

## 한국인 분변으로부터 분리한 *Bifidobacterium* sp. Int-57의 효소 Pattern

박헌국<sup>1</sup> · 강동현<sup>1</sup> · 윤석환<sup>1</sup> · 이계호<sup>1</sup> · 이세경<sup>2</sup> · 지근억<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 식품공학과, <sup>2</sup>한림대학교 식품영양학과

### The Enzymatic Pattern of *Bifidobacterium* sp. Int-57 Isolated from Korean Feces

Park, Heon-Kuk<sup>1</sup>, Dong-Hyun Kang<sup>1</sup>, Seok-Hwan Yoon<sup>1</sup>,  
Ke-Ho Lee<sup>1</sup>, Se-Kyung Lee<sup>2</sup> and Geun-Eog Ji<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Sci. Technol., Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Sci. Nutri., Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

**Abstract** — In order to study the physiological properties of the intestinal bacteria, we isolated the intestinal bacteria of Koreans and tested the enzymatic patterns. Isolated *Bifidobacterium* sp. Int-57 had the higher activity of  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -xylosidase and  $\alpha$ -arabinofuranosidase than other intestinal microorganisms. The effect of the carbon sources on the production of each enzymes of *Bifidobacterium* sp. Int-57 was investigated. The most suitable carbon source for the production of  $\beta$ -glucosidase was maltose, for  $\alpha$ -glucosidase cellobiose, for  $\alpha$ -galactosidase raffinose, for  $\beta$ -galactosidase lactose, and for  $\beta$ -xylosidase and  $\alpha$ -arabinofuranosidase xylose, respectively. In addition, we investigated the optimal conditions and pH stability of each crude enzymes. The optimal condition of  $\alpha$ -glucosidase was pH 6.0 and 40°C, that of  $\beta$ -glucosidase pH 7.0 and 50°C, that of  $\beta$ -galactosidase pH 7.0 and 50°C, that of  $\beta$ -xylosidase pH 6.0 and 40°C, and that of  $\alpha$ -arabinofuranosidase pH 5.0 and 50°C, respectively.  $\alpha$ -Glucosidase was stable at pH 4.0~9.0,  $\beta$ -glucosidase at pH 4.0~7.0,  $\beta$ -galactosidase at pH 4.0~9.0,  $\beta$ -xylosidase at pH 4.0~6.0, and  $\beta$ -arabinofuranosidase at pH 7.0~9.0, respectively.

장내 세균은 1719년 Leewenhoek가 사람의 분변을 관찰하여 다수의 장내균을 발견한 이래로, 1899년 Tissier는 모유 영양아의 분변으로부터 혐기성 유산균의 일종인 *Bifidus*균(*Bifidobacterium*)을 분리하였고, 1900년 Moro는 인공 영양아의 분변으로부터 *acidophilus*균(*Lactobacillus acidophilus*)을 발견하였으며, 기타 다수의 혐기성 균종들이 장내 상재 균총으로서 분리 보고되어 있다(1, 2).

이들 장내 세균은 크게 유용균, 유해균, 병원균 등으로 나뉘어지며 이들 균총들간의 상호 작용에 의하여 어떤 균총이 우세를 점하느냐에 따라서 건강을 유지하기도 하고 노화가 일어나기도 하며 질병을 야기하기도 하는 것으로 알려지고 있다(1-4).

태아는 모체속에서는 무균적으로 있다가 출생하면

많은 세균이 붙어살게 되어 인체의 장내에는 100조 개의 세균이 존재하게 되고 배변 고형물의 약 30%를 차지하게 된다(3). 이중 혐기성 세균이 99% 이상이라는 것이 혐기성 세균의 배양 기술 발전에 힘입어 밝혀졌다. 무균적으로 태어난 신생아는 모유를 먹을 경우 약 5일경에는 혐기성 세균인 *Bifidobacterium*이 장에 정착하여 상재균으로서 자리잡고 장내 균총 90%를 차지하게 된다. 인공 영양아는 모유 영양아보다 *Bifidobacterium*의 수가 상대적으로 적고 *E. coli*와 *Streptococcus*는 많다. 모유를 먹는 아기는 우유를 먹는 아기에 비하여 병의 이환율, 설사 등이 적게 나타난다(4). *Bifidobacteria*는 lactic acid와 acetic acid를 2:3으로 생산하여 장의 pH를 내리며 유해 세균의 증식을 방해하며 혈관 수축 유발 amine, phenol류, ammonia, steroid metabolites, bacterial toxin, indole, skatole 등의 생산을 억제하는 것으로 알려져 있다(5).

**Key words:** Enzymatic pattern, *Bifidobacterium*

\*Corresponding Author

그동안 장내 유용균들의 수를 증가시키기 위하여 유용균에만 선택적으로 이용되는 Bifidus factor(Bifidogenic factor)에 대한 연구가 많이 시도되었으나(1-2, 6) 아직까지 장내 상재 균주들의 효소 특성(7-13), 생리적 효과(2, 14) 및 균총들의 상호관계(1, 15)에 대한 연구는 미미한 실정이다. Ji 등(13)은 한국인의 분변으로부터 분리된 *Bifidobacterium* sp. Int-57의 amylase에 대한 특성을 보고한 바 있고 본 연구에서는 *Bifidobacterium* sp. Int-57이 보유하는  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -xylosidase,  $\alpha$ -arabinofuranosidase 등의 효소들에 대한 배지중의 당종 류별 생산정도와 조효소액들의 온도와 pH에 대한 특성을 조사하였다.

**재료 및 방법**

**균주의 분리**

여러 연령대에 걸친 한국인의 분변을 취하여 장내 세균의 분리원으로 사용하였으며, 분리된 균들은 modified BHI(brain heart infusion) agar stab 배지에 접종하여 혐기적으로 배양(13) 보관하면서 다음 실험에 사용하였다.

**각 분리 균주의 효소 spectrum 비교**

각 분리 균주의 효소 spectrum은 Fig. 1의 방법을

**Table 1. Composition of the modified BHI media**

|                      |         |
|----------------------|---------|
| Brain heart infusion | 37 g    |
| Hemin                | 0.01 g  |
| Cysteine             | 0.5 g   |
| Resazurin            | 0.001 g |
| Vit. K               | 0.001 g |
| Distilled water      | 1 L     |

\*pH was adjusted to 7.0.  
In case of the agar medium, 20 g of agar was added.

**Table 2. Substrates for activity measurement of enzymes**

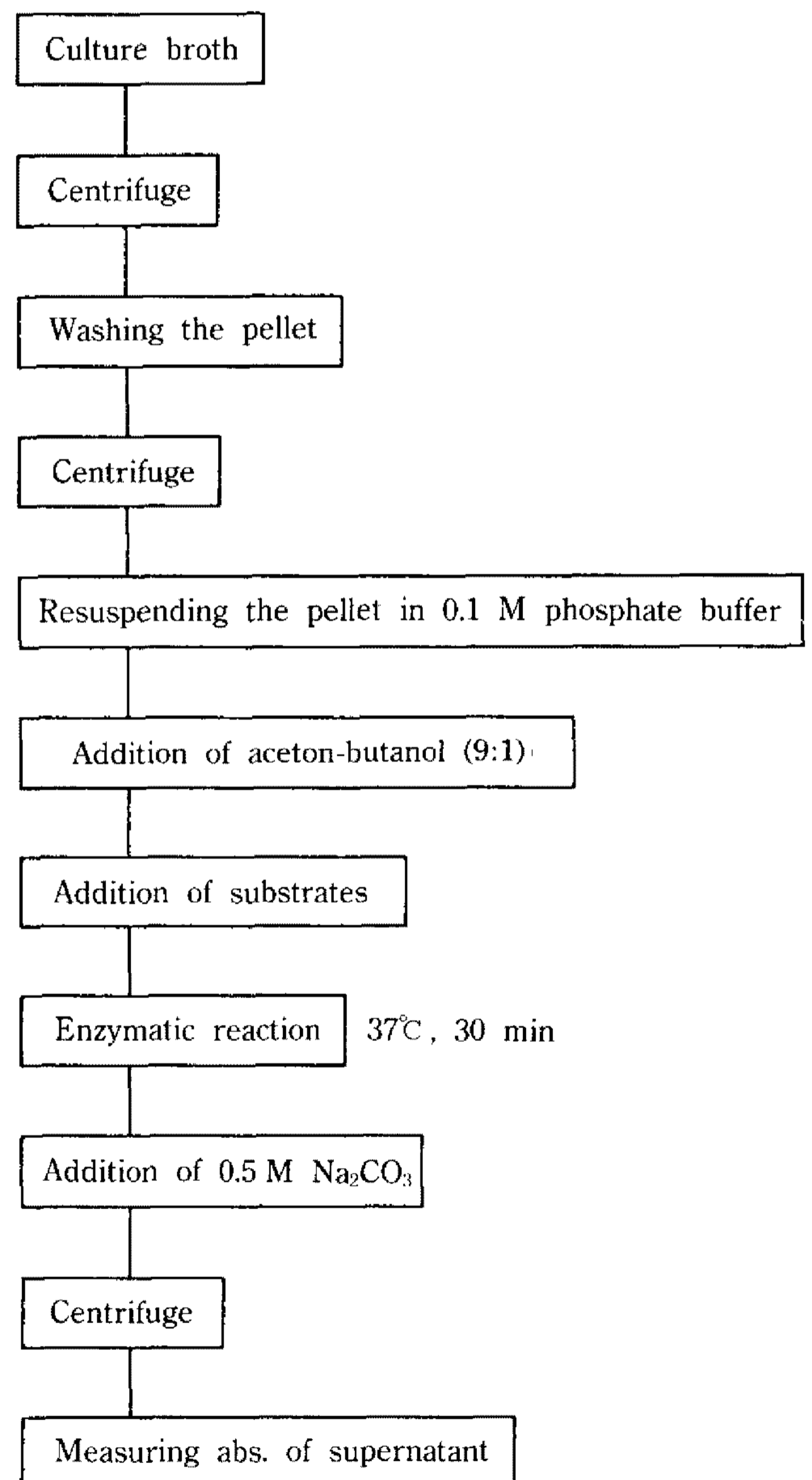
| Enzymes                       | Substrates                       |
|-------------------------------|----------------------------------|
| $\alpha$ -glucosidase         | PNP- $\alpha$ -glucoside         |
| $\beta$ -glucosidase          | PNP- $\beta$ -glucoside          |
| $\alpha$ -galactosidase       | PNP- $\alpha$ -galactoside       |
| $\beta$ -galactosidase        | ONP- $\beta$ -galactoside        |
| $\beta$ -xylosidase           | PNP- $\beta$ -xyloside           |
| $\alpha$ -arabinofuranosidase | PNP- $\alpha$ -arabinofuranoside |

이용하여 조사한 후 장내에 상재하는 공시균주와 비교하였다. 이때 각 효소들의 역가를 측정하기 위한 기질은 Table 2와 같았다.

각 효소의 1 Unit는 주어진 반응 조건에서 1분당 1 mole의 PNP(para-nitrophenol) 또는 ONP(ortho-nitrophenol)를 유리시키는 효소의 양으로 정하였다.

***Bifidobacterium* sp. Int-57의 각 효소 생산에 미치는 탄소원의 영향**

본 실험실에서 분리, 동정하여 보관하고 있는 균주 *Bifidobacterium* sp. Int-57의 각 효소 생산에 미치는 탄소원의 영향은 Modified BHI broth에 각각의 탄



**Fig. 1. Schematic diagram of enzyme activity measurement.**

소원을 0.5%씩 가하여 만든 배지에 균을 접종, 배양하면서 시간의 경과에 따라 시료를 채취하여 세포 내부에 생성된 각 효소들의 역가 변화를 관찰함으로써 측정하였다.

### *Bifidobacterium* sp. Int-57이 생산하는 조효소액의 특성

Modified BHI broth에 2일간 혐기적으로 배양한 뒤 원심분리한 pellet에 0.1M phosphate buffer(pH 6.8)를 가하고 sonication하여 원심분리한 상정액을 조효소액으로 사용하였다.

**각 조효소액의 최적 온도 :** 20°C 에서 70°C 까지 10°C 간격으로 효소 반응 온도를 달리하여 각 기질에 대한 효소의 역가를 측정하여 상대 활성을 측정하였다.

**각 조효소액의 최적 pH 및 pH 안정성 :** 최적 pH는 citrate-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> buffer(pH 3.0~8.0), glycine-NaOH buffer(pH 8.0~10.0)를 사용하여 각 pH에서 각 기질에 대한 효소의 역가를 측정하여 상대 활성을 측정하여 결정하였다. pH 안정성의 경우는 각 pH에 해당하는 buffer 400 μl에 조효소액 200 μl씩을 넣어 40°C 에서 12시간 방치한 후 잔존 역가를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 각 분리 균주의 효소 pattern

한국인의 분변 sample로부터 분리한 균주인 *Bifidobacterium* sp. Int-57와(13) 공시균주와의 효소 pattern 차이를 비교한 결과는 Table 3과 같았다. 분리 균주 중에서 *Bifidobacterium* sp. Int-57은 *Bifidobacterium* 특유의 Fructose-6-phosphate phosphoketolase (F6PPK)를 생산하였고 extracellular amylase를 생산한다는 사실을 확인하였으며(13), 또한 다른 공시균주 및 분리 균주에 비하여 월등하게 α-glucosidase, β-glucosidase, α-galactosidase, β-galactosidase, β-xylosidase, α-arabinofuranosidase를 생산하였으며 발암 물질 생산 효소로 알려진 β-glucuronidase(16)는 생산하지 않았다. 이와 같은 사실로부터 이 균주는 여러가지 종류의 탄소원을 이용할 수 있으므로 일반적인 yoghurt 제조에 뿐만 아니라 쌀 yoghurt와 같은 특수한 yoghurt의 제조시에도 이용 가능한 균종임을 알 수 있었다.

### *Bifidobacterium* sp. Int-57의 각 효소 생산에

### 미치는 탄소원의 영향

유용 균종의 대표적 균종인 *Bifidobacterium*이며 각 효소의 활성이 높은 *Bifidobacterium* sp. Int-57을 이용하여 각 효소의 최적 생산을 위한 탄소원을 조사한 결과는 Fig. 2~Fig. 7과 같았다.

α-glucosidase의 경우는(Fig.2) maltose의 경우가 가장 높은 효소 생산성을 나타내었으며 sucrose와 cellobiose의 경우도 비교적 높은 효소 생산성을 나타내었다. glucose를 첨가하였을 때는 배양 초기에 효소의 생산이 급격히 증가하나 배양 시간이 길어질수록 효소의 역가가 크게 감소하는 현상을 보였다. 이러한 glucose 첨가시의 12시간 이후 효소 역가의 급격한 감소 현상은 본 논문에서 조사된 다른 모든 효소에서도 관찰되는 현상으로 생산된 당 가수분해효소들에 대한 intracellular proteinase의 작용 때문일 것이라고 추측할 수 있으나 자세한 것은 보다 면밀한 보충 실험을 거쳐서 확인하도록 해야 할 것이다.

β-glucosidase의 경우에는(Fig. 3) 다른 탄소원의 경우에는 거의 차이를 보이지 않았으나 cellobiose를 사용한 경우에는 배양 1일 후 급격한 효소의 생산을 나타내었으며 이는 β-glucosidase가 induced enzyme일 가능성이 있는 것을 시사한다.

α-galactosidase의 경우에는(Fig. 4) raffinose가 가장 높은 효소 생산성을 나타내었으며, 배양 4일 후 까지도 안정되게 유지되었다. Sucrose를 사용한 경우에는 배양 초기에 효소 활성이 급격히 증가하는 경향을 보여주었는데, 이는 sucrose의 이용이 빨라서 균체의 증식이 빠르기 때문인 것으로 생각되었다.

β-galactosidase의 경우에는(Fig. 5) lactose가 가장 높은 효소 생산성을 보였으며, xylose의 경우도 비교적 높은 효소 생산성을 나타내었다.

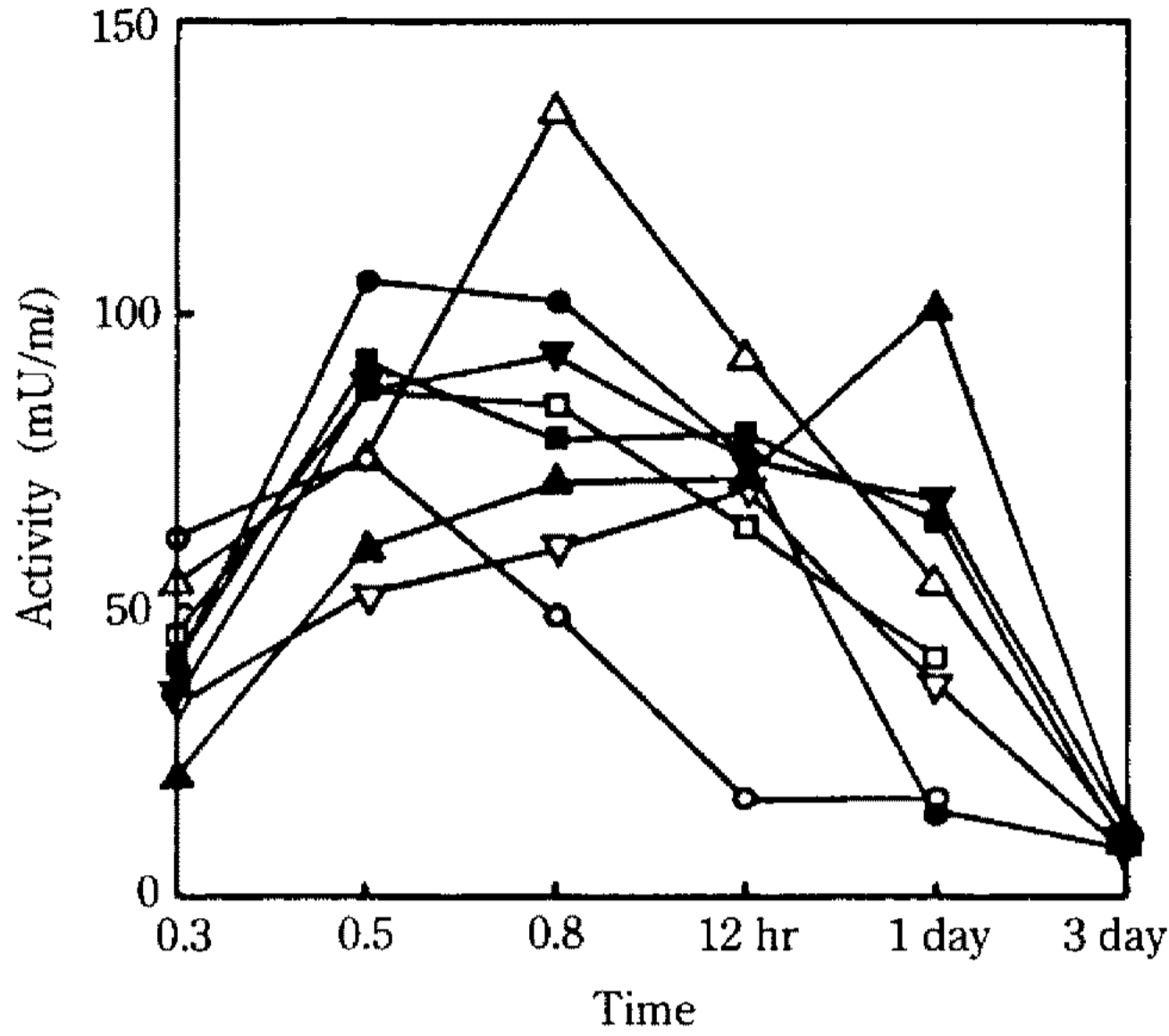
β-xylosidase의 경우에는(Fig. 6) xylose가 가장 높은 효소 생산성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 통상의 가수분해효소에 있어서는 분해 산물에 의한 feed back inhibition 또는 repression을 받는다는 사실과는 상반되는 결과였다. 이는 별도의 연구가 더 필요한 것으로 생각되나, xylose가 세포 내부로 transport될 때 다른 물질로 전환되거나, xylose에 의한 세포내 proteinase의 불활성화, 세포 내부에서의 xylose 또는 그의 유도체에 의한 gene regulation에 대한 아직까지 해명되지 않은 어떤 mechanism에 기인하는 것이 아닌가 생각된다. *Fusarium oxysporium*에서는 α-L-fucosidase에 의하여 생성되는 L-fucose가 α-L-fucosidase 생산을 현저히 증가시키는 것이 밝혀졌다(17).

Table 3. Enzyme activity of the strains

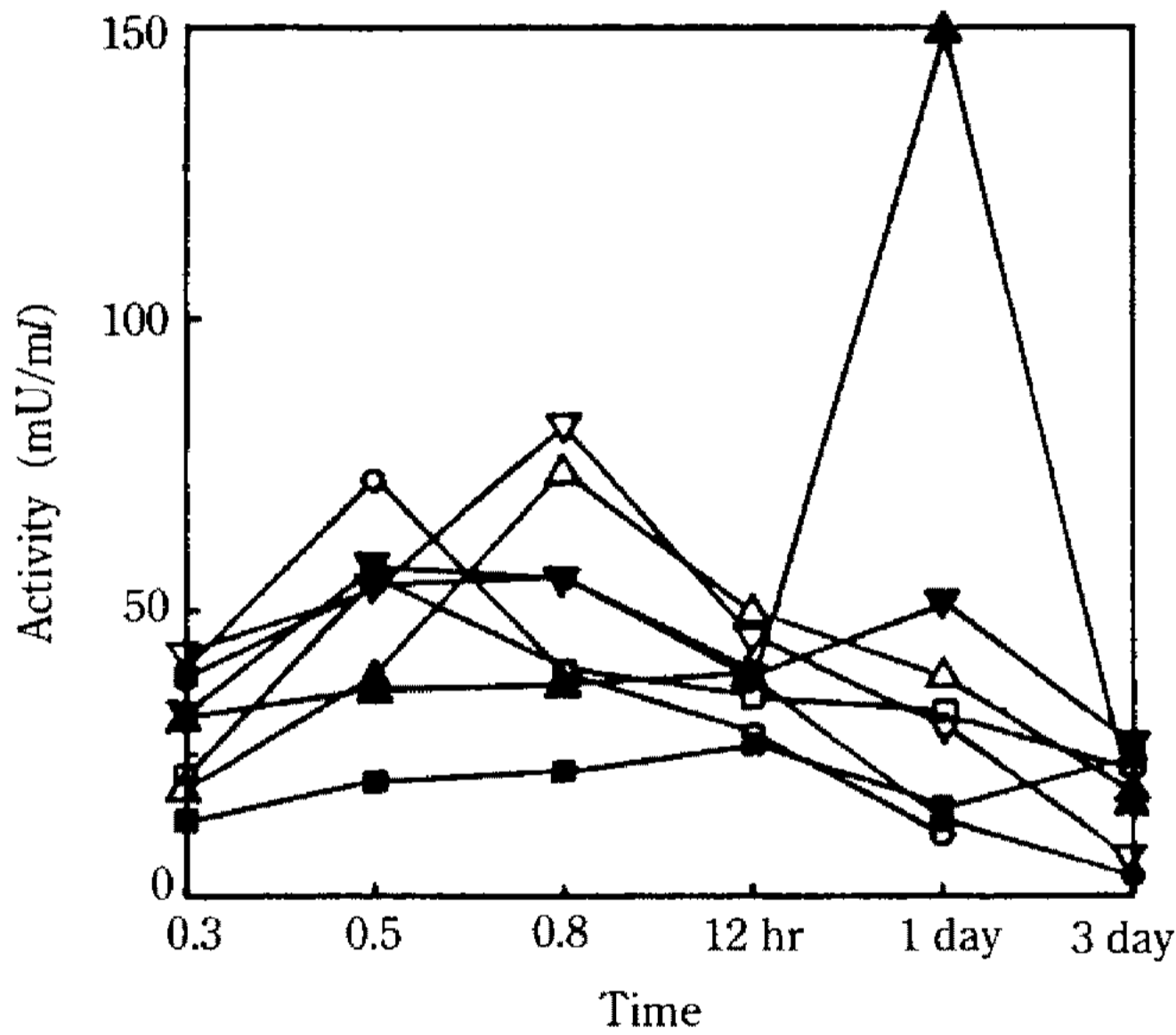
| Strain   | $\alpha$ -glucosidase | $\beta$ -glucosidase | $\alpha$ -galactosidase | $\beta$ -galactosidase | $\alpha$ -arabinofuranosidase |
|--|-----------------------|----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------|
| <i>Bifidobacterium</i> sp. Int-57                | +++                   | +++                  | +++                     | +++                    | ++                            |
| <i>Bacteroides fragilis</i><br>ATCC25285         | ++                    | ++                   | ++                      | +                      | -                             |
| <i>Clostridium butylicum</i><br>ATCC19398        | -                     | -                    | -                       | -                      | -                             |
| <i>Enterococcus faecalis</i><br>ATCC19433        | -                     | -                    | -                       | -                      | -                             |
| <i>Eubacterium limosum</i><br>ATCC8486           | +                     | -                    | -                       | -                      | -                             |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i><br>KCCM32820    | -                     | -                    | -                       | -                      | -                             |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC12600        | -                     | +                    | -                       | -                      | -                             |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i><br>ATCC15703 | +++                   | +++                  | +++                     | +++                    | -                             |
| Ji-1   | +                     | -                    | -                       | -                      | -                             |
| Ji-2   | -                     | -                    | -                       | -                      | -                             |
| MUG-1  | -                     | +                    | -                       | -                      | -                             |
| MUG-2  | +                     | -                    | -                       | -                      | -                             |
| BL-27  | ++                    | -                    | -                       | -                      | ++                            |
| LUMB1  | +                     | -                    | -                       | -                      | -                             |

| Strain   | $\beta$ -xylosidase | $\beta$ -glucuronidase | F6PPK | $\alpha$ -fucosidase |
|--|---------------------|------------------------|-------|----------------------|
| <i>Bifidobacterium</i> sp. Int-57                | ++                  | -                      | ++    | -                    |
| <i>Bacteroides fragilis</i><br>ATCC25285         | -                   | +                      | -     | ++                   |
| <i>Clostridium butylicum</i><br>ATCC19398        | -                   | -                      | -     | -                    |
| <i>Enterococcus faecalis</i><br>ATCC19433        | -                   | ++                     | -     | -                    |
| <i>Eubacterium limosum</i><br>ATCC8486           | -                   | -                      | -     | -                    |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i><br>KCCU32820    | -                   | -                      | -     | -                    |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC12600        | -                   | -                      | -     | -                    |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i><br>ATCC15703 | +++                 | -                      | ++    | -                    |
| Ji-1   | -                   | -                      | -     | -                    |
| Ji-2   | -                   | -                      | -     | -                    |
| MUG-1  | -                   | -                      | -     | -                    |
| MUG-2  | -                   | ++                     | -     | -                    |
| BL-27  | ++                  | -                      | ++    | -                    |
| LUMB1  | -                   | -                      | -     | -                    |

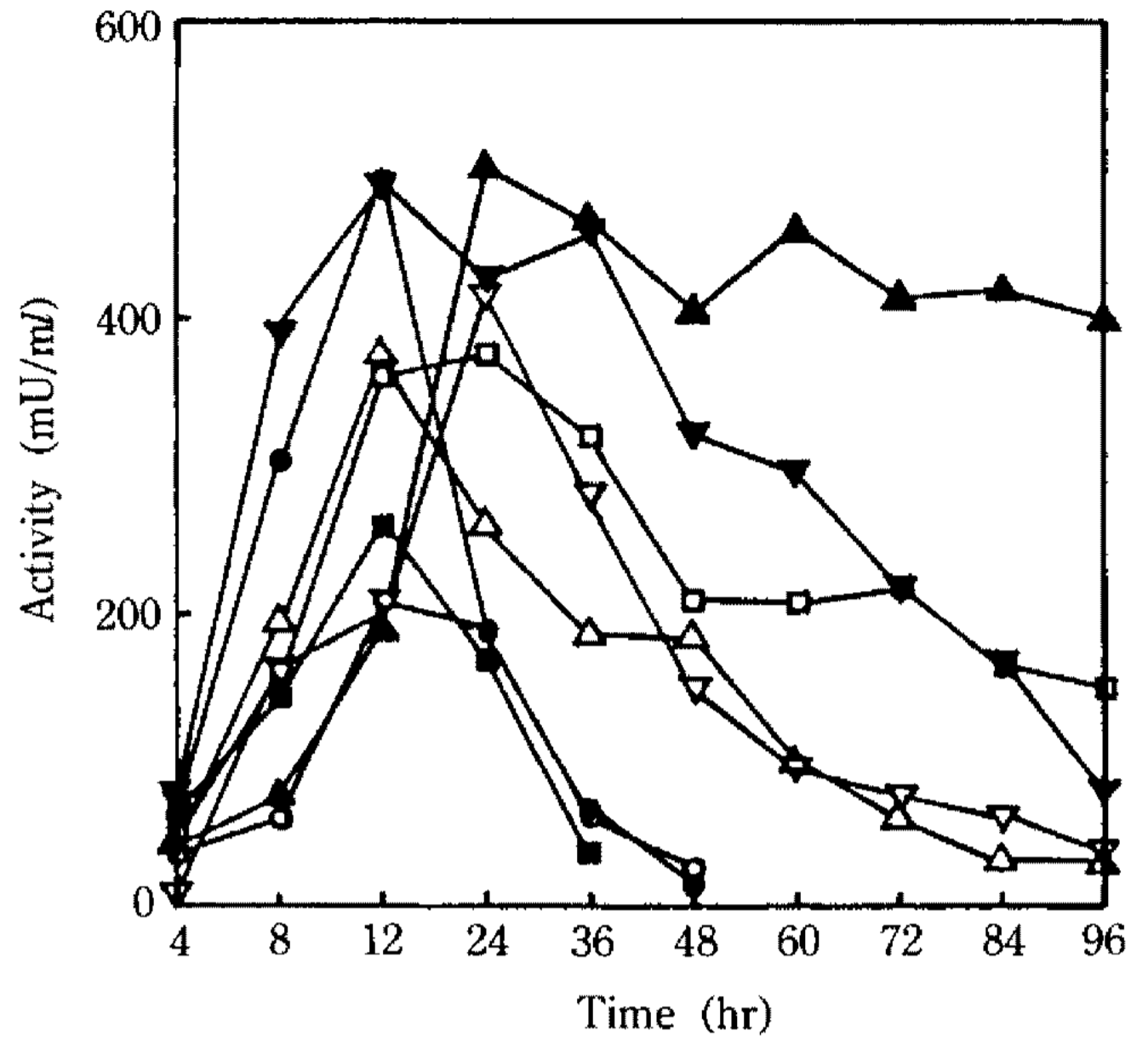
Enzyme activity: +++ showing positive reaction in 1 hour, ++ showing positive reaction in 4 hours, + showing positive reaction in 12 hours, - negative reaction in 12 hours.



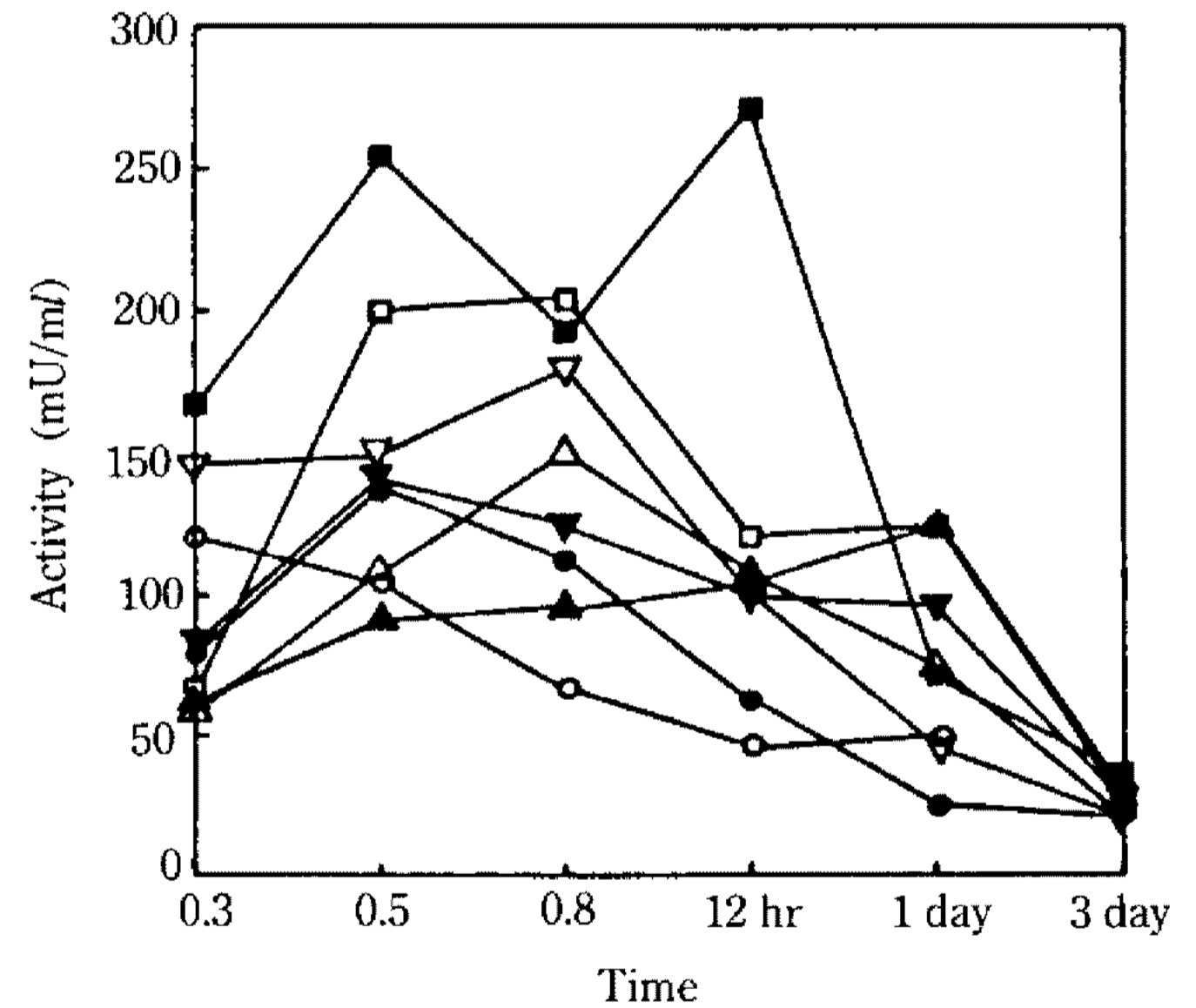
**Fig. 2. Effect of carbon sources on  $\alpha$ -glucosidase production.**  
 ○-○ control, ●-● glucose, □-□ xylose, ■-■ lactose, ▽-▽ starch, ▼-▼ sucrose, △-△ maltose, ▲-▲ cellobiose



**Fig. 3. Effect of carbon sources on  $\beta$ -glucosidase production.**  
 ○-○ control, ●-● glucose, □-□ xylose, ■-■ lactose, ▽-▽ starch, ▼-▼ sucrose, △-△ maltose, ▲-▲ cellobiose



**Fig. 4. Effect of carbon sources on  $\alpha$ -galactosidase production.**  
 ○-○ control, ●-● glucose, □-□ xylose, ■-■ lactose, ▽-▽ starch, ▼-▼ sucrose, △-△ maltose, ▲-▲ raffinose



**Fig. 5. Effect of carbon sources on  $\beta$ -galactosidase production.**  
 ○-○ control, ●-● glucose, □-□ xylose, ■-■ lactose, ▽-▽ starch, ▼-▼ sucrose, △-△ maltose, ▲-▲ cellobiose

*Bifidobacterium* sp. Int-57의  $\beta$ -xylosidase나 *Fusarium oxysporium*의  $\alpha$ -L-fucosidase 등에서 볼 수 있는 분해 산물에 의한 효소 활성의 증가 mechanism을 연구하는 것은 매우 흥미있는 일이 될 것이다.

$\alpha$ -arabinofuranosidase의 경우에는(Fig. 7) xylose가 가장 높은 효소 생산성을 나타내었다.

각 효소에서 공통적으로 관찰되는 현상으로 주목할 만한 사항은 xylose, cellobiose를 탄소원으로 사용한 경우 효소 생산성이 비교적 높으며, 배양 말기까지 그 효소 역가가 유지된다는 사실이다. 또한 glucose와 lactose를 사용한 경우는 일반적으로 효소 생산성이

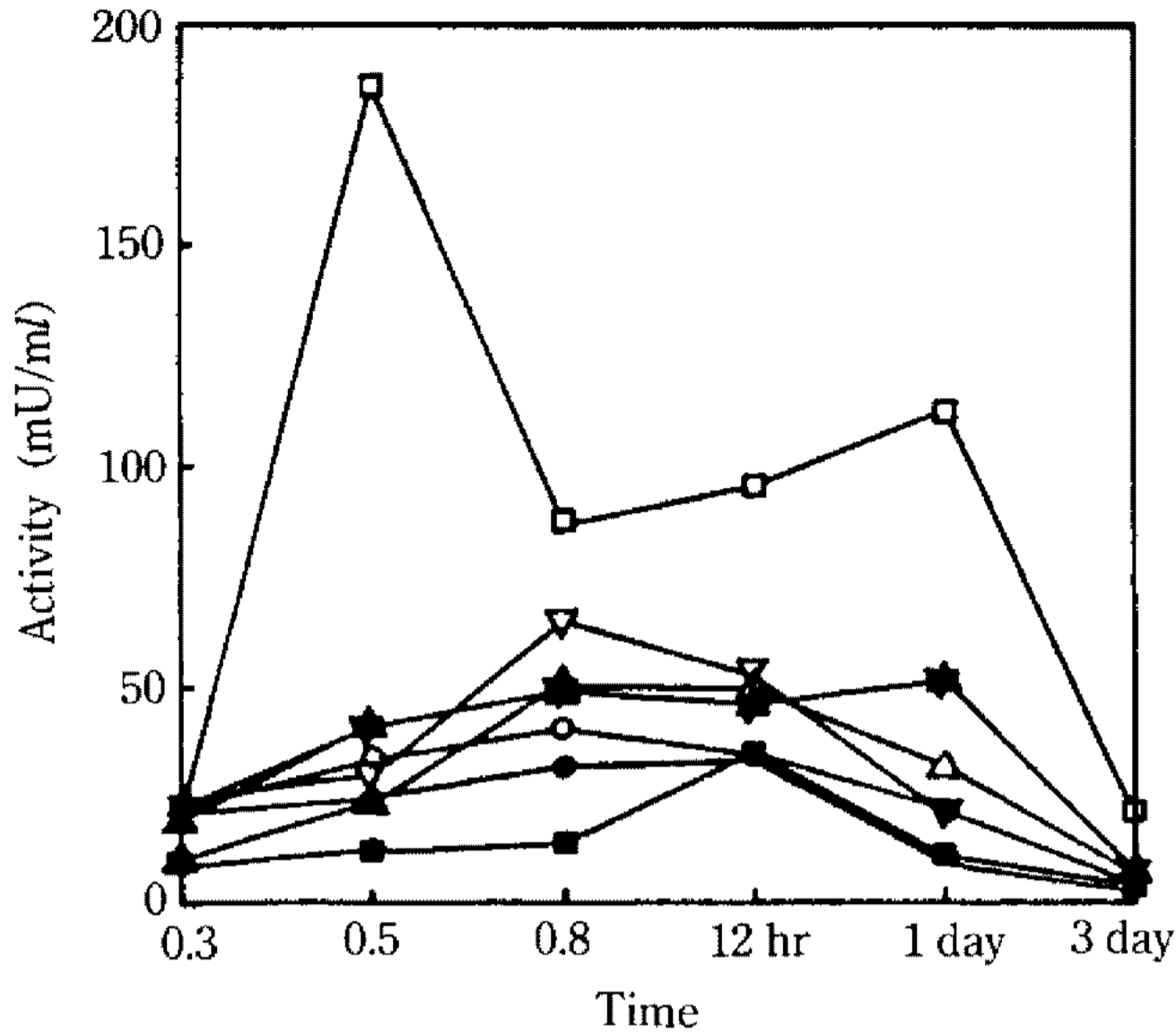


Fig. 6. Effect of carbon sources on  $\beta$ -xylosidase production.

○-○ control, ●-● glucose, □-□ xylose, ■-■ lactose, ▽-▽ starch, ▼-▼ sucrose, △-△ maltose, ▲-▲ cellobiose

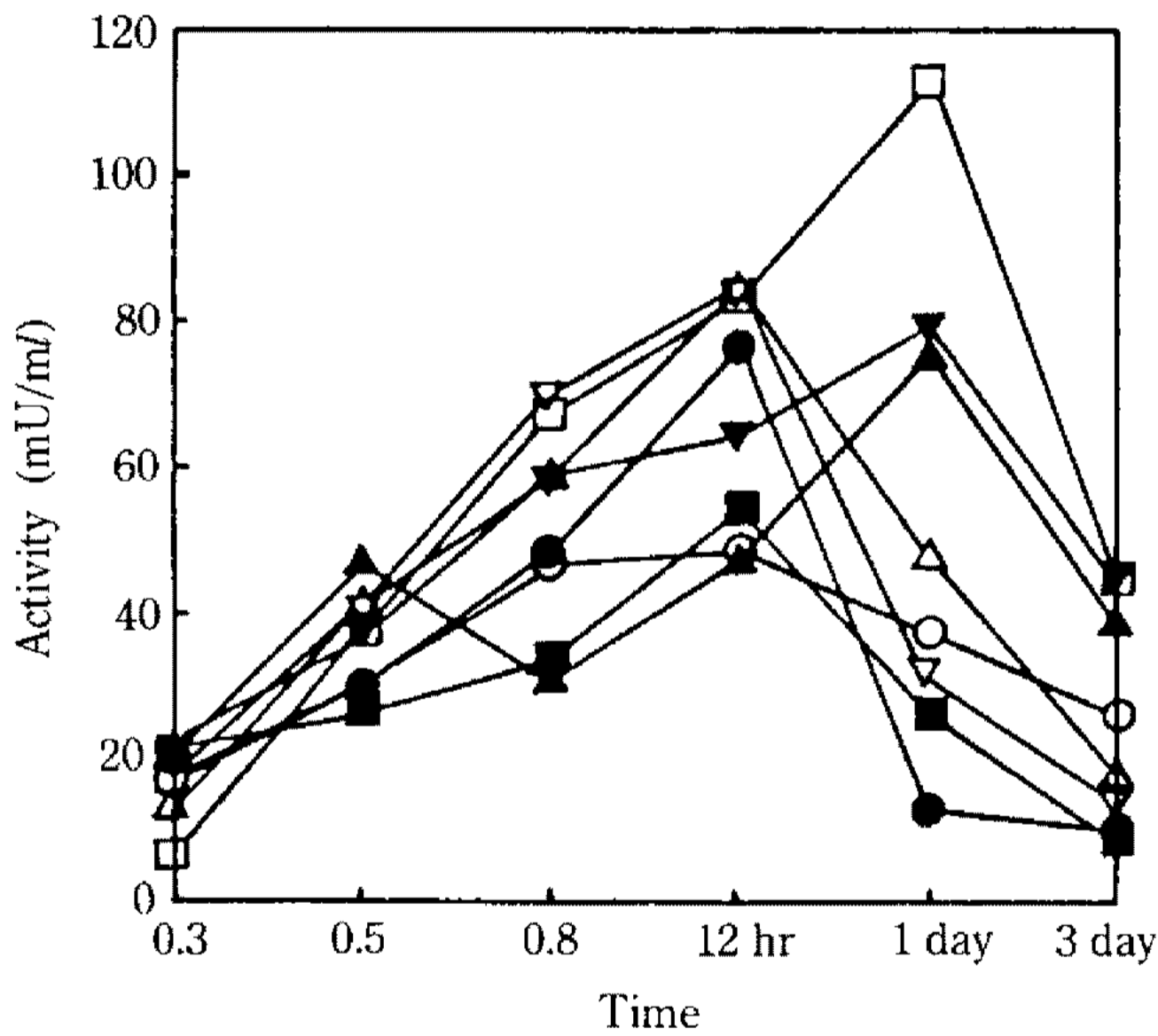


Fig. 7. Effect of carbon sources on  $\alpha$ -arabinofuranosidase production.

○-○ control, ●-● glucose, □-□ xylose, ■-■ lactose, ▽-▽ starch, ▼-▼ sucrose, △-△ maltose, ▲-▲ cellobiose

낮으며 효소 역가도 빨리 소실되었다. 이런 현상이 일어나는 이유는 아직까지 명확하지 않으며, 앞으로 더 연구가 수행되어야 할 분야이다. 특히 *in vivo* 상태에서 glucose와 lactose의 수준이 높을때 대장내의 효소들의 역가가 일반적으로 낮아지는 것인지 조사하는 것이 필요할 것이다.

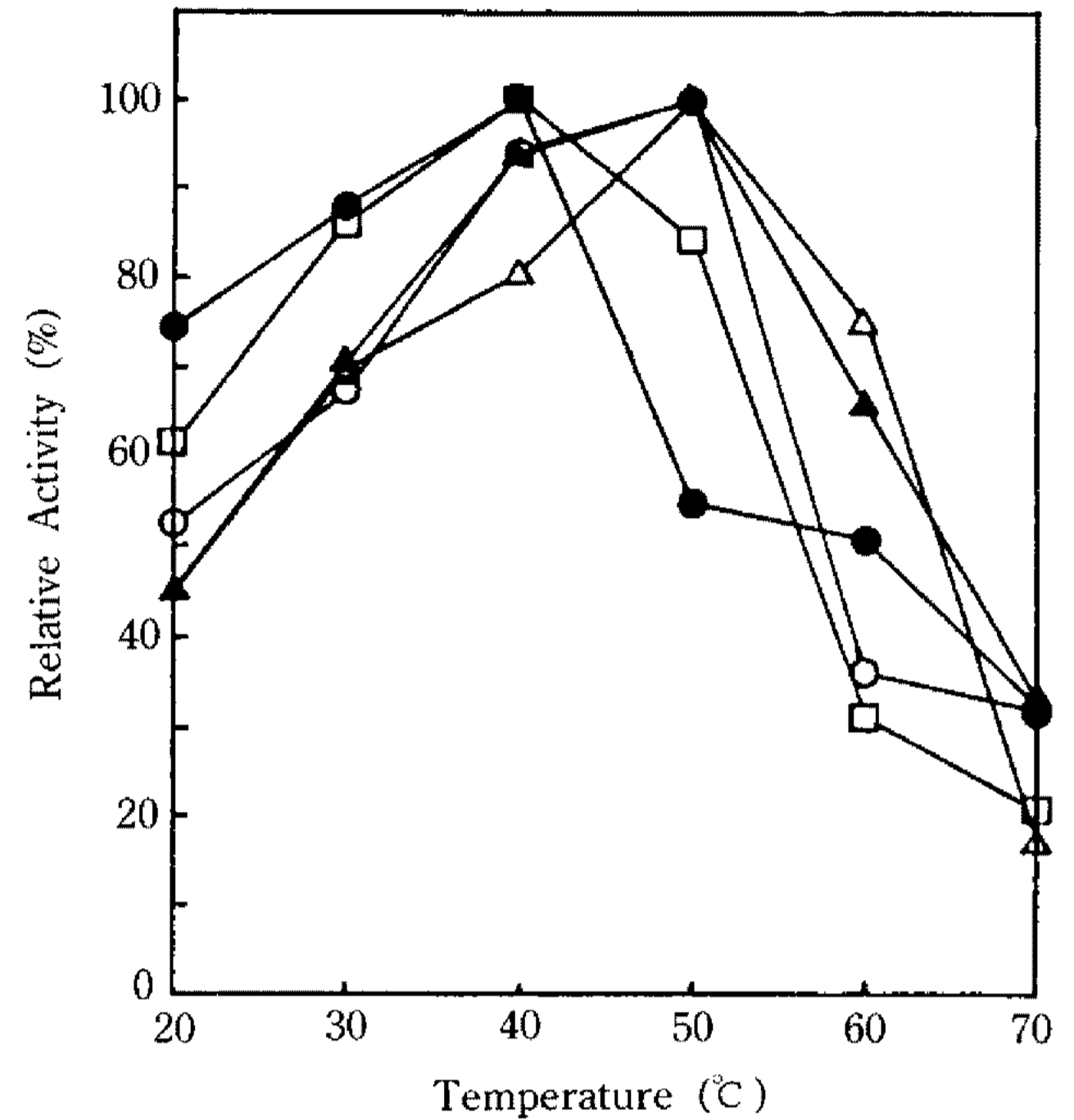


Fig. 8. Optimum temperature of crude enzymes.

□-□  $\alpha$ -glucosidase, ○-○  $\beta$ -glucosidase, ●-●  $\beta$ -xylosidase, △-△  $\beta$ -galactosidase, ▲-▲  $\alpha$ -arabinofuranosidase

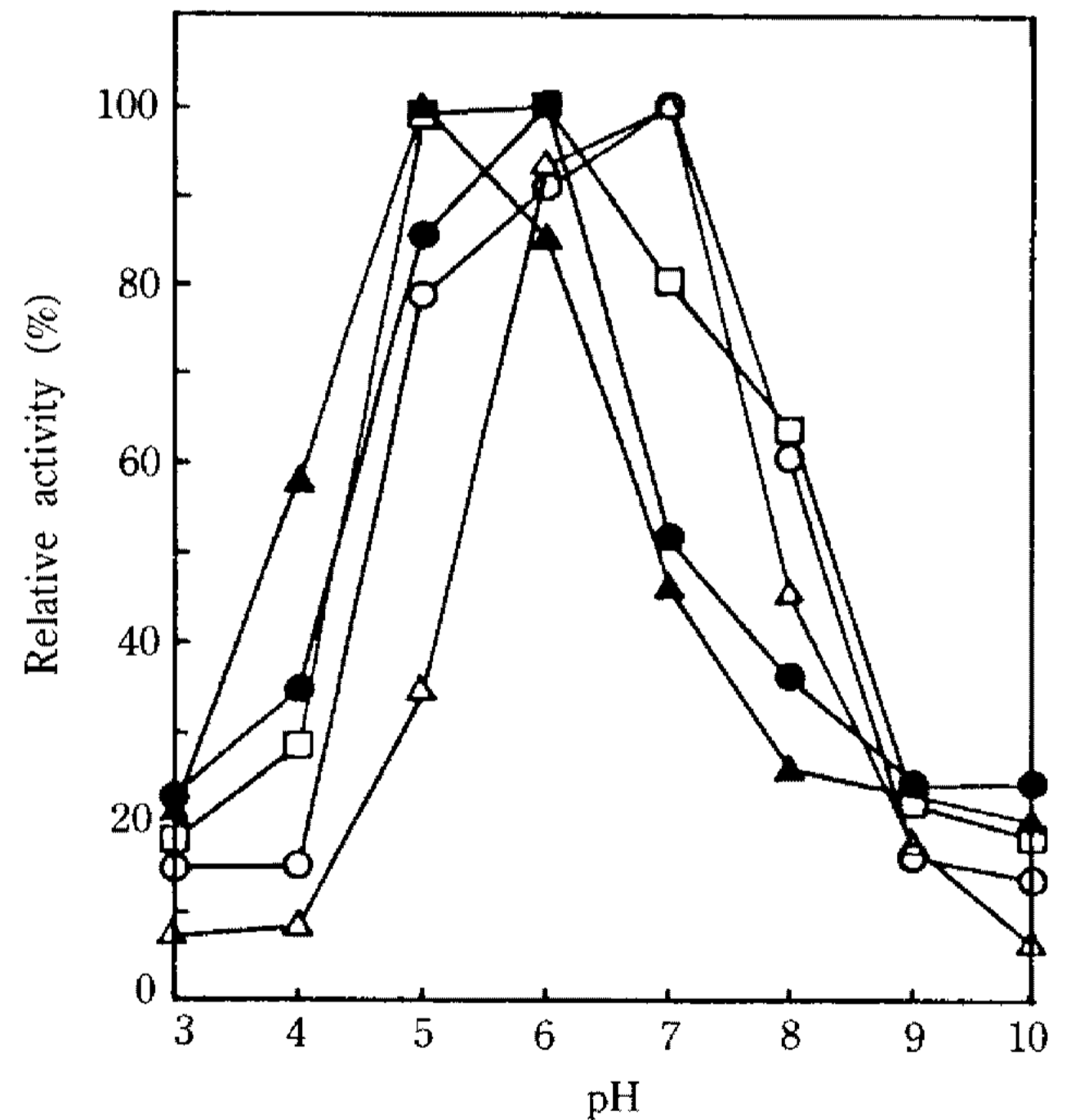
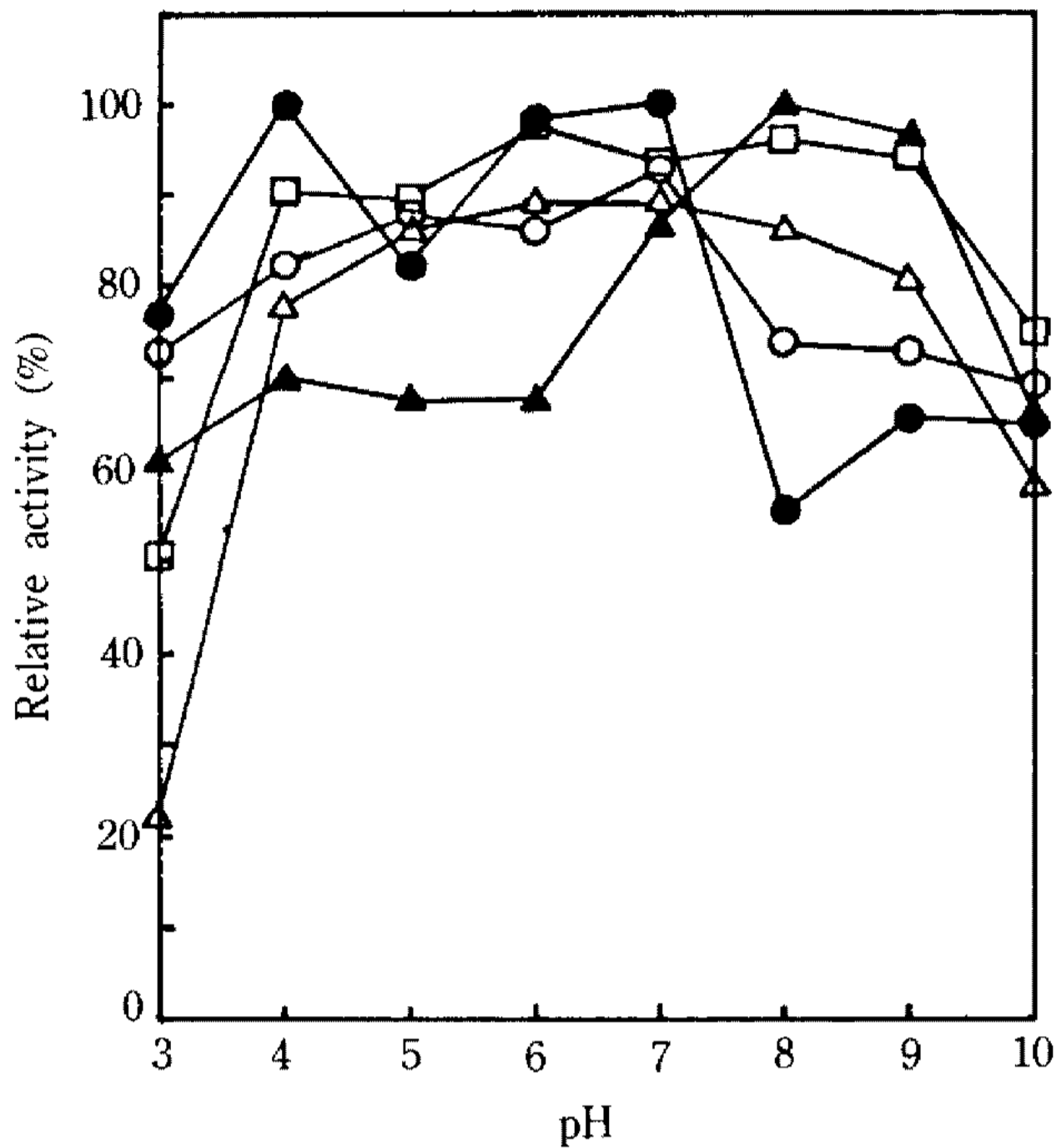


Fig. 9. Optimum pH of crude enzymes.

□-□  $\alpha$ -glucosidase, ○-○  $\beta$ -glucosidase, ●-●  $\beta$ -xylosidase, △-△  $\beta$ -galactosidase, ▲-▲  $\alpha$ -arabinofuranosidase

*Bifidobacterium* sp. Int-570이 생산하는 조효소액의 특성

각 조효소액의 최적 온도 : 각 조효소액의 최적 온



**Fig. 10. pH stability of crude enzymes.**  
 □-□ α-glucosidase, ○-○ β-glucosidase, ●-● β-xylosidase, △-△ β-galactosidase, ▲-▲ α-arabinofuranosidase

도를 조사한 결과는 Fig. 8과 같았다. 즉, α-glucosidase와 β-xylosidase의 경우는 40°C가 최적이었으며, β-glucosidase, β-galactosidase, α-arabinofuranosidase의 경우는 50°C가 최적이었다.

**각 조효소액의 최적 pH :** 각 조효소액의 최적 pH를 조사한 결과는 Fig. 9와 같았다. 즉, α-arabinofuranosidase는 pH 5.0에서, α-glucosidase와 β-xylosidase는 pH 6.0에서, β-glucosidase와 β-galactosidase는 pH 7.0에서 최대 효소 활성을 나타내었다.

**각 조효소액의 pH 안정성 :** 각 조효소액의 pH 안정성을 조사한 결과는 Fig. 10과 같았다. 즉, α-glucosidase는 pH 4.0~9.0에서, β-glucosidase는 pH 4.0~7.0에서, β-galactosidase는 pH 4.0~9.0에서, β-xylosidase는 pH 4.0~6.0에서, α-arabinofuranosidase는 pH 7.0~9.0에서 각각 안정하였다.

**요 약**

장내 세균의 생리적 연구를 목적으로 한국인의 장내 상재균을 분리하여 효소 pattern을 관찰하였다. 분리된 *Bifidobacterium* sp. Int-57은 다른 장내 균종에 비하여 α-glucosidase, β-glucosidase, α-galactosidase, β-galactosidase, β-xylosidase, α-arabinofuranosidase

역가가 높았다.

*Bifidobacterium* sp. Int-57의 각 효소 생산에 미치는 탄소원의 영향을 조사하였다. α-glucosidase는 maltose, β-glucosidase는 cellobiose, α-galactosidase는 raffinose, β-galactosidase는 lactose, β-xylosidase와 α-arabinofuranosidase는 xylose가 각각 최적의 탄소원이었다.

또한 각 효소들의 최적 조건과 pH 안정성을 조사하였다. α-glucosidase는 pH 6.0 40°C에서, β-glucosidase는 pH 7.0 50°C에서, β-galactosidase는 pH 7.0 50°C에서, β-xylosidase는 pH 6.0 40°C에서, α-arabinofuranosidase는 pH 5.0 50°C에서 각각 최적이었다. α-glucosidase는 pH 4.0~9.0, β-glucosidase는 pH 4.0~7.0, β-galactosidase는 pH 4.0~9.0, β-xylosidase는 pH 4.0~6.0, α-arabinofuranosidase는 pH 7.0~9.0에서 각각 안정하였다.

**사 사**

본 연구는 한국과학재단에서 지원한 특정기초 연구비(92-50-00-02)로 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

**참고문헌**

1. 光岡之足. 1990. 腸内細菌學, 朝倉書店.
2. Bezkoravamy, A. 1989. Ecology of *Bifidobacteria*, Pp. 29-72. Biochemistry and physiology of *Bifidobacteria*, CRC Press, Florida.
3. Mitsuoka, T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 1: 3-24.
4. Rasic, J.L. and J.A. Kuamann. 1983. *Bifidobacteria and Their Role*, Birkhauser Verlag, Basel.
5. Goldin, B., A.H. Lichtenstein, and S.L. Gorbach. 1988. The roles of the intestinal flora, Pp. 500-515. In E. Hills and Vernon R. Young (ed.), *Modern Nutrition in Health and Disease*.
6. Mitsuoka, T. 1984. *Intestinal Flora and Dietary Factors*, Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
7. Vercellotti, J.R. and T.D. Wilkins. 1978. Complex carbohydrate breakdown in the human colon. *The American Journal of Clinical Nutrition* 31: S86-S89.
8. Yazawa, K. and Z. Tamura. 1982. Search for sugar sources for selective increase of *Bifidobacteria*. *Bifidobacteria Microflora* 1: 39-44.
9. Lauer, E. 1990. *Bifidobacterium gallicum* sp. nov. isolated from human feces. *International J. System-*

- matic Bacteriology* **40**: 100-102.
10. Desjardins, M. and D. Roy. 1990. Growth of *Bifidobacteria* and their enzyme profiles. *J. Dairy Science* **73**: 299-307.
  11. Wedekind, K.J., H.R. Mansfield, and L. Montgomery. 1988. Enumeration and isolation of cellulolytic and hemicellulolytic bacteria from human feces. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 1530-1535.
  12. Ráfii, F. 1990. Azoreductase activity of anaerobic bacteria isolated from human intestinal microflora. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 2146-2151.
  13. Ji, G.E., H.K. Han, S.W. Yun, and S.L. Rhim. 1992. Isolation of amylolytic *Bifidobacterium* sp. Int-57 and characterization of amylase. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2**: 85-91.
  14. Roediger, W.E.W. 1980. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut.* **21**: 793-798.
  15. Mitsuoka, T. and C. Kaneuchi. 1977. Ecology of the *bifidobacteria*. *The American Journal of Clinical Nutrition* **30**: 1799-1810.
  16. Wynder, E.L. 1975. The epidemiology of large bowel cancer. *Cancer Res.* **35**: 3388-3394.
  17. Yamamoto, K., Y. Tsuji, H. Kumagai, and T. Tochikura. 1986. Induction and purification of alpha-L-fucosidase from *Fusarium oxysporum*. *Agri. Biol. Chem.* **50**: 1689-1695.

(Received November 11, 1992)