

## Bifidobacteria가 이용한 쑥의 올리고당 분석

이선화\* · 신현경

한림대학교 식품영양학과, \*고려대학교 식품공학과

### Analysis of Mugwort Oligosaccharides Utilized by Bifidobacteria

Seon Hwa Lee\* and Hyun Kyung Shin

Department of Food Science and Nutrition, Hallym University

\*Department of Food Technology, Korea University

#### Abstract

The water extract of mugwort was analyzed to see its growth-promoting activity for bifidobacteria and lactobacilli. The growth of bifidobacteria appeared to be enhanced by carbon source in the water extract of mugwort. *Bifidobacterium longum* seemed to utilize preferentially monosaccharides and oligosaccharides with 2-5 DP (degree of polymerization). The mugwort oligosaccharides were separated by charcoal-celite column chromatography and purified by Bio-gel P<sub>2</sub> column chromatography. HPLC chromatograms of the hydrolyzates of oligosaccharides showed that they were mainly composed of galactose and glucose.

Key words: mugwort, bifidobacteria, oligosaccharide, galactose

## 서 론

유산균 발효 유제품들은 구미 여러나라에서 오래전부터 섭취되어 왔으며, 이들 발효 유제품의 섭취와 사람의 건강장수가 밀접한 관계가 있다는 연구보고들이 많이 발표되면서 이들 제품들의 유용성에 대해 관심이 집중되기 시작하였다.

한편 혐기성 미생물의 배양기술이 향상되고 무균동물의 사육이 성공함에 따라 장내 미생물 군총의 구성과 이들 미생물이 숙주에 미치는 영향에 대해 하나씩 밝혀지기 시작하였다. 최근에 와서는 대표적 유용균인 비피더스를 숙주의 장내에 증식시키려는 노력이 집중적으로 이루어져 왔는데, 이러한 방법의 일환으로 비피더스균이 첨가된 낙농제품과 기타 비피더스균이 함유된 식품들이 국내외적으로 증가하게 되었다<sup>(1)</sup>. 그러나 비피더스균은 산소에 극히 민감하고 산성에 약해 이러한 제품들의 유통과정에서 그 생존수가 크게 감소하고 숙주의 장내에 정착하는 것이 용이하지 않아 그 유효성에 의문이 대두되고 있다. 따라서 비피더스균을 섭취하는 것 이외에 장내에 상재하고 있

는 비피더스균의 성장을 촉진시키는 인자를 섭취하는 방향으로 많은 노력이 기울어지고 있다. 초기의 비피더스 성장촉진 인자로는 모유와 우유에서 발견된 N-acetylglucosamine과 lactulose 그리고 여러 당단백질 및 pantotheine이 보고되었다<sup>(2)</sup>. 그 이후에는 난소화성 올리고당류들, 즉 fructooligo 당류, galactooligo 당류, maltooligo 당류 및 inulooligo 당류 등에 대해서 많은 연구가 이루어지고 있다<sup>(3)</sup>.

본연구자들도 *in vitro* 평가실험으로 산채류 및 산야초 중에서 쑥을 유익균을 증식시키는 소재의 하나로 선발하였으며<sup>(4)</sup>, 쑥을 분배계수의 차이에 따라 순차적으로 분획 추출하여 장내 여러 표준 균주들에 대해 검색한 결과, 쑥의 물분획에서 bifidobacteria 와 lactobacilli가 선택적으로 촉진되었다<sup>(5)</sup>. 본실험에 사용한 쑥(*Artemisia asiatica*)은 우리나라에서 자생하고 있는 대표적인 야생종이며, 우리나라를 비롯하여 아시아 여러지역과 유럽 등에 분포되어 있는 다년생 초본으로 현재 약리작용과 이름이 밝혀진 종류만 17종에 이르고 있다<sup>(7)</sup>. 한편 쑥이 식품소재로 이용되기 위해서는 쑥의 일반성분<sup>(8,9)</sup> 및 아미노산 조성<sup>(10)</sup>이외에 쑥의 유효성분들에 대한 다양한 분석이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

본 연구는 쑥에서 비피더스균의 생육을 촉진시키는

Corresponding author: Hyun Kyung Shin, Department of Food Science and Nutrition, Hallym University, 1 Okhondong, Chunchon, Kangwon-do 200-702, Korea

올리고당류를 분리하였고, 그 올리고당의 구성당 조성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 썩의 물분획과 물추출물 제조

전보<sup>(6)</sup>와 동일한 식용썩을 사용하여 동일한 방법으로 썩의 물분획과 물추출물을 제조하였다.

#### 썩의 물분획중 Bifidobacteria 생육 촉진성분 조사

썩의 물분획이 bifidobacteria 또는 lactobacilli와 같은 유익균에 대해 생육촉진효과를 나타내어<sup>(6)</sup>, Ahn 등<sup>(11)</sup>의 방법에 따라 물분획에서 bifidobacteria의 생육촉진인자를 검색하였다. 썩의 물분획중 탄소원 생육촉진인자의 검색은 PYF (peptone yeast extract fildes solution)배지<sup>(12)</sup>를 사용하였고, 비탄소원의 생육촉진인자의 검색은 György배지<sup>(13)</sup>를 사용하였다. *Bifidobacterium* sp.의 생육촉진활성 정도는 37°C에서 48시간 동안 혐기적으로 배양<sup>(14)</sup>한 후, pH 강하정도를 측정하여 썩의 분획물이나 당이 첨가되지 않은 대조구와 비교, 조사하였다.

썩의 물분획중 총당은 glucose를 표준으로 한 an-throne법으로, 환원당은 glucose를 표준으로 한 DNS 법으로 정량하였다<sup>(14)</sup>.

#### 썩의 물추출물중 Bifidobacteria의 당이용성 조사

Bifidobacteria의 당이용성 조사는 PYF 배지에 썩의 물추출물을 0.5%(w/v) 첨가하여 80°C에서 10분간 열처리한 후 *B. longum*을 접종하여 37°C에서 혐기적으로 배양하면서, 배양 0, 6, 12, 36시간대의 배양상징액을 채취하였다. 이 배양상징액을 Dowex 50H<sup>+</sup>와 Amberlite MB1 이온수지를 통과시킨 후, thin layer chromatography (TLC)상에서 *B. longum*이 이용한 가용성당을 조사하였다. 시료를 점적한 silica gel 60 plate (Merck Co., Darmstadt, Germany)는 1-propanol : ethyl acetate : H<sub>2</sub>O (2 : 2 : 1, v/v/v)의 용매 조성하에서 전개시켰다. 전개후에 TLC판을 말려 urea-metaphosphoric acid 용액을 분사하고 110°C oven에서 5분간 방치하여 발색시켰다<sup>(15)</sup>.

#### 썩의 물추출물중 당의 분리

썩의 물추출물에서 bifidobacteria가 이용한 당을 분리하기 위해, charcoal-celite column chromatography와 Bio-gel P<sub>2</sub> column chromatography를 실시하였다. Charcoal-celite column (3×40 cm)은 charcoal (Wako Co. Ltd., Osaka, Japan)과 celite 545 (Yakuri Co. Ltd.,

Osaka, Japan)를 각각 1 : 1의 비율로 혼합하여 만들었다. 이 column에 썩의 가용성 당용액 10 ml (100 mg/ml)을 주입한 후 0~30% ethanol gradient로 0.6 ml/min로 용출하여 6 ml/tube로 분획하였으며<sup>(16)</sup>, 각 분획은 위와 동일한 방법으로 TLC와 총당을 측정하여 분석하였다.

Charcoal-celite column chromatography에서 10% ethanol fraction을 모아서 Nagamatsu 등의 방법<sup>(17)</sup>에 따라 Bio-gel P<sub>2</sub> column chromatography를 행하였다. 즉, 65°C로 유지한 Bio-gel P<sub>2</sub> (Bio-rad Lab., 200-400 mesh) column (210×1.2 cm)에 썩의 가용성 당용액 1 ml (100 mg/ml)를 주입한 후 0.1 ml/min로 용출하여 1 ml/tube로 분획한 다음 총당을 정량하였으며 위와 동일한 방법에 의하여 TLC로 당의 조성을 분석하였다.

#### 썩의 물추출물중 당조성 분석

구성당 조성은 high performance liquid chromatography (HPLC)로 분석하였다. HPLC에 의해 구성당의 조성을 분석하기 위해 시료 약 5 mg에 2 M TFA (Trifluoroacetic acid) 2 ml를 가하여 121°C에서 50분간 가수분해하였다. 이를 냉각한 후 40°C에서 N<sub>2</sub> gas를 불어 넣어 완전히 건조시켰다. 건조된 시료를 HPLC용 중류수로 녹인 후 0.45 µm membrane filter 로 여과하여 Sugar-pak<sup>™</sup> I (300 mm×6.5 mm) column으로 분석하였다. 용매는 3차 deionized water를 사용하였으며 유속은 분당 0.5 ml로 하고 90°C 조건하에서 실시하였다. Detector는 RI를 사용하였다.

시료 가수분해액중 구성당의 확인은 glucose, galactose와 fructose의 표준용액의 크로마토그램과 retention time을 비교하여 확인하였으며, 함량은 glucose, galactose 및 fructose의 peak 면적으로 부터 계산하였다.

### 결과 및 고찰

#### 썩의 물분획과 물추출물중 Bifidobacteria 생육촉진 성분

썩의 물분획에서 bifidobacteria의 생육촉진 활성성분을 조사하기 위하여 PYF 배지와 György 배지에 썩의 물분획을 첨가하고 4종의 *Bifidobacterium*를 접종하여 배양액의 pH 강하정도를 대조구와 비교하여 생육촉진 활성정도를 조사하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 탄소원의 생육촉진인자를 검색하는 PYF배지에서는 썩의 물분획이 첨가되지 않은 대조구에서 4종의 *Bifidobacterium*이 전혀 생육하지 못하였다. 그러나 썩의 물분획 첨가구에서는 *B. bifidum*을 제외하고는 *B. a-*

**Table 1. Growth response of bifidobacteria to the water soluble fraction from mugwort's methanol extract in the PYF and György broth**

Strain	PYF		Gyorgy	
	Control	Mugwort	Control	Mugwort
<i>B. adolescentis</i>	-	++	++	++
<i>B. bifidum</i>	-	+	-	-
<i>B. infantis</i>	-	++	+	++
<i>B. longum</i>	-	++	++	++

Judgement of bacterial growth was determined as final pH after 48 hours of incubation  
 The mugwort's extract concentrations in the PYF and György broth were 0.5% (w/v)  
 - : no effect, pH 6.0-7.0  
 + : moderate, pH 5.1-5.5  
 ++ : strong, pH 4.5-5.0

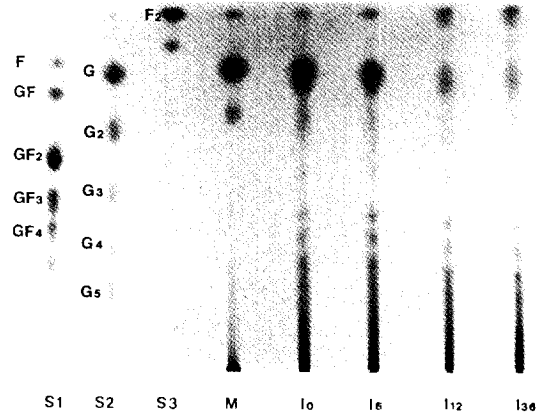
*adolescentis*, *B. infantis*, *B. longum*의 생육이 강하게 촉진되어 배양액의 pH가 4.5-5.0으로 현저히 저하되었는 바, 이는 생육촉진 물질이 탄소원일 가능성을 크게 시사해 주고 있다. 비탄소원 생육촉진인자를 검색할 수 있는 György 배지에서는 *Bifidobacterium* sp.의 생육이 대조구와 썩의 물분획 첨가구에서 거의 비슷하게 나타났다. 한편 *B. bifidum*은 대조구와 썩의 물분획 첨가구 모두에서 생육하지 못하였는데, 이는 György 배지에는 *B. bifidum*의 생육에 필수인자인 Coenzyme A의 구성성분인 pantothenic acid<sup>(13)</sup>가 없기 때문이다. 이러한 결과로부터 썩의 물분획중 비탄소원의 성분은 bifidobacteria의 생육촉진에 크게 기여하지 못하는 것으로 생각되었다. 따라서 썩의 물분획중 *Bifidobacterium* sp.의 주요 생육촉진 활성성분은 탄소원일 것으로 추정하였다.

썩의 물분획중 탄소원이 *Bifidobacterium* sp.의 주요 생육촉진 활성인자로 밝혀져, 썩의 물분획에 함유되어 있는 총당과 환원당 및 단백질의 함량을 조사하였다. 썩의 물분획에는 총당이 17.3%였고 환원당이 12.1% 함유되어 있어 환원당이 전체당중 약 70%를 차지하고 있음을 알 수 있었다. 또한 썩의 물분획에는 단백질도 3.1% 함유되어 있었다(Table 2). 식용썩에 대한 일반성분을 조사한 보고에 의하면, 당질이 5.2%, 조단백이 3.8%, 조지방은 0.8%이며 조섬유는 2.5% 함유되어 있었으며<sup>(18)</sup>, 아미노산 조성은 필수 아미노산인 threonine, valine, phenylalanine, leucine을 포함하여 14종의 유리 아미노산이 함유되어 있어 비교적 아미노산의 분포가 다양한 것으로 보고되어 있다<sup>(19)</sup>.

썩의 가용성 당류중에서 bifidobacteria가 이용하는 당을 조사하기 위해, PYF 배지에 썩의 물추출물을 첨가하고 *B. longum*을 접종하여 배양시간별로 상징액을

**Table 2. Sugar and protein content in the water soluble fraction of the methal extract of mugwort (unit: %, dry basis)**

Total sugar	Reducing sugar	Protein
17.3	12.1	3.1



**Fig. 1. Thin layer chromatogram of sugars in the PYF broth, to which the water extract of mugwort was added and then incubated with *B. longum*** TLC was conducted on a silica gel with 1-propanol-ethyl acetate-H<sub>2</sub>O (2 : 2 : 1, v/v/v); Sugar spots were detected by urea-metaphosphoric acid method; S1-Standard (F, GF, GF<sub>2</sub>, GF<sub>3</sub>, GF<sub>4</sub>); S2-Standard (G, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>); S3-Standard (DFA (di-D-fructofuranose-dianhydrides); M-mugwort; I-Incubation time (I<sub>0</sub>, I<sub>6</sub>, I<sub>12</sub> and I<sub>36</sub> represent incubation time 0, 6, 12 and 36hr, respectively)

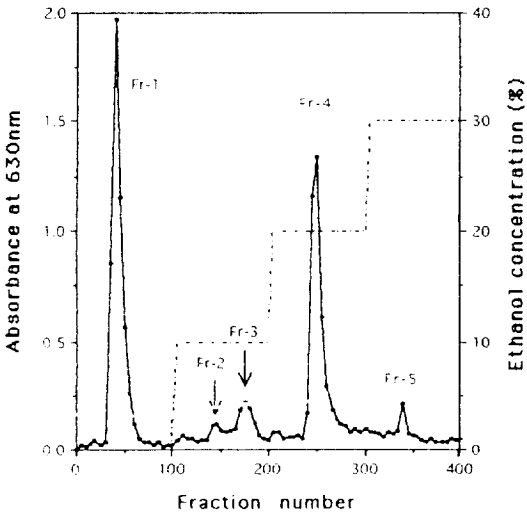
채취하여 TLC상에서 각 당의 감소정도로 당의 이용성을 측정하였다.

Fig 1에 나타난 바와 같이 썩의 물추출물에는 단당류와 이당류 그리고 중합도가 서로 다른 올리고당류 등이 함유되어 있었으며, 배양 6, 12, 36시간이 지남에 따라 TLC상의 당 spot도 단당류와 이당류 그리고 분자량이 적은 올리고당 위치의 spot 색이 옅어져 감을 알 수 있다. 따라서 *B. longum*은 당류중 단당류와 이당류 그리고 GF나 G이하의 중합도가 낮은 올리고당을 함께 이용하는 것으로 추정되었다.

이러한 결과는 인체의 장내 bifidobacteria들이 올리고당중에서 중합도가 2-5 정도되는 것을 잘 이용한다<sup>(20,22)</sup>는 보고와 일치하고 있다.

**썩의 물추출물중 유효성 당의 분리 및 분석**

썩의 가용성당 중 TLC상에서 bifidobacteria가 이용한 것으로 나타난 당들(Fig. 1)을 분리하기 위해 charcoal-celite column chromatography를 실시하였다.

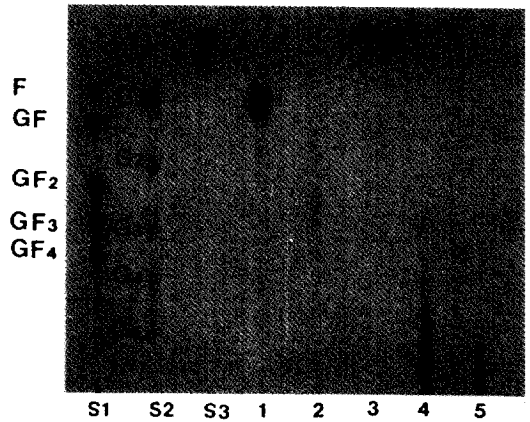


**Fig. 2. Charcoal-celite chromatogram of water soluble carbohydrate from mugwort** The column was eluted first with water and then eluted with ethanol (10~30%)-water mixtures in stepwise gradient (Column size: 3×40 cm, Flow rate: 0.6 ml/min, Fraction volume: 6 ml/tube)

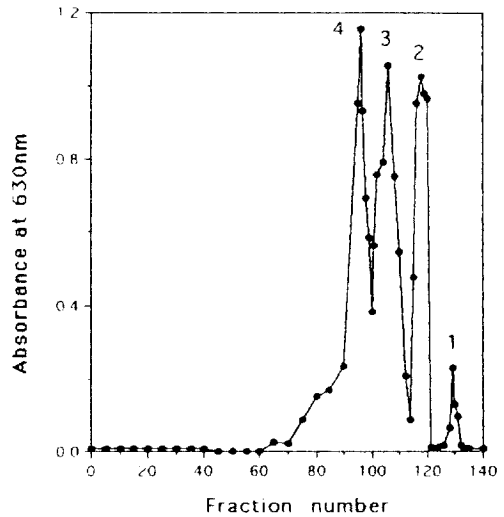
Fig. 2는 쑥당을 처음에는 물로, 그 다음에는 에탄올 농도를 10-30%까지 단계적으로 10%씩 증가시키면서 분획한 chromatogram이다. Fraction 1 (Fr-1)은 물에서, fraction 2 (Fr-2)와 fraction 3 (Fr-3)은 EtOH 10%, fraction 4 (Fr-4)는 EtOH 20%, fraction 5 (Fr-5)는 EtOH 30%에서 각각 용출하였다. Fig. 2에 의하면 물에 용출되어 나오는 당들이 에탄올에 용출되는 당들 보다 많은 것을 알 수 있다.

이어서 각 peak의 당조성을 TLC로 확인한 결과는 Fig. 3과 같다. 표준 fructooligo당들과 비교하여 보면 peak 1은 단당류와 이당류가 서로 분리되지 않았음을 알 수 있으며, peak 2는 glucan 형태의 표준 올리고당과 비교하였을 때 중합도가 2-3 정도되는 올리고당들로 생각되었다. Peak 3에 함유되어 있는 당은 fructose 두분자가 탈수결합, 환상을 한 di-D-fructofuranose 1, 2' : 2, 3' dianhydride (difructose anhydride III)<sup>(23)</sup> 표준당과 같은 위치에서 발색되었으므로 이 화합물로 추정되었다. Peak 4, 5는 TLC 상에서 정확히 확인할 수는 없었으나 중합도가 큰 올리고당으로 생각되었다.

TLC 결과로 미루어 보아 쑥의 가용성당은 charcoal-celite column chromatography로 순수 분리되지 않음을 알 수 있었다. 따라서 쑥의 당류중에서 bifidobacteria가 이용한 올리고당을 순수 분리하기 위해 Bio-gel P<sub>2</sub> column chromatography를 실시하였다. 즉 PYF 배지에



**Fig. 3. Thin layer chromatogram of the water soluble fractions from mugwort on charcoal-celite column** 1, 2, 3, 4 and 5 are the fraction No. in Fig. 2; S1-Standard (F, GF, GF<sub>2</sub>, GF<sub>3</sub>, GF<sub>4</sub>); S2-Standard (G, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>); S3-Standard (DFA(di-D-fructofuranose dianhydrides))



**Fig. 4. Bio-gel P<sub>2</sub> column chromatogram of the mixture of fraction 2 in Fig. 3** Column size: 1.2×210 cm, Flow rate: 0.1 ml/min, Fraction volume: 1 ml/tube

서 *B. longum*의 당 이용성을 조사한 TLC (Fig. 1)와 charcoal-celite column으로 분획한 peak의 당조성이 표시된 TLC (Fig. 3)를 비교하여, *B. longum*이 이용한 올리고당이 함유된 10% EtOH fraction중 Fr-2를 시료 당 용액으로 하여 재 분리하였다. 10% EtOH fraction에서는 4개의 당 peak가 검출되었다(Fig. 4). 각 peak의 당 조성을 확인하기 위해 TLC로 분석하였는 바, peak 1은 difructose anhydride III로 추정되며, 표준 fructooligo 당들과 비교하여 보면 peak 2는 F와 GF사이에 위치하는 것으로 나타났고, peak 3은 중합도가 2인 위

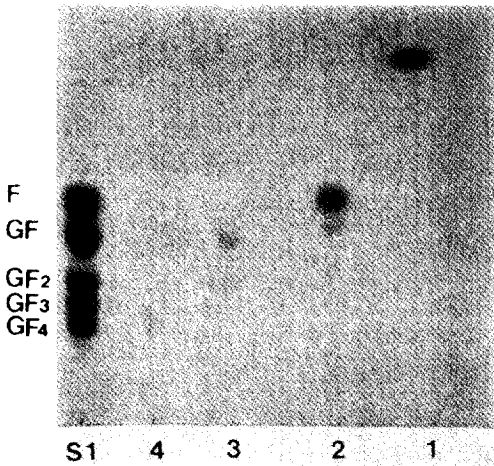


Fig. 5. Thin layer chromatogram of 10% ethanol soluble fractions of mugwort obtained in Fig. 4 1, 2, 3, and 4 represent the fraction No. in Fig. 4; S1-Standard (F, GF, GF<sub>2</sub>, GF<sub>3</sub>, GF<sub>4</sub>)

치에서 spot이 발색되었으며, peak 4는 GF<sub>4</sub>와 같은 위치에서 발색되었다(Fig. 5).

이어서 *B. longum*이 이용한 올리고당의 구성당과 그 조성비를 살펴보았다. Peak 1에 함유된 올리고당은 *B. longum*이 이용하지 못하는 것으로 나타났으므로 (Fig. 1), peak 2, 3과 4에 함유되어 있는 구성당과 그 조성비를 HPLC로 조사하였다.

Fig. 6에 나타난 바와 같이 peak 2는 확인되지 않은 당(d)과 소량의 fructose peak를 제외하고 glucose와 galactose의 몰비가 1:1 정도로 나타났다. Peak 3에서도 미확인 당과 fructose peak를 제외하고는 glucose와 galactose가 주요당으로 나타났고 그 몰비는 1:1 정도였다. Peak 4는 galactose가 주요 구성당이며 glucose와 galactose의 몰비는 1:3으로 나타났다. 앞으로 확인되지 않은 d peak가 무슨당이며 이 당이 올리고당의 구성에 참여하고 있는지의 여부와 이들 구성당들이 어떤 구조로 올리고당들을 이루고 있는가에 대해 추가적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

심 등<sup>21)</sup>이 참죽에는 fructose, galactose, maltose, mannitol, glucose의 환원당이 함유되어 있다고 보고하였는데, 이는 본실험의 쪽올리고당의 구성당 조성파 유사하였다. 한편 인체에 존재하는 bifidobacteria는 현재까지 알려진 여러 올리고당 중에서 galactose가 함유되어 있는 올리고당들을 가장 잘 이용하는 것으로 보고되어 있으므로<sup>22,23)</sup>, 쪽에 함유되어 있는 올리고당류도 인체 유래 bifidobacteria의 생육을 촉진시키는 주요 인자로 작용할 것으로 추정된다.

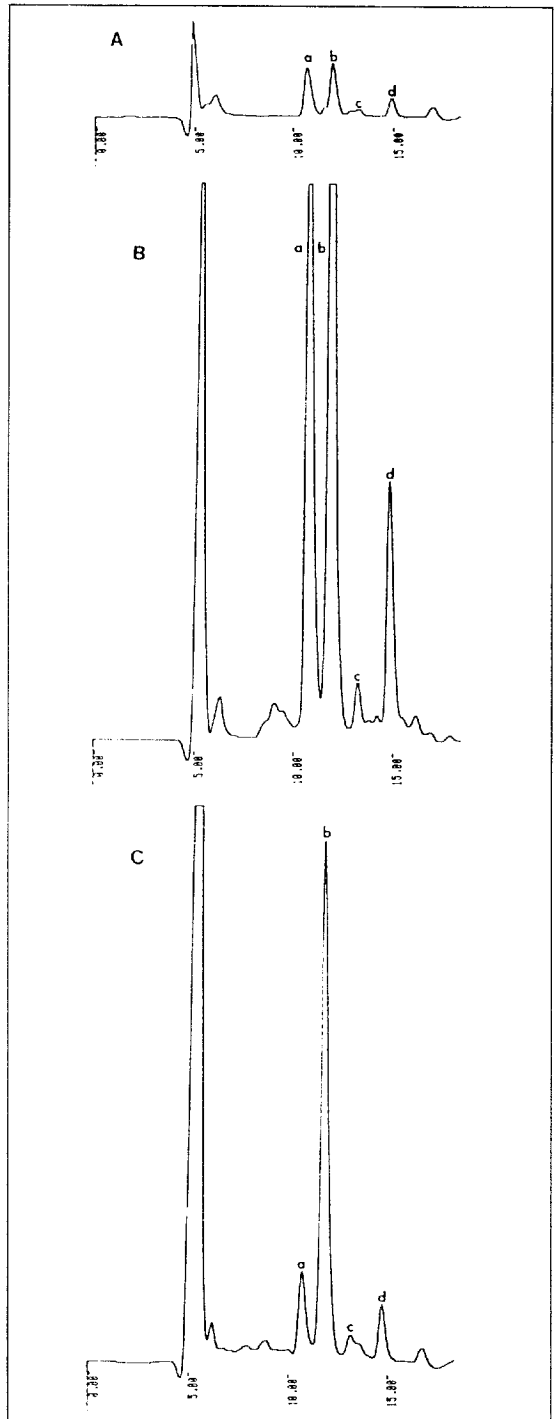


Fig. 6. High performance liquid chromatogram of the hydrolyzate of 10% ethanol soluble fractions from mugwort on Bio-gel P<sub>2</sub> column A, B and C represent chromatograms of the hydrolyzates of fraction 2, 3 and 4, respectively in Fig. 4; a-glucose; b-galactose; c-fructose; d-unknown

요 약

Bifidobacteria 또는 lactobacilli와 같은 유익균에 대해 생육촉진효과를 나타낸 썩의 물추출물에서 생육촉진성분을 조사하였다. 썩의 물추출물을 탄소원 생육인자 검색배지인 PYF와 비탄소원 생육인자 검색배지인 György에서 조사한 결과, 탄소원이 주요한 생육촉진인자로 나타났다. Bifidobacteria는 썩의 가용성당류 중에서 단당류 및 중합도가 2-5인 올리고당을 잘 이용하는 것으로 나타났다. 그리고 bifidobacteria가 이용한 올리고당을 chacoal-celite column chromatography와 Bio-gel P<sub>2</sub> column chromatography로 분리한 다음, 가수분해하여 HPLC로 구성당의 조성을 조사한 결과 galactose와 glucose가 주요 구성당으로 밝혀졌다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단의 특정연구과제(92-5000-02-01-3)로 수행된 내용의 일부로서 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Laroia, S. and Martin, J. H.: Bifidobacteria as possible dietary adjuncts in cultured dairy products-A review. *Cultured Dairy Products Journal*, **November**, 18 (1990)
2. Misra, A.K. and Kulia, R.K.: Intensified growth of *Bifidobacterium* and preparation of *Bifidobacterium bifidum* for a dietary adjunct. *Cultured Dairy Products Journal*, **November**, 4 (1991)
3. 本間道, 光岡知足 : ヒフス菌. ヤクルト本社, 日本, pp.77-83 (1978)
4. Hidaka, H., Hirayama, M. and Yamada, K.: Fructooligosaccharides enzymatic preparation and biofunctions. *J. Carbohydrate Chemistry*, **10**, 509 (1991)
5. 한복진, 이선화, 신현경 : 산채류가 장내세균의 *in vitro* 생육에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **27**, 701 (1994)
6. 이선화, 신현경 : 썩의 분획추출물들이 주요 장내세균의 *in vitro* 생육에 미치는 영향. *한국영양학회지*, 심사중, (1995)
7. 문관심 : 약초의 성분과 이용. 일월서각, 서울, pp. 594-604 (1991)
8. 김태정 : 한국 야생화 도감. 교학사, 서울, p.386 (1988)
9. 이기렬, 최이순, 강영희 : 식물성 단백질 개발에 관하여-수종 야생식물의 유리아미노산의 분포-. *연세논총*, **8**, 309 (1971)

10. 심영자, 한영실, 전희정 : 참썩의 영양성분에 관한연구. *한국식품과학회지*, **24**, 49 (1992)
11. Ahn, Y.Y., Kim, M-J., Yamamoto, T., Fujisawa, T. and Mitsuoka, T.: Selective growth response of human intestinal bacteria to Araliaceae extracts. *Microbial Ecology in Health and Disease*, **3**, 223 (1990)
12. 光岡知足 : 腸内菌の世界, 叢文社, 東京, p.325 (1984)
13. Yoshioka, M., Yoshioka, S. and Ohta, K.: Growth responses of *Bifidobacterium bifidum* to coenzyme A, its precursors and carrot extract. *Japan. J. Microbiol.*, **12**, 395 (1968)
14. Collixs, F.W. and Chaxdorkar, K.R.: Thin-layer chromatography of fructooligosaccharides. *J. Chromatography*, **56**, 163 (1971)
15. Chaplin, M.F. and Kennedy, J.F.: *Carbohydrate Analysis: A Practical Approach*. IRL Press., Oxford, p. 3 (1987)
16. Shiomi, N., Yamada, J. and Izawa, M.: Isolation and identification of fructo-oligosaccharides in roots of asparagus. *Agr. Biol. Chem.*, **40**, 567 (1976)
17. Nagamatsu, Y., Yahata, M., Fukada, T. and Hatanaka, C.: Identification of 1-kestose- and neo-kestose-based oligofructans in lycoris radiata herb tissues. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1291 (1990)
18. 송정춘, 박용환, 한관주 : 총기연 시험연구보고서. 농업기술연구소, 수원, 857 (1981)
19. 이기렬, 최이순, 강영희 : 식물성 단백질 개발에 관하여-수종 야생식물의 유리아미노산의 분포-. *연세논총*, **8**, 309 (1971)
20. Mckellar, R.C. and Modler, H.W.: Metabolism of fructooligosaccharides by *Bifidobacterium* spp. *Appl Microbiol. Biotechnol.*, **31**, 537 (1989)
21. Yazawa, K. and Tamura, Z.: Search for sugar sources for selective increase of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora*, **11**, 39 (1982)
22. Yamazaki, H. and Dilawri, N.: Measurement of growth of bifidobacteria on inulofructosaccharides. *Letters in Applied Microbiology*, **10**, 229 (1990)
23. Uchiyama, T.: Formation of di-D-fructose anhydride III inulin by the root of lycoris. *Argic. Bio. Chem.*, **47**, 437 (1983)
24. 심영자, 한영실, 전희정 : 참썩의 영양성분에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **24**, 49(1992)
25. Mitsuoka, T.: Intestinal flora and dietary factors. *Proceedings of IV. RIKEN symposium on Intestinal Flora*, Tokyo, 1983, Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp. 24-25 (1984)
26. 管辰彦, 小林洋一, 松本圭介 : カラクトオリコ糖の特徴と食品への利用. *New Food Industry*, **31**, 26 (1989)

(1995년 6월 15일 접수)