

Levanoligosaccharide(levanooctaose)의 장내미생물에 대한 생육효과

강수경 · 박나희 · 이태호*

부산대학교 자연과학대학 미생물학과

Pseudomonas sp. K-52 유래의 levanase에 의해 생산되는 levanooctaose가 growth factor로서 각종 장내미생물에 미치는 영향을 조사하였다. *In vitro* 실험에서 0.5% levanooctaose를 탄소원으로 하여 glucose일 경우와 상호 비교하여 분석한 결과 levanooctaose는 *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Eubacterium limosum*, *Staphylococcus aureus*보다 *Bifidobacterium adolescentis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroid fragilis* 등에 의해 효율적으로 이용되었다. 쥐를 이용한 *in vivo* 실험에서 탄소원의 일부로 levanooctaose를 제공한 경우, 장내 *Bifidobacteria*수는 약 10배, butyrate양은 2.3배, β -fructosidase 활성은 약 1.5배 증가하였다. 따라서 분리균주 *Pseudomonas* sp. K-52의 levanase로부터 생성되는 levanooctaose는 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus*와 같은 장내 유익균주에 선별적으로 이용되는 것이 확인되었다.

KEY WORDS □ levanooctaose, *Bifidobacteria*, growth factor, β -fructosidase

포유동물의 장내에는 각종 세균류가 공존하면서 이들이 숙주의 면역능력을 자극하거나 감염을 방어하고, 비타민 등을 합성하여 숙주에 공급함으로써 숙주의 노화방지 및 건강유지에 기여한다고 알려져 있다. 동시에 장내부패나 독소, 발암물질 등을 생성하여 숙주의 노화촉진에도 관여하는 종류가 존재한다(8). 이들 장내세균 중 특히 *Bifidobacteria*는 lactic acid와 acetic acid 등을 분비하여 유해균의 증식억제, 발암억제 및 혈압강하 등에 기여하는 대표적 균주로서 이들의 생육에는 fructooligosaccharide, inulin, 치커리 및 fructose 중합체등이 중요한 생육인자로 작용한다는 것이 밝혀져 있다(4,7). Fructooligosaccharide등의 식이섬유류는 포유동물의 장내에서는 소화되지 않고 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* 등의 젖산균에 의해 선택적으로 대사되어 이들의 생육을 촉진하는 생육인자로서 작용한다고 알려져 있으며, 특히 대사산물인 butyrate, acetate, lactate 등과 같은 SCFA(short chain fatty acid)는 장내 apoptosis를 증가시켜 암세포의 증식을 억제한다고 보고되어 있다(3,16,19).

일반적으로 올리고당은 자연계에 유리된 상태로 존재하는 것이 아니라 각종 천연다당으로부터 화학적 또는 효소적으로 생성되는 물질이다. 그러므로 다당의 종류에 따라 생성되는 올리고당의 종류도 달라질 수 있다. 자연계에 보편적으로 분포하는 다당으로는 식물유래의 starch, cellulose, chitin, xylan, inulin, levan 등과 미생물 유래의 dextran, levan 등을 들 수 있으며 이들로부터 여러 종류의 올리고당이 효소적 혹은 화학적 방법으로 생산되고 있다. 이중에서도 inulin과 levan은 fructose가 중합된 다당으로서 이들로부터 단일종의 올리고당을 생성하는 효소뿐만 아니라 여러 종류의 중합도(degree of polymerization, DP)를 갖는 올리고당을 생성하는 효소에 대해서도 연구가 활발히 진행되고 있다(9,10). 특히 그중에서도 미

생물을 이용하여 대량 생산할 수 있는 levan이 fructooligosaccharide 생산을 위한 원료로서 주목받고 있다. 이들의 가수분해에 의해 생산되는 올리고당은 크게 DFAIV(di-D-fructose 2,6-2',6 dianhydride)와 linear fructooligosaccharide로 나눌 수가 있는데, 주생성물 이외에 여러 종류의 중합도를 가진 올리고당들이 혼존하여 생성되는 경우가 대부분이다. 이러한 기능성 올리고당에 대한 연구는 1980년대 이후에 급격히 발전하여 현재 두가지 방법에 의해 생산되고 있다. 즉 미생물 유래 효소의 transglycosylation 반응을 이용하여 단당 또는 올리고당으로부터 기능성 올리고당을 합성하는 방법과 미생물 유래의 가수분해 효소를 이용하여 다당으로부터 직접 유리시키는 방법이 있다. 전자의 경우 이미 많은 연구가 수행되어 현재는 이 방법에 의해 합성된 올리고당이 산업적으로 활용되고 있는 실정에 있고, 최근에 와서는 천연다당으로부터 식물 혹은 미생물 유래의 가수분해 효소를 이용하여 기능성 올리고당을 생산하는 연구가 주목을 받고 있다(13,18).

본 연구진은 비소화성다당인 levan으로부터 levanoligosaccharide를 특이적으로 생성하는 levanase를 미생물로부터 분리 정제하여 그 생화학적 특성을 이미 보고한 바 있다(11,13). 본 보에서는 levan으로부터 levanase에 의해 생성되는 levanooctaose를 정제하여 각종 장내세균에 미치는 생육인자로서의 특성을 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통해 밝힌 결과를 기술하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주

Levanooctaose의 생육인자로서의 효과를 검토하기 위해서 사용한 대표적인 장내미생물은 한국유전자은행(KCTC)과 미국종균협회(ATCC)에서 분양받았다. 이 중 *Bifidobacterium adolescentis* KCTC 3151, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3151, *Eubacterium limosum* ATCC 8481, *Bacteroid fragilis* ATCC

*To whom correspondence should be addressed
Tel : 051-510-2267, Fax : 051-583-0134
E-mail : leeth@hyowon.pusan.ac.kr

25285 등은 장내 유익균으로, *Clostridium perfringens* ATCC 25780, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Escherichia coli* 등은 유해균으로 분류하여 취급하였다. Levan으로부터 levanotaose를 생성하는 levanase 생산균주는 본 연구실에서 분리한 *Pseudomonas* sp. K-52를 사용하였다.

배지 및 시약

각종 장내미생물의 배양배지로는 modified EG broth media를 사용하였다. Levanase 생산을 위한 배지는 본 연구실에서 최적화한 배지를 사용했는데 그 구성성분은 1% levan, 0.5% sucrose, 0.1% K_2HPO_4 , 1% bactopecton, 0.3% yeast extract, 0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (pH 7.0)이다. *Bifidobacteria*속을 위한 선택배지는 Beerens의 방법(1)에 따라 조제하였다. *Lactobacillus*속의 선별을 위한 선택배지는 2% $CaCO_3$ 를 포함한 MRS배지를 사용하였다. *In vivo* 실험에서 rat의 식이성분은 modified AIN 76-A(Dyets Inc.) diet(4,13)에 준하여 조제하였다.

Levanotaose의 정성분석을 위한 TLC plate는 Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck, USA)를 사용하였으며, 정제확인을 위해서는 HPLC(Waters, USA)를 사용하였다. 이때의 분석조건은 다음과 같다: Column, carbohydrate analysis column(Waters, 3.9 × 300 mm), Solvent, acetomitrile/water(65 : 35); Flow rate, 2 ml/min; Detector, Waters 410 differential refractometer; Temperature, 45°C.

Levanotaose의 조제

Levanotaose의 표품을 얻기 위해 *Pseudomonas* sp. K-52 유래 levanase를 염석 및 DEAE-cellulose column chromatography 등의 정제조작을 거쳐 부분정제하였다. 부분정제된 효소를 1% levan 용액과 혼합한 후 37°C, 48시간 반응시킨 다음 생성된 levanotaose를 chilled ethanol 침전 및 Sephadex G-15 column chromatography 등의 방법에 의해 정제하여 동결건조한 표품을 이하의 실험에 이용하였다. 이와같은 정제과정을 거쳐 얻어진 levanotaose는 HPLC에 의해 그 순도를 확인하였다.

*In vitro*에서의 생육효과

장내 공시균주의 생육에 미치는 levanotaose의 효과를 검토하기 위해 modified EG broth에 glucose 및 levanotaose가 0.5%(w/v) 함유된 배지에 균주를 접종한 후 37°C, 24시간 배양하여 각 균주의 생육정도를 조사하였다. 이때 *B. adolescentis*, *L. acidophilus*, *S. aureus*, *E. coli*, *B. fragilis*는 정치배양 하였으며 *C. perfringens*는 anaerobic jar를 이용하여 혐기적으로 배양하였다. 균주의 생육정도는 흡광도(A₆₆₀)를 측정하여 비교하였다.

*In vivo*에서의 생육효과

Levanotaose가 장내세균의 생육에 미치는 영향을 검토하기 위해 5주 연령의 rat에 control diet(4.16)와 여기에 levanotaose를 첨가한 test diet를 식이로 제공하여 장내 유익균주의 생육정도를 측정하였다. 실험은 쥐에 control diet를 먹이는 1

주간의 pre-ingestion period, test diet를 먹이는 2주간의 ingestion period. 그리고 test diet를 중단한 후에 다시 control diet를 먹이는 1주간의 post-ingestion period순으로 행하였으며 각 기간 동안에 배설하는 분변을 격일제로 채집하여 sample에 존재하는 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus*, total aerobes의 균수 및 β -fructosidase, butyrate 등을 정량분석하였다. 이때 시험구와 대조구의 실험치는 3마리의 rat에 대한 평균값을 산출하여 표시하였다.

Fecal analysis

각 기간별 격일제로 채집한 분변을 적당하게 건조한 후 1g을 균질화하여 식염수에 일정배수로 희석한 시료를 분석시료로 사용하였다. 분변내에 존재하는 *Bifidobacteria*의 총균수는 paromomycin sulfate와 neomycin sulfate를 포함하는 희석시료를 plate에 도말하여 37°C, 48시간 배양한 후 CFU(colony forming unit)로 측정하였으며, *Lactobacillus*의 경우에는 2%의 $CaCO_3$ 를 함유하는 MRS 한천배지에 2-3일간 배양하여 cleau zone을 나타내는 colony 수로 계측하였다. 한편 총호기성균수의 측정은 EG agar 평판 배지에서 CFU로 분석하였다. β -fructosidase의 활성은 Somogyi-Nelson 방법(19)에 준하여 생성된 환원당의 양을 효소양으로(units) 환산하여 결정하였고, butyrate의 정량 및 정성 분석은 gas chromatography (Model, Hewlett Packard 5890A; Carrier gas, N_2 ; Column, 100 g/SP-1200/10 g/LH₃PO₄ Chromosorb WAW; Flow rate, 75 ml/min; Temperature, 125°C; Detector, FID)를 이용해서 실시하였다.

결과 및 고찰

장내세균의 생육에 대한 levanotaose의 영향

효소의 반응액으로부터 정제과정을 거쳐 얻어진 levanotaose는 HPLC에 의해 그 순도를 확인하였으며 이하의 실험에는 정제 올리고당을 동결건조하여 사용하였다.

장내세균인 *B. adolescentis*, *E. limosum*, *B. fragilis*, *L. acidophilus*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. perfringens* 등에 대한 levanotaose의 생육효과를 glucose와 비교하여 검토하였다. 그 결과 Table 1에 나타난 결과와 같이 *B. adolescentis*, *B. fragilis*, *L. acidophilus*는 glucose의 경우와 유사한 당 이용성을 나타내는 반면 *E. limosum*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. perfringens*는 탄소원으로 levanotaose의 이용성이 극히 낮은 것으로 나타났다. 따라서, levanotaose는 장내 유익균주로 알려져 있는 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* 등에 있어서만 선택적으로 생육인자로 작용하고 *C. perfringens*, *S. aureus*, *E. coli* 등과 같은 유해세균에 있어서는 탄소원으로 거의 이용되지 않아 장관내에 분포하는 미생물 군총의 생육을 조절하여 장내 환경개선에 기여할 것으로 추정된다.

Levanotaose 농도의 영향

B. adolescentis, *L. acidophilus*의 생장에 필요한 최적 levanotaose의 농도를 파악하기 위해 각각 0-5%의 levanotaose를 탄소원으로 하여 37°C, 24시간 정지배양한 후 spectro-

Table 1. Growth of some intestinal bacteria in the presence of levanooctase

Microorganism	Degree of growth(DG*)	
	Glucose	Levanooctase (0.5%)
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> KCTC 3151	++	++
<i>Eubacterium limosum</i> ATCC 8481	++	+
<i>Bacteroid fragilis</i> ATCC 25285	++	++
<i>Lactobacillus acidophilus</i> KCTC 3151	++	+
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1039	++	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	++	+
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 25780	++	+

*DG = $\frac{OD \text{ for tested sugar} - OD \text{ without the sugar}}{OD \text{ for glucose} - OD \text{ without the sugar}} \times 100$

++: DG ≥ 75, +: 50 ≤ DG < 75

OD : optimal density at 600nm (Maximum values of optical density during 2 days cultivation were taken as OD).

photometer로 균체량을 측정하였다. 그 결과 levanooctase는 *B. adolescentis* 및 *L. acidophilus*속 양 균주에 다같이 효율적으로 이용되며 그 농도가 높아질수록 균의 생육량도 증가하는 양상을 보였으나 일정농도 이상에서는 생육량이 오히려 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 1).

젖산균의 생육에 미치는 올리고당의 영향

Levanooctase를 탄소원으로 하였을때 *B. adolescentis* 및 *L. acidophilus* 등의 젖산균의 생육에 미치는 영향을 glucose의

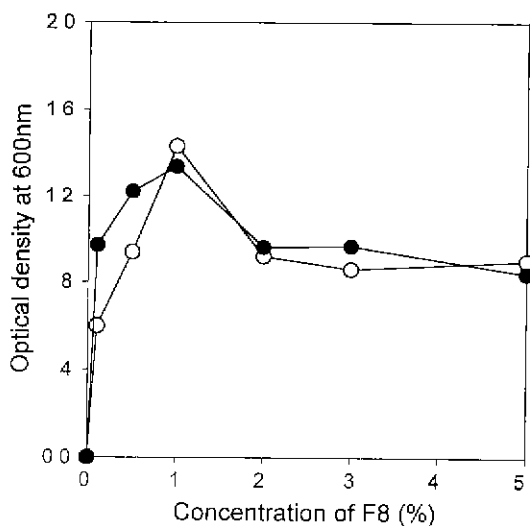


Fig. 1. Effect of levanooctase(F8) concentration on the growth of *B. adolescentis* and *L. acidophilus*. ○, *B. adolescentis*; ●, *L. acidophilus*.

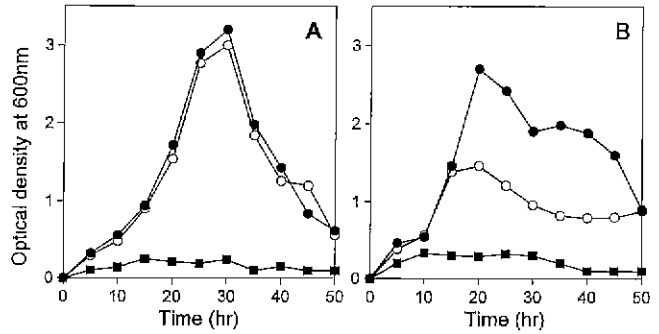


Fig. 2. Growth curve of *B. adolescentis* (A) and *L. acidophilus* (B) on EG broth medium containing levanooctase(F8) or glucose as a carbon source ○, levanooctase; ●, glucose; ■, none.

경우와 비교하여 검토하였다. *B. adolescentis* 및 *L. acidophilus*을 50시간 동안 배양하면서 5시간마다 그 균체량을 측정하여 생육양상을 조사하였다. 그 결과 Fig. 2에 나타낸 바와 같이, *B. adolescentis*의 경우에는 glucose와 levanooctase를 탄소원으로 하였을때 그 종류에 관계없이 거의 동일한 생육양상을 나타내어 levanooctase도 탄소원으로서 우수함을 보여 주었다(Fig. 2A). 그러나, *L. acidophilus*의 경우에는 glucose와 levanooctase가 다같이 탄소원으로서 이용되는 양상을 나타내나 탄소원으로서의 이용효율은 glucose에 비해 다소 낮은 결과를 보여주었다(Fig. 2B). 따라서 탄소원으로서의 levanooctase의 이용성이 *L. acidophilus*에 비해 *B. adolescentis*에서 높게 나타남을 알 수 있었다.

Rat를 이용한 in vivo 실험

Levanooctase를 실험동물에 식이로 투여했을 경우 장내젖산균의 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 *B. adolescentis*의 경우 Fig. 3에 나타난 것처럼 levanooctase를 첨가한 실험구에서는 약 10배 가량 균수가 증가하여 levanooctase의

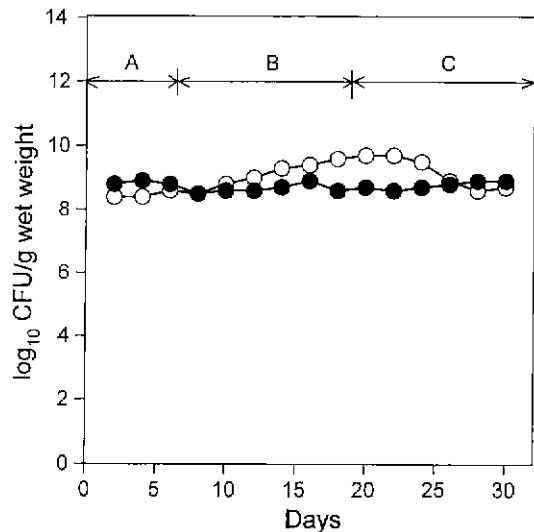


Fig. 3. Ingestion effect of levanooctase (F8) and control diet on total fecal *Bifidobacteria*. ○, levanooctase; ●, control. A, pre-ingestion; B, ingestion; C, post-ingestion.

Table 2. Bacterial counts, β -fructosidase activity, and short chain fatty acid (SCFA) in fecal contents before, during, and after levanooctase or control diets

Item	Control			Levanooctase		
	Preingestion	Ingestion	Postingestion	Preingestion	Ingestion	Postingestion
Microbiota (\log_{10} CFU/g)						
<i>Bifidobacteria</i>	8.75	8.9	8.8	8.5	9.6	9.0
<i>Lactobacillus</i>	7.4	7.3	7.4	7.4	7.5	7.5
Total aerobes	8.6	8.8	8.8	8.6	8.1	8.1
β -Fructosidase activity (IU/g wet weight)	8.3	8.4	8.4	9.0	12.9	10.6
SCFA						
Butyrate (mmol/l)	1.46	1.48	1.39	2.40	3.36	3.90

생육촉진 효과가 크게 나타남을 확인할 수 있었다. 그러나, *L. acidophilus*의 경우에는 약간의 생육촉진 효과만 나타났을 뿐 glucose와 유의성을 확인할 수 없었다. 이와 함께 *Bifidobacteria*가 levanooctase를 대사하는데 관여하는 β -fructosidase의 활성을 측정 한 결과 control diet에서는 8.4 IU/g, levanooctase diet에서는 12.9 IU/g로 나타나 상당한 증가양상을 보였다. 유기산의 일종인 butyrate는 control diet에서 1.48 mmol/L, levanooctase diet에서 3.36 mmol/L로 나타나 유기산의 양이 증가되어 장내환경이 산성화됨을 확인할 수 있었다(Table 2).

이와 같은 결과를 볼 때 levanooctase가 포유동물의 장내에서 *Bifidobacteria*의 증식인자로 작용하여 유기산 등을 생성하고 이들이 장내 pH를 산성화하여 *Clostridium*속과 같은 유해세균들의 증식을 상대적으로 억제하는 것으로 결론지을 수 있다. 일반적으로 올리고당이 장내 유익균주의 생육인자로 작용하여 장내의 환경개선에 유익하게 작용한다고 하는 것은 이미 밝혀진 사실이며, 특히 fructosyltransferase로부터 각종 fructooligosaccharide을 합성하여 그 생리적 기능을 밝힌 연구가 유명하다(5,6,22). 본 연구는 미생물이 생산하는 levan으로부터 유일하게 levanooctase만을 생성하는 신규 levanase를 미생물로부터 분리하여 그 효소화학적 성질을 밝힘은 물론(11), 생성 올리고당이 장내젖산균의 생육을 촉진한다고 하는 사실을 규명한 연구결과로서 이는 생화학적인 측면에서 또는 반응산물의 응용적 측면에서도 의미부여가 가능할 것으로 기대된다. 또한 최근에는 장내 유해세균이 인체의 발암성질병과 밀접한 관계를 가진다는 사실이 속속 밝혀짐에(2,21) 따라 이들 각종 올리고당이 이런 유해균주의 생육을 억제한다고 하는 사실이 인정되어 앞으로 이 분야의 연구가 더욱 각광받을 것으로 기대된다.

감사의 말

이 논문은 부산대학교 학술연구조성비 및 기초과학연구소 학술연구조성비(기성회 대응연구비)에 의하여 연구수행되었음 (RIBS-PNU-98-401).

참고문헌

- Beerens, H. 1990. An elective and selective medium for *Bifidobacterium* sp. *Let. Appl. Microbiol.* **11**, 155-1578
- Boubnik, Y., B. Flouri, M. Riottot, N. Bisetti, M.F. Gailing, A. Guibert, F. Bornet, and J.C. Rambaud. 1996. Effects of fructooligosaccharides ingestion on fecal bifidobacteria and selected metabolic indexes of colon carcinogenesis in healthy humans. *Nutr. Cancer* **26**, 21-29.
- Calazans, G., C. Lopes, R. Lima, and F. Defranca. 1997. Antitumor activities of levans produced by *Zymomonas mobilis* strains. *Biotechnol. Letters* **19**, 19-21.
- Campbell, J.M., G.C. Fahey, and B.W. Wolf. 1997. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short chain fatty acids pH, and microflora in rats. *J. Nutr.* **127**, 130-136.
- Cheng, C.Y., K.J. Duan, D.C. Sheu, C.T. Lin, and S.Y. Li. 1996. Production of fructooligosaccharides by immobilized mycelium of *Aspergillus japonicus*. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **66**, 135-138
- Chiang, C.J. and W.C. Lee. 1997. Immobilization of β -fructofuranosidase from *Aspergillus* on methacrylamide-based polymeric beads for production of fructooligosaccharide. *Biotechnol. Prog.* **13**, 577-582.
- Freingold, D.S. and M. Gehatia. 1957. The structure and properties of levan, a polymer of D-fructose produced by culture and cell free extracts of *Aerobacter levanicum*. *J. Polymer Science* **23**, 783-789.
- Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota-Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* **125**, 1401-1412.
- Hidaka, H., M. Hirayama, and N. Sumi. 1988. A fructooligosaccharide-producing enzyme from *Aspergillus niger* ATCC 20611. *Agric. Biol. Chem.* **52**, 1181-1187.
- Hidaka, H., T. Eida, T. Takizawa, T. Tokunaga, and Y. Tashiro. 1986. *Bifidobacteria Microflora* **5**, 37-50.
- Kang, S.K., Y.S. Lim, and T.H. Lee. 1998. Purification and characterization of a novel levanooctase-producing levanase from *Pseudomonas* strain K-52. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **27**, 159-166.
- Kojima, I., T. Saito, M. Iizuka, N. Minamiura, and S. Ono. 1993. Characterization of levan produced by *Serratia* sp. *J. Ferment. Bioeng.* **75**, 9-12.
- Lim, Y.S., S.K. Kang, S.O. Lee, and T.H. Lee. 1998. Purification and characterization of a levanase from *Streptomyces* sp. 366L. *J. Biotechnol.* **61**, 33-41.
- Mckellar, R.C. and M.W. Modlar. 1989. Metabolism of fruc-

- ooligosaccharides by *Bifidobacterium* sp. *Appl Microbiol. Biotechnol.* **31**, 537-541
15. **Oku, T., T. Tokunaga, and H. Hosoya.** 1984. Nondigestibility of a new sweetener, "Neosugar", in a rat. *J. Nutr.* **114**, 1574-1581.
 16. **Reddy, B.S. and A. Rivenson.** 1993. Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo(4,5-F)quinoline, a food mutagen. *Cancer Res.* **53**, 3914-3918.
 17. **Reddy, B.S., R. Hamid, and C.V. Rao.** 1997. Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. *Carcinogenesis.* **18**, 1371-1374.
 18. **Roberfroid, M., G. Gibson, and N. Delzanne.** 1993. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: An approach to calculate its caloric value. *Nutr. Rev.* **51**, 137-146.
 19. **Somogyi, M.** 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* **195**, 19-23.
 20. **Suzuki, T., H. Hara, K. Takanori, and F. Tomita.** 1998. Effects of difructose anhydride III on calcium absorption in small and large intestines of rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 837-841.
 21. **Taper, H.S., N.M. Delzenne, and M.B. Roberford.** 1997. Growth inhibition of transplantable mouse tumors by nondigestible carbohydrates. *Int. J. Cancer* **71**, 1109-1112.
 22. **Yun, J.W. and S.K. Song.** 1993. The production of high-content fructo-oligosaccharides from sucrose by the mixed-enzyme system of fructosyltransferase and glucose oxidase. *Biotechnol. Letters* **15**, 573-576.

(Received April 19, 1999/accepted May 14, 1999)

ABSTRACT : Growth Effect of Levanoligosaccharide (Levanotaose) on Intestinal Microflora

Soo Kyung Kang, Na Hee Park, and Tae Ho Lee* (Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea)

The effect of levanotaose produced by levanase from *Pseudomonas* sp. K-52 on principle intestinal microflora was investigated. The reaction product, levanotaose, was used as a carbon source for various intestinal microflora. Especially, *Bifidobacterium adolescentis* and *Lactobacillus acidophilus* grew effectively *in vitro* experiments, whereas *Clostridium perfringens*, *Bacteroid fragilis*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* did not. Therefore, levanotaose seemed to promote selectively the growth of *B. adolescentis* and *L. acidophilus*. In the *in vivo* experiments, the effects of levanotaose on intestinal microflora were examined on their growth, β -fructosidase activity, and butyrate concentration in rats. Apparently, the number of fecal Bifidobacteria, the amount of butyrate, and β -fructosidase activity were increased, whereas total aerobes and pH were reduced in rats fed levanotaose diets, compared with those of the control diets. We concluded that those effects may be beneficial in improving gastrointestinal health.