Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 26, No. 3, 221−225 (1998)

캡슐및 비캡슐 비피더스균 첨가 요구르트의 섭취에 따른 장내균총 및 분변성상의 변화

류병희 · 조수현 · 하상우 · 박기문 · 강국희*
성균관대학교 식품생명자원학과

Changes of the Intestinal Microflora and Fecal Properties by Intake of Yoghurt Added Capsulated or Uncapsulated Bifidobacteria. Ryu, Byung-Hee, Soo-Hyun Cho, Sang-Woo Ha, Ki-Moon Park, and Kook-Hee Kang*. *Food and Life Science Department, Sung Kyun Kwan Univeristy, Suwon 440-746, Korea* − Fourteen healthy volunteers ranged in ages from 20 to 30 were served to administrate two types of yoghurt (2 bottles/day) such as one added uncapsulated-*Bifidobacteria* (Y-UCB) and the other added capsulated-*Bifidobacteria* (Y-CB) for 4 weeks, and the changes of intestinal microflora and fecal properties were studied. After administration of Y-UCB, the viable cell counts of fecal *Bifidobacteria* ($p<0.01$) and *Lactobacilli* ($p<0.05$) were significantly increased, however, fecal pH, moisture content and the viable cell counts of coliform bacteria in feces were not changed when they were compared to those before administration (control). After administration of Y-CB, the viable cell counts of *Bifidobacteria* were significantly increased ($p<0.01$) and viable cell counts of coliform bacteria were significantly decreased ($p<0.05$), however, fecal pH, moisture content, and viable cell counts of *Lactobacilli* were not changed when they were compared to those before administration. High level of fecal *Bifidobacteria* and low pH were maintained after 2 weeks from ceasing the administration of both types of yoghurt when they were compared to those before administration. In conclusion, there were not significant differences between two types, Y-CB and Y-UCB in the changes of fecal pH, moisture content, and the viable cell counts of *Bifidobacteria, Lactobacilli*, coliform bacteria after the administration.

Key words: yoghurt, capsulated-bifidobacteria, fecal microflora

장내에는 다양한 세균류가 상존하면서 항상 증식하고 배설되고 있으며, 이들은 호기성균과 혐기성균의 혼재한 생태계를 형성하고 있지만 혐기성 세균이 우세균으로 밝혀져 있다[23]. 대표적인 장내 혐기성균으로는 *Bacteroides, Eubacterium, Bifidobacteria, Lactobacilli, Streptococci* 등이 있고, 그밖에 *Clostridium, Peptococcaceae, Veillonellae, Staphylococci* 등이 존재하는데 이들 중 *Lactobacilli*와 *Bifidobacteria* 등은 우리 몸에 필요한 영양분, 비타민, 아미노산, 단백질 등의 합성, 면역강화, 소화촉진 등의 유익한 작용을 하고 장내세균을 안정화시킬 수 있는 능력을 가지고 있는 것으로 알려져 있다[7, 11, 17, 18]. *Bifidobacteria*는 정상인의 장내에서 초산과 젖산등의 유기산을 생성하여 장내부패세균의 성장을 억제할 뿐 아니라[4, 5], 대장에서 병원성균의 생육과 암의 발생을 억제하고[19, 21, 22], 설사 변비 등의 장질환을 예방치료하는 효과를 나타내는 것으로 알려져[3, 24], 현재 유산균과 함께 발효유에 많이 이용되고 있다. 그러나 비피더스균은 일반 유산균에 비해 생육 조건이 까다로우며 균주에 따라 차이는 있으나 일반적으로 위산에 대한 내산성이 낮아서, 요구르트 안에서의 생존율이 저하되거나 섭취 후에 위액과 담즙으로 인하여 불활성화가 문제시되고 있다[16]. Clark과 Martin[3]에 의하면, 대부분의 *Bifidobacterium*은 pH 1.0의 조건에서 2시간 경과시 10^8/ml에서 10^0/ml 이하로 거의 사멸 되었다. 따라서 이러한 *Bifidobacterium*의 낮은 pH 조건에서의 약한 생존능력에 대한 대책으로 내산성 비피더스균의 선정, 또는 비피더스균의 캡슐화등이 연구되고 있다[2]. 그 중에서 캡슐은 최근에 다양한 형태로 건강식품이나 일반식품에도 그 응용이 확대되고 있으며, 제조법에 따라 형상, 용도 등이 다르다. 캡슐은 식품산업에서 변하기 쉬운 성분의 변성과 손실방지 또는 특수한 풍미나 맛으로부터 식품을 보호하기 위하여 이용되고 있다[16]. 따라서 본 실험은 캡슐화 비피더스균을 첨가한 요구르트의 섭취후 장내균총에 미치는 영향 등을 검토하기 위하여 캡슐 및 비캡슐 비피더스균 첨가 요구르트의 음용효과에 대하여 실험하였다.

*Corresponding author
Tel. 82-331-290-7812, Fax. 82-331-290-7891
E-mail: khkang@yurin.skku.ac.kr

재료 및 방법

공시 요구르트

본 실험에 사용한 캡슐 비피더스균 첨가 요구르트(Yoghurt added Capsulated-*Bifidobacteria*: Y-CB)와 비캡슐 비피더스균 첨가 요구르트(Yoghurt added Uncapsulated-*Bifidobacteria*: Y-UCB)는 모두 *Bifidobacterium longum*이 10^7/ml이상, 유산균은 10^9/ml 이상 들어있는 제품으로 시중에서 구입하여 사용하였으며, Y-CB의 캡슐 성분은 gluten 45~50%, pectin 5~8%, glycerine 35~40%, starch 10~15%, lecithin 5~10%로 구성되어 있다.

생균수측정 및 사용배지

공시요구르트의 유산균수는 BCP agar 배지, 분변의 유산간균은 M-LBS (BBL)배지, 비피더스균은 BL한천배지(榮研化學(株))에 항생물질(Sodium propionate-30 g, Paromomycin sulfate-100 mg, Neomycin sulfate-400 mg, Lithium chloride-6 g)을 첨가한 BS배지, 대장균 군은 Desoxycholate agar(Difco)를 선택배지로 사용하여 측정하였다[12]. 생균수는 상용대 수치(Log CFU/ml)로 나타내었다.

캡슐내 비피더스균수 측정

Y-CB로부터 비피더스균수의 측정은 캡슐을 거즈에 걸러서 유발을 사용하여 희석수와 균질액이 되도록 갈아 캡슐에 함유된 비피더스균을 유출시킨 후 희석하여 배양하였다[2].

시험대상자 선정 및 교육

본 실험의 시험 대상자는 20~30세의 건강한 성인남여 14명으로 하였으며 실험시작 1개월 전부터 장내균총에 영향을 미칠 수 있는 항생제, 우유, 발효유제품 및 술 등의 섭취는 금지하도록 하였고, 시험 기간동안 일반적인 한국식 식사를 규칙적으로 하도록 하였다.

공시 요구르트의 음용 방법

음용 시험에 들어가기 전 2주동안을 control기간으로 정하고 이 기간에 2차례의 시료 분석을 하였다. Control 기간이 끝난 시험 대상자는 7명씩 A, B의 2군으로 나누어 A군에게는 Y-CB를, B군에게는 Y-UCB를 1차음용시켰다. 1차 음용시험이 끝난후 A, B군 모두 2주간 의 음용중단 기간을 가졌으며 그 다음에 2차 음용으로 1차때 음용한 각 공시 요구르트를 A, B군이 서로 교차하여 2주간 음용하게 하였다. 음용량은 하루에 2병씩으로 하였고 음용 시간은 점심과 저녁 식후로 하였다.

분변의 시료채취 및 희석

분변시료는 Kang 등의 방법에 준하여 채취하였다[15]. 시료의 채취시기는 각 기간에서 2주째 되는날을 기준으로 ±1일 사이에 각각 2번씩 채취하였으며, 배변 직후의 마지막 배출부위에서 약 20 g를 채취하여, 30분 이내에 혐기조건하에서 희석하였다. 희석액은 CO_2로 치환된 멸균혐기 희석액을 사용하였으며, 이 혐기희석액은 oxygen-free CO_2로 환원시킨 후, tube에 분주한 다음, 다시 oxygen-free CO_2로 치환하여 사용하였다. 분변은 혐기상태에서 잘 혼합한 후, 1 g을 취해 분변의 9배량의 혐기희석액을 넣어 균질화 한 후 십진 희석하였다.

혐기배양

혐기배양을 위하여 Cold catalyst system Gaspak (BBL)과 Steel Wool을 혼합사용 하였다. Steel wool 약 10~20 g을 산성황산동액($CuSO_4$:10 g, Tween-80:3.3 g, 2N H_2SO_4:15 ml, 증류수:1000 ml) 250~300 ml에 10초 동안 담근 후에 표면이 적동색이 되면 꺼내어 물기를 손으로 꼭 짜서 제거한 후, anaerobic jar의 plate위에 놓고 Gas pak을 넣은 다음에 anaerobic jar내의 공기를 CO_2가스로 3회 치환한 후 37℃에서 72시간 배양하였다[12].

분변 pH의 측정

분변의 pH는 pH paper(Advantec, TOYO Co., Japan)를 분변에 약 30초간 직접 접촉하여 색의 변화로 측정하였다.

분변의 수분함량측정

분변의 수분함량(%) 측정은 수분자동측정기(OHAUS Co., USA)로 하였으며 채취한 분변 10~15 g을 은박지에 균일하게 도포하고, 190℃에서 1시간 동안 건조한 후, 감소한 무게를 분변의 수분함량으로 하였다[15].

통계분석

데이타는 SAS(Statistical Analysis System) 프로그램중 *t*-test(Paired comparison)를 이용하여 각 평균간의 유의성을 검정하였다[25].

결과 및 고찰

공시요구르트의 성분

Y-CB의 성분은 protein 3.0%, fat 2.5%, carbohydrate 17.0%이었으며 Y-UCB의 성분함량은 protein 3.0%, fat 2.68%, carbohydrate 16.15%로 Y-CB의 지방함량이 약간 적고, 탄수화물 함량이 약간 많았으나 그 차이는 극히 적었다.

공시요구르트의 냉장저장에 따른 균수변화

Y-CB와 Y-UCB를 4℃에 저장하면서 저장기간에 따른

Table 1. Changes of the viable cell counts of *Bifidobacteria* and Lactic acid bacteria when yoghurt added *capsulated-bifidobacteria* (Y-CB) or uncapsulated *Bifidobacteria* (Y-UCB) stored at 4℃ for 6 days

Storage days	Bifidobacteria (Log CFU/ml)		Lactic acid bacteria (Log CFU/ml)	
	Y-CB	Y-UCB	Y-CB	Y-UCB
0	7.86	7.85	9.25	9.19
3	7.66	7.46	9.13	9.10
6	7.08	7.22	9.06	9.02

균수의 변화를 측정하였다. 요구르트는 저장기간 중에 온도와 시간에 의해 유산균의 활력이 변화되고, 특히 유산균이 생성하는 유산과 함께 pH의 변화가 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다[6]. 따라서 본 실험에서는 저장기간에 따라 공시요구르트에 사용된 균주들이 얼마나 안정한가를 확인하기 위하여 Y-CB와 Y-UCB를 4℃에서 6일 동안 저장하면서 비피더스균수와 유산균수를 측정하였다(Table 1). 비피더스균수(Log CFU/ml)의 경우 0일째 Y-CB는 7.86, Y-UCB 7.85이었으며, 6일째에는 각각 7.08과 7.22로 두 공시요구르트 모두 약간 감소하였다. 유산균수(Log CFU/ml)는 0일째 Y-CB에서 9.25이고, Y-UCB에서는 9.19이었으며, 6일째는 각각 9.06, 9.02로 비슷한 수준을 유지했다. 따라서 요구르트내에 생균수는 4℃에서 6일간 저장하는 기간에는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 그러므로 본 실험에서는 음용한 요구르트는 제조후 5일 이내 음용 하도록 하였기 때문에 시험기간 동안의 시료저장에 따른 균수의 변화는 없는 것으로 확인되었다.

시험대상자의 평상시 장내균총

본 실험의 시험 대상자 14명의 평상시 분변의 비피더스균수는 8.92±0.56이었고(Fig. 1), 유산간균수는 8.53±0.60(Fig. 2), 대장균수는 7.5±0.48(Fig. 3)으로 나타났다. Hidaka 등[8]과, Hidaka와 Eida[9]에 의하면 일본인 성인의 평상시 분변내 비피더스균수는 8.8(Log CFU/ml)이라고 하였으며 Mitsuoka[20]는 성인의 분변 1 g 당 비피더스균수가 9.8정도라 하였다. 한국인 성인의 평상시 비피더스균수의 경우, Kim과 Kang[12]은 약 8.61~9.01, Kang과 Park[13]은 10, Ji[10]는 9.97이라고 하였다. 또한, 유산간균수에 있어서 평상시 일본인 성인의 경우는 6.9이었으나[14], 한국인 성인의 경우는 7.03이었다. 한국인의 유산간균수가 일본인보다 10배 이상 더 많이 검출되는 것은 김치의 영향이 아닌지 추측하지만, 이 부분에 대한 앞으로의 연구가 필요하다고 생각된다.

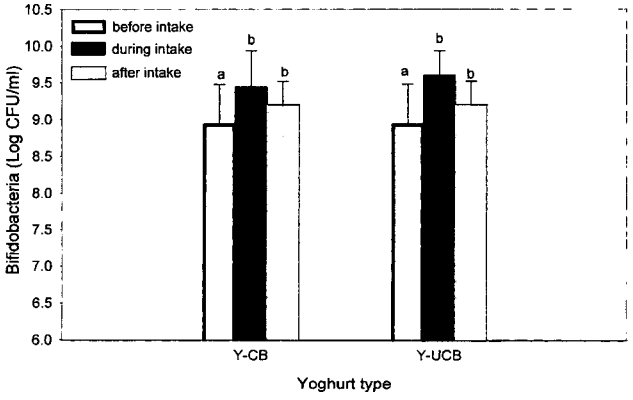

Fig. 1. Changes of the viable cell counts of fecal Bifidobacteria during the administration of yoghurt added capsulated-bifidobacteria (Y-CB) or uncapsulated-bifidobacteria (Y-UCB).
[a-b]Means with the different letter are significantly different ($p<0.05$).

공시요구르트 음용중 분변의 비피더스균수 변화

비피더스균수는 Fig. 1과 같이 두 요구르트의 음용 기간동안 모두 증가 하였다. 즉 시험대상자 14명의 평상시(control) 비피더스균수는 8.92±0.56이었으며, Y-CB의 음용중에는 9.43±0.51, Y-UCB의 음용중에는 9.58±0.36으로 음용전과 비교하여 두 제품 모두 통계적으로 유의성($p<0.01$)있게 증가하였다. 그러나 두 종류의 공시요구르트간에는 통계적으로 유의차가 없는 것으로 나타났다. 즉, Y-CB를 음용하거나 Y-UCB를 음용하거나 장내 비피더스균수에는 차이가 없다는 것을 알 수 있었다. Akiyoshi[1]는 *Lactobacillus acidophilus* LA-2로 발효시킨 yoghurt를 7일간 음용 후 비피더스균수가 9.2에서 9.9로 증가($p<0.05$)하였다고 보고하였다. Kang 등[15]에 의하면 Fructooligosaccharide를 4주간 음용 후 장내 비피더스균이 7.88에서 9.22로 유의성($p<0.05$)있게 증가한 것으로 나타났다. 한편, 본 실험에서 공시 요구르트 음용 중단 2주 후까지도 비피더스균수는 9.18±0.43으로

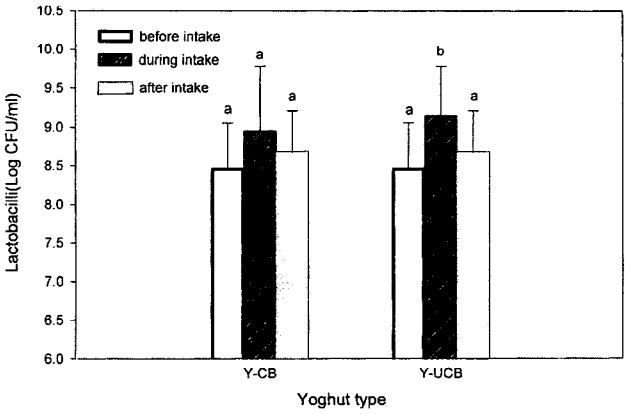

Fig. 2. Changes of the viable cell counts of fecal lactic acid bacteria during the administration of yoghurt added capsulated-bifidobacteria (Y-CB) or uncapsulated-bifidobacteria (Y-UCB).
[a-b]Means with the different letters are significantly different ($p<0.05$).

음용전과 비교하여 통계적으로 유의차($p<0.05$)가 있는 것으로 나타났으며, 이로써 음용중과 비교하여 음용중단 후에도 장내에서 그 균수를 상당기간 유지하고 있다는 것을 알 수 있었다.

요구르트 음용중 분변의 유산간균수 변화

Fig. 2에서와 같이 시험 대상자 14명의 평상시 유산간균수는 8.54±0.60이었으나, Y-CB 음용중에는 8.94±0.84로, 음용전과 비교하여 약간의 증가량을 보였으나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. Y-UCB의 음용중에는 9.14±0.64로, 음용전보다 증가하여 통계적으로 유의차($p<0.05$)가 인정되었다. Akiyoshi[1]는 발효유 음용후 유산간균수는 6.4에서 7.6으로 통계적으로 유의성($p<0.05$)있게 증가하였다고 보고하였으며, Kang 등[15]에 의하면 Fructooligosaccharide음용후 장내 유산간균수는 6.76에서 8.15로 유의성($p<0.05$)있게 증가한 것으로 나타내고 있다. 여기서 두 공시요구르트의 음용으로 인한 유산간균수의 차이에 대한 원인이 무엇인가에 대하여는 확인할 수 없었다. 한편 Y-CB와 Y-UCB의 유산간균수에 대한 음용효과를 비교해 보면 두 요구르트간에는 유의차($p>0.05$)가 없는 것으로 나타났다.

공시요구르트 음용중 분변의 대장균수의 변화

각 음용기간에 따른 시험대상자 14명의 평균 대장균수의 변화는 Fig. 3과 같다. 평상시에는 7.50±0.48이었으나, Y-CB의 음용중에는 6.98±0.56으로 음용 전보다 감소하여 통계적으로 유의차($p<0.05$)가 있는 것으로 나타났으며, Y-UCB의 음용중에는 7.22±0.48로서 평상시보다 약간 감소하였으나 통계적으로 유의차($p>0.05$)는 없는 것으로 나타났다. Akiyoshi[1]는 *Lactobacillus acidophilus* LA-2로 발효시킨 yoghurt를 7일간 음용후 음용전과 비교하여 대장균수가 7.32에서 7.2로 감소하였으나 유의성($p>0.05$)은 없는 것으로 보고하였다. Kang 등[15]에 의하면 Fructooligosaccharide를 4주간 음용 후 장내 대장균이 6.65에서 6.58로 역시 음용전과 비교하여 유의성($p>0.05$)이 없는 것으로 나타났다. 음용중단 후에도 보면 7.45±0.66으로 음용전과 비교하여 통계적으로 유의차가 없는 것으로 나타났다. 한편 Y-CB와 Y-UCB에 대한 장내 대장균수의 영향에 있어서 두 요구르트간에는 통계적으로 유의차($p>0.05$)가 없는 것으로 나타났다.

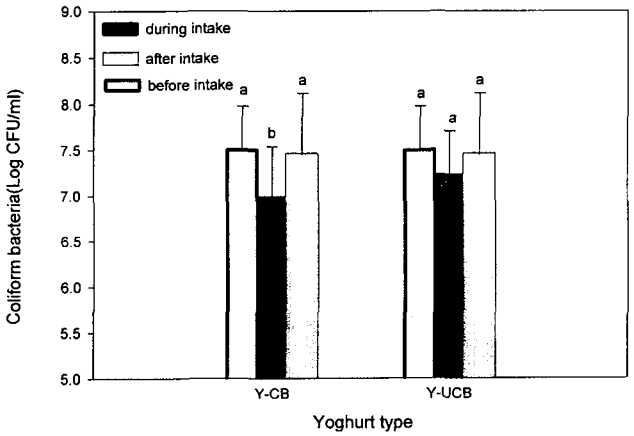

Fig. 3. Changes of the viable cell counts of fecal coliform bacteria during the administration of yoghurt added capsulated-bifidobacteria (Y-CB) or uncapsulated-bifidobacteria (Y-UCB).

[a-b]Means with the different letter are significantly different ($p<0.05$).

요구르트 음용중 분변의 수분 함량 변화

본 실험의 시험 대상자 14명에 대한 평상시 수분함량(%)은 82.68 ±2.98로, Y-CB의 음용중 83.64±2.63이었고, Y-UCB의 음용중에는 83.11±1.17로 약간 증가하였으나 거의 비슷하였다. Y-CB와 Y-UCB간의 수분함량(%)은 통계적으로 유의차는 없었으며, 음용중단 후에도 82.58±1.41로 음용전과 비교하여 유의차가 없었다. Akiyoshi[1]에 의하면 *Lactobacillus acidophilus* LA-2로 발효시킨 yoghurt를 7일간 음용한 후 수분함량(%)은 77.9에서 78.2로 거의 변화가 없었다고 하였다. Kang 등[15]도 Fructooligosaccharide를 4주간 음용시킨 후 장내 수분함량(%)이 81.77에서 84.66으로 음용전과 차이가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). Kashimura 등[14]에 의하면 사람의 평상시 분변 수분 함량(%)이 80.05±4.4이었고, Kang 등[15]은 82.18±4.51이었다고 보고하였는데 이는 본 실험에서도 거의 비슷한 수준이었다. 따라서 Y-CB 및 Y-UCB의 음용이 분변의 수분 함량을 약간 증가시켰으나 크게 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다.

요구르트의 음용중 분변의 pH 변화

본 실험 시험대상자 14명의 평상시 pH는 6.38±0.26이었다. Y-CB의 음용중에는 6.33±0.21로 음용전과 비교하여 통계적으로 유의차가 없었고, Y-UCB의 음용중에도 음용전과 비교하여 pH는 6.43±0.19로 약간 높아졌으나 역시 통계적으로 유의차가 없었다($p>0.05$), 음용중단 후에도 pH는 6.5±0.15로 음용전과 비교하여 통계적으로 유의차가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). Akiyoshi[1]는 *Lactobacillus acidophilus* LA-2로 발효시킨 yoghurt를 7일간 음용시킨 결과 분변 pH는 음용전과 차이가 없는 것으로 나타났다.

요 약

Y-CB와 Y-UCB를 음용하였을 때, 장내 비피더스균수, 유산간균수, 대장균수 및 분변의 pH, 수분함량(%) 등 장

내환경 변화에 어떤 영향을 미치는지 검토하였다. 시험 대상자는 20~30세의 건강한 성인 남녀 14명으로 하였으며 평상시의 분변 상태를 조사한 다음 요구르트를 하루 2병씩 식후에 음용하도록 하였다. 음용시험의 방법은 Y-CB와 Y-UCB를 2주간 1차 음용시험후 2주간의 음용중단 기간을 가졌으며, 다음 제2차 음용시험으로서는 1차 음용시의 공시요구르트를 교차음용 하면서 분변상태를 비교 분석하였다. Y-UCB의 음용중에는 음용전과 비교하여 비피더스균수($p<0.01$)와 유산간균수($p<0.05$)는 유의성있게 증가하였고, 수분, pH, 대장균수에는 변화가 없었다. Y-CB의 음용은 음용전과 비교하여 비피더스균수는 증가하였고($p<0.01$), 대장균수는 감소하였으며($p<0.05$), 유산간균수, 수분, pH는 변화가 없었다. 두 개의 공시 요구르트를 음용 전과 비교하면 음용중단 후에도 비피더스균수가 증가하였고, 낮은 pH를 지속하였으며, 유산간균수, 수분, 대장균수의 변화는 없는 것으로 나타났다. 결과적으로 유산균발효유의 음용효과(비피더스균수, 유산간균수, 대장균수, pH, 수분함량의 변화측정) 비교에 있어서 본실험에 사용한 Y-CB나 Y-UCB는 어느 것이나 거의 동등한 효과를 나타내었으며 통계적으로 유의차가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$).

참고문헌

1. Akiyoshi, H. 1997. Dismutagenic properties of lactic acid bacteria. The 10th international symposium proceedings on lactic acid bacteria and human health. 16–26, Seoul.
2. Arai, S., C. Sasaki, and K. Sugimoto. 1996. Effect of yogurt added bifidus capsule on the solubility in gastrointestinal tract. *Shyokuhinkogyo* 53–58.
3. Clark, P. A. and J. H. Martin. 1993. Selection of *Bifidobacteria* for use dietary adjuncts in cultured dairy food: II Tolerance to simulated pH of human stomachs. *Cult. Dairy Prod. J.* 11–14.
4. Colombel, J. F., A. Cortot, C. Neut, and C. Romond. 1987. Yoghurt with *Bifidobacterium longum* reduces erythromycin induced gastrointestinal effect. *Lancet.* **2**: 43–48.
5. Fuller, R. 1992. *Probiotics-The scientific Basis*, pp. 355–376, 1st ed. Champman & Hall, London.
6. Goh. J S., B. K. Yang, and J. K. Ahn. 1982. Studies on the manufacture of semi-solid type set yogurt. *Korean J. Dairy Sci.* **4**: 129–137.
7. Goldin, B. R., L. Swenson, J. Dwyer, M. Sexion, and S. L. Gorbach. 1980. *J. Nat. Cancer* **40**: 255–261.
8. Hidaka, H., T. Eida, T. Tokunaga, and Y. Yashiro. 1986. Effect of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria and Microflora* **5**: 37–42.
9. Hidaka, H. and T. Eida. 1991. Proliferation of *Bifidobacteria* by oligosaccharides and their useful effect of human health. *Bifidobacteria and Microflora.* **10**: 65–72.
10. Ji, G. E. 1994. Composition and distribution of intestinal microbial flora in Korean. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 453–458.
11. Kaila, M., E. Isolaura, E. Virtanen, S. Laine, E. Soppi, and H. Arvilommi. 1992. *Pediat. Res.* **32**: 141–144.
12. Kim, S. H. and K. H. Kang. 1984. Distribution of *Bifidobacterium* in feces of Korean infants. *Korean J. Dairy Sci.* **6**: 126–134.
13. Kang, K. H. and Y. H. Park. 1985. Fecal microflora of Korean adults. *J. Korean Publ. Health Assoc.* **11**: 59–65.
14. Kashimura, J., Y. Nakajima, Y. Benno, K. Endo, and T. Mitsuoka. 1989. Effect of palatinose and its condensate intake on human fecal microflora. *Bifidobacteria and Microflora* **8**: 45–52.
15. Kang, K. H., K. M. Kim, and S. G. Choi. 1996. Effect of the fructooligosacharide intake on human fecal microflora and fecal properties. *Korean J. Food Sci.* **28**: 609–615.
16. Lee, K. W., C. H. Kim, and S. C. Baick. 1996. Utilization of milk fat for the measurement of micro encapsulation yield. *Bulletin of Dairy Food Research* **7**: 9–10.
17. Marteau, P., P. Pochart, and B. Flourie. 1990. *Am. J. Chem. Nutri.* **52**: 685–688.
18. Mitsuoka, T. 1980. *Zonaisaikinno Sekai*, pp. 1–34, Sobunsha.
19. Mitsuoka, T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria and Microflora* **1**: 3–5.
20. Mitsuoka, T. 1984. *A Color Atlas of Anaerobic Bacteria.* 2nd ed. Shobunsha Tokyo.
21. Mitsuoka, T. 1990. *Zonaisaikingaku.* Asakurashyoten, Tokyo.
22. Modler, H. W., R. C. McKellar, and M. Yaguchi. 1990. *Bifidobacteria* and bifidogenic factors, *J. Inst. Sci. Technol. Aliment.* **23**: 29–41.
23. Rasic, J. L. and J. A. Kurmann. 1983. *Bifidobacteria* and their role. pp. 51–80, Birkauser Veerlag, Basser.
24. Tanaka, R. and K. Shimosaka. 1982. Investigation of the stool frequency in elderly who are bed ridden and its improvements by ingesting of bifidus yogurt. *Jpn. Geriart.* **19**: 577–581.
25. SAS Institute, Inc. 1990. *SAS User's Guide, Statistics*, 6th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.

(Received February 11, 1998)