

발아현미의 GABA 증진 및
즉석 취반기술 개발

Development of Technology for Increase of
GABA and Easy-to-Cook Germinated Brown
Rice Products

2004. 10.

연 구 기 관
한국식품개발연구원

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “발아현미의 GABA 증진 및 즉석취반기술 개발“ 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2004년 10월 14일

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원
총괄연구책임자 : 최 희 돈
세부연구책임자 : 박 용 곤
세부연구책임자 : 최 인 옥
연 구 원 : 석 호 문
연 구 원 : 김 윤 숙
연 구 원 : 김 성 란
연 구 원 : 이 경 미
연 구 원 : 김 윤 영
위탁연구기관명 : 영 남 대 학 교
위탁연구책임자 : 김 영 조
연 구 원 : 박 종 민
연 구 원 : 박 종 선

요 약 문

I. 제목

발아현미의 GABA 증진 및 즉석 취반기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

고혈압은 모든 순환기계 질병의 원인이 되는 동시에 뇌출혈, 심장병 및 신장병 등과 합병증으로 나타날 경우에는 치사율이 매우 높은 만성 퇴행성 질환으로 40대 이후의 중노년층에서 유병율이 15-20%로 추정된다. 혈압과 고혈압에 의한 합병증의 위험성은 비례하며, 자각증상이 없는 경우가 많아 방치해둘 경우 뇌, 심장, 신장 등 주요 장기에 치명적인 합병증을 초래할 수 있기 때문에 엄격한 혈압조절로 합병증 발생을 최소화하려는 노력이 필요하다. 비만은 체지방이 축적되어 체중이 증가하는 영양불량의 과열량 상태 자체의 문제 뿐만 아니라 심혈관계 질환, 2형 당뇨병, 고혈압, 고지혈증, 고콜레스테롤혈증 그리고 기타 불량한 건강상태의 발병 위험의 증가와 깊은 관련이 있으며 체중조절을 위해 식이에 주의를 기울이는 등 인간의 기본적인 욕구가 제한되어 삶의 질이 저하된다. 따라서 혈압강화와 비만억제 효능을 갖는 발아현미의 개발은 고령화 시대의 사회문제에 대한 적절한 대처방안의 하나가 될 것으로 기대된다.

발아현미는 영성해진 외피구조와 배아 부위를 통해 수분흡수가 용이하여져 침지시간이 크게 단축되고 외피에 의한 거친 식감이 감소하여 현미에 비해 취반성과 식감이 개선되지만 여전히 백미와는 상이한 식감과 침지시간 때문에 발아현미의 소비 확대에 제약이 되고 있다. 발아현미가 폭넓게 소비되기 위해서는 백미와 유사한 취반특성과 식감을 갖는 발아현미 및 가공제품의 개발이 이루어질 경우 편의성과 기호성에 대한 소비자의 요구를 충족시키게 될 것이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 발아현미의 GABA 증진기술 개발

- 발아조건별 발아현미의 GABA 함량 변화 조사
 - 발아온도 및 발아기간
 - 발아용액의 변화
 - 발아후 물리적 처리
- 발아현미의 가공중 GABA 안정성 조사
 - 열안정성, pH 안정성
 - 열원, 취반방법

2. 발아현미의 혈압강하 및 비만억제 효능 검증

- 고농도 GABA 함유 발아현미 제조
- 발아현미의 혈압강하 효능 조사
 - 동물실험 : 본태성 고혈압쥐에 대한 혈압강하 및 혈액의 지질대사 등에 미치는 영향
 - 임상시험 : 고혈압 환자에 대한 혈압강하 및 혈액의 생화학적 특성에 미치는 영향
- 발아현미의 비만억제 효능 조사
 - 실험동물의 비만 유도
 - 체중변화 및 혈액의 지질대사 등에 미치는 영향

3. 즉석취반용 발아현미제품 개발

- 식감향상을 위한 전처리기술 개발
 - 적정 도정조건 확립
 - 적정 효소처리조건 확립
- 즉석취반기술 개발
 - 적정 건조 및 레토르트 조건 확립
 - 즉석취반용 발아현미 제품의 이화학적 및 취반특성 조사

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 발아현미의 GABA 증진기술 개발

발아현미의 GABA 함량을 증진시키기 위한 적정 발아온도 및 발아시간을 검토한 결과 30℃가 발아온도로 가장 적합하였고, 발아시간이 증가함에 따라 GABA 생성량도 증가하는 것으로 나타났다. 또 glutamic acid, chitosan 등의 여러 가지 발아용액이 발아현미의 GABA 함량에 미치는 영향을 조사한 결과 glutamic acid, chitosan, gibberellic acid 등의 첨가물이 발아현미의 GABA 함량에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 또한 발아후 저온처리, 혐기적 처리 등의 물리적 처리조건에 의한 발아현미의 GABA 함량 증진 효과를 조사하였다. 발아 직후 40℃와 4℃ 처리 모두 발아현미의 GABA 함량을 크게 증가시켰고 반복처리에 의해 더욱 증가하는 것으로 나타났다. 또한 발아직후 발아현미를 진공, 질소가스 충전, 탄산가스 충전 등으로 혐기처리하였을 때 대조구에 비해 GABA 함량이 약 3배 증가하였고 처리방법간에는 큰 차이를 나타내지 않았다.

발아현미의 가공중 GABA 안정성을 조사하기 위하여 제조한 발아현미를 autoclave와 스팀으로 일정시간 처리하였을 때 대조구에 비해 GABA 함량이 감소하였고 열처리 시간의 증가에 의해서도 감소하는 경향을 나타내었다. 수침상태에서의 열처리 조건별 발아현미의 GABA의 열 안정성을 조사하기 위하여 20% 농도의 발아현미 현탁액을 제조한 후 일정조건에서 열처리한 후 GABA 함량을 측정된 결과 열처리에 의해 다소 감소하는 것으로 나타났다. 또한 취반방법에 따른 발아현미의 GABA 함량 변화를 조사하기 위하여 압력밥솥과 전기밥솥으로 취반후 GABA 함량을 측정된 결과 취반방법에 따른 차이가 거의 나타나지 않는 것으로 나타났다.

2. 발아현미의 *in vivo*에서의 혈압강하 효능 조사

고혈압쥐를 이용하여 대조군, 백미군, 현미군, 발아현미군의 4가지 처리군으로 나누어 6주간 사육 후 발아현미의 혈압강하 효능을 조사하였다. 이들의 체중변화와 식이효율을 조사한 결과 식이섭취량은 모든 처리군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 체중증가량 및 식이효율의 경우 대조군, 백미군, 현미군은 실험

군간 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 발아현미군은 86.3±11.1 g의 체중증가량과 10.4±1.4%의 식이효율을 나타내어 기타 처리군에 비해 유의적으로 감소된 값을 나타내었다. 혈압변화를 조사한 결과 대조군과 백미군의 경우 초기부터 서서히 지속적으로 증가하는 경향을 나타낸 반면 현미군과 발아현미군은 4주 경과 시점부터 계속 감소하는 것으로 나타나 현미와 발아현미가 고혈압쥐의 혈압강화에 효과가 있음을 보여 주었다. 특히 발아현미군의 경우 3주 경과시부터 기타 처리군과 유의적인 차이를 보였으며, 6주 경과시에는 169.2±6.2 mmHg로 기타 처리군에 비해 유의적으로 낮을 뿐만 아니라 초기 혈압에 비해서도 크게 낮아진 값을 나타내어 발아현미가 고혈압쥐의 혈압강화에 우수한 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 사육 후 고혈압쥐의 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도를 측정된 결과 중성지방의 경우 기타 실험군에 비해 발아현미군이 유의적으로 크게 낮은 값을 나타내어 발아현미가 중성지방 감소에 우수한 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

3. 즉석취반용 발아현미 제품 개발

발아현미의 식감개선을 위해 현미를 도정하는 방법과 현미를 발아 직후 세포벽 분해효소로 처리하는 방법을 검토하였다. 현미를 도정하여 0.5분도미, 1분도미, 2분도미를 제조한 후 이화학적 특성과 발아특성을 조사한 결과 도정도가 증가함에 따라 현미의 수분결합력, 용해도, 팽윤력 등이 증가한 반면 GABA 함량은 다소 감소하였으며, 이들 도정도별 현미를 발아시킬 경우 발아율은 1분도미, 2분도미의 경우 각각 70%와 33%로 크게 감소하였고 GABA 함량도 동일한 경향이였다. 취반후 관능적 특성을 조사한 결과 0.5분도미를 이용한 발아현미의 경우 도정하지 않은 발아현미에 비해 경도, 찰기, 질음성 등이 크게 변하지 않으면서 거친정도는 크게 감소하여 기호적으로 가장 우수한 것으로 나타났다. 발아현미 제조후 세포벽 분해효소를 취반미의 조직감에 대해 관능검사한 결과 hemicellulase 처리시 외피에서 유래하는 거친정도가 가장 감소하는 것으로 나타나 hemicellulase 처리가 발아현미의 식감개선에 활용될 수 있음을 알 수 있었다.

발아현미를 백미와 유사한 취반특성을 가지면서 즉석에서 취반할 수 있는 기술을 확립하기 위하여 현미를 이용하여 발아현미를 제조하고 이를 레토르트

처리하여 백미, 현미, 발아현미 등과 이화학적 및 관능적 특성을 비교하였다. 레토르트 발아현미의 경우 적합한 조직감을 갖기 위한 적정 침지시간을 조사한 결과 백미와 동일하게 30분인 것으로 나타나 백미와 함께 취반하여도 취반에 문제가 없었으며, 레토르트 처리하지 않은 발아현미와 현미의 경우에는 적정 침지시간이 각각 1시간, 3시간인 것으로 나타났다. 또한 이들의 조직감을 백미와 유사한 순서대로 표기하도록 한 결과 레토르트 발아현미, 발아현미, 현미의 순으로 평가되었으며, 레토르트 발아현미의 경우 질음성과 쓴맛도 감소하여 관능적으로 거의 감지되지 않으면서 백미와 매우 유사한 조직감을 갖는 것으로 나타났다.

4. 발아현미의 *in vivo*에서의 비만억제 효능 조사

고지방 및 고콜레스테롤 식이를 공급하면서 실험동물을 대조군, 백미군, 현미군, 발아현미군의 4가지 처리군으로 나누어 5주간 사육 후 체중변화를 측정된 결과 발아현미군이 가장 낮은 체중을 나타내어 발아현미가 비만억제에 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 중성지방의 경우에도 발아현미군은 백미군, 현미군에 비해 유의적으로 낮은 중성지방 함량을 나타내어 발아현미가 중성지방 감소에 우수한 효과를 지님을 알 수 있었다. 또한 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤도 백미군과 현미군에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내었다. 실험동물로부터 적출한 간과 고환지방, 신장지방의 중량을 조사한 결과에서도 발아현미군은 간 중량 16.9 ± 1.8 g, 고환지방 중량 2.4 ± 0.7 g, 신장지방 중량 5.0 ± 0.9 g으로 백미군과 현미군에 비해 유의적으로 크게 낮은 중량을 나타내었다. 간의 총지질의 경우 현미군과 발아현미군이 대조군과 백미군에 비해 유의적으로 낮은 지질함량을 나타내었고 총콜레스테롤에 있어서도 동일한 경향이였다. 변의 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지질 함량을 측정된 결과 발아현미군의 경우 기타 실험군에 비해 유의적으로 높은 총지질, 콜레스테롤, 중성지질 함량을 나타내어 변을 통해 이들 지질성분이 많이 배설됨을 알 수 있었다.

5. 발아현미의 혈압상승 억제 효능 평가를 위한 임상시험

선발된 고혈압 환자를 대상으로 발아현미를 1일 50 g 섭취하도록 한 발아현

미 50 g군과 발아현미를 1일 100 g 섭취하도록 한 발아현미 100 g군으로 구분하여 발아현미밥을 6주동안 섭취하도록 한 후 혈압을 측정한 결과 발아현미 50 g군은 수축기 혈압, 이완기 혈압 모두 발아현미 섭취에 따른 유의성을 나타내지 않았으며, 발아현미 100 g군은 수축기 혈압의 경우 초기 150.8 ± 3.3 mmHg에서 3주후 141.4 ± 8.6 mmHg, 6주후 141.0 ± 8.3 mmHg로 3주 경과시에 초기에 비해 유의적으로 낮아진 혈압을 나타내었으며 6주 경과시에도 거의 유사한 값을 나타내었다. 이완기 혈압과 평균혈압도 수축기 혈압과 유사한 경향을 나타내어 발아현미 섭취가 고혈압 환자의 혈압 강하에 효과가 있음은 물론 섭취량에 따른 혈압 강하 효과의 차이를 나타낼 수 있었다. 혈액분석 결과 적혈구, 백혈구 수 등의 hematology의 경우 발아현미 50 g군, 100 g군 모두 발아현미 섭취에 따른 차이를 보이지 않았으며, 뇨분석 결과에서도 차이를 나타내지 않았다. 공복 혈당, BUN, creatinine 그리고 ALT, AST 등의 수치에 있어 발아현미 섭취에 따른 유의적인 차이를 나타내지는 않았지만 총콜레스테롤 및 중성지질과 같은 혈액내 지질관련 성분들의 값에서 발아현미 50 g군과 발아현미 100 g군 모두 발아현미 섭취전에 비해 섭취후 유의적으로 크게 감소하는 것으로 나타났다.

6. 고농도 GABA 함유 발아현미 및 즉석취반용 발아현미의 저장성 검토 및 산업적 생산공정 확립

고농도 GABA 발아현미와 레토르트 발아현미를 4주간 저장하면서 과산화물가와 lipoxxygenase와 같은 이화학적 특성과 관능특성의 변화를 조사한 결과 발아에 의해 과산화물가가 초기에 상당히 증가하였지만 저장기간의 증가에 따른 변화는 거의 없었으며, 레토르트 발아현미는 초기값도 높았지만 저장기간이 경과함에 따라 과산화물가가 급격히 증가하는 것으로 나타났다. 저장기간에 따른 lipoxxygenase 활성을 조사한 결과 현미와 발아현미가 비슷한 경향을 나타낸 반면 레토르트 발아현미는 레토르트 처리에 의해 lipoxxygenase의 활성이 거의 소실되었다.

SUMMARY

I. Title

Development of Technology for Increase of GABA and Easy-to-Cook Germinated Brown Rice Products

II. Objectives and Significance

The main objective of this project is to develop technology for increase of GABA content in germinated brown rice and easy-to-cook germinated brown rice products. To develop technology for increase of GABA content in germinated brown rice, various germination condition and physical treatments was tested, and stability of GABA in processing of germinated brown rice was performed. Inhibitory effects of developed germinated brown rice on hypertension and obesity was investigated in vivo. To develop easy-to-cook germinated brown rice, milling, cell wall-degrading enzyme and retort treatment on germinated brown rice were performed, and optimum treatment condition was established.

III. Scope

1. Development of technology for GABA increase in germinated brown rice

- Investigation of GABA content change of germinated brown rice in different germinating conditions
- Investigation of GABA stability of germinated brown rice during its process

2. Inhibitory effects of germinated brown rice on hypertension and obesity

- Preparation of germinated brown rice with high GABA content
- Antihypertensive capacity of germinated brown rice
- Inhibitory effect of germinated brown rice on obesity

3. Development of easy-to-cook germinated brown rice products

- Development of pretreatment condition to improve texture of germinated brown rice
- Development of easy-to-cook germinated brown rice

IV. Major Results and Conclusion

1. Development of technology for GABA increase

Optimum germination temperature for highest GABA was 30°C. GABA content increased with germination time increase. Glutamic acid, chitosan, gibberellic acid did not affect the GABA content of germinated brown rice. Effect of low temperature and anaerobic conditions after germination were investigated. Treatment with 40°C and 4°C both increased GABA content and repeated treatment accelerated the effect. Vacuum, nitrogen gas filling and carbonate gas filling increased GABA content 3 times than that of control with no significant difference among treatments. Stability of GABA during processing procedures was examined. Steaming and autoclaving procedures both reduce the GABA content and reduction occurred more with time increase. Method of cooking with pressure or without pressure did not affect the content of GABA.

2. *In vivo* antihypertensive ability

Spontaneously hypertensive rats were fed with white rice, brown rice, germinated brown rice for 6 weeks and effect of diet on blood pressure lowering was investigated. There were no significant differences in feed consumption among treatments. Weight gain and feeding efficiency ratio was significantly reduced in germinated brown rice compared to other treatments. Blood pressure of control and white rice fed rats increased gradually but blood pressure of rats fed with germinated brown rice significantly reduced after 3 weeks and reached 169 ± 6.2 mmHg after 6 weeks which was lower than initial value. This result showed that germinated brown rice had predominant ability for lowering blood pressure of high blood pressure rats. Serum triglycerides (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol was determined. TG in germinated brown rice-fed rats were significantly lower than those of other treatments showing that germinated brown rice were excellent material for lowering TG.

3. Easy-to-cook germinated brown rice products

Different milling method and cell wall degrading enzymes were applied to improve texture. 5%, 10% and 20% milled rices were prepared and physicochemical properties and germinating characteristics were evaluated. Water holding capacity, solubility and swelling power increased, but GABA content decreased with increasing milling %. Germinating ratio and GABA content were drastically decreased in 10% and 20% milled samples. Cooked germinated brown rice with 5% milling were more favorable in sensory properties like hardness, adhesiveness and moistness than cooked germinated un-milled brown rice were. Roughness of cooked brown rice were clearly reduced with hemicellulase treatment. Hemicellulase treatment was very beneficial to improve texture of brown rice.

To develop technology for producing easy-to-cook germinated brown rice having similar cooking properties, retort treatment were applied to germinated

brown rice. Chemical properties and sensory properties of retorted rice, brown rice and germinated brown rice were compared. Optimum soaking time were 30 min for both rice and retorted germinated brown rice. But germinated brown rice and brown rice without retort treatments had optimum soaking period of 1h and 3h, respectively. Texture of retorted germinated brown rice were almost similar to that of rice.

4. *In vivo* obesity control activity of germinated brown rice

Weight changes of rats with high-lipid and high-cholesterol diet were evaluated with control, rice, brown rice, germinated brown rice feed groups for 5 weeks. Germinated brown rice fed group had lowest body weight and shows potential as a obesity control material. Germinated brown rice fed group also exhibited significantly lower TG content, total cholesterol and HDL-cholesterol than other groups. Fat amount from liver, epididymal, kidney were measured and germinated brown rice group were significantly lower than those of rice and brown rice groups. Total hepatic lipid from brown rice and germinated brown rice group were less than that of control and rice. Fecal total lipid, total cholesterol and TG contents were measured and germinated brown rice group had more of those than other groups. These results indicated that rats with germinated brown rice fed group excreted more of fat as feces.

5. Clinical studies for antihypertensive ability

Selected hypertensive patient groups consumed germinated brown rice 50 g per day (GBR50) or 100 g per day (GBR100) for 6 weeks. GBR50 group did not show any significant effect on systolic and diastolic blood pressure but GBR100 group showed decrease in systolic blood pressure from initial value of 150.8 ± 3.3 mmHg to 141 ± 8.6 mmHg after 3 weeks and to 141 ± 8.3 mmHg after 6 weeks and remained same even after 6 week period. Diastolic and

average blood pressure of germinated brown rice group presented similar trend as systolic pressure. Consumption of germinated brown rice were found to be very beneficial to hypertensive patient but amount of consumption were a matter for showing effectiveness.

Results from hematological analysis, content of urine, BUN, creatinine, ALT, AST and fasting blood sugar did not show difference due to consumption of germinated brown rice. GBR 50 and GBR100 groups exhibited significantly lower TG content, total cholesterol than other groups.

6. Storage stability of high GABA and easy-to-cook germinated brown rice and establishment of industrial processing procedures

Peroxide value and lipoygenase activity were measured during 4 weeks storage of brown rice, high GABA and ready-to-cook germinated brown rice. Peroxide value of high GABA germinated brown rice samples were mostly increased in its initial stage but remain same even with increase of storage time. Meanwhile, Peroxide value of retorted germinated brown rice samples had high initial values and increased more with increase of storage time. Lipoygenase activity of brown rice and germinated brown rice were about same in values but that of retorted germinated brown rice samples were almost lost by retorting procedure.

Contents

Chapter 1. Introduction	
Chapter 2. Current Status on Domestic and Foreign Technology ...	
Chapter 3. Experience and Results	
I. Materials and Methods	
A. Development of technology for GABA increase germinated brown rice	
1. Condition for GABA increase in germinated brown rice	
1-1. Material and germination	
1-2. Germination condition	
1-3. Treatment after germination	
1-4. GABA measurement	
2. Stability of GABA during process of germinated brown rice	
B. <i>In vivo</i> Antihypertensive ability	
1. Preparation of germinated brown rice and its extract	
2. Inhibitory effect against ACE activity	
3. Rats and diets	
4. Sampling	
5. Measurement of blood pressure	
6. Analysis of blood	
7. Statistics	
C. Development of easy-to-cook germinated brown rice	
1. Improvement of texture of germinated brown rice	

1-1. Milling of brown rice	
1-2. Enzyme treatment	
2. Development of technology for easy-to-cook germinated brown rice	
3. Properties of brown rice and germinated brown rice	
3-1. Cooking	
3-2. Germinating ratio	
3-3. α -Amylase activity	
3-4. Water absorption rate	
3-5. Solubility and swelling power	
3-6. Water holding capacity	
3-7. GABA measurement	
3-8. Texture	
3-9. Sensory evaluation	
D. <i>In vivo</i> obesity control activity of germinated brown rice	
1. Rats and diets	
2. Sampling	
3. Lipid and cholesterol	
4. Statistics	
E. Clinical studies for hypertensive ability	
1. Preparation of cooked germinated brown rice	
2. Subjects	
3. Protocol	
4. Blood pressure, blood and urine	

5. Statistics	
F. Storage stability of high GABA and easy-to-cook germinated brown rice	
1. Storage	
2. Changes in quality during storage	
1-1. Peroxide value	
1-2. Lipoxygenase activity	
1-3. Sensory evaluation	
II. Results and Discussion	
A. Development of technology for GABA increase in germinated brown rice	
1. Condition for GABA increase in germinated brown rice	
1-1. Establishment of optimum germination condition	
1-2. Establishment of optimum treatment condition after germination	
2. Stability of GABA in processing of germinated brown rice	
B. <i>In vivo</i> antihypertensive ability	
1. Inhibitory effect against ACE activity	
2. Weight and food efficiency ratio	
3. Blood pressure	
4. Cholesterol and triglyceride in plasma	
C. Development of easy-to-cook germinated brown rice	
1. Improvement of texture of germinated brown rice	
1-1. Establishment of optimum milling condition of brown rice	
1-2. Establishment of optimum cell wall-degrading enzyme treatment condition	

2. Development of technology for easy-to-cook germinated brown rice	
D. In vivo obesity control activity of germinated brown rice	
1. Weight and food efficiency ratio	
2. Cholesterol and triglyceride in plasma	
3. Liver and adipose tissue	
4. Lipid and cholesterol of feces	
E. Clinical studies for hypertensive ability	
1. Characteristics of subjects	
2. Blood pressure	
3. Blood and urine	
F. Storage stability of high GABA and easy-to-cook germinated brown rice and establishment of industrial processing procedures	
Chapter 4. Future plan	
Chapter 5. References	
Appendix	

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	
제 2 장 국내외 기술개발 현황	
제 1 절 발아현미	
제 2 절 고혈압	
제 3 절 비만	
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	
제 1 절 재료 및 방법	
1. GABA 증진기술 개발	
가. 발아현미의 GABA 함량 증진조건	
1) 원료 및 발아	
2) 발아조건	
3) 발아후 처리조건	
4) GABA 등의 유리아미노산 정량	
나. 발아현미의 가공중 GABA 안정성	
2. 발아현미의 <i>in vivo</i> 에서의 혈압강하 효능 조사	
가. 발아현미 및 추출액 제조	
나. ACE 저해효과	
다. 실험동물 및 식이	
라. 시료 채취 및 처리	
마. 혈압 측정	

	바. 혈액성분 분석
	사 통계처리
3.	즉석취반용 발아현미 제품 개발
	가. 발아현미의 식감개선
	1) 현미의 도정처리
	2) 효소처리
	나. 발아현미의 즉석취반기술 개발
	다. 현미 및 발아현미의 품질 특성
	1) 취반
	2) 발아율
	3) α -amylase 활성
	4) 수분흡수율
	5) 용해도와 팽윤력
	6) 수분결합력
	7) GABA 정량
	8) 기계적 조직감
	9) 관능검사
4.	발아현미의 <i>in vivo</i> 에서의 비만억제 효능 평가
	가. 실험동물 및 식이
	나. 시료 채취 및 처리
	다. 지질 및 콜레스테롤 분석
	라. 통계처리
5.	발아현미의 고혈압 억제 효능 평가 임상시험
	가. 발아현미밥 제조
	나. 조사 대상자
	다. Protocol

- 라. 혈압 및 혈액, 소변 분석
- 마. 통계처리
- 6. 고농도 GABA 함유 발아현미 및 즉석취반용 발아현미의 저장성 검토 및 산업적 생산공정 확립
- 가. 저장
- 나. 저장중 품질특성 변화 조사
- 1) 과산화물가
- 2) Lipoxygenase 활성
- 3) 관능검사

제 2 절 결과 및 고찰

- 1. GABA 증진기술 개발
- 가. 발아현미의 GABA 함량 증진 조건
- 1) 적정 발아조건 확립
- 2) 발아후 적정 처리조건 확립
- 나. 발아현미의 가공중 GABA 안정성
- 2. 발아현미의 *in vivo*에서의 혈압강하 효능 평가
- 가. ACE 저해효과
- 나. 체중변화 및 식이효율
- 다. 혈압변화
- 라. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방
- 3. 즉석취반용 발아현미 제품 개발
- 가. 발아현미의 식감개선 기술 확립
- 1) 식감개선을 위한 현미의 적정 도정조건 확립
- 2) 식감개선을 위한 세포벽 분해효소 처리조건 확립
- 나. 발아현미의 즉석 취반기술 개발

4. 발아현미의 in vivo에서의 비만억제 효능 평가	
가. 체중변화와 식이효율	
나. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방	
다. 간 및 지방조직 성상	
라. 변의 지질 및 콜레스테롤	
5. 발아현미의 고혈압 억제 효능 평가 임상시험	
가. 조사 대상자의 특징	
나. 혈압의 변화	
다. 혈액과 소변 분석	
6. 고농도 GABA 함유 발아현미 및 즉석취반용 발아현미의 저장성 검토 및 산업적 생산공정 확립	

제 4 장 연구개발결과의 활용계획

제 5 장 참고문헌

부록

발아현미 임상시험 계획서	
증례기록서	

제 1 장 연구개발과제의 개요

현미는 백미에 비해 2배 이상의 식이섬유를 공급할 수 있으며, 칼슘 및 철분 등의 무기질과 thiamin, riboflavin 등의 비타민도 2배 이상 함유하고 있어 현미의 섭취가 권장되지만 장시간의 수침, 외피에 의한 거친 식감 등 취반성 및 조직감이 좋지 않아 소비가 크게 증가하지 않고 있는 실정이다. 현미를 발아시킬 경우 γ -aminobutyric acid(GABA), ferulic acid, arabinoxylan, inositol 등의 기능성 성분이 증진될 뿐만 아니라 취반성이 개선되는 것으로 알려져 발아현미는 최근 새로운 건강식품으로 주목받고 있으며, 이러한 기능성 성분들은 발아기간이 길어질수록 함량이 증가하는 것으로 알려져 있다. 특히 억제계의 신경전달물질로서 정신안정기능, 혈압상승 억제작용, 비만방지 등의 기능을 갖는 GABA는 발아현미의 대표적인 기능성 성분으로서 식물체의 성장과 자기보호기능에 중요한 역할을 한다.

GABA는 현미 발아 또는 혐기적 처리, 급격한 온도변화, 기계적 자극 등의 환경변화시 그 함량이 급격하게 증가하는 것으로 보고되어 있지만 대부분의 국내 발아현미 제조업체에서는 GABA를 비롯한 기능성 성분들을 증진시키고자 하는 연구가 거의 이루어지지 않고 있으며, 발아현미가 고혈압과 비만예방에 효과가 있다고 홍보하면서도 효과를 얻기 위해서 어느정도의 GABA량과 발아현미를 섭취하여야 하는지 등에 관한 자료가 제시되지 않고 있는 실정이다. 따라서 기존의 발아현미 제품보다 GABA 함량을 월등히 높이고 GABA에 의한 고혈압과 비만예방 효과를 동물실험을 통하여 증명하면서 섭취 GABA량과 발아현미의 양을 제시할 수 있다면 소비자의 건강 증진에 크게 기여함은 물론 발아현미의 소비도 크게 촉진될 것으로 기대된다.

또한 발아현미는 영성해진 외피구조와 배아 부위를 통해 수분흡수가 용이하여져 수침시간이 크게 단축되고 외피에 의한 거친 식감이 감소하여 현미에 비해 취반성과 식감이 개선되지만 여전히 백미와는 상이한 식감과 상당한 정도의 수

침시간 때문에 발아현미의 소비 확대에 제약이 되고 있다. 향후 발아현미가 폭넓게 소비되기 위해서는 백미와 유사한 취반특성과 식감을 갖는 발아현미 및 가공제품의 개발이 이루어져야 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 발아현미

현미는 과피(pericarp), 종피(seed coat) 및 호분층(aleurone layer)으로 구성된 미강과 배아(embryo) 및 배유(endosperm)로 이루어져 있으며, 이들의 구성 비율은 미강 5~6%, 배아 2~3%, 배유 92% 정도에 해당한다(1). 현미는 백미에 비하여 지방, 단백질, Vit B₁, B₂가 풍부하고 식이섬유의 함량이 약 2배정도 높으며 칼슘과 철분을 비롯한 각종 무기질의 함량도 백미보다 높기(2) 때문에 현미의 섭취가 권장되지만 이들 영양소의 소화 흡수율은 낮고(3) 장시간의 수침, 외피에 의한 거친 식감 등 취반성 및 조직감이 좋지 않아 소비가 크게 증가하지 않고 있는 실정이다.

곡립은 발아됨에 따라 효소가 다량 생성되고 단백질의 질적 변화(4), 미량 영양소의 증가(5), 탄수화물의 소화율 증가 및 antinutritional factor의 감소나 제거(6)가 이루어지는 등 다양한 변화가 일어나기 때문에 발아에 의한 식품의 영양적 가치를 증대시키고자 하는 연구가 많이 이루어지고 있다. 특히 현미를 발아시킬 경우 phytase의 증가로 피틴산과 칼슘을 비롯한 각종 미네랄의 체내 흡수성도 증가하는 것으로 알려져 있고(7) 또한 발아시 생성된 세포벽 분해효소의 작용에 의해 현미 외피의 일부가 가수분해되어 구조가 영성해지고 또 싹이 생성된 부위를 통한 수분 흡수가 용이하여져 수침시간이 크게 단축됨으로써 취반성이 개선되는 것으로 보고되고 있다. 그리고 혈압강하, 뇌기능 개선, 면역력 증강 등 여러 가지 기능성이 입증된 γ -aminobutyric acid (이하 GABA), inositol, ferulic acid, arabinoxylan 등의 기능성 성분이 증진되거나 새로이 생성되는 것으로 알려져 발아현미는 새로운 건강기능식품의 하나로 주목받고 있다.

동, 식물 등 자연계에 널리 분포하는 비단백질 구성 아미노산인 GABA는 포유동물의 뇌나 척수에 존재하는 억제계의 신경전달물질로서 신경억제작용과 정신안정기능을 가지며 혈압상승억제작용, 뇌의 대사촉진작용 등의 효과를 갖는 기능성 식품소재로서 주목받고 있다(8). 식물체 내에서의 GABA는 glutamate에서 succinate에 이르는 GABA-shunt를 통해 탄소골격의 제공 또는 아미노산 대사산물로서 작용(9)하며, 해충의 공격 및 종자의 발아시 함량이 급격히 증진되는 등

식물세포의 활성화를 통한 성장과 자기보호기능에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다. 또한 식물에서 GABA의 합성은 여러 외부 환경적 요인에 의해 영향을 받는 것으로 보고되고 있어 식물체가 여러 환경적 스트레스에 대항하기 위한 수단 중 하나로 GABA 생성체계를 가동시키는 것으로 추정된다(10). 이와 같은 식물체에서의 GABA 생성기작을 이용하여 녹차잎을 혐기처리 함으로써 GABA 함량이 크게 증진된 GABARON tea가 산업적으로 개발되었으며, 일본 Oryza 油化(株)에서는 GABA를 고농도로 증진시키고 풍미를 개량한 쌀배아를 제조하여 이를 기능성 식품 소재로 이용하고, 大洋香料에서는 유산균 발효에 의해 제조한 GABA 고농도 추출물을 혈압강하와 정신안정 효과를 나타내는 기능성 식품 소재로 활용하고 있다. 또한 최근에는 우리나라에서도 GABA 함량이 증진된 발아현미를 제조하기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(11,12).

제 2 절 고혈압

고혈압은 발생원인에 따라 일차성 고혈압과 이차성 고혈압으로 분류되며 고혈압 환자의 대부분이 본태성 고혈압으로 일컬어지고 있는 일차성 고혈압이다. 본태성 고혈압의 발생기작은 확실하게 밝혀져 있지는 않지만 다양한 유전적 요인과 음주, 흡연, 스트레스, 과다한 식염 섭취, 비만, 나이 등의 환경적 요인이 주요한 원인으로 알려져 있다(13,14).

고혈압은 모든 순환기계 질병의 원인이 되는 동시에 뇌출혈, 심장병 및 신장병 등과 합병증으로 나타날 경우에는 치사율이 매우 높은 만성 퇴행성 질환으로 40대 이후의 중노년층에서 유병율이 15-20%로 추정되고 있다. 혈압과 고혈압에 의한 합병증의 위험성은 비례하며, 자각증상이 없는 경우가 많아 방치해둘 경우 뇌, 심장, 신장 등 주요 장기에 치명적인 합병증을 초래할 수 있기 때문에 엄격한 혈압조절로 합병증 발생을 최소화하려는 노력이 필요하다. 혈압조절을 위해 약물, 식이 및 운동요법이 이용되고 있는데 혈압이 높을수록 위험성이 급증하여 적극적인 약물치료가 필요하지만 어지러움, 두통, 성기능 약화, 무기력, 안면홍조 등의 부작용이 많기 때문에 안전성이 확보된 식품 등 천연물의 혈압강하 작용에 관하여 많은 연구가 이루어지고 있다.

혈압조절에는 renin-angiotensin system이 매우 중요한 역할을 하는데 특히 angiotensin converting enzyme (ACE)는 renin에 의하여 생성된 angiotensin I 으로부터 C 말단의 dipeptide를 가수분해시킴으로써 강력한 혈관수축작용을 갖는 angiotensin II의 합성에 관여하면서 또한 혈관이완작용을 가진 bradykinin을 불활성화시킴으로써 혈압을 상승시키는 역할을 한다(15,16). ACE의 활성을 저해하는 식품관련 성분으로 우유, 대두, 옥수수, 정어리 등의 단백질 가수분해물 (17-19), 감귤 및 과실류의 flavonoid, 차성분의 카테킨(20,21), 고도불포화지방산 (22,23) 등이 보고되어 있다.

또한 쌀과 기타 곡류의 ACE 저해활성도 많이 보고되어 있는 바와 같이 (24,25) 현미도 혈압상승을 억제하는데 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 현미는 Vit E, 식이섬유, GABA, 이노시톨, ferulic acid 등의 여러 가지 기능성 물질들을 함유하고 있으며, 이들 성분 중 Vit E(26), GABA(27,28), ferulic acid(29) 등이 혈압에 미치는 영향에 관해 연구된 바 있다. 따라서 발아에 의하여 GABA가 다량 축적되고, 유리형태의 ferulic acid의 함량이 크게 증진되는 것으로 확인된(30) 발아현미의 경우 단백질의 저분자화에 의해 저분자의 peptide가 많이 생성되고 또한 이들이 ACE 저해효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대된다.

제 3 절 비만

1998년 국민영양조사 결과에 따르면 우리 국민의 20세 이상의 27.3%가 BMI 25 이상인 비만인으로 판정받고 있으며 향후 5년내 40%까지 증가할 전망이라고 한다(31). 비만은 신체 에너지 요구량보다 과잉으로 에너지를 섭취하였을 때 점차적으로 체지방이 축적되어서 체중이 증가하는 영양불량의 과열량 상태로서 그 자체의 문제 뿐만 아니라 심혈관계 질환, 2형 당뇨병, 고혈압, 고지혈증, 고콜레스테롤혈증 그리고 기타 불량한 건강상태의 발병 위험의 증가와 깊은 관련이 있다(32). 한국의사협회는 비만을 질병으로 분류하고 이를 치료해야 할 대상으로 명시하고 있다.

비만을 예방, 치료할 수 있는 물질들에 대한 연구들이 많이 진행되고 있는데 최근에는 Xenical이나 Reductil 등이 개발되어 판매되고 시장규모가 크게 증가할

것으로 예측되며, 항비만 기능성을 나타내는 기능성 식품 소재에 대한 연구도 활발하게 진행 중이다. Hydroxycitrate는 인도의 자생식물인 *Garcinia cambogia* 과실의 껍질에서 추출한 성분으로 지방합성을 억제하거나 제한함으로써 체중을 감소시키며(33), 단독, 또는 복합사용에 의한 효과들이 많이 보고되어 있다(34,35). 또한 Carnitine(β -hydroxy- γ -trimethylaminogytyric acid)은 미토콘드리아로 지방산을 전달하는 효소인 CTP-1(carnitine palmitoyl transferase I)의 조효소로서 lipid catabolism에 중요한 역할을 담당한다. Carnitine의 섭취는 혈중 및 조직의 지방 축적을 감소시켜 조직의 지방함량을 낮추는 것으로 보고되어 있으며(36), 이외에 알긴산 등의 식이섬유도 비만을 억제하는 것으로 보고되고 있다(37).

체중 감소는 약물투여와 수술 뿐만 아니라 식이요법, 운동, 행동수정 요법들을 병행할 경우 좋은 효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며(38,39), 특히 식이요법은 비만의 예방과 치료에 있어서 가장 중요하고 근본적인 방법으로(40) 열량섭취를 줄이고 에너지 소모를 증가시켜 체내에서 축적된 지방으로부터 필요한 열량을 공급받도록 하는 것이다. 이러한 소비자 요구에 맞춘 여러 가지 형태의 제품들이 시장에 소개되고 있으나 그 중에는 부적절한 체중감소 및 신체적 부작용 발생 등의 문제가 대두되고 있는 실정이기 때문에 일상적으로 섭취하여 온 곡류 등을 이용한 제품들도 많이 소개되고 있다. 하 등(41)은 현미를 주원료로 하고 다양한 곡류 및 채소류를 첨가한 생식이 비만억제에 효과가 있음을 보고하여 곡류를 주식처럼 일상적으로 섭취함으로써 비만을 억제할 수 있는 가능성을 제시한 바 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 재료 및 방법

1. GABA 증진기술 개발

가. 발아현미의 GABA 함량 증진 조건

(1) 원료 및 발아

이천 미곡종합처리장에서 구입한 2002년 현미를 10℃에서 보관하면서 원료로 사용하였다. 세척한 현미를 일정량 플라스틱 재배통에 넣고 물 또는 기타 용수가 담긴 발아장치(회전 급수식 콩나물 재배기, 상품명 콩심이, (주)영진금형) 내에서 재배통을 회전시키면서 현미를 발아하였으며, 이때 발아장치를 incubator ((주)대한과학)에 넣어 일정온도로 유지시켰다.

(2) 발아조건

발아현미의 GABA 함량 증진을 위한 적정 발아조건을 확립하기 위하여 수돗물을 발아용액으로 하여 발아시간(26, 32, 38, 48시간)과 발아온도(20, 30, 40℃)를 달리하여 발아 후 즉시 냉동건조하여 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정하였다. 그리고 발아용액이 발아현미의 GABA 함량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 100 ppm과 300 ppm의 농도의 glutamic acid, 키토산, 지베렐린 용액을 발아용액으로 이용하여 30℃, 26시간의 발아조건에서 발아현미를 제조한 후 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정하였다. 이때 키토산의 경우 분자량 차이에 따른 GABA 생성 정도의 차이를 조사하기 위해 MW < 5000, 5000 < MW < 10000, MW > 10000의 3종의 키토산을 구입((주)키토라이프)하여 이들을 발아용액으로 하여 발아현미를 제조한 후 GABA 함량을 측정하였다. 그리고 glutamic acid와 5000 < MW < 10000의 키토산 혼합용액을 발아용액으로 하여 발아현미를 제조하여 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정하였으며, 또한 여기에 calcium lactate를 혼합한 용액을 발아용액으로 하여 발아현미를 제조한 후 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정하였다.

(3) 발아후 처리조건

GABA 함량이 증진된 발아현미 제조를 위해 발아후의 처리조건을 확립하기 위해 30℃에서 26시간 동안 발아후 glutamate decarboxylase의 활성화에 가장 적합한 온도인 40℃와 발아현미에 cold stress를 줄 것으로 예상되는 온도인 4℃에서 각각 4시간 처리하는 방법, 그리고 4℃와 40℃를 1시간씩 교환하면서 반복하여 총 4시간 처리하는 방법 등을 검토하였다.

혐기처리가 발아현미의 GABA 증진에 미치는 영향을 조사하기 위하여 발아후 진공포장기를 이용하여 진공처리하거나 또는 CO₂, N₂ 가스를 이용하여 가스 치환하고 밀봉한 후 40℃에서 4시간 incubation하고 냉동건조하여 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정하였다. 또한 진공 처리후 혐기(2시간)-호기(1시간)-혐기처리(2시간)를 반복한 후 GABA 함량을 정량하였다.

(4) GABA 등의 유리아미노산 정량

환류냉각기가 부착된 추출기에서 발아현미 분말 5 g을 75% EtOH 용액 50 mL로 80℃에서 30분동안 추출한 후 여과(Whatmann No. 2)하고 남은 잔사를 동일한 조건에서 반복 추출하고 여과하였다. 여과액을 혼합하고 10000 rpm에서 원심분리하여 상정액을 분리하고 40℃에서 감압농축하여 완전히 건조시켰다. 이를 일정량 취하여 분해관에 넣어 6 N 염산용액을 가하고 질소가스를 5분간 통과시키고 나서 밀봉하여 110℃에서 가수분해시킨 다음 감압농축시켜 염산을 제거하였다. 이를 membrane filter로 여과하고 여액 중 일부를 취해 건조 tube에 넣고 유도체시약 (methanol:water:triethylamine:PITC = 7:1:1:1 혼합시약, v/v)을 첨가하여 유도체화시킨 다음 이를 감압건조하였다. 건조물을 시료희석액에 용해시킨 후 상법에 따라 HPLC로 분석하였다.

나. 발아현미의 가공중 GABA 안정성

열원에 따른 발아현미의 GABA 안정성을 조사하기 위하여 세척한 현미를 30℃에서 28시간 동안 발아시키고 열풍건조하였다. 건조한 발아현미를 30분간 물에 침지한 후 가압상태(autoclave)와 상압상태(스팀)에서 15분과 1시간 동안 열처리한 후 냉동건조하여 GABA 함량을 측정하였으며, 30분간 물에 침지한 발아현미를 대조로 하여 비교하였다. 또한 수침상태에서의 열처리 조건별 발아현미의

GABA의 열 안정성과 pH 안정성을 조사하기 위하여 제조한 발아현미를 분쇄하고 증류수로 20% 농도의 발아현미 현탁액을 제조한 후 40, 75, 100℃로 조정된 항온수조에서 30분 동안 열처리한 후 냉동건조하여 GABA 함량을 측정하였다. 이때 증류수로 제조한 20% 발아현미 현탁액을 상온에서 30분동안 방치한 것을 대조로 하여 비교하였다. 그리고 취반방법에 따른 발아현미의 GABA 안정성을 조사하기 위하여 발아현미를 전기밥솥과 압력밥솥으로 취반한 후 냉동건조하여 GABA 함량을 측정하였다.

2. 발아현미의 *in vivo*에서의 혈압강하 효능 조사

가. 발아현미 및 추출액 제조

발아현미는 현미를 세척한 후 (주)미농바이오에서 자체 제작한 발아조에서 30℃로 24시간 발아 후 건조하여 시료로 사용하였다. 백미, 현미 및 발아현미를 분쇄한 후 10배량의 75% (v/v) 메탄올 용액으로 75℃의 항온조에서 3시간씩 2회 반복 추출하였으며, 이를 40℃에서 감압농축한 후 냉동건조하여 ACE 저해효과 분석에 사용하였다.

나. ACE 저해효과

ACE 저해효과는 Cushman과 Cheung의 방법(42)에 의하여 측정하였다. 추출물 분말을 물에 용해한 시료 (30, 50, 100 mg/mL) 50 µL에 ACE 조효소액 50 µL, 10 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 100 µL를 가한 후 37℃에서 5분간 반응시켰다. 이 반응액에 기질인 HHL (hippuryl-histidyl-leucine) 용액 (27 mg/2.5 mL sodium borate buffer) 50 µL를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 µL를 가하여 반응을 종료시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 15분간 진탕 후 3000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상정액 1 mL를 취하였다. 이 상정액을 temp-block heater로 건조시킨 후 증류수 3 mL를 가하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 다음식에 의해 ACE 저해율을 산출하였다.

$$\text{ACE 저해율(\%)} = \left(1 - \frac{A}{B} \right) \times 100$$

A : 시료첨가구의 흡광도

B : 시료무첨가구의 흡광도

다. 실험동물 및 식이

실험동물은 5주령의 본태성 고혈압쥐 (Spontaneously hypertensive rats (SHRs), (주)오리엔트)를 분양받아 10주령까지 적응기와 안정기를 거친 다음 실험食이를 공급하였다. 실험군은 고혈압쥐에 표준食이를 공급한 대조군 (Control), 백미를 50% 혼합한 식이를 공급한 백미군 (Rice), 현미를 50% 혼합한 식이를 공급한 현미군 (Brown rice), 발아현미를 50% 혼합한 식이를 공급한 발아현미군 (Germinated brown rice)의 4가지 처리군으로 나누어 6주간 사육하였다. 이때 물과 식이는 자유로이 섭취하도록 공급하였고 식이는 4℃에서 보관하며 사용하였으며, 실험동물들은 환경조절된 사육실 (조명 6:00 pm~6:00 am, 온도 22±2℃)에서 분리사육하였고 각 실험군당 5마리로 하였다.

실험食이의 조성은 Table 1과 같으며, 대조군은 표준食이 (AIN-76)로 공급하였고, 백미군, 현미군, 발아현미군 등은 이들 원료의 열량과 식이섬유량을 고려하여 식이배합을 조정하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

	(g/kg)			
	Control	Rice	Brown rice	Germinated brown rice
Casein	200	166	164	163
DL-methionine	3	3	3	3
Corn starch	500	38	70	71
Sucrose	150	150	150	150
Cellulose	50	48	29	30
Corn oil	50	48	37	36
Vitamin mix ¹⁾	10	10	10	10
Mineral mix ²⁾	35	35	35	35
Choline bitartrate	2	2	2	2
Rice		500		
Brown rice			500	
Germinated brown rice				500

1) AIN vitamin mixture(g/kg mixture) : thiamine HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine HCl 700, nicotinic acid 3000, D-calcium pantothenate 1600, folic acid 200, D-biotin 20, cyanocobalamin 1, retinyl palmitate 120,000 retinol equivalents, dl- α -tocophenyl acetate 5,000IU vitamin E activity, cholecalciferol 2.5, menadione 5.0, sucrose finely powdered, to make 1,000gram.

2) AIN mineral mixture(g/kg mixture) : calcium phosphate, dibasic 500, sodium chloride 74, potassium citrate, monohydrate 220, potassium sulfate 52, magnesium oxide 24, manganous carbonate 2.5, ferric citrate 6, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.55, sucrose, finely powdered, to make 1,000gram.

라. 시료채취 및 처리

사육기간 중 실험동물의 체중은 주 1회 측정하였으며, 식이섭취량은 주 2회 일정시간에 식이급여량과 잔량을 측정하여 산출하였다. 식이효율 (feeding efficiency ratio (FER))은 6주간의 총 식이섭취량에 대한 체중증가량의 비 ($FER = \text{body weight gain(g)}/\text{feed intake(g)}$)로 계산하였다. 사육 6주간의 최종일에 16시간 절식시킨 후 에테르 마취하에서 심장채혈법으로 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 혈장을 분리하여 분석시료로 사용하였다.

마. 혈압 측정

혈압은 고혈압쥐를 혈압측정용 용기에 고정시킨 다음 30℃로 조정된 항온기에 넣어 10~15분간 안정화시킨 다음 비관혈 혈압측정기 (IITC non-invasive blood pressure analyzer, IITC Inc. Woodland Hills, California)를 이용하여 꼬리 정맥에서 수축기 혈압을 10회 반복하여 측정하였으며, 혈압측정용 용기에 고혈압쥐를 적응시키기 위하여 적응 및 사육기간 동안 매일 일정한 시간에 30분씩 혈압측정용 용기에 고혈압쥐를 고정시켜 적응과 안정을 유도하였다.

바. 혈액 성분 분석

분리한 혈장의 총 콜레스테롤 함량은 cholesterol esterase를 이용한 분석 kit (Eiken, Japan)로 500 nm에서 비색 정량하였고, HDL-콜레스테롤은 phosphotungstic-MgCl₂법(43)을 개량한 분석 kit (Eiken, Japan)로 555 nm에서 비색정량하였다. 혈장의 중성지질은 lipoprotein lipase를 이용한 분석 kit (Eiken, Japan)로 505 nm에서 비색정량하였다.

사. 통계처리

SAS (Statistical Analysis System)를 사용하여 분산분석을 행한 후 Duncan's Multiple Range Test로 각 시료간의 유의성을 검증하였다.

3. 즉석취반용 발아현미제품 개발

가. 발아현미의 식감개선

1) 현미의 도정 처리

현미의 도정처리가 발아현미의 발아특성과 식감에 미치는 영향을 조사하기 위하여 현미를 sadake mill로 도정하여 0.5분도미, 1분도미, 2분도미를 제조하였다. 현미와 도정처리한 현미의 발아 특성을 조사하기 위하여 배아의 탈락율, 발아율, α -amylase 활성을 측정하였으며, 각각의 현미와 이를 24시간 발아시킨 발아현미의 수분결합력, 용해도, 팽윤력, GABA 함량, 수분흡수속도 등의 이화학적 특성과 발아현미의 조직감을 기계적인 측정법과 관능검사를 통하여 조사하였다.

2) 효소처리

발아현미에 대한 효소처리가 발아현미의 식감에 미치는 영향을 조사하기 위하여 현미를 발아직후 건조하지 않은 상태에서 cellulase, hemicellulase, pectinase 등의 세포벽 성분 분해효소를 이용하여 다음의 조건으로 가수분해하였다. 발아직후의 발아현미 300 g을 300 mL의 buffer 용액에 현탁시킨 후 효소를 첨가한 후 각각의 반응조건 (cellulase: pH 5.0, 37°C, 1000 unit, hemicellulase: pH 4.5, 40°C, 1000 unit, pectinase: pH 4.0, 25°C, 2 mL)으로 반응시켰으며, 반응 종료 후 세척하고 열풍건조하여 분석시료로 사용하였다. 이와 같이 효소처리한 발아현미의 조직감을 기계적인 측정법과 관능검사를 통하여 조사하였다.

나. 발아현미의 즉석취반기술 개발

백미와 유사한 취반특성을 갖도록 하기 위하여 24시간 발아시켜 제조한 발아현미를 레토르트처리하고 이를 열풍건조하여 레토르트 발아현미를 제조한 후 수분결합력, 용해도, 팽윤력, GABA 함량, 수분흡수속도 등의 이화학적 특성과 조직감을 백미, 현미, 발아현미와 비교하였다. 또 발아직후 건조하지 않은 상태에서 레토르트 파우치에 담고 밀봉한 후 레토르트 처리하여 레토르트 발아현미를 제조하였으며, 침지시간에 따른 전기밥솥에서 취반시의 조직감 변화를 백미, 현

미, 발아현미와 비교하였다.

다. 현미 및 발아현미의 품질특성

1) 취반

시료 200 g과 물을 혼합하여 일정시간 침지시킨 후 전기밥솥에서 취사하였다. 이때 백미는 1:1.2, 현미, 발아현미, 건조한 레토르트 발아현미는 1:1.8, 그리고 건조하지 않은 레토르트 발아현미는 1:1.3의 비율로 물과 혼합하여 취사하였다.

2) 발아율

수돗물에 침지처리한 현미 100립을 여과지 2장을 칸 페트리디쉬에 치상하여 30℃에 방치하였으며 매일 물을 공급하여 마르지 않게 유지하면서 3일간 관찰하였다. 종자 밖으로 발아된 부분이 2 mm 이상되는 것을 발아된 것으로 보았고 발아율은 총 치상립수에 대한 누적 발아립의 비율로 나타내었다.

3) α -amylase 활성

발아현미의 α -amylase 활성은 Ceralpha α -amylase assay kit (Megazyme, Ireland)를 사용하여 측정하였다. 분말 시료 0.5 g을 취하여 100 mL 정용 플라스크에 넣고 1% sodium chloride + 0.02% calcium chloride + 0.02% sodium azide 용액으로 정용하였다. 20℃에서 15분간 저어주면서 효소를 추출하였으며, 추출액을 1,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상정액 0.5 mL를 9.5 mL 추출 buffer 용액으로 희석하고 2시간 이내에 효소활성을 측정하였다. Ceralpha α -amylase 기질용액 0.2 mL를 시험관에 넣고 40℃의 항온수조에서 5분간 유지시켜 두었으며, 추출, 희석된 효소추출액도 40℃에서 5분간 유지시켰다. Ceralpha 기질용액(0.2 mL)을 포함하는 각 시험관에 적절히 희석된 효소추출물 0.2 mL를 첨가한 후 정확히 10분간 반응시켰다 10분간 반응 후 3 mL의 반응종결 시약을 넣고 격렬하게 저어주었으며, 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 증류수를 사용하여 blank의 흡광도를 측정하였다.

α -Amylase 의 효소활성은 다음에 의해 계산하였다.

$$\text{Units/g 분말} = \Delta E_{410} \times 382$$

1 Unit은 정해진 분석조건하에서 존재하는 α -glucosidase와 glucoamylase가 1분동안 *p*-Nitrophenyl maltoheptaoside로부터 *p*-nitrophenol 1 μ mole을 생성하는데 필요로 하는 효소의 양으로 정의되며 Ceralpha Unit으로 표시되었다.

4) 수분흡수율

현미 및 발아현미 5 g을 증류수 40 mL에 침지시킨 후 여과지 위에 깔려서 표면의 물을 제거하고 무게 증가량으로부터 건물 1 g당 수분흡수량을 계산하였다.

5) 용해도와 팽윤력

현미 및 발아현미의 용해도와 팽윤력은 Schoch의 방법을 보완하여 분말시료 0.5 g을 30 mL 증류수에 분산시킨 후 80°C에서 20분간 교반하면서 가열하고 3,000 rpm으로 30분간 원심분리하였다. 그 상정액을 취하여 페놀-황산법으로 총당량을 구한 후 용해도를 계산하고, 침전물의 무게로부터 다음식에 의하여 팽윤력을 구하였다.

$$\% \text{ 용해도} = \frac{\text{상정액의 총당 함량}}{\text{시료의 무게 (건량기준)}} \times 100$$

$$\text{팽윤력} = \frac{\text{침전물의 무게}}{\text{시료의 무게 (건량기준)} \times (100 - \% \text{ 용해도})} \times 100$$

6) 수분결합력

분말시료 1.5 g을 50 mL 원심분리 튜브에 넣고 증류수 20 mL를 가하여 분산시킨 후 30°C에서 30분간 방치한 다음 25,000 \times g에서 30분간 원심분리하였다. 원심분리하여 침전된 침전물의 무게를 측정하여 건조시료 1 g에 함유된 수분 무게로 나타내었다.

7) GABA 정량

현미 및 발아현미의 GABA 정량은 Zhang 등의 방법(44)을 사용하였다. Eppendorf tube에 시료 0.1 g을 취한 후 MeOH 400 μL 를 가하고 70~80 $^{\circ}\text{C}$ 로 조정된 항온조에서 완전 건조시켰다. 여기에 70 mM LaCl_3 용액 1 mL를 가하여 10분간 흔들어 주고 13,600 $\times\text{g}$ 에서 5분간 원심분리 후 상정액 800 μL 를 0.1 M KOH 용액 160 μL 를 미리 넣어둔 eppendorf tube에 가하여 3~5분간 흔들어 주었다. 그리고 이를 13,600 $\times\text{g}$ 에서 5분간 원심분리한 후 상정액 550 μL 를 cuvette에 넣었다. 여기에 0.5 M $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 용액 200 μL , 4 mM NADP 용액 150 μL , 2.0units Gabase/mL 용액 50 μL 를 각각 혼합하고 340 nm에서 흡광도를 측정하고 여기에 20 mM α -ketoglutarate 용액 50 μL 를 가하여 실온에서 1시간 방치후 340 nm에서 흡광도를 측정하여 측정된 흡광도 값을 표준곡선에 대입하여 GABA량을 구하였으며, 다음 식으로 실제의 GABA 함량을 구하였다.

$$\text{실제 GABA량} = \text{측정된 GABA} \times (100/55.0)$$

8) 기계적 조직감

취반 후 지름이 30mm이고 높이가 15mm인 원통형 성형틀에 밥을 12 g씩 담아 성형한 후 고정틀에 넣고 texture analyzer(Stable Micro Systems, TA-XT2, UK)을 이용하여 조직감을 측정하였다. 측정조건은 plastic plunger(cylindrical type, 20mm diameter)를 사용하여 TPA를 실시하였으며, 50% strain 하에서 1 mm/sec의 속도로 10번씩 반복 측정하였다.

9) 관능검사

훈련된 관능요원을 대상으로 각 관능적 특성에 대하여 반복하여 훈련시킨 다음 밥의 경도(hardness), 찰기(adhesiveness), 질음성(moistness) 및 종합적 기호도(acceptability)를 평가하였다.

밥의 텍스처 평가

제시된 시료의 경도(hardness), 찰기(adhesiveness) 및 기호도(acceptability) 그리고 질음성(moistness)을 평가하신 후 9점법으로 표시하여 주십시오.

경도: A___ B___ C___ D___ E___

밥의 딱딱하고 연한 정도

일정량의 밥을 어금니에 놓고 한두번 씹었을 때 느껴지는 딱딱한 정도

1 약하다 9 강하다

찰기: A___ B___ C___ D___ E___

밥알간 부착성 및 으깨진 밥알의 끈적끈적한 정도

밥을 젓가락으로 열십자로 자를 때, 그리고 입안에서 3-5회 씹었을 때 밥알이 서로 흩어지지 않으며 이 사이에 붙어 있으려는 성질

1 약하다 9 강하다

질음성: A___ B___ C___ D___ E___

밥의 질고 된 정도

1 매우 되다 9 매우 질다

거친정도: A___ B___ C___ D___ E___

현미의 외피에 의한 거친 정도

1 매우 부드럽다 9 매우 거칠다

기호도: A___ B___ C___ D___ E___

밥을 씹었을 때 느껴지는 텍스처(texture)의 좋고 나쁜정도

밥의 경도, 찰기, 입안에서의 감촉 등을 종합적으로 고려하여 평가

1 나쁘다 9 좋다

Fig. 1. Sheet for sensory evaluation of texture of cooked rice

4. 발아현미의 *in vivo*에서의 비만억제 효능 평가

가. 실험동물 및 식이

실험동물은 4주령의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 분양받아 1주일간 고품 사료로 적응기간을 가진 후 실험식이를 공급하였다. 실험식이의 조성은 Table 2와 같으며, 표준식이(AIN-76)를 기준으로 비만을 유도하기 위하여 lard를 15% 공급하였고, 고콜레스테롤혈증을 유도하기 위하여 콜레스테롤을 0.5% 첨가하여 실험용 사료를 조제하였다. 실험군은 실험쥐에 표준식이를 공급한 대조군(Control), 백미를 50% 혼합한 식이를 공급한 백미군(Rice), 현미를 50% 혼합한 식이를 공급한 현미군(Brown rice), 발아현미를 50% 혼합한 식이를 공급한 발아현미군(Germinated brown rice)의 4가지 처리군으로 나누어 5주간 사육하였다. 식이는 백미, 현미, 발아현미의 열량과 식이섬유량을 고려하여 식이배합을 조정하였다. 사육 중 물과 식이는 자유로이 섭취하도록 공급하였고 식이는 4℃에서 보관하며 사용하였으며, 실험동물들은 환경조절된 사육실(조명 6:00 pm~6:00 am, 온도 22±2℃)에서 분리사육하였고 각 실험군당 10마리로 하였다.

사육기간 중 실험동물의 체중은 주 1회 측정하였으며, 식이섭취량은 주 2회 일정시간에 식이급여량과 잔량을 측정하여 산출하였다. 식이효율(feeding efficiency ratio : FER)은 5주간의 총 식이섭취량에 대한 체중증가량의 비(FER = body weight gain(g)/feed intake(g))로 계산하였다.

Table 2. Composition of experimental diets

	(g/kg)			
	Control	Rice	Brown rice	Germinated brown rice
Casein	200	166	164	163
DL-methionine	3	3	3	3
Corn starch	495	33	65	66
Cellulose	50	48	29	30
Lard	150	150	150	150
Corn oil	50	48	37	36
Vitamin mix ¹⁾	10	10	10	10
Mineral mix ²⁾	35	35	35	35
Choline bitartrate	2	2	2	2
Cholesterol	5	5	5	5
Rice		500		
Brown rice			500	
Germinated brown rice				500

1) AIN vitamin mixture(g/kg mixture) : thiamine HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine HCl 700, nicotinic acid 3000, D-calcium pantothenate 1600, folic acid 200, D-biotin 20, cyanocobalamin 1, retinyl palmitate 120,000 retinol equivalents, dl- α -tocophenyl acetate 5,000IU vitamin E activity, cholecalciferol 2.5, menadione 5.0, sucrose finely powdered, to make 1,000gram.

2) AIN mineral mixture(g/kg mixture) : calcium phosphate, dibasic 500, sodium chloride 74, potassium citrate, monohydrate 220, potassium sulfate 52, magnesium oxide 24, manganous carbonate 2.5, ferric citrate 6, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.55, sucrose, finely powdered, to make 1,000gram.

나. 시료채취 및 처리

사육 5주간의 최종일에 16시간 절식시킨 후 에테르 마취하에서 심장채혈법으로 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리후 혈장을 분리하여 분석시료로 사용하였다. 또한 간과 고환지방, 신장지방을 적출하였으며, 적출한 간과 지방은 중량을 측정후 분석시까지 -70°C 에서 냉동보관하였다. 분변은 사육 마지막 3일 동안 수집하였으며, 냉동건조한 후 분석에 사용하였다.

다. 지질 및 콜레스테롤 분석

분리한 혈장의 총 콜레스테롤 함량은 cholesterol esterase를 이용한 분석 kit (Eiken, Japan)로 500 nm에서 비색정량하였고, HDL-콜레스테롤은 phosphotungstic-MgCl₂법(43)을 개량한 분석 kit(Eiken, Japan)로 555 nm에서 비색정량하였다. 혈장의 중성지질은 lipoprotein lipase를 이용한 분석 kit(Eiken, Japan)로 505 nm에서 비색정량하였다.

간의 지질은 Folch 등의 방법(44) 따라 간 2 g에 10배량의 용매(chloroform : methanol = 2:1)를 가하여 지질을 반복추출하고 용매를 휘발시켜 지질을 얻었으며 추출한 지질을 ethanol로 15 mL로 정용하고 혈장에서의 분석과 동일한 방법으로 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지질 등을 측정하였다. 또한 변의 지질도 Folch 등의 방법에 따라 냉동건조시킨 변 2 g을 동일한 용매로 지질을 반복추출하고 동일한 방법으로 콜레스테롤 등을 분석하였다.

라. 통계처리

SAS(Statistical Analysis System)를 사용하여 분산분석을 행한 후 Duncan's Multiple Range Test로 각 시료간의 유의성을 검증하였다.

5. 발아현미의 고혈압 억제 효능 평가 임상시험

가. 발아현미밥 제조

발아현미는 이천 미곡종합처리장에서 구입한 현미를 세척한 후 (주)미농바이오에서 자체 제작한 발아조에서 30℃로 26시간 발아 후 건조하여 제조하였다. 임상시험을 위한 발아현미밥은 (주)새아침의 취반설비와 급속냉동설비를 사용하여 제조하였다. 제조한 발아현미와 백미를 동일 비율로 혼합하여 취반솥에 담고 물을 부어 일정시간 불린 후 가스버너로 직화하여 취반하였다. 취반 후 플라스틱 용기에 원료쌀 100 g에 해당하는 발아현미밥 약 250 g씩을 수작업으로 플라스틱 용기에 담은 후 냉동설비로 급속냉동하고 비닐포장지로 sealing하여 플라스틱 용기 1개에 발아현미 50 g과 백미 50 g이 함유되는 것으로 하였다.

나. 조사 대상자

연구에 참여한 조사 대상자는 JNC VI의 고혈압 기준에 따라 $140 < \text{SBP} < 159$, $90 < \text{DBP} < 109$ 의 범위에 해당하는 경증의 고혈압 환자 17명을 선발하여 본 연구에 참여토록 하였다. 고혈압 환자는 대구시에 소재한 Y 대학병원에 내원한 환자와 한국식품개발연구원에 근무중인 사람 중에서 해당 혈압을 나타내는 사람들을 대상으로 하였다. 또한 만 18세 이상이면서, 현재 고혈압 치료를 받지 않고 기타 질병이 없으며 임신중이지 않은 사람들을 기준으로 선정하였다. 환자들은 시험기간 중 식습관, 운동, 수면, 근무, 흡연, 음주 등의 생활습관을 평소대로 유지하도록 하였으며 본 시험에 대한 동의 및 주의사항이 기재된 참여동의서를 제출하도록 하였다. 본 시험을 위한 임상시험 계획서를 작성하였으며 이를 Y 대학병원의 윤리위원회에 상정하여 허가를 득한 후 임상시험을 실시하였다.

다. Protocol

발아현미를 1일 50 g 섭취하는 발아현미 50 g군과 1일 100 g 섭취하는 발아현미 100 g군, 즉 1일 플라스틱 용기 1개의 발아현미밥을 섭취하는 처리군과 플라스틱 용기 2개의 발아현미밥을 섭취하는 처리군의 2가지 처리군으로 조사 대

상자를 무작위로 배정하여 구분하여 시험을 실시하였다. 연구기간은 총 8주로 하여 2주간의 관찰기간과 6주간의 시험기간으로 구분하였는데, 관찰기간 동안 발아현미밥을 섭취하지 않으면서 혈압, 혈액채취 및 분석, 소변 및 신체 검사 등을 수행하였다. 시험기간 동안에는 발아현미밥을 섭취하면서 3주 경과 후 혈압을 측정하였고 또 6주간의 시험 종료후 다시 혈압과 혈액, 소변분석을 실시하였다. 그리고 혈압 및 기타 분석을 위해 병원을 방문할 때마다 발아현미밥 섭취동안 발생한 부작용 등에 대해 질문하여 증례기록지에 기록하였다.

라. 혈압 및 혈액, 소변 분석

혈압과 심장박동수는 전자식 혈압계(Omron T4, Omron Co., Japan)를 이용하여 조사 대상자들을 09:00와 11:30 사이에 방문하도록 하여 5분 이상 안정을 취하도록 한 후 측정하였다. 평균 혈압(Mean Blood Pressure)은 다음의 공식을 이용하여 산출하였다.

$$MBP = DBP + 1/3(SBP-DBP)$$

혈압강하 효과는 평균혈압의 13 mmHg 하강의 감소(decreased), 7~12 mmHg 하강의 감소경향(mildly decreased), ± 6 mmHg의 불변(no change), 7 mmHg 상승의 증가(increased)의 4단계로 구분하여 분석하였다.

혈액은 공복상태에서 상완정맥에서 채취하여 혈액 자동 분석기(Coulter STKS, Coulter Electronics Co.)로 분석하였으며, 백혈구, 적혈구, 혈소판, 헤모글로빈, 헤마토크리트 등은 whole blood를, 혈당, BUN, creatinine, 콜레스테롤 등은 혈액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈청을 이용하여 측정하였다.

마. 통계처리

SAS(Statistical Analysis System)를 사용하여 분산분석을 행한 후 Duncan's Multiple Range Test로 각 시료간의 유의성을 검증하였다.

6. 고농도 GABA 함유 발아현미 및 즉석취반용 발아현미의 저장성 검토 및 산업적 생산공정 확립

가. 저장

GABA를 고농도로 축적시킨 발아현미와 즉석취반이 가능하도록 레토르트 처리한 발아현미의 저장성을 검토하기 위하여 37℃로 조정된 incubator에서 4주간 보관하면서 과산화물가와 lipoxygenase 활성의 변화 등의 이화학적 특성과 이미, 이취 발생정도 등의 관능적 특성을 조사하였다. 이때 레토르트 발아현미는 발아시킨 것을 레토르트 처리후 건조시킨 발아현미와 발아직후 파우치 포장한 채로 레토르트 처리하여 건조되지 않으면서 공기와의 접촉이 제한된 발아현미로 구분하여 조사하였다.

나. 저장 중 품질특성 변화 조사

1) 과산화물가

Folch법을 통해 얻은 시료 중의 지방 1 g에 25 mL의 acetic acid: chloroform(3:2) 혼합액과 1 mL의 포화 KI 용액을 첨가하고 암소에서 5분간 방치한 후 증류수 75 mL를 첨가하여 0.01 N Na₂S₂O₃ 용액으로 적정하였고 이때 지시약은 1% 전분용액을 사용하였다.

2) Lipoxygenase 활성

1 mM linoleic acid를 50배 희석한 2.9 mL와 10배 희석한 조효소액 0.1 mL를 cuvette에 넣고 반응시켜 얻은 과산화물을 243 nm에서의 흡광도 변화로 측정하였으며, 이 때 온도를 25℃로 하였다. Blank는 cuvette에 기질 2.9 mL와 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0) 0.1 mL를 첨가한 것으로 하였으며 분당 0.001의 흡광도 증가를 1 uni으로 하였다.

3) 관능검사

훈련된 관능요원을 대상으로 각 관능적 특성에 대하여 반복하여 훈련시킨

다음 밥의 이미, 이취 발생정도에 대해 평가하였다.

4) 통계처리

SAS(Statistical Analysis System)를 사용하여 분산분석을 행한 후 Duncan's Multiple Range Test로 각 시료간의 유의성을 검증하였다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. GABA 증진기술 개발

가. 발아현미의 GABA 함량 증진 조건

1) 적정 발아조건 확립

발아현미의 GABA 함량을 증진시키기 위한 적정 발아조건을 확립하기 위하여 30℃로 조정된 발아조에서 26~48시간 동안 수돗물 내에서 발아시킨 후 곧바로 냉동건조하여 GABA 등의 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 발아시간이 증가함에 따라 GABA의 경우 발아 26시간의 620.8 nM/g에서 서서히 증가하여 발아 38시간 경과시 733.7 nM/g을 나타낸 이후부터 급격히 증가하기 시작하여 발아 48시간 경과시 1703.7 nM/g의 GABA 함량을 나타내었다. 이 시간동안 glutamic acid, alanine 등 가장 대표적인 아미노산 등도 각각 306.5~540.0 nM/g, 813.2~1694.8 nM/g을 나타내어 발아시간이 경과함에 따라 이들 유리아미노산의 함량도 크게 증가하였으며, 총 유리아미노산의 함량도 발아 26시간 경과시의 3128.9 nM/g에서 발아 48시간 경과시의 7543.5 nM/g으로 크게 증가하는 것으로 나타났다. 이때 현미의 경우 GABA 440.2 nM/g, glutamic acid 464.0 nM/g, alanine 228.3 nM/g 그리고 총 유리아미노산 2972.3 nM/g의 함량을 나타내어 발아에 의해 GABA는 물론 대부분의 유리아미노산 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Oh 등(45)은 발아에 의해서 총 단백질 함량은 감소하고 전체 유리 아미노산의 함량은 증진되는 것으로 보고하여 현미 발아과정에 있어 총 단백질의 함량 감소는 유리 아미노산 함량 증진과 연결되어 있다고 하였다.

Table 3. Changes in free amino acids content of germinated brown rices in different germination time

		(nM/g)			
Amino acid	Brown rice	Germinated brown rice			
		Germination time (hrs)			
		26	32	38	48
ASP	414.8	89.9	76.0	109.5	107.8
GLU	464.0	306.5	332.2	448.4	540.0
ASN	507.0	57.0	64.0	55.4	120.1
SER	188.1	157.9	209.2	167.6	341.9
GLN	142.8	64.3	62.0	63.5	133.5
HIS	52.7	71.6	78.4	115.2	162.1
GLY	49.6	93.5	93.9	83.3	156.9
ARG	100.2	146.3	168.6	250.6	439.2
THR	61.0	99.9	97.2	65.7	118.5
ALA	228.3	813.2	899.6	1165.1	1694.8
GABA	440.2	620.8	659.3	733.7	1703.7
PRO	64.6	73.0	81.8	116.8	232.7
TYR	21.6	55.1	66.7	74.4	221.8
VAL	47.4	92.9	113.0	159.8	440.6
MET	9.4	35.4	39.6	58.0	102.1
CYS	4.8	2.4	1.2	12.7	11.6
ILE	23.4	42.5	51.3	74.5	226.0
LEU	25.0	92.0	115.3	116.3	399.7
PHE	27.3	45.8	55.3	87.5	220.2
TRP	56.4	86.5	88.3	40.1	83.1
LYS	43.8	52.4	59.9	119.7	147.2
Total	2972.3	3128.9	3408.3	4417.8	7543.5

발아용액을 달리하여 발아현미를 제조한 후 발아용액이 발아현미의 GABA 등의 유리아미노산 함량에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 4와 같다. GABA의 경우 수돗물로 제조하였을 때의 620.8 nM/g에 비해 glutamic acid 100~300 ppm 용액으로 제조하였을 때 593.4~633.4 nM/g으로 거의 변화가 없는 것으로 나타나 glutamic acid가 발아현미의 GABA 증진에 효과가 없었으며, 총 유리아미노산의 함량도 수돗물의 3128.9 nM/g에서 2960.4~3368.4 nM/g으로 거의 변화가 없었다. 또 elicitor로 이용되고 있는 chitosan을 분자량별로 구분하여 용액 제조후 발아현미를 제조하였을 때 분자량 분포에 상관없이 제조한 발아현미의 GABA 함량은 594.1~662.0 nM/g의 분포를 나타내어 첨가된 chitosan이 발아현미의 GABA 함량 증진에 거의 효과가 없음을 알 수 있었다. 총 유리아미노산의 함량도 3139.2~3498.6 nM/g의 분포를 나타내어 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 100 ppm의 gibberellic acid 용액으로 제조한 발아현미의 GABA 함량은 585.7 nM/g으로 수돗물로 제조한 발아현미에 비해 다소 낮은 값을 나타내었으나 glutamic acid와 alanine 등의 기타 유리아미노산의 함량은 상당히 증가하여 총 유리아미노산의 함량이 크게 증진된 4003.6 nM/g으로 나타나 첨가된 gibberellic acid가 현미발아시 활성화되는 protease 등의 단백질 가수분해 효소를 더욱 활성화하여 유리 형태의 아미노산을 많이 생성시키지만 GABA의 생성에는 거의 영향을 미치지 않기 때문인 것으로 판단된다.

한편 Oh 등은 glutamic acid 용액(46)과 키토산 용액(47) 및 이들의 혼합용액(45)으로 현미를 발아시켜 발아현미 중의 GABA 함량을 크게 증진시킬 수 있다고 하여 본 연구와 다른 결과를 보고한 바 있다. 고등식물은 chitin과 chitosan을 함유하고 있지 않으나 chitinase와 chitosanase와 같은 분해효소를 가지고 있으며, chitosan은 식물세포에서 chitinase의 생성 유도작용, phytoalexin의 축적, proteinase inhibitor의 합성 등과 같은 방어기작을 촉진(48,49)시키는 것으로 알려져 있어 식물체의 자기보호기능 향상과 식물세포의 활성화를 통하여 생장을 촉진하는 효과가 크다고 할 수 있다. 그러나 본 연구에서는 이와 같은 기작에 의한 GABA 증진효과가 전혀 나타나지 않았다.

Table 4. Changes in free amino acids of germinated brown rices in various germination solutions

Solution	Conc. (ppm)	Free amino acid (nM/g)				
		GABA	Glutamic acid	Alanine	Total	
Tap water	-	620.8	306.5	813.2	3128.9	
Glutamate	100	633.4	297.8	1005.0	3368.4	
	300	593.4	280.9	948.4	2960.4	
Chitosan	MW <5000	100	594.1	283.4	1010.8	3204.7
		300	607.6	287.8	1046.6	3458.4
	5000 < MW < 10000	100	622.7	297.8	1005.0	3139.2
		300	600.6	296.5	997.7	3498.6
	MW >10000	100	628.1	289.8	866.2	3204.7
		300	662.0	293.6	793.8	3248.4
Gibberellic acid	100	585.7	388.3	1221.7	4003.6	

현미발아시 GABA 생성 증진은 주로 glutamate를 GABA로 전환시키는 glutamate decarboxylase (GAD)의 작용에 의한 것으로 알려져 있으며, 식물체에서 얻어진 GAD는 카르복실기 말단에 calmodulin과 결합할 수 있는 부위를 가지고 있어 calcium과 결합한 calmodulin이 이 결합부위에 결합하면 GAD가 활성화되는 calcium/calmodulin 의존형인 것으로 밝혀져 있다(50,51). Oh(52)는 calcium과 calmodulin의 첨가가 GAD의 활성화에 미치는 영향을 조사하여 calcium과 calmodulin이 GAD의 활성을 증진시키는 물론 혼합사용시 GAD 활성이 크게 증진됨을 확인한 바 있다. 이에 따라 본 연구에서도 GAD 활성 증진에 의한 발아현미의 GABA 함량 증진에 대한 효과를 조사하기 위하여 glutamic acid 100 ppm, chitosan(5000 < MW < 10000) 100 ppm 혼합용액에 calcium lactate 100 ppm을 혼합한 발아용액을 사용하여 현미를 발아시켜 GABA 등의 유리아미노산

함량을 조사하였다. 그 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 수돗물로 제조한 발아현미의 경우 620.8 nM/g의 GABA 함량을 나타낸 반면 glutamic acid의 경우 633.4 nM/g, glutamic acid와 chitosan 혼합용액의 경우 583.1 nM/g 그리고 이에 calcium lactate를 혼합한 혼합용액의 경우 609.6 nM/g의 GABA 함량을 나타내어 glutamic acid, chitosan, calcium lactate 등의 첨가가 발아현미의 GABA 함량 증진에 거의 영향을 미치지 못함을 확인할 수 있었다. 발아현미의 glutamic acid 함량에서는 glutamic acid 및 기타 혼합용액의 사용에 의해 다소 감소하는 것으로 나타났지만 총 유리아미노산의 함량에 있어서는 3128.9~3368.4 nM/g의 분포를 나타내어 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.

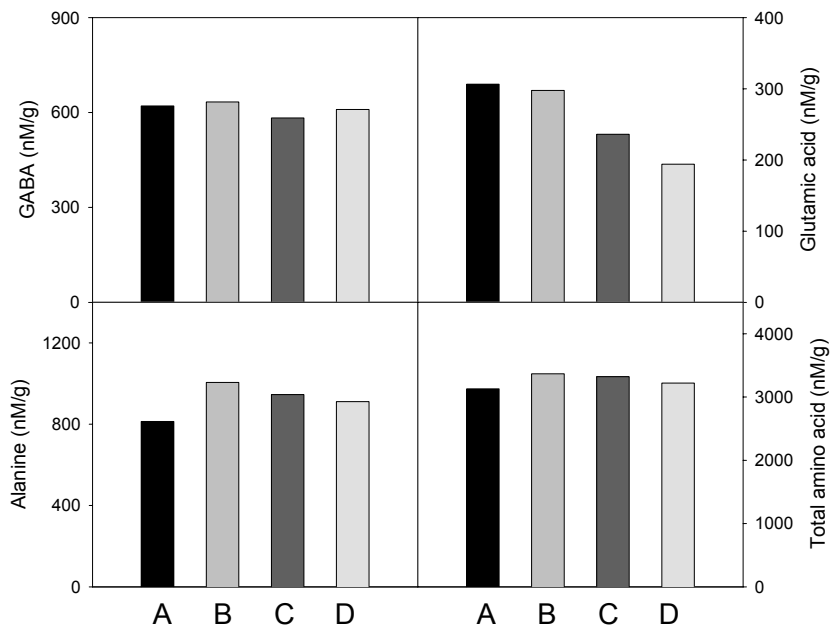


Fig. 2. Effect of calcium lactate addition on free amino acids contents of germinated brown rices

A: Tap water, B: Glutamic acid 100 ppm, C: Glutamic acid 100 ppm + chitosan 100 ppm, D: Glutamic acid 100 ppm + chitosan 100 ppm + calcium lactate 100 ppm

2) 발아후 적정 처리조건 확립

현미발아시 GABA 생성량은 앞선 결과에서 살펴본 바와 같이 일반적으로 발아시간이 증가함에 따라 급증하는 것으로 알려져 있는데 이는 GABA 생성에 주요한 역할을 하는 glutamic acid decarboxylase (GAD)의 활성이 발아시간이 증가함에 따라 함께 증가하기 때문인 것으로 추정된다. 따라서 일정시간 발아후, 즉 GAD의 활성이 충분히 높은 시점에 GABA의 생성을 더욱 높이기 위해 지금까지 알려진 여러 가지 처리를 한다면 GABA 함량이 크게 증진된 발아현미를 제조할 수 있을 것으로 기대된다. 그리하여 30℃에서 26시간 동안 발아시킨 발아현미를 이용하여 저온처리, 혐기처리 등의 물리적 처리를 통하여 발아현미의 GABA 함량을 증진시키고자 하였다. Saikusa 등(53)이 쌀 곡립을 수침할 때 수침조건의 변화에 따른 GABA 등의 유리 아미노산의 분포를 조사하여 GABA 생성을 위한 최적 조건을 온도 40℃, pH 5.5라고 보고한 결과를 토대로 발아 직후 GABA 생성 최적온도인 40℃에서 일정시간 incubation 후 냉동건조하여 GABA 함량을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. Incubation 시간이 증가함에 따라 GABA 등의 유리아미노산 함량이 지속적으로 증가하였으며 GABA의 경우 발아직후의 620.8 nM/g에서 4시간 incubation시 933.2 nM/g으로 크게 증가하였고 총 유리아미노산의 경우 3128.9 nM/g에서 4814.1 nM/g으로 증가하는 것으로 나타났다. 40℃에서의 incubation에 의해 GAD를 비롯한 단백질 가수분해효소 등의 작용에 의해 GABA는 물론 각종 유리아미노산의 함량도 크게 증가함을 알 수 있었다.

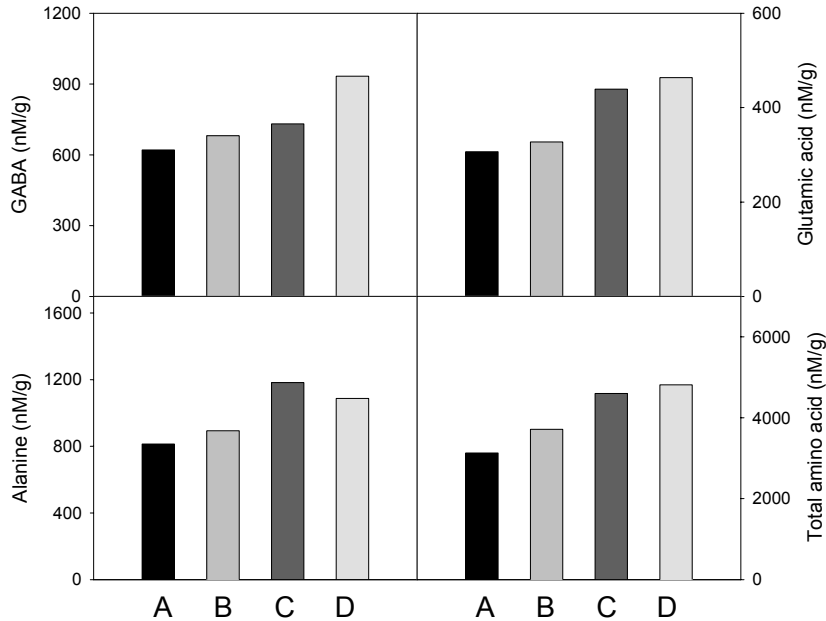


Fig. 3. Changes in free amino acids contents of germinated brown rices incubated in 40°C at different incubation time after germination in 30°C for 26 hrs

A: Control, B: Incubated for 1 hr, C: Incubated for 2 hrs, D: Incubated for 4 hrs

식물체가 산소부족이나 저온 등과 같은 이상 환경에 처하게 되면 호흡과 대사작용이 교란되어 조직내의 각종 화합물 함량이 변화하게 되고 유리아미노산은 식물체가 이상환경에 처하게 될 때 함량이 크게 변화하게 되는 대표적인 화합물이다(54). 따라서 현미 발아시 저온 또는 혐기처리시 GABA를 비롯한 각종 유리아미노산의 증가를 기대할 수 있을 것이다.

먼저 저온처리에 의한 발아현미의 GABA 증진 효과를 조사하기 위하여 발아직후 4°C에서 4시간, 8시간 incubation한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 40°C에서의 incubation과 마찬가지로 incubation 시간이 증가함에 따라 GABA 등의

유리아미노산 함량이 크게 증가하는 것으로 나타났다. GABA의 경우 발아직후의 620.8 nM/g에서 incubation 시간이 경과함에 따라 각각 914.0 nM/g, 1107.3 nM/g으로 증가하였고 총 유리아미노산도 4435.8 nM/g, 5846.6 nM/g으로 증가하는 것으로 나타났다. 한편 발아직후 4℃와 40℃를 1시간씩 반복처리한 경우 Fig. 5에서 보는 바와 같이 GABA의 경우 4℃와 40℃의 905.0~914.0 nM/g에 비해 1295.8 nM/g으로 상당히 증가하여 반복처리에 의한 상승효과가 있음을 알 수 있었다. 특히 glutamic acid의 경우 반복처리에 의해 4℃, 40℃ 처리시의 450.1~560.8 nM/g에 비해 다소 감소된 438.1 nM/g인 것으로 나타나 감소한 glutamic acid가 GABA의 증가량으로 연결된 것으로 판단된다.

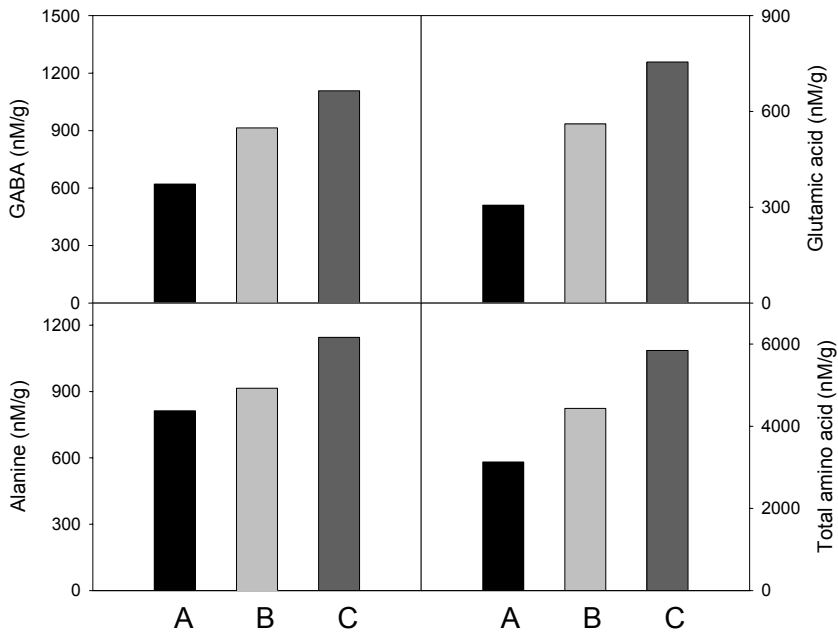


Fig. 4. Changes in free amino acids contents of germinated brown rices incubated in 4℃ at different incubation time after germination in 30℃ for 26 hrs

A: Control, B: Incubated for 4 hrs, C: Incubated for 8 hrs

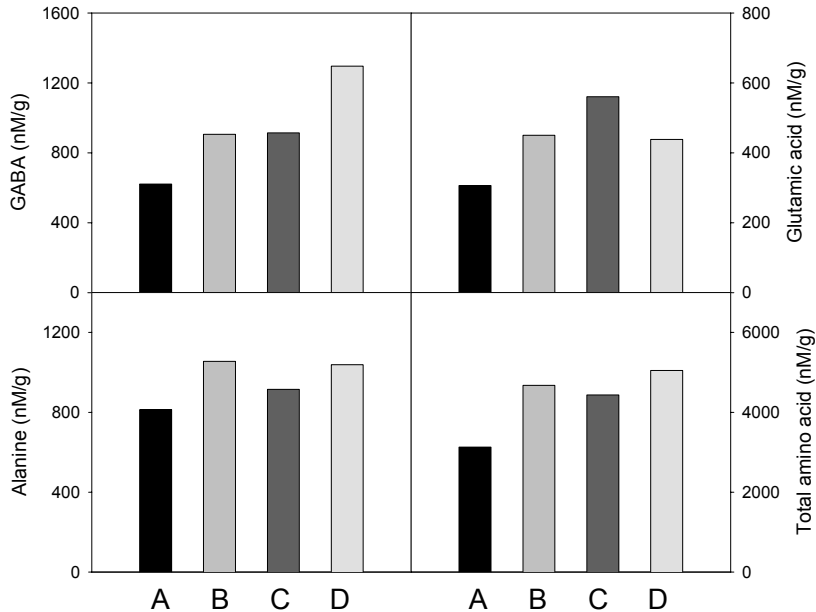


Fig. 5. Effect of incubation conditions on free amino acids contents of germinated brown rices

A: Control, B: Incubated at 40°C for 4 hrs, C: Incubated at 4°C for 4 hrs, D: Incubated at 4°C and 40°C repeat

한편 혐기처리에 의한 발아현미의 GABA 증진효과를 조사하기 위하여 발아 직후 발아현미를 진공, 질소가스 충전, 탄산가스 충전 등으로 혐기처리하고 이를 40°C에서 4시간 incubation한 후 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. GABA의 경우 발아직후의 620.8 nM/g, 40°C에서 4시간 incubation 후의 933.2 nM/g에 비해 혐기처리시 1848.4~1982.4 nM/g으로 혐기처리에 의해 GABA 함량이 크게 증가하였으며 처리방법간에는 큰 차이를 나타내지 않는 것으로 나타났다. Glutamic acid의 경우에는 혐기처리에 의해 40°C에서 4시간 incubation 시의 463.6 nM/g에 비해 상당히 감소하는 것으로 나타났고 특히 탄산가스 충전시에는 175.7 nM/g으로 크게 감소하였다. 총 유리아미노산의

분포에 있어서는 진공처리시 7229.5 nM/g으로 가장 높은 값을 나타낸 반면 질소가스, 탄산가스 충전시에는 각각 6496.9 nM/g, 5515.9 nM/g을 나타내어 혐기처리에 의해 총 유리아미노산의 함량도 증가하는 것으로 나타났다.

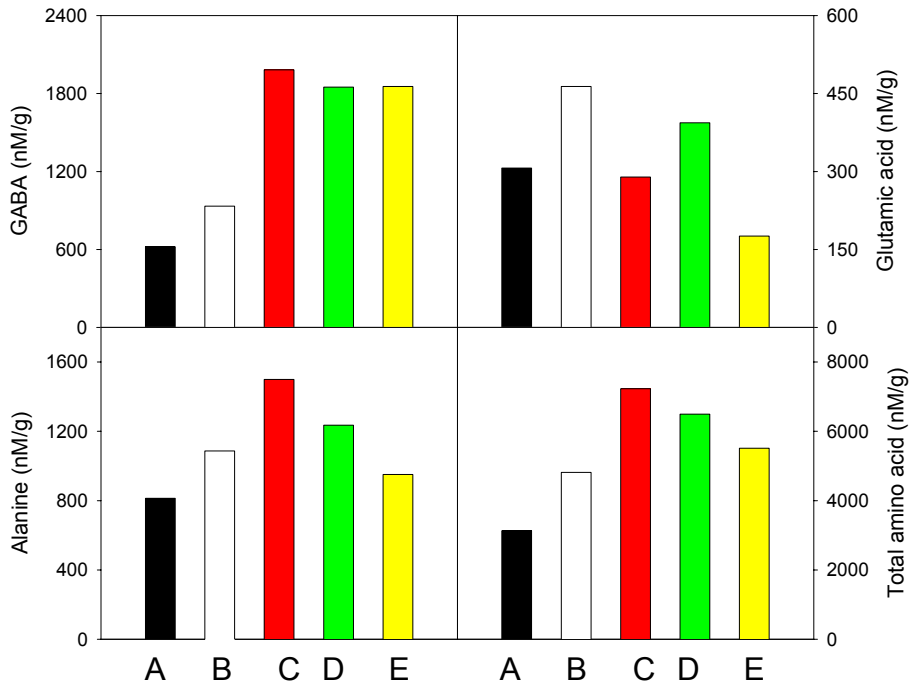


Fig. 6. Changes in free amino acids contents of germinated brown rices treated in different anaerobic conditions

A: Control, B: Treated at 40°C for 4 hrs, C: Treated with vacuum at 40°C for 4 hrs, D: Treated with N₂ gas at 40°C for 4 hrs, E: Treated with CO₂ gas at 40°C for 4 hrs

식물체가 혐기상태, 저온, 기계적인 자극과 같은 환경적인 스트레스 조건에 처하게 되는 경우 크게 변하는 아미노산은 GABA, alanine, glutamic acid, aspartic acid 등이다. Alanine과 GABA는 혐기상태에 있는 식물체의 잎에서 증

가하고 glutamic acid와 aspartic acid는 혐기상태에서 함량이 크게 감소한다(54-56). Aspartic acid는 glutamic acid가 부족하면 α -ketoglutarate와 반응하여 glutamic acid와 oxaloactate로 변하고 glutamic acid는 pyruvate와 반응하여 alanine으로 전환되는 경로를 통하는 것으로 예측된다(55). 한편 72시간 발아시킨 볏씨에 혐기적 조건을 가할 경우 총 단백질의 함량은 감소하는 반면 유리 아미노산의 함량은 증진되는 것으로 조사된 바 있다(57). 이는 볏씨와 현미가 발아하여 성장하는 과정 중 각종 환경적인 요인을 만나면 저장된 단백질을 분해하거나 새로운 단백질 합성을 지연시켜 아미노산 pool에 영향을 주어 특정 아미노산의 함량을 증진시킴을 보여주는 것이다.

혐기처리에 의해 아미노산 함량이 변화하는 기작 중의 하나는 혐기처리에 의해 세포내 미소기관의 막이 파괴되어 세포질이 산성화되기 때문인 것으로 생각되고 있다. 대부분의 아미노산 합성 및 대사과정에 관여하는 효소는 세포질에 존재하고 있기 때문에 세포질의 pH 변화는 아미노산의 합성과 대사과정에 관여하는 효소계의 활성에 영향을 미치게 된다(58). GABA 합성에 관여하는 GAD의 최적 pH는 5.9인 반면 GABA의 NH_2 기 전이에 관여하는 γ -aminobutyrate:pyruvate transaminase의 최적 pH는 8.9이다(59). 따라서 세포가 산성화되면 GABA 형성에 관여하는 GAD의 활성은 증가하지만 transaminase의 활성은 억제되어 결과적으로 GABA가 축적되게 된다. 더욱이 GABA는 glutamic acid가 GAD에 의해 탈탄산되는 한 단계의 반응에 의해 형성되므로 혐기상태에서의 GABA의 증가는 glutamic acid의 감소를 가져오게 된다.

저온상태나 상처에 의해서도 식물체의 유리 아미노산 함량이 변화한다. 혐기 처리 이외의 기계적 손상이나 저온처리에 따른 아미노산 함량 변화 기작에 대해서는 잘 알려져 있지 않지만 아미노산 생합성 및 대사과정이 미생물에서 고등동물에 이르기까지 크게 다르지 않기 때문에 혐기처리 이외의 처리에 의한 아미노산 함량의 변화도 혐기처리의 경우와 유사한 기작에 의해 나타날 것으로 추측되고 있다.

나. 발아현미의 가공중 GABA 안정성

발아현미의 가공중 GABA 안정성을 조사하기 위하여 콩나물 제조장치를 이용하여 30℃에서 현미를 28시간 발아하여 발아현미를 제조하여 건조하였다. 건조한 발아현미를 30분간 물에 침지한 후 가압상태(autoclave)와 상압상태(스팀)에서 15분과 1시간 동안 열처리한 후 냉동건조하여 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정하였으며, 30분간 물에 침지한 발아현미를 대조로 하여 비교하였다. 그 결과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 30분간 물에 침지한 발아현미의 경우 1287.7 nM/g의 GABA 함량을 나타낸 반면 autoclave로 15분 및 1시간 열처리한 경우 각각 1059.9 nM/g과 844.2 nM/g의 GABA 함량을 나타내어 대조구에 비해 autoclave 열처리에 의해 GABA 함량이 감소하였고 autoclave 시간의 증가에 의해서도 GABA 함량이 감소하였다. 스팀처리에 의해서도 15분과 1시간 처리시 각각 1145.3 nM/g과 1040.9 nM/g의 GABA 함량으로 열처리 시간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내어 autoclave 처리와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 autoclave 처리에 비해서는 다소 높은 GABA 함량을 나타내어 GABA 함량이 열처리 정도에 영향을 많이 받음을 알 수 있었다. Glutamic acid, alanine 등의 기타 유리아미노산은 물론 총 유리아미노산에서도 GABA 함량과 동일한 경향을 나타내었다.

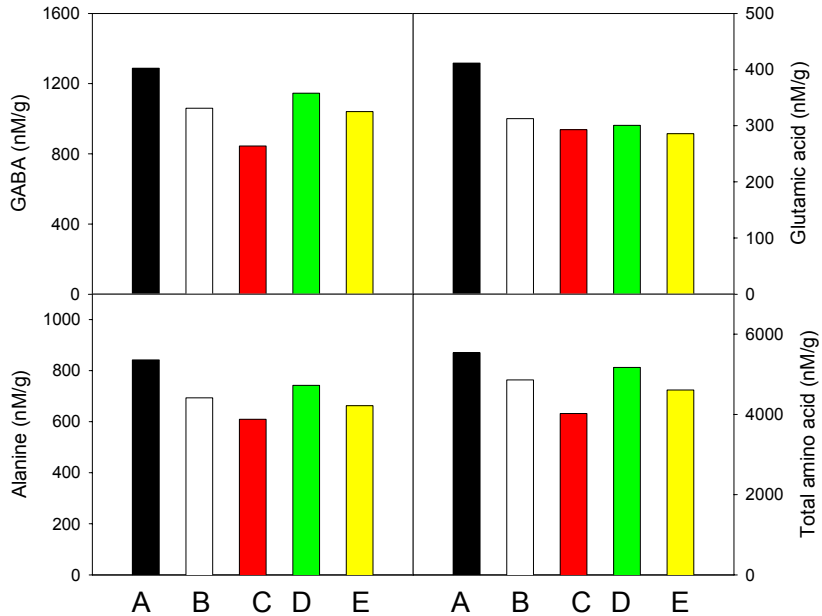


Fig. 7. Effect of heat treatment conditions on free amino acids contents of germinated brown rice

A: Control, B: Autoclaving for 15 min, C: Autoclaving for 1 hr, D: Steaming for 15 min, E: Steaming for 1 hr

수침상태에서의 열처리 조건별 발아현미의 GABA의 열 안정성을 조사하기 위하여 제조한 발아현미를 분쇄하고 증류수로 20% 농도의 발아현미 현탁액을 제조한 후 75, 100℃로 조정된 항온수조에서 30분 동안 열처리한 후 냉동건조하여 GABA 함량을 측정하였으며, 이때 증류수로 제조한 20% 발아현미 현탁액을 상온에서 30분동안 방치한 것을 대조로 하여 비교하였다. 그 결과 Fig. 8에서 보는 바와 같이 현탁액을 30분동안 방치한 대조구의 경우 1144.5 nM/g의 GABA 함량을 나타낸 반면 70℃와 100℃에서 30분간 열처리한 경우 각각 913.7, 893.9 nM/g의 GABA 함량을 나타내어 열처리에 의해 다소 감소된 GABA 함량을 나타내었고 총 유리아미노산의 함량도 대조구의 5167.3 nM/g에서 열처리시 각각

4770.3, 4698.8 nM/g으로 약간 감소하는 것으로 나타나 GABA 등의 유리아미노산 함량이 가압 및 상압상태에서의 열처리에서와 마찬가지로 열처리에 의해 감소하는 것으로 나타났다.

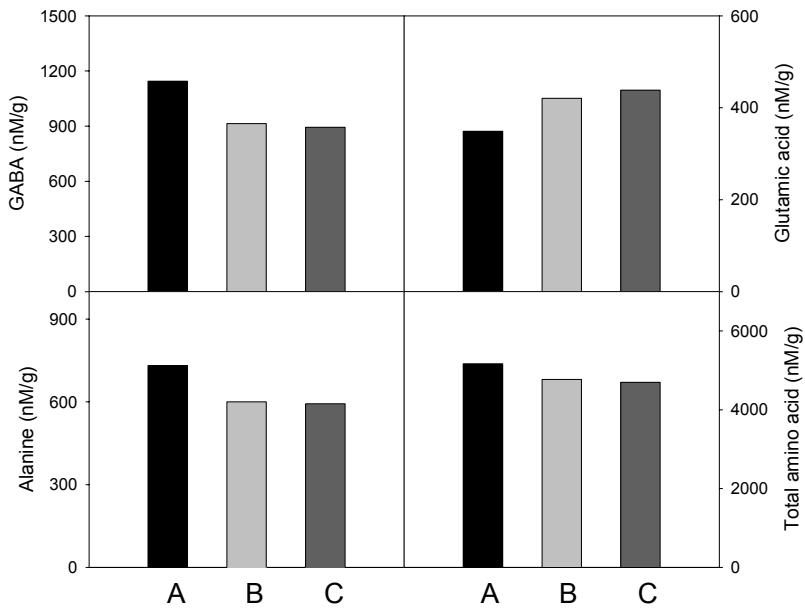


Fig. 8. Changes in free amino acids contents of germinated brown rices in different heating conditions

A: Control, B: 75°C for 30 min, C: 100°C for 30 min

취반방법에 따른 발아현미의 GABA 등의 유리아미노산 함량을 조사하기 위하여 제조한 발아현미를 이용하여 압력밥솥과 전기밥솥으로 취반후 냉동건조하여 GABA 등의 유리아미노산 함량을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 전기밥솥으로 취반한 발아현미가 836.6 nM/g의 GABA 함량을 나타내었고, 압력밥솥으로 취반한 발아현미의 경우 821.3 nM/g의 GABA 함량을 나타내어 취반방법에 따른 차이가 거의 없었다. 이와 마찬가지로 glutamic acid, alanine 등의 기타 유리아미

노산의 함량에 있어서도 거의 차이가 없었으며, 총 유리아미노산의 경우에도 각각 4027.4 nM/g과 4108.1 nM/g을 나타내어 취반방법에 따른 유리아미노산의 분포 및 함량에 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 5. Changes in free amino acids content of germinated brown rices in different cooking methods

Amino acid	(nM/g)	
	Cooking method	
	Without pressure	With pressure
ASP	186.1	179.5
GLU	186.2	229.3
ASN	102.4	166.0
SER	213.5	218.5
GLN	81.4	56.3
HIS	135.4	135.5
GLY	111.1	131.9
ARG	311.2	310.0
THR	90.5	96.7
ALA	523.7	603.0
GABA	836.6	821.3
PRO	117.7	121.0
TYR	124.6	113.5
VAL	204.7	187.8
MET	46.5	42.1
CYS	20.5	16.9
ILE	100.9	88.3
LEU	191.1	168.9
PHE	192.5	181.5
TRP	79.0	72.5
LYS	171.7	167.7
Total	4027.4	4108.1

2. 발아현미의 *in vivo*에서의 혈압강하 효능 평가

가. ACE 저해효과

백미, 현미, 발아현미 등으로부터 75% 메탄올 추출물을 얻고 이들의 ACE 저해효과를 측정한 결과는 Table 6과 같다. 추출물 농도 30~100 mg/mL에서 백미는 37.9±11.2~59.1±8.8%, 현미는 51.9±4.7~77.9±10.9%, 그리고 발아현미는 50.1±6.0~84.3±3.3%의 저해율을 나타내어 백미에 비해서 현미와 발아현미의 ACE 저해효과가 상당히 높은 것으로 나타났으며, 현미 보다는 발아현미가 유의적으로 약간 높은 ACE 저해효과를 나타내었다. 발아현미의 높은 ACE 저해효과는 발아에 의해 고분자의 단백질이 가수분해되어 ACE 저해효과를 나타낼 수 있는 저분자의 펩티드가 생성되었기 때문인 것으로 추정된다. 한편 Rhyu 등(14)은 여러 가지 곡류, 두류 등의 물 추출물 및 단백질 가수분해물에 대해 ACE 저해효과를 분석한 결과 메밀, 콩 등의 물 추출물에서 상대적으로 높은 저해효과를 나타낸 반면 백미와 현미의 물 추출물은 저해효과를 나타내지 않는다고 하여 본 연구와는 상이한 결과를 보고한 바 있다.

Table 6. Inhibitory effect of extracts of rice, brown rice and germinated brown rice against ACE activity

(%)

Concentration (mg/mL)	Rice	Brown rice	Germinated brown rice
30	37.9±11.2 ^{a1,2)}	51.9±4.7 ^b	50.1±6.0 ^b
50	51.4±3.4 ^a	57.0±4.2 ^{ab}	62.4±7.2 ^b
100	59.1±8.8 ^a	77.9±10.9 ^b	84.3±3.3 ^b

1) Each value represents mean±S.D.

2) Values with the same letter in the same row are not significantly different ($p<0.05$).

나. 체중변화 및 식이효율

고혈압쥐를 이용하여 대조군, 백미군, 현미군, 발아현미군의 4가지 처리군으로 나누어 6주간 사육 후 이들의 체중변화와 식이효율을 조사한 결과는 Table 7과 같다. 식이섭취량은 132.5±3.4~138.6±7.5 g/week의 유사한 값으로 모든 처리군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 체중증가량 및 식이효율을 분석한 결과에서는 현미군이 가장 높은 값을 나타내었으나 대조군, 백미군과 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. 한편 발아현미군은 86.3±11.1 g의 체중증가량과 10.4±1.4%의 식이효율을 나타내어 기타 처리군에 비해 유의적으로 감소된 값을 나타내었다.

Table 7. Body weight, food intakes and food efficiency ratio in SHR_s fed with experimental diets for 6 weeks

	Food intake (g/week)	Body weight (g)			FER (%) ¹⁾
		Initial	Final	gain	
Control	135.7±5.7 ^{a2),3)}	262.1±8.9 ^a	358.6±15.2 ^a	96.4±9.6 ^a	11.8±1.7 ^a
Rice	138.4±6.6 ^a	265.5±12.4 ^a	365.1±9.7 ^a	99.6±11.1 ^a	11.9±1.3 ^a
Brown rice	132.5±3.4 ^a	262.5±13.5 ^a	360.5±23.1 ^a	97.9±11.8 ^a	12.3±1.5 ^a
Germinated brown rice	138.6±7.5 ^a	259.8±7.0 ^a	346.1±13.0 ^b	86.3±11.1 ^b	10.4±1.4 ^b

1) FER (food efficiency ratio) : body weight gain(g/week)/food intake(g/week)

2) Each value represents mean±S.D.

3) Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

다. 혈압변화

고혈압쥐의 혈압변화를 조사한 결과는 Fig. 9와 같다. 대조군과 백미군의 경우 초기부터 서서히 지속적으로 증가하는 경향을 나타낸 반면 현미군과 발아현

미군은 4주 경과시점부터 계속 감소하는 것으로 나타나 현미와 발아현미가 고혈압쥐의 혈압강화에 효과가 있음을 보여 주었다. 특히 발아현미군의 경우 3주 경과시 195.4±4.6 mmHg의 혈압을 나타내어 기타 처리군과 유의적인 차이를 보였으며, 6주 경과시에는 169.2±6.2 mmHg로 기타 처리군에 비해 유의적으로 낮을 뿐만 아니라 초기 혈압에 비해서도 크게 낮아진 값을 나타내어 발아현미가 고혈압쥐의 혈압강화에 우수한 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

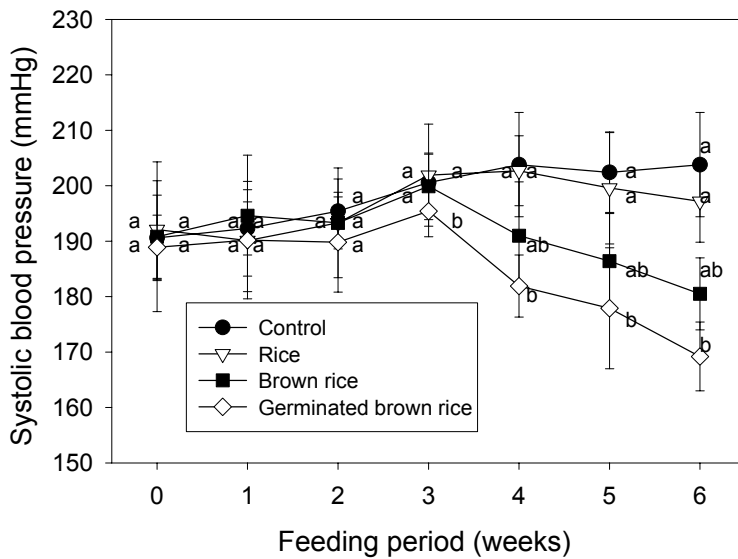


Fig. 9. Changes in systolic blood pressure in SHR_s fed with experimental diets for 6 weeks.

Each value represents mean±S.D.

Values with the same letter in the same period are not significantly different ($p < 0.05$).

라. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방

6주간 사육 후 고혈압쥐의 혈중 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농

도를 측정된 결과는 Table 8과 같다. 중성지질의 경우 백미군과 현미군은 각각 158.4 ± 29.2 mg/dL과 159.2 ± 30.3 mg/dL로 대조군의 145.2 ± 19.4 mg/dL에 비해 높은 값을 나타낸 반면, 발아현미군은 138.4 ± 29.5 mg/dL로 백미군, 현미군에 비해서는 물론 대조군에 비해서도 유의적으로 크게 낮은 값을 나타내어 발아현미가 중성지질 감소에 우수한 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 혈중 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 함량은 발아현미군이 각각 68.4 ± 2.5 mg/dL과 30.4 ± 1.5 mg/dL로 가장 높은 값을 나타내었지만 유의적인 차이를 나타내지는 않았다.

Table 8. Triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol of blood in SHR fed with experimental diets for 6 weeks

	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)	
		Total	HDL
Control	$145.2 \pm 19.4^{ab1),2)}$	63.7 ± 5.6^a	28.8 ± 3.6^a
Rice	158.4 ± 29.2^a	65.0 ± 9.8^a	28.2 ± 4.1^a
Brown rice	159.2 ± 30.3^a	67.2 ± 7.8^a	29.0 ± 2.9^a
Germinated brown rice	138.4 ± 29.5^b	68.4 ± 2.5^a	30.4 ± 1.5^a

1) Each value represents mean±S.D.

2) Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p < 0.05$).

이상의 결과에서 보는 바와 같이 발아현미는 혈압을 낮추는데 효과가 클 뿐만 아니라 체중감소 및 중성지방 감소에도 유의적인 효과를 나타냄을 알 수 있었다. GABA의 혈압강하 효과에 관하여 많은 연구자에 의해 보고되었는데, Billingsley와 Suria(60)는 쥐와 개를 대상으로 1~1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도로 GABA를 투여하여 투여량 의존적인 혈압강하 효과를 확인하였다. 고혈압 환자를 대상으로 매일 3 g 씩의 GABA를 섭취시켰을 때 평균 37 mmHg의 SBP와 13

mmHg의 DBP가 감소하는 것으로 나타났다는 보고(61)도 있다. 또한 Inoue 등(28)은 경증의 고혈압 환자를 대상으로 1일 10~12 mg의 GABA가 함유된 발효유를 12주 동안 섭취토록 한 후 혈압강하 효과를 placebo와 비교한 결과 SBP 17.4±4.3 mmHg, DBP 7.2±5.7 mmHg의 감소효과를 확인하였으며, 또한 GABA가 다량 함유된 녹차(62,63)와 beni-koji 추출물(64)의 혈압강하 효과도 확인된 보고가 있다.

GABA는 포유동물의 뇌나 척수에 존재하는 억제계의 신경전달물질(65)로서 말초신경계에 존재하면서 내분비선과 외분비선을 조절하는 역할을 한다(66). GABA는 blood-brain barrier를 통과하지 못하기 때문에 중추신경계가 아닌 말초신경계에서 작용하는데 Hayakawa 등(67)의 연구에 의하면 GABA는 고혈압쥐의 장간막 동맥에서 perivascular 신경 자극에 의한 관류 혈압의 증가를 억제함은 물론 presynaptic GABA_B receptor에 작용함으로써 noradrenaline(부신 분비 호르몬)의 분비를 억제한다고 하였다. GABA는 어떠한 혈관확장 반응을 일으키지 않기 때문에 GABA에 의한 혈압강하 효과는 교감신경다발로부터의 noradrenaline 분비를 억제하기 때문인 것으로 추정하였다. 본 연구에 사용한 현미는 620.8 nM/g의 GABA 함량을 나타낸 반면 이를 받아시킨 발아현미는 1514.6 nM/g의 GABA 함량을 나타내어 현미에 비해 크게 높아진 GABA 함량이 발아현미의 혈압강하 효과에 상당히 기여한 것으로 판단된다.

또한 Suzuki 등(29)은 고혈압쥐에 ferulic acid를 투여하여 ferulic acid의 혈압강하 효과를 확인하였는데, 이때 N-nitro-L-arginine methyl ester를 함께 투여하였을 때 ferulic acid의 효과가 크게 감소함을 밝힘으로써 ferulic acid의 혈압강하 효과가 nitric oxide에 의한 혈관확장과 관련이 있는 것으로 보고하였다. 고혈압쥐의 혈관에는 정상혈압쥐에 비해 superoxide anion의 생성량이 크게 증가하는데 이것이 nitric oxide와 반응하여 혈관 내피세포의 nitric oxide를 고갈시키게 된다(68). Ferulic acid가 superoxide anion에 대한 강력한 scavenger(69)로 알려져 있기 때문에 고혈압쥐의 혈관에 있는 nitric oxide의 생체 이용율을 증진시켜 혈관을 확장시킴으로써 혈압강하 효과를 갖는 것으로 판단된다.

Ferulic acid는 phenylalanine과 tyrosine의 대사에 의해 생성되는 독특한 폴리페놀로서 강력한 항산화력을 지녀 자외선으로부터 피부를 보호하며 지질산화에 의한 식품 변패 방지 및 염증 저해에 효과가 우수한 것으로 보고(70)되어 있다.

또한 ferulic acid 및 그 유도체(EGMP) 등은 동물실험 결과 간암, 대장암 등의 발생을 억제하는 것으로 보고되었다. Ferulic acid는 과일, 채소, 곡물 등의 자연계에 널리 분포하며 쌀, 보리 등의 곡물에서는 호분층과 배유의 세포벽 성분을 이루는 비 cellulose 다당류인 arabinoxylan에 ester 결합된 형태로 존재한다(71). 배유 세포벽 총 중량의 0.05%, 호분층에서는 1.2% 정도를 차지하며 또한 배아 부위에 존재하는 Ψ -oryzanol에 ester 결합 형태로 존재하기도 한다. 그러나 arabinoxylan, Ψ -oryzanol에 결합된 형태로 존재하는 ferulic acid는 흡수되지 않고 체외로 배설되는 비율이 높아 체내에 흡수되는 비율은 약 15%인 것으로 보고(72)된 바 있다. 현미 발아에 의해 체내 흡수가 용이한 유리 형태의 ferulic acid의 양이 크게 증가하며, 또한 세포벽 분해효소의 활성을 조절함으로써 ferulic acid의 양을 더욱 증진시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. Choi 등의 연구(30)에 의하면 유리 형태의 ferulic acid 함량이 현미의 9.4 mg/100 g에서 적정 전처리에 이은 발아에 의해 29.9 mg/100 g으로 약 3.2배 증가한다고 하였으며, 증가된 유리 형태의 ferulic acid가 발아현미의 혈압강하 작용에 크게 작용하였을 것으로 판단된다.

식이섬유 섭취에 의한 혈압강하 효과는 많은 연구자에 의해 연구되어 증가된 식이섬유 섭취에 의해 혈압강하 효과를 나타낸 보고(73,74)가 있는 반면 전혀 효과가 없는 것으로 연구(75,76)된 경우도 있는 등 서로 상반된 결과가 보고되고 있다. 식이섬유 섭취가 혈압강하 효과를 나타내지 않은 현상에 대해 McIntosh 등(77)은 곡립 전체를 사용하지 않고 곡립의 추출물이나 곡립으로부터 분리한 식이섬유를 사용하였기 때문이라고 하였다. 한편 동물(78)과 인체(79)를 대상으로 하여 수용성 식이섬유의 섭취량이 증가할수록 혈압강하 효과가 증가하는 것으로 보고되어 있으며, 불용성 식이섬유도 수용성 식이섬유와 마찬가지로 혈압강하 효과를 갖는다는 보고(80,81)도 있다.

고혈압은 비만, 내당성 손상 및 지질대사이상 등과 연관되어 가끔 발생하는데 고인슐린혈증과 인슐린 저항성이 이러한 이상현상과의 연관에 주요한 역할을 하는 것으로 판단된다(82). 수용성 식이섬유의 섭취는 인슐린 대사를 조정함으로써 혈압에 영향을 미치며, 작용기작은 섭취 영양분의 흡수지연에 따른 식후혈당 상승 억제 때문인 것으로 생각된다. 식후 혈당상승 억제에 의해 혈당을 소화하기 위해 필요한 인슐린의 생성이 늦어지고 낮은 수준의 인슐린에 의해 궁극적으로

말단조직에서의 insulin receptor의 upregulation을 이끌게 된다면 insulin 민감성을 증진시킬 것이다. 또한 수용성 식이섬유 섭취에 의한 혈압강하 효과는 내피세포 기능의 약화에 의한 것으로 설명될 수 있다(83). 혈관확장을 중재하는 내피세포 receptors에 특이적인 약이 혈압을 낮추는 것으로 알려져 있으며(84) 더구나 혈장 콜레스테롤 감소가 내피세포에 의한 혈관확장의 증진과 관련있다(85). Keenan 등(86)은 귀리를 기본으로 한 식이를 섭취한 환자군에서 혈장 콜레스테롤 수준이 유의적으로 감소하였고, 그리하여 이 환자군에서 관찰된 혈압강하 현상이 혈장 콜레스테롤 감소에 의한 내피세포 기능의 향상에 일부 기인하기 때문이라고 하였다.

3. 즉석취반용 발아현미 제품 개발

가. 발아현미의 식감개선 기술 확립

1) 식감개선을 위한 현미의 적정 도정조건 확립

발아현미의 식감개선을 위해 현미를 도정하여 0.5분도미, 1분도미, 2분도미를 제조한 후 이들의 이화학적 특성을 조사한 결과는 Table 9와 같다. 도정도가 증가함에 따라 현미를 둘러싸고 있는 호분층이 제거되어 수분결합력, 용해도, 팽윤력 등이 증가하는 것으로 나타난 반면 GABA 함량은 현미의 2.2 mg/100 g에서 도정도가 증가함에 따라 1.3~1.6 mg/100 g으로 감소하였다. 한편 도정시에는 도정도가 증가함에 따라 배아가 현미로부터 분리되는데 2분도미까지 도정도가 증가하여도 배아가 거의 분리되지 않는 것을 알 수 있었다.

Table 9. Physicochemical properties of brown rice in different milling degrees

	Water holding capacity (%)	Solubility(%) (80°C, 20min)	Swelling power (80°C, 20min)	GABA (mg/100g)
Brown rice	92.7	4.10	4.48	2.2
5% milled rice	99.5	5.89	5.18	1.6
10% milled rice	101.0	7.05	5.36	1.5
20% milled rice	102.5	7.82	5.76	1.3

도정도에 따라 제조한 현미를 발아시켜 발아현미를 제조한 후 이들의 발아 특성과 이화학적 특성을 조사한 결과는 Table 10과 같다. 도정도가 증가함에 따라 발아율이 현미의 96%에서 0.5분도미의 91%로 약간 감소하면서 1분도미, 2분도미의 경우에는 각각 70%와 33%로 크게 감소함을 알 수 있었다. 또한 이때의 α -amylase 활성도 현미의 3.21 unit에서 1.32~2.61 unit으로 감소하였고 발아정도에 크게 영향을 받는 GABA도 현미의 6.9 mg/100 g에서 1.5~5.3 mg/100 g으

로 감소하는 것으로 나타났다. 발아현미의 수분결합력, 용해도, 팽윤력은 현미의 경우와는 달리 도정도가 증가함에 따라 이들 값이 모두 감소하는 경향을 나타내었는데 특히 2분도미의 용해도의 경우 7.47%로 매우 낮은 값으로 발아시키지 않은 현미상태와 유사한 값이었다. 이는 도정도가 증가함에 따라 발아력이 감소하여 발아에 의한 탄수화물, 단백질 등의 가수분해가 크게 감소하게 되기 때문인 것으로 판단된다.

Table 10. Physicochemical properties of germinated brown rice in different milling degrees

	Germinating ratio (%)	Activity of α -amylase (Unit)	Water holding capacity (%)	Solubility(%) (80°C, 20min)	Swelling power (80°C, 20min)	GABA (mg/100g)
Brown rice	96	3.21	120.0	14.55	9.34	6.9
5% milled rice	91	2.61	122.6	13.04	7.40	5.3
10% milled rice	70	1.81	115.6	10.32	7.46	2.0
20% milled rice	33	1.32	106.0	8.47	5.68	1.5

도정도에 따른 발아현미의 수분흡수속도를 조사한 결과 Fig. 10에서 보는 바와 같이 도정하지 않은 발아현미의 경우 약 3~4시간 경과시에 평형에 도달한 반면 도정한 발아현미의 경우 30분 경과시에 이미 평형에 도달하였으며 수분흡수량은 약 50~70% 수준에서 유지되었다.

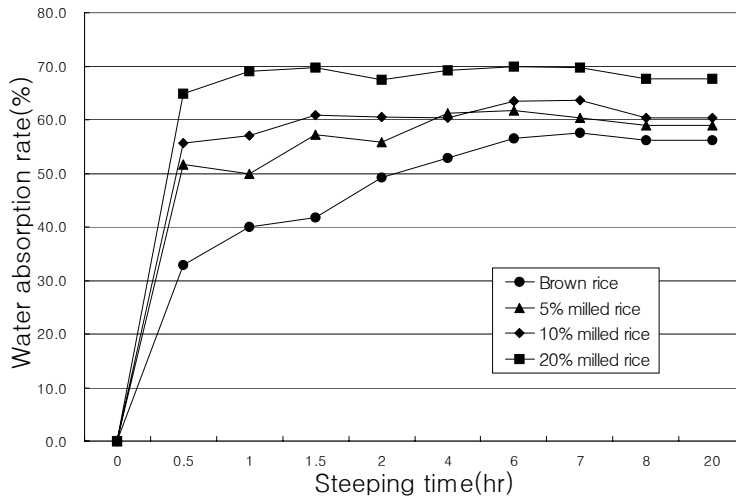


Fig. 10. Changes in water absorption rate of germinated brown rice in different milling degrees

도정도에 따른 발아현미의 취반후 조직감과 관능적 특성을 조사하였다. 기계적인 방법을 이용하여 이들의 조직감을 측정된 결과 Table 11에서 보는 바와 같이 경도의 경우 도정하지 않은 발아현미의 3,205.1 g에서 도정도 증가에 의해 1,323.7~2,830.9 g으로 감소한 반면 부착성의 경우에는 -346.5~-430.3으로 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 그리고 이들 시료에 대한 취반 후 경도, 찰기, 질음성, 거친정도에 대한 관능검사 결과에서도 기계적 측정과 유사한 경향을 나타내었으며, 그 결과는 Table 12와 같다. 1분도미와 2분도미를 사용한 발아현미의 경우 도정하지 않은 발아현미에 비해 거친정도가 크게 감소하였지만 질음성이 크게 증가하고 경도가 감소하여 종합적인 기호도는 매우 낮게 나타났다. 그러나 0.5분도미의 경우 도정하지 않은 발아현미에 비해 경도, 찰기, 질음성 등이 크게 변하지 않으면서 거친정도는 크게 감소하여 기호적으로 가장 우수한 것으로 나타났다.

Table 11. Textural characteristics of germinated brown rices in different milling degrees

Characteristics	Brown rice	5% milled rice	10% milled rice	20% milled rice
Hardness (g)	3205.1	2830.9	2518.0	1323.7
Adhesiveness	-430.3	-399.5	-346.5	-398.5
Springiness	0.95	0.93	0.90	0.74
Cohesiveness	0.24	0.25	0.25	0.27

Table 12. Sensory evaluation of germinated brown rice in different milling degrees

Characteristics	Brown rice	5% milled rice	10% milled rice	20% milled rice
Hardness	6.2	5.7	4.1	2.3
Adhesiveness	5.0	6.0	5.3	5.5
Moistness	5.3	6.5	7.0	8.2
Roughness	7.6	5.8	5.3	4.3
Overall acceptability	6.1	7.5	4.2	2.7

이상의 결과를 종합해 볼 때 0.5분도미를 이용한 발아현미의 경우 도정하지 않은 발아현미에 비해 다소 낮은 발아율과 효소활성, GABA 함량 등을 나타내었지만 거친정도가 크게 감소하여 기호적으로는 크게 우수한 것으로 나타났기 때문에 발아현미의 식감을 개선하기 위해서 0.5분도미를 사용하여 발아현미를 제조함이 좋은 것으로 판단된다.

2) 식감개선을 위한 세포벽 분해효소 처리 조건 확립

발아현미의 식감을 개선하기 위하여 현미를 도정할 경우 현미의 거친 정도가 감소하여 발아현미의 식감이 크게 개선되는 것으로 앞의 결과에서 보고하였지만 발아력과 발아율이 감소하여 발아에 의해 함량이 크게 증진되는 GABA 등의 기능성 성분의 함량이 감소하게 되는 단점이 있다. 따라서 이러한 문제점을 보완하기 위하여 현미를 도정하지 않고 발아시킨 후 만들어진 발아현미에 cellulase, hemicellulase, pectinase 등의 세포벽성분 가수분해 효소를 적용시켜 발아현미의 외피를 둘러싸고 있는 호분층을 제거한다면 식감도 부드러워질 뿐만 아니라 GABA 등의 기능성 성분의 생성에도 거의 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다. 따라서 본 연구에서는 발아현미 제조후 효소 처리하고 취반후 조직감에 대해 관능검사를 실시하였으며, 그 결과 Table 13에서 보는 바와 같이 hemicellulase 처리시 cellulase와 pectinase 처리시에 비해 경도와 거친정도가 상당히 낮은 것으로 평가되었고 이에 의해 전체적인 기호성이 크게 증가하는 것으로 나타났다. 한편 cellulase와 pectinase 처리간에는 모든 항목에서 유의적인 차이를 나타내지 않고 거의 유사한 특성을 갖는 것으로 평가되었다.

Table 13. Sensory evaluation of germinated brown rices by various enzyme treatment

Characteristics	Enzyme-treated germinated brown rice		
	Cellulase	Hemicellulase	Pectinase
Hardness	7.8	6.9	7.6
Adhesiveness	5.1	5.3	7.1
Moistness	4.5	4.3	3.8
Roughness	6.8	6.1	7.0
Overall acceptability	5.3	6.5	5.4

발아현미의 식감을 개선할 수 있는 것으로 조사된 hemicellulase를 이용하여 발아직후 발아현미를 효소처리한 후 현미, 효소처리하지 않은 발아현미와 취반후 조직감을 기계적인 측정법과 관능적으로 비교한 결과를 Table 14와 Table 15에 나타내었다. Table 14에서 보는 바와 같이 현미의 경우 2394.7 g의 경도와 -30.7의 찰기를 나타낸 반면 발아현미는 1993.4 g과 -41.4를 나타내어 발아에 의해 경도가 감소하고 찰기는 증가함을 알 수 있었다. 한편 발아직후 효소처리한 경우 발아현미에 비해 경도가 상당히 감소하고 찰기는 증가하는 것으로 나타나 관능적으로도 발아현미와 효소처리 발아현미가 상당히 다른 조직감을 나타낼 것으로 예견된다. 이들을 관능적으로 비교한 결과 Table 15에서 보는 바와 같이 효소처리에 의해 딱딱한 정도를 나타내는 경도와 외피에 의한 거친정도에서 상당한 감소된 값을 나타내어 효소처리에 의한 식감개선 효과가 있음을 알 수 있었다.

Table 14. Textural characteristics of brown rice, germinated brown rice and enzyme-treated germinated brown rice

Characteristics	Brown rice	Germinated brown rice	Enzyme-treated germinated brown rice
Hardness (g)	2394.7	1993.4	1739.7
Adhesiveness	-30.7	-41.4	-45.9
Springiness	0.37	0.22	0.20
Cohesiveness	0.17	0.14	0.13

Table 15. Sensory evaluation of brown rice, germinated brown rice and enzyme-treated germinated brown rice

Characteristics	Brown rice	Germinated brown rice	Enzyme-treated germinated brown rice
Hardness	6.9	5.4	4.0
Adhesiveness	3.9	5.1	5.0
Moistness	3.0	4.3	4.6
Roughness	6.4	5.4	3.9
Overall acceptability	4.3	6.0	6.1

나. 발아현미의 즉석취반기술 개발

발아현미를 백미와 유사한 취반특성을 가지면서 즉석에서 취반할 수 있는 기술을 확립하기 위하여 현미를 이용하여 발아현미를 제조하고 이를 레토르트 처리한 후 건조하여 현미, 백미, 발아현미와 품질 특성을 비교하였다. Table 16에서 보는 바와 같이 발아에 의해 수분결합력, 용해도, 팽윤력, GABA 함량 등이 크게 증가하였으며, 레토르트 처리에 의해 수분결합력과 용해도가 발아현미의 136.4%, 12.77%에서 218.5%, 17.50%로 크게 증가한 반면 팽윤력은 거의 변하지 않는 것으로 나타났다. 레토르트 처리에 의한 발아현미의 수분흡수속도를 조사한 결과 Fig. 11에서 보는 바와 같이 레토르트 처리시에는 측정시간동안 지속적으로 수분흡수량이 증가한 반면 백미, 현미, 발아현미는 30~60분 이내에 평형에 도달하였으며 수분흡수량은 발아현미가 약 40~50% 수준으로서 백미와 현미에 비해 높았다.

Table 16. Physicochemical properties of rice, brown rice, germinated brown rice and retort-treated germinated brown rice

	Water holding capacity(%)	Solubility(%) (80°C, 20min)	Swelling power (80°C, 20min)
Rice	128.6	2.25	9.67
Brown rice	101.8	5.23	6.02
Germinated brown rice	136.4	12.77	8.17
Retort-treated germinated brown rice	218.5	17.50	8.42

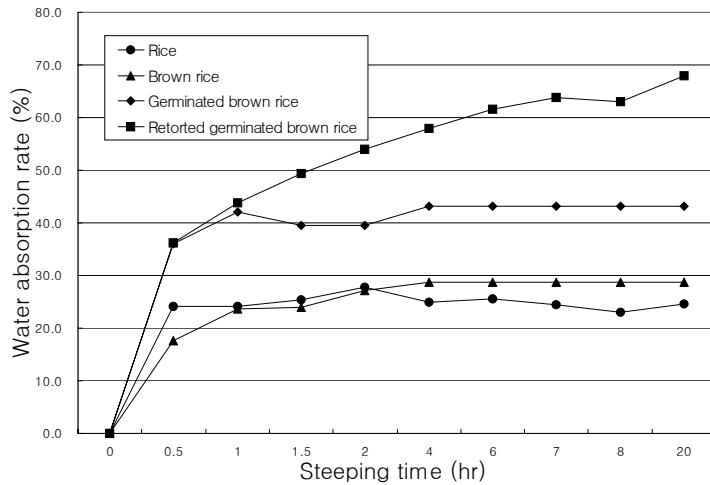


Fig. 11. Changes in absorption rate of retorted germinated brown rice

레토르트 처리에 의한 발아현미의 취반후 조직감을 물에 2시간 불린 후 기계적인 방법을 이용하여 백미, 현미, 발아현미와 비교한 결과 Table 17에서 보는

바와 같이 경도의 경우 현미의 5,736.5 g에서 발아현미 및 레토르트 발아현미의 3,088.6 g, 2,781.9 g으로 크게 감소하였으며 백미의 3,753.5 g 보다는 다소 낮은 값을 나타내었다. 부착성의 경우에는 현미의 -184.9에서 발아현미 및 레토르트 발아현미의 -365.5, -335.2로 크게 증가하여 백미의 -343.3과 유사한 값을 나타내었다. 또한 이들의 조직감을 관능적으로 비교한 결과 Table 18에서 보는 바와 같이 발아 및 레토르트 처리에 의해 현미에 비해 경도와 거친정도가 크게 감소한 반면 질음성은 증가하는 것으로 나타났으며, 현미에 비해 관능적으로 매우 우수한 것으로 나타났다. 그러나 레토르트 처리는 거친정도가 감소하는 등 발아현미의 관능적 특성에 상당한 영향을 미칠 것으로 예상되었으나 평가 결과 거의 영향을 미치지 않았으며 유의적인 차이가 나는 정도는 아니지만 오히려 발아현미에 비해 기호적으로 우수한 것으로 나타났다. 건조한 레토르트 발아현미의 경우 30~60분의 비교적 짧은 시간 침지후 취반할 경우 상당히 딱딱한 식감을 나타내었는데 이는 레토르트 처리에 의해 호화된 전분이 건조에 의해 노화됨으로써 취반시 재호화함에 있어 발아현미에 비해 더욱 큰 에너지를 요구하게 되고 따라서 취반시 충분한 물공급이 이루어지지 않을 경우 재호화가 충분히 일어나지 않아 바람직한 조직감을 나타내지 못하는 것으로 판단된다.

Table 17. Textural characteristics of rice, brown rice, germinated brown rice and retort-treated germinated brown rice

Characteristics	Rice	Brown rice	Germinated brown rice	Retort-treated germinated brown rice
Hardness (g)	3753.5	5736.5	3088.6	2781.9
Adhesiveness	-343.3	-184.9	-365.5	-335.2
Springiness	0.92	0.93	0.94	0.93
Cohesiveness	0.25	0.23	0.25	0.25

Table 18. Sensory evaluation of rice, brown rice, germinated brown rice and retort-treated germinated brown rice

Characteristics	Rice	Brown rice	Germinated brown rice	Retort-treated germinated brown rice
Hardness	5.2	6.0	4.8	4.5
Adhesiveness	7.2	6.3	7.6	7.4
Moistness	5.3	6.2	6.7	7.1
Roughness	4.3	5.5	5.0	5.1
Overall acceptability	7.8	5.3	6.5	6.0

레토르트 발아현미의 레토르트 처리후 건조에 의한 식감저하를 방지하면서 백미와 유사한 취반특성을 갖도록 하기 위하여 현미를 발아시킨 후 레토르트 파우치에 담고 밀봉한 후 레토르트 처리함으로써 건조공정은 생략하였다. 이와 같이 제조한 건조하지 않은 레토르트 발아현미와 현미, 발아현미의 침지시간에 따른 식감 변화를 백미와 비교하였으며 그 결과는 Table 19와 같다. 백미의 경우 물에 침지하지 않고 곧바로 취반하였을 때 경도 6.8점, 전체적인 기호도는 4.2점으로 평가되었으나 30분 침지시 각각 4.7점, 5.9점, 1시간 침지시에는 각각 4.7점, 6.1점으로 평가되어 침지하지 않은 경우보다는 침지하였을 때 유의적으로 좋은 평가를 받았으며, 30분 이상의 침지는 식감향상에 영향을 미치지 않은 것으로 나타나 백미 취반을 위한 적정 침지시간은 30분임을 알 수 있었다. 현미의 경우에는 물에 침지하지 않고 취반하였을 때 경도 6.7점, 전체적인 기호도 3.6점으로 평가되었으며, 침지시간이 증가함에 따라 경도는 5.2~6.8점으로 감소하고 전체적인 기호도는 4.6~5.8점으로 증가하는 것으로 나타났다. 침지시간을 더 연장하여 평가한 결과 현미의 경우 바람직한 조직감을 나타내기 위해서는 최소 3시간 정도의 침지시간이 필요한 것으로 나타났다. 한편 발아현미의 경우 한편 발아현미의 경우 물에 침지하지 않고 취반하였을 때 경도 6.8점, 전체적인 기호도 3.9점으로

평가되었으며, 침지시간이 증가함에 따라 경도는 5.2~5.8점으로 감소하고 전체적인 기호도는 4.9~5.8점으로 증가하는 것으로 나타났다. 그리고 침지시간 1시간 이후에는 경도와 전체적인 기호도가 거의 변화하지 않는 것으로 보아 발아현미의 적정 침지시간은 1시간임을 알 수 있었다. 레토르트 발아현미는 물에 침지하지 않고 취반하였을 때 경도 6.4점, 전체적인 기호도 4.3점으로 평가되었으나 30분 침지시 각각 5.1점, 5.4점으로 평가되어 30분 침지에 의해 유의적으로 우수한 평가를 받았으며, 1시간 이상의 침지시에는 30분 침지시와 거의 유사한 평가를 나타내어 레토르트 발아현미의 취반을 위한 적정 침지시간은 30분임을 알 수 있었다. 이상의 결과로 볼 때 레토르트 발아현미의 경우 백미와 동일한 침지시간을 나타내기 때문에 동일한 조건에서 취반을 하더라도 문제가 없을 것으로 판단된다.

Table 19. Sensory evaluation of rice, brown rice, germinated brown rice and retort-treated germinated brown rice in different steeping time

Characteristics	Steeping time (hr)	Rice	Brown rice	Germinated brown rice	Retort-treated germinated brown rice
Hardness	0	6.8	6.7	6.8	6.4
	0.5	4.7	6.8	5.8	5.1
	1	4.7	5.9	5.3	4.5
	1.5	-	5.2	5.2	4.8
Overall acceptability	0	4.2	3.6	3.9	4.3
	0.5	5.9	4.6	4.9	5.4
	1	6.1	5.0	5.8	5.6
	1.5	-	5.8	5.8	5.5

백미, 현미, 발아현미 그리고 레토르트 발아현미를 각각의 적정 물 비율에

따라 혼합하여 30분간 침지후 취반하여 조직감에 관한 관능검사를 실시하였으며, 이때 조직감이 백미와 유사한 순서대로 표기하도록 한 결과 레토르트 발아현미, 발아현미, 현미의 순으로 평가되었다. 현미의 경우 외피에 의한 거친정도가 큰 것으로 나타났고 30분의 침지시간에 의해 충분한 물이 공급되지 않아 경도가 강한 것으로 평가되었다. 한편 발아현미의 경우 식감이 부드럽지만 다른 시료에 비해 질음성이 다소 강하며 또 약간의 쓴맛이 감지되는 반면 이를 레토르트 처리한 발아현미의 경우에는 질음성과 쓴맛도 감소하여 관능적으로 거의 감지되지 않으면서 백미와 매우 유사한 조직감을 갖는 것으로 나타났다.

4. 발아현미의 *in vivo*에서의 비만억제 효능 평가

가. 체중변화와 식이효율

고지방 및 고콜레스테롤 식이를 공급하면서 SD rats를 대조군, 백미군, 현미군, 발아현미군의 4가지 처리군으로 나누어 5주간 사육 후 이들의 체중변화와 식이효율을 조사한 결과는 Table 20, 21과 같다. Table 21은 5주간 동안의 체중변화를 측정된 결과로서 대조군과 백미군은 5주 경과시 각각 502.2 ± 43.4 g, 505.9 ± 25.8 g으로 유사한 체중 변화를 나타낸 반면 현미군과 발아현미군은 통계적으로 유의적인 차이는 아니지만 백미군과 현미군에 비해 낮은 체중을 나타내었으며, 특히 발아현미군은 471.2 ± 17.8 g으로 가장 낮은 체중을 나타내어 발아현미가 비만 예방에 우수한 효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있었다. 그리고 모든 실험군에서 $145.0 \pm 12.1 \sim 151.3 \pm 3.0$ g/week의 유사한 식이섭취량을 나타낸 반면 발아현미군이 310.6 ± 14.7 g으로 기타 실험군에 비해 유의적으로 낮은 체중증가량을 나타내어 $41.8 \pm 2.0\%$ 의 가장 낮은 식이효율을 나타내었다.

Table 20. Changes in body weight in rats fed with high fat and cholesterol diets for 5 weeks

	Body weight (g)			
	0 week	1 week	3 week	5 week
Control	$162.6 \pm 4.0^{a1,2)}$	244.7 ± 14.4^a	376.2 ± 17.4^a	505.9 ± 25.8^a
Rice	161.4 ± 8.4^a	248.1 ± 23.3^a	368.9 ± 37.4^a	502.2 ± 43.4^a
Brown rice	159.9 ± 12.3^a	243.1 ± 24.4^a	360.0 ± 24.1^a	484.2 ± 33.0^a
Germinated brown rice	160.6 ± 3.1^a	235.0 ± 3.9^a	357.6 ± 13.6^a	471.2 ± 17.8^a

1) Each value represents mean \pm S.D.

2) Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p < 0.05$).

Table 21. Body weight, food intakes and food efficiency ratio in rats fed with high fat and cholesterol diets for 5 weeks

	Food intake (g/week)	Body weight (g)			FER (%) ¹⁾
		Initial	Final	gain	
Control	146.4±6.2 ^{a2),3)}	162.6±4.0 ^a	505.9±25.8 ^a	343.3±24.8 ^a	46.9±6.8 ^a
Rice	151.3±3.3 ^a	161.4±8.4 ^a	502.2±43.4 ^a	340.8±37.7 ^a	45.0±7.7 ^a
Brown rice	145.0±12.1 ^a	159.9±12.3 ^a	484.2±33.0 ^a	324.3±36.9 ^a	44.7±5.1 ^a
Germinated brown rice	148.5±7.9 ^a	160.6±3.1 ^a	471.2±17.8 ^a	310.6±14.7 ^b	41.8±2.0 ^b

1) FER (food efficiency ratio) : body weight gain(g/week)/food intake(g/week)

2) Each value represents mean±S.D.

3) Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

나. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방

실험동물을 5주간 사육후 각 실험군의 혈중 콜레스테롤과 중성지방 함량을 조사한 결과는 Table 22와 같다. 중성지방의 경우 백미군 81.3±22.6 mg/dL, 현미군 64.9±13.8 mg/dL을 나타낸 반면 발아현미군은 54.0±23.4 mg/dL을 나타내어 백미군, 현미군에 비해 유의적으로 낮은 중성지방 함량을 나타내어 발아현미가 중성지방 감소에 우수한 효과를 지님을 알 수 있었다. 또한 발아현미군의 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤도 각각 64.8±14.7 mg/dL과 25.4±6.8 mg/dL로 백미군의 80.3±11.4 mg/dL, 34.1±3.6 mg/dL과 현미군의 70.5±12.6 mg/dL, 41.0±9.1 mg/dL에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내었다. 한편 대조군은 45.4±11.5 mg/dL의 중성지질, 58.4±15.5 mg/dL의 총콜레스테롤 함량을 나타내었다.

Table 22. Triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol of blood in rats fed with high fat and cholesterol diets for 5 weeks

	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)	
		Total	HDL
Control	45.4±11.5 ^{b1),2)}	58.4±15.5 ^b	27.4±5.9 ^b
Rice	81.3±22.6 ^a	80.3±11.4 ^a	34.1±3.6 ^{ab}
Brown rice	64.9±13.8 ^{ab}	70.5±12.6 ^{ab}	41.0±9.1 ^a
Germinated brown rice	54.0±23.4 ^b	64.8±14.7 ^{ab}	25.4±6.8 ^b

1) Each value represents mean±S.D.

2) Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

다. 간 및 지방조직 성장

5주간 사육후 각 실험군의 실험동물로부터 적출한 간과 고환지방, 신장지방의 중량을 조사한 결과는 Table 23과 같다. 백미군의 경우 간 중량과 고환지방, 신장지방 중량이 각각 19.4±4.1 g, 3.1±1.4 g, 6.5±3.0 g으로 가장 높은 값을 나타낸 반면 현미군의 경우 간 중량에 있어서는 17.9±2.4 g으로 백미군에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내었지만 고환지방과 신장지방에 있어서는 각각 3.1±1.2 g, 6.0±2.3 g으로 백미군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 한편 발아현미군의 경우 간 중량 16.9±1.8 g, 고환지방 중량 2.4±0.7 g, 신장지방 중량 5.0±0.9 g으로 백미군과 현미군에 비해 유의적으로 크게 낮은 중량을 나타내었다. 한편 대조군은 각각 17.3±1.3 g, 2.5±0.4 g, 5.0±1.1 g을 나타내어 발아현미군과는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그리고 실험동물의 희생 직후의 간의 형태를 비교한 결과 기타 처리군의 경우 고지방 및 콜레스테롤 식이의 공급에 의해 간이 흐린 적색을 띠고 황색의 지방들이 점점이 분산, 침착되어 있는 전형적인 지방간의 형태를 보인 반면 발아현미군의 간의 경우 진한 선홍색을 띠면서 지질 침착

이 거의 없는 정상적인 간의 형태를 유지하고 있었다.

각 실험군의 실험동물로부터 적출한 간으로부터 지질을 추출하고 이로부터 총콜레스테롤과 중성지질을 측정된 결과는 Table 24와 같다. 간의 총지질의 경우 대조군과 백미군은 각각 263.3±37.9 mg/g liver와 320.0±17.8 mg/g liver를 나타낸 반면 현미군과 발아현미군은 각각 225.0±42.6 mg/g liver와 216.3±35.7 mg/g liver를 나타내어 현미군과 발아현미군의 간의 총지질이 대조군과 백미군에 비해 유의적으로 현저히 낮은 지질함량을 나타냄을 알 수 있었다. 총콜레스테롤에 있어서도 총지질과 마찬가지로 경향으로 대조군과 백미군의 경우 18.0±1.0 mg/g liver와 19.5±1.3 mg/g liver인 반면 현미군과 발아현미군은 이들 실험군에 비해 유의적으로 낮은 16.2±3.9 mg/g liver와 16.5±0.7 mg/g liver를 나타내었다. 한편 중성지질은 4.7±0.5~5.0±0.5 mg/g liver의 값을 나타내어 유의적으로 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 23. Weight of liver and adipose tissue in rats fed with high fat and cholesterol diets for 5 weeks

	Wt. of liver (g)	Wt. of liver(g) / 100g BW	Adipose tissue (g)	
			Epididymal fat	Kidney fat
Control	17.3±1.3 ^{b1),2)}	3.5±0.3 ^a	2.5±0.4 ^b	5.0±1.1 ^b
Rice	19.4±4.1 ^a	3.9±0.8 ^a	3.1±1.4 ^a	6.5±3.0 ^a
Brown rice	17.9±2.4 ^{ab}	3.7±0.5 ^a	3.1±1.2 ^a	6.0±2.3 ^a
Germinated brown rice	16.9±1.8 ^b	3.7±0.4 ^a	2.4±0.7 ^b	5.0±0.9 ^b

1) Each value represents mean±S.D.

2) Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

Table 24. Liver cholesterol and triglyceride concentrations in rats fed high fat and cholesterol diets for 5 weeks

	Total lipid (mg/g liver)	Total cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
Control	263.3±37.9 ^{ab1),2)}	18.0±1.0 ^a	5.0±0.5 ^a
Rice	320.0±17.8 ^a	19.5±1.3 ^a	4.7±0.5 ^a
Brown rice	225.0±42.6 ^b	16.2±3.9 ^b	4.7±0.8 ^a
Germinated brown rice	216.3±35.7 ^b	16.5±0.7 ^b	4.8±0.5 ^a

1) Each value represents mean±S.D.

2) Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

라. 변의 지질 및 콜레스테롤

각 실험군의 변의 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지질 함량을 측정된 결과는 Table 25와 같다. 변의 총지질의 경우 대조군은 110±11.5 mg/g feces, 백미군은 107.5±10.6 mg/g feces, 현미군은 131.3±32.7 mg/g feces, 그리고 발아현미군은 165.0±22.2 mg/g feces로서 대조군, 백미군 보다는 현미군이, 현미군 보다는 발아현미군이 유의적으로 높은 총지질 함량을 나타내어 발아현미군에서 변을 통해 총지질이 많이 배설됨을 알 수 있었다. 변의 총콜레스테롤도 발아현미군이 26.5±2.7 mg/g feces를 나타내어 기타 실험군의 14.0±0.3~19.5±1.5 mg/g feces 보다 유의적으로 높은 값을 나타내어 발아현미 섭취에 의해 지질과 콜레스테롤이 변을 통해 많이 배설됨을 알 수 있었다. 따라서 이러한 변을 통한 지질과 콜레스테롤의 배설에 의해 발아현미군의 혈액 및 간의 지질과 콜레스테롤 함량이 기타 실험군에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내는 것으로 판단된다.

Table 25. Fecal excretion of cholesterol and triglyceride in rats fed high fat and cholesterol diets for 5 weeks

	Total lipid (mg/g liver)	Total cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
Control	110.0±11.5 ^{b1),2)}	14.0±0.3 ^c	2.3±0.9 ^b
Rice	107.5±10.6 ^b	17.4±0.5 ^{bc}	2.8±0.6 ^{ab}
Brown rice	131.3±32.7 ^{ab}	19.5±1.5 ^b	2.6±0.3 ^{ab}
Germinated brown rice	165.0±22.2 ^a	26.5±2.7 ^a	3.4±0.4 ^a

1) Each value represents mean±S.D.

2) Values with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

5. 발아현미의 고혈압 억제 효능 평가 임상시험

가. 조사대상자의 특징

조사 대상자의 일반적인 특징을 조사한 결과를 Table 26에 나타내었다. 조사 대상자의 연령은 20~60세로 발아현미 50 g군은 평균 46.8 ± 5.4 세, 발아현미 100 g군은 평균 46.0 ± 10.6 세이였으며, 평균 신장과 체중은 각각 170.0 ± 4.6 cm와 73.1 ± 8.9 kg, 165.0 ± 7.7 cm와 66.9 ± 10.3 kg이었다. 혈압조절을 위해 50%가 병원 치료를 받은 적이 있으며, 조사 대상자의 70%가 평소 음주를 하는 것으로 나타났으며, 20%는 흡연하는 것으로 조사되었다. 실험군의 혈압과 심장박동수를 조사한 결과 수축기 혈압의 경우 발아현미 50 g군이 148.9 ± 4.2 mmHg, 발아현미 100 g군이 147.6 ± 5.1 mmHg로 거의 유사한 값을 나타내었고, 이완기 혈압의 경우에는 발아현미 50 g군이 100.4 ± 17.5 mmHg, 발아현미 100 g군이 94.6 ± 6.2 mmHg로 발아현미 50 g군의 이완기 혈압이 다소 높은 것으로 나타났다. 심장박동수는 발아현미 50 g군이 78.1 ± 7.3 beats/min, 발아현미 100 g군이 72.0 ± 10.4 beats/min로 발아현미 50 g군이 다소 높은 것으로 나타났다. 한편 총콜레스테롤은 발아현미 50 g군이 221.7 ± 48.0 mg/dL, 발아현미 100 g군이 220.8 ± 31.4 mg/dL로 유사한 값을 나타내었지만 중성지질은 각각 251.7 ± 234.6 mg/dL, 123.0 ± 41.1 mg/dL로 상당히 큰 차이를 나타내었고 발아현미 50 g군의 경우 기준치를 크게 초과하였다.

Table 26. Baseline clinical demographics of the two study groups

	Germinated brown rice 50g	Germinated brown rice 100g
Number of subjects	9	8
Men/Women	9/0	5/3
Age (years)	46.8±5.4 ¹⁾	46.0±10.6
Body weight (kg)	73.1±8.9	66.9±10.3
Height (cm)	170.0±4.6	165.0±7.7
Systolic blood pressure (mmHg)	148.9±4.2	147.6±5.1
Diastolic blood pressure (mmHg)	100.4±17.5	94.6±6.2
Heart rate (beats/min)	78.1±7.3	72.0±10.4
Total cholesterol (mg/dL)	221.7±48.0	220.8±31.4
Triglyceride (mg/dL)	251.7±234.6	123.0±41.1
Blood glucose (mg/dL)	86.9±8.5	107.5±27.8
Uric acid (mg/dL)	5.8±1.5	5.4±1.1

1) Each value represents mean±S.D.

나. 혈압의 변화

선발된 고혈압 환자를 대상으로 발아현미밥을 6주동안 섭취하도록 하여 3주와 6주경과시에 혈압을 측정한 결과는 Fig. 12와 같다. 발아현미를 1일 50 g 섭취하도록 한 발아현미 50 g군은 수축기 혈압의 경우 초기 148.9±4.2 mmHg에서 3주후 146.0±7.4 mmHg, 6주후 146.2±8.4 mmHg로 거의 차이를 나타내지 않았으며, 이완기 혈압의 경우에도 초기 96.4±9.6 mmHg, 3주후 97.6±6.8 mmHg, 6주후 94.6±11.7 mmHg로 유사한 경향이었고 평균혈압도 동일한 경향을 나타내었다. 한편 발아현미를 1일 100 g 섭취하도록 한 발아현미 100 g군은 수축기 혈압의 경우 초기 150.8±3.3 mmHg에서 3주후 141.4±8.6 mmHg, 6주후 141.0±8.3 mmHg로 3주 경과시에 이미 초기에 비해 유의적으로 낮아진 혈압을 나타내었으

며 6주 경과시에도 거의 유사한 값을 나타내었다. 이완기 혈압의 경우에도 초기 98.9 ± 5.3 mmHg, 3주후 91.1 ± 9.4 mmHg, 6주후 92.1 ± 6.1 mmHg로 수축기 혈압의 경향과 유사하였고 3주 경과시부터 유의적으로 낮아진 혈압을 나타내었다. 평균혈압에 있어서도 초기 116.1 ± 3.5 mmHg에서 3주후 107.9 ± 8.1 mmHg, 6주후 108.6 ± 5.6 mmHg로 수축기, 이완기 혈압 변화와 동일한 경향을 나타내었다. 발아현미 50 g군의 경우 유의적인 혈압 감소를 보이지 않은 반면 발아현미 100 g군의 경우에는 3주 경과시부터 수축기, 이완기 혈압 모두 유의적인 수준에서 감소하는 것으로 나타나 발아현미 섭취가 고혈압 환자의 혈압 강하에 효과가 있음은 물론 섭취량에 따른 혈압강하 효과의 차이를 나타냄을 알 수 있었다.

초기와 6주 경과후의 평균혈압을 비교하여 13 mmHg 하강의 감소(decreased), 7~12 mmHg 하강의 감소경향(mildly decreased), ± 6 mmHg의 불변(no change), 7 mmHg 상승의 증가(increased)의 4단계로 구분하여 혈압강하 효과를 분석한 결과는 Table 27과 같다. 발아현미 50 g군의 경우 감소 2명, 감소경향 1명으로 총 9명 중 3명이 평균혈압이 7 mmHg 이상 감소하는 것으로 나타났고 6명은 변화가 없는 것으로 나타났다. 발아현미 100 g군의 경우에는 감소 2명, 감소경향 2명으로 총 8명 중 4명, 즉 50%가 평균혈압이 7 mmHg 이상 감소하는 것으로, 4명은 변화가 없는 것으로 나타났다. 전체적으로는 총 17명 중 7명, 즉 41.2%가 평균혈압이 7 mmHg 이상 감소하는 것으로 나타나 발아현미를 일상적인 식사로서 섭취함으로써 혈압을 관리할 수 있을 것으로 기대된다.

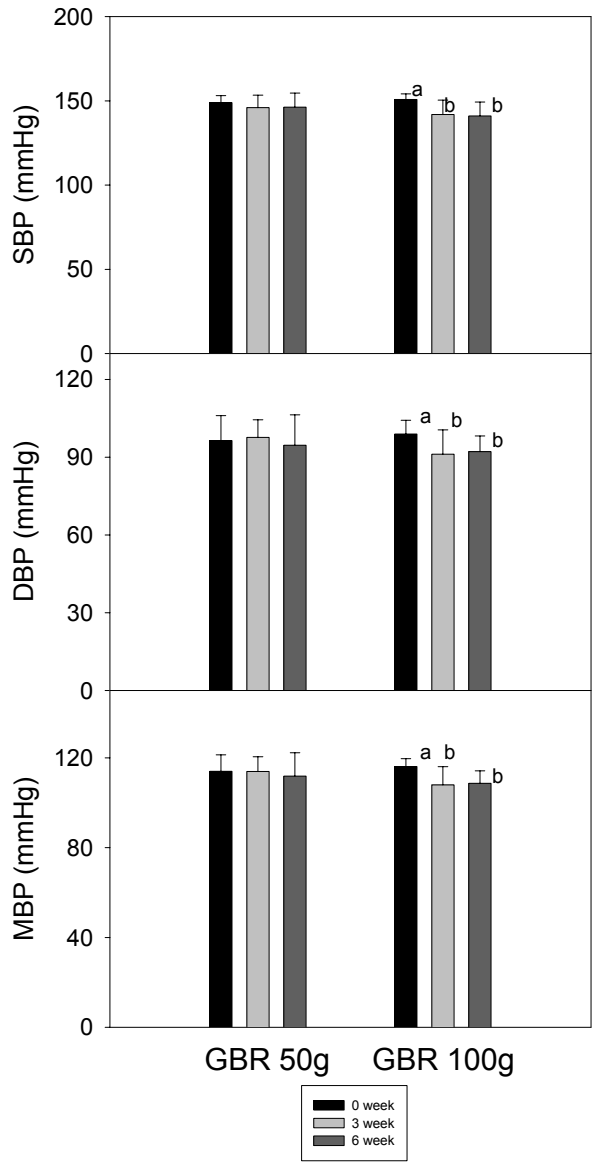


Fig. 12. Changes in blood pressure after intake of germinated brown rice

Table 27. Effect of germinated brown rice on the level distribution of MBP

	Germinated brown rice 50 g	Germinated brown rice 100 g	Total
Dereased	2 (22.2)	2 (25.0)	4 (23.6)
Mildly decreased	1 (11.1)	2 (25.0)	3 (17.6)
No change	6 (66.7)	4 (50.0)	10 (58.8)
Increased	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	9 (100.0)	8 (100.0)	17 (100.0)

다. 혈액과 뇨 분석

선발된 고혈압 환자를 대상으로 발아현미밥을 6주동안 섭취하도록 하여 6주 경과 후 혈액과 소변을 채취하여 초기시의 분석결과와 비교하여 Table 28에 나타내었다. 적혈구, 백혈구 수 등의 hematology의 경우 발아현미 50 g군, 100 g군 모두 발아현미 섭취에 따른 차이를 보이지 않았으며, 뇨분석 결과에서도 차이를 나타내지 않았다. 혈액분석 결과에서도 공복 혈당, 신장기능을 나타내는 BUN, creatinine 그리고 간기능을 나타내는 ALT, AST 등의 수치에 있어 발아현미 섭취에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 하지만 총콜레스테롤 및 중성지질과 같은 혈액내 지질관련 성분들의 값에서는 유의적으로 큰 차이를 나타내었다. 총 콜레스테롤의 경우 발아현미 50 g군은 발아현미 섭취전 221.7±48.0 mg/dL에서 섭취후 199.6±29.6 mg/dL로, 발아현미 100 g군은 발아현미 섭취전 220.8±31.4 mg/dL에서 섭취후 196.4±38.3 mg/dL로 유의적인 수준에서 감소하였다. 또 중성지질의 경우에서도 발아현미 50 g군은 발아현미 섭취전 251.7±234.6 mg/dL에서 섭취후 224.2±175.5 mg/dL로, 발아현미 100 g군은 발아현미 섭취전 123.0±41.1 mg/dL에서 섭취후 105.1±50.8 mg/dL로 유의적인 수준에서 감소하였다. 혈액에서의 총 콜레스테롤과 중성지질의 감소가 발아현미 섭취에 의한 혈압감소에도 상당한 영향을 미쳤을 것으로 추정된다.

Table 28. Results of hematology, blood chemistry and urinalysis before and after intake of cooked rice containing germinated brown rice

		Germinated brown rice 50 g		Germinated brown rice 100 g	
		Before	After	Before	After
Hematology					
Red blood cells ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	3.8~5.4	4.9 \pm 0.3 ¹⁾	4.8 \pm 2.7	4.6 \pm 0.6	4.8 \pm 0.5
White blood cells ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	4.0~10.0	5.6 \pm 1.6	5.4 \pm 1.4	6.8 \pm 1.8	6.9 \pm 1.4
Platelets ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	130~400	238.2 \pm 67.8	257.8 \pm 60.5	249.9 \pm 73.0	260.1 \pm 63.9
Hemoglobin (g/dL)	12~17	15.5 \pm 0.8	15.4 \pm 0.9	14.3 \pm 1.3	14.1 \pm 1.5
Hematocrit (%)	33~51	44.5 \pm 1.7	45.8 \pm 2.7	41.2 \pm 3.5	41.2 \pm 4.2
Blood biochemistry					
Fasting glucose (mg/dL)	60~110	86.9 \pm 8.5	89.6 \pm 16.1	107.5 \pm 27.8	101.1 \pm 14.1
Blood urea nitrogen (mg/dL)	8~26	13.9 \pm 3.6	12.0 \pm 2.7	15.3 \pm 4.1	15.3 \pm 5.4
Creatinine (mg/dL)	0.8~1.5	0.9 \pm 1.1	0.9 \pm 0.1	0.9 \pm 0.2	0.9 \pm 0.2
Total cholesterol (mg/dL)	120~240	221.7 \pm 48.0	199.6 \pm 29.6 ²⁾	220.8 \pm 31.4	196.4 \pm 38.3*
HDL cholesterol (mg/dL)	40~100	50.0 \pm 8.5	51.1 \pm 10.4	56.9 \pm 7.6	56.7 \pm 9.8
Triglyceride (mg/dL)	35~197	251.7 \pm 234.6	224.2 \pm 175.5	123.0 \pm 41.1	105.1 \pm 50.8*
ALT (IU/L)	5~40	27.0 \pm 11.2	20.6 \pm 6.9	32.6 \pm 11.8	30.6 \pm 16.0
AST (IU/L)	5~40	29.7 \pm 16.6	30.0 \pm 10.8	27.4 \pm 5.7	25.9 \pm 6.9
Alkaline phosphate (IU/L)	(M)94~239 (F)70~190	142.2 \pm 28.7	156.9 \pm 24.6	173.6 \pm 44.5	156.5 \pm 47.8
Uric acid (mg/dL)	3~8	5.8 \pm 1.5	5.3 \pm 1.8	5.4 \pm 1.0	5.3 \pm 0.8
Sodium (mEq/L)	135~146	138.2 \pm 2.9	139.0 \pm 1.7	141.4 \pm 1.6	142.9 \pm 2.6
Potassium (mg/dL)	2.3~4.5	5.2 \pm 0.3	5.3 \pm 0.2	4.2 \pm 0.6	4.1 \pm 0.5
Urinalysis					
Specific gravity	1.003~1.030				
Ketone body	negative	-	-	-	-
Protein	negative	-	-	-	-
Occult blood	0	-	-	-	-
Glucose	negative	-	-	-	-
WBC (HPF)	0~5	-	-	-	-

1) Each value represents mean \pm S.D.

2) *p<0.05 vs baseline

6. 고농도 GABA 함유 발아현미 및 즉석취반용 발아현미의 저장성 검토 및 산업적 생산공정 확립

쌀은 저장 중 물리화학적 변화에 의해 노화가 일어나며 이에 따라 취반미의 품질이 저하되고 가공적성이 감소되어 식미, 영양가, 상업적 가치 등이 떨어지게 된다. 쌀의 노화는 지방, 단백질, 전분을 중심으로 발생하는데 특히 저장 중 지방질의 가수분해로 생성된 지방산이 amylose와 복합체를 형성하여 전분의 용해도와 팽윤력을 감소시키고 더 나아가 불포화 지방산의 자동산화에 의해 형성된 지질 산화물과 단백질과의 결합으로 단백질 용해도 또한 감소시킨다(87). 이러한 이유 때문에 쌀의 장기저장에 의해 유리지방산과 과산화물가가 증가할 뿐만 아니라 고미취의 주성분인 카르보닐 화합물이 증가하는 것으로 알려져 있다(88).

현미는 상당량의 지방을 함유하고 그 중 약 75% 이상이 불포화지방산으로 알려져 있어 산소에 의한 자동산화의 영향을 받기 쉽다. 발아현미의 경우 발아 중 불포화지방산의 산소접촉이 현미보다 더 활발할 뿐만 아니라 lipase, lipoxygenase 등의 지방관련 효소의 활성이 발아시에 크게 증가하며 이에 따라 이미, 이취도 현미에 비해 다량 발생할 것으로 추정된다. 한편 레토르트 발아현미의 경우 과량의 열처리에 의해 지방 산패 및 자동산화가 급격히 발생하였을 것으로 예측된다.

본 연구를 통해 개발된 발아현미 및 레토르트 발아현미의 저장성을 검토하기 위하여 현미와 함께 37°C의 incubator에서 4주간 저장하면서 과산화물가와 lipoxygenase와 같은 이화학적 특성과 관능특성의 변화를 조사하였다. 일반적으로 지질의 산화과정을 보면 초기에 생성된 과산화물이 계속 산화, 분해, 축합 또는 다른 화합물과 반응하여 생성된 과산화물이 감소(89)하게 되는 것으로 알려져 있다. 저장기간에 따른 과산화물가의 변화를 조사한 결과는 Fig. 13과 같다. 현미의 경우 초기 1.44 meq/kg에서 저장기간에 경과함에 따라 5.05~7.92 meq/kg으로 증가하였지만 더 이상의 증가는 나타나지 않았다. 발아현미는 초기 6.53 meq/kg의 값을 나타내어 발아에 의해 과산화물가가 상당히 증가하였지만 저장기간이 증가하여도 4.75~9.41 meq/kg으로 거의 변화가 없이 현미와 비슷한 값을 나타내었다. 한편 레토르트 발아현미는 초기 7.33 meq/kg에서 저장기간이 경과함에 따라 19.15~28.22 meq/kg으로 급격히 증가하여 레토르트 처리에 의해 과산화

물이 다량 생성됨을 알 수 있었고 생성된 과산화물이 레토르트 발아현미의 관능적 특성 및 기호도에 영향을 미칠 것으로 추정된다.

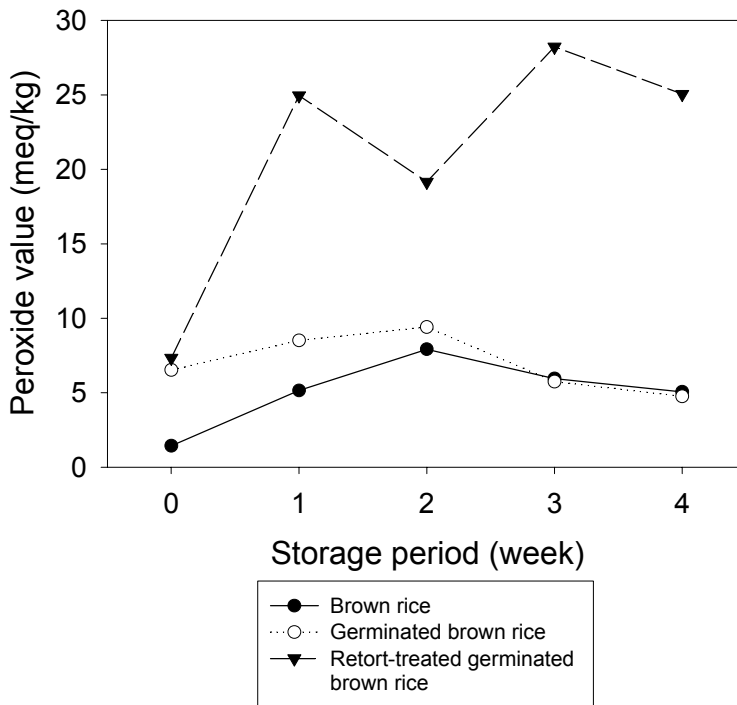


Fig. 13. Changes in peroxide values of brown rice, germinated brown rice and retort-treated germinated brown rice

쌀은 저장 중 지방질이 쉽게 가수분해나 산화를 일으켜 불쾌취, 불쾌한 맛을 생성하여 쌀의 품질을 저하시킨다. 이러한 이미, 이취를 주는 주요 화합물은 휘발성 alcohol, aldehyde, ketone, ester, amines 및 phenol 등으로서 쌀의 저장과정 중에 자동산화와 hemoglobin, myoglobin 등 heme 화합물의 산화촉진제 의한 산화 및 lipoxygenase의 촉매작용에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다. Lipoxygenase는 산소 존재시 cis-1,4 pentadiene(-CH=CH-CH₂-CH=CH-) 구조

를 가진 불포화지방산에만 작용하는 특이성을 가진 산화효소이다(90). Fig. 14는 저장기간에 따른 lipoxygenase 활성을 조사한 결과로서 현미의 경우 초기 14.95 unit에서 저장기간이 경과함에 따라 13.64~22.94 unit으로 약간 증가하였고, 발아 현미도 초기 10.59 unit에서 15.65~17.03 unit으로 약간 증가하였고 현미와 거의 유사한 경향이였다. 한편 레토르트 발아현미는 레토르트 처리에 의해 lipoxygenase의 활성이 거의 소실되어 1.67~3.79 unit의 낮은 값을 나타내었다.

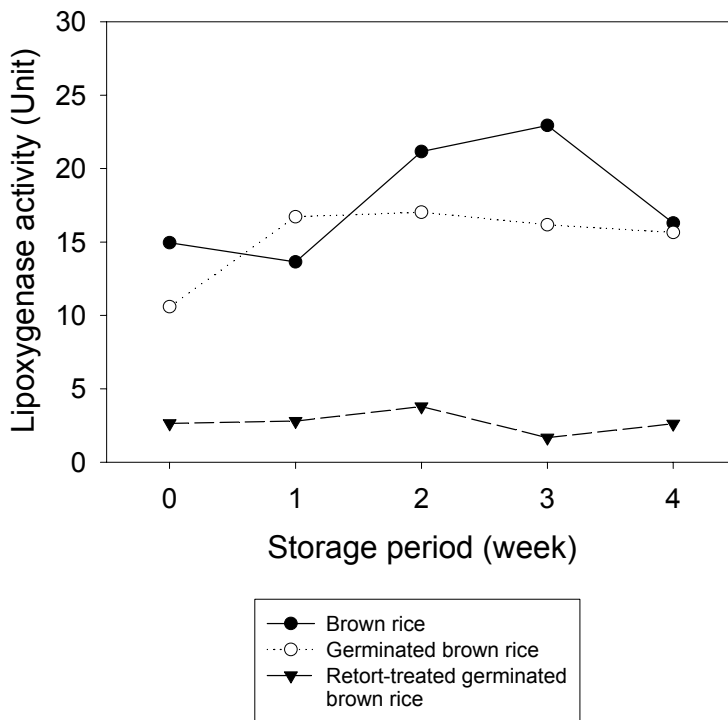


Fig. 14. Changes in lipoxygenase activity of brown rice, germinated brown rice and retort-treated germinated brown rice

발아현미 및 레토르트 발아현미를 37°C의 incubator에서 4주간 저장한 후 저

장초기 시료와 이미, 이취 발생정도를 관능적으로 비교한 결과를 Table 29에 나타내었다. 현미의 경우 저장초기에 비해 4주 저장후 이미, 이취가 약간 증가하였으며, 발아현미도 4주 저장후 이미, 이취가 약간 증가하였지만 현미 보다는 이미가 다소 강하게 나타났다. 한편 레토르트 발아현미의 경우에는 과도한 열처리에 의해 초기 시료임에도 불구하고 비교적 강한 이미, 이취가 발생하였지만 레토르트 파우치에서 밀봉된 상태로 보관하였기 때문에 4주 경과후에도 이미, 이취의 발생량이 더 증가하지는 않는 것으로 나타났다. 한편 레토르트 처리후 건조하여 개봉된 상태에서 저장한 경우에는 초기 시료에 비해 훨씬 더 강한 이미, 이취를 발생함을 알 수 있었다. 따라서 상업적으로 유통가능한 레토르트 발아현미를 제조하기 위해서는 발아직후 레토르트 파우치에 담고 밀봉한 후 레토르트 처리하여 산소와의 공기접촉을 제한함으로써 제조후 및 저장중 품질열화를 최소화할 수 있음을 알 수 있었다.

Table 29. Sensory evaluation of brown rice, germinated brown rice and retort-treated germinated brown rice after storage for 4 weeks at 37°C

	Storage period (week)	Characteristics	
		Off flavor	Off taste
Brown rice	0	3.5	3.2
	4	4.7	4.8
Geminated brown rice	0	4.2	4.3
	4	4.9	6.3
Retort-treated germinated brown rice (open packaged)	0	5.0	5.7
	4	7.2	8.1
Retort-treated germinated brown rice (close packaged)	0	5.0	5.7
	4	4.8	5.5

제 4 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구과제의 수행 결과 얻어진 성과는 다음과 같이 활용할 계획이다.

0 연구결과 및 결과별 활용가능영역

1) 특허출원

- . ‘고혈압 억제 효능을 갖는 발아현미 제조기술’ 출원 예정
- . ‘효소처리에 의한 발아현미의 식감개선’ 출원 예정

2) 국내외 관련 학회 논문 게재

- . ‘발아현미의 GABA 증진 조건’ 투고 예정
- . ‘발아현미의 본태성 고혈압취에 대한 혈압강하 효과’ 투고 예정
- . ‘발아현미의 고혈압 환자에 대한 혈압강하 효과’ 투고 예정
- . ‘발아현미의 비만예방 효과’ 투고 예정

3) 관련기술의 기업체 기술이전 추진

- . ‘고혈압 억제 및 비만 예방 효능을 갖는 발아현미 제조기술’ 기술이전 추진 중

제 5 장 참고문헌

1. Juliano BO, Bechtel DB. The rice grain and its gross composition. Rice Chemistry and Technology. The American Association of Cereal Chemist, Inc., Minnesota p. 17, 1985
2. Kim SK, Cheigh HS. Radical distribution of calcium, phosphorus, iron, thiamine and riboflavin in the degermed brown rice kernel. Korean J. Food Sci. Technol. 11: 122-126 (1979)
3. Lee MH, Shin JC. New techniques for the cultivation of quality rice. In Rediscovering Korea Rice and Development Direction, Park LK and Shin JC Eds., Proc. Korean Society of Rice Research Conference Seoul, p. 239-263 (1996)
4. Elkhailil EAI, Tinay AH, Mohamed BE, Elsheikh EAE. Effect of malt pretreatment on phytic acid and in vitro protein digestibility of sorghum flour. Food Chem. 72: 29-32 (2001)
5. Sierra I, Vidal-Valverde C. Kinetics of free and glycosylated B6 vitamers, thiamin and riboflavin during germination of pea seeds. J. Sci. Food & Agric. 73: 307-310 (1999)
6. Mwikya SM, Camp JV, Yiru Y, Huyghebaert A. Nutrient and antinutrient changes in finger millet (*Eleusine coracana*) during sprouting. Lebensm. Wiss. Technol. 33: 9-14 (2000)
7. Laboure AM, Gangnon J, Lescure AM. Purification and characterization of a phytase(myo-inositol-hexakisphosphate phospho-hydrolase) accumulated in maize (*Zea mays*) seedlings during germination. Biochem. J. 295: 413-419 (1993)
8. Okada T, Sugishita T, Murakami T, Murai H, Saikusa T, Horino T, Onoda A, Kajimoto O, Takahashi R, Takahashi T. Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness, depression, autonomic disorder by oral administration. J. Japanese Soc. Food Sci. Technol. 47: 596-603 (2000)

9. Kumar S, Punekar NS, SatyaNarayan V, Venkatesh KV. Metabolic fate of glutamate and evaluation of flux through the 4-aminobutyrate(GABA) shunt in *Aspergillus niger*. *Biotechnol. Bioeng.* 67: 575-584 (2000)
10. Boun AW, Shelp BJ. The metabolism and function of Ψ -aminobutyric acid. *Plant Physiol.* 115: 1-5 (1997)
11. Oh SH, Lee IT, Park KB, Kim BJ. Changes in the levels of water soluble protein and free amino acids in brown rice germinated in a chitosan/glutamic acid solution. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 17: 515-519 (2002)
12. Oh SH, Choi WG. Production of the quality germinated brown rices containing high Ψ -aminobutyric acid by chitosan application. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15: 615-620 (2000)
13. Swales JD. Aetiology of hypertension. *Br. J. Anaesth.* 56: 677-688 (1984)
14. Cambiens F, Chretien JM, Ducimentiene P, Guize L, Richard JL. Is the relationship between blood pressure and cardiovascular risk dependent on body mass index? *Am. J. Epid.* 122: 343-443 (1985)
15. Ondetti MA, Cushman DW. Enzymes of the renin-angiotensin system and their inhibitors. *Ann. Rev. Biochem.* 51: 283 (1982),
16. Cushman DW, Ondetti MA. Interruption of angiotensin-converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacol.* 29: 1871 (1980)
17. Maruyama S, Mitachi H, Tankata H, Tomizuka N, Suzuki H. Studies on the active site and antihypertensive activity of angiotensin I converting enzyme inhibitors derived from casein. *Agric. Biol. Chem.* 51: 1581-1586 (1987)
18. Kinoshita E, Yamakoshi J, Kikachi M. Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitor from soy sauce. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57: 1107-1110 (1993)
19. Seki E, Osajima K, Matsui T, Osajima Y. Separation and purification of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from heated sardine meat by treatment with alkaline protease. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 40: 783-791 (1993)

20. Hara Y, Matsuzaki T, Suzuki T. Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkashi* 61: 803-808 (1987)
21. Cho YJ, An BJ, Choi C. Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of Flavan-3-ols isolated Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 238-242 (1993)
22. Holm Y, Andreassen AK, Aukrust P, Anderson K, Geiran OR, Kjekshus J, Simonsen S, Gullestad L. Omega-3 fatty acids improve blood pressure control and preserve renal function in hypertensive heart transplant recipients. *Eur. Heart J.* 22: 428-436 (2001)
23. Frenoux JR, Prost ED, Belleville JL, Prost JL. A polyunsaturated fatty acid diet lowers blood pressure and improves antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr.* 131: 39-45 (2001)
24. Muramoto M, Kawamura Y. Hypertensive (angiotensin converting enzyme inhibitory) peptide of rice protein. *Shokuhinkogyo* 18 (1991)
25. Rhyu MR, Nam YJ, Lee HY. Screening of angiotensin I converting enzyme inhibitors in cereals and legumes. *Food & Biotechnol.* 5: 334-337 (1996)
26. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomized controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* 347: 781-786 (1996)
27. Abe Y, Sugimoto K, Hirawa N, Kato Y, Yokoyama N, Yokoyama T, Iwai J, Ishii M. Effect of green tea rich in gamma-aminobutyric acid on blood pressure of Dahl salt-sensitive rats. *Am. J. Hypertens.* 8: 74-79 (1995)
28. Inoue K, Shirai T, Ochiai H, Kasao M, Hayakawa K, Kimura M, Sansawa H. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing γ -aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57: 490-495 (2003)
29. Suzuki A, Kagawa D, Fujii A, Ochiai R, Tokimitsu I, Saito I. Short- and

- long-term effects of ferulic acid on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* 15: 351-357 (2002)
30. Choi HD, Seog HM, Kim SR, Kim HM, Park YK. Improvement of preference and functionality of brown rice by various cultivation techniques. KFRI report E1107-0112 (2001)
31. '98 National Nutrition Survey Report. Ministry of Health and Welfare (2000)
32. Office of the Surgeon General. The surgeon general's call to action to prevent and decrease overweight and obesity. U.S. Department of Health and Human Services. Rockville, MD. 2001
33. Kovacs EMR, Westerterp-Plantenga MS, de Vries M. Effect of 2-week ingestion of (-)-hydroxycitrate and (-)-hydroxycitrate combined with medium-chain triglycerides on satiety and food intake. *Physiol. Behav.* 74: 543-549 (2001)
34. Westerterp-Plantenga MS, Kovacs EMR. The paradoxical effect of (-)-hydroxycitrate on energy intake regulation in humans. *Int. J. Obes.* 24: S189-S192 (2000)
35. Kim KM, Ahn SW, Oh SH, Chang UJ, Kang DH, Suh HJ. Anti-obesity effect of a new dietary supplement consisting of hydroxycitrate, carnitine and red pepper (3D-Relax Diet) in high-fat fed rats. *Nutraceuticals Foods* 8: 137-140 (2003)
36. Helms R, Whittington P, Mauer E. Enhanced lipid utilization in infants receiving oral L-carnitine during long-term parenteral nutrition. *J. Pediatrics* 109: 984-988 (1986)
37. 최진호, 김동우. 미역(*Undaria pinnatifida*)의 알긴산-첨가 기능성 음료(해조미인)가 흰쥐의 비만 및 생리활성에 미치는 영향. *생명과학회지* 7: 361-370 (1997)
38. King DJ, Devaney N. Clinical pharmacology of sibutramine hydrochloride (BTS 54 525), a new antidepressant, in healthy volunteers. *Br. J. Pharmacol.* 26: 607-611 (1988)
39. Rock LC, Ann MC. Weight control approaches: A review by the California

Dietetic Association. JADA 88: 44-88 (1988)

40. National Institute of Health. Methods for voluntary Weight Loss and Control-Technology Assessment Conference Statement. Nutr. Today Jul/August, pp. 27-33 (1992)

41. 하태열, 김나영. 현미를 주원료로 한 생식이 과체중/비만 여성의 비만도와 혈액 성분 에 미치는 영향. 한국영양학회지 36: 183-190 (2003)

42. Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol. 20: 1637-1640 (1971)

43. Burstein M, Scholnick HR and Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. J. Lipid Res. 11: 583-589 (1970)

44. Zhang G, Bown AW. The rapid determination of γ -aminobutyric acid. Phytochem. 44: 1007-1009 (1997)

44. Folch J, Less M and Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-569 (1957)

45. Oh SH, Lee IT, Park KB, Kim BJ. Changes in the levels of water soluble protein and free amino acids in brown rice germinated in a chitosan/glutamic acid solution. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 17: 515-519 (2002)

46. Oh SH, Kim SH, Moon YJ, Choi WG. Changes in the levels of γ -aminobutyric acid and some amino acids by application of a glutamic acid solution for the germination of brown rice. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 17: 49-53 (2002)

47. Oh SH, Choi WG. Production of the quality germinated brown rices containing high γ -aminobutyric acid by chitosan application. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 15: 615-620 (2000)

48. Roby D, Gadelle A, Toppan A. Chitin oligosaccharides as elicitors of chitinase activity in melon plants. Biochem. Biophys. Res. Commun. 143: 885-892 (1987)

49. Inui H, Kosaki H, Uno Y, Tabata K, Hirano S. Induction of chitinases in rice callus treated with chitin derivatives. *Agric. Biol. Chem.* 55: 3107–3109 (1991)
50. Snedden WA, Arazi T, Fromm H, Shelp BJ. Calcium/calmodulin activation of soybean glutamate decarboxylase. *Plant Physiol.* 108: 543–549 (1995)
51. Snedden WA, Fromm H. Calmodulin, calmodulin-related proteins and plant responses to the environment. *Trends Plant Sci.* 3: 299–304 (1998)
52. Oh SH. Stimulation of Ψ -aminobutyric acid synthesis activity in brown rice by a chitosan/glutamic acid germination solution and calcium/calmodulin. *J. Biochem. Molecular Biol.* 36: 319–325 (2003)
53. Saikusa T, Horino T, Mori Y. Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 1122–1125 (1994)
54. Stewart GR, Larher F. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In *The Biochemistry of Plants* (Stumpf PK, Conn EE ed.) Vol 5, pp 609–635 (1980)
55. Streeter JG, Thompson JF. Anaerobic accumulation of Ψ -aminobutyric acid and alanine in radish leaves (*Raphanus sativus* L.). *Plant Physiol.* 49: 572–578 (1972)
56. Wallace W, Secor J, Schrader LE. Rapid accumulation of Ψ -aminobutyric acid and alanine in soybean leaves in response to an abrupt transfer to lower temperature, darkness or mechanical manipulation. *Plant Physiol.* 75: 170–175 (1984)
57. Aurisano N, Bertani A, Reggiani R. Anaerobic accumulation of 4-aminobutyrate in rice seedlings; causes and significance. *Phytochem.* 38: 1147–1150 (1995)
58. Bryan JK. Amino acid biosynthesis and its regulation. In *Plant Biochemistry* (Bonner J, Varner JE ed) pp. 525–560 (1976)
59. Streeter JG, Thompson JF. In vivo and in vitro studies on Ψ -aminobutyric acid metabolism with the radish plant (*Raphanus sativus* L.)

Plant Physiol. 49: 579-584 (1972)

60. Billingsley M, Suria A. Effects of peripherally administered GABA and other amino acids on cardiopulmonary responses in anesthetized rats and dogs. Arch. Int. Pharmacodyn. 255: 131-140 (1982)

61. Research Group of γ -Aminobutyric acid in Tokyo. Clinical aspects on the use of gamma-aminobutyric acid. In: Inhibition in the Nervous System and Gamma-aminobutyric Acid. Proceedings of an International Symposium, City of Hope Medical Center, Duarte, California, 22-24 May, 1959, pp 579-581

62. Oomori S, Yano T, Okamoto J, Tushida F, Murai T, Higuchi M. Effect of anaerobically treated tea (Gabaron tea) on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats. Nippon Nogeikagaku Kaishi 61: 1449-1451 (1987)

63. Park JH, Han SH, Shin MK, Park KH, Lim KC. Effect of hypertension falling of functional GABA green tea. Korean J. Medicinal Crop Sci. 10: 37-40 (2002)

64. Tsuji K, Ichikawa T, Tanabe N, Abe S, Tarui S, Nakagawa Y. Antihypertensive activities of Beni-Koji extracts and γ -aminobutyric acid in spontaneously hypertensive rats. Japanese J. Nutr. 50: 285-291 (1992)

65. Nicol RA, Malenka RC, Kauer JA. Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system. Physiol. Rev. 70: 513-565 (1990)

66. Tanaka C. γ -Aminobutyric acid in peripheral tissues. Life Sci. 37: 2221-2235 (1985)

67. Hayakawa K, Kimura M, Kamata K. Mechanism underlying gamma-aminobutyric acid-induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. Eur. J. Pharmac. 438: 107-113 (2002)

68. Domoniczak AF, Bohr DF. Nitric oxide and its putative role in hypertension. Hypertension 25: 1202-1211 (1995)

69. Toda S, Kumura M, Ohnishi M. Effects of phenolcarboxylic acids on superoxide anion and lipid peroxidation induced by superoxide anion. Planta Med. 57: 8-10 (1991)

70. Bourne LC. The effect of the phenolic antioxidant ferulic acid on the oxidation of low density lipoprotein depends on the pro-oxidant used. *Free Radic. Res.* 27: 337-344 (1997)
71. Kroom PA, Faulds CB, Ryden P, Robertson JA, Williamson G. Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *J. Agric. Food Chem.* 45: 661-667 (1997)
72. Bourne LC. Bioavailability of ferulic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 253: 222-227 (1998)
73. Schlamowitz P, Halberg T, Warnoe O, Wilstrup F, Rytting K. Treatment of mild to moderate hypertension with dietary fiber. *Lancet* 2: 622-623 (1987)
74. Eliasson K, Rytting K, Hylander B, Rossner S. A dietary fiber supplement in the treatment of mild hypertension. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Hypertens.* 10: 195-199 (1992)
75. Kestin M, Moss R, Clifton P. Comparative effects of three cereal brans on plasma lipids, blood pressure, and glucose metabolism in mildly hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 52: 661-666 (1990)
76. Sciarrone S, Beilin L, Rouse I, Rogers P. A factorial study of salt restriction and a low-fat/high-fibre diet in hypertensive subjects. *J. Hypertens.* 10: 287-298 (1992)
77. McIntosh GH, Le Leu RK, Kerry A, Goldring M. Barley grain for human food use. *Food Aust.* 45: 392-394 (1993)
78. Gondal J, MacArthy P, Myers A, Preuss H. Effects of dietary sucrose and fibers on blood pressure in hypertensive rats. *Clin. Nephrol.* 45: 163-168 (1996)
79. Singh R, Rastogi S, Singh N, Ghosh S, Gupta S, Niaz M. Can guava fruit intake decrease blood pressure and blood lipids? *J. Hum. Hypertens.* 7: 33-38 (1993)
80. Hallfrisch J, Scholfield DJ, Behall KM. Blood pressure reduced by whole grain diet containing barley or whole wheat and brown rice in moderately hypercholesterolemic men. *Nutr. Res.* 23: 1631-1642 (2003)

81. Kamikawa T, Tsuji K, Nakagawa Y. Effects of dietary fiber from cacao bean on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 46: 581-586 (1999)
82. Weidmann P, de Courten M, Bohlen L. Insulin resistance, hyperinsulemia and hypertension. *J. Hypertens.* 11: S27-S38 (1993)
83. Taddei S, Salvetti A. Pathogenic factors in hypertension. Endothelial factors. *Clin. Exp. Hypertens.* 18: 323-335 (1996)
84. Krum H, Viskoper R, Lacourciere Y, Budde B, Charlon V. The effect of an endothelium-receptor antagonist, Bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 338: 784-790 (1998)
85. Anderson T, Meredith I, Yeung A. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N. Engl. J. Med.* 332: 488-493 (1995)
86. Keenan JM, Pins JJ, Frazel C, Moran A, Turnquist L. Oat ingestion reduces systolic blood pressure in patients with mild or borderline hypertension: A pilot trial. *J. Family Practice* 51: (2002)
87. Shibuya N, Iwasaki T, Yanase H, Chikuko S. Studies on deterioration of rice during storage. Part I. Changes of brown rice and milled rice during storage. *Japanese J. Soc. Food Sci. Technol.* 21: 597-603 (1974)
88. Moritaka S, Sawada K, Yasumatsu K. Studies on cereals. VII. Relation between lipid content of milled rice and deterioration of rice flavors during storage. *Eiyo To Shokuryo* 24: 474-476 (1971)
89. Moritaka S, Yasumatsu K. Studies on cereals. X. The effect of sulfhydryl groups on storage deterioration of milled rice. *Eiyo To Shokuryo* 25: 59-62 (1972)
90. Hildebrand DF, Kito M. Role of lipoxygenase in soybean seed protein quality. *J. Agric. Food Chem.* 32: 815-819 (1984)

〈부 록 1〉

발아현미 임상시험 계획서

고혈압 환자에 대한 “발아현미”의 유효성을
평가하기 위한 무작위배경, 이중맹검, 병행,
“현미” 대조 임상시험

한 국 식 품 연 구 원

여 백

임상시험계획서의 개요(Synopsis)

임상시험 제목	고혈압 환자에 대한 “발아현미”의 유효성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중맹검, 병행, “현미” 대조 임상 시험
임상시험용 식품	시험식품: 발아현미 대조식품: 현미
임상시험용 식품의 성분 및 함량	1) 시험식품 : 발아현미 50-100g 2) 대조식품 : 현미 100g
임상시험 의뢰자	한국식품개발연구원
임상시험계획서 번호	Protocol No.
임상시험 디자인	무작위배정, 이중맹검, 병행, 비교, 임상시험 (A randomized, double-blind, parallel, comparative study with a 6 weeks treatment period)
임상시험 단계	
임상시험 목적	본 시험은 고혈압 환자에 대한 발아현미의 유효성을 현미와 비교 평가한다.
대상 환자	경증의 본태성 고혈압(Mild Essential Hypertension)(JNC VI stage I)
선정 기준 및 제외기준	<p><u>선정기준</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 만 18세 이상, 75세 이하인 환자 경증의 본태성 고혈압 환자(시험 시작전 혈압 측정에서 $140 \leq SBP < 159$의 기준을 만족하는 경우) 기준에 항고혈압제 투여한 환자들은 시험식품 섭취 4주 전 중단한 경우 임상시험 개시 전에 서면 동의서를 제출할 수 있고 임상시험에서 요구하는 사항을 준수할 수 있는 환자 <p><u>제외기준</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 시험시작 전 양쪽 팔의 혈압을 측정하여 그 혈압 차이가 3회 연속하여 수축기 >20 또는 이완기 >10 차이가 나는 환자 중증의 간기능 장애환자(시험식품 섭취 전 AST, ALT의 수치가 정상 상한치의 2배 이상인 환자 포함) 중증의 신장애 환자(시험식품 섭취 전 Serum creatinine >2 mg/dL, 무뇨, 급성신부전, 투석환자 포함) 십이지장 또는 위궤양의 합병에 의해 치료를 받고 있는 환자. 시험 전 3개월 이내에 십이지장궤양 또는 위궤양 발병 환자 또는 약물흡수가 곤란한 위장관 수술 또는 위장관질환의 기왕력이 있는 환자

	<ol style="list-style-type: none"> 5. 이차성고혈압증 또는 이차성고혈압증이 의심되는 환자(대동맥축착증, 원발성 알도스테론증, 신동맥협착, 신성고혈압, 갈색세포종 등) 6. 악성고혈압증의 합병 또는 기왕이 있는 환자(혈압상승이 원인으로 일어나는 두통, 유두부종, 심허혈, 폐울혈 포함) 7. Insulin으로 치료중인 당뇨병 환자. 혈당강하제로 잘 조절되지 않는 제 2형 중증 당뇨병 환자(스크리닝 시 임상검사에서 공복시 혈당이 200 mg/dL 이상인 경우) 8. 중증의 심질환자(현재 또는 6개월 이내에 심혈관질환 발작, 심근경색, 심부전, PTCA 또는 관상동맥 Bypass 시행, 협심증, 치료를 필요로 하거나 임상증상을 동반하는 부정맥, II도 또는 III도의 방실블록, 만성심방세동, 임상적으로 유의한 심장판막증) 9. 뇌혈관장애 환자(현재 또는 6개월 이내 뇌경색, 뇌출혈, 일과성 뇌허혈발작) 10. 과거 5년 이내에 백혈병 및 임파종을 포함하는 악성 종양의 기왕력을 갖는 환자 11. 만성 관절류머티스, 전신성홍반성루푸스 등의 자가면역질환의 기왕력을 갖는 환자 12. 임상적으로 문제가 되는 알레르기를 갖는 환자 (Calcium channel 차단제에 과민증의 병력이 있는 환자, 약물치료를 하고 있는 천식환자, 약물 알레르기에 의한 anaphylaxis 병력 등) 13. 한가지 혈압강하제의 투여로 증상이 개선되지 않아 두 가지 이상의 혈압강하제를 병용하고 있는 고혈압 환자 14. 임부 또는 임신하고 있을 가능성이 있는 부인, 수유부 15. 경구용 피임제를 복용하고 있거나 시험기간 동안 임신을 계획하고 있는 환자 16. 임상적으로 알코올 또는 약물남용의 과거력이 있는 환자 17. 시험 개시 전 12주 이내에 다른 시험약의 투여를 받은 환자 18. 연구자가 판단하기에 임상적으로 유의한 비정상적인 실험실 검사치를 나타냈거나 임상시험 대상으로서 부적당하다고 판단한 환자
<p>목표 피험자수</p>	<p>유효성 평가 가능한 피험자로서 군당 10명, 총 30명 (20%의 탈락율 고려하여 무작위 배정 40명 이상)</p>
<p>임상시험기간</p>	<p>임상시험계획서 승인일로부터 마지막 환자 시험종료일까지 약 6개월</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 관찰기간: 2주 ▪ 시험기간: 6주

<p>임상시험 방법</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 임상시험에 사용하는 식품 <ul style="list-style-type: none"> ✓ 시험식품 : 발아현미 ✓ 대조식품 : 현미 ▪ 치료기간: 6주 ▪ 투여용량: 50g, 100g/일 ▪ 복용법: 1일 1회(50g, 아침), 2회(100g, 아침, 저녁) ▪ BP 측정: <ul style="list-style-type: none"> ✓ 전자혈압계 ✓ Sitting BP(매 내원 시 마다 충분한(5분 이상) 안정 후에 앉은 자세에서 상완의 혈압측정), 2분 정도의 간격을 두고 2회 이상 측정하여 평균값으로 한다. ✓ 이완기혈압(DBP) ✓ 수축기혈압(SBP) ✓ 누운 자세 및 일어선 자세의 혈압(Supine/Standing BP): 관찰기간 종료 시 및 3주, 6주에 측정(기립성 저혈압 유무조사)
<p>검사항목</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 신장, 체중 2. 혈압, 맥박 3. 고혈압의 중등도: JNC VI 기준에 따름 4. 신체검사 5. 실험실검사 <ul style="list-style-type: none"> ▪ Screening 및 6주에 검사하는 항목 <ul style="list-style-type: none"> ✓ 뇨검사(Urinalysis), 혈액학적검사(Hematology), 혈액생화학적검사(Biochemistry) ✓ 심전도(안정시) 12-lead ECG ▪ Screening시만 검사하는 항목 <ul style="list-style-type: none"> ✓ 임신반응검사 ✓ 흉부 X선 사진(심흉곽비 측정) 6. 이상반응(Observed or volunteered side effects) 7. 검사치 판정에 영향을 미치는 인자: 식사(식염섭취량), 흡연, 알코올섭취 유무 및 체중, 운동량 등
<p>유효성 평가방법</p>	<p><u>유효성 평가</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 일차 유효성 평가변수: <ul style="list-style-type: none"> 수축기 혈압(Sitting BP)의 감소 즉, baseline(방문 2)의 수축기 혈압 - 발아현미 섭취 6주 후(방문 4)의 수축기 혈압 ▪ 이차 유효성 평가변수: <ol style="list-style-type: none"> 1) 이완기 혈압(Sitting BP)의 감소 <ul style="list-style-type: none"> 즉, baseline(방문 2)의 이완기 혈압 - 발아현미 섭취 6주 후(방문 4)의 이완기 혈압 2) 강압율 <ul style="list-style-type: none"> Baseline(방문 2)과 비교하여 발아현미 섭취 6주 후(방문 4)의 혈압(Sitting BP)이 하강된 증례의 빈도 즉, 혈압강하제의 임상시험평가지침에 따른 4단계

	<p>강압도 판정기준에 의하여 하강이라고 판정된 증례의 빈도</p> <p>3) 혈압 정상화율 강압도 판정기준에서 하강 또는 하강경향으로 나타난 증례 중에서 시험종료 시(방문 4)의 혈압(Sitting BP)이 정상화(140/90 mmHg 미만) 된 증례의 빈도</p>
통계 분석 방법	<p><u>유효성 평가</u></p> <p>1) 혈압강하도 Baseline(방문 2)과 발아현미 섭취 6주 후(방문 4)의 수축기/이완기 혈압(Sitting BP)의 차이(혈압강하도)에 대한 치료군 사이의 동질성을 시험기관과 치료군을 요인으로 하여 two-way analysis of variance(ANOVA) 방법과 95% 신뢰구간을 이용하여 분석하며, 각 치료군 내에서의 시험식품 섭취전/후의 혈압 차이를 Student's paired t-test를 이용하여 분석하고 95% 신뢰구간을 제시한다.</p> <p>2) 강압율 Baseline(방문 2)과 발아현미 섭취 6주 후(방문 4)의 혈압(Sitting BP)을 비교하여 임상시험평가지침에 따른 4단계 강압도 판정기준에 따라 하강, 하강경향, 불변, 상승으로 2 × s (2: 치료군, s: 강압도 판정기준) 분할표를 제시하고, 하강된 빈도에 대한 치료군 사이의 동질성을 Chi-square test를 이용하여 분석한다.</p> <p>3) 혈압 정상화율 강압도 판정기준에서 하강 또는 하강경향으로 나타난 증례 중에서 시험종료 시(방문 4) 혈압(Sitting BP)이 140/90 mmHg 미만으로 정상화된 빈도를 처리군별로 제시하고, 두 처리군 사이의 동질성을 Chi-square test를 이용하여 분석한다.</p>

임상시험 Flow Chart

시험절차 Visit No.	Before Treatment		After Treatment	
	V1 -2 Week	V2 Day 0	V3 3 Week	V4 6 Week
방문일 (시험식품 섭취 후)	(Screening)	시험식품 섭취전	(예정방문일 ±3일)	(예정방문일 ±3일)
파험자서면동의서 취득	X			
선정/재외기준 확인	X	X*		
무작위배정		X		
인구학적자료	X			
병력 및 투약력	X			
신장	X			
체중	X	X	X	X
생체징후 (V/S) Sitting BP, HR포함	X	X	X	X
BP(supine/standing)		X		X
신체검사	X			X
12-lead ECG	X			X
임신반응 검사	X			
흉부 X선 검사	X			
Laboratory test				
▪ Biochemistry(Lipid profile etc.)	X			X
▪ Hematology	X			X
▪ Urinalysis	X			X
임상시험용 식품 교부		X	X	
임상시험용 식품 섭취확인			X	X
이상반응기록			X	X
병용약물			X	X

* 혈압 측정결과 및 병용약물 여부에 의해 최종 확정

약어 또는 용어의 정의

AE : Adverse Event, Adverse Experience, 이상반응

ADR : Adverse Drug Reaction, 이상약물반응

ANOVA: Analysis of Variance

BP: Blood Pressure, 혈압

BUN : Blood Urea Nitrogen, 혈액 질소 요소

CRA : Clinical Research Associate, 임상시험 모니터 요원

CRF : Case Report Form, 증례기록서

CRO : Contract Research Organization, 임상시험수탁기관

DBP: Diastolic Blood Pressure, 이완기 혈압

ECG: Electrocardiogram, 심전도

Hb : Hemoglobin, 헤모글로빈

HR: Heart Rate, 맥박수

ITT: Intent-to-Treat

KGCP : Korean Good Clinical Practice, 임상시험관리기준

PP: Per-Protocol

RBC : Red Blood Cell, 적혈구

SAE : Serious Adverse Event, Serious Adverse Experience, 중대한 이상반응

SBP: Systolic Blood Pressure, 수축기 혈압

UNL : Upper Normal Limit, 정상 상한치

WBC : White Blood Cell, 백혈구

목 차

임상시험계획서의 개요(Synopsis)	113
임상시험 Flow Chart	117
약어 또는 용어의 정의	118
1. 임상시험의 명칭 및 단계	123
2. 임상시험실시기관명 및 주소	123
3. 임상시험 책임자, 담당자 및 공동연구자의 성명 및 직명	123
3.1 임상시험책임자	123
3.2 공동 연구자	123
3.3 임상시험 담당자	123
4. 임상시험용 식품 관리약사의 성명 및 직명	123
5. 임상시험 의뢰자명 및 주소	123
6. 임상시험수탁기관명 및 주소, 임상시험 모니터 요원	124
6.1 임상시험수탁기관	124
6.2 임상시험 모니터 요원	124
7. 서론	124
7.1 임상시험의 배경	124
7.2 임상시험의 실시사유	124
7.3 임상시험의 경험	124
8. 임상시험의 목적	125
8.1 일차 목적	125
8.2 이차 목적	125
9. 임상시험에 사용되는 식품	125
9.1 임상시험에 사용되는 식품의 성분, 함량, 제형 등	125
9.2 임상시험에 사용되는 식품의 포장	125
9.3 임상시험에 사용되는 식품의 라벨링	126
9.4 임상시험에 사용되는 식품의 저장	127
9.5 임상시험에 사용되는 식품의 관리 및 기록	127
10. 대상질환	127
11. 피험자의 선정기준, 제외기준, 목표 피험자 수 및 그 근거	127
11.1 선정기준	127
11.2 제외기준	128
11.3 목표 피험자 수 및 그 근거	129

12. 임상시험 기간	129
13. 임상시험계획	129
13.1 전반적인 임상시험 설계	139
13.2 임상시험 설계의 타당성	131
13.3 무작위 배정 방법	131
13.4 맹검 및 맹검해제 절차	132
13.5 임상시험에 사용되는 식품의 투여량, 투여방법, 투여기간	132
13.6 병용약물 및 비약물요법	133
14. 관찰 및 임상검사항목 및 관찰검사방법	133
14.1 관찰 및 임상검사항목	133
14.2 관찰검사방법	134
14.3 방문 일정 개요	134
14.3.1 방문 1(Screening)	135
14.3.2 방문 2(무작위배정)	136
14.3.3 방문 3(방문 2 이후 28일± 4일)	136
14.3.4 방문 4(방문 3 이후 28일± 4일 또는 조기종료)	136
15. 예측 부작용 및 사용상의 주의사항	137
16. 중지 및 탈락 기준	137
17. 통계분석 방법	137
17.1 평가 가능한 환자	138
17.2 중도 탈락한 환자의 데이터 처리	138
17.3 유효성 평가기준 및 평가방법	138
17.3.1 1차 유효성 평가변수	138
17.3.2 2차 유효성 평가변수	139
17.3.3 평가방법	139
18. 임상시험의 품질관리 및 신뢰성 보증	140
19. 근거 자료의 직접열람	140
20. 임상시험용 식품의 공급 및 취급	141
21. 피해자 보상에 대한 규약	141
22. 임상시험 후 피험자의 진료 및 치료 기준	141
23. 피험자의 안전보호에 관한 대책	141
24. 기타 임상시험을 안전하고 과학적으로 실시하기 위하여 필요한 사항	141
24.1 임상시험심사위원회의 승인	141
24.2 환자 동의서 및 동의설명문	142

24.3	모니터링	142
24.4	증례기록서(Case Report Form)	142
24.5	임상시험 관련자료 보관규정	143
24.6	임상시험 계획서의 변경	143
24.7	계획서 위반	144
25.	시험자의 임상시험계획서에 대한 동의	145
26.	참고문헌	146
[부록1]	임상시험 Flow Chart	148
[부록2]	무작위 배정 계획(Random Allocation Schedule)	149
[부록3]	헬싱키 선언	150
[부록4]	피해자 보상 규약	154
[부록5]	동의설명문 및 환자 동의서	155
[부록7]	JNC VI에 따른 고혈압의 분류	160
[부록8]	병용금지 약물	161

여 백

1. 임상시험의 명칭 및 단계

고혈압 환자에 대한 “발아현미”의 유효성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중맹검, 병행, “현미” 대조 임상시험

2. 임상시험실시기관명 및 주소

영남대학교의과대학부속병원	대구시 남구대명동317-1
---------------	----------------

3. 임상시험 책임자, 담당자 및 공동연구자의 성명 및 직명

3.1 임상시험책임자

영남대학교의과대학부속병원	순환기 내과 김영조 교수
---------------	---------------

3.2 공동 연구자

영남대학교의과대학부속병원	석준호
영남대학교의과대학부속병원	박종민
영남대학교의과대학부속병원	이성민
영남대학교의과대학부속병원	권태협(위촉)

3.3 임상시험 담당자

4. 임상시험용 식품 관리약사의 성명 및 직명

영남대학교의과대학부속병원	

5. 임상시험 의뢰자명 및 주소

한국식품개발연구원
463 - 746 경기도 성남시 분당구 백현동 산 46-1
Tel :031) 780 -9068, Fax : 031) 709-9876

6. 임상시험수탁기관명 및 주소, 임상시험 모니터 요원

6.1 임상시험수탁기관
없음

6.2 임상시험 모니터 요원

7. 서론

7.1 임상시험의 배경

곡립을 발아시킬 경우 각종 분해효소의 작용으로 단백질은 가용성 단백질과 가용성 아미노산 질소가 증가하고 lysine, methionine 등의 필수 아미노산의 함량이 증가하므로 단백질의 질이 높아지고, 또한 thiamin, riboflavin, niacin 등의 필수 미량성분도 발아과정을 통하여 다소 증가하며, 총 식이섬유와 가용성 식이섬유의 함량도 증가하는 것으로 보고되어 있다. 현미를 발아시킬 경우 발아시 생성된 세포벽 분해효소의 작용에 의해 현미 외피의 일부가 가수분해되어 구조가 영성해지고 또 싹이 생성된 부위를 통한 수분 흡수가 용이하여져 수침시간이 크게 단축됨으로써 취반성이 개선될 뿐만 아니라 혈압강하, 뇌기능 개선, 면역력 증강 등 여러 가지 기능성이 입증된 inositol, ferulic acid, GABA 등의 기능성 성분이 증진되거나 새로이 생성되는 것으로 알려져 발아현미는 새로운 건강식품의 하나로 주목받고 있다. 이 중 GABA는 동물, 식물 등 자연계에 널리 분포하는 비단백질 구성 아미노산의 일종으로서 포유동물의 뇌나 척수에 존재하는 억제계의 신경전달물질이다. 따라서 신경억제작용과 정신안정기능을 가지며 혈압상승억제작용, 뇌의 대사촉진작용, 동맥경화의 예방, 숙취해소, 비만 방지, 피부노화방지 등의 효과를 갖는 기능성 식품소재로서 주목받고 있다. 발아현미에 축적된 GABA는 연골의 혈관 충추에 작용하여 우수한 혈압강하 작용을 하는 것으로 알려져 있기 때문에 발아현미를 일상으로 식사에 의해 섭취함으로써 혈압관리를 할 수 있을 것으로 판단된다.

7.2 임상시험의 실시사유

본 연구진에 의해 개발된 발아현미를 본태성 고혈압쥐(SHR)에 6주간 공급하면서 혈압의 변화를 측정된 결과 발아현미를 공급하지 않은 대조군에 비해 3주 경과시점부터 현저히 낮은 혈압을 나타내어 발아현미가 고혈압을 개선하는 또는 예방하는 효과가 있는 것으로 판단된다. 이와 같이 SHR에서 관찰된 혈압강하 효과가 인체에서도 나타날 것인지 임상시험을 통해 확인하고자 한다.

7.3 임상시험의 경험

임상시험의 경험이 없음

8. 임상시험의 목적

본 시험의 목적은 경증의 고혈압 환자를 대상으로 발아현미의 유효성을 현미와 비교 평가하고자 한다.

8.1 일차 목적

발아현미 및 현미의 혈압강하도를 6주간 섭취토록한 후 비교 평가한다.

8.2 이차 목적

발아현미와 현미를 6주간 섭취토록한 후 강압을 및 혈압 정상화율을 비교 평가한다

9. 임상시험에 사용되는 식품

9.1 임상시험에 사용되는 식품의 성분, 함량, 제형 등

	시험군	대조군
일반명	발아현미	현미
성분 및 함량	발아현미 50-100g	현미 100g
제형 및 성상	백미와 발아현미를 혼합하여 조리한 밥을 플라스틱 용기에 무균포장한 무균밥	백미와 현미를 혼합하여 조리한 밥을 플라스틱 용기에 무균포장한 무균밥
섭취방법	발아현미 포장밥을 1일 1회(아침), 2회(아침, 저녁) 렌지로 데운 후 식사한다.	현미 포장밥을 1일 2회(아침, 저녁) 렌지로 데운 후 식사한다
저장방법	밀봉된 용기째 실온보관	밀봉된 용기째 실온보관
유효기간	제조일로부터 3개월	제조일로부터 3개월

9.2 임상시험에 사용되는 식품의 포장

임상시험에 사용되는 식품은 시험의뢰자인 한국식품개발연구원에서 제조하여 시험

기간 용(발아현미군: 1일 50g, 100g, 현미군: 1일 100g) 6주일씩 무균포장밥을 각각 박스포장하여 담고, 무작위배정 계획에 따라 배정번호 및 방문 차수가 명시된 라벨을 부착하여 관리약사에게 제공한다. 피험자는 시험을 위한 방문2에서 3주분량의 무균 포장밥(발아현미 50g군: 21개, 발아현미, 현미 100g군: 42개)을 지급받고, 또한 방문 3에서 3주분량의 무균포장밥(발아현미 50g군: 21개, 발아현미, 현미 100g군: 42개)을 지급받는다.

9.3 임상시험에 사용되는 식품의 라벨링

임상시험에 사용되는 식품의 용기나 포장 라벨에는 다음의 사항을 기재한다.

무작위배정번호

방문차수

“임상시험용” 이라는 표시

제품의 코드명 또는 주성분의 일반명

제조번호 및 사용(유효)기한 또는 재검사일자

저장방법

식품 제조업자의 상호

“임상시험 외의 목적으로 사용할 수 없음”이라는 표시

모든 임상시험에 사용되는 식품의 용기에 다음과 같은 라벨을 부착한다. 라벨은 2개의 부분으로 나뉘어져 있으며, 한쪽은 때어서 증례기록서의 해당 페이지에 시험 식품 라벨을 부착한다.

(예시)

무작위 배정번호	방문 4	무작위 배정번호	방문 4
“임상시험용 ”		“임상시험용 ”	
발아현미		발아현미	
제조번호 : /		제조번호 : /	
사용기한 : 제조일로부터 3개월		사용기한 : 제조일로부터 3개월	
저장방법 : 실온 보관(1~30℃)		저장방법 : 실온보관(1~30℃)	
임상시험 외의 목적으로 사용할 수 없음		임상시험 외의 목적으로 사용할 수 없음	
한국식품개발연구원		한국식품개발연구원	

(I. 시험식품 박스(통) 부착용)

(II. 증례기록서 부착용)

9.4 임상시험에 사용되는 식품의 저장

임상시험에 사용되는 식품은 실온에서 시건 장치가 되어있는 장소에 보관해야 한다

9.5 임상시험에 사용되는 식품의 관리 및 기록

임상시험에 사용되는 식품의 관리사는 의뢰자 측이 제공한 임상시험에 사용되는 식품의 수령사실 및 수량을 서면으로 확인하고 서명해야 한다.

임상시험에 사용되는 식품의 불출은 본 연구에 참여하고 있는 담당의사의 서명이 있는 처방전에 의해 행해져야 하고, 의약품 수불대장에 환자의 영문 initial, 환자 배정번호, 처방날짜, 불출수량 등을 기록하여야 한다.

관리약사는 복용하지 않고 남은 식품을 수거하고 수불대장에 그 내용을 기록한다.

임상시험 모니터는 모든 시험식품의 사용내역을 확인하기 위한 목적으로 정기적으로 관리약사가 보관하고 있는 시험식품의 수량을 점검한다.

임상시험이 완료되거나 도중에 중지되는 경우, 남은 식품의 회수나 처리문제는 임상시험모니터의 요청에 따른다.

어떠한 경우에도 연구자는 의뢰자의 승인을 받기 전에 시험식품과 이와 관련된 물품을 다른 연구자나 연구기관에 공급하거나 임상시험계획서 상에 명시된 내용 이외의 용도로 사용하지 말아야 한다.

10. 대상질환

경증의 본태성 고혈압(JNC VI stage I)

11. 피험자의 선정기준, 제외기준, 목표 피험자 수 및 그 근거

11.1 선정기준

다음의 기준에 모두 해당하는 경우에만 본 임상시험에 참여할 수 있다.

1. 만 18세 이상, 75세 이하인 환자
2. 경증의 본태성 고혈압 환자(시험시작전 혈압 측정에서 각각 $140 \leq SBP < 159$ 의 기준*을 만족하는 경우)

* JNC VI guideline stage I

3. 기존에 항고혈압제 투여한 환자들은 시험식품 섭취 2주 전 중단한 경우
4. 임상시험 개시 전에 서면 동의서를 제출할 수 있고 임상시험에서 요구하는 사항을 준수할 수 있는 환자

11.2 제외기준

다음의 기준에 하나라도 해당하면 본 임상시험에 참여할 수 없다.

1. 관찰기간 시작 시 양쪽 팔의 혈압을 측정하여 그 혈압 차가 3회 연속하여 수축기 >20 또는 이완기 >10 차이가 나는 환자
2. 중증의 간기능 장애환자(시험약 투여 전 AST, ALT의 수치가 정상 상한치의 2배 이상인 환자 포함)
3. 중증의 신장애 환자(시험약 투여 전 Serum creatinine >2 mg/dL, 무뇨, 급성신부전, 투석환자 포함)
4. 십이지장 또는 위궤양의 합병에 의해 치료를 받고 있는 환자. 시험 전 3개월 이내에 십이지장궤양 또는 위궤양 발병 환자 또는 약물흡수가 곤란한 위장관 수술 또는 위장관질환의 기왕력이 있는 환자
5. 이차성고혈압증 또는 이차성고혈압증이 의심되는 환자(대동맥축착증, 원발성 알도스테론증, 신동맥협착, 신성고혈압, 갈색세포종 등)
6. 악성고혈압증의 합병 또는 기왕이 있는 환자(혈압상승이 원인으로 일어나는 두통, 유두부종, 심허혈, 폐울혈 포함)
7. Insulin으로 치료중인 당뇨병 환자. 혈당강하제로 잘 조절되지 않는 제 2형 중증 당뇨병 환자(스크리닝 시 임상검사에서 공복시 혈당이 200 mg/dL 이상인 경우)
8. 중증의 심질환자(현재 또는 6개월 이내에 심혈관질환 발작, 심근경색, 심부전, PTCA 또는 관상동맥 Bypass 시행, 협심증, 치료를 필요로 하거나 임상증상을 동반하는 부정맥, II도 또는 III도의 방실블록, 만성심방세동, 임상적으로 유의한 심장판막증)
9. 뇌혈관장애 환자(현재 또는 6개월 이내 뇌경색, 뇌출혈, 일과성 뇌허혈발작)
10. 과거 5년 이내에 백혈병 및 임파종을 포함하는 악성종양의 기왕력을 갖는 환자
11. 만성 관절류머티스, 전신성홍반성루푸스 등의 자가면역질환의 기왕력을 갖는 환자
12. 임상적으로 문제가 되는 알레르기를 갖는 환자(Calcium channel 차단제에 과민증의 병력이 있는 환자, 약물치료를 하고 있는 천식환자, 약물 알레르기에 의한 anaphylaxis병력 등)
13. 한가지 혈압강하제의 투여로 증상이 개선되지 않아 두 가지 이상의 혈압강

- 하제를 병용하고 있는 고혈압환자
14. 임부 또는 임신하고 있을 가능성이 있는 부인, 수유부
 15. 경구용 피임제를 복용하고 있거나 시험기간 동안 임신을 계획하고 있는 환자
 16. 임상적으로 알코올 또는 약물남용의 과거력이 있는 환자
 17. 관찰기간 개시 전 12주 이내에 다른 시험약의 투여를 받은 환자
 18. 연구자가 판단하기에 임상적으로 유의한 비정상적인 실험실 검사치를 나타냈거나 임상시험 대상으로서 부적당하고 판단한 환자

11.3 목표 피험자 수 및 그 근거

본 임상시험은 JNC-VI stage I의 경증의 고혈압 환자를 대상으로 발아현미와 현미를 1일 2회(발아현미 50g군의 경우 1회) 1포장용기씩 6주 동안 섭취토록한 후 두 식품의 유효성을 비교 평가하는데 그 목적이 있다. 통계처리를 위한 피험자 수를 최소 10명, 총 30명의 피험자가 필요하며, 20%의 중도 탈락율을 고려하였을 때 총 40명 이상이 되도록 한다.

12. 임상시험 기간

임상시험계획서 승인일로부터 마지막 환자의 임상시험 종료일까지 약 6개월. 단, 피험자 등록 속도에 따라 연장될 수 있다.

13. 임상시험계획

13.1 전반적인 임상시험 설계

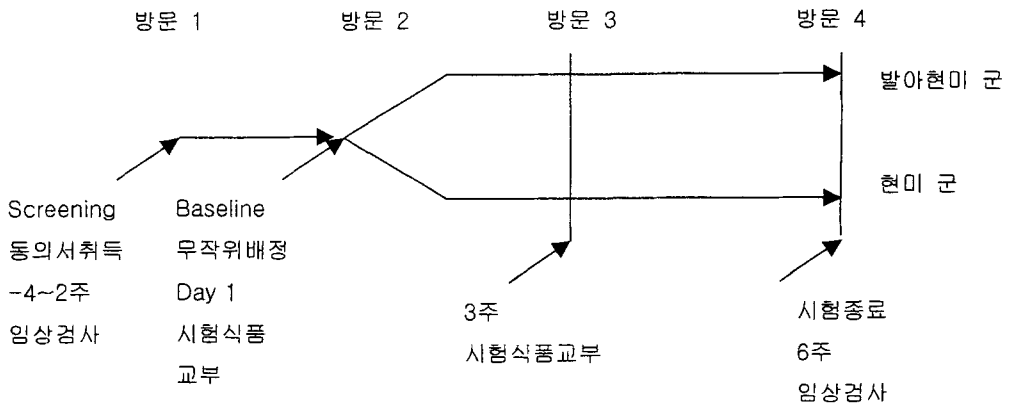
본 시험은 고혈압 환자에 대한 발아현미의 유효성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중맹검, 현미 비교 임상시험이다.

본 임상시험에 참여하기 위하여 피험자는 만 18세 이상, 75세 이하인 환자로 JNC-VI stage I의 경증 고혈압 환자여야 한다. 피험자는 동의서 서명 후 필요한 임상검사를 받고 기존에 항고혈압제를 투여받고 있던 환자는 동의서 서명 후 2주간 wash-out 후 방문하여 필요한 검사를 받는다. 선정/제외기준을 검토하여 적합한 환자는 두 시험식품 군 중 하나에 무작위 배정되어 6주간 치료를 받는다. 치료기간 중 환자는 3, 6주 후에 병원에 방문한다.

방문 1(-2 week)에서 피험자는 동의서에 서명 후 그리고 항고혈압제를 투여받고 있던 환자는 2주간 wash-out 후 방문 2(day 0)에서 혈압을 측정하여 임상시험 참여에 적합한 최종 피험자는 시험군 혹은 대조군에 무작위 배정되며, 그 결과에 따라 3주간의 시험식품을 공급받는다.

시험식품 3주 섭취 후 방문 3(week 3)에서는 이상반응, 병용약물 등을 확인하고 섭취 후 남은 시험식품을 반납하고 다시 약 3주간 섭취할 수 있는 시험식품을 받는다 세번째 방문 3주 후 방문 4(week 6)에서는 임상검사 등을 시행하고 복용 후 남은 시험식품은 반납한다.

다음은 시험디자인에 대한 요약이다.



13.2 임상시험 설계의 타당성

본 임상시험은 발아현미의 유효성을 평가하는 것을 목적으로 한다. 이 임상시험을 위해 일반적으로 인정된 표준적인 통계적, 임상적, 실험실적 절차를 사용할 것이며 이 시험의 모든 유효성 평가는 여러 외국 및 국내문헌의 보편적인 방식을 따를 것이다.

피험자는 다른 중증질환을 갖고있지 않은 경증의 고혈압 환자로서 선정기준에 적합하고 제외기준에 해당되지 않는 피험자를 등록할 것이다.

13.3 무작위 배정 방법

방문 2에서는 등록기준에 적합한 모든 피험자에 대해 무작위 배정을 실시하며, 피험자를 다음 세 치료군 중 한 군에 배정한다.

1. 발아현미 50g
2. 발아현미 100g
3. 현미 100g

무작위 배정은 부록 2에 예시된 바와 같이 무작위 배정표에 따라 실시하며, 피험자는 발아현미 섭취군 혹은 현미 섭취군에 무작위 배정될 것이다. 연구자는 해당 피험자가 속한 실시기관별로 작성된 선별일지에 등록일자를 기입하고 해당되는 배정 번호를 순서대로 부여한다(피험자 번호(Screening No.)의 순서와는 관련이 없음).

각 피험자는 무작위 배정된 바에 따라 방문 2, 방문 3에서 발아현미 혹은 현미를 받게 된다.

13.4 맹검 및 맹검해제 절차

본 임상시험은 무작위 배정, 현미 대조 임상시험이다. 피험자와 시험자 모두 어느 피험자에게 어떤 식품이 투여되는지 알지 못한다.

피험자에게 위급한 사건이 발생할 경우 연구자가 시험식품의 종류를 알 수 있도록 배정번호별로 무작위 배정코드를 봉합된 봉투에 넣어 연구자에게 제공할 것이다. 연구자는 피험자에게 위급한 사항이 발생하여 해당 피험자가 어떤 식품을 투여 받았는지를 즉시 확인해야 할 필요가 있을 경우 봉합봉투를 개봉하여 시험식품의 종류를 확인한다. 연구자는 위급사항이 발생하지 않는 한 봉합 봉투를 개봉해서는 안 되며 개봉을 한 경우에는 임상시험 모니터에게 알리고 해당 봉합 봉투에 개봉한 날짜와 이유를 기록하고 서명을 하여야 한다. 또한 맹검해제 log를 기록하여 보관한다.

13.5 임상시험에 사용되는 식품의 섭취량, 섭취방법, 섭취기간

시험자 또는 관리약사는 피험자에게 배정번호별로 방문차수가 기록된 시험식품 박스(통)를 방문 2, 방문 3에 지급한다. 각 방문시 3주분량, 즉 발아현미 50g군의 경우 21개의 시험식품을, 발아현미 100g군과 현미 100g군의 경우 42개의 시험식품을 지급받는다.

섭취방법은 발아현미 50g군의 경우 1일 1회 아침에, 발아현미 100g군과 현미 100g군의 경우 1일 2회 아침과 저녁에 무균포장밥을 섭취하도록 한다.

13.6 병용약물 및 비약물요법

다음의 약물은 연구기간 중 복용을 금지한다(부록 8 참조).

1. 시험식품 이외의 혈압강하제, 항협심증제: ACE 저해제, Angiotensin II 수용체 저해제, 칼슘길항제, 베타차단제, 혈관확장제, 이뇨제 등
2. 항부정맥제
3. 항정신약물: 최면진정제, 항불안약, 항전간제, 정신신경용제
4. 혈관수축제
5. 인슐린 제제
6. 항종양제
7. 면역억제제
8. 질산염제제
9. 다른 시험약

피험자가 스크리닝 된 이후로 시험식품 이외의 약이 사용되는 경우 의약품의 상품명 및 성분명, 용량, 복용 이유, 복용 날짜 등이 환자일지를 근거로 기록되어야 한다.

피험자가 스크리닝 된 이후로 혈압강하를 위해 식이의 변화, 운동 및 비약물 요법을 병행한 경우 그 종류, 날짜 등이 증례기록서에 기록되어야 한다.

14. 관찰 및 임상검사항목 및 관찰검사방법

14.1 관찰 및 임상검사항목

관찰 및 검사항목의 실시일정은 [부록 1]의 임상시험 Flow chart를 참조한다.

14.2 관찰검사방법

1) 혈압측정방법

- ① 앉은 자세(Sitting BP)의 혈압 측정 시 환자는 등을 받칠 수 있고 심장 높이로 팔을 고정시킬 수 있는 의자에 앉도록 하고, 5분 이상 앉은 자세에서 휴식을 취한 후 상완의 혈압을 측정하도록 한다.
- ② 일어선 자세(Standing BP)에서 혈압을 측정할 경우 커프의 위치가 심장높이로 유지될 수 있도록 팔을 고정한다.
- ③ 누운 자세(Supine BP)에서 혈압 측정 시 팔을 침대 혹은 측정대에서 약간 올라 가슴중간 정도 높이가 될 수 있도록 한다.
- ④ 혈압 측정 전 흡연이나 커피 등의 caffeine을 섭취한 경우 30분 정도 경과 후 측정하며 측정 도중에는 대화하지 않도록 한다.
- ⑤ 혈압 측정계는 전자혈압계를 사용하여 Korotokoff법에 의해 측정한다(수축기 압은 1에서 이완기압은 5에서 측정).
- ⑥ 적절한 크기의 표준화된 Cuff를 사용하되 팔에 감았을 때 bladder가 팔둘레의 80% 이상이 되도록 한다.
- ⑦ 혈압은 2분 간격을 두고 2회 이상 측정한다. 최초의 2회 측정 시 그 차이 값이 5 mmHg를 초과할 경우에는 추가로 1회 측정하여 평균값을 구한다.
- ⑧ 처음 방문 시에는 양팔의 혈압을 측정하고 이후부터는 한쪽 팔에서 측정하되 시험기간 중 일관되게 한다. 만일 3회 연속해서 양쪽 팔의 혈압이 수축기 >20 또는 이완기 >10 차이가 나면 시험에서 제외하도록 한다.

2) 신체검사

연구자는 신체검사를 실시하여 각각의 기관(organ system)의 정상여부를 기록한다. 만약 임상적 비정상이나 비정상적인 증상/증후를 발견하면 기관별로 기술한다.

3) 실험실적 검사 및 12-lead ECG, 흉부 X선 검사

동의서 취득 시 및 시험 종료 시 표적장기의 손상 및 다른 위험인자의 유무를 결정하고 이상반응 여부를 관찰하기 위해 실험실적 검사, 12-lead ECG 및 흉부 X선 검사를 수행한다. 단, 동의서 취득 전 2주 이내의 검사결과가 있을 경우 이를 동의서 취득 시의 자료로 대체할 수 있다.

실험실검사항목은 다음과 같다.

Laboratory Tests			
Hematology	Biochemistry		Urine Analysis
Hemoglobin	Fasting Glucose	ALT	Specific Gravity
Hematocrit	BUN	AST	Ketone body
RBC Count	Creatinine	Alkaline Phosphatase	Protein
WBC Count	Uric Acid	Total Cholesterol	Occult Blood
Platelet Count	Sodium	Triglyceride	Glucose
	Potassium	HDL Cholesterol	WBC

14.3 방문 일정 개요

14.3.1 방문 1(Screening)

피험자동의서

스크리닝에 앞서 피험자에게 서면동의서를 받는다. 피험자 동의서를 받고 문서화하는 것에 대한 자세한 내용은 피험자 설명문 및 동의서 항목을 참고한다. 동의서의 사본 및 피험자 설명문을 피험자에게 제공하여야 한다.

선별일지(Subject Screening/Enrollment Log)

각 시험기관에서 선별일지에 이 시험의 피험자 동의서에 서명한 피험자들의 목록을 기록한다. 만약 피험자가 자격이 없거나 다른 이유로 인해 이 시험에 참가할 수 없다면 그 이유가 기록되어야 한다.

생체징후 및 체중

맥박 및 혈압을 앉은 자세에서 측정한다. 혈압은 2분 간격으로 2회 이상 측정하며 구체적인 측정방법은 관찰검사 방법을 참조한다. 환자의 체온과 체중을 측정한다.

임상적 측면

피험자의 배경 및 병력/수술력, 관련된 다른 질환, 관찰기간 개시 전 4주 이내의 약물 복용력, 흡연력, 음주력, 알러지력을 조사한다. 신체검사를 실시하여 각 기관(organ system)의 정상여부를 확인하고, 12-lead ECG, 흉부 X선 검사를 시행하여 합병증 여부를 판단한다.

실험실 검사

피험자의 혈액과 뇨 샘플을 채취하여 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 뇨검사 등의 실험실 검사를 수행한다. 가임여성의 경우 임신반응검사를 실시한다.

14.3.2 방문 2(무작위배정)

생체징후 및 체중측정

혈압(sitting)을 측정하여 수축기 혈압이 관찰기간 시작 시와 종료 시 혈압 측정에서 각각 $140 \leq SBP < 159$ 의 기준*을 만족하는 환자를 최종피험자로 결정한다. 피험자의 수축기 혈압, standing/supine BP, 체온 및 체중을 측정한다.

선정/제외기준 검토

환자의 혈압, 임상적인 검사 등을 통해 선정/제외기준을 검토하여 최종적으로 피험자의 선정여부를 결정한다.

무작위배정

피험자는 연구자에 의해 순차적으로 배정번호를 부여 받는다(피험자번호(Screening No.)의 순서와 무관함). 연구자는 선별일지에 등록일자를 기입하고 무작위배정번호를 순차적으로 부여한다.

연구자는 임상시험명, 배정번호, 방문 주수를 이용하여 임상시험용 식품을 처방한다. 연구자는 환자에게 다음 방문 시에 섭취순응도를 확인할 수 있도록 남은 식품을 가져와서 관리약사에게 반환하도록 설명한다.

시험식품 섭취

피험자가 시험에 등록되면 3주분의 시험식품(발아현미 또는 현미)을 공급한다. 이때 관리약사는 배정번호와 일치하는 번호의 시험식품을 피험자에게 정확히 교부하고 시험식품의 섭취방법에 대해 설명한다.

* JNC VI guideline stage I, II

14.3.3 방문 3(방문 2 이후 21일±3일)

피험자가 시험식품(발아현미 또는 현미)을 3주 동안 복용한 후 병원을 방문한다. 이상반응과 병용 약물에 대해 조사한다.

생체징후 및 체중측정

환자의 혈압, 체온 및 체중을 측정한다.

시험식품 섭취

복용하고 남은 식품을 회수하고 피험자에게 3주분의 시험식품(발아현미 또는 현미)을 공급한다.

14.3.4 방문 4(방문 3 이후 21일±3일)

피험자가 시험식품을 3주 동안 섭취 후 병원을 방문한다. 이상반응과 병용 약물에 대해 조사한다.

생체징후 및 체중측정

환자의 앉은 자세의 맥박과 혈압, 일어선 자세와 누운자세의 혈압 및 체중을 측정한다.

입상검사 및 실험실검사

방문 1에서 시행한 신체검사 및 실험실검사(hematology, biochemistry, urinalysis), 12-lead ECG 검사를 수행한다.

시험식품 회수

섭취하고 남은 식품을 회수한다.

15. 예측 부작용 및 사용상의 주의사항

- 1) 현미와 발아현미는 현재 시중에서 일반 곡식으로 이용되고 있는 식품으로서 섭취량이 과하더라도 예상되는 부작용은 거의 없을 것으로 추정된다

16. 중지 및 탈락 기준

시험참가에 동의한 후 본 시험에 참가하였으나 다음에 해당하는 피험자는 임상시험 참여를 중지시킬 수 있다.

- 1) 선정/제외 기준에 부합하지 않는 환자인 경우
- 2) 시험식품 또는 대조식품으로 인하여 과민증상을 나타낼 경우
- 3) 명백한 부작용으로 시험을 수행하기 어려운 경우
- 4) 환자가 더 이상의 치료를 원하지 않을 경우
- 5) 연구자가 판단하기에, 피험자가 임상시험에 계속 참여하는 것이 피험자에게 유해하다고 판단하였을 경우

이러한 상황들은 어느 것이든 피험자의 증례기록서와 근원문서(source document)상에 문서화되어야 한다. 조기종료한 피험자에 대해 증례기록서의 임상시험완료보고서에 해당 이유를 기록하고, 방문 4에 시행하는 검사를 가능한 실시하도록 한다.

조기종료한 피험자라 하더라도 이전의 검사결과를 분석에 이용할 수 있다.

만일 이상반응으로 인하여 조기 종료한 환자의 경우라면, 가능한 한 그 이상반응이 시험식품 투여 전의 상태 또는 기준치로 회복할 때 까지, 또는 임상시험책임자 또는 담당자가 그 이상반응이 정상화되었다고 판단할 수 있을 때 까지 또는 더 이상의 관찰이 불필요하다고 판단 될 때까지 관찰한다.

17. 통계분석 방법

17.1 평가 가능한 환자

본 시험에서 유효성 분석은 PP(Per-Protocol)군에 대하여 시행하고 추가적으로 ITT(Intention-to-Treat) 분석도 시행하며, 안전성 분석은 무작위 배정을 받아 한번이라도 투약을 받은 ITT군에 대하여 시행한다.

ITT(Intention-to-Treat)군은 무작위 배정을 받아 한번이라도 추적 조사를 받은 환자들을 포함한다.

PP(Per-Protocol)군은 다음 조건을 만족하는 환자들을 포함한다.

- 1) 선정기준, 제외기준을 모두 충족시키는 환자
- 2) 무작위 배정된 이후 발아현미 또는 현미를 6주동안 복용하여 시험을 완료한 환자

3) 복약 순응도가 70% 이상인 환자

17.2 중도 탈락한 환자의 데이터 처리

환자가 중도 탈락한 경우에는 마지막으로 측정된 평가 결과를 이후의 모든 방문에 적용하여 마치 해당 시점에서 얻어진 것처럼 자료분석을 시행한다(Last-Observation-Carried-Forward Analysis).

17.3 유효성 평가기준 및 평가방법

성별, 연령, 신장, 체중과 같은 인구학적 데이터에 대한 치료군 사이의 동질성은 시험기관과 처리군을 요인으로 two-way analysis of variance(ANOVA) 방법을 이용하여 분석하고, 95% 신뢰구간을 제시한다.

Baseline(방문 2)과 시험 종료 시(방문 4)의 측정결과를 이용하여 유효성 평가 가능 환자에 대하여 ‘혈압강하도’, ‘강압율’, ‘혈압 정상화율’에 대한 분석을 시행한다.

17.3.1 1차 유효성 평가변수

혈압강하도

수축기 혈압(Sitting BP)의 감소

즉, baseline(방문 2)의 수축기 혈압 - 시험식품 섭취 6주 후(방문 4)의 수축기 혈압

17.3.2 2차 유효성 평가변수

1) 이완기 혈압(Sitting BP)의 감소

즉, baseline(방문 2)의 이완기 혈압 - 시험식품 섭취 6주 후(방문 4)의 이완기 혈압

2) 강압율

Baseline(방문 2)과 비교하여 시험식품 섭취 6주 후(방문 4)의 혈압(Sitting BP)이 하강된 증례의 빈도

즉, 혈압강하제의 임상시험평가지침에 따른 4단계 강압도 판정기준에 의하여 하강이라고 판정된 증례의 빈도

임상시험평가지침에 따른 4단계 강압도 판정기준¹³

혈압(mmHg)	하강	하강경향	불변	상승
수축기 혈압	-20 이상	-19~-10	±9	10 이상
이완기 혈압	-10 이상	-9~-5	±4	5 이상
평균혈압	-13 이상	-12~-7	±6	7 이상

* 수축기 혈압과 확장기 혈압에 따른 분류가 일치하지 않을 때는 평균 혈압에 따른 분류를 사용한다. 또한 표의 「하강」 기준에 일치하지 않을 때도 「하강경향」을 나타내며 하강이 140/90 mmHg 미만으로 하강한 경우에는 「하강」이라고 판정한다.

3) 혈압 정상화율

강압도 판정기준에서 하강 또는 하강경향으로 나타난 증례 중에서 시험종료 시 (방문 4)의 혈압(Sitting BP)이 정상화(140/90 mmHg 미만) 된 증례의 빈도

17.3.3 평가방법

1) 혈압강하도

Baseline(방문 2)과 시험식품 섭취 6주 후(방문 4)의 수축기/이완기 혈압(Sitting BP)의 차이(혈압강하도)에 대한 치료군 사이의 동질성을 시험기관과 치료군을 요인으로 하여 two-way analysis of variance(ANOVA) 방법과 95% 신뢰구간을 이용하여 분석한다. 각 치료군 내에서의 시험약 투여전과 투여후의 혈압 차이를 Student's paired t-test를 이용하여 분석하고 95% 신뢰구간을 제시한다.

2) 강압율

Baseline(방문 2)과 시험식품 섭취 6주 후(방문 4)의 혈압(Sitting BP)을 비교하여 임상시험평가지침에 따른 4단계 강압도 판정기준에 따라 하강, 하강경향, 불변, 상승으로 2 × s (2: 치료군, s: 강압도 판정기준) 분할표를 제시하고, 하강된 빈도에 대한 치료군 사이의 동질성을 Chi-square test를 이용하여 분석한다.

3) 혈압 정상화율

강압도 판정기준에서 하강 또는 하강경향으로 나타난 증례 중에서 시험종료 시 (방문 4) 혈압(Sitting BP)이 140/90 mmHg 미만으로 정상화된 빈도를 치료군별로 제시하고, 두 치료군 사이의 동질성을 Chi-square test를 이용하여 분석한다.

18. 임상시험의 품질관리 및 신뢰성 보증

시험 시작 전에 이 시험을 위해 한국식품개발연구원 직원, 시험자, 시험 코디네이터 모니터요원이 시험자 회의(Investigator's meeting)나 시험개시방문(Initiation visit)을 개

최할 것이다. 이 회의에서는 임상시험계획서, 시험절차의 수행, 증례기록서 작성, 검체 채취 방법에 관한 자세한 논의가 이루어질 것이다.

시험자 회의나 개시방문 시 평가자는 평가도구 사용을 위해 적절한 교육을 받을 것이다. 이 교육은 이러한 도구들을 사용하고 해석하는 데 있어 시험기관 간의 동질성을 유지하는 것이 목적이다. 시험 전 교육에 참여할 수 없는 평가자나 나중에 참여하는 평가자는 시험자나 그가 지명한 사람의 감독 하에 중앙의 교육담당자에 의한 교육을 받아야 한다.

한국식품개발연구원은 시험기관에 적절히 관련지침 자료를 제공하고 주기적으로 시험기관을 방문하여 근거문서를 증례기록서 내용과 비교검토하며 시험자가 계획서와 법규대로 시험을 수행하는지를 확인하기 위해 질적 관리 확인을 수행한다. 또한 메일, 전화, 팩스 등을 통해 시험기관의 시험자와 상의하고 연락할 것이다. 더불어 시험이 종료된 피험자에 대한 증례기록서를 회수해 온 후에는 자료의 검토를 수행할 것이다.

모든 자료는 데이터베이스에 이중 입력절차에 따라 검증될 것이다. 모든 증례기록서 원본에 대한 검토확인 및 입력자료에 대한 수정이 이루어질 것이다. 입력과정이 완료된 후 컴퓨터의 논리체크(logical check)가 실행되어 모순되는 날짜나 정상범위에서 벗어난 실험실 검사치 등을 확인할 것이다. 데이터베이스에 대한 모든 필요한 정정내용은 부록이나 점검기록(audit trail)으로 문서화될 것이다.

일상적인 모니터링과는 별도로 해당임상시험에서 수집된 자료의 신뢰성을 확보하기 위하여 해당 임상시험이 계획서, 표준작업지침서, 임상시험관리기준, 관련규정에 따라 수행되고 있는 지 등에 대한 점검이 시행될 것이다.

19. 근거 자료의 직접열람

본 시험 참가자의 안전을 보장하고 정확하고 완벽하며 신뢰 가능한 데이터를 얻기 위해, 시험자는 임상검사 결과, 임상기록, 피험자의 의학 기록을 근거문서로 보관하여야 한다. 시험자는 의뢰자, 식품의약품안전청 및 임상시험심사위원회의 요청이 있을 경우 임상시험 관련 자료 직접열람(direct access)을 허용해야 한다.

20. 임상시험용 식품의 공급 및 취급

임상시험에 사용되는 식품의 관리 책임을 위해 다음의 사항들을 시행하여야 한다.

- 1) 초기 교육 모임에서 임상시험에 사용되는 식품의 관리 책임을 강조한다.
- 2) 임상시험에 사용되는 식품의 수불 기록지를 파일에 제공한다.
- 3) 모니터는 임상시험에 사용되는 식품의 수불 기록을 확인한다.

시험자 또는 관리약사는 피험자에게 임상시험에 사용되는 식품의 올바른 사용에 대해 설명하고 지침이 바르게 이행되었는지 보장하며, 임상시험에 사용되는 식품의 섭취 및 회수에 대한 정확한 기록을 유지할 책임을 갖는다.

21. 피해자 보상에 대한 규약

피험자가 임상시험으로 인해 피해를 입은 경우 한국식품개발연구원은 피해자 보상 규약에 따라 보상한다. 피해자 보상규약은 부록 4를 참조한다.

22. 임상시험 후 피험자의 진료 및 치료 기준

임상시험이 종료된 피험자에 대한 진료 및 치료는 일반적인 고혈압 환자의 진료 및 치료기준의 원칙에 따른다.

23. 피험자의 안전보호에 관한 대책

본 임상시험은 임상시험 관리기준 및 임상시험 관련법규에 따라 과학적이고 윤리적으로 진행될 것이다. 또한 본 임상시험은 헬싱키 선언에 입각하여 인간의 존엄성 및 권익을 존중함과 더불어 피험자에게 불이익이 초래되지 않도록 실시될 것이다. 임상시험 심사위원회는 임상시험 관리기준에 따라 본 임상시험계획서를 평가/승인하고 임상시험이 임상시험계획서에 따라 진행되는지 정기적으로 평가할 것이다. 시험자는 피험자를 임상시험에 등록하기 전에 각 피험자들의 건강상태를 확인하여 연구에 참여할 수 있는지를 확인하여야 한다. 또한 시험자는 임상시험 식품에 관하여 충분히 숙지하고 피험자의 안전을 보장하기 위해 최선을 다할 것이다. 임상시험으로 인한 이상반응이 발생한 경우 환자가 회복할 때까지 적절한 의료조치가 취해지고 한국식품개발연구원은 피해자 보상규약에 따라 임상시험약물로 인한 손상에 대해 보상할 것이다.

24. 기타 임상시험을 안전하고 과학적으로 실시하기 위하여 필요한 사항

24.1 임상시험심사위원회의 승인

본 시험은 윤리적이고 과학적으로 시행되어야 하며 KGCP에 따라 임상시험개시 전에 임상시험 심사위원회로부터 승인을 받아야 한다.

24.2 환자 동의서 및 동의설명문

연구자는 환자를 임상시험에 참여 시키기 전에 Helsinki 선언(부록 3참조) 및 KGCP에 따라 충분한 정보를 제공한 후 서면으로 동의서를 받아야 한다(부록 5 참조). 임상시험 심사위원회는 시험자가 사용할 환자동의 설명문을 심사하여야 한다. 환자의 일상적인 진료가 아닌 어떠한 행위 또는 치료가 개시되기 전에 환자 또는 그의 법적 대리인에게 동의서를 받는 것은 시험자의 책임이다.

24.3 모니터링

모니터는 시험의 진행을 모니터링하기 위한 목적으로 연구 시설에 대한 방문을 수행하게 된다. 시험자는 시험약물의 조제 및 보관장소, 시험에 관련된 서류에 대해 임상시험 모니터 또는 본 업무의 위임자가 접근할 수 있도록 동의하고 협조하여야 한다. 또한 식품의약품안전청으로부터 실태조사 및 의뢰자의 점검을 받는 경우에도 연구자는 해당업무에 동의하고 협조하여야 한다.

24.4 증례기록서(Case Report Form)

환자의 근원문서(source documents)라 함은 시험 기관에 보관되는 담당의사의 환자기록을 의미한다. 대부분의 근원문서(source documents)는 병원이나 담당의사의 차트이며 이러한 경우 환자의 증례기록서에 수집되어 기록된 모든 정보는 해당 차트와 일치해야 한다.

증례기록서를 기록, 검토, 서명하는 것은 시험자의 임무이다. 증례기록서를 작성한 후 시험자는 개개의 증례기록서에 서명함으로써 증례기록서에 기록된 정보가 사실임을 보증한다. 시험자는 모든 경우에 있어서 증례기록서에 기록된 모든 임상치와 실험실치의 정확성과 신뢰성에 대한 최종적인 책임을 갖는다.

증례기록서 사본을 연구자 파일에 보관한다. 질문에 대한 모든 답은 검은색 볼펜을 사용하여 작성해야 한다. 다음과 같은 이유로 증례기록서의 모든 항목을 기록할 수 없는 경우는 각각의 약자를 사용하여 기입한다.

해당사항 없음:	NA(Not available or Not applicable)
검사가 시행되지 않았음:	ND(Not done)

날짜는 년, 월, 일의 순서로 숫자로 기록한다 (예: 2002년 12월 30일은 2002/12/30).

원본의 증례기록서에 기록된 데이터를 수정하거나 데이터를 추가해야 할 경우는 다음의 방법을 따른다. 수정할 내용 위에 한 줄로 줄을 그어서 (지우거나 수정액 등을 사용하여 수정하지 말 것) 수정한 후에도 읽을 수 있도록 하여야 한다. 검은 색 볼펜으로 데이터를 다시 기록하고 서명(이름의 영문 약자를 사용) 및 수정일자, 필요한 경우 수정사유를 기록한다. 시험책임자나 시험책임자로부터 위임 받은 공동연구자와 시험담당자만이 원본 증례기록서를 수정할 수 있다.

증례기록서를 제출하는 절차는 임상시험 모니터가 각 시험기관의 담당자에게 설명할 것이다.

지명한 모니터가 정기적으로 적절한 간격을 두고 시험기관을 방문하여 증례기록서와 근원문서(source documents)를 비교하는 임무를 수행한다. 이를 위해 시험자는 모니터가 근원문서(source documents)를 볼 수 있도록 동의하고 협조하여야 한다.

기록될 데이터가 얻어지면 가능한 신속히 증례기록서를 작성해야 한다. 완성된 증례기록서는 모니터가 회수한다.

24.5 임상시험 관련자료 보관규정

임상시험기관의 장은 식품의약품안전청, 임상시험 심사위원회 및 한국식품개발연구원에 제출된 보고서를 포함한 시험에 관한 모든 서류를 보관한다.

임상시험기관의 장은 약사법 시행규칙에 따라서, 심사위원회 및 시험책임자로부터 인계 받은 기록 및 자료를 보관 책임자를 정하여 임상시험이 완료일로부터 5년간 보존하게 하여야 하며, 이들 문서가 사고 등에 의해 조기에 파손 또는 분실되지 않도록 대책을 강구하여야 한다.

24.6 임상시험 계획서의 변경

임상시험계획서를 식품의약품안전청장 및 임상시험심사위원회로부터 승인 받은 후, 시험절차가 더 광범위해지거나 위험도가 높아지거나 환자 선정기준에 변화가 있거나 추가적인 안전성 정보로 인해 임상시험계획서를 변경하는 경우에는 임상시험심사위원회 및 식품의약품안전청의 승인을 받아야 한다. 임상시험 계획서를 수정할 때에는 개정 일자, 개정 이유, 개정 내용 등을 기록하여 보관하여야 한다.

수정될 내용이 사소하거나 환자의 위험도를 낮추게 되는 경우에는 임상시험심사위원회의 신속심사 또는 위원장의 승인으로도 가능하다. 또한 오자를 교정하거나 보다 명백히 하기 위해 단어를 바꾸거나, 모니터가 바뀌거나 통계학적 분석에 관한 계획의 수정처럼 시험진행에 영향을 미치지 않을 사소한 변화에 한해서는 승인이 반드시 필요한 것은 아니다.

임상시험심사위원회의 승인 없이 개정안을 실행할 수 있는 경우는 오직 환자에 당면한 명백한 위험을 제거하기 위해서 계획서의 수정이 필요한 경우이다. 위의 경우 시험자는 개정안의 실행 이후, 5일(working days) 이내에 임상시험심사위원회에 문서상으로 이를 통보해야 한다.

24.7 계획서 위반

의학적으로 응급한 상황을 제외하고는 시험자와 한국식품개발연구원 간의 사전 동의 없이 최종적으로 서명된 임상시험계획서를 위반하는 것은 허용되지 않을 것이다. 만약 계획서의 위반사항이 피험자의 임상시험 지속 여부를 결정해야 하는 중대한 위반사항인 경우 시험자 또는 모니터는 그 내용을 계획서 위반 사항 작성 양식(protocol deviation form)에 기록하여 한국식품개발연구원에 송부하고, 그 환자의 시험 지속여부에 대한 한국식품개발연구원의 승인을 받아야 한다.

25. 시험자의 임상시험계획서에 대한 동의

본인은 임상시험계획서를 숙지하였고, 본 임상시험을 수행하는데 있어서 필요한 모든 사항이 이 임상시험계획서에 포함되어 있다는 것에 동의합니다.

본인은 개개인을 최대한 보호하기 위해, 임상시험계획서와 최신 헬싱키 선언에 명시된 윤리적 원칙, 의약품임상시험관리기준 또는 관련 법규에 따라 시험을 진행할 것을 맹세합니다.

본인은 본 임상시험의 진행상황과 결과에 대해 비밀보장을 준수할 것에 동의합니다
본인은 모니터요원이 증례기록서의 내용에 대한 근거 문서를 열람할 수 있음에도 동의합니다.

시험자 서명

서명일

시험자 이름

시험자 직위

시험기관명 : 영남대병원 순환기내과

26. 참고문헌

1. Herfindal ET, Gourley DR. Textbook of Therapeutics. Drug and disease management. 7th. Lippincott Williams & Wilins. 2000; 795-824
2. JNC VI: The sixth report on the Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. Arch Intern Med 1997; 157: 2413-2446
3. Open label, balanced, randomized, two-treatment, two-period, two-sequence, single dose, crossover, comparative bioavailability study of tablets of Amlodipine maleate containing 10mg of amlodipine with that of 'Norvasc' containing amlodipine besylate equivalent to 10mg of amlodipine manufactured by Pfizer Inc., in healthy, adult, male, human subjects under fasting conditions. Lambda Therapeutic Research Pvt. Ltd., 42, Premier House I, Gandhinagar-Sarkhej Highway, Bodakdev, Ahmedabad - 380 054, Gujarat, India.
4. Neaton JD, Grimm RH, Prineas RJ, Stamler J, Grandits GA etc. Treatment of mild hypertension study. JAMA Vol.270 (6), 1993
5. William HF, Richard B, Ronald DB, Brian FJ, Robert LR, Duane GW. Amlodipine versus Atenolol in essential hypertension. Am J Cardiol 1994; 73:50A-54A
6. Jeanne V and the investigators of study AML-NY-86-002 in Argentina, Austria, Belgium, Mexico, Netherlands, Switzerland and Venezuela. A study of the efficacy and safety of amlodipine for the treatment of hypertension in general practice. Postgrad Med J. 1991; 67(Supple 5): S28-S31
7. Mehta JL, Lopez LM, Vlachakis ND, Gradman AH, Nash DT, O'Connell MT etc. Double blind evaluation of the dose-response relationship of amlodipine in essential hypertension. Am Heart J 1993; 125:1704
8. Omvik P, Herland OB, Thaulow E, Eide I, Midha R, Turner RR. Evaluation and quality-of-life assessment of amlodipine and enalapril in patients with hypertension. J of Human Hypertension. 1995; 9(Supple 1): S17-S24
9. Omvik P, Thaulow E, Herland OB, Eide I, Midha R, Turner RR. Double-blind, parallel, comparative study on quality of life during treatment with amlodipine or enalapril in mild or moderate hypertensive patients: a multicenter study. J of Hypertension. 1993; 11: 103-113
10. Omvik P, Thaulow E, Herland OB, Eide I, Midha R, Turner RR. A long-term, double-blind, comparative study on quality of life during treatment with amlodipine or enalapril in mild or moderate hypertensive patients: A multicenter study. BJCP. (Supple): 23-28
11. A double-blind within patient dose titration study comparing amlodipine, verapamil

- and placebo in the treatment of mild to moderate essential hypertension. unpublished article; 101-119
12. Lacy CF etc. Drug information handbook. 8th 2000-2001
 13. 혈압강하제의 임상시험평가지침. 1994
 14. ICH Steering Committee. Principles for clinical evaluation of new antihypertensive drugs. 2000
 15. Sample size Tables for Clinical Studies, DAVID M, MICHAEL J.C., PETER M.F., ALAIN P.Y., 2nd edn. Blackwell Science Ltd., Oxford (1997)
 16. Design Issues in Noninferiority / Equivalence Trials, Irving K. Hwang, Toshihiko Morikawa, Drug Information Journal, 1999; Vol.33, 1205-1218
 17. Comparison of the Efficacy of Dihydropyridine Calcium Channel Blockers in African American Patients with Hypertension, W. Dallas Hall, MD et al., ARCH INTERN MED, Vol.158, OCT 12, 1998
 18. Lorimer AR, Smedarud T, Walker P, Tyler HM. Comparison of Amlodipine and Verapamil in the treatment of mild to moderate hypertension. J. Cardiovasc. Pharmacol Vol. 12 (supple 7), 1988
 19. Comparison of the effects of amlodipine and captopril on clinic and ambulatory blood pressure, Y. Lacourciere, et al, Journal of Human Hypertension, 1992, 6 (Suppl. 1), S23-S28

[부록1] 임상시험 Flow Chart

시험절차 Visit No.	Before Treatment		After Treatment	
	V1 -2 Week	V2 Day 0	V3 3 Week	V4 6 Week
방문일 (시험약 투여 후)	(screening)	시험식품 섭취전	(예정방문일 ±3일)	(예정방문일 ±3일)
피험자서면동의서 취득	X			
선정/제외기준 확인	X	X*		
무작위배정		X		
인구학적자료	X			
병력 및 투약력	X			
신장	X			
체중	X	X	X	X
생체징후 (V/S) Sitting BP, HR포함	X	X	X	X
BP(supine/standing)		X		X
신체검사	X			X
12-lead ECG	X			X
임신반응 검사	X			
흉부 X선 검사	X			
Laboratory test				
▪ Biochemistry(Lipid profile etc.)	X			X
▪ Hematology	X			X
▪ Urinalysis	X			X
임상시험용 식품 교부		X	X	
임상시험용 식품 섭취확인		X	X	X
이상반응기록		X	X	X
병용약물	X	X	X	X

* 혈압 측정결과 및 병용약물 여부에 의해 최종 확정

[부록2] 무작위 배정 계획(Random Allocation Schedule)

1. 블록의 크기와 배정 계획

본 임상시험에 참여하는 모든 피험자는 실시기관에 따라서 계층으로 나누어 계층별로 독립된 무작위 할당을 실시한다. 또한 치료군간의 균형 있는 무작위 배정을 위하여 블록크기를 정하여 발아현미 섭취군과 현미 섭취군을 배정한다(Stratified Completely Randomized Block Design). 무작위 배정 계획표는 SAS 프로그램의 무작위 배정 프로시저를 이용하여 작성한다.

[부록3] 헬싱키 선언

인간을 대상으로 하는 의학연구에 있어서의 윤리 원칙.

Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, in June 1964.

Amended by the 29th World Medical Assembly, Tokyo, Japan, in October 1975,

35th World Medical Assembly, Venice, Italy, in October 1983 and

41st World Medical Assembly, Hong Kong, in September 1989.

48th General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa October 1996

52nd World Medical Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000

A. 머리말

1. 세계 의학 회의는 헬싱키 선언을 통해 인체를 이용한 의학연구에 관여하는 의사 및 연구자들이 지침으로 삼을 윤리 원칙을 제시해 왔다. 인체를 이용한 의학 연구란 확인 동정이 가능한 인체 시료나 자료에 관한 연구를 포함한다.
2. 인류의 건강을 증진시키고 보호하는 것은 의사의 의무이다. 의사의 지식과 양심은 이러한 의무를 다하기 위해 바쳐져야 한다.
3. 세계 의학 회의 제네바선언은 “피험자의 건강을 나의 첫째가는 관심사로 여길 것이다.”라는 말로 의사의 의무를 촉구하고 있으며, 또 의료윤리에 관한 국제 협약은 “피험자의 신체 및 정신 상태를 약화시킬지도 모를 치료법을 시술할 때, 의사는 오직 피험자의 이익만을 고려하여 실시해야 한다.”고 선언하고 있다.
4. 의학의 발전은 궁극적으로 인체를 이용한 실험에 일부분 그 근거를 두고 이루어진다.
5. 인체를 이용한 의학 연구에 있어서 피험자의 복지에 대한 고려가 과학적, 사회적인 면의 이익 보다 우선시되어야 한다.
6. 인체를 이용한 의학 연구의 주된 목적은 예방, 진단 및 치료법의 향상과 질병의 원인 및 발생 과정에 대한 이해를 증진시키는 데 있다. 잘 알려진 예방, 진단 및 치료법이라 할 지라도 그 효과와 효능, 유용성 및 질에 대한 지속적인 연구가 행해져야 한다.
7. 현재 행해지고 있는 대부분의 의료와 의학 연구는 예방, 진단 및 치료법들에 있어서 여러 가지 위험과 부담을 수반한다.
8. 의학 연구는 전 인류에 대한 존중심을 증진시키고 인류의 건강과 권리를 보호한다는 윤리 기준에 적합해야 한다. 일부 실험군은 위험에 노출될 수 있으므로 특별한 보호 조치가 필요하다. 경제적, 의학적으로 불우한 처지에 있는 피

험자가 특히 필요로 하는 것들을 인식하고 있어야 한다. 스스로 동의서를 승인 또는 거부할 능력이 없거나 강제된 상황에서 동의했을 가능성이 있는 경우 또는 연구를 통해 아무런 개인적 이익이 없거나 연구와 치료가 병행되는 피험자에 대해서는 특별한 주의가 필요하다.

9. 연구자들은 인체를 이용한 연구를 할 때 국제적 요구와 더불어 각기 자신의 나라에서의 윤리적, 법적 요구와 규제 사항을 숙지하고 있어야 한다. 그러나 그 어떤 국가의 윤리적, 법적 요구와 규제 사항도 피험자의 보호를 위해 이 선언문에서 제시된 사항을 축소하거나 배제할 수는 없다.

B. 모든 의학 연구에 관한 기본 원칙

10. 의학 연구에 있어서 피험자의 생명, 건강, 사생활, 존엄성을 보호하는 것은 의사의 의무이다.
11. 인체를 이용한 의학 연구는 일반적으로 공인된 과학적 원칙에 따라야 하고, 과학 문헌과 그 외 관련된 정보를 통한 충분한 지식이 바탕이 되어야 하며, 적절한 실험실적, 그리고 가능한 경우 동물 실험 결과가 근거가 되어야 한다.
12. 환경에 영향을 끼칠지도 모르는 연구를 수행하는데 있어서는 적절한 주의가 요구되며, 실험에 사용하는 동물의 복지가 고려되어야 한다.
13. 인체를 이용한 각 실험 과정의 계획과 수행은 연구 계획서에 분명히 문서화되어야 한다. 이 임상시험 계획서는 심의, 조언, 지도 혹은 필요한 경우 승인을 위해 특별히 구성된 임상시험심사 위원회에 제출되어야 한다. 이 위원회는 시험자, 의뢰자, 또는 다른 어떤 종류의 부당한 영향력을 끼칠 후 있는 자로부터도 독립적이어야 한다. 이 독립적 위원회는 시험이 수행되는 나라의 법과 규제 사항을 따라야 하며 실험이 진행되는 과정을 조사할 권리가 있다. 시험자는 위원회에 조사 정보, 특히 모든 심각한 이상반응에 대해서 보고할 의무가 있다. 시험자는 또한 심의를 위해 위원회에 기금, 후원자, 관계 기관 그리고 다른 이해관계와 피험자 급여에 관한 모든 잠재적 분쟁에 대해서도 보고해야 한다.
14. 임상시험계획서에는 항상 윤리적 고려를 하였다는 사실이 포함되어야 하며 또한 이 헬싱키 선언에서 명시된 원칙에 따랐음을 밝혀야 한다.
15. 인체를 이용한 생체의학 시험은 유능한 임상주의 감독 하에 유자격 과학자에 의해서만 실시될 수 있다. 인체를 이용한 연구에 책임은 유자격 의학자에게 있는 것이지 비록 피험자가 동의하였다 하더라도 피험자에게 있는 것은 결코 아니다.
16. 인체를 이용한 모든 의학 연구는 피험자나 다른 이들에게 미칠 예상 가능한 모든 이익과 위험 및 부담을 세심히 비교 검토한 후에 진행시켜야 한다. 그러

나 건강한 지원자가 의학 연구에 참여하는 것을 배제하지는 않는다. 모든 임상시험계획은 공개적이어야 한다.

17. 의사는 인체를 이용하는 시험을 할 때 그 위험성이 적절히 검토되고 충분히 관리될 수 있다고 확신 할 때에만 시험에 착수해야 한다. 잠재적 이익보다 위험이 더 크다고 판단되거나 긍정적이고 이익이 되는 결과에 대한 결정적 증거가 있을 경우엔 그 시험을 중단해야 한다.
18. 인체를 이용한 의학 시험은 그 중요성이 피험자가 받을 위험과 부담보다 월등할 때에만 수행되어야 한다. 이는 피험자가 건강한 지원자일 경우 특히 중요한 사항이다.
19. 의학 시험은 시험의 결과로써 그 시험이 행해지는 집단이 이익을 얻는다는 타당한 가능성이 있을 때에만 정당화 될 수 있다.
20. 피험자는 반드시 지원자이어야 하고 시험에 참여 됨을 알아야 한다.
21. 자기 자신의 안전을 지키기 위한 피험자의 권리는 존중되어야 한다. 피험자의 사생활을 지키고 개인 정보의 비밀을 보장하며 시험으로 오는 육체적 정신적 충격과 인격에 미치는 영향을 줄이기 위한 모든 주의가 기울여져야 한다.
22. 인체를 이용하는 시험에 있어서는 그 시험 자체의 목적과 방법, 기금의 출처, 모든 가능한 이해 분쟁, 시험자가 속한 기관, 예견되는 이익과 내재하는 위험성, 그리고 그에 따르는 고통 등에 관하여 피험자에게 사전에 충분히 알려주어야 한다. 또한 피험자에게는 언제든지 아무런 불이익 없이 시험 참여를 그만 둘 자유가 있다는 것을 알려주어야 하고 또 언제든지 그 동의를 철회할 자유가 있음을 주지시켜야 한다. 의사는 피험자가 모든 사항을 이해했음을 확인한 뒤에 피험자의 자유 의사에 의한 시험 동의를 가능하면 문서화하여 얻어야 한다. 만일 동의서를 문서화하여 얻을 수 없다면 증인 입회 하에 구두로 동의를 얻어 정식 서류화 하여야 한다.
23. 시험 수행에 대한 동의를 얻을 때 의사는 피험자가 자기에 어떤 기대를 거는 관계가 아닌지 또는 그 동의가 어떤 강제된 상황에서 이루어진 것은 아닌지에 대하여 특별한 주의를 기울일 필요가 있다. 만일 그러한 경우라면 동의는 그 연구에 참여하지 않고 피험자와 아무런 관계가 없으며 연구에 대한 모든 정보를 알고 있는 의사가 얻도록 하여야 한다.
24. 피험자가 법적 금치산자이거나 육체적 또는 정신적 무능력자로 직접 동의를 얻을 수 없을 때, 또는 미성년자일 때는 법에 따라 그 권한을 대행할 수 있는 친족의 동의를 얻어야 한다. 이런 집단의 경우 시험이 그 시험 집단의 건강 증진에 필요한 경우 또는 법적 자격이 있는 이들에게 행해질 수 없는 경우가 아니면 연구 대상이 되어서는 안 된다.
25. 미성년자의 경우처럼 법적 능력이 없는 것으로 간주되나 사실상 시험 참여 의사를 밝힐 수 있는 경우 시험자는 법적 권한을 대행할 수 있는 친족의 동의와

더불어 본인의 동의도 함께 얻어야 한다.

26. 대리 동의와 사전 동의를 포함하여 동의서를 받을 수 없는 개인에 대한 시험은 동의서를 받을 수 없는 육체적/정신적 상황이 실험에 필요 사항일 경우에만 행해져야 한다. 동의를 받을 수 없는 상황에 있는 피험자를 시험 대상으로 하는 이유에 대해서는 심사 위원회의 심사와 승인을 위해 제출된 임상시험계획서에 명시되어야 한다. 계획서에는 각 개인이나 법적 대리인으로부터 시험에 계속 참여한다는 동의를 가능한 빨리 받아야 함도 명시해야 한다..
27. 저자와 출판업자 모두에게는 윤리적 책임이 있다. 연구 결과를 잡지에 발표할 때 시험자는 정확성을 기해야 한다. 긍정적 결과뿐만 아니라 부정적 결과 역시 잡지에 발표되거나 공개되어야 한다. 기금의 출처, 관계 기관 그리고 모든 가능한 이해 분쟁도 잡지 발표 시에 공표되어야 한다. 이 선언에서 규정된 원칙에 어긋나는 시험은 잡지 게재가 수락되지 않아야 한다.

C. 치료를 겸한 의학 연구에 관한 부가 원칙

28. 의사는 그 시험이 누가 보아도 질병의 예방, 진단 및 치료에 도움이 된다고 인정되는 범위 내에서만 진료를 겸한 의학 시험을 할 수 있다. 진료를 겸한 의학 시험을 할 때에는 피험자가 되는 피험자를 보호하기 위한 부가 규정을 따라야 한다.
29. 새로운 방법을 채택할 때 얻어질 수 있는 이익과 위험, 부담 그리고 효과 등은 현재 적용하고 있는 가장 좋은 예방, 진단 및 치료법과 잘 비교 되어야 한다. 이 사항은 알려진 예방, 진단 및 치료법이 없는 경우에 위약을 사용하거나 아무 처치를 하지 않는 경우에도 해당된다.
30. 시험의 결론 단계에 있어서, 시험에 참여한 모든 피험자는 그 연구를 통해 가장 좋은 예방, 진단 및 치료법에 접근했음을 확신할 수 있어야 한다.
31. 의사는 피험자에게 행해지는 치료 중 어떤 부분이 시험과 관계되는지를 충분히 알려줘야 한다. 피험자가 시험에 참여하는 것을 거절하였다 하여 의사와 피험자와의 관계에 지장이 생겨서는 안 된다.
32. 피험자를 치료함에 있어 알려진 예방, 진단 및 치료법이 없거나 효과적이지 않은 경우, 그것이 생명을 구하고 건강을 증진시키며 고통을 경감시키는데 도움이 된다고 판단될 경우 의사는 피험자의 동의 하에 증명되지 않았거나 새로운 예방, 진단 및 치료법을 자유로이 사용할 수 있어야 한다. 가능하면 이 새로운 방법들은 시험 대상이 되어야 하며 그 안전성과 유효성을 밝힐 수 있도록 계획되어야 한다. 모든 경우에 있어서 새로운 정보는 기록으로 남겨져야 하며 가능하면 논문으로 발표되어야 한다. 그 외 이 선언문에서 제시한 다른 관계 지침들도 따라야 한다.

[부록4] 피해자 보상 규약

피해자 보상 규약

1. 원칙

- 1) 한국식품개발연구원은 환자의 신체적인 손상(사망포함)에 대해서만 보상한다.
- 2) 손상의 원인이 임상연구용 식품의 섭취로 인한 것이 명백히 판명될 경우에 한하여 한국식품개발연구원은 환자에게 보상한다.
- 3) 임상연구용 식품에 의해 생긴 부작용이나 부작용 처치과정에서 발생한 손상이 있을 경우, 임상시험으로 발생한 손해에 대해 배상한다.

2. 다음의 경우에는 배상하지 아니한다.

- 1) 한국식품개발연구원의 후원 하에 집행되지 않았거나 한국식품개발연구원이 제공하지 아니한 연구용 의약품으로 발생한 부작용에 의한 손상
- 2) 임상연구용 식품의 적응증에 대한 효과가 없거나 혜택을 제공하지 못하는데 대한 배상
- 3) 서로 합의한 임상시험계획서(Protocol)를 이탈함으로써 발생한 손상
- 4) 환자의 부주의로 초래된 손상

3. 보상평가기준

- 1) 보상수준은 손상의 본질, 그 정도, 지속성 여부 등에 따른 적절한 액수여야하며, 한국의 법정에 의해 유사 손상들에 대해 일반적으로 지급되는 것과 동일해야 한다.
- 2) 보상수준에 대해서 환자와 한국식품개발연구원 사이에 이견이 있을 경우, 양자가 수용할 수 있는 전문가의 자문을 구하여야 한다.

폐사는 앞에서 언급한 여러 제반내용을 참고하여, 피험자가 본 시험에 의해 어떠한 불이익이라도 받지 않도록 주의하며, 만약 본 시험에 의해 문제점이 발생한 경우 피해자 보상규약에 의거하여 책임을 질 것을 서약합니다.

200 년 월 일

의뢰회사 : 한국식품개발연구원

직 명 :

서 명 :

[부록5] 동의설명문 및 환자 동의서

피험자 동의 설명문

시험의 제목

고혈압 환자에 대한 “발아현미”의 유효성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중맹검, 병행, “현미” 대조 임상시험

시험의 목적

귀하의 담당의사는 고혈압의 개선을 위하여 혈압 강하제의 투약이 필요하다고 진단 하였습니다. 본 병원에서는 발아현미를 사용하여 고혈압에 대한 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 연구 목적으로 본 임상시험을 실시하고 있습니다.

시험참여 기간

본 시험은 혈압의 안정화를 위한 관찰기간 및 치료기간으로 이루어져 있습니다. 혈압 관찰기간은 2주이며 본격적인 치료기간은 6주 입니다. 따라서 귀하가 본 임상시험에 참여하는 기간은 최소 8주 정도입니다. 그러나 필요한 경우 시험이 중단될 수 있으며 귀하가 원하면 시험 도중 언제라도 중도에 참여 동의를 철회할 수 있습니다

피험자 수

본 시험에 참여하게 될 환자수는 약 40 명 이상입니다.

시험의 과정 및 절차

만약 귀하가 이 임상시험에 참여하기로 동의하고 이 서면동의서에 서명하면, 귀하의 담당의사는 귀하께서 본 임상시험에 적합한지 여부를 결정하기 위하여 다음과 같은 검사나 절차를 시행할 것입니다.

- 병력, 임신여부 확인 및 이전 투약력 검토
- 혈압, 맥박, 신체 검사 실시
- 혈액 검사를 위한 채혈
- 소변검사를 위한 소변 수집
- 합병증의 진단을 위한 심전도, 흉부 X선 검사

만약 귀하가 본 임상시험에 참여하기로 결정하고 동의서에 서명하면 신체검사, 혈액검사, 소변검사, 심전도, 흉부 X선 검사 등을 받게되며 이후의 모든 방문 시마다 혈압 등의 생체징후 검사를 받습니다. 기존에 항고혈압제를 복용하고 있었다면 2주

간 약물을 중단한 후 다시 방문하여 필요한 검사를 받게 됩니다.

방문 2에서 다른 이상이 없고 다시 혈압을 측정하여 시험에 적합하다고 판정되면 3주간 복용할 수 있는 시험식품을 받게 되고 이전에 받아서 섭취하고 남은 식품은 반납합니다.

두 번째 방문 3주 후 방문 3에서 혈압을 측정하고 다른 이상이 있는지 확인합니다. 섭취하고 남은 식품을 반납하고 다시 3주간 섭취할 수 있는 시험식품을 받게 됩니다.

다시 3주 후 방문 4에서 신체검사, 혈액검사, 소변검사 등 필요한 검사를 받습니다. 섭취하고 남은 식품은 반납하도록 합니다.

매 방문시 마다 모든 이상반응과 복용약물을 확인할 것입니다.

시험에 사용되는 식품에 관한 정보

발아현미는 우리 민족이 예부터 기능성이 높을 것으로 기대하며 현미를 싹을 틔어 먹어오던 식품입니다. 오늘날 발아현미의 기능성이 서서히 밝혀지면서 여러 식품업체에서 이를 생산하여 판매하고 있습니다. 본 연구진은 발아현미의 혈압강하 효과에 관심을 가지고 연구하던 중 동물실험을 통해 발아현미의 혈압강하 효과가 매우 우수함을 확인하였습니다..

시험에 사용되는 식품을 받는 방법

귀하께서 본 연구에 참여하기로 결정하고 동의서에 서명하면, 귀하는 고유한 피험자 번호를 배정받게 되고 그 배정번호에 해당하는 임상시험용 식품을 공급받게 될 것입니다. 두 번째의 방문부터 3주 간격으로 2회 지급받게 됩니다.

귀하께서는 발아현미 50g 섭취군, 발아현미 100g 섭취군 혹은 현미 100g 섭취군 중 하나의 처리군에 배정될 것입니다.

시험에 사용되는 식품 섭취 방법

귀하께서 시험식품을 받게 되면 발아현미 100g, 현미 100g 섭취군의 경우 아침 저녁으로 2회, 그리고 발아현미 50g 섭취군의 경우 아침에 1회 섭취하시면 됩니다.

귀하가 준수해야 할 사항

만약 귀하가 이 임상시험에 참여하기로 결정한다면, 본 임상시험에 적합한지 선별하기 위한 진단 및 검사가 필요하며, 이 때 고혈압 이외 귀하가 과거에 앓았던 질환 및 현재에 갖고 있는 다른 질환(특히 심부전, 간질환, 심한 혈압저하 등)이나 상태(임신 또는 수유), 약물에 대한 알레르기에 대하여 담당의사에게 알려셔야 합니다. 또한 이전 3개월 이내 복용한 약물이나 현재 복용하고 있는 약물이 있다면 담당 의사에게 알려셔야 합니다.

귀하는 관찰기간 종료시 혈압을 측정하고 필요한 검사를 받기 위해 병원을 방문해야 하며 치료를 위한 시험식품 섭취 후 3주, 6주에 병원을 방문하여 각 시기에 수행해야 할 검사 및 절차에 협조하여야 합니다. 임상시험 기간동안에는 다른 항고혈압제는 복용하지 않아야 합니다. 만일 이러한 약물을 꼭 복용해야만 하는 경우에는 담당의사에게 알려 주십시오.

이상반응 및 위험성

시험식품인 현미와 발아현미는 옛부터 섭취하여 오던 식품이기 때문에 섭취에 의한 이상반응이 거의 발생하지 않은 것으로 판단됩니다. 만약, 섭취 중 부작용 또는 어떠한 상태가 악화되는 경우가 있다면 담당 의사에게 알려 주시면 조치를 취할 것입니다.

시험과 관련된 손상 발생시 보상

귀하가 본 시험에 참여하여 시험약물로 인해 손상을 입은 경우, 피해자 보상 규약에 의해 보상 받게 됩니다. 시험과 관련된 상해나 이상반응이 발생하면 귀하는 즉시 담당의사에게 문의해야 합니다.

시험 참여시 발생하는 비용 및 기대되는 이익

시험의 일부로 수행되는 모든 검사비용 및 처치비용은 귀하가 부담하지 않습니다. 귀하가 본 시험에 참여하는 동안 공급 받게 되는 식품도 무료입니다. 또한 이 식품이 시판되면 시판 후 3개월 분을 무상 공급받을 수 있습니다.

귀하는 본 시험에 참여함으로써 현재 질환에 대한 적절한 치료를 받을 수 있을 뿐만 아니라 그 결과 얻어진 정보는 귀하와 유사한 상황의 다른 환자에게 값진 결과를 제공할 수도 있습니다.

그러나 본 시험에서 이를 제외한 어떠한 형태의 사례나 금전적인 보상은 없습니다.

임상시험 도중 참여가 중지되는 경우

임상시험 도중 귀하께서 더 이상의 치료를 원하지 않거나, 시험담당자가 귀하의 고혈압 치료를 위해 시험식품의 섭취보다 더 적극적인 치료가 필요하다고 판단된 경우에는 임상시험 참여가 중지될 수 있습니다.

기타 정보

귀하가 이 시험에 참가해야 할 어떤 의무는 없습니다. 귀하가 참가에 동의하는가 하지 않는가 여부는 귀하의 (순환기내과/심장내과) 진료에 어떠한 영향도 끼치지 않을 것이며 시험에 참가하지 않기로 결정하실 경우 다른 종류의 치료약이나 치료방법을 받으실 수 있습니다. 또한 귀하는 참가를 선택한 경우에도, 어느 때라도 중도

에 참여를 포기하겠다는 의사를 표명할 수 있습니다. 만일, 시험의 지속적인 참여에 대해 영향을 미친 어떠한 정보가 생기면 귀하 또는 귀하의 대리인은 곧 그 정보를 제공받게 될 것입니다.

의뢰자인 한국식품개발연구원으로부터 권한을 부여 받은 위임자 혹은 허가당국은 이 시험과 관련하여 귀하의 병원기록을 직접 열람할 수 있습니다. 그러나, 귀하의 진료기록의 비밀은 유지될 것이며 만약 그 결과가 발표되더라도 귀하의 이름 혹은 머리글자에 의해 누구인지 확인되지는 않을 것입니다. 귀하께서 동의서 서식에 서명하는 것은 피험자 또는 대리인이 이러한 자료의 직접 열람을 허용한다는 사실을 의미합니다.

연구자

귀하께서 이 시험에 관하여 어떤 문의사항이 있을 경우, 다음 번호로 연락해주십시오.

담당의사 성명		연락처	
---------	--	-----	--

동 의 서

시험제목

고혈압 환자에 대한 “밭아현미”의 유효성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중맹검, 병행, “현미” 대조 임상시험

본인은 담당의사로부터 한국식품개발연구원의 밭아현미의 임상시험에 대한 성격, 목적, 예상되는 기간, 본인이 해야 할 일과 본인의 건강과 관련하여 어떤 불편함이 나 바람직하지 못한 결과가 발생할 수도 있다는 사실에 대해 충분한 설명을 듣고 이해하였습니다. 또한 상기 사항들에 대한 서면 설명문을 받아 보았으며 본 연구에 동의한 후라도 언제든지 이를 철회할 수 있음과 부작용 발생시 적절한 치료를 받을 수 있음을 확인하였습니다.

본인은 임상시험 기간 동안 주어지는 지침을 따르며, 연구자에게 충실히 협력하며, 본인의 건강에 어떤 변화가 있거나 예상하지 않았던 증상들이 나타나는 경우, 즉시 연구자에게 알리는 것에 동의하며 아래에 서명함으로써 자유로운 의사에 따라 본 임상시험에 참가하고자 합니다.

피험자

성명 _____

날짜 _____

서명 _____

보호자 또는 대리인

관계 _____

성명 _____

날짜 _____

서명 _____

아래에 서명한 본인은 본 임상시험의 개요와 시험식품의 유효성과 발생할 수 있는 부작용에 대해 환자 및/또는 보호자에게 충분히 설명하였음을 확인합니다.

담당의사

성명 _____

날짜 _____

서명 _____

[부록7] JNC VI에 따른 고혈압의 분류

Classification of Blood Pressure for Adults Age 18 and Older*

Category	Systolic(mmHg)	Diastolic(mmHg)
Optimal [†]	<120 and	<80
Normal	<130 and	<85
High-normal	130-139 or	85-89
Hypertension [‡]		
Stage 1	140-159 or	90-99
Stage 2	160-179 or	100-109
Stage 3	≥ 180 or	≥ 110

* 혈압강화제를 복용하고 있지 않고 급성질환이 없는 경우. 환자의 수축기와 이완기 혈압의 분류가 다를 경우는 더 높은 단계로 분류되어야 한다. 예를 들어 160/92 mmHg인 경우 stage 2 고혈압이 되며 174/120 mmHg인 경우는 stage 3 고혈압으로 분류되어야 한다.

† 심혈관계 위험인자와 관련하여 적절한 혈압은 120/80 mmHg보다 낮은 것이 좋다. 그러나 이러한 경우에도 임상적 유의성을 평가해야 한다.

‡ 2회 이상의 방문에서 각각 2회 이상 측정된 혈압의 평균에 근거한다.

[부록8] 병용금지 약물

다음의 약물은 연구기간 중 병용을 금지한다.

1. 시험약 이외의 혈압강하제, 항협심증제
ACE 저해제, Angiotensin II 수용체 저해제, 칼슘길항제, 베타차단제, 혈관확장제, 이뇨제 등
2. 항부정맥제
3. 항정신약물
최면진정제(단 수면도입을 위해 benzodiazepine류의 약제를 시험개시 전부터 증상이 나타났을 때 혹은 심할 경우 일시적으로 사용하고 있는 경우에는 병용을 인정한다.), 항불안약, 항전간제 정신신경용제
4. 혈관수축제
5. 인슐린 제제
6. 항종양제
7. 면역억제제
8. 질산염 제제
9. 다른 시험약

여 백

〈부 록 2〉

증 례 기 록 서

한 국 식 품 연 구 원

여 백

증례기록서 (CASE REPORT FORM)

고혈압 환자에 대한 “발아현미”의 유효성을 평가하기 위한
무작위배정, 이중맹검, 병행, “현미” 대조 임상시험

계획서번호

실시기관

연구자성명

피 형 자 Initial

차트번호

시험자번호
(스크리닝 Screening)
S

무작위배정번호
R

증례기록서 작성 안내문

1. 증례기록지의 기록 및 수정은 임상시험 담당자, 담당자로부터 위임 받은 공동 연구자 또는 보조연구자만이 할 수 있습니다.
2. 모든 기입 내용은 알아볼 수 있게 작성되어야 하며 반드시 검은 색 볼펜으로 작성하여 주십시오.
3. 증례기록지의 해당되는 모든 항목을 빠짐없이 기록하여 주십시오.
4. 다음과 같은 이유로 증례기록지의 항목을 기록할 수 없는 경우는 각각의 약자를 사용하여 기입하여 주십시오.
 - 1) 해당사항 없음 : NA (Not Available, Not Applicable)
 - 2) 검사가 시행되지 않았음 : ND (Not Done)
5. 날짜는 년, 월, 일의 순서로 기입하여 주십시오.(예를 들면 2003년 9월 30일은 2003/09/30)
6. 데이터를 수정하거나 추가하는 경우는 수정할 내용 위에 한 줄로 줄을 그어서 (지우거나 수정액을 사용하지 말 것) 수정한 후에도 읽을 수 있도록 하여 주신 후 검은색 볼펜으로 데이터를 다시 기록하고 서명(이름의 영문 약자를 사용) 및 수정일자, 수정 이유를 기록하여 주십시오.
7. 피험자가 예정되어 있지 않은 방문을 한 경우 30쪽에 기록해 주십시오.

임상시험 Flow Chart

시험절차	Before Treatment		After Treatment	
	V1	V2	V3	V4
Visit No.	-2 Week	Day 0	3 Week	6 Week
방문일 (시험식품 섭취 후)	(Screening)	시험식품 섭취전	(예정방문일 ±3일)	(예정방문일 ±3일)
시험자서면동의서 취득	X			
선정/제외기준 확인	X	X*		
무작위배정		X		
인구학적자료	X			
병력 및 투약력	X			
신장	X			
체중	X	X	X	X
생체징후 (V/S) Sitting BP, HR포함	X	X	X	X
BP(supine/standing)		X		X
신체검사	X			X
12-lead ECG	X			X
임신반응 검사	X			
흉부 X선 검사	X			
Laboratory test				
▪ Biochemistry(Lipid profile etc.)	X			X
▪ Hematology	X			X
▪ Urinalysis	X			X
임상시험용 식품 교부		X	X	
임상시험용 식품 섭취확인		X	X	X
용량조정검토			X	
이상반응기록		X	X	X
병용약물	X	X	X	X

* 혈압 측정결과 및 병용약물 여부에 의해 최종 확정

VISIT 1 (Screening) (-2 Week)

Visit 1 Checklist

피험자 동의.....	5
피험자 선정기준 (Inclusion Criteria)	5
피험자 제외기준 (Exclusion Criteria)	6
피험자 배경 (Demographic Data)	7
ECG 검사	8
흉부 X-ray 검사.....	9
임신진단검사.....	9
피험자 병력 (Medical History).....	10
생체징후 (Vital Signs).....	11
신체검사 (Physical Examination).....	11

_Toc46921318

분류	약제군	피험자 Initial	피험자번호
1 (Screening)	년 월 일		S

피험자 동의

피험자는 문서 또는 구두로 시험의 성격이 충분히 설명된 후에 피험자 동의를 작성하였습니까?
 예 (서면 동의일 _____년____월____일) 아니오

피험자 선정/제외기준 (Inclusion/Exclusion Criteria)

선정기준 (Inclusion Criteria)	예	아니오
1. 만 18세 이상 75세 이하인 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 경증의 본태성 고혈압 환자인가? (관찰기간 시작시와 종료시 혈압 측정에서 각각 140<SBP<159의 기준*을 만족하는 경우) 1) Visit 1의 혈압 ____/____mmHg 2) Visit 2의 혈압 ____/____mmHg	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 기존에 항고혈압제를 투여한 경우, 시험식품 섭취 4주 전(관찰기간포함)에 중단하였는가? N/A <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. 임상시험개시 전 서면 동의를 제출하였고 임상시험에서 요구하는 사항을 준수할 수 있는 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

위의 질문에 대한 답변 중 "아니오"가 하나라도 있다면, 해당자는 포함시키지 마십시오.

* JNC VI guideline stage I

병명	시험자번호
	S
1 (Screening)	

시험자 선정/제외기준 (Inclusion/Exclusion Criteria)		
제외기준 (Exclusion Criteria)	예	아니오
1. 관찰기간 시작 시 양쪽 팔의 혈압을 측정하여 그 혈압 차가 3회 연속하여 주축기 >20 또는 이완기 >10 차이가 나는 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 중증의 간기능 장애환자인가? (AST ≥ 2 × 정상 상한치, ALT ≥ 2 × 정상 상한치 포함)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 중증의 신장에 환자인가? (Serum creatinine > 2 mg/dL, 무뇨, 급성신부전, 투석환자 포함)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. 심이지장 또는 위궤양의 합병에 의해 치료를 받고 있거나 시험 전 3개월 이내에 심이지장궤양 또는 위궤양 발병 환자 또는 약물흡수가 곤란한 위장관 수술 또는 위장관 질환의 기왕력이 있는 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. 이차성고혈압증 또는 이차성고혈압증이 의심되는 환자인가? (대동맥축착증, 원발성 알도스테론 증, 신동맥협착, 신성고혈압, 갈색세포종 등)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. 악성고혈압증의 합병 또는 기왕이 있는 환자인가? (혈압상승이 원인으로 일어나는 두통, 유두부종, 심허혈, 폐출혈 포함)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Insulin으로 치료중인 당뇨병 환자 또는 혈당강하제로 잘 조절되지 않는 제 2형 중증 당뇨병 환자(스크리닝 시 임상검사서에서 공복시 혈당이 200 mg/dL 이상인 경우)인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. 중증의 심질환자인가? (현재 또는 6개월 이내에 심혈관질환 발작, 심근경색, 심부전, PTCA 또는 관상동맥 Bypass 시행, 협심증, 치료를 필요로 하거나 임상증상을 동반하는 부정맥, II도 또는 III도의 방실블록, 만성심방세동, 임상적으로 유의한 심장판막증)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. 뇌혈관장애 환자인가? (현재 또는 6개월 이내 뇌경색, 뇌출혈, 일과성 뇌허혈발작)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. 과거 5년 이내에 백혈병 및 임파종을 포함하는 악성종양의 기왕력을 갖는 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. 만성 관절류머티스, 전신성홍반성루푸스 등의 자가면역질환의 기왕력을 갖는 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. 임상적으로 문제가 되는 알레르기를 갖는 환자인가? (Calcium channel 차단제에 과민증의 병력이 있는 환자, 약물치료를 하고 있는 천식환자, 약물 알레르기에 의한 anaphylaxis병력 등)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. 한가지 혈압강하제의 투여로 증상이 개선되지 않아 두 가지 이상의 혈압강하제를 병용하고 있는 고혈압환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. 임부 또는 임신하고 있을 가능성이 있는 부인, 수유부인가? N/A <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. 경구용 피임제를 복용하고 있거나 시험기간 동안 임신을 계획하고 있는 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16. 임상적으로 알코올 또는 약물남용의 과거력이 있는 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17. 관찰기간 개시 전 12주 이내에 다른 시험약의 투여를 받은 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18. 연구자가 판단하기에 임상적으로 유의한 비정상적인 실험실 검사치를 나타냈거나 임상시험 대상으로서 부적당하다고 판단한 환자인가?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
위의 질문에 대한 답변 중 '예'와 '아니오'가 있다면, 해당지는 포함시키지 마십시오.		

병문	피검자번호
S	
1 (Screening)	

피검자 배경 (Demographic Data)			
성 별	<input type="checkbox"/> 남 <input type="checkbox"/> 여	신 장	cm
생 년 월 일	년 월 일	체 중	kg
<p>흡연여부</p> <p>Non-Smoker</p> <p><input type="checkbox"/></p> <p>Ex-Smoker <input type="checkbox"/> Stopped: ____년</p> <p>Smoker</p> <p><input type="checkbox"/></p> <p>____개피/일 흡연기간: ____년</p>			

음주여부

Non-Drinker

Drinker

Ex-Drinker Stopped: ____년

“Drinker”인 경우 아래 사항을 기재해 주십시오.

맥주

소주

양주

기타 _____

해당없음

Light (1일 1잔 미만)

Moderate (1일 1~3잔)

Heavy (1일 3잔 초과)

방문	피검자번호
S	
1 (Screening)	

ECG 검사		<input type="checkbox"/> 검사완료
검사일자: _____ 년 _____ 월 _____ 일		
<input type="checkbox"/> 정상	<input type="checkbox"/> 비정상(임상적으로 유의하지 않음)	
	<input type="checkbox"/> 비정상(임상적으로 유의함)	
소견: _____		
흉부 X-ray 검사		<input type="checkbox"/> 검사완료
검사일자: _____ 년 _____ 월 _____ 일		
<input type="checkbox"/> 정상	<input type="checkbox"/> 비정상	
(소견: _____)		
임신전단검사		
검사일자: _____ 년 _____ 월 _____ 일		
<input type="checkbox"/> 양성(임신)	<input type="checkbox"/> 음성(비임신)	
검사를 시행하지 않았다면 해당사항에 표시하여 주십시오. 남성 <input type="checkbox"/> 폐경 <input type="checkbox"/> 피임수술 <input type="checkbox"/>		

성명	패턴자번호
S	
1 (Screening)	

패턴자 병력 (Medical History)				
항 목	증상	비정상	비정상인 경우, 구체적 기술	상 태 (1=On-going, 2=Resolved)
Eyes-Ears-Nose-Throat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Respiratory	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Gastrointestinal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Hepatic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Renal/ Genitourinary	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Neurological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Hematopoietic-Lymphatic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Endocrine-Metabolic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Dermatological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Musculoskeletal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
ENT/Skin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Psychiatric	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Allergy (Including drug allergy)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Other significant finding				
☞ 주진단 이외의 질환 치료를 위해 병용하고 있는 약물이 있으면 병용약물 페이지(P.24)에 기록하여 주십시오.				

반문	피원자번호
S	
1 (Screening)	

생체징후 (Vital Signs)			
맥박	회/min	체온	°C
혈압(좌) (Sitting)	1회	2회	3회*
	/ mmHg	/ mmHg	/ mmHg
혈압(우) (Sitting)	1회	2회	3회*
	/ mmHg	/ mmHg	/ mmHg
평균 혈압†	/ mmHg		<input type="checkbox"/> 좌 <input type="checkbox"/> 우

신체검사 (Physical Examination) <input type="checkbox"/> 전반적으로 정상임			
신체 검사 항목	정상	비정상	비정상인 경우, 구체적 기술
Appearance	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Head-Neck	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eyes-Ears-Nose-Throat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Lung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Heart	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Vascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abdomen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Back-Spine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremities	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Genital	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Rectal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

* 2회 측정 시 SBP, DBP 각각 5 mmHg를 초과하여 차이가 있는 경우 또는 양쪽 팔의 혈압차이가 2회 연속하여 수축기 >20 mmHg 또는 이완기 >10 mmHg차이가 나는 경우 측정

† 좌우측 팔 중 낮은 쪽의 혈압

Other significant finding	
---------------------------	--

항목	비밀번호
1 (Screening)	S

혈액화학검사 (Blood Chemistry Test)			
혈액생화학적 검사(Biochemistry)			
<input type="checkbox"/> 검사안함		샘플 채취 일자: _____년 _____월 _____일	
검사항목	VALUE	비정상	임상적 유의성*
BUN		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fasting Glucose		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Uric Acid		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Creatinine		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sodium		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Potassium		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ALT(GPT)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
AST(GOT)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alkaline Phosphatase		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Total Cholesterol		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Triglyceride		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HDL-Cholesterol		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
* 비정상 수치가 임상적으로 유의한 경우 구체적으로 기술해 주십시오.			

성명	과점자번호	S
1 (Screening)		

실험실 검사 (Laboratory Test) (계속)			
혈액학적 검사(Hematology)			
<input type="checkbox"/> 검사안함		샘플 채취 일자: _____년____월____일	
검사항목	VALUE	비정상	임상적 유의성*
Hemoglobin		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hematocrit		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
RBC count		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
WBC count		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Platelet count		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
뇨 검사(Urinalysis)			
<input type="checkbox"/> 검사안함		샘플 채취 일자: _____년____월____일	
검사항목	VALUE	비정상	임상적 유의성*
Protein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glucose		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Occult Blood		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ketone Body		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Specific Gravity		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
WBC		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p>* 비정상 수치가 임상적으로 유의한 경우 구체적으로 기술해 주십시오.</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>			

VISIT 2 (0 Week)

Visit 2 Checklist

선정 / 제외기준 확인	5
체중 / 생체징후 (Vital Signs)	15
이상반응 (Adverse Event)	14 22
변용약물 / 병행 비약물 치료요법	14, 24, 25
임상시험용 식품 교부	26

방문	일주일	피험자 Initial	피험자번호
2 (0 Week)	년 월 일		R

체중 / 생체징후 (Vital Signs)			
체중	_____ kg	맥박	_____ 회/min
		체온	_____ °C
혈압		<input type="checkbox"/> 좌	<input type="checkbox"/> 우
Sitting	1회	2회	3회*
	/ mmHg	/ mmHg	/ mmHg
Standing	/ mmHg	Supine	/ mmHg
이상 반응 (Adverse Event)			
<p>☞ 다음에 해당하는 중대한 이상반응이 발생하였을 경우에는 임상시험용 식품과의 인과관계에 상관없이 발생 후 24시간 이내에 혹은 늦어도 다음 근무일까지 즉시 의뢰자에게 보고하여야 합니다.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 사망 2) 즉각적으로 생명을 위협하는 경우 3) 영구적 또는 실질적 불구를 초래하는 경우 4) 입원 또는 기존 입원환자의 입원기간 연장이 발생한 경우 5) 선천적 이상을 유발한 경우 6) 위 1) ~ 5)를 방지하기 위해 내과적 혹은 외과적 중재가 필요한 경우 			
병용약물 / 병행 비약물 치료요법 (Concomitant Medication/ Treatment)			
<p>☞ 지난 번 방문 이후 새로 병용한 약물이나 비약물 치료요법이 있는 경우 병용약물(P.23) 및 병행 비약물 치료요법(P.24)에 기록하여 주십시오.</p>			

* 2회 측정 시 SBP, DBP 각각 5 mmHg를 초과하여 차이가 있는 경우

VISIT 3 (3 Week ± 3 Days)

Visit 3 Checklist

체중 / 생체징후 (Vital Signs)	16
이 상 반 응 (Adverse Event)	16, 22
병용약물 / 병행 비약물 치료요법	16, 24, 25
임상시험용 식품 섭취 확인 및 교부	26

방문	방문일	피검치 Initial	피검치전조
3 (3 Week)	년 월 일		R

체중 / 생체징후 (Vital Signs)			
체중	_____ kg	맥박	_____ 회/min
		체온	_____ °C
혈 압 <input type="checkbox"/> 좌 <input type="checkbox"/> 우			
혈 압 (Sitting)	1회	2회	3회
	/ mmHg	/ mmHg	/ mmHg
* 2회 이상 측정된 수축기 혈압의 평균 ≥ 140 mmHg? <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오			
☞ "예"에 해당하는 경우 용량을 2배(10mg)로 증량하여 주십시오. <input type="checkbox"/> 증량 <input type="checkbox"/> 변함없음			
이 상 반 응 (Adverse Event)			
☞ 다음에 해당하는 중대한 이상반응이 발생하였을 경우에는 임상시험용 식품과의 인과관계에 상관없이 발생 후 24시간 이내에 혹은 늦어도 다음 근무일까지 즉시 의뢰자에게 보고하여야 합니다.			
1) 사망			
2) 즉각적으로 생명을 위협하는 경우			
3) 영구적 또는 실질적 불구를 초래하는 경우			
4) 입원 또는 기존 입원환자의 입원기간 연장이 발생한 경우			
5) 선천적 이상을 유발한 경우			
6) 위 1)~5)를 방지하기 위해 내과적 혹은 외과적 중재가 필요한 경우			
병용약물 / 병행 비약물 치료요법 (Concomitant Medication/ Treatment)			
☞ 지난 번 방문 이후 새로 병용한 약물이나 비약물 치료요법이 있는 경우 병용약물(P.23) 및 병행 비약물 치료요법(P.24)에 기록하여 주십시오.			

* 2회 측정 시 SBP, DBP 각각 5 mmHg를 초과하여 차이가 있는 경우

VISIT 4 (6 Week ± 3 Days) or Early Termination

Visit 4 Checklist

체중 / 생체징후 (Vital Signs).....	19
신체검사 (Physical Examination).....	19
실험실 검사 (Laboratory Test).....	20
이 상 반 응 (Adverse Event).....	22
병용약물 / 병행 비약물 치료요법.....	23, 24, 25
임상시험용 의약품 복용확인.....	27
임 상 시 험 종 료 보 고 서.....	29
Case Report Form Accountability.....	29
시험책임자 확인.....	29

방위	연령	피험자 Initial	피험자번호
4 (6 Week)	년 월 일		R

체중 / 생체징후 (Vital Signs)						
체중		_____ kg	맥박	_____ 회/min	체온	_____ °C
혈 압					<input type="checkbox"/> 좌	<input type="checkbox"/> 우
계측	Sitting	1회	2회	3회		
		/ mmHg	/ mmHg	/ mmHg		
	Standing	/ mmHg	Supine	/ mmHg		
		/ mmHg		/ mmHg		
신체검사 (Physical Examination)					<input type="checkbox"/> 검사완료	
스크리닝 이후로 변화가 있습니까? <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오						
변화가 있는 경우 구체적으로 기술하여 주십시오.						

ECG 검사		<input type="checkbox"/> 검사완료
검사일자:	_____ 년 _____ 월 _____ 일	
<input type="checkbox"/> 정상	<input type="checkbox"/> 비정상(임상적으로 유의하지 않음)	
	<input type="checkbox"/> 비정상(임상적으로 유의함)	
소견:	_____	

* 2회 측정 시 SBP, DBP 각각 5 mmHg를 초과하여 차이가 있는 경우 측정

성명	환자번호
4(6 Weeks)	R

실험실 검사 (Laboratory Test)			
혈액생화학적 검사(Biochemistry)			
<input type="checkbox"/> 검사안함		샘플 채취 일자: _____년____월____일	
검사항목	VALUE	비정상	임상적 유의성*
BUN		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fasting Glucose		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Uric Acid		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Creatinine		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sodium		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Potassium		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ALT(GPT)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
AST(GOT)		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alkaline Phosphatase		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Total Cholesterol		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Triglyceride		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HDL-Cholesterol		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
*비정상 수치가 임상적으로 유의한 경우 구체적으로 기술해 주십시오. _____ _____ _____ _____			

환자 4(6 Weeks)	피원자번호 R
------------------	------------

실현실 검사 (Laboratory Test) (계속)			
혈액학적 검사(Hematology)			
<input type="checkbox"/> 검사안함		샘플 채취 일자: _____년 _____월 _____일	
검사항목	VALUE	비정상	임상적 유의성*
Hemoglobin		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hematocrit		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
RBC count		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
WBC count		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Platelet count		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
뇨 검사(Urinalysis)			
<input type="checkbox"/> 검사안함		샘플 채취 일자: _____년 _____월 _____일	
검사항목	VALUE	비정상	임상적 유의성*
Protein		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glucose		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Occult Blood		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ketone Body		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Specific Gravity		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
WBC		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

* 임상적으로 유의한 비정상인 경우 이상반응란(P.22)에 기록하고, 추적조사해 주시기 바랍니다.

방문	피원자번호
	R
4(6 Weeks)	

비상 반응 (Adverse Event)
<p>☞ 다음에 해당하는 중대한 이상반응이 발생하였을 경우에는 임상시험용 식품과의 인과관계에 상관 없이 발생 후 24시간 이내에 혹은 늦어도 다음 근무일까지 즉시 의료자에게 보고하여야 합니다.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 사망 2) 즉각적으로 생명을 위협하는 경우 3) 영구적 또는 실질적 불구를 초래하는 경우 4) 입원 또는 기존 입원환자의 입원기간 연장이 발생한 경우 5) 선천적 이상을 유발한 경우 6) 위 1)~5)를 방지하기 위해 내과적 혹은 외과적 중재가 필요한 경우
병용약물 / 병행 비약물 치료요법 (Concomitant Medication/ Treatment)
<p>☞ 지난 번 방문 이후 새로 병용한 약물이나 비약물 치료요법이 있는 경우 병용약물(P.23) 및 병행 비약물 치료요법(P.24)에 기록하여 주십시오.</p>

피험자 Initial	피험자번호
	R

병용 약물 (Concomitant Medication)								
시험시작 4주 전 및 시험기간 동안 병용한 약물이 있습니까?							예 <input type="checkbox"/>	아니오 <input type="checkbox"/>
No.	Drug Name	Total Daily Dose		Route	Duration(Y/M/M/DD)		On-going	Reason for Medication
		Dose	Unit		Start Date	Stop Date		
1							<input type="checkbox"/>	
2							<input type="checkbox"/>	
3							<input type="checkbox"/>	
4							<input type="checkbox"/>	
5							<input type="checkbox"/>	
6							<input type="checkbox"/>	
7							<input type="checkbox"/>	
8							<input type="checkbox"/>	
9							<input type="checkbox"/>	
10							<input type="checkbox"/>	
Comment:								
<small>☞ 약품명이 단일제인 경우 성분명용, 복합제인 경우 제품명을 기입하여 주십시오.</small>								

피원자 Initial	피원자번호
	R

병행 비약물 치료요법 (Concomitant Treatment)				
Screening 이후부터 시험기간 중 혈압강하를 위하여 비약물 요법을 병행하였습니까? 예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/>				
No.	Non Drug Therapy	Duration (YY/MM/DD)		On-going
		Start Date	Stop Date	
1				<input type="checkbox"/>
2				<input type="checkbox"/>
3				<input type="checkbox"/>
4				<input type="checkbox"/>
5				<input type="checkbox"/>
6				<input type="checkbox"/>
7				<input type="checkbox"/>
8				<input type="checkbox"/>
9				<input type="checkbox"/>
10				<input type="checkbox"/>
Comment:				

피험자 Initial	피험자번호
	R

임상시험용 식품 라벨 부착

시험 식품 포장의 라벨 중 증례기록서 부착용을 잘라내어 다음에 부착하여 주십시오.

☛ **방문 2 (0 Week)**

시험식품 교부일: ___년 ___월 ___일 교부한 양: ___
 시험식품 회수일: ___년 ___월 ___일 반납한 양: ___

--	--

피험자 Initial	피험자번호
	R

임상시험용 식품 라벨 부착	
시험 식품 포장의 라벨 중 중례기록서 부착용을 잘라내어 다음에 부착하여 주십시오.	
▶ 방문 3 (3 Week)	시험식품 교부일: ____년 ____월 ____일 교부한 양: ____ 시험식품 회수일: ____년 ____월 ____일 반납한 양: ____

시험자 Initial	시험자번호
	R

General Comments		
Date of Comment	Page No	Comment

批准者 Initial	批准者印號
	R

임상시험종료보고서

시험의 완료

피험자가 임상시험을 완료하였습니까? 예 아니오

☞ "예"인 경우 아래의 시험 완료일을 기록하여 주십시오.

시험 완료일: _____ 년 _____ 월 _____ 일

☞ "아니오"인 경우 아래의 [시험의 조기종결]을 기록하여 주십시오.

시험의 조기종결

조기종결 사유에 해당하는 곳을 표시하여 주십시오.

- 치료실패
- 이상반응(증례기록서의 해당 페이지에 기록)
- 시험에 대한 환자의 동의 철회
- 추적과정에서 연락이 두절됨
- 임상시험계획서 위반
- 기타 : (구체적으로 : _____)

시험 중단일: _____ 년 _____ 월 _____ 일

Case Report Form Accountability

CRF Form의 모든 page가 한국식품개발연구원으로 회수되지 않는다면 아래에 이유를 기록하여 주십시오.

- Premature Termination Lost to Follow-up Others _____

Page No. _____ Through Page No. _____

Page No. _____ Through Page No. _____

Page No. _____ Through Page No. _____

시험책임자 확인

본 피험자에 대한 해당검사를 빠짐없이 실시하고 세심하게 관찰하였으며 본 증례기록서에 기록된 모든 정보가 정확함을 확인하였습니다.

시험 책임 연구자 서명 : _____
날 짜 : _____ 년 _____ 월 _____ 일

예정되지 않은 방문
(**Unscheduled Visit**)

방문	방문일	피험자 Initial	피험자번호
Unscheduled Visit	년 월 일		R

예정되지 않은 방문	
방문일자 :	년 월 일
방문목적	
방문 시 시행한 검사나 검사 결과에 대한 소견	
시험책임자 확인	
본인은 해당 방문 CRF(Case Report Form)의 기록이 완전하게 기록되었으며 피험자의 근원문서와 그 내용이 동일함을 확인하였습니다. 시험책임연구자 서명 : _____ 날짜 : _____년 _____월 _____일	

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서의 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.