S., Giammanco, A., and Sinatra, A. (1983) Rotavirus persistence in cell culture: select of resistant cells in the presence of fetal calf serum. *J. Gen. Virol.* **64**, 1101-1110.
- Dick, J. C., Robijn, G. W., Janssen, A. C., Giuseppin, M. L. F., Vreeker, R., Kamerling, J. P., Vliegthart, J. F. G., Ledboer, A. M., and Verrips, C. T. (1995) Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide. *Appl. Environ.*

Microbiol. **61**, 2840-2844.

- Feng, N., Burns, J. W., Bracy, L., and Greenberg, H. B. (1994) Comparison of mucosal and systemic humoral immune responses and subsequent protection in mice orally inoculated with a homologous rotavirus. *J. Virol.* **68**, 7766-7773.
- Hirota, T. and Kikuchi, T. (1976) Studies on kefir grains, isolation and classification of microorganisms from kefir grain and their characteristics. Report of Research Lab. Snow Brand Milk Products Co., No. 74, 64-82.
- Hufford, C. D., Funderburk, J. M., Morgan, J. M., and Robertson, L. W. (1975) Two antimicrobial alkaloids from heartwood of *Liriodendron tulipifera* L. *J. Pharm. Sci.* **64**, 789-792.
- Kaljot, K. T., Shaw, R. D., Rubin, D. H., and Greenberg, B. H. (1988) Infectious rotavirus enters cells direct cell membrane penetration, not by endocytosis. *J. Virol.* **62**, 1136-1144.
- Kosikowski, F. Y. and Mistry, V. V. (1999) Cheese & Fermented Milk Foods. 1999. Edwards Brooktondale. New York. 3rd edition.
- Olsson, G. (1981) Kefir-a miracle of nature. *Lives medelsteknik* **23**, 428-429.
- Roberts, I. S. (1996) The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **50**, 285-315.
- Ruggeri, F. M. and Greenberg, H. B. (1991) Antibodies to the trypsin cleavage peptide Vp8 neutralize rotavirus by inhibiting binding of virions to target cells in culture. *J. Virol.* **65**, 2211-2219.
- Weber, J. M., Ruzindana-Umunyana, A., Imbeault, L., and Sircar, S. (2003) Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. *Antivir. Res.* **58**, 167-173.
- Weiner, R., Langille, S., and Quintero, E. (1995) Structure, function and immunochemistry of bacterial exopolysaccharides. *J. Ind. Microbiol.* **15**, 339-346.
- Whitfield, C. (1988) Bacterial extracellular polysaccharides. *Can. J. Microbiol.* **34**, 415-420.
- Wiseman, A. (1983) Principles of biotechnology. p. 23. Blackie & Son Ltd., London.
- Zakaria, Y., Urashima, T., Toba, T., Mikami, M., and Ariga, H. (1998) A polysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* YZ1 isolated from traditional Indonesian milk, "Dadih". *Milk Sci.* **47**, 17-22.
- 김동신, 박상교, 곽해수, 이길왕. 1994. Kefir culture로부터 유당 비발효 효모의 분리 동정 및 특성. 한국축산식품학회지 **14**, 175-178.
- 배인휴, 허정원 (2002) Exopolysaccharide 생산 유산균주의 분리 및 배양조건. 한국생물공학회지 **17**, 169-175.
- 송진욱, 김용휘 (2006) *Streptococcus thermophilus* BODY1이 생성하는 exopolysaccharide가 rotavirus의 MA-104 세포감염에 미치는 영향. 한국축산식품학회지 **26**, 532-539.