GOVP1200210035

664 -19
L2936

최 종
연구보고서

임지폐자원으로부터 식이섬유소재 생산에 관한 연구

The Development of Production Technology of Dietary Fiber from Forest Wastes

연 구 기 관
경 북 대 학 교

농 림 부

대한민국
기증등록
2002. 6. 11
916918
국회도서관

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "임지폐자원으로부터 식이섬유소재 생산에 관한 연구" 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001년 12 월 일

주관연구기관명 : 경북대학교
총괄연구책임자 : 이 종 윤
세부연구책임자 : 이 종 윤
연 구 원 : 임 부 국
연 구 원 : 이 기 영
연 구 원 : 김 준 석
협동연구기관명 : 대구가톨릭대학교
협동연구책임자 : 이 순 재
연 구 원 : 채 영 미
연 구 원 : 채 주 영

요 약 문

Ⅰ. 제 목

임지폐자원으로부터 식이섬유소재 생산에 관한 연구

(The Development of Production Technology of Dietary Fiber frㅐm Forest Wastes)

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

식이섬유의 정의에 대해서는 현재 다양한 의론이 있지만, 통상적으로 사람의 소화효소에 의해 소화되지 않는 고분자 화합물의 총체라 정의되고 있다. 최근들어 식생활이 서구화됨에 따라 지방질 섭취량은 증가하는 반면에 식물성 식품 섭취량은 감소하는 추세에 있다.

따라서 오늘날에는 과거와는 반대로 영양과잉에 따른 성인병이 큰 사회적 문제를 야기시키고 있다. 식이섬유는 사람에게 있어 필수적인 영양원이 될 수는 없지만 최근 발표되고 있는 문헌 등에 따르면 성인병의 예방과 대장암 등의 예방차원에서 중요한 급원체라는 보고가 있다.

현재 우리나라의 1인 1일 식이섬유 평균 섭취량이 17.5g이며, 한국인의 영양권장량 20~25g에 매우 미치지 못하는 상태이다. 식이섬유의 종류는 크게 불용해성 식이섬유와 용해성 식이섬유로 구분할 수 있으며, 불용해성 식이섬유로는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 등이 있고, 용해성 식이섬유로는 저분자 탄수화물, 펙틴, 검, 해조다당류 등이 있다. 현재 이러한 식이섬유소의 경우 전량 수입에 의존하고 있는 실정에 있으며, 식이섬유가 성인병 예방 및 비만방지에 탁월한 효과가 있음이 입증된 후로는 그 수요량이 계속 증가하는 추세에 있다. 한편, 최근 당뇨병, 관상심장질환, 다발성게실증, 만성퇴행성 질환은 식이섬유의 낮은 섭취량과 상관관계가 있다는 보고 등이 있어 식이섬유에 대한 질병 예방과 치료에 관해 수많은 연구가 행해지고 있으며, 식이섬유소의 경우 단순한 성인병 예방의 건강보조식품의 개념을 탈피하여 의약품으로 사용이 시도되고 있다. 따라서 향후 이러한 식이섬유에 관한 약리학적 연구가 지속적으로 이루어질 것으로 생각되며, 이러한 식이섬유소의 경우 그 수입량은 계속적으로 증가할 것으로 예상되지만, 이러한 현실에 대한 대처방안이나 구체적인 생산방안이 우리나라의 경우 전무한 실정에 있다. 한편 이러한 식이섬유소재로 사용되고 있는 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스는 목재에 약 75%가량 함유되어 있으며, 목재로부터 탄수화물을 선택적으로 분리할 수 있다면 대량의 식이섬유소를 공급할 수 있을 것으로 판단된다. 현재 이러한 목재자원중 우량목의 경우 가구, 제지산업 등의 고부가가치 산업에 전량 사용되고 있기 때문에 본 연구에서는 임지에서 배출되는 임지폐잔재 및 간벌재를 이용하여 식이섬유소재를 개발하고자 한다. 우리나라의 임목 축적량은 95년말 3억8백82만6천㎥으로 60년대에 비해 약 5배의 비약적인 성장을 가져왔으나, 우량경제림이 약 31%에 그치고 있는 실정이므로, 양질의 목재 생산은 어려울 것으로 예상된다. 따라서 국내 목재수급량의 약 90%를 수입에 의존하는 우리나라의 현실을 감안하면 임지에서 발생되는 폐잔재의 효율적 이용은 매우 중요한 과제라 할 수 있겠다.

본 연구과제의 경우 임지폐잔재 및 간벌재로부터 탄수화물을 선택적으로 분리하고 분리된 식이섬유소의 기능성 검증을 행하여, 현재 전량 수입되고 있는 식이섬유를 대체할 수 있는 식이섬유소 생산에 초점을 맞추어 연구를 진행할 계획이며, 식이섬유중 비수용성 식이섬유와 수용성 식이섬유를 생물학적 기법으로 양분 생산하여 식이섬유의 약리적 기능을 검토하므로써 고부가가치의 산업을 유도할 계획에 있다.

본 연구의 최종 목표는 현재 미이용되고 있는 임지폐잔재(간벌재 등)를 원료로 이용하여 현재 전량 수입에 의존하고 있는 수용성 및 비수용성 식이섬유를 제조할 수 있는 기술을 개발하는데 그 최종 목표가 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구과제의 연구개발 내용 및 범위는 표 1과 그림 1에 나타내었으며,본 연구의 최종 목표가 임지폐잔재 및 간벌재로부터 수용성 및 비수용성 식이섬유를 생산할 수 있는 기술력을 확보하고 생산된 식이섬유의 기능성이 동물실험을 통해 검정되므로써 현재 막대한 양이 수입되고 있는 식이섬유소의 대체소재를 확보하는데 그 목적이 있다.

따라서 본 연구의 경우 임지폐잔재로부터 수용성 및 비수용성 식이섬유를 제조하기 위한 화학적, 생물학적 전처리 조건 규명 및 생산된 식이섬유의 기능성 검정에 따른 인체 유해성 등을 검토하였다.

본 연구의 연구개발 내용 및 범위는 각 세부과제에 따라 각각 나타내었다.

표 1. 본 연구의 연구개발 내용 및 범위

제 1 세부과제 : 임지폐잔재 및 간벌재로부터 식이섬유의 생산

연 구 개 발 내 용	연 구 개 발 범 위
◎ 임지 폐잔재 및 간벌재의 현황조사 및 폭쇄 전처리 조건 확립	▶ 임지폐잔재 및 간벌재의 발생현황 조사 ▶ 임지폐잔재 및 간벌재의 Chipping처리 ▶ 폭쇄전처리 조건 확립 ▶ 폭쇄전처리재의 성분 분석
◎ 화학처리에 의한 고순도 비수용성 식이섬유의 생산 기술 확립	▶ 화학처리에 의한 셀룰로오스 단리 기술확립 - 염소-알카리 다단처리, - 산소-알카리처리 ▶ 단리된 식이섬유의 정제 ▶ 단리된 고순도 식이섬유의 분석 - 원소분석, 탄수화물분석, - 리그닌함량분석, 중합도분석 - α-cellulose함량분석
◎ 수용성 식이섬유의 생산 기술 확립	▶ 수용성 식이섬유 생산을 위한 최적 효소가수분해 조건 구명 - 효소반응 시간별 소당류 생산량 조사 ▶ 생산된 수용성 식이섬유의 단리법 구축 - 에탄올 적하법 - 분자량 분취법
◎ 생산된 수용성 식이섬유의 분석	▶ 생산된 수용성 식이섬유의 정제 ▶ 정제된 수용성 식이섬유의 분석 - GPC분석, 탄수화물분석
◎ 생산된 식이섬유와 기존 시판되고 있는 식이섬유간 비교 검토	▶ 식이섬유 생산 체계 구축 ▶ 산업화 가능성 검토 ▶ 통합 검토

제 2 협동과제 : 생산된 식이섬유의 기능성 검정 및 용도 모색

연 구 개 발 내 용	연 구 개 발 범 위
◎ 시판되는 비수용성 식이 섬유의 기능성 평가	▶ 식이효율 측정 ▶ 혈중 지질대사개선효과 검토
◎ 제조된 식이섬유의 지질조성 개선효과 검토	▶ 혈중 콜레스테롤 함량 및 혈중 중성지방 함량 측정 ▶ 간조직 중의 지질함량 변화 측정
◎ 제조된 식이섬유의 산화적 손상 완화작용 및 산화적 손상 방어기구 활성측정	▶ 혈중 GOT, GPT활성도 측정 ▶ 혈청 과산화지질 분석 ▶ glutathione peroxidase 활성 측정 ▶ 간조직 중의 과산화지질 함량 측정 ▶ superoxide dismutase 활성 측정
◎ 시판되는 수용성 식이섬유의 기능성 평가	▶ 식이효율 측정 ▶ 혈중 지질대사개선효과 검토
◎ 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선효과 측정	▶ 통변시간 측정 ▶ 맹장무게, 크기의 변화측정 측정 ▶ 맹장 내용물의 함량변화 측정
◎ 담즙산의 대사기능 측정	▶ 중성 sterol 함량 측정 및 분석 ▶ Bile acid 함량 측정 및 분석
◎ 분변중의 무기질 배설량 측정	▶ 분변중의 지질분석 ▶ 분변중의 무기질 함량 측정 ▶ 총 콜레스테롤 함량 및 중성 지방 함량 측정
◎ 생산된 식이섬유와 기존 시판되고 있는 식이섬유간 비교 검토	▶ 식이섬유 생산 체계 구축 ▶ 산업화 가능성 검토 ▶ 통합검토

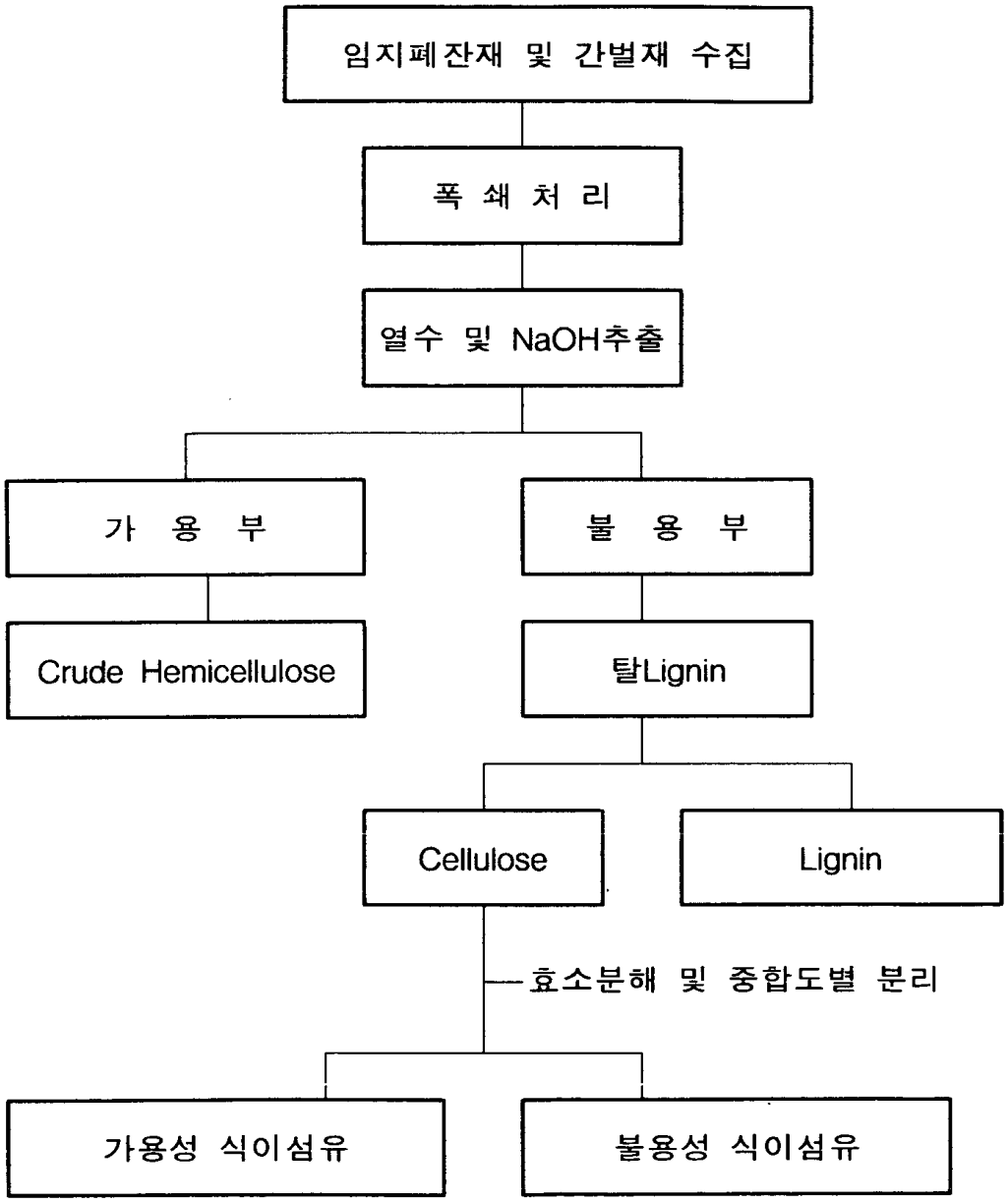


그림 1. 식이섬유 제조 공정 체계도

본 연구과제의 수행방법은 대학 실험실의 연구인력에 의해 면밀히 조사·검토된 기본적인 사항들을 근거로 신기능성을 보유한 식이섬유 제조의 새로운 길을 연구, 모색하였다. 본 연구과제의 최종 목표를 달성하기 위해 본 연구 내용에 없었던 화학적 처리방법에 관하여 연구한 결과 화학적 전처리가 수율적인 측면과 경제적인 측면에서 생물학적 처리에 비해 우수하다는 것을 확인할 수 있었다.

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 연구 수행에 따른 결과는 보고서 본문에서 상세히 기술하였으며, 본 항과의 중복을 피하고자 아래에 본 연구에서 얻어진 결과를 간단 명료하게 기록하였다.

1) 임지 폐잔재로 부터 식이 섬유소를 분리하기 위한 최적 폭쇄 전처리 조건은 25kgf/㎠의 압력으로 6분간 처리한 것이 가장 우수한 것으로 판명되었다.

2) 임지 폐잔재로 부터 비수용성 식이섬유를 생산하기 위한 화학처리 방법 중 수산화나트륨처리에 의해 제조된 비수용성 식이섬유가 가장 우수한 것으로 판명되었다.

3) 수용성 식이섬유 제조 방법으로는 화학적 처리법이 생화학적 처리법에 비해 경제적인 측면에서 우수하였다.

4) 생산된 수용성 식이섬유는 시판되는 수용성 식이섬유의 성상과 유사하였다.

5) 제조된 비수용성 식이섬유의 기능성 검정 결과 변비개선 효과 및 콜레스테롤 저하 효과가 있었다.

6) 제조된 비수용성 식이섬유의 항산화계 강화 효과 검정에서 항산화 해독 기능이 우수하였고, 식이 첨가율이 10%일 때 가장 효과적이었다.

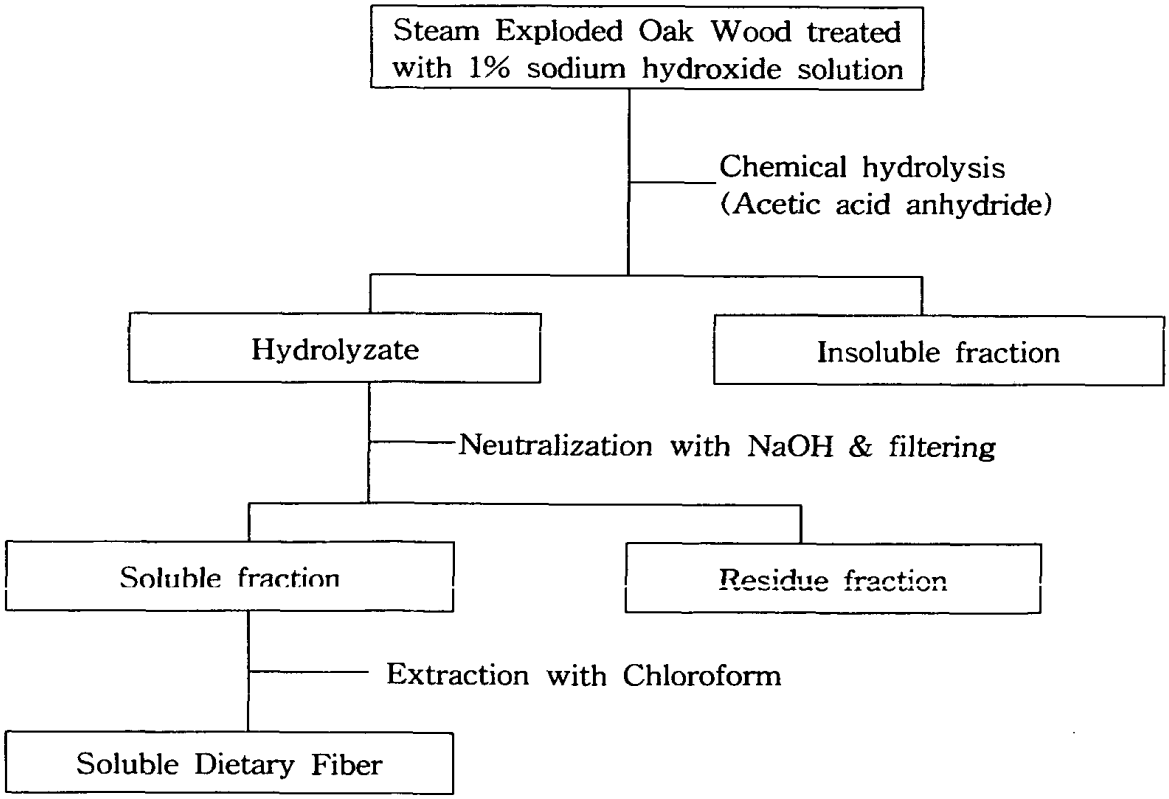
7) 제조된 비수용성 식이섬유는 Sigma 사의 시판 α-cellulose 간에 생리적 효과가 비슷함이 관찰되었다.

8) 제조된 비수용성 식이섬유의 생체유해성 검정 결과에서 독성은 없음을 알 수 있었다.

9) 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선 효과 검정에서 혈청 및 간조직 중의 콜레스테롤 및 중성지방을 현저하게 감소시킴을 알 수 있었으며, 분변량 또한 증가되었다.

10) 제조된 수용성 식이섬유는 담즙산 흡수를 지연시키므로 저 칼로리 기능식품으로서 우수성이 규명되었다.

11) 제조된 수용성 식이섬유소의 생체유해성 검정 결과 인체에 전혀 무해함이 규명되었다.



최적 수용성 식이섬유 제조 공정도

본 연구에 의해 아래와 같은 기대효과가 창출되리라고 예상한다.

1) 폐자원인 임지폐잔재 및 간벌재를 원료로 하여 1차적으로는 환경보존 및 자원절약에 기여
2) 식이섬유 생산에 관한 기술력을 확보로 관련 산업의 발전에 기여
3) 저 공해성 셀룰로오스 단리 기술의 개발에 따른 경제적 이익 추구
4) 식품, 의약품분야의 발전에 기여
5) 생물공학의 발전 도모
6) 폐자원의 고부가가치화에 따른 경제적 파급효과 도모
7) 임지폐잔재 및 간벌재의 부가가치화로 농민들의 실질소득에도 기여

따라서 최종적으로 임지 폐잔재로부터 식이섬유 생산 기술에 관한 특허권을 취득하여 산업화의 길을 모색하고, 얻어진 기술력을 바탕으로 새로운 제품 생산의 연구를 지속 적으로 추진한다.

【활용에 대한 건의】

본 연구를 통해 많은 관련 분야의 연구자 및 대학원생의 참여를 통해서 연구방법 및 폐잔재의 이용방법에 관한 개변을 인식시킴으로써 장래의 인재 양성과 동시에 환경오염 방지에 관한 중요성을 일반인에게 인식할 수 있도록 연구결과를 충분히 활용하고 관련 산업체에 대한 정부차원의 적극적인 지원과 투자가 있어야 할 것으로 생각한다.

SUMMARY

(영문요약문)

Ⅰ. TITLE

The Development of Production Technology of Dietary Fiber from Forest Wastes.

Ⅱ. OBJECTIVE & NECESSITY OF PROJECT

The definition of dietary fiber is found in plant foods. Dietary fiber cannot be digested by humans. It has no calories because the body cannot absorb it. As we approach the twenty first century, the field of dietary fiber is becoming widely acknowledged for its role in growth and development, normal function, and prevention of adult disease.

The current issue focuses on dietary fiber. Future issues will review topics such as diets, cholesterol decrease, and prevention of diabetic mellitus disease.

There are two forms of dietary fiber : Soluble and insoluble. Soluble dietary fiber attracts water and turns to gel during digestion. This slows digestion and the rate of nutrient absorption from the stomach and intestine.

And, insoluble dietary fiber is found in food such as wheat bran, vegetables and whole grains. It appears to speed the passage of foods through the stomach and intestines and adds bulk to the stool.

The average korean now eats 17.5 grams of dietary fiber per day. The recommendation for older children, adolescents and adults is 20 to 25 grams per day. One of the most abundant and inexpensive woodsy biomass is carbohydrates especially in forest wastes. Carbohydrates accounts for up to 75% of the total dry weight of woods biomass.

Wood is compose of three main components : Cellulose, hemicellulose and lignin. Cellulose in embedded in matrix of lignin-hemicellulose complexes. And cellulose is a crystalline polymer generally associated in a matrix with hemicellulose and lignin. For the separation of woody main component, we must be to slave the established pretreatment method for wood main component.

Nowdays, in the korea, amount of forest wastes have been rapidly increased. And we depend on import to 90% of supply-demand amount using for wood industry in our country. We think that forest wastes recycling process is very important. The dietary fiber production and its technical development are becoming more important for industrial aspect of functional food and pharmaceutical products.

This study was performed to obtain the production technology of dietary fiber form forest wastes.

Ⅲ. CONTENTS & SCOPE OF THE PROJECT

The accomplishment of this project proposed that new method based on through research and examination to laboratory worker. We studied on the production technology of dietary fiber from forest wastes.

The substance and extents of this research are follows ;

■ Scale Investigation on Forest Wastes & Establishment of Steam-explosion condition

- Investigation of the present condition on Forest Wastes
- Chipping of Forest wastes
- Establishment of steam-explosion condition
- Chemical analysis of steam exploded wood

■ The Devlelopment of Production Technology of Insoluble Dietary Fiber from Forest Wastes by Chemical Treatment

- Development of production technology of insoluble dietary fiber
- Purification of manufactured insoluble dietary fiber
- Chemiical analysis of manufacted insoluble dietary fiber

■ Establishment of Production Thchnology of Soluble Dietary Fiber form Forest Wastes Manufacturing of Soluble Dietary Fiber

- Investigation of potimal enymatid hydroysis condition

■ Chemical Anlalysis of Manufactured Soluble Dietary Fiber

- Chemical analysis method of manufactured soluble dietary fiber
- sugar composition analylysis of manufactured soluble dietary fiber
- Determine of moleular weight dstribution manufactured soluble dietary fiber

■ Physiological Function for Insoluble Dietary Fiber

- Body weights gain, food intake and FER
- Effect of improvement on lipid composition of serum

■ Effect of Manufactured Insoluble Dietary Fiber of Improvement on Lipid Composition of Serum

- Serum cholesterol and triglyceride contents
- Hepatic lipid composition contents

■ Effect of Manufactured Dietary Fiber of Oxidative Damage

- Serum GOT and GPT level
- Serum TBARS level
- Hepatic glutathione peroxidase (GSHpx) activities
- Hepatic TBARS level
- Hepatic superoxide dismutase (SOD) activities

■ Physiological Function for Soluble Dietary Fiber

- Body weights gain, food intake and FER
- Effect of improvement on lipid composition of serum

■ Effect of Soluble Dietary Fiber for Improvement Gastrointestinal Function

- Gastrointestinal transit time
- Weight of organ
- Determination of cecum composition

■ Effect of Soluble Dietary Fiber on the Absorption Delay of Bile Acid

- Neutral sterol content
- Bile acid content

■ Effect of Improvement on Lipid Composition of Fecal

- Lipid composition content
- Contents of fecal iron, calcium and magnesium
- Cholesterol and triglyceride content

■ Suggestion on application

IV. RESULTS AND SUGGESTIONS OF PROJECT

1. Results of research and development

The following results were obtained from the two years research to development of production technology of Dietary Fiber from Forest Waes.

1) The best condition of steam-explosion treatment for the preparation of insoluble dietary fiber was 25 kgf/cm pressure for 6 minutes.

2) In the chemical analysis of manufactured insoluble dietary fiber, 10% sodium hydroxide treatment was the most effective on the production of insoluble dietary fiber from forest wastes.

3) The most effective scheme of optimal production of soluble dietary fiber forest wastes was acetolysis method on the economic aspects.

4) The manufactured soluble dietary fiber and commerial soluble dietar fiber have the same chemical characterization

5) The manufactured insoluble dietary fiber supplementation determined to be effective in the lowering hepatic cholesterol and improvement of constipation

6) The supplementation of manufactured insoluble dietary fiber was inhibit the lipid peroxidation process by the acceleration of the antioxidative defence system in rat fed high cholesterol diet, 10% manufactured insoluble dietary fiber supplementation groups, compared with th other insoluble dietary fiber groups.

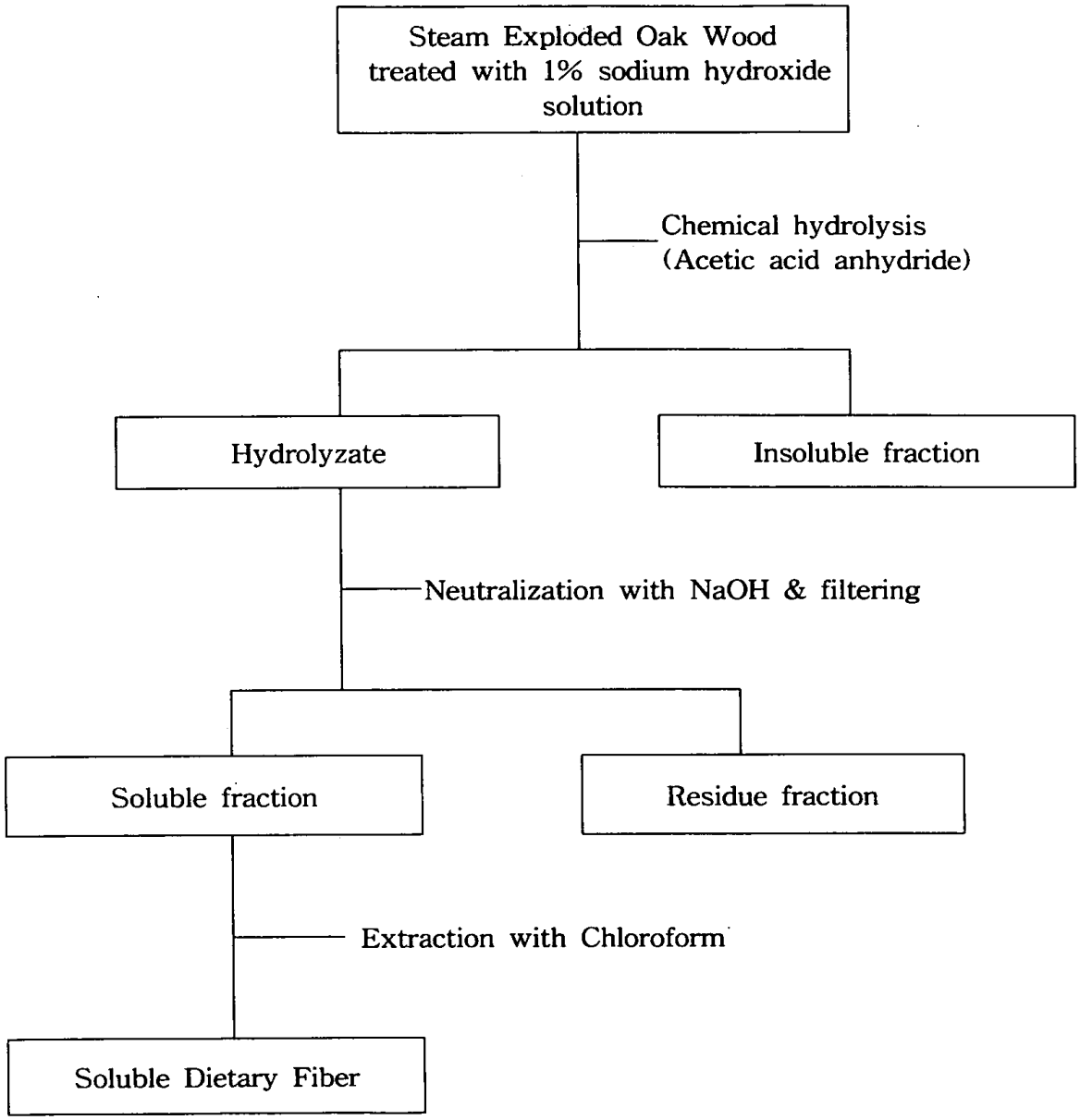
7) The manufactured insoluble dietary fiber and commercial insoluble fiber have the same physiological effects.

8) There is no toxicity of the physiological function of manufactured insoluble dietary fiber.

9) The hepatic and serum lipid contents, cholesterol and triglycerides in manufactured insoluble dietary fiber were significantly lower than those of cholesterol group.

10) The manufactured insoluble dietary fiber determined to be effective low calorie function food by the absorption delay of bile acid

11) There is no toxicity of the physiological function of manufactured soluble dietary fiber.



Scheme 1. Manufacture Procedure for soluble dietary fiber

The presumption of expectant effect:

1) The effect of waste treatment and safeguard of environment by waste resource recycling

2) Contribution on the development of correlation industry

3) The promotion of economical value

4) Contribution on the development of junctional food and pharmaceutical products industry

5) The development of biotechnology

6) The promotion of economical value for waste resource

7) The increasing peasant income from maximizing value of forest wastes

【SUGGESTION】

1) With recognizing of graduated student sand researcher in this fild for research method in this study and recycling method of waste materials

2) Training agent in future

3) Application of study results to prevent against environmental pollution

4) Public support and investment for related industry

CONTENTS

Chapter 1. The production of dietary fiber from forest wastes ···· 32

Section 1. Introduction ····· 32

Section 2. Investigation of forest wastes & Establishment of steam-explosion condition ····· 34

1. Investigation of forest wastes ····· 34

2. Chipping of forest wastes ····· 36

3. Establishment of steam-explosion condition ····· 36

Section 3. The development of production technology of insoluble dietary fiber from forest wastes by chemical treatment ····· 40

1. Purification & analysis of manufactured insoluble dietary fiber, development of production technology of insoluble dietary fiber ····· 40

Section 4. Establishment of production technology of soluble dietary fiber from forest wastes. ····· 44

1. Manufacturing of soluble dietary fiber from insoluble dietary fiber ···· 44

2. Investigation of optimal enzymatic hydrolysis condition ····· 49

Section 5. Chemical analysis of manufactured soluble dietary fiber ····· 53

1. Chemical analysis method of manufactured soluble dietary fiber ····· 53

2. Sugar composition analysis of manufactured soluble dietary fiber ····· 53

3. Determine of molecular weight distribution manufactured soluble dietary fiber ····· 55

Chapter 2. Physiological function for preparation dietary fiber from the forest wastes 59

Section 1. Introduction 59

1. Effect of manufactured insoluble fiber on physiological function 59

2. Effect of manufactured soluble fiber on physiological function 60

Section 2. Materials and methods 61

1. Determination for improvement of lipid metabolism and antioxidative detoxification of manufactured insoluble dietary fiber 61

2. Observation for antioxidative deoxification of manufactured soluble dietary fiber 66

section 3. Physiological function for insoluble dietary fiber 73

1. Effect of manufactured insoluble dietary fiber and commercial insoluble fiber on the improvement of lipid metabolism 73

2. Effect of manufactured insoluble dietary fiber and commercial insoluble fiber on the inhibition oxidative damage and scarvenger system 78

3. Physiological function 83

Section 4. Physiological function for soluble dietary fiber 87

1. Effect improvement on gastrointestinal function of soluble dietary fiber 87

2. Effect of soluble dietary fiber on the absorption delay of bile acid 91

3. Effect of improvement on lipid composition of fecal 94

4. Physiological function 95

Chapter 3. Suggestion on application 100

Section 1. The production of dietary fiber from forest wastes 101

Section 2. Physiological function of Manufactured dietary fiber 105

Section 3. Discussion & Review 108

REFERENCES 109

목 차

제 출 문 1
요 약 문 2
Ⅰ. 제목 2
Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성 2
Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위 4
Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의 8
SUMMARY 11
CONENTS 20
목 차 23

제 1장 임지폐자원으로부터 식이섬유소재 생산 32
제 1절 서 설 32

제 2절 임지폐잔재 및 간벌재의 현황조사 및 폭쇄 전처리 조건 확립 34
1. 임지폐잔재 및 간벌재의 발생현황 조사 34
2. 임지폐잔재 및 간벌재의 Chipping 처리 36
3. 폭쇄전처리 조건 확립 36
가. 폭쇄전처리 장치 및 폭쇄전처리 조건 36
나. 폭쇄전처리재의 성분 분석 38

제 3절 화학처리에 의한 고순도 비수용성 식이섬유의 생산 기술 확립 40
1. 화학처리에 의한 셀룰로오스 단리기술 확립, 정제 및 분석 40

제 4절 수용성 식이섬유의 생산 기술 확립 44
1. 수용성 식이섬유 생산의 제조 44
가. 화학적 전처리에 의한 수용성 식이섬유의 제조 44
나. 생화학적 전처리에 의한 수용성 식이섬유의 제조 47
2. 최적 효소가수분해 조건규명 49

제 5절 생산된 수용성 식이섬유의 분석 53
1. 생산된 수용성 식이섬유의 분석방법 53
2. 제조된 수용성 식이섬유의 당조성 분석 53
3. 제조된 수용성 식이섬유의 분자량 분포측정 55

제 2장 생산된 식이섬유의 기능성 검정 및 용도 모색 59

제 1절 서 설 59
1. 제조된 비수용성 식이섬유의 기능성 검정 59
2. 제조된 수용성 식이섬유소의 기능성 검토 60

제 2절 식이섬유의 기능성 평가방법 61
1. 비수용성 섬유소의 기능성 검토 61
가. 제조된 비수용성 식이섬유소의 지질조성 개선 효과 검정 61
나. 제조된 비수용성 식이섬유의 산화적 손상완화작용 및 항산화계 강화 효과 검정 64
다. 생체유해성 검정 65

2. 수용성 섬유소의 기능성 검토 66
가. 시판되고 있는 수용성 식이섬유 및 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선 효과 검정 66
나. 담즙산의 대사기능 측정 69
다. 분변중의 지질함량 측정 70
라. 생체 유해성 71

제 3절 비수용성 섬유소의 기능성 검토 73
1. 시판되고 있는 비수용성 식이섬유 및 제조된 비수용성 식이섬유의 지질조성 개선 효과 검정 73
가. 체중증가 및 식이효율 73
나. 장기 무게 74
다. 장기능 개선 효과 관찰 75
2. 제조된 식이섬유의 산화적 손상완화작용 및 항산화계 강화효과 검정 78
가. 혈청중의 과산화지질 정량 78
나. Superoxide dismutase (SOD) 활성과 glutathione peroxidase (GSHpx)활성 79
다. 간조직의 지질과산화물 (thiobarbituric acid reaction substances, TBARS) 함량 80
라. 간조직의 병리조직학적 관찰 81
3. 생체 유해성 검정 83
가. 간조직의 Glutathione S-transferase 활성 측정 83
나. 혈청중의 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)과 glutamine pyruvate transaminase(GPT) 활성 84
다. 간조직의 Cytochrome P_{450} 함량 85

제 4 절 수용성 식이 섬유소의 기능성 검토 87
1. 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선 효과 검정 87
가. 체중증가 및 식이효율 87
나. 장기 무게 88
다. 장기능 개선 효과 관찰 89
라. 혈청 및 간조직 중의 콜레스테롤과 중성지방 함량 90
2. 담즙산의 대사기능 측정 91
가. 중성 sterol 함량 측정 91
나. Bile acid 함량 93
3. 분변중의 지질 함량 94
가. 분변의 총지질과 triglyceride 함량 94
4. 생체 유해성 검정 95
가. 혈청중의 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)과 glutamine pyruvate transaminase(GPT) 95
나. 간조직의 지질과산화물 (thiobarbituric acid reaction substances, TBARS) 함량 96
다. 간조직의 Cytochrome P_{450} 함량 97
라. 간조직의 Glutathione S-transferase 활성 측정 98
마. 분변중의 무기질 배설량 측정 99

제 3장 통합검토 100
제 1절 임지폐자원 및 간벌재로부터 식이섬유의 생산 101
1. 임지폐잔재 및 간벌재의 현황조사 및 폭쇄전처리 조건 확립 101
2. 화학적 처리에 의한 고순도 비수용성 식이섬유의 생산 기술 확립 101

3, 수용성 식이섬유의 생산기술 확립 101
4. 생산된 수용성 식이섬유의 분석 104

제 2절 생산된 식이섬유의 기능성 검정 및 용도 모색 105
1. 제조된 비수용성 식이섬유의 지질조성 개선 105
2. 제조된 비수용성 식이섬유의 산화적 손상완화 및
항산화계 강화효과 검정 105
3. 제조된 비수용성 생체유해성 검정 106
4. 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선 효과 검정 106
5. 제조된 수용성 식이섬유소 담즙산의 대사기능 측정 106
6. 제조된 수용성 식이섬유소 분변량의 지질함량 측정 107
7. 제조된 수용성 식이섬유소 생체유해성 검정 107

제 3절 생산된 식이섬유와 시판되고 있는 식이섬유간의 비교 검토 108

참 고 문 헌 109

표 목 차

표 1-1. 연도별 국내 목재 생산 현황 34
표 1-2. 연도별 국내의 폐재 이용량 현황 35
표 1-3. 임지폐자원의 폭쇄전처리 조건표 37
표 1-4. 폭쇄전처리재의 당조성 및 리그닌함량 분석 38
표 1-5. 시판되는 비수용성 식이섬유와 제조된 비수용성 식이섬유의 당조성 및 리그닌 함량 분석 40
표 1-6. 시판되는 비수용성 식이섬유와 제조된 비수용성 식이섬유의 화학적 성상분석 42
표 1-7. 본 연구에 사용된 효소의 활성도 51
표 1-8. 각 효소의 당조성 분석. 52
표 1-9. 제조된 수용성 식이섬유의 수율 및 당조성 분석 54

그 림 목 차

그림 1-1. 본 연구에 사용된 폭쇄장치 37
그림 1-2. 비수용성 식이섬유 제조에 관한 최적 생산 공정도 43
그림 1-3. 화학적처리에 따른 수용성 식이섬유 생산공정도 46
그림 1-4. 효소가수분해 처리에 의한 수용성 식이섬유 제조 공정 모식도 48
그림 1-5. 각 시간대별 효소가수분해율 50
그림 1-6. 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 분자량분포 56
그림 1-7. 생화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 분자량 분포 57

List of Table

Table 2-1. Classification of experimental groups according to different insoluble dietary fiber and levels of rats fed high cholesterol 62

Table 2-2. Classification of experimental groups according to different soluble dietary fiber and levels of rats fed high cholesterol 68

Table 2-3. Operating conditions of Gas Chromatography for analysis fecal neutral sterols 70

Table 2-4. Effects of insoluble dietary fibers on food intake, body weight gains and food efficiency ratio(FER) in rats fed high cholesterol 73

Table 2-5. Organ weights of rat fed insoluble dietary fibers. 74

Table 2-6. Weights and water contents of feces in rats fed cholesterol diets with insoluble dietary fibers 76

Table 2-7. Effect of insoluble dietary fibers on lipid composition of serum and liver in rat fed high cholesterol diet. 77

Table 2-8. Effect of insoluble dietary fibers of serum TBARS in rat fed high cholesterol diet 78

Table 2-9. Effect of insoluble dietary fibers on hepatic superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in rats fed high cholesterol diets .. 79

Table 2-10. Effect of insoluble dietary fibers on hepatic glutathione S-transferase activities in rats fed high cholesterol diets 83

Table 2-11. Effects of insoluble dietary fibers on serum GOT and GPT activities in rats fed high cholesterol diets. 84

Table 2-12. Effect of insoluble dietary fibers on liver cytochrome P_{450} activities in rats fed high cholesterol diets 85
Table 2-13. Effects of insoluble dietary fibers on food intake, body weight gains and food efficiency ratio(FER) in rats fed high cholesterol 87
Table 2-14. Organ weights of rat fed soluble dietary fibers. 88
Table 2-15. Effect of soluble dietary fibers on lipid composition of serum and liver in rat fed high cholesterol diet. 90
Table 2-16. Effect of soluble dietary fiber on fecal neutral sterol contents in rats fed high cholesterol diets 92
Table 2-17. Effect of soluble dietary fiber on fecal total lipid and triglyceride contents in rats fed high cholesterol diets. 94
Table 2-18. Effects of soluble dietary fibers on serum GOT and GPT activities in rats fed high cholesterol diets. 95
Table 2-19. Effect of soluble dietary fibers on liver cytochrome P_{450} activities in rats fed high cholesterol diets 97
Table 2-20. Contents of fecal iron, calcium and magnesium in rats fed high cholesterol diets according to different levels of soluble dietary fiber. 99

List of Figure

Fig. 2-1. Effects of insoluble dietary fibers on gastrointestinal transit time in rats fed high cholesterol diet. 75

Fig. 2-2. Effect of insoluble dietary fibers on hepatic thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) in rats fed high cholesterol diet. 80

Fig. 2-3. Light micrograph of hepatocytes of rat fed 1% cholesterol diet and cholesterol diet insoluble fibers supplement. 82

Fig. 2-4. Effects of soluble dietary fibers on gastrointestinal transit time in rats fed high cholesterol diets 89

Fig. 2-5. Effects of soluble dietary fiber on fecal bile acid contents in rats fed high cholesterol dits. 93

Fig. 2-6. Effect of soluble dietary fibers on hepatic thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) in rats fed high cholesterol diet. 96

Fig. 2-7. Effect of soluble dietary fibers on hepatic glutathione S-transferase activities in rats fed high cholesterol diets 98

제 1장 임지폐자원으로부터 식이섬유소재 생산

제 1절 서 설

식이섬유의 정의에 대해서는 현재 다양한 의론이 있지만, 통상적으로 사람의 소화효소에 의해 소화되지 않는 고분자 화합물의 총체라 정의되고 있다. 최근들어 식생활이 서구화됨에 따라 지방질 섭취량은 증가하는 반면에 식물성 식품 섭취량은 감소하는 추세에 있다. 따라서 오늘날에는 과거와는 반대로 영양과잉에 따른 성인병이 큰 사회적 문제를 야기시키고 있다. 식이섬유는 사람에게 있어 필수적인 영양원이 될 수는 없지만 최근 발표되고 있는 문헌 등에 따르면 성인병의 예방과 대장암 등의 예방차원에서 중요한 급원체라는 보고가 있다. 현재 우리나라의 1인 1일 식이섬유 평균 섭취량이 17.5g이며, 한국인의 영양권장량 20~25g에 매우 미치지 못하는 상태이다.

현재 식이섬유의 종류는 크게 불용해성 식이섬유와 용해성 식이섬유로 구분할 수 있으며, 불용해성 식이섬유로는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 등이 있고, 용해성 식이섬유로는 저분자 탄수화물, 펙틴, 검, 해조다당류 등이 있다. 현재 이러한 식이섬유소의 경우 전량 수입에 의존하고 있는 실정에 있으며, 식이섬유가 성인병 예방 및 비만방지에 탁월한 효과가 있음이 입증된 후로는 그 수요량이 계속 증가하는 추세에 있다. 한편, 최근 당뇨병, 관상심장질환, 다발성게실증, 만성퇴행성 질환은 식이섬유의 낮은 섭취량과 상관관계가 있다는 보고 등이 있어 식이섬유에 대한 질병 예방과 치료에 관해 수많은 연구가 행해지고 있으며, 식이섬유

소의 경우 단순한 성인병 예방의 건강보조식품의 개념을 탈피하여 의약품으로 사용이 시도되고 있다. 따라서 향후 이러한 식이섬유에 관한 약리학적 연구가 지속적으로 이루어질 것으로 생각되며, 이러한 식이섬유소의 경우 그 수입량은 계속적으로 증가할 것으로 예상되지만, 이러한 현실에 대한 대처방안이나 구체적인 생산방안이 우리나라의 경우 전무한 실정에 있다.

한편 이러한 식이섬유소재로 사용되고 있는 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스는 목재에 약 75%가량 함유되어 있으며, 목재로부터 탄수화물을 선택적으로 분리할 수 있다면 대량의 식이섬유소를 공급할 수 있을 것으로 판단된다. 현재 이러한 목재자원중 우량목의 경우 가구, 제지산업 등의 고부가가치 산업에 전량 사용되고 있기 때문에 본 연구에서는 임지에서 배출되는 임지폐잔재 및 간벌재를 이용하여 식이섬유소재를 개발하고자 한다. 우리나라의 임목 축적량은 95년말 3억8백82만6천㎥으로 60년대에 비해 약 5배의 비약적인 성장을 가져왔으나, 우량경제림이 약 31%에 그치고 있는 실정이므로, 양질의 목재 생산은 어려울 것으로 예상된다. 따라서 국내 목재수급량의 약 90%를 수입에 의존하는 우리나라의 현실을 감안하면 임지에서 발생되는 폐잔재의 효율적 이용은 매우 중요한 과제라 할 수 있겠다. 따라서 본 연구과제의 경우 임지폐잔재 및 간벌재로부터 탄수화물을 선택적으로 분리하고 분리된 식이섬유소의 기능성 검증을 행하여, 현재 전량 수입되고 있는 식이섬유를 대체할 수 있는 식이섬유소 생산에 초점을 맞추어 연구를 진행할 계획이며, 식이섬유중 비수용성 식이섬유와 수용성 식이섬유를 생물학적 기법으로 양분 생산하여 식이섬유의 약리적 기능을 검토하므로써 고부가가치의 산업을 유도할 계획에 있다. 본 연구의 최종 목표는 현재 미이용되고 있는 임지폐잔재(간벌재 등)를 원료로 이용하여 현재 전량 수입에 의존하고 있는 수용성 및 비수용성 식이섬유를 제조할 수 있는 기술을 개발하는데 그 최종 목표가 있다.

제 2절 임지폐잔재 및 간벌재의 현황조사 및 폭쇄 전처리 조건 확립

1. 임지폐잔재 및 간벌재의 발생현황 조사

본 연구과제를 수행함에 있어 임지폐잔재 및 간벌재의 발생 현황을 문헌 조사 및 현장 조사통해 실시하였지만, 정확한 발생현황을 파악할 수는 없었다. 그 이유로는 현재 국내의 정확한 통계자료가 존재하지 않았으며, 발행처에 따라 통계자료의 수치가 일정한 경향을 나타내고 있지 않아 신뢰도가 떨어지기 때문이다.

표 1-1에는 현재 국내 임산폐자원의 발생현황을 나타내었다.

표 1-1. 연도별 국내 목재 생산 현황 단위 : 천m^3

년도	목재 생산				합계
	주벌	간벌	종갱신	기타	
1986	965	140	-	-	1,105
1988	447	175	263	309	1,194
1990	309	191	137	440	1,077
1992	190	109	171	326	796
1994	206	145	141	-	896

임산 폐자원의 경우 현재 대부분 간벌 및 갱신 작업에서 발생되고 있으며, 이러한 폐잔재의 경우 그 용도가 아직까지 미비한 관계로 대부분 작업현장에서 폐기되는 경우 많은 것으로 파악되었다. 한편 임산 폐자원의 경우 간벌 및 갱신 작업에서 배출되는 경우가 많으며, 이러한 폐잔재의 경우 대부분 작업 현장에 버려지는 경우가 많은 것으로 파악되고 있다. 표 1-1.에서 보면 간벌 및 종갱신에 의해 생산된 목재는 1994년의 경우 690,000㎥으로 임지 폐잔재의 양을 대략적으로 추정할 수 있다.

한편 목질 폐자원이 발생하는 또 다른 경우는 목재 관련공장에서 발생하는 폐재이며, 이 경우 제재소에서 발생하는 것과 목재 가공공장에서 발생하는 것으로 구분할 수 있다. 표 1-2에는 연도별 국내 폐재 이용현황을 나타내었다.

표 1-2. 연도별 국내의 폐재 이용량 현황 단위 : 천㎥

년도	1986	1988	1990	1992	합계
연료화 또는 이용량	568	760	640	954	1,213
년간 폐재 이용 비율	8.1%	9.3%	9.0%	10.6%	9.2%

표 1-2에서와 같이 제재 폐재는 각 목재관련공장에서 연료나 기타 목적으로 대부분 사용되고 있으며, 이렇게 폐잔재의 이용율이 미비한 점을 미루어 볼 때 국내 임산자원의 보존을 위해서 폐잔재의 효율적인 이용 방안은 대단히 중요하다고 판단되며, 아울러 이에 대한 연구가 지속적으로 행해져야 한다고 생각된다.

최근 들어 이러한 폐잔재의 이용량이 점차 확대되어 가는 경향을 보이기는 하지만, 현재까지 폐재의 이용 비율이 전체 폐재 발생량의 약 14%에 그치고 있는 실정에 있다. 최근의 통계자료에 따르면 주벌 및 간벌등에 의해 생산되고 있는 목재의 발생량이 896㎥에 이르고 있고, 이러한 목재 폐잔재의 유효 이용에 관한 연구는 실로 시급하다고 판단되었다.

2. 임지폐잔재 및 간벌재의 Chipping 처리

임지 폐잔재로부터 식이섬유를 생산하기 위해서는 주요 성분을 분리할 수 있는 전처리 기술이 반드시 요구되며, 이러한 전처리 기술의 선행기술로써 폐잔재를 물리적으로 절단하는 작업이 우선되어야 한다. 따라서 본 과제의 경우 수집된 시료를 본 연구실에서 주문 제작한 chipper를 이용하여 2×2×0.2cm의 크기로 chip을 조제하였다. 이렇게 제조된 chip은 폭쇄전처리의 공시재료로 사용되었다.

3. 폭쇄전처리 조건 확립

가. 폭쇄전처리 장치 및 폭쇄전처리 조건

임지 폐잔재의 주요 성분을 분리할 수 있는 전처리 기술로써 본 연구과제에서는 폭쇄처리를 선택하였으며, 폭쇄처리는 목재를 200℃이상의 포화수증기하에서 수분간 처리한 후 대기중으로 방출하는 방법으로써 비교적 처리 효율이 높고 후처리 및 주요 성분의 분리가 용이하다. 한편 폭쇄처리는 물 이외에 다른 약품을 사용하지 않기 때문에 식이섬유생산을 위한 전처리 공정으로써는 매우 유리하다고 할 수 있다. 본 연구에서 행해진 폭쇄전처리 조건을 표 1-3에 나타냈으며, 본 연구에 사용된 폭쇄장치는 그림 1-1에 나타내었다.

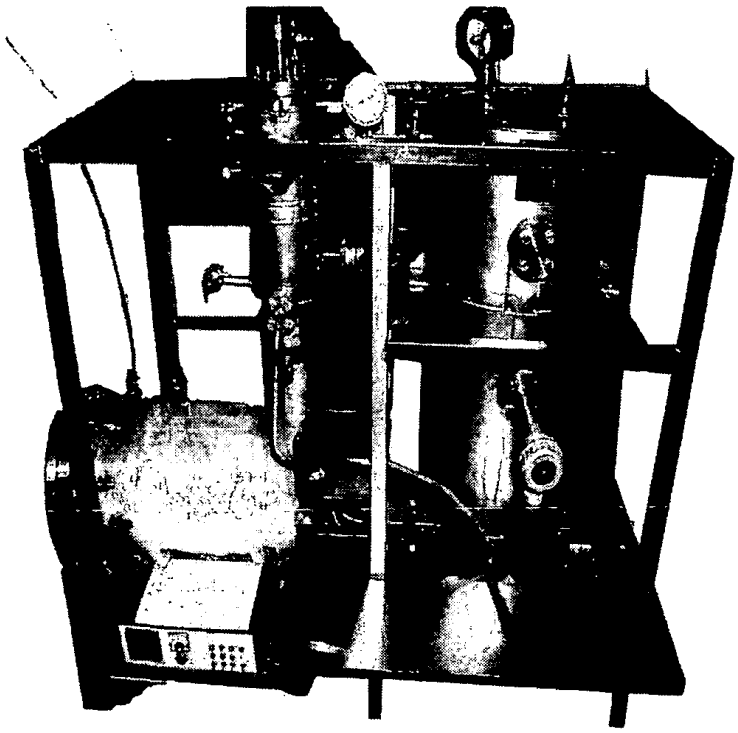


그림 1-1. 본 연구에 사용된 폭쇄장치

표 1-3. 임지폐자원의 폭쇄전처리 조건표

Species	Materials No.	Steam explosion condition	
		Pressure(kg/㎠)	Time(min.)
Quercus Mongolica	EQ 25-3	25	3
	EQ 25-6	25	6
	EQ 25-9	25	9

나. 폭쇄전처리재의 성분 분석

표 1-3과 같은 조건으로 폭쇄처리된 시료는 alditol-acetate법에 의해 구성당 분석을 행하였으며, Klason lignin법에 의해 lignin함량을 측정하여 최적 폭쇄전처리 조건을 탐색하였다.

표 1-4는 본 연구에서 행해진 폭쇄처리 조건별 시료의 성분 분석 결과를 나타낸 것이다.

표 1-4. 폭쇄전처리재의 당조성 및 리그닌함량 분석

Materials No.	Sugar composition(%)						Lignin content(%)
	Ara.	Xyl.	Man.	Gal.	Glu.	Rham.	
EQ 25-3	0.7	18.6	1.6	-	78.9	0.2	28.3
EQ 25-6	0.5	11.4	1.4	-	86.7	-	33.5
EQ 25-9	0.4	5.9	1.0	-	92.4	0.3	38.0

표 1-4의 결과에서 보는 바와 마찬가지로 본 연구에서 행해진 폭쇄처리재는 폭쇄처리조건에 따라 폭쇄재를 구성하는 성분의 함량이 상이하게 나타남을 확인 할 수 있었다. 폭쇄처리시 동일 압력에서 처리시간이 길어질수록 헤미셀룰로오스 함량이 감소하였으며, 특히 xylose잔기의 함량이 급격하게 감소되는 경향을 나타내었다. 이는 활엽수중에 존재하는 xylan등의 pentose계 당류가 고온 및 목재중의 acetyl기에서 유래된 산에 의해 탈수소화 반응이 진행되어 furfural으로 변환되었기 때문이라고 생각되며, 이러한 결과 헤미셀룰로오스 함량이 상대적으로 감소되어 탄수화물 중의 glucose잔기의 함량이 상대적으로 증가하였다고 생각된다.

한편 리그닌 함량의 경우 동일압력에서 처리시간이 길어질수록 함량이 증가하는 경향을 보이고 있으며, 이러한 원인으로는 상기에서 언급한 바와 마찬가지로 폭쇄처리 조건이 강해질수록 탄수화물이 변질되어 유실됨에 따라 리그닌함량이 상대적으로 증가하는 것으로 판단된다. 한편 폭쇄처리과정 동안 고온에 의해 용융된 리그닌이 대기중으로 방출될 때 급격한 냉각에 의해 탄수화물을 코팅하는 효과가 있다는 보고가 있어 리그닌 함량이 폭쇄처리조건이 강해질수록 증가하는 원인에는 리그닌 코팅효과도 일조한 것으로 예측할 수 있었다.

최종적으로 폭쇄처리재의 육안적 조사 및 구성성분 분석결과 폭쇄처리재의 해섬효과는 6분정도의 처리에서도 충분한 것으로 판단되었으며, 경제성(폭쇄처리시간 및 처리수율) 등을 고려할 때 식이섬유를 생산할 수 있는 최적의 폭쇄전처리 조건은 25kg/㎠의 압력에서 6분간 처리한 조건이 가장 우수한 조건으로 판명되었다. 따라서 향후의 실험은 최적 조건으로 판명된 시료를 중심으로 수행되었다.

제 3절 화학처리에 의한 고순도 비수용성 식이섬유의 생산 기술 확립

1. 화학처리에 의한 셀룰로오스 단리기술 확립, 정제 및 분석

본 연구에서 비수용성 식이섬유를 생산하기 위한 화학처리로써는 수산화나트륨처리와 아염소산나트륨처리를 행하였으며, 화학처리된 폭쇄재의 성분을 각각 분석(원소분석, 탄수화물분석, 중합도분석, 리그닌함량분석, α-cellulose분석)하여 최적의 화학처리 조건을 선정하였다. 한편 이러한 분석 결과를 토대로 하여 임지폐잔재로부터 비수용성 식이섬유를 생산할 수 있는 최적의 공정을 확립하였다.

임지 폐자원으로부터 식이섬유를 생산하는 화학적 처리로 본 연구에서는 아염소산나트륨, 수산화나트륨, 오존처리등을 검토하였다. 폭쇄전처리 조건 중 가장 우수한 것으로 판명된 25kg/㎠의 압력으로 6분간 처리한 폭쇄재를 공시재료로 상기의 화학처리를 행하였으며, 화학처리된 시료의 성분 분석 결과를 표 1-5와 1-6에 나타내었다.

표 1-5에서 보는 바와 같이 화학처리 후 회수 수율은 수산화나트륨 처리된 시료가 아염소산나트륨 처리된 시료에 비해 다소 높게 나타났으며, 잔존 리그닌 함량의 경우 수산화나트륨 처리된 시료가 7.6%로써 높게 나타났다. 한편 탄수화물 조성 분석 결과 현재 시판되는 비수용성 식이섬유와 거의 대등한 순도를 나타내고 있다. 분석결과만을 미루어 볼 때 아염소산나트륨 처리 효과가 수산화나트륨의 처리 효과에 비해 우수하다는 것을 확인할 수 있었으며, 현재 시판되는 비수용성 식이섬유보다도 우수한 결과를 나타내고 있다. 일반적으로 화학적 전처리 중에서 알카리 팽윤제인 수산화나트륨 처리 효과는 목재 셀룰로오스의 팽윤 및 내표면적의 증가 등을 도모할 수 있지만, 본 연구결과에서 폭쇄처리재의 리그닌 함량이 30%이상임

을 감안한다면 상당량의 저분자 리그닌이 수산화나트륨에 의해 용출되어 제거되어진 것으로 판단되며, 회수 수율이 59%정도로 나타나 상당량의 탄수화물이 리그닌 용출과 함께 제거되어진 것으로 판단된다.

표 1-5. 시판되는 비수용성 식이섬유와 제조된 비수용성 식이섬유의 당조성 및 리그닌 함량 분석

Materials	Yield (%)	Klason lignin(%)	Sugar composition(%)				
			Ara.	Xyl.	Man.	Gal.	Glu.
commercial insoluble dietary fiber	-	2.0	0.4	7.1	1.6	-	90.9
manufactured insoluble dietary fiber with sodium hydroxide treatment	59.2	7.6	0.4	9.7	1.3	-	88.6
manufactured insoluble dietary fiber with sodium chrorite treatment	56.3	1.2	-	4.3	0.9	-	94.8

한편 아염소산나트륨 처리는 일반적으로 목재에서 사용되는 탈리그닌 처리제로써 수율은 수산화나트륨 처리된 시료와 거의 유사하고 잔존 리그닌 함량이 크게 차이가 나는 것을 비추어 볼 때 수산화나트륨 처리에 비해 거의 선택적으로 리그닌을 분해하였다고 추정할 수 있다.

표 1-6은 제조된 비수용성 식이섬유와 시판되고 있는 비수용성 식이섬유의 α-cellulose함량, 중합도 및 원소분석 결과를 나타낸 것이다.

표 1-6. 시판되는 비수용성 식이섬유와 제조된 비수용성 식이섬유의 화학적 성상분석

Materials	α-cellulose content(%)	Degree of Polymerization	Inorganic compound			
			Si	Ca	K	Cl
commercial insoluble dietary fiber	84.2	635.9	0.297	1.949	-	2.154
manufactured insoluble dietary fiber with sodium hydroxide treatment	61.7	604.2	0.392	2.926	-	-
manufactured insoluble dietary fiber with sodium chrorite treatment	87.5	530.7	0.301	2.013	-	2.174

표 1-6의 결과에서와 같이 α-cellulose의 순도는 아염소산나트륨 처리된 시료가 87.5%로 가장 높았지만, 중합도는 530.7로써 가장 낮게 나타났다. 한편 원소 분석 결과에서 시판되는 비수용성 식이섬유와 아염소산나트륨 처리에 의해 제조된 비수용성 식이섬유의 경우 시료에 잔존하는 염소함량이 상당히 높게 나타나는 경향을 보이고 있으며, 수산화나트륨에 의해 처리된 시료의 경우 잔존하는 염소량이 존재하지 않는 것으로 나타났다. 아염소산나트륨처리된 시료의 경우 다소 중합도가 떨어지는 경향이 있지만, 그 화학적 성상은 시판되는 비수용성 식이섬유에 비해 우수한 것으로 판명되었다. 일반적으로 아염소산나트륨 처리에 의한 탈리그닌 과정에서 처리 후 아세톤으로 세척할 경우 잔존하는 염소용액이 제거되어 지는 것으로 알려져 있지만, 본 연구의 예비 실험 결과에서 아세톤 세척을 수회 반복한다 할지라도 완전히 잔존하는 염소를 제거할 수는 없었다. 한편 본 연구에서 추진하고 있는 과제의 경우 최종 목적이 식이섬유 소재를 개발하는 것임을 감안한다면 비록 화학

적 성상이 우수하기는 하지만, 잔존하는 염소가 인체에 유해한 독소이기 때문에 화학적 처리는 폭쇄처리후 수산화나트륨으로 처리를 행하는 것이 좋을 것으로 판단되며, 비록 잔존하는 리그닌 함량이 높게 나타나고, α-cellulose의 순도가 시판되는 비수용성 식이섬유에 비해 낮게 나타나지만, 리그닌 또한 식이섬유소로 사용되고 있기 때문에 큰 문제를 유발하지는 않을 것으로 판단된다.

최종적으로 상기에서 얻어진 최적 폭쇄전처리 조건 및 폭쇄재의 화학처리 후 성분 분석 결과를 토대로 확립된 비수용성 식이섬유의 생산에 관한 최적 공정도는 다음과 같다.

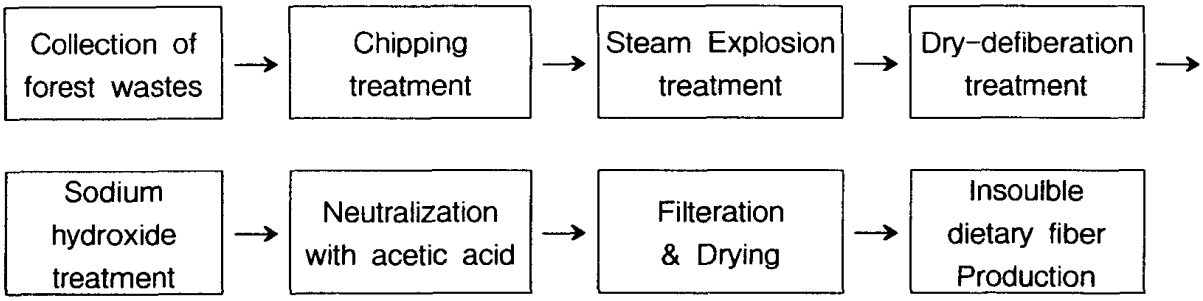


그림 1-2. 비수용성 식이섬유 제조에 관한 최적 생산 공정도

제 4절 수용성 식이섬유의 생산 기술 확립

1. 수용성 식이섬유 생산의 제조

식이섬유소의 경우 수용성 여부에 따라 약리적인 기능이 달라지므로 셀룰로오스의 중합도를 조절할 수 있는 기술력이 확보된다면 다양한 용도의 식이섬유를 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 화학적 및 생물학적 전처리를 이용한 수용성 식이섬유 생산의 최적 조건을 규명하고, 조제된 식이섬유의 성상을 조사하기 위해 시행하였다. 수용성 식이섬유를 생산하는데 있어 사용된 공시재료는 비수용성 식이섬유의 제조시 최적 조건으로 규명된 조건을 선택하였으며, 그 조건은 다음과 같다.

25kgf/㎠, 6min의 조건으로 폭쇄 처리된 신갈나무(*Quercus mongolica*)를 1% 수산화나트륨수용액으로 액비 1:50(w/w, %) 실온에서 2시간 교반하여 glass filter(1G3)로 여과한 후 그 잔사를 충분히 건조하여 본 연구의 공시재료로 사용하였다.

본 연구 계획서 상에서 수용성 식이섬유의 제조는 효소가수분해만으로 진행되도록 되어있었으나, 효소가수분해의 처리에 따른 수용성 식이섬유의 효율이 떨어지는 관계로 화학적 전처리를 병행하여 제조하였다. 따라서 다음 항부터 화학적 처리에 따른 수용성 식이섬유의 제조와 생물학적 처리에 따른 수용성 식이섬유의 제조에 관해 항을 구분하여 작성하였다.

가. 화학적 전처리에 의한 수용성 식이섬유의 제조

1% 수산화나트륨으로 전처리된 공시재료 150g에 초산 420㎖, 무수초산 375㎖, 황산 15㎖를 넣고 50℃ 감압 건조기에서 2시간 동안 반응시킨 후 포화 수산화나트

름수용액으로 pH5.5가 되도록 한 다음 여과하여 여액과 잔사를 분리하였다. 이 여액을 Chloroform으로 2회 순차 추출하고 물로 1회 정선한 다음 감압 농축한 후 에탄올에 적하시키고, 적하물은 항량에 달할 때까지 풍건시켜 수용성 식이섬유를 제조하였다.

수용성 식이섬유의 경우 일반적으로 물에 가용되는 탄수화물 성분 등을 일컬으며, 탄수화물은 중합도에 의해 수용성 등이 결정되어진다. 통상적인 수용성의 탄수화물은 그 중합도가 2~10당류 정도이며, 목재 내 주요 성분인 탄수화물은 일반적으로 고분자 상태로 존재하기 때문에 적절한 가수분해가 이루어져야 수용성으로 전환된다.

상기에서 언급한바와 같이 목재의 주성분 중 cellulose의 경우 통상적인 산가수분해법에 의해서는 화학적 반응으로 인해 그 중합도를 인위적으로 조절하기는 사실상 불가능하다. 따라서 본 연구에 사용된 화학적 전처리의 경우 목재 중 cellulose성분을 초산으로 과초분해시키면, 이 결과물로 octaacetyl cellobiose가 생성되며, 이것을 알카리에 의해 검화시키면 acetyl기의 탈리와 함께 cellobiose가 생성된다점에 착안 본 연구를 수행하였으며, 이러한 이론적 근거에 따라서 본 연구에서는 적정 과초분해의 조건을 탐지하기 위해 예비실험을 행하였고, 그 결과 가장 수율적인 측면에서 우수한 방법을 선택하게 되었다. 본 연구의 예비 실험 결과에서 얻어진 최적 과초분해 조건은 상기에서 언급한 바와 같다. 화학적처리에 의한 수용성 식이섬유의 제조 공정도를 그림 1-3에 나타냈다.

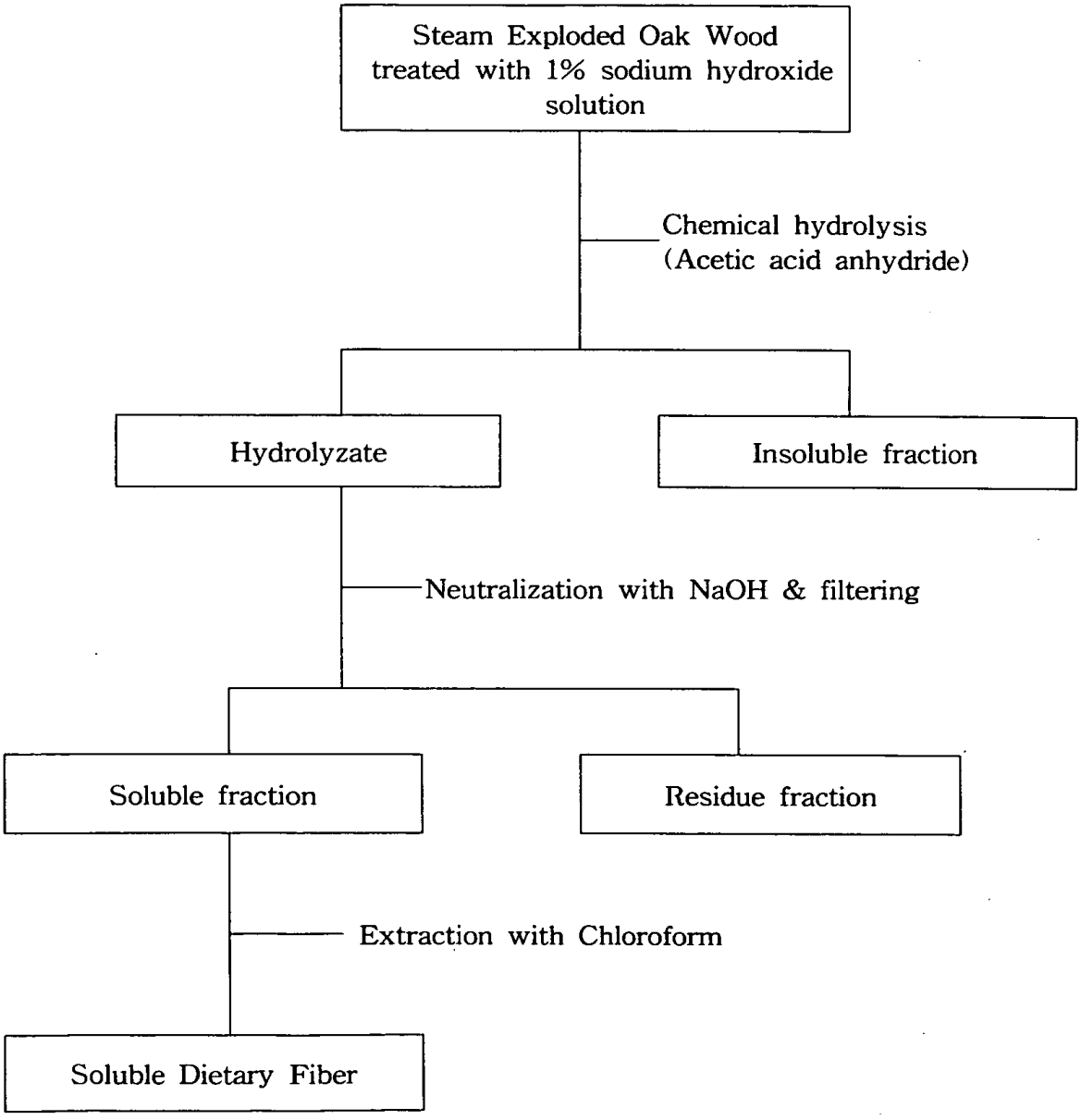


그림 1-3. 화학적처리에 따른 수용성 식이섬유 생산공정도

나. 생화학적 전처리에 의한 수용성 식이섬유의 제조

일반적으로 생화학적처리로 대별되는 효소가수분해 처리는 탄수화물의 적정 중합도 조절을 위해 사용되는 일반적인 방법이지만, 사용되는 효소의 가격이 고가이며, 효소의 재회수 등이 어렵기 때문에 수용성 식이섬유의 생산에 있어 사용되기는 다소 많은 문제점을 유발한다. 한편 탄수화물 중합도 조절을 위해 사용되는 효소의 경우 그 특성에 따라 특정 탄수화물에만 반응이 작용하는 기질 특이성을 가지고 있다. 한편 효소가수분해시 사용되는 효소의 활성을 완전히 억제하기 위해 효소가분해물은 반응 후에 5분간 물에서 자비처리하여 그 활성을 억제시켰다. 현재 cellulose를 분해할 수 있는 능력이 뛰어난 cellulase를 생산하는 균주로는 *Trichoderma, Aspergillus, Penicillium, Pellicularia, Acremonium, Humicola* 등의 사상균류가 많고, 이러한 cellulase는 효소명명법에 따라 1,4-β-D-glucan-4-glucanohydrolase, cellulose-1,4-β-cellobiosidase, β-glucosidase로 분류된다.

1,4-β-D-glucan-4-glucanohydrolase는 비결정성 cellulose를 무작위로 개열하여 glucose 소당류를 생성하는 효소로 결정성 cellulose에는 거의 작용하지 않는 endo형 cellulase라 한다. cellulose-1,4-β- cellobiosidase는 결정성 cellulose의 비환원성 말단기에 작용하여 cellobiose를 생성하는 효소로 exo형 cellulase라 한다. 한편 β- glucosidase는 cellulose를 glucose로 가수분해하는 효소로 알려져 있으며, 이러한 cellulase가 결정성이 높은 cellulose를 분해하는 기구에 관해서는 C_1-C_x설, endo-exo설 등으로 설명되고 있지만, 최근에는 이러한 효소들이 모두 복합적으로 기질에 작용하여 가수분해하는 복합 효소설에 관한 연구보고도 있다.

따라서 본 연구에서는 비교적 cellulose의 분해력이 뛰어난 *Trichoderma reesei*계 효소인 cellusoft와 *Trichoderma viride*계 효소인 Onozuka R-10을 효소가수분해 효소로 사용하였다.

본 연구에 있어 수용성 식이섬유생산을 위한 최적 공정도는 그림 1-4와 같으며, 제조된 수용성 식이섬유는 각각 다음절에서 그 화학적 성상분석을 행하였다.

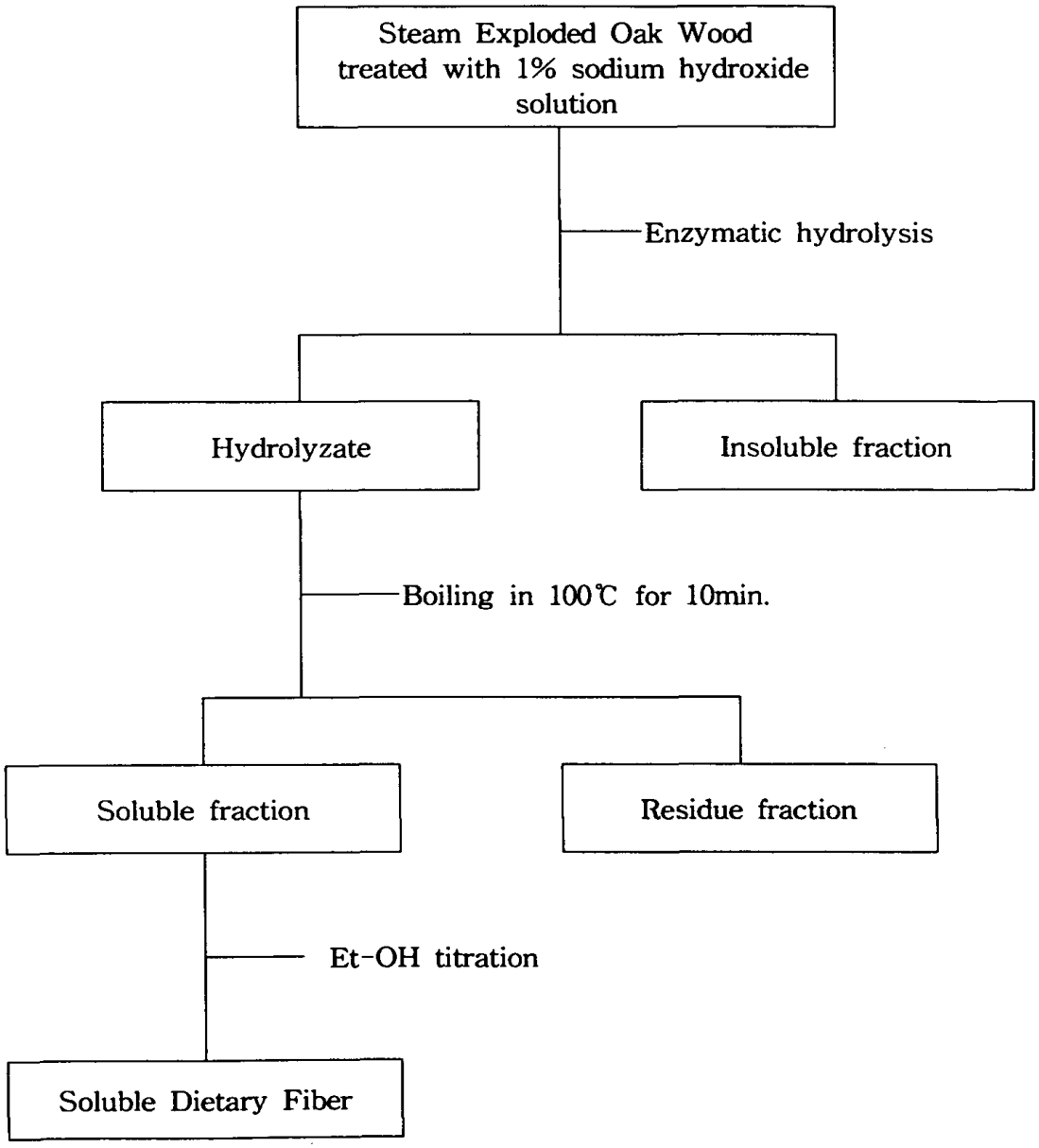


그림 1-4. 효소가수분해 처리에 의한 수용성 식이섬유 제조 공정 모식도

한편 본 연구에 사용된 효소가수분해 각각의 처리 조건은 다음과 같다.

1) *Trichoderma reesei*계를 사용한 효소가수분해

공시재료 2g을 300㎖ conical beaker 8개에 각각 넣고 0.05M Na-citrate buffer(pH4.8) 36㎖, 효소 (Cellusoft - Novo. Co)2㎖를 첨가하였다. 50℃ shaking incubator에서 각각 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96시간 반응시킨 후 glass filter(2G3)로 여과하여 효소가수분해율을 측정하였다. 최적조건으로 규명된 72시간 효소가수분해 처리 후 그 가수 분해물은 100℃ 항온수조에 5분간 방치하고 4000rpm, 7min조건에서 원심분리를 행하였다. 그 후 상등액을 40℃조건에서 감압농축하고 4배 량의 에탄올에 적하하여 수용성 식이섬유를 조제하였다.

2) *Trichoderma viride*계를 사용한 효소가수분해

공시재료 2g을 300㎖ conical beaker 8개에 각각 넣고 0.05M Na-citrate buffer(pH4.8) 41㎖, 효소(Onozuka R-10, Yakurt Co.)7㎖를 첨가하였다. 40℃ shaking incubator에서 각각 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96시간 반응시킨 후 glass filter(2G3)로 여과하여 효소가수분해율을 측정하였다. 최적조건으로 규명된 72시간 효소 가수분해 처리 후 그 가수 분해물은 100℃ 항온수조에 5분간 방치하고 4000rpm, 7min조건에서 원심분리를 행하였다. 그 후 상등액을 40℃에서 감압 농축하고 4배 량의 에탄올에 적하하여 수용성 식이섬유를 조제하였다.

2. 최적 효소가수분해 조건규명

본 연구에서 사용된 각각의 효소에 의해 최적 가수분해 조건을 규명하기 위해 각 시간대별로 효소가수분해율을 측정하였다. 수용성 식이섬유를 제조하기 위해서는 가급적이면 효소가수 분해율이 높은 조건이 우수할 것으로 예상되며, 각 시간대별의 효소가수분해율을 그림 1-5에 나타냈다.

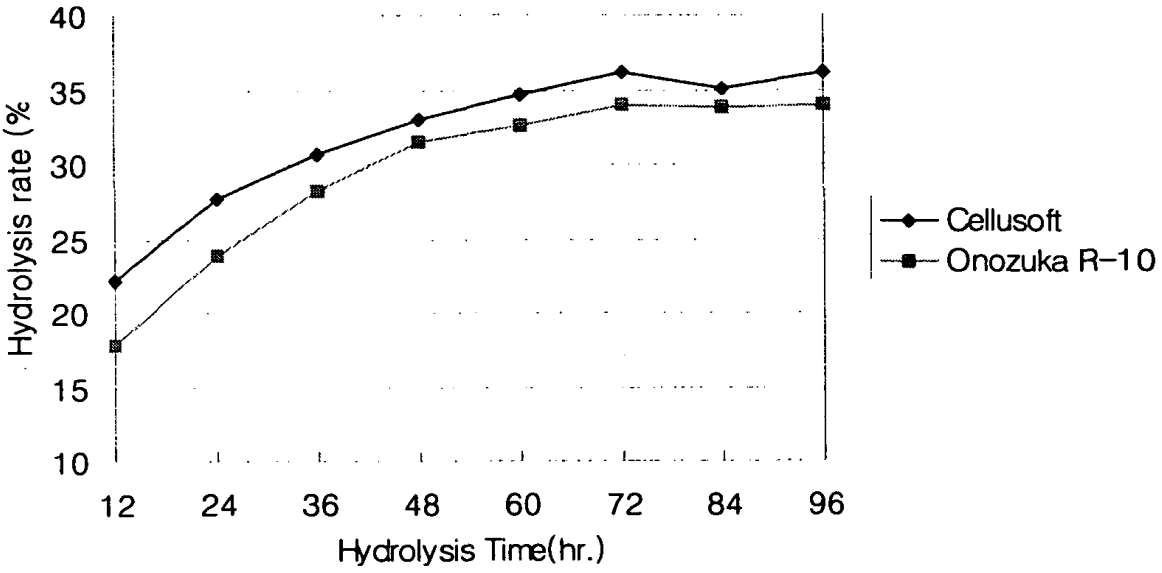


그림 1-5. 각 시간대별 효소가수분해율

그림 1-5에서 보는 바와 같이 Cellusoft시료와 Onozuka R-10시료 공통적으로 효소가수분해 처리시간이 증가함에 따라 가수분해율은 완만한 증가를 보였고, 후기에는 가수분해율의 변화가 거의 없음을 알 수 있었다. 이것은 가수분해가 진행됨에 따라 기질의 저항성이 증대되기 때문으로 생각된다. 그리고 Cellusoft와 Onozuka R-10으로 가수분해를 하였을 때 72시간이 경과되는 시기부터는 가수분해가 완전히 level off되는 것을 확인하였다. 따라서 효소가수분해 시간의 경우 72시간이 본 연구에서 가장 적합한 것으로 판단된다. 한편 cellusoft로 효소가수분해를 했을 때 onozuka R-10 효소를 사용한 경우 보다 비교적 높은 가수분해율을 보이고 있었다. 이러한 원인은 일반적으로 cellusoft 효소의 경우 탄수화물 분해시 cellulose와 hemicellulose의 분해능이 7:3의 분해능을 보이고 있어 기질내에 존재하는 hemicellulose의 분해가 비교적 많이 행해져 용출 되었기 때문이라고 생각되며, 또 하단의 표 1-8의 결과와 같이 각 효소 자체가 함유하고 있는 당량이 근본적으로

다르기 때문에 정확한 결과를 유추할 수는 없다. 한편 cellusoft 효소는 액상형이고, onozuka R-10 효소의 경우 분말형이기 때문에 기질에 사용된 효소의 활성도가 각각 다르기 때문에 두 효소간의 기질 분해능은 자체적인 분석에 의해서만 가능하리라 판단된다. 따라서 표 1-7과 1-8에서는 효소의 활성 및 당조성 분석 결과를 각각 나타내었다.

표 1-7. 본 연구에 사용된 효소의 활성도

Enzyme	CMC activity	Filter paper actvity	Xylanase activity	Mannanase activity
Cellusoft*	9.04	4.34	4.44	2.20
Onzuka R-10**	9.39	4.12	1.49	0.14

* Cellusoft unit ; Unit/ml

** Onzuka R-10 unit ; μmole / mg · min.

그림1-7에서 보는바와 같이 CMC활성 및 filter paper활성은 두 효소의 활성도가 비교적 유사하게 관찰되었으며, xylanase 및 mannase의 활성은 cellusoft효소의 활성이 높게 나타났다. 이것은 상기에서 언급한 바와 마찬가지로 cellusoft효소의 hemicellulose활성이 onozuka R-10에 비해 높다는 것을 확인할 수 있는 것이며, onozuka R-10의 경우 cellulose와 hemicellulose의 분해능이 9:1정도로 알려져 있다.

표 1-8. 각 효소의 당조성 분석.

Enzyme	Sugar composition(%)						Reducing sugar
	Rham.	Ara.	Xyl.	Man.	Gal.	Glu.	
Cellusoft	T	1.6	1.0	13.6	T	83.8	16.28*
Onozuka R-10	T	2.1	0.7	14.8	T	82.4	0.35**

* mg/ml

** mg/mg

표 1-8의 결과에서 각 효소내에 함유되어 있는 당조성분석을 행한 이유는 효소가수분해 처리 후 단리된 수용성 식이섬유의 당조성 분석 결과에 효소가 얼마나 많은 영향을 미치는지를 확인하기 위해 시행하였으며, 분석 결과 cellusoft의 당량이 onozuka R-10에 비해 높게 나타남을 확인할 수 있었다.

제 5절 생산된 수용성 식이섬유의 분석

1. 생산된 수용성 식이섬유의 분석방법

일반적으로 수용성 식이섬유의 경우 그 화학적 성상분석은 당조성 및 중합도 분석을 행하는 경우가 많다. 제조된 수용성 식이섬유의 중합도 분석은 식이섬유의 기능성과 밀접한 연관성이 있으며, 당조성의 경우는 식이섬유의 정제도와 밀접한 관련이 있다. 한편 분자량 분포 측정의 경우 일반적으로 고분자의 경우 동암모니아법등이 분자량 분포 측정에 행해지며, 수용성의 경우 그 중합도 자체가 매우 작기 때문에 column chromatography법에 의해 행해지는 경우가 많다.

본 연구에서 제조된 수용성 식이섬유의 화학적 성상분석은 분자량 분포측정 및 당조성 분석을 행하였다. 제조된 수용성 식이섬유의 분자량 분포측정을 위해 제조된 수용성 식이섬유 50㎎을 20㎖의 증류수에 용해시켜 Bio-Gel P-2가 충진된 칼럼에 주입한 후 증류수를 사용하여 용출하였다. 용출액 7㎖씩을 fraction collector(Gilson Co., FC205)를 이용하여 분취한 후 각 분획으로부터 0.5㎖씩을 취하여 페놀-황산법(490nm)으로 총 환원당량을 측정하였다. 분자량 분포측정에 사용된 표준물질은 blue dextran(Mw 1,000), cellobiose(Mw 348), glucose(Mw 180)이였다. 한편 제조된 수용성 식이섬유의 중성당 분석은 alditol-acetate법으로 행하였다.

2. 제조된 수용성 식이섬유의 당조성 분석

화학적 처리 및 생화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 당조성 분석결과 및 수율을 표 1-9에 나타내었다. 상기에서 언급한 바와 마찬가지로 식이섬유의 당조성은 식이섬유의 품질 평가에 매우 중요한 자료로 사용되며, 일반적으로 수용성 식이섬유의 경우 대부분 시중에 유통되고 있는 것이 탄수화물계 식이섬유이기 때문에 이러한 중요성은 반드시 규명될 필요성이 있다. 본 연구에서는 상기에서 업급한 바와 같이 alditol-acetate법으로 당조성분석을 행하였다.

표 1-9. 제조된 수용성 식이섬유의 수율 및 당조성 분석

Materials		Sugar composition (%)						Yield (%)
		Ara.	Xyl.	Man.	Gal.	Glu.	Rham.	
SDF with chemical treatment		-	4.9	2.7	-	92.4	-	32
SDF with biochemical treatment	Cellusoft-72hr	8.3	25.2	55.3	-	11.2	-	5.6
	Onozuka R-10 72hr	20.0	9.0	63.6	-	7.4	-	5.1

표 1-9에서 보는 바와 같이 화학적 전처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유는 생화학적 전처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유 보다 gluose함량이 월등히 높게 나타났다. cellulose를 초산으로 분해하면 2당류의 아세틸 유도체인 octaacetyl cellobiose가 이론량의 약 40%수율로 얻어지며, 이것을 알칼리로 검화하면 cellobiose가 분리된다는 보고가 있다. 따라서 본 결과에서와 같이 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 탄수화물 분석에서 glucose의 함량이 높게 나타난 것은 단리된 수용성 식이섬유의 대부분이 cellobiose이기 때문으로 생각된다. 그리고 생화학적 전처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 경우 Cellusoft 효소처리와 Onozuka R-10 효소처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유 두 시료 모두 mannose잔기의 함량이 gluose잔기의 함량 보다 높은 것으로 나타났다.

이와 같이 mannose 잔기의 비율이 높게 나타난 것은 효소 반응 기작과 관련이 있으며, Cellusoft 효소의 경우 cellulose와 hemicellulose의 분해능이 7:3정도로 알려져있고, Onzuka R-10 효소의 경우 cellulose와 hemicellulose의 분해능이 9:1정도로

알려져있다. 따라서 두 시료 모두 cellulose의 분해능이 hemicellulose의 분해능 보다 크기때문에 기질 내에 있는 cellulose가 효소의 반응 기작에 의해 대부분 monomer 형태로 분해·용출되어 에탄올 적하시 소량의 hemicellulose계 소당류만 단리된 것으로 생각된다.

한편, 화학적 전처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유와 생화학적 전처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 회수율은 32%와 5.6% 5.1%로서, 화학적 전처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유가 생화학적 전처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유 보다 약 6배 높은 효율을 보였다. 이것은 상기에서 언급한바와 마찬가지로 효소가수분해에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 경우 효소가수분해 기작 동안에 β-glucosidase의 기작에 의해 대부분이 monomer로 용출되어 단리된 수용성 식이섬유의 회수율이 낮게 나탄나는 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서 목적으로 하는 수용성 식이섬유의 제조는 화학적 처리에 의한 방법이 효소처리에 의한 방법에 비해 수율적인 측면 및 처리 경비적인 측면에서 유리한 것으로 판명되었다.

3. 제조된 수용성 식이섬유의 분자량 분포측정

그림 1-6은 과초분해를 통한 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유를 Bio-Gel P-2 column(1.5×150㎝)에서 분취하여 얻어진 fraction의 분자량 분포를 나타낸 것이다.

화학적처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 분자량 분포 측정에서 1,000~348 사이에 작은 fraction(No. 15~17)과 분자량 348 부근에서 비교적 큰 fraction(No. 9~25)을 얻었다. 한편 분자량 180 부근에는 별다른 fraction이 나타나지 않았다. 일반적으로 수용성 식이섬유의 분자량이 1,800이하이고, 분자량이 180인 monomer의 경우는 체내에 흡수, 소화되기 때문에 식이섬유로 간주될 수 없다는 점을 감안한다면 본 연구에서 제조된 수용성 식이섬유는 그 화학적 성상이 비교적 우수하다고 판명되어 졌다.한편 상기에서 언급한바와 마찬가지로 cellulose의 과초분해후 검

화에 의해 cellobiose가 얻어지기 때문에 분자량 분포곳선에서도 2당류의 fraction이 가장 크게 얻어졌다고 생각된다. 그리고 분자량 분포곡선을 검토해 볼 때 화학적 처리에 의해 얻어지는 분자량 348부근의 peak로 보아 2당류로 구성된 형태임을 알 수 있고, 1,000~348 사이에 작은 peak는 소량의 소당류가 존재함을 알 수 있었다.

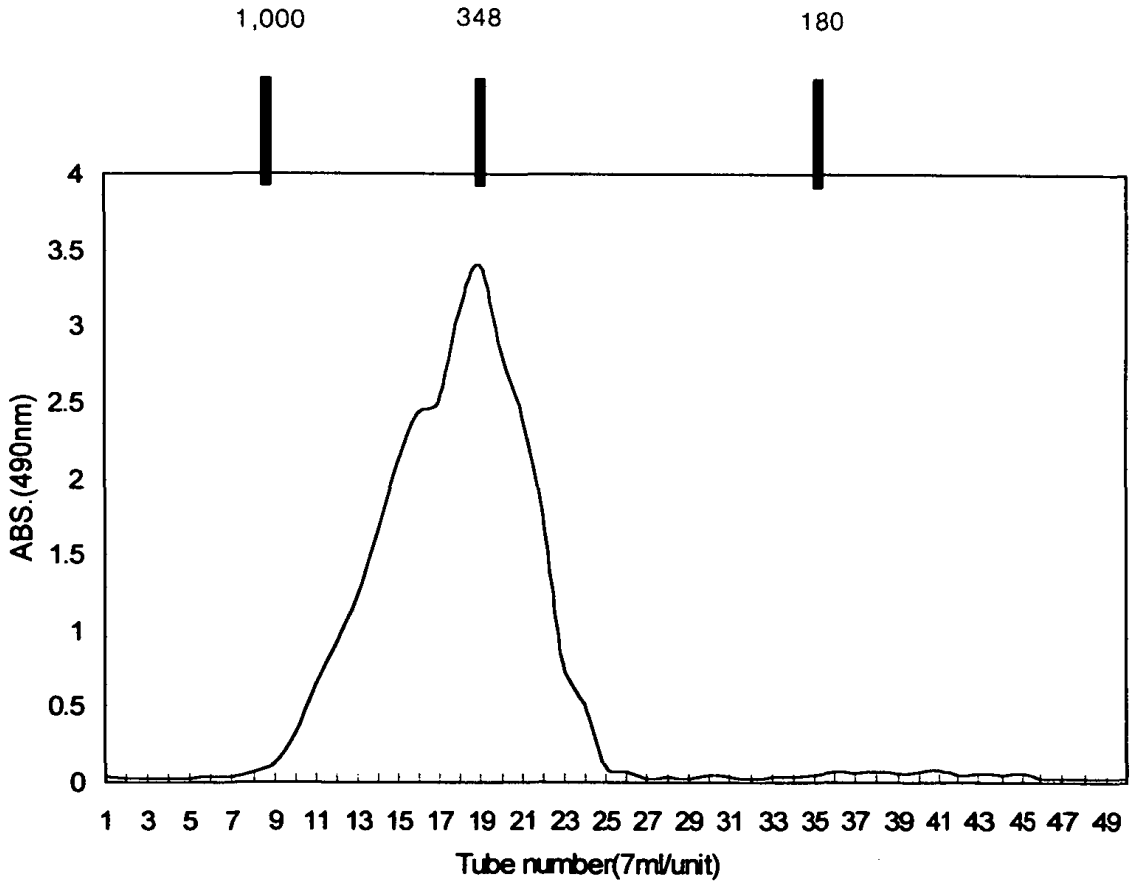


그림 1-6. 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 분자량분포

한편 그림 1-7은 효소가수분해를 통한 생화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유를 Bio-Gel P-2 column(1.5×150㎝)에서 분취하여 얻어진 fraction의 분자량 분포를 나타낸 것이다.

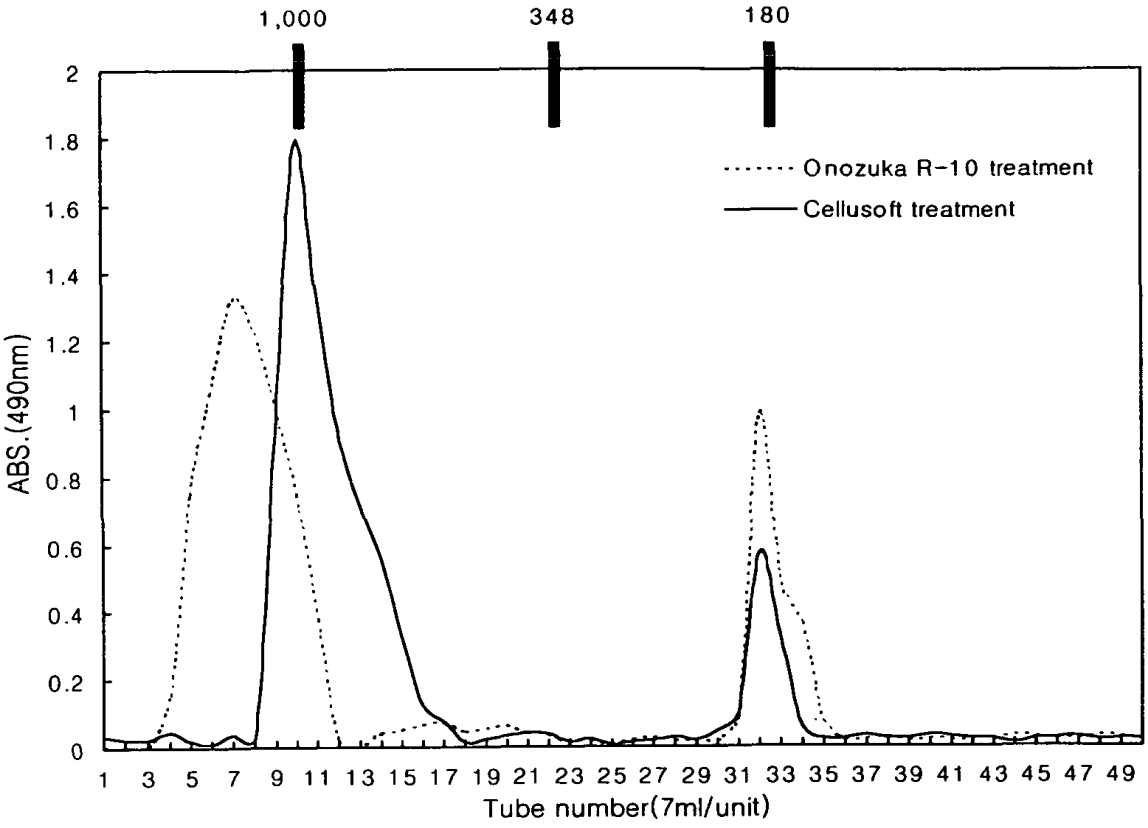


그림 1-7. 생화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 분자량 분포

그림 1-7에서 점선으로 나타난 분자량 분포곡선은 공시재료를 Onozuka R-10으로 효소가수분해 하여 제조된 수용성 식이섬유의 gel chromatogram을 나타낸 것이고, 실선으로 나타낸 분자량 분포곡선은 Cellusoft의 효소가수분해에서 제조된 수용성 식이섬유의 gel chromatogram을 나타낸 것이다.

Onozuka R-10 효소로 처리하여 제조된 수용성 식이섬유의 gel chromatogram에서 fraction No. 3~12의 고분자 fraction을 얻었으며, fraction No. 31~34에서 저분자 fraction을 얻었다. 한편 Cellusoft로 처리되어 제조된 수용성 식이섬유의 경우

fraction No. 9~17에서 고분자 fraction을 얻었다. 두 시료의 분자량 분포 곡선에서 분취된 fraction을 비교해 볼 때 Onozuka R-10 효소에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 분자량이 Cellusoft 효소에 의한 것 보다 분자량이 큰 고분자물임을 확인할 수 있었다.

한편 Onozuka R-10 효소로 처리되어 제조된 수용성 식이섬유의 중합도가 Cellusoft 효소로 처리되어 제조된 수용성 식이섬유에 비해 다소 높게 나타난 것은 Onozuka R-10 효소의 β-glucosidase의 활성이 Cellusoft에 비해 떨어지기 때문에 이러한 결과가 얻어진 것으로 생각된다.

최종적으로 수용성 식이섬유 제조 및 성상분석 통하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

화학적 처리에 따른 수용성 식이섬유의 최적 제조 조건은 잔사 : 초산 : 무수초산 : 황산을 16 : 44 : 39 : 1의 비율로 2시간 동안 반응시키는 것이 매우 효과적이며, 효소가수분해 처리 조건으로 72시간 동안 반응시킨 것이 가장 효과적이 것으로 밝혀졌다. 수용성 식이섬유의 성상분석결과 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유는 주로 이당류가 존재하지만, 생화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유는 분자량이 비교적 큰 소당류로 구성되어 있음을 확인하였다. 한편 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유와 생화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 수율은 32%와 5.6% 5.1%로 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 수율이 월등히 높았다. 따라서 수용성 식이섬유의 제조 시 생화학적 전처리에 의한 방법보다 화학적 전처리에 의한 방법이 더 효과적인 판단된다.

제 2장 생산된 식이섬유의 기능성 검정 및 용도 모색

제 1절 서 설

1. 제조된 비수용성 식이섬유의 기능성 검정

본 연구는 임지에서 배출되는 임지폐잔재 및 간벌재로부터 비수용성 식이섬유소를 생산하고 생산된 식이섬유의 기능성이 동물실험을 통해 검정함으로써 현재 막대한 양이 수입되고 있는 식이섬유소의 대체소재를 확보하고, 신기능성의 식이섬유를 개발함에 그 목적이 있다. 따라서 폐자원으로부터 제조된 비수용성 식이섬유소를 공급받아 현재 시판되고 있는 비수용성 식이섬유와 그 기능성 (지질조성 개선효과, 산화적 손상 완화작용, 항산화계 효과 및 생체유해성)을 비교 검정함으로 써 효과를 관찰코자 하였다.

즉, 흰쥐에 고콜레스테롤 식이를 공급하면서 섬유소 종류와 농도에 따라 실험군을 나누어 사육한 후 혈중 triglyceride, total cholesterol 및 간조직 중의 triglyceride, total cholesterol 함량 등의 지질조성 개선 효과를 검정하였으며 또 지질대사 이상으로 인한 노화나 암 및 성인병 유발인자인 지질과산화물을 total-TBARS, HDL-TBARS, LDL-TBARS로 나누어 관찰함으로써 동맥경화 유발억제에 대한 조제된 식이섬유소의 효과를 관찰하였다. 또한 간조직중의 glutathione peroxidase (GSHpx), superoxide dismutase (SOD) 활성 및 지질과산화물의 축적상태 및 간조직중의 병리 조직학적 검사를 관찰하여 조직의 산화적 손상완화 작용 및 항산화계 강화효과를 검정하였다.

또한 생체 유해성 검정을 알아보기 위해 간조직의 glutathione S-transferase (GST) 활성, 혈청 GOT 및 GPT 활성 및 간조직의 cytochrome P_{450} 함량을 관찰하였다.

이와같이 본 연구에서는 임지폐잔재로부터 제조공정이 확립된 제1 세부과제에서 제조된 비수용성 식이섬유소와 시판용 비수용성 섬유소를 동물실험을 통한 생체 무독성 및 그 생리적 효능을 검정하여 임지폐잔재로부터 비수용성 식이섬유의 기능성을 비교 검토하였다.

2. 제조된 수용성 식이섬유소의 기능성 검토

수용성 식이 섬유소의 다량섭취는 혈장 중성지질과 콜레스테롤 함량을 저하시킴으로써 심장병 발병율을 감소시키며 또 당뇨병이나 비만의 유발도 감소시킨다고 보고한다. 이에 본 연구에서는 임지에서 배출되는 임지폐잔재로부터 수용성 식이섬유소를 생산할 수 있는 기술력을 확보하고 생산된 수용성 식이섬유소의 기능성이 동물 실험을 통해 검정됨으로 써 그 용도가 개발되지 못해 폐기되고 있는 임지폐잔재를 고부가가치화하여 농민의 실질적인 소득증대에 기여할 수 있을 것으로 생각하며, 식이섬유소와 관련한 산업의 발전 및 현재 수입되고 있는 식이섬유의 대체소재를 개발하는 것이 목적이다.

본 연구에서는 임지폐잔재로부터 제조된 수용성 식이섬유소를 공급받아 시판되고 있는 수용성 식이섬유소와의 생리적 기능성을 검정하기 위해 고콜레스테롤 식이 흰쥐에 미치는 섬유소의 영향과 그 작용기전을 관찰하였다. 즉, 장기능 개선과 해독작용 등의 효과를 알아보기 위해, 시판 및 조제 수용성 식이섬유소를 농도별로 섭취케하고 장내용물의 장통과 시간측정, 혈중지질대사 개선효과 및 장기무게를 측정하였다. 또한 수용성 섬유소의 담즙산 흡수 지연효과를 관찰하기 위해 대변중의 담즙산 함량과 분변중의 지질함량 측정하였다. 또한 생체유해성을 관찰하기 위하여 혈청 GOT, GPT 활성도 측정, 간조직의 TBARS 함량, cytochrome P_{450} 함량, glutathione S-transferase (GST) 함량 및 분변중의 무기질 배설량을 관찰하였다. 이러한 연구내용으로부터 생산된 수용성 식이섬유소와 기존 시판되고 있는 수용성 섬유소와 그 생리적 기능을 비교하였다.

제 2절 시판되는 비수용성 식이섬유의 기능성 평가방법

1. 비수용성 섬유소의 기능성 검토

가. 제조된 비수용성 식이섬유소의 지질조성 개선 효과 검정

1) 실험재료

본 실험에 사용한 시판 비수용성 식이섬유로는 Sigma사 제품 (Lot No.C-8002) α-cellulose를 사용하였고, 제조된 비수용성 식이섬유소는 제1세부과제에서 화학처리에 의한 고순도의 α-cellulose 시료를 가지고 각각 기능성을 비교 실험하였다.

2) 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 150 gm 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 대전화학연구소에서 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료로 일주일간 예비사육후 난괴법 (randomized complet block design)에 의해 정상군과 1% 고콜레스테롤식이 실험군으로 나눈 후 고콜레스테롤 실험군을 다시 표 2-1과 같이 섬유소 종류와 공급수준에 따라 각각 10마리씩 6군으로 나누어 4주간 사육하였다 (1차년도). 사육실의 온도는 22±3℃였고 습도는 50±10%였다. 그리고 식이와 식수는 자유섭취케 하였다.

3) 체중증가, 식이섭취 및 식이효율

식이섭취량은 전 실험기간동안 매일 일정시간에 측정하였다. 체중은 실험기간 동안 3일에 한번씩 측정하였고 사육실의 온도는 22±3℃였고 습도는 50±10%였다. 식이효율 (Food Efficiency Ratio, FER)은 전 체중증가량을 같은 기간동안의 식

이섬취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

Table 2-1. Classification of experimental groups according to different insoluble dietary fiber and levels of rats fed high cholesterol (%)

groups / Ingredients	Normal*	High cholesterol diet				
		FF	5C	10C	5M	10M
Starch[1]	65	68.8	63.8	58.8	63.8	58.8
Casein[2]	15	15	15	15	15	15
Salt mixture[3]	4	4	4	4	4	4
Vitamin mixture[4]	1	1	1	1	1	1
Corn oil[5]	5	5	5	5	5	5
Sucrose[6]	5	5	5	5	5	5
Sodium Cholate[7]	-	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Cholesterol[8]	-	1	1	1	1	1
Commercial insoluble fiber[9]	-	-	5	10	-	-
Manufacture insoluble fiber[10]	-	-	-	-	5	10
Total(%)	100	100	100	100	100	100

1) Pung Jin Chem. Co., Seoul. Korea.
2) Lactic Casein, 30 mesh, Newzealand Dairy Board, Wington, N, Z.
3) AIN-76 Salt mixture (g/kg mixture)
4) AIN-76 vitamin mixture (mg/kg mixture)
5) Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea
6) Sam Yang Co., Seoul, Korea
7) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
8) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
9) α-cellulose, Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
10) Manufactured α-cellulose from the forest wasters

4) 혈액 및 장기채취

사육기간 완료 후 12시간 절식시킨 실험 동물을 가벼운 에테르 마취하에서 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하여 실온에서 30분간 방치한 후 1,500×g에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 분석시까지 -80℃에서 냉동 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 장기들을 적출하여 생리 식염수로 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80℃에서 냉동 보관하였다.

5) 장통과 시간 (Gastrointestinal transit time) 측정

Marker로 사용한 Carmine red (Sigma Chem. Co. C1022)를 0.5% 농도로 각 실험 식이에 첨가하여 실험 4주째에 공급하고 매시간 marker의 변 중 배출을 체크하였다. 실험식 급여 시작시간과 marker가 변 중에 처음 나타나기까지의 시간 간격을 장통과 시간으로 하였다.

6) 혈중 콜레스테롤 함량 및 혈중 중성지방 함량 측정

혈중 콜레스테롤 함량 및 중성지방 함량은 표준 효소법에 의한 kit (아산제약)를 사용하여 500 nm, 550 nm에서 각각 흡광도를 측정하여 계산하였다.

7) 간조직중의 콜레스테롤 함량 및 혈중 중성지방

간조직에서 Folch 등의 방법에 의해 지질을 추출하였다. 표준효소법에 의한 Kit(아산제약) 시액을 사용하여 각각 550 nm와 500 nm에서 각각 비색정량 하였다.

나. 제조된 비수용성 식이섬유의 산화적 손상완화작용 및 항산화계 강화 효과 검정

1) 혈청중의 과산화지질 정량

과산화지질의 분석은 TBA와 반응하는 물질 즉, TBARS를 n-butanol로 추출하여 excitation 파장 515 nm, emission 파장 533 nm에서 형광을 측정하는 Yagi 법을 이용하였고, 이때 표준품은 1,1,3,3-tetra-ethoxy-propane을 사용하였다.

2) Glutathione peroxidase (GSHpx) 활성 측정

GSHpx 활성은 Lawerence 및 Burk의 방법에 따라 효소활성의 1 단위를 1 분간 1 μmol의 산화형 NADPH를 생성하는 효소의 양으로 340 nm에서 측정하였다

3) Superoxide dismutase (SOD) 활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund and Marklund의 방법에 따라 산화된 pyrogallol의 흡광도를 420 nm에서 측정하였다.

4) 간조직중의 과산화지질(TBARS) 정량

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 물질 (TBARS)를 측정하는 Satoh 방법을 이용하여 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때표준품으로는 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 사용하였다.

5) 간조직의 광학현미경적 관찰

간장의 중엽에서 일부 간장 조직을 절취하고 10% neutral formalin 용액에

고정한 다음 수세, 탈수과정을 거친 후 parafflin block은 4-5 μm두께로 박절하여 Hematoxylin-Eosin으로 염색하고 400 배율로 광학현미경으로 관찰하였다.

다. 생체유해성 검정

1) 간조직의 Glutathione S-transferase (GST) 활성 측정

GST 활성도 측정은 Habig의 방법에 따라 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 효소활성의 단위는 1분간 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 conjugated DCNB를 nmol로 나타내었다.

2) 혈청 GOT, GPT 활성도 측정

혈청 GOT와 GPT 활성도는 Reitman과 Frankel의 방법을 응용한 아산제약의 GOT, GPT 측정용 kit를 사용하여 측정하였다. 즉, GOT 기질로써 alanine, α-ketoglutaric acid 용액에 각각 혈청을 가하여 37℃에서 1분간 효소반응 시키고 이때 생성된 각 oxaloacetic acid, pyruvic acid 생성물에 2,4-dinitrophenyl hydrazine color reagent를 가하여 hydrazone을 만든 다음 알칼리를 넣어 발색되는 적갈색을 505 nm에서 비색 정량 하였다.

3) 간조직의 Cytochrome P_{450} 함량

간조직의 microsome 중의 cytochrome P_{450} 함량은 Omura와 Sato의 방법으로 환원형 일산화탄소 결합물을 450 nm와 490 nm에서 spectrophotometer로 측정하였다. 즉, 냉동 보관한 microsome 용액을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 희석시켜 1 mg/ml의 단백질 농도로 만든 다음 sodium dithionite를 넣고 CO gas로 bubbling 시킨 후 450 nm와 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 91 $mM^{-1}cm^{-1}$로 하였다.

4) 단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 각 효소의 단백질 정량은 Lowry법을 이용하여 정량하였다.

5) 통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 분산분석을 수행하였으며 분산분석결과 유의성이 발견된 경우군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

2. 수용성 섬유소의 기능성 검토

가. 시판되고 있는 수용성 식이섬유 및 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선효과 검정

1) 실험재료

본 실험에 사용한 시판되는 수용성 식이섬유로는 Sigma사 제품 (Lot No.C-8002) pectin을 사용하였고, 제조된 수용성 식이섬유로는 제1세부과제에서 화학처리에 의한 고순도의 cellulose 시료를 가지고 각각 기능성을 비교 실험하였다.

2) 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 150gm 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 대전화학연구소에서 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료로 일주일간 예비사육 후 난괴법(randomized complet block design)에 의해 정상군과 1% 고콜레스테롤식이 실험군으로 나눈후 고콜레스테롤 실험군을 다시 표 2-2와 같이 섬유소 종류와 공급수준에 따라 각각 10마리씩 6군으로 나누어 4주간 사육하였다.

3) 체중증가, 식이섭취 및 식이효율

식이섭취량은 전 실험기간동안 매일 일정시간에 측정하였다. 체중은 실험기간 동안 3일에 한번씩 측정하였고 사육실의 온도는 22±3℃였고 습도는 50±10%였다. 식이효율 (Food Efficiency Ratio, FER)은 전 체중증가량을 같은 기간동안의 식이섭취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

4) 혈액 및 장기채취

사육기간 완료 후 12시간 절식시킨 실험 동물을 가벼운 에테르 마취하에서 22 gauge의 주사기로 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하여 실온에서 30분간 방치한 후 1,500×g에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 분석시까지 -80℃에서 냉동 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 장기들을 적출하여 생리 식염수로 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80℃에서 냉동 보관하였다.

5) 장통과 시간 (Gastrointestinal transit time) 측정

Marker로 사용한 Carmine red (Sigma Chem. Co. C1022)를 0.5% 농도로 각 실험 식이에 첨가하여 실험 4주째에 공급하고 매시간 marker의 변 중 배출을 체크하였다. 실험식 급여 시작시간과 marker가 변 중에 처음 나타나기까지의 시간 간격을 장통과 시간으로 하였다.

Table 2-2. Classification of experimental groups according to different soluble dietary fiber and levels of rats fed high cholesterol *(%)*

Ingredients \ groups	Normal*	High cholesterol diet				
		FF	5P	10P	5M	10M
Starch[1]	65	68.8	63.8	58.8	63.8	58.8
Casein[2]	15	15	15	15	15	15
Salt mixture[3]	4	4	4	4	4	4
Vitamin mixture[4]	1	1	1	1	1	1
Corn oil[5]	5	5	5	5	5	5
Sucrose[6]	5	5	5	5	5	5
Sodium Cholate[7]	-	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Cholesterol[8]	-	1	1	1	1	1
Commercial soluble fiber[9]	-	-	5	10	-	-
Manufacture soluble fiber[10]	-	-	-	-	5	10
Total(%)	100	100	100	100	100	100

1) Pung Jin Chem. Co., Seoul. Korea.
2) Lactic Casein, 30 mesh, Newzealand Dairy Board, Wington, N, Z.
3) AIN-76 Salt mixture (g/kg mixture)
4) AIN-76 vitamin mixture (mg/kg mixture)
5) Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea
6) Sam Yang Co., Seoul, Korea
7) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
8) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
9) Pectin, Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A
10) Manufactured soulble fiber from the forest wasters

6) 혈중 콜레스테롤 함량 및 혈중 중성지방 함량 측정

혈중 콜레스테롤 함량 및 중성지방 함량은 표준 효소법에 의한 kit (아산제약)를 사용하여 500 nm, 550 nm에서 각각 흡광도를 측정하여 계산하였다.

7) 간조직중의 콜레스테롤 함량 및 혈중 중성지방

간조직에서 Folch 등의 방법에 의해 지질을 추출하였다. 표준효소법에 의한 Kit (아산 Co.)시액을 사용하여 각각 550 nm와 500 nm에서 각각 비색정량 하였다.

나. 담즙산의 대사기능 측정

1) 중성 sterol 함량 측정

건조 분변 1 g을 시료로 채취하여 곱게 분쇄한 뒤 Cuzubakyo 등의 방법에 의해 담즙산을 추출한 후 Macdonald 등의 방법에 따라 효소법으로 측정하였다. 중성 스테롤 추출단계 중 원심분리하여 얻어진 수용성 하층 분획에 10 N HaOH 용액을 2 ml 넣어 15 psi로 autoclaver에서 3시간 soponification 한 다음 증류수 5 ml를 가하고 25% HCl로 pH 1.5로 맞추고 diethyl ether 7 ml 넣어 상층액을 수집하는 과정을 3회 반복하였다. 수집한 상층액을 회전증발기로 농축시킨 후 질소가스로 완전히 건조시켜 MeOH : H_2O (5:1)혼액에 용해시켜 일정량을 bile acid 측정용 시료로 취하여 효소법에 의해 340 nm에서 정량하였다.

2) 분변의 중성 sterol (cholesterol, coprostanol, coprostanone) 함량

분변의 중성 스테롤, 즉 cholesterol, coprostanol 및 coprostanone양은 Czubayko 등의 방법에 따라 건조된 분변을 막자사발에 갈아서 1 g을 취한 후 internal standard 로써 1 mg 5α-cholestane을 첨가하였다. 여기에 1 N NaOH (in

90% ethanol) 10 ml를 가하여 67℃ 수용상에서 1시간동안 알칼리로 가수분해시킨 후, 실온에서 식힌 다음 물 5 ml를 가하고 7 ml cyclohexane으로 세 번 추출하였다. 추출된 cyclohexane 용액은 질소 gas 하에서 건조시킨 후 cyclohexane 60 ㎕로 용해시켜 GC로 정량하였다. 이 방법은 TLC (thin-layer chromathography) 단계와 시료의 메틸화과정을 생략할 수 있는 간단한 방법이며 GC의 분석 조건은 표 2-3과 같다.

Table. 2-3. Operating conditions of Gas Chromatography for analysis fecal neutral sterols

Items	Conditions
Column	Supelco SAC^{TM}-5Capillary
Detector	FID
Column temperature	285℃
Detector temperature	300℃
Injector temperature	300℃
Carrier gas	N_2 (28 ml/min)

다. 분변중의 지질함량 측정

1) 분변의 총지질

실험전 마지막 3일간 변의 wet 무게를 측정한 후 freer dryer (-70℃)에서 항량에 도달할 때 까지 냉동건조시킨 뒤 건조중량을 측정하여 변중의 수분 함량을 계산하였다. 분변의 총지질은 Folch 등의 방법에 의해 추출하여 정량하였다.

2) 분변중의 triglyceride 함량 측정

Sale 등에 의해 수정된 방법에 의해 500 nm에서 정량하였다.

라.생체 유해성

1) 혈청 GOT, GPT 활성도 측정

혈청 GOT와 GPT 활성도는 Reitman과 Frankel의 방법을 응용한 아산제약의 GOT, GPT 측정용 kit를 사용하여 측정하였다. 즉 GOT기질로써 alanine, α-ketoglutaric acid 용액에 각각 혈청을 가하여 37℃에서 1분간 효소반응 시키고 이때 생성된 각 oxaloacetic acid, pyruvic acid 생성물에 2,4-dinitrophenyl hydrazine color reagent를 가하여 hydrazone을 만든 다음 알칼리를 넣어 발색되는 적갈색을 505 nm에서 비색 정량 하였다.

2) 간조직중의 과산화지질(TBARS) 정량

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 물질 (TBARS)를 측정하는 Satoh방법을 이용하여 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때표준품으로는 1,1,3,3,-tetramethoxy 1,1,3,3,-tetramethoxypropane을 사용하였다.

3) 간조직의 Cytochrome P_{450} 함량

간조직의 microsome 중의 cytochrome P_{450} 함량은 Omura와 Sato의 방법으로 환원형 일산화탄소 결합물을 450 nm와 490 nm에서 spectrophotometer로 측정하였다. 즉, 냉동 보관한 microsome용액을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 희석시켜 1 mg/ml의 단백질 농도로 만든 다음 sodium dithionite를 넣고 CO gas로 bubbling시킨 후 450 nm와 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때의 molar extinction coefficient는 91 $mM^{-1}cm^{-1}$로 하였다.

4) 간조직의 Glutathione S-transferase 활성 측정

GST 활성도 측정은 Habig의 방법에 따라 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 효소활성의 단위는 1분간 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 conjugated DCNB를 nmol로 나타내었다.

5) 분변중의 무기질 배설량 측정

대사 Cage에서 수집한 분변을 건조시킨 후 무기질 함량을 AOAC법에 의하여 회화시킨 후, 5% HNO_3에 녹인 다음 원자흡광분광계 (Unicam, Solar 929, UK)를 이용하여 Ca은 427 nm, Fe은 248.3 nm 및 Mg은 202.5 nm에서 흡광도를 측정하여 분변의 무기질 함량을 측정하였다.

제 3 절 비수용성 섬유소의 기능성 검토

1. 시판되고 있는 비수용성 식이섬유 및 제조된 비수용성 식이섬유의 지질조성 개선 효과 검정

가. 체중증가 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율은 표 2-4와 같다. 식이 섭취량과 체중증가는 정상군에 비해 무섬유식이군에서 증가되었으나 고콜레스테롤 식이군 간에는 차이가 없었다. 식이효율은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)이 다소 증가하였으나 섬유소 종류별, 농도별 차이가 없었다. 이러한 변화는 제조 섬유소군과 시판 섬유소군에서 동일하였다.

Table 2-4. Effects of insoluble dietary fibers on food intake, body weight gains and food efficiency ratio(FER) in rats fed high cholesterol

Groups	Food intake	Body weight gain	FER
	(g/body wt)	*(g)*	
Normal	24.50 ± 0.61^{a}	168.0 ± 7.0^{a}	0.29 ± 0.03^{NS}
FF	25.93 ± 0.28^{b}	185.2 ± 5.3^{b}	0.29 ± 0.02
5C	26.70 ± 0.37^{b}	181.0 ± 8.1^{b}	0.29 ± 0.01
10C	27.29 ± 0.73^{b}	183.2 ± 5.2^{b}	0.30 ± 0.02
5M	26.34 ± 0.81^{b}	184.5 ± 6.9^{b}	0.29 ± 0.01
10M	27.43 ± 0.95^{b}	183.2 ± 5.8^{b}	0.31 ± 0.01

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

나. 장기 무게

단위 체중 당 간장, 신장, 소장 및 맹장의 무게는 표 2-5와 같다. 간장무게는 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군) 모두가 유의적 ($p<0.05$)으로 높았으며 고콜레스테롤 실험군 간에는 유의적인 ($p<0.05$) 차이가 없었다. 신장의 무게는 실험군간에서 유의적인 ($p<0.05$) 차이가 없었다. 소장의 무게는 정상군과 무섬유식이군 (FF군)은 차이가 없었으나 섬유소 공급군에서 모두 유의적($p<0.05$)으로 높았다. 맹장의 무게는 정상군에 비해 실험군에서 증가하였고 특히 시판 및 제조 섬유소를 5% 씩 공급한 5C군과 5M군 식이에서 무섬유식이군 (FF군)에 비해 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. 이러한 변화는 시판 섬유소와 제조 섬유소간에 차이는 없었다.

Table 2-5. Organ weights of rat fed insoluble dietary fibers.

(g/100g Body weight)

Groups	Liver	Kidney	Intestine	Cecum
Normal	2.96 ± 0.27^{a}	0.69 ± 0.05^{NS}	2.02 ± 0.07^{a}	0.57 ± 0.05^{a}
FF	5.06 ± 0.10^{b}	0.68 ± 0.03	2.26 ± 0.19^{ab}	0.69 ± 0.05^{a}
5C	5.19 ± 0.14^{b}	0.65 ± 0.01	2.49 ± 0.07^{b}	0.86 ± 0.06^{b}
10C	5.16 ± 0.14^{b}	0.68 ± 0.02	2.41 ± 0.14^{b}	0.61 ± 0.07^{ab}
5M	4.97 ± 0.10^{b}	0.66 ± 0.01	2.54 ± 0.15^{b}	0.79 ± 0.11^{b}
10M	5.04 ± 0.15^{b}	0.66 ± 0.02	2.58 ± 0.09^{b}	0.67 ± 0.05^{ab}

All values are mean±SE (n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

다. 장기능 개선 효과 관찰

1) 장 통과시간 (Gastrointestinal transit time)의 변화

제조된 비수용성 식이섬유소의 장기능개선 효과를 관찰하기 위하여 장통과 시간을 실험 2주 및 4주에 각각 관찰한 결과 (그림 2-1) 무섬유식이군 (FF군)에 비해 실험군 모두 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었으며 식이섬유소 공급군에서는 농도가 높을수록 농도 의존적으로 2주 및 4주 모두 장통과시간이 단축되었다. 그리고 이러한 경향을 제조 섬유소 군과 시판 섬유소군 간에는 차이가 없었다.

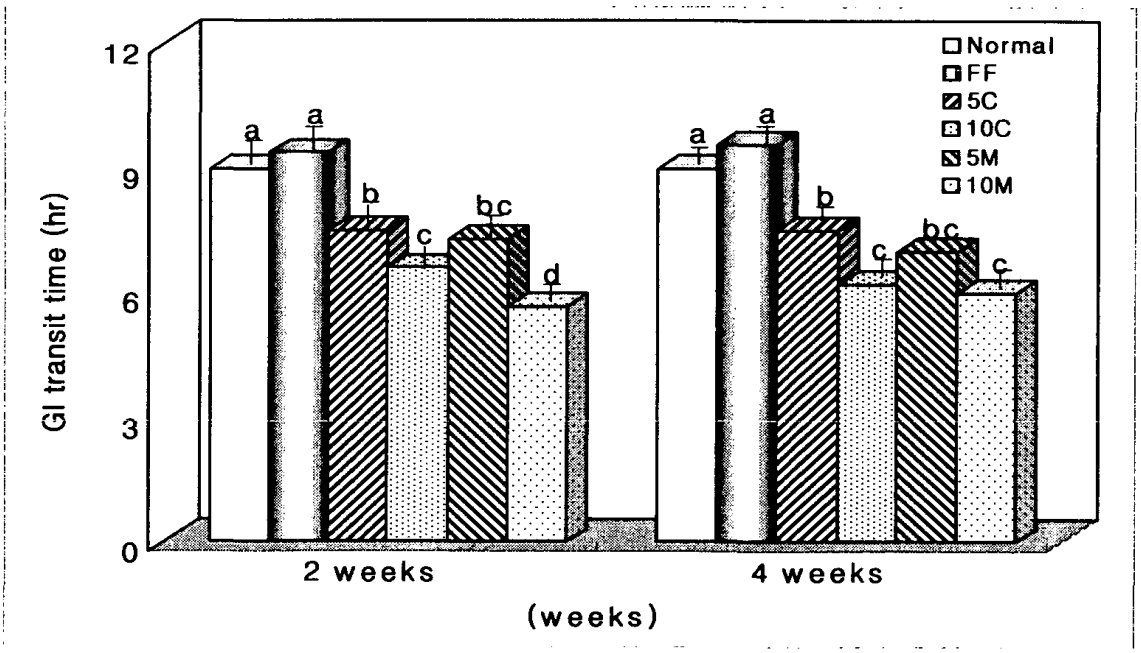


Fig. 2-1. Effects of insoluble dietary fibers on gastrointestinal transit time in rats fed high cholesterol diet.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

2) 분변의 배설량 및 분변내 수분 함량

분변의 배설량 및 분변내 수분함량을 결과는 표 2-6과 같다. 분변 배설량은 정상군에 비해 무섬유식이군 FF군에서 42% 감소하였다. 5C군, 10C군, 5M군 및 10M군에서는 무섬유식이군 (FF군)에 비해 116%, 180%, 126 및 244%씩 각각 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었고 섬유소의 공급수준이 증가할 수록 농도 의존적으로 배변량이 증가되었다. 분변중의 수분 함량은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)에서는 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었으며 무섬유식이군 (FF군)에 비해 섬유소 공급군 모든 실험군에서 각각 유의적 ($p<0.05$) 으로 증가되어 농도가 증가할수록 분변내의 수분 함량이 증가되었다. 그리고 이러한 경향은 제조 섬유소군과 시판 섬유소 간에는 차이가 없었다.

Table 2-6. Weights and water contents of feces in rats fed cholesterol diets with insoluble dietary fibers *(g/day)*

Groups	Wet weight	Dry weight	Water content
Normal	2.01 ± 0.10^{a}	1.83 ± 0.02^{a}	0.17 ± 0.01^{a}
FF	1.16 ± 0.02^{b}	1.15 ± 0.14^{b}	0.02 ± 0.01^{b}
5C	2.52 ± 0.23^{c}	2.32 ± 0.12^{c}	0.20 ± 0.02^{c}
10C	3.97 ± 0.11^{d}	3.42 ± 0.31^{d}	0.55 ± 0.02^{d}
5M	2.63 ± 0.58^{c}	2.42 ± 0.33^{c}	0.22 ± 0.03^{c}
10M	4.01 ± 0.35^{d}	3.49 ± 0.08^{d}	0.52 ± 0.02^{d}

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

3) 혈청 및 간조직 중의 콜레스테롤과 중성지방 함량

혈청 총 콜레스테롤 및 중성지방 농도는 표 2-7과 같다. 혈청 총 콜레스테롤 및 중성지방 수준은 정상군에 비해 실험군 모두가 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었으며 무섬유식이군인 FF군에 비해 섬유소 공급군이 다소 낮은 경향은 있었지만 유의적인 수준은 아니었다.

간조직의 콜레스테롤 함량에 대한 비수용성 식이 섬유소를 관찰한 결과 (표 2-7) 무섬유식이군 (FF군)에 비해 5C군, 10C군, 5M군 및 10M군에서 각각 22%, 28%, 22% 및 17%씩 유의적 ($p<0.05$)으로 감소되었다. 그리고 제조 섬유소와 시판 섬유소군 간에는 차이가 없었다. 간조직에서의 중성지질 함량에 대한 비수용성 섬유소 효과를 관찰한 결과 비수용성 섬유소의 영향은 없었다. 그리고 혈청 및 간조직에서의 지질조성에 미치는 시판 섬유소군과 제조 섬유소군 간에는 차이가 없었다.

Table 2-7. Effect of insoluble dietary fibers on lipid composition of serum and liver in rat fed high cholesterol diet. *(mg/g tissue)*

Groups	Serum Cholesterol *(mg/dl)*	Serum TG *(mg/dl)*	Liver Cholesterol *(mg/g tissue)*	Liver TG *(mg/g tissue)*
Normal	87.5 ± 20.1^{a}	64.3 ± 6.3^{a}	1.84 ± 0.01^{a}	6.33 ± 0.99^{a}
FF	240.3 ± 51.5^{b}	96.8 ± 9.2^{b}	8.90 ± 0.37^{b}	12.37 ± 1.90^{b}
5C	225.3 ± 18.5^{b}	92.9 ± 19.1^{b}	6.99 ± 0.26^{c}	10.07 ± 1.13^{b}
10C	219.9 ± 20.1^{b}	91.8 ± 12.5^{b}	6.40 ± 0.31^{c}	10.27 ± 1.54^{b}
5M	236.8 ± 19.2^{b}	96.6 ± 12.6^{b}	6.96 ± 0.24^{c}	12.43 ± 0.63^{b}
10M	208.5 ± 27.7^{b}	95.8 ± 7.7^{b}	7.41 ± 0.57^{c}	10.40 ± 0.21^{b}

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

2. 제조된 식이섬유의 산화적 손상완화작용 및 항산화계 강화효과 검정

가. 혈청중의 과산화지질 정량

체내의 과산화적 손상의 지표가 되는 혈청 총 지질과산화물가 (total-TBARS)와 LDL-TBARS(표 2-8)는 정상군에 비해 실험군 모두가 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. FF군에 비해 섬유소 공급군이 다소 낮은 경향은 있었지만 유의적인 수준은 아니었다. HDL-TBARS는 각 실험군간에 유의적 차이가 없었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일 하였다.

Table 2-8. Effect of insoluble dietary fibers of serum TBARS in rat fed high cholesterol diet *(MDA nmol/ml)*

Group	Total	HDL	LDL
Normal	4.06 ± 0.16^{a}	2.02 ± 0.07^{NS}	2.18 ± 0.15^{a}
FF	4.89 ± 0.21^{b}	2.08 ± 0.10	2.84 ± 0.19^{b}
5C	4.61 ± 0.07^{b}	1.93 ± 0.16	2.70 ± 0.18^{b}
10C	4.78 ± 0.14^{b}	2.08 ± 0.13	2.95 ± 0.27^{b}
5M	4.63 ± 0.17^{b}	2.10 ± 0.14	2.74 ± 0.15^{b}
10M	4.67 ± 0.33^{b}	1.95 ± 0.17	2.65 ± 0.13^{b}

All values are mean±SE (n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different each other at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

나. Superoxide dismutase (SOD) 활성과 glutathione peroxidase (GSHpx)활성

생체내 항산화 방어기구중 효소적 방어계의 하나로써 superoxide radical를 환원시켜 H_2O_2로 환원 시키므로써 산소 독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성에 대한 비수용성 식이섬유소 영향을 간조직에서 측정한 결과는 표 2-9와 같다. 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군) 에서 34% 감소되었고 FF군에 비해 5C, 10C, 5M 및 10M군에서 28%, 23%, 30% 및 21%씩 각각 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. 그리고 제조 섬유소와 시판 섬유소군 간에는 차이가 없었다.

Selenium을 함유하는 항산화 효소로 과산화물을 제거하므로써 세포막의 손실을 방어하는 GSHpx의 활성 측정결과 (표 2-9)는 정상군에 비해 FF군에서 51% 감소되었다. FF군에 비해 5C, 10C 및 10M군에서 57%, 58% 및 62%씩 각각 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. 그리고 제조 섬유소와 시판 섬유소군 간에는 차이가 없었다.

Table 2-9. Effect of insoluble dietary fibers on hepatic superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in rats fed high cholesterol diets

Group	SOD *(Unit/mg protein/min)*	GSHpx *(nmol NADPH/min/mg protein)*
Normal	4.02 ± 0.08^{a}	186.03 ± 13.84^{a}
FF	2.99 ± 0.27^{b}	92.03 ± 23.16^{b}
5C	3.83 ± 0.01^{c}	145.08 ± 12.29^{c}
10C	3.69 ± 0.06^{d}	145.80 ± 7.14^{c}
5M	3.89 ± 0.06^{c}	131.01 ± 14.94^{bc}
10M	3.61 ± 0.12^{d}	149.41 ± 12.91^{c}

All values are mean±SE (n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

다. 간조직의 지질과산화물 (thiobarbituric acid reaction substances, TBARS) 함량

조직의 과산화적 손상의 지표가 되는 간조직중의 지질과산화물 축적에 미치는 비수용성 섬유소의 영향을 관찰한 결과 그림 2-2와 같다. 무섬유식이군 (FF군)은 정상군에 비해 지질과산화물이 212% 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. 그러나 섬유소 비공급군인 무섬유식이군(FF군)에 비해 5C, 10C, 5M 및 10M군에서 33%, 71%, 64% 및 75% 씩 각각 유의적 ($p<0.05$)으로 감소되었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다.

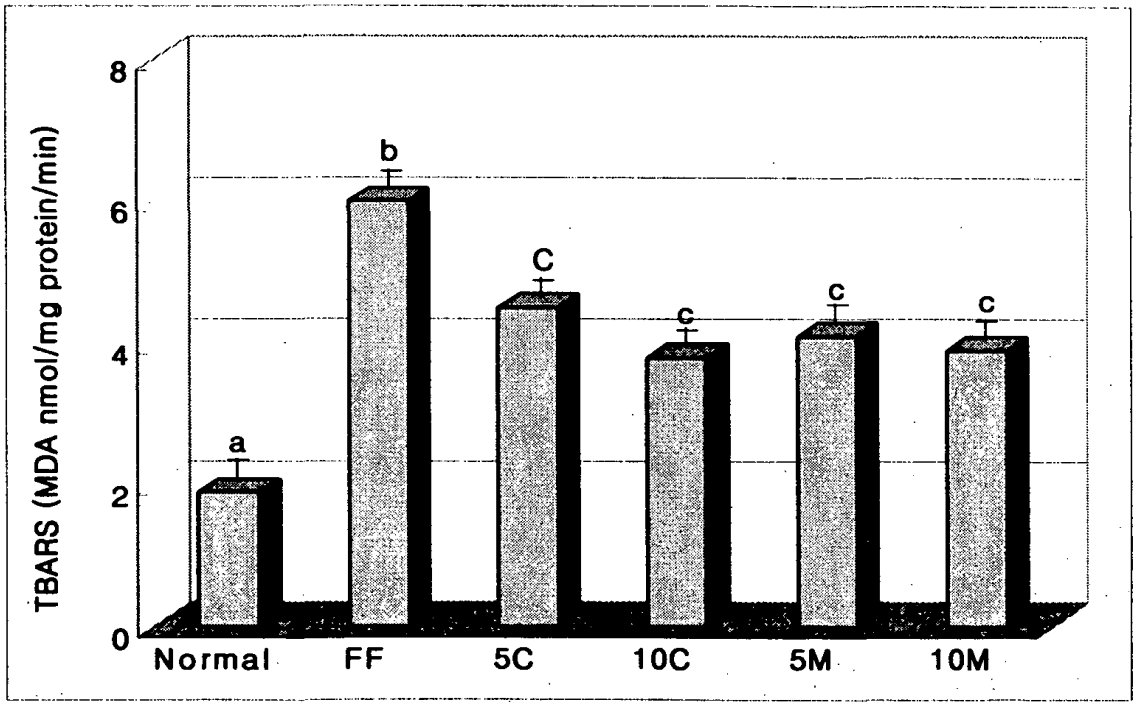


Fig. 2-2. Effect of insoluble dietary fibers on hepatic thiobarbituric acid reacting substances (TBARS)in rats fed high cholesterol diet. All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

라. 간조직의 병리조직학적 관찰

육안적으로 볼 때 간조직은 정상군에서 적갈색이었으며 그 표면은 평활하고 윤기가 있고 탄력성이 있었으며 섬유소 비공급 1% 고콜레스테롤 공급군 (FF군)은 간조직 표면이 하얗게 보여 매우 심한 지방 침착으로 윤기와 탄력성이 정상군에 비해 떨어져 보였다. 광학현미경 관찰에서는 (그림 2-3) 정상군의 간세포는 중심 정맥을 향하여 잘 배열되어 있으며 문맥에도 염증 세포의 침윤 들은 없다. 혈관 세담도에도 이상 소견은 없었다. 간세포의 핵은 중심에 위치하여 있고 세포질은 연분홍빛을 띠면서 약간의 파열성을 띠고 있지만 대체적으로 균질하게 보인다. 1% 고콜레스테롤 공급 식이군 (FF군)은 간조직의 지방 입자가 전체적으로 지방구을 형성하여 매우 심한 지방침착을 보여 지방간의 소견을 나타내었다. 1% 콜레스테롤과 함께 5% 시판 섬유소를 투여한 군에서도 지방간의 소견이 뚜렷하였으나 간세포의 배열이상이나 염증소견은 없었다. 즉 세포질내의 지방구의 크기와 숫자가 다소 줄어졌으며 지방간 세포의 분포도 중심동맥 주변에서 사라지는 경향을 보였다.

이와 같은 현상은 조제 섬유소 공급군에서도 시판 섬유소와 같은 지방간의 현상을 보였으며 그 정도는 1% cholesterol 무섬유식이군 (FF군)에 비해 감소되는 경향이었다.

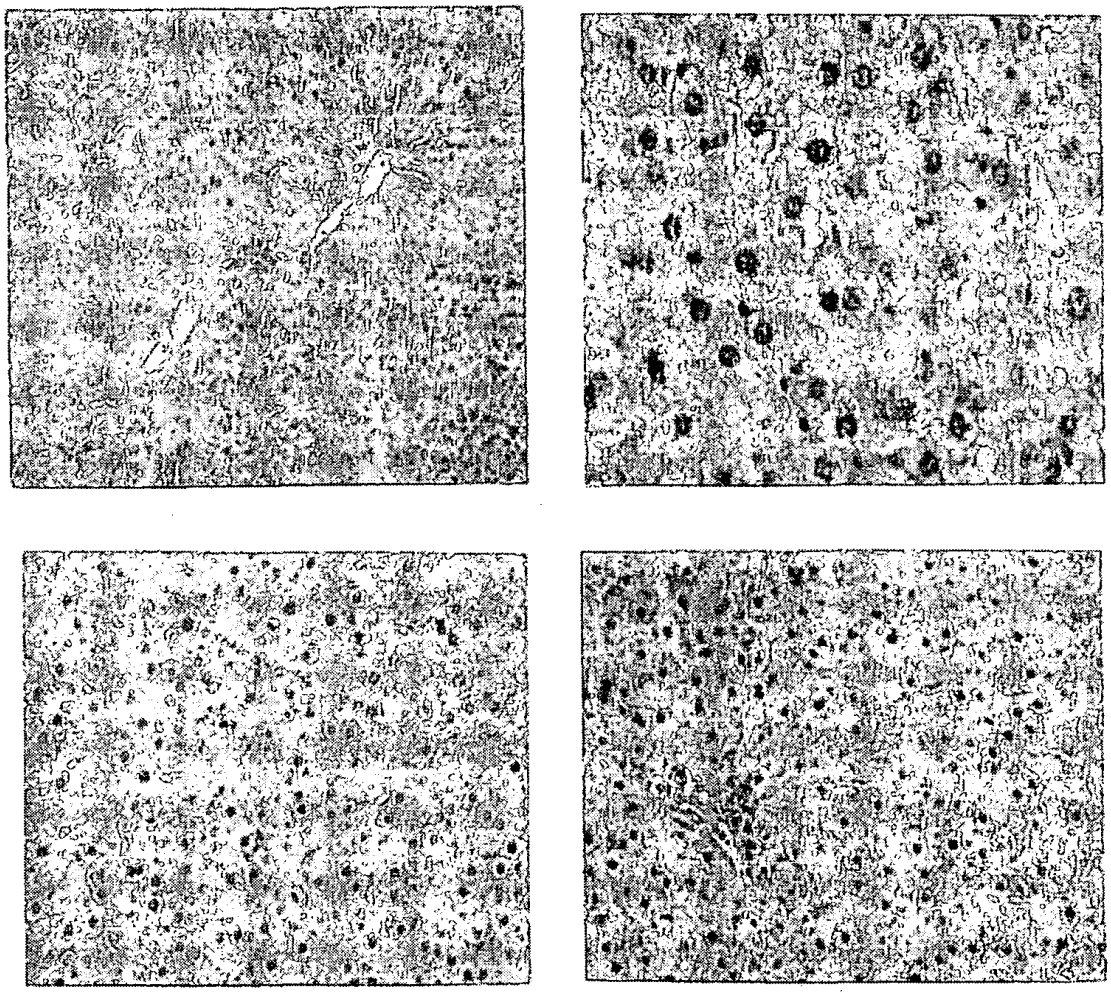


Fig. 2-3. Light micrograph of hepatocytes of rat fed 1% cholesterol diet and cholesterol diet insoluble fibers supplement.

(1) Hepatocytes in normal groups. The nuclei arrengement of hepatocytes of central vein is regular. There is no fatty change. (2) Hepatocytes in FF group fed high cholesterol diet. Hepatocytes are vacuolated by fatty changes. Some are looking clear due to large amount of intracytoplasmic fat. (3)Hepatocytes in 5C group fed a high cholesterol diet with 5% insoluble dietary fibers. Fatty change is slightly decreased compare with cholesterol diet without insoluble dietary fibers group. (4) Hepatocytes in 5M group fed a high cholesterol diet with 5% insoluble dietary fibers. Fatty change is slightly decreased compare with cholesterol diet without dietary fibers group.

3. 생체 유해성 검정

가. 간조직의 Glutathione S-transferase 활성 측정

변이원성물질, 발암물질, 독성물질의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질등에 환원형 glutathione (GSH)을 포함시켜 glutathione thioester(R-S-G)을 형성하는 반응을 촉매하는 GST활성을 측정한 결과 표 2-10과 같다. 정상군에 비해 무섬유식이군인 (FF군)에서 34% 증가되었으며 섬유소의 영향은 없었다.

Table 2-10. Effect of insoluble dietary fibers on hepatic glutathione S-transferase activities in rats fed high cholesterol diets

Groups	GST ($\mu M/mg$ protein/min)
Normal	139.49 ± 7.78^{a}
FF	104.14 ± 3.60^{b}
5C	113.48 ± 4.27^{b}
10C	111.32 ± 3.41^{b}
5M	108.89 ± 0.27^{b}
10M	113.75 ± 9.81^{b}

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

나. 혈청중의 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)과 glutamine pyruvate transaminase(GPT) 활성

간조직의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화와 간조직의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정한 결과는 표 2-11과 같다. GOT 및 GPT 활성은 정상군에 비해 무섬유식이군인 FF군에서 17%, 216%씩 각각 증가되었고 FF군에 비해 실험군간의 유의적 차이는 없었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다.

Table 2-11. Effects of insoluble dietary fibers on serum GOT and GPT activities in rats fed high cholesterol diets.

Groups	GOT *(IU/ml)*	GPT *(IU/ml)*
Normal	106.00±4.0[a]	10.5±8.5[a]
FF	156.3±28.9[b]	33.2±19.4[b]
5C	135.1±8.68[b]	26.0±7.1[b]
10C	181.0±19.6[b]	42.7±19.9[b]
5M	138.0±16.2[b]	27.3±5.3[b]
10M	178.0±26.5[b]	45.7±20.3[b]

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

다. 간조직의 Cytochrome P_{450} 함량

체외에서 들어오는 환경물질을 대사하는 과정은 주로 간 소포체에 있는 cytochrome P_{450} 의존성 mixed function oxidase (MFO)계에서 이루어지며, 이 과정 중 superoxide radical이나 H_2O_2를 생성한다. 이 MFO계의 가장 주된 역할을 담당하는 cytochrome P_{450}의 함량을 관찰한 결과는 표 2-12와 같다.

무섬유식이군 (FF군)은 정상군에 비해 257% 증가되었고 FF군에 비해 5C, 10C, 5M 및 10M군에서 31%, 46%, 41% 및 44%씩 각각 유의적으로 감소되었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다.

Table 2-12. Effect of insoluble dietary fibers on liver cytochrome P_{450} activities in rats fed high cholesterol diets

Groups	Cytochrome P_{450} *(nmol/mg protein)*
Normal	0.21 ± 0.01^a
FF	0.54 ± 0.09^b
5C	0.37 ± 0.16^c
10C	0.29 ± 0.08^c
5M	0.32 ± 0.09^c
10M	0.30 ± 0.05^c

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-1.

결론적으로 제1세부과제로부터 제조된 비수용성 섬유소와 시판 비수용성 섬유소 간에 생리적으로 유사한 효과가 관찰되었으며 생체 독성은 없었으므로 비수용성 섬유소의 제조가 우수하였다고 판단되며 식이섬유의 대용으로 제조 섬유소의 효과 및 효용의 가치가 매우 높을 것이라고 사료된다.

제 4 절 수용성 식이 섬유소의 기능성 검토

1. 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선 효과 검정

가. 체중증가 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율은 표 2-13과 같다. 식이섭취량 (Food intake)은 섬유소 공급 수준이 높을수록 무섬유식이군 (FF군)에 비해 섭취량이 증가되었다. 체중증가량은 섬유소를 공급한 모든군에서 무섬유식이군 (FF군)에 비해 유의적으로 낮았다. 식이효율은 무섬유식이군 (FF군)에 비해 식이섬유소 모든 군에서 유의적으로 낮았다. 이러한 변화는 제조 섬유소군과 시판 섬유소군에서 동일하였다.

Table 2-13. Effects of insoluble dietary fibers on food intake, body weight gains and food efficiency ratio(FER) in rats fed high cholesterol

Groups	Food intake	Body weight gain	FER
	(g/body wt)	*(g)*	
Normal	23.60 ± 0.61^{a}	168.0 ± 7.0^{a}	0.29 ± 0.03^{a}
FF	24.73 ± 0.28^{ab}	185.2 ± 7.3^{b}	0.28 ± 0.02^{a}
5P	23.56 ± 0.72^{a}	148.3 ± 8.5^{c}	0.20 ± 0.02^{b}
10P	26.63 ± 0.51^{c}	132.7 ± 12.1^{c}	0.16 ± 0.01^{c}
5M	25.55 ± 0.44^{b}	153.5 ± 5.4^{ac}	0.19 ± 0.02^{bc}
10M	26.45 ± 0.26^{c}	145.5 ± 4.7^{c}	0.15 ± 0.01^{d}

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

나. 장기 무게

단위 체중당 간장, 신장, 소장 및 맹장의 무게는 표 2-14와 같다. 간장무게는 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군) 모두가 유의적으로 현저하게 증가되었으며 섬유소 비공급 고콜레스테롤 공급군에 비해 섬유소 공급군 모두가 유의적으로 낮았다. 신장의 무게는 실험군간에서 유의적인 차이가 없었다. 소장의 무게는 정상군과 무섬유식이군 (FF군)은 차이가 없었으며 섬유소 공급군에서 농도별, 종류별 차이는 없었다. 맹장의 무게는 정상군에 비해 FF군을 제외한 모든 섬유소 군간에서 높았다. 이러한 변화는 시판 섬유소와 제조 섬유소간에 차이는 없었다.

Table 2-14. Organ weights of rat fed soluble dietary fibers.

(g/100g Body weight)

Groups	Liver	Kidney	Intestine	Cecum
Normal	2.96 ± 0.27^{a}	0.69 ± 0.05^{NS}	2.02 ± 0.07^{a}	0.57 ± 0.05^{a}
FF	5.06 ± 0.10^{b}	0.68 ± 0.03	2.26 ± 0.19^{ab}	0.69 ± 0.05^{b}
5P	4.22 ± 0.11^{c}	0.65 ± 0.01	2.49 ± 0.07^{b}	1.55 ± 0.09^{c}
10P	3.94 ± 0.08^{d}	0.67 ± 0.02	2.46 ± 0.14^{b}	2.47 ± 0.12^{d}
5M	4.21 ± 0.13^{c}	0.66 ± 0.01	2.49 ± 0.09^{b}	1.90 ± 0.17^{c}
10M	4.22 ± 0.13^{c}	0.64 ± 0.02	2.58 ± 0.09^{b}	2.44 ± 0.24^{d}

All values are mean±SE (n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

다. 장기능 개선 효과 관찰

1) 장 통과시간 (Gastrointestinal transit time)의 변화

장통과 시간을 실험 2주 및 4주에 각각 관찰한 결과 (그림 2-4) 섬유소 무섬유식이군 (FF군)에 비해 실험군 모두 유의적으로 낮았으며 또 FF군에 비해 식이섬유소 공급군에서는 농도가 높을수록 2주 및 4주 모두 장통과시간이 감소되었다. 이러한 경향을 제조 섬유소군과 시판 섬유소군 간에는 차이가 없었다.

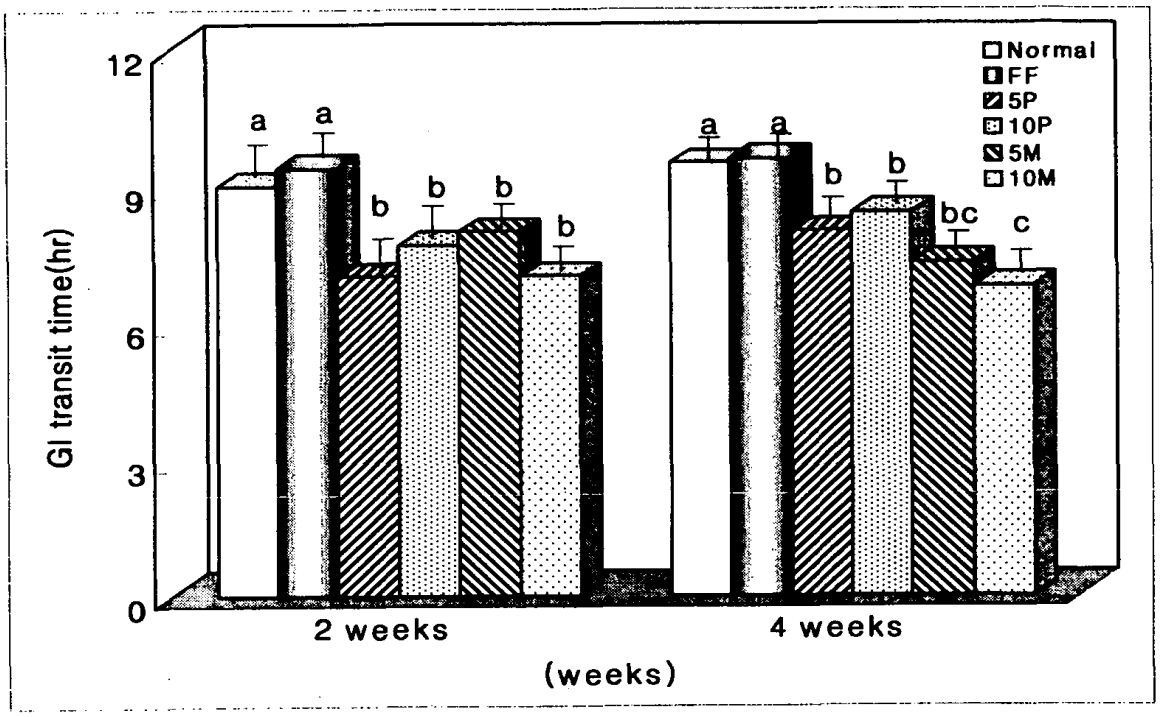


Fig. 2-4. Effects of soluble dietary fibers on gastrointestinal transit time in rats fed high cholesterol diets

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

라. 혈청 및 간조직 중의 콜레스테롤과 중성지방 함량

혈청 총 콜레스테롤 및 중성지방 농도는 표 2-15와 같다. 혈청 총 콜레스테롤 농도는 정상군에 비해 실험군 모두가 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)이 24% 유의적 ($p<0.05$) 으로 높았으며 FF군에 비해 수용성 식이섬유소를 공급한 모든 식이군에서는 유의적 ($p<0.05$)으로 낮았다. 또한 혈청 중성지방 농도는 수용성 식이섬유소를 공급한 군에 무섬유식이군 (FF군)에 비해서 유의적 ($p<0.05$)으로 낮았다.

간조직에서의 콜레스테롤 함량에 대한 수용성 섬유소의 효과를 관찰한 결과 (표 2-15) 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)에서 증가되었으나 섬유소를 공급하지 않은 고콜레스테롤 (FF군)에 비해 각각 유의적으로 감소되었다.

Table 2-15. Effect of soluble dietary fibers on lipid composition of serum and liver in rat fed high cholesterol diet.

Groups	Serum Cholesterol *(mg/dl)*	Serum TG *(mg/dl)*	Liver Cholesterol *(mg/g tissue)*	Liver TG *(mg/g tissue)*
Normal	87.5 ± 20.1^{a}	64.3 ± 6.3^{a}	1.84 ± 0.01^{a}	6.33 ± 0.99^{a}
FF	240.3 ± 31.5^{b}	96.8 ± 9.2^{b}	8.90 ± 0.37^{b}	13.87 ± 0.79^{b}
5P	166.9 ± 21.5^{c}	75.3 ± 9.2^{c}	4.54 ± 0.24^{c}	12.44 ± 1.68^{b}
10P	143.9 ± 23.6^{c}	82.5 ± 8.3^{bc}	4.23 ± 0.19^{c}	11.53 ± 1.03^{c}
5M	167.8 ± 20.2^{c}	83.2 ± 18.0^{b}	4.20 ± 0.27^{c}	11.96 ± 1.23^{b}
10M	162.5 ± 26.1^{c}	75.3 ± 11.2^{a}	3.73 ± 0.12^{c}	10.78 ± 0.33^{c}

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

2. 담즙산의 대사기능 측정

가. 중성 sterol 함량 측정

일반적으로 체내의 콜레스테롤은 분변에 의해 체외로 제거되며, 체내 중성 sterol의 함량 측정은 체내 콜레스테롤의 수치를 정확히 판단할 수 있는 근거가 된다. 체외로 제거하는 수단인 분변 중 중성 스테롤의 배설량을 측정하기 위해 분변 시료중 *cholesterol*, *coprostanol*, *coprostanone* 함량을 측정하였고, 그 측정결과는 표 2-16에 나타내었다. 표 2-16의 결과에서와 같이 분변에서의 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)에서 5.6배 증가되었고 또 무섬유식이군 (FF군)에 비해 시판 및 제조 섬유소를 공급한 군에서 각 140%, 144% 및 98%씩 각각 증가하였다. 특히 10% 수용성 섬유소를 공급한 5P군, 10P군, 5M군 및 10M군에서 각각 2.5배, 2.7배, 1.8배 및 2.5배씩 각각 유의적($p<0.05$)으로 증가되었다. Coprostanol 함량은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)은 96% 감소되었고, 또 무섬유식이군 (FF군)에 비해 섬유소를 각각 공급한 군은 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. Coprostanone 함량은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)에서 2.4배 감소되었고 섬유소를 각각 공급한 5P, 10P, 5M 및 10M군에서 FF군에 비해 각각 9배, 12배, 8배 및 10.3배씩 유의적으로 증가되었다.

그리고 이러한 대변 중의 중성스테롤류의 함량 변화는 시판 및 조제 섬유소군 간에는 유의적인 차이가 없었다.

따라서 본 연구에서 행해진 실험결과 제조된 수용성 식이섬유의 콜레스테롤 저하 효과는 탁월한 것으로 판명되었으며, 시판 수용성 식이섬유(pectin - Sigma Co.)의 대체품으로 손상이 없음을 확인할 수 있었다.

Table 2-16. Effect of soluble dietary fiber on fecal neutral sterol contents in rats fed high cholesterol diets

Groups	Cholesterol	Coprostanol	Coprostanone
	(mg/day)	*(mg/day)*	*(mg/day)*
Normal	3.83 ± 0.50^{a}	0.89 ± 0.17^{a}	0.56 ± 0.14^{a}
FF	21.49 ± 4.48^{b}	1.74 ± 0.19^{b}	0.33 ± 0.05^{b}
5P	54.46 ± 5.67^{c}	3.30 ± 0.07^{c}	2.99 ± 0.58^{c}
10P	58.47 ± 4.62^{c}	3.83 ± 0.02^{c}	3.98 ± 0.73^{c}
5M	38.63 ± 6.63^{d}	2.91 ± 0.12^{d}	2.96 ± 0.75^{c}
10M	52.95 ± 6.17^{cd}	2.39 ± 0.06^{d}	3.40 ± 0.52^{c}

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

나. Bile acid 함량

대변의 bile acid 함량은 Fig. 5와 같다. 섬유소를 공급하지 않고 고콜레스테롤만 공급한 무섬유식이군은 정상군에 비해 2.1배 증가되었다. 그리고 무섬유식이군(FF군)에 비해 5P군, 10P군 5M군 및 10M군에서는 3.5배, 5배 ,3.9배 및 4.1배씩 각각 현저하게 증가되었다. 특히 10% 조제 및 시판 수용성 식이섬유소 군에서 대변의 bile acid 함량이 가장 높았고 시판 및 조제 섬유소군 간에는 유의적인 차이가 없었다.

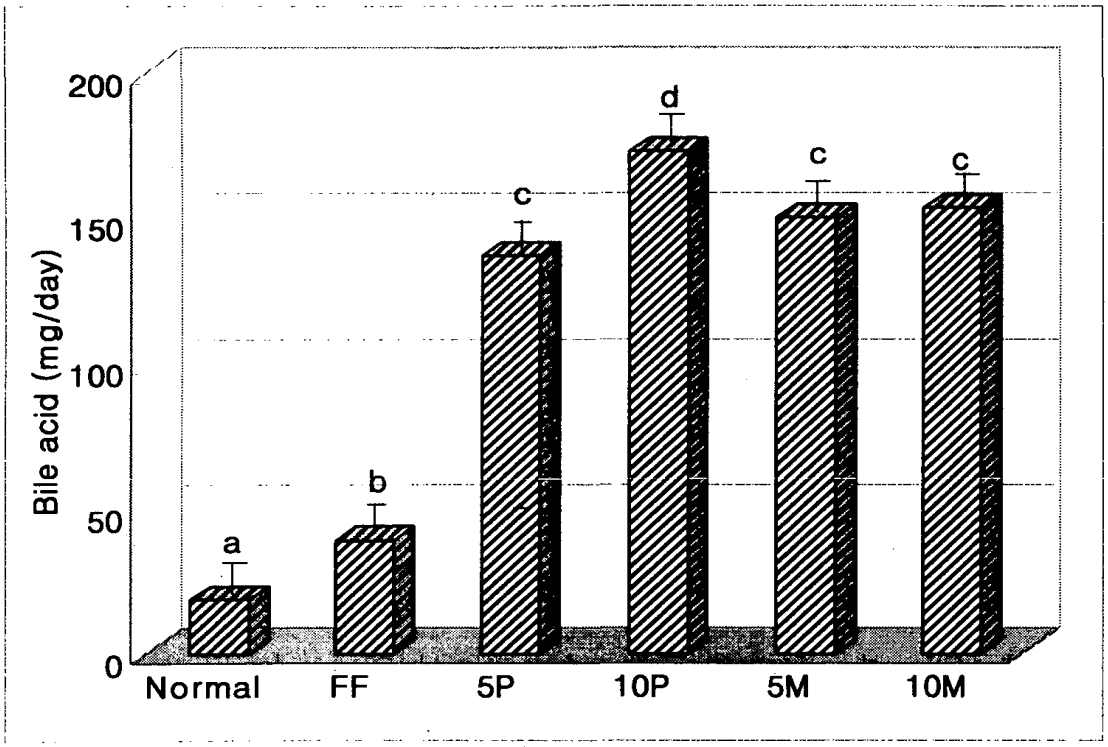


Fig. 2-5. Effects of soluble dietary fiber on fecal bile acid contents in rats fed high cholesterol dits.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

3. 분변중의 지질 함량

가. 분변의 총지질과 triglyceride 함량

분변으로의 지질배설량을 알아보기 위한 분변의 지질분석 결과는 표 2-17과 같다. 분변의 총지질 함량은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)에서 유의적($p<0.05$)으로 증가되었고, 무섬유식이군에 비해 5P군, 10P군, 5M군 및 10M군에서 78%, 106%, 58% 및 73%씩 각각 유의적으로 증가되었다.

분변의 중성지방 함량은 수용성 섬유소를 공급하지 않은 고콜레스테롤군에서 정상군보다 25% 정도 높았고 무섬유식이군 (FF군)에 비해 5P군, 10P군, 5M군 및 10M군에서는 중성지방 함량이 116%, 226%, 132% 및 137%씩 각각 높았다.

Table 2-17. Effect of soluble dietary fiber on fecal total lipid and triglyceride contents in rats fed high cholesterol diets.

Groups	Total lipid *(mg/day)*	Triglyceride *(mg/day)*
Normal	25.48 ± 0.91^{a}	34.5 ± 6.2^{a}
FF	174.5 ± 34.2^{b}	77.5 ± 8.9^{b}
5P	311.9 ± 16.2^{c}	167.5 ± 9.7^{c}
10P	359.3 ± 17.7^{d}	252.5 ± 12.9^{d}
5M	277.2 ± 40.4^{cd}	179.8 ± 8.4^{c}
10M	302.7 ± 31.2^{cd}	189.3 ± 10.2^{c}

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

4. 생체 유해성 검정

가. 혈청중의 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)과 glutamine pyruvate transaminase(GPT)

간조직의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화와 간조직의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정한 결과는 표 2-18과 같다. GOT 활성은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)에서 높았고 수용성 섬유소를 공급한 군에서 모두 정상 수준이었다. GPT 활성은 정상군에 비해 FF군에서 58% 증가되었으며 FF군에 비해 10% 제조 섬유소를 공급한 10M군에서는 감소되었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다.

Table 2-18. Effects of soluble dietary fibers on serum GOT and GPT activities in rats fed high cholesterol diets.

Groups	GOT *(IU/ml)*	GPT *(IU/ml)*
Normal	106.00 ± 4.0^{ab}	31.5 ± 1.5^{a}
FF	145.4 ± 25.2^{b}	49.8 ± 6.2^{b}
5P	98.3 ± 7.7^{a}	39.4 ± 3.0^{bc}
10P	90.9 ± 8.4^{a}	37.8 ± 0.5^{c}
5M	95.5 ± 6.8^{a}	46.0 ± 2.6^{bd}
10M	92.3 ± 8.7^{a}	33.8 ± 6.7^{acd}

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

나. 간조직의 지질과산화물 (thiobarbituric acid reaction substances, TBARS) 함량

조직의 과산화적 손상의 지표가 되는 간조직중의 지질과산화물 축적에 미치는 섬유소의 영향을 관찰한 결과 그림 2-6과 같다. 섬유소 비공급군 (FF군)은 정상군에 비해 지질과산화물이 212% 유의적 ($p<0.05$) 증가되었다. 그러나 무섬유식이군 비해 5P군, 10P군, 5M군 및 10M군에서 54%, 53%, 46% 및 47% 씩 각각 유의적 ($p<0.05$)으로 감소되었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다.

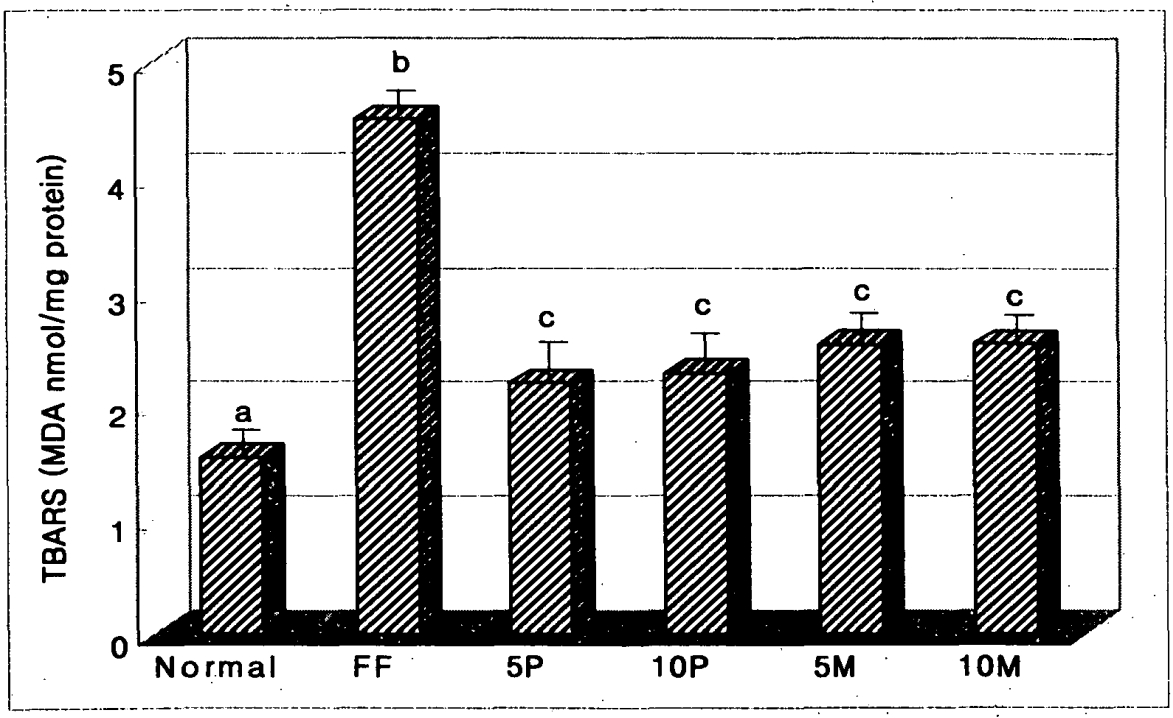


Fig. 2-6. Effect of soluble dietary fibers on hepatic thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) in rats fed high cholesterol diet.

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

다. 간조직의 Cytochrome P_{450} 함량

체외에서 들어오는 환경물질을 대사하는 과정은 주로 간 소포체에 있는 cytochrome P_{450} 의존성 mixed function oxidase (MFO)계에서 이루어지며, 이 과정 중 superoxide radical이나 H_2O_2를 생성한다. 이 MFO계의 가장 주된 역할을 담당하는 cytochrome P_{450}의 함량을 관찰한 결과는 표 2-19와 같다.

무섬유식이군 (FF군)은 정상군에 비해 157% 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었고 무섬유식이군에 비해 10P군 및 10M군에서 33% 및 35%씩 각각 유의적 ($p<0.05$) 으로 감소되었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다.

Table 2-19. Effect of soluble dietary fibers on liver cytochrome P_{450} activities in rats fed high cholesterol diets

Groups	Cytochrome P_{450} *(nmol/mg protein)*
Normal	0.21 ± 0.01^{a}
FF	0.54 ± 0.09^{b}
5P	0.40 ± 0.08^{bc}
10P	0.36 ± 0.05^{c}
5M	0.39 ± 0.07^{bc}
10M	0.35 ± 0.06^{c}

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

라. 간조직의 Glutathione S-transferase 활성 측정

변이원성물질, 발암물질, 독성물질의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 glutathione (GSH)을 포함시켜 glutathione thioester (R-S-G)을 형성하는 반응을 촉매하는 GST 활성을 측정한 결과 그림 2-7과 같다.

정상군에 비해 무섬유식이군인 (FF군)에서 25% 유의적 ($p<0.05$)으로 감소되었다. FF군에 비해 수용성 섬유소 공급군인 5P군, 10P군, 5M군 및 10M군에서는 각각 19%, 15%, 및 22% 으로 각각 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다. 그리고 제조섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다.

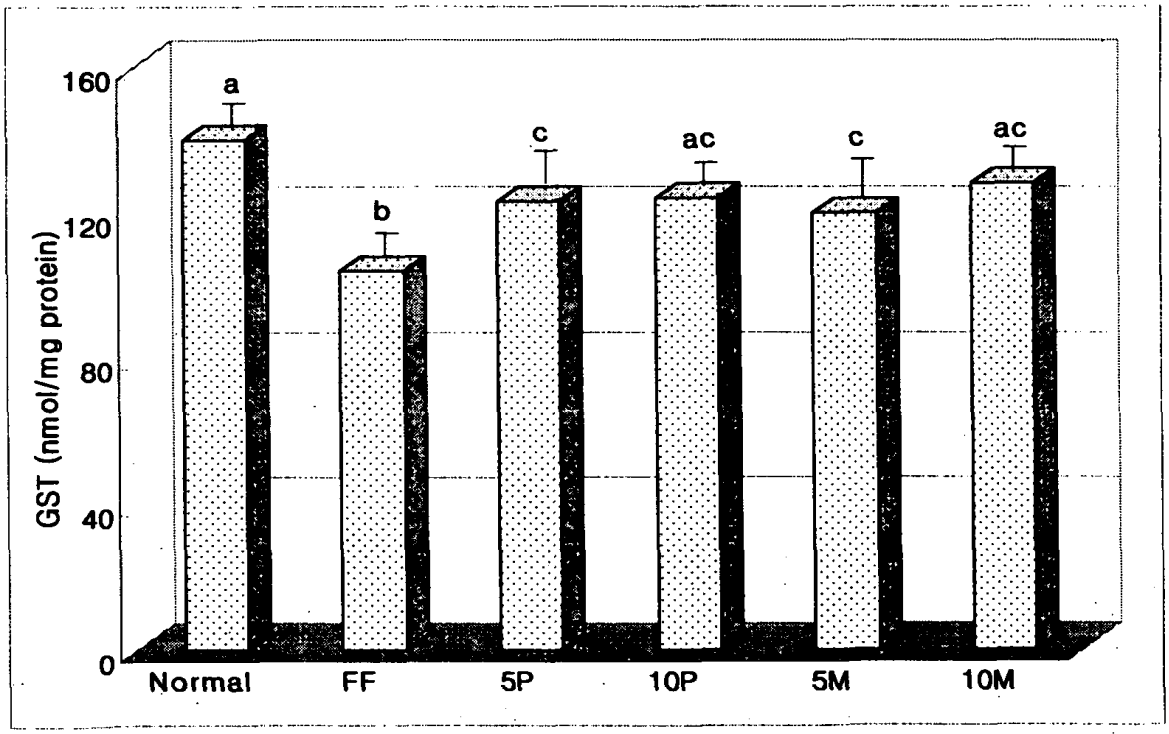


Fig. 2-7. Effect of soluble dietary fibers on hepatic glutathione S-transferase activities in rats fed high cholesterol diets

All values are mean±SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

마. 분변중의 무기질 배설량 측정

분변으로의 무기질 배설을 관찰한 결과는 표 2-20과 같다. 분변중의 Fe와 Ca의 함량은 정상군에 비해 무섬유식이군 (FF군)에서 유의적 ($p<0.05$)인 차이가 없었고 Mg 함량은 51% 증가되었다. Fe와 Ca 모두 FF군에 비해 10P군 및 10M군에서 다소 높았으나 유의적인 수준은 아니었다. Mg 함량은 실험군 간에 차이가 없었다.

Table 2-20. Contents of fecal iron, calcium and magnesium in rats fed high cholesterol diets according to different levels of soluble dietary fiber.

Groups	Fe *(mg/day)*	Ca *(mg/day)*	Mg *(mg/day)*
Normal	0.42 ± 0.15^{a}	0.71 ± 0.10^{a}	0.78 ± 0.06^{a}
FF	0.52 ± 0.18^{ab}	0.92 ± 0.18^{ab}	1.18 ± 0.14^{b}
5P	0.63 ± 0.09^{ab}	1.22 ± 0.27^{ab}	1.09 ± 0.04^{b}
10P	0.74 ± 0.09^{b}	1.26 ± 0.14^{b}	1.21 ± 0.12^{b}
5M	0.68 ± 0.09^{b}	1.16 ± 0.37^{ab}	1.08 ± 0.09^{b}
10M	0.72 ± 0.06^{b}	1.18 ± 0.17^{b}	1.17 ± 0.09^{b}

All values are mean±SE(n=10) Values within a column with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2-2.

제 3장 통합 검토

식이섬유의 정의에 대해서는 현재 다양한 의론이 있지만, 통상적으로 사람의 소화효소에 의해 소화되지 않는 고분자 화합물의 총체라 정의되고 있다. 최근들어 식생활이 서구화됨에 따라 지방질 섭취량은 증가하는 반면에 식물성 식품 섭취량은 감소하는 추세에 있어 오늘날에는 영양과잉에 따른 성인병이 큰 사회적 문제를 야기시키고 있다.

현재 식이섬유의 종류는 크게 불용해성 식이섬유와 용해성 식이섬유로 구분할 수 있으며, 불용해성 식이섬유로는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 등이 있고, 용해성 식이섬유로는 저분자 탄수화물, 펙틴, 검, 해조다당류 등이 있다. 현재 이러한 식이섬유소의 경우 전량 수입에 의존하고 있는 실정에 있으며, 식이섬유가 성인병 예방 및 비만방지에 탁월한 효과가 있음이 입증된 후로는 그 수요량이 계속 증가하는 추세에 있다.

한편 이러한 식이섬유소재로 사용되고 있는 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스는 목재에 약 75%가량 함유되어 있으며, 목재로부터 탄수화물을 선택적으로 분리할 수 있다면 대량의 식이섬유소를 공급할 수 있을 것으로 판단된다. 현재 이러한 목재자원중 우량목의 경우 가구, 제지산업 등의 고부가가치 산업에 전량 사용되고 있기 때문에 본 연구에서는 임지에서 배출되는 임지폐잔재 및 간벌재를 이용하여 식이섬유소재를 개발하고자 한다.

따라서 본 연구는 임지폐잔재 및 간벌재로부터 탄수화물을 선택적으로 분리하고 분리된 식이섬유소의 기능성 검증을 행하여, 식이섬유 생산 최적 공정을 도출하는 것이 최종 목표이다.

제 1절 임지폐자원 및 간벌재로부터 식이섬유의 생산

1. 임지폐잔재 및 간벌재의 현황조사 및 폭쇄전처리 조건 확립

① 현재 폐재의 이용비율은 폐재 발생량에 대해 약 14%수준에 머무르고 있으며, 주벌 및 간벌에 따른 목재의 발생량은 896㎥에 달하여 폐재의 이용방안 강구가 시급한 현실에 있다.

② 임지폐잔재로부터 식이섬유소를 분리하기 위한 전처리 기술로써 폭쇄처리를 선택하였으며, 최적 폭쇄 전처리 조건은 25㎏f/㎠의 압력으로 6분간 처리한 것이 가장 우수한 것으로 판명되었다.

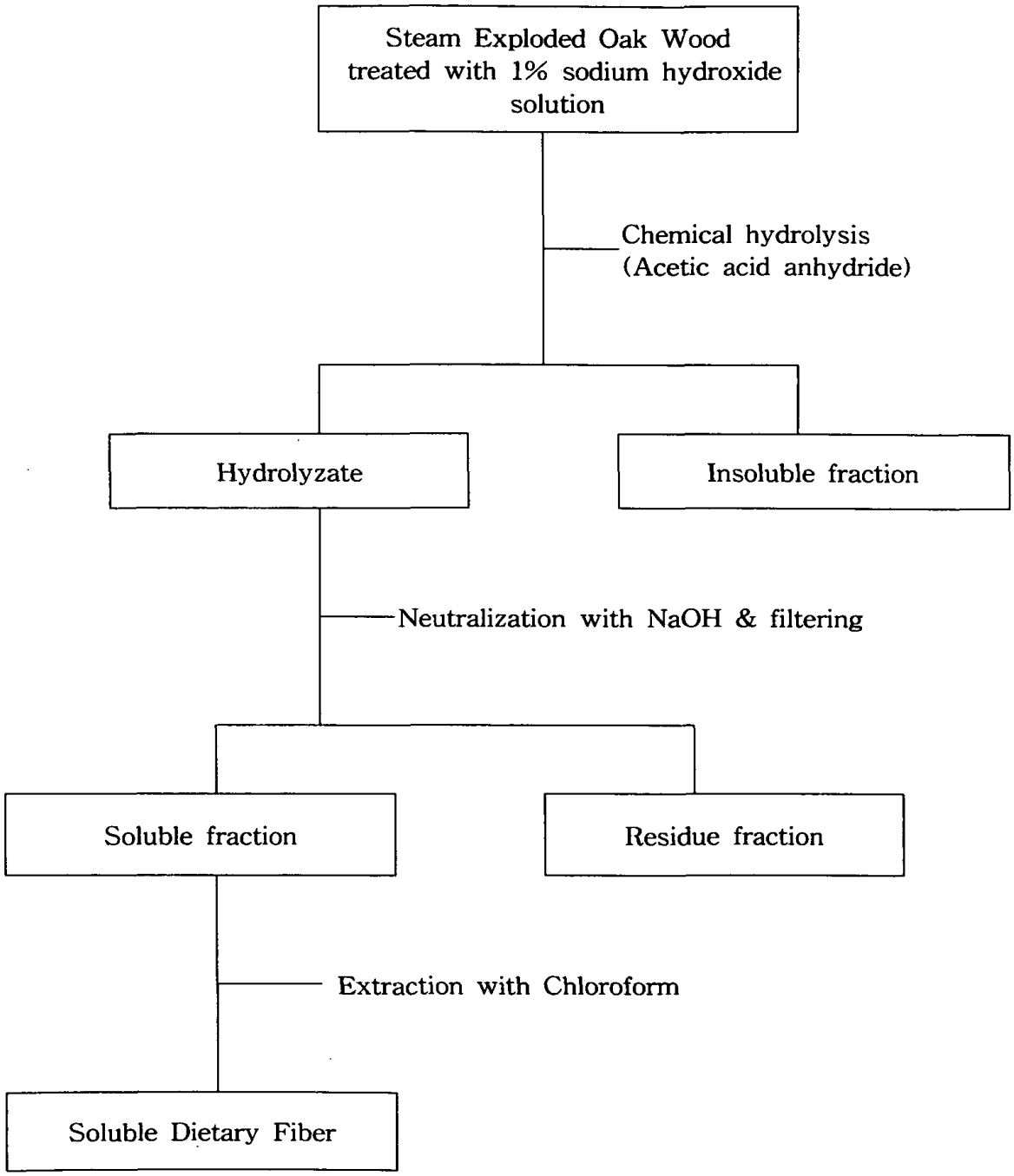
2. 화학적 처리에 의한 고순도 비수용성 식이섬유의 생산 기술 확립

① 임지폐잔재로부터 비수용성 식이섬유를 생산하기 위한 화학처리방법으로 수산화나트륨 처리, 아염소산나트륨처리, 오전처리를 행하였으며, 각각의 화학처리로 제조된 비수용성 식이섬유의 화학적 성상분석 결과 수산화나트륨처리에 의해 제조된 비수용성 식이섬유가 가장 우수한 것으로 판명되었다.

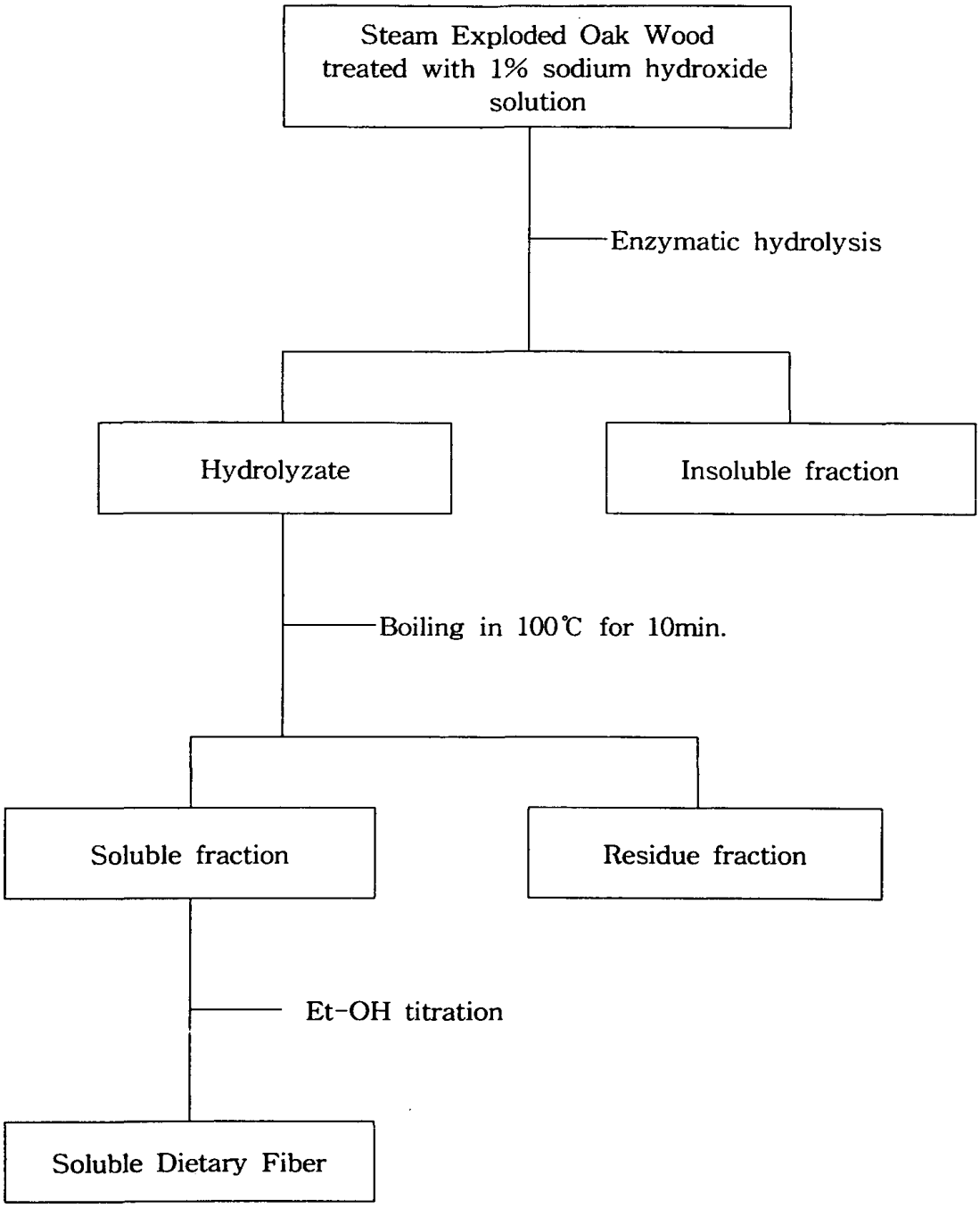
② 수산화나트륨 처리에 의해 제조된 비수용성 식이섬유의 α-cellulose함량은 시판 비수용성 식이섬유에 비해 다소 떨어지나, 원소분석 결과 인체에 유해한 염소기가 없었으며, 중합도는 604.2로 시판되는 식이섬유와 유사한 수치를 나타냈다.

3, 수용성 식이섬유의 생산기술 확립

① 식이섬유의 경우 수용성 여부에 따라 그 기능이 각기 달라지므로 식이섬유의 중합도 조절 기술은 매우 중요하다. 특히 일반적인 산가분해에 의해서는 화학반응 기작에 따라 그 중합도 조절이 특히 어려운 경향을 나타낸다. 따라서 본 연구에서는 과초분해에 따른 cellobiose제조법으로 화학처리하여 수용성 식이섬유를 제조하였고, 생화학적인 방법으로 효소가수분해법을 이용하여 수용성 식이섬유를 제조하였다. 각각 제조된 수용성 식이섬유 제조 공정도는 다음과 같다.



화학적처리에 따른 수용성 식이섬유 생산공정도



생화학적 처리에 의한 수용성 식이섬유 제조 공정 모식도

4. 생산된 수용성 식이섬유의 분석

① 화학적 처리와 생화학적 처리에 의해 생산된 수용성 식이섬유의 경우 수율적인 측면에서 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 수율이 약 6배 가량 높게 나타나 수율적인 측면과 경제적인 측면을 고려할 때 화학적처리에 의한 방법이 효과적임을 확인할 수 있었다.

② 생산된 수용성 식이섬유의 당조성 분석 결과 화학적처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 경우 glucose잔기의 함량이 92.4%로 가장 높게 나타난 반면에 생화학적인 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 경우는 xylose잔기 및 mannose잔기의 함량이 가장 높게 나타났다. 이러한 화학적처리의 경우 과초분해 후 검화에 의해 회수되는 수용성 식이섬유가 cellobiose가 주요 성분을 이루고 있기 때문이며, 효소처리에 의해서는 목재 주요 성분 중 cellulose의 선택성이 비교적 높아 β-glucosidase의 활성에 의해 cellulose가 monomer형태로 용출 되었기 때문으로 판단된다.

③ 생산된 수용성 식이섬유의 분자량 분포 측정 결과 화학적 처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 경우 dimer형태의 소당류 분포가 가장 많았으며, 생확적처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유의 경우 비교적 분자량이 큰 소당류로 구성되어 있음을 확인할 수 있었다.

제 2절 생산된 식이섬유의 기능성 검정 및 용도 모색

1. 제조된 비수용성 식이섬유의 지질조성 개선

① 고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 제조된 식이 섬유소의 첨가로 장통과 시간이 단축됨으로써 변비개선 효과가 인정되었다.

② 분변 배설량은 분변중의 수분함량은 고콜레스테롤 공급군에 비해 섬유소 농도가 증가할수록 유의적으로 증가되었다.

③ 조제 식이섬유소는 혈중 및 간조직의 중성지방 및 총콜레스테롤 함량을 고콜레스테롤군에 비해 낮은 경향을 보였다.

2. 제조된 비수용성 식이섬유의 산화적 손상완화 및 항산화계 강화효과 검정

① 조제 섬유소에 대한 조직손상 완화 작용을 관찰한 결과 간조직중의 SOD, GSHpx 활성이 고콜레스테롤 식이군에서 유의적으로 감소되었으나 섬유소의 공급으로 이러한 항산화 해독 효소들의 활성이 증가되었다.

② 따라서 고콜레스테롤 식이군에서는 정상군에 비해 지질과산화물 공급이 212% 증가되었으나 섬유소 공급군에서 현저하게 감소되었다.

③ 이러한 항산화적 해독기능은 비수용성 섬유소 농도가 식이 첨가 10% 일때 가장 효과적이었다.

④ 간조직의 광학현미경적 소견은 다른 섬유소 공급군에 비해 10% 섬유소의 공급한 군에서 세포질내의 지방구의 크기와 숫자가 줄어졌다는 소견을 나타내었다.

⑤ 본 연구 과제에서 생산된 비수용성 식이섬유소와 Sigma 사의 시판 α-cellulose 간에 생리적 효과가 비슷함이 관찰되었다.

3. 제조된 비수용성 생체유해성 검정

① 동물실험을 통한 생체무독성을 검정하기 위해 고콜레스테롤 식이에 의한 GOT, GPT 활성 증가는 있었지만 이들 비수용성 섬유소로 인한 추가적인 활성 증가는 없었으므로 제조된 비수용성 섬유소의 독성은 없음을 알 수 있었다.

② 또한 섬유소를 고콜레스테롤 식이로 인해 감소된 간조직의 GST 활성 등의 항산화계를 강화시키는 해독기능이 관찰되었다.

③ 간조직중의 cytochrome P_{450} 함량은 비수용성 섬유소를 공급한 모든 군이 고콜레스테롤군에 비해서 유의적으로 감소되어 MFO계의 활성을 다소 완화시켰다.

4. 제조된 수용성 식이섬유의 장기능 개선 효과 검정

① 시판 및 제조된 수용성 식이섬유소가 고콜레스테롤군이 비하여 유의적인 체중증가량의 감소를 보여 주었고 특히 식이중 10% 일 때 가장 효과적임을 나타냄을 알 수 있었다.

② 이러한 조제 수용성 섬유소의 체내 콜레스테롤 개선작용에 대한 관찰한 결과 혈청 및 간조직 중의 콜레스테롤 및 중성지방을 현저하게 감소시킴을 알 수 있었다.

③ 섬유소의 장기능 개선 효과를 관찰한 결과 장통과 시간이 비례하여 낮았으며 분변량이 증가되었다.

5. 제조된 수용성 식이섬유소 담즙산의 대사기능 측정

① 제조된 수용성 섬유소의 첨가로 대변중의 bile acid, cholesterol 및 중성 sterol인 coprostanol과 coprostanone 등의 배설량이 증가되어 조제된 섬유소의 지질대사 개선효과가 규명되었으며 또 담즙산 흡수를 지연시키므로 저 칼로리 기능식품으로서 우수성이 규명되었다.

6. 제조된 수용성 식이섬유소 분변량의 지질함량 측정

① 분변 중의 지질 배설량과 총 지질, TG 함량도 고 콜레스테롤에 비해 지질 함량이 증가되었고, 특히 10% 수용성 식이 섬유소를 공급했을 때 현저히 증가함을 알 수 있었다.

7. 제조된 수용성 식이섬유소 생체유해성 검정

① 조제된 수용성 섬유소의 산화적 손상 완화를 관찰한 결과 혈청 GOT, GPT 활성도에는 섬유소 공급군이 고콜레스테롤 공급군에 비해 유의적으로 저하되었다.

② 따라서 고콜레스테롤 식이군에서는 정상군에 비해 지질과산화물 값이 현저히 증가되었으나 수용성 섬유소 공급으로 인해 현저하게 감소되었다. 또한 간조직의 cytochrome p_{450} 함량도 조제 섬유소의 공급으로 감소됨이 관찰되었다.

③ 간조직 중의 항산화계 효소인 GST를 관찰한 결과 섬유소의 공급으로 고콜레스테롤에 비해 항산화 해독 효소들의 활성이 증가되었다.

④ 분변중의 무기질 함량도 Fe와 Ca은 정상군에 비해 고콜레스테롤 공급군에서 유의적인 차이는 없었고 Mg 함량은 유의적 ($p<0.05$)으로 증가되었다.

제 3절 생산된 식이섬유와 시판되고 있는 식이섬유간의 비교 검토

이상의 결과에서 시판 및 제조 식이섬유소의 공급이 장내용물의 통과시간 단축시킴으로써 난소화성으로 저 칼로리 식품의 가능성이 규명되었으며, 대변의 콜레스테롤, 담즙산 (bile acid) 및 중성 스테롤 (coprostanol, coprostanone)류의 배설량을 증가시키는 효과와 체내 콜레스테롤의 수준을 저하시키므로 고 콜레스테롤 혈증을 억제시키는 지질 개선 효과가 우수함이 규명되었다. 또한 고 콜레스테롤 식이로 인해 감소된 간조직의 SOD, GSHpx, GST 활성 및 GOT, GPT 활성 등의 항산화계를 강화시키는 해독기능도 우수함이 규명되었다. 이러한 생리적 기능은 본 연구과제에서 조제된 비수용성, 수용성 식이섬유소와 제조된 수용성 식이섬유소가 시판되고 있는 비수용성 섬유소인 sigma사의 α-cellulose 및 수용성 섬유소인 pectin과의 생리적 기능이 비슷함이 관찰됨으로써 앞으로 폐목재로부터 효율성 있게 생산하여 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1) Gordon, D.T. : The importance of total dietary fiber in human nutrition and health. *Korean J. Nutr.*, **25**, 75-82 (1992)

2) Torsdottir, I., Alpsten, M., Holm, G., Sandberg, AS. and Tolli, J. : A small dose of soluble alginate fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in hymans with diabetes. *J. Nutr.*, **121**, 795-801 (1991)

3) Kay, R.M. and Truswell, AS. : Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 171-177 (1977)

4) Poksay, K.S. and Schneeman, B.O. : Pancreatic and intestinal response to dietary guar gum in rats. *J. Nutr.*, **113**, 1544-1549 (1983)

5) Kelsay, J.L. : A review of research on effects of fiber intake on man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 142-149 (1978)

6) Englyst, H.N., Hay, S. and Macfarlane, G.T. : Polysaccharide breakdown by mixed population of human fecal bacteria. *Microbiol. Ecol.*, **95**, 163-171 (1987)

7) Walker, A.R., Walker, BF, and Walker, A.J. : Fecal pH, dietary fiber intake and proneness to colon cancer in four south African polulation. *Br. J. Cancer.*, **53**, 489-495 (1986)

8) Malhorta, S.L. : Fecal urobilinogen levels and pH of stools in polulation groups with different incidence of cancer of the colon and their possible role in its etiology. *Soc. Med.*, **75**, 709-714 (1982)

9) Newmark, H.L. and Lupton, JR. : Determinants and consequences of colonic luminal pH, Implications for colon cancer. *Nutr. Cancer.*, **14**, 161-173 (1990)

10) Stock-Damge, C., Bouchet, P., Dentinger, A., Aprahamian, M. and Grenier, JF. : Effect of dietary fiber supplementation on the secretory function of the exocrine pancreas in the dog. *Am. J. Clin. Nutr.*, **38**, 843-849 (1993)

11) Stock-Damge, C., Aprahamian, M., Raul, F., Humbert, W. and Bouchet, P. : Effects wheat bran on the exocrine pancreas and the small intestinal mucosa in the dog. *J. Nutr.*, **114**, 1076-1082 (1984)

12) Takahashi T, Maeda H, Aoyama T, Yamamoto T, Takamatsu K. : Physiological effects of water-soluble soybean fiber in rats. *Biosci Biotechnol Biochem.*, **63**, 1340-1345 (1999)

13) Yang, J. K. : Development of the delignification methods of steam exploded hardwoods for enzymatic hydrolysis, Department of forestry graduate school, Kyungpook National University, Doctor paper, (1994)

14) Bochardt, L.G. and Piper, C.V. : A gas chromatographic method for carbohydrates as alditol-acetate, Tappi J., **53**, 257-260 (1970)

15) Min, D.S., Lee, J.Y., and Yoon, B.H. : Wood chemistry, Sunjin Press, Seoul, 366-375 (1981)

16) Lee, J. Y. and Chang, J. P. : The study on development of biodegradable polymer and new functional materials with waste paper in waste article of life, project The Report of Korea Science and Engineering Foundation, 33-34 (2000)

17) Annual Book of ASTM Standards Designation : D 1795-1762 (1997)

18) Min, D.S., Lee, J.Y. and Yoon, B.H. : Wood Chemistry. Seoul, pp366-375 (1981)

19) Bochardt, L. G. and Easty, D.B. : Improvement in gas chromatographic method for carbohydrates as alditol-acetete, *Tappi*, **65**(4), 127-128 (1983)

20) Reitman, S. and Frankel, S. : A colocrimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56-63 (1957)

21) Chai, S.E. and Kim, B.R. : Statistic analysis used spss/pc. Bummum Co., (1988)

22) Lim, B.K. : Studies on the carbohydrate structure of wood cell wall by enzymatic hydrolysis. Department of forestry graduate school, Kyungpook National University, Docter paper, (1999)

23) Fengel, D. and Wegener, G. : Wood, Walter de Gruyter, Berlin, 274-276 (1983)

24) Fan, L. T., Gharpuray, M. M. and Lee, Y. H. : Cellulose Hydrolysis, Springer-Verlag, New York, 60-67 (1987)

25) Chang, Y.K. and Hong, J.Y. : The effect of dietary fat levels and sources of dietary fiber on serum and liver lipids of rats. *Kor. J. Nutr.*, **17**, 253-261 (1984)

26) Lupton, J. R. and Morin, J. L. : Barly bran flour accelerates gastrointestinal transit time. *J. Am. Diet Assoc.*, **93**, 881-885 (1993)

27) Adam A, Levrat-Verny MA, Lopez HW, Leuillet M, Demigne C, Remesy C. : Whole wheat and triticale flours with differing viscosities stimulate cecal fermentations and lower plasma and hepatic lipids in rats. *J Nutr.* 131(6), 1770-1776 (2001)

28) Kelsay, J.L., Behall, K.M. and Prather, E.S. : Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 1149-1156 (1978)

29) Spiller, G.A., Chernoff, M.C., Hill, R.A., Gates, J.E., Nassar, J.J. and Shiply, E.A. : Effect of purified cellulose, pectin, and a low-residue diet on fecal volatile fatty acids, transit time, and fecal weight in humans. *Am J. Clin Nutr.*, **33**, 754-159 (1980)

30) Stephen, A.M. and Cumming, J.H. : Mechanism of action of dietary fiber in the human colon. *Nature.* **284**, 283-284 (1980)

31) Park, M.R. and Joo, S.Y. : Effect of dietary fibers on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *Kor. J. Sci. and Nutr.*, **14(3)**, 223-228 (1985)

32) Gordon, D.T. : The importance of total dietary fiber in human nutrition and health. *Korean J. Nutr.*, **25**, 75-82 (1992)

33) Torsdottir, I., Alpsten, M., Holm, G., Sandberg, AS. and Tolli, J. : A small dose of soluble alginate fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in hymans with diabetes. *J. Nutr.*, **121**, 795-801 (1991)

34) Kay, R.M. and Truswell, AS. : Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 171-177 (1977)

35) Poksay, K.S. and Schneeman, B.O. : Pancreatic and intestinal response to dietary guar gum in rats. *J. Nutr.*, **113**, 1544-1549 (1983)

36) Kelsay, J.L. : A review of research on effects of fiber intake on man. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 142-149 (1978)

37) Reitman, S. and Frankel, S. : A colocrimetric method for the determination of serum goutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56-63 (1957)

38) Lowry, OH., Rosenbrouth, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)

39) Chai, S.E. and Kim, B.R. : Statistic analysis used spss/pc. Bummum Co., (1988)

40) Lim, B.K. : Studies on the carbohydrate structure of wood cell wall by enzymatic hydrolysis. Department of forestry graduate school, Kyungpook National University, Docter paper, (1999)

41) Fengel, D. and Wegener, G. : Wood, Walter de Gruyter, Berlin, 274-276 (1983)

42) Fan, L. T., Gharpuray, M. M. and Lee, Y. H. : Cellulose Hydrolysis, Springer-Verlag, New York, 60-67 (1987)

43) Chang, Y.K. and Hong, J.Y. : The effect of dietary fat levels and sources of dietary fiber on serum and liver lipids of rats. *Kor. J. Nutr.*, **17**, 253-261 (1984)

44) Lupton, J. R. and Morin, J. L. : Barly bran flour accelerates gastrointestinal transit time. *J. Am. Diet Assoc.*, **93**, 881-885 (1993)

45) Kelsay, J.L., Behall, K.M. and Prather, E.S. : Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 1149-1156 (1978)

46) Spiller, G.A., Chernoff, M.C., Hill, R.A., Gates, J.E., Nassar, J.J. and Shiply, E.A. : Effect of purified cellulose, pectin, and a low-residue diet on fecal volatile fatty acids, transit time, and fecal weight in humans. *Am J. Clin Nutr.*, **33**, 754-159 (1980)

47) Stephen, A.M. and Cumming, J.H. : Mechanism of action of dietary fiber in the human colon. *Nature*. **284**, 283-284 (1980)

48) Story, J. A. : Dietary fiber and lipid metabolism. Proc. Soc. Exp. *Biol. Med.*, **180**, 447 (1985)

49) Matheson, H. B. and Stroy, J. A. : Dietary psyllium hydrocolloid and pactin increase bile acid pool size and chang bile acid composition in rats. *J. Nutr.*, **124**, 1161 (1994)

50) Kay, R. M. and Truswell, A. S. : Effect of citrus pection on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am. J. Clin. Nutr.*,**30**, 171 (1977)

51) Fiordaliso, M., Kok, N., Dsager, K. P., Goethals, F., Deboyser, D., Roberfroid, M., Delzenne, N.O. : Dietary oligofrouctose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very density lipoproteins of rats. *Lipid* **30**: 163-167 (1995)

52) Richard, C., Barbara, O., Subramaniam, S., Marie, M., Geroge, V. : Dietary fiber and intestinal adaptation : Effects on intestinal and pancreatic digestive enzyme activity. *Am. J. Clin. Nutr.* **41**: 1249-1256 (1985)

53) Schneeman B. O. : Pancreatic and digestive function. In : Dietary fiber in health and disease, 73-83, Plenum Press, New York (1982)