

식이 레반과 이눌린이 흰쥐의 장내 유산균 성장 및 장내환경에 미치는 영향*

장기효^{1,4)} · 강순아^{1,4)} · 조윤희^{1,4)} · 김윤영¹⁾ · 이윤정¹⁾

홍경희¹⁾ · 장은경²⁾ · 김철호^{2,3)} · 조여원^{1,4)}

경희대학교 동서의학대학원 임상영양학전공,¹⁾ (주) 리얼바이오텍,²⁾
한국생명공학연구원,³⁾ 경희대학교 임상영양연구소⁴⁾

The Effects of Levan and Inulin on the Growth of Lactic Acid-Producing Bacteria and Intestinal Conditions in Rats*

Jang, Ki Hyo,^{1,4)} · Kang, Soon Ah^{1,4)} · Cho, Yunhi^{1,4)} · Kim, Yun Young¹⁾ · Lee, Yun Jung¹⁾
Hong, Kyunghee¹⁾ · Jang, Eun-Kyung²⁾ · Kim, Chul Ho^{2,3)} · Choue, Ryowon^{1,4)}

Department of Medical Nutrition,¹⁾ Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University,
Seoul 130-701, Korea

RealBioTech Co. Ltd,²⁾ Taejon 305-333, Korea

Biotechnology Research Division,³⁾ KRIBB, Taejon 305-333, Korea

Research Institute of Clinical Nutrition,⁴⁾ Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

In nature, two different types of fructose polymers (fructan) are generally found in dietary fibers; these are the fructose homopolymers levan, which is of high molecular weight and is β -(2,6)-linked, and inulin, which is of low molecular weight and is β -(2,1)-linked. The effects of levan and inulin on the intestinal physiology of rats were compared. Sprague Dawley rats were fed one of three diets for 3 weeks: a control diet, a basal diet containing 7% of levan, and a basal diet containing 7% of inulin. Cecal enlargement, together with the lowering of cecal pH, occurred in rats fed on the levan and inulin diets ($p < 0.05$). The levan and inulin diets resulted in a two-fold increase in the amount of short-chain fatty acids in the cecum, when compared to the control diet. The number of total microbes and of lactic acid-producing bacteria in the feces were higher in rats fed the fructan diets than those in rats fed control diet ($p < 0.05$). The levan diet also significantly increased the cecal α -galactosidase activity by 3.8-fold, when compared to the control diet, indicating that levan stimulated the growth of Bifidobacteria in the cecum. These results show that the intake of levan and inulin stimulated the growth of lactic acid-producing bacteria in the cecum and thereby improved intestinal conditions in rats. (*Korean J Nutrition* 35(9) : 912~918, 2002)

KEY WORDS: levan, inulin, dietary fiber, fructan, lactic acid-producing bacteria.

서론

사람의 장내에 존재하는 균에는 건강을 지켜주는 미생물과 건강에 나쁜 영향을 주는 균이 있으며 이들 양자의 균형에 의하여 건강상태가 조절된다. 대표적인 장내 미생물로는 *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* 등의 유산균 (Lactic acid-producing bacteria), 대장균 (*Escherichia*

접수일: 2002년 8월 26일

채택일: 2002년 10월 28일

*This work was supported by the Brain Korea 21 project in 2002.

⁵⁾To whom correspondence should be addressed.

coli), 웰치균 (*Clostridium perfringens*) 등이 포함되며, 웰치균으로 대표되는 유해균은 장내의 부패를 촉진하여 노화를 유발하고 발암물질을 생산한다.¹⁻³⁾ 장내 산성조건에서는 많은 유해균들의 발육이 크게 저하되며, 상대적으로 유산균들은 비교적 높은 생존률을 나타낸다. 유산균의 발효 산물인 유산과 초산은 부패균의 성장을 억제하여 amine 화합물, β -glucuronidase 등과 같은 발암물질의 생성에 관련된 인자를 억제하는 항암 활성을 나타낸다.⁴⁾ 또한, 유산균은 면역성을 증진시켜서 암의 진행을 억제하는 것으로 보고되고 있다.^{5,6)}

장내 유산균을 유지시켜주기 위한 방법으로는, 유산균을 경구적으로 투여하는 방법과 유산균이 이용하는 물질 즉,

유산균 성장촉진인자를 경구 투여하는 방법으로 궁극적으로 유산균의 증식을 선택적으로 유도하게 된다. 후자의 주요 유산균 증식인자에는 올리고당이 포함되어 있으며, 여기에는 isomaltooligo당, xylooligo당, galactooligo당, 대두oligo당, fructooligo당, lactulose, lactosucrose, raffinose, palatinoseoligo당 등이 있다.⁷⁻¹⁰⁾

한편, 자연에 존재하는 식이섬유질 중에 주요 과당 중합체(fructan)로는 레반과 이눌린이 있으며, 이들은 과당 잔기의 결합방법에서 다르게 구성되어 있다. 레반은 과당이 10⁴~10⁵ 개가 β-2,1과 β-2,6 결합으로 구성되어 있으며, 레반슈크라제의 과당 전이반응에 의해 설탕으로부터 생산된다.¹¹⁻¹⁴⁾ 이에 반하여, 이눌린은 과당이 20~60개가 주로 β-2,1 결합으로 연결된 비교적 작은 분자량으로 돼지감자, 치커리, 다알리아 등에 다량 함유되어 있다. 이눌린을 구성하는 β-2,1 결합은 인간의 위액과 소화효소 (the small intestinal sucrase- maltase complex)에 의하여 분해되지 않고, 약 90% 이상이 대장에 도달하여 장내미생물에 의하여 발효된다.¹⁵⁾ 또한, 과량의 식이 이눌린을 섭취하여도, 분변에서 거의 발견이 되지 않는다는 것이 동물 및 임상실험에서 확인되어 장내에서 완벽하게 발효되는 것으로 알려져 있다. 임상적으로, 섭취 가능한 이눌린의 용량은 40 g/day 이상으로 보고되었으나, 일반적으로 5~20 g/day 정도가 권장되고 있다. 이눌린의 생리적 효능으로는 열량이 낮음으로 (1.0~1.5 kcal/g) 비만개선효과, 배변촉진기능, 혈중 인슐린과 중성지방의 감소효과, 대장암 발생억제 효과 등이 제시되고 있다.¹²⁻¹⁵⁾ 상대적으로, 레반 또는 레반올리고당에 대한 생리적인 효능에 대한 연구는 혈중 지질개선효과가 동물실험을 통하여 보고되었을 뿐,¹⁶⁾ 레반의 섭취에 따른 생리적 변화에 관한 연구는 매우 미비한 실정이다.

강 등¹⁷⁾은 저분자량의 레반올리고당 또는 levanheptaose를 식이로 섭취한 동물에서 장내 비피더스균수가 10배 이상 증가하여 긍정적인 효능을 나타내는 것으로 보고하였으나 분자량이 수백만인 레반을 식이로 이용한 연구는 아직 실시된바 없는 실정이다. 레반을 탄소원으로 이용한 *in vitro* 실험에서, 레반은 대부분의 장내미생물에 의하여 발효되지 않고, 일부 이스트나 곰팡이에 의해 제한적으로 이용되는 것으로 보고되었다.^{18,19)} 최근의 연구결과에 의하면, 유제품에서도 레반을 분해하는 유산균이 분리된 바 있으나,²⁰⁾ 사람의 장에서 분리된 유산균에 의해서는 분해가 미비한 것으로 보고되었다. 한편, 0~40℃ 범위의 열과 알칼리 조건에서 레반의 가수분해정도는 약하나, 산성 pH (< pH 3)에서는 매우 빠르게 진행되어, 인체의 pH와 유사한 인공위액에서 레반의 분해는 빠르게 진행되는 것으로 나타났다(unpub-

lished data). 따라서 앞서 언급한 *in vitro* 실험 결과는 *in vivo* 실험에서의 산성 pH의 위액과 소장의 소화효소, 장내 미생물에 의한 발효양상 결과와는 매우 다르게 나타날 수 있다. 본 연구에서는 레반과 이눌린 식이를 원취에 공급하고, 장내의 pH, 단쇄지방산 (short chain fatty acids, SCFA), 장내 효소활성, 장내미생물에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

레반은 (주)리얼바이오텍 (대전)에서 제공받아 사용하였다. 레반의 일반성분은 식품개발연구원에서 분석하였으며, 탄수화물 95.6%, 회분 0.2%, 수분 4.2%로 구성되었다. 이눌린은 치커리에서 추출된 Sigma사 제품을 사용하였다. GAM media는 일수제약사 (Japan)에서 구입하였고, 효소실험에 사용한 시약들은 Sigma사 제품을, 기타 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

2. 실험동물의 식이 및 사육

7 주령 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 중앙실험동물사에서 구입하여 1주일간 적응시킨 후 대조군, 7% 레반군, 7% 이눌린군 등 각 군에 6마리씩 나누어 3주간 사육하였다. 실험식이의 조성은 Table 1과 같다. 실험동물은 한 마

Table 1. Composition of the experimental diets (g/kg diet)

Constituents	Control diet	Levan diet	Inulin diet
Casein	360	360	360
Corn oil	70	70	70
Cellulose	70	70	70
Sucrose	448	378	378
Levan	0	70	0
Inulin	0	0	70
Choline chloride	6	6	6
Mineral mix ¹⁾	36	36	36
Vitamin mix ²⁾	10	10	10

1) AIN-76 Mineral mix provided the following (g/kg mix) : calcium phosphate, dibasic, 500; sodium chloride, 74; potassium citrate · H₂O, 220; potassium sulfate, 52; magnesium oxide, 24; manganese carbonate, 3.5; ferric citrate, 6; zinc carbonate, 1.6; cupric carbonate, 0.3; potassium iodate, 0.01; sodium selenite, 0.01; chromium K sulfate.12H₂O, 0.55; sucrose, finely powdered, 118. 03: Dyets, Bethlehem, Pennsylvania, USA.

2) AIN-76A Vitamin mix provided the following (g/kg mix) : thiamine HCl, 0.6; riboflavin, 0.6; pyridoxine HCl, 0.7; niacin, 3; calcium pantothenate, 1.6; folic acid, 0.2; biotin, 0.02; Vit. B₁₂ (0.1%), 1; Vit. A palmitate (500,000 IU/g), 0.8; Vit. D₃ (400,000 IU/g), 0.25; Vit. E acetate (500 IU/g), 10; menadione sodium bisulfite, 0.08; sucrose, finely powdered, 981.15: Dyets, Bethlehem, Pennsylvania, USA.

리씩 분리하여 사육하였고, 식이는 하루 3시간씩 2번 공급 하였으며, 물은 제한 없이 공급하였다. 실험 기간 동안 식이 섭취량과 체중은 일주일에 2회 측정하였다. 식이 효율 (food efficiency ratio, FER)은 실험식이 공급일로 부터 희생일 까지를 총 실험 기간 동안의 체중 증가량을 실험 기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 산출하였다.

3. 시료수집 및 분석방법

1) 시료수집

3주간의 실험기간이 끝난 후 overnight fasting을 한 상태에서 ethyl ether로 마취한 후 간문맥에서 채혈한 후 소장, 맹장, 대장을 분리하여 중량을 측정하였고, 각각 장기의 내용물을 분리한 후 중량을 측정하였다. 장내용물 일부분을 취하여 α -galactosidase의 활성 및 pH를 측정하였다. 나머지 부분은 screw-capped tube에 담아서, 즉시 -70°C 에서 동결하였다. 장벽(소장벽, 대장벽, 맹장벽)은 50 mM phosphate 완충용액으로(pH 7.0) 세척한 후 중량을 측정하였다.

2) 단쇄지방산 조성측정

장내 단쇄지방산 조성은 장내용물을 10% phosphoric acid에 최종농도 10% (w/v)로 혼합하여 원심분리한 (10000 rpm, 10 min) 후, 상층액을 gas chromatography (Hewlett Packard Model 5890 Series II, USA)를 이용하여 정량하였다. HP-FFAP (0.25 m, 25 m \times 0.2 mm) column를 사용하였으며, 칼럼온도는 70°C 에서 1분, 그리고 200°C 까지 $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 속도로 증가시킨 후, 200°C 에서 5분으로 유지되도록 프로그래밍 하였다. 다른 분석조건은 다음과 같다. Injection volume: 2 μl , Injection port temperature: 250°C ; Detector port temperature: 260°C , Detector: flame ionization detector, Split ratio: 40 : 1, Flow rate of carrier gas (helium), 0.6 ml/min.

3) 장내미생물 증식측정

3주간 대조 식이, 레반 식이, 이눌린 식이를 섭취한 쥐의 분변을 Mitsuka의 방법²¹⁾에 따라 혐기성 희석용 배지 (KH_2PO_4 , 4.5 g, Na_2HPO_4 , 6.0 g, L-cysteine hydrochloride 0.5%, Tween 80, 0.5 g, agar 1g, per 1 liter)로 적절히 희석한 다음, GAM 배지 및 유산균 측정 배지에 이식하였다. GAM 배지는 총 균수 측정에 사용하였으며, 유산균 수를 측정하기 위하여 사용한 유산균 선택배지의 배지조성은 peptone 10 g, lactose 10 g, yeast extract 10 g, sodium acetate 25 g, L-cysteine hydrochloride 0.2 g, ascorbic acid 1 g, CaCO_3 5 g, bro-

mocresolpurple 0.06 g, agar 15 g, per liter, pH 6.8 였다. 교체배지 (GAM 배지와 유산균 선택배지)를 37°C 에서 2~3일간 혐기적 상태에서 배양한 후에 집락의 수를 세고 여기에 희석배수를 곱하여 분변 1 g 당 균수 (log CFU (colony forming unit)/g wet feces)로 나타내었다.

4) 장내효소 활성측정

쥐의 장내용물은 50 mM phosphate buffer (pH 7)를 이용하여 최종농도 10% (w/v)로 희석한 후, α -galactosidase 활성을 측정하였다. 효소측정을 위하여 200 mM phosphate buffer (pH 6.5) 0.1 ml, 20 mM *p*-nitrophenyl- α -D-galactopyranoside 0.1 ml, 효소액 0.05 ml를 가하여 37°C 에서 10분간 반응시킨 후 흡광도 400 nm에서 측정하였다.²²⁾

5) 레반과 이눌린의 분석

분변에서의 레반과 이눌린 분석은 분변을 5% 농도로 물에 용해하여 이를 45 μm 여과막으로 여과한 다음, 여액 20 μl 를 고속액체크로마토그래피 (HPLC, Beckman, USA)에 주입하여 정량 하였다.²³⁾ HPLC 분석조건은 50°C 로 유지시킨 칼럼 (Ionpak KS-802, Shodex, Japan)을 이용하여 증류수를 0.4 ml/min의 속도로 주입하였고, 굴절지표 (refractive index)에 의해 검출하였다. 과당, 포도당, 자당, 프락토-올리고당 등 각 표준당을 각 농도별로 20 μl loop에 주입하여 검출하였으며, 각 농도에 따른 peak 면적을 이용하여 표준곡선을 작성하였다.

3. 자료 분석

실험결과는 평균과 표준편차 (Mean \pm SD)로 나타내었고, Statistical Analysis System (SAS) program을 이용하여 analysis of variance (ANOVA) 분석을 통해 각 실험 군간의 차이를 $\alpha = 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다. 통계적으로 유의성이 있는 결과는 다시 Duncan's multiple range test를 실시하여 평균값의 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 식이섭취, 체중 증가량 및 식이효율

실험동물의 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이효율은 대조군, 레반 식이군, 이눌린 식이군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 2). 이는 본 실험에서 실험동물이 식이를 하루에 3시간씩 2회만 섭취하도록 반복 훈련을 실시하여, 동물 개체간의 식이 섭취량을 일정하게 유지하고자 의도한

결과로 사료된다.

2. 장기의 무게와 길이

간과 신장의 중량에서 각 군간에 유의적인 차이는 없었으며, 소화기관중에서 소장의 길이와 중량에서도 차이를 보이지 않았다(Table 3). 그러나, cecum의 무게는 레반 식이군(6.47 ± 1.80 g), 이눌린 식이군(4.46 ± 0.80 g), 대조군(1.73g ± 0.16 g)의 순서로 높았다(p < 0.05). 한편, cecum 내용물에서는 레반 식이군(5.49 ± 1.64 g)과 이눌린 식이군(3.55 ± 0.84 g)이 대조군(1.39 ± 0.28 g)에 비하여 각각 3.9, 2.5배 높은 것으로 나타났다. 대장의 무게는 각 군간에 차이를 보이지 않았다.

동물실험에서 식이섬유질의 섭취에 따른 cecum 내용물의 증가효과는 이눌린,²⁴⁾ 이눌린올리고당,²⁵⁾ 그리고 일부의 식이섬유질에서²⁶⁾ 제한적으로 나타나는 현상으로, 식이섬유질의 종류에 따라 다르게 나타난다. 이는 장내 미생물의 발효가 식이 섬유질의 유형에 따라 다르게 나타나기 때문인 것으로 사료된다. 대조군과 비교하여, 레반 식이와 이눌린 식이 공급 시에 cecum의 장관벽 무게도 내용물의 증가와 유사하게 증가하였으므로 레반이 cecum에서 이눌린과 유사하게 작용하나 증가효과는 더욱 크게 나타나는 것으로 사료된다.

3. 장내용물의 pH 및 단쇄지방산 조성

소장 내용물의 pH는 대조군 (6.78 ± 0.16), 레반 식이군 (6.68 ± 0.16), 이눌린 식이군 (6.71 ± 0.21)에서 차이가 관찰되지 않았으나, cecum (대조군 6.55 ± 0.21, 레반 식이군 5.23 ± 0.18, 이눌린 식이군 5.93 ± 0.38) 및 대장 내용물 (대조군 6.98 ± 0.21, 레반 식이군 5.71 ± 0.55, 이눌린 식이군 5.82 ± 0.60)의 pH는 레반 식이를 섭취한 군과 이눌린 식이를 섭취한 군에서 유의성 있게 낮게 조사되었다 (Table 4). 특히, cecum 내용물의 pH는 레반 식이에 의하여 유의성있게 감소되었으며, 이와 같은 장내용물 pH의 저하는 장내 미생물 발효에 의하여 산성화되는 것을 의미한다.²⁵⁾ 이러한 결과는 레반 식이군과 이눌린 식이군에서 대조군에 비하여 장내균총의 성장 및 변화가 활발하게 나타난다는 것을 의미하며, 특히, 단쇄지방산을 생성하는 장내미생물의 성장이 왕성하게 진행된다는 것을 나타낸다.

식이에 포함되어있는 당류 중, 단당류나 이당류가 장내미생물 증식의 촉진효과가 있는 것으로 알려졌으나 cecum 또는 대장으로 이행되기 전에 이미 흡수되기 때문에 장내의 미생물 증식효과를 기대하기는 어렵다.^{13,25)} 따라서 장내미생물 증식효과를 나타낼 수 있는 당류는 대부분의 경우 장에서 흡수되지 않는 다당류이다. 일반적으로, 탄수화물은 소장 및 α-amylase와 α-glucosidase에 의하여 포도당, 과

Table 2. Daily food intake, weight gain and food efficiency ratio

	Control diet	Levan diet	Inulin diet
Food intake (g/day)	15.68 ± 2.23	15.13 ± 1.95	15.21 ± 1.88
Weight gain (g/day)	4.08 ± 0.72	4.10 ± 0.61	3.92 ± 0.51
FER ¹⁾	0.27 ± 0.07	0.28 ± 0.06	0.26 ± 0.01

1) FER : Food efficiency ratio
All values are mean ± SD (n = 6)

Table 3. Organ weight and intestine weight of experimental animals

	Control diet	Levan diet	Inulin diet
Organ weight (g)			
Liver	8.70 ± 0.53	8.91 ± 1.24	8.66 ± 0.92
Kidney	2.13 ± 0.19	2.10 ± 0.16	2.00 ± 0.16
Total weight (g)			
Small intestine	6.96 ± 0.60	6.96 ± 0.76	7.18 ± 1.12
Cecum	1.73 ± 0.16 ^c	6.47 ± 1.80 ^a	4.46 ± 0.80 ^b
Colon	2.69 ± 0.34	2.90 ± 0.45	2.74 ± 0.53
Content weight (g)			
Small intestine	2.75 ± 0.58	2.63 ± 0.93	2.87 ± 0.59
Cecum	1.39 ± 0.28 ^a	5.49 ± 1.64 ^c	3.55 ± 0.84 ^b
Colon	1.52 ± 0.21	1.72 ± 0.49	1.66 ± 0.33

All values are mean ± SD (n = 6)
Values in the same row with different superscript letters are significantly different (p < 0.05).

Table 4. Short-chain fatty acid concentrations in colon and pHs in intestine

	Control diet	Levan diet	Inulin diet
pH			
Small intestine	6.67 ± 0.16	6.68 ± 0.16	6.71 ± 0.21
Cecum	6.55 ± 0.21 ^a	5.23 ± 0.18 ^c	5.93 ± 0.38 ^b
Colon	6.98 ± 0.21 ^a	5.71 ± 0.55 ^b	5.82 ± 0.60 ^b
Colon (μmol/content)			
Acetate	39.90 ± 4.16 ^b	81.49 ± 7.30 ^a	84.34 ± 7.10 ^a
Propionate	12.23 ± 3.10 ^b	13.58 ± 2.88 ^b	27.13 ± 3.89 ^a
Butyrate	9.91 ± 1.02 ^a	20.34 ± 1.76 ^b	21.11 ± 1.82 ^b
Total	62.01 ± 7.63 ^a	115.63 ± 9.33 ^b	132.52 ± 12.24 ^c

All values are mean ± SD (n = 6)

Values in the same row with different superscript letters are significantly different (p < 0.05).

Table 5. The number of total microbes and lactic acid-producing bacteria in feces (log CFU¹⁾/g wet feces)

	Control diet	Levan diet	Inulin diet
Total microbes	9.02 ± 0.11 ^c	9.76 ± 0.11 ^a	9.57 ± 0.18 ^b
LAB ²⁾	8.34 ± 0.15 ^a	9.14 ± 0.17 ^b	8.98 ± 0.14 ^b

1) CFU : Colony forming units

2) LAB : Lactic acid-producing bacteria

All values are mean ± SD (n = 6)

Values in the same row with different superscript letters are significantly different (p < 0.05).

당 등으로 분해되는데 반하여, 레반과 이눌린과 같은 식이 섬유질은 이를 구성하고 있는 β-2,1 결합이 소화 효소에 의하여 거의 분해되지 않기 때문에¹²⁾ 소장에서 분해되지 않고 cecum까지 도달하여 미생물에 의하여 발효된다.

장내미생물 발효에 의하여 생성되는 주요 단쇄지방산에는 acetate, propionate, butyrate 등이 있다.^{8,25)} 단쇄지방산 총 함량은 레반 식이군과 (115.6 μmol/colon content) 이눌린 식이군에서 (132.5 μmol/colon content) 대조군에 (62.1 μmol/colon content) 비하여 크게 높게 나타났다 (p < 0.05) (Table 4). 레반 및 이눌린의 첨가에 따른 단쇄지방산 변화는 전체 함량뿐만 아니라 단쇄지방산의 조성에서도 나타나, acetate의 함량이 대조군, 레반 식이군, 이눌린 식이군에서 각각 39.9 ± 4.2, 81.5 ± 7.3, 84.3 ± 7.2 μmol/colon content로 나타났다. 또한 butyrate의 함량도 acetate의 함량과 유사한 경향을 보여 레반 및 이눌린 식이군에서 유의성 있게 높게 나타났다.

Campbell 등²⁵⁾은 6% 이눌린올리고당, cellulose, xylooligosaccharide 식이를 각각 3주간 섭취시켰을 경우, 이눌린올리고당 군에서 acetate와 butyrate의 함량이 다른 식이를 공급한 군에 비하여 유의적으로 높은 것으로 보고하였다. 한편, 체내에서의 이눌린의 caloric value에 관한 동물 및 임상실험 연구에서는 이눌린 1.0~1.5 kcal를 내는 것으로 보고하였다.^{27,28)} 이들 연구결과에 따르면, 1 mole의 과당을 섭취할 경우, 완전하게 대사되어 CO₂와

ATP(38 moles)가 생산되는 반면에, 과당 중합체인 이눌린 섭취시에는 5%가 CO₂ 생성, 40%가 미생물 성장 및 증식, 40%는 단쇄지방산 생성, 그리고 15%는 유산 생성에 사용되는 것으로 나타났다. 또한 이들 대사산물의 90%는 흡수되어 간에서 최종적으로 14 mole의 ATP를 생성하는 것으로 보고되었다. 레반섭취 시에 체내에서 발생하는 열량에 관한 연구는 없으나, 레반 섭취시에 생성되는 단쇄지방산의 양이 이눌린의 섭취시와 유사한 것으로 미루어 볼 때 (Table 4), 레반 섭취에 따른 체내에서 발생하는 열량은 이눌린과 비슷한 수준일 것으로 사료된다. 그러나 보다 확실한 결과를 위해서는 동물 및 임상실험에 대한 자료의 보강이 필요하다.

4. 장내 세균수의 변화

레반과 이눌린의 영향으로 인한 장내미생물 수와 유산균의 증식 효과를 관찰한 결과를 Table 5에 나타내었다. 식이 섬유질의 종류에 따라 전체미생물 수가 가장 많이 증식한 것은 레반 식이군 (9.76 ± 0.11CFU/g wet feces) 이었으며, 다음은 이눌린 식이군 (9.57 ± 0.11CFU/g wet feces), 대조 식이군 (9.02 ± 0.11CFU/g wet feces)의 순이었다 (Table 5). 한편 유산균의 수도 레반 식이군 (9.14 ± 0.16 CFU/g wet feces), 이눌린 식이군 (8.98 ± 0.14 cfu/g wet feces), 대조 식이군 (8.34 ± 0.15CFU/g wet feces)의 순으로 레반 식이군에서 가장 높게 나타났다.

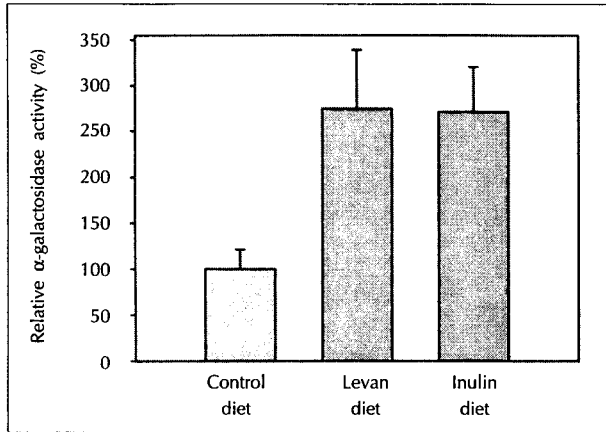


Fig. 1. Effect of fructan diets on cecal α-galactosidase activity in experimental animals. Relative enzyme activities were determined by dividing the cecal α-galactosidase activity of each diet by that of the control diet.

식으로 공급된 레반과 이눌린이 체내에서 이용되지 못하고 배출되는 양을 조사하기 위하여 분변에서의 함량을 분석한 결과 레반, 이눌린 또는 당이 존재하지 않았다. 따라서 레반과 이눌린이 장내에서 대부분 발효되는 것으로 판단된다.

5. 장내 β-galactosidase 활성측정

레반 식이와 이눌린 식이의 섭취에 따른 유산균의 일종인 비피더스균의 증식효과를 비교하기 위하여 α-galactosidase의 활성을 측정하였다 (Fig. 1). 대조군과 비교시, 레반과 이눌린 식이군에서 효소의 활성이 각각 3.8배, 3.4배 이상 높은 것으로 나타났다. 플라탄식이의 장내 α-galactosidase 효소활성 촉진효과는 이미 알려진 민 등^{29,30}의 결과로 미루어 보아 장내 비피더스균의 증식에 따른 결과로 사료된다. 민 등²⁹의 연구결과에 따르면, 실험에 사용된 13종의 유산균 중에서, 비피더스균인 4종에서 나타난 α-galactosidase 활성이 다른 9종의 유산균들보다 10~100배의 높은 활성을 나타냄을 보고하였다.

본 실험결과로부터 기대되는 레반의 생리적 기능에는 비피더스균의 증식으로 인한 박테리옌 생성, acetate 및 butyrate 등의 단쇄지방산의 생성에 의한 장내 pH의 저하와 이로 인한 대장균, 웰치균 등과 같은 병원성 세균의 증식 억제와 이들 병원성 세균에 의해 생성되는 암모니아, glucuronidase, amine, indole 등의 장관내 발암 인자 또는 노화촉진 인자의 생성 억제 등이 포함될 수 있다. 또한 담즙산의 재흡수력 저하, 비정상적인 지질대사 개선 효과 등도 제안된 바 있으며,³¹ 이외에도, 당뇨병 환자에서 혈당강하와 대장에서의 무기질 흡수촉진 등과 같은 효과도 예상된다. 레반이 소장에서 α-amylase나 α-glucosidase 등의 효소에 의해 분해되지 않고 소장에 머무는 시간을 증가시키며,

대장으로 서서히 이동하여서 당의 흡수를 지연시킴으로서 당뇨병 환자에서 혈당 개선효과가 나타나는 것으로 사료된다.^{29,30}

또한, 이눌린의 알려진 효능 중의 하나인 무기질 흡수촉진 효과 역시 레반을 섭취할 경우에도 나타날 수 있는데,³²⁻³⁴ 이눌린 섭취에 의한 칼슘 흡수수용체 발현실험에서,³³ 소장에서는 대조군에 비하여 칼슘 흡수수용체 발현이 높지 않았으나, 대장에서는 급격하게 상승함을 보였으며, 이는 장내 pH와 밀접한 관계가 있음을 시사한다. 즉, 이눌린에 의한 장내 무기질 흡수촉진 효과는 소장에서는 낮게 나타나지만, 장내 발효가 진행되는 cecum과 대장에서 유의적으로 상승하는 것으로 해석할 수 있다. Chonan 등³⁵에 의하면, 쥐에게 5% galactooligosaccharide 식이를 장내미생물 성장억제제인 항생물질 (neomycin sulfate)과 단독 또는 동시 섭취 시켰을 때, 올리고당을 단독으로 섭취한 그룹에서는 장내 pH 감소와 칼슘과 마그네슘의 흡수가 증가한 반면에, 올리고당과 neomycin sulfate를 동시에 섭취시킨 그룹에서는 장내 pH와 칼슘과 마그네슘의 흡수에 변화가 관찰되지 않았음을 보고하여, 식이 섬유질의 무기질 흡수 촉진 효과는 장내미생물 발효에 영향을 받는다는 것을 제시하였다. 본 실험에서는 레반 섭취에 따른 장내 pH 감소효과가 뛰어난 것을 보였으므로, 레반 섭취에 의한 무기질 및 기타 식이 성분의 흡수와 관련된 많은 연구가 요구된다.

요약 및 결론

흰쥐에게 레반 및 이눌린을 섭취시킨 후 장내에서의 발효에 따른 장내 pH, 단쇄지방산 함량, 장내 유산균 수, 장내 효소활성에 미치는 영향을 조사하여 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이효율, 장기의 무게에는 실험군간에 차이가 없었으나, cecum의 장관벽 및 장내용물의 중량에서는 레반 및 이눌린 식이군에서 유의적으로 높았다.
- 2) 장내 pH는 레반 및 이눌린 식이군에서 낮았으며, 이러한 장내 pH 감소효과는 레반 식이군에서 더욱 현저하게 나타났다.
- 3) 식이로 섭취한 레반 및 이눌린의 장내발효에 따라 생성된 장내 단쇄지방산의 함량은 대조군과 비교시에 현저하게 높은 값을 보였으며, 이러한 현상은 cecum 및 대장에서의 pH 감소와 관련이 있음을 보여주었다.
- 4) Cecum과 대장에서의 장관균 수와 유산균 수는 레반과 이눌린 식이군에서 대조 식이군에 비하여 유의적으로 높았다.

5) 장내 α -galactosidase의 활성은 레반 식이군과 이눌린 식이군에서 대조군에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다.

결론적으로, 식이 섬유질의 일종인 레반 및 이눌린은 장 내미생물에 의하여 발효되어 장 내용물의 증가를 유도하고, 장내 유산균 증식을 촉진하며, 비피더스균의 증식을 촉진하는 생리적 기능을 가지고 있는 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Mitsuoka T. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 1: 3-24, 1982
- 2) Mitsuoka T. Intestinal flora and aging. *Nutr Rev* 50: 438-446, 1992
- 3) Yazawa K, Tamura Z. Search for sugar sources for selective increase of Bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora* 1: 39-44, 1982
- 4) Hill MJ, Drasar B S, Aries V, Crowther J, Hawkesworth G, Williams REO. Bacteria and etiology of cancer of the large bowel. *Lancet* 1: 95-102, 1971
- 5) Kim DH, Han MJ. Inhibition of intestinal bacterial enzyme by lactic acid bacteria. *Yakhak Hoeji* 39: 169-174, 1995
- 6) Bogdanov IV, Velichkov VF, Gurvich AL. Antitumor action of glycopeptides from the wall of *Lactobacillus bulgaricus*. *Bull Exptl Biol Med* 84: 1750-1753, 1979
- 7) Topping D, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev* 81: 1031-1064, 2001
- 8) Loo JV, Cummings J, Delzenne N, Englyst H, Frank A, Hopkins M, Kok N, Macfalan G, Newton D, Quigley M, Roberfroid M, van Vliet T, van den Heuvel E. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *Br J Nutr* 81: 121-132, 1999
- 9) Okazaki M, Fujikawa S, Matsumoto N. Effect of xylooligosaccharide on the growth of Bifidobacteria. *Bifidobact Microflora* 9: 77-86, 1990
- 10) Hidaka H, Tashiro Y, Eida T. Proliferation of Bifidobacteria by oligo-saccharides and their useful effect on human health. *Bifidobact Microflora* 10: 65-79, 1991
- 11) Han YW. Microbial levan. *Adv Appl Microbiol* 35: 171-194, 1990
- 12) Roberfroid MB, Delzenne NM. Dietary fructans. *Annu Rev Nutr* 18: 117-143, 1998
- 13) Franck A, Leenheer L.De. *Biopolymers*. Vol. 6. Polysaccharides II. "Inulin". pp 439-480. volume editors: S. De Baets EJ. Vandamme A. Steinbuechel. Wiley-VCH Verlag GmbH. Germany, 2002
- 14) Rhee SK, Song KB, Kim CH, Park BS, Jang EK, Jang KH. *Biopolymers* Vol. 5. Polysaccharides I. "Levan". pp. 351-377. volume editors: S. De Baets EJ. Vandamme, A. Steinbuechel. Wiley-VCH Verlag GmbH. Germany, 2002
- 15) Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Hirayama M, Adachi T. Comparison of the nutritional effects of fructooligosaccharides of different sugar chain length in rats. *Nutr Res* 18: 109-120, 1998
- 16) Yamamoto Y, Takahashi Y, Kawano M, Iizuka M, matsumoto T, Saeki S, Yamaguchi H. In vitro digestibility and fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J Nutr Biochem* 10: 13-18, 1999
- 17) Kang SK, Park SJ, Lee JD, Lee TH. Physiological effects of levan-oligosaccharide on growth of intestinal microflora. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29: 35-40, 2000
- 18) Bello FD, Walter J, Hertel C, Hammes WP. In vitro study of probiotic properties of levan-type exopolysaccharides from *Lactobacilli* and non-digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis. *Syst Appl Microbiol* 24: 232-237, 2001
- 19) Marx SP, Winkler S, Hartmeier W. Metabolization of β -(2,6)-linked fructose- oligosaccharides by different Bifidobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 182: 163-169, 2000
- 20) Monsan P, Bozonnet S, Albenne C, Joucla G. Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int Dairy J* 11: 675-685, 2001
- 21) Mitsuoka TA. A color atlas of anaerobic bacteria. *Sobunsha, Tokyo* pp 52-65, 1980
- 22) Tochikura T, Sakai K, Fujiyoshi T, Tachiki T, Kumagai H. p-Nitrophenyl glycoside-hydrolyzing activity in Bifidobacteria and characterization of D- galactosidase of Bifidobacterium longum 401. *Agr Biol Chem* 50: 2279-2286, 1986
- 23) Jang KH, Song KB, Kim CH, Chung BH, Kang SA, Chun UH, Choue RW, Rhee SK. Comparison of characteristics of levan produced by different preparations of levansucrase from *Zymomonas mobilis*. *Biotechnol Lett* 23: 339-344, 2001
- 24) Hendry GAF, Wallace RK. Science and Technology of Fructans. The origin, distribution, and evolutionary significance of fructans. editors: M. Suzuki, NJ Chatterton. CRC Press. Boca Raton, 1993
- 25) Campbell JM, Fahey Jr. GC, Wolf BW. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J Nutr* 127: 130-136, 1997
- 26) Shimizu J, Kudoh K, Wada M, Takita T, Innami S, Maekawa A, Tadokoro T. Dietary curdlan suppresses dimethylhydrazine-induced aberrant crypt foci formation in Sprague-Dawley rat. *Nutr Res* 22: 867-877, 2002
- 27) Hosoya N, Dhorranintra B, Hidaka H. Utilisation of U-14C fructo-oligosaccharides in man as energy resources. *J Clin Biochem Nutr* 5: 67-74, 1998
- 28) Roberfroid M. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr* 33: 103-148, 1993
- 29) Min HK, Lee SK, Kang KH. Detection of Bifidobacteria by galactosidase activity. *J Kor Agric Chem Soc* 36(3): 191-196, 1993
- 30) Chevalier P, Roy D, Ward P. Detection of Bifidobacterium species by enzymatic methods. *J Appl Bacteriol* 68: 619-624, 1990
- 31) Kim MH, Kim HY, Kim WK, Kim JY, Kim SH. Effects of soy-oligosaccharides on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 34(1): 3-13, 2001
- 32) Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Takizawa T, Adachi T, Kimura S. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient anemic rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 42: 281-291, 1995
- 33) Ohta A, Motohashi Y, Ohtsuki M, Hirayama M, Adachi T, Sakuma K. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats. *J Nutr* 128: 934-939, 1998
- 34) Levrat MA, Rmsy C, Demign C. High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. *J Nutr* 121: 1730-1737, 1991
- 35) Chonan O, Takahashi R, Watanuki M. Role of activity of gastrointestinal microflora in absorption of calcium and magnesium in rats fed beta 1,4-linked galacto- oligosaccharides. *Biosci Biotechnol Biochem* 65(8): 1872-1875, 2001