

Konjac Glucomannan 가수분해 올리고당의 종합도별 *Bifidobacterium* spp.에 대한 대사활성

최준영 · 박귀근[†]

경원대학교 생명공학부 분자·식품생명공학전공

Metabolism Activity of *Bifidobacterium* spp. by D.Ps of Konjac Glucomannan Hydrolysates

Jun-Young Choi and Gwi-Gun Park[†]

Dept. of Food and Bioengineering, Kyungwon University, Seoungnam 461-701, Korea

Abstract

Bacillus sp. β -mannanase was purified by DEAE-sephadex ion exchange column chromatography. The partially purified β -mannanase exhibited maximum activity at pH 6.0 and 50°C, and was stable at a pH range of 5.5 to 7.0, and at temperature between 30 to 50°C. Konjac glucomannan was hydrolyzed by the purified β -mannanase, and then hydrolysates separated by 1st activated carbon column chromatography and 2nd sephadex G-25 gel filtration. The main hydrolysates were composed of D.P 5 and 7 glucomannooligosaccharides by TLC and FACE method. To investigate the effects of guar gum glucomannooligosaccharides on the *in vitro* growth of *B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, and *B. breve*, *Bifidobacterium* spp. were cultivated individually on the modified-MRS medium containing carbon source such as D.P 5, and D.P 7 glucomannooligosaccharides, respectively. *B. longum* grew up 4.6-fold and 5.3-fold more effectively by the replacement of D.P 5 and 7 glucomannooligosaccharides as the carbon source in a comparison of standard MRS. Also, *B. breve* and *B. animalis* slightly grew up by the treatment of D.P 5 glucomannooligosaccharide.

Key words: β -mannanase, *Bifidobacterium* spp., konjac glucomannan

서 론

β -Mannan의 대부분은 유화제, 농화제로서 제빵, 치즈, 아이스크림, 육류충전제, 우유, 유제품, 섭식용 식품 등의 식품 산업에 이용되고 있지만, β -mannanase를 산업적으로 이용하는 것에 관해서는 거의 밝혀진 것이 없었다. 최근에 man-nooligosaccharides가 인체의 정상적인 장내상태를 유지하는데 중요한 역할을 하는 *Bifidobacterium*의 좋은 에너지원으로서 유용하다는 것이 최근에 밝혀졌다(1-3). *Bifidobacteria*는 인체 장내 flora의 최우세 균주로서 인체에 유익한 각종 생리활성을 지니고 있지만 각종 질병이나, 연령의 증가에 따라서 감소·소실된다는 것이 보고되어져 있으며(4,5), 그 때문에 오늘날에는 이들 균종의 장내 균수를 높이는 연구가 소아과 영역을 비롯하여 임상면에서 널리 행해지고 있다. 또한 식품첨가물로서 개발되고 있는 각종 oligosaccharide가 감미료로서 뿐만 아니라 특정 장내 유익세균의 생육을 촉진시킨다는 사실이 밝혀지면서, 그 이용성이 점차 확대되고 있고, 그러한 oligosaccharide를 섭취하였을 경우 어느 정도 장내 유익세균의 증식촉진 효과를 나타내는지에 대한 연구보

고도 많아지고 있다(6).

Ohtsuka 등(7)은 천연의 비소화성 당질을 대상으로 *Bifidobacterium*의 증식촉진성 당질의 검사를 행하여 선택한 konjac manooligosaccharide와 soybean oligosaccharide를 쥐에 투여했을 경우 bifidus factor라고 알려져 있는 lactulose를 투여한 경우에 비하여 *Bifidobacterium*의 증식촉진효과가 현저히 증가함을 알 수 있었다. Konjac manooligosaccharide 및 soybean oligosaccharide를 인체에 경구투여시, 대변중 *Bacteroidaceae*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* 등의 병원성 및 장내부패에 관여하는 세균의 수가 감소하며(8,9) 또한 konjac mannan이 쥐장관의 화학발암을 억제하며 장내 flora의 *Bifidobacterium*의 증가와 *Clostridium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*의 수를 감소시킨다고 보고되고 있다(10).

이와 같은 사실로부터 manooligosaccharide의 투여에 의한 *Bifidobacterium*의 증가와 장내에서 식중독을 유발하는 유해미생물의 저하를 초래함과 동시에 이것들의 생성억제, 분해촉진 등의 대사활성을 발현시킨다는 것을 충분히 추론할 수 있다. 그 외 oligosaccharide로 fructooligosaccharide,

[†]Corresponding author. E-mail: ggpark@mail.kyungwon.ac.kr
Phone: 82-31-750-5383, Fax: 82-31-750-5383

galactooligosaccharide도 *Bifidobacterium*의 증식인자로 작용하여 장내의 부패물질 및 유해물질을 생성시키는 세균을 억제하고(11,12), 변비의 개선, 생체내의 면역증강 등의 효과가 있기 때문에 식품첨가물 및 사료첨가물로서 검토되고 있다(13).

본 연구에서는 *Bacillus* sp. 유래 β -mannanase의 정제를 수행하여 konjac glucomannan 가수분해물을 분리·조제 회수하고 TLC 및 FACE에 의해 확인된 당가수분해물의 중합도를 결정하여, *Bifidobacterium*속(*B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. breve*)에 대한 미생물의 대사활성을 비교하였다.

재료 및 방법

Bacillus sp. 유래 β -mannanase의 생산

Bacillus 균주는 일본 Tsukuba대학 응용생물화학전공 연구실로부터 분양받았으며 효소생산 배지조성은 locust bean gum 2.5%, peptone 1.2%, yeast extract 0.5%, KH_2PO_4 1.0%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%를 함유하는 액체배지 150 mL에 접종하여 35°C, 170 rpm, 24시간 배양하여 4°C, 11,000 rpm, 15 min 원심분리(Beckman, rotor 14) 후 상층액을 효소액으로 사용하였다.

단백질 농도

단백질량(280 nm)과 핵산량(260 nm)의 흡광도를 UV-spectrophotometer(Shimadzu Model 1201)에서 측정해 $1.5 \times A_{280} - 0.75 \times A_{260}$ 의 식을 이용한 결과를 단백질 농도로 사용하였고, 정제 step중에는 Lowry의 방법(14)을 사용하여 단백질 농도를 확인하였다.

효소 활성

β -Mannanase의 생산량은 DNS 환원당 정량법(15)에 의하여 수행하였다. 즉, 0.5 mL의 1% locust bean gum, 0.4 mL의 McIlvaine buffer(pH 6.0)와 0.1 mL의 균체가 제거된 배양액을 섞어 50°C에서 30분간 반응시킨 후 생성된 mannose를 회석하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 D-mannose를 0.1~1.0 mg/mL를 사용하였고, 효소 1 unit의 β -mannanase는 동일조건에서 1분당 생성되는 D-mannose에 해당하는 1 mg/mL의 환원당을 방출하는 효소의 양으로 정의하였다.

효소의 정제

DEAE sephadex ion exchange column chromatography 법에 의한 효소정제는 저자가 보고한 방법(16)에 따라 수행하였다.

정제 β -mannanase의 효소화학적 성질

정제효소를 이용하여 최적 pH, 최적 온도, pH 안정성, 온도 안정성의 성질을 규명하였다. 최적 pH는 정제효소를 이용

하여 pH 2~8, 50°C에서, 최적 온도는 상기에서 사용한 동일 효소를 이용하여 pH 6, 20~80°C에서 효소활성을 측정하였다. pH 안정성은 동일효소를 pH 2~8의 McIlvaine buffer solution을 이용하여 최적 온도에서 1시간 preincubation 후, 온도 안정성은 상기에서 사용한 동일효소를 최적 pH의 McIlvaine buffer solution을 이용하여 20~80°C의 범위로 1시간 preincubation 후, pH 6, 50°C에서 활성을 측정하였다.

Konjac glucomannan 가수분해 올리고당의 분리

1st activated carbon column chromatography를 이용한 분리: 효소액 300 mL(10 units)에 대해 0.5% konjac glucomannan을 50°C, 24시간 가수분해후 TLC로 pattern을 검토한 후 activated carbon column chromatography를 이용해 당을 분리하였다. 즉 activated carbon powder를 100°C 1시간 가열한 후 column(4×90 cm)에 충전시키고, 증류수를 이용하여 24시간 평형화시킨 후 당용액을 주입하고, 250 mL/hr 유속으로 tube당 50 mL씩 ethanol 0~30%의 linear gradient법으로 당을 분리하였다.

2nd sephadex G-25 gel filtration를 이용한 분리: Activated carbon column chromatography에서 분리한 당중 phenol-sulfuric acid법(17)에 의해서 총당합량을 측정한 후 TLC 및 FACE를 이용하여 중합도를 비교하였다. 주요 생성물인 중합도별 fraction을 다시 회수하여 sephadex G-25를 이용하여 분리하였다.

Thin layer chromatography (TLC)

TLC는 McCleary법(17)에 따라 다음과 같은 조건하에서 전개 후 UV조사 및 spray reagent로 분무하여 140°C에서 5분간 가열하여 당을 분석하였다.

TLC plate; 25 TLC plates 20×20 cm silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, Germany), Developing solvent; n-propanol : methanol : water = 5 : 2 : 3(v/v),

Spray reagent; 30% sulfuric acid-ethanol.

FACE (fluorophore assisted carbohydrate electrophoresis)

ANTS에 유도화한 당의 전기영동은 Jackson의 방법(18)에 따라 30~40%의 polyacrylamide gel을 사용한다. 즉, Acrylamide A(acrylamide를 53.33%와 Bis를 1.41% 함유) 5.625 mL와 Buffer A(1.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8) 1.875 mL를 혼합하여 5분간 탈기하고, Acrylamide B(acrylamide를 26.67%와 Bis를 0.89% 함유) 2.8125 mL와 Buffer A 1.875 mL를 혼합하여 탈기하여 각각 10% APS 18 μ L와 TEMED 6 μ L를 첨가한 후 Pasteur pipette을 사용하여 separating gel을 제조한다. 다음은 Acrylamide A 0.75 mL와 Buffer B(0.25 M Tris-HCl buffer, pH 6.8) 3.75 mL와 증류수 3.0 mL를 혼합하여 5분간 탈기한다. 여기에 10% APS 20 μ L와 TEMED 7.5 μ L를 첨가하여 시료 well comb를 설치하고 stacking gel을 제조한다. 영동용 완충액으로 Buffer C(1 L 증류수에 30.3 g의 Tris

와 144 g의 glycine을 함유)를 10배 희석한 액을 사용한다. 영동은 stacking gel은 100 V, separating gel은 400 V의 정전압에서 영동완료 후 365 nm의 자외선파장에서 사진을 촬영하였다.

중합도별 konjac glucomannooligosaccharide의 *Bifidobacterium* sp.에 대한 생육활성

*Bifidobacterium*속 균주(*B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. breve*)에 대한 생육 촉진 활성을 측정하기 위해 MRS media에서 탄소원을 dextrose 대신에 조제된 중합도별 glucomannooligosaccharide를 각각 첨가한 후 측정하였다. 중합도별 glucomannooligosaccharide를 회수하여 진공농축시킨 후 121°C, 15분간 Autoclave 후 DNS법을 이용하여 동일한 환원당양으로 조절한 후 modified MRS media를 조제하여, 10⁸으로 희석한 후 혐기적 조건하에서 37°C, 48 hr 평판배양한 후 colony수를 비교하였다.

결과 및 고찰

효소의 정제

DEAE sephadex ion exchange column chromatography 법에 의한 효소정제는 저자가 보고한 방법(16)에 따라 수행하여 SDS 전기영동법에 의한 순도확인 후 정제효소로서 사용하였다.

Table 1은 정제에 따른 비활성의 증가와 수득율을 나타낸 것으로 기질 locust bean gum에 대한 정제효소의 비활성은 21.57 units/mg, 정제배율은 93.78배를 나타냈으며 이는 기존의 DEAE-sephacel ion exchange chromatography 수행시 기질에 대한 비활성인 17.41 units/mg과 정제배율 84.74보다 높은 수치로 DEAE-sephadex가 β -mannanase의 정제용 수지로서 보다 적합한 것으로 나타났다. 특히 DEAE sephadex ion exchange chromatography(2.5×42 cm)에 의한 정제법은 평형화된 column에 효소를 처리하여 30 mL/hr 유속으로 tube당 5 mL씩 용출하였으며 0~1 M NaCl linear gradient 농도구배법에 의해 정제를 진행한 결과로서 정제효소는 SDS-PAGE에 의해 단일밴드를 나타내었으며, β -mannanase의 분자량은 38.9 kDa으로 추정되었다. *Penicillium purpurogenum* No. 618 유래의 정제 β -mannanase는 57 kDa, *Aspergillus niger*에서는 42 kDa, *Tyromyces palustris*에서는

61 kDa, *Streptomyces* sp. No. 17에서는 43 kDa, *Bacillus subtilis*에서는 22 kDa의 분자량이 Choi와 Park(16)에 의해 보고되고 있다.

정제 β -mannanase의 효소화학적 성질

DNS 환원당 정량법에 의하여 온도와 pH의 영향을 검토하였다. Fig. 1(A)는 효소반응에 미치는 온도의 영향, Fig. 1(B)는 효소반응에 미치는 pH의 영향, Fig. 1(C)는 효소의 온도 안정성, Fig. 1(D)는 효소의 pH 안정성을 나타내었다.

최적 온도는 50°C, 최적 pH는 6.0이며, 온도 안정성에서는 30~50°C에서는 90%이상의 잔존활성을 나타내었고, 70~80°C에서는 30%이하의 잔존활성을 나타내었다. pH 안정성에서는 pH 5.5~7.0에서 100%의 잔존활성을 나타낸 반면 pH 2.0~4.0에서는 40%이하로 감소되었다.

Konjac glucomannan 가수분해 올리고당의 분리 및 중합도 결정

효소액 300 mL에 대해 0.5% konjac glucomannan을 24시간 가수분해하여 250 mL/hr 유속으로 tube당 50 mL씩 ethanol 0~30% linear gradient법으로 activated carbon column chromatography을 수행하여 당을 분리하였다. Activated carbon column chromatography에 의해 분리된 당용액 0.2 mL와 5% phenol 0.2 mL를 가하여 혼합 후 Conc.-H₂SO₄ 1 mL를 가하여 혼합한 후 20분간 방치하여 490 nm로 흡광도를 측정하여 결과 fraction No. 51, 54, 55, 61, 64, 68, 70에서 peak를 나타내었다(Fig. 2). 각각의 fraction을 TLC pattern을 검토한 결과 fraction No. 51에서 55까지는 주요 가수분해 올리고당은 중합도 5가 주축을 이루고 있으며 fraction No. 61에서 70까지는 중합도 7의 가수분해 올리고당으로 구성되어 있음이 standard Rf value상으로 확인되었다(Fig. 3). 그러나 fraction No. 55에서 70까지 중합도 5와 7의 가수분해 올리고당이 혼재하고 있어 중합도 5와 7 hetero type glucomannooligosaccharide를 정제분리하기 위해 sephadex G-25(2×100 cm)를 이용한 gel filtration을 수행하였다. 250 mL/hr 유속으로 tube당 8 mL씩 ethanol 0~30% linear gradient로 당을 용출시킨 후 동일한 방법으로 흡광도를 측정하여 결과 fraction No. 20, 22, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 34, 35에서 peak를 나타내었다(Fig. 4). 분리도를 확인하기 위하여 TLC(Fig. 5)와 FACE(Fig. 6)를 병행하여 pattern을 검토한 결과 fraction No. 32~35에서 중합도 5의 glucomannooligosaccharide를, fraction No. 25~26에서 중합도 7의 glucomannooligosac-

Table 1. Summary of purification of β -mannanase from *Bacillus* sp.

Step	Total activity (units)	Total protein (mg)	Specific activity (units/mg)	Purification fold	Yield (%)
Crude enzyme	1173	5183	0.23	1.0	100
30% (NH ₄) ₂ SO ₄	1012	4124	0.25	1.08	86.27
DEAE sephadex ion exchange column chromatography	781	36.2	21.57	95.33	66.58

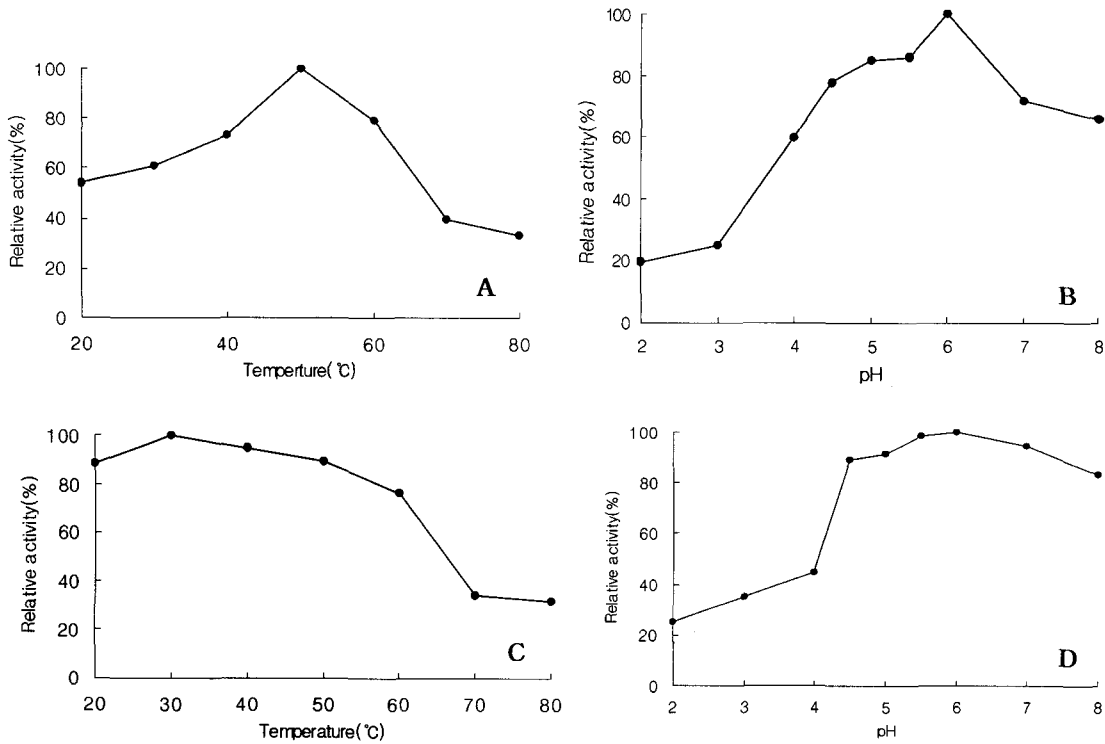


Fig. 1. Effect of pH and temperature on purified β -mannanase from *Bacillus* sp. A: Effect of temperature on β -mannanase, B: Effect of pH on β -mannanase. C: Effect of temperature on the stability of β -mannanase, D: Effect of pH on the stability of β -mannanase.

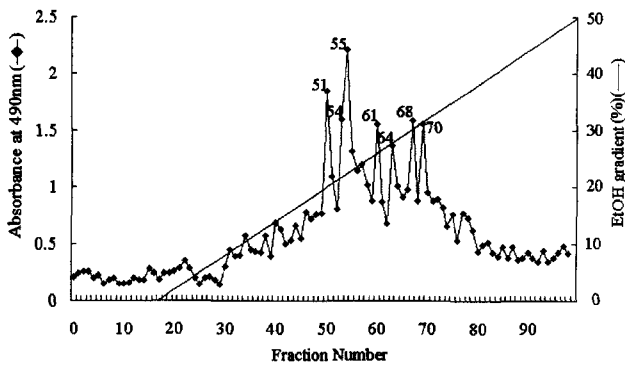


Fig. 2. Separation of konjac glucomannan hydrolysates by 1st activated carbon column chromatography.

charide가 분리되었음을 Rf value상으로 확인하여 중합도별 가수분해물을 회수하였다. 정확한 분리여부를 확인하기 위하여 Bio-LC를 이용하여 측정했을때 4.65와 6.65의 RT값을 갖는 각각의 peak를 확인할 수 있었다(data not shown).

중합도별 glucomannaooligosaccharides의 *Bifidobacterium* spp.에 대한 생육활성

*Bifidobacterium*속 균주(*B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. breve*)에 대한 생육 촉진활성능을 측정하기 위해 MRS media에서 탄소원을 dextrose 대신에 조제된 중합도 5와 7 glucomannooligosaccharides를 첨가후 측정된 결과 *B. longum*의 경우 특징적으로

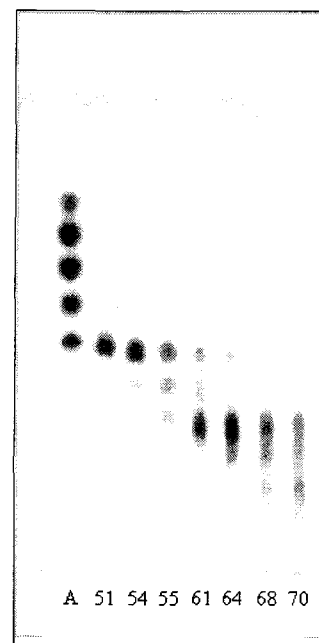


Fig. 3. TLC of konjac glucomannan hydrolysates by 1st activated carbon column chromatography.

A: Authentic mannose, manno-*bio*se, manno-*tri*ose, manno-*tetra*ose, and manno-*pen*tose from top to bottom. From 51 to 70 are fraction numbers on 1st activated carbon column chromatography.

각각 4.67, 5.33배의 우수한 생육활성을 나타내었다. 또한 *B. breve*에 대해서는 중합도 5 glucomannooligosaccharide를

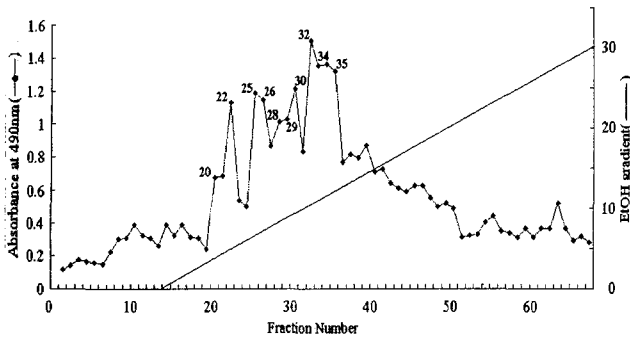


Fig. 4. Separation of konjac glucomannan hydrolysates by 2nd sephadex G-25 gel filtration.

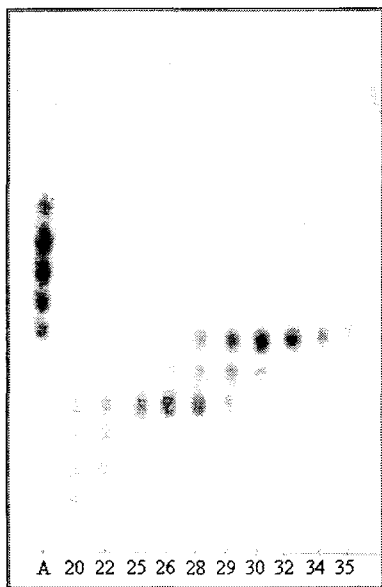


Fig. 5. TLC of konjac glucomannanhydrolysates by 2nd sephadex G25 gel filtration.

A: Authentic mannose, mannobiose, mannotriose, mannotetraose, and mannopentose from top to bottom. From 20 to 35 are fraction numbers on 2nd sephadex G-25 gel filtration.

처리시 2.42배의 생육활성을 나타내었으나 *B. infantis*와 *B. adolescentis*에 대해서는 중합도 5와 7의 올리고당을 탄소원으로 대체시 오히려 생육활성이 현저히 감소되었다(Table 2). 저자는 galactomannan가수분해 올리고당을 이용하여 *Bifidobacterium* spp.에 대한 생육활성도에 대한 결과도 보고하였으나 특히 *B. longum*에서는 중합도 5 galactomannooligosaccharide를 탄소원으로 대체한 경우 standard MRS와 비교하여 10배의 중합도 7을 처리한 경우에도 7.5배의 상대활성을 나타내어 가장 우수한 생육활성을 나타내었다. *B. bifidum*의 경우에서도 중합도 5에서 9.8배, 중합도 7에서 7.7배의 우수한 생육활성을 나타내었으며 이외에도 *B. breve*, *B. animalis*, *B. infantis*에 있어서도 중합도 5의 경우 2.9~5.7배의 상대활성을 나타내었으나, *B. infantis*에 대한 중합도 7의 경우에는 standard MRS와 비교하여 0.62배로 감소하였다. Galactomannooligosaccharides의 경우 중합도 5의 올리

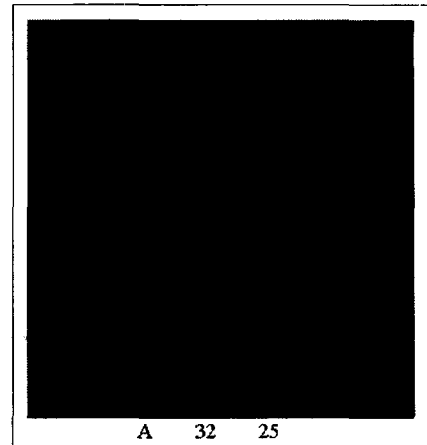


Fig. 6. FACE of konjac glucomannan hydrolysates on 2nd sephadex G-25 gel filtration.

A: Authentic mannose, mannobiose, mannotriose, mannotetraose, and mannopentose from bottom to top. 25 and 32 are fraction numbers on 2nd sephadex G-25 gel filtration.

Table 2. Summary of growth activity of *Bifidobacterium* spp. by the konjac glucomannan hydrolysates

<i>Bifidobacterium</i> sp.	Medium	CFU/mL	Relative activity (%)
<i>B. longum</i>	Standard MRS	1.2×10^9	100
	MRS+D.P 5	5.6×10^9	467
	MRS+D.P 7	6.4×10^9	533
<i>B. bifidum</i>	Standard MRS	7×10^8	100
	MRS+D.P 5	9.2×10^9	131
	MRS+D.P 7	8×10^8	114
<i>B. breve</i>	Standard MRS	1.2×10^9	100
	MRS+D.P 5	2.9×10^9	242
	MRS+D.P 7	1.6×10^9	133
<i>B. animalis</i>	Standard MRS	3×10^8	100
	MRS+D.P 5	5×10^8	167
	MRS+D.P 7	3×10^8	100
<i>B. infantis</i>	Standard MRS	4×10^8	100
	MRS+D.P 5	2×10^8	50
	MRS+D.P 7	1×10^8	25
<i>B. adolescentis</i>	Standard MRS	7×10^8	100
	MRS+D.P 5	ND ¹⁾	ND
	MRS+D.P 7	ND	ND

¹⁾ND: not detected.

고당이 중합도 7의 올리고당보다 생육활성에 크게 기여하는 것으로 나타났으나, glucomannooligosaccharides의 경우는 중합도별 큰 유의적 차이를 보이지 않았으며 galactomannooligosaccharides보다는 *Bifidobacterium* spp.에 대한 생육활성도에 대한 영향이 적은 것으로 비교되었다. 본 연구에서 사용된 *Bacillus* sp.는 천연유래 galactomannan 중 mannose와 galactose의 비율이 14:1로 존재하는 coconut 야자열매의 부산물인 copra cake와 gum류 중에서 mannose와 galactose의 비율이 4:1 및 2:1로 존재하는 locust bean gum과 guar gum 및 konjac glucomannan에 대한 가수분해 최종산물은

문 헌

중합도 5와 7의 올리고당으로 구성되는 공통된 특징을 나타내고 있다. 동일한 중합도를 갖는 hetero type 올리고당이 *Bifidobacterium* spp.에 대한 생육활성의 차이는 구조적인 측면에서 galactomannooligosaccharides는 galactose가 mannose main chain에 branching하고 있는 구조로서, mannose와 mannose사이에서 glucose가 위치하는 konjac glucomannooligosaccharides보다 미생물 생육활성에 영향을 더 미치는 것으로 추론하고 있다. 또한 *M. vinacea* 유래 효소 I type은 Gal³Man₃의 기질에 대하여 비환원말단에 위치하고 있는 galactose를 유리하는 특이성을 가지고 있으며, *P. purpurogenum* 및 *A. niger* 유래 효소는 Gal³Man₄의 구조를 갖는 기질에서 비환원말단에서 두번째 위치하고 있는 galactose를 가수분해하는 특이성의 차이를 보이고 있으며, *M. vinacea* 유래 효소 II type, 곡류 및 해바라기 종자 유래 효소는 상기에서의 두가지 구조를 갖는 기질에 대해서 공통적으로 galactose를 유리하는 특이성을 갖고 있음이 보고되고 있다(19).

요 약

DEAE-sephadex ion exchange column chromatography에 의해 *Bacillus* sp. 유래 β -mannanase의 정제를 수행하여 비활성은 21.57 units/mg, 정제배율은 93.78배를 나타내었다. 최적 온도는 50°C, 최적 pH는 6.0이며, 온도 안정성에서는 30~50°C에서는 90%이상의 잔존활성을 나타내었고, 70~80°C에서는 30%이하의 잔존활성을 나타내었다. pH 안정성에서는 pH 5.5~7.0에서 100%의 잔존활성을 나타낸 반면 pH 2.0~4.0에서는 40%이하로 감소되었다. 정제효소에 의해 konjac glucomannan을 가수분해하여 1차 activated carbon column chromatography와 2차 sephadex G-25 gel filtration에 의해 당가수분해물을 분리 회수하여 TLC 및 FACE에 의해 주요 당가수분해물은 중합도 5와 7로 확인되었다. *B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. breve*의 생육활성에 대한 중합도 5와 7의 영향을 검토하기 위하여 modified-MRS배지상에 탄소원으로 중합도 5와 7을 대체하여 생육활성을 비교한 결과 *B. longum*의 경우 특징적으로 각각 4.67, 5.33배의 상대활성을 나타내어 우수한 생육활성을 나타내었다. 또한 *B. breve*에 대해서는 중합도 5 glucomannooligosaccharide를 처리시 2.42배의 생육활성을 나타내었으나 *B. infantis*와 *B. adolescentis*에 대해서는 중합도 5와 7의 올리고당을 탄소원으로 대체시 오히려 생육활성이 현저히 감소되었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 2002년도 지역대학 우수과학자 지원연구사업(과제번호: R05-2002-000-01034-0)의 일환으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

1. Kobayashi Y, Echizen R, Mutai M. 1984. Intestinal flora and dietary factors. *Processings of the 4th RIKEN symposium on intestinal flora*. Japan Scientific Societies press, Tokyo. p 69.
2. Hoffmann K, Bircher J. 1969. Veränderungen der bakteriellen Darmbesiedlung nach Lactulose-gaben. *Schweiz Med Wschr* 99: 608-613.
3. Gyrgy P, Norris RF, Rose CS. 1954. Bifidus factor. I. A variant of *Lactobacillus bifidus* requiring a special growth factor. *Arch Biochem Biophys* 4: 193-198.
4. Haenel H, Bending J. 1975. Growth effect of branched oligosaccharides on principal intestinal bacteria. In *Progress in food and nutrition science*. Pergamon Press, Oxford, New York. Vol 1, p 21-27.
5. Kusakabe I, Takahashi R, Kusama S, Murakami K, Maekawa A, Suzuki T. 1985. Structure of the glucomannooligosaccharides resulting from the hydrolysis of konjac glucomannan produced by a β -mannanase from *Streptomyces* sp. *Agic Biol Chem* 48: 2943-2950.
6. Moon JW, Choi SH, Shin YK, Lee SW, Kang KH. 1988. Effect on the growth of *Bifidobacterium* spp. by trans-galactooligosaccharides produced with β -galactosidase. *Korean J Dairy Sci* 20: 283-289.
7. Ohtsuka KY, Benno YK, Endo H, Ueda OT, Mitsuoka T, Kobayashi H. 1989. Effect of 4'-galactosyllactose intake on human fecal microflora. *Bifidus* 2: 143-149.
8. Akino T, Nakamura N, Horikoshi K. 1987. Production of β -mannosidase and β -mannanase by an alkalophilic *Bacillus* sp.. *Appl Microbiol Biotechnol* 26: 323-327.
9. Akino T, Nakamura W, Horikoshi K. 1998. Characterization of three β -mannanase by an alkalophilic *Bacillus* sp. *Agric Biol Chem* 52: 773-779.
10. Marga F, Ghakis C, Dupont C, Morosoli R, Kluefel D. 1996. Improved production of mannanase by *Streptomyces lividans*. *Appl Environ Microbiol* 62: 4656-4658.
11. Mitsuoka T. 1982. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobacteria Microflora* 1: 3-11.
12. Mitsuoka T. 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol* 6: 263-269.
13. Min DS, Chung YJ, Bai DH, Yu JH. 1995. Production of β -mannanase by an alkali-tolerant *Bacillus* sp. YA-14. *Foods Biochemol* 4: 285-292.
14. Lowry OH, Rosebrough NJ, Fan AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-271.
15. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31: 426-428.
16. Choi JY, Park GG. 2004. Purification of *Bacillus* sp. β -mannanase and the metabolism activity of *Bifidobacterium* spp. by D.Ps of guar gum hydrolysates. *Kor J Microbiol Biotechnol* (in press).
17. McCleary BV. 1982. Purification and properties of a mannoside mannohydrolase from guar. *Carbohydr Res* 101: 74-92.
18. Jackson P. 1996. Carbohydrate electrophoresis methods by the induced ANT's. *Mol Biotechnol* 5: 101-123.
19. Kim WD, Kobayashi O, Kaneko S, Sakakibara Y, Park GG, Kusakabe I, Tanaka H, Kobayashi H. 2002. α -Galactosidase from cultured (*Oryza sativa* L. var. Nipponbare) cells. *Phytochemistry* 61: 621-630.

(2004년 4월 23일 접수; 2004년 8월 5일 채택)