

유산균 투여가 건강한 성인의 분변미생물 및 부패산물 생성에 미치는 영향

신명수* · 김용재 · 배형석 · 백영진

(주)한국야쿠르트 중앙연구소

Effects of the lactic acid bacteria administration on fecal microflora and putrefactive metabolites in healthy adults. Myeong-Su Shin*, Yong-Jae Kim, Hyoung-Suk Bae and Young-Jin Baek. Korea Yakult Institute, Komae-Ri, Kiheung-Eup, Yongin-Si, Kyunggi-Do, 449-900, Korea – To investigate the effects of lactic acid bacteria administration on fecal microflora and putrefactive metabolites in human being, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* powder (1.5×10^9 cells, respectively) was administrated to six healthy volunteers (average 28 years old) twice a day for 2 weeks. During the administration of lactic acid bacteria, the numbers of bifidobacteria, lactobacilli, and enterococci in feces were increased significantly, whereas those of *Staphylococcus* and lecithinase-negative *Clostridium* were decreased considerably. In addition, a number of anaerobic *Bacteroides* were increased. However, the contents of fecal ammonia and putrefactive metabolites (indole, skatole, *p*-cresole) were not changed during the administration.

사람의 장내에는 100여종 이상의 미생물들이 균형을 유지하며 서식하고 있다. 장내균총을 이루고 있는 미생물에는 유산균과 같이 인체내에 유익한 작용을 하는 미생물군과 유해한 영향을 기치는 부패균, 병원성균 등이 있다(1).

*Bifidobacteria*와 *lactobacilli*는 장내의 대표적인 유산균으로서 부패균의 증식 억제, 발암 억제, 콜레스테롤 감소 등의 역할을 한다(2, 3). 그리고 *E. coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium*, *Bacteroides* 등은 장내 부패균으로 알려져 왔다. 이러한 세균들은 속주에게 유해한 부패산물, 독소, 발암물질 등을 생성하여 암, 동맥경화, 면역성 감퇴, 노화의 원인을 제공하기도 한다(4-7). 대표적인 부패산물로는 암모니아, indole, skatole(3-methylindole), *p*-cresole이 있다. 이들 부패산물들은 장내 유해세균들이 갖고 있는 urease, tryptophanase와 같은 효소에 의하여 요소, 아미노산으로부터 생성되고 있으며, 장내부패 정도를 측정하는 척도로 이용되기도 한다(8-12).

장내미생물들간의 균형은 속주의 건강상태, 식이성분, 식이습관, 연령, 항생물질 투여, 감염 및 질병, 스트레스 등에 의하여 변한다(4). 메치니코프는 처음으로 장내미생물간의 균형 유지 및 개선에 대한 유산균 투여 효과를 주장하였다(13). 그는 장내에 유산균을 투여함으로써 장내 유해균과 독소의 생성을 억제하여, 건강을 유지하고 장수할 수 있다고 하였다. 그후로 서구인들과 일본인들에게 *Lactobacillus*나 *Bifidobacterium*이 함유된 발효유를 투여하였을 때, 장내 유산균수의 증가, 부패

균의 성장 억제, 발암 효소의 억제, 설사 치료, 감염 예방, 면역력 증강 등의 임상효능이 나타나는 것으로 보고되었다(14-20). 그러나, 식생활 습관에 따른 장내 미생물 환경이 서구인들과 전혀 다른 한국인들에게도 이러한 효능들이 유사하게 나타날지는 확실치 않다. 그럼에도 불구하고, 한국인을 대상으로 한 유산균 투여 실험은 아직 미미한 실정이다(21).

따라서 본 연구에서는 유산균을 정상적인 성인 남녀에게 투여하고, 그 유산균이 분변의 균총 변화와 부패산물인 암모니아, indole, skatole, *p*-cresole 생성에 미치는 영향을 탐색하고자 하였다.

재료 및 방법

유산균

유산균은 사람으로부터 유래한 *Lactobacillus acidophilus*와 *Bifidobacterium longum*이었으며, 일본 동결건조 연구소로부터 구입하여 사용하였다. 유산균은 *L. acidophilus*와 *Bif. longum*을 동결건조한 분말 형태로서 각각 1.0×10^{10} cells/g의 생균수를 함유하고 있었으며, 4°C에 보관하면서 사용하였다.

실험대상자

유산균 투여 대상인 지원자는 건강한 성인 남녀(남자 5명, 여자 1명, 평균연령 28세) 6명이었으며, 실험기간중 일반적인 건강 상태는 양호하였다. 유산균 투여 실험기간 동안에는 지원자 전원에게 항생제, 발효 유제품, 올리고당 등 장내균총의 변화에 직접적인 영향을 줄 수 있는 음식물의 섭취를 제한하였으며, 그 밖의 식생활은 각자의 습관대로 하도록 하였다.

*Corresponding author.

Key words: Lactic acid bacteria, fecal microflora, putrefactive metabolites

유산균 투여

유산균 투여 실험은 투여 전, 중, 후로 나누어 각각 2주씩 6주간 실시하였다. 즉, 처음 2주동안에는 유산균을 투여하지 않은 상태에서 지원자들의 분변미생물 및 부패산물량을 측정하여 대조군으로 삼았다. 그 다음 2주동안은 *L. acidophilus*와 *Bif. longum*(각각 1.5×10^9 cells 포함)을 1일 2회씩(총유산균수, 6×10^9 cells) 지원자에게 투여하였다. 그리고 유산균 투여후 2주동안에는 유산균의 투여를 중지하고 분변미생물과 부패산물을 계속 측정하였다. 유산균의 섭취는 지원자로 하여금 각자 물에 녹여 음용하도록 하였다.

분변 채취

실험대상자로부터 1주일에 한번씩 8~10 g의 분변을 채취하였으며, 6주간 반복하였다. 채취한 분변은 BBL GasPak Pouch™(Becton Dickinson Microbiology Systems, USA)를 이용하여 즉시 혐기적인 상태로 밀봉하고, 4°C에 보관하면서 2시간 이내에 실험하였다.

균수 측정

분변 1g을 혐기성 회석액(22)에 넣고 10배수로 희석한 후, Mitsuoka 등(23)이 개발한 선택배지 또는 비선택배지(Table 1)에 도말하였다. 호기성균들은 37°C에서 1일 동안 호기 배양하였으며, 혐기성균들은 혐기적인 배양을 위하여 Steel-Wool법(24)과 Anaerobic Chamber System을 사용하여 37°C에서 2~3일동안 배양하였다. 배양후, 배지 위에 나타난 집락의 모양과 특징을 기록하고 계수하였다.

균수의 측정은 각 선택배지에서 성장한 집락을 계수하고, 집락의 모양, 그람 염색, 호기·혐기 상태에서의 성장 유무, 세포모양 등을 검색하여 분변 1g당 수로 표시하였다.

부패산물의 측정

대표적인 장내 부패산물인 indole, skatole(3-methylindole), *p*-cresole은 HP5890 Series II Plus gas chromatograph(Hewlett Packard co., USA)를 이용하여 정량적으로 분석하였다. 지원자 6명의 시료로부터 각각 분변 2 g을 채취하여 내부 표준물질로 50 ppm의 4-isopropylphenol(99% 이상, Sigma Co.) 용액 5 ml와 pH 8.5~9.0으로 조정한 증류수를 넣어 50 ml로 만들어 10분간 sonication 하였다. 위 분변현탁액을 2 ml 취하여 Solid Phase Micro-Extraction(SPME) fiber(Supelco inc., USA)를 넣고 10분간 흡착한 후 5분간 GC Injection port에서 탈착시키는 방법으로 시료를 column으로 주입하였다. 표준시료는 pH 8.5~9.0으로 조정한 증류수에 표준물질 indole(99% 이상, Sigma Co.), *p*-cresole(99% 이상, Sigma Co.), skatole(99% 이상, Sigma Co.), 4-isopropylphenol을 녹여 5 ppm으로 만들어, 위와 같은

Table 1. Media used for counting human fecal microflora.

Media	Organisms usually enumerated	Incubation method
Non-selective media		
EG	Strictly anaerobic bacteria	Steel Wool method
BL	"	"
TS	Aerobic bacteria	Aerobic
Selective media		
BS	<i>Bifidobacterium</i>	Steel Wool method
ES	<i>Eubacterium</i>	"
NBGT	<i>Bacteroides</i>	"
PS	<i>Peptococcaceae</i>	"
NN	<i>Clostridium perfringens</i>	"
PO	<i>Clostridium</i> (lecithinase, -)	"
LBS	<i>Lactobacillus</i>	CO_2 incubation
TATAC	<i>Enterococcus</i>	Aerobic
DHL	<i>Enterobacteriaceae</i>	"
PEES	<i>Staphylococcus</i>	"
PDA	Yeast	"

방법으로 column에 주입하여 얻어진 peak 머무름 시간(retention time)를 비교하여 계산하고, 여기에 표준시료중의 4-isopropylphenol의 면적과 시료중의 4-isopropylphenol의 면적비인 회수율(recovery ratio)의 역수를 곱하여 정량하였다. 시료중의 함량 계산식은 다음과 같다.

$$A(\text{ppm}) = 5 \text{ ppm} \times \frac{\text{Area of B in sample}}{\text{Area of B in standard sample}} \times \frac{1}{\text{S.W}} \times \frac{1}{\text{R.R}}$$

A: Real concentration of putrefactive metabolites
B: Putrefactive metabolites(indole, skatole, *p*-cresole)

S.W: Sample weight

R.R: Recovery ratio

위와 같은 방법으로 동일 시료에 대하여 3회씩 반복하여 실시하였으며, gas chromatograph의 분석 조건은 Table 2와 같다.

분변내 암모니아량은 암모니아 정량용 kit(Wako Pure Chemical Industries Ltd., Japan)를 사용하여 분변 1g에 들어 있는 암모니아량(ppm)을 측정하였다.

Table 2. Conditions of gas chromatographic analysis

Column : HP-Innowax fused silica column (Stationary phase: cross-linked polyethylene-glycol 30 m×0.32 mm×0.50 um film thickness)
Carrier : Nitrogen
Flow rate : 1.5 ml/min. (Constant EPC flow)
Injector temp. : 260°C
Detector temp. : 260°C
Column temp. : 190°C (0 min hold) $\xrightarrow{3\text{C}/\text{min}}$ 230°C (0 min hold) $\xrightarrow{10\text{C}/\text{min}}$ 260°C (0 min hold)

통계 처리

분변 미생물수와 부패산물 생성량에 대한 통계적 유의성은 student's t-test(25)로 검증하였다.

결과 및 고찰

분변균총의 변화

지원자 6명에 대한 유산균의 투여 전, 중, 후 3단계에 걸친 분변균총의 변화를 Table 3, Fig. 1, Fig. 2에 표시하였다.

분변의 균총은 대장내의 균총 분포와 유사하기 때문에, 분변은 장내균총의 상태를 연구하는데 많이 이용하고 있다. *L. acidophilus*와 *Bif. longum*이 포함된 유산균분말을 투여한 결과, 지원자 각자 개인차에 의한 차이는 있었으나, 전반적으로 분변 총균수와 전체 호기성균수는 실험기간 동안에 커다란 변화가 없었다(Table 3).

혐기성 균주로서 장내 우점균총의 하나인 *Bacteroides*는 유산균 투여로 유의성 있게 증가하였으며($p<0.01$), 유해균으로 알려진 *Clostridium perfringens*(7)의 균수는 투여 기간중에 감소하는 경향을 보였다. 특히 lecithinase 음성의 *Clostridium* 균들은 유산균의 투여중에 유의적인 감소를 나타냈다(Fig. 2, $p<0.05$). 그 밖의 혐기성균주들은 유산균의 투여 기간중에 커다란 균수 변화를 보이지 않았다.

Enterobacteriaceae 균수는 투여 기간 동안에 커다란 변화를 보이지 않았다. 그리고 백혈병 환자에게 bifidobacteria를 투여하였을 때, 분변에서 효모의 균수가 유의성 있게 감소하였다는 보고가 있었으나(26), 본 실험에서는 유산균 음용 기간중에 분변내 효모의 균수가 감소하는 경향이 있었으나 유의차는 보이지 않았다.

그러나, bifidobacteria의 경우 투여중에 분변균수가 투여전 보다 유의성 있게($p<0.05$) 증가하였으며, 투여 후에는 약간 감소하는 경향을 보였다(Fig. 1). 또한 지원자 6명 각자에 대한 유산균 투여 효과를 보면, 유산균의 음용중에 bifidobacteria의 수가 증가하는 것으로

Table 3. Effects of the administration of lyophilized lactic acid bacteria on the fecal microflora of 6 volunteers.

Microorganisms	No. of microorganisms/g feces*		
	Before	During**	After
Total flora	10.09±0.18	10.27±0.14	10.18±0.42
Aerobes	7.73±0.50	7.92±0.44	7.72±0.75
<i>Eubacterium</i>	8.78±0.29 ^a	8.98±0.60 ^a	8.01±0.81 ^b
<i>Bacteroides</i>	8.45±0.34 ^a	9.15±0.21 ^b	9.16±0.89 ^b
<i>Peptococcaceae</i>	9.04±0.61	8.86±0.50	8.72±0.42
<i>Cl. perfringens</i>	4.88±1.01	4.21±1.07	4.25±0.97
<i>Enterobacteriaceae</i>	7.35±0.57	7.34±0.56	7.08±0.47
Yeast	2.42±0.92	2.14±1.49	2.25±0.88

*Mean(log cfu/g feces)±S.D.

**Lyophilized lactic acid bacteria were administrated twice a day for 2 weeks.

^{a,b}Values with different superscripts in same row differ ($p<0.05$).

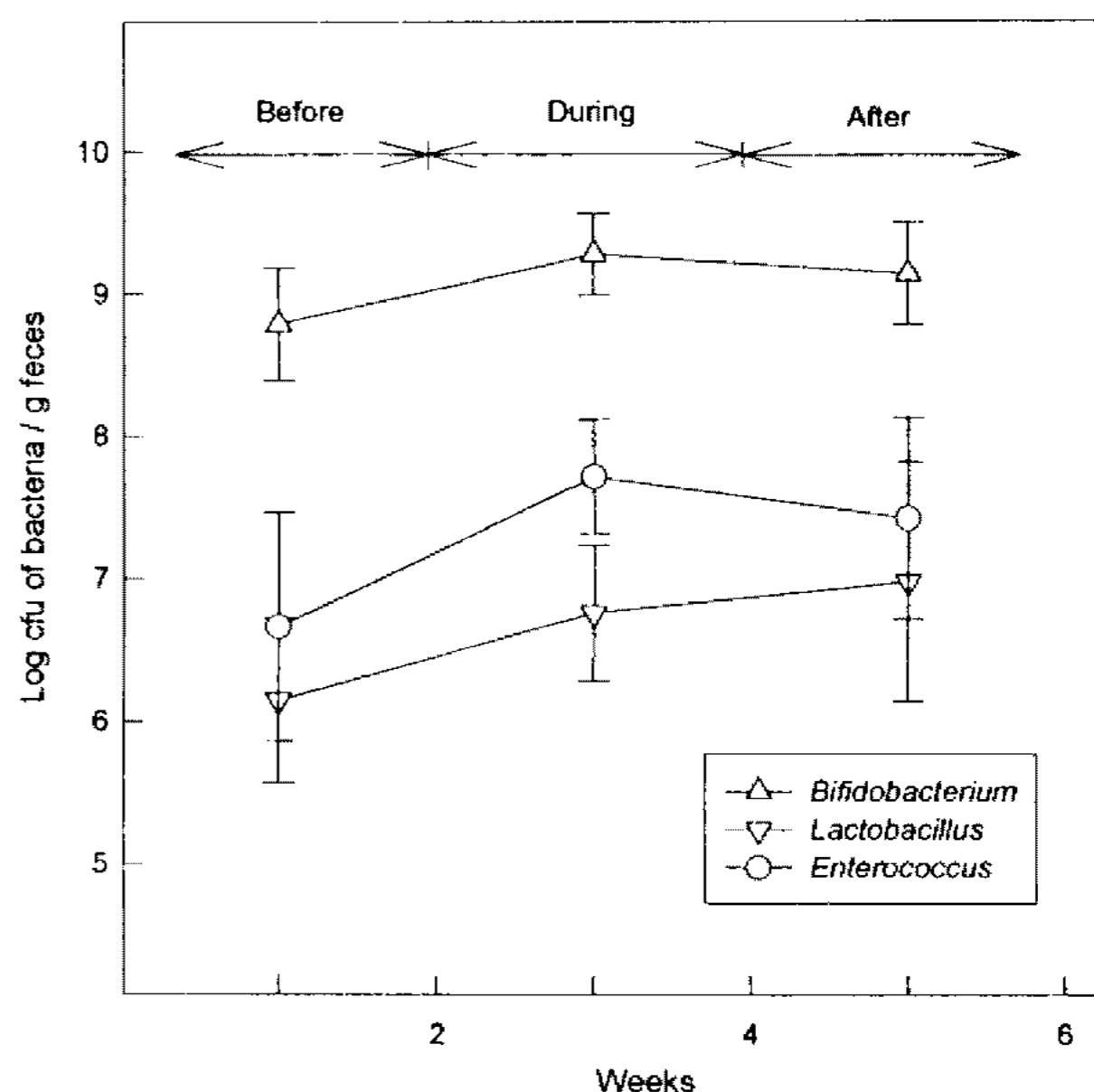


Fig. 1. Effect of the administration of lyophilized lactic acid bacteria on fecal lactic acid bacteria.

나타났다(Data not shown). Bouhnik(27)는 음용한 bifidobacteria가 위와 소장 부위를 지나 분변에서 약 30% 정도 발견된다고 보고하였다. 이것은 정확한 기작은 알려져있지 않지만, bifidobacteria가 'probiotics'로서 장내에서 어떤 역할을 수행할 수 있다는 가능성을 나타내 주는 것이다. 그리고 bifidobacteria만을 단독 음용하였을 때의 효과에 대한 실험 결과들에 의하면(28-30), 분변의 bifidobacteria 균수가 증가하고, 유해균의 감소, 부패산물량 감소, 또는 발암효소의 억제 현상 등이 보고되었다. 따라서 위의 결과도 유산균분말속에 함유되어 있는 *Bif. longum*(1.5×10^9 cells) 자체 또는 길항 작용에 의하여 지원자들의 분변에 있는 bifidobacteria의 전체

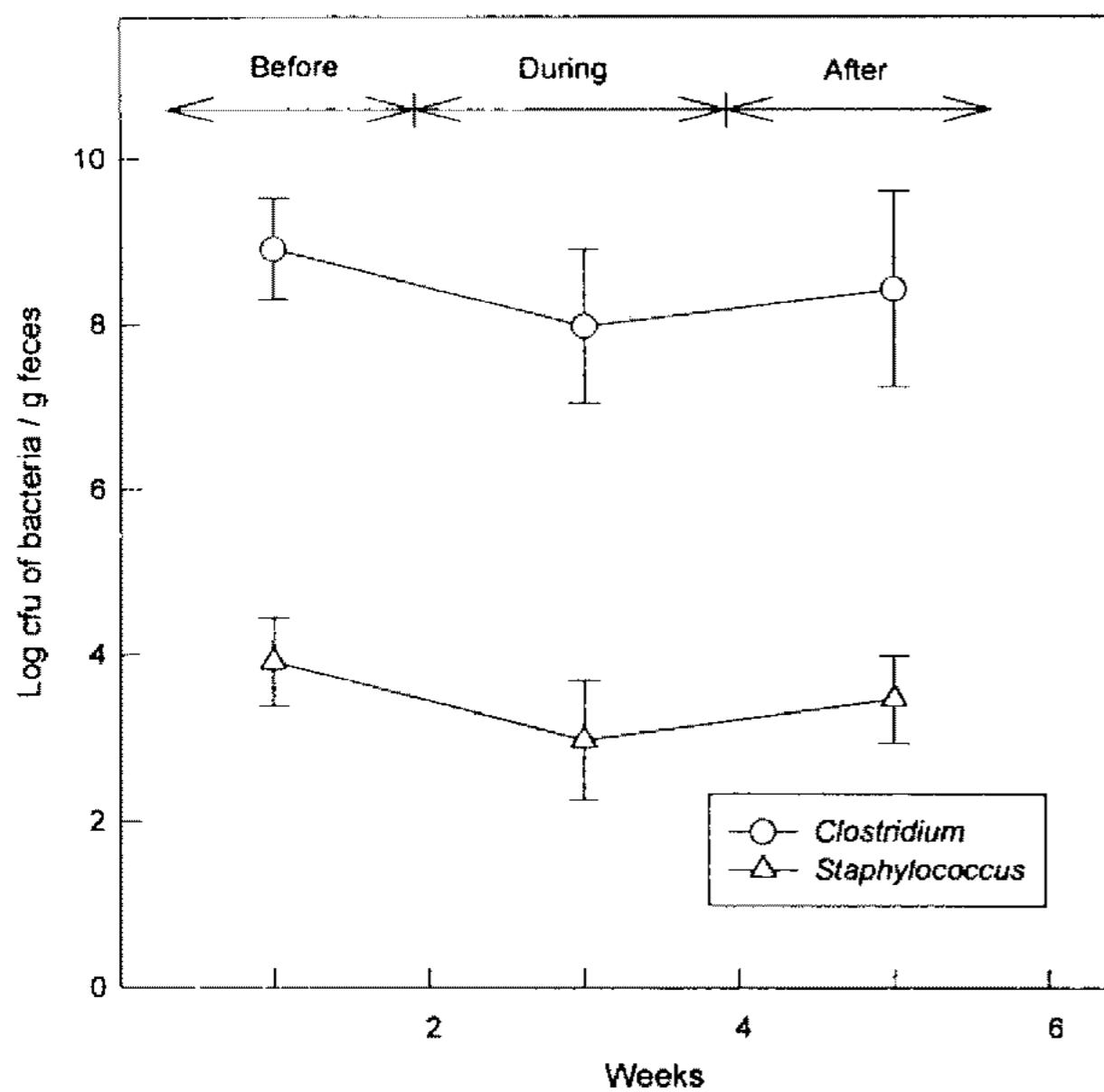


Fig. 2. Effect of the administration of lyophilized lactic acid bacteria on fecal *Clostridium* and *Staphylococcus*.

균수가 증가하였다고 사료된다.

또한 lactobacilli의 균수 증가는 투여전 균수와 비교하였을 때 통계적으로 유의성이 있었다($p<0.05$). 그리고 투여후에도 균수가 감소하지 않고 계속적으로 증가하였다(Fig. 1). 이러한 결과는 Hosoda 등(18)의 결과와 일치하였으며, 유산균 투여에 의하여 분변 균총에 변화를 일으킨 것으로 보인다. *Lactobacillus*의 경우에 있어서도 음용 균주의 장내 효과에 대한 많은 결과들이 보고되었으며(18, 21, 31-34), *Lactobacillus*의 음용에 의하여 장내에서의 lactobacilli 균수가 일시적으로 증가한다고 알려져 있다(28). *Lactobacillus*의 투여에 따라 lactobacilli 균수 증가, *Staphylococcus* 균수 감소, 설사에 따른 장내 환경의 개선 등이 보고되어 있으나, 음용한 모든 lactobacilli에 대하여 일정한 결과를 얻지는 못하였다. 그러나 Fig. 1에서 보는 바와 같이 유산균 투여기간중에 음용한 유산균주의 영향으로 분변에서의 lactobacilli 균수가 유의성있게 증가하였다.

장내에 서식하는 유산균의 일종인 *Enterococcus*의 경우, 지원자 분변에서의 균수가 투여전 보다 투여중에 유의적인 증가를 보였으며($p<0.01$), 유산균의 투여를 중지한 후에는 뚜렷하게 감소하는 경향을 나타났다(Fig. 1). *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, 또는 *Streptococcus*로 만든 유제품을 투여한 실험 결과들을 보면, 장내 lactobacilli 또는 bifidobacteria의 증가 현상이 나타났으며 lecithinase 음성인 clostridia 균수가 감소하기도 하였지만, 장내구균수의 변화는 없었다(14-18). 그러나 Nielsen 등(19)은 bifidobacteria와 *Enterococcus faecium*을 혼합하여 만든 유제품을 투여하였을 때 호기성 균주에 대한 혐기성 균주의 비율이 감소하고, 일시적인 enterococci 균수 증가 현상이 일어났다고 보고하였다. 따

Table 4. Effects of the administration of lyophilized lactic acid bacteria on the fecal putrefactive metabolites of 6 volunteers.

Putrefactive metabolites	Concentration*		
	Before	During**	After
Ammonia	422.3±236.80	490.2±263.3	435.8±287.4
Indole	17.2±10.0	15.8±11.9	11.8±8.6
Skatole	4.9±3.0	4.1±2.8	4.1±1.9
p-Cresole	49.2±53.5	52.6±51.1	44.4±62.8

*Mean (ppm/g feces)±S.D.

**Lyophilized lactic acid bacteria were administrated twice a day for 2 weeks.

라서 앞으로 유산균 투여에 의한 enterococci의 증가 여부에 대한 실험이 필요하다고 판단되었다.

*Staphylococcus*는 호기성이며, 장내에서 부패산물과 독소등을 생성하고 병원성 유발과 관련이 있는 유해균이다(1). 유산균 투여 기간중 분변에서의 *Staphylococcus* 균수는 유의성있게 감소하였으나($p<0.05$), 투여 중지후에는 투여전의 상태로 균수가 증가하였다(Fig. 2). Fujisawa 등(29)은 쥐에게 *Bif. longum*를 경구투여함에 따라 분변내 bifidobacteria 수가 증가하고, *Staphylococcus* 수는 감소한다고 하였다. 또한, 유아에게 *L. casei*가 들어있는 유제품을 먹었을 때에도 *Staphylococcus*의 균수가 감소하였다(21). 본 실험에서도 유산균 투여 기간중에 분변내 *Staphylococcus* 균수가 감소하는 것으로 나타났다.

결과적으로 *Bif. longum*과 *L. acidophilus*의 유산균을 건강한 성인 남녀에게 투여하는 동안에는, 지원자들의 분변에서 장내 유산균인 bifidobacteria와 lactobacilli 균수는 각각 8.78 ± 0.39 (log cfu/g feces±S.D.)에서 9.27 ± 0.29 로, 6.15 ± 0.80 에서 6.76 ± 0.48 로 유의적으로 증가한 반면에, 유해균인 *Clostridium*(lecithinase negative)과 *Staphylococcus* 균수는 투여전의 1/10로 감소하였다. 따라서 이들 균주들은 장내 정상균총의 균형 유지, 질병 예방, 건강 등을 유지하는데 중요한 역할을 할 것으로 사료된다.

분변 부패산물의 변화

유산균 투여에 따른 대표적인 장내 부패산물인 암모니아, indole, skatole, p-cresole의 변화량은 Table 4와 같다. 분변내 암모니아량은 유산균 투여 기간중에 약간 증가하였으나 통계적인 유의차는 없었으며, indole, skatole, p-cresole 생성도 실험기간 6주 동안 거의 일정하였다.

암모니아는 장내세균이 지니고 있는 urease, deaminase 등에 의하여 장내의 요소와 아미노산으로부터 생성된다(4). 탈아미노효소를 지닌 장내균으로는 *E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*와

Staphylococcus 등이 있으며, 일부 *Enterococcus*, *Lactobacillus*와 *Bacteroides*는 특정한 아미노산에 대하여 효소작용을 한다(4). 요소로부터 암모니아를 생성하는 장내균은 *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa* 등과 같은 호기성 세균과 많은 혐기성세균들이 urease를 함유하고 있다(5). Indole과 skatole은 필수아미노산인 tryptophane으로부터 장내세균의 tryptophanase에 의해 생성된다(6). 장내에서 indole을 생성하는 균으로는 *E. coli*, *Proteus*, 그리고 일부 *Bacteroides*와 *Clostridium* 등이 있다(6). *p*-Cresole과 phenol은 장내세균에 의하여 tyrosine, phenylalanine으로부터 대사생성된다(4).

이러한 부폐산물 생성균들의 장내 점유율을 저하시키고, 장내균총의 개선을 통하여 부폐산물량을 저하시키고자 하는 실험들이 많이 보고되었다(16-20, 35). 유산균이 포함된 발효유를 음용했을 때, 암모니아등의 부폐산물량이 유의성있게 감소하는 경우에는 *Enterobacteriaceae*와 *Clostridium* 균수가 감소하였다. 그러나 위의 균들이 감소하지 않고 총균수에 대한 점유율이 증가하거나 현상을 유지한 경우에는 indole, *p*-cresole 양의 변화가 없었거나, 암모니아량이 증가하는 경향을 보였다.

본 실험에서 유산균분말을 음용함에 따라 분변내 암모니아량이 약간 증가하였고, indole, skatole 량이 감소하는 경향을 보였다. 그러나 전반적으로 커다란 변화를 보이지 않은 것은 분변균총의 변화에서 나타났듯이(Table 3과 Fig. 2), 부폐산물을 생성하는 *Clostridium*(lecithinase negative)와 *Staphylococcus* 등의 균수가 감소하였지만 일부 부폐균들(*Bacteroides*)의 수가 증가하였거나 변화하지 않았기 때문인 것으로 사료되었다.

요 약

유산균의 장내균총과 부폐산물 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 건강한 성인 남녀 6명의 지원자에게 *Lactobacillus acidophilus*와 *Bifidobacterium longum*으로 제조한 유산균분말(각각 1.5×10^9 cells)을 하루에 2회씩 2주동안 섭취하도록 하였다. 그리고 지원자 분변으로부터 균총수 변화와 부폐산물인 암모니아, indole, skatole, *p*-cresole량을 측정하였다. 유산균의 투여 기간중에 분변내 bifidobacteria의 수가 8.78 ± 0.39 (log cfu/g feces \pm S.D.)에서 9.27 ± 0.29 로 증가하였고($p < 0.05$) 투여 중지후에는 약간 감소하였으며, lactobacilli의 수는 6.15 ± 0.80 에서 6.76 ± 0.48 로 증가하였다($p < 0.05$). *Enterococcus* 균수는 투여 기간중에 6.66 ± 0.80 에서 7.72 ± 0.40 으로 증가하였다가 투여 중지후에는 감소하는 경향을 보였다. 그리고 혐기성균인 *Bacteroides*는 투여중에 8.45 ± 0.34 에서 9.15 ± 0.21 으로 증가하였으나($p < 0.01$), 유해균주로 알려진 *Clostridium*(lecithinase negative)과 *Staphylococcus* 균수는 현저히 감소하였다. 그러나, 유산균

투여 실험기간인 6주 동안 분변내 암모니아, indole, skatole, *p*-cresole의 유의적인 농도변화는 없었다.

참고문헌

- Mitsuoka, T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora*. 1: 3-24.
- Mitsuoka, T. 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J. Ind. Microbiol.* 6: 263-268.
- Reid, G., A.W. Bruce, J.A. McGroarty, K.J. Cheng, and J.W. Costerton. 1990. Is there a role for lactobacilli in prevention of urogenital and intestinal infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 3: 335-344.
- Mitsuoka, T. 1978. Intestinal bacteria and health. Harcourt Brace Jovanovich, Tokyo.
- Suzuki, K., Y. Benno, T. Mitsuoka, S. Takebe, K. Kobashi, and J. Hase. 1979. Urease-producing species of intestinal anaerobes and their activities. *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 379-382.
- Yokoyama, M.T. and J.R. Carlson. 1979. Microbial metabolites of tryptophan in the intestinal tract with special reference to skatole. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 173-178.
- Julian, I.R. and S.T. Cole. 1991. Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens*. *Microbiol. Rev.* 55: 621-648.
- Yoshihara, I. and K. Maruta. 1977. Gas chromatographic microdetermination of indole and skatole in gastrointestinal contents of domestic animals. *Agric. Biol. Chem.* 41: 2083-2085.
- Yoshihara, I. 1978. Gas chromatographic detection of volatile phenols and microdetermination of *p*-cresole in gastrointestinal contents of domestic animals. *Agric. Biol. Chem.* 42: 1607-1609.
- Yoshihara, I. 1979. Simultaneous gas chromatographic microdetermination of indole, skatole, and *p*-cresole in gastrointestinal contents of domestic animals. *Agric. Biol. Chem.* 43: 1985-1987.
- Yoshihara, I. 1981. Isothermal gas chromatographic analysis of putrefactive products in gastrointestinal contents and urine using the same dual column system. *Agric. Biol. Chem.* 45: 1873-1875.
- Wilkins, C.K. 1990. Analysis of indole and skatole in porcine gut contents. *Int. J. Food Sci. Tech.* 25: 313-317.
- Metchnikoff, E. 1908. The prolongation of life. 1st ed. G.P. Putnam's Sons, New York.
- Philippe, M.P., Pochart, B. Flouri, P. Pellier, L. Santos, J-F. Desjeux, and J-C. Rambaud. 1990. Effect of chronic ingestion of a fermented dairy products containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 52: 685-688.
- Yoshimi, B. and T. Mitsuoka. 1992. Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora. *Microbiol. Immunol.* 36: 683-694.
- Nobuhiro, M., Y. Saitoh, A. Terada, H. hara, K.

- Osabe, K., Muraishi, H., Iwana, T., Kaneko, and T. Mitsuoka. 1993. Effects of yoghurt-administration on fecal flora and putrefactive metabolites of senile volunteers. *Bifidus*. **6**: 161-168.
17. Hiroyoshi, H., A. Terada, M. Takahashi, T. Kaneko, and T. Mitsuoka. 1993. Effects of yoghurt-administration of fecal flora and putrefactive metabolites of normal adults. *Bifidus*. **6**: 169-175.
18. Hosoda, M., F. He, M. Hiramatu, H. Hasimoto, and Y. Benno. 1994. Effects of *Lactobacillus GG* strain intake on fecal microflora and defecation in healthy volunteers. *Bifidus*. **8**: 21-28.
19. Nielsen, O.H., S. Jørgensen, K. Pedersen, and T. Justesen. 1994. Microbiological evaluation of jejunal aspirates and faecal samples after oral administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **76**: 469-474.
20. Takiguchi, R., M. Ohe, M. Miyamoto, S. Toyoda, I. Nakajima, and Y. Benno. 1994. Effects of the fermented-milk administration on stool frequency and fecal microflora of constipated female adults. *Bifidus*. **8**: 15-20.
21. 전세열, 김재국, 김정진. 1983. 유산균 발효유가 유아의 장내균총에 미치는 영향. *인간과학*. **7**: 25-37.
22. Ochi, Y., T. Mitsuoka, and T. Segi. Studies on the intestinal flora of chickens. III. The development of the flora from chicks till hens. *Zbl. Bakt.* **193**: 80-95.
23. Mitsuoka, T., K. Ohno, Y. Benno, K. Suzuki, und K. Nanba. 1976. Die Faekalflora bei Menschen. Mitteilung: Vergleich des neu entwickelten Verfahrens mit den bisherigen blichen Verfahren zur Darmfloraanalyse. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infectionsskr. Hyg. I. Abt. Orig.* **A234**: 219-233.
24. Mitsuoka, T. 1984. A color atlas of intestinal bacteria. Shobunsha Press, Tokyo.
25. 조재영, 장권열. 1982. 실험통계분석법, Pp. 68-78. 향문사.
26. Tomoda, T., Y. Nakano, and T. Kageyama. 1988. Intestinal *Candida* overgrowth and *Candida* infection in patients with leukemia: effect of *Bifidobacterium* administration. *Bifidobacteria Microflora*. **7**: 71-74.
27. Bouhnik, Y., P. Pochart, P. Marteau, G. Arlet, I. Goderel, and J.C. Rambaud. 1992. Fecal recovery in humans of viable *Bifidobacterium* sp. ingested in fermented milk. *Gastroenterology*. **102**: 875-878.
28. Tamura, N., M. Norimoto, K. Yoshida, C. Hirayama, R. Nakai, and A. Takagi. 1983. Alteration of fecal bacterial flora following oral administration of bifidobacterial preparation. *Gastroenterologia Japonica*. **18**: 47-55.
29. Fujisawa, T., T. Mizutani, H. Iwana, A. Ozaki, T. Oowada, K. Nakamura, and T. Mitsuoka. 1990. Effects of culture condensate of *Bifidobacterium longum* (MB) on feed efficiency, morphology of intestinal epithelial cells, and fecal microflora of rats. *Bifidobacteria Microflora*. **9**: 43-50.
30. Benno, Y. and T. Mitsuoka. 1992. Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora. *Microbiol. Immunol.* **36**: 683-694.
31. Goldin, B.R. and S.L. Gorbach. 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am. J. Clin. Nutr.* **39**: 756-761.
32. Isolauri, E., M. Juntunen, T. Rautanen, P. Sillanaukee, and T. Koivula. 1991. A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp. strain GG.) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics*. **88**: 90-97.
33. Lidbeck, A., U.G. Allinger, K.M. Orrhage, L. Ottova, B. Brismar, J. Gustafsson, J.J. Rafter, and C.E. Nord. 1991. Impact of *Lactobacillus acidophilus* supplements on the faecal microflora and soluble faecal bile acids in colon cancer patients. *Micro. Ecol. Hlth. Dis.* **4**: 81-88.
34. Millar, M.R., C. Bacon, S.L. Smith, V. Waker, and M.A. Hall. 1993. Enteral feeding of premature infants with *Lactobacillus GG*. *Arch. Dis. Child.* **69**: 483-487.
35. Hara, H., A. Terada, M. Takahashi, T. Kaneko, and T. Mitsuoka. 1993. Effects of yoghurt-administration on fecal flora and putrefactive metabolites of normal adults. *Bifidus*. **6**: 169-175.

(Received 11 December 1995)