

고순도 Galactooligosaccharide 제조 및 유산균 증식 활성

홍기배 · 서형주 · 김재환* · 권혁권* · 박청** · †한성희***
고려대학교 대학원 보건과학과, *네오크레마, **대전대학교 링크사업단,
***고려대학교 생물신소재연구소

Preparation of High Purity Galacto-Oligosaccharide and Its Prebiotic Activity *In Vitro* Evaluation

Ki Bae Hong, Hyung Joo Suh, Jae Hwan Kim*, Hyuk Kon Kwon*, Chung Park** and †Sung Hee Han***

Dept. of Public Health Sciences, Graduate School, Korea University, Seoul 07249, Korea

*Neo Crema Co. Ltd., Seongnam 13229, Korea

**LINC Project Group, Daejeon University, Daejeon 34520, Korea

***Institute for Biomaterials, Korea University, Seoul 07249, Korea

Abstract

This study attempted to find an efficient method for the preparation of high-purity galactooligosaccharides (HP-GOS) using β -galactosidase and yeast fermentation. GOS prepared using Lactozym 3000L showed the greatest enhancement in total GOS of the six β -galactosidases tested. GOS alone achieved 51% conversion of initial lactose. GOS production was enhanced by fermentation with commercial yeast (*Saccharomyces cerevisiae*); its concentration reached 71% after 36h fermentation with 8% yeast. Component sugar analysis with HPLC indicated that HP-GOS fermented with *S. cerevisiae* showed significantly increased levels of 4'/6'-galactosyllactose and total GOS as well as a significantly decreased glucose level. HP-GOS facilitated the growth of *Lactobacillus* sp. (*L. acidophilus* and *L. casei*) and *Bifidobacterium* sp. (*B. longum* and *B. bifidum*). In sum, high-purity GOS has been successfully produced through both an enzymatic process and yeast fermentation. GOS encourages the growth of bacteria such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* that may be beneficial to human gastrointestinal health.

Key words: high purity galactooligosaccharide, β -galactosidase, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

서 론

최근 소비자들의 식생활 패턴이 고단백, 고영양 식품 섭취에서 저칼로리, 기능성 식품으로 변화됨에 따라, 식품산업에서는 새로운 식품소재에 관한 많은 연구가 진행되고 있다 (Trowell H 1988; Talukder S 2015). 이러한 경향으로 인하여 올리고당(oligosaccharide)에 대한 관심이 더욱 높아지고 있는 실정이다. 올리고당은 glucose, fructose 그리고 galactose와 같은 단당류가 글리코시드 결합에 의해 3~10개 결합된(degree of polymerization = 3~10) 당이며, 20개까지도 올리고당으로 보

기도 한다(Porsky L 2000; Torres 등 2010).

이렇게 기능성 올리고당(functional oligosaccharide)의 수요가 급격히 증가하면서 다양한 올리고당이 생산 및 판매되고 있으며, 대표적인 기능성 올리고당으로서, 일반식이 Gal-(Glc)_n-Glc로 표시되는 당(galactooligosaccharide, GOS)도 그 수요가 늘어날 전망이다(Mahoney RR 1988).

GOS는 장내의 유해 세균인 대장균, 장구균 및 부패성 세균의 증식억제 작용을 하는 *Bifidobacterium*의 성장촉진물질이며, 이 세균은 유아의 유당분해 및 소화흡수를 크게 개선하는데 기여하고 있는 것으로 알려져 있다(Macfarlane 등 2008;

† Corresponding author: Sung Hee Han, Institute for Biomaterials, Korea University, Seoul 07249, Korea. Tel: +82-2-3290-5622, E-mail: sungheeh3@gmail.com

Martinez 등 2013). 또한 임상실험으로 장 및 간 기능개선, 혈압의 강하, 항암 작용, 골다공증의 예방 등 많은 효과가 보고되어 있다(Nihira T 2007; Zhang 등 2015). 반면 섭취 시 발생하는 부작용으로는 일시적인 더부룩함 정도로서 매우 안전한 물질로 간주된다(Ito 등 1990).

GOS를 제조하기 위하여 유당의 가수분해에 오랫동안 사용되어온 β -galactosidase(EC 3. 2. 1. 23)의 당전이 활성을 응용하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 대부분의 β -galactosidase는 가수분해활성이 전이활성보다 우수하기 때문에 높은 수율로 당전이 산물을 얻기가 어려운 문제점이 있다. Lactose에 galactose를 전이시켜 GOS를 제조하는 경우, 생성되는 GOS의 양은 효소의 기원에 따라 차이가 있으나, 고형분 중 50%(w/w) 정도가 일반적이다(Park 등 2008).

높은 함량의 GOS를 제조하기 위해서는 활성탄, 이온교환수지를 이용하여 정제하는 방법이 사용되었지만(Onishi 등 1995; Splechtna 등 2006), 제조공정이 복잡하고 lactose의 분리가 충분히 이루어지지 않을 뿐만 아니라, 고순도 GOS의 수율이 낮은 문제를 가지고 있다(Splechtna 등 2001). 따라서, 고순도 GOS 생산을 위해 새로운 반응시스템이 필요하다.

본 연구에서는 β -galactosidase 처리에 의해 생산한 저순도 GOS를 *Saccharomyces cerevisiae*의 발효 과정을 통해 고순도 GOS 생산을 검토하였으며, 고순도 GOS의 prebiotic activity를 측정하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 유당(Lactose, extra fine grind edible 5030)은 Hilmar cheese company Inc.(Hilmar, USA)에서 구입하였으며, 고순도의 GOS(galactooligosaccharides) 생산을 위해 사용된 효소인 Lactozym 3000L HP G는 Novozymes(Bagsvaerd, Denmark)에서 구입하였다. Maxilact LX5000, Maxilact LG5000, Maxilact LGi5000 및 Maxilact A4는 DSM Food Specialties (Delft, Netherlands)에서, 그리고 Amano F는 Amano Enzyme Inc.(Osaka, Japan)에서 입수하여 사용하였다(Table 1).

2. 효소반응을 이용한 galactooligosaccharide(GOS)의 제조

유당 600~650 g에 2차 증류수 500 mL를 가하고, 75°C 수욕 상에서 교반하여 굴절당도계(Atago, Tokyo, Japan)로 측정하여 최종 당도 45 °Brix가 될 때까지 용해하였다. 품온을 60°C로 냉각시키고, 0.1 M HCl 또는 0.1 M NaOH로 효소 반응 최적 pH를 맞춘 후, 유당 투입량 대비 0.08%(w/w)의 효소를 유당용액 일부에 풀어 pre-activation시킨 후 Table 1의

Table 1. Characteristics of various enzymes

Enzyme	Source	Optimum condition	
		pH	Temp. (°C)
Lactozym 3000L HP G	<i>Kluyveromyces lactis</i>	6.5	25~50
Maxilact LX5000	<i>Kluyveromyces lactis</i>	6.8	40~50
Maxilact LG5000	<i>Kluyveromyces lactis</i>	6.8	40~50
Maxilact LGi5000	<i>Kluyveromyces lactis</i>	6.8	40~50
Maxilact A4	<i>Kluyveromyces lactis</i>	6.8	40~50
Amano F	<i>Aspergillus oryzae</i>	4.5	45~55

최적 반응온도에서 효소반응을 실시하였다. 반응 종료 후, 100°C에서 15분 간 열처리를 통해 사용된 효소를 불활성화시켰으며, 5,514×g에서 원심분리를 통해 회수한 상등액은 20배 희석 후 GOS 전환율 등을 확인하기 위한 분석시료로 사용하였다.

3. 효모 발효를 통한 고순도 GOS의 제조

효소반응을 마친 반응액(올리고당 함량 50% 이상)을 30°C로 낮추어 냉각시킨 후, 반응용액 일부에 유당 투입량 대비 8%(w/w)의 생효모(*Saccharomyces cerevisiae*, fresh yeast gold, Ottogi., LTD. Korea)를 첨가하였다. 반응 플라스크는 30°C 항온수조에 두고 36시간 후 효모 발효에 따른 GOS 생산량을 확인하였다. 시료 채취 시 마다 100°C에서 15분간 열처리하여 효모 발효를 중단하였으며, 채취한 시료는 20배 희석하여 0.2 mm syringe filter PS(Whatman) 여과한 다음 구성당 등 분석 등을 위한 시료로 사용하였다.

4. GOS 구성당 분석

Lactose 및 GOS의 정량분석은 Krusch 등(2012)의 방법을 일부 변형하여 HPLC(Model 401, Waters-Associates, Co., USA)를 사용하여 분석하였다. 실험에 사용한 Column은 YMC Polyamine II(4 mm×250 mm), column 온도는 30°C, 이동상은 64%의 acetonitrile을 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min, 시료 주입량은 20 μ L이며, detector는 HPLC-RID(Waters 2414 Refractive Index detector, Waters-Associates Co., USA)를 사용하였다. 검출된 lactose 및 GOS는 표준시약을 이용해 작성한 검량선(calibration curve)에 대입하여 도출하였다.

5. 고순도 GOS에 의한 유산균 증식활성

고순도 GOS에 의한 유산균 증식활성 평가를 위하여 *Lactobacillus acidophilus* KCTC3151, *L. casei* KCTC3109, *Bifidobacterium bifidum* KCTC3357 및 *B. longum* KCTC5734를 한국미

생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, Deajeon, Korea)로부터 분주 받아 사용하였다. PYF(Peptone Yeast extract Fildes solution broth)를 변형하여 시판되는 GOS(일본야쿠르트, 콘프로덕츠코리아, 큐원)와 고순도 GOS를 1, 2 및 4% 첨가한 배지에 유산균을 접종하여 37°C에서 48시간 동안 배양하였다. 균 증식량을 분석하고자 배양시료를 12시간 간격으로 채취하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 통계분석

실험 결과를 SPSS program(ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하여 통계 처리하였으며 모든 측정 항목에 대한 평균(mean)과 표준편차(standard deviation, S.D.)를 산출하였다. 실험군 간의 유의성은 ANOVA test 후 구체적인 사후검증은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 효소 종류에 따른 GOS 생산

GOS 생산에 가장 적합한 효소 선정을 위해 β -galactosidase 활성을 가지고 있는 상업용 효소를 24시간 반응 후 효소전환산물에 대한 당의 함량을 측정한 결과(Fig. 1), 기질로 사용한 lactose의 분해산물인 glucose와 galactose의 합은 Maxilact LG5000에서 가장 높게 나타났으며, 기질로 사용된 lactose의 함량은 Dizayme Y50L에서 가장 높게 나타났다. 반면, 효소전환에 의해 생산하고자 하는 GOS는 Lactozym 3000L에서 51.0%로 가장 높은 함량을 보였다. 따라서 Lactozym 3000L을 GOS 생산에 가장 적합한 효소로 선정하였다.

β -Galactosidase는 올리고당 생성에 사용하는데, 역가수분

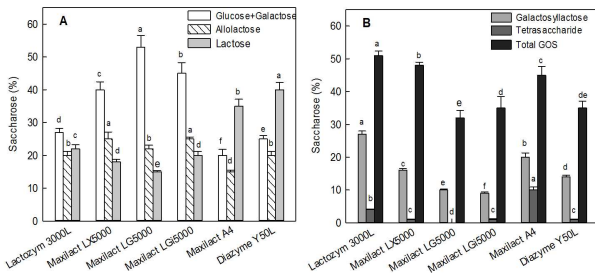


Fig. 1. Saccharides produced by using various enzymes reaction. A: glucose+galactose, allolactose and lactose content, B: galactosyllactose, tetrasaccharides and total GOS content. The reaction performed at optimum temperature and pH in Table 1 for 24 h. Values are means±S.D. (n=3). Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

해 활성과 당전이 활성을 주로 보유하고 있다. 몇 가지 예외를 제외하고, 대부분의 β -galactosidase는 당전이 활성보다는 가수분해 활성이 강하여 효율적인 올리고당의 생산에 이용하기 어렵다고 보고되고 있다(Shin & Yang 1994; Iwasaki 등 1996; Shin 등 1998). 본 연구에서도 GOS의 생산에 적합한 효소 선정을 위해 사용한 6종의 효소들 중에서 Maxilact LG5000과 LGi5000은 당전이 활성보다는 가수분해 활성이 큰 것으로 확인되었다.

Lactozym 3000L은 *Kluyveromyces lactis*로부터 생산되는 β -galactosidases로 lactose 분해활성과 더불어 GOS 생산을 위한 전이활성을 보유하는 것으로 최근 보고되고 있으며, trisaccharide 생산에 적합한 효소로 알려져 있다(Bridiau 등 2006).

2. 고순도 GOS 생산

GOS는 3~10개의 galactose와 1개의 glucose를 함유하는 올리고당으로 장내미생물의 활성을 증진할 수 있는 prebiotics로 알려져 있다. 상업적으로 생산되는 GOS는 β -galactosidase 효소반응 후 분해활성에 의해 생산된 galactose와 glucose, 효소반응 후 남아있는 lactose 등 GOS가 아닌 다른 당들을 함유하고 있으며, GOS는 약 50% 전후의 함량을 가지고 있다(Park 등 2008). 따라서 기존 상업용 GOS에서 잔존하는 단당류 및 lactose를 제거하여 고순도의 GOS를 생산하려는 시도가 지속되고 있다. 예를 들면, 크로마토그래피법을 이용한 정제공정의 도입, 효소적 산화(enzyme oxidation)에 의해 glucose와 lactose를 gluconic acid와 lactobionic acid로 전환하여 정제공정에 의해 쉽게 제거하고자 하는 시도가 이루어지고 있지만(Splechna 등 2006), 이러한 정제방법들은 공정을 복잡하게 할 뿐만 아니라, 원가 상승의 부담이 되고 있다.

이러한 단점을 보완하고자 최근 들어 발효에 의해 단당을 제거하고자 하는 시도가 이루어지고 있다. 본 연구에서도 고

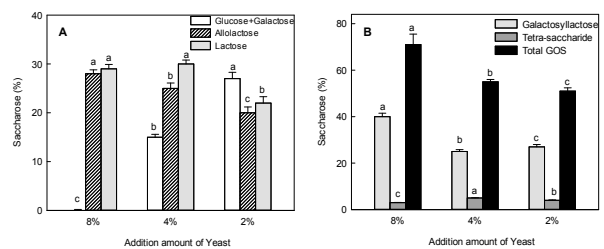


Fig. 2. Saccharides produced by fermentation with *S. cerevisiae*. A: glucose+galactose, allolactose and lactose content, B: galactosyllactose, tetrasaccharides and total GOS content. The fermentation performed at 30°C for 36 h. Values are means±S.D. (n=3). Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

순도 GOS 생산을 위해 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 발효에 의하여 고순도 GOS를 생산하고자 시도하였다. 효모 투입량에 따른 GOS 함량 증가를 비교한 결과(Fig. 2), 효모의 첨가량이 증가할수록 당당류인 glucose와 galactose의 함량이 급격히 감소하였다. 그러나 효모 2% 첨가 후 발효과정을 통해서 발효 전과 후의 당 조성에는 변화가 없었다.

한편, 발효 전후의 구성당의 함량을 비교한 결과(Fig. 3), glucose는 거의 대부분 제거되었다. Fig. 3의 결과에서 알 수 있듯이, glucose의 피크는 크게 감소하였지만, GOS 중 하나로 알려진 4'/6'-galactosyllactose(4'/6'-GL) 피크는 크게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 또한 glucose/galactose의 비율이 감소했으며, 4'/6'-GL이 증가함과 더불어 total GOS 함량이 유의적으로 증가하였다(Fig. 4).

Li 등(2008)은 *S. cerevisiae* L1을 calcium alginate에 고정화하여 고순도의 GOS 생산을 시도하여 초기 반응에서는 97%

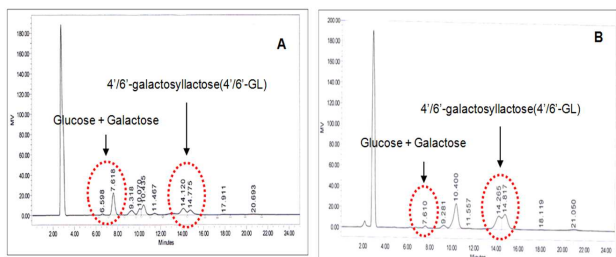


Fig. 3. Component sugar analysis before (A) and after fermentation (B) with *Saccharides cerevisiae* L1 using HPLC equipped with YMC Polyamine II column and RI detector

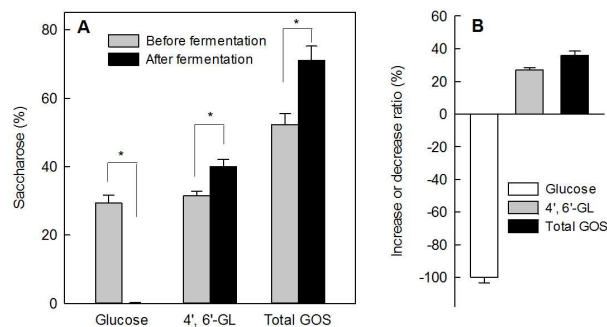


Fig. 4. Changes of saccharides content before and after fermentation with *S. cerevisiae*. A: glucose+galactose, allo-lactose and lactose content before and after fermentation with *S. cerevisiae*, B: increase or decrease ratio of saccharides before and after fermentation with *S. cerevisiae*. The fermentation performed at 30°C for 36 h. Values are means±S.D.(n=3). The differences between the before and after fermentation were evaluated by Student's *t*-test. *: *p*<0.05

의 순도를 보였으나, 4회 이상 반복 사용 시 37~40%로 감소하였다고 보고하였다. 세포 고정화에 대한 고순도 시도는 진행되고 있으나, 반복횟수가 증가할수록 순도가 감소하는 문제점을 가지고 있으므로 실제 생산에 적용되고 있지 않은 실정이다.

3. 유산균의 증식에 대한 GOS 효과

효소 및 발효과정을 통해 제조한 고순도 GOS(HP-GOS)와 시판 중인 GOS(Y-GOS, C-GOS 및 Q-GOS)와의 유산균 증식 활성에 대한 영향을 측정하고자 1, 2 및 4%의 GOS를 각각 첨가한 후 균체 증식량을 비교하였다(Fig. 5 및 Fig. 6).

GOS를 각각 1~4% 첨가하여 *L. acidophilus*와 *L. casei*에 대한 증식작용을 비교한 결과(Fig. 5), 1%의 고순도 GOS를 첨가한 경우 36시간 이후부터 *L. acidophilus* 균체량이 동일 농도의 상업용 GOS를 첨가한 경우에 비해 유의적으로 증가하였으며, 2%와 4%의 고순도 GOS 첨가한 경우에는 48시간 배양 시 *L. acidophilus* 균체량이 다른 GOS들에 비해 유의적으로 증가하였다. *L. casei*에 대한 균체 증식량 결과에서도 *L. acidophilus*의 결과와 같은 경향을 나타내었다(Fig. 5).

한편, *Bifidobacterium*에 대한 HP-GOS의 증식작용은 *B. longum*의 경우 1%의 고순도 GOS 첨가 시에 36시간 배양 이후부터 동일 농도를 첨가한 시판 GOS에 비해 높은 균체 증식효과를 보였으며, 2%와 4% 고순도 GOS 첨가한 경우, 48시간 배양 시에만 유의적으로 높은 균체 증식효과를 나타내었다(Fig. 6). 하지만 *B. bifidum* 증식에서는 1% 및 2%의 고순도 GOS 첨가한 후 48시간 배양 시에서만 다른 시판 GOS에 비해 유의적으로 높은 균 증식 효과를 보였다(Fig. 6).

Bifidobacterium 속의 증식에는 glucose, galactose 및 fructose 등의 당당류보다는 올리고당이 더 효과적이라고 알려져 있다. *Bifidobacterium* 속을 우유에서 발효시킨 다음 *L. acidophilus*, *L. casei* 및 *L. thermophilus*와의 대사산물 변화를 비교한 결과, *Bifidobacterium*속으로 발효시킨 발효유의 산 생성 능력은 다른 세균보다 낮았지만, lactose의 감소량이 가장 높았다고 보고된 바 있다(Gonzalez R 2008; Gursoy N 2011). 또한 유아 조제분유에 올리고당을 첨가하거나, 발효유제품에 *Bifidobacterium*을 첨가하면 장내 유용균종인 *Bifidobacterium*이 나타내는 영양소의 합성, 면역증진, 독성물질의 중화과 병원성 균의 감염 억제 및 변의 완화작용에 유익한 것으로 알려져 있다(Gonzalez 등 2008).

이상의 결과에 의하면, 효소와 효모 발효에 의해 제조한 고순도 GOS에 대한 유산균의 증식 효과는 시판되는 다른 GOS에 비해 높은 것으로 확인되었으며, 이는 시판되는 다른 GOS에 비해 고순도 GOS가 total GOS의 함량이 높기 때문일 것으로 사료된다.

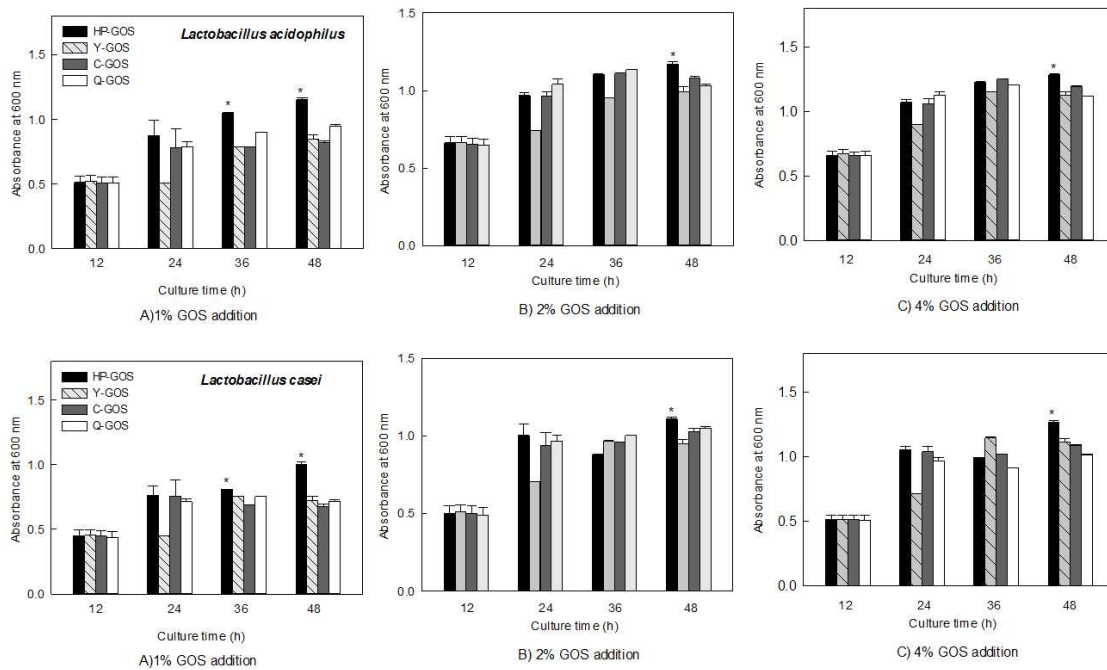


Fig. 5. Effect of galactooligosaccharides on the growth of *Lactobacillus* sp. The strains cultured in modified PYF (Peptone Yeast extract Fildes solution broth) medium with various GOS concentration at 37°C for 48 h. HP-GOS: High purity-galactooligosaccharide prepared by yeast fermentation; Y-GOS: galactooligosaccharide obtained from Yakult Co., Japan; C-GOS: galactooligosaccharide obtained from Corn Products Korea; Q-GOS: galactooligosaccharide from Q1 in Korea. *: $p < 0.05$

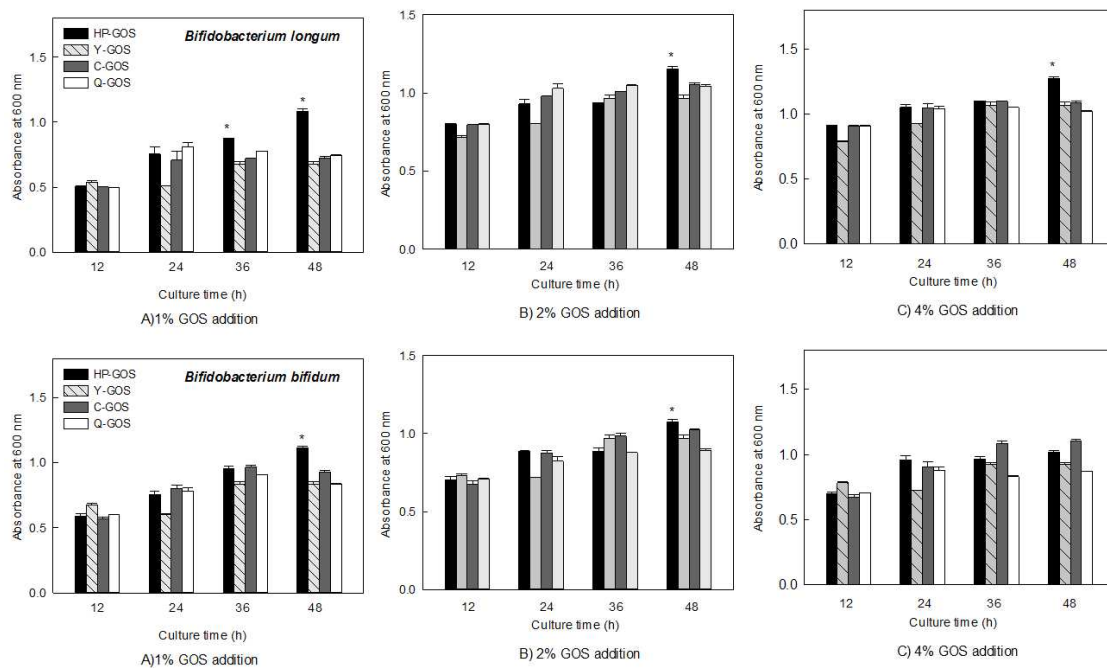


Fig. 6. Effect of galactooligosaccharide on the growth of *Bifidobacterium* sp. The strains cultured in modified PYF (Peptone Yeast extract Fildes solution broth) medium with various GOS concentration at 37°C for 48 h. HP-GOS: Highpurity-galactooligosaccharide prepared by yeast fermentation; Y-GOS: galactooligosaccharide obtained from Yakult Co., Japan; C-GOS: galactooligosaccharide obtained from Corn Products Korea; Q-GOS: galactooligosaccharide from Q1 in Korea. *: $p < 0.05$

요 약

본 연구는 β -galactosidase와 효모 발효에 의해 고순도 갈락토올리도당(HP-GOS)의 제조를 위한 효율적인 방법을 찾고자 수행하였다. 6종의 상업용 β -galactosidase를 이용해 효소 반응 전후의 구성당을 각각 비교한 결과, Lactozym 3000L을 이용하여 제조한 GOS에서 효소반응을 통해 생성된 total GOS의 양이 가장 높은 것으로 나타났다. 생성된 GOS의 농도는 초기 lactose로부터 51%의 전환율을 나타냈다. 또한 GOS의 수율은 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)의 발효에 의해 더욱 높아졌는데, 효모를 8% 첨가하여 36시간 발효 후 생성된 GOS의 농도는 71%까지 도달했음을 확인하였다. HPLC를 이용한 구성당 분석 결과, *S. cerevisiae*에 의한 발효를 통해 제조한 HP-GOS에는 발효 전에 존재했던 glucose의 함량이 급감되었을 뿐 아니라, 4'/6'-galactosyllactose와 total GOS의 양은 유의적으로 증가되었다. HP-GOS는 상업용 GOS보다 *Lactobacillus* 속(*L. acidophilus* and *L. casei*) 및 *Bifidobacterium* 속(*B. longum* and *B. bifidum*)의 성장을 촉진시키는 것으로 확인되었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때, 효소 처리 및 효모 발효를 통해 고순도의 GOS가 제조되었으며, 제조된 HP-GOS는 상업용 GOS에 비해 장내 유용균으로 알려진 *Bifidobacterium* 속과 *Lactobacillus* 속의 생육을 증가시킴으로써 인간의 장내 건강에도 유익한 영향을 미칠 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 고부가 가치식품기술개발사업에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

References

- Bridiau N, Taboubi S, Marzouki N, Legoy MD, Maugard T. 2006. beta-Galactosidase catalyzed selective galactosylation of aromatic compounds. *Biotechnol Progr* 22:326-330
- Gonzalez R, Klaassens ES, Malinen E, de Vos WM, Vaughan EE. 2008. Differential transcriptional response of *Bifidobacterium longum* to human milk, formula milk, and galactooligosaccharide. *Appl Environ Microb* 74:4686-4694
- Gursoy N. 2011. The effects of *Bifidobacterium lactis* and galactooligosaccharide (GOS) on ileum and distal colon motility: *In vitro* study. *Afr J Microbiol Res* 5:5877-5881
- Ito M, Deguchi Y, Miyamori A, Matsumoto K, Kikuchi H, Matsumoto K, Kobayashi Y, Yajima T, Kan T. 1990. Effects of administration of galactooligosaccharides on the human faecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *Microbial Ecology & Health and Disease* 3:285-292
- Iwasaki K, Nakajima M, Nakao S. 1996. Galacto-oligosaccharide production from lactose by an enzymic batch reaction using β -galactosidase. *Process Biochem* 31:69-76
- Krisch J, Bencsik O, Papp T, Vagvolgyi C, Tako M. 2012. Characterization of a beta-glucosidase with transgalactosylation capacity from the zygomycete *Rhizomucor miehei*. *Bioresource Technol* 114:555-560
- Li ZY, Xiao M, Lu LL, Li YM. 2008. Production of non-monosaccharide and high-purity galactooligosaccharides by immobilized enzyme catalysis and fermentation with immobilized yeast cells. *Process Biochem* 43:896-899
- Macfarlane GT, Steed H, Macfarlane S. 2008. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *J Appl Microbiol* 104:305-344
- Mahoney RR. 1998. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. *Food Chem* 63:147-154
- Martinez RCR, Cardarelli HR, Borst W, Albrecht S, Schols H, Gutierrez OP, Maathuis AJH, Franco BDGD, De Martinis ECP, Zoetendal EG, Venema K, Saad SMI, Smidt H. 2013. Effect of galactooligosaccharides and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 on growth of *Lactobacillus amylovorus* DSM 16698, microbial community structure, and metabolite production in an *in vitro* colonic model set up with human or pig microbiota. *Fems Microbiol Ecol* 84:110-123
- Nihira T. 2007. Evolution of the oligosaccharide synthesis by glycosynthases. *Trends Glycosci Glyc* 19:49-50
- Onishi N, Yamashiro A, Yokozeki K. 1995. Production of galactooligosaccharide from lactose by *Sterigmatomyces elviae* Cbs8119. *Appl Environ Microb* 61:4022-4025
- Park HY, Kim HJ, Lee JK, Kim D, Oh DK. 2008. Galactooligosaccharide production by a thermostable beta-galactosidase from *Sulfolobus solfataricus*. *World J Microb Biot* 24: 1553-1558
- Prosky L. 2000. What is dietary fiber? *J Aoac Int* 83:985-987
- Shin HJ, Park JM, Yang JW. 1998. Continuous production of galacto-oligosaccharides from lactose by *Bullera singularis* β -galactosidase immobilized in chitosan beads. *Process Biochem* 33:787-792
- Shin HJ, Yang JW. 1994. Galacto-oligosaccharide production by β -galactosidase in hydrophobic organic media. *Biotechnol Lett* 16:1157-1162
- Splechtna B, Nguyen TH, Steinbock M, Kulbe KD, Lorenz W,

- Haltrich D. 2006. Production of prebiotic galacto-oligosaccharides from lactose using beta-galactosidases from *Lactobacillus reuteri*. *J Agr Food Chem* 54:4999-5006
- Splechna B, Petzelbauer I, Baminger U, Haltrich D, Kulbe KD, Nidetzky B. 2001. Production of a lactose-free galacto-oligosaccharide mixture by using selective enzymatic oxidation of lactose into lactobionic acid. *Enzyme Microb Tech* 29: 434-440
- Talukder S. 2015. Effect of dietary fiber on properties and acceptance of meat products: a review. *Crit Rev Food Sci* 55:1005-1011
- Torres DPM, Goncalves MP, Teixeira JA, Rodrigues LR. 2010. Galacto-oligosaccharides: Production, properties, applications, and significance as prebiotics. *Compr Rev Food Sci* 9: 438-454
- Trowell H. 1988. Dietary fiber definitions. *Am J Clin Nutr* 48: 1079-1080
- Zhang S, Tang WZ, Jiang LL, Hou YM, Yang F, Chen WF, Li XZ. 2015. Elicitor activity of algino-oligosaccharide and its potential application in protection of rice plant (*Oryza saliva* L.) against *Magnaporthe grisea*. *Biotechnol Biotec Eq* 29: 646-652
-

Received 1 December, 2015

Revised 2 December, 2015

Accepted 14 December, 2015