

식이 DFA IV의 흰쥐 장내 단쇄지방산 생성 및 장내환경 개선효과

홍경희¹, 장기효², 강순아^{3*}

¹동서대학교 식품영양학과, ²강원대학교 식품영양학과,
³호서대학교 보건산업연구소/호서대학교 벤처대학원 융합공학과

Effects of Dietary DFA IV on Lumen Short Chain Fatty Acids Production and Intestinal Environment in Rats

Kyung Hee, Hong¹, Ki-Hyo, Jang², Soon Ah, Kang^{3*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition, Dongseo University

²Dept. of Food and Nutrition, Kangwon National University

³Institute of Health Industry, Hoseo University/Dept. of Converting Technology,
Graduate School of Venture, Hoseo University

요약 본 연구는 미생물 발효로 생산된 DFA IV의 장내환경 개선 효과를 살펴보고자 하였다. 동물실험을 통해 식이 DFA IV가 장의 길이 및 무게와 단쇄지방산 및 젖산 생성, 장내 pH에 미치는 영향을 조사하였다. Sprague-Dawley종 흰쥐를 식이 무게의 DFA IV를 0%(대조군) 또는 1%로 함유한 식이로 3주간 사육하였다. DFA IV를 공급한 군에서 대조군에 비해 맹장의 무게와 맹장벽의 무게가 유의적으로 증가하였다. DFA IV 공급에 의해 맹장 내용물의 아세트산과 부티르산 함량이 각각 대조군의 1.6배, 3.2배 증가하였고, 이에 따라 맹장과 대장의 pH도 DFA군에서 대조군에 비해 감소하였다. DFA IV는 또한 맹장의 젖산 생성을 1.5배 증가시켜, 식이로 공급한 DFA IV가 장내에서 젖산균의 증식을 촉진하였음을 보여주었다. 본 연구 결과 DFA IV 함유 식이는 장에서 발효되어 장내 환경을 개선하는 것으로 사료된다. 결론적으로 DFA IV는 장건강에 유익한 프리바이오틱 기능성 소재로 활용될 수 있으리라 기대된다.

Abstract This study examined the improving effect of DFA IV obtained from bacterial fermentation on the gut health. The effects of the dietary DFA IV on the intestinal mass, short chain fatty acids production and pH were evaluated in vivo. Sprague-Dawley rats were fed the 0% (control) or 1% DFA IV supplemented diets for 3 weeks. Supplementation of DFA IV resulted in a significant increase in cecal tissue and wall weights. Together with the lowering of the cecal and colonic pH, the amount of acetate and butyrate increased by 1.6 and 3.2 fold of the control group in the cecum, respectively, in the rats fed DFA IV diets. The DFA IV diet also significantly increased the cecal lactate 1.5 fold compared to the control diet, indicating that dietary DFA IV stimulated the growth of lactic acid bacteria and bifidobacteria in the intestine. Based on the above results, it is concluded that the dietary DFA IV may be used as a putative prebiotic supplement.

Keywords : DFA IV, Short chain fatty acids, Intestinal environment, Rat

1. 서론

난소화성의 비전분성 다당류(nonstarch polysaccharides)

는 인체의 소화효소에 의해 분해되지 않고 대장에 도달하여 장내 미생물에 의하여 대사되어 장내미생물 군총과 대사산물의 조성에 큰 변화를 조성한다[1].

*Corresponding Author : Soon Ah, Kang (Hoseo University)

Tel: +82-10-8761-6312 email: sakang@hoseo.edu

Received November 16, 2015

Revised (1st January 20, 2016, 2nd March 2, 2016)

Accepted March 3, 2016

Published March 31, 2016

Difructose dianhydrides (DFAs)는 2개의 과당(fructose)이 환원형 말단에서 결합된 고리형(cyclic) 이당류로, 결합의 종류에 따라 현재까지 DFA I, II, III, IV, V로 5종이 밝혀져 있다. DFAs는 구조적인 특징으로 인해 동물의 체내에서 분해되지 않는 비소화성 이당류로, DFA III, IV는 설탕의 50% 정도의 감미를 가지며 체내에 흡수되지 않기 때문에 설탕의 대체하는 저칼로리 감미료로 사용될 수 있다[2]. 또한 DFAs는 생체 내에서 금속이온인 칼슘, 철분 등과 쉽게 복합체를 형성하여 소장에서의 흡수를 용이하게 할 수 있기 때문에 무기질 흡수를 촉진하는 기능성 식품에도 활용할 수 있다[2].

DFA IV (2,6':6,2' difructose dianhydride IV)는 과당 중합체(fructose polymer)인 레반(levan)이나 이눌린(inulin)을 원료물질로 하여 화학적 또는 효소분해 방법으로 생산된다(Fig. 1). DFA IV의 화학적 합성법은 낮은 반응선택성과 복잡한 분리정제과정이 요구되어 경제적인 생산수단이 되기 어려운 반면 미생물 효소를 이용한 생성공정은 기질에 대한 선택성이 높고 비교적 분리정제가 용이하여 DFA IV 생산기술로 효과적이다. 본 연구에서 사용한 DFA IV는 레반을 기질로 사용하여 미생물인 *Arthrobacter*에서 유래된 levan fructotransferase의 유전자를 사용하여 생산하였고[3], 동물을 이용한 독성시험에서 DFA IV는 독성학적인 변화가 없는 안전한 물질로 밝혀졌다[4]. DFA IV는 체내에서 소화효소에 의해 분해될 수 없으므로 소장에서 흡수되지 않고 대장으로 이행하므로 장내에서의 발효가능성을 보여준다[2,5].

프리바이오틱(prebiotics)은 장내 미생물을 선택적으로 조절할 수 있는 식품 성분으로 이눌린, fructo-oligosaccharides, galacto-oligosaccharides, lactulose 등이 포함되며, 장내 발효가능성을 고려할 때 DFA IV 또한 프리바이오틱으로서 가능성을 가진다. 최근에는 장건강을 비롯하여 비만, 항암 등과 관련하여 대장 내 비소화성 다당류의 장내 미생물 발효가 중요한 요인으로 생각되고 있다[1].

비소화성 다당류는 인체 장내 미생물에 의한 발효시 기질로 사용되어 아세트산, 프로피온산, 부티르산 같은 단쇄지방산을 생성하는데, 많은 부분에서 인체의 생리적 특성은 단쇄지방산과 관련이 있다. 장내미생물 발효에 의해 생성되는 단쇄지방산의 양이나 종류는 장내에 존재하는 미생물군총의 양과 종류, 그리고 발효의 기질이 되는 식이섬유의 종류, 장통과시간 등에 따라 달라진다[6].

장내에서 단쇄지방산은 장 상피세포의 영양소로 작용

하여 세포증식, 분화, 유전자 발현에 영향을 주며, 장내 pH를 산성화시킨다[7]. 또한 단쇄지방산 증가로 변화된 장내환경은 담즙산의 용해도 감소, 암모니아 흡수 감소 등의 원인을 제공하며 장내 무기질을 흡수가 용이한 형태로 변화시킨다[8]. 이러한 영향으로 단쇄지방산은 과민성 대장 증후군, 염증성 장질환과 같은 소화기질환을 포함하여 압, 심혈관질환, 비만의 위험을 감소시키며 면역기능을 강화시켜 항염증 효과를 나타낸다[6]. 특히 단쇄지방산은 손상된 대장의 재생을 촉진시켜 대장의 건강을 증진하는데 도움을 준다[1].

선행된 연구에서는 DFA IV의 생산 기질인 레반을 식이로 공급했을 때 장내에서 발효되어 단쇄지방산의 생성이 증가하고 장내 pH를 감소시키며, 젖산균 증식을 촉진하는 등 장내 환경을 개선하는 효과가 있음이 확인되었다[9]. 하지만, DFA IV의 장내환경개선 효능에 대한 충분한 연구결과가 없으므로 장내환경개선 효능을 나타내는 유효 DFA IV 농도에 대한 자료는 전무한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 미생물적 방법에 의하여 생산된 DFA IV의 동물모델을 활용한 *in vivo* 시스템에서 장내 발효 가능성과 프라바이오틱으로서의 효과를 확인하고 장건강 기능성 식품소재로서의 활용 가능성을 알아보고자 하였다. DFA IV 식이를 흰쥐에게 공급하고 장내의 pH, 소화기관의 길이와 내용물의 양, 단쇄지방산 및 젖산 생성에 미치는 영향을 관찰하여 식이로 공급된 DFA IV에 의한 장내환경 개선 효과를 살펴보았다.

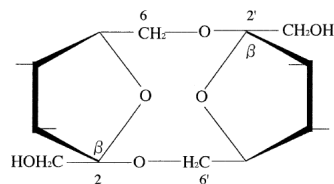


Fig. 1. Structure of 2,6':6,2' difructose dianhydride (DFA IV).

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물의 식이 및 사육

7주령 Sprague-Dawley 중 숫컷 흰쥐를 중앙실험동물사에서 구입하여 1주일간 적응시킨 후 DFA IV를 0% 또는 1% 함유한 실험식이(w/w)를 공급하여 각각 대조군과 DFA군으로 하였다 (Table 1). 시험물질로 사용한

DFA IV는 백색의 단맛을 가진 결정성 분말로 (주)리얼바이오텍 (Kongju, Korea)에서 제공받아 사용하였다.

실험동물은 각 군에 6마리씩 나누어 3주간 사육하였으며, 3주차에는 한 마리씩 분리하여 1주간 대사 cage에서 사육하였다. 실험 기간 동안 식이는 하루 3시간씩 2회, 물은 제한 없이 공급하였다. 식이섭취량은 매일 일정한 시간 잔량을 측정하였으며, 체중은 1주일에 한 번씩 측정하였다.

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

Ingredients	Control group	DFA group
Casein	250	250
Corn Oil	50	50
Cellulose	50	50
Corn Oil	50	50
Sucrose	600	590
Mineral mixture ¹⁾	36	36
Vitamin mixture ²⁾	10	10
Choline chloride	4	4
DFA IV	0	10

¹⁾AIN-76 Mineral mix

²⁾AIN-76A Vitamin mix

2.2 장기의 무게 및 길이

실험기간 후 12시간 동안 절식시킨 상태에서 ethyl ether로 마취한 후 간문맥에서 채혈하여 희생하고 간과 신장, 소장, 맹장, 대장을 적출하였다. 소장, 맹장, 대장을 분리하여 중량을 측정하였고, 각각 장의 내용물을 분리한 후 50 mM phosphate 완충용액 (pH 7.0)으로 세척하고 여분의 수분을 충분히 제거한 뒤 장벽의 중량을 측정하였다.

2.3 장 내용물의 pH 측정

맹장과 대장에서 각각 내용물 0.5g을 취하여 10배의 증류수로 희석하고 4°C, 3000rpm에서 10분 동안 원심분리 (5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany)한 후 상층액을 취하여 pH meter (model 725p, Istek, Seoul, Korea)를 사용하여 pH를 측정하였다[9].

2.4 단쇄지방산 및 젖산 측정

단쇄지방산 및 젖산의 정량분석은 선행연구에서 사용된 방법에 따라 실시하였다[9]. 구체적으로, 맹장과 장 내용물에서 단쇄지방산과 젖산의 정량분석을 위하여 회수한 장 내용물에 phosphoric acid를 가하여 최종농도

10% (w/v)로 조정된 후 10000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 상층액은 HP-FFAP (0.25 m, 25 m X 0.2 mm) column이 장착된 gas chromatography (Hewlett Packard Model 5890 Series II, USA)를 이용하였으며, 칼럼 온도는 70°C에서 1분 유지한 후, 200°C까지 15°C/min 속도로 증가시킨 다음, 200°C에서 5분으로 정제되도록 설정하였다.

2.5 통계 분석

실험결과는 평균과 표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었고, Statistical Analysis System (SAS) program을 이용하여 Independent samples t-test 분석을 통해 실험군간의 차이를 α=0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

3. 결과

3.1 식이섭취량, 체중 및 장기 무게측정

실험동물의 식이섭취량, 체중 및 장기의 무게는 실험군간 통계적인 유의성이 나타나지 않았다 (Fig. 2). 대조군에 비해 DFA IV를 섭취한 실험동물에서 체중과 간, 신장의 무게가 약간 감소하는 경향을 나타내었는데 이는 난소화성의 DFA IV 공급에 적응하는 과정에서 나타난 설사에 기인한 것으로 사료되며, 통계적으로는 유의적인 차이는 확인되지 않았다. 또한 간과 신장에서 DFA IV 섭취에 따른 육안으로 확인되는 차이는 없었다.

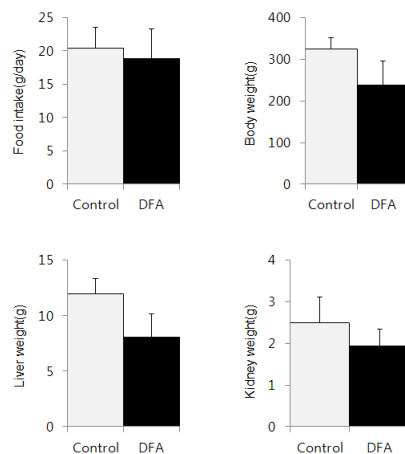


Fig. 2. Effects of dietary DFA IV on food intake, body and organs weight in rat. Values are mean±S.D.

3.2 장 길이와 장 무게 측정

소장, 맹장, 대장에서 각각의 장 길이와 장 무게를 측정하였다 (Table 2). 소장의 길이와 무게는 대조군과 실험군간 차이가 없었다. 그러나 맹장의 무게는 DFA군에서 유의적으로 증가하여 대조군에 비해 맹장조직은 67%, 맹장벽은 73% 높았다. 대장의 무게는 실험군간 유의적인 차이가 없었다.

Table 2. Effects of dietary DFA IV on intestine length and weight in rat

	Control	DFA
Small intestine length(cm)	112.3±7.6 ¹⁾	117.5±3.8
Total weight(g)		
Small intestine	8.51±0.89	7.05±0.92
Cecum	2.54±0.25	4.25±1.25 ²⁾
Colon	1.83±0.32	1.94±0.88
Wall weight(g)		
Small intestine	4.80±0.35	4.40±1.04
Cecum	0.69±0.10	1.20±0.09 [*]
Colon	1.14±0.09	1.02±0.20

¹⁾ Mean±S.D.

²⁾ *p<0.05, Control versus DFA by Independent samples t-test

3.3 맹장 및 대장 내용물의 단쇄지방산과 젖산 함량

식이 DFA IV 공급이 맹장 및 대장에서의 단쇄지방산과 젖산 생성에 미치는 영향을 비교하였다 (Fig. 3). DFA군에서 맹장 내용물의 아세트산, 부티르산, 젖산 함량이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. DFA군에서 대조군에 비해 맹장 내용물의 아세트산은 1.6배, 부티르산은 3.2배, 젖산 함량은 1.5배로 높았고 젖산 함량은 두 군들간 차이를 보이지 않았다. 대장 내용물의 단쇄지방산과 젖산은 실험군간 유의적인 차이가 없었다.

3.4 장 내용물의 pH

장내 단쇄지방산도 장내의 발효를 나타내는 지표이지만, 신속히 체내로 흡수되는 관계로 장내 발효 정도를 나타내기 위해서 장내 pH를 측정하였다. 소장 내용물의 pH는 대조군과 DFA군에서 모두 약산성으로 군들 간의 유의적 차이는 없었다. 장 내용물의 pH는 DFA군에서 각각 6.19±0.15 (맹장), 6.48±0.36 (대장)으로 대조군의 80% (맹장), 82% (대장) 수준으로 감소하여, 대조군의 맹장과 대장이 알칼리성 환경인 것에 비해 DFA IV 섭취에 의해 흰쥐의 장내환경이 산성화 되었다 (Fig. 4).

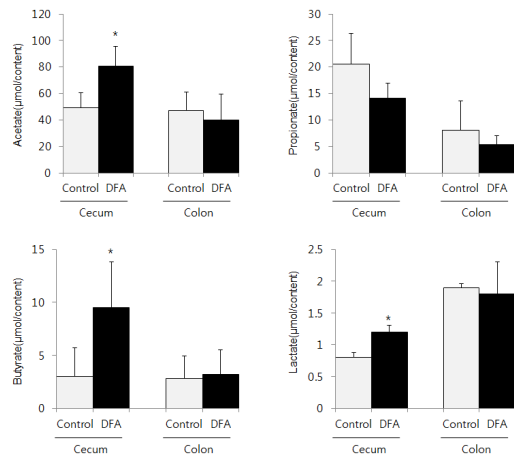


Fig. 3. Short chain fatty acids and lactate concentrations in the cecal and colonic contents of rats fed Control or DFA diets. Values are mean±S.D. *p<0.05, Control versus DFA by Independent samples t-test.

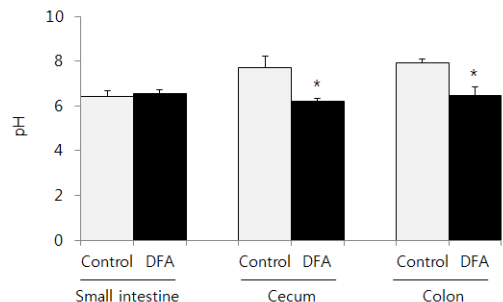


Fig. 4. Effects of dietary DFA IV on intestinal contents pH values. Values are mean±S.D. *p<0.05, Control versus DFA by Independent samples t-test.

4. 고찰 및 결론

본 연구는 식이로 공급된 DFA IV가 장내의 pH, 소화기관이 길이와 내용물의 양, 단쇄지방산 및 젖산 생성에 미치는 영향을 조사하여 DFA IV의 장내환경 개선 효과를 살펴봄으로써 DFA IV의 프리바이오틱 소재로서의 활용 가능성을 조사하였다.

DFAs를 식이의 3~5%로 공급한 연구들 [10-12]에서도 식이섭취량이나 체중에 차이가 없는 것으로 보고되어 본 실험과 유사한 결과를 보였다. 선행 연구에서 DFA

IV의 기질이 되는 다당류인 레반을 쥐에게 공급 시 식이의 10% 농도에서 장내 발효로 인한 체중 감소 또는 장기 무게 감소는 발견되지 않았다 [9]. 또한 본 실험에 사용한 DFA IV의 단회 및 4주간 반복 경구투여 독성시험에서는 단회 경구투여 시 특기할만한 임상증상이 관찰되지 않았고, LD₅₀치는 5000mg/kg 이상일 것으로 판단되었으며, 2000 mg/kg의 용량에서 명백한 독성학적 변화가 관찰되지 않았다 [4]. 현재까지, DFAs 중에서 DFA III와 DFA IV는 일본에서 생산되고 있으며, 국내에서는 DFA IV를 효소적 방법으로 생산하고 있다. 이 중에서 DFA III 생산에는 기질로 이눌린을 사용하며, DFA IV 생산에는 기질로 레반을 사용한다. DFA III와 DFA IV에 대한 연구는 주로 미네랄 흡수촉진의 의약적인 연구에 초점이 맞추어져 있으며 본 연구와 같이 식이로 공급하여 장내 대사적인 측면을 관찰한 연구를 보고한 사례는 미비한 실정이다. 선행연구에서 레반과 이눌린의 장내 발효특성 연구가 식이의 7~10% 수준으로 2~3주 공급하여 진행된다는 점에 착안하여 DFA IV를 식이의 10% 수준으로 3주간 공급시, 다수의 흰쥐에서 설사유발 등의 부작용이 관찰되었다(data not shown). 이눌린과 레반으로부터 DFAs를 생성시 이들 기질의 농도는 1~2%에서 사용된다. Song 등 [3]은 2% 레반을 기질로 사용시 1.2% DFA IV를 생성하였다. 따라서, 고농도의 DFA IV가 장 관련 부작용을 야기할 수 있으며 DFA IV 생산이 1~2% 기질농도에서 진행된다는 점을 고려하여 본 연구에서는 DFA IV의 사용 농도를 식이의 1%, 사용 기간을 3주로 특정시켰다.

비소화성 다당류 중 과당 중합체(fructose polymer)의 장 내용물 증량 효과는 여러 차례 보고된 바 있는데, 이눌린형 과당 중합체를 식이의 10%로 공급한 흰쥐에서 맹장의 내용물 및 맹장벽의 무게가 증가하였고 [13], Jang 등의 연구 [9]에서도 식이의 7%로 공급한 레반과 이눌린은 맹장 조직과 맹장 내용물 무게의 증가를 유도하였다. 이는 소화되지 않은 다당류들이 대장 미생물의 생육 조건을 호전시킨 결과로 볼 수 있다. 따라서 본 연구 결과 식이 DFA IV 공급에 의해 대장 내용물이 증가된 것은 DFA IV가 장내에서 미생물 증식을 유도한 결과라고 사료된다. 실제로 동물실험에서 DFA III 섭취에 의해 장내 젖산균 증식이 증가하는 등 미생물의 증식이 촉진되었다고 보고되었다 [5,12,14]. 장내미생물에 의한 발효는 단쇄지방산과 유기산의 생성을 증가시켜 장내 pH

는 감소하게 된다.

식이에 포함되어 있는 발효성 당류 중, 단당류나 이당류는 대장으로 이행되기 전에 이미 체내로 흡수되기 때문에 대장에서의 미생물 증식효과가 미비하다 [15]. 본 실험결과 대장 조직 무게에 차이가 없는 것은 이당류인 DFA IV가 대장으로 이행되기 전에 맹장에서 이미 발효되고 흡수되었기 때문인 것으로 생각된다.

인체의 장내에는 다양한 미생물들이 상호공생 또는 길항관계를 유지하면서 섭취된 음식물과 소화관으로부터 분리되는 생체 성분을 이용하여 증식하고 있다. 이러한 장내미생물들은 맹장과 대장에서 식이섬유를 발효시켜 유기산과 단쇄지방산을 생성하며, 생성되는 유기산 및 단쇄지방산의 양이나 비율은 식이섬유의 생리화학적 성질, 즉 식이섬유를 구성하는 단당류의 종류, 결합의 종류, 중합도, 용해도 등의 영향을 받는다 [1]. 장내 미생물 발효에 의하여 생성되는 주요 단쇄지방산에는 아세트산, 프로피온산, 부티르산 등이 있으며 [6], 본 실험 결과에서도 아세트산, 프로피온산, 부티르산이 주요 단쇄지방산으로 확인되었고, 주요 유기산으로 젖산이 검출되었다 (Fig. 3).

비소화성 다당류는 장에서의 발효되어 단쇄지방산 및 유기산을 생성한다. 생성된 단쇄지방산은 맹장과 대장의 장벽을 통하여 신속히 흡수되어 장세포에서 이용되거나 혈액을 통해 말초조직으로 이동한다 [16, 17]. 따라서 단쇄지방산은 장질환의 예방 및 치료에 중요한 역할을 한다 [6].

본 연구에서 맹장 내용물의 아세트산은 DFA군이 대조군에 비해 64% 많이 생성되는 결과를 보였는데, Saito 등 [10]은 흰쥐에게 DFA IV를 식이 무게의 3%로 공급했을 때 맹장의 아세트산이 증가했음을 보고하였고, DFA III를 식이 무게의 3~5%로 공급한 동물실험에서도 맹장의 아세트산 생성이 증가하여 본 실험과 유사한 결과를 보였다 [11,12,18].

아세트산은 포도당을 탄소원으로 이상젖산젖산균이나 비피더스균에 의해 발효되어 생성되는 발효산물로, 장내 단쇄지방산조성에서 가장 높게 나타난다. 최근의 연구 결과에 의하면, 흡수된 아세트산은 혈액을 통해 근육 등의 말초 조직에서 대사되어 에너지로 사용되며, 혈청 유리지방산을 감소시킨다 [19].

부티르산은 효능적인 측면에서 대장세포 대사에서 가장 중요한 단쇄지방산으로 장질환의 예방 및 치료에 중

요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 장내에서 부티르산의 70~90%는 맹장과 대장의 상피세포에서 주요 에너지원으로 사용되어 대장 상피세포의 증식과 분화를 촉진한다 [6]. 또한 단쇄지방산들 중에서 부티르산은 대장 중앙세포의 증식을 억제하고 apoptosis를 촉진하여 대장암 예방 효과가 가장 우수하다고 보고되었다 [20]. 부티르산에 의한 장 상피세포의 증식 촉진은 장 상피세포의 표면적 증대를 가져와 이를 통한 무기질 흡수능이 증가한다 [21]. 부티르산은 또한 비특이성면역과 세포매개성면역에도 관여하여 면역조절효과가 있으며 [6]. 염증성장질환의 치료 목적에도 사용할 수 있을 것으로 제안되었다 [8].

본 연구 결과 부티르산 함량은 대조군에 비해 DFA군이 맹장에서 3.2배 높은 결과를 보여 식이 DFA IV가 맹장에서 부티르산 생성을 크게 증가시켰다. 이러한 결과로부터 DFA IV는 체내에서 장 환경 개선 및 대장암 예방, 면역증강 및 무기질 흡수 증진 용도로 사용이 가능할 것으로 판단된다.

젖산은 젖산균 또는 비피더스균에 의해 생성되는 대사산물이다. 최근 연구에 의하면 젖산과 같은 유기산에 의한 pH 감소는 장내 유해균의 생육을 억제하고, 면역능을 촉진하고 미네랄의 흡수를 증가시키는 것으로 보고되었다 [1]. 생성된 젖산은 다시 효소적 작용에 따라 다른 대사산물로 변화되는데, 젖산은 주로 아세트산, 부티르산 같은 단쇄지방산으로 대사된다 [22]. 본 연구에서 젖산 함량은 맹장 내용물에서 대조군에 비해 DFA군이 1.5배 높았는데, 이러한 결과는 DFA IV 공급이 장내에서 젖산균의 증식을 촉진한 결과임을 추측해 볼 수 있다.

Lactobacillus 속과 *Bifidobacterium* 속 같은 미생물은 인체에 필요한 비타민, 아미노산 등을 생성하고 면역력을 강화시키며 병원체의 성장을 억제하는 등 인체의 건강을 유지하는데 도움을 준다 [23,24]. DFA III는 *in vitro* 연구 [14]와 *in vivo* 연구 [12]에서 대장에서 *Lactobacillus* 속의 균수를 증가시켰음이 보고되었다. 따라서 DFA IV 섭취는 장내젖산균의 증식을 촉진함으로써 인체에 유익한 영향을 줄 것으로 예상된다.

본 연구 결과 단쇄지방산은 맹장에 비해 대장 내용물에서 감소한 반면, 젖산의 함량은 대장 내용물에서 증가하였는데 이는 젖산보다 단쇄지방산의 체내 흡수율이 높은 것에서 기인한다. 또한 대장에서의 단쇄지방산과 젖산 함량이 실험군간 차이를 보이지 않는 것은 이당류인

DFA IV는 분자량이 작기 때문에 빠른 속도로 발효되었고, 이렇게 단시간에 생성된 단쇄지방산은 이미 맹장에서 대부분 흡수되었기 때문인 것으로 생각된다.

본 실험 결과에 나타난 장내용물 pH의 저하는 DFA IV가 장내 미생물에 의해 발효되어 장내 미생물의 생육이 활발하게 진행된다는 것을 의미하며, 특히 단쇄지방산과 유기산 생성능이 있는 장내 미생물의 생육이 왕성하게 촉진되어 장내 환경을 산성화하는 것을 의미한다 [25].

장내 pH의 1 감소는 수소이온 농도가 10배 증가함을 의미하며, 수소이온에 민감한 장내미생물총의 변화가 수반된다. 장내 pH가 산성화될수록 수소이온 농도에 민감한 *Clostridia*, *Bacteroides* 같은 유해균의 생육이 크게 억제되지만 상대적으로 인체에 유익한 균인 젖산균과 부티르산 생성균의 생육은 증가한다 [26,27]. 따라서 DFA IV는 장내 pH의 저하를 유도함으로써 장내 유해균의 생육에 불리한 장 환경을 제공하여 장 건강을 개선하고 장기적으로 다른 prebiotics와 식품에서 확인된 여러가지 대장질환의 예방인자로 작용할 수 있다고 예상된다 [28, 29-34].

연구 결과를 종합해 보면 다음과 같다.

- 1) 식이섭취량과 체중, 간과 신장의 무게는 실험군간 차이가 나타나지 않았다.
- 2) 소장 길이의 길이 및 조직 무게, 대장 조직 및 대장벽의 무게는 실험군간 차이를 보이지 않았으나, 맹장의 무게는 대조군에 비해 DFA군에서 맹장 무게는 67%, 맹장벽의 무게는 73% 증가하여 DFA IV가 소장에서 소화되지 않고 맹장에서 장내미생물의 생육을 촉진하였음을 시사하였다.
- 3) 식이 DFA IV 공급에 의해 맹장 내 아세트산, 프로피온산, 젖산 함량이 유의적으로 증가하여 DFA IV가 장내미생물에 의해 발효되어 단쇄지방산과 유기산으로 대사됨을 보여주었다.
- 4) 맹장 및 대장의 pH는 DFA IV 식이를 섭취한 실험 동물에서 유의적으로 낮게 나타나 DFA IV는 장내 환경을 산성화시켰다.

이상의 결과에 의하면 DFA IV 함유 식이는 장에서 단쇄지방산과 유기산 생성을 촉진하여 장의 pH를 산성화하여 장내환경을 개선하는데 기여하였다. 결론적으로 DFA IV는 프리바이오틱으로서 작용함으로써 장 건강에 유익한 기능성 식품소재로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

References

- [1] R. Jha, J. D. Berrocoso, "Review: Dietary fiber utilization and its effects on physiological functions and gut health of swine", *Animal*, 9(9), pp. 1441-1452, 2015.
- [2] K. Saito, F. Tomita, "Difuctose anhydrides: their mass-production and physiological functions", *Biosci Biotechnol Biochem*, 64(7), pp. 1321-1327, 2000.
- [3] K. B. Song, K. S. Bae, Y.B. Lee, K. Y. Lee, S. K. Rhee, "Characteristics of levan fructotransferase from *Arthrobacter ureafaciens* K2032 and difuctose anhydride IV formation from levan", *Enzyme Microb Technol*, 27, pp. 212-218, 2000.
- [4] C. W. Lee, L. M. Lee, H. M. Kim, W. K. Yoon, S. H. Kim, H. Y. Son, H. C. Kim, "Single and four-week oral toxicity studies of difuctose dianhydride (DFA IV) in Sprague-Dawley rats", *J Toxicol Pub Health*, 20, pp. 263-272, 2004.
- [5] K. Minamida, K. Shiga, I. N. Sujaya, T. Sone, A. Yokota, H. Hara, K. Asano, F. Tomita, "Effects of difuctose anhydride III (DFA III) administration on rat intestinal microbiota", *J Biosci Bioeng*, 99(3), pp. 230-236, 2005.
- [6] J. M. Wong, R. de Souza, C. W. Kendall, A. Emam, D. J. Jenkins, "Colonic health: fermentation and short chain fatty acids", *J Clin Gastroenterol*, 40(3), pp. 235-243, 2006.
- [7] S. I. Cook, J. H. Sellin, "Short chain fatty acids in health and disease", *Aliment Pharmacol Ther*, 12(6), pp. 499-507, 1998.
- [8] E. Hijova, A. Chmelarova, "Short chain fatty acids and colonic health", *Bratisl Lek Listy*, 108(8), pp. 354-358, 2007.
- [9] K. H. Jang, S. A. Kang, Y. H. Cho, Y. Y. Kim, Y. J. Lee, K. H. Hong, E. K. Jang, C. H. Kim, R. W. Choue, "The effects of levan and inulin on the growth of lactic acid-producing bacteria and intestinal conditions in rats", *Kor J Nutr*, 35, pp. 912-918, 2002.
- [10] K. Saito, T. Hira, T. Suzuki, H. Hara, A. Yokota, F. Tomita, "Effects of DFA IV in rats: calcium absorption and metabolism of DFA IV by intestinal microorganisms", *Biosci Biotechnol Biochem*, 63(4), pp. 655-661, 1999.
- [11] H. Hara, S. Onoshima, C. Nakagawa, "Difuctose anhydride III promotes iron absorption in the rat large intestine", *Nutrition*, 26(1), pp. 120-127, 2010.
- [12] A. Tamura, Y. Mita, N. Shigematsu, H. Hara, N. Nishimura, "Different effects of difuctose anhydride III and inulin-type fructans on cecal microbiota in rats", *Arch Anim Nutr*, 60(5), pp. 358-364, 2006.
- [13] A. R. Lobo, J. M. Filho, E. P. Alvares, M. L. Slocato, C. Colli, "Effects of dietary lipid composition and inulin-type fructans on mineral bioavailability in growing rats", *Nutrition*, 25(2), pp. 216-225, 2009.
- [14] M. J. Peinado, A. Echávarri, R. Ruíz, E. Suárez-Pereira, C. Ortiz Mellet, J. M. García Fernández, L. A. Rubio, "Effects of inulin and di-D-fructose dianhydride-enriched caramels on intestinal microbiota composition and performance of broiler chickens", *Animal*, 7(11), pp. 1779-1788, 2013.
- [15] J. M. Campbell, G. C. Fahey Jr, B. W. Wolf, "Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats", *J Nutr*, 127(1), pp. 130-136, 1997.
- [16] G. Jakobsdottir, C. Jädert, L. Holm, M. E. Nyman, "Propionic and butyric acids, formed in the caecum of rats fed highly fermentable dietary fibre, are reflected in portal and aortic serum", *Br J Nutr*, 110(9), pp. 1565-1572, 2013.
- [17] B. O. Lim, C. J. Lee, J. D. Kim, "Study on immunoregulatory function of dietary fiber", *Food Ind Nutr*, 9, pp. 26-30, 2004.
- [18] K. Afsana, K. Shiga, S. Ishizuka, H. Hara, "Ingestion of an indigestible saccharide, difuctose anhydride III, partially prevents the tannic acid-induced suppression of iron absorption in rats", *J Nutr*, 133(11), pp. 3553-3560, 2003.
- [19] D. J. Jenkins, T. M. Wolever, A. Jenkins, F. Brighenti, V. Vuksan, A. V. Rao, S. C. Cunnane, A. Ocana, P. Corey, C. Vezina, "Specific types of colonic fermentation may raise low-density-lipoprotein-cholesterol concentrations", *Am J Clin Nutr*, 54(1), pp. 141-147, 1991.
- [20] A. Hague, D. J. Elder, D. J. Hicks, C. Paraskeva, "Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate", *Int J Cancer*, 60(3), pp. 400-406, 1995.
- [21] K. E. Scholz-Ahrens, G. Schaafsma, E. G. van den Heuvel, J. Schrezenmeir, "Effects of prebiotics on mineral metabolism" *Am J Clin Nutr* 73(2 Suppl), pp. 459S-464S, 2001.
- [22] S. Macfarlane, G. T. Macfarlane, "Regulation of short-chain fatty acid production", *Proc Nutr Soc*, 62(1), pp. 67-72, 2003.
- [23] G. R. Gibson, M. B. Roberfroid, "Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics", *J Nutr*, 25(6), pp. 1401-1412, 1995.
- [24] K. Kimura, A. L. McCartney, M. A. McConnell, G. W. Tannock, "Analysis of fecal populations of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological responses of their human hosts to the predominant strains", *Appl Environ Microbiol*, 63(9), pp. 3394-3398, 1997.
- [25] J. M. Campbell, G. C. Fahey Jr, B. W. Wolf, "Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats", *J Nutr*, 127(1), pp. 130-136, 1997.
- [26] H. J. Flint, "The impact of nutrition on the human microbiome", *Nutr Rev*, 70 Suppl 1, pp. S10-13, 2012.
- [27] G. Le Blay, C. Michel, H. M. Blottière, C. Cherbut, "Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats", *J Nutr*, 129(12), pp. 2231-2235, 1999.
- [28] D. J. Kim, M. J. Han, "Inhibition of intestinal bacterial enzyme by lactic acid bacteria", *Yakhak Hoeji*, 38, pp. 169-174, 1995.
- [29] M. Teramura, S. Wynn, M. Reshalaitihan, W. Kyuno, T.

Sato, M. Ohtani, C. Kawashima, M. Hanada, "Supplementation with difructose anhydride III promotes passive calcium absorption in the small intestine immediately after calving in dairy cows", J Dairy Sci, 98(12), pp. 8688-8697, 2015.

- [30] G. Schaafsma, J. L. Slavin, "Significance of inulin fructans in the human diet", Comprehensive Reviews in the Food Science and Food safety, 14, pp. 37-47, 2015.
- [31] H. D. Hoscher, J. L. Doligale, L. L. Bauer, V. Gourineni, C. L. Pelkman, G. C. Fahey, K. S. Swanson, "Gastrointestinal tolerance and utilization of agave inulin by healthy adults", Food Funct, 5, pp. 1142-1149, 2014.
- [32] D. J. Chae, K. H. Jang, "Development of the sourdough Manju production with cake flour and mixed probiotics", Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society, 15(9), pp. 5693-5699, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2014.15.9.5693>
- [33] K. H. Hong, H. S. Kim, K. H. Jang, S. A. Kang, "The improvement effects of beta-glucan on adiposity and serum lipids levels in high fat diet-induced obese rats", Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society, 16(6), pp. 3973-3981, 2015.
- [34] M. J. Kim, Y. G. Kim, H. S. Kim, C. Cheong, K. H. Jang, S. A. Kang, "Effects of antioxidant activities in ethanol extract of apple peel, grape peel, and sweet potato as natural antioxidant", Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society, 15(6), pp. 3766-3773, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2014.15.6.3766>

홍 경 희(Kyung Hee Hong)

[정회원]



- 1993년 2월 : 이화여자대학교 대학원 식품영양학과 (이학석사)
- 2003년 8월 : 경희대학교 동서의학대학원 임상영양전공 (의학영양학 박사)
- 2007년 1월 ~ 2009년 2월 : (주) 농심 R&BD 센터 과장
- 2009년 3월 ~ 2014년 2월 : 배화여자대학교 식품영양학과 교수

• 2014년 3월 ~ 현재 : 동서대학교 에너지생명공학부 식품영양학과 교수

<관심분야>

영양학, 기능성식품학

장 기 효(Ki-Hyo Jang)

[정회원]



- 1993년 2월 : 경희대학교 식품가공학과(식품미생물학 석사)
- 1998년 10월 : 호주 빅토리아대학교 CBFT(식품미생물학박사)
- 2003년 9월 ~ 2006년 2월 : 삼척대학교 식품영양학과 교수
- 2006년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 식품영양학과 교수

<관심분야>

발효식품학, 식품미생물학

강 순 아(Soon Ah Kang)

[정회원]



- 1983년 2월 : 서울대학교 가정대학 식품영양학과 (이학석사)
- 1991년 2월 : 미국 퍼듀 대학교 식품영양학과 (이학박사)
- 2007년 3월 ~ 2011년 12월 : 농촌진흥청 농업과학기술원 겸임연구원
- 2012년 4월 ~ 현재 : 국제청 주류관정 심위원회

• 2012년 10월 ~ 현재 : 호서대학교 벤처대학원 융합공학과 교수

<관심분야>

영양학, 기능성식품학, 발효식품학, 융합보건기술