

최 종  
연구보고서

# 당쇄공학을 이용한 귀리 $\beta$ -glucan의 생리활성 극대화 및 기능성 식품 개발 연구

Biological activities and food properties  
of oat  $\beta$ -glucan using structure changes

연구 기관  
한양대학교

농 립 부

T0011920

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를

“당쇄공학을 이용한 귀리  $\beta$ -glucan의 생리활성 극대화 및 기능성  
식품개발 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005 년 11 월 일

주관연구기관명 : 한양대학교  
총괄연구책임자 : 이 현 규  
세부연구책임자 : 이 현 규  
연 구 원 : 배 인 영  
연 구 원 : 이 지 수  
연 구 원 : 이 광 연  
연 구 원 : 유 미 애  
연 구 원 : 신 민 수  
연 구 원 : 장 윤 정  
연 구 원 : 박 승 영  
연 구 원 : 노 신 정  
연 구 원 : 김 화 연  
연 구 원 : 구 승 현

# 요 약 문

## I. 제목

당쇄공학을 이용한 귀리  $\beta$ -glucan의 생리활성 극대화 및 기능성 식품 개발 연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

우리나라 주요 사망원인 중의 하나가 되고 있는 혈관 질환의 주된 위험인자로 고콜레스테롤혈증이 지적되고 있다. 귀리  $\beta$ -glucan은 동맥경화, 고혈압, 당뇨병 등 성인병에 효과가 있어 건강기능성 식품으로 그 수요가 증가하고 있다. 하지만, 귀리  $\beta$ -glucan이 갖는 높은 점성과 물에 잘 녹지 않은 특성은 기능성 식품화하기에 걸림돌이 되고 있다.

따라서 본 연구에서는 귀리  $\beta$ -glucan의 구조적 변형을 시도하여 화학적 구조를 밝히고 생리활성 실험을 통하여 보다 기능이 개선된 신개념의 건강기능성 제품의 개발에 목표를 두고 연구를 수행하였다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

1. 귀리  $\beta$ -glucan의 추출정제 및 구조분석
2. 귀리  $\beta$ -glucan의 분자량 변화에 따른 구조적 특성
3. 귀리  $\beta$ -glucan의 구조 변화(아민화, 황산화, 선택산화)에 따른 특성 및 생리활성(*in vitro*)
4. 산화 귀리  $\beta$ -glucan의 콜레스테롤 저하능(동물실험-*in vivo*)
5. 산화 귀리  $\beta$ -glucan의 식품 응용(제면, 제빵 특성)

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 귀리  $\beta$ -glucan의 추출 정제 및 분자량 변화에 따른 구조적 특징  
귀리로부터 추출한  $\beta$ -glucan의 구조를 확인하기 위하여  $^{13}\text{C}$ -NMR

spectrum과 GPC 분석을 통해  $\beta$ -(1,3)과  $\beta$ -(1,4)결합 주쇄(main chain)가 2 : 5의 비율로 이루어져 있음을 알 수 있었고 주요 피크의 평균 분자량 molecular weight dextran을 이용하였을 때 약  $3.94 \times 10^4$  Da임을 확인하였다.

$\beta$ -glucan의 분자량 크기에 따른 특성을 조사하기 위하여  $\beta$ -glucan에 물리적 변화인 ultrasonification을 시간별로 처리하여 분자량을 조절하였다. 시간별로 처리된 시료들은 환원당, 분해정도 및 점도를 측정하였다. 처리 시간이 증가할수록 환원당이 54.76% 증가됨으로서 분해정도가 확인되었고 점도는 29.93%가 감소됨이 측정되었으며 담즙산 결합능은 78.31%만큼 감소되었다. 따라서 귀리  $\beta$ -glucan의 주요 생리활성 능력인 담즙산 결합능은 다당류의 고분자 물성에 의한 것이며 분자량이 클수록 높아지는 것을 확인할 수 있었다.

## 2. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 특성 및 생리활성(*in vitro*)

### 1) 아민화

IR과  $^{13}\text{C}$ -NMR을 통하여  $\beta$ -glucan의 아민기 존재 여부를 확인하였고, EA분석으로 아민기의 치환정도(Degree of substitution)가 0.48임이 관찰되었다.  $\beta$ -glucan 아민유도체는 향상된 담즙산 결합능이 관찰되었다. 건중량에 대한 담즙산 결합능(mM/mg)이  $\beta$ -glucan보다 5배 상승하였으며 cholestyramin에 대한 결합능(%)도 9배나 증가하였다.

항균실험을 한 결과  $\beta$ -glucan에서는 항균력이 없었으나  $\beta$ -glucan 아민 유도체에서는 항균력이 생성되었다. 특히 그람 음성균에 해당하는 *B. subtilis*균에 대해서 그람 양성균인 *E. coli*에 비하여 높은 살균력을 보였다.  $\beta$ -glucan은 ACE 저해활성이 나타내지 않았으나  $\beta$ -glucan 아민 유도체는  $\text{IC}_{50}$ 이 23.33 mg/mL로 유의적인 효과를 보였다. 대식세포 활성능의 지표로서 폐포 세포에서 nitric oxide(NO) 생성능을 측정한 실험 결과  $\beta$ -glucan과  $\beta$ -glucan 아민 유도체에서 모두 NO 생성능이 관찰되었으나,  $\beta$ -glucan의 아민유도체에서 월등하게 NO

생성능이 증가됨이 측정되었다.

## 2) 황산화

$\beta$ -glucan을 황산화하여 음으로 하전된 다당체로 구조변화하여 IR spectroscopy로 측정한 결과 1060  $\text{cm}^{-1}$ , 1300  $\text{cm}^{-1}$ , 1694  $\text{cm}^{-1}$ 에서 sulfonyl 이중결합에서 진동이 일어났고, EA에서 귀리  $\beta$ -glucan의 황 함량 10.02%, 치환도는 0.56으로 sulfate group이 생성되었음을 확인하였다.

고유 점도는 귀리  $\beta$ -glucan이 5.44 dL/g이며, 유동 특성은 전단속도가 증가함에 따라 전단응력이 비적선적으로 증가하여 의가소성 유체의 유동현상을 보여주었고, 온도가 증가함에 따라 의가소성이 감소하였다.

황산화  $\beta$ -glucan은  $G''$ 가  $G'$ 보다 높아 liquid like 특징을 보였다. 용해도와 수분 흡착능은 황산화  $\beta$ -glucan이  $\beta$ -glucan 보다 높게 나타났다. 황산화  $\beta$ -glucan의 담즙산 결합능은 미비하였다. 항응고 활성은 황산기 함량에 의존하여 황산화  $\beta$ -glucan에서 나타났으며  $\beta$ -glucan 자체에서는 항응고 활성은 보이지 않는다.

## 3) 선택적 산화

귀리  $\beta$ -glucan의 선택적 산화의 최적 조건은 TEMPO와 NaBr의 양이 각각 0.9968  $\mu\text{mol}/100 \text{ mM}$ , 0.46g/ AGU이고, 반응시간은 19.18 min이다. 선택적으로 산화된 귀리  $\beta$ -glucan의 카르복실기는  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석으로 확인하였다. 선택적 산화  $\beta$ -glucan의 용해도와 담즙산 결합능은  $\beta$ -glucan보다 약 2.5배 상승하였다.

## 3. 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 콜레스테롤 저하능(*in vivo*)

고 콜레스테롤을 유도한 흰쥐(Wister rats)에서 기본식이에 콜레스테롤 식이를 제공한 대조군(C), 기본식이에 귀리  $\beta$ -glucan 5% 첨가군(BG), 산화 귀리  $\beta$ -glucan 5% 첨가군(Oxi)으로 나누어 콜레스테롤 저

하효과를 측정하였다.

혈청의 TC, TG 그리고 LDL-C 농도는 Oxi군이 대조군에 비하여 각각 약 21, 31.2 그리고 22.7%의 감소율을 보였으며( $p < 0.05$ ), HDL-C 농도는 그룹간의 유의적인 차이를 보이지 않았다.

간의 TC와 TG의 농도는 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 함유한 Oxi군이 대체로 낮은 농도를 보였으며, 특히 Oxi군에서 TC가 대조군에 비하여 약 47% 낮은 농도를 나타냈다. TG는 그룹 간에 유의차를 보이지 않았다.

분의 건 중량은 대조군에 비하여 실험군 모두 증가하였으며, 분 중의 담즙산의 농도는 BG군이 가장 높았으며, Oxi군은 대조군보다도 낮은 농도를 보였다.

#### 4. 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 식품 응용

귀리  $\beta$ -glucan과 선택적으로 산화된 귀리  $\beta$ -glucan을 혼합한 국수와 스펀지 케이크의 호화 특성을 알아보기 위해 RVA로 측정하였다.

귀리  $\beta$ -glucan을 함유한 밀가루 복합분의 Set back과 break down viscosities는 증가하였으나, 선택적 산화 귀리  $\beta$ -glucan은 감소하였다. 이것은 산화 귀리  $\beta$ -glucan의 노화지연을 말해준다.

선택적 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 함유한 국수와 스펀지 케이크의 겉성, 씹힘성, 응집성은 대조군과 귀리  $\beta$ -glucan을 함유한 군보다 높았다. 부피와 수분흡수력은 그룹간의 유의적인 차이가 없었으나, 색도(L, b) 값은 선택적 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 함유한 조리된 국수와 스펀지 케이크에서 낮아졌다.

# SUMMARY

## I . The subjective of project

Biological activities and food properties of oat  $\beta$ -glucan using structure changes

## II . The objectives and importance of project

Hypercholesterolemia is a main risk factor to develop cardiovascular disease, a major cause of death in Korea currently. Demand of oat  $\beta$ -glucan is recently increased because of its prevention effects on the several degenerative diseases such as atherosclerosis, high blood pressure, diabetes. But, the oat  $\beta$ -glucan's high viscosity and the bad solubility are the hitch in its functional food development. So, this study was intended to try the structural modification of oat  $\beta$ -glucan and find the chemical structures through the biological activity experiments (*in vitro*, *in vivo*). Furthermore the development of more efficient health-benefit functional foods using the oat  $\beta$ -glucan derivatives was aimed.

## III . Scopes of the project

1. Extraction, purification and structure analysis of oat  $\beta$ -glucan
2. Structural properties and biological activities(*in vitro*) of chemical modified oat  $\beta$ -glucan
3. Cholesterol lowering effects(*in vivo*) of selective oxidized oat  $\beta$ -glucan
4. Food application of selective oxidized oat  $\beta$ -glucan



## IV. The results and Recommendation

### 1. Extraction, purification and structure analysis of oat $\beta$ -glucan

In order to confirmation of the structure of oat  $\beta$ -glucan, it was validated that  $\beta$ -(1,3) and  $\beta$ -(1-4) are in 2:5 ratio by analyzing C-NMR spectrum and GPC. Also, it was confirmed that the average molecular weight of main peak was in molecular weight standard and it was approximately  $3.94 \times 10^4$  D using dextran

To investigate how the size of molecular weight influence its characteristics by physically transforming  $\beta$ -glucan, ultrasonic irradiation of  $\beta$ -glucan was performed by differentiating its time to degrade polymer. At suitable time intervals, aliquots were taken and viscosities and release of reducing end-groups were measured. When ultrasonic irradiation thime was 90 minute, it was confirmed that reducing end-groups were measured that reducing end-groups wer 54.76% increased compared to original sample and viscosity of  $\beta$ -glucan was 29.93% decreased. Thus, bile acid binding capacity was 78.31% decreased.

Consequently, we varified that bile acid binding sequestering capacity, which was a main biological activity in oat  $\beta$ -glucan, was polymeric properties of polysaccharide.

### 2. Structural properties and biological activities(*in vitro*) of chemical modified oat $\beta$ -glucan

#### 1) Amination

To investigate whether  $\beta$ -glucan was derivatized, amin group of  $\beta$ -glucan was confirmed using IR spectrum and it was observed

that degree of substitution in amin group was 0.48 through EA analysis. Furthermore, it was discovered that peak of NH<sub>2</sub> group in hydroxyl site by C-NMR spectrum analysis.

Bile acid binding capacity for aminated  $\beta$ -glucan was 5-fold higher than that of  $\beta$ -glucan and assigning a bile acid binding value of 100% cholestyramine, the relative bile acid percentages for the aminated  $\beta$ -glucan was 9 fold higher than that of  $\beta$ -glucan.

In results of antibacterial test, antimicrobial activity cannot be found in  $\beta$ -glucan, however, IC<sub>50</sub> exhibit 0.4 mg/dL of antimicrobial activity in  $\beta$ -glucan aminoderivatize for *B. subtilis*, which was gram positive microbial.

$\beta$ -glucan did not exhibit significant value for ACE inhibition activity. However  $\beta$ -glucan aminoderivative have an effect IC<sub>50</sub> 23.33 mg/dL and exhibit ACE inhibition activity so that it propose. Formation ability of NO capacity in macrophage was measured based upon the sample concentration and it was shown that the highest NO contents is detected at 50  $\mu$ g/mL in both  $\beta$ -glucan and  $\beta$ -glucan amino-derivatives.  $\beta$ -glucan contains 7  $\mu$ M and  $\beta$ -glucan amino-derivatives contains 18  $\mu$ M of NO contents.

## 2) Sulfation

IR spectroscopy measurement was conducted and it was found that oat derivatives exhibited sulfonyl(O=S=O) double bond peak at 1300 cm<sup>-1</sup>, 1060 c<sup>-1</sup>, 1694 cm<sup>-1</sup>. Elemental analyzer measurement was also carried out and sulfated  $\beta$ -glucan contain 10.02% of sulfur content(S) and degree of substitution of 0.56. Sulfated  $\beta$ -glucan were identified using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy.

Intrinsic viscosities of oat  $\beta$ -glucan was 5.44 dL/g, the flow

properties of oat  $\beta$ -glucan showed pseudoplastic behavior and shear stress decreased when temperature was increased. It was found that there existed the frequency dependency of viscoelastic liquid and viscoelastic solid behavior when cross-over was occurred during the frequency transformation. In dynamic viscoelasticity measurement,  $G'$  was lower than  $G''$  in sulfated  $\beta$ -glucan, therefore it exhibited liquid like behavior. In water solubility and oil binding capacity, sulfated  $\beta$ -glucan was higher than  $\beta$ -glucan. For water binding capacity sulfated  $\beta$ -glucan was lower than  $\beta$ -glucan. Bile acid binding capacity of sulfated  $\beta$ -glucan was defective. In anticoagulant activity experiment, there was no anticoagulant activity effectiveness in  $\beta$ -glucan, and it was found that the anticoagulant activity of sulfated  $\beta$ -glucan.

### 3) Selective oxidation

The optimal oxidation conditions for oat  $\beta$ -glucan were determined at the content of TEMPO and NaBr of 0.9968  $\mu\text{mol}/100$  mM AGU and 0.46g/AGU, respectively, and the reaction time of 19.18 min

The existence of carboxyl groups in the oat  $\beta$ -glucan was verified by  $^{13}\text{C}$ -NMR analysis. Bile acid binding capacity and water solubility for selective oxidized  $\beta$ -glucan was 2.5-fold higher than that of  $\beta$ -glucan.

### 3. Cholesterol lowering effects(*in vivo*)

Rats(8/group) were fed following diet four weeks. Each group was fed a basal diet containing 1% cholesterol (C) and C with 5% oat  $\beta$ -glucan (BG), C with 2.5% oat  $\beta$ -glucan and C with 5%

oxidized oat  $\beta$ -glucan (Oxi).

In serum, TC, TG, LDL-C, and VLDL-C analysis of Oxi group were significantly ( $p < 0.05$ ) decreased by about 21.0, 31.2, 22.7, and 30.9%, respectively compared with C group. However, there was no significant difference for HDL-C among the groups. Liver TC in Oxi group was dramatically decreased by 47.8% compared with C group. TC and TG of feces in Oxi group was the highest among the groups. On the other hand, the bile acid of feces in Oxi group was lower than that of C group. Liver TC in Oxi group was dramatically decreased by 47.8% compared with C group. TC and TG of feces in Oxi group was the highest among the groups. On the other hand, the bile acid of feces in Oxi group was lower than that of C group.

#### 4. Food application of oxidized $\beta$ -glucan

To evaluate the pasting of noodle and sponge cake mixed with  $\beta$ -glucan and 100% oxidized  $\beta$ -glucan, RVA were measured. Although the set back and break down viscosities of combination of wheat flour(99%) and oat  $\beta$ -glucan(1%) increased, those of combination of wheat flour(99%) and 100% oxidized  $\beta$ -glucan(1%) decreased. This is indicated retarded retrogradation. The gumminess, chewiness, and cohesiveness of noodle and sponge cake containing with 100% oxidized  $\beta$ -glucan were higher than those of the other groups (control and oat  $\beta$ -glucan). There were no significant differences of volume and water absorption among the groups, but color value(L, b) was decreased in cooked noodle and sponge cake containing with selective oxidized oat  $\beta$ -glucan.

# CONTENTS

SUMMARY .....	1
Chapter 1. Objectives and Scopes .....	15
Chapter 2. Current Status on Domestic and Foreign Technology ..	16
Chapter 3. Experimental Methods and Results .....	19
I. $\beta$ -glucan extraction and properties from oat .....	19
1. Materials and methods .....	19
1) Extraction, isolation and purification of oat $\beta$ -glucan .....	19
2) Molecular weight and structure of purified $\beta$ -glucan .....	21
3) Rheology and biological activities of fractioned $\beta$ -glucan .....	21
2. Results and discussion .....	22
1) Extraction, isolation and purification of oat $\beta$ -glucan .....	22
2) Molecular weight and structure of purified $\beta$ -glucan .....	22
3) Rheology and biological activities of fractioned $\beta$ -glucan .....	23
II. Structural properties and biological activities( <i>in vitro</i> ) of chemical modified oat $\beta$ -glucan .....	26
1. Materials and methods .....	26
1) Chemical modification of oat $\beta$ -glucan .....	26
2) Structural properties of modified oat $\beta$ -glucan .....	32
3) Rheological properties and water solubility of modified oat $\beta$ - glucan .....	33
4) Biological activities( <i>in vitro</i> ) investigation of modified oat $\beta$ - glucan .....	34
2. Results and discussion .....	37
1) Chemical modification of oat $\beta$ -glucan .....	37

2) Rheological properties and water solubility of modified oat $\beta$ -glucan .....	48
3) Biological activities( <i>in vitro</i> ) investigation of modified oat $\beta$ -glucan .....	50
4) summary .....	58
III. Cholesterol lowering effects( <i>in vivo</i> ) and food application of selective oxidized oat $\beta$ -glucan .....	59
1. Materials and methods .....	59
1) Effect of the selective oxidized oat $\beta$ -glucan on the lipid metabolism .....	59
2) Food application .....	62
2. Results and discussion .....	67
1) Effect of the selective oxidized oat $\beta$ -glucan on the lipid metabolism .....	67
2) Food application of selective oxidized oat $\beta$ -glucan .....	74
Chapter 4. Attainment of Objective and Contribution .....	85
Chapter 5. Application of Results .....	87
Chapter 6. References .....	89

# 목 차

요 약 .....	1
제 1 장 연구개발의 개요 .....	15
제 2 장 국내의 기술개발 현황 .....	16
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 .....	19
제 1 절 귀리로부터 $\beta$ -glucan 추출 및 그의 특성 .....	19
제1항 재료 및 방법 .....	19
1. 귀리 $\beta$ -glucan의 추출 분리 정제 .....	19
2. 정제 $\beta$ -glucan의 분자량 및 구조분석 .....	21
3. 획분별 $\beta$ -glucan에 대한 물성 및 생리활성 조사 .....	21
제2항 결과 및 고찰 .....	22
1. 귀리 $\beta$ -glucan 추출 분리 정제 .....	22
2. 정제 $\beta$ -glucan의 분자량 및 구조 확인 .....	22
3. 획분별 $\beta$ -glucan에 대한 물성 및 생리활성 조사 .....	23
제 2 절 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 특성 및 생리 활성( <i>in vitro</i> ) .....	26
제1항 재료 및 방법 .....	26
1. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화 .....	26
2. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 의한 특성 조사 .....	32
3. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 유변학적 특성 및 용해도 조사 .....	33
4. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 생리활성( <i>in vitro</i> ) 특성 조사 .....	34
제2항 결과 및 고찰 .....	37
1. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 의한 특성 조사 .....	37

2. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 유변학적 특성 및 용해도 조사 .....	48
3. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 생리활성( <i>in vitro</i> ) 특성 조사 .....	50
4. 요약 .....	58
제 3 절 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 콜레스테롤 저하능( <i>in vivo</i> )과 식품 응용 .....	59
제1항 재료 및 방법 .....	59
1. 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan 급여가 고 콜레스테롤 식이흰쥐의 지질대사에 미치는 영향 .....	59
2. 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 식품 응용 .....	62
제2항 결과 및 고찰 .....	67
1. 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan 급여가 고 콜레스테롤 식이흰쥐의 지질대사에 미치는 영향 .....	67
2. 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 식품 응용 .....	74
제 4 장 목표달성도 및 관련 분야에의 기여도 .....	85
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....	87
제 6 장 참고 문헌 .....	89



## 제1장 연구개발과제의 개요

식이섬유는 인체 소화기관에서 분비되는 효소로 분해되지 않는 비전분 다당류(non-starch polysaccharide, NSP)와 리그닌의 집합체로 정의되며 주로 곡류, 두류, 과일, 채소류 및 해조류 등의 세포벽에 존재하는 물질로서 최근 식생활이 새롭게 평가되면서 각종 식품원료로부터 기능성 식이 섬유의 탐색 및 활용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 천연물질로부터 얻은 다당류는 polymer 시장에서 중요한 품목으로서 점차 그 산업적 이용범위가 넓어지고 있다.

현재 기능성 식품으로 각광 받고 있는  $\beta$ -glucan은 원료에 따라 구조와 특성이 차이가 있는데 귀리의  $\beta$ -glucan은 세포벽 속에 존재하며  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-결합과  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)결합으로 연결되어 있는 직쇄상의 단순다당류이다(Fincher and Stone, 1986; Nicolai and Werner 1999). 귀리의 고분자 수용성 식이섬유인  $\beta$ -glucan은 높은 점성을 가지고 있어 혈중 콜레스테롤 함량을 낮추고(Anderson *et al.*, 1984; Delaney *et al.*, 2002) 식후 당류의 소화 흡수를 지연시키며 insulin의 분비를 조절할 뿐 아니라 당뇨병에 있어서 혈당 농도를 저하시키며(Wood *et al.*, 1994), 지질의 흡수를 저하(Lia *et al.*, 1997)시켜 대장암을 예방하는 것으로 알려져 있다(Klopfenstein, 1988). 이와 같은 이유로 식이섬유를 식품에 첨가하는 연구가 이루어지고 있지만 부피감소와 텍스처 변화(Lee and Chang, 2003), 수율 저하 및 견고성 강화 등(Gill *et al.*, 2002)의 좋지 않은 영향을 나타내기도 한다.

따라서 본 연구는 귀리  $\beta$ -glucan 자체의 생리활성을 확인하고, 저분자량화와 아민화, 황산화, 선택적 산화와 같은 구조적 변형을 시도했을 때, 물리적인 특성과 생리활성에 미치는 영향을 연구하고자 하며 식품에 첨가했을 때 가공적성을 조사하여 기능성 소재화 연구 자료로 제공하고자 한다.

## 제2장 국내외 기술개발 현황

특별한 기능성을 지니는 고분자 소재에 대한 지속적인 필요성에 의해 다양한 응용이 모색되어 왔다(Nevell and Zeronian, 1985; Mitchell and Ledward, 1986). 다당류의 구조와 기능적 특성 사이의 근본적인 관계에 대하여 관심이 증대되는 등 천연 다당류에서의 선택적인 변형이 접근되는데 다당류의 변화는 그것의 구성 성분, 배열 및 분자량 조절 이외에 결합 위치나 하전 유무를 물리적 혹은 화학적 변형으로 실행할 수 있다. 이에 의한 다당류의 구조적 변형은 물리적 특성 향상 및 생물학적 기능 증진을 위하여 다방면으로 이용되고 있다(Cho *et al.*, 1988; Kim *et al.*, 1971; Stanley *et al.*, 1983; Sanjula and Machova, 1995; Kengo *et al.*, 1981).

### 1) Ultrasonication에 의한 저분자량화법

다당류 변형 방법으로서 ultrasonication은 고주파를 macromolecular에 가함으로서 다당류를 분해하는 목적으로 사용되고 있는 잘 알려진 방법이다(Kengo *et al.*, 1981). 즉 고분자 분해물을 방사(irradiation)시간에 따라 얻을 수 있으며 좁은 분자량의 분포대를 나타낸다. 또한, 다당류의 화학적 상태에 변화를 주지 않고 단순히 분자량을 감소시킴으로서 DNA, dextran 등 다양한 biopolymer를 분해하는데 사용되어 왔다. Oh(2001)는 미생물이 생산하는 levan biopolymer를 분자량별로 획분하여 이들에 대한 암세포 cytotoxicity을 보았으나 분자량에 따른 경향은 찾지 못하였다.

### 2) 아민화법

다당류의 양이온화는 기기분석에 응용(Stanley *et al.*, 1983) 및 계면활성제(Bae, 2001)와 의약품 중간체(Hwang *et al.*, 1999; Jin *et al.*,

1995) 등 고가치성의 유기물에 많이 이용되고 있다. 한편 양으로 하전된 유일한 천연 다당류 키토산은 면역, 콜레스테롤 저하능, 항균효과와 같은 효과를 지녀 기능성 식품으로서의 연구가 많이 보고 되고 있다 (Lim and Jeon, 1997; Hong *et al.*, 1998; Sugano *et al.*, 1980). 따라서 다당류에 아미노그룹을 부여한다면 다양한 물리적 생리적 특성을 줄 수 있으리라 생각된다. 현재 aminated pectin을 제조하는 연구 (Marudova and Jilov, 2003)가 보고 되고 있으며 식품으로도 응용되고 있는 실정이다.

### 3) 황산화법

최근 황산화된 다당류의 생물학적 효과를 항응고와 antitrombotic 효과에 초점을 맞추어 많은 연구가 행해져, 황산화된 다당류 혹은 화학적으로 sulfate를 수식한 다당류가 항응고 활성을 나타내는 것으로 보고 되고 있으며 (Farias *et al.*, 2000; Franz and Alban, 1995), 이러한 이유로 sulfated curdlan의 sulfation 형태와 항응고 활성간의 상관관계를 비교, 검토하는 연구가 활발하게 진행되고 있다 (Gao *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2000).

### 4) 선택적 산화법

산화는 다당류 사슬내의 alcohol(알코올)기를 keto(케토)기나 carboxyl(카르복실기)로 전환시키는 반응 (Hebeish, 1989)으로 가장 많이 이용되는 산화제는 sodium hypochlorite(NaOCl), sodium bromide (NaBr)가 있으며  $K_2MnO_4$  및  $K_2Cr_2O_7$ 이 있다.

선택적 산화는 TEMPO와 NaBr 촉매를 동시에 사용하여 다당류내의 1차 알코올기만을 선택적으로 산화시켜 카르복실화를 도입하는 반응이다. 이러한 산화 방법은 다당류의 분자 구조를 유지시키면서, 산화 반응의 정확한 제어가 가능하여 균일한 산화 정도를 지닌 산물을 생산해 낼 수 있고 동일한 산화 반응물을 얻을 수 있다는 특징이 있다.

TEMPO와 NaBr을 촉매로 사용하여 NaOCl을 사용하여 특이적으로 산화시키는 방법을 시도한 결과 95% 이상의 선택성을 확인하였으며, 최종 생성물에 사용된 산화제와 촉매제가 잔류하지 않고 모두 제거되었다(De Nooy *et al.*, 1995). Lim 등(2000)은 TEMPO, NaBr 및 NaOCl을 이용하여 특이적으로 산화시킨  $\beta$ -cyclodextrin의 독성실험 결과 돌연변이원성이 음성인 것을 확인함으로써 산화물의 안정성을 입증하였다.

TEMPO를 이용하여 전분이나 셀룰로오스내의 1차 알코올기를 모두 산화시켜 생성된 polyglucuronic acid는 gum류와 유사하여 hydrocolloid의 새로운 소재로 이용될 수 있지만(Suh *et al.*, 2001) TEMPO를 이용하여 식품 소재로서의 응용가능성을 조사한 연구는 미비하다. 1차 알코올기가 모두 산화된 전분과 셀룰로오스는 물에 대한 용해도와 점도가 증가하여,  $Ca^{2+}$ 와 반응하여 gel을 형성한다는 보고(Chang and Robyt, 1996)와 1차 알코올기만을 선택적으로 산화시킨 셀룰로오스의 식품에 적용하고 관능적 특성을 조사한 것 뿐이다(Suh *et al.*, 2001). 또한 카르복실기 도입에 따른 생리활성에 관한 연구는 이루어진 바 없다.

## 제3장 연구개발 수행내용 및 결과

### 제1절 귀리로부터 $\beta$ -glucan 추출 및 그의 특성

#### 제1항 재료 및 방법

##### 1. 귀리 $\beta$ -glucan의 추출 분리 및 정제

###### 1) 추출

시료 전처리 과정으로 Peraman과 Hadden(1987)의 방법을 변형한 Kim 등(1993)의 방법을 이용하여 순수한  $\beta$ -glucan을 얻었다. 추출 과정을 Figure 1과 같다. 즉, 시료 분말 50 g을 증류수에 현탁시킨 후 pH 10.0으로 조정하여 20 hr 동안 상온에서 부유시켜 pH 6.0으로 재조정하고  $\alpha$ -amylase(Novozyme Termamyl 120L) 0.5 mL을 넣어 95°C에서 2 hr 동안 반응시켜 exo  $\alpha$ -1,4 glucan을 제거하였다. 다시 pH 4.5로 맞추어 amyloglucosidase(Novozyme AMG 300L) 200  $\mu$ L 첨가하고 60°C에서 4 hr 동안 반응시킴으로서 endo  $\alpha$ -1,4 glucan을 제거하였다. 끓는 물에서 5분간 처리하여 효소 불활성화 시킨 후 1500 x g, 5분 동안 원심분리 하였다. 이에 의해 얻어진 상층액에 에탄올을 넣어 overnight 방치하여 crude  $\beta$ -glucan을 얻었다.

###### 2) $\beta$ -glucan의 함량 측정

$\beta$ -glucanase로  $\beta$ -glucan을 분해하고 GOPOD 시약으로 발색시켜 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

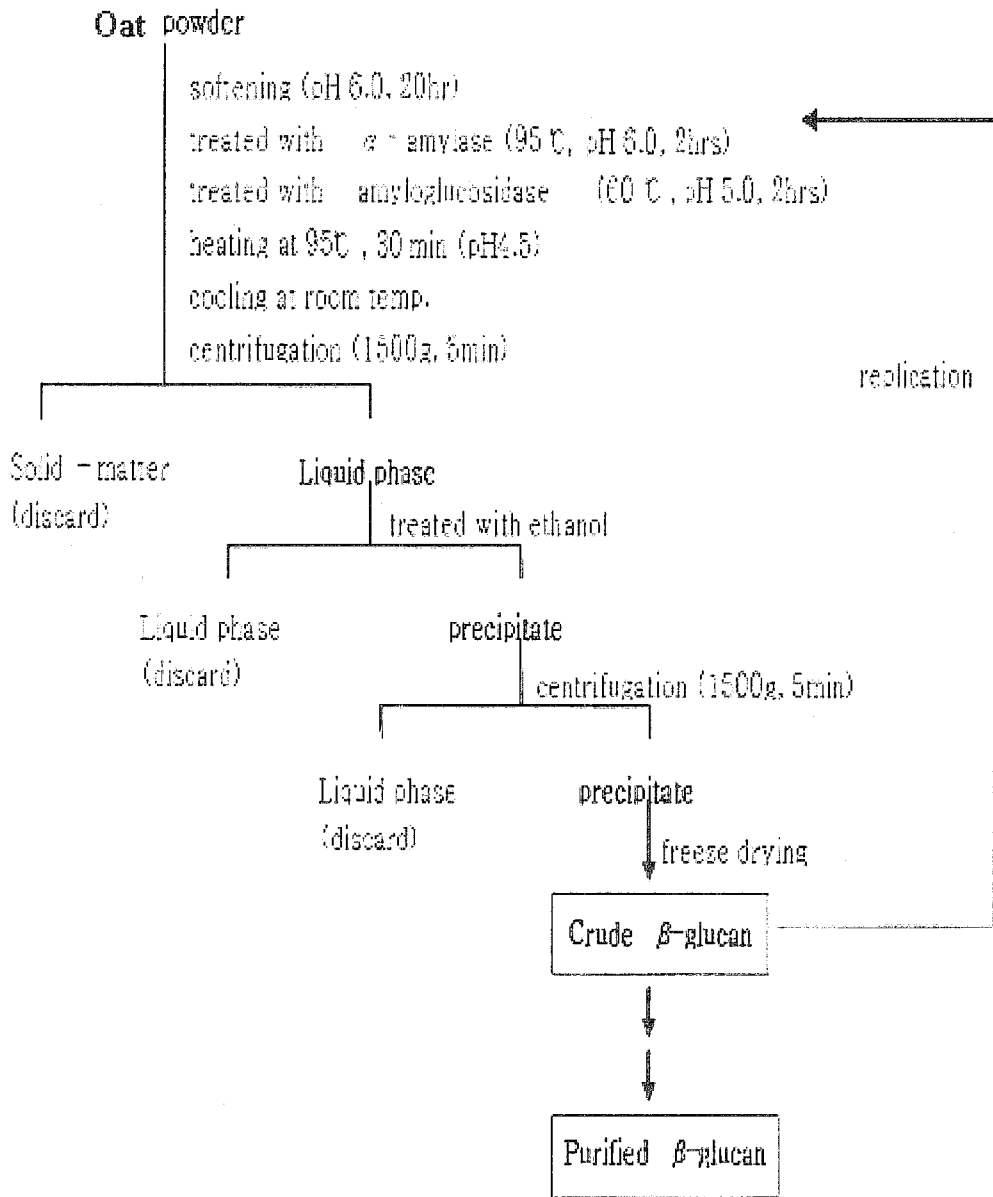


Figure 1. Scheme for isolation and purification of  $\beta$ -glucan.

## 2. 정제 $\beta$ -glucan의 분자량 및 구조분석

### 1) $\beta$ -glucan의 구조 확인

$^{13}\text{C}$  NMR(Varian Unity Inova,300MHz)으로 측정하여  $\beta$ -glucan의 특징적인 피크를 확인하였다.

### 2) 분자량 범위 확인

GPC(Water 510,Waters Corporation)를 이용하여 분자량을 측정하였다.

## 3. 획분별 $\beta$ -glucan에 대한 물성 및 생리활성(*in vitro*) 조사

### 1) 획분별 $\beta$ -glucan 제조

Ultrasonication을  $\beta$ -glucan 용액에 시간별로 처리하여 sonic-degradation 정도에 따른 시료를 제조하였다.

### 2) $\beta$ -glucan의 물성 측정

점성은 Rheometer(Carri-Med CSL 100, TA Instrument, USA)를 이용하여 shear rate를  $0\sim 1000\text{ sec}^{-1}$ 로 변화시키면서 shear stress를 각각 측정하였다. 구한 측정값을 Power law model에 적용하여 점조도 지수(K)와 유동지수(n)를 구하였다.

### 3) $\beta$ -glucan의 생리활성 측정(담즙산 결합능)

$\beta$ -glucan의 생리적 효과를 규명하기 위한 선행 실험으로 담즙산 결합능을 *in vitro* 실험으로 수행하였다. 즉, 시료를 수화시킨 담즙산 용액을  $7^{\circ}\text{C}$ 로 2시간 동안 반응시킨 후 결합하지 않은 담즙산을 여과하여 boyd 방법(1996)에 의한 발색법으로 측정하였다.

## 제2항 결과 및 고찰

### 1. 귀리 $\beta$ -glucan의 추출 분리 정제

효소적 방법에 따라 귀리로부터  $\beta$ -glucan을 추출 및 정제한 결과, Table 1과 같이 수율이 감소함에 따라  $\beta$ -glucan 함량이 증가하였다.

Table 1. Yield and contents of  $\beta$ -glucans from oat

sample	Yield(%)	$\beta$ -glucan content(%)
crude $\beta$ -glucan	2.00	82.19 $\pm$ 1.05
one time purification	1.70	94.96 $\pm$ 1.10
two time purification	1.56	97.00 $\pm$ 0.90

### 2. 정제 $\beta$ -glucan의 분자량 및 구조분석

#### 1) $\beta$ -glucan의 구조 확인

$^{13}\text{C}$  NMR 측정 결과 chemical shift 102.79, 74.88, 60.36 (ppm)에서 귀리  $\beta$ -glucan의 C-1, C-3, C-6 위치가 확인되었고 87.5, 60.36 (ppm)에서 3-O-linked glucose의 C-3과 C-4, 80.58 (ppm)에서 4-O-linked glucose의 C-4가 확인되었다.

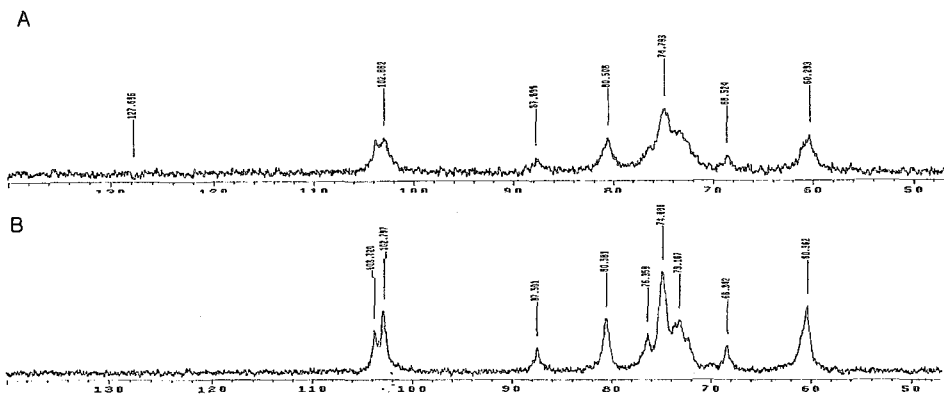


Figure 2. Structure analysis of oat  $\beta$ -glucan by  $^{13}\text{C}$ -NMR.

A: Oat  $\beta$ -glucan, B: Extracted oat  $\beta$ -glucan



## 2) 분자량 범위 확인

GPC(Water 510,Waters Corporation)를 사용하여 분자량을 측정하였다. Molecular weight standard로 dextran을 이용하였고 주요 피크의 평균 분자량은 약  $2 \times 10^5$ g/mol로 확인되었다. 각 획분의 molecular weight는 다음과 같은 수식에 적용되었다.

$$Y = -1.1855X + 14.202 \quad (R^2 = 0.99)$$

$$Y = \text{Log}(\text{MW}), \quad X = \text{elution volume}(\text{ml})$$

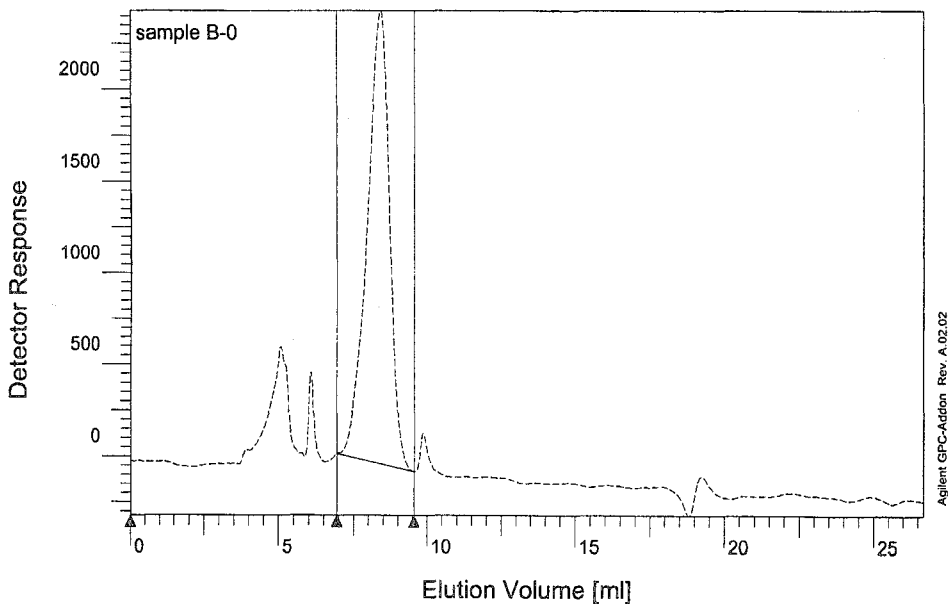


Figure 3. Molecular weight distribution of oat  $\beta$ -glucan.

## 3. 획분별 $\beta$ -glucan에 대한 물성 및 생리활성(*in vitro*) 조사

### 1) 획분별 $\beta$ -glucan 제조

0, 30, 90분 동안  $\beta$ -glucan을 ultrasonication 한 후 결과물의 환원당을 측정하였다. 실험 결과  $\beta$ -glucan을 sonication한 시간에 따라 환원당이 증가하는 것이 확인되어 분자량 크기에 따른  $\beta$ -glucan이 제조되었다.

Table 2. Reducing end group in  $\beta$ -glucan solution by ultrasonic irradiation

Ultrasonic irradiation time	Reducing end groups ( $\mu\text{g}/10 \text{ mg } \beta\text{-glucan}$ )
0 min	19.00 $\pm$ 0.05
30 min	26.00 $\pm$ 0.39
90 min	30.00 $\pm$ 0.20

## 2) $\beta$ -glucan의 물성 측정

sonication 처리 시간(0, 30, 60 및 90 min)에 따라 준비한  $\beta$ -glucan 시료를 Rheometer (Carri-Med CSL 100, TA Instrument, USA)를 이용하여 share rate에 따른 share stress를 측정하였다. 또 share rate을 55.65  $\text{sec}^{-1}$ 로 고정하였을 때 점도의 변화를 살펴보았다. 측정 결과 sonic degradation 시간이 증가함에 따라 점도가 낮아졌는데, 30분 sonication 했을 경우는 29.6% 낮아졌고, 60분 처리했을 때는 2%, 90분은 1.1% 만큼의 점도가 낮아짐을 알 수 있었다. 아래 표는 share rate을 55.65  $\text{Å} [1/\text{s}]$ 로 고정했을 경우 점도의 변화를 ultrasonic 시간에 따라 나타낸 것이다.

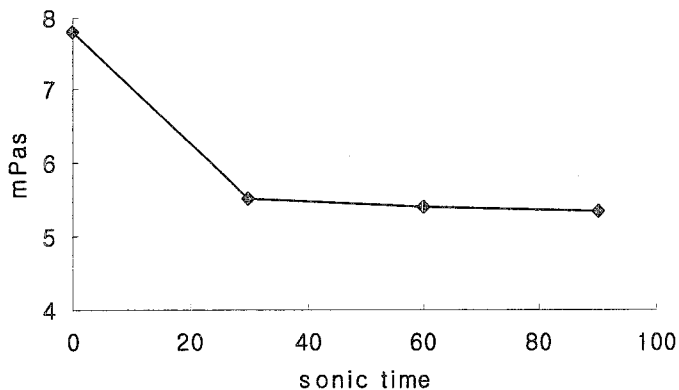


Figure 4. viscosity of oat  $\beta$ -glucan by ultrasonic irradiation.

### 3) $\beta$ -glucan의 생리활성 측정

#### (1) 정제 횟수에 따른 담즙산 결합능 조사

정제 횟수가 증가함에 따라서  $\beta$ -glucan의 담즙산 결합능이 향상됨이 확인되었고, 시료 건중량에 대한  $\beta$ -glucan의 담즙산 결합능과 positive control인 cholestylamin에 대한 결합능(%)을 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Bile acid binding capacity of  $\beta$ -glucan by purification time

sample	Bile acid binding (uM/mgDM)	Binding relative to cholestylamine(%)
crude $\beta$ -glucan	0.74±0.03	1.38±0.05
one time purification	4.00±0.74	7.40±1.37
two time purification	5.07±0.60	9.40±1.10

#### (2) Sonication에 의한 저분자량에 따른 담즙산 결합능 조사

Sonication에 의해 분자량이 작아질수록  $\beta$ -glucan의 담즙산 결합능이 향상됨이 확인되었다. 시료 건중량에 대한  $\beta$ -glucan의 담즙산 결합능과 positive control인 cholestylamin에 대한 결합능(%)은 Table 4에 나타내었다.

Table 4. Bile acid binding capacity of  $\beta$ -glucan by sonic irradiation time

Sonic time	Bile acid binding (uM/mgDM)	Binding relative to cholestylamine (%)
0 min	3.92±0.29	7.17±0.70
30 min	2.09±0.73	4.01±0.67
90 min	0.85±0.97	1.67±0.57

## 제2절 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 특성 및 생리활성 (*in vitro*)

### 제1항 재료 및 방법

#### 1. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화

##### 1) $\beta$ -glucan의 아민 유도체화

Yalpani(1985)의 방법에 따라  $\beta$ -glucan을 아민 유도체화(amination) 하였으며 그 모식도는 Figure 5와 같다. 즉, DMSO(dimethylsulfoxide) 40 mL에 paraformaldehyde 2 g과 시료 1 g을 혼합하여 90°C에서 3시간, 125°C에서 1시간, 135°C에서 1시간 반응시켰다. 상온에서 식히고 acetic anhydride를 16 mL 첨가하여 20시간 동안 암소에서 방치한 후 methanol을 넣어 하룻밤 방치시켜서 침전물을 얻었다. 이것이 oxidized  $\beta$ -glucan이며 이와 같이 얻은 oxidized  $\beta$ -glucan에 DMSO 100 mL을 가하고 sodium acetate 3.6 g과 sodium cyano borohydrate 2.2 g을 혼합한 후 상온에서 7일간 방치하였다. 이것을 4일간 투석하고 동결 건조하여 아민 유도체 된  $\beta$ -glucan을 얻었다.

##### 2) $\beta$ -glucan의 황산화(sulfation)

$\beta$ -glucan sulfate는 Huang 등(2003)의 방법에 따라  $\beta$ -glucan 15 g을 formamide 150 mL과 cholo sulfonic acid 100 mL을 4시간 동안 80~90°C에서 교반하였다. Propylene oxide 500 mL을 첨가해서 생성물을 침전시켰다. 침전물을 증류수에 녹인 후, NaOH로 pH 10.0~11.0로 맞췄다. 24시간 동안 투석 ( $M_w < 10,000$ )한 후 동결건조 하였다.

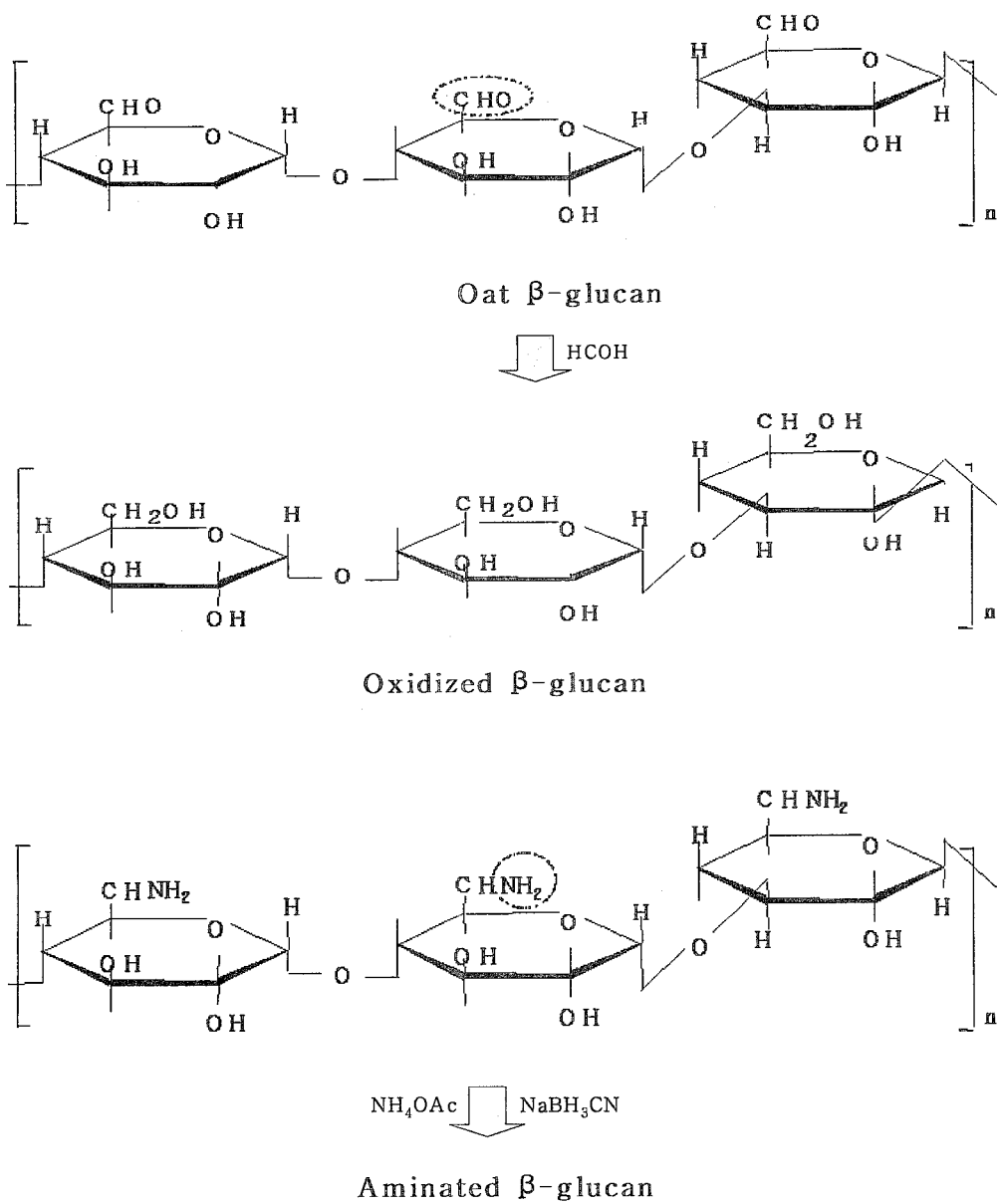


Figure 5. Scheme for reductive amination of  $\beta$ -glucan.

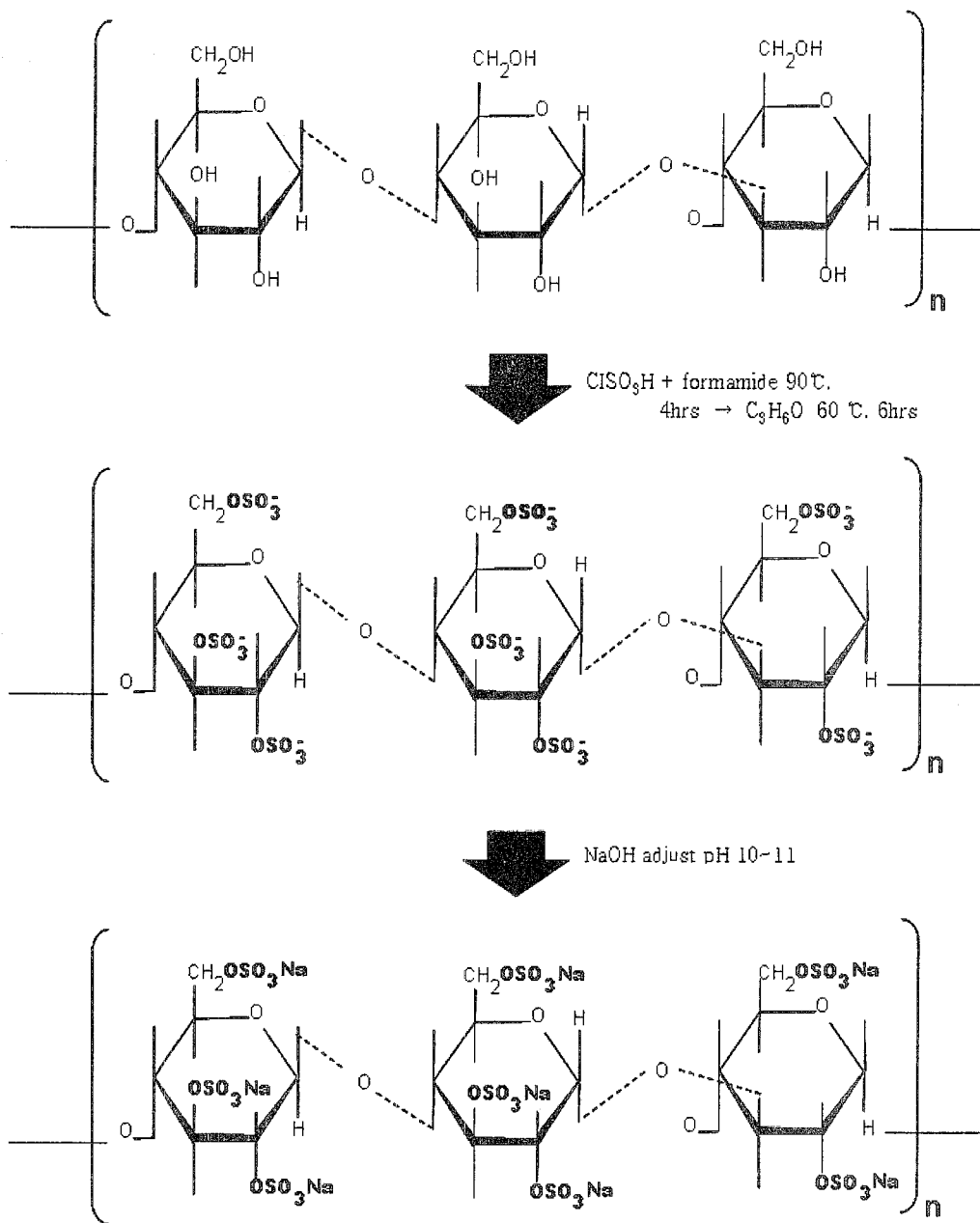


Figure 6. Scheme of sulfated  $\beta$ -glucan.

### 3) $\beta$ -glucan의 선택적 산화(specific oxidation)

귀리  $\beta$ -glucan의 산화는 Chang과 Robyt(1996)의 방법을 일부 변형하여 제조하였으며, 개략적인 과정은 Figure 7에 나타내었다. 귀리  $\beta$ -glucan 0.162 g(1 mM AGU, w/v, dry weight basis)을 증류수 30 mL에 완전히 용해시킨 후, 25°C에서 자석식 교반기를 이용해 교반하면서 실험 계획에 따라 일정량의 TEMPO, NaBr과 NaOCl 2.2 mM/mM AGU를 첨가하였다. 이 용액을 1 N의 HCl을 이용하여 pH 10.8로 조정 한 후 산화 반응을 시작하였다. 산화 반응이 일어나면서 생성된 카르복실기에 의해 감소되는 pH는 0.5 N NaOH 용액을 첨가해 pH 10.8을 유지하였다. 반응액의 pH를 10.8로 유지시키기 위하여 사용된 NaOH 1 mM이 다 소모되었을 때 10 mL의 알코올을 첨가한 후 4 N의 HCl로 중화시켜 반응을 종결시켰다. 종결된 반응액의 3배가 되는 아세톤을 첨가하여 산화된 귀리  $\beta$ -glucan을 침전시킨 후, Whatman No. 41 여과지로 감압여과 하였다. 다시 3배가 되는 아세톤을 첨가하여 산화된 귀리  $\beta$ -glucan을 Whatman No. 41로 여과하는 과정을 3회 반복하였다. 이렇게 얻어진 산화 귀리  $\beta$ -glucan은 55°C 진공 건조오븐에서 24시간 건조시킨 뒤 실험에 사용하였다.

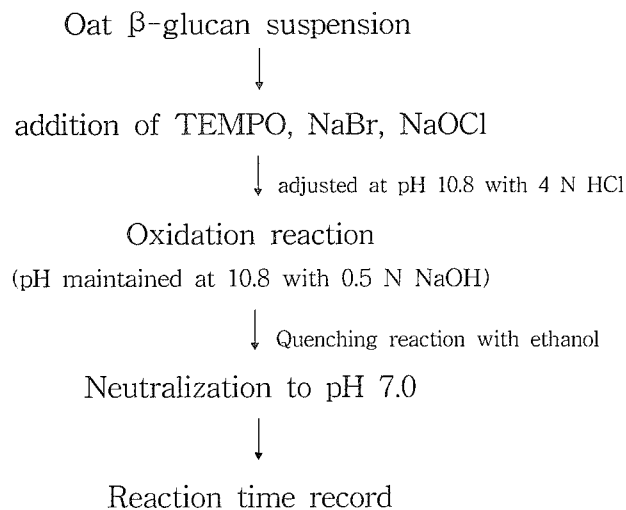


Figure 7. Oxidation process of oat  $\beta$ -glucan.

(1) 산화 반응 측정

TEMPO를 사용한 귀리  $\beta$ -glucan의 특이적 산화 반응의 양상을 측정하기 위하여 반응에 소요되는 시간, 수율을 다음과 같이 측정하였다.

① 반응 시간

산화 반응이 진행되면서 감소되는 pH를 10.8로 일정하게 유지하기 위하여 NaOH를 첨가하므로, 반응시간은 1 mM AGU당 1 mM의 OH가 소비되는데 필요한 시간으로 하였다. 즉, 사용된 귀리  $\beta$ -glucan의 1차 알코올기의 mole 수와 동일한 mole 수인 1 mM의 NaOH가 소비되었을 때까지 소요되는 시간을 측정하였다.

② 산화 반응 정도

1차 알코올기가 카르복실기로 전환하는 C-6의 알코올기 산화 정도는 처음 pH를 유지하는데 요구되는 NaOH 양을 측정하여 결정하였다.

Degree of Oxidation(DO) =

$$\frac{\text{Moles of NaOH consumed by the oxidation}}{\text{Initial moles of primary alcohol groups in the oat } \beta\text{-glucan}} \times 100$$

③ 수율

귀리  $\beta$ -glucan의 산화 반응을 종결한 후, 회수하여 건조시킨 시료의 수율은 다음과 같이 계산 하였다.

$$\text{수율(\%)} = \frac{\text{건조 후 회수량 (dry weight basis)}}{\text{Polyglucuronic acid 1 mM의 무게}} \times 100$$



(2) 반응 표면 분석(RSM)

귀리  $\beta$ -glucan의 최적 산화조건을 설정하기 위해 반응표면분석을 실시하였다. 산화도에 영향을 미치는 변수인 TEMPO, NaBr의 농도와 반응 시간을 독립변수로 설정하고 각 변수들은 -2, -1, 0, 1, 2의 다섯 단계로 부호화하였으며 각각의 독립변수에 대한 실험 영역은 Chang 등(1999)의 반응표면분석에 의한  $\beta$ -cyclodextrin 최적화 산화조건 결정 연구결과와 예비 실험 결과를 이용하여 설정하였다 (Table 5). 이러한 code와 변수를 이용하여 중심합성계획의 2차 모형으로 작성하였으며, fractional  $2^3$  (8 point), star point (6 point), central point (2 point)로서 총 16개의 실험구를 설정하여 실시하였다.

각 실험구에 대한 결과는 Statistical Analysis System program (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA)을 사용하여 다중회귀분석하고 종속변수에 대한 모델을 추정하여 이를 다항 회귀 모형식으로 변환하였으며 다음과 같다.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i X_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

여기에서 Y는 반응변수(산화 정도, %),  $X_i$  및  $X_j$ 는 독립변수(산화 조건),  $b_0$ 는 절편,  $b_i$ ,  $b_{ii}$ ,  $b_{ij}$ 는 회귀계수이다. 또한 산화 조건의 다중회귀분석, 분산분석, F 검정 및 t 검정을 통하여 종속 변량의 최적화를 확인하였고 정준분석(Canonical analysis)에 의해 정상점을 구하였으며, 3차원 분석(3-D plot)을 통하여 산화 조건의 최적화를 실시하였다.

Table 5. Coded levels for dependent variables used in developing experimental data

variable	coded Xi	coded level					$\Delta X$
		-2	-1	0	1	2	
TEMPO <sup>1)</sup>	X <sub>1</sub>	0.006	0.008	0.01	0.012	0.014	0.002
NaBr <sup>2)</sup>	X <sub>2</sub>	0.01	0.03	0.05	0.07	0.09	0.02
Reaction time(min)	X <sub>3</sub>	5	10	15	20	25	5

<sup>1)</sup>(mmol/AGU)

<sup>2)</sup>(g/AGU)

## 2. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 의한 특성 조사

### 1) 분자량 확인을 위한 GPC 측정

$\beta$ -glucan의 분자량 측정은 GPC(LC-900, Japan Analytical Industry co., Ltd., Japan)를 사용하였다. Column은 분자량  $2 \times 10^3 \sim 6 \times 10^3$  (JAIGEL-W252),  $6 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$  (JAIGEL-W253),  $5 \times 10^4 \sim 4 \times 10^5$  (JAIGEL-W254),  $4 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$  (JAIGEL-W255)를 사용하였고, 이동상은 증류수로 유속은 3.5 mL/min로 하였다. 모든 시료는 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과하여 사용하였으며 시료 주입량은 3 mL이었다.

### 2) 치환기 함량 조사를 위한 elemental analysis 측정

$\beta$ -glucan의 치환정도를 확인하기 위하여 원소 분석기 EA(EA1110, CE Instrument, Italy)를 이용하여 분석하였다.

### 3) 치환기 확인을 위한 FT-IR 측정

치환기 결합을 확인하기 위하여 적외선 분광분석을 실행하였다. 사

용기기는 FT-IR spectrometer(MAGNa-IR 760 E.S.P)를 이용하였으며 표준물질로서 KBr(potassium bromide)을 pellet으로 만들어 사용하였다. 시료의 측정은 KBr과 약 1 : 20 비율로 혼합하여 pellet을 제조하여 사용하였고, 표준물질과 동일한 방법으로 측정하였다.

#### 4) 치환기 결합양식 확인을 위한 $^{13}\text{C}$ -NMR spectra

##### (1) 아민화 $\beta$ -glucan, 황산화 $\beta$ -glucan

구조 변형된  $\beta$ -glucan의 구조 및 당쇄 결합 양식을 조사하기 위하여 Nuclear magnetic resonance(NMR) spectra를 사용하였다. 사용기기는 Unity INOVA spectrometer(Varian Co., USA)을 이용하여 300 MHz에서  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 실시하였으며(Johansson *et al.*, 2000), 시료는 DMSO- $d_6$  solvent(Sigma Chemical Co.)에 농도가 약 5~10% 되도록 녹인 후 분석에 사용하였다. Chemical shift(화학적 이동)는 TMS(tetramethylsilan)를 기준물질로 하여 해석하였다(Wood *et al.*, 1994; Wood *et al.*, 1991).

##### (2) 선택적 산화 $\beta$ -glucan

귀리  $\beta$ -glucan의 구조와 선택적으로 산화된 귀리  $\beta$ -glucan의 구조를 확인하기 위하여  $\text{D}_2\text{O}$ (Sigma Chemical Co.)에 각 시료를 200 mg/mL의 농도로 용해시킨 후 Nuclear Magnetic Resonance(NMR) spectra(Unity INOVA spectrometer Varian Co., USA)을 이용하여 300 MHz에서  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석하였다(Bowles *et al.*, 1996).

### 3. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 유변학적 특성(Rheological properties) 및 용해도 조사

#### 1) 유동특성(Flow properties) 측정

Shear rate의 측정은 Rheometer(Rheostress RS1, Thermo Haake, Karlsruhe, Germany)를 이용하여 shear rate를 0~500  $\text{sec}^{-1}$ 로 변화시

키면서 10, 20, 30, 40℃로 온도를 달리하여 측정하였다. 구한 측정값은 Power law model(Rao *et al.*, 1989)에 적용하여 점조도 지수(K)와 유동지수(n)를 구하였다.

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

(1)의 식에서  $\tau$ 는 전단 응력(shear stress, Pa),  $\dot{\gamma}$ 은 전단 속도(shear rate, S<sup>-1</sup>) K는 점조도 지수(consistency index, Pa · S<sup>n</sup>), n은 유동지수(flow behavior index)이다.

### 2) 동적점탄성(Dynamic viscoelasticity) 측정

동적점탄성은 Rheometer(Rheostress RS1, Thermo Haake, Karlsruhe, Germany)를 이용하여 온도는 20℃, 진동수 0.1~5.0 Hz의 범위에서 측정하였다. 이때 cone-and-plate type geometry(35 mm diameter, gap 1.0 mm)를 이용하였다.

### 3) 용해도 측정

귀리  $\beta$ -glucan과 산화 귀리  $\beta$ -glucan의 물에 대한 용해도는 Chang과 Cho(1997)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 귀리  $\beta$ -glucan은 25 mg/mL의 농도로 제조하고 산화 귀리  $\beta$ -glucan은 100 mg/mL의 농도로 제조한 후 25℃에서 24시간 교반시켰다. 과포화된 다당류 및 산화물질 분산액을 6,000×g 에서 15분간 원심분리 한 후 상등액 0.4 mL을 취하여 동결건조 뒤 0.4 mL의 물속에 용해된 무게를 측정하여 물에 대한 용해도를 계산하였다.

### 4. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 생리활성(*in vitro*) 특성 조사

#### 1) 담즙산 결합능 (Bile acid binding capacity)

Bile acid(BA) 250 uM을 함유하는 0.01 M sodium phosphate buffer (pH 7.0)에 sample을 2.5 mg/mL 되도록 첨가한 후 2시간 동안 37℃에

서 교반하였다. 0.2 um sylinge filtration 하여 흡착된 담즙산을 걸러낸 후 Boyd(1996)의 방법에 따라 bile acid 함량을 분석하였다. Sample 0.2 mL에 70% 황산 1 mL 넣고 5분간 반응시킨 후 0.25% fulfural 0.2 mL 첨가했다. 1시간 동안 충분히 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Bile acid retardation index (%)

$$= 100 - \frac{\text{Total bile acid diffused from sack containing sample}}{\text{Total bile acid diffused from sack without sample}} \times 100$$

## 2) 항균 활성능 측정

*E. coli* 와 *Bacillus subtilis*를 공시균으로 하여 MRS broth 배지에 접종하여 배양하였다. 배양액 10 µL에 시료 90 µL를 넣어 18시간 동안 37°C에서 배양한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였고 대조군과 비교함으로써 균 감소율을 조사하였다(Seo *et al.*, 1995).

## 3) ACE 저해능 측정

항고혈압 효능의 지표로서 ACE(angiotensin-1 converting enzyme) 저해능을 Cushman과 Cheung(1971)의 방법을 이용하여 분석하였다. 즉, 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 8.3)에 녹인 기질(Hippuryl-L-histidyl-L-leucine : HHL) 0.15 mL에 ACE 0.1 mL, sample 0.1 mL을 혼합하여 37°C에서 30분 반응시켰다. 이것에 1 N HCl 0.25 mL 넣어 반응을 중지시켰다. 다시 여기에 ethyl acetate 2 mL을 가하여 15초간 교반한 후, 1000×g에서 5분간 원심 분리시켜 상층액 1 mL을 취하여 완전히 건조시켰다. 여기에 증류수 2 mL을 넣어 추출된 hippuric acid를 228 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Hong *et al.*, 1998).

#### 4) 대식세포 활성화 측정

##### ① 기관지 폐포 세척(Bronchoalveolar lavage : BAL)

샘타코(주)에서 구입한 SPF Sprague-Dawley계 rat을 마취한 후 BAL을 실시하였으며, Kagan 등(1983)의 방법으로 수행하였다. 즉, 폐포 대식세포는 다음과 같이 채집하였다. 쥐를 고정틀에 고정한 후 70%의 에탄올로 피부를 완전히 소독하여 개복하였고, 복부 대동맥(abdominal aorta)을 통하여 완전히 사혈시켰다. 외과적 수술을 통하여 폐와 기관지를 완전히 절제한 후 경부의 기관(trachea)을 약 1/2로 절개하였고, 표준 캐놀라(18-gauge cannula)를 넣고 고정시켰다. 폐 안으로 37°C의 PBS 7 mL을 6회 반복 주입한 후 세척하여 폐 내 세포를 채집하였다.

##### ② 폐포 대식세포의 선별 및 사용

채집된 폐 세포들은 Cytospin 3 cytocentrifuge(Shandon, Pittsburgh, USA)을 사용하여 슬라이드 글라스 위에 부착하였다( $0.5 \times 10^5$ ). 부착된 세포는 완전한 건조 후 Diff-Quik(Dade Behring Inc., Newark, USA) 염색을 실시하였고, 현미경 하에서 염증성 세포가 없는 것으로 확인된 세포만을 선택하여 배양 및 각종 실험에 사용하였다.

##### ③ 폐포 대식세포에서 Nitric Oxide 형성의 측정

선택된 폐포 대식세포를 12-well tissue culture plates에 각 well 당  $3 \times 10^5$ 로 분주한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 2시간 배양하여 세포들을 plate에 부착시켜 시료에 노출시켰다.

시료의 농도에 따른 세포 배양 후 배지를 채집하고 nitric oxide 형성을 Griess reaction 방법으로 측정하였다(Thomas & Ramwell, 1988). 즉, 100 uL의 배양액과 동량의 Griess reagent (1% sulfanilamide/0.1% naphthylene diamine dihydrochloride/2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)를 섞고 실온에서 2분간 방치한 후, ELISA reader를 이용하여 540 nm

에서 측정하였다. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 농도는 sodium nitrate를 희석하여 흡광도를 측정한 후 표준 곡선을 작성하여 측정하였다.

#### 5) 항응고 활성(Anticoagulant activity)

혈장응고 지연시간측정은 Frank 등(1989)의 방법에 따라 측정하였다. 혈장의 조제는 샘타고에서 6주령 S.D.를 분양받아 혈액을 3.13% sodium oxalate와 혼합(10:1)하여 1600×g에서 25분간 원심 분리하여 얻었다.

시료를 녹인 검액 50  $\mu$ l 또는 생리 식염수 50  $\mu$ l를 시험관에 취하고 oxalated plasma 100  $\mu$ l를 가한 후, 37℃에서 3분간 반응시킨 후 37℃에서 50 mM CaCl<sub>2</sub> 100  $\mu$ l를 가해 진탕하였다. CaCl<sub>2</sub>를 가한 때부터 혈장 중 fibrin 생성이 관찰될 때까지 시간을 측정하여 생리식염수를 가한 대조군에 대한 시료군의 지연시간 비율(Tr)을 구하였다.

## 제2항 결과 및 고찰

### 1. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조변화에 의한 특성 조사

#### 1) Aminated $\beta$ -glucan의 구조 확인 결과

##### (1) Elemental analysis

아민 유도체된 Oat  $\beta$ -glucan의 질소 함량(%)을 원소 분석기로 측정한 결과, 질소 함량이 4.19 % 존재하는 것으로 확인되었으며(Table 6). 질소 함량을 아래식을 이용하여 glucose unit에 대한 아민 그룹의 치환 정도(Degree of Substitude)를 측정한 결과 치환도는 0.48인 것으로 나타났다.

$$* \text{DS}(\text{degree of substitude}) = \frac{162 \times \text{N\%} / 14}{100 - [13/14 \times \text{N\%}]}$$

Table 6. Elemental analysis and degree of substitution of  $\beta$ -glucan derivatives

sample	Nitrogen(%)	Carbon(%)	Hydrogen(%)
Aminated $\beta$ -glucan	4.19	37.94	5.84

(2) FT-IR Spectrum

귀리  $\beta$ -glucan 유도체의 IR spectrum을 측정한 결과를 Figure 8에 나타내었다.  $3447\text{ cm}^{-1}$ 에서 수소결합에 참여하는 OH 신축진동 흡수대와  $1020\sim 1070\text{ cm}^{-1}$ 사이에서 CO stretching 흡수대가  $\beta$ -glucan과 아민 유도체 시킨  $\beta$ -glucan에서 모두 측정되었다. 아민 유도체 시킨  $\beta$ -glucan에서는 OH group과  $\text{NH}_2$  group이 겹쳐져서  $\text{NH}_2$  group의 흡수대가 뚜렷하게 나타나 있지는 않았는데 이 현상은 Lee(1998a)가 보고한 키토산의 IR 결과와 일치한다. C-N stretching에 기인된  $1250\sim 1300\text{ cm}^{-1}$ 에서 흡수대가 나타났으며  $700\sim 800\text{ cm}^{-1}$ 에서 N-H의 강한 진동이 나타났다.

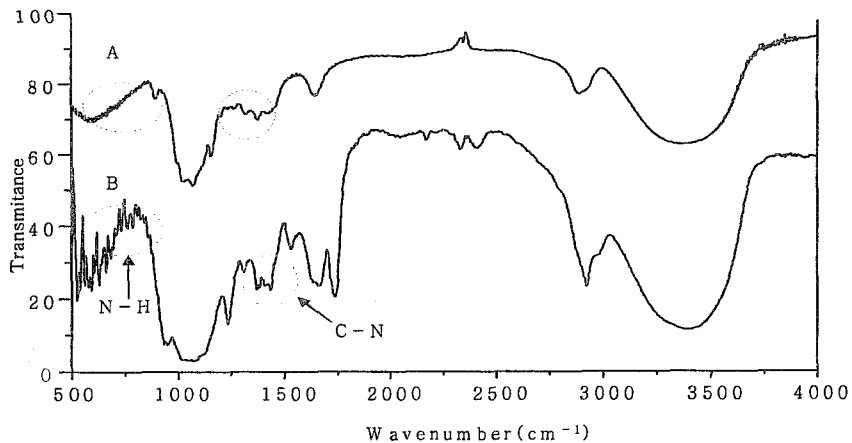


Figure 8. IR spectrum of  $\beta$ -glucan and aminated  $\beta$ -glucan.

A: Oat  $\beta$ -glucan, B: Aminated oat  $\beta$ -glucan



### (3) $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum

아민 유도체된 oat  $\beta$ -glucan의 구조 확인을 위하여  $^{13}\text{C}$ -NMR 측정하였다. 그 결과를 Figure 9에 나타내었으며, 유도체 시키지 않은  $\beta$ -glucan과 비교분석하였다. 본  $^{13}\text{C}$ -NMR의 resonance peak는  $\beta$ -glucan의 C4, C5, C6 위치에 대한 피크가 나타났으며 또 다른 peak가 13.793 ppm에서 발견되었는데, Lee(1998a)의 보고에서 methylan의 아민 유도체의  $^{13}\text{C}$ -NMR에서 10 ppm 부근에 피크가 생성된 것을 참고하였고, 이러한 결과는 hydroxyl site에  $\text{NH}_2$  group의 치환에 의해 가리움 효과가 커져 chemical shift가 작아진 탄소 위치로 추정하였다.

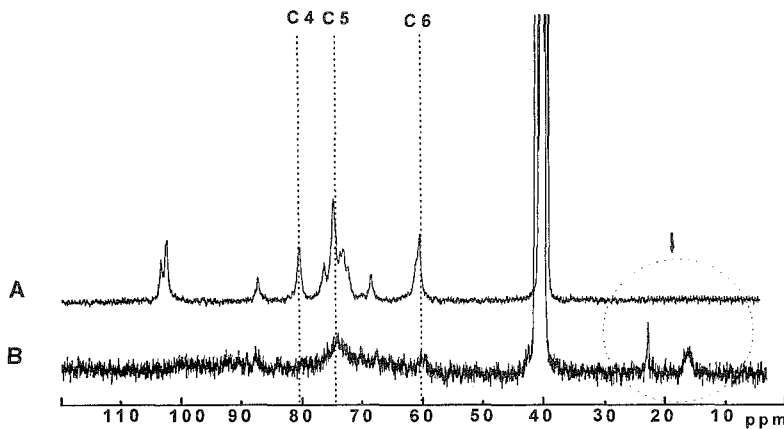


Figure 9.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of  $\beta$ -glucan and aminated  $\beta$ -glucan.

A: Oat  $\beta$ -glucan, B: Aminated oat  $\beta$ -glucan

## 2) Sulfated $\beta$ -glucan의 구조 확인 결과

### (1) GPC

귀리  $\beta$ -glucan과 sulfated  $\beta$ -glucan의 분자량을 확인하기 위해 GPC를 이용한 결과는 Figure 10과 같다. 수식  $y = -0.4468x + 28.025$  ( $R^2 = 0.9612$ )에 대입 결과 귀리  $\beta$ -glucan의 평균 분자량은 129,000 Dalton, sulfated  $\beta$ -glucan은 67,000 Dalton으로 약 50% 정도 감소율을 보였다.

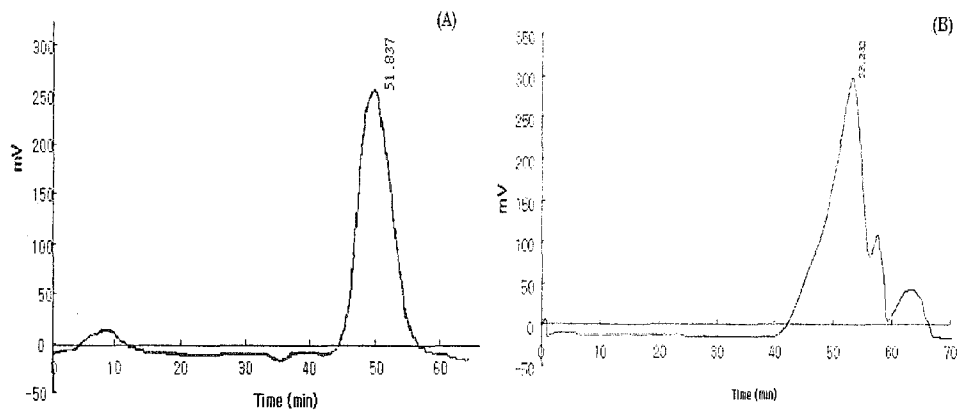


Figure 10. Molecular weight distribution of oat  $\beta$ -glucan(A) and sulfated oat  $\beta$ -glucan(B).

(2) Elemental analysis

Sulfated  $\beta$ -glucan의 황산기 함량과 치환정도를 알아보기 위해 elemental analyzer로 측정한 결과(Table 7), 치환도는 0.56이었으며 0.2%의 황의 존재가 확인되었다.

Table 7. Elemental analysis and degree of substitution of sulfated  $\beta$ -glucan

Sample	S%	C%	N%	H%	Degree of substitution <sup>a</sup>
Sulfated oat $\beta$ -glucan	10.02	30.18	9.39	3.57	0.56

<sup>a</sup> The number of sulfate group per sugar unit in  $\beta$ -glucan derivative was determined by elemental analysis.

(2) FT-IR spectrum

Sulfated  $\beta$ -glucan 구조 변화 확인을 위해 IR spectroscopy로 측정한 결과 Figure 11과 같다. Sulfated  $\beta$ -glucan은  $1300\text{ cm}^{-1}$ ,  $1060\text{ cm}^{-1}$ ,  $1694\text{ cm}^{-1}$ 에서 sulfonyl(O=S=O) 이중결합 진동이 나타났으며,  $810$

$\text{cm}^{-1}$ 에서는 (C-O-S)의 진동이 나타났다(Bae, *et al.*, 2001; Huang, *et al.*, 2003).  $1700\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 에서 acylation 반응이 선택적으로 N위치에서 일어났기 때문에 아무런 진동이 생기지 않았다(Huang, *et al.*, 2003).

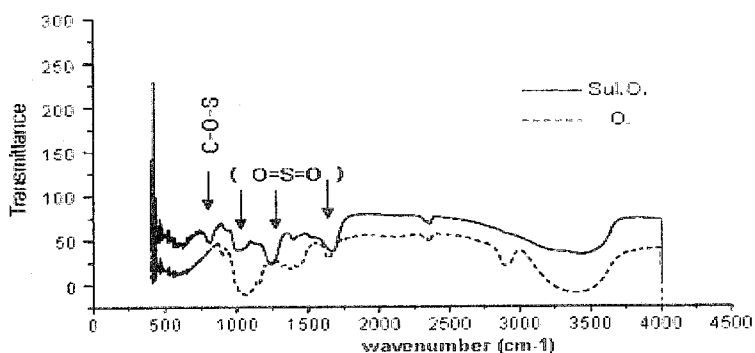


Figure 11. IR spectra of  $\beta$ -glucan and its sulfated derivatives.

Sul. O.: Sulfated oat  $\beta$ -glucan, O.: Oat  $\beta$ -glucan

### (3) $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum

Sulfated  $\beta$ -Glucan의 구조 확인과 결합양식을 측정된 결과는 Figure 12와 같고 Huang 등(2003)의 보고를 참고하여 분석하였다. C-6, C3, C-2의 hydroxyl groups 모두 sulfated 되었고, chemical shift는 각각 73, 76, 74 ppm 부근에서 나타났다.

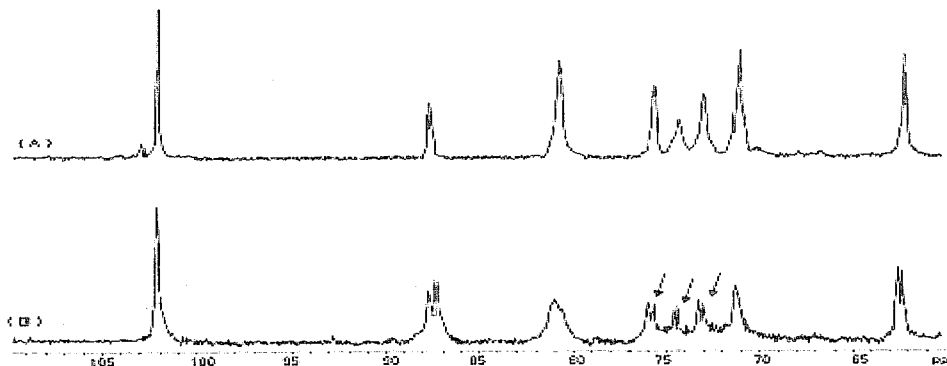


Figure 12.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of  $\beta$ -glucan and sulfated  $\beta$ -glucan.

A: Native  $\beta$ -glucan(barley), B: Oat sulfated  $\beta$ -glucan

### 3) $\beta$ -glucan의 선택적 산화 조건 및 구조 확인 결과

#### (1) 귀리 $\beta$ -glucan의 산화 정도

귀리  $\beta$ -glucan 산화 정도에 영향을 미치는 TEMPO와 NaBr의 농도, 반응시간의 3가지 factor를 독립변수로 하여 설정된 16개 실험구의 귀리  $\beta$ -glucan의 산화 정도는 Table 2에 나타내었다. 실험결과 NaBr 농도와 반응시간이 산화 정도에 많은 영향을 미치는 것으로 나타났다.

#### (2) 반응표면분석

귀리  $\beta$ -glucan의 RSREG의 통계처리 결과는 Table 8과 같다. 3가지 독립변수에 대한 산화 정도(Y)를 종속변수로 설정하여 다중 회귀분석을 수행한 결과는 다음과 같다.

$$Y = 96.03 + 6.28X_3 - 5X_2^2$$

산화 정도에 대한 회귀식의 결정계수( $r^2$ )는 0.8280이고, 회귀식에 따르면, NaBr의 농도( $X_2$ )와 반응시간( $X_3$ )이 산화 정도에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

다중 회귀 분석에 의해 설정된 모델식을 이용하여 두 독립변수의 상호간의 관계를 3차원으로 도식한 결과는 Figure 13-15에 나타내었다.

산화 정도에 대한 최적조건은 정준분석(cononical analysis)에 의해서 산출하였으며 각 독립변수에 대한 정준형식(cononical form)은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$y = 99.09 - 7.62X_1 - 13.01X_2 - 21.86X_3$$

모든 고유 값들이 음으로 나타났으므로 정상점(stational point)는 최대점(maximum point)으로 결정되어 TEMPO를 이용한 선택적 산화 제조 과정의 최적 조건을 산출 할 수 있었고, 최적조건은 TEMPO 0.9968  $\mu\text{mol}/100 \text{ mM AGU}$ , NaBr 0.46g/AGU와 반응 시간은 19분 18초였으며 예측된 산화 정도는 99.09%로 나타났다. 최적 조건에서 산화를 수행한 결과 97.47%의 실측값을 얻을 수 있었다.

Table 8. Response of dependent variables the reaction condition for the oxidation of oat  $\beta$ -glucan

Run no.	Coded variable <sup>1)</sup>			Dependent variable <sup>2)</sup>
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Degree of oxidation(%)
1	-1	-1	-1	90.0
2	1	-1	1	92.5
3	-1	1	-1	70.0
4	1	1	1	87.0
5	-1	-1	-1	90.0
6	1	-1	1	95.0
7	-1	1	-1	75.5
8	1	1	1	81.5
9	-1	0	0	97.5
10	1	0	0	95.0
11	-2	0	0	85.0
12	2	0	0	90.0
13	0	-2	0	77.5
14	0	2	0	75.0
15	0	0	2	65.0
16	0	0	-2	100.0

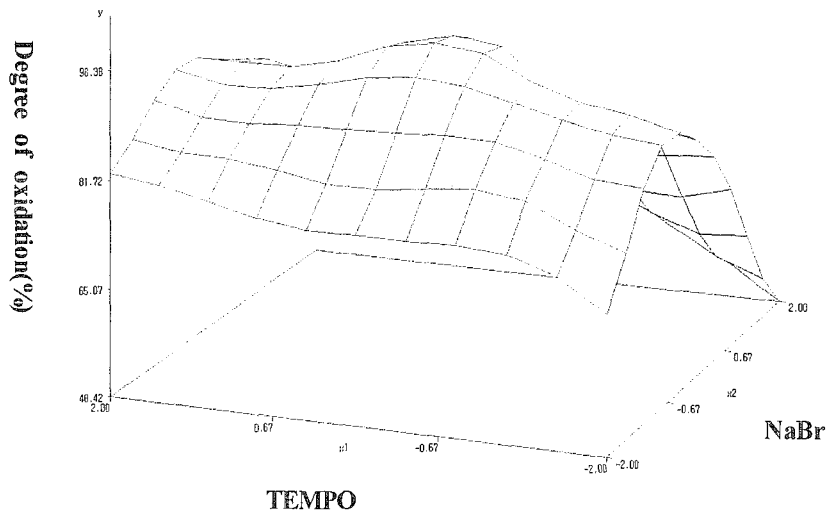


Figure 13. Response surfaces on the degree of oxidation versus TEMPO concentration( $X_1$ ) and NaBr concentration( $X_2$ ).

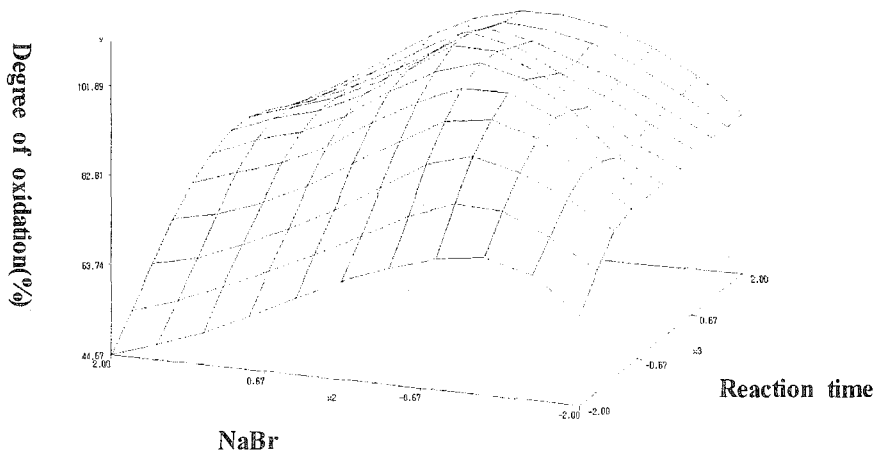


Figure 14. Response surfaces on the degree of oxidation versus NaBr concentration( $X_2$ ) and reaction time( $X_3$ ).

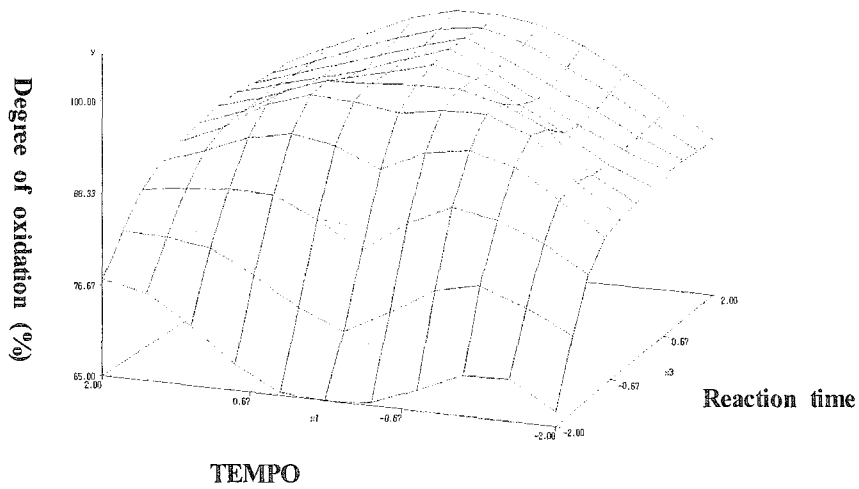


Figure 15. Response surfaces in degree of oxidation versus TEMPO concentration( $X_1$ ) and Reaction time( $X_3$ ).

Table 9. Critical values from the canonical analysis of response surface based on the coded data

Factor	Coded	Uncoded
$X_1$	-0.00808	-0.01616
$X_2$	-0.099228	-0.198455
$X_3$	0.430103	0.860206

$X_1$  : TEMPO(mmol)

$X_2$  : NaBr(g)

$X_3$  : Reaction time(min)

### (3) 산화 반응성 측정 (산화 시간, 수율)

위의 반응표면 분석으로 귀리  $\beta$ -glucan의 선택적 산화를 이행하였으며 산화물의 반응시간 및 수율은 Table 10에 나타내었다.

귀리  $\beta$ -glucan의 산화반응 시 NaOH 소비량과 산화 반응시간과의

상관관계는 Figure 16에 나타내었다. 산화 정도는 귀리  $\beta$ -glucan의 1차 알코올기 mmol 수와 동일한 mmol 수의 NaOH가 모두 소비될 때 100% 산화물로 간주한다. Figure 8은 최적 조건에서 귀리  $\beta$ -glucan 1 mmol의 100% 산화물을 제조할 때, NaOH 소비량에 따른 반응시간을 나타내는 것으로 NaOH의 소비가 0.75 mmol(degree of oxidation 75%) 소비될 때 까지는 약 3분에 걸쳐 일어나는 매우 빠른 반응 속도를 보였으며, 1 mmol이 모두 소비될 때까지는 약 20분이 걸리는 반응속도를 보였다. 일반적으로 pullulan, amyloextrin과 같은 수용성 glucan류를 pH 10.0 이상, 온도 2°C에서 수행하였을 때의 반응시간은 약 60분 전후였으나(De nooy *et al.*, 1995), 본 실험에서는 20여분의 반응시간을 보였다. 이러한 결과는 상대적으로 높은 온도에서 산화 반응을 유도시켰기 때문인 것으로 생각된다.

Table 10. Reaction time and yield of specific oxidized oat  $\beta$ -glucan

	Reaction time(min)	Yield(%)
Specific oxidized $\beta$ -glucan	20.54	90.5%

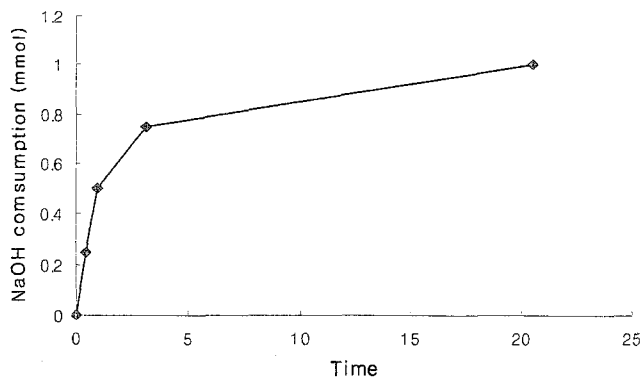


Figure 16. Time course of specific oxidation of oat  $\beta$ -glucan.



### (1) GPC

분석 결과는 Figure 17에 나타냈다. 귀리  $\beta$ -glucan의 평균분자량은 약  $1.35 \times 10^5$  dalton이었으며, 산화  $\beta$ -glucan은 약  $1.02 \times 10^5$  dalton이다. 분자량 분석 결과, 산화 과정 후 분자량 10만 이내의 고분자물 형태로 유지됨을 확인하였다.

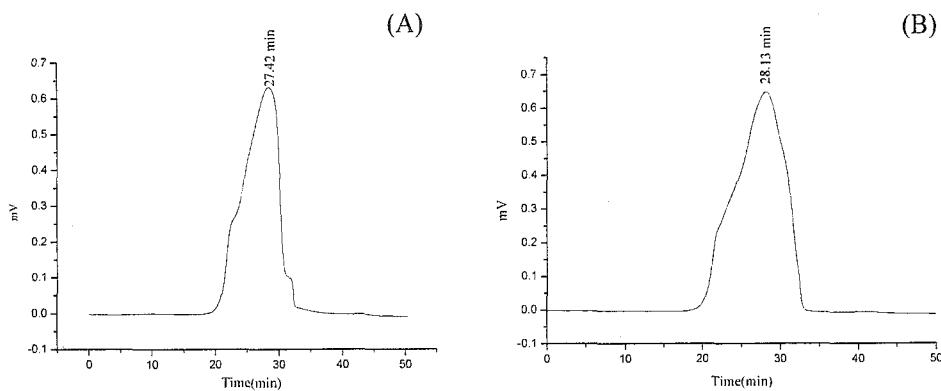


Figure 17. Molecular weight analysis of oat  $\beta$ -glucan(A) and specific oxidized oat  $\beta$ -glucan(B).

### (2) $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum

귀리  $\beta$ -glucan 및 산화 귀리  $\beta$ -glucan의  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra는 Figure 18에 나타내었다. 산화 귀리  $\beta$ -glucan과 귀리  $\beta$ -glucan은 60.2ppm에서 C6의 알코올기의 존재로 peak를 확인할 수 있었는데 C-6에 위치한 알코올기가 선택적으로 카르복실화되어 60.2 ppm의 C-6 알코올기 peak는 사라지고, 175.2 ppm의 C-6 카르복실기를 나타내는 새로운 peak가 생성됨을 보였다.

또한 모든 산화물의 구조분석 결과, 198~200 ppm 위치에 peak가 나타나지 않았는데, 이것은 산화 과정동안에 케톤기 형성이 없음을 말해 주는 것이며 C-6에 위치한 알코올기만이 선택적으로 산화되었음을 보여준다. 이와 같은 결과는 Jiang 등(2000)의 보고와 일치하였다.

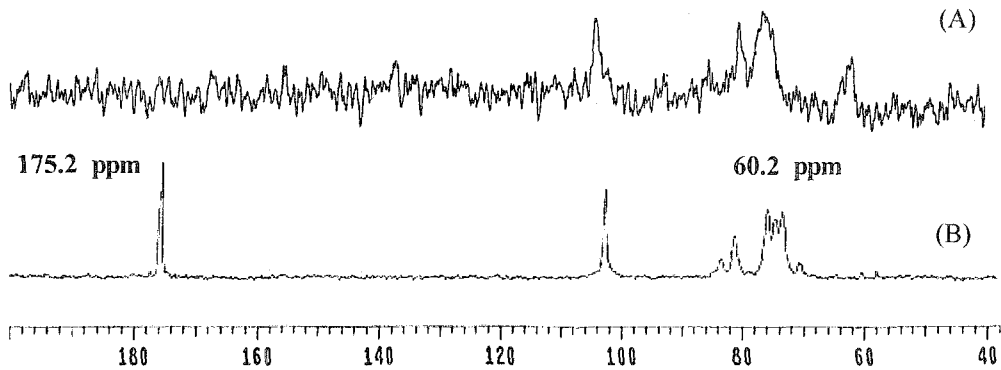


Figure 18.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of oat  $\beta$ -glucan(A) and specific oxidized oat  $\beta$ -glucan(B).

## 2. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 유변학적 특성 및 용해도 조사

### 1) 유변학적 특성(Rheological properties)

#### (1) 유동특성

귀리  $\beta$ -glucan과 귀리 sulfated  $\beta$ -glucan 용액의 유동특성 결과는 Figure 19와 같다. 귀리  $\beta$ -glucan 용액은 전단속도가 증가함에 따라 전단응역이 비직선적으로 증가하여 의가소성 유체의 유동현상을 보인 반면 sulfated  $\beta$ -glucan은 Newtonian fluid behavior를 나타내었다.

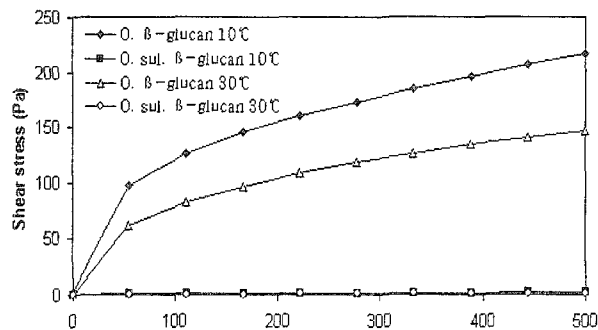


Figure 19. Flow curve of  $\beta$ -glucan solution(1%) at different temperature.

O.  $\beta$ -glucan: Oat  $\beta$ -glucan, O. sul.  $\beta$ -glucan: Sulfated oat  $\beta$ -glucan

(2) 동적 점탄성

진동수 0.1~5 Hz의 범위에서 귀리  $\beta$ -glucan과 sulfated  $\beta$ -glucan 용액에 대하여 동적점탄성을 측정된 결과는 Figure 20과 같다. 귀리  $\beta$ -glucan은 낮은 진동수 영역에서는  $G''$ 가  $G'$  비해 높았으나, 진동수 변화에 따른  $G'$  증가가  $G''$  증가에 비해 높아 진동수 변환 중 cross-over가 일어났으며 높은 진동수 영역에서는  $G'$ 가  $G''$ 에 비해 높은 값을 나타내었다.

이는 Doublier와 Wood(1995)가 보고한 귀리 gum과 비슷한 결과이며, 이러한 결과는 전형적인 거대분자 용액의 점탄성 거동을 나타내는 것이라 하였다. 반면에 sulfated  $\beta$ -glucan은 모두  $G'$ 가  $G''$ 보다 낮아 liquid like behavior를 보였다.

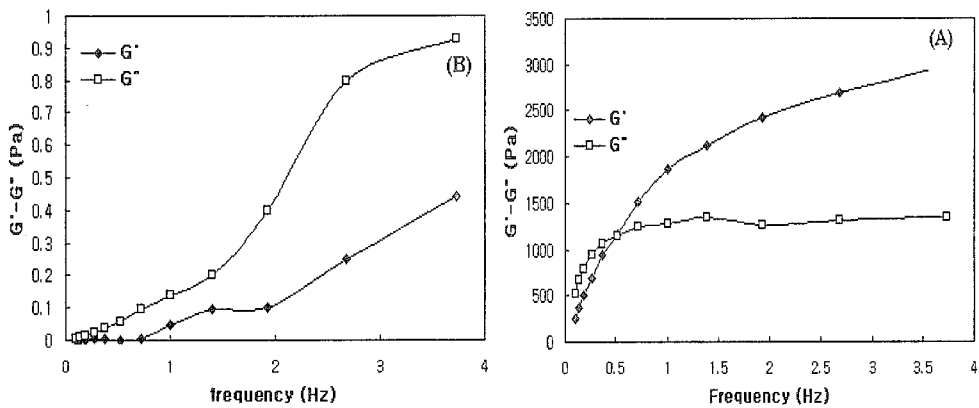


Figure 20. Frequency sweep of 3% oat  $\beta$ -glucan(A) and 3% sulfated oat  $\beta$ -glucan(B).

2) 용해도

선택적 산화 귀리  $\beta$ -glucan의 물에 대한 용해도를 측정된 결과는 Figure 21과 같이 귀리  $\beta$ -glucan에 비하여 유의적으로( $p < 0.05$ ) 증가하였다. 귀리  $\beta$ -glucan은 2.5 mg/mL의 농도에서, 산화 귀리  $\beta$ -glucan은 100 mg/mL의 농도에서 실시한 용해도는 귀리  $\beta$ -glucan이 36.2%, 산

화 귀리  $\beta$ -glucan은 87.81%로 용해도가 약 2배 증가하였다.

본 실험은 pullulan, amylopectin과 같은 수용성 다당류가 산화 과정 후 원래보다 약 2배에서 3배가량 향상되었다는 Chang과 Robyt(1996)의 연구와 같은 경향을 보였다. 이것은  $\beta$ -glucan 분자내의 1차 알코올이 carboxylic acid로 전환되어 여러 가지 다당류들이 물에 쉽게 해리될 수 있는 특성을 지니게 되는 현상에 기인하는 것(Chang and Cho, 1997)이라 생각된다.

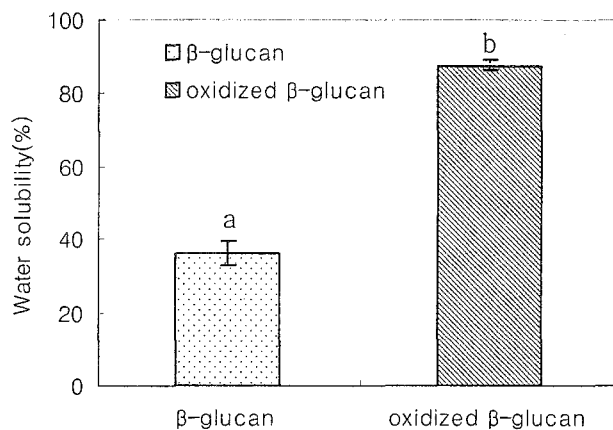


Figure 21. Water solubility of oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan.

### 3. 귀리 $\beta$ -glucan의 구조 변화에 따른 생리활성 특성 조사

#### 1) 아민유도체에 의한 결과

##### (1) 담즙산 결합능 측정 결과

$\beta$ -glucan의 아민유도체가 시료 건중량에 대한 담즙산 결합능이 21.89  $\mu$ M/mg DM으로 4.24  $\mu$ M/mg DM 값을 보인  $\beta$ -glucan에 비해 월등히 상승된 결과를 보였으며 cholestyramin에 대한 결합능(%)도  $\beta$ -glucan은 7.46%이나 아민 유도체는 69.30%로 높아졌으며 그 결과를

Figure 22에 나타내었다. 식이섬유가 혈중 콜레스테롤 수치를 감소시키는 작용기작은 소화기관내에서 분비되어지는 담즙산을 식이섬유가 결합함으로써 담즙산의 재흡수를 지연시키기 때문(Jenkins *et al.*, 1975)으로 알려져 있으므로 식이섬유와 bile acids의 결합력이 식이섬유로서의 효과를 결정하게 된다. 담즙산은 염의 형태로, 생체 내에서 음이온으로 존재하게 되는데, 담즙산염을 제거하는데 쓰이는 cholestyramine은 아민기를 가진 음이온 교환수지이다. 그러나, cholestyramine의 경우는 복용상에 부작용이 있는 것으로 알려져 있다(Benson *et al.*, 1993). 본 연구에서는 담즙산 흡착제가 아민기를 가진 흡착제인 점에 착안하여 생체적합성이 우수한  $\beta$ -glucan에 아민기를 도입시켰다. 이러한 이유로 아미노기를 함유하는  $\beta$ -glucan 아민 유도체가 담즙산의 분자 내 카르복실기와 이온결합을 형성하여 다당체와의 흡착을 더욱 용이하게 만들 수 있다는 장점이 있으리라 사료되었고, 본 연구에서 행해진 *in vitro* 담즙산 결합능 측정으로  $\beta$ -glucan 아민 유도체의 월등한 효과가 확인되었다.

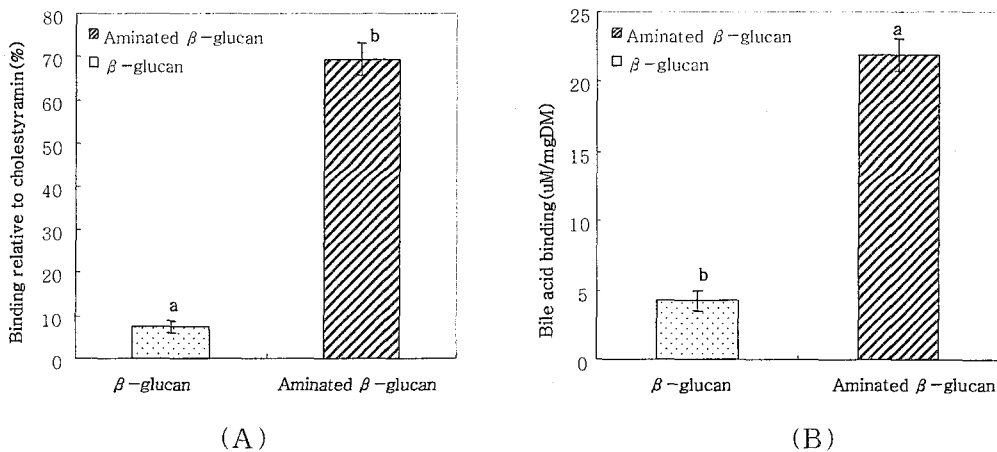


Figure 22. Bile acid binding capacity of oat  $\beta$ -glucan and aminated oat  $\beta$ -glucan.

A: Bile acid binding capacity as dry matter basis

B: Binding relative to cholestyramine

(2) 항균 활성 측정 결과

실험 결과를 Figure 23에 나타내었다. 그람 양성균에 해당하는 *B. subtilis* 균을 공시균으로 하여 항균실험을 한 결과  $\beta$ -glucan에서는 항균력이 없었으나  $\beta$ -glucan 아민 유도체에서는  $IC_{50}$ 이 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 살균력을 보였다. 그람 음성균인 *E. coli*로 실험한 결과도 역시  $\beta$ -glucan에서는 항균력이 없는 반면에  $\beta$ -glucan 아민 유도체에서는 항균력이 생성되었으나 약  $IC_{50}$  1290  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 양성균에 비하여 낮은 항균 효과를 보였다.

이러한 항균 효과의 차이는 그람 음성균(Gram negative)과 그람 양성균(Gram positive)의 세포벽의 존재 유무에 기인한 것이라 해석될 수 있다(Lee, 1998a). Jeon 등(1996)에 의하면 양전하를 가진 다당류의 아미노기가 특이적인 화학구조를 가진 세균의 세포벽의 음전하와 이온 결합을 형성하여 세포분열을 저해함으로써 세균의 성장을 억제하는 것으로서 항균작용 메커니즘을 설명하였다. 따라서  $\beta$ -glucan 아민 유도체도 역시 이와 같은 이론으로 설명될 수 있다.

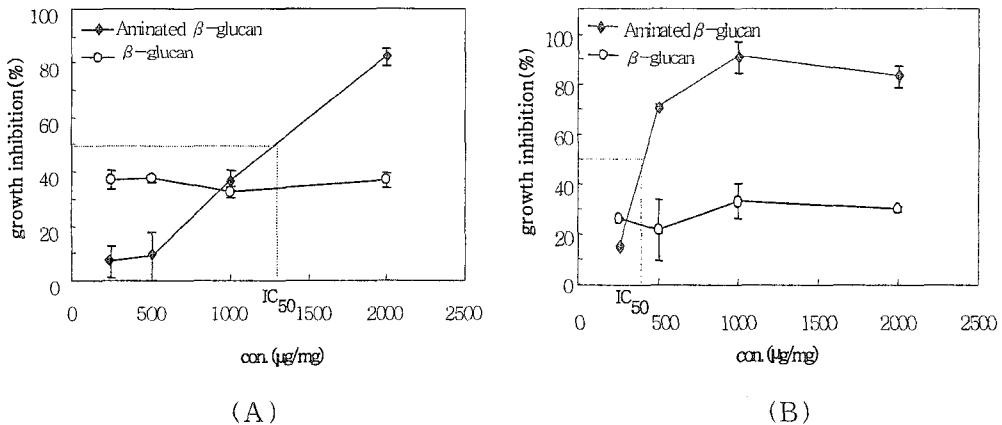


Figure 23. Antimicrobial activity with different amount of oat  $\beta$ -glucan and aminated oat  $\beta$ -glucan.

A: *E. coli*, B: *B. subtilis*

### (3) ACE 저해능 측정 결과

$\beta$ -glucan과  $\beta$ -glucan 아민 유도체의 ACE 저해활성에 미치는 영향을 검토하였고, 그 결과를 Figure 24에 나타내었다.  $\beta$ -glucan은 ACE 저해활성을 나타내지 않으나  $\beta$ -glucan 아민 유도체는 농도에 유의적으로 ACE 저해 활성이 측정되었는데 다음과 같은 수식에 의해  $IC_{50}$ 을 조사하였고, 그 결과  $IC_{50}$  23.33 mg/mL이 측정되었다.

$$Y = 0.0011X + 24.336 (R^2=0.91)$$

안지오텐신 전환효소(Angiotensin converting enzyme: ACE)는 angiotensin계에 의한 생리 생화학적 기전으로 혈압을 상승시키는 기능을 한다.

고혈압의 직접적인 억제를 위하여 안지오텐신 전환효소의 활성을 억제할 수 있는 물질에 초점이 맞추어져 연구가 진행되어지고 있는데 식염의  $Cl^-$ 에 의하여 그 활성이 상승된다고 보고 되어졌으며(Joen *et al.*, 1996), 의약(Hwang *et al.*, 1999; Gin *et al.*, 1995), 화학공업(Kim *et al.*, 1992; An *et al.*, 2001) 등 다양한 분야에서 이온 교환 수지의 응용성에 대한 연구가 진행 중이다.

따라서 본 실험에서  $\beta$ -glucan 아민 유도체의 아미노기가 양이온 교환 수지로서 작용하여, 혈압상승에 관여하는  $Cl^-$ 를 흡착하여 ACE 활성을 저해하는 성질을 가질 것을 예상하여 이에 대한 검토를 수행하였고, 실험 결과에 의하여  $\beta$ -glucan 아민 유도체는 혈압저하 작용을 하는 물질로서 응용성에 대한 기초 자료를 제공하였다.

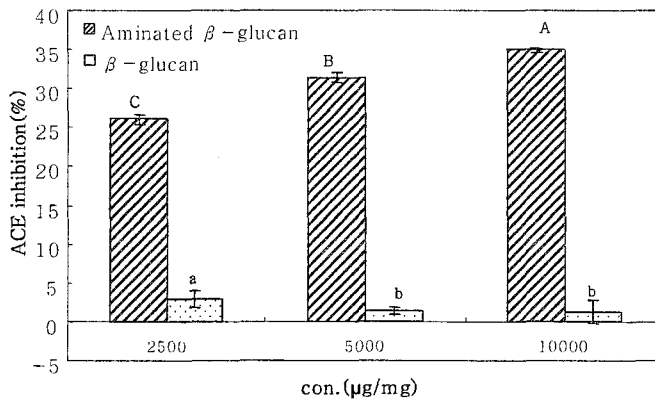


Figure 24. Inhibition of ACE with different amount of oat β-glucan and aminated oat β-glucan.

#### (4) 대식세포 활성화 측정 결과

Figure 25와 같이 시료농도에 따른 NO 생성능 측정 결과 β-glucan 과 β-glucan 아민 유도체에서 50 µg/mL로 가장 높은 NO가 측정되었다. 또한 β-glucan은 7 µM의 Nitric Oxide가 생성되었으나 β-glucan 아민 유도체는 18 µM의 Nitric Oxide가 확인되었으며, 100 µg/mL에서는 세포 독성이 작용하는 것으로 추정되었다. Kim & Jeon(1997)에 의하면 D-글루코사민(glucosamine)이 natural killer cell의 활성을 증가시킨다는 것이 이미 보고 되었기 때문에 D-글루코사민이 함유된 β-glucan 아민 유도체에도 이와 같은 효과가 발현될 가능성이 있을 것으로 사료되었다. 체내 이물질에 대해 초기 면역 반응을 담당하는 대식세포는 활성화와 함께 일련의 면역 반응을 유도한다. 대식세포는 *in vitro* 및 *in vivo* system에서 여러 가지 자극물에 의해 활성화 된다. 활성화 된 대식세포의 반응 질소 대사산물(RNI)의 생성은 최근에 밝혀진 결과로 NO가 대표적인 산물이다. L-arginine 의존성 대사산물인 NO는 활성화된 대식세포로부터 생성된다. 배양된 일차 폐포 대식세포를 통하여 NO를 측정함으로써 간접적으로 알아보고자 본 연구를 수행



하였고  $\beta$ -glucan 아민 유도체의 향상된 NO함량이 측정됨에 의해서 대식세포 활성화능력에 대한 가능성을 시사하였다.

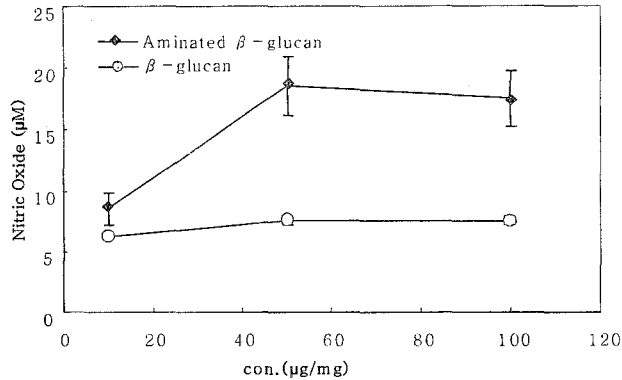


Figure 25. Production of nitric oxide from oat  $\beta$ -glucan and aminated oat  $\beta$ -glucan.

## 2) 황산화에 의한 결과

### (1) 담즙산 결합능 측정 결과

담즙산 결합능 결과는 Figure 26에서 보는 바와 같이 귀리  $\beta$ -glucan(11.4%)에 비하여 귀리 sulfated  $\beta$ -glucan(1.05%)의 담즙산 결합능이 미비하였는데, 이는 sulfate group이 음전하를 띠므로 bile acid 사이에 척력이 작용한 것으로 생각된다.

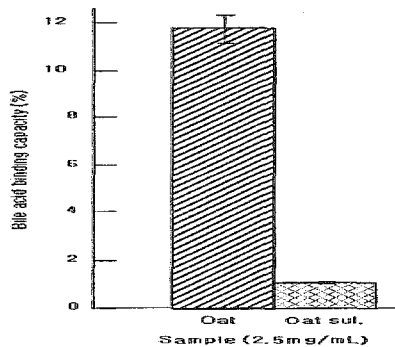


Figure 26. Bile acid binding capacity of oat  $\beta$ -glucan and sulfated oat  $\beta$ -glucan.

(2) 항응고 활성

심혈관계 질환을 유도하는 혈전의 생성을 방지하는 항응고성 물질로서 가장 광범위하게 사용되고 있는 heparin은 antithrombin III(AT III)과 결합함으로써 AT III의 항응고 활성을 증폭시켜 항응고 활성을 나타내는데 이 두 물질 사이의 결합 부위는 명확히 밝혀지지 않았으나 heparin의 negative charge 즉, 황산기와 AT III사이에서의 정전기적 상호결합(electrostatic interaction)이라고 보고 되고 있다(Kenneth, 1995).

따라서 heparin 계통의 항응고성 물질에 있어서 황산기는 필수적인 부분이며 그 함량에 따라 활성이 좌우 된다(Kim *et al.*, 1993). 항응고 활성 실험 결과(Figure 27)  $\beta$ -glucan 자체에는 항응고 활성이 없었으나, sulfated  $\beta$ -glucan에서 Tr값은 4.18로 활성이 증가하였는데, 이는 sulfate group 함량이 항응고 활성과 부의 관계가 있다는 보고와 일치하였다(Kim *et al.*, 1993).

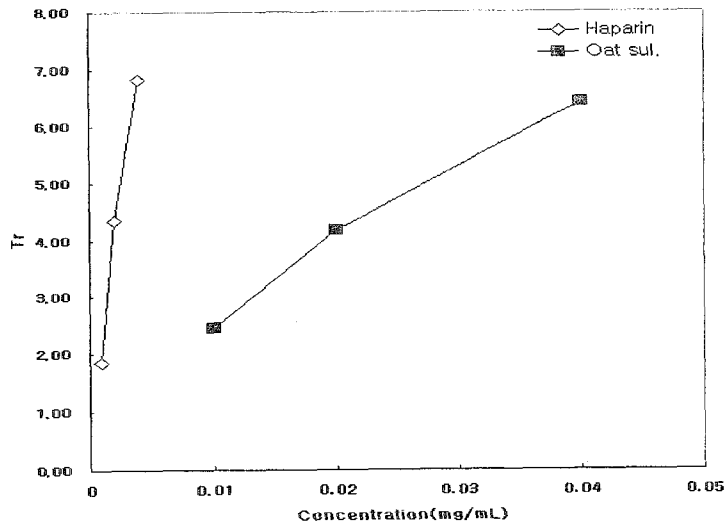


Figure 27. Anticoagulant Activity of sulfated oat  $\beta$ -glucan(■).

### 3) 선택적 산화에 의한 결과

#### (1) 담즙산 결합능

담즙산 결합능을 2.5 mg/mL의 농도에서 실시한 결과는 Figure 28에 나타내었다. 귀리  $\beta$ -glucan이 담즙산을 결합하는 능력이 4.24%인 반면 산화 귀리  $\beta$ -glucan은 10.50%로 약 2.5배가량 증가하는 결과를 보였다.

Pectin, guar gum (Park *et al.*, 1994)과 sodium alginate(Nishina *et al.*, 1991)와 같은 수용성 식이섬유가 콜레스테롤 저하 효과가 있으며, 불용성 식이섬유인 cellulose는 콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 않거나 도리어 콜레스테롤을 증가시키는 경향이 있다고 보고 되었다(Park *et al.*, 1994; Kang *et al.*, 1994; Nishina *et al.*, 1991). 따라서 본 연구에서는 산화 과정을 거친 귀리  $\beta$ -glucan이 수용성 향상으로 인해 gel을 형성하는 능력이 커짐으로서 담즙산과 결합하는 능력이 향상되고, 수용성이 향상된 산화물이 우수한 콜레스테롤 저하효과 보인 것으로 생각된다.

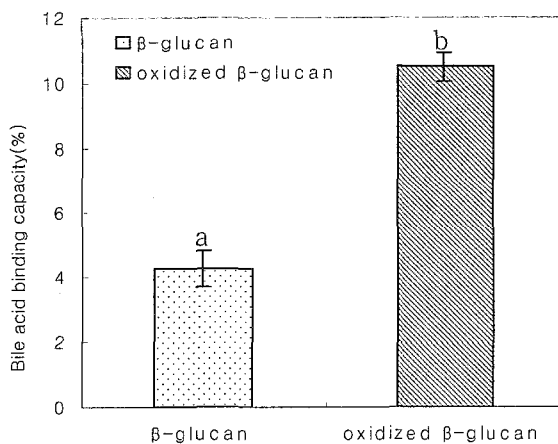


Figure 28. Bile acid binding capacity of oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan.

Mean  $\pm$  SEM, Means in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ )

#### 4. 요약

연구 결과, 귀리  $\beta$ -glucan의 다양한 구조적 변형에 의해 물성 및 생리활성이 증가한다는 사실을 알 수 있었다. 하지만, 아민화와 황산화 유도체의 경우 우수한 물성과 생리활성을 가지고 있음에도 불구하고, 구조적 변형에 의한 수율감소는 동물실험 및 제품개발에 어려움이 있다. 따라서 본 연구에서는 구조적 변형 후에도 분자량에 변화를 주지 않고 용해성 및 담즙산 결합능이 우수한 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 동물실험 및 식품개발에 응용하기로 하였다.

# 제3절 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 콜레스테롤 저하능(*in vivo*)과 식품 응용

## 제1항 재료 및 방법

1. 선택적 산화 귀리  $\beta$ -glucan 급여가 고 콜레스테롤 식이 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

### 1) 실험동물

실험동물은 생후 4주된 약(100±10 g)의 Wister rat 수컷을 (주)샘타코에서 분양받아 7일간 분말 사료로 적응 시킨 후 임의배치법으로 각 그룹당 8마리씩 고 콜레스테롤식이군(C), 귀리  $\beta$ -glucan식이군(BG), 산화 귀리  $\beta$ -glucan식이군(Oxi)으로 나누어 두 마리씩 대사장에 넣어 4주간 사육하였다. 사육기간 동안 식이와 물은 자유로이 공급하고, 사육실의 온도는 24±2°C를 유지시켰으며, 12시간 간격으로 명암을 조절하였다.

### 2) 식이조성

식이 조성은 Table 11에 나타내었다. 모든 실험 식이는 AIN96-G를 기본으로 하여 콜레스테롤이 1% 함유된 식이로 고 콜레스테롤을 유도하였으며, 고 콜레스테롤을 유도한 군은 대조군으로, 식이에 귀리  $\beta$ -glucan 5% 함유된 식이를 제공한 군은 BG군, 산화 귀리  $\beta$ -glucan이 5% 함유된 식이를 제공한 군은 Oxi군으로 하였다.

### 3) 체중 증가량, 식이 섭취량 및 에너지 효율

식이 섭취량은 매일 식이를 공급할 때마다 측정하였고, 체중 측정은 식이 섭취로 인한 일시적인 체중 변화를 막기 위하여 측정하기 1시간 전에 식이와 물을 제거한 후 일주일에 두 번 측정하였다. 식이 공급과

체중 측정은 매 측정 시 오후 2시에 실시하였다.

식이 효율(food efficiency ratio, FER)은 전 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 계산하였다.

Table 11. Composition of diets

	단위 mg(%)		
	C	BG	Oxi
Casein	200	200	200
L-Cystine	3	3	3
Corn starch	517.48	467.48	467.48
Sucrose	100	100	100
Cellulose	50	50	50
Soybean oil	70	70	70
t-Butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014
Mineral Mix S10022G	35	35	35
Vitamin Mix V10037	10	10	10
Choline Bitartrate	2.5	2.5	2.5
Cholesterol	10	10	10
Cholic acid	2	2	2
<b>β-glucan</b>		50	
<b>Oxidized β-glucan</b>			50
Total	1000	1000	1000

#### 4) 시료의 수집

##### (1) 혈액 및 간의 채취

4주간의 사육이 끝난 실험동물은 12시간 절식 후 dry ice로 마취시

켜 복부를 절개한 다음 심장에서 혈액을 채취하여 heparin 처리된 튜브에 담아 300×g에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고 지질 분석을 위해 실험 전까지 -70℃에 보관하였다. 혈액 채취 후 간에서 cholesterol과 triglyceride를 측정하기 위해 간을 떼어 내어 0.9% 생리 식염수로 씻은 후 무게를 측정한 다음 분석 시까지 -70℃에서 보관하였다.

## (2) 분의 수거

각 실험동물의 분은 희생 3일간 수거하여 분의 건 중량을 측정하고 -70℃ 냉동고에 보관하였다. 그 후 분석 전에 80℃ dry oven에서 24시간 동안 건조시켜 건 중량을 잰 후 분쇄하여 실험에 이용하였다.

## 5) 시료 분석

### (1) 혈액의 지질 성분

혈청 내 total cholesterol(TC) 및 triglyceride(TG)측정은 kit(아산 제약)을 사용하여 각각 500과 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 효소 비색법으로 정량하였다. 혈청 내의 HDL-C는 kit(아산 제약)를 사용하여 500 nm에서 농도를 측정하였다.

### (2) 간의 지질 성분 추출 및 분석

간의 지질 추출은 Folch 등(1957)의 방법을 이용하여 추출하였다. 즉 간 조직 1 g을 절단하여 10 mL chloroform:methanol mixture(2:1, v/v)과 2 mL의 증류수를 넣고 조직 균질기(tissue homogenizer)로 5분간 균질화하여, 3,000×g 에서 10분간 원심 분리하였다. cholesterol과 triglyceride을 함유하고 있는 하층액인 chloroform층을 감압건조 시킨 후 분석에 이용하였다. 간 중의 TG와 TC 함량은 혈청중의 지질성분 분석과 같은 방법으로 분석하였다.

### (3) 분 중의 지질 성분 및 담즙산 함량 측정

분의 TC과 TG의 분석에는 Folch 등(1957)의 방법을 이용하여 간과 동일한 방법으로 각종 지질을 분석하였다.

분변 내 bile acid는 변 1 g를 ethanol 40 mL을 가하여 3회 반복 추출하고, 일정량을 취해 ethanol을 제거하고 bile acid 측정용 kit (Wako Chemical Co., Japan)을 이용하여 측정하였다.

## 2. 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 식품 응용

### 1) 제면

#### (1) 실험재료

다목적용 1등급 중력분 밀가루(대한제분)를 구입하였으며, 소금은 순도 99% 이상의 정제염(한주 소금)을 사용하였다. 시료로 이용된 귀리  $\beta$ -glucan, 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan 및 밀가루는 18 mesh 체를 통과시켜 실험재료로 사용하였다(Lee and jung, 2003).

#### (2) 제조

밀가루 200 g에 소금 4 g를 녹인 물 80 mL을 가하고 실온에서 15분간 반죽하였다. 면대형성을 향상시키기 위하여 25℃에서 60분간 재우기를 한 후 수동식 제면기(Pastashule Mod-150, China)로 롤 간격 3단계(4.5 mm, 3.0 mm, 2.0 mm)로 조절하여 dough sheet를 형성하고 폭 4.0 mm, 두께 2.0 mm인 대조면(C-N)을 제조하였고(Lee, 1992; Lee and Jung, 2003), 귀리  $\beta$ -glucan(BG-N) 및 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan(Oxi-N)을 각각 밀가루에 1% 함량이 되도록 첨가한 후 대조면(C-N)과 같은 방법으로 제조하여 실험에 이용하였다.

#### (3) 국수의 호화 특성

귀리와 100%산화 귀리  $\beta$ -glucan의 호화특성 및 점성특성을 측정하기 위해 RVA(Rapid Viscosity Analyzer, Newport Scientific Pty,



Ltd., Warriewood, NSW, Australia)로 분석하였다(Choi *et al.*, 2003). 즉, 밀가루와 시료 복합분 3.5 g에 물 25 mL을 가한 후, 12°C/min의 속도로 교반과 동시에 50°C에서 95°C까지 가열하고 95°C에서 2.5분간 유지시켰다가 50°C까지 냉각시킨 후 50°C에서 2.5분간 유지시켜 반응을 종결시켰다.

#### (4) 국수의 조리 실험

국수의 중량은 50 g을 끓는 물(증류수) 500 mL에 넣고 6분간 조리 후 건져서 흐르는 냉수에 30초간 냉각시킨 후 10분간 물을 뺀 무게로 계산하였다. 국수의 부피는 50 g의 국수를 500 mL의 증류수를 담은 1 L의 mess cylinder에 담근 후 증가하는 물의 부피로 계산하였다. 조리면의 함수율은 삶아서 건져낸 국수를 10분간 물기를 제거한 후 측정된 국수의 중량에서 생면의 중량을 빼고 다시 생면의 중량으로 나누어 준 후 100을 곱해준 값으로 하였다(Lee and Jung, 2003).

#### (5) 국수의 색도

국수의 색도는 생면과 조리면을 세절한 후 표면 색도를 색차계(Chroma Meter DP-400, Minolta. Co., Japan)를 사용하여 5회 반복하여 측정하였으며 그 값은 Hunter's L(명도), a(적색도), b(황색도)값으로 표시하였다.

#### (6) 국수의 Texture 특성

면과 조리한 국수의 texture 특성은 texture analyzer(TA-XT2, Stable Microsystems Ltd., UK)를 사용하여 측정하였다. Table 12의 조건으로 직경 3.5 cm의 원형 probe를 사용하여 생면과 삶은 국수의 경도(hardness), 탄성(springiness), 응집성(cohesiveness), 검성(gumminess) 및 씹힘성(chewiness)을 측정하였다.

Table 12. The condition of texture measurement in raw noodle and cooked noodle containing with oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample size	5 cm
Prove	35 mm
Test speed	10.0 mm/sec
Post test speed	10.0 mm/sec
Pre test speed	5.0 mm/sec
Trigger type	20 g
Deformation	50%

## 2) 제빵

### (1) 실험재료

1등급 박력분 밀가루(대한제분), 설탕(대한제분)을 구입하였으며, 소금은 순도 99% 이상의 정제염(한주 소금)을 사용하였다. 시료로 이용된 귀리  $\beta$ -glucan, 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan 및 밀가루는 30 mesh 체를 통과시켜 실험재료로 사용하였다(Chun, 2003).

### (2) 스펀지 케이크의 제조

재료의 배합비는 Table 13과 같다. 달걀, 설탕, 소금을 첨가하여 저속에서 1분, 고속에서 4분, 중속에서 1분간 table mixer의 whipper를 사용하여 혼합, 2회 체질한 밀가루를 넣고 저속으로 1.5분간 혼합하고, 윗불 190℃, 아랫불 170℃ 오븐에서 30분간 구워 1시간 방치 후 실험에 사용하였다(Jeong and Shim, 2004). 귀리  $\beta$ -glucan(BG-B) 및 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan(Oxi-B)을 각각 밀가루 대비 1% 함량이 되도록 첨가한 복합분을 표준 스펀지 케이크(C-B) 제조법과 같은 방법으로 제조하였다.

(3) 스폰지 케이크의 호화 특성

귀리와 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan의 호화특성 및 점성특성을 측정하기 위해 RVA(Newport Scientific Pty, Ltd., Warriewood, NSW, Australia)로 분석하였다(Choi *et al.*, 2003). 즉, 밀가루와 시료 복합분 3.5 g에 물 25 mL을 가한 후, 12°C/min의 속도로 교반과 동시에 50°C에서 95°C까지 가열하고 95°C에서 2.5분간 유지시켰다가 50°C까지 12°C/min의 속도로 냉각시킨 후 50°C에서 2.5분간 유지시켜 반응을 종결시켰다.

Table 13. Formula For preparing sponge cakes added with oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

	Unit (g)		
	C-B <sup>1)</sup>	BG-B <sup>2)</sup>	Oxi-B <sup>3)</sup>
Flour	100	99	99
Egg	150	150	150
Sugar	120	120	120
Baking powder	0.5	0.5	0.5
Salt	1	1	1
$\beta$ -glucan	0	1	0
100% oxidized $\beta$ -glucan	0	0	1

<sup>1)</sup>C-B: sponge cake containing with control sponge cake

<sup>2)</sup>BG-B: sponge cake containing with oat  $\beta$ -glucan sponge cake

<sup>3)</sup>Oxi-B: sponge cake containing with selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

(4) 스폰지 케이크 특성

스폰지 케이크의 총 부피 지수(total volume index), 대칭성(symmetry)과 균일성(uniformity) 지수는 Bath 등(1992)의 방법으로 측정하였다.

(5) 스폰지 케이크 색도

시료를 1시간 동안 방냉 후, 스폰지 케이크의 crust와 crumb 부분의 표면을 색차계(Chroma Meter DP-400, Minolta Co., Japan)를 사용하여 5회 반복하여 측정하였으며 그 값은 Hunter's L(명도), a(적색도), b(황색도)값으로 표시하였다.

(6) 스폰지 케이크의 Texture 특성

Texture 특성은 Texture Analyzer (TA-XT2, Stable Microsystems Ltd., UK)을 사용하여 측정하였다. 시료는 1.5cm×1.5cm×1.5cm 크기로 잘라 직경 3.5 cm의 원형 probe를 사용하여 Table 14의 조건으로 스폰지 케이크의 경도, 탄성, 응집성, 검성 및 씹힘성을 측정하였다 (Chun, 2003).

Table 14. The condition of texture measurement in sponge cake with oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample size	1.5×1.5×1.5cm
Probe	35 mm
Test speed	5.0 mm/sec
Post test speed	5.0 mm/sec
Pre test speed	2.0 mm/sec
Trigger type	50 g
Deformation	50%

## 제2항 결과 및 고찰

1. 선택적 산화 귀리  $\beta$ -glucan 급여가 고 콜레스테롤 식이 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

1) 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율

본 실험에서 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은 Table 15와 같으며, 군 간의 유의적인 차이를 보이지 않았다.

본 연구 결과는 식이에 콜레스테롤 급여수준을 달리한 흰쥐에서 식이 효율 및 체중 증가량을 조사한 결과 군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다는 Lim 등(1985)의 연구와 콜레스테롤과 귀리  $\beta$ -glucan을 급여한 군의 흰쥐가 콜레스테롤과 일반 식이를 제공한 군과 체중차이가 없다고 보고한 Schrijver 등(1992)의 연구와 같은 경향을 보였다. 이와 같은 결과로 보아 콜레스테롤과 귀리  $\beta$ -glucan의 급여가 식이효율 및 체중증가에 큰 영향을 미치지 않는다고 할 수 있겠다.

2) 혈청 지질 성분

4주간의 실험식이 제공 후 혈청 지질 농도는 Table 16과 같다. 혈청 TC농도는 대조군이  $176.84 \pm 14.13$  mg/dL로 가장 높은 농도를 나타내고 Oxi군은  $139.89 \pm 11.35$  mg/dL 농도로 크게 감소하여 유의적( $p < 0.05$ )이었다. TG의 농도는 대조군, BG, Oxi군 순으로 점차 감소하였으며, 대조군이  $59.60 \pm 5.36$  mg/dL로 가장 높았고, Oxi군은  $41.15 \pm 5.56$  mg/dL의 농도로 대조군에 비해 크게 감소하여 유의적인 차이( $p < 0.05$ )가 있었다. 혈청 HDL-C은 모든 군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. LDL-C는 TC와 같은 경향을 보여 대조군에 비해 Oxi군에서  $105.52$  mg/dl로 가장 낮은 농도를 보였고 VLDL-C도 대조군에 비하여  $8.23$  mg/dL로 유의적인 차이로 감소하였다. 동맥경화 지수를 나타내는 AI는 HDL-C과 LDL-C의 비를 나타내는 것으로 모든 실험 군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 대조군에 비해 BG, Oxi군 순으로 감소

하는 경향을 보였다. 결과적으로 Oxi군이 대조군 보다 혈청 TC농도는 약 23%, TG의 농도는 약 21% 현저하게 감소하였다.

이상의 결과로 볼 때, 콜레스테롤 저하효과가 뛰어난 것으로 잘 알려진 귀리  $\beta$ -glucan(Hick *et al.*, 1995)을 급여한 BG군 보다 산화  $\beta$ -glucan이 첨가된 Oxi군이 혈청 콜레스테롤 저하 효과가 뛰어난 것을 알 수 있었다.

Table 15. Contents of food intake, body weight gain and food efficiency ratio in the experimental groups

Experimental groups	Contents				
	Intial	Final	Weight Gain	Food intake	Energy efficiency
Control	134.25±3.16 <sup>(ns)*</sup>	266.00±6.18 <sup>(ns)</sup>	131.75±7.52 <sup>(ns)</sup>	528.6±24.00 <sup>(ns)</sup>	0.25±0.20 <sup>(ns)</sup>
BG <sup>1)</sup>	136.13±2.28	281.13±7.64	147.00±6.35	542.25±4.57	0.27±0.10
Oxi <sup>2)</sup>	136.25±2.28	264.75±8.44	128.50±7.63	562.88±9.36	0.23±0.01

1)BG: oat  $\beta$ -glucan diets

2)Oxi: selective oxidized oat  $\beta$ -glucan diets

ns)not significant

\*Means ± SEM, Means in the same raw are significantly different by Duncan's multiple range test(p<0.05)

Table 16. Contents of total cholesterol, triglyceride, HDL-C, VLDL-C, LDL-C and AI in serum

Experimental group	Contents					
	Total cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	HDL-C (m/dL)	LDL-C (mg/dL)	VLDL-C	AI
control	6.84±14.13 <sup>ba</sup>	59.60±5.36 <sup>b</sup>	28.70±4.05 <sup>ns1</sup>	136.22±14.78 <sup>a</sup>	11.92±1.07 <sup>b</sup>	6.04±1.12 <sup>ns1</sup>
BG <sup>1)</sup>	169.01±8.26 <sup>ab</sup>	49.31±5.67 <sup>ab</sup>	29.08±1.77	130.06±8.03 <sup>a</sup>	9.86±1.13 <sup>ab</sup>	4.98±0.50
Oxi <sup>2)</sup>	139.89±11.35 <sup>a</sup>	41.15±5.56 <sup>a</sup>	26.14±1.83	105.52±12.63 <sup>a</sup>	8.23±1.11 <sup>a</sup>	4.65±0.74

1)BG: oat β-glucan diets

2)Oxi: selective oxidized oat β-glucan diets

ns)not significant

\*Means ± SEM, Means in the same raw are significantly different by Duncan's multiple range test(p<0.05)

### 3) 간의 지질 성분

산화 귀리  $\beta$ -glucan의 급여가 간 무게, TC, TG에 미치는 영향은 Table 17에 나타내었다. 간의 무게는 그룹간의 유의적인 차이( $p < 0.05$ )를 보였다. 각 군의 간 무게는 대조군  $14.09 \pm 0.53$  g과 BG군  $14.14.80 \pm 0.60$  g에 비해 산화 귀리  $\beta$ -glucan 식이를 제공한 Oxi군이  $12.79 \pm 0.53$  g으로 유의적인 차이로 감소하였다. ( $p < 0.05$ ) 이와 같은 결과는 1%의 콜레스테롤과 0.2% cholic acid로 고 콜레스테롤증을 유발시킨 군이 일반 식이를 제공한 군에 비하여 간의 무게를 증가시켰고, 수용성 식이섬유인 psyllium, gums, pectin을 제공한 군에서는 간의 무게가 감소하며, 혈청 및 간의 콜레스테롤 저하효과를 보인다는 (Anderson *et al.*, 1994)의 보고와 일치한다.

간 중 TC의 농도는 모든 실험 군에서 유의적인 차이( $p < 0.05$ )를 보였다. 간 1 g당 TC의 농도는 대조군  $14.02 \pm 1.43$  mg/g에 비해 BG군  $11.02 \pm 0.75$  mg/g, Oxi군  $7.31 \pm 0.66$  mg/g 의 농도로, 콜레스테롤을 유도한 C군에 비하여 각각 약 21%, 47%로 급격하게 감소하였다.

TG는 모든 실험 군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았지만, TC와 같이 대조군, BG, Oxi 군순으로 감소하는 경향을 보였다. 간 중의 콜레스테롤은 혈청의 지질 성분 분석 결과와 비슷한 경향이였다.

즉, TC 와 TG의 농도가 귀리  $\beta$ -glucan을 제공한 군보다 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 군에서 급격히 감소하였다. TC의 농도는 혈청에서 보다 간에서 그 차이가 현저하였는데, 수용성 식이섬유가 혈장 콜레스테롤 농도보다 간의 콜레스테롤 농도에 현저한 영향을 미친다는 Kang 과 Song(1997)의 보고로 미루어 보아 귀리  $\beta$ -glucan보다 수용성이 향상된 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 급여한 Oxi군에서 TC와 TG농도가 더욱 낮아진 것으로 생각된다.



Table 17. Contents of total cholesterol and triglyceride in liver

Experimental groups	contents		
	Liver (g)	Total cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
control	14.09±0.53 <sup>ab*</sup>	14.02±1.43 <sup>c</sup>	10.01±0.94 <sup>ns1</sup>
BG <sup>1)</sup>	14.80±0.60 <sup>b</sup>	11.02±0.75 <sup>b</sup>	9.42±0.57
Oxi <sup>2)</sup>	12.79±0.53 <sup>a</sup>	7.31±0.66 <sup>a</sup>	8.36±0.84

1)BG: oat β-glucan diets

2)Oxi: selective oxidized oat β-glucan diets

ns)not significant

\*Means ± SEM, Means in the same raw are significantly different by Duncan's multiple range test(p<0.05)

#### 4) 분의 배설량, 지질 성분 및 bile acid 함량

일일 분의 양과 분 중의 TC, TG와 bile acid 함량은 Table 18에 나타내었다. 분의 배설량은 대조군에 비하여 실험군에서 증가하는 경향을 보였다. 분의 1일 배설량은 Oxi군에서 TC와 TG의 배설량이 가장 뛰어났으며, TG의 농도는 대조군에 비하여 약 2.5배 이상의 배설능을 보였다. 분 중 TC의 함량은 대조군에 비하여 모든 실험군이 유의적으로 증가하였으며, Oxi군이 21.55 mg/day 로 가장 높은 값을 나타냈다.

TG의 함량도 역시 모든 실험군에서 유의적으로 증가하였으며, 대조군 0.38 mg/day과 비교하여 BG, Oxi 군이 각각 0.74, 0.97 mg/day의 농도로 증가함을 보였다. 특히 Oxi군은 대조군에 비하여 약 2배 이상의 TG를 배설하는 것을 알 수 있었다.

담즙산 배설량은 TC, TG와는 반대의 경향을 보였다. BG군이 5.23 mmol/day로 가장 많은 양을 나타냈으며, Oxi군은 대조군(4.10 mmol/day) 보다도 적은 3.17 mmol/day 의 배설량을 보였다.

*In vitro* 상에서 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan이 담즙산 결합능이 가장 우수했던 것과는 달리 분 중의 담즙산 농도는 Oxi군, C군, BG군 순으로 증가하였다. 귀리  $\beta$ -glucan의 콜레스테롤 저하효과는 강한 점성으로 인하여 체내의 담즙산을 흡착하여 분변으로 배설함으로써 혈청과 간의 콜레스테롤을 저하시킨다고 알려져 있는(Schrijver *et al.*, 1992) 것과 같이 본 실험에서도, BG군에서는 이와 같은 결과를 보였으나 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 급여한 군에서는 정반대의 결과를 보였다. 이러한 결과는 귀리  $\beta$ -glucan이 산화로 인하여 생성된 카르복실기에 의해 수용성 향상으로 점도가 저하되어 담즙산을 결합하는 능력이 저하된 것으로 추정된다.

식이섬유가 담즙산 배설능에 미치는 영향은 식이섬유의 종류에 따라 다양한 결과를 보여 주는데(Vahouny *et al.*, 1987), 체내 콜레스테롤 저하에 아무런 영향을 미치지 않거나 심지어 체내 콜레스테롤을 증가시키는 불용성 식이섬유 cellulose도 분의 담즙산 결합능을 증가시킨다고 보고 되었다. 이러한 보고들을 볼 때, 식이섬유 섭취에 의한 체내 콜레스테롤 농도 저하효과는 전적으로 담즙산 재흡수 저하에 의한 것은 아니며 중성지방과 콜레스테롤 외의 다른 영양성분의 흡수저하가 복합적으로 작용한 것으로 생각된다.

Anderson 등(1994)은 10가지 식이섬유급원들의 콜레스테롤 저하 효과를 1% 콜레스테롤과 0.2% cholic acid를 함유한 식이를 섭취한 흰쥐에서 비교하였을 때 수용성 식이 섬유인 psyllium이 가장 현저한 저하효과를 보였으며, 그 다음으로 oat, gum, guar gum, pectin이 높았다고 보고하였다. 그러나 불용성 식이섬유의 함량이 높은 rice bran이나 wheat bran 등은 콜레스테롤 저하효과가 없다고 보고하였다. 이러한 점을 종합해 볼 때, 수용성 식이섬유가 불용성 식이 섬유에 비하여 우수한 콜레스테롤 저하능을 가질 수 있다고 판단된다.

식이 섬유가 대장에서 발효될 때 생산되는 저급지방산들이 콜레스테롤 합성능을 저해하며(Nishina and Freedland, 1990; Chen and

Anmderson, 1979), 수용성 식이 섬유는 불용성 식이 섬유소에 비하여 단쇄 지방산(SCFAs)을 생성하는 능력이 크다고 보고 된 바 있다 (Goni and Martin-Caron, 1998). 따라서 산화 후 수용성이 약 3배가 향상된 산화 귀리  $\beta$ -glucan이 대장에서 단쇄 지방산을 생성하면서 콜레스테롤 합성능을 저해한다고 추측해 볼 수 있겠다.

Table 18. Contents of fecal weights, total cholesterol, triglyceride, bile acid in fecal

Experimental groups	Contents			
	Weight(g/day)	TC(mg/day)	TG(mg/day)	Bile acid (mmol/day)
Control	1.76±0.09 <sup>aa</sup>	13.24±1.93 <sup>a</sup>	0.38±0.07 <sup>a</sup>	4.10±0.27 <sup>ab</sup>
BG <sup>1)</sup>	1.93±0.14 <sup>ab</sup>	18.39±1.69 <sup>b</sup>	0.74±0.10 <sup>b</sup>	5.23±0.54 <sup>b</sup>
Oxi <sup>2)</sup>	1.97±0.15 <sup>ab</sup>	21.55±1.50 <sup>b</sup>	0.97±0.09 <sup>b</sup>	3.17±0.23 <sup>a</sup>

1)BG: oat  $\beta$ -glucan diets

2)Oxi: selective oxidized oat  $\beta$ -glucan diets

\*Means  $\pm$  SEM, Means in the same raw are significantly different by Duncan's multiple range test(p<0.05)

## 2. 선택적 산화 귀리 $\beta$ -glucan의 식품 응용

### 1) 제면

#### (1) 국수의 호화 특성

국수 제조 시 귀리  $\beta$ -glucan 및 산화 귀리  $\beta$ -glucan 첨가한 밀가루 복합분의 호화 특성을 분석한 결과는 Table 19와 같다.

호화 온도(pasting temperature)는 C-N이  $50.68 \pm 0.74^\circ\text{C}$ , BG-N이  $54.23 \pm 5.20^\circ\text{C}$ , Oxi-N이  $50.03 \pm 0.11^\circ\text{C}$ 로 나타나 귀리  $\beta$ -glucan의 첨가가 일반 밀가루에 비하여 호화온도를 높이지만, 산화 과정 후에 호화 온도를 낮추는 것을 알 수 있었다. 최고점도(hot peak viscosity)는 C-N  $3189 \pm 26.87$  cp에 비해 BG-N군이  $3613 \pm 113.8$  cp로 높게 나타난 반면 Oxi-N군은  $2779 \pm 38.89$  cp로 현저히 낮게 나타났다. 냉각점도(final viscosity) 또한 최고 점도와 같은 경향으로 BG-N이 가장 높은 점도를 나타내며 Oxi-N군이 가장 낮은 점도를 보였다. 전분의 전단력, 가열에 대한 내구력을 알 수 있는 breakdown은 C-N군  $1092 \pm 31.11$  cp에 비하여 BG-N군과 Oxi-N군이 각각  $1430 \pm 40.31$  cp와  $946 \pm 43.84$  cp로 귀리  $\beta$ -glucan을 1% 첨가한 복합분이 반죽의 내구성을 크게 해 주고, 산화 귀리  $\beta$ -glucan 1% 첨가한 복합분은 그 내구성을 떨어뜨리는 것으로 나타났다.

Set back값이 낮을수록 노화 현상이 천천히 일어남을 추정할 수 있는데 C-N에 비하여, Oxi-N이  $1409 \pm 34.65$  cp로 낮아졌고, BG-N은  $1533 \pm 53.74$  cp로 높은 값을 나타내었다.

실험결과 국수 제조 시 귀리  $\beta$ -glucan의 첨가는 반죽의 점성을 증가시키며, 열에 대한 내구력을 향상시키는 반면 노화를 빠르게 진행시켰다. 반면 산화 귀리  $\beta$ -glucan의 첨가 복합분은 카르복실기 생성으로 분자간의 반발력을 유도하여 분자간의 결합을 저지함으로서 gel 형성을 억제하여 점성을 감소시키며, set back값의 감소로 노화를 지연시키는 특징이 있는 것으로 확인되었다.

귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 복합분이 반죽의 점도를 향상시키고 대조

군보다 노화를 더 빠르게 진행 시키는 것은 귀리  $\beta$ -glucan이 갖는 큰 점성 때문이다. 이러한 결과는 보리에서 추출한  $\beta$ -glucan이 최고점도 및 냉각 점도를 상승시킨다는 Choi 등(2003)의 결과와 같았다. 또한, 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 복합분의 경우 대조군보다 산화 전분이 호화 점도를 감소시킨 것은 NaOCl로 산화를 유도한 옥수수 전분이 낮은 점성을 보인다는 보고(Han and Ahn, 2002; Wang and Wang, 2003)의 보고와 일치한다.

Table 19. RVA pasting profiles of flour mixed with oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Hot peak viscosity (cP)	Breakdown viscosity (cP)	Final viscosity (cP)	Setback viscosity (cP)	Pasting Temp (°C)	Temp. at max.visco. (°C)
C-N <sup>1)</sup>	3189±26.87	1092±31.11	3528±26.16	1431±31.82	50.68±0.74	95.05±0.07
BG-N <sup>2)</sup>	3613±113.8	1430±40.31	3716±100.4	1533±53.74	54.23±5.20	95.13±0.04
Oxi-N <sup>3)</sup>	2779±38.89	946±43.84	3243±29.70	1409±34.65	50.03±0.11	95.13±0.04

1)C-N: control noodle

2)BG-N: oat  $\beta$ -glucan noodle

3)Oxi-N: selective oxidized oat  $\beta$ -glucan noodle

## (2) 국수의 조리 특성

중력분 밀가루에 귀리  $\beta$ -glucan과 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 각각 1%씩 대체하여 제조한 국수의 조리특성을 실험한 결과 Table 20과 같다.

조리 후 국수의 중량은 C-N이 113.5 g, BG-N이 114.7 g, Oxi-N이 115.1 g으로 증가였으며 중량증가에 따라 부피, 함수율도 C-N에 비하여 BG-N, Oxi-N이 모두 증가하였다. 이와 같은 결과는 귀리  $\beta$ -glucan이 강한 점성으로 인하여 수분을 보유하려는 능력에 의한 것이

라 생각되며, 100% 산화된 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 국수의 중량이 더 증가한 것은 카르복실기 생성에 의해 용해성의 향상이 동반되어 나타난 결과라고 생각된다.

Table 20. Cooking properties of noodle containing oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Cooked weight(g)	Cooked volume(mL)	Water absorption(%)
C-N <sup>1)</sup>	113.52	108	125
BG-N <sup>2)</sup>	114.72	110	128
Oix-N <sup>3)</sup>	115.12	110	128

1)C-N: control noodle

2)BG-N: oat  $\beta$ -glucan noodle

3)Oxi-N: selective oxidized oat  $\beta$ -glucan noodle

### (3) 국수의 색도

국수의 색도를 측정 한 결과는 Table 21과 같다. 생면의 경우 명도를 나타내는 L값은 C-N군(78.3±0.08)에 비하여 BG-N군(79.60±0.25)과 Oxi-N군(81.42±0.16)의 값이 유의적으로 높아졌고(p<0.05), 적색도를 나타내는 a값은 그룹간의 차이가 없었다. 황색도를 나타내는 b값은 Oxi-N군이 C-N군에 비하여 낮아져 황색도가 감소하였다. 조리면의 L, a, b값은 조리 전의 생면보다 색도가 전체적으로 감소하였으며 조리 전과는 반대의 경향을 보였다. L값은 각각 C-N군(72.16±0.56), BG-N군(71.37±0.29) Oxi-N군(70.76±0.33)으로 낮아졌으며, b값은 C-N군(7.39±0.16), BG-N군(7.87±0.07), Oxi-N군(7.87±0.12)이었으며 a값은 유의적인 차이가 없었다(p<0.05).

국수의 색도는 조리전과 조리후가 반대의 경향을 나타내었다. 생면

의 경우, Oxi-N군이 적색도를 나타내는 a값에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 명도를 나타내는 L값과 황색도를 나타내는 b값은 대조군에 비하여 낮은 값을 보임으로 국수의 색이 밝아졌음을 확인하였지만, 조리 후 전체적인 국수면의 색이 어두워졌을 뿐 아니라, 반대로 대조군이 가장 높은 값으로 밝았고 그 다음 BG-N군 Oxi-N군 순이었다. Oxi-N군의 색도가 조리 전·후로 정반대의 경향을 보이는 것은 일반적으로 산화 전분이 열에 민감하며, 열에 노출되었을 때, 황색과 갈색으로 변하는 특성을 갖기 때문이다(Whistler *et al.*, 1984).

#### (4) 국수의 Texture 특성

귀리  $\beta$ -glucan과 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 생면과 조리면의 텍스처 측정 결과는 Table 22와 같다. 생면의 견고성은 BG-N군(1803.09 $\pm$ 81.4), Oxi-N군(1621.41 $\pm$ 68.34), C-N군(1451.59 $\pm$ 58.2) 순이었다. C-N군에 비해 BG-N군이 검성, 씹힘성이 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 하지만 Oxi-N군은 응집성, 검성, 씹힘성이 모두 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ).

조리면의 경우 견고성은 Oxi-N군(1172.03 $\pm$ 117.43)이 현저히 감소하여 가장 약한 강도를 보였다. 생면과 조리면의 경우 대조군에 비하여, 귀리  $\beta$ -glucan과 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가하여 제조한 국수가 견고성, 검성, 씹힘성이 향상되었는데, 이러한 결과는 Lee and Jung(2003)의 보리  $\beta$ -glucan 강화 국수의 텍스처 특성 중 견고성, 씹힘성이 높아진다는 보고와 일치하는데 이는 귀리  $\beta$ -glucan의 검성 때문인 것으로 생각된다. 그리고 생면에서는 Oxi-N군이 모든 면에서 높은 값을 나타내었지만, 조리 후 검성과 견고성, 씹힘성이 BG-N군보다 낮은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 국수를 삶는 조리 과정 중 물에 대한 용해성이 우수한 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan이 물을 흡수하여 국수가 풀어져 견고성이 낮아진 것으로 생각된다.

Table 21. Color values of noodles containing oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Raw			cooked noodle		
	L	a	b	L	a	b
C-N <sup>1)</sup>	78.3±0.08 <sup>ab</sup>	-1.72±0.02 <sup>a</sup>	19.16±0.10 <sup>b</sup>	72.16±0.56 <sup>b</sup>	-3.04±0.02 <sup>a</sup>	7.39±0.16 <sup>a</sup>
BG-N <sup>2)</sup>	79.60±0.25 <sup>b</sup>	-1.7±0.02 <sup>a</sup>	18.26±0.07 <sup>a</sup>	71.37±0.29 <sup>ab</sup>	-3.17±0.01 <sup>a</sup>	7.87±0.07 <sup>b</sup>
Oxi-N <sup>3)</sup>	81.42±0.16 <sup>c</sup>	-1.76±0.02 <sup>a</sup>	18.38±0.08 <sup>a</sup>	70.76±0.33 <sup>a</sup>	-3.16±0.03 <sup>a</sup>	7.87±0.12 <sup>b</sup>

1)C-N: control noodle

2)BG-N: oat  $\beta$ -glucan noodle

3)Oxi-N: selective oxidized oat  $\beta$ -glucan noodle

\*Means  $\pm$  SEM, Means in the same raw are significantly different by Duncan's multiple range test(p<0.05)



Table 22. Texture profiles of raw and cooked noodle containing oat  $\beta$ -glucan and 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness	
Raw noodle	C-N <sup>1)</sup>	1451.59±58.2 <sup>a*</sup>	0.52±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.00 <sup>a</sup>	392.42±47.73 <sup>a</sup>	202.85±10.06 <sup>a</sup>
	BG-N <sup>2)</sup>	1803.09±81.4 <sup>ab</sup>	0.51±0.01 <sup>a</sup>	0.26±0.00 <sup>a</sup>	462.99±24.93 <sup>ab</sup>	236.67±19.99 <sup>a</sup>
	Oxi-N <sup>3)</sup>	1621.41±68.34 <sup>ab</sup>	0.60±0.31 <sup>b</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>	534.12±14.31 <sup>b</sup>	315.06±25.95 <sup>b</sup>
cooked noodle	C-N	1603.33±2.98 <sup>b</sup>	0.53±0.00 <sup>a</sup>	0.27±0.00 <sup>a</sup>	430.28±13.4 <sup>a</sup>	227.18±9.11 <sup>a</sup>
	BG-N	2003.93±76.92 <sup>c</sup>	0.51±0.03 <sup>a</sup>	0.26±0.00 <sup>a</sup>	515.62±35.72 <sup>b</sup>	266.21±36.29 <sup>a</sup>
	Oxi-N	1172.03±117.43 <sup>a</sup>	0.66±0.04 <sup>b</sup>	0.37±0.02 <sup>b</sup>	418.34±26.28 <sup>a</sup>	281.06±38.23 <sup>a</sup>

1)C-N: control noodle

2)BG-N: oat  $\beta$ -glucan noodle

3)Oxi-N: selective oxidized oat  $\beta$ -glucan noodle

\*Means  $\pm$  SEM, Means in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ )

## 2) 제빵

### (1) 스펀지 케이크의 호화 특성

스푼지 케이크 제조 시 귀리  $\beta$ -glucan 및 산화 귀리  $\beta$ -glucan 첨가한 밀가루(박력분) 복합분의 호화 특성을 분석한 결과는 Table 23과 같다.

실험 결과 국수 제조 시 호화특성을 조사한 RVA 결과 전체적인 점도는 감소하였으나 경향은 같았다. 즉, 제면에서의 결과와는 다르게, 호화개시 온도에는 큰 차이가 없었지만, 최고점도(peak viscosity)와 냉각점도(final viscosity)는 Oxi-B군, C-B군, BG-B군 순으로 감소하였으며 가열에 대한 내구력을 나타내는 break down은 Oxi-B군  $661 \pm 7.07$  cp, C-B군  $882 \pm 12.30$  cp, BG-B군  $1238 \pm 31.82$ cp 로 증가하여 귀리  $\beta$ -glucan이 가장 큰 값을 나타냈다.

Set back 값은 C-B군이  $1516 \pm 17.43$  cp, 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 복합분이  $1609 \pm 5.66$  cp, 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 복합분이  $1416 \pm 2.12$  cp로 나타나 100% 산화 귀리  $\beta$ -glucan이 귀리  $\beta$ -glucan에 비해 낮은 값을 보였다.

스푼지 케이크 제조 시 사용한 박력분에 각 시료를 귀리  $\beta$ -glucan, 산화 귀리  $\beta$ -glucan이 각각 1% 되게 한 혼합분에서의 호화 특성은 국수 제조 시 중력분에 각 시료 1% 되게 한 복합분의 호화 특성과 같은 경향을 보였다. 다만, 전체적인 점도가 스푼지 케이크의 복합분이 더 낮게 나타났다. 이것은 중력분에 비하여 글루텐 함량이 적은 박력분이 낮은 점성을 나타냈으리라 생각된다.

### (2) 스펀지 케이크 특성

스푼지 케이크의 제조 후의 특성은 Table 24와 Figure 29에 나타내었다. 총 부피 지수는 C-B군에 비하여, BG-B의 케이크가 약간 증가하였고, Oxi-B 케이크는 감소하였다.

대칭성과 균일지수는 BG-B 케이크가 가장 고른 형태를 유지하였다.

귀리  $\beta$ -glucan이 1%가 되도록 하여 제조한 스펀지 케이크가 대칭성과 균일지수가 높은 것으로 나타났는데, Lee(1992)의 보고와 일치한다. Bhatt(1986)는 보릿가루가 밀가루의 gluten을 희석하는 원인이 되고 이것이 gas 형성능을 방해하여 빵의 부피를 감소시킨다고 하였다. 본 연구 결과는 정제된 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 식빵이 부피 향상 및 제빵 특성에 좋은 효과를 증진시킨다는 Lee(1992)의 보고에 따라 이와 같은 결과를 보인 것으로 생각된다.

Table 23. RVA pasting profiles of flour mixed with oat  $\beta$ -glucan and selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Peak viscosity (cp)	Breakdown viscosity (cp)	Final viscosity (cp)	Setback viscosity (cp)	Pasting Temp (°C)	Temp. at max.visco. (°C)
C-B <sup>1)</sup>	2843±21.10	882±12.30	3477±20.09	1516±17.43	49.95±10.21	95.1±10.3
BG-B <sup>2)</sup>	3293±62.23	1238±31.82	3663±24.75	1609±5.66	50.58±0.67	95.1±0.00
Oxi-B <sup>3)</sup>	2400±38.18	661±7.07	3155±28.99	1416±2.12	50.55±0.64	95.12±0.04

1)C-B: control sponge cake

2)BG-B: oat  $\beta$ -glucan sponge cake

3)Oxi-B: selective oxidized oat  $\beta$ -glucan sponge cake

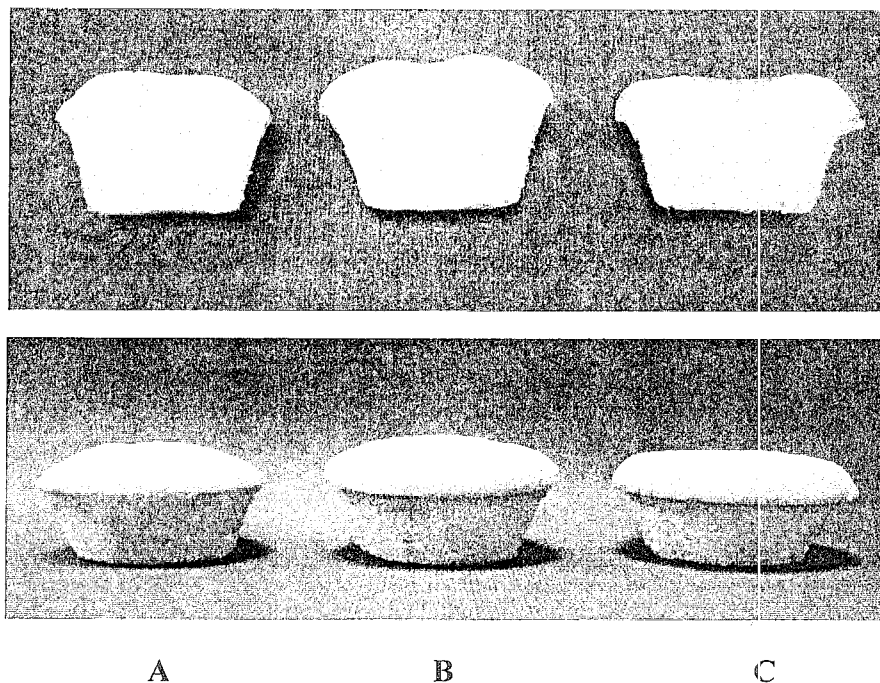


Figure 29. Photography of Sponge cake containing oat  $\beta$ -glucan and 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan.

(A) control, (B) containing with oat  $\beta$ -glucan and (C) containing with selective oxidized oat  $\beta$ -glucan

Table 24. Physicochemical properties of sponge cake containing oat  $\beta$ -glucan and 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Total volume index	Symmetry index	Uniformity index
C-B <sup>1)</sup>	34.3	0.5	0.3
BG-B <sup>2)</sup>	34.8	0	0
Oxi-B <sup>3)</sup>	32.9	0.8	0.2

1)C-B: control sponge cake

2)BG-B: oat  $\beta$ -glucan sponge cake

3)Oxi-B: 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan sponge cake

Table 25. Color value properties of sponge cake containing oat  $\beta$ -glucan and 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Crumb			Crust		
	L	a	b	L	a	b
C-B <sup>1)</sup>	69.18±0.4 <sup>b*</sup>	5.55±0.577 <sup>a</sup>	28.07±0.14 <sup>b</sup>	82.26±0.55 <sup>b</sup>	-2.93±0.06 <sup>a</sup>	22.88±0.18 <sup>b</sup>
BG-B <sup>2)</sup>	69.34±0.68 <sup>b</sup>	5.46±0.99 <sup>a</sup>	28.08±0.75 <sup>b</sup>	80.02±0.32 <sup>a</sup>	-2.64±0.04 <sup>b</sup>	22.04±0.12 <sup>a</sup>
Oxi-B <sup>3)</sup>	65.31±0.76 <sup>a</sup>	8.18±0.801 <sup>b</sup>	26.34±0.11 <sup>a</sup>	80.97±0.87 <sup>ab</sup>	-2.65±0.05 <sup>b</sup>	21.96±0.26 <sup>a</sup>

1)C-B: control sponge cake

2)BG-B: oat  $\beta$ -glucan sponge cake

3)Oxi-B: 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan sponge cake

\*Means  $\pm$  SEM, Means in the same raw are significantly different by Duncan's multiple range test(p<0.05)

### (3) 스펀지 케이크의 색도

Oxi-B 스펀지 케이크의 색도는 Table 25에 나타내었다. 외부(crust)의 L값은 C-B에 비하여 BG-B과 Oxi-B 스펀지 케이크의 색이 어두워졌으며, 두 시료간의 차이는 없었지만, Oxi-B 군이 더 낮은 값을 보였다. a값과 b값도 역시 대조군과 비교하여 감소하였다.(p<0.05) 내부(crumb)의 L, a, b 값은 외부도 역시 비슷한 경향을 보여, 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 군이 더 어두운 경향을 나타내었다.

스펀지 케이크 제조 후의 색도 역시 조리면과 같은 경향을 보였다. Oxi-B군은 대조군에 비하여, 갈색이 더욱 짙어진 것을 육안으로도 확인할 수 있었는데 설탕에 의한 카라멜화 반응과 산화물이 180°C의 고온에 노출되면서 갈색화가 더욱 뚜렷해진 것으로 생각된다.

### (4) 스펀지 케이크의 Texture 특성

귀리  $\beta$ -glucan과 산화 귀리  $\beta$ -glucan을 첨가한 스펀지 케이크의

texture 특성은 Table 26과 같다. 스폰지 케이크의 견고성과 검성은 BG-B, C-B, Oxi-B 순으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 검성은 씹힘성, 탄성 등은 그룹간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. Suh 등(2001)은 산화 셀룰로오스를 첨가한 레이어 케이크가 대조군보다 단단한 정도는 낮고, 촉촉한 정도는 더 크다고 보고하였는데 본 실험 결과와 같은 경향을 보였다.

Table 26. Texture profiles of sponge cake containing oat  $\beta$ -glucan and 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan

Sample	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
C-B <sup>1)</sup>	435.14±28.67 <sup>a*</sup>	3.54±0.82 <sup>a</sup>	0.85±0.01 <sup>a</sup>	370.38±19.80 <sup>a</sup>	1478.99±68.08 <sup>a</sup>
BG-B <sup>2)</sup>	509.93±18.37 <sup>b</sup>	4.0±0.15 <sup>a</sup>	0.85±0.3 <sup>a</sup>	436.54±16.69 <sup>b</sup>	1570.08±381.58 <sup>a</sup>
Oxi-B <sup>3)</sup>	398.91±12.91 <sup>a</sup>	4.20±0.21 <sup>a</sup>	0.88±0.02 <sup>a</sup>	350.53.62±4.54 <sup>a</sup>	1474.78±86.79 <sup>a</sup>

1)C-B: control sponge cake

2)BG-B: oat  $\beta$ -glucan sponge cake

3)Oxi-B: 100% oxidized oat  $\beta$ -glucan sponge cake

\*Means  $\pm$  SEM, Means in the same raw are significantly different by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ )

## 제4장 목표달성도 및 관련 분야에의 기여도

### 제1절 목표달성도

- 본 연구는 귀리의 생리활성 성분을 분리하는 방법을 확립하고, 기능성 다당류인  $\beta$ -glucan의 분자량 및 구조를 조절하는 방법을 통하여 다양한 크기 및 형태의  $\beta$ -glucan을 얻을 수 있다는 장점이 있어 기존의  $\beta$ -glucan의 한계를 극복하고자 하며 또한 구조적 변화에 의한 다양한  $\beta$ -glucan의 생산으로 새로운 분야의 학문적 기초 자료를 제공하고자 수행하였다.
- 기능성 다당류인 귀리  $\beta$ -glucan의 분자량 및 구조를 조절하고자 ultrasonication으로 분자량 조절, 아민화, 황산화, 선택적 산화 방법으로 구조 변화를 시도하였다.
- 각 구조변화물의 분자량 및 구조 변화를 확인하였고, 이들 구조변화물이 본래의 귀리  $\beta$ -glucan보다 생리활성(*in vitro*)이 극대화됨을 알 수 있었다.
- 분자량에는 변화를 주지 않으면서 용해성 및 담즙산 결합능이 우수한 선택적 산화  $\beta$ -glucan의 생리활성(*in vivo*)과 가공적성을 조사하였다.
- 따라서 본 연구는 계획시 기대한 연구 목표를 달성하는데 무리 없이 이루어졌다고 생각된다.

### 제2절 기여도

#### 제1항 기술적 측면

- 본 연구는 귀리의 생리활성 성분을 분리하는 방법을 확립하고, 대량 생산을 위한 기초 자료를 제공한다. 또한 기능성 다당류인  $\beta$ -glucan의 분자량 및 구조를 조절하는 방법을 통하여 다양한 크기

및 형태의 을 얻을 수 있다는 장점이 있어 기존의  $\beta$ -glucan의 한계를 극복할 수 있다. 또한 구조 변화에 의한(아민화, 황산화, 산화) 다양한  $\beta$ -glucan의 생산은 새로운 분야의 학문적 기초 자료를 제공할 수 있다.

- 최적의 생리활성을 갖는  $\beta$ -glucan의 구조를 분석하여 과학적인 기초 자료를 제공하고 또한 구조 변화에 따른 생리활성 증진을 통해  $\beta$ -glucan의 상업화에 이바지하고자 한다.
- 따라서 결과물은 식품 및 의약품 소재로 이용이 가능하다. 식품분야에서는 제조된  $\beta$ -glucan을 물성 및 생리활성을 고려하여 기능성 식품이나 식품첨가제 등으로 활용이 기대되며, 의약분야에서는 항암제 및 항암보조제, 기타 의약품 보조제로서 효과가 있는 소재로의 개발이 가능할 것으로 기대된다. 나아가 귀리의 수요증대에 따른 농가소득 향상에 크게 기여할 것으로 생각된다.

## 제2항 경제 산업적 측면

- 소비자들의 귀리 생리활성 효과(cholesterol 저하 효과, 당뇨병 완화 효과) 인식으로 증가추세에 있는 귀리 재배면적의 증대, 생산량 증대 및 안정적 판로 확보(기능성 식품류 원료 공급)로 농가소득의 증대를 가져온다.
- 기능성(functionality)과 생리활성을 강화시킨 고품위의 제품 개발 능력 확보 및 품질관리 기술축적의 기회를 제공하며, 소비자의 기호를 충족시킬 수 있는 맛, 영양성, 질감 등의 개선이 다각적으로 이루어짐으로써 내수용뿐만 아니라 수출로의 가능성도 기대할 수 있다.



## 제5장 연구개발결과의 활용계획

### ◎ 국내 특허 출원

1. 생리활성이 증강된 아미노화 베타-글루칸.  
한국. 출원번호: 10-2004-0028791 (출원일자: 2004년 4월 26일)
2. 산화 귀리 베타-글루칸의 제조방법.  
한국. 출원번호: 10-2005-0016661 (출원일자: 2005년 2월 28일)
3. 아미노화 베타-글루칸의 식품보조제.  
한국. 출원번호: 10-2005-0085409 (출원일자: 2005년 9월 13일)

### ◎ 국내외 학술지 발표

1. Physicochemical properties and biological activities of aminated-derivatized oat  $\beta$ -glucan. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(14):5554-5558 (2005)

### ◎ 국내외 학술대회 발표

1. 귀리  $\beta$ -glucan의 함량 및 분자량 변화에 따른 담즙산 결합능. 2003년 한국식품과학회 학술심포지움 및 학술대회 초록집 P7-82, 경주, Jun 25th (2003)
2. 귀리 베타글루칸의 아민화 변형에 따른 생리활성 특성. 2004년 한국식품과학회 학술심포지움 및 학술대회 초록집 P6-55, 용평, Jun 24th (2004) (한국식품과학회 제71차 학술대회 우수상 수상)
3. 귀리  $\beta$ -glucan의 선택적 산화정도에 따른 구조 및 특성. 2005년 한국식품과학회 학술심포지움 및 학술대회 초록집 P11-035, 서울 Jun 15-17th (2005)

4. Modification of oat beta-glucan by reductive amination and its characterization. 2005 IFT Annual Meeting, New Orleans, USA. July 15-20th (2005)
5. 귀리  $\beta$ -glucan의 선택적 산화가 흰쥐에서 콜레스테롤 대사에 미치는 영향. 2005년 한국식품영양과학회 학술심포지움 및 학술대회 초록집, 용평, Oct 19-21st (2005)

- 복잡하고 다양한 귀리  $\beta$ -glucan의 구조 변형 방법 및 구조 분석 방법과 다양한  $\beta$ -glucan 구조의 생리활성 및 물성 분석법을 통한 구조-물성-생리활성 간의 연관성 확립은 그 외의 곡류 및 기타 식품의 생리활성 성분에도 응용이 가능하다.
- 식품 속 생리활성 성분의 화학적 처리에 의한 최적의 생리활성 및 물성조절 첨가제 응용 가능성으로 고부가가치가 있는 기능성 식품 제품 개발 자료로 제공할 수 있다.
- 귀리  $\beta$ -glucan의 심혈관계 및 당뇨병 질환 예방 및 치료를 위한 기초자료 및 의약품 개발에 활용할 수 있다.
- 또한 귀리의 가공 응용성 및 고부가가치를 향상시킴으로써 농가소득 및 식품가공업자들의 소득증대와 국민건강 증진에도 기여하고자 한다.

## 제 6 장 참 고 문 헌

An, H.J., Kim, M. and Nam, S.T., Kim, B.S. Adsorption characteristics of phenol from aqueous solution by anion exchange membranes. *Applied Chemistry*, 5(2): 32-35 (2001)

Anderson JW, Jones AE, Riddell-Mason S. Ten dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol fed rats. *J. Nutr.* 124: 78-82 (1994)

AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. (1990)

Anderson JW, Story L, Sieling B, Sieling WJL, Petro MS, Story J. Hypocholesterolemic effects of oat bran or bean intake for hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 40: 1146-1155 (1984)

Bae, H.S. Binding behavior of cationic surfactant to chitosan-based polyelectrolyte. *Journal of the Korean Fiber Society.* 38(4): 182-192 (2001)

Bae, J.H., Yoo, Y.C., Lee, C.K., Kwak, S.T., Seo, E.Y., Moon, E.H., and Lee, K.B. Antiviral and anticoagulant activity of sulfoalkyl derivatives of curdlan. *Korean J. Lab Anin. Sci.* 17(2): 119-124 (2001)

Bath DE, Shelke K, Hoseney RC. Fat replacer in high-ratio layer

cake. Cereal Food World 37: 495-500 (1992)

Bowles RK, Morgan KR, Furneaux RH, Coles GD. <sup>13</sup>C CP/MAS NMR study of interaction of bile acids with barley β-glucan Carbohydrate Polymers 29: 7-10 (1996)

Boyd GS, Eastwood MA, MacLean N. Bile acids in the rat: studies in experimental occlusion of the bile duct. J. Lipid Research 7: 83-87 (1996)

Chang PS, Cho GB, Kang SC, Kim DM. Optimization of the conditions for the oxidation of primary alcohol groups of β-cyclodextrin by response surface methodology. Food Sci. Biotech. 8: 38-42 (1997)

Chang PS, Cho GB. Oxidation of primary alcohol groups of polysaccharides with 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidine oxoammonium ion. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 446-451 (1997)

Chang PS, Robyt JF. Oxidation of primary alcohol groups of naturally occurring polysaccharides with 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidine oxoammonium ion. J. Carbohydr. Chem. 15: 819-830 (1996)

Chen WL, Anderson JW. Effects of guar gum and wheat bran on lipid metabolism in rats J. Nutr. 109: 1028-1034 (1979)

Cho, H.T.; Lee, J.D., Cho, J.J. and Kim, N.S. Cationization of Cellulose and Its Applications (1)-Cyanoethylation of Cellulose and

aminization by reduction. Journal of the Korean Society of Textile Engineers and Chemists. 25(6): 465-472 (1988)

Choi HD, Seog HM, Kim SR, Park YG, Lee CH. Effect of  $\beta$ -glucan on gelatinization of barley starch. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 545-550 (2003)

Chun SS. Development of functional sponge cakes with onion powder. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 62-66 (2003)

Cushman, D.W. and Cheung, H.S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharm. 20: 1637-1640 (1971)

De nooy, AEJ, Besemer AC, Van Bakkum H. Highly selective nitroxyl radical-mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans. Carbohydr. Res. 269: 89-98 (1995)

Farias, W.R.L., Valente, A.P., Pereira, M.S. and Mourao, P.A.S. Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans. J. Biol. Chem. 275: 29299-29307 (2000)

Fincher GB, Stone BA. In 'Advances in cereal science and technol, Pomeranz, Y. ed Vol. VIII, Chap. 5 AACC Inc., MN, U.S.A. (1986)

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509 (1957)

Franz, G. and Alban, S. Structure-activity relationship of antithrombotic polysaccharide derivatives. *Int. J. Bio. Macromol.* 17: 311-314 (1995)

Gao, Y., Fukuda, A., Katsuraya, K., Kaneko, Y., Mimura, T., Nakashima, H. and Uryu, T. Synthesis of regioselective substituted curdlan sulfateds with medium molecular weights and their specific anti HIV-1 activities. *Macromol.* 30: 3224-3228 (1997)

Gill S, Vasathan T, Ooraikul, Rossnagel B. Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extrude forms. *J. Cereal Sci.* 36: 219-237 (2002)

Goni I, Martin-Carron N. *In vitro* fermentation and hydration properties of commercial dietary fiber-rich supplements. *Nutr. Res.* 18: 1077-1089 (1998)

Han JS, Ahn SY. Physicochemical properties of corn starch oxidized with sodium hypochlorite. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 189-195 (2002)

Hebeish A, Thalouth AE, Refai R, Ragheb A. Synthesis and characterization of hypochlorite oxidized starches. *Starch* 41: 293-298 (1989)

Hicks V, Chen SC, Tepper SA. The cholesterol-lowering effect of oat bran cereals in rats: Influence of processing *J. Nutr. Biochem.* 6: 246-249 (1995)

Hong, S.P., Kim, M.H. and Oh, S.W. ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosan oligosaccharides in SHR. Korean J Food Sci. Technol. 30(6): 1476-1479 (1998)

Huang, R., Du, Y., Yang, J., and Fan L. Influence of functional group on the vitro anticoagulant activity of chitosan sulfate. Carbohydrate Research. 338: 483-489 (2003)

Hwang, Y.S., Lee, K.T. and Seo, S.H. In vitro controlled release of piracetam with coated ion-exchange resin. J. Kore. Pharm. Sci. 29(2): 105-109 (1999)

Jeon, Y.J. and Lee, Y.H. and Kim, S.K. Bioactivities of chitin and chitosan (1) - antimicrobial function, hypertension control function and cholesterol control function-. Korean Journal of Chitin and Chitosan. 1(1): 4-13 (1996)

Jeong CH, Shim KH. Quality characteristics of sponge cakes with addition of *Pleurotus eryngii* mushroom powders. J. Korean Soc. Food Sci. Nutri. 33: 716-722 (2004)

Jiang B, Drouet E, Milas M, Rinaudo M. Study on tempo-mediated selective oxidation of hyaluronan and the effects of salt on the reaction kinetics. Carbohydr. Res. 327: 455-461 (2000)

Jin, C.W., Kim, C.H. and Choi, K.S. A study on binding of cholate and deoxycholate anion by modified chitosan in vitro. J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry. 6(3): 482-491 (1995)

Kagan, E., Oshiso, Y. and Hartmann, D. P. The effects of chrysotile and crocidolite asbestos on the lower respiratory tract: analysis of bronchoalveolar lavage constituents. *Environ. Res.* 32: 382-397 (1983)

Kang HJ, Shu MJ, Kim EH, Song YS. Effects sodium alginate and cellulose on fasting plasma lipoprotein composition and cholesterol metabolism. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23: 879-886(1994)

Kang HJ, Song YS. Dietary fiber and cholesterol metabolism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 358-369 (1997)

Kengo, T., Wataru, I. and Takenasa, K. Ultrasonic degradation of schizophyllan, an antitumor polysaccharide produced by *Schizophyllum commune* fries. *Carbohydrate Research.* 89: 121-135 (1981)

Kenneth, A.B. Natural anticoagulant and the prethrombotic state. *Blood: Principles and practice of hematology.* J.B. Lippincott company, philadelphia. P.1319-1332 (1995)

Kim, B.S., Jung, I.D., Kim, J.S., Lee, J.H., Lee, I.Y. and Lee, K.B. Curdlan gels as protein drug delivery vehicles. *Biotech. Lett.*, 22: 1127-1130 (2000)

Kim, J.T., Kim, H.W. and Kim, M.C., Lee, J.R. CO adsorption in cation exchanged zeolite A and Mordenite. *Journal of the Koean Chemical Society.* 36(1): 137-146 (1992)

Kim, M. O., Cha, H. S., and Koo, S. J. Studies on rheological



characterization of barley  $\beta$ -glucan [mixed-linked (1-3)(1-4)- $\beta$ -D-glucan]. Korea J. Food Sci. Technol. 25(1): 15-21 (1993)

Kim, S.K. and Joen, Y.J. Bioactivities of chitin and chitosan (II). Korean Journal of Chitin and Chitosan. 2(1): 3-14 (1997)

Klofenstein CF. The role of cereal  $\beta$ -glucans in nutrition and health. Cereal Foods World 10: 865-870 (1988)

Lee SW, Park HC, Her ES. Statistic and data Analysis method. pp.253-296 Hyoil Press, Seoul, Korea (1998)

Lee YT, Chang HK. Effects of waxy and normal hull-less barley flours on bead-making properties. Korean J. Food Sci. 35: 918-923 (2003)

Lee YT. Beta-glucans from hull-less barley: Isolation, chemical characterization, and utilization as a food gum. Ph.D. thesis, North Dakota state university , USA (1992)

Lee YT, Jung JY. Quality characteristic of barley  $\beta$ -glucan enriched noodles. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 405-409 (2003)

Lee, J.K. Structural modification of polysaccharide for the improvement of functionality. Ph.D.Dissertation, Deptment of Biological Sciences Korea Advanced Institute of Science and Technology (1998a)

Lee, S.W., Park, H.D. and Her, E.S. Stastics and Data Data Analysis Methd. Hyoil press, Seoul, 253-296 (1998b)

Lia A, Andersson H, Mhkki N, Juhel C, Senft M, Lairon D. Postprandiallipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. Am. J. Clin. Nur. 66: 357-365 (1997)

Lim HS, Won HR, Kim KN, Han IK. Effects of levels of dietary cholesterol on plasma cholesterol, lipoprotein fraction and cholesterol concentration of tissues. Korean J. Nutr. 18: 83-89 (1985)

Lim SK, Chang PS, Kang SC. The oxidized beta-cyclodextrin with enhanced solubility, its process. Korea patent. 10-0279330-0000 (2000)

Mitchell. J.R. and Ledward, D.A.(eds.), "Functional properties of food macromolecules", Elsevier Applied Science Publisher, London (1986)

Nevell, T.P. and Zeronian, S.H.(eds.), In "Cellulose chemistry and its applications", Ellis Harwood, New York (1985)

Nicolai, B. and Werner, M.K. Pheological studies of barley (1→3)(1→4)-β-glucan in concentrated solution mechanistic and kinetic investigation of the gel formation. Carbohydrate research. 315; 302-311 (1999)

Nishina PM, Schneeman BO, Freedland RA. Effects of dietary fibers

on nonfasting plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in rats J. Nutr. 121: 431-437 (1991)

Oh, I.K. The study of characteristics on levan polymer from different microorganisms and molecular weights. MS thesis, Department of Food and Nutrition The Graduate School Hanyang University.

Park SH, Lee YK, Lee HS. The effects of dietary fiber feeding on gastrointestinal functions and lipid and glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J. Nutr. 27: 311-322 (1994)

Peraman and Hadden, G., Analysis of insoluble mixed-linked (1→3),(1→4)-β-D-Glucans in barley and oats. J. Agric. Food Chem., 35: 704 (1987)

Schrijver RD, Fremaut D, Verheyen A. Cholesterol lowering effects and utilization of protein, lipid, fiber and energy in rats fed unprocessed and baked oat bran. J. Nutr. 122: 1318-1324 (1992)

Seo, K.L., Kim, D.Y. and Yang. S.I. Studies on the antimicrobial effect of Wasabi extracts. Korean J. Nutrition. 28(11): 1073-1077 (1995)

Stenley, F., Osman and Peter, D., Hoagland. A sequencing method for the reductive-amination derivative of oligo- and poly-saccharides. Carbohydrate Reserch. 128: 361-365 (1984)

Sugano, M., Fujidawa, T., Hiratruji, Y., Nakasima, K., Fukuda, N. and Hasefawa, Y., Am. J. Clin. Nutr., 33: 787 (1980)

Suh DS. Reaction and physicochemical properties of corn starch and cellulose oxidized with TEMPO. Ph.D. thesis. Ewha Womans University, Seoul, Korea (2001)

Suh DS, Chang PS, Kim KO. Physicochemical and sensory characteristics of layer cake containing selectively oxidized cellulose. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 216-220 (2001)

Vahouny GV, Khalafi R, Satchithanandam S, Watkins DW, Story JA, Classid MM and Kntchevsky D. Dietary fiber supplementation and fecal bile acids, neutral steroid and divalent cations in rats. J. Nutr. 177: 2009-2015 (1987)

Whistler RL, BeMiller JN, Paschall EF. Starch derivatives: Production and used pp. 312-325 In: Starch : Chemistry and Technology, Academic Press, Orlando, Florida, USA. (1984)

Wood PJ, Branten JT, Scott FW, Riedal KD, Wolynetz MS and Collins MW. Effect of doses and modification of viscous properties of oat gum on blood glucose and insulin following as oral glucose load. Brit. Nutr. 72: 713-743 (1994)

Wang YJ., Wang L. Physicocemical properties common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. Carbohydr. Polymers, 52:207-217 (2003)

Yalpani, M. Processes for the preparation branched, water soluble cellulose products. US Patent Number 4,531,000 (1985)

Yang JL, Suh MJ, Song YS. Effects of dietary fibers on cholesterol-fed rats. J. Korean Soc. Food Nutr. 25: 392-398 (1996)