

한국형 *Bifidobacterium longum* SPM1205 혼합제제의 변비 개선 효과

김정래¹ · 이도경¹ · 백은혜¹ · 안향미¹ · 양환진¹ · 김미진¹ · 최경순² · 윤미은² · 정이정³ · 오복자⁴ ·
정명준⁵ · 하남주^{1*}

¹삼육대학교 약학대학, ²삼육대학교 식품영양학과, ³삼육대학교 물리치료학과,
⁴삼육대학교 간호학과, ⁵(주)셀바이오텍

Efficacy of Mixture of Lactic Acid Bacteria (LAB) and Bifidobacteria Supplement in the Management of Constipation; Demonstration of Functionality in Animal and Clinical Trials

Jung Rae Kim¹, Do Kyung Lee¹, Eun Hye Baek¹, Hyang Mi An¹, Hwan Jin Yang¹,
Mi Jin Kim¹, Kyung Soon Choi², Mi Eun Yun², Yi Jung Jung³, Pok Ja Oh⁴,
Myung Jun Chung⁵, and Nam Joo Ha^{1*}

¹Department of Pharmacy, ²Department of Food and Nutrition, ³Department of Physical Therapy,

⁴Department of Nursing, Sahmyook University, Seoul 139-742, Republic of Korea

⁵CellBiotech, Co. Ltd, Seoul 157-030, Republic of Korea

(Received January 7, 2010/Accepted February 24, 2010)

The aim of this study was to evaluate the efficacy of mixture of Lactic Acid Bacteria (LAB) and bifidobacteria supplement, which are contained with *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum* SPM1205, and *Pediococcus pentosaceus* for the management of constipation in animal model and clinical trials. 5 ICR mice and 4 female constipation subjects were orally taken mixture of LAB and bifidobacteria for 2 weeks. We investigated the number of fecal LAB and harmful enzymes activities before and after mixture of LAB and bifidobacteria application. As a result, fecal LAB count was increased and harmful enzymes activities of intestinal microflora were generally decreased after mixture of LAB and bifidobacteria application. Also, 61 female subjects were randomly assigned to receive either mixture of LAB and bifidobacteria or lactose and were taken three times a day for 2 weeks. Then, we analyzed mixture of LAB and bifidobacteria effect through the questionnaires. Daily consumption of this mixture of LAB and bifidobacteria improved the constipation in constipation group (56.3%) compared with lactose application group (26.7%). Furthermore, after mixture of LAB and bifidobacteria treatment, frequency of hard stool decreased from 0.22 to 0.03. These results indicated that mixture of LAB and bifidobacteria application is effective to improve the constipation.

Keywords: animal models, clinical trials, management of constipation, mixture of lactic acid bacteria (LAB) and bifidobacteria supplement

변비는 현대 사회에서 널리 유행하고 있으며, 임상에서도 흔하게 알려진 증상이다(4). 변비는 대장의 활동이 원활하지 않아 생기게 되며, 질병이라기 보다는 증상에 가깝다. 변비는 여러 증상과 병들로 나타나지며, 가장 일반적인 증상으로는 배변 횟수의 감소(e.g. <3/week), 불규칙한 배변, 통증을 수반하고

힘겨운 배변, 단단하고 건조한 배변, 숙변과 매우 적은 양의 배변(e.g. <50 g/day)이 일반적이다(6). 남성에 비해 여성, 젊은 층에 비해 노년층에게 변비증상이 더 많이 보고되고 있다(14).

변비는 장폐색 또는 유동 방해, 항문과 골반의 이상, 신경성 질환, 대사성 또는 호르몬계의 이상으로부터 유래되거나, 약물 부작용, 그리고 탈수 또는 고정(immobilization)으로부터 유래될 수 있다. 만성변비, 운동부족, 배변 활동 무시, 낮은 섬유질

* For correspondence. E-mail: hanj@syu.ac.kr; Tel: +82-2-3399-1607;
Fax: +82-2-3399-1617

의 섭취, 불규칙한 생활습관 또는 개인적인 요소들로부터도 발생할 수 있다(6).

변비는 수분이나 섬유질의 증가로 증상이 호전될 수 있으나, 일반적으로 독자적으로는 불충분하다(38). 변비를 예방하기 위해서는 장으로부터 숙변들을 제거하는 것이 필요하다. 변비에 대한 치료 없이 단지 섬유질의 섭취를 늘리는 것만으로 문제가 해결되는 것은 아니다. 변비에 대한 가장 일반적인 치료는 설사를 유도하는 완하제를 사용하는 것으로, 완하제는 증량제(bulking agent), 촉진제(stimulant), 삼투와 연화완하제(osmotic and softening laxatives)로 구성된다(6, 26). 국민 보건 서비스(National Health Service)에서는 완하제를 변비치료로 사용함으로써 많은 비용이 들어간다(26, 46). 따라서 유산균을 통한 변비치료로 이러한 비용의 감소를 가져올 것으로 사료된다.

Probiotics는 좋은 장내 환경으로 개선하는 살아있는 미생물을 식품에 첨가하는 것, 일정량의 섭취로 인해서 고유의 기본 영양보다 더 많은 영향을 미치게 하는 살아있는 미생물로 충분한 양을 섭취하면 섭취하는 숙주를 건강하게 해주는 것으로 정의할 수 있다(16, 17, 23). Probiotics는 변비를 경감할 수 있는데 probiotics로 발효된 우유나 요거트는 분변의 장내 통과 시간을 줄이고, 변비환자의 일일 배변 횟수를 늘릴 수 있다. 그러나 연구에 의하면 유산균 복용의 효과는 사용되는 박테리아 균주와 개체군에 따라 달라질 수 있다(15).

현재 유산균은 lactose의 흡수를 돕고, 면역 기능의 증가, 암과 특히 설사나 변비를 예방하여 장내 환경을 개선하는 비타민의 합성, 혈액의 콜레스테롤의 수치를 낮추고 유해한 박테리아를 억제함으로써 장내 환경에 관련된 질병의 예방과 치료에 사용되고 있다(31, 37, 39, 44, 47).

본 연구에서는 *Lactobacillus acidophilus*와 *Pediococcus pentosaceus*, *Bifidobacterium longum* SPM1205를 혼합하여 실험에 사용하였다. *L. acidophilus*는 급성 설사와 대장염에 영향을 미치고(8, 45), *P. pentosaceus*는 항바이러스 효과를 나타내고, *B. longum* SPM1205는 건강한 한국인의 변에서 분리한 균주로서 생체내에서 잠재적인 probiotics activity를 나타내는 유해 효소 억제효과가 증명되었다(9).

그러므로 이번 연구의 목적은 동물실험과 임상실험을 통해 3종의 유산균 및 비피더스균 혼합제제에 의한 변비개선 효과를 알아보는 것이다.

재료 및 방법

실험동물과 식이

유산균수는 48시간 동안 혐기상태에서(Bactron Anaerobic Chamber, Sheldon MFG. Inc., USA) 배양한 후, 콜로니의 수를 측정하여 CFU (Colony Forming Unit)로 나타내었다.

4주령 ICR 수컷 마우스 5마리에 하루에 한번 200 mg/kg (3.0×10^{11} CFU/g) 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 2주 동안 복용하였다. 유산균수와 효소 활성을 측정하기 위해 분변샘플을 수집하였다.

임상 실험을 위해서 평균 연령 22세 4명의 여성 변비 환자

를 모집하였다. 하루에 3번(식후 30분) 2주 동안 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용하였다. 유산균수와 효소 활성을 측정하기 위해 분변샘플을 수집하였다.

유산균수 측정

분변샘플 0.1 g을 마이크로 초음파 파쇄기(Microsonicator)를 사용하여 0.5% cysteine이 포함된 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8)의 0.9 ml에 현탁하였다. 상기 현탁액 0.2 ml을 분주해서 10^{-1} 배씩 10^{-1} 부터 10^{-7} 까지 단계희석(Series dilution) 후, 선택적 MRS agar 배지에 0.1 ml를 스프레드 방법을 실시하였다. 48시간 동안 혐기상태에서 배양한 후, 콜로니의 수를 측정하였다. CFU의 수치는 \log_{10} CFU/g으로 나타냈다(9).

생체 내 장내 유해 효소 억제효과 측정

대장암에 관련된 유해 효소 활성은 이미 기술된 방법으로 사람의 분변에서 측정하였다(28, 29).

β -Glucosidase 활성

β -Glucosidase activity는 2 mM p-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside 0.8 ml과 enzyme solution (분변샘플이 현탁 되어있는) 0.2 ml로 구성되어 있는 reaction mixture 2 ml을 37°C에서 30분간 배양하고, 후에 0.5 N NaOH 1 ml을 첨가하여 반응을 종결시켰다. 종결된 reaction mixture는 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였고, 405 nm 흡광도에서 효소활성을 측정하였다.

Tryptophanase 활성

Tryptophanase activity는 complete reagent solution (2.75 mg pyridoxal phosphate, 19.6 mg disodium EDTA dehydrate, 10 mg bovine serum albumin을 0.05 M potassium phosphate buffer, pH 7.5 100 ml에 넣은 용액), 20 mM tryptophan 0.2 ml, enzyme solution (분변샘플이 현탁 되어있는) 0.1 ml로 구성되어 있는 reaction mixture 2.5 ml를 37°C에서 1시간 동안 incubation하고, 후에 color reagent solution (H_2SO_4 52 ml과 95% ethanol 948 ml 혼합용액에 p-dimethylaminobenzaldehyde 14.7 g을 넣은 것) 2 ml을 첨가하여 반응을 종결시켰으며, 종결된 reaction mixture는 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였고, 550 nm 흡광도에서 효소활성을 측정하였다.

Urease 활성

Urease activity는 urea substrate solution (20 mM sodium phosphate buffer, pH 7.0에 4 mM urea를 넣은 것) 0.3 ml와 enzyme solution (분변샘플이 현탁 되어있는) 0.1 ml로 구성되어 있는 reaction mixture 0.5 ml를 37°C에서 30분간 incubation하고, 후에 1 N $(NH_4)_2SO_4$ 0.1 ml를 첨가하여 반응을 종결시켰다. Reaction mixture를 종결시키기 위해 phenolnitroprusside reagent 1 ml과 alkaline hypochlorite reagent (NaClO) 1 ml를 첨가하였고 65°C에서 20분간 배양시켰다. Reaction mixture는 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였으며, 630 nm 흡광도에서 효소 활성을 측정하였다.

Table 1. First questionnaire

* 설문지 설문지 작성일 : 200 년 월 일. 학번: 이름:

- 나이? (), 성별? 남() 여()
귀하의 종교는? ① 불교 ② 기독교(개신교) ③ 천주교 ④ SDA ⑤ 무교 ⑥ 기타
연락처: e-mail: 휴대폰: 집전화:
- 귀하의 현재 건강상태는 어떻습니까?
① 매우 건강한 편이다. ② 건강한 편이다. ③ 보통이다.
④ 건강하지 못한 편이다. ⑤ 매우 건강하지 못한 편이다.
- 현재 귀하께서 앓고 계시는 질병이 있으시면, 해당 질병에 V표하여 주세요.
① 위장질환 ② 변비 ③ 알러지 ④ 아토피 ⑤ 호흡기 질환 ⑥ 감기 ⑦ 고혈압 ⑧ 당뇨 ⑨ 요도감염증(신장질환, 방광염) ⑩ 불면증
⑪ 빈혈 ⑫ 관절염 ⑬ 만성두통 ⑭ 스트레스, 피로 ⑮ 암 ⑯ 간장질환(간염)
- 귀하의 식사습관은?
* 육식 위주의 식사를 하십니까? 예 아니오
* 흰 쌀밥이 아닌 잡곡밥이나 현미밥을 먹고 계십니까? 예 아니오
* 과일을 많이 드시는 편입니까? 예 아니오
- 귀하께서는 최근 지속적으로 약을 사용(복용)하고 계십니까? ① 예 ② 아니오

※ 유산균 및 비피더스균 혼합제제 복용 후 대답하여 주십시오.

- 본 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용하신 후 건강이 개선 되셨는지요?
① 관련증상이 현저하게 개선되었다. ② 조금 향상되었다. ③ 그저 그렇다. ④ 더 악화되었다.
- 본 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용 하신 후 건강이 개선되었다면 개선된 부분은?
① 컨디션이 좋아졌다. ② 질병 상태가 호전되었다. ③ 그대로이다.
④ 장이 안 좋아 설사를 자주 했는데 설사를 하지 않는다. ⑤ 변비가 없어졌다. ⑥ 기타
- 복용기간 동안의 자신의 배변 습관은?
* 배변횟수? ① 3일에 한번 ② 이틀에 한번 ③ 하루 두 번 ④ 하루 두 번 이상 ⑤ 불규칙
* 배변량의 변화? ① 증가 ② 동일 ③ 감소
* 변의 단단한 정도? ① 단단함 ② 보통 ③ 묽은 변
* 통변감? ① 양호 ② 보통 ③ 불량
- 복용기간 동안의 자신의 체중 변화는? 복용 전 kg ----> 복용 후 kg
- 본 설문지에 대한 궁금증이나 연락사항이 있으시면 연락 주십시오.

e-mail:

임상실험 대상자

삼육대학교 식품영양학과 학생들을 대상으로 100명의 지원 자 중 상기 실험에 적합한 61명의 여성만 참여하였다. 남성(15

명), 다른 질병이 있는 여성(11명), 참가를 희망하지 않은 여성 (13명)을 제외하였다. 대상자들은 약물치료나 다른 질병이 없 었다(33).

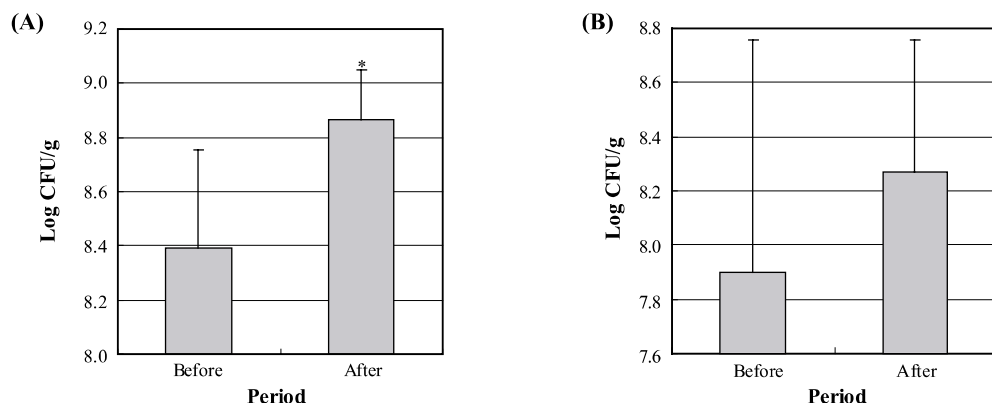


Fig. 1. Changes of fecal LAB levels in mice and subjects. (A) All 5 mice were orally administered once a day for 2 weeks with 200 mg/kg mixture of 3.0×10^{11} CFU/g LAB and bifidobacteria. (B) All 4 subjects were orally administered three times (to be taken 30 min after each meal) a day for 2 weeks with mixture of 3.0×10^{11} CFU/g LAB and bifidobacteria. Before: before the experiment started, After: at the end of experiment. Data are presented as means and standard deviation. * $p < 0.05$ statistically significant compared with before mixture of LAB and bifidobacteria treatment.

유산균 및 비피더스균 혼합제제의 처리방법

이 임상실험은 lactose을 대조군으로 사용하였고 단일 연구이며 무작위적으로 계획하였다(7). 임상실험 대상자에게 이번 실험의 목적과 방법을 설명하였다. 그들에게 유산균 및 비피더스균 혼합제제나 lactose을 무작위적으로 분배하고 하루에 3번씩 2주동안 복용하게 하였다. 실험을 위해 4개의 그룹으로 나누었다. 제1그룹(n=32)은 변비에 걸린 피실험자로 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용하였고, 제2그룹(n=7)은 변비에 걸린 피실험자로 lactose을 복용하였다. 제3그룹(n=14)은 건강한 피실험자로 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용하였고, 제4그룹(n=8)은 건강한 피실험자로 lactose을 복용하였다.

설문지

실험 전에 우선 환자들의 이름, 나이, 성별, 종교, 질병, 식습관과 건강상태에 대해서 조사하였다.

그리고 유산균 및 비피더스균 혼합제제 복용 후 건강 상태의 변화, 변비와 배변 습관의 변화, 분변의 양과 분변의 상태에 대해서 조사하였다(Table 1).

유산균 및 비피더스균 혼합제제 복용 후 설문지

환자들은 '네/아니오'를 이용하여 배변시 변화들을 조사하였다(1)(Table 2). 분변의 양, 배변의 횟수, 분변의 상태, 복통, 복부의 불편감, 식욕과 배변감을 조사하였다.

통계분석

결과는 평균과 표준편차로 나타냈다. 실험 데이터는 SAS를 사용하여 검증하였다. IRC 마우스 5마리와 4명의 변비환자의 유산균 및 비피더스균 혼합제제 처리에 있어 유산균수와 유해 효소 활성의 전과 후의 유의적인 차이를 볼 때는 t-test를 사용하였으며, $p < 0.05$ 에서 유의성을 판단하였다.

결과

분변의 유산균수

분변의 유산균수는 IRC 마우스 5마리에 유산균 및 비피더스균 혼합제제 복용 후 $8.4 \log_{10}\text{CFU/g}$ 에서 $8.9 \log_{10}\text{CFU/g}$ 으로 증가하였다(Fig. 1A). 또한 4명의 변비환자의 유산균수는 $7.9 \log_{10}\text{CFU/g}$ 에서 $8.3 \log_{10}\text{CFU/g}$ 으로 증가하였다(Fig. 1B).

생체내의 장내 미생물총의 유해 효소의 억제

마우스에서 유산균 및 비피더스균 혼합제제는 β -glucosidase activity, β -glucuronidase activity, tryptophanase activity와 urease activity은 복용 전과 후를 비교해서 각각 26%, 8%, 12% 그리고 83%가 감소하였다(Fig. 2). 피실험자에서는 β -glucosidase activity, β -glucuronidase activity와 urease activity가 각각 47%, 49% 그리고 19%가 감소하였다(Fig. 3).

피실험자들의 특성

여성 피실험자 61명을 4개의 군으로 나누었다. 유산균 및

비피더스균 혼합제제를 복용한 변비환자군 32명(53%), lactose을 복용한 변비환자군 7명(11%), 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 건강한 사람군 14명(23%), lactose을 복용한 건강한 사람군 8명(13%)으로 나누었다. 나이(27세)와 체중(53 kg)의 평균치는 군 사이의 유의성은 없었다(각각 $p=0.0999$, $p=0.2015$)(Table 3). 피실험자들은 그들의 건강상태에 대해서 38명은 '건강한 편이다'(62.4%), 19명은 '보통이다'(31.1%), 3명은 '매우 건강한 편이다'(4.9%) 그리고 1명은 '건강하지 못한 편이다'(1.6%)로 조사되었다. 각 군 사이의 유의성은 없었다($p=0.8588$).

피실험자(61명)의 식습관을 조사하였을 때, 육식 위주의 식사를 하는가에 대한 질문에 42명(68.8%)은 '아니오', 19명(31.2%)은 '네'라고 대답하였고, 흰 쌀밥이 아닌 잡곡밥이나 현미밥을 먹는가에 대한 질문에 43명(70.5%)은 '네', 18명(29.5%)은 '아니오'라고 대답하였다. 그리고 과일을 많이 섭취하는가에 대한 질문에 39명(63.9%)은 '네', 22명(36.1%)은 '아니오'라고 대답하였다. 각 군 사이의 유의성은 없었다(각각 $p=0.7099$, 0.2353 , 0.4874)(Table 4).

유산균 및 비피더스균 혼합제제나 lactose을 복용한 후에 건강상태의 변화에 대해서 조사하였을 때, 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 변비환자군에서 1명(3.1%)은 '관련 증상이 현저하게 개선되었다', 11명(34.4%)은 '조금 향상되었다', 17명(53.1%)은 '그저 그렇다'이고 3명(9.4%)은 '더 악화되었다'로 대답하였다. Lactose을 복용한 변비환자군에서 2명(28.6%)은 '조금 향상되었다', 3명(42.8%)은 '그저 그렇다' 그리고 2명(28.6%)은 '더 악화되었다'로 대답하였다. 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 건강한 사람군에서 7명(50%)은 '조금 향상되었다', 6명(42.9%)은 '그저 그렇다' 그리고 1명(7.1%)은 '더 악화되었다'로 대답하였다. Lactose을 복용한 건강한 사람군에서 2명(25%)은 '조금 향상되었다', 6명(75%)은 '그저 그렇다'로 대답하였다. 각 군 사이의 유의성은 없었다($p=0.6779$)(Table 5).

현재의 건강상태에 대해서 조사하였을 때, 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 변비환자군에서 2명(6.2%)은 '컨디션이 좋아졌다', 2명(6.2%)은 '질병 상태가 호전되었다', 16명(50%)은 '그대로이다', 6명(18.8%)은 '변비가 없어졌다', 3명(9.4%)은 '기타' 그리고 3명(9.4%)은 대답하지 않았다. Lactose을 복용한 변비환자군에서 1명(14.3%)은 '컨디션이 좋아졌다', 5명(71.4%)은 '그대로이다' 그리고 1명(14.3%)은 '변비가 없어졌다'라고 대답하였다. 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 건강한 사람군에서 5명(35.8%)은 '그대로이다', 1명(7.1%)은 '장이 안 좋아서 설사를 자주 했는데 설사를 하지 않는다', 3명(21.4%)은 '변비가 없어졌다', 4명(28.6%)은 '기타' 그리고 1명(7.1%)은 대답하지 않았다. Lactose을 복용한 건강한 사람군에서 6명(75%)은 '그대로이다', 1명(12.5%)은 '기타' 그리고 1명(12.5%)은 대답하지 않았다. 각 군 사이의 유의성은 없었다($p=0.3843$). 몸무게의 변화에 대해서 조사하였을 때, 30명(49.2%)은 '똑같다', 15명(24.6%)은 '증가하였다' 그리고 12명(19.7%)은 '감소하였다'로 대답하였다. 각 군 사이의 유의성

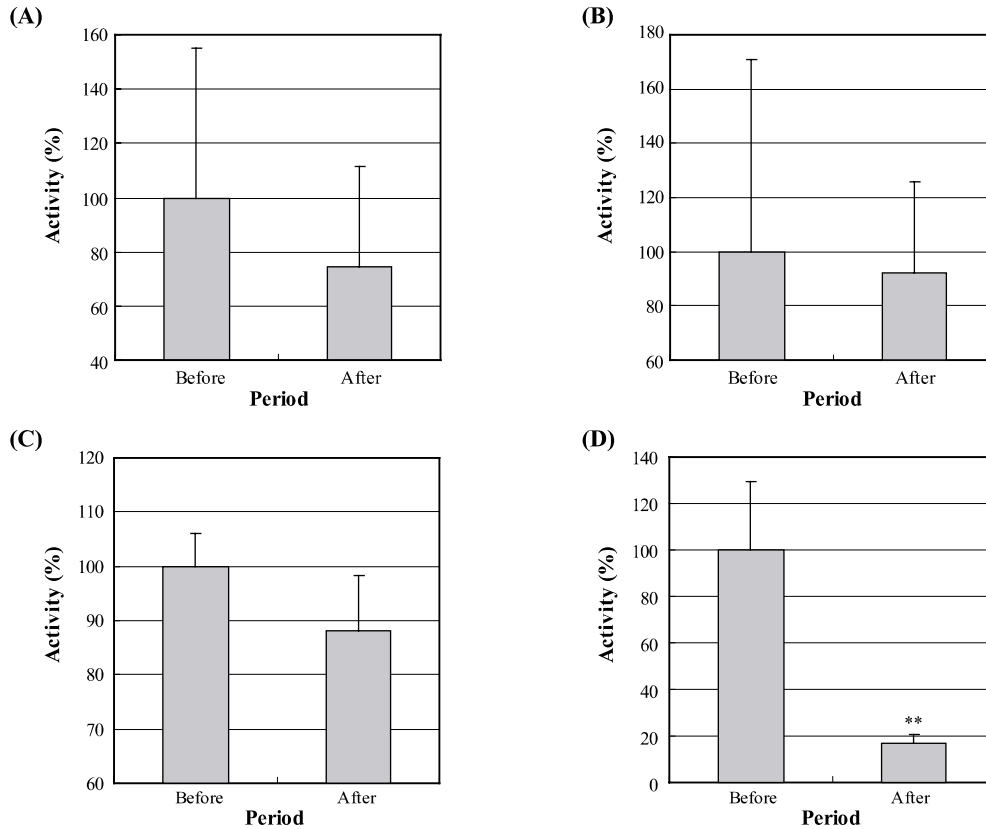


Fig. 2. *In vivo* inhibitory effects of mixture of LAB and bifidobacteria on fecal harmful enzymes in mice. All 5 mice were orally administered once a day for 2 weeks with 200 mg/kg mixture of 3.0×10^{11} CFU/g LAB and bifidobacteria. (A) β -glucosidase activity, (B) β -glucuronidase activity, (C) tryptophanase activity, (D) urease activity, Before: before the experiment started, After: at the end of experiment. Data are presented as means and standard deviation. ** $p < 0.01$ statistically significant compared with before mixture of LAB and bifidobacteria treatment.

은 없었다($p=0.5960$).

분변의 특성

분변의 양, 배변의 횟수와 다른 것들은 의미 있는 변화가 없었지만 분변의 상태는 단단함 정도의 빈도가 줄어들었다(Table 6). 변비 그룹에서 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 그룹의 분변 상태는 lactose를 복용한 그룹의 분변 상태보다 효과적으로 개선되었다($p=0.0394$). 단단함 정도의 빈도 평균수치가 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용 후 0.22에서 0.03으로 감소하였고, lactose를 복용 후는 0.71로 동일하게 나타났다(Table 7).

고찰

유산균은 다양한 위장 질환의 치료제로서 널리 사용되어지고 있다. 일반적인 두가지 메커니즘이 있는데 첫 번째는, 소장에서 lactose를 glucose와 galactose으로 가수분해를 촉진시켜 빠르게 흡수게 한다. 두 번째는, 식품의 가공으로 손실된 영양분을 보충한다. 하지만 이 효과의 정확한 원리는 불명확하다(32, 34, 35, 36, 41).

Lactobacilli와 bifidobacteria는 모든 연령대에 장내 미생물총의 성분으로 중요하다(13). Lactobacilli는 사람과 동물의 본래의 미생물군의 일부로써 중요하다(12). Lactobacilli는 lactose 불내증을 개선 시키고, 장의 연동운동을 돕고, 배설물의 배출

Table 3. Characteristics of each group before treatment in the first questionnaire

Variables	Total (n=61)	C-mixture ^d (n=32)	C-Lac ^e (n=7)	H-mixture ^f (n=14)	H-Lac ^g (n=8)	P ^b
Age	27.15±11.47 ^a	28.34±12.10	34.43±16.45	22.14±1.75	24.75±11.18	NS ^c
Weight	53.39±4.67	53.22±3.29	54.93±5.73	51.50±3.83	56.00±8.07	NS

Abbreviations: ^a Mean±standard deviation, ^b significance from each other at $P < 0.05$ as determined by Duncan's multiple-range test, ^c not significant, ^d constipation subjects-mixture of LAB and bifidobacteria treatment, ^e constipation subjects-lactose treatment, ^f healthy subjects-mixture of LAB and bifidobacteria treatment, and ^g healthy subjects-lactose treatment.

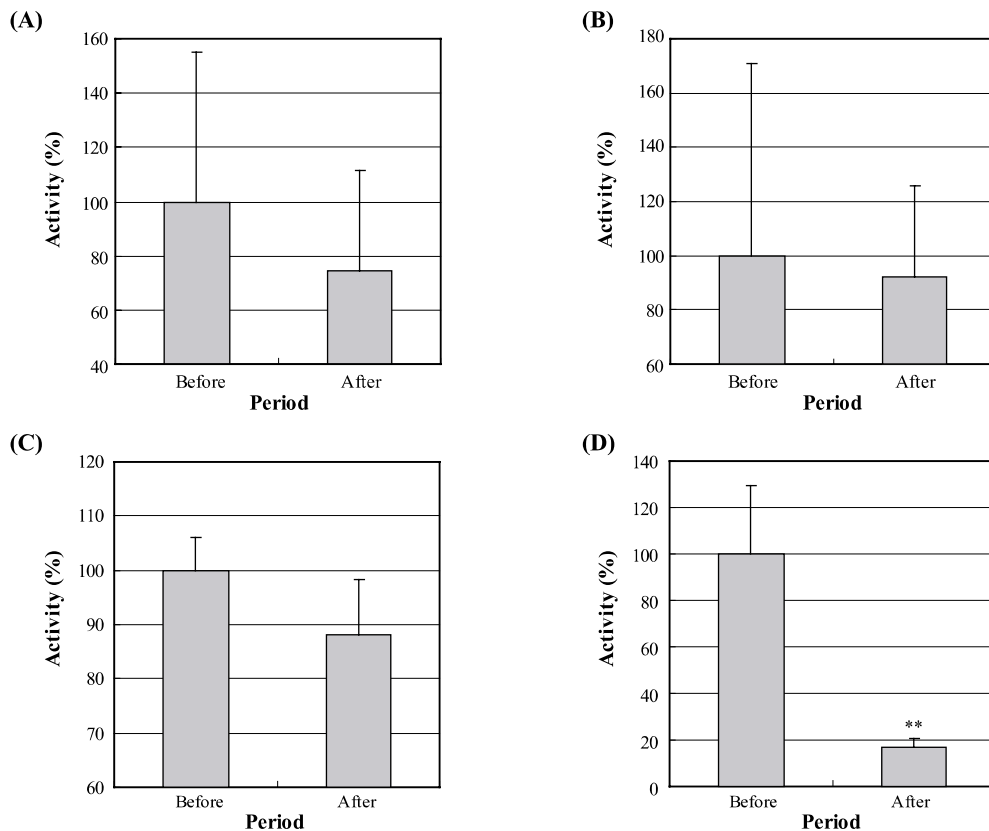


Fig. 3. *In vivo* inhibitory effects of mixture of LAB and bifidobacteria on fecal harmful enzymes in subjects. All 4 subjects were orally administered three times (to be taken 30 min after each meal) a day for 2 weeks with mixture of 3.0×10^{11} CFU/g LAB and bifidobacteria. (A) β -glucosidase activity, (B) β -glucuronidase activity, (C) tryptophanase activity, (D) urease activity, Before: before the experiment started, After: at the end of experiment. Data are presented as means and standard deviation. * $p < 0.05$ statistically significant compared with before mixture of LAB and bifidobacteria treatment.

을 촉진시킨다(13). Lactobacilli도 드물게 감염에 연루되어 있지만 일반적으로 안전하다고 생각하기 때문에 식품에 관련되어서 사용되어 왔다(3, 11, 44). Lactobacilli 중에 *L. acidophilus*는 각 균주들의 lactose의 분해력을 향상시켜서 혈액의 콜레스테롤 수치를 낮추는 것, 암을 예방하는 것, 면역자극, 여성의

경우 비요생식기에 감염을 조절, 그리고 장내의 감염을 조절하거나 예방한다(18, 19, 25, 27, 30, 43). Bifidobacteria는 장내에 흔한 박테리아이다. Bifidobacteria는 사람의 장내의 적절한 균형을 유지할수 있도록 돕고, 병원균과 부패된 박테리아에 대해서 보호하는 역할을 한다. 그래서 probiotics에 포함되어 왔

Table 4. Characteristics of each group before treatment

Variables		Total (n=61) n (%)	C-mixture ^a (n=32) n (%)	C-Lac ^b (n=7) n (%)	H-mixture ^c (n=14) n (%)	H-Lac ^d (n=8) n (%)
Health	very good	3 (4.9)	2 (6.3)	0 (00.0)	0 (00.0)	1 (12.5)
	good	38 (62.4)	18 (56.2)	5 (71.4)	11 (78.6)	4 (50.0)
	not bad	19 (31.1)	11 (34.4)	2 (28.6)	3 (21.4)	3 (37.5)
	bad	1 (1.6)	1 (3.1)	0 (00.0)	0 (00.0)	0 (00.0)
Meat	yes	19 (31.2)	12 (37.5)	2 (28.6)	3 (21.4)	2 (25.0)
	no	42 (68.8)	20 (62.5)	5 (71.4)	11 (78.6)	6 (75.0)
B-rice ^e	yes	43 (70.5)	20 (62.5)	4 (57.1)	12 (85.7)	7 (87.5)
	no	18 (29.5)	12 (37.5)	3 (42.9)	2 (14.3)	1 (12.5)
Fruit	yes	39 (63.9)	19 (59.4)	6 (85.7)	8 (57.1)	6 (75.0)
	no	22 (36.1)	13 (40.6)	1 (14.3)	6 (42.9)	2 (25.0)

Abbreviations: ^a Constipation subjects-mixture of LAB and bifidobacteria treatment, ^b constipation subjects-lactose treatment, ^c healthy subjects-mixture of LAB and bifidobacteria treatment, ^d healthy subjects-lactose treatment, and ^e brown rice

Table 5. Characteristics of each group after treatment

Variables		Total (n=61) n (%)	C-mixture ^a (n=32) n (%)	C-Lac ^b (n=7) n (%)	H-mixture ^c (n=14) n (%)	H-Lac ^d (n=8) n (%)
Health condition	change for the better	1 (1.6)	1 (3.1)	0 (00.0)	0 (00.0)	0 (00.0)
	a little better	22 (36.1)	11 (34.4)	2 (28.6)	7 (50.0)	2 (25.0)
	so so	32 (52.5)	17 (53.1)	3 (42.8)	6 (42.9)	6 (75.0)
	change for the worse	6 (9.8)	3 (9.4)	2 (28.6)	1 (7.1)	0 (00.0)
Changed aspect	have a condition	3 (4.9)	2 (6.2)	1 (14.3)	0 (00.0)	0 (00.0)
	be cured of a disease	2 (3.3)	2 (6.2)	0 (00.0)	0 (00.0)	0 (00.0)
	equal	32 (52.5)	16 (50.0)	5 (71.4)	5 (35.8)	6 (75.0)
	stop diarrhea	1 (1.6)	0 (00.0)	0 (00.0)	1 (7.1)	0 (00.0)
	relieve constipation	10 (16.4)	6 (18.8)	3 (42.9)	3 (21.4)	0 (00.0)
	others	8 (13.1)	3 (9.4)	0 (00.0)	4 (28.6)	1 (12.5)
	no answer	5 (8.2)	3 (9.4)	0 (00.0)	1 (7.1)	1 (12.5)
Weight change	increase	15 (24.6)	9 (28.1)	2 (28.6)	3 (21.4)	1 (12.5)
	decrease	12 (19.7)	8 (25.0)	0 (00.0)	2 (14.3)	2 (25.0)
	equal	30 (49.1)	11 (34.4)	5 (71.4)	9 (64.3)	5 (62.5)
	no answer	4 (6.6)	4 (12.5)	0 (00.0)	0 (00.0)	0 (00.0)

Abbreviations: ^a Constipation subjects-mixture of LAB and bifidobacteria treatment, ^b constipation subjects-lactose treatment, ^c healthy subjects-mixture of LAB and bifidobacteria treatment, and ^d healthy subjects-lactose treatment.

다(5). Bifidobacteria 중에 혐기성 미생물인 *Bifidobacterium longum*은 1963년에 발견 되었고 모든 연령대의 결장 속에 존재한다. 이 균주는 bifidobacteria 중에서 유일하게 멜레지토우스(melezitose)와 아라비노오스(arabinose)를 발효할 수 있다.

분변 중 미생물을 조성하는 요인들로는 β-glucosidase와 β-glucuronidase, tryptophanase, urease activity과 short-chain fatty acids의 존재, 혈장에 존재하는 엔테로락톤(enterolactone)의 농도 등에 의해서 결정되어 진다(22).

유산균을 복용한 마우스와 피실험자의 분변의 유산균수가 증가하였음을 발견하였다. 유산균 경구투여 후 상부 위장관을 지나는 내내 생존하며(42), 유산균 처리는 유산균 군체형성(colonization)이 잘 될 수 있도록 장내의 환경에 영향을 미친다. 소화된 유산균은 유산염과 short-chain fatty acids가 만들어지고 이로 인해 장내 미생물총의 변화로 변비를 치료할 수 있다. 게다가 요거트로 bifidobacteria를 섭취하는 다른 연구에서 배변의 양이 증가 하였지만, 분변의 호기성 상태와 혐기성

Table 6. Characteristics of stool state before, during and after treatment

Variables	Total (n=61)	C-mixture ^d (n=32)	C-Lac ^e (n=7)	H-mixture ^f (n=14)	H-Lac ^g (n=8)	P ^b
Stool state before treatment						
like water	0.16±0.42 ^a	0.19±0.40	0.00±0.00	0.29±0.61	0.00±0.00	NS ^c
watery	1.28±1.78	1.16±1.65 ^{AB}	0.86±1.46 ^{AB}	2.21±2.26 ^A	0.50±1.07 ^B	NS
soft	2.75±2.57	2.63±2.85 ^{AB}	1.14±0.9 ^B	2.86±1.96 ^{AB}	4.50±2.56 ^A	NS
normal	3.26±2.10	3.03±1.66	3.57±2.51	3.29±2.43	3.88±2.90	NS
hard	1.51±1.47	1.53±1.37	2.43±1.72	1.21±1.42	1.13±1.64	NS
like stone	0.21±0.55	0.22±0.61 ^B	0.71±0.76 ^A	0.07±0.27 ^B	0.00±0.00 ^B	0.0434
Stool state during treatment						
like water	0.07±0.25	0.09±0.30	0.00±0.00	0.00±0.00	0.13±0.35	NS
watery	1.10±1.41	0.94±1.16	1.14±1.77	1.07±1.21	1.75±2.25	NS
soft	4.11±3.19	4.16±3.03	2.43±3.55	4.57±3.48	4.63±3.16	NS
normal	3.28±2.44	3.31±2.28	2.71±2.43	3.71±3.10	2.88±2.10	NS
hard	1.49±1.83	1.53±1.81	2.14±2.48	1.36±1.55	1.00±1.93	NS
like stone	0.07±0.31	0.00±0.00 ^B	0.29±0.49 ^A	0.00±0.00 ^B	0.25±0.71 ^{AB}	0.0330
Stool state after treatment						
like water	0.15±0.60	0.25±0.80	0.00±0.00	0.00±0.00	0.13±0.35	NS
watery	1.00±1.74	0.78±1.26	1.00±1.83	1.21±2.52	1.50±1.93	NS
soft	3.20±2.79	3.00±2.75	2.57±2.57	3.36±2.90	4.25±3.20	NS
normal	4.20±3.14	4.28±3.22	2.71±2.36	4.71±3.20	4.25±3.49	NS
hard	1.69±2.03	1.84±2.17	2.00±2.08	1.86±2.14	0.50±0.53	NS
like stone	0.15±0.48	0.03±0.18 ^B	0.71±0.95 ^A	0.21±0.58 ^B	0.00±0.00 ^B	0.0032

Abbreviations: ^a Mean±standard deviation, ^b significance from each other at P<0.05 as determined Duncan's multiple-range test, ^c not significant, ^d constipation subjects- mixture of LAB and bifidobacteria treatment, ^e constipation subjects-lactose treatment, ^f healthy subjects-mixture of LAB and bifidobacteria treatment, and ^g healthy subjects-lactose treatment.

Table 7. Stool characteristics in each group before, during, and after treatment

Variables	Total	Before	During	After	P ^b
Constipation subjects - mixture of LAB and bifidobacteria treatment (n=32)					
like water	0.18±0.54 ^a	0.19±0.40	0.09±0.30	0.25±0.80	NS ^c
watery	0.96±1.37	1.16±1.65	0.94±1.16	0.78±1.26	NS
soft	3.26±2.92	2.63±2.85 ^B	4.16±3.03 ^A	3.00±2.75 ^{AB}	NS
normal	3.54±2.50	3.03±1.66	3.31±2.28	4.28±3.22	NS
hard	1.64±1.80	1.53±1.37	1.53±1.81	1.84±2.17	NS
like stone	0.08±0.37	0.22±0.61 ^A	0.00±0.00 ^B	0.03±0.18 ^B	0.0394
Constipation subjects - Lactose treatment (n=7)					
like water	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	NS
watery	1.00±1.61	0.86±1.46	1.14±1.77	1.00±1.83	NS
soft	2.05±2.54	1.14±0.90	2.43±3.55	2.57±2.57	NS
normal	3.00±2.35	3.57±2.51	2.71±2.43	2.71±2.36	NS
hard	2.19±2.02	2.43±1.72	2.14±2.48	2.00±2.08	NS
like stone	0.57±0.75	0.71±0.76	0.29±0.49	0.71±0.95	NS
Healthy subjects - mixture of LAB and bifidobacteria treatment (n=14)					
like water	0.10±0.37	0.29±0.61 ^A	0.00±0.00 ^B	0.00±0.00 ^B	NS
watery	1.50±2.09	2.21±2.26	1.07±1.21	1.21±2.52	NS
soft	3.60±2.87	2.86±1.96	4.57±3.48	3.36±2.90	NS
normal	3.90±2.92	3.29±2.43	3.71±3.10	4.71±3.20	NS
hard	1.48±1.71	1.21±1.42	1.36±1.55	1.86±2.14	NS
like stone	0.10±0.37	0.07±0.27	0.00±0.00	0.21±0.58	NS
Healthy subjects - Lactose treatment (n=8)					
like water	0.08±0.28	0.00±0.00	0.13±0.35	0.13±0.35	NS
watery	1.25±1.82	0.50±1.07	1.75±2.25	1.50±1.93	NS
soft	4.46±2.86	4.50±2.56	4.63±3.16	4.25±3.20	NS
normal	3.67±2.82	3.88±2.90	2.88±2.10	4.25±3.49	NS
hard	0.88±1.45	1.13±1.64	1.00±1.93	0.50±0.53	NS
like stone	0.08±0.41	0.00±0.00	0.25±0.71	0.00±0.00	NS

Abbreviations: ^a Mean±standard deviation, ^b significance from each other at $P<0.05$ as determined Duncan's multiple-range test, and ^c not significant.

상태의 배양상의 수치의 변화는 없었다(24).

이번 연구를 통해 마우스에 있어 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용하면 β -glucosidase와 β -glucuronidase, tryptophanase, urease activity가 감소하였다. 피실험자의 경우에는 tryptophanase activity를 제외한 나머지 β -glucosidase와 β -glucuronidase, urease activity는 감소하였다(10). 이것은 창자간 순환(Enterohaptic circulation)의 독성과 발암 물질과 연관되어 있다. 우리는 β -glucosidase activity는 마우스와 피실험자에서 각각 26%와 47%가 감소하였다. β -Glucosidase activity는 *Lactobacillus*가 사용된 균주에 의존하여 다양해질 수 있다. β -Glucosidase activity는 *L. acidophilus* 계통이 함유된 발효되지 않은 우유를 마실 경우에는 감소한다(2). 반면 *L. acidophilus*와 *Bifidobacterium bifidum*이 함유된 발효된 우유를 마실 경우에는 증가하게 된다(34). 우리는 β -glucuronidase activity는 마우스와 피실험자에서 각각 8%와 49%가 감소하였다. 이 결과는 *Bifidobacterium* 계통이 함유된 발효된 우유를 마셨을 때와 *Lactobacillus gasseri*나 *L. acidophilus*가 함유된 발효되지 않은 우유를 마셨을 때 유사한 결과를 얻을 수 있다(2, 40). 또한 β -glucuronidase activity는 사람과 마우스의 경우에 *L. acidophilus*를 섭취하게 되면 감소한다(20, 21).

또한 유산균 복용은 건강 상태를 호전시킬 것으로 기대된다.

특히 설문조사를 통한 분석에서 lactose을 복용한 변비환자군(28.6%)이나 건강한 사람군(25.0%)보다 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 변비환자군(37.5%)과 건강한 사람군(50.0%)의 건강 상태가 호전되었다. 또한 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 분변샘플이 변했다. 특히 둘 같은 단단한 분변의 배출의 빈도가 0.0434에서 0.0032로 확연히 감소하였다. 즉, 둘 같은 단단한 분변은 유산균 및 비피더스균 혼합제제 복용기간 동안 몰려갔다. 아마 장내의 수분의 증가 때문이다. 하지만 분변의 양, 배변의 횟수나 다른 매개변수는 변하지 않았다.

*L. acidophilus*와 *P. pentosaceus*, *B. longum* SPM1205를 포함하는 유산균 및 비피더스균 혼합제제는 배변의 횟수, 분변의 양과 상태를 호전시켰으며 게다가, β -glucosidase와 β -glucuronidase, tryptophanase, urease 같은 유해 효소의 감소로 인해서 유의한 영향을 미치는 장내 미생물총의 균형을 향상시켰다. 더군다나 분변의 유산균수의 증가로 인해서 장내의 환경개선에 영향을 미쳤으며 따라서 유산균은 변비환자의 관리적 측면에서 사람의 건강을 향상시키고 대장암 및 변비예방에 도움을 주는 기능적인 probiotics로써 사용되어 질 수 있을 것으로 사료되어 진다.

적요

이 연구의 목적은 동물실험과 임상실험을 통해 변비 치료에 *Lactobacillus acidophilus*와 *Pediococcus pentosaceus*, *Bifidobacterium longum* SPM1205를 포함한 유산균(Lactic Acid Bacteria, LAB) 및 비피더스균 혼합제제의 효과를 평가하기 위한 것이다. 5마리의 ICR 마우스와 4명의 여성 변비 환자들은 2주 동안 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용하였다. 복용 전과 후에 분변에서 유산균수와 유해 효소 활성을 측정하였으며 그 결과 분변 중 유산균수가 증가하였고, 장내 미생물에 의한 유해 효소 활성은 일반적으로 감소하였다. 또한, 61명의 피실험자들은 유산균 및 비피더스균 혼합제제와 lactose 중의 하나를 2주 동안 하루에 3번 복용한 후, 설문지를 작성하였다. 이를 분석한 결과, 변비환자군에서 매일 유산균 및 비피더스균 혼합제제를 복용한 군(56.3%)은 lactose를 복용한 군(26.7%)보다 변비증상이 개선되었고, 단단한 변의 배변 횟수가 0.22에서 0.03으로 감소하였다. 따라서 *L. acidophilus*와 *P. pentosaceus*, *B. longum* SPM1205를 포함한 유산균 및 비피더스균 혼합제제는 변비를 개선할 수 있을 것으로 예상된다.

감사의 말

본 연구는 Sahmyook University Research Fund와 서울시 산학연 협력사업[PA090767M09295(02)]의 지원을 받아 수행되었습니다. 그리고 실험에 참가한 삼육대학교 식품영양학과 학생들에게 감사드립니다.

참고문헌

- Ahn, T.S. 1999. Loosing the constipation by capsulated yogurt. *J. Microbiol.* 35, 94-97.
- Ayebo, A.D., I.A. Angelo, and K.M. Shahani. 1980. Effect of ingesting *Lactobacillus acidophilus* milk upon fecal flora and enzyme activity in humans. *Milchwissenschaft* 35, 730-733.
- Bessis, D., A. Le Quellec, A. Sotto, C. Perez, and A.J. Ciurana. 1995. *Lactobacillus acidophilus* endocarditis after an appendectomy. *Clin. Infect. Dis.* 20, 724-725.
- Bharucha, A.E. 2007. Constipation. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 21, 709-731.
- Biavati, B., M. Vescovo, S. Torriani, and V. Bottazzi. 2000. Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Ann. Microbiol.* 50, 117-131.
- Bosaeus, I. 2004. Fibre effects on intestinal functions (diarrhoea, constipation and irritable bowel syndrome). *Clin. Nutr. Supplements* 1, 33-38.
- Bub, S., J. Brinckmann, G. Cicconetti, and B. Valentine. 2006. Efficacy of an herbal dietary supplement (smooth move) in the management of constipation in nursing home residents: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 7, 556-561.
- Chen, C., S. Louie, N.S. Hai, and W. Walker. 2005. Preinoculation with the probiotic *Lactobacillus acidophilus* early in life effectively inhibits murine *Citrobacter rodentium* colitis. *Pediatr. Res.* 58, 1185-1191.
- Choi, S.S., B.Y. Kang, M.J. Chung, S.D. Kim, S.H. Park, J.S. Kim, C.Y. Kang, and N.J. Ha. 2005. Safety assessment of potential lactic acid bacteria *Bifidobacterium longum* SPM1205 isolated from healthy Koreans. *J. Microbiol.* 43, 493-498.
- Corinne, G.D., C. Claire, P. Christophe, P. Francoise, V. Pierre, B. Christine, S. Odette, and A. Claude. 1998. Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk: influence on intestinal microflora in healthy infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 67, 111-117.
- Coronado, B.E., S.M. Opal, and D.C. Yoburn. 1995. Antibiotic-induced D-lactic acidosis. *Ann. Intern. Med.* 122, 839-842.
- D'Aimmo, M.R., M. Modesto, and B. Biavati. 2007. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. *Int. J. Food Microbiol.* 115, 35-42.
- Diop, L., S. Guillou, and H. Durand. 2008. Probiotic food supplement reduces stress-induced gastrointestinal symptoms in volunteers: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Nutr. Res.* 28, 1-5.
- Faigel, D.O. 2002. A clinical approach to constipation. *Clin. Cornerstone* 4, 11-18.
- Fernandez-Banares, F. 2006. Nutritional care of the patient with constipation. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 20, 575-587.
- Fuller, R. 1989. A review: probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66, 365-378.
- Gill, H.S. and F. Guarner. 2004. Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgrad. Med. J.* 80, 516-526.
- Gill, H.S., K.J. Rutherford, J. Prasad, and P.K. Gopal. 2000. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Br. J. Nutr.* 83, 167-176.
- Gilliland, S.E. and M.L. Speck. 1977. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *J. Food Prot.* 40, 820-823.
- Goldin, B.R. and S.L. Gorbach. 1984. Alteration of the intestinal microflora by diet, oral antibiotics, and *Lactobacillus*: decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, azo dyes and glucuronides. *J. Natl. Cancer Inst.* 73, 689-695.
- Goldin, B.R., L. Swenson, J. Dwyer, M. Sexton, and S.L. Gorbach. 1980. Effect of diet and *Lactobacillus acidophilus* supplements on human fecal bacterial enzymes. *J. Natl. Cancer Inst.* 64, 255-261.
- Gråsten, S.M., K.S. Juntunen, J. Mättö, O.T. Mykkänen, H. El-Nezami, H. Adlercreutz, K.S. Poutanen, and H.M. Mykkänen. 2007. High-fiber rye bread improves bowel function in postmenopausal women but does not cause other putatively positive change in the metabolic activity of intestinal microbiota. *Nutr. Res.* 27, 454-461.
- Guarner, F. and G.J. Schaafsma. 1998. Probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 39, 237-238.
- Hans-Peter, B., S. Wolfgang, G. Stephanie, R. Gotthard, K. Elisabeth, and K. Heinrich. 1994. Does yogurt enriched with *Bifidobacterium longum* affect colonic microbiology and fecal metabolites in healthy subjects? *Am. J. Clin. Nutr.* 59, 428-432.
- Harrison, V.C. and G. Peat. 1975. Serum cholesterol and bowel flora in the newborn. *Am. J. Clin. Nutr.* 28, 1351-1355.
- Hicks, A. 2001. The prevention and management of constipation. *J. Orthop. Nurs.* 5, 208-211.
- Hilton, E., H.D. Isenberg, P. Alperstein, K. France, and M.T. Borenstein. 1992. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann. Intern. Med.* 116, 353-357.
- Kim, D.H., H.J. Kang, S.W. Kim, and K. Kobayashi. 1992. pH-inducible β -glucuronidase and β -glucosidase of intestinal

- bacteria. *Chem. Pharm. Bull.* 40, 1967-1969.
29. Kim, D.H., J.H. Lee, E.A. Bae, and M.J. Han. 1995. Induction and inhibition of indole of intestinal bacteria. *Arch. Pharm. Res.* 18, 351-533.
 30. Kim, H.S. and S.E. Gilliland. 1983. *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *J. Dairy Sci.* 66, 959-966.
 31. Kim, J.H., H.J. Kim, J.H. Son, H.N. Chun, J.O. Yang, S.J. Choi, N.S. Park, G.H. Choi, and S.K. Kim. 2003. Effect of *Lactobacillus fermentum* MG590 on alcohol metabolism and liver function in rats. *J. Microbiol. Biotechnol.* 13, 919-925.
 32. Kolars, J.C., M.D. Levitt, M.A. Aouji, and D.A. Savaiano. 1984. Yogurt-an autodigesting source of lactose. *N. Engl. J. Med.* 310, 1-3.
 33. Ly, S.Y., J.R. Shin, and S.H. Lim. 2003. Effect of drinking fermented milk on the improvement of defecation in constipated female students. *Korean Living Science Assoc.* 12, 265-273.
 34. Marteau, P., P. Pochart, B. Flourie, P. Pellier, L. Santos, J.F. Desjeux, and J.C. Rambaud. 1990. Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in human. *Am. J. Clin Nutr.* 52, 685-688.
 35. Martini, M.C., E.C. Lerebours, W.J. Lin, S.K. Harlander, N.M. Berrada, J.M. Antoine, and D.A. Savaiano. 1991. Strains and species of lactic acid bacteria in fermented milks (yogurt) : effect on *in vivo* lactose digestion. *Am. J. Clin. Nutr.* 54, 1041-1046.
 36. McDonough, F.E., A.D. Hitchins, N.P. Wrong, P. Wells, and C.E. Bodwell. 1987. Modification of sweet acidophilus milk to improve utilization by lactose-intolerant persons. *Am. J. Clin. Nutr.* 45, 570-574.
 37. Menino, M.J., C. Cutrin, R. Vieira, E. Barrio, and M.A. Parafita. 1993. Colchicine alters lactate utilization in isolated hepatocytes of rats treated with CCl₄ and ethanol. *Life Sci.* 52, 13-18.
 38. Muller-Lissner, S.A. 1988. Effect of wheat bran on weight of stool and gastrointestinal transit time: a meta analysis. *Br Med. J.* 296, 615-617.
 39. Park, S.Y., G.E. Ji, Y.T. Ko, H.K. Jung, Z. Ustunol, and J.J. Pestka. 1999. Potentiation of hydrogen peroxide, nitric oxide and cytokine production in RAW 264.7 macrophage cells exposed to human and commercial isolates of *Bifidobacterium*. *Int. J. Food Microbiol.* 46, 231-241.
 40. Pedrosa, M.C., B.B. Golner, B.R. Goldin, S. Barakat, G.E. Dallal, and R.M. Russell. 1995. Survival of yogurt-containing organisms and *Lactobacillus gasseri* (ADH) and their effect on bacterial enzyme activity in the gastrointestinal tract of healthy and hypochlorhydric elderly subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 61, 353-359.
 41. Pochart, P., O. Dewit, J.F. Desjeux, and P. Bourlioux. 1989. Viable starter culture, β -galactosidase activity and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient human. *Am. J. Clin. Nutr.* 49, 828-831.
 42. Pochart, P., P. Marteau, Y. Bouhnik, I. Goderel, P. Bourlioux, and J.C. Rambaud. 1992. Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: and *in vivo* study using intestinal perfusion. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 78-80.
 43. Rao, C.V., M.E. Sanders, C. Indranie, B. Simi, and B.S. Reddy. 1999. Prevention of colonic preneoplastic lesions by the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM in F344 rats. *Int. J. Oncol.* 14, 939-944.
 44. Salminen, S., A. von Wright, L. Morelli, P. Marteau, D. Brassart, W.M. de Vos, R. Fondén, and *et al.* 1998. Demonstration of safety of probiotics-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 44, 93-106.
 45. Vikrant, K., A. Seema, M. Ashraf, and M. Abida. 2005. Efficacy of tyndalized *Lactobacillus acidophilus* in acute diarrhea. *Indian J. Pediatr.* 72, 935-938.
 46. Wood, S.I. 1995. Are health professional guilty of laxative abuse. *Pharm. J.* 255, 659-661.
 47. Yun, J.H., D.S. Yim, J.Y. Kang, B.Y. Kang, E.A. Shin, M.J. Chung, S.D. Kim, D.H. Baek, S.S. Choi, and N.J. Ha. 2005. Identification of *Lactobacillus ruminus* SPM0211 isolated from healthy Korean and screening for the antimicrobial activity of this strain against some pathogens. *Arch. Pharm. Res.* 28, 660-666.