

요구르트에서 분리한 *Lactobacillus*들의 담즙산염 분해 능력

김근배* · 이재환 · 임광세 · 허철성 · 배형석 · 백영진 · 김현욱¹
한국야쿠르트 중앙연구소, ¹서울대학교 동물자원과학과

Bile Salt Deconjugation Activity of *Lactobacillus* Strains Isolated from Yogurt Products. Kim, Geun-Bae*, Jae-Hwan Lee, Kwang-Sei Lim, Chul-Sung Huh, Hyoung-Suk Bae, Young-Jin Baek, and Hyun-Uk Kim¹. Research and Development Center, Korea Yakult Co. Ltd., 418-12, Komae-Ri, Kiheung-Eup, Yongin-Si, Kyunggi-Do 449-900, Korea, ¹Department of Animal Science and Technology, Seoul National University, Suwon 411-744, Korea - To investigate bile salt hydrolase activities of the bacterial strains isolated from fermented milk products, 21 strains of *Lactobacillus* were tested for their abilities to produce cholic acid from taurocholic and glycocholic acids. The production of cholic acid was measured by HPLC analysis during the growth in broth media for 24hrs. All strains of *Lactobacillus acidophilus* and *L. plantarum* deconjugated both taurocholate and glycocholate, whereas none strains of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. reuteri* did. *L. acidophilus* strains isolated from yogurts had the higher deconjugation activities on glycocholate than taurocholate, however, *L. acidophilus* 1009 isolated from the human intestine showed the similar deconjugation activities on both taurocholate and glycocholate.

Key words : *Lactobacillus* spp, bile salt hydrolase(BSH), hypocholesterolemic effect

포유동물은 간에서 cholic acid와 chenodeoxycholic acid와 같은 1차 담즙산을 합성한 다음, glycine이나 taurine과 결합된 복합형의 담즙산을 만든다. 1차 담즙산의 전구체는 콜레스테롤이며, 간장은 콜레스테롤로부터 담즙산을 만들 수 있는 유일한 기관이다. 사람의 경우 하루에 약 0.5 g 정도의 유리형 담즙산이 분변으로 배출되고 같은 양의 담즙산이 간에서 생성되어 인체내에는 일정량의 담즙산 pool이 유지된다[23]. 담즙산이 타우린이나 글라이신과 결합하여 복합형 담즙산으로 되는 것은 간에서 일어나는 반응이지만 이것을 분해하여 유리형 담즙산을 만드는 것은 장에서 일어나는 반응이다[15]. 담즙산과 아미노산과의 결합은 펩타이드 결합과 유사하지만 어떠한 단백분해효소에 의해서도 분해가 되지 않으며, bile salt hydrolase(BSH)라고 하는 효소에 의해서만 분해가 되는 것으로 알려져 있다. 장내미생물 중에서 *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* 등이 BSH를 가지고 있으며, *in vitro*에서 이러한 미생물에 의한 담즙산의 분해는 여러 학자에 의해서 입증되었다[6-8, 10-14, 18].

장내 미생물이 생산하는 BSH는 복합형 담즙산의 가수분해를 촉진시키는 역할을 하며, 분변을 통하여 배설되는 담즙산중에는 복합형 담즙산은 전혀 포함되어 있지 않고 유리형 담즙산만이 배설된다는 사실로부터 이 효소가 담즙산의 체외 배설에 중요한 역할을 한다는 것을 알게 되었다.

즉, 장내에서 BSH의 활력이 높아 많은 복합형 담즙산이 유리형 담즙산으로 바뀌게 되면, 안정성이 낮아 지방의 유화에 관여하지 못하게 되는 유리형 담즙산은 분변을 통하여 체외로 배설이 되며, 이런 경우 장간순환(entero-hepatic circulation)에 의하여 간으로 되돌아오는 담즙산의 양은 그만큼 줄어들게 된다. 체내의 담즙산 pool에는 일정량의 담즙산이 유지되어야 하기 때문에 배설된 양만큼의 담즙산이 간에서 재합성 되어진다. 이때, 담즙산의 전구체가 되는 콜레스테롤이 이용되며, 따라서 혈중 콜레스테롤의 양은 감소할 수 있다는 것이다.

*Lactobacillus*는 유산균의 유용 효과에 대한 연구가 진행되면서부터 아주 중요한 생리 활성 유산균주로 대두되고 있으며, 최근 들어 BSH활성이 높은 *Lactobacillus*의 섭취가 혈중 콜레스테롤 수준에 미치는 영향을 동물 실험을 통하여 확인하기 위한 연구가 진행되어진 바 있으며[2, 4, 5], 이러한 연구로부터 BSH 활성이 낮은 균주를 급여할 때 보다 혈중 콜레스테롤 수치가 유의적으로 감소한다고 보고되어지고 있다.

본 연구는 요구르트 제품에서 분리된 *Lactobacillus*에 대한 담즙산염 분해 능력을 비교하고, 담즙산염 분해능력이 우수한 균주를 선별하기 위하여 수행되어졌다.

재료 및 방법

사용균주

본 연구에 이용된 균주는 Table 1에서 보는 바와 같이,

*Corresponding author
E-mail: gbkim@hotmail.com

Table 1. *Lactobacillus* strains used in this study

Species	Strain	Source	Country
<i>L. acidophilus</i>	1001	Culture	Denmark
	1002	Culture	Germany
	1003	Yogurt	Korea
	1004	Culture	Denmark
	1005	Yogurt	Japan
	1006	Yogurt	Netherlands
	1007	Yogurt	Japan
	1008	Yogurt	Japan
	1009	LDTM*	Korea
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	2001	Yogurt	Japan
	2002	Yogurt	Germany
	2003	Yogurt	Switzerland
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	3001	Culture	Denmark
	3002	Yogurt	Japan
	3003	Yogurt	Japan
	3004	Yogurt	Germany
	3005	Yogurt	Korea
	3006	Yogurt	Korea
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	4001	Yogurt	Finland
<i>L. plantarum</i>	5001	Yogurt	Sweden
<i>L. reuteri</i>	6001	Yogurt	Japan

* Lab. of Dairy Technol & Microbiol., Seoul National University.

국내외에서 판매되고 있는 요구르트 제품으로부터 분리 동정하여 한국야쿠르트중앙연구소에서 보관중인 *Lactobacillus* spp. 16균주와 중공 공급사로부터 제공받은 4균주, 그리고 서울대학교 김현욱 교수에게서 분양 받은 Human origin 1균주(*L. acidophilus* SNUL 01)를 포함하여 총 21균주였다.

배양 조건 및 생균수 측정

MRS broth에 0.2% sodium thioglycolate와 1 mM의 sodium taurocholate와 1 mM의 sodium glycocholate를 첨가한 배지를 제조하여 180 ml 용량의 희석병에 100 ml씩 분주한 다음 121 °C에서 15분간 가압멸균을 실시하였다. 멸균된 액체 배지에 계대 배양된 균주를 1% 농도로 접종하고 약 1분간 섞어준 다음 무균적으로 10 ml씩을 취하여 멸균된 screw cap tube에 분주하여 37°C에서 24시간 Table 2. Conditions of HPLC analysis 동안 배양하였다. 처음 14시간 동안에는 2시간마다 시료를 취하고, 마지막으로 24시간의 시료를 취하여 분석에 이용하였다. 배양 시간별로 취한 시료에 대하여 담즙산염의 분해 정도와 생균수를 측정하였다.

Table 2. Conditions of HPLC analysis

Detector	UV detector, model BT9510 (Biotronik) at 205 nm
Injector	Automatic sampling system, model AS-100 HRLC(Bio-Rad)
Column	ODS Hypersil 5 µm, 125 × 4 mm (Hewlett Packard)
Flow rate	0.6 ml/min
Injection volume	20 µl
Software	Chromate version 3.0

HPLC 조건

담즙산염의 분석은 HPLC model 2800(Bio-Rad, USA)를 이용하였으며, 분석 조건은 Table 2와 같았다.

Methanol과 증류수는 HPLC grade(Burdick & Jackson, USA)를 사용하였으며, 표준물질로 사용한 담즙산염의 순도는 98% 이상이었고, sodium taurocholate와 sodium glycocholate는 Sigma Chemical Co(St. Louis, USA), Sep-pak C₁₈ cartridge는 Waters Associates(Mass., USA)로부터 구입하여 사용하였다.

Mobile phase로는 700 ml의 methanol에 300 ml의 0.02 M acetic acid를 혼합하여 사용하였다. 혼합 후에 5 M NaOH를 이용하여 pH 5.6으로 조정된 다음 0.45 µm의 nylon filter(Supelco Inc., USA)를 이용하여 filtering을 하였다. 배양한 배지의 상등액은 mixture A로 희석하였다 (Mixture A=mobile phase:0.9% NaCl에 0.2M NaOH를 녹인 용액=3:4).

담즙산의 회수 및 정량

Ruben 등[16]의 방법을 변형하여 실험에 이용하였다. 배지 상등액 5 ml를 10,000 g에서 10분 동안 원심 분리한 다음 0.45 µm의 membrane filter(Sartorius, Germany)를 이용하여 여과하고, 2 ml의 시료에 14 ml의 mixture A를 첨가하고 Vortex mixer로 섞어주었다. Sep-Pak cartridge를 설치한 다음 시료를 loading하고 10 ml의 증류수로 씻어주고, 5 ml의 10% acetone으로 씻어준 다음 10 ml의 증류수로 다시 씻어주었다[21]. Cartridge에 있는 담즙산염은 5 ml의 methanol을 이용하여 회수하였다. 회수된 methanol 잔류물은 60 °C의 수조에서 질소 가스를 흘려주면서 methanol을 휘발시켰다. 건조된 잔류물을 2 ml의 mobile phase에 녹인 다음 0.45 µm의 membrane filter를 이용하여 여과한 다음, 20 µl의 시료를 HPLC에 injection하였다.

통계 분석

균주별 specific bile salt deconjugation과 growth rate는 비선형 회귀분석에 의하여 변형된 logistic model[22]을 이용하여 분석하였으며, 각 평균간의 유의성 검정은 SAS

Table 3. BSH activity of tested strains

Strains	Bile salt deconjugation*(cholate disappeared**)	
	Taurocholate	Glycocholate
LA 1001	0.17±0.09 ^{cd}	0.78±0.14 ^b
LA 1002	0.16±0.09 ^{cd}	0.78±0.14 ^b
LA 1003	0.87±0.21 ^a	1.00±0.06 ^a
LA 1004	0.05±0.04 ^d	0.96±0.02 ^a
LA 1005	0.07±0.05 ^{cd}	0.66±0.11 ^b
LA 1006	0.28±0.07 ^{bc}	0.93±0.04 ^a
LA 1007	0.19±0.15 ^{cd}	0.96±0.02 ^a
LA 1008	0.19±0.06 ^{cd}	0.99±0.01 ^a
LA 1009	1.00±0.01 ^a	0.98±0.01 ^a
LP 5001	0.47±0.06 ^b	0.99±0.01 ^a

*Mean (μmol/mL)±S.D. of three trials.

**Amount of cholate disappeared during 15hr incubation in MRS broth supplemented with 0.2% sodium thioglycolate, 1 mM taurocholate and 1 mM glycocholate.

a,b,c,d Values with different superscripts in same column differ (P <0.05).

프로그램중 t-test(Paired comparison)를 이용하여 검정하였다[17].

결과 및 고찰

균주별 담즙산염 분해능력의 비교

균주별 BSH 활성을 15시간 배양 후에 분해되어진 taurocholate와 glycocholate의 양으로 나타내면 Table 3에서 보는 바와 같았다. 두 종류의 담즙산염을 함유한 MRS broth에 균주를 접종하고 37 °C에서 15시간 배양했을 경우, 실험에 이용된 21균주 중에서 *L. acidophilus*와 *L. plantarum*은 모든 균주에서 두 종류의 담즙산에 대한 분해 능력이 있었으며, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, 그리고 *L. reuteri* 균주에서는 분해 능력이 관찰되지 않아(data not shown), lactobacilli group 내에서 담즙산 분해 능력은 species-specific 특성을 보이는 것으로 나타났다. Gilliland과 Speck [6]은 6균주의 *L. acidophilus*에 대한 실험에서 모든 균주가 taurocholate에 대한 BSH 활성이 있었으나 1균주만이 glycocholate에 대한 BSH 활성을 보였다고 보고한 바 있어 본 연구 결과와는 일치하지 않았다. 또한, De Smet 등[3]의 보고와 마찬가지로 *L. plantarum*에서도 BSH 활성이 있음을 본 연구에서 확인할 수 있었다.

L. acidophilus 균주간에도 taurocholate에 대한 분해 능력은 매우 다양한 양상을 보였다. LA 1003과 LA 1009 균주는 다른 균주들에 비하여 유의적으로 높은 분해 능력을 나타냈으며(P<0.05), LA 1006 균주는 중간 정도의 분

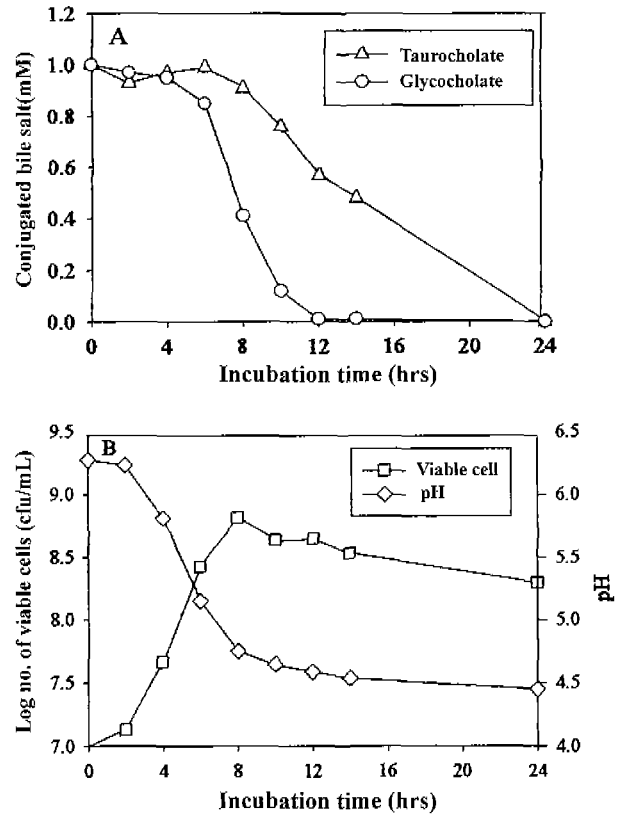


Fig. 1. Bile salt deconjugation (A) and growth (B) of *L. acidophilus* 1003 in MRS broth supplemented with 1mM glycocholate and 1 mM taurocholate. Each symbol represents mean of three trials.

해 능력을 보였고, LA 1004 균주는 유의적으로 낮은 분해 능력을 보였다(P<0.05). 그러나 본 실험에서 taurocholate에 대한 분해 능력이 비교적 낮은 것으로 나타난 두 균주에 대하여 담즙산염으로 4 mM의 taurocholate를 사용하고[20] 배양 시간을 24시간으로 했을 경우에는, LA 1004 균주와 LA 1005 균주가 각각 100%와 34.5%의 taurocholate를 분해하는 매우 높은 활성을 보였다. 따라서 담즙산염 분해 능력은 기질의 농도와 배양 시간, pH 등에 따라 영향을 받는 효소 반응임을 알 수 있었다.

*L. acidophilus*와 *L. plantarum*은 모든 균주에서 glycocholate에 대하여 비교적 높은 분해 능력을 나타내었으며, LA 1001, LA 1002, LA 1005 균주와 나머지 균주들간에는 glycocholate에 대한 분해능력에 있어서 유의적인 차이가 인정되었다(P<0.05).

배양시간에 따른 담즙산 분해 양상

본 실험에서 담즙산 분해 능력이 비교적 높은 것으로 밝혀진 세 종류의 *L. acidophilus* 균주(LA 1003, LA 1006, LA 1009)에 대하여 배양시간에 따른 담즙산염의 분해 양상을 확인하였다.

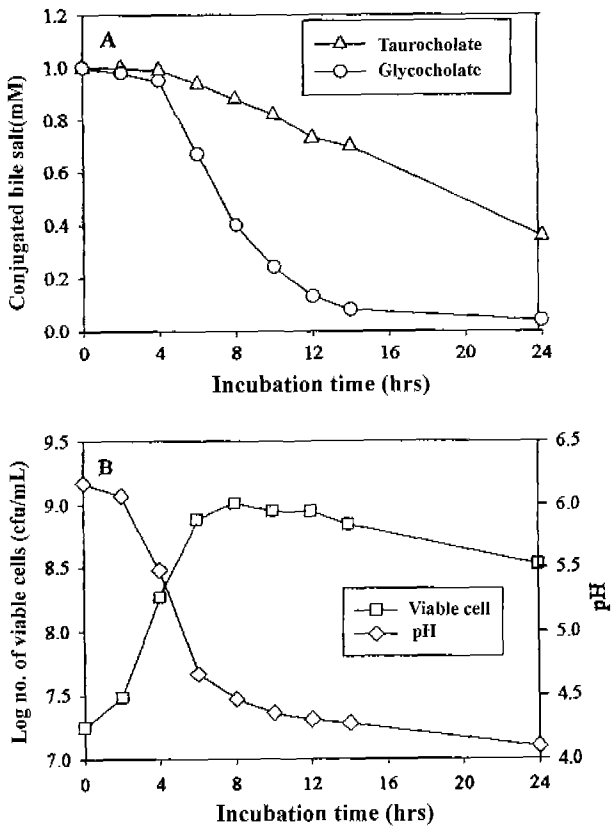


Fig. 2. Bile salt deconjugation (A) and growth (B) of *L. acidophilus* 1006 in MRS broth supplemented with 1 mM glycocholate and 1 mM taurocholate. Each symbol represents mean of three trials.

L. acidophilus 1003은 배양후 12시간만에 첨가된 glycocholate를 모두 분해하였으며, taurocholate는 24시간이 지난 후에 모두 분해하여 taurocholate보다는 glycocholate에 대한 deconjugation 능력이 높은 것으로 나타났다(Fig 1A). Glycocholate와 taurocholate의 가수분해에 의하여 형성되는 free cholic acid는 *L. acidophilus*와 같은 장내 미생물에 toxic한 효과를 나타낸다고 보고되어진 바 있으며[1], 본 실험에서도 일정 시간 배양 후에 생균수가 감소하는 현상이 관찰되었다(Fig 1B).

L. acidophilus 1006도 *L. acidophilus* 1003과 마찬가지로 taurocholate 보다는 glycocholate에 대한 분해도가 더 높은 것으로 나타났으며, 배양후 14시간만에 90% 이상의 glycocholate를 분해하였으며, taurocholate에 대해서는 배양 24시간 후에도 첨가량의 64% 밖에는 분해하지 못하였다(Fig. 2A).

L. acidophilus 1009는 두 종류의 담즙산에 대한 유사한 분해 양상을 보였으며, LA 1003이나 LA 1006 균주에 비하여 배양 초기에 높은 분해력을 보이는 것으로 나타났다(Fig. 3A).

본 연구에서 담즙산 분해력이 비교적 높은 것으로 밝혀

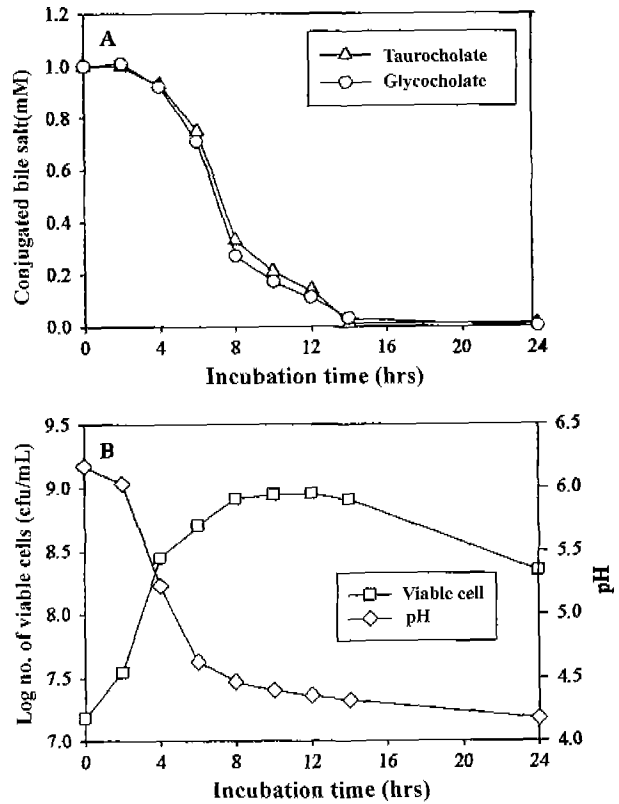


Fig. 3. Bile salt deconjugation (A) and growth (B) of *L. acidophilus* 1009 in MRS broth supplemented with 1 mM glycocholate and 1 mM taurocholate. Each symbol represents mean of three trials.

진 균주들을 섭취하여 장내에 정착할 수 있다면, 소장에서 담즙산의 분해도를 높여 재흡수를 줄이고 체외배설을 높임으로서 콜레스테롤 저하효과를 얻을 수 있을 것이며, 이 부분에 대해서는 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

세 균주의 담즙산 분해 특성과 성장 곡선을 Zwietering 등[22]의 방법에 의하여 변형된 logistic model에 의하여 통계 분석을 실시한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다.

Sodium glycocholate에 대한 분해 속도는 균주간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 *L. acidophilus* 1009의 sodium taurocholate에 대한 분해 속도는 1003, 1006 균주의 그것보다 유의적으로 높았다($P < 0.05$). 세 균주는 모두 배양 후 24시간만에 거의 모든 양의 glycocholate를 분해하였으나, taurocholate에 대한 분해 정도는 균주간에 차이를 보여 *L. acidophilus* 1006 균주는 64%만을 분해하였으나, 나머지 두 균주는 모든 양의 taurocholate를 분해하였다. 두 종류의 담즙산염에 대한 분해 속도에 있어서 균주간의 lag phase에는 유의적인 차이가 없었다($P < 0.05$). 그러나, LA 1003과 1006 균주는 taurocholate에 대한 lag time 보다 glycocholate에 대한 lag time이 더 짧았고, LA 1009 균주는 유사한 lag time을 갖는 것으로 나타났다. 이러한

Table 4. Kinetic parameters of bile salt deconjugation of *L. acidophilus* 1003, 1006, and 1009 in static culture*

	Lag phase (hours)	Deconjugation-rate (mM/h)	Deconjugation(%)
Glycocholate			
LA 1003	5.54±0.13 ^a	0.23±0.01 ^a	100±0.9 ^a
LA 1006	4.03±0.23 ^a	0.15±0.01 ^a	96±5.3 ^a
LA 1009	4.52±0.25 ^a	0.20±0.02 ^a	100±1.1 ^a
Taurocholate			
LA 1003	7.98±0.43 ^a	0.09±0.01 ^b	100±1.3 ^a
LA 1006	6.81±0.41 ^a	0.05±0.01 ^b	64±0.6 ^b
LA 1009	4.46±0.33 ^a	0.17±0.02 ^a	99±1.0 ^a

*Based on the growth in MRS broth supplemented with 1 mM glycocholate and 1 mM taurocholate. Each value is the mean and standard error of three trials. Values in the same column within the same substrate followed by different superscript letters differ (P<0.05).

결과로부터 앞의 두 균주는 taurocholate 보다는 glycocholate를 우선적으로 분해하는 경향이 있었으나, LA 1009 균주는 두 종류의 담즙산에 대하여 거의 유사한 분해 경향을 보인다는 것을 알 수 있었다.

유산균의 담즙산 분해 능력에 대한 유용성 또는 유해성에 관해서는 많은 논란의 여지가 있다고 여겨진다. 본 연구에서 살펴본 바에 의하면 요구르트 제조에 이용되는 *L. acidophilus* 균주들은 균주간에 활성의 차이는 있었지만 모든 균주에서 taurocholate에 대한 분해 능력을 가지고 있었으며, glycocholate에 대한 분해 능력은 모든 균주에서 매우 높은 것으로 나타났다. 사람의 경우에 출생직후에는 대부분의 담즙산이 taurine과 결합된 형태로 존재하지만, 성인의 경우에는 glycine 결합형이 taurine 결합형에 비하여 2.2~3배 정도로 높게 나타나기 때문에 [9], *L. acidophilus* 균주들이 glycocholate에 대하여 매우 높은 활성을 지니고 있다는 것은 요구르트에 함유되어 있는 *L. acidophilus* 균주들이 인체의 장내에서 어떠한 형태로든 담즙산의 대사에 영향을 미칠 수 있다는 뜻으로 해석된다.

Takahashi 등 [19]은 유산균과 비피더스균들이 7 α -dehydroxylase 활성을 가지고 있지 않기 때문에, 이러한 균주들을 섭취하더라도 인체 내에서 발암성분으로 알려진 2차 담즙산의 생성에 직접적으로 관여하지 않아서 안전하다고 보고하였다. 또한, De Smet 등 [4]은 BSH 활성이 높은 *Lactobacillus*를 폐지에 급여했을 때 혈중 콜레스테롤의 수치는 유의적으로 감소하지만 분변 중의 *Lactobacillus*의 수에는 급여중이나 급여를 중단한 후에도 유의적인 변화가 없기 때문에 BSH 활성이 높은 균주를 섭취하더라도 장내 균총이 파괴되지 않는다고 보고하였다. 그러나, BSH 활성이 높은 균주의 섭취가 콜레스테롤과 담즙산의 대사와 관련된 독성이나 발암 성분의 생산과는 무관하게 혈중 콜레스테롤을 저하시키는지에 관해서는 동물 또는 인체실험을

통하여 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

요 약

요구르트 제품에서 분리한 균주를 포함한 lactobacilli 21 균주에 대하여 담즙산염 분해 특성을 확인하였다. 실험에 이용된 균주 중에서 *L. acidophilus*와 *L. plantarum*은 모든 균주에서 두 종류의 담즙산염인 taurocholate와 glycocholate에 대한 분해능력을 나타내었으며, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. reuteri*는 두 종류의 담즙산 중 어느 것에도 분해 능력을 보이지 않아, lactobacilli group내에서 담즙산염 분해 능력은 종특이성이 있음을 알 수 있었다. 요구르트 제품에서 분리된 균주와 종균회사로부터 공급받은 *L. acidophilus*와 *L. plantarum* 균주들은 모든 균주가 taurocholate 보다는 glycocholate에 대한 높은 BSH 활성을 나타내었으며, taurocholate에 대한 분해 능력은 균주간에 차이가 많았고 모든 균주들은 배양 후 15시간만에 첨가된 glycocholate의 95% 이상을 분해하였다. 인체의 분변으로부터 분리된 *L. acidophilus* SNUL 01은 taurocholate와 glycocholate에 대하여 거의 유사한 분해 능력을 보여 실험에 이용된 다른 균주들과는 상이한 BSH 활성을 가지고 있는 것으로 확인되었다.

REFERENCES

1. Aries, V. and M. J. Hill. 1970. Degradation of steroid by intestinal bacteria. I. Deconjugation of bile salts. *Biochim. Biophys. Acta* **202**: 526-534.
2. De Rodas, B. Z., S. E. Gilliland, and C. V. Williams. 1996. Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 3121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet. *J. Dairy Sci.* **79**: 2121-2128.
3. De Smet, I., L. Van Hoorde, M. Vande Woestyne, H. Christiaens, and W. Verstraete. 1995. Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* **79**: 292-301.
4. De Smet, I., P. De Boever, and W. Verstraete. 1998. Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. *Br. J. Nutr.* **79**: 185-194.
5. Du Toit, M., C. M. A. P. Franz, L. M. T. Dicks, U. Schillinger, P. Haberer, B. Warlies, F. Ahrens, and W.H. Holzapfel. 1998. Characterization and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipigs feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *Int. J. Food Microbiol.* **40**: 93-104.
6. Gilliland, S. E. and M. L. Speck. 1977. Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**: 15-18.
7. Gopal-Srivastava, R. and P. B. Hylemon. 1988. Purification

- and characterization of bile salt hydrolase from *Clostridium perfringens*. *J. Lipid Res.* **29**: 1079–1085.
8. Grill, J. P., F. Schneider, J. Crociani, and J. Ballongue. 1995. Purification and characterization of conjugated bile salt hydrolase from *Bifidobacterium longum* BB536. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 2577–2582.
 9. Jönsson, G., A. C. Midtvedt, A. Norman, and T. Midtvedt. 1995. Intestinal microbial bile acid transformation in healthy infants. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **20**: 394–402.
 10. Kawamoto, K., I. Horibe, and K. Uchida. 1989. Purification and characterization of a new hydrolase for conjugated bile acids, chenodeoxycholytaurine hydrolase from *Bacteroides vulgatus*. *J. Biochem.* **106**: 1049–1053.
 11. Kobashi, K., I. Nishizawa, T. Yamada, and J. Hase. 1978. A new hydrolase specific for taurine-conjugates of bile acids. *J. Biochem.* **84**: 495–497.
 12. Lundeen, S. and D. C. Savage. 1990. Characterization and purification of bile salt hydrolase from *Lactobacillus* sp. strain 100-100. *J. Bacteriol.* **172**: 4171–4177.
 13. Lundeen, S. and D. C. Savage. 1992. Characterization of an extracellular factor that stimulates bile salt hydrolase activity in *Lactobacillus* sp. strain 100-100. *FEMS Microbiol. Lett.* **94**: 121–126.
 14. Masuda, N. 1981. Deconjugation of bile salts by *Bacteroides* and *Clostridium*. *Microbiol. Immunol.* **25**: 1–11.
 15. Midtvedt, T. 1974. Microbial bile acid transformation. *Am. J. Clin. Nutr.* **27**: 1341.
 16. Oosuga, T. 1998. Bile acid and disease. *J. Intestinal. Microbiol.* **11**: 69–73.
 17. Ruben, A. T. and G. P. VanBerge-Henegouwen. 1982. A simple reverse phase high pressure liquid chromatographic determination of conjugated bile acids in serum and bile using a novel radial compression separation system. *Clin. Chim. Acta* **119**: 41–50.
 18. SAS Institute, Inc. 1990. *SAS User's Guide, Statistics*, 6th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
 19. Stellwag, E. J. and P. B. Hylemon. 1976. Purification and characterization of bile salt hydrolase from *Bacteroides fragilis* ssp. *fragilis*. *Biochim. Biophys. Acta* **452**: 165–176.
 20. Takahashi, T. and M. Morotomi. 1994. Absence of cholic acid 7 α -dehydroxylase activity in the strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *J. Dairy Sci.* **77**: 3275–3286.
 21. Walker, D. K. and S. E. Gilliland. 1993. Relationship among bile tolerance, bile salt deconjugation and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* **76**: 956–961.
 22. Zhang, Y. Y., W. Swododnik, P. Furst, and H. Ditschuneit. 1988. A quantitative extraction method for conjugated bile acids from human serum using reversed-phase octadecyl bonded silica cartridges for HPLC analysis. *Chromatogr.* **25**: 545–546.
 23. Zwietering, M. H., I. Jongenburger, F. M. Rombouts, and K. van't Riet. 1990. Modeling of the bacterial growth curve. *Appl. Environ. Bacteriol.* **56**: 1875–1881.

(Received March 24, 1999)