

## 사람의 장내세균에 의한 인삼 사포닌의 대사(제2보)

성중환,\* 長谷川秀夫,<sup>1</sup> 해주영, 박세호, 松宮智之,<sup>1</sup> 內山雅守,<sup>1</sup> 허재두

(주)일화 중앙연구소, <sup>1</sup>日本 一都生命科學研究所

### Metabolism of Ginseng Saponins by Human Intestinal Bacteria (Part II)

Jong-Hwan Sung,\* Hideo Hasegawa,<sup>1</sup> Joo-Young Ha, Se-Ho Park,  
Satoshi Matumiya,<sup>1</sup> Masamori Uchiyama<sup>1</sup> and Jae-Doo Huh

Central Research Institute, IL-HWA Co., Ltd., Kuri 471-030, Korea; and  
<sup>1</sup>Itto Inst. of Life Sci. Res., Happy World Inc., Fuchu 183, Tokyo, Japan

**Abstract** - Following ginsenoside-Rb1-hydrolyzing assay, strictly anaerobic bacteria were isolated from human feces and identified as *Prevotella oris*. The bacteria hydrolyzed ginsenoside Rb1 and Rd to 20-O-β-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol (I), ginsenoside Rb2 to 20-O-(α-L-arabinopyranosyl (1→6)-β-D-glucopyranosyl)-20(S)-protopanaxadiol (II) and ginsenoside Rc to 20-O-(α-L-arabinofuranosyl (1→6)-β-D-glucopyranosyl)-20(S)-protopanaxadiol (III) like fecal microflora, but did not attack ginsenoside Re nor Rg1(Protopanaxatriol-type). Pharmacokinetic studies of ginseng saponins was also performed using specific pathogen free rats and demonstrated that the intestinal bacterial metabolites I-III, 20(S)-protopanaxatriol(IV) and 20(S)-protopanaxadiol(V) were absorbed from the intestines to blood(0.4-5.1 μg/ml) after oral administration with total saponin(1 g/kg/day).

**Key words** - *Panax ginseng*: metabolites: intestinal bacteria: *Prevotella oris*: absorption.

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 우리나라의 산약지대에 주로 자생하고 있던 것으로, 오래전부터 신비의 영약으로 애용되어온 약초로서, 현재에는 대부분이 재배되어 사용되고 있으나 한약의 중요한 약재로서 건위소화제, 지사·정장제, 진통제, 자양강장제등 많은 곳에 중요한 처방으로서 애용되고 있다.

인삼중에 사포닌이 존재하는 것은 오래전부터 알려져왔고, 또 많은 작용이 보고됨으로서 인삼의 유효성분으로 지목될만큼 오랜세월동안 인삼의 주된 약리활성을 갖는 물질로 여겨져왔다.<sup>1)</sup>

최근에는 생약이 경구 섭취된 후에 체내에서의 약

리작용을 규명하기 위하여, 체내동태 및 장내세균에 의한 배당체 성분의 대사<sup>2)</sup>에 대한 연구가 이루어지고 있다. 인삼 사포닌에 대해서도 산가수분해산물<sup>3)</sup>과 방사선 표시를 이용한 체내동태에 대한 연구<sup>4)</sup> 및 사람의 분변 현탁액을 이용한 사포닌의 대사에 관한 연구결과가 보고되어 있다.<sup>5)</sup>

전보<sup>6)</sup>에서 저자들은 사람의 장내세균에 의한 인삼 사포닌의 대사를 연구하여 인삼 사포닌의 장내세균에 의한 대사산물 Compound-K(C-K), Compound-Y(C-Y) 및 신규 사포닌 Ginsenoside-Mc(Mc)를 단리하였고, 대사되는 과정을 밝혀내어 보고하였다. 이들 대사물은 중앙세포에대한 증식억제 효과를 보였으며,<sup>7)</sup> 중앙세포나 세균에서 나타나는 다제내성을 반전시켰다.<sup>8)</sup> 따라서 본보에서는 사

\*교신저자 : Fax 0346-68-6226

람의 분변군으로부터 인삼 사포닌의 대사산물을 제조하는 균주를 단리하고, 더욱이 흰쥐를 이용한 체내동태를 관찰한 결과, 인삼 사포닌의 장내세균 대사물이 생체 내에서의 약리작용을 담당하고 있음이 시사되었기에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - Total saponin(TS), Ginsenoside-Rb1(Rb1), -Rb2(Rb2), -Rc(Rc), -Rd(Rd), -Re(Re), -Rg1(Rg1), -F1(F1), -F2(F2) 및 이들의 장내세균 대사산물 I-V는 전보에서 보고한 방법으로 단리하여 사용하였다.<sup>6)</sup>

**기기 및 시약** - HPLC는 Jasco PU-980 Intelligent Pump, Jasco UV-970 Intelligent detector, Jasco Co-965 column oven, Hitach D-2500 chromatography integrator set를 이용하였고 column으로는 YMC-Park R&D, R-ODS-5-A, 250×4.6 mm I.D., s-5 µg, 120A, YMC, Japan을 사용하였다. TLC는 silica-gel 70 F<sub>254</sub>(Wako)와 F<sub>254S</sub>(Merck)를 사용하였으며, 생체시료의 전처리에는 Kieselgel 60(70~230 mesh, Merck)을 사용하였다.

GAM, BL, EG broth는 Nissui Pharmaceutical Co., Ltd., (Japan)에서 구입해 사용했고, PYF, PYFG broth는 Mitsuoka<sup>9)</sup>의 방법에 따라 제조하였다. 혐기배양에는 DIA 혐기 Pack(산소흡수 탄산가스 발생제) 및 Box(DIA- IATRON)를 사용하였다.

**실험동물** - 체중이 360~370 g인 specified-pathogen-free(SPF) wister rat를 사용하였다.

**표준균주** - 균주의 확인 비교에 사용된 표준균주 *Prevotella oris* JCM 8540은 Japan Collection of Microorganisms (The institute of Physical and Chemical Research(RIKEN))에서 분양받았다.

**장내세균의 Rb1 가수분해 활성시험** - 0.1% Rb1을 함유한 GAM broth에 장내세균을 넣고 37°C에서 혐기적으로 일정시간 배양한후 배양액을 n-BuOH로 추출하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 TLC법(Silica-gel 70 F<sub>254</sub>, 전개용매, CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O, 65:35:10, 하층, 발색제, 8%vanil-

lin-MeOH/72%H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1:5, 140°C 3분간 가운)으로 분석하였다.

**Rb1의 가수분해능을 가진 장내세균의 분리** - 사람의 분변을 채취하여 0.1% Rb1을 함유한 GAM broth에 넣고 2-3일 간격으로 계대배양 하였다. 처음에는 계대세균을 호기적 혹은 혐기적 조건에서 배양하고 Rb1가수분해능을 조사 하였다. 다음으로 계대세균군으로부터 통성 호기성균을 제거하기 위하여 gentamicin 25-100 µg/ml를 함유한 BL 한천배지에 접종하였다. BL 한천에서 자란 균주들의 Rb1 가수분해 활성을 실험하여 활성을 나타내는 균주를 다시 BL 및 EG한천배지에 접종시키고, 자란 균주들의 활성을 측정하면서 선별해나가 활성 균주를 분리하였다. 분리한 균주는 형태학적 관찰과 여러 가지 특이한 생물학적 시험을 통하여 동정하였다. 이들의 Biological test는 Mitsuoka,<sup>9)</sup> Holdeman<sup>10)</sup> 등의 방법에 따라 행하였고, 효소활성은 API 32A system (BioMerieuxsa, Marcy, l'Etoile, France)를 이용하여 시험하였다.<sup>11)</sup>

**단리균주** - 단리한 균주는 모두 쌍상 또는 단소상을 형성하는 간균으로, 편성 혐기성, gram 음성, 무아포, 비운동성이었다. PYF 및 PYFG 액체배지에서 발육하지만 H<sub>2</sub>S는 생산하지 않았다. 기타의 생화학적 실험 결과는 Table I 및 Table II에 나타내었다.

**체내동태** - 증류수에 TS를 75 mg/ml로 녹인후 5 ml/rat씩, 5시간 절식시킨 SPF rat에 경구투여하였다. 투여후 물은 자유로이 마시게 하였으나 식사는 제한하였다. 이후 metabolic cage에서 채뇨하면서 6시간과 24시간후에 혈액을 채취하였다. 채뇨는 투여후 48시간까지 하였다.

경구투여후 취한 뇨 시료는 n-BuOH로 추출하고 물로 세척한후 농축건고하였다. 혈액시료는 MeOH로 추출한 후 원심분리(2000 rpm, 10 min)하고, 추출액을 농축하여 물에 녹인 다음 n-BuOH로 추출하고 물로 세척한후 농축건고하였다.

농축건고된 n-BuOH추출물은 Kieselgel 60 column(4 g, columnø = 1 cm)을 사용하여 CHCl<sub>3</sub>, AcOEt로 40 ml씩 차례로 용출하고, 마지막으로 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(65:35:10, v/v, lower phase) 40 ml로 용출하였다. AcOEt용액과 마지막 용출용액은 농축 건고하여 70%와 50% acetonitril 1 ml에 용해하여 HPLC에서 분석하였다.

결과 및 고찰

장내세균의 분리-사람의 분변균을 Rb1을 함유한 GAM액체 배지에서 계대배양하였다. 계대세균균을 호기적 혹은 혐기적 조건에서 배양하면서 Rb1가 가수분해능을 조사한 결과, 호기성 세균에서는 가수분해능이 나타나지 않았다. 따라서 계대세균균으로부터 혐기성 혐기성균을 제거하기 위하여, 계대세균균을 gentamicin을 함유한 한천배지에서 혐기배양하고, 한천상에서 성장한 편성 혐기성균의 colony를 선별하여 Rb1가수분해능을 조사하였다. 여기서 분해능이 있는 균주는 다시 한천배지를 사용하여 반복하여 혐기적으로 배양하여, 단일균주를 분리하였다. 이 균주는 Fig. 1에서 보여주는 바와같이 전보<sup>6)</sup>에서 보고한 분변유래의 세균군과 같이 Rb1과 Rd를 대사산물 I로, Rb2를 II로, Rc를 III으로 가수분해 하였지만 Re와 Rg1은 대사시키지 못했다.

대사산물인 I, II, III은 사포닌의 C-3 또는 C-20위의 -OH기에 결합된 당중에서 glucose가 가수분해되면서 시작되기 때문에 Fig. 1과 같은 특이한 대사과정은 분리한 균주가 PPD계 사포닌만을 가수분해하는 특수한 형태의  $\beta$ -glucosidase를 생산하고 있음을 알 수 있다.

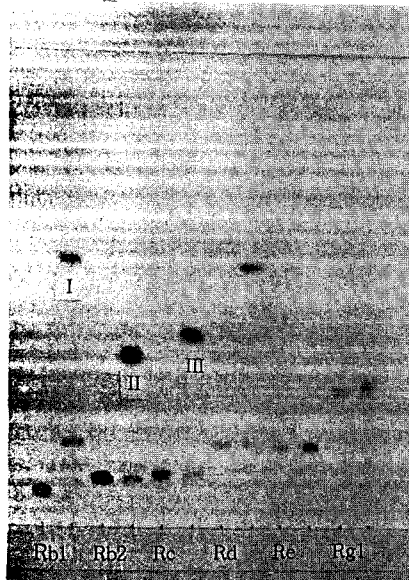


Fig. 1. TLC profile of metabolic modes of ginsenosides (right side of each ginsenoside) by one of the isolates.

분리한 균주는 편성 혐기성균으로 무아포, 그람음성의 간균으로 glucose로부터 주로 succinate를 생산하며 이런 속성을 갖는 생물은 *Bacteroides*속

Table I. Characteristics of the isolate from human feces

Characteristics	Isolate		
	<i>P. oris</i>	<i>P. buccae</i>	
Products from PYFG <sup>a</sup>	SLap	SA (pibiv)	SA (fpivAfuibb)
Growth in 20% bile	-	-	-
Pigment production on bood agar	+	-	-
Esculin hydrolyzed	-	+	+
Indole produce	-	-	-
Nitrate reduced	-	-	-
Gelatin digested		v	+ .w
Acid produced from:	+		
Amygdalin	+	+,-	+,-
Arabinose	+	+,-	+
Cellobiose	-	+ .w	+
Esculin	+	+,-	v
Fructose	+	+	+
Glucose	+	+	+
Glycogen	-	+,-	+
Inositol	-	-	-
Inulin	+	+	+,-
Lactose	+	+	+
Maltose	-	+	+
Mannitol	+	-	-
Mannose	+	+	+
Melibiose	+	+,-	+
Raffinose	-	+	+
Rhamnose	+	+,-	v
Ribose	W	v	v
Salicin	-	+,-	+,-
Sorbitol	+	-	- .w
Starch	+	+	+
Sucrose	-	+	+
Trehalose	+	-	-
Xylose	-	+	+
Gas formation		-	-

Symbols: +, positive reaction or (sugas) pH below 5.5; -, negative reaction or (sugas) pH 5.7 or above; w, week reaction or (sugas) pH 5.5 to 5.7; v, variable reactions: where two reactions are given, the first is the more common. <sup>a</sup>Products from PYFG broth cultures: Capital letters indicate an average (from multiple cultures) of > 1 meq of acid (100 ml)<sup>-1</sup> broth: small letters, (< 1 meq (100 ml)<sup>-1</sup>. A, acetic; B, butyric; F, formic; Fu, fumaric; iB, isobutyric; iV, isovaleric; L, lactic; P, propionic; S, succinic. Products in parentheses ( ) may or may not be detected.

과 일치한다.

Table I의 생화학적 시험결과에서 보는바와 같이, 20%의 담즙을 함유한 PYFG 배지에서 생육이 억제되고, 색소를 생산하지 않는다는 점으로 보아 단리한 균주가 1990년에 *Prevotella*속으로 재분류된 *B. melaninogenicus*-*B. oralis* 그룹에 속하는 것을 알 수 있다.<sup>12,13)</sup> 이 균주는 발효능력은 있지만 인돌 생산능력은 없었다. 문헌에서 인용한 Data와 비교해 볼때<sup>10,12-14)</sup> 이 균주는 *Prevotella oris*나 *Prevotella buccae*와 매우 흡사한 것을 볼 수 있다.

Table II에 나타낸 바와같이 단리 균주의 효소활성 실험 결과, 29개에 이르는 항목의 실험에서 특히  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase와  $\alpha$ -fucosidase activities 항목에서 표준균주인 *Prevotella oris*

JCM 8540과 상당히 유사한 형태를 나타냄으로서, 단리한 균주가 *Prevotella oris*임을 알 수 있었다.<sup>15)</sup> *Prevotella oris*와 *Prevotella buccae*는 분변세균중  $10^{9.9}$ /g정도로 나타나는 주된 장내세균종이다.<sup>16,17)</sup> 따라서 장내에서 PPD계 사포닌이 각각의 대사산물 I, II, III으로 대사되는 것은 주로 *Prevotella oris*에 기인하는 것으로 생각된다.

체내동태 - SPF rat에 TS를 경구투여하고 채혈 채뇨한 시료를 HPLC로 분석한 결과 AcOEt 용출액에서 PPD와 PPT가 검출되었고,  $\text{CHCl}_3$ -MeOH- $\text{H}_2\text{O}$ 용출액에서 I, II, III 등의 대사산물이 검출되었다.

Table. III에서와 같이 Rb1(17.6%), Rb2(14.6%), Rc(18.9%), Rd(7.9%), Re(8.7%), Rg1(3.0%)를 함유하고있는 TS(1 g/kg/day)를 경구투여

Table II. Enzyme activities of the isolate from human feces

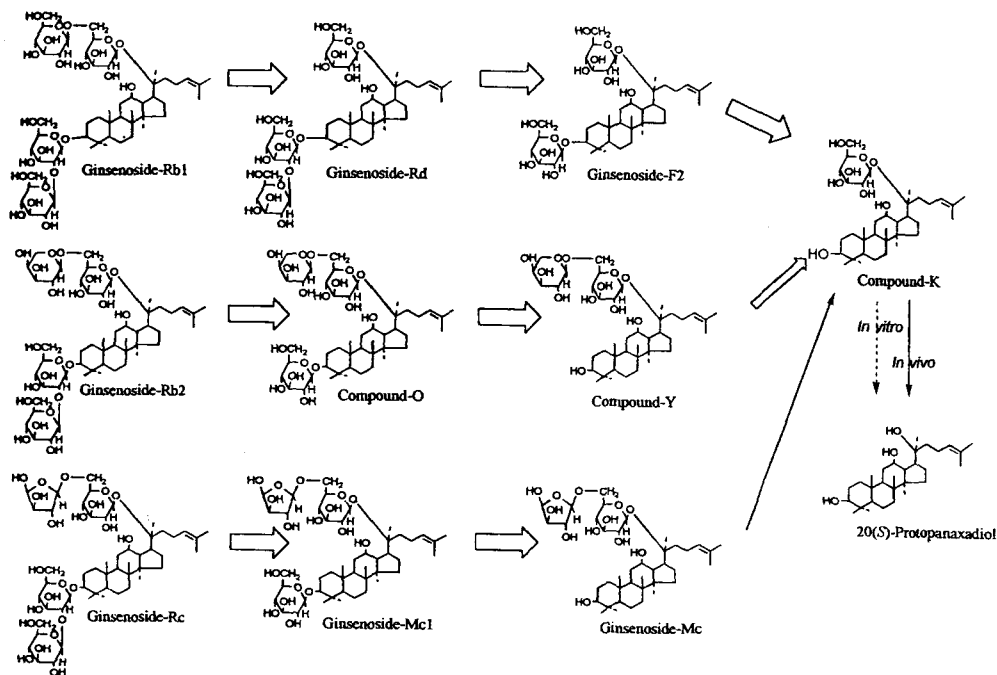
Enzyme activity	Isolate	<i>P. oris</i> JCM 8540	<i>P. buccae</i>
Nitrate reduction	-	-	-
Indol production	-	-	-
$\beta$ -N-Acetylglucosaminidase	+	+	-
Alanine arylamidase	+	+	+
Alkaline phosphatase	+	+	+
$\alpha$ -Arabinosidase	+	+	+
Arginine arylamidase	-	-	-
Arginine dehydrolase	-	-	-
$\alpha$ -Fucosidase	+	+	-
$\alpha$ -Galactosidase	+	+	+
$\beta$ -Galactosidase	+	+	+
$\beta$ -Galactosidase-6-phosphate	-	-	+,-
$\alpha$ -Glucosidase	+	+	+
$\beta$ -Glucosidase	+	+	+
$\beta$ -Glucuronidase	-	-	-
Glutamic acid decarboxylase	+,-	-	-
Glutamyl glutamic arylamidase	-	-	+,-
Glycine arylamidase	-	-	-
Histidine arylamidase	-	-	-
Leucine arylamidase	-	-	-
Leucyl-glycine arylamidase	+	+	+
Phenylalanine arylamidase	-	-	-
Proline arylamidase	-	-	-
Pyroglutamic acid arylamidase	-	-	-
Serine arylamidase	-	-	-
Tyrosine arylamidase	-	-	-
Urease	-	-	-
Mannose acidification	+	+	+,-
Raffinose acidification	+	+	+,-

Symbols: +, positive reaction; -, negative reaction; where two reaction are given, the first is the more common. Tested by using the API 32A system. Data of *P. buccae* are cited from the manual enclosed in the API 32A system kit.

**Table III.** Ginseng metabolic triterpenoids detected in urine and serum of SPF rats

	Rb2	Rc	Rd	C-K	C-Y	Mc	PPT	PPD
<b>Blood (µg/ml)</b>								
6 hr	ND	ND	ND	0.9	0.5	0.8	0.4	ND
1 hr	ND	ND	ND	5.1	1.5	ND	0.7	0.6
<b>Urine (µg/ml)</b>								
0-24 hr	8.0	9.0	7.4	3.8	2.2	3.0	ND	ND
24-48 hr	ND	ND	ND	3.7	3.0	ND	ND	ND

The amount of ginseng saponins and metabolic triterpenoids in urine and serum after the oral administration of total saponin was determined by the HPLC method. Total saponin contained Rb1(17.6%), Rb2(14.6%), Rc(18.9%), Rd(7.9%), Re(8.7%) and Rg1(3.0%). ND, Not detected.



**Fig. 2.** Main metabolic pathway of protopanaxadio-type saponins *in vitro* and *in vivo*. Metabolic rate:  $\square \rightarrow \triangleright \rightarrow \triangleright \rightarrow$  and  $\cdots$ : Not decomposed.

한 rat의 혈액에서 Rb2, Rc, Rd 등 ginsenoside는 검출되지 않았으나, 0.4~5.1 µg/ml의 각각의 대사산물이 검출되었고, 뇨에서는 2.2~3.8 µg/day의 각각의 대사산물이 검출되었다. 이같이 TS투여후 6시간후에 이미 체내에서 대사가 진행되어 PPD를 제외한 대사산물이 혈중으로 흡수되었고, 24시간후에는 PPD까지 검출되었으나, ginsenoside는 검출되지 않았다. 이로서 인삼사포닌이 경구투여되면 분자량이 비교적 큰 배당체인 ginsenoside는 체내에 흡수되지 않은 채 장내세균에 의해 대사되고 이들 대사산물이 혈중에 흡수됨을 나타내고 있는 것으로 인

삼 사포닌의 활성본체가 대사산물임을 시사하고 있는 것이다. 또 전보<sup>6)</sup>에서 *in vitro* 실험결과 사포닌의 대사는 C-K에서 정지하는 것으로 보고하였으나 급번 *in vivo* 실험의 결과 PPD가 검출됨으로서 실제로 체내에서는 PPD까지 대사가 진행되는 것으로 생각된다. 따라서 인삼사포닌의 대사 및 대사경로는 Fig. 2와 같은 형태로 이루어질 것으로 생각된다.

또 뇨시료에서도 각각의 대사산물이 검출되어 흡수되지 않은 대사산물물은 대사 산물의 형태로 배설되고 있음을 알 수 있다. 한편 Table III에서 보이는 바와 같이 뇨시료에서 ginsenoside도 검출된 것은

비교적 과량(1 g/kg/day)으로 경구투여한 TS의 영향으로 보이며, 대사능력(장내세균의 양 및 상태) 이상의 사포닌이 투여되면 그 과잉량은 대사되지 않은 채 미변화체로 흡수되어 배설되는 것으로 사료된다.

## 결 론

인삼 사포닌을 대사시키는 능력을 가진 균주를 사람의 분변으로부터 채취하여 그중 PPD계 사포닌만을 선택적으로 대사하는 능력을 가진 *Prevotella oris*라는 균주를 분리하였다. 또 인삼 사포닌을 SPF rat에 경구투여하고 혈액 및 노를 채취하여 관찰하였다. 인삼사포닌이 경구투여되면 본래의 사포닌은 흡수되지 않고 장내세균에 의해 대사되어 그 대사산물이 혈중으로 흡수된다. 과다투여된 사포닌은 대사되지 않은채 흡수되지 않은 대사산물과 함께 배설된다. 인삼사포닌이 경구투여되면 장내세균 특히 *Prevotella oris*의해 대사되어 흡수되며, 이들 대사산물이 인삼 사포닌의 약효를 타타내는 체내 매개물임을 시사하고 있다.

## 사 사

본 연구의 일부는 '96보건의료기술연구개발사업의 지원연구비(과제관리번호HMP-96-D-5-1047)의해 수행된 것으로 지원에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Shibata, S., Tanaka, O., Shoji, J. and Saito, H. (1985) Economic and Memedicinal Plant Research Vol. 1: 217. Academic Press, London.
- Akao, T., Hattori, M., Namba, T. and Kobashi, K. (1992) Metabolic activation of crude drug components by intestinal enzymes. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKAKU*. 9: 1-13.
- Han, B. H. and Chang, I. M. (1977) Metabolism of Dammarane Triterpen Glycosidase of Korean Ginseng(I), *Korean J. Ginseng Sci.* 2: 17-33.
- Takino, Y. (1994) Studies on the Pharmacodynamics of Ginsenoside -Rg1, -Rb1 and -Rb2 in Rats. *YAKUGAKU ZASSHI* 114: 550-564.
- Kanaoka, M., Akao, T. and Kobashi, K. (1994) Metabolism of ginseng saponins, by human intestinal flora. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKAKU* 11: 241-245.
- Sung, J. H., Hasegawa, H., Matsumiya, S., Uchiyama, M., Ha, J. Y., Lee, M. S. and Huh, J. D. (1995) Metabolism of Ginseng Saponins by Human Intestinal Bacteria. *Kor. J. Pharmacogn.* 26: 360-367.
- Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S., Uchiyama, M., Inouye, Y., Kasai, R. and Yamasaki, K. (1995) Reversal of daunomycin and vinblastine resistance in multidrug-resistant P388 leukemia in vitro through enhanced cytotoxicity by triterpenoids. *Planta Med.* 61: 409-413.
- Hasegawa, H., Matsumiya, S., Uchiyama, M., Inouye, Y., Kasai, R. and Yamasaki, K. (1995) Reversal of efflux-mediated tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates by Ginseng saponins. *Phytother. Res.* 9: 260-263.
- Mitsuoka, T. (1980) A color atlas of anaerobic bacteria, Sobunsha.
- Holdeman, L. V., Kelley, R. W., and Moore, W. E. C. (1984) *Bacteroides oris*, *Bacteroides buccae*. In Krieg, N. R. and Holt, J. G. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. 616-617. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Looney, W. J. and Gallusser, A. J. K. (1990) Evaluation of the ATB 32A system for identification of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 28: 1519-1524.
- Shah, H. N. and Collins, D. M. (1990) *Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides melanogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 28: 205-208.
- Shah, H. N. (1991) The genus *Bacteroides* and related taxa. In Balows, A., Truper, H. G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K. H. (eds.), *The Prokaryotes* Vol. 4. 3591-3607. Springer Verlag, New York.
- Holdeman, L. V., Moore, W. E. C., Churn, P. J. and Johnson, J. L. (1982) *Bacteroides oris* and *Bacteroides buccae*, new species from human periodontitis and other human infections. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32: 125-131.

15. Dellinger, C. A. and Moore, L. V. H. (1986) Use of the rapid-ANA system to screen for enzyme activities that differ among species of bile-inhibited *Bacteroides*. *J. Clin. Microbiol.* 23: 289-293.
16. Benno, Y., Suzuki, K., Narisawa, K., Bruce, W. R. and Mitsuoka, T. (1986) Comparison of the fecal microflora in rural Japanese and urban Canadians. *Microbiol. Immunol.* 30: 521-532.
17. Benno, Y., Endo, K., Mizutani, T., Namba, Y., Komori, T. and Mitsuoka, T. (1989) Comparison of the fecal microflora of elderly persons in rural and urban areas of Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1100-1105.

(1997년 2월 12일 접수)