

레반의 혈장지질 감소와 칼슘흡수율 증가 효과

노정란¹ · 박선영¹ · 김미경² · 조한영² · 이인영² · 이선영^{1*}

¹충남대학교 식품영양학과

²(주)더멋진바이오텍

The Effects of Levan on Blood Lipids and the Absorption of Calcium in Rats Fed a Low Calcium Diet

Jung Ran No¹, Sun Young Park¹, Mi Kyoung Kim², Han Young Jo²,
In Young Lee² and Sun Yung Ly^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²DMJ Biotechnology Research Institute, DMJ Biotech Corp., Chungnam 339-824, Korea

Abstract

Levan, the fructose polymer is an indigestible carbohydrate regularly consumed by humans. Its physiological functions, in terms of hypocholesterolemic effect and calcium metabolism, have not been well documented. The objective of this study was to investigate the effects of levan on blood lipids and the calcium absorption ratio in rats fed a 0.1% low calcium diet. Thirty rats were divided into three groups and fed a 0.1% low calcium diet (control) or low calcium diets containing either 2.5% levan or 5% levan for eight weeks. The blood lipid and biomarkers relevant to Ca metabolism (urinary Ca and hydroxyproline), the femoral weight and the Ca contents were determined. The body weight gains were lower in the 5% levan group than the control group. Plasma concentrations of triacylglycerol and LDL-cholesterol decreased in the 5% levan group, compared to the control group, but the atherogenic indice were not affected. Blood alkaline phosphatase activity, Ca and urinary hydroxyproline excretion levels were not different in the three groups. The net calcium absorption in rats fed a 5% levan diet was greater than rats fed the control diet, while the femoral weights and Ca contents were not significantly different in the three groups. We concluded that a 5% levan diet could both enhance the calcium absorption and improve the lipid profiles in rats fed a low calcium diet.

Key words: levan, blood lipid, calcium absorption, low calcium diet

서 론

레반은 고분자 fructan으로 1935년에 처음 발견되었으나 단순한 식품과 미생물의 구성분으로만 알려져 활용에 대한 연구가 거의 없었으며 1990년대에 접어들어 미생물 발효법을 이용하여 대량생산이 가능해진 후 식품소재로 대두되기 시작하였다(1,2). 레반은 난소화성 수용성 다당류로 유산균을 제외한 장내 미생물에서 분해효소가 거의 발견되지 않은 (3) 식이섬유소원으로 알려져 있다.

일반적으로 fructose polymers는 대장에서 미생물에 의하여 분해되어 맹장과 결장의 pH를 4~5.5 정도로 저하시키므로 대장에서 무기질 흡수에 좋은 환경을 조성하는 것으로 알려져 있다(4). Ohta 등(5)은 Ca-free diet를 섭취시킨 흰쥐의 위장과 맹장으로 각각 CaCO₃를 투여하였을 때 두 부위에서 동일한 정도로 칼슘이 흡수되었다고 하여 대장에서의 칼슘 흡수 가능성을 입증하였으나 함께 투여한 fructooligo-

saccharides(FOS)가 대장에서의 칼슘 흡수를 촉진하지는 않았다고 보고하였다. 또한 저분자량 fructan인 di-D-fructose-2,6'-6,2'-dianhydride(DFA IV)은 소장 말단에서 칼슘 흡수를 촉진하여 결보기 흡수율을 유의하게 증가시키는 것으로 보고되었고(6) 저분자인 FOS나 inulin의 2가 금속이온(철, 칼슘, 아연 등)의 흡수율 촉진기능도 보고되어 왔다(7-9). 그러나 고분자 fructan인 레반의 칼슘 흡수에 대한 효능은 아직 입증되지 않고 있으며 FOS와 비슷한 기전으로 대장 내에서 무기질 흡수를 증가시킬 것으로 예측되고 있을 뿐이다. 일반적으로 대장의 pH는 7.0정도임에 반하여, 레반 섭취에 따른 대장 내 산도는 5~5.5로 증가하여 무기질 흡수에 유리한 환경을 제공할 수 있는 것으로 설명되고 있다(4).

한편, 저분자 fructan인 inulin과 마찬가지로 고분자(ca. 2,000,000) 수용성 식이섬유인 레반도 혈중 지질 저하효과를 나타낼 것으로 기대하여 연구가 시작되었으나 현재까지 연구 결과가 많지 않고 또한 모든 결과가 일치하지 않고 있다.

*Corresponding author. E-mail: sunly@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6838, Fax: 82-42-821-8887

Cho 등은 레반의 혈중 콜레스테롤 저하 기능을 실험적으로 입증하지 못한 반면(10), Yukiko 등은 레반의 혈중 콜레스테롤 저하 효과를 입증하였다(11). Yukiko 등에 의하면 고분자 레반은 위산에 의하여 저분자(ca 4,000~6,000)로 분해된 후 대장에 이르지만 대장에서 유산균에 의한 발효가 거의 일어나지 않는다. 따라서 레반에 의한 혈중 지질 개선효과는 레반이 장에서 스테롤의 흡수를 방해하여 대변으로 끌고 나감으로서 오는 결과라고 설명되고 있다(11). 이와 같이 레반이 보이는 생리활성은 작용기전이나 효능 면에서 연구자들마다 다양하게 보고하고 있으며 FOS나 저분자 fructan 등과는 다른 면을 보이고 있으므로 이에 대한 더 많은 실험적인 결과가 요구되고 있다.

본 연구에서는 재조합 levansucrase를 이용하여 생산한 고분자 레반(분자량 6×10^6 dalton)의 일부 생리활성을 입증하고자 칼슘 제한식을 급여하는 흰쥐를 대상으로 레반 섭취가 칼슘 대사와 혈장지질 농도에 미치는 영향을 살펴보았다.

재료 및 방법

실험동물 사육 및 식이

4주령의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley rat) 30마리를 중앙 실험동물에서 구입하여 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$, 12시간 dark/light cycle 조건을 유지한 사육실에서 AIN-93M 분말 사료로 1주간 적응시켰다. 이후 평균 체중이 비슷하게 임의로 10마리씩 세 군으로 나누어 micro ventilation cage system과 대사 cage에서 개별 사육하였다. 세 군중 한 군을 대조군으로, 나머지 두 군을 실험군으로 하여 각각 0.1% 칼슘 제한식과 2.5% 혹은 5%의 레반을 첨가한 식이를 공급하고 3차 증류수를 무제한 급여하였다. 실험기간인 8주 동안 식이섭취량은 매일 1회, 체중은 1주일에 한 번 일정시간에 측정하였다. 대사 cage와 칼슘 측정에 필요한 모든 비초자 기구는 무기질 오염을 방지하기 위해 0.4% EDTA로 탈염하고 3차 증류수에 24시간 이상 담근 후 다시 3회 세척하여 사용하였다. 초자 기구는 10% 왕수(질산:염산=1:3)에 12시간 이상 담가 탈염하고 3차 증류수로 3회 이상 잘 세척하여 사용하였다. 0.1% 칼슘제한식은 AIN-93M을 기본으로 하여 Table 1과 같이 제조하였다. 사료 성분 중 무기질 급원은 칼슘과 인이 없는 무기질 혼합물(AIN-93M #213266 DYETS 사 USA)을 구입하여 사용하였으며 칼슘 급원으로는 인의 함량을 조정하기 위해 $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 와 CaCO_3 를 사용하였다. 칼슘 제한 식이 내 칼슘 함량은 0.1%였으며 인의 함량은 KH_2PO_4 를 사용하여 0.4%로 조정하였다. 식이 내 최대 식이섬유 함량은 초기 10% 수준으로 유지하려고 하였으나 예비실험 결과 레반을 7.5% 이상의 수준으로 급여한 쥐의 변이 너무 묽어 성장률에 영향을 줄 수 있는 상황이었으므로 최대 함량을 5%로 낮추었다. 식이 내 식이섬유 함량은 대조군에서는 cellulose 5%, 레반 투여군에서는 레반과 cellulose

Table 1. Composition of the experimental diet (% of diet)

Ingredient	Control	2.5% levan	5% levan
Casein	14.00	14.00	14.00
Corn starch	62.10	62.10	62.10
Sucrose	10.00	10.00	10.00
Soybean oil	4.00	4.00	4.00
Cellulose	5.00	2.50	-
Mineral mix ¹⁾ (Ca, P free)	3.50	3.50	3.50
Vitamin mix ²⁾	1.00	1.00	1.00
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25
L-cystine	0.18	0.18	0.18
TBHQ (antioxidant)	0.001	0.001	0.001
CaCO_3	0.25	0.25	0.25
KH_2PO_4	1.76	1.76	1.76
Levan	-	2.50	5.00
Energy (Cal/100 g) ³⁾	380.4 Cal/100 g diet		

¹⁾AIN-93M-MX Ca, P free composition (g/kg).

²⁾AIN-93M-VX.

³⁾Energy calculated on the basis of energy nutrients.

의 함이 5%가 되도록 조정하였다. 레반은 (주)리얼바이오텍 (RealBioTec Co. Ltd., Daejeon, Korea)에서 생산된 제품 (12)을 사용하였다.

시료수집 및 분석

실험동물을 희생시키기 3일전에 12시간 동안 절식시킨 후 ethyl ether로 가볍게 마취하여 헤파린 처리한 주사기를 이용하여 심장에서 부분적으로 채취한 혈장으로부터 triacylglycerol을 분석하였다. 실험 종료일에 장내환경에 영향을 주지 않기 위하여 절식시키지 않은 상태의 실험동물을 ethyl ether로 가볍게 마취하여 심장에서 채혈하였으며 4°C 에서 30분 방치 후 2,500 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈장을 취해 냉동 보관하였다가 총 콜레스테롤, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, alkaline phosphatase(ALP), calcium과 phosphorus 측정에 사용하였다. 심장 채혈 후 바로 회복하여 간을 취해 0°C 생리식염수로 혈액을 씻어 흡습지에서 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다. 신장 조직도 간 조직과 같은 방법으로 취하여 막과 지방을 제거한 후 좌, 우 각각 무게를 측정하였다. 맹장은 내용물을 포함한 전체 무게를 측정 후 내용물을 제거한 맹장벽 무게를 다시 측정하였다. 좌측 대퇴골(femur)을 적출하여 근육조직을 제거하고 무게를 측정하였다.

칼슘의 대사 실험

희생 1주일 전에 대사 cage에서 24시간 적응시킨 후 3일 동안 매일 일정시간에 대사 cage에 배설된 뇨와 변을 채취하였다. 뇨 채취시에는 왕수 처리 후 3차 증류수로 세척하여 탈무기질화할 수집용기에 항산화제인 toluene을 2방울 가한 후 24시간 동안의 뇨를 3일간 수집하였다. 칼슘의 외견적 흡수율(apparent absorption ratio) 및 보유량(retention)은 다음 공식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Retention} = \text{Intake} - (\text{Fecal excretion} + \text{Urinary excretion})$$

$$\text{Apparent absorption ratio (\%)} = \frac{(\text{Intake} - \text{Fecal excretion})}{\text{Intake}} \times 100$$

식이, 변, 뇨, 대퇴골의 칼슘정량

식이내 칼슘 함량을 측정하기 위하여 잘 마쇄한 혼합식이 3 g을 취하여 65% HNO₃(동우반도체, Korea) 5 mL와 30% H₂O₂(동우반도체, Korea) 1 mL를 가하여 microwave digestion system에서 회화하였다. 회화 처리된 시료를 냉각시킨 후에 적량 희석하여 Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometer(ICP-AES, Optima 3300DV, Perkin-Elmer Instruments, USA)에서 칼슘 함량을 측정하였다. 뇨의 칼슘 정량을 위하여 뇨 3 mL와 65% HNO₃(동우반도체, Korea) 5 mL, 30% H₂O₂(동우반도체, Korea) 1 mL를 혼합하여 hot plate에서 가열, 분해한 후 300배 희석하여 ICP 측정용으로 사용하였다. 변은 수거하여 동결 건조시킨 후 마쇄하고 이중 0.3 g을 취하여 식이와 같은 방법으로 회화하고 칼슘 함량을 측정하였다.

혈액 분석

혈장 중성지질(triacylglycerol), 총 콜레스테롤, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, ALP, Ca, P 농도는 각각 Stanbio Laboratory Inc.(TX, USA)의 kit 시약들을 사용하여 혈액 자동분석기(ARCO, Biotecnica, Italy)에서 측정하였다.

뇨 분석

뇨로 배설된 hydroxyproline 농도는 chloramine-T로 hydroxyproline을 산화시킨 후 Ehrlich's reagent를 첨가하여 파장 562 nm에서 비색정량하는 Koevoet의 방법(13)으로 정량하였다. 뇨의 creatinine 농도는 3일 동안 대사 cage에서 채취한 뇨에 대하여 Jaffé 법(14)을 이용하여 정량하였다. 매일 일정시간에 뇨를 받아 양을 잰 후 1/100으로 희석하고 이중 일부를 취하여 희석된 뇨 : picric acid : NaOH를 2:1:1의 비율로 혼합하여 15분간 방치한 후 500 nm에서 비색 정량하였다.

통계처리

실험결과는 SPSS/Windows 12.0을 이용하여 통계 처리하여 평균±표준편차로 표시하였다. 세 그룹간의 평균치의 차이에 대한 유의성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 이용하여 α=0.05 수준에서 검증하고 각 군 간의 차이는 Duncan's multiple range test를 이용하여 검증하였다.

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

Group ¹⁾	Body weight gain (g/8 weeks)	Food intake (g/day)	FER ²⁾
C	207.3±20.1 ³⁾⁴⁾	18.46±1.00 ^a	0.18±0.02
L-2.5	209.7±16.7 ^b	19.85±1.31 ^b	0.17±0.01
L-5	183.6±32.2 ^a	18.09±1.16 ^a	0.16±0.03
p-value	0.040	0.005	0.170 ^{NS}

¹⁾C, Control; L-2.5, 2.5% levan diet; L-5, 5% levan diet.

²⁾Food efficiency ratio=weight gain (g)/food intake (g).

³⁾Mean±SD.

⁴⁾Different superscripts indicate significant difference among groups by Duncan's multiple range test.

결 과

체중 증가 및 식이효율

레반 섭취군 중 2.5% 섭취군의 식이섭취량은 대조군에 비하여 다소 많았으나 체중 증가량과 식이효율은 대조군과 차이가 없었다(Table 2). 5% 레반식이를 섭취한 흰쥐들의 식이섭취량과 식이효율은 대조군에 비하여 차이를 보이지 않았으나 체중 증가량은 대조군의 88.6%로 유의적으로 감소하였다.

장기 및 맹장 내용물 무게

실험동물의 장기무게는 체중 100 g 당으로 산출하였다. 간의 무게는 세 군 간에 차이가 없었으나 신장의 무게는 대조군에 비하여 2.5% 레반군과 5% 레반군에서 유의적으로 증가하였다. 맹장 내용물의 양은 레반 섭취군에서 용량 의존적으로 증가하였으며 맹장벽의 무게는 5% 레반 섭취군에서 유의적으로 증가하였다(Table 3).

혈장 지질

레반 섭취군의 혈장 triacylglycerol과 LDL-cholesterol 농도는 대조군에 비하여 5% 레반 섭취군에서 유의적으로 감소하였으며, 2.5% 레반 섭취군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. Atherogenic index는 실험군간에 차이를 보이지 않았다(Table 4).

골격 대사

골격형성의 지표인 혈장 alkaline phosphatase(ALP)는 레반 5% 섭취군에서 증가하는 경향을 보여주었으나 통계적으로 유의한 수치는 아니었다. 혈장 칼슘 농도는 세 군 간에

Table 3. Weights of liver, kidney, cecum, cecal contents and cecal wall (g/100 g BW)

Group ¹⁾	Liver	Kidney	Cecum	Cecal contents	Cecum wall
C	3.71±0.38 ²⁾	0.51±0.02 ³⁾	0.56±0.23 ^a	0.048±0.013 ^a	0.13±0.05 ^a
L-2.5	3.90±0.47	0.55±0.04 ^b	1.02±0.39 ^a	0.093±0.007 ^b	0.20±0.08 ^{ab}
L-5	3.77±0.58	0.56±0.03 ^b	1.88±0.72 ^b	0.179±0.027 ^c	0.27±0.12 ^b
p-value	0.686 ^{NS}	0.007	0.000	0.000	0.008

¹⁾Refer to Table 2.

²⁾Mean±SD.

³⁾Different superscripts indicate significant difference among groups by Duncan's multiple range test.

Table 4. Concentration of plasma lipids and atherogenic index

Group ¹⁾	Triacylglycerol (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	HDL-cholesterol (mg/dL)	LDL-cholesterol (mg/dL)	AI ²⁾
C	154.9±54.0 ³⁾⁴⁾	88.7±19.7	75.5±16.8	25.5±9.0 ^b	0.18±0.09
L-2.5	150.0±34.6 ^b	90.9±11.1	80.6±9.9	21.8±3.6 ^{ab}	0.13±0.03
L-5	99.7±53.6 ^a	79.6±16.5	67.7±13.8	18.3±5.2 ^a	0.18±0.07
p-value	0.030	0.170 ^{NS}	0.130 ^{NS}	0.050	0.202 ^{NS}

¹⁾Refer to Table 2.²⁾AI: Atherogenic Index=(total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.³⁾Mean±SD.⁴⁾Different superscripts indicate significant difference among groups by Duncan's multiple range test.**Table 5. Plasma alkaline phosphatase activity and calcium level**

Group ¹⁾	ALP (U/L)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)
C	72.1±5.6 ²⁾	10.9±1.0	4.37±0.37 ^{a3)}
L-2.5	73.0±12.0	11.2±0.6	4.52±0.43 ^a
L-5	79.2±12.7	11.1±1.0	5.29±1.12 ^b
p-value	0.286 ^{NS}	0.747 ^{NS}	0.019

¹⁾Refer to Table 2.²⁾Mean±SD.³⁾Different superscripts indicate significant difference among groups by Duncan's multiple range test.

유의적인 차이를 보여주지는 않았으나 혈장 인의 농도는 5% 레반 섭취군에서 높았다(Table 5). Bone resorption의 지표인 소변 hydroxyproline(HP)은 1일 배설 총량과 실험동물의 간이나 체중, 근육량, 운동량 등의 차이에 따른 오차를 줄이기 위하여 크레아티닌치로 보정한 수치 모두 일관성 있는 변화를 보여주지 않았다(Table 6). 체중 100 g당 대퇴골의 무게 역시 유의적인 차이를 보여주지 않았다(Table 7).

Table 6. Urinary hydroxyproline (HP) excretion

Group ¹⁾	Urinary HP (µg/d)	Urinary creatinine (mg/d)	HP/creatinine (10 ⁻³)
C	383.6±90.5 ²⁾	5.15±0.52	75.4±21.9
L-2.5	356.3±56.1	5.59±0.78	64.9±14.6
L-5	399.3±43.5	5.45±0.69	74.7±14.9
p-value	0.372 ^{NS}	0.340 ^{NS}	0.363 ^{NS}

¹⁾Refer to Table 2.²⁾Mean±SD.**Table 7. Wet weights of femurs and femur/body weight ratio**

Group ¹⁾	Femur (g)	Femur (g)/100 g BW
C	1.07±0.12 ²⁾	0.23±0.02
L-2.5	1.05±0.08	0.22±0.01
L-5	1.10±0.12	0.24±0.03
p-value	0.526 ^{NS}	0.100 ^{NS}

¹⁾Refer to Table 2.²⁾Mean±SD.

실험 기간 중 3일 동안 매일 칼슘 섭취량, 변 중 Ca 배설량, 뇨 중 Ca 배설량을 측정하여 Ca의 결보기 흡수율(apparent asorption ratio)과 Ca 보유량(Ca retention)을 산출한 결과는 Table 8에 제시하였다. 1일 칼슘 섭취량에는 군 간에 차이가 없는 반면 변으로 배설된 칼슘량은 대조군에 비하여 5% 레반 섭취군에서 유의적으로 적었으므로 Ca의 결보기 흡수율은 대조군에 비하여 5% 레반 섭취군에서 유의적으로 높았다. 소변으로 배설된 Ca량은 5% 레반군에서 증가하는 경향을 보여주었으나 Ca retention은 세 군 간에 차이가 없었다. 2.5% 레반 섭취군에서는 골격대사와 관련한 지표들 간에 유의한 변화를 보이지 않았다.

고 찰

본 연구에서 사용한 레반은 (주)리얼바이오텍에서 생산한 것으로 이 제품의 일부 생리활성에 대한 연구가 진행되어 보고된 바 있다(3,15,16). 이들 연구 중 레반을 사료무게의 7%로 3주간 섭취하게 하였을 때(3)나 고지방 식이로 비만을

Table 8. Ca intake, excretion, retention and apparent absorption

Group ¹⁾	Ca intake (mg/d)	Urinary Ca excretion (mg/d)	Fecal Ca excretion (mg/d)	Ca retention ²⁾ (mg/d)	Apparent absorption ratio ³⁾ (%)
C	16.8±2.0 ⁴⁾	0.11±0.03	3.01±0.85 ⁵⁾	13.7±1.9	82.0±4.8 ^a
L-2.5	16.9±3.3	0.10±0.06	3.83±1.69 ^b	13.00±3.2	77.1±10.8 ^a
L-5	15.4±2.5	0.21±0.25	0.78±0.51 ^a	14.4±2.5	94.9±3.5 ^b
p-value	0.363 ^{NS}	0.202 ^{NS}	0.000	0.493 ^{NS}	0.000

¹⁾Refer to Table 2.²⁾Retention (mg)=Intake (mg)-[Fecal excretion (mg)+Urinary excretion (mg)].³⁾Apparent absorption ratio (%)=[Intake (mg)-Fecal excretion (mg)/Intake (mg)]×100.⁴⁾Mean±SD.⁵⁾Different superscripts indicate significant difference among groups by Duncan's multiple range test.

유도한 후 식이무게의 3~5% 수준으로 6주간 레반을 섭취시켰을 때 증체량에 유의적인 차이가 보이지 않았으며(15) 분자량이 더 큰 레반을 사용하여 식이무게의 5% 수준으로 4주간 섭취시켰을 때에도 체중에 유의적인 변화가 없는 것으로 보고되어(11) 일반적으로 다이어트 효과가 있는 것으로 알려진 레반의 효능이 쉽게 입증되고 있지 않다. 특히 이 중 한 연구에서 레반을 섭취하게 함으로서 지방세포의 크기가 작아지고 insulin이나 leptin의 혈중 농도가 낮아지며 식이무게의 3% 이상에서 UCP 발현 등의 분석치에서 유의한 결과를 얻었음에도 불구하고 최종 체중의 차이를 보지 못하고 있음(15)은 레반 섭취 기간이 너무 짧았거나 실험군 당 개체 수가 너무 적었던 데 기인한다고 볼 수 있다. 따라서 본 연구에서는 8주까지 실험 기간을 늘려 체중을 측정하였으며 2.5% 레반 식이에서는 유의한 체중감량 효과를 볼 수 없었으나 5% 레반 섭취군에서는 8주간의 증체량이 유의적으로 적어 적절한 기간 동안 레반을 섭취할 경우 유의한 감량 효과를 얻을 수 있음을 입증하였다. 연구방법에서 밝혔듯이 레반 섭취량 7.5% 이상에서는 실사가 계속되어 성장기에 있는 쥐들의 체중이 정상적으로 증가하지 못하였으므로 본 연구에서는 레반의 최대 섭취량을 5%로 결정하였다. 기능성 식이성분의 유효한 효과는 부작용이 없는 한도에서 이루어진 시험 결과를 기준으로 결정되어야 하므로 흰쥐를 대상으로 사료무게 5% 이상의 레반 투여 실험은 큰 의의가 없을 것으로 보인다. 그러나 본 연구에서 레반의 체중 감소 효과는 흰쥐 대상의 연구결과이므로 인체에 적용하여 부작용 없이 체중감량 효과를 얻기 위해서는 새로이 섭취량과 섭취 기간에 대한 충분한 기반 연구가 필요할 것이다.

동물실험 결과를 인체에 적용하기 위하여 사료의 적정 섭취량을 산출할 경우 동물의 단위 체중 당 섭취량이나 단위 열량당 함량을 기준으로 하는 두 가지 방법이 가능하다. 단위 체중 당 섭취량에 근거하여 본 연구에서 사용한 레반 양을 인체에 적용하기 위하여 환산하면 남성(체중 기준치 63.6 kg(17)) 318 g/day, 여성(체중 기준치 54.2 kg(17)) 271 g/day로 1일 섭취하는 식이섬유 양으로는 과도한 양이 산출된다. 그러나 단위 열량당 함량을 기준으로 하여 산출하면 1,000 Cal 당 11.9 g 정도의 수준이 되므로 2005년 발표된 KDRI(18)의 식이섬유 충분섭취량(AI; Adequate Intake)인 12 g/1,000 Cal와 비슷하여 1일 섭취 가능한 양이 된다. 따라서 본 연구 결과는 인체에 적용가능할 것으로 사료된다.

수용성 식이섬유가 다양한 기전으로 혈당지질의 감소에 효과가 있음은 여러 연구자들에 의하여 보고되었다. 그러나 분자량이 작은 FOS나 inulin의 혈당지질 감소 효과는 반복된 연구들을 통하여 입증되어 있는 반면 분자량이 큰 레반의 혈당지질 저하효과는 쉽게 입증되고 있지 않다. 또한 그동안 보고된 연구결과 중 Cho 등(10)은 *Bacillus natto* 균에 의하여 생산된 레반이 혈청 콜레스테롤을 저하효과를 보이지 않는다고 하였고, Yukiko 등(11)은 흰쥐에 1~5% 수준의

레반 함유 식이를 4주간 섭취시켰을 때 용량 의존적으로 혈청 콜레스테롤 수치가 저하됨을 보고하여 연구결과들이 서로 일치하지 않고 있다. 후자의 연구결과에서는 레반이 혈청 콜레스테롤 농도는 감소시켰으나 혈청 triacylglycerol의 농도에는 변화가 없다고 하였다. 본 연구에서는 8주 동안 5%의 레반 함유 식이를 섭취시켰을 때 LDL-cholesterol, triacylglycerol 모두 유의적으로 낮아져 레반의 혈당지질 저하 효과를 확인할 수 있었다. Yukiko 등(11)은 레반의 혈청 콜레스테롤 저하효과는 다른 수용성 식이섬유의 스테롤 흡착성질과 이로 인한 변 배설량의 증가 때문이라고 보고하고 있다. 본 연구에서 변의 지질 배설량을 측정하지는 않았으나 triacylglycerol과 LDL-cholesterol의 농도가 함께 저하된 것으로 보아 변 배설량의 증가도 고려해야 하며 또한 맹장의 내용물이 증가한 것으로 보아 장내세균에 의한 발효 산물의 효과를 완전히 배제하기는 어렵다. 따라서 후속 연구에서는 두 가지 기전의 비중을 파악하고 장내세균의 생육에 미치는 레반의 효과를 규명할 필요가 있다.

식이섬유 중 특히 수용성 식이섬유의 맹장 내용물 증량 효과는 여러 차례 보고된 바 있으며 이는 대장 미생물의 생육 조건을 호전시킨 결과로 볼 수 있다. 흰쥐에 레반을 7~10% 수준으로 섭취시킨 연구들(3,4,15)에서도 pH 감소, 단쇄지방산 생산량 증가, lactic acid-producing bacteria의 생육 촉진 등의 효과가 관찰되어 레반이 장내 환경에 미치는 영향을 어느 정도 입증하고 있다. 그러나 레반 섭취량의 7% 이상은 일상 식사를 하면서 보충(supplement) 수준으로 섭취하는 양을 능가하며, 동물 실험에서와 같이 소화기능에 문제를 일으킬 수 있다. Fructooligosaccharide(FOS)는 시중에서 대체 감미료로 아무런 경고문구 없이 판매되고 있지만 1일 8 g 정도의 비교적 낮은 섭취량에서도 인체에 복부 팽만감, flatulence 등의 부작용을 일으켜 계속 섭취하기 어려웠음이 보고되고 있다(19). 이러한 부작용은 동물 실험(20)에서는 감지하기 어려운 현상이다. 식이섬유가 인체의 장에서 부작용을 일으키는 정도는 장내 소화율과 역비례하며(19) 같은 소재라 하더라도 분자량이나 분자형태에 따라서 차이가 있을 수 있다(3,6,9). 따라서 난소화성 식이섬유는 인체에서 효능을 보이는 최소 섭취량을 결정하는 것이 현실적인 문제로 남아있으며 부작용을 최소화하기 위해서는 저농도의 레반 섭취에 따른 생리적 효과에 대한 연구가 지속적으로 필요하다. 또한 레반의 장내용물 증량 효과가 장내 세균의 증식으로 인한 결과인지와 어떠한 균의 증식으로 인하여 비롯되는지를 규명할 필요가 있다.

본 연구에서는 0.1% 칼슘제한식이와 함께 레반을 투여하면서 bone formation과 bone resorption의 간접적인 bio-marker로 혈중 ALP와 노 중 hydroxyproline, 그리고 혈액과 대퇴골의 Ca 농도를 살펴보았으나 레반 섭취에 따른 유의한 차이를 볼 수 없어 최종적으로 골 대사에 영향을 주었는지를 확인할 수 없었다. 다만 5% 레반 섭취군에서 변으로 배설되

는 Ca량이 감소되어 Ca apparent absorption ratio를 유의적으로 증가시켰으므로 체내 칼슘 대사 개선의 가능성을 보여 주었다. 그러므로 보다 장기간의 중재연구와 골밀도 측정 등의 직접적인 방법을 도입하여 연구를 진행할 필요가 있으며 또한 칼슘 흡수율의 증가 기전에 대한 연구가 필요하다고 할 수 있다. 수용성 식이섬유는 장내 유산균의 생육을 촉진하여 단쇄지방산의 생성을 유도함으로써 장내 환경을 산성으로 유도하고 이에 따라 양이온들의 흡수를 돕는 것으로 알려져 왔다(5,6,9,21). FOS의 양이온 흡수 촉진 효과는 여러 논문을 통하여 발표된 바 있으나 고분자 레반의 효능은 아직 확실치 입증되고 있지 않다. 몇몇 연구자들은 레반에 비하여 저분자량인 FOS나 inulin, guar gum hydrolysate 등이 칼슘을 비롯한 양이온들의 흡수율을 증가시키고 골질량도 증가시킬 수 있다고 보고하였으며(22,23) 레반으로부터 얻어진 저분자량 fructan 유도체인 Di-D-fruc-tose-2,6':6,2'-dianhydride(DFA IV)도 Ca의 흡수율을 증가시켰다는 결과를 발표하였다(6). 이 때 칼슘 흡수는 소장 말단에서 완료되었다고 보고하였으나 그 이전에 이미 Ohta 등은 CaCO₃를 위장과 대장으로 투여하여 각각의 흡수정도를 관찰하고 양쪽 모두에서 동일한 정도로 Ca이 흡수됨을 보고하여(5) 만일 대장에서 유리되는 칼슘이 존재한다면 흡수될 수도 있다는 가능성을 제시하였다. 이후 실제로 Ohta 등(24)은 FOS가 용량 의존적으로 대장에서 calcium binding protein인 calbindin-D9k(CaBP)의 발현을 증가시키며 이는 칼슘 흡수율과 비례관계에 있음을 보고하였다.

레반은 이상과 같이 체중감량 효과 외에 맹장 내용물의 증가, 혈장 콜레스테롤, 그 중에서도 특히 LDL-cholesterol과 triacylglycerol의 감소, 변 중 칼슘 배설량 감소와 흡수율 증가 등의 유익한 효능을 가지고 있음을 확인하였으므로 인체 적용 시 소화기능에 미치는 부작용 문제를 최소화하면서 최대의 효과를 얻을 수 있는 섭취량을 결정하게 된다면 매우 유용한 기능성식품 소재로 사용될 수 있을 것으로 보인다.

요 약

본 연구에서는 레반의 경구 투여가 혈중 지질 및 체내 칼슘대사에 미치는 영향을 검토하고자 0.1% 칼슘제한식을 섭취하는 흰쥐를 대상으로 각각 식이무게의 2.5%와 5% 수준의 레반을 8주간 투여하면서 대사실험을 수행하였으며 그 결과는 다음과 같다. 체중 증가량은 대조군(C)에 비하여 5% 레반을 섭취한 군에서 감소하였으며 신장의 무게는 대조군에 비하여 레반 섭취군에서 유의적으로 높았으나 간무게는 차이가 없었다. 레반의 섭취는 맹장 내용물을 유의적으로 증가시켰으며 5% 레반 섭취시 맹장조직의 무게가 유의적으로 증가하였다. 혈장 triacylglycerol과 LDL-cholesterol은 대조군에 비하여 5% 레반 섭취군에서 유의적으로 감소하였으나 AI에는 차이가 없었다. 혈장 alkaline phosphatase

(ALP)와 뇨중 hydroxyproline(HP) 배설량, 혈장 칼슘 농도, 체중에 대한 대퇴골 무게 비는 레반 섭취로 변화되지 않았다. 그러나 5% 레반 섭취군의 변 중 칼슘 배설량은 대조군에 비하여 유의적으로 적었으며 칼슘 흡수율은 높았다. 레반 섭취군의 뇨 칼슘 배설량과 칼슘 보유량(Ca retention)은 대조군과 차이가 없었다. 본 연구의 결과로 보아 수용성 식이 섬유인 레반은 혈장 지질 개선효과와 칼슘 흡수율 증가 등의 유익한 생리적 특성을 보이므로 다이어트와 정장 기능성 소재로 뿐만 아니라 심순환계 질환의 예방과 골 대사 개선용 기능성식품 소재로의 활용도 가능할 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 2005~2006년도 대덕밸리바이오산업인력양성 사업단(NURI 사업단)의 산업체요구과제공동연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Han YM. 1990. Microbial levan. *Adv Appl Microbiol* 35: 171-194.
- Song KB, Belghith H, Rhee SK. 1996. Production of levan, a fructose polymer, using an overexpressed recombinant levansucrase. *Ann NY Acad Sci* 799: 601-607.
- Jang KH, Kang SA, Cho Y, Kim YY, Lee YJ, Hong K, Jang EK, Kim CH, Choue R. 2002. The effects of levan and inulin on the growth of lactic acid-producing bacteria and in rats. *Korean J Nutrition* 35: 912-918.
- Jang KH, Kang SA, Cho Y, Kim YY, Lee YJ, Hong K, Seong KH, Kim SH, Kim CH, Rhee S, Ha S, Choue R. 2003. Prebiotic properties of levan in rats. *J Microbiol Biotechnol* 13: 348-353.
- Ohta A, Baba S, Ohtsuki M, Takizawa T, Adachi T, Hara H. 1997. In vivo absorption of calcium carbonate and magnesium oxide from the large intestine in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 43: 35-46.
- Saito K, Hira T, Suzuki T, Hara H, Yokota A, Tomita F. 1999. Effects of DFA IV in rats: calcium absorption and metabolism of DFA IV by intestinal microorganisms. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 655-661.
- Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Hirayama M, Adachi T. 1998. Comparison of the nutritional effects of fructooligosaccharides of different sugar chain length in rats. *Nutr Res* 18: 109-120.
- Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Takizawa T, Adachi T, Kimura S. 1995. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient anemic rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 42: 281-291.
- Kim YY, Jang KH, Kang SA, Cho Y, Kim JS, Kim CH, Choue R. 2004. Effects of types of levan with or without phytic acid on intestinal environment and mineral absorption in rats. *Food Sci Biotechnol* 13: 450-454.
- Cho S, Fujii H, Shiraiishi A. 1985. Effect of polysaccharide produced by *Bacillus natto* or alcohol extract of yeast on the lipid metabolism of rats. *Fukuoka Joshi Daigaku Kaseigakubu Kiyo* 16: 65-69.
- Yukiko Y, Yuko T, Mitsuyoshi K, Masaru I, Takashi M, Shigeru S, Hidemasa Y. 1999. In vitro digestibility and

- fermentability of levan and its hypocholesterolemic effects in rats. *J Nutr Biochem* 19: 13-18.
12. Rhee S, Kim CH, Choue R, Kang SA, Chang KH, Hong K. 2004. Process of levan production using novel levan-sucrase. *Korean Patent* 0420313.
 13. Varley H. 1967. *Practical clinical chemistry*. Interscience Publishers Inc., New York. p 197.
 14. Henry R, Cannon DC, Winkelman JW. 1974. *Clinical chemistry: principles and technics*. Harper & Row, Hagerstown. p 543.
 15. Kang SA, Hong K, Kim SH, Jang KH, Kim CH, Choue R. 2002. Effects of dietary levan on adiposity, serum leptin and UCP expression in obese rats fed high fat diet. *Korean J Nutrition* 35: 903-911.
 16. Kang SA, Hong K, Jang KH, Kim SH, Jang EK, Kim CH, Choue R. 2002. Effects of low level of levan feeding on serum lipids, adiposity and UCP expression in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 788-795.
 17. The Korean Nutrition Society. 2005. *Dietary reference intakes for Koreans*. The Korean Nutrition Society, Seoul. p 12.
 18. The Korean Nutrition Society. 2005. *Dietary reference intakes for Koreans*. The Korean Nutrition Society, Seoul. p 61-64.
 19. Lee MR, Lee KA, Ly SY. 2003. Improving effects of fructooligosaccharide and isomaltooligosaccharide in sponge cakes on the constipation of female college students. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 621-626.
 20. Ly SY, Cho JW, Lee KA. 2003. Effects of fructooligosaccharide and fructooligosaccharide containing sponge cake on blood lipids, intestinal function and short chain fatty acid production in rats. *Korean J Nutrition* 36: 344-351.
 21. Ohta A, Ohtsuki M, Hosono A, Adachi T, Hara H, Sakata T. 1998. Dietary fructooligosaccharides prevent osteopenia after gastrectomy in rats. *J Nutr* 128: 106-110.
 22. Hara H, Nagata M, Ohta A, Kassai T. 1996. Increases in calcium absorption with ingestion of soluble dietary fiber, guar gum hydrolysate, depend on the calcium in partial nephrectomized and normal rats. *Brit J Nutr* 76: 773-784.
 23. Roberfroid MB, Van LJ, Gilson GR. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 128: 11-19.
 24. Ohta A, Motohashi Y, Ohtsuki M, Hirayama M, Adachi T, Sakuma K. 1998. 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.

(2006년 11월 1일 접수; 2007년 1월 3일 채택)