

## 올리고당 첨가식이가 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향\*

오선진<sup>1)</sup> · 김우경<sup>2)</sup> · 김양하<sup>3)</sup> · 김혜영<sup>4)</sup> · 최은혜<sup>1)</sup> · 김숙희<sup>1)</sup>

이화여자대학교 식품영양학과,<sup>1)</sup> 단국대학교 식품영양학과,<sup>2)</sup>  
창원대학교 식품영양학과,<sup>3)</sup> 용인대학교 식품영양학과<sup>4)</sup>

### Effect of Fructooligosaccharide on Lipid Metabolism in Hypercholesterolemic Rat

Oh, Seon-Jin<sup>1)</sup> · Kim, Woo-Kyung<sup>2)</sup> · Kim, Yang-Ha<sup>3)</sup>  
Kim, Hye-Young<sup>4)</sup> · Choi, Eun-Hye<sup>1)</sup> · Kim, Sook-He<sup>1)</sup>

Department of Foods and Nutrition,<sup>1)</sup> Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Department of Foods and Nutrition,<sup>2)</sup> DanKook University, Seoul 140-714, Korea

Department of Foods and Nutrition,<sup>3)</sup> ChangWon University, Chang Won 641-773, Korea

Department of Foods and Nutrition,<sup>4)</sup> YongIn University, YongIn 449-714, Korea

#### ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of fructooligosaccharide on intestinal flora, lipid metabolism and immune response. Thirty two male rats of Sprague-Dawley strain were divided into two groups according to body weight. Each group was fed the diet containing 2% cholesterol or the normal diet, respectively for 4 weeks. Each group was again divided into two sub-groups and they were fed with the diet containing 5% of sucrose and fructooligosaccharide, respectively for 8 weeks. The number of bifidobacteria slight increased, but not significantly, in oligosaccharide groups. Plasma total lipid concentration in cholesterol group was significantly increased compared to the value in normal group. Dietary oligosaccharide decreased plasma total lipid concentration and triglyceride concentrations in normal group, but not in cholesterol group. Fecal lipid excretion was higher in cholesterol group than in normal group. Fecal cholesterol concentration in cholesterol-oligosaccharide group was significantly increased compared to other groups. Cholesterol had slight effects on TBARS and the immune status, but dietary oligosaccharide had no effect on these variables. The results in this study suggest that dietary oligosaccharide had no effect on serum and liver lipid profiles of rats fed high cholesterol diet but increases the fecal cholesterol excretion. (*Korean J Nutrition* 32 (2) : 129~136, 1999)

KEY WORDS : cholesterol · fructooligosaccharide · bifidobacteria · lipid.

#### 서 론

우리나라는 사회 경제면의 급속한 발전과 함께 식생활과 생활양식 면에서도 커다란 변화를 가져왔으며<sup>1)</sup> 이에 따른 질병유형과 사망원인의 변화도 주목되고 있다. 식물성 식품 섭취는 점차 감소되고 있고 동물성 식품 섭취는 현저히 증가되고 있으며<sup>2)</sup> 순환기계 질환을 비롯한 만성퇴행성 질환의 발생과 그로 인한 사망률도 증가 추세에 있어서<sup>3)</sup> 이를 예방하기 위한 영양 관리의 중요성이 강조되고 있다.<sup>4),5)</sup>

최근 특정 식품을 섭취함으로써 그 식품 내 함유되어 있는 특정 요인에 의해서 생리활성이 증가시키려는 연구가 많

이 이루어지고 있다. 이러한 식품을 기능성 식품이라 총칭 하며 기능성 성분으로는 섬유소, 올리고당, 당일콜, 다중불포화지방산, 웨타이드 및 단백질, 유산균류, 무기질 등이 논의되고 있으며 이들을 이용한 식품들이 상품화되고 있는 실정이다.<sup>6)</sup>

프락토올리고당은 생체 내의 소화효소에 의해 가수분해되지 않는 난소화성당(難消化性糖)이며, *Bifidobacteria*, *Bacteroides fragilis* group, *Peptostreptococcus* 및 *Klebsiella* 등과 같은 장내세균에 의해서는 이용되지만 *Clostridium perfringens*, *Escherichia* 등의 장내 유해세균에 의해서는 잘 이용되지 못한다. 프락토올리고당은 특히 *Bifidobacteria*가 선택적으로 이용할 수 있는 올리고당으로 인정되고 있다.<sup>7),8),9)</sup> 비피더스균은 젖산(Lactic acid) 및 초산 등 많은 양의 유기산을 생산하여 이들 산에 예민한 유해성균의 장관 내 정착을 억제함으로써 설사 등 장질환을 예방하고 면역시스템을

채택일 : 1999년 1월 8일

\*This research was supported by the '97 grant from the Ministry of Health and Welfare.

자극하여 감염에 대한 저항력을 높여주는 역할을 하고 있다.<sup>10)</sup> 또한 고콜레스테롤 식이에 비피더스균을 섭취시켰을 경우 혈장 중 콜레스테롤 농도가 크게 낮아진 결과가 보고되어 혈청 내 콜레스테롤의 농도를 감소시키는 유익한 작용이 있는 것으로 검증되고 있다.<sup>11)12)</sup> 이와 같이 올리고당이 장내 유익한 균인 *Bifidus*균을 증식시키고 부페균 및 유해세균의 증식은 억제함으로써 유해세균에 의해 분비되는 물질의 감소에 의한 변비나 암 등의 성인병과 설사의 예방과 치료에도움이 되고 면역기능을 향상과 혈액 내 콜레스테롤을 감소시키리란<sup>7)13)</sup> 기대로 현재 국내에서도 여러 가지 올리고당이 생산되어 식품에 널리 첨가 이용되고 있다.<sup>14)</sup>

본 연구에서는 실험동물에게 4주간 콜레스테롤을 공급하여 고지혈증을 유발시킨 뒤 올리고당을 보충해줌으로써, 올리고당의 투여가 고지혈증의 증상개선과 면역 능력에 어떤 역할을 하는 가를 살펴보고자 하였다.

Group	(g/Kg)			
	NS <sup>1)</sup>	NO	CS	CO
Corn Starch	529.486	529.486	509.486	509.486
Casein	200.000	200.000	200.000	200.000
Sucrose	100.000	47.370	100.000	47.370
Fructooligosaccharide		52.630		52.630
Soybean oil	70.000	70.000	70.000	70.000
Fiber	50.000	50.000	50.000	50.000
Mineral mixture <sup>2)</sup>	35.000	35.000	35.000	35.000
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	10.000	10.000	10.000	10.000
L-Cystine	3.000	3.000	3.000	3.000
Choline bitartrate	2.500	2.500	2.500	2.500
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
Cholesterol		20.000		20.000

1) NS : No Cholesterol + Sucrose

NO : No Cholesterol + Oligosaccharide

CS : Cholesterol + Sucrose

CO : Cholesterol + Oligosaccharide

2) Mineral mixture : AIN-93G mineral mixture(g/kg mix)  
 Calcium carbonate, anhydrous 357.00 ; Potassium phosphate, monobasic 196.00 ; Potassium citrate, tri-potassium, monohydrate 70.78 ; Sodium chloride 74.00 ; Potassium sulfate 46.60 ; Magnesium oxide 24.00 ; Ferric citrate 6.06 ; Zinc carbonate 1.65 ; Manganous carbonate 0.63 ; Cupric carbonate 0.30 ; Potassium iodate 0.01 ; Sodium selenate, anhydrous 0.01025, Ammonium paramolybdate, 4 hydrate 0.00795 ; Sodium meta-silicate, 9 hydrate 1.45, Chromium potassium sulfate, 12 hydrate 0.275 ; Lithium chloride 0.0174 ; Boric acid 0.0815 ; Sodium fluoride 0.0635 ; Nickel carbonate 0.0318 ; Ammonium vanadate 0.0066 ; Powdered sucrose 221.026  
 3) Vitamin mixture : AIN-93 Vitamin mixture(g/kg mix) Nicotinic acid 3.000 ; Ca Pantothenate 1.600 ; Pyridoxine-HCl 0.700 ; Thiamin-HCl 0.600 ; Riboflavin 0.600 ; Folic acid 0.200 ; D-Biotin 0.020 ; Vitamin B-12(cyanocobalamin) 2.500 ; Vitamin E(all-rac- $\alpha$ -tocopherol acetate, 500IU/g) 15.000 ; Vitamin A(all-trans-retinyl palmitate, 500,000IU/g) 0.800 ; Vitamin D<sub>3</sub>(cholecalciferol, 400,000IU/g) 0.250 ; Vitamin K(phylloquinone) 0.075 ; Powdered sucrose 974.655

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물의 사육

Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 실험식이를 시작하기 전 2주 동안 고령사료(삼양사)로 적응시킨 후, 체중이 281±27g 된 쥐들을 체중에 의하여 임의적으로 두 군으로 나누어 한 군에 각각 16마리씩 할당해 한 군은 콜레스테롤이 식이 무게의 2%로 포함된 식이로, 다른 한 군은 정상 식이로 4주간 사육하였다. 4주간 사육 후 고지혈증 유발을 확인한 후 각 군의 쥐를 두 군으로 나누어 한 군은 올리고당이 식이무게의 5%로 함유된 식이를, 나머지 한 군은 올리고당 대신 설탕이 함유된 식이를 주어 8주간 더 사육하였다. 실험동물을 한 마리씩 격리 사육하고, 실험식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험식이는 AIN-93 diet<sup>15)</sup>를 약간 변형한 기본 식이를 공급하였으며, 올리고당은 시판되고 있는 프락토올리고당(제일제당)을 구입하여 냉동 건조시켜 식이에 첨가하였다. 본 실험에서 사용한 식이의 구성은 Table 1과 같다. 일주일에 두 번씩 일정한 시간에 식이섭취량을 측정하였고 일주일에 한 번 같은 시각에 체중을 측정하여 식이 효율을 계산하였다.

### 2. 변, 혈액, 각종 장기의 채취

실험종료 전 실험동물을 stainless steel로 된 대사장으로 옮겨 48시간 동안의 변을 채취하였다. 혈액은 실험기간 종료 전 12시간 짧은 동물을 ethyl ether로 마취시켜 심장 판자법으로 채취하였다. 혈액은 시험관에 받아 2000rpm에서 30분간 원심분리 하여 적혈구과 혈장을 얻은 후 나중 분석을 위해 혈장은 -70°C에서 냉동보관 하였다. 혈액채취 후 즉시 간을 떼어 생리식염수에 세척한 다음 무게를 측정하고 분석을 위해 바로 -70°C에서 냉동보관 하였다. 신장, epididymal fat pad를 떼어내어 무게를 측정하였고, 비장은 무게를 측정한 후 면역실험을 실시하였다.

### 3. 비피더스 증식효과

실험식이를 섭취한 지 0, 2, 4, 8주째 되는날에 쥐의 항문을 자극하여 분변을 인위적으로 채취하여 멸균 phosphate buffer에 일정농도로 희석한 후, *bifidobacteria* 선택용 배지 TPY(Trypticase Phytone Yeast extract medium)를 사용하여 혈기성배양기에서 37°C로 48시간 배양한 후 균수를 측정하였다.

### 4. 비장 세포의 면역 증식 능력 측정<sup>16)</sup>

쥐를 희생한 직후 비장을 무균적으로 적출하여 즉시 RP-

MI 1640(Sigma)medium 용액에 넣어 붙어있는 지방을 제거한 후 scapel을 이용하여 single cell dispension을 만들었다. 원심분리판에 넣고 2회 세척 한 다음 10% fetal bovine serum을 함유한 RPMI 1640 용액에 세포를 넣어 96 well round bottom microtiter plate의 각 well 당 세포 수가  $2.5 \times 10^5$ 개가 되도록 각 well에 100 $\mu$ l씩 분주하였다. 각 well에 Con A(Concanavalin A, 10 $\mu$ g/ml, Sigma), PHA(Phytohemagglutinin, 10 $\mu$ g/ml, Sigma), PWM(Pokeweedmitogen, 10 $\mu$ g/ml, Sigma)을 10 $\mu$ l씩 첨가하였고 control well에는 mitogen을 첨가하지 않았다. 분주된 plate는 37°C, humidified CO<sub>2</sub> incubator에서 72시간 배양하였다. 배양이 끝나기 4시간 전에 MTT(5mg MTT/ml PBS)를 10 $\mu$ l씩 각 well에 분주하고 배양이 완전히 끝나면 상층액을 제거한 후 DMSO(Dimethylsulfoxide, Sigma)를 각 well에 150 $\mu$ l씩 첨가하여 cell을 녹인 후 1시간 동안 shaking한 후 ELISA reader(Multiskan Mcc/340 MK2)로 492nm에서 흡광도를 측정하였다. mitogen에 의한 세포증식정도는 stimulation index로 구하였다.

$$\text{Stimulation index} = \frac{\text{Mitogen을 넣은 well의 흡광도}}{\text{Mitogen을 넣지 않은 well의 흡광도}}$$

### 5. 혈장, 간, 변의 지질수준 분석

혈장의 총지방은 Frings법<sup>6</sup>에 의하여 측정하였으며, 중성지방과 total cholesterol, HDL 콜레스테롤은 kit(영동제약)를 이용하여 측정하였다. 간의 총지질은 Bligh & Dyer법<sup>18)</sup>을 이용하여 측정하였고, 콜레스테롤과 중성지방은 kit(영동제약)를 이용하여 추출한 지방을 chloroform 용매에 녹여 분석하였다. 변의 총지질은 Bligh & Dyer법<sup>18)</sup>으로 추출하였으며, 콜레스테롤은 추출한 지방을 chloroform 용매에 녹여 kit(영동제약)를 이용하여 분석하였다.

### 6. 혈장, 간의 과산화물양의 측정

혈장의 과산화물(malodialdehyde)인 TBARS의 양은 Yagi법<sup>19)</sup>을 이용하여 측정하였으며 간의 TBARS는 Buckingham법<sup>20)</sup>을 변형하여 측정하였다.

### 7. 적혈구, 간 항산화 효소 활성의 변화 측정

적혈구와 간의 Superoxide dismutase 활성은 Folcher 등<sup>21)</sup>의 방법을 이용하여 측정하였으며 적혈구의 GSH-px 활성은 Paglia 등<sup>22)</sup>의 방법과 Floche 등<sup>23)</sup>의 방법을 이용하여 측정하였다. 적혈구와 간의 Catalase 활성은 Johansson과 Hakan Borg법<sup>24)</sup>에 의하여 측정하였다.

### 8. 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 SAS program을 이용하여 각 군의 평균과 표준편차를 구하고, 콜레스테롤의 섭취와 올리고당 섭취 효과는 2-way ANOVA 분석을 하였고, 각 실험군 평균치간의 유의성은 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다. 올리고당 섭취군과 설탕 섭취군의 콜레스테롤 흡수율의 차이는 t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.<sup>25)</sup>

## 실험결과 및 고찰

### 1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안의 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율은 Table 2와 같다. 식이섭취량은 올리고당 섭취에 의한 영향을 받아 올리고당 섭취군의 식이섭취량이 낮았으며 특히 콜레스테롤을 준 군에서의 올리고당 섭취군의 식이섭취량이 낮았다( $p<0.05$ ). 한편 Fiordaliso 등<sup>26)</sup>의 연구에서는 프락토올리고당을 섭취한 쥐들의 식이섭취량이 설탕을 섭취한 쥐들에 비해 유의적인 차이는 없었으나 더 많이 먹는 경향을 보여 본 연구와는 일치하지 않았다. 체중 증가량 및 식이효율은 올리고당이나 콜레스테롤의 섭취에 따른 영향을 받지 않았다.

### 2. 장기무게

Table 3에서 보는 바와 같이 간의 무게는 콜레스테롤 침가에 따른 유의적 차이를 보여 콜레스테롤 섭취군이 콜레스테롤 무섭취군에 비해 유의적으로 무거웠다. 이는 고콜레스테롤 식이로 인해 간의 무게가 유의적으로 증가한 박동<sup>27)</sup>의 연구와 일치되는 결과이다. 그 외 장기인 epididymal fat pad, 비장, 흉선, 신장은 콜레스테롤과 올리고당 섭취에 따른 영향을 보여주지 않았다.

Table 2. Weight gain and food intakes, food efficiency ratio for 12<sup>1)</sup> weeks (g/ week)

	Weight gain	Food intakes	Food efficiency ratio
NS	$19.9 \pm 5.40^{21}$	$304.9 \pm 18.1^{ab4)}$	$0.065 \pm 0.010$
NO	$18.6 \pm 3.34$	$296.7 \pm 22.1^{ab}$	$0.063 \pm 0.011$
CS	$19.0 \pm 3.60$	$315.7 \pm 17.1^a$	$0.060 \pm 0.008$
CO	$19.6 \pm 4.05$	$290.7 \pm 18.1^b$	$0.067 \pm 0.009$
S.F. <sup>5)</sup>	NS <sup>3)</sup>	O	NS

1) 4 weeks fed by 2% cholesterol containing diet or cholesterol free diet+8 weeks fed by experimental diet 2) Mean $\pm$ S.D.(n=8)

3) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  4) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 5) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA : O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$ ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$ ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$

**Table 3.** Organ weight of the experimental groups

	NS	NO	CS	CO	wet weight(g) S.F. <sup>4)</sup>
Liver	15.06±2.65 <sup>1)b2)</sup>	13.69±2.111 <sup>b</sup>	24.67±3.95 <sup>a</sup>	25.89±1.96 <sup>a</sup>	C
Epididymal fat pad	11.85±3.97	9.52±2.46	9.17±3.18	10.05±2.80	NS <sup>3)</sup>
Spleen	0.76±0.13	0.75±0.15	0.72±0.08	0.79±0.11	NS
Thymus	0.29±0.05	0.31±0.08	0.29±0.10	0.29±0.08	NS
Kidney	4.18±0.57	3.75±0.55	4.03±0.69	4.02±0.60	NS

1) Mean±S.D.(n=8) 2) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 3) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  4) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA ; O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$

**Table 4.** The number of rat fecal Bifidobacteria

	(log colony forming unit(cfu) / g wet feces)			
	0 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks
NS	8.83±0.14 <sup>11</sup>	8.92±0.17 <sup>c</sup>	9.21±0.39	9.01±0.23
NO	8.83±0.14	8.99±0.25 <sup>bc</sup>	9.11±0.37	9.37±0.30
CS	8.94±0.25	9.19±0.16 <sup>ab</sup>	9.14±0.22	9.18±0.26
CO	8.94±0.25	9.25±0.23 <sup>a</sup>	9.29±0.22	9.20±0.34
S.F. <sup>4)</sup>	NS <sup>2)</sup>	C	NS	NS

1) Mean±S.D.(n=8) 2) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  3) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 4) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA ; O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$

른 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Agheli 등<sup>33)</sup>에 의하면 쥐의 식이에 프락토올리고당을 보충해주었을 때 간의 무게는 11%( $p<0.05$ ), 지방 조직은 25%( $p<0.01$ ) 감소하였다. 보고하고 있으나 본 실험에서는 이러한 차이가 나타나지 않았다.

### 3. 비피더스 증식효과

장내의 비피더스 균수 측정에 대한 결과는 Table 4에 있다. 올리고당 투여 전에 4주 동안 정상 식이 또는 고콜레스테롤 식이를 섭취한 쥐들의 비피더스균수는(실험 0주) 실험군들 간에 유의적 차이가 없었고, 실험식이를 투여한 후 2주에 콜레스테롤을 섭취에 의한 영향을 받아 콜레스테롤 섭취군에서 균수가 증가하였고 특히 올리고당을 섭취한 군이 가장 많이 증가하였다. 그 이후에도 올리고당 섭취 시 비피더스균이 설탕섭취군 보다 높은 경향이었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이는 김 등<sup>29)</sup>이 프락토올리고당의 경구투여로 변의 비피더스균의 비율은 섭취 일주일 후 대조군 0.29%에 비해 0.8%로 높게 나타났다는 결과를 보고한 것과 유사한 결과이다. Howard 등<sup>29)30)</sup> 역시 돼지에게 프락토올리고당을 식이에 첨가했을 때 6일 후에 분변의 비피더스균수의 유의적인 증가를 보고하고 있으며 쥐에게 프락토올리고당을 공급한 결과 장내 비피더스균이 증가하였다고 한

다. 또한 사람을 대상으로 실시한 실험에서 프락토올리고당의 섭취에 의해 분변의 비피더스균은 섭취 4주 후에 유의적인 증가를 보고하고 있다.<sup>29)</sup> 그러나 본 실험에서 올리고당이 비피더스균의 증식에 있어 유의적인 차이를 나타내지 못한 것은 Howard 등<sup>29)30)</sup>은 프락토올리고당이 95% 이상 함유된 제품을 사용한데 비해 본 실험에 사용한 제품은 프락토올리고당의 함량이 56%로 순도가 낮았던 것이 이유 중 하나였다고 생각된다. 또 실험에 사용한 쥐가 이미 성장기를 지난 쥐로 장내 균총에 있어 올리고당 섭취에 대한 민감성이 감소했을 수 있는 가능성도 있다. 장내 비피더스균의 증식에 대한 올리고당의 효과에 대해 앞으로의 연구가 더 필요하리라 사료된다.

### 4. 혈장의 지질농도

혈장 내 지방성분에 대한 결과는 Table 5에 수록하였다. 혈장 내 총 지방량은 콜레스테롤 섭취에 의해 크게 증가하여 고콜레스테롤 섭취군들이 유의적으로 높았다. 콜레스테롤 무섭취군의 경우 올리고당 섭취군과 설탕 섭취군사이에 차이는 나타나지 않았으나 콜레스테롤 섭취군에서는 올리고당 섭취군의 혈장 총지방량이 설탕섭취군에 비해 높았다. 혈액 총 콜레스테롤은 콜레스테롤 섭취로 인해 콜레스테롤 섭취군이 높은 경향이었으나 유의적인 차이는 없었으며 올리고당 섭취에 따른 영향은 없었다. 본 실험에서 올리고당 섭취가 혈장 콜레스테롤에 영향을 주지 않은 것은 올리고당의 섭취로 인해 장내의 비피더스균의 증식에 큰 효과를 나타내지 못한 것과 관련이 있다고 할 수 있겠다.

혈장 HDL-콜레스테롤은 콜레스테롤 공급의 영향으로 유의적으로 감소하였으며 이는 박 등<sup>31)</sup>의 연구결과와 비슷한 양상을 보였다. 혈장의 중성지질은 콜레스테롤 섭취로 유의적으로 감소하였으며 콜레스테롤 무섭취군에서는 올리고당 섭취로 인해 감소하는 경향을 나타냈다. Agheli 등<sup>33)</sup>은 쥐에게 고설탕 식이를 주고 3주 동안 설탕의 10%를 프락토올리고당으로 대체해 주었을 때 혈장의 중성지질은 감소하고 콜레스테롤은 변하지 않아 본 실험 결과와 유사한 결과를 나

**Table 5.** Concentrations of plasma lipids

	Total Lipid	Cholesterol	HDL Cholesterol	Triglyceride	(mg / dl plasma)
S.F. <sup>4)</sup>	C, OC	NS <sup>3)</sup>	C	C	
NS	176.8±32.1 <sup>1)(c)</sup>	102.07±18.62	57.72±24.32 <sup>a</sup>	50.38±13.93 <sup>a</sup>	
NO	156.0±25.0 <sup>c</sup>	99.77±17.38	68.16±10.00 <sup>a</sup>	41.73±11.85 <sup>ab</sup>	
CS	232.6±45.6 <sup>b</sup>	123.42±42.23	31.87±7.46 <sup>b</sup>	34.01±6.06 <sup>b</sup>	
CO	297.8±79.0 <sup>a</sup>	102.07±18.62	32.06±8.24 <sup>b</sup>	35.05±10.28 <sup>b</sup>	

1) Mean±S.D.(n=8) 2) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 3) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  4) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA : O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$

**Table 6.** Lipids concentration in liver (mg / g wet liver)

	Total Lipid	Cholesterol	Triglyceride
NS	25.07±4.79 <sup>1)(b2)</sup>	1.40±0.72 <sup>b</sup>	6.62±3.52 <sup>b</sup>
NO	25.93±4.27 <sup>b</sup>	1.77±0.12 <sup>b</sup>	6.94±2.14 <sup>b</sup>
CO	96.48±11.65 <sup>a</sup>	9.93±2.75 <sup>a</sup>	15.83±4.82 <sup>a</sup>
CS	93.50±14.48 <sup>a</sup>	14.01±12.5 <sup>a</sup>	13.5±3.45 <sup>a</sup>
S.F. <sup>3)</sup>	C	C	C

1) Mean±S.D.(n=8) 2) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 3) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA : O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$

타냈다. 또 다른 연구에서도 프락토올리고당이 정상적인 쥐에서 혈장 지질 감소효과가 있는 것으로 검증되고 있는데, Fiordaliso 등<sup>27)</sup>은 식이 무게의 10%에 해당하는 프락토올리고당을 정상적인 쥐에게 16주 동안 공급해주었을 때 혈장의 중성지질은 25% 감소하였으며 콜레스테롤은 15%가 감소한다고 보고하고 있다.

## 5. 간의 지질농도

간의 총지방량, 콜레스테롤, 중성지방에 대한 결과는 Table 6과 같다. 간의 총지방량은 콜레스테롤 섭취로 크게 증가하였으며 간의 콜레스테롤 및 중성지방 역시 콜레스테롤 섭취 영향으로 유의적으로 증가함을 볼 수 있었다. 그리고 간의 총 콜레스테롤은 콜레스테롤 섭취군에서 올리고당 섭취 시 유의적인 차이는 없으나 낮아지는 경향을 보였다.

비피더스균을 식이에 직접 공급해주었을 때 혈중 콜레스테롤이 감소되는 효과는 여러 연구에서 검증되고 있다.<sup>12)(13)</sup> 비피더스균을 포함하는 젖산균은 bile salt hydrolase를 분비함으로써 소장에서 분비되는 담즙산을 deconjugation 시켜 glycerine이나 taurine이 분리된 유리 담즙산으로의 전환을 촉진시키며 이렇게 유리된 담즙산은 conjugated bile acid 보다 재흡수력이 떨어져 재흡수되는 담즙산의 양이 적어진다. 따라서 간의 콜레스테롤 사용을 증가시킴으로써 혈

**Table 7.** Lipids concentration in feces and absorption rate of Cholesterol (mg / g dry feces)

	Total Lipid	Cholesterol	Cholesterol absorption rate(%)
NS	13.36±2.04 <sup>1)(b2)</sup>	1.83±0.86 <sup>c</sup>	-
NO	16.28±9.50 <sup>b</sup>	1.45±0.41 <sup>c</sup>	-
CS	58.94±3.66 <sup>a</sup>	4.30±1.48 <sup>b</sup>	76.76±9.79 <sup>a</sup>
CO	55.19±6.02 <sup>a</sup>	6.76±2.12 <sup>a</sup>	58.47±11.41
S.F. <sup>3)</sup>	C	O, C, OC	-

1) Mean±S.D.(n=8) 2) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 3) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA : O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$  4) P<0.01(by t-test)

중 콜레스테롤 수준을 낮추어 주는 것으로 제안되고 있다.<sup>32)</sup>

본 결과에서는 콜레스테롤 섭취군에서 올리고당의 섭취 시 콜레스테롤 양이 감소하는 경향이 위와 같은 기전에 기인한 것으로 보이나 올리고당의 섭취로 인해 장내 비피더스균의 증식이 크게 나타나지 않아 이에 대한 연구가 더 되어야 할 것으로 본다.

## 6. 변의 지질농도 및 cholesterol의 흡수율

변 내 총지방과 콜레스테롤량에 대한 결과는 Table 7에 제시하였다. 콜레스테롤 섭취군들에서 변으로의 지방 배설량이 콜레스테롤 무섭취군에 비해 4배 이상이나 많았다. 변 내 콜레스테롤량 역시 콜레스테롤 섭취군에서 유의적으로 증가하였으며 콜레스테롤 무섭취군에서는 올리고당 섭취에 따른 차이가 나타나지 않았으나 콜레스테롤 섭취군에서는 올리고당을 섭취한 군의 변 내 콜레스테롤량이 유의적으로 높았다. 그리고 콜레스테롤 섭취군의 콜레스테롤 흡수율을 계산해 보면 올리고당 섭취군의 콜레스테롤 흡수율이 유의적으로 낮았다. 간 내 콜레스테롤이 콜레스테롤 섭취군에서 올리고당 섭취 시 설탕 섭취시에 비해 유의적으로 낮은 것과 관련해 볼 때 올리고당 섭취로 변으로의 콜레스테롤 배설량이 증가함으로써 간내 콜레스테롤 수준이 낮아지는

가능성을 제시할 수 있다.

### 7. 혈액과 간의 과산화물양

고콜레스테롤혈증으로 인한 동맥경화는 혈액의 과산화지질을 증가시키는 것과 관련되며 체내 항산화 능력을 감소시킨다.<sup>34)</sup> 본 연구결과 혈장 내 TBARS 생성은 실험군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 간조직에서의 TBARS 생성은 콜레스테롤 섭취군에서 유의적으로 증가하였다(Table 8). Mantha 등<sup>24)</sup>과 Del Boccio 등<sup>35)</sup>의 연구에서 고지방식이 와 콜레스테롤 첨가 식이에 의해 TBARS 생성은 크게 증가하였다고 보고하고 있는데 본 실험결과에서는 간에서만 증가를 보였다. 올리고당은 혈액과 간의 과산화지질에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

**Table 8.** Thiobarbituric acid reactive substance levels in plasma and liver (nmol)

	Plasma	Liver
NS	0.22±0.01 <sup>1)</sup>	0.36±0.06 <sup>b3)</sup>
NO	0.19±0.06	0.40±0.79 <sup>b</sup>
CS	0.17±0.05	0.69±0.29 <sup>a</sup>
CO	0.16±0.06	0.81±0.59 <sup>a</sup>
S.F. <sup>4)</sup>	NS <sup>2)</sup>	C

1) Mean±S.D.(n=8) 2) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  3) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 4) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA ; O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$

**Table 9.** Antioxidant enzyme activities of erythrocyte and liver

	SOD / protein ( $u^{4)}$ / mg)	GSH-px / protein( $u^{5)}$ / g)	Catalase / protein <sup>6)</sup>
Erythrocyte	NS	0.22±0.08 <sup>b</sup> )	15.68±8.04
	NO	0.26±0.06	21.25±7.58
	CS	0.34±0.11	17.02±8.15
	CO	0.21±0.06	10.70±2.36
S.F. <sup>3)</sup>	NS <sup>2)</sup>	NS	NS
Liver	NS	1.21±0.46 <sup>ab7)</sup>	46.9±15.8
	NO	1.16±0.29 <sup>b</sup>	43.1±21.5
	CS	1.56±0.23 <sup>ab</sup>	43.7±8.2
	CO	1.59±0.38 <sup>a</sup>	44.7±5.2
S.F.	C	NS	O

1) Mean±S.D. 2) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  3) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA ; O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$  4) 1unit is defined as by the inhibition of cytochrome C reduction by 50% 5) 1unit=1 $\mu$ mol NADPH disappearance/min 6) nmol formaldehyde utilized as standard/g protein 7) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test.

### 8. 적혈구와 간의 항산화효소의 활성 정도

항산화 효소인 Superoxide dismutase(SOD), Glutathione peroxidase(GSH-px), Catalase의 혈장에서의 활성은 실험군 간에 유의적인 차이는 보이지 않았다(Table 9). 그러나 간에서의 활성은 SOD는 콜레스테롤 섭취의 영향으로 콜레스테롤 섭취군에서 높았고 Catalase 활성은 올리고당 섭취군이 유의적으로 낮게 나타났다(Table 9). Del Boccio 등<sup>35)</sup>은 토끼에게 고지방식이, 콜레스테롤 식이를 제공하여 항산화 효소의 변화를 관찰한 결과 SOD와 GSH-px의 활성은 체내 스트레스로 인해 증가하였으며 Catalase는 활성이 감소하였다고 보고하고 있으며 이러한 변화는 혈관의 산화적 손상을 일으키게 한다고 하였다. 본 실험에서 적혈구의 항산화효소 활성은 콜레스테롤과 올리고당 섭취에 영향을 받지 않았지만 간에서의 SOD는 콜레스테롤을 섭취에 의해 활성이 증가하였고 올리고당 섭취는 콜레스테롤 섭취에 의해 높아진 Catalase 활성을 낮추어 주는 효과를 보여주었다.

### 9. 면역 능력

Mitogen에 대한 비장 세포의 증식 능력에 대한 실험결과는 Table 10에 제시되었다. T-세포의 증식을 유도하는 것으로 알려진 Con A에 대한 결과는 콜레스테롤을 섭취한 군들에서 낮은 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었고 PHA를 사용하였을 때도 실험군 간에 차이가 나타나지 않았다. 그리고 B-세포의 증식을 자극하는 PWM에 대한 결과는 콜레스테롤 섭취군이 유의적으로 낮았으며, 그 중에서도 설탕을 섭취한 군이 올리고당을 섭취한 군에 비하여 낮은 경향을 나타냈다. Roselaar 등<sup>36)</sup>은 콜레스테롤을 섭취한 토끼에게서 세포매개성 면역능력이 감소하였으며 이는 동맥경화의 발생을 증가시킨다고 보고하고 있다. Yasui 등<sup>37)</sup>의 연구에 따르면 마우스의 장관성림프조직인 Peyer's patch

**Table 10.** Mitogen stimulation index by MTT methods

Mitogen response	ConA / Control	PHA / Control	PWM / Control
NS	1.34±0.11 <sup>1)</sup>	0.88±0.17	1.05±0.07 <sup>a3)</sup>
NO	1.39±0.47	0.96±0.16	1.02±0.17 <sup>a</sup>
CS	1.18±0.10	0.96±0.08	0.85±0.03 <sup>bc</sup>
CO	1.15±0.23	0.90±0.10	0.97±0.06 <sup>ab</sup>
S.F. <sup>4)</sup>	NS <sup>2)</sup>	NS	C

1) Mean±S.D.(n=8) 2) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  3) Values with different alphabet within the column were significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test. 4) Statistical significance of dietary factors was calculated by 2-way ANOVA ; O : Effect of oligosaccharide is significant at  $\alpha=0.05$  ; C : Effect of cholesterol is significant at  $\alpha=0.05$  ; OC : Effect of interaction between oligosaccharide and cholesterol is significantly at  $\alpha=0.05$

세포에 비피더스균을 함유한 발효유를 조사한 결과 비피더스균은 Peyer's patch 세포의 증식을 촉진했으며 특히 B-세포에 효과가 있었고 사람에서도 발효유를 제공한 결과 혈액의 면역능력이 증진되었다고 하였다.<sup>38)</sup>

## 요약 및 결론

올리고당은 난소화성 당으로 비피더스균을 선택적으로 증식시켜 장내의 균총 환경을 개선시켜 줄 것으로 사료되고 있다. 그러므로 본 연구는 프락토올리고당을 고지혈증 상태의 환쥐에게 8주간 보충해줌으로써, 장내 비피더스균의 증식과 지질대사 및 체내 과산화정도, 면역 능력에 미치는 영향을 연구하였다.

올리고당의 첨가는 섭취 2주 후에서 유의적이지는 않지만 장내 비피더스균을 증가시키는 경향을 보였다. 혈장 내 지방 성분은 올리고당 섭취보다는 콜레스테롤 섭취 효과가 커서 콜레스테롤 섭취 시에 총 지방량이 높고, HDL-콜레스테롤, 중성지방은 낮았다. 간의 경우 콜레스테롤 섭취에 의해 많은 영향을 받아 콜레스테롤 섭취 시 총지방, 콜레스테롤, 중성지방이 높았다. 그리고 올리고당의 첨가는 콜레스테롤 섭취군에서 간 내 콜레스테롤을 감소시키는 경향을 나타냈다. 면으로의 지방과 콜레스테롤 배설량은 콜레스테롤의 섭취 시 크게 증가하였으며, 올리고당은 콜레스테롤 섭취군의 콜레스테롤 배설을 유의적으로 증가시키는 것으로 나타났다. 과산화물양은 혈액에서는 실험군 간에 차이가 나지 않았으나 간에서는 콜레스테롤 섭취로 유의적으로 높게 나타났다. 적혈구에서의 항산화 활성은 실험군 간에 차이가 없었으나 간의 항산화 효소의 활성 정도는 SOD는 콜레스테롤 섭취가, Catalase는 올리고당 섭취가 영향을 주었다. 비장의 증식은 콜레스테롤 섭취군이 낮은 경향을 보여주었다.

본 연구 결과 콜레스테롤 식이로 인해 변화된 혈액과 간의 지질성상에 올리고당의 섭취는 큰 영향을 주지 않았으나 콜레스테롤 섭취 시 면으로의 콜레스테롤 배설량을 증가시켜 콜레스테롤의 흡수율을 낮추어 줄 것으로 사료된다.

## Literature cited

- 1) Kwon TW, Kang SK. Development of Food engineering and our Dietary life. *Korean J Dietary Culture* 8(4) : 351-357, 1993
- 2) National Nutrition Survey Report. Ministry of Health and Welfare. 1994
- 3) Lee IH. The effect of Korean dietary life changes on health and diseases. *Korean J Dietary Culture* 8(4) : 359-372, 1993
- 4) Annual report on the Cause of death statistical Report. the Economic Planning Board. 1996
- 5) Kris-Etherton, Debra Krummel, Garlene Dreon, Sally Mackey, Peter D. Wood D Sc. The effect of diet on plasma lipids, lipoproteins, and coronary heart disease. *J Am Diet Assoc* 88(11) : 1373-1400, 1988
- 6) Kim SH, Kim WK, Jang YA. Dietary Life and Health. Sinkwang Press. Seoul, pp.247-256, 1997
- 7) Mitsuoka T. Intestinal Flora and Dietary Factor. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, pp.40-67, 1983
- 8) Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. Selective Stimulation of Bifidobacteria in the Human Colon by Oligofructose and Inulin. *Gastroenterology* 108 : 975-982, 1995
- 9) Modler HW, RC McKeller, M Yaguchi. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can Inst Food Sci Technol J* 23 : 29-41, 1990
- 10) Anand SK, Srinivasan RA, Rao LK. antibacterial activity associated with *Bifidobacterium bifidus*. *Cultured Diary Sci* 62 : 1985
- 11) Homma N. Bifidobacteria as a residence factor in human beings. *Bifidobacteria Microbiota* 7(1) : 35-43, 1988
- 12) Mitsuoka T. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microbiota* 4(2) : 3-24, 1982
- 13) Hidaka H, Eida T, Takazawa T, Tokunaga T, Tashiro Y. Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microbiota* 5 : 37-50, 1986
- 14) Park KH. Development of new materials from carbohydrate. *Food Science and Industry* 25(2) : 73-81, 1992
- 15) Philip G Reeves, Forrest H Nielsen, George C Fahey. AIN-93 Purified Diets for Laboratory rodents : Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J Nutr* 123 : 1939-1951, 1993
- 16) Bellanti JA. Immunology : basic process, 2nd ed. WB Saunders Company, pp.132-133
- 17) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophosphovanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53 : 89-91, 1970
- 18) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
- 19) Yagi K. Assay for blood plasma or serum. In : Method in enzymology. Academic press 105 : 328-331, 1984
- 20) 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
- 21) Flocher L, Becker R, Brigelius R, Lengfeld E, Otting F. Convenient assays for Superoxide dismutase(SOD) In : Miquel J, Quintanilha AT Weber H. eds. CRC handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, pp.287-288, 1992
- 22) Paglia DE, Valentine WN. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70(1) : 158-179, 1967
- 23) Floche L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. In : Lowenstein ed. Methods in enzymology. Academic Press Inc. NY 105 : 114-126, 1967
- 24) Johansson LH, Hankan Borg. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochem* 174 : 331-335, 1988
- 25) Steel RGD, Torrie JH. In : Principles and Procedures of statistics, pp. 481, Mc Graw-Hill Book Company. NY, 1960
- 26) Fiordaliso M, Kok N, Desager KP, Goethals F, Deboyser D, Robeirofroid M, Delzenne N. Dietary Oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats : *Lipids* 30 : 163-167, 1995
- 27) Park OJ. Plasma Lipids and Fecal Excretion of Lipids in Rats Fed a High Fat Diet, a High Cholesterol Diet or a Low Fat/High Sucrose Diet. *Korean J Nutr* 27(8) : 785-794, 1994

- 28) Kim JR, Yook C, Kwon HK Hong, SY Park, CK Park KH. Physical and Physiological Properties of Isomaltoligosaccharides. *Korean J Food Sci Technol* 27(2) : 170-175, 1995
- 29) Howard MD, Gordon DT, Pace LW, Garleb KA, Kerley MS. Effects of Dietary Supplementation with Fructooligosaccharides on Colonic Microbiota Populations and Epithelial Cell Proliferation in Neonatal Pigs. *J Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 21 : 297-303, 1995
- 30) 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 rats. *J Nutr* 125 : 2604-2609, 1995
- 31) Kang KH, Kim KM, Choi SG. Effects of the Fructooligosaccharide Intake on Human Fecal Microflora and Fecal Properties. *Korean J Food Sci Technol* 28(4) : 609-615, 1996
- 32) Baek YJ. Utilization of Lactic acid fermented milk and health promotion. Korean Diary Technology and Science Association Proceeding, pp.69-84 The 47th Autumn symposium of Korean Diary Technology and Science Association, 1998
- 33) Nasrin Agheli, Morvarid Kabir, Sibilla Berni-Canani, Estelle Petitiean, Abdelghani Boussairi, Jing Luo, Francis Bornet, Gerard Slama, Salwa W, Rizkalla. 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
- 34) Mantha SV, Kalra J, Prasad K. Effects of probucol on hypercholesterolemia-induced changes in antioxidant enzymes. *Life Science* 58(6) : 503-509, 1996
- 35) Del Boccio G, Lapenna D, Porreca E, Pennelli A, Savini F, Feliciani P, Ricci G, Cuccurullo F. Aortic antioxidant defence mechanisms : time-related changes in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 81(2) : 127-35, 1990
- 36) Roselaar SE, Gustav S, Daugherty A. Enhanced Development of Atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by suppression of cell-mediated immunity. *J Clin Invest* 96 : 1389-1394, 1995
- 37) Yasui H, Ohwaki M. Enhancement of immune response in Peyer's patch cells cultured with *Bifidobacterium breve*. *J Dairy Science* 74(4) : 1187-95, 1991
- 38) Mary RL, Keith DT, Joyce LBR. Dietary(n-3)fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* 121 : 1331-1340, 1991