GOVP1200100690

6641
L293ㅈ

최 종
연구보고서

전곡립(Whole grains)을 이용한 기능성 식품개발 및 생리활성 연구

Development of Functional Foods Using Whole Grains and Their Physiological Activities

연구기관
연 세 대 학 교

농 림 부

2015/11/10 17:08-운영지원과/허민지

자료출처 : 전곡립(Whole grains)을 이용한 기능성 식품개발 및 생리활성 연구 / 농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “전곡립(Whole grains)을 이용한 기능성 식품개발 및 생리활성 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2000 년 10 월 15 일

주관연구기관명 : 연세대학교
총괄연구책임자 : 황 재 관
세부연구책임자 : 황 재 관
이 종 호

연 구 원 : 허 갑 범 연 구 원 : 장 양 수
연 구 원 : 최 문 정 연 구 원 : 김 건
연 구 원 : 윤 선 주 연 구 원 : 공 태 욱
연 구 원 : 박 보 선 연 구 원 : 이 선 희
연 구 원 : 나 근 연 구 원 : 조 은 영
연 구 원 : 권 석 주 연 구 원 : 이 승 민
연 구 원 : 김 혜 연 연 구 원 : 김 오 연
연 구 원 : 최 경 연 구 원 : 함 지 선

협동연구기관명 : (주)풀무원
협동연구책임자 : 여 익 현
연 구 원 : 이 상 윤 연 구 원 : 강 정 일
연 구 원 : 류 영 기 연 구 원 : 양 성 범
연 구 원 : 박 지 만

요 약 문

Ⅰ. 제 목

전곡립(Whole grains)을 이용한 기능성 식품개발 및 생리활성 연구

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

° 전곡류는 식이 섬유소와 미량 무기질, 비타민 그리고 항산화 물질 및 생리활성물질을 함유하고 있으나 이들 유효 성분들은 전곡립의 rigid structural matrix에 결합되어 있으므로 인체내에서 기능성을 나타내기 어렵다.

° 전곡립을 섭취하였을 때 전곡립내 생리활성 물질의 기능성이 발현되는 정도는 가공공정에 따른 전곡립 전체 구성성분의 결합정도 및 방식에 의해 큰 영향을 받으므로 추출성분의 단독적인 생리활성뿐만 아니라 전곡립상태에서 생리활성 물질이 얼마나 효율적으로 그 기능성을 나타낼 수 있는지에 대한 연구가 매우 중요하다.

° 전곡립의 질병 예방 효과가 알려지면서 섭취가 권장되고 있으나 전곡립를 이용한 질병 예방에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

° 연령에 따라 영양요구량 및 생리 mechanism이 다르므로 전곡립의 일반 영양성분 및 생리활성 성분의 작용특성을 고려하여 기능성 식품을 design 하는 것이 매우 중요하다.

° 따라서 본 연구의 목적은 전곡립의 효율적 가공공정 개발에 의한 기능성 성분의 최대 발현기술을 개발하고, 전곡립의 섭취와 한국인의 만성질환과의 상관관계에 대한 임상연구를 진행하며, 전곡립의 생리활성을 이용한 기능성 식품을 설계하는 데 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 선식원료(전곡립)선정
   가. 선식원료시장 조사
   나. 각 원료의 영양성분 및 특이영양성분 조사

2. 압출성형 공정개발 및 제품특성 연구
   가. 공정조건별 선식원료의 영양성분 변화 및 영양성분 흡수율
   나. 압출성형의 수용화 효과 및 물성개선효과
   다. 수용화 최적공정 연구
   라. 관능특성

3. 효소처리에 의한 세포벽 수용화 연구
   가. 시판효소 활성 연구
   나.수용화 효율 및 영양흡수율 향상효과
   다. 미량성분 및 phytochemicals의 유리효과
   라. 최적 수용화 조건 확립 및 영양생리활성물질의 최대발현기술 확립

4. 선식제품 기본 formula 확립 및 특수기능성 식품 개발

5. 임상연구: 당뇨병·동맥경화증, 고지혈증 환자의 혈청지질 및 항산화체계 연구

Ⅳ. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 압출공정에 의한 전곡립의 수용화 효과

전곡립(Whole grains)의 압출공정에 따른 수용화 현상과 이화학적 특성의 변화를 측정하였다. 본 연구에서 전곡립으로는 현재 산업적으로 분말곡류 제품에 가장 많이 사용되고 있는 현미, 현미찹쌀, 보리 및 율무의 4종을 사용하였다. 전곡립은 스크류 속도 200-300 rpm, 온도 110-130℃, 수분함량 15-25%의 범위에서 13개의 각각 다른 조건으로 압출공정을 시행하였다.

압출공정한 전곡립 시료의 이화학적 특성은 수분용해지수(water solubility index), 점도, 식이섬유, 분산성, 호화도, 소화도, 저항전분, 팽화(expansion) 등을 측정하였으며, 이를 압출공정 처리하지 않은 생원료 및 볶은 시료(roasted grains)와 비교하였다. 수분용해지수는 압출공정에 의해 모든 곡류에서 뚜렷하게 증가하였으며, 특히 아밀로펙틴을 많이 함유하고 있는 현미찹쌀은 현미보다 2배 이상 증가하였다. 압출공정에 따른 곡류의 식이섬유 함량을 측정한 결과 수용성 식이섬유는 증가하였으며, 반면에 불용성 식이섬유는 감소하는 경향을 보였고, 총 식이섬유 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 압출공정은 모든 곡류의 호화도를 크게 증가시켰으며, 특히 보리의 경우에는 압출공정에 의해 원료시료보다 약 7배 정도 크게 증가하였다. 소화도 역시 압출공정에 의해 원료시료나 볶음시료에 두드러지게 증가하여 보리의 경우 2.6배까지 증가하였다. 또한 압출공정에 의해 저항전분의 감소, 분산성의 향상, 팽화 현상 등이 뚜렷하게 관찰되었다.

압출공정에 의한 전곡립의 수용화 효과는 수분용해지수, 수율(Y) 및 고유점도([η])로 측정하였다. 특히 본 연구에서는 수율과 고유점도를 동시에 고려하여 새로운 무차원의 최적 인자인 수율x고유점도(c[η])를 적용하였다. 압출공정에 의한 수용화 효과는 4개의 대상 시료 가운데 현미찹쌀에서 가장 뚜렷하게 관찰되었다. 반응표면분석법(Response surface methodology: RSM)에

의한 분석 결과 스크류 속도, 온도, 수분함량 등 3개의 공정인자 가운데 수분함량이 압출공정에 따른 곡류의 수용화에 가장 큰 영향인자로 밝혀졌다.

2. 전곡립의 생리활성물질 활성화 기술

전곡립 내에는 많은 생리활성물질(phytochemicals)들이 함유되어 있으나, 이들은 식물세포벽 구성성분과 공유결합, 수소결합 및 소수결합 등에 의해서 결합한 상태로 존재한다. 이러한 경우에는 실제적으로 그 기능성을 발현할 수 없어 생체이용성(bioavailability)이 떨어진다.

전곡립의 식물세포벽과 배아에는 불검화물(unsaponifiable matters)인 phytosterol이 다량 함유되어 있으며, 특히 콜레스테롤 저하제와 항암효과 등의 생리활성 효과가 뛰어난 β-sitosterol이 많이 분포하고 있다. 그러나 β-sitosterol은 대부분이 식물세포벽 구성성분과 결합된 상태로 존재하기 때문에 기능성 발현이 매우 어렵다. 본 연구에서는 전곡립의 압출성형과 효소처리에 의해 곡류 세포벽의 β-sitosterol를 결합형에서 자유형으로 유리시키는 연구를 시행하였다.

전곡립을 압출공정과 식물세포벽 분해효소를 복합적으로 처리한 경우 처리하지 않은 원료와 비교하여 β-sitosterol이 최대 13배까지 증가하였다. 압출공정후 효소처리는 생리활성물질의 유리효과 뿐만 아니라 수용성 식이섬유 함량의 증가, 소화율의 증가 등 각종 이화학적 특성도 향상시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 압출공정과 효소처리를 복합적으로 적용하였을 때 전곡립의 가공학적 특성과 생리적 특성이 뚜렷하게 향상되는 것을 의미하는 것으로 산업적인 유용성이 매우 높다.

3. 임상연구

가. 당뇨병·동맥경화증 환자를 대상으로 선식을 사용한 식사 대체 효과 : 혈청 지질 및 항산화 체계 연구

관상동맥경화증 남자 환자 38예가 아침 식사에서 정백미 (220kcal) 대신 동일한 열량의 전곡 분말 (70g, 94.4% 전곡 분말 + 5.6% 야채 분말)을 16주간 주식으로 섭취하였다. 관상동맥경화증 환자에서 내당능에 따른 전곡 섭취의 효과를 규명하기 위하여 모든 대상자에서 당부하 검사를 시행하였다.

정백미 대신 16주간의 전곡 섭취는 체중, 섭취 열량을 변화시키지 않았고 공복 혈당을 24% 감소시켰다. 식품구성 성분표로 분석된 식이 섬유소와 비타민 E의 1일 섭취량은 전곡 섭취 후 각각 24%, 50% 증가하였다. 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 처음과 비교하여 16주 후 공복 혈당 22%, 당부하시 혈당 반응 면적 19%, 인슐린 반응 면적 26%가 감소하였으며, 당뇨-관상동맥경화증 군에서는 공복 혈당 27%, 당부하시 혈당 반응 면적 25%가 감소하였다. 실험 시작 시와 비교하여 16주 후 혈장 malondialdehyde와 호모씨스테인 농도, 소변 8-epi-PGF2α 농도는 30% 가량 감소된 반면에 혈장 엽산 농도는 실험 기간 동안 유의한 변화가 없었다. 전곡 섭취 후 혈청 α-carotene, retinol, α-tocopherol, γ-tocopherol과 lycopene 농도가 22-46% 증가하였다.

관상동맥경화증 환자에서 하루 한 끼 정백미 대신 전곡의 섭취는 혈당, 인슐린 요구도 및 혈장 호모씨스테인 농도를 감소시키고 지질과산화를 억제시킴으로서 실질적으로 동맥경화증 위험 요소를 감소시키는 것을 관찰할 수 있었다.

나. 고지혈증 환자를 대상으로 생식을 사용한 식사 대체 효과 : 혈청 지질 및 항산화 체계 연구

고지혈증 남자 환자 18예가 아침 식사에서 정백미 (220kcal) 대신 생식 분말 (82.5% 전곡 분말 + 17.5% 야채 분말)을 12주간 주식으로 섭취하였다. 동일한 기간동안 일상식을 섭취한 대조군의 경우와 공복 채혈 결과를 비교하였다.

정백미 대신 12주 동안 생식을 섭취한 후 혈청 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도는 각각 2%, 5%씩 감소된 반면 HDL-콜레스테롤 농도는 8% 증가하였으며, 대조군에서는 유의한 변화가 없었다. 실험 시작 시와 비교하여 12주 섭취 후 혈장 호모씨스테인 농도는 28% 가량 감소하였으나, malondialdehyde 농도는 실험 기간 동안 유의한 변화가 없었다. 생식 섭취 후 혈청 α-carotene과 lycopene 농도는 각각 78%, 82%의 유의적인 증가를 보였으며, selenium 농도는 6% 증가하였으나 유의적인 수준은 아니었다.

고지혈증 환자에서 하루 한 끼 정백미 대신 생식의 섭취는 혈청 콜레스테롤 및 혈장 호모씨스테인 농도를 감소시키고 항산화 영양소인 혈장 α-carotene, lycopene과 selenium 농도를 증가시킴으로써 동맥경화증 위험 요소를 감소시킬 수 있을 것으로 보인다.

SUMMARY

Ⅰ. Subject

Development of Functional Foods Using Whole Grains and Their Physiological Activities

Ⅱ. Objectives and Significance

Whole grains contain dietary fibers, minerals, vitamins and phytochemicals. However, it is very difficult to expect their health promoting activities, because they are bound to rigid structural matrix of whole grain. Therefore, it is very important to release bioactive components from the cell wall of whole grains through appropriate processing technology. Although consumption of whole grain is recommended for preventing chronic diseases, scientific relationship has not been clearly documented between whole grain consumption and disease. In addition, it is worth designing functional foods in consideration of composition and bioactive components of whole grains, since physiological mechanism of individual varies depending on the factors such as age, health, etc.

The objectives of this study were to develop effective processing technology to release bioactive components of whole grains, to investigate the relationship between whole grain consumption and chronic disease such as coronary heart disease and hyperlipidemia by the clinical study, and to design functional foods with physiologically bioactive nutraceuticals of whole grains.

Ⅲ. Contents and Scope of Research

1. Selection of whole grains
   A. Research of whole grain market
   B. Examination of nutrients and bioactive components of whole grain

2. Development of extrusion process and research of product characteristics
   A. The change of nutrients and bioavilability of whole grains
   B. Improvement of solubilization and rheological characteristics by extrusion
   C. Optimal process condition for solubilization
   D. Sensory evaluation

3. Solubilization of cell wall of whole grains by enzyme treatment
   A. Application of industrial enzyme
   B. Improvement of solubilization and bioavailibility
   C. Release of trace elements and phytochemicals
   D. Optimal process condition to increase solubilization and bioavailibility
4. Selection of basic formulation of whole grain foods and design of functional foods

5. Clinical studies: Investigation of relationship between consumption of whole grain and chronic diseases

Ⅳ. Results and Recommendation

1. Solubilization of whole grains by extrusion

The extrusion effects on solubilization and physiochemical properties of brown rice, glutinous rice, barley and job's tear were investigated in comparison with raw and roasted whole grains. Whole grains were extruded under 13 different operating conditions, where the process variables was controlled in the following ranges: screw speed, 200 300rpm; temperature, 110-130℃; moisture, 15-25%.

Physicochemical properties of whole grains by extrusion were characterized in terms of water solubility index (WSI), viscosity, dispersibility, dietary fiber, gelatinization, resistant starch and swelling effect in comparison with those of raw and roasted grains.

WSI of whole grains significantly increased by extrusion, especially WSI of glutinous rice containing abundant amylopectin increased twice than WSI of brown rice. The content of soluble dietary fiber was increased due to extrusion treatment, while insoluble dietary fiber decreased concomitantly and the content of total dietary fiber was not nearly changed. Extrusion increased gelatinization of grains and especially, gelatinization of extruded barley increased 7 times than that of raw barley. Extrusion improved the digestibility of grains in comparision with that of raw and roasting grains, and the digestibility of barley increased by 2.6 times. In addition, the content of resistant starch decreased and the dispersibility and swelling effects were improved by extrusion.

Solubilization of grains by extrusion was characterized in terms of

water solubility index(WSI), soluble yield(Y) and intrinsic viscosity ([η]). Considering both yield and intrinsic viscosity, a dimensionless target parameter Y[η] was also included for analyzing the extrusion effects on cereal structure. Solubilizing effects of extrusion on cereals were the most pronounced in glutinous rice. Response surface methodology (RSM) analysis showed that the moisture content was the most significant contributor among screw speed, temperature, and moisture affecting the solubilizing phenomena of cereals processed with extrusion.

2. Activation of physiologically bioactive nutraceuticals from whole grains

Whole grains contain various phytochemicals, but they are covalently cross linked with other insoluble cell wall materials, existing as an inactive state from physiological viewpoint. In this case it is very difficult to expect their health promoting activities, since human body does not possess the appropriate tool for utilizing the insoluble components.

There are plenty of phytosterol including β-sitosterol in cell wall of grains. β-Sitosterol possesses various physiological activities such as cholesterol lowering effect and anticancer effect. However, β-sitosterol is bound to plant cell wall components as a insoluble complex, which results in decreasing its bioavailability. This research was attempted to release β-sitosterol using extrusion process and enzyme treatments of whole grain.

β-Sitosterol present in whole grain was released by 13 times when

extrusion and enzyme treatment were used in combination. Extrusion and subsequent enzyme treatment improved physicochemical characteristics of whole grain, leading to increasing soluble dietary fiber, increasing digestibility, etc.

This research clearly demonstrated that extrusion with subsequent enzyme treatment improved processing characteristics and physiological activity of whole grain, and strongly suggested industrial potentials to produce cereal based functional foods containing activated nutraceuticals.

3. Clinical studies

A. The effect of whole grain consumption on serum lipid and antioxidant system of patients with diabetes and coronary artery disease

Although current dietary guidelines recommend to increase the consumption of whole grain, these recommendations are mainly derived from the belief that replacing fats with carbohydrate may reduce risk of coronary artery disease (CAD) by improving serum lipids. Our objective was to evaluate whether the isocalorical replacement of refined rice with whole grain reduce CAD risk factors such as insulin demand and lipid peroxidation in CAD patients. Thirty-eight male patients with CAD were provided with 70g powder of whole grain (220kcal) for 16 weeks, replacing cooked refined rice as a carbohydrate source of breakfast. An oral glucose tolerance test (OGTT) was performed in all subjects to determine the effect of whole grain consumption on serum concentrations of insulin and glucose in CAD patients with different degree of glucose

tolerance.

With the substitution of whole grain for refined rice, serum glucose concentrations decreased by 24% without altering body weight and energy intake. Estimates of daily fiber and vitamin E intakes increased by 24% and 50%, respectively. Whole grain consumption in CAD patients without diabetes decreased fasting glucose (22%) and the area under the curve (AUC) for insulin (26%) and glucose (19%) during an OGTT. CAD patients with diabetes also showed reductions in fasting glucose (27%) and AUC for glucose (25%) during the OGTT, compared with baseline values. Whole grain consumption reduced plasma malondialdehyde and homocysteine and urinary 8-epi-prostaglandin F2α concentrations by about 30%. Lipid-corrected concentrations of α-carotene, retinol, α- and γ-tocopherol and lycopene increased by 22-46%, compared with baseline values. The replacement of refined rice with whole grain as a carbohydrate source of a meal showed significant beneficial effects on glucose, insulin and homocysteine concentrations and lipid peroxidation in CAD patients. These effects are likely to substantially reduce the risk factors of CAD and diabetes in CAD patients.

B. The effect of whole grain consumption on serum lipid and antioxidant system of patients with hyperlipidemia

Whole grains which contain dietary fiber and antioxidants such as trace minerals, vitamins and phytoestrogens are recommended for disease prevention. But no studies about disease prevention using whole grains have been reported. Our study is to investigate whether unroasted whole grain ingestion replacing refined rice improves serum lipids and

lipoproteins and antioxidant system. Eighteen male patients with hyperlipidemia were provided with powder of unroasted whole grains for 12 weeks, replacing cooked refined rice as a carbohydrate source of breakfast. We collected and analyzed fasting blood in all subjects and compared the whole grain ingestion group with the control group consuming usual diet.

With the substitution of unroasted whole grains for refined rice, serum total cholesterol and LDL cholesterol concentration decreased by 2% and 5%, whereas HDL cholesterol concentration increased by 8%, but there were no significant changes in the control group. While unroasted whole grain consumption reduced plasma homocysteine concentraion by about 28%, malondialdehyde concentration did not change significantly. Lipid-corrected concentration of α-carotene, lycopene increased significantly by 78%, 82% compared with baseline values and the concentration of selenium by 8%, but not significantly. The replacement of refined rice with unroasted whole grains as a carbohydrate source of a meal reduced cholesterol, homocysteine concentration and increased concentrations of antioxidant nutrients, α-carotene, lycopene and selenium. These effects are likley to substantially reduce the risk factors of CAD in hyperlipidemic patients.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction 29
Section 1. Background and Significance 29
1. Background 29
2. Significance 31
A. Technological aspect 31
B. Economical and industrial aspect 32
C. Social and cultural aspect 33
Section 2. Objectives and Scope 34
1. Objectives 34
2. Scope 34

Chapter 2. Research and Technical Report 35
Section 1. International Research 35
1. Structure and composition of grain cell wall 35
2. Structural changes of grain cell wall 36
3. Physiological activity of grains 38
Section 2. Domestic Research 40
1. Solubilization of plant cell wall by extrusion 40
2. Korean diet and chronic diseases 42

Chapter 3. Development of Processing Technology of Whole Grains and Their Characteristics 51
Section 1. Introduction 51
Section 2. Materials and Methods 51
1. Materials 51

2. Experimental design by extrusion 52
3. Enzyme treatment of plant cell wall 52
4. Solubilization 53
A. Water solubility index 53
B. Intrinsic viscosity 53
C. Decision of optimization factors 54
D. Dietary fiber 54
E. Swelling 54
F. Dispersibility 54
5. Optimization of extrusion 55
6. Changes of trace elements 56
A. Vitamins 56
B. Minerals 57
7. Improvement of bioavailability 58
A. Gelatinization 58
B. Digestability 59
C. Resistant starch 59
8. Release of bioactive components 60
A. Plant cell wall degrading enzyme treatment 60
B. Extraction of unsaponifiable matters 60
C. Analysis of β-sitosterol content by GC 60
9. Change of fine structure 61
10. Sensory evaluation of powdered whole grain foods 61
11. Decision of basic formula of powdered whole grain foods and design of functional foods 62
A. Wettability 62
B. Formulation 65

Section 3. Results and Discussion 69
1. Selection of whole grains 69
A. Investigation of whole grain market 69
B. Examination of nutrients and bioactive components of whole grain 70
C. Selection of whole grains 71
2. Solubilization by extrusion and enzyme treatment 72
A. Water solubility index, yield and intrinsic viscosity 72
B. Change of dietary fiber content 78
C. Swelling of extruded whole grains 87
D. Dispersibility 87
3. Optimization of extrusion: Response surface methodology 90
A. Brown rice 90
B. Glutinous brown rice 90
C. Barley 91
D. Job's tear 92
4. Changes of trace elements 99
A. Vitamins 99
B. Minerals 100
5. Improvement of bioavailability 102
A. Gelatinization 102
B. Digestibility 104
C. Resistant starch 106
6. Release of bioactive components 107
7. Change of fine structure by extrusion 108
8. Sensory eveluation of powdered whole grain foods 113

9. Decision of basic formula of powdered whole grain foods and design of functional foods 115
A. Improvement of wettability 115
B. Formulation 116

Chapter 4. Clinical Studies 127
Section 1. The effect of whole grain consumption on serum lipid and antioxidant system of patients with diabetes and coronary artery disease 127
1. Introduction 127
2. Subjects and methods 128
A. Experimental subjects 128
B. Experimental period 128
C. Methods 132
D. Statistical analysis 141
3. Results and Discussion 142
A. Clinical characteristics, nutrient intake and energy expenditure 142
B. Anthropometric measurement 142
C. Concentration of blood glucose and serum insulin 145
D. Serum concentrations of lipids and sex hormone and enzymatic activity of antioxidants 148
E. Plasma concentrations of malondialdehyde (MDA), homocysteine and urinary 8-epi-prostaglandin F2α level and concentrations of vitamins and carotenoids of serum ... 151
4. Summary 155
Section 2. The effect of whole grain consumption on serum lipid and

antioxidant system of patients with hyperlipidemia 160
1. Introduction 160
2. Subjects and methods 161
A. Experimental subject 161
B. Experimental period 161
C. Methods 161
D. Statistical analysis 175
3. Results and discussion 175
A. Clinical characteristics and anthropometirc measurement 175
B. Hemoglobin, hematocrit and platelet 178
C. Concentration of serum lipid profile 178
D. Concentration of fasting serum glucose, antioxidant enzyme, homocysteine and urinary 8-epi-PGF2α 181
E. Concentration of serum vitamins and plasma ascorbic acid 181
F. Concentration of serum minerals 185
4. Summary 186
Section 3. Effect of whole grain consumption on bone metabolism of ovariectomy-rat 190
1. Introduction 190
2. Subjects and methods 191
A. Animal 191
B. Nutritional composition of diet 191
C. Sampling 193
D. Analysis 193
E. Statistical analysis 194

3. Results and discussion 194
A. Weight gain, intake and efficiency of diet 194
B. Activity of blood alkaline phsphatase 195
C. Contents of urinary hydroxyproline (OHPr)
and creatine (Cre) 196
D. Calcium concentration of bone tissue 197
E. Bone density and bone strength 197
4. Summary 198

목 차

제 1 장 서 론 29
제 1 절 연구개발의 필요성 29
1. 연구개발의 배경 29
2. 연구개발의 필요성 31
가. 기술적 측면 31
나. 경제 · 산업적 측면 32
다. 사회 · 문화적 측면 33
제 2 절 연구개발의 목적 및 범위 34
1. 연구개발의 최종목표 34
2. 연구개발의 범위 34

제 2 장 연구 및 기술 동향 35
제 1 절 국외 연구 현황 35
1. 곡류의 세포벽 구조 및 구성성분 35
2. 곡류의 세포벽 구조 변환 기술 36
3. 곡류의 생리활성 연구 38
제 2 절 국내 연구 현황 40
1. 압출성형에 의한 식물 세포벽 수용화 기술 40
2. 한국인의 식이와 만성질환 연구 42

제 3 장 전곡립의 가공공정 개발 및 특성 연구 51
제 1 절 서설 51
제 2 절 재료 및 방법 51
1. 실험재료 51

2. 압출성형 실험설계 52
3. 식물세포벽 효소처리 52
4. 수용화효과 53
가. 수분용해지수 53
나. 고유점도 53
다. 최적화 인자설정 54
라. 식이섬유 함량 측정 54
마. 팽화 54
바. 분산성 54
5. 압출성형 공정 최적화 55
6. 영양성분 변화 56
가. 비타민 56
나. 무기질 57
7. 영양흡수율 향상효과 58
가. 전분 호화도 58
나. 소화도 59
다. 저항전분함량 측정 59
8. 생리활성성분 유리 효과 60
가. 세포벽분해효소처리 60
나. 불검화물 추출 60
다. Gas chromatography에 의한 β-sitosterol의 분석·정량 60
9. 미세구조 변화 61
10. 선식의 관능기호도 조사 61
11. 선식 제품 기본 formula 확립 및 특수 기능성 식품 개발 62
가. 풀림성 향상 실험 62
나. Formulation 실험 65
제 3 절 결과 및 고찰 69

1. 선식원료(전곡립) 선정 69
가. 선식 원료 시장 조사 69
나. 각 원료의 영양성분 및 특이영양성분 조사 70
다. 원료 선정 71
2. 압출성형 및 효소처리에 의한 수용화효과 72
가. 수분용해지수, 수율 및 고유점도 72
나. 곡류의 식이섬유 함량 변화 78
다. 곡류 압출성형물의 팽화현상 87
라. 분산성 87
3. 압출성형 공정 최적화: 반응표면분석 90
가. 현미 90
나. 현미찹쌀 90
다. 보리 91
라. 현미율무 92
4. 공정조건별 선식 원료의 영양성분 변화 99
가. 비타민 99
나. 미네랄 100
5. 영양 흡수율 향상 효과 102
가. 전분 호화도 102
나. 소화도 104
다. 저항전분 함량 106
6. 생리활성성분 유리효과 107
7. 압출성형에 의한 미세구조 변화 108
8. 선식의 기호도 조사 113
9. 선식제품 기본 formula 확립 및 특수 기능성 식품 개발 115
가. 풀림성 향상 실험 115
나. Formulation 실험 116

제 4 장 임상연구 127
제 1 절 당뇨병·동맥경화증 환자를 대상으로 선식을 사용한 식사 대체 효과: 혈청 지질 및 항산화 체계 연구 127
1. 서설 127
2. 연구대상 및 방법 128
가. 연구대상 128
나. 선식제공 및 실험기간 128
다. 연구방법 132
라. 자료의 통계처리 141
3. 연구결과 및 고찰 142
가. 대상자의 임상양상 및 영양소 섭취량·에너지 소비량 142
나. 인체계측 142
다. 혈당과 혈청 인슐린 농도 145
라. 혈청 지질·성 호르몬 농도 및 항산화효소 활성 148
마. 혈장 MDA, 호모씨스테인, 소변 8-epi-PGF2α 농도 및 혈청 비타민과 carotenoids 농도 151
4. 결론 155
제 2 절 고지혈증 환자를 대상으로 생식을 사용한 식사 대체 효과: 혈청 지질 및 항산화 체계 연구 160
1. 서설 160
2. 연구대상 및 방법 161
가. 연구대상 161
나. 생식제공 및 실험기간 161
다. 연구방법 161
라. 자료의 통계처리 175
3. 연구결과 및 고찰 175

가. 대상자의 임상양상과 인체계측 175
나. 혈색소 및 헤마토크릿, 혈소판 178
다. 혈청 지질 및 지단백 농도 178
라. 공복 혈당 및 항산화효소, 호모시스테인,
소변 8-epi-PGF2α 농도 181
마. 혈청 비타민과 혈장 ascorbic acid 농도 181
바. 혈청 무기질 농도 185
4. 결론 186
제 3 절 생식이 난소 절제 쥐의 골대사에 미치는 영향 190
1. 서설 190
2. 실험대상 및 방법 191
가. 실험 동물 191
나. 실험 식이 191
다. 시료의 채취 193
라. 시료의 분석 193
마. 통계 처리 194
3. 연구결과 및 고찰 194
가. 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율 194
나. 혈중 alkaline phosphatase 활성 195
다. 뇨중 hydroxyproline(OHPr) 및 creatine(Cre) 함량 196
라. 뼈 조직의 칼슘 농도 197
마. 골밀도와 골강도 197
4. 결론 198

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 배경

전곡립(Whole grains)에는 정제된 상태보다 인체에 유용한 각종 영양 및 생리활성 성분이 많이 포함되어 있어, 영양학자들은 건강유지 측면에서 정제된 곡류보다 천연의 전곡립 상태로 섭취하도록 강력히 권고하고 있다. 이같은 소비자들의 건강지향적인 요구에 부응하여 산업적으로 전곡립 상태에서 곡물을 가공판매하는 제품의 시장규모가 크게 증가하고 있다. 전통적인 영양학에서 주로 다루고 있는 식품의 영양성분 즉, 탄수화물, 단백질, 지질, 비타민, 무기질 등은 인체의 생명유지를 위해 중요한 성분이다. 그러나 최근에는 이러한 식품의 일반성분 이외에 기능성 생리활성 성분의 기능성 해석 및 이를 위한 기능성 식품의 개발이 식품분야와 소비자들의 주요한 관심사가 되고 있다.

전곡립은 다음의 3가지 주요 성분으로 구성되어 있다: 1) 일반 영양성분(단백질, 지질, 비타민, 무기질 등), 2) complex carbohydrates(전분 및 식이섬유), 3) phytochemicals(lignan, phytoesterogens, antioxidants 등). 이 가운데 생리활성 측면에서 중요한 성분은 식이섬유성 복합 탄수화물(complex carbohydrates)과 phytochemicals으로서 이들은 관능성, 저장성 등 일부 식품학적인 측면에서도 영향을 미치지만, 보다 중요한 것은 전곡립의 섭취에 의해 생리활성 성분이 지속적으로 공급될 수 있기 때문에 각종 질병의 예방과 치유에 크게 기여할 수 있다는 점이다.

우리나라도 식생활이 서구화되고 수명이 길어지면서 동맥경화증, 골다공증, 당뇨병 등과 같은 만성질환의 유병률이 증가하고 있다. 국내 의료학계에서는 만성질환의 치료시 주로 약물치료에만 치우쳐 있으나, 만성질환자들은

약물남용에 따른 위험부담을 줄이고 경제적인 식사요법과 비약물 치료를 선호한다. 따라서 국내 의료학계의 방향도 점차 임상의학과 영양학 및 대체의학과의 접목을 시도하는 경향이 증가하고 있다. 전곡립에는 함유되어 있는 복합탄수화물과 phytochemicals는 이러한 만성질환 치료의 보조수단으로서 사용될 수 있으며, 한국인의 고유 체질에도 잘 부합된다. 따라서 전곡립의 만성질환 치료효과를 과학적으로 구명하고 phytochemicals의 인체내 대사 profile을 연구한다면 전곡립을 이용한 기능성 식품으로서의 전망이 매우 높을 것으로 예상된다.

상업적으로 여러 종류의 전곡립을 분말화하여 혼합된 상태로 판매되고 있는 것이 일명 '선식'이다. 선식은 약 10년전에 국내에 보급되기 시작하여 건강에 대한 관심과 자연식품에 대한 소비자의 의식향상으로 매년 10 20%씩 시장규모가 확대되어 현재 국내의 선식시장은 약 400 500억원대에 이르는 것으로 알려져 있다. 지금까지 선식은 대개 성인을 위한 건강식으로 인식되어 아침 대용식을 중심으로 시장을 형성하였으나, 최근에는 이유식, 당뇨식 등 특수 용도용 제품으로의 개발이 활발히 진행되고 있다. 선식은 기능성 건강식품으로서의 이미지가 좋고, 곡류를 주식으로 하는 우리나라의 경우에는 소비자들의 선호도가 높아 산업적인 전망이 매우 높다. 이러한 시장규모 및 상품성에도 불구하고 실제적으로 선식의 최적 가공공정, 선식제품의 기능성 식품화, 만성질환에 대한 임상효과 등에 대한 연구는 매우 미흡한 상태이다. 따라서 선식의 기능성에 대한 구체적이고 과학적인 연구결과가 도출되어 기존의 좋은 상품 image와 결합된다면 선식의 시장확대에 따른 국내 곡류제품의 안정적 공급기반을 제공할 뿐만 아니라 국민건강에도 크게 이바지할 것으로 기대되어 본 연구를 진행하였다.

2. 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

1) 전곡립의 기능성 성분의 최대 발현기술 개발

전곡립내에 각종 생리활성물질이 다량 함유되어 있더라도 이들 성분이 인체내에서 기능성을 발휘하기 위해서는 전곡립의 rigid structural matrix로부터 쉽게 유리될 수 있어야 한다. 즉, 전곡립에 포함되어 있는 생리활성성분의 단순한 절대적인 양보다는 실제적으로 사용될 수 있는 유효 생리활성 성분의 양이 더욱 중요하다. 그러나 현재 전곡립의 가공단계에서 주로 사용되고 있는 증자 및 roasting 방법은 생리활성 물질의 기능성이 충분히 발휘될 수 있도록 전곡립의 미세구조를 효율적으로 조절하기에는 효율성이 낮다. 따라서 전곡립의 단단한 조직을 효율적으로 이완시킬 수 있는 기술의 개발이 생리활성물질의 기능성 발현에 필수적이나 이에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

2) 전곡립의 복합 탄수화물 및 phytochemicals의 생리활성 연구

전곡립에 존재하는 복합 탄수화물 및 phytochemicals(lignans, phytoesterogens, antioxidants 등)의 생리활성에 대한 연구는 주로 이들 성분들을 추출한 후 이에 대한 생리학적 연구가 주를 이루고 있다. 그러나 실제적으로 전곡립을 섭취하였을 때 전곡립내 생리활성 물질의 기능성이 발현되는 정도는 가공공정에 따른 전곡립 전체 구성성분의 결합정도 및 방식에 의해 큰 영향을 받는다. 따라서 추출성분의 단독적인 생리활성뿐만 아니라 전곡립상태에서 생리활성 물질이 얼마나 효율적으로 그 기능성을 나타낼 수 있는지에 대한 연구가 매우 중요하나, 실제적으로 이러한 관점

에서의 연구는 거의 이루어진 바 없다. 또한 생리활성 연구도 의학적 수준에서의 임상실험 연구는 국내외적으로 매우 제한된 범위내에서 이루어져 왔다. 따라서 분자수준(molecular level)에서 생리활성물질의 상세한 작용기작을 연구하는 것은 매우 중요한 연구과제이다.

3) 전곡립의 식품 및 생리활성을 이용한 기능성 식품 설계

현재 시판되고 있는 분말곡류제품은 구체적인 과학적 근거자료 없이 여러 종류의 재료를 단순히 혼합한 상태로 판매되고 있다. 특히 유아, 성인, 노년층 등 연령에 따라 영양요구량 및 생리 mechanism이 상이한 것을 감안할 때 전곡립의 일반 영양성분 및 생리활성 성분의 작용특성을 고려한 기능성 식품의 design은 매우 중요한 연구과제이다. 또한 이러한 제품들이 임상실험결과 질병의 예방이나 치료와 밀접한 관계가 입증될 경우 질병의 유형에 따른 기능성 식품의 design 역시 가능하다.

나. 경제·산업적 측면

곡류는 국내에서 생산되는 가장 중요한 농작물로서 곡류의 안정적 생산, 공급 빛 수요는 국내농업 생산기반의 초석이 될 뿐만 아니라 식량안보 차원에서도 매우 중요하다. 현재 국내의 분말곡류제품(일명: 선식)은 상당한 시장규모를 갖고 있으나 실제적으로 그 생리활성에 대한 정확한 구명이나 또한 내재된 생리활성 물질이 충분히 그 기능성을 발휘하도록 가공하는 기술의 개발은 구체적으로 연구된 바가 없다. 따라서 본 연구에서 수행하고자 하는 전곡류의 구체적인 생리활성과 가공기술을 기존 제품의 좋은 image와 접목시킬 경우 관련제품의 상품성과 소비에 상당히 긍정적 요인으로 작용하여 관련산업의 활성화에 크게 기여할 것으로 예상된다.

다. 사회·문화적 측면

식품은 과거의 전통적인 영양공급원이라는 측면에서 벗어나 이제는 질병의 예방 및 치유라는 기능성 식품으로서의 개념이 확고하게 자리잡고 있다. 앞으로는 이러한 식품의 기능성 개념을 도입한 제품이 전체 식품시장을 주도하리라는 것이 전문가들의 일치된 견해이다. 질병치료에 식품의 사용은 초기에는 전통적인 식경험이 있는 것을 중심으로 식품중 부족한 것을 보완하는 건강식품이 위주였으나, 최근에는 생명과학의 발달에 힘입어 생리활성 물질을 알아내고 이를 첨가한 식품과 의약품의 경계(food-drug interface)가 맞닿은 복합품까지 등장하고 있다.

곡류에는 전통적인 영양물질 이외에 각종 기능성 생리활성 물질이 풍부하게 포함되어 있기 때문에 기능성 식품으로서의 상품성이 매우 높다. 한국인의 식사특성중 하나는 곡류를 위주로 섭취하는 경향이 있으므로 전곡으로 제조한 선식이나 phytochemicals 섭취는 사회적이나 문화적인 측면에서 우리나라 환자들이 쉽게 받아들일 수 있을 것이다. 현재에도 선식은 만성질환 환자에서 사용도가 높지만 이러한 전곡의 섭취가 당뇨병, 심혈관 질환, 골다공증 치료에 주는 영향에 대한 과학적인 임상 자료가 없으므로 만성질환 치료에 보조수단이 아니라 유해요소라는 설도 있어 판매에 한계가 있다. 따라서 전곡으로 제조한 선식이나 phytochemicals 섭취가 만성질환 치료의 보조 수단으로 사용할 경우 보여지는 임상 효과를 규명하여 치료에 도움이 된다는 과학적인 접근이 시급하다.

우리나라는 경제발전과 더불어 21세기 복지사회 구현을 목표로 하고 있다. 국민의 건강증진을 위하여 기능성이 우수한 식품을 개발하는 것은 질병예방에 의한 국가적 질병치료 비용의 축소, 건강사회 구현에 따른 국가 생산성 증진 등에 기여할 수 있다.

제 2 절 연구개발의 목적 및 범위

1. 연구개발의 최종목표

▣ 전곡립의 생리활성 성분을 최대한 활용한 기능성 식품의 생산기술개발

- ° 전곡립의 효율적 가공공정 개발에 의한 기능성 성분의 최대 발현기술 개발
- ° 전곡립의 섭취와 한국인의 만성질환과의 상관관계에 대한 임상연구
- ° 전곡립의 생리활성을 이용한 기능성 식품 설계

2. 연구개발의 범위

- ° 선식원료(전곡립)선정
- ° 압출성형 공정개발 및 제품특성 연구
- ° 효소처리에 의한 세포벽 수용화 연구
- ° 선식제품 기본 formula 확립 및 특수기능성 식품 개발
- ° 임상연구: 당뇨병, 동맥경화증, 고지혈증 환자의 혈청지질 및 항산화체계 연구

제 2 장 연구 및 기술 동향

제 1 절 국외 연구 현황

1.곡류의 세포벽 구조 및 구성성분

식물 세포벽은 셀룰로오스(cellulose), 헤미셀룰로오스(hemicellulose), 펙틴(pectin), 리그닌(lignin) 및 당단백질(glycoprotein) 등의 구성성분으로 이루어져 있다. 그런데 이들 구성성분들은 서로 유리된 상태로서 존재하는 것이 아니라 대부분 공유결합, 수소결합, 이온결합, 소수결합 등을 통하여 강하게 연결되어 식물조직에 외부로부터의 공격에 대한 자체 방어능력을 부여한다(1,2). Fig. 1은 곡류와 같은 외떡잎 식물(monocotyledonous plants)의 세포벽 구조를 나타낸 것이다. 셀룰로오스 microfibrils는 주로 glucuronoarabinoxylan(GAX)과 일부 xyloglucan과 연결되어 있으며, 이들은 phenolic ester에 의하여 고정된다. GAX는 상호간의 수소결합에 의해 연결되어 matrix를 형성한다. 그런데 GAX의 일부분은 상호간의 엉킴이 느슨하여 공간(pores)을 형성하며, 이는 과채류의 펙틴과 비슷한 역할을 한다. 곡류에는 과채류와 비교하여 상대적으로 수분함량이 매우 낮아서 구성성분간의 결합이 매우 조밀하다. 따라서 생체상태에서는 소화흡수나 가공공정에서의 이용이 용이하지 않기 때문에 가열과정을 필요로 한다.

곡류를 주요 원료로 하는 선식의 경우 내부적으로 상당히 많은 생리활성물질이 존재한다고 하더라도 세포벽의 결합구조가 매우 치밀하고 견고하여 적절한 가공처리를 동반하지 않을 경우 실제적인 이용율은 매우 낮다. 현재 국내의 선식생산을 위한 가공공정으로 사용되고 있는 증자후 roasting 방법은 견고한 곡류의 세포벽 성분을 효율적으로 이완시켜 기능성 성분이 효율적으로 유출되기에는 공정효율이 매우 저조하다. 즉, 곡류내부에 존재하는 기능성 성

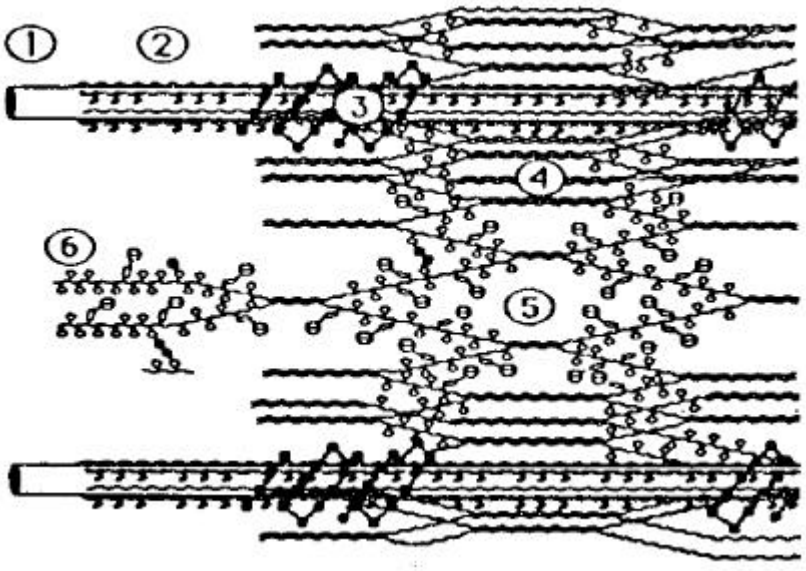


Fig. 1. Structure of Monocot Primary Cell Wall(3)
Cellulose microfibrils [①] are coated primarily with glucuronoarabinoxylans (GAX) and some xyloglucans [②], a portion of which are immobilized by phenolic ester cross stitches [③]. Other acidic arabinoxylans are hydrogen bonded to each other and may span the matrix [④], and additional GAX may define the pores of the matrix [⑤], replacing the function of pectic substances in these species. The highly substituted GAX may be the newly synthesized GAX cross linked loosely by diferulic acid [⑥]. Not shown is the developmental stage-specific β-D-glucan that is synthesized when cell expansion begins.

분의 전체량보다는 실질적으로 인체내에서 유효하게 사용될 수 있는 성분의 양이 더 중요하다는 것을 고려할 때 현재 국내에서 산업적으로 사용되고 있는 공정은 매우 비효율적으로 이에 대한 개선을 필요로 한다.

2. 곡류의 세포벽 구조 변환기술

위에서도 언급한 바와 같이 곡류의 영양 및 생리활성 물질의 기능성을 충

분히 확보하기 위해서는 견고한 세포벽 구조를 이완시키기 위한 세포벽의 수용화 공정이 필요하다. 식물 세포벽의 여러 가지 방법에 의하여 수용화가 가능하다. 화학적인 방법으로서 산이나 알칼리를 사용하기도 하는데, 화학적 처리방법은 식품 생산공정에는 제한점이 많아 거의 사용되지 않는다. 또는 세포벽 성분을 가수분해할 수 있는 cellulase, hemicellulases, pectinases 등의 효소를 사용하는 효소적 수용화 방법이 있다(4). 이 밖에도 물리적인 처리방법으로서 autoclaving, popping, blanching, 압출성형 등 주로 가열처리에 의하여 식물조직의 결합력이 약화되어 수용화가 이루어진다(5-7).

여러 가지 식물 세포벽의 수용화 및 구조변환 기술과 관련하여 본 연구과제에 효율적으로 적용될 수 있는 기술은 압출성형과 효소처리에 의한 수용화 기술이다. 압출성형기는 단시간 고온 처리에 의한 가열효과 뿐만 아니라 고압 및 강한 전단력을 동반하여 혼합, 절단, 파쇄, 가압, 성형, 팽화, 건조, 살균 등의 각종 단위공정을 단일 기계에 의해서 행할 수 있는 다목적 식품기계로서 각종 식품제조에 활발히 사용되고 있다(8,9). 따라서 현재 선식의 제조에 사용되는 증자후 roasting 방법에 비교하여 공정효율이 월등할 뿐만 아니라 압출성형의 고온, 고압, 고전단력(shearing force)에 의해 전분의 호화도 상승에 따른 소화흡수율 증가, 세포벽 이완에 따른 곡류내 생리활성 물질의 이용도 증진 등과 같은 많은 장점을 제공할 것으로 판단된다.

한편 효소적 처리방법은 압출성형 등에 이완된 조직구조을 완전히 수용화하므로써 수용성 식이섬유 함량을 증가시키므로써 각종 혈중 콜레스테롤 함량 감소 등의 생리활성 효과를 제공하게 된다(4). 또한 기존에 세포벽 내부의 조직에 묻혀 있던 각종 식품 및 생리활성 물질을 유리시키므로써 곡류의 기능성을 크게 증가시킬 수 있을 것으로 예상된다.

영양학적인 측면에서 보면 이들 세포벽 구성물질의 대부분은 인체내에서 소화되지 않으면서 다양한 생리기능을 제공해 주는 식이섬유(dietary fiber) 성분으로서 분류된다(10,11). 식이섬유의 생리적인 기능성을 결정하는 가장 중요한 요인은 용해도로서 식이섬유 성분은 용해도에 따라 크게 수용성 식이

섬유(water-soluble dietary fiber)와 불용성 식이섬유(water-insoluble dietary fiber)로 분류되는데, 이들에 의해 제공되는 생리특성이 각각 다르다. 불용성 식이섬유는 소화기관을 통과할 때 다량의 수분흡수에 따라 대변의 용적증가, 장내 통과시간 단축, 전분의 가수분해 억제 및 포도당의 흡수 지연 등의 생리작용을 한다. 반면에 수용성 식이섬유에 의하여 형성된 3차원 구조의 젤은 식품의 통과를 지연시키고 포도당의 흡수를 저해하며, 특히 혈중의 콜레스테롤 함량을 저하시키는 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(12).

3. 곡류의 생리활성 연구

전곡립으로부터 복합 당질의 많은 섭취는 인슐린 비의존형 당뇨병, 동맥경화증을 포함하는 만성 질환의 낮은 유병율과 관련이 있다(13-15). 만성 질환의 위험을 감소시키는데 lignans, phytoestrogens, 항산화제와 같은 전곡의 구성성분들이 중요한역할을 한다(13,16). 전곡에 들어 있는 항산화제로는 다량의 비타민 E 활성을 갖는 성분들과 carotenoids가 있으며 비타민 C는 적게 함유되어 있다(13). 식사는 호르몬 생성, 대사, 배설과 유용성에 영향을 주고 결국 호르몬과 관련된 질환에 영향을 줄 수 있다. 고섬유소 식사에서 혈장 성호르몬 결합 단백질이 증가되기 때문에 대부분의 에스트로젠과 앤드로젠이 성호르몬 결합 단백질과 결합하고 표적세포에서 쉽게 uptake되며 결국 이러한 호르몬의 free form이 낮아진다(13). 인슐린 비의존형 당뇨병과 관상동맥경화증 여성에서 성호르몬 결합단백질의 감소와 free androgen의 증가가 보여지고 이러한 질환의 남성에서 성호르몬 결합단백질의 감소와 free estrogen농도의 증가가 보여진다(17,18). 또한 성호르몬 결합단백질 농도의 감소는 인슐린 비의존형 당뇨병 발병에 대한 독립 위험인자로 알려졌으며(19,20) 이는 감소된 성호르몬 결합 단백질 농도가 인슐린 저항성과 관련이 있기 때문일 것이다(17,19,20).

당뇨병 환자들의 식사요법으로는 혈당 조절에 도움을 주는 섬유소를 다양

한 식품으로부터 하루 20-35g을 섭취할 것을 권장하고 있다(21). 특히 비만한 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서는 총열량과 지방의 섭취를 줄이고 전곡과 같은 복합 탄수화물의 섭취를 늘릴 것을 권장하고 있다. 또한 최근에는 Ca, Mg, K등의 무기질과 비타민 E, carotenoids 등의 비타민에 대한 권장이 새롭게 강조되고 있어 전곡립에 대한 섭취가 강조되고 있다(21).

하루 25g의 콩단백질을 보충 섭취시킨 고콜레스테롤혈증 남성에서 혈청 총콜레스테롤 농도의 감소와 HDL 콜레스테롤 농도의 증가를 보여주었으며 제2형 hyperlipoproteinemia 대상자에서 하루 평균 47g 콩단백질의 섭취는 총콜레스테롤을 9.3%, LDL 콜레스테롤을 12.9%, 중성지방 농도를 10.5% 감소시켰다고 한다(14). 또한 40mg phytoestrogens pill을 투여한 폐경후 여성에서 HDL 콜레스테롤 농도가 22% 증가하였다는 보고도 있다(14). Phytoestrogens 사용은 혈청 지질 및 지단백질 농도에 직접적으로 영향을 주어 심혈관 질환을 예방할 수 있고 전곡의 platlet aggregation과 항산화 효과와 같은 특성들도 이러한 작용을 할 수 있다.

원숭이를 대상으로 하여 콩단백질과 intact isoflavone을 섭취시킨 결과 동맥경화된 관상동맥의 acetycholine에 대한 dilator response가 증가되었다고 한다(14). 관상동맥 경화증의 환자를 대상으로 약물 치료 없이 총 열량의 70-75%를 복합 탄수화물로 1년간 섭취시킨 결과 관상동맥 조영술상 관상동맥 내경의 협착이 개선(regression)되었다고 한다(22).

골다공증은 노화, 호르몬 결핍과 식사를 포함하는 다양한 요인들과 관련이 있다. 폐경 후 골다공증 여성에서 합성된 flavonoid인 ipriflavone(7 isopropoxy-isoflavone)의 하루 600mg 섭취는 골소실을 예방할 수 있었으며, 1g 단백질 섭취당 2.25mg total isoflavone을 6개월간 섭취하였던 폐경후 여성은 골밀도와 골질량이 증가하였다. 또한 밀 빵을 먹었던 폐경 후 여성과 비교하여 45g의 콩 단백질을 강화한 빵을 먹은 경우 골질량이 증가하였다고 한다(14). 그러나 현재에는 골다공증의 예방 및 치료에 전곡립 섭취의 역할에 대한 연구가 국외에서도 거의 없는 실정이다.

제 2 절 국내 연구 현황

곡류의 생리활성 물질은 크게 복합 탄수화물과 phytochemicals(lignan, phytoestrogens, antioxidants 등)의 2가지로 나눌 수 있다. 비타민, 미네랄 등의 미량성분도 생리활성과 밀접한 관계가 있지만 이들은 주로 영양성분으로 분류된다. 국내에서도 일부 곡류의 미량성분 및 생리활성 성분에 대한 연구가 제한적으로 이루어졌으나, 만성질환자를 대상으로한 구체적인 임상연구는 거의 전무한 실정이다.

1. 압출성형에 의한 식물 세포벽 수용화 기술

본 과제의 참여연구원들은 본 연구의 연구목적에 잘 부합하는 선식의 가공공정으로서 압출성형 공정을 선정하였다. 압출성형기술은 국내에서 많은 기술축적이 이루어져 있으며, 공정 자체가 단순하여 현장 적용성이 매우 높다. 또한 본 연구의 참여기업인 (주)풀무원에도 관련기술을 적용한 경험을 가지고 있어 제품화에 유리한 공정으로 분류된다. 특히, 무엇보다도 압출공정과정에서 제공되는 고온, 고압, 고전단력은 전분의 호화에 매우 효율적으로 선식의 소화흡수율을 증가시키므로써 노인식이나 유아식 개발에 매우 유리한 공정으로 판단된다. 또한 곡류의 각종 생리활성 물질이 잠재되어 있는 세포벽의 구조를 이완시켜 기능성 성분의 발현이 용이하게 할 수 있다.

국내에서 압출성형을 이용하여 식물 세포벽의 구조체계를 변화시켜 물성을 개선하고, 또한 천연 생고분자(biopolymers) 식품소재를 생산하고자 하는 연구는 본 과제의 책임자인 황재관 박사가 참여한 한국식품개발연구원의 1994년도 출연금과제에 의해 구체적으로 시작되었다(과제명: 압출성형에 의한 저이용 식량자원의 가공공정 개발). 연구대상 원료로는 상대적으로 활용도가 낮은 곡류(밀기울, 미강 등 곡류가공부산물), 사과박(사과주스 가공부산물), 해조류(미역)를 사용하였다(23). 밀기울(wheat bran)의 경우 압출성형에 의한 수

용성 식이섬유의 함량이 약 100% 증가하였고, roasting, toasting, autoclaving 등과 같은 다른 열처리 공정에 비하여 세포벽의 수용화 효율이 훨씬 증가하는 것을 나타냈다(24). 또한 압출성형 시료는 다른 열처리 공정에 비하여 물성개선 효과가 가장 뛰어나 보수력(water holding capacity), 팽윤도(swelling) 등도 가장 높게 나타났다. 이러한 물성의 향상은 궁극적으로 식이섬유성 물질의 생리활성에도 기여할 수 있는 것으로 알려져 있다(24). 한편, 열처리된 밀기울(wheat bran)의 수용화 분획을 세부적으로 연구한 결과 밀기울에 함유되어 있는 전분의 호화가 수용화 기작에 중요한 역할을 하며, 아울러 이과정에서 비전분계 식이섬유의 수용화도 상당부분 발생하는 것으로 밝혀졌다(25). 특히, 고온과 고전단력을 수반하는 압출성형은 이같은 수용화에 가장 효율적이였으며, 수용화된 식이섬유의 분자량도 가장 높게 나타났다.

이같은 결과는 압출성형의 곡류가공에 대한 효율성을 반영하는 것으로 물성개선뿐만 아니라 수용성 식이섬유의 증가에 따른 생리활성 개선에도 큰 기여를 할 수 있다. 압출성형 기술을 이용한 곡류의 가공기술은 적용과정에서 압출성형기의 공정변수에 따라 최종 제품의 특성이 크게 변하기 때문에 최적화 개념의 도입이 필수적이다. 즉, 곡류제품의 물성, 저장성, 기능성에 많은 영향을 미치는 압출성형과정의 압출온도, 스크류조합, 수분함량 등을 종합적으로 고려하여 가장 경제적인 공정조건의 선정이 필요하다(26,27). 이같은 압출성형 기술은 사과박과 같은 과채류의 가공부산물에도 효율적으로 활용될 수 있다. 사과박의 세포벽 구조는 곡류에 비해 상대적으로 덜 조밀하여 압출성형에 따른 수용화 효과가 더욱 뚜렷하게 나타난다. 따라서 이와 같은 결과를 이용하면 기존의 산처리에 의한 펙틴생산방법대신에 압출반응에 의해 효율적으로 펙틴을 생산할 수 있는 기술의 개발이 가능하다. 단 이경우에는 펙틴의 수율과 분자량을 모두 고려한 최적 공정조건의 개발이 필요하다(28,29).

압출성형 기술은 국내외적으로 많이 알려져 있는 기술이며 실제적으로 식품의 가공생산에 널리 적용되고 있다. 대부분은 곡류 가공부산물인 미강, 밀기울 등에 적용하는 경우가 대부분이며(30), 전곡립을 대상으로 이화학적 특

성 및 세포벽의 조직이완현상에 대해 세부적으로 연구한 결과는 많지 않다. 압출성형은 곡류의 가공에 매우 효율적이며 공정상의 효율성이 뛰어나기 때문에 선식의 가장 주원료인 곡류에 적용하는 기술개발은 필수적이다.

2. 한국인의 식이와 만성질환 연구

국민 식생활의 급격한 서구화로 인하여 영양과다로 인한 인슐린 비의존형 당뇨병, 동맥경화증의 유병율이 증가하고 있으며 또한 평균 수명이 높아짐에 따라 고령 인구의 증가와 함께 골다공증의 유병율이 날로 증가하고 있다. 당뇨병, 동맥경화증, 골다공증과 같은 만성질환은 합병증의 심각성으로 생산성과 삶의 질을 저하시키고 그에 따른 과다한 의료 경비 지출로 인하여 단순한 의료 문제에 그치지 않고 21세기를 바라보는 오늘의 가정, 사회 및 경제에 무거운 짐이 되고 있다. 최근 소비자들은 생활이 향상됨에 따라 건강지향 식품과 천연 식품을 사용한 치료보조 식품을 선호하게 되었다. 따라서 특수 생체기능을 갖는 전곡의 phytochemicals를 경제적으로 생산하여 보급할 경우 안전성이 높고 경쟁력이 있을 뿐 아니라 만성 질환의 치료 보조 수단으로 사용될 수 있을 것이다. 이러한 치료 보조 식품은 의료비를 절감시킬 뿐 아니라 국민의 건강을 증진시키고 복지를 위하여 필요하다.

폐경전 한국 여성에서 비슷한 나이, 연령, 비만도를 갖더라도 혈청 성호르몬 결합 단백질 농도가 낮은 경우 정상 농도의 경우와 비교하여 내분비 및 대사적 특징을 갖는 것이 밝혀졌다(31). 즉 성호르몬 결합 단백질이 낮은 경우 hyperandrogenicity, 고인슐린혈증, 높은 혈청 중성 지방 농도, 낮은 HDL 콜레스테롤 농도를 보여주었다. 한국 사람들은 서구인과 비교하여 혈청 인슐린 농도가 낮지만(32) 고인슐린혈증 범위에 해당하는 사람은 인슐린 저항성과 밀접한 관련이 있으며 관상 동맥경화증과 인슐린 비의존형 당뇨병의 위험이 큰 것으로 보고되었다(32,33).

당뇨병 환자들 중 약80%를 차지하는 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서는

식사요법과 운동요법만으로도 혈당 조절이 잘되는 경우가 많으나 일반적으로 식사요법의 까다로움으로 인하여 전체 환자의 10% 미만만이 식사요법을 엄격히 따른다고 한다. 잘못된 식사 관리로 인하여 당뇨병의 이환기간이 길어질수록 체중이 감소되기는 하나 체지방 분포는 변화가 없고 혈청 단백질이나 미량무기질 농도가 감소된 영양결핍만을 보여준다고 한다(34). 또한 당뇨병 환자에서 보여지는 중심성 분포는 당질 및 혈청 지질에 나쁜 영향을 준다(35). 이러한 본 연구팀의 보고들은 인슐린 비의존형 당뇨병 환자들에서 혈당과 혈청 지질 농도의 조절을 도와주고 미량 영양소까지도 공급하며 따르기 쉬운 영양보충 식품의 개발이 시급하다는 것을 제시한다.

관상 동맥경화증 환자에서 같은 성별, 나이, 비만도의 건강한 사람들과 비교할 경우 혈청 인슐린 농도가 높은 고인슐린혈증이 보여졌고(36) 혈청 β-carotene 농도는 감소하였으며 합병증을 동반할 경우 α-tocopherol 농도가 감소하는 경향을 보여주었다(37). 관상동맥 경화증 환자들에게 총열량의 10% 미만을 지방으로, 콜레스테롤 섭취를 하루 100㎎ 이하인 고복합탄수화물 식사를 14개월간 섭취시킨 결과 관상동맥 조영술상 관상동맥 내경의 협착이 개선되었다(38,39).

본 연구팀이 수행하였던 이러한 고복합탄수화물 식사를 하였던 환자들은 따르기가 어려워 50%이상의 중도 포기율을 보여주었다. 따라서 간편하게 따를 수 있는 전곡으로 만든 선식이나 phytochemicals를 사용할 경우 식사요법의 성공률이 높아지고 관상동맥 경화증 환자에서 흔히 보여지는 항산화 영양소의 결핍을 개선시킬 수 있을 것으로 여겨진다. 또한 전곡을 사용한 고복합탄수화물 식사는 혈청 성호르몬결합 단백질의 농도를 증가시킴으로써 인슐린 저항성을 부분적으로 개선시킬 수도 있을 것이다. 그러나 국내외에서 선식을 사용한 이러한 연구는 없어 고복합탄수화물 섭취의 효과에 대한 과학적 규명이 필요하고 이러한 연구 결과를 치료 보조 수단으로 확대 실시해야 하는 실정이다.

한국 여성들은 서구 여성과 비교하여 칼슘 섭취량이 적을 뿐 아니라 짜게 먹는 식습관이 골대사에 나쁜 영향을 주는 것으로 본 연구 팀의 연구 결과로

나타났다(40,41). 또한 노인에서는 칼슘 섭취량뿐 아니라 비타민 D의 적은 섭취도 보고되어 한국에서 골다공증 환자가 많으리라는 것을 쉽게 알 수 있다(42). 본 연구팀은 골다공증을 진단받은 폐경 후 여성에서 8주간 1일 3정씩 600mg ipriflavone를 투여한 결과 골통증의 완화 및 골흡수의 억제 효과가 있는 것을 보여주었다(43). 현재 의학계 또는 관련학계에서 전곡의 복합탄수화물 섭취가 골대사에 미치는 영향에 대한 연구는 전무하며 또한 임상적으로 이를 이용한 연구는 전혀 없다.

질병 치료에 식품의 사용은 초기에는 전통적인 식경험이 있는 것을 중심으로 식품중 부족한 것을 보완하는 건강 식품이 위주였으나, 최근에는 생명과학의 발달에 힘입어 생리활성 물질을 알아내고 이를 첨가한 의약품과 식품의 경계가 맞닿은 복합품까지 등장하고 있다. 한국인의 식사특성중 하나는 곡류를 위주로 섭취하는 경향이 있으므로 전곡으로 제조한 선식이나 phytochemicals 섭취는 사회적이나 문화적인 측면에서 우리나라 환자들이 쉽게 받아들일 수 있을 것이다. 현재에도 선식은 만성질환 환자에서 사용도가 높지만 이러한 전곡의 섭취가 당뇨병, 심혈관 질환, 골다공증 치료에 주는 영향에 대한 과학적인 임상 자료가 없으므로 만성질환 치료에 보조 수단이 아니라 유해요소라는 설도 있어 판매에 한계가 있다. 따라서 전곡으로 제조한 선식이나 phytochemicals 섭취가 만성질환 치료의 보조 수단으로 사용할 경우 보여지는 임상 효과를 규명하여 치료에 도움이 된다는 과학적인 접근이 시급하다.

참 고 문 헌

1. Dey, P.M. and Brinson, K. Plant cell walls. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 42: 265-382 (1984)
2. Brett, C. and Waldron, K. Cell wall structure and the skeletal functions of the wall. In "Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls" Unwin Hyman, London, pp.4-57 (1990)
3. Carpita, N.C. The biochemistry of growing cells, In "Physiology of Cell Expansion during Plant Growth" Cosgrove, D.J. and Knievel, D.P. (eds.), Academic Society of Plant Physiology, Rockville, MD, pp.28-45 (1987)
4. Renard, C.M.G.C., Voragen, A.GJ., Thibault, J.F. and Pilnik, W. Comparison between enzymatically and chemically extracted pectins from apple cell walls. Anim. Feed Sci. Technol., 32: 69-75 (1991)
5. Siljeström, M., Westerlund, E., Björck, I., Holm, J., Asp., N.G. and Theander, O. The effects of various thermal processes on dietary fibre and starch content of whole grain wheat and white flour. J. Cereal Sci., 4: 315 (1986)
6. Nyman, M., Schweizer, T.F., Pålsson, K.E. and Asp, N.G. Effects of processing on fermentation of dietary fibre in vegetables by rats. Lebensm. Wiss. Technol., 24: 433 (1991)
7. Guillon, F., Barry, J.L. and Thibault, J.F. Effect of autoclaving sugar-beet fibre on its physico-chemical properties and its in-vitro degradation by human faecal bacteria. J. Sci. Food Agric., 60: 69-79 (1992)
8. Linko, P., Colonna, P. and Mercier, C. High-temperature, short-time extrusion cooking. In "Advances in Cereal Science and Technology.

Vol 4." Pomeranz, Y. (ed.), AACC, St. Paul, MN, p.145 (1981)

9. Wiedman, W. and Strobel, E. Processing and economic advantages of extrusion cooking in comparison with conventional processing in the food industry. In "Extrusion Technology for the Food Industry" C'Connor, C. (ed.), Elsevier Applied Science, New York, pp.132-169 (1987)
10. Selvendran, R.R., Stevens, B.J.H. and Du Pont, M.S. Dietary fiber: chemistry, analysis, and properties. Adv. Food Res., 31: 117-209 (1987)
11. Theander, C., Westerlund, E. and Aman, P. Structure and components of dietary fiber. Cereal Food World, 38(3): 135 (1993)
12. Asp, N.G., Ejörck, I. and Nyman, M. Physiological effects of cereal dietary fibre. Carbohydr. Polym., 21: 183 (1993)
13. Thomson, LN. Antioxidants and hormone-mediated health benefits of whole grains. Crit. Rev. in Food Sci. & Nutr. 34: 473-494 (1994)
14. Murkies, A.L., Wilcox, G. and Davis, S.R. Phytoestrogens. J. Clin. Endo. Metab. 83: 297-303 (1993)
15. Slavin, J.L. Epidemiological evidence for the impact of whole grains on health. Crit. Rev. in Food Sci. & Nutr. 34: 427-434 (1994)
16. Burning, J.E. and Hennekens, C.H. Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. Nutr. Rev. 55: s53-s60 (1997)
17. Prezios, P., Barrett-Connor, E., Papo, E.L., Roger, M., Saint-Paul, M., Nahoul, K. and Simon, D. Interrealtionship between sex hormone-binding globulin and plasma insulin in health adult women, the Telecome study. J. Clin. Endocrinol. Metab. 76: 283-287 (1993)
18. Haffner, S.M., Kats, M.S., Stern, N.P. and Dunn, J.F. The relationship of sex hormone to hyperinsulinemia and hyperglycemia.

Metabolism 37: 683-688 (1988)

19. Bjorntorp, P. Fatty acids, hyperinsulinemia and insulin resistance, which comes first? Current Opi. in Lipidol. 5: 166-174 (1994)

20. Lindsted, G., Lundberg, P., Lapidus, L., Lindfren, H., Bengtsson, C. and Bjorntorp, P. Low sex hormone-binding globulin concentration as independent risk factor for development of NIDDM. Diabetes 40: 123-128 (1991)

21. Am. Diabetes Assoc. Translation of the diabetes nutrition recommendations for health care institutions. Diabetes Care 20(Suppl 1): 106-108 (1997)

22. Ornish, D., Brown, S.E., Scherwitz, C.W., Billigs, J.H., Amstrong, W.T., Ports, T., McHanahan, S.H., Kirkeeide, R.L., Brand, R.J. and Gould, K.L. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease? Lancet 336: 123-128 (1990)

23. 김철진, 김종태, 황재관, 홍석인, 조성자. 압출성형에 의한 저이용 식량자원의 가공공정 개발. 한국식품개발연구원 연구보고서. E 1293-0532 (1994)

24. 황재관, 김종태, 조성자, 김철진. 밀기울에 대한 열처리가 이화학적 특성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 27: 394-403 (1995)

25. 황재관, 김종태, 조성자, 김철진. 열처리 밀기울의 수용성 분획의 특징. 한국식품과학회지, 27: 934-938 (1995)

26. 김종태, 황재관, 조성자, 김철진, 김해성. 이축 압출성형공정의 의한 밀기울의 물리화학적 변형. I. 스크류의 조합과 공정변수 조절에 따른 시스템 변수의 변화. 한국식품과학회지, 27: 404-413 (1995)

27. 김종태, 황재관, 조성자, 김철진, 김해성. 스크류 조합과 공정변수 조절에 따른 밀기울 압출물의 특성. 한국식품과학회지, 28: 169-179 (1996)

28. Hwang, J.K., Kim, C.J. and Kim. C.T. Extrusion of apple pomace as a

potential pectin extraction method. J. Food Sci. (in press)(1998)
29. Hwang, J.K., Choi, J.S., Kim, C.J. and Kim, C.T. Solubilization of apple pomace by extrusion. J. Food Proc. Preserv. (in review) (1998)
30. 황재관, 김종태, 홍석인, 김철진. 압출성형에 의한 식물 세포벽의 수용화. 한국영양식량학회지, 23: 358-370 (1994)
31. 조은영, 윤지영, 박영심, 김정환, 송영득, 공운영, 이현철, 허갑범. 폐경전 중년여성에서 Sex hormone-binding globulin과 내장지방 축적, 혈정, 인슐린 및 지질농도와의 관계. 한국지질학회지, 5(1): 61-69 (1995)
32. 허갑범, 이현철, 정윤석, 박석원, 박유경, 박은주, 이종호. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 인슐린 분비능력이 당질 및 지질대사에 미치는 영향. 대한내과학회지, 47(3): 295-304 (1994)
33. 허갑범, 이현철, 임승길, 송영득, 박은주, 윤지영, 이종호, 이영해. 한국 중년 성인에서 관상동맥경화증의 위험요인들과 혈청 인슐린 농도와의 관계. 대한내과학회지, 49(6): 819-828 (1995)
34. 최미숙, 이종호, 백인경, 안광진, 정윤석, 이현철, 허갑범. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 이환기간이 영양 상태에 미치는 영향. 대한당뇨병학회지, 16(1): 35-44 (1992)
35. 최미숙, 이종호, 백인경, 정윤석, 이현철, 허갑범. 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서 체지방 분포가 당질 및 혈청지질에 미치는 영향. 대한당뇨병학회지, 16(1): 45-53 (1992)
36. 차봉수, 송영득, 백인경, 이종호, 임승길, 김경래. 이현철, 허갑범. 관상동맥경화증 환자에서 고인슐린혈증. 대한당뇨병학회지, 20(3): 291-302 (1996)
37. 서정연, 김수연, 김미경, 정은정, 이종호, 이양자, 조승연. 관상동맥질환 환자의 β-carotene과 α-tocopherol 농도에 관한 연구. 한국지질학회지, 7(1): 11-18 (1997)
38. 정윤석, 김현만, 김한수, 탁승제, 이웅구, 정익모, 조홍근, 조승연, 이현

철, 허갑범, 백인경, 이종호. 관상동맥죽상경화증 환자에서 식생활요법 후 관상동맥경화증의 변화. 대한내과학회지, 48(2): 181-189 (1995)

39. Huh, K.B., Lee, H.C., Cho, S.Y., Lee, J.H. and Song, Y.D. The role of insulin resistance in Korean patients with coronary atherosclerosis. Diabetes 45: s59-s61 (1996)

40. 이종호, 최미숙, 백인경, 문수재. 임승길, 안광진, 송영득, 이현철, 허갑범. 폐경전 40대 한국 여성들의 영양섭취 상태와 골밀도와의 관계. 한국영양학회지, 25(2): 140-149 (1992)

41. 송영득, 임승길, 정춘희, 안광진, 이은직, 김경래, 이현철, 허갑범, 최미숙, 백인경, 이종호. 폐경전 여성에서 소디움 섭취량과 골밀도와의 상관성. 대한골대사학회지, 1(2): 193-200 (1994)

42. 정윤석, 임승길, 윤지영, 박유경, 이종호, 이현철, 허갑범. 노인에서 칼슘 대사 호르몬들의 동태. 한국노화학회지, 3(2): 87-92 (1993)

43. 원영준, 정윤석, 홍기영, 박유경, 김희선, 이종호, 이은직, 임승길, 김경래, 이현철, 허갑범. 폐경후 여성에서 Ipriflavone의 투여 효과. 대한내분비학회지, 8(3): 259-264 (1993)

제 3 장 전곡립의 가공공정 개발 및 특성 연구

제 1 절 서 설

곡류의 세포벽은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴, 리그닌 및 당단백질 등의 고분자 물질로 되어 있다. 이들 구성성분들은 서로 유리된 상태로서 존재하는 것이 아니라 대부분 공유결합, 이온결합 및 소수결합 및 수소결합 등을 통하여 강하게 결합되어 수용화 효율과 소화를 방해한다. 이외에도 무기질, 비타민, 그리고 생리활성물질인 ferulic acid와 phenolic acid 등도 함유되어 있으나 이들 역시 세포벽 구성성분들과 강하게 결합된 상태로 존재하므로 생체 이용성이 매우 낮아 실질적인 생리활성 효과를 기대하기가 어렵다.

그러므로 본 연구에서는 압출성형에 의한 고온, 고전단력과 고압으로 전분호화와 팽화를 시키고 조직을 느슨하게 하여 수용화효율과 소화도를 증가시키고 수용성 식이섬유의 함량을 높이고자 하였다. 또한 압출성형 후 효소처리를 하여 수용화 효과를 극대화시킬 뿐만 아니라 세포벽에 불용성으로 존재하는 생리활성성분을 유리시키는데 그 목적이 있다. 그리고 전곡립을 이용한 선식제품의 질을 개선시키고 일반 영양성분 및 생리활성 성분의 작용특성을 고려한 기능성 식품을 design하고자 하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에서는 (주)풀무원과의 공동조사를 통해 현재 주로 선식제품에 사용되면서, 압출성형에 의한 구조변화 효과가 뚜렷할 것으로 판단되는 현미,

현미찹쌀, 보리, 율무 4종을 대상으로 선정하여 연구를 진행하였다.

2. 압출성형 실험설계

압출성형공정을 통하여 곡류의 구조를 효율적으로 변형하기 위해 3가지의 공정변수 즉, 스크류의 회전속도, 원료의 공급량, 원료반죽의 수분함량을 설정하였다. 압출성형 실험조건은 Table 1에 나타내었다. 압출성형 시료는 수용성 현상, 호화도, 영양성분 변화 등에 대해 생시료 및 볶은 시료와 비교하였다.

Table 1. Extrusion conditions of cereals

Sampels	Temperature (℃)	Moisture Content (%)	Screw speed (rpm)
EX-1	130	25	250
EX-2	130	20	300
EX-3	130	20	200
EX-4	130	15	250
EX-5	120	25	250
EX-6	120	25	200
EX-7	120	20	250
EX-8	120	15	300
EX-9	120	15	200
EX-10	110	25	250
EX-11	110	20	300
EX-12	110	20	200
EX-13	110	15	250

3. 압출성형된 곡류의 효소처리

압출공정 처리한 시료 1 kg에 10 L의 증류수를 넣고 Filtrase BR

(Gist-Brocades, Netherland) 효소액(효소/시료=1:100)을 첨가한 다음 50℃에서 6시간동안 교반하여 반응시켰다. 반응액을 항온건조기에서 50℃에서 12시간 건조하였다.

4. 수용화효과

가. 수분용해지수(Water Solubility Index: WSI)

시료 10 g에 물 100 ㎖를 가하여 상온에서 1시간 동안 교반한 후 2,000×g에서 10분간 원심분리 하였다. 상등액 10 ㎖를 취하여 수분칭량병에 넣은 후 105℃에서 4시간 동안 건조하여 고형분함량을 측정한 후 WSI를 다음 식으로 결정하였다.

$$WSI(\%) = \frac{(\text{soluble solids g}/10\ \text{ml}) \times 100\ \text{ml}}{100\%} \times 100\%$$

나. 고유점도(Intrinsic Viscosity)

시료를 일정량의 증류수에 넣고 상온에서 1시간 동안 교반하였다. 이를 0.45 ㎛ Millipore filter에서 여과한 후 10 ㎖의 용액을 Cannon-Fenske 모세점도관(size 50)에 넣고 25±0.1℃에서 점도를 측정하였다. 고유점도([η])는 각각 다음 식을 이용하여 결정하였다.

$$[\eta] = \lim_{c \to 0} (\eta - \eta_s)/\eta_s C$$

여기서 η은 용액의 점도, η_s는 용매의 점도, C는 용액의 농도이다.

다. 최적화 인자설정

압출성형 과정에는 곡류 성분의 수용화와 함께 수용화된 성분의 fragmentation이 함께 발생한다. 따라서 압출성형의 공정 최적화를 위해서는 수용화 수율과 함께 수용성 분획의 분자량을 동시에 고려하여야 한다. 이를 위하여 본 연구에서는 압출성형에 따른 수용성 성분의 용액상의 농도(g/dL)와 분자량을 나타내는 고유점도(dL/g)를 동시에 고려한 농도×고유점도를 새로운 최적화 인자로서 적용하였다.

라. 식이섬유 함량 측정

식이섬유 함량은 Prosky 방법에 의한 dietary fiber assay kit(Sigma Chemical Co.)를 사용하여 결정하였다. 식이섬유는 수용성 식이섬유(soluble dietary fiber: SDF)와 불용성 식이섬유(insoluble dietary fiber: IDF)로 나누어 측정하였으며, 각각 2회 측정하여 그 평균값으로 나타내었다. 총식이섬유(total dietary fiber: TDF)는 수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유의 합으로서 계산하였다.

마. 팽화

압출성형한 전곡립의 직경을 측정하였다.

바. 분산성

분산성은 1 g 시료와 15 ml 증류수을 test tube에 넣고 분산 및 풀리는 정도을 측정하였다. 압출성형시료와 생시료, 증자-볶음 및 볶음시료와의 차이를 실제 사진으로 비교하였다.

5. 압출성형 공정 최적화

이축압출성형기를 이용하여 현미, 현미찹쌀, 보리, 현미율무 등의 곡류를 수용화할 때 미치는 변수효과를 검토하기 위하여 Table 2와 같이 온도, 수분, screw 속도의 3가지 변수를 독립변수로 한 실험을 설계하였다. 이때 반응표면분석은 3-level factorial design으로 하여 온도는 110 130℃, 수분은 15 25%, screw 속도는 200 300 rpm으로 하였으며, 상세한 실험조건은 Table 1에 나타낸 바 같다.

또한 압출성형에 의한 곡류의 수용화에 미치는 효과를 보기 위한 종속변수로는 water soluble index (WSI), 농도 (C, g/dL), 고유점도 ([η], dL/g), 그리고 무차원군으로서 농도와 고유점도의 곱인 C[η]를 사용하였다. 실험결과는 SAS (static analysis system) program을 이용하여 반응표면분석을 행하였으며, 모델식은 2차 회귀모형을 사용하였다.

$$\text{종속변수} = \beta o + \Sigma\ \beta i + \Sigma\Sigma\beta ij\ Xi\ Xj$$

여기서 βo, βi는 상수이며, Xi, Xj는 독립변수를 나타낸다.

Table 2. Levels of extrusion conditions in experimental design

Xi	Extrusion conditions	Levels		
		-1	0	1
X1	Temperature (℃)	110	120	130
X2	Moisture content (%)	15	20	25
X3	Screw speed (rpm)	200	250	300

6. 영양성분 변화

가. 비타민

1) 시료 및 전처리: 곡류시료는 생시료외에 압출성형 처리의 주요 조건인 온도, 수분, 속도 3가지를 기준으로 처리 정도에 따라 전체 13개군 중에서 3개군(EX-2, EX-6, EX-8)을 선정하였다. 선정된 시료의 100 mesh 통과분 5 g을 50 ml mass flask에 취하여 샘플로서 사용하였다. 여기에 초순수 30 ml를 넣고 20분간 sonication(Branson 8210 sonicator)한 후 초순수로 mass up하였다. 이를 원심분리기(한일 MF-300)를 이용하여 4,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 0.45 μm membrane filter(Sartorius Co.)를 통과시켜 시료로 사용하였다.

2) 표준 용액의 조제: 비타민 B_2의 표준물로서 리보플라빈, FMN (flavin mononucleotide), FAD (flavin adeninedinucleotide) 이상 3가지 시약(Sigma Co.)을 사용하였다. 각 시약을 물에 녹여 갈색병에 보관한 후 실험 시작 전에 적정한 농도로 희석하여 사용하였다.

3) L/C 분석: Waters사 HPLC (600 E)를 이용하였고, μ-bondapak C18 (3.9 * 300 mm, Shiceido Co.) 컬럼을 사용하였다. Mobile phase 용매로는 메탄올 : 10mM NaH_2PO_4 용액 (pH 5.5)이 35 : 65로 혼합된 용액을 사용하여 0.8 ml/min flow rate 조건에서 측정하였다. 시료 용액은 20 μℓ를 injection하였으며, 여기파장 445 nm, 측정파장 530 nm에서 형광검출기(Waters 470 detector)로 측정하였다.

4) 계산: 각 시료별로 3가지 표준 용액의 RT를 기준으로 산출하였으며,

FMN과 FAD는 리보플라빈으로 환산하여 면적을 구하였다. 총 비타민 B_2는 3가지 형태의 리보플라빈을 모두 합한 결과이다.

나. 무기질

1) 시료의 분해: 준비된 시료는 건식회화법(drying ash method)을 사용하여 ICP분석용 시료의 전처리를 행하였다. 회화용 도가니에 일정량의 시료를 취하여 전기곤로에서 연기가 나지 않을 때까지 예비탄화시켰다. 탄화된 시료를 550℃의 회화로에서 백색이나 회백색이 될 때까지 5시간 회화시켜, 회화된 회분을 소량의 탈이온수로 재가 흩어지지 않도록 적신 후 염산에 녹였다. 이 액을 ICP로 측정하기 위하여 표준액 농도범위로 희석하여 실험에 사용하였다.

2) ICP에 의한 무기질 분석: 건식회화법으로 분해된 시료액은 ICP (Inductively coupled plasma; JOBIN YVON 38S spectrometer)를 사용하여 무기질을 분석하였다. 사용한 ICP의 분석조건은 Table 3과 같았으며, 생리적으로 중요한 원소들인 Na, K, Fe을 분석하였다. 한편, 각각의 무기질 표준액은 ICP 분석용 표준용액(AccuStandard, Inc.)을 사용하였으며, 표준용액의 Factor는 1.0이었다.

Table 3. Analytical conditions of inductively coupled plasma

	Wavelength(nm)	Prim. Slit	Sec.Slit	Time(sec)	(V)
Na	588	20	15	2.0	993
K	766.49	20	15	2.0	793
Fe	238.204	20	15	2.0	643

7. 영양흡수율 향상 효과

가. 전분 호화도 (Degree of gelatinization)

1) 원리: 효소(Glucoamylase)를 이용한 전분의 호화도 측정법으로서 호화된 전분일수록 효소의 작용을 받기 쉬워 반응 후 형성되는 포도당의 양이 많아지게 된다. 이렇게 형성된 포도당을 빙초산에서 o-toluidine과 반응시키어 green chromogen을 형성시킨 후 형성된 색의 강도를 630 nm에서 측정하여 호화도를 구하였다.

2) 실험재료: 시료의 종류는 현미, 현미찹쌀, 보리, 현미율무 4종으로 각각 비처리군(생곡류), 볶음처리군, 그리고 조건별(13구간) 압출성형처리군으로 나누어지며, 실험에 사용한 시료는 조건별로 처리된 시료를 분쇄, 정선 (100 mesh 통과분)하여 사용하였다. 또한 standard curve 작성을 위한 0% 호화시료(생전분)로는 soluble starch를, 100% 호화시료로는 2% soluble starch sloution을 완전히 가열 용해시켜 사용하였다. Glucoamylase 용액은 Sigma(A-7255)시약을 이용하여 sodium acetate buffer(pH 4.5)에 0.04% 농도로 용해하여 사용하였고, o-toluidine용액도 Sigma시약으로 thiourea 1.5 g이 용해된 glacial acetic acid 940 ml에 60 ml를 부가하여 제조, 사용하였다. 기타 실험에 사용된 모든 시약은 일급시약을 사용하였다.

3) 실험방법: 50 ml centrifuge tube에 증류수 5 ml을 넣고 각각의 시료 20 mg을 분산시켰다. 각각의 centrifuge tube에 glucoamylase solution 25 ml을 부가한 후 30분동안 40℃ water bath에서 반응시켰다. 효소의 불활성화를 통한 반응 정지 목적으로 25% TCA 용액 2 ml를 부가시켜 침전시켰다. 고속원심분리기에서 4℃, 11,500 rpm조건으로 5분간 원심분리한 후

상등액 0.5 ㎖를 15 ㎖ glass test tube에 넣고 o-toluidine reagent 4.5 ㎖를 부가시켰다. Boiling water bath에서 10분간 포도당과 반응시킨 후 냉수조에서 냉각시킨 후 glacial acetic acid 5 ㎖를 부가하고 voltex하였다. Spectrophotometer(Shimadzu UV-1201) 630 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 0, 50, 100% 호화도 시료로서 standard curve를 구한 후 각 시료별 호화도를 산출하였다.

나. 소화도

소화도는 Biliaderis의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 이는 효소를 이용한 in vitro 소화율을 측정하는 방법으로, 시료에 α-amylase을 반응시키면 환원당이 생성하게 되고 환원당이 많이 생기는 전분일수록 소화율이 높게 된다. 생곡류 및 압출성형 곡류 각 0.5g에 증류수 50 ㎖을 첨가후 10분간 교반하였다. 교반후 용해된 시료 각 2 ㎖를 15 ㎖ test tube에 취하여 α-amylase 0.1 ㎖를 가한 후 37℃ 항온수조에서 30분간 반응시킨 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 원심분리후 상등액 0.5 ㎖을 취하여 환원당을 Somogyi-Nelson법을 이용하여 정량하여 다음과 같은 식에 의해 in vitro 소화율을 계산하였다.

$$\text{Digestibility}(\%) = \frac{\text{mg of reducing sugar (as maltose)} \times 100 \text{ (dilution ratio)}}{\text{weght of sample (100 mg)}} \times 100$$

다. 저항전분함량 측정

저항전분의 함량은 효소을 이용한 Champ의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 저항전분은 생체내의 전분의 소화효소에 의해 가수분해되지 않은 전분으로서 전분분해효소인 α-amylase와 amyloglucosidase에 의해 분해되지 않은 전분의 양을 분석하여 다음과 같은 식에 의해 저항전분의 함량을 계산하였다.

$$RS(\%) = \frac{glucose(mg) \times dilution\ ratio(10) \times 0.9}{(\%)weight\ of\ sample\ (1000)} \times 100$$

(0.9 is the correction factor glucose (starch))

8. 생리활성성분 유리 효과

가. 세포벽분해효소처리

압출성형한 시료 1 g에 10 ㎖의 증류수를 넣고 Filtarse BR (효소:시료 =1:100, w/w, Gist-brocades Co., Netherlands)을 첨가한 다음 50℃에서 6시간동안 반응시키고, 반응액을 동결건조기를 이용하여 12시간동안 건조하였다.

나. 불검화물 추출

시료 1 g에 10 ㎖ 메탄올을 넣고 25℃에서 2시간동안 교반하여 지질을 추출한 다음 10% methanolic KCH를 가하여 검화시켰다. 검화액에 10 ㎖ ethyl ether을 가하여 불검화물(unsaponifiable matter)인 β-sitosterol을 분리하였으며, 이같은 분리과정을 3회 반복하고 분리된 액을 감압증류하여 시료를 추출하였다.

다. Gas chromatography에 의한 β-sitosterol의 분석·정량

추출한 시료를 10 ㎖ 메탄올에 녹이고 0.45 ㎛ membrane filter (Gelman Sciences Co.)를 이용하여 여과한 다음 GC로 분석하였으며 분석조건은 Table 4와 같다. 표준용액으로 β-sitosterol (Sigma Co., USA)을 농도별로(0 0.01 ㎎/10 ㎖) 제조하여 표준곡선을 만들어 분석된 시료의 β-sitosterol을 정량하였다.

Table 4. Operation conditions for the GC analysis of phytosterol

Instrument	Hewlett Packard 5890 A
Column	Utra 2 (Hewlett Packard No. 19091B-102)
Carrier gas	Hydrogen (30 ml/min)
Injection temp.	300℃
Detector temp.	300℃
Oven temp.	160-200-300℃
Detector	FID

9. 미세구조 변화

주사전자현미경(SEM)를 이용하여 원료곡류와 압출성형한 곡류의 분자미세구조를 비교하였다. 30 mesh 체를 통과한 분쇄한 곡류를 건조한 후 ion coater (Model IB-3, Eiko engineering, Ltd., Japan)를 사용하여 gold coating(250 Å)한 시편을 주사현미경(Hitachi S-2700 Scanning Electron Microscope, 20 kV filament accelerating voltage, Hitachi, Ltd., Japan)으로 촬영한 후 Polaroid Polapan 55FN (Polaroid Co., USA)로 인화하였다.

10. 선식의 관능기호도 조사

본 연구에서는 산업체에서 생산된 혼합곡류의 인체에 대한 생리활성을 검정하기 위하여 약 40명의 환자를 대상으로 직접적인 임상연구를 시행하였다. 따라서 (주)풀무원은 연세대학교 이종호 교수 연구팀과 협동으로 임상연구에 참여한 환자를 대상으로 기호도 조사를 실시하였다.

11. 선식 제품 기본 formula 확립 및 특수 기능성 식품 개발

가. 풀림성 향상 실험

분말제품의 경우 그 성상에서 기인되는 풀림성 저하에 의한 낮은 기호도가 문제되고 있는 것으로 나타나고 있다. 특히 곡류를 중심으로 한 선식 및 생식 제품의 경우 그 성분 특성상 물에 녹지 않아 더 불편한 점이 큰 것으로 알려져 있다. 이러한 사용중의 불편사항을 개선하기 위하여 제품의 풀림성 향상 실험을 진행하였다. 풀림성 향상 실험은 크게 두 부분으로 나누어 진행하였는데 첫 번째 방법은 과립기를 이용하여 성상을 분말에서 과립으로 제조하는 것이고 두 번째 방법은 그 과립화에 사용되는 바인더액을 적절하게 선정하여 풀림성을 극대화하는 것이다.

1) 바인더액 선정

바인더액으로는 레시틴을 사용하였다. 레시틴 코팅으로 친수성 표면의 swelling과 소수성 성분의 poor wettability를 조절하게 된다. lecithination에 사용하는 레시틴은 한 분자에 친수성과 소수성을 지닌 특별한 구조로 되어 있다. 제품에 직접 적용할 레시틴을 선정함에 있어 레시틴 전문 회사인 독일 루카스마이어사의 instantizing agent류의 Metarin계열의 여러 종류를 비교하여 보았다 (Table 5).

상기 제품간의 차이는 극성지방 함량에 따라 나누어지기도 하며 이함량이 레시틴의 점도에 직접적인 영향을 준다. 지방을 제거한 레시틴의 경우는 액상형 레시틴에 비해 비극성 지방이 제거됨으로 해서 제품에의 향과 맛에 영향을 줄여준다. 그러므로 향에 민감한 식품의 경우는 액상형 레시틴보다 분말형 지방제거 레시틴을 물에 분산시켜 사용하게 되면 많은 잇점이 있다. 분말형 레시틴간에는 PC(phosphatidyl choline)의 함량 차이가 있는데, PC는 instantizing 효과와 관련이 있다. PC 함량이 높은 레시틴의 경우 원료비가

80% 정도 비싼 반면 공정 적용시 낮은 제품의 사용량을 60% 정도 줄일 수 있다.

Table 5. The types and characteristics of lecithin

Metarin	FM	F	50	C	P	CP
주요적용	milk나 ccocoa를 함유한 제품등					
성상	액상			분말		
성분	레시틴 0식물유	레시틴 식물유	-	지방제거 레시틴 milk sugar	지방제거 레시틴	PC증량 지방제거 레시틴
지용성	+	+	+	-	+	+
수액분산성	-	-	-	+	+	+
사용량(%)	1-2	1-2	0.7-4	0.5-1	0.5-1	0.3-0.5

본 실험에서 적용한 Metarin P는 액상 분산형 분말 원료로서 현재 국내 업체중 매일유업, 남양유업에서 조제분유류에 동서식품에서는 우유 희석용 코코아 분말에 적용중인 원료이다. Metarin P의 특징은 Table 6과 같다.

바인더 용액은 용액 자체의 고점도화 때문에 15% 농도를 넘지 않아야 한다. 본 실험에서는 1%와 5% 두가지 농도로 제조하였다. 수용액은 최대한 빨리 교반시켜 높은 shearing force를 주면서 레시틴을 서서히 첨가한 후 상온에서 최소 20분 이상 수화시켰다. 공정 중에 과립기의 nozzle의 막힐 수 있으므로 균일한 용액상태를 유지하였다.

Table 6. The characteristics of Metarin P lecithin

성분	수분	1.5%
	지방	1.5%
	PC	20 - 24%
	PE	18 - 22%
	PI	12 - 15%
	PA	4 - 7%
분석결과	PCV	3
	AV	36
	pH	6 - 7
미생물	일반세균	1000/g
	효모	50/g
	곰팡이	50/g
	대장균군	음성
	살모넬라	음성
가격	약 10,000 원/kg	
포장단위	25 kg	

2) 과립화

과립기(flow-caoter, 제일기공)에 시료 300 g을 넣고 위에서 제조한 바인더 용액을 분사시켜 과립을 제조하였다. 레시틴 용액의 대조군으로는 물을 이용하여 과립화한다. 과립화 공정 중의 기기 조건은 inlet temp. 60℃, outlet temp. 40℃, spray pressure 1.0 kgf/㎠, spray time 15초, spray delay time 25초로 하였다. 일정량의 바인더액을 분사한 후 약 7분간 건조시켰다. 완성된 과립중에서 18 mesh pass 80 mesh on 부분을 선별하여 풀림성 향상 측정 실험에 시료로 사용하였다.

3) 풀림성 개선 측정

이상적인 instant products는 기기물리적 도움 없이 수초안에 reconstitution을 하는 것이다. 그러기 위해서는 액상에서의 좋은 wettability와 빠른 sinking이 필요하다. wettability를 측정하기 위하여 Schubert법을 modify하여 실험하였다. 이 방법은 미동없는 물 표면으로 분말의 일정량이 침투하는데 걸리는 시간으로 표현하는 것이다. 400 ㎖ 비이커에 150 ㎖의 물을 채운 후 비이커 위에 유리판을 덮었다. 유리판 위에 작은 구멍(지름 1 ㎝)이 달린 hopper를 놓고 일정량의 시료를 부은 후 유리판을 빼내 시료가 비이커의 물에 떨어져 전체가 젖는데 걸리는 시간을 측정하였다.

나. Formulation 실험

1) 배합실험

전곡류를 그 가공공정에 따라 동결건조, 볶음, 효소처리로 나누어 주원료로 이용하면서 기본 배합을 진행하였으며, 부원료로는 18종의 동결건조 야채와 3종의 항산화 기능성분을, 기타 미량영양소로는 비타민과 무기질을 처방하였다. 이때 주원료의 경우 제품 품질 및 관능에 많은 영향을 주기 때문에 그런 사항을 고려하였고 비타민과 무기질은 한국인 영양권장량을 기준으로 일섭취량 및 배합비를 결정하였다.

우선 주원료를 볶음 곡류로 사용하는 경우 고소한 맛 등에서 기호도가 우수하나 지질의 산패등 품질적 문제가 예상되어 동결건조 현미를 1차 주원료로 선정하였다. 볶음 곡류의 경우는 현미, 현미찹쌀, 현미율무, 보리, 검정콩 등 5종을 혼합사용하였다. 효소처리는 현미 bran에 대해서 적용하여 유효성분을 가용화 한 후 드럼건조기를 사용하여 분말화하였다.

부원료의 18종 야채는 감자, 고구마, 다시마, 김, 당근, 도라지, 마, 미역, 밤, 시금치, 쑥, 솔잎, 양배추, 양파, 연근, 우엉, 표고버섯 및 호박이며, 3종의 항산화물질은 녹차추출물, 포도종자추출물, 루이보스가 그것이다.

미량영양성분의 보충을 위한 비타민 급원은 비타민A, 비타민B1, 비타민B2, 니코틴산아미드, 비타민B6, 비타민C, 비타민D3, 비타민E, 엽산, 판토텐산칼슘을, 무기질 급원으로는 산화아연, 산화마그네슘, 우골분, 건조효모를 사용하였다.

2) 관능검사

관능검사는 풀무원 기술연구소 내부 요원을 대상으로 실시하였는데 기초 4가지 맛(짠맛, 신맛, 단맛, 떫은 맛) 테스트를 거쳐 그 능력을 검증 받은 후 풀무원의 다양한 제품의 관능검사를 진행해 온 경험있는 연구원을 대상으로 하였다. 대상자는 총 10명으로 하였으며 검사 방법은 다시료 제시 7점 평가법을 사용하였다. 7점 평가법은 매우 좋다가 7점, 좋다 6점, 좋은편이다 5점, 보통이다 4점, 나쁜편이다 4점, 나쁘다 2점, 매우 나쁘다가 1점으로 표시된다. 항목으로는 외관, 향, 맛, 전반적 선호도를 평가하였다. 검사는 오전 10시와 오후 3시30분에 각각 5명씩 실시하였다. 평가완료후 각 항목별로 평균값을 산출하였으며, 전체적 선호도 항목에 대해서는 분산분석을 통하여 $P < 0.05$에서 유의적 차이를 검증하였다.

3) 특수목적 기능식품 디자인

앞의 실험에서 결정된 기본 specification을 기초로 하여 용도별로 변형 specification의 기초안을 마련하고자 실험을 진행하였다. 우선 여기서 선정된 용도는 기존 유사 제품류들이 이미 시장에서 요구되어 판매되고 있는 주요 대상자 및 식이요법이 주요 치료 방법에 해당하는 질병들의 증상을 호소하는 대상자 중에서 선정하였다. 그렇게 선정된 대상자들의 기호, 질병상태 등의 특성을 고려하여 기존 사용 원료 및 새로운 효능 소재에 대한 검토를 진행하였다.

가) 이유식용

기존 선식 제품들의 주요 target의 하나인 유아용 이유식을 선정하였다. 이유식이란 생후 6개월이 지나면서 모유 이외의 여러 가지 음식물에 대한 적응을 통해 성인식으로의 원활한 이행과 함께 고른 영양소 섭취를 통한 성장발육 보조를 목적으로 하는 것으로 대부분은 유업체에서 제조, 판매하고 있으나 상기 언급했던 것과 같이 곡류를 base로 한 선식류도 많이 애용되고 있는 실정이다. 이유식의 경우 초기에는 단일식품으로부터 시작하게 되는데 이는 처음부터 유아에게 너무 많은 종류의 원료가 들어있는 식품을 섭취하게 할 경우 알레르기 등을 유발할 위험이 있기 때문이다. 이에 우선 기본 specification에서 항산화 기능성분은 모두 제외하였고 또한 소화율이 낮은 동결건조곡류도 지양하면서 최소한의 원료를 선정하여 디자인하였다.

곡류는 볶음 현미, 볶음 현미 찹쌀, 볶음 보리의 3종과 함께 볶음 검정콩만을 혼합하여 기본으로 하였고 야채류 부원료도 기본에서 다시마, 쑥, 솔잎, 연근, 우엉, 마을 제외한 12종만을 사용하였다. 이상 선정된 원료를 이용하여 배합실험을 거쳐 관능검사를 위한 2개안을 설정하였다. 이유식 제품의 대상은 말을 할 수 없는 유아로서 설문지를 통한 관능검사가 불가능하므로 3개이상의 다시료 관능검사는 부적당하다는 판단하에 2개의 시료를 제시하여 좀 더 잘 먹는, 즉 기호도가 더 좋은 시료 1종을 선정하는 것을 목적으로 하였다. 검사대상자는 6개월이상 24개월이하의 자녀를 둔 풀무원 내부 직원중에서 실험 목적에 동의하는 10명의 사람으로 하여 각 3회 섭취 분량의 시료를 나누어 주어 집에서 실제 자녀에게 섭취케 하여 반응을 살펴보는 형식의 Home Using Test로 실시하였다.

나) 당뇨용

만성대사성 질환인 당뇨질환 대응 목적의 기능식품을 선정하였다. 당뇨의 경우 여러 관련 학회지등의 연구결과에서 보면 베타글루칸을 다량 함유한 보리가 혈당지수에 좋은 효과를 보이는 것으로 나타나 이에 착안하여 보리의 처

방량을 높였다. 그리고 당뇨병의 증상을 가진 사람들의 경우 실제 그렇게 큰 문제가 되지는 않는 당류의 소량 섭취 및 감미에 민감한 반응을 나타내는 경우가 많아 관능적으로는 다소 기호도가 저하되는 문제점이 있기는 하나 아예 과당은 제외하였다.

다) 체중조절용

현재 시중에는 여러 업체에서 다양한 종류의 체중조절제품을 판매하고 있다. 대표적인 것으로는 1일 400 - 800 kcal의 열량을 공급하는 초저열량식 다이어트(VLCD)와 1일 약 1200 kcal를 공급하는 저열량식 다이어트(LCD) 이론에 근거한 식사대용식 제품이 있으며, 체지방합성 억제, 체지방연소 촉진 등의 기작에 근거한 기능성 원료를 사용한 보조식 개념의 제품이 있다.

비만의 정의가 체지방 과다임에서도 알 수 있듯이 다이어트 제품에 있어서 가장 중요한 것은 체지방은 감소시키면서 다른 체성분인 수분이나 단백질의 손실은 최소화하는 것이다. 체지방의 변화없이 단순히 체중만 감소되면 일순간의 감량 후 다시 체중이 증가하는 요요현상이 일어나기 쉽고 건강에도 좋지 못한 영향을 끼치게 된다. 이 점에 착안하여 양질의 단백질 함량이 높은 건조효모와 검정콩을 중심으로 처방량을 조절하였으며, 그와 함께 예로부터 동의보감등에서 체내 수분 대사 조절 및 체중 감량 효과가 있는 것으로 전해 내려오는 율무와 야채류 중에서는 부종 등에 효과가 있는 것으로 인지되는 호박의 함량을 높였다. 기타 야채류 부원료의 종류 및 함량을 소폭 조정하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 선식원료(전곡립) 선정

가. 선식 원료 시장 조사

선식은 우리나라 전통의 곡류를 중심으로 제품화한 것으로 주로 사용되는 곡류는 현미, 현미찹쌀, 보리 및 현미율무 등이며, 기타 곡류이외의 부류로서 검정콩, 검정깨, 들깨 등 7종을 중심으로 하고 있다. 곡류 중 가장 많은 함량을 차지하는 현미(쌀)와 보리의 경우 그 생산량을 보면 1966년에는 쌀 3,916천톤, 보리 1,632천톤 이었으나, 약 30년이 지난 1994년의 자료를 보면 쌀 5,060천톤, 보리 232천톤으로 많은 변화가 있다. 주식인 쌀의 경우 생산량이 증가하였으나 주로 도정을 하여 사용하고 선식의 사용 형태인 현미로의 사용은 오히려 줄어든 것으로 추정된다. 이는 잡곡류에 해당하는 보리의 생산량이 급격한 감소를 한 것으로 보아도 알 수 있다.

이렇게 7종의 곡식류를 원료로 한 선식 시장의 태동기는 1990년 이전으로 일반 재래시장을 중심으로 확산되다가 태평선식, 토속식품등 중소업체 중심으로 Brand화되어 대용식 개념의 제품 속성을 보유한 채 시장 형성에 들어갔다. 1993년까지는 도입기로서 태평선식의 절대 우세속에서 대기업인 풀무원에서 내츄럴하우스의 칠보식 brand로 선식시장에 진입하였다. 이 시기는 건강에 대한 관심과 자연 식품에 대한 소비자의 의식 향상으로 시장이 확대되었다. 또한 주원료 이외에 부원료 확대로의 차별화를 시도한 시기이다. 1994년 이후는 성숙기에 해당하는데 성인 대용식 이외에 이유식, 당뇨식등 특수 용도용 제품으로 대리점이란 형태의 유통으로 시장 확산을 꾀하고 있는 실정이다. 그러나 최근에는 IMF 등 여러 사회, 경제 환경적인 요인 및 신개념 제품의 지속적인 출시가 이루어지고 있지 못한 점으로 인해 전반적으로 시장이 침체되어 있는 실정이다.

현재 총 선식 시장은 자료마다 약간의 차이는 있으나 약 400 500억원 수준이며, 그 중 제조 및 생산에서 과학적인 접근이 가능한 중소업체 이상의 brand 시장은 약 50% 내외이다. 이러한 시장을 형성하면서 국민의 영양 공급원으로서 판매중인 제품으로의 선식의 경우도 현재 여러 가지 문제점을 가지고 있다. 대표적인 것으로는 공정상의 문제로 호화도 및 소화율이 낮은 볶음 공정을 거치고 있어 성인을 중심으로 한 성인병 예방 및 치유 목적으로는 어느 정도 적합할 지 모르나, 소화 흡수 기능이 성인에 미치지 못하는 유아 및 노인을 대상으로한 제품의 경우는 부적당하다고 하겠다.

공정상 문제만큼 중요한 문제로는 영세한 소규모 업체들의 임의식 제품 제조 및 처방을 들 수 있다. 원료 및 공정 처리가 위생적으로 처리되지 못하고, 재래시장이나 대리점 등 일반 국민과 쉽게 접할 수 있는 곳을 통해 섭취 대상 고객의 질병 대응형으로 제조, 판매되고 있는 실정이다. 향후 과학적으로 공정조건을 확립시키고 이론적 고찰을 통한 제품의 기능별 formular 제조 및 과학적 검증이 필요하다고 하겠고, 이러한 연구들을 통해 소비자 인식 확산 및 유수 식품업체의 관심 유발로 전 제품의 brand화 및 시장확산을 꾀할 수 있으리라 기대된다.

나. 각 원료의 영양성분 및 특이영양성분 조사

주요 곡류의 일반영양성분 분석 결과는 다음의 Table 7과 같다.

공통적으로 탄수화물, 단백질, 지방, 식이섬유, 무기질 및 비타민의 6대 영양소를 모두 포함하고 있으며, 그 외에 특이영양성분에 대한 연구는 개별적으로 학계 및 산업체를 통해 연구되어 지고 있는 실정이다. 현미의 경우는 혈액순환 및 신진대사 촉진에 유효하다고 알려져 국내외에서 활발한 연구가 진행되고, 일본에서는 단일성분으로 상품화까지 추진되어진 GABA라는 물질이 함유되어 있으며, 보리의 경우도 귀리와 함께 체질 강화, 콜레스테롤 저하, 혈당 강하 및 당뇨 개선에 좋은 효과를 나타내고 있으며, 이는 배유 세포벽에

mixed-linked (1-3), (1-4)-beta-D-glucan이 다량 함유되어 있기 때문이며 보리의 경우 품종에 따라 차이가 있으나 그 함량이 3.0 6.9%이다. 보리의 beta-glucan은 귀리보다 함량이 높아 이전의 양조 산업과 사료 연구에서 최근 인체 건강에 미치는 생리적 효과에 대한 연구로 전환되어 이루어지고 있다. 또한 율무에는 게르마늄, β-sitosterol, Coixol glicans, benzoxanzinones 등의 성분이 함유되어 있는 것으로 보고되어 지고 있으며, 이러한 영양성분등으로 섭취시 건위, 이뇨, 소염, 진통, 항종양 및 피부병 개선 등의 효과가 있다는 것이 동위보감 등의 자료를 통해 전통적으로 전해 내려오고 있다. 기타 팥에는 saponin, choline이 메밀에 rutin 등의 특이 성분 등이 있는 것으로 보고되어 지고 있다.

Table 7. Composition of cereals

	열량 Kcal	단백질 g	지질 g	당질 g	섬유 g	회분 g	칼슘 mg	인 mg	철 mg	V.E1 mg	V.E2 mg	나이아신 mg
현미	368	7.2	2.5	76.8	1.3	1.2	41	284	2.1	0.3	0.1	5.1
현미찹쌀	364	7.4	2.1	77.1	0.8	1.3	21	243	3.4	0.3	0.12	5.0
보리	334	10.6	1.8	68.2	2.9	2.7	43	360	5.4	0.31	0.10	5.5
율무	373	21.3	3.7	61.6	2.0	1.5	151	309	6.8	0.19	0.02	2.0
귀리	317	13.0	6.2	54.7	10.6	3.0	55	320	4.6	0.3	0.1	1.5
조	316	10.1	3.0	72.0	2.5	1.8	51	410	2.8	0.48	0.15	1.5
메밀	300	10.8	2.8	61.0	9.0	1.9	42	330	3.1	0.32	0.12	4.1
수수	336	10.3	4.7	69.5	1.7	1.8	9	330	3.0	0.35	0.10	6.0

다. 원료 선정

이상에서 조사한 것을 바탕으로 현재 선식 제품에 주로 사용되면서 영양성

분이 풍부한 현미, 현미찹쌀, 보리, 율무 4종을 선정하여 실험을 진행하였다.

2. 압출성형 및 효소처리에 의한 수용화효과

가. 수분용해지수, 수율 및 고유점도

1) 압출성형

본 연구에서 압출성형 대상 시료로서 선정한 현미, 현미찹쌀, 보리, 율무 4종의 곡류에 대하여 압출성형에 따른 수용성 성분의 수분용해지수(water solubility index), 수율, 고유점도(intrinsic viscosity) 및 수율 x 고유점도의 값을 각각 Table 8 11에 나타내었다. 우선 전체적으로 각 곡류의 원료 및 볶은 시료에 비해 압출성형에 의해 수분용해지수가 크게 증가한 것을 알 수 있다. 이는 압출성형 과정에서 동반되는 가열작용에 의해 전분의 호화가 촉진되며, 또한 전단력에 의해 비전분계 복합 다당류(non-starch complex polysaccharides)가 세포벽으로부터 수용화 용출되기 때문이다.

Table 8의 현미와 Table 9의 현미찹쌀을 비교해 보면 현미찹쌀의 수용화율이 약 2배정도로 훨씬 높은 것을 알 수 있다. 이같은 결과는 찹쌀에 상대적으로 아밀로펙틴 함량이 많은 것이 그 원인으로 해석된다. 아밀로펙틴은 대표적인 branch-on-branch 구조를 갖는 측쇄형 다당류(branched polysaccharides)로서 전분의 초기 호화단계인 팽화과정에서 물이 아밀로펙틴의 가지부분을 통해 침투함으로써 호화가 시작된다. 따라서 아밀로펙틴의 함량이 높을 경우 보다 물의 침투가 용이해져 효율적으로 팽화가 일어나며, 팽화율이 높을수록 압출성형에 따른 전단력에 의해 보다 용이하게 수용화가 일어나게 된다.

반면에 현미와 현미찹쌀의 수용성 분획의 고유점도는 거의 유사한 것을 알 수 있다. 고유점도는 수용화 수율과는 관계없이 수용성 분획의 분자량을 나타내는 척도로서, 현미와 현미찹쌀 수용성 분획의 분자량에는 큰 차이가 없다는 것을 의미한다.

Table 8. Solubilization of brown rice by extrusion

Samples[1)]	WSI(%)	C(g/dL)	[η](dL/g)	C[η]
RAW	1.925	0.0385	0.1855	0.0071
RO	1.60	0.0320	0.2232	0.0071
EX-1	31.15	0.6230	0.7108	0.4429
EX-2	34.15	0.6830	0.7321	0.5000
EX-3	31.63	0.6325	0.6776	0.4286
EX-4	38.95	0.7790	0.6418	0.5000
EX-5	34.1	0.6820	0.6075	0.4143
EX-6	30.43	0.6085	0.8217	0.5000
EX-7	35.78	0.7155	0.6988	0.5000
EX-8	42.48	0.8495	0.4877	0.4143
EX-9	39.30	0.7860	0.4907	0.3857
EX-10	38.23	0.7645	0.7288	0.5571
EX-11	39.30	0.7860	0.6361	0.5000
EX-12	38.98	0.7795	0.6414	0.5000
EX-13	40.60	0.8120	0.5630	0.4571

1) RAW : Raw cereals; RO : Roasted; EX : Extruded

Table 9. Solubilization of glutinous rice by extrusion

Samples[1)]	WSI(%)	C(g/dL)	[η](dL/g)	C[η]
RAW	4.60	0.0920	0.1553	0.0143
RO	2.43	0.0485	0.2946	0.0143
EX-1	67.93	1.3585	0.8202	1.1143
EX-2	68.33	1.3665	0.8259	1.1286
EX-3	69.10	1.3820	0.8786	1.2143
EX-4	68.48	1.3695	0.5842	0.8000
EX-5	66.13	1.3225	0.9182	1.2143
EX-6	66.65	1.333	0.8895	1.1857
EX-7	69.93	1.3985	0.8274	1.1571
EX-8	71.35	1.4270	0.5306	0.7571
EX-9	69.98	1.3995	0.6125	0.8571
EX-10	69.13	1.3825	0.7647	1.0571
EX-11	65.45	1.3090	0.8512	1.1143
EX-12	64.05	1.2810	0.9479	1.2143
EX-13	69.98	1.3995	0.5308	0.7429

1) RAW : Raw cereals; RO : Roasted; EX : Extruded

Table 10. Solubilization of barley by extrusion

Samples[1)]	WSI(%)	C(g/dL)	[η](dL/g)	C[η]
RAW	4.12	0.08235	0.5204	0.0429
RO	3.28	0.0655	0.6543	0.0429
EX-1	17.78	0.3555	1.0046	0.3571
EX-2	22.45	0.4490	1.1136	0.5000
EX-3	20.65	0.4130	1.2452	0.5143
EX-4	34.25	0.6850	1.2930	0.8857
EX-5	23.68	0.4735	1.2068	0.5714
EX-6	16.98	0.3395	1.0940	0.3714
EX-7	25.53	0.5105	1.1753	0.6000
EX-8	29.00	0.580	1.1823	0.6857
EX-9	36.53	0.7305	1.3689	1.0000
EX-10	24.10	0.4820	1.1263	0.5429
EX-11	31.60	0.6320	1.0398	0.6571
EX-12	27.60	0.5520	1.0870	0.6000
EX-13	33.63	0.6725	1.1046	0.7429

1) RAW : Raw cereals; RO : Roasted; EX : Extruded

Table 11. Solubilization of Job's tear by extrusion

Samples[1)]	WSI(%)	C(g/dL)	[η](dL/g)	C[η]
RAW	3.08	0.0615	0.2323	0.0143
RO	1.63	0.0325	0.4396	0.0143
EX-1	56.18	1.1235	0.8519	0.9571
EX-2	58.90	1.1780	0.6791	0.8000
EX-3	55.33	1.1065	0.8005	0.8857
EX-4	60.18	1.2035	0.4629	0.5571
EX-5	55.90	1.1180	0.8561	0.9571
EX-6	55.68	1.1135	0.8083	0.9000
EX-7	55.10	1.1020	0.8426	0.9286
EX-8	62.90	1.2580	0.4429	0.5571
EX-9	59.78	1.1955	0.5736	0.6857
EX-10	57.45	1.1490	0.8206	0.9429
EX-11	57.73	1.1545	0.9157	1.0571
EX-12	54.58	1.0915	1.0078	1.1000
EX-13	59.28	1.1855	0.5543	0.6571

1) RAW : Raw cereals; RO : Roasted; EX : Extruded

한편, 수율과 분자량을 고려한 수율×고유점도(C[η])를 보면 현미찹쌀이 현미보다 훨씬 높은 값을 보였다. 이는 전체적으로 수율이 수율×고유점도(C[η]) 인자를 결정한다는 것을 의미한다. 일반적으로 식물세포벽을 수용화할 때는 수율의 증가에 따라 분자량이 감소하면서 상호간에 어느 정도 상쇄되는 현상을 보이는 것이 일반적이다. 그러나 본 실험처럼 전분질이 상당히 존재하는 경우에는 섬유질 성분과는 달리 압출성형에 의한 저분자화 현상이 뚜렸하게 발견되지 않았다. 이는 지금가지 비전분계 다당류로 구성되어 있는 섬유소 물질에 대한 압출성형 결과와는 다른 결과로서 전분성 물질이 대부분인 전곡립의 경우에는 수율x고유점도의 인자에 대한 새로운 해석을 필요로 한다.

율무와 보리의 경우에는 현미와 현미쌀에 비해 압출성형 공정의 변화에 관계없이 상대적으로 큰 차이를 보이지 않았다(Table 10 & 11). 특히, 보리의 경우에는 다른 곡류에 비하여 매우 낮은 용해화 수율을 나타내었다. 동일한 압출성형공정에서 이러한 수용성의 차이는 분자구조적인 관점에서 보면 미세구조에 의해서 결정된다. 현재는 이러한 원인의 해석에 필요한 구체적인 연구결과가 없으나 추후 구조측면에서 이러한 결과를 필요로 한다.

곡류에 대한 압출성형의 전체적인 효과를 살펴보면 roasting 과정에 비해 수용화 성분이 크게 증가한 것을 알 수 있다. 수용화 정도는 궁극적으로는 압출성형 제품의 소화율이나 물성의 개선에 매우 중요한 인자로서 작용하기 때문에 공정 및 품질개선 측면에서 압출성형은 긍정적인 측면을 내포하고 있다.

2) 압출성형 후 효소처리

현미, 율무와 보리의 압출성형 및 효소처리로 인한 수분용해지수(water solubility index)를 Table 12에 나타내었다. 전체적으로 압출공정처리와 비교해보면 수분용해지수가 증가한 것을 알 수 있다. 이는 압출성형 과정 중 고온, 고압과 고전단력이 식물세포벽 구조를 느슨하게 하여 물의 침투가 용이하게 하고 여기에 식물세포벽 분해효소인 Filtrase BR을 처리함으로써 단단하게 결합되어 있는 식물세포벽 구조를 분리시켜 수용화 효과를 극대화시키기 때문

이다.

앞에서 실험한 원료 및 볶은시료와 압출성형에 의한 수분용해지수와 비교하여 보면 압출성형 및 효소처리에 의한 수분용해지수가 그리 크게 증가하지 않은 것을 볼수 있는데, 이는 곡류의 성분 중에 식물세포벽 물질보다는 전분질이 많이 함유되어 있기 때문으로 볼수 있다.

본 실험에 사용된 효소는 상업적인 효소액으로 정제된 효소가 아닌 β-gluculase 뿐만 아니라 cellulase, arabinase, xylanase 등을 함유하고 있으며, 식물 세포벽은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴, 리그닌 및 당단백질 등의 고분자 물질로 되어 있기 때문에 이 상업적인 효소액이 매우 효율적으로 식물세포벽을 분해시키는 것으로 보인다.

현미에서 보면 율무와 보리에서보다 수분용해지수가 상대적으로 큰 차이를 보이지 않았다. 특히 율무의 수분용해지수가 증가하였으며, 이는 이들의 식물세포벽의 함량에 따른 것으로 보인다. 앞에서 실험한 불용성 식이섬유의 함량을 비교해보면 현미의 경우 보리와 율무에 비해 식물세포벽의 성분인 불용성 부분이 적은 부분을 차지하는 것을 알 수 있다.

나. 곡류의 식이섬유 함량 변화

1) 압출성형

현미, 현미찹쌀, 보리 및 율무의 압출성형에 의한 수용성 식이섬유(SDF), 불용성 식이섬유(IDF), 총식이섬유(TDF)의 함량을 Tables 13 16에 나타내었다. 우선 사용된 전체 곡류에 공통으로 압출성형에 의해 수용성 식이섬유의 함량이 증가하였다. 수용성 식이섬유는 인체내 소화효소에 의해 분해되지 않는 다당류 성분으로서 일종의 복합 탄수화물(complex carbohydrates)이다.

Table 12. Water solubility index of cereals

Samples(a)	Barley (%)		Brown Rice (%)		Job's Tear (%)	
	Extrusion	Extrusion+ Enzyme(b)	Extrusion	Extrusion + Enzyme	Extrusion	Extrusion + Enzyme
EX-1	28.12	32.20	38.27	41.25	28.05	42.60
EX-2	30.28	35.65	39.15	42.72	29.80	41.85
EX-3	29.91	33.82	37.74	41.82	28.55	41.26
EX-4	27.95	35.76	38.82	43.18	30.8	42.22
EX-5	28.25	34.24	36.15	42.86	27.64	42.27
EX-6	28.72	36.14	38.32	41.95	30.11	42.21
EX-7	27.62	33.51	39.01	41.22	29.06	38.67
EX-8	30.15	33.34	36.99	44.22	33.17	42.23
EX-9	30.52	34.61	36.68	42.54	32.21	42.29
EX-10	26.99	30.29	39.25	41.61	29.91	49.57
EX-11	27.78	31.98	39.90	42.26	25.73	43.29
EX-12	28.14	32.62	38.26	43.63	28.78	41.31
EX-13	28.55	33.00	38.53	44.19	29.62	40.71

(a) EX: Extruded
(b) Filtrase BR

곡류에서 원료상태의 식이섬유는 서로 강하게 결합되어 불용성 식이섬유 상태로서 존재한다. 압출성형 공정과정에서 제공되는 강한 전단력(shear force)은 식이섬유 성분간의 강한 결합력을 깨뜨려 수용화 시키는 것으로 알려져 있다. 따라서 Tables 13 16에서 관찰되는 수용성 식이섬유 함량의 증가는 전단력에 의한 세포벽 구조의 수용화에 기인한다.

비록 Tables 13 16에서 관찰된 바와 같이 수용화 식이섬유 함량의 절대치는 크지 않으나 수용화 과정에서 견고한 곡류 세포벽의 구조변화가 상당히 많이 일어나는 것으로 보고된 바 있다. 압출성형에 의해 일어나는 이러한 구조변화는 물성의 개선뿐만 아니라 관능특성의 개선에도 크게 기여할 수 있기 때문에 곡류를 기본하는 제품의 품질향상에 기여한다.

특히 Table 15에서 보리의 수용성 식이섬유 함량이 매우 높게 나타났는데 이는 주로 보리에 많이 분포하는 수용성 β-glucan 성분에 기인하는 것으로 알려져 있다. 앞으로 보리를 대상으로 수용성 식이섬유 성분을 전분으로부터 분리하여 압출성형에 따른 복합 탄수화물의 수용화 현상을 세부적으로 연구할 필요가 있다.

Table 13. Dietary fiber content of brown rice

Sample[1)]	IDF(%)	SDF(%)	TDF(%)
RAW	9.31	1.90	10.21
RO	8.38	2.04	10.42
EX-1	7.66	2.52	10.18
EX-2	6.91	3.03	9.94
EX-3	8.35	2.26	10.61
EX-4	7.79	2.26	10.05
EX-5	6.97	2.66	9.63
EX-6	7.70	2.31	9.91
EX-7	7.83	2.18	10.01
EX-8	7.94	2.24	10.18
EX-9	7.99	2.26	10.35
EX-10	7.56	2.81	10.37
EX-11	7.27	2.05	10.32
EX-12	8.21	2.30	10.51
EX-13	8.18	2.31	10.49

1)RAW: Raw; RO: Roasted; EX: Extruded

Table 14. Dietary fiber content of glutinuos rice

Sample[1)]	IDF(%)	SDF(%)	TDF(%)
RAW	8.18	2.03	10.21
RO	8.02	2.15	10.17
EX-1	7.33	3.42	10.75
EX-2	7.53	2.70	10.23
EX-3	7.61	3.02	10.63
EX-4	7.53	2.82	10.35
EX-5	7.91	3.01	10.92
EX-6	6.89	4.07	10.96
EX-7	6.97	3.20	10.17
EX-8	7.02	3.31	10.33
EX-9	7.48	3.32	10.70
EX-10	6.93	3.11	10.04
EX-11	7.27	2.80	10.07
EX-12	7.64	2.51	10.15
EX-13	7.80	2.32	10.12

1)RAW: Raw; RC: Roasted; EX: Extruded

Table 15. Dietary fiber content of barley

Sample[1)]	IDF(%)	SDF(%)	TDF(%)
RAW	10.53	6.55	17.08
RO	9.19	7.76	16.95
EX-1	7.88	8.19	16.07
EX-2	7.19	8.93	16.12
EX-3	7.97	8.68	16.55
EX-4	7.13	9.52	16.65
EX-5	6.58	9.65	16.23
EX-6	6.51	10.08	16.59
EX-7	8.20	8.81	17.01
EX-8	6.95	9.83	16.78
EX-9	6.74	9.27	16.01
EX-10	7.86	9.19	17.05
EX-11	7.23	9.15	16.38
EX-12	7.64	8.38	16.02
EX-13	7.53	8.60	16.33

1)RAW: Raw; RC: Roasted; EX: Extruded

Table 16. Dietary fiber content of Job's tear

Sample[1)]	IDF(%)	SDF(%)	TDF(%)
RAW	13.51	2.06	15.57
RO	13.45	2.23	15.68
EX-1	11.22	3.69	14.91
EX-2	10.98	4.22	15.20
EX-3	11.78	2.60	14.38
EX-4	12.65	3.10	15.75
EX-5	11.31	4.31	15.62
EX-6	11.38	3.98	14.36
EX-7	10.71	4.13	14.84
EX-8	12.23	3.03	15.26
EX-9	11.05	3.99	15.04
EX-10	11.10	4.32	15.42
EX-11	11.67	3.80	15.47
EX-12	12.42	3.10	15.52
EX-13	12.19	2.93	15.12

1)RAW: Raw; RC: Roasted; EX: Extruded

2) 압출성형 후 효소처리

현미, 율무와 보리의 압출성형 및 효소처리에 의한 수용성 식이섬유(SDF), 불용성 식이섬유(IDF), 총식이섬유(TDF)의 함량을 Table 17 19에 나타내었다. 우선 사용된 전체 곡류에서 모두 수용성 식이섬유의 함량이 증가하였으며, 압출성형한 시료와 비교하여서도 수용성 식이섬유가 증가함을 알수 있다. 현미와 율무의 경우 불용성 식이섬유가 줄어들고 수용성 함량이 늘어 났으며 총식이섬유 함량이 전체적으로 줄어들었다. 이는 세포벽의 분해효소 처리로 인하여 불용성 식이섬유성분들이 분해되어 저분자화 되면서 수용성 식이섬유 및 저분자 물질이 되고 원래의 수용성 식이섬유 역시 분해되어 결과적으로 총식이섬유의 함량을 줄이는 것으로 보인다.

보리는 전체적으로 모든 함량이 감소하였는데, 실험에 사용한 효소는 맥주공정시에 보리의 세포벽물질로 인한 여과방해를 해소하기 위해 만든 효소로 보리에 대해 두드러지게 큰 활성을 나타내는 것으로 보이며, 이러한 이유로 보리의 수용성, 불용성 및 총식이섬유의 함량이 줄어든 것을 볼 수 있다.

Table 17. Dietary fiber contents of brown rice

Samples(a)	IDF (%)		SDF (%)		TDF (%)	
	Extrusion	Extrusion+ Enzyme(b)	Extrusion	Extrusion + Enzyme	Extrusion	Extrusion + Enzyme
EX-3	8.35	8.84	2.26	5.00	10.61	13.83
EX-5	6.97	8.98	2.66	4.99	9.63	13.97
EX-9	7.99	8.86	2.26	5.12	10.35	13.97

(a) EX: Extruded
(b) Filtrase BR

Table 18. Dietary fiber contents of job's tear

Samples(a)	IDF (%)		SDF (%)		TDF (%)	
	Extrusion	Extrusion + Enzyme(b)	Extrusion	Extrusion + Enzyme	Extrusion	Extrusion + Enzyme
EX-3	11.78	11.37	2.60	4.89	14.38	16.40
EX-5	11.31	11.76	4.31	5.67	15.62	17.43
EX-9	11.05	11.31	3.99	4.18	15.04	15.49

(a) EX: Extruded
(b) Filtrase BR

Table 19. Dietary fiber contents of barley

Samples(a)	IDF (%)		SDF (%)		TDF (%)	
	Extrusion	Extrusion + Enzyme(b)	Extrusion	Extrusion + Enzyme	Extrusion	Extrusion + Enzyme
EX-3	7.97	4.74	8.68	4.56	16.55	9.36
EX-5	6.51	4.68	10.08	4.84	16.59	9.52
EX-9	6.74	4.28	9.27	4.53	16.01	8.78

(a) EX: Extruded
(b) Filtrase BR

다. 곡류 압출성형물의 팽화현상

압출성형에 따른 곡류 압출물의 팽화정도를 나타내기 위하여 extrudates의 직경을 측정하여 그 결과를 Table 20에 나타내었다. 전체적인 경향을 보면 수분함량이 감소할수록 압출성형물의 직경이 증가하는 현상을 나타내었다.

라. 분산성

현미, 현미찹쌀, 보리 및 율무의 압출성형에 의한 분산성 및 풀림성을 Fig. 1에 나타내었다. 그림을 보면 알수 있듯이 압출성형된 시료의 경우 다른 시료들보다 더 잘 분산되고 부풀었다. 또한 압출성형된 시료는 모두 1-2분안에 물을 흡수하여 부풀어올라 인공적으로 호화시키지 않아도 쉽게 물에 용해되고 분산되는 것을 알 수 있다.

생시료, 증자-볶음 및 볶음시료보다 압출성형된 시료의 분산정도와 풀림성이 크므로서 효소작용을 받을 수 있는 표면적이 넓어져 소화율이 증가하고, 물을 잘 흡수하여 호화가 잘되며, 모든 성분이 수용화가 되어 수용성 식이섬유의 함량이 많은 것으로 생각된다. 현미찹쌀의 경우 분산 및 풀림의 정도가 가장 컸으며, 이어 현미쌀, 율무, 보리순으로 나타났다. 현미쌀의 경우 풀림성이 강하나 잘 가라앉고 엉키며, 율무의 경우 분산성이 높으나 식이섬유의 함량이 많아 용해되지 않고 가라앉은 것들이 많이 있었다. 소화가 잘 안되는 보리의 경우 풀림의 정도가 극명하게 나타났으며, 압출성형이 얼마나 보리의 소화와 호화에 큰 영향을 주는지 잘 보여주었다.

Table 20. Diameters of extrudates after extrusion of ceareals

Samples	Brown rice	Glutinous rice	Barley	Job's tear
EX-1	6.38±0.56ε)	6.50±1.04	7.74±0.25	6.00±0.60
Ex-2	13.54±1.07	5.84±0.50	7.06±0.65	8.76±0.73
EX-3	14.96±1.75	6.14±0.42	8.14±1.19	8.96±1.12
EX-4	12.36±1.23	12.30±0.94	14.70±0.92	13.90±1.45
EX-5	7.96±1.15	5.94±0.29	7.92±0.53	5.62±0.24
EX-6	8.12±1.71	6.18±0.60	8.32±1.26	7.16±0.47
EX-7	10.10±0.88	7.36±0.71	9.42±1.38	6.34±0.43
EX-8	14.12±0.54	15.00±1.56	11.80±1.31	12.68±0.94
EX-9	14.68±0.51	13.14±1.13	12.42±0.51	11.58±0.30
EX-10	7.76±0.63	9.28±0.98	7.54±0.77	5.70±1.19
EX-11	10.46±1.39	5.20±0.41	12.90±1.98	8.10±2.14
EX-12	10.20±1.18	6.94±1.11	13.04±0.94	4.90±0.73
EX-13	15.80±1.27	15.62±0.79	13.50±2.59	12.26±0.96

ε) Mean±SD

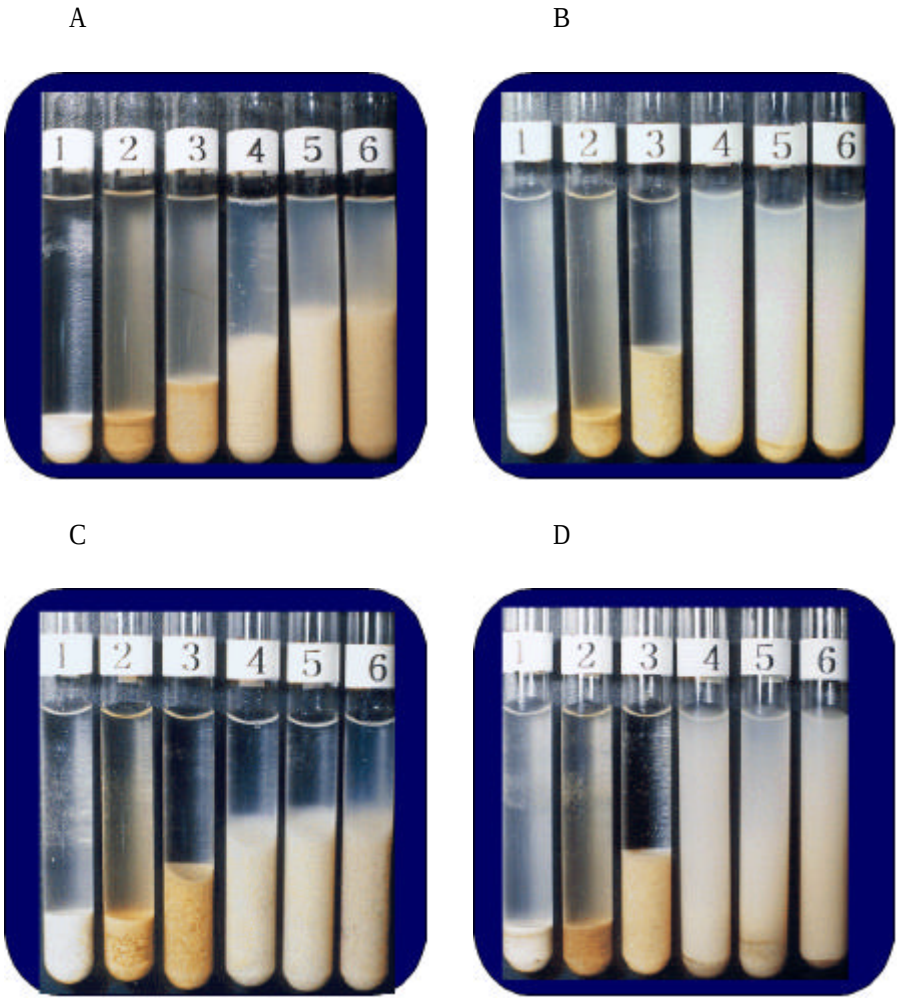


Fig. 1. The dispersibility of brown rice(A), glutinous rice(B), barley(C) and job's tear(D)
1: RAW; 2: RC; 3: CC-RC; 4: EX-2; 5: EX-6; 6: EX-8

3. 압출성형 공정 최적화: 반응표면분석(Response Surface Methodology)

Table 8 11의 압출성형 공정별 수분용해지수, 수율, 고유점도(intrinsic viscosity), 수율x고유점도에 대한 실험결과를 토대로 반응표면분석법을 이용해 최적화 연구를 수행하였다.

가. 현미

현미에 대한 압출성형의 효과를 SAS program을 사용하여 분석한 결과(Table 21), WSI와 농도는 R^2이 0.948의 높은 상관관계를 보이지만, 점도와 C[η]는 0.8 이하의 값으로 상관관계를 보이지 않았다. 즉, 우리가 설정한 model 식이 결과를 예측하지 못하였다. 또한 WSI와 농도에 미치는 변수로는 수분함량과 반응온도이며, screw 속도는 영향을 미치지 못하였다. 특히 농도에 대한 수분함량은 $P < 0.01$로 큰 유의성을 나타내었다. WSI에 대한 수분함량의 효과도 $P < 0.1$로 상당한 효과를 나타내었다.

온도와 수분함량에 대한 WSI와 농도의 효과를 보기 위해 Fig. 2에 반응표면곡선을 나타내었다. 온도가 감소함에 따라 WSI와 농도값은 완만하게 직선적으로 증가하는 경향을 보인 반면에 수분함량에 대해서는 약 18% 정도의 값에서 최소값을 보이는 곡선을 나타내고 있다. 따라서, 현미를 압출성형할 경우 수분함량이 가장 큰 영향을 나타내었다.

나. 현미찹쌀

현미찹쌀은 농도, 고유점도, 그리고 C[η]에 대해 상관계수가 각각 0.944, 0.980, 0.957로 높은 관계를 나타내었다(Table 22). 이는 현미의 경우 WSI와 농도에 높은 상관관계를 갖고 점도에 대해서는 낮은 상관관계를 갖는 것에 비해 다른 경향을 보이고 있다. 이는 현미찹쌀의 경우 현미에 비해 높은

amylopectin 함량으로 인해 점도 및 농도 효과가 있을 것으로 예상된다.

각 변수의 효과로는 수분함량이 큰 영향을 미치고 있으며, 특히 고유점도에 대해서는 높은 효과를 미치고 있다($P < 0.01$). 반면에 현미와는 달리 반응온도의 효과가 거의 없는 것으로 나타났다.

현미찹쌀의 압출성형시에 미치는 수분함량과 screw 속도를 Fig. 3에 나타내었다. 농도의 경우에는 수분함량이 감소함에 따라 그 증가폭이 커지는 경향을 보인 반면에, screw 속도는 약 250 rpm에서 최대값을 나타내었다. 이는 수분함량에 대하여 최소값을 보이는 현미와는 다른 경향을 보이고 있다. 고유점도는 수분함량이 22%에서 최대값을 보인 후에 수분함량이 감소함에 따라 급격히 감소하였다. 이에 비해 screw 속도에 의해서는 증가함에 따라 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 무처리군인 농도와 고유점도의 곱합수인 C[η]은 고유점도와 유사한 경향을 나타내어 농도보다는 고유점도의 효과가 더욱 큰 것으로 판단된다.

다. 보리

보리에 대한 압출성형시 각 값에 대한 상관관계를 Table 23에 나타내었다. 보리의 경우에는 WSI, 농도, 고유점도 그리고 C[η] 모두에 대하여 높은 상관관계를 나타내어, 현미와는 다른 경향을 보였다. 이들 값에 대한 수분함량은 큰 영향을 나타내며, 특히 무차원군인 C[η]에 대해서 유의성이 매우 큰 것으로 나타났다.

온도와 수분함량에 대한 WSI를 나타낸 Fig. 4에서 온도감소에 따라 WSI는 완만하게 증가하는 경향을 보이며, 수분함량에 의해서는 약 24%에서 최소값을 나타내었다. 이때의 WSI 값은 현미에 비해 낮은 값을 보이지만, 경향은 유사하였다. 무처리군인 농도와 고유점도의 곱합수인 C[η]은 수분함량이 감소함에 따라 거의 직선적으로 증가한 반면에 screw 속도에 대해서는 속도가 증가함에 따라 값이 감소하다가 약 300 rpm에서 최소값을 보이고 있다. 이러한 경

향은 수분이 감소함에 따라 C[η]값이 감소하는 현미찹쌀과는 반대경향을 보이고 있다.

라. 현미율무

현미율무의 경우에도 보리와 유사하게 WSI, 농도, 고유점도 그리고 C[η]에 대해 높은 상관관계를 나타내었다(Table 24). WSI와 농도에 대한 수분함량의 효과는 $P < 0.01$로 높았으며 screw 속도도 영향을 미치고 있다. 반면에 고유점도와 C[η]에 대해서는 수분함량만이 영향을 미치며, screw 속도는 전혀 영향이 없는 것으로 나타났다. WSI에 미치는 수분함량과 screw 속도를 Fig. 5에서 살펴보면, 수분함량에 대해서는 최소값을 갖는 곡선을 보이며, screw 속도에 대해서는 완만하게 증가하는 경향을 나타내고 있다. 수분함량이 미치는 효과는 현미의 경우와 유사한 반면에 그 값은 약 2배 정도 증가된 값을 보이고 있다.

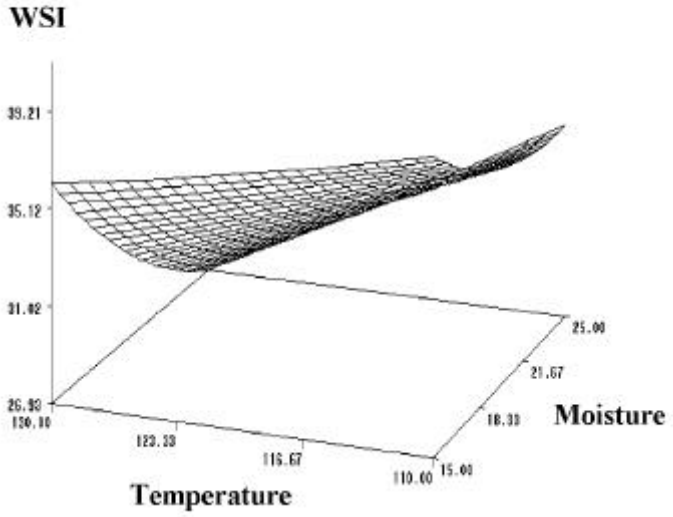
농도의 경우에는 수분함량에 의해서는 최소값을 갖는 반면에 screw 속도에 대해선 완만하게 증가하는 경향을 보여 WSI와 그 경향이 유사하다. 이는 현미찹쌀과 비교하였을 때 완전히 다른 경향을 나타내었다. 고유점도에 대한 온도 증가는 직선적으로 약간 증가한 경향을 나타내며, 수분함량에 대해서는 현미찹쌀과 유사하게 약 22%의 수분함량을 최대값으로 하여 수분함량의 증가에 따라 점도가 증가한 경향을 보였다. 무차원군인 C[η]에 대한 온도와 수분함량의 효과는 고유점도에 대한 경향과 유사한 반면 농도와는 달라 고유점도에 대한 효과가 농도에 대한 효과보다 큰 것으로 여겨지며, 이는 현미찹쌀에서도 동일하였다.

Table 21. Analysis of variance showing effects of treatment variables as linear or quadratic terms and interaction effects on response variables of brown rice.

Source	DF	WSI		C		[η]		C[η]	
		SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F
Model	9	174.85	0.0816	0.070	0.0816	0.086	0.4992	0.023	0.4734
Linear	3	161.50	0.0219	0.065	0.0219	0.064	0.2262	0.007	0.4635
Quadratic	3	4.11	0.7455	0.002	0.7455	0.010	0.7479	0.006	0.4858
Cross	3	9.24	0.5095	0.004	0.5095	0.012	0.7100	0.010	0.3537
R2		0.948		0.948		0.779		0.790	
X1	4	64.95	0.1055	0.023	0.1055	0.013	0.8048	0.014	0.35047
X2	4	95.50	0.0645	0.038	0.0065	0.070	0.2776	0.013	0.3726
X3	4	13.65	0.4960	0.005	0.4960	0.011	0.8444	0.005	0.6973

Table 22. Analysis of variance showing effects of treatment variables as linear or quadratic terms and interaction effects on response variables of glutinous brown rice.

Source	DF	WSI		C		[η]		C[η]	
		SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F
Model	9	0.011	0.9005	0.254	0.0925	0.397	0.0212	456.52	0.0627
Linear	3	0.007	0.6337	0.167	0.0397	0.261	0.0088	383.22	0.0190
Quadratic	3	0.004	0.7857	0.086	0.0947	0.135	0.0227	15.11	0.5946
Cross	3	0.0005	0.9832	0.0007	0.9854	0.0004	0.9805	58.19	0.2061
R2		0.515		0.944		0.980		0.957	
X1	4	0.003	0.9218	0.002	0.9840	0.007	0.6877	78.20	0.2211
X2	4	0.006	0.7783	0.226	0.0381	0.358	0.0082	387.22	0.0272
X3	4	0.002	0.9585	0.012	0.7042	0.014	0.4229	54.06	0.2996



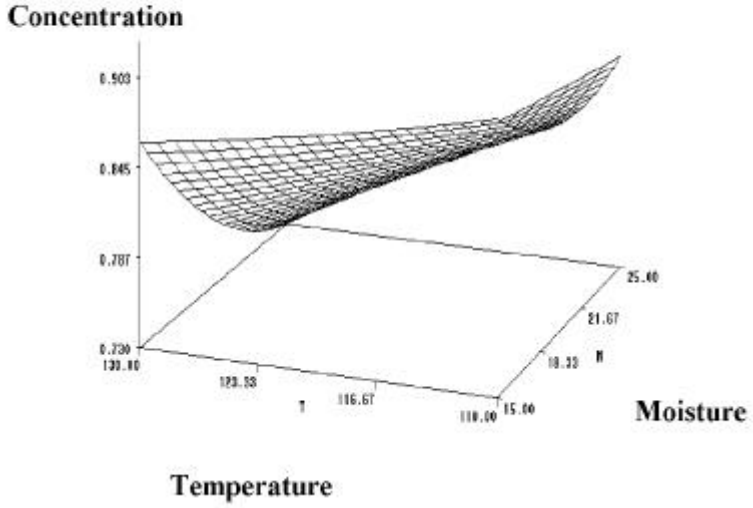


Fig. 2. Response surfaces for the effects of moisture content and temperature on WSI and concentration (brown rice)

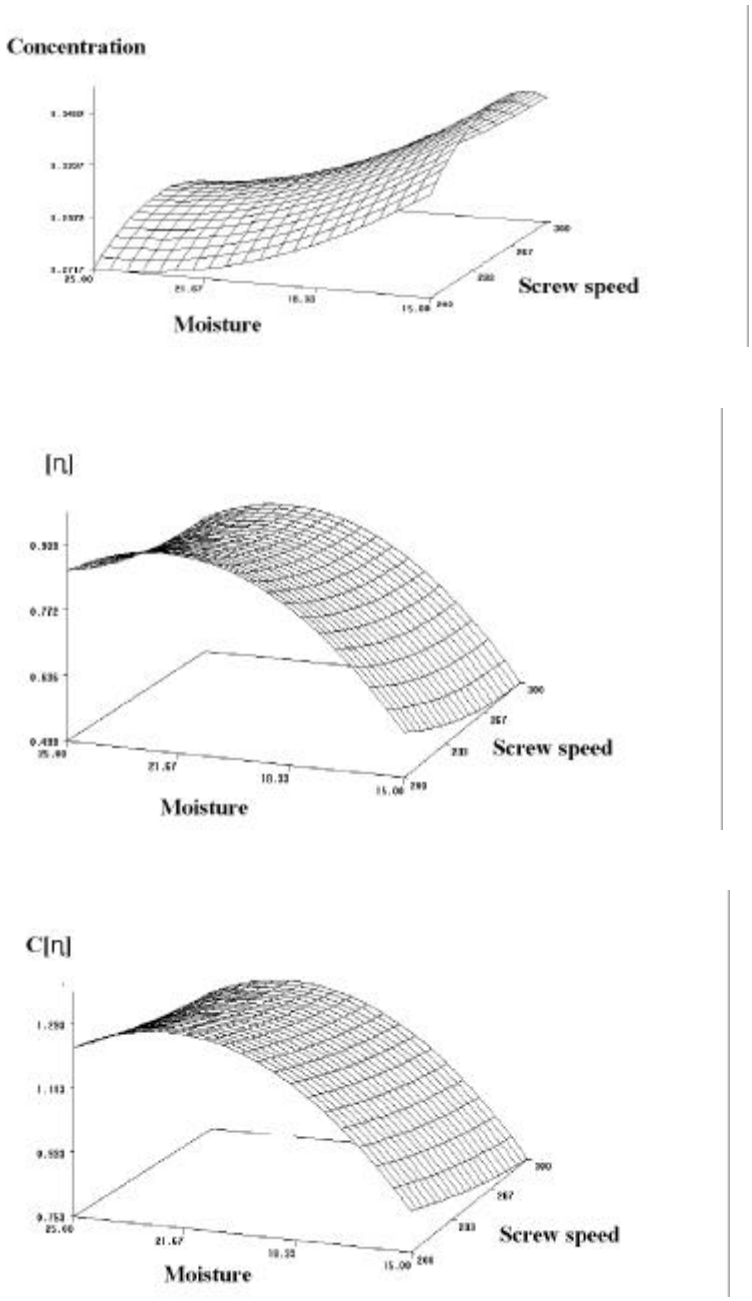


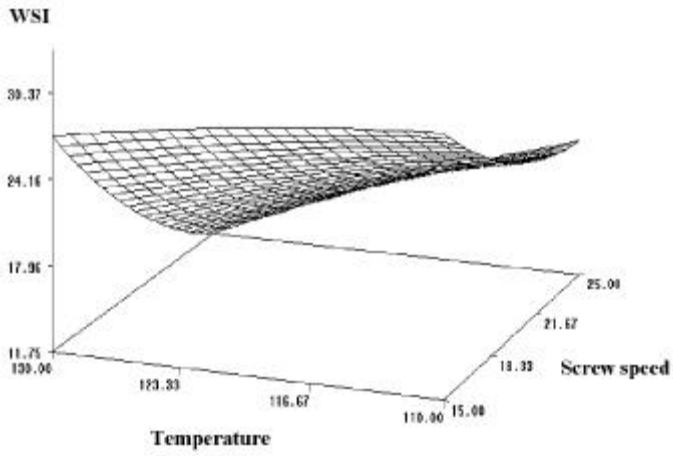
Fig. 3. Response surfaces of concentration, [η] and C[η] by the function of moisture content and screw speed (glutinous rice)

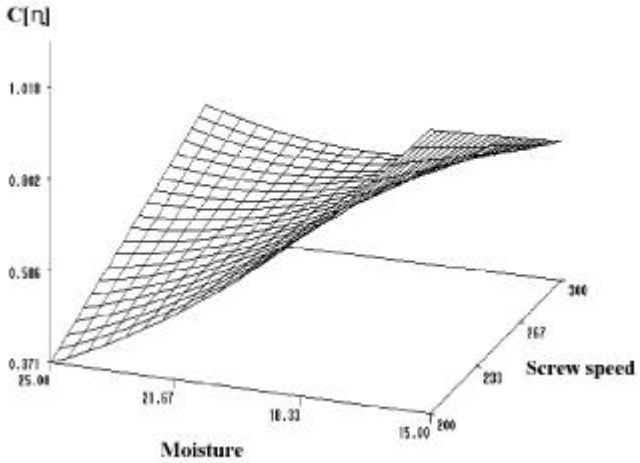
Table 23. Analysis of variance showing effects of treatment variables as linear or quadratic terms and interaction effects on response variables of barley.

Source	DF	WSI		C		[η]		C[η]	
		SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F
Model	9	0.183	0.0627	0.118	0.1102	0.118	0.1102	0.392	0.0258
Linear	3	0.153	0.0190	0.064	0.0612	0.064	0.0612	0.2847	0.0092
Quadratic	3	0.006	0.5946	0.017	0.2837	0.017	0.2837	0.021	0.2531
Cross	3	0.023	0.2061	0.037	0.1224	0.034	0.1224	0.083	0.0518
R2		0.9957		0.936		0.936		0.977	
X1	4	0.030	0.2211	0.053	0.1096	0.054	0.1096	78.20	0.1508
X2	4	0.155	0.0272	0.076	0.0698	0.076	0.0698	387.22	0.0092
X3	4	0.022	0.2996	0.029	0.2189	0.029	0.2189	54.06	0.0976

Table 24. Analysis of variance showing effects of treatment variables as linear or quadratic terms and interaction effects on response variables of Job's tear.

Source	DF	WSI		C		[η]		C[η]	
		SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F	SS*	Prov>F
Model	9	0.015	0.0152	0.029	0.0152	0.364	0.0855	0.365	0.0834
Linear	3	0.006	0.0058	0.020	0.0058	0.253	0.0341	0.253	0.0333
Quadratic	3	0.021	0.0205	0.008	0.0205	0.104	0.1073	0.102	0.1086
Cross	3	0.445	0.4497	0.0005	0.4497	0.007	0.8121	0.010	0.7194
R2		0.984		0.984		0.947		0.948	
X1	4	1.688	0.4939	0.0007	0.4939	0.036	0.4305	0.043	0.3668
X2	4	48.31	0.0090	0.019	0.0090	0.292	0.0404	0.293	0.0393
X3	4	21.13	0.0291	0.008	0.0291	0.019	0.6412	0.0140	0.7326





0

Fig. 4. Response surfaces of WSI, C[η] (barley)

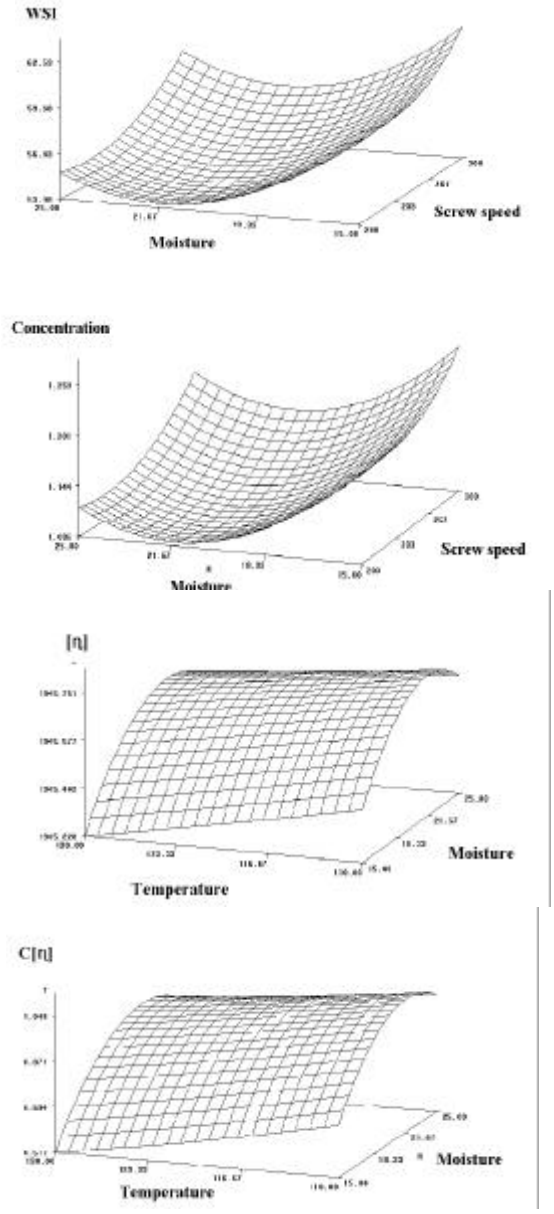


Fig. 5. Response surfaces of WSI, concentration,[η] and C[η] (job's tear)

4. 공정조건별 선식 원료의 영양성분 변화

가. 비타민

호화정도에 따른 곡류의 비타민 B2의 함량은 Table 25에 잘 나타나 있다. 곡류의 압출성형과 관련한 연구로는 주로 이화학적 특성에 관한 연구가 다수를 차지하고 있으며, 압출성형 공정과 관련없는 영양 성분 관련 연구로는 주로 제품의 품질적 저하의 원인인 지질에 대한 연구가 주를 차지하고 있었다. 리보플라빈의 조리 및 가공에 따른 손실에 관한 자료도 주로 우유 및 유제품에 한정된 몇 연구만이 있다. 즉, 본 실험과 같이 곡류별 압출성형 조건에 따른 비타민 분석에 관한 연구는 거의 전무하였다.

전체적으로 볼 때 압출성형 처리군의 비타민 B2 함량이 생시료의 것보다 낮게 나타나 압출성형이라는 열, 수분, 압력이 가해진 가공 처리에 의해 비타민이 일부 파괴되는 것을 확인할 수 있었다. 여기서 한가지 중요한 사실은 생시료의 경우 리보플라빈 단일 물질로서 분명하게 나오는 반면 압출성형 처리군의 경우 처리 조건에 따라 다소 차이가 있으나 3개 이상의 피크로 분산된 유사한 패턴을 보여주고 있다는 점이다. 압출성형 처리군들의 리보플라빈 이외의 물질은 식품공전법에 표준용액으로 명시되어 있는 리보플라빈의 생체 보효소 형태인 FMN, FAD로 확인되었다. 즉, 압출성형 처리에 의해 곡류내 리보플라빈 형태로의 비타민 B2의 함량은 크게 감소한 반면 FMN, FAD 형태의 비타민 B2가 검출되는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 압출 성형 처리에 의해 생시료에 존재하던 리보플라빈이 FMN, FAD의 형태로 전환되었거나, 또는 생시료의 분자구조학적으로 물추출로 추출되어 나오지 못하던 것이 구조가 변화하면서 추출 가능하게 되었을 것으로 추측할 수 있다. 이는 관련 연구 결과가 없어 확인할 수는 없었으며 향후 연구가 필요한 부분이라 할 수 있겠다.

함량적인 측면에서 볼 때 곡류별로 생시료의 경우 한국인 영양권장량(6차 개정판)의 식품분석표에 나타난 것과는 차이를 보였다. 이는 곡류 품종 및 보

관 상태에 따른 차이가 영향을 주었을 것으로 판단된다. 또한 상기에서 언급한 바와 같이 비타민 분석 방법 차이에 의한 영향일 가능성도 있으며, 식품성분표 자체의 문제점일 가능성도 배제할 수 없다고 생각된다.

압출성형 처리군의 리보플라빈 형태로의 잔존율은 0.25 29%로서 곡류별 조건별로 큰 차이가 있었으나, 보리를 제외한 3종의 경우 8번 처리군의 잔존율이 가장 높았다. 또한 FMN과 FAD를 포함한 총 비타민 B2 함량의 잔존율은 2 77%를 보여 이 또한 곡류별 조건별로 차이를 보였다. 특히 현미와 현미찹쌀의 경우 압출 성형 조건에 따라 파괴율이 큰 차이를 보였으며 6번군에서 가장 컸다. 6번군의 경우 상기 3가지 조건중에서 수분 함량이 25%로 가장 높은 군으로 다른 조건보다 비타민 B2의 잔존율에는 수분의 영향이 클 것으로 예측되었다. 반면 보리와 율무의 경우는 압출성형 조건에 상관없이 48 58%의 비교적 고른 잔존율을 보여, 본 과제의 수분 용해지수를 통한 수용화 결과에서 압출 성형 조건에 별 영향을 받지 않았다는 결과와 유사한 패턴을 보였다. 이와 같이 동일한 조건에서의 압출성형군에서 잔존율 패턴이 곡류별로 차이를 보이는 것은 현미, 현미찹쌀과 보리, 율무와의 분자구조적 관점에서의 미세구조가 서로 차이가 있고, 그에 의해 영향일 것으로 추정된다.

결론적으로 순간 고온 공정으로 볼 수 있는 압출성형에 의해 비타민 B2는 일정 수준 이상 파괴되며, 그 형태도 리보플라빈의 단일 형태에서 FMN, FAD의 다양한 형태가 측정되었다. 또한 곡류별로는 현미와 현미 찹쌀은 압출성형 공정 조건에 큰 영향을 받아 원료내 수분 함량이 많을수록 파괴율이 컸다. 그러나 보리와 율무의 경우는 공정 조건별로 큰 차이를 보이지 않았다.

나. 미네랄

미네랄 분석은 원료시료와 압출성형 시료중 수분함량에 따른 3가지 시료에 대해서 철, 나트륨, 칼륨을 분석하였고 그 결과는 Table 27에 잘 나타나 있다. 4종의 곡류중 철분의 양이 율무가 가장 높고 현미찹쌀이 가장 낮다. 하지

만 분석결과 원료시료와 압출성형 한 4가지 곡류 모두에서 철분의 함량이 비슷하게 측정되었고, 따라서 가공처리에 의해 율무의 철분의 파괴가 가장 크다고 할 수 있다. 그리고 수분함량이 가장 낮은 8번 시료가 철분의 파괴가 가장 큼을 알 수 있었다. 나트륨과 칼륨의 경우는 원료시료에 비해 압출성형군에서 파괴정도가 높음을 알 수 있고, 압출성형군간의 유의적인 차이는 발견할 수 없었다.

Table 25. The Effect of extrusion on Vitamin B2 content of brown rice and glutinous rice

Samples	Brown rice (mg%)			Glutinous rice (mg%)		
	Vitamin B2	FMN/FAD	Total	Vitamin B2	FMN/FAD	Total
Raw	0.07001	0.0000	0.07001	0.02462	0.0000	0.02462
EX-2	0.00036	0.03348	0.03384	0.00026	0.01242	0.01268
EX-6	0.00033	0.00133	0.00166	0.00015	0.00031	0.00046
EX-8	0.00277	0.05176	0.05433	0.00027	0.00879	0.00906

Table 26. The Effect of extrusion on Vitamin B2 content of barley and job's tear

Samples	Barley (mg%)			Job's tear (mg%)		
	Vitamin B2	FMN/FAD	Total	Vitamin B2	FMN/FAD	Total
Raw	0.01581	0.0000	0.01581	0.11962	0.0000	0.11962
EX-2	0.00105	0.00673	0.00778	0.01008	0.06138	0.07146
EX-6	0.00084	0.00796	0.00880	0.00919	0.04885	0.05804
EX-8	0.00109	0.00684	0.00793	0.03470	0.02569	0.06039

Table 27. The Effect of extrusion on mineral content

Samples	brown rice (mg%)			glutinous rice (mg%)			barley (mg%)			Job's tear (mg%)		
	Fe	Na	K	Fe	Na	K	Fe	Na	K	Fe	Na	K
Raw	1.23	153	213.7	1.23	118.6	293	1.22	112	151.4	1.42	114.9	300
Ex-2	1.22	84.7	185.8	1.29	118.9	151.9	1.24	88.1	176.5	1.31	101.8	229.5
Ex-6	1.31	72.9	174	1.24	103.6	150.4	1.28	91.8	160.5	1.19	101.8	204.8
Ex-8	1.25	80.3	171	1.14	87.6	160.9	1.22	93.4	145	1.24	117.3	232.8

5. 영양 흡수율 향상 효과

가. 전분 호화도(Degree of gelatinization)

상기와 같은 조건으로 standard curve에 의해 각 시료별 흡광도를 통해 산출된 호화도는 Table 28와 같다. 비처리군의 경우 곡류 종류별로 차이는 있으나 11 21%대의 호화도를 보여주었다. 또한 볶음 처리군의 경우도 10 15%로 오히려 비처리군보다도 낮은 수준의 호화도를 보여주었다. 이는 roasting 과정에서 불용성 리그닌, 저항전분(resistance starch)와 같은 불용성 성분이 늘어나기 대문으로 해석된다. 4종의 곡류간에도 서로 다른 호화도 수준을 보여 주었는데, 현미와 현미찹쌀은 높은 호화도 수준을 나타냈고, 보리가 가장 낮은 호화도를 보여주었다. 현미와 현미찹쌀의 경우 당질의 함량이 높으면서 섬유질의 함량이 낮아 동일한 공정에서도 호화가 많이 일어났으리라 판단되며, 보리의 경우 섬유질의 함량이 높은 것이 원인으로 생각된다.

압출성형 조건에 따른 호화도에 대해서 4가지 곡류를 전체적으로 비교하면 4, 5, 8, 9, 13번 시료에서 비교적 높은 호화도를 보였다. 이러한 결과를 압출성형시의 조건인 온도, 수분함량, screw speed와 비교하여 보면 호화도가

높게 나온 시료의 압출성형 조건의 공통점은 수분함량이 낮다는 것이다(15%).

한편, 전분을 압출성형하여 호화도를 측정하였을 때 평형수분함량이 낮을 경우는 회전속도가 증가할수록 호화도가 증가하는 경향을 보였으며 수분함량이 높을 경우는 회전속도가 증가할수록 호화도는 오히려 감소하였다고 하였으며 이러한 경향은 수분함량이 낮을 경우 회전속도가 증가할수록 강한 층밀림 현상이 일어나고, 따라서 사출구 부위의 온도가 급격히 상승되어 호화도가 증가하게 되며, 높은 수분함량의 경우에는 층밀림 현상이 감소되어 마찰열 발생이 적어 extruder 내의 온도가 낮게 될 뿐만 아니라 또한 회전속도가 빨라 barrel 내에 체류하는 시간이 짧아 호화가 충분히 진행되지 못하기 때문이라 하였다(김 등, 1994).

이러한 결과는 본 실험에서 수분함량이 낮을수록 높은 호화도를 나타낸 것과 잘 일치한다고 할 수 있다.

Table 28. Effect of extrusion on the degree of gelatinization

Samples	Brown rice (%)	Glutinous rice (%)	Barley (%)	Job's tear (%)
Raw	21.70±0.75[1)]	16.80±0.96	11.26±0.77	17.04±0.30
Roasting	15.50±1.11	11.01±0.70	10.20±0.39	10.54±0.53
Ex-1	82.22±4.94	83.13±4.94	67.80±2.00	74.44±3.92
Ex-2	81.04±2.45	83.06±2.21	77.35±2.09	77.55±3.17
Ex-3	82.59±6.12	82.37±1.72	85.45±0.37	78.68±1.93
Ex-4	85.33±3.75	82.57±4.60	84.55±2.26	73.29±3.94
Ex-5	79.04±1.74	83.75±4.86	88.56±3.16	77.61±4.29
Ex-6	80.74±2.25	79.40±1.52	82.12±5.69	78.97±2.68
Ex-7	79.97±5.68	62.15±7.25	76.32±2.10	71.02±7.18
Ex-8	84.75±6.47	79.81±3.47	78.26±4.06	80.03±2.24
Ex-9	84.11±7.24	78.78±0.59	80.69±4.27	80.86±2.63
Ex-10	82.80±2.53	68.91±6.71	79.10±2.03	80.46±1.00
Ex-11	84.68±2.79	79.74±4.46	77.43±1.54	64.76±9.43
Ex-12	82.33±2.51	57.25±14.98	78.89±1.04	49.89±1.26
Ex-13	77.24±3.86	82.23±5.98	78.83±5.76	71.43±5.18

1) Mean±S.E.

나. 소화도

1) 압출성형

현미, 현미찹쌀, 보리 및 율무의 압출성형에 의한 in vitro 소화율을 Table 29에 나타내었다. 우선 압출성형된 시료가 비처리군인 생시료, 증자-볶음 및 볶음시료보다 소화율이 2-3배이상 증가하였다. 이는 압출성형으로 인해 세포벽 구조의 붕괴와 복합탄수화물의 수용화등으로 소화효소가 더 쉽게 반응하는 것으로 보여진다. 생시료, 볶음-증자 및 볶음시료을 서로 비교해 보면 볶음시료의 소화율이 가장 낮으며, 이는 선식중의 볶음과정으로 시료가 서로 엉키게 되어 소화율이 더 떨어지는 것으로 생각된다. 대체적으로 보리가 생시료나 압출성형된 시료 모두 소화율이 낮으며, 4종간의 압출성형 시료와의 비교에서도 보리가 가장 낮고 현미찹쌀, 현미 및 율무는 거의 비슷했다.

현미찹쌀의 경우 생시료, 증자-볶음 및 볶음시료 모두 다른 시료보다 소화율이 높았다. 이는 찹쌀에 상대적으로 많이 있는 아밀로펙틴이 그 원인으로 아밀로펙틴의 특징인 가지구조가 물의 침투로 용이하게 하여 팽윤과 수용화가 잘되게 하기 때문이다. 팽윤과 수용화가 잘되면 효소가 효소작용을 할수 있는 표면적이 넓어져 보다 쉽게 효소반응이 일어나게 된다.

Table 29. Measurments of digestibility for cereal samples

Samplea	BR(%)	GR(%)	BA(%)	JT(%)
RAW	37.5	45.7	19.4	30.1
RO	38.9	46.5	20.7	30.5
CO-RO	31.1	43.6	10.9	29.9
EX-2	79.2	85.9	54.6	76.9
EX-6	79.3	84.6	52.0	77.6
EX-8	79.7	85.8	54.0	77.4

a)GR: Glutinous rice; BR: Brown rice; JT: Job's tear; BA: Barly
RAW: original sample; CO-RC: cooked and roasted; RO: roasted; EX: extruded

2) 압출성형 후 효소처리

현미, 율무와 보리의 압출성형 및 효소처리에 의한 in vivtro 소화율을 체내 소화효소중 전분의 가수분해에 관여하는 α-amylase을 이용하여 효소반응으로 생성된 환원당의 함량을 측정하여 그결과는 Table 30에 잘 나타내었다. 모든 곡류에서 소화율이 압출공정와 비교하여 증가하였다. 보리와 율무의 경우 현미의 소화율과 비교하여 볼 때 상대적으로 크게 증가하였는데, 이는 앞에서 언급한바와 같이 식물세포벽 성분의 함량 등에 기인하는 것으로 보인다.

현미는 소화율이 80-84%까지 차지하며 생식으로 인한 소화 장애가 매우 크게 개선 된 것을 볼 수 있다.

Table 30. Measurements of digestibility for cereal samples

Samples(a)	Barley (%)		Brown Rice (%)		Job's Tear (%)	
	Extrusion	Extrusion + Enzyme(b)	Extrusion	Extrusion + Enzyme	Extrusion	Extrusion + Enzyme
EX-3	44.5±1.26	50.2±0.01	78.2±1.13	81.2±0.02	75.9±1.10	80.2±0.14
EX-5	45.2±0.05	50.9±0.22	76.5±1.21	80.3±1.15	75.5±0.02	79.9±0.27
EX-9	44.9±0.03	51.5±0.17	77.2±1.06	83.5±0.09	74.8±0.12	80.5±0.05

(a) EX: Extruded
(b) Filtrase BR

다. 저항전분 함량

현미, 현미찹쌀, 보리 및 율무의 압출성형에 의한 저항전분의 함량을 Table 31에 나타내었다. 전체적으로 압출성형된 시료가 비처리군인 생시료, 증자-볶음 및 볶음시료보다 저항전분의 양이 훨씬 낮은 것으로 나타났다. 생시료, 볶음-증자 및 볶음시료을 서로 비교해 보면 볶음시료의 저항전분양이 가장 많은데, 이는 선식의 공정중에 볶음과정이 저항전분의 양을 증가시키는 것으로 생각된다.

또한 4종의 곡류간 압출성형시료들의 저항전분의 양을 비교하면 전체적으로 비슷하나, 보리가 가장 많은 저항전분을 가지고 이외의 현미찹쌀, 현미쌀 및 율무는 거의 비슷했다. 특히 보리의 경우 압출성형된 시료의 저항전분의 양이 생시료, 증자-볶음 및 볶음시료보다 월등히 낮아진 것을 알수 있었다. 저항전분은 생체내의 소화효소에 의해 분해되지 않는 전분으로 보리에는 많은 저항전분이 있어서 소화에 큰 문제을 야기했으나 압출성형으로 인해 보리의 저항전분의 양이 반으로 감소하여 보리의 소화에 큰 영향을 미칠것으로 생각된다.

Table 31. Measurments of resistant starch for cereal samples

Samplea	BR	GR	BA	JT
RAW	2.46	3.40	5.87	3.46
RO	2.89	3.84	5.79	3.47
EX-2	2.14	2.33	3.43	3.13
EX-4	2.16	2.31	3.23	3.12
EX-6	2.11	2.28	3.34	3.08
EX-8	1.19	1.23	3.28	3.06

a)GR: Giutinous rice; BR: Brown rice; JT: Job's tear; BA: Barly
RAW: original sample; CC-RC: cooked and roasted; RC: roasted; EX: extruded

6. 생리활성성분 유리효과

Phytosterol은 식물내에서 발견되는 스테로이드계 알코올 화합물을 통칭하는 것으로, 자연중에 가장 많이 나타나는 phytosterol화합물로 β-sitosterol, campesterol, 그리고 stigmasterol 등이 있다.

Phytosterol은 동물스테롤인 콜레스테롤과 구조가 유사하며, 이러한 구조유사성에 의해 섭취시 혈중 콜레스테롤의 함량을 줄이는 것으로 보고되어지고 있다. 콜레스테롤은 호르몬의 출발물질과 생체막 구성성분으로 생체내에 꼭 필요한 물질이나 과다섭취하게 되면 혈관내에 축적되어 동맥경화 등의 심장관련질환을 일으키는 것으로 알려져 있다. 이들 질환은 저콜레스테롤 식이요법 이외에 예방하는 방법이 없으며, 콜레스테롤 저하제 등의 합성약품이 있으나 이들은 간기능 장애 등의 부작용으로 인하여 사용이 극히 제한적이다. 그러나 phytosterol은 장내의 장벽에 흡착하여 그 구조적 유사성으로 해로운 저밀도 지질 단백질 콜레스테롤과의 경쟁을 통하여 인체내 콜레스테롤 흡수대사를 저해한다. 따라서 phytosterol은 콜레스테롤 생합성 기작에 영향을 주지 않으므로 부작용이 전혀 없이 혈중내의 콜레스테롤의 함량을 줄인다.

Phytosterol은 식물세포벽부분과 배아(germ)에 많이 함유되어 있으며, 일부는 유리스테롤로 존재하나 대부분은 지방산 에스테르 및 글리코사이드 형태로 식물세포벽 구성성분과 서로 연결되어 있다. 이와 같은 식물세포벽의 구조와 생리활성성분의 결합상태를 종합적으로 고려하여 압출공정과 식물세포벽 분해효소를 복합적으로 사용하여 β-sitosterol의 유리효과를 실험하였다. 곡류의 처리공정별 β-sitosterol의 유리효과에 대한 gas chromatogram은 Fig. 6, 7과 같다. 처리하지 않은 원료와 비교하여 현미와 율무는 각각 8.5배, 12.9배의 β-sitosterol이 유리되었다 (Table 32). 이러한 실험결과로 압출공정이 전곡립의 가공특성을 향상시키는데 매우 효율적이며 생리활성물질인 β-sitosterol 활성화에도 효과적임을 알수 있다. 이는 압출공정에서 제공되는 고온 및 고전단력이 식물세포벽의 물리적 변형으로 β-sitosterol을 유리시키

는 것을 의미한다.

또한 본 연구에서는 압출공정과 효소를 복합적으로 처리한 경우에 기능성 생리활성 물질인 β-sitosterol, 수용성 식이섬유 등의 활성화 현상이 뚜렷하게 관찰되었다. 이러한 압출공정 및 효소처리의 효과는 우선 압출공정의 전단력(shear force)에 의해 견고한 식물 세포벽이 이완된 후 효소가 2차적으로 작용하여 생리활성 성분의 활성화를 달성한 것으로 추측된다.

본 연구에서 사용한 식물 세포벽 가수분해 효소는 단일한 정제효소가 아니라 β-glucanase, xylanase, arabinase, pectinase, protease, amylase 등을 포함하는 복합 효소이다. 식물세포벽 성분은 많은 종류의 복합성분으로 구성되어 있어 단일한 효소보다는 본 연구와 같이 복합적인 효소를 사용하는 것이 보다 효율적일 수 있다. 앞으로 현재 상업적으로 판매되고 있는 식물세포벽 효소의 개별적인 효소활성을 연구하여 보다 효율적인 가수분해 효소 시스템을 개발할 필요가 있다. 결론적으로 위의 결과는 압출공정 및 효소처리에 의한 복합 공정이 전곡립내의 생리활성물질을 유리시키는데 매우 효율적임을 증명하고 있다.

Table 32. β-Sitosterol content of cereals

Samples	β-Sitosterol (mg/100g)		
	RAW	Extrusion	Extrusion+Enzyme
Brown rice	1.2	10.2	10.4
Job's tear	1.1	12.2	14.2

7. 압출성형에 의한 미세구조 변화 : SEM

원료 곡류와 압출성형물의 분자미세구조를 주사전자현미경(SEM)으로 관찰한 결과 압출성형공정에 의해 구조변형이 많이 발생한 것으로 관찰되었다 (Fig. 8 & 9).

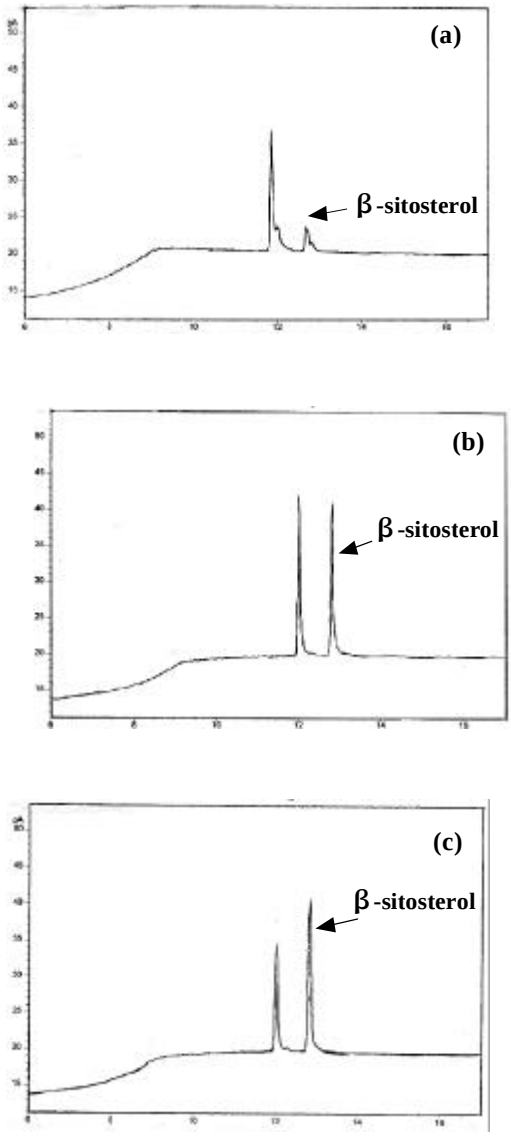


Fig. 6. Gas chromatogram of whole brown rice

(a): RAW, (b): Extrusion treatment,

(c): Extrusion & Enzymatic treatment

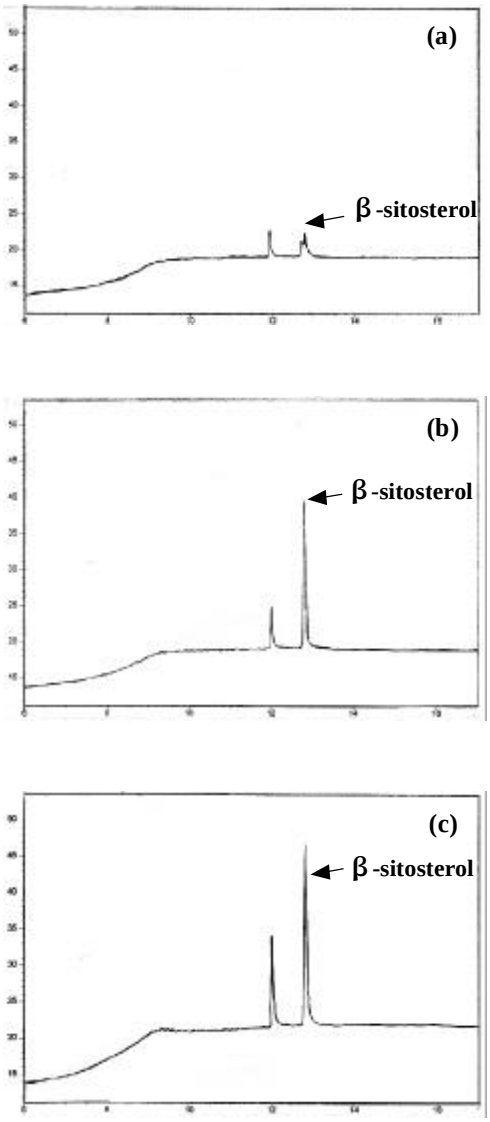


Fig. 7. Gas chromatogram of whole job's tear

(a): RAW, (b): Extrusion treatment,

(c): Extrusion & Enzymatic treatment

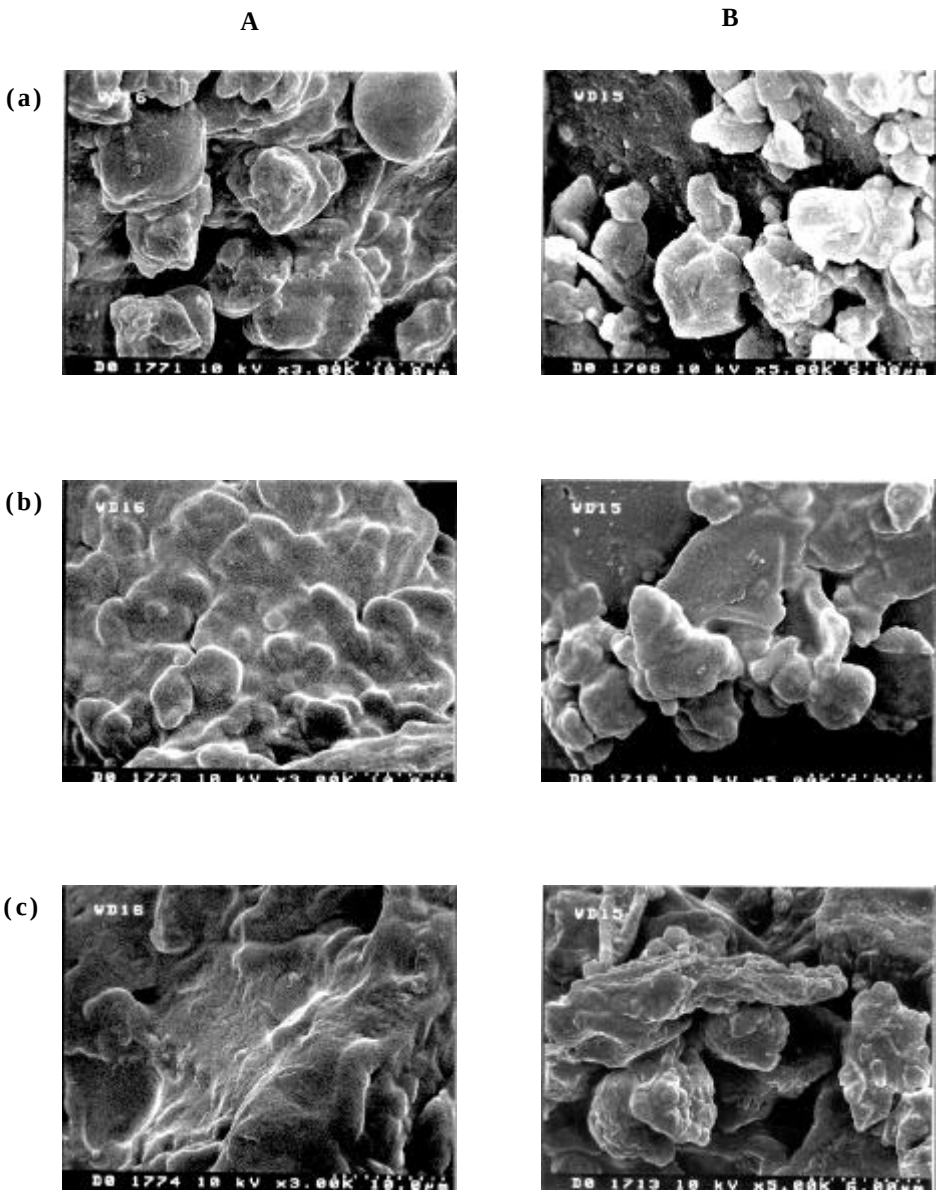


Fig. 8. SEM of job's tear(A) and brown rice(B)
(a): RAW; (b): CO-RC; (c): EX-8

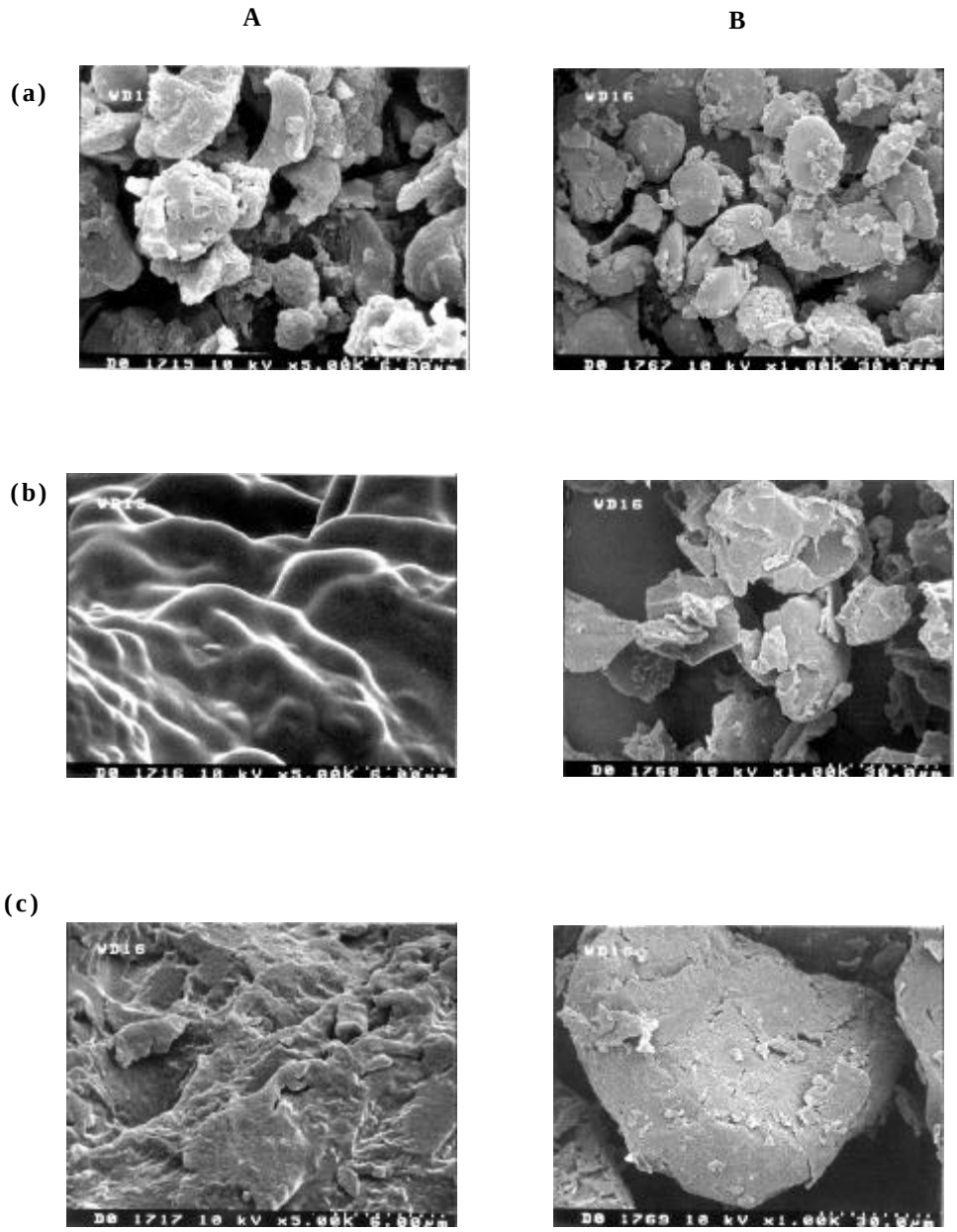


Fig. 9. SEM of glutinous rice(A) and barley(B)
(a): RAW; (b): CO-RC; (c): EX-8

8. 선식의 기호도 조사

선식은 주로 물(45%)에 타서 섭취하였으며, 우유(30%), 요쿠르트(8%), 보리차(8%) 순으로 나타났고, 점도는 약간 묽거나(36%), 적당(28%), 약간 되다고(31%) 고루 답하였다. 선식의 맛은 괜찮거나(63%), 아주 좋다고(15%), 답하였으며, 냄새도 고소하고 적당하다는(62.5%) 경우가 많았다. 질감은 적당하며(70%), 뒷맛은 개운하거나(50%), 보통으로(15%) 답하였고, 1회 분량은 72.5%가 적당히 배부른 포만감을 느꼈으며, 공복감을 느낀 경우가 25%이었다. 선식을 들고나서 변비가 발생한 경우 2.5%, 설사 7.5%, 배변에 변화가 없었던 경우가 90%이었다. 4개월간 아침 식사 대용으로 섭취한 결과 앞으로도 계속 먹고 싶다고 답한 경우가 58%, 가끔 먹겠다는 경우가 19%, 먹고 싶지 않다는 경우는 22%로 나왔다(Table 33). 선식의 기호도 조사 설문 형식과 결과는 다음과 같다.

Table 33. Result of sensory evaluation

선식의 기호도 조사(n=40)

1. **선식은 어디에 타서 드셨습니까**?

물	우유	요구르트	보리차	기타
18 (45.0%)	12(30.0%)	3 (7,5%)	3 (7.5%)	4 (10.0%)

2. **선식을 음료에 타서 드실 때 점도는 어떠했습니까**?

너무 묽었다	약간 묽은편	적당	약간 된편	너무 된편
1 (2.6%)	14 (35.9%)	11 (28.2%)	12 (30.8%)	1 (2.6%)

3. **선식의 맛은 어떠셨습니까**?

아주 없다	별로였다	그저그렇다	괜찮은편	아주 좋다
1 (2.5%)	3 (7.5%)	5 (12.5%)	25 (62.5%)	6 (15.0%)

4. **선식외에 다른 첨가물질은 넣어드셨습니까**?

예	아니오
19 (47.5%)	21 (52.5%)

5. (**위 질문에 대해 '예'를 답하신 경우**) **어떤 첨가물질을 넣어드셨습니까**? (n=19)

설탕	꿀	소금	기타
5 (26.3%)	9 (47.4%)	3 (15.8%)	2 (10.5%)

6. **냄새는 어떠셨습니까**?

불괘한 느낌	아무 냄새 없다	고소하고 적당
1 (2.5%)	14 (35.0%)	25 (62.5%)

7. **질감(조직감)은 어떠셨습니까**?

너무 부드럽다	적당하다	거칠다
4 (10.0%)	28 (70.0%)	8 (20.0%)

8. **뒷맛은 어떠셨습니까**?

텁텁하다	씁쓸하다	개운하다	보통
12 (30.0%)	2 (5.0%)	20 (50.0%)	6 (15.0%)

9. 1**회분량을 드시고난 느낌은**?

공복감(부족한 느낌)	포만감(적당히 배부름)	더부룩(거북할정도로 배부름
10 (25.0%)	29 (72.5%)	1 (2.5%)

10. **드시고 난후 몸에 이상이 있으셨습니까**?

없다	소화불량	설사	변비
36 (90.0%)	0 (0%)	3 (7.5%)	1 (2.5%)

11. **앞으로의 생각은**?

만족스러워서 식사대용으로 계속 먹고 싶다	21 (58.3%)
건강을 생각해 가끔 먹겠다	7 (19.4%)
그다지 먹고 싶지 않다	8 (22.2%)
절대로 먹고 싶지 않다	0 (0%)

9. 선식제품 기본 formula 확립 및 특수 기능성 식품 개발

가. 풀림성 향상 실험

분말 제품에 물 및 레시틴 과립 적용시 풀림성이 향상되었으며, 레시틴의 경우 더 급격한 향상을 보였다 (Table 34). 이 wetting time의 감소는 시각적으로도 느낄 수 있는 수준이였다. 레시틴 사용량은 적용 제품에 따라 다르게 결정되어야 하겠으나 보통 0.5 1% 사용을 권장하고 있으며 본 제품의 경우에도 0.2%보다 1% 함유량일 때 더 좋은 결과를 보였다. 그러나 레시틴 과립의 적용이 반드시 장점만 있는 것은 아니다. 1% 적용시 원료비가 약 10,000원/kg으로 제품 1kg당 100원정도의 원료재료비가 상승된다. 또 레시틴의 지질 산화의 문제를 고려하여 제품의 유통기한 내 품질 열화를 막기 위해 질소 충전을 해야 하기 때문에 포장재료비 및 신규 포장기 도입 비용이 발생한다. 이런 전반적인 문제 및 사항 등을 고려하여 레시틴 과립의 적용은 본 제품의 상품화 시기에 결정되어야 할 것으로 판단된다.

Table 34. Wettability of powder-based foods

	분말	물 과립	레시틴 과립1	레시틴 과립2
바인더농도	-	-	1%	5%
바인도사용량(V/W)	-	20%	20%	20%
제품내 바인더 함량	-		0.2%	1%
관능	-		대두취등의 이취 없음. 치감 긍정적 변화	
wettability 측정시간	40분 28초	8분 58초	29초	9초

나. Formulation 실험

1) 배합실험

실험자 주관에 의한 수시예비 관능검사를 통해 일차 Table 35과 같은 4개의 specification을 설정하였다. 4개의 설정 배합비는 크게 볶음곡류군, 동결건조곡류군, 야채류군, 당군으로 나누어서 각각의 조합을 기준으로 하였다. 곡류군의 경우 고소한 맛 및 조직감을, 야채류군은 제품 색깔에의 영양으로 인한 외관 및 풀취를, 당군의 경우 감미에 의한 관능향상을 기준으로 전체 관능을 생각하며 배합하였다.

2) 관능검사

본 연구의 기본 제품 specification을 결정하고자 상기와 같은 방법으로 본 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과는 다음의 Table 36 같다.

Table 36. Results of sensory evaluation for 4 formulations

항목	1안	2안	3안	4안
외관	3.6	4.5	3.3	4.0
향	4.7	4.3	4.3	4.0
맛	4.9	4.0	4.3	3.0
전체적 선호도 (분산)	4.9 a (1.21)	4.0 b (0.44)	4.3 a (0.46)	3.3 b (0.90)
기호 순위	1	3	2	4

외관의 경우 야채류군과 볶음곡류의 함량이 높은 2군에서 가장 높은 점수를 보였으며 향과 맛은 볶음곡류와 당함량이 많은 1군에서 가장 높게 나타났다. 전체적 선호도 또한 1군에서 가장 높게 나타났는데 전체적 선호도를 중심으로 한 기호순위는 1, 3, 2, 4군으로 맛 항목과 유사한 패턴을 보인 것으로 미루어 맛에 가장 많이 영향을 받는 것으로 나타났다.

Table 35. Formulation of whole grain foods

	1안	2안	3안	4안	비고
볶음현미	7	7	4	4	
볶음현미찹쌀	8	8	4	4	
볶음현미율무	3	3	2	2	
볶음보리	5	5	4	4	
볶음검정콩	10	10	6	6	
효소현미브란	9	9	9	9	
동결건조현미	28	28	40	40	
발아현미	5	5	5	5	
씨눈	7.7238	7.1238	7.7238	7.1238	현미
감자	0.7	1.5	0.7	1.5	
고구마	1.4	1.5	1.4	1.5	
다시마	0.1	0.1	0.1	0.1	
김	0.1	0.2	0.1	0.2	
당근	1.5	2	1.5	2	
도라지	0.3	0.5	0.3	0.5	
마	0.1	0.2	0.1	0.2	
미역	0.1	0.2	0.1	0.2	
밤	0.5	1	0.5	1	
시금치	1.6	3	1.6	3	
쑥	0.3	1	0.3	1	
솔잎	0.3	0.6	0.3	0.6	
양배추	1.5	1.5	1.5	1.5	
양파	0.1	0.2	0.1	0.2	
연근	0.5	0.5	0.5	0.5	
우엉	0.3	0.5	0.3	0.5	
표고버섯	0.2	0.2	0.2	0.2	
호박	1.2	2	1.2	2	
녹차추출물	0.04	0.04	0.04	0.04	
포도씨추출물	0.04	0.04	0.04	0.04	
루이보스	0.04	0.04	0.04	0.04	
분쇄과당	5.3	-	5.3	-	
비타민A	0.003	0.003	0.003	0.003	500,000IU/g
비타민B1	0.002	0.002	0.002	0.002	
비타민B2	0.002	0.002	0.002	0.002	
나이아신	0.02	0.02	0.02	0.02	nicotinamide
비타민B6	0.002	0.002	0.002	0.002	
비타민C	0.06	0.06	0.06	0.06	
비타민D3	0.002	0.002	0.002	0.002	100,000IU/g
비타민E	0.01	0.01	0.01	0.01	50%
엽산	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	
판토텐산칼슘	0.012	0.012	0.012	0.012	
산화아연	0.013	0.013	0.013	0.013	
건조효모	0.13	0.13	0.13	0.13	
우골분	0.6	0.6	0.6	0.6	
산화마그네슘	0.2	0.2	0.2	0.2	
합계	100	100	100	100	

전체적 선호도 항목을 기준으로 분산분석을 시행한 결과 가장 낮은 점수의 4안과 비교하여 1,3안 모두 유의적 차이를 보였으나, 1과 3안 사이에는 유의적 차이를 보이지 않았다. 이상과 같은 결과를 토대로 해서 본 연구의 기본 제품 specification은 1과 3안중에서 평균값이 더 높은 1안으로 하였다.

3) 특수목적 기능식품 디자인

가) 이유식용

Home Using Test 결과(Table 37) 1안을 선호하는 아이들이 7명, 2안을 선호하는 아이들이 3명으로 나타났다. 1안이 2안과 비교하여 가장 큰 차이를 보이는 것은 야채류의 함량이 낮고 상대적으로 감미나 고소한 맛이 강하다는 점이다. 야채류의 경우 건강적 측면에는 장점이 많으나 유소아들을 대상으로 식품 종류별 기호도 조사를 할 경우 가장 기호도가 낮게 나오는 항목으로서 본 결과에 영향을 미친 것으로 추정된다. 고소한 맛의 경우 볶음 현미와 볶음 검정콩에서 기인되는 것으로 상대적으로 높은 과당 함량에 의해 맛의 시너지 효과까지 나타나 잘 먹는 유아가 더 많았던 것으로 해석된다. 이에 1안 배합비를 이유식용 변형 제품의 기초 specification으로 잡았으며 향후 제품화시 응용토록 하였다.

나) 당뇨용

Table 38의 1안의 경우 우선 기본 specification내에서 상기 방향에 충실하여 보리의 함량을 30%까지 증가시켰고 항산화 기능 성분의 경우 녹차추출물 분말, 포도씨추출물 분말, 루이보스분말의 3종을 포도씨추출물 분말 1종으로 단순화하였다. 그리고 당뇨병에 필수 영양소로 생각되어 지고 있는 비타민B 복합체와 각종 무기질이 풍부한 건조효모의 함량을 약 3.5배 증량시켰다. 2안은 기본 specification내 사용 원료 외에 당뇨병 환자의 급격한 혈당 변화에

의 조절 효과가 있는 것으로 검증된 수용성 식이섬유인 감자식이섬유(식이섬유 함량 80%이상)를 첨가하여 실험한 내용으로서 감자식이섬유의 혼합으로 원료재료비는 소폭 상승되는 측면이 있지만 제품 풀림성은 오히려 향상되었으며 관능에의 영향은 거의 없었다.

향후 당뇨병용 제품의 상품화를 추진할 경우 상기 2가지 안의 시제품을 제조하여 예비 임상차원의 market test를 실시하여 그 효능 및 섭취 선호도 등을 복합적으로 고려하여 최종 배합비를 결정하는 것이 필요하다.

다) 체중조절용

Table 39 1안은 단백질 함량을 최대화하기 위해 관능적으로 기호도는 낮으나 섭취가 가능한 수준으로까지 건조효모와 검정콩의 함량을 높인 경우로서 이 경우 50 g 1회 섭취로 약 8.5 g의 단백질을 섭취하게 된다. 보통의 식사대용식 제품의 경우 단백질 일섭취권장량인 60 g을 충족하기 위해 1회 섭취량당 약 20 g의 단백질을 함유하고 있는 것에 비교해서는 약 절반 수준밖에 미치지 못하는 양으로서 1일 3끼 식사대용의 지속적 섭취방법에 의한 체중감량을 위한 제품으로는 부적당하다고 볼 수 있다. 이를 보완하기 위해서는 단백질 함량이 약 40%선인 건조효모나 검정콩분말외에 단백질 함량이 50 90% 수준인 유단백이나 대두단백의 혼합사용이 필요하다는 판단하에 2안을 설정하였으나 이 또한 당뇨병용 제품처럼 상품화 단계시 여러 요인을 종합적으로 검토하여 결정할 필요가 있다.

Table 37. Formulation of whole grain foods for infant

	1안	2안
볶음현미	35	30
볶음현미찹쌀	15	15
볶음보리	20	20
볶음검정콩	10	5
동결발아현미	2.4738	2.8738
감자	1.5	3.0
고구마	1.4	2.8
김	0.1	0.2
당근	2.0	4.0
도라지	0.3	0.6
미역	0.1	0.2
밤	0.5	1.0
시금치	1.6	3.2
양배추	1.5	3.0
양파	0.1	0.2
표고버섯	0.2	0.4
호박	1.5	3.0
분쇄과당	5.8	4.6
비타민A	0.003	0.003
비타민B1	0.002	0.002
비타민B2	0.002	0.002
나이아신	0.02	0.02
비타민B6	0.002	0.002
비타민C	0.06	0.06
비타민D3	0.002	0.002
비타민E	0.01	0.01
엽산	0.0002	0.0002
판토텐산칼슘	0.012	0.012
산화아연	0.013	0.013
우골분	0.6	0.6
산화마그네슘	0.2	0.2
합계	100	100

Table 38. Formulation of whole grain foods for diabetics

	1안	2안
볶음현미	7	7
볶음현미찹쌀	3	3
볶음보리	30	15
볶음검정콩	5	5
효소현미브란	9	9
동결건조현미	21	21
동결발아현미	5	5
동결씨눈	7.7238	7.7238
감자식이섬유	-	15
감자	0.7	0.7
고구마	1.4	1.4
다시마	0.1	0.1
김	0.1	0.1
당근	1.5	1.5
도라지	0.3	0.3
마	0.1	0.1
미역	0.1	0.1
밤	0.5	0.5
시금치	1.6	1.6
쑥	0.3	0.3
솔잎	0.3	0.3
양배추	1.5	1.5
양파	0.1	0.1
연근	0.5	0.5
우엉	0.3	0.3
표고버섯	0.2	0.2
호박	1.2	1.2
포도씨추출물	0.1	0.1
비타민A	0.003	0.003
비타민B1	0.002	0.002
비타민B2	0.002	0.002
나이아신	0.02	0.02
비타민B6	0.002	0.002
비타민C	0.06	0.06
비타민D3	0.002	0.002
비타민E	0.01	0.01
엽산	0.0002	0.0002
판토텐산칼슘	0.012	0.012
산화아연	0.013	0.013
건조효모	0.45	0.45
우골분	0.6	0.6
산화마그네슘	0.2	0.2
합계	100	100

Table 39. Formulation of whole grain foods for weight control

	1안	2안
볶음현미	7	7
볶음현미율무	10	10
볶음검정콩	20	15
효소현미브란	5	5
동결건조현미	8	8
동결발아현미	5	5
동결씨눈	5.7538	5.7538
탈지유단백	-	15
복합대두단백	-	5
다시마	0.3	0.3
김	0.1	0.1
당근	1.5	1.5
도라지	0.3	0.3
마	0.1	0.1
미역	0.5	0.5
밤	0.5	0.5
시금치	0.6	0.6
양배추	1.5	1.5
표고버섯	0.5	0.5
호박	5.0	5.0
녹차추출물	0.12	0.12
분쇄과당	7.3	7.3
비타민A	0.003	0.003
비타민B1	0.002	0.002
비타민B2	0.002	0.002
나이아신	0.02	0.02
비타민B6	0.002	0.002
비타민C	0.06	0.06
비타민D3	0.002	0.002
비타민E	0.01	0.01
엽산	0.0002	0.0002
판토텐산칼슘	0.012	0.012
산화아연	0.013	0.013
건조효모	20	5
우골분	0.6	0.6
산화마그네슘	0.2	0.2
합계	100	100

참 고 문 헌

1. Best, M.M., Duncan, C.H. and Van Loon, E.J. Lowering of serum cholesterol by the administration of a plant sterol. Circulation 10: 201-205 (1964)
2. Bober, K.M., Akerlund, J.E. and Bjorkhem, I. Effect of sitosterol on the rate-limiting enzymes in cholesterol synthesis and degradation. Lipids 24: 9-12 (1989)
3. Carbonara, F., Popp, B., Schmid, A., Iacobazzi, V., Genchi, G., Palmieri, F. and Benz, R. The role of sterols in the functional reconstitution of water-soluble mitochondrial porins from plants. J. Bioenerg. Biomembr. 28(2): 181-189 (1996)
4. Carew, T.E., Schwenke, D.L. and Stenberg, D. Anti-atherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect. Proc. Natl. Acad. Sci. 84: 7725-7779 (1987)
5. Chijiiwa, K. Distribution and partitioning of cholesterol and β-sitosterol in micellar bile salt solutions. Am. J. Physiol. 253: G268-G273 (1987)
6. De Stefani, E., Boffetta, P., Ronco, A.L., Brennan, P., Deneo-Pellegrini, H., Carzoglio, J.C. and Mendilaharsu, M. Plant sterols and risk of stomach cancer: a case-control study in Uruguay. Nutr. Cancer 37(2): 140-144 (2000)
7. Fujimoto, Y., Sato, N., Okuzumi, T., Yamada, J. and Morisaki, M. Stereochemistry of the reduction of 24-ethyldesmosterol to sitosterol in tissue cultures of *Oryza sativa*. Bioorg. Med. Chem. Lett. 8(3): 205-208 (1998)
8. Fujino, Y. and Chnishi, M. Isolation and structure of

diglycosylsterols and triglycosylsterols in rice bran. Biochim. Biophys. Acta. 574(1): 94-102 (1979)

9. Fujino, Y. and Chnishi, M. Isolation and structure of diglycosylsterols and triglycosylsterols in rice bran. Biochim. Biophys. Acta. 574(1): 94-102 (1979)

10. Garcia-Olmedo, F. Genetics of synthesis of beta-sitosterol esters in wheat and related species. Nature 220(172): 1144-1145 (1968).

11. Hiraga, Y., Nakata, N., Jin, H., Ito, S., Sato, R., Yoshida, A., Mori, T., Ozeki, M. and Ikeda, Y. Effect of the rice bran-derived phytosterol cycloartenol ferulic acid ester on the central nervous system. Arzneimittelforschung 43(7): 715-721 (1993)

12. Jones, P.J. Cholesterol-lowering action of plant sterols. Curr. Atheroscler. Rep. 1(3): 230-235 (1999)

13. Kahlon, T.S., Chow, F.I., Chiu, M.M., Hudson, C.A. and Sayre, R.N. Cholesterol-lowering by rice bran and rice bran oil unsaponifiable matter in hamsters. Cereal Chem. 73(1): 69-74 (1996)

14. Kenney, J. and Fisher, H. Differential utilization of low and high dietary cholesterol by cockerels fed medium-chain triglycerides or corn oil. J. Nutr. 104(9): 1135-1139 (1974)

15. Kudchodkar, B.J., Horlick, L. and O'Neil, J.B. Absorption of dietary beta-sitosterol in laying hens and its incorporation into the egg. J. Nutr. 106(11): 1629-1636 (1976)

16. Miettinen, T.A., Puska, P., Gylling, H., Vanhanen, H. and Vartiainen, E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. N. Engl. J. Med. 333: 1308-1312 (1995)

17. Rohmer, M., Ourisson, G. and Brandt, R.D. Hydrosoluble complexes of

sterols, sterol esters and their precursors from *Zea mays* L. Eur. J. Biochem. 31(1):172-179 (1972)

18. Scavariello, E.M. and Arellano, C.B. Gamma-oryzanol: an important component in rice brain oil. Arch. Latinoam. Nutr. 48(1): 7-12 (1998)
19. Seetharamaiah, G.S. and Prabhakar, J.V. Cryzanol content of indian rice bran oil and its extraction from soap stock. J. Food Sci. Tech. 23: 270-273 (1986)
20. Seetharamaiah, G.S. and Chandrasekhara, N. Studies on hypocholesterolemic activity of rice bran oil. Atherosclerosis 78(2-3): 219-223 (1989)
21. Seetharamaiah, G.S., Krishnakantha, T.P. and Chandrasekhara, N. Influence of oryzanol on platelet aggregation in rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 36: 291-296 (1990)
22. Schaefer, E.J., Levy, R.I. and Ernst, N.D. The effects of low cholesterol, high polysaturated fat and low fat diets on plasma lipid and lipoprotein cholesterol levels in normal and hypercholesterolemic subjects. Am. J. Clin. Nutr. 34: 1758-1768 (1981)
23. Uusitupa, M.I., Miettinen, T.A., Sarkkinen, E.S., Ruuskanen, E., Kervinen, K. and Kesaniemi, Y.A. Lathosterol and other non-cholesterol sterols during treatment of hypercholesterolaemia with β-glucan rich oat bran. Eur. J. Clin. Nutr. 51(9): 607-611 (1997)
24. Vissers, M.N., Zock, P.L., Meijer, G.W. and Katan, M.B. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. Am. J. Clin. Nutr. 72(6): 1510-1515 (1999)
25. Weihrauch, J.L. and Gardner, J.M. Sterol content of foods of plant

origin. J. Am. Diet Assoc. 73(1): 39-47 (1978)

26. Yasukawa, K., Akihisa, T., Kimura, Y., Tamura, T. and Takido, M. Inhibitory effect of cycloartenol ferulate, a component of rice bran, on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin. Biol. Pharm. Bull. 21(10): 1072-1076 (1998)

제 4 장 임상연구

제1절 당뇨병·동맥경화증 환자를 대상으로 선식을 사용한 식사 대체 효과 : 혈청 지질 및 항산화 체계 연구

1. 서 설

관상동맥경화증 환자에서 인슐린 저항성은 복부비만, 흡연, 고지혈증, 고혈압 등과 더불어 위험인자로 알려져 있으며, 이중 인슐린 저항성으로 인한 고인슐린혈증은 인슐린 비의존형 당뇨병의 발병과 진전에 주요한 위험인자로 알려졌다. 따라서 당뇨병 환자 뿐 아니라 동맥경화증 환자에서도 전곡 섭취는 인슐린 예민도를 증가시키고 혈청 인슐린 농도를 낮추므로 일상 식사에서 섭취의 증가를 권장하고 있으나, 실제 우리나라 식생활에서는 전곡 섭취량은 적고 정백미를 주식으로 사용하고 있다. 정제된 곡류는 전곡과 비교하여 섬유소, 무기질, 비타민, phenols, phytoestrogens와 불포화 지방산이 적게 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 전곡 구성 성분 중 식이섬유소, 비타민 E와 불포화지방산 등은 동맥경화증의 위험을 감소시키는 것으로 알려진 영양소로, 섬유소의 섭취는 인슐린 저항성을 개선시키고 비타민 E를 포함하는 항산화제는 지질과산화를 억제시킨다고 한다.

최근 역학 조사는 전곡 섭취가 많을수록 허혈성 심질환으로 인한 사망률이 낮은 것을 보여주었으나 실질적인 전곡 섭취가 당뇨병 및 관상동맥질환의 위험을 감소시키는지를 규명한 전향적 연구는 드문 실정이다. 따라서 본 연구에서는 당뇨병·동맥경화증 환자에서 정백미를 대신하여 전곡 섭취를 증가시킬 수 있는 선식을 사용하여 혈청 지질 및 항산화 체계에 어떤 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

2. 연구대상 및 방법

가. 연구대상

본 연구는 연세대학교 의과대학 세브란스병원 심장내과에서 관상동맥조영술상, 적어도 한 혈관 이상에서 내경의 50% 이상 협착이 확인된 관상동맥경화증 남성 환자 43명을 대상으로 하였으며 좌주관부 협착, 개구부 협착을 제외하였고, 단일 혈관질환으로 이것이 심근경색 관련 혈관인 경우도 제외하였다. 관상동맥경화증 환자 중 21명은 과거에 심근경색증의 경험이 있었으며 1 혈관질환은 18예, 2 혈관질환은 16예, 3 혈관질환은 8예이었다. 대상자 43명 중 38명만이 16주 검사를 완료하였으며, 5명은 중도 포기하였다.

나. 선식제공 및 실험기간

선식은 아침 식사를 대체하는 것으로 16주간 제공되었으며, 선식 100g당 361kcal의 열량을 함유하였다. 선식의 영양 성분은 Table 1에 표시하였다. 선식의 시료 원료별 구성 배합비는 Table 2에 나타냈으며, Table 3은 농촌 생활연구소(5th ed. 1996)에서 발행한 식품성분표에 근거하여 영양소 함유량을 분석하였다. 그러나 실제 식품 분석을 통한 것이 아니고 원료 식품에 대한 영양소 값이므로 공정 과정 중의 영양소 손실을 고려하면 실제 값보다 과다하게 나타날 수 있을 것이다.

Table 1. Composition and nutrient contents of 100g whole grain powder[1)]

Composition	Content(%)	Nutrient		Content (%)
Fat	6.5	Vitamin	E1	0.13 mg
Protein	16.0		E2	0.10 mg
Carbohydrate	70.5	Fatty acid	Total fatty acid	6.9 g
Water	4.5		Palmitic acid	0.3 g
Ashes	2.5		Stearic acid	0.1 g
			Oleic acid	1.9 g
			Linoleic acid	4.4 g
			Linolenic acid	0.2 g
		Mineral	Ca	175.94 mg
			Mg	180.92 mg
			Na	131.21 mg
			K	156.89 mg
			Fe	4.27 mg
			Zn	2.95 mg
			Cu	0.24 mg

1)Contents provided by Pulmuone Co.

Table 2. Ingredients of whole grain powder

원료명	배합식(g)	배합비(%)
볶음현미분	400	22.22
볶음현미찹쌀분	200	11.1
볶음보리분	400	22.22
볶음검정콩분	400	22.22
볶음검정깨분	100	5.56
볶음율무분	200	11.1
늙은호박	20	1.11
양파	10	0.56
마	20	1.11
케일	5	0.28
쑥	5	0.28
대추	10	0.56
밤	10	0.56
미역	10	0.56
표고버섯	10	0.56
합계	1800	100

((주)풀무원제공)

Table 3. Calculated nutrient contents by using nutrient data in food composition table

	선식(50g) -이론치-	선식(100g) -이론치-	선식(100g) -분석치-	권장량
열량(kcal)	157.6	315.3		2500kcal
단백질(g)	6.56	13.13	16.0	75g
탄수화물(g)	25.5	50.9	70.5	총 섭취열량의 50 70% 권장 313g (평균 섭취량)
지방(g)	3.59	7.17	6.5	총 열량의 20% 권장
Fiber-crude(g)	1.43	2.86		
Fiber-dietary(g)	1.56	3.12		20 25g
vit A(R.E.)	20.3	40.6		700μg RE
β-carotene(μg)	29.3	58.6		
vit D(IU)	0.00	0.00		5μg
vit E(mg)	0.45	0.89		10mgα-TE
vit B_1(mg)	0.12	0.25	0.13	1.3mg
vit B_2(mg)	0.06	0.11	0.10	1.5mg
niacin(mg)	1.46	2.92		17mg NE
vit B_6(mg)	0.41	0.81		1.5mg
vit B_{12}(μg)	0.00	0.00		2.0μg (미국)
vit C(mg)	2.16	4.32		55mg
folate(μg)	5.07	10.14		250μg
Ca(mg)	57.9	115.8	175.94	700mg
P(mg)	120.8	241.7		700mg
Cu(mg)	0.10	0.20	0.24	1.5 3.0mg (안전 섭취범위)
Mn(mg)	0.93	1.86		2.0 5.0mg (안전 섭취범위)
Se(mg)	0.0037	0.0073		50 200μg (안전 섭취범위)
Na(mg)	16.41	32.82	131.21	3,450mg 이하
K(mg)	254.0	508.0	156.89	90mEq (미국)
Mg(mg)	14.8	29.6	180.92	350mg (미국)
Fe(mg)	2.03	4.06	4.27	12mg
Zn(mg)	0.46	0.93	2.95	15mg
SFA(g)	0.54	1.08		총열량의 10% 이하
MUFA(g)	0.90	1.81		
PUFA(g)	1.71	3.41		

※ P/M/S = 1/1.0-1.5/1
※ vit A의 급원 : 늙은 호박, 케일, 쑥
※ Caculated nutrient contents might be inaccurate due to the incomplete nutrient data in food composition tables furnished by National Rural Living Science Institute(5th de., 1996) and the loss of nutients during food process

다. 연구방법

1) 인체계측

인체계측으로 신장과 체중을 측정하고 이상체중백분율(percent ideal body weight, % IBW)은 실제체중(kg)을 {(신장cm-100)×0.9}로 나눈 백분율 값을, 체질량지수(body mass index, BMI)는 체중(kg)을 신장(cm)의 제곱으로 나눈 값을 사용하였다. % 체지방(% body fat)과 근육량(lean body mass, LBM)은 체지방 분석기(Body Fat Analyzer TBF-105, Tanita, Japan)를 이용하여 직접 측정하였다. 또한 대상자를 평평한 바닥에 세운 채 tape로 허리와 엉덩이 둘레를 측정하여, 복부비만의 지표로써 허리와 엉덩이 둘레비(waist to hip circumference ratio, W/H)를 사용하였다. 혈압은 채혈과 동일한 시간에 10분 이상 안정 상태를 유지시킨 후 수축기 혈압과 이완기 혈압을 측정하였다.

2) 식품 섭취량 및 활동량 조사

아침식사 대용인 선식을 포함한 평상시의 음식 섭취량을 알아보기 위하여 식품섭취빈도조사표를 이용해 개발한 간이법을 사용하였고, 24시간 회상법에 의하여 식품 섭취량을 확인하고 영양소 섭취량을 분석하였다. 영양소 섭취량은 우리나라 식품 성분표를 이용한 N3 Program (N-squared Co. Ltd, CR, USA)으로 분석하였다. 각각의 연구 대상자에 대한 기초대사량을 Harris-Benedict 방정식으로 구하였고, 하루 열량 소비량은 24시간 활동상태를 기록하는 신체적 활동량과 식품의 특이동적 작용을 가산하였다.

3) 당부하 검사와 혈청 인슐린 농도 측정

경구 당부하 검사는 공복 및 75g의 포도당을 경구 투여하고 30, 60, 120분 후에 각각 채혈하여 혈당은 포도당 산화효소법으로, 인슐린 농도는 INC(Immuno Nucleo Cooperation, Stillwater, USA)에서 제조한 kit를 사용하여 방사면역법으로 측정하였다. 혈당 면적, 인슐린 면적은 각각 혈당, 인슐린

반응 곡선 아래 면적으로 계산하였다. 또한 HOMA(Homeostasis model assessment)법을 통하여 인슐린 저항성과 β-cell의 기능을 계산하였다.

4) 혈청 지질 및 지단백 농도 측정

검사 당일 아침 공복시 정맥에서 채혈하여 혈청 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤과 중성지방은 자동 분석기(Autoanalyzer Hitachi 7150, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, HDL 콜레스테롤은 침전제를 이용하여 유미지립(chylomicron), 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL), 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein, VLDL)을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL 중에서 콜레스테롤을 다시 효소법으로 측정하였다.

5) 혈청 호르몬 농도 측정

혈청 성호르몬 결합단백질(sex hormone-binding globulin, SHBG) 농도는 Diagnostic product Corporation(Los Angeles, CA)에서 제조한 commercial kit를 사용하여 면역방사법으로 측정하였다. 혈청 testosterone은 Immuchem direct testosterone kit를 이용하여 SHBG와 동일한 방법으로 측정하였다. 유리 androgen 지수(free androgen index)는 총 testosterone 농도(nmol/L)를 성호르몬 결합단백질 농도(nmol/L)로 나눈 값의 백분율을 사용하였다.

6) 혈장 총 homocysteine 농도 측정

혈장 총 homocysteine 농도는 Anderson 등의 방법을 변형하여 측정하였다. 검사 당일 아침 공복시 혈액을 채취하여, EDTA 처리된 vacutainer에 담고 2300rpm에서 30분간 centrifuge시킨 후에 혈장을 추출하였다.

혈장 500㎕에 pH 9.0으로 맞춘 borate buffer와 dithiothreitol를 첨가하여 homocysteine의 -S기를 환원시킨 후 internal standard인 L-norleucine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)과 20%

sulphosaicylic acid를 첨가하여 단백질을 침전시켜 3300rpm에서 15분간 원심분리하였다. 분리된 상층액을 취하여 0.2㎛ membrane filter(Waters, Millipore, MA, USA)로 거른 후 100㎕를 Pharmacia Biotech(Cambridge, England)의 post-column ninhydrin reaction system의 Bio20 autoloader amino acid analyzer에 주입하여 분석하였다(Figure 1). 이때 얻어진 homocysteine peak를 total homocysteine으로 하였다. 표준용액으로 D,L-homocysteine (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 동일한 조건하에서 분석하여 homocysteine의 retention time을 확인하였으며 plasma sample에 standard D,L-homocysteine을 첨가하여 동일시간에 나오는 다른 물질과 구별하였다.

Add 25㎕ borate buffer to 500㎕ plasma

↓

25㎕ dithiothreitol(0.88M in water)

↓

Add 25㎕ L-norleucine and 20% SSA 50㎕

↓

Centrifuge for 15 min., at 4℃, 3300 rpm

↓

Filter the supernatant through 0.2㎛ filter

↓

100㎕ loading amino acid analyzer

Figure 1. Preparation for the total homocysteine analysis

7) 혈청 항산화 효소 및 과산화물의 측정

가) GSH-Px 활성 측정

GSH-Px(Glutathione Peroxidase) 활성은 Paglia와 Deagen의 방법을 수정하여, hydrogen peroxide를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. 혈장 20㎕에 증류수를 가하여 100㎕로 채운 후, 0.8㎖ reaction mixture(4.5mM EDTA, 4.7mM sodium azide in 0.125M phosphate buffer pH 7.0, 2.8nmole NADPH, 49.9nmole reduced glutathione, 0.67 units glutathione reductase)를 가하여 첨가한 다음 0.25mM H_2O_2 0.1㎖을 가하여 반응을 일으킨 즉시 Beckmam spectrophotometer를 이용하여 파장 340nm에서 산화형 glutathione(GSSG)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도가 감소되는 속도를 3분동안 측정하였다. GSH-Px의 존재하에 H_2O_2의 첨가에 의하여 환원형 glutathione(GSH)이 생성되고, reaction mixture 내 glutathione reductase와 NADPH가 개입되어 GSSG가 다시 GSH로 환원되는 속도를 흡광도의 변화를 통해서 관찰함으로써 GSH-Px의 활성이 산출되었다. Enzyme 1 unit은 혈청 1㎖당 1분 동안 산화된 NADPH의 nmole로 나타내었고, specific activity는 1mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다.

나) SOD 활성 측정

Superoxide dismutase(SOD)의 활성은 Marklund와 Sheri의 방법을 수정하여 Pyrogallol의 autoxidation을 SOD가 억제하는 정도를 측정하였다. Total SOD 활성을 측정하기 위해서 혈청 20㎕에 methanol 1㎖와 chloroform 1㎖를 혼합하여 원심분리하였다. 원심분리한 상층액 60㎕에 tris buffer with 1mole KCN 3㎖와 60㎕ pyrogallol을 순서대로 가하여 잘 섞은 후 Beckman spectrophotometer를 이용하여 파장 420nm에서 5분 동안 흡광도의 증가 정도를 측정하였다. 시료 대신 증류수를 넣은 blank도 동일한 처리를 하여

pyrogallol의 autoxidation에 따른 흡광도의 변화 정도를 알아보았다. Enzyme 1 unit은 pyrogallol autoxidation을 50% 방해하는 효소의 양으로 산출하였다. specific activity는 1mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다. Mn SOD의 활성은 60μℓ에 tris buffer with 1mole KCN 3mℓ와 60μℓ pyrogallol을 순서대로 가하여 잘 섞은 후 동일한 방법으로 측정하였다. Cu SOD의 활성은 Total SOD 활성에서 Mn SOD 활성을 뺀 값을 이용하였다.

다) MDA 농도 측정

Malondialdehyde(MDA) 농도의 측정은 Buckingham의 방법을 이용하였다. 혈장 50μℓ에 1/12N H_2SO_4 4mℓ에 10% phosphotungstic acid 0.5mℓ을 가하여 혼합한 후, 실온에서 5분간 방치한다. 이 혼합액을 원심분리(3,200rpm, 16분간)한 후 그 침전물에 1/12N H_2SO_4 2mℓ에 10% phosphotungstic acid 0.3mℓ를 가하여 섞어준다. 이 혼합액을 다시 원심분리(3,200rpm, 16분간)하여 그 침전물에 증류수 5mℓ와 1% thiobarbituric acid 2mℓ를 가하여 90 95℃에서 20분간 incubation시킨다. 이를 냉각시킨 다음 n-butanol 5mℓ을 가하여 1분간 vortex 한 후 원심분리 (3,200rpm, 16분간)하여 상층에 있는 butanol 층을 luminescence spectrophotometer(Amico Bowman Series2, SIM AMINCO., IL, USA)를 이용하여 excitation 500nm, emission 553nm에서 fluorescence intensity를 측정한 후 표준용액과 비교하여 비색정량하였다.

8) 혈청 항산화 비타민 (α-tocopherol 및 β-carotene) 농도 측정

혈청 tocopherols, retinol 및 carotenoids 분석을 위한 혈액은 채혈한 후 즉시 빛을 차단하여 보관하였다. 혈청은 -70℃에 보관하였으며, 채혈 2개월 이내에 자외선이 차단된 상태에서 Yeum 등의 방법에 따라 HPLC를 이용하여 각각의 농도를 측정하였다.

가) Chemical reagent

모든 유기용매(methanol, ethanol, n-hexane, chloroform, acetonitrile, tetrahydrofuran)와 d-H_2O를 J.T. Baker Chemical Co.(Philisburg, NJ)에서 구입한 HPLC grade를 사용하였으며 사용전에 organic solvent용인 0.5㎛ membrane filter(Waters, Millipore, MA, USA)로 여과한 후 degasing하여 사용하였다. 표준용액인 tocopherols(α-tocopherol, γ-tocopherol, tocopheryl acetate), retinol과 carotenoids(α-carotene, β-carotene, lycopene, cryptoxanthin)는 Sigma Chemical Co.(St Louis, Mo, USA)에서 구입하였다.

나) 혈청으로부터 tocopherols, retinol 및 carotenoids 추출

500㎕의 혈청에 chloroform:methanol (2:1,v/v)을 4.5㎖ 가하고, tocopheryl acetate를 internal standard로 이용하였으며 0.9% NaCH를 가한 후 vortex하여, 4℃·2500rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 chloroform 층은 취하여 hood가 장치된 중탕기 내에서 nitrogen으로 $CHCl_3$를 휘발시키고, 동시에 aqueous층은 2.5㎖의 hexane을 가하여 vortex 후 4℃·2500rpm에서 10분간 다시 원심분리하여 hexane 층을 chloroform extract에 부가하고 중탕기 내에서 nitrogen으로 휘발시켰다. 375㎕ ethanol로 재용해시킨 후 extract 50㎕를 HPLC system에 주사하여 분석하였다(Figure 2). 모든 과정은 자외선이 차단된 상태에서 실시하였다.

Add 4.5㎖ chloroform:methanol(2:1, v/v) to 500㎕ serum

↓

Add 375㎕ of internal standard solution

↓

Add 450㎕ of 0.9% NaCl

↓ vortex for 1 min.

Centrifuge for 10 min. at 4℃, 2500 rpm

↓

Collect chloroform layer(lower)

↓ N2 dry

Add 2.5ml of hexane

↓ vortex for 1 min.

Centrifuge for 10min. at 4℃, 2500 rpm

↓

Collect hexane layer(upper)

↓

Add to dried chloroform extract

↓ N2 dry

Dissolve with 375㎕ ethanol

↓ vortex for 1 min.

Collect supernatant

↓

Inject 50㎕ into the HPLC system

Figure 2. Extraction and automatic measurements of tocopherols, retinol and carotenoids

다) High performance liquid chromatography(HPLC)

(1) HPLC system

HPLC system은 reverse phase system으로서 Alliance Waters 2690 separating module, Waters 996 Photodiode array detector, Waters™474 scanning fluorescence detector, C18 Symmetry 3.9×15cm column(Waters, Milford, MA, USA)으로 구성되었고, mobile phase는 solvent A (CH_3CN:THF :d-H_2O=50:20:30,v/v/v)와 solvent B(CH_3CN:THF:d-H_2O=50:44:6,v/v/v)를 이용하였다. 유속은 1.2 ml/min이었고, gradient producer는 처음 10분 동안 solvent A에서 solvent B로 100% 전환시키고 그 후 6분 동안 solvent B를 통과시킨 후, 4분 동안에 solvent A로 100% 전환하였으며, 2분 동안 solvent A를 통과시키면서 equilibrium을 유지시켰다. Tocopherols은 294nm, retinol은 340nm, carotenoids는 450 nm에서 Waters 996 photodiode array detector로 분석을 실시하였으며, α-tocopherol 분석의 정확성을 위하여 474 fluorescence detector(FD)를 연결하였다.

(2) Peak identification

Tocopherols, retinol 그리고 carotenoids의 peak 규명을 위해 이들 각각의 표준 용액을 HPLC로 분석하여 retention time을 구하였고, serum extract로부터 이들 각각의 retention time에 대응되는 peak에는 표준 물질을 첨가하여 동일 peak임을 확인하였다. 또한 UV spectrum을 이용하여 각각의 peak에 대한 maximum absorbance를 측정하여 각각의 물질을 재확인하였다.

(3) Quantification

혈청의 tocopherols, retinol 및 carotenoids의 정량을 위하여 standard tocopherols, retinol 그리고 carotenoids를 동일한 양의 ethanol에 농도를 증가시키며 용해시켜 HPLC system으로 측정하여 표준곡선(standard curve)을 그렸다. 각 tocopherols, retinol 및 carotenoids의 분자량 및 extinction

coefficient는 Table 4과 같다. 혈청의 각 비타민의 양은 HPLC chromatogram의 peak area와 대응되는 standard response factor에 의해 컴퓨터화된 Millenium analysis system(Waters, Milford, MA, USA)을 이용하여 계산하였고, 혈청에서의 비타민의 extraction 및 sample 취급 과정에 손실되는 양은 internal standard인 tocopheryl acetate의 회수율로 보정하였고, 혈청 tocopherols, retinol 및 carotenoids의 양은 총 혈청 농도 값과 혈청 콜레스테롤(mmol), 혈청 중성지방(mmol)으로 보정한 값으로도 표시하였다.

Table 4. Extinction coefficient of tocopherols, retinol and carotenoids

Name	Molecular Weight	E1%(Maximum Absorbance at)
α-tocopherol	430.7	71 (294nm)
γ-tocopherol	430.7	92.8 (294nm)
Retinol	286.4	1835 (325nm)
α-carotene	536.9	2800 (455nm)
β-carotene	536.9	2375 (455nm)
Lycopene	536.9	2250 (446nm)
Cryphtoxanthin	552.9	2370 (455nm)

9) 혈청 무기질 농도 (Se) 측정

혈청의 Se 농도는 Perkin-Elmer사의 AAS 4110ZL을 사용하여 측정하였으며 Pyrolytic coated THGA Tube(L'vov Platform형)와 Ar gas(99.99%)를 사용하였다. 주입된 시료의 양은 20㎕이며, peak area로 흡광도를 구하였다. 바탕보정법은 Zeeman background 형식을 사용하였으며, slit width는 2.0nm로 설정하였다. electrodeless discharge lamp를 사용하였으며, 선택 파장은 196.0nm였

다. 실험 전처리 과정으로 혈청의 점성을 없애기 위해, 혈청 0.1㎖에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.9㎖를 첨가하여 10배의 희석액을 만들었다. 표준용액은 Perkin- Elmer사(1000㎎/L)에서 구입했으며, matrix modifier로 5㎍ Pd/5㎕을 사용하였다. 전처리의 모든 기자재들은 10% HNO_3 용액에 24시간, 3차 증류수(Millipore, Milli-Q plus)에 24시간 침지 후, 3차 증류수로 3번 헹구어 자연상태에서 완전히 건조시켰다.

10) 소변 8-epi-$PGF_{2}\alpha$ 측정

소변은 공복 12시간 후 1%의 butylated hydroxytoluene을 함유한 polyethylene용기에 수집한 후 바로 알루미늄 foil에 싸서 -70℃에 보관하였다. 소변 8-epi-$PGF_{2}\alpha$는 Pratico와 Mori의 방법을 변형시켜 gas chromatography(GC, Hewlett Packard 6890, Wilmington DE, USA)와 mass selective detector(MS, Hewlett Packard 3973, Wilmington DE, USA)을 이용하여 측정하였다. GC/MS는 10℃/min의 속도로 190℃ to 310℃까지 온도를 올렸고, retention time은 8.5분이었다. 정량은 peak의 면적 비율을 사용하였고, alkaline picrated(Jeffe) reaction 방법으로 측정한 소변 creatinine으로 보정하였다.

라. 자료의 통계처리

참가한 관상동맥경화증 환자를 인슐린 비의존형 당뇨병 유무에 따라 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군으로 나누었다. Window용 SPSS package(Statistical Package for the Social Science, SPSS Ins., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계 처리하였고, 모든 측정치들은 평균±표준오차로 표시하였으며, 검정시에는 $p<0.05$일 때를 통계적으로 유의하다고 보았다. 각 변수에 대하여 각 군내에서는 0주와 섭취 후 16주를 비교한 paired t-test를 실

시하였고, 당부하 검사 후 당뇨병 유무에 따라서 공복 혈당, 인슐린 농도와 인슐린 저항성 및 β-cell 기능을 student t-test를 이용하여 비교하였다. 혈중 호모시스테인, α-tocopherol 농도와 뇨중 과산화물인 8-epi-PGF2α와의 상관성은 pearson's correlation을 이용하여 분석하였다.

3. 연구결과 및 고찰

가. 대상자의 임상양상 및 영양소 섭취량·에너지 소비량

전체 대상자에서 실험 시작 시와 비교하여 16주 후의 평균 체중, 체질량지수, 1일 섭취 열량과 당질, 단백질 및 지질 섭취량은 비슷하였다(Table 5). 16주간 선식 섭취 후 섬유소와 비타민 E 섭취량은 각각 24%와 50% 증가하였으며 엽산 섭취량은 변화가 없었다. 운동을 포함한 에너지 소비량도 실험시작시와 비교하여 16주 후에 차이가 없었다(Table 5).

나. 인체계측

당뇨병 유무에 따라 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군으로 나누었을 때, 연령, 신장, 체중, 이상체중백분율(PIBW)은 군간에 유의적인 차이는 없었다(Table 6). 체질량지수(BMI)는 당뇨-관상동맥경화증군에서 다소 낮게 나타났으나 유의적인 차이를 보이지 않았다. 양군에서 체중은 선식 섭취 16주 동안 변화가 없었다. 총체지방량은 당뇨-관상동맥경화증군의 경우 선식 대체 전 24.1%에서 대체 후 22.4%로 초기 체지방량의 7%가 낮아져 유의적인 차이를 보였고, 비당뇨-관상동맥경화증군에서는 유의적인 차이는 없었지만 감소하는 경향을 보였다. 혈압도 유의적인 변화는 관찰되지 않았다.

Table 5. Body mass index, blood pressure and estimates of daily nutrient intakes in CAD male patients before and after 16 weeks of whole grain consumption

	Total subjects (n=38)	
	0 week	16 week
Weight(kg)	71.0 ± 1.54	70.4 ± 1.49
Body mass index(kg/m²)	25.4 ± 0.42	25.2 ± 0.42
Systolic BP(mmHg)	132 ± 3	132 ± 7
Diastolic BP(mmHg)	85 ± 1	83 ± 2
Glucose(mg/dl)	112.3 ± 3.47	85.2 ± 2.98***
Insulin(μU/ml)	14.6 ± 2.22	11.1 ± 0.73
Estimates of daily nutrient intakes[1]		
TCI[2](Kcal/d)	2178 ± 47	2159 ± 36
Percent carbohydrate	63 ± 2	61 ± 1
Percent protein	18 ± 1	19 ± 1
Percent fat	19 ± 1	20 ± 1
Vitamin E(mg/d)	6 ± 1	9 ± 1**
Folate(μg/d)	71 ± 8	78 ± 10
Fiber(g/d)	21 ± 2	26 ± 1**
TEE[3](Kcal/d)	2356 ± 33	2373 ± 39
TEE/TCI	1.09 ± 0.03	1.10 ± 0.02

Mean±S.E., **p<0.01, ***<0.001 compared with initial value
1 Nutrient intakes, obtained from weighed food records and calculated using the database of the computerized Korean food-code
2 Total calory intake
3 Total energy expenditure

Table 6. Age, anthropometric parameters and blood pressure in CAD male patients with and without diabetes before and after 16 weeks of whole grain consumption

	Non-diabetic CAD (n=26)		Diabetic CAD (n=12)	
	0 week	16 week	0 week	16
Age	54.5 ± 1.55	54.5 ± 1.55	55.4 ± 1.90	55.4 ± 1.90
Height(cm)	167.7 ± 0.91	167.7 ± 0.91	165.9 ± 1.57	165.9 ± 1.57
Weight(kg)	72.9 ± 1.92	72.4 ± 1.81	67.1 ± 2.21	66.1 ± 2.26
Body mass index (kg/m²)	25.8 ± 0.54	25.7 ± 0.52	24.3 ± 0.55	24.0 ± 0.60
Percent ideal body weight(%)	119.4 ± 2.47	118.8 ± 2.41	113.0 ± 2.42	111.5 ± 2.68
Waist(cm)	90.4 ± 1.27	89.3 ± 1.15	87.6 ± 1.49	87.2 ± 1.62
Hip(cm)	97.8 ± 0.97	95.8 ± 0.83***	95.2 ± 1.68	92.9 ± 1.55*
Waist/Hip	0.92 ± 0.01	0.93 ± 0.01	0.92 ± 0.01	0.94 ± 0.01*
Lean body mass(kg)	54.4 ± 1.51	53.9 ± 1.30	50.8 ± 1.71	51.2 ± 1.61
Fat(%)	25.3 ± 0.80	25.5 ± 0.82	24.1 ± 1.76	22.4 ± 1.62*
Mid arm circumference(cm)	28.9 ± 0.59	29.3 ± 0.46	28.0 ± 0.58	28.0 ± 0.70
Tricep(mm)	11.7 ± 0.41	12.2 ± 0.42	9.88 ± 0.73	9.13 ± 0.43
Systolic BP(mmHg)	132.5 ± 3.00	130.0 ± 8.16	130.5 ± 5.50	134.3 ± 13.7
Diastolic BP (mmHg)	85.2 ± 1.45	85.0 ± 3.54	85.5 ± 2.42	81.3 ± 1.86

Mean±S.E., *p<0.05, ***<0.001 compared with initial value in each group

다. 혈당과 혈청 인슐린 농도

전체 환자에서 시작시와 비교하여 아침식사에서 백미대신 전곡을 사용한 16주 후 공복 혈당이 24% 감소하여 있었다(Table 5). 당뇨병으로 진단 받은 적이 없는 환자만을 대상으로 하였으나 당부하검사 결과 12명이 당뇨병으로 진단되었고, 당뇨병 유무에 따라 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군으로 나누었다.

시작 시에 비당뇨-관상동맥경화증군과 비교하여 당뇨-관상동맥경화증군에서 공복 혈당과 당부하시 혈당 면적은 높았으며 공복 인슐린 농도와 당부하시 인슐린 반응 면적은 낮았다(Table 7). 백미를 전곡으로 대체한 16주 후 비당뇨-관상동맥경화증군에서 공복 혈당 농도가 22%(23.1㎎/dl) 감소하였으며 당부하시 혈당 면적은 19%(58.9㎎/dl×hr), 당부하시 인슐린 면적은 26%(32.7 μU/㎖×hr) 감소하였다(Figure 3). 당뇨-관상동맥경화증군에서 전곡 섭취는 공복 혈당 농도를 27%(35.8㎎/dl) 감소시켰으며 당부하시 혈당 면적을 25%(105.8㎎/dl×hr) 감소시켰다. HCMA방정식을 사용한 췌장의 β-세포 기능이 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군 모두 유의적인 수준에서 개선되었으며, 인슐린 저항성은 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군에서 모두 감소하는 경향을 보여주었다(Table 7).

Table 7. Glucose and insulin responses on 75g oral glucose tolerance test in CAD male patients with and without diabetes before and after 16 weeks of whole grain consumption

	Non-diabetic CAD (n=26)		Diabetic CAD (n=12)	
	0 week	16 week	0 week	16 w
Fasting level				
Glucose(mg/dl)	103.5 ± 2.63	80.4 ± 3.14***	131.3 ± 6.81§	95.5 ± 5.62***
Insulin(μU/ml)	16.2 ± 3.22	11.4 ± 0.92	11.2 ± 1.04§	10.3 ± 1.18
Response area				
Glucose(mg/dl)	307.3 ± 10.2	248.4 ± 8.12***	427.3 ± 18.7§	321.5 ± 21.2**
Insulin(μU/ml)	128.2 ± 14.2	95.5 ± 11.2**	71.1 ± 10.6§	62.9 ± 10.4
HOMA equation				
β-cell function%	158.2 ± 27.7	326.9 ± 40.8*	63.2 ± 5.99§	140.0 ± 18.5***
Insulin resistance	4.22 ± 0.88	2.27 ± 0.20*	3.71 ± 0.48	2.58 ± 0.45

Mean±S.E., *p<0.05, **p<0.01, ***<0.001 compared with initial value in each group

§p<0.05 compared with non-diabetic CAD patients at baseline

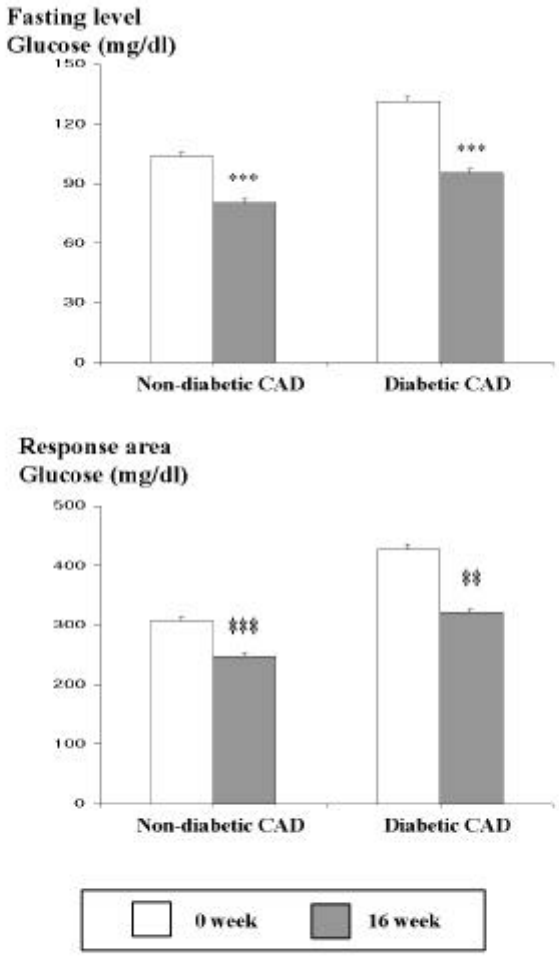


Figure 3. Glucose on 75g oral glucose tolerance test in CAD male patients with and without diabetes before and after 16weeks of whole grain consumption

** $p<0.01$, *** $p<0.001$ compared with initial value in each group

라. 혈청 지질, 성 호르몬 농도 및 항산화효소 활성

혈청 중성지방 농도는 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군에서 선식 섭취 16주 후 각각 7%, 15%씩 감소되었으나 유의적인 수준은 아니었고, HDL-콜레스테롤은 비당뇨-관상동맥경화증군의 경우 초기 40.0±1.76㎎/dl에서 16주간 선식 섭취 후 12% 증가한 44.6±1.87㎎/dl로 유의적인 증가를 보였으며, 당뇨-관상동맥경화증군에서도 초기 39.3±2.53㎎/dl에서 선식 섭취 후 26% 증가한 49.7±4.81㎎/dl로 유의하게 증가하였다(Table 8). 당뇨-관상동맥경화증군에서 선식 섭취 16주 후 총콜레스테롤이 7%, LDL-콜레스테롤이 17% 감소하였지만 유의적인 차이는 아니었고, Atherogenic index와 총콜레스테롤/HDL-콜레스테롤 농도 비율은 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군 모두에서 선식 섭취 16주 후 유의적으로 감소되었다(Figure 4).

Testosterone, 성호르몬 결합 단백질(SHBG) 농도와 free androgen index는 시작시와 비교하여 16주 후에 비당뇨-관상동맥경화증군과 당뇨-관상동맥경화증군 모두에서 유의적인 차이가 없었다(Table 8). GSH-Px와 총 적혈구 SOD, 적혈구 Mn SOD, Cu SOD 활성은 선식 섭취 전과 후를 비교하였을 때 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. Selenium 농도는 시작시와 비교하여 선식 섭취 16주 후에 양군 모두에서 유의한 변화는 없었다.

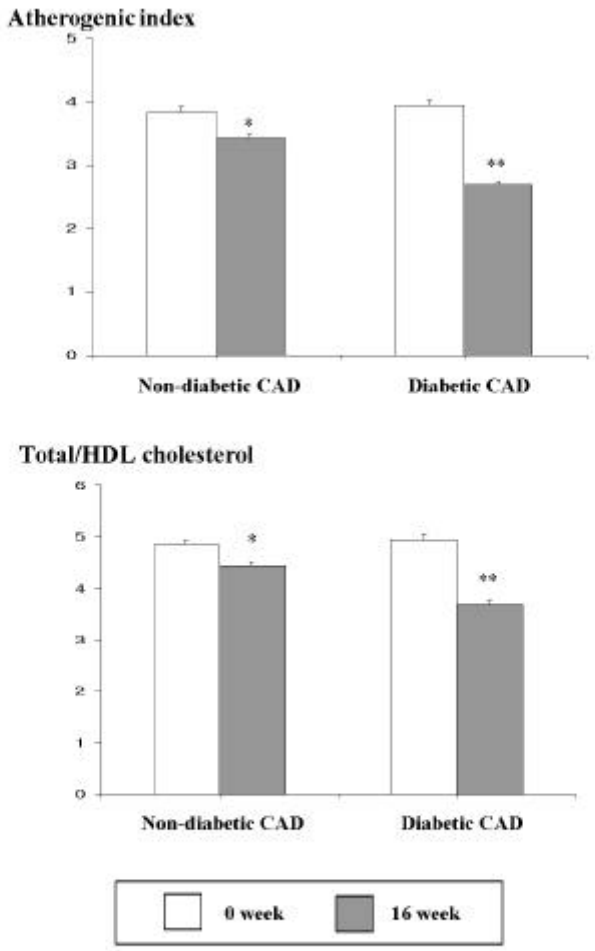


Figure 4. Atherogenic index and Total/HDL cholesterol ratio in CAD male patients with and without diabetes before and after 16 weeks of whole grain consumption

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ compared with initial value in each group

Table 8. Serum levels of lipids, sex hormones, and antioxidant enzyme activities in CAD male patients with and without diabetes before and after 16 weeks of whole grain consumption

	Non-diabetic CAD (n=26)		Diabetic CAD (n=12)	
	0 week	16 week	0 week	16 week
Triglyceride(mg/dl)	152.4 ± 17.7	141.1 ± 13.6	183.1 ± 27.1	156.3 ± 22.6
Total cholesterol(mg/dl)	186.2 ± 5.82	190.0 ± 6.27	186.3 ± 9.44	172.8 ± 7.86
LDL cholesterol(mg/dl)	116.9 ± 7.07	117.2 ± 5.83	110.7 ± 6.48	91.8 ± 6.88
HDL cholesterol(mg/dl)	40.0 ± 1.76	44.6 ± 1.87*	39.3 ± 2.53	49.7 ± 4.81**
Atherogenic index	3.85 ± 0.25	3.43 ± 0.22*	3.95 ± 0.35	2.69 ± 0.25**
Total/HDL cholesterol	4.85 ± 0.25	4.43 ± 0.22*	4.95 ± 0.35	3.69 ± 0.25**
LDL/HDL cholesterol	1.71 ± 0.09	1.67 ± 0.04	1.71 ± 0.07	1.97 ± 0.15
Testosterone(ng/dl)	4.18 ± 0.26	4.21 ± 0.26	4.89 ± 0.43	5.06 ± 0.51
Sex hormone binding globulin (nmol/L)	46.8 ± 2.98	44.4 ± 2.82	47.0 ± 4.66	49.4 ± 4.95
Free androgen index	31.8 ± 1.21	33.7 ± 1.51	38.0 ± 2.99	36.8 ± 3.14
Glutathione peroxidase (nmol of NADPH/min/mg albumin)	40.5 ± 3.37	40.8 ± 3.29	38.6 ± 3.54	36.8 ± 4.06
Total RBC SOD(U/mg RBC)	2.90 ± 0.40	2.91 ± 0.33	2.48 ± 0.46	2.53 ± 0.32
RBC Mn SOD(U/mg RBC)	0.62 ± 0.11	0.60 ± 0.12	0.70 ± 0.23	0.41 ± 0.09
RBC Cu SOD(U/mg RBC)	2.28 ± 0.34	2.30 ± 0.27	1.79 ± 0.38	2.12 ± 0.31
Selenium(μg/L)	90.4 ± 3.40	89.6 ± 2.81	81.6 ± 3.38	84.2 ± 2.64

Mean±S.E., *p<0.05, **<0.01 compared with initial value in each group

마. 혈장 MDA, 호모씨스테인, 소변 8-epi-PGF2α 농도 및 혈청 비타민과 carotenoids 농도

전체 대상자에서 혈장 MDA와 소변 8-epi-PGF2α 농도는 시작 시와 비교하여 선식 섭취 16주 후 30% 가량 감소하였다(Table 9). 혈장 호모씨스테인 농도는 16주 후 8.75±0.44μmol/L로 31% 감소하여 유의적인 차이를 보였으나, 혈장 엽산 농도는 실험 기간 동안 변화가 없었다. 시작 시와 비교하여 혈청 콜레스테롤과 중성지방 농도로 보정된 혈청 α-carotene, retinol, α-tocopherol, γ-tocopherol, lycopene 농도는 16주 후 22-46% 증가하였다(Table 9). 혈장 호모씨스테인 농도가 증가할수록 소변 8-epi-PGF2α 농도가 증가하는 양의 상관성을 (Ln(y)=0.875Ln(x)+3.78, r=0.42, P=0.001, Figure 5) 보여주었으며, 혈청 α-tocopherol 농도와 소변 8-epi-PGF2α 농도는 음의 상관성을 (Ln(y) =-0.75Ln(x)+6.21, r=-0.351, P=0.007, Figure 6) 보여주었다.

Table 9. Effects of whole grain consumption on palsma malondialdehyde and homocysteine, urinary 8-epi-PGF$_{2\alpha}$, serum vitamins and carotenoids in CAD male patients

	Total subjects (n=38)	
	0 week	16 week
Malondialdehyde(nmol/ml)	4.82 ± 0.33	3.38 ± 0.27**
8-epi-PGF$_{2\alpha}$(pmol/mmol creatinine)	571.8 ± 66.9	375.8 ± 50.7**
Homocysteine(μmol/L)	12.8 ± 0.53	8.75 ± 0.44**
Folate(ng/mL)	4.69 ± 0.37	4.08 ± 0.24
Lipid-corrected levels1		
α-carotene(μg/mmol)	4.79 ± 0.51	5.83 ± 0.51**
β-carotene(μg/mmol)	32.7 ± 5.20	36.6 ± 4.59
Retinol(μg/mmol)	190.1 ± 15.7	232.7 ± 17.0**
α-tocopherol(μg/mmol)	0.49 ± 0.05	0.68 ± 0.05**
γ-tocopherol(μg/mmol)	0.13 ± 0.02	0.19 ± 0.01**
Cryptoxanthin(μg/mmoll)	73.6 ± 8.54	65.9 ± 7.86
Lycopene(μg/mmol)	39.4 ± 4.01	52.1 ± 5.71**

Mean±S.E., **p<0.01, ***<0.001 compared with initial value

1each level of vitamins and carotenoids is divided by sum of cholesterol and triacylglycerol(mmol/L)

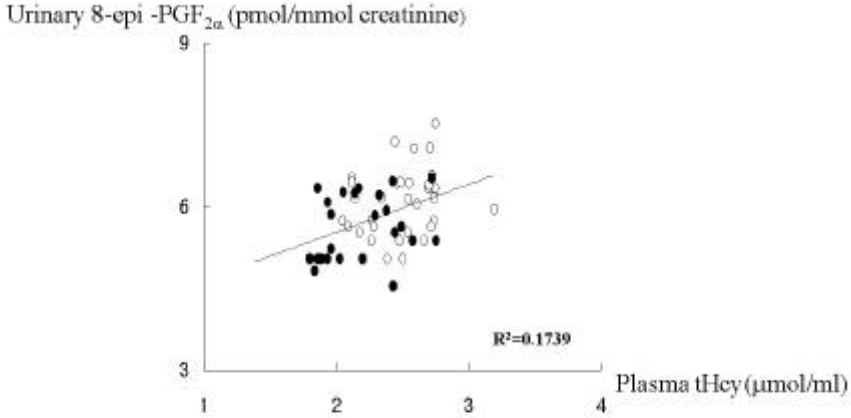


Figure 5. Relationship between urinary 8-epi-$PGF_{2\alpha}$ concentration and plasma total homocysteine concentration before and after whole grain powder ingestion in CAD male patients

(open circles = before ingestion, closed circles= after ingestion)

Regression equations and r values: Ln(y) = 0.875 Ln(X) + 3.78, r=0.42, p=0.001

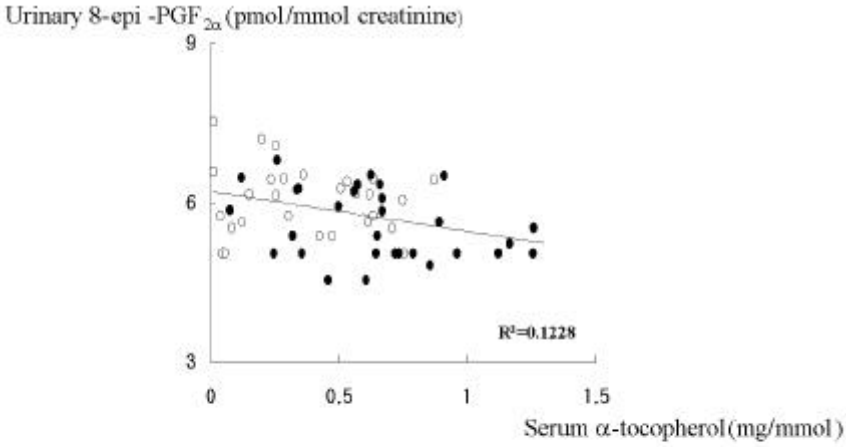


Figure 6. Relationship between urinary 8- epi-$PGF_{2\alpha}$ concentration and serum lipid corrected α-tocopherol concentration before and after whole grain powder ingestion in CAD male patients

(open circles = before ingestion, closed circles= after ingestion)

Regression equations and r values: Ln(y) = - 0.75 Ln(X) + 6.21, r= - 0.351, p=0.007

4. 결 론

본 연구는 관상동맥경화증 환자의 아침식사 대용으로 동일한 열량의 전곡 분말인 선식을 16주간 섭취시킨 결과 혈당 감소와 인슐린 요구도의 감소를 통하여 당질대사가 실질적으로 개선되고 지질 과산화 및 혈장 호모씨스테인 농도가 감소되는 것을 보여주었다. 섬유소가 풍부한 식사는 인슐린 예민도를 증가시켜 인슐린 저항을 낮추고 혈청 인슐린 농도를 감소시키는 것으로 알려졌다(1). Fukagawa 등(2)이 12명의 질병이 없는 건강한 성인에게 총 열량의 68%를 당질, 1000kcal당 33g의 식이 섬유소를 함유하는 고당질·고섬유소 식사와 43%를 당질, 1000kcal당 7g의 식이 섬유소를 함유하는 정상 식사를 21 28일간 제공한 결과 보고에 따르면 고당질·고섬유소 식사 섭취 후 공복 혈당은 95㎎/dl에서 91㎎/dl로, 공복 인슐린 농도는 9.2μU/ ㎖에서 6.9μU/㎖로 감소하였으며, 정상식사에서는 당질대사에 변화가 없었다고 한다. 비슷한 결과가 1일 45g의 섬유소를 섭취시켰던 인슐린 비의존형 당뇨병 환자에서도 보고되었으며(3), cohort 연구에 따르면 당뇨병의 발병을 감소시키기 위해서는 정제된 형태보다는 whole grains을 섭취할 것을 권장하였다(4).

연구 시작시와 비교하여 선식 섭취 16주 후 비당뇨 및 당뇨-관상동맥경화증군에서 HDL 콜레스테롤 농도의 증가와 항산화 비타민인 α-tocopherol 농도의 증가를 보여 주어, 하루 한끼 정백미 섭취를 전곡인 선식으로 대체할 경우 혈청 지단백질 및 항산화 영양소 농도가 개선되는 것을 보여주었다. 실제로 미국 California 주에서 행해진 cohort 연구(5)에 따르면 식이 섬유소 섭취가 6g 증가할 때마다 허혈성 심질환으로 인한 사망이 25% 감소하였다고 한다. 또한 최근 Nurse's Health Study는 whole grains 섭취와 허혈성 심질환으로 인한 사망률 사이에 명백한 음의 관계를 보고하였다(6). 이는 전곡에 함유된 식이 섬유소, 엽산, 비타민 B6와 비타민 E만으로는 설명되지 않으며, 전곡에 함유된 많은 항산화제를 포함한 phytochemical 때문일 것이라고 보고하였다(6,7).

최근에 관상동맥경화증 발병 및 진행에 관여하는 독립인자로 알려진 혈장 호모씨스테인 농도가 선식 섭취 시작시와 비교하여 유의적으로 감소하였는데, 공복 혈장 호모씨스테인 농도의 감소는 선식으로부터 섭취된 엽산 양보다는 비타민 B6 섭취의 증가와 인슐린 저항의 개선으로 여겨진다. 최근에 혈장 총 호모씨스테인 농도를 증가시키는 것이 보고되면서 호모씨스테인 농도의 증가가 인슐린 저항과 atherothrombosis 사이에 관련성을 설명할 수도 있을 것이라는 가능성도 제안되었다(8,9).

항산화제의 섭취는 체내에서 지질 산화를 억제시키는데(10), 지질 과산화물인 혈장 MDA와(11) 소변 8-epi-PGF2α 농도는(11,12) 산화 스트레스의 간접적인 측정 방법이고 항산화제 투여시 이러한 지질 과산화물의 농도는 예민하게 감소하는 것으로 보고되었다(12,13). 본 연구에서도 혈액에서 쉽게 자동산화되는 호모씨스테인 농도가 증가할수록 소변 8-epi-PGF2α 농도가 증가하였고 항산화제인 혈청 α-tocopherol 농도가 증가할수록 소변 8-epi-PGF2α 농도는 감소하는 반비례적인 관계를 보여주었다. 처음과 비교하여 16주 후 보여진 혈장 MDA와 소변 8-epi-PGF2α 농도의 감소는 전곡에 함유된 다양한 항산화제의 효과 때문으로 여겨지며 또한 전곡 섭취 후 혈장 호모씨스테인 농도의 감소로 산화 스트레스가 감소되었던 것도 지질 과산화물의 형성을 억제시켰을 것으로 예상된다.

이상의 결과로 미루어 보아 관상동맥경화증 환자에서 전곡의 섭취는 혈당, 인슐린 요구도 및 혈장 호모씨스테인 농도를 감소시키고 지질 과산화를 억제시킴으로서 실질적으로 동맥경화증 위험 요소를 감소시키는 것을 알 수 있었다. 그동안 전곡 섭취량이 많을수록 허혈성 심질환으로 인한 사망률이 적다는 역학 조사(7)에 근거하여 관상동맥경화증 환자에게 전곡 섭취는 권장되어 왔으나, 관상동맥경화증 환자를 대상으로 한 실질적인 전곡 섭취의 효과에 관한 연구는 드물어 구체적인 양이 제시되지 못하였다. 본 연구 결과는 관상동맥경화증 환자의 하루 한끼 식사 중 정백미를 전곡으로 대체시킬 경우 심혈관 질환 및 당뇨병의 위험 요소가 감소한다는 실질적인 식사지침을 제시하고

있다.

선식의 아침식사 대체 효과는 본 연구의 관상동맥경화증 환자에서 측정한 생화학치들을 전반적으로 당대사와 관련 없이 개선시킨 것으로 나타난다. 그러나 선식의 섭취가 혈당 조절에 도움을 주는 것으로 보여진 것이 단기 및 장기 이환 당뇨병 환자에서 동일하게 나타날지는 예상할 수 없으므로 이에 대한 연구는 별도로 필요할 것이다. 선식의 영양소 구성 성분이 과학적으로 분석되어 있지 않아 선식의 효과를 설명하는데 부족하였고, 선식의 구성 성분을 임상 영양학적으로 몇 가지만 조절한다면 관상동맥경화증 및 당뇨병 환자의 치료 보조 식품으로 우수하리라 여겨지며 이에 대한 과학적인 임상 영양 실험이 필요하다고 사료된다. 또한 식사요법시 혈청 지단백질, 호모씨스테인 농도 및 지질 과산화물 농도의 변화는 apoprotein, apoE gene 혹은 MTHFR(5,10-methylene-tetrahydrofolated reductase) 및 MS(methionine synthase) 유전자 다형성에 따라 다를 것이므로 기전 및 효과를 밝히기 위해서는 이에 대한 연구도 필요할 것이다.

참 고 문 헌

1. Anderson JW, Hanna TJ. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. J Nutr 129:1457s-1466s, 1999
2. Fukagawa NK, Anderson JW, Hageman G, Young VR, Minake RKL. High carbohyd- rate, high-fiber diets increase peripheral insulin sensitivity in healthy young and old adults. Am J Clin Nutr 52:524-528, 1990
3. O'Dea K, Traianedes K, Ireland P, Niall M, Sadler J, Hopper J, De Luise M. The effects of diet differing in fat, carbohydrate, and fiber on carbohydrate and lipid metabolism in type II diabetes. J Am Diet Assoc 89:1076-1086, 1989
4. Jorge Salmeron, JoAnn E, Manson Meier J Stampfer, Graham A Colditz, Alvin L Wing, Walter C Willett. Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. JAMA 277(6):472-477, 1997
5. Khaw KT, Barrett-Connor E. Dietary fiber and reduced ischemic heart disease mortality rates in men and women : a 12-year prospective study. Am J Epidemiol 126:1093-1102, 1987
6. David R Jacobs Jr, Katie A Meyer, Lawrence H Kushi, Aaron R Folsom. Whole-grain intake may reduce the risk of ischemic heart disease death in postmenopausal women : the Iowa women's health study. Am J Clin Nutr 68:248-257, 1998
7. Simin Liu, Meir J Stampfer, Frank B Hu, Edward Giovannucci, Eric Rimm, JoAnn E Manson, Charles H Hennekens, Walter C Willett. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease : result

from the nurses' health study. Am J Clin Nutr 70:412- 419, 1999

8. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JMH, Gooren LJG, Asscheman H, Stehouwer CDA. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. Atherosclerosis 139:197-198, 1998
9. Fonseca VA, Mudaliar S, Schmidt B, Fink LM, Kern PA, Henry RR. Plasma homocys- teine concentration are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. Metabolism 47:686-689, 1998
10. Slavin J, Jacobs D, Marquart L. Whole-grain consumption and chronic disease : protective mechanisms. Nutrition and Cancer 27:4-21, 1997
11. Meraji S, Ziouzenkova O, Resch U, Khoschsorur A, Tatzber F, Esterbauer H. Enhanced plasma level of lipid peroxidation in Iranians could be improved by antioxidants supple- mentation. Eur J Clin Nutr 51:318-325, 1997
12. Reilly MP, Delanty N, Roy L, Rokach J, Callaghan PC, Crean P, Lawson JA, et al. Increased formation of the isoprostanes IPF2-I and 8-epi-prostaglandin F2α, in acute coronary angioplasty : evidence for oxidant stress during coronary reperfusion in human. Circulation 96:3314-20, 1997
13. Delanty N, Reily M, Pratico D, Fitzgerald DJ, Lawson JA, Fitzgerald GA. 8-Epi- prostaglandin F2α : in specific analysis of an isoeicosanoid as an index of oxidant stress in vivo. Br J Clin Pharmacol 42:15-19, 1996

제2절 고지혈증 환자를 대상으로 생식을 사용한 식사 대체 효과 : 혈청 지질 및 항산화 체계 연구

1. 서 설

전곡류는 식이 섬유소, 미량 무기질, 비타민과 피토에스트로젠(phytoestrogen)과 같은 항산화 물질이 포함된 질병 예방을 위해 중요한 영양소 급원 식품이다. 이러한 이유로 전곡류 섭취량을 증가시키려고 권장하고 있으나, 전곡류가 풍부한 식사의 생리적인 효과를 유도한 연구는 거의 없고, 대부분 식품이 아닌 영양소에 초점을 둔 연구, 즉 전곡류 자체의 역할보다는 식이 섬유소에 대한 연구가 훨씬 더 많이 보고되었다. 최근 역학 연구들은 과일과 채소가 질병의 발병율을 낮출 수 있음을 보고하였고, 특정한 영양소보다는 과일과 채소에 내재한 물질들과 영양소가 상호작용을 할 때 질병을 예방할 수 있는 힘이 더 커진다는 것을 제시하였다. 그러나 전곡류를 이용한 질병 예방에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

그러므로 본 연구에서는 고지혈증인 환자를 대상으로 12주 동안 아침식사 중 주식을 섬유소 및 항산화 물질이 풍부한 생식으로 대체한 후 생식 섭취 전과 후를 비교하여 혈중 지질 및 지단백, 항산화 체계의 개선 정도를 측정하고, 이를 같은 기간동안 일상식을 섭취한 고지혈증을 가진 대조군의 경우와 비교하여 그 효과를 과학적으로 입증하고자 하였다.

2. 연구대상 및 방법

가. 연구대상

본 연구에 참여한 생식섭취군은 연세대학교 의과대학 세브란스병원에서 혈액검사를 통하여 공복시 혈중 중성지방 160㎎/dl 이상, 혹은 총콜레스테롤 220㎎/dl 이상, 혹은 LDL-콜레스테롤 130㎎/dl 이상으로 확인된 30-60대 남성 고지혈증 환자 23명을 대상으로 진행하였으며, 관상동맥경화증인 경우와 지질 강하제 복용중인 경우는 제외하였다. 대상자 23명 중 18명만이 12주 검사를 완료하였으며, 5명은 중도 포기하였다. 대조군의 경우 혈액검사 결과가 위의 혈중 지질 농도 범위에 해당되고 다른 질병을 가지고 있지 않은 고지혈증 환자가 자발적으로 검사에 참여하였으며, 모두 18명이었다.

나. 생식제공 및 실험기간

생식은 아침 식사를 대체하는 것으로 생식섭취군 23명에게 12주간 섭취하도록 제공하였으며, 섭취시 생식 1포를 생수 또는 우유 230㎖에 타서 섭취하도록 하였다. 생식의 시료 원료별 구성 배합비는 Table 1에 나타냈다.

다. 연구방법

1) 인체계측, % 체지방 및 체지방 분포 조사

생식섭취군에서 생식 섭취 시작(0주)과 12주 섭취 후에 각각 인체계측을 실시하였고, 대조군에서도 0주와 12주에 동일하게 인체계측을 실시하였다. 신장과 체중을 측정하고 이상체중백분율(percent ideal body weight, % IBW)은 실제체중(kg)을 {(신장㎝-100)×0.9}로 나눈 백분율 값을, 체질량지수(body mass index, BMI)는 체중(kg)을 신장(㎝)의 제곱으로 나눈 값을 사용하였다.

Table 1. Ingredients of whole grain powder (풀무원제공)

원료명	배합비(%)	원료명	배합비(%)
현미분	35.15	미역	0.1387
현미찹쌀분	7.8625	밤	0.4902
현미율무분	2.775	시금치	1.5725
보리분	5.18	쑥	0.2775
검정콩분	10.175	솔잎	0.2775
현미호분층	9.25	양배추	1.48
발아현미분	4.625	양파	0.0694
감자	0.74	연근	0.5088
고구마	1.3875	우엉	0.2775
다시마	0.1387	표고버섯	0.2497
김	0.1387	늙은호박	1.2487
당근	1.5309	현미배아(씨눈)	7.5
도라지	0.2775	기타	
마	0.1387	합계	100

% 체지방(% body fat)과 근육량(lean body mass, LBM)은 체지방 분석기(Body Fat Analyzer TBF-105, Tanita, Japan)를 이용하여 직접 측정하였다. 또한 대상자를 평평한 바닥에 세운 채 tape로 허리와 엉덩이 둘레를 측정하여, 복부 비만의 지표로써 허리와 엉덩이 둘레비(waist to hip circumference ratio, W/H)를 사용하였다. 혈압은 채혈과 동일한 시간에 10분 이상 안정 상태를 유지시킨 후 수축기 혈압과 이완기 혈압을 측정하였다.

2) 식품 섭취량 및 활동량 조사

아침식사 대용인 생식을 포함한 평상시의 음식 섭취량을 알아보기 위하여 식품섭취빈도조사표를 이용해 개발한 간이법을 사용하였고, 24시간 회상법에 의하여 식품 섭취량을 확인하였다. 0주 검사시에 평소의 활동량과 식사 섭취량을 조사하였고, 12주 검사시에는 검사 전 3일간의 식사 섭취량 및 활동량을

기록하게 하여 조사하였다.

3) 혈당 검사와 혈청 유리지방산, 인슐린 농도 측정

검사 당일 아침 공복시 채혈하여, 혈당은 포도당 산화효소법, 유리지방산(free fatty acid)은 Hitachi 7150 Autoanalyzer(Hitachi Ltd., Tokyo, Japan), 인슐린 농도는 INC(Immuno Nucleo Cooperation, Stillwater, USA)에서 제조한 kit를 사용하여 방사면역법으로 측정하였다.

4) 혈청 지질 및 지단백 농도 측정

검사 당일 아침 공복시 정맥에서 채혈하여 혈청 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤과 중성지방은 Auto Chemistry Analyzer Express Plus(Chiron Diagnostics Co., MA, USA)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, HDL 콜레스테롤은 침전제를 이용하여 유미지립(chylomicron), 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL), 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein, VLDL)을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL 중에서 콜레스테롤을 다시 효소법으로 측정하였다.

5) 혈장 총 homocysteine 농도 측정

혈장 총 homocysteine 농도는 Anderson 등의 방법을 변형하여 측정하였다. 검사 당일 아침 공복시 혈액을 채취하여, EDTA 처리된 vacutainer에 담고 2300rpm에서 30분간 centrifuge시킨 후에 혈장을 추출하였다. 혈장 500㎕에 pH 9.0으로 맞춘 borate buffer와 dithiothreitol를 첨가하여 homocysteine의 -S기를 환원시킨 후 internal standard인 L-norleucine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)과 20% sulphosaicylic acid를 첨가하여 단백질을 침전시켜 3300rpm에서 15분간 원심분리하였다. 분리된 상층액을 취하여 0.2㎛ membrane filter (Waters, Millipore, MA, USA)로 거른 후 100㎕를 Pharmacia Biotech(Cambridge, England)의 post-column ninhydrin reaction system의

Bio20 autoloader amino acid analyzer에 주입하여 분석하였고(Figure 1), 이때 얻어진 homocysteine peak를 total homocysteine으로 하며, 표준용액으로 D,L-homocysteine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 동일한 조건하에서 분석하여 homocysteine의 retention time을 확인하였으며, plasma sample에 standard D,L- homocysteine을 첨가하여 동일시간에 나오는 다른 물질과 구별하였다.

Add 25㎕ borate buffer to 500㎕ plasma

↓

25㎕ dithiothreitol(0.88M in water)

↓

Add 25㎕ L-norleucine and 20% SSA 50㎕

↓

Centrifuge for 15 min., at 4℃, 3300 rpm

↓

Filter the supernatant through 0.2㎛ filter

↓

100㎕ loading amino acid analyzer

Figure 1. Preparation for the total homocysteine analysis

6) 혈청 항산화 효소 및 과산화물의 측정

가) GSH-Px 활성 측정

GSH-Px(Glutathione Peroxidase) 활성은 Paglia와 Deagen의 방법을 수정하여, hydrogen peroxide를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. 혈장 20㎕에 증류수를 가하여 100㎕로 채운 후, 0.8㎖ reaction mixture(4.5㎜M EDTA, 4.7㎜M sodium azide in 0.125M phosphate buffer pH 7.0, 2.8nmole NADPH, 49.9nmole reduced glutathione, 0.67 units glutathione reductase)를 가하여 첨가한 다음 0.25㎜M H_2O_2 0.1㎖을 가하여 반응을 일으킨 즉시 Beckmam spectrophotometer를 이용하여 파장 340㎚에서 산화형 glutathione(GSSG)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도가 감소되는 속도를 3분 동안 측정하였다. GSH-Px의 존재 하에 H_2O_2의 첨가에 의하여 환원형 glutathione(GSH)이 생성되고, reaction mixture 내 glutathione reductase와 NADPH가 개입되어 GSSG가 다시 GSH로 환원되는 속도를 흡광도의 변화를 통해서 관찰함으로써 GSH-Px의 활성이 산출되었다. Enzyme 1 unit은 혈청 1㎖당 1분 동안 산화된 NADPH의 nmole로 나타내었고, specific activity는 1mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다.

나) SOD 활성 측정

Superoxide dismutase(SOD)의 활성은 Marklund와 Sheri의 방법을 수정하여 Pyrogallol의 autoxidation을 SOD가 억제하는 정도를 측정하였다. Total SOD 활성을 측정하기 위해서 혈청 20㎕에 methanol 1㎖와 chloroform 1㎖를 혼합하여 원심분리하였다. 원심분리한 상층액 60㎕에 tris buffer with 1mole KCN 3㎖와 60㎕ pyrogallol을 순서대로 가하여 잘 섞은 후 Beckman spectrophotometer를 이용하여 파장 420㎚에서 5분 동안 흡광도의 증가 정도를 측정하였다. 시료 대신 증류수를 넣은 blank도 동일한 처리를 하여 pyrogallol의 autoxidation에 따른 흡광도의 변화 정도를 알아보았다. Enzyme

1 unit은 pyrogallol autoxidation을 50% 방해하는 효소의 양으로 산출하였다. specific activity는 1mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다. Mn SOD의 활성은 60㎕에 tris buffer with 1mole KCN 3㎖와 60㎕ pyrogallol을 순서대로 가하여 잘 섞은 후 동일한 방법으로 측정하였다. Cu SOD의 활성은 Total SOD 활성에서 Mn SOD 활성을 뺀 값을 이용하였다.

다) MDA 농도 측정

Malondialdehyde(MDA) 농도의 측정은 Buckingham의 방법을 이용하였다. 혈장 50㎕에 1/12N H_2SO_4 4㎖에 10% phosphotungstic acid 0.5㎖을 가하여 혼합한 후, 실온에서 5분간 방치한다. 이 혼합액을 원심분리(3,200rpm · 16분간)한 후 그 침전물에 1/12N H_2SO_4 2㎖에 10% phosphotungstic acid 0.3㎖를 가하여 섞어준다. 이 혼합액을 다시 원심분리(3,200rpm · 16분간)하여 그 침전물에 증류수 5㎖와 1% thiobarbituric acid 2㎖를 가하여 90 95℃에서 20분간 incubation시킨다. 이를 냉각시킨 다음 n-butanol 5㎖을 가하여 1분간 vortex 한 후 원심분리(3,200rpm · 16분간)하여 상층에 있는 butanol 층을 luminescence spectrophotometer(Amico Bowman Series2, SIM AMINCO., IL, USA)를 이용하여 excitation 500nm, emission 553nm에서 fluorescence intensity를 측정한 후 표준용액과 비교하여 비색정량하였다.

7) 혈청 항산화 비타민 (α-tocopherols 및 β-carotenoids) 농도 측정

혈청 tocopherols, retinol 및 carotenoids 분석을 위한 혈액은 채혈한 후 즉시 빛을 차단하여 보관하였다. 혈청은 -70℃에 보관하였으며, 채혈 2개월 이내에 자외선이 차단된 상태에서 Yeum 등의 방법에 따라 HPLC를 이용하여 각각의 농도를 측정하였다.

가) Chemical reagent

모든 유기용매(methanol, ethanol, n-hexane, chloroform, acetonitrile,

tetrahydrofuran)와 d-H_2O를 J.T. Baker Chemical Co.(Philisburg, NJ)에서 구입한 HPLC grade를 사용하였으며, 사용 전에 organic solvent용인 0.5㎛ membrane filter(Waters, Millipore, MA, USA)로 여과한 후 degasing하여 사용하였다. 표준용액인 tocopherols(α-tocopherol, γ-tocopherol, tocopheryl acetate), retinol과 carotenoids(α-carotene, β-carotene, lycopene, cryptoxanthin)는 Sigma Chemical Co.(St Louis, Mo, USA)에서 구입하였다.

나) 혈청으로부터 tocopherols, retinol 및 carotenoids 추출

500㎕의 혈청에 chloroform:methanol (2:1, v/v)을 4.5㎖ 가하고, tocopheryl acetate를 internal standard로 이용하였으며 0.9% NaCH를 가한 후 vortex하여, 4℃·2500rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 chloroform 층은 취하여 hood가 장치된 중탕기 내에서 nitrogen으로 $CHCl_3$를 휘발시키고, 동시에 aqueous층은 2.5㎖의 hexane을 가하여 vortex 후 4℃·2500rpm에서 10분간 다시 원심분리하여 hexane 층을 chloroform extract에 부가하고 중탕기 내에서 nitrogen으로 휘발시켰다. 375㎕ ethanol로 재용해시킨 후 extract 50㎕를 HPLC system에 주사하여 분석하였다(Figure 2). 이 모든 과정은 자외선이 차단된 상태에서 실시하였다.

Add 4.5㎖ chloroform:methanol (2:1, v/v) to 500㎕ serum

↓

Add 375㎕ of internal standard solution

↓

Add 450㎕ of 0.9% NaCl

↓ vortex for 1 min.

Centrifuge for 10 min. at 4℃, 2500 rpm

↓

Collect chloroform layer (lower)

↓ N2 dry

Add 2.5ml of hexane

↓ vortex for 1 min.

Centrifuge for 10min. at 4℃, 2500 rpm

↓

Collect hexane layer (upper)

↓

Add to dried chloroform extract

↓ N2 dry

Dissolve with 375㎕ ethanol

↓ vortex for 1 min.

Collect supernatant

↓

Inject 50㎕ into the HPLC system

Figure 2. Extraction and automatic measurements of tocopherols, retinol and carotenoids

다) High performance liquid chromatography (HPLC)

(1) HPLC system

HPLC system은 reverse phase system으로서 Alliance Waters 2690 separating module, Waters 996 Photodiode array detector, Waters™474 scanning fluorescence detector, C18 Symmetry 3.9×15cm column(Waters, Milford, MA, USA)으로 구성되었고, mobile phase는 solvent A(CH_3CN:THF:d-H_2O=50:20:30,v/v/v)와 solvent B(CH_3CN:THF:d-H_2O=50:44:6, v/v/v)를 이용하였다. 유속은 1.2ml/min이고, gradient producer는 처음 10분 동안 solvent A에서 solvent B로 100% 전환시키고 그 후 6분 동안 solvent B를 통과시킨 후, 4분 동안에 solvent A로 100% 전환하며, 2분 동안 solvent A를 통과시키면서 equilibrium을 유지시켰다. Tocopherols은 294nm, retinol은 340nm, carotenoids는 450nm에서 Waters 996 photodiode array detector로 분석을 실시하였으며, α-tocopherol 분석의 정확성을 위하여 474 fluorescence detector(FD)를 연결하였다.

(2) Peak identification

Tocopherols, retinol 그리고 carotenoids의 peak 규명을 위해 이들 각각의 표준 용액을 HPLC로 분석하여 retention time을 구하였고, serum extract로부터 이들 각각의 retention time에 대응되는 peak에는 표준 물질을 첨가하여 동일 peak임을 확인하였다. 또한 UV spectrum을 이용하여 각각의 peak에 대한 maximum absorbance를 측정하여 각각의 물질을 재확인하였다.

(3) Quantification

혈청의 tocopherols, retinol 및 carotenoids의 정량을 위하여 standard tocopherols, retinol 그리고 carotenoids를 동일한 양의 ethanol에 농도를 증가시키며 용해시켜 HPLC system으로 측정하여 표준곡선(standard curve)을

그렸다. 각 tocopherols, retinol 및 carotenoids의 분자량 및 extinction coefficient는 Table 2와 같다. 혈청의 각 비타민의 양은 HPLC chromatogram의 peak area와 대응되는 standard response factor에 의해 컴퓨터화된 Millenium analysis system(Waters, Milford, MA, USA)을 이용하여 계산하였고, 혈청에서의 비타민의 extraction 및 sample 취급 과정에 손실되는 양은 internal standard인 tocopheryl acetate의 회수율로 보정하고, 혈청 tocopherols, retinol 및 carotenoids의 양은 총 혈청 농도 값과 혈청 콜레스테롤(mmol), 혈청 중성지방(mmol)으로 보정한 값으로도 표시하였다.

Table 2. Extinction coefficient of tocopherols, retinol and carotenoids.

Name	Molecular Weight	E1% (Maximum Absorbance at)
α-tocopherol	430.7	71 (294nm)
γ-tocopherol	430.7	92.8 (294nm)
Retinol	286.4	1835 (325nm)
α-carotene	536.9	2800 (455nm)
β-carotene	536.9	2375 (455nm)
Lycopene	536.9	2250 (446nm)
Cryphtoxanthin	552.9	2370 (455nm)

8) 혈장 ascorbic acid 농도 측정

혈장 ascorbic acid 분석을 위한 혈액은 채혈한 후 즉시 빛을 차단하여 보관하였다. 혈장은 -70℃에 보관하였으며, 채혈 2개월 이내에 자외선이 차단된 상태에서 HPLC를 이용하여 농도를 측정하였다.

가) Chemical reagent

모든 용매(methanol, distilled-deionized water)는 J.T. Baker Chemical Co.(Philisburg, NJ)에서 구입한 HPLC grade를 사용하며 사용 전에 0.5㎛ membrane filter(Waters, Millipore, MA, USA)로 여과한 후 degasing하여 사용하였다. 표준용액으로 L-(+)ascorbic acid를 사용하고, buffer 제조 및 전처리용 시약인 MPA(metaphosphoric acid), phosphoric acid, PCA (perchloric acid), ammonium dihydrogenorthophosphate는 Sigma Chemical Co.(St Louis, Mo, USA)에서 구입하였다.

나) Buffer, 전처리 용액 및 internal standard의 제조

0.015%(w/v) MPA를 포함한 20mM ammonium dihydrogenorthophosphate를 제조하여 phosphoric acid로 pH 2.95가 되도록 농도 맞추어 buffer를 준비하였다. 전처리용 용액은 1% (w/v) MPA을 포함한 차가운 10%(v/v) PCA을 만들어 준비하였다. Internal standard는 IA (Iso ascorbic acid, Sigma Chemical Co., St Louis, Mo, USA)를 사용하였고, ascorbic acid standard는 10%(v/v) PCA with 1%(w/v) MPA 용액으로 희석하였다.

다) 혈장으로부터 ascorbic acid 추출

100㎕의 plasma에 internal standard와 1%(w/v) MPA를 포함한 차가운 10%(v/v) PCA 100㎕를 첨가하였다. 그 뒤 20분 동안 단백질을 제거하기 위하여 centrifugation을 실시하였다. 분리된 상층액을 취하여 200㎕ buffer를 첨가하였고, 1분간 12000 rpm에서 centrifugation한 후 상층액의 10㎕를 HPLC system에 주사하여 분석하였다(Figure 3).

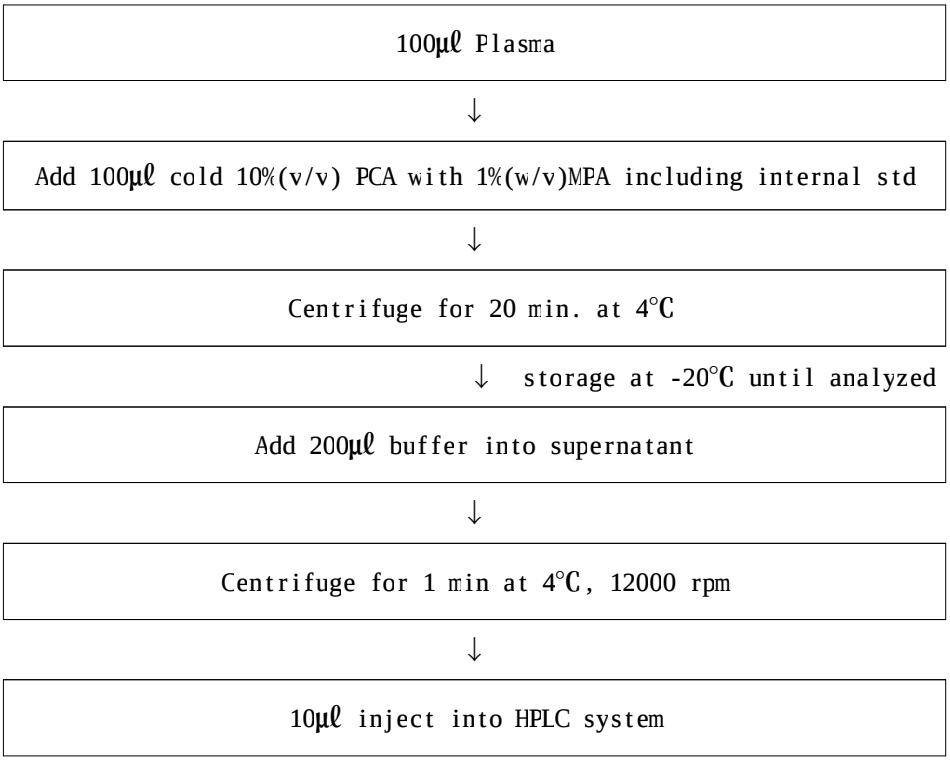


Figure 3. Extraction and automatic measurements of ascorbic acid by HPLC

라) High performance liquid chromatography (HPLC)

(1) HPLC system

HPLC system은 normal phase system으로서 Alliance Waters 2690 separating module, Waters 996 Photodiode array detector, Waters™474 scanning fluorescence detector, C18 Novapak 3.9×15cm column(Waters, Milford, MA, USA)으로 구성되었고, mobile phase는 위에서 준비한 buffer를 이용하였다. 유속은 0.8ml/min이고, 분석은 254nm에서 Waters 996 photodiode array detector로 분석을 실시하였으며, 분석의 정확성을 위하여 474

fluorescence detector (FD)를 연결하였다.

(2) Peak identification

Ascorbic acid의 peak 규명을 위해 표준용액을 HPLC로 분석하여 retention time을 구했고, plasma extract로부터 retention time에 대응되는 peak에는 표준물질을 첨가하여 동일 peak임을 확인하였다. 또한 UV spectrum을 이용하여 peak에 대한 maximum absorbance를 측정하여 물질을 재확인하였다.

(3) Quantification

혈장 ascorbic acid의 정량을 위하여 standard ascorbic acid를 동일한 양의 전처리 용액에 농도를 증가시키며 용해시켜 HPLC system으로 측정하여 표준곡선(standard curve)을 그렸다. 혈장 ascorbic acid의 양은 HPLC chromatogram의 peak area와 대응되는 standard response factor에 의해 컴퓨터화된 Millenium analysis system(Waters, Milford, MA, USA)을 이용하여 계산하였고, 혈장으로부터 ascorbic acid의 extraction 및 sample 취급 과정에 손실되는 양은 internal standard인 isoascorbic acid의 회수율로 보정하였다.

9) 혈청 무기질 농도 측정

혈청 무기질 농도는 Perkin-Elmer사의 AAS 4110ZL을 사용하여 측정하였으며 Pyrolytic coated THGA Tube(L'vov Platform형)와 Ar gas(99.99%)를 사용하였다. 주입된 시료의 양은 20㎕이며, peak area로 흡광도를 구하였다. 전처리의 모든 기자재들은 10% HNO3 용액에 24시간, 3차 증류수(Milli pore, Milli-Q plus)에 24시간 침지 후, 3차 증류수로 3번 헹구어 자연 상태에서 완전히 건조시켰다.

가) 혈청 Se 농도 측정

바탕보정법은 Zeeman background 형식을 사용하였으며, slit width는 2.0nm로 설정하였다. electrodeless discharge lamp를 사용하였으며, 선택 파장은 196.0nm였다. 실험 전처리 과정으로 점성을 없애기 위해, 혈청 0.1ml에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.9ml를 첨가하여 10배의 희석액을 만들었다. 표준용액은 Perkin-Elmer사(1,000mg/L)에서 구입했으며, matrix modifier로 5μg Pd/5μℓ을 사용하였다.

나) 혈청 Mn 농도 측정

Slit width는 0.2nm로 설정하였고 hollow cathode lamp를 사용하였으며, 선택 파장은 279.5nm였다. 혈청 0.1ml에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.9ml를 첨가하여 10배의 희석액을 만들었다. Matrix modifier로 5μg Pd와 3 μg $Mg(NO_3)_2$을 사용하였다.

다) 혈청 Cu 농도 측정

Slit width는 0.7nm로 설정하였고 hollow cathode lamp를 사용하였으며, 선택 파장은 324.8nm였다. 혈청 0.1ml에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.9ml를 첨가하여 10배의 희석액을 만들었다. Matrix modifier로 5μg Pd와 3 μg $Mg(NO_3)_2$을 사용하였다.

라) 혈청 Zn 농도 측정

Slit width는 0.7nm로 설정하였고 hollow cathode lamp를 사용하였으며, 선택 파장은 213.9nm였다. 혈청 0.01ml에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.99ml를 첨가하여 100배의 희석액을 만들었다. Matrix modifier로 5μg $Mg(NO_3)_2$을 사용하였다.

마) 혈청 Cr 농도 측정

Slit width는 0.7nm로 설정하였고 hollow cathode lamp를 사용하였으며, 선택 파장은 357.9nm였다. 혈청 0.1ml에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.9ml를 첨가하여 10배의 희석액을 만들었다. Matrix modifier로 15μg $Mg(NO_3)_2$을 사용하였다.

라. 자료의 통계처리

자료는 Window용 SPSS package(Statistical Package for the Social Science, SPSS Ins., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계 처리하였고, 모든 측정치들은 평균±표준오차로 표시하였으며, 검정시에는 $p<0.05$일 때를 통계적으로 유의하다고 보았다. 생식 섭취 전·후의 검사 결과에 따라 개선 효과를 측정하기 위해 생식섭취군과 대조군 내에서는 각 변수에 대하여 0주와 12주를 비교한 paired t-test를 실시하였다.

3. 연구결과 및 고찰

가. 대상자의 임상양상과 인체계측

생식섭취군과 대조군의 평균 연령은 각각 44.9세와 40.6세였다. 두군 모두에서 체중이 감소하는 경향을 보였고, 특히 생식섭취군에서 실험 시작시 64.5±1.63kg에서 실험 후 63.2±1.43kg으로 1.3kg이 감소되어 유의적인 차이를 보였다(Figure 4). 체지방율의 경우 생식섭취군에서는 실험 전 21.5±1.08%에서 실험 후 20.0±1.02%로 평균 1.5%가 감소하여 유의적인 차이를 보였으며, 대조군에서는 0.4% 감소하였으나 유의적인 차이는 아니었다. 생식섭취군에서는 근육량의 변화도 거의 나타나지 않았다. 생식섭취군에서 엉덩이 둘레가

1.2㎝ 감소하여 유의적인 차이를 보였으나 허리/엉덩이 둘레 비율은 큰 차이가 없었고, 수축기 혈압과 이완기 혈압도 유의적인 변화를 나타내지 않았다 (Table 3).

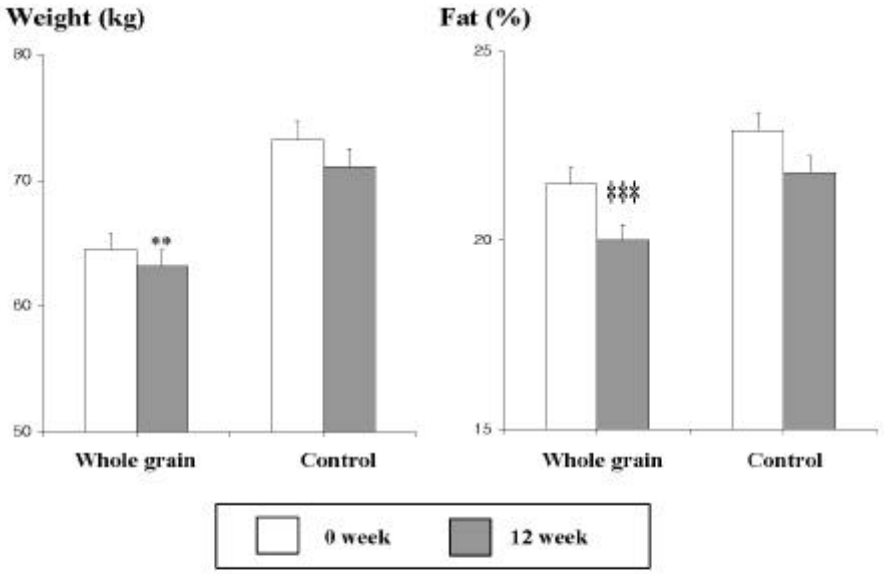


Figure 4. Body weight and percent fat in whole grain consumption and control group withhyperlipidemia before and after 12 weeks
** p<0.01, *** p<0.001 compared with initial value in each group

Table 3. Age, anthropometric parameters and blood pressure in whole grain consumption and control group with hyperlipidemia before and after 12 weeks

	Whole grain (n=18)		Control (n=18)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
Age	44.9 ± 2.35	44.9 ± 2.35	40.6 ± 1.09	40.6 ± 1.09
Height(cm)	167.6 ± 1.20	167.6 ± 1.20	172.3 ± 1.09	172.3 ± 1.09
Weight(kg)	64.5 ± 1.63	63.2 ± 1.43**	73.2 ± 2.39	71.1 ± 2.54
Body mass index(kg/m²)	23.0 ± 0.46	22.5 ± 0.43*	24.7 ± 0.89	23.9 ± 0.92
Waist(cm)	83.3 ± 1.44	82.6 ± 1.27	84.9 ± 1.96	85.7 ± 1.95
Hip(cm)	94.4 ± 1.07	93.2 ± 0.94*	96.0 ± 1.27	95.7 ± 1.31
Waist/Hip	0.88 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.88 ± 0.01	0.89 ± 0.01
Lean body mass(kg)	50.4 ± 0.92	50.5 ± 0.90	53.1 ± 1.41	52.3 ± 1.39
Fat(%)	21.5 ± 1.08	20.0 ± 1.02***	22.9 ± 1.18	21.8 ± 1.16
Mid arm circumference(cm)	28.9 ± 0.32	28.9 ± 0.33	29.7 ± 0.65	29.9 ± 0.65
Tricep(mm)	10.7 ± 0.75	10.4 ± 0.68	15.4 ± 1.45	15.6 ± 1.74
Systolic BP(mmHg)	121.9 ± 3.39	119.4 ± 3.48	115.4 ± 2.59	109.8 ± 2.91
Diastolic BP(mmHg)	78.8 ± 2.34	79.1 ± 2.54	77.2 ± 1.68	73.7 ± 2.55

Mean±S.E., *p<0.05, **p<0.01, ***<0.001 compared with initial value in each group

나. 혈색소 및 헤마토크릿, 혈소판

실험 기간 동안 생식섭취군에서 적혈구 수는 유의적인 증가가 있었으나 헤모글로빈 및 혈색소(hematocrit), 혈소판(platelet) 수는 유의적인 차이가 없었다. 대조군에서는 헤모글로빈 농도와 혈색소 비율이 유의적으로 감소하였다(Table 4).

Table 4. Hemoglobin, hematocrit and blood cell counts in whole grain consumption and control group with hyperlipidemia before and after 12 weeks

	Whole grain (n=18)		Control (n=18)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
WBC(×10³/μL)	5.61 ± 0.47	5.52 ± 0.52	4.92 ± 0.35	4.50 ± 0.31
RBC(×10⁶/μL)	4.29 ± 0.14	4.73 ± 0.11*	3.98 ± 0.16	3.92 ± 0.20
Hemoglobin(g/dl)	15.0 ± 0.20	15.6 ± 0.36	14.3 ± 0.53	12.8 ± 0.60*
Hematocrit(%)	41.0 ± 1.32	41.1 ± 1.06	39.3 ± 1.57	35.8 ± 0.60**
Platelet count(×10³/μL)	208.2 ± 10.9	193.5 ± 10.9	215.8 ± 15.8	200.7 ± 10.6

Mean±S.E., *$p<0.05$ **$p<0.01$ compared with initial value in each group

다. 혈청 지질 및 지단백 농도

생식섭취군에서 중성지방 농도는 변화가 없었으나, 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도는 각각 2%, 5%씩 낮아졌고, HDL-콜레스테롤 농도도 유의적인 수준은 아니었으나 8% 증가한 것으로 나타났다(Table 5). 이에 따라 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 농도의 비는 시작시 4.36±0.21에서 연구 종료시 3.98±0.22로 낮아져 유의적으로 개선되는 효과를 보였으며, LDL과 HDL-콜레스테

롤 농도의 비율도 시작시 2.89±0.18에서 종료시 2.56±0.20으로 낮아져 유의적인 개선 효과를 보였다(Figure 5). 대조군에서는 12주 후 중성지방 농도가 높아졌으나 유의적이지 않았고, 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도는 차이가 없었으며, HDL-콜레스테롤 농도는 낮아졌다. 이에 따라 Atherogenic index와 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 농도의 비도 높아졌으나 유의적인 차이는 아니었다(Table 5).

Table 5. Serum levels of lipids in whole grain consumption and control group with hyperlipidemia before and after 12 weeks

	Whole grain (n=18)		Control (n=18)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
Triglyceride(mg/dl)	113.2 ± 13.1	113.5 ± 12.5	183.9 ± 22.7	203.6 ± 36.1
Total cholesterol(mg/dl)	218.9 ± 9.05	215.0 ± 7.68	224.7 ± 12.5	224.3 ± 11.7
LDL cholesterol(mg/dl)	145.1 ± 8.07	137.2 ± 7.99	138.8 ± 12.4	138.1 ± 12.2
HDL cholesterol(mg/dl)	51.2 ± 2.61	55.1 ± 2.23	49.1 ± 1.79	45.5 ± 2.18
Atherogenic index	3.36 ± 0.21	2.98 ± 0.22*	3.62 ± 0.24	4.02 ± 0.26
Total/HDL cholesterol	4.36 ± 0.21	3.98 ± 0.22*	4.62 ± 0.24	5.02 ± 0.26
LDL/HDL cholesterol	2.89 ± 0.18	2.56 ± 0.20*	1.72 ± 0.10	1.73 ± 0.11
Non-HDL cholesterol	167.8 ± 8.38	159.9 ± 8.49	175.6 ± 11.9	178.7 ± 10.9

Mean±S.E., *p<0.05 compared with initial value in each group

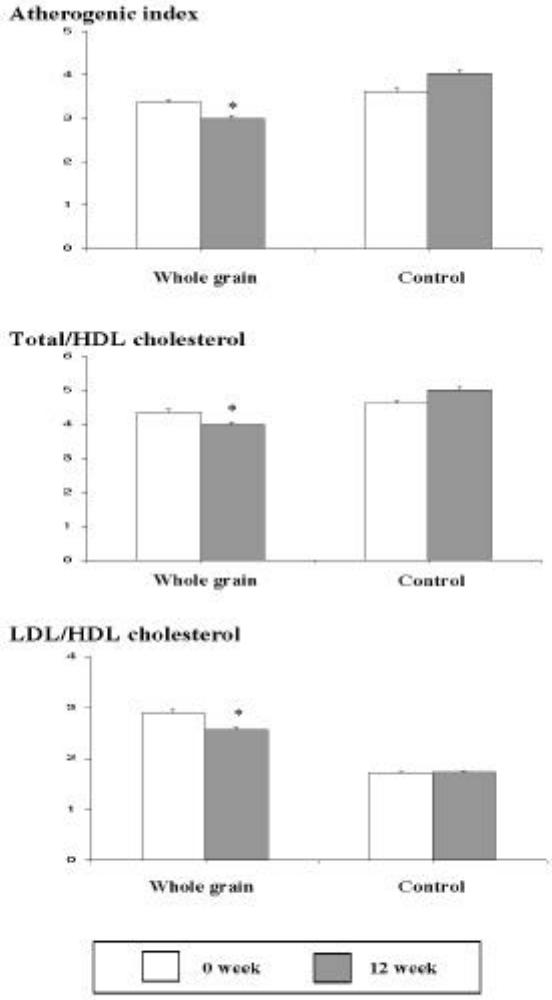


Figure 5. Atherogenic index, Total/HDL cholesterol and LDL/HDL cholesterol ratioin whole grain consumption and control group withhyperlipidemia before and after 12 weeks
* $p<0.05$ compared with initial value in each group

라. 공복 혈당 및 항산화효소, 호모시스테인, 소변 8-epi-PGF2α 농도

생식섭취군과 대조군 모두에서 공복 혈당은 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 생식섭취군에서 유리지방산(Free fatty acid)이 유의적으로 증가하였다(Table 6). 지질 과산화물인 MDA (Malondialdehyde)도 생식 섭취 전 2.73±0.29nmol/ml에서 섭취 후 2.69±0.25nmol/ml로 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 수준은 아니었다. 생식섭취군에서 GSH-Px농도는 생식 섭취 전과 12주 후를 비교하였을 때 감소 경향을 보였으며, 총 적혈구 SOD와 Mn SOD, Cu SOD 농도도 감소하였다. Homocysteine 농도는 생식섭취군에서 생식 섭취 전 16.2±1.42μmol/L에서 섭취 12주 후 11.7±0.72μmol/L로 28% 감소하여 유의적인 차이를 보였고(Figure 6), 소변 8-epi-PGF2α는 유의적인 차이는 아니었다.

마. 혈청 비타민과 혈장 ascorbic acid 농도

혈청 retinol, carotenoids, tocopherol 농도와 이를 중성지방과 총 콜레스테롤 농도로 보정한 후의 결과는 다음과 같다(Table 7). 생식섭취군에서 α-carotene과 lycopene 농도는 보정 전과 후의 결과에서 모두 유의적으로 증가하였고(Figure 7), cryptoxanthin 농도는 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. α-tocopherol 농도는 lipid-corrected level에서 유의적인 수준은 아니었으나 0.57±0.07mg/mmol에서 생식 섭취 후 0.65±0.15mg/mmol으로 증가하였고, β-carotene과 γ-tocopherol은 거의 변화하지 않았다. 혈장 내의 ascorbic acid 농도는 생식 섭취 후 증가하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

Table 6. Glucose, insulin, free fatty acid, antioxidant enzyme activities, folate, vitamin B_{12}, homocysteine and urinary 8-epi-$PGF_{2}\alpha$ levels in whole grain consumption and control group with hyperlipidemia before and after 12 weeks

	Whole grain (n=18)	
	0 week	12 week
Glucose(mg/dl)	81.0 ± 2.29	82.3 ± 1.89
Free fatty acid(μEq/l)	316.9 ± 46.2	429.2 ± 25.4*
Insulin(μU/ml)	9.46 ± 1.75	8.19 ± 1.01
Glutathione peroxidase (nmol of NADPH/min/mg albumin)	34.1 ± 1.76	30.6 ± 1.60
Total RBC SOD(U/mg RBC)	8.45 ± 1.42	6.07 ± 0.54
RBC Mn SOD(U/mg RBC)	3.85 ± 0.53	2.96 ± 0.52
RBC Cu SOD(U/mg RBC)	4.61 ± 1.15	3.12 ± 0.33
Malondialdehyde(nmol/ml)	2.73 ± 0.29	2.69 ± 0.25
Homocysteine(μmol/L)	16.2 ± 1.42	11.7 ± 0.72***
8-epi-$PGF_{2}\alpha$(pmol/mmol creatinine)	510.5 ± 42.8	544.9 ± 51.0

Mean±S.E., *$p<0.05$, ***<0.001 compared with initial value

Table 7. Concentrations of serum vitamins and plasma ascorbic acid in whole grain consumption and control group with hyperlipidemia before and after 12 weeks

	Whole grain (n=18)	
	0 week	12 week
Uncorrected levels		
α-carotene(μg/dl)	4.99 ± 0.69	8.39 ± 1.16*
β-carotene(μg/dl)	27.1 ± 2.98	26.7 ± 3.56
Retinol(μg/dl)	140.1 ± 12.8	146.2 ± 13.7
α-tocopherol(mg/ml)	3.98 ± 0.44	4.49 ± 1.22
γ-tocopherol(mg/ml)	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.01
Cryptoxanthin(μg/dl)	41.6 ± 5.11	26.1 ± 2.05**
Lycopene(μg/dl)	48.4 ± 7.36	85.9 ± 14.7**
Lipid-corrected levels1		
α-carotene(μg/mmol)	7.07 ± 0.78	12.6 ± 1.83*
β-carotene(μg/mmol)	39.2 ± 4.18	39.4 ± 5.11
Retinol(μg/mmol)	209.4 ± 22.3	220.5 ± 22.6
α-tocopherol(mg/mmol)	0.57 ± 0.07	0.65 ± 0.15
γ-tocopherol(mg/mmol)	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
Cryptoxanthin(μg/mmoll)	61.5 ± 8.30	39.5 ± 3.97**
Lycopene(μg/mmol)	69.3 ± 8.60	126.1 ± 21.1**
Ascorbic acid(μg/ml)	5.46 ± 0.32	5.54 ± 0.26

Mean±S.E., *p<0.05, **p<0.01 compared with initial value

1 each level of vitamins and carotenoids is divided by sum of cholesterol and triacylglycerol(mmol/L)

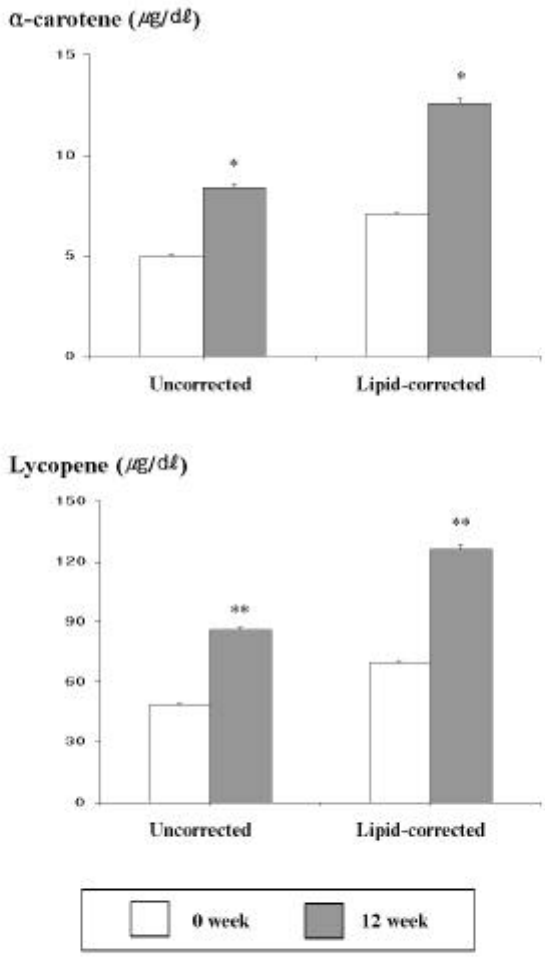


Figure 7. Serum concentrations of α-carotene and lycopene in whole grain consumption and control group with hyperlipidemia before and after 12 weeks

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ compared with initial value

바. 혈청 무기질 농도

생식섭취군에서 12주간의 생식 섭취 후 혈청 내 selenium 농도가 8.57±0.38μg/L에서 9.07±0.31μg/L로 증가하였으나 유의적인 수준은 아니었고, Manganese와 copper 농도는 큰 차이를 보이지 않았다(Table 8). 그러나 혈액 내 zinc 농도가 유의적인 수준은 아니지만 79.9±5.58μg/dl에서 78.1±3.14μg/dl로 감소하여 copper와 zinc의 농도 비율이 1.61에서 1.58로 감소하였다. Chromium 농도도 감소하였지만 유의적인 수준은 아니었다.

Table 8. Serum concentration of selenium, manganese, copper, zinc, copper zinc ratio and chromium in whole grain consumption and control group with hyperlipidemia before and after 12 weeks

	Whole grain (n=18)	
	0 week	12 week
Selenium(μg/L)	8.57 ± 0.38	9.07 ± 0.31
Manganese(μg/L)	0.30 ± 0.01	0.30 ± 0.01
Copper(μg/dl)	122.0 ± 4.30	121.8 ± 4.70
Zinc(μg/dl)	79.9 ± 5.58	78.1 ± 3.14
Copper/zinc ratio	1.61 ± 0.12	1.58 ± 0.08
Chromium(ng/dl)	45.7 ± 0.38	44.9 ± 0.58

Mean±S.E.

4. 결 론

본 연구는 혈중 중성지방 160mg/dl, 혹은 총콜레스테롤 220mg/dl, 혹은 LDL-콜레스테롤 130mg/dl 이상인 고지혈증 환자를 대상으로 아침식사 대용으로 전곡 분말인 생식을 12주간 섭취시켰을 때 일상식를 섭취한 대조군과 비교하여 혈청 지질 및 지단백 농도의 개선과 지질 과산화 및 혈장 호모씨스테인 농도가 감소되는 것을 보여주었다. 연구 시작시와 비교하여 생식 섭취 12주 후 생식섭취군에서 HDL-콜레스테롤 농도의 증가와 α-tocopherol, α-carotene 농도의 증가를 보여 주어, 하루 한끼 정백미 섭취를 전곡인 생식으로 대체할 경우 혈청 지단백질 및 항산화 영양소 농도가 개선되는 것으로 나타났다.

전곡은 섬유소의 좋은 급원일 뿐 아니라 많은 미량 무기질 및 항산화제, phytochemicals 등을 함유하고 있으며(1,2), 특히 항산화 비타민과 불포화 지방산의 주요 급원 식품이다(3). 전곡에 함유된 항산화제로는 비타민과 미량 무기질뿐 아니라 tocotrienols, phenol compounds, lignans, phytoestrogens, phytic acid 등이 있으며(4), 또한 비타민 E tocotrienols의 농축된 급원 식품이다(5,6). 또한 구리, 아연, 망간과 같은 미량 무기질은 곡류의 바깥 부분에 포함되어 있어서 도정된 곡류 섭취시 부족되기 쉽다. 전곡류에 많은 phytic acids는 항영양소로 생각되나 항산화 물질로서 장에서 산화적 손상을 막는 작용을 하는 것으로 보고된 바 있다(7). 이러한 항산화제의 섭취는 체내에서 지질 산화를 억제시키게 된다(8,9,10). 지질 과산화물인 혈장 MDA와(11), 소변 8-epi-PGF2α 농도는(11,12) 산화 스트레스의 간접적인 측정 방법이고, 항산화제 투여시 이러한 지질과산화물의 농도는 예민하게 감소하는 것으로 나타났다(12).

Homocysteine은 혈관 내피세포에 직접적인 독성 효과를 통해서, 혹은 유리기 생성을 통해 항산화 체계를 손상시키고 항산화 영양소 및 항산화 효소를 고갈시켜 LDL 산화를 촉진함으로써 고지혈증과 동맥경화증의 발병과 진행에

관여하는 것으로 알려졌다(13). 본 연구에서 생식 섭취 후 혈장 호모씨스테인 농도의 감소로 산화 스트레스가 감소되었던 것도 지질과산화물의 형성을 억제시켰을 것으로 예상된다. 혈장 총 homocysteine의 낮은 농도는 심혈관 질환의 사망률을 감소시키는 반면에 총 homocysteine의 농도가 5μmol/L 증가할 때마다 관상동맥경화증의 위험도 50% 이상 증가된다고 한다(14). 실제로 최근에 Voutilainen 등은 인체에서 공복 혈장 총 호모씨스테인 농도가 증가할수록 지질과산화가 증가되는 것을 보고하였다(15).

연구 결과에서 나타난 바와 같이 고지혈증 환자에서 하루 한끼의 전곡 섭취는 일상식을 섭취한 대조군과 비교할 때 혈청 지질 농도의 개선 및 혈장 호모씨스테인 농도를 감소시키고 지질 과산화물 생성을 억제시킴으로서 고지혈증의 발병과 진전의 실질적인 위험 요소를 감소시키는 것을 알 수 있었다. 고지혈증 환자의 하루 한끼 식사 중 일상식에 해당하는 정백미를 전곡으로 대체시킬 경우 유의적인 개선 효과가 있으므로, 전곡이 고지혈증 환자의 치료 보조 식품으로의 이용이 가능할 것으로 여겨진다. 그러나 장기간 섭취시 단백질 영양 상태에 marginal deficiency를 초래할 수 있으므로 이를 위해 생식의 성분 배합시 이를 감안해야 할 것이고, 과학적인 영양소 분석을 병행하여야 할 것으로 사료된다. 또한 식사요법시 혈청 지단백질, 호모씨스테인 농도 및 지질 과산화물 농도의 변화는 apoprotein, apoE gene 혹은 MTHFR(5,10-methylene-tetrahydrofolated reductase) 및 MS(methionine synthase) 유전자 다형성에 따라 다를 것이므로 기전 및 효과를 밝히기 위해서는 이에 대한 연구도 필요할 것이다.

참 고 문 헌

1. Simin Liu, Meir J Stampfer, Frank B Hu, Edward Giovannucci, Eric Rimm, JoAnn E Manson, Charles H Hennekens, Walter C Willett. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease : result from the nurses' health study. Am J Clin Nutr 70:412- 419, 1999
2. Slavin J, Jacobs D, Marquart L. Whole-grain consumption and chronic disease : protective mechanisms. Nutrition and Cancer 27:4-21, 1997
3. Anderson JW, Hanna TJ. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. J Nutr 129:1457s-1466s, 1999
4. Thompson LU. Potential health benefits of whole grains and their components. Contemp Nutr 17:1-21, 1992
5. Esterbauer H, Deiber-Rotheneder M, Strigl G, Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. Am J Clin Nutr 53(supple 1):314-321, 1991
6. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense : vitamin E, C and carotenoids. Diabetes 46:14s- 18s, 1997
7. Graf E, Empson KL, Eaton JW. Phytic acid : a natural antioxidant. J Biol Chem 262: 11647-11650, 1987
8. Meraji S, Ziouzenkova C, Resch U, Khoschsorur A, Tatzber F, Esterbauer H. Enhnaced plasma level of lipid peroxidation in Iranians could be improved by antioxidants supple- mentation. Eur J Clin Nutr 51:318-325, 1997
9. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. J Biol Chem 272:20963-20969, 1977
10. Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention : an

overview. Am J Clin Nutr 53(supple 1):189s-193s, 1991

11. Reilly MP, Delanty N, Roy L, Rokach J, Callaghan PC, Crean P, Lawson JA, et al. Increased formation of the isoprostanes IPF2-I and 8-epi-prostaglandin F2α, in acute coronary angioplasty : evidence for oxidant stress during coronary reperfusion in human. Circulation 96:3314-20, 1997

12. Delanty N, Reily M, Pratico D, Fitzgerald DJ, Lawson JA, Fitzgerald GA. 8-Epi- prostaglandin F2α : in specific analysis of an isoeicosanoid as an index of oxidant stress in vivo. Br J Clin Pharmacol 42:15-19, 1996

13. Currie IC, Wilson YG, Scott J, Day A, Stansbie D, Baird RU, Lamint PM, Tennant WG. Homocysteine : an independent risk factor for the failure of vascular intervention. Br J Surgery 83:1238-1241, 1996

14. Nygard C, Refsum H, Ueland PM, Vollet SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution : the Hordaland homocysteine study. Am J Clin Nutr 67:263-270, 1998

15. Voutilainen S, Morrow JD, Roberts LJ, Alfthan G, Alho H, Nyyssönen K, et al. Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19:1263-66, 1999

제3절 생식이 난소 절제 쥐의 골대사에 미치는 영향

1. 서 설

최근에는 경제 발전과 의학의 발달로 우리나라의 노인 인구 비율이 증가하며1), 이러한 노령층에서 문제가 되는 것 중 하나로 폐경기 이후의 여성의 골다공증으로 인하여 많이 발생하는 골절사고를 들 수 있다.

골다공증이란 칼슘 대사의 불균형으로 인해 골격의 화학적 조성에는 변화가 없고 단위 용적당 뼈의 양이 감소하여 척추, 요골 및 대퇴골의 골절을 쉽게 일으키는 질병이다. 이 원인으로는 칼슘2), 에스트로겐(estrogen)3), 부갑상선 호르몬(parathyroid hormone; PTH)4), 비타민 D5), calcitonin6)에 기인한다고 한다. 특히 골다공증의 발생율이 폐경 후 여성에서 높은 것은 폐경 이후 여성의 혈청내 에스트로겐 농도의 급격한 감소에 기인하며, Albright 등7)에 의해 여성에서 골다공증과 폐경 사이에 밀접한 관련이 있음이 밝혀진 후 폐경기 여성에서 칼슘 대사 변화에 대한 많은 보고가 있어 왔다.

대체 요법으로 가장 활발히 연구되어 온 분야는 콩과류 섭취와 골다공증에 관한 연구이다. 미국 보건성(National Institute of Health; NIH)과 암 협회(National Institute of Cancer; NIC) 또한 콩 섭취와 질병 예방에 관한 연구를 진행한 결과 콩 섭취는 골다공증에 탁월한 개선 효과가 있음을 알게 되었다. 따라서 콩 중의 유효 성분을 검색한 결과 isoflavone이라는 물질이 여러 동물, 임상 실험을 통해 골다공증 개선에 유효한 것으로 밝혀졌다8). 그리고 isoflavone의 경우 골다공증 이외의 갱년기 질환 개선 효과, 암 치유 효과, 혈중 콜레스테롤 저하 등의 효과를 나타낸다는 보고가 되고 있다9).

본 연구에서는 isoflavone을 내포하는 콩과류를 포함한 전곡 생식의 섭취가 골대사와 관련한 여러 가지 인자에 미치는 영향을 인위적으로 난소 절제를 실시한 쥐를 대상으로 연구하였다.

2. 실험대상 및 방법

가. 실험 동물

체중 약 230g 이상의 Sprague-Dawley종 암컷 흰쥐로서 난괴법(Randomized Complete Block Design)에 의해 군을 나누어 sham-operation과 난소 절제(ovariectomy) 수술을 실시하였다. 수술은 마취제인 Zoletil 50(Virboc, France)을 체중 1kg당 50mg을 복부 주사한 후 심마취기에 이르면 등을 절개하고 난소를 제거하였으며, 절개부를 봉합하고, 감염을 방지하기 위해 항생제(염산린코마이신, 동화약품)를 체중 1kg당 100mg주사하였다. Sham-operation은 난소를 절제하지 않고 개복수술만 하였다.

수술후 상처 회복을 위하여 1주일간 고형 사료로 적응을 시킨 다음, 난소 절제한 쥐들을 실험 목적에 따라 4군으로 나누었다. Sham-operation을 실시하고 정상 식이로 사육한 군을 정상 대조군(Sham)으로 하고, 난소 절제한 군들은 난소 절제 후 정상 식이를 공급한 군(Treat A), 생식을 공급한 군(Treat B)으로 나누었으며, 각 군당 8마리씩 6주간 사육하였다.

사육실의 온도는 22℃, 습도는 50%로 유지하였으며, 명암은 12시간 주기로 조절하였다.

나. 실험 식이

실험 식이의 구성은 기본적으로 AIN-93M 정제 식이 조성10)을 따라 Table 1에 나타낸 바와 같이 조절하였다.

실험 식이 원료로 정제된 카제인, 옥수수 전분, 옥수수 기름과 비타민 혼합물을 사용하였으며, 칼슘은 총 식이의 0.51%를 유지하게 하였으며, 단백질 14%, 인 0.5%씩을 함유하게 하였다. 단, 칼슘 결핍 식이는 Ca 0.1% 이하를 함

유토록 조절하였다.

생식 식이 조성은 생식 100g중의 열량 165kcal, 당질 28g, 단백질 6g, 지방 3g으로 구성하였다.

실험 식이는 탈이온수와 함께 자유 섭취 방법으로 각 군의 쥐에게 공급하였다.

Table 1. Composition of experimental diets(%)

Ingredients	%
Casein	14
Corn starch	46.57
Dextrinized cornstarch	15.5
Sucrose	10
Soybean oil	4
Cellulose	5
Choline	0.25
L-cystine	0.18
Mineral mix1	3.5
Vitamin mix2	1

1. Mineral mix.(g/kg): calcium carbonate 357, potassium phosphate(monobasic) 250, sodium chloride 74, potassium citrate monohydrate 28, potassium sulfate 46.6, magnesium oxide 24, manganous carbonate 0.63, ferric citrate 6.06, zinc carbonate 1.65, cupric carbonate 0.3, potassium iodate, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 12H2O 0.275, sucrose 568.465
2. Vitamin mixture(g/kg): Vitamin A Acetate(500,000I.U./gm) 1.8, Vitamin D2(850,000I.U./gm) 0.125, DL-alpha tocopherol acetate 22, Ascorbic acid 45, Inositol 5, Choline chloride 75, Menadione 2.25, p-Aminobenzoic acid 5, Niacin 4.25, Riboflavin 1, Pyridoxin-HCl 1, Thiamine-HCl 1, Calcium pantothenate 3, Biotin 0.02, Folic acid 0.09, Vitamin B12 0.00135

다. 시료의 채취

소변은 실험 종료 2-3일 전에 24시간 소변을 채취한 후 원심 분리를 하고 상등액만을 모아 냉동 보관하였다가 분석에 사용하였다.

식이 섭취 조건을 일정하게 하기 위하여 희생시키기 전 하룻밤 절식시키고, ethyl ether로 마취시킨 상태에서 심장 천자법으로 채혈하여 항응고제(EDTA)가 처리된 시험관에 모아서 즉시 3000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 혈장(plasma)을 분석 전까지 냉동 보관하였다.

혈액 채취후 즉시 대퇴골과 경골을 적출하여 뼈조직에 부착되어 있던 근육, 지방, 인대 등을 전부 제거한 후 열풍 건조 후 냉동 보관하였다

라. 시료의 분석

골격 형성(bone formation)과 관련이 깊은 것으로 알려져 있는 혈중 alkaline phosphatase(ALP)의 활성은 Kind-King의 비색법을 이용한 kit(아산제약(주))를 사용하여 분석하였다.

뇨중 creatinine 함량은 Jaffe reaction을 이용한 kit(아산제약(주))를 사용하여 측정하였으며, hydroxyproline함량은 HPLC를 이용하여 측정하였다.

뼈의 칼슘 및 인의 함량은 대퇴골과 경골을 합한 후 550-600℃의 회화로에서 회화하여 얻은 회분을 HCl용액에 용해한 후 희석하여 Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy(JU 38S, France)를 이용하여 측정하였다.

골밀도의 측정은 Archimedes의 원리를 응용하여 측정하였으며, 골강도의 측정은 대퇴골의 중앙 위치에서 Instron(Instron, model 1011: Crosshead speed 50mm/min, Loadcell 50kg)을 이용하여 뼈의 파단력(breaking force)을 측정하였다.

마. 통계 처리

실험 결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며, 각 실험군간의 유의성 검증은 P<0.05 수준에서 Turkeys multiple range test로 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율

각 실험군의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은 Table 2와 같다. 6주 동안 식이 섭취량은 Treat A군이 753.75±9.24g으로 다른 실험군에 유의하게 많은 양을 섭취하였으며(P<0.05), 난소 절제군에서는 칼슘 결핍군이 가장 많은 양의 식이를 섭취하였다.

Table 2. Body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio

Groups	Initial body weight(g)	Final body weight(g)	Body weight gain(g/6weeks)	Food intake(g/6weeks)	Food efficiency ratio
Sham	232.25±8.44a	274.25±17.68a	42.00±9.87a	707.50±24.25a	0.059±0.014a
Treat A	239.25±13.07a	299.00±19.76a	59.75±7.01a	753.75±9.24b	0.079±0.009a
Treat B	246.25±11.82a	304.25±19.65a	58.00±14.58a	686.25±20.27a	0.085±0.021a

a, b Means with the same superscript letter are not significant(P<0.05) using Turkeys multiple range test

체중의 경우 난소 절제후 정상 식이를 섭취한 군이 가장 많은 증가량을 나타내었으며, sham군의 경우가 가장 적은 증가량을 나타내었으나, 유의차는 없었다.

식이 효율의 경우도 난소 절제군이 sham군보다 높은 값을 나타내었으며,

이는 Morris 등11)의 연구에서 난소를 절제한 군이 난소를 절제하지 않은 군에 비해 체중 증가가 유의하게 높게 나타났다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다. 이는 난소를 절제한 군에서의 이러한 체중증가는 난소 호르몬의 분비 감소로 인해 식이 섭취량이 증가되고 체지방이 축적되어 비만이 초래되는 난소 절제 동물의 특성을 나타낸 것으로 해석할 수 있다12).

나. 혈중 alkaline phosphatase 활성

골형성 지표인 ALP의 활성은 Table 3에 나타내었다. Sham군과 Treat A군이 각각 2.67±1.70, 3.67±0.94unit로 Treat B군보다 낮은 값을 나타내었으나, 각 군들간의 유의한 차는 없었다(P<0.05).

Table 3. Alkaline phosphatase activity in serum

Groups	Alkaline phosphatase (K-A unit)
Sham	2.67±1.70a
Treat A	4.67±2.49a
Treat B	3.67±0.94a

a, b Means with the same superscript letter are not significant(P<0.05) using Turkeys multiple range test

일반적으로 ALP는 골격 형성(bone formation)과 관련이 깊은 것으로 알려져 있으며, 이의 활성은 대사성 골질환 등 골대사 회전이 활발할 때, 즉 골격 형성시 조골 세포의 활동이 증가되어 골교체율이 빠를 때 혈장 내에서의 농도가 증가된다고 한다13). 본 연구에서는 비록 유의차는 발생하지 않았으나, 전반적인 경향이 난소 절제한 Treat군이 정상군에 비해 높은 값을 나타내어 골교체율이 높았던 것을 의미하며, 생식이 정상식이에 비해 낮은 수치를 나타내어 골교체에 있어서는 유효하다는 경향을 보여주었다.

다. 뇨중 hydroxyproline(OHPr) 및 creatinine(Cre) 함량

골흡수 지표인 소변 중의 hydroxyproline과 creatinine의 비는 Table 4에 나타내었다.

Table 4. Hydroxyproline and creatinine contents in urine

Groups	Hydroxyproline(ug/d)	Creatinine(mg/d)	OHPr/Cre(ug/mg)
Sham	2.560±0.075a	0.433±0.047a	5.96±0.50a
Treat A	3.143±1.230a	0.375±0.043a	8.30±2.79a
Treat B	2.525±0.092a	0.425±0.043a	5.98±0.42a

a, b Means with the same superscript letter are not significant($P<0.05$) using Turkeys multiple range test

Hydroxyproline의 경우 난소 절제 후 정상 식이군이 3.143±1.230μg/d로 가장 높게 나타났으나, 각 군들간의 유의한 차가 없었다. Creatinine의 경우도 sham군과 난소 절제군 간의 유의한 차가 없었다. OHPr/Cre의 경우 난소 절제후 정상 식이군이 8.30±2.79μg/mg 으로 가장 높게 나타났다.

골격 분해 지표인 OHPr은 콜라겐에 주로 존재하는 amino acid로 콜라겐 대사 특히 뼈의 breakdown metabolism activity를 판정하는데 사용하는 인자로 14), 일반적으로 뼈의 장애가 있을때 OHPr의 배설량이 증가하게 된다. 본 실험에서의 OHPr의 함량은 난소 절제후 칼슘 결핍 식이를 제공한 군이 가장 높은 값을 나타내어 골 대사에 장애가 있음을 간접적으로 시사하고 있으며, 골격 분해 지표인 OHPr/Cre값의 경우에서도 칼슘 결핍 식이를 섭취한 군이 가장 높은 값을 나타내어 골격 분해가 많이 이루어지고 있음을 알 수 있다. 이 등 15)은 난소 절제후 에스트로겐 투여시 OHPr/Cre값이 감소하였다고 보고하였으며, 본 연구에서는 난소 절제군이 정상군에 비해 높은 값을 나타내어 골대사

에 장애가 발생한 것을 간접적으로 시사하고 있으나, 각군간의 유의차가 없어 좀더 연구가 진행되어야 한다고 판단된다.

라. 뼈 조직의 칼슘 농도

대퇴골과 경골을 합한 뼈의 칼슘의 함량은 Table 5 에 나타내었다. 난소절제군의 경우 정상식이와 생식을 공급한 군의 칼슘 함량이 각각 18.82±030, 18.98±0.45%로 정상군에 비해 낮은 값을 나타내었다.

Table 5. Ca content of bone tissue

Groups	Ca(%)
Sham	20.57±0.82a
Treat A	18.82±0.30a
Treat B	18.98±0.45a

a, b Means with the same superscript letter are not significant($P<0.05$) using Turkeys multiple range test

마. 골밀도와 골강도

대퇴골의 골밀도와 대퇴골의 골강도는 Table 6 에 나타내었다.
골밀도의 경우 sham군이 1.419±0.064g/㎖로 가장 높게 나타났으며, 난소절제 후 정상식이를 공급한 군이 1.277±0.069g/㎖로 가장 낮은 값을 나타내었다.
골강도의 경우 sham군이 5.665±0.425kgf로 가장 높게 나타났으며, 난소절제 후 생식을 공급한 군이 4.240±0.133kgf로 가장 낮은 값을 나타내었다.

Table 6. Bone mineral density of bone and breaking force of femur in rats

Groups	Bone mineral density(g/ml)	Breaking force(kgf)
Sham	1.419±0.064a	5.665±0.425a
Treat A	1.277±0.069a	4.653±0.993a
Treat B	1.377±0.104a	4.240±0.133a

a, b Means with the same superscript letter are not significant($P<0.05$) using Turkeys multiple range test

4. 결 론

최근 골대사에 효과가 있는 소재로 각광받고 있는 isoflavone을 함유한 생식(생식 100중 약 10mg의 isoflavone)에 대한 골다공증 유발쥐에 있어서의 효능을 검증하기 위해 정상 대조군(sham), 난소 절제 후 정상식이군(Treat A), 난소 절제 후 생식 공급군(Treat B)으로 나누어 6주간 실험한 결과,

가. 각각 AIN-93M에 의한 식이를 공급한 결과 난소 절제 수술을 실시한 쥐에 있어서 체중 증가가 나타냈다.

나. 골형성 지표인 혈중 ALP를 측정한 결과 정상군이 난소절제한 군에 비해 낮은 값을 나타냈다.

다. 뇨중 OHPr/CRE의 값 또한 정상군이 난소절제군에 비해 낮은 값을 나타내어 골흡수가 칼슘 결핍군에 비해 늦게 일어남을 알 수 있었다.

라. 골격 중의 칼슘 함량은 정상군, Treat B군, Treat A군의 순으로 낮게 나타났다.

마. 골밀도와 골강도의 경우에서도 정상군이 나머지군에 비해 높은 값을 나타내었으나, 각군간의 유의차는 없었다.

결과적으로 각 실험 항목에서의 각군간의 통계적 유의차를 이끌어 내지는 못하였으나, 생식이 일반 식이에 비해 골다공증 유발 쥐에 있어서의 골대사에 유효하다는 경향을 도출할 수 있었으며, 좀더 명확한 효과 검증을 위해서는 차후 많은 실험 개체와 충분한 식이 공급 기간에 대한 연구결과를 필요로 한다.

참 고 문 헌

1. 임종권, 공세권, 김진숙. 한국 노인의 생활 실태. 한국인구보건연구원. p61-63, 1985
2. Reid IR, Ibbertson HK. Calcium supplements in the prevention of steroid-induced osteoporosis. Am. J. Clin. Nutr., 44:287-290, 1986
3. Horsman A, Jones M, Francis R, Nordin C. The effect of estrogen dose on postmenopausal bone loss. N. Engl. J. Med., 309:1405-1407, 1983
4. Jowsey J, Raisz LG. Experimental osteoporosis and parathyroid activity. Endocrinology, 82:384-396, 1968
5. Ash SL, Golden BR. Effect of age and estrogen on renal vitamin D metabolism in female rats. Am. J. Clin. Nutr., 47:694-699, 1988
6. Austin LA, Health H. Calcitonin: Physiology and pathophysiology. N. Engl. J. Med., 304:269-278, 1981
7. Albright F, Smith PH, Richardson AM. Postmenopausal osteoporosis: its clinical features. J. Am. Med. Ass., 116:2465-2469, 1941
8. 戸田 登志也, 奥平 武則, 家森 幸男. 大豆イソフラボンの機能とその應用. 食品と開發, 31(6):44-47, 1998
9. Holt S. Soya: The health food of the next millennium. K. Soybean Digest, 14(1): 91-97, 1997
10. Philip Gr, Forrest HN, George CF. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing connittee on the reformation of the AIN-76A rodent diet. J. Nutr., 123:1939-1951, 1993
11. Morris Ha, Porter SJ, Durbridge TC, Moore RJ, Need AG, Nordin BEC. Effects of oophorectomy on biochemical and variables in the rat. Bone and Mineral, 18:133-136, 1992

12. 윤정한, 이상선. 난소절제에 의해 유발된 과식현상이 소장 적응 변화에 미치는 영향. 한국영양학회지, 21:182-187, 1988
13. 한인권, 박원근, 최웅환, 신현호, 김선우. 한국인 갱년기 여성의 골밀도 및 호르몬 변화에 관한 연구. 대한내분비학회지, 4:21-26, 1989
14. Cull TA, Henneman PH. Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bone. N. Engl. J. Med., 268:132-134, 1963
15. 이경화, 오승호. 에스트로겐/칼슘 혼합요법이 난소절제 쥐의 골대사에 미치는 영향: I 생화학적 변화에 관한 연구. 한국식품영양학회지, 25(6):993-1005, 1996