

## 돼지분변으로부터 Inulin이용 *Bacteroides*속 균주의 분리 및 특성

김창곤\* · 김수일\* · 신현경

한림대학교 식품영양학과, \*서울대학교 협동과정 농업생물공학, 농화학과

### Isolation and Characterization of a *Bacteroides* Strain Utilizing Inulin from Pig Feces

Chang-Gon Kim\*, Su-Il Kim\* and Hyun-Kyung Shin

Department of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

\*Program of Agricultural Biotechnology, Department of Agricultural Chemistry,  
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

#### Abstract

About 7.7% of the total anaerobic bacteria in pig feces grew with clear zone around the colonies on the agar medium containing inulin as a sole carbon source. Among these bacteria, a strain with the strongest inulin-utilizing activity was isolated and identified as *Bacteroides* sp. based on its morphological and taxonomical characteristics. The isolate grew well with inulin, fructooligosaccharides or glucose as a sole carbon source, while its growth dropped to 50% of that obtained with glucose when soluble starch or sucrose are used. Since the inulase activity was found only when fructooligosaccharides or inulin was added to the growth medium, but not when glucose, sucrose or soluble starch was applied, the inulase production was considered to be induced by fructooligosaccharides or inulin. The highest inulase activity, 0.42 U/ml was detected with the inulin medium and 0.25 U/ml with fructooligosaccharides medium. The cell growth of the isolated strain increased with the amounts of inulin up to 2%(w/v) and maximum production of inulase was found in the cells fed 1% inulin. The inulase of the isolated *Bacteroides* sp. showed its maximum activity at pH 7.0~7.5 and 50~55°C and was found to be an exoinulase judging by its mode of action.

Key words: anaerobic bacteria, *Bacteroides* sp., inulin, inulase

#### 서 론

Inulin은 20~30개의 fructose가  $\beta(2-1)$  결합으로 연결되어 있고 비환원성 말단에 sucrose residue를 가지고 있는 저장 탄수화물로서 돼지감자, 치커리, 다알리아 등에 다량 함유되어 있다<sup>(1)</sup>. 현재 inulin은 비소화성 당으로 여러 유용한 생리활성을 나타낸 것으로 알려진 fructo 올리고당, inulo 올리고당의 생산과 cyclinulo 올리고당 및 알코올 생산소재로서 연구가 진행되고 있을 뿐 인체 및 동물체에 대하여 inulin 자체의 생리활성에 대한 연구는 미흡한 실정이다<sup>(2,3)</sup>.

돼지의 장내에는 장관 내용물 g당  $13.3 \times 10^{10}$ 개의 미생물이 서식하며, 그람양성구균, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, 그람음성간균, *Clostridium* 순으로 존재한다<sup>(4,5)</sup>.

이들은 숙주인 돼지의 생리, 영양, 면역 및 질병 발생 등에 많은 영향을 미치고 있으며 특히, 이들 중 유익한 균으로 알려진 *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* 등은 면역기능을 촉진하고 비타민과 단백질 등을 합성하여 숙주에 공급할 뿐만 아니라 비소화성 올리고당 및 식이섬유를 이용하여 acetic acid, propionic acid, butyric acid 등과 같은 단쇄지방산들을 다량 생산한다. 이 유기산들은 숙주의 장벽으로 흡수되어 에너지원으로 이용될 뿐만 아니라 장내 병원균의 증식과 유해물질의 생성 및 흡수를 억제하고 변비를 개선하는 등 안정된 장관 환경을 유지하는데 도움이 된다고 알려지고 있다<sup>(6)</sup>.

돼지감자는 전래적으로 돼지의 사료로 이용되어 왔으므로 돼지의 장관내에는 inulin을 이용할 수 있는 미생물이 서식하고 있을 것으로 생각되어 돼지분변으로부터 이들을 분리하여 그 성질들을 조사함으로써 inulin을 다량 함유하고 있는 돼지감자와 치커리를 활용하여 인체 및 동물체의 장관균총을 개선할 수 있는 여러가지 기능성 식품 및 기능성 사료첨가제의 개발을 위한 기초자료를 얻기 위하여 본실험을 수행하였다.

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

**Table 1. The composition of PYF broth**

Yeast extract	10 g
Proteose peptone No. 3	5 g
Trypticase peptone	5 g
Fildes solution*	40 ml
Salts solution	40 ml
L-Cysteine HCl·H <sub>2</sub> O	0.5 g
Distilled water	920 ml
Sugar**	10 g
pH 7.5	

\*Horse blood in Fildes solution was replaced with cow blood.

\*\*Blank, glucose or fructooligosaccharides-inulin

**재료 및 방법**

**Inulin 이용균의 분리**

강원도 종축장에서 포유돈사료를 섭취한 랜드레이스 품종의 생후 5개월된 건강한 돼지로부터 분변을 채취하였다. 이 분변을 잘 균질화시킨 후 Mitsuoka의 방법<sup>(7)</sup>에 따라 10<sup>-7</sup>까지 희석한 다음 각 희석액에서 0.05 ml씩 취하여 BL, EG, TS 한천배지<sup>(6)</sup>에 도말하여 37°C에서 3일 동안 혐기배양하였다. 각 배지에 나타난 집락들을 inulin (dahlia구근 inulin, Sigma사)을 1% 함유한 PYF-inulin 한천배지(Table 1)에 tooth-picking하여 다시 배양한 다음 배지에 에탄올을 가하여 inulin을 침전시키는 방법으로 inulin 이용균을 탐색하였다. PYF-inulin 한천배지에서 집락주위의 투명환이 크거나 성장대가 큰 집락들을 선발, PYF-inulin broth에서 다시 배양하여 inulin 이용성이 가장 큰 균주를 분리하였다. 한천배지의 혐기배양은 vacuum desiccator와 steel wool 방법<sup>(7)</sup>을 사용하여 실시하였다.

**균의 동정**

Inulin의 이용성이 가장 큰 균을 선발한 다음 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology<sup>(8)</sup>에 따라 선발된 균의 형태학적, 생화학적 특성들을 조사하여 동정을 실시하였다.

**분리균의 inulin 이용성 및 산 생성조사**

분리균을 PYF broth와 포도당, fructo 올리고당 또는 inulin을 각각 0.5%씩 함유한 PYF-glucose, PYF-FOS, PYF-inulin 액체배지에서 48시간 동안 배양하면서 균의 성장과 산의 생산을 O.D.(A<sub>600</sub>)와 pH를 측정하여 분리균의 inulin 이용성을 조사하였다. 사용한 FOS(fructooligosaccharides)는 Neosugar G(선일포도당(주))로부터 active-charcoal column을 이용해 분리하여 사용하였다<sup>(9)</sup>.

**Inulase 활성 측정**

Inulin을 0.5% 함유한 10 ml PYF 액체배지에 분리균을 24시간 배양한 후 원심분리하여 균체를 수집하였다. 이

균체를 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.0)로 두번 세척한 후 같은 buffer 1 ml로 혼탁시켜 sonication(30 sec×6)시킨 다음 원심분리하여 상정액을 조효소액으로 사용하였다. Inulase 활성은 김 등<sup>(10)</sup>의 방법에 따라 효소에 의해 inulin이 분해되어 생성되는 환원당량을 DNS 법으로 측정하여 결정하였고 효소단위는 1분간 1 μmole의 환원당이 생성되는 것을 1 unit로 하였다.

**균의 성장과 inulase 생산**

PYF-inulin(0.5%) 액체배지에서 분리균을 48시간 배양하면서 균의 성장에 따른 inulase 생산량을 조사하였고 inulin의 농도를 0.25%, 0.5%, 1%, 2%로 변경하여 48시간 배양 후 흡광도, pH 및 inulase 역가를 측정하였다. 또 PYF 기본배지에 inulin 대신 탄소원으로 포도당이나 sucrose 또는 soluble starch를 0.5%씩 첨가하여 48시간 배양한 후 균의 성장과 그 때의 inulase 역가를 측정하였다.

**효소의 일반적인 성질**

효소의 최적 pH는 3.0~7.0 범위의 0.1 M citrate-phosphate buffer와 pH 6.5~8.0 범위의 0.1 M sodium phosphate buffer 및 pH 8.0~9.0사이의 0.1 M Tris buffer를 사용하여 40°C에서 60분간 반응시킨 후 효소활성을 측정하고, 최적온도는 돼지의 대장내 조건과 기존 inulase의 활성측정조건<sup>(10)</sup>을 고려하여 pH 6.0에서 반응온도를 27~70°C로 달리하여 상기조건에서 효소활성을 측정하여 결정하였다. Inulase의 작용양상은 2% inulin 용액 2 ml에 조효소액 0.5 ml를 첨가하여 40°C에서 15~180분간 반응시키면서 일정시간별로 5 μl의 반응용액을 취하여 TLC로 분해산물을 검정하여 조사하였다.

**결과 및 고찰**

**Inulin 이용균의 분리 및 동정**

생후 5개월 된 돼지의 분변을 취하여 10<sup>-7</sup>까지 희석한 다음 비선택배지인 BL, EG, TS 한천배지<sup>(6)</sup>에 도말하여 3일 동안 혐기배양하였다. 각 배지에 나타난 집락들 중 10<sup>8</sup> 구역에서 150개, 10<sup>7</sup>구역에서 150개, 10<sup>6</sup>구역에서 100개, 10<sup>5</sup>구역에서 200개 등 총 600개의 집락을 PYF-inulin 한천배지에 tooth-picking하여 inulin 이용균주를 탐색한 결과 10<sup>8</sup>구역에서 12개, 10<sup>7</sup>구역에서 8개, 10<sup>6</sup>구역에서 12개, 10<sup>5</sup>구역에서 50개 등 총 82개의 집락주위에 크고 작은 투명환이 생성되어 전체 생균수의 약 7.7%가 inulase를 생성하면서 inulin을 이용하는 것으로 나타났다(Fig. 1). Inulase를 생산하는 것으로 나타난 82집락 중 주위의 투명환이 큰 10개의 집락과 집락의 크기가 큰 10개의 집락들을 선발하여 다시 PYF-inulin 액체배지에서 배양하여 inulin 이용성이 가장 큰 균주를 선발, 분리하였다. 이 분리균의 형태학적, 생화학적 특성은 Table 2에 나타난 바와 같이 편성혐기성, 그람음성 간균과 담

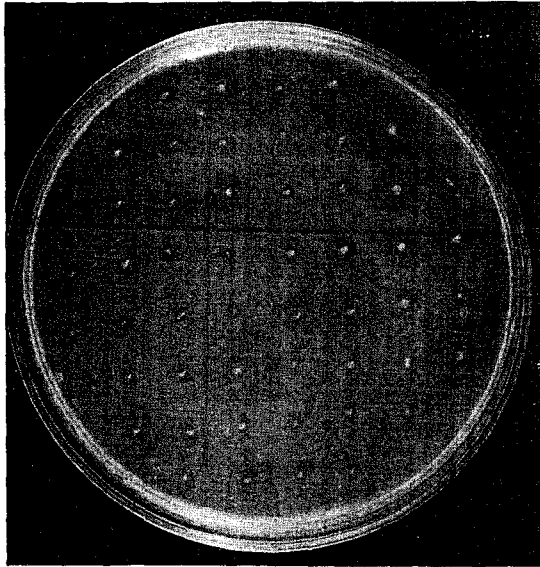


Fig. 1. Inulase-producing microorganisms showing clear zones around the colonies by degrading inulin in the PYF-inulin medium

즙산에 대한 내성을 보유하고 있는 것으로 조사되었고 발효능에 있어서도 inulin 뿐만 아니라 cellobiose, melibiose, raffinose 등으로부터 많은 양의 산을 생산할 수 있는 것으로 나타났다. 이와 같은 성질들을 근거로 이 균을 *Bacteroides*속으로 동정하였으며 이를 *Bacteroides* sp. land-10으로 명명하였다. *Bacteroides*속의 균들은 사람 뿐만 아니라 동물의 장내에서 가장 많은 수를 차지하는 균들 중의 하나로 보고되고 있으며<sup>(9,11)</sup>, 이들 중 사람의 결장과 소와 양의 반추에서 분리된 *Bacteroides ovatus*와 *B. thetaiotaomicron*<sup>(12,13)</sup> 및 돼지의 분변에서 분리된 *B. succinogenes*<sup>(14)</sup> 등은 식물세포벽을 형성하는 주요 다당류들인 xylan, cellulose, pectin 등을 효과적으로 이용할 수 있는 것으로 알려지고 있다. 또 저장탄수화물인 inulin은 사람의 장내에 서식하는 *Bifidobacterium*속의 여러 균들 뿐만 아니라 *Bacteroides fragilis*에 의해 분해되어 이용되고<sup>(15)</sup>, 양의 반추에 있는 *Bacteroides ruminicola*와 *Butyrivibrio*속의 균들에 의해 분해되는 것으로 알려지고 있으며 돼지의 장내에 존재하는 여러 *Bacteroides*속의 균들에 의해서도 이용되는 것으로 보고되고 있다<sup>(16)</sup>. 이와 같이 *Bacteroides*속의 여러 균들은 식물세포벽을 구성하는 여러 다당류와 몇몇 저장탄수화물 등과 같이 사람과 동물의 소화기관에 의해 소화·흡수되지 않고 대장에 도달되는 식이섬유들을 효과적으로 이용할 수 있는 능력이 있으며 이 때문에 이들이 사람과 동물의 장내에서 많은 수로 존재할 수 있는 것으로 생각된다.

#### 분리균의 inulin 이용성과 산 생성

분리균의 PYF broth와 포도당이나 fructo올리고당 또

Table 2. Morphological and biochemical characteristics of *Bacteroides* sp. land-10

Morphology	rods	Spore formed	-
Gram stain	-	Motility	-
Oxygen requirement		Catalase	-
Strictly aerobic	-	Urease	-
Facultatively anaerobic	-	Esculin hydrolyzed	+
Strictly anaerobic	+	Starch hydrolyzed	+
Indole produced	-	20% bile	2 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> S produced	-	Nitrate reduced	-
Acid produced from <sup>b</sup>			
Arabinose	-	Cellobiose	+
Esculin	+	Fructose	+
Glucose	+	Inulin	+
Lactose	+	Mannitol	-
Mannose	+	Melibiose	+
Raffinose	+	Ribose	w
Starch	+	Sucrose	+
Trehalose	-	Xylose	+

<sup>a</sup>: moderate growth

<sup>b</sup>: + (below pH 5.5), - (above pH 5.7), w (pH 5.5~5.7)

는 inulin을 0.5%씩 함유한 PYF 액체배지들에서 48시간 동안 배양하면서 흡광도와 pH를 측정하여 각 당 및 inulin의 이용성과 그 때의 산 생성량을 조사하였다. Fig. 2에서 보듯이 이 분리균은 탄소원으로 inulin을 첨가한 경우 포도당이나 fructo올리고당 첨가구에 비해 적응시간이 약간 더 소요되고 균체량도 약 10% 정도 낮게 나타나고 있지만 비교적 잘 이용하고 있는 것으로 보인다. 한편 산 생산을 나타내는 배양액의 pH도 48시간 후에 inulin 함유 배지에서 4.9로 낮아져 포도당과 fructo올리고당 첨가배지의 4.5와 4.7에 비해 큰 차이를 보이지 않았고 당무첨가배지의 6.1과 비교해 큰 차이를 보여 이 균이 inulin을 이용해서 많은 양의 산을 생산하는 것으로 나타났다.

#### 분리균의 성장과 inulase 생산

미생물이 fructo올리고당이나 inulin을 이용해서 성장하기 위해서는 그 미생물에 의해 inulase의 생산이 필요하다. 분리균이 생산하는 inulase는 균체를 제거한 배양상징액에서는 그 역가가 매우 미약하게 나타났고 대부분의 효소역가는 균체를 sonication한 조효소액에서 나타났다. 이는 이 균이 inulase를 생산하여 이를 균체 밖으로 분비하지 않고 세포벽이나 세포내에 보유하고 있다는 것을 나타낸다. 이 균과 같이 inulase를 생산하는 균들이 대부분의 효소를 세포내에 보유하고 있을 경우 돼지가 치커리나 돼지감자를 섭취했을 때 inulin이나 fructo올리고당이 돼지의 장내에 도달하여 다른 균들보다는 이 균들에 대해 선택적인 증식효과가 있을 것으로 생각된다. Mckellar 등<sup>(17)</sup>과 Shimi 등<sup>(18)</sup>이 사람과 동물로부터 유래하고 fructo올리고당과 inulin을 선택적으로 이용할 수 있는 *Bifidobacterium*속의 여러 균주에 대해

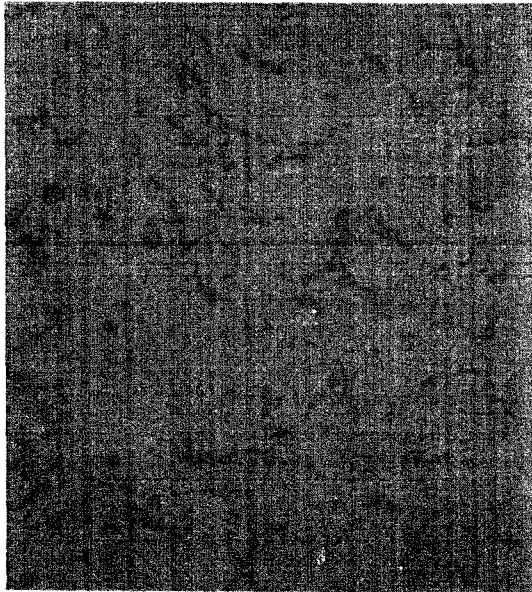


Fig. 2. A photomicrograph of *Bacteroides* sp. land-10 ( $\times 1000$ )

조사한 결과 이들이 생산하는 inulase도 거의 대부분 세포내에 존재하는 것으로 나타났다. Inulin, fructo 올리고당, soluble starch, sucrose, 포도당 등을 탄소원으로 하여 균주를 48시간 배양한 후 균의 성장과 효소활성을 측정하고 균의 생장은 inulin, fructo 올리고당, 포도당을 이용하여 크게 증가하였고 soluble starch, sucrose를 사용한 경우는 포도당 사용시의 약 50% 수준으로 낮아졌다. Inulase 활성은 포도당, sucrose 및 starch를 사용한 배지에서는 효소활성이 거의 나타나지 않은 반면에 inulin을 탄소원으로 사용하였을 때 0.42 U/ml로 가장 높게 나타났고 fructo 올리고당을 사용한 배지에서도 0.25 U/ml로 나타나 inulin 이용시에 비해 60%에 해당하는 효소생산이 관찰되었다(Fig. 3). 이러한 결과로 보아 이 균주가 생산하는 inulase는 *Streptomyces* sp. S34와 *Bacillus*<sup>(19)</sup> 및 *Bifidobacterium adolescentis*, *Bif. longum*<sup>(17)</sup> 등에서 생산되는 구성효소와는 달리 inulin과 fructo 올리고당에 의해 유도생산되는 유도효소로 생각되며 본 균주의 것과 마찬가지로 *Bif. thermophilum*을 비롯한 대부분의 미생물이 생산하는 exoinulase는 유도효소로 알려지고 있다<sup>(17,18)</sup>.

PYF-inulin(0.5%) 액체배지에서 배양하면서 시간에 따른 균체량과 inulase 생산량을 측정하고 결과 효소생산은 균체량이 증가함에 따라 배양 9시간부터 급격히 증가하였고 배양 36시간에 0.40 U/ml로 최고에 달하여 효소의 생산은 균의 성장과 비례한 형태로 나타나고 균의 생장이 거의 최고에 이르렀을 때 효소도 가장 많은 양이 생산됨을 보였다(Fig. 5). 또 PYF broth에 inulin의 농도를 각각 0.25%, 0.5%, 1%, 2%로 하여 48시간 배양하여 균의

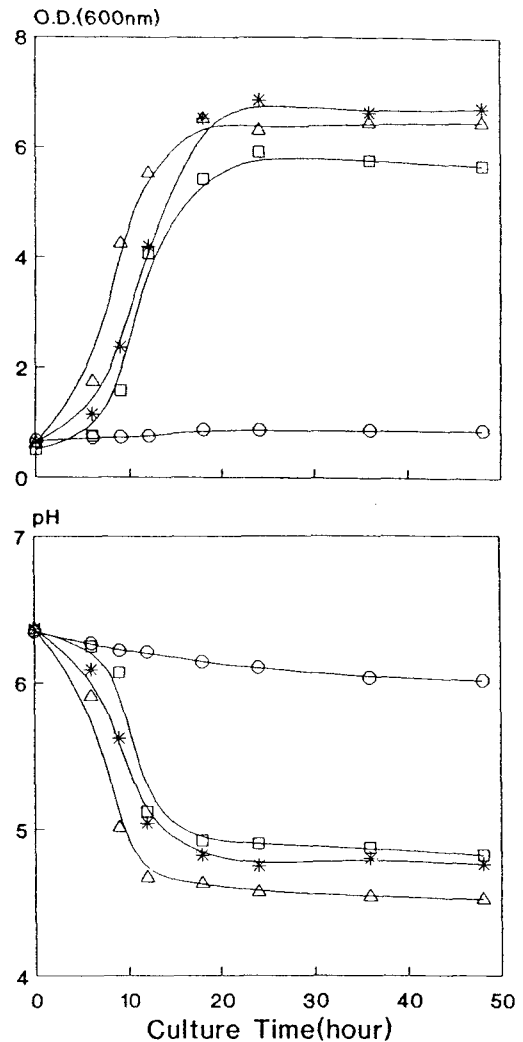


Fig. 3. Growth curves of the isolated *Bacteroides* sp. land-10 and pH change of culture broth

○—○; PYF broth, \*—\*; PYF + FOS(0.5%), △—△; PYF + Glc(0.5%), □—□; PYF + Inulin(0.5%)

생육과 산 생산 및 inulase 생산량을 측정하고 균의 생육은 inulin의 농도가 증가함에 따라 급격히 증가하여 2%일 때 최고치에 달하였고 산의 생산도 증가하여 pH가 4.0까지 낮아졌다. Inulase의 활성은 inulin의 농도가 1%일 때 0.54 U/ml로 최고로 나타났고 2%로 증가하였을 때는 0.21 U/ml로 오히려 60% 정도 감소하였다. 이는 *Kluyveromyces marxianus*<sup>(20)</sup>, *K. fragilis*, *Debaryomyces fragilis*<sup>(21)</sup>와 *Bifidobacterium adolescentis*, *Bif. longum*, *Bif. thermophilum*<sup>(17)</sup> 등으로부터의 inulase 생산이 이들 균에 의해 발효가능한 높은 농도의 fructo 올리고당, inulin 등에 의해 저해되는 것과 마찬가지로 *Bacteroides* sp. land-10의 inulase도 고농도의 inulin에 의해 그 생산이

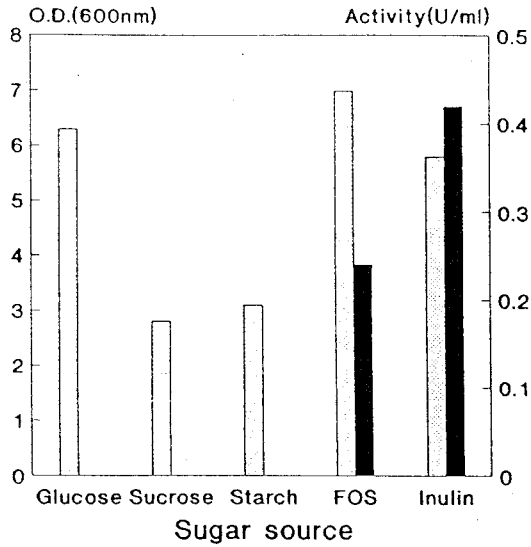


Fig. 4. Effect of carbohydrates on the cell growth and inulase activity of *Bacteroides sp. land-10*  
 □—□; Cell growth, ■—■; Inulase activity

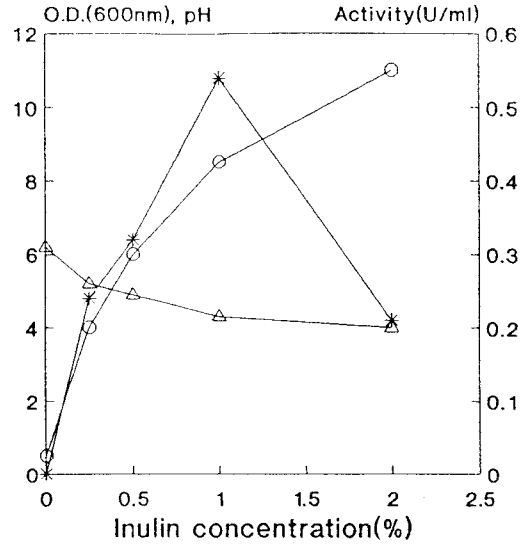


Fig. 6. Effect of inulin concentration on cell growth, acid production and inulase activity of *Bacteroides sp. land-10*

○—○; Cell growth, △—△; pH, \*—\*; Inulase activity

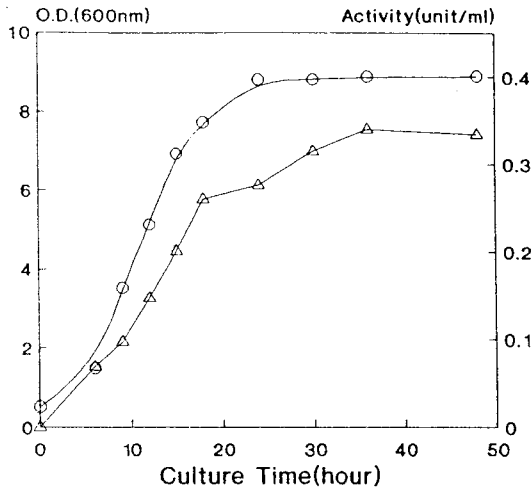


Fig. 5. Time course of inulase production by *Bacteroides sp. land-10*

○—○; Growth, △—△; Inulase activity

억제되는 것으로 생각된다.

분리균 inulase의 일반적 성질

0.1M citrate-phosphate buffer와 sodium phosphate buffer 및 Tris buffer를 사용하여 반응액의 pH를 3.5 ~ 9.0으로 조절하여 inulase의 활성을 측정한 결과 최적 pH는 7.0~7.5로 나타났고 pH에 따른 효소활성의 변화를

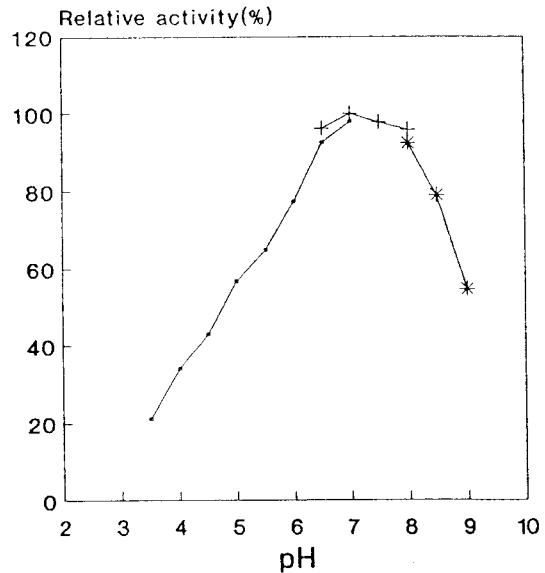


Fig. 7. Effect of pH on the exoinulase activity of *Bacteroides sp. land-10*

+—+; citrate-phosphatebuffer, ■—■; phosphate buffer, \*—\*; Tris buffer

살펴보면 pH 5.0~6.0과 pH 8.0~9.0에서는 최적 pH에서와 비교하여 55~79%의 활성을 나타내었고 6.5~8.0에서 92~100%의 활성을 보여 이 효소는 *Streptomyces*

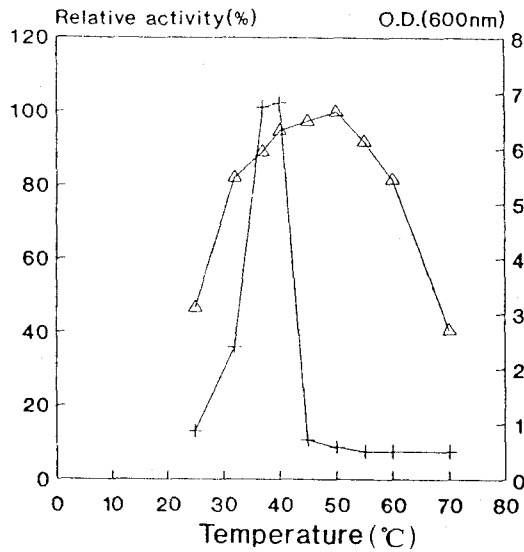


Fig. 8. Effect of temperature on cell growth and exoinulase activity of *Bacteroides* sp. land-10  
 +—+; Cell growth, △—△; Inulase activity

속<sup>(19)</sup>과 *Penicillium*속<sup>(22)</sup>에서 생산되는 exoinulase보다 훨씬 넓은 범위의 활성 pH를 가지고 있었다. 또 온도에 따른 균의 생육과 효소의 활성을 조사한 결과 37~40°C에서 균의 생육은 최고에 달하였고 27~32°C와 45°C 이상에서는 거의 성장하지 못하였으며 이 균의 inulase는 균의 생육양상과는 달리 50~55°C에서 최적온도를 나타내었고 32~60°C에서 80% 이상의 활성을 보여 넓은 범위의 활성온도를 가졌다.

본 균주가 생산하는 inulase를 inulin과 반응시키면서 반응시간별로 inulin의 분해산물을 TLC로 분석해본 결과 Fig. 7에서 볼 수 있는 바와 같이 15분부터 180분까지 단당인 fructose만이 생산되었으며 그 이외의 분해산물은 검출되지 않았다. 따라서 이 효소는 inulin의 β(2-1) 결합을 말단에서부터 fructose 한 개씩 분해하는 전형적인 exoinulase로 확인되었다.

요 약

폐지의 분변미생물들 중 inulin 이용균주를 탐색한 결과 전체 생균수의 약 7.7%가 inulin 한천배지에서 집락주위에 inulase를 분비하여 투명환을 형성하면서 inulin을 이용하는 것으로 나타났고 이 중 inulin의 이용성이 가장 큰 균주를 선발한 다음 그 형태학적 및 생화학적 특성을 조사하여 이 균주를 *Bacteroides*속으로 동정하였다. 이 분리균은 탄소원으로 inulin, fructool리고당, 포도당을 이용하여 잘 생육하였으며 solublestarch와 sucrose를 첨가한 경우의 균체량은 포도당 사용시의 약 50% 정도로 감소하였다. Inulase 활성은 포도당, sucrose, so-

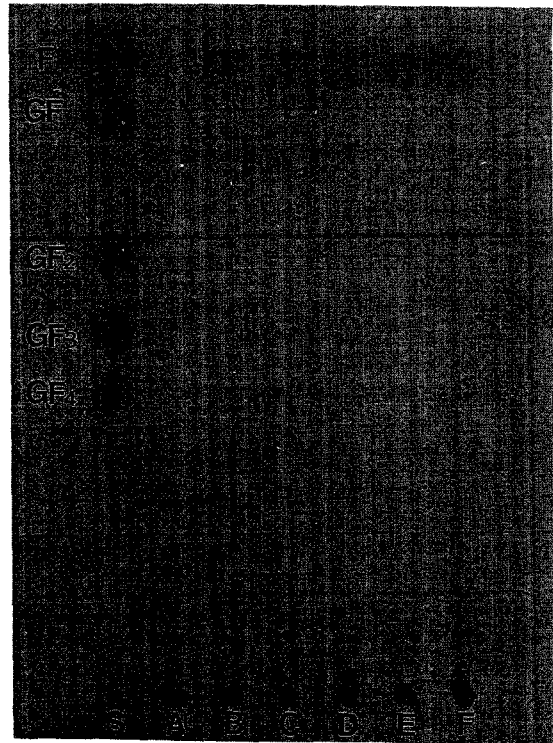


Fig. 9. TLC analysis of inulin-hydrolysate produced by the inulase of *Bacteroides* sp. land-10  
 F: Fructose, G: Glucose, GF: Sucrose, GF<sub>2</sub>: 1-kestose, GF<sub>3</sub>: Nystose, GF<sub>4</sub>: 1-β-fructofuranosylnystose

luble starch를 사용한 배지에서는 거의 나타나지 않은 반면에 inulin을 탄소원으로 사용하였을 때 0.42 U/ml로 가장 높게 나타났고 fructool리고당을 사용한 배지에서도 0.25 U/ml로 나타나 이 균주가 생산하는 inulase는 inulin과 fructool리고당에 의해 유도되는 것으로 생각된다. 또 inulin의 농도에 따른 균의 생장은 inulin의 농도가 증가함에 따라 급격히 증가하여 2%일 때 최고치에 달하였고 inulase의 활성은 inulin의 농도가 1%일 때 0.54 /ml로 가장 높게 나타났다. 분리균이 생산하는 inulase는 pH 7.0~7.5와 50~55°C에서 가장 높은 효소활성을 나타냈으며 inulin에 대한 작용형태로 보아 exoinulase로 확인되었다.

문 헌

1. Bacon, J.S.D. and Edelman, J.: The carbohydrates of the Jerusalem artichoke and other compositae. *Biochem. J.*, **48**, 114-126(195)
2. Hidaka, H., Eida, T., Takiyama, T. and Tasluro, Y.: Effect of fructooligosaccharides on intestinal flora and human. *Bifidobacteria Microflora.*, **5**, 37-50(1986)
3. Hidaka, H.: Fructooligosaccharides, a newly developed food material for health. *kogaku to seibutsu.*, **21**, 291-

- 293(1983)
4. Isadore, M., Robenson, Milton, Allison, J.: Characterization of predominant bacteria from the colons of normal and dysentric pigs. *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**, 964-969(1984)
  5. Edward Russell, G.: Types and distribution of anaerobic bacteria in the large intestine of pigs. *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**(2), 187(1979)
  6. Mitsuoka, T.: Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora*, **1**, 3-24(1982)
  7. Mitsuoka, T.: A color atlas of anaerobic bacteria. 출판사, 1984
  8. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore.
  9. 김창곤, 김수일, 신현경 : 돼지감자 fructo 올리고당-inulin이 돼지의 주요 장내세균의 생육에 미치는 영향. 한국식품과학회지, **25**(4), 395(1993)
  10. 김수일, 문항식 : *Kluyveromyces marxianus*가 생산하는 intracellular 및 extracellular inulase의 정제 및 특성 비교. 한국농화학회지, **30**, 109(1987)
  11. Robert Mccarthy, E., Mark Pajean, and Abigail Salyers, A.: Role of starch as a substrate for *Bacteroides vulgatus* growing in the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**(8), 1911(1988)
  12. Jane Weaver, Terence Whitehead, R., Michael Cotta, A., Peter Valentine, C. and Abigail Salyers, A.: Genetic analysis of a locus on the *Bacteroides ovatus* chromosome which contains xylan utilization genes. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**(9), 2764(1992)
  13. Aoe, S., Ohta, F. and Ayano, Y.: Effect of water-soluble dietary fiber on intestinal microflora in rats. 일본영양식품과학회지, **41**(3), 203(1988)
  14. Vincent, Varel, H., Isadore Robinson, M. and Hans-Joachim Jung, G.: Influence of dietary fiber on xylanolytic and cellulolytic bacteria of adult pigs. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**(1), 22(1987)
  15. Roberfroid, M.: Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **33**(2), 103(1993)
  16. Isadore Robinson, M., Milton Allison, J. and Jerry Bucklin, A.: Characterization of the cecal bacteria of normal pigs. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**(4), 950(1981)
  17. Mckellar, R.C. and Modler, H.W.: Metabolism of fructooligosaccharides by *Bifidobacterium* spp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **31**, 537(1989)
  18. Muramatsu, K., Onodera, S., Kikuchi, M. and Shiomi, N.: The production of  $\beta$ -fructofuranosidase from *Bifidobacterium* spp. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**(9), 1451(1992)
  19. 하여주, 김수일 : *Streptomyces* sp. S34의 exoinulase 생산 및 성질. 한국농화학회지, **35**(5), 375(1992)
  20. Rouwenhorst R.J., Visser, L.E., Bann, A.A. van der, Scheffers, W.A., Dijken, J.P.: Production, distribution and kinetic properties of inulinase in continuous cultures *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 1131(1988)
  21. Groot Wassink J.W.D. and Hewitt, G.M.: Inducible and constitutive formation of  $\beta$ -fructofuranosidase(inulase) in batch and continuous cultures of the yeast *Kluyveromyces fragilis*. *J. Gen. Microbiol.* **129**, 31(1983)
  22. Onodera, S. and Shiomi, N.: Purification and substrate affinities of exo-inulinase from *Penicillium trzebinskii*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**(9), 1443(1992)

---

(1993년 10월 28일 접수)