

## *In Vitro*법에 의한 식이섬유의 포도당 및 담즙산 흡수 지연 효과

이 경 숙 · 이 서 래

이화여자대학교 식품영양학과

### Retarding Effect of Dietary Fibers on the Glucose and Bile Acid Movement Across a Dialysis Membrane *in Vitro*

Lee, Kyung-Sook · Lee, Su-Rae

Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul, Korea

#### ABSTRACT

In order to anticipate the physiological function of dietary fibers, glucose and bile acid retarding effects were experimented by using *in vitro* methods based on dialysis for commercial fibers and dietary fiber residue of food samples. The glucose retarding effect in commercial fibers increased in the order of alginic acid, guar gum, CM-cellulose, citrus pectin > apple pectin > *a*-cellulose and the effect in food fiber residues increased in the order of sea mustard > Korean cabbage, apple > rice bran, barley, soybean, and tangerine. The bile acid retarding effect in commercial fibers increased in the order of citrus pectin, guar gum > CM-cellulose, alginic acid > apple pectin > *a*-cellulose and the effect in food fiber residues increased in the order of barley, rice bran > sea mustard > tangerine > Korean cabbage, soybean > apple.

The higher the retarding effect of glucose movement through the dialysis membrane, the more effective the control of the human blood glucose level. As the retarding effect of bile acid movement across the dialysis membrane increased, the human serum cholesterol level correspondingly reduced. Consequently these *in vitro* methods can be used as a preceding test before undertaking animal and human experiments to predict the physiological effects of fiber residues from diverse food samples as well as commercially refined fibers. (*Korean J Nutrition* 29(7) : 738~746, 1996)

**KEY WORDS** : dietary fiber · glucose · bile acid · membrane transport · *in vitro*.

#### 서 론

식이섬유는 많은 동물실험과 임상실험을 통하여 당뇨병, 심장혈관계 질병, 대장암 등 만성 질병의 예방 및 치료에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다<sup>1)</sup>. 식이섬유는 크게 수용성과 불용성 식이섬유로 분류되며 이들은 서로 다른 생리적 효과를 가진다<sup>2)</sup>.

수용성 식이섬유는 수분 보유력(water-holding capacity)이 커서<sup>3-5)</sup> gel 형성으로 음식물의 점성을 높혀 주어 음식물이 위에 머무르는 시간을 증가시키며 포만감을 제공하고<sup>6)7)</sup> 영양소의 소화, 흡수를 지연시켜 당뇨병 환자의 혈액내 glucose tolerance를 증진시키는 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다<sup>7-10)</sup>. 또한 장내에서 cholesterol 및 bile acid를 흡착하여 대변내 배설 및 lipoprotein 대사에 변화를 주어 혈청 cholesterol 수준을 저하시키고 심장병 및 대장암의 발병율을 낮춘다고 보고

되고 있다<sup>11-21)</sup>. 반면 불용성 식이섬유는 대장내 미생물의 작용을 적게 받아 대장내에서 식이섬유의 matrix가 그대로 유지되어 대변의 부피감과 무게를 증가시키는데 효과적인 것으로 보고되고 있다<sup>21,22)</sup>.

인체실험 및 동물실험에서 혈액내 glucose 조절효과 및 혈청내 cholesterol 감소효과가 관찰되고 있으나 guar gum 등 정제된 식이섬유에만 국한하여 그 결과가 보고되고 있다. 식이섬유의 종류에 따라서 기대되는 생리적 효과는 거의 보고된 바가 없으며, 특히 여러가지 식이섬유의 구성성분으로 이루어진 천연의 식이섬유 급원 식품에 있어서 기대되는 생리적 효과는 크게 다를 것으로 예상되나 이에 대해서는 거의 실험이 이루어지지 못하고 있다. 따라서 식이섬유의 생리적 효과를 보다 체계적으로 연구하기 위하여 인체실험 및 동물실험 이전에 비교적 짧은 시간과 다양한 실험체료를 사용하여 인체의 생리적 기능을 예측할 수 있는 *in vitro*법에 의한 간이 시험법의 실시가 필요하리라고 생각된다.

본 실험은 식이섬유의 위장관(gastrointestinal track) 통과시 식이섬유의 소화관내 생리적 효과를 예측하기 위하여 시판용 정제 식이섬유 및 천연 식품에서 추출한 식이섬유에 대하여 투석(dialysis)에 기초한 *in vitro* 방법을 이용하여 glucose 흡수 지연 효과를 통한 영양소 흡수와의 관련성, bile acid 흡수 지연 효과를 통한 cholesterol과 관련된 지방질 대사와의 관련성을 조사하였다. 이와 아울러 여기에서 얻은 *in vitro* 실험 결과를 다른 연구자들의 동물실험 또는 인체실험 결과와 비교함으로써 선행실험으로써의 타당성 여부를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시 료

시판용 식이섬유로는 guar gum (Sigma G-4129), apple pectin(Sigma P-2157), citrus pectin(Sigma P-9135), carboxymethyl cellulose(Sigma C-4888, sodium salts), alginic acid(Sigma A-2033, sodium salts)를 사용하였다.

천연 식품 중 식이섬유는 각 식품군의 대표적인 쌀겨, 보리쌀, 대두, 배추, 사과, 굴, 미역을 냉동건조, 탈지과정(대두), 또는 탈당과정(사과, 굴)을 거친 분말시료에 대하여 AOAC에서 공인된 Prosky방법<sup>23)</sup>을 통해 효소 처리 후 total dietary fiber residue를 얻었다. 이것을 40℃에서 건조시킨 후의 수분, 조회분, 조단백질을 구하여 식이섬유 함량을 계산한 후 사용하였다.

### 2. Glucose 흡수 지연 효과

#### 1) Glucose 함량 분석

Somogyi-Nelson법<sup>24,25)</sup>에 따라 측정하였다. 즉 0.1% sodium azide 용액에 용해시킨 glucose 용액 2 ml에 동량의 copper reagent를 첨가한 후 boiling water bath에서 10분 동안 가열하였다. 이것을 찬 물에서 냉각시킨 다음 arsenomolybdate color reagent 1 ml를 잘 혼합하고 청색이 되면 0.1% sodium azide 용액 10ml를 첨가하여 희석시킨 다음 spectrophotometer(Spectronic 21)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2) 반투막 투과 실험법

식이섬유의 장관내 흡수 지연 효과를 판정하기 위하여 glucose가 투석막을 빠져나오는 원리를 이용하였다<sup>26)</sup>. 즉 유리상태의 glucose는 투석막을 그대로 통과하지만 고분자 물질에 흡착된 glucose는 투석막을 통과하지 못할 것이라는 가정하에 투석 외액을 취하여 glucose 농도를 분석하였다. 이때 투석막은 생체내 장막의 투과 조건과 유사한 것으로 분자량 한계가 비교적 낮은 투석막(Sigma D7884 : M.W. cut-off < 1,200)을 사용하였다. 즉 넓이 3.2cm의 투석막을 10cm의 길이로 자른 후 0.1% sodium azide 용액에 하룻밤 담근 다음에 사용하였다. 투석막의 한쪽 끝은 목면실로 단단하게 묶은 후 투석막 내부에 섬유 시료 0.2 g을 넣고 glucose 36 mg을 용해시킨 0.1% sodium azide 용액 6 ml를 넣어 나머지 투석막 끝도 단단히 묶은 후 뚜껑이 있는 150 ml 용량의 시린다 용기(직경 4.5cm×길이 10.5cm)에 넣어 14시간 동안 시료를 수확시켰다. Control의 경우는 glucose 용액만 넣고 섬유 시료는 제외시켰다. 이 용기에 0.1% sodium azide 용액 100 ml를 첨가한 후 37℃ water bath에서 용기가 잠기게 하여 100 rpm으로 24시간 동안 shaking시켰다. 일정한 시간 간격으로 투석 외액 1 ml씩을 취하여 glucose 함량을 분석하였다. Glucose 흡수 억제 지수는 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{Glucose retardation index(\%)} = 100 - \frac{\text{Total glucose diffused from sack containing fiber}}{\text{Total glucose diffused from sack without fiber}} \times 100$$

### 3. Bile acid 흡수 지연 효과

#### 1) Bile acid 함량 분석

Boyd 등의 방법<sup>27)</sup>에 따라 측정하였다. 즉 bile acid 용액 1 ml에 70% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 5 ml를 더하고 5분 후에

0.25% furfural 용액 1 ml를 각각 첨가하여 60분간 방치하여 분홍색이 최대로 발색된 후 최대 흡수 파장인 510 nm에서 spectrophotometer(Spectronic 21)로 흡광도를 측정하였다.

## 2) 반투막 투과 실험법

Glucose의 경우와 마찬가지로 유리상태의 bile acid가 투석막을 빠져나오는 원리를 이용하였다<sup>26)</sup>. 즉 투석막(Sigma D7884) 내부에 섬유 시료 0.2 g을 넣고 0.1% sodium azide 용액으로 맞춘 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0)에 15 mmole taurocholic acid/L를 녹인 용액 6 ml를 넣어 투석막 끝을 단단히 묶은 후 뚜껑이 있는 150 ml 용량의 용기에 넣어 14시간 동안 시료를 수화시켰다. Control의 경우 bile acid 용액만 넣고 섬유 시료는 제외시켰다. 여기에 0.1% sodium azide 용액으로 맞춘 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 100 ml를 첨가한 후 37°C water bath에서 용기가 잠기게 하여 100 rpm으로 72시간 동안 shaking 시켰다. 일정한 시간 간격으로 투석 외액 1ml씩을 취하여 taurocholic acid 함량을 분석하였다. Bile acid 흡수 억제지수는 다음과 같이 계산하였다.

Bile acid retardation index(%)

$$= 100 - \frac{\text{Total bile acid diffused from sack containing fiber}}{\text{Total bile acid diffused from sack without fiber}} \times 100$$

## 4. 통계처리

실험결과는 SAS(Statistical Analysis System)<sup>28)</sup> package를 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였다. 식이섬유의 첨가유무 및 급원에 따른 차이를 살펴보기 위하여 각 실험반복을 쌍(pairs)으로 설정하여 동시에 실

시하였으며, 두 group을 비교하는 paired t-test를 이용하여 각 군 평균치들간의 유의성을 검증하였다. 검정시 p값이 0.05미만일 때 통계적으로 유의하다고 보았다.

## 결과 및 고찰

### 1. Glucose 흡수 지연 효과

투석막을 이용한 식이섬유의 glucose 흡수 지연 효과를 보기 위하여 30분, 60분, 120분으로 나누어 살펴보았다. 식이섬유를 첨가하지 않은 control과 비교하였을 때 시료로 사용된 모든 식이섬유에서 glucose 흡수 지연 효과가 있는 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). Glucose 투과율을 보면 초기에는 급속히 이루어지나 투석시간이 경과할수록 투과율이 떨어졌으며 투석 초기의 glucose retardation index(%)는 glucose의 흡수 지연 효과를 판단하는 지표가 될 수 있다.

시판용 식이섬유의 glucose 흡수 억제지수는 Table 1과 같다. 수용성 식이섬유중 alginic acid, guar gum, CM-cellulose, citrus pectin이 30% 수준으로 높게 나타났고 apple pectin은 20% 수준으로 비교적 낮게 나타났다. 한편 불용성 식이섬유인  $\alpha$ -cellulose의 경우는 10% 수준으로 매우 낮게 나타났다( $p < 0.05$ ).

식품에서 얻은 식이섬유의 glucose 흡수 억제지수는 Table 2와 같다. 미역의 경우 30% 수준으로 가장 높게 나타났고 배추, 사과와 경우 15~20% 내외로 비교적 높게 나타났으며 쌀겨, 보리쌀, 굴의 경우는 10% 내외로 비교적 낮게 나타났다.

여기에서 citrus pectin의 경우 그 효과가 크게 나타났는데 굴(밀감)의 경우는 비교적 낮게 나타났다. 이는

**Table 1.** Retarding effect of commercial fibers on the membrane transport of glucose

Sample	Dialysis for 30 min			Dialysis for 60 min			Dialysis for 120 min		
	Glucose in dialyzate		Glucose retardation index <sup>3)</sup>	Glucose in dialyzate		Glucose retardation index	Glucose in dialyzate		Glucose retardation index
	(mg)	(%)		(mg)	(%)		(mg)	(%)	
Control(none)	8.89 ± 1.13 <sup>21)</sup>	(24.7) <sup>2)</sup>	0	14.92 ± 1.54 <sup>a)</sup>	(41.4)	0	23.08 ± 1.61 <sup>a)</sup>	(64.1)	0
Alginic acid	6.09 ± 0.98 <sup>d)</sup>	(16.9)	31.5	9.99 ± 1.63 <sup>d)</sup>	(27.8)	33.0	15.33 ± 1.61 <sup>d)</sup>	(42.6)	33.6
Guar gum	6.18 ± 0.89 <sup>d)</sup>	(17.2)	30.5	9.99 ± 1.32 <sup>d)</sup>	(27.8)	33.0	15.42 ± 1.48 <sup>d)</sup>	(42.8)	33.2
CM-cellulose	6.18 ± 1.02 <sup>d)</sup>	(17.2)	30.5	10.21 ± 1.54 <sup>d)</sup>	(28.4)	31.6	15.55 ± 1.26 <sup>d)</sup>	(43.2)	32.6
Citrus pectin	6.22 ± 0.98 <sup>d)</sup>	(17.3)	30.0	10.30 ± 1.63 <sup>d)</sup>	(28.6)	31.0	15.94 ± 1.48 <sup>d)</sup>	(44.3)	30.9
Apple pectin	7.16 ± 1.16 <sup>c)</sup>	(19.9)	19.5	11.66 ± 1.80 <sup>c)</sup>	(32.4)	21.8	19.03 ± 1.70 <sup>c)</sup>	(52.9)	17.5
$\alpha$ -Cellulose	7.96 ± 1.16 <sup>b)</sup>	(22.1)	10.5	13.86 ± 1.45 <sup>b)</sup>	(38.5)	7.1	21.04 ± 1.35 <sup>b)</sup>	(58.4)	8.8

1) Values are mean ± SD of 6 replicate trials

2) % Ratio of glucose in dialyzate out of total glucose added

3) Glucose retardation index

$$= \frac{\text{mg glucose dialyzed in control} - \text{mg glucose dialyzed in fiber}}{\text{mg glucose dialyzed in control}} \times 100$$

Means with different superscript letters in the same column are significantly different at  $p < 0.05$  by paired t-test

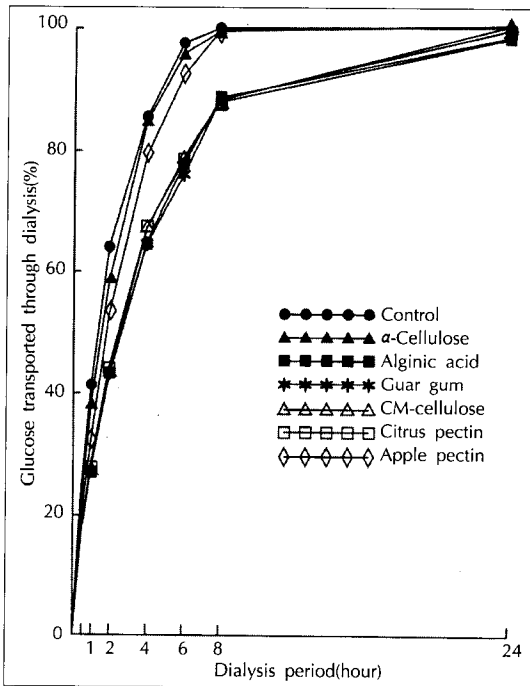
Means with different superscript letters in the same column are significantly different at  $p < 0.05$  by paired t-test

**Table 2.** Retarding effect of food TDF residues on the membrane transport of glucose

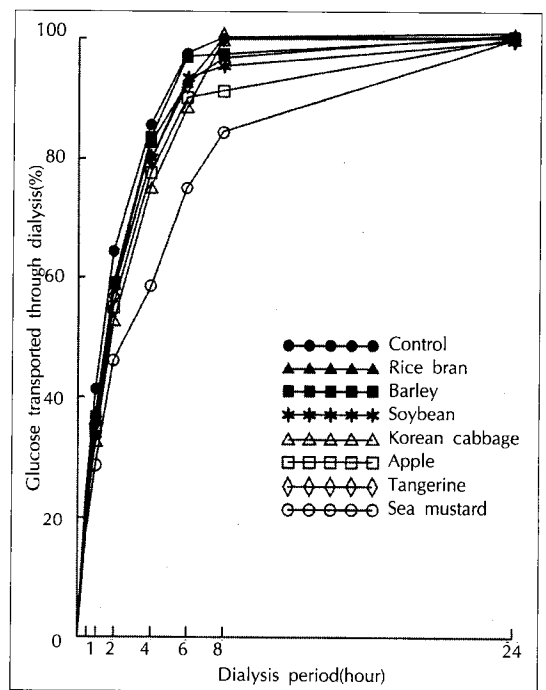
Sample	Dialysis for 30 min			Dialysis for 60 min			Dialysis for 120 min		
	Glucose in dialyrate		Glucose retardation index (%)	Glucose in dialyrate		Glucose retardation index (%)	Glucose in dialyrate		Glucose retardation index (%)
	(mg)	(%)		(mg)	(%)		(mg)	(%)	
Control(none)	8.84 ± 0.89 <sup>a1)</sup>	(24.6) <sup>2)</sup>	0	14.96 ± 1.63 <sup>a</sup>	(41.6)	0	23.13 ± 0.70 <sup>a</sup>	(64.3)	0
Rice bran	8.00 ± 0.36 <sup>b</sup>	(22.2)	9.5	13.55 ± 1.28 <sup>b</sup>	(37.6)	9.4	21.08 ± 1.26 <sup>b</sup>	(58.6)	8.9
Barley	8.13 ± 0.31 <sup>b</sup>	(22.6)	8.0	13.20 ± 1.06 <sup>b</sup>	(36.7)	11.8	21.26 ± 1.96 <sup>b</sup>	(59.1)	8.1
Soybean	8.04 ± 0.53 <sup>b</sup>	(22.3)	9.0	12.19 ± 1.10 <sup>c</sup>	(33.9)	18.5	20.91 ± 1.22 <sup>b</sup>	(58.1)	9.6
Korean cabbage	7.20 ± 0.18 <sup>c</sup>	(20.0)	18.6	11.79 ± 0.66 <sup>c</sup>	(32.8)	21.2	18.90 ± 1.39 <sup>c</sup>	(52.5)	18.3
Apple	7.51 ± 0.76 <sup>c</sup>	(20.9)	15.0	12.45 ± 0.79 <sup>c</sup>	(34.6)	16.8	19.95 ± 1.22 <sup>c</sup>	(55.4)	13.7
Tangerine	8.00 ± 0.44 <sup>b</sup>	(22.2)	9.5	13.16 ± 1.50 <sup>bc</sup>	(36.6)	12.0	20.73 ± 0.65 <sup>b</sup>	(57.6)	10.4
Sea mustard	6.31 ± 0.67 <sup>d</sup>	(17.5)	28.6	10.43 ± 0.48 <sup>d</sup>	(29.0)	30.3	16.59 ± 1.05 <sup>d</sup>	(46.1)	28.3

1) Values are mean ± SD of 6 replicate trials. Means with different superscript letters in the same column are significantly different at  $p < 0.05$  by paired t-test

2) % Ratio of glucose in dialyrate out of total glucose added



**Fig. 1.** Passive transport of glucose *in vitro* in the presence of commercial fibers.



**Fig. 2.** Passive transport of glucose *in vitro* in the presence of food TDF residues.

감귤류의 종류 또는 식이섬유의 정제도에 따라 그 성질이 크게 달라질 수 있기 때문이라 생각된다. 이상의 결과로 미루어 보아 식이섬유의 급원에 따라 glucose 흡수 지연 효과에 큰 차이를 보여 주었다.

식이섬유의 glucose 흡수 지연 효과는 Schneeman<sup>2)</sup>이 지적한 바와 같이 식이섬유의 구조내에 glucose를 붙잡아 가두는 효과(entrapping effect)로 non-specific binding으로 기대된다. 특히 점성이 높은 수용성 식이섬유의 경우 그 효과가 높게 나타났는데 그 이유로서는

이들이 물과 함께 점성이 높은 gel 구조를 형성하여 물성 변화와 더불어 glucose를 가두는 능력이 증가하였기 때문이라 생각된다. 반면 불용성 식이섬유 및 점성이 낮은 수용성 식이섬유의 경우 그 효과가 낮게 나타났는데 그 이유로는 물성의 변화가 적어 식이섬유 구조의 제한된 공간안에서 glucose를 가두는 능력이 적기 때문이라 생각된다. 그러나 Johnson<sup>29)</sup>은 점성이 높은 수용성 식이섬유라 하더라도 가수분해가 조금이라도 진행되어 점성을 잃게 되면 곧 glucose 흡수 지연효과가 상

실된다고 하였다.

시판용 및 식품시료의 식이섬유에 있어 glucose의 투과과정을 24시간까지 연장시켜 살펴본 결과는 Fig. 1, 2와 같다. 투석막을 통한 glucose 투과는 4시간 경과시 약 85% 이루어졌으며 8시간 경과시는 100% 수준에 도달하는 것으로 나타났다. 또한 식이섬유를 첨가한 경우에도 8시간 경과시는 그 효과가 높게 나타나는 alginic acid, guar gum, CM-cellulose, citrus pectin 및 미역, 사과를 제외하고는 glucose 투과율이 95% 이상에 도달하였다. 식이섬유의 glucose 흡수 지연 효과는 시간이 경과함에 따라 감소하여 24시간까지 연장시켰을 때는 식이섬유가 첨가된 경우에도 glucose가 거의 전부 투과되는 것으로 나타났다.

식이섬유의 첨가는 음식물을 통한 glucose 섭취시 초기에는 glucose 흡수 지연 효과가 높기 때문에 혈액내 glucose의 완전한 상승에 도움을 줄 수 있을 것이며 음식물 섭취시간이 길어짐에 따라 식이섬유에 의한 glucose 흡수 지연 효과는 떨어져 전체적인 glucose 흡수량에는 큰 차이를 가져오지 않을 것으로 예상된다.

본 실험에서 얻은 *in vitro*법에 의한 glucose 흡수 지연 효과가 실제 인체내 조건에 적용될 수 있는지를 살펴 보기 위하여 다른 인체실험 결과와 비교해 본 결과는 Table 3과 같다. Glucose 흡수 지연 효과가 크게 나타났던 alginic acid, guar gum의 경우 인체실험에서도 그 효과가 큰 것으로 나타났으며<sup>7,8)</sup> CM-cellulose, citrus pectin과 wheat bran, apple fiber의 경우도 인체실험시 그 효과가 있다고 보고되었다<sup>8-10)</sup>. 따라서 투석막을 이용한 *in vitro*법에 의한 glucose 흡수 지연 효과와 인체실험 결과는 같은 경향을 나타내는 것으로 판단된다.

## 2. Bile acid 흡수 지연 효과

투석막을 이용한 식이섬유의 bile acid 흡수 지연 효과를 알기 위하여 2시간, 4시간, 24시간으로 나누어 살펴본 결과는 Table 4, 5와 같다. 식이섬유를 첨가하지 않은 control과 비교하였을 때 시판용 식이섬유중 apple pectin,  $\alpha$ -cellulose와 식품에서 얻은 식이섬유중 대두, 사과의 일부조건을 제외하고 시료로 사용된 대부

**Table 3.** Comparison of *in vitro* test and human trials on the effect of fibers on glucose transport

Type of dietary fiber	Glucose retardation index <sup>1)</sup>	Blood glucose	Feeding conditions <sup>2)</sup>	Reference
Alginic acid	31.5	Significant decrease	5.0 g/2 days/7 diabetes	7
Guar gum	30.5	Significant decrease	16 g(+pectin 10 g)/1 day/8 diabetes	8
		Significant decrease	14.5 g/6 weeks/6 diabetes	9
Pectin	30.0	Significant decrease	10 g(+guar gum 16 g)/8 diabetes	8
		Decrease	14.5 g/6 weeks/6 diabetes	9
CM-cellulose	30.5	Decrease	14.5 g/6 weeks/5 diabetes	9
Wheat bran	9.5	Decrease	14.5 g/6 weeks/6 diabetes	9
	(cf : rice bran)	Minimal effect		
Apple fiber	15.0	Decrease	10 normals	10

1) Glucose retardation index after 30 min dialysis, as obtained in this experiment

2) Daily dietary fiber supplemented/duration of study/number of subjects, as cited from references

**Table 4.** Retarding effect of commercial fibers on the membrane transport of taurocholic acid

Sample	Dialysis for 2 hours		Dialysis for 4 hours		Dialysis for 24 hours				
	Bile acid in dialyzate		Bile acid retardation index <sup>3)</sup>	Bile acid in dialyzate		Bile acid retardation index	Bile acid retardation index		
	(mmole/L)	(%)		(mmole/L)	(%)		(mmole/L)	(%)	(%)
Control(none)	0.112 ± 0.019 <sup>a1)</sup>	(12.4) <sup>2)</sup>	0	0.226 ± 0.030 <sup>a</sup>	(25.1)	0	0.681 ± 0.054 <sup>a</sup>	(75.7)	0
Citrus pectin	0.078 ± 0.011 <sup>e</sup>	( 8.7)	30.4	0.171 ± 0.028 <sup>c</sup>	(19.0)	24.3	0.566 ± 0.059 <sup>c</sup>	(62.9)	16.9
Guar gum	0.087 ± 0.007 <sup>cd</sup>	( 9.7)	22.3	0.175 ± 0.018 <sup>c</sup>	(19.4)	22.6	0.523 ± 0.026 <sup>d</sup>	(58.1)	23.2
CM-cellulose	0.090 ± 0.011 <sup>c</sup>	(10.0)	19.6	0.196 ± 0.028 <sup>b</sup>	(21.8)	13.3	0.604 ± 0.040 <sup>b</sup>	(67.1)	11.3
Alginic acid	0.093 ± 0.014 <sup>bcd</sup>	(10.3)	17.0	0.193 ± 0.025 <sup>b</sup>	(21.4)	14.6	0.601 ± 0.039 <sup>b</sup>	(66.8)	11.7
Apple pectin	0.097 ± 0.014 <sup>bc</sup>	(10.8)	13.4	0.195 ± 0.021 <sup>b</sup>	(21.7)	13.7	0.640 ± 0.039 <sup>ab</sup>	(71.1)	6.0
$\alpha$ -Cellulose	0.102 ± 0.011 <sup>b</sup>	(11.3)	8.9	0.216 ± 0.022 <sup>a</sup>	(24.0)	4.4	0.667 ± 0.039 <sup>a</sup>	(74.1)	2.1

1) Values are mean ± SD of 6 replicate trials

2) % Ratio of glucose in dialyzate out of total glucose added

3) Bile acid retardation index =  $\frac{\text{mmole/L bile acid dialyzed in control} - \text{mmole/L bile acid dialyzed in fiber}}{\text{mmole/L bile acid dialyzed in control}} \times 100$

**Table 5.** Retarding effect of food TDF residues on the membrane transport of taurocholic acid

Sample	Dialysis for 2 hours			Dialysis for 4 hours			Dialysis for 24 hours		
	Bile acid in dialyzate		Bile acid retardation index	Bile acid in dialyzate		Bile acid retardation index	Bile acid in dialyzate		Bile acid retardation index
	(mmole/L)	(%)	(%)	(mmole/L)	(%)	(%)	(mmole/L)	(%)	(%)
Control(none)	0.106 ± 0.019 <sup>a1)</sup>	(11.8) <sup>2)</sup>	0	0.223 ± 0.051 <sup>a</sup>	(24.8)	0	0.674 ± 0.070 <sup>a</sup>	(74.9)	0
Rice bran	0.078 ± 0.009 <sup>d</sup>	( 8.7)	26.4	0.169 ± 0.031 <sup>d</sup>	(18.8)	24.2	0.546 ± 0.065 <sup>c</sup>	(70.4)	19.0
Barley	0.075 ± 0.023 <sup>cd</sup>	( 8.3)	29.2	0.158 ± 0.022 <sup>d</sup>	(17.6)	29.1	0.481 ± 0.031 <sup>d</sup>	(53.4)	28.6
Soybean	0.096 ± 0.012 <sup>b</sup>	(10.7)	9.4	0.207 ± 0.043 <sup>ab</sup>	(23.0)	7.2	0.602 ± 0.057 <sup>b</sup>	(66.9)	10.7
Korean cabbage	0.095 ± 0.014 <sup>b</sup>	(10.6)	10.4	0.202 ± 0.046 <sup>b</sup>	(22.4)	9.4	0.594 ± 0.073 <sup>b</sup>	(66.0)	11.9
Apple	0.100 ± 0.012 <sup>ab</sup>	(11.1)	5.7	0.207 ± 0.038 <sup>ab</sup>	(23.0)	7.2	0.629 ± 0.064 <sup>ab</sup>	(69.9)	6.7
Tangerine	0.090 ± 0.009 <sup>bc</sup>	(10.0)	15.1	0.192 ± 0.025 <sup>bc</sup>	(21.3)	13.9	0.590 ± 0.045 <sup>bc</sup>	(65.6)	12.5
Sea mustard	0.088 ± 0.004 <sup>c</sup>	( 9.8)	17.0	0.176 ± 0.015 <sup>cd</sup>	(19.6)	21.1	0.546 ± 0.059 <sup>c</sup>	(60.7)	19.0

1) Values are mean ± SD of 6 replicate trials. Means with different superscript letters in the same column are significantly different at  $p < 0.05$  by paired t-test

2) % Ratio of bile acid in dialyzate out of total bile acid added

분의 식이섬유에서 그 효과가 있는 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). Bile acid 투과율을 보면 glucose 보다 비교적 서서히 이루어졌는데 그 이유는 bile acid의 분자량(538)이 glucose(180)보다 비교적 크기 때문으로 생각된다. Bile acid 투석시간이 경과할수록 투과율은 서서히 감소하였으며, 투석 초기에는 bile acid 흡수 억제지수(%)가 높게 나타났으나 시간이 경과할수록 그 효과는 감소하였다.

시판용 식이섬유의 bile acid 흡수 지연 효과는 Table 4와 같다. 수용성 식이섬유중 citrus pectin, guar gum, CM-cellulose, alginic acid가 비교적 높게 나타났으며 특히 guar gum의 경우는 투석시간이 24시간 경과시에도 20% 이상으로 높게 유지되었다. Apple pectin은 수용성 식이섬유중 비교적 낮게 나타났으며 불용성 식이섬유인  $\alpha$ -cellulose의 경우는 가장 낮았고 시간이 경과함에 따라 급속하게 낮아졌다.

식품에서 얻은 식이섬유의 bile acid 흡수 억제지수는 Table 5와 같다. 보리쌀, 쌀겨, 미역의 경우 20~30% 내외로 매우 높게 나타났다. 특히 보리쌀과 쌀겨의 경우는 glucose 흡수 지연 효과는 크지 않았으나 bile acid에 대해서는 매우 커서 식이섬유 성분과 bile acid 흡착 메커니즘에 대한 연구가 필요하리라 생각된다. 굴의 경우는 그 효과가 15% 수준이었고 배추, 대두의 경우는 10% 수준이었으며 사과의 경우는 6~7% 수준으로 비교적 낮은 것으로 나타났다.

이상의 결과로 미루어 보아 식이섬유의 종류에 따라 bile acid 흡수 지연 효과에 있어 큰 차이를 보여주었다. Bile acid는 micelle 형성을 통하여 지방질 대사에 관여하지만 식이섬유의 종류에 따른 점성의 효과와 더불어 소장내에서 소수성(hydrophobic)인 bile acid와 식이

섬유가 흡착됨으로써 bile acid의 분해대사 및 체내 이용성을 떨어뜨리는 것으로 보고된 바 있다<sup>30)</sup>. 그러나 식이섬유의 혈청내 cholesterol 감소효과는 Vahouny 등<sup>31)</sup>이 지적한 바와 같이 인체 및 동물실험의 경우 식이섬유의 섭취에 따른 대변내 bile acid 배설량이나 혈청내 cholesterol 감소 효과와 직접적인 연관이 적은 것으로 보고되고 있어 식이섬유의 혈청내 cholesterol 감소 효과를 단순히 대변으로의 bile acid 배설 증가에 따른 cholesterol 함량의 감소로 기대하기는 힘든 것으로 생각된다. Story<sup>32)</sup>는 식이섬유와 bile acid의 결합에 의해 유리상태의 bile acid 함량 감소로 재흡수되는 담즙산의 함량에 변화를 주게 되고 궁극적으로 micelle 형성 및 지방대사에 영향을 주어 chylomicron triglyceride 형성 지연에 의해 cholesterol 함성이 저하될 것이라 제안하였다. 이와 더불어 식이섬유가 대장내로 접어들면서 장내 미생물에 의해 분해, 생성된 short-chain fatty acid<sup>33)</sup> 및 식이섬유의 glucose 흡수 조절효과에 따른 insulin 및 glucagon의 분비 감소<sup>20)</sup> 등도 bile acid 및 cholesterol대사에 관여할 것이라 간주되었다. 따라서 식이섬유의 혈청내 cholesterol 감소효과와 관련된 기전은 아직 불분명한 상태이며 앞으로 식이섬유와 연관된 간내 cholesterol 및 지방산의 합성, 호르몬 분비 및 대장내 발효산물인 short-chain fatty acid 등과 관련하여 더욱 많은 연구가 이루어져야 되리라고 생각된다.

시판용 및 식품시료의 식이섬유에 대한 bile acid 흡수과정을 72시간까지 연장시켜 살펴본 결과는 Fig. 3, 4와 같다. 투석막을 통한 bile acid만의 투과는 서서히 일어났으며 72시간 경과시 거의 95% 수준에 이르렀다. 식이섬유를 첨가한 경우 72시간 경과시 bile acid 투과는 bile acid 흡수 지연 효과가 크게 나타났던 citrus

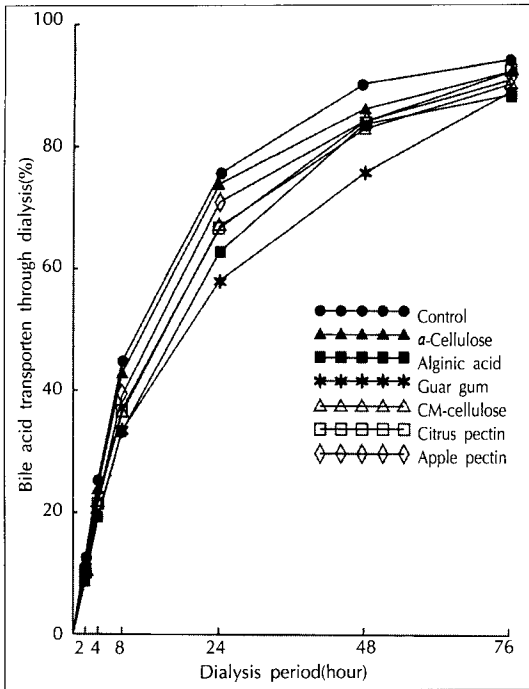


Fig. 3. Passive transport of taurocholic acid *in vitro* in the presence of commercial fibers

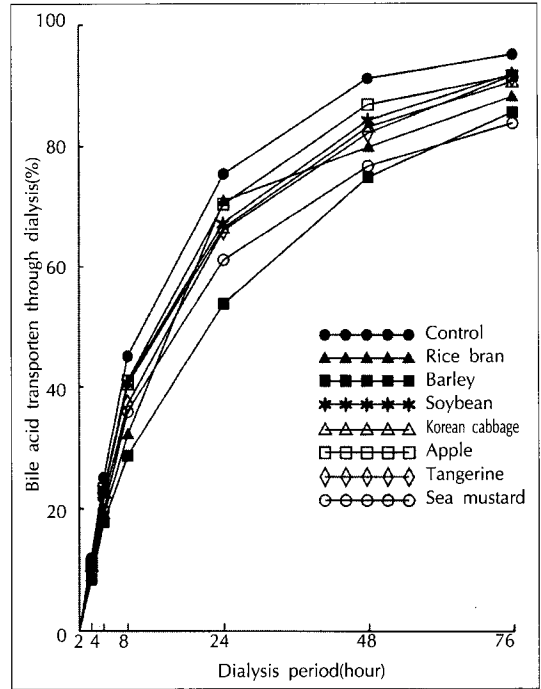


Fig. 4. Passive transport of taurocholic acid *in vitro* in the presence of the presence of food TDF residues.

Table 6. Comparison of *in vitro* test and human trials of fibers on bile acid transport and serum cholesterol

Type of dietary fiber	Bile acid retardation index <sup>1)</sup>	Serum cholesterol	Feeding conditions <sup>2)</sup>	Reference
Citrus pectin	30.4	Decrease (13%)	15 g/3 weeks/9 subjects	11
		Decrease (12%)	36 g/2 weeks/7 subjects	12
		Decrease (18%)	15 g/4 weeks/10 subjects	13
Guar gum	22.3	Decrease (17%)	9 g/4 weeks/24 subjects	14
		Decrease (16%)	5.7 g/2 weeks/6 subjects	15
		Decrease (21%)	20 g/4 weeks/9 diabetes	16
Wheat bran	26.4(cf : rice bran)	No change	16 g/21 days/8 subjects	17
Soybean fiber	9.4	Minimal increase (7%)	21 g/3 weeks/6 subjects	18
		Decrease (4%)	25 g/8 weeks/20 hyperlipidemia	19
Dried beans		Decrease (7%)	140 g/16 weeks/7 hyperlipidemia	20
Carrot pectin		Decrease (6%)	15 g/21 days/5 subjects	17
Carrot		Decrease (11%)	200 g/3 weeks/5 subjects	21

1) Bile acid retardation index after 2 hours, as obtained in this experiment

2) Daily dietary fiber supplemented/duration of study/number of subjects, as cited from references

pectin, guar gum과 쌀겨, 보리쌀, 미역의 경우는 약 83~89% 수준으로 그 억제지수가 6~11% 수준으로 나타나 시간이 경과한 후에도 bile acid 흡수 억제가 가능한 것으로 나타났다. 나머지 식이섬유의 경우도 bile acid 투과가 90~93%로 그 억제지수가 2~5% 수준으로 나타나 시간이 경과한 후에도 그 효과는 조금씩 나타났다.

*In vitro*법에 의한 bile acid 흡수 억제지수와 인체실험

에서의 혈청내 cholesterol 함량과의 관련성을 Table 6에서 비교해 보았다. 그 지수가 크게 나타났던 citrus pectin, guar gum의 경우 체내 섭취시 혈청내 cholesterol 감소 효과가 크게 나타났다고 보고되었다<sup>11)12-16)</sup>. Wheat bran의 경우는 혈청내 cholesterol 감소 효과가 적게 나타났는데<sup>17)</sup> *in vitro*법에 사용된 rice bran의 경우는 그 효과가 크게 나타났다. 이것은 bran의 경우도 그 급원에 따라 cholesterol 감소 효과가 다르며

wheat bran의 경우는 감소 효과가 적으나 oat bran의 경우는 감소 효과가 크다고 보고된 바 있어 bran의 급원에 따른 차이도 고려해야 되리라고 생각된다.

대두의 경우에도 cholesterol 감소 효과가 보고된 바 있는데 *in vitro*법에 의한 bile acid 흡수 억제지수는 비교적 낮게 나타났다. 이것은 인체실험의 경우 대두의 식이섬유 섭취보다는 대두 자체의 섭취가 cholesterol 감소 효과가 큰 것으로 보고된 결과와 일치하였다<sup>18-20</sup>. 그리고 채소류, 과일류의 식이섬유도 cholesterol 감소 효과를 기대할 수 있는 것으로 나타났다<sup>17,21</sup>. 또한 보리쌀의 식이섬유 추출물은 그 지수가 높게 나타났는데 보리쌀의 섭취가 혈청내 cholesterol 감소 효과가 매우 크게 나타났다는 보고<sup>34,35</sup>와 일치하였다.

결국 식이섬유의 bile acid 흡수 억제지수가 높을수록 혈청내 cholesterol 감소 효과가 큰 것으로 나타나 *in vitro*법에 의한 bile acid 흡수 효과 실험법은 인체의 혈청내 cholesterol 감소 효과를 예측하는데 크게 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

### 요약 및 결론

식이섬유의 소화관내 생리적 효과를 설명하기 위하여 투석막을 이용한 *in vitro* 시험법을 glucose와 bile acid에 대하여 실시한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 시판용 식이섬유의 glucose 흡수 억제지수는 수용성 식이섬유 중 alginic acid, guar gum, CM-cellulose, citrus pectin이 30% 수준으로 높게 나타났고 apple pectin은 20% 수준으로 비교적 낮게 나타난 한편 불용성 식이섬유인  $\alpha$ -cellulose는 10% 수준으로 가장 낮게 나타났다. 식품에서 얻은 식이섬유의 경우 미역은 30% 수준으로 가장 높게 나타났고 배추, 사과는 15~20% 내외로 비교적 높게 나타났으며 쌀겨, 보리쌀, 대두, 꺾은 10% 내외로 비교적 낮게 나타났다. Glucose 흡수 지연 효과는 시간이 경과함에 따라 감소하여 24시간까지 연장시켰을 때는 식이섬유가 첨가된 경우에도 glucose가 거의 전부 투과되는 것으로 나타났다.

2) 시판용 식이섬유의 bile acid 흡수 지연 효과는 수용성 식이섬유중 citrus pectin, guar gum, CM-cellulose, alginic acid는 17~30% 내외로 높게 나타났으며, 특히 guar gum은 투석시간이 24시간 경과시에도 20% 이상으로 높게 유지되었다. Apple pectin은 13% 수준으로 수용성 식이섬유중 비교적 낮게 나타났으며 불용성 식이섬유인  $\alpha$ -cellulose는 9% 수준으로 가장 낮았다. 식품에서 얻은 식이섬유의 경우 보리쌀, 쌀겨, 미역은 20~30% 내외로 매우 높았고 꺾은 15%, 배추, 대두

는 10% 수준이었으며 사과는 6~7% 수준으로 비교적 낮게 나타났다. 투석막을 통한 bile acid의 투과는 서서히 일어났으며 72시간 경과시 citrus pectin, guar gum과 쌀겨, 보리쌀, 미역은 그 억제지수가 6~11% 수준으로 나타나 시간이 경과한 후에도 bile acid 흡수 억제가 가능한 것으로 나타났다. 나머지 식이섬유의 경우는 그 억제지수가 2~5% 수준으로 매우 낮게 나타났다.

3) 본 실험에서 실시된 *in vitro*법에 의한 결과를 다른 인체실험 및 동물실험의 결과와 비교해 보았을 때 glucose 흡수 지연 효과가 높을수록 혈액내 glucose 조절 효과가 큰 것으로 판단되며 bile acid 흡수 지연 효과가 높을수록 혈청내 cholesterol 감소 효과가 큰 것으로 판단된다. 따라서 본 실험에서 시도한 *in vitro*법에 의한 생리적 기능시험은 정제된 식이섬유 제품뿐만 아니라 다양한 천연 식품의 식이섬유에 대해서도 그들의 생리적 효과를 예측하는데 크게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

### Literature cited

- 1) Schweizer TF, Wursh P. The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experientia* 47 : 181-186, 1991
- 2) Schneeman BO. Soluble vs insoluble fiber-different physiological responses. *Food Technol* 41(2) : 81-82, 1987
- 3) Chen JY, Piva M, Labuza TP. Evaluation of water binding capacity(WBC) of food fiber sources. *J Food Sci* 49 : 59-63, 1984
- 4) Robertson JA, Eastwood MA. A method to measure the water-holding properties of dietary fibre using suction pressure. *Br J Nutr* 46 : 247-255, 1981
- 5) Cadden A-M. Comparative effects on particle size reduction of physical structure and water binding properties of several plant fibers. *J Food Sci* 52 : 1595-1631, 1987
- 6) Krotkiewski M. Effect of guar gum on body-weight, hunger ratings and metabolism in obese subjects. *Br J Nutr* 52 : 97-105, 1984
- 7) Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg A-S, Tili J. A Small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J Nutr* 121 : 795-799, 1991
- 8) Jenkins DJA, Leeds AR, Wolever TMS, Goff DV, Alberti KGMM, Gassull MA, Hockaday TDR. Unabsorbable carbohydrates and diabetes : Decreased post-prandial hyperglycemia. *Lancet* 24 : 172-174, 1976
- 9) Jenkins DJA, Wolever TMS, Leeds AR, Gassull MA, Haisman P, Dilawari J, Goff DV, Metz GL, Alberti KGMM. Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance : Importance of viscosity. *Br Med J* 27 : 1392-1394, 1978



- 10) Anderson JW, Chen W-JL. Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. *Am J Clin Nutr* 32 : 346-363, 1979
- 11) Kay RM, Truswell AS. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am J Clin Nutr* 30 : 171-175, 1977
- 12) Jenkins DJA, Leeds AR, Newton C, Cummings JH. Effect of pectin, guar gum, and wheat fibre on serum-cholesterol. *Lancet* 1 : 1116-1117, 1975
- 13) Vargo D, Doyle R, Floch MH. Colonic bacterial flora and serum cholesterol : Alterations induced by dietary citrus pectin. *Am J Gastroenterol* 80 : 361-364, 1985
- 14) Khan AR, Khan GY, Mitchel A, and Qadeer MA. Effect of guar gum on blood lipids. *Am J Clin Nutr* 34 : 2446-2449, 1981
- 15) Penagini R, Velio P, Vigorelli R, Bozzani A, Castagnone D, Ranzi T, Bianchi PA. The effect of dietary guar on serum cholesterol, intestinal transit, and fecal out in man. *Am J Gastroenterol* 81 : 123-125, 1986
- 16) Ebeling P, Yki-Jrvinen H, Aro A, Helve E, Sinisalo M, Koivisto VA. Glucose and lipid metabolism and insulin sensitivity in type I diabetes : The effect of guar gum. *Am J Clin Nutr* 48 : 98-103, 1988
- 17) Eastwood MA, Brydon WG, Anderson DMW. The effect of the polysaccharide composition and structure of dietary fibers on cecal fermentation and fecal excretion. *Am J Clin Nutr* 44 : 51-55, 1986
- 18) Schweizer TF, Bekhechi AR, Koellreutter B, Reimann S, Pometta D, Bron BA. Metabolic effects of dietary fiber from dehulled soybeans in humans. *Am J Clin Nutr* 26 : 1-11, 1983
- 19) Lo GS, Goldberg AP, Lim A, Grundhauser JJ, Anderson C, Schonfeld G. Soy fiber improves lipid and carbohydrate metabolism in primary hyperlipidemic subjects. *Atherosclerosis* 62 : 239-248, 1986
- 20) Jenkins DJA, Wong GS, Patten R, Bird J, Hall M, Buckley GC, McGuire V, Reichert R, Little JA. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. *Am J Clin Nutr* 26 : 567-573, 1983
- 21) Robertson J, Brydon WG, Tadesse K, Wenham P, Walls A, Eastwood MA. The effect of raw carrot on serum lipids and colon function. *Am J Clin Nutr* 32 : 1889-1982, 1979
- 22) Stephen AM, Cummings JH. Mechanism of action of dietary fiber in the human colon. *Nature* 284 : 283-284, 1980
- 23) Prosky L, Asp N-G, Furda I, DeVries JW, Schweizer TF, Harland BF. Determination of total dietary fiber in foods and food products : Collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 68 : 677-679, 1985
- 24) Somogyi M. Notes on sugar determination. *J Biol Chem* 195 : 19-23, 1952
- 25) Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 153 : 375-260, 1944
- 26) Adiomtre J, Eastwood MA, Edwards CA, Brydon WG. Dietary fiber : *in vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. *Am J Clin Nutr* 52 : 128-134, 1990
- 27) Boyd GS, Eastwood MA, MacLean N. Bile acids in the rat : Studies in experimental occlusion of the bile duct. *J Lipid Research* 7 : 83-94, 1966
- 28) SAS/STAT *Guide for Personal Computers*, Version 6, 3rd Edition, SAS Institute Inc 1988
- 29) Johnson IT, Gee JM. Effect of gel-forming gums on the intestinal unstirred layer and sugar transport *in vitro*. *Gut* 22 : 398-403, 1981
- 30) Matheson HB, Story JA. Dietary psyllium hydrocolloid and pectin increase bile acid pool size and change bile acid composition in rats. *J Nutr* 124 : 1161-1165, 1994
- 31) Vahouny GV, Khalafi R, Satchithanandam S, Watkins DW, Story JA, Cassidy MM, Kritchevsky D. Dietary fiber supplementation and fecal bile acids, neutral steroids and divalent cations in rats. *J Nutr* 117 : 2009-2015, 1987
- 32) Story JA. Dietary fiber and lipid metabolism. *Proc Soc Exp Biol Med* 180 : 447-452, 1985
- 33) Chen WJL, Anderson JW, Jennings D. Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fiber in cholesterol-fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 175 : 215-218, 1984
- 34) Jackson KA, Suter DAI, Topping DL. Oat bran, barley and malted barley lower plasma cholesterol relative to wheat bran but differ in their effects on liver cholesterol in rats fed diets with and without cholesterol. *J Nutr* 124 : 1678-1684, 1994
- 35) Martinez VM, Newman RK, Newman CW. Barley diets with different fat sources have hypocholesterolemic effects in chicks. *J Nutr* 122 : 1070-1076, 1992