# 한국식품과학회지

FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

©The Korean Society of Food Science and Technology

# 프락토<mark>올</mark>리고당을 함유한 야콘 추출물의 비피더스균에 대한 잠재적인 프리바이오틱 효과

김수정<sup>1,†</sup> · 손황배<sup>1,†</sup> · 권 빈<sup>2</sup> · 박명수<sup>2</sup> · 홍수영<sup>1</sup> · 남정환<sup>1</sup> · 서종택<sup>1</sup> · 이종남<sup>1</sup> · 김기덕<sup>1</sup> · 장동칠<sup>1</sup> · 김율호<sup>1,\*</sup> '농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구소, '비피도(주) 연구소

# Potential prebiotic effects of yacon extract, a source of fructooligosaccharides, on *Bifidobacterium* strains

Su Jeong Kim<sup>1,†</sup>, Hwang Bae Sohn<sup>1,†</sup>, Bin Kwon<sup>2</sup>, Myeong Soo Park<sup>2</sup>, Su Young Hong<sup>1</sup>, Jeong Hwan Nam<sup>1</sup>, Jong Taek Suh<sup>1</sup>, Jong Nam Lee<sup>1</sup>, Ki Deog Kim<sup>1</sup>, Dong Chil Chang<sup>1</sup>, and Yul Ho Kim<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration <sup>2</sup>Research Center, BIFIDO Co., Ltd.

**Abstract** This study was conducted to investigate the potential prebiotic activity of an extract from yacon tuberous root on the growth of probiotic strains *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. Results showed that the amount of fructooligosaccharides per 100 g fresh root was the highest (7.60 g), followed by sucrose (0.72 g), fructose (0.34 g), and glucose (0.26 g). The *in vitro* culture test of intestinal beneficial bacteria, including *Bifidobacterium longum* BORI, *B. bifidum* BGN4, and *B. lactis* AD011 showed effective growth on the MRS-Yacon medium containing yacon extract, whereas the growth of *Lactobacillus acidophilus* AD031, *L. plantarum* BH02, and *L. fermentum* BH03 did not differ from that of the control groups. In particular, *B. longum* BORI showed better growth than the control group after 10 h of incubation. These results indicate that yacon can be a natural prebiotic source of fructooligosaccharides, which can exert a prebiotic effect on intestinal microflora by selectively enriching *Bifidobacterium*.

Keywords: Bifidobacterium, fructooligosaccharides, Lactobacillus, prebiotics, tuberous roots

#### 서 론

경제적 발달과 식량의 충족은 인류의 관심을 생존에서 건강한 삶을 추구하는 방향으로 변화시키고 있으며 이러한 추세에 따라 장내 건강이 중요한 이슈로 부각되기 시작했다(Yoon과 Shin, 2017). 인체에는 약 100조개의 장내 세균이 존재하며(Cummings와 Macfarlane, 1991), 나이와 식습관 등에 따라 분포의 차이를 보인다 (Mitsuoka, 1990). 장내 세균은 상호 공생 또는 길항 관계를 유지하면서 섭취된 음식물과 소화관으로부터 분리되는 생체 성분을 영양원으로 계속 증식하거나 또는 배설된다(Lee 등, 1999; Lee 등, 2001). 장내 세균 중 프로바이오틱스(probiotics)는 살아있는 미생물로 적당량을 섭취하면 건강에 유익한 균을 의미하며, 비피도박테리움(Bifidobacterium), 락토바실러스(Lactobacillus), 스트렙토코

커스(*Streptococcus*) 속(Genus) 등이 있다(Ganguly 등, 2011; Yoon 등, 2013). 우리나라에서는 기능성 원재료로 사용할 수 있는 프로바이오틱스균 5가지 속 19종을 건강기능식품공전에 규정하고 있다(MFDS, 2017).

프리바이오틱스 연구는 1950년대 연구자들이 영아에게 비피도 박테리아(Bifidobacteria)를 풍부하게 만드는 존재인 소위 '비피도 관여인자(bifido-factor)'라고 불리는 성분을 본격적으로 구명하면서 시작되었다(FAO/WHO, 2001b; György 등 1954; Kang 등, 2019). 이후의 연구를 통해 이들 성분이 갈락토올리고당, 자일로 올리고당과 프락토올리고당을 포함하는 올리고당류임이 밝혀졌으며(Hidaka 등, 1991; Okazaki 등, 1990), Gibson과 Roberfroid (1995)는 프리바이오틱스를 "대장에서 하나 또는 제한된 몇몇 세균의 생장과 활동을 선택적으로 자극하여 건강을 개선함으로써 숙주에게 유익을 주는 난소화성 식품 성분"이라고 최초로 정의하였다(Gibson 등, 2004; Hukins 등, 2016; Piirainen 등, 2008).

올리고당의 종류는 크게 소화성 올리고당과 난소화성 올리고 당으로 나뉘어지는데, 소화성 올리고당으로 이소말토올리고당, 대두올리고당 등이 있으며 소장 등에서 흡수가 이루어진다. 반면 난소화성 올리고당은 소장에서 소화, 흡수가 되지 않아 대장까지 도달하는 특성이 있으며, 프락토올리고당이 대표적이다(Kim 등, 2013a; Kim 등, 2013b). 소화성, 난소화성 올리고당 모두 장내 환경을 개선시키는 효능을 가지고 있으나, 소화성 올리고당의 경우소장 등에서 흡수가 되어 대장까지 잘 도달하지 못하는 경우가

Tel:+82 33 330 1840 Fax: +82 33 330 1529 E-mail: kimyuh77@korea.kr

Received March 6, 2020; revised April 2, 2020;

accepted April, 2, 2020

<sup>&</sup>lt;sup>†</sup>These authors contributed equally to this work.

<sup>\*</sup>Corresponding author: Yul Ho Kim, Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Pyeongchang 25342, Korea

많고 당분 흡수율도 더 높아 프락토올리고당 등의 난소화성 올 리고당이 장내 환경 개선에 더 적합하다(Lee 등, 2003).

야콘(Smallanthus sonchifolius [Poepp. & Endl.] H. Robinson)은 남미 안데스 지역이 원산지로 고구마와 비슷하게 생긴 덩이뿌리(괴근)에 프락토올리고당 및 항산화 성분과 같은 다양한 기능성 물질을 함유하고 있다(Endt, 1983). 지금까지 야콘에 관한연구로는 이화학 성분 분석(Kim 등, 2012; Lee 등, 2002), 수집계통별 프락토올리고당 함량 분포(Kim 등, 2013a), 저장기간 및 저장온도에 따른 프락토올리고당 함량 변화(Douglas 등, 2002; Kim 등, 2011) 등과 같은 성분 분석과 환경에 의한 함량 변화에 관한연구가 주로 수행되었다(Kim 등, 2013a; Kim 등, 2013b).

최근 식품의약품통계연보에 의하면 2015년 건강기능식품 제조 품목수는 비타민 및 무기질이 5,169건으로 제일 많고, 홍삼이 2,554건으로 두번째, 프로바이오틱스가 세번째를 차지하고 있다. 특히, 프로바이오틱스의 시장 성장률은 23.6%로 매우 높은 편이다(MFDS, 2016; MFDS, 2017). 또한, 가공식품 뿐만 아니라 의약품, 화장품까지 프로바이오틱스가 첨가되어 개발되고 있는 추세이다(Dekivit 등, 2014; Rolfe, 2000). 그러나, 프로바이오틱스의영양원으로써 가능성이 높은 야콘의 추출물의 장내 미생물에 미치는 영향 등 프리바이오틱스 또는 신바이오틱의 식품 개발을 위한 기초 연구는 아직 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 야콘 추출물을 이용하여 in vitro 상에서 비피더스균 및 락토바실러스균의 생장률 및 생장속도를 조사하여 야콘의 프리바이오틱스 효과를 평가하였다. 또한, 프락토올리고당이 함유된 야콘 추출물과 특정 유산균 증식간의 상관성을 구명하여, 향후 신바이오틱 제품 개발 연구에 필요한 기초자료를 마련하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

본 실험에는 강원도 평창군 진부면 시험포장(해발고도 560 m)에서 야콘 재래종을 5월 중순에 정식한 후 10월 중순에 수확한 덩이뿌리를 시료로 채취하였다. 야콘의 덩이뿌리 시료는 분석직전까지 초저온냉동고(-70°C)에 보관하였다.

#### 유리당 및 프락토올리고당 분석

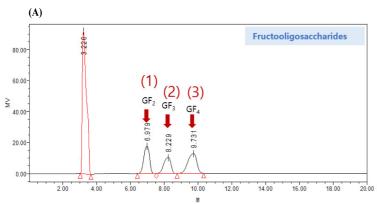
명시된 방법에 준하여 실시하였다. 시료 10 g에 80% 에탄올 50 mL를 가하여 균질기(Ultra-Turrax T25 Basic Homogenizer, IKA Co., Staufen, Germany)에서 9,500 rpm으로 1분간 마쇄하고, 50 mL로 정용한 다음, 여과지(No. 2, Whatman International, Maidstone, UK)로 1차 여과하였다. 유리당과 프락토올리고당 분석을 위해 표준용액과 추출용액을 멤브레인 필터(0.45 µm, Milipore, Bedford, MA, USA)로 여과한 후 분석에 사용하였다. 프락토올리 고당과 유리당의 표준물질 크로마토그램은 Fig. 1에 나타내었다. 유리당 분석을 위해 당분석기(Sugar analyser, DKK-TOA, Tokyo, Japan)에 당전용 컬럼(PCI-520 Φ4.6×150 mm 0.5 μm, DKK-TOA, Tokyo, Japan)을 장착하였다. 이동상은 0.2 M 수산화 나트륨(NaOH)를 사용하였고, 유속은 0.7 mL/min로 하였으며, 자 동주입장치(Auto sampler ICA-200AS, DKK-TOA)를 이용하여 분 석하였다. 유리당 표준용액은 글루코스, 프럭토스, 수크로스, 말토 즈(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)의 표준품을 사용하였다. 프락토올리고당 분석도 식품공전(KFDA, 2005)에 준하여 실시 하였다. 고속액체크로마토그래프(Waters 2695 HPLC, Waters Co., Milford, MA, USA)에 컬럼(Supelcosil LC-NH<sub>2</sub>, 25 cm×4.5 mm I.D., 5 μm particles, Bellefonte, PA, USA)을 장착하고, 온도는 30°C로 유지하였다. 이동상은 아세토니트릴: 증류수(acetonitrile:water =70:30, v/v)를 이용하였으며, 유속은 1.0 mL/min로 하였다. 검출 기는 굴절률 검출기(Waters 2414 Refractive Index Detector, Waters)를 이용하였다. 프락토올리고당의 표준용액(Fructooligosaccharides Set, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan)은 케스토즈(1-kestose=GF<sub>2</sub>), 니스토즈(nystose=GF<sub>3</sub>), 프락토 푸란노실니스토즈(1<sup>F</sup>-fructofuranosylnystose=GF<sub>4</sub>)의 표준품을 각각 사용하였다. 프락토올리고당은 표준물 3가지를 합산한 농도를 계

유리당과 프락토올리고당 분석은 식품공전(KFDA, 2005)에서

Fructooligosaccharides=GF2+GF3+GF4

산하였다.

GF<sub>2</sub>=1-Kestose, GF<sub>3</sub>=Nystose, GF<sub>4</sub>=1<sup>F</sup>-Fructofuranosylnystose



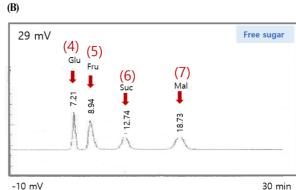


Fig. 1. Chromatographic profiles of standard solutions of three main fructooligosaccharides (A) and four free sugar (B) by HPLC and sugar analysis, respectively. (1)  $GF_2$ , 1-Kestose standard (6.25%); (2)  $GF_3$ , nystose standard (6.25%); (3)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructofuranosylnystose standard (6.25%); (4)  $GF_3$ , nystose standard (0.04%); (6)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructofuranosylnystose standard (0.05%); and (7)  $GF_4$ , nystose standard (0.05%); (4)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructofuranosylnystose standard (0.05%); (5)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructose standard (0.05%); (6)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructose standard (0.05%); (7)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructose standard (0.05%); (8)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructose standard (0.05%); (9)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructose standard (0.05%); (1)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructose standard (0.05%); (2)  $GF_4$ , 1<sup>F</sup>-fructose standard (0.05%); (3)  $GF_4$ ,

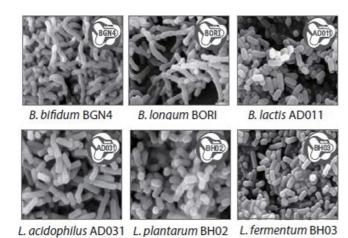


Fig. 2. Scanning electron microscopy of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains used in the experiment.

#### 유익균 스크린을 위한 추출물 제조

야콘 덩이뿌리를 동결건조한 시료 10 g에 10배의 80% 에탄을을 각각 가하여 교반 추출기(VS-8480, Vision Scientific Co., Ltd., Seoul, Korea)로 25°C에서 24시간 동안 200 rpm으로 추출하여 여과지(No. 5 Whatman)로 여과한 다음, 회전진공농축기(EYELA CCA-1110, Tokyo, Japan)를 이용하여 용매를 제거하는 방법으로 약콘 추출물을 제조하였다.

#### 유익균 스크린 및 생균수 측정

(주)비피도(BIFIDO Co, Ltd., Hongcheon, Korea)가 건강한 한국 인의 장에서 분리하여 개발한 균주(Fig. 2)을 각각의 MRS 배지 (Table 1)에 2% 접종하여 37°C에 18시간 혐기배양한 후 4°C에 냉장 보관하였다. 유익균 배양을 위한 생육배지로는 0.05%의 L-cysteine HCl (Sigma Aldrich)을 첨가한 Lactobacilli MRS broth (BD Difco™, Franklin Lakes, NJ, USA)를 사용하였다. 야콘처리군(MRS-yacon) 배지는 0.05%의 L-cysteine HCl (Sigma Aldrich)을 첨가한 MRS broth에 1%의 야콘 추출물을 첨가하여 121°C에 15분간 멸균하여 제조하였으며, 생균수 측정을 위한 평판배지는 0.05%의 L-cysteine HCl (Sigma-Aldrich)을 첨가한 MRS broth에 1.5% agar를 첨가하여 제조하였다. 대상균주는 실험전 3회 이상계대 배양하여 활성화시킨 후 사용하였다. 먼저 1차 실험에서 균주 선발을 위해 비피더스 3종(B. bifidum BGN4, B. longum

BORI, *B. lactis* AD011) 및 락토바실러스 3종(*Lb. acidophilus* AD031, *Lb. plantarum* BH02, *Lb. fermentum* BH03)을 야콘처리 군과 대조군에 접종하여 2시간 간격으로 12시간까지 총 6회에 걸쳐 생균수를 측정하였다. 2차 실험에서는 선발된 균주 활성 평가를 위해 1차에서 선발된 비피더스 3종(*B. bifidum* BGN4, *B. longum* BORI, *B. lactis* AD011)을 MRS-Control 배지 및 MRS-Yacon 배지에 접종하여 30시간까지 총 6회에 걸쳐 생균수를 측정해 내용물 g당 균수(CFU, colony forming units per gram of sample)로서 상용로그를 취하여 생육곡선으로 나타내었다.

#### 통계 처리

본 실험에서 얻어진 자료는 완전임의배치로서 처리의 평균은 SAS software (Cary NC, USA)의 평균과 표준오차를 분석하였다. 세균 총수는  $\log 10$ 으로 변환시킨 후 분석하였으며, 평균의 차이는 최소유의차(least significant difference, LSD)에 의해서 비교하였다. 모든 통계적 유의성은 p<0.05로 정하였다.

# 결과 및 고찰

#### 유리당 및 프락토올리고당 함량

일반적으로 뿌리작물의 탄수화물은 전분형태로 저장된다. 하지만 야콘의 덩이뿌리에는 전분이 없으며(Kim 등, 2011), 프럭토스, 글루코스, 수크로스, 이눌린 및 프락토올리고당 등의 탄수화물이 함유되어 있다(Goto 등, 1995). 이 중에서 프락토올리고당이 약3-10% 정도로 가장 많은 비율을 차지하고 있다(Itaya 등, 2002; Kim, 2013b). 당은 일반적인 탄수화물처럼 4 kcal/g의 칼로리를 내지만, 프락토올리고당은 1-2 kcal/g에 해당하는 열량을 내므로, 칼로리 섭취 제한에 유용하다(Manrique 등, 2005; Woo, 2005).

프락토올리고당 함량은 다른 당 성분에 비해 상대적으로 변화가 크며, 이는 야콘의 재배환경이나 수확 후 숙성 기간의 차이에서 기인한다고 하였다(Kim 등, 2017a; Kim 등, 2017b). 또한, Grau와 Rea (1997)는 프럭토스 함량은 1.4-2.1%, 글루코스는 0.2-0.6% 정도 함유되어 있다고 보고하였다. 본 연구에서도 야콘 생체 중 100g 당 프락토올리고당 함량이 7.60g으로 가장 많았으며, 유리당은 수크로스가 0.72g, 프럭토스 0.34g, 글루코스 0.26g 순의 함량을 나타냈다(Fig. 3). 이러한 결과를 기존 연구와 비교하였을 때, 프락토올리고당과 글루코스 함량은 보고된 함량 범위를 보였으나 프럭토스의 경우 함량이 현저히 적은 것으로 나타났다. 이러한 차이는 숙성된 야콘의 경우 프락토올리고당이 감소하

Table 1. Composition and content of MRS-Control and MRS-Yacon medium

MRS-Control medium		MRS-Yacon medium	
Dextrose	20.0 g	Dextrose	20.0 g
Meat peptone	10.0 g	Meat peptone	10.0 g
Beef extract	10.0 g	Beef extract	10.0 g
Yeast extract	5.0 g	Yeast extract	5.0 g
Sodium acetate	5.0 g	Sodium acetate	5.0 g
Disodium phosphate	3.0 g	Disodium phosphate	3.0 g
ammonium citrate	0.5 g	ammonium citrate	0.5 g
Tween 80	1.0 g	Tween 80	1.0 g
Magnesium sulfate	0.1 g	Magnesium sulfate	0.1 g
Manganese sulfate	0.05 g	Manganese sulfate	0.05 g
L-cysteine hydrochloride	0.05%	L-cysteine hydrochloride	0.05%
		Yacon extract	1.0%

<sup>\*</sup>The medium of each treatment was dissolved in 1,000 mL of distilled water and sterilized for 15 min at 121°C.

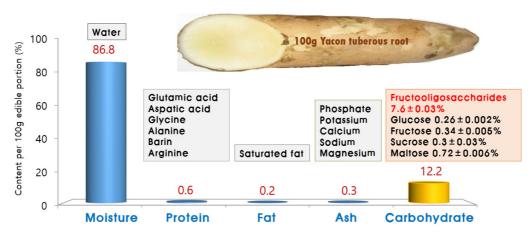


Fig. 3. Nutrient composition of fructooligosaccharides and free sugar content in yacon tuberous root. Data express mean ±SE.

면서 프럭토스 함량이 급격히 증가한다는 기존 연구결과(Kim 등, 2013b)를 고려할 때, 수확 후 저장기간이 성분 함량에 영향을 미친 것으로 판단된다.

프락토올리고당은 글루코스 1개에 프럭토스가 2-10개 정도 결 합한 난소화성 당질로 설탕과 물리적인 특성이 유사하고 설탕의 20-40%에 해당하는 감미를 보여 설탕의 대체 감미료로서 음료, 제과, 스낵류, 건강식품, 장류, 육류 등에 다양하게 이용되고 있 다(Pedreschi 등, 2003). 또한 저칼로리, 비피더스균 증식, 장내세 균 개선, 변비 개선 효과, 장내 부패물질 감소, 면역력 강화, 충 치 원인균(Streptococcus mutants) 억제 효과 등 프락토올리고당의 생리적인 기능성도 보고되고 있다(Asami, 1989). 장내에서 대장 균(Escherichia coli)이나 식중독균(Clostridium perfringens)은 프락 토올리고당을 이용하지 못하지만 장내 유용 유산균인 비피더스 균은 이 성분을 영양원으로 증식하여 장내환경 개선에 영향을 미 친다(Lee 등, 2003). 영양학적 측면에서도 프락토올리고당은 난소 화성으로 체내에 흡수되지 않고 대장까지 도달함으로 생체 내에 서 천연 식이섬유소와 유사한 역할을 한다. 따라서, 기능성이 우 수한 프락토올리고당이 풍부한 야콘의 경우 향후 기능성 식품 소 재로 이용 가치가 높을 것으로 판단된다.

프리바이오틱스 역할을 하는 다당류 성분은 주로 식물에 풍부 하게 존재하고 있다(Chandan와 Shah, 2007; Nadal, 2008). Van Loo 등(1995)은 프락토올리고당 분석을 통해 야콘 3-9%, 치커리 5-10%, 양파 2-6%, 마늘 3-6%, 보리 0.5-1.5%의 함량 범위를 보 이며, Kim 등(2013b)은 야콘 8.1%, 마늘 3.3%, 우엉 2.0%, 돼지 감자 1.9%, 양파 1.6% 순으로 프락토올리고당을 함유하고 있다 고 하였다. 또한, Tsukihashi (1999)는 야콘 8.0%, 우엉 3.6%, 양 파 2.8%, 마늘 1.0%, 및 바나나 0.3% 순으로 야콘의 프락토올리 고당 함량이 가장 많았다고 보고하였다. 이처럼, 프락토올리고당 은 많은 종류의 식물에 함유되어 있는 천연 당 성분이지만 작물 중에서 야콘처럼 함량이 많은 경우는 드물다. 따라서, 향후 관련 연구를 통해 야콘의 프리바이오틱스 효과를 확장해 나갈 필요가 있을 것으로 판단된다. 또한 프리바이오틱스로 이용될 수 있는 다양한 식품들을 대상으로 식품의 기능성을 향상시키는 재료로 서 야콘의 활용성을 높이는 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것 으로 생각된다.

#### 장내 유익균의 생육에 미치는 영향

유산균은 젖산을 생성하여 산성에 약한 유해세균의 증식을 억 제하고 이상 발효에 의한 암모니아나 발암물질의 발생을 줄여주 는 역할을 하는 인체에 꼭 필요한 세균이다(Lee 등, 1996). 이 중에서 락토바실러스는 유당을 뜻하는 lacto와 막대 모양을 의미하는 bacillus의 합성어로 우유 속에 있는 유당을 분해하는 막대모양의 균을 지칭하며, 주로 소장내 균총을 정상화시키고 대장을 안정화시키는 역할을 수행한다(MFDS, 2020).

비피더스균(Bifidobacteria)은 가지를 친다는 의미의 'bifido'에서 균 이름이 유래했다. 일정한 모양(막대, 구형)을 하고 있는 대부분의 유산균과는 다르게 비피더스균은 환경에 따라서 모양이 변하며, Y자, V자, 곤봉 또는 아령 등 매우 다양한 형태를 보인다 (MFDS, 2020). 비피더스균은 주로 대장에 존재하며 대장내 균총을 정상화시키는 역할과 유익균의 증식에 관여한다. 또한, 일반젖산균과는 달리 담즙에 비교적 높은 저항력을 가지고 있으며, 항염증(Maslowski 등, 2009), 과민성 대장증후군 완화(Guglielmetti 등, 2011), 혈중 콜레스테롤 감소 및 면역조절 작용(Savard 등, 2011)등의 효과가 보고되었다.

본 연구에서는 야콘 추출물이 장내 유산균 활성에 미치는 영 향을 구명하기 위해 건강한 한국인의 장에서 분리한 락토바실러 스 3종과 비피더스 3종을 대상으로 두 차례의 실험을 수행하였 다. 먼저 1차 실험에서 락토바실러스 3종(Lactobacillus acidophilus AD031, L. plantarum BH02, L. fermentum BH03)과 비피더스 3 종(Bifidobacterium bifidum BGN4, B. longum BORI, B. lactis AD011) 등 6종의 유산균을 대상으로 대조군(MRS-control)과 야 콘처리군(MRS-yacon) 배지에서 유산균의 생장정도를 비교하였다 (Fig. 4). 실험에 공시된 락토바실러스 3종의 균주들은 대조군과 야콘처리군에서 대수기(log phase)에 도달하는 시간이 비슷하였고, 생균수에서도 대조군보다 낮거나 비슷하여 차이를 보이지 않았 다. 하지만 비피더스 3종(B. bifidum BGN4, B. longum BORI, B. lactis AD011)의 경우 야콘처리군에서 12시간 동안 생장이 촉진 되었고, B. longum와 B. lactis 균주에서 대조군과의 통계적 유의 차가 확인되었다. 특히, B. longum BORI균주는 배양 8시간까지 는 대조군과 야콘처리군에서 비슷한 생장을 보였으나, 10시간 이 후부터 야콘처리군에서 균주의 생장이 더욱 촉진되어 대조군과 의 확연한 차이를 나타냈다(Fig. 4.). 이는 8시간까지는 배지내의 포도당을 주로 사용하다가 이 영양원이 소진된 후에 야콘추출물 의 프락토올리고당을 프리바이오틱스로 이용하는 능력이 우수한 비피더스균, 특히, B. longum BORI균이 추가적으로 더 성장하였 기 때문인 것으로 판단된다. 반면, L. plantarum과 L. fermentum은 8시간 까지는 대조구에 비하여 야콘 배지에서 더 빨리 자라 다가 성장이 그 이후부터는 정체되는 것으로 나타났다. 이는 야

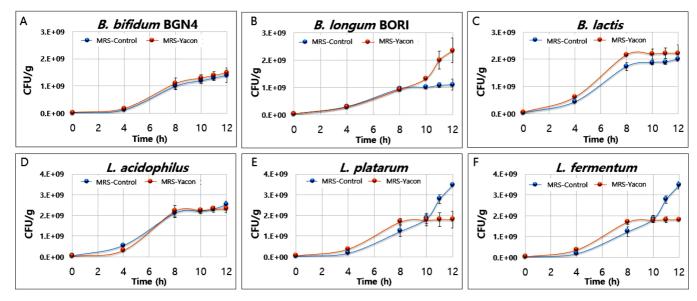


Fig. 4. Growth curves in MRS-Control and MRS-Yacon extract media of six probiotics strains such as *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. A, *Bifidobacterium bifidum* BGN4; B, *Bifidobacterium longum* BORI; C, *Bifidobacterium lactis* AD011; D, *Lactobacillus acidophilus*; AD031; E, *Lactobacillus plantarum* BH02; F, *Lactobacillus fermentum* BH03.

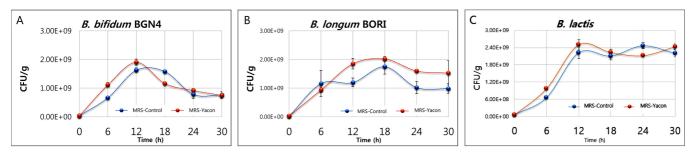


Fig. 5. Bioavailability and maximum growth curves for *Bifidobacterium* strains tested in in MRS-Control and MRS-Yacon extract media. A, *Bifidobacterium bifidum* BGN4; B, *Bifidobacterium longum* BORI; C, *Bifidobacterium lactis* AD011.

콘 추출물 내의 단당류, 이당류, 아미노산, 미량원소 등의 영양소 가 초기 성장을 촉진하여 포도당이 더 빨리 소진되고 이에 따라 생산된 유기산에 의하여 생장이 억제되는 것으로 예상된다.

이와 같은 결과를 바탕으로 2차 실험에서는 증식 효과가 확인된 비피더스균 3종을 대상으로 생균수를 30시간까지 측정하여유산균의 증식 양상을 세밀하게 평가하였다(Fig. 5). 비피더스균 B. bifidum BGN4와 B. lactis AD011 균주는 야콘처리군에서 생균수값이 배양 12시간까지 급속히 증가하였으나 그 이후에는 대조군과 비슷하거나 떨어지는 경향을 보였다. 하지만, B. longum BORI 균주는 야콘처리군에서 배양 초기 6시간까지는 대조군과 생균수의 차이가 없었으나 12시간 이후부터 생장이 급격히 증가하여 30시간 까지도 대조군에 비해 높았다. 이러한 대조군과 야콘처리군간의 차이는 통계적으로도 유의한 것으로 확인되었다. B. bifidum BGN4와 B. lactis AD011 균주는 각각 6-12시간에서 대조군과 통계적 유의차가 있었으며, B. longum BORI 균주의 경우 6시간 이후 모든 조사구간에서 통계적 유의성이 확인되었다.

프로바이오틱스는 충분한 양을 섭취하였을 때 건강에 도움이되는 살아 있는 균으로 인체에 유익한 생리작용을 위해서는 '살아 있는 상태', '충분한 양' 두가지 조건을 충족해야 한다고 규정하고 있다(FAO/WHO, 2001a). '충분한 양'이란 프로바이오틱스의기능성분의 수를 생균으로 1억(100,000,000) CFU/g 이상을 함유

해야 한다고 하였다(Kim 등, 2018). 본 연구에서 비피더스균은 30시간에 *B. bifidum* BGN4 균주는 7.5억 CFU/g, *B. longum* BORI 균주는 15.3억 CFU/g, *B. lactis* AD011 균주는 24.3억 CFU/g의 생균수를 보여 높은 증식효과를 나타내었다.

프로바이오틱스는 장내 유익한 균으로 면역세포의 70%가 분포하는 장을 건강하게 하고 면역력을 강화시키는데 도움을 준다. 대표적인 균은 락토바실러스균과 비피더스균인데 이들은 효능면에서 다소 차이를 보인다. 락토바실러스균은 주로 소장에서 소화성 올리고당인 말토올리고당이나 대두올리고당을 이용하여 장내독소제거, 면역과 항균물질 형성, 장내 세균 구성 정상화, 유해균생성 억제 등의 역할을 하는 것으로 보고되었다(Kim 등, 1995; Lee 등, 2003). 반면, 비피더스균으로 불리는 비피도박테리움은 주로 대장에서 역할을 하며, 난소화성 올리고당인 프락토올리고당을 이용하며, 대장균 증식 억제, 장 운동과 배변활동 강화 등에 영향을 준다고 하였다(Bornet 등, 2002; Woo, 2005). 또한, 프락토올리고당은 효소 유도와 비피더스균 증가에 이눌린이나 말토덱스트린보다 더 강력한 효과를 보인다고 보고하였다(Bornet 등 2002)

본 연구에서도 야콘처리군에서 락토바실러스균의 증식 효과는 관찰되지 않았으나 비피더스균에서는 뚜렷한 증식효과가 확인되 었다. 이러한 차이는 두 균의 이용하는 영양원이 다른 데서 기인 한 것으로 판단된다. 또한, 비피더스균 중 B. longum BORI 균주의 경우 30시간까지도 증식효과가 뛰어난 것으로 관찰되었는데, 이는 B. longum BORI 균주가 한국인의 장에서 분리한 유산균이란 점을 고려할 때, 한국인의 장내 환경을 개선할 수 있는 맞춤형 제품개발이 가능함을 시사한다. 본 연구를 통해 야콘처리군에서 프로바이오틱스인 비피더스균의 성장이 촉진되는 것을 확인하였으며, 야콘의 프락토올리고당이 주요 원인 물질임을 입증할수 있었다. 따라서 프리바이오틱스인 야콘추출물과 프로바이오틱스인 비피더스균을 조합함으로써 유산균 증식효과가 우수한 신바이오틱 조성물을 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 요 약

본 연구에서는 야콘 덩이뿌리 추출물이 프로바이오틱스인 비 피더스균과 락토바실러스균의 생장에 미치는 영향을 구명하고자 하였다. 야콘의 당함량을 HPLC로 분석한 결과, 생체 중 100 g 당 프락토올리고당 함량이 7.60 g으로 가장 많았으며, 유리당은 수크 로스가 0.72 g, 프럭토스 0.34 g, 글루코스 0.26 g 순의 함량을 보 였다. 야콘 추출물이 장내 유산균 활성에 미치는 영향을 구명하 기 위해 락토바실러스 3종(L. acidophilus AD031, L. plantarum BH02 and L. fermentum BH03)과 비피더스 3종(B. bifidum BGN4, B. longum BORI, B. lactis AD011) 등 6종을 대상으로 대조군과 야콘처리군 배지에서 유산균의 생장속도를 비교하였다. 락토바실러스 3종의 균주들은 대조군과 야콘처리군에서 대수기 에 도달하는 시간이 비슷하였고, 생균수에서도 비슷하거나 감소 하는 경향을 보였다. 하지만, 비피더스 3종의 경우 야콘처리군에 서 모두 생장이 증가되었고, 특히, B. longum BORI 균주는 배양 10시간 이후부터 대조군과의 확연한 차이를 나타냈다. 이와 같은 결과로, 야콘 추출물은 장내 유익균 중에서도 비피더스균에 특이 적인 증식 효과를 보이며, 야콘의 프락토올리고당이 비피더스균 증식에 적합한 영양원임을 확인하였다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 작물시험연구사업(과제번호: PJ01135401) 에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다. 또한 논문 실험에 도움을 주신 (주)비피도 관계자님께 감사드립니다.

#### References

- Asami T, Kubota M, Minamisawa K, Tsukihashi T. Chemical composition of yacon, a new root crop from the Andean highlands. Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr. 60: 122-126 (in Japanese) (1989)
- Bornet FRJ, Brouns F, Tashiro Y, Duvillier V. Nutritional aspects of short chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. Digest. Liver Dis. 34: 111-120 (2002)
- Chandan RC, Shah NP. Functional foods based on dairy ingredients, handbook of food products manufacturing principles, bakery, beverage, cereals, cheese, confectionary, fats, fruits, and functional foods. John Wiley & Sons pp. 971-987 (2007)
- Cummings JH, Macfarlane GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. J. Appl. Bacterial. 70: 443-459 (1991)
- Dekivit S, Tobin MC, Forsyth CB, Keshavarzian A, Landay AL. Regulation of intestinal immune responses through TLR activation: Implications for pro- and prebiotics. Front. Immunol. 18: 60-66 (2014)
- Douglas JA, Scheffer JJC, Sims IM, Triggs CM. Maximizing fruc-

- tooligosaccharides production in yacon. Proc. Agron. Soc. NZ 32: 49-55 (2002)
- Endt A. The yacon and anui new from South America. Commercial Hort. 32: 14-15 (1983)
- FAO/WHO (Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. World Health Organization. (2001a)
- FAO/WHO (Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. World Health Organization. (2001b)
- Ganguly NK, Bhattacharya SK, Sesikeran B, Nair GB, Ramakrishna BS, Sachdev HPS, Batish VK, Kanagasabapathy AS, Vasantha M, Kathuria SC, Katoch VM, Satyanarayana K, Toteja GS, Rahi M, Rao S, Bhan MK, Kapur R, Hemalatha R. ICMR-DBT Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Indian J. Med. Res. 134: 22-25 (2011)
- Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rasrall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr. Res. Rev. 17: 259-275 (2004)
- Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. Nutr. 125: 1401-1412 (1995)
- Goto K, Fukai K, Hikida J, Nanjo F, Hara Y. Isolation and structural analysis of oligosaccharides from yacon (*Polymnia sonchifolia*). Biosci. Biotech. Biochem. 59: 2346-2347 (1995)
- Grau A, Rea J. Yacon, Smallanthus sonchifolius (Poepp. and Endl.)
  H. Robinson. In Hermann M. and J. Heller (eds.), Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 21.
  Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersieben/ International Plant Genetic Resources Institute. pp. 199-242 (1997)
- Guglielmetti S, Mora D, Gschwender M, Popp K. Randomised clinical trial: *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 significantly alleviates irritable bowel syndrome and improves quality of life a double-blind, placebo-controlled study. Aliment. Pharmacol. Ther. 33: 1123-1132 (2011)
- György P, Norris RF, Rose SR. Bifidus factor. I. A varianf of *Lactobacillus bifidus* requiring a special growth factor. Arch. Biochem. Biophys. 43: 193-201 (1954)
- Hidaka M, Tashiro Y, Eida T. Proliferation of bifidobacteria by oligosaccharides and their useful effect on human health. Bifidobact. Microflora. 10: 65-79 (1991)
- Hukins RW, Krumbeck JA, Bindels LB, Cani PD, Fahey GJr, Goh YJ, Hamaker B, Martens EC, Mills DA, Rastal RA, Vaughan E, Sanders ME. Prebiotics: why definition matter. Curr. Opin. Biotechnol. 37: 1-7 (2016)
- Itaya NM, De Carvalho MAM, Figueiredo-Ribeiro RDL. Fructosyl transferase and hydrolase actinities in rhizophores and tuberous roots upon growth of *Polymnia sonchifolia* (Asteraceue). Physiol. Plant. 116: 451-459 (2002)
- Kang CH, Kim YG, Han SH, Jeong YL, Park HM, Paek NS. Probiotic properties of *Bifidobacteria* isolated from feces of infants. J. Milk Sci. Biotechnol. 37: 40-48 (2019)
- KFDA (Korea Food and Drug Administration). Food standard code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 367-385 (in Korean) (2005)
- Kim SJ, Cho HM, Jeong JC, Choi JY, Yoon YH, Chang DC. Yacon Story. Dongwoosa. Pyengchang, Korea. pp. 10-50 (in Korean) (2011)
- Kim SJ, Jin YI, Nam JH, Hong SY, Chang DC, Yoon YH, Cho HM, Jeong JC. Domestic and overseas status and future trends of yacon production. Korean J. Intl. Agri. 24: 417-424 (2012)
- Kim YS, Hwang SI, Kim ST, Han NE, Kim HY, Kim HS, Park KH, Yoon MH. Investigation of the lactic acid bacteria content of probiotic and lactic acid bacteria products: a study on changes in the preservation method of probiotic products J. Food Hyg. Saf. 3: 474-482 (2018)
- Kim SJ, Jin YI, Nam JH, Hong SY, Sohn WB, Kwon OK, Chang

- DC, Cho HM, Jeong JC. Comparison of nutrient composition of yacon germplasm. Korean J. Plant Res. 26: 9-18 (2013a)
- Kim SJ, Kwon OK, Hong SY, Nam JW, Sohn HW, Jin YI, Chang DC, Cho MJ. Characteristics and effects of fructooligosaccharides in yacon (*Samallanthus sonchifolius*). Korean J. Intl. Agri. 25: 284-289 (2013b)
- Kim SJ, Sohn WB, Hong SY, Nam JW, Chang DC, Kim KD, Suh JT, Koo BC, Kim YH. Principal component analysis of the classification of yacon cultivation areas in Korea. Korean J. Crop Sci. 62: 149-155 (2017a)
- Kim SJ, Sohn WB, Hong SY, Nam JW, Chang DC, Kim KD, Suh JT, Koo BC, Kim YH. Environmental evaluation of the productivity and functional fructooligosaccharides of yacon cultivated in various regions of Korea. Korean J. Crop Sci. 62: 249-258 (2017b)
- Kim JR, Yook C, Kwon HK, Hong SY, Park CK, Park KH. Physical and physiological properties of isomalto-oligosaccharides and fructooligosaccharides. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 170-175 (1995)
- Lee KE, Choi UH, Ji GE. Effect of Kimchi intake on the composition of human large intestinal bacteria. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 981-986 (1996)
- Lee MR, Lee KA, Lee SY. Improving effects of fructooligosaccharides and isomalto-oligosaccharides contained in sponge cakes on the constipation of female college students. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 621-626 (2003)
- Lee HA, Lee SS, Shin HK. Effect of apple dietary fiber on the *in vitro* growth of intestinal bacteria. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 107-114 (1999)
- Lee FZ, Lee JC, Yang HC, Jung DS, Eun JB. Chemical composition of dried leaves and stems and cured tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). Korean J. Food Preserv. 9: 61-66 (2002)
- Lee HS, Sang JJ, Lee SD, Moon JY, Kim AJ, Ryu KS. Effect of dietary mulberry leaf on the composition of intestinal microflora in SD rats. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 252-255 (2001)
- Manrique I, Párraga A, and Hermann M. Yacon syrup: Principles and processing. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Peru. pp. 4-20 (2005)
- Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Yu D, Schilter HC, Rolph MS, Mackay F, Artis D, Xavier RJ, Teixeira MM, Mackay CR. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. Nature 461: 1282-1286 (2009)

- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). Food and drug statistical yearbook. Korea. pp. 188-206 (2016)
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). Health functional foods codex index. Korea. p. 110 (2017)
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife (2020)
- Mitsuoka T. A color atlas of anaerobic bacteria. Shobunsha, Tokyo, Japan. P. 51 (1990)
- Nadal ES. Application of prebiotics and probiotics in meat products, technological strategies for functional meat products development. Transworld Research Network. pp. 117-137 (2008)
- Okazaki M, Fujikawa S, Matsumoto N. Effect of xylo-oligosaccharide on the growth of bifidobacteria. Bifidobact. Microflora. 9: 77-86 (1990)
- Pedreschi R, Campos D, Noratto G, Chirinos R, Cisneros-Zevallos L. Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. and Endl.) fructo-oligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. J. Agri. Food Chem. 51: 5278-5284 (2003)
- Piirainen L, Kekkonen RA, Kajander K, Ahlroos T, Tynkkynen S, Nevala R, Korpela R. In school-aged children, a combination of galacto-oligosaccharides and *Lactobacillus* GG increases bifidobacteria more than *Lactobacillus* GG on its own. Ann. Nutr. Metab. 52: 204-208 (2008)
- Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. J. Nutr. 130: 396-402 (2000)
- Savard P, Lamarche B, Paradis ME, Thiboutot H, Laurin E, Roy D. Impact of *Bifidobacterium* animals subsp. lactis BB-12 and *Lactobacillus* acidophilus LA-5-containing yoghurt, on fecal bacterial counts of healthy adults. Int. J. Food Microbiol. 149: 50-57 (2011)
- Tsukihashi T. Health of the miracle vegetable-yacon. Hiroshi Publication. pp. 10-188 (1999)
- Van Loo J, Coussement P, De Leenheer L, Hoebregs H, Smits G. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 35: 525-552 (1995)
- Woo DH. Functional physiology of fructo-oligosaccharides. Bull. Food Technol. 18: 69-87 (2005)
- Yoon SS, Park YS, Choi HJ. Genetics and research revolutions in the lactic acid bacteria: focused on probiotics and immunomodulation. Curr. Top. LAB Probiotics 1: 9-19 (2013)
- Yoon JA, Shin KO. Prebiotics: A review. Korean J. Food Nutr. 30: 191-202 (2017)