최 종
연구보고서

유기농법으로 생산된 국내산 발아유도 곡물종자를 이용한 기능성 강화식품 개발

The Nutraceutical Food Development Using Germinated Grains of Environmental Friendly Cultivation

연구기관
동 신 대 학 교

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “유기농법으로 생산된 국내산 발아유도 곡물종자를 이용한 기능성 강화식품 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006. 7. 14.

주관연구기관명 : 동신대학교
총괄연구책임자 : 이숙영(1~2차년) · 조수인(3차년)
세부연구책임자 : 이숙영(1~2차년) · 조수인(3차년)
연 구 원 : 박 민 희
연 구 원 : 부 희 옥
연 구 원 : 권 수 정
연 구 원 : 박 병 천
연 구 원 : 장 은 숙
연 구 원 : 임 채 영
연 구 원 : 정 다 화
연 구 원 : 이 은 주
제1협동연구기관명 : 가천길대학
제1협동연구책임자 : 이 혜 정
제2협동연구기관명 : (주)에프엔디 부설 기능식연구소
제2협동연구책임자 : 정 영 삼
참 여 기 업 : (주) 에프엔디
참여기업책임자 : 이 영 복

요 약 문

Ⅰ. 제 목

유기농법으로 생산된 국내산 발아유도 곡물종자를 이용한 기능성 강화식품 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

삶의 질의 향상 차원에서 국민들의 건강 증진과 회복에 대한 관심이 높아지고 노년 인구가 급격하게 증가하면서 건강 보조식품이나 기능성 식품과 같은 건강식품에 대한 관심 또한 증가하고 있다. 우리나라에서도 이러한 욕구가 반영되어 건강 보조식품의 매출이 IMF사태 이후 소비 둔화로 급격히 감소하기는 하였으나 1999년 8,700억 원, 2000년에는 1조 원을 돌파하였으며, 2002년에는 최대 1조 2천억 원으로 시장 규모가 예측되고 있다. 이와 같은 매출액 증가는 다단계, 방문 판매 및 홈쇼핑이 성장의 견인차 역할을 하고 있으며, 앞으로 대기업들의 참여가 시장 확대를 주도할 전망이다.

생체 조절 기능을 효과적으로 발현시키고 이를 이용하여 질병 발병을 미연에 방지하도록 설계된 새로운 식품, 즉 기능성 식품은 주식과 함께 상용하므로서 알레르기의 저감, 칼슘의 흡수 촉진, 장내 세균의 조절, 면역 증강, 신경 조절, 혈압 강하, 콜레스테롤의 저감 등 다양한 건강증진 효과가 있을 뿐 아니라 약물복용 시 나타날 수 있는 부작용 등이 없어 한약과 더불어 현대인들에게 선호도가 높아지고 있다.

그러나 발아곡물을 이용한 주 생산품은 국내의 경우 발아현미가 90%이상을 차지하고 있으며, 그 밖에 소량(10%)이 발아보리, 발아밀, 발아수수로 극히 제한되어 있으며 이를 이용한 가공식품 또한 비가공원료 자체를 소포장으로 판매하거나 생식, 건강보조식품의 원료로 이용되고 있다. 국외(일본, 미국)의 경우도 국내와 마찬가지로 발아곡물의 종류나 이용성이 발아현미로 한정되어 있으며 최근 미국에서는 소량이 햄버거용 잼이나 기타 소스로 활용되고 있을 뿐이다.

따라서 본 연구에서는 **한정된 발아곡물의 종류를 다양화하고 그 이용성을 증대시키므로서 잡곡류의 수요창출을 확대시키기 위하여**, 친환경농법으로 재배·생산되고 있는 곡물종자(**서목태, 녹두, 옥수수, 메밀**)를 **기능성이 최고에 달한 시점까지**

발아를 유도한 후, **주요성분 변화를 분석**하고, **생리활성을 검증**한 다음, 기존의 종류와는 다른 잡곡류를 이용・그 기능성이 **실험적으로 검증된 발아곡물죽과 발아곡물 생식을 개발**하였다.

- 기술적 측면

1. 기능성이 최대로 강화된 곡물종자의 발아조건 구명
2. 발아시 변화되는 곡물종자내 주요성분 및 활성물질의 변화를 분석
3. 최적상태의 발아곡물 종자를 용매 추출하여 생리활성 및 기능성을 구명
4. 혼합형 기능성 식품을 제조하기위한, 곡물간의 배합조건을 확립
5. 기능성이 강화된 혼합형 죽의 제조공정을 구명
6. 기능성 강화 혼합형 생식의 제조공정을 구명

- 경제・산업적 측면

1. 잡곡류의 수요증대 및 친환경재배농가의 소득증대・의욕고취에 기여 : 친환경농법으로 생산된 곡물종자를 재료로 개발된 기능성 식품의 소요가 증대된다면 한정된 재배작목의 다양화를 촉진시킬 수 있고 동시에 경제적으로 열악한 재배농가에 소득증대와 의욕을 고취

2. 농산물 시장개방의 대체효과 : 수입 농산물의 경우 수출입 통관절차에 따라 수개월이 소요되므로 그 기간동안 변질방지를 위해 살균처리하기 때문에 발아유도가 거의 불가능하므로 발아곡물유도용으로 수입산 곡물종자는 사용할 수 없다. 따라서 발아곡물종자를 재료로 한 기능성 식품의 개발은 농산물 시장개방과는 무관하게 순수하게 국내산만 사용할 수 있다는 측면에서 경제적으로 큰 의미가 있다.

3. 기능성 곡물로서 잡곡종자의 활용성 및 산업화 증진효과(잡곡발아곡물의 수요창출) : 1차적이고 제한된 형태로 식용해 온 잡곡종자의 유용물질을 탐색하고 그 독특한 생리활성을 구명하여 인체에 유익한 건강 기능성 식품을 개발할 수 있다는 측면에서 잡곡종자의 산업화에 기여

4. 국내외 식품시장 개척 가능 : 기능성이 과학적으로 검증된 새로운 기능성 식품(혼합형 죽)은 경쟁이 치열한 국내외 시장 개척 가능

사회・문화적 측면

1. 잡곡종자를 재료로 한 가공식품의 기능성에 대한 소비자의 신뢰도 증가
2. 식품산업의 다양화에 기여
3. 발아곡물의 유효성에 대한 일반소비자들의 인식도 강화

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 곡물종자의 발아유도 및 GABA 강화 발아곡물의 조제

가. 곡물종자별 최적발아조건 분석 및 발아종자의 성분분석

1) 곡물종자의 적정발아조건 분석

가) 종자침지 유무에 따른 발아율 테스트

나) 다온도 발아상을 이용한 종자별 최적발아조건 분석

다) 친환경재배 곡물종자와 일반재배 곡물종자의 발아특성 비교분석

라) 발아유도 종자의 대량조제

2) 발아곡물종자의 주요성분 분석

가) 일반성분 분석

나) 유리 아미노산의 함량분석

다) Total phenolic compounds의 함량 분석

라) Total flavonoids 함량측정

마) 곡물종자의 발아단계별 생리활성물질 GABA의 함량분석

나. 생리활성물질 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 조제

1) 혐기처리 시간에 따른 발아곡물내 GABA 함량분석

가) 혐기처리 곡물 조제

나) 발아곡물 혐기처리군의 GABA(γ-aminobutyric acid) 함량 분석

2) 글루탐삼으로 침지된 발아곡물의 혐기처리에 의한 GABA 함량 및 유리 아미노산 함량 변화분석

가) 글루탐산으로 침지된 곡물종자 조제

나) 글루탐산 침지 발아곡물 혐기처리군의 GABA 함량 및 유리 아미노산의 함량 분석

2. 발아곡물 추출물의 생리활성 탐색

가. DPPH radical 소거능에 의한 추출물의 항산화활성 분석 .....

1) 시료의 추출 및 조제

2) 항산화활성 측정

나. 항암제 내성 백혈암세포에 미치는 추출물의 Chemosensitizing effect 분석

1) 세포주 및 세포배양
2) 다제내성 조절활성 검색
다. 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 .....
1) 세포주 및 세포배양
2) 암세포 증식 억제효과 분석
라. 추출물의 항미생물 활성 테스트 .....
마. 추출물의 혈전분해 활성분석
1) 조단백질 시료의 조제
2) 단백질 분해활성측정
3) 혈전용해활성 측정
바. Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 추출물의 효과분석

3. 발아곡물을 소재로 한 기능성 죽의 제조방법 개발
가. 죽 시료의 조제
1) 최종제품의 형태 결정을 위한 예비실험
2) 발아곡물의 적정 예열시간 측정
3) 백미와 발아곡물간의 최적혼합비 분석
4) 죽 첨가용 최적 조미료 분석
5) Stock의 제조조건 분석
6) 가열시간의 적정성 분석
7) 최적 가수량 측정
8) 죽 첨가용 채소종류 및 혼합비 결정
9) 죽 제조용 발아곡물 시료의 조제
10) 발아곡물죽의 제조
가) 백미를 주곡으로 한 발아곡물죽 제조
나) 현미를 주곡으로 한 발아곡물죽 제조
다) GABA 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합 발아곡물죽 제조
나. 발아곡물죽의 이화학적 특성 조사
1) 발아곡물죽의 물성 검사
가) pH 측정

나) 고형분의 수분량 및 함량 측정
다) 퍼짐성 측정
라) 점도 측정
마) 색도 측정
바) 총 당 함량측정
사) Amylose 함량 측정
아) 곡물죽의 저장성 분석
2) 발아곡물죽의 미생물 검사
가) 대장균군 측정
나) 일반세균 측정
3) 발아곡물죽의 관능검사
4) 통계

4. 발아곡물의 분말을 이용한 기능성 생식의 가공기술 개발

가. 기능성 생식개발을 위한 발아곡물의 가공특성 및 배합조건 확립

1) 발아곡물의 동결건조 특성분석
가) 전처리 공정에 따른 수율비교 분석
나) 동결건조, 분쇄 후 관능평가
2) 현장제조시 발아곡물 및 기타 보조첨가 야채류의 전처리
3) 발아곡물의 최적 동결건조조건 분석
4) 동결건조 발아곡물의 분쇄방법 분석
5) 생식개발을 위한 발아곡물의 배합조건 분석

나. 기능성 발아생식의 최종 예비시제품 개발

1) 생식의 최종 예비시제품 제조
2) 최종 예비시제품의 관능검사
3) 생식의 포장조건 분석
4) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 영양학적 분석
가) 일반성분 분석
나) 비타민류 분석
다) 무기질 분석

라) 비타민류 분석

5. 발아곡물 죽 및 생식의 기능성 분석

가. 발아곡물죽의 기능성 탐색

1) 추출물의 항산화활성 분석

2) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 chemosensitizing effect 분석

가) 세포주 및 세포배양

나) 다제내성 조절활성 검색

3) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향분석

가) 시료의 추출

나) 세포주 및 세포배양

다) 암세포증식 억제효과 분석

4) 추출물의 항미생물 활성분석

가) 미생물 균주

나) 항미생물 활성측정

나. 최종시제품 발아곡물생식의 기능성 탐색

1) 추출물의 항산화활성 분석

가) 시료의 추출 및 조제

나) 항산화활성 측정

2) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 분석

가) 시료의 추출

나) 세포주 및 세포배양

다) 암세포증식 억제효과 분석

3) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 chemosensitizing effect 분석

가) 세포주 및 세포배양

나) 다제내성 조절활성 검색

4) 추출물의 항미생물 활성분석

가) 미생물 균주

나) 항미생물 활성측정

5) 추출물이 Neuron cell에 미치는 영향분석

가) 실험재료 및 세포주

나) 세포배양

다) 신경세포에 대한 추출물의 처리

6) 뇌혈류량에 미치는 영향분석

가) 실험동물

나) 국소뇌혈류량 변동 측정

다) 평균혈압 변동 측정

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

가. 곡물종자의 발아유도 및 GABA 강화 발아곡물의 조제

나. 발아곡물 추출물의 생리활성

녹두, 메밀, 서목태, 옥수수의 곡물종자에 대해 발아길이별 추출물과 GABA 함량이 강화된 발아추출물의 생리활성을 측정하여 비교, 분석하였다. DPPH radical 소거능에 의한 **항산화활성**을 측정한 결과 발아길이별 추출물에서는 옥수수 추출물과 메밀 추출물에서 유의할만한 효과를 보였으며 옥수수는 1 ㎎/㎖의 농도에서 발아길이 10 ㎜〉 5 ㎜〉 2 ㎜ 순으로 DPPH radical 소거율이 각각 41.68%, 36.69%, 31.45%로 발아길이가 길수록 항산화 효과가 높게 나타났다. 4종의 곡물중 항산화 효과가 가장 높았던 메밀추출물의 발아길이별 항산화 활성은 비발아 추출물에서 가장 높았고 5 ㎜〉 10 ㎜〉 2 ㎜ 순으로 항산화 효과를 보였다. 또한 GABA함량을 강화시킨 발아추출물의 항산화 활성을 비발아추출물과 발아추출물로 비교하였을때 메밀을 제외한 녹두, 옥수수, 서목태는 GABA함량이 강화된 추출물에서 전반적으로 항산화활성이 증가하였다.

곡물추출물의 **다제내성억제 활성도**는 녹두추출물에서 가장 높은 활성을 보였고 비발아 녹두의 내성극복효과는 2.2 이상으로 발아 2 ㎜(1.9 ≥), 발아 10 ㎜(1.2), 혐기처리한 발아 추출물(1.14 ≥)보다 높은 효과를 보였다. 친환경재배와 일반재배에 의한 다제내성억제활성도 녹두에서 효과가 높았고 그 중 비발아 및 10 ㎜ 추출물에서 친환경재배에 의한 내성극복도가 높게 나타났다. 인체암세포에 대한 각 추출물의 **세포독성도**를 확인한 결과 대장암, 유방암, 위암, 폐암 세포중 폐암세포인 Calu-6에 대한 세포독성도가 전반적으로 높았고 발아길이별 추출물중 메밀 2 ㎜ 추출물이 293 ㎍/㎖의 농도에서 가장 높은 활성을 보였으며 비발아, 발아추출물을 GABA함량이 강화된 추출물과 세포독성도를 비교한 결과 GABA함량의 증가가 세포독성도에 영향력을 미치지는 않았다. 세포독성도가 높았던 녹두, 옥수수, 메밀에 대해 친환경 재배와 일반재배된 곡물의 생육저해효과를 비교한 결과 대체적으로 친환경 재배 곡물에서 세포독성도가 높음을 확인할 수 있었다.

추출물의 **항미생물 활성**은 각각의 hole에 점적한 각 추출물은 2 ㎜와 5 ㎜ 발아추출물에서 항균활성이 대체로 크게 나타났다. 즉 발아의 길이에 따라 항균 활성을 나타내는 억제환의 크기가 다르게 나타났으며, 특히 모든 시료에서 추출물의 경우 장내세균으로 그람 음성균인 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에 대해 20 ㎎/㎖ 농도에서 4-12 ㎜의 억제환으로 강력한 활성을 나타내었다. 또한 대체적으로 모든 추출물은

그람양성균과 그람음성균에 대해 넓은 항균력을 지니고 있으나 특히 그람 음성균에 더욱 효과적임을 확인할 수 있었다. 이 중에서 옥수수의 경우 미발아 추출물은 8종의 미생물에 모두 항균활성이 있었으며, 서목태의 경우 2 ㎜와 5 ㎜의 발아 추출물에서 8종의 균 모두에서 민감하게 반응하여 6-10 ㎜의 강한 억제효과를 나타내었다. 이에 반해 녹두 추출물의 경우는 발아의 길이가 길수록 항균활성이 높았으며, 메밀 추출물의 경우는 장내세균인 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에서만 항균활성을 나타내었다.

글리세롤로 유발된 흰쥐의 **급성신부전에 미치는 곡물 추출물의 효과**는 이상의 실험결과를 정리하면, 발아 곡물 추출물을 주입한 실험군의 경우 시료를 투여하지 않은 대조군에 비해 혈청 중 creatinine 수치가 줄어들었으므로 사구체에 긍정적으로 작용하여 creatinine이 효율적으로 배설되었다. 혈청 중 glucose 수치에 있어서는 메밀 2 ㎜ 발아 상태에서 가장 효과적으로 혈청 중의 수치를 상승시켰다. BUN 수치는 전반적으로 증가하는 양상을 보였으며 이러한 결과는 혈청 중 creatinine 수치 변화와의 일반적 상관관계를 보여주지 않고 있다. 따라서 추출물을 고농도로 복강주사 하는 과정에서 생체 내 여러 항상성 조절 기구에 변화가 나타난 결과로 생각되므로 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다. Na^+, K^+ 및 Cl^-의 경우 glycerol 주입에 의해 병적인 상태로 혈청 중 함량이 변화하였으며 시료 추출물이 발아의 정도와는 상관없이 긍정적인 상태로 변화시켰음을 확인할 수 있었다.

다. 발아곡물을 소재로 한 기능성 죽의 제조방법 개발

백미를 주곡으로 한 발아곡물 죽 제조 : 각각의 발아 곡물은 예열하지 않으면 호화되지 않으므로 각각 녹두는 5 분, 옥수수는 20분, 대두는 15분의 가열을 한 후 녹두와 옥수수는 각각 30% 씩 쌀에 첨가하고 서목태는 70%를 쌀에 혼합하여 각각 가수량도 녹두는 10배, 옥수수는 9 배, 콩은 10배의 가수량으로 하여 40분 가열 시간으로 제조한 방법으로 설정하였다.

현미를 주곡으로 한 발아곡물 죽 제조 : 발아현미와 현미, 백미를 첨가하여 발아곡물의 기능성을 강화시킬 목적으로 죽을 제조하였으며 쌀 40%, 각각의 발아곡물은 30% 씩, 발아현미 10%, 현미 20%를 혼합하여 가수량은 10배로 하고, 가열시간은 녹두가 50분, 옥수수가 60분, 콩이 50분의 가열시간으로 최적 제조조건을 결정하였으나 이 제조과정은 가열시간이 다른 제조과정보다 더 요구 되었으며, 관능적인 기호도가 낮게 평가되었다.

친환경재배 및 일반재배곡물의 발아곡물죽의 품질 : 친환경재배 녹두, 서목태, 옥수수와 일반재배 녹두, 서목태, 옥수수를 각각 발아시켜 쌀과 함께 첨가하여 제조한 죽에 관한 물성 검사를 한 결과, 친환경재배 곡물죽 시료들의 점도는 일반재배 곡물죽 보다 약간 큰 경향을 보였고, 퍼짐성이나 색도에는 유의할 만한 차이가 없었고, pH는 친환경재배 곡물죽 시료들이 낮은 경향을 보였고, 총당과 환원당은 일반재배 곡물죽보다 높은 것으로 나타났다.

GABA 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합죽 개발 : GABA 함량이 강화된 발아곡물을 활용한 기호도 높은 죽 조제 방법을 개발하기 위해서 제조 당일의 죽의 물성 검사와 이화학적 검사와 관능검사를 통해 발아곡물의 기호도 높은 비율을 찾기 위한 실험을 한 결과 30% 백미 첨가군은 pH, spreadability에서 유의성을 나타내었고, 관능검사 결과에서도 다른 시료들과의 유의성은 나타내지 않았지만 texture와 overall preference가 가장 높았다. 따라서 죽 제조 조건으로는 백미 30%, 발아곡물 70% 혼합군이 적절했다. 폴리에틸렌 포장 시료들의 pH, 고형분은 저장 기간의 증가와 양의 상관관계를 보였으며, viscosity는 발아곡물의 첨가량이 많을수록 음의 상관관계를 보였으며, spreadability는 발아곡물 첨가량과 양의 상관 관계를 보였고, 일반세균도 증가하여, 폴리에틸렌 포장은 채택에 부적합한 재료로 나타났다. 그러나 Retort 포장은 Hunter value에서 황색의 정도를 나타내는 b 값과 Redness를 나타내는 a 값이 컸으며 밝기의 정도는 나타내는 L 값은 낮아 색상이 전체적으로 진하게 나타났다.

라. 발아곡물의 분말을 이용한 기능성 생식의 가공기술 개발

발아곡물의 동결건조특성을 보면 일반 곡물보다 발아과정과 전처리 과정에서의 손실 등으로 인해 일반 곡물이 80%대의 동결건조수율보다 상당히 낮은 75%대의 수율을 나타내었다. 또한 블랜칭을 한 경우는 이보다 8%정도 낮은 값을 보였는데 이는 블랜칭 과정에서 수용성 성분이 빠져나간 결과로 보여진다. 또한 발아곡물생식의 진정한 의미에서는 발아곡물을 그대로 이용해야 하지만 발아취와 두류의 소화저해효소의 존재로 인한 소화불량을 예방하기위해 블랜칭을 실시하였다. 발아곡물의 영양성분을 최대한 보존하기 위해서는 블랜칭를 하지 않아야 하지만 그렇지 않은 경우 관능상의 심각한 발아취를 발생시키는것을 알 수 있었다.

동결건조조건은 일반 곡류와 큰 차이점을 보이지 않았으나 일반 곡류보다 수분함량이 많아 같은양을 동결건조 할 경우 건조시간이 약간 더 길어지는 것을 알 수 있었

다.

또한 **동결건조 후 분쇄기**로는 해머밀, 핀밀등 분쇄 입도나 분쇄물의 질에서도 큰 차이점을 보이지 않아 어느것으로나 무방한 것으로 나타났고 분쇄입도는 60~80 mesh가 가장 양호한 것으로 나타났다. 위의 분쇄된 발아곡물분말과 자사가 가진 생식원료들을 혼합하여 용도별로 생식을 만든 결과 전반적으로 관능상의 좋은 결과를 얻었다. 그러나 섭취 후 미세하게 남는 발아곡물특유의 취가 남아 약간의 거북함을 준다는 의견이 있어 이를 개선하는 것이 상품화의 중요한 걸림돌로 작용할 것으로 예상된다.

본 실험의 **발아곡물생식**은 발아곡물의 함량을 높인 결과 발아곡물 특유의 발아취 등 가공상의 취약성으로 인해 생식원료로서 상당한 문제가 있을 것으로 예상되었으나 기존의 생식과 큰 차이를 볼 수 없는 것으로 판명되었다. 제조된 발아곡물생식의 **포장지 및 유통기한 설정**을 위한 포장 테스트는 일반 알루미늄이 증착된 필름과 종이재질이 증착된 고급필름(구겨짐 방지) 2가지로 가속성 실험을 한 결과 종이재질이 함유된 고급필름이 오히려 더 좋지 않았다. 이는 종이재질과 알루미늄 증착사이의 눈에 보이지 않는 핀홀의 영향으로 보이며, 따라서 일반 알루미늄증착필름의 포장 및 보관성이 더 우수한 것으로 나타났으며 가속성 실험결과 유통기한은 18개월까지는 가능한 것으로 파악되었다.

일반용 발아곡물의 영양학적 특성은 열량이 410 kcal, 탄수화물 74 g, 조단백질 17 g, 조지방 5 g, 수분은 2.4%였고, 무기질 함량이 Na 287.99 ㎎/100g로 가장 높게 나왔고, 비타민(A, B, C) 총 함량은 282.26 ㎎/100g이었다.

마. 발아곡물 죽 및 생식의 기능성

발아곡물생식의 추출물이 정상래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향 : 발아곡물생식 추출물로 처리된 그룹의 국소 뇌혈류량은 추출물의 농도가 0.01 ㎎/㎏에서 10 ㎎/㎏까지 증가할 때 147.2±0.14% 이상까지 서서히 증가되었다. 정상 래트의 평균혈압은 0.5ml의 vehicle에서 100±0.03%를 나타냈으며, 추출물의 경우 0.01㎎/㎏에서 10 ㎎/㎏(i.p.)까지 증가될때 104.4±0.03%를 나타냈다. 정상 rat의 경우, 추출물 i.p. 투여는 10 ㎎/㎏의 농도에서 의미있는 변화를 보였다.

propanol로 전처리된 래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 발아곡물생식 추출물의 영향 : 프로파놀로 처리된 rat의 국소 뇌혈류량은 vehicle 0.5ml일때

100±0.08%였으나, 0.01~10 ㎎/㎏(i.p.)로 추출물를 처리했을때는 1 ㎎/㎏ 투여농도에서부터 의미있는 변화를 보였다.

중대뇌동맥이 폐쇄된 래트의 국소뇌혈류량에 미치는 발아곡물생식의 효과 : 약물 처치는 국소 뇌혈류량을 증가시킴으로써 뇌허혈로 인한 뇌혈류 역학의 감소를 개선시켰다.

바 학술발표, 논문게재 및 특허출원

- 황은주, 이숙영, 부희옥, 권수정, 발아 메밀(Fagopyrum esculentum Moench) 추출물의 항산화·항균활성 및 세포독성, **한국약용작물학회지** 14(1) : 1-7

- 이혜정, 박희옥, 이숙영, 검정콩의 발아물을 이용한 죽 제조의 최적화 조건에 관한 연구, **한국식품영양학회** 18(4) : 287-294(2005년 12월)

- 이숙영, 정상훈, 김해진, 성정현, 박병천, 임채영, 박민희, 메밀, 옥수수, 서목태, 녹두의 발아기간에 따른 γ-aminobutyric acid(GABA) 함량의 변화, **2005년 한국약용작물학회 추계학회** 초록집 p172~173(국제심포지움 및 BG21 친환경농업소재연구단 워크숍: 2005년 11월 4일~11월 5일, 충북대학교)

- 장은숙, 권수정, 정다화, 부희옥, 차영주, 이숙영, 발아곡물죽의 항산화활성 및 다제내성, **2005년 한국자원식물학회 추계학회 초록집** p173(12th International symposium & conference of the plant resources society of korea "Industrialization of useful domestic and exotic plants": 2005년 11월 4일~11월 5일, 고령지농업연구소)

- 황은주, 정상훈, 정종헌, 차영주, 이숙영, 메밀(*Fagopyrum esculentum* Möench)의 발아기간에 따른 γ-Aminobutyric acid(GABA) 함량 및 생리활성, **2005년 한국자원식물학회 춘계학술발표대회** 제 18권 별책1호 p121~122(2005. 5. 20. -21. 상지대학교)

- 황은주, 정상훈, 방성문, 성정현, 이숙영, 서목태(*Rhynchosia nulubilis*)의 발아과정 중 발아특성과 γ-Aminobutyric acid(GABA) 함량변화, **2005년 한국자원식물학회 춘계학술발표대회** 제18권 별책1호 p138(2005. 5. 20. -21. 상지대학교)

- 황은주, 정다화, 차영주, 박민희, 장은숙, 권수정, 이숙영, 발아유도 곡물종자의 총 페놀화합물과 플라보노이드의 함량 변화, **2004년도 한국약용작물학회·Biogreen21**

특용작물연구단 임시총회 및 추계학술발표회 초록집 제12권 별책2호 p66(2004. 11. 5.-6. 강원대학교)

- 황은주, 정종헌, 차영주, 정상훈, 장은숙, 권수정, 이숙영, 발아길이에 따른 메밀과 흑태의 항균활성, **2004년도 한국약용작물학회・Biogreen21 특용작물연구단 임시총회 및 추계학술발표회** 초록집 제12권 별책2호 p136(2004. 11. 5.-6. 강원대학교)

- 정다화, 황은주, 차영주, 박민희, 장은숙, 권수정, 이숙영, 발아과정에 따른 메밀, 녹두, 옥수수, 흑태의 총 페놀화합물과 플라보노이드의 함량변화, **한국자원식물학회 제10차 국제심포지움 "생물산업분야에서 식물자원의 이용성"** p182(2004. 10. 29. 경희대학교)

- 정종헌, 황은주, 차영주, 정상훈, 장은숙, 권수정, 이숙영, 발아과정중의 메밀과 흑태 추 출물의 항미생물 활성, **한국자원식물학회 제10차 국제심포지움 "생물산업분야에서 식물자원의 이용성"** p183(2004. 10. 29. 경희대학교)

- Eun Ju Hwang, Jong Hun Jung, Joung Keun Kim, Su Jung Kwon, and Sook Young Lee, The multidrug-resistance reversing activity of seed extracts of Phaseolus radiatus, **한국자원식물학회 제10차 국제심포지움 "생물산업분야에서 식물자원의 이용성"** p189(2004. 10. 29. 경희대학교)

- 이숙영, 황은주, 권수정, 방성문, 차영주, 메밀종자의 발아특성 및 세포독성, **2004년도 한국자원식물학회 춘계 학술발표대회**, 제17권 별책 1호 : p113-115

- Sook Young Lee, Eun Ju Hwang, Jong Hun Jung, Su Jung Kwon, The multidrug-resistance reversing activity of seed extracts of *Phaseolus radiatus*, **2004년도 한국약용작물학회 정기총회・춘계학술발표회**, 제12권 별책1호 : p156-157

특허출원

- 발명의 국문명칭:**발아유도 곡물종자를 이용한 기능성 생식의 제조방법**(Process for preparing functional healthy raw grain food using germinated seeds), 출원일자:2006.7.11., 출원번호:10-2006-0064959, 출원인: 동신대학교 산학협력단, 발명자: 이숙영, 조수인, 이혜정, 정영삼, 부희옥, 이은주, 이은주, 장은숙, 정상훈

- 발명의 국문명칭:**발아유도 곡물종자를 이용한 기능성 죽의 제조 방법**(Process for preparing functional healthy gruel using germinated seeds), 출원일자: 2006. 7. 11., 출원번호: 10-2006- 0064963, 출원인: 동신대학교 산학협력단, 발명자: 이숙영, 조수인, 이혜정, 정영삼, 임채영, 권수정, 정다화

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 ····· 14

제1절 연구개발의 목적과 필요성 ····· 14

제2절 연구개발의 범위 ····· 18

제 2 장 국내외 기술개발 현황 ····· 21

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 ····· 24

제1절 곡물종자의 발아유도 및 GABA 강화 발아곡물의 조제 ····· 24

1. 곡물종자별 최적발아조건 분석 및 발아종자의 성분분석 ····· 24

가. 서 론 ····· 24

나. 재료 및 방법 ····· 25

1) 곡물종자의 적정발아조건 분석 ····· 25

가) 종자침지 유무에 따른 발아율 테스트 ····· 25

나) 다온도 발아상을 이용한 종자별 최적발아조건 분석 ····· 25

다) 친환경재배 곡물종자와 일반재배 곡물종자의 발아특성 비교분석 ····· 26

라) 발아유도 종자의 대량조제 ····· 26

2) 발아곡물종자의 주요성분 분석 ····· 26

가) 일반성분 분석 ····· 26

나) 유리 아미노산의 함량분석 ····· 26

다) Total phenolic compounds의 함량 분석 ····· 27

라) Total flavonoids 함량측정 ····· 27

마) 곡물종자의 발아단계별 생리활성물질 GABA의 함량분석 ····· 27

다. 결과 및 고찰 ····· 28

1) 곡물종자의 적정 발아조건 ····· 28

가) 종자침지 유무에 따른 발아율 ····· 28
나) 다온도 발아상을 이용한 종자별 최적발아조건 ····· 29
다) 친환경재배 곡물종자와 일반재배 곡물종자의 발아특성 비교 ····· 31
(1) 친환경재배 및 일반재배 녹두의 발아율 비교 ····· 31
(2) 친환경재배 및 일반재배 옥수수의 발아율 비교 ····· 32
(3) 친환경재배 및 일반재배 메밀의 발아율 비교 ····· 33
(4) 친환경재배 및 일반재배 서목태의 발아율 비교 ····· 34
라) 발아유도 종자의 대량조제 ····· 35
2) 발아곡물종자의 주요성분 ····· 35
가) 일반성분 ····· 36
나) 유리 아미노산의 함량 ····· 36
다) Total phenolic compounds의 함량 및 Total flavonoids 함량 ····· 40
라) 곡물의 발아단계별 GABA의 함량비교 ····· 41
라. 적 요 ····· 42
2. 생리활성물질 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 조제 ····· 44
가. 서 론 ····· 44
나. 재료 및 방법 ····· 45
1) 재료 ····· 46
2) 혐기처리 시간에 따른 발아곡물내 GABA 함량분석 ····· 46
가) 혐기처리 곡물 조제 ····· 46
나) 발아곡물 혐기처리군의 GABA(γ-aminobutyric acid) 함량 분석 ····· 46
3) 글루탐삼으로 침지된 발아곡물의 혐기처리에 의한 GABA 함량 및 유리 아미노산 함량 변화분석 ····· 47
가) 글루탐산으로 침지된 곡물종자 조제 ····· 47
나) 글루탐산 침지 발아곡물 혐기처리군의 GABA 함량 및 유리 아미노산의 함량 분석 ····· 48
다. 결과 및 고찰 ····· 48
1) 혐기처리에 의한 발아곡물내 GABA 함량강화 조건 결정 ····· 48
2) 글루탐산 전처리에 의한 혐기처리 발아곡물의 GABA 함량증가 ····· 48
3) GABA 고함유 발아곡물의 조제 ·····

라. 적　요 ····· 54

제2절 곡물종자(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수)의 발아길이별 추출물과 GABA함량이 강화된 발아곡물의 생리활성 탐색 및 검증

1. 서　론 ····· 57
2. 재료 및 방법 ····· 58
가. DPPH radical 소거능에 의한 추출물의 항산화활성 분석 ····· 58
1) 시료의 추출 및 조제 ····· 58
2) 항산화활성 측정 ····· 58
나. 항암제 내성 백혈암세포에 미치는 추출물의 Chemosensitizing effect 분석
1) 세포주 및 세포배양 ····· 58
2) 다제내성 조절활성 검색 ····· 59
다. 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 ····· 59
1) 세포주 및 세포배양 ····· 59
2) 암세포 증식 억제효과 분석 ····· 60
라. 추출물의 항미생물 활성 테스트 ····· 60
마. 추출물의 혈전분해 활성분석 ····· 61
1) 조단백질 시료의 조제 ····· 61
2) 단백질 분해활성측정 ····· 61
3) 혈전용해활성 측정 ····· 61
바. Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 추출물의 효과분석 ·
····· 61
3. 결과 및 고찰 ····· 62
가. 추출물의 항산화활성 ····· 62
1) 곡물종자의 발아길이별 추출물 및 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 항산화
····· 62
가) 발아녹두 추출물의 항산화효과 ····· 62
(1) 발아길이별 녹두 추출물의 항산화활성 비교 ····· 62
(2) GABA 함량이 강화된 발아녹두(발아길이 2mm) 추출물의 항산화활성 ·· 63

나) 발아옥수수 추출물의 항산화효과 ····· 64
(1) 발아길이별 옥수수 추출물의 항산화활성 비교 ····· 64
(2) GABA 함량이 강화된 발아옥수수(발아길이 10mm) 추출물의 항산화활성 ····· 65
다) 발아메밀 추출물의 항산화효과 ····· 66
(1) 발아길이별 메밀 추출물의 항산화활성 비교 ····· 66
(2) GABA 함량이 강화된 발아메밀(발아길이 2mm) 추출물의 항산화활성 ····· 66
라) 발아서목태 추출물의 항산화효과 ····· 67
(1) 발아길이별 서목태 추출물의 항산화활성 ····· 67
(2) GABA 함량이 강화된 발아서목태(발아길이 2mm) 추출물의 항산화활성 ····· 68
마) 발아현미 추출물의 항산화효과 ····· 69
2) 친환경재배 및 일반재배 발아곡물의 항산화활성 비교 ····· 70
가) 친환경재배 및 일반재배 옥수수의 발아길이별 항산화활성 ····· 70
나) 친환경재배 및 일반재배 메밀의 발아길이별 항산화활성 ····· 71
나. 항암제 내성 백혈암세포에 미치는 곡물종자의 발아길이별 추출물 및 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 chemosensitizing effect ····· 74
1) 녹두 추출물의 chemosensitizing effect ····· 74
2) 메밀 추출물의 chemosensitizing effect ····· 75
3) 옥수수 추출물의 chemosensitizing effect ····· 77
4) 서목태 추출물의 chemosensitizing effect ····· 79
5) 친환경재배 및 일반재배 발아곡물의 다제내성 억제활성 비교 ····· 81
가) 친환경재배 및 일반재배 발아녹두 추출물의 chemosensitizing effect.....81
나) 친환경재배 및 일반재배 발아메밀 추출물의 chemosensitizing effect ·····
····· 82
다. 곡물종자의 발아길이별 추출물 및 GABA 함량이 강화된 발아곡물이 인체암세포의 생육에 미치는 영향 ····· 83
1) 녹두 추출물의 세포독성도 ····· 84
가) 발아길이별 녹두 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향 ····· 84
나) GABA 함량이 강화된 발아녹두 추출물의 폐암세포 독성도 ····· 85
2) 메밀 추출물의 세포독성도 ····· 85
가) 발아길이별 메밀 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향 ····· 85

나) GABA 함량이 강화된 발아메밀 추출물의 폐암세포 및 위암세포 독성도 ····· 86
(1) 폐암세포에 미치는 영향 ····· 86
(2) 위암세포에 미치는 영향 ····· 87
3) 옥수수 추출물의 세포독성도 ····· 88
가) 발아길이별 옥수수 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향 ····· 88
나) GABA 함량이 강화된 발아메밀 추출물의 폐암세포 독성도 ····· 89
4) 서목태 추출물의 세포독성도 ····· 90
가) 발아길이별 서목태 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향 ····· 90
(1) 폐암세포(Calu-6 cell line)에 미치는 영향 ····· 90
(2) 대장암세포(Caco-2 cell line)에 미치는 영향 ····· 91
(3) 유방암세포(MCF-7 cell line)에 미치는 영향 ····· 91
(4) 위암세포(SNU-601 cell line)에 미치는 영향 ····· 91
나) GABA 함량이 강화된 발아서목태 추출물의 대장암세포 및 위암세포 독성도 ····· 93
5) 발아현미 추출물이 암세포에 미치는 영향 ····· 95
6) 친환경재배 및 일반재배 발아곡물의 암세포 생육억제효과 비교 ····· 95
가) 친환경재배 및 일반재배 발아녹두 추출물의 폐암세포 독성도 ····· 96
나) 친환경재배 및 일반재배 발아옥수수 추출물의 폐암세포 독성도 ····· 97
다) 친환경재배 및 일반재배 발아메밀 추출물의 폐암세포와 위암세포에 대한 독성도 ····· 97
라) 친환경재배 및 일반재배 발아녹두, 옥수수, 메밀 추출물의 암세포 독성도 비교 ····· 98
라. 추출물의 항미생물 활성 ····· 99
1) 메밀의 항미생물 활성 ····· 101
2) 서목태의 항미생물 활성 ····· 103
3) 옥수수의 항미생물 활성 ····· 104
4) 녹두의 항미생물 활성 ····· 106
마. 곡물 추출물의 단백질 분해 및 혈전용해활성 ····· 107
1) 곡물 추출물의 단백질 분해활성 ····· 107

2) 곡물 추출물의 혈전 분해활성 ····· 108
바. Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 곡물 추출물의 효과 ····· 109
1) 혈청 중 creatinine 감소효과 ····· 109
2) 혈청 중 glucose 감소효과 ····· 110
3) 혈청 중 BUN 감소효과 ····· 110
4) 혈청 중 Na^+ 감소효과 ····· 111
5) 혈청 중 K^+ 감소효과 ····· 112
6) 혈청 중 Cl^-감소효과 ····· 113
4. 적 요 ····· 114

제3절 발아곡물을 소재로 한 기능성 죽 제조방법 개발

1. 서 론 ····· 117
2. 재료 및 방법 ····· 118
가. 재료 ····· 118
나. 죽 시료의 조제 ····· 118
1) 최종제품의 형태 결정을 위한 예비실험 ····· 118
2) 발아곡물의 적정 예열시간 측정 ····· 118
3) 백미와 발아곡물간의 최적혼합비 분석 ····· 119
4) 죽 첨가용 최적 조미료 분석 ····· 119
5) Stock의 제조조건 분석 ····· 119
6) 가열시간의 적정성 분석 ····· 120
7) 최적 가수량 측정 ····· 120
8) 죽 첨가용 채소종류 및 혼합비 결정 ····· 120
9) 죽 제조용 발아곡물 시료의 조제 ····· 120
10) 발아곡물죽의 제조 ····· 121
가) 백미를 주곡으로 한 발아곡물죽 제조 ····· 121
나) 현미를 주곡으로 한 발아곡물죽 제조 ····· 122
다) GABA 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합 발아곡물죽 제조 ····· 125

다. 발아곡물죽의 이화학적 특성 조사 ····· 126
1) 발아곡물죽의 물성 검사 ····· 126
가) pH 측정 ····· 126
나) 고형분의 수분량 및 함량 측정 ····· 126
다) 퍼짐성 측정 ····· 126
라) 점도 측정 ····· 126
마) 색도 측정 ····· 126
바) 총 당 함량측정 ····· 127
사) Amylose 함량 측정 ····· 127
아) 곡물죽의 저장성 분석 ····· 127
2) 발아곡물죽의 미생물 검사 ····· 127
가) 대장균군 측정 ····· 127
나) 일반세균 측정 ····· 128
3) 발아곡물죽의 관능검사 ····· 128
4) 통계 ····· 128
3. 결과 및 고찰
가. 백미를 주곡으로 한 발아곡물죽의 이화학적 특성 ····· 128
1) 백미 첨가량 및 가수량에 따른 고형분 함량의 증감 ····· 128
2) 백미 첨가량에 의한 발아곡물죽의 점도 증감 ····· 130
3) 백미 첨가량에 따른 발아곡물죽의 퍼짐성 증감 ····· 130
나. 현미를 주곡으로 한 발아곡물죽의 이화학적 특성 ····· 131
1) 가열시간의 증가에 따른 발아곡물죽의 고형분 함량증가 ····· 131
2) 가열시간에 따른 발아곡물죽의 점도증감 ····· 131
3) 가열시간에 따른 발아곡물죽의 퍼짐성 증감 ····· 131
4) 관능검사 결과 ····· 132
다. 친환경재배 및 일반재배 곡물의 발아곡물죽의 품질 ····· 132
라. GABA의 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합죽(GABA-발아곡물죽)의 이화학적 특성 ····· 134
1) GABA-발아곡물죽의 pH ····· 134
2) GABA강화 발아곡물의 첨가량의 의한 GABA-발아곡물죽의 고형분 함량 135

3) GABA-발아곡물죽의 물성(점도, 퍼짐성, 색도) ····· 135
4) 관능검사에 의한 최종 GABA-발아곡물죽 결정 ····· 136
마. 발아곡물죽 저장 및 유통을 위한 최적 포장조건 ····· 137
1) 최적 pH ····· 137
2) 고형분의 함량 ····· 137
3) 포장방법과 저장기간에 따른 점도의 변화 ····· 139
4) 포장법과 저장기간에 따른 퍼짐성 ····· 140
5) 포장법과 저장기간에 따른 색도 변화 ····· 141
6) GABA-발아곡물죽 내 미생물 오염도 ····· 142
4. 적 요 ····· 143

제4절 발아곡물의 분말을 이용한 기능성 생식의 가공기술 개발 ····· 145

1. 기능성 생식개발을 위한 발아곡물의 가공특성 및 배합조건 확립 ····· 145
가. 서 론 ····· 145
나. 재료 및 방법 ····· 145
1) 발아곡물의 동결건조 특성분석 ····· 145
가) 전처리 공정에 따른 수율비교 분석 ····· 146
나) 동결건조, 분쇄 후 관능평가 ····· 146
2) 현장제조시 발아곡물 및 기타 보조첨가 야채류의 전처리 ····· 146
3) 발아곡물의 최적 동결건조조건 분석 ····· 146
4) 동결건조 발아곡물의 분쇄방법 분석 ····· 146
5) 생식개발을 위한 발아곡물의 배합조건 분석 ····· 147
다. 결과 및 고찰 ····· 147
1) 발아곡물의 동결건조 특성 ····· 147
가) 전처리 공정에 따른 수율비교 ····· 147
나) 동결건조, 분쇄후 관능평가 결과 ····· 148
2) 현장제조시 발아곡물 및 기타 보조첨가 야채류의 전처리효과 ····· 148
3) 발아곡물의 최적 동결건조 조건 ····· 148
4) 동결건조 발아곡물의 최적분쇄 조건 ····· 150

가) 발아곡물별 최적 분쇄기 ····· 150
나) 최적 분쇄입도 ····· 151
5) 생식개발을 위한 발아곡물의 최적 배합조건 ····· 151
가) 용도별 최적 배합비 ····· 151
나) 생식제조 공정도 ····· 156
다) 제조된 생식의 관능검사 결과 ····· 157
라. 적 요 ····· 157
2. 기능성 발아생식의 최종 예비시제품 개발 ····· 158
가. 서 론 ····· 158
나. 재료 및 방법 ····· 158
1) 생식의 최종 예비시제품 제조 ····· 158
2) 최종 예비시제품의 관능검사 ····· 158
3) 생식의 포장조건 분석 ····· 158
4) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 영양학적 분석 ····· 159
가) 일반성분 분석 ····· 159
나) 비타민류 분석 ····· 160
다) 무기질 분석 ····· 160
라) 비타민류 분석 ····· 160
다. 결과 및 고찰 ····· 160
1) 생식의 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식) 제조 ····· 161
2) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 관능검사결과 ····· 162
3) 생식의 최적 포장조건 ····· 163
4) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 영양학적 특성 ····· 164
라. 적 요 ····· 167

제5절 최종시제품 발아곡물죽 및 발아곡물생식의 기능성 분석 ····· 168

1. 발아곡물죽의 기능성 탐색 ····· 168
가. 서 론 ····· 168
나. 재료 및 방법 ····· 168

1) 추출물의 항산화활성 분석 ····· 168
2) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 chemosensitizing effect 분석 ····· 169
가) 세포주 및 세포배양 ····· 169
나) 다제내성 조절활성 검색 ····· 169
3) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향분석 ····· 169
가) 시료의 추출 ····· 169
나) 세포주 및 세포배양 ····· 169
다) 암세포증식 억제효과 분석 ····· 169
4) 추출물의 항미생물 활성분석 ····· 170
가) 미생물 균주 ····· 170
나) 항미생물 활성측정 ····· 170
다. 결과 및 고찰 ····· 171
1) 발아곡물죽의 항산화활성 ····· 171
가) 예비 발아곡물죽 유형별 추출물의 항산화효과 ····· 172
나) 최종 혼합형 발아곡물죽의 항산화효과 ····· 173
2) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 발아곡물죽 추출물의 chemosensitizing effect ····· 174
가) 예비 발아곡물죽 유형별 추출물의 chemosensitizing effect ····· 174
나) 최종 환합형 발아곡물죽의 다제내성 ····· 176
3) 곡물죽 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 ····· 178
가) 폐암세포에 대한 추출물의 독성효과 ····· 178
나) 대장암세포에 대한 추출물의 독성효과 ····· 178
다) 유방암세포에 대한 추출물의 독성효과 ····· 179
라) 위암세포에 대한 추출물의 독성효과 ····· 180
4) 추출물의 항미생물활성 ····· 181
2. 최종시제품 발아곡물생식의 기능성 탐색 ····· 181
가. 서 론 ····· 181
나. 재료 및 방법 ····· 182
1) 추출물의 항산화활성 분석 ····· 182

가) 시료의 추출 및 조제 ····· 182
나) 항산화활성 측정 ····· 182
2) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 분석 ····· 182
가) 시료의 추출 ····· 182
나) 세포주 및 세포배양 ····· 183
다) 암세포증식 억제효과 분석 ····· 183
3) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 chemosensitizing effect 분석 ····· 183
가) 세포주 및 세포배양 ····· 183
나) 다제내성 조절활성 검색 ····· 184
4) 추출물의 항미생물 활성분석 ····· 184
가) 미생물 균주 ····· 184
나) 항미생물 활성측정 ····· 184
5) 추출물이 Neuron cell에 미치는 영향분석 ····· 185
가) 실험재료 및 세포주 ····· 185
나) 세포배양 ····· 185
다) 신경세포에 대한 추출물의 처리 ····· 185
6) 뇌혈류량에 미치는 영향분석 ····· 186
가) 실험동물 ····· 186
나) 국소뇌혈류량 변동 측정 ····· 187
다) 평균혈압 변동 측정 ····· 187
다. 결과 및 고찰 ····· 187
1) 추출물의 항산화활성 ····· 187
가) 일반용 생식의 항산화활성 ····· 187
나) 어린이용 생식의 항산화활성 ····· 188
다) 여성용 생식의 항산화활성 ····· 189
라) GABA강화 발아곡물, 생식, 죽의 항산화활성 비교 ····· 190
2) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 ····· 191
가) 발아곡물 생식의 암세포 독성효과 ····· 191
(1) 일반용 생식 ····· 192

(2) 어린이용 생식 ····· 193
(3) 여성용 생식 ····· 195
3) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 발아곡물생식 추출물의
chemosensitizing effect ····· 198
가) 일반용 생식의 다제내성 유무 ····· 198
나) 어린이용 생식의 다제내성 유무 ····· 199
다) 여성용 생식의 다제내성 유무 ····· 200
4) 추출물의 항미생물활성 ····· 201
5) 추출물이 Neuron cell에 미치는 영향 ····· 201
가) Glial cell(C6G cell line)에 대한 발아곡물 생식 추출물의 보호효과 ····· 201
나) Neuron cell(PC12 cell line)에 대한 발아곡물 생식 추출물의 영향 ····· 206
다) Neuron cell(SH-SY5Y cell line)에 대한 발아곡물 생식 추출물의 영향 ····· 207
6) 발아곡물생식의 추출물이 뇌혈류량에 미치는 영향 ····· 208
가) 정상rat의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향 ····· 208
나) propanol로 전처리된 rat의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향 ····· 209
다) methylene blue로 처리된 rat의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향 ····· 210
라) ODQ로 처리된 rat의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향 ····· 211
마) L-NNA로 처리된 rat의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향 ····· 212
바) 중대뇌동맥이 폐쇄된 rat의 국소뇌혈류량에 미치는 영향 ····· 213
라. 적 요 ····· 214

제 4 장 참고문헌 ····· 216

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적과 필요성

삶의 질의 향상 차원에서 국민들의 건강 증진과 회복에 대한 관심이 높아지고 노년 인구가 급격하게 증가하면서 건강 보조식품이나 기능성 식품과 같은 건강식품에 대한 관심 또한 증가하고 있다. 우리나라에서도 이러한 욕구가 반영되어 건강 보조식품의 매출이 IMF사태 이후 소비 둔화로 급격히 감소하기는 하였으나 1999년 8,700억원, 2000년에는 1조 원을 돌파하였으며, 2002년에는 최대 1조 2천억 원으로 시장 규모가 예측되고 있다. 이와 같은 매출액 증가는 다단계, 방문 판매 및 홈쇼핑이 성장의 견인차 역할을 하고 있으며, 앞으로 대기업들의 참여가 시장 확대를 주도할 전망이다.

생체 조절 기능을 효과적으로 발현시키고 이를 이용하여 질병 발병을 미연에 방지하도록 설계된 새로운 식품, 즉 기능성 식품은 주식과 함께 상용하므로서 알레르기의 저감, 칼슘의 흡수 촉진, 장내 세균의 조절, 면역 증강, 신경 조절, 혈압 강하, 콜레스테롤의 저감 등 다양한 건강증진 효과가 있을 뿐 아니라 약물복용 시 나타날 수 있는 부작용 등이 없어 한약과 더불어 현대인들에게 선호도가 높아지고 있다.

그러나 발아곡물을 이용한 주 생산품은 국내의 경우 발아현미가 90%이상을 차지하고 있으며, 그 밖에 소량(10%)이 발아보리, 발아밀, 발아수수로 극히 제한되어 있으며 이를 이용한 가공식품 또한 비가공원료 자체를 소포장으로 판매하거나 생식, 건강보조식품의 원료로 이용되고 있다. 국외(일본, 미국)의 경우도 국내와 마찬가지로 발아곡물의 종류나 이용성이 발아현미로 한정되어 있으며 최근 미국에서는 소량이 햄버거용 잼이나 기타 소스로 활용되고 있을 뿐이다.

따라서 본 연구에서는 **한정된 발아곡물의 종류를 다양화하고 그 이용성을 증대시키므로서 잡곡류의 수요창출을 확대시키기 위하여**, 친환경농법으로 재배·생산되고 있는 곡물종자(**서목태, 녹두, 옥수수, 메밀**)를 **기능성이 최고에 달한 시점까지 발아를 유도**한 후, **주요성분 변화를 분석**하고, **생리활성을 검증**한 다음, 기존의 종류와는 다른 잡곡류를 이용·그 기능성이 **실험적으로 검증된 발아곡물죽과 발아곡물 생식을 개발**하였다.

가. 기술적 측면

1. 기능성이 최대로 강화된 곡물종자의 발아조건 구명
2. 발아시 변화되는 곡물종자내 주요성분 및 활성물질의 변화를 분석
3. 최적상태의 발아곡물 종자를 용매 추출하여 생리활성 및 기능성을 구명
4. 혼합형 기능성 식품을 제조하기위한, 곡물간의 배합조건을 확립
5. 기능성이 강화된 혼합형 죽의 제조공정을 구명
6. 기능성 강화 혼합형 생식의 제조공정을 구명

나. 경제·산업적 측면

1. 잡곡류의 수요증대 및 친환경재배농가의 소득증대·의욕고취에 기여 : 친환경농법으로 생산된 곡물종자를 재료로 개발된 기능성 식품의 소요가 증대된다면 한정된 재배작목의 다양화를 촉진시킬 수 있고 동시에 경제적으로 열악한 재배농가에 소득증대와 의욕을 고취

2. 농산물 시장개방의 대체효과 : 수입 농산물의 경우 수출입 통관절차에 따라 수개월이 소요되므로 그 기간동안 변질방지를 위해 살균처리하기 때문에 발아유도가 거의 불가능하므로 발아곡물유도용으로 수입산 곡물종자는 사용할 수 없다. 따라서 발아곡물종자를 재료로 한 기능성 식품의 개발은 농산물 시장개방과는 무관하게 순수하게 국내산만 사용할 수 있다는 측면에서 경제적으로 큰 의미가 있다.

3. 기능성 곡물로서 잡곡종자의 활용성 및 산업화 증진효과(잡곡발아곡물의 수요창출) : 1차적이고 제한된 형태로 식용해 온 잡곡종자의 유용물질을 탐색하고 그 독특한 생리활성을 구명하여 인체에 유익한 건강 기능성 식품을 개발할 수 있다는 측면에서 잡곡종자의 산업화에 기여

4. 국내외 식품시장 개척 가능 : 기능성이 과학적으로 검증된 새로운 기능성 식품(혼합형 죽)은 경쟁이 치열한 국내외 시장 개척 가능

다. 사회·문화적 측면

1. 잡곡종자를 재료로 한 가공식품의 기능성에 대한 소비자의 신뢰도 증가
2. 식품산업의 다양화에 기여
3. 발아곡물의 유효성에 대한 일반소비자들의 인식도 강화

제2절 연구개발의 범위

1. 곡물종자의 발아유도 및 GABA 강화 발아곡물의 조제

가. 곡물종자별 최적발아조건 분석 및 발아종자의 성분분석

1) 곡물종자의 적정발아조건 분석

가) 종자침지 유무에 따른 발아율 테스트

나) 다온도 발아상을 이용한 종자별 최적발아조건 분석

다) 친환경재배 곡물종자와 일반재배 곡물종자의 발아특성 비교분석

라) 발아유도 종자의 대량조제

2) 발아곡물종자의 주요성분 분석

가) 일반성분 분석

나) 유리 아미노산의 함량분석

다) Total phenolic compounds의 함량 분석

라) Total flavonoids 함량측정

마) 곡물종자의 발아단계별 생리활성물질 GABA의 함량분석

나. 생리활성물질 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 조제

1) 혐기처리 시간에 따른 발아곡물내 GABA 함량분석

가) 혐기처리 곡물 조제

나) 발아곡물 혐기처리군의 GABA(γ-aminobutyric acid) 함량 분석

2) 글루탐삼으로 침지된 발아곡물의 혐기처리에 의한 GABA 함량 및 유리 아미노산 함량 변화분석

가) 글루탐산으로 침지된 곡물종자 조제

나) 글루탐산 침지 발아곡물 혐기처리군의 GABA 함량 및 유리 아미노산의 함량 분석

2. 발아곡물 추출물의 생리활성 탐색

가. DPPH radical 소거능에 의한 추출물의 항산화활성 분석 .....

1) 시료의 추출 및 조제

2) 항산화활성 측정

나. 항암제 내성 백혈암세포에 미치는 추출물의 Chemosensitizing effect 분석

1) 세포주 및 세포배양

2) 다제내성 조절활성 검색
다. 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 ·····
1) 세포주 및 세포배양
2) 암세포 증식 억제효과 분석
라. 추출물의 항미생물 활성 테스트 ·····
마. 추출물의 혈전분해 활성분석
1) 조단백질 시료의 조제
2) 단백질 분해활성측정
3) 혈전용해활성 측정
바. Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 추출물의 효과분석

3. 발아곡물을 소재로 한 기능성 죽의 제조방법 개발
가. 죽 시료의 조제
1) 최종제품의 형태 결정을 위한 예비실험
2) 발아곡물의 적정 예열시간 측정
3) 백미와 발아곡물간의 최적혼합비 분석
4) 죽 첨가용 최적 조미료 분석
5) Stock의 제조조건 분석
6) 가열시간의 적정성 분석
7) 최적 가수량 측정
8) 죽 첨가용 채소종류 및 혼합비 결정
9) 죽 제조용 발아곡물 시료의 조제
10) 발아곡물죽의 제조
가) 백미를 주곡으로 한 발아곡물죽 제조
나) 현미를 주곡으로 한 발아곡물죽 제조
다) GABA 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합 발아곡물죽 제조
나. 발아곡물죽의 이화학적 특성 조사
1) 발아곡물죽의 물성 검사
가) pH 측정
나) 고형분의 수분량 및 함량 측정

다) 퍼짐성 측정
라) 점도 측정
마) 색도 측정
바) 총 당 함량측정
사) Amylose 함량 측정
아) 곡물죽의 저장성 분석
2) 발아곡물죽의 미생물 검사
가) 대장균군 측정
나) 일반세균 측정
3) 발아곡물죽의 관능검사
4) 통계

4. 발아곡물의 분말을 이용한 기능성 생식의 가공기술 개발

가. 기능성 생식개발을 위한 발아곡물의 가공특성 및 배합조건 확립

1) 발아곡물의 동결건조 특성분석
가) 전처리 공정에 따른 수율비교 분석
나) 동결건조, 분쇄 후 관능평가
2) 현장제조시 발아곡물 및 기타 보조첨가 야채류의 전처리
3) 발아곡물의 최적 동결건조조건 분석
4) 동결건조 발아곡물의 분쇄방법 분석
5) 생식개발을 위한 발아곡물의 배합조건 분석

나. 기능성 발아생식의 최종 예비시제품 개발

1) 생식의 최종 예비시제품 제조
2) 최종 예비시제품의 관능검사
3) 생식의 포장조건 분석
4) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 영양학적 분석
가) 일반성분 분석
나) 비타민류 분석
다) 무기질 분석
라) 비타민류 분석

5. 발아곡물 죽 및 생식의 기능성 분석

가. 발아곡물죽의 기능성 탐색

1) 추출물의 항산화활성 분석

2) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 chemosensitizing effect 분석

가) 세포주 및 세포배양

나) 다제내성 조절활성 검색

3) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향분석

가) 시료의 추출

나) 세포주 및 세포배양

다) 암세포증식 억제효과 분석

4) 추출물의 항미생물 활성분석

가) 미생물 균주

나) 항미생물 활성측정

나. 최종시제품 발아곡물생식의 기능성 탐색

1) 추출물의 항산화활성 분석

가) 시료의 추출 및 조제

나) 항산화활성 측정

2) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 분석

가) 시료의 추출

나) 세포주 및 세포배양

다) 암세포증식 억제효과 분석

3) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 chemosensitizing effect 분석

가) 세포주 및 세포배양

나) 다제내성 조절활성 검색

4) 추출물의 항미생물 활성분석

가) 미생물 균주

나) 항미생물 활성측정

5) 추출물이 Neuron cell에 미치는 영향분석

가) 실험재료 및 세포주

나) 세포배양

다) 신경세포에 대한 추출물의 처리

6) 뇌혈류량에 미치는 영향분석

가) 실험동물

나) 국소뇌혈류량 변동 측정

다) 평균혈압 변동 측정

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내외 기술개발 현황

1. 국내

국내에서 이용되고 있는 발아곡물은 대부분 발아현미로 대량생산이 이루어진 것은 3년에 불과하며 현미 외에 소량(10%)이 발아 보리, 발아 밀, 발아 수수로 극히 제한되어 있으며 이용분야는 비 가공 원료 자체를 소포장으로 판매하거나 생식, 건강보조식품의 부 원료로 이용되고 있을 뿐 발아곡물을 주 원료로 하는 가공제품은 거의 없는 실정이다. 일부 제약회사에서는 발아곡물 추출액을 이용하여 제약관련 제품을 제조하고 있으나 이용량은 극히 소량에 불과하다.

2. 국외

가. 일본

일본은 기능성 식품의 발원지로 1987 ~ 1988년경부터 이른바 기능성 식품이라 불리는 식품이 시장에 등장하기 시작하였는데, 지난 10년 동안 매년 8 ~ 9%씩 신장하였고, 2000년도의 시장 규모가 8,100억 엔에 달하는 것으로 추정되고 있으며 2002년 3월 25일, 현재 293품목의 특정 보건용 식품이 시장에 유통되고 있다. 발아현미의 건강법에 관하여 1978년 처음으로 소개되었지만 일반인의 관심을 끌지 못하다가 최근에 그 기능성이 언론에 조명되면서 인식도가 상승되어 발아 현미 죽, 발아 현미 드링크를 비롯한 여러 가지 상품이 개발되고 시제품이 나와 있는 상태다.

나. 중국 및 대만

중국과 대만의 건강식품 시장 현황과 관리체계는 한국과 비슷한 점이 많다. **중국**은 한의학의 종주국으로서 동아시아의 건강식품의 원천이라는 자긍심을 가지고 있어 기능성 식품에 대해 강한 관심을 보이고 있으며, □□공능식품(功能食品)□□이라는 이름으로 법제화를 연구하고 있을 뿐 아니라 정부 차원에서 건강식품의 연구와 품질 관리에 각별한 관심을 보이고 있다. 2000년 현재 약 2,000여 종류의 기능성 식품 아이템이 있는 데 보건부에서 공식적으로 인정한 69개 품목 중에는 보리발아종자, 작두콩, 결명자, 율무, 제비콩, 팥, 무 종자, 검정참깨도 포함되어있다. **대만**의 건강식품은 건강식품관리법에 의거해 관리되고 있으며 특히 전문학자로 구성된 식품 심사위원회를 구성해

철저한 심사를 거친 후 허가증을 발급하고 있으며, 과학적 근거를 확립하기 위해 건강식품 시험 연구관을 개설, 운영하고 있다.

다. 미국

미국의 식품 산업과 약품 산업은 놀랄 정도로 높은 관심을 기능성 식품이라고 하는 범주에 쏟고 있으며, 심장병의 예방, 암 예방과 고 콜레스테롤증의 치유에 특별한 관심을 두고 있을 뿐 아니라 골다공증의 예방과 당뇨병의 치유를 추구하고 있다고 보고하고 있다. 2001년도에는 185억 달러 어치가 판매되었고 앞으로 매년 5 ~ 7%씩 성장해 2010년에는 310억 달로 규모로 성장할 것으로 예상된다. 미국의 경우도 국내와 마찬가지로 발아곡물의 종류나 이용성이 발아현미로 한정되어 있으며 최근엔 소량이 햄버거용 잼이나 기타 소스로 활용되고 있을 뿐이다.

라. 유럽 현황

유럽의 소비자는 오랫동안 건강식품에 관심을 가져왔으며 특히, 심장병 위험도 감소, 콜레스테롤 저하 및 암 예방식품에 가장 높은 관심을 보였다. **유럽**의 기능성 식품의 예로는 식이섬유를 강화시킨 아침용 시리얼, 빵, 비스킷, 엑시도필러스/비피더스균에 의한 요구르트, 어유로 강화시킨 빵, 영양드링크, 정신 활성 드링크, 스프레드, 식이섬유가 풍부한 우유, 칼슘 강화 우유, 칼슘 강화 오렌지주스, 칼슘 강화 요구르트 등이 있다. EU 소비자들은 기능성 식품을 식사의 일부로 천연물질에서 유래하는 식품을 섭취함으로써 질병 예방과 치료, 기타 건강에 이익을 가져온다는 개념으로 받아들이고 있어 정제, 캡슐제의 사용보다는 식품이나 음료의 형태로 된 제품을 선호하는 경향을 보이고 있다.

3. 현 기술상태의 취약점

가. 수작업 형태의 발아공정

발아곡물의 대명사인 발아현미의 대량생산이 시작된 것은 겨우 6년에 불과하며, 그나마 작업공정이 대부분 수작업 형태로 진행되고 있으며, 발아과정 중 온도상승에 의한 부패현상을 방지하기 위하여 2시간마다 반복적으로 뒤집어 줘야하는 어려움이 있다. 그러므로 이에 대한 발아공정이나 기계적, 혹은 환경적인 개선이 요구되며, 무엇보다도 발아 작업 현장조건에서 과학적인 발아조건을 구명해내는 것이 급선무이다.

나. 현미에 한정된 발아곡물의 협소한 수요범위

국내외적으로 살펴볼 때, 이용되고 있는 발아 곡물의 종류는 현미가 대부분을 차

지하고 있으며 소량(10%)이 발아 보리, 발아 밀, 발아 수수로 잡곡류의 수요범위가 극히 제한되어 있는 안타까운 현실이다.

다. 소량의 부재료로 제한되어 있는 활용성의 협소

1차적인 원재료의 소포장 판매, 동결건조 후 분말화하여 생식용 부재료(10% 미만) 등으로 밖에 사용되고 있지 않아 다양한 가공식품화가 절실히 요구됨.

라. 발아곡물의 다양한 기능성이 과학적으로 검증되지 않았음

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 곡물종자(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수)의 발아유도· GABA 강화 발아곡물의 조제 및 주요성분분석

1. 곡물종자별(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수) 최적발아조건 분석 및 발아종자의 성분분석

가. 서 론

콩의 경우 발아가 진행되는 과정에서 골다공증과 순환기 질환 그리고 뇌졸중 예방 효과와 암세포의 증식 신호를 전달하는 tyrosine kinase의 억제 작용이 있는 이소플라본이 증가하고, 또한 이소플라본의 흡수는 아글리콘 형태가 배당체 보다 더 빠르게 흡수되는데 발효와 발아와 같은 수침시에 자체의 beta-glucosidase에 의해 아글리콘으로 전환되어 이소플라본의 흡수를 촉진할 뿐만 아니라, 무기질의 이용을 돕는 피트산은 감소하였고, 장내 유익균의 생성을 돕는 올리고당도 증가되었다는 보고가 있다. 녹두는 전체 질소와 회분의 함량이 증가하였고, phytase의 활성 변화로 무기물의 생물학적 이용도가 증가하며, 배축은 protease의 활성이 1% 수준내에서 유의적으로 활성이 증가하며, 또한 중성지질, 인지질, 당지질의 함량이 감소하였고, 극성 지질의 함량은 증가하였으며, 발아 기간 동안 triglyceride의 함량은 지속적으로 감소하였고, free fatty acid의 함량은 증가하였으며, 배축부와 자엽부는 발아 중 여러 지방산의 분포를 보이므로 복잡한 지질대사를 보이고 있으며, 배축부에는 stearic acid, palmitic acid, linoleic acid, linolenic acid가 주요 지방산이고 자엽부에는 linoleic acid가 주종을 이루는 지방산으로 분석되었다. 옥수수는 수분, 회분, 조단백의 함량은 증가하였으나 조지방은 48시간 까지는 약간 증가하다가 계속적인 발아에 의해 점진적으로 감소하는 경향을 보였으며, 총 tocopherol은 초기에는 4.09m%이다가 발아 기간에 따라 증가하며, 동족체로는 alpha>gamma>
beta>delta의 순으로 측적되었고, 옥수수의 methanol 추출물은 지질 과산화의 초기 물질인 hydroperoxide의 생성을 억제하여 144시간 후에는 5% 감소하였고, 또한 항산화 효과는 천연 항산화제인 alpha-tocopherol 보다 높았으며, NADPH-dependent lipid

peroxidation을 통한 지질 과산화 후기 생성물인 malondialdehyde의 함량도 감소함으로써 지질 과산화 억제 효과가 발아전에 비해 6 ~ 14% 높은 것으로 보고되었다. 또한 흰쥐에게 발아시킨 옥수수의 분말을 급여한 결과 혈청 중의 HDL-cholesterol의 농도와 인지질의 함량은 유의적으로 증가하였으며, 간장중의 총 cholesterol 함량을 저하시키는 것으로 보고 되었다.

나. 재료 및 방법

1) 곡물종자의 적정발아조건 분석

곡물종자 구입 및 정선: 본 실험에 사용한 곡물종자(녹두, 옥수수, 메밀, 서목태)는 2003년에 전남지역과 강원도의 재배농가와 한국유기농협회에서 친환경농법으로 재배한 것을 구입하여 잡초, 흙 등을 제거, 정선한 후, 실온에 보관하면서 사용하였다.

가) 종자침지 유무에 따른 발아율 테스트

침지 여부에 따른 곡물종자의 발아력을 검토하기 위하여 침지, 무침지 상태로 구별, 처리하여 7일 간에 걸쳐 24시간마다 발아율을 조사하였다. 종자는 9 ㎝ 페트리디쉬에 여과지 1(Whatman 2호)매씩 깔고 증류수를 넣어 흡습상태를 유지시킨 다음 녹두, 메밀, 옥수수는 100립, 흑태는 50립을 치상하였다. 각 처리당 3반복하였으며 암상태로 발아시켰다. 발아 조사는 치상 후 매일 종자의 유근이 1 ㎜ 정도 신장한 것을 발아한 것으로 간주하여 조사하였다.

나) 다온도 발아상을 이용한 종자별 최적발아조건 분석

다온도 발아상에 따른 곡물종자의 최적발아조건을 알아보기 위하여 다온도 발아기의 온도를 10, 15, 20, 25, 30,(±1)℃로 온도를 설정하였고 조건은 암상태로 하였다. 종자는 9 ㎝ 페트리디쉬에 여과지(Whatman 2호)를 1매씩 깔고 증류수를 충분히 공급한 발아상을 만들어 녹두, 메밀, 옥수수는 100립, 서목태는 50립씩 치상하였고 3반복으로 실시하였다. 다온도 발아기(EYELA, multi thermo incubator MTT201B, Japan)의 온도는 10, 15, 20, 25, 그리고 30(±1)℃까지 5℃간격으로 설정하였고 암상태로 하였다. 발아의 기준은 유근이 1 ㎜정도 신장한 것을 발아한 것으로 간주하고 곰팡이 발생여부와 발아에 적합한 최적발아조건을 알아보았다.

다) 친환경재배 곡물종자와 일반재배 곡물종자의 발아특성 비교분석

최대발아율을 보인 30℃(공기 중 발아, 8시간 침지, 습도 90%)와 곰팡이나 세균등의 오염율이 낮아 위생적인 기능성 가공제품의 제조시료에 적합한 온도인 20 ℃(암발아, 8시간 침지, 습도 90%)에서 친환경배재 종자와 일반재배 종자의 발아율을 비교하였다.

라) 발아유도 종자의 대량조제

다온도 발아기에서 구명된 종자의 최적발아온도와 침지 여부를 기준으로 하여 대형 종자발아기에 발아상을 설치하여 하루에 4회씩 수분공급 및 뒤집기를 하여 조제된 발아곡물종자를 생리활성, 성분분석 및 죽 제조용 시료로 사용하였다.

2) 발아곡물종자의 주요성분 분석

가) 일반성분 분석

수분은 105℃ 상압가열건조법(Moisture analyzer, MB45, OHAUS, USA.), 조단백질은 Micro-Kjeldahl (Kjeldahl/Nitrogen analyzer, K-424/B-324, BUCHI, Switzland), 조지방은 Soxhlet 추출법 (Universal extraction system, B-811, BUCHI, Switzland), 조회분은 550℃ 직접 회화법으로 A.O.A.C. 표준법에 따라 분석하였다. 탄수화물은 100에서 수분, 조단백질, 조지방 및 회분을 뺀 값으로 결정하였다.

나) 유리 아미노산의 함량분석

발아곡물 중의 유리아미노산의 함량 변화를 측정하기 위해 액체질소로 마쇄된 시료에 메탄올 : 클로로포름 : 물=12 : 5 : 3의 혼합액을 가하여 섞어 주었다. 유리아미노산을 포함하는 수용액 층은 원심분리(12,000 × g, 15 min, 4℃)를 통하여 얻었다. 침전물에 클로로포름 : 물=2.5 : 3.8의 혼합액을 가하여 남아 있을지도 모르는 유리아미노산을 2차 추출하였고, 1, 2차 원심분리로부터 얻은 상등액을 합하여 냉동 건조하였다. 이어 소량의 물로 용해한 후 0.45 ㎛ PVDF 필터(Millipore)로 여과하여 분석에 사용하였다. 아미노산의 형광 유도체화를 위해 AccQ・Fluor Reagent를 사용하였으며, 이들 유도체의 분리를 위해 3.9 × 150 ㎜ Accq・TagTM (Nova-PakTM C_{18}, Waters) column을 사용하였고 시료의 주입량은 5 ㎕였다. 시료의 아미노산 함량은 표준 아미노산과 비교하여 산출하였다.

다) Total phenolic compounds 의 함량분석

총 페놀함량은 Folin-Denis법에 따라 약간 변형하여 측정하였다. 동결건조 된 시료를 분쇄한 후 1 g에 메탄올을 가하여 80℃에서 30 분 동안 추출한 후 냉각하여 여과하였다. 이 여과한 추출검액 50 ㎕에 증류수 650 ㎕를 넣은 후 Folin-Denis reagent를 50 ㎕ 가하여 3분동안 실온에서 반응시킨다. 반응시킨 후 10% Na_2CO_3 포화용액을 100 ㎕을 첨가하고, 최종 볼륨을 1㎖로 맞추기 위해 증류수 150 ㎕을 넣어 잘 혼합시켰다. 37℃ incubator에서 1시간 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer(UV-2401PC, SHIMADZU)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 시료 용액 대신 메탄올 용액을 동일하게 처리하였으며, 표준곡선은 tannic acid (Sigma Co., USA)의 농도를 0~500 ㎍/㎖ 이 되도록 하고 이로부터 총 페놀함량을 구하였다.

라) Total flavonoids 함량 측정

동결건조 된 시료를 분쇄한 후 1 g을 Davis 변법에 따라 메탄올을 가하여 80℃에서 30분 추출 한 후 냉각하여 여과하였다. 이 여과한 추출 검액 100 ㎕에 1㎖의 diethylene glycol을 첨가하고 다시 1N-NaOH 용액을 100 ㎕을 넣어 잘 혼합시켜 37℃ incubator에서 1시간 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer(UV-2401PC, SHIMADZU)를 사용하여 420 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 시료 용액 대신 메탄올 용액을 동일하게 처리하였으며, 표준곡선은 naringin (Sigma Co., USA)의 농도를 0 ~ 200 ㎍/㎖이 되도록 하여 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

마) 곡물종자의 발아단계별 생리활성물질 GABA의 함량분석

발아곡물 중의 GABA 함량 변화를 측정하기 위해 액체질소로 마쇄된 시료 파우더에 메탄올 : 클로로포름 : 물=12 : 5 : 3의 혼합액을 가하여 섞어 주었다. 유리아미노산을 포함하는 수용액 층은 원심분리(12,000 × g, 15 min, 4℃)
를 통하여 얻었다. 침전물에 클로로포름 : 물=2.5 : 3.8의 혼합액을 가하여 남아 있을지도 모르는 유리아미노산을 2차 추출하였고, 1, 2차 원심분리로부터 얻은 상등액을 합하여 냉동건조 하였다. 이어 소량의 물로 용해한 후 0.45 ㎛ PVDF 필터(Millipore)로 여과하여 분석에 사용하였다. 아미노산의 형광 유도체화를 위해 AccQ・Fluor reagent를 사용하였으며, 이들 유도체의 분리를 위해 3.9 × 150 ㎜ AccQTagTM (Nova-PakTM C_{18}, Waters) column을 사용하였고 시료의 주입량은 5 ㎕이었다. 표준아미노산과 비교하여 시료의 아미노산 함량을 산출하였다.

다. 결과 및 고찰

1) 곡물종자의 적정 발아조건

가) 종자침지 유무에 따른 발아율

녹두, 옥수수, 메밀과 서목태를 발아시키기 전 침지처리 여부가 발아율에 미치는 영향을 비교하여 최적의 발아 조건을 검토하였다. 녹두는 치상 후 1일이 경과하면서 발아가 시작되었는데 무침지 녹두가 4시간 침지시킨 녹두에 비하여 초기 발아율이 12% 증가되었으나 치상 후 3 ~ 4일째부터 대부분의 종피가 갈라져 유근이 보이기 시작했으며 시간이 지나도 더 이상 자라지 않고, 유근이 2㎜를 유지하였으며 옥수수는 치상 3일부터 왕성한 발아를 보였으며 치상 4일부터는 무침지 옥수수의 발아가 침지 옥수수보다 빠른 발아를 보였다. 메밀은 치상 4일부터 발아가 되면서 침지 여부와는 상관없이 발아하였으며 서목태는 무침지시킨 서목태가 4시간 침지시킨 서목태보다 높은 발아 효과를 보였다(**Fig 1.**).

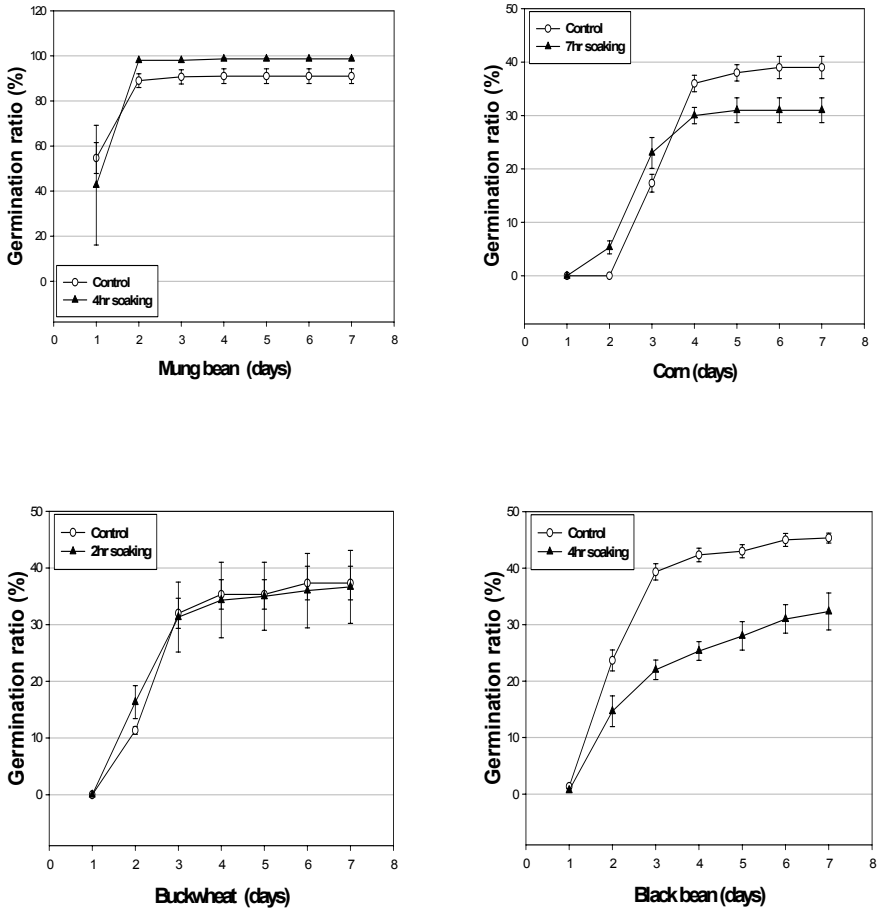


Fig 1. Comparison of germination ratio between pre-soaking treatment of mung bean, corn, buckwheat and black bean(seomocktae).

나) 다온도 발아상을 이용한 종자별 최적발아조건

곡물의 발아시 적정한 온도가 20 ~ 30℃인데 이는 곰팡이나 세균이 번식할 수 있는 적절한 온도이므로 이를 방지하기 위해 침지 후 발아 시 3시간 간격으로 흐르는 물에 종자를 가볍게 세척하여 곰팡이나 세균의 오염을 방지할 수 있었다. Table 1은 발아온도에 따른 곡물의 발아율과 곰팡이 발생 정도를 나타낸 것으로 곡물 종자에 따

라 온도의 차이는 있으나 최적 발아온도가 약 20 ~ 30℃였다. 일반적으로 곡물을 재배하는데 있어서 종자소독을 하여 곰팡이발생을 사전에 방지할 수 있으므로 발아온도가 다소 고온일지라도 그다지 문제가 되지 않는다고 할 수 있으나 발아곡물은 발아 후 건조하여 식용을 목적으로 재배하기 때문에 종자 소독제를 처리한다는 것은 문제가 된다. 따라서 발아곡물의 재배는 곰팡이가 발생되지 않으면서 발아가 신속히 이루어질 수 있도록 하는 것이 매우 중요하다. 녹두는 10, 15, 20, 25, 30℃에서 발아율이 대체적으로 좋았으며, 그 중 25℃, 30℃에서 90%가 넘는 발아율을 보였으나 30℃에서는 1일부터 발아가 시작되면서 곰팡이도 동시에 발생하여 발아녹두의 최적온도는25℃가 적절할 것으로 판단된다. 옥수수는 15℃에서도 발아를 보였으며 20 ~ 30℃의 범위가 적절할 것으로 판단되나 25℃의 경우 20℃와 30℃에 비하여 발아율이 낮고 30℃의 경우 초기 발아율은 높으나 곰팡이가 발생되기 때문에 20℃가 옥수수를 발아하는데 유리한 것으로 판단된다. 메밀은 30℃에서 최적의 발아율을 보였으나 곰팡이 여부가 심각하여 발아메밀의 최적온도는 20℃가 적절할 것으로 보인다. 서목태는 20℃ 무침지(91.3%), 침지(68%) 발아 시 다른 온도에 비해 발아율이 높았으며 1일부터 7일까지 꾸준한 발아율을 보였다. 25℃와 30℃ 경우는 1일부터 곰팡이가 발생하였고 강한 부패냄새가 났다. 따라서 시중에서 유통되고 있는 발아곡물의 유근이 약 2 ~ 5 ㎜에 해당된다는 점을 고려한다면 발아율, 곰팡이발생정도, 발아기간 및 유근 상태를 종합적으로 판단했을 때 녹두는 25℃, 옥수수, 메밀 및 흑태는 각각 20℃에서 곰팡이 발생도 낮았고 발아도 왕성하여 최적의 온도라 판단할 수 있었다.

Table 1. The rate of germination and fungal occurance of 4 kinds of grain seed followed by different germination temperatures and treatment of pre-soaking.

Temp. (℃)	Grain seeds (%)							
	Mung bean		Corn		Buckwheat		Black bean	
	ps	s	ps	s	ps	s	ps	s
10	69.0 (-)[a]	65.6 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	32.7 (-)	21.0 (-)
15	57.0 (-)	56.3 (-)	70.0 (-)	58.7 (-)	27.2 (+)	32.0 (+)	50.0 (+)	39.5 (+)
20	78.0 (-)	79.0 (-)	78.6 (+)	62.0 (+)	42.0 (+)	36.6 (+)	91.3 (+)	68.0 (+)
25	98.6 (+)	98.0 (+)	71.2 (++)	69.3 (++)	33.0 (++)	29.0 (++)	91.3 (++)	65.3 (++)
30	99.3 (++)	95.6 (++)	78.6 (++)	80.0 (++)	44.0 (+++)	43.0 (+++)	86.0 (+++)	52.0 (+++)

[a]( )represents degree of fungal occurance : -(none), +(weak), ++(medium), +++(strong)
Abbreviations, ps, pre-soaking; s, soaking

다) 친환경재배 곡물종자와 일반재배 곡물종자의 발아특성 비교

친환경재배 곡물종자와 일반재배 곡물종자의 발아특성을 비교하기 위해 곡물의 일반적인 최적 발아온도 20℃와 30℃에서 5일간 발아를 시키면서 발아율을 살펴보았다.

(1) 친환경재배 및 일반재배 녹두의 발아율 비교

녹두는 치상 1일 째부터 90%이상의 발아율을 보여 4가지 곡물 중 가장 빠르고 왕성한 발아를 보였으며 친환경 재배, 일반재배 녹두 모두 평균 95%이상의 발아율을 보이고, 20℃에서 보다 30℃에서 약간 더 빠른 발아를 보였다. 친환경 재배, 일반재배 녹두간의 발아율의 차이는 볼 수 없었다(**Fig. 2.**).

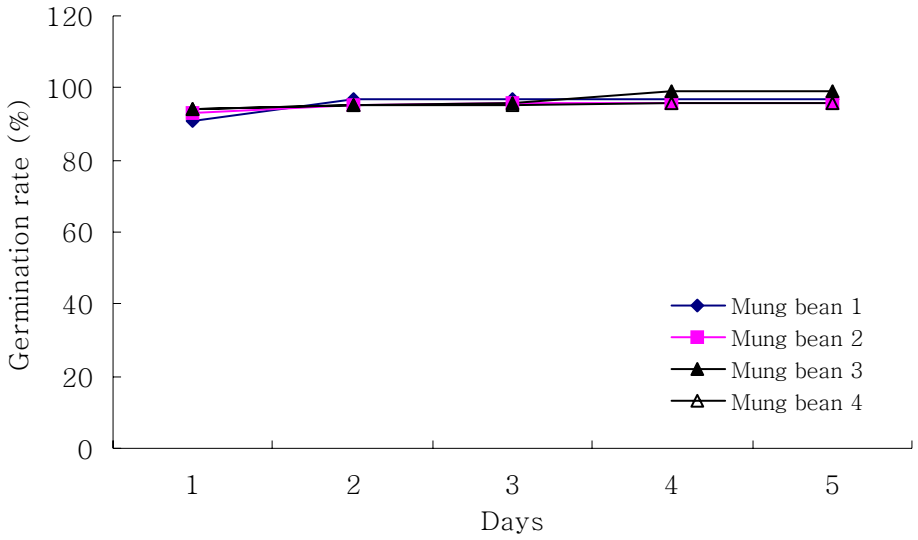


Fig. 2. Comparison of germination rate with environmental friendly cultivated and general cultivated mung bean.

Days	Mung bean (%)			
	1	2	3	4
1	91	93	94	94
2	97	95	95	95
3	97	96	96	95
4	97	96	99	96
5	97	96	99	96

EFC. environmental friendly cultivated; GC. general cultivated; Mung bean 1, EFC mung bean germinated at 20℃; Mung bean 2, EFC mung bean germinated at 30℃; Mung bean 3, GC mung bean germinated at 20℃; Mung bean 4, GC mung bean germinated at 30℃. 1, EFC mung bean germinated at 20℃; 2, EFC mung bean germinated at 30℃; 3, GC mung bean germinated at 20℃; 4, GC mung bean germinated at 30℃.

(2)친환경재배 및 일반재배 옥수수의발아율비교

옥수수는 친환경 재배 옥수수가 일반재배 옥수수보다 훨씬 빠른 발아율을 보였고 치상 3일 째 가장 왕성한 발아율을 보여 친환경재배 옥수수는 60%이상, 일반재배 옥수수는 50%에 가까운 발아율을 보였으며 두가지 옥수수 모두 20℃에서 보다 30℃에서 빠른 발아를 보였다(**Fig3.**).

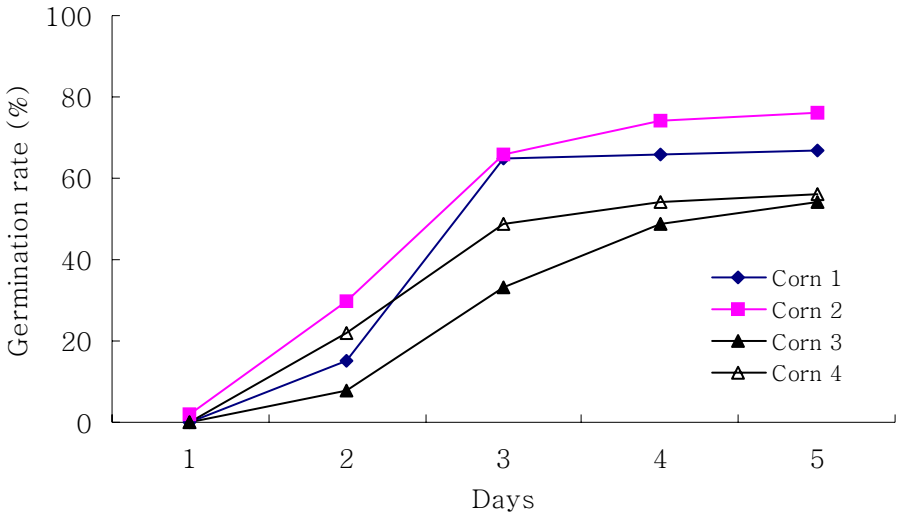


Fig. 3. Comparison of germination rate with environmental friendly cultivated and general cultivated corn.

Days	Corn (%)			
	1	2	3	4
1	0	2	0	0
2	15	30	8	22
3	65	66	33	49
4	66	74	49	54
5	67	76	54	56

EFC. environmental friendly cultivated; GC. general cultivated. Corn 1, EFC corn germinated at 20℃; Corn 2, EFC corn germinated at 30℃; Corn 3, GC corn germinated at 20℃; Corn 4, GC corn germinated at 30℃. 1, EFC corn germinated at 20℃; 2, EFC corn germinated at 30℃; 3, GC corn germinated at 20℃; 4, GC corn germinated at 30℃.

(3)친환경재배 및 일반재배 메밀의발아율비교

메밀의 경우 4가지 곡물 종자 중 가장 느리고 낮은 발아를 보였는데 20℃보다 30℃에서 빠른 발아를 보였고 또한 친환경 재배 메밀과 일반재배 메밀의 경우 발아율에 있어서 어느 한쪽이 특별히 우세하다고는 할 수 없었으며 종자의 보관 일수, 보관 상태, 종자의 생육상태에 따라 다른 발아율을 나타내었다(**Fig4.**).

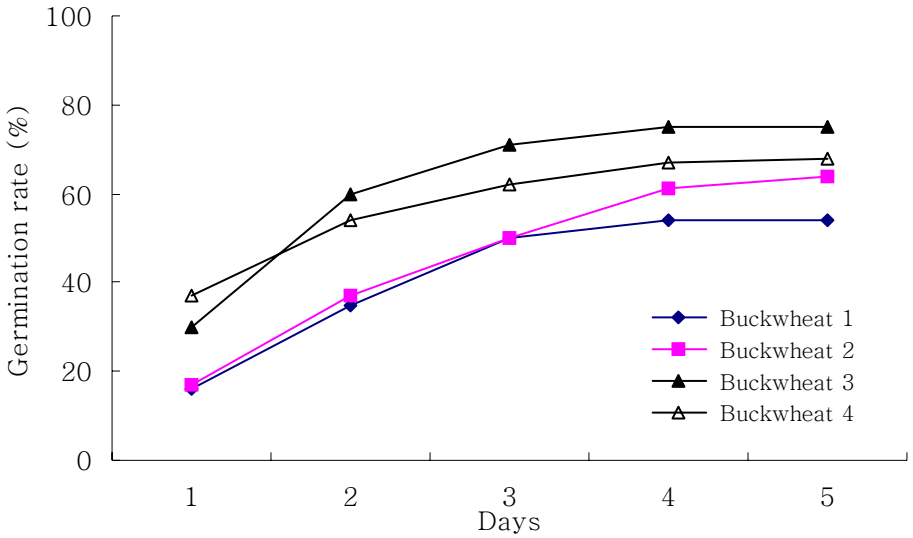


Fig. 4. Comparison of germination rate with environmental friendly cultivated and general cultivated buckwheat.

Days	Buckwheat (%)			
	1	2	3	4
1	16	17	30	37
2	35	37	60	54
3	50	50	71	62
4	54	61	75	67
5	54	64	75	68

EFC. environmental friendly cultivated; GC. general cultivated. Buckwheat 1, EFC buckwheat germinated at 20℃; Buckwheat 2, EFC buckwheat germinated at 30℃; Buckwheat 3, GC buckwheat germinated at 20℃; Buckwheat 4, GC buckwheat germinated at 30℃. 1, EFC buckwheat germinated at 20℃; 2, EFC buckwheat germinated at 30℃; 3, GC buckwheat germinated at 20℃; 4, GC buckwheat germinated at 30℃.

(4) 친환경재배 및 일반재배 서목태의발아율비교

5일간 발아율을 살펴본 결과 친환경 재배 서목태는 평균 60% 이상의 발아율을 보였으며 일반재배 서목태는 평균 90%이상의 발아율을 보여 친환경 서목태 보다 일반재배 서목태가 빠른 발아율을 보였으며 다른 곡물에서와 마찬가지로 두가지 서목태 모두 20℃에서보다 30℃에서 발아율이 높았다(**Fig5.**).

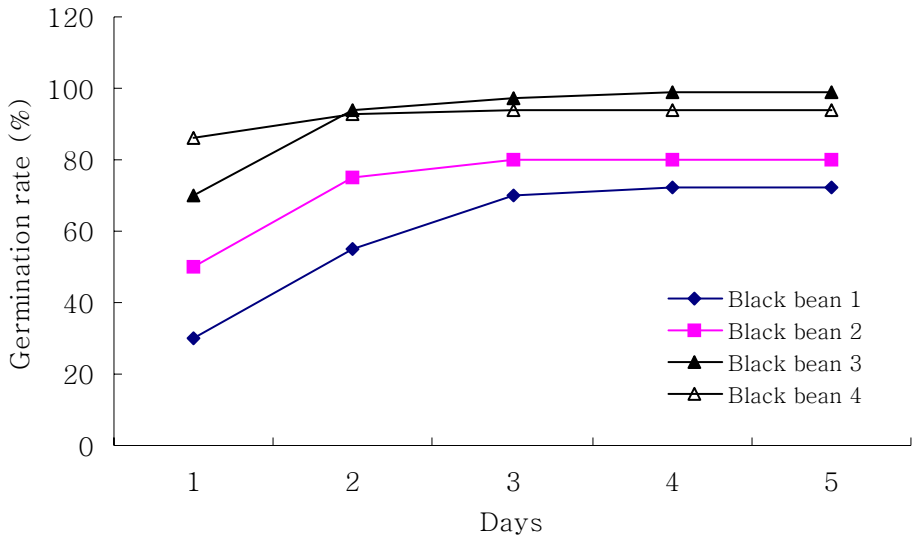


Fig. 5. Comparison of germination rate with environmental friendly cultivated and general cultivated black bean.

Days	Black bean (%)			
	1	2	3	4
1	30	50	70	86
2	55	75	94	93
3	70	80	97	94
4	72	80	99	94
5	72	80	99	94

EFC. environmental friendly cultivated; GC. general cultivated. Black bean 1, EFC black bean germinated at 20℃; Black bean 2, EFC black bean germinated at 30℃; Black bean 3, GC black bean germinated at 20℃; Black bean 4, GC black bean germinated at 30℃. 1, EFC black bean germinated at 20℃; 2, EFC black bean germinated at 30℃; 3, GC black bean germinated at 20℃; 4, GC black bean germinated at 30℃.

라) 발아유도 종자의 대량조제

다온도 발아기에서 구명된 종자의 최적발아온도와 침지여부를 기준으로 하여, 대형 종자발아기에 발아상을 설치하여 하루에 4회씩 수분공급 및 뒤집기를 하여 종자를 발아시켜 시료로 사용하였다.

2) 발아곡물종자의 주요성분

가) 일반성분

녹두, 옥수수, 메밀, 서목태의 발아정도에 따른 일반성분을 측정한 결과 발아전 녹두와 옥수수는 37.66, 38.42%, 메밀과 서목태는 46.79, 51.07%의 수분을 함유하고 있었으며 조단백질은 녹두와 서목태는 17.62, 22.24%, 옥수수와 메밀은 7.08, 7.67%를 함유하고 있었다. 조지방과 회분의 함량은 0.3 ~ 3%내외로 나타났는데 발아가 진행됨에 따라 수분의 함량은 증가하면서 조단백질과 회분, 탄수화물의 함량은 감소됨을 보였다. 그러나 조지방의 함량은 다른 일반성분의 함량변화와는 다른 양상을 보였는데 옥수수는 발아가 진행되면서 발아 전 1.23 %에서 발아 후1.73%로 증가하였다가 발아전과 비슷한 수치로 함량이 변화하였으며 메밀은 발아를 하면서 조지방의 함량이 0.05%에서 0.26 ~ 0.3으로 크게 증가함을 보였다. 녹두의 조지방은 발아가 진행됨에 따라 점점 감소함을 보였다(Table 2.).

Table 2. Proximate composition of 4 kinds of grain seed according to germinated root length. (unit: %, wet weight)

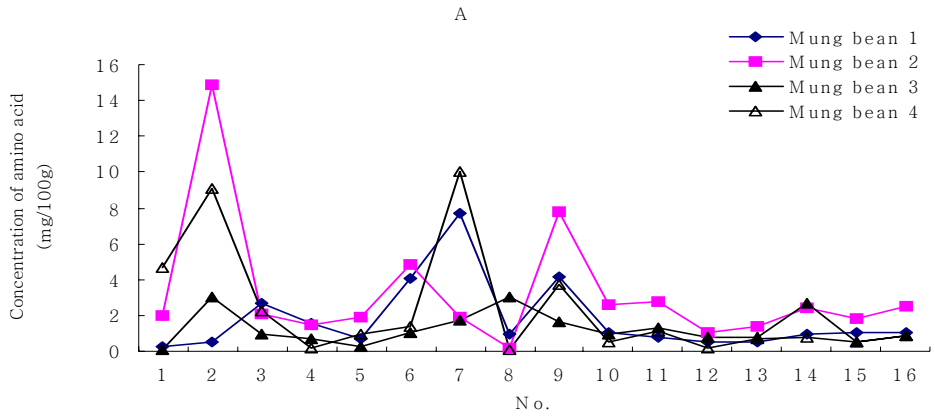
Sample	No.	Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate
Mung bean	1	37.66	17.62	0.34	2.45	41.93
	2	62.43	10.71	0.32	1.76	24.78
	3	60.37	10.71	0.15	1.61	22.16
	4	57.52	10.67	0.12	1.57	20.12
Corn	1	38.42	7.08	1.23	1.69	51.58
	2	44.61	6.06	1.73	1.76	43.84
	3	43.91	6.00	1.08	1.00	43.01
	4	44.47	5.73	1.27	1.24	37.29
Buckwheat	1	51.07	7.67	0.05	1.48	37.73
	2	45.60	6.70	0.30	1.43	43.97
	3	46.98	6.59	0.27	1.49	39.67
	4	52.03	5.92	0.26	1.23	30.56
Black bean	1	46.79	22.24	1.72	3.05	26.20
	2	54.19	17.76	0.34	2.28	23.43
	3	65.25	15.00	0.21	2.05	12.49
	4	60.11	16.36	0.42	2.31	10.80

1, non-germinated; 2, germinated root rength 2㎜; 3, germinated root rength 5㎜; 4, germinated root rength 10 ㎜.

나) 유리 아미노산의 함량

녹두, 옥수수, 메밀, 서목태의 발아정도에 따른 16종의 유리 아미노산의 함량변화를 측정한 결과 녹두의 경우 발아 길이 2 ㎜일 때 다른 길이별 발아군에 비하여 유리아미노산 함량이 크게 증가하였는데, 가장 높은 함량을 나타낸 것은 발아 길이 2 ㎜ 녹두의

glutamic acid로 그 수치는 14.9 ㎎/100g이었으며 비발아 군에 비하여 29.8배 증가하여 나타났다. 또한 발아 길이 2 ㎜일때 glutamic acid외에 histidine, threonine, proline, tyrosine, valine, methionine, isoleusine, leucine, lysine, phenylalanine이 비발아군에 비하여 1.2 ~ 2.4배 정도 증가하여 나타났다. 옥수수는 발아 길이 10 ㎜일 때 다른 길이별 발아군에 비하여 유리아미노산 함량이 크게 증가하였으며 가장 높은 함량을 나타낸 것은 발아길이 10 ㎜일 때 proline과 arginine으로 각각 5.80 ㎎/100g, 5.74 ㎎/100g이었으며 proline은 비발아군에 비하여 1.85배, arginine은 비발아군에 비하여 10.5배 증가하여 나타났다. 또한 발아길이 10 ㎜일 때 proline과 arginine외에 serine, histidine, threonine, proline, valine, methionine, leucine, lysine이 비발아군에 비하여 1.4 ~ 4.1배 정도 증가하여 나타났다. 메밀은 발아 길이 2 ㎜일 때 다른 길이별 발아군에 비하여 유리아미노산 함량이 크게 증가하였는데, 가장 높은 함량을 나타낸 것은 녹두에서처럼 발아 길이 2 ㎜ 메밀의 glutamic acid로 그 수치는 17.20 ㎎/100g이었으며 비발아 군에 비하여 약 4배 증가하여 나타났다. 또한 발아 길이 2 ㎜일때 glutamic acid외에 serine, histidine, threonine, proline, tyrosine, valine, methionine, leucine, lysine, phenylalanine이 비발아군에 비하여 1.1 ~ 11.5배 정도 증가하여 나타났다. 서목태는 발아를 하면서 16종의 유리아미노산 함량이 모두 감소하여 0.225 ~ 9.13 ㎎/100g의 함량을 나타내던 유리아미노산들이 0.03 ~ 0.68 ㎎/100g 사이의 값을 나타냈는데 그중 발아 5 ㎜ 서목태의 전체 유리아미노산 함량이 발아 2㎜, 발아 10 ㎜서목태에 비해 높게 나타났다(**Fig 6.**).



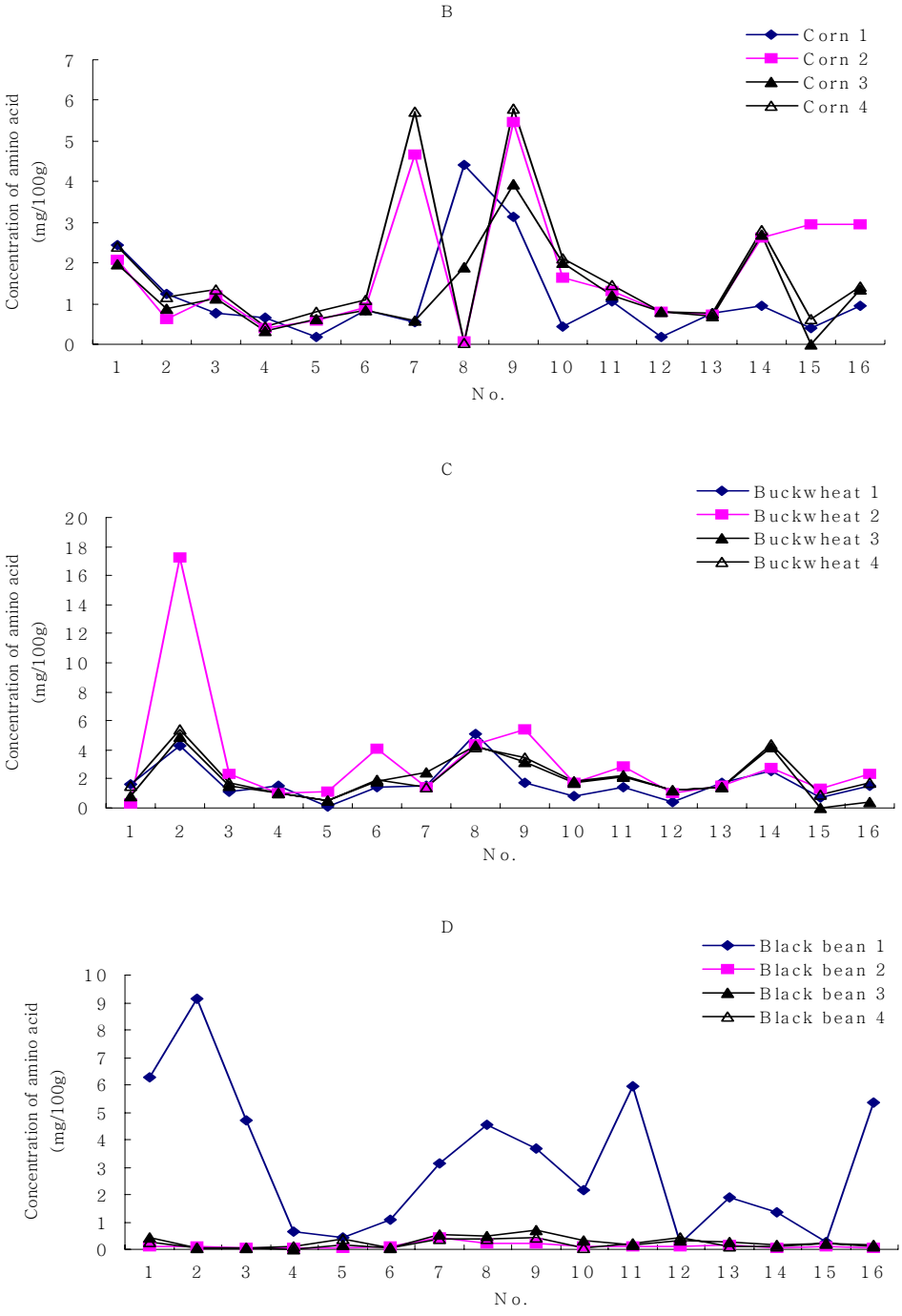


Fig. 6. Contents of free amino acids from 4 kinds of grain seed according to

different germination root length.

Free amino acid	Grain seeds (㎎/100g)															
	Mung bean				Corn				Buckwheat				Black bean			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Asp	0.23	1.96	0.11	4.65	2.44	2.09	1.98	2.39	1.63	0.33	0.81	1.50	6.29	0.12	0.43	0.27
Glu	0.5	14.9	3.01	9.10	1.255	0.62	0.88	1.16	4.265	17.20	4.85	5.45	9.13	0.09	0.04	0.03
Ser	2.66	2.09	0.91	2.28	0.75	1.20	1.13	1.36	1.16	2.32	1.58	1.70	4.725	0.08	0.03	0.03
Gly	1.57	1.48	0.66	0.13	0.65	0.39	0.34	0.42	1.5	1.06	1.04	0.98	0.67	0.07	0.02	0.11
His	0.685	1.92	0.26	0.99	0.19	0.58	0.63	0.82	0.095	1.09	0.52	0.46	0.425	0.08	0.18	0.40
Thr	4.1	4.85	1.07	1.36	0.825	0.91	0.83	1.09	1.455	4.04	1.83	1.98	1.095	0.12	0.06	0.03
Arg	7.69	1.91	1.75	10.0	0.545	4.65	0.59	5.74	1.485	1.41	2.41	1.41	3.15	0.45	0.53	0.38
Ala	0.96	0.14	3.01	0.07	4.425	0.07	1.90	0.04	5.065	4.35	4.26	4.18	4.535	0.23	0.50	0.38
Pro	4.18	7.76	1.66	3.68	3.135	5.47	3.94	5.80	1.73	5.43	3.12	3.49	3.665	0.20	0.68	0.45
Tyr	1.045	2.61	0.96	0.54	0.44	1.63	1.99	2.12	0.825	1.74	1.74	1.86	2.16	0.10	0.33	0.04
Val	0.77	2.77	1.32	1.14	1.045	1.33	1.21	1.47	1.41	2.90	2.18	2.28	5.965	0.10	0.18	0.19
Met	0.55	1.05	0.76	0.17	0.195	0.81	0.81	0.79	0.435	1.04	1.26	1.26	0.225	0.11	0.34	0.42
Ile	0.54	1.36	0.80	0.66	0.77	0.72	0.70	0.75	1.76	1.50	1.41	1.47	1.875	0.14	0.27	0.12
Leu	0.915	2.38	2.66	0.80	0.94	2.62	2.71	2.80	2.53	2.71	4.23	4.36	1.35	0.08	0.16	0.12
Lys	1.075	1.79	0.54	0.54	0.385	2.94	0.01	0.61	0.73	1.36	0.02	0.94	0.295	0.09	0.21	0.23
Phe	1.045	2.50	0.88	0.,88	0.93	2.94	1.35	1.44	1.575	2.35	0.39	1.76	5.355	0.07	0.12	0.18

A, Mung bean; B, Corn; C, buckwheat; D, black bean. 1, non-germinated; 2, germinated root rength 2 ㎜; 3, germinated root rength 5㎜; 4, germinated root rength 10 ㎜. No., amino acids number; 1, Asp; 2, Glu; 3, Ser; 4,Gly; 5, His; 6, Thr; 7, Arg; 8, Ala; 9, Pro; 10, Tyr; 11, Val; 12, Met; 13,Ile; 14, Leu; 15, Lys; 16, Phe. a, non-germinated; b,, germinated root rength 2㎜; c,, germinated root rength 5㎜; d, germinated root rength 10 ㎜.

다) 총 phenolic compounds의 함량 및 flavonoids의 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대분자들과 쉽게 결합하며 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다. 총 페놀 함량은 tannic acid를 표준물질로 총 플라보노이드 함량 은 naringin을 표준물질로 하여 측정하였다. 발아 길이에 따른 녹두, 메밀, 서목태, 옥수수의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 Table 3과 같다. 녹두의 경우 발아 5 ㎜일때 25.04 ㎍/㎎로 가장 높은 페놀함량을 보였고 반면 비발아 일때 7.51 ㎍/㎎로 가장 낮은 페놀함량을 보였다. 플라보노이드 함량 또한 발아 5 ㎜일때 13.8 ㎍/㎎로 가장 높은 플라보노이드 함량을 보인 반면 비발아에서 10.32 ㎍/mg로 가장 낮은 플라보노이드 함량을 보였다. 서목태는 메밀에서와 똑같은 양상을 보였다. 비발아 일때 19.5, 7.03 ㎍/㎎로 가장 높은 페놀, 플

라보노이드 함량을 보였고, 발아 10 ㎜ 일때 9.35, 5.93 ㎍/㎎로 가장 낮은 페놀, 플라보노이드 함량을 보였다. 반면 옥수수는 비발아 일때 페놀 함량과 플라보노이드 함량이 각각 18.45, 7.83 ㎍/㎎로 가장 높은 함량을 보였지만 발아 2 ㎜에서 9.81 ㎍/㎎로 낮은 페놀함량을 보이며 플라보노이드 함량은 발아 5 ㎜에서 가장 낮은 함량을 보였다. 약간의 값에 차이는 있지만 페놀함량이 높을수록 플라보노이드 함량도 증가함을 알 수 있었다.

Table 3. Total phenolics and flavonoids contents of methanol extracts from from 4 kinds of grain seed according to different germination root length.

Sample	No.	Total phenolics[1)] (㎍/㎎ dw[3)])	Total flavonoids[2)] (㎍/㎎ dw[3)])
Mung bean	1	7.51 ± 0.36[4)]	10.32 ± 1.51
	2	14.91 ± 2.68	11.17 ± 0.93
	3	25.04 ± 0.06	13.8 ± 1.29
	4	14.83 ± 9.03	11.58 ± 1.04
Corn	1	18.45 ± 9.49	7.83 ± 2.74
	2	9.81 ± 1.01	7.63 ± 0.35
	3	15.23 ± 5.37	6.43 ± 0.28
	4	14.96 ± 0.46	7.15 ± 1.09
Buckwheat	1	40.39 ± 5.15	10.08 ± 0.21
	2	15.62 ± 0.16	7.76 ± 0.48
	3	37.31 ±4.33	9.77 ± 0.33
	4	27.44 ± 1.64	9.25 ± 1.71
Black bean	1	19.5 ± 1.86	7.03 ± 0.13
	2	12.44 ± 1.31	5.97 ± 1.71
	3	17.29 ± 1.48	6.64 ± 1.56
	4	9.35 ± 0.01	5.93 ± 0.24

1, non-germinated; 2, germinated root rength 2㎜; 3, germinated root rength 5㎜; 4, germinated root rength 10 ㎜.

[1)]Sample was analyzed using tannic acid as a standard.

[2)]Sample was analyzed using naringin as a standard.

[3)]dw : dry weight

[4)]Each value is mean±S.D (n=3)

라) 곡물의 발아단계별 GABA의 함량비교

녹두, 옥수수, 메밀, 서목태의 발아정도에 따른 GABA의 함량변화를 측정한 결과 4종의 곡물 모두 발아전에 비하여 GABA의 함량이 증가하였으며 녹두, 서목태, 메밀은 발아길이 2 ㎜, 옥수수는 발아길이 10㎜일 때 그 값이 가장 높게 나타나 발아 길이 2 ㎜ 녹두의 GABA 함량은 3.9 ㎎/100g으로 비발아녹두의 4.81배, 발아길이 10㎜ 옥수수의 GABA 함량은 11.2 ㎎/100g으로 비발아옥수수의 5.6배, 발아 길이 2 ㎜ 메밀의 GABA 함량은 2.2 ㎎/100g으로 비발아메밀의 2.2배, 발아 길이 2 ㎜ 서목태의 GABA함량은 2.2 ㎎/100g으로 비발아서목태의 2.75배 증가되어 나타내었다(**Fig. 7.**).

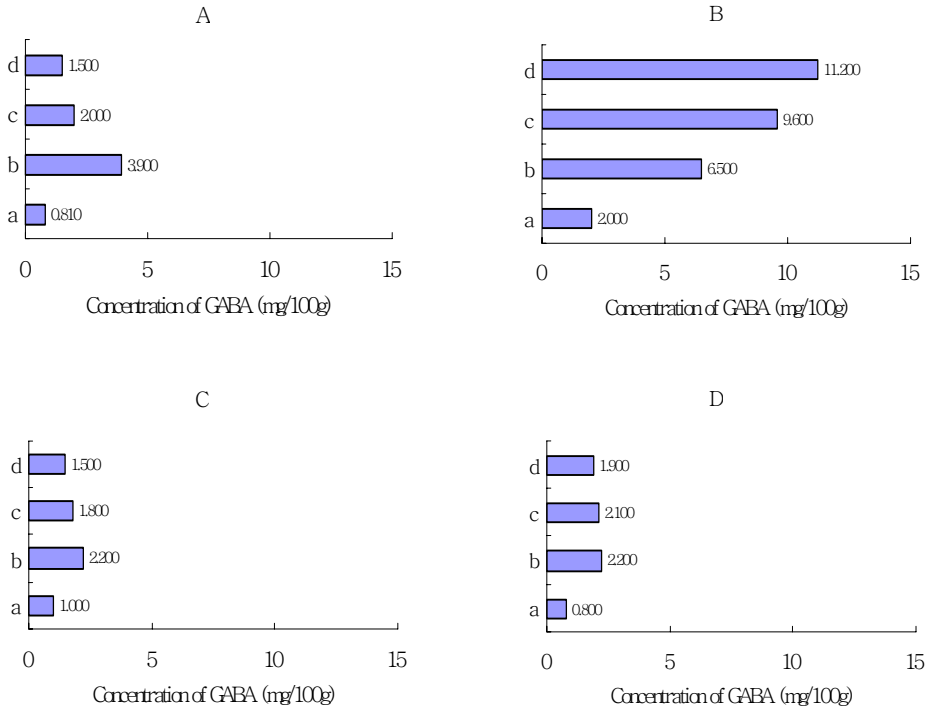


Fig 7. Concentrations of γ-aminobutyric acid (GABA) in 4 kinds of germinated grain seed according to different root length. A, mung bean; B, corn; C, buck wheat; D, black bean. a, non-germinated; b, germinated root length 2㎜; c, germinated root length 5㎜; d, germinated root length 10 ㎜.

라. 적 요

1) 곡물종자의 적정 발아조건

종자침지 유무에 따른 발아율 : 녹두는 무침지 녹두가 4시간 침지시킨 녹두에 비하여 초기 발아율이 12% 증가되었으며, 옥수수는 치상 4일부터는 무침지 옥수수의 발아가 침지 옥수수보다 빠른 발아를 보였다. 메밀은 침지 여부와는 상관없이 발아하였으며 서목태는 무침지시킨 서목태가 4시간 침지시킨 서목태보다 높은 발아 효과를 보였다.

다온도 발아상을 이용한 종자별 최적발아조건 : 곡물 종자에 따라 온도의 차이는 있으나 최적 발아온도가 약 20 ~ 30℃였다. 녹두는 5℃, 30℃에서 90%가 넘는 발아율을 보였으며, 옥수수는 20 ~ 30℃의 범위가 적절할 것으로 판단되며, 메밀은 30℃에서 최적의 발아율을 보였으나 곰팡이 오염도가 심하여 최적온도는 20℃가 적절할 것으로 보인다. 서목태는 20℃ 무침지(91.3%), 침지(68%) 발아 시 다른 온도에 비해 발아율이 높았으며 1일부터 7일까지 꾸준한 발아율을 보였다.

2) 발아곡물종자의 주요성분

일반성분 : 발아전 녹두와 옥수수는 37.66, 38.42%, 메밀과 서목태는 46.79, 51.07%의 수분을 함유하고 있었으며 조단백질은 녹두와 서목태는 17.62, 22.24%, 옥수수와 메밀은 7.08, 7.67%를 함유하고 있었다. 조지방과 회분의 함량은 0.3 ~ 3%내외로 나타났는데 발아가 진행됨에 따라 수분의 함량은 증가하면서 조단백질과 회분, 탄수화물의 함량은 감소됨을 보였다.

유리 아미노산의 함량 : 녹두의 경우 발아 길이 2 ㎜일 때 다른 길이별 발아군에 비하여 유리아미노산 함량이 크게 증가하였는데, 가장 높은 함량을 나타낸 것은 발아 길이 2 ㎜ 녹두의 glutamic acid로 그 수치는 14.9 ㎎/100g이었으며 비발아 군에 비하여 29.8배 증가하여 나타났다. 옥수수는 발아 길이 10 ㎜일 때 다른 길이별 발아군에 비하여 유리아미노산 함량이 크게 증가하였으며 가장 높은 함량을 나타낸 것은 발아길이 10 ㎜일 때 proline과 arginine으로 각각 5.80 ㎎/100g, 5.74 ㎎/100g이었으며 proline은 비발아군에 비하여 1.85배, arginine은 비발아군에 비하여 10.5배 증가하여 나타났다. 메밀은 발아 길이 2 ㎜일 때 다른 길이별 발아군에 비하여 유리아미노산 함량이 크게 증가하였는데, 가장 높은 함량을 나타낸 것은 녹두에서처럼 발아 길이 2 ㎜ 메밀의 glutamic acid로 그 수치는 17.20 ㎎/100g이었으며 비발아 군에 비하여 약 4배 증가하여 나타났다. 또한 발아 길이 2 ㎜일때 glutamic acid외에 serine, histidine, threonine, proline, tyrosine, valine, methionine, leucine, lysine, phenylalanine이 비발

아군에 비하여 1.1 ~ 11.5배 정도 증가하여 나타났다. 서목태는 발아를 하면서 16종의 유리아미노산 함량이 모두 감소하여 0.225 ~ 9.13 ㎎/100g의 함량을 나타내던 유리아미노산들이 0.03 ~ 0.68 ㎎/100g 사이의 값을 나타냈는데 그중 발아 5 ㎜ 서목태의 전체 유리아미노산 함량이 발아 2㎜, 발아 10 ㎜서목태에 비해 높게 나타났다.

총 phenolic compounds의 함량 및 flavonoids의 함량 : 녹두의 경우 발아 5 ㎜일 때 25.04 ㎍/㎎로 가장 높은 페놀함량을 보였고 반면 비발아 일때 7.51 ㎍/㎎로 가장 낮은 페놀함량을 보였다. 플라보노이드 함량 또한 발아 5 ㎜일때 13.8 ㎍/㎎로 가장 높은 플라보노이드 함량을 보인 반면 비발아에서 10.32 ㎍/mg로 가장 낮은 플라보노이드 함량을 보였다. 서목태는 메밀에서와 똑같은 양상을 보였다. 비발아 일때 19.5, 7.03 ㎍/㎎로 가장 높은 페놀, 플라보노이드 함량을 보였고, 발아 10 ㎜ 일때 9.35, 5.93 ㎍/㎎로 가장 낮은 페놀, 플라보노이드 함량을 보였다. 반면 옥수수는 비발아 일때 페놀 함량과 플라보노이드 함량이 각각 18.45, 7.83 ㎍/㎎로 가장 높은 함량을 보였지만 발아 2 ㎜에서 9.81 ㎍/㎎로 낮은 페놀함량을 보이며 플라보노이드 함량은 발아 5 ㎜에서 가장 낮은 함량을 보였다.

곡물의 발아단계별 GABA의 함량비교 : 4종의 곡물(녹두, 옥수수, 메밀, 서목태) 모두 발아전에 비하여 GABA의 함량이 증가하였으며 녹두, 서목태, 메밀은 발아 길이 2 ㎜, 옥수수는 발아길이 10㎜일 때 그 값이 가장 높게 나타나 발아 길이 2 ㎜ 녹두의 GABA 함량은 3.9 ㎎/100g으로 비발아 녹두의 4.81배, 발아길이 10㎜ 옥수수의 GABA 함량은 11.2 ㎎/100g으로 비발아 옥수수의 5.6배, 발아 길이 2 ㎜ 메밀의 GABA 함량은 2.2 ㎎/100g으로 비발아 메밀의 2.2배, 발아 길이 2 ㎜ 서목태의 GABA함량은 2.2 ㎎/100g으로 비발아 서목태의 2.75배 증가되었다.

2. 생리활성물질 GABA함량이 강화된 발아곡물의 조제

가. 서 론

γ-aminobutyric acid(GABA)는 동·식물계에 널리 분포되어 있는 비단백질 구성 아미노산으로서 사람에 있어서는 신경계, 혈액에 함유되어 있고 이의 대부분은 뇌의 골수에 존재하여 acetyl choline을 증가시키고 뇌기능을 촉진시키는 등의 생리작용을 하며, 연골의 혈관 중추에 작용하여 우수한 혈압강하 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 식물에 스트레스를 주면 식물세포내의 Ca^{2+}의 이동과 cytosolic의 pH의 변화가 일

어나며 GABA shunt가 활성화 되어 glutamate가 기능성 물질인 GABA로 전환된다고 알려져 있다. 식물 스트레스 조건으로는 저온처리, 고온처리, 빛의 차단, 혐기처리등이 있다. Streeter(1972)등은 무 잎에 혐기처리를 하여 6시간 혐기처리구에서 무혐기처리구에 비하여 4배 이상 GABA의 함량이 증가됨을 보고하였다. 장(1992)등은 녹차잎에 진공과 N_2 가스로 혐기처리를 하여 처리시간이 증가함에 따라 GABA 함량이 증가됨을 보고하였으며 12 ~ 15시간 혐기처리구에서 무혐기처리구에 비해 GABA 함량이 4 ~ 10배 높게 증가함을 보고하였으며, 박(2001)등은 녹차잎에 N_2 가스, CO_2 가스, 진공으로 각 3시간씩 혐기처리를 하여 무혐기 처리구에비해 N_2 가스와 CO_2 가스처리에서는 6 ~ 8배, 진공처리에서는 1.5배 GABA 함량이 증가됨을 보고하였다. 또한 오 등(2002), 정 등(2004)은 현미 발아시 글루탐산용액을 침지용액으로 사용하면 발아곡물내 GABA의 함량이 더 증대함을 보고한 바 있으며 오 등(2002)은 현미 발아시 50 ppm 키토산용액과 키토산/글루탐산 병용용액(5 mM 글루탐산 용액 키토산을 50 ppm 되게 용해한 용액)에 침지하여 발아를 시켜 그냥 물에 침지하여 발아시키는 것보다 키토산용액과 키토산/글루탐산 병용용액에 침지하여 발아시킨 경우 alanine, serine, lysine, isoleucine, methionine 등 아미노산, 필수아미노산들이 2 ~ 6배 증가함을 보고하였다. 정 등(2004)은 키토산/글루탐산처리가 현미 발아에 미치는 영향을 알기위해 키토산(0 ~ 200 ppm), 글루탐산(0 ~ 400 ppm)을 농도별로 처리하여 발아용액의 종류와 농도에 따른 조단백 함량의 변화, GABA함량의 변화를 측정하여 키토산 105 ~ 160 ppm, 글루탐산 200 ~ 290 ppm일때 발아현미에서 조단백과 GABA의 최적 생성 조건임을 보고하였다.

이에 본 실험에서는 녹두, 서목태, 옥수수, 메밀 중 발아가 가장 빨리 되는 녹두를 발아시켜 혐기처리를 함으로써 발아곡물의 혐기처리 최적 시간을 설정하였으며 녹두, 서목태, 옥수수, 메밀의 발아 시 정 등(2004)의 연구에서 발아현미에서 조단백과 GABA의 최적생성 조건이라고 한 키토산 105 ~ 160 ppm, 글루탐산 200 ~ 290 ppm 조건 중 에서 200 ppm 글루탐산 농도를 발아 곡물 침지용액의 최적 농도로 설정하여 200 ppm 글루탐산 용액에 녹두, 서목태, 옥수수, 메밀을 침지하여 발아시킨 후 혐기처리를 하여 유리 아미노산 분석을 함으로써 이에 따른 GABA함량의 변화와 유리 아미노산 함량 변화를 살펴보았다.

나. 재료 및 방법

1) 재료

GABA와 유리 아미노산 분석을 위한 HPLC는 SKYAM Co. Auto Amino Acid Analyzer S433(Germany)를 사용하였고, freeze dryer는 SAMWON Co. SFDSM24L(Korea)를 다온도 발아기는 EYELA Co. multi thermo incubator MTT201B(Japan)를 사용하였다. Glutamic acid, sulphosalicylic acid, litum citrate는 Sigma Co.(USA)를 사용하였으며, 그 외 시약들은 특급제품을 사용하였다.

2) 혐기처리 시간에 따른 발아곡물내 GABA함량 분석

가) 혐기처리 곡물 조제

건조된 녹두, 서목태, 옥수수, 메밀 1 ㎏을 깨끗이 세척한 후 2배 분량의 증류수에 12시간 침지한 후 다온도 발아기에서 각 곡물의 최적 발아 온도에서 발아시켰으며 발아된 곡물은 20 ℓ 플라스틱 용기에 담아 20 psi 가스압으로 N_2 가스를 계속 유입하여 용기 안을 완전 혐기상태로 치환시켜 각 시간별로 혐기 처리 한 후 동결건조 하였다.

나) 발아곡물 혐기처리군의 GABA(γ-aminobutyric acid) 함량 분석

혐기처리한 발아곡물의 γ-aminobutyric acid(GABA)의 분석을 위해 건조된 곡물을 40 mesh로 분쇄하여 에탄올 추출 하였으며 40℃ 이하에서 감압농축한 것을 증류수에 녹이고 동일 volume의 ethyl ether를 넣어 ether층을 걷어내고 다시 감압농축을 한후 농축된 시료를 pH 2.2 lithium citrate dilution buffer로 25 ㎖ 메스플라스크에 정용한 후 sulphosalicylic acid 1 g 을 넣고 잘 혼합한 후 1시간동안 암실에서 방치하여 15분간 12,000 rpm (MEGA 17R no. 17 rotor, Hanil, Korea)으로 원심분리 하였고 얻어진 상층액을 0.45 ㎛ PVDF milipore membrane filter로 여과 후 희석하여 분석하였다. GABA 표준품은 SYKAM사의 GABA 표준품을 사용하였으며 분당 0.45 ㎖의 유속으로 흘려주었다.

3) 글루탐산으로 침지된 발아곡물의 혐기처리에 의한 GABA함량 및 유리 아미노산의 함량 변화분석

가) 글루탐산으로 침지된 곡물종자 조제

건조된 녹두, 서목태, 옥수수, 메밀 1 ㎏을 깨끗이 세척한 후 200 ppm 글루탐산 용액으로 충분히 헹군 후 2배 분량의 200 ppm 글루탐산 용액에 12시간 침지하였고 침지 후 다온도 발아기에서 각 곡물의 최적 발아 온도에서 발아시켰으며 발아된 곡물은 20 ℓ 플라스틱 용기에 담아 10 psi 가스압으로 N_2 가스를 계속 유입하여 용기 안을 완전 혐기상태로 치환시켜 각 시간에 따라 혐기 처리 하여 동결건조 하였다.

나) 글루탐산 침지 발아곡물 혐기처리군의 GABA함량 및 유리 아미노산의 함량 분석

글루탐산 용액에 침지한 발아곡물의 유리 아미노산 분석은 γ-aminobutyric acid(GABA)의 분석시 사용한 전처리와 동일한 처리를 하여 분석 하였다. 유리 아미노산 분석을 위해 건조된 곡물을 40 mesh로 분쇄하여 에탄올 추출을 하였으며 40℃ 이하에서 감압 농축한 것을 증류수에 녹이고 동일 volume의 ethyl ether를 넣어 ether 층을 걷어내고 다시 감압농축을 한 후 농축된 시료를 pH 2.2 lithium citrate dilution buffer로 25 ㎖ 메스플라스크에 정용한 후 sulphosalicylic acid 1 g을 넣고 잘 혼합한 후 1시간동안 암실에서 방치하여 15분간 12,000 rpm (MEGA 17R no. 17 rotor, Hanil, Korea)으로 원심분리 하였고 얻어진 상층액을 0.45 ㎛ PVDF milipore membrane filter로 여과 후 희석하여 유리 아미노산을 분석하였으며 유리 아미노산 표준품은 SYKAM사의 유리 아미노산 표준품을 사용하였으며 분당 0.45 ㎖의 유속으로 흘려주었다.

다. 결과 및 고찰

1) 혐기처리에 의한 발아곡물내 GABA 함량강화 조건 결정

발아곡물 내 GABA 함량이 최대로 증가된 혐기처리 조건을 결정하기 위하여 녹두, 서목태, 옥수수, 메밀 중 발아가 가장 빨리 되는 녹두를 혐기처리 기준 곡물로 선정하여 증류수에 침지하여 2 ㎜길이로 발아시킨 후 0시간부터 24시간까지 3시간 간격으로 N_2 가스로 혐기처리를 한 결과 혐기처리 시간이 길어지면서 GABA의 함량은 증가되었다가 감소하고 다시 증가하는것을 보였는데, 6시간과 24시간 혐기처리구에서 39.3 ㎎/100g 43.6 ㎎/100g으로 다른 시간별 혐기처리구에 비하여 높은 값을 나타내었

으며 무혐기 발아군에 비하여 6시간 혐기처리군은 10.07배, 24시간 혐기처리군은 11.18배 증가하여 혐기처리 6시간과 24시간을 발아곡물의 GABA 함량을 최대로 증가시키는 혐기처리 조건으로 선정하였다(Table 3.).

Table 3. Determination of γ-aminobutyric acid(GABA) contents followed by periods of anaerobic treatment from GABA-enhanced of 2㎜ root length germinated mung bean.

Mung bean	Treatment time (hr)	Content of GABA (㎎/100g)
Non-germinated	0	0.81
Germinated	0	3.9
	3	13.0
	6	39.3
	9	25.8
	12	20.0
	15	19.7
	18	30.5
	21	36.8
	24	43.6

Germintation of mung bean was submurged to non-germinated mung bean seeds in 200ppm glutamic acid solution. Non-germinated mung bean used as control.

2) 글루탐산 전처리에 의한 혐기처리 발아곡물의 GABA 및 유리아미노산 함량

가) 글루탐산 전처리에 의한 혐기처리 발아곡물의 GABA함량 변화

녹두, 옥수수, 메밀, 서목태를 글루탐산 용액에 침지하여 각 곡물별로 발아 중 GABA함량이 가장 많이 증가했던 길이(녹두, 메밀, 서목태: 2㎜, 옥수수: 10 ㎜)로 발아시킨 후 6시간, 24시간 혐기처리를 하여 GABA함량 변화를 살펴본 결과 녹두는 6시간 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내었으며, 서목태는 6시간 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내었다. 메밀은 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내었으며 옥수숫는 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내어 4가지 곡물 모두 24시간 혐기처리군의 GABA함량이 크게 증가함을 보였으며(Fig. 8.), 물

침지 발아유도시 보다 글루탐산 용액 침지 발아유도시 발아곡물의 GABA함량이 더욱 높아짐을 확인할 수 있었다.

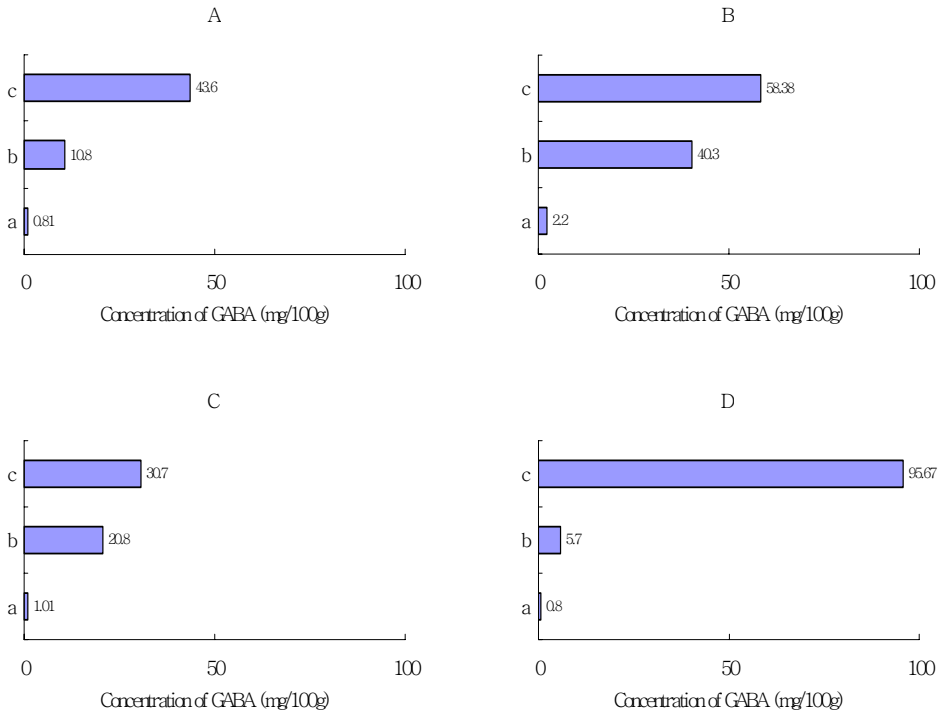


Fig. 8. Changes of γ-aminobutyric acid(GABA) contents of 4 kinds of grain seed by germinated with glutamic acid solution and treat different anaerobic condition. Mung bean, buckwheat and black bean were germinate to 2㎜ of root length in glutamic acid solution and corn was germinate to 10 ㎜ root length in glutamic acid solution. A, mung bean; B, corn; C, buckwheat; D, black bean. a, non-germinated; b, germinated with 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 6 hours; c, germinated in 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 24 hours.

나) 글루탐산 전처리에 의한 혐기처리 발아곡물의 총 유리아미노산 함량 변화

녹두, 옥수수, 메밀, 서목태를 글루탐산 용액에 침지하여 각 곡물별로 발아 중 GABA함량이 가장 많이 증가했던 길이(녹두, 메밀, 서목태: 2㎜, 옥수수: 10 ㎜)로 발아시킨 후 6시간, 24시간 혐기처리를 하여 GABA외 33종의 유리아미노산에 대한 함

량변화를 살펴본 결과 각 곡물별 총 유리아미노산의 함량이 처리시간별로 크게 증가하여 물 침지로 발아유도한 후 혐기처리한 경우와는 유리아미노산 함량변화에서 다른 양상을 보였는데, 6시간과 24시간 혐기처리구 모두 에서 총 아미노산 함량이 4가지 곡물 모두 24시간 혐기처리구가 더 증가한 것으로 나타났는데 녹두는 글루탐산발아유도 후 24시간 처리구에서 353.1 ㎎/100g으로 비발아 녹두에 비해 총 유리아미노산 함량이 1.9배 증가하였고, 옥수수는 비발아시 48.5 ㎎/100g이었던 것이 글루탐산발아유도 후 24시간 처리구에서 608.1 ㎎/100g으로 12.5배 증가하여 나타났으며, 메밀은 24시간 처리구에서 424.7 ㎎/100g으로 비발아메밀의 11.09배, 옥수수도 24시간 처리구가 비발아 옥수수에 비하여 1.8배 증가한 것으로 나타났다. 각각의 아미노산별로는 4가지 곡물 모두 alanine과 ornithine의 함량이 높게 나타났는데, alanin, ornithine외의 다른 아미노산에 대하여 녹두는 threonine, glutamic acid, cltrulline, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, 3-methylhistidine이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타났으며 옥수수는 threonine, serine, asparagine, glutamic acid, proline, cltrulline, valine, cystine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine 이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타났다. 또한 메밀은 hreonine, serine, glutamic acid, cltrulline, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine이 이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타났고, 서목태는 glutamic acid, cltrulline, valine, phenylalanine이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타나 글루탐산 침지 발아유도 후 혐기처리한 곡물은 여러 유리아미노산의 함량 또한 강화되었음을 알 수 있었다(**Fig. 9,**). .

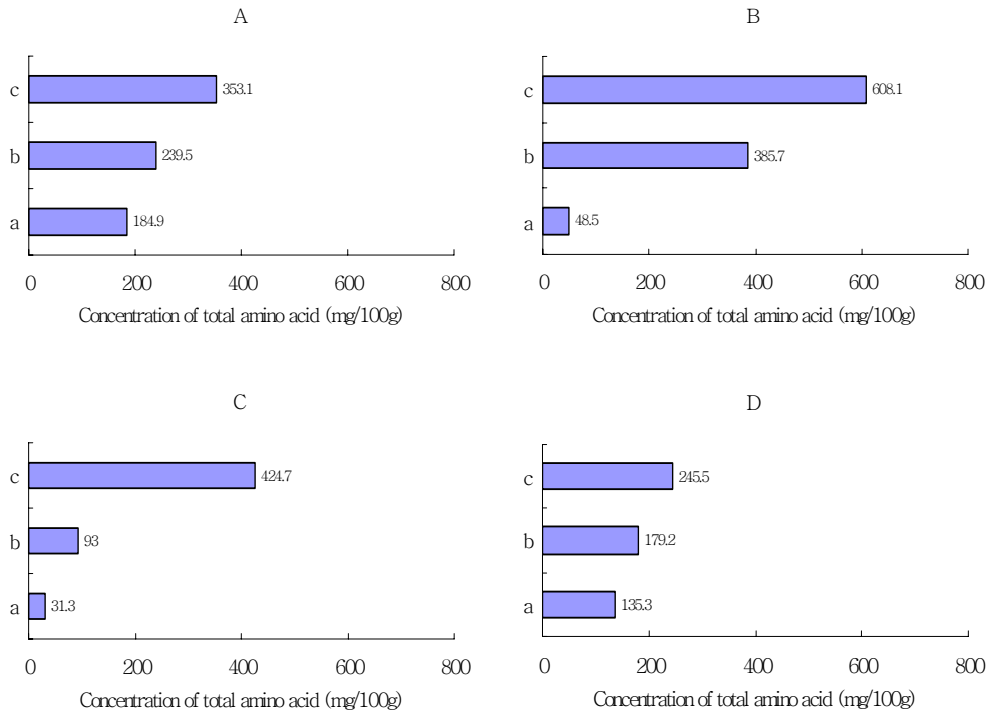
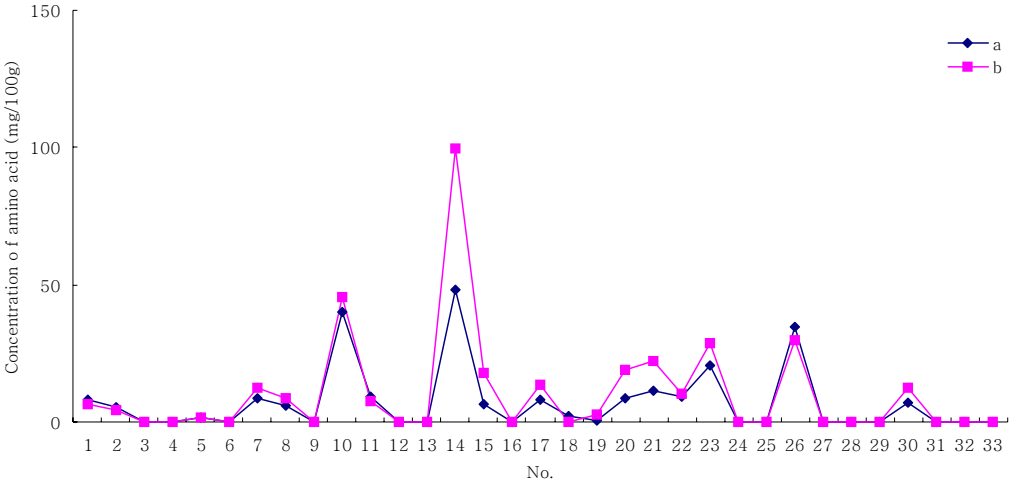
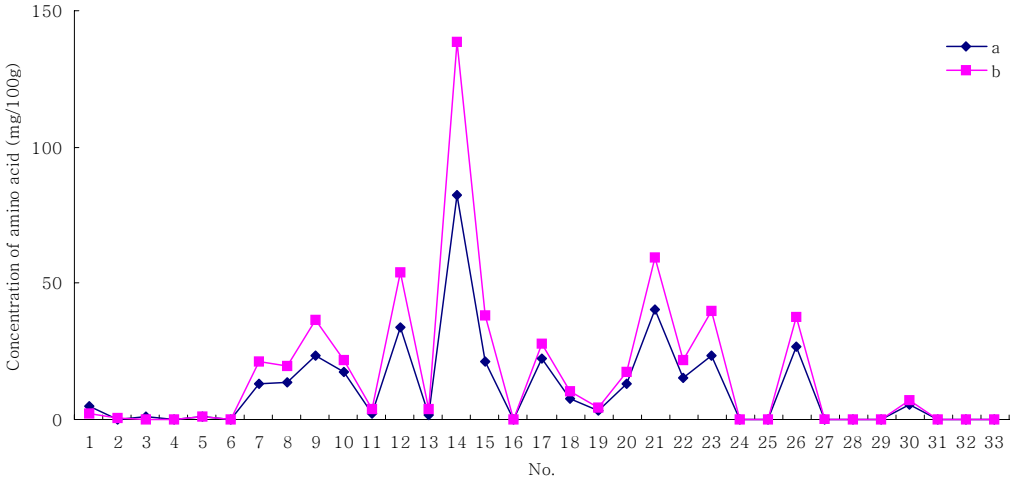


Fig. 9. Changes of total free amino acid contents of 4 kinds of grain seed by germinated with glutamic acid solution and treat different anaerobic condition. A., mung bean; B., corn; C., buck wheat; D., black bean. a, non-germinated; b, germinated with 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 6 hours; c, germinated in 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 24 hours.

A


150
100
50
0
Concentration o f amino acid (mg/100g)
a
b
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33
No.

B


150
100
50
0
Concentration of amino acid (mg/100g)
a
b
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33
No.

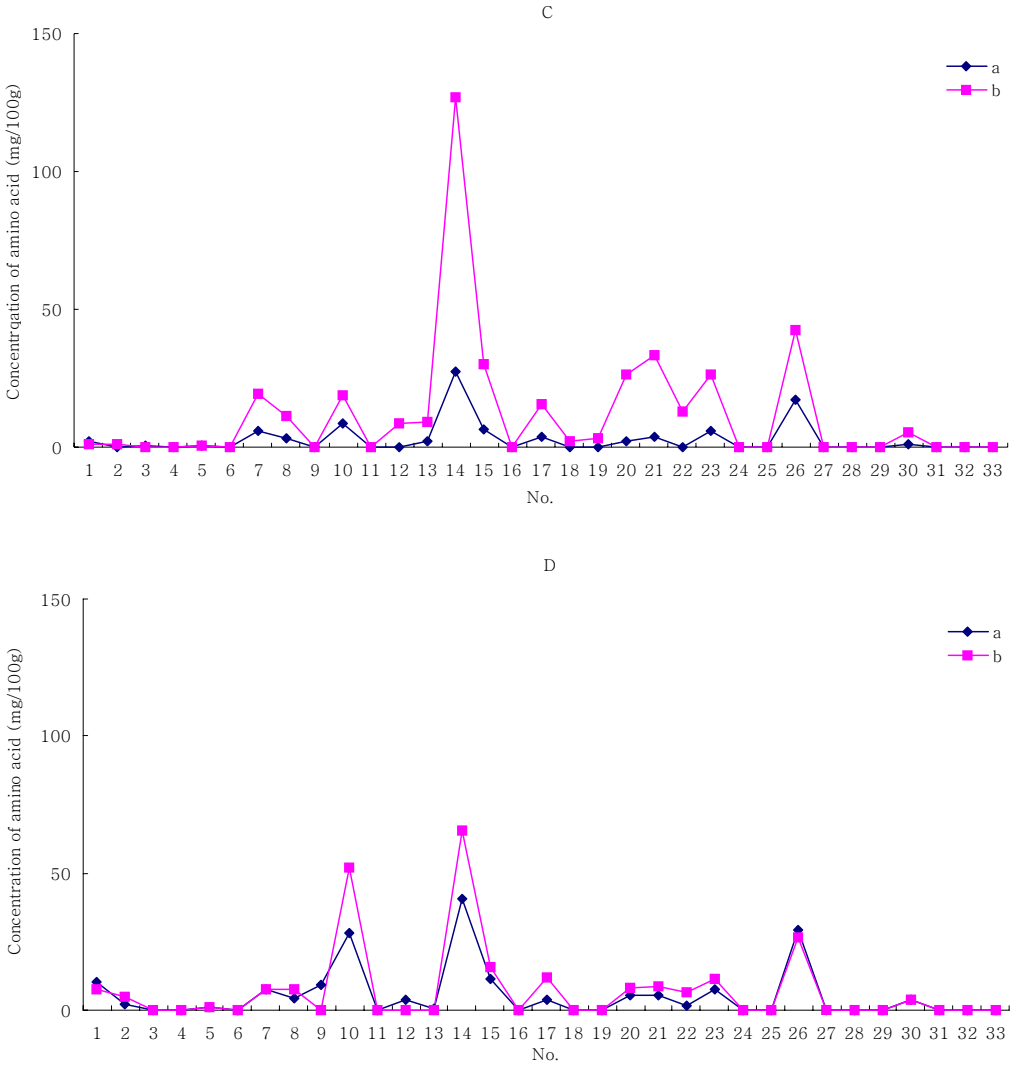


Fig. 10. Changes of free amino acid contents of 4 kinds of germinated grain seed by germinated with glutamic acid solution and treat different anaerobic condition.

Free amino acids	Grain seeds (㎎/100g)							
	Mung bean		Corn		Buckwheat		Black bean	
	a	b	a	b	a	b	a	b
phosphoserine	8	6.4	5.1	2.2	2.4	1	10.3	7.7
taurine	5.3	4.6	0	0.8	0	1	2.2	4.7
phosphoethanolamine	0	0	1	0	0.4	0	0	0
urea	0	0	0	0	0	0	0	0
aspartic acid	1.8	1.7	1.1	1.3	0.6	0.7	0.9	1.2
hyroxyproline	0	0	0	0	.0	0	0	0
threonine	8.6	12.3	13.2	21.5	6.1	19.3	7.6	7.6
serine	5.9	8.8	13.5	19.4	3.2	11.3	4.6	7.7
asparagine	0	0	23.2	26.4	0	0	9.1	0
glutamic acid	40.2	45.3	17.5	21.9	8.4	19	28.3	52.2
α-aminoadipic acid	9	7.8	2.4	3.8	0	0	0	0
proline	0	0	34	53.9	0	8.4	3.7	0
glycine	0	0	1.9	3.8	2.2	8.9	0.5	0
alanine	48.3	99.5	82.1	138.5	27.3	127.1	40.8	65.4
cltrulline	6.6	17.6	21.4	38.3	6.6	29.9	11.6	15.8
α-aminobutyrid acid	0	0	0	0	0	0	0	0
valine	8.3	13.7	22.1	28	3.7	15.8	3.6	11.8
cystine	2.2	0	7.9	10.1	0	2.1	0	0
methionine	0.7	2.6	3.3	4.4	0	3.1	0	0
isoleycine	8.7	19	13.3	17.3	2.3	26.4	5.5	8.3
leucine	11.2	22	40.4	59.7	4	33.1	5.5	8.8
tyrosine	9	10.2	15.5	21.9	0	12.9	1.8	6.7
phenylalanie	20.4	28.7	23.4	39.9	5.7	26.3	7.7	11.5
β-alanine	0	0	0	0	0	0	0	0
β-aminoisobutyric acid	0	0	0	0	0	0	0	0
ornithine	34.4	29.7	26.8	37.5	17	42.5	29.3	26.7
lysine	0	0	0	0	0	0	0	0
1-methlhistidine	0	0	0	0	0	0	0	0
histidine	0	0	0	0	0	0	0	0
3-methylhistidine	6.9	12.6	5.6	7	1	5.2	3.9	3.6
tryptophane	0	0	0	0	0	0	0	0
carnosine	0	0	0	0	0	0	0	0
arginine	0	0	0	0	0	0	0	0
total	235.6	342.3	374.5	567.8	90.8	390	177	239.8

A., mung bean; B., corn; C., buck wheat; D., black bean; a, germinated with 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 6 hours.; b, germinated in 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 24 hours. N.G., non-germinated; G.an6h, germinated with 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 6 hours; G.an24h, germinated in 200 ppm glutamic acid solution then treat N_2 gas during 24 hours.

라. 적 요

1) 혐기처리에 의한 발아곡물내 GABA 함량강화 조건 결정

발아된 녹두, 서목태, 옥수수, 메밀을 0시간부터 24시간까지 3시간 간격으로 N_2 가스로 혐기처리를 한 결과, 6시간과 24시간 혐기처리구에서 39.3 ㎎/100g 43.6 ㎎/100g으로 다른 시간별 혐기처리구에 비하여 높은 값을 나타내었으며 무혐기 발아군에 비하여 6시간 혐기처리군은 10.07배, 24시간 혐기처리군은 11.18배 증가하여 혐기처리 6시간과 24시간을 발아곡물의 GABA 함량을 최대로 증가시키는 혐기처리 조건으로 선정하였다

2) 글루탐산 전처리에 의한 혐기처리 발아곡물의 GABA 및 유리아미노산 함량

글루탐산 전처리에 의한 혐기처리 발아곡물의 GABA함량 변화 : 녹두, 옥수수, 메밀, 서목태를 글루탐산 용액에 침지하여 각 곡물별로 발아 중 GABA함량이 가장 많이 증가했던 길이(녹두, 메밀, 서목태: 2㎜, 옥수수: 10 ㎜)로 발아시킨 후 6시간, 24시간 혐기처리를 하여 GABA함량 변화를 살펴본 결과 녹두는 6시간 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내었으며, 서목태는 6시간 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내었다. 메밀은 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내었으며 옥수숫는 혐기처리구에서 10.8 ㎎/100g, 24시간 혐기처리구에서 43.6 ㎎/100g GABA함량을 나타내어 4가지 곡물 모두 24시간 혐기처리군의 GABA함량이 크게 증가함을 보였다.

글루탐산 전처리에 의한 혐기처리 발아곡물의 유리아미노산 함량 변화 : 녹두, 옥수수, 메밀, 서목태를 글루탐산 용액에 침지하여 각 곡물별로 발아 중 GABA함량이 가장 많이 증가했던 길이(녹두, 메밀, 서목태: 2㎜, 옥수수: 10 ㎜)로 발아시킨 후 6시간, 24시간 혐기처리를 하여 GABA외 33종의 유리아미노산에 대한 함량변화를 살펴본 결과 각 곡물별 총 유리아미노산의 함량이 처리시간별로 크게 증가하여 물 침지로 발아유도한 후 혐기처리한 경우와는 유리아미노산 함량변화에서 다른 양상을 보였는데, 6시간과 24시간 혐기처리구 모두 에서 총 아미노산 함량이 4가지 곡물 모두 24시간 혐기처리구가 더 증가한 것으로 나타났는데 녹두는 글루탐산발아 유도 후 24시간 처리구에서 353.1 ㎎/100g으로 비발아 녹두에 비해 총 유리아미노산 함량이 1.9배 증가하였고, 옥수수는 비발아시 48.5 ㎎/100g이었던 것이 글루탐산발아 유도 후 24시간 처리구에서 608.1 ㎎/100g으로 12.5배 증가하여 나타났으며, 메밀은 24시간 처리구에서 424.7 ㎎/100g으로 비발아메밀의 11.09배, 옥수수도 24시간 처리구가 비발아 옥수수에 비하여 1.8배 증가한 것으로 나타났다. 각각의 아미노산별로는 4가지 곡물 모

두 alanine과 ornithine의 함량이 높게 나타났는데, alanin, ornithine외의 다른 아미노산에 대하여 녹두는 threonine, glutamic acid, cltrulline, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, 3-methylhistidine이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타났으며 옥수수는 threonine, serine, asparagine, glutamic acid, proline, cltrulline, valine, cystine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine 이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타났다. 또한 메밀은 hreonine, serine, glutamic acid, cltrulline, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine이 이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타났고, 서목태는 glutamic acid, cltrulline, valine, phenylalanine이 10 ㎎/100g 이상 함유되어 있는 것으로 나타나 글루탐산 침지 발아유도 후 혐기처리한 곡물은 여러 유리아미노산의 함량 또한 강화되었음을 알 수 있었다.

제 2 절 곡물종자(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수)의 발아길이별 추출물과 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 생리활성 탐색 및 검증

1. 서 론

콩의 경우 발아가 진행되는 과정에서 골다골증과 순환기 질환 그리고 뇌졸중 예방효과와 암세포의 증식 신호를 전달하는 tyrosine kinase의 억제 작용이 있는 이소플라본이 증가하고, 또한 이소플라본의 흡수는 아글리콘 형태가 배당체 보다 더 빠르게 흡수되는데 발효와 발아와 같은 수침시에 자체의 beta-glucosidase에 의해 아글리콘으로 전환되어 이소플라본의 흡수를 촉진할 뿐만 아니라, 무기질의 이용을 돕는 피트산은 감소하였고, 장내 유익균의 생성을 돕는 올리고당도 증가되었다는 보고가 있다. 녹두는 전체 질소와 회분의 함량이 증가하였고, phytase의 활성 변화로 무기물의 생물학적 이용도가 증가하며, 배축은 protease의 활성이 1% 수준내에서 유의적으로 활성이 증가하며, 또한 중성지질, 인지질, 당지질의 함량이 감소하였고, 극성 지질의 함량은 증가하였으며, 발아 기간 동안 triglyceride의 함량은 지속적으로 감소하였고, free fatty acid의 함량은 증가하였으며, 배축부와 자엽부는 발아 중 여러 지방산의 분

포를 보이므로 복잡한 지질대사를 보이고 있으며, 배축부에는 stearic acid, palmitic acid, linoleic acid,, linolenic acid가 주요 지방산이고 자엽부에는 linoleic acid가 주종을 이루는 지방산으로 분석되었다.

옥수수는 수분, 회분, 조단백의 함량은 증가하였으나 조지방은 48시간 까지는 약간 증가하다가 계속적인 발아에 의해 점진적으로 감소하는 경향을 보였으며, 총 tocopherol은 초기에는 4.09% 이다가 발아 기간에 따라 증가하며, 동족체로는 alpha> gamma> beta> delta의 순으로 축적되었고, 옥수수의 methanol 추출물은 지질 과산화의 초기 물질인 hydroperoxide의 생성을 억제하여 144시간 후에는 5% 감소하였고, 또한 항산화 효과는 천연 항산화제인 alpha-tocopherol 보다 높았으며, NADPH-dependent lipid peroxidation을 통한 지질 과산화 후기 생성물인 malondialdehyde의 함량도 감소하므로서 지질 과산화 억제 효과가 발아전에 비해 6-14% 높은 것으로 보고되었다.

또한 흰쥐에게 발아시킨 옥수수의 분말을 급여한 결과 혈청 중의 HDL-cholesterol의 농도와 인지질의 함량은 유의적으로 증가하였으며, 간장중의 총 cholesterol 함량을 저하시키는 것으로 보고 되었다.

2. 재료 및 방법

가. DPPH radical 소거능에 의한 추출물의 항산화활성 분석

1) 시료의 추출 및 조제

각 시료를 동결 건조하여 분쇄기로 곱게 마쇄한 후 건물양의 5배에 해당하는 에탄올을 첨가하여 상온에서 2회 추출하였다. 이 추출액을 감압 농축하여 핵산으로 탈지한 후 동결 건조하여 사용하였다.

2) 항산화활성 측정

항산화활성 검색은 DPPH법을 이용하여 시료의 radical 소거효과를 측정하는 Blois의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 1×10^{-4}M DPPH와 농도별 추출물을 각각 100 $\mu\ell$씩 취하여 혼합한 30분간 암 상태에서 방치한 후 잔존 radical 농도를 ELISA Reader(Bio-RAD, USA)를 이용하여 517 nm에서 측정하였다. 시료의 환원력의 크기는 라디칼 소거활성(Scavenging activity)으로 표시하며, RC_{50}은 DPPH 농도가 1/2로

감소하는데 필요한 시료의 양(㎍)으로 나타내었으며 항산화 물질로 잘 알려진 BHT (butylated hydroxytoluene)와 Vitamin C(ascorbic acid)와 비교하였다.

DPPH radical scavenging activity(%) = (Ac-As)/Ac × 100
Ac : 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도
As : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

나. 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 Chemosensitizing effect 분석

1) 세포주 및 세포배양

인체 백혈암 세포주인 AML-2/WT 세포와 동일세포를 daunorubicin의 농도를 점차 증가시키면서 배양하여 내성을 유도한 AML-2/D100 세포를 실험에 사용하였다. AML-2/WT과 AML-2/D100 세포는 Fetal bovine serum 10%와 항생제를 함유한 α-MEM배지를 사용하여 37℃의 5% CO_2 조건에서 배양하였으며, AML-2/D100 세포는 내성을 유지하기 위해 실험하기 일주일 전에 100 nM의 daunorubicin을 처리하여 3회 이상 추가배양한 후 사용하였다.

2) 다제내성 조절 활성 검색

세포의 미토콘드리아 효소가 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]를 환원시켜 formazan을 형성시킬 수 있음을 근거로 formazan의 농도를 측정함으로써 생존한 세포수를 측정하는 Twentylman과 Luscombe (1987)의 MTT 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 96 well microplate (Falcon, USA)에 측정하고자 하는 약물을 10 ㎕씩 넣고 감수성 세포인 AML-2/WT과 내성 세포인 AML-2/D100 세포주를 2×10^5cells/㎖이 되도록 한 세포부유액을 90 ㎕씩 각각 넣었다. 이때 약물대신 phosphate buffered saline을 넣어 대조군으로 삼고, 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 삼았다. 96 well microplate를 잘 흔든 후 CO_2 배양기내에서 3일간 배양 후 모든 well에 MTT 용액(5 ㎎/㎖ PBS, Sigma, USA) 10 ㎕씩을 가해주고 다시 37℃, 5% CO_2의 습윤 배양기에서 4시간 동안 반응하여 MTT가 환원되도록 하였다. 각 well에 생성된 formazan결정을 0.04 N HCl-isopropanol 용액 100 ㎕로 잘 녹여서 microplate reader(Bio-Tek, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정

하였다. 시료농도에 따른 세포 생존 정도는 대조군의 흡광도와 비교하여 백분율로 나타내었으며 각 세포들의 항암제 내성생성 정도 및 내성극복효과는 vincristine 존재하에서 IC_{50}을 비교하여 교차 내성배수와 내성극복배수를 결정하였다.

다. 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향

1) 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용한 세포는 인간유래 암세포주로서 폐암 세포인 Calu-6, 유방암 세포인 MCF-7, 위암 세포인 SNU-601, 대장암 세포인 Caco-2를 사용하였다. Calu-6, MCF-7, SNU-601은 RPMI1640 복합배지를, Caco-2는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)을 이용하여 10% Fetal Bovine Serum와 항생제(Antibiotic antimycotic)를 첨가하여 37℃, 5% CO_2의 습윤화 된 incubator에서 적응시켜 배양하였다. 세포는 dish의 80% 정도 자랐을 때 PBS로 세척하여 Trypsin-EDTA (GibCo/BRL)을 처리하여 2-3일마다 계대 배양하였다.

2) 암세포 증식 억제 효과의 분석

인간의 암세포주인 대장암세포(Caco-2), 폐암세포(Calu-6), 유방암세포(MCF-7) 및 위암세포(SNU-601)에 대한 곡물(녹두, 메밀, 옥수수, 서목태) 추출물의 생육억제효과를 분석하기 위해 MTT 방법을 약간 변형하여 3반복으로 세포 독성도를 측정하였다.

96 well microplate (Fallcon, USA)의 각 well에 대수기에 도달한 인체암세포주를 3×10^4 cell/㎖의 농도가 되도록 조절하여 세포 부유액을 90 ㎕씩 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 각각의 시료는 농도별로 10 ㎕씩 첨가하였고, 이때 약물대신 phosphate buffered saline(PBS)을 넣어 세포의 대조군으로 삼고, 세포대신 배양액만을 넣어 blank로 삼았다. CO_2 배양기내에서 3일간 배양 후 모든 well에 MTT용액(5 ㎎/㎖ PBS, Sigma, USA) 10 ㎕씩을 가해주고 다시 37℃, 5% CO_2의 습윤 배양기에서 4시간 동안 반응하여 MTT가 환원되도록 하였다. 각 well에 생성된 formazan결정을 DMSO 150 ㎕로 잘 녹여서 microplate reader (Bio-Rad, USA)를 이용하여 540 ㎚에서 흡광도를 측정하여 측정된 흡광도로부터 아래의 방법으로 생존한 세포의 비율을 구하였다.

$$\text{Percent of viable cells (\%)} = \frac{\text{optical density with cytotoxic drug}}{} \times 100$$

optical density without cytotoxic drug

라. 추출물의 항미생물 활성테스트

순수 분리된 각 균주의 단일집락을 취해 1 백금이 취해 100 ㎖의 균 생육 액체 배지에 접종하여 각각 균주의 생육적온에서 18~24시간씩 3회 배양한 후 항균활성 시험균주로 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 1.5%의 한천이 첨가된 생육배지를 멸균하여 petridish에 20 ㎖씩 분주하여 기층용 배지를 응고시키고, 0.7% 한천이 첨가된 중층용 배지를 각각 3 ㎖씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 식품의 부패와 식중독에 관련된 그람 양성균 4종과 그람 음성균 4종의 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균 농도를 660 ㎚에서 흡광도를 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.1㎖를 무균적으로 가하여 잘 혼합한 다음 기층용 배지 위에 분주한 다음 고르게 응고시켜 2중의 균접종 중층배지를 만들어 사용하였다. 일반재배와 친환경재배 곡물의 항균활성 검색은 한천배지 확산법(cup hole method)으로 측정하였다(Piddocket, 1990; Bauer *et al*., 1996). 즉, 20 ㎎/㎖ 농도의 녹두, 서목태, 옥수수, 그리고 메밀 추출물을 0.45㎛ membrane filter(Millipore Co., USA)로 여과하여 제균한 다음 멸균된 미리 천공(5 ㎜)된 평판에 20 ㎕(4 ㎎)씩 흡수시킨 후, 추출용매를 무균적으로 풍건하여 완전히 날려 보내고 각각 균의 생육적온에서 24~48시간 동안 배양한 다음 hole 주변에 형성된 억제환의 직경(㎜)을 측정하여 항균활성을 비교하였다. 이때 각 시료를 녹이기 위해 사용한 용매 및 계면활성제에 대한 공실험을 실시하였다.

마. 추출물의 혈전분해활성 분석

1) 조단백질 시료의 조제

동결건조 된 시료 20 g을 분쇄한 후 20 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4)을 100 ㎖ 가하여 균질화시켰다. Sonicator(Vibra cell, High infensity ultrasonic liquid processor)한 후 4℃에서 하루동안 추출하고 이를 4℃, 12000 rpm, 60분간 원심분리하여 상층액을 회수하여 여과(adventec, 185 mm)시킨 다음 이 여과액을 조단백질 용액으로 사용하였다.

2) 단백질 분해활성측정

1.5% skim milk 0.15 g과 2% agarose 0.2 g을 증류수에 넣어 끓여 고화시켜 skim milk plate을 조제하였다. skim milk plate에 구멍을 내어 각 조단백질 추출물 20 ㎕을 점적 한 후 37℃ incubator에서 15시간 반응시켜 trypsin 용해면적에 대한 시료의 상대적인 용해면적 비율로 환산하여 산출하였다.

3) 혈전용해활성 측정

1.2% agarose 0.12 g을 증류슈 16 ㎖을 넣어 끓여서 식힌 후 1% fibrinogen을 0.12%가 되게 넣고 thrombin(1000 NIH unit/㎖) 100 ㎕을 첨가하여 1시간 동안 실온에서 고화시켜 fibrin plate을 조제하였다. Fibrin plate에 구멍을 내어 각 조단백질 추출물 10 ㎕을 점적하였고 대조군으로 정제된 혈전용해효소인 plasmin(Calbiochem Co.)을 점적하였다. 이를 37℃ 에서 15시간 반응시켜 plasmin 용해면적에 대한 시료의 상대적인 용해면적 비율로 환산하여 산출하였다.

바. Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 추출물의 효과분석

대조군, 실험군 흰쥐에 글리세롤을 주입하기 전 24시간 동안 흰쥐에 물의 공급을 차단하여 탈수시킨 후 50% 글리세롤을 10 ㎖/㎏ 되도록 대퇴근의 양측에 나누어 주입하였으며, 실험군은 제조된 시료를 100 ㎎/㎏ 농도로 생리식염수에 녹여 복강주사한 후 1주일 후에 혈청을 분리하여 생화학적 검사를 실시하였다. 대조군에는 시료 추출물 대신 생리 식염수를 복강에 주입하였다. 혈액 채취는 심장 천자를 통하여 하였으며, 이를 실온에 30분 이상 방치한 다음 800×g에서 25분간 원심 분리하여 얻은 혈청으로부터 creatinine · glucose 및 BUN을 측정용 kit(아산제약 주식회사, Korea)을 이용하여 측정하였다. 혈청 중 전해질 농도는 전해질 분석기(Medica, 한국)를 이용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 추출물의 항산화활성

1) 곡물종자(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수)의 발아길이별 추출물과 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 항산화활성

곡물종자(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수)의 발아길이별(0, 2, 5, 10 ㎜) 추출물과 혐기처리된 발아곡물(녹두・메밀・서목태 2 ㎜, 옥수수 10 ㎜)추출물의 DPPH radical 소거능에 의한 항산화 활성을 **Fig. 1~8**에 나타내었다.

가) 발아녹두 추출물의 항산화효과

(1) 발아길이별 녹두 추출물의 항산화활성 비교

농도별(1, 2, 3, 4 ㎎/㎖)로 free radical 소거 활성을 측정한 결과, 녹두추출물은 다른 곡물에 비해 전자공여능이 낮은 편으로 1~2 ㎎/㎖의 농도에서는 소거율이 거의 없었으나 4 ㎎/㎖의 농도에서 10 ㎜로 발아된 녹두가 25.95%의 소거율을 보여 낮은수준의 항산화 효과를 보였다(**Fig. 11**).

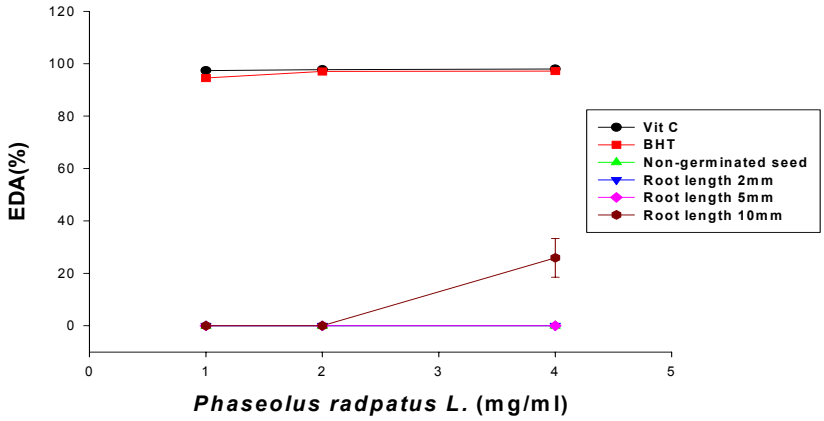


Fig. 11. Antioxidant activity of *phaseolus radpatus* L.(mung bean) extracts followed by germinated length. BHT(butylated hydroxytoluene); Vit C(ascorbic acid)

(2) GABA함량이 강화된 발아녹두(발아길이 2 ㎜) 추출물의 항산화활성

Gaba함량을 기준으로 녹두의 발이길이를 결정하여 2 ㎜일 때 비발아와 혐기처리된 발아추출물을 대상으로 DPPH에 대한 항산화활성을 측정한 결과 2 ㎎/㎖에서 비발아 추출물은 7.31%, 2 ㎜ 발아추출물은 16.25%, 혐기처리 한 추출물은 16.41% 로 DPPH radical의 소거능을 보여 혐기처리 추출물에서 항산화활성이 가장 높음을 알

수 있었다(Fig. 12).

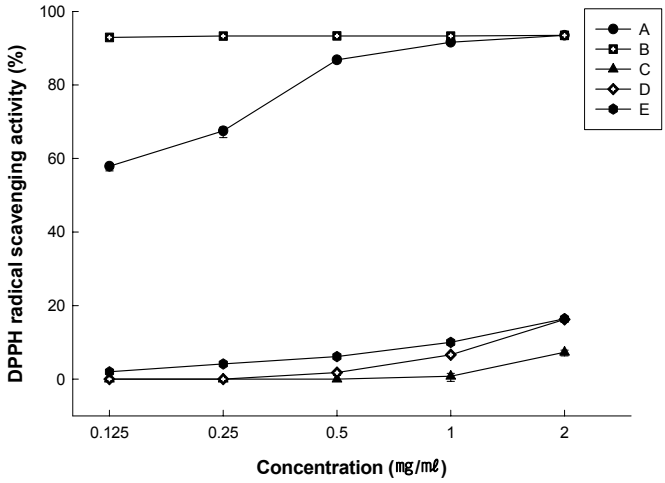


Fig. 12. Antioxidant activity of *phaseolus radpatus* L.(mung bean) extracts followed by germinated condition. A, BHT(butylated hydroxytoluene); B, Vit C(ascorbic acid); C, non-germinated seed; D, germinated 2mm seed; E, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

나) 발아옥수수 추출물의 항산화효과

(1) 발아길이별 옥수수 추출물의 항산화활성 비교

옥수수 추출물은 1 ㎎/㎖의 농도에서 발아 길이가 10 ㎜ 일때 41.68% 로 발아길이 5 ㎜ 와 2 ㎜ 일때 각각 36.69%, 31.45% 보다 높은 수준의 소거율을 보여 발아 길이가 길수록 전자공여능이 높게 나타났다. 또한 추출물의 농도가 높을수록 전자공여능이 높게 나타난 것으로 보아 DPPH radical 소거율이 농도 의존적인 효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 13).

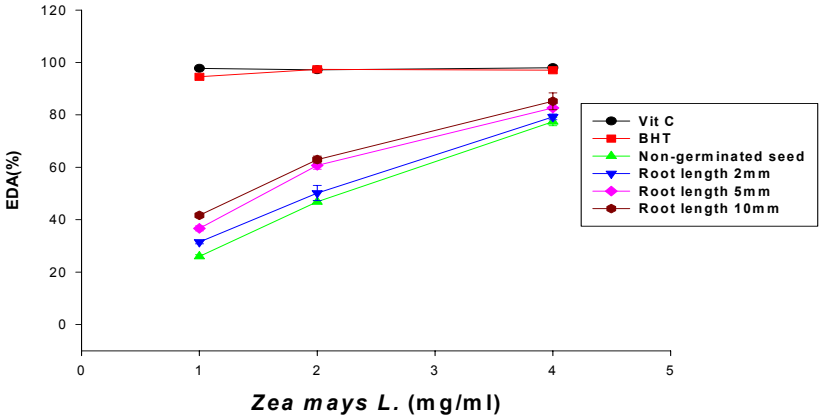


Fig. 13. Antioxidant activity of *Zea mays* L.(corn) extracts followed by germinated length. BHT(butylated hydroxytoluene); Vit C(ascorbic acid).

(2) GABA함량이 강화된 발아옥수수(발아길이 10 ㎜) 추출물의 항산화활성 비교

GABA함량을 기준으로 옥수수의 발아길이를 결정하여 10 ㎜일 때 비발아와 혐기처리된 발아 추출물의 항산화 활성을 비교하였다. 그 결과 2 ㎎/㎖에서 비발아 추출물은 26%, 10 ㎜ 추출물은 40%, 혐기처리된 10 ㎜ 추출물은 70%의 DPPH radical 소거율을 보여 혐기처리에 의해 항산화 활성이 30% 정도 증가됨을 확인하였다(Fig. 14).

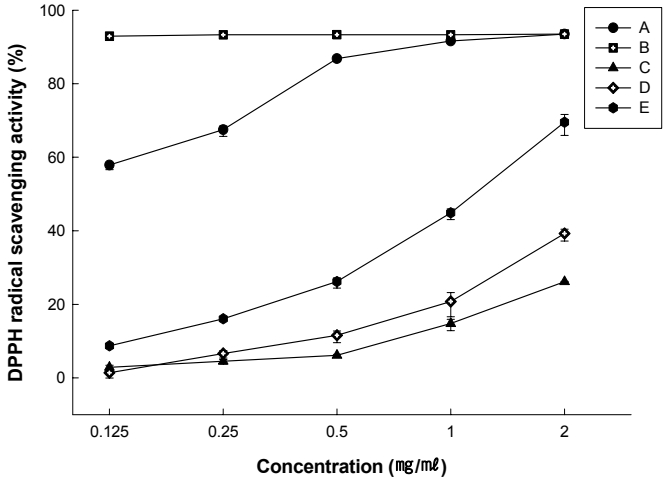


Fig. 14. Antioxidant activity of *Zea mays* L.(corn) extracts followed by germinated condition. A, BHT(butylated hydroxytoluene); B, Vit C(ascorbic acid); C, non-germinated seed; D, germinated 10mm seed; E, germinated 10mm seed of anaerobic treatment.

다) 메밀 추출물의 항산화효과

(1) 발아길이별 메밀추출물의 항산화활성

메밀추출물은 옥수수, 녹두, 서목태 추출물과 비교하여 가장 높은 항산화능을 보였고, 비발아 추출물이 발아길이 2· 5·10 ㎜ 추출물보다 항산화 효과가 높았으며 1 ㎎/㎖의 농도에서 0 ㎜ >5 ㎜ >10 ㎜ >2 ㎜순으로 나타났다(Fig. 15).

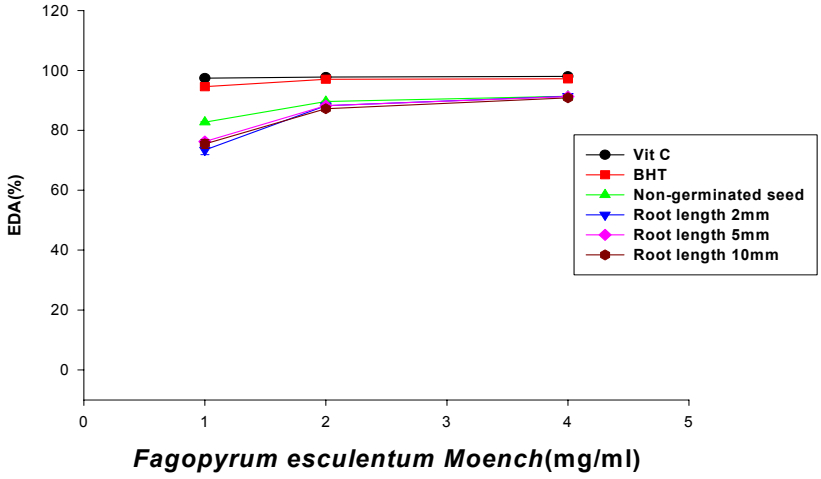


Fig. 15. Antioxidant activity of *Fagopyrum esculentum Moench*(bukcwheat) extracts followed by germinated length. BHT(butylated hydroxytoluene);Vit C(ascorbic acid).

(2) GABA함량이 강화된 발아메밀(2 ㎜) 추출물의 항산화활성

GABA함량을 기준으로 메밀의 발아길이를 결정하여 2 ㎜일 때 비발아와 혐기처리된 발아 추출물의 항산화활성을 비교하였다. 비발아 추출물과 혐기발아 추출물은 유사한 항산화 활성을 보였고 발아 2 ㎜ 추출물일 때 가장 낮은 항산화활성을 보였다.

발아조건별 추출물에서는 혐기처리에 의한 발아 추출물이 발아추출물보다 1.5배 높은 항산화 활성을 보였다(Fig. 16, Table 5).

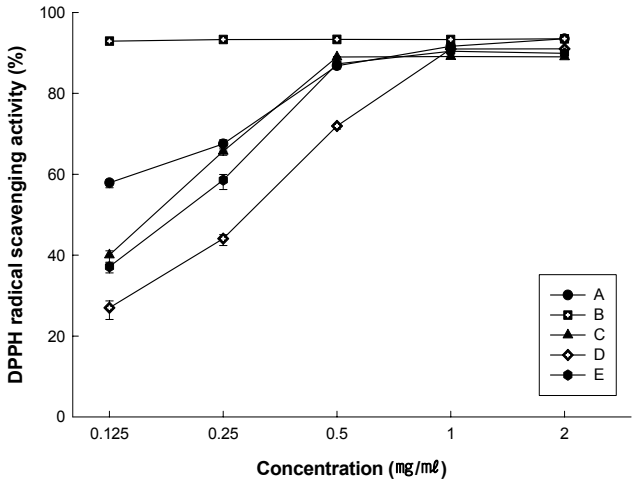


Fig. 16. Antioxidant activity of *Fagopyrum esculentum Moench*(bukcwheat) extracts followed by germinated conditions. A, BHT(butylated hydroxytoluene); B, Vit C(ascorbic acid); C, non-germinated seed; D, germinated 2mm seed; E, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

Table. 5. DPPH radical scavenging activity of ethanol extracts of buckwheat at germinated conditions.

Buckwheat	RC_{50}[1] (㎍/㎕)
non-germinated	171 ± 0.98[2]
2 ㎜ germinated	304 ± 1.33
2 ㎜ germinated anaerobic treatment	198 ± 1.21
BHT[3]	103 ± 1.23

[1]Dose required for a 50% reduction of DPPH radical at 517nm
[2]Each value is mean ± S.D. (n=3)
[3]butylated hydroxytoluene

라) 발아서목태 추출물의 항산화효과

(1) 발아길이별 서목태 추출물의 항산화활성

서목태의 발아 길이별(비발아, 2 ㎜ , 5 ㎜, 10 ㎜)추출물과 혐기처리한 2 ㎜ 발아 추출물을 대상으로 DPPH radical 소거능에 대한 항산화 활성을 측정한 결과 2 ㎎/㎖ 농도에서 비발아 추출물은 발아 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜ 추출물보다 각각 2.6%, 7.2%, 6.8% 씩 높은 수치를 보였으나 유의할만한 수준의 효과는 없었다(Fig. 17).

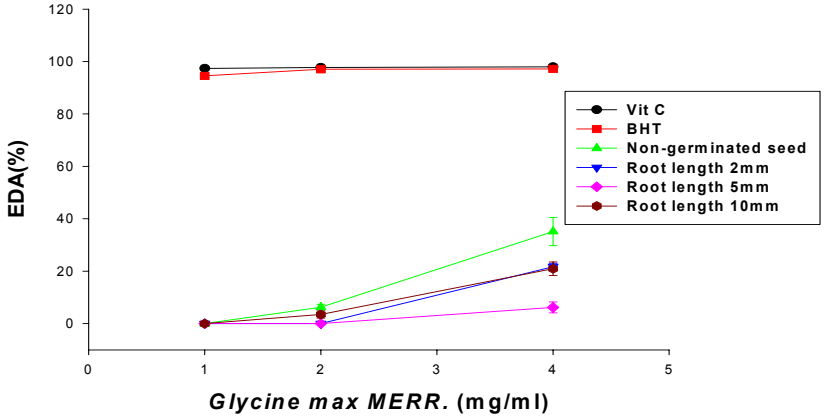


Fig. 7. Antioxidant activity of *Glycine max merr.*(black bean; seomoktae) extracts followed by germinated length. BHT(butylated hydroxytoluene);Vit C(ascorbic acid).

(2) GABA 함량이 강화된 발아서목태(발아길이 2 ㎜) 추출물의 항산화활성

GABA함량을 기준으로 서목태의 발아길이를 결정하여 2 ㎜일 때 비발아와 혐기처리 된 발아 추출물을 비교하였고 발아길이별로 항산화활성을 측정하였다. 서목태의 발아길이별 항산화 활성은 2 ㎜ 추출물에서 가장 높았고 혐기처리된 발아추출물은 2 ㎜추출물보다 3배이상 항산화효과가 높게 나타났다(Fig. 18).

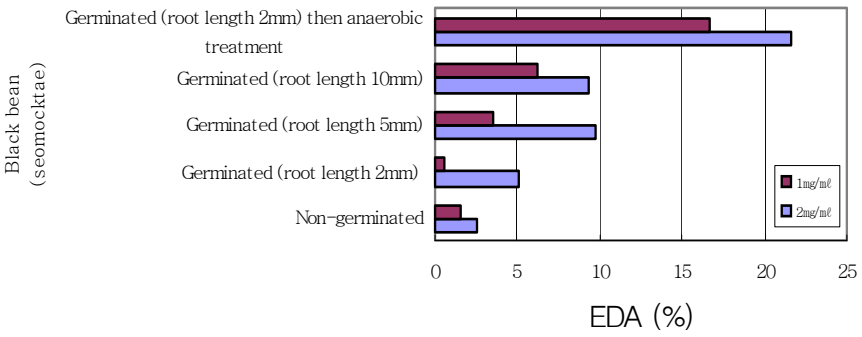


Fig. 18. Antioxidant activity of black bean(seomoktae) extract followed by germinated condition.

마) 발아현미 추출물의 항산화효과

발아곡물의 항산화 활성에 대한 양성대조군으로서 발아현미의 항산화활성을 비교하기 위해 시중에서 구입한 발아현미(미실란)를 같은 방법으로 추출하여 항산화 활성을 측정하였다. **Fig. 19** 에 나타난 바와 같이 발아현미는 2 ㎎/㎖의 농도에서 23.79%의 DPPH radical 소거능을 나타내어 같은 농도의 발아녹두(2 ㎜; 16.25%), 발아 서목태(2 ㎜; 5.15%)에 비하여 항산화 활성이 높았으나 발아옥수수(10 ㎜; 39.26%)와 발아 메밀(2 ㎜; 90.99%)에 비하여 상당히 낮은 항산화활성을 보였다.

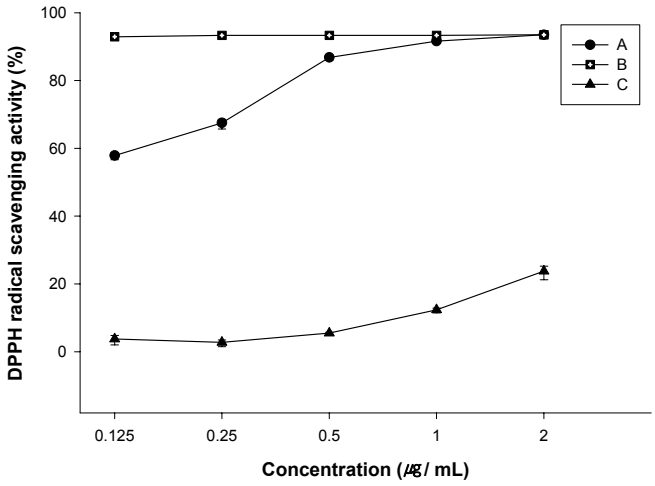


Fig. 19. Antioxidant activity of ethanol extract from germinated brown rice by DPPH method. A, BHT(butylated hydroxytoluene); B, Vit C(ascorbic acid); C, germinated rice.

2) 친환경재배 및 일반재배 발아곡물의 항산화활성 비교

높은 항산화활성을 보였던 옥수수와 메밀을 시료로 하여 친환경재배와 일반재배로 구별하여 농도별 항산화활성의 차이를 살펴보았다.

가) 친환경재배 및 일반재배 옥수수의 발아 길이별 항산화활성

친환경재배 옥수수 추출물은 1 ㎎/㎖의 농도에서 발아 길이별로 0 ㎜, 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜일때 각각 26.1%, 31.45%, 36.69%, 41.68% 의 DPPH radical 소거능을 보여 발아 길이가 길수록 항산화 활성이 증가됨을 알 수 있었다. 또한 농도의존적으로 고농도로 갈수록 항산화 활성이 증진됨을 확인하였다. 일반재배 옥수수 추출물은 0 ㎜에서 4 ㎎/㎖일 때 60.45%, 2 ㎎/㎖은 32.41%로 발아된 추출물보다 높은 항산화 활성을 보였으나 1 ㎎/㎖ 농도에서 10 ㎜ 발아추출물의 DPPH radical 소거율이 18.76%로 0 ㎜, 2 ㎜, 5 ㎜ 발아추출물보다 각각 3.23%, 3.54%, 2.82%씩 높게 나타났다(**Fig. 20**).

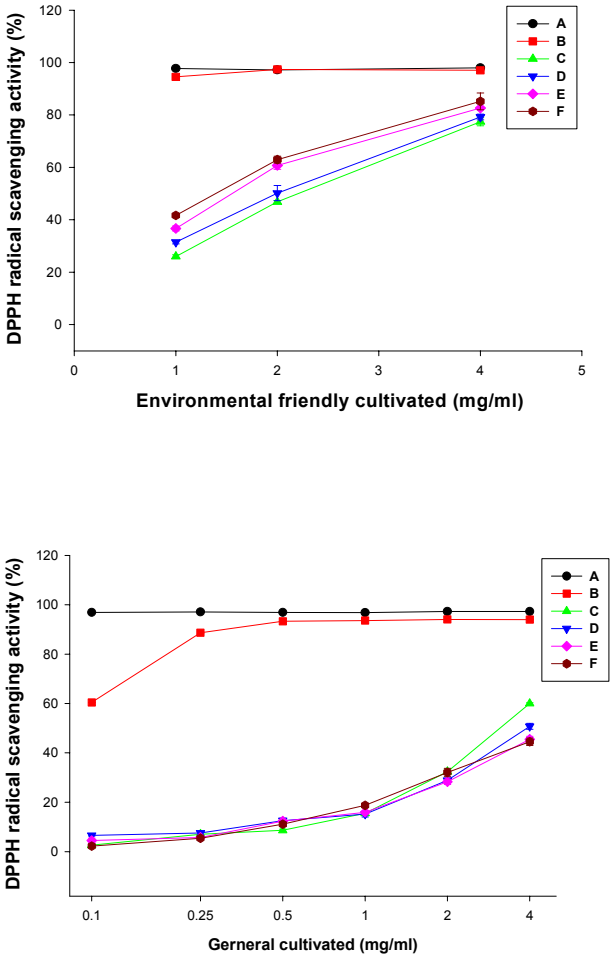


Fig.20. Antioxidant activity of corn extract followed by environmental friendly cultivated and general cultivated. A, Vit C(Ascorbic acid); B, BHT(butylated hydroxytoluene); C, extract of non-germinated corn; D, extract of germinated 2mm corn; E, extract of germinated 5mm corn; F, extract of germinated 10mm corn

나) 친환경재배 및 일반재배 메밀의 발아 길이별 항산화활성

친환경재배 메밀의 경우 비발아 추출물이 1· 2· 4 ㎎/㎖ 농도에서 각각 82.73%, 89.65%, 91.40%로 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜의 발아추출물보다 높은 활성을 보였다. 발아 길

이별 항산화 활성은 1 ㎎/㎖의 농도에서 5 ㎜> 10 ㎜> 2 ㎜의 순서로 각각 76.28%, 75.47%, 73.39%의 항산화활성이 나타났다. 또한 일반재배 메밀의 경우도 비발아 메밀에서 항산화 효과가 가장 높았고 발아길이별로 비교하면 2 ㎜> 5 ㎜> 10 ㎜의 순서로 항산화 활성을 보였다. 발아길이에 따른 항산화활성은 친환경재배와 일반재배에 따라 다소 차이가 있음을 알 수있었다(**Fig. 21**).

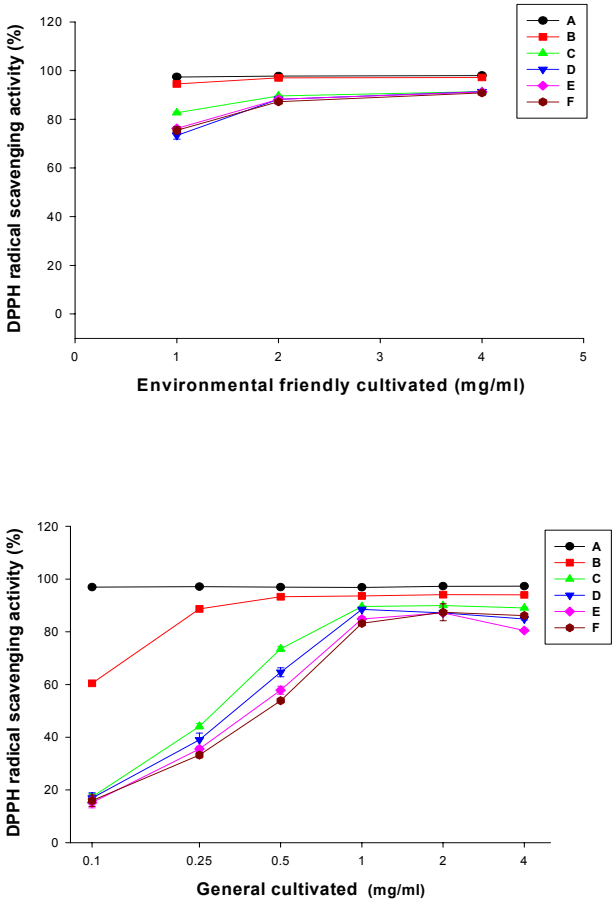


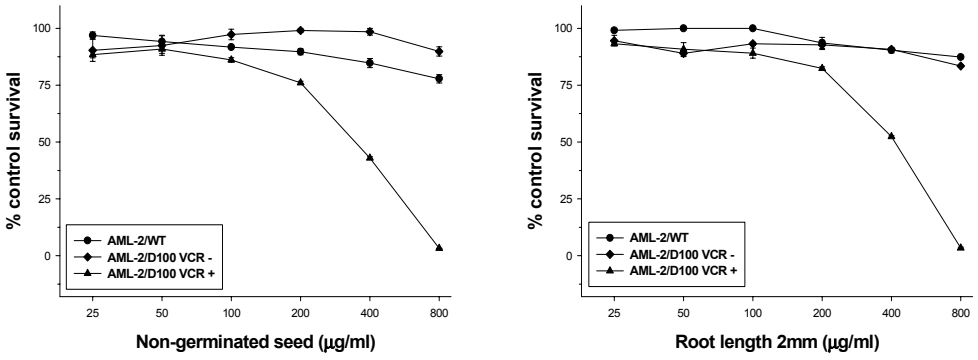
Fig.21. Antioxidant activity of buckwheat extract followed by environmental friendly cultivated and general cultivated.

A, Vit C(Ascorbic acid); B, BHT(butylated hydroxytoluene); C, extract of non-germinated buck wheat; D, extract of germinated 2mm buck wheat;; E, extract of germinated 5mm buck wheat;; F, extract of germinated 10mm buck wheat;

나. 항암제내성 백혈암세포에 미치는 곡물종자(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수)의 발아길이별(0·2·5·10 ㎜)추출물 및 GABA함량이 강화된 발아곡물의 Chemo-sensitizing effect

1) 녹두 추출물의 Chemosensitizing effect

녹두추출물의 다제내성 활성도를 살펴보면 내성세포인 AML-2/D100에 항암제인 vincristine과 함께 각 추출물을 처리하였을 때 비발아 추출물은 358 ㎍/㎖로 가장 높은 활성을 보였고, 발아길이 2 ㎜, 10 ㎜ 추출물은 각각 419 ㎍/㎖, 426 ㎍/㎖이였고 혐기발아 추출물은 699.87 ㎍/㎖에서 암세포로부터 vincristine이 배출되어지는 것을 억제하므로 vincristine의 항암활성을 유지시켜 주는 것으로 나타났다. 또한 vincristine에 대한 내성극복효과는 비발아 녹두가 내성극복효과(2.2 ≥)를 강하게 보이고 있으며, 발아 2 ㎜에서 1.9 ≥, 발아 10 ㎜에서 1.2 , 혐기처리한 발아 추출물은 1.14 ≥의 내성극복효과를 보이고 있으나, 최종농도 800 ㎍/㎖에서 IC_{50}값을 구할 수 없어 교차내성과 내성극복효과를 정확하게 비교할 수 없었다(Fig. 22, Table 6).



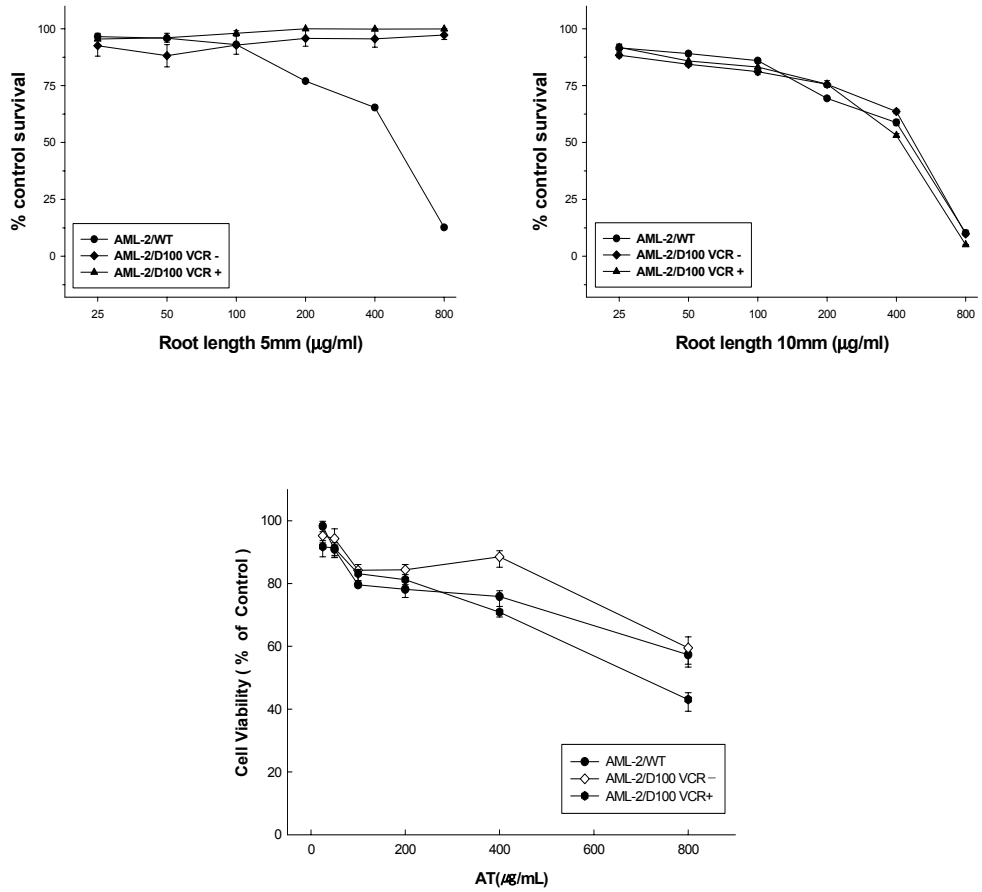


Fig. 22. Survival curve about drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect for mung bean extract on human acute myelogenous leukemia cell.

Each value is mean ± S.D. (n=3), ●—●, Wild type of human acute myelogenous leukemia, ◆—◆, Daunorubicin resistant type in the absence of VCR. ▲—▲, Daunorubicin resistant type in the presence of VCR. AT,germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

Table 6. Mung bean extract concentrations which inhibit 50% growth of chemosensitizing effect on human acute myelogenous leukemia cell.

Mung bean	IC_{50}[1] of AML-2/WT[2] (㎍/㎖)	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4] (㎍/㎖)		CI[6]
			VCR[5]-	VCR+	
Non-germinated	800 ≥	-	800 ≥	358	2.2 ≥
Germinated (root length 2mm)	800 ≥	-	800 ≥	419	1.9≥
Germinated (root length 5mm)	517	0.6 ≥	800 ≥	800 ≥	-
Germinated (root length 10 mm)	472	0.9	503	426	1.2
Germinated of anaerobic treatment(root length 2mm)	800 ≥	-	800 ≥	699.9	1.14 ≥

Date were presented as means±SD (n=3).
[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells [2]Wild type
[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/WT/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine
[4]Daunorubicin 100nM [5]Vincristine [6]Chemosensitizing index = IC_{50} of AML-2/D100 with vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine

2) 메밀 추출물의 Chemosensitizing effect

AML-2/D100 세포에서 vincristine 존재하에 메밀 길이별(0, 2, 5, 10 ㎜)추출물과 혐기처리된 메밀 추출물을 처치하였을 때 chemosensitizing index (CI)값이 비발아 추출물에서는 1.0, 발아 10 ㎜ 추출물은 1.1 이였다. 그 외의 추출물은 다제내성 극복효과와 교차내성효과가 800 ㎍/㎖의 농도에서 어떠한 영향도 나타나지 않았다(Fig. 23, Table 7).

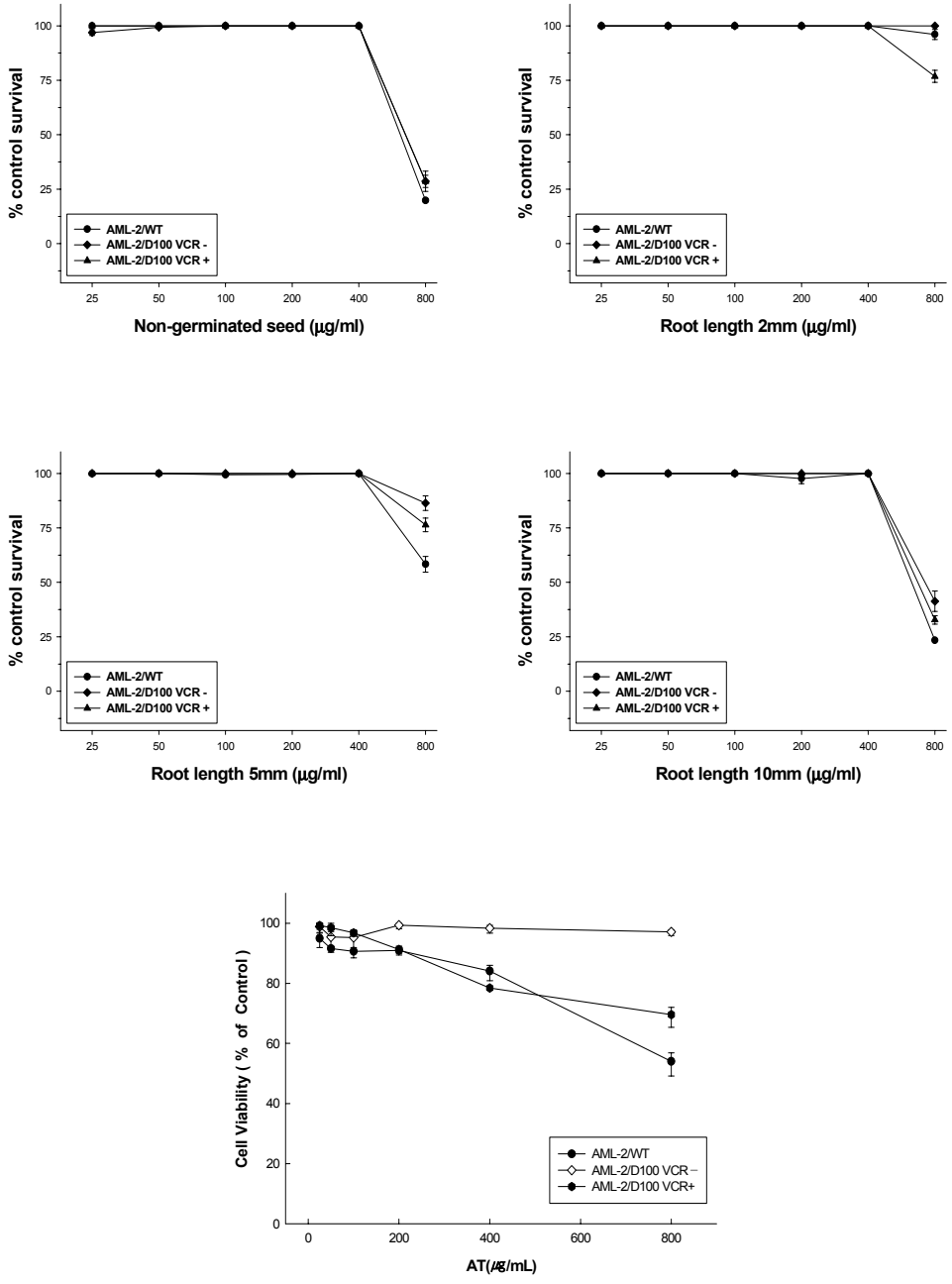


Fig. 23. Survival curve about drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect for buckwheat extract on human acute myelogenous leukemia cell.

Date were presented as means±SD (n=3), ●—●, Wild type of human acute myelogenous leukemia. ◆—◆, Daunorubicin resistant type in the absence of VCR. ▲—▲, Daunorubicin resistant type in the presence of VCR, AT, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

Table 7. Buckwheat extract concentrations which inhibit 50% growth of chemosensitizing effect on human acute myelogenous leukemia cell.

Buckwheat	IC_{50}[1] of AML-2/WT[2] (㎍/㎖)	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4] (㎍/㎖)		CI[6]
			VCR[5]-	VCR+	
Non-germinated	650	0.9	680	680	1.0
Germinated (root length 2mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
Germinated (root length 5mm)	517	0.6 ≥	800 ≥	800 ≥	-
Germinated (root length 10mm)	662	0.9	741	697	1.1
Germinated of anaerobic treatment (root length 2mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-

Date were presented as means±SD (n=3).
[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells [2]Wild type
[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/WT/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine
[4]Daunorubicin 100nM [5]Vincristine [6]Chemosensitizing index = IC_{50} of AML-2/D100 with vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine

3) 옥수수 추출물의 Chemosensitizing effect

옥수수 추출물 중 발아 2 ㎜일 때 교차내성이 1.0으로 감수성 세포(AML-2/WT)의 독성도가 높아 내성세포에 대한 선택적 세포독성도가 높았고 vincristine에 대한 chemosensitizing index (CI)값은 1.2 이상으로 나타났다. 최종 농도 800 ㎍/㎖에서 세포독성을 보이지 않았던 발아 5 ㎜추출물은 내성암세포인 AML-2/D100 세포주에 vincristine과 함께 추출물을 동시에 처리하면 IC_{50} 660 ㎍/㎖에서 암세포로부터 vincristine이 배출되어지는 것을 억제하므로서 vincristine의 항암활성을 유지시켜 주는 것으로 나타났다(Fig. 24, Table 8).

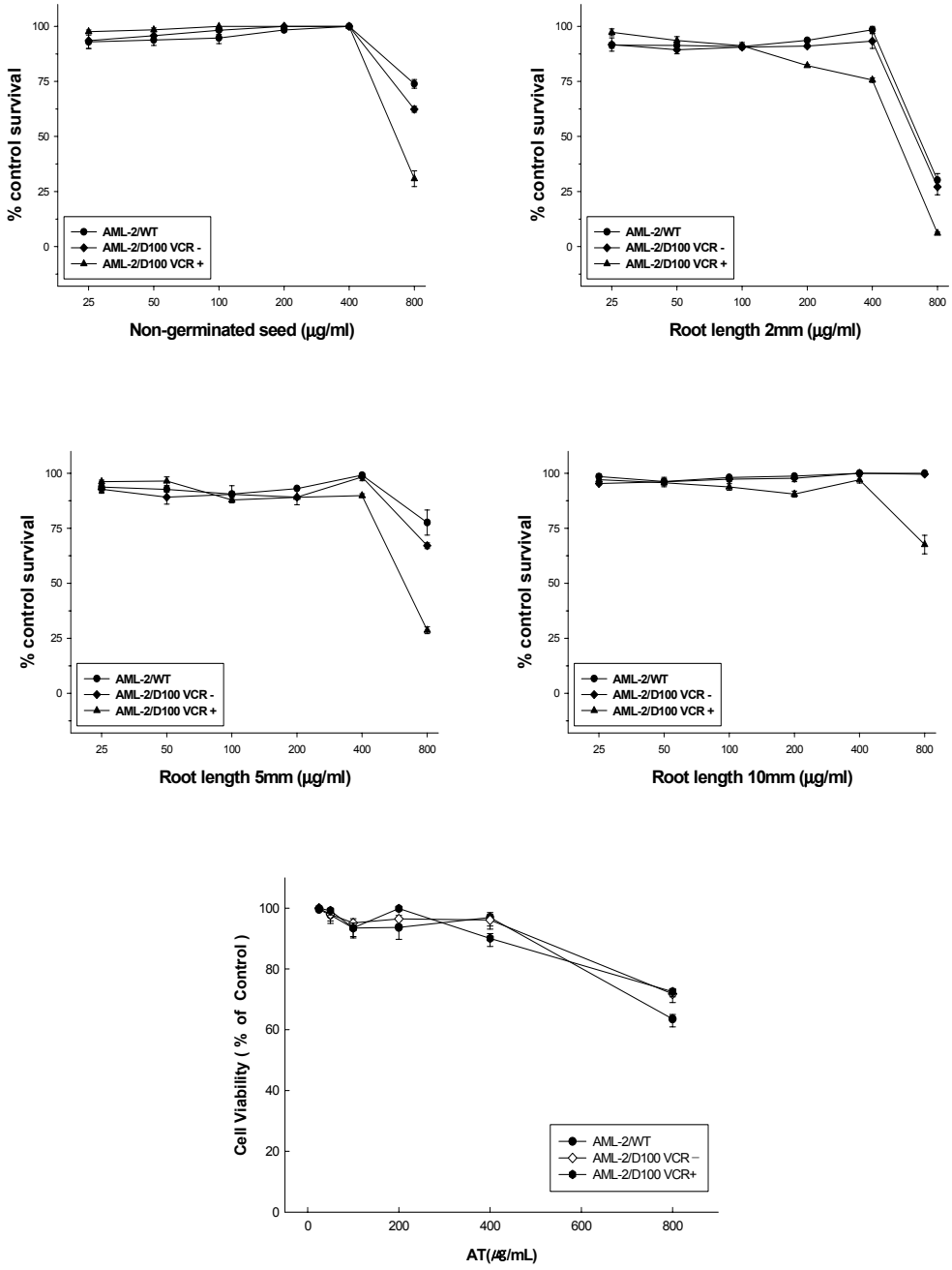


Fig. 24. Survival curve about drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect for corn extract on human acute myelogenous leukemia cell.

Date were presented as means±SD (n=3), ●—●, Wild type of human acute myelogenous leukemia. ◆—◆, Daunorubicin resistant type in the absence of VCR. ▲—▲, Daunorubicin resistant type in the presence of VCR. AT, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

Table 8. Corn extract concentrations which inhibit 50% growth of chemosensitizing effect on human acute myelogenous leukemia cell.

Corn	IC_{50}[1] of AML-2/WT[2] (㎍/㎖)	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4] (㎍/㎖)		CI[6]
			VCR[5]-	VCR+	
Non-germinated	800 ≥	-	800 ≥	688	1.2 ≥
Germinated (root length 2mm)	684	1.0	662	548	1.2
Germinated (root length 5mm)	800 ≥	-	800 ≥	660	1.2 ≥
Germinated (root length 10mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
Germinated of anaerobic treatment(root length 10mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-

Date were presented as means±SD (n=3).
[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells, [2]Wild type
[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/WT/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine
[4]Daunorubicin 100nM [5]Vincristine [6]Chemosensitizing index= IC_{50} of AML-2/D100 with vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine

4) 서목태 추출물의 Chemosensitizing effect

발아 길이별 서목태 추출물과 혐기처리 된 발아추출물을 대상으로 항암제 즉, vincristine에 대한 내성극복효과와 교차내성효과를 확인하였으나 800 ㎍/㎖의 농도에서 어떠한 영향도 나타나지 않았다(Fig. 25).

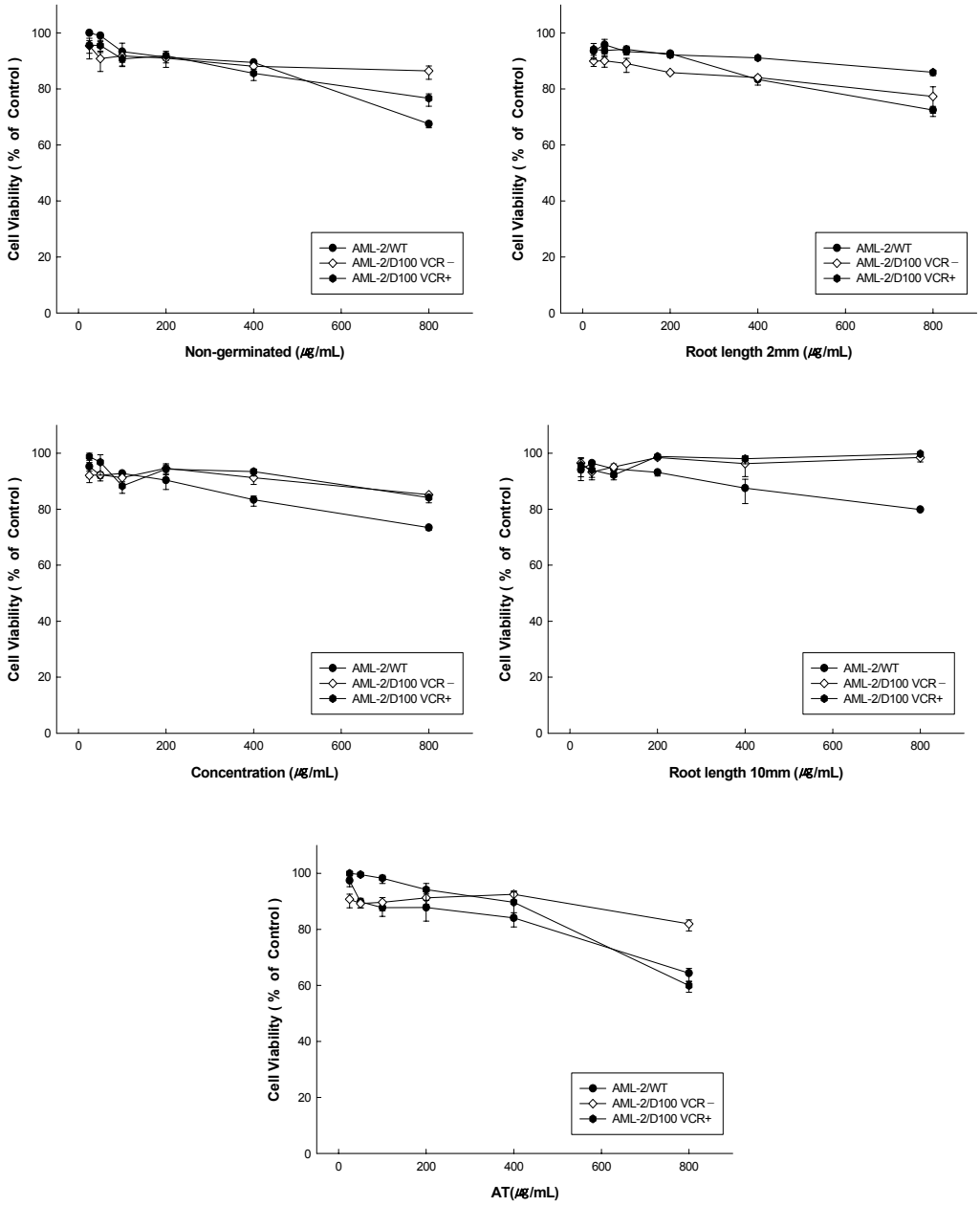


Fig. 25. Survival curve about drug sensitivity of daunorbicin and reversal effect for Black bean(seomoktae) extract on human acute myelogenous leukemia cell. AT, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

Black bean (seomoktae)	IC_{50}[1] of AML-2/WT[2] (㎍/㎖)	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4] (㎍/㎖)		CI[6]
			VCR[5]-	VCR+	
Non-germinated	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
Germinated (root length 2mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
Germinated (root length 5mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
Germinated (root length 10mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
Germinated of anaerobic treatment (root length 2mm)	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-

Date were presented as means±SD (n=3).
[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells [2]Wild type
[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/WT/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine [4]Daunorubicin 100nM [5]Vincristine [6]Chemosensitizing index = IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 with vincristine

5) 친환경재배 및 일반재배 발아곡물의 다제내성억제활성 비교

가) 친환경재배 및 일반재배 발아녹두 추출물의 Chemosensitizing effect

친환경재배 녹두는 비발아 녹두에서 내성극복효과가 2.2이상으로 강하게 나타났고 발아 2 ㎜에서 1.9이상, 발아 10 ㎜에서 1.2의 내성극복효과를 보이고 있으며, 일반재배의 경우 비발아 녹두가 내성극복효과(1.2 ≥)를 보였으나 최종농도 800 ㎍/㎖에서 IC_{50}값을 구할 수 없어 교차내성과 내성극복효과를 정확하게 비교할 수 없었다(Table 9).

Table 9. Mung bean extract concentrations which inhibit 50% growth of chemosensitizing effect on human acute myelogenous leukemia cell.

Mung bean		IC_{50}[1] of AML-2/WT[2]	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4] (㎍/㎖)		CI[6]
				VCR[5]-	VCR+	
Non-germinated	Environmental friendly cultivated	800≥	-	800≥	358	2.2≥
	General cultivated	800≥	-	800≥	687	1.2≥
Germinated (root length 2mm)	Environmental friendly cultivated	800≥	-	800≥	419	1.9≥
	General cultivated	800≥	-	800≥	800≥	-
Germinated (root length 5mm)	Environmental friendly cultivated	517	0.6≥	800≥	800≥	-
	General cultivated	800≥	-	800≥	800≥	-
Germinated (root length 10mm)	Environmental friendly cultivated	472	0.9	503	426	1.2
	General cultivated	800≥	-	800≥	800≥	-

Date were presented as means±SD (n=3).
[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells [2]Wild type
[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/WT
[4]Daunorubicin 100nM [5]Vincristine
[6]Chemosensitizing index = IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 witht vincristine

나) 친환경재배 및 일반재배 발아메밀 추출물의 Chemosensitizing effect

친환경재배 메밀의 경우 비발아 및 발아길이 10 ㎜일 때 감수성세포인 AML-2/WT과 내성세포인 AML-2/D100에 대한 IC_{50}값을 보였고, 다제내성 극복효과와 교차내성효과에 대해서는 미약하게 나타났다. 반면 일반재배 메밀의 경우 친환경재배 메밀에서 나타나지 않았던 발아 2 ㎜와 발아 5 ㎜에서 내성극복효과가 각각 1.9, 1.5 로 친환경재배품보다 강한 다제내성극복효과를 보였다(Table 10).

Table 10. Buckwheat extract concentrations which inhibit 50% growth of chemosensitizing effect on human acute myelogenous leukemia cell.

Buckwheat		IC_{50}[1] of AML-2/WT[2] (㎍/㎖)	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4] (㎍/㎖)		CI[6]
				VCR[5]-	VCR+	
Non-germinated	Environmental friendly cultivated	650	0.9	680	680	1.0
	General cultivated	598	1.0	592	570	1.0
Germinated (root length 2mm)	Environmental friendly cultivated	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
	General cultivated	574	0.9	549	288	1.9
Germinated (root length 5mm)	Environmental friendly cultivated	517	0.6 ≥	800 ≥	800 ≥	-
	General cultivated	800 ≥	-	800 ≥	550	1.5 ≥
Germinated (root length 10mm)	Environmental friendly cultivated	662	0.9	741	697	1.1
	General cultivated	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-

Date were presented as means±SD (n=3).
[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells
[2]Wild type [3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/WT
[4]Daunorubicin 100nM [5]Vincristine
[6]Chemosensitizing index = IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 witht vincristine

다. 곡물종자(녹두, 메밀, 서목태, 옥수수)의 발아길이별(0, 2, 5, 10 ㎜)추출물 및 GABA함량이 강화된 발아곡물이 인체암세포의 생육에 미치는 영향

곡물 추출물이 각종 인체암 세포의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위해 각 길이별 발아 녹두(0, 2, 5, 10 ㎜), 각 길이별 발아 메밀(0, 2, 5, 10 ㎜), 각 길이별 발아 옥수수(0, 2, 5, 10 ㎜), 각 길이별 발아 서목태(0, 2, 5, 10 ㎜) 추출물 및 GABA함량이 강화된 발아곡물에 인체암 세포를 처리하여 각 시료가 암세포에 미치는 영향력을 살펴보았으며 대조군으로 발아현미의 추출물이 암세포에 미치는 영향을 살펴보았다.

1) 녹두 추출물의 세포독성도

가) 발아길이별 녹두 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향

녹두의 세포독성 결과 3종(대장암, 유방암, 위암)의 암세포주에 대해서는 독성효과를 보이지 않았으나 폐암 세포주에서는 비발아 녹두(434 ㎍/㎖)>발아 2 ㎜(548 ㎍/㎖)>발아 5 ㎜(567 ㎍/㎖)>발아 10 ㎜(578 ㎍/㎖)순이었다(Fig. 26).

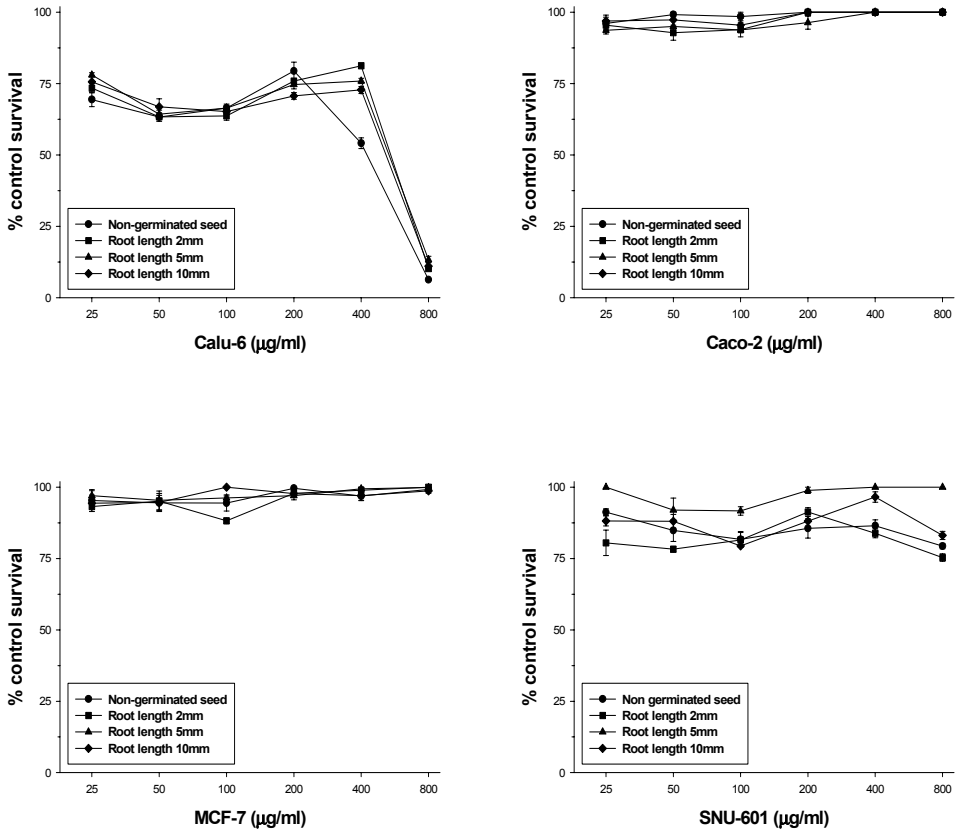


Fig. 26. The viability of cells was measured by MTT activities from mung bean extract on human cancer cells.

나) GABA 함량이 강화된 발아녹두(2 ㎜) 추출물의 폐암세포 독성도

GABA함량을 기준으로 녹두의 발아길이를 결정하여 2 ㎜일 때 비발아와 혐기발아 2 ㎜의 추추물을 25~800 ㎍/㎖의 농도로 Calu-6세포에 첨가하여 세포수를 측정한 결

과 각 추출물을 800 ㎍/㎖의 농도로 첨가하였을 때 세포증식 억제율이 비발아 추출물은 87%, 2 ㎜ 발아 추출물은 78%, 혐기처리 된 2 ㎜ 추출물은 62%로 각 추출물이 폐암세포의 생존을 저해하였고 그중 비발아 추출물에서 억제효과가 가장 높게 나타났다(**Fig. 27**).

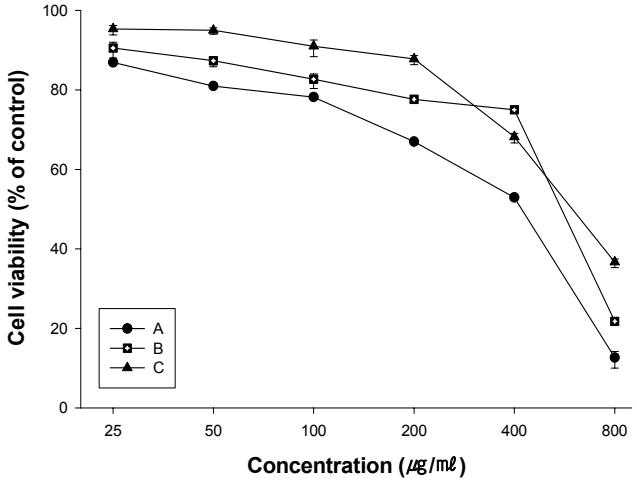


Fig. 27. The viability of cells was measured by MTT activities from mung bean extract on human cancer cells Calu-6.

A, non-germinated seed; B, germinated 2mm seed; C, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

2) 메밀 추출물의 세포독성도

가) 발아길이별 메밀 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향

메밀의 경우, 4종의 암세포 중 폐암세포(Calu-6)에서 암세포 증식억제율이 가장 높았고 위암세포(SNU-601)도 400 ㎍/㎖ 이상의 농도에서 효과를 보였다. Calu-6는 발아길이 2 ㎜일 때 293 ㎍/㎖의 농도에서 50% 이상 암세포를 억제하여 가장 높은 활성을 보였고 MCF-7에 대한 억제효과도 미약하게 나타났다(**Fig. 28**).

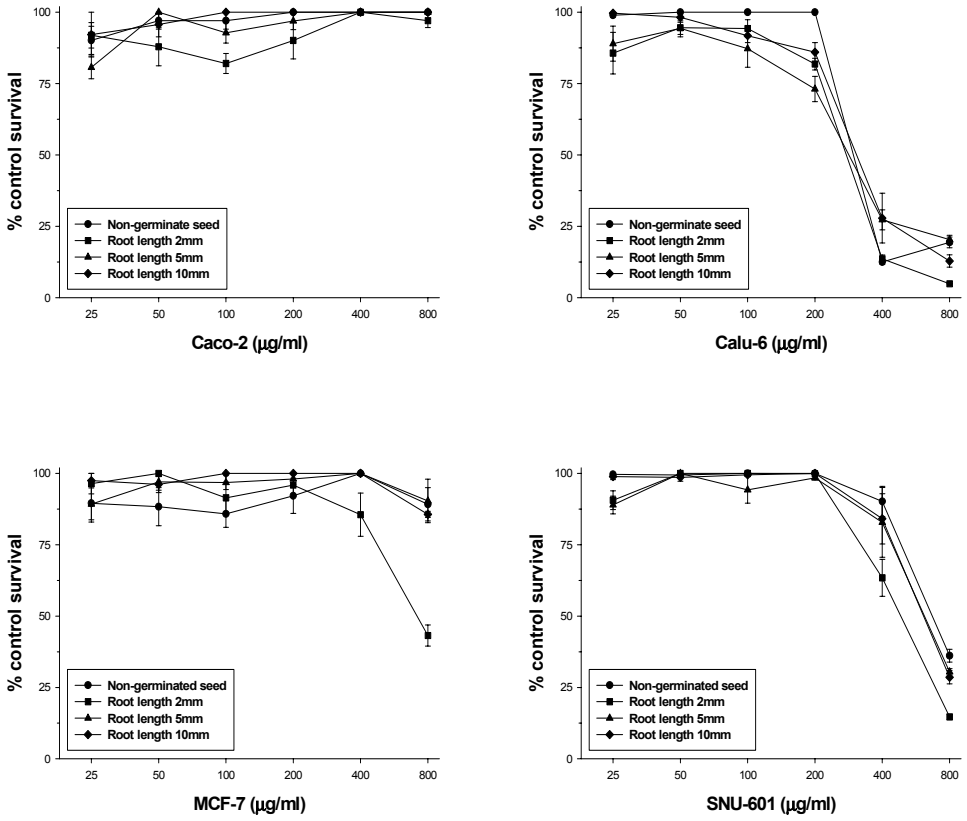


Fig. 28. The viability of cells was measured by MTT activities from buckwheat extract on human cancer cells.

나) GABA함량이 강화된 발아메밀(2㎜)추출물의 폐암세포 및 위암세포 독성도

(1) 폐암세포에 미치는 영향

비발아, 발아 2 ㎜, 혐기발아 2 ㎜의 메밀 추출물을 25~800 ㎍/㎖의 농도로 Calu-6세포에 첨가하여 세포생존율을 측정한 결과 800 ㎍/㎖의 농도에서 비발아와 발아 2㎜는 세포성장 저해율이 90%정도로 상당한 억제효과를 나타냈고 혐기처리된 추출물은 80%정도 세포성장을 저해하였다. 400 ㎍/㎖의 농도에서 Calu-6의 억제효과가 혐기발아 추출물은 약 22%로 비발아 및 발아 추출물보다 50~55% 낮은 억제효과를

보였다(**Fig. 29**).

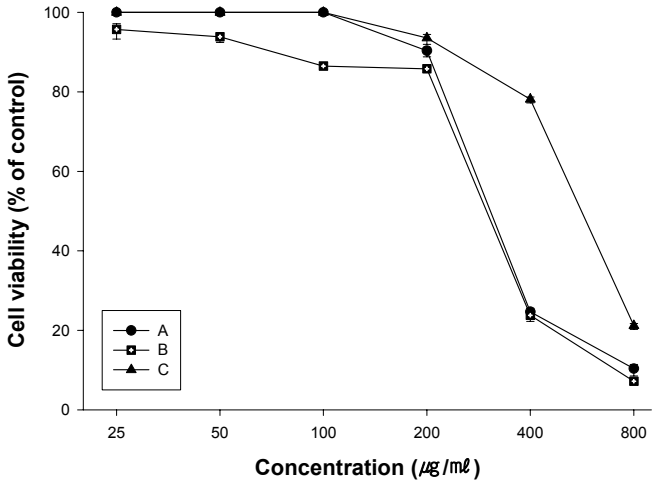


Fig. 29. The viability of cells was measured by MTT activities from buckwheat extract on human cancer cells Calu-6.

A, non-germinated seed; B, germinated 2mm seed; C, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

(2) 위암세포에 미치는 영향

비발아, 발아 2 ㎜, 혐기발아 2 ㎜의 메밀 추출물을 25~800 ㎍/㎖의 농도로 SNU-601세포에 첨가하여 세포생존율을 측정한 결과 800 ㎍/㎖의 농도에서 비발아 및 발아 2 ㎜ 추출물에서 각각 64%, 82%의 세포성장을 억제하였고 혐기발아 추출물은 같은 농도에서 78%의 억제효과를 나타냈다(**Fig. 30**).

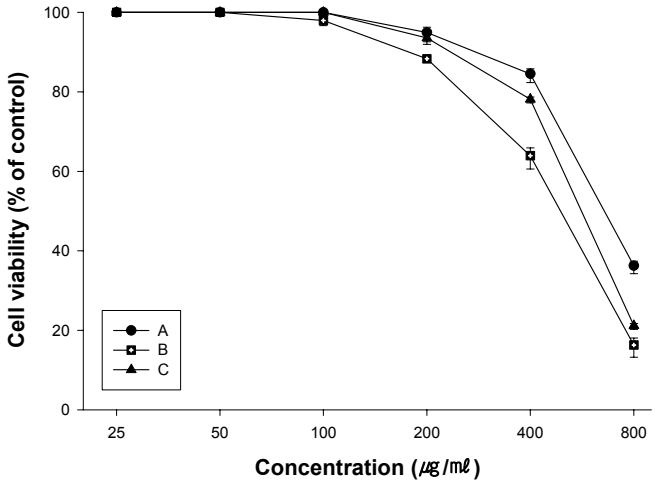


Fig. 30. The viability of cells was measured by MTT activities from buckwheat extract on human cancer cells SNU-601.

A, non-germinated seed; B, germinated 2mm seed; C, germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

3) 옥수수 추출물의 세포독성도

가) 발아길이별 옥수수 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향

옥수수의 경우 Calu-6에 대하여 비발아 옥수수는 735 ㎍/㎖, 발아 2 ㎜에서는 705 ㎍/㎖, 발아 10 ㎜가 623 ㎍/㎖의 농도에서 50%의 생육억제효과를 나타냈으며, 유방암세포(MCF-7)대해서는 비발아 옥수수와 발아 2 ㎜에서 741 ㎍/㎖에서 독성효과를 보였다. 이 결과로 볼 때, 폐암세포주인 Calu-6에 대해서는 발아 10 ㎜가, 유방암세포주인 MCF-7에 대해서는 비발아 옥수수와 발아 2 ㎜에서 비교적 높은 항암효과를 보였다(Fig. 31).

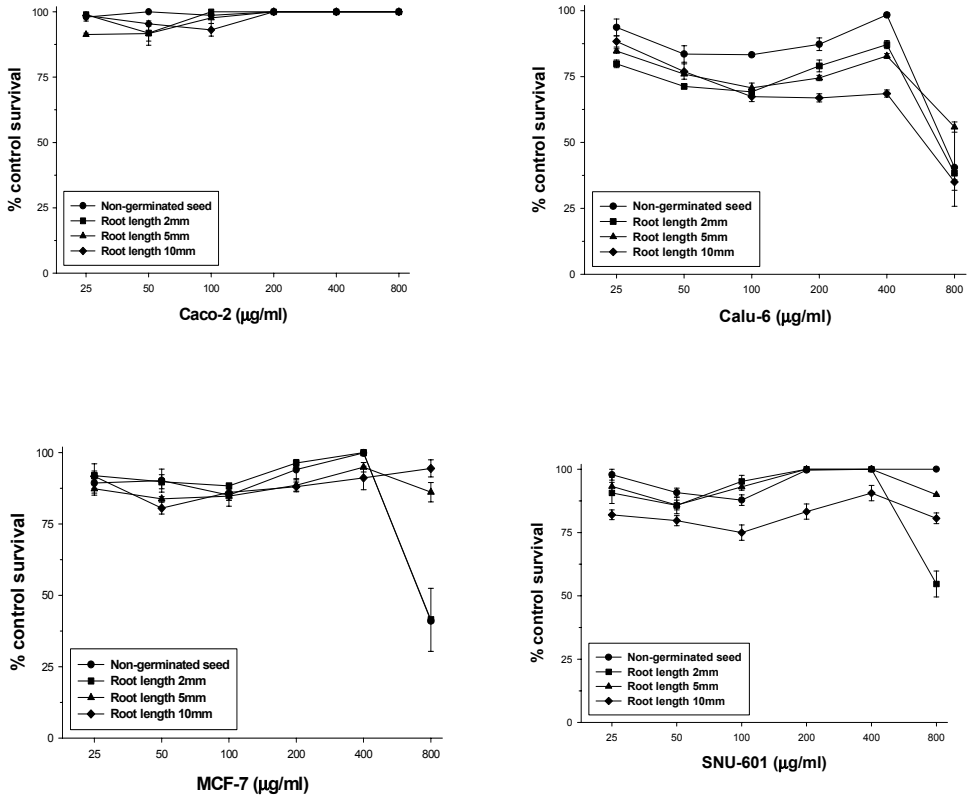


Fig. 31. The viability of cells was measured by MTT activities from Corn extract on human cancer cells.

나) GABA 함량이 강화된 발아옥수수(10 ㎜) 추출물의 폐암세포 독성도

비발아, 발아 10 ㎜, 혐기발아 10 ㎜의 옥수수 추출물이 인체 폐암세포인 Calu-6에 미치는 영향을 확인한 결과 800 ㎍/㎖에서 세포성장 억제율이 발아 > 비발아> 혐기발아 순으로 그 수치는 67%, 59%, 55%였다(Fig. 32).

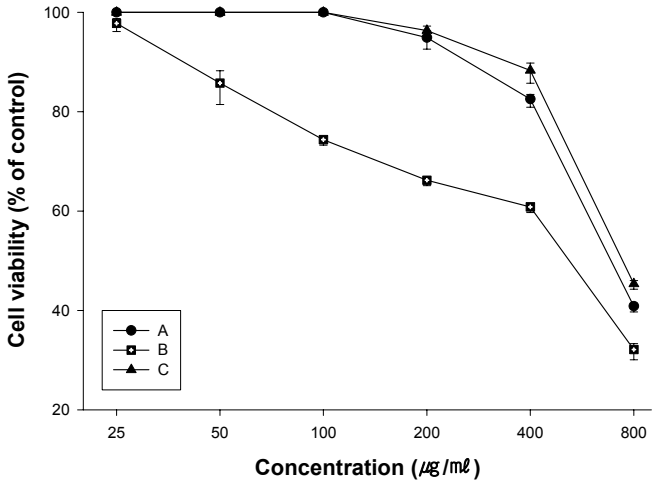


Fig. 32. The viability of cells was measured by MTT activities from corn extract on human cancer cells Calu-6.

A, non-germinated seed; B, germinated 10 mm seed; C, germinated 10 mm seed of anaerobic treatment.

4) 서목태 추출물의 세포독성도

가) 발아길이별 서목태 추출물이 각종 인체암세포에 미치는 영향

서목태 비발아 추출물과 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜의 추출물을 인간유래 암세포 중 폐암 세포인 Calu-6, 유방암 세포인 MCF-7, 위암 세포인 SNU-601, 대장암 세포인 Caco-2에 처리하여 각 추출물이 암세포의 생존에 미치는 영향을 Fig. 33과 Table 11에 나타내었다.

(1) 폐암세포(Calu-6 cell line)에 미치는 영향

서목태의 발아 길이별 항암효과를 알아보기 위해 각각 비발아, 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜의 추출물을 인체 폐암 세포주인 Calu-6에 처리한 결과 각 추출물의 농도가 증가할수록 세포 생존율이 낮았으며 800 ㎍/㎖의 고농도에서 모든 추출물이 40%이상 세포 생존을 억제하였고 특히 서목태의 발아길이별 추출물이 비발아 추출물에 비하여 25-200 ㎍/㎖의 저농도에서 세포생존 억제효과가 평균 약 1.7배 더 높았다(Fig. 33, Table 11).

(2) 대장암 세포(Caco-2 cell line)에 미치는 영향

대장암세포인 Caco-2에 서목태의 비발아 추출물과 발아길이별 추출물을 처리하여 세포 생존 억제 효과를 측정한 결과 서목태 비발아 추출물은 농도가 증가할수록 세포 생존 억제율이 높아져 800 ㎍/㎖에서 40% 정도의 세포 생존 억제효과를 보였으며 각 길이별 발아 추출물은 25 ㎍/㎖의 저농도에서부터 평균 20%의 생존 억제효과를 나타내어 50 ㎍/㎖이상의 농도에서는 생존 억제율이 25-40% 수준으로 나타났으며 특히 발아 2 ㎜ 추출물이 다른 길이별 추출물에 비해 Caco-2의 생존억제에 효과가 높게 나타났다(Fig. 33, Table 11).

(3) 유방암 세포(MCF-7 cell line)에 미치는 영향

발아 길이별 서목태 추출물을 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell에 처리한 결과 비발아 추출물은 800 ㎍/㎖의 농도에서 72% 이상의 세포생존율을 보였으나 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜의 발아추출물에서는 각각 64%, 62%, 63%의 세포생존율이 나타나 발아추출물에 의한 MCF-7의 억제효과가 더 높음을 확인할 수 있었다(Fig. 33, Table 11).

(4) 위암세포(SNU-601 cell line)에 미치는 영향

위암세포인 SNU-601에 서목태의 발아길이별 추출물을 처리하여 세포 생존 억제효과를 측정한 결과 100 ㎍/㎖ 이상의 농도에서 생존 억제율이 25-40% 범위로 나타났고 발아 2 ㎜ 추출물에 의한 SNU-601의 억제효과가 다른 추출물에 비하여 40%이상 높게 나타났다(Fig. 33, Table 11).

Table. 11. The viability of cells was measured by MTT activities from black bean(seomoktae) extract on human cancer cells.

Black bean (seomoktae)	Concentration (㎍/㎖)	Cell Viability (% of control)			
		Calu-6[1)]	Snu-601[2)]	MCF-7[3)]	Caco-2[4)]
Non-germinated	50	85.83[5)]	85.73	98.52	94.33
	100	82.11	77.4	95.32	91.07
	200	70.05	70.73	92.12	85.4
	400	52.76	64.83	78.90	70.16
	800	40.62	61.8	72.71	60.06
Germinated (root length 2mm)	50	73.16	68.39	73.53	57.59
	100	73.06	59.03	73.03	56.56
	200	67.89	59.79	73.16	56.11
	400	68.43	57.04	59.64	52.52
	800	53.15	53.44	64.45	48.67
Germinated (root length 5mm)	50	75.58	69.27	70.23	62.24
	100	74.63	69.8	65.33	67.52
	200	75.97	74.14	65.69	65.44
	400	67.63	69.8	61.20	58.84
	800	59.92	69.27	62.61	55.4
Germinated (root length 10 mm)	50	73.42	78.08	74.50	71.13
	100	73.06	63.95	67.72	67.52
	200	69.85	68.93	66.73	65.44
	400	65.48	71.14	66.23	58.84
	800	58.74	68.45	63.46	55.4

[1)]human pulmonary carcinoma

[2)]human gastric carcinoma.

[3)]human breast adenocarcinoma pleual effusion.

[4)]human colon adencarcinoma

[5)]Each value is mean±S.D. (n=3)

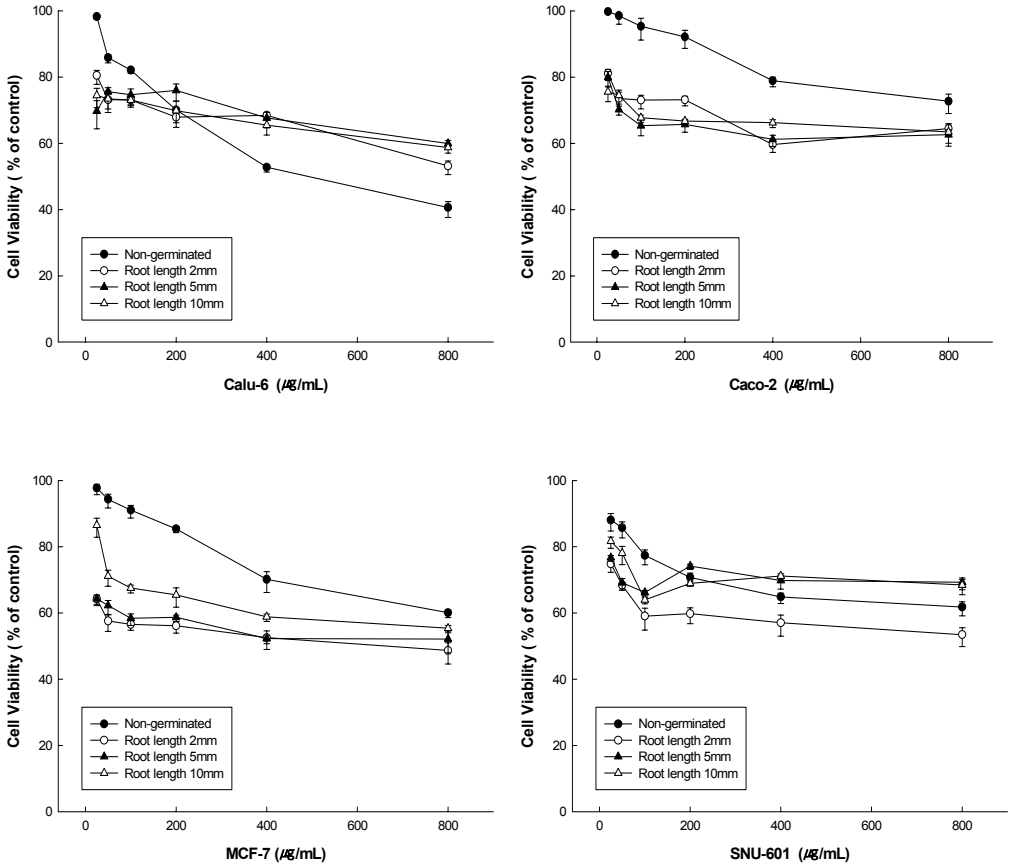


Fig. 33. The viability of cells was measured by MTT activities from black bean(seomoktae) extract on human cancer cells.

나) GABA 함량이 강화된 발아서목태(2㎜) 추출물의 대장암세포 및 위암세포 독성도

1, 2차년도에 수행했던 서목태 추출물 중 세포 생존 억제 효과가 높았던 Caco-2와 SNU-601을 대상으로 혐기처리 하여 2 ㎜로 발아시킨 추출물 및 비발아, 발아 2 ㎜ 추출물의 세포 생존율을 확인하였다. 그 결과 대장암 세포인 Caco-2는 2 ㎜ 발아 추출물에서 세포 생존 억제력이 최저농도에서 36%였으나 GABA함량을 강화시킨 혐기처리 추출물에서는 최고농도인 800 ㎍/㎖에서 27%였다. 위암세포인 SNU-601은 혐기처리 추출물이 800 ㎍/㎖에서 25% 정도 세포 생존을 억제하였고 이는 비발아 추출물

및 발아 추출물 보다 낮은 수치였다(Fig. 34).

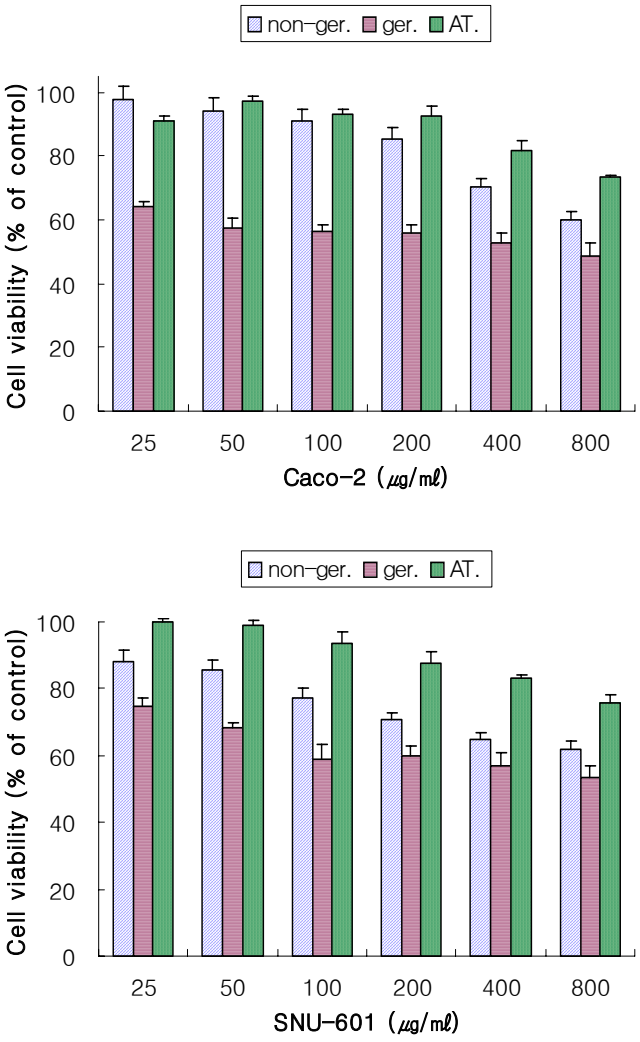


Fig. 34. The viability of cells was measured by MTT activities from black bean(seomocktae) extract on human cancer cells Caco-2(대장암세포), SNU-601(위암세포).

non-ger.; non-germinated seed, ger.; germinated 2mm seed, AT.; germinated 2mm seed of anaerobic treatment.

5) 발아현미 추출물이 암세포에 미치는 영향

본 실험의 재료인 4종의 발아곡물에 대한 양성대조군으로 발아현미 추출물을 4종의 인체 암세포주(Calu-6, SNU-601, Caco-2, MCF-7)에 처리하여 비교한 결과 발아현미 추출물 800 ㎍/㎖의 농도에서 비교하였을 때 폐암세포주인 Calu-6는 37%, 위암세포인 SNU-601은 44%, 대장암 세포인 Caco-2에서는 69%, 유방암 세포인 MCF-7은 47%의 세포생존율을 보여 Calu-6에서 발아현미 추출물의 암세포 사멸율이 가장 높게 나타났으며 발아현미는 25 ㎍/㎖의 농도에서 Calu-6가 거의 생존하여 암세포 증식에 어떠한 영향도 미치지 못하였으나 같은 농도의 발아녹두 추출물을 처리시 74%의 생존율을 보여 저농도에서 발아현미 추출물보다 발아녹두 추출물이 Calu-6 세포주의 사멸에 효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 35).

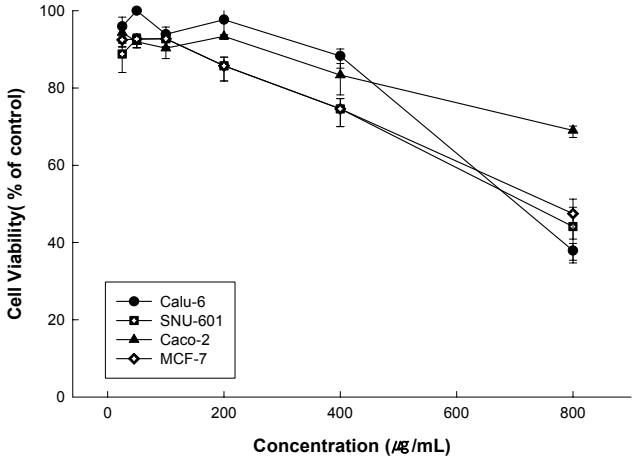


Fig. 35. The viability of cells was measured by MTT activities from germinated brown rice extract on human cancer cells Calu-6, Snu-601, Caco-2, MCF-7.

6) 친환경재배 및 일반재배 발아곡물의 암세포 생육억제효과 비교

세포독성 효과가 높았던 곡물(녹두, 옥수수 및 메밀)을 선별하여 친환경 재배품과 일반 재배품의 각 암세포에 대한 생육억제효과를 비교하였다.

가) 친환경재배 및 일반재배 발아녹두 추출물의 폐암세포(Calu-6 cell line) 독성도

녹두는 여러 암세포 중 폐암세포에 대한 생육억제 효과가 뛰어났으므로 폐암 세포에대한 생육억제효과를 비교 분석하였다. 친환경재배 및 일반재배 녹두의 발아처리에 의한 사멸효과를 비교한 결과 최대농도(800 ㎍/㎖)에서 일반재배 녹두는 발아 5 ㎜ 추출물에서만 30% 정도의 사멸효과가 나타났으나 친환경재배 녹두는 모든 길이별 추출물에서 80% 이상 사멸효과가 나타났다(**Fig.36, Table 12**).

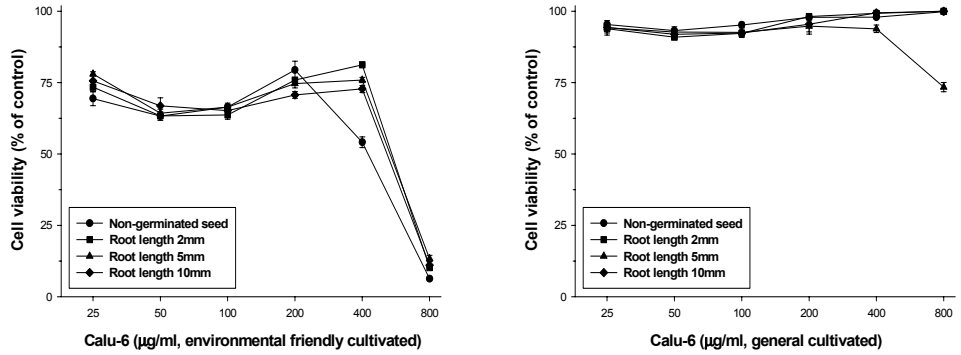


Fig. 36. Cytotoxicity effect of Environmental friendly cultivated and general cultivated mung bean extract on human cencer cells of Calu-6.

나) 친환경재배 및 일반재배 옥수수 추출물의 폐암세포(Calu-6 cell line) 독성도

옥수수도 여러 암세포 중 폐암 세포에 대한 생육억제 효과가 뛰어났으므로 폐암 세포에 대한 생육억제효과를 비교 분석하였다. 일반재배 옥수수는 낮은 농도(50 ㎍/㎖)에서만 15~30%의 폐암세포 억제효과를 보였으며 친환경재배 옥수수는 모든 길이별 추출물에서 최대농도(800 ㎍/㎖)에서 40~60%의 억제효과를 보였다(**Fig.37, Table 12**).

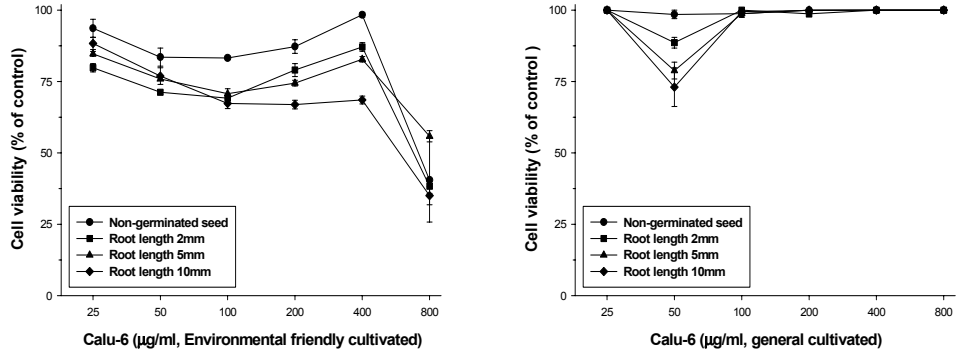
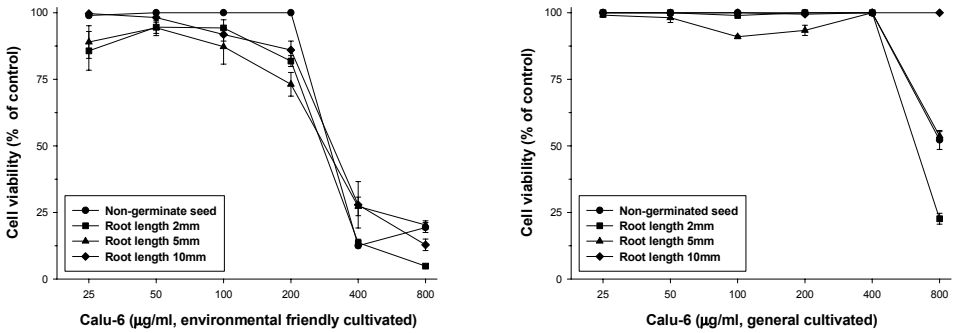


Fig. 37. Cytotoxicity effect of environmental friendly cultivated and general cultivated corn extract on human cencer cells of Calu-6.

다) 친환경재배 및 일반재배 메밀 추출물의 폐암세포(Calu-6 cell line)와 위암세포(SNU-601 cell line)에 대한 독성도

메밀은 여러 암세포 중 폐암 세포주와 위암 세포주에 효과가 뛰어났으므로 폐암 세포주와 위암 세포주에 대한 생육억제효과를 비교 분석하였다. 일반 재배품은 발아 2 ㎜ 추출물에서 595 ㎍/㎖의 농도일때 폐암 세포를 50% 사멸하였으나 친환경 재배품의 발아 2 ㎜(IC_{50}; 301 ㎍/㎖)가 보다 높은 억제효과를 보였다. 또한 일반재배품의 발아과정중에 위암세포주에서 대한 IC_{50} 값이 나타나지 않았다(Fig. 38, Table 12).

A.



B.

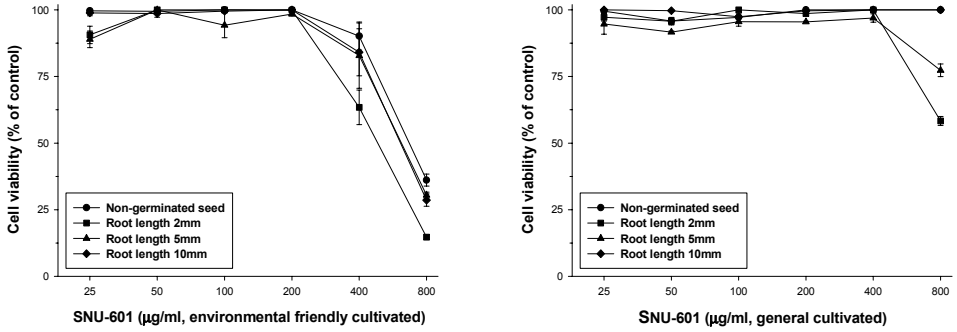


Fig. 38. Cytotoxicity effect of organic and general buckwheat extract on human cencer cells of Calu-6(A.) and SNU-601(B.).

라) 친환경재배 및 일반재배 발아곡물(녹두, 옥수수, 메밀) 추출물의 암세포 독성도 비교

곡물(녹두, 옥수수, 메밀)의 재배조건에 따른 발아길이별(0, 2, 5, 10 ㎜) 세포독성도를 비교한 결과 일반재배 곡물은 발아길이별 추출물에서 전혀 효과가 없었으나 친환경재배에 의한 곡물의 세포독성도는 녹두추출물의 경우 폐암세포에서 비발아> 2 ㎜ >5 ㎜ > 10 ㎜ 순으로 세포독성도를 보였고 옥수수 추출물은 폐암세포에 대한 세포독성도가 10 ㎜ 에서 623 ㎍/㎖로 가장 높은 효과를 보였다. 친환경재배 메밀추출물은 폐암세포에서 5 ㎜일때 가장 높은 세포독성도를 보였고 이는 비발아 추출물보다 1.07배 높은 수치였다. 또한 위암세포에서 2 ㎜일때 512 ㎍/㎖ 농도에서 세포독성도가 높았으며 이는 비발아추출물에 비하여 1.36배 높은 수치이다. 이결과 일반재배 곡물보다 친환경재배 곡물의 세포독성도가 높았고 녹두, 옥수수, 메밀의 곡물중 메밀추출물이 폐암세포에 대해 강한 세포독성도가 있음을 확인할 수 있었다(Table 12).

Table. 12. Environmental friendly and General mung bean, corn, buckwheat extracts which inhibit 50% growth of cytotoxic effect on human cancer cell lines

Germinated condition		IC_{50}[1] (㎍/㎖)			
		mung bean	corn	buckwheat	buckwheat
			Calu-6[2]		SNU-601[3]
Environmental friendly cultivated	Non-germinated	434	735	315	697
General cultivated		800 ≥	800 ≥	800 ≥	800 ≥
Environmental friendly cultivated	Germinated (root length 2 ㎜)	548	705	301	512
General cultivated		800 ≥	800 ≥	595	800 ≥
Environmental friendly cultivated	Germinated (root length 5 ㎜)	567	800 ≥	293	652
General cultivated		800 ≥	800 ≥	800 ≥	800 ≥
Environmental friendly cultivated	Germinated (root length 10 ㎜)	578	623	325	646
General cultivated		800 ≥	800 ≥	800 ≥	800 ≥

Data were presented as means±SD (n=3).
[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells.
[2]human pulmonary carcinoma.
[3]human gastric carcinoma.

라. 추출물의 항미생물 활성

Cup hole 방법으로 메밀, 서목태, 옥수수 및 녹두의 메탄올 추출물을 20 ㎎/㎖의 농도로 각종 식품 부패균 및 식중독균에 적용시켜 그람 양성균 4종과 그람 음성균 4종에 대해 항균활성을 측정한 결과를 Fig. 39 및 Table 13, 14에 각각 나타내었다. 그 결과 서목태에서 비발아종자와 발아종자 모두에서 일반적으로 4종의 그람 양성균 *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *S. fradiae*, 및 *S. aureus* 에서 항미생물 활성을 보였으며, 또한, 4종의 곡물 전체에서 그람 음성균인 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에 대하여 비교적 강한 항균력을 나타냄을 확인할 수 있었다.

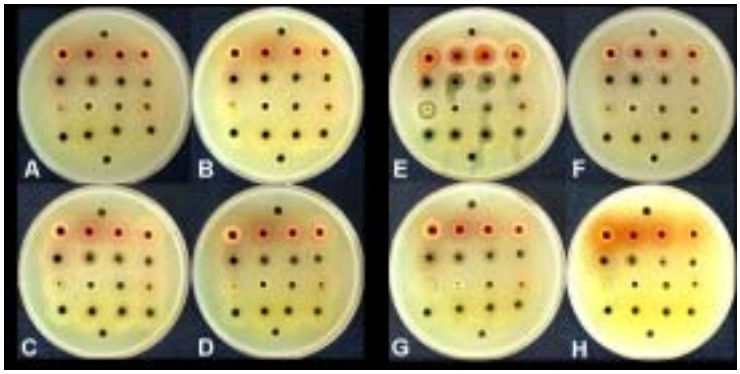


Fig. 39. Antimicrobial activities of the methanol extracts from non- and different germinated seeds of *F. esculentum, R. nolubilis, Z. mays* L. and *P. radiatus* L. Concentration of extracts are 20㎎/㎖. A, *B. amyloliquefaciens*; B, *B. subtilis*; C, *S. fradiae*; D, *S. aureus*; E, *E. coli*; F, *Enterobacter* spp. G, *S. typhimurium*; H, *P. aeruginosa*. Lanes, 1, non-germinated seed; 2, 2㎜ root length of germinated seed; C, 5㎜ root length of germinated seed; D, 10㎜ root length of germinated seed.

Table 13. Antimicrobial activities of methanol extracts from buckwheat, black bean(seomoktae), corn, and mung bean against 4 kinds of Gram-positive microorganisms.

Seed tested	Gram-positive microorganisms	Size of inhibition zone (ϕ, ㎜)			
		N.G.	G. 2㎜	G. 5㎜	G. 10㎜
Buckwheat	*B. subtilis*	-	-	-	-
	B. amyloliquefaciens	-	-	-	-
	S. fradiae	-	-	-	-
	S.aureus	-	-	-	-
Black bean (seomocktae)	*B. subtilis*	-	7	6	-
	B. amyloliquefaciens	4	7	6	-
	S. fradiae	-	7	6	4
	S.aureus	5	9	8	6
Corn	*B. subtilis*	5	-	-	-
	B. amyloliquefaciens	5	-	-	-
	S. fradiae	5	-	-	-
	S.aureus	7	-	-	-
Mung bean	*B. subtilis*	-	-	-	-
	B. amyloliquefaciens	-	-	5	-
	S. fradiae	-	-	4	4
	S.aureus	-	5	8	6

1) Abreviations as follows: N.G., non-germinated; G. 2㎜, 2㎜ germinated root length; G. 5㎜, 5㎜ germinated root length; G. 10㎜, 10㎜ germinated root length.
2) Extracts were loaded at 4㎎(20㎎/㎖) in each holes.

Table 14. Antimicrobial activities of methanol extracts from buckwheat, black bean(seomoktae), corn and mung bean against 4 kinds of Gram-negative microorganisms.

Seed tested	Gram-negative microorganisms	Size of inhibition zone (ϕ, ㎜)			
		N.G.	G. 2㎜	G. 5㎜	G. 10㎜
Buckwheat	*E. coli*	12	9	11	7
	Enterobacter spp.	11	6	8	10
	S. typhimurium	-	-	-	-
	P. aeruginosa	-	-	-	-
Black bean (seomocktae)	*E. coli*	6	10	9	5
	Enterobacter spp.	-	10	9	4
	S. typhimurium	-	8	7	-
	P. aeruginosa	6	9	8	5
Corn	*E. coli*	9	-	5	4
	Enterobacter spp.	8	-	4	-
	S. typhimurium	7	-	-	-
	P. aeruginosa	6	-	-	-
Mung bean	*E. coli*	7	7	8	6
	Enterobacter spp.	4	5	7	5
	S. typhimurium	-	-	5	5
	P. aeruginosa	-	4	6	5

1) Abreviations as follows: N.G., non-germinated; G. 2㎜, 2㎜ germinated root length; G. 5㎜, 5㎜ germinated root length; G. 10㎜, 10㎜ germinated root length.
2) Extracts were loaded at 4㎎(20㎎/㎖) in each holes.

1) 메밀의 항미생물 활성

메밀종자의 발아 길이별 메탄올 추출물을 20 ㎎/㎖의 농도로 각종 식품부패균 및 식중독균에 적용시켜 그람 양성균 4종과 그람 음성균 4종에 대해 항균활성을 측정한 결과를 **Table 15** 및 **Fig. 40**에 나타내었다. 그 결과 메밀의 추출물은 장내세균으로 그람 음성균인 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에 대해서 미발아 추출물의 경우 각각 11 ㎜와 12 ㎜로 가장 강력한 항미생물 활성을 나타내었으며, 각각의 발아추출물은 *E. coli*의 경우 7-11㎜의 *Enterobacter* spp.의 경우 6-10 ㎜의 억제환으로 강력한 항균활성을 나타내어 그람 음성균내의 장내세균에서 효과적임을 확인할 수 있었다.

Table 15. Antimicrobial activities of methanol extracts in non-germinated and different root length of germinated seeds from *F. esculentum*.

Microorganisms tested		Size of inhibition zone (ϕ, ㎜)			
		N.G.	G. 2㎜	G. 5㎜	G. 10㎜
G(+)	*B. subtilis*	–	–	–	–
	B. amyloliquefaciens	–	–	–	–
	S. fradiae	–	–	–	–
	S. aureus	–	–	–	–
G(-)	*E. coli*	12	9	11	7
	Enterobacter spp.	11	6	8	10
	S. typhimurium	–	–	–	–
	P. aeruginosa	–	–	–	–

1) Abreviations as follows: N.G., non-germinated; G. 2㎜, 2㎜ root length of germinated seed; G. 5㎜, 5㎜ root length of germinated seed; G. 10㎜, 10㎜ root length of germinated seed.
2) Extracts were loaded at 4㎎(20㎎/㎖) in each holes.

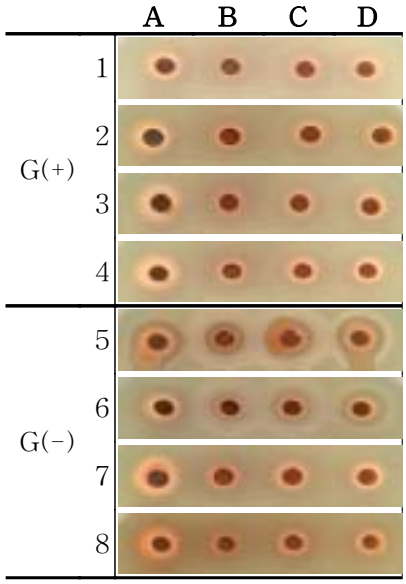


Fig. 40. Antimicrobial activities of the methanol extracts from non-germinated and different root length of germinated seeds from *F. esculentum*. Concentration of extracts are 20㎎/㎖. Lanes, A, non-germinated seed; B, 2㎜ root length of germinated seed; C, 5㎜ root length of germinated seed; D, 10㎜ root length of germinated seed. Numbers, 1, *B. amyloliquefaciens*; 2, *B. subtilis*; 3, *S. fradiae*; 4, *S. aureus*; 5, *E. coli*; 6, *Enterobacter* spp. 7, *S. typhimurium*; 8, *P. aeruginosa*.

2) 서목태의 항미생물 활성

서목태종자의 발아 길이별 메탄올 추출물을 20 ㎎/㎖의 농도로 각종 식품부패균 및 식중독 균에 적용시켜 그람 양성균 4종과 그람 음성균 4종에 대해 항균활성을 측정한 결과를 **Table 16**와 **Fig. 41**에 나타내었다. 그 결과 서목태의 추출물은 8종의 시험균 *B. amyloliquefaciens, B. subtilis*, *S. fradiae*, *S. aureus*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *S. typhimurium*, 그리고 *P. aeruginosa.*에 20 ㎎/㎖ 농도에서 전반적으로 4-10 ㎜의 억제환으로 활성을 나타내어 그람 양성균과 음성균에서 동일하게 효과적임을 확인할 수 있었다. 각 hole에 점적한 추출물(4㎎)은 2 ㎜와 5 ㎜ 길이의 발아 추출물에서 각각 8-10 ㎜와 7-9 ㎜의 억제환을 형성하여 항균활성이 가장 높았으며, 발아의 길이에 따라 항균 활성을 나타내는 억제환의 크기가 다르게 나타났다.

Table 16. Antimicrobial activities of methanol extracts in non-germinated and different root length of germinated seeds from *R. nolubilis*.

Microorganisms tested		Size of inhibition zone (ϕ, ㎜)			
		N.G.	G. 2㎜	G. 5㎜	G. 10㎜
G(+)	*B. subtilis*	-	7	6	-
	B. amyloliquefaciens	4	7	6	-
	S. fradiae	-	7	6	4
	S. aureus	5	9	8	6
G(-)	*E. coli*	6	10	9	5
	Enterobacter spp.	-	10	9	4
	S. typhimurium	-	8	7	-
	P. aeruginosa	6	9	8	5

1) Abreviations as follows: N.G., non-germinated; G. 2㎜, 2㎜ root length of germinated seed; G. 5㎜, 5㎜ root length of germinated seed; G. 10㎜, 10㎜ root length of germinated seed.

2) Extracts were loaded at 4㎎(20㎎/㎖) in each holes.

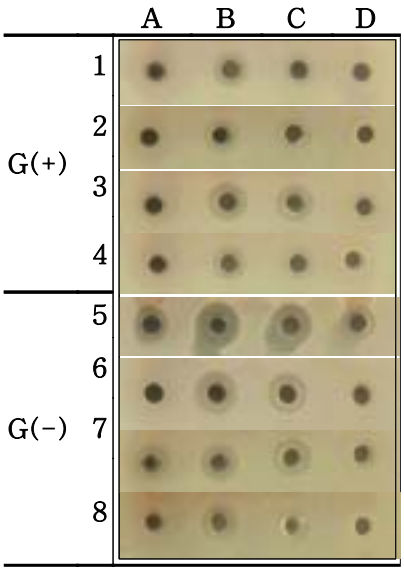


Fig. 41. Antimicrobial activities of the methanol extracts from non-germinated and different root length of germinated seeds from *R. nolubilis*. Concentration of extracts are 20㎎/㎖. Lanes, A, non-germinated seed; B, 2㎜ root length of germinated seed; C, 5㎜ root length of germinated seed; D, 10㎜ root length of germinated seed. Numbers, 1, *B. amyloliquefaciens*; 2, *B. subtilis*; 3, *S. fradiae*; 4, *S. aureus*; 5, *E. coli*; 6, *Enterobacter* spp. 7, *S. typhimurium*; 8, *P. aeruginosa*.

3) 옥수수의 항미생물 활성

옥수수종자의 발아 길이별 메탄올 추출물을 20 ㎎/㎖의 농도로 각종 식품부패균 및 식중독 균에 적용시켜 그람 양성균 4종과 그람 음성균 4종에 대해 항균활성을 측정한 결과를 **Table 17** 및 **Fig. 42**에 나타내었다. 그 결과 옥수수의 미발아 추출물은 8종의 시험균 *B. amyloliquefaciens, B. subtilis*, *S. fradiae*, *S. aureus*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *S. typhimurium*, 그리고 *P. aeruginosa*.에 20 ㎎/㎖ 농도에서 전반적으로 5-9 ㎜의 억제환으로 활성을 나타내어 그람 양성균과 음성균에서 동일하게 효과적임을 확인할 수 있었다. 그러나 발아종자에서는 장내세균에 속하는 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에서만 4-5 ㎜의 약한 활성을 나타내었을 뿐 다른 균에서는 활성을 나타내지 않았다. 옥수수 추출물도 발아의 길이에 따라 항균 활성을 나타내는 inhibition zone의 크기가 다르게 나타났으며 전반적으로 그람 음성균에 대하여 항균활성이 높은 편이었다.

Table 17. Antimicrobial activities of methanol extracts in non-germinated and different root length of germinated seeds from *Z. mays* L.

Microorganisms tested		Size of inhibition zone (ϕ, ㎜)			
		N.G.	G. 2㎜	G. 5㎜	G. 10㎜
G(+)	*B. subtilis*	5	-	-	-
	B. amyloliquefaciens	5	-	-	-
	S. fradiae	5	-	-	-
	S. aureus	7	-	-	-
G(-)	*E. coli*	9	-	5	4
	Enterobacter spp.	8	-	4	-
	S. typhimurium	7	-	-	-
	P. aeruginosa	6	-	-	-

1) Abreviations as follows: N.G., non-germinated; G. 2㎜, 2㎜ root length of germinated seed; G. 5㎜, 5㎜ root length of germinated seed; G. 10㎜, 10㎜ root length of germinated seed.
2) Extracts were loaded at 4㎎(20㎎/㎖) in each holes.

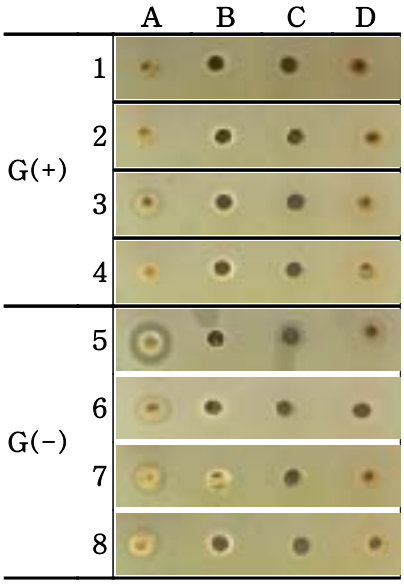


Fig. 42. Antimicrobial activities of the methanol extracts from non-germinated and different root length of germinated seeds from *Z. mays* L. Concentration of extracts are 20㎎/㎖. Lanes, A, non-germinated seed; B, 2㎜ root length of germinated seed; C, 5㎜ root length of germinated seed; D, 10㎜ root length of germinated seed. Numbers, 1, *B. amyloliquefaciens*; 2, *B. subtilis*; 3, *S. fradiae*; 4, *S. aureus*; 5, *E. coli*; 6, *Enterobacter* spp. 7, *S. typhimurium*; 8, *P. aeruginosa*.

4) 녹두의 항미생물 활성

녹두의 미발아 추출물은 7종의 시험균 *B. amyloliquefaciens, S. fradiae*, *S. aureus*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *S. typhimurium*, 그리고 *P. aeruginosa.*에 20 ㎎/㎖ 농도에서 전반적으로 5-9 ㎜의 억제환으로 활성을 나타내어 그람 양성균과 음성균에서 동일하게 효과적임을 확인할 수 있었다. 그러나 *B. subtilis*에서는 항균활성이 없었으며, 미발아 종자에서는 장내세균에 속하는 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에서만 4-7 ㎜의 약한 활성을 나타내었을 뿐 다른 균에서는 활성을 나타내지 않았다. 옥수수 추출물도 발아의 길이에 따라 항균 활성을 나타내는 억제환의 크기가 4-8 ㎜로 다르게 나타났으며 전반적으로 그람 양성균보다 그람 음성균에 대하여 항균활성이 높은 편이었다(**Table 18** 및 **Fig. 43**).

Table 18. Antimicrobial activities of methanol extracts in non-germinated and different root length of germinated seeds from *P. radiatus* L.

Microorganisms tested		Size of inhibition zone (ϕ, ㎜)			
		N.G.	G. 2㎜	G. 5㎜	G. 10㎜
G(+)	*B. subtilis*	-	-	-	-
	B. amyloliquefaciens	-	-	5	-
	S. fradiae	-	-	4	4
	S. aureus	-	5	8	6
G(-)	*E. coli*	7	7	8	6
	Enterobacter spp.	4	5	7	5
	S. typhimurium	-	-	5	5
	P. aeruginosa	-	4	6	5

1) Abreviations as follows: N.G., non-germinated; G. 2㎜, 2㎜ root length of germinated seed; G. 5㎜, 5㎜ root length of germinated seed; G. 10㎜, 10㎜ root length of germinated seed.

2) Extracts were loaded at 4㎎(20㎎/㎖) in each holes.

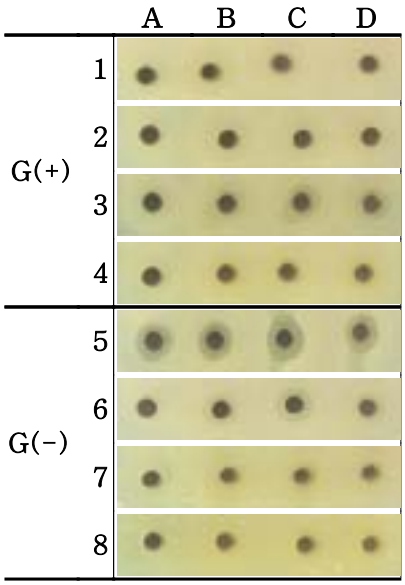


Fig. 43. Antimicrobial activities of the methanol extracts from non-germinated and different root length of germinated seeds from *P. radiatus* L. Concentration of extracts are 20㎎/㎖. Lanes, A, non-germinated seed; B, 2㎜ root length of germinated seed; C, 5㎜ root length of germinated seed; D, 10㎜ root length of germinated seed. Numbers, 1, *B. amyloliquefaciens*; 2, *B. subtilis*; 3, *S. fradiae*; 4, *S. aureus*; 5, *E. coli*; 6, *Enterobacter* spp. 7, *S. typhimurium*; 8, *P. aeruginosa*.

마. 곡물 추출물의 단백질 분해 및 혈전용해활성

1) 곡물추출물의 단백질 분해활성

친환경농법으로 재배한 곡물 녹두, 메밀, 서목태 그리고 옥수수의 비발아 종자를 마쇄하여 조효소 용액을 추출하고 1% skim milk plate를 제조해 37℃에서 14시간 반응시켜 형성된 투명대로 단백질 분해활성을 확인한 결과를 **Fig. 44**에 나타내었다. 그 결과 각각의 시료 점적 후 1시간도 채 되지 않아 서목태에서 투명대가 형성되기 시작하였고 녹두에서도 희미하게 투명대를 형성함으로써 단백질분해효소가 존재함을 확인하였지만 14시간 후에 관찰한 결과 녹두에서는 투명대가 사라짐을 볼 수 있었으며 서목태 추출물에서 단백질 분해효소가 존재함을 확인할 수 있었다. 일반적으로 단백질 분해효소는 serine, aspartic, cystein 그리고 metalloprotease의 4종류로 나뉘며, 혈전용해효소도 4종류의 효소 중 2종류의 효소에 해당된다.

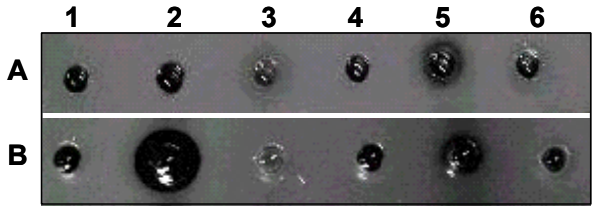


Fig. 44. Proteolytic activities of crude extracts from non-germinated seeds of environmental friendly cultivated crops on 1% skim milk plate. Crude extracts were prepared with 20 mM Tris buffer(pH 7.4). A, Incubation for 1 hour; B, Incubation for 24 hours. Lanes, 1, 20 mM Tris buffer(pH 7.4) as negative control; 2, Trypsin(0.01㎍) as positive control; 3, *P. radiatus* L.; 4, *F. esculentum*; 5, *R. nulubilis*; 6, *Z. mays* L.

2) 곡물 추출물의 혈전 분해활성

일반재배와 친환경 재배 곡물로 각각 녹두, 메밀, 서목태, 옥수수를 미발아 종자와 각각 2 ㎜, 5 ㎜, 그리고 10 ㎜의 길이로 발아된 곡물종자의 조효소 용액을 추출하여 2% fibrin agarose plate를 제조해 혈전 분해활성을 확인 결과를 Fig. 45과 46에 나타내었다. 그 결과 일반 재배 곡물이나 친환경 재배 곡물에서도 마찬가지로 4가지 곡물에서 모두 fibrin을 분해하지 못하여 혈전분해활성이 없는 것으로 생각되었다. 일반적으로 혈전용해효소는 단백질 분해효소의 일종으로 주로 metalloprotease나 serine protease에 해당하는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 결과는 단백질 분해 활성을 보인 서목태의 추출물의 경우도 위의 두가지 단백질 분해효소에는 속하지 않는 것으로 생각된다.

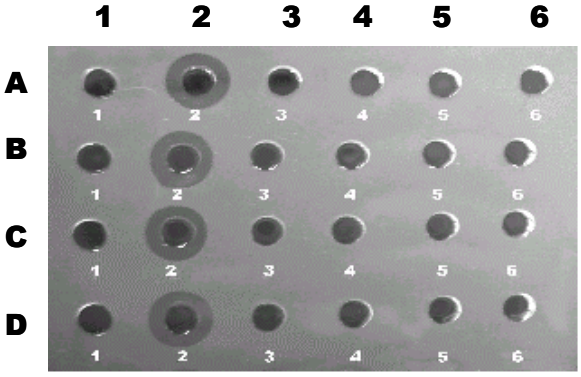


Fig. 45. Fibrinolytic activities of crude extracts of 4 kinds of germinated seeds from general cultivated crops. A, *P. radiatus* L.; B, *F. esculentum*; C, *R. nolubilis*;

D, *Z. mays* L. Lanes 1, 20 mM Tris buffer (pH 7.4) as negative control; 2, Plasmin (0.01u) as positive control; 3, non-germinated seed; 4, 2㎜ root length of germinated seed; 5, 5㎜ root length of germinated seed; 6, 10㎜ root length of germinated seed.

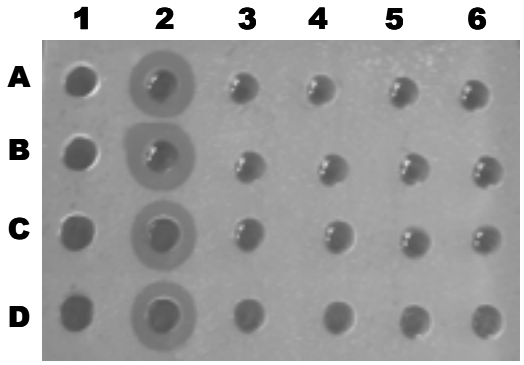


Fig. 46. Fibrinolytic activities of crude extracts of 4 kinds of germinated seeds from environmental friendly cultivated crops. A, *P. radiatus* L.; B, *F. esculentum*; C, *R. nolubilis*; D, *Z. mays* L. Lanes 1, 20 mM Tris buffer (pH 7.4) as negative control; 2, Plasmin (0.01u) as positive control; 3, Non-germinated seed; 4, 2㎜ root length of germinated seed; 5, 5 ㎜ root length of germinated seed; 6, 10㎜ root length of germinated seed.

바. Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 곡물 추출물의 효과

1) 혈청 중 creatinine 감소 효과

Creatinine은 일반적인 식사나 운동 등의 외적 영향을 받지 않아 거의 일정한 혈청 측정치를 유지하여 신장 사구체에서 여과되어도 세뇨관에서 재흡수가 잘 이루어지지 않고 요 중으로 배설되는 점에서 신장 질환에서의 혈청 중 creatinine 상승은 진단학의 중요한 지표가 된다. 본 결과에 나타내지는 않았지만 정상적인 상태에서의 실험동물에 비해 대조군(Control group, CON)에서 혈청 중 creatinine은 상승을 나타내었다. 녹두, 서목태, 옥수수 그리고 메밀의 발아 상태에 따른 추출물을 투여하여 creatinine 함량을 조사한 결과를 Fig. 28에 나타내었다. 그 결과 대조군에 비해 전반적으로 혈청 중 creatinine 수치가 줄어들었으며 녹두를 제외한 서목태, 옥수수, 메밀은 발아길이 5 ㎜일 때 가장 효율적으로creatinine의 농도를 감소시켰음을 알 수 있었다. 이는 발아 곡물이 전반적으로 신장의 사구체에 긍정적인 영향을 미쳐 creatinine이 효율적으로 배설되고 있음을 나타낸다.

2) 혈청 중 glucose 감소 효과

혈액 중 glucose는 여러 가지 원인에 의해 조절되며 그 변동 폭은 비교적 좁아 생체 내에서의 항상성 기질 유지의 대표적인 것이다. 혈중 glucose는 음식이 소화, 흡수, 간에서의 저장, 방출, 말초조직에서의 이용 등 각 단계에서의 포도당 출납의 많고 적음에 따라 조절된다. 세뇨관 손상에 의한 신부전의 경우에 세뇨관에서의 glucose 재흡수가 장애를 받아 요중으로 glucose가 검출되므로 혈중 농도는 떨어질 수 있다. 위의 **Fig. 47**에서와 같이 각 시료들이 전반적으로 혈청 중 glucose 수치를 높여주는 결과를 보였으며 그 중 메밀의 경우 가장 높은 효과를 나타내었으며 특히 2 ㎜ 발아 상태에서 가장 효과적이었다.

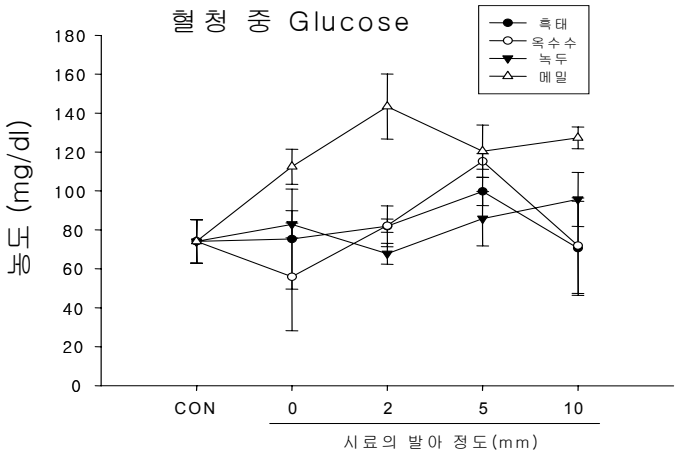


Fig. 47. Effect of several seed extracts intra-peritoneal administration on changes in serum glucose levels in glycerol-induced acute renal failure in rats. Data are mean±SE of six experiments. CON, control group; 0, 2, 5, and 10 are the root length of germinated seeds.

3) 혈청 중 BUN 감소 효과

BUN은 요소 배설 감소, 단백 과잉섭취에 따른 단백 이화작용 항진 및 신 기능 장해에 따라 증가된다. **Fig. 48**에서 보는바와 같이 각 수치들이 유의한 결과를 보이지는 않았다. 다만 주목할 만 한 결과로 메밀을 제외한 흑태, 옥수수, 녹두의 경우 발아가 되지 않은 상태에서 BUN 수치가 상승하였다가 발아가 2 ㎜ 진행된 상태에서 수

치의 감소가 나타났으며 다시 발아가 진행되면서 서서히 BUN 수치가 증가하는 양상을 보이고 있다. 이러한 결과들은 앞에서의 혈청 중 creatinine 수치의 변화 양상과 많이 다르게 나타나는데 이에 관한 추가적인 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

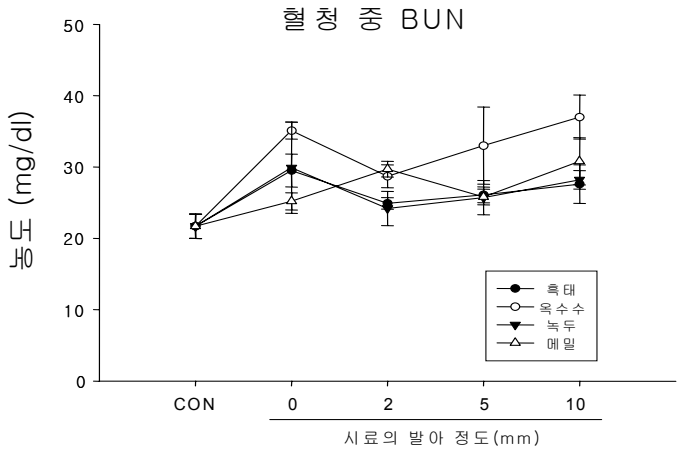


Fig. 48. Effect of several seed extracts intra-peritoneal administration on changes in serum BUN levels in glycerol-induced acute renal failure in rats. Data are mean±SE of six experiments. CON, control group; 0, 2, 5, and 10 are the root length of germinated seeds.

4) 혈청 중 Na^+ 감소 효과

Na^+는 주로 음식물 중에서 섭취되며 소변이나 땀 등으로 배설된다. 주로 신장에서 배설이 조절되며 사구체에서 여과된 대부분의 Na^+는 재흡수 된다. 신장 세뇨관에서의 재흡수는 aldosterone 등의 호르몬의 영향을 받는다. Na^+ 함량은 일반적으로 138~146 ㎜ol/ℓ 인 것으로 알려져 있다. Glycerol에 의한 신부전에 의해 혈청 중 농도가 낮아졌으며 시료 추출물을 투여한 경우 전반적으로 유사한 수치를 보이며 혈청 중 Na^+ 함량이 증가 하였는데 특히 흑태와 메밀의 발아 길이 2 ㎜ 추출물에서 높은 재 흡수력을 보였다(**Fig. 49**). 이러한 결과는 시료 추출물이 세뇨관에 작용하여 Na^+의 재흡수에 관여하여 신부전의 여러 증상을 개선한 것으로 생각된다.

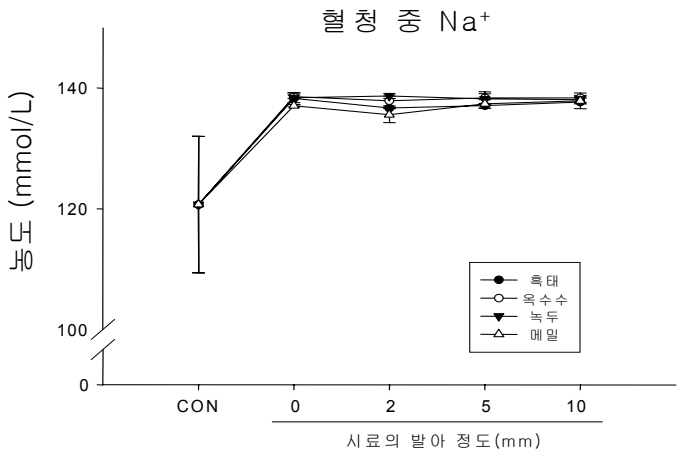


Fig. 49. Effect of several seed extracts intra-peritoneal administration on changes in serum sodium (Na^+) levels in glycerol-induced acute renal failure in rats. Data are mean±SE of six experiments. CON, control group; 0, 2, 5, and 10 are the root length of gerninated seeds.

5) 혈청 중 K^+ 감소 효과

K^+는 Na^+의 경우와 같이 다른 전해질과 종합적으로 분석하는 것이 바람직하다. K^+는 세포내 액 성분 중 양이온의 주된 성분이다. 다른 성분과의 상대적 농도를 유지하는 중요한 생리적 조절을 관장한다. 혈청 중 K^+의 이상을 일으키는 기구는 세포 성분에서의 유출, 신장에서의 배설기능 이상 등이 있으며 각종 호르몬의 영향도 받는다. 정상적인 실험동물에 비해 대조군의 경우에 혈청 중 K^+의 수치가 높게 나타났는데 이는 신장 사구체에 장애가 나타났음을 의미하며 이러한 상태에서 시료 추출물들을 투여했을 때 K^+의 농도가 현저하게 저하됨으로써 사구체의 장애를 개선한 것으로 판단되며, 발아 길이별로는 유의할 만한 차이를 보이지 않았다(**Fig. 50**).

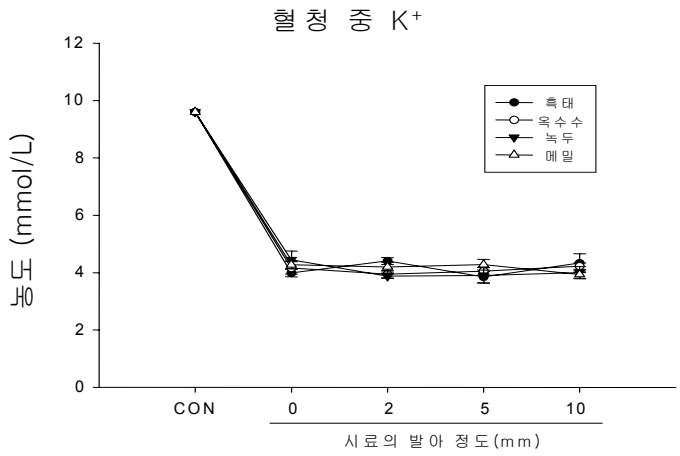


Fig. 50. Effect of several seed extracts intra-peritoneal administration on changes in serum potassium (K^+) levels in glycerol-induced acute renal failure in rats. Data are mean±SE of six experiments. CON, control group; 0, 2, 5, and 10 are the root length of germinated seeds

6) 혈청 중 Cl^- 감소 효과

혈청 중 Cl^- 함량은 대개의 경우 Na^+ 함량과 평행하여 증감하는 것으로 보고되었으며 본 연구에서도 동일한 결과를 보였다. Cl^-은 음식에서 주로 식염의 형태로 섭취되며 체외로의 배출은 소변으로가 대부분인데 사구체에서 여과되어 다시 세뇨관에서 재흡수된다. 혈청 중 함량의 저하는 신장 사구체 질환을 의심할 수 있는 데, 결과에서 알 수 있듯이 4종류의 곡물투여는 Cl^-의 세뇨관 재흡수율을 상승시켰음을 알 수 있으며 발아 길이별로는 유의할 만한 차이를 보이지 않았다(**Fig. 51**).

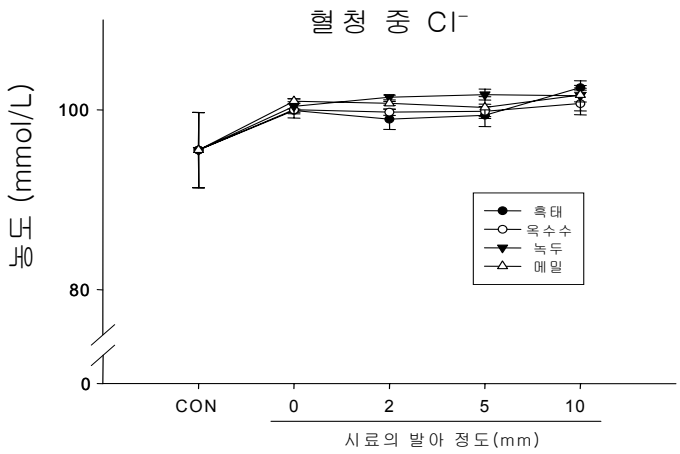


Fig. 51. Effects of several seed extracts intra peritoneal administration on changes in serum chloride(Cl^-) levels in glycerol-induced acute renal failure in rats. Data are mean±SE of six experiments. CON, control group; 0, 2, 5, and 10 are the root length of germinated seed.

4. 적 요

가. 추출물의 항산화활성

DPPH radical 소거능에 의한 항산화활성을 측정한 결과 발아길이별 추출물에서 옥수수 추출물과 메밀 추출물에서 유의할만한 효과를 보였으며 옥수수는 1 ㎎/㎖의 농도에서 발아길이 10 ㎜〉 5 ㎜〉 2 ㎜ 순으로 DPPH radical 소거율이 각각 41.68%, 36.69%, 31.45%로 발아길이가 길수록 항산화 효과가 높게 나타났다. 4종의 곡물중 항산화 효과가 가장 높았던 메밀추출물의 발아길이별 항산화 활성은 비발아 추출물에서 가장 높았고 5 ㎜〉 10 ㎜〉 2 ㎜ 순으로 항산화 효과를 보였다. 또한 GABA함량을 강화시킨 발아추출물의 항산화 활성을 비발아추출물과 발아추출물로 비교하였을때 GABA함량이 강화된 추출물에서 전반적으로 항산화활성이 증가하였다.

나. 항암제 내성 백혈암세포에 미치는 곡물종자의 발아길이별 추출물 및 GABA 함량이 강화된 발아곡물의 chemosensitizing effect

곡물추출물의 다제내성 활성도는 녹두추출물에서 가장 높은 활성을 보였고 비발아 녹두의 내성극복효과는 2.2 이상으로 발아 2 ㎜(1.9 ≥), 발아 10 ㎜(1.2), 혐기처리

한 발아 추출물(1.14 ≥)보다 높은 효과를 보였다. 친환경재배와 일반재배에 의한 다제내성억제활성도 녹두에서 효과가 높았고 그 중 비발아 및 10 ㎜ 추출물에서 친환경재배에 의한 내성극복도가 높게 나타났다.

다. 곡물종자의 발아길이별 추출물 및 GABA 함량이 강화된 발아곡물이 인체암세포의 생육에 미치는 영향

인체암세포에 대한 각 추출물의 세포독성도를 확인한 결과 대장암, 유방암, 위암, 폐암 세포중 폐암세포인 Calu-6에 대한 세포독성도가 전반적으로 높았고 발아길이별 추출물중 메밀 2 ㎜ 추출물이 293 ㎍/㎖의 농도에서 가장 높은 활성을 보였으며 비발아, 발아추출물을 GABA함량이 강화된 추출물과 세포독성도를 비교한 결과 GABA함량의 증가가 세포독성도에 영향력을 미치지는 않았다. 세포독성도가 높았던 녹두, 옥수수, 메밀에 대해 친환경 재배와 일반재배된 곡물의 생육저해효과를 비교한 결과 대체적으로 친환경 재배 곡물에서 세포독성도가 높음을 확인할 수 있었다.

라. 추출물의 항미생물 활성

추출물의 항미생물 활성은 각각의 hole에 점적한 각 추출물은 2 ㎜와 5 ㎜ 발아 추출물에서 항균활성이 대체로 크게 나타났다. 즉 발아의 길이에 따라 항균 활성을 나타내는 억제환의 크기가 다르게 나타났으며, 특히 모든 시료에서 추출물의 경우 장내세균으로 그람 음성균인 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에 대해 20 ㎎/㎖ 농도에서 4-12 ㎜의 억제환으로 강력한 활성을 나타내었다. 또한 대체적으로 모든 추출물은 그람양성균과 그람음성균에 대해 넓은 항균력을 지니고 있으나 특히 그람 음성균에 더욱 효과적임을 확인할 수 있었다. 이 중에서 옥수수의 경우 비발아 추출물은 8종의 미생물에 모두 항균활성이 있었으며, 서목태의 경우 2 ㎜와 5 ㎜의 발아 추출물에서 8종의 균 모두에서 민감하게 반응하여 6-10 ㎜의 강한 억제효과를 나타내었다. 이에 반해 녹두 추출물의 경우는 발아의 길이가 길수록 항균활성이 높았으며, 메밀 추출물의 경우는 장내세균인 *E. coli*와 *Enterobacter* spp.에서만 항균활성을 나타내었다.

마. 곡물 추출물의 단백질 분해 및 혈전용해활성

녹두, 메밀, 서목태, 옥수수 조추추물의 단백질 분해활성결과 서목태와 녹두에서 투명대가 형성되었고 특히 녹두에서 단백질 분해효소가 많이 존재하고 있음을 확인하

였다. 이어 혈전용해활성 결과 4가지 조추출물 모두 투명대가 형성되지 않아 fibrin을 분해하는 혈전용해효소는 존재하지 않음이 확인되었다.

바. Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 곡물 추출물의 효과

글리세롤로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 곡물 추출물의 효과는 이상의 실험결과를 정리하면, 발아 곡물 추출물을 주입한 실험군의 경우 시료를 투여하지 않은 대조군에 비해 혈청 중 creatinine 수치가 줄어들었으므로 사구체에 긍정적으로 작용하여 creatinine이 효율적으로 배설되었다. 혈청 중 glucose 수치에 있어서는 메밀 2 ㎜ 발아 상태에서 가장 효과적으로 혈청 중의 수치를 상승시켰다. BUN 수치는 전반적으로 증가하는 양상을 보였으며 이러한 결과는 혈청 중 creatinine 수치 변화와의 일반적 상관관계를 보여주지 않고 있다. 따라서 추출물을 고농도로 복강주사 하는 과정에서 생체 내 여러 항상성 조절 기구에 변화가 나타난 결과로 생각되므로 추가적인 연구가 수행되어야 할 것이다. Na^+, K^+ 및 Cl^-의 경우 glycerol 주입에 의해 병적인 상태로 혈청 중 함량이 변화하였으며 시료 추출물이 발아의 정도와는 상관없이 긍정적인 상태로 변화시켰음을 확인할 수 있었다.

제 3 절 발아곡물을 소재로 한 기능성 죽 제조방법 개발

1. 서 론

죽의 종류는 된죽을 전(饘)이라 하여 물의 첨가량을 3-4배, 물의 농도가 6-7배 되는 묽은 죽을 糜, 응이, 물의 농도가 이보다 더 진한 것을 맑은 죽 이(酏) 또는 미음으로 분류하고 있으며, 죽의 재료는 쌀이 가장 많으나, 채소류, 잡곡, 생선, 우유, 견과류, 술지게미, 대나무 진액 그리고 한약재를 이용한 죽의 종류가 있다고 26군의 조리서를 중심으로 보고하였다. 특히 쌀죽은 위장과 기운을 보하고 진액을 생성시키며, 소화 흡수성이 뛰어나 공복시와 소화 불량과 피로시에 좋은 음식으로, 어린이나 노약자는 물론 소화기가 약한 사람의 경우, 설사, 탈수시에도 유용한 식품이라고 보고하였다. 죽의 물성을 결정하는 조건들은 원료의 성상, 수분의 양과 가열 온도와 시간 등으로 구분된다.

한편 죽 제품의 국내 시장 규모는 2000년도 매출액 추정치로 약 800억원이 넘고 전국의 소규모 전문점까지 합하면 1,500억원으로 볼 수 있으며, 가공 방법도 점점 다양해지고 있는 양상이나, 죽의 주 재료는 흰죽, 현미죽으로, 대부분 곡류 중심이다. 대

두나 녹두 등 잡곡류의 죽제품은 전통적으로 전해오고 있으며 대두의 경우엔 발아콩 초절임 제품과 국수가 개발 되어있다. 그러나 본 연구와 같이 기능성이 규명된 발아된 서목태, 발아된 녹두, 발아메밀, 발아 옥수수를 원료로 하여 개발된 죽은 현재 보고되지 않았다.

죽의 개발은 각각의 발아곡물 즉 녹두 발아물, 옥수수 발아물, 서목태 발아물, 메밀 발아물에 백미를 첨가하여 죽을 제조하는 방법과 백미, 현미, 발아현미와 녹두 발아물을 비롯한 각각의 발아물을 첨가하여 죽을 제조하는 방법과 그리고 4 종류의 발아곡물을 혼합한 죽을 개발하고자 범위를 설정하였다.

- 각각의 죽은 최종 형태, 발아 곡물들의 예열 시간, 주곡들과의 혼합 비율, 가수량, 가열시간 그리고 사용하는 조미료와 첨가량 등은 순위법(ranking test)으로 정하여 죽 제품의 품질을 결정하는데 중요한 인자인 관능검사, Viscosity, Spreadability, Solid content를 측정하여 순위법으로 정한 가수량과 가열시간에 대한 제조법의 최적화 조건을 분석 하였다.

- 각각의 발아곡물들에 비발아 현미와 발아현미를 첨가한 것은 영양적인 synergy 효과를 얻기 위함이었으며, 4종류의 발아곡물 재료에 백미를 주곡으로 한 백미-발아곡물죽과 현미-발아곡물죽, 그리고 4 종류의 발아곡물을 동시에 배합한 혼합 발아곡물죽을 제조하여 관능테스트를 수행하여 최종 예비시제품용 발아곡물죽의 조성을 결정하였다.

2. 재료 및 방법

가. 재료

실험에 사용된 곡물종자(녹두, 옥수수, 메밀, 서목태)는 당해년도에 전남지역과 강원도의 재배농가와 한국유기농협회에서 친환경농법으로 재배한 것을 구입하여 잡초, 흙 등을 제거, 정선한 후, 실온에 보관하면서 사용하였다. 그 밖에 일반재배 곡물은 농협유통공사에서 판매하는 것을 구입하여 사용하였으며, 발아곡물종자는 총괄연구기관인 동신대학교 연구진이 결정한대로 녹두, 서목태, 메밀은 발아길이 2mm를 그리고 옥수수는 10mm를 유도하여 죽 제조용으로 사용하였다. 백미는 이천쌀(임금님표), 소금은 꽃소금(유진 염업, 인천), 참기름(백설표, (주) CJ)를 구입하여 사용하였고 메밀은 탈피의 불가능으로 끓여서 우려낸 물을 사용하였다.

나. 죽 시료의 조제

1) 최종제품의 형태 결정을 위한 예비실험

쌀죽의 조리법 중에서 가장 빈도가 높은 recipe 3 종류인 장국죽과 볶아서 즙내어 제조하는 죽, 반숙하여 파쇄하는 방법, 1/2 는 가루내고 2/3은 호화시켜 끓이는 방법으로 제조하여 순위법으로 예비 실험한 결과, 기호도가 가장 높게 나온 볶아서 즙내어 제조하는 죽을 최종제품 형태로 결정하였다.

2) 발아곡물의 적정 예열시간 측정

발아곡물들은 예열과정에 의해 강한 경도, 콩 특유의 비린내와 trypsin inhibitor등을 억제할 수 있으므로 두부 제조시의 콩 비린내 제거 방법을 사용하여 85℃ 물 300ml에 발아곡물 100g을 넣고 온도를 유지하면서 녹두(5분, 10분, 15분), 대두(7분, 10분 15분), 옥수수(0분, 15분, 20분)를 각각의 시간별로 가열하여 최적 예열시간을 결정하였으며, 메밀의 발아물은 종피 탈피시 유도된 발아부위가 제거되는 것을 방지하기 위해 열수 추출물의 형태로 첨가하였다.

3) 백미와 발아곡물간의 최적혼합비 분석

발아 곡물들과 백미와의 혼합비를 결정하기 위하여 발아 곡물들의 첨가 비를 각각 30%, 50%, 70% 첨가하여 가열 한 후, 관능테스트를 실시하여 최적혼합비를 결정하였다.

4) 죽 첨가용 최적 조미료 조건분석

죽 제조시 넣는 조미료 중 간장이나 소금은 맛에 미치는 영향이 크므로 첨가량을 예비 실험단계에서 결정하여 녹두, 옥수수, 서목태에 각각 간장 4.5 table spoon, 굴소스 1.5 table spoon, 소금 1 tea spoon을 첨가하여 가열한 후, 관능테스트를 실시하여 최적 첨가량을 결정하였다.

5) Stock의 제조조건 분석

예비실험을 통하여 Table 19 에서와 같이 재료들을 사용하여 센불에서 3분 정도 예열한 육수기에 참기름을 붓고 소고기와 우럭에 후추가루와 소금을 넣고 3 ~ 5분간 볶다가 첨가할 물의 1/2 정도를 붓고 센불에서 30분 가열한 후 나머지 물 1/2을 더 첨가한 후 센불에서 15분 가열한 후, 중불에서 20분간 가열하여 완성시는 소금의 농도 2%로 표준 제조

법을 설정하였다.

Table 19. Preferable mixing ratio of materials of stock.

Material	Mixing ratio (%)
water	55
우럭	15
beef	15
salt	2
green garlic	1
garlic	1
black pepper	1
메밀 발아물	10
sesame oil	0.05

↓

6) 가열시간의 적정성 분석

가열시간의 기준은 타 연구자에 의해 수행된 발아현미죽 제조 조건을 참고로 하여 (이와 전, 한) 각 실험군에 시료 중량의 8배, 9배, 10배의 물을 넣고 끓기 시작할때 중간 세기의 불에서(Magic Chef with Uniburner, 핵-6M07W) 각각 30분, 40분, 50분 가열한후, 순위법에 의해 최적 가수량과 최적 가열시간을 결정하였다.

7) 최적 가수량 측정

위와 같은 조리법으로 각각의 시료들을 준비하여 최적의 가열시간으로 가수량을 9배, 10배, 11배로 준비하여 각각을 예비실험하여 결정하였다.

8) 죽 첨가용 채소종류 및 혼합비 결정

발아곡물죽에 생리활성과 콜레스테롤의 저하 효과가 뛰어난 버섯과 곡물죽의 색상을 좋게 하기 위해 당근, 우엉을 첨가하였으며 첨가한 채소들은 mixer(Krups, Germany)에 1분간 mixing 하여 첨가하였다(Table 20).

Table 20. Preferable mixing ratio of vegetable of gruel.

Material	Mixing ratio (%)
carrot	35
mushroom	35
burdock root	3

9) 죽 제조용 발아곡물 시료의 조제

백미는 상온에서 2시간 침지하여 물기를 제거한 후 waring blender에서 1분간 회전시켜 침지하여 시료로 하였으며 현미는 4시간 침지하여 물기를 제거한 후 waring blender에서 1분간 회전시켜 침지하여 시료로 하였다. 발아곡물 시료는 총괄연구기관인 동신대학교의 생리활성 실험결과 GABA 함량이 높은 발아곡물(녹두 2mm, 서목태 2mm, 메밀 2mm, 옥수수 10mm)을 이용하였으며, 2차 발아곡물 시료는 글루탐산 처리-혐기처리 등의 과정으로 동신대학교 연구진이 제조한 GABA 함량 강화발아물을 기능성 죽의 시료로 사용하였다.

10) 발아곡물죽의 제조

죽은 stainless (직경20cm, 키친아트사)의 냄비와 가열기(Magic Chef with Uniburner, GOR-6M07W)에서 중불, 센불, 약불로 조절하며 가열하여 제조하였으며 참기름, 굴 소오스, 소금을 조미료로 하였으며 그 순서는 아래와 같다. :

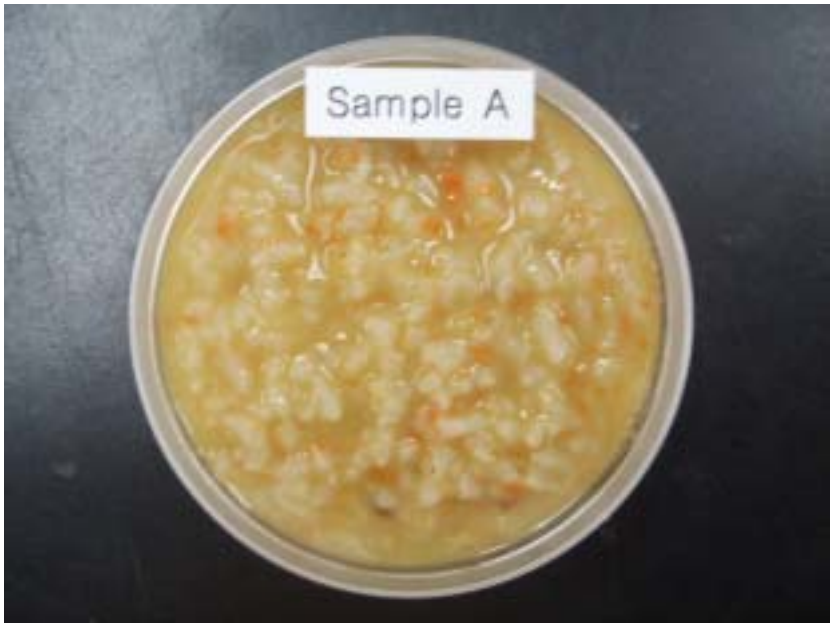
a. stainless 냄비에 참기름 2 table spoon과 굴 소오스 2 table spoon을 넣는다.
b. 쌀(백미, 현미, 발아현미)과 채소(당근, 버섯 우엉)를 넣고 중불에서 5분간 볶는다.
c. stock 900 ㎖을 넣고 20분간 센불로 가열한다.
d. 발아곡물을 넣고 25분간 중불로 가열한다.
e. 5분간 약한 불로 가열한다.

가) 백미를 주곡으로 한 발아곡물죽 제조

백미를 주곡으로 한 발아 녹두죽, 발아 옥수수죽, 발아 서목태죽은 Table 21과 같은 배합비로 제조하였다.

Table 21. The composition of 3 kinds of milled rice soups with sprouted grains.

Soup sample	Material	Mixing ratio (%)
Milled rice soup with sprouted mungbean(하단 그림 sample A)	milled rice	70
	sprouted mung bean	30
Milled rice soup with sprouted blackbean(seomocktae)	milled rice	70
	sprouted black bean(seomocktae)	30
Milled rice soup with sprouted corn	milled rice	70
	sprouted corn	30



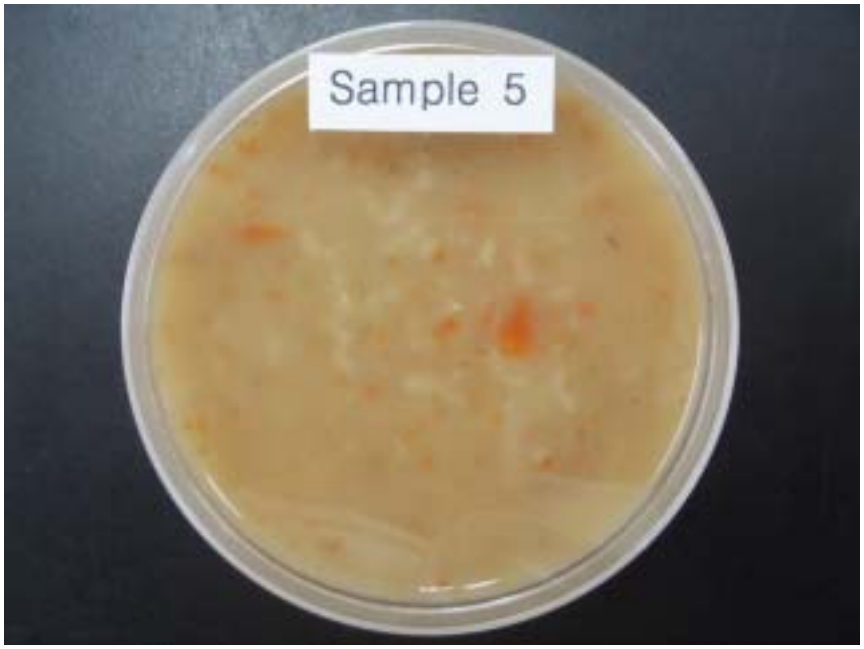
나) 현미를 주곡으로 한 발아곡물죽 시료 제조

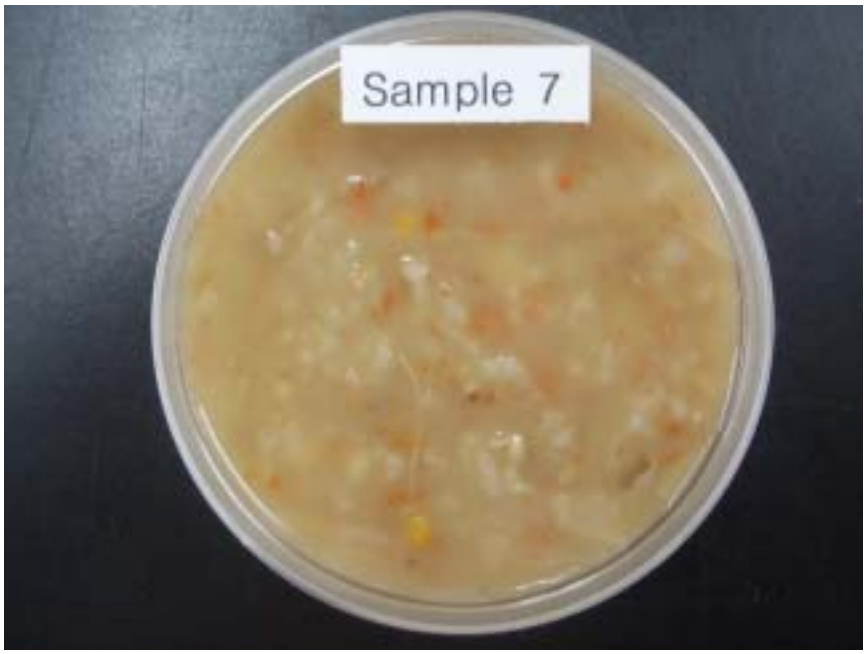
현미를 주곡으로 한 발아녹두 현미죽, 발아서목태 현미죽, 발아옥수수 현미죽 은 각 재료의 배합비를 Table 22와 같이 백미(4) : 현미(2) : 발아현미(1) : 발아곡물(3)의 비율로

배합하여 제조한 후, 관능테스트를 실시하였다.

Table 22. The composition of 3 brown rice soups with sprouted grains.

Sample	Material	Mixing ratio (%)
Brown rice soup with sprouted mungbean	milled rice	40
	brown rice	20
	sprouted brown rice	10
	sprouted mung bean	30
Brown rice soup with sprouted blackbean(seomocktae):하단 그림 sample 5	milled rice	40
	brown rice	20
	sprouted brown rice	10
	sprouted corn	30
Brown rice soup with sprouted corn: 하단 그림 sample 7	milled rice	40
	brown rice	20
	sprouted brown rice	10
	sprouted black bean(seomocktae)	30





다) GABA 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합 발아곡물죽 제조

GABA 함량강화 발아곡물죽은 발아곡물 현미죽보다 기호도가 높았던 백미를 주곡으로

하여 GABA 함량강화 발아녹두, GABA 함량강화 발아옥수수, GABA 함량강화 발아 서목태를 Table 23와 같이 서로 다른 혼합비로 혼합하여 제조하여 관능 테스트를 실시하였다.

Table 23. The composition of cereal soups with GABA-enhanced, germinated grains.

Sample	Mixing ratio (%)			
	Milled rice	GABA-enhanced, germinated mung bean	GABA-enhanced, germinated Black bean(seomocktae)	GABA-enhanced, germinated corn
S0	100	0	0	0
SA	50	12.5	25	12.5
SB (하단 그림)	30	17.5	35	17.5
SC	70	7.5	15	7.5

다. 발아곡물죽의 이화학적 특성조사

제조된 죽은 polyethylene 용기에 100 g씩 담아 냉장고에 보관하면서 물성 검사와 미

생물 검사, 관능검사를 수행하였다.

1) 발아곡물죽의 물성 검사

가) pH 측정

pH meter (VWR Scientific Products, model 8000)을 사용하여 측정하였다.

나) 고형분의 수분량 및 함량 측정

발아곡물죽에 함유된 고형분은 105℃에서 상압 가열건조법으로 수분을 측정하고 100에서 그 함량을 제외한 값으로 나타내었다.

다) 퍼짐성 측정

제조된 배합비가 서로 다른 곡물죽의 퍼짐성은 Line Spread Chart를 사용하여 60℃인 죽을 50 g 취하여 지름과 높이가 각각 50mmdls 플라스틱 원통에 넣은 후 어울려 퍼지게 하여 5분 후 자로 퍼진 부분 4 군데의 부위에서 반지름을 측정하여 평균치를 구하였다.

라) 점도 측정

제조된 각각의 곡물죽의 점성측정은 Brookfield digital viscometer (Model DV-II, Brookfield Engineering, USA) spindle No.2 (Model RVT)를 사용하였다.

마) 색도 측정

제조된 곡물죽의 색도는 Hunter 색차계 (Spectrophotomer, Minolta CM-3500d, Japan)을 이용하여 L, a, b 값으로 나타내었다. 이 때 Zero calibration은 CM-A 124box, white calibration은 CM-A120 box를 이용하였고 white calibration시의 L 값은 96.84, a 값은 -0.16, b 값은 -0.26으로 측정하였다.

바) 총 당 함량측정

총 당의 함량은 Phenol-H_2SO_4 법으로 측정하였다. 시료 2.5g을 취하여 균질화하여 증류수로 50 mL로 정용하고 원심분리 후 여과하였다. 용액 1mL을 100 mL로 정용한 시료

용액 1mL에 5% Phenol 용액 1mL을 가하고 혼합하고 Conc.-H_2SO_4 5mL를 가하여 10분간 방치하였다가 20-30℃의 water bath 에서 20분간 유지한 후 470nm에서 흡광도를 측정하였다. 맥아당(Yakuri Pure Chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan)을 표준물질로 하여 농도별로 검량선을 작성한 후 시료 중의 총당 함량을 구하였다.

사) Amylose 함량 측정

요오드 비색법에 의해 곡물죽의 amylose 함량을 측정하였다. 죽 0.3 g을 취하여 0.5N-KOH 용액 10 mL을 가한 후 균질화 시킨 후 100 mL로 정용하였다. 이 용액 10 mL를 50 mL volumetric flask에 취하고 0.1N-HCl 5mL를 첨가하여 중화시키고 전체가 약 45 mL 되게 증류수를 가한 다음 요오드 용액 (0.2% 요오드와 요오드 칼륨의 혼합액) 0.5 mL를 넣고 50 mL 되게 정용하였다. 실온에서 20분간 발색시킨 후 625nm에서 흡광도(CARY 3E UV-Visible Spectrophotometer)를 측정하였다. 표준 곡선은 potato amylose(Sigma, St, Louis, MO, USA)와 amylopectin(Sigma, St, Louis, MO, USA)를 서로 다른 비율의 여러 혼합용액을 만들어 작성하였다.

아) 곡물죽의 저장성 분석

저장성 실험을 위한 시료는 폴리에틸렌 진공 포장한 시료와 retort 포장으로 Gold star neuro Fuzzy 전자 조리기로 EC-110N, 용기는 Queen family STS-18/10, 포장지는 retort 필름으로는 Aluminium 포장지에 100g씩 121℃에서 30분간 1.9bar의 기압에서 Retort 포장 실온에서 보관하면서 저장성 실험 수행 시료로 제조하여 실험하였다.

2) 발아곡물죽의 미생물 검사

가) 대장균군 측정

시료 1ml을 3 개의 EC 배지에 접종하고 44.5 ± 2시간 배양한 후 가스 발생을 인정한 발효관은 추정 시험 양성으로 하고 가스 발생이 인정되지 않을 때에는 추정 시험 음성으로 하였다. 추정 시험이 양성일 때에는 해당 EC 발효관으로부터 1 백금이를 EMB 평판 배지에 획선 접종하여 35 ± 1℃에서 48시간 배양하고 보통 한천 사면배지에 접종한 것은 35 ± 1℃에서 24 ± 2 시간 배양하였다. 유당 배지에서 가스 발생을 인정하였을 때에는 이에 해당하는 보통 한천 사면 배지에서 배양된 집락을 취하여 그람 염색을 실시하고 검경

후 그람 음성, 무아포성 간균을 확인 한 후 생화학 시험을 실시하여 대장균 양성을 판정하였다.

나) 일반세균 측정

죽 시료를 saline으로 희석한 총균수 배지 (plate count agar, Difco, Lab, USA)에 1ml씩 pouring culture method로 접종한 다음 30℃에서 24 ~ 48시간 배양하여 형성된 집락을 Qubec colony counter로 계수하였다.

3) 발아곡물죽의 관능검사

제조한 죽은 색, 점도, 맛, 전체적인 기호도의 항목으로 5 점 척도법으로 평가하였다. 관능검사 요원은 가천길대학 식품영양과 학생 9명이었으며 평가전 평가항목에 대해서 충분히 설명한 후 이루어졌다.

4) 통계

관능검사의 통계는 SAS 8.2를 사용하여 Duncan's multiple range test로 실시하였다 ($p<0.05$).

3. 결과 및 고찰

가. 백미를 주곡으로 한 발아곡물죽의 이화학적 특성

1) 백미 첨가량 및 가수량에 따른 고형분 함량의 증감

백미 첨가량에 따른 고형분 함량의 변화는 메밀을 제외하고는 **주곡인 백미의 첨가량이 높을수록 고형분이 증가하는 경향이 뚜렷**하였으며 **가수량에 따른 고형분 함량은 10배에서 감소**의 폭이 매우 크게 나타났다(Table 24, 25).

Table 24. The contents of solid , viscosity and spreadability(line speed) of 3 kinds of milled rice soups with sprouted grains by mixing ratio.

Sample	Material	Mixing ratio	Solid content (%)	Visicosity (cP)	Spreadability line speed (cm)
발아 녹두-백미죽	Milled rice : Germinated mungbean	7 : 3	16.69	7,225.17	6.8
	Milled rice : Germinated mungbean	3 : 7	15.10	7,001.67	6.8
발아 옥수수-백미죽	Milled rice : Germinated corn	7 : 3	19.39	5,807.29	8.8
	Milled rice : Germinated corn	3 : 7	14.49	4,688.00	7.8
발아 서목태-백미죽	Milled rice : Germinated black bean(Seomocktae)	7 : 3	17,96	4,614.38	7.8
	Milled rice : Germinated black bean(Seomocktae)	3 : 7	18.99	4,441.00	7.9

Table 25. The contents of solid, visicosity and spreadability(line speed) of 3 kinds of milled rice soup according to adding water.

Sample	Adding water content(times)	Solid contents (%)	Visicosity (cP)	Spreadability line speed (cm)
발아녹두 백미죽	8×	16.20	6,670.64	4.3
	9×	16.04	5,780.94	4.7
	10×	13.73	5,670.64	4.8
발아옥수수 백미죽	8×	19.4	4,892	6.7
	9×	13.5	4,780.13	6.4
	10×	12.5	4,673.13	6.3
발아서목태 백미죽	8×	18.97	4,991.97	5.9
	9×	17.2	4,081.93	5.0
	10×	14.21	4,571.92	4.5

2) 백미 첨가량 및 가수량에 의한 발아곡물죽의 점도 증감

백미 첨가량에 따른 점도의 변화를 살펴보면, 발아녹두 백미죽의 점도가 7,000 cP로 가장 높은 값을 나타내었고, 발아옥수수 백미죽이 가장 낮은 점도를 나타내었다. **백미의 첨가비율에 따른 점성 변화는 첨가량이 소량일수록 낮은 경향**을 보였으며 적정 가수량을 정하기 위한 실험에서 **가수량에 따른 점도**는 발아녹두 백미죽, 발아옥수수 백미죽, 발아서목태 백미죽 모두에서 **시간이 증가할수록 시료마다 다른 양상**을 보였다(Table 24, 25).

3) 백미 첨가량에 따른 발아곡물죽의 퍼짐성 증감

백미 첨가량에 따른 퍼짐성은 **첨가량이 많을수록 증가**하는 경향을 보였고 퍼짐성이 가장 큰 것은 옥수수였으며 퍼짐성이 가장 낮은 것은 녹두였다. 퍼짐성의 정도는 가수량 증가와 비례적으로 증가하는 경향을 보였다(Table 24, 25).

나. 현미를 주곡으로 한 발아곡물죽의 이화학적 특성

1) 가열시간의 증가에 따른 발아곡물죽의 고형분 함량 증가

발아녹두 현미죽, 발아옥수수 현미죽, 발아서목태 현미죽은 모두 가열시간 증가에 따라서 고형분이 증가하는 경향을 보였으며, 발아녹두 현미죽, 발아 옥수수 현미죽은 고형분 증가의 폭이 컸으나, 발아서목태 현미죽은 가열시간에 따란 고형분의 증가 폭이 적게 나타났다(Table 26).

2) 가열시간에 따른 발아곡물죽의 점도 증감

발아녹두 현미죽, 발아서목태 현미죽의 점도는 가열 시간 증가에 따라 증가하였으나 발아옥수수 현미죽은 대조적으로 가열시간 증가에 따라 점도가 감소하는 경향을 보였다(Table 26).

3) 가열시간에 따른 발아곡물죽의 퍼짐성 증감

발아현미를 주로하여 만든 발아녹두, 현미죽, 발아옥수수, 현미죽, 발아서목태 현미죽의 퍼짐성은 가열시간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다(Table 26).

Table 26. The contents of solid, visicosity and spreadability(line speed) of 3 kind of brown rice soup according to heating time.

Sample	Heating time(minutes)	Solid content (%)	Viscosity (cP)	spreadability Line speed(cm)
발아녹두 현미죽	40	12.78	1,089	6.0
	50	14.33	5,037	4.3
발아옥수수 현미죽	50	14.35	2,677	6.4
	60	17.21	1,658	5.4
발아서목태 현미죽	50	15.10	3,915	6.4
	60	15.56	7,234	5.3

4) 관능검사 결과

관능검사는 기호도 높은 가열시간과 가수량과 첨가율을 평가하였으며 관능적인 factor를 검사하여 5% 유의 수준차의 신뢰를 검증하였다. **발아녹두 현미죽이 맛, 색, 종합적인 기호도가 가장 높았으며**, 다음으로는 발아옥수수 현미죽, 발아서목태 현미죽의 순서로 종합적인 기호도가 평가 되었으며 발아 옥수수 현미죽과 발아 서목태 현미죽은 색상과 조직감이 좋은 것으로 평가되었다(Table 27).

Table 27. The result of sensory test of 3 kinds of brown rice soup adding to heating time and adding water.

Soup sample	Sensory evaluation factor			
	taste	color	texture	preference
발아녹두 현미죽	3.50 ± 0.57^{a}	3.50 ± 1.00^{ab}	3.50 ± 0.57^{ab}	3.50 ± 0.57^{a}
발아옥수수 현미죽	3.25 ± 0.95^{ab}	3.00 ± 1.15^{ab}	3.25 ± 0.50^{b}	3.25 ± 0.95^{a}
발아서목태 현미죽	3.00 ± 1.41^{ab}	3.00 ± 0.81^{ab}	4.00 ± 0.81^{ab}	2.00 ± 0.00^{b}

Superscript with the same letter in column of each sample are not significanlty different ($p<0.05$)

다. 친환경재배 및 일반재배 곡물의 발아곡물죽의 품질

발아 녹두, 발아 서목태, 발아 옥수수등에 백미를 첨가하여 제조한 죽에 관한 물성 검사를 한 결과, **친환경재배** 녹두, 서목태, 옥수수를 **발아곡물죽 시료들의 점도가 일반재배** 녹두, 서목태, 옥수수 **발아곡물죽 보다 약간 큰 경향**을 보였고, 퍼짐성과 색도에는 친환경재배 발아곡물 죽과 일반재배 발아곡물죽에서 유의할 만한 차이가 없었다. **pH는 친환경재배 발아곡물죽이** 일반재배 발아곡물죽보다 **낮았으며, 총당과 환원당은** 친환경재배 발아곡물죽이 일반재배 발아곡물죽보다 **높게 나타났다**(Table 28, 29).

Table 28. Comparative physical data of 3 kinds of unpeeled rice soup adding environmental friendly- and general cultivated mungbean, corn, black bean(Seomocktae) according to heating time and adding water.

Brown rice soup		Preparation condition			Physical data				
		heating time (mins)	adding water (times)	mixing ratio (%)	viscosity (cP)	spreadability line speed(cm)	hunter's value		
							L	a	b
Environmental friendly cultivation	germinated mung bean	40	10	30	8,915.2	6.05	54.5	1.3	9.17
	germinated corn	40	9	30	4,455	6.18	55.8	1.59	9.9
	germinated black bean	40	10	70	4,344.3	6.35	58.3	0.75	11.95
General cultivation	germinated mung bean	40	10	30	7,595	5.95	55.8	0.88	8.95
	germinated corn	40	10	30	3.550	6.01	57.56	0.95	9.01
	germinated black bean	40	10	70	4,127.7	6.0	57.45	1.24	10.5

Table 29. Comparative chemical composition data of 3 kinds of brown rice soup adding germinated environmental friendly- and general cultivated mungbean, corn, black bean(Seomocktae) according to heating time and adding water.

Brown rice soup		Preparation condition			Chemical composition			
		heating (mins)	adding water (times)	mixing ratio (%)	pH	solid content (%)	total sugar (%)	reduced sugar (%)
Environmental friendly cultivation	germinated mung bean	40	10	30	5.85	14.5	3.5	2.89
	germinated corn	60	10	30	5.5	17.55	4.34	2.45
	germinated black bean	50	10	70	5.7	19.4	4.35	1.45
General cultivation	germinated mung bean	40	10	30	6.01	15.0	3.85	1.89
	germinated corn	60	10	30	6.25	16.02	1.34	0.45
	germinated black bean	50	10	70	6.07	16.04	2.38	1.79

라. GABA의 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합죽(GABA-발아곡물죽)의 이화학적 특성

1) GABA-발아곡물죽의 pH

GABA의 함량이 강화된 3 종류 죽(SA, SB, SC)의 pH는 6.19 ~ 6.33을 나타내었으며 그 중에서 백미로만 제조한 S0(대조군)의 pH가 가장 높았고 pH값이 가장 낮은 죽은

GABA 함량 강화 발아곡물을 70% 혼합한 SB이었다(Table 30).

2) GABA강화 발아곡물의 첨가량에 의한 GABA-발아곡물죽의 고형분 함량

3 종류 죽(SA, SB, SC)의 고형분은 11.7 ~ 12.8%이었으며 GABA의 함량 강화 발아곡물의 **첨가량이 많을수록 대조군에 비하여 고형분 함량이 낮아졌다**. GABA강화 발아곡물이 30% 혼합된 SC의 고형분 함량은 12%으로 GABA강화 발아곡물이 50% 혼합된 SA, GABA강화 발아곡물이 70% 혼합된 SB와 비교하여 고형분의 함량이 가장 낮았다(Table 30).

Table 30. The pH and solid content of 3 kinds of GABA-rich soups.

Soup sample	pH	Solid content (%)
S0	6.33±0.01^{c}	12.8
SA	6.28±0.04^{c}	11.7
SB	6.19±0.01^{d}	12.0
SC	6.20±0.00^{c}	11.8

3) GABA-발아곡물죽의 물성 (점도, 퍼짐성, 색도)

3 종류의 죽 시료의 점도는 대조군의 점도 값이 가장 높았고, 가장 **점도**가 낮은 시료는 GABA강화 발아곡물을 30 % 첨가한 SC로 나타났으며, **퍼짐성**은 발아곡물들을 첨가한 SA, SB, SC들의 값이 100% 백미죽인 S0보다 약간 큰 것으로 나타났다. **색도**는 L 값은 GABA강화 발아곡물이 50% 혼합된 SA, GABA강화 발아곡물이 70% 혼합된 SB, GABA강화 발아곡물이 30% 혼합된 SC 모두에서 63.24 ~ 65.82값을 나타냈으며, 황색도를 나타내는 b 값은 GABA강화 발아곡물을 30% 첨가한 SC가 25.39로 가장 큰 값을 나타냈다(Table 31).

Table 31. Physical properties of 3 kinds of GABA-rich soup.

Soup sample	Viscosity (cP)	Spreadability line speed(cm)	Hunter value		
			L	a	b
S0	4,250 ± 113.2[a]	3.0 ± 0.1[c]	64.35	3.21	17.63
SA	706.7 ± 4.6[b]	3.75 ± 0.3[a]	63.44	4.77	21.79
SB	600 ± 8.0[a]	3.70 ± 0.2[bc]	65.24	4.47	24.26
SC	581.3 ± 106.5[a]	3.95 ± 0.2[a]	65.82	5.07	25.39

4) 관능검사에 의한 최종 GABA-발아곡물죽 결정

관능검사 결과 색도 항목에서는 SB, SC, SA순으로 그 값이 높게 나타났으며 전체적인 기호도와 texture가 가장 높은 시료는 SB였다(Table 32).

Table 32. The sensory evaluation of 4 kinds of GABA-rich soup.

Soup sample	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall preference
S0	4.25 ± 1.16[a]	2.75 ± 0.89[a]	3.38 ± 1.2[a]	3.13 ± 1.25[a]	3.13 ± 1.25[a]
SA	2.0 ± 0.93[b]	3.38 ± 1.3[a]	3.63 ± 0.92[a]	3.5 ± 1.2[a]	3.5 ± 1.2[a]
SB	3.75 ± 0.71[a]	3.63 ± 1.1[a]	3.75 ± 1.16[a]	4.13 ± 0.99[a]	4.0 ± 0.76[a]
SC	3.25 ± 1.04[a]	3.75 ± 1.04[a]	3.38 ± 1.41[a]	2.88 ± 1.13[a]	3.5 ± 1.2[a]

마. 발아곡물죽 저장 및 유통을 위한 최적 포장조건

retort포장과 polyethylene포장을 하여 냉장고에 6주간 저장하면서 2주일에 한번씩 physical factor, 이화학적 factor와 세균 검사를 실시하였다.

1) 최적 pH

포장 방법에 따른 pH는 폴리에틸렌 포장 시료들은 저장 기간이 증가할수록 pH는 높아지는 경향을 보였다. 시료 중에서 저장 마지막 날에 pH가 가장 낮은 시료는 GABA강화 발아곡물이 가장 많이 들어간 SB였다. **retort 포장 시료들은 저장 기간 동안 SA, SB, SC 모두 pH의 변화가 거의 없었으며 발아곡물 첨가량이 증가함에 따라 pH는 감소**하는 것으로 나타났다. 발아곡물의 첨가량과 저장 기간 증가에 따른 spearman correlation값은 0.80715로 양의 상관 관계를 보여 저장 기간 증가에 따라 pH가 증가하였고, 발아 곡물 첨가량에 따른 pH는 -0.2783로 음의 상관관계를 보였다(Table 33).

2) 고형분의 함량

포장 방법에 따른 고형분 함량은 저장 기간 증가에 따라 폴리에틸렌 포장 시료들은 증가하였고 시료들 중에서는 GABA강화 발아곡물이 전혀 들어가지 않은 S0의 고형분 함량은 점점 증가하는 양상을 보였고 GABA강화 발아곡물이 첨가된 죽 중에서는 GABA강화 발아곡물이 50% 혼합된 SA가 고형분의 증가폭이 가장 적었다.

Table 33. The pH of 4 kinds of GABA-rich soup according to packing type.

Soup sample	Packing type	0	1st	2nd	3rd
S0	Poly-ethylene	6.44±0.03^{b}	6.34±0.04^{c}	6.73±0.01^{a}	7.24±0.01^{a}
SA		6.21±0.03^{c}	6.45±0.08^{b}	6.80±0.02^{a}	7.37±0.02^{a}
SB		6.17±0.02^{d}	6.47±0.02^{c}	6.62±0.01^{b}	7.21±0.01^{a}
SC		6.22±0.01^{c}	6.60±0.01^{a}	6.40±0.02^{b}	7.42±0.02^{b}
S0	Retort	6.43±0.01^{a}	6.41±0.02^{d}	6.49±0.01^{a}	6.46±0.02^{a}
SA		6.22±0.02^{a}	6.21±0.01^{b}	6.2±0.03^{b}	6.18±0.02^{a}
SB		6.19±0.01^{b}	6.18±0.02^{c}	6.18±0.01^{a}	6.17±0.02^{d}
SC		6.23±0.01^{a}	6.22±0.02^{b}	6.21±0.01^{d}	6.2±0.02^{b}

또한, retort 포장 시료들은 저장 첫째 날부터는 고형분의 양이 많았으나 저장 기간에 따른 증가는 없었다. 이런 현상은 retort 포장은 폴리에틸렌 포장 보다는 저장성을 높이기 위해 높은 온도를 택하기 때문으로 보인다. 폴리에틸렌 포장 시료들의 저장기간과 고형분양과는 spearman correlation값은 -0.835774로 저장기간이 길수록 수분은 감소하는 것으로 볼 수 있으나 시료들 간에는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 34).

Table 34. The solid content of 4 kind of GABA-rich soup according to packing type.

Soup sample	Polyethylene				Retort			
	0	1st	2nd	3rd	0	1st	2nd	3rd
S0	13.6	13.6	14.2	15.6	14.1	19.2	19.2	19.2
SA	11.7	12.6	13.7	13.8	11.9	17	17	16.2
SB	12.7	12.7	13.8	14.1	12.8	17.9	18	18
SC	11.7	13.1	13.7	14.1	11.8	16.9	16.9	16.9

3) 포장방법과 저장기간에 따른 점도의 변화

포장 방법과 저장 기간에 따른 점도는 폴리에틸렌의 경우 저장 첫째날 급격히 높아지고 다음부터는 서서히 증가하는 양상을 보였고, 시료들 중에는 SA의 점도가 가장 높은 것으로 나타났고, SC, SA, SB순으로 점도가 나타나 GABA강화 발아곡물의 첨가량이 많을수록 점도가 감소하는 것으로 나타났다. **retort포장도 저장 첫째날 급격히 높아졌으나 첫째날 이후부터 저장 기간 동안에는 거의 변화가 없는 양상**을 보였다. 저장기간과 점도의 correlation은 유의적 의미의 상관관계가 나타나지 않았으나, 발아곡물 첨가량과 점도는 -0.71403으로 음의 상관관계를 나타냈다(Table 35).

Table 35. The viscosity of 4 kind of GABA-rich soup according to packing type.

Soup samples	Packing type	0	1st	2nd	3rd
S0	Poly-ethylene	1,704 ± 8^{d}	2,712 ± 8^{b}	2,144 ± 8^{c}	2,078 ± 39.9^{c}
SA		389.3 ± 16.7^{c}	861.3 ± 121^{a}	432 ± 28.8^{c}	436.3 ± 58.6^{c}
SB		322.7 ± 4.6^{b}	560 ± 8^{a}	328 ± 68.4^{b}	390 ± 98.5^{b}
SC		376 ± 8^{b}	640 ± 8^{a}	256 ± 36.7^{c}	360.3 ± 67.6^{bc}
S0	Retort	1,712 ± 3.2^{d}	2,054 ± 8^{c}	1,704 ± 7.3^{c}	1,696 ± 6.8^{c}
SA		408 ± 4.5^{c}	384 ± 8^{a}	376 ± 4.6^{c}	376 ± 4.8^{c}
SB		384 ± 4.6^{b}	376 ± 7.3^{b}	375 ± 8^{b}	368 ± 8.5^{b}
SC		424 ± 7.6^{b}	408 ± b^{a}	403 ± 6.7^{c}	402 ± 6.5^{a}

4) 포장법과 저장기간에 따른 퍼짐성

포장 방법과 저장 기간에 따른 퍼짐성은 폴리에틸렌 포장은 저장기간 증가에 따라 퍼짐성이 증가하는 경향을 보였고 GABA강화 발아곡물 첨가 죽인 SA, SB, SC는 대조군인 S0(백미 100% 죽)보다 더 많이 증가하는 경향을 보였다. 저장기간과 퍼짐성의 correlation은 저장기간과는 유의적 의미가 나타나지 않았고, 발아곡물 비율과는 0.58739로 양의 상관관계를 나타내어 발아곡물의 비율이 높을수록 퍼짐성이 증가하는 것으로 나타났으며 **retort 포장은 저장기간의 증가에 따라 거의 변화가 없는 것**으로 나타났다(Table 36).

Table 36. The spreadability of 4 kind of GABA-rich soup according to packing type.

Soup sample	Packing type	0	1st	2nd	3rd
S0	Poly-ethylene	3.54 ± 0.15^{a}	3.3 ± 0.17^{abc}	3.42 ± 0.12^{ab}	3.6 ± 0.79^{bc}
SA		3.6 ± 0.2^{a}	3.49 ± 0.32^{a}	3,72 ± 0.32^{a}	4.24 ± 0.15^{a}
SB		3.6 ± 0.36^{a}	3.5 ± 0.21^{c}	3.9 ± 0.17^{ab}	4.27 ± 0.21^{b}
SC		3.64 ± 0.15^{b}	3.67 ± 0.31^{b}	3.7 ± 0.3^{b}	4.09 ± 0.25^{b}
S0	Retort	3.3 ± 0.12^{a}	3.25 ± 0.15^{bc}	3.25 ± 0.12^{b}	3.2 ± 10.17^{a}
SA		3.45 ± 0.32^{a}	3.4 ± 0.3^{a}	3.25 ± 0.2^{ab}	3.25 ± 0.15^{ab}
SB		3.6 ± 0.3^{a}	3.45 ± 0.2^{b}	3.4 ± 0.15^{b}	3.35 ± 0.15^{a}
SC		3.7 ± 0.2^{b}	3.6 ± 0.15^{c}	3.6 ± 0.15^{bc}	3.5 ± 0.2^{b}

5) 포장법과 저장기간에 따른 색도 변화

포장방법과 저장기간에 따른 색도는 폴리에틸렌 포장은 저장 기간 중 L 값의 변화는 거의 없었으나 b 값은 저장기간의 증가에 따라 값이 적어지는 경향을 보였으며 retort 포장은 둘째 날의 L 값은 급격히 감소하였고, 그 후부터는 변화를 보이지 않았고, a값도 폴리에틸렌 포장 보다는 값이 컸으나 저장 기간동안 변화가 없었고, 2 개월 까지도 변화가 없는 것으로 나타났다. 또한 b 값은 저장 첫째 날부터 변화의 폭이 큰 것으로 나타났는데 retort 포장의 특징은 높은 온도의 채택으로 보이고 **전체적으로는 retort 포장의 시료들은 색상이 폴리에틸렌 포장에 비해 진한 것으로 나타났다**(Table 37).

Table 37. Comparative color value of 4 kind of GABA-rich soup of polyethylene, retort packing during the storage period.

Storage days		0			1			2			3		
Hunter's value		L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
polyethylene	S0	64.25	3.13	25.22	64.74	3.18	17.59	64.84	4.26	20.48	64.92	4.29	20.86
	SA	64.87	5.24	26.57	63.08	6.57	21.82	65.20	5.91	24.20	65.59	5.93	23.58
	SB	64.04	5.72	27.35	65.41	6.18	23.41	66.24	6.17	24.95	66.18	6.52	28.43
	SC	63.63	5.55	26.91	65.01	5.37	22.22	66.25	5.48	22.24	66.68	5.97	23.61
retort	S0	60.59	5.52	24.54	50.45	9.4	30.73	50.96	9.54	30.67	50.63	9.58	30.98
	SA	60.73	5.11	20.41	50.34	10.17	31.82	50.62	10.98	31.68	50.87	10.71	31.22
	SB	60.85	5.48	20.11	50.63	10.01	30.22	50.41	10.01	30.57	50.41	10.22	30.63
	SC	60.55	5.78	20.16	50.35	10.93	30.70	50.92	10.85	30.78	50.68	10.8	30.92

6) GABA-발아곡물죽 내 미생물 오염도

저장기간별 포장 조건별 미생물 검사는 두 종류의 미생물로 일반 세균과 대장균 검사를 시행하였다. 일반 세균수 측정은 폴리에틸렌 포장은 저장 첫째날인 2 주 후부터 일반 세균이 나타나기 시작해서 저장 6주 째에는 일반 세균의 번식이 백미 100%의 대조군은 증가의 폭이 컸으며 다른 발아곡물을 첨가한 시료들도 세균의 번식이 급격한 증가를 보였으나 대장균은 검출되지 않았다. **retort 포장시료에는 일반세균 및 대장균이 전혀 보이지 않았다**(Table 38).

Table 38. Comparative contents of viable cell, *E. coli.* counts of 4 kinds of GABA-rich soup according to packing type. (cfu/ml)

Sample		Polyethylene				Retort			
		0	1st	2nd	3rd	0	1st	2nd	3rd
viable cell counts	S0	0	300	5000	100,000	0	0	0	0
	SA	2	40	3200	60,000	0	0	0	0
	SB	0	40	1500	45,000	0	0	0	0
	SC	3	70	2700	50,000	0	0	0	0
E. coli. counts	S0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SA	0	0	0	0	0	0	0	0
	SB	0	0	0	0	0	0	0	0
	SC	0	0	0	0	0	0	0	0

4. 적 요

가. 백미를 주곡으로 한 발아곡물 죽 제조

각각의 발아 곡물은 예열하지 않으면 호화되지 않으므로 각각 녹두는 5 분, 옥수수는 20분, 대두는 15분의 가열을 한 후 녹두와 옥수수는 각각 30% 씩 쌀에 첨가하고 서목태는 70%를 쌀에 혼합하여 각각 가수량도 녹두는 10배, 옥수수는 9 배, 콩은 10배의 가수량으로 하여 40분 가열 시간으로 제조한 방법으로 설정하였다.

나. 현미를 주곡으로 한 발아곡물 죽 제조

발아현미와 현미, 백미를 첨가하여 발아곡물의 기능성을 강화시킬 목적으로 죽을 제조하였으며 쌀 40%, 각각의 발아곡물은 30% 씩, 발아현미 10%, 현미 20%를 혼합하여 가수량은 10배로 하고, 가열시간은 녹두가 50분, 옥수수가 60분, 콩이 50분의 가열시간으로 최적 제조조건을 결정하였으나 이 제조과정은 가열시간이 다른 제조과정보다 더 요구 되었

으며, 관능적인 기호도가 낮게 평가되었다.

다. 친환경재배 및 일반재배곡물의 발아곡물죽의 품질

친환경재배 녹두, 서목태, 옥수수와 일반재배 녹두, 서목태, 옥수수를 각각 발아시켜 쌀과 함께 첨가하여 제조한 죽에 관한 물성 검사를 한 결과, 친환경재배 곡물죽 시료들의 점도는 일반재배 곡물죽 보다 약간 큰 경향을 보였고, 퍼짐성이나 색도에는 유의할 만한 차이가 없었고, pH는 친환경재배 곡물죽 시료들이 낮은 경향을 보였고, 총당과 환원당은 일반재배 곡물죽보다 높은 것으로 나타났다.

라. GABA 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합죽 개발

GABA 함량이 강화된 발아곡물을 활용한 기호도 높은 죽 조제 방법을 개발하기 위해서 제조 당일의 죽의 물성 검사와 이화학적 검사와 관능검사를 통해 발아곡물의 기호도 높은 비율을 찾기 위한 실험을 한 결과 30% 백미 첨가군은 pH, spreadability에서 유의성을 나타내었고, 관능검사 결과에서도 다른 시료들과의 유의성은 나타내지 않았지만 texture와 overall preference가 가장 높았다. 따라서 죽 제조 조건으로는 백미 30%, 발아곡물 70% 혼합군이 적절했다. 폴리에틸렌 포장 시료들의 pH, 고형분은 저장 기간의 증가와 양의 상관관계를 보였으며, viscosity는 발아곡물의 첨가량이 많을수록 음의 상관관계를 보였으며, spreadability는 발아곡물 첨가량과 양의 상관 관계를 보였고, 일반세균도 증가하여, 폴리에틸렌 포장은 채택에 부적합한 재료로 나타났다. 그러나 Retort 포장은 Hunter value에서 황색의 정도를 나타내는 b 값과 Redness를 나타내는 a 값이 컸으며 밝기의 정도는 나타내는 L 값은 낮아 색상이 전체적으로 진하게 나타났다.

제 4 절 발아곡물의 분말을 이용한 기능성 생식의 가공기술 개발

1. 기능성 생식개발을 위한 발아곡물의 가공특성 및 배합조건 확립

가. 서 론

대다수의 국민들이 도시생활과 급격한 사회환경의 변화에 의해 건강상의 위협을 받고 있으며 이에 따라 건강과 관련된 기능성식품이나 건강보조식품의 수요가 나날이 증대되고 있다. 현재 판매되는 건강보조식품이나 기능성식품은 대부분 어떤 특정물질

에서 추출한 물질을 희석하거나 가공하고 있으며 가격적 으로도 상당히 고가로 형성되어있다. 그러나 어떤 특정한 추출된 물질로만 건강 을 유지할 수 없으며 평상시에도 기능성을 발현되는 식품을 쉽게 섭취하는 것이 중요하다고 본다. 이에 대한 대안으로 본 연구에서 진행한 발아곡물을 이용한 기능성뿐만 아니라 대중성도 갖출 것으로 예상된다.

발아곡물의 경우 국내에서는 주로 발아현미가 유통되며 주로 생식이나 건강기능성 식품에만 일부 이용되고 있으며 이에 대한 기능성 및 메카니즘에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 그러므로 정확한 규명과 이와 연계한 제품의 개발은 새로운 식품원료로서의의를 지닐뿐만 아니라 발아 자체가 불가능한 수입농산물의 대체효과도 볼 수 있을 것으로 예상된다. 이에 곡물의 발아길이에 따른 기능성을 검증하였으며 이중 가장 효과가 좋은 크기의 발아곡물 배양법 및 이를 이용한 분말형의 발아생식을 제조하였다.

나. 재료 및 방법

실험에 사용된 곡물종자 녹두, 옥수수, 메밀, 서목태, 현미는 전남지역과 강원도의 재배농가에서 구입하여 이물질을 제거한 후 실온에 보관하면서 사용하였다.

1) 발아곡물의 동결건조 특성분석

각기 다른 전처리 방법에 따라 수율 및 관능평가를 실시하였으며, 소비자의 기호성 및 안전성을 위해 원료의 전처리 방법에 대하여 검토하였다.

가) 전처리 공정에 따른 수율비교 분석

발아된 곡물은 전처리(세척-블랜칭)후 동결건조하여 발아곡물대비 건조물의 량을 조사하였다.

수율(%) = [동결건조한 발아곡물 중량/ 발아곡물(전처리 전)]×100

나) 동결건조, 분쇄 후 관능평가

훈련된 관능요원을 대상으로 각 특성에 대하여 조직감, 향, 맛, 종합적 기호도를 평가하였다. 관능평가법은 5점법(5: 아주좋음, 4: 좋음, 3: 보통, 2: 나쁨, 1: 아주나쁨)으로 실시하였다.

2) 현장 제조시 발아곡물 및 기타 보조첨가야채류의 전처리

가) 발아된 옥수수는 특유의 발아취 및 발아시 생성되는 미생물의 오염을 방지하

기 위해 흐르는 물에 세척을 실시하였다. 이때 발아유근이떨어지지 않도록 주의하며, 세척된 발아옥수수를 90℃이상의 끓는물에서 2분간 블랜칭을 한 후 -70℃ deep freezer에서 24시간이상 동결하였다.

나) 발아된 메밀을 위와 같은 방법으로 세척을 한 후 겉껍질이 딱딱하기 때문에 5분간 블랜칭을 실시한 후 동결하였다.

다) 발아녹두와 서목태는 자체내에서 콩비린내 및 소화를 저해하는 효소를 함유하고 있으므로 세척 후 120℃ 스팀으로 5분간 처리한 후 동결하였다.

라) 발아현미는 자체내에서 소화를 저해하는 효소나 관능상의 특별히 저해하는 요소가 없어 세척만 한 후 동결하였다.

마) 기타 생식에 첨가할 곡류, 야채류(차조, 수수, 케일, 신선초, 비트등)는 현미와 마찬가지로 세척 후 동결하였다.

3) 발아곡물의 최적 동결건조 조건 분석

전처리 된 발아곡물을 tray에 넣고 0, -5, -15, -35℃로 각각 예비 동결한 후 동결건조하여 제품의 형태 및 분쇄적성 및 관능성을 평가하였다.

4) 동결건조 발아곡물의 분쇄방법 분석

동결건조된 발아메밀, 옥수수, 녹두, 서목태는 해머밀과 핀밀, 제트밀에 각각 분쇄하여 그 특성을 알아보았다. 해머밀과 제트밀은 대량의 건조물이 있어야만 분쇄가 가능하기 때문에 비슷한 성질의 현장 곡류의 분쇄물로 유추하였다.

5) 생식개발을 위한 발아곡물의 배합조건 분석

실험에 사용된 곡물(메밀, 녹두, 옥수수, 서목태, 현미)을 이용하여 기존 시판되는 생식제품과 달리 발아곡물이 다량 함유된 생식제품을 만들었다. 소비층에 따라 발아곡물의 배합비와 기타 보조 첨가야채류 등을 차별화하여, 일반, 어린이용, 여성용 발아생식의 3종류로 제조하였다.

다. 결과 및 고찰

1) 발아곡물의 동결건조

각기 다른 전처리 방법에 의한 수율 및 관능평가 결과는 다음과 같다. 생식의 개

넘상 블랜칭(열처리)을 하지 않아야 하지만 서목태와 녹두와 같은 두류는 열처리를 하지 않을 경우, 소화저해효소에 의한 설사유발 및 관능상의 문제가 있을 것으로 판단되어 블랜칭을 하였다.

가). 전처리 공정에 따른 동결건조 수율비교

원 료	수율(%)	
	블랜칭	비블랜칭
옥수수	63.4	75.1
메밀	68.4	74.8
서목태	64.3	77.8
녹두	65.1	73.5

나) 동결건조, 분쇄후 관능평가 결과

원 료	블랜칭 여부	관능검사결과
발아옥수수	블랜칭	생취 및 비린내가 많이 남.
	비블랜칭	옥수수의 고소한맛이 약간나고 양호함.
발아메밀	블랜칭	조직이 거칠고 딱딱함.
	비블랜칭	발아취와 더불어 거칠고 딱딱함.
발아서목태	블랜칭	비린내가 심하고 맛이 남.
	비블랜칭	약간의 구수한맛이 남.
발아녹두	블랜칭	콩 특유의 비린내와 생취가 남.
	비블랜칭	비린내가 없고 무미함.

2) 현장제조시 발아곡물 및 기타 보조첨가야채류의 전처리 효과

가) 발아된 옥수수는 특유의 발아취 및 발아시 생성되는 미생물의 오염을 방지하기 위해 흐르는 물에 세척을 하였다. 이때 발아유근이 떨어지지 않도록 주의하며, 세

척된 발아옥수수를 90℃이상의 끓는 물에서 2분간 블랜칭을 한 후 -70℃ deep freezer에서 24시간이상 동결하였다.

나) 발아된 메밀을 위와 같은 방법으로 세척을 한 후 겉껍질이 딱딱하기 때문에 5분간 블랜칭을 실시한 후 동결하였다.

다) 발아서목태, 녹두는 자체내에서 콩비린내 및 소화를 저해하는 효소를 함유하고 있어서 이를 방지하기 위하여 세척 후 120℃ 스팀으로 5분간 처리한 후 동결하였다.

라) 발아현미는 자체내에서 소화를 저해하는 효소나 관능상의 특별히 저해하는 요소가 없어 세척만 한 후 동결하였다.

마) 실험에 사용된 기타 곡류 및 야채류(차조, 수수, 케일, 신선초, 비트등)는 현미와 마찬가지로 세척 후 동결하였다.

3) 발아곡물의 최적 동결건조 조건

전처리 된 발아곡류를 tray에 넣고 0, -5, -15, -35℃로 각각 예비 동결한 후 동결건조하여 제품의 형태 및 분쇄적성 및 관능 등을 평가해본 결과, 발아곡류가 당이나 기타 동결하기 어려운 물질들을 함유하고 있지 않아 -5℃이하에서는 모두 동결되었다. 그러나 현장 작업시 예비 동결 후 동결건조기에 투입되기 전 약 10분간 외기에 노출되는 시간이 있으므로 -5, -15℃의 경우 제품의 표면이 해동되기 때문에 -30℃이하로 예비 동결하는 것이 적절한 것으로 판명되었다. 최적 동결건조 조건을 확립하기 위해서 시료 내부에 온도센서를 꽂아 중심온도를 측정하였고 건조관 내부의 기압, 냉매온도, 가열판 온도 및 품온 변화를 통해 예상 건조시간을 측정하였고 품질상태를 확인하였다.

전처리된 발아옥수수의 건조그래프를 나타낸 것으로 시료를 동결건조기 tray에 넣고 진공펌프를 가동하여 0.3torr가 도달할때까지 가동한 후 열판에 열을 가하였다. 초기는 60℃에서 8시간 유지한 후 50℃에서 4시간, 40℃에서 6시간 가동하여 최종품온이 40℃를 넘지 않게 유의하며 약 20시간정도 소요되었고 건조 종점은 품온과 가열판 온도가 근접하여 평행으로 나아가는 지점부터 2시간정도 지났을 때를 건조종점으로 한다. 건조시간을 단축시키기 위해 급작스런 온도상승은 급격한 수증기 발생으로 인해 진공도저하 및 표면해동이 일어나 제품의 품질이 나빠진다. 위 테스트는 연구소 Pilot plant(실험용동결건조기)에서 시행된 결과이므로 대량작업을 할 경우 현장의 열기나 스팀의 내부잠열을 감안하여 건조그래프를 보면서 Pilot plant의 건조온도대로 진행되

기 위한 조정이 필요하다(**Fig. 52**).

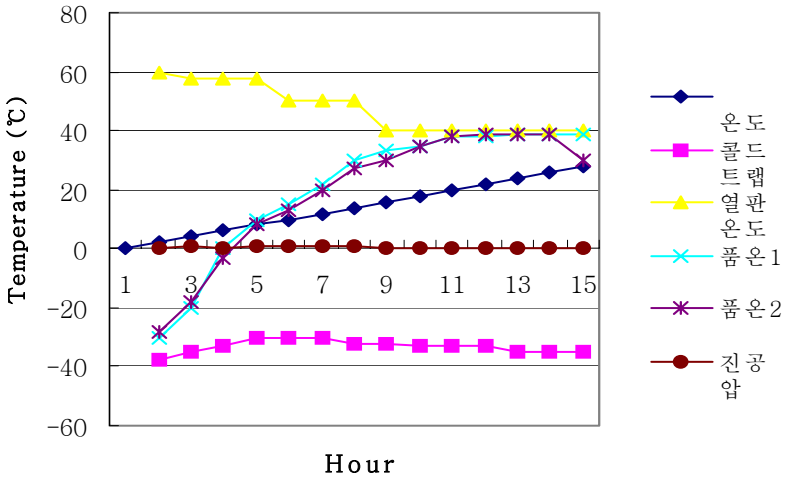


Fig 52. 발아곡물의 최적 동결건조조건

4) 동결건조 발아곡물의 최적 분쇄조건

가) 발아곡물별 최적 분쇄기

(1) 동결건조 된 발아메밀은 딱딱한 겉껍질로 인해 분쇄가 어렵고 분쇄후에도 조직이 거칠어 핀밀로 분쇄가 가능하나 분쇄용이성을 위해 해머밀로 분쇄하는 것이 가장 적당한 것으로 판단되었다.

(2) 동결건조 된 발아옥수수와 현미는 조직이 연하여 쉽게 분쇄되어 핀밀이나 해머밀 어느쪽이라도 분쇄가 용이하다. 단 제트밀의 경우 분쇄입도가 너무 작아(150 mesh이상) 생식제조 후 물을 첨가하여 복원 시 물이 침투하여 복원할 공간이 작아 분쇄기로서 적당하지 않은 것으로 판단되었다.

(3) 동결건조 된 발아녹두와 서목태의 경우, 자체의 유지성분으로 인해 분쇄시 체망을 막아 분쇄의 상당한 어려움이 있어 발아현미 등의 유지성분이 적은 원료를 혼합

하여 핀밀로 분쇄하였다. 제트밀이나 해머밀의 경우 고속회전으로 인해 녹두나 서목태의 유지성분을 압착시키는 효과를 줄수 있으므로 분쇄기는 핀밀이 적당한 것으로 판단된다.

(4) 야채류(동결건조 된 케일, 신선초, 당근)는 가볍고 밀도가 작아 해머밀이나 핀밀에서 할 경우, 회전프로펠러와 함께 회전하여 단독으로는 분쇄가 어렵고 현미나 기타곡류를 혼합할 경우 가능하나 야채류의 입도가 고울수록 제품의 색상을 좌우함으로 동결건조 된 야채류의 분쇄기는 제트밀이 적당한 것으로 판명되었고 제트밀에서 140 mesh 이상의 입도로 분쇄하였다.

나) 최적분쇄입도

녹두 및 옥수수등을 이용하여 건조 후 분쇄된 곡물을 입도별로 선별하여 그 기호도 및 용해성을 알아보았으며 60~80 mesh 로 분쇄 했을때 기호성 및 용해성에서 가장 좋은 평가를 받았다(Table 39).

Table 39. 발아곡물의 분쇄입도에 따른 기호도 및 용해성

원 료	구 분	40 ~ 60 mesh	60 ~ 80 mesh	80 ~ 100 mesh	점 수
메밀	기호도	2	4	5	5점: 아주좋음 4점: 좋음 3점: 보통 2점: 나쁨 1점: 아주나쁨
	용해성	4	4	3	
녹두, 서목태	기호도	3	5	3	
	용해성	4	3	2	
발아 현미, 옥수수	기호도	2	4	4	
	용해성	5	4	2	
야채류	기호도	2	4	5	
	용해성	5	4	2	

5) 생식개발을 위한 발아곡물의 최적 배합조건

가) 용도별 최적배합비

실험에 이용된 곡물(메밀, 녹두, 옥수수, 서목태, 현미)등을 이용하여 기존 시판되는 생식제품과 달리 발아곡물이 다량 함유된 생식제품을 조제하였다. 소비층에 따라 일반용, 어린이용, 여성용 발아생식의 3종류로 제조하였다. 일반용 발아생식은 현재 일반적으로 시판되는 생식에 기준을 두고 만든 생식으로 생식의 주요 곡물을 발아곡물로 대체하여 그 기능성을 높이는데 중점을 두었으며 어린이용 발아생식은 발아생식 특유의 약간의 비릿한 맛을 없애주고 고소한 맛을 첨가하여 최대한 어린이도 쉽게 접할 수 있도록 만드는 것에 중점을 두었다. 여성용 발아생식은 기존 생식의 연녹색 빛깔을 분홍형태의 빛을 띄게 만들어 생식의 기능성 및 미적인 요소도 추가 하였다 (Table 40, 41, 42).

Table 40 . 일반용 발아생식의 배합비

원료	중량(g)
알파현미분	15.0
발아현미	27.7
차조	2.5
발아옥수수	12.0
발아메밀	3.0
발아녹두	10.0
발아서목태	6.0
율무	0.5
팥	2.5
보리	0.15
백태(콩)	2.0
약콩	2.0
감자	2.0
케일	2.5
신선초	0.3
돌미나리	0.04
브로콜리	0.1
당근	1.2
우엉	0.2
호박	0.9
솔잎분말	0.01
표고버섯	0.25
올리고당	8.9
생금	0.25
합계	100.0

Table 41. 어린이용 발아생식의 배합비

원료	중량(g)
발아현미	40.0
차조	2.0
발아옥수수	8.5
발아녹두	7.0
발아메밀	3.0
발아서목태	2.0
보리	2.0
케일	1.2
당근	1.7
호박	1.4
신선초	0.2
시금치	0.2
건표고	0.2
비피더스분말	0.1
유산균분말	0.2
프락토올리고당	6.5
생금	0.3
과당	3.5
누룽지분말	20.0
합계	100.0

Table 42. 여성용 발아생식의 배합비

원료	중량(g)
알파현미	14.0
발아현미	40.0
차조	1.0
수수	1.0
율무	1.0
보리	3.0
발아옥수수	7.0
발아메밀	2.0
발아녹두	8.0
발아서목태	5.0
케일	0.2
신선초	0.1
비트	0.4
당근	1.5
호박	1.1
사과	0.2
배	0.1
건표고	0.1
올리고당	14.0
생금	0.3
합계	100.0

나) 생식 제조 공정도

다) 제조된 생식의 관능검사결과

제조된 생식의 관능검사 결과 일반용 생식은 색상, 맛 등 기호도에 있어서 기존 시판되는 생식과 유사하게 나타났으며, 어린이용 생식은 고소한 맛이 나고 전체적으로 어린이가 먹기에 좋은 것으로 평가되었다. 여성용 생식은 색상이 분홍색을 띈 것이 좋았다는 의견이 많았으며, 모든 생식이 종합적인 기호도에서 좋게 평가되었다 (Table 43).

Table 43. 제조된 생식의 관능검사

구 분	일반용 발아생식	어린이용발아생식	여성용발아생식	점 수
생식형태				5점: 아주좋음 4점: 좋음 3점: 보통
색상	4	3	5	
향	3	4	4	2점: 나쁨
맛	4	5	4	1점: 아주나쁨
종합기호도	4	4	4	

라. 적 요

발아곡물의 동결건조특성을 보면 일반 곡물보다 발아과정과 전처리 과정에서의 손실 등으로 인해 일반 곡물이 80%대의 동결건조수율보다 상당히 낮은 75%대의 수율을 나타내었다. 또한 블랜칭을 한 경우는 이보다 8%정도 낮은 값을 보였는데 이는 블랜칭 과정에서 수용성 성분이 빠져나간 결과로 보여진다. 또한 발아곡물생식의 진정한 의미에서는 발아곡물을 그대로 이용해야 하지만 발아취와 두류의 소화저해효소의 존재로 인한 소화불량을 예방하기위해 블랜칭을 실시하였다. 발아곡물의 영양성분을 최대한 보존하기 위해서는 블랜칭를 하지 않아야 하지만 그렇지 않은 경우 관능상의 심각한 발아취를 발생시키는것을 알 수 있었다.

동결건조조건은 일반 곡류와 큰 차이점을 보이지 않았으나 일반 곡류보다 수분함량이 많아 같은양을 동결건조 할 경우 건조시간이 약간 더 길어지는 것을 알 수 있었다. 또한 동결건조 후 분쇄기로는 해머밀, 핀밀등 분쇄 입도나 분쇄물의 질에서도 큰 차이점을 보이지 않아 어느것으로나 무방한 것으로 나타났고 분쇄입도는 60~80 mesh가 가장 양호한 것으로 나타났다. 위의 분쇄된 발아곡물분말과 자사가 가진 생식원료들을 혼합하여 용도별로 생식을 만든 결과 전반적으로 관능상의 좋은 결과를 얻었다. 그러나 섭취 후 미세하게 남는 발아곡물특유의 취가 남아 약간의 거북함을 준다는 의견이 있어 이를 개선하는 것이 상품화의 중요한 걸림돌로 작용할 것으로 예상된다.

2. 기능성 발아곡물생식의 최종시제품 개발

가. 서 론

위에서 만든 발아곡물을 이용한 생식제품중 상품화에 가장 적절하고 무난한 것으로 판단되는 발아생식을 선택한 후 일부배합비를 변경하고 관능평가를 실시한 후 최종 시제품을 만들었다. 향후 시제품의 소비자시식 및 개선점을 찾아 좀더 보완하면 침체된 기존 생식시장의 새로운 소비층대를 불러올 것으로 기대된다.

나. 재료 및 방법

1) 생식의 최종 예비시제품 제조

2차년도에서 제조된 생식 중 가장 관능상 양호한 발아생식에서 발아곡물의 비율을 대폭 상향조정하였으며 기존시판생식의 색상보다 더 향상된 최종시제품을 만들었다.

2) 최종 예비시제품의 관능검사

4명의 관능요원을 대상으로 각 관능적 특성에 대하여 색상, 향, 맛, 종합적 기호도를 평가하였다. 관능검사법은 5점법(5: 아주좋음, 4: 좋음, 3: 보통, 2: 나쁨, 1: 아주나쁨)으로 실시하였으며 이를 종합하여 결과를 나타내었다.

3) 생식의 포장조건 분석(포장재질테스트)

제조된 발아곡물생식의 가장 적합한 포장재질을 알아보기 위하여 일반 알루미늄으로 증착된 필름과 종이재질이 첨가된 알루미늄 증착필름에 발아생식을 포장후 가속성 실험을 실시하였다.

자사 건조기 50℃상에서 실시하였으며 시간경과에 따른 관능검사결과를 확인하여 포장재질의 특성을 파악하였다. 관능검사는 5점법(5: 아주좋음, 4: 좋음, 3: 보통, 2: 나쁨, 1: 아주나쁨)으로 실시하였으며 실험시 1주간은 2달의 유통기한을 의미한다.

4) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 영양학적 분석

가) 일반성분 분석

AOAC법에 따라 수분은 105℃ 상압가열건조법으로 측정하였으며, 조지방은

Soxhlet추출법, 조단백질 Kjeldahl법으로 정량하였다. 탄수화물은 100에서 조지방, 조단백질을 뺀 값으로 하였다.

나) 비타민류 분석

비타민 A : 식품공전법에 따라 시료 6~9 ㎍에 에탄올 30 ㎖ 및 10% 피로갈롤에탄올 용액 1 ㎖을 가한 후 잘 섞어 수산화칼륨용액 3 ㎖을 가해 환류냉각기를 부착, 비등수욕중에서 30분간 비누화 한 다음 냉각하여 물 30 ㎖을 가해 갈색분액깔대기에 옮겼다. 플라스크는 물 10 ㎖로 씻고 석유에테르 30 ㎖로 씻고 씻은 액은 분액깔대기에 합하여 방치 한 후 물층을 별도의 갈색분액깔대기에 옮겼다. 물층은 석유에테르 30 ㎖씩으로 2회 추출하고 전 석유에테르추출액을 합하여 물 10 ㎖ 1회, 이어 50 ㎖씩으로 씻었다. 분액깔대기 중에서 물을 충분히 분리한 석유에테르층을 취하여 무수황산나트륨을 가해 탈수하고 석유에테르 층을 갈색플라스크에 옮긴 후 황산나트륨을 석유에테르 10 ㎖씩으로 2회 씻었다. 씻은 액을 앞의 플라스크에 가하였다. 석유에테르추출액을 모두 합하여 40~50℃에서 감압, 건고 한 후 잔류물을 1 ㎖의 이소프로판올로 녹인 것을 시험용액으로 하였다.

시험용액은 membrane으로 여과한 여액 10 ㎕를 HPLC에 주입하였다. 사용한 컬럼은 reversed-phase column(μ-Bondapak C_{18} 30×0.39 ㎝, Ireland), 검출기는 형광검출기 (여기파장: 340 nm, 측정파장: 460 nm), 이동상 용액은 MeOH:H_2O=95:5(v/v), 속도는 0.5 ㎖/min, 컬럼오븐의 온도는 40℃였다.

비타민 B group : 식품공전법에 따라 시료 1 g을 10% 삼염화초산용액 5 ㎖을 넣고 균질화 한 후 10% 삼염화초산용액으로 10㎖로 한 후 10,000×g에서 30분간 원심분리하였다. 이 상징액 200 ㎕를 시험관에 취하여 4M 초산나트륨용액 30 ㎕를 가한 후 2% 디카디아스타제용액 10 ㎕를 주입하고 잘 교반하면서 37℃에서 8~10시간 방치하여 시험용액으로 사용하였다. 사용한 컬럼은 비타민 B1분리용 (Polyglycerylmethacrylate. 구상. 15 ㎕) 이었고 검출기는 형광검출기 (여기파장: 340 nm, 측정파장: 450 nm), 이동상은 0.1M 제1인산나트륨용액, 속도는 0.7 ㎖/min, 주입량은 20 ㎕였다. 그 밖의 비타민 B group들은 시료에 소량의 물을 가해 균질기로 분쇄하고 지방이 많은 경우에는 미리 탈지 한 후 이에 물을 가해 수욕중(70~80℃)에서 잘 혼합하여 12~20분간 추출 한 후 이 추출액을 시험용액으로 하였다. 사용한 컬럼

은 μ-Bondapak C_{18}, 이동상은 MeOH:10 mM NaH_2PO_5용액(pH 5.5)=35 : 65, 유속: 0.8 ㎖/min, 검출기는 형광검출기(여기파장: 445 nm, 측정파장: 530 nm), 주입량은 20 ㎕였다.

비타민 C : 식품공전법에 따라 시료를 동량의 10% 메탄인산용액을 가하여 10분간 현탁시킨 후 5% 메탄인산을 넣어 균질화하여 시료를 5% 메탄인산용액으로 씻은 후 최종 100 ㎖로 하였다. 3,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하고 5%메탄인산용액으로 희석하여 시험용액으로 사용하였다. 사용한 컬럼은 NH_2 column(high performance carbohydrate column, 4.6×250 nm, USA)이었고 검출기는 UV detector (검출파장: 254 nm), 이동상용액은 acetonitrile/50 mM KH_2PO_4=40:60(V/V), 속도는 1 ㎖/min, 컬럼오븐의 온도는 40℃, 표준시약은 ascorbic acid, 주입양은 20 ㎕였다.

다) 무기질 분석

무기질 전 처리는 건식법으로 하였다. 즉, 각 시료 2 g을 도가니에 넣고 전열기에서 예비 가열시킨 후 550℃ 전기회화로에서 2시간 회화한 다음 방냉하였다. 여기에 탈이온수 10방울을 가하고 묽은 질산 4 ㎖을 넣은 다음 다시 전열기에서 수분을 제거시키고 550℃ 전기회화로에서 1시간 회화·방냉하였다. 여기에 묽은 염산 10 ㎖을 첨가한 다음 이를 50 ㎖ 정용플라스크로 옮겨 탈이온수로 정용, 여과하여 ICP-AES(Inductively Coupled Plasma-Atomic Emisson Spectrophotometer, Jobin Yvon JY138 Ultrace, France)으로 분석하였다.

다. 결과 및 고찰

1) 생식의 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식) 제조

2차년도에서 제조된 생식 중 가장 관능상 양호한 발아생식에서 발아곡물의 비율을 대폭 상향조정하였으며 기존시판생식의 색상보다 더 향상된 최종시제품을 만들었다. 이렇게 함으로서 식품위생법상 생식함유제품이 아닌 생식제품(동결건조비율 80%이상)으로 분류될 수 있어 발아곡물의 함량증가에 따른 효과는 물론 마케팅 상에서도 유리 할 것으로 예상된다(Table 44).

Table 44. 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 분말배합비

원료	중량(g)
발아현미	**42.2**
차조	2.5
발아옥수수	**12.0**
발아메밀	**3.0**
발아녹두	**10.0**
발아서목태	**6.3**
율무	0.5
팥	2.5
보리	0.2
백태(콩)	2.0
감자	2.0
케일	5
신선초	0.3
돌미나리	0.1
브로콜리	0.1
당근	1.2
우엉	0.2
호박	0.9
표고버섯	0.3
올리고당	8.4
생금	0.3
합계	100.0

2) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 관능검사 결과

	최종 시제품	시판생식(E사)
생식형태		

색상	5	3
향	3	4
맛	4	4
종합기호도	4	3.6
종합평가	색상이 기존생식보다 진하고 맛은 기존생식과 비슷하나 발아특유의 취가 약간남는다.	기존 시판되는 생식으로 동결건조비율을 높인 생식제품을 관능테스트 기준으로 함.

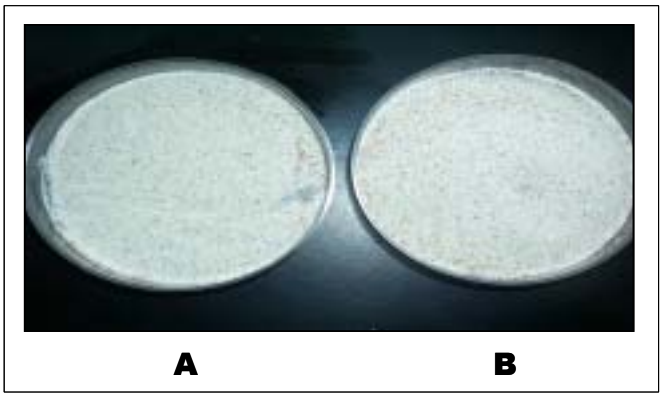


Fig. 53. 최종 예비시제품과 시판 생식의 분말성상
A, 최종 예비시제품; B, 시판생식

3) 생식의 최적포장조건

일반적으로 알루미늄이 증착된 필름보다 종이재질이 증착된 필름이 외관상 구겨지지 않고 더 고급스러워 보이나 테스트 결과 종이재질이 첨가된 필름으로 포장된 생식

의 관능변화가 더 빠른 것으로 나타났다.

이는 기존의 필름재질내의 PE, PP등의 재질과 종이의 접착성의 어려움에 기인하는 것으로 보이며 눈에 보이지 않는 핀홀 등의 가능성도 훨씬 높은 것으로 파악되었다 (**Fig. 54, 55**).

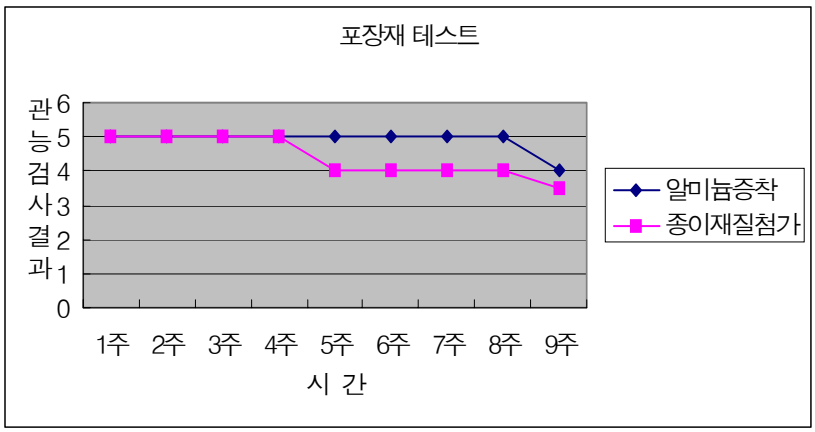


Fig. 54. 알루미늄과 종이재질의 포장재 테스트

Fig. 54. 생식의 포장견본

4) 최종 예비시제품(일반용 발아곡물생식)의 영양학적 특성

일반용 발아곡물생식과 시판 생식의 칼로리, 탄수화물, 단백질, 지방, 수분의 일반성분에 대한 분석결과는 **Table 45** 와 같다. 일반용 발아곡물생식의 경우 열량이 410

kcal였고, 탄수화물이 74 g으로 가장 많이 함유되어 있었고, 조단백질 17 g, 조지방 5 g, 수분은 2.4%였다. 시판 생식의 경우 칼로리는 392.36 kcal, 탄수화물이 82.4 g, 조단백질이 11.95 g, 조지방 2.68 g, 수분 0.97%였다.

무기질 함량은 **Table 46**과 같다. 일반용 발아곡물생식의 경우 대량 무기질인 Na이 287.99 ㎎/100g로 가장 높게 나타났고 Ca은 184.11 ㎎/100g였다. 미량 무기질은 Fe는 1.95 ㎎/100g고 Zn은 2.30 ㎎/100g로 나타났다. 시판 생식의 무기질 함량은 Na은 204.57 ㎎/100g로 가장 높게 나타났고, 그다음으로 Ca은 157.70 ㎎/100g로 일반용 발아생식과 비교했을 때 낮게 나왔으며, 미량 무기질인 Fe와 Zn에서는 각각 5.59 ㎎/100g, 3.25 ㎎/100g로 일반용 발아곡물생식에 비해 약간 높게 나타났다.

일반용 발아곡물생식과 시판 생식의 비타민 함량 즉, 비타민 A, B1, B2, B6, C, D3, E, Folic acid, Niacin 등 총 9종의 비타민 함량은 **Table 47**와 같다. 먼저 일반용 발아곡물생식의 비타민 총함량은 282.26 ㎎/100g으로 Vitamin A가 251.21 ㎎/100g로 가장 높게 측정되었고 그 다음으로 Vitamin E가 14.24㎎/100g함유되어 있었으며 비타민 D3 12.13 ㎎/100g, Vitamin C 2.66 ㎎/100g, Vitamin B 61.04 ㎎/100g, Niacin 0.54 ㎎/100g, Vitamin B 10.38 ㎎/100g, Vitamin B2 0.06 ㎎/100g의 순으로 함유되어 있었다.

반면에 시판 생식의 비타민 총함량은 244 ㎎/100g으로 일반용 발아곡물생식보다 약 37 ㎎/100g더 함유되어 있었으며 각 성분의 함량은 다음과 같았다. Vitamin A 221.84 ㎎/100g, Vitamin E 9.37 ㎎/100g, Vitamin D3 8.02 ㎎/100g, Vitamin C 2.77 ㎎/100g, Vitamin B6 0.90 ㎎/100g, Niacin 0.61 ㎎/100g, Vitamin B1 0.37 ㎎/100g, Vitamin B2 0.12 ㎎/100g의 순으로 함유되어 있다. 엽산은 일반용 발아곡물생식과 시판 생식에서도 검출되지 않았다.

Table 45. Approximate composition of uncooked powdered food with sprouted grain and uncooked powdered food (g/100g)

Classification	uncooked powdered food with sprouted grain	uncooked powdered food
Calory (kcal)	410	392.36
Carbohydrate (g)	74	82.4

Crude protein (g)	17	11.95
Crude fat (g)	5	2.68
Moisture (%)	2.4	0.97

Table 46. Mineral contents of uncooked powdered food with sprouted grain and uncooked powdered food (g/100g)

Mineral components		uncooked powdered food with sprouted grain	uncooked powdered food
Major minerals	Na	287.99	204.57
	Ca	184.11	157.70
Trace minerals	Fe	1.95	5.59
	Zn	2.30	3.25

Table 47. Vitamin contents of uncooked powdered food with sprouted grain and uncooked powdered food (㎎/100g)

Vitamin components	uncooked powdered food with sprouted grain	uncooked powdered food
Vitamin A	251.21	221.84
Vitamin B1	0.38	0.37
Vitamin B2	0.06	0.12
Vitamin B6	1.04	0.90
Vitamin C	2.66	2.77
Vitamin D3	12.13	8.02
Vitamin E	14.24	9.37

Folic acid	ND[1)]	ND
Niacin	0.54	0.61

[1)]Not detected

라. 적 요

본 실험의 발아생식은 발아곡물의 함량을 높인 결과 발아곡물 특유의 발아취등 가공상의 취약성으로 인해 생식원료로서 상당한 문제가 있을 것으로 예상되었으나 기존의 생식과 큰 차이를 볼 수 없는 것으로 판명되었다. 제조된 발아곡물생식의 포장지 및 유통기한 설정을 위한 포장 테스트는 일반 알루미늄이 증착된 필름과 종이재질이 증착된 고급필름(구겨짐 방지) 2가지로 가속성 실험을 한 결과 종이재질이 함유된 고급필름이 오히려 더 좋지 않았다. 이는 종이재질과 알루미늄 증착사이의 눈에 보이지 않는 핀홀의 영향으로 보이며, 따라서 일반 알루미늄증착필름의 포장 및 보관성이 더 우수한 것으로 나타났으며 가속성 실험결과 유통기한은 18개월까지는 가능한 것으로 파악되었다.

일반용 발아곡물과 시판 생식의 열량은 각각 410 kcal, 392.36 kcal이었고, 탄수화물이 74 g, 조단백질 17 g, 조지방 5 g, 수분은 2.4%였고, 시판 생식의 경우 탄수화물이 82.4 g, 조단백질이 11.95 g, 조지방 2.68 g, 수분 0.97%였다.

일반용 발아곡물생식의 경우 무기질 함량이 Na 287.99 ㎎/100g로 가장 높게 나왔고 시판 생식의 경우도 204.57 ㎎/100g로 높게 나왔다.

일반용 발아곡물생식의 비타민 총함량은 282.26 ㎎/100g, 시판 생식의 비타민 총함량은 244 ㎎/100g이었으며 Folic acid는 일반용 발아곡물생식과 시판 생식에서도 검출되지 않았다.

제5절 발아곡물 죽 및 발아곡물 생식의 기능성 분석

1. 발아곡물 죽의 기능성 탐색

가. 서 론

발아길이가 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜로 유도된 4종의 발아곡물종자(녹두, 메밀, 옥수수, 서목태)와 글루탐산 침지와 24시간 혐기처리되어 기능성 물질인 GABA 함량이 강화된 발아곡물을 원료로 하여 죽을 제조 하였다. 발아곡물죽의 종류로는 “백미를 주곡으로 한 3종의 발아곡물죽(발아녹두-백미죽, 발아서목태-백미죽, 발아옥수수-백미죽)”과 “현미를 주곡으로 한 3종의 발아곡물죽(발아녹두-현미죽, 발아서목태-현미죽, 발아옥수수-현미죽)”과 “GABA 함량강화 발아곡물을 소재로 한 혼합 발아곡물죽”으로 이들 발아곡물죽을 시료로 항산화활성, chemosensitizing effect, 암세포독성도, 항미생물활성 등을 살펴보았다.

나. 재료 및 방법

1) 추출물의 항산화활성 분석

발아곡물이 혼합된 곡물죽 시료를 동결 건조하여 분쇄기로 곱게 마쇄한 후 건물양의 5배에 해당하는 증류수를 첨가하여 열수 추출하여 동결건조한 후 항산화분석용 시료로 사용하였다. 항산화활성 검색은 DPPH법을 이용하여 시료의 radical 소거효과를 측정하는 Blois의 방법을 약간 변형하여 측정하였다.

2) 항암제 내성 백혈암 세포에 미치는 추출물의 화학물질 감작 효과분석

가) 세포주 및 세포배양

인체 백혈암 세포주인 AML-2/WT 세포와 동일세포를 daunorubicin의 농도를 점차 증가시키면서 배양하여 내성을 유도한 AML-2/D100 세포를 실험에 사용하였다. AML-2/WT과 AML-2/D100 세포는 Fetal bovine serum 10%와 항생제를 함유한 α-MEM배지를 사용하여 37℃의 5% CO_2 조건에서 배양하였으며, AML-2/D100 세포는 내성을 유지하기 위해 실험하기 일주일 전에 100 nM의 daunorubicin을 처리하여 3회 이상 추가 배양한 후 사용하였다.

나) 다제내성 조절 활성 검색

MTT 방법을 이용하여 3반복으로 내성세포의 생존 정도를 조사하였다. 시료농도에 따른 세포 생존 정도는 대조군의 흡광도와 비교하여 백분율로 나타내었으며 각 세포들의 항암제 내성생성 정도 및 내성극복효과는 vincristine 존재하에서 IC_{50}을 비교하여

교차 내성배수와 내성극복배수를 결정하였다.

3) 추출물이 각종 인체 암세포의 생육에 미치는 영향분석

가) 시료의 추출

각 시료를 동결 건조하여 분쇄기로 곱게 마쇄한 후 건물양의 5배에 해당하는 에탄올을 첨가하여 상온에서 2회 추출하였다. 이 추출액을 감압 농축하여 핵산으로 탈지한 추출물을 동결 건조하여 사용하였다.

나) 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용한 세포는 인간유래 암세포주로서 폐암 세포인 Calu-6, 유방암 세포인 MCF-7, 위암 세포인 SNU-601, 대장암 세포인 Caco-2를 사용하였다. Calu-6, MCF-7, SNU-601은 RPMI1640 복합배지를, Caco-2는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)을 이용하여 10% Fetal bovine serum와 항생제 (Antibiotic-antimycotic)를 첨가하여 37℃, 5% CO_2의 습윤화 된 incubator에서 적응시켜 배양하였다. 세포는 dish의 80% 정도 자랐을 때 PBS로 세척하여 Trypsin-EDTA (Gibco/BRL)을 처리하여 2~3일마다 계대 배양하였다.

다) 암세포 증식 억제 효과분석

암세포에 대한 세포 독성능 측정은 MTT 법으로 실험하였다. 암세포에 대한 세포 독성능 을 측정하기 위해 96 well microplate의 각 well에 대수기에 도달한 인체암세포를 3×10^4 cells/㎖의 농도가 되도록 조절하여 96 well microplate 에 세포 부유액을 90 ㎕씩 분주하고, 24시간 동안 배양한 후 무처리구인 대조군과 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 하였다. 각각의 시료는 DMSO에 녹여 농도별로 첨가하여 3일 동안 배양한 다음 각 well에 MTT용액(5 ㎎/㎖ PBS) 10 ㎕씩을 가해주고 다시 37 ℃, 5% CO_2의 습윤 배양기에서 4시간 동안 반응하여 MTT가 환원되도록 하였다. 각 well에 생성된 formazan결정을 DMSO 150 ㎕로 잘 녹여서 microplate reader (Bio-Rad, USA)를 이용하여 540 ㎚에서 흡광도를 측정하여 측정된 흡광도로부터 아래의 방법으로 생존한 세포의 비율을 구하였다.

$$\text{Percent of viable cells}(\%) = \frac{\text{Optical density with cytotoxic drug}}{\text{Optical density without cytotoxic drug}} \times 100$$

4) 추출물의 항미생물 활성분석

가) 미생물 균주

항미생물 활성에 사용된 균은 식품의 부패와 식중독에 관련된 균으로 그람양성균으로는 *Bacillus subtillis*, *Bacillus amyloliquefaciens, Streptomyces fradiae* 및 *Staphylococcus aureus*를 사용하였고, 그람음성균으로 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. C1036 및 *Salmonella typhimurium*을 사용하여 항미생물 활성을 측정하였다.

나) 항미생물 활성측정

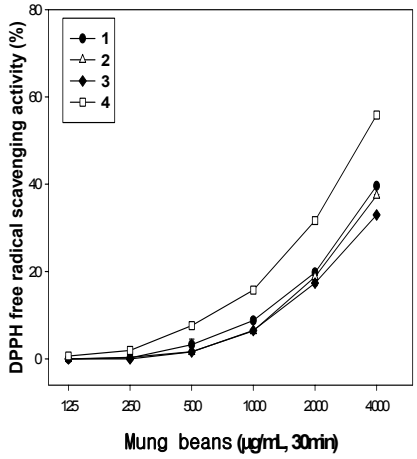
순수 분리된 각 균주의 단일집락을 취해 1 백금이 취해 100 ㎖의 균 생육 액체배지에 접종하여 각각 균주의 생육적온에서 18~24시간씩 3회 배양한 후 항균활성 시험균주로 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 1.5%의 한천이 첨가된 생육배지를 멸균하여 petridish에 20 ㎖씩 분주하여 기층용 배지를 응고시키고, 0.7% 한천이 첨가된 중층용 배지를 각각 3 ㎖씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 식품의 부패와 식중독에 관련된 그람 양성균 4종과 그람 음성균 4종의 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균 농도를 660 ㎚에서 흡광도 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.1 ㎖를 무균적으로 가하여 잘 혼합한 다음 기층용 배지 위에 분주한 다음 고르게 응고시켜 2중의 균접종 중층배지를 만들어 사용하였다. 일반재배와 친환경재배 곡물의 항균활성 검색은 한천배지 확산법(cup hole method)으로 측정하였다. 즉, 20 ㎎/㎖ 농도의 녹두, 서목태, 옥수수, 그리고 메탄올 추출물을 0.45 ㎛ membrane filter (Millipore Co., USA)로 여과하여 제균한 다음 멸균된 미리 천공(5 ㎜)된 평판에 20 ㎕(4 ㎎)씩 흡수시킨 후, 추출용매를 무균적으로 풍건하여 완전히 날려 보내고 각각 균의 생육적온에서 24~48시간 동안 배양한 다음 hole 주변에 형성된 억제환의 직경(㎜)을 측정하여 항균활성을 비교하였다. 이때 각 시료를 녹이기 위해 사용한 용매 및 계면활성제에 대한 공실험을 실시하였다.

다. 결과 및 고찰

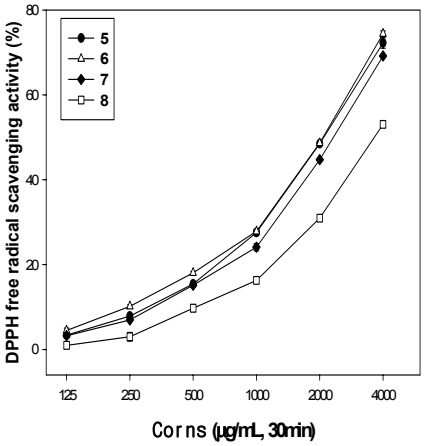
1) 발아 곡물죽의 항산화 활성

가) 예비 발아곡물 죽 유형별 추출물의 항산화효과

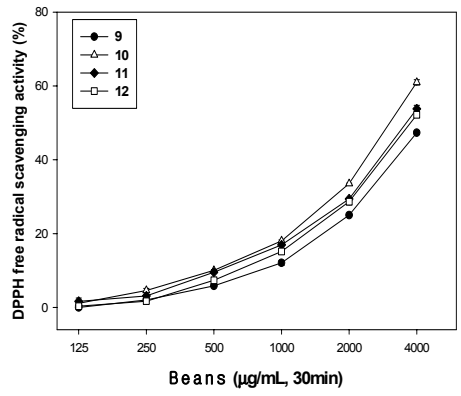
발아 녹두, 발아 옥수수, 발아 서목태의 배합비율을 다르게 하여 죽을 만들어 동결건조 후 추출물의 농도변화에 따른 전자공여능(EDA, %)을 본 결과를 **Fig. 56**에 나타내었다. 그 결과 발아 녹두죽(No. 1~4)의 전자 공여능은 125 ㎍/㎖에서 전반적으로 소거율을 나타내지 않았으나, 4000 ㎍/㎖ 농도에서 4(56%) > 1(39%) > 2(37%) > 3(32%) 순으로 나타나 발아녹두의 농도에 의존적으로 항산화 효과가 높게 나타났다. 발아 옥수수죽(No. 5~8)의 경우 DPPH free radical의 소거율은 2000 ㎍/㎖ 부터 효과가 높게 나타나 4000 ㎍/㎖ 농도에서는 53~74%의 소거율을 보며 발아 옥수수 혼합비율에 따른 항산화 능력은 6 > 5 > 7 > 8순으로 높게 나타났다. 발아 서목태 죽(No. 9~12)은 최대농도(4000 ㎍/㎖)에서 10(61%) > 11(53%) > 12(52%) > 9(47%) 순으로 소거효과를 보여 발아현미 20%와 가열시간 40분, 그리고 가수량을 10배로 하였을 때 항산화 효과가 가장 높게 나타났다.



Cereal soup with sprouted mung beans (No. 1~4)



Cereal soup with sprouted corns (No. 5~8)



Cereal soup with sprouted black beans (No. 9~12)

Fig. 56. Dose-dependent effect of extracts from cereal soup with sprouted grains (No. 1~12) on DPPH free radical scavenging activity. DPPH free

radical activity for extracts was determined with 200 ㎕ total reaction volume containing 0.1 mM DPPH ethanolic solution for 30min. Each value was expressed as mean±standard deviation (n=3).

Sample compositions and abbreviations of serial numbers as follows: G.MB, germinated mung bean; G.C, germinated corn; G. BB, germinated black bean; MR, milled rice; BR, brown rice; G. BR, germinated blown rice; HT, heating time; WC, water content.

No.	G. MB (%)	G. C (%)	G. BB (%)	MR (%)	BR (%)	G. BR (%)	HT (min)	WC (x)
1	30	-	-	60	10	-	40	10
2	30	-	-	40	30	-	40	10
3	30	-	-	60	-	10	40	10
4	30	-	-	40	-	30	40	10
5	-	30	-	40	30	-	50	10
6	-	30	-	40	-	30	50	10
7	-	30	-	60	10	-	60	10
8	-	30	-	60	-	10	50	10
9	-	-	30	60	10	0	40	10
10	-	-	30	50	-	20	40	10
11	-	-	30	40	30	-	50	10
12	-	-	30	40	-	30	40	9

나) 최종 혼합형 발아곡물죽의 항산화 효과

백미 30%, 발아곡물 70% (강화 GABA 발아 녹두 17.5%, 강화 GABA 발아 옥수수 17.5%, 강화 GABA 발아 검정콩 (서목태) 35%)를 메밀 추출액으로 혼합하고, 혼합 군을 GABA 강화 죽 SB (super-GABA soup SB)로 하여 최종 시제품 발아곡물죽으로 결정하였으며 백미 30%, 비발아 곡물 70%(비발아 녹두 17.5%, 비발아 옥수수 17.5%, 비발아 검정콩 (서목태) 35%) 혼합 죽과 백미 30%, 발아곡물 70%(발아녹두 17.5%, 발아 옥수수 17.5%, 발아 검정콩 (서목태) 35%)혼합 죽 그리고 최종 시제품인 GABA 강화 죽의 제조하여 항산화 활성과 비교한 결과를 **Fig. 57**에 나타내었다. 그 결과 전체 죽에서 농도가 증가할수록 농도 의존적으로 항산화 활성이 높아졌으며 최고 농도 2 ㎎/㎖에서 비발아 곡물 혼합 죽은 20.2% 의 DPPH radical 소거활성을 보였으며 발아곡물 혼합 죽은 37.83 %, 그리고 GABA 강화 죽 SB는 39.66%의 DPPH radical 소거활성을 보여 GABA 강화 발아곡물 죽 SB가 비발아 곡물 혼합 죽과 발아곡물 혼합 죽보다 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다.

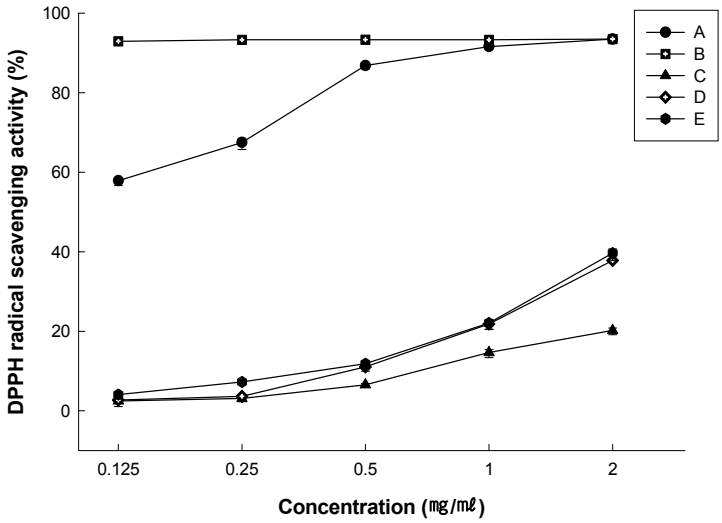


Fig. 57. Antioxidant effects of ethanol extract from cereal soup with 3 types of grain seeds on DPPH free radical scavenging activity. A, BHT (Butylated hydroxytoluene); B, Vit C (Ascorbic acid); C, Cereal soup with non-germinated grain; D, Cereal soup with germinated grain; E, Super-GABA soup SB.

2) 항암제 내성 백혈암세포에 미치는 발아곡물죽 추출물의 화학물질 감작효과

가) 예비 발아곡물 죽 유형별 추출물의 Chemosensitizing effect

MTT 방법을 이용하여 3반복으로 내성세포의 생존 정도를 조사하여 **Fig. 58**과 Table 2에 나타내었다. 시료농도에 따른 세포 생존 정도는 대조군의 흡광도와 비교하여 백분율로 나타내었으며 각 세포들의 항암제 내성생성 정도 및 내성극복효과는 vincristine 존재 하에서 IC_{50}을 비교하여 교차 내성배수와 내성 극복배수를 결정하였다. 발아 녹두, 백미 그리고 현미가 배합된 발아 녹두 죽에서 상당한 약제내성 억제효과를 보였으며, 발아 옥수수, 백미, 그리고 발아현미로 배합된 발아 옥수수 죽에서도 높은 활성을 나타냈다. 발아 서목태 죽은 세포독성 효과에서와 같이 800 ㎍/㎖에서 다제내성 극복효과와 교차 내성효과에 대한 반응을 보이지 않았다.

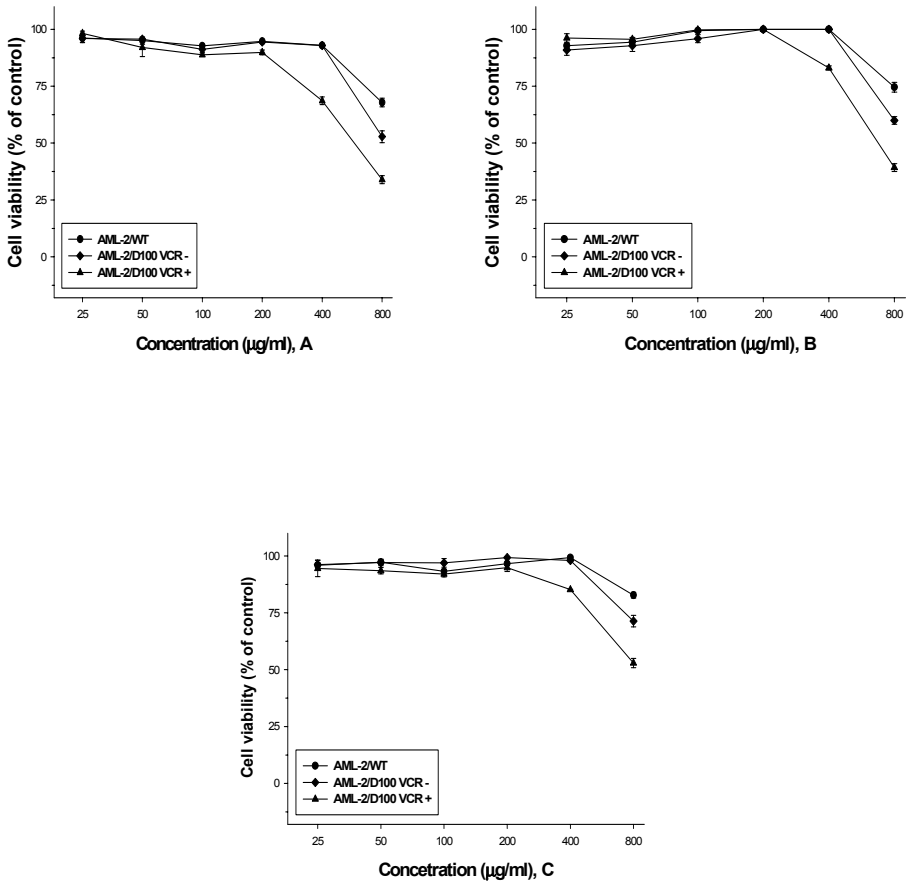


Fig. 58. Survival rates for drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect from buckwheat extract on human acute myelogenous leukemia cell. Data were presented as means±SD (n=3). ●—●, Wild type of human acute myelogenous leukemia. ◆—◆, Daunorubicin resistant type in the absence of VCR. ▲—▲, Daunorubicin resistant type in the presence of VCR. A, Sample No. 2; B, Sample No. 5; C, Sample No. 7.

Sample	IC_{50}[1] of AML-2/WT[2]	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4](㎍/㎖)		CI[6]
			VCR[5]-	VCR+	
1	800↑	-	800↑	800↑	-
2	800↑	-	800↑	613	1.3↑
3	800↑	-	800↑	800↑	-
4	800↑	-	800↑	800↑	-
5	800↑	-	800↑	703	1.1↑
6	800↑	-	800↑	565	1.4↑
7	800↑	-	800↑	800↑	-
8	800↑	-	800↑	800↑	-
9	800↑	-	800↑	800↑	-
10	800↑	-	800↑	800↑	-
11	800↑	-	800↑	800↑	-
12	800↑	-	800↑	800↑	-

[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells, [2]Wild type

[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/WT

[4]Daunorubicin 100nM, [5]Vincristine, [6]Chemosensitizing index : IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 witht vincristine

Date were presented as means±SD (n=3).

Sample compositions and abbreviations of serial numbers as follows: G.MB, germinated mung bean; G.C, germinated corn; G. BB, germinated black bean; MR, milled rice; BR, brown rice; G. BR, germinated blown rice; HT, heating time; WC, water content.

No.	G. MB (%)	G. C (%)	G. BB (%)	MR (%)	BR (%)	G. BR (%)	HT (min)	WC (x)
1	30	-	-	60	10	-	40	10
2	30	-	-	40	30	-	40	10
3	30	-	-	60	-	10	40	10
4	30	-	-	40	-	30	40	10
5	-	30	-	40	30	-	50	10
6	-	30	-	40	-	30	50	10
7	-	30	-	60	10	-	60	10
8	-	30	-	60	-	10	50	10
9	-	-	30	60	10	0	40	10
10	-	-	30	50	-	20	40	10
11	-	-	30	40	30	-	50	10
12	-	-	30	40	-	30	40	9

나) 최종 혼합형 발아곡물죽의 다제내성

최종 발아곡물 죽 SB의 항암제 즉, vincristine에 대한 내성극복효과와 교차내성효과를 확인하였으나 800 ㎍/㎖의 농도에서 어떠한 영향도 나타나지 않았다(**Fig. 59**).

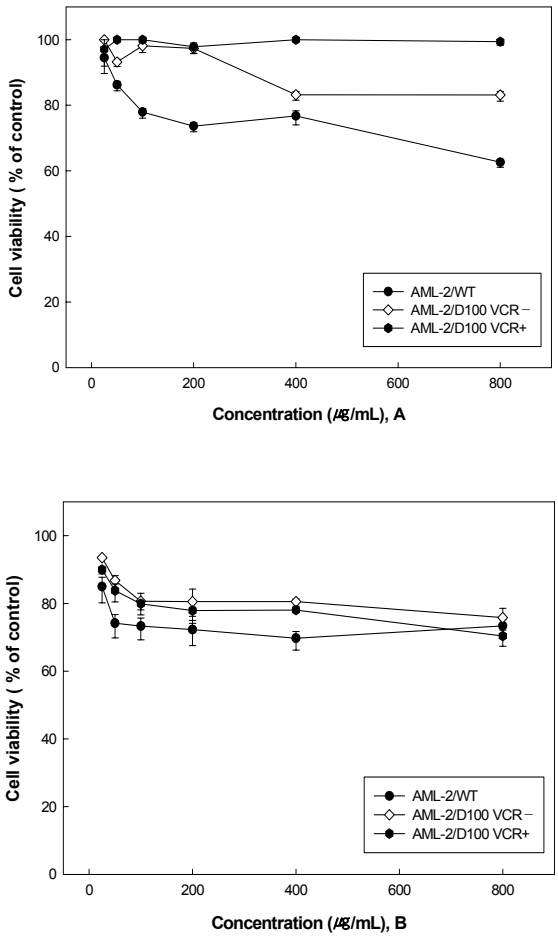


Fig. 59. Survival rates for drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect from cereal with grain seeds extract on human acute myelogenous leukemia cell. Data were presented as means±SD (n=3). A, D-Con., Cereal soup with non-germinated seeds; B, D-Ger. Cereal soup with germinated seeds.

Sample	IC_{50}[1] of AML-2/WT[2](㎍/㎖)	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4](㎍/㎖)		CI[6]
			VCR[5]-	VCR+	
D-Con.	800 ≥	-	800 ≥	794.31	1.0 ≥
D-Ger.	748.31	-	639.96	687.39	0.93

[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells
[2]Wild type

[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/WT/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine
[4]Daunorubicin 100nM
[5]Vincristine
[6]Chemosensitizing index : IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 with vincristine
Each value is means±S.D (n=3). D-Con., cereal soup with non-germinated; D-Ger. cereal soup with germinated.

3) 곡물죽 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향

가) 폐암세포에 대한 추출물의 독성효과

비발아 곡물 혼합 죽 추출물(D-Con.)과 발아곡물 혼합 죽 추출물(D-Ger.)의 인체 폐암세포인 Calu-6에 대한 암세포 성장 억제효과를 확인한 결과를 **Fig. 60**에 나타내었다. 그 결과 발아곡물 혼합 죽은 800 ㎍/㎖의 농도에서 65% 이상의 억제효과를 나타내어 비발아 곡물 혼합 죽에 비하여 50% 이상 높은 효과를 보였다.

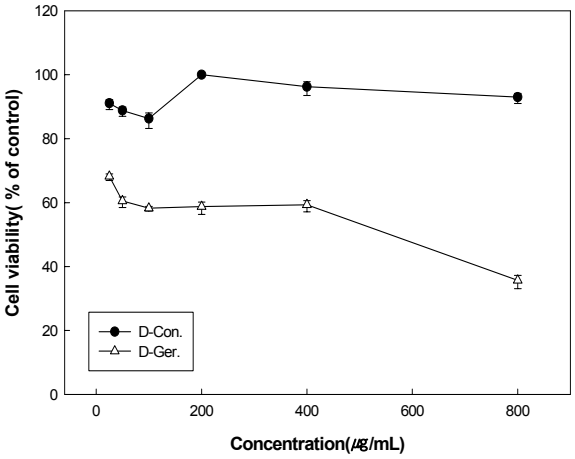


Fig. 60. The viability of cells by MTT assay from extract of cereal with grain seeds on Calu-6. as human cancer cells. Data were presented as means±SD (n=3). D-Con., Cereal soup with non-germinated seeds; D-Ger. Cereal soup with germinated seeds.

나) 대장암 세포에 대한 추출물의 독성효과

비발아 곡물 혼합죽 추출물(D-Con.)과 발아곡물 혼합 죽 추출물(D-Ger.)의 대장암 세포인 Caco-2에 대한 암세포 성장 억제효과는 발아곡물 혼합 죽 추출물에서 세포

성장억제효과가 높게 나타났으며 800 ㎍/㎖의 농도에서 58%의 세포 사멸효과를 보였다(Fig. 61).

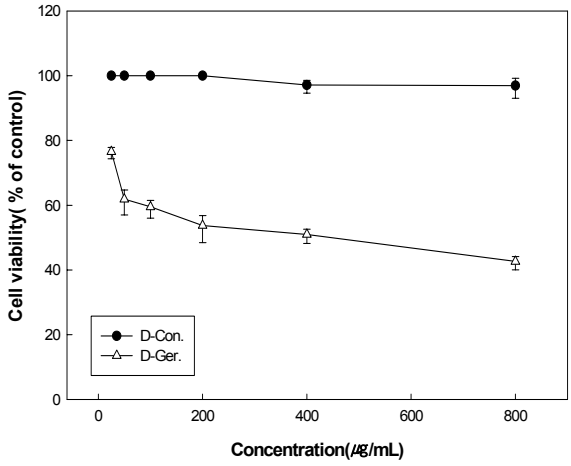


Fig. 61. The viability of cells by MTT assay from extract of cereal with grain seeds on Caco-2 as human cancer cells. Data were presented as means±SD (n=3). D-Con., Cereal soup with non-germinated seeds; D-Ger. Cereal soup with germinated seeds.

다) 유방암 세포에 대한 추출물의 독성효과

비발아 곡물 혼합죽 추출물(D-Con.)과 발아곡물 혼합죽 추출물(D-Ger.)의 유방암 세포인 MCF-7에 대한 암세포 성장 억제효과는 D-Ger. 에서 세포 성장 억제효과가 높게 나타났으며 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 58%의 세포 성장을 저해하였다(Fig. 62).

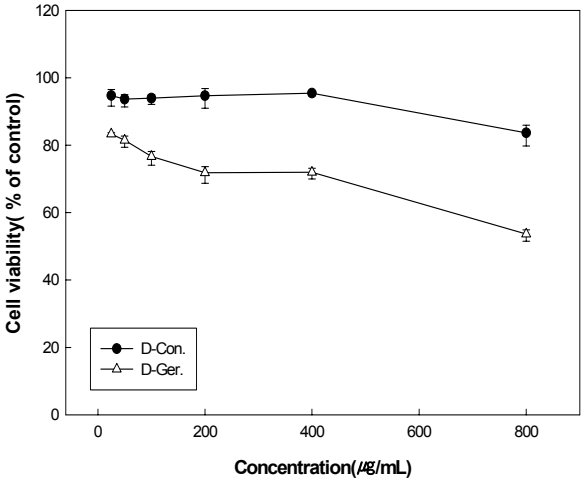


Fig. 62. The viability of cells by MTT assay from extract of cereal with grain seeds on MCF-7 as human cancer cells. Data were presented as means±SD (n=3). D-Con., Cereal soup with non-germinated seeds; D-Ger. Cereal soup with germinated seeds.

라) 위암 세포에 대한 추출물의 독성효과

위암 세포인 SNU-601에 D-Con.과 D-Ger.의 추출물을 처리하여 암세포 성장 억제효과를 살펴본 결과 D-Con.은 암세포가 거의 생존하여 영향력이 없었으며 D-Ger.은 최저농도인 25 ㎍/㎖에서 20%의 세포 저해율이 나타났으며 고농도로 갈수록 암세포 성장억제효과가 상승하여 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 60%이상의 세포증식을 저해하였다(**Fig. 63**).

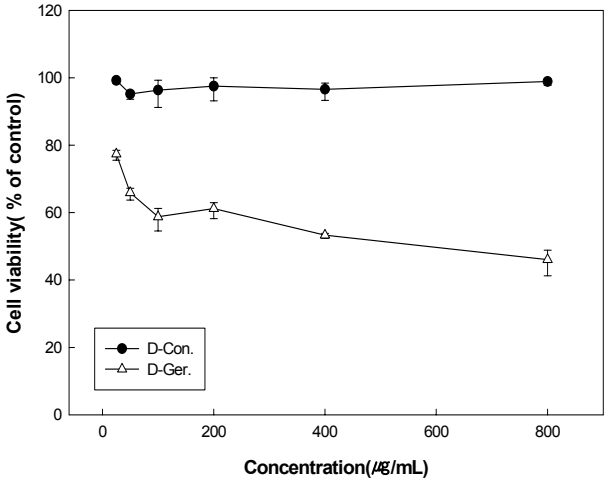


Fig. 63. The viability of cells by MTT assay from extract of cereal with grain seeds on SNU-601 as human cancer cells. Data were presented as means±SD (n=3). D-Con., Cereal soup with non-germinated seeds; D-Ger. Cereal soup with germinated seeds.

4) 추출물의 항미생물 활성

발아 녹두, 발아 옥수수, 발아 서목태의 배합비율을 다르게 하여 죽을 만들어 동결건조 후 추출물의 20 ㎎/㎖농도로 항미생물 활성을 측정한 결과 4종의 그람 양성균 및 4종의 그람 음성균에 대하여 전혀 항균활성이 나타나지 않았다. 이는 상당한 고농도의 양(각 hole당 4㎎)을 처리한 결과로 추출물의 상태가 열처리 상태이므로 내부의 물질에 영향을 미쳐 항균활성이 나타나지 않은 것으로 생각된다.

2. 발아곡물생식의 기능성 탐색

가. 서론

발아길이가 2 ㎜, 5 ㎜, 10 ㎜로 유도된 4종의 발아곡물종자(녹두, 메밀, 옥수수, 서목태)와 글루탐산 침지와 24시간 혐기처리되어 기능성 물질인 GABA 함량이 강화된 발아곡물을 원료로 하여 생식을 제조 하였다. 1차적으로 일반용 발아곡물생식, 여성용 발아곡물생식, 어린이용 발아곡물생식을 제조하여 관능성이 높은 “일반용 발아곡물

생식"을 최종 예비시제품으로 결정하였으며, 항산화활성, chemosensitizing effect, 암세포독성도, 항미생물활성, 뇌혈류에 미치는 영향, 3종의 신경세포보호에 미치는 효과 등을 살펴보았다.

나. 재료 및 방법

1) 추출물의 항산화활성 분석

가) 시료의 추출 및 조제

각 시료를 동결 건조하여 분쇄기로 곱게 마쇄한 후 건물양의 5배에 해당하는 에탄올을 첨가하여 상온에서 2회 추출하였다. 이 추출액을 감압 농축하여 핵산으로 탈지한 추출물을 동결 건조하여 사용하였다.

나) 항산화활성 측정

항산화활성 검색은 DPPH법을 이용하여 시료의 radical 소거효과를 측정하는 Blois의 방법약간 변형하여 측정하였다. 1×10^{-4}M DPPH와 농도별 추출물을 각각 100 ㎕씩 취하여 혼합한 다음 30분간 암 상태에서 방치한 후 잔존 radical 농도를 ELISA Reader(Bio-RAD, USA)를 이용하여 517nm에서 측정하였다. 시료의 환원력의 크기는 라디칼 소거활성(Scavenging activity)으로 표시하며, RC_{50}은 DPPH 농도가 1/2로 감소하는데 필요한 시료의 양(㎍)으로 나타내었으며 항산화 물질로 잘 알려진 BHT(Butylated hydroxytoluene)와 Vitamin C(Ascorbic acid)를 표준 물질로하여 비교 환산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity}(\%) = (Ac-As)/Ac \times 100$$

Ac : 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

As : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

2) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향 분석

가) 시료의 추출

각 시료를 동결 건조하여 분쇄기로 곱게 마쇄한 후 건물양의 5배에 해당하는 에탄올을 첨가하여 상온에서 2회 추출하였다. 이 추출액을 감압 농축하여 핵산으로 탈지한 추출물을 동결 건조하여 사용하였다.

나) 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용한 세포는 인간유래 암세포주로서 폐암 세포인 Calu-6, 유방암 세포인 MCF-7, 위암 세포인 SNU-601, 대장암 세포인 Caco-2를 사용하였다. Calu-6, MCF-7, SNU-601은 RPMI1640 복합배지를, Caco-2는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)을 이용하여 10% Fetal bovine serum와 항생제(Antibiotic-antimycotic)를 첨가하여 37℃, 5% CO_2의 습윤화 된 배양기에서 적응시켜 배양하였다. 세포는 dish의 80% 정도 자랐을 때 PBS로 세척하여 Trypsin-EDTA (Gibco/BRL)을 처리하여 2~3일마다 계대 배양하였다.

다) 암세포 증식 억제 효과

암세포에 대한 세포독성능 측정은 MTT 검정법으로 실험하였다. 암세포에 대한 세포독성능 을 측정하기 위해 96 well microplate의 각 well에 대수기에 도달한 인체 암세포를 3 $\times 10^4$ cell/㎖의 농도가 되도록 조절하여 96 well microplate 에 세포 부유액을 90 ㎕씩 분주하고, 24시간 동안 배양한 후 무처리구인 대조군과 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 하였다. 각각의 시료는 DMSO에 녹여 농도별로 첨가하여 3일 동안 배양한 후 각 well에 MTT용액(5 ㎎/㎖ PBS) 10 ㎕씩을 가해주고 다시 37 ℃, 5% CO_2의 습윤 배양기에서 4시간 동안 반응하여 MTT가 환원되도록 하였다. 각 well에 생성된 formazan결정을 DMSO 150 ㎕로 잘 녹여서 microplate reader (Bio-Rad, USA)를 이용하여 540 ㎚에서 흡광도를 측정하여 측정된 흡광도로부터 아래의 방법으로 생존한 세포의 비율을 구하였다.

$$\text{Percent of viable cells}(\%) = \frac{\text{Optical density with cytotoxic drug}}{\text{Optical density without cytotoxic drug}} \times 100$$

3) 항암제 내성백혈암세포에 미치는 추출물의 Chemosensitizing effect 분석

가) 세포주 및 세포배양

인체 백혈암 세포주인 AML-2/WT 세포와 동일세포를 daunorubicin의 농도를 점차 증가시키면서 배양하여 내성을 유도한 AML-2/D100 세포를 실험에 사용하였다. AML-2/WT과 AML-2/D100 세포는 Fetal bovine serum 10%와 항생제를 함유한 ㅁ

-MEM배지를 사용하여 37℃의 5% CO_2 조건에서 배양하였으며, AML-2/D100 세포는 내성을 유지하기 위해 실험하기 일주일 전에 100 nM의 daunorubicin을 처리하여 3회 이상 추가배양한 후 사용하였다.

나) 다제내성 조절 활성 검색

MTT 방법을 이용하여 3반복으로 내성세포의 생존 정도를 조사하였다. 시료농도에 따른 세포 생존 정도는 대조군의 흡광도와 비교하여 백분율로 나타내었으며 각 세포들의 항암제 내성생성 정도 및 내성극복효과는 vincristine 존재하에서 IC_{50}을 비교하여 교차 내성배수와 내성극복배수를 결정하였다

4) 추출물의 항미생물 활성분석

가) 미생물 균주

항미생물 활성에 사용된 균은 식품의 부패와 식중독에 관련된 균으로 그람양성균으로는 *Bacillus subtillis*, *Bacillus amyloliquefaciens, Streptomyces fradiae* 및 *Staphylococcus aureus*를 사용하였고, 그람음성균으로 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. C1036 및 *Salmonella typhimurium*을 각각 사용하였다.

나) 항미생물 활성측정

순수 분리된 각 균주의 단일집락을 취해 1 백금이 취해 100 ㎖의 균 생육 액체배지에 접종하여 각각 균주의 생육적온에서 18~24시간씩 3회 배양한 후 항균활성 시험균주로 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 1.5%의 한천이 첨가된 생육배지를 멸균하여 petridish에 20 ㎖씩 분주하여 기층용 배지를 응고시키고, 0.7% 한천이 첨가된 중층용 배지를 각각 3 ㎖씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 식품의 부패와 식중독에 관련된 그람 양성균 4종과 그람 음성균 4종의 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균 농도를 660 ㎚에서 흡광도 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.1 ㎖를 무균적으로 가하여 잘 혼합한 다음 기층용 배지 위에 분주한 다음 고르게 응고시켜 2중의 균접종 중층배지를 만들어 사용하였다. 일반재배와 친환경재배 곡물의 항균활성 검색은 한천배지 확산법(cup hole method)으로 측정하였다. 즉, 20 ㎎/

㎖ 농도의 녹두, 서목태, 옥수수, 그리고 메탄올 추출물을 0.45 ㎛ membrane filter (Millipore Co., USA)로 여과하여 제균한 다음 멸균된 미리 천공(5㎜)된 평판에 20 ㎕(4 ㎎)씩 흡수시킨 후, 추출용매를 무균적으로 풍건하여 완전히 날려 보내고 각각 균의 생육적온에서 24~48시간 동안 배양한 다음 hole 주변에 형성된 억제환의 직경(㎜)을 측정하여 항균활성을 비교하였다. 이때 각 시료를 녹이기 위해 사용한 용매 및 계면활성제에 대한 공실험을 실시하였다.

5) 신경세포(Neuronal cell)에 미치는 발아곡물생식 추출물의 효과분석

가) 실험재료 및 세포주

추출물은 발아곡물생식을 열수 추출하여 동결 건조한 것을 사용하였으며, 신경세포주는 인체 뇌에서 유래한 SH-SY5Y 세포주와 PC12 cell를 사용하였으며, 신경세포를 둘러싸고 있는 주변세포 glial cell의 일종인 C6G를 세포주로 이용하였다. 신경세포를 저해시키거나 교란 또는 치사시키는 화학물질인 dieldrin(살충제), paraquat(제초제), 산화성 스트레스 물질인 SNP와 H_2O_2, 그리고 파킨슨병을 유발하는 중금속류인 $MnCl_2$, rotenone을 농도별로 세포에 처리하여 저해를 준 다음, 이들 신경세포에 각각의 발아곡물 생식 추출물을 가하여 개선효과가 있는지를 조사하였다.

나) 세포배양

SH-SY5Y 세포주는 DMEM/F12와 10% fetal bovine serum(FBS), 1% 페니실린/스트렙토마이신을 조성으로 한 배지에 계대배양 하였으며, PC12 cell은 RPMI 1640과 horse serum, FBS, 1% 페니실린/스트렙토마이신을 조성으로 한 배지에 계대배양 하였고 , C6G 세포주는 89% DMEM과 10% FBS, 1% 페니실린/스트렙토마이신을 조성으로 한 배지에 계대배양 하면서 실험을 수행하였다.

다) 신경세포에 대한 추출물의 처리

6종의 신경세포 저해물질을 농도별로 단독처리한 것과 발아생식 추출물을 농도별로 세포에 전처리한 후 신경세포 저해물질을 처리한 후 24시간, 48시간 배양하여 저해물질에 의해 손상된 신경세포가 발아생식 추출물에 의해 야기되는 개선정도를 조사하였다. 세포에 처리한 저해물질과 발아생식 추출물의 농도는 **Table 48**와 같다.

Table 48. 신경세포에 대한 저해물질 및 발아생식 추출물의 처리농도

Neuron cell line	Concentration of chemicals inhibiting neuron cell					
	H_2O_2	Paraquat	Rotenone (Glutamate)	Dieldrin	SNP	$MnCl_2$
SH-SY5Y	H25,50,100uM	P250,500uM,1mM	R50,100,200uM	D20,40,80uM	S250,500uM,1mM	M250,500uM,1mM
	ext5mg/ml+H25,50,100uM	ext5mg/ml+P250,500uM,1mM	ext5mg/ml+R50,100,200uM	ext5mg/ml+D20,40,80uM	ext5mg/ml+S250,500uM,1mM	ext5mg/ml+M250,500uM,1mM
	ext20mg/ml+H25,50,100uM	ext20mg/ml+P250,500uM,1mM	ext20mg/ml+R50,100,200uM	ext20mg/ml+D20,40,80uM	ext20mg/ml+S250,500uM,1mM	ext20mg/ml+M250,500uM,1mM
PC12	H100,200,400uM	P100,200,400uM	G50,100,200uM	D10,20,40uM	S100,200,400uM	-
	ext5mg/ml+H100,200,400uM	ext5mg/ml+P100,200,400uM	ext5mg/ml+G100,200,400uM	ext5mg/ml+D10,20,40uM	ext5mg/ml+S100,200,400uM	-
	ext15mg/ml+H100,200,400uM	ext15mg/ml+P100,200,400uM	ext15mg/ml+G100,200,400uM	ext15mg/ml+D10,20,40uM	ext15mg/ml+S100,200,400uM	-
G6G	H100,200,400uM	P250uM,1,2mM	R50,100,200uM	D5,10,20uM	S250uM,1,2mM	M250uM,1,2mM
	ext5mg/ml+H100,200,400uM	ext5mg/ml+P250uM,1,2mM	ext5mg/ml+R50,100,200uM	ext5mg/ml+D5,10,20uM	ext5mg/ml+S250uM,1,2mM	ext5mg/ml+M250uM,1,2mM
	ext20mg/ml+H100,200,400uM	ext20mg/ml+P250uM,1,2mM	ext20mg/ml+R50,100,200uM	ext20mg/ml+D5,10,20uM	ext20mg/ml+S250uM,1,2m	ext20mg/ml+M250uM,1,2mM

H, H_2O_2; P, Paraquat; R, Rotenone; G, Glutamate; D, Dieldrin; S, SNP; M, $MnCl_2$

6) 뇌혈류량에 미치는 영향 분석

가) 실험동물

동물은 생후 2일째의 ICR 태아 마우스와 체중 300±10(g)내외의 웅성 sprague-dawley계 흰쥐를 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료(삼양주식회사, Korea)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물에 적용된 시료는 본 연구의 최종시제품인 발아 곡물죽과 발아 생식의 열수 추출물을 사용하였다.

나) 국소 뇌혈류량 변동 측정

Chen 등의 방법에 따라 동물을 stereotaxic frame(DKI, U.S.A.)에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6 ㎜ 측방, -2~1 ㎜ 전방에 직경 5~6 ㎜의 두개창 수술을 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막외 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmetry(LDF, Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8 ㎜)를 대뇌(두정엽)피질 표면에 수직이 되도록 stereotactic micromanipulator를 사용하여 뇌연막 동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험절차에 따라 각각의 시료를 농도별(0.01㎎/㎏~1.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 30분 동안 변동되는 국소 뇌혈류량(regional cerebral blood flow, rCBF)을 측정하였다.

다) 평균 혈압 변동 측정

동물을 urethane(750 ㎎/㎏, i.p.)으로 마취시킨 후 체온을 37~38℃로 유지할 수 있도록 heat pad위에 앙와위로 고정시켰다. 각각의 시료 투여 농도(0.01 ㎎/㎏~1.0 ㎎/㎏, i.p.)에 따른 평균혈압(mean arterial blood pressure, MABP) 변동은 동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, U.S.A.)를 통하여 data acquisition system으로 30분 동안 관찰하였다.

다. 결과 및 고찰

1) 추출물의 항산화활성

가) 일반용 생식의 항산화 활성

일반용 생식에 비발아, 발아, 혐기발아 곡물을 적정비로 혼합하여 추출물을 얻어 항산화 활성을 측정한 결과를 **Fig. 64**에 나타내었다. 그 결과 농도별 추출물에서 비발아 곡물을 첨가한 일반생식의 항산화 활성은 3.13~28.76%였고 발아곡물을 첨가한 일반생식은 2.6%~19.23%였으며 혐기 처리된 발아곡물을 첨가한 일반생식은 4~28.89%로 나타났다. 2 ㎎/㎖ 농도에서 혐기처리 추출물이 발아추출물 보다 9% 정도 항산화 활성이 높았고 어린이용, 여성용 생식과 비교하여 가장 높은 항산화 활성이 나타났다.

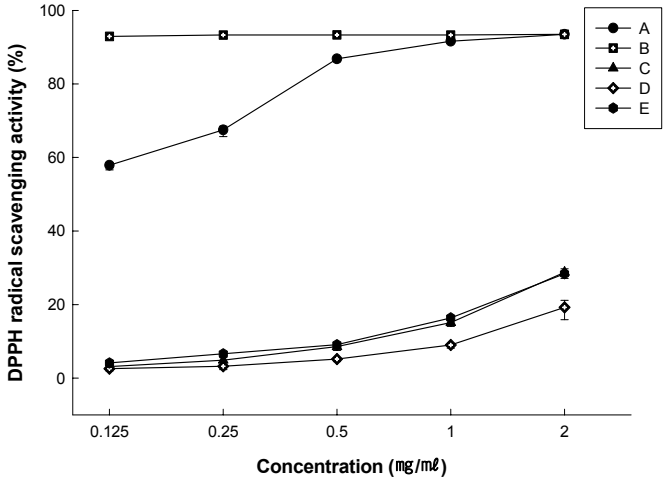


Fig. 64. Antioxidant activities of ethanol extract from common uncooked powdered food by DPPH free radical scavenging assay. A, BHT (butylated hydroxytoluene); B, Vit C (ascorbic acid); C, common uncooked powdered food with non-sprouted grains; D, common uncooked powdered food with sprouted grains; E, common uncooked powdered food with GABA-enhanced sprouted grains.

나) 어린이 생식의 항산화 활성

어린이용 생식에 비발아, 발아, 혐기발아 곡물을 적정비로 혼합하여 추출물을 얻어 항산화 활성을 측정한 결과를 **Fig. 65**에 나타내었다. 그 결과 2 ㎎/㎖의 농도에서 발아곡물을 첨가한 어린이용 생식이 26.72%의 DPPH radical 소거활성을 보여 비발아 곡물을 첨가하였을 때보다 15.35% 높은 항산화 활성을 나타내었다. 이는 혐기발아 곡물을 첨가한 일반 생식보다 6%정도 높은 수치였다.

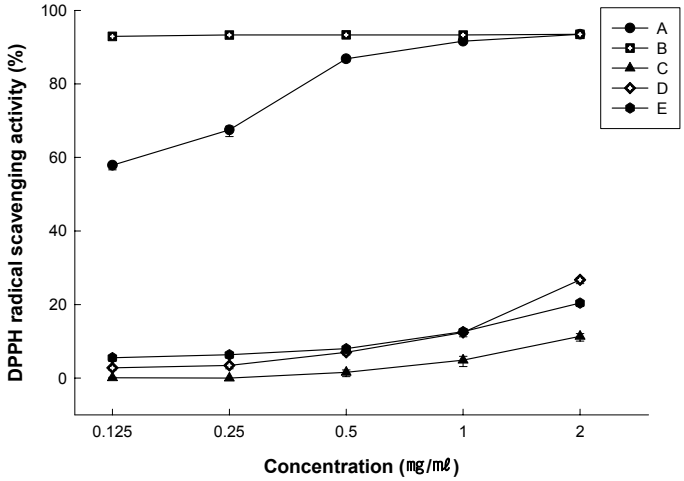


Fig. 65. Antioxidant activities of ethanol extract from uncooked powdered food for child by DPPH free radical scavenging assay. A, BHT (butylated hydroxytoluene); B, Vit C (ascorbic acid); C, uncooked powdered food for child with non-sprouted grains; D, uncooked powdered food for child with sprouted grains; E, uncooked powdered food for child with GABA-enhanced sprouted grains.

다) 여성용 생식의 항산화 활성

여성용 생식에 비발아, 발아, 혐기발아 곡물을 적정비로 혼합하여 추출물을 얻어 항산화 활성을 측정한 결과 2 ㎎/㎖의 농도에서 비발아 곡물을 첨가한 여성 생식이 16.78%의 DPPH radical 소거활성을 보여 발아 곡물을 첨가하였을 때보다 16.52% 증가된 항산화 활성을 보였다. 그러나 혐기발아 곡물을 첨가한 여성용 생식이 비발아 곡물을 첨가한 것보다 5%정도 높은 수치를 보였다(**Fig. 66**).

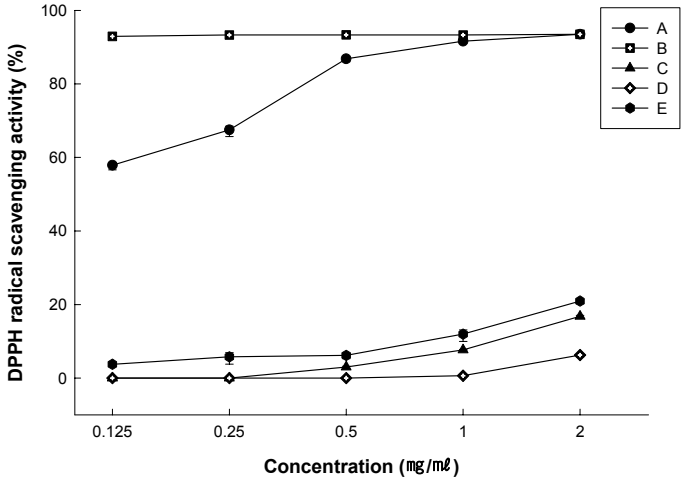


Fig. 66. Antioxidant activities of ethanol extract from uncooked powdered food for female by DPPH free radical scavenging assay. A, BHT (butylated hydroxytoluene); B, Vit C (ascorbic acid); C, uncooked powdered food for female with non-sprouted grains; D, uncooked powdered food for female with sprouted grains; E, uncooked powdered food for child with GABA-enhanced sprouted grains.

라) GABA강화 발아곡물, 생식, 죽의 항산화활성 비교

DPPH radical은 화학적으로 유도되는 radical로서, 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 엷어지는 특성이 있다. 그러므로 이 색차를 비색 정량하여 시료의 항산화 활성을 측정한다. 메밀, 서목태, 녹두, 옥수수를 200 ppm의 glutamic acid에 침지하여 발아시킨 후 24시간 혐기처리 하였고 이러한 혐기처리 곡물을 일반용 생식, 어린이용 생식, 여성용 생식 그리고 죽 등에 첨가하여 항산화 활성을 측정한 결과를 **Fig. 67**에 나타내었다. 그 결과 혐기처리 된 메밀이 강한 항산화 활성을 보였고 혐기처리 된 옥수수도 높은 항산화 활성이 있음을 육안으로도 확인할 수 있었다. 혐기처리 곡물을 첨가하여 제조한 생식 및 죽 추출물에서는 2 ㎎/㎖의 농도에서 곡물 죽의 항산화 활성을 뚜렷하게 확인할 수 있었으며, 3가지 생식 중 일반용 생식에서 가장 항산화 효과가 높음을 확인할 수 있었다.

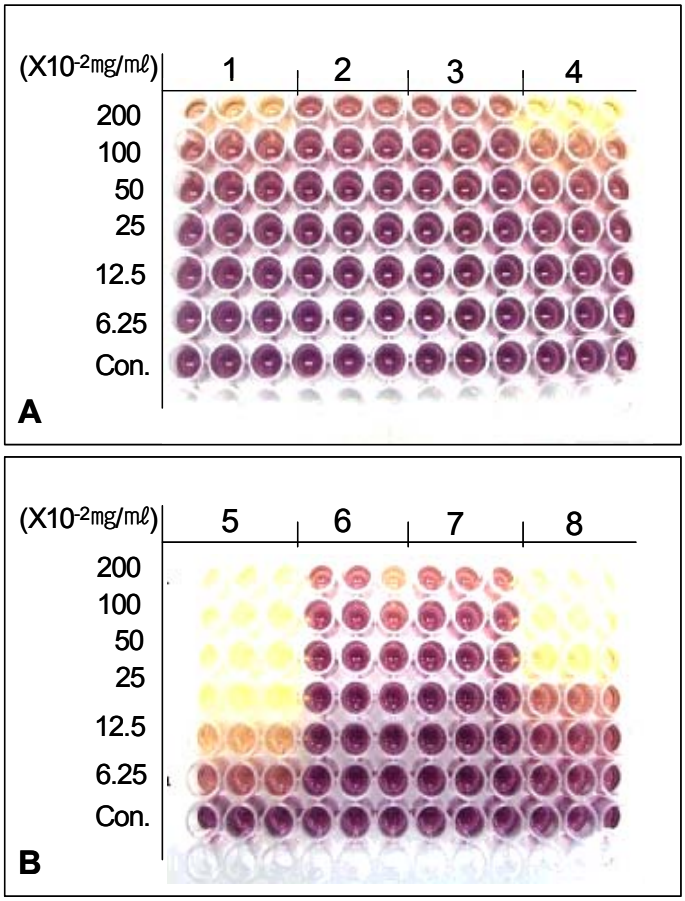


Fig. 67. Antioxidant activities of ethanol extract from uncooked powdered food with GABA-enhanced grains by DPPH free radical scavenging assay. Numbers, 1, common uncooked powdered food with GABA-enhanced sprouted grains; 2, uncooked powdered food for child with GABA-enhanced sprouted grains; 3, uncooked powdered food for female with GABA-enhanced sprouted grains; 4, cereal soup with GABA-enhanced sprouted grains; 5, GABA-enhanced of 2 ㎜ root length germinated buck wheat; 6, GABA-enhanced of 2 ㎜ root length germinated black bean; 7. GABA-enhanced of 2 ㎜ root length germinated mung bean; 8, GABA-enhanced of 10 ㎜ root length germinated corn.

2) 추출물이 각종 인체암세포의 생육에 미치는 영향

가) 발아곡물 생식의 암세포 독성효과

(1) 일반용 생식

차조 외 18종(알파현미, 발아현미, 율무, 팥, 보리, 백태, 약콩, 감자, 케일, 신선초, 돌미나리, 브로콜리, 당근, 우엉, 호박, 표고버섯, 생금, 올리고당)의 재료를 첨가하여 제조한 일반용 생식에 비발아 옥수수, 녹두, 메밀, 그리고 서목태를 첨가한 추출물(A-Con.)과 GABA 강화 발아 옥수수, 녹두, 메밀, 그리고 서목태를 첨가한 추출물(A-Ger.)을 각각 인체 암세포에 처리하여 각각의 항암효과를 살펴본 결과를 **Fig. 68**에 나타내었다. 그 결과 폐암세포인 Calu-6에서는 A-Con은 사멸에 영향력을 보이지 않았으나 A-Ger.은 농도가 증가할수록 농도 의존적으로 세포 사멸 율이 증가하였으며 800 ㎍/㎖의 농도에서 47%의 사멸 율을 나타내었다. 대장암세포인 Caco-2에서는 A-Ger.은 암세포 성장 억제효과가 낮았으나 A-Con.은 50 ㎍/㎖의 농도에서부터 사멸 효과가 나타나기 시작하여 농도가 증가할수록 농도 의존적으로 세포 사멸 율이 증가하여 800 ㎍/㎖의 농도에서 56%의 사멸 율을 나타내었다. 위암세포인 SNU-601에 A-Con.과 A-Ger. 추출물을 농도별로 처리하여 암세포 성장 억제 효과를 살펴본 결과 저농도에서 A-Con.과 A-Ger.는 영향력이 거의 없었으며 고농도에서 A-Ger.가 SNU-601에 대하여 20%의 성장 억제효과를 나타내었다. 또한, 유방암세포인 MCF-7에 A-Con.과 A-Ger. 추출물을 농도별로 처리하여 암세포 성장 억제 효과를 살펴본 결과 A-Con.은 200 ㎍/㎖의 농도에서 약간의 영향력이 있었으나 그 외 농도에서는 영향력이 거의 없었으며 A-Ger.는 200 ㎍/㎖의 농도에서부터 고농도로 갈수록 농도 의존적으로 세포증식 억제 율이 증가하여 800 ㎍/㎖에서 유방암세포에 대하여 약 60%의 강한 억제효과를 나타내었다.

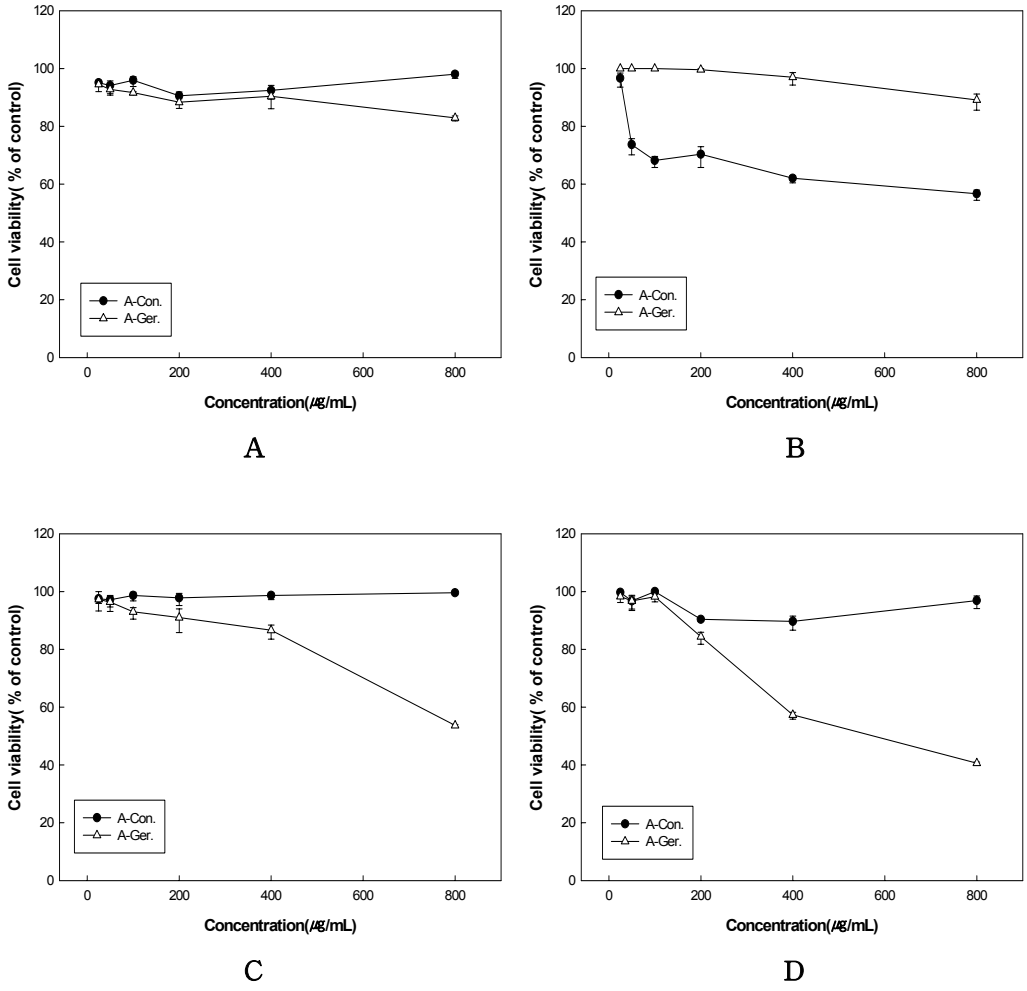


Fig. 68. The viability of cells by MTT assay from extract of common uncooked powdered food on human cancer cell lines. A, Calu-6; B, Caco-2; C, SNU-601; D, MCF-7. A-Con., uncooked powdered food with non-germinated grain seeds; A-Ger., uncooked powdered food with GABA-enhanced grain seeds.

(2) 어린이용 생식

차조 외 13종(발아현미, 보리, 케일, 당근, 호박, 시금치, 건표고, 비피더스 분말, 유산균 분말, 프락토 올리고당, 생금, 과당, 누룽지분말)의 재료를 첨가하여 제조한 어린이용 생식에 비발아 옥수수, 녹두, 메밀, 그리고 서목태를 첨가한 추출물(B-Con.)과

GABA 강화 발아 옥수수, 녹두, 메밀, 그리고 서목태를 첨가한 추출물(B-Ger.)을 인체 암세포에 처리하여 각각의 항암효과를 살펴본 결과를 **Fig. 69**과 70에 나타내었는데 그 결과 위암세포인 SNU-601에 B-Con.과 B-Ger. 추출물을 농도별로 처리하여 암세포 성장 억제효과를 살펴본 결과 B-Con.은 영향력이 거의 없었으나 B-Ger.는 농도가 증가함에 따라 SNU-601에 대하여 성장억제효과가 증가하였으며 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 45%의 성장 억제효과를 나타내었으며, 유방암세포인 MCF-7에 B-Con.과 B-Ger. 추출물을 농도별로 처리하여 암세포 성장 억제 효과를 살펴본 결과 B-Ger.는 농도가 증가함에 따라 MCF-7에 대하여 성장억제효과가 증가하였으며 400 ㎍/㎖의 농도에서 약 45% 이상의 억제효과를 보인 반면 B-Con. 은 아무런 영향력이 없었다.

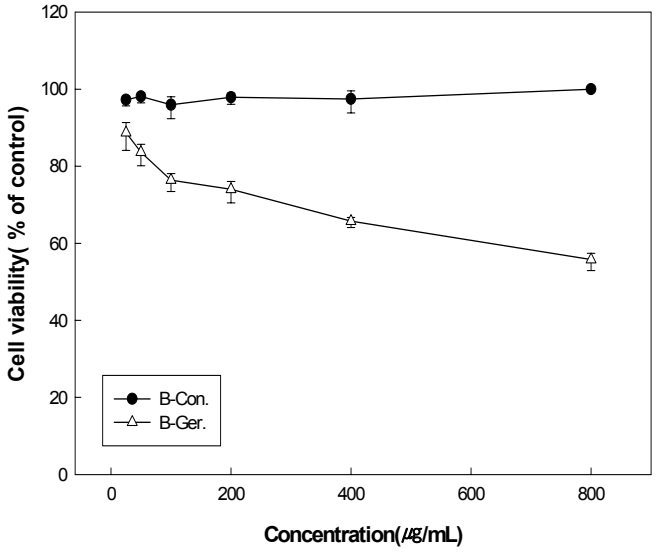


Fig. 69. The viability of cells by MTT assay from extract of uncooked powdered food for child on SNU-601 as human cancer cells.

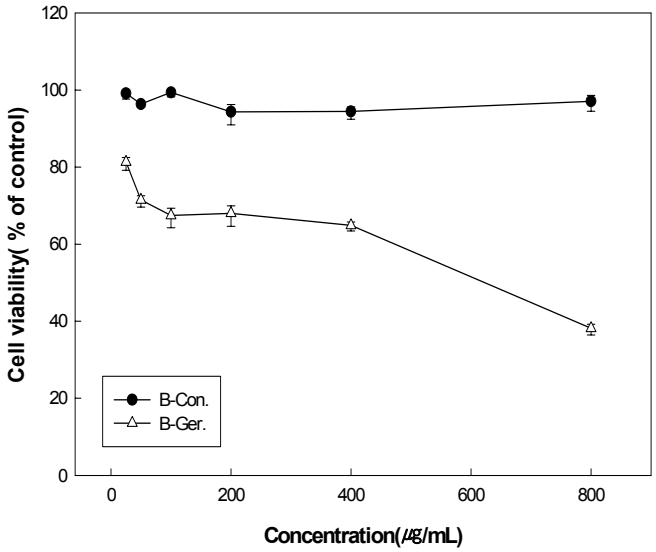


Fig. 70. The viability of cells by MTT assay from extract of uncooked powdered food for child on MCF-7 as human cancer cells.

(3) 여성용 생식

차조 외 13종(알파현미, 발아현미, 수수, 율무, 보리, 케일, 신선초, 비트, 당근, 호박, 사과, 배, 건표고, 올리고당, 생금)의 재료를 첨가하여 제조한 여성용 생식에 비발아 옥수수, 비발아 녹두, 비발아 메밀, 비발아 서목태를 첨가한 추출물(C-Con.)과 GABA 강화 발아 옥수수, GABA 강화 발아 녹두, GABA 강화 발아 메밀, GABA 강화 발아 서목태를 첨가한 추출물(C-Ger.)을 여러 인체 암세포에 농도별로 처리하여 각각의 항암효과를 살펴본 결과 폐암세포인 Calu-6에서 C-Con.은 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 22%의 성장 억제효과가 있었고 C-Ger.는 농도가 높아짐에 따라 암세포 성장 억제 효과가 상승하여 800 ㎍/㎖에서 약 84%의 저해효과를 보여 C-Ger.가 폐암세포에 대한 항암효과가 매우 높은 것으로 나타났으며(Fig. 71) 대장암세포인 Caco-2에서는 C-Con.은 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 46%의 성장 억제효과가 있었고 C-Ger.는 같은 농도에서 약18%의 암세포 성장억제 효과를 보여 대장암세포에 대한 저해 효과는 낮게 나타났으며(Fig. 72) 위암세포인 SNU-601에 C-Con.과 C-Ger. 추출물을 농도별로 처리하여 암세포 성장 억제 효과를 살펴본 결과 C-Con.은 800 ㎍/㎖ 농도에서 약 40%의 억제효과를 보였고 C-Ger.는 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 18%의 암세포 성장

억제 효과를 보여 대장암세포에 대한 저해효과와 비슷하게 위암세포에 대한 성장저해 효과도 비교적 낮은 것으로 나타났다(Fig. 73). 유방암세포인 MCF-7에 C-Con.과 C-Ger. 추출물을 처리하여 암세포 성장 억제 효과를 살펴본 결과 C-Con.은 800 ㎍/㎖이상의 농도에서 약 37%의 억제효과를 보였고 C-Ger.는 약 65%의 성장억제효과를 보여 폐암 세포에서처럼 유방암세포에 대한 항암효과 또한 높은 것으로 나타났다 (Fig. 74).

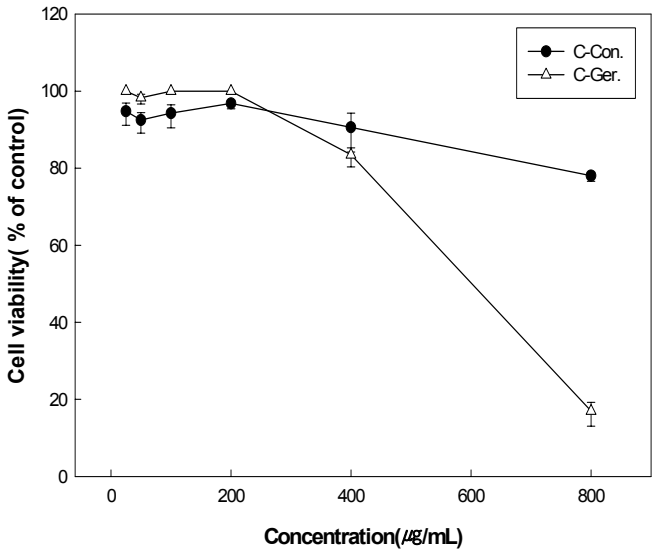


Fig. 71. The viability of cells by MTT assay from extract of uncooked powdered food for female on Calu-6 as human cancer cells.

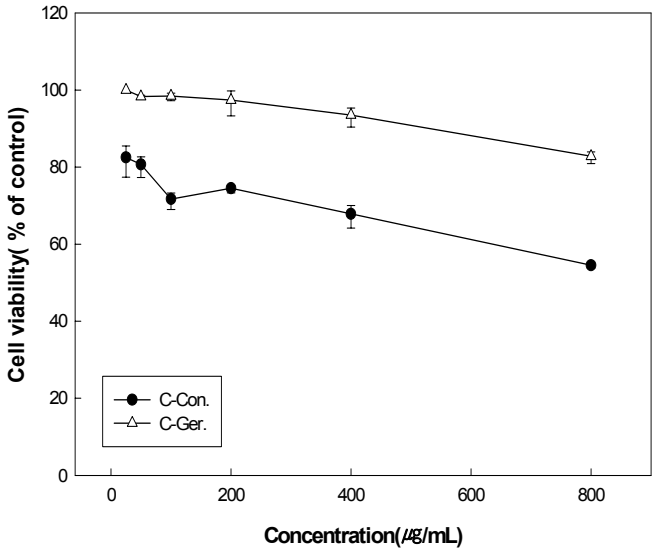


Fig. 72. The viability of cells by MTT assay from extract of uncooked powdered food for female on Caco-2 as human cancer cells.

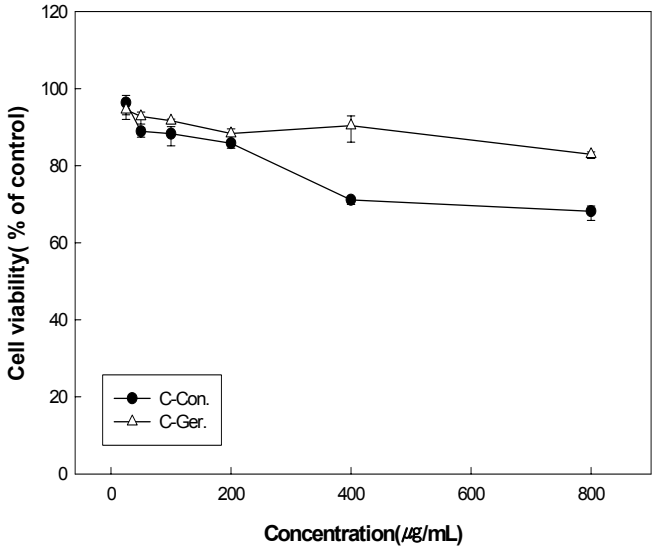


Fig. 73. The viability of cells by MTT assay from extract of uncooked powdered food for female on SNU-601 as human cancer cells.

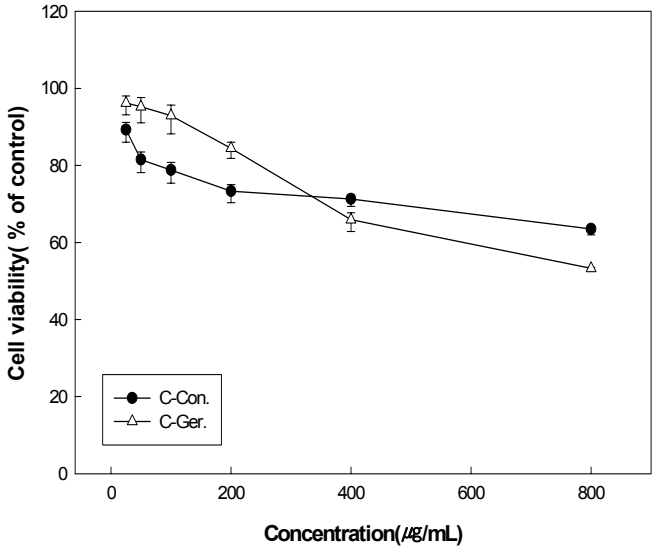


Fig. 74. The viability of cells by MTT assay from extract of uncooked powdered food for female on MCF-7 as human cancer cells.

3) 항암제 내성 백혈암세포에 미치는 추출물의 Chemosensitizing effect

가) 일반용 생식의 다제내성 유무

일반용 생식에 비발아 곡물을 첨가한 A-Con.과 일반용 생식에 GABA강화 발아 곡물을 첨가한 A-Ger.를 시료로 하여 항암제 Vincristine에 대한 내성 극복효과와 교차내성효과를 확인한 결과 A-Con.은 800 ㎍/㎖농도에서 다제내성 백혈암 세포에 성장 억제 효과가 약 10%정도 나타났으며 그 이하의 농도에서는 효과가 거의 나타나지 않았으나 A-Ger.는 100 ㎍/㎖ 농도에서부터 다제내성 백혈암 세포성장 억제 효과가 약 18%정도 나타났으며 그 이상의 농도에서는 18%정도의 항암효과를 유지하였다 (Fig 75).

나) 어린이용 생식의 다제내성 유무

어린이용 생식에 비발아 곡물을 첨가한 B-Con.과 일반용 생식에 GABA강화 발아 곡물을 첨가한 B-Ger.를 시료로 하여 항암제 Vincristine에 대한 내성극복효과와 교차 내성효과를 확인한 결과 B-Con.은 800 ㎍/㎖농도에서 다제내성 백혈암 세포 성장 억제 효과가 약 10%정도 나타났으며 그 이하의 농도에서는 암세포성장 억제 효과가 미비하였으나 B-Ger.는 농도가 증가할수록 성장 억제 효과가 증가하여 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 25%의 다제내성 백혈암 세포에 대한 성장억제효과를 보였다(Fig 75).

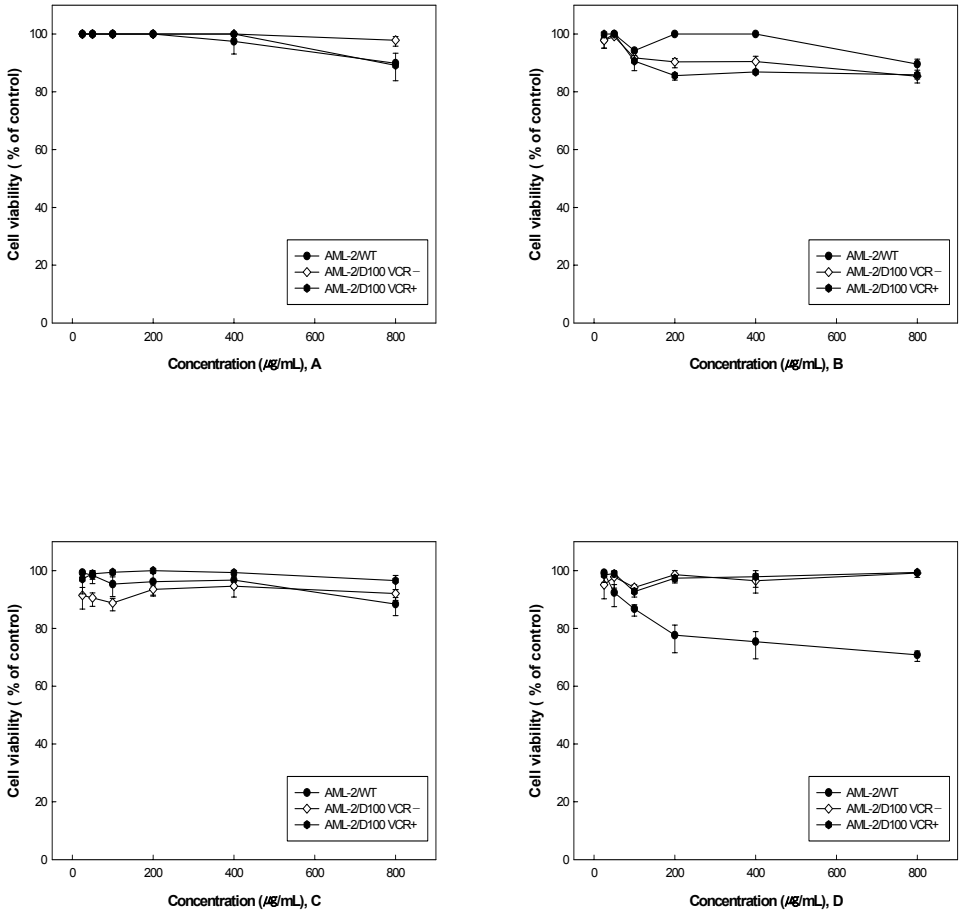


Fig. 75. Survival rates for drug sensitivity of daunorubicin and reversal

effect from cereal with grain seeds extract on human acute myelogenous leukemia cell. Data were presented as means±SD (n=3). A, A-Con., common uncooked powdered food with non-germinated seeds; B, A-Ger., common uncooked powdered food with GABA-enhanced germinated seeds; C, B-Con., uncooked powdered food for child with non-germinated seeds; D, B-Ger., uncooked powdered food for child with GABA-enhanced germinated seeds.

Sample	IC_{50}[1] of AML-2/WT[2] (㎍/㎖)	CR[3]	IC_{50} of AML-2/D100[4] (㎍/㎖)		CI[6]
			VCR[5]-	VCR+	
A-Con.	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
A-Ger.	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
B-Con.	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
B-Ger.	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
C-Con.	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-
C-Ger.	800 ≥	-	800 ≥	800 ≥	-

Each value is means±S.D (n=3).

[1]Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells, [2]Wild type,

[3]Cross resistance(CR)=IC_{50} of AML-2/WT/IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine

[4]Daunorubicin 100nM, [5]Vincristine, [6]Chemosensitizing index = IC_{50} of AML-2/D100 without vincristine/IC_{50} of AML-2/D100 with vincristine

Abbreviations, A-Con., common uncooked powdered food with non-germinated seeds; A-Ger., common uncooked powdered food with GABA-enhanced germinated seeds; B-Con., uncooked powdered food for child with non-germinated seeds; B-Ger., uncooked powdered food for child with GABA-enhanced germinated seeds; C-Con., uncooked powdered food for female with non-germinated seeds; C-Ger., uncooked powdered food for female with GABA-enhanced germinated seeds.

다) 여성용 생식의 다제내성 유무

여성용 생식에 비발아 곡물을 첨가한 C-Con.과 일반용 생식에 GABA 강화 발아 곡물을 첨가한 C-Ger.를 시료로 하여 항암제 Vincristine에 대한 내성 극복효과와 교차 내성효과를 확인한 결과 C-Con.은 농도가 증가할수록 성장 억제 효과가 증가하여 800 ㎍/㎖농도에서 다제내성 백혈암 세포 성장 억제 효과가 약 30%정도 나타났으며 C-Ger.는 800 ㎍/㎖의 농도에서 약 10%의 다제내성 백혈암 세포에 대한 성장억제효과를 보였다(**Fig. 76**).

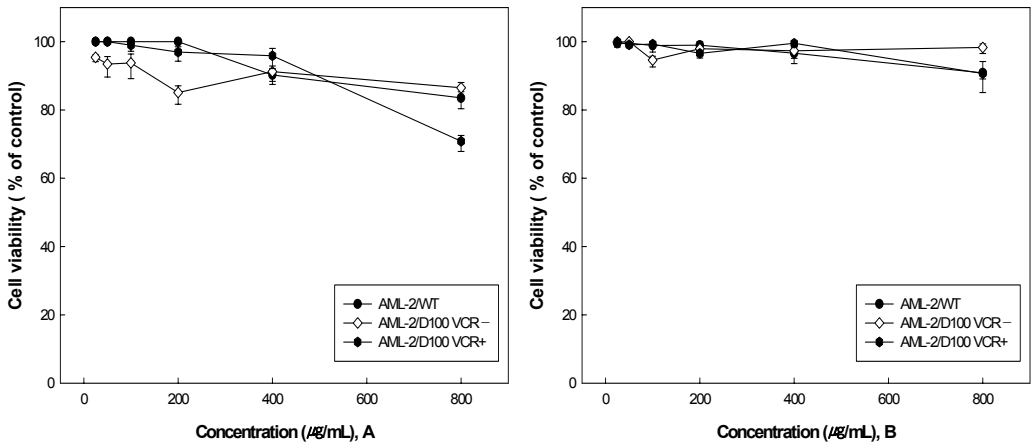


Fig. 76. Survival rates for drug sensitivity of daunorubicin and reversal effect from cereal with grain seeds extract on human acute myelogenous leukemia cell. A, C-Con., uncooked powdered food for female with non-germinated seeds.; B, C-Ger., uncooked powdered food for female with GABA-enhanced germinated seeds.

4) 추출물의 항미생물 활성

일반용, 어린이용 그리고 여성용생식의 추출물을 20 ㎎/㎖의 농도로 식품부패와 식중독에 관련된 4종의 그람 양성균과 4종의 그람 음성균에 대한 항 미생물 활성 측정 결과 전체에서 모두 항균활성을 나타내지 않았다. 이는 각 hole 당 4 ㎎에 해당하는 고농도지만 여러 물질 혼합체인 생식의 경우 상대적인 항균활성 물질의 농도는 낮아지므로 항균활성이 나타나지 않은 것으로 생각된다.

5) 추출물이 Neuron cell에 미치는 영향

가) Glial cell(C6G cell line)에 대한 발아곡물 생식 추출물의 보호효과

추출물을 5 ㎎/㎖의 농도로 세포에 단독처리 시, 양성 대조군보다 높은 세포 증가율을 보였다. 또한 6종의 신경세포 저해제에 대한 보호효과가 있는지 살펴보기 위하여 C6G 세포에 저해제를 가하기 전에 생식 추출물을 30분간 전처리한 후, 6종의 저해제를 농도별로 처리한 결과, 생식 추출물 전처리 후 SNP 250 uM 농도로 처리된 실

험구에서 SNP 단독 처리구에 비하여 20% 이상의 세포보호효과를 보였으며, 다른 농도(1 mM, 2 mM)에서는 어떤 변화도 보이지 않았다. 나머지 5종의 저해제 dieldrin과 paraquat, H_2O_2, $MnCl_2$, rotenone 처리구에서는 유의성 있는 결과를 보이지 않았다.

생식 추출물의 농도를 20 ㎎/㎖로 조제하여 C6G 세포에 전처리한 후, 6종의 신경세포 저해제를 농도별로 처리하여 저해제에 대한 신경세포 보호효과 유무를 살펴보았다. 6종의 저해제 중, $MnCl_2$로 처리된 신경세포구에서 유의할만한 결과를 나타내었는데 $MnCl_2$의 농도 250 uM, 1 mM, 2 mM로 세포주에 각각 단독처리한 후 24시간 배양한 실험구의 경우, 양성 대조구에 비하여 $MnCl_2$ 농도별로 각각 약 30, 60, 80% 이상으로 생육저해를 강하게 나타낸 반면에 20 ㎎/㎖이 발아곡물생식 추출물로 전처리한 다음 $MnCl_2$로 처리된 신경세포 실험구의 경우엔 24시간 배양한 결과, 20~40% 범위(250uM에서 18%, 1 mM에서 42%, 2 mM에서 40%)로 보호효과를 보였다. 그 밖에 paraquat 2 mM 농도에서 추출물로 전처리 되었을 때 12시간 배양한 세포 실험구에서 대조군에 비해 35% 이상 방어효과를 나타냈으며, dieldrin 처리구는 5 mM 농도에서 생식 추출물이 전처리되었을 때 대조구에 비해 30% 정도 신경세포의 저해율을 극복하였으며, SNP 처리구의 경우엔 250 uM의 농도에서 추출물 전처리구가 대조군에 비해 20% 극복효과를 보였다. H_2O_2 처리구에서는 100 uM 농도에서 추출물 전처리구가 대조구에 비해 12시간 배양시 5%, 24시간 배양시 30%씩 세포보호효과를 나타냈다.

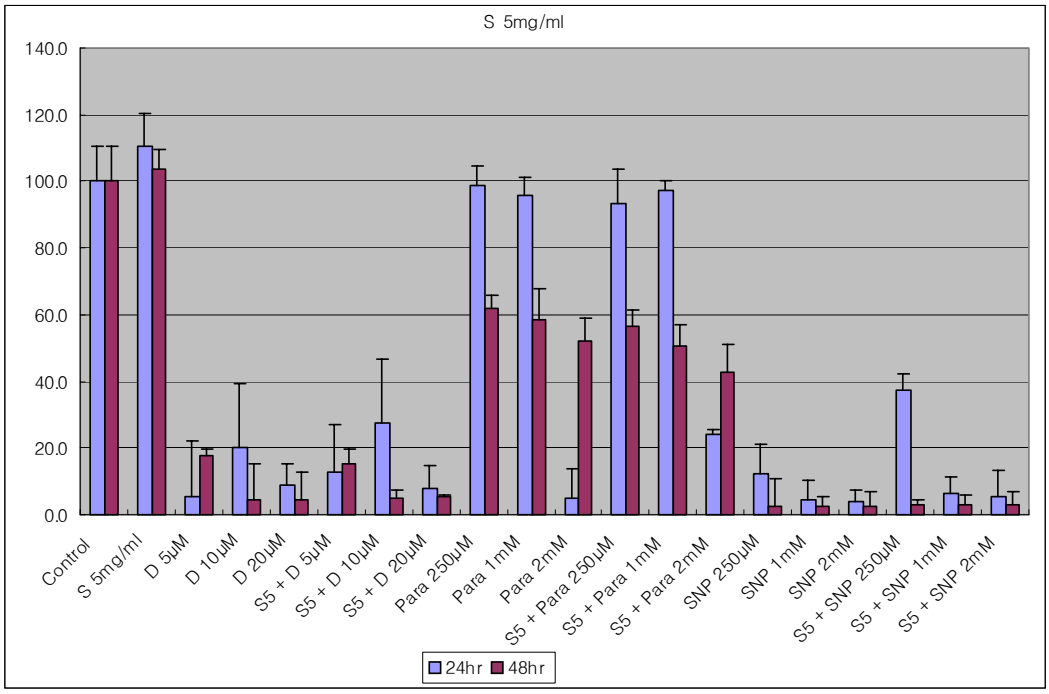


Fig. 77. 시료의 농도 5mg/ml을 Glial cell(C6G cell line)에 처리하여 24시간, 48시간 반응시킨 경우.

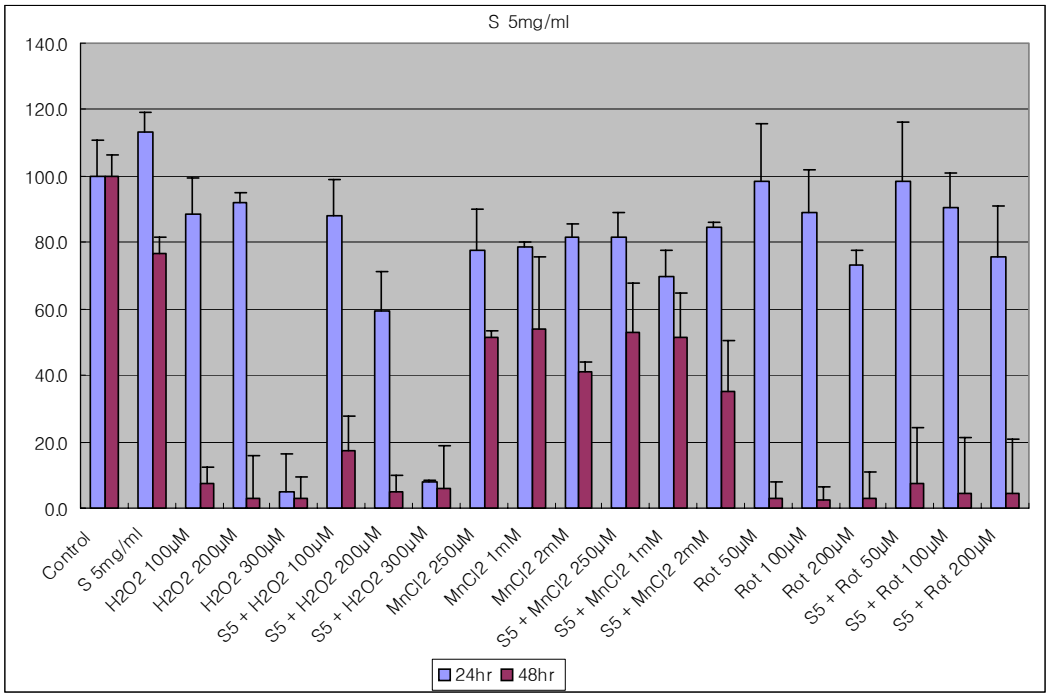


Fig. 78. 시료의 농도 5mg/ml을 Glial cell(C6G cell line)에 처리하여 24시간, 48시간 반응시킨 경우.

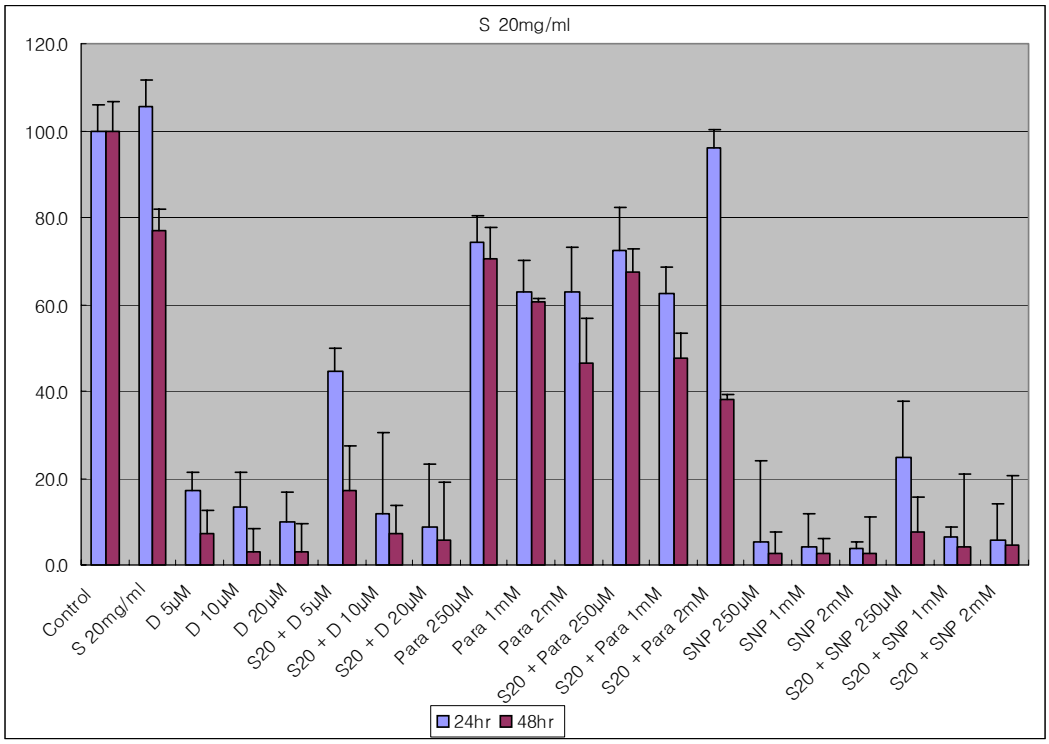


Fig. 79. 시료의 농도 20mg/ml을 Glial cell(C6G cell line)에 처리하여 24시간, 48시간 반응시킨 경우.

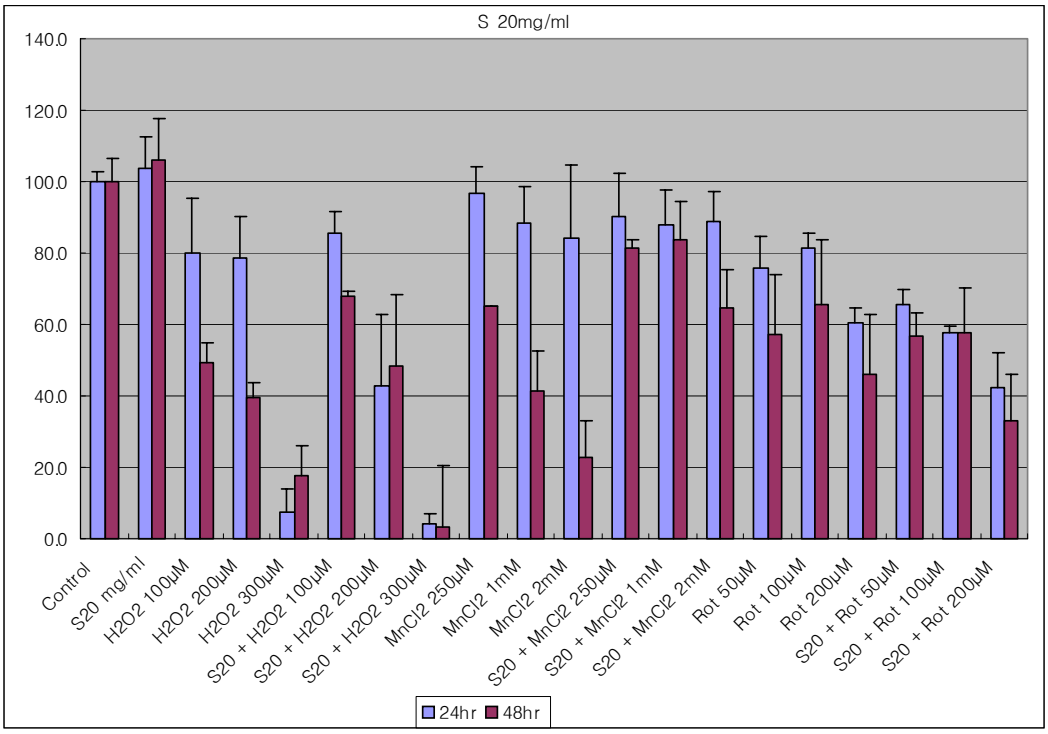
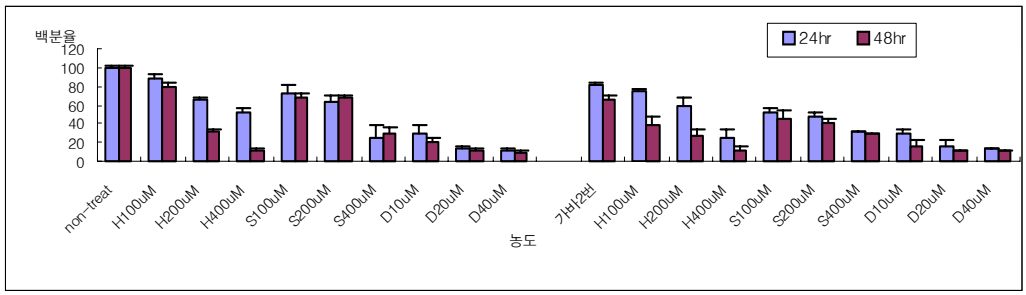
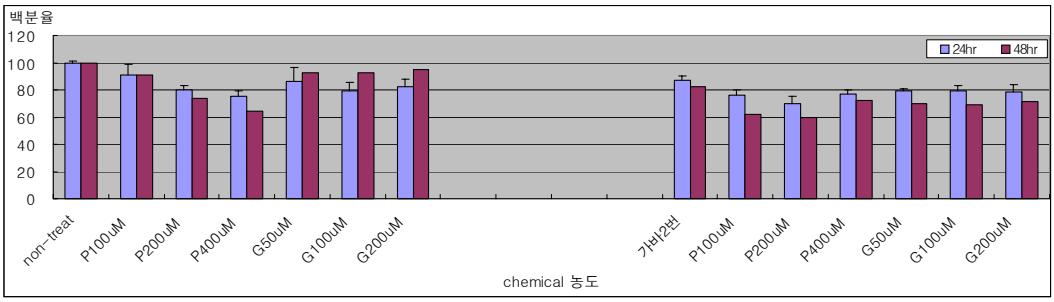


Fig. 80. 시료의 농도 20mg/ml을 Glial cell(C6G cell line)에 처리하여 24시간, 48시간 반응시킨 경우.

나) Neuron cell(PC12 cell line)에 대한 발아곡물 생식 추출물의 영향

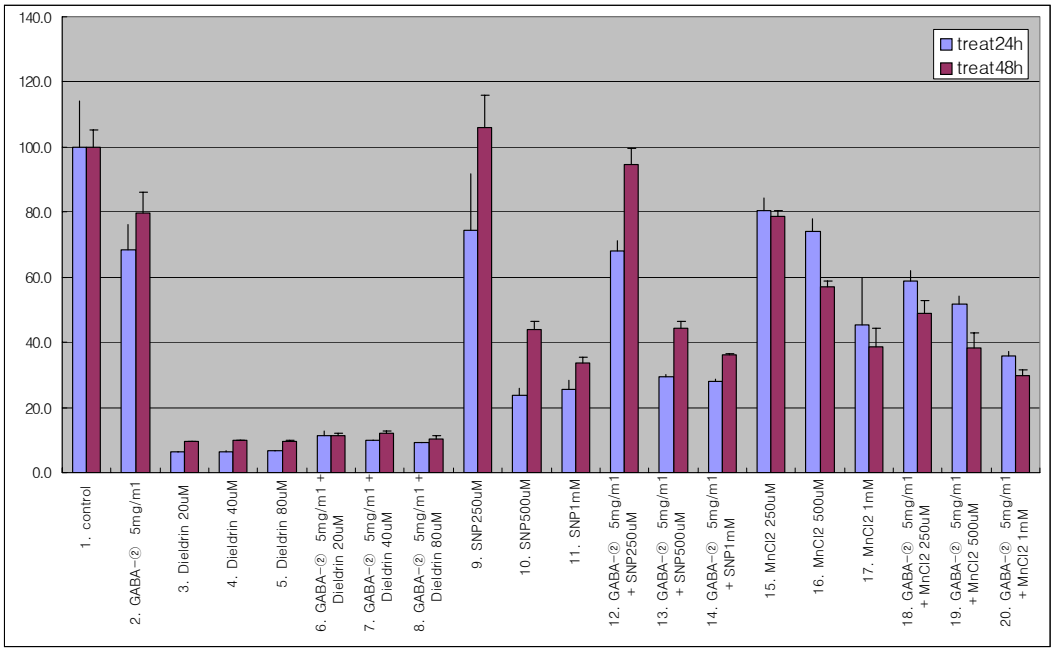
PC12 세포의 손상물질에 대한 추출물의 방어효과 유무를 살펴보기 위해 추출물의 농도 5 ㎎/㎖과 15 ㎎/㎖로 처리하여 살펴본 결과, 6종의 저해제 단독처리 세포구 (음성대조군)에 비하여 추출물 전 처리구에서 어떤 변화도 보이지 않았다.

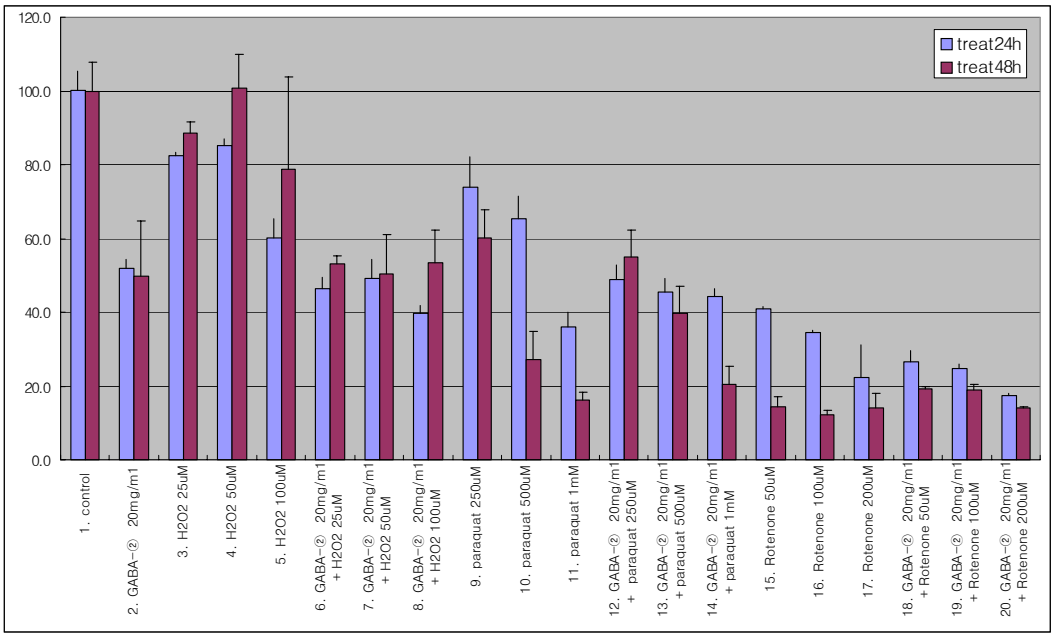




다) Neuron cell(SH-SY5Y cell line)에 대한 발아곡물 생식 추출물의 영향

신경세포 SH-SY5Y를 추출물로 전처리한 후 6종의 저해제로 처리하여 12시간과 24시간으로 각각 배양한 결과 500 uM의 paraquat 처리구에서 5 ㎎/㎖의 추출물로 전처리된 24시간 배양 실험구에서 20% 이상의 저해극복효과를 보였으며, 또한 1 mM의 paraquat 처리구에서는 추출물(5 ㎎/㎖)로 전처리되었을 때 10% 정도의 생육저해극복효과를 나타내었다.





6) 발아곡물생식의 추출물이 뇌혈류량에 미치는 영향

가) 정상래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향

국소 뇌혈류량 변동은 LDF 방법에 의해 0.8 mm needle probe으로 측정하였다. 추출물 i.p. 투여는 복용량에 의존적으로 국소 뇌혈류량을 증가시켰다. vehicle로 처리된 대조군의 국소 뇌혈류량 값은 vehicle 0.5 ㎖일때 100±0.12%였는데, 추출물로 처리된 그룹의 국소 뇌혈류량은 추출물의 농도가 0.01 ㎎/㎏에서 10 ㎎/㎏까지 증가할 때 147.2±0.14% 이상까지 서서히 증가되었다.(**Fig. 81**) 혈압은 PE-50 폴리에틸렌 카테터가 부착된 폴리그래프 상에서 기록하였다. 정상 래트의 평균혈압은 0.5 ㎖의 vehicle에서 100±0.03%를 나타냈으며, 추출물의 경우 0.01 ㎎/㎏에서 10 ㎎/㎏(i.p.)까지 증가될때 104.4±0.03%를 나타냈다. 정상 rat의 경우, 추출물 i.p. 투여는 10 ㎎/㎏의 농도에서 의미있는 변화를 보였다.

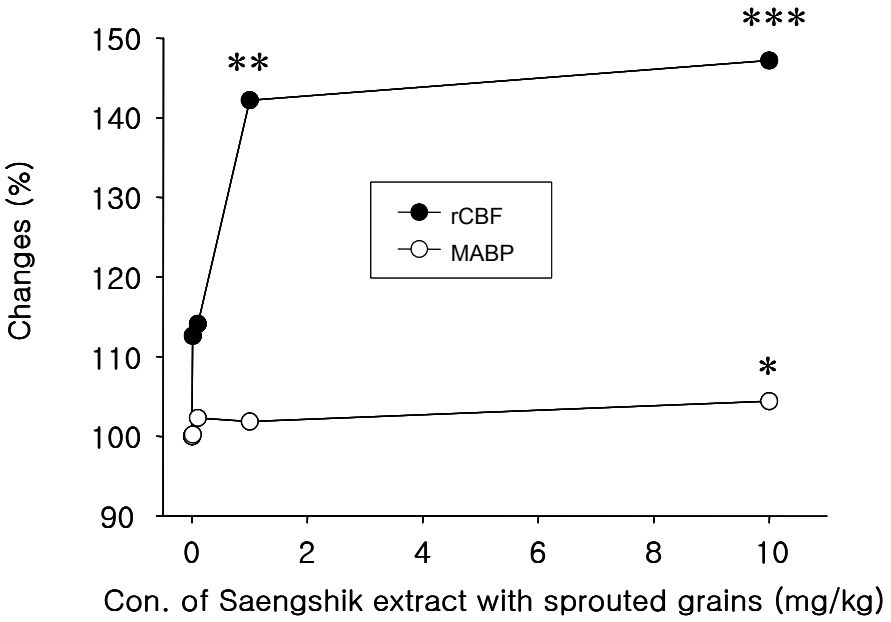


Fig. 81. Effects of Saengshik with sprouted grain on the rCBF and MABP in normal rats. rCBF, regional cerebral blood flow; MABP, mean arterial blood pressure; The present data were expressed as mean±SE of six experiments. *, statistically significant compared with control(zero concentration) group(*, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001

나) propanol로 전처리된 래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향

비선택적인 β-adrenoceptor antagonist인 프로파놀(3 ㎎/㎏ i.v.)을 래트에 처리하여 국소뇌혈류량의 변화를 추적하였다. 프로파놀로 처리된 rat의 국소 뇌혈류량은 vehicle 0.5ml 일때 100±0.08%였으나, 0.01~10 ㎎/㎏(i.p.)로 추출물를 처리했을때는 1 ㎎/㎏ 투여농도에서부터 의미있는 변화를 보였다. (**Fig. 82**) 래트가 propanol로 처리되어졌을때 나타나는 혈압변화를 측정하였다. propanol로 처리된 래트의 평균혈압은 vehicle 0.5 ㎖일때 100±0.02%였으며 0.01 to 10 ㎎/㎏(i.p.)의 농도로 추출물을 래트에 처리하여 본 결과 어떤 변화도 보이지 않았다.

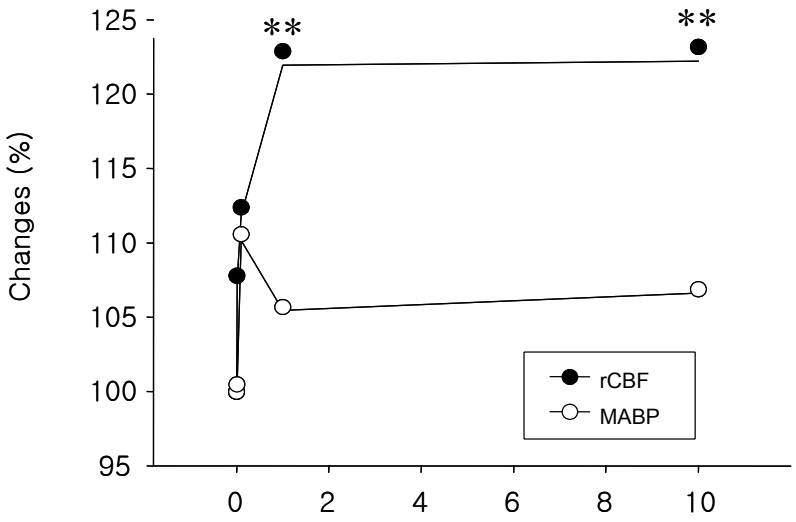


Fig. 82. Effects of Saengshik with sprouted grain on the rCBF and MABP in propranolol-pretreated rats

rCBF, regional cerebral blood flow

MABP, mean arterial blood pressure

The present data were expressed as mean±SE of six experiments.

*, statistically significant compared with control(zero concentration) group(**, $p<0.01$)

다) methylene blue로 처리된 rat의 국소 뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향

Guanylate cyclase/NO synthase(NOS) 저해제인 methylene blue(10 ㎎/㎏ i.v.)로 rat를 처리하였을때 나타나는 국소 뇌혈류량의 변화를 살펴본 결과 methylene blue로 처리된 rat의 국소뇌혈류량은 vehicle 0.5 ㎖일때 100±0.09%를 보였으며, 0.01~10 ㎎/㎏(i.p.) 농도로 추출물을 처리했을때는 유의성이 없었다(**Fig. 83**). Methylene blue로 처리된 rat의 평균혈압를 살펴본 결과, vehicle 0.5 ㎖에서 100±0.05%일때, 0.01~10 ㎎/㎏(i.p.) 농도로 추출물을 주입했을 경우 유의성 있는 혈압변동을 보이지는 않았다.

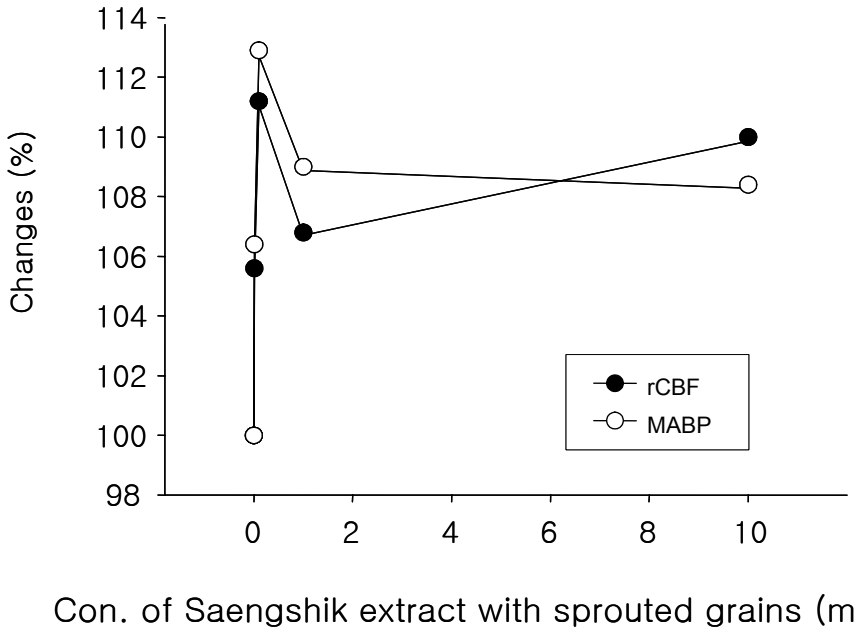


Fig. 83. Effects of Saengshik with sprouted grain on the rCBF and MABP in methylene blue-pretreated rats

rCBF, regional cerebral blood flow

MABP, mean arterial blood pressure

The present data were expressed as mean±SE of six experiments.

라) ODQ로 처리된 rat의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향

수용성 guanylyl cyclase(sGC) 저해제인 ODQ(10 ㎍/㎏ i.v.)로 rat를 전처리했을경우, 국소뇌혈류량의 변화를 살펴보았다. ODQ로 처리된 rat의 국소뇌혈류량은 vehicle 0.5 ㎖에서 100±0.08%를 나타낼때, 추출물[0.01~10 ㎎/㎏(i.p.)] 처리군에서는 유의할만한 변화를 보이지 않았다(**Fig. 84**). ODQ로 처리된 rat에 발아생식 추출물을 주입하여 평균혈압에 미치는 영향을 조사한 결과, vehicle 0.5 ㎖에서 100±0.03%를 나타낼때 추출물[10 ㎎/㎏(i.p.)]로 주입된 rat의 경우 어떠한 변화도 보이지 않았다.

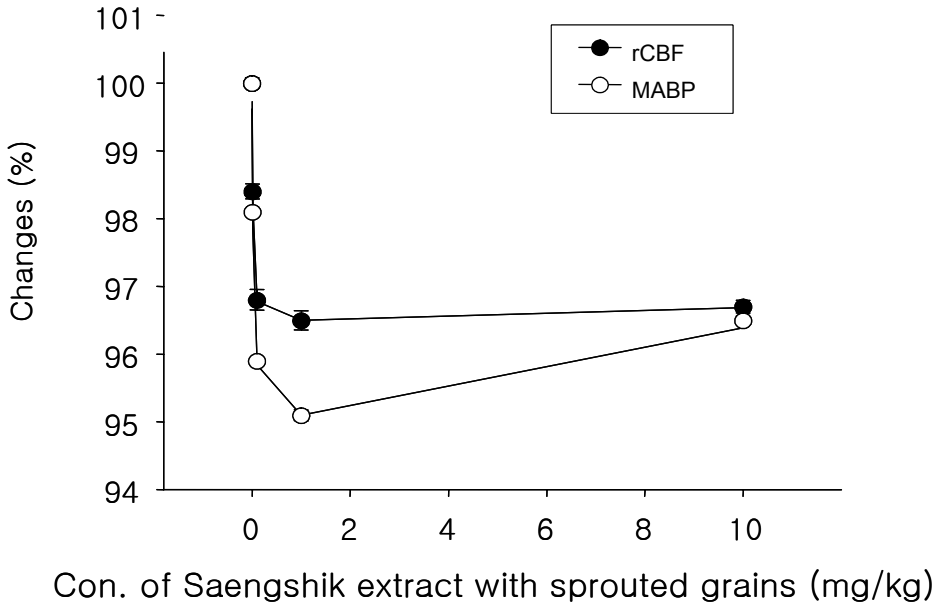


Fig. 84. Effects of Saengshik with sprouted grain on the rCBF and MABP in ODQ-pretreated rats

rCBF, regional cerebral blood flow

MABP, mean arterial blood pressure

The present data were expressed as mean±SE of six experiments.

마) L-NNA로 전처리된 래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향

NO synthetases(NOS)의 저해제인 L-NNA(1 ㎎/㎏ i.v.)로 전처리된 래트에 발아추출물을 주입하였을때 나타날 수 있는 국소뇌혈류량의 변화를 살펴보았다. L-NNA로 전처리된 래트에 추출물을 주입한결과, vehicle 0.5 ㎖에서 국소뇌혈류량이 100±1.15%를 나타낼때 추출물[0.01 to 10 ㎎/㎏(i.p.)]의 경우 유의성 있는 변화를 보이지 않았다. L-NNA로 전처리된 래트에 발아생식 추출물을 주입하여 평균혈압에 어느정도의 영향을 미치는지 살펴본 결과, vehicle 0.5 ㎖에서 100±0.13%의 평균혈압을 나타낼때, 추출물[0.01 to 10 ㎎/㎏(i.p.)]의 경우 특별히 유의성 있는 변화를 보이지 않았다(**Fig. 85**).

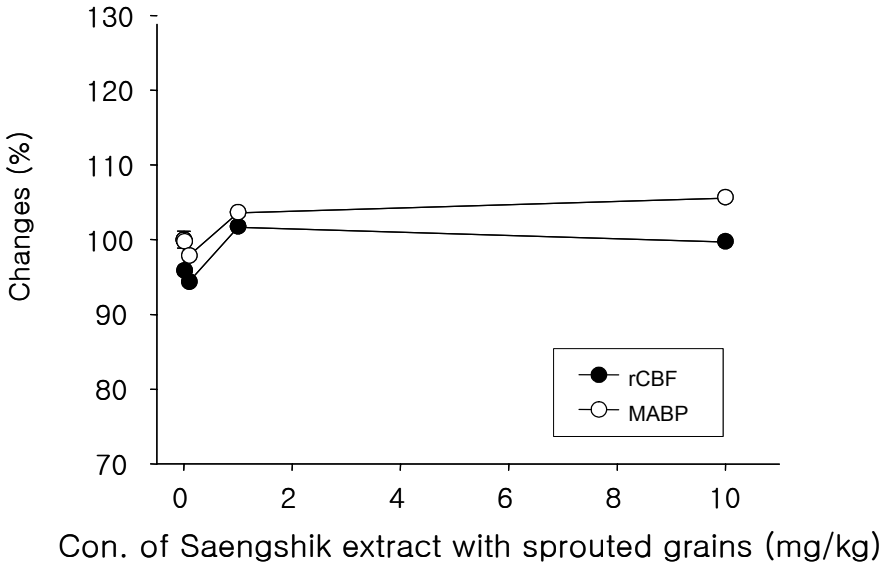


Fig. 85. Effects of Saengshik with sprouted grain on the rCBF and MABP in L-NNA-pretreated rats

rCBF, regional cerebral blood flow

MABP, mean arterial blood pressure

The present data were expressed as mean±SE of six experiments.

바) 중대뇌동맥이 폐쇄된 래트의 국소뇌혈류량에 미치는 영향

중대뇌동맥폐쇄는 Zea-Longa 등의 방법에 따라 시술되었다. 120분동안 중대뇌동맥을 폐쇄한 후 다시 재관류시켰다. 재관류 후 데이터(국소뇌혈류량)는 매 30분 간격으로 측정되었다. 약물 처치는 국소 뇌혈류량을 증가시킴으로써 뇌허혈로 인한 뇌혈류 역학의 감소를 개선시켰다(**Fig. 86**).

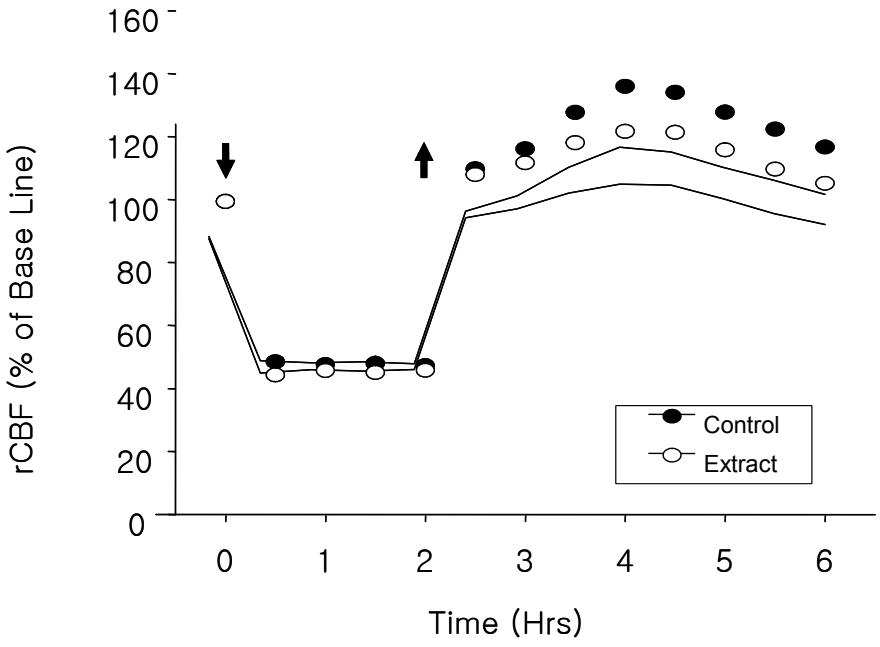


Fig. 86. Time course effects of DJGT treatment on the changes in rCBF induced by cerebral ischemia/reperfusion.

↓, Occlusion of middle cerebral artery.

↑, reperfusion of blood.

라. 적 요

가) 발아곡물생식의 추출물이 정상래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 영향

발아곡물생식 추출물로 처리된 그룹의 국소 뇌혈류량은 추출물의 농도가 0.01 ㎎/㎏에서 10 ㎎/㎏까지 증가할 때 147.2±0.14% 이상까지 서서히 증가되었다.(Fig. 1) 정상 래트의 평균혈압은 0.5ml의 vehicle에서 100±0.03%를 나타냈으며, 추출물의 경우 0.01㎎/㎏에서 10 ㎎/㎏(i.p.)까지 증가될때 104.4±0.03%를 나타냈다. 정상 rat의 경우, 추출물 i.p. 투여는 10 ㎎/㎏의 농도에서 의미있는 변화를 보였다.

나) propanol로 전처리된 래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 발아곡물생식 추출물의 영향

프로파놀로 처리된 rat의 국소 뇌혈류량은 vehicle 0.5ml일때 100±0.08%였으나, 0.01~10 ㎎/㎏(i.p.)로 추출물를 처리했을때는 1 ㎎/㎏ 투여농도에서부터 의미있는 변화

를 보였다. propanol로 처리된 래트의 평균혈압은 vehicle 0.5 ㎖일때 100±0.02%였으며 0.01 to 10 ㎎/㎏(i.p.)의 농도로 추출물을 래트에 처리하여 본 결과 어떤 변화도 보이지 않았다.

다) methylene blue로 처리된 rat의 국소 뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 발아곡물생식 추출물의 영향

methylene blue로 처리된 rat의 국소뇌혈류량은 vehicle 0.5 ㎖일때 100±0.09%를 보였으며, 0.01~10 ㎎/㎏(i.p.) 농도로 추출물을 처리했을때는 유의성이 없었다. Methylene blue로 처리된 rat의 평균혈압를 살펴본 결과, vehicle 0.5 ㎖에서 100±0.05%일때, 0.01~10 ㎎/㎏(i.p.) 농도로 추출물을 주입했을 경우 유의성 있는 혈압변동을 보이지는 않았다.

라) ODQ로 처리된 rat의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 발아곡물생식 추출물의 효과

ODQ로 처리된 rat의 국소뇌혈류량은 vehicle 0.5 ㎖에서 100±0.08%를 나타낼때, 추출물[0.01~10 ㎎/㎏(i.p.)] 처리군에서는 유의할만한 변화를 보이지 않았다. ODQ로 처리된 rat에 발아생식 추출물을 주입하여 평균혈압에 미치는 영향을 조사한 결과, vehicle 0.5ml에서 100±0.03%를 나타낼때 추출물[10 ㎎/㎏(i.p.)]로 주입된 rat의 경우 어떠한 변화도 보이지 않았다.

마) L-NNA로 전처리된 래트의 국소뇌혈류량과 평균혈압에 미치는 발아곡물생식 추출물의 효과

L-NNA로 전처리된 래트에 추출물을 주입한결과, vehicle 0.5 ㎖에서 국소뇌혈류량이 100±1.15%를 나타낼때 추출물[0.01 to 10 ㎎/㎏(i.p.)]의 경우 유의성 있는 변화를 보이지 않았다. L-NNA로 전처리된 래트에 발아생식 추출물을 주입하여 평균혈압에 어느정도의 영향을 미치는지 살펴본 결과, vehicle 0.5 ㎖에서 100±0.13%의 평균혈압을 나타낼때, 추출물[0.01 to 10 ㎎/㎏(i.p.)]의 경우 특별히 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

바) 중대뇌동맥이 폐쇄된 래트의 국소뇌혈류량에 미치는 발아곡물생식의 효과

중대뇌동맥폐쇄는 Zea-Longa 등의 방법에 따라 시술되었다. 120분동안 중대뇌동맥을 폐쇄한 후 다시 재관류시켰다. 재관류 후 데이터(국소뇌혈류량)는 매 30분 간격으로 측정되었다. 약물 처치는 국소 뇌혈류량을 증가시킴으로써 뇌허혈로 인한 뇌혈류 역학의 감소를 개선시켰다.

제 7 장 참고문헌

AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA.

AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA.

Bae, J. Y., Jang, J. H., Jeon, Y. H., Yoon, D. M., Leem, J. W., Nam, T. S. and Paik, K. S. 2003. 대한통증학회 16(2) : 118-132

Bonita, R., Anderson, C. S,. Broad, J. B., Jamrozik, K. D., Stewart-Wynne , E. G. and Anderson, N. E. 1994. Stroke incidence and case fatality in Australasia. A comparison of the Auckland and Perth population-based stroke registers, *Stroke.* 25 : 552-557.

Bown, A. W. and Shelp, B. J. 1997. The metabolism and functions of γ-aminobutyric acid. *Plant Physiol*. 115 : 1-5

Broderick, J., Brott, T., R. Kothari, R., Miller, J., Khoury, A. Pancioli, J. Gebel, D. Mills, L. Minneci and Shukla, R. 1998. The Greater Cincinnati/Northern Kentucky Stroke Study: preliminary first-ever and total incidence rates of stroke among blacks, *Stroke.* 29 : 415-421.

Byoung, J. P., Jong., I. P., kwang, J. C., Cheol, H. P. 2005. Comparison in rutin content of tartary buckwheat. korean J. Plant Res., 18(2):246-250

Chang, J. S., Lee, B. S., Kim, Y. G. 1992. Changes in γ-aminobutyric acid(GABA) and the main constituents by a treatment conditions and of anaerobically treated green tea leaves. *Kor. J. Food Sci. Technol*. 24(4) : 315-319

Chen, J., Jin, K., Chen, M., Pei, W., Kawaguchi, K., Greenberg, D. A. and Simon, R. P. 1997. Early detection of DNA strand breaks in the brain after transient focal ischemia: implications for the role of DNA damage in apoptosis and neuronal cell

death. *J. Neurochem.* 69 : 232-245.

Chen, Y. H., Du, G. H. and Zhang, J. T. 2000. Salvianolic acid B protects brain against injuries caused by ischemia-reperfusion in rats, *Acta Pharmacol. Sin.* 21 : 463-466.

Cheng, X. M., Ziegler, D. K., Lai, Y. H., Li, S. C., Jiang, G. X., Du, X. L., Wang, W. Z., Wu, S. P., Bao, S. G. and Bao, Q. J. 1995. Stroke in China, 1986 through 1990, *Stroke.* 26 : 1990-1994.

Cho, S. H. and Pyo, K. H. 1989. Changes in SDS-PAGE pattern of mung bean grain proteins during germination. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 32(3) : 209-215

Choe, J. S., Youn, J. Y. 2005. The chemical composition of barley and wheat varieties. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(2) : 223-229

Choe, M., Kim, J. D., Park, K. S., Oh, S. Y., Lee, S. Y. 1991. Effect of buckwheat supplementation on Blood glucose levels and blood pressure in rats. J. Korean Soc. Food Nutr., 20(4): 300-305

Choi, I. H., Kim, S. O., Kim, K. S., Lee, M. Y. 1998. Effect of mungsbean sprouts juice on cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27(5) : 980-986

Choi, J. H. 2001. Quality characteristics of the bread with sprout brown rice flour. *Kor. J. Soc Food Cookery Sci.* 17(4) : 323-328

Choi, S. K. and Yun, K. W. 2002. Temperature effect on seed germination and seedling growth of *Angelica acutilobu. Kor. J. Plant. Res.* 5(3) : 192-195

Choi, S. Y., Bang, M. H., Lee, E. J., Kwon, O. S., Kang, T. C., Lee, Y. H., Rho, Y. D. and Baek, N. I. 2003. Human brain GABA-T(γ-aminobutyric acid transaminase) inhibitory alkaloids from *Corydalis* tuber. *Agric. Chem. Biotechnol.* 46(2) : 67-72

Chung, E. J., Kim, S, Y., Kim, J. Y., Ahn, J. Y., Park, J. W., Cha, M. H., Lee, Y. C. 2003. Effects of soy protein concentrate and age on plasma lipids and phospholipid fatty acid patterns in female. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 32(2) : 269-277

Chung, H. D., Yoo, J. G., Choi, Y. H. 1999. Effect of microwave blanching on the improvement of the qualities of immatured soybean. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 23(6) : 1298-1303

Gu, P. Y. 1994. Chinese yukdaemyungbangjipsung. Shanghai sasu publishing company. 9 : 636-637

Ha, Y. D. 2003. Effect of addition soy flour on tapioca non-steamed fermentation. *J. korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32(3) : 388-392

Han, S. H., Shin, M. K., Kim, Y. W., Lim, S. J. 2000. Effects of methanol extracts of black soybean on enzymes activities of serum in rats fed pb and cd solution. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29(2) : 193-197

Heo, J. 1981 Dongeuibogam. Namsandang company. p. 361

Heo, K., Lee, K. C. 1998. Pericarp anatomy of fagopyrum. J. Kor. Plant. Res. 11(3): 335-344

Heo, O. S., Oh, S. H., Shin, H. S., Kim, M. R. 2005. Mineral ane heavy Metal contents of salt and salted-fermented shrimp. *korean J. Food Sci. Technol*. 37(4) : 519-524

Jaskani, M. J., Kwon, S. W., Lee, G. J., Kim, D. H. 2005. Seed enhancements to improve germination of tetraploid watermelon. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 46(2) : 98-102

Jeun, J. H., Kim, H. D., Lee, H. S. and Ryu, B. H. 2004. Isolation and identification

of *Lactobacillus* sp. produced γ-aminobutyric acid(GABA) from traditional salt fermented anchovy. *Kor. J. Food & Nutr.* 17(1) : 72-79

Jones, R. S., Mitchell, C. A. 1989. Calcium ion movement in growth inhibition of mechanically stressed soybean(Glycien max) seedlings. *Physiol Plant.* 76 : 598-602

Joo, J. H., Yi, S. D., Lee, G. H., Lee, K, T., Oh, M, J. 2004. Antimicrobial activity of soy protein hydrolysate with *Asp. saitoi* protease. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33(2) : 229-235

Jung, G. H., Park,S. M., Jang, S. M., Lee, J. B., Jeong, Y. J. 2004. Effects of germination in brown rice by addition chitosan/glutamic acid. *Kor. J. Food Preervation.* 11(4) : 538-543

Kang, B. B., Park, M. J. and Lee, H. S. 2006. Germination dependency of antioxidative activities in brown rice. *J. Kor. Soc Food Sci Nutr.* 35(4) : 389-394

Kang, S. C., Moon, Y. H. 1992. Isolation and antimicrobial activity of a naphthoquinone from impatiens balsamina. Kor. J. Pharmacogn. 23(4) : 240-247

Kang, S. M., Shim, J. Y., Hwang, S. J., Hong, S. G., Jang, H. E., Park, M. H. 2003. Effects of saengshik supplementation on health improvement in diet-induced hypercholesterolemic rats. *J. korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32(6) : 906-912

Kim, B. R., Choi, Y. S., Lee, S. Y. 2000. Study on bread-making quality with mixture of buck-wheat flour. J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr., 29(2):241-247

Kim, B. S., Ok, J. C., Ki, H. S. 2005. Properties of chemical components of *camellia japonica L.* leaves according to picking time. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(5):681-686

Kim, C. H., Kim, S. I. and Choi, Y. D. 1989. Identification of the precursor for the soybean kunitz trypsin inhibitor. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 32(3) : 222-231

Kim, H. J. 1992. A study on the constituents of the pollen of *pinus densiflora*

siebol et zuccarini and *pinus rigida* miller. proximate composition, mineral, heavy metal, vitamin and free sugar contents. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21(2) : 201-206

Kim, H. Y., Lee, K. B., Lim, H. Y., 2004. Contents of mineral and vitamin in organic vegetable. *Korean Journal of Food Preservation.* 11(3) : 424-429

Kim, I. S., Han, S. H., Han, K. W. 1997. Study on the chemical change of amino acid and vitamin of rapeseed during germination. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26(6) : 1058-1062

Kim, J. S., Kim, S. J. Jones, D. W. and Hong, Y. P. 1994. Hypertension in Korea: a national survey. *Am. J. Prev. Med.* 10 :. 200-204

Kim, K. S. and Jang, H. D. 2004. Effectsof chitosan and lactic acid on enzymatic activities and bioactive compoumds during germination of black rice. *J. Food Sci Nutr*. 9 : 199-205

Kim, M. R., Hahn, S. J., Oh, S. M. 1990. Studies on the quantitative growth analysis in snap bean. *J. Kor. Soc. Hort. Sci*. 31(4) : 370-376

Kim, S. L., Son, Y. K., Son, J. R. and Hur, H. S. 2001. Effect of germination condition and drying methods on physicochemical properties of sprouted brown rice. *Kor. J. Crop Sci.* 46(3) : 221-228

Kim, T. J., Ye, E. A. and Jeon, C. J. 2006. Distribution of AMPA glutamate receptor GluR1 subunit immunoreactive neurons and their co-localization with calcium binding proteins and GABA in the mouse visual cortex. *Mol. Cells*. 21(1) : 34-41

Kim, Y. H. 1999. Genetic variation of 7S and 11S globulins in soybean seed. *Korean J. Plant Res.* 12(3) : 198-203

Kim, Y. S., Chung, S. H., Suh, H. J., Chung, S. T. and Cho, J. S. 1994. Rutin and mineral contents on improved kinds of korean buckwheat at growing stage. *Kor.*

J. Food Sci. Technol. 26(6) : 759-763

Kim, Y. S., Kim, J. G., Lee, Y. S. and Kang, I. J. 2005. Comparison of the chemical components of buckwheat seed and sprout. *J. Kor. Soc Food Sci Nutr.* 34(1) : 81-86

Kim, Y. S., Kim, J. G., Lee, Y. S., Kang, I. J. 2005. Comparison of the chemical components of buckwheat seed and sprout. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 34(1):81-86

Ko, M. K., Kwon, T. W., Song, Y. S. 1998. Effects of yellow and black soybean of plasma and hepatic lipid composition and fecal lipid excretion in rats. *J. Korean Soc. Food Sci., Nutr.* 27(1) : 126-131

Korea Food and Drug Administration. 2003. *test method in general* 1. Food Code (*separate volume*).

Korea National Statistical Office; 2002.

Kuo, Y. H., Rozan, P., Lambein, F., Frais, J. and Vidal-Valverde, C. 2004. Effects of different germination conditions on the contents of free protein and non-protein amino acids of commercial legumes. F*ood Chemistry*. 86 : 537-545

Kwak, S. K., Lim, S.J., Kim, S. A., Park, S. C., Lee, M. S. 2004. Antioxidative and antimutagenic effects of korean buckwheat, sorghum, millet and job's tears. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 33(6):921-929

Kwon, B. S., Shin, J. S. and Choi, S. K. 2002. Seed protein content and fatty acid composition of soybeans collected from southwestern islands in Korea. *Kor. J. Plant. Res.* 5(3) : 181-186

Kwon, T. B. 1994. Changes in rutin and fatty acids of buckwheat during germination. *Kor. J. Food & Nurtrition.* 7(2) : 124-127

Kye, I. S., Jun, Y. S., Cheigh, H. S., 1989. Chemical properties of mungbean protein isolates. *J. korea Soc. Food. Nutr.* 18(4) : 423-429

Kye, I. S., Jun, Y. S., Cheigh, H. S., 1989. Functional properties of mungbean protein isolates. *J. korea Soc. Food. Nutr.* 18(3) : 300-306

Lee, C. Y., Cho, I. H., Kim, I. S. 1972. Some observations on the indole compounds in mung bean sprauts. *J. Korean. Agricultural Chemical Society.* 15(1) : 1-6

Lee, C. Y., Kim, I. S. and Kim, S. U. 1977. Studies on soybean protein(part Ⅱ); Isolation and subunit composition of multiple 7s globulins. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 20(1) : 26-32

Lee, H. J., Sul, M. S., Cha, B. S., Yook, H. S. 1998. Tofu qualities as influenced by soybean storage temperatures. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27(5) : 833-839

Lee, H. S. and Jun, T. H. 1983. Comparision of the activity and characteristics of lactate dehydrogenase isolated from different parts of soybean seedling. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 26(1) : 28-34

Lee, J. H., Kim, M. H., Im, S. S., Kim, S. H., Kim, G. E. 1994. Antioxidative materials in domestic meju and doenjang 3. separation of hydrophilic brown pigment and their antioxidant activity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 23(4) : 604-613

Lee, J. S., Park, S. J., Sung, K. S., Han, C. K., Lee, M. H., Jung, C. W. and Kwon, T. B. 2000. Effects of germinated-buckwheat on blood pressure, plasma glucose and lipid levels of spontaneously hypertensive rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 32(1) : 206-211

Lee, M. H., Woo, S. J., Oh, S. K. and Kwon, T. B. 1994. Changes in contents and composition of dietary fiber during buckwheat germination. *Kor. J. Food & Nurtrition.* 7(4) : 274-283

Lee, M. H., Son, H. S., Choi, O. K., Oh, S. K. and Kwon, T. B. Changes in physico-chemical properties and mineral contents during buckwheat germination. *Kor. J. Food & Nurtrition.* 7(4) : 267-273

Lee, M. S. and Sohn, K. H. 1994. Content comparison on dietary fiber and rutin of korean buckwheat according to growing district and classification. *Kor. J. Food Sci.* 10(3) : 249-253

Lee, O. H., Lee, H. B., Lee, J. S., Son, J. Y., Rhee, S. K., Kim, H. D., Kim, Y. C., Lee, B. Y. 2005. Chemical properties of olive and bay leaves. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(4) : 503-508

Lee, Y. H., Park, J. D. 1999. Cytotoxic activities of herbal drugs against human cancer cell lines (Ⅱ). *Kor. J. Pharmacogn.* 30(2) : 105-110

Lee, Y. S., Joo, E. Y., Kim, N. W. 2005 Analysis on the components in stem of the lespedeza bicolor. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(8) : 1246-1250

Lipton, S. A. and Rosenberg, P. A. 1994. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N. Engl. J. Med.* 330 : 613 - 622
Longa, E. Z., Weinstein, P. R., Carlson, S. and Cummins, R. 1989.

Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke.* 20 : 84-91.

Love, S. 1999. Oxidative stress in brain ischemia. *Brain Pathol.* 9 : 119-131.

Lyu, S. Y., Rhim, J. Y., Park, Y. H., Suh, K. B., Park. W. B. 2002. changes of lectin activity of kidney beans by heating and fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31(1) : 1-6

Mahinda Kommalage. and Urban Höglund, A. 2005. Involvement of spinal GABA receptors in the regulation of intraspinal acetylcholine release. *European Journal of*

Pharmacology. 525 : 69-73

Meldrum, B. and Garthwaite, J. 1990. Excitatory amino acid neurotoxcity and neurodegenerative disease, *Trends Pharmacol. Sci.* 11 : 379 - 387

Oh, S. H., Kim, S. H., Moon, Y. J. and Choi, W. G. 2002. Changes in the levels of γ-aminobutyric acid and some amino acids by application of a glutamic acid solution for the germiation of brown rices. *Kor. J. Biotecnol. Bioeng.* 17(1) : 49-53

Oh, S. H., Lee, I. T., Park, K. B., Kim, B. J. 2002. Changes in the levels of water soluble protein and free amino acids in brown rice germinated in a chitosan/glutamic acid solution. *Kor. J. Biotecnol. Bioeng.* 17(1) : 515-519

Park, H., Lee, J. S. and Lee, C. Y. Studies on electrophoretic pattern and amino acids of wild soybean protein(1); Acrylamide gel electrophoretic pattern of seed protein. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 20(2) : 247-254

Park, J. H. 2001. Effect of anaerobic treatments on the γ-aminobutyric aicd and quality of green tea(*Camellia sinensis var. sinensis*). *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* 9(1) : 26-32

Park, J. H., Choi, H. K. 2001. Effect of anaerobic condition after green leaves storage on the γ-aminobutyric acid(GABA) and quality of green tea. *Kor. J. Tea Soc.* 7(1) : 163-171

Park, J. H., Han, S. H., Shin, M. K., Park, K. H. and Li, K. C. 2002. Effect of hypertention falling of functional GABA green tea. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* 10(1) : 37-40

Park, J. H., Han, S. H., Shin, M. K., Park, K. H., Lim, K. C. 2001. Change in the main constituemts by a treatment condition of anaerobically treated green tea leaves. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* 9(4) : 275-279

Park, K. B. and Oh, S. H. 2005. Production and characterization of GABA rice yogurt. *Food Sci. Biotechnol.* 14 : 518-522

Park, S. H., Koo, H. J., Lim, H. S., Yoo, J. H., Hwang, S. Y., Sihn, E. H., Park, Y. H., Lee, J. H. and Cho, J. S. 2003. The physicochemical changes duringstorage of red pepper powder dried in hot-air by various processing methods. *J. Kor. Soc Food Sci Nutr.* 32(6) : 876-881

Park. H. Stutte, C. A. 1976. Effects of nitrogen sources on RNA, DNA, and other phosphorus fractions soybean cultivars different in phosphorus sensitivity. *J. Korean. Agricultural Chemical Society.* 19(3) : 172-182

Pregnall, A. M. 2004. Effects of anaerobic versus anoxic conditions on glutamine synthase activity in eelgrass (*Zostera marina* L.) roots: regualtion of ammonium assimilation potential. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 311 : 11-24

Rym, K. H., Eo, S. K., Kim, Y. S., Lee, C. K. and Han, S. S. 1996. Antimicrobial activity and acute toxicity of matural rutin. *Kor. J. Pharmacogn.* 27(4) : 309-315
Seog, H. M., Park, Y. K., Nam, Y. J., Kim, J. P., Sohn, T. H and Yoon, H. S. 1988. Physicochemical properties of starch granules isolated from naked barley seeds during germination. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* 31(4) : 339-345

Shim, T. H., Lee, H. H., Lee, S. Y. and Choi, Y. S. 1998. Compositon of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) cultivars from Korea. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 30(6) : 1259-1266

Shin, H. S. 1974. studies on the lipid metabolism of soybean during its germination. *J. Korean. Agricultural Chemical Society*. 17(4) : 240-246

Son, H. S., Park, J. R., Lee, S. W. 1977. The trypsin inhibitor activity and protein pattern of the soybean during germination. *J. Korean Agricultural Chemical Society.* 20(2) : 182-186

Stegmayr, B., Asplund, K., Kuulasmaa, K., Rajakangas, A. M., Thorvaldsen , P. and Tuomilehto, J. 1997. Stroke incidence and mortality correlated to stroke risk factors in the WHO MONICA Project. An ecological study of 18 populations, *Stroke.* 28 : 1367-1374

Streeter, J. G., Thompson, J. F. 1972. Anaerobic accumulation of γ-aminobutyric acid and alamime in radish leaves(*Raphanus sativus* L.). *Plant Physiol.* 49 : 572-578

Sudlow, C. L. and Warlow, C. P. 1996. Comparing stroke incidence worldwide: what makes studies comparable. *Stroke.* 27 : 550-558

Sul, M. S., Lee, H. J., Yook, H. S. 1998.Physicochemical properties of soybean as influenced by storage temperatures. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27(5) : 827-832

Swain, T., Hillis, W. E. and Oritega, M. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica* I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10 : 83-88

Taguchi, R., Nishikawa, H., Kume, T., Terauchi, T., Kaneko, S., Katsuki, H., Yonaga, M., Sugimoto, H. and Akaike, A. 2003. Serofendic acid prevents acute glutamate neurotoxicity in cultured cortical neurons, *Eur. J. Pharmacol.* 477 : 195 - 203.

Yang, C. B. 1982. Changes of nitrogen compounds and nutritional evaluation of soybean sprout. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 25(1) : 8-13

Yang, C. B., Park, S. K., Yoon, S. K. and Park, H. 1984. Changes of nitorgen compounds and nutritional evaluation of soybean sprout. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 27(2) : 129-134

Yoo, K. J., Park, C. K. and Kim, S. I. 1986. Effects of auxin, GA and cytokinin on the protein synthesis(accumulation) of soybean. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 29(1) : 73-77

강미영, 김설이, 고희종, 진중현, 남석현, 발아특수미의 항산화활성, 한국식품과학회지, 36(4), 624-630, 2004.

강미영, 이연리, 남석현, 기능성 쌀가공식품 원료의 활용가능성 검토를 위한 발아미의 특성조사, 한국식품과학회지, 35(4), 696-701, 2003.

김나미, 발아과정에 따른 대두유의 품질과 Phytic acid 함량 변화에 관한 연구, 고려대학교 대학원 석사학위 논문, 1982.

김동희, 김석동, 김우정. 1990. 콩 품종에 따른 고형분, 단백질, 색소의 추출 특성의 비교. 한국농화학회지. 33(1) : 8-13

김은희, 맹영선, 우순자. 1993. 곡류 및 두류 식품의 식이섬유 함량. 한국영양학회지. 26(1) : 98

김인숙, 권태봉, 오성기. 1986. 발아에 의한 유채의 일반성분. 지방산 및 무기물의 조성변화. 한국식품과학회지 20(2)
김인숙, 한성희, 한강완. 1997. 발아에 의한 유채의 아미노산 및 비타민 함량의 조성변화 한국식품과학회지1058-1062.

김주숙, 콩의 발아 및 초절임이 이소플라본에 미치는 영향, 세종대학교 대학원 석사학위논문, 2002.

김준래, 발아 옥수수의 항산화성 및 흰쥐의 지질 대사에 미치는 영향, 강원대학교 대학원 석사학위 논문, 2000.

김준래. 2000. 발아옥수수의 항산화성 및 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향. 강원대학교 대학원 석사학위논문

김충기, 송근섭, 권용주, 임인숙, 이태규. 1994. 들깨 기름의 산화안정성에 미치는 들깨 종실 발아의 영향. 한국식품과학회지 26(2)

나영아, 대두 발아중 일반 성분, 무기성분 및 Phytic acid의 함량 변화에 관한 연구,

한양대학교 대학원 석사학위 논문, 1984.

류병우, 한강완. 1990. 대두(*Glycine max*) trypsin 억제제의 불활성화 및 품종별 억제활성. 한국농화학회지. 33(2) : 109-115

박영희, 오영준. 1997.즉석누룽지의 이화학적 특성. 한국식품영양과학회지 26(4)

박정옥, 옥수수 종자 발아시 co-factor가 Amylase 활성에 미치는 영향, 중앙대학교 대학원 석사학위 논문, 1992.

박정옥. 1992. The effect of co-factors on the amylase activity in germinating corn seeds. 중앙대학교 대학원 석사학원 논문

박현경, 임성경, 손경희, 김현정. 2001. 단호박을 이용한 반고형 이유식의 제조. 한국식품영양과학회지 30(6)

변익건, 2005. 다약물 내성 동계 생쥐 백혈병 아세포주의 선별 및 성격규명. 조선대학교 대학원 박사학위논문

서우경, 김영아. 1995. 가열처리에 의한 백미, 현미, 노란콩 및 검정콩의 식이섬유 함량변화 한국식품과학회지

석호문, 박용곤, 남영중, 김준평, 손태화, 윤형식. 1998. 쌀보리의 발아과정중 분리전분의 이화학적 특성 한국농화학회지 31(4) : 339-345

송보현. 1987. 일반계 및 다수계의 현미의 이화학적 특성에 관한 연구. 한국농화학회지 30(2) : 141

신명곤. 1986. 저장중 현미의 물리화학적 특성변화. 한국과학기술원 생물공학과 박사학위논문

심태흠, 이혁화, 이상영, 최용순. 1998. 한국산 메밀의 성분. 한국식품과학회지 p.1259-1266

오석홍, 서경원, 최동성, 한광수, 최원규. 2000. 배추의 생장 및 배추 중의 γ-aminobutyric acid 함량에 미치는 키토산비료의 시비효과. 한국농학회지 43(1) : 34-38

유혜정. 1983. 녹두 발아중 각 기관 단백질 대사에 관한 연구. 전남대학교 석사학위논문

이강권, 김지용, 이철호. 1994. 압출조리를 이용한 쌀 이유식 제조에서 아밀라제 첨가가 물성변화에 미치는 효과. 한국식품과학회지 26(6)

이경숙, 이서래. 1993. 국내산 식물성 식품 중 식이섬유 함량, 한국영양학회지 26:98

이정선, 박성진, 성기승외 4 인, 발아메밀이 본태성 고혈압쥐의 혈압, 혈당 및 혈중 지질 수준에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 32(1), 206-211, 2000.

이춘영, 김희달, 신영성, 이기영. 1959. 대두의 발아중 리보플라빈 함량의 영향. 서울대학교 논문집. p.62

이혜연, 김주숙, 김영수, 김우정, 발아콩을 이용한 콩 우유의 isoflavone 향상 및 품질 특성 개선, 한국식품과학회지, 37(3), 443-448, 2005.

이혜정, 박희옥, 열처리 대두로 제조한 두부의 품질 연구, 한국조리과학회지, 10(4), 369-375. 1994.

이혜정, 박희옥, 이숙영, 검정콩의 발아물을 이용한 죽 제조의 최적화 조건에 관한 연구, 한국식품영양학회지 18(4), 287-294, 2005.

이혜정, 장판식, 이용환, 곡류 전통 식품의 분류 및 범주 정의, 식품 과학과 산업지 36(4), 47-65, 2003.

이혜정, 전정일, 쌀로 만든 죽의 종류와 조리방법에 관한 고찰, 한국식품영양학회지 13(3), 281-290, 2000.

임성택. 2001. 콩의 발아에 미치는 알루미늄 독성작용의 해독에 대한 옥살산의 역할,

동아대학교 대학원 석사학위 논문

조병미, 윤석권, 김우정. 1985. 유채 발아중 아미노산과 지방산 조성의 변화. 한국식품과학회 17(5) : 371

차연수, 김형현, 소주련, 오석홍, 콩의 발아에 따른 카르니틴 함량 변화, 한국식품과학회지, 29(5), 762-765, 2000.

최기봉, 김수일. 1990. 대두 Bowman - Birk형 proteinase inhibitor들의 분리 및 성질. 한국농화학회지. 33(4) : 287-292

최민희, 장학길, 김주숙, 김우정, 정해정, 발아콩 분말 첨가가 반죽 및 면류 특성에 미치는 영향, 한국조리과학회지, 21(6), 919-926, 2005.

최영인. 1998. 옥수수 종자 발아시 발현되는 지방체 막단백질 등의 cDNA cloning. 전남대학교 대학원 석사학위논문.

한경희, 오종철, 유정희, 발아현미죽 제조조건의 최적화 연구, 한국식품영양과학회지, 33:1735-1741, 2004.

한약재 가공실험 및 이론. 2004. 청문사. p.71-72