

다양한 종류의 올리고당이 흰쥐의 분변내 균총과 지질 성상에 미치는 영향*

최은혜¹⁾ · 김혜영²⁾ · 김양하³⁾ · 김우경⁴⁾ · 오선진¹⁾ · 김숙희¹⁾

이화여자대학교 식품영양학과,¹⁾ 용인대학교 식품영양학과,²⁾ 창원대학교 식품영양학과,³⁾ 단국대학교 식품영양학과⁴⁾

Effects of Selected Oligosaccharides on Fecal Microflora and Lipid Constitution in Rats

Choi, Eun hye¹⁾ · Kim, Hye Young P.²⁾ · Kim, Yang Ha³⁾
Kim, Woo Kyung⁴⁾ · Oh, Seon Jin¹⁾ · Kim, Sook He¹⁾

Department of Food & Nutrition,¹⁾ Ewha Woman's University, Seoul 120-750, Korea
Department of Food & Nutrition,²⁾ Yongin University, Yongin 449-714, Korea
Department of Food & Nutrition,³⁾ Changwon University, Changwon 641-773, Korea
Department of Food & Nutrition,⁴⁾ Dankook University, Seoul 140-714, Korea

ABSTRACT

Certain indigestible oligosaccharides may benefit gastrointestinal tract via fermentation and proliferation of desirable bacterial species. The purpose of this study was to elucidate the effect of selected oligosaccharides, such as fructooligosaccharides(FOS), soybean oligosaccharides(SOE), and highly concentrated branched oligosaccharides(HiBOS), on fecal microflora proliferation, lipid concentration, lipid peroxide formation and antioxidant enzymes activities in plasma and liver of the rats. Thirty two male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to one of four treatments ; 1) control diet(AIN-93G diet) ; 2) control diet+5% FOS ; 3) control diet+5% SOE ; 4) control diet+5% HiBOS. The duration of the study was 4 weeks. Fecal *bifidobacteria* concentration were significantly higher($p < 0.05$) in the HiBOS group compared with the control after 4 weeks of dietary treatment. FOS and SOE groups also had higher fecal *bifidobacteria* levels than control, but statistical significance was not found. The concentration of plasma total lipid was decreased by oligosaccharide consumption, especially in HiBOS group($p < 0.05$). The concentration of plasma triglyceride was significantly lower in all of the oligosaccharide containing groups compared with the control($p < 0.05$). The plasma total cholesterol concentration tended to be lower in the oligosaccharide consuming groups than control. The concentrations of hepatic total lipid, triglyceride and total cholesterol were not affected by consumption of oligosaccharides. Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) concentrations and antioxidant enzyme activities in plasma and liver were not affected much by experimental diets. These results suggest that dietary oligosaccharides may be beneficial for increasing intestinal *bifidobacteria* and lowering plasma lipid levels. (*Korean J Nutrition* 32(3) : 221~229, 1999)

KEY WORDS : oligosaccharides · *bifidobacteria* · lipid · triglyceride.

서 론

만성 퇴행성 질병의 발병률이 서서히 증가함에 따라 건강 상태의 유지를 추구하는 현대인의 욕구는 날로 높아지고 있다. 최근 경제 여건의 개선에 따라 식품으로부터 영양소와 맛의 충족뿐만 아니라 건강의 유지와 질병의 예방 및 치료

를 기대하는 식품의 기능에 관심이 집중되고 있고, 이러한 목적 지향성의 기능성 식품이 각광을 받게 되었다. 이러한 기능성 식품 중에서 현재 가장 폭넓게 이용되고 있는 식품 중의 하나가 바로 올리고당이다. 다양한 종류의 올리고당은 생체 내 소화효소에 의해서 가수분해되지 않는 단소화성 당으로 소화되지 않은 채 대장에 도달하여 장내 세균에 의해 대사된다.¹⁾ 인체의 장내에는 미생물 밀도가 100조에 이르며 이 다양한 미생물들이 상호 균형을 유지하면서 섭취된 음식물과 소화관으로부터 분리되는 생체 성분을 이용하여 증식하고 배설된다. 이러한 인체의 장내 미생물 균총은 숙

채택일 : 1999년 3월 18일

*This research was supported by grants from the Administration of Health and Welfare.

주의 나이와 식이에 따라 크게 영향을 받고 이들 장내 균총의 대사 활성은 숙주인 인간의 건강유지, 질병 또는 노화 등에 큰 영향을 미치고 있는 것으로 알려져 있다.²⁾

장내 세균이 숙주에 미치는 영향에 대해서는 크게 유익한 작용과 유해한 작용으로 구분해볼 수 있는데, 비피더스균은 장내에서 젖산과 초산 등의 유기산을 분비하여 분변의 pH를 낮추고, 병원성 및 부패성 세균의 증식을 억제하며 항암성, 혈압강하 등에 기여하여 숙주에 유익한 작용을 하는 것으로 보고되고 있다.³⁴⁾ 한편 *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* 등은 유해 작용을 일으키는 대표적인 세균들로서 ammonia, amine, indole, phenol 등과 같은 부패성 물질과 독소 및 발암물질 등 숙주에 해로운 물질을 생성하여 설사와 같은 질병 유발, 암 발생, 면역 감퇴, 노화의 원인을 제공하기도 한다.⁵⁶⁾ 이와 같이 장내세균은 숙주의 건강 상태와 밀접한 관계가 있기 때문에, 유익한 작용을 하는 균들의 장내 증식을 촉진하고 유해균의 증식을 억제하여 장내 균총을 개선함으로써 건강 증진을 꾀하는 것이 바람직하다.

비피더스균은 인체에 미치는 좋은 영향들 때문에 많은 관심을 끌고 있으나 비피더스균을 직접 섭취할 경우 소화관을 거치면서 위산, 소화효소, 담즙산 등에 의해 사멸할 가능성이 높기 때문에 장내의 비피더스균의 성장을 촉진시킬 수 있는 유효 소재에 대한 연구가 활발하게 진행되었다. 난소화성의 올리고당이 장내 비피더스균의 선택적 성장촉진인자로서 알려지고¹⁷⁻⁹⁾ 올리고당이 지질 대사에 관여하여 식이섬유소와 유사하게 콜레스테롤이나 중성지방을 감소시켜주는 효과가 보고되면서^{10,11)} 최근 국내에서도 올리고당 및 비피더스균에 대한 인식이 확대되었다. 국내에서는 1986년 갈락토올리고당을 조제분유에 첨가하였고, 1987년 프락토올리고당이 생산된 이래, 현재 다양한 올리고당이 국내에서 생산, 연구되고 있다. 올리고당은 음료, 유제품, 과자류, 장류 등 다양한 종류의 식품에 첨가되고 있을 뿐만 아니라 제품으로도 시판되고 있다.^{12,13)}

이렇게 올리고당이 기능성 식품으로서 각광 받고, 식품 산업적으로 널리 이용되고 있음에도 불구하고 올리고당의 생리 활성에 대한 자료는 국내외로 많이 보고되어 있지 않은 형편이다. 현재 국내에서 시판 또는 이용되는 올리고당의 영양 생리 활성에 대해 과학적이고 체계적인 검증작업이 필요하다고 보며 현재 국내에서는 올리고당에 대한 연구들이 주로 물리적 성질과 장내 균총을 개선하는 것에만 초점을 맞추어서 진행되고 있는 실정이므로¹⁴⁻¹⁶⁾ 올리고당이 실제로 체내 영양 대사에 미치는 영향에 대한 연구가 시급한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 시판 또는 개발되고 있는 여러 종류의 올리고당들, 즉, 프락토올리고당, 대두올리고당 그리고 고순도 분지올리고당이 흰쥐의 체내에서 비피더스균을 증식시키는 효과, 혈액과 간의 지질성상에 미치는 영향 및 지질과산화물의 농도와 항산화 효소의 활성정도에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 식이와 동물 사육

생후 5주된 Sprague-Dawley 중 수컷 쥐 32마리를 실험식이 시작 전 2주 동안 고형배합사료(삼양사료)로 적응시킨 후, 이들을 체중에 따라 난괴법을 사용하여 각 군에 8마리씩 4군으로 나누어 한 마리씩 stainless steel cage에 격리하였다. 실험동물은 일반 식이와 세가지 종류의 올리고당(Fructooligosaccharide, Soybean oligosaccharide extract, Highly concentrated branched oligosaccharide)을 각 식이무게의 5%씩 첨가하여 제조된 실험식으로 4주간 사육하였고 식이와 물은 제한없이 먹을 수 있도록 하였다. 식이 섭취량은 일주일에 3회 측정하였으며, 체중은 일주일에 1회 일정한 시간에 측정하였다.

본 실험에 사용한 실험 식이는 AIN-93G 식이¹⁷⁾를 바탕으로 하였고 올리고당 섭취군에서는 프락토올리고당(Fructooligosaccharides, 제일제당, FOS), 대두올리고당(Soybean oligosaccharides extract, 현대약품, SOE), 고순도 분지올리고당(Highly Concentrated Branched Oligosaccharide, HiBOS)

Table 1. Composition of experimental diet (g/Kg diet)

Ingredients	Control ¹⁾	FOS	SOE	HiBOS
Corn Starch	529	529	529	529
Casein	200	200	200	200
Sucrose	100	50	50	50
FOS		50		
SOE			50	
HiBOS				50
Soybean oil	70	70	70	70
Fiber	50	50	50	50
Mineral mixture ²⁾	35	35	35	35
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10
L-Cystine	3	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
T-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014

1) Control : Control diet, FOS : 5% Fructooligosaccharides

SOE : 5% Soybean oligosaccharides extract

HiBOS : 5% Highly concentrated branched oligosaccharides

2) Mineral mixture : AIN-93G mineral mixture(g/kg mix)¹⁷⁾

3) Vitamin mixture : AIN-93 vitamin mixture(g/kg mix)¹⁷⁾

rides, 서울대학교 식품공학과, HiBOS)을 동결 건조하여 각각 식이무게의 5% 수준으로 제공하였다. 각 실험 식이의 식이 조성은 Table 1에 나타나 있고, 사용한 올리고당의 당 조성은 Table 2에 나타나 있다.

사육기간 중 0주, 2주, 4주에 분변을 채취하여 비피더스 증식효과를 살펴보았다. 사육기간이 끝난 실험동물을 희생시키기 전 12시간을 공복시킨 후 ethyl ether로 마취, 개복하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 2500rpm에서 30분간 원심분리하여 혈장은 생화학적 분석을 위해 냉동보관 하였다. 절취한 간은 생리식염수에 세척한 후 무게를 측정하고 바로 -70℃에서 냉동보관 하였고 기타 신장, 비장, 그리고 부고환 지방을 떼어 무게를 측정하고 냉동보관 하였다.

2. 비피더스균 수 측정

위의 분변을 채취하여 비피더스균 수를 측정함으로써 올리고당의 비피더스 증식효과를 살펴보았다. 실험식이 섭취 0주, 2주, 4주째 되는 날에 위의 항문을 자극하여 분변을 인위적으로 채취하여 곧바로 멸균 phosphate buffer(0.1% polypeptone)에 넣어 10배씩 희석한 후, 적당한 희석용액을 취해 bifidobacterium 선택용 TPY 배지(trypticase-phytone-yeast extract medium)에 도말하고, 혐기적 배양을 위해 anaerobic jar(Difco, USA)에서 37℃로 48시간 배

양하였다. 그리고 배양된 집락의 수를 계수하고 여기에 희석 배수를 곱하여 분변 1g당 균 수(log cfu(colony forming unit)/g wet feces)로 나타내었다.

3. 생화학적 분석

1) 혈장과 간의 지질수준 분석

혈장의 총 지방은 Frings법¹⁹⁾을 사용하여 spectrophotometer(spectronic 601, Milton Roy)로 540nm에서 비색정량하였다. 혈장의 총 콜레스테롤과 중성지방의 농도는 kit(영동제약, 한국)를 이용하여 효소 비색법으로 각각 흡광도를 측정하여 정량하였다. 간의 총 지방은 Bligh와 Dyer의 방법²⁰⁾을 이용하여 추출하였고, 이렇게 추출한 총 지방을 chloroform 용매에 녹인 후 총 콜레스테롤과 중성지방은 혈장과 동일한 방법으로 kits(영동제약, 한국)로 비색정량하였다.

2) 혈장과 간의 지질과산화물 농도 측정

혈장과 간의 지질과산화정도를 알아보기 위하여 TBARS(thiobarbituric acid reactive substance)의 농도를 측정하였다. 혈장의 TBARS 함량은 Yagi의 방법²¹⁾을 이용하여 luminescence spectrometer(Perkin Elmer, LS50)로 Ex 515nm, Em 553nm에서 정량하였고, 간 TBARS는 Buckingham의 방법²²⁾을 변형하여 532nm에서 비색정량하였다.

3) 혈장과 간의 항산화효소 활성 측정

혈장의 glutathione peroxidase(GPx)와 간의 superoxide dismutase(SOD), GPx, catalase의 활성을 측정하였다. SOD의 활성 정도는 Folcher 등²³⁾과 Winterbourn 등의 방법²⁴⁾을 변형하여 이용하였는데, xanthine과 xanthine oxidase에 의한 ferricytochrome C의 환원을 막는 정도를 측정함으로써 분석하였고, catalase의 활성 정도는 Johansson과 Hankan Borg의 방법²⁴⁾을 사용하여 측정하였다. 그리고 GPx는 Paglia와 Valentine의 방법²⁵⁾을 변형하여 측정하였다.

4. 자료 분석

모든 실험 결과는 각 실험군의 평균과 표준편차(Mean ± SD)로 나타내었고 SAS(Statistical Analysis System) program을 이용하여 ANOVA(analysis of variance)분석을 통해 각 실험군간의 차이를 α=0.05수준에서 유의성을 검증하였고, 통계적으로 유의성이 있는 것으로 나타난 결과에 대해서는 Duncan's multiple range test를 행하여 평균값의 차이를 검증하였다.

Table 2. The sugar composition of oligosaccharides used in the experiment (%)

Saccharide	FOS	SOE	HiBOS
Glucose	29		
Sucrose	15	40	
GF ₂ ¹⁾	28		
GF ₃ ²⁾	19		
≥GF ₄ ³⁾	9		
Starchyose		24	
Raffinose		8	
Isomaltose			7.3
Maltotriose			7.0
Isopanose			7.5
Panose			21.0
Maltotetrose			2.4
Branched tetrose			28.6
Branched pentose			14.9
Branched hexose			6.4
Others		28	4.9
Oligosaccharides(%)	56	32	85.7

1) GF₂ : 1-kestose, 2) GF₃ : nystose

3) GF₄ : 1^f-β-fructofuranosyl nystose

Table 3. Weight gain, food intake and F.E.R.

	Control	FOS	SOE	HiBOS
Initial body weight(g)	¹ 248.7 ± 20.8 ^{NS2)}	246.6 ± 17.8	246.2 ± 22.6	248.1 ± 17.4
Final body weight(g)	413.7 ± 39.0 ^{NS}	390.0 ± 21.4	402.5 ± 40.4	402.3 ± 23.0
Weight gain(g/day)	5.9 ± 1.2 ^{NS}	5.1 ± 0.7	5.5 ± 1.4	5.5 ± 1.0
Food intake(g/day)	25.9 ± 1.9 ^{NS}	25.6 ± 3.4	25.7 ± 2.7	25.1 ± 2.3
F.E.R. ³⁾	0.23 ± 0.03 ^{NS}	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.22 ± 0.02

1) Mean±SD, 2) NS : Not significant, 3) F.E.R. : Food efficiency ratio=body weight gain(g/day)/food intake(g/day)

결과 및 고찰

1. 쥐의 성장에 미치는 영향

실험 식이를 4주 동안 급여한 후, 실험동물의 식이섭취량과 체중증가량은 Table 3에 나타내었다. 실험 시작시의 실험 동물의 평균 체중은 247.4±18.8g이었고 실험 종료시의 평균 체중은 402.5±31.9g으로 실험군간에 유의적인 차이는 없었다. 체중 증가량과 식이 섭취량, 이를 통해 계산된 식이효율도 올리고당의 섭취 및 종류에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

2. 비피더스균 증식효과

비피더스균의 증식효과를 관찰하기 위해 측정된 분변 중의 비피더스균 수는 Fig. 1에 나타내었다. 실험 시작시의 분변내 비피더스균 수는 9.32±0.49(log cfu/g wet feces)로 실험군간에 유의적인 차이는 없었다. 실험 식이를 투여한 2주 후에는 올리고당을 공급한 군이 대조군보다 비피더스균 수가 많은 경향이었으나 유의적인 차이는 없었다. 실험 식이를 먹이고 난 4주 후에는 HiBOS 섭취군의 경우 대조군보다 유의적으로 비피더스균 수가 증가하였고(p<0.05), SOE와 FOS섭취군에서도 대조군보다 균 수가 많은 경향이 있었으나 유의적인 차이는 없었다.

프락토올리고당은 87년 국내에서 처음으로 생산된 이래 현재 여러 회사에 의해 시판되고 있는, 국내외로 가장 보편화 되어있는 올리고당이다.¹³⁾ 본 실험에서는 흰쥐의 식이무게의 5% 수준으로 프락토올리고당을 첨가하여 비피더스균 증식 효과를 보고자 하였으나, 대조군에 비해 약간 높은 비피더스균 수를 보였을 뿐 유의적인 증가는 나타나지 않았다. 이는 프락토올리고당의 투여로 비피더스균이 증식되는 이전의 인체 및 동물 실험들과는 일치하지 않는 결과이다.¹⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾ 강국희 등¹⁶⁾은 프락토올리고당(제일제당)을 사용하여 건강한 성인 남성 5명에게 19.02g/day 씩 4주간 섭취하게 하였는데, 프락토올리고당을 섭취하는 동안 비피더스균 수가 2주 후에는 섭취전보다 약 8배, 4주 후에는 약 13배로 증가하였고, 섭취를 중단한 후에는 평상시 수준으로 다시 환

Table 4. The number of rat fecal *bifidobacterium* of rats fed with selected oligosaccharides (log cfu¹⁾/g wet feces)

Time	Control	FOS	SOE	HiBOS
2week	²⁾ 9.04±0.41 ^{NS3)}	9.26±0.13	9.47±0.45	9.48±0.32
4week	8.97±0.24 ⁴⁾	9.08±0.25 ^b	9.23±0.41 ^{ab}	9.51±0.06 ^a

1) cfu : colony forming unit, 2) mean±SD, 3) NS : Not significant
4) Values with different alphabet within a row are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test

원되었다고 보고하였다. Howard 등²⁷⁾은 mice에게 2주간 0.27~0.29g/day의 프락토올리고당을 주었을 때, 대조군의 분변 중 비피더스균 수(log cfu/g stool)는 8.29인데 반해 프락토올리고당을 섭취한 군은 10.51이었고, 총 혐기성 세균에 대한 비피더스균종의 비율도 대조군의 약 4배로 증가하였다고 보고하였다. Djouzi 등²⁸⁾은 프락토올리고당이 인체 장내 균총을 점종받은 쥐의 장내 균총에 미치는 영향을 알아보기 위해 올리고당을 식이의 4% 수준으로 4주간 공급한 결과 프락토올리고당 섭취군에서 대조군에 비해 비피더스균 수가 약 100배나 높았다고 보고하였다.

본 실험에서는 위의 실험결과와는 다르게 프락토올리고당의 섭취가 유의적인 비피더스균 수의 증가를 나타내지 못했는데, 그 이유로 올리고당의 섭취량의 순도가 낮았기 때문일 수 있다. 본 실험에서 사용한 프락토올리고당은 제일제당에서 제조하여 올리고당 제품 형태로써 시판되는 것으로, 순수 올리고당량은 약 56%에 해당한다. 이에 반해 Djouzi 등²⁸⁾의 실험에서 흰쥐에게 공급한 프락토올리고당은 95%의 고순도 프락토올리고당이었다. 또한 본 실험에서 사용한 다른 올리고당 중 고순도 분지올리고당의 경우 순수 올리고당의 함량이 86%이상이었는데, 고순도 분지올리고당 섭취군에서는 유의적인 비피더스균 증식효과를 보였던 것을 볼 때, 올리고당의 순도가 낮았던 것이 프락토올리고당에서 비피더스균이 많이 증식되지 않았던 가장 주요한 요인으로 사료된다.

대두올리고당은 일본을 비롯한 구미에서는 최근 급속도로 산업화되고 있는 올리고당이나²⁹⁾ 아직 대두올리고당의 생리활성에 대한 국내의 연구는 전무하며 주로 일본에서 대두올리고당에 대한 연구가 진행되어져 왔다. 일본의 연구결과를 살펴보면 건강한 6명의 성인 남자에게 대두올리고당(SOE)

을 하루에 10g씩 3주간 섭취하게 한 결과 비피더스균 수가 유의적으로 증가하였다고 보고하였다.³⁰⁾ 또한 Wada 등³¹⁾은 대두올리고당(SOE)을 하루에 각각 1.5g, 3.1g, 6.2g 씩 9명의 성인에게 섭취하게 한 결과 6.2g 섭취군에서는 1주 후에, 1.5g 섭취군에서는 3주 후 비피더스균 수가 유의적인 증가를 보였다. 이는 이전의 연구들에서보다 훨씬 적은량의 대두올리고당을 섭취하는 것으로도 비피더스균 증식효과가 나타남을 보여주었다. 본 실험에서는 사용한 대두올리고당의 성상은 일본에서 사용한 올리고당과 같은 것이었으나, Wada 등³¹⁾의 실험에서 소량의 섭취로도 인체의 비피더스균 수가 유의적으로 증가했던 것과는 차이가 있었다.

고순도 분지올리고당은 전분에 β -amylase를 작용시켜 가수분해한 후 전이작용을 일으켜 얻어내는 기존의 분지올리고당을 다시 발효시킴으로써 branched oligosaccharides의 농도를 높이고 그 외 포도당이나 맥아당의 함량을 줄여 순도를 높인 것으로³²⁾ 아직 이 올리고당의 생체 내 생리적 활성에 대한 연구자료가 없어 다른 연구와 비교할 수는 없으나 올리고당의 순도가 높아서 본 실험에서는 다른 시판 올리고당과 같은 양을 동물에게 투여하였을 때 비피더스균의 증식효과가 높은 것으로 나타났다.

순도가 높았던 고순도 분지올리고당 섭취군에서는 유의적인 비피더스균 증식효과가 나타났지만 상대적으로 순도가 낮았던 프락토올리고당과 대두올리고당이 유의적인 효과를 보이지 못했으므로 앞으로 비피더스균의 활발한 증식에 필요한 올리고당의 최소 섭취량(minimum dosage)에 대한 연구와 순도를 높이기 위한 기술개발이 더 필요할 것으로 사료된다.

3. 혈장과 간의 지질 성상에 미치는 영향

혈장의 총 지방, 콜레스테롤, 중성지방에 대한 결과는 Fig. 1에 나타나 있다. 혈장내 총 지방량(Fig. 1A)은 올리고당 섭취군들이 대조군에 비해 낮게 나타났으며 특히 HiBOS 섭취군은 대조군과 유의적인 차이를 보이며 가장 낮은 수치를 나타내었다($p < 0.05$). 혈장내 총 콜레스테롤(Fig. 2B)은 올리고당 섭취군들이 역시 대조군에 비해 낮은 경향이 있었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았고, FOS 섭취군의 수치가 조금 낮게 나타났지만 올리고당의 종류에 따른 차이도 없었다. 혈장 중성지방 함량(Fig. 1C)은 올리고당을 섭취한 군들 모두에서 대조군에 비해 현저히 낮게 나타났으며 ($p < 0.05$), 올리고당의 종류에 따른 차이는 없었다. 따라서 올리고당의 섭취로 인한 혈장의 지질개선 효과는 주로 혈액 중성 지방의 감소현상으로 나타났고 올리고당의 종류에 따른 차이는 크지 않았다.

그러나 간에서는 혈장내 지방성분이 올리고당의 섭취로 낮아졌던 것과는 달리, 총 지방과 콜레스테롤, 그리고 중성지방에서 올리고당의 첨가에 의한 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 5). 한편 SOE 섭취군에서 간의 지질 성상이 대조군보다 약간 낮은 경향을 보였다.

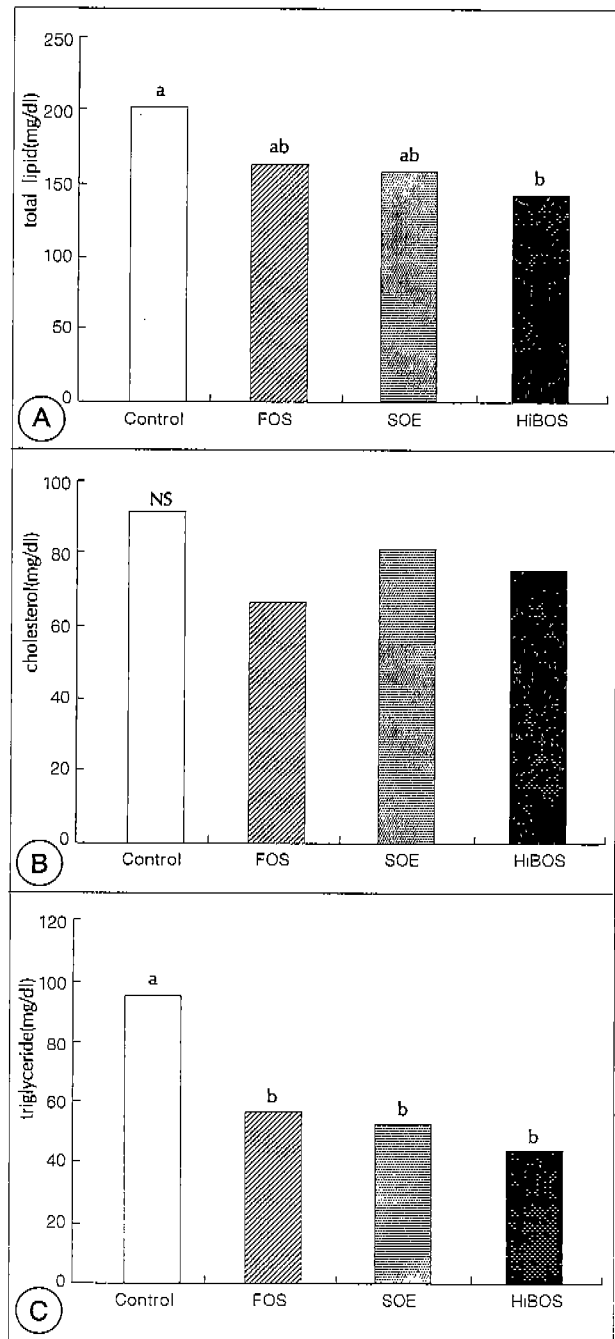


Fig. 1. Plasma lipid concentrations of rats fed with selected oligosaccharides, A) Plasma total lipid concentration, B) Plasma total cholesterol concentration, C) Plasma triglyceride concentration. Values with different alphabet among groups are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

난소화성의 올리고당이 혈액 및 간의 지질성상을 개선시켰다는 결과들이 보고되고 있는데, 국내에서는 올리고당이 지방 대사에 미치는 영향에 대해서는 연구가 미비한 형편이다. Ide 등³⁰⁾은 식이의 8%의 fructooligosaccharides를 고지방 식이를 먹는 흰쥐에게 4주동안 섭취시킨 결과 혈청의 콜레스테롤과 중성지방 및 간 중성지방 함량이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였고, 간 콜레스테롤 함량은 차이가 없었다고 하였다. Delzenne 등¹⁰⁾은 흰쥐에게 한달 동안 식이 20%의 프락토올리고당을 섭취시킨 결과 혈청 콜레스테롤은 변화가 없었으나 혈청 중성지방이 크게 감소하는 결과를 보였고, 식이 10%의 프락토올리고당 섭취로 16주 후 혈청 중성지방, 인지질 및 콜레스테롤이 유의적인 감소를 보였으며, 중성지방 감소효과는 1주째부터 관찰되어 16주까지 지속되었다고 보고하였다.³⁰⁾ 올리고당의 투여로 중성지방이 크게 감소되는 이유는 아직 정확히 알려진 바가 없지만, Fiordaliso 등³⁰⁾은 올리고당이 가용성 식이섬유소와 유사하게 간의 지질대사에 영향을 주어, 간에서 중성지방 합성이 감소되고, 혈청의 VLDL(very low density lipoprotein) 감소가 나타났다고 보고하였다. 또한 올리고당의 투여로 간에서 지방 합성의 중요한 효소인 fatty acid synthase 활성의 감소로 지방산 합성이 감소되고,²⁶⁾ acylglycerol 합성도 감소됨으로서 혈청의 중성지방 감소에 기여하였다고 제안하였다.³⁰⁾ 그러나 본 실험에서는 혈장의 중성지방 농도는 올리고당 섭취군들이 대조군의 50~59%로 현저히 낮았고, 콜레스테롤도 감소되는 경향을 보였지만, 간의 총 지방, 콜레스테롤 및 중성지방에는 영향을 미치지 못하여서 올리고당이 간 이외의 다른 경로를 통해서도 혈장의 중성지방 저하효과를 나타낸 것으로 사료된다. 이는 올리고당이 고지방 식이를 먹은 쥐의 간에 지방축적을 막지는 못했으나 혈청 중성지방 농도를 50%이상 감소시켰다는 보고와 일치한다.³⁰⁾ 한편 최근에는 올리고당이 간에서 중성지방 함량이 높은 지단백입자의 분해를 증가시켰을 가능성이 제안되고 있다.³⁰⁾

또한 간의 지질성상에 변화를 가져오지 못한 요인을 고려해 보면, 본 실험에서 사용한 올리고당의 함량과 순도가 낮았기 때문일 수 있다. 이전의 연구들에서는 순도 95%이상의 올리고당을 식이무게의 10%, 20% 첨가하였던 것에 반해, 본 실험에서는 올리고당의 순도를 고려하여 식이 중 포함된 올리고당량을 계산해 봤을 때, 프락토올리고당은 식이무게의 2.8%, 대두올리고당 1.6%, 고순도 분지올리고당은 4.3%밖에 되지 않아 4주의 실험기간동안 간에서의 지방축적 저하효과를 보기 어려웠을 가능성이 있다.

올리고당의 콜레스테롤 저하 효과는 식이섬유소가 올리고당을 낮추는 작용과 유사한 것으로 알려져 있는데, 고콜레스테롤 식이를 먹은 쥐에 올리고당을 첨가하였을 때 변으로 콜레스테롤 배설량을 높이는 것으로 관찰되었고,³⁷⁾ 담즙산의 배설도 증가되었다고 보고된 바 있다.¹¹⁾

위와 같은 결과들을 살펴 볼 때, 올리고당이 종류에 상관없이 적은양의 섭취로도 중성지방을 비롯한 혈장의 지질 개선에 유의한 효과를 보이는 것으로 나타났다. 특히 중성지방은 관상심장질환(coronary heart disease)의 주요한 위험요인으로 알려져 있는데,³⁸⁾ Wenxun 등³⁹⁾은 중국 농촌에서도 콜레스테롤보다 중성지방이 오히려 심장질환과 관련이 높다고 보고하였다. 이는 식문화적 특성상 고탄수화물 식사로 인해 잉여의 탄수화물이 중성지방으로 전환되어 혈액의 중성지방 수치가 높은 한국인의 건강 유지와 질병 예방에 올리고당의 섭취가 도움을 줄 수 있음을 의미하는 것이다. 따라서 앞으로 올리고당의 섭취가 인체의 지질성상에는 어떤 변화를 가져오는지에 대한 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

4. 혈장과 간의 지질과산화물 농도와 항산화효소 활성

혈장과 간에서 TBARS(thiobarbituric acid reactive substance)로 측정된 지질과산화물에 대한 결과는 Table 6과 같다. 혈장에서의 TBARS 생성은 실험군간에 차이가 나

Table 5. Hepatic total lipid, cholesterol and triglyceride concentrations of rats fed with selected oligosaccharides (mg/g liver)

	Control	FOS	SOE	HiBOS
Total Lipid	¹⁾ 20.19 ± 4.83 ^{NS}	22.75 ± 4.16	19.50 ± 3.42	20.75 ± 5.33
Cholesterol	1.39 ± 1.03 ^{NS2)}	1.72 ± 0.72	1.15 ± 0.68	1.38 ± 0.73
Triglyceride	6.04 ± 4.48 ^{NS}	7.9 ± 5.85	4.73 ± 5.05	6.41 ± 4.26

1) Mean ± SD, 2) NS : Not significant

Table 6. TBARS(Thiobarbituric acid reactive substance) levels in plasma and liver of rats fed with selected oligosaccharides

	Control	FOS	SOE	HiBOS
Plasma(nmol/ml)	¹⁾ 0.33 ± 0.10 ^{NS2)}	0.30 ± 0.13	0.32 ± 0.15	0.33 ± 0.14
Liver(nmol/g)	1.44 ± 0.20 ^{NS}	1.80 ± 0.58	1.48 ± 0.66	1.40 ± 0.20

1) Mean ± SD, 2) NS : Not significant

Table 7. Antioxidant enzyme activities in plasma and liver of rats fed with selected oligosaccharides

Antioxidant enzyme	Control	FOS	SOE	HiBOS
Plasma				
GPx/protein(u ³ /g)	¹⁾ 41.1 ± 9.5 ^{NS2)}	52.0 ± 12.1	41.6 ± 19.8	47.0 ± 7.0
Liver				
SOD/protein(u ⁴ /mg)	2.55 ± 0.57 ^{NS}	2.45 ± 0.72	2.42 ± 0.50	2.69 ± 0.17
GPx/protein(u/g)	85.6 ± 13.3 ^{NS}	79.2 ± 28.8	102.1 ± 22.4	89.3 ± 16.0
Catalase/protein ⁵⁾	8.9 ± 3.6 ^{NS}	8.5 ± 3.8	9.8 ± 2.8	8.8 ± 3.2

1) Mean ± SD, 2) NS : Not significant, 3) 1unit=1µmol NADPH disappearance/min

4) 1unit is defined as by the inhibition of cytochrome C reduction by 50%, 5) nmol formaldehyde utilized as standard/g protein

타나지 않아서 올리고당의 첨가나 첨가된 올리고당의 형태가 체내 지질과산화에는 영향을 주지 않은 것으로 사료된다. 다만 FOS 섭취군의 간 TBARS 농도가 약간 높았으나 유의적인 차이는 없었다.

혈장의 GPx와 간의 항산화 효소의 활성 정도는 Table 7에 나타나 있다. 프락토올리고당과 고순도 분지올리고당을 섭취한 군의 혈장 GPx 활성이 약간 높았으나 실험군간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 간에서는 SOD, GPx 및 catalase의 활성을 측정하였는데, 간의 항산화 효소들의 활성 정도도 혈액의 항산화 효소들과 마찬가지로 올리고당의 투여로 인한 유의적인 차이는 없었으나 대두올리고당을 섭취한 군에서 다른 군들보다 GPx와 catalase의 활성이 높은 경향으로 나타났으며 고순도 분지올리고당의 경우에는 다른 군들에 비해 SOD의 활성이 약간 높은 경향으로 나타났다.

Free radical에 의한 산화적 손상은 여러 만성 퇴행성 질환들의 발병과 관련이 있다고 보고되고 있다.⁴⁰⁾ 그러나 체내에는 자연적으로 생성되는 이러한 free radical로부터 세포막과 세포내 물질을 보호하기 위한 항산화 효소들이 있으며 이들 중 가장 중요한 것은 catalase, superoxide dismutase (SOD) 및 glutathione peroxidase(GPx) 이다.⁴¹⁾ Catalase, SOD 및 GPx는 과산화과정의 시작물질인 superoxide anion(O₂⁻)을 H₂O₂로 바꾸고, 다시 이를 포함한 여러 peroxides들을 제거함으로써 지질과산화로부터 세포를 보호하는데 관여한다.⁴²⁾

본 실험결과 올리고당은 지질과산화 및 항산화 효소의 활성 정도에 직접적인 영향을 미치지 않는 것으로 보인다. 다만 고지혈증을 보이는 당뇨병자에게서 혈장 MDA(malondialdehyde) 수준이 정상적인 혈액 지질성상을 갖는 환자보다 유의적으로 상승되었다고 보고된 바 있는데,⁴³⁾ 본 실험 결과 올리고당이 혈장 중성지방과 콜레스테롤 등을 낮추어 주는 것으로 나타났으므로 올리고당이 지질 성상의 개선을 통해 간접적으로 지질과산화 및 항산화 효소 활성에 영향을 미칠 수 있으리라 사료된다. 또한 대두올리고당 섭취군의 간의 GPx와 catalase의 활성이 약간 높았고, 고순

도 분지올리고당을 섭취한 군에서는 SOD의 활성이 약간 높은 경향으로 나타나서 앞으로 항산화에 미치는 올리고당의 효과에 대해서는 보다 정밀한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 현재 국내에서 시판 또는 개발되고 있는 다양한 종류의 올리고당들, 즉 프락토올리고당, 대두올리고당, 고순도 분지올리고당을 흰쥐의 식이에 첨가하였을 때 흰쥐의 분변 중 비피더스 균수, 혈액과 간의 지질성상 및 지질과산화물의 농도와 항산화 효소 활성에 미치는 영향을 알아보고자 수행되었다.

올리고당이 분변 중 비피더스균 증식에 미치는 영향을 살펴보면, 식이무게의 5% 수준으로 세가지 올리고당을 투여했을 때, 실험 기간 4주 후 대조군에 비해 분변 중 비피더스균이 약간 증식되는 효과가 나타났고, 특히 올리고당의 순도가 가장 높았던 고순도 분지올리고당 섭취군에서 비피더스균 증식효과가 유의적으로 높게 나타났다.

이제까지 국내에서의 올리고당의 생리 활성에 대한 연구가 주로 장내균총 및 분변의 성상에만 초점을 맞추었던 것에 비해 본 연구에서는 올리고당의 투여가 지질대사에 미치는 영향을 살펴보았다. 혈장 총 지방량은 올리고당 섭취군들이 대조군에 비해 낮은 경향을 보였는데, 특히 고순도 분지올리고당 섭취군이 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 혈장 중성지방 농도는 모든 올리고당 섭취군에서 대조군에 비해 유의적으로 크게 낮아졌고, 혈장 콜레스테롤 농도도 유의적이지는 않으나 낮은 경향을 보여 주었기 때문에 올리고당 첨가 식이로 사육한 흰쥐의 혈액 지질 개선 효과가 큰 것으로 사료된다. 그러나 세가지 올리고당의 종류에 따라서는 측정된 혈액 지질성상에 유의적 차이가 없었다. 혈장의 지질 개선 효과에 비하여 간의 총지방, 콜레스테롤, 중성지방에는 올리고당의 섭취에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 혈장과 간의 지질과산화 농도와 항산화효

소의 활성에는 올리고당의 투여로 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 올리고당의 종류에 따라 항산화 효소활성에 미치는 결과가 약간 다르게 나타났기 때문에 항산화에 미치는 올리고당의 효과에 대해서는 보다 정밀한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구결과 올리고당의 투여는 장내 균총과 혈액의 지질 성상을 개선하여 영양 생리적 유용성이 뛰어난 것으로 나타났다. 특히 혈장의 중성지방 수치가 크게 낮아졌는데, 고탄수화물 식사로 인해 혈액의 중성지방 수치가 높아 심혈관계 질환의 위험이 큰 한국인의 건강 유지와 질병 예방에 올리고당의 섭취가 도움을 줄 수 있을 것이라 사료된다. 또한 올리고당은 현재 식품 산업에 널리 이용되고 있음에도 불구하고 올리고당에 대한 연구는 일본을 비롯한 외국의 자료에 의존하고 있는 실정이므로 올리고당의 영양 생리적 활성에 대한 과학적인 검증 작업이 앞으로 국내에서도 더욱 광범위하게 그리고 지속적으로 이루어져야 한다고 본다.

Literature cited

- Hidaka H, Eida T, Takizawa T, Tokunaga T, Tashiro Y. Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microflora* 5 : 37-50, 1986
- Mitsuoka T. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 1(3) : 3-24, 1982
- Modler HW, Mckeller RC, Yaguchi M. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can Inst Food Sci Technol J* 23 : 29-41, 1990
- Mitsuoka T. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol* 6 : 263-268, 1990
- McDonel JL. Clostridium perfringens toxins (Type A, B, C, D, E). *Pharmac Ther* 10 : 617-655, 1980
- Yokoyama MT, Carlson JR. Microbial metabolites of tryptophan in the intestinal tract with special reference to skatole. *Am J Clin Nutr* 32 : 173-178, 1979
- Okazaki M, Fujikawa S, Matsumoto N. Effect of xylooligosaccharide on the growth of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora* 9 : 77-86, 1990
- Hayakawa K, Mizutani J, Wada K, Masai T, Yoshihara I, Mitsuoka T. Effects of soybean oligosaccharides on human faecal flora. *Microbial ecology in health and disease* 3 : 293-303, 1990
- Saito Y, Takano T, Rowland L. Effects of soybean oligosaccharides on the human gut microflora in vitro culture. *Microbial ecology in health and disease* 5 : 105-110, 1992
- Delzenne N, Kok N, Fiordaliso M, Deboysier DM, Goethals FM, Roberfroid MB. Dietary fructooligosaccharides modify lipid metabolism in rats. *Am J Clin Nutr* 57(suppl) : 820S, 1993
- Lévrat M, Favier M, Moundras C, Rmsy C, Demign C, Morand C. Role of dietary propionic acid and bile acid excretion in the hypocholesterolemic effects of oligosaccharides in rats. *J Nutr* 124 : 531-538, 1994
- Heo KT. Oligosaccharides-The leader of functional foods. YouHan Press. Seoul, pp.73-76, 1992
- Seo JH. Internal trends in research and development of oligosaccharides. *Food Science and Industry* 27(4) : 8-11, 1994
- Kim JR, Yook C, Kwon HK, Hong SY, Park CK, Park KH. Physical and physiological properties of isomaltooligosaccharides and fructooligosaccharides. *Kor J Food Technol* 27(2) : 170-175, 1995
- Park JH, Yoo JY, Shin OH, Shin HK, Lee SJ, Park KH. Growth effect of branched oligosaccharides on principal intestinal bacteria. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 20(3) : 237-242, 1992
- Kang KH, Kim KM, Choi SG. Effects of the fructooligosaccharide intake on human fecal microflora and fecal properties. *Kor J Food Technol* 28(4) : 609-615, 1996
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents : Final report of the American Institute Nutrition Ad Hoc Wrioting Committee on the reformulation of the AIN-79A rodent diet. *J Nutr* 123 : 1939-1951, 1993
- Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfphosphovanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53 : 89-91, 1970
- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
- Yagi K. Assay for blood plasma or serum. In : Method in enzymology. Academic Press 105 : 328-331, 1984
- Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115 : 1425-1435, 1985
- Folcher L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, Otting F. Convenient assays for superoxide dismutase. In : Miquel J, Quintanilha AT, Weber H. eds. CRC handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, pp.287-288, 1992
- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 35 : 337-341, 1975
- Johansson LH, Hankan Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochem* 174 : 331-336, 1988
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70 : 158-169, 1967
- Agheli N, Kabir M, Berni-Canani S, Petitjean E, Boussairi A, Luo J, Bornet F, Slama G, Rizkalla SW. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. *J Nutr* 128 : 1283-1288, 1998
- Howard MD, Gordon DT, Garleb KA, Kerley MS. Dietary fructooligosaccharide, xylooligosaccharide and gum arabic have variable effects on cecal and colonic microbiota and epithelial cell proliferation in mice. *J Nutr* 125 : 2604-2609, 1995
- Djouzi Z, Andrieux C. Compared effects of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with a human faecal flora. *Br J Nutr* 78(2) : 313-324, 1997
- Park KH. Development of new materials from carbohydrate. *Food Science and Industry* 25(2) : 73-81, 1992
- Ohmura K, Maruta K, Kato Y, Hayakawa K. Changes of soybean oligosaccharides in the digestive tract. In : Hosoya N(ed) Proceedings of the International Symposium on caloric evaluation carbohydrates. Japan Association of Dietetic and Enriched Foods, Tokyo, pp.39-50, 1990
- Wada K, Mizutani J, Watabe J, Suzuki H, Sirayanagi S. Effects of soybean oligosaccharides intake on fecal microflora. *ヒフイブス* 5 : 51-54, 1991
- Kim MJ. Production of highly concentrated branched oligosaccharides using yeast fermentation. Master's thesis, Seoul National University, 1995
- Ide T, Moriuchi H, Nihimoto K. Hypolipidemic effects of guar gum and its enzyme hydrolysate in rats fed highly saturate fat diets. *Ann Nutr Metab* 35 : 34-44, 1991
- Fiordaliso M, Kok N, Desager J, Goethals F, Deboysier D, Roberfroid M, Delzenne N. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of

- rats. *Lipids* 30 : 163-167, 1995
- 35) Kok N, Roberfroid M, Robert A, Delzenne N. Involvement of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. *Br J Nutr* 76 : 881-890, 1996
- 36) Kok NN, Taper HS, Delzenne NM. Oligofructose modulates lipid metabolism induced by a fat-rich diet in rats. *J Appl Toxicol* 18 : 47-53, 1998
- 37) Oh SJ, Kim WK, Kim YH, Kim HY, Choi EH, Kim SH. Effects of the fuructooligosaccharides on lipid metabolism in hypercholesterolemic rat. *Kor J Nutr* 31 : 882-883, Spring symposium of Korean Nutrition Society, 1998(Abstract)
- 38) Welin L, Eriksson H, Larsson B, Ohlson LO, Svardsudd K, Tibblin G, Wilhelmsen L. Triglycerides, a major coronary risk factor in elderly men. a study of men born in 1913. *Eur Heart J* 12 : 700-704, 1991
- 39) Wenxun F, Parker R, Parpia B, Yinsheng Q, Casasno P, Crawford M, Leyton J, Tian J, Junshi C, Campbell TC. Erythrocyte fatty acids, plasma lipids and cardiovascular disease in rural china. *Am J Clin Nutr* 52 : 1027-1036, 1990
- 40) Barry H. Free radicals, antioxidants, and human disease : Curiosity, cause, or consequence? *The Lancet* 344 : 721-724, 1994
- 41) Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. *J Nutr* 122 : 625-626, 1992
- 42) Sevanian A, Hochstein P. Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological system. *Ann Rev Nutr* 5 : 365-390, 1985
- 43) Nacitarhan S, Ozben T, Tuncer N. Serum and urine malondialdehyde levels in NIDDM patients with and without hyperlipidemia. *Free Radical Biol Med* 19 : 893-896, 1995