

최 종
연구보고서

유기 농산물을 이용한 신 기능성 식품 개발

The development of new functional food
using agricultural products

연구 기관

(주) 세 포 활 성 연 구 소

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “유기농산물을 이용한 신 기능성 식품 개발 에 관한 연구” 과제 (세부과제 “유기농산물을 이용한 신기능성 제품의 효능평가 및 분석에 관한 연구”)의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 7월 30일

주관연구기관명 : (주)세포활성연구소

총괄연구책임자 : 박 동 기

세부연구책임자 : 박 동 기

연 구 원 : 황 성 구

연 구 원 : 김 제 중

협동연구기관명 : 건국대학교

협동연구책임자 : 임 용 호

요 약 문

I. 제 목

유기 농산물을 이용한 신 기능성 식품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

우리나라의 건강 식품 규모는 1999년도 1조 4000억원에 이를 정도로 많은 국민이 건강 식품에 대한 관심이 높다. 인간의 끊임 없는 바람은 건강한 삶을 영유하는 것이다. 이러한 삶을 살아가기 위해서는 인체 내에 필요한 갖가지 영양소 및 생체 조절 기능성 인자들을 공급하지 않으면 안 된다. 이러한 역할을 맡고 있는 것이 신 기능성 식품이다. 이 기능성 식품 개발에 앞서 할 일은 기능성 소재 탐색에 대한 연구가 선행되어야 한다. 이러한 식품으로서의 요구 조건은 첫 번째 안전성의 확보 및 기능성의 확인 등이다. 이러한 요건을 충족시킬 수 있는 식품소재를 탐색하는 일은 쉽지 않다.

본 연구자들은 비료, 농약 등으로부터 안전성이 확보되는 유기 농산물을 이용하여, 이들의 부가가치와 기능성을 높이기 위해 곡류의 경우 발아 과정을 거치게 된다. 이 과정에서 잔유 농약이 처리됨과 동시에 새로운 성분의 창출과 기능성 물질(GABA, arabinoxylan 등)의 증가가 두드러진다.

또한 비 소화성 성분의 분해와 더불어 유효 성분의 증가에 따라 고부가가치의 소재가 창출된다. 이 과정이후 기능성 소재로서의 기능을 높이기 위해 여기에 버섯 종균을 접종시켜 획기적인 기능성 식품 신소재를 개발하게 되었다. 이 신소재의 개발로 우리나라 식품 산업 발전에 기여함은 물론 농가 소득 증대에도 일익을 담당하게 된다. 이 기능성 신소재에 대한 유용성 검증 및 신 물질 탐색은 곧 바로 식품 산업의 국가 경쟁력 상승으로 이어질 뿐만 아니라 의약품 개발에도 크게 기여할 것이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 연구 개발 목표

- 유기 농산물 생산 체계 확립
- 유기 농산물을 이용한 기능성 식품 신소재 개발
- 기능성 신소재를 이용한 식품 개발

2. 연구 개발 내용

가. 유기 농산물 생산을 위한 체계 확립

유기 농산물을 생산하기 위해서는 토양 개량이 시급하다. 이를 위해서 유기질 비료의 생산이 필요하다. 따라서 유기질 비료 생산 업체(한살 바이오)와 연계하여 유기농산물의 집단화를 형성할 수 있도록 지도한다.

나. 유기 농산물을 이용한 기능성 식품 신소재 개발

1) 유기 농산물의 발아

유기 농산물 가운데 곡류는 발아 과정을 통해 생리활성 물질의 함량 및 효능을 높인다. 침지 과정에서 키토산과 황기를 비롯한 생약 추출물을 첨가하여 발아율과 유효성분의 함량을 높이고 flavor를 개선시킨다.

2) 발아 유기 농산물을 이용한 버섯 종균 접종

발아 유기 농산물 중 발아 곡류(발아현미, 발아대두 등)에 상황버섯, 차가버섯, 아가리쿠스 등 약용 버섯의 종균을 접종시킨 다음 배양하여 기능성 식품 신소재를 개발한다.

3) 기능 식품 신소재의 가공

배양 후 건조, 분쇄 과정을 거쳐 기능성 식품 신소재로서 원료를 생산한다.

다. 신소재를 이용한 기능성 식품 개발

1) 상황 접종 발아현미

면역 활성 및 항암성이 뛰어난 기능성 식품 신소재로서 상황 접종 발아현미를 개발하였다.

2) Health & Joy diet meal 개발

기능성 원료가 첨가되어 체내 필요 영양소는 공급되면서, 섭취 열량소는 제한시켜 체내 대사를 조절함으로써 다이어트 효과를 나타낼 수 있도록 개발된 제품이다.

3) 건국 균형 영양 생식

체내 필수 영양소를 공급할 수 있도록 기능성 신소재를 첨가하여 개발된 균형 영양식으로서 노약자 및 수험생에 맞도록 설계된 제품이다.

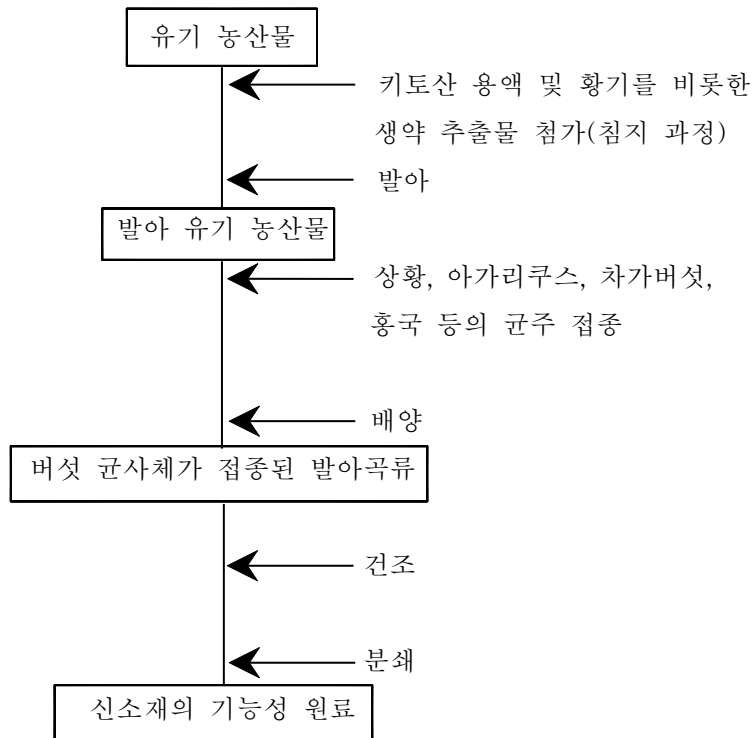
3. 연구 개발 범위

가. 유기 농산물 생산을 위한 체계 확립

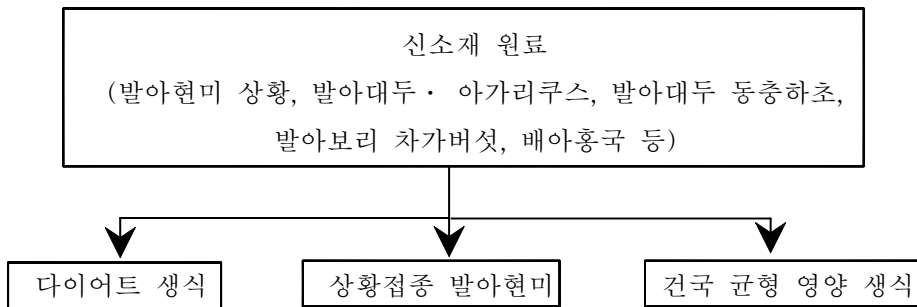
1) 유기질 비료 생산지도

(주) 한솥 바이오로 하여금 미생물(방선균)을 이용하여 흙누룩이란 상표로 생산된 유기질 비료를 생산하여 농가에 공급할 수 있도록 지도함

나. 유기 농산물을 이용한 기능성 식품 신소재 개발



다. 신소재 원료를 이용한 기능성 제품 개발



IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

◆ 연구개발 결과

1. 유기 농산물 생산을 위한 체계 확립

한살 바이오와 공동으로 개발한 “흙 누룩” 유기질 비료를 시비한 결과 화학비료 및 농약을 사용하지 않고 농산물을 생산하여 잔류 농약을 검사한 결과 기준 항목에서 검출되지 않았다.

2. 신소재 기능성 원료 생산

가. 유기농 발아현미에 상황버섯 균균이 접종된 발아현미 상황 개발

100여종의 상황버섯 균주로부터 항암 활성이 가장 뛰어난 *Phelinus linteus* 균주를 screening하여, 이 균주를 발아현미에 접종시켜 항암 활성이 뛰어난 발아현미 상황을 개발하였다(특허 제 0334248호). 개발된 발아현미 상황은 기존의 재배 상황, 상황 균사체등과 비교해서 대장암, 폐암, 직장암, 육종암 등에서 뛰어난 항암성을 나타냈다(투고중). 또한, 간 독성 실험 결과에서도 발아현미 상황이 뛰어난 효과를 나타냈다.(투고중)

나. 유기농 배아미 홍국 생산

다이어트 효과를 검토하기 위하여 배아미에 홍국균을 접종 시킨 배아미 홍국 추출물을 3T3-L1 지방세포의 분화억제효과를 검토한 결과 glycerol-3-phosphate dehydrogenase 활성과 triglyceride 축적을 80%정도 억제하였다. 또한 지방세포의 분화와 관련된 adipogenic transcription factor 인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 mRNA 발현을 현저하게 억제함을 밝혀냈으며, adipocyte target gene 인 aP2와 leptin 호르몬의 mRNA 발현량을 이 추출물을 처리했을 때 50%정도 감소시킨 것으로 나타났다.(투고중)

3. 신소재 원료를 이용한 제품 개발

가. 발아현미 상황 제품화

발아현미에 상황 균사체를 접종시킨 발아현미 상황을 상품화하여 판매 중에 있음.

나. Health & Joy diet meal 개발

생산된 기능성 원료를 첨가하여 다이어트 제품을 개발하여 서울시 소재 초등학교 5-6학년 중등이상 비만자를 대상으로 임상실험을 한 결과 비만에 뛰어난 효

과를 나타내어 Health & Joy diet meal 의 상품명으로 시판을 준비 중에 있음.

다. 건국 균형 영양 생식 제품화

생산된 기능성 원료를 배합하여 영양 균형식으로서 원료를 『건국생식』이란 상표로 출시하여 국내 뿐만 아니라, 일본에도 수출 계약 (수출선: 일본 동경소재 AMIQUE GROUP. co. LTD, Tel 81-42-580-0551) 맺었고, 홍콩, 미국 등과도 상담 중에 있음.

◆ 활용에 대한 건의

원료 및 제품의 우수성은 인정받았으나 홍보 매체의 활용에 어려움이 있다. 따라서 국민 건강에 기여할 수 있도록 알릴 수 있는 방안에 대해 협조가 요망된다.

SUMMARY

I. Title

The development of new functional food using agricultural products.

II. The purpose and necessity of the project

Korean health food market value is about 1,400 trillion in 1994, and many people highly show their interests in that market. Everyone has an incessant desire to live healthy. To live healthy, we need to provide various kinds of nutritionally balanced and body regulating factors, which are essential to our bodies. The new functional food is suggested to be a key factor. Before we develop this kind of functional food, we need to search for the materials that can be functional food. The materials should be safely edible and functional. It is not easy to find this kind of materials.

We used organic agricultural products grown without insecticides and chemical fertilizer. To increase its commercial value and functions, we germinated grains technically. In this process, we removed residue agricultural chemicals, and increased new components and functional materials (ex. GABA, arabinoxylan,)

Also as the indigestible ingredients were decomposed, and good ingredients were increased, the high-valued materials were produced. We inoculated the fungi to our materials to produce new breathtaking functional food. This new food materials will contribute to fostering Korean Food Industry and expending Korean agricultural industry. Finding new food ingredients valuable will foster Korean Food industry and medical industry.

III. Contents

1. Objective

-establishing organic agricultural products system

-developing new functional food materials using organic agricultural products

-developing functional food using new functional food materials

2. Subjective

1) Establishing system for organic agricultural production

We need to improve the soil quality to produce organic agricultural products. We produced organic fertilizer for this reason. We contacted Han-sam company(organic fertilizer producing company) so as to form the group of the organic agricultural products.

2) Developing new functional food materials using organic agricultural products

① The germination of organic agricultural products

Among those organic agricultural products, the germinated grains improve its contents and efficacy of ingredients that can enhance human physiological function. We added the plant extracts, including Chitosan and Milk vetch in the soaking process to improve the germinating rate and the contents of good ingredient and its flavor.

② The inoculation of fungi using the germinated organic agricultural products

We inoculated medicinal mushroom fungi- such as *Inonotus bliguus*, *Phellinus linteus*, *Agaricus blazeimurrill*, and so on, and then cultivated to produce new functional food materials.

③ The processing of the new functional food materials

After cultivation, we produced raw materials which can be new functional food materials through drying and pulverization process.

3) Developing functional food using new functional food materials

① Rice-germinated *Phellinus linteus*

It is considered to be the anti-inflammatory and chemopreventive agent, which is a potential candidate as a new functional food material.

② the development of Health&Joy diet meal

Our newly developed functional materials provide prerequisite nutrients to our

bodies and control the metabolism to be effective on a diet.

③ Konkuk balanced nutrient raw food

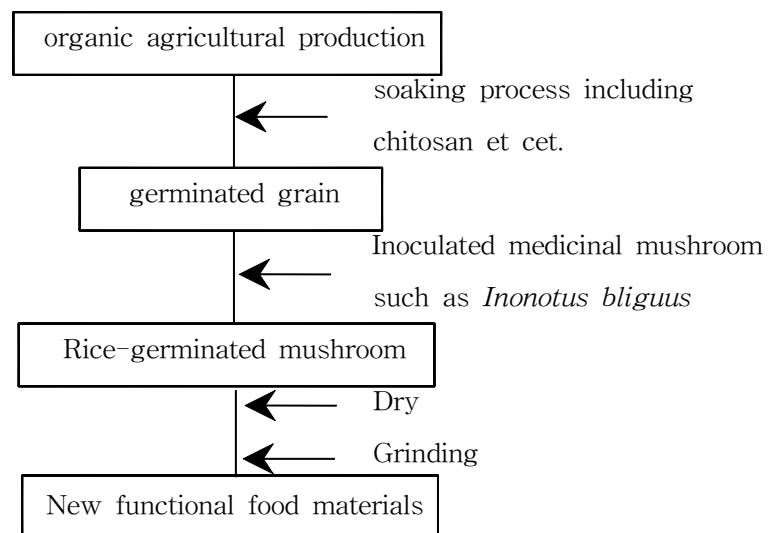
This product is designed for old and infirm people, and teenagers to provide prerequisite nutrient by adding new functional food materials.

3. Scope of Research

1) Establishing system of organic agricultural production

① produce organic fertilizer

2) Developing new functional food material



3) Development functional food using new functional food material

IV. Project Scope

1. Establishing the system for organic agricultural products

1) Directing to produce organic fertilizer

We directed Han-sam Co. to produce 'Huk-noo-rook', organic fertilizers, and provided them to Korean farms.

V. Suggestion

1. Establishing the system for organic agricultural products

We cooperated with Han-sam bio co. and produced 'Huk-Noo-Rook', organic fertilizer. During test, no agricultural chemical residue (under standard) was found in our products, using no chemical fertilizer and insecticide.

2. Producing new functional food materials.

1) Developing the rice-germinated *Phellinus linteus*, which is made by inoculating mushroom fungi to organic germinated-rice.

We screened *Phellinus linteus* fungi, showing the most anti-cancer activity among about 100 *Phellinus linteus* species, and developed the rice-germinated *Phellinus linteus* which has the chemopreventive function by inoculating the fungi to the germinated rice (Patent# 0334248). This developed rice-germinated *Phellinus linteus* shows the significant affectivity on inhibiting colon, lung, skin cancer, compared to *Phellinus linteus*, and *Phellinus linteus* fungi. We also found that the rice-germinated *Phellinus linteus* was shown to be most effective in liver toxicity experiment.

2) Production of organic germinated-rice Hong-Kook

We found that the rice-germinated Hong-kook extracts inhibited the 80% of glycerol-3-phosphate dehydrogenase activity and triglyceride accumulation by examining the effect of inhibiting differentiating 3T3-L1 adipose cells. We also found that this extract inhibited adipogenic transcription factor PPAR γ and C/EBP α mRNA expression, and reduced adipocyte target gene aP2 and leptin hormone mRNA expression by >50%.

3. Developing the products using functional food materials.

1) Manufacturing the rice-germinated *Phellinus linteus* product

Rice-germinated *Phellinus linteus* products are on sale.

2) Health&joy diet meal

We treated this product to 5th and 6th grade overweight examine in Seoul. It showed a very successful result in reducing one's weight. And we are ready to sell them as our new products,

3) KonKuk balanced nutrient raw food

'Konkuk Sang-Sik' is made by combining various functional food products. And it is sold in Korea. We have made a contract with Japanese company- Amique Grouo. co. LTD- as well as companies in Hong-kong and in USA.

◆ Suggestion

Though we acquired the excellence of our raw material and product, we have a difficulty in utilizing advertising and marketing. Therefore, we do need your cooperation to draw up a plan to contribute to enhancing public health.

CONTENTS

Summary	2
Chapter 1. Outline of Research	18
Para. 1 Object of research	18
Para. 2 Necessity of research	18
1. Target of research	18
2. Necessity of research	19
3. Scope of research	20
Chapter 2. Technological innovation present condition of korea and foreign nation	22
Chapter 3. Contents and Results of study & development	23
Para. 1 Organic agricultural production	23
Para. 2 Produce of functional grain inoculated with <i>Monascus</i>	31
Para. 3 Produce of grain inoculated <i>Phellinus linteus</i>	46
Para. 4 Developing new functional food using functional food materials	68
Chapter 4. Objection performance and contribution of	

relevance field	81
Chapter 5. Application plans of study results	82
Chapter 6. Science technology knowledge in study course	83
Chapter 7. Reference	84

목 차

요 약 문	2
Summary	7
제 1 장 연구개발과제의 개요	18
제 1 절 연구 개발의 목적	18
제 2 절 연구 개발 필요성 및 범위	18
1. 연구 개발 목표	18
2. 연구 개발의 필요성	19
가. 유기 농산물 생산 체계 확립	19
나. 유기 농산물을 이용한 기능성 식품 신소재 개발	19
다. 기능성 신소재를 이용한 신제품 개발	19
3. 연구 개발 범위	20
제 2 장 국내외 기술개발 현황	22
제 3 장 연구 개발 수행 내용 및 결과	23
제 1 절 유기농산물 생산	23
1. 유기농산물 실험 재료 및 방법	23
가. 유기농산물 일반 분석	23
1) 수분	23
2) 조회분	23
3) 단백질	23
4) 지방	23

5) 섬유	24
6) 탄수화물	24
7) 열량	24
나. 유기농산물중의 잔류농약 및 중금속 분석	24
1) 잔류농약 분석	24
2) 중금속 분석	24
2. 결과 및 고찰	25
가. 유기 농산물 등의 일반 성분의 분석 결과	25
나. 유기 농산물의 잔류농약 및 중금속 분석치	28
제 2절 홍국균 접종 기능성 곡류 생산	31
1. 실험 재료 및 방법	33
가. 홍국제조	33
나. citrinin 함량 측정	33
다. lovastatin 함량 측정	33
라. 홍국 배아미 추출물의 3T3-L1 지방세포 분화억제력 검토	33
1) 재료	33
2) 홍국배아미 추출물	34
3) 세포배양	34
4) Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) 활성 측정	34
5) Triglyceride 함량 분석	35
6) C/EBP α , PPAR γ 와 leptin mRNA의 발현양 측정을 위한 RT-PCR	35
7) PPAR γ 의 단백질 발현 측정을 위한 Western blot analysis	35
8) aP2 의 mRNA 발현을 측정하기 위한 Northern blot analysis	36
9) 통계분석	36
2. 결과 및 고찰	36
가. 홍국 접종 기능성 곡류	36
나. 홍국배아미의 성분 분석치	37
다. 홍국배아미 추출물의 3T3-L1 지방세포 분화에 미치는 영향	37
제 3절 상황버섯 접종 기능성 곡류 생산	46

1. 실험 재료 및 방법	46
가. 상황 발아현미 제조	46
1) 발아현미 생산	46
2) 발아현미 상황 제조	46
나. 발아현미 상황의 성분 분석	47
다. 간독성을 유발한 쥐에 대한 발아현미상황 추출물의 간보호 효과	47
1) 재료	47
2) 상황발아현미 추출물의 제조	48
3) 실험동물	48
4) 지질 과산화측정	48
5) 항산화효소활성 측정	48
6) 지방산조성분석	49
7) Immunoblotting analysis	49
8) 통계분석	49
라. 발아현미 상황 추출물의 항암 효과	49
1) 재료	49
2) 발아현미 상황버섯의 용매별 추출	50
3) 발아현미 상황버섯 및 각 원료별 추출물의 조제	51
4) 항암활성 측정 (SRB assay)	53
2. 결과 및 고찰	54
가. 균사체 배양 발아현미	54
나. 현미의 발아 시 성분 변화	54
다. 발아현미에 상황버섯 종균을 접종시켰을 때 성분 변화	55
라. 간독성을 유발한 쥐에 대한 발아현미상황 추출물의 간보호 효과	56
마. 발아현미 상황 추출물의 항암 효과	61
1) 발아현미 상황버섯의 용매별 추출물의 항암 활성	61
2) 발아현미 상황버섯 및 각 원료 추출물의 항암 활성 비교	64
제 4절 신소재를 이용한 기능성 식품 개발	68
1. 상황종균 접종 발아현미	68

2. Health & Joy diet meal 개발	68
가. 실험 재료 및 방법	68
1) 동물실험	68
2) 총 콜레스테롤 함량 측정	70
3) Triglyceride 함량 측정	70
4) Cholesterol 의 분석	70
5) 임상 실험	71
6) 체지방량 측정	73
7) 비만도 측정	73
8) 혈액 채취	73
나. 결과 및 고찰	73
1) 실험 동물의 체조성 변화	73
2) 쥐의 혈액 분석 결과	74
3) 임상실험 신체 계측치의 변화	75
4) 임상실험 혈액성분 변화	76
3. 건국 균형 영양 생식	80
제 4 장 목표 달성도 및 관련 분야의 기여도	81
제 5 장 연구 개발의 활용도	82
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	83
제 7 장 참고 문헌	84

제 1장 연구 개발 과제의 개요

제 1절 연구 개발의 목적

우리나라의 건강 식품 규모는 1999년도 1조 4000억원에 달하고 있으며, 이는 국민 소득 증대와 건강에 대한 관심이 높아가면서 꾸준히 증가하고 있다.

인간의 꿈과 희망은 건강하게 오래 사는 것이다. 이러한 삶을 살아가기 위해서는 무엇보다도 음식을 통해서 인체에 필요한 갖가지 영양소와 생체조적 기능성 인자들을 과부족없이 공급하지 않으면 안된다. 이러한 역할을 맡고 있는 것이 신개념의 기능성 식품이다. 이 기능성 식품의 효능은 이를 만드는 식품 소재에서 비롯된다. 따라서 신소재 개발이 무엇보다 중요하다. 본 연구자들은 식품으로서 가장 기본이 되는 안전성이 확인된 소재를 찾아 여기에 기능성을 부여하는 데 착안하였다. 비료, 농약 등 유해물질로부터 안전성이 확보된 유기 농산물을 이용하여, 이들의 부가가치와 기능성을 높이기 위해 곡류의 경우, 우선 발아 과정을 거쳐 유해물질(잔류 농약 등)을 제거함과 동시에 새로운 성분의 창출과 더불어 기존 생리활성 물질(현미의 경우 GABA, arabinoxylane 등)의 증가를 꾀하게 된다. 또한 비소화성 물질(현미의 경우 phytic acid)을 분해시켜 가소화성으로 만든다. 이런 과정 이후 기능성 소재로서의 부가가치를 한층 높이기 위해 여기에 버섯 종균을 접종시켜 기능성 식품 제조에 필요한 획기적인 신소재를 개발하는데 있다. 이 신소재 개발은 우리나라 식품산업 발전에 기여함은 물론 농가 소득 증대로 이어진다.

따라서 본 연구자들은 개발 신소재의 유용성 검증 및 신물질을 탐색하고 이를 근거로 제품을 개발하여 국민 건강 증진 및 소득 증대에 기여하는데 그 연구의 목적을 둔다.

제 2절 연구 개발 필요성 및 범위

1. 연구 개발 목표

- 가. 유기 농산물 생산 체계 확립
- 나. 유기 농산물을 이용한 기능성 식품 신소재 개발
- 다. 기능성 신소재를 이용한 신제품 개발

2. 연구 개발의 필요성

가. 유기 농산물 생산을 위한 체계 확립

유기 농산물을 생산하기 위해서는 토양 개량이 시급하다. 이를 위해서 유기질 비료의 생산이 필요하다. 따라서 유기질 비료 생산 업체(한살 바이오)와 연계하여 유기농산물의 집단화를 형성할 수 있도록 지도한다.

나. 유기 농산물을 이용한 기능성 식품 신소재 개발

1) 유기 농산물의 발아

유기 농산물 가운데 곡류는 발아 과정을 통해 생리활성 물질의 함량 및 효능을 높인다. 침지 과정에서 키토산과 황기를 비롯한 생약 추출물을 첨가하여 발아율과 유효성분의 함량을 높이고 flavor를 개선시킨다.

2) 발아 유기 농산물을 이용한 버섯 종균 접종

발아 유기 농산물 중 발아 곡류(발아현미, 발아대두 등)에 상황버섯, 차가버섯, 아가리쿠스 등 약용 버섯의 종균을 접종시킨 다음 배양하여 기능성 식품 신소재를 개발한다.

3) 기능성 식품 신소재의 가공

배양 후 건조, 분쇄 과정을 거쳐 기능성 식품 신소재로서 원료를 생산한다.

다. 신소재를 이용한 기능성 식품 개발

1) 상황 접종 발아현미

면역활성 및 항암성이 뛰어난 기능성 식품 신소재로서 상황 접종 발아현미를 개발하였다.

2) Health & Joy diet meal 개발

기능성 원료가 첨가되어 체내 필요 영양소는 공급되면서, 섭취 열량은 제한시켜 체내 대사를 조절함으로써 다이어트 효과를 나타낼 수 있도록 개발된 제품이다.

3) 건국 균형 영양 생식

체내 필수 영양소를 공급할 수 있도록 기능성 신소재를 첨가하여 개발된 균형 영양식으로서 노약자 및 수험생에 맞도록 설계된 제품이다.

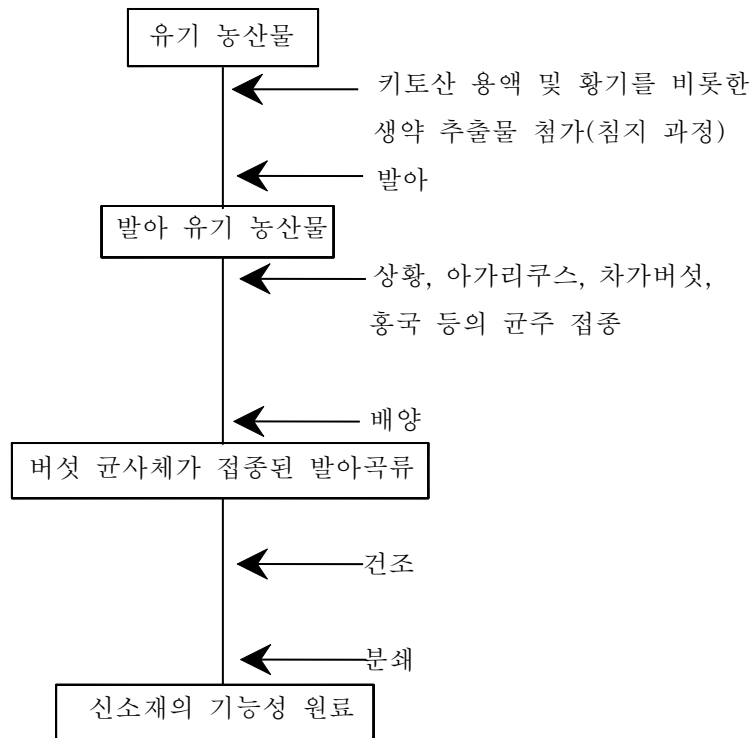
3. 연구 개발 범위

가. 유기 농산물 생산을 위한 체계 확립

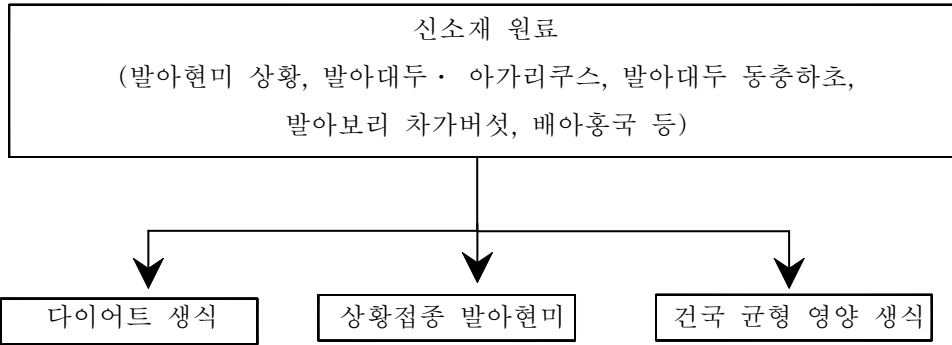
1) 유기질 비료 생산 지도

(주) 한살 바이오로 하여금 미생물(방선균)을 이용하여 흙누룩이란 상표로 생산된 유기질 비료를 생산하여 농가에 공급할 수 있도록 지도함

나. 유기 농산물을 이용한 기능성 식품 신소재 개발



다. 신소재 원료를 이용한 기능성 제품 개발



제 2장 국내외 기술개발 현황

국민 소득 증대와 더불어 건강에 대한 관심이 고조되면서 건강과 직결된 먹거리, 그 중 기능성 식품에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

그러나, 식품을 만드는 식품 소재가 극히 제한되어 있기 때문에 기능성 식품 개발 역시 한계에 부딪치게 된다. 본 연구자들이 개발하고자 하는 유기농산물을 이용한 기능성 신소재 개발에 대해서는 국내외적으로 연구가 활발하게 진행되어 있지 않다. 특히 발아 곡류에 버섯 종균을 접종 시킨 기능성 신소재 개발에 대해서는 본 연구자가 최초로 착안하여 특허를 획득하였다(특허 제 0334248호). 본 연구자들은 국내외적으로 최초로 신소재를 이용하여 제품을 개발하여 국내 출시는 물론 수출선까지 확보한 상태에 있다.

제 3장 연구 개발 수행 내용 및 결과

제 1절 유기농산물 생산

1. 유기농산물 실험 재료 및 방법

가. 유기농산물 일반 분석

- 1) 수분 : 물은 1기압 하에서 100℃의 온도에서 기화한다. 이것을 이용하여 식품을 105℃~110℃의 건조기에서 건조하여 감소된 중량을 수분량으로 한다. 시료를 잘 혼합하고 3g 정도를 칭량하여 roller mill로 조쇄하고, 소형 aluminium제 칭량용기에 일부를 채취하여 135℃ 상압 가열건조법으로 측정한다.
- 2) 조회분 : 식품을 태워 유기물을 제거하고 잔존하는 전 무기질 중량을 회분으로 함. 시료 2~5g을 회화용기에 채취하여 전기로 속에서 550~600℃로 수시간 태운 다음, 데시케이터에 옮기어 방냉한 후, 실온에 달하면 즉시 평량한다. 항량에 달할 때까지 이 방법을 반복한다.
- 3) 단백질 : Micro Kjeldahl 법으로 식품시료를 Kjeldahl 분해 플라스크에 취하고 TiO_2 , CuSO_4 , K_2SO_4 및 진한 황산을 첨가하여 가열해서 유기물을 분해하며, 화합물 중의 질소를 암모니아로 포착한다. 그리고 강알칼리성 용액으로 직접 가열증류하여 유출하는 암모니아를 봉산 혹은 황산용액 속에 포집하고서 황산 혹은 NaOH 표준용액을 적정하여 얻어진 질소량에 단백질 환산계수를 곱하여 단백질 함량으로 한다.
- 4) 지방 : 시료를 100mesh 이상으로 분쇄하여 분말화된 시료 5~10g을 칭량하며, Soxhlet 추출법에 따라 ether로 추출한 후 회전진공농축기를 이용하여 ether를 증발시키고, 정온건조기에서 1시간 건조한 후 데시케이터에서 30분간 방냉하는 것을 반복하여 정량한다.

5) 섬유 : 섬유는 hemicellulos, lignin, pectin 등과 같이 유기용매 및 묽은 산, 알칼리에 녹지 않는다. 그래서 적절한 산과 알칼리로 처리하여, 불순물인 단백질, 지방, 전분등을 제거하고 남는 물질인 조섬유를 정량한다.

6) 탄수화물 : 구리염의 정량법으로 benedict 시약은 CuSO_4 , KSCN , $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 을 포함하고 있어 당에 의해 환원된 Cu는 흰색의 CuSCN 로 침전된다. 또 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 는 붉은색의 Cu_2O 의 침전을 방해한다. 이리하여 Benedict시약으로 적정할 경우 CuSO_4 의 푸른색이 탈색되는 시점을 정확하게 확인할 수 있다.

7) 열량 : 식품의 성분분석 결과로부터 칼로리 환산계수를 이용하여 계산한다.

나. 유기농산물중의 잔류농약 및 중금속 분석

1) 잔류농약 분석

각 잔류 농약별 추출방법과 가스크로마토그래피의 조건은 식품의약품안전청의 식품공전에 따라 실시하였다.

2) 중금속 분석

원자흡광분광광도계(atomic absorption spectrophotometer, AAS)법은 시험용액 중의 금속원소를 적당한 방법으로 해리시켜 원자를 증기화 시킨다. 이렇게 하여 생성한 기저상태의 원자는 그 원자증기를 통과하는 빛으로부터 특정파장의 빛을 흡수한다. 따라서 원자흡광광도계법은 목적 무기원소를 분석하기 위하여 우선 특정 파장에서 표준시료용액의 흡광도를 측정하고, 이어서 시험용액의 흡광도를 측정하여 흡광도를 서로 비교하여 목적 무기원소의 농도를 구하는 방법이다. 화염원자흡광법은 Zn, Cd, Cu, Pb, Mn, Ni, Co, Sn, Fe 등을, 무염원자흡광법은 이들 9원소와 Sb, Cr, Bi, Se, As, V 및 Be 등의 측정에 사용된다. 시료조제 용액을 분액 깔때기에 옮긴 후 1, 10-페난스로린용액 3ml, 옥신용액 2ml, 초산나트륨용액 10ml을 가한 후 흔들여 섞은 후 이어서 클로로포름 15ml을 가한 후 약 30초간 vortexing 5분간 방치, 이후 분리된 클로로포름층을 무수황산나트륨 약 2g을 넣은 50ml 용량의 마개달린 시험관에 취하고 마개를 한

후 vortexing한 후 이 용액 일부를 흡수셀에 넣고 광전분광광도계를 사용하여 각 중금속의 흡광도를 측정하여 농도를 측정.

2. 결과 및 고찰

가. 유기 농산물 등의 일반 성분의 분석 결과

Table 1. General composition of organic farm product.

○ 곡물

원 료 시험항목	쌀	백태	차조	율무	검정 약콩	검정깨	들깨	참쌀	찰흑미	수수
수분(%)	13.9	11.0	12.3	10.1	12.1	5.3	6.9	13.0	14.1	13.4
회분(%)	0.4	5.3	1.7	1.9	4.8	5.2	3.5	0.5	1.2	1.2
단백질(%)	8.2	36.9	11.2	17.6	35.8	21.1	20.9	9.9	2.9	10.3
조지방(%)	1.3	17.9	3.3	6.7	15.3	49.1	46.0	1.0	3.4	2.0
조섬유(%)	0.4	5.2	1.0	3.0	5.2	5.1	16.1	0.9	1.2	0.6
탄수화물(%)	76.9	31.1	74.5	68.3	36.2	21.2	31.2	82.4	72.5	73.0
당질(%)	76.5	25.9	73.5	65.3	31.0	16.1	15.1	81.5	71.3	72.4
열량(kcal/100g)	350	403	366	383	409	549	495	378	357	357
유기물(%)	86.4	85.9	89.0	92.6	87.3	91.4	98.1	93.3	78.8	85.3
Ca(ppm)	61.3	1,000	144.1	123.2	2,000	6,000	3,000	70.1	148.4	94.0
K(ppm)	701.1	16,000	2,000	3,000	14,000	6,000	5,000	763.9	2,000	2,000
Mg(ppm)	182.7	2,000	1,000	1,000	2,000	3,000	2,000	274.0	766.5	661.2
P(ppm)	1018.0	10,000	3,000	4,000	8,000	7,000	8,000	915.4	2,000	2,000
Na(ppm)	162.5	229.3	154.3	233.9	215.8	247.2	192.1	281.6	196.5	158.4
Fe(ppm)	17.4	75.7	59.1	129.5	110.3	233.9	184.3	18.7	35.1	31.5
Zn(ppm)	13.6	42.4	31.3	24.0	34.4	51.4	36.6	16.9	17.2	9.7

○ 곡물

원 료 시험항목	보리쌀	서리태	팥	기장	현미	참깨	발아현미
수분(%)	10.7	10.5	13.0	12.2	13.5	5.2	10.0
회분(%)	0.7	5.1	3.5	1.1	1.3	4.7	1.2
단백질(%)	9.8	34.1	20.3	11.7	6.6	20.0	1.0
조지방(%)	1.2	18.1	1.0	2.3	2.8	51.2	1.5
조섬유(%)	0.6	4.1	7.3	1.0	3.2	5.0	2.5
탄수화물(%)	76.9	30.8	60.7	71.6	78.5	20.2	86.3
당질(%)	76.3	26.7	53.4	70.6	75.3	15.2	83.8
열량(kcal/100g)	346	380	307	355	353	553	352.5
유기물(%)	87.9	83.0	82.0	85.6	87.9	91.4	88.8
Ca(ppm)	218.6	1,000	600.5	109.5	92.8	6,000	263.1
K(ppm)	2,000	17,000	12,000	0.1	2,000	5,000	2,000
Mg(ppm)	358.7	2,000	1,000	630.7	834.0	3,000	1,000
P(ppm)	1,000	8,000	5,000	2,000	2,000	8,000	3,000
Na(ppm)	231.2	179.1	152.4	210.0	210.6	244.3	114.4
Fe(ppm)	30.9	57.0	60.0	56.5	40.1	169.6	22.0
Zn(ppm)	17.8	39.2	22.1	24.5	17.9	44.2	46.9

○ 야채류, 기호성

원 료 시험항목	호박	케일	당근분말	송화	효모	사과분말
수분(%)	11.5	5.3	8.2	8.6	4.6	3.9
회분(%)	7.1	10.4	7.6	3.0	7.3	3.1
단백질(%)	11.4	40.5	10.4	17.9	42.3	9.3
조지방(%)	1.6	1.2	1.1	8.8	2.0	1.0
조섬유(%)	3.7	2.3	1.8	0.1	2.5	1.4
탄수화물(%)	64.2	25.6	67.5	64.1	45.5	75
당질(%)	60.5	23.3	65.3	64.0	43.0	73.6
열량(kcal/100g)	264	253	257	376	297	294
유기물(%)	77.2	67.3	79	90.8	89.8	85.3
Ca(ppm)	1,000	18,000	2,000	432.6	901.8	394.3
K(ppm)	29,000	21,000	29,000	10,000	16,000	8,000
Mg(ppm)	860.3	4,000	863.2	844.5	1,000	315.1
P(ppm)	3,000	3,000	3,000	3,000	15,000	659.7
Na(ppm)	307.9	2,000	2,000	530.0	908.5	251.5
Fe(ppm)	46.8	98.8	42.4	228.3	62.7	41.0
Zn(ppm)	16.6	22.1	20.6	71.5	71.5	3.9

○ 첨가물

원 료 시험항목	키토산	대두펩타이드	D-글루코사민
성상	백-옅은 황색 또는 적색을 띠는 분말 혹은 인편상으로 약간 특유의 냄새가 있다.	고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없다.	고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없다.
수분(%)	5.07	7.12	0.21
회분(%)			0.11
단백질(%)		86.72	
지방(%)		1.42	
아미노산질소(%)		20.20	
총글루코사민함량(%)			99.93
pH(1%)			5.07
강열잔류물(%)	2.15		
탈아세틸화도(%)	98.53		
점도(cps)	1,062		
Na(%)		2.02	
Fe(ppm)			기준이하(<10.0)
As(ppm)	기준이하(<4.0)	불검출	기준이하(<0.5)
중금속(ppm)	기준이하(<20.0)	불검출	기준이하(<10.0)
대장균군	음성	음성	음성
세균수(c/g)	<500	<1,000	500
살모넬라			음성

나. 유기 농산물의 잔류농약 및 중금속 분석치

유기농산물중의 중금속 양은 Table 2와 같다.

Table 2. The heavy metal content of organic farm product.

○ 곡류

원 료 시험항목	쌀	백태	차조	울무	검정 약콩	검정깨	들깨	참쌀	찰흑미	수수
Al(ppm)	2.6	15.9	24.8	12.8	20.1	269.6	181.6	9.1	12.3	18.7
Cd(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Co(ppm)	N.D.	0.2	N.D.	0.1	0.2	0.4	0.5	0.1	0.1	N.D.
Cr(ppm)	1.7	3.0	1.5	7.4	2.2	3.1	3.7	2.3	3.7	1.4
Cu(ppm)	2.3	9.7	4.5	4.5	10.3	11.7	14.4	2.8	2.2	2.0
Mn(ppm)	10.9	26.0	16.1	23.3	29.7	29.6	55.4	9.2	23.9	9.9
Mo(ppm)	2.0	3.0	N.D.	0.7	1.3	0.3	0.3	0.1	0.1	N.D.
Ni(ppm)	1.1	5.2	2.9	2.9	6.9	5.0	2.9	2.2	1.5	1.1
Pb(ppm)	0.2	1.5	0.6	5.9	1.3	2.1	0.3	0.6	0.2	0.4
Si(ppm)	5.5	13.1	9.1	13.2	14.6	11.4	5.0	10.1	10.2	10.6
Ti(ppm)	0.5	1.2	1.3	0.6	1.3	21.8	14.6	0.3	0.9	0.5
Hg(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
As(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Se(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

○ 곡류

원 료 시험항목	보리쌀	서리태	팥	기장	현미	참깨	말아현미
Al(ppm)	8.3	9.9	8.7	35.6	4.8	203.2	3.4
Cd(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Co(ppm)	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	0.4	N.D.
Cr(ppm)	2.1	1.5	1.5	3.1	5.3	2.6	0.5
Cu(ppm)	3.5	10.5	6.6	3.6	3.3	13.1	8.4
Mn(ppm)	12.4	24.2	21.8	8.2	24.9	19.4	20.4
Mo(ppm)	N.D.	2.4	1.0	0.1	0.2	0.1	1.2
Ni(ppm)	1.6	4.5	3.9	1.9	1.5	3.8	N.D.
Pb(ppm)	2.3	0.6	0.2	0.5	N.D.	0.3	2.1
Si(ppm)	11.8	7.3	8.3	8.0	10.2	7.0	4.9
Ti(ppm)	0.4	0.5	0.5	2.5	0.2	13.4	0.7
Hg(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
As(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Se(ppm)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

○ 야채류, 기호성

원 료 시험항목	호박	케일	당근	송화	효모	사과
Al(ppm)	17.1	27.5	7.9	209.1	8.7	6.0
Cd(ppm)	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D.
Co(ppm)	0.3	0.4	0.1	0.2	0.2	N.D.
Cr(ppm)	2.6	6.4	2.9	16.3	1.7	3.0
Cu(ppm)	3.7	2.9	4.1	7.2	4.2	1.7
Mn(ppm)	9.0	54.6	31.5	84.1	4.8	7.0
Mo(ppm)	0.1	N.D	0.7	N.D	0.1	N.D.
Ni(ppm)	2.1	6.2	1.5	8.8	2.6	1.6
Pb(ppm)	1.9	N.D	1.1	104.4	1.3	N.D.
Si(ppm)	15.0	16.7	7.1	21.1	16.0	13.2
Ti(ppm)	0.3	3.9	0.7	14.5	1.0	0.4
Hg(ppm)	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
As(ppm)	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Se(ppm)	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

유기 농산물 중 분석값은 다음과 같다. 식품의약품안전청의 식품공전에 따라 실시한 각 잔류농약의 측정결과 모든 항목에서 검출되지 않았다. 잔류농약 항목은 DDVP, Cyhalothrin, Dicofol, Diazinon, Fenitrothion, Metholachlor, Tetradimeton, Flopet, Phentoate, Procymidone, Endosulfan-a, Isoprothiolan, Chlorbenzilate, Phosmet, Bifenthrin, Phosalon, Cypermethrin이다.

제 2절 홍국균 접종 기능성 곡류 생산

홍국(紅麴, *Monascus koji*)은 *Monascus* 속의 곰팡이를 쌀 등의 곡류에 배양시켜 제조한 *Koji*로 중국 남부나 대만을 중심으로 600여 년 이상 전부터 이용 되어왔다. 홍국은 이름에서도 알 수 있듯이 그 자체로 홍색을 띠는 *koji*로 예로부터 식품으로써 뿐 아니라 식품재료에 붉은 색이 적어 천연 착색료로도 이용되어 왔으며, 특히 알콜 생산능력이 다른 *koji*에 비해 강하며 단(甘)향이 강하고 착향성이 뛰어나 주로 양조용 *koji* 및 착색·착향료로 이용되어 왔다(Endo, 1985). 홍국의 육제품에 대해 적용과 관련하여 중국 명시대의 宋應星의 저서 “天工開物” 하권에 「어육은 가장 부패하기 쉬운 것이나 홍국을 얹게 발라놓으면 한여름에도 그 질을 유지할 수 있다. 10일이 지나도 모기나 파리가 가까이 하지 않으며 색이나 맛은 원래 그대로니 신기한 약이다」로 기록되어 있으며 이러한 습관은 현재에도 이어져 대만에서는 돼지고기, 닭고기, 어육 등을 담구어 보존하는데 특히 ‘설’에는 일반가정에서도 쉽게 볼 수 있다고 한다.

홍국은 한방생약으로도 이용되어 왔으며 중국의 고서에 다양한 약리효능이 기록되어 있을 뿐 아니라 최근의 과학적 연구에 의해서 그 효능이 입증되고 있다. 특히 Endo *et al.*은 *Monascus ruber*로부터 강력한 cholesterol 생합성 저해물질, monacolin K 및 이와 유사한 구조를 갖는 다른 활성물질을 분리하였으며 이들 물질은 모두 독성이 극히 낮으며 동시에 강한 cholesterol 저하작용을 나타내며 HMG-CoA(3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA) reductase를 길항 저해하는 것이 특징이다. Monacolin K는 토끼, 개, 원숭이 등의 혈중 cholesterol을 저하시킬 뿐 아니라 중증의 고 cholesterol 혈증환자에 대해서도 극히 효과적이며 특히 LDL(low density lipoprotein)-cholesterol을 우선적으로 낮추는 작용이 있는 것이 큰 특징이다. 한편 monacolin K와 동일한 물질로, 배양된 *Aspergillus*로부터 분리된 lovastatin은 1987년 미국의 Food and Drug Administration에 의해 약물로서의 사용이 허가되었으며 현재 까지 전 세계적으로 널리 사용되고 있다. 최근에는 홍국에 함유된 lovastatin(또는 Monacolin K)의 함량에 따라 건강보조식품으로 개발, 판매되는 사례가 국내·외적으로 급증하고 있으며 홍국의 약리 효능, 특히 콜레스테롤 생합성억제 효능에 대한 관심이 높아지고 있다. 홍국에는 이외에도 혈압강하, 혈관이완 등의 약리작용이 보고되고 있어 홍국의 기능성식품소재로서의 활용에 기대가 높아지고 있다.

1. 실험 재료 및 방법

가. 홍국제조

홍국 *koji*가 생산하는 독성물질인 citrinin의 함량이 낮고, Cholesterol 생합성 억제능으로 알려진 lovastatin(Monacolin K)의 함량이 높은 균주로 알려진 M. Pilosus PN0302를 선택하였다.

발아메밀, 발아울무, 발아현미, 배아미, 발아보리, 발아밀, 발아대두 등을 autoclave에서 멸균한 다음 홍국균주를 접종하고 30℃에서 2일, 그 이후 25℃에서 7일간 호기적으로 정치 배양한 다음, 열풍건조시켜 수분이 10%이하로 된 기능성 곡류를 생산하였다.

나. citrinin 함량 측정

홍국의 citrinin 함량은 Abramson *et al.* (1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 홍국 건조 분말 10g을 methylen chloride로 추출하고 이를 Liquid-Liquid Extraction(LLE) cartridge에 흡착시킨 후 흡착된 citrinin을 80% methanol로 elution 시켜 HPLC등급을 사용하였으며, citrinin standard는 Sigma 사(St. Louis, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

다. lovastatin 함량 측정

홍국 lovastatin 함량은 Elkin *et al.* (1990)의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 홍국 건조분말 250 mg을 acetonitrile 5 mL을 첨가해 15분 동안 sonication하여 추출하여 HPLC로 분석하였다. 추출 및 분석에 사용한 용매는 HPLC등급을 사용하였으며, lovastatin standard는 WAKO 사(Tokyo, Japan)로부터 구입하여 사용하였다.

라. 홍국 배아미 추출물의 3T3-L1 지방세포 분화억제력 검토

1) 재료

Dulbecco's minimum essential medium (DMEM) 과 fetal bovine serum (FBS) 은 JRH bioscience (Lenexa,KS)에서 구입하였다. Dexamethazone (DEX),

1-methyl-3-isobutyl xanthine (IBMX) and insulin (INS) 등을 포함한 모든 시약은 Sigma (St.Louis, MO)에서 구입하여 사용하였다. Rabbit polyclonal anti-PPAR γ antibody와 horseradish peroxidase conjugated donkey anti-rabbit secondary antibody는 Affinity BioReagents (ABR, CO)에서 구입하였고, enhanced chemi luminescence (ECL) detection kit 는 Amersham Pharmacia Biotech (Piscataway, NJ)를 사용하였다. Trizol reagent와 그밖의 PCR reagent는 각각 Invitrogen (Carlsbad, CA)과 TaKaRa (Otsu, Japan) 에서 구입하였다.

2) 홍국배아미 추출물

홍국배아미는 세포활성연구소에서 제공하였다. 상품화된 홍국을 전통적인 방법으로 배아미에 발효시켜 건조시킨 홍국배아미를 열수추출하여 여과한후 동결건조하여 분석시까지 -20°C에 보관하였다.

3) 세포배양

American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD) 로부터 Mouse 유래 embryo 3T3-L1 cells을 구입하여 10% FBS가 포함된 DMEM배지에 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하여 confluent가 되면 0.25 μ M DEX, 0.5mM IBMX 과 10 μ g/ml INS 이 포함된 분화배지로 바꾸어 48시간동안 배양한후 5 μ g/ml INS를 포함한 분화후 배지로 바꾸어 이틀마다 배지를 교환하면서 6일동안 배양하였다. 홍국배아미 추출물의 작용을 연구하기 위하여 분화배지와 분화후 배지 단계에서 홍국배아미 추출물 2mg/ml를 함께 투여하였다.

4) Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) 활성 측정

PBS로 washing한 세포에 1mM EDTA가 포함된 50mM Tris-HCl (pH7.5) 버퍼 2ml를 첨가하여 떼어낸 후 Branson model Sonifier를 이용하여 40watt에서 5초간 처리하였다. 14,000rpm에서 20분간 원심분리하여 GPDH 활성을 측정하여 소비된 NADH(nM)/protein(mg) 으로 나타내었다.

5) Triglyceride 함량 분석

GPDH 활성 측정에 사용한 cell suspension을 total triglyceride kit (Wako, Triglyceride G-test) 를 이용해 분석한후 total triglyceride /dl cell lysate로 나타내었다.

6) C/EBP α , PPAR γ 와 leptin mRNA의 발현양 측정을 위한 RT-PCR

3T3-L1 cell로부터 TRIzol reagent를 이용하여 추출한 total RNA 1 μ g을 RT-PCR을 이용하여 cDNA를 합성하였다. reverse transtription 조건은 30 $^{\circ}$ C 에서 10분, 42 $^{\circ}$ C에서 30분, 99 $^{\circ}$ C에서 5분으로 수행하였다. C/EBP α forward primer 는 5'AGGTGCTGGAGTTGACCAGT3', reverse primer 5'CAGCCTA GAGATCCAGCGAC3'로 하였고, PPAR γ 는 5'GGTGAAACTCTGGGAGA TTC3'와 5'CAACCA TTGGGTCAGCTCTT3' 로 하였다. 94 $^{\circ}$ C x 1분 / 54 $^{\circ}$ C x 1분 / 72 $^{\circ}$ C x 30초의 반응조건으로 25회 수행하였고, 최종 72 $^{\circ}$ C에서 7분간 반응시켰다. leptin은 forward : 5'CCAAAACCCTCATCAAGACC3', reverse : 5'CTCAAAGCCACCACCTCTGT3')로 하였고, housekeeping gene인 G3PDH 의 forward : 5'CCATC AACGACCCCTTCAT3' 와 reverse : 5'GTCCTCAGTGTAGCCCAA GA3'를 이용하여 반응에 이용된 RNA양을 비교하였다. 합성된 샘플을thermal mini Cyclor (MJ Reserch, MA,USA) 를 이용하여 94 $^{\circ}$ C x 1분 반응 후에 94 $^{\circ}$ C x 1분 / 57 $^{\circ}$ C x 1분 / 72 $^{\circ}$ C x 2분으로 33회 반복 후 최종 92 $^{\circ}$ C x 7분동안 반응시켰다. PCR products를 1.2% agarose gel 로 전기영동후 ethidiumbromide로 염색하여 uv light로 관찰하였다.

7) PPAR γ 의 단백질 발현 측정을 위한 Western blot analysis

6-well tissue culture plates에서 배양한 3T3-L1 cells을 PBS로 washing한후 50mM Tris-HCl (pH7.5) 버퍼를 첨가하여 스크래핑 하였다. 40watt에서 5초간 소니케이션 후 14,000 rpm에서 20분동안 원심분리하여 상층을 분석에 사용하였다. 22 μ g의 단백질을 10% SDS-polyacrylamide gel에 로딩한후 PVDF membranes에 transfer시켜 primary antibodies를 붙인후 horseradish peroxide 가 lable된 secondary antibody와 반응시켰다. 항체를 반응시킨 membrane을

enhanced chemiluminescence system을 이용하여 X-ray film에 노출시켰다. PPAR γ 의 상당량을 image analyzing system (Bio-Rad Laboratories., USA)을 이용하여 비교하였다.

8) aP2 의 mRNA 발현을 측정하기 위한 Northern blot analysis

Total RNA 1 μ g 을 1.0% agarose gel 로 분리시켜 nylon membranes에 transfer시켰다. cDNA probes를 PCR DIG probe synthesis kit (Roche, Germany) 를 이용하여 lable 한후 50% formamide가 포함된 hybridization buffer에서 1시간동안 (50 $^{\circ}$ C) prehybridization 시켰다. 그리고 hybridization bag 에 옮겨 50 $^{\circ}$ C에서 16시간동안 incubation후 DIG Luminescent detection kit (Roche, Germany) 를 이용하여 측정하였다.

9) 통계분석

모든 데이터는 means \pm SEM로 나타냈고 통계적 유의차는 Student's *t*-test로 수행하였으며 (P<0.01), SPSS (version 10.0, SPSS Institute, Chicago, IL) 로 분석하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 홍국 접종 기능성 곡류

유기농 발아메밀, 발아울무, 발아현미, 배아미 등에 홍국균을 접종시켜 fig. 1과 같은 기능성 곡류를 생산하였다.

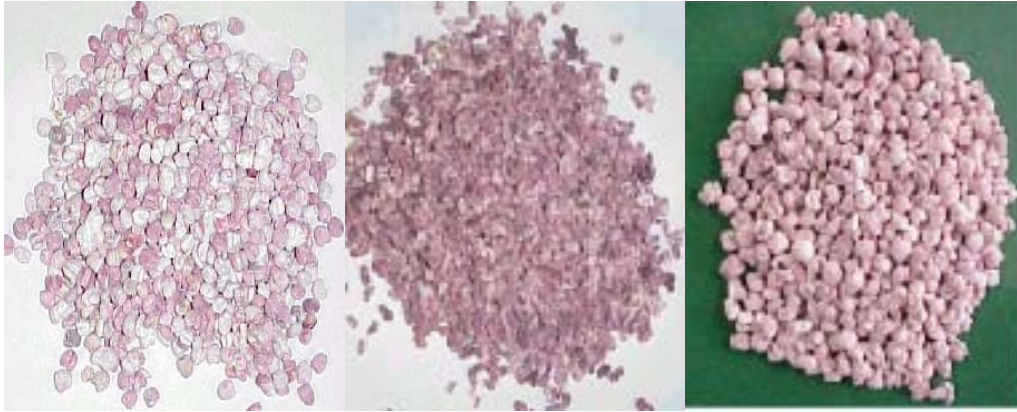


Fig. 1. Red yeast rice

나. 홍국배아미의 성분 분석치

생산된 배아미홍국 추출물 중의 citrinin 함량을 측정한 결과 검출되지 않았고, Lovastatin(Monacokin K)는 약 2.8 mg%로 분석되었다.

다. 홍국배아미 추출물의 3T3-L1 지방세포 분화에 미치는 영향

3T3-L1세포에 있어서 TG의 합성에 관여하는 glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH)의 활성을 측정한 결과 fig. 2 와 같이 홍국배아미 추출물 투여군은 대조군과 비교했을 때 약 80% 정도 활성이 억제 되었다.

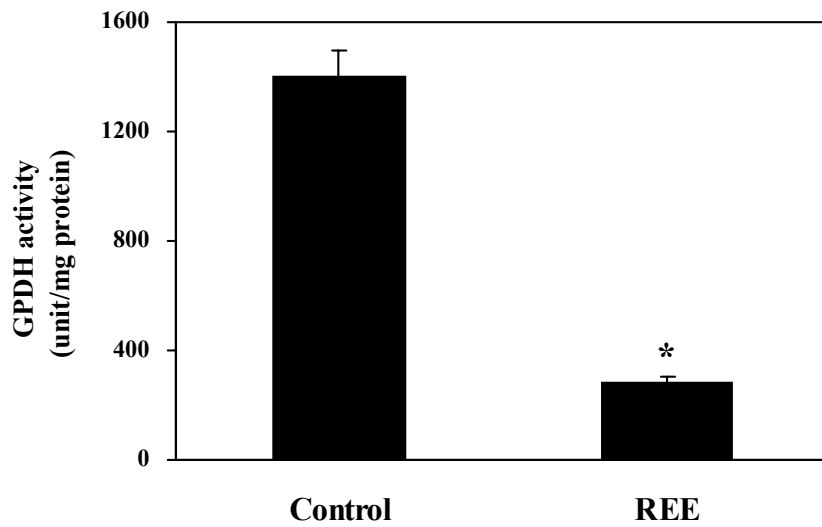


Fig. 2. Effect of red yeast embryonic rice extracts (REE, 2mg/ml) on glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) activity in 3T3-L1 cell. Each bar represents mean \pm SEM of three wells. * $p < 0.01$ compares control and REE group.

한편 3T3-L1 세포내에서 TG 생성량을 분석한 결과 홍국배아미 추출물 투여군은 대조군에 비해서 약 82%의 감량치를 보였다 (fig. 3).

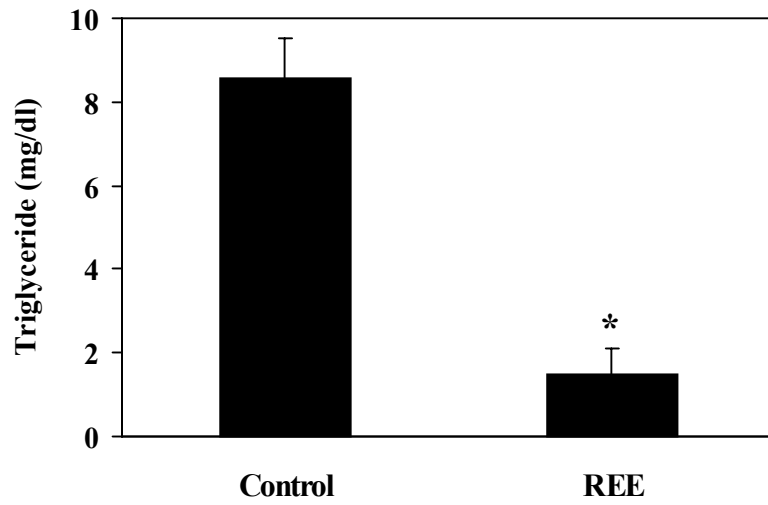


Fig. 3. Effect of REE (2mg/ml) on triglyceride contents in 3T3-L1 cell. Each bar represents mean \pm SEM of three wells. * $p < 0.01$ compares control and REE group.

또한 비만 유전자 발현 단계에서 홍국 배아미 추출물이 지방 생성과정에 관여하는 전사 인자인 PPAR α 의 mRNA 와 단백질 발현 정도를 측정된 결과 크게 억제됨을 알 수 있었다 (fig. 4 and 5). 이 PPAR α 는 지방세포 분화 초기에 발현되는 유전자로서 C/EBP α 를 유도하며, 일반적으로 지방 분화가 진행됨에 따라 발현양이 증가된다. 따라서 이 추출물은 지방 생성을 억제함을 알 수 있다.

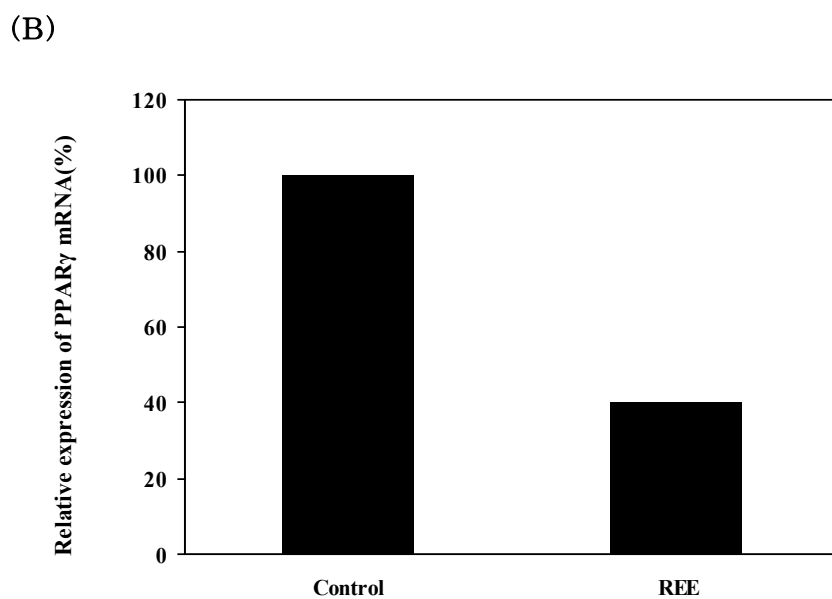
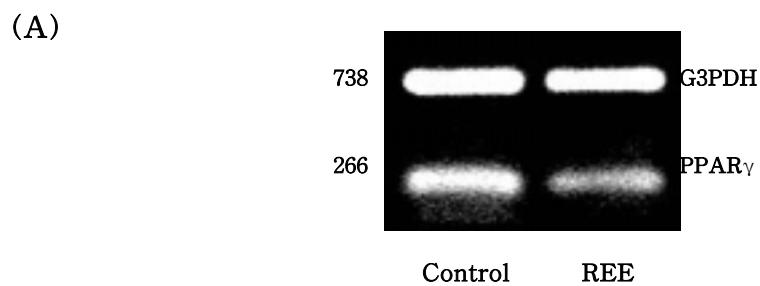
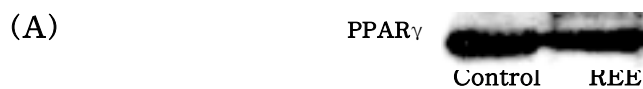


Fig. 4. Effect of REE (2mg/ml) treatment on the mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) in 3T3-L1 cells by RT-PCR. (A) mRNA expression of PPAR γ . (B) Spot densitometry program of image analyzing system was used to measure the relative level of RT-PCR products under UV light. The relative level of PPAR γ mRNA was expressed as percentage of PPAR γ vs G3PDH mRNA levels.



(B)

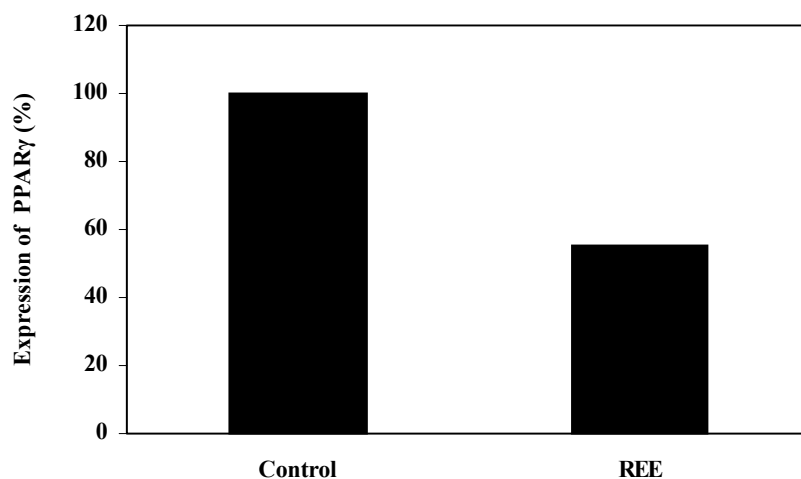


Fig. 5. Effect of REE (2mg/ml) treatment on the protein abundance of lipogenic gene products of peroxisome proliferator- activated receptor γ (PPAR γ) in 3T3-L1 cells by western blot analysis. (A) Protein expression of PPAR γ . (B) Spot densitometry using image analyzing system was performed to determine the protein expression level of PPAR γ .

지방생성의 또 하나의 전사인자인 C/EBP α 역시 홍국배아미 추출물의 투여군에 서 억제됨을 알수 있다 (fig. 6).

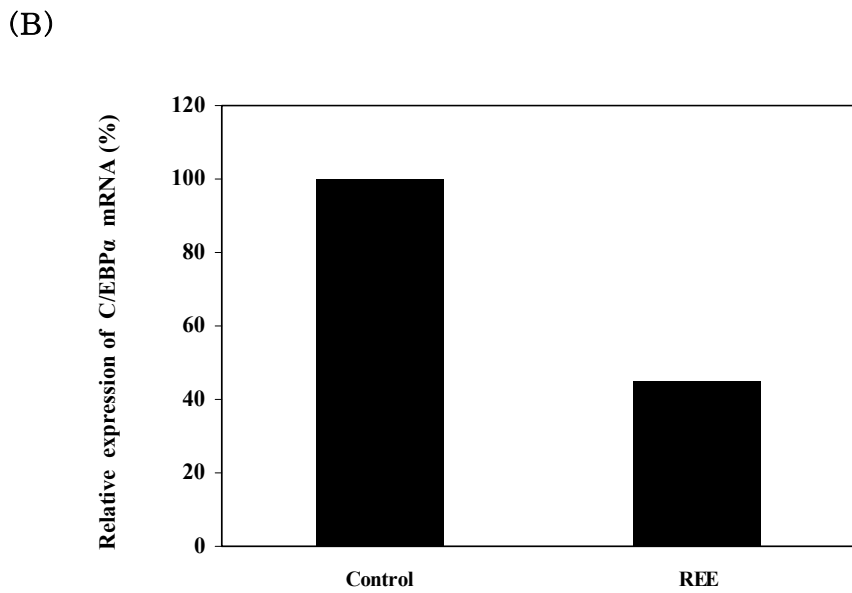
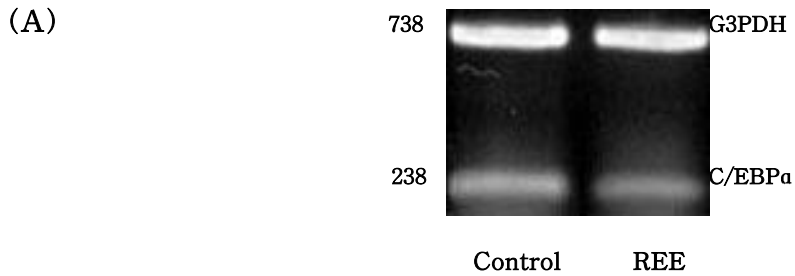


Fig. 6. Effect of REE (2mg/ml) treatment on expression of mRNA of CCAAT/enhancer binding proteina(C/EBP α) in 3T3-L1 cells by RT-PCR. (A) mRNA expression of C/EBP α . (B) Spot densitometry program of image analyzing system was used to measure the relative level of RT-PCR products under UV light. The relative level of C/EBP α mRNA was expressed as percentage of C/EBP α vs G3PDH mRNA levels.

홍국배아미 추출물의 첨가에 의해 비만 유전자인 leptin의 mRNA 발현 역시 감소되는 점으로 보아 지방분화를 억제하는 것으로 사료된다 (fig. 7).

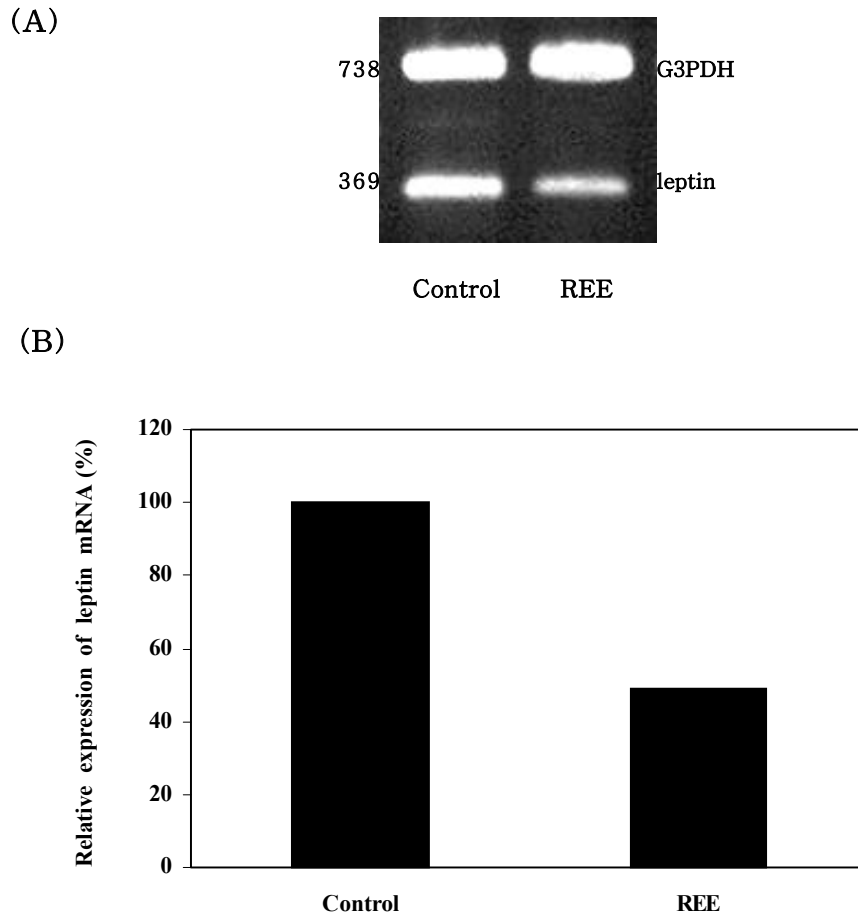


Fig. 7. Effect of REE (2mg/ml) treatment on the mRNA expression of leptin in 3T3-L1 cells by RT-PCR. (A) mRNA expression of leptin. (B) Spot densitometry program of image analyzing system was used to measure the relative level of RT-PCR products under UV light. The relative level of leptin mRNA was expressed as percentage of leptin vs G3PDH mRNA levels.

Adipocyte 지방산 결합 단백질인 aP2의 mRNA 발현량 역시, 홍국 배아미 추출물 첨가에 의해 억제되어 이는 adipogenic transcription factor 발현을 억제시킴으로서 지방분화를 억제하는 것으로 생각된다 (fig. 8).

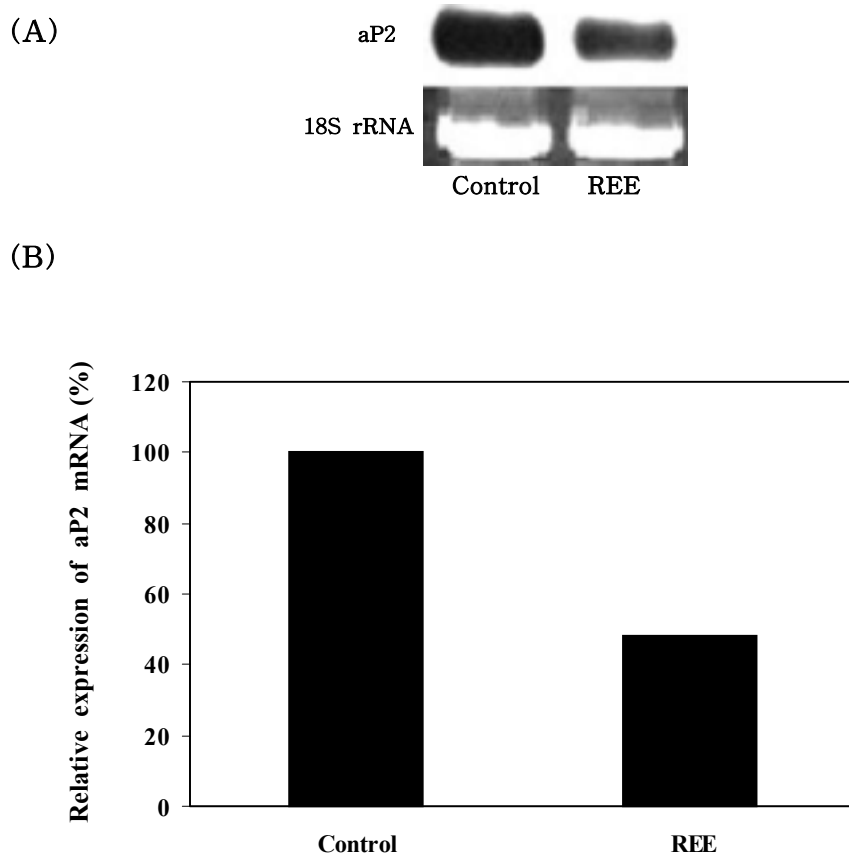


Fig. 8. Effect of REE (2mg/ml) treatment on mRNA expression of adipocyte fatty acid binding protein(aP2) in 3T3-L1 cells by northern blot analysis. (A) mRNA expression of aP2. (B) Spot densitometry using image analyzing system was performed to determine the mRNA expression of aP2. The relative level of aP2 mRNA was expressed as percentage of aP2 vs 18S rRNA levels.

제 3절 상황버섯 접종 기능성 곡류 생산

버섯은 예로부터 특별한 음식으로 취급되어 왔는데 그것은 특유의 맛과 향을 가지고 있고, 당질, 단백질, 비타민, 무기질과 같은 영양소를 골고루 함유하고 있으며, 또한 항암활성, 면역증강효과 및 항산화 효과 등의 약리효과 때문에 최근에는 건강식품 및 의약품 소재로 많이 이용되고 있다. 진흙버섯류는 일반적으로 담자균문(Basidiomycotina), 민주름버섯목(Aphyllorphorales), 소나무비늘과(Hymenochaetaeace)에 속하는 진흙버섯속(*Phellinus*)의 균류를 지칭하는 버섯으로 뽕나무 줄기에 자생하며 삿갓표면을 제외하고는 모두 황색이므로 상황이라고 잘 알려져 있다. 상황은 *Phellinus igniarius* (L. ex Fr) Quel, *Phellinus linteus* (Berk. et Curt) Aoshima, *Pyropolyporus yucateensis* Murr. 등의 여러 가지로 명명하고 있다. 이들중 *P. linteus* (목질진흙버섯)은 항암활성이 높은 것으로 보고 된 이래 많은 관심의 대상이 되고 있다. 목질 진흙 버섯의 약리 작용은 소화기 계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장, 결장암, 직장암을 비롯한 간암의 절제 수술후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 향진시키는 것으로 알려졌다. 또한 자궁출혈 및 대하, 월경불순, 장출혈, 오장 및 위장 기능을 활성화시키고 해독작용을 한다. 상황버섯의 유효성분으로는 저분자 물질과 고분자 다당류로 대별한다. 이중 항암 및 면역증강 효과의 약리활성을 보이는 물질은 특이적 구조를 갖는 β -glucan성 다당류로 알려져있다. β -glucan성 다당류의 항종양 작용기전은 여러 가지 학설이 제시되어 왔으나 현재까지는 B 세포, T 세포, 대식세포 및 NK 세포의 매개에 의해서 일어난다고 알려져 왔다. β -glucan에 의해 유도된 IL-1 과 TNF- α 는 T_H전구세포 및 NK 세포 등을 성숙 분화시킨다. T 세포 활성화에 의해 생성된 IL-2, IFN- γ , 대식세포 활성화 인자(MAF) 등은 세포 상해성 T 세포(CTL), NK 세포 및 대식세포를 성숙 시키거나 활성화 시키며, 이들은 표적세포를 특이적 또는 비특이적으로 상해 파괴 시킨다. 또 다른 경로는 대식세포 또는 helper T 세포로부터 분비된 IL-1 과 TNF- α 에 의해 혈청 단백질의 증가 및 보체계의 활성화를 통하여 비특이적으로 세포상해성 대식세포를 유도하여 종양세포를 상해한다고 알려져 있다.

목질 진흙버섯은 유래 일부 다당류는 지질 과산화를 억제시키는 물질을 함유하고

있는 것으로 알려져 있다. 이들은 CCl_4 또는 과산화 유발제를 이용한 생체내 실험에서 다당류가 지질과산화 억제능과 간보호 활성과의 상관성에 대한 가능성을 제시하였다. 작용기작은 CCl_4 또는 과산화 유발제들의 중간 대사물에 의한 간세포막의 지질과산화 가 직접적인 원인으로 밝혀짐에 따라, 현 연구에서는 지질 과산화와 상황버섯의 억제능에 대하여 연구하였다.

1. 실험 재료 및 방법

가. 상황 발아현미 제조

1) 발아현미 생산

도정시 씨눈이 상하지 않게 하고, 씨눈이 손상되지 않은 현미를 풍구를 이용하여 선별하고, 황기 추출물에 0.01%의 chitosan이 함유된 용액을 만들어 선별된 현미를 24시간 침지 시킨 다음 발아 상자로 옮겨 18~25℃에서 살수시키면서 3일 동안 발아 시킨 후 발아 현미를 동결 건조시켜 원료를 얻었다.

2) 발아현미 상황 제조

100여종의 *Phelinus Linteus* 균주 가운데 항암 활성이 가장 뛰어난 균주를 선별하여 *Phelinus Linteus* P0173A로 명명하여, 이를 발아현미에 접종하였다. 배지의 습도는 65%로 유지하고 배양온도는 28~30℃로 하여 40~50일 동안 배양한 다음 열풍 건조시켜 발아현미 상황을 제조하였다.



곡류 전처리 · 발아
 병환별 한방소재액침지
 기능성소재처리 · 발아



버섯종균 배양 · 접종
 상황 · 홍국 · 영지 · 아가리쿠스
 송이 · 느타리 · 표고버섯



배 양
 액체배양 · 분주배양 · 평판배양



기능성 버섯곡류
 의약품 · 식품용 · 화장품용

나. 발아현미 상황의 성분 분석

버섯 종균 접종 전후의 일반성분 및 무기물 분석은 일반 성분 분석법에 의해 분석하였다.

다. 간독성을 유발한 쥐에 대한 발아현미상황 추출물의 간보호 효과

1) 재료

Carbon tetrachloride, 1,1,3,3-tetraethoxypropane, catalase (EC 1.11.1.6, from bovine liver, 58000 U/mg protein), superoxide dismutase (EC 1.15.1.1), Cu,

Zn-SOD (from bovine erythrocytes, 4000 U mg⁻¹protein), xanthine, xanthine oxidase (EC 1.1.3.22, from butter milk, 0.69 U/mg protein) and boron trifluoride-methanol were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo).

2) 상황발아현미 추출물의 제조

0.01%의 chitosan을 함유한 녹차 추출물에 50g의 현미를 침지 시킨 후 18~25°C에 3일간 발아시켰다. 상황버섯 균사체는 20~25°C에서 발아현미가 들어있는 500ml flask에 12일간 배양하여 열수로 9시간 추출하였으며, 동결건조시켜 -20°C에 보관하여 사용하였다.

3) 실험동물

5개월된 SD-rat을 5마리씩 세그룹으로 하여 15마리를 사용하였으며 control 그룹과 CCl₄ 투여그룹, CCl₄와 상황발아현미 추출물을 같이 투여한 그룹으로 나누었다. CCl₄는 복강투여로 1ml/kg body weight의 양으로 corn oil로 50%로 희석하여 일주일에 한번 투여하였으며, 추출물은 200mg/kg body weight로 6주 동안 매일 경구 투여하였다.

4) 지질 과산화측정

지질의 과산화 정도를 측정하기위해 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)를 측정하였다. standard로 1,1,3,3-tetraethoxypropane를 사용하였다.

5) 항산화효소활성 측정

Liver의 catalase 활성은 hydrogen peroxide의 변화를 240nm에서 분광광도계로, pH7.0, 25°C에서 1mole의 H₂O₂를 변화시키는 양으로 비교하였고, superoxide dismutase (SOD) 활성은 xantine, xantine oxidase system으로 550nm에서 cytochrome c의 전환을 저해하는 정도를 관찰하였다.

6) 지방산조성분석

Folch 등의 방법에 따라 총지질을 추출하여 전처리하였다. 간의 지방산 조성은 gas-liquid chromatography (HP, USA)를 사용하여 Omegawax 320 capillary column(30m x 0.32mm, i.d., 0.25mm film, Supelco, USA)에 flame-ionization detector (FID)를 장착하고 70℃에서 14%의 BF₃가 들어있는 methanol로 시료를 transmethylation 시켜서 측정하였다. Chromatography는 column 200℃, carrier gas 30ml/min의 N₂ gas, FID 260℃, injector 250℃의 환경에서 시행하였다.

7) Immunoblotting analysis

Rat liver의 CYP2E1의 발현량을 보기위해 immunoblotting method를 사용하여 microsom 분획에서 측정하였다. microsom 분획 30μg의 protein을 10%의 separating gel을 사용한 SDS-PAGE상에서 분리하였다. nitrocellulose membrane(Bio-Rad, USA)에 30V로 overnight 시켜 transfer를 실시하였고, TBS-T에 5%로 녹인 BSA로 1시간동안 실온에서 blocking시켰다. primary antibodies를 붙인후 horseradish peroxidase가 lable된 secondary antibody와 반응시켰다. 항체를 반응시킨 membrane을 enhanced chemiluminescence system을 이용하여 X-ray film에 노출시켰다. CYP2E1의 발현량을 image analyzing system (Bio-Rad Laboratories., USA)을 이용하여 비교하였다.

8) 통계분석

모든 데이터는 means ± SEM로 나타냈고 통계적 유의차는 Student's *t*-test로 수행하였으며 (P<0.01), SPSS (version 10.0, SPSS Institute, Chicago, IL) 로 분석하였다.

라. 발아현미 상황 추출물의 항암 효과

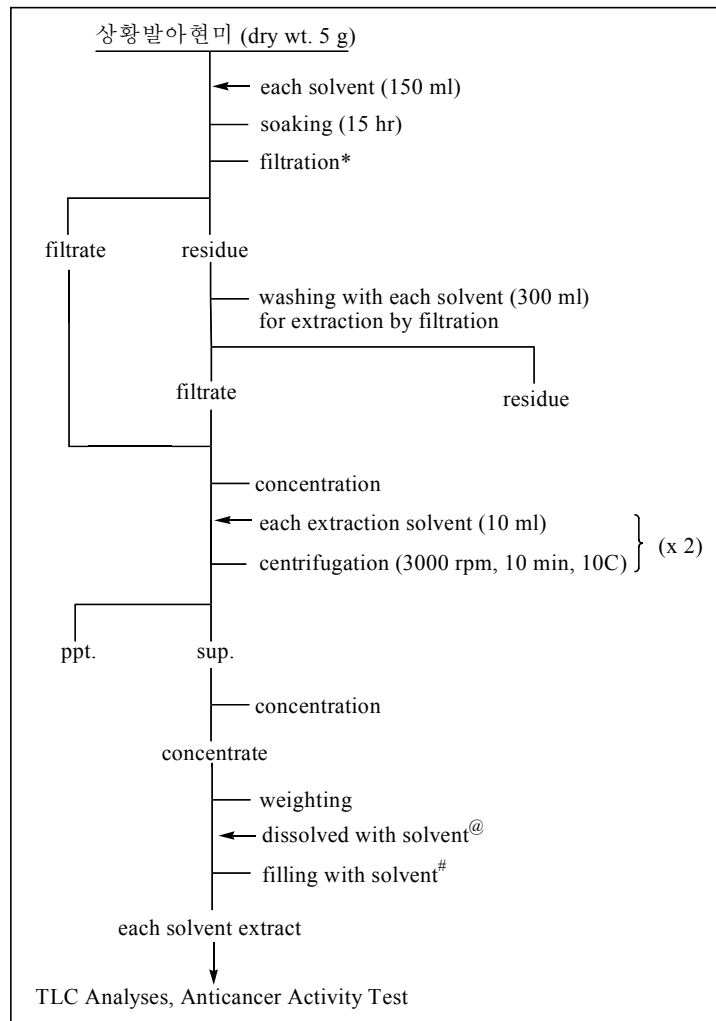
1) 재료

RPMI 1640 과 fetal bovine serum (FBS) 은 JRH bioscience (Lenexa,KS)에서

구입하였다. Trichloroacetic acid (TCA) 와 sulforhodamine B (SRB)는 Sigma (St.Louis, MO)에서 구입하여 사용하였다. Ethanol, ethylacetate, acetone, hexane 은 대정화금에서 구입하여 사용하였다.

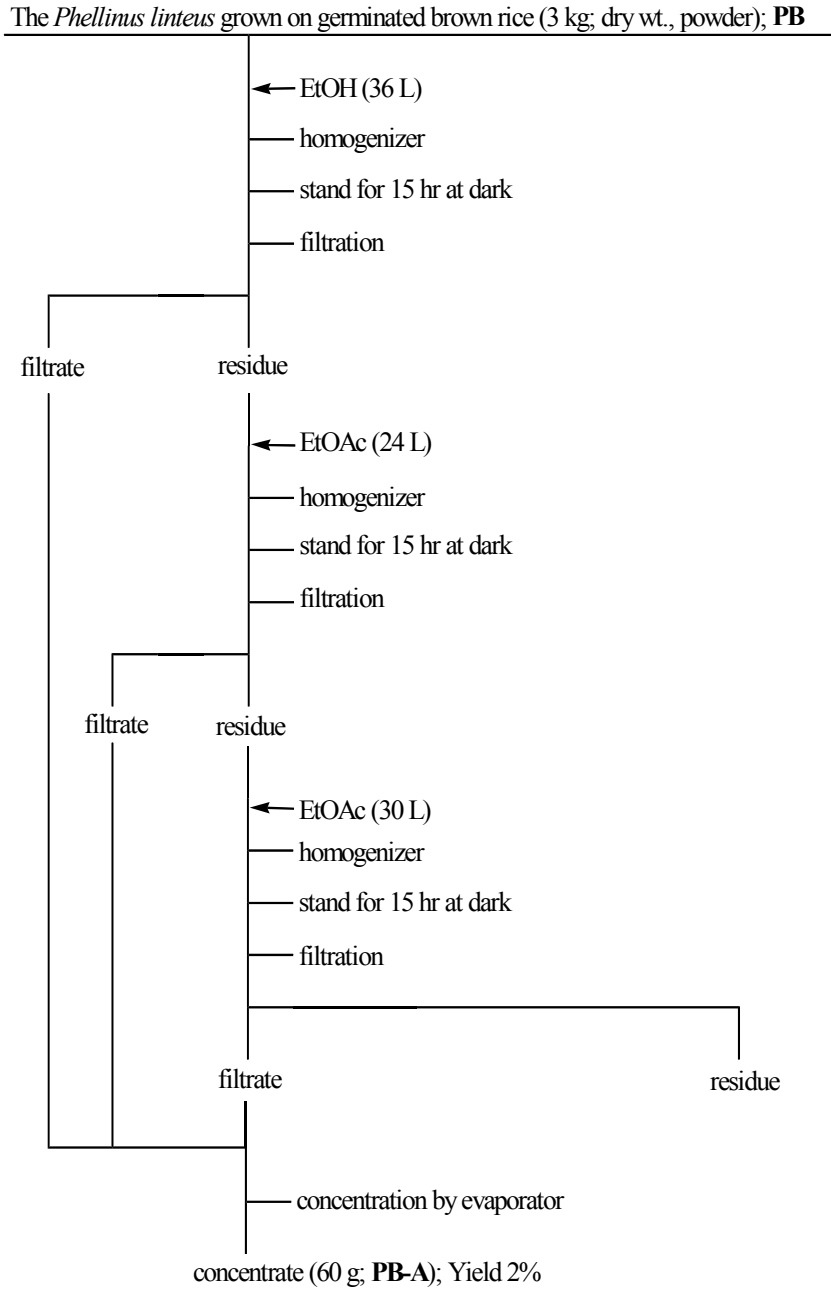
2) 발아현미 상황버섯의 용매별 추출

Ethanol, Ethylacetate, Hexane, Acetone, 열수 추출 하였다.

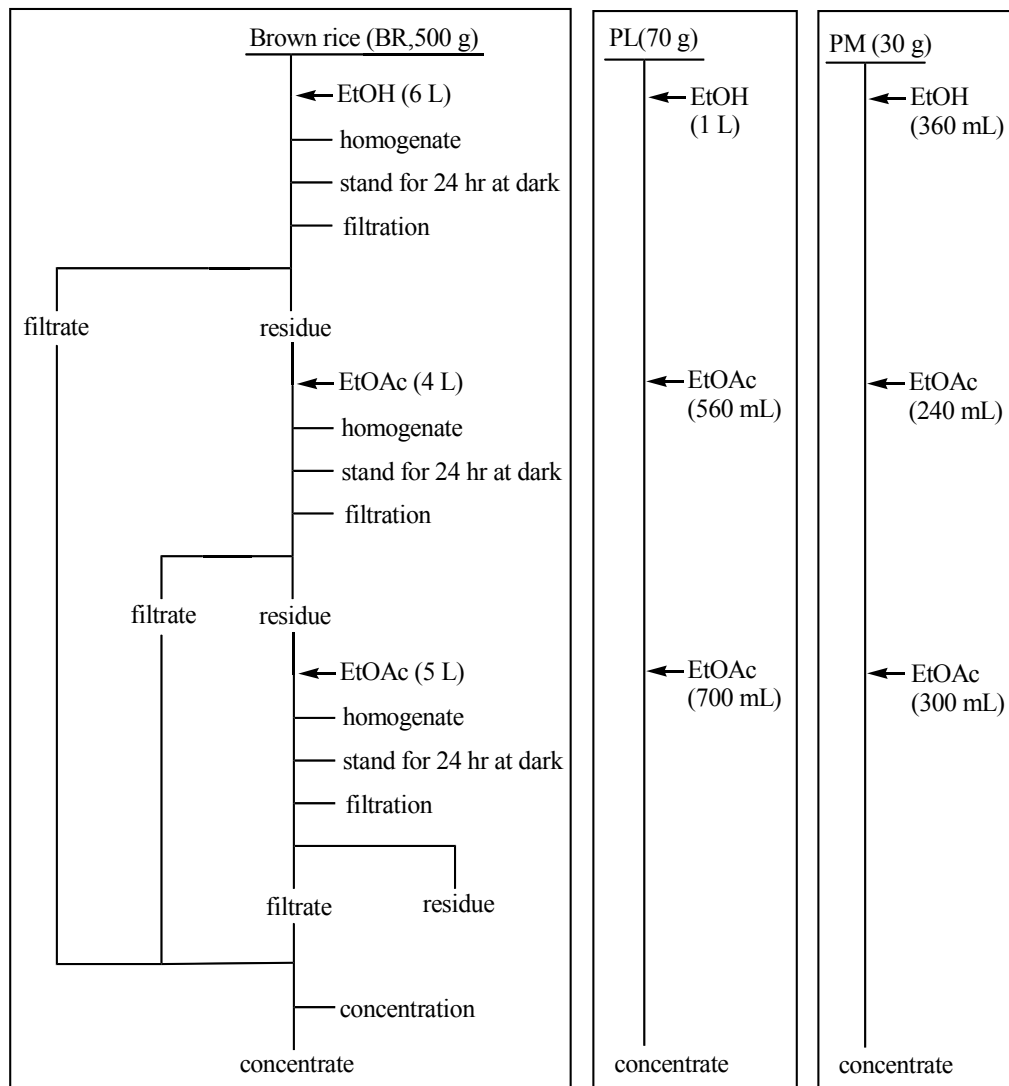


Scheme 1. The extract procedure of *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice by various solvents.

3) 발아현미 상황버섯 및 각 원료별 추출물의 조제

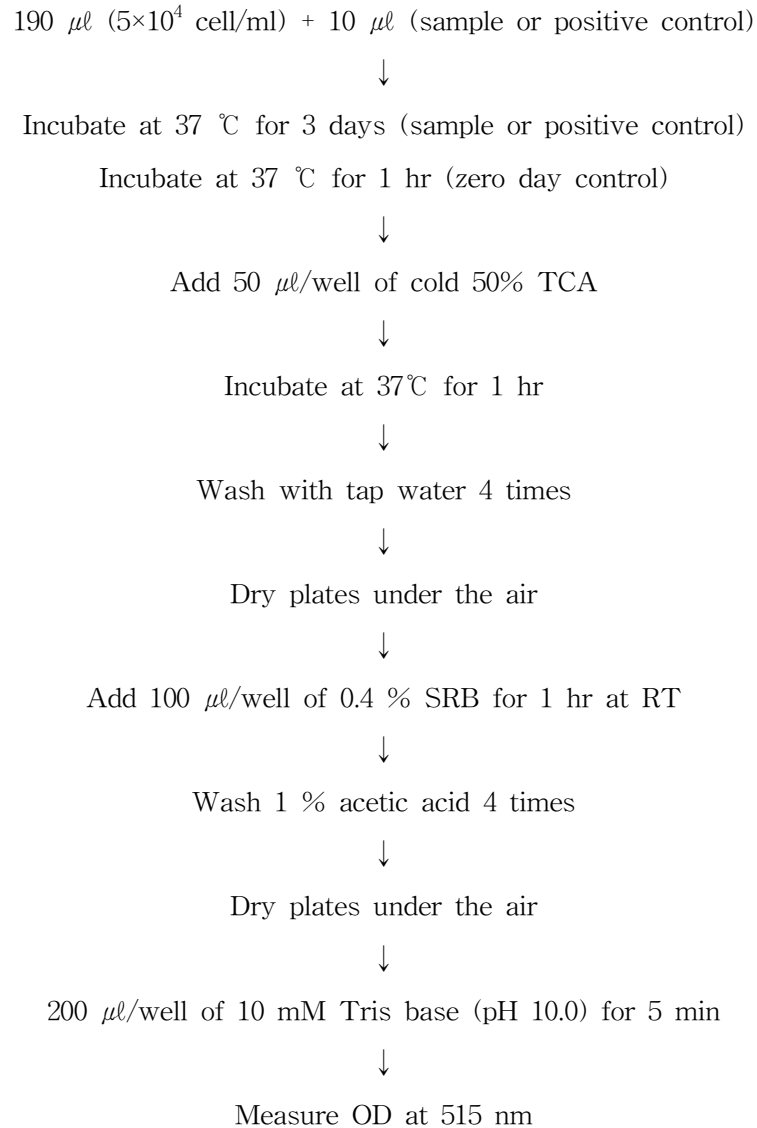


Scheme 2. The extract procedure of *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice.



Scheme 3. The extract procedure of ingredient of *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice.

4) 항암활성 측정 (SRB assay)



Scheme 4. The measurement of anticancer activity by SRB assay.

2. 결과 및 고찰

가. 균사체 배양 발아현미



Fig. 1. *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice

나. 현미의 발아 시 성분 변화

현미를 발아 시 Table 1과 같이 성분의 변화가 나타났다.

Table 1. Comparison of general composition of brown rice and germinated brown rice.

시험항목 원료	수분(%)	회분(%)	단백질 (%)	조지방 (%)	조섬유 (%)	탄수화물 (%)	당질 (%)	유기물 (%)
현 미	13.5	1.3	6.6	2.8	3.2	78.5	75.3	87.9
발아현미	10.0	1.2	1.0	1.5	2.5	86.3	83.8	88.8
시험항목 원료	열 량 (kcal/100g)	Ca(ppm)	K(ppm)	Mg(ppm)	P(ppm)	Na(ppm)	Fe(ppm)	Zn(ppm)
현 미	353	92.8	2,000	834.0	2,000	210.6	40.1	17.9
발아현미	352.5	263.1	2,000	1,000	3,000	114.4	22.0	46.9

본 성분의 변화는 침지시 키토산과 홍기 등의 생약 추출물의 처리에 의한 것으로 사료된다. 키틴은 게, 새우, 곤충등의 갑각류와 연체류의 껍질, 버섯류 및 균류 등의 외벽 에 단백질과의 복합체로 존재하며, 식물의 셀룰로즈와 같이 생물체의 골격

을 형성하고 외부로부터 생물을 방어하는 역할을 한다. 키니은 그 구조가 견고하여 용해, 분산이 어려운 관계로 과거에는 공업적으로 이용되지 못하였지만 최근 연구가 활발히 진행되어 여러 가지 유도체와 그 효능 및 응용방법이 계속 개발되고 있다. 키틴은 화학적으로는 N-acetyl- β -glucosamine이 직쇄상으로 β -1, 4결합한 것인데 인접한 수산기들이 수소결합하여 강고한 결정구조를 형성하고 있다. 키토산도 또한 일부 진균류의 세포벽을 구성하는 천연 고분자 화합물이며 키틴의 acetamide기에서 acetyl기가 떨어진 2-amino-2deoxy-D-glucose 의 β -(1-4)결합 다당이다.

식물에 병원균의 침입 등의 스트레스가 가해지면 chitinase, phytoalexin 등이 생성되어 외부 물질로부터 식물의 자기보호기능을 갖게 된다. 키토산은 식물세포에서 chitinase의 생성 유도작용, phytoalexin의 축적, 그리고 proteinase inhibitor의 합성 등과 같은 방어기작을 촉진 시키게 되어 키토산을 사용할 경우 식물체의 자기보호기능 향상과 식물세포의 활성화를 통하여 생장을 촉진하게 된다. 지금까지 알려진 키토산 처리에 의한 이들 효소의 생성 메카니즘은 유전자 DNA는 많은 인산기를 갖고 있어 산성이 강하기 때문에 염기성이 강한 단백질 히스톤 등과 결합하여 복합체를 만들어 염색체로서 세포핵 중에 존재하게 되는데, 이 유전자에 써있는 유전암호는 복잡한 과정을 경유하여 발현되나 그 중에서 히스톤과 같은 기타의 염기성 단백질과 DNA 분자가 결합하거나 떨어짐이 제어의 중요한 요인이 된다. 식물세포에 키토산을 접촉시키면 그 일부는 효소적으로 분해 되어 키토산 올리고당을 생성하게 되고, 이 염기성 물질이 세포핵으로 운반되어 염색체 중의 DNA 분자와 접촉 결합하여 chitinase 유전자와 phytoalexin 형성에 관여하는 phenylalanine, ammonialyase 효소 유전자의 발현을 촉진하게 된다. 그 결과 이들 효소의 생성이 많아짐에 따라 자가 방어기능이 향상되고 생장이 촉진되어 키토산 처리 시 저장성의 증대와 발아율의 증가를 볼 수 있는 것이다.

다. 발아현미에 상황버섯 종균을 접종시켰을 때 성분 변화

상황버섯 종균을 발아현미에 접종시켰을 때 Table 2와 같이 발아현미 상황은 현미 및 상황버섯 균사체와 커다란 차이점이 나타났다.

Table 2. Comparison of general composition of germinated brown rice, *Phellinus linteus* and *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice.

시험항목 원료	수분(%)	회분(%)	단백질 (%)	조지방 (%)	조섬유 (%)	탄수화물 (%)	당질 (%)	유기물 (%)
버섯	7.9	5.9	16.4	0.1	16.7	69.8	53.0	86.2
발아현미	10.0	1.2	0.0	1.5	2.5	86.3	83.8	88.8
균사체배양 발아현미	9.0	1.1	12.6	0.6	9.2	76.7	67.5	89.8
시험항목 원료	열량 (kcal/100g)	Ca(ppm)	K(ppm)	Mg(ppm)	P(ppm)	Na(ppm)	Fe(ppm)	Zn(ppm)
버섯	278.3	103.5	24,000	1,000	7,000	140.8	61.5	80.9
발아현미	352.5	263.1	2,000	1,000	3,000	114.4	22.0	46.9
균사체배양 발아현미	325.1	266.8	1,000	1,000	3,000	183.1	120.7	59.3

다. 간독성을 유발한 쥐에 대한 발아현미상향 추출물의 간보호 효과

CCl₄ 투여시에 control 그룹에 비해서 16.1%의 체중감소, 48.3%의 간 무게 증가에 대해서 발아현미상향 투여그룹에서는 회복됨을 볼 수 있다 (Table. 3).

Table 3. Effect of *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice extracts (PBE) on the body and liver weights of CCl₄ intoxicated rats.

Weights	Control	CCl ₄	CCl ₄ + PBE
Body weight (g)	471±11 ^b	395±20 ^a	435±12 ^b
Liver weight (g/100g body weight)	2.9±0.1 ^a	4.3±0.2 ^b	3.3±0.2 ^a

Values represent the means±SEM of five rats.

Values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

간에서의 TBARS 농도는 급격한 증가를 보인 CCl₄ 그룹에 비해서 약간의 감소는 보였으나 직접적인 radical 소거기능은 없는 것으로 보인다(Fig. 2).

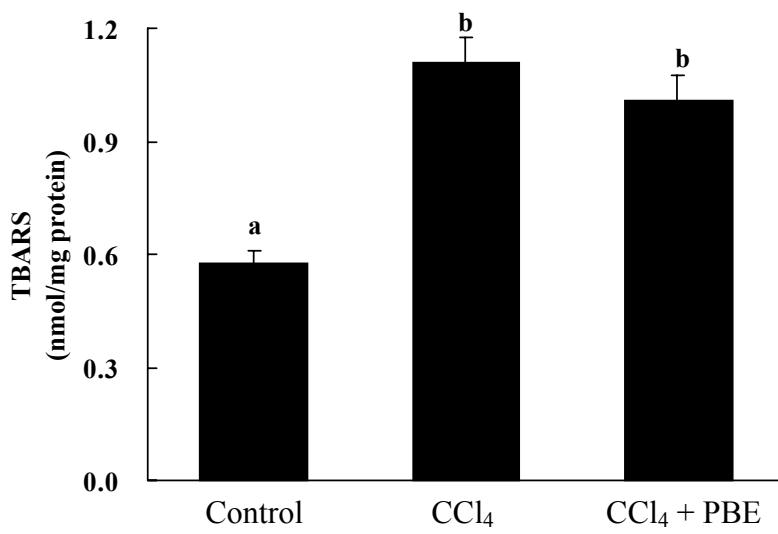


Fig. 2. TBARS contents in the livers of rats after 7weeks of experimental feedings and injection. Each bar represents the means±SEM of five rats. Mean values with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

하지만, catalase와 SOD의 항산화효소의 활성에 있어서는 control 수준의 회복을 보였다 (Fig. 3).

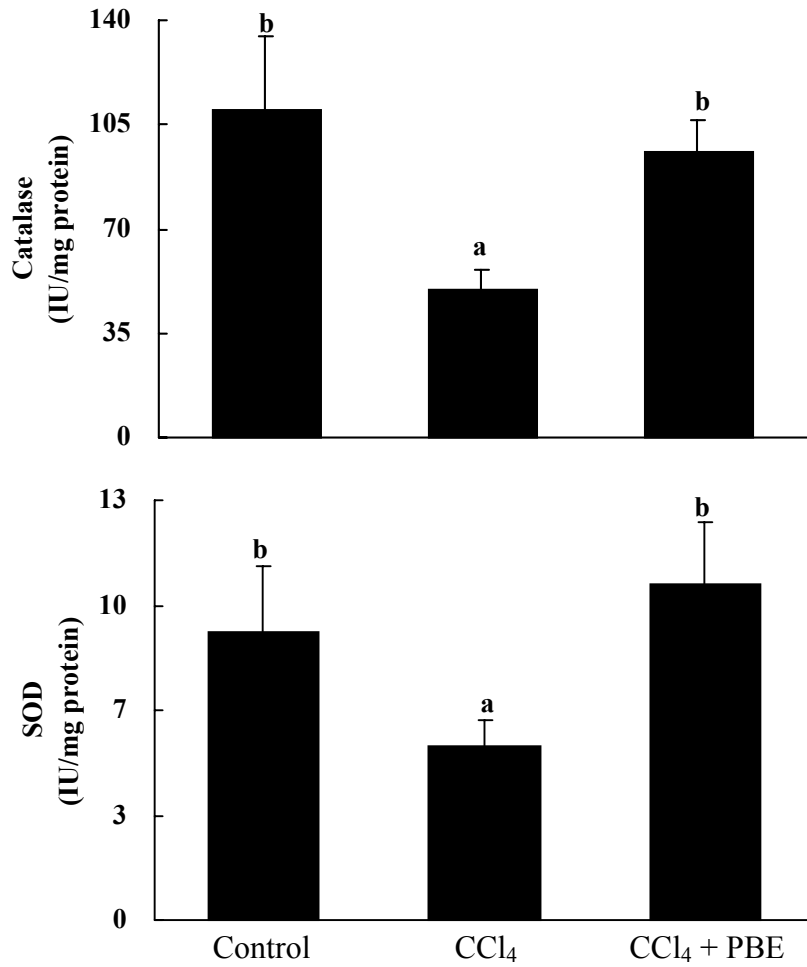


Fig. 3. Activities of catalase (Fig.3a) and Effects (Fig.3b) in the livers of the rats after 7weeks of experimental feedings and injection. Each bar represents the means±SEM of five rats. Mean values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

간의 지방산 분석에서는 CCl₄ 투여로 인해 손상을 입었지만, 불포화 지방산에 대한 포화지방산의 비율을 회복하려는 경향정도를 볼 수 있었다 (Table 4).

Table 4. Effect of *Phellinus linteus* grown on germinated brown rice extracts (PBE) on the fatty acid composition of the livers of CCl₄ intoxicated rats

Fatty Acids (% of total fatty acid)	Control	CCl ₄	CCl ₄ + PBE
C14:0	0.7±0.0 ^a	2.0±0.2 ^b	2.8±0.3 ^c
C16:0	21.8±0.3	22.0±0.4	20.8±0.7
C16:1	1.9±0.1 ^a	5.4±0.5 ^b	5.6±0.5 ^b
C18:0	19.0±0.5 ^b	10.9±1.0 ^a	12.0±0.7 ^a
C18:1n-9	15.5±0.3 ^a	27.8±1.3 ^b	24.0±0.6 ^b
C18:2n-6	17.0±0.8 ^b	17.2±0.4 ^b	14.2±0.6 ^a
C18:3n-3	0.5±0.0 ^a	1.3±0.2 ^b	2.0±0.2 ^c
C20:0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C20:3	1.2±0.1 ^a	2.3±0.2 ^b	3.2±0.2 ^c
C20:4n-6	18.7±0.3 ^b	7.8±0.4 ^a	8.0±0.2 ^a
C20:5	4.8±0.1 ^b	3.0±0.2 ^a	5.8±0.5 ^b
saturation/ unsaturation	0.7±0.0	0.5±0.0	0.6±0.0

Values represent the means±SEM of five rats.

Values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

CYP2E1 protein immunoblotting analysis에서도 CCl_4 투여로 인해 그 발현량이 급격히 감소한 것에 비해서 control 수준 혹은 그 이상의 회복능이 있는 것을 볼 수 있었다.(Fig. 4)

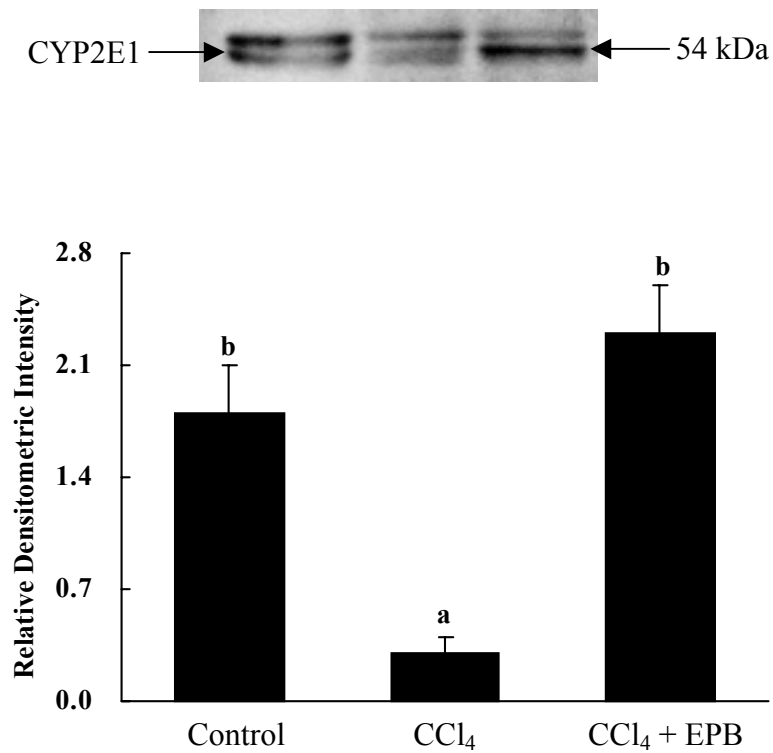


Fig. 4. Immunoblot analysis of CYP2E1. Microsomal proteins ($30\mu\text{g}$) were electrophoresed on 10% SDS-PAGE, transferred to nitrocellulose membranes, and probed with antibody against CYP2E1 (Fig.4a). All bands were quantified by densitometric analysis (Fig.4b). Each bar represents the means \pm SEM of five rats. Mean values with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

이 연구에서 발아현미상황 추출물은 CCl_4 투여로 유발한 간독성에 대해서 TBARS 측정에서 알 수 있듯이 지질의 과산화를 감소시키는 능력은 크게 없지만, catalase와 SOD와같은 항산화 효소의 활성을 증가시킴으로써 손상을 입은 간에서의 생체 방어 기능의 증가능을 볼 수 있었다. 또한, CYP2E1의 단백질 발현양을 조절하여 CCl_4 독성을 저해 함을 알 수 있었다.

라. 발아현미 상황 추출물의 항암 효과

1) 발아현미 상황버섯의 용매별 추출물의 항암 활성

발아현미 상황버섯을 ethanol, ethylacetate, acetone, hexane, 열수 추출하여 각 추출물을 항암 테스트 하였다. 사용된 암 세포는 대장암 (HCT116), 피부암 (HT1080), 위암 (SNU638) 세포를 사용하였다. 그 결과 세 암세포 모두에서 ethylacetate, acetone, hexane 추출물이 다른 용매 추출물 보다 높은 항암활성을 나타내었다 (fig. 5, 6, 7).

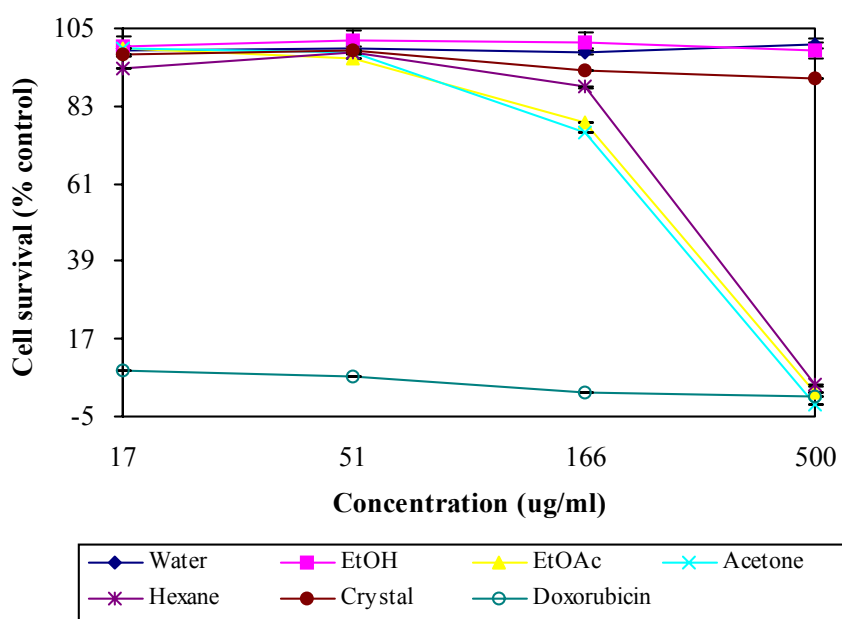


Fig. 5. The anticancer activity of various solvent extracts obtained from *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice by against human colon carcinoma cell line (HCT116).

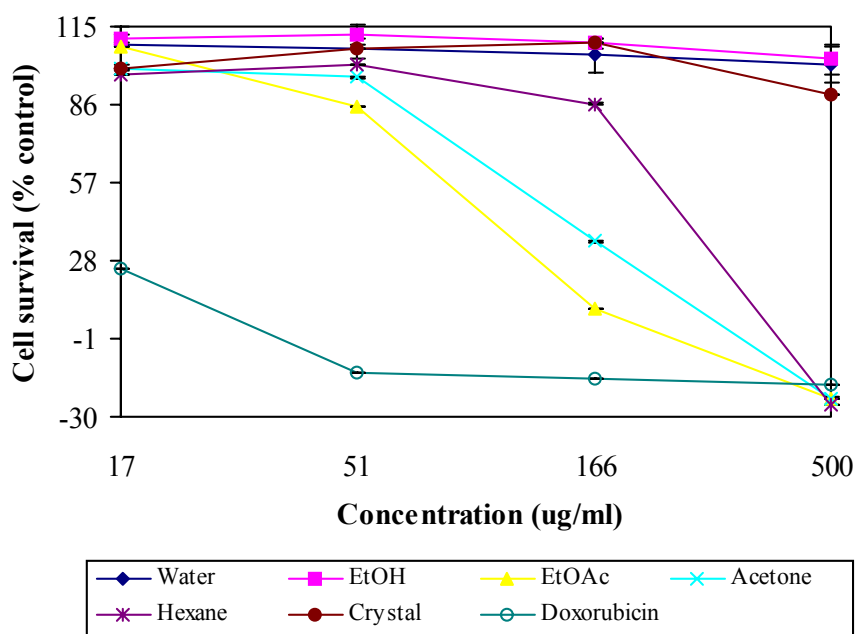


Fig. 6. The anticancer activity of various solvent extracts obtained from *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice against human fibrosarcoma cell line (HT1080).

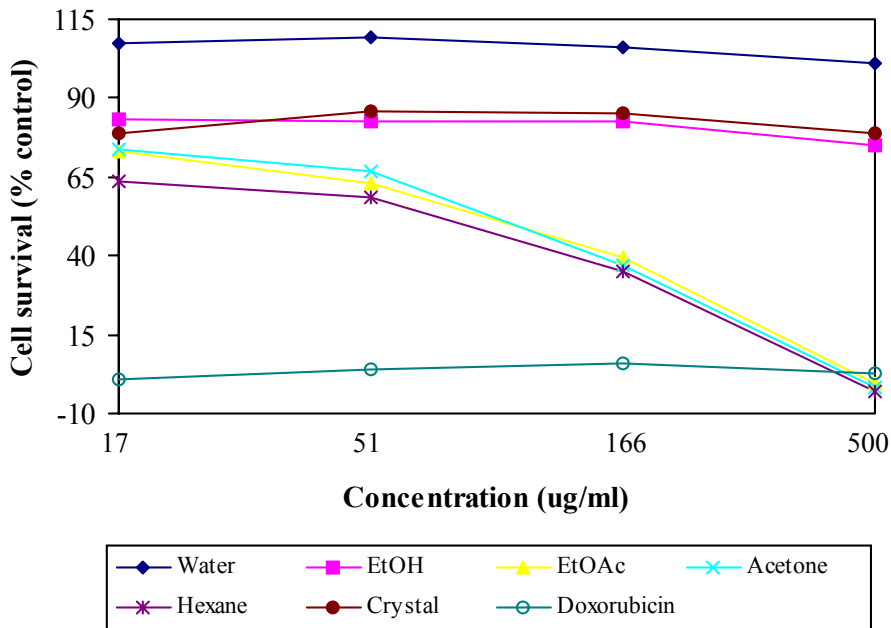


Fig. 7. The anticancer activity of various solvent extracts obtained from *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice against human gastric cancer cell line (SNU638).

2) 발아현미 상황버섯 및 각 원료 추출물의 항암 활성 비교

발아현미 상황버섯과 발아현미, 상황버섯 자실체, 상황버섯 균사체간의 항암활성을 비교하기 위해 각 원료를 추출하였다. 추출 조건은 fig 5, 6, 7 과 같이 비극성 용매 추출물의 활성이 높게 나왔으므로 ethal-ethylacetate 용매로 같은 조건으로 추출하여 항암 테스트 하였다. 사용된 암 세포는 대장암 (HT29), 피부암 (HT1080), 쥐 대식세포 (Raw 264.7) 세포를 사용하였다. 그 결과 세 암세포 모두에서 각 원료들 보다 발아현미 상황버섯 추출물이 높은 항암활성을 나타내었다 (fig. 8, 9, 10).

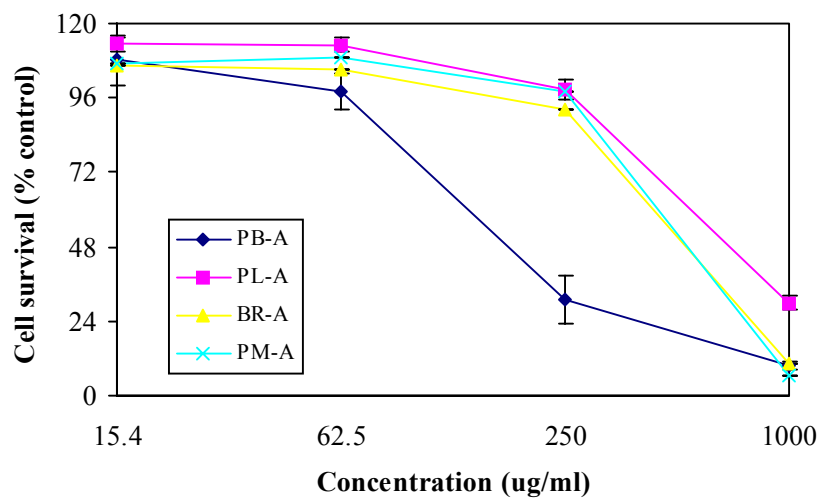


Fig. 8. The anticancer activity of extracts obtained from the ingredient of *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice against human colon carcinoma cell line (HT29). PB-A, *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice; PL-A, fruit body of *Phellinus-linteus* BR-A, germinated brown rice; PM-A, mycelium of *Phellinus-linteus*.

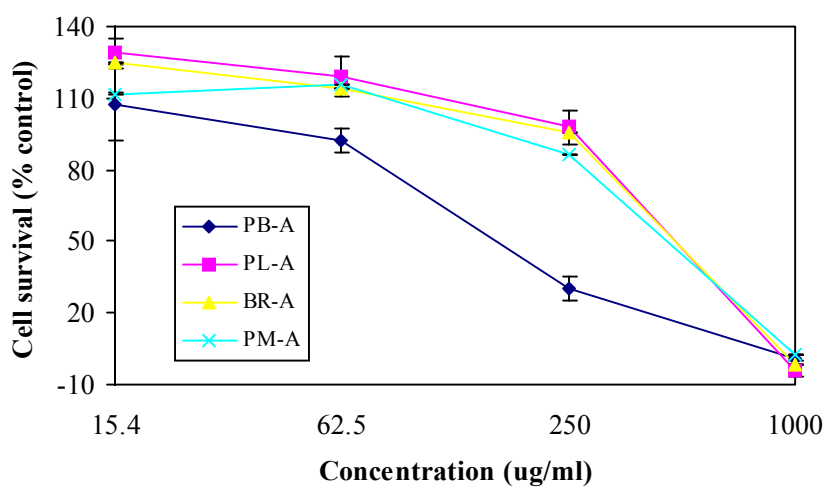


Fig. 9. The anticancer activity of extracts obtained from the ingredient of *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice against human fibrosarcoma cell line (HT1080). PB-A, *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice; PL-A, fruit body of *Phellinus-linteus* BR-A, germinated brown rice; PM-A, mycelium of *Phellinus-linteus*.

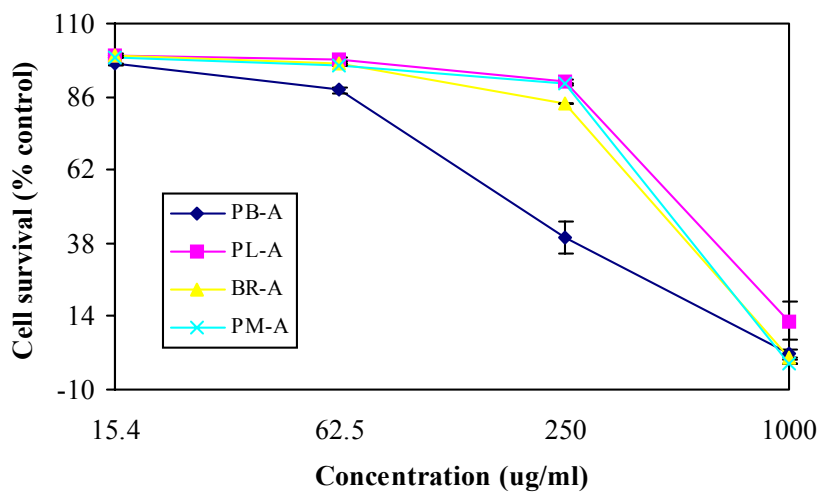


Fig. 10. The anticancer activity of extracts obtained from the ingredient of *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice against mouse macrophage cell line (RAW264.7). PB-A, *Phellinus-linteus* grown on germinated brown rice; PL-A, fruit body of *Phellinus-linteus* BR-A, germinated brown rice; PM-A, mycelium of *Phellinus-linteus*.

제 4절 신소재를 이용한 기능성 식품 개발

1. 상황중균 접종 발아현미

다음 사진과 같이 발아현미에 상황 중균을 접종 시킨 원물을 포장하여 제품화하여 시판중에 있다. 본 제품은 분말화하여 두유, 우유등에 타서 먹거나, 끓여서 차로 마실 수 있도록 하였다. 항암활성과 면역활성이 뛰어난 것으로 밝혀졌다.



2. Health & Joy diet meal 개발



가. 실험 재료 및 방법

1) 동물실험

동물실험에 있어서는 5 주령의 Sprague Dawley rat, 수컷 18수를 임의로 각 6

수씩 Normal group(정상군), Control group(고지방 식이군), Diet meal 식이군(고지방식+ diet meal)의 3 그룹으로 나누어 온도가 25℃, 상대습도 60%, 조명은 12시간 Light/Dark Cycle이 유지되는 실험동물 사육실에서 stainless steel 바닥의 사육케이지를 이용하여 6주간 실험사료를 급여하며 사양실험을 실시하였다. 실험사료의 조성은 Table 1에 나타내었다. AIN-76 Formula를 정상사료로 하고, 고지방식은 AIN-76의 Sucrose 대신에 Lard를 대치하여 조제하였다. 한편 Diet program 식이군은 고지방식을 급여하고 생약 추출물을 1일 5mg/200g.Bw씩 구강 투여하였다. 나머지 한 군은 추출물을 과립으로 조제하여 고지방식 사료의 Con starch 의 2%를 과립으로 대치하여 급여 하였다. 실험 종료 후 Ether로 마취시킨 후, 복부를 절개하고 복부 대동맥을 통해 전혈을 채취함으로써 희생시키고 신장 및 정소주위 지방조직을 채취하여 무게를 측정하고 초저온냉동고에 보관하며 지방산 분석에 이용하였다.

Table 1. Formulation of each experimental diet for rat.

Ingredient(%)	Normal	Control	High fat+EXT.	High fat+EXT.
		(high fat)	(생약)	(과립)
Casein	20	20	20	20
DL-Methionin	0.3	0.3	0.3	0.3
Corn starch	15	15	15	13
Sucrose	50	30	30	30
Fiber	5	5	5	5
Corn oil	5	5	5	5
*AIN Mineral mix	3.5	3.5	3.5	3.5
**AIN Vitamin mix	1	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Lard		20	20	20
Diet program		(생약추출물)	5mg/200g/day	*2(생약과립)

2) 총 콜레스테롤 함량 측정

Cholesterol 정량은 효소 측정법으로 실시하였다. 혈청 중에는 유리형 및 ester형의 cholesterol이 존재하며, ester형에 cholesterol ester hydrolase를 작용시키면 유리형과 지방산으로 분해되고, 유리형에 cholesterol 산화효소를 작용시키면 H_2O_2 와 4- α -cholesterol이 생성된다. 생성된 H_2O_2 에 4-aminoantipyrine 및 phenol을 동시에 반응시키면 산화적 축합반응으로 quinon이 생성되며, 이를 비색 하여 cholesterol을 정량하는 원리를 이용하였다.

3) Triglyceride 함량 측정

Triglyceride는 효소적 분해과정(lipase 및 peroxidase)에서 H_2O_2 가 생성되며, 생성된 H_2O_2 는 aminoantipyrine과 반응하여 산화적으로 축합되어 적색의 quinone을 생성한다. 이때 생성된 색도를 측정하여 triglyceride를 정량하는 원리를 응용한 Trinder method를 이용하였다.

4) Cholesterol 의 분석

HDL-cholesterol 분석은(selective inhibition법) 을 이용하여 분석하였다. 제1 반응에서, 고분자형의 억제제와 polyanion을 첨가하면 불용성의 polyanion 복합체가 생성되고 동시에 반응억제제가 모두 lipoprotein에 흡착된다. 제2반응에서, 효소와 반응촉진제가 첨가되면 각각의 lipoprotein에 대한 친화성의 차이로 LDL-복합체 등에는 억제제가 흡착된 채로 남아 있으나 HDL에 대해서는 억제제와 촉진제의 치환이 일어나 효소가 HDL에만 특이적으로 작용하게 되어 HDL-cholesterol의 특이적 검출이 가능해지는 원리를 이용하여 분석하였다 .

LDL-cholesterol의 분석은 (TBA-200FR,HITACHI 7170 AUTO Analyzer) 각 리포단백의 물리화학적인 성질 차이에 의해 계면활성제와의 반응이 다르다는 것을 이용한 것으로 2가지 계면활성제를 조합하여 사용한다. 처음에 첨가되는 계면활성제는 LDL 이외의 리포단백의 구조만을 변화시키는 역할을 하며 이 계면 활성제의 존재 하에 cholesterol oxidase, cholesterol esterase를 작용시키면 LDL의 반응은 진행되지 않으나 다른 리포단백의 반응은 촉진시킨다.

제1반응에서는 이 계면활성제를 사용해 LDL이외의 리포단백을 소거한 후 제 2 반응에 사용되는 계면활성제 2는 모든 리포단백의 효소 활성을 촉진하는 것이

지만 제1반응에서 소거되지 않고 남은 LDL만 발색반응을 일으키는 원리를 이용하였다.

5) 임상 실험

본 연구에 사용한 체중조절용 기능성 식품은 체내 역할 및 용도에 따라 개발된 기능성 원료를 첨가하여 2가지 유형으로 조제하였다. 체내 대사 조절용 정제형으로 히비스커스 추출 분말, 카르니틴, 홍국울무 추출분말, 프로폴리스, 흑초 추출분말, 포도씨 추출분말 등에 황기, 숙지황, 백출, 감초, 백복령, 당귀, 천궁, 계피, 구기자, 산수유, 마, 두충, 홍하씨 등과 생약 추출분말을 혼합하여 조제하였으며 자세한 조성은 Table 2 에 나타내었다.

여기에 포만감과 식이조절용 분말로는 홍국발아메밀 분말, 레오렉스-RS(식이섬유 90%), 발아현미, 표고, 차전자피, 다시마 엑기스, 에그노 잎줄기 농축액(고형분 40%) 등을 혼합하여 조제하였다 (Table 3).

Table 2 . The composition of functional diet for the control of metabolism.

원료명	함량(%)	원료명	함량(%)
비타민 A	1.70	트레오닌	0.10
비타민 C	13.5	히비스커스추출물분말	11.50
분말비타민E(비타민E 50%)	5.00	카스카라사그라다	10.00
비타민 B ₁ 염산염	0.25	프로폴리스(50%)	2.50
비타민 B ₂	0.31	포도씨추출물분말	5.00
비타민 B ₆ 염산염	0.35	흑초추출물분말	3.50
나이아신	3.00	L-카르니틴	3.50
엽산	0.06	젓산효모(불활성)	3.50
산화아연(아연 100%)	0.04	복합아미노산	3.50
유청칼슘(칼슘25%)	10.00	유당	13.19
젓산철(철분20%)	2.00	스테비텐후레쉬	0.80
이소루신	0.10	구연산	0.50
라이신	0.10	사과산	0.70
메티오닌	0.10	사과향	0.70
트립토판	0.10	탈크	0.40
페닐알라닌	0.10	스테아린산마그네슘	0.90
루신	0.10	트리아세틴	0.10
발린	0.10	* 생약추출물(고형분20%)	2.70

Table 3. The composition of functional diet for the satiety and body fat control.

원료명	함량(%)	원료명	함량(%)
홍국메밀분말	10.00	수크랄로스	0.50
레오텍스-RS(식이섬유90%)	5.00	차일리톨	7.00
발아현미	15.00	구연산	1.00
화인화이버(식이섬유50%)	22.00	비타민 C	0.50
차전자피분말(식이섬유90%)	17.00	울무분말	7.30
다시마엑기스(고형분 60%)	3.70	사과향	0.50
요쿠르트혼압분말	5.00	에그노잎줄기농축액 (고형분40%)	5.50

본 연구에서는 비만아동을 대상으로 한 임상실험 및 동물실험을 병행하였다. 임상실험은 서울시 목동에 위치한 초등학교에 5~6학년의 재학생으로서 특별한 질환을 갖고 있지 않은 다이어트 프로그램에 참여하기를 희망하는 중등도 이상의 비만 아동을 대상으로 2002년 9~11월 3개월 동안 대사조절용 정제(600mg)는 1일 1개, 포만감 식이조절용 분말은 1일 2포씩 섭취하도록 학교에 소속되어 있는 영양사가 정기적으로 모니터링하며 실시하였다. 검진 결과는 본인 및 학부모에게 통보하고 지속적이고 체계적인 체중관리가 될 수 있도록 상담과 지도를 통하여 실시하였다.

6) 체지방량 측정

Bioelectrical impedance fatness analyzer(GIF-891DXH, Gilwoo trading, Korea)를 이용하여 생체전기 저항분석법으로 body fat(%), fat weight(kg), lean body mass(kg), 그리고 total body water(ℓ)를 측정하였다.

7) 비만도 측정

신장과 체중은 아침 공복시에, 신장은 철제로 제작된 신장계로 mm단위까지 측정하였고, 체중은 가벼운 옷을 입은 상태로 2회씩 측정하여 50g단위까지 측정하여 그 평균값을 사용하였다. 측정된 신장과 체중치로 body mass index(BMI: 체중(kg)/신장(m)²)를 구하여 비만도의 지표로 삼았는데 BMI 25이상인 경우 비만으로 판정하였다.

8) 혈액 채취

대상자들은 저녁식사 12시간 후인 아침 식사 전 공복상태에서 체중, 신장 및 상완위를 재고, 혈액은 정맥을 통하여 항응고제로 처리된 유리관에 채취한 후, 5,000rpm에서 약 20분간 원심 분리하여 얻은 혈장을 -20℃에서 분석할 때까지 냉동 보관하였다. 혈액성분의분석은 Chemical Analyzer(HITACHI7010, HITACHI Scientific Instruments, Japan)로 측정하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 실험 동물의 체조성 변화

체중은 고지방식(Control)에 비해 diet meal 섭취군이 유의하게 줄었으며, 지방 조직의 무게 역시 diet meal을 섭취했을 때 통계적인 유의차는 없었으나 감소하는 경향을 나타내었다 (Table 4).

Table 4. Effects of functional diet on body composition in rats

	Normal	Control	Diet meal
Body weight gain (g)	111.86.07 ^a	134.72.96 ^b	112.310.17 ^a
Liver weight (g/100g body weight)	3.820.04 ^b	3.330.07 ^a	3.730.06 ^b
Perirenal adipose tissue weights (g/100g body weight)	1.460.09 ^a	2.380.26 ^c	2.020.10 ^{bc}
Epididymal adipose tissue weights (g/100g body weight)	1.380.19 ^a	2.500.17 ^b	1.770.12 ^b

Values represents the means \pm SEM of five rats.

Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$).

2) 쥐의 혈액 분석 결과

고 지방식(control)을 6주간 급여한 결과, normal군에 비해서 혈당치, 총콜레스테롤, Triglyceride, LDL-콜레스테롤 모두 높게 나타났다 (Table 5). 한편, 임상 실험 결과와는 다르게 고지방식을 급여한 쥐에 diet meal을 섭취시킨 결과 정상군에 비해 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 그러나 고지방식 급여군과 비교하였을 때 혈중 TG 농도가 유의하게 감소하였다. 이러한 결과는 비만 아동의 임상 결과와 동일한 경향을 나타내었다. 한편, 임상실험 결과와는 달리 LDL-콜레스테롤이 증가한 원인은 정확히 알 수가 없었다.

Table 5. Effect of Diet meal on serum Profiles in rats.

	Normal	Control	Diet meal
Glucose(mg/dl)	188±3.53	205±14.02	191±10.54
Total Cholesterol (mg/dl)	97±5.00	84±6.17	92±5.86
Triglyceride(mg/dl)	55±9.21 ^{bc}	93±7.18 ^a	41±10.08 ^c
HDL-Cholesterol (mg/dl)	39.0±2.08	35.8±2.43	35.7±3.33
LDL-Cholesterol (mg/dl)	11.33±1.86 ^{ab}	8.25±0.85 ^a	14.00±0.58 ^b

Values represent the means±SEM of five rats.

Values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

3) 임상실험 신체 계측치의 변화

3개월간의 다이어트 프로그램 전후의 신체 계측치에 대한 결과를 Table 6에 나타내었다. 지원자 50명을 선발하여 프로그램 운영 전후의 체중 변화는 62.7±3.5에서 53.8±3.6으로 유의하게 감소하였으며 체지방은 29.4±2.5(%)에서 22.7±1.4(%)로 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

지방함량은 18.7±2.3(g)에서 14.4±1.6(g)으로 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 비만도 측정치 역시 27.2±9.4에서 26.4±9.0으로 약간의 감소를 보였다. 그밖에 LBM(lean body mass)수치가 증가하는 경향을 나타내었다. 근단백질이 늘어난 만큼 TBW(total body water)도 비슷하게 증가한 경향을 나타낸 것으로 사료되었다. 체중과 BMI는 임상적으로 비만진단에 널리 이용되어온 선행 연구와 같이 본 결과에서 주목할만한 것은 아동들의 Diet 프로그램 실시 전 실험대상 아동들의 BMI 값이 27.2로서 매우 높은 유아비만 상태로 나타난 점이다. 그러나, 실험 종료 후 비만도가 26.4로 유의하게 개선되었다. ($P < 0.05$). 따라서 제품 성분 가운데 HCA 및 히비스커스의 체지방 분해 효과, 카르니틴의 당대사 촉진, 글루코 만난과 키토산에 의한 콜레스테롤 재흡수 감소 효과 등에 의해 체지방 분해 및 지방흡수량 감소 등에 기인된 것으로 사료되었다.

Table 6. The effects of functional diet feeding and health program on the body weight, body fat, BMI, LBM and TBW.

Parameter	Diet Program	
	Before	After
Body weight(kg)	62.7±3.5	58.3±3.6
Body fat(%)	29.4±2.5	22.7±1.4*
Fat weight(kg)	18.7±2.3	14.4±1.6*
BMI(kg/m ²)	27.72±9.4	26.40±9.0*
LBM(kg)	44.1±2.4	47.9±2.2*
TBW(ℓ)	32.3±1.8	35.1±1.6*

Values represent the mean±SEM of 50 human. * The comparison was made between before- and after-applying of diet program(p<0.01). BMI, body mass index. LBM, lean body mass, TBW, total body water.

4) 임상실험 혈액성분 변화

Table 7 에는 혈액성분 결과를 나타내었다. 프로그램 운영 후 혈당치는 93.9±1.3에서 89.6±1.0으로 현저하게 떨어졌다. 이 혈당치는 비만과 밀접한 관련성이 있다. 비만인은 인슐린 분비 기능이 저하되고, 이로 인해 혈중 글루코스가 세포 내로 흡수되는 효율이 저하되어 혈당치가 올라가게 된다. 따라서 프로그램 운영 후 혈당치가 감소한 결과는 비만으로 인한 인슐린 의존성 당뇨병을 개선시키고 있는 가능성을 시사해주고 있다. 또한 운동을 실시함으로 인해 인슐린 수용체의 감수성이 증가한 것에 기인되었을 가능성도 배제할 수 없다. Cholesterol의 재흡수를 감소시키는 효과가 있는 기능성 생식과 다이어트식, 장개선제를 섭취시킨 후 혈장 내 총cholesterol함량을 측정하였다. 총 cholesterol량은 다이어트 프로그램 실시 전 213.7±25mg/dl에서 실시 후 179.1±37 mg/dl로서 통계적으로 유의한 차이는 없었지만 다이어트 프로그램 실시에 의한 cholesterol량이 감소하는 경향을 나타내었다. 이 결과는 혈청의 총 콜레스테롤 농도는 체중감소 노력 여부, 1일 3끼 식사 횟수와 높은 상관성이 있

다는 보고와도 일치하였다. 혈중 cholesterol의 농도는 주로 간에서 cholesterol의 생성 및 장에서 cholesterol의 재흡수의 의해 결정되는데 혈장 내 총 cholesterol 함량이 더 높아지는 것은 장에서 재흡수량에 의해 크게 영향을 받는다. Levy는 혈청 내 cholesterol 농도가 관상심장질환의 유용한 지표가 된다고 하였고, Olson은 혈청 내 Cholesterol 수준보다는 조직 콜레스테롤 농도가 관상심장 질환의 위험 요인이 있다고 보고하였다. 비만은 고혈압, 동맥경화, 심장질환의 위험인자로서 알려져 있다. 이런 질병에 걸린 환자들은 혈중 triglyceride, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol 수치가 높은 것으로 관찰되었다. 따라서 본 다이어트 프로그램은 고혈압, 심장질환, 동맥경화 등 비만개선에 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

비만은 고지혈증, 동맥경화와 밀접하게 관련되며, 이들 질환은 triglyceride의 증가와 HDL-cholesterol 감소의 특징을 갖고 있다. 혈중 cholesterol과 triglyceride가 증가한 상태인 고지혈증 역시 비만이 중요한 원인이 된다. 혈중 triglyceride 증가의 원인은 고지방식, 고칼로리식, 고당질식, 알코올 등의 섭취에 크게 영향을 받는다. Triglyceride의 함량은 다이어트 프로그램 전 114.8 ± 6.2 mg/dl에서 실시 후 105.2 ± 6.2 mg/dl로서 유의하게 감소되는 경향을 나타내, 본 프로그램이 다이어트에 효과를 나타내고 있음을 시사해 준다.

3개월간의 다이어트 프로그램을 실시한 결과 HDL-cholesterol은 46.2 ± 1.3 에서 80.1 ± 3.8 mg/dl로 증가하였고, LDL-cholesterol은 84.0 ± 4.1 에서 51.7 ± 1.2 mg/dl 감소하였다. 이 결과는 관상동맥질환이나 동맥경화증의 예방 및 치료에 관한 여러 보고들과 일치한 결과였으며, HDL-cholesterol은 관상동맥질환 및 동맥경화증의 발생을 방지하는 항위험인자라고 발표된바있다.

반면, LDL-cholesterol은 반대로 동맥경화증을 비롯한 혈관계 질환의 원인으로 알려져 있다. 또한 관상 심장 질환의 발생과 진전은 혈청 내 총 콜레스테롤 수준 뿐 아니라 지방단백 조성과도 관련된다고 하여 최근 이 관련성을 밝히려는 노력이 집중되고 있다. 관상심장질환의 발생 및 진행에서 혈장 지방단백의 역할을 규명하려는 연구들은 그 동안 LDL-cholesterol과 VLDL-cholesterol에 집중되어 왔다. 최근, HDL-cholesterol에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. Barr등이 건강한 사람은 HDL-cholesterol 수준이 관상심장질환에 걸린 사람보다 높음을 보여줌으로써 관상심장 질환과 관련된 지질대사에

HDL-cholesterol이 차지하는 비중은 커지게 되었으며, 이외에 많은 역학적인 연구에서도 HDL- cholesterol 의 작은 변화조차 병의 전조가 됨을 제시하였다. HDL -cholesterol 수준이 높을 때에는 간 이외의 조직에 콜레스테롤을 간으로 운반하여 콜레스테롤의 분해 및 배설을 촉진한다는 사실을 토대로 HDL-cholesterol은 관상심장질환의 발병 위험을 낮추는 지방단백으로 보고 되어왔다. 선행 연구들에 의하면 동맥경화 및 관상동맥질환의 발병 예방은 혈중 총 cholesterol 수치보다는 동맥경화지수(Atherogenic index: 총 cholesterol-HDL-cholesterol/ HDL - cholesterol)을 감소시킴으로써 가능하다고 하였다. 최근 비만군에서 동맥경화지수가 정상군에 비해 유의하게 증가하였다는 결과가 보고되었다. 동맥경화지수는 다이어트 프로그램 실시 전 3.7 ± 0.5 에서 실시 후 2.6 ± 0.1 로 감소하였다. 따라서 본 다이어트 프로그램은 혈관계 질환 예방 및 치료에 도움이 될 것으로 기대된다.

Table 7. The change of blood composition by the treatment of functional diet

Parameter	Diet Program	
	Before	After
Glucose(mg/dl)	93.9±1.3	89.6±1.1*
T-cholesterol(mg/dl)	213.7±25	179.1±37
Triglyceride(mg/dl)	114.8±6.2	105.2±6.2*
HDL-cholesterol(mg/dl)	46.2±1.3	51.7±1.2*
LDL-cholesterol(mg/dl)	84.0±4.1	80.1±3.8
Atherogenic index	3.7±0.5	2.6±0.1*

Values represent the mean±SEM of 31 human. * The comparison was made between before- and after-applying of diet program(p<0.05).

3. 건국 균형 영양 생식



생산된 기능성 원료를 배합하여 영양 균형식으로 “건국 생식”이란 상표로 출시하여 국내 뿐만, 일본에도 수출계약(수입성 일본 동경소재 AMIQUE group. co., LTD., Tel 81-3-3352-0012)을 맺었으며, 홍콩, 미국등과도 수출 상담 중에 있다.

제 4장 목표 달성도 및 관련 분야의 기여도

연구목표	평가의 착안점	목표 달성도 및 관련 분야의 기여도
기능성 곡류생산 (신소재 원료 생산)	기능성 원료로서 가치가 있는가?	신소재 원료개발이 완료되어 이를 이용하여 다양한 제품을 개발할수 있는 식품 산업 발전에 기여할 수 있다.
기능성 신소재의 효능평가 및 신소재를 이용한 시제품 개발	in vitro 및 in vivo상에서 개발된 소재에 대한 효능이 입증되었는가 기호도를 충족시킬수 있는 시제품이 개발되었는가?	신소재에 대한 효능평가를 통해 그 기능성이 뛰어난다 라고 하는 것이 밝혀져, 이를 활용하여 다양한 제품을 개발하는데 기여할 것임
완제품 생산 및 사업화	신소재를 이용하여 기능성이 뛰어난 제품이 개발되었는가? 사업화는 추진되고 있는가?	신소재를 이용하여 다양한 제품이 개발되어 국내외적으로 판매할 수 있도록 추진하고 있음

제 5장 연구 개발의 활용도

개발도중에 다양한 신소재가 개발되어 이들의 효능에 대한 체계적인 연구가 요구되며, 이를 활용한 다양한 신제품 개발에 이용할 수 있어, 관련 농가의 소득 증대에 기여할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 이를 활용하여 식품 산업 발전에 기여할 것이다.

제 6장 연구개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술정보

유기농산물을 이용한 버섯 종균 접종 기능성 곡류는 매우 유익하기 때문에 일본에 본 원료가 흘러 들어가 성분 분석을 마치고, 이 원료를 이용한 제품의 수입건에 대해 이미 두 회사에서 내한하여 한곳은 수출 계약을 맺었다. 따라서 해외에서 이 원료에 대한 관심이 매우 높은 것으로 파악되었다.

제 7 장 참고문헌

- [1] Harmon A.W., Joyce B.H. Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am. J. Physiol..Cell. Physiol.* 2001, 280, C807-C813.
- [2] Leigh S. W., Howard G. Participation of one isozyme of cytosolic glycerophosphate dehydrogenase in the adipose conversion of 3T3 cells. *J. Biol. Chem.* 1979, 254, 273-75.
- [3] Kawada T., Takahashi N., Fushiki T. Biochemical and physiological characteristics of fat cell. *J.Nutr. Sci. Vitaminol.* 2001, 47, 1-12.
- [4] Takahashi N., Kawada T., Yamamoto T., Goto T., Taimatsu A., Aoki N., Kawasaki H., Taira K., Yokoyama K., Kamei Y., Fushiki T. Overexpression and ribozyme-mediated targeting of transcriptional coactivators CREB-binding protein and p300 revealed their indispensable roles in adipocyte differentiation through the regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 16906-12.
- [5] Takahashi N., Kawada T., Goto T., Yamamoto T., Taimatsu A., Matsui N., Kimura K., Saito M., Hosokawa M., Miyashita K., Fushiki T. Dual action of isoprenols from herbal medicines in both PPAR γ and PPAR α in 3T3-L1 adipocytes and HepG2 hepatocytes. *FEBS Letters.* 2002, 514, 315-22.
- [6] Ma J., Li Y., Ye Q., Li J., Hua Y., Ju D., Zhang D., Raymond C., Chang M. Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 5520-25.
- [7] Wang I.K., Lin-Shiau S.Y., Chen P.C., Lin J.K. Hypotriglyceridemic effect of Anka (a fermented rice product of *Monascus sp.*) in rats. *J. Agric. FoodChem.* 2000, 48, 3183-89.
- [8] H.S.Kim., L.Liang, R.G.Dean, D.B.Hausman, D.L.Hartzell, C.A.Baile. Inhibition of preadipocyte differentiation by Myostatin treatment in 3T3-L1 cultures. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 2001, 281, 902-906.
- [9] Jianrong H., Stephen R.F., James L.K., Barbara E.C., Richard Y., Tamar P.,

- Yasuo I., Wen G. Octanoate attenuates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J. Nutr.* 2002, 132, 904-910.
- [10] Takamura T., Nohara E., Nagai Y., Kobayashi K. Stage-specific effects of a thiazolidinedione on proliferation, differentiation and PPAR γ mRNA expression in 3T3-L1 adipocytes. *Eur. J. Pharmacol.* 2001, 422, 23-29.
- [11] Eric V. G. Transforming growth factor- β enhances and pro-inflammatory cytokines inhibit ob gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 1997, 240, 382-385.
- [12] Rhyu M.R., Kim D.K., Kim H.Y., Kim B.K. Nitric oxide mediated endothelium-dependent relaxation of rat thoracic aorta induced by aqueous extract of food rice fermented with *Monascus ruber*. *J.Ethnopharmacol.* 2000, 70, 29-34.
- [13] Noboru H. Garcinia extract Inhibits lipid droplet accumulation without affecting adipose conversion in 3T3-L1 cells. *Phytother. Res.* 2001, 15, 172-173.
- [14] Hida Y., Kawada T., Kayahashi S., Ishihara T., Fushiki T. Counteraction of retinoic acid and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on up-regulation of adipocyte differentiation with PPAR γ ligand, an antidiabetic thiazolidinedione, in 3T3-L1 cells. *Life Sci.* 1998, 62, 205-11.
- [15] Masaki W., Koichi I., Hideki K., Takuya A., Yoshitomo O., Shigehiro K. Regulation of PPAR γ transcriptional activity in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 2003, 300, 429-36.
- [16] Park Y., Freedman B.D., Lee E.J., Park S., Jameson L. A dominant negative PPAR γ mutant shows altered cofactor recruitment and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Diabetologia.* 2003, 46, 365-77.
- [17] Recknagel R.O. Glende EA Jr. Dolak JA. Waller RL Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol. Ther.* **1989**,*43*, 139-154
- [18] Poli G. Albano E. Dianzani M.U. The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem. Phys. Lipids* **1987**,*45*, 117-142
- [19] Recknagel R.O. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* **1967**,*19*,

145-208

- [20] Svingen B.A. Buege J.A. O'Neal F.O. Aust S.D. The mechanism of NADPH-dependent lipid peroxidation. The propagation of lipid peroxidation. *J. Biol. Chem.* **1979**,*254*, 5892-5899
- [21] James J.L. Moody D.E. *Chem. Biol. Interact.* **45**, 171-177
- [22] Teselkin Y.O. Babenkova I.V. Kolhir V.K. Baginskaya A.I.Tjukavkina N.A. Kolesnik Y.A. Selivanova I.A. Eichholz A.A. Dihydroquercetin as a means of antioxidative defence in rats with tetrachloromethane hepatitis. *Phytother. Res.* **2000**,*14*, 160-162
- [23] Ohta Y. Sasaki E. Nishida K. Kongo M. Hayashi T. Nagata M. Ishiguro I. Contribution of the antilipid peroxidative action of dai-saiko-to extract to its preventive effect of carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Phytother. Res.* **1998**,*12*, 5-8
- [24] Lin C.C. Huang P.C. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Acatopanax senticosus*. *Phytother. Res.* **2000**,*14*, 489-494
- [25] Kumaravelu P. Dakshinamoorthy D.P. Subramaniam S. Devaraj H. Devaraj N.S. Effect of eugenol on drug-metabolizing enzymes of carbon tetrachloride intoxicated rat liver. *Biochem. Pharmacol.* **1995**,*49*, 1703-1707
- [26] Han SB. Lee CW. Jeon YJ. Hong ND. Yoo ID. Yang KH. Kim HM The inhibitory effect of polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* on tumor growth and metastasis. *Immunopharmacology* **1999**,*41*, 157-164
- [27] Kim HM. Han SB. Oh GT. Kim YH. Hong DHHong ND. Yoo ID Stimulation of humoral and cell mediated immunity by polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Int. J. Immunopharmacol.* **1996**,*18*, 295-303
- [28] Arai S. Functional foods. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* **1997**, *110*, 7-10
- [29] Aebi H Catalase in vitro. In: Colowck SP, Kaplan NO, eds. *Method in Enzymology. New York:Academic Press*, **1984**, 121-126
- [30] Beers R.F. Sizer I.W. A Spectrophotometric method for measuring the breakdown peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.***1952**. *195*, 133-140.
- [31] Lee DW. Yu BP. Modulation of free radicals and superoxide dismutase by

- age and dietary restriction. *Aging Clin. Exp. Res.* **1990**, *2*, 357-362
- [32] Folch J. Lees M. Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **1957**, *226*, 497-509.
- [33] Laemmli U.K.. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **1970**, *227*, 680-685.
- [34] Forni L.G. Packer J.E. Slater T.F. Willson R.L. Reaction of the trichloromethyl and halothane-derived peroxy radicals with unsaturated fatty acids: apulase radiolysis study. *Chem. Biol. Interact.* **1983**, *45*, 171-177.
- [35] Moody D.E. James J.L. Clawson G.A. Smuckler E.A. Correlations among the changes in hepatic microsomal components after intoxication with alkyl halides and other hepatotoxins. *Mol. Pharmacol.* **1981**, *20*, 685-693.
- [36] Sipes I.G. Krishna G. Gillettem J.R. Bioactivation of carbon tetrachloride, chloroform and bromotrichloromethane: role of cytochrome P450. *Life Sci.***1977**, *20*, 1541-1548.
- [37] Dai y. Cederbaum A.I. Inactivation and degradation of human cytochrome P450E1by CCL4 in a transfected HepG2 cell line. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1995**, *275*, 1614-1622
- [38] Vittozzi L. Nastainczyk W. Binding of reactive metabolites of CCl4 to specific microsomal proteins. *Biochem. Pharmacol.***1987**, *36*, 1401-1406.
- [39] Burton, B. T. and W. R. Foster. 1985. Health implications of obesity: An NIH Consensus Development Conference. *J. Am. Diet Assoc.* *85*: 1117-1121
- [40] 허갑범. 1990. 비만증의 병인. *한국영양학회지*. *23*: 333-336.
- [41] 이기열, 장미라, 김은경, 허갑범. 1991. 비만자의 체지방량 및 분포에 관한 기초연구- 성인병의 발생 위험요인과 관련하여-. *한국영양학회지*. *24*: 157-165
- [42] 서은나,김초강.초등학교 영양교육실태에 관한 조사연구.*한국영양학회지* *31*(4) : 787- 798. 1998
- [43] Goodhart, R. S. and M. E. Shils. 1980. *Modern Nutrition in Health and Disease*. Lea and Febiger.
- [44] 강윤주(1994), 비만 청소년의 12년간의 Body Mass Index 변화, 석사학위논문, 연

세대 학교

- [45] 강운주 (1997).서울시내 초. 중. 고 학생들의최근 18년 (1979-1996) 비만도변화추이 및 증가양상. (학교보건연보),27호, 98-114.
- [46] Shirai K, Shinomiya M, Satio Y, Umezono T, Takahasi K, Yoshida S, Incidence of childhood obesity over the last 10 years in Japan, *Diabetes Res Clin Pract* 10: s65-s70, 1990.
- [47] Ditz WH, Prevention of childhood obesity, *Pediatr Clin of North Am*, 33: 823-833, 1986.
- [48] Andersson I. & Rossner S.(1997), Weight development, dropout pattern and changes in obesity-related risk factors after two years treatment if obese men, *Interantional journal of obesity*, 21: 211-216
- [49]. Atkinson R.L.(1993), Proposed standards for judging the success of the treatment of obesity, *Annals of internal medicine*, 119(7 pt 2): 677-680
- [50] Bandura A.(1977), Self-efficacy: toward a unifying theory of behavioral change, *Psychological review*, 84(2): 191-215
- [51] 이인열, 이일하(1996): 서울시내 사춘기 여학생의 비만실태와 식이 섭취양상 및 일반환경요인과 비만과의 관계, *한국영양학회지* 19(1): 41-51
- [52] Adams SO, Grady KE, Wolk C, Mukaida C(1986): Weight loss: A comparison of group and individual interventions. *J. Am. Diet Assoc.* 86: 485-490
- [53]. Wadden TA, Stunkard AJ(1985): Social and psychological consequences of obesity. *Ann Int Med* 103: 1062-1067
- [54] J.Eriksson(2001).Size at birth, childhood growth and obesity in adult life. *International Journal of obesity*, 25, 735-740.
- [55] Christian JL, Greger IL(1991): *Nutrition for Living*, 3rd ed. the Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc, California
- [56] Epstein LH, Wing RR, Valoski A ; Childhood obesity. *Pediatr Clin Norh Am* 32: 363-379, 1985
- [57] Fighueroa-Colon R, Kristian von Almen T, Suskind RM, Clinical considerations in the treatment of childhood obesity, In: Giorgi PL, Suskind RM, Catassi C, ed. *The obese Child*, 181-196, Karger, 1992.

- [58] 이동환, 이종국, 이철, 화용승, 차성호, 최용 ; 고도 비만아의 합병증에 관한 연구, 소아과학회지 34(4): 445-453, 1991
- [59] Epstein LH, Wing PR, Valoski A., Childhood obesity. *Pediatr Clin North Am*, 32: 353-378, 1985.
- [60] Brozek J, Grunde F, Anderson JT, Keys A(1963): Densitometric analysis of body composition: Revision of some quantitative assumption. *Ann NY Acad Sci* 110: 113-140
- [61] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS ; Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without, 1972
- [62] Knittle JL, Meritt RJ, Dixon-Shanies D, Ginsberg-Felloner F, Timmers KI, Katz DP(1981) Childhood obesity. In: Suskind RM(Eds), *Textbook of pediatric Nutrition*, 415-434, Raven Press, NY
- [63] Miller WC, Linderman AK, Wallace J, Nieder-Pruem M : Diet composition, energy intake and exercise in relation to body fatness in men and wome. *Am J Clin Nutr* 52: 426-430, 1990
- [64] Reybrouck T, Vinckx J, Berghe VD, Vanderschueren-Lodeweycks M : Exercise therapy and hypocaloric diet and adolescents, *Acta Paediatr Scand* 79: 84-89, 1990
- [65] Brownell. K.D&Kaye.F.S(1982).A social based behavior modification. nutrition education. and physicial activity program for obese childrdrn.35.American journal of clinical nutrition,35,982.
- [66] Garrow,J.S. Obesity and related Diseases,2nd ed, p1-5, Churchill Livingstone, Edinburgh,(1988)
- [67] 문수재, 김현수, 김정현,박계숙,유윤희 : 비만여성의 체중조절 실시를 통한 효과 측정. 한국영양학회지,28,759-770(1995)
- [68] Shephard, M.D.and Whiting,M.J.:Falsely low estimation of triglycerides in lipemic plasma by the enzymatic triglyceride method with modified Trinder's chromogen. *Clin.Chem*,36, 325-329 (1990)
- [69] Claude I, Xavier P. Thin-layer chromatography of human platelet phospholipids with fatty acid analysis. *J Chromatogr*. 1987;420:411-6

- [70] Kim SH, Kim GE, Kim SY. 1988. A Study on relations of obesity to the serum lipid and insulin concentrations in the elementary school children. Korean J Nutrition 31(2): 159-165
- [71] 이진복, 이정인, 김성원, 강재현, 양윤준, 서울시내일부초등학교 아동에서 비만의 유병률 및 위험요인. 가정의학회지, 21(7), 866-875, 2000
- [72] 허은실, 이경혜, 장동수, 이갑연, 이주희, 주정, 윤상연. 창원지역 일부 비만아의 식습관과 식행동 및 영양지식에 대한 조사연구(1). 대한영양사회학술지5(2): 153-163, 1999
- [73] 박경복, 김정숙, 한재숙, 허성미, 서봉순. 급식교와 비급식교 아동의 식생활습관에 관한 비교 연구. 한국식문화학회지 11(1): 23-35, 1996
- [74] 김은경. 한국아동의 식행동과 영양문제 대한 지역 사회 영양학회지 6 (5): 905-920, 2001
- [75] 김복란, 임양순 ; 체질량 지수에 의한 대학생들의 식습관에 관한 연구, 지역영양학회지, 3(1): 44-53, 1998
- [76] Y. Perman, A. M. and Vermeerch, Ah. ; Factors associated with children's food habits, J Nurt. Educ., 11(2), 72-26, 1979
- [77] Clancy-Hepburn K. Hickey AA. Nevill G. children's behavior response to TV food advertisement, J. Nutr. Ed. 6: 93, 1979
- [78] Kissebah AH, Vydellingum N, Murray R, Evans DJ, Hartz, AJ, Kalkhoff RK, Adams PW. 1982. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. J Clin. Endocrinol. Metab. 54 :254-260.
- [79] Fredrickson DS, Levy RI. Familial hyperlipoproteinemia. IN: Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS, eds. The metabolic basis of inherited disease 3rd ed. Mc Graw-Hill Newyour 545-614. 1972
- [80] Olson R. Is there an optimum diet for prevention of coronary heart disease? In : Levy Ri, Rifkind BM, Dennis BH. Ernst N, eds. Nutrition, lipid and coronary heart disease; A global view of nutrition in health and disease. Raven press, New York : 349-364, 1979
- [81] 임경숙, 윤은영, 김초일, 김경태, 김창임, 모수미, 최혜미 ; 어린이들의 식습관이 비만도와 혈청지질 수준에 미치는 영향, 한국영양학회지, 26(1) : 56-66, 1993
- [82] 김현아, 김은경 ; 학령기 비만아동을 위한 체중조절 프로그램의 실시 및 효과 평

- 가, 한국영양학회지, 29(3) : 307-320, 1996
- [83] Barr DP, Russ EM, Eder HA, protein-lipid relationship in human plasma in atherosclerosis and related condition Am J Med 11 : 480-493, 1971
- [84] Carson LA, Ericsson M. Quantitative and qualitative serum lipoprotein analysis, Partzstudies in male survivors of myocardial infarction. Atherosclerosis 21 : 435-450, 1975
- [85] Miller NE, Thelle Ds, Forde OH, Mjos OD. The tromso heart study, Lancet I :965-967,1977
- [86] Gulbrandsen CL, Rhoads GG, Kagan A. Cholesterol fraction and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men. Circulation 50 : 100a, 1974
- [87] Rhoads GG, Gulbrandsen CL, Kagan A. Serum lipoprotein and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men. N Engl J MED 294 : 293-298, 1976
- [88] Gordon T. castell; WP, Hjortland MJ. Kannel WB. Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am J Med 62 : 707-713, 1977
- [89] Tyroler HA, Hames CG, Krishen I, Hayden S, cooper G. Cassel JC. Black-White differences in serum lipids and lipoproteins in Evans County, Prev Med 4 : 541, 1975

주 의

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