

미네랄 흡수 촉진제 DFA-IV

서론

미네랄은 5대 필수 영양소(비타민, 미네랄, 탄수화물, 지방, 단백질)중의 하나로 우리몸에 절대 없어서는 안 되는 영양소로서 체내에서 일어나는 여러 생화학 반응의 조효소로 작용한다.

또한 체액의 구성 성분으로서 혈액과 뼈의 형성에 도움을 주며 신경계의 기능을 건강하게 유지시키는 중요한 작용을 한다. 미네랄은 기본적으로 체내가 보유하고 있지만 새롭게 생성되지 않는 영양소이기 때문에 건강을 유지하기 위해서는 항상 꾸준히 섭취해 주어야 한다. 그러나 현대의 빠른 생활패턴과 함께 선호되는 가공식품, 인스턴트 식품, 패스트 푸드 위주의 식생활은 이들 식품들의 제조과정에서 미네랄, 비타민 등의 많은 영양소가 파괴되거나 미네랄의 체내 흡수를 저해하는 요소들을 포함하고 있어 미네랄 결핍을 초래하고 있다.

예를 들어 칼슘의 경우 체내 미네랄 중 가장 많은 원소로 체중의 약 2% 정도이며 매일 700mg 정도의 칼슘이 뼈와 혈액 사이를 이동하면서 뼈와 치아 형성, 근육과 신경 및 심장의 기능에 있어 조절자 역할, 혈액응고 촉진, 체액의 적정 pH 유지 등의 역할을 담당하고 있다.

이러한 칼슘은 가공식품, 청량음료에 다량으로 함유되어 있는 인 성분에 의해 체내흡수가 방해를 받는다.

또한 가공식품의 섭취 증가에 비해 칼슘이 풍부한 자연식품의 섭취가 감소됨에 따라 성장기 어린이의 성장저하, 노년기 골다공증의 발생 등이 증가하고 있는 것이 현실이다. 또한 철분의 경우 인체에 약 42g 정도 존재하며 그 중 4분의 3이 헤모글로빈의 구성요소로서 적혈구 속에 함유되어 전신을 순환하며 헤모글로빈(혈액단백질) 생성에 이용, 산소운반, 음식물 대사에 관여한다. 철분 역시 칼슘과 같이 현대의 식생활에서 섭취량이 점차 감소되고 있는데 철분 결핍으로 인해 빈혈, 피로, 체내 산화작용 약화 등이 초래된다.

이밖에도 아연, 셀레늄, 구리 등 우리 몸에는 미량으로 필요한 미네랄들이 많이 있는데 이들의 섭취에 대해서는 거의 무관심한 실정이다.

따라서 이들을 섭취할 수 있는 보충제 및 일상적으로 섭취하는 식품 또는 이러한 제제들로부터 유래하는 미네랄의 체내 흡수를 효과적으로 증진시켜 줄 새로운 기능성 제품의 개발이 절실히 요구되고 있다.

현재 (주)리얼바이오텍에서는 이러한

요구에 부응할 수 있는 미네랄 흡수촉진 기능이 획기적인 DFA-IV라는 biomaterial을 개발했다.

DFA-IV란 지금까지 알려진 5종의 DFA(difructose anhydrides)의 하나로 Di-D-fructose-2,6':6,2-dianhydride의 화학명을 가진 물질이다. DFA는 칼슘이나 철 등과 복합체를 쉽게 형성하고 이들 금속이온의 복합체를 동물에 투여했을 때 금속이온의 체내흡수를 촉진시킨다.

실제 최근의 많은 연구결과 DFA-IV를 비롯한 DFA가 생체 내 철분, 칼슘, 아연 등의 미네랄 성분에 대한 효과적인 흡수 촉진 인자로서 인간의 빈혈 및 골다공증 예방 및 치료제와 자동 빈혈치료제로서 개발될 가능성이 높다는 것이 입증됐다. 그 밖에도 DFA-IV는 동물의 체내에서 분해되지 않는 비소화성, 비발효성 이당류라는 특징을 갖고 있으며 저 칼로리 감미료, 충치발생 저해 및 *Bifidus*균 증식인자로도 이용될 수 있다.

본 고에서는 지금까지의 연구결과를 바탕으로 미네랄 흡수촉진제로서 DFA-IV의 기능과 그 밖의 다른 생리활성적 측면을 소개하면서 DFA-IV의 기능성 식품원료로의 개발 가능성을 제시하고자 한다.

본론

1. DFA-IV의 구조 및 생산

DFA는 1929년 Jackson 등이 이눌린(inulin)에 황산을 처리하여 프럭토스(fructose) 시럽을 제조하던 중에 생성된 부산물을 분석하던 중에 밝혀졌으며 2개의 프럭토스 환원형 말단이 서로 다른 프럭토스 말단의 비환원성 수산기에 결합된 환상 2당체로 결합형태에 따라 DFA-I, II, III, IV, V의 5종이 밝혀져 있다(그림 1)。

이들 DFA는 화학적인 방법 이외에도 미생물이 생산하는 효소에 의해서도 생합성 될 수 있다. 각각의 DFA는 미생물의 종류에 따른 다른 생합성효소 및 기질에 의해 만들어진다. 이 중 DFA-IV는 *Arthrobacter*나 *Pseudomonas* 계통의 미생물이 생산하는 Levan fructotransferase(LFTase)라는 효소에 의해 폴리프럭탄(polyfructan, fructose homopolymer)인 levan을 기질로 하여 생산된다.

기존에는 DFA-IV의 생산기질인 레반 및 DFA-IV 생산효소인 LFTase의 수급문제로 대량생산이 어려웠으나 최근 리얼바이오텍(주)은 Levan 및 LFTase의 생산 체계를 갖춰 DFA-IV를 대량생산할 수 있게 됐다.

DFA-IV 생산에 필요한 효소반응의 모식도는 <그림 2>와 같다. 반응이 완료된 반응액은 중공사막 모듈을 사용하여 미반응된 레반을 제거한 후 이온교환 레진을 이용한 크로마토그래피법을 이용한 정제과정 및 별도의 결정화 공정을 거쳐 생산된다.

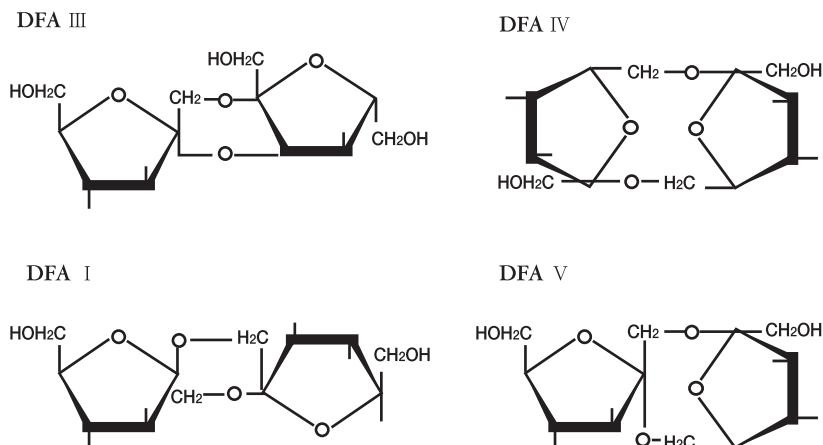


그림1. Structures and chemical names of DFA'S

DFA I, α -D-fructosefuranose- β -D-fructofuranose-2',1:2,1'-dianhydride;
DFA III, α -D-fructosefuranose- β -D-fructofuranose-2',1:2,3'-dianhydride;
DFA IV, α -D-fructosefuranose- β -D-fructofuranose-2',6:2,6'-dianhydride;
DFA V, α -D-fructosefuranose- β -D-fructofuranose-2',6:2,1'-dianhydride;

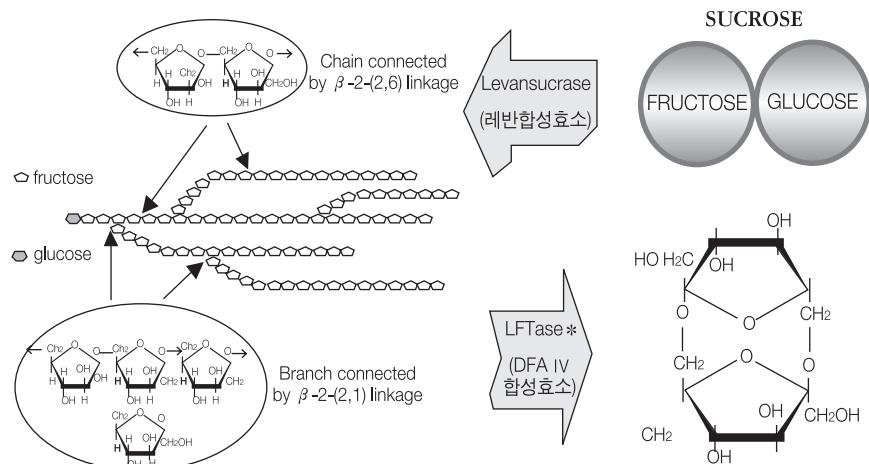


그림2. Enzyme reaction process for production of DFA-IV

2. DFA-IV의 기능

1) 미네랄 흡수 촉진 효과

일본 Hokkaido 대학의 Saito, Hara 등의 연구팀은 쥐의 장관막을 이용한 「Everted sac experiment」 실험에서 칼슘 단독 및 칼슘과 DFA-IV, DFA-III 및

raffinose와의 복합체를 섭취시킨 후 장관 부위별 총섭취 칼슘에 대한 흡수율을 측정했을 때 배설물(feces)을 제외한 공장(ileum), 회장(cecum), 결장(colon)의 장관부위에서 DFA-IV에 의한 칼슘의 흡수율이 제일 높게 나타남을 확인했다 <그림 3>.

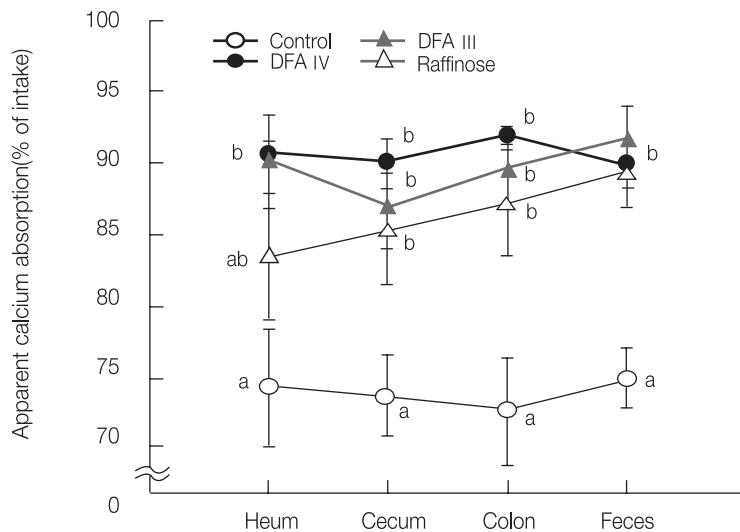


그림3. Apparent Calcium Absorption of Entire Intestine and Parts of Digestive Tract in Rats Fed with DFA III and DFA IV

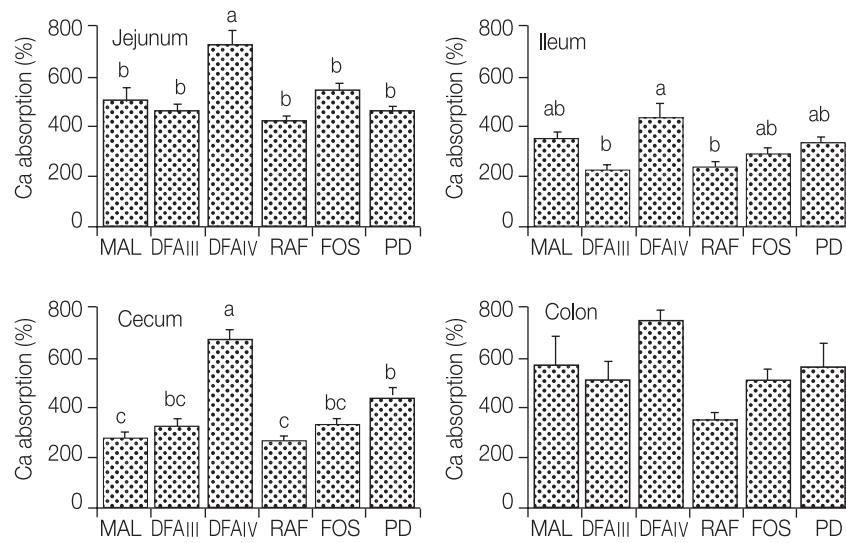


그림4. Effect of individual indigestible saccharides at 100 mmol/L on Ca absorption in the jejunum, ileum, cecum and colon in rats. The percentage increases in transepithelial Ca transport in the jejunum, ileum, cecum and colon relative to the control value obtained by the application of maltitol(MAL), difructose anhydride(DFA) III, DFA IV, raffinose(RAF), fructooligosaccharide(FOS) and polydextrose(PD) are shown.

그 후 Mineo, Hara 등이 쥐의 장막을 이용하여 「Ussing chamber technique」로 수행한 연구에서도 DFA-IV가 여타의 당류들에 비해 공장, 회장, 결장, 대장 등의 장관내에서 칼슘흡수 효과를 크게 높이는 것으로 나타났다(그림 4)。

또한 국내의 경우 전남대학교 이용복 교수 연구팀에 의해 DFA와 철 복합체에 대한 체내동태에 대한 연구가 수행되었다. 특히 철과 DFA를 포함한 복합체의 철 흡수에 있어서 DFA의 촉진효율성을 알아보고자 *in vitro*, *in situ*, *in vivo* 실험을 진행했다.

In vitro 실험에서 양이온 침전법에 의해 제조된 BBMVs(brush-border membrane vesicles)를 이용하여 [⁵⁹Fe]로 라벨된 철과 과당, 아스코르빈산 및 DFA의 복합체 용액을 제조하여 급속여과 기술에 따라 BBMVs로의 취입실험을 행한 결과 철과 DFA의 최적 배합 비율(철:DFA=1:1)에서 아스코르빈산(1:1000)이나 과당(1:3)보다 더 빠른 취입속도를 나타냈다.

In situ 실험에서는 수정된 십이지장결찰환법을 사용하였고 철과 아스코르빈산, 과당, DFA III, DFA IV의 복합체를 적용시켰다. 최적 몰비(1:1)로 제조된 Fe(III)58-DFA III 복합체 및 Fe(III)58-DFA IV 복합체는 십이지장관을 통한 십이지장 조직세포로의 철 흡수와 십이지장 조직세포에서 혈액으로의 철 수송을 철 단독체보다 촉진시킨다는 것을 알 수 있다(표 1).

한편 *In vivo* 실험에서는 Fe(III)59-DFA III 및 IV의 복합체와 철 단독체를

표1. Amounts of iron(%) transported to the blood

Complex	Iron loss	Iron retained in duodenal tissue	Iron transported to body(blood)
Fe(III) alone	61.5 ± 6.6	52.2 ± 5.8	9.3 ± 1.0
Fe(III)-ascorbate (1:1000)	71.2 ± 6.9	49.5 ± 5.2	21.7 ± 2.2
Fe(III)-fructose (1:3)	70.5 ± 5.5	54.4 ± 8.2	16.1 ± 3.1
Fe(III)-DFA III (1:1)	79.9 ± 7.1*	41.8 ± 4.3*	38.1 ± 5.1*
Fe(III)-DFA IV (1:1)	70.0 ± 5.8	38.1 ± 4.9*	31.9 ± 4.5*

Mean ± Sd (n=3-5) *p < 0.05

표2. Pharmacokinetic parameters obtained from single(S) and multiple(M) oral administrations to rats

		AUC1 (pmol min/ml)	Cmax (pmol/ml)	Tmax (min)
단독투여	Fe(III) alone	1053.94 ± 277.74	4.34 ± 1.21	56.25 ± 22.19
	Fe(III)-DFA III	1416.15 ± 506.74	5.47 ± 2.14	71.25 ± 28.80
	Fe(III)-DFA IV	1427.01 ± 452.10	5.47 ± 2.14	51.00 ± 12.00
반복투여	Fe(III) alone	642.16 ± 266.00	2.98 ± 1.64	122.50 ± 84.15
	Fe(III)-DFA III	1330.18 ± 456.30*	5.23 ± 2.38	56.25 ± 22.19
	Fe(III)-DFA IV	526.69 ± 176.83	1.83 ± 0.59	162.50 ± 140.29

Mean ± Sd (n=5-6) *p < 0.05 between Fe alone and Fe-DFA complexes

흰쥐에게 단독 및 반복(8시간 간격으로 14회) 경구투여 하였을 때 철의 혈중 농도는 단독 및 반복투여 모두 철 단독 투여시보다 Fe(III)-DFA III 및 IV의 복합체를 투여했을 때 유의성있게 더 높게 나타났다(표 2).

DFA-IV를 비롯한 DFA의 이러한 미네랄 흡수 촉진 메카니즘에 대해서는

Hokkaido 대학의 Hara 교수를 비롯한 많은 연구의 실험결과를 통해 설명되고 있다.

섭취된 칼슘, 철분, 마그네슘 등의 미네랄 성분은 위산으로 용해되어 소장으로 들어오지만 미네랄이 소장에서 흡수되기 위해서는 소장부분의 창자벽 상피세포를 통과하는 「능동수송」 경로와 세포간 경로인 폐쇄연접(tight junction)을

통과하는 「수동수송」 경로를 통과해야 한다.

보통 미네랄의 흡수는 「능동수송」 경로가 주가 되지만 DFA-IV 등의 DFA는 후자의 세포간 경로를 경유하는 「수동수송」 경로도 활성화시켜 소장에서의 미네랄 흡수를 더욱 높이게 된다. 최근 Mineo, Hara 등에 의해 수행된 쥐의 소장, 대장 상피세포를 통한 칼슘, 마그네슘, 아연의 흡수경로에 대한 난소화성 당류의 영향을 알아본 연구는 이러한 사실을 뒷받침한다.

본 연구에서는 장막의 폐쇄연접의 활성지표로서 fluorescein isothiocyanate-dextran-4(FD4)의 permeability와 transepithelial electrical resistance (TEER)의 변화를 측정했는데 DFA-IV를 비롯한 난소화성 당류들이 FD4의 passage를 증가시킴과 동시에 TEER 값은 낮춤으로써 창자벽 상피세포의 폐쇄연접을 확장시켜 장관내로 미네랄 성분들의 흡수를 촉진시킨다는 것이 밝혀졌다(그림 5).

2) 기타 생리활성적 효과

DFA-IV는 설탕 당도의 45~55% 정도의 감미를 가지며 소장내 효소에 의해 분해되지 않는 난소화성 비흡수성 당류이다.

따라서 설탕의 경우 섭취 후 혈당치와 혈중 인슐린 농도를 현저하게 상승시키지만 DFA-IV는 혈당 상승과 인슐린 분비에 영향을 주지 않는다. 또한 충치의 주요 병원균인 *S. mutans*의 배양액에 설탕을 첨가하면 산이 생성(pH 4.5로 저

Functional Ingredients

DFA-IV

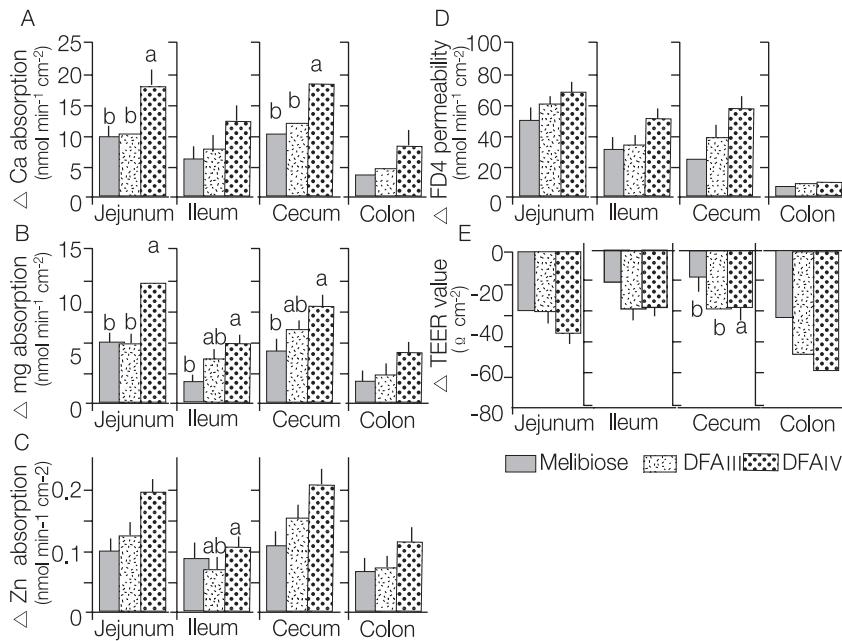


그림5. Comparison of the effects of three sugars on mineral absorption, permeability of FD4, and TEER in four intestinal portions. Increase in net Ca(A), Mg(B), and Zn transport(C) and changes in FD4 passage(D) and TEER(E) with the luminal application of melibiose, DFA III, and DFA IV at 100 mM in the jejunum, ileum, cecum, and colon, respectively. Values are mean \pm SE ($n=6$). Values in a portion not sharing the same letter are significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan's test

표3. Functions and usages of DFA-IV

Functions	Usage
<ul style="list-style-type: none"> Effective carrier for mineral ions Stimulation of iron absorption for the treatment of anemia stimulation of calcium absorption for the treatment of osteoporosis 	Anti-anemic & Anti-osteoporosis agent
<ul style="list-style-type: none"> Non reducing compound 50% sweetness of sugar antibacterial activity to tooth decaying microflora 	Sweetener
<ul style="list-style-type: none"> Low calorie sugar Growth promoting activity for the enteric bacteria 	Diabetes food

하) 돼 치아부식을 일으키나 DFA-IV의 경우 *S.mutans*에 의해 이용되어 산을 형성하지 않기 때문에 충치발생을 억제할 수 있다.

또한 DFA-IV는 일반적인 올리고당의 특성인 장내유익균인 Bifidobacteria의 증식효과를 나타내므로 정장작용에 도움을 준다. 이와 같은 DFA-IV의 기능성을 바탕으로 DFA-IV가 적용 가능한 용도를 살펴보면 다음과 같다(표 3).

3. DFA-IV의 안전성

DFA-IV는 식이섬유이자 건강기능식품원료인 Levan으로부터 효소반응에 의해 생성된 과당이당류이기 때문에 안전한 물질이다. 이를 확인하기 위해 DFA-IV에 대한 독성시험이 진행되었다.

시험결과 DFA-IV는 Rat의 암·수에 있어서 단회경구 투여시 시험물질과 관련된 특기할 만한 임상증상이 관찰되지 않았고 LD₅₀치는 암·수 모두 5,000 mg/kg 이상일 것으로 판단되었으며, 또한 4주간 반복경구 투여 시험결과 2,000 mg/kg의 용량으로 4주 연속 경구투여 시에도 명백한 독성학적 변화는 관찰되지 않았다. 단, 수컷 2,000 mg/kg 투여 군에서의 뇌비중의 증가와 수컷 전 투여 군에서 혈청 creatine phosphokinase의 증가가 통계적으로 유의하게 관찰되었으나 병리학적인 변화 및 관련된 타증상을 동반하지 않아 독성학적으로 의미있는 변화로 판단되지 않았다. 따라서 DFA-IV의 Rat에서의 무해용량(NOAEL)은 체중 kg당 2,000 mg이상일 것으로

판단되어 안전성이 높은 물질임을 알 수 있다.

결론

DFA가 1929년에 발견된 이래 지금까지 DFA-III 및 DFA-IV에 대해 주로 일본과 한국에서 많은 연구가 진행되어 그 기능, 메카니즘, 생산 및 안전성 등에 대한 중요한 연구성과가 이루어졌다. 최근

DFA-IV의 원활한 공급을 위해 (주)리얼 바이오텍에서 대량생산 체계를 확립함으로써 기능성 소재인 DFA-IV의 식품, 의약품 등 다양한 제품으로의 적용이 가능해졌다.

DFA-IV는 효과적인 칼슘, 철 등의 미네랄 흡수촉진제로서 체내 미네랄 성분의 결핍이 심각한 현대인의 식생활에 꼭 필요한 기능성 소재이자 충치예방, 정장 작용 등의 부가적인 생리활성을 지니고 있어 국민건강에 보탬이 될 것으로 기대

된다.

현재 (주)리얼바이오텍은 DFA-IV를 개별인정형 기능성 식품 소재로 인증을 받기 위한 절차를 수행 중에 있으며 그 밖에도 Levan, DFA-IV를 개발하면서 축적한 Biotechnology 기술을 발전시켜 다양한 기능성 원료 및 제품의 공급을 위해 매진하고 있다. 

SOURCE

(주)리얼바이오텍 www.realbio.com
(041)864-3171

코카-콜라, 환경보호, 경영활동 성과 담은 환경 보고서 발간

한국 코카-콜라 시스템은 지금까지 다각도로 추진해온 환경 관련 정책과 현황, 성과 등을 담은 환경 보고서를 발간했다. 국내에서 코카-콜라의 환경보고서 발간은 지난해 음료 업계 최초로 환경 보고서를 발간한 뒤 올해로 두 번째이다. 환경 보고서는 고객 및 지역사회, NGO 정부기관 등 이해관계자에게 제공될 방침이다.

이번 환경보고서는 지속적인 환경보고서 발간을 통해 기업 스스로 환경에 대한 책임 의식을 갖고 그것을 지켜나가기 위한 자발적 노력을 했다는 데에 가장 큰 의미가 있다. 전 세계 코카-콜라사와 한국 코카-콜라의 환경 개선 노력을 다각적으로 비교, 분석하며 환경 개선에 대한 노력을 강조해 눈길을 끈다.

특히, 글로벌 코카-콜라가제품 1L를 생산하기 위해 사용되는 물의 양은 2002년 3.12L/L에서 2005년 2.52L/L로 개선된 반면, 한국의 경우 병 세척을 위해 더 많은 물이 사용되는 RGB(재활용유리병) 제품을 생산함에도 불구하고 2.42L/L로 글로벌 평균 보다 더 효율적인 물사용이 이룬 점이 주목할 만하다.

환경보고서에 따른 활동과 주요 성과로는 ▲국내 전 사업장에 대해 TCCMS(글로벌 코카-콜라의 사업장 인증 시스템)의 최고 단계인 E3 인증을 획득해 아시아 지역 코카-콜라 최고의 환경영영시스템으로 인정 ▲용수사용량 절감을 위한 TF Team을 결성, 2005년 4.50%이던 공장 용수 재이용률을 2007년 9.83%로 2배 이상 수준으로 향상 ▲폐수 처리 시설 도입으로 방류수 수질을 법정 기준 대비 1/3 이하 수준으로 엄격히 관리 ▲ 자판기와 냉각기에 사용되는 프레온 가스(CFC)를 상대적으로 오존층 파괴 지수가 매우 낮은 수소불화탄소(HFC)로 교체 - 2007년 12월 현재 CFC:HFC 비율을 14:86까지 향상 ▲빈용기 회수 실적 104.4%를 기록, 정부 가이드라인인 80% 초과 달성을 달성 등이 있다.

박형재 한국 코카-콜라 홍보부 상무는 『환경보고서의 발행은 지역사회 환경을 위해 노력하겠다는 코카-콜라의 약속이자 의지의 표현』이라며 『지속적인 환경 개선 노력을 통해 기업의 사회적 책임을 다하겠다』고 말했다.